

## Beiträge zur Kenntnis des Caseins und Paracaseins.

Von

Dr. T. Kikkoji aus Kioto (Japan).

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 29. Juni 1909.)

In einer Arbeit über die spontane Ausscheidung einer Caseinverbindung aus der Kuhmilch hat Luigi Preti<sup>1)</sup> darauf hingedeutet, daß feuchtes Paracasein sich in einer Suspension von Calciumcarbonat etwas mehr als trockenes zu lösen scheint. Er gab ferner in derselben kurz an, daß mit verdünnter Salzsäure (ca. 10%) extrahiertes Paracasein den normalen Phosphorgehalt des Caseins aufwies, und daher der hohe Phosphorgehalt desselben wohl ausschließlich auf den größeren Gehalt an Calciumphosphat zu beziehen sei. Er versuchte weiter, das Paracasein durch Labferment zur Gerinnung zu bringen, der Versuch mißlang jedoch dadurch, daß beim Zusatz von Phosphorsäure zu der Lösung des Paracaseins in Kalkwasser immer Niederschläge sich bildeten, lange ehe neutrale Reaktion erreicht war. Die Unmöglichkeit, den Versuch anzustellen, schrieb er mit Wahrscheinlichkeit dem Umstand zu, daß das angewandte Paracasein nicht gereinigt und sehr kalkreich war. Er stellte den Versuch nur mit der alkalisch reagierenden Paracaseinlösung an, naturgemäß ohne zur Entscheidung zu gelangen. Unter diesen Umständen habe ich auf Veranlassung von Professor E. Salkowski Untersuchungen ausgeführt in bezug auf die folgenden Fragen:

I. a) Die Löslichkeit der beiden, nicht weiter gereinigten feuchten Caseine und des käuflichen «Casein» nach Hammarsten beim Verreiben mit frisch gefälltem, gut ausgewa-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 419.

schenem Calcium-, Baryum-, Strontium-, Magnesiumcarbonat und Zinkcarbonat.

b) Wie die Löslichkeit der Caseine von der Temperatur beeinflußt wird.

II. Ob sich der Phosphorgehalt des Paracaseins sicher bis 0,85% erniedrigen läßt

a) durch wiederholtes Umfällen aus der alkalischen Lösung mit Säure,

b) durch bloßes Ausziehen mit Säure.

III. Ob das gereinigte Paracasein sich durch Lab zur Gerinnung bringen läßt.

I. Die Präparate, die zu diesen Versuchen dienten, habe ich so dargestellt und zwar jedesmal von neuem, daß rohe Milch zuerst mit dem doppeltem Volumen Wasser verdünnt und in zwei Teile geteilt wurde. In einem Teile wurde Casein mit stark verdünnter Essigsäure ausgefällt, dem anderen auf je 100 ccm 5 ccm einer 0,1%igen Labpulverlösung hinzugefügt, in den Brutschrank eingestellt usw. Beide Niederschläge wurden mit Wasser gründlich ausgewaschen und schließlich zwischen Leinentüchern gut abgepreßt. Die Bestimmung über die Löslichkeit wurde der Vollständigkeit halber sowohl mit dem feuchten Rohcasein und Paracasein, als auch mit Casein nach Hammarsten, und trockenem Rohparacasein, welches nur einmal mit Alkohol und Äther behandelt war, ausgeführt. Ca. 4 g Casein oder Paracasein wurden mit 300 ccm Wasser unter Zusatz von dem betreffenden frischgefällten, gut ausgewaschenen Carbonat in der Reibschale längere Zeit verrieben, dann wurde der eine Teil sofort durch ein trocknes Filter (Schleicher & Schüll 597) filtriert, der andere Teil in einem Erlenmeyer-Kolben auf dem Wasserbade unter oftmaligem Umschütteln erwärmt und dann in der Wärme filtriert.

Ein anderes Mal habe ich beide Filtrate ca. 15—20 Minuten lang stark zentrifugiert (das in der Wärme bereitete Filtrat immer unter Warmhalten usw.) und wieder filtriert. In den gewonnenen Filtraten wurden sofort N und das betreffende Metall bestimmt.

