

## Ein neuer eiweissartiger Bestandtheil der Milch.<sup>1)</sup>

Von

A. Wróblewski.

(K. K. allg. Untersuchungsanstalt f. Lebensmittel in Krakau.)

(Der Redaction zugegangen am 8. October 1898.)

In der Frauenmilch wurde von mir vor vier Jahren ein Proteinstoff gefunden, dessen Zusammensetzung mit der Formel  $C_{150}H_{292}N_{43}PS_6O_{68}$  übereinstimmte. Derselbe enthielt C—45,01%, H—7,31%, N—15,07%, P—0,80%, S—4,70% und O—27,11%. Dieser Körper reducirte Fehling'sche Lösung auch nach dem Kochen mit Salzsäure nicht, bei der Pepsinverdauung spaltete er kein Pseudonuclein ab. Um ihn zu lösen, wurden für ein Gramm 121,3 ccm.  $\frac{1}{100}$  N.-Natronlauge verbraucht. Von der Verdauungssalzsäure waren zu demselben Zwecke 5 ccm. erforderlich. Dieser Körper brauchte demnach zur Sättigung mehr Natronlauge als das Frauencasein. Er gab die Biuret-, Millon-, Xanthoproteinreaction, wie auch Reaction von Adamkiewicz. Er enthielt nur wenig bleischwärenden Schwefel. Dieser Körper wurde durch das Aussalzen mit Natriumchlorid aus den Mutterlauge der Essigsäurefällung des Frauencaseins erhalten.<sup>2)</sup>

Im Laufe dieses Sommers wurde von mir ausser der Frauen- auch noch die Kuh- und Stutenmilch auf diesen Körper hin geprüft. Es hat sich dabei erwiesen, dass in den Mutter-

<sup>1)</sup> Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften in Krakau am 3. October 1898.

<sup>2)</sup> «Beiträge zur Kenntniss des Frauencaseins etc.» Schweiz. klin. Mitt. II Reihe. Heft 6.

laugen der Essigsäurefällung des Kuhcaseins ein vom Casein verschiedener Stoff in kleinen Mengen vorhanden war, in den Mutterlaugen des Stutencaseins befand sich ein ähnlicher Körper in grösserer Menge. In allen drei genannten Milchsorten befinden sich wahrscheinlich drei verschiedene, wenn auch einander ähnliche Körper. Da aber diese Unterschiede bis jetzt noch nicht präcisirt sind und das charakteristische Verhalten für sie alle gemeinschaftlich ist, so ist es wohl erlaubt, von einem solchen Mutterlaugenkörper zu reden. Man muss ihm, um Weitläufigkeiten zu vermeiden, einen vorläufigen kurzen Namen geben. Da er dadurch charakterisirt ist, dass seine Lösungen opalisiren, so wird es vielleicht zweckmässig sein, ihn mit dem Namen Opalisin zu bezeichnen.

Opalisin der Stutenmilch. Bei der Fällung des Stutencaseins mit Essigsäure nach der von Hammarsten für das Kuhcasein gegebenen Vorschrift findet man in den Mutterlaugen nicht unbedeutliche Mengen von einem Körper, welcher durch das Aussalzen mit Magnesium- oder Ammoniumsulfat gewonnen wird: er fällt ebenfalls beim Aussalzen mit Natriumchlorid aus, obgleich dabei die Reaction der Flüssigkeit gewissen Einfluss hat. Vom Casein unterscheidet er sich dadurch, dass er bei der peptischen Verdauung kein Pseudonuclein zurücklässt. In den Lösungen des Stutencaseins hingegen entstehen Niederschläge des Pseudonucleins und bleiben im Laufe von mehreren Monaten ungelöst. Dieses Pseudonuclein enthält viel Phosphor, aber dabei nicht wenig Schwefel. Es löst sich in Natronlauge, fällt bei der Neutralisation mit Essigsäure oder Salzsäure aus und löst sich im Ueberschusse der Säure nicht. Es verhält sich demnach dem Pseudonuclein des Kuhcaseins ganz gleich. — Wenn man eine fast neutrale Lösung des ausgesalzten Körpers mit ein paar Tropfen einer Chlorcalciumlösung versetzt und dann etwas Phosphorsäurelösung dazugibt, so entsteht beim grösseren Zusatze von Phosphorsäure sofort ein Niederschlag. Es ist kein albumin- oder globulinartiger Körper, weil er weder beim Kochen seiner Lösungen, noch bei der Dialyse gefällt wird. Es ist für diesen Körper charakteristisch, dass seine Lösungen mehr oder weniger opalisiren.



