

**Quantitative Bestimmung der freien Aminosäuren
in einigen Hartkäsesorten
mit Hilfe der Papierchromatographie**

Von der
Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
zur Erlangung der
Würde eines Doktors der Technischen Wissenschaften
genehmigte
Promotionsarbeit
vorgelegt von
Alfons Schmid
von Außerberg (Wallis)

Referent: Herr Prof. Dr. E. Zollikofer
Korreferent: Herr Prof. Dr. H. Deuel

VI. Zusammenfassung

1. Ziel dieser Arbeit war, die freien α -Aminosäuren in verschiedenen typischen Schweizer-Käsesorten mit Hilfe der Papierchromatographie und der Ninhydrinreaktion qualitativ und quantitativ zu bestimmen.
2. Zur Untersuchung gelangten Proben folgender konsumreifer Käsesorten:
 - Emmentaler
 - Sbrinz
 - Greyerzer
 - Vollfetter Appenzellerkäse
 - Glarner Alpkäse
3. Die Extraktion der freien Aminosäuren aus dem Käse wurde mit destilliertem Wasser und absolutem Alkohol vorgenommen. Im Verlaufe dieses Arbeitsprozesses mußten die Aminosäureextrakte mehrmals filtriert werden. Wir überprüften die Genauigkeit der Extraktionsmethode durch Bestimmen des Aminostickstoffes nach *van Slyke*. Der durch die Extraktion bedingte Verlust an Aminostickstoff beträgt nach unseren Ergebnissen 0,5 bis 3 %.
4. Da anorganische Salze die papierchromatographische Trennung der Aminosäuren erschweren, wurden alle Extrakte entsalzt. Hierzu bedienten wir uns des Kationenaustauschers *W o f a t i t* KS. Die Entsalzung verursacht einen Verlust von 1 bis 2 %.
5. Mit Hilfe der aufsteigenden Papierchromatographie lassen sich folgende freie Aminosäuren trennen: Glycin, Alanin, Serin, Asparagin- und Glutaminsäure, Asparagin und Glutamin, Threonin, Tyrosin, Citrullin, Histidin, Lysin, Arginin, γ -Amino-Buttersäure und Prolin. Als Lösungsmittel verwendeten wir wasser-gesättigtes Phenol und Butanol/Eisessig. Die Laufzeit der Chromatogramme betrug für Phenol und Butanol/Eisessig 30, bzw. 48 Stunden. Die Verlängerung des Butanollaufes bis zu 72 Stunden ermöglicht eine klarere Trennung der einzelnen Säuren.

6. Die Aminosäuren Valin, Leucine, Methionin, Phenylalanin und Tryptophan trennten wir durch die aufsteigende Papierchromatographie. Die Anwesenheit von Methionin erschwerte die klare Trennung von Valin, Leucine und Phenylalanin. Die Lösungsmittel waren: Tertiärer Butylalkohol, Methyläthylketon und Wasser (4 : 4 : 2), sowie tertiärer Butylalkohol, Methanol und Wasser (4 : 5 : 1). Die Laufzeit der Chromatogramme betrug 12, bzw. 24 Stunden.

7. Die qualitative Bestimmung der freien Aminosäuren geschah an Hand einer Lagekarte, die mit bekannten Substanzen aufgenommen wurde. Ein Testblatt mit bekannten Aminosäuren erleichtert die Identifizierung der einzelnen Farbflecken wesentlich.

Die Farbstoffe wurden mit Ninhydrinpuffer in siedendem Wasserbad extrahiert und mit Hilfe des Lumetron Photometers gemessen. Die auf diese Weise ermittelten Extinktionswerte sowie die Eichgeraden ermöglichten die quantitative Bestimmung der freien Aminosäuren im Käse.

8. Versuchsergebnisse:

Im Mittel aller untersuchten Käseproben wurden in den verschiedenen Käsesorten folgende Mengen freier Aminosäuren je g Käse gefunden:

| | |
|-------------|---------------------------|
| Emmentaler | : 3200 Gamma (1750— 4150) |
| Sbrinz | : 7360 Gamma (4050—11250) |
| Greyerzer | : 9880 Gamma (6750—12950) |
| Appenzeller | : 8480 Gamma (7050—11450) |
| Alpkäse | : 4490 Gamma (3170— 6400) |

Die ohne Schmiere reifenden Hartkäse, Emmentaler und Sbrinz, weisen sehr große Gehaltsunterschiede auf. Als Ursache ist in erster Linie die Dauer der Reifung anzusehen. Emmentaler enthält von allen Sorten am wenigsten freie Aminosäuren. Die übrigen drei Käsesorten reifen unter Einwirkung einer gepflegten Rindenflora. Der Gehalt an freien Aminosäuren ist beim Greyerzer und vollfetten Appenzellerkäse sehr groß, beim Alpkäse dagegen bedeutend niedriger.

Die Ergebnisse der Einzelproben ergeben für die gleiche Käsesorte große Gehaltsdifferenzen. Die Unterschiede können bis zu 100 und mehr Prozent ausmachen.

Wir berechneten den Aminostickstoff nach *van Slyke* im Verhältnis zum Gesamtstickstoff im Käse. Die Mittelwerte betragen 7 % für Emmentaler, 17 % für Sbrinz, 21 % für Greyerzer und Appenzellerkäse sowie 10 % für Glarner Alpkäse.

Die sauren, basischen und neutralen Aminosäuren beteiligen sich wie folgt an der gesamten Aminosäurenkonzentration:

| | | |
|----------------------|---|------|
| Saure Aminosäuren | : | 21 % |
| Basische Aminosäuren | : | 38 % |
| Neutrale Aminosäuren | : | 41 % |

Diese Werte stellen das Mittel aller untersuchten Käsesorten dar. Die sauren Aminosäuren sind am schwächsten vertreten. Auf die basischen und neutralen Aminosäuren entfällt ein ungefähr gleich großer Anteil. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Käsesorten sind gering. Einzig im Glarner Alpkäse nimmt der Gehalt an neutralen Aminosäuren deutlich zu, während der saure Anteil abnimmt.

In den verschiedenen Käsesorten fanden wir folgende Anzahl freier Aminosäuren:

| | | |
|-------------|---|----|
| Emmentaler | : | 13 |
| Sbrinz | : | 17 |
| Greyerzer | : | 18 |
| Appenzeller | : | 15 |
| Alpkäse | : | 18 |

Emmentaler und vollfetter Appenzellerkäse enthalten zahlenmäßig am wenigsten freie Aminosäuren, Sbrinz, Greyerzer und Alpkäse sozusagen gleich viele. In allen untersuchten Käseproben wurden regelmäßig gefunden: Glycin, Alanin, Serin, Prolin, Valin, Leucine, Glutaminsäure und Lysin.

Im allgemeinen sind die am Kaseinaufbau stark beteiligten Aminosäuren auch im Käse mengenmäßig in freier Form vorherrschend.