

Untersuchung des Fettes von Frauenmilch.

von

Ernst Laves.

(Der Redaction zugegangen am 17. März 1894.)

Ueber die Zusammensetzung des Fettes der Frauenmilch sind bisher nur unzureichende Untersuchungen angestellt worden. Diese Lücke in der Untersuchung findet wohl darin ihre Erklärung, dass es sehr schwierig ist, in den Besitz grösserer Mengen des Fettes zu gelangen.

Mir standen für vorliegende Untersuchung 116,0 Fett von Frauenmilch zur Verfügung, welches von Herrn Professor Julius Lehmann in Dresden bei einer längeren Untersuchungsreihe über Frauenmilch als Nebenproduct gewonnen und an Herrn Prof. Hoppe-Seyler übersendet, von demselben mir zur Untersuchung übergeben war.

Es kam vor Allem darauf an, die chemische Zusammensetzung des Fettes zu vergleichen mit der des Butterfettes von Kuhmilch. Von einer exacten Trennung der hochmolekularen Säuren des Fettes musste Abstand genommen werden, da aus den Untersuchungen von Heintz hervorgeht, dass dieselbe nur möglich ist bei Inangriffnahme von 1 bis mehrere Kilos Fett.

An niedere Fettsäuren aber erwies sich das Fett so arm, dass auf Reindarstellung der einzelnen verzichtet werden musste.

Es wurde die Trennung der einzelnen Fettsäuren durchgeführt, soweit es das Material gestattete, und das Molekulargewicht der einzelnen Fractionen bestimmt.

Ferner wurde der Gehalt des Fettes an flüchtigen, an wasserlöslichen und an ungesättigten Säuren bestimmt. Schliesslich wurden auch die in der Nahrungsmittelchemie üblichen Methoden zur Prüfung des Fettes herangezogen. 96,0 filtrirtes, trockenes Fett aus Frauenmilch vom Schmelzpunkte 30—31° C. wurde mit 50,0 Kaliumhydroxyd, 80 cbcm. Wasser und 200 cbcm. Alkohol durch mehrstündiges Erhitzen in einen Kolben mit aufgesetztem Rückflusskühler verseift; hierauf der Alkohol abdestillirt. Der Rückstand wurde mit überschüssiger verdünnter Schwefelsäure versetzt, und die darin enthaltenen flüchtigen Säuren im Dampfströme übergetrieben.

Nachdem ca. 5 l übergegangen waren, hörte das Destillat auf, sauer zu reagiren. Es wurden sodann die flüchtigen Fettsäuren, welche im Rohre des Liebig'schen Kühlers haften geblieben waren, mit dem Destillat vereinigt, und die Destillation unterbrochen. Die im Wasser gelösten flüchtigen Fettsäuren trennte man durch Filtration von den ungelösten; erstere verbrauchten 56 cbcm. $\frac{1}{10}$ Normal-Barytlauge, letztere — mitsammt Filtrum in wenig Aether und in Wasser vertheilt — 40,5 cbcm. $\frac{1}{10}$ Normal-Barytlauge.

In Summa waren also aus 96,0 Fett an flüchtigen Fettsäuren erhalten worden, entsprechend 96,5 cbcm. $\frac{1}{10}$ Normal-lauge. Das Baryumsalz der flüchtigen wasserunlöslichen Fettsäuren wurde mit Phosphorsäure zersetzt, die Fettsäuren mit Aether extrahirt. Nach dem Verdunsten des Aethers hinterblieben die Säuren als feste Masse vom Schmelzpunkte 16 bis 17° C.

Sie wurden mit Barytlauge gesättigt und mit obigen neutralisirten Destillat vereinigt, welches man auf dem Wasserbade zur Trockne eindampfen liess, nachdem die in den 5 l erhitzter Flüssigkeit unlöslichen Barytsalze auf einem Filtrum gesammelt waren (Portion III = 1,2 gr.)

