

Die chemische Zusammensetzung des Colostrums mit besonderer Berücksichtigung der Eiweißstoffe.

Von

E. Winterstein und E. Strickler.

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. Januar 1906.)

Die Milch ist schon Gegenstand einer sehr großen Anzahl von Untersuchungen gewesen. Das interessantere und in gewissen Beziehungen physiologisch wichtigere Produkt der Milchdrüse, das Colostrum,¹⁾ ist weit weniger untersucht worden, so daß gegenwärtig noch manche Widersprüche in den Angaben über seine Zusammensetzung existieren. Daß diese Widersprüche aufgeklärt werden, ist auch für die Entscheidung der Frage über die Entstehung der Milch im Organismus nicht ohne Wichtigkeit. Bekanntlich sind in dieser Frage verschiedene Meinungen geäußert worden.

Neben den morphologischen Untersuchungen spielen die chemischen bei der Entscheidung über die Frage der Entstehung der Milch eine wichtige Rolle. Sie haben den entschiedensten Beweis dafür geliefert, daß die Milchbildung nicht durch Filtration des Blutes durch die Milchdrüse erfolgen kann, da weder Casein noch Milchzucker im Blute vorkommen. Die wasserlöslichen Eiweißbestandteile der Milch und des Colostrums sind fast nur auf ihre elementare Zusammensetzung geprüft worden. Zwar hat Wohlgemuth²⁾ Glukose und noch einige nicht näher charakterisierte Kohlenhydrate als Spaltungsprodukte der Milcheiweißstoffe nachgewiesen, doch läßt sich daraus über die Be-

¹⁾ Die wichtigste Literatur über diesen Gegenstand geben wir am Ende dieser Abhandlung.

²⁾ Berl. klin. Wochenschrift 1900.

ziehungen zwischen Bluteiweiß und Colostrumeiweiß nichts Bestimmtes sagen. Es mußte daher als wünschenswert bezeichnet werden, diese Eiweißstoffe auch in anderer Hinsicht zu untersuchen. Das Colostrum ist aber ein viel geeigneteres Material für die Untersuchung dieser Stoffe, als die daran arme Milch. Daher war es angezeigt, diese Bestandteile darzustellen und zu untersuchen. Die Eiweißstoffe des Rinderblutes sind noch nicht auf diese Spaltungsprodukte untersucht. Unsere Untersuchungen liefern daher nur einen Beitrag zu diesem Vergleich.

Ferner hat das Colostrum als natürliche Säuglingsnahrung eine große Bedeutung. Es spielt dabei nicht nur die Rolle als Nahrungsmittel, sondern es hat auch noch andere, nicht zu übersehende Funktionen zu erfüllen, wie z. B. die Beförderung der Ausscheidung des Meconiums.

Alle diese Gründe machen es daher nur wünschenswert, eine genaue Kenntnis dieses Milchdrüsensekretes zu erhalten. Es liegen allerdings schon Untersuchungen über Colostrum in beträchtlicher Zahl vor, aber sie erstrecken sich meist nur auf die quantitative Bestimmung der Trockensubstanz, des Gesamtstickstoffes, des Eiweißstickstoffes, des Stickstoffes in nichteiweißartiger Bindung, des Ätherextraktes, der die Fehling'sche Lösung reduzierenden Substanzen und der Asche samt den Aschenkonstituenten, wobei auch die Veränderungen bestimmt wurden, die die Zusammensetzung dieses Milchdrüsensekretes an diesen Bestandteilen in der ersten Zeit nach dem Akte der Geburt erleidet. Es werden eine Reihe von Stoffen als konstante Bestandteile des Colostrums angeführt. Die Angaben darüber sind aber ganz widersprechend. Die Art und Weise ihrer Identifizierung ist nur in wenigen Fällen genügend beschrieben worden, so daß man die Existenz derselben im Colostrum nicht so ohne weiteres annehmen darf.

Wir haben es daher unternommen, das Colostrum einer erneuten Untersuchung zu unterziehen, um in erster Linie die vorliegenden Angaben über seine qualitative Zusammensetzung nachzuprüfen, was durch die Benutzung der neueren Methoden, der Isolierung und Identifizierung vieler Stoffe ermöglicht und erleichtert wurde. Allerdings konnten wir nicht sämtliche Körper

berücksichtigen, die möglicherweise in kleinen Mengen im Colostrum vorhanden sein könnten, da sonst die Arbeit eine zu große Ausdehnung erhalten hätte. Wir haben uns auf die wichtigeren und die in größerer Menge vorhandenen Bestandteile beschränkt, diese aber so gut wie möglich, wenn nicht vollständig identifiziert.

Eine zweite Aufgabe, die wir uns stellten, war die Untersuchung der durch Erhitzen koagulierbaren Eiweißstoffe, die hauptsächlich darin bestand, daß wir sie durch Mineralsäuren spalteten, die Spaltungsprodukte untersuchten und deren Quantitäten bestimmten.

Endlich führten wir noch quantitative Bestimmungen derjenigen Bestandteile des Colostrums aus, die sich nach dem Ergebnis unserer Versuche überhaupt bestimmen lassen.

Die Colostren, welche wir für die Untersuchungen verwendeten, stammten von Kühen der Schwyzerrasse aus der Umgebung von Zürich. Keine von den in Betracht kommenden Kühen wurde durchgemolken. Die Entnahme des Colostrums geschah immer erst nach dem Akte der Geburt. Wir erwähnen dies hier, weil es sehr wahrscheinlich ist, daß dieser Umstand und namentlich auch die Zeitdauer des Trockenstehens von großem Einfluß auf die Beschaffenheit des Colostrums sind. Wir glauben sogar, daß der Einfluß dieser Art größer ist, als der Einfluß von Rasse und Ernährungsweise. Verarbeitet wurde je nur das erste Colostrum, da wir bei Versuchen mit dem zweiten und dritten Gemelk verhältnismäßig kleine Ausbeuten an Eiweiß erhielten. Die Verarbeitung wurde in folgender Weise ausgeführt. Das Colostrum wurde mit Toluol konserviert und gelangte kurze Zeit nach der Entnahme zur Verarbeitung. Wir versetzten das Colostrum mit dem doppelten Volumen Wasser und fällten dann das Casein mit verdünnter Essigsäure. Der intensiv gelb gefärbte Niederschlag setzte sich in einigen Fällen rasch, in andern Fällen weniger rasch ab. Darüber zeigte sich eine schwach opalisierende Flüssigkeitsschicht. Wir gossen die letztere durch Faltenfilter ab und brachten dann den Niederschlag darauf. Der Niederschlag wurde wiederholt mit viel Wasser durchgeknetet, wobei der größte Teil des mechanisch

