

2377

Ein Beitrag

zur

Kenntniss der Milch.



Von

Prof. Alexander Schmidt

in Dorpat.



Dorpat 1874.

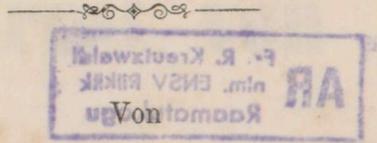
Druck von W. Gläser.

Le 21007_{L5}

Ein Beitrag

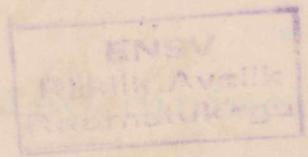
zur

Kenntniss der Milch.



Prof. **Alexander Schmidt**

in Dorpat.



Dorpat 1874.

Druck von W. Gläser.

Ein Beitrag

Der Druck gestattet.
Dorpat den 19. August 1874. Im Namen des Conseils
Nr. 338. Rector G. v. Oettingen.

AR Fr. R. Kreuzwald
nim. ENSV Riikik
Raamatukogu

93.455

Ar 279 B

Schmitt

Dorpat 1874

Druck von H. Giese

Zur

Feier des Tages,

an welchem vor

sechszig Jahren

Karl Ernst von Baer

zum

Doctor der Medicin

hieselbst promovirt ward,

glückwünschend dargebracht

von der

Medicinischen Facultät

in Dorpat

am 29. August (10. September) 1874.

Die nachfolgenden Mittheilungen stützen sich zum Theil auf eine vor einem halben Jahre im hiesigen physiologischen Institute von dem Herrn stud. Kappeller unter meiner Leitung ausgeführte Untersuchung, deren Resultate derselbe in seiner Inauguraldissertation unter dem Titel: »Untersuchungen über das Casein« der Oeffentlichkeit übergeben hat.

Da äussere Gründe den Dr. Kappeller an der genaueren Durchführung seiner Arbeit hinderten und ihr deshalb neben den unzweifelhaften Resultaten, welche sie aufweist, noch manches Schwankende und Unsichere anhaftet, der Weg aber, welchen er einschlug, dem Ziele näher zu führen versprach, so hielt ich die Mühe, diesen Weg noch einmal zu gehn, für keine vergebliche. Ich habe deshalb sämtliche Versuche Kappellers einer nochmaligen Revision unterworfen, ebenso die Methoden, deren er sich bedient hat. Indem es mir gelang die letzteren in mancher Hinsicht zu verschärfen, wurde es mir auch möglich ihnen eine ausgedehntere Anwendung zu geben, als es von Seiten Kappellers geschehen ist.

Diese Arbeit hat mir zunächst dazu gedient, die Ueberzeugung von der Richtigkeit der wesentlichsten Angaben Kappeller's in mir zu befestigen. Der Versuch, dieselben aus der eng umgrenzten Wirkungssphäre einer Dissertationschrift heraus zu heben und sie einem weiteren Leserkreise zugänglich zu machen, wäre mithin an sich gerechtfertigt; er wird aber von der Sache gefordert, wenn man in der Lage ist, manche Ergänzung und Verbesserung anzubringen.

Ich werde in dem Nachfolgenden die von Kappeller gefundenen Thatsachen von demjenigen abzuheben suchen, was ich meinerseits hinzu gethan; ebenso werde ich mich seinen Beweisführungen gegenüber verhalten. Wo ich glaube einer seiner Schlussfolgerungen nicht beistimmen zu können, werde ich die Gründe für mein abweichendes Verhalten, möglichst mit Thatsachen belegt, angeben. In Betreff der Anordnung des mitzutheilenden Materials werde ich jedoch meine eigene Wahl treffen.

Das ausschliessliche Objekt dieser Untersuchungen war die Kuhmilch.

Reingewinnung des Caseins.