Beim Eindampfen wurde ein geringer Ueberschuss von Barytlauge zugesetzt und von Zeit zu Zeit Kohlensäure ein-

geleitet. Dem Verdampfungsrückstand liess sich durch wenig kaltes Wasser ein Theil der Barytsalze entziehen (Portion I); ein anderer Theil ging erst auf Zusatz von viel heissem Wasser in Lösung (Portion II). In diesen 3 Fractionen von Barytsalzen wurde der Baryumgehalt bestimmt, um die Molekulargrösse der darin enthaltenen Fettsäuren zu ermitteln.

Portion I: 0,488 gr. Substanz gaben 0,318 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,187$ gr. Ba
 $= 38,3\%$ Ba.

Molekulargewicht des Ba-Salzes = 357,0.
 der Fettsäuren = 111,0.

Portion II: 0,6 gr. Substanz gaben 0,3415 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,205$ gr. Ba
 $= 33,55\%$.

Demnach: Molekulargewicht des Ba-Salzes = 409,
 Mittleres der Fettsäuren = 137.

Portion III: a) Durch Extraction mit viel siedendem Alkohol wurde ein Baryumsalz erhalten, von dem 0,133 gr. Substanz 0,0651 gr. BaSO_4 gaben = 0,0383 gr. Ba = 28,8% Ba.

Demnach: Molekulargewicht des Ba-Salzes = 476,0,
 Mittleres der Fettsäuren = 170,5.

b) Von dem in Alkohol nicht gelösten Salz gaben 0,314 gr. Substanz 0,1525 $\text{BaSO}_4 = 0,0896$ gr. Ba = 28,55% Ba.

Demnach: Molekulargewicht des Ba-Salzes = 481,
 Mittleres der Fettsäuren = 173.

Chevreur¹⁾, welcher zuerst die flüchtigen Säuren der Kuhbutter untersucht hat, wies in denselben Buttersäure, Capron- und Caprinsäure nach.

Lerch²⁾ fand unter den flüchtigen Säuren der Kuhbutter durch Trennung als Barytsalze ausserdem Caprylsäure, und in einem Falle im Jahre 1842 an Stelle von Buttersäure Vaccinsäure.

Während Chevreur die niedrig molekularen Säuren von den hoch molekularen durch Auskneten der freien Säuren des Butterfettes getrennt hatte, führte Lerch die Trennung durch Destillation im Dampfströme aus. Hierbei wurden ca. 10% der gesammten Fettsäuren übergetrieben, von welchen $\frac{1}{10}$ im wässrigen Destillat gelöst waren.

Ein ganz anderes Mengenverhältniss waltet im vorliegenden Falle zwischen den einzelnen Fettsäuren ob.

¹⁾ Ann. chim. phys. 22. p. 366 f.

²⁾ Liebig's Annalen 49. S. 212 f.

Obige 96,0 gr. Fett enthielten an Gesamtfettsäuren — nach der weiter unten mitgetheilten Köttstorffer'schen Zahl berechnet — $95,1\%$ = **91,28 gr.**

Hiervon wurden mit Wasserdampf übergetrieben entsprechend 96,5 ccm. $\frac{1}{10}$ Normallauge flüchtiger Säuren mit einer mittleren Molekulargrösse = 140; d. h. $140 \cdot 9,65$ mgr. = **1,351 gr.** = $1,48\%$ der Gesamtfettsäuren gegenüber 10% , wie Lerch bei Butterfett fand.

Von den flüchtigen Fettsäuren waren im Destillat gelöst $5,6 \cdot 0,121$ (121 wurde als mittleres Molekulargewicht dieses Theiles der Säure gefunden) = **0,6776 gr.**; es waren ungelöst: **0,6734 gr.** Fettsäuren.

Nach Lerch sind von den flüchtigen Fettsäuren des Butterfettes ca. 90% im Destillat gelöst; in vorliegendem Falle nur $50,2\%$.

Das Fett ist demnach sehr arm an flüchtigen Säuren, vor allem aber an Buttersäure. Das Molekulargewicht der als Baryumsalz getrennten flüchtigen Fettsäuren beträgt bei

Portion I : 111,
 » II : 137,
 » III : 171.