eingeschlossenen Fettes sich oben aufsammelte. Das Fett wurde abgeschöpft, der Rückstand auf Filtern ausgewaschen, darauf mit Alkohol behandelt, mit Äther entfettet und bei 40° getrocknet; es wurde in dieser Weise ein Caseinpräparat erhalten. Das Filtrat und die ersten Waschwasser vom Casein wurden auf freier Flamme unter fortwährendem Umrühren aufgeköcht: bei ca. 70° begannen sich die gerinnbaren Eiweißstoffe auszuschcheiden: beim Kochen erhielten wir ein schön weißes, flockiges Gerinnsel. Diesem legen wir die Bezeichnung »koagulierbare Eiweißstoffe« bei, ohne zu entscheiden, ob ein oder mehrere Eiweißstoffe darin enthalten sind. Nun filtrierten wir ab; das Filtrieren ging am Anfang ziemlich gut, das Auswaschen mit Leitungswasser unter Toluolzusatz aber immer schwerer. Die koagulierbaren Eiweißstoffe quollen nach und nach auf und wurden schließlich so dünnflüssig, daß sie durch die Filter gingen. Wir fanden, daß auf Zusatz von etwas konzentrierter Salzsäure und darauf folgender Neutralisation mit Natronlauge der Niederschlag sich vollständig und ohne Schwierigkeiten auswaschen ließ; diese Beobachtung benutzten wir dann bei den späteren Darstellungen der koagulierbaren Eiweißkörper. Wir fügten daher bei den folgenden Darstellungen der vom Casein getrennten Lösung etwas Kochsalz hinzu. Bei richtig reguliertem, nicht allzu raschem Aufkochen erhält man dann die koagulierbaren Eiweißstoffe von solcher Beschaffenheit, daß sie sich nicht nur gut filtrieren lassen, sondern auch nach vollständigem Abtropfen sofort mit Hilfe eines Tuches abgepreßt werden können. Die Filtrate sind dabei vollständig klar. Die Beschaffenheit des Koagulums ist daher sehr vom Salzgehalt der Lösung abhängig. Das Auswaschen mit öfterem dazwischen erfolgenden Abpressen und wiederholtem Verreiben mit Wasser wurde solange durchgeführt, als noch Chlor mit Silbernitrat resp. Zucker mit Fehling'scher Lösung im Waschwasser nachgewiesen werden konnten. Der Niederschlag wurde mit Alkohol entwässert, zum Schluß mit Äther extrahiert und bei 40° getrocknet. Auf diese Weise erhielten wir aus 5 l Colostrum, dessen spezifisches Gewicht 1,06 war, 235 g Casein und 435 g koagulierbare Eiweißstoffe.

Das Filtrat von den koagulierbaren Eiweißstoffen wurde mit Soda neutralisiert und auf dem Wasserbade bei gelinder Wärme eingedunstet. Die Lösung wurde dann auf Kohlenhydrate etc. verarbeitet.

Casein.

Das von uns nach der oben erwähnten Methode dargestellte Casein aus Colostrum gab folgende Reaktionen:

Glyoxalsäure	+	konz. H_2SO_4	sehr stark violett,
Thymol	+	»	»	» schwach rosa,
α -Naphthol	+	»	»	erst grün, allmählich schwach rot,
Millon's Reagens			rot,
Mit NaOH (konz.) und etwas				
Bleizucker gekocht			schwarz.

Der Wassergehalt betrug 12,08 und 11,98 %; der Aschengehalt 0,50 und 0,46 %. Der Stickstoff nach Kjeldahl 15,04 und 15,09. Der Phosphorgehalt betrug 0,72 %.

Man muß daher die Frage aufwerfen, ob das Casein verschiedener Herkunft nicht in seiner Zusammensetzung variieren kann. Die Mengen Fett, welche dem in beschriebener Weise abgeschiedenen Casein anhafteten, waren so klein, daß wir sie bei den Berechnungen außer acht lassen durften.

Ein Teil des Caseins wurde, wie bei den koagulierbaren Eiweißkörpern angegeben, gespalten und die Menge des bei der Spaltung auftretenden Lysins bestimmt. Sie wurde zu 5,9 % gefunden. Hart erhielt aus Milchcasein 4,92 und 4,4 % Lysin. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse darf man wohl behaupten, daß das Kuhcolostrum eigentliches Casein enthält.

Albumin und Globulin.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen hat man zwei wasserlösliche Eiweißstoffe im Colostrum anzunehmen: Albumin und Globulin. Eine quantitative Trennung dieser beiden Körper ist aber äußerst schwierig ausführbar.

Es blieb uns daher nichts anderes übrig, als für unsere Untersuchungen, für die wir ja viel Material brauchten, diese beiden Eiweißstoffe zusammenzunehmen.

Da man verschiedene Eiweißkörper schon hat krystallisieren können, so versuchten wir es auch mit dem Albumin des

Colostrums durchzuführen. Wir wandten zuerst die gleiche Methode an, die Krieger¹⁾ beim Pferdeblutserum benutzt hatte. 200 ccm ganz frisches, schön gelb gefärbtes Colostrum wurden mit 200 ccm einer gesättigten Ammonsulfatlösung von vollständig neutraler Reaktion versetzt. Nun filtrierten wir sofort durch trockene Faltenfilter ab und trugen in das vollständig klare Filtrat so viel einer sehr stark verdünnten Schwefelsäure ein, bis eine bleibende Fällung auftrat. Nach einer halben Stunde wurde eine Probe im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop untersucht. Krystalle konnten nicht beobachtet werden. Andere Proben ließen wir nach dem Ammonsulfatzusatz 12—24 Stunden stehen, bevor abfiltriert wurde: auch in diesen Fällen wurden keine Krystalle erhalten. Nun wandten wir die Methode von Hopkins und Pinkus²⁾ auf Colostrum an. Colostrum wurde wieder mit gleichem Volumen einer gesättigten Ammonsulfatlösung versetzt, ein Teil davon wurde sofort filtriert, ein anderer erst nach 24stündigem Stehen. Den Filtraten setzten wir soviel einer gesättigten Lösung von schwefelsaurem Ammon zu, bis eine schwache Fällung sichtbar wurde. Diese lösten wir wieder durch Zusatz einiger Tropfen Wasser und setzten dann verdünnte Essigsäure zu, bis eine schwache Trübung auftrat. Nun ließen wir in flachen Schalen ruhig stehen; Krystalle konnten auch hier in Proben, die zu verschiedenen Zeiten entnommen wurden, nicht aufgefunden werden. Bei einem neuen Versuch verwendeten wir statt Essigsäure wieder Schwefelsäure. Als wir das Präparat unter dem Polarisationsmikroskop untersuchten, sahen wir: 1. eine große Masse kleiner rundlicher Gebilde, die keine Krystallflächen zeigten und auch nicht optisch aktiv waren; 2. einige kleine schuppige Krystalle, die eine schwach schiefe Auslöschung zeigten und 3. wenige äußerst feine Nadeln, die ebenfalls optisch aktiv waren. Diesem Präparat setzten wir alsdann 1 Tropfen Millon's Reagens zu, ließen es kurze Zeit auf dem

¹⁾ Krieger, Über die Darstellung krystallinischer Eiweißstoffe. Inaug.-Diss. Straßburg 1899.

²⁾ Hopkins and Pinkus, Observations on the cristallisation of animal proteids, Journ. of Physiology, Vol. XXIII, 1898.

Wasserbad und untersuchten es wieder. Dabei zeigte sich, daß sich nur die rundlichen amorphen Gebilde gefärbt hatten. Die Krystalle, die sich im Reagens aufgelöst hatten, waren nur auskrystallisierte Salze.

Es sei uns an dieser Stelle gestattet, Herrn Professor Dr. U. Grubenmann unseren besten Dank auszusprechen für seine gütige Unterstützung bei der optischen Untersuchung dieser Präparate.

Das von uns nach der früher beschriebenen Methode dargestellte koagulierbare Eiweiß gab die bekannten Eiweißreaktionen.