Als geeignetste Methode zur Beschaffung reinen Caseins schien sich Kappeller zunächst die Dialyse darzubieten; es sollte abgerahmte Milch auf diese Weise vollständig von allen krystalloiden Bestandtheilen befreit, dann das sich voraussichtlich ausscheidende Casein durch Filtriren von der Flüssigkeit getrennt und durch Aether vollkommen entfettet werden. Wenn dieses Casein in dem gesammelten und auf das Volum der ursprünglich verwendeten Milch eingeengten Diffusat sich wieder auflöste und sich in dieser Lösung wie in der Milch selbst verhielt, so war anzunehmen, dass es während der Dialyse selbst keine Veränderung erlitten.

Diese Methode führte jedoch nicht zum Ziele, zwar schied sich das Casein allmählich vollkommen aus, bald als feiner, in der Flüssigkeit sich leichtvertheilender Niederschlag, bald in einer dem Boden des Dialysators ziemlich fest anhaftenden Schicht. Nach dem Abfiltriren und Auswaschen ergab die Aschenanalyse nur noch unwägbare Spuren von phosphorsaurem Kalk, aber das so gewonnene Casein entsprach offenbar nicht mehr dem in der Milch enthaltenen; es war unlöslich in Natronlauge, in Essigsäure und in dem Milchdiffusat, also in denjenigen Stoffen, welche seine Auflösung in der Milch bis zum Moment der dialytischen Trennung bewirkt hatten; dass die letzteren selbst während der Dialyse keine Veränderung erlitten hatten, wird sich später zeigen. Das durch Dialyse gereinigte Casein ist also jedenfalls ein wesentlich verändertes.

Im Blutserum ist bekanntlich ein Eiweisskörper enthalten, dessen chemisches Verhalten dem des Casein sehr nahesteht, die fibrinoplastische Substanz (Paraglobulin, Serumcasein). Bei dem Versuch, denselben durch Dialyse von den übrigen Serumbestandtheilen zu trennen, bin ich auf ganz ähnliche Schwierigkeiten gestossen, wie Kappeller beim Casein. Derselbe wird zwar nicht ganz unlöslich in Natron, Essigsäure und in den Diffusatbestandtheilen des Blutserum; es ist aber hierbei zu berücksichtigen, dass er von vornherein viel leichter löslich in diesen Agentien ist als das Casein. Es genügt, dass seine Löslichkeit während der dialytischen Ausscheidung beträchtlich abnimmt. In einer anderorts erscheinenden Abhandlung über das Blutserum behandle ich diese Erscheinung ausführlicher und gebe zugleich die Gründe an, welche mich zur Annahme veranlassen, dass die durch die Dialyse bewirkte ausgedehnte Berührung mit der atmosphärischen Luft unter Mitwirkung der Zimmerwärme

die Hauptursachen für diese mit der dialytischen Ausscheidung verknüpfte Umwandlung der in Rede stehenden Eiweisskörper ist.

Ich habe jedoch gefunden, dass die Dialyse sehr gut am Platze ist, wenn es sich darum handelt, gewisse mit grösserer Diffusionsgeschwindigkeit begabte krystalloide Bestandtheile der Milch vollständig aus der Milch zu entfernen und auf diese Weise relativ reines Casein darzustellen. Die Stoffe, von welchen das Casein auf dem Wege der Dialyse leicht befreit werden kann, sind die in Wasser löslichen Salze der Milch und der Milchzucker. Um dieselben aus der Milch zu entfernen, bringe ich 25 Ccm. frischer, abgerahmter Milch in einen mit de la Rue'schem Pergamentpapier überspannten Dialysator von 137 mm. Durchmesser und tauche denselben in ein 500 Ccm. destillirtes Wasser enthaltendes Gefäss; dieses Wasser wechsele ich während des ersten Tages etwa alle 20 Minuten, am folgenden Tage jedoch nur stündlich. Der häufige Wechsel des äusseren Wassers im Laufe des ersten Tages ist nothwendig, um diejenigen krystalloiden Bestandtheile der Milch, welche ihre spontane Säuerung und Caseinausscheidung herbeiführen, zu entfernen, bevor sie noch zur Wirkung kommen; versäumt man diese Vorsichtsmassregel, so findet man die Milch im Dialysator meist schon am zweiten Tage geronnen. Diesem Uebelstande entgeht man mit Sicherheit durch sehr häufigen Wechsel des äusseren Wassers, wenigstens während der ersten 10 Stunden der Dialyse.

