

Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung und der Natur der Hüllen der Milchkügelchen.

Von

Emil Abderhalden und **W. Völtz.**

(Aus dem physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule und dem zootechnischen Institut der landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Der Redaktion zugegangen am 14. Januar 1909.)

Die Hüllen der Milchkügelchen sind wiederholt untersucht worden, ohne daß es jedoch gelungen wäre, ihre Natur vollständig klar zu stellen. Verschiedene Beobachtungen deuten allerdings mit großer Bestimmtheit darauf hin, daß sie keineswegs aus einer einheitlichen Substanz aufgebaut sind, sondern vielmehr aus einem Gemisch ganz verschiedenartiger Stoffe bestehen. Unsere Untersuchung stützt diese Annahme durchaus. Wir richteten unser Augenmerk in erster Linie auf die Natur der in den genannten Hüllen vorhandenen Eiweißstoffe, und wir können gleich betonen, daß sicher nicht nur Casein am Aufbau der Hüllen beteiligt ist, ja es ist nicht unmöglich, daß es vollkommen fehlt, dagegen muß mindestens ein Protein vorhanden sein, das im Gegensatz zum Casein und auch zum Milchalbumin Glykokoll aufweist. Die verschiedenartigen Beobachtungen machen es sehr wahrscheinlich, daß ein Gemisch verschiedener Proteine vorliegt, und ferner spricht manches dafür, daß die nach der gleich zu beschreibenden Methode isolierten Hüllen keineswegs immer dieselbe Zusammensetzung zeigen. Ob den Hüllen ein ganz spezifischer Eiweißbestandteil zukommt, wagen wir nicht zu entscheiden. Der Umstand, daß es gelingt, ein Produkt zu isolieren, das an und für sich keine Biuretreaktion gibt, und erst eine solche zu erzielen ist, wenn die erwähnte Substanz längere Zeit mit Alkalilauge steht oder noch besser

erwärmt wird, deutet vielleicht auf ein Protein mit besonderen Eigenschaften hin. Erschwert wird die Untersuchung der Hüllensubstanz durch den außerordentlich hohen Aschengehalt.

Isoliert wurden die Hüllen nach der folgenden von C. Lehmann vorgeschlagenen Methode:¹⁾

Frische, mit ca. 0,1% NaF oder Thymol etc. versetzte Kuhmilch wurde mittels eines Glasrohres unter eine Wassersäule von ca. 50 cm Höhe geleitet. Die spezifisch schwerere Milch drückt die Wassersäule nach oben und grenzt sich ziemlich scharf von ihr ab. Nach einiger Zeit beginnen die spezifisch leichten Milchkügelchen aufzusteigen, sie dringen allseitig umspült durch die Wassersäule und setzen sich auf der Wasseroberfläche ab, von der sie mittels Saughebers nach bestimmten Zeiten (nach 12, 24, 36 Stunden usw.) entfernt werden. Die während der ersten Stunden aufsteigenden Milchkügelchen, welche die Hauptmenge aller ausmachen, dürften am ehesten unverändert und befreit von Fremdbestandteilen an die Wasseroberfläche gelangen; denn die oberen Schichten der Wassersäule, durch welche die Milchkügelchen aufsteigen, sind nur durch die Milchkügelchen selbst wolkig getrübt, das umgebende Wasser bleibt vollkommen klar. Die kleineren, später aufsteigenden Fettkügelchen dagegen ballen sich häufig in nicht geringer Zahl zu traubigen Konglomeraten zusammen, und es besteht die Möglichkeit, daß Milchflüssigkeit eingeschlossen und mit ihnen gewonnen wird. Ferner findet mit der Zeit eine immer mehr fortschreitende Vermischung von Milch und Wasser statt, so daß die Befreiung der Milchkügelchen von anderen Milchbestandteilen wohl immer unvollkommener wird. Schließlich dürfte auch innerhalb gewisser Grenzen ein Stoffaustausch zwischen den Hüllen der Milchkügelchen und dem umgebenden Medium erfolgen.

Nachdem man nun die abgeheberten Milchkügelchen auf Filter gebracht hat und die Hauptmenge des Wassers hat abfließen lassen, werden die Glastrichter mit den Filtern in einen Trockenschrank gebracht. Bei einer Temperatur von ca. 70° C.

¹⁾ Vgl. hierzu: W. Völtz, Untersuchungen über die Serumphüllen der Milchkügelchen. Pflügers Archiv, Bd. CII, S. 373, 1904.

fließt das noch vorhandene Wasser und die Hauptmenge des Fettes ab. Die Filtrerrückstände werden bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, pulverisiert und durch siedenden Äther von Fett befreit. Die so gewonnene Substanz bildet das Ausgangsmaterial für die weiteren Untersuchungen.

Die chemischen Analysen ergaben nun, daß die von verschiedenen Milchproben (sämtlich Kuhmilch) erhaltenen Hüllen eine sehr abweichende Zusammensetzung aufwiesen. So schwankte bei einer Anzahl von Versuchen¹⁾ in 100 Trockensubstanz

der Aschengehalt zwischen 4,57 und 45,28 %

der P-Gehalt zwischen 0,18 und 0,57 %.

Der Gehalt an N, auf 100 g organische Substanz berechnet, differierte zwischen 7,20 und 12,01 %. Bei späteren Versuchen wurden noch größere Differenzen gefunden.

Was nun das für unsere Untersuchungen verwendete Präparat anbelangt, so stellt dasselbe ein Gemisch der von früheren Versuchen²⁾ übrig gebliebenen Hüllen dar. Außerdem wurden im Sommer 1908 zweimal je 50 l Kuhmilch — in der Folge als Milch I und II bezeichnet — in der geschilderten Weise auf die Hüllen der Milchkügelchen verarbeitet. Die gewonnene Substanz wurde mit dem vorhandenen Material vermischt und die gesamte Masse von den letzten Resten Fett befreit. Es zeigte sich bei der Verarbeitung der 2 Milchproben von je 50 l in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen, daß die Hüllen der Milchkügelchen der verschiedenen Individuen einer Tierart in bezug auf ihren Gehalt an Einzelbestandteilen außerordentlichen Schwankungen unterworfen sein können. So enthielten die Hüllen der innerhalb 24 Stunden aufgestiegenen Milchkügelchen

	der Milch I ³⁾	der Milch II ³⁾
Trockensubstanz	98,01 %	95,44 %
Asche	59,62 %	7,04 %
Organische Substanz	38,39 %	88,30 %
N	4,04 %	5,70 %
N in der organischen Substanz	10,52 %	6,44 %

¹⁾ l. c. S. 387.

²⁾ l. c.

³⁾ Um für die Hydrolyse möglichst viel Material zu erübrigen,

Die Ausbeute betrug bei

	Milch I	Milch II
Trockensubstanz	17,768 g	9,342 g
Asche	10,807 »	0,689 »
Organische Substanz	6,961 »	8,653 »
N	0,732 »	0,558 »
also pro Liter		
Trockensubstanz	0,3554 g	0,187 g
Organische Substanz	0,139 »	0,173 »

Die innerhalb der nächsten 24 Stunden noch über die Wassersäule gestiegenen Milchkügelchen wurden bei beiden Proben noch als zweite Fraktion gewonnen und zusammen verarbeitet. Es wurden von beiden Proben, also 100 l, noch 4,7453 g Trockensubstanz, also pro Liter 0,0475 g gewonnen, sodaß die Gesamtausbeute

bei Milch I	bei Milch II
0,3554 g	0,187 g
0,0475 »	0,0475 »
ca. 0,4029 g	0,2345 g Hüllentrocken-

substanz pro Liter betrug. Bekanntlich steigen auch an späteren Tagen, und zwar vorwiegend kleinere Milchkügelchen auf; ihre Menge ist jedoch sehr gering. Es wurde bei der vorliegenden Untersuchung auf eine Gewinnung der zugehörigen Hüllen verzichtet. Bei den früheren Versuchen¹⁾ sind die während ca. 10 Tagen aufgestiegenen Milchkügelchen gesammelt und ihre Hüllen dargestellt worden, sodaß nur minimale Mengen nicht aufrahten. Die Ausbeute betrug damals 0,53—0,78 g Hüllentrockensubstanz pro Liter Kuhmilch. Wie angeführt, dienten die von den verarbeiteten 100 l Kuhmilch erhaltenen und mit der gesammelten Substanz aus früheren Untersuchungen vermischten Hüllen als Ausgangsmaterial für die folgende Untersuchung.

Das Ausgangsmaterial enthielt:²⁾

wurden hier nur Einzelanalysen mit relativ wenig Substanz ausgeführt, so daß diese analytischen Daten nur als Annäherungswerte aufzufassen sind.

¹⁾ l. c.

²⁾ Die analytischen Daten sind die Mittelwerte von mindestens je zwei gut übereinstimmenden Analysen, welche mit genügenden Mengen Substanz ausgeführt wurden.

- 5,58% Wasser.
- 94,42% Trockensubstanz.
- 40,70% Asche,
- 53,72% organische Substanz.
- 7,01% Stickstoff.
- 13,05% N in der fettfreien organischen Substanz.