Die Bestimmung des Wassergehaltes im Trockenschrank bei 100—105° ergab 13,26 und 12,97% Wasser. Der Stickstoffgehalt, nach Kjeldahl bestimmt, wurde zu 15,64 und 15,39% gefunden. Der Schwefelgehalt betrug 1,15%. Der Aschengehalt wurde zu 0,32 und 0,43% bestimmt.

Die Spaltungsprodukte der durch Koagulation gewonnenen Eiweißkörper.

Basen. Zunächst bestimmten wir die Ausbeuten an Hexonbasen, welche durch Kochen der Eiweißkörper mit konzentrierter Salzsäure erhalten werden konnten, indem wir die Zersetzungsflüssigkeit mit Phosphorwolframsäure fällten, die aus diesem Niederschlag gewonnenen Basen mit Silbernitrat und Baryt nach Kossel und Kutscher trennten und die Basen in Form ihrer Salze wägten. Behufs Kontrolle zersetzten wir in einem Falle eine Portion durch Kochen mit Schwefelsäure und verfahren genau nach den Angaben der Genannten. Wir fanden:

Ammoniakstickstoff	1,14%
N in Huminsubstanzen	1,43%
Histidinstickstoff	0,03%
Argininstickstoff	1,09%
Lysinstickstoff	0,48%
	4,17%

Der Stickstoff im Phosphorwolframsäureniederschlag betrug in der durch Kochen der Eiweißsubstanzen mit Säuren erhaltenen Flüssigkeit 4,17%.

Die Aminosäuren. Wir benützten hierzu die Estermethode von E. Fischer. Es wurden 2 Versuche ausgeführt; bei dem ersten Versuch sollte vor allen Dingen die Natur der in den einzelnen Fraktionen enthaltenen Aminosäuren festgestellt werden, beim zweiten Kontrollversuch wurde sodann die Ausbeute an den einzelnen Aminosäuren festgestellt. Wir verzichten hier auf die Angabe näherer Details, da wir uns genau an die Vorschriften von E. Fischer¹⁾ hielten: im übrigen sei auf die Inaugural-Dissertation von E. Strickler verwiesen.

Bei der ersten Spaltung, bei welcher wir 300 g Substanz verwendeten, erhielten wir folgende Fraktionen:

Fraktion	Druck	Temperatur	Gewicht
I	13 mm	bis 40°	15,4 g
II	9 „	40— 65°	16,8 „
III	8 „	65— 82°	39,7 „
IV	9 „	82— 95°	9,6 „
V	10 „	95—125°	26,0 „
VI	9 „	125—175°	4,5 „
VII	20 „	175—182°	7,1 „
VIII	25 „	182—190°	1,0 „
			120,1 g

Im Kolben verblieb ein brauner Rückstand, aus welchem wir keine definierbaren Produkte isolieren konnten. Da beim Destillieren der abgeschiedenen Ester nicht unbeträchtliche Mengen Schwefelverbindungen übergingen, welche bei der Destillation störend wirkten, so wurde bei der zweiten Veresterung die wasserfreie ätherische Lösung der Ester mit 2 Liter niedrig siedendem Ligroin versetzt:²⁾ die durch das Ligroin gefällten und die darin unlöslichen Ester wurden, nach Entfernung des Ligroins, gesondert der fraktionierten Destillation unterworfen. Die nachfolgende Tabelle gibt Aufschluß über die Fraktionen, die beim Destillieren der mit Ligroin gefällten Ester erhalten wurden, die letzte Tabelle über die im Ligroin gelösten.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 150.

²⁾ Fischer u. Dörpinghaus, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 462.

Fraktion	Druck	Temperatur	Gewicht
I	13—10 mm	bis 40°	1,2 g
II	10— 8 „	40— 55°	8,1 „
III	8 „	55— 80°	10,3 „
IV	8 „	80— 85°	6,3 „
V	8 „	85—110°	1,5 „
VI	8 „	110—135°	
VII	8 „	135—155°	2,0 „
VIII	8—20 „	155—185°	3,7 „
			<hr/> 33,1 g
I	30—23 mm	bis 45°	2,5 g
II	23— 8 „	45— 55°	6,4 „
III	8 „	55— 80°	48,5 „
IV	7 „	80— 85°	7,2 „
V	7 „	85—110°	8,7 „
VI	8 „	110—135°	20,5 „
VII	8 „	135—155°	13,6 „
VIII	8 „	155—185°	11,0 „
			<hr/> 118,4 g

In den beiden Kolben blieb ein brauner zäher Syrup im Gewicht von 40 g. Die in den alkalischen Flüssigkeiten verbliebenen Aminosäuren wurden nochmals verestert, indem wir in die Lösung Salzsäure einleiteten, die ausgeschiedenen Salze mit Alkohol von den Aminosäuren trennten und sodann mit Salzsäure veresterten, wobei noch kleine Mengen Aminosäuren erhalten wurden.

Um die Ausbeuten an Tyrosin festzustellen, wurden 25 g mit Schwefelsäure zersetzt und die von der Schwefelsäure mit Baryt befreite Lösung zur Krystallisation eingedunstet. Wir erhielten 0,85 g Tyrosin. Die Glutaminsäure wurde mit Hilfe von Salzsäure zur Abscheidung gebracht.

Das Tryptophan isolierten wir nach Cole und Hopkins¹⁾ aus 150 g Eiweiß, welches der tryptischen Verdauung 1 Woche mit käuflichem Pankreatin unter Zusatz von Soda unterworfen wurde. Wir erhielten 1.1 g Tryptophan, das allerdings nicht ganz rein war.

Da das untersuchte Eiweißpräparat im Mittel 1,15% Schwefel enthielt, schien es uns angezeigt, den Eiweißkörper

¹⁾ Journal of Physiology, Bd. XXVI, S. 418; Bd. XXIX, S. 451.

auch auf das Vorhandensein von Cystin zu prüfen. Es war uns aber nicht gelungen, aus der mit Schwefelsäure erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit nach Entfernen der Schwefelsäure Cystin zu isolieren, auch durch Fällen mit Quecksilbersulfat nach Kossel und Patten¹⁾ konnten wir Cystin nicht erhalten. Erst nachdem wir 100 g Eiweißsubstanz nach dem von Mörner²⁾ angegebenen Verfahren durch 5¹/₂ Tage langes Erhitzen mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,12 auf dem Wasserbade spalteten, gelang es uns, 52 mg Cystin zu isolieren. Das isolierte Produkt glich in allen Eigenschaften und Reaktionen völlig dem Cystin. Bei diesem mit aller Sorgfalt durchgeführten Versuch erhielten wir also nur eine ganz minimale Ausbeute an dieser Substanz; da man nun nach Mörner unter diesen Umständen den vorhandenen Cystinkomplex nahezu vollständig abspalten kann, so darf man wohl annehmen, daß der Schwefel in dem von uns untersuchten Eiweißkörper auch noch in anderer Bindung vorliegt. Im folgenden geben wir nun eine Zusammenstellung der erhaltenen Spaltungsprodukte und ihrer Quantitäten. Die angegebenen Zahlen beziehen sich auf die wasserfreie Substanz. Wir bemerken noch, daß neben den erwähnten Aminosäuren sich wahrscheinlich auch noch andere vorfanden, deren Trennung durch Krystallisation oder mit Hilfe ihrer Kupfersalze uns nicht gelungen ist.