Nach spätestens 30—36 Stunden entferne ich die Milch aus dem Dialysator; durch mehrfach zusammengelegtes aschenfreies Papier filtrirt liefert sie ein fast fettfreies opalisirendes, neutral reagirendes Filtrat, in welchem fast sämtliches Casein sich noch in Lösung befindet, welches aber, wie die Aschenanalyse lehrt, auch keine Spur von löslichen Salzen mehr enthält; ich habe namentlich die völlige Abwesenheit der Chloralkalien und der phosphorsauren Alkalien mehrfach constatirt, dagegen hinterliess der getrocknete Rückstand der dialysirten Milch beim Veraschen stets eine beträchtliche Menge von Kalk und Magnesiaphosphat.

Aus dieser von den löslichen Salzen befreiten Milch wird das Casein durch Ansäuern vollkommen gefällt, das Filtrat enthält stets noch eine geringe Menge von Albumin, welche unter Mitwirkung der bereits vorhandenen Säure durch Kochen coagulirt wird. Nach nochmaligem Filtriren erhielt ich eine eiweissfreie Flüssigkeit, welche sich bei Anwendung der Trommer'schen Probe als völlig zuckerfrei erwies.

Da nach Entfernung sämtlicher in Wasser löslichen Salze der Milch das Casein in Lösung blieb, ohne irgend welche Veränderung seiner Eigenschaften zu zeigen, so folgt aus diesen Versuchen zunächst, dass diese Salze an dem gelösten Zustande desselben in der Milch keinen Antheil haben. Es bleibt als Lösungsmittel nur der phosphorsaure Kalk (und Magnesia) übrig, resp. die Verbindungen in welchem die Erdphosphate in der Milch präexistiren.

Lässt man die Dialyse der Milch nun noch über die angegebene Zeit hinausdauern, so scheidet sich im Dialysator allmählig sämtliches Casein in unlöslicher Gestalt aus. In das Diffusat gehn dabei geringe Mengen von Albumin über, welche beim Eindampfen gerinnen und durch Filtriren entfernt werden können. Das strohgelb gefärbte Filtrat reagirt anfangs neutral, doch findet bald ein Umschlagen in die alkalische Reaktion statt; vollkommen getrocknet, hinterlässt dasselbe einen braunen Rückstand, welcher beim Verkohlen den bekannten Geruch nach verbrannter Hornsubstanz entwickelt, also jedenfalls stickstoffhaltig ist und beim Verglühen eine Asche zurücklässt, welche nur aus phosphorsaurem Kalk und Magnesia besteht. Der Umschlag in die alkalische Reaktion beruht jedenfalls nur auf dem Eintritt von Zersetzungen in den organischen Bestandtheilen des Diffusates, welche mit Amoniakentwicklung Hand in Hand gehn.

Es geht hieraus hervor, dass die Auflösung der phosphorsauren Erden in dem neutral oder alkalisch reagirenden Diffusat der Milch nur durch die erwähnten organischen Bestandtheile desselben bewirkt sein können, nach deren Zerstörung durch Verbrennen sie deshalb auch als in Wasser unlösliche Asche zurückbleiben; in welchen Verbindungen sie aber hier bestehen, habe ich noch nicht ermittelt. Diese verbrennlichen, krystalloiden Bestandtheile der Milch und zwar wahrscheinlich grade diejenigen, welche die Lösung der Erdsalze bewirken, sind nun auch die Lösungsmittel für das Casein, dessen Ausscheidung im Dialysator deshalb mit ihrem Uebertritt in das Diffusat gleichen Schritt hält.

Ich werde in einer späteren Arbeit den Beweis liefern, dass auch die fibrinoplastische Substanz im Blutserum durch die organischen, krystalloiden mit den Erdphosphaten verbundenen Bestandtheile des Blutserum in Lösung erhalten wird, so dass dieselbe, so lange diese Stoffe noch in genügender Menge vorhanden sind, trotz vollkommener dialytischer Entfernung der viel schneller diffundirenden in Wasser löslichen Mineralbestandtheile des Blut-

serum durchaus in Lösung bleibt. Aus dieser neutralen Lösung werden beide Eiweisskörper durch Ansäuern gefällt, doch zeigt sich hierbei, so lange die neutralen Alkalisalze noch zugegen sind, der Unterschied, dass die fibrinoplastische Substanz eines hohen Verdünnungsgrades zu ihrer Fällung bedarf, was beim Casein nicht der Fall ist.