Eine Portion von diesem Opalisin wurde in  $\frac{1}{10}$  N.-Natronlauge gelöst und bis zum Verschwinden der Schwefelsäure-reaction dialysirt, dann mit Alkoholäther gefällt, mit Aether gewaschen und getrocknet. Das schneeweisse Pulver enthielt Phosphor und mehr Schwefel als das Stutencasein. Das reine unveränderte Stutencasein enthält 0,74% P (Mittel aus drei Bestimmungen: 0,73%, 0,76% und 0,74%) und 0,56% S (Mittel aus fünf Bestimmungen)<sup>1)</sup>. Das Opalisin löst sich im Wasser nur theilweise, das Filtrat opalisirt stark. In Alkalien löst es sich leicht, in Säuren dagegen schwieriger, besonders schwer in Essigsäure. Wenn man eine neutrale Lösung des Opalins mit Essigsäure versetzt, so fällt ein Niederschlag, welcher sich im Ueberschusse der Säure nicht vollständig löst, die Flüssigkeit opalisirt stark und bildet beim Schütteln mit Luft kleine klebrige faserige Flöckchen. In dieser Beziehung ähnelt das Opalisin den Mucinen. Man erhält eine Lösung des Opalins in der Essigsäure durch das Eingiessen einer neutralen Lösung desselben in ein grösseres Volumen der 1%igen Essigsäure. Es ist in concentrirter Salzsäure leicht löslich, gibt aber keine Liebermann'sche Reaction, die Lösung bleibt farblos. Es gibt Biuret-, Millon-, Xanthoproteinreaction, diejenige von Adamkiewicz, reducirt Fehling'sche Lösung auch nach dem Kochen mit Salzsäure nicht. Es scheint bemerkenswerth, dass das Opalisin der Stutenmilch fast keinen bleischwärenden Schwefel abspaltet, während das Stutencasein eine schwache, aber deutliche Reaction mit Natronlauge und Bleiessig gibt. Das Opalisin wird aus den Mutterlaugen des Stutencaseins nicht in ganz reinem Zustande erhalten, sondern ist mit einem anderen Körper verunreinigt, welcher ein Umwandlungs- oder Spaltungsprodukt des Stutencaseins unter dem Einflusse der Natronlauge darstellt. Dies ist aus folgenden Versuchen ersichtlich. Eine Portion des Caseins wurde in Natronlauge gelöst, ein Ueberschuss der Letzteren zugesetzt und am folgenden Tage mit einer ausreichenden Menge Essigsäure ge-

<sup>1)</sup> Die hier angegebenen quantitativen Bestimmungen wurden von Herrn A. Liska ausgeführt.

fällt. Eine andere gleiche Portion wurde in soviel  $\frac{1}{10}$  N. Natronlauge gelöst, dass die Reaction noch schwach sauer war. Zur Fällung wurde aber ein Ueberschuss von Essigsäure angewendet. Eine dritte Portion wurde ohne Ueberschuss von Reagentien gelöst und gefällt. Die auf das gleiche Volumen gebrachten Mutterlaugen wurden in den gleichen Gläsern mit Ammoniumsulfat gesättigt. In der ersten Flüssigkeit entstand ein grösserer Niederschlag wie in der zweiten und der dritten, wo nur wenige Flocken schwammen. Anfänglich habe ich das Opalisin ebenfalls für ein Umwandlungsprodukt des Caseins gehalten, ein Versuch hat mir aber gezeigt, dass es präformirt in der Milch existirt. Das aus der Stutenmilch mit 1%iger Essigsäure gefällte Casein wurde rasch mit absolutem Alkohol ausgewaschen, in Soxhlet'schem Apparat mit Aether bis zur vollständigen Entfettung extrahirt und mit aller Vorsicht in einer sehr verdünnten Sodalösung gelöst. Die Lösung war sehr schwach opalisirend. Bei tropfenweisem Zusatz von 1%iger Essigsäure wurde die Opalescenz stärker und beim Schütteln mit Luft schieden sich einzelne kleine, zarte, faserige, klebrige Flöckchen aus, die den Caseinflöckchen nicht ähnlich waren, bei weiterem Zusatze der Essigsäure schied sich das Casein aus. Es ist kaum möglich, dass das Casein bei den gegebenen Bedingungen gespalten werden könnte. Ausserdem wurde die Existenz des Opalins in der Stutenmilch mit Hilfe der partiellen Aussalzung, wie es weiter beschrieben ist, constatirt.

Opalisin der Kuhmilch. Die Mutterlaugen der Essigsäurefällung des Kuhcaseins enthalten sehr wenig Opalisin, deshalb gelang es mir nicht, diesen Stoff daraus in beträchtlichen Mengen zu erhalten. Meine anfänglichen Versuche sind deshalb mit Stutenmilch angestellt worden. Das aus solchen Mutterlaugen ausgesalzene Opalisin der Kuhmilch verhält sich sehr ähnlich demjenigen der Stutenmilch. Es wird mit Hilfe sehr verdünnter Essigsäure als Begleiter des einmal gefällten Caseins nachgewiesen. In einer vor Kurzem publicirten Arbeit untersuchte F. Alexander<sup>1)</sup> die nach Hammarsten dargestellten

1) «Zur Kenntniss des Caseins etc.» Diese Zeitschr., Bd. XXV, S. 411.