Die Calciumbestimmung geschah so, daß eine abgemessene

Menge des Filtrates in der Platinschale abgedampft, der Rückstand mit Salpetermischung geschmolzen, in Wasser unter Zusatz von Salpetersäure gelöst, die Lösung in der üblichen Weise mit oxalsaurem Ammon gefällt wurde. Baryum, Magnesium, Strontium und Zink wurden so bestimmt, daß eine gewisse Menge Filtrat nach A. Neumann in einem Kjeldahlkolben mit Schwefelsäure und wenig Salpetersäure erhitzt wurde, bis die Flüssigkeit ganz farblos geworden war. Die erkaltete Flüssigkeit wurde mit Wasser verdünnt und bei den anderen Elementen außer Zink quantitativ allmählich in eine abgewogene Platinschale übergeführt, auf dem Sandbade erhitzt, bis überschüssige Schwefelsäure verjagt war, der Rückstand schließlich mäßig geglüht. Das Zink wurde aus der verdünnten Lösung mit Natriumcarbonatlösung gefällt und als kohlen-saures Zink bestimmt usw.

Casein- und Paracaseinfiltrate reagierten fast neutral oder äußerst schwach alkalisch gegen Lackmus, nur das Magnesiumcaseinatfiltrat alkalisch. Der Unterschied zwischen den Filtraten in der Wärme und in der Zimmertemperatur war ganz deutlich; die in der Wärme hergestellten Lösungen waren opalisierend, milchig, während bei Zimmertemperatur hergestellte nur leicht trüb erschienen. Beim Erwärmen nahm die Opalescenz dieser Lösungen zu, beim Erkalten wieder ab, indessen blieben je nach der Höhe der angewendeten Temperatur und Dauer der Erwärmung mehr oder weniger feine suspendierte Koagulumpartikelchen zurück. Diese Tatsache ließ schon vermuten, daß die Temperaturerhöhung die Löslichkeit der Caseine nicht günstig beeinflussen werde. Dem entsprechen die Analysenergebnisse. Beim Casein sind die Analysen sowohl der nur filtrierten, als auch der noch dazu zentrifugierten und dann nochmals filtrierten Filtrate mitgeteilt, bei Paracasein nur die der filtrierten, weil bei letzterem die Resultate der beiden Lösungen fast übereinstimmten.

Aus Tabelle I ergeben sich folgende Schlußfolgerungen.

1. Die angewendeten Präparate lösen sich in sehr verschiedenem Grade in der Suspension von kohlen-saurem Kalk, am wenigsten das trockene Paracasein, ihm folgen der Reihe

## I. Versuch mit Calciumcarbonat.

100 ccm Filtrat enthalten:

|                            | Ver-<br>suchs-<br>num-<br>mer | Casein nach<br>Ham-<br>marsten |        | Feuchtes<br>Säurecasein |        | Trockenes<br>Roh-<br>paracasein |        | Feuchtes<br>Roh-<br>paracasein |        |
|----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|-------------------------|--------|---------------------------------|--------|--------------------------------|--------|
|                            |                               | N                              | Ca     | N                       | Ca     | N                               | Ca     | N                              | Ca     |
| Zimmer-<br>tem-<br>peratur | 1                             | 0,1394                         | 0,0247 | 0,0315                  | 0,0114 | 0,0028                          | 0,0042 | 0,0045                         | 0,005  |
|                            | 2                             | 0,1421                         | 0,0248 | 0,0322                  | 0,0119 | 0,0010                          | 0,0039 | 0,0040                         | 0,0048 |
|                            | 1 <sup>1)</sup>               | 0,1358                         | 0,0247 | 0,0315                  | 0,0117 | —                               | —      | —                              | —      |
|                            | 2'                            | 0,1165                         | 0,0215 | 0,0287                  | 0,0154 | —                               | —      | —                              | —      |
| In der<br>Wärme            | 3                             | 0,1409                         | 0,0203 | 0,0318                  | 0,0112 | 0,0021                          | 0,0032 | 0,0017                         | 0,0029 |
|                            | 4                             | 0,1414                         | 0,0221 | 0,0325                  | 0,0110 | 0,0008                          | 0,0035 | 0,0027                         | 0,0031 |
|                            | 3'                            | 0,1184                         | 0,0218 | 0,0298                  | 0,0113 | —                               | —      | —                              | —      |
|                            | 4'                            | 0,1142                         | 0,0203 | 0,0277                  | 0,0149 | —                               | —      | —                              | —      |

## II. Versuch mit Baryumcarbonat.

100 ccm Filtrat enthalten:

|                            | Ver-<br>suchs-<br>num-<br>mer | Casein nach<br>Ham-<br>marsten |        | Feuchtes<br>Säurecasein |        | Trockenes<br>Roh-<br>paracasein |        | Feuchtes<br>Roh-<br>paracasein |        |
|----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|-------------------------|--------|---------------------------------|--------|--------------------------------|--------|
|                            |                               | N                              | Ba     | N                       | Ba     | N                               | Ba     | N                              | Ba     |
| Zimmer-<br>tem-<br>peratur | 1                             | 0,1212                         | 0,0412 | 0,0301                  | 0,0321 | 0,0015                          | 0,0061 | 0,0025                         | 0,0100 |
|                            | 2                             | 0,1330                         | 0,0407 | 0,0275                  | 0,0161 | 0,0011                          | 0,0044 | 0,0027                         | 0,0120 |
|                            | 1'                            | 0,1123                         | 0,0406 | 0,0299                  | 0,0159 | —                               | —      | —                              | —      |
|                            | 2'                            | 0,1134                         | 0,0407 | 0,0294                  | 0,0169 | —                               | —      | —                              | —      |
| In der<br>Wärme            | 3                             | 0,1218                         | 0,0411 | 0,0308                  | 0,0320 | 0,0014                          | 0,0058 | 0,0025                         | 0,0100 |
|                            | 4                             | 0,1334                         | 0,0405 | 0,0315                  | 0,0158 | 0,0010                          | 0,0042 | 0,0022                         | 0,0110 |
|                            | 3'                            | 0,1120                         | 0,0405 | 0,0218                  | 0,0141 | —                               | —      | —                              | —      |
|                            | 4'                            | 0,0948                         | 0,0380 | 0,0280                  | 0,0153 | —                               | —      | —                              | —      |

<sup>1)</sup> In allen Tabellen beziehen sich die Zahlen mit einem ' auf dieselben Filtrate zentrifugiert.



## III. Versuch mit Strontiumcarbonat.

100 ccm Filtrat enthalten:

|                            | Ver-<br>suchs-<br>num-<br>mer | Casein nach<br>Ham-<br>marsten |        | Feuchtes<br>Säurecasein |        | Trockenes<br>Roh-<br>paracasein |        | Feuchtes<br>Roh-<br>paracasein |        |
|----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|-------------------------|--------|---------------------------------|--------|--------------------------------|--------|
|                            |                               | N                              | Sr     | N                       | Sr     | N                               | Sr     | N                              | Sr     |
| Zimmer-<br>tem-<br>peratur | 1                             | 0,1456                         | 0,0421 | 0,0322                  | 0,0145 | 0,0017                          | 0,0067 | 0,0025                         | 0,0048 |
|                            | 2                             | 0,1442                         | 0,0420 | 0,0308                  | 0,0150 | 0,0020                          | 0,0088 | 0,0029                         | 0,0051 |
|                            | 1'                            | 0,1316                         | 0,0421 | 0,0294                  | 0,0143 | —                               | —      | —                              | —      |
|                            | 2'                            | 0,1260                         | 0,0429 | 0,0308                  | 0,0149 | —                               | —      | —                              | —      |
| In der<br>Wärme            | 3                             | 0,1461                         | 0,0384 | 0,0328                  | 0,0145 | 0,0015                          | 0,0064 | 0,0022                         | 0,0047 |
|                            | 4                             | 0,1470                         | 0,0382 | 0,0310                  | 0,0149 | 0,0017                          | 0,0084 | 0,0027                         | 0,0049 |
|                            | 3'                            | 0,1190                         | 0,0409 | 0,0280                  | 0,0141 | —                               | —      | —                              | —      |
|                            | 4'                            | 0,1120                         | 0,0382 | 0,0294                  | 0,0144 | —                               | —      | —                              | —      |

## IV. Versuch mit Magnesiumcarbonat.

100 ccm Filtrat enthalten:

|                            | Ver-<br>suchs-<br>num-<br>mer | Casein nach<br>Ham-<br>marsten |        | Feuchtes<br>Säurecasein |        | Trockenes<br>Roh-<br>paracasein |        | Feuchtes<br>Roh-<br>paracasein |        |
|----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|-------------------------|--------|---------------------------------|--------|--------------------------------|--------|
|                            |                               | N                              | Mg     | N                       | Mg     | N                               | Mg     | N                              | Mg     |
| Zimmer-<br>tem-<br>peratur | 1                             | 0,1988                         | 0,0227 | 0,0526                  | 0,0264 | 0,0196                          | 0,0269 | 0,0084                         | 0,0189 |
|                            | 2                             | 0,1946                         | 0,0240 | 0,0336                  | 0,0276 | 0,0210                          | 0,0233 | 0,0129                         | 0,0301 |
|                            | 1'                            | 0,1960                         | 0,0226 | 0,0263                  | 0,0184 | —                               | —      | —                              | —      |
|                            | 2'                            | 0,1890                         | 0,0227 | 0,0352                  | 0,0269 | —                               | —      | —                              | —      |
| In der<br>Wärme            | 3                             | 0,2066                         | 0,0225 | 0,0528                  | 0,0263 | 0,0192                          | 0,0263 | 0,0070                         | 0,0172 |
|                            | 4                             | 0,1956                         | 0,0229 | 0,0336                  | 0,0274 | 0,0154                          | 0,0217 | 0,0056                         | 0,0134 |
|                            | 3'                            | 0,1848                         | 0,0222 | 0,0261                  | 0,0180 | —                               | —      | —                              | —      |
|                            | 4'                            | 0,1834                         | 0,0218 | 0,0329                  | 0,0242 | —                               | —      | —                              | —      |

nach das feuchte Paracasein, das feuchte nicht gereinigte Säurecasein, das Casein nach Hammarsten. Die Unterschiede zwischen den beiden letzteren sind besonders groß. Die Anwesenheit anorganischer Salze im Säurecasein, vielleicht auch die des Fettes ist ein Hindernis für die Lösung d. h. für die Bildung des löslichen Calciumsalzes.

2. Die Löslichkeit sämtlicher Produkte nimmt in der Wärme etwas ab, doch findet sich bei den nicht zentrifugierten Filtraten mitunter das Gegenteil infolge des Passierens feinsten Flöckchen durch das Filter. Aus den in Tabelle II u. III enthaltenen Versuchen mit Baryum- und Strontiumcarbonat ergeben sich im allgemeinen dieselben Schlußfolgerungen.

Bei Anwendung von Magnesiumcarbonat (Tabelle IV) ist der Unterschied zwischen Zimmertemperatur und Wärme nicht deutlich zu erkennen, im übrigen ist das Verhalten dasselbe, das feuchte Paracasein löst sich indessen nicht mehr als das trockene.

In den Filtraten beider Caseine in der Suspension von Zinkcarbonat und Wasser wurden nur minimale Menge von Stickstoff und Metall gefunden.

II. Zu diesem Versuche wurde das Paracasein aus Kuhmilch dargestellt und gereinigt

a) durch mehrmaliges Auflösen (4—5 mal) in Wasser mit Hilfe von stark verdünnter Natronlauge (ca.  $n/100$ -Lauge) und Ausfällung mit sehr verdünnter Essigsäure, gründliches Auswaschen mit Wasser, Entwässerung und Entfettung mit Alkohol und Äther usw.,

b) durch wiederholtes Ausziehen mit ca. 5%iger HCl.