Ganz anders als die späteren verhalten sich die zuerst gesammelten Diffusate der Milch; da die Trennung der einzelnen Diffusatbestandtheile von einander durch die fraktionirte Dialyse nur auf den Unterschieden ihrer Diffusionsgeschwindigkeit beruht, so ist es wohl möglich die langsam diffundirenden, die Erdphosphate enthaltenden, organischen Atomcomplexe der Milch durch Dialyse frei von den übrigen Salzen und dem Milchzucker zu erhalten, nicht aber umgekehrt die letzteren, welche als die rascher diffundirenden Stoffe in die ersten Diffusate übergehen, auf diesem Wege von den ersteren zu befreien. Deshalb beobachtet man stets, dass nach beendeter Entfernung des Milchzuckers und der löslichen Milchsalze ein Theil des Caseins im Dialysator sich bereits in unlöslicher Gestalt ausgeschieden hat, während andererseits das Diffusat nach dem Trocknen und Verbrennen stets einen mehr oder weniger beträchtlichen Rückstand von phosphorsaurem Kalk hinterlässt. Dieser Umstand wirkte indess durchaus nicht störend auf die Untersuchung, weil dieselbe, sich ja eben nur auf das in Lösung zurückgebliebene Casein bezog, welches sich hier in allen Stücken wie das ursprünglich in der Milch selbst enthaltene verhielt. Das in fein vertheilter Gestalt ausgeschiedene Casein erleichtert sogar noch die weitere Untersuchung, da es beim Zusammenballen auf dem Filtrum die Fettkügelchen der Milch mit einschliesst und dadurch eine fast vollkommene Entfernung des Milchfettes durch blosses Filtriren ermöglicht.

Die zusammengegossenen, auf dem Dampfbade eingeengt und filtrirten Diffusate der ersten 24—30 Stunden stellen stets eine stark sauer reagirende, gleichfalls gelblich gefärbte Flüssigkeit dar, auch wenn die Milch im Dialysator bis zuletzt neutral reagirte; mit Natronlauge neutralisirt, tritt die saure Reaktion bei einer Temperatur von 30—35° C. schon nach wenigen Stunden wieder ein; bei gewöhnlicher Zimmerwärme dauert es meist 20—24 Stunden, ehe dieser Umschlag wahrnehmbar wird. Da die Milch im Dialysator in denjenigen Versuchen, auf welche ich mich hier beziehe, bis zuletzt neutral reagirte, so war die saure Reaktion der eingedampften Diffusate offenbar nachträglich, während der Tage des Sammelns und des Abdampfens im Diffusat, eingetreten.

Viel grösser ist die Neigung des Milchdiffusates zur spontanen Säuerung, wenn dasselbe statt durch Abdampfen in der Wärme, kalt im luftleeren Raume über Schwefelsäure, eingeengt worden ist. Da man in den luftleeren Raum jedoch nur geringe Quantitäten Flüssigkeit bringen kann, so kommt es darauf an, schon durch die Dialyse selbst ein möglichst concentrirtes Diffusat zu erhalten; dieses erreicht man am besten, wenn man den Dialysator in möglichst wenig Wasser taucht, (ich nehme gewöhnlich gleiche Volumina Milch und äusseres Wasser) und das letztere während 24 Stunden nicht wechselt; wenn man nach Ablauf dieser Zeit das Diffusat im Vacuum etwa auf das halbe Volum einengt, so erhält man eine hinreichend concentrirte, saure Lösung der krystalloiden Bestandtheile der Milch; dieselbe erscheint weisslich trübe von Niederschlägen, deren Natur ich noch nicht bestimmt habe; das Filtrat ist farblos und schwach opalisirend. Die gelbliche Farbe der in der Wärme concentrirten Diffusate ist also durch die Einwirkung der hohen Temperatur bedingt. Der Milchzucker ist hierbei jedenfalls nicht der einzige gelb färbende Körper, da auch die milchzuckerfreien Diffusate dieselbe Farbe, wenngleich weniger intensiv, beim Eindampfen in der Wärme annehmen. Dasselbe gilt auch von den Diffusaten des Blutserum, welches bekanntlich keinen Milchzucker enthält.