Die Ausbeuten an Aminosäuren und Basen betragen:

Alanin	2,0%
Aminovaleriansäure	1,4%
Leucin	10,0%
Phenylalanin	1,9%
Asparaginsäure	2,3%
Glutaminsäure	2,0%
Serin	0,1%
Pyrrolidincarbonsäure	3,5%
Leichtlösliche Aminosäuren	1,6%
Tyrosin	3,7%
Cystin	0,05%
	28,55%

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 207.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 39.

	28,55%
Tryptophan	0,7%
Histidin	0,9%
Arginin	3,7%
Lysin	2,1%
Gesamtausbeute	35,95%

Untersuchungen über den abspaltbaren Kohlenhydratkomplex.

Da man aus verschiedenen Eiweißkörpern einen Kohlenhydratkomplex als Spaltungsprodukt erhalten hat, so war zu versuchen, ob die Eiweißstoffe des Colostrums auch einen solchen Komplex liefern. Die Eiweißstoffe, die wir dazu verwendeten, stammten aus einem etwas bräunlichen Colostrum. Auffallend war, daß diese Substanzen die Kohlenhydratreaktion nach Molisch (α -Naphthol + konz. H_2SO_4) nicht gaben. Wir zweifelten daher sehr an einem positiven Ausgange des Versuches und wandten daher zunächst die einfachste Methode von Langstein¹⁾ an.

50 g Eiweiß kochten wir 4 Stunden am Rückflußkühler mit 50 ccm rauchender Bromwasserstoffsäure und einem Liter Wasser. Nach dem Erkalten setzten wir einen kleinen Überschuß an Phosphorwolframsäure zu, ließen 12 Stunden stehen. Nach dem Filtrieren wurde der Phosphorwolframsäureniederschlag mit wenig Wasser ausgewaschen und das klar gewordene Filtrat in flachen Schalen bei 40° auf Wasserbädern eingedunstet. In Intervallen setzten wir Bleicarbonat zu; die Reaktion blieb jedoch immer stark sauer. Schließlich wurde filtriert und das Filtrat mit einer kalt gesättigten Bleiacetatlösung versetzt; vom Bleibromid wurde abfiltriert und dem Filtrat etwas konzentriertes Ammoniak zugesetzt. Das ausgefallene Bleihydroxyd wurde abgenutscht und etwas ausgewaschen. Nach dem Zersetzen des Niederschlages mit H_2S reduzierte die Lösung stark. Aber auch das Filtrat reduzierte noch stark, so daß noch weiter mit Bleihydroxyd gefällt wurde. Die Filtrate vom Bleisulfid wurden vereinigt, daraus der Schwefelwasserstoff mit Luft ausgetrieben und die Lösung bei gelinder Wärme sehr stark ein-

¹⁾ L. Langstein, Die Kohlenhydrate des Serumglobulins. Wiener Monatshefte für Chemie, Bd. XXIV.

geengt. Nach dem Erkalten wurde von einer kleinen Menge Bleibromid, das noch auskrystallisiert war, abfiltriert und ein Teil des Filtrats mit essigsauerm Phenylhydrazin versetzt. Nach $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen auf dem warmen Wasserbade hatte sich ein schön gelbes Osazon abgeschieden. Wir trockneten es auf Tonplatten. Es schmolz bei 195° , nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Wasser bei 204° . Der Schmelzpunkt stimmt mit dem des Glukosazons überein.

Ein anderer Teil der Lösung, aus welcher das Osazon gewonnen wurde, gab mit Nessler'schem Reagens eine schwache Ammoniakreaktion. Wir setzten daher der Lösung ein wenig Baryt zu und dunsteten mehrmals auf ein kleines Volumen ein. Nun gab eine Probe der Lösung mit Nessler'schem Reagens einen weißen Niederschlag, der sofort in gelb und dann in schwarz überging. Wir dunsteten die Lösung bei gelinder Wärme stark ein, am Rande bildeten sich schöne weiße Blättchen, die so fest an einem gelben Sirup hafteten, daß wir sie nicht abtrennen konnten. Durch Umkrystallisieren aus Wasser und Eintrocknen im Exsikkator erhielten wir sie weniger schön als das erste Mal. Daneben war noch etwas Bleibromid vorhanden. Die Hälfte dieses Produktes prüften wir auf Stickstoff, die Reaktion fiel negativ aus. Die andere Hälfte lösten wir in Wasser; mit Fehling'scher Lösung versetzt, gab sie eine voluminöse, bläuliche Fällung, die beim Erwärmen schwarz wurde. Durch längeres Kochen wurde sie durch das sich bildende Kupferoxydul rot gefärbt.

Um noch weiteren Aufschluß über die Natur des in dieser Lösung enthaltenen Kohlenhydrates zu erhalten, führten wir behufs Prüfung auf Galactose einen Oxydationsversuch mit Salpetersäure aus. Dabei verfahren wir wie folgt. Die Lösung dunsteten wir auf dem Wasserbade ein und versetzten sie mit Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,15. Dann dunsteten wir bis nahezu zur Trockene ein, verdünnten mit Wasser und ließen stehen. Ein kleiner weißer Niederschlag, der sich gebildet hatte, wurde auf der Tonplatte getrocknet. Sein Schmelzpunkt lag bei 215 — 216° , also bei der Temperatur, bei welcher Schleimsäure schmilzt.

Aus diesen Versuchen geht zweifellos hervor, daß die von uns untersuchte Eiweißsubstanz einen Kohlenhydratkomplex enthielt. Die Bildung von Schleimsäure deutet auf einen Galactoserest hin. Die Entstehung der Schleimsäure könnte vermuten lassen, daß das Eiweiß nicht vollständig ausgewaschen war und infolgedessen etwas Milchzucker einschloß. Doch ist nicht anzunehmen, daß der Zucker, welcher das von uns erhaltene Glucosazon geliefert hatte, der gleichen Quelle entstammte, sonst hätte ja dieser Zucker nur in ebenso großer Menge vorhanden sein können wie die Galactose, auf deren Vorhandensein die Entstehung der Schleimsäure zurückzuführen ist. Seine Quantität war aber ohne Zweifel viel größer als diejenige der Galactose. Für letztere gab die erhaltene Schleimsäuremenge einen Maßstab. Da die Menge der erhaltenen Schleimsäure so gering war, daß eben noch eine Schmelzpunktbestimmung ausgeführt werden konnte, die Menge an Glucosazon aber eine beträchtliche war, so entstammte das Glucosazon dem im Eiweißmolekül präformierten Kohlenhydratkomplex. Übrigens schmilzt das Osazon der Galactose bei 193—194° bzw. 196—197°.

Nachdem wir uns somit überzeugt hatten, daß in der Tat Kohlenhydrate entstehen, entschlossen wir uns, noch eine Spaltung zu machen und zwar, um einerseits den Einwand, das Ausgangsmaterial sei nicht frei von löslichen Kohlenhydraten gewesen, vollständig auszuschließen, und andererseits nach einem Aminozucker zu suchen. Das Eiweiß, das hierfür verwendet wurde, stammte aus einem sehr schönen gelben Colostrum. Als wir den Eiweißniederschlag so lange mit Wasser ausgewaschen hatten, bis das Filtrat nicht mehr Fehling'sche Lösung reduzierte, preßten wir ihn gut ab, verrieben ihn im Mörser und brachten ihn in eine größere Menge siedendes Wasser. Nach einigen Stunden filtrierten wir ab, dunsteten 2 l des Filtrates auf ein kleines Volumen ein und kochten es dann mit Fehling'scher Lösung, Reduktion konnte nicht wahrgenommen werden. Nun säuerten wir die Lösung mit Salzsäure an und kochten einige Zeit, um eventuell vorhandene Kohlenhydrate zu invertieren. Nach der Neutralisation und neuem Zusatz von Fehling'scher Lösung trat beim Kochen abermals

keine Reduktion ein. Durch diesen Versuch ist also bewiesen, daß die Eiweißsubstanz keine Spur von wasserlöslichen Kohlenhydraten mehr enthalten konnte. Nun trockneten wir sie mit Alkohol und Äther. Eine Probe des Präparats wurde im Filter mit verdünnter Salzsäure ausgewaschen: dabei wurde es dünnflüssig und sein Volumen nahm bedeutend zu. Die Filtrate reduzierten Fehling'sche Lösung, ein Beweis, daß der Kohlenhydratkomplex sehr leicht abspaltbar ist.¹⁾

350 g des getrockneten Eiweißes, das die Kohlenhydratreaktion nach Molisch ebenfalls nicht gab, wurden nun mit 292 ccm Bromwasserstoffsäure vom spezifischen Gewicht 1,49 geschüttelt, bis das Eiweiß gallertig wurde. Dann ließen wir 12 Stunden stehen und kochten, nachdem wir 3 l Wasser zugesetzt hatten, 3 Stunden am Rückflußkühler. Nach dem Erkalten der Lösung fällten wir mit Phosphorwolframsäure, filtrierten und versetzten das Filtrat behufs Abscheidung der Phosphorwolframsäure mit einer konzentrierten Bleiessiglösung. Nach dem Filtrieren fällten wir das Blei im Filtrat mit Schwefelwasserstoff aus. In Ermangelung einer Einrichtung, die das Eindampfen so großer Mengen Flüssigkeit im Vacuum ermöglicht, dunsteten wir die Lösung in flachen Schalen auf dem Wasserbade bei 40° ein. Gelegentlich machten wir eine Zuckerbestimmung auf gravimetrischem Wege. Als die Lösung zirka 1% Zucker (berechnet als Glukose) enthielt, wurden $\frac{2}{3}$ der Lösung benzoyliert. Die Menge des in der Lösung vorhandenen Zuckers betrug etwas mehr als 3 g. Auf 2 Teile Zucker verwendeten wir 25 Teile Benzoylchlorid und 200 Teile einer 10%igen Natronlauge. Die Lösung wurde neutralisiert und dann die Reagentien in Portionen eingetragen, geschüttelt und gekühlt. Darauf wurde neutralisiert, die Ausscheidung auf ein Filter gebracht und gut ausgewaschen. Das Filtrat reduzierte Fehling'sche Lösung sofort, die Fällung aber reduzierte erst nach längerem Kochen. Die unreine im Exsikkator getrocknete Benzoylverbindung wurde in Äther aufgelöst. Die Ätherlösung

¹⁾ Bemerkenswert ist, daß das Reduktionsvermögen der Flüssigkeit beim Stehen mit der verdünnten Salzsäure abnahm und nach zwei Tagen vollständig verschwunden war.

drehte die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts. Wir ließen den Äther verdunsten und lösten nochmals in wasserfreiem Äther auf, gossen vom unlöslichen Sirup ab und versetzten die Lösung mit Petroläther. Beim Rühren mit einem Glasstabe setzte sich der entstandene Niederschlag bald an die Gefäßwandungen an. Es wurde nun abgesogen und die Lösung nochmals mit Petroläther versetzt. Wir erhielten nochmals eine Fällung. Die Fällungen waren vollständig und leicht löslich in heißem Alkohol. Beim Eindunsten bei gewöhnlicher Temperatur bildete sich ein feiner Beschlag an der Schale, der N-frei war. Auch das durch Petroläther fällbare Benzoat war N-frei. Die in Äther unlöslichen Benzoate behandelten wir mit heißem absoluten Alkohol und filtrierten durch einen Heißwassertrichter, wobei ein beträchtlicher Rückstand blieb. Im Filtrat schied sich sofort eine stickstoffhaltige Substanz aus.

Das durch Petroläther fällbare Benzoat war nach dem Eintrocknen vollständig amorph, es bildete einen glasigen Überzug. Zur Verseifung lösten wir es in wenig absolutem Alkohol, schüttelten es unter Kühlung mit einer 20%igen Natriumalkohollösung: bei niedriger Temperatur aufgestellt fand bald eine Ausscheidung statt. Nach einigen Stunden setzten wir Wasser zu und so viel Schwefelsäure, daß alles Natrium gebunden wurde. Durch Ausschütteln mit Äther entfernten wir die Benzoesäure und dunsteten die wässrige Lösung bei 40° zur Trockene ein. Nun extrahierten wir mit Alkohol, das alkohollösliche Produkt reduzierte Fehling'sche Lösung stark. Es wurde mit Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,15 oxydiert; da sich nicht alles in der Salpetersäure auflöste, wurde filtriert: Schleimsäure konnten wir dabei nicht erhalten. Das durch Petroläther nicht fällbare Benzoat bildete weiße Krystalle, die sich zu kugeligen Aggregaten vereinigten. Da dieselben noch Spuren von Mutterlauge einschlossen, unterließen wir eine Schmelzpunktbestimmung. Wir verseiften dieses Produkt wie das vorige. Das Alkoholextrakt dieser Verseifungsprodukte reduzierte ebenfalls stark. Es lieferte bei der Oxydation mit Salpetersäure keine Schleimsäure.

Eine Probe des Filtrates von den gesamten Benzoaten

wurde eingedunstet. Die entstandene Ausscheidung reduzierte Fehling'sche Lösung nicht; sie war stickstoffhaltig, wahrscheinlich enthielten also diese Filtrate kleine Mengen benzoyleierter Aminosäuren. Für weitere Versuche reichte die Substanzmenge nicht aus.

Ein Teil der nicht benzoyleierten Flüssigkeit wurde mit Bleiacetat möglichst vom Brom befreit. Nach dem Filtrieren setzten wir dem Filtrat soviel Silbernitrat zu, daß die daraus freiwerdende Salpetersäure hinreichte, um die durch Berechnung festgestellte Zuckermenge zu oxydieren. Auf diese Weise gelang es uns, alles Brom zu fällen; aus dem Filtrat vom Silberbromid fällten wir Blei und Silber mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat von diesen Sulfiden wurde nun behufs Oxydation eingedunstet. Schleimsäure konnten wir nicht erhalten. Dieser Oxydationsversuch kann nicht als ganz einwandfrei bezeichnet werden, da es nicht möglich war, die Konzentrationsbedingungen, wie sie von Tollens angegeben werden, einzuhalten.

Der Rest der nicht benzoyleierten Flüssigkeit wurde zu einem zweiten Oxydationsversuch verwendet. Wir entfernten den Bromwasserstoff nicht durch Eindampfen im Vacuum, sondern durch Konzentrieren der Lösung auf dem Wasserbade und unter Zusatz von Bleicarbonat. Aus dem Filtrat von Bleibromid fällten wir mit Bleiacetat und Ammoniak die Kohlenhydrate. Die daraus mit Hilfe von Schwefelwasserstoff gewonnene Kohlenhydratlösung lieferte bei der Oxydation auch keine Schleimsäure.

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß aus den durch Hitze koagulierbaren Eiweißstoffen des Colostrums Kohlenhydrate abgespalten werden können. Das Vorhandensein eines Glukoserestes wurde durch die Darstellung des bei 204° schmelzenden Glukosazons wahrscheinlich gemacht. Ob daneben andere auf den Galaktosekern zurückzuführende Kohlenhydrate sich vorfinden, konnte durch die verschiedenen Versuche nicht bewiesen werden. Die Möglichkeit scheint aber mit Rücksicht auf die Ergebnisse des ersten Versuches, bei welchem Schleimsäure erhalten worden war, doch nicht ausgeschlossen zu sein.

Diese Frage bedarf mit Rücksicht auf ihre wichtige physiologische Bedeutung und wegen der Beziehung zum Milchzucker noch weiterer Aufklärung. Die erfolglosen Versuche, aus der zweiten Spaltungsflüssigkeit Schleimsäure zu erhalten, beweisen aber doch nicht, daß der Galaktoserest in den Spaltungsprodukten nicht vorhanden war. Denn es ist schwer, unreine Galaktoselösung so zu oxydieren, daß man die Schleimsäure fassen kann, da die Schleimsäure leicht zu Oxalsäure oxydiert wird. Stickstoff konnte nur in einem Benzoat nachgewiesen werden. Ob er aus einem benzoylierten Aminozucker stammt oder aus einer benzoylierten Aminosäure, konnten wir mit der kleinen Menge nicht entscheiden. Da, wie weiter unten nachgewiesen wird, das Vorhandensein eines amorphen Kohlenhydrates neben dem Milchzucker nicht wahrscheinlich ist, so darf man wohl annehmen, daß die von uns untersuchte Eiweißsubstanz des Colostrums einen Kohlenhydratrest als Kern enthält.

Die ätherlöslichen Substanzen des Colostrums.

Das Lecithin.

Eugling und Krüger geben das Lecithin als ständigen Bestandteil des Colostrums an. Eugling isolierte es folgendermaßen: Er fällte die Eiweißkörper mit Lab und extrahierte das getrocknete Eiweißgerinnsel mit Alkohol und Äther. Er will dabei ein strahlig krystallinisches, blendend weißes Lecithin erhalten haben. Wie unten gezeigt wird, hatte Eugling wohl ein Fettsäuregemisch unter den Händen. Da auch Krüger keine näheren Angaben über das Lecithin des Colostrums macht, so schien es uns angezeigt, Versuche zur Isolierung des Lecithins anzustellen. Wir verfahren dabei wie folgt:

Das vom Caseinniederschlag abgeschiedene Fett (Seite 61) extrahierten wir mit Alkohol, welcher zum Auskochen des Caseins benutzt worden war: diese alkoholische Lösung wurde eingedunstet, dann mit absolutem Alkohol ausgekocht; der von dem ausgeschiedenen Fett nach dem Erkalten abgegossene, im Äther völlig lösliche Rückstand wurde in absolut alkoholischer Lösung mit alkoholischer Cadmiumchloridlösung gefällt und aus der Fällung das Lecithin mit Hilfe von Ammoncarbonat nach

P. Bergell¹⁾ abgeschieden. Es wurde eine Substanz erhalten, welche das Verhalten des Lecithins zeigte. Durch das Cadmiumchlorid war nur ein kleiner Teil des Lecithins gefällt worden. Aus dem Filtrat von der Cadmiumchloridfällung wurde nach Abscheiden des Cadmiums mit Hilfe von Ammoncarbonat 6 g einer ätherlöslichen Substanz erhalten, welche mit Baryt in bekannter Weise gespalten wurde. Die Fettsäuren wurden wegen der geringen Menge nicht untersucht; hingegen isolierten wir das Cholin aus der vom Baryum befreiten Lösung mit Phosphorwolframsäure und wiesen letztere Base durch die bekannten Reaktionen nach. Das Colostrum enthält somit kleine Mengen Lecithin. Es verdient nun noch besonders hervorgehoben zu werden, daß wir daneben auch freie Glycerinphosphorsäure nachweisen konnten. Wir gelangten zur Entdeckung dieser Verbindung bei Versuchen über die quantitative Bestimmung des Lecithins. Diese Substanz wurde in folgender Weise nachgewiesen. Wir mischten Colostrum mit gleichen Teilen eines Alkohol- und Äthergemisches gut durch, ließen längere Zeit unter Umrühren stehen: der vom Ungelösten getrennte Rückstand wurde einige Male bei 60° mit absolutem Alkohol, sodann bei Siedehitze mit absolutem Alkohol extrahiert. Die vereinigten ätherisch-alkoholischen Lösungen wurden eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Äther behandelt, dabei verblieb eine amorphe farblose in Wasser lösliche Masse, welche keine anorganischen Phosphate einschloß. Die Substanz enthielt Phosphor und gab beim Erhitzen mit Natriumbisulfat Acroleingeruch, sie war stickstofffrei. Um dem Einwande zu begegnen, daß die Glycerinphosphorsäure vielleicht während der Darstellung aus dem Lecithin abgespalten wurde, benutzten wir ein ganz frisches Colostrum. Dieses versetzten wir mit absolutem Alkohol und dunsteten im Vacuum bei 50° zum zähen Sirup ein, trockneten zuletzt auf dem Wasserbade und extrahierten die gepulverte Substanz mit heißem Alkohol. Die alkoholischen Filtrate wurden bei gelinder Wärme vom Alkohol befreit, der Verdampfungsrückstand wiederholt mit Äther ausgezogen. Es hinterblieb eine klebrige, farblose Substanz, welche

¹⁾ Ber. der Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXIII, S. 2584.

das Verhalten der Glycerinphosphorsäure zeigte. Leider war die Substanzmenge nicht ausreichend, um einige Salze herzustellen und das optische Verhalten derselben zu untersuchen.

Fette.

Eugling gibt an, daß das Fett des Colostrums sich von dem der Milch durch Geruch, Geschmack, Konsistenz und Schmelztemperatur unterscheidet. Nilson hat das Fett des Colostrums ebenfalls untersucht. Seine Arbeit liegt uns nur in einem Referat vor; er ist zu dem Schluß gekommen, daß das Colostrumfett arm an flüchtigen Fettsäuren ist. Auf diese Tatsache führt er auch den hohen Schmelzpunkt des Colostrumfettes zurück. Eine nähere Untersuchung des Colostrumfettes lag nicht im Plan unserer Arbeit: wir wollen hier nur über einige gemachte Beobachtungen berichten. Wir fällten die Eiweißkörper des Colostrums mit Alkohol, extrahierten den von der Flüssigkeit getrennten Niederschlag mit Alkohol bei 60°. Aus dieser alkoholischen Lösung schied sich beim Erkalten ein blendend weißes Fett von krystallinischem Gefüge aus. Der mit Alkohol extrahierte Eiweißrückstand wurde nun mit Äther extrahiert. Bei längerem Stehen des Ätherextraktes schied sich eine weiße krystallinische Substanz aus; sie war phosphorfrei und enthielt weder Glycerin noch Cholesterin. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther schmolz sie bei 52°. Eine Elementaranalyse ergab 73,66% C und 12,99% H. Die Krystalle waren somit wohl ein Gemisch höherer Fettsäuren.