Portion I enthält dementsprechend neben sehr wenig Buttersäure (98 Molekulargewicht) vorzugsweise Capronsäure (116 M.);

Portion II vorzugsweise Caprylsäure (144 M.);

» III » Caprinsäure (172 M.);

vorausgesetzt, dass in diesem Fett dieselben Säuren vorkommen, wie im Fett der Kuhmilch.

Der weitaus grösste Theil der Fettsäuren aus obigem 96,0 Fett bestand aus nicht flüchtigen Säuren. Dieselben wurden von der sauren Kaliumsulfatlösung getrennt, mehrfach mit heissem Wasser ausgewaschen, getrocknet und filtrirt. Beim Erkalten liess man das Säurengemisch unter Umrühren zu einer homogenen Masse erstarren und bestimmte nach der Hübl'schen Jodadditionsmethode den Gehalt an ungesättigten Säuren, welche als Oelsäure berechnet wurden.

Die Untersuchung wurde ausgeführt nach der Vorschrift Hübl's, wie sie von König in seinem Handbuche: «Die menschlichen Nahrungs- und Genussmittel 1893» wiedergegeben ist, mit der Aenderung, dass für 20 cbcm. Jodquecksilberchloridlösung anstatt der angegebenen 10 cbcm. 20 cbcm. 10proc. Jodkalilösung zugesetzt wurde, um das Ausfallen von Quecksilberbiodid zu verhüten.

I. 0,6235 Fettsäuren absorbirten	$\frac{25,1 \cdot 0,2333}{19,55}$	= 0,2095 gr. = 48,04% Jod.
II. 0,81 Fettsäuren absorbirten	$\frac{32,7 \cdot 0,2333}{19,55}$	= 0,3902 gr. = 48,18% Jod.
III. 0,691 Fettsäuren absorbirten	$\frac{27,9 \cdot 0,2333}{19,55}$	= 0,335 gr. = 48,2% Jod.
IV. 0,716 Fettsäuren absorbirten	$\frac{29,0 \cdot 0,2333}{19,55}$	= 0,346 gr. = 48,35% Jod.

Im Mittel: 48,2% der wasserunlöslichen und nicht flüchtigen Fettsäuren. Dieselben betragen 92,3% des Fettes, welches in den flüchtigen Säuren ungesättigte Verbindungen nicht enthält.

Es absorbirt somit das Fett selbst

$$\frac{48,2 \cdot 92,3}{100} = 44,5\% \text{ Jod.}$$

Da je 292 Theile Oelsäure 254 Theile Jod absorbiren, so enthält das Fett an Oelsäure¹⁾:

$$\frac{44,5 \cdot 282}{4,025} = 49,4\%$$

und obiges Fettsäuregemisch:

$$\frac{48,2 \cdot 283}{254} = 53,5\% \text{ Oelsäure.}$$

Der Gehalt der Kuhbutter an Oelsäure schwankt zwischen 31,75 bis 47,85% und zwar ansteigend mit fortschreitender Lactationszeit.

In vorliegendem Fette ist der bei Kuhbutter beobachtete Maximalgehalt an Oelsäure somit um 1,55% überschritten.

¹⁾ Nach Gauthier (Zeitschr. f. anal. Ch. 1893) sollen die nach Hübl's Methode berechneten Werthe für Oelsäure etwas hoch sein.

Der Schmelzpunkt der unlöslichen, nicht flüchtigen Fettsäuren lag bei $37-39^{\circ}$, wogegen diejenigen der Kuhbutter nach Bensemann¹⁾ und Andern bei $41-44^{\circ}$ schmelzen.

Das mittlere Molekulargewicht wurde durch Titration mit $\frac{1}{10}$ Normal-Natronlauge und durch Analyse des Baryumsalzes ermittelt.

I. 1.1548 gr. Substanz, in wenig Aether gelöst, verbrauchten 43,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normallauge bis zur Sättigung.

$$\text{Molekulargewicht: } \frac{1,1548 \cdot 1}{0,00435} = 265.$$

II. 1.022 gr. Substanz verbrauchten 38,0 ccm. $\frac{1}{10}$ Normallauge.

$$\text{Molekulargewicht: } \frac{1,022 \cdot 1}{0,0038} = 269.$$

III. 0,635 gr. Barytsalz (durch Versetzen des Natriumsalzes mit Chlorbaryum erhalten) enthielten 0,2252 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,1325$ gr. Ba = 20,85% Ba.

Molekulargewicht: 261,

Mittleres Molekulargewicht: **265**;

ein Werth, welcher darauf schliessen lässt, dass ausser den in allen animalischen Fetten gefundenen Säuren: Stearinsäure (Molekulargewicht 284), Oelsäure (M. 282) und Palmitinsäure (M. 256) -- eine Fettsäure von niedrigerem Molekulargewicht vorhanden. Wahrscheinlich handelt es sich um Myristinsäure, welche als Bestandtheil des Butterfettes nachgewiesen ist.

Um Stearinsäure, Palmitinsäure und Oelsäure nachzuweisen, wurden nach Heintz's Vorschrift ca. 60,0 der nicht flüchtigen Fettsäuren in wenig 96proc. heissem Alkohol gelöst. Nach 12stündigem Stehen bei ca. -8° hatte sich eine reichliche Menge Fettsäuren ausgeschieden; sie wurden von der Mutterlauge getrennt und durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Alkohol gereinigt.

Die Krystallmasse wurde in Aether und Alkohol gelöst und mit Magnesiumacetatlösung versetzt. Nachdem gut umgeschüttelt war, filtrirte man vom entstandenen Niederschlag ab, wusch mit wenig Aether nach und fügte zum Filtrat von Neuem Magnesiumacetat. Der entstandene Niederschlag wurde

¹⁾ Repertor. für analytische Chemie 1856, S. 197.

wie zuvor abgetrennt; die dritte Fällung sodann durch Zusatz von Magnesiumacetat und Ammoniak hervorgerufen.

Die so erhaltenen 3 Niederschläge wurden mit Aether, Alkohol und mit heissem Wasser gut ausgewaschen. Von der 3. Fällung wurde nur der Antheil berücksichtigt, welcher durch grosse Mengen heissen Alkohols gelöst wurde, nach dem Erkalten des Lösungsmittels aber auskrystallisirte. In den drei Niederschlägen wurde der Magnesiumgehalt bestimmt und der Schmelzpunkt der durch Phosphorsäure wieder abgespaltenen Fettsäuren.

1. Fällung: 2,256 gr. Substanz gaben $0,441 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 4,21\% \text{ Mg}$.
Schmelzpunkt der Fettsäuren: $61-62^\circ$. (Durch partielle Zersetzung des Magnesiumsalzes mit Phosphorsäure wurde eine Fettsäure vom Schmelzpunkt 64° erhalten.)
2. Fällung: 1,42 gr. Substanz gaben $0,281 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 4,28\% \text{ Mg}$.
Schmelzpunkt der freien Fettsäure: $58,60^\circ$.
3. Fällung: 1,18 gr. gaben $0,245 \text{ Mg}_2\text{M}_2\text{O}_7 = 4,49\% \text{ Mg}$. Schmelzpunkt der freien Fettsäure: 60° .

Palmitinsaures Magnesium enthält $4,5\% \text{ Mg}$; stearinsaures Magnesium $4,07\% \text{ Mg}$. Palmitinsäure schmilzt bei $+62^\circ$, Stearinsäure bei $+69,2^\circ$.

Wenn ein Gemisch beider Säuren vorliegt, so kann der Schmelzpunkt sinken bis $+55,1^\circ$. Ist somit durch die fraktionirte Fällung eine exacte Trennung der vorhandenen Fettsäuren nicht gelungen, so kann man doch aus dem Gehalt an Magnesium und aus den gefundenen Schmelzpunkten mit Sicherheit schliessen, dass sowohl Stearinsäure wie Palmitinsäure zugegen sind.

Der in kaltem Alkohol lösliche Theile der nicht flüchtigen Fettsäuren bestand vorzugsweise aus Oelsäure. Da die Abtrennung derselben als Magnesiumsalz nicht gelang, wurde das Fettsäuregemenge in das Bleisalz verwandelt und mit grossen Mengen Aether extrahirt; man erhielt so eine trübe Lösung von ölsaurem Blei.

Zum Vergleich des Fettes der Frauenmilch mit Kuhbutter wurden einige in der Nahrungsmittelchemie für Butterfett üblichen Untersuchungsmethoden ausgeführt.

Die bekannteste derselben —, nach Reichert, Meissl, — basirt auf der Menge der unter bestimmt normirter Ver-

suchsanordnung überdestillirenden Fettsäure. Die ursprüngliche Vorschrift lässt das Fett mit alkoholischer Kalilauge verseifen, während man seit Kurzem meist Glycerin an Stelle von Alkohol verwendet und im Oelbade verseift. Zahlreiche Versuche mit Kuhbutter ergaben nach der letzt erwähnten Vorschrift im Mittel an flüchtigen löslichen Fettsäuren in 110 cbcm. Destillat = 27—28 cbcm. $\frac{1}{10}$ Normallauge.

5,0 des Fettes der Frauenmilch ergaben bei analoger Behandlung in 2 Versuchen 110 cbcm. Destillat, welches zur Sättigung I. 2,45 cbcm., II. 2,55 cbcm. $\frac{1}{10}$ Normallauge verbrauchten.

Nach Köttstorffer's Methode wurden die Fettsäuren von 1,94 gr. Fett nach der Verseifung durch 7,5 cbcm. Normal-Kalilauge neutralisirt, woraus die Köttstorffer'sche Zahl 213 resultirt, welche den Verbrauch an KOH in Milligramm zur Verseifung von 1,0 gr. Fett angibt.

Der Procentgehalt an Fettsäuren im Fett beträgt hiernach:

$$\frac{7,5 \cdot 38^1)}{1,94 \cdot 3} = 49 \text{ mgr.} = \frac{100,0}{95,1 \%}$$

4,0 Fett, nach Hehner's Methode geprüft, hinterliessen nach der Verseifung und nach sorgfältigem Auswaschen der löslichen Fettsäuren 3,728 unlösliche Fettsäuren = 93,2%.

Der Gehalt an löslichen Fettsäuren betrug demnach:

$$\begin{array}{r} 95,1 \% \\ - 93,2 \% \\ \hline 1,9 \% \end{array}$$

Fassen wir die Resultate der Untersuchung nochmals kurz zusammen, so ist nachgewiesen, dass das Fett der Frauenmilch sehr arm ist an flüchtigen und wasserlöslichen Säuren, reich an ungesättigter Säure.

¹⁾ $\frac{38}{3}$ ist die Aequivalentgewichtszahl des Glycerinrestes aus einem Fettmolekul nach Abzug der drei Fettsäuren.

Vorliegendes Fett enthält:

- 1,4% an flüchtigen Säuren,
- 1,9% an wasserlöslichen Säuren,
- 49,4% ungesättigter Säure.

Die flüchtigen Säuren enthalten höchstens Spuren von Buttersäure; von Capron-, Capryl- und Caprinsäure annähernd gleiche Mengen.

Unter den nicht flüchtigen, unlöslichen Fettsäuren befindet sich ausser den in thierischen Fetten allgemein vorkommenden Palmitin-, Stearin- und Oelsäuren eine oder mehrere Fettsäuren von niedrigerem Molekulargewicht (wahrscheinlich Myristinsäure).

Der Schmelzpunkt dieser Fettsäuren liegt zwischen 37—39° C.; der Schmelzpunkt des Fettes selbst bei 30—31° C.

Das Fett der Frauenmilch ist somit in seiner chemischen Zusammensetzung als wesentlich verschieden von dem Fette der Kuhmilch zu betrachten.

Als diese Arbeit bereits im Druck war, erschien über den gleichen Gegenstand in der Zeitschrift für Biologie, Bd. XXXI, N. F. XIII, S. 1—12, eine eingehende Untersuchung von Dr. W. G. Ruppel aus dem physiologischen Institut zu Marburg.

Physiol.-chem. Universitäts-Laboratorium Strassburg i. E.