Neutralisirt man das kalt concentrirte Diffusat, so wird es selbst bei gewöhnlicher Zimmertemperatur schon im Laufe weniger Stunden wieder sauer, dieser Process wiederholte sich nach einander, so oft ich die saure Flüssigkeit immer wieder neutralisirte. Die Fähigkeit des Milchdiffusates zur spontanen Säuerung war also durch die in der Abdampfschale herrschende Temperatur, welche doch immer ziemlich weit von der Siedetemperatur des Wassers entfernt war, nur geschwächt, nicht vernichtet. Aber selbst durch Kochen des kalt oder heiss eingeengten Diffusates bewirkte ich nur eine Verzögerung der spontanen Säuerung um circa 24 Stunden.

Da die Milchfette im Dialysator zurückbleiben, so wird man in Hinsicht auf das Material für die Säurenbildung im Diffusat zunächst an den Milchzucker zu denken haben. Es wird sich später herausstellen, dass auch schon die ganz frische Milch ein chemisches, milchsäurebildendes Ferment enthält; der Annahme jedoch, dass dieses Ferment, den bisherigen Erfahrungen zuwider, diffussionsfähig sein und durch Siedhitze nicht vollkommen zerstört werden sollte, steht vielleicht als wahrscheinlicher die Vermuthung gegenüber, dass es sich um gewisse organische, diffusionsfähige, durch Siedhitze nicht

zu zerstörende Stoffe handelt, aus welchen sich das Ferment, nach dem der vorhandene Vorrath desselben durch Kochen zerstört worden, von Neuem wieder entwickelt; so würde sich das Vorkommen des Fermentes in dem Diffusat überhaupt, so wie auch das langsamere Sauerwerden der in der Wärme eingedampften resp. der gekochten Diffusate erklären. Möglicherweise ist aber auch das Sauerwerden der Milchdiffusate überhaupt nicht durch die Gegenwart eines chemischen, nicht organisirten, milchsäurebildenden Fermentes bedingt, sondern nur durch das Auftreten der von Pasteur entdeckten, die Milchsäuregährung bewirkenden niederen Organismen.

Giesst man alle Diffusate von einem bis zur möglichst vollständigen Entfernung sämmtlicher krystalloiden Bestandtheile der Milch fortgesetzten Diffusionsversuch zusammen und dampft sie ein, so erhält man eine Flüssigkeit, in welcher die säurebildenden Ursachen diejenigen, welche den bereits erwähnten Umschlag in die alkalische Reaktion bewirken, bei Weitem übercompensiren; eine solche Flüssigkeit verhält sich in Allem wie diejenige, welche durch Abdampfen der ersten Diffusate gewonnen worden; in der That unterscheiden sich ja auch beide nur durch ein Mehr oder Weniger in Betreff der die Auflösung der Erdphosphate bewirkenden organischen Substanzen, beide enthalten sämmtlichen Milchzucker und sämmtliche in Wasser löslichen Salze der Milch.

Es mag nicht überflüssig erscheinen, hier noch einer Vorsichtsmassregel Erwähnung zu thun. Die Milch nimmt nämlich während der Dialyse sehr beträchtliche Wassermengen auf, so dass ihr Volum sich im Laufe von ein Paar Tagen nicht selten verdrei- und selbst vervierfacht. Es droht deshalb die Gefahr des Zerreißens beim Wasserwechsel, welcher man am Besten durch tägliche Erneuerung des Pergamentpapieres vorbeugt; man ist ferner genöthigt, die anfangs in nur einen Dialysator gebrachte Milch bald auf mehrere zu vertheilen; besser noch concentrirt man sie im Vacuum auf ihr ursprüngliches Volum und fährt dann mit der Dialyse fort. —

Ich kehre jetzt zu Kappeller's Versuchen, reines unverändertes Casein darzustellen, zurück. Es wurde zu diesem Zwecke folgendes Verfahren eingeschlagen.