Beide Präparate wurden im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet und analysiert.

a) Die Analysen des durch Umfällung aus der alkalischen Lösung mit Säure gereinigten Paracaseins ergaben:

|                   |       |                       |             |
|-------------------|-------|-----------------------|-------------|
| 0,6144 g Substanz | gaben | 0,0184 g $Mg_3P_2O_7$ | = 0,84 % P. |
| 0,6247 »          | »     | 0,0189 »              | = 0,85 % »  |
| 0,3165 »          | »     | 0,0100 »              | = 0,88 % »  |

b) Die Analysen des durch bloßes Ausziehen mit Säure gereinigten Paracaseins ergaben:

|                         |                       |             |
|-------------------------|-----------------------|-------------|
| 0,7438 g Substanz gaben | 0,0227 g $Mg_3P_2O_7$ | = 0,85 % P. |
| 0,5300 „ „              | 0,0158 „ „            | = 0,83 % „  |
| 0,5284 „ „              | 0,0164 „ „            | = 0,87 % „  |

| Versuchsnummer     | Phosphorgehalt des durch Umfällung aus der alkalischen Lösung mit Säure gereinigten Paracaseins<br>% | Phosphorgehalt des durch bloßes Ausziehen mit Säure gereinigten Paracaseins<br>% |
|--------------------|--|--|
| I                  | 0,84   | 0,85   |
| II                 | 0,85   | 0,83   |
| III                | 0,88   | 0,87   |
| Mittelzahl . . . . | 0,86   | 0,85   |

Durch nebenher ausgeführte Calciumbestimmungen einerseits mit Rohparacasein, andererseits mit den gereinigten Präparaten konnte ich mich überzeugen, daß der Calciumgehalt der letzteren sehr niedrig war, während der von dem Rohparacasein 1,2—2,1 % betrug. Der Versuch zeigt mit Sicherheit, daß der Phosphorgehalt des gereinigten Paracaseins so gut wie vollständig mit dem des Caseins übereinstimmt, und sich daher der hohe Phosphorgehalt des nicht gereinigten Paracaseins auf den höheren Gehalt an Calciumphosphat bezieht.

III. Um den Gerinnungsversuch des Paracaseins anzustellen, habe ich die in der oben erwähnten Weise gereinigten, wenig phosphorhaltigen Präparate angewandt. Nach Courant wurde 0,3 g gereinigtes Paracasein in 10 ccm gesättigten Kalkwassers gelöst und soviel Phosphorsäure langsam hinzugefügt, bis die Lösung für Phenolphthalein neutral reagierte. Beim Zufügen von Phosphorsäure entstanden mehr oder weniger Niederschläge, doch durch starkes Umrühren verschwanden sie bis auf geringe Flöckchen. Daher beruht es ohne Zweifel auf größerem Kalkgehalt des Paracaseins, daß in den Versuchen von Preti bei der Neutralisation der Rohparacaseinkalkwasserlösung mit Phosphorsäure eine Fällung entstand. Die Proben der nochmals filtrierten neutralen Paracaseinlösung wurden unter Zusatz von rohem und gekochtem Lab lange Zeit bei 37—38° gehalten.

Zwischen beiden zeigte sich immer gar kein Unterschied. In den wiederholten, gleichartig angestellten Versuchen war die Gerinnung niemals zu erhalten. Ein anderes Mal wurde der Versuch so angestellt, daß der neutralen Paracaseinlösung eine geringe Menge von den die Caseinfällung begünstigenden Mitteln Chlorcalcium, Calciumsulfat usw. hinzugefügt wurde. Das Ergebnis war wieder negativ.

Nach diesen Versuchen läßt sich auch das gereinigte Paracasein durch Lab nicht zur Gerinnung bringen, in Übereinstimmung mit unseren heutigen von Hammarsten u. A. begründeten Anschauungen über den Vorgang der Labgerinnung und in Widerspruch mit den Ansichten von Loewenhardt,<sup>1)</sup> der Casein und Paracasein für denselben chemischen Körper hält.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 177.

---