

Chemische Untersuchungen über die Gerinnung der Milch und über die Löslichkeit des Gerinnsels in Salzwasser.

Von

Professor Dr. **Orla-Jensen**, unter Mitwirkung von den
Diplomingenieuren **Betzy Meyer** und **Anna D. Orla-Jensen**.

(Der Redaktion zugegangen am 9. November 1914.)

Die Kuhmilch koaguliert bekanntlich nicht nur durch Zusatz von Lab oder Säure, sondern auch durch starkes Erhitzen oder durch Erwärmung mit Chlorcalcium, wie auch durch Zusatz der gewöhnlichen Eiweißfällungsmittel. Die Erscheinung tritt dadurch ein, daß der wichtigste Eiweißstoff der Milch, das Casein, umgebildet wird oder unter den veränderten Bedingungen seinen kolloidalen Zustand nicht länger aufrecht halten kann, sondern sich zusammenflockt. Findet nun die Einwirkung ohne Schütteln statt, so werden die sich an einander stützenden Caseinflocken ihre Lage in der Milch behalten, und die umgebende Flüssigkeit wird wie in einem Schwamm durch die Haarröhrchenwirkung festgehalten, wodurch das ganze eine Gallerte bildet.

Wie von der Käsefabrikation her bekannt, werden die Caseinflocken durch mechanische Behandlung oder Erwärmung sich dichter an einander lagern und die gelösten Milchbestandteile (die Molke) zum Herausfließen zwingen, während die suspendierten Milchbestandteile je nach ihrer Größe im Netzwerk stecken bleiben. Zu den letzteren gehören außer den Milchkügelchen,¹⁾ Leukocyten und Bakterien²⁾ auch (wenn die Gerinnung nicht durch Säure verursacht wird) etwas Calciumphosphat und -citrat. Es liegt kein Grund zu der Annahme vor, daß diese Salze in der Milch in chemischer Verbindung mit dem Casein vorkommen sollten; denn Phosphate und Ci-

¹⁾ Da nach Storch das Milchfett in der Milch stets in Eiweißmembranen eingehüllt vorkommt, tut man besser, von Milchkügelchen als von Fettkügelchen zu sprechen.

²⁾ Freudenreich und Orla-Jensen, Zentralblatt f. Bakt. II. Abt. 1898, S. 545.

trate¹⁾ werden nicht nur beim Filtrieren durch die Chamberlandsche Kerze mit dem Casein zurückgehalten, sondern sie setzen sich auch beim ruhigen Stehenlassen steriler Milch ohne gleichzeitige Ausscheidung nennenswerter Caseinmengen ab.

Was die **Hitzekoagulierung der Milch** .anlangt, verweise ich auf meine Arbeit: «Über den Einfluß des Erhitzens auf die Kuhmilch.»²⁾ Ich wünsche nur beizufügen, daß eine reine 3%ige Dicalciumcaseinatlösung höher als die Milch erhitzt werden muß, um zu koagulieren, und daß eine solche Lösung bei den in Betracht kommenden Temperaturen sich nicht bräunt. Die durch Wärme hervorgerufene Veränderung des Caseins muß deshalb in hohem Grade von den anderen Milchbestandteilen beschleunigt werden. Dies geht noch deutlicher aus der Labungsfähigkeit hervor. Milch, welche einige Minuten auf 120° erhitzt worden ist, gerinnt nur langsam und unvollständig mit Lab; eine auf 120° erhitzte Dicalciumcaseinatlösung gerinnt dagegen nach dem nötigen Chlorcalciumzusatz (siehe später) ebenso schnell und vollständig wie die nicht erhitzte Lösung.

Mehr Interesse knüpft sich an die **Gerinnung der Milch mittels Chlorcalciums**; denn nicht nur wird diese Methode im Laboratorium häufig zur Herstellung eines klaren Milchserums benutzt, sondern lösliche Kalksalze spielen bekanntlich eine Rolle bei der Labgerinnung der Milch, und es ist deshalb nur natürlich, die reine Chlorcalciumwirkung zu besprechen, bevor wir zur Labgerinnung übergehen. Ehe wir uns aber überhaupt mit den komplizierten Verhältnissen in der Milch befassen, wollen wir zuerst das Verhalten reiner Caseinatlösungen studieren. Solche Lösungen erhält man durch sorgfältiges Verreiben von reinem, nach Hammarsten hergestellten Casein mit der genauen Menge Lauge oder Kalkwasser.

¹⁾ Nach unseren Analysen enthielten zwei Milchproben mit 1,6 und 1,2‰ Zitronensäure nach dem Filtrieren durch die Chamberlandsche Kerze nur 1,2 bzw. 1‰ Zitronensäure. Die Zitronensäure wurde nach der Beauschen Modifikation der Denigéschen Methode (Revue générale du Lait, III, p. 385) bestimmt.

²⁾ Landwirt. Jahrbuch der Schweiz 1905, S. 235.

Es ist nicht zulässig, einen Überschuß an Alkali zu verwenden, um nachher mit Säure zu neutralisieren; denn die dadurch gebildeten fremden Salze können die zu untersuchenden Prozesse beeinflussen.

Da die Kuhmilch etwa 3% Casein enthält, benutzten wir auch meistens diese Menge (nach dem Stickstoffgehalt unseres Präparates berechnet) zu unseren Caseinatlösungen. Dieselben wurden in Meßkolben bis zur Marke aufgefüllt, während einiger Stunden häufig durchgeschüttelt und dann durch Papier filtriert. Während die Natronsalze helle Lösungen bildeten, waren die Kalksalzlösungen milchig. Mit Lakmus reagierten die Monocaseinate sauer, die Dicaseinate neutral und die Tricaseinate alkalisch. Dies ist alles in Übereinstimmung mit den früheren Befunden. Mit Phenolphthalein sollten nach Söldner die Tricaseinate neutral reagieren,¹⁾ nach unseren Untersuchungen dagegen waren mit diesem Indikator alle drei Reihen von Salzen deutlich sauer und brauchten per Gramm Casein zur Neutralisation 2,5 beziehungsweise 1,4 und 0,3 ccm $\frac{n}{4}$ -Lauge. Ziehen wir den Säuregrad der Tricaseinate von demjenigen der Mono- und Dicaseinate ab, so bekommen wir 2,2 und 1,1. Da nach Söldner das Dicalciumcaseinat auf 100 Teile Casein 1,55 Teile Kalk enthält, so müssen die letzteren Zahlen 0,0155 beziehungsweise 0,0077 g CaO entsprechen, was auch stimmt. Wir konnten ferner bestätigen, daß die Caseinate im Gegensatz zu den Phosphaten sich den Indikatoren gegenüber gleich verhalten, sei der basische Bestandteil Natron oder Kalk. Diese wichtige Tatsache hat bereits de Jager benutzt, um zu beweisen, daß der Säuregrad des Caseins unmöglich von der in das Molekül eingehenden Phosphorsäure herrühren kann.²⁾ Nehmen wir mit Söldner an, daß das Casein der Kuhmilch lediglich in Form von Dicalciumsalz vorkommt, und daß eine Durchschnittsmilch mit dem Soxhlet-Henkelschen Säuregrad³⁾

¹⁾ Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen 1888, Bd. 35, S. 351.

²⁾ Nederl. Tijdschrift voor Genesk. 1897, Bd. 2, S. 253.

³⁾ Der im Molkereigewerbe übliche Soxhlet-Henkelsche Säuregrad gibt an, wie viele Kubikzentimeter $\frac{n}{4}$ -Lauge zur Neutralisation von 100 ccm Milch mit Phenolphthalein als Indikator verwendet werden müssen.

2,6% Casein enthält, so muß nach dem Obigen der vom Casein herrührende Anteil des Säuregrades 3,6 und deshalb der von der Kohlensäure und den Phosphaten herrührende Anteil 3,4 betragen. Der Säuregrad des Milchserums ist denn auch stets etwas kleiner als der halbe Säuregrad der entsprechenden Milch. Wegen des Verlustes an Kohlensäure (und Albumin) beim Filtrieren durch die Kerze fällt der Titer jedoch ein wenig kleiner aus, als er sein sollte. In der folgenden Tabelle sind einige Daten über den Säuregrad der Caseinate und ihre Fällbarkeit mit Chlorcalcium bei gewöhnlicher Temperatur angegeben.

Tabelle I.

	Verwendete Caseinmenge ‰	Das Papierfiltrat enthielt ‰ Casein	100ccm Filtrat braucht zur Neutralisation ccm $\frac{n}{4}$ -Lauge	Ausfällung beginnt, wenn die Lösung enthält ‰ CaCl_2
Monocalciumcaseinat	1½	0,79	1,9	—
„	3	1,56	3,9	1,2
„	3	1,35	3,4	—
„	6	3,07	7,6	0,9
Dicalciumcaseinat	3	2,87	4,0	1,6
„	3	2,84	4,0	—
„	3	2,65	3,7	—
„	6	5,68	7,9	1,4
Monocalciummononatriumcaseinat	3	2,89	4,0	2,5
Tricalciumcaseinat	3	2,87	0,9	2,3
Mononatriumcaseinat	1½	1,21	3,0	—
„	3	2,49	6,2	2,0
„	3	2,34	5,8	—
Dinatriumcaseinat	3	3,00	4,2	4,5
„	3	2,99	4,2	—
„	3	2,83	3,9	—
Trinatriumcaseinat	3	2,91	0,9	6,7
„	3	2,96	0,9	—

Aus der Tabelle geht hervor, daß die gebildeten Di- und Tricaseinate fast vollständig durch das Filtrierpapier gehen. Anders verhalten sich die Monocaseinate, und zwar ganz besonders das Monocalciumcaseinat, das sehr langsam filtriert und etwa zur Hälfte als eine gallertartige Masse auf dem Filter zurückbleibt. Dies könnte den Gedanken erwecken, daß das Filtrat gar nicht Monocalcium-, sondern Dicalciumcaseinat enthielt. Das Verhältnis zwischen Kalk und Stickstoff entsprach indessen genau demjenigen des Monosalzes, und übrigens könnte ja der Säuregrad des Filtrates nur halb so hoch sein, wie er gefunden wird, wenn das Casein als Disalz in Lösung gegangen wäre. Die einzige Erklärung dieser interessanten Erscheinung ist, daß wir hier mit einer kolloidalen Lösung zu tun haben, in welcher die Partikelchen von wesentlich verschiedener Größe sind, so daß nur die eine Hälfte derselben die Poren des Filtrierpapiers passieren können. Aus der Tabelle geht ferner hervor, daß die primären Caseinate am leichtesten und die tertiären am schwierigsten von Chlorcalcium gefällt werden. Zu dieser Fällung ist um so weniger Chlorcalcium nötig, je wärmer die Lösung ist und je mehr Caseinat sie enthält. Vom letzteren bilden jedoch die Natriumcaseinate eine Ausnahme, indem sie zuerst in Calciumcaseinate umgewandelt werden müssen, um mit Chlorcalcium gefällt zu werden. Man kann diese Umwandlung mit den Augen verfolgen, indem die Natriumcaseinatlösungen durch steigende Mengen von Chlorcalcium allmählich milchig werden, und dann erst mit einem Überschuß desselben sich zu scheiden anfangen. Citronensaurer Kalk hat bei weitem nicht das gleiche Fällungsvermögen den Caseinaten gegenüber wie Chlorcalcium, und mit nur 0,9 ‰ Trinatriumcitrat (wasserfrei berechnet) klärt sich eine 3 ‰ ige Dicalciumcaseinlösung vollständig und wird durch Chlorcalcium schwerer fällbar. Um die gleiche Wirkung mittels Chlornatriums zu erreichen, braucht es ungefähr die zehnfache Menge, was der fünfzehnfachen Menge Natrium entspricht.

Wir gehen nun zu der Milch über. Um beim Zusatz verschiedener Mengen von Salzlösungen (oder, wie bei den späteren Versuchen, von verdünnten Säuren und Lab) gleichwohl mit

der gleichen Milchkonzentration arbeiten zu können, wurde stets (abgerahmte) Milch mit einem Viertel Wasser verdünnt benutzt. Zu jeder Untersuchung verwendeten wir in der Regel 150 ccm Milch + den Zusatz, worauf auf 200 ccm mit Wasser aufgefüllt wurde. Um die Wirkung der Bakterien auszuschalten, wurde die Milch mit einem Überschuß von Wasserstoffsuperoxyd buddisiert und auf Eis aufbewahrt. Zu längeren Versuchsreihen, bei welchen wir des Vergleichs halber die ganze Zeit über mit der gleichen Milch arbeiten mußten, waren wir genötigt die Milch durch Erhitzen zu sterilisieren, weil sie sonst durch die Galaktase peptonisiert wurde.¹⁾

Was bei der Milch gleich auffällt, ist, daß sie sich bei gewöhnlicher Temperatur überhaupt nicht durch Chlorcalcium koagulieren läßt. Durch genügende Erwärmung geschieht dies dagegen ebenso leicht wie bei den Caseinatlösungen. Noch bei 40° gerinnt die Milch erst mit 5‰ CaCl₂, bei 80° dagegen schon mit 1‰ CaCl₂. Es kann gar kein Zweifel darüber sein, daß die Ursache dieser Erscheinung die eigentümliche Salzmischung der Milch ist. Erst beim Erwärmen vermag das Chlorcalcium das Gleichgewicht der mittels Kohlensäure und Citrate in Lösung gehaltenen Phosphate völlig zu erschüttern.

Daß der Zusatz von Chlorcalcium zur Milch große Veränderungen in der Salzmischung mit sich bringt, ist durch die Erhöhung des Säuregrades und die Ausfällung von Kalk bereits konstatiert worden.²⁾ In den folgenden Tabellen haben wir die Resultate unserer eigenen diesbezüglichen Untersuchungen zusammengestellt. Tabelle II gibt die Soxhlet-Henkelschen Säuregrade dreier Milchproben nach Zusatz verschiedener Chlorcalciummengen an. Im ersten Versuch

¹⁾ Die Caseinbestimmung wurde natürlicherweise in der unveränderten Milch vorgenommen, denn die Menge des Caseins wird nicht nur durch die Sterilisierung (mit der Albuminmenge) erhöht, sondern — wie wir in einer besonderen Arbeit zeigen werden — durch das Buddisieren vermindert.

²⁾ de Jager, l. c., Siegfried, Diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 575, 1897, samt Ott de Vries und Bockhout, Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen 1901, Bd. 55, S. 221.

(Milch 1) wurden die Titrierungen erst, nachdem die Milch zwei Stunden mit Chlorcalcium bei 20° beziehungsweise 80° behandelt worden war, vorgenommen. In den zwei anderen Versuchen wurde gleich nach dem Chlorcalciumzusatz titriert.

Tabelle II.

Zu- gesetzt ‰ CaCl ₂	Milch 1		Milch 2		Milch 3	
	20°	80°				
	Zur Neutralisation von 100 ccm Milch wurden verwendet ccm $\frac{n}{4}$:					
	Natronlauge	Natronlauge	Barytwasser	Natronlauge	Barytwasser	
0	4,4	4,0	4,5	5,6	4,6	5,7
1	5,7	5,4	6,0	6,2	—	—
5	6,6	6,2	6,9	6,8	6,7	6,7
10	6,6	6,3	7,0	6,8	7,0	6,7
20	—	—	—	—	7,0	6,7

Der durchaus niedrigere Säuregrad bei 80° als bei 20° rührt in der Hauptsache von dem durch das Erhitzen verursachten Kohlensäureverlust her. Wie man sieht, steigt der Säuregrad der Milch mit zunehmenden Chlorcalciummengen bis zu einem Zusatz von 5—10‰. Ein höherer Säuregrad wird auch gefunden, wenn man, anstatt der Milch Chlorcalcium zuzusetzen, mit Kalk- oder Barytwasser titriert. Dies ist nicht ohne praktische Bedeutung; denn wenigstens in Dänemark kommt es noch vor, daß man bei der Titrierung der Milch gesättigtes Kalkwasser (das ungefähr $\frac{n}{20}$ ist) statt Natronlauge verwendet, und man muß sich dann klar darüber sein, daß die in dieser Weise gefundenen Säuregrade sich nicht mit den gewöhnlichen vergleichen lassen.

Da weder Casein noch Citronensäure anders mit alkalischen Erden als mit Alkalien titrieren, so muß die beobachtete Erhöhung des Säuregrades der Milch lediglich der Phosphorsäure,¹⁾ die schon mit Phenolphthalein rot wird, wenn sie nur zu $\frac{2}{3}$ mit Natronlauge gesättigt ist, zuzuschreiben sein. Durch

¹⁾ Da wir nur bis zu schwach rotem Farbton titrierten, kommt die Kohlensäure der Milch nicht in Betracht in diesem Zusammenhang.

Zusatz einer genügenden Menge Chlorcalciums werden die Alkaliphosphate in Kalkphosphate überführt, und wird somit das letzte Drittel der Phosphorsäure titrierbar. Das Milchserum (das Kerzenfiltrat) bekommt in ähnlicher Weise wie die Milch einen höheren Säuregrad durch den Chlorcalciumzusatz; dagegen zeigt das Serum fast keine Steigerung des Säuregrades, wenn die Filtration erst nach dem Chlorcalciumzusatz vorgenommen wird, denn in diesem Falle wird ein wesentlicher Teil der reagierenden Phosphate von der Kerze zurückgehalten.

Aus den Tabellen III, IV und V sieht man, in welchen Verhältnissen der Kalk und die Phosphorsäure der Milch durch Chlorcalcium ausgefällt werden. Um die Tabellen zu verstehen, ist indessen noch folgende Erklärung nötig. Der Kalkgehalt der Milch wächst selbstverständlich mit dem Zusatz steigender Mengen Chlorcalciums. Auf 200 ccm Flüssigkeit wurden zugesetzt 2 beziehungsweise 10 und 20 ccm einer ca. 10%igen Chlorcalciumlösung, deren Gehalt an CaO 4,95% betrug. Da die gelösten Bestandteile in das Milchfiltrat übergehen, muß dieses mehr derselben als die Milch enthalten; es muß für das Volumen des abfiltrierten Niederschlags korrigiert werden. Besondere Versuche haben gezeigt, daß dies bei roher (abgerahmter und in der benutzten Verdünnung vorkommender) Milch durch Multiplikation¹⁾ mit $\frac{100}{97}$ und bei gekochter Milch (in welcher das Albumin ausgeschieden ist) durch Multiplikation mit $\frac{100}{96}$ geschehen kann. Wenn das Casein durch die verwendeten Zusätze nicht ausgeschieden wurde, mußte durch die Chamberland'sche Kerze filtriert werden.²⁾ Dies ist in den Tabellen mit einem * angedeutet. Wo kein * steht, hat also Gerinnung stattgefunden.

¹⁾ Wir erhöhen stets die in der Milch gefundenen Gesamtmengen der einzelnen Bestandteile, statt sämtliche im Serum gemachte Bestimmungen zu vermindern.

²⁾ Die Filtriermethode (Papier oder Kerze) übt keinen wesentlichen Einfluß auf den Salzgehalt des Filtrates aus. Dieselbe influirt dagegen stark auf die Menge des löslichen Stickstoffes, und die Kerze hält somit nicht nur fast alles Dicalciumcaseinat, sondern auch das Albumin der Milch zurück.

Tabelle III.

‰ CaCl ₂ zugesetzt	Löslicher Kalk (CaO) ‰			
	Theoretische Menge	Die Mischung gehalten 2 Stunden bei		
		20°	60°	80°
0	0,36	0,36*	—	—
1	0,87	0,63*	—	0,63
5	2,91	2,40*	2,37	2,34
10	5,46	4,85*	4,72	4,68

Tabelle IV.

‰ CaCl ₂ zugesetzt	Lösliche Phosphorsäure (P ₂ O ₅) ‰		
	Die Mischung gehalten 2 Stunden bei		
	20°	60°	80°
0	0,68*	—	—
1	0,62*	0,60*	0,57
5	0,48*	0,48	0,45
10	0,41*	—	0,41

Tabelle V.

‰ CaCl ₂ zu- gesetzt	Kalk (CaO) ‰								
	Aus- gefällt	Der aus- gefällten Phosphor- säure ent- sprechend	Diffe- renz	Aus- gefällt	Der aus- gefällten Phosphor- säure ent- sprechend	Diffe- renz	Aus- gefällt	Der aus- gefällten Phosphor- säure ent- sprechend	Diffe- renz
1	0,24	0,07	0,17	—	0,10	—	0,24	0,13	0,11
5	0,51	0,24	0,27	0,54	0,24	0,30	0,57	0,27	0,30
10	0,61	0,32	0,29	0,74	—	—	0,78	0,32	0,46

Die Tabellen zeigen, daß die Größe der Ausfällung (in der vorliegenden Milchprobe Nr. 4) nicht nur mit der Menge des zugesetzten Chlorcalciums, sondern auch — wie es zu erwarten war — mit der Temperatur wächst. Aus der Tabelle V ersieht man, daß beim Chlorcalciumzusatz mehr Kalk ausgefällt wird, als der ausgeschiedenen Phosphorsäure (sogar

als Tricalciumphosphat berechnet) entspricht, und daß diese «Kalkdifferenz» mit der Chlorcalciummenge wächst. Es ist hiermit bewiesen, daß der Kalk nicht nur als Phosphat, sondern auch in anderer Form ausgeschieden wird. Direkte Zitronensäurebestimmungen haben uns davon überzeugt, daß der Chlorcalciumzusatz auch eine Ausfällung von Calciumcitrat bewirkt.¹⁾ Eine Milch mit 2,1 ‰ Citronensäure enthielt nach Erwärmung auf 80° mit 1, 5 und 10 ‰ Chlorcalcium 2,0 beziehungsweise 1,1 und 0,4 ‰ löslicher Citronensäure. Daß nach diesem völligen Zusammenbruch der ursprünglichen Salzmischung sich das Dicalciumcaseinat der Milch in ähnlicher Weise wie in den reinen Lösungen durch Chlorcalcium ausfällen läßt, kann nicht mehr verwundern.

Was die **Labgerinnung der Milch** betrifft, so soll nach den klassischen Untersuchungen Hammarstens das Casein durch das Lab in zwei neue Eiweißstoffe, das Paracasein und das Molkenprotein, gespalten werden. Das erstere, welches den Hauptteil ausmacht, fällt so leicht durch lösliche Kalksalze aus, daß die geringe Menge derselben, welche in normaler Kuhmilch vorhanden ist, hierfür ausreicht. Nach unseren Versuchen labt eine 3 ‰ige Dicalciumcaseinatlösung, wenn sie 0,8 ‰ CaCl_2 enthält, ebenso schnell und genau in der gleichen Weise wie Kuhmilch.²⁾ Mit kleineren Chlorcalciummengen geht die Gerinnung sehr langsam und unvollständig vor sich. Mit weniger als 0,4 ‰ CaCl_2 erleidet die Lösung keine wahrnehmbare Änderung nach dem Labzusatz. Auch Lösungen von Mono- oder Tricalciumcaseinat können mit Lab zur Gerinnung gebracht werden, wenn sie wenigstens die Hälfte der Chlorcalciummenge enthalten, welche für sich allein Gerinnung hervorruft. Natriumcaseinatlösungen müssen, um mit Lab

¹⁾ Da sich die Möglichkeit einer einfachen Adsorption des Chlorcalciums an dem ausgeschiedenen Casein von vornherein nicht abweisen ließ, haben wir im Filtrate auch Chlorbestimmungen vorgenommen, und stets genau den ursprünglichen Chlorgehalt der Milch + die zugesetzte Chlormenge gefunden.

²⁾ Da das Käsechen in diesem Falle nicht von Phosphaten getrübt ist, wird es nach einiger Zeit (auch unter sterilen Kautelen) vollständig durchsichtig. Es ist in diesem Zustande weich und fadenziehend.

zur Gerinnung gebracht zu werden, zuerst mittels Chlorcalciums in Calciumcaseinatlösungen überführt und dann mit einem Überschuß an Chlorcalcium versetzt werden.

Die klare Labmolke von einer Dicalciumcaseinatlösung enthält 5—7 % des ursprünglichen Stickstoffes. Eine ähnliche Menge löslichen Stickstoffes wird auch bei der Labgerinnung der Milch gebildet, was aus der Tabelle VI hervorgeht. Das angeführte Beispiel rührt von sterilisierter Milch her, welche die reinsten Resultate liefert, indem hier das Albumin und das von Säure teilweise ausfällbare Globulin durch die Erhitzung ausgeschieden worden sind. Wegen der Sterilisierung gerann diese Milch nicht mit der verwendeten geringen Labmenge ohne Säurezusatz. Man kann nur den Stickstoffgehalt zweier Proben vergleichen, wenn sie beide durch Papier filtriert sind. Die Gerinnung ist am vollständigsten mit der Säuremenge, mit welcher die Milch am schnellsten filtriert. Auf diesem Punkt geht stets am wenigsten Stickstoff in Lösung.

Tabelle VI.

Milch 6 (sterilisiert) ‰ Milchsäure zugesetzt	Löslicher N in ‰ vom Gesamt N		
	Mit Lab	Ohne Lab	Differenz
0	7,25*	5,20*	—
1,8	19,25	5,50*	—
3,6	16,25	10,75	5,5
5,4	17,00	10,50	6,5
7,6	17,25	10,25	7,0
9,0	21,00	11,25	9,8
13,5	22,75	14,25	8,5
18,0	25,25	14,75	10,5

Bei diesen Versuchen haben wir die Säure beziehungsweise die Säure und das Lab eine Stunde auf die 38° warme Milch vor dem Filtrieren einwirken lassen.

Da, wie ich zuerst gezeigt habe,¹⁾ das Lab das Paracasein allmählich wieder auflöst, wäre es anzunehmen, daß

¹⁾ Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz 1904. S. 403.

die Menge des löslichen Stickstoffes in wesentlichem Grade von der Zeit abhängt, welche zum Einlaben und Filtrieren gebraucht wird. Kontrollversuche, bei welchem diese beiden Prozesse in weniger als 10 Minuten beendet waren, gaben indessen ebenso hohe Stickstoffzahlen, was beweist, daß die weitere durch das Lab hervorgerufene Proteolyse sehr langsam vor sich geht. Immerhin wird es richtig sein, die eingedickte Milch kalt und schnell zu filtrieren.

Nachdem van Dam den Beweis für die Parallelität der milchkoagulierenden und caseinlösenden Wirkung des Labes geliefert hat,¹⁾ läßt es sich wohl kaum mehr bezweifeln, daß die Labgerinnung der Milch einfach die erste Phase der Proteolyse des Caseins ist. Nur von diesem Gesichtspunkte aus wird die physiologische Bedeutung der Labgerinnung überhaupt erklärlich, und man versteht dann auch, warum die Milch durch sämtliche proteolytische Enzyme zuerst koaguliert wird.²⁾ Ist indessen die Spaltung des Caseins in Paracasein und Molken-eiweiß eine proteolytische, d. h. eine Hydrolyse einer oder mehrerer Peptidbindungen, so muß dadurch der Sörensensche Formoltiter einer Milchprobe oder Dicalciumcaseinatlösung steigen.³⁾ Beträgt die Caseinmenge (wie bei unseren Versuchen) etwa 2,8%, und nehmen wir — um auf der sicheren Seite zu sein — an, daß das Casein ein ebenso großes Molekulargewicht besitzt wie das Oxyhämoglobin, d. h. um 16000 herum, so muß für jede Peptidbindung, welche aufgelöst wird, der Formoltiter 0,7 steigen, was eine leicht ermeßbare Größe ist. Wir verwendeten so viel Lab, daß die Gerinnung der 38° warmen

¹⁾ Diese Zeitschrift, 1912, Bd. 79, S. 247.

²⁾ Dies geschieht selbstverständlich nur, wenn man der Milch eine für die Wirkung des betreffenden Enzyms günstige H-Ionenkonzentration beibringt.

³⁾ Mitteilungen des Carlsberg Laboratorium 1907, Bd. 7, S. 1. Unter dem Formoltiter der Milch verstehen wir einfach die durch überschüssigen Formalinzusatz hervorgerufene Erhöhung des Säuregrades. Per 100 ccm Milch wurden 20 ccm neutralen Formalins verwendet. Ebenso wie den Titer (Säuregrad) drücken wir auch den Formoltiter in ccm $\frac{n}{4}$ -Lauge per 100 ccm Milch aus. Beispielsweise soll angeführt werden, daß eine Milch mit dem Säuregrad 6,5 den Formoltiter 6,6, und eine Dicalciumcaseinatlösung mit dem Säuregrad 2 den Formoltiter 3,3 zeigte.

Milch im Laufe von 5 Minuten begann. Im Momente der Gerinnung wurde die Milch unter starkem Schütteln gekühlt und sofort titriert; denn wartet man, bis das Paracasein sich zusammengeballt hat, ist eine genaue Titrierung unmöglich. Die Caseinatlösung (ohne Chlorcalciumzusatz) hat vor der Milch den Vorzug, daß sie durch die Labwirkung nicht gerinnt. Unsere sämtlichen Versuche mit Milch und Caseinatlösungen zeigten uns nun, daß weder der Titer (Säuregrad) noch der Formoltiter (gleichgültig ob wir mit Natronlauge oder Barytwasser titrierten) durch das Lab beeinflusst wird.¹⁾

Dieses Resultat scheint gegen unsere Auffassung der Labwirkung zu streiten und deutet eher darauf hin, daß die Spaltung in Paracasein und Molkeneiweiß durch die Hydrolyse einer im Caseinmolekül vorkommenden ätherartigen Bindung zustande kommt.²⁾ Es ist indessen noch die Möglichkeit vorhanden, daß durch die Labwirkung eine Peptidbindung einer solchen Aminosäure, gegenüber welcher die Formoltitrierung versagt, aufgelöst wird. Da mehrere dieser Körper (z. B. das Prolin) von schwächer basischem Charakter als die übrigen Aminosäuren sind, so müssen sie zerbrechliche Stellen im Eiweißmolekül bilden, und ist es deshalb sehr wahrscheinlich, wenn das Caseinmolekül zuerst an einer solchen Stelle auseinander fällt.

Wir gehen nun zur **Säuregerinnung der Milch** über. Versetzt man eine Dicalciumcaseinatlösung vorsichtig und unter Schütteln mit verdünnter Säure, so fällt ungefähr die Hälfte des Caseins aus, wenn es nur bis zum Monocalciumsalz entkalkt ist, und ist es deshalb anzunehmen, daß auch die Säuregerinnung der Milch vor der völligen Entkalkung des Caseins anfängt. Um dies zu studieren, haben wir den Gehalt der

¹⁾ Zu demselben, in meiner (schon 1912 in dänischer Sprache erschienenen) «Bakteriologie in der Milchwirtschaft», (Jena 1913) auf S. 14 erwähnten Ergebnis soll nach Grimms milchwirtschaftlichen Referate (1914, S. 23) auch Willheim gelangt sein.

²⁾ In diesem Fall müßte das Lab mit den zuckerspaltenden Enzymen am nächsten verwandt sein. Die Hydrolyse einer esterartigen Bindung (in welchem Falle das Lab mit den fettspaltenden Enzymen zu vergleichen wäre) liegt jedenfalls nicht vor; denn sonst müßte der Säuregrad der Milch durch die Labwirkung steigen.

Milch an löslichem Kalk nach Zusatz verschiedener Säuremengen bestimmt. Wir ließen stets die Säure vor dem Filtrieren zwei Stunden bei 35° einwirken. Es wurde gleichzeitig die Menge löslicher Phosphorsäure bestimmt. Von den verwendeten (verdünnten) Milchproben enthielten Nr. 5 und 6 aufs aller-nächste 2% Casein, Nr. 7 dagegen nur 1,6%. Hierzu entsprechen 0,39 beziehungsweise 0,31 ‰ P_2O_5 ,¹⁾ welche von der totalen Phosphorsäuremenge der Milch abzuziehen sind, um den wirklichen Gehalt an Phosphatphosphorsäure zu erhalten. Da der Kalk und die Phosphorsäure beim Löslichwerden im Filtrate konzentriert werden, muß ihre Menge mit den S. 8 genannten Faktoren multipliziert werden. In den folgenden Tabellen sind ferner unter «Differenz» die Säuremengen aufgeführt, welche in den Filtraten nicht wieder gefunden, weil sie von den Basen des Caseins gesättigt worden sind. Wird eine gewisse Menge Säure der Milch zugesetzt, so verbindet sich ein Teil derselben mit den Basen des Caseins; es wird aber eine äquivalente Menge Casein frei, so daß wir genau den ursprünglichen Säuregrad der Milch + die zugesetzte Säuremenge titrieren werden. Im Filtrate finden wir dagegen nicht mehr den ursprünglichen Säuregrad des Milchserums + die zugesetzte Säuremenge; denn das saure Casein wird ja abfiltriert.²⁾ Da 100 g freien Caseins zur Bildung von Dicalciumcaseinat 1,55 g CaO, welche 222 ccm $n/4$ -Säure entsprechen, brauchen, so wird zu der völligen Entkalkung von 2 und 1,6 Teilen Casein (in der Form von Disalz) 4,4 beziehungsweise 3,5 ccm $n/4$ -Säure erforderlich sein. Die Milch Nr. 5 wurde mit normaler Salzsäure versetzt, während zu den anderen Milchproben $4 \times$ normale Milchsäure verwendet wurde.

Aus den Tabellen VII, VIII und IX ersieht man, daß die Koagulierung der Milch um die Bruttemperatur herum beginnt, bevor

¹⁾ Das Casein enthält nach Hammarsten 1,95% P_2O_5 .

²⁾ Es wird dem Filtrate auch dadurch ein wenig Säure entzogen, daß Tricalciumphosphat in Dicalciumphosphat umgebildet wird. Die zuerst zugesetzte Säure wird vorzugsweise hierzu verbraucht werden. Durch größere Säurezusätze lösen sich aber sämtliche Phosphate vollständig, und das Filtrat gewinnt wieder die in dieser Weise verlorene Säuremenge.

Tabelle VII.

Milch 5. 2% Casein, sterilisiert.	Gehalt des Filtrats an		Zur Neutralisation von 100 ccm Filtrat werden gebraucht ccm n/4			Durch die Entkalkung des Caseins werden gebunden ccm n/4
	CaO ‰	P ₂ O ₅ ‰	Berechnet	Gefunden u. korrig.	Differenz	
‰ HCl zugesetzt						
0	0,40*	0,82*	—	2,2*	—	4.4
cir. 0,7	0,91*	1,20*	10,2	6,7*	3,5	
1,0	1,24	1,38	14,2	10,6	3,6	
1,6	1,38	—	20,2	14,9	5,3	
2,2	1,44	1,45	26,2	18,2	8,0	
Korrigierter Gehalt der Milch an	1,45	1,47	Die Milch mit 1‰ HCl ließ sich durch Papier filtrieren; das Filtrat war jedoch nicht ganz klar; erst mit 1,6‰ HCl war die Gerinnung vollständig.			
Gefundener Gehalt der Milch an	1,39	1,79				

Tabelle VIII.

Milch 6. 2% Casein, sterilisiert.	Gehalt des Filtrats an		Zur Neutralisation von 100 ccm Filtrat werden gebraucht ccm n/4			Durch die Entkalkung des Caseins werden gebunden ccm n/4
	CaO ‰	P ₂ O ₅ ‰	Berechnet	Gefunden u. korrig.	Differenz	
‰ Milchsäure zugesetzt						
0	0,36*	0,50*	—	2,9*	—	4.4
1,8	0,90*	1,14*	10,9	7,7*	3,2	
3,6	1,37	1,32	18,9	14,9	4,0	
5,4	1,39	—	26,9	19,2	7,7	
7,6	1,40	1,35	34,9	26,0	8,9	
9,0	1,41	1,36	42,9	32,9	10,0	
Korrigierter Gehalt der Milch an	1,42	1,36	Die Milch koagulierte mit 3,6‰ Milchsäure und filtrierte noch leicht und klar mit 9‰ Milchsäure.			
Gefundener Gehalt der Milch an	1,37	1,70				

aller Kalk in Lösung gegangen, und speziell, bevor das Casein völlig entkalkt ist. In den sterilisierten Milchproben (Nr. 5 und 6) wurde das Casein ganz entkalkt, bevor alles Dicalciumphosphat in Monocalciumphosphat umgebildet worden war; in der budisierten Milch (Nr. 7) war dagegen alle Phosphorsäure gelöst

Tabelle IX.

Milch 7. 1,6% Casein, buddisiert.	Gehalt des Filtrats an		Zur Neutralisation von 100 ccm Filtrat werden gebraucht ccm $\frac{n}{4}$			Durch die Entkalkung des Caseins werden gebunden ccm $\frac{n}{4}$
	CaO ‰	P ₂ O ₅ ‰	Berechnet	Gefunden u. korrig.	Differenz	
‰ Milchsäure zugesetzt						
0	0,39*	0,81*	—	3,2*	—	
1,8	0,96*	1,26*	11,2	9,2*	2,0	
2,7	1,24	1,34	15,2	13,6	1,6	
3,6	1,29	1,34	19,2	16,0	3,2	
5,4	1,30	—	27,2	22,8	4,4	3,5
Korrigierter Gehalt der Milch an	1,30	1,33	Die Milch mit 2,7‰ Milchsäure ließ sich durch Papier filtrieren; die Filtrierung ging jedoch leichter, wenn 3,6‰ Milchsäure zugesetzt worden waren.			
Gefundener Gehalt der Milch an	1,26	1,61				

zu einem Zeitpunkt, wo das Casein noch an viel Kalk gebunden war, und wir sehen (in Übereinstimmung mit der Anmerkung 2, S. 14) eine deutliche Erniedrigung der Säuredifferenz in dem Momente, in welchem die letzte Phosphorsäure sich löst. Aus den Bemerkungen rechts unten in den Tabellen geht hervor — wie es auch zu erwarten war —, daß die vollständige Gerinnung der Milch bei der angewandten Temperatur erst dann eintritt, wenn das Casein fast völlig entkalkt ist. Von der stärkeren Salzsäure war eine der schwächeren Milchsäure äquivalente Menge nötig, um die Milch zur Gerinnung zu bringen.¹⁾ Da die Milch bei höherer Temperatur mit weit geringeren Säuremengen koaguliert, ist es natürlich zu untersuchen, ob die Entkalkung des Caseins möglicherweise bei höherer Temperatur leichter vor sich geht. Die Tabelle X zeigt, daß dies nicht der Fall ist. Überall stand die Mischung von Milch und Säure zwei Stunden bei der angegebenen Temperatur.

¹⁾ Je mehr Casein die Milch enthält, desto mehr Säure ist natürlicherweise zu seiner Ausfällung erforderlich. Da wir mit $\frac{3}{4}$ Milch und $\frac{1}{4}$ Wasser gearbeitet haben, müssen die Säuremengen mit $\frac{4}{3}$ multipliziert werden, um auf Milch von gewöhnlicher Zusammensetzung übertragen werden zu können.

Tabelle X.

Milch 8. 1,9‰ Casein, buddisiert. ‰ Milchsäure zugesetzt	Gehalt des Filtrats an:					
	CaO ‰			P ₂ O ₅ ‰		
	20°	60°	80°	20°	60°	80°
1,8	0,98*	1,12	0,92	1,14*	1,16	1,11
2,7	1,35	1,28	1,20	1,38	1,36	—
5,4	1,41	1,38	1,42	—	—	—
Korrigierter Gehalt der Milch an	1,39			1,37		
Gefundener Gehalt der Milch an	1,35			1,68		

Wie bei 35°, so begann die Milch auch bei 20° mit 2,7‰ Milchsäure zu koagulieren. Die Gerinnung war jedoch erst mit 5,4‰ vollständig. Bei 60° und 80° dagegen gerann die Milch vollständig mit nur 1,8‰ Milchsäure. Nichtsdestoweniger gehen durch die Säurebehandlung bei höherer Temperatur durchaus nicht mehr Kalk und Phosphorsäure in Lösung,¹⁾ und eine vollständige Entkalkung des Caseins kann somit unter diesen Umständen keine notwendige Bedingung für die Gerinnung der Milch sein. Man könnte deshalb annehmen, daß diese Erscheinung lediglich auf der bei höherer Temperatur leichter vor sich gehenden Ausflockung der Eiweißkörper durch die Wasserstoffionen beruht. Bedenkt man indessen, daß auch die caseinfällende Fähigkeit der Kalkionen mit der Temperatur wächst, und daß der Zusatz einer geringen Menge Säure zu der Milch in erster Linie deren Gehalt an löslichen Kalksalzen vermehrt und das Dicalciumcaseinat in das durch Kalksalze leichter fällbare Monocalciumcaseinat umwandelt, so sind wir geneigt, die durch Erwärmung der nur schwach sauren Milch stattfindende Gerinnung in höherem Maße der Kalksalzwirkung als der Säurewirkung zuzuschreiben. Bei der Kondensierung der Milch kann sich die Kalkwirkung sogar dann geltend machen, wenn auch die Milch vollkommen

¹⁾ In einzelnen Fällen findet mit steigender Temperatur sogar eine Abnahme der löslichen Aschenbestandteile statt. Dies ist nur ganz natürlich, wenn man bedenkt, daß durch die Erwärmung Kohlensäure entweicht und Phosphate und Citrate ausfallen können.

frisch ist¹⁾ und keine Spur von Milchsäure enthält; denn durch diesen Prozeß steigt nicht nur die Kalksalzkonzentration, sondern auch die Caseinatkonzentration, was, wie erwähnt, beides die Ausscheidung des Caseins beschleunigt. Um dieser Ausscheidung entgegenzuwirken, setzt man meistens ein wenig Soda zu der Milch, wodurch nicht nur die Wasserstoffionenkonzentration herabgesetzt wird, sondern auch Kalksalze ausgefällt werden.

Zum Schluß wollen wir noch **die Löslichkeit des Milchkoagels in Salzwasser** näher betrachten. Aus Untersuchungen von Hart und van Slyke²⁾ und später von de Vries und Bockhout³⁾ und von van Dam⁴⁾ geht es hervor, daß Casein und Paracasein mit einer gewissen Säuremenge in 5%igem Salzwasser löslich, mit größeren Säuremengen wieder unlöslich werden. Da jeder Käse gesalzen wird, versteht man leicht, welche Bedeutung dieser Umstand für die Käseausbeute und für die Konsistenz der Käsemasse haben kann. Die nebenstehende Tabelle zeigt das Verhalten verschiedener Caseinate dem Kochsalz gegenüber.

Da sich die Di- und Tricaseinate fast vollständig in reinem Wasser lösen (d. h. sich darin so fein verteilen, daß sie sich durch gewöhnliches Filtrierpapier filtrieren lassen), zeigt diese Tabelle nur, daß die Löslichkeit des freien Caseins und Monocalciumcaseinats durch Kochsalz erhöht wird.⁵⁾ Die Beobachtung

¹⁾ Es ist von der allergrößten Bedeutung, daß die zur Kondensierung verwendete Milch vollkommen frisch ist; denn nicht nur wird eine Spur von Säure, sondern auch die geringste Menge (durch Bakterien gebildetes) Lab beim Eindampfen Gerinnung hervorrufen können, indem das Paracasein durch halb so viel Kalk wie das Casein ausgeschieden wird.

²⁾ Nach den Angaben dieser Forscher (New York Agricul. Expt. Stat. 1905, Bull. Nr. 261) sind das freie Casein und Paracasein in Salzwasser löslich, die Verbindungen derselben mit Säure dagegen unlöslich.

³⁾ Revue générale du Lait 1909, Bd. 7, Nr. 17 und 18.

⁴⁾ Nach van Dam (Onzième Congrès international de Pharmacie) soll die Löslichkeit des Caseins und Paracaseins in Salzwasser lediglich von der vorhandenen H-Ionenkonzentration abhängen.

⁵⁾ Vom Monocalciumcaseinat ging bei Verwendung von 6% Casein 2,77% in die wässrige und 3,35% in die salzwässrige Lösung über.

Tabelle XI.

Es wurden überall 3 g Casein per 100 ccm Lösungsmittel verwendet	°/o NaCl zu- gesetzt	Durch Papier filtriert enthielt die Lösung	Durch Chamberlandsche Kerze filtriert °/o Casein
Freies Casein	0	0,06	—
„	5	0,44	—
Monocalciumcaseinat	0	1,56	—
„	5	2,63	—
Dicalciumcaseinat	0	2,84	0,30
„	5	2,94	0,23
Monocalciummononatriumcaseinat	0	2,89	0,22
Tricalciumcaseinat	0	2,94	0,05
„	5	2,89	0,12
Dinatriumcaseinat	0	2,99	1,74
„	1/2	2,99	1,19
„	2	2,99	0,07
„	5	2,99	0,07
Trinatriumcaseinat	0	2,96	2,20
„	5	2,91	1,18

des Versuches zeigt jedoch mehr als die Tabelle. Ähnlich wie die Natriumcaseinatlösungen durch Chlorcalciumzusatz nach und nach milchig werden, indem sie in Calciumcaseinatlösungen übergehen, so klären sich umgekehrt diese letzteren durch reichlichen Kochsalzzusatz, indem sie in Natriumcaseinatlösungen umgewandelt werden. Daß dies wirklich stattfindet, konnten wir dadurch beweisen, daß nach Zusatz von 5°/o NaCl die ganze Kalkmenge der Calciumcaseinate durch die Chamberlandsche Kerze filtrierbar wurden, während nur eine äußerst geringe Menge des Caseins durchging. Vielleicht ist die Lösung sämtlicher Globuline mittels Kochsalzes in ähnlicher Weise zu erklären. Da von früheren Forschern gezeigt worden ist, daß sich Natriumcaseinate im Gegensatz zu Calciumcaseinaten durch die Kerze filtrieren lassen,¹⁾ so wirkt es befremdend, daß eine kochsalzhaltige Lösung von Calcium-

¹⁾ Harris, Arch. of Anat. and Physiol. 1895, Bd. 29, S. 188.

caseinat, welche also nach dem vorhergehenden in Wirklichkeit eine Natriumcaseinlösung ist, nur wenig durch die Kerze filtrierbaren Stickstoffes enthält. Die obige Tabelle gibt jedoch die Erklärung; man sieht deutlich, wie der Dispersitätsgrad des Dinatriumcaseinats durch steigende Kochsalzmengen herabgesetzt wird.

Auch Chlorcalcium gegenüber verhält sich eine kochsalzhaltige Lösung von Dicalciumcaseinat wie eine wässrige Dinatriumcaseinatlösung; nur geht bei Zimmertemperatur die Trübung und Ausfällung langsamer vor sich. Eine kochsalzhaltige Lösung von Monocalciumcaseinat braucht dagegen zur Ausfällung viel mehr Chlorcalcium (12 statt 2‰) als eine reine wässrige Mononatriumcaseinatlösung. Sehr eigentümlich verhalten sich die Paracaseinate in Salzwasser. Sie werden wie gewöhnlich aus den entsprechenden Caseinatlösungen bei 30°—40° durch kleine Chlorcalcium- und Labmengen ausgeschieden,¹⁾ bei Zimmertemperatur lösen sie sich aber wieder. Der Prozeß läßt sich wiederholen, so oft man wünscht. Durch Erhöhung der Chlorcalciummenge (nach Einwirkung des Labes) auf 6‰ bleibt das Dicalciumparacaseinat auch in der Kälte ausgeschieden, das Monocalciumparacaseinat geht dagegen stets — unabhängig von der Chlorcalciummenge — durch Abkühlen wieder in Lösung.

Was nun die Milch selbst betrifft, so muß man bedenken, daß dieselbe lösliche Kalksalze (und eventuell auch andere Stoffe) enthält, welche der durch Kochsalz verursachten Überführung der Calciumcaseinate in Natriumcaseinate entgegenwirken. Da, wie wir soeben gesehen haben, die Dicalciumcaseinatlösung dieser Wirkung gegenüber empfindlicher ist als die Monocalciumcaseinatlösung, so kann es nicht verwundern, daß die Milch sich nicht durch Kochsalz allein klären läßt, sondern erst, wenn man ihr gleichzeitig so viel Säure zusetzt, daß das Dicalciumcaseinat in Monocalciumcaseinat umgewandelt wird. In gleicher Weise verhält sich auch die mit Lab behandelte Milch. Diese Tatsachen sind in der folgenden Tabelle zahlengemäß ausgedrückt.

¹⁾ Die klare, bei 40° abfiltrierte Molke enthielt aber noch über ein Drittel des Caseinstoffes.

Tabelle XII.

°/100 Milch- säure zugesetzt	Milch 6 (sterilisiert)						Milch 7 (buddisiert)					
	Per 100 ccm Milch wurden von den abfiltrierten Bestandteilen ccm $\frac{1}{4}$ -Säure gebunden			Löslicher N in % vom Gesamt-N			Per 100 ccm Milch wurden von den abfiltrierten Bestandteilen ccm $\frac{1}{4}$ -Säure gebunden			Löslicher N in % vom Gesamt-N		
	Ohne NaCl	Mit NaCl	Ohne Lab	Ohne NaCl	Mit NaCl	Mit Lab	Ohne NaCl	Mit NaCl	Ohne Lab	Ohne NaCl	Mit NaCl	Mit Lab
0	—	—	5,2*	6,0*	7,3*	7,0*	—	—	5,9*	6,7*	—	—
1,8	3,2	—	5,5*	26,0	19,3	50,0	2,0	—	5,9*	100,0	—	—
2,7	—	—	—	16,0	—	27,5	1,6	—	33,2	51,2	—	—
3,6	4,0	—	10,8	13,5	16,3	20,8	3,2	—	27,2	32,3	—	—
5,4	7,7	—	10,5	10,3	17,0	14,0	4,4	—	27,5	20,5	—	—
7,6	8,9	—	10,3	9,0	17,3	14,0	—	—	—	—	—	—
9,0	10,0	—	11,3	8,0	21,0	12,5	—	—	—	—	—	—
13,5	10,1	—	14,3	8,0	22,8	11,8	—	—	—	—	—	—
18,0	9,0	—	14,8	7,8	25,3	10,8	—	—	—	—	—	—
27,0	8,8	—	15,8	7,8	25,5	10,5	—	—	—	—	—	—
36,0	8,3	—	16,3	7,8	25,5	10,5	—	—	—	—	—	—

Um diese Tabelle zu verstehen, müssen wir erinnern, daß das Casein der zwei Milchproben erst völlig entkalkt sein kann, wenn 4,4 beziehungsweise 3,5 ccm $\frac{n}{4}$ -Säure gebunden sind (siehe die Säuredifferenzen der Tabelle VIII und IX), was einem Zusatz von 4⁰/₁₀₀ Milchsäure entsprechen würde. Um diesen Punkt herum nähern wir uns aber bereits dem Minimum der Salzwasserlöslichkeit der Eiweißstoffe. Das Maximum der Salzwasserlöslichkeit entsteht mit ungefähr der halben Säuremenge, also um den Punkt herum, wo das Casein sich als Monocalciumsalz befindet.¹⁾ Da die Phosphate auch etwas Säure binden (siehe die Anmerkung 2, S. 14), ist es sehr schwer, den günstigsten Säurezusatz im voraus zu berechnen. Bei der Milch 6 haben wir sie nicht, bei der Milch 7 dagegen gerade auf den Punkt getroffen. Durch größere Säuremengen, als zur Entkalkung des Caseins nötig sind, werden bekanntlich aus dem Casein und Paracasein wasserlösliche Acidalbumine gebildet. Die Tabelle XII zeigt, daß dieselben in 5⁰/₁₀₀ haltigem Salzwasser noch unlöslicher sind als das freie Casein und Paracasein.

Den Einfluß, welchen die Temperatur auf die Salzwasserlöslichkeit der Paracaseinate ausübt, findet man merkwürdigerweise nicht in der Milch wieder. Dieselbe mit 5⁰/₁₀₀ Kochsalz und Lab versetzt bleibt auch beim Abkühlen geronnen, und gerinnt überhaupt nicht, sondern hält sich auch bei Brutttemperatur vollständig durchsichtig, wenn ihr außerdem die zur Bildung von Monocalciumcaseinat nötige Säuremenge zugesetzt wird. Noch merkwürdiger verhält sich der Käse, bei welchem, wie bereits Hart und van Slyke gezeigt haben, das Löslichkeitsmaximum in Salzwasser bei 50—55° liegt. Nach unseren Untersuchungen ist es besonders bei Temperaturen unter 10°, daß die Käsemasse mit dem Salzwasser eine Gallerte bildet, anstatt in richtige Lösung zu gehen. Es geht von einem Käse um so mehr in Lösung, je mehr Salzwasser verwendet wird; denn durch die Verdünnung eliminiert man nach und nach die Wirkung der in der Käsemasse vorhandenen

¹⁾ Diese Tatsache habe ich bereits in «Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft», Jena 1913, S. 129 erwähnt.

Kalksalze (Lactate, Phosphate und Citrate), so daß nicht nur Monocalcium-, sondern auch Dicalciumparacaseinat gelöst wird. Bedenkt man ferner, daß die Salzwasserlöslichkeit des Käses nicht nur durch zu wenig, sondern auch durch zu viel Säure vermindert wird, so können wir der von amerikanischer Seite vorgeschlagenen Bestimmung vom salzwasserlöslichen Stickstoff nicht viel Wert beilegen.

In der Milch liegt die maximale Löslichkeit des Monocalciumcaseinats (beziehungsweise -paracaseinats) bei einem Chlornatriumgehalt von 5—10%. Mit größeren Salzmengen nimmt die Löslichkeit bald ab, und das Monocalciumcaseinat läßt sich aus der Milch ebenso vollständig aussalzen wie das Dicalciumcaseinat.¹⁾ Ein Gehalt der Milch von 25% NaCl reicht hierfür aus. Die in der Käserei verwendete Salzlake muß aber auch mindestens diese Konzentration haben, denn in dünnerer Lake werden die Käse schmierig wegen beginnender Auflösung des Monocalciumparacaseinats. Ist die dünne Lake frisch bereitet und folglich kalkarm, so wird sie sogar auf das Dicalciumparacaseinat lösend wirken können. Wenn die Käsemasse vor dem Formen (also im Bruch) gesalzen wird, leuchtet es ein, daß der Verlust an Eiweißsubstanz um so größer sein wird, je reicher an Molke und Monocalciumparacaseinat sie ist.

Zusammenfassung.

1. Wenn das Kasein der Milch — im Gegensatz zu dem der reinen Dicalciumcaseinatlösungen — erst in der Wärme von Chlorcalcium gefällt wird, so ist dies dem Gehalt der Milch an Citraten und möglicherweise auch an anderen Salzen zuzuschreiben.

2. Die mit der Labwirkung einhergehende Eiweißspaltung ist nicht von einer Erhöhung des Formoltiters der Milch begleitet.

¹⁾ Nach den Untersuchungen von Schmidt-Nielsen (Videnskabs-Selskabets Skrifter I, Christiania 1908, Nr. 9) sind die Kalksalze der Milch notwendig für das Aussalzen, denn reine Caseinatlösungen lassen sich von kalkfreiem Kochsalz nicht aussalzen.

3. Bei 35° beginnt die Koagulierung der Milch mit Säure, bevor das Casein völlig entkalkt ist. Die bei höherer Temperatur stattfindende sogenannte Säuregerinnung der nur schwach sauren Milch ist eher als eine durch Kalksalze hervorgerufene Gerinnung aufzufassen.

4. Calciumcaseinate und -paracaseinate bilden mit Salzwasser klare Lösungen, indem sie in Natriumcaseinate umgewandelt werden. Die in der Milch vorkommenden löslichen Kalksalze hindern indessen die Lösung der Dicalciumsalze, so daß hier nur Monocalciumcaseinat und -paracaseinat in Lösung gehen.