Frische unmittelbar aus dem Euter kommende Milch wurde zur Absetzung des Rahmes auf einige Stunden kalt gestellt, dann die unteren Schichten mittelst einer Messpipette herausgehoben, mit dem fünffachen Volum Wasser verdünnt, das Casein mit Essigsäure gefällt, durch wiederholtes Decantiren mit

grossen Mengen Wasser gereinigt, filtrirt und auf dem Filtrum sorgfältig ausgewaschen, bis das Waschwasser sich bei Anwendung der Trommer'schen Probe als völlig milchzuckerfrei erwies. Es galt nun noch die von dem gefällten Casein eingeschlossenen Milchserumbestandtheile möglichst vollständig zu entfernen. Zu dem Zwecke wurde das von dem Filtrum abgeschabte Casein in wenig Wasser gebracht, durch anhaltendes Schütteln fein vertheilt und durch tropfenweises Zusetzen von verdünnter Natronlauge gelöst; der grösste Theil des in der Lösung immer noch enthaltenen Fettes liess sich nun durch Filtriren durch ein vier- bis fünffaches Filtrum entfernen, der Rest wurde durch Schütteln mit Aether, eine Manipulation, welche durchaus keinen verändernden Einfluss auf das Casein ausübte, fast gänzlich beseitigt; der Aether wurde durch Abgiessen und darauf durch gelindes Erwärmen der Caseinlösung vollkommen entfernt und die letztere, die nun durchsichtig und opalisirend erscheint, auf 24 Stunden behufs Entfernung des überschüssigen Natrons und der vom Casein beim Fällen mit Essigsäure eingeschlossenen verunreinigenden Beimengungen in den Dialysator gebracht. Das äussere Wasser wurde nun während der ersten vier Stunden viertelstündlich gewechselt, um so die überschüssige Natronlauge, durch welche das Pergamentpapier allmählig vollständig macerirt wird, möglichst rasch zu entfernen, dann der Inhalt des Dialysators herausgenommen, auf zwei neue Dialysatoren vertheilt und nun das äussere Wasser nach längeren Zeitintervallen gewechselt. Nach Ablauf von 24—30 Stunden wurde die Dialyse unterbrochen und die Flüssigkeit zu den weiter anzustellenden Versuchen benutzt.

Während der Dialyse war stets sämtliches überschüssiges Natron davongegangen, gewöhnlich aber auch zugleich ein Theil des zur Auflösung des Caseins erforderlichen; zu Ende der Dialyse erschien die Flüssigkeit daher meist von ausgeschiedenem Casein getrübt, welches durch Filtriren vollständig entfernt wurde. Das Filtrat reagirte trotz seines Natrongehaltes neutral, das Casein spielt demnach dem Natron gegenüber die Rolle einer Säure. Die Aschenanalyse ergab, abgesehen von einer geringen Menge Natron, nur noch Spuren von Erdphosphaten; Milchzucker war in der Lösung gar nicht enthalten.

Es fragt sich nun: ist das so gereinigte Casein identisch mit dem in der Milch enthaltenen, oder ist dasselbe etwa durch die Darstellungsmethode selbst verändert worden. Kappeller führt für die Identität den Umstand an, dass

seine gereinigte Caseïnlösung, nach Hinzufügung von etwas Milchdiffusat, wiederum die Eigenschaft zeigte durch Lablösung coagulirt zu werden. Diese Angabe, auf welche ich später zurückkommen werde, ist richtig, es fragt sich nun aber noch, ob das in der angegebenen Weise behandelte Caseïn auch im Diffusat der Milch löslich ist und ob sein Verhalten in dieser Lösung mit dem in der Milch selbst übereinstimmt.