Caseinpräparate mit Hilfe der von Pick angegebenen Methode der partiellen Aussalzung mit Ammoniumsulfat. Es hat sich dabei erwiesen, dass eine neutrale klare Lösung des Caseins bei steigendem Zusatze der Ammoniumsulfatlösung allmählich zu opalisiren beginnt. Diese Opalescenz wächst langsam, bis schliesslich ein Niederschlag des Caseins erscheint. F. Alexander vermuthet daraus, dass das Kuhcasein kein einheitlicher Stoff ist und dass es mit einem albuminatähnlichen Körper verunreinigt ist. Es blieb aber noch die Frage über die Abstammung dieses Körpers zu lösen und es ist mir gelungen, zu beweisen, dass er präformirt in der Milch existirt, nicht aber, wie man denken könnte, bei der Darstellung des Caseins als ein Umwandlungsprodukt desselben entstanden ist. Das aus der Milch gefällte, entfettete und in verdünnter Sodalösung bei einer schwach sauren Reaction gelöste Kuhcasein wurde nach dem von F. Alexander angegebenen Verfahren in einer Reihe von Probirgläschen in den Mengen von je 2 ccm. vertheilt und mit je 8 ccm. von Ammoniumsulfatlösung von verschiedener Concentration versetzt. In vier Gläschen bildete sich eine Opalescenz ohne Niederschlag. Beim Schütteln dieser Flüssigkeiten mit Luft konnte man die Entstehung kleiner faseriger Flöckchen beobachten, die unter der Oberfläche schwammen: nach dem Zusatze von 0,1 ccm. gesättigter Ammoniumsulfatlösung zu jedem Gläschen und Schütteln vermehrten sich diese Flöckchen, die Opalescenz verschwand aber nicht. Diese Flüssigkeiten zeigten demnach das charakteristische Verhalten der Opalisinlösungen. Es scheint daraus zu folgern, dass das Opalisin sich in der Milch präformirt befindet. Aehnliche mit der Stutenmilch angestellte Versuche führen zu demselben Resultate und um so deutlicher, als die Stutenmilch mehr vom Opalisin enthält. Wenn man das einmal gefällte Kuhcasein in einer Sodalösung löst, mit Essigsäure fällt und im Ueberschusse derselben löst, so bleibt die Flüssigkeit opalisirend und bildet beim Schütteln zarte Flöckchen des Opalins: es befindet sich demnach hier nur theilweise in der wahren, theilweise in einer scheinbaren Lösung und ist in dieser Beziehung den Mucinen ähnlich, allen übrigen Eigenschaften nach steht es aber den Albuminaten

näher. Es wird in grossem Ueberschusse der Essigsäure klar gelöst. Aehnlich verhält sich das Opalisin der Stutenmilch.

Opalisin der Frauenmilch.<sup>1)</sup> Die Frauenmilch enthält bedeutende Mengen des Opalinsins. Bei der partiellen Aussalzung des mit Essigsäure unter Zuhilfenahme der Aussalzung gefällten Caseins entstehen langfaserige, zarte Flöckchen des Opalinsins. Bei Versetzen einer solchen Lösung des Caseins mit sehr verdünnter Essigsäure entstehen sehr dünne Häutchen auf der Oberfläche der Flüssigkeit, welche beim Schütteln sich zusammenballen und lange klebrige Fasern bilden. Man kann ziemlich grosse Mengen von solchem faserigen Opalisin auf dem Filter sammeln, ohne dass man das bei dem grösseren Zusatze der Säure sich ausscheidende Casein mitbekommt. Dieses Opalisin erweist sich als mit dem früher von mir untersuchten Körper<sup>2)</sup> identisch.

Schlussfolgerungen. Aus dem Beschriebenen ist ersichtlich, dass den bis jetzt bekannten Proteinstoffen der Milch, dem Albumin, Globulin und Casein, noch ein vierter, das Opalisin, beizufügen ist, welches in der Frauenmilch in einer reichlichen Menge, in der Stutenmilch in kleinerer und in der Kuhmilch in einer sehr kleinen Menge vorhanden ist. Dies bildet einen weiteren wichtigen Unterschied zwischen der Frauen- und Kuhmilch. Das Opalisin ist diejenige Substanz, welche die Fällung des Frauencaseins in so hohem Grade erschwert. Die Stutenmilch steht in dieser wie auch in manchen anderen Beziehungen in der Mitte zwischen der Kuh- und Frauenmilch.

<sup>1)</sup> Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Professor Jakobowski, Direktor der hiesigen pädiatrischen Klinik, für die Lieferung der zu diesen Untersuchungen nöthigen Frauenmilch zu danken.

<sup>2)</sup> l. c.