Zur Hydrolyse wurden 80,59 g Substanz verwendet mit

- 76,09 g Trockensubstanz,
- 32,80 g Asche,
- 43,29 g organischer Substanz

und 5,65 g Stickstoff.

Die Substanz wurde in der gewohnten Weise mit der fünffachen Menge 25%iger Schwefelsäure 16 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Das Hydrolysat wurde abfiltriert und der Filtrerrückstand durch mehrfaches Auskochen mit destilliertem Wasser von allen wasserlöslichen Bestandteilen befreit. Die vereinigten Filtrate wurden unter vermindertem Druck eingeeengt. In aliquoten Teilen der Gesamtflüssigkeit wurden zwei Ammoniak-Bestimmungen ausgeführt (Zusatz von MgO im Überschuß und Überdestillieren in titrierte H_2SO_4). Sie ergaben in Übereinstimmung, daß das Hydrolysat 7,04% seines Gehaltes an Stickstoff in Form von Ammoniak enthielt.

Den Rest des Hydrolysates verwendeten wir zur Bestimmung der Aminosäuren. Zunächst wurde nach der Entfernung der Schwefelsäure mit Baryt das Tyrosin durch fraktionierte Krystallisation zur Abscheidung gebracht. Die Mutterlauge des Tyrosins diente zur Gewinnung der Glutaminsäure. Sie wurde nach Einleiten von gasförmiger Salzsäure als Chlorhydrat abgeschieden. Schließlich verwendeten wir die Mutterlauge des Glutaminsäurechlorhydrates zur Gewinnung der übrigen Aminosäuren, und zwar mit Hilfe der Estermethode.

Im folgenden sind die Mengen der isolierten Aminosäuren wiedergegeben. Die Ausbeuten sind auf 100 g Eiweiß berechnet unter der Voraussetzung, daß der gefundene Stickstoffgehalt nur auf Proteine zu beziehen ist ($6,25 \times N$). Es ist klar, daß diese Art der Berechnung nicht einwandfrei ist, da die Möglichkeit, daß außer Eiweiß noch andere stickstoffhaltige Substanzen vorhanden sind, nicht ausgeschlossen ist. Ihre Menge

kann jedoch nicht erheblich sein. Der Gehalt an Tyrosin betrug 2,05% und derjenige an Glutaminsäure 8,5%. Ferner wurden nachgewiesen Glykokoll (0,5%), Alanin (1,5%), Leucin (2%), Phenylalanin und Asparaginsäure. Letztere wurden nur in ganz kleinen Mengen isoliert.

Nun enthält das Casein¹⁾ 4,5% Tyrosin und 11,0% Glutaminsäure. Glykokoll ist keines vorhanden, ferner sind im Milchalbumin²⁾ 0,85% Tyrosin und 10,1% Glutaminsäure aufgefunden worden. Auch dieses Protein enthält kein Glykokoll. In einem Gemisch von Milchalbumin und -globulin konnte dagegen diese Aminosäure nachgewiesen werden.³⁾ Der Befund an Glykokoll beweist ohne weiteres, wie schon eingangs betont wurde, daß am Aufbau der Hüllen der Milchkügelchen auf alle Fälle neben Casein noch andere Proteine oder auch nur solche beteiligt sind. Vorausgesetzt wird natürlich, daß die vorliegende Methode die Hüllen der Milchkügelchen in «reinem» Zustand liefert. Der Umstand, daß relativ viel Glykokoll aufgefunden wurde, und daß die übrigen Aminosäuren und speziell das Tyrosin an Menge gegenüber den beim Casein gefundenen Werten zurücktritt, macht es sehr wahrscheinlich, daß nicht eine zufällige Verunreinigung der Hüllen vorgelegen hat. Auf jeden Fall darf man nach diesen Befunden die Hüllen der Milchkügelchen nicht einfach als aus Casein bestehend auffassen. Hervorgehoben sei nochmals, daß die vorliegenden Beobachtungen unzweifelhaft dafür sprechen, daß je nach den vorhandenen Bedingungen ganz verschiedenartig zusammengesetzte «Hüllen» zur Untersuchung gelangen, und es vielleicht überhaupt fraglich ist, ob diese sog. Hüllen als wohl differenzierte Körper aufzufassen sind.

¹⁾ Emil Fischer, Hydrolyse des Caseins mit Salzsäure, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 151 (1901), und Emil Abderhalden, Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 17 (1905).

²⁾ Emil Abderhalden und Hugo Präbram, Die Monoamino-säuren des Albumins aus Kuhmilch, Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 409 (1907).

³⁾ Emil Abderhalden und Andrew Hunter, Vorläufige Mitteilung über den Gehalt der Eiweißkörper der Milch an Glykokoll, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 404, 1906.