Zur Entscheidung dieser Frage stellte ich mir zunächst Milchdiffusat durch dreitägiges Dialysiren und Abdampfen in der Wärme, bis das Volum desselben mit dem der in den Dialysator gebrachten Milch übereinstimmte, dar. Nach dem Filtriren wurde die Flüssigkeit neutralisirt, wobei ich mich nicht des Reagenspapieres, sondern um grössere Genauigkeit zu erzielen, einer blauen und rothen Lakmustinktur bediente. Aus einer anderen Portion frischer Milch hatte ich mir nach dem so eben angegebenen Verfahren eine gereinigte Caseïnnatronlösung dargestellt. Aus derselben fällte ich nun aber das Caseïn durch einige Tropfen verdünnter Essigsäure, filtrirte, wusch nach, schabte den Filtrerrückstand ab, brachte ihn in das neutralisirte Diffusat, schüttelte und filtrirte vom Ueberschuss ab. Das Filtrat enthielt beträchtliche Mengen von Caseïn in Lösung und stellte zugleich eine Flüssigkeit dar, welche sich in Betreff der bekannten von diesem Eiweisskörper abhängigen Erscheinungen ganz wie die Milch selbst verhielt. Die Flüssigkeit konnte wie die letztere bis zu einem gewissen Grade angesäuert werden, ohne dass das Caseïn ausgeschieden wurde, durch stärkeres Ansäuern wurde dasselbe als ein im Ueberschuss des Fällungsmittels und in verdünnter Natronlauge leicht löslicher Niederschlag gefällt, Kochen bewirkte keine Gerinnung, beim Stehen in einer Temperatur von 25—30° C. schied sich der Eiweisskörper nach Verlauf von 10—20 Stunden von selbst unter Sauerwerden der Flüssigkeit aus, in der gekochten Flüssigkeit fand eine Verzögerung dieser spontanen Caseïnausscheidung um circa 24 Stunden Statt, beim Abdampfen bildete sich eine Haut, die jedoch gleich zu Boden sank und diesem fest anhaftete, durch Digeriren mit Lablösung wurde das Caseïn mit den später zu erwähnenden für die durch Lab bewirkte Gerinnung charakteristischen Eigenschaften ausgeschieden, kurz die Uebereinstimmung dieser Flüssigkeit mit der Milch war eine so durchschlagende, dass man keine Ursache hat an der Identität des in beiden enthaltenen Caseïns zu zweifeln.

Man hat nach diesen Erfahrungen durchaus keinen Grund, das durch

Essigsäure aus der Milch gefällte Casein als geronnene, coagulierte, unlöslich (d. h. in Wasser unlöslich) gewordene Modifikation zu bezeichnen und derselben gar ein in Wasser lösliches primäres Casein, das gewiss bis jetzt noch von Niemandem gesehen worden ist, gegenüberzustellen. Das Casein ist eben an sich ein in Wasser unlöslicher, in gewissen anderen Stoffen löslicher Eiweisskörper; es kann aus seiner natürlichen Lösung durch gewisse Einwirkungen ohne Veränderung seiner chemischen Eigenschaften gefällt werden; als coagulierte, unlösliche Modifikation kann dasselbe jedoch, nach Analogie des in Wasser löslichen Albumins, nur angesehen werden, wenn es bei der Fällung zugleich in seinen früheren Lösungsmitteln unlöslich geworden ist. Auch dieses kommt, wie sogleich gezeigt werden wird, vor.

Es fragte sich nun: in welchem Verhältniss steht das durch den Eintritt der spontanen Säuerung der Milch, ferner das durch Digeriren mit Labflüssigkeit gefällte Casein zu dem genuinen? Sind beide als einfache, durch die in beiden Fällen in der Milch sich entwickelnde Milchsäure, herbeigeführte Säurefällungen zu betrachten? In diesem Falle mussten ihre Eigenschaften mit denjenigen übereinstimmen, welche das durch Essigsäure aus der frischen Milch gefällte Casein zeigt.