Cholesterin.

Bei unseren Versuchen hielten wir uns an die Vorschriften von Ritter.¹⁾ Zur Cholesterindarstellung benutzten wir das Filtrat von den oben erwähnten freien Fettsäuren. Nach dem Eintrocknen desselben blieb ein Rückstand von 28 g. Dieser wurde mit Natriumalkoholat verseift und die trocknen Seifen im Soxhlet'schen Apparat mit Äther extrahiert. Das Ätherextrakt hinterließ nach dem Verdunsten des Äthers eine Substanz, die aus Alkohol umkrystallisiert wurde. Sie gab folgende Reaktionen mit:

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 435.

Chloroform, Schwefelsäure und Essigsäureanhydrid . blau, dann grün.

Chloroform und Schwefelsäure dunkelrot.

Der Schmelzpunkt lag bei 148° . Dadurch war Cholesterin sicher nachgewiesen.

Kohlenhydrate.

Über die Kohlenhydrate des Colostrums gehen wohl die Ansichten der Forscher am meisten auseinander. Während einige einfach von Milchzucker sprechen (Vaudin, Houdet, Sutherest), nehmen andere neben dem Milchzucker noch andere Kohlenhydrate an (Schrodt und Hansen, Krüger, v. Raumer und Späth, Camerer und Söldner). Ritthausen und Schmöger wollen ebenfalls andere Kohlenhydrate in der Milch gefunden haben und schlossen aus ihren Versuchen, daß diese in noch größerer Menge im Colostrum vorhanden seien. Béchamp will ebenfalls noch Kohlenhydrate neben Milchzucker in der Milch nachgewiesen haben. Noch andere Forscher sprechen dem Colostrum den Milchzuckergehalt vollständig ab. Bezüglich der weiteren Literaturangaben verweisen wir auf die Dissertation von E. Strickler. Da sich in der uns zugänglichen Literatur keine Angaben über die Reindarstellung von Milchzucker vorfinden, stellten wir aus einigen Colostren dieses Kohlenhydrat dar. Zu diesem Zwecke dunsteten wir die vom Eiweiß getrennten Sera bei neutraler Reaktion ein, die zuerst auftretenden amorphen stickstoffhaltigen Ausscheidungen wurden entfernt, die konzentrierte Lösung mit Alkohol fraktionsweise gefällt; doch gelang es uns nicht, amorphe Kohlenhydrate dadurch abzuschneiden, auch andere Fällungsmittel ergaben ein negatives Resultat. Aus der stark alkoholhaltigen Lösung schieden sich nach mehreren Monaten schöne Krystalle aus, welche mehrere Male aus Wasser und zuletzt aus verdünntem Weingeist umkrystallisiert wurden; dieses wiederholte Umkrystallisieren war notwendig, um eine kleine Menge einer amorphen Substanz vollständig zu entfernen. Die erhaltenen Krystalle besaßen ein Drehungsvermögen von $[\alpha]_D = +53,6^{\circ}$. Sie lieferten bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure, reduzierten Fehling'sche Lösung direkt.

Somit war Milchzucker als normaler Bestandteil des Colostrums nachgewiesen. Ob daneben nun noch kleine Mengen anderer Kohlenhydrate sich vorfanden, ist nicht gänzlich ausgeschlossen, doch dürften die Quantitäten der neben Milchzucker sich vorfindenden Kohlenhydrate nur sehr gering sein, denn erstens erhielten wir bei der quantitativen Bestimmung des Milchzuckers auf gravimetrischem und polarimetrischem Wege aus verschiedenen Colostren übereinstimmende Zahlen und ferner war das Reduktionsvermögen des Serums und des zuvor mit Schwefelsäure erhitzten Serums beinahe völlig gleich. Auch Söldner fand in frischer Kuhmilch, nachdem sie mit Salzsäure invertiert worden war, nicht mehr Fehling'sche Lösung oder Wismuthnitrat-Lösung reduzierende Substanz als ohne Inversion.

Andere Bestandteile des Colostrums.

Eugling gibt als solche an: Nuclein, Lactoprotein, Harnstoff, dagegen verneint er, wie auch Sebelien, die Anwesenheit von Pepton. Camerer und Söldner beschreiben eine nicht näher charakterisierte N-haltige Substanz als Colostrumbestandteil. Krüger nennt Leucin, Tyrosin, Harnstoff, Lutein, tierisches Gummi und in einzelnen Fällen Pepton.

Wegen der Details der von den genannten Forschern gemachten Angaben sei auf die zitierte Dissertation verwiesen.

Es schien uns wohl angezeigt, mit Rücksicht auf die vorliegenden Angaben über die N-haltigen nicht eiweißartigen Verbindungen noch einige Versuche anzustellen. Wir verwendeten das Serum von 8 Litern eines schön-gelben Colostrums, neutralisierten es annähernd mit Soda und dunsteten auf Wasserbädern ein. Eine Hälfte der Flüssigkeit wurde mit Gerbsäure versetzt, von der Fällung abfiltriert, dem Filtrat davon setzten wir Bleiessiglösung zu und filtrierten. Aus dem nun vollständig klaren Filtrat erhielten wir mit Merkurinitrat eine weiße, flockige Fällung, die nach der Neutralisation mit Soda abfiltriert und ausgewaschen wurde; sie wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, letzterer aus dem vom Quecksilbersulfid getrennten Filtrat durch Einleiten von Luft ausgetrieben und die mit Baryt neutralisierte Flüssigkeit vorsichtig eingedunstet; der Verdampfungs-

rückstand wurde mit absolutem Alkohol behandelt, das Extrakt mit dem gleichen Volumen Äthylacetat versetzt, wobei eine kleine Fällung entstand, davon wurde abfiltriert, die alkoholische Lösung eingedunstet und die zurückbleibenden Krystalle aus Wasser umkrystallisiert. Die Krystalle erwiesen sich als Harnstoff; sie gaben mit konzentrierter Salpetersäure die charakteristischen Krystalle, entwickelten beim Erhitzen Ammoniak, beim Kochen mit Salzsäure entstand Ammonchlorid.

Das Filtrat von der Merkurinitratlösung wurde, nachdem es mit Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit worden war, mit Phosphorwolframsäure versetzt, dabei entstand ein feiner schwer zu filtrierender Niederschlag, er glich im Aussehen und Verhalten den Fällungen, die Phosphorwolframsäure mit Ammonsalzen gibt. Aus diesem Niederschlag konnten wir weder Cholin noch Hexonbasen isolieren. Die alkalische Reaktion der beim Zersetzen mit Baryt erhaltenen Lösung muß wohl auf Alkalien zurückgeführt werden.

Wie oben erwähnt worden ist, wurde die harnstoffhaltige Flüssigkeit mit Alkohol extrahiert, der dabei ungelöst verbliebene Rückstand wurde mit Ammoniak behandelt, die Lösung eingedunstet. Es hinterblieb eine Menge einer Substanz, welche mit Millon'schem Reagens keine Reaktion gab, Tyrosin konnte somit in dem von uns untersuchten Colostrum nicht aufgefunden werden.

Die mit der anderen Hälfte des konzentrierten Serums angestellten Versuche zur Isolierung von Alloxurbasen und anderen Stickstoffverbindungen verliefen resultatlos. Da die Menge des Nichteiweißstickstoffes nur gering war, unterließen wir weitere Versuche.

Quantitative Zusammensetzung des Colostrums.

Im folgenden machen wir noch einige Mitteilungen über die Ergebnisse, die wir bei der quantitativen Analyse eines Colostrums von braungelber Farbe erhielten. Das spezifische Gewicht desselben betrug 1,06; es zeigte eine deutlich saure Reaktion. Da die Analyse längere Zeit in Anspruch nahm, konservierten wir es mit 1⁰/₁₀₀ Natriumfluorid.

Trockensubstanz, Fett, Gesamtstickstoff wurden in bekannter Weise ermittelt. Da die quantitative Trennung des Caseins vom Globulin und vom Albumin mit Hilfe von Alaun und Magnesiumsulfat sehr zeitraubend ist, weil die vom Casein getrennte mit Magnesiumsulfat gesättigte Flüssigkeit außerordentlich schlecht filtriert, begnügten wir uns mit einer Bestimmung der Gesamtmenge der im Serum vorhandenen, durch Hitze koagulierbaren Eiweißstoffe. Die davon getrennte Flüssigkeit wurde mit Almen'scher Lösung gefällt, die entstandene Fällung abfiltriert und im Filtrat davon noch der durch Phosphorwolframsäure fällbare Stickstoff bestimmt. Die Gesamtmenge der Eiweißsubstanzen wurde nach Ritthausen mit Kupferhydroxyd bestimmt.

Über die Bestimmung des Milchzuckers mögen noch einige Worte Raum finden: 5 g Colostrum wurden mit 100 ccm Wasser verdünnt, die Eiweißstoffe mit Kupfersulfat und Natronlauge ausgefällt, die Flüssigkeit vom Niederschlag getrennt und die Fällung ausgewaschen, bis das Gesamtvolumen 200 ccm betrug. Wir bestimmten den Milchzucker nach Allihn-Soxhlet. Es wurden 0,0478 g und 0,0480 g Cu gefunden. Daraus berechnet sich ein Prozentgehalt von 2,85 Milchzucker. Es wurde nun anderseits der Milchzucker auf polarimetrischem Wege bestimmt. 10 g Colostrum wurden mit Wasser verdünnt, die Eiweißstoffe mit Brück'schem Reagens unter Zusatz von Salzsäure ausgefällt, auf 50 ccm aufgefüllt und ein aliquoter Teil durch ein trockenes Filter filtriert. Diese Lösung drehte im 200 mm-Rohr im Soleil-Ventzke'schen Apparat $+ 1,8^{\circ}$; daraus berechnet sich, auf Grund der mit reinem Rohrzucker bestimmten Reduktionskonstanten 0,344, ein Prozentgehalt von 2,93% Milchzucker. Bei einem anderen Colostrum wurden auf gravimetrischem Wege 2,87%, auf polarimetrischem 2,93% Milchzucker gefunden. Auf Grund dieser Zahlen darf man wohl behaupten, daß das von uns untersuchte Colostrum höchstens Spuren anderer Zuckerarten enthalten konnte. Die Bestimmung des Cholesterins geschah nach Ritter.¹⁾ Mit Rücksicht auf das Vorhandensein der Glycerinphosphorsäure haben die in der gewöhnlichen Weise ausgeführten Lecithinbestimmungen nur einen beschränkten

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 435.

Wert.¹⁾ Die Zusammensetzung des Colostrums ergibt sich aus folgender Tabelle:

Trockensubstanz	17,19%
Gesamt-N	1,53%
Gesamteiweiß-N	1,43%
Gesamteiweiß ²⁾	9,13%
Casein	3,00%
Albumin	5,06%
Eiweiß fällbar durch Gerbsäure	1,16%
N in Form von Nichteiweißsubstanzen	0,07%
Ätherextrakt	2,40%
Cholesterin	0,04%
Milchzucker	2,87%
Asche	0,68%

Zusammenfassung der Resultate.

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich folgendes: Die durch Hitze koagulierbaren Eiweißstoffe des Colostrums liefern bei der hydrolytischen Spaltung: Alanin, Aminovaleriansäure, Leucin, Pyrrolidincarbonsäure, Serin, Phenylalanin, Tyrosin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Cystin, daneben noch andere Aminosäuren, deren Natur noch nicht aufgeklärt ist; ferner Arginin, Histidin, Lysin, Tryptophan und Ammoniak. Diese Eiweißsubstanzen enthalten daneben einen oder mehrere Kohlenhydratkomplexe. Das von uns untersuchte Colostrum enthielt folgende Bestandteile: Casein, Albumin, Globulin, Fett, freie Fettsäuren, Lecithin, Cholesterin, freie Glycerinphosphorsäure, Milchzucker und Harnstoff. Tyrosin, Cholin, Nuclein und Hexonbasen konnten nicht nachgewiesen werden. Neben Milchzucker findet sich kein optisch aktives die Fehling'sche Lösung reduzierendes Kohlenhydrat.

Literatur.

Béchamp, Sur la nature du lait. Gazette méd. de Paris 1888.

Crusius, Über einige Veränderungen der Kuhmilch. Journ. für prakt. Chemie, Bd. LXVIII.

¹⁾ Bei 100 g Colostrum erhielten wir 0,0015 g P_2O_5 im Ätherextrakt; dies entspricht 0,017% Lecithin, berechnet auf Colostrum, oder 0,68% vom Ätherextrakt. Krieger gibt 8% Lecithin an.

²⁾ Die Summe der drei Eiweißsubstanzen ist etwas größer, als nach Ritthausen gefunden; diese Differenz bewegt sich innerhalb der Fehlergrenzen.

Deissmann, Untersuchungen über die Zusammensetzung der Colostrummilch etc. Inaug.-Diss. Halle 1897.

Eichloff, Über das Colostrumfett. Milchztg. Bremen 1897.

Eugling, Über die Zusammensetzung des Kuhcolostrums. Petersen, Forschungen auf dem Gebiete der Viehhaltung. Bremen 1878.

Houdet, Contribution à l'étude du Colostrum de la vache. Annales de l'Institut Pasteur, Paris 1894.

Koenaeth, Analyse eines Colostrums. Zeitschrift f. Nahrungsmitteluntersuchung, Bd. III.

Krüger-Hannover, Beiträge z. Zusammensetzung d. Kuhcolostrums. Hildesheim, Molkereizeitung 1892.

Nilson, Studier ofrer komjolkens fett. Stockholm 1886.

Simon, Beitrag zur Kenntnis der Eiweißkörper der Kuhmilch. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII.

Smee, Milch nach dem Kalben. Jahrb. f. Tierch. 1875.

Southerest, The composition of colostrum. The Chemical News, Bd. LXXXVI.

Tiemann, Untersuchungen üb. d. Zusammensetzung des Colostrums mit besonderer Berücksichtigung der Eiweißstoffe desselben. Inaug.-Dissertation Straßburg 1898.

Weissflog, Beobachtungen über die Milch, speziell die Colostrummilch. Hannover. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 1905.

Wütherich, Zusammensetzung der Colostrummilch. Jahresbericht der Molkereischule Rütli bei Bern 1899/1900.