Kappeller bestimmte nun, um diese Frage zu beantworten, den Löslichkeitsgrad des in gleichen Mengen frischer Milch durch Zusetzen von Essigsäure (und Milchsäure), durch spontane Säuerung und durch Digeriren mit Lab gefällten und ausgewaschenen Caseins in 1% Natronlauge und in 2% Essigsäure. Es fand sich, dass das spontan geronnene Casein in Betreff seiner Löslichkeit in den genannten Agentien vollkommen mit dem durch Säurezusatz gefällten übereinstimmte, während das durch Digeriren mit Lab gewonnene sich durch seine Schwerlöslichkeit in beiden auszeichnete. Nach den Bestimmungen von Kappeller bedurfte die letztere Caseinmodifikation zu ihrer Auflösung 5 bis 6 Mal mehr Natronlauge und 16 bis 18 Mal mehr Essigsäure als die beiden anderen. Ich finde diese Unterschiede nach meinen Versuchen als noch zu klein angegeben und glaube, dass Kappeller der Schlussmoment der Auflösung durch die die Flüssigkeit stark trübenden Fettpartikelchen verdeckt worden ist; dieses konnte um so eher geschehen, da man, um die Auflösung zu befördern, genöthigt ist, das Casein während des Alkali- oder Säurezusatzes durch kräftiges Schütteln möglichst fein zu vertheilen. Man verfährt deshalb sicherer, wenn man während des Zutropfens der lösenden

Agentien von Zeit zu Zeit kleine Proben der Flüssigkeit abnimmt und stark mit Wasser verdünnt; man erkennt dann leicht etwa noch ungelöst gebliebenes, in gröberen oder feineren Flocken suspendirtes Casein und kann sich im Falle sehr feiner Vertheilung desselben zwischen den Fettpartikelchen auch dadurch Sicherheit verschaffen, dass man zusieht, ob die verdünnte Probe nach Zusatz von etwas Natronlauge durchsichtiger wird. Bei solchem Verfahren fand ich, dass viel grössere Natron- resp. Essigsäuremengen zur Auflösung des durch Digeriren mit Lab ausgeschiedenen Caseins erforderlich waren, als Kappeller angiebt, so dass der einfachste Ausdruck für den von demselben gefundenen Unterschied wäre: das durch Säurezusatz resp. durch die spontane Säuerung gefällte Casein ist in verdünnter, das durch Labwirkung ausgeschiedene aber nur in concentrirter Essigsäure resp. Natronlauge löslich.

Hiernach wäre also nur das bei der spontanen Gerinnung der Milch sich ausscheidende Casein auf eine einfache Säurefällung zu beziehen, nicht aber das durch Lab coagulirte. In der That genügt auch, wie Kappeller durch besondere Bestimmungen ermittelt hat, die bei der Milchgährung sich entwickelnde Säuremenge vollkommen, um aus einer anderen ebenso grossen Quantität frischer Milch bei der Temperatur, bei welcher die spontane Gerinnung stattgefunden hatte, sämmtliches Casein in leicht löslicher Gestalt momentan zu fällen, während die Labgerinnung des Caseins, wie sich später ergeben wird, zwar auch bei saurer Reaktion der Milch stattfinden kann, aber dann nur bei einem Säuregrade, welcher an sich selbst beim Erwärmen nicht hinreicht das Casein zu fällen.

Auch das äussere Ansehen beider Caseinmodifikationen war ein sehr verschiedenes. Das durch Säurezusatz resp. durch spontane Säuerung aus der Milch gefällte Casein erschien beim Waschen mit Wasser feinflockig und sank langsam zu Boden, wogegen das durch Lab coagulirte grosse, rasch zu Boden fallende Klumpen von elastischer Consistenz bildete, welche sich in Wasser nur nach Zusatz von Natronlauge oder Essigsäure bei beginnender Auflösung feiner vertheilen liessen.

Zur Ergänzung dieser Beobachtungen füge ich hinzu, dass das durch spontane Säuerung ausgeschiedene und gewaschene Casein sich in neutralem Milchdiffusat leicht auflöste und dabei eine in allen Stücken mit der bereits beschriebenen künstlichen Milch übereinstimmende Lösung lieferte, wogegen die Labmodifikation des Caseins sich in eben derselben Flüssigkeit als durchaus un-

löslich erwies. Ich kann demnach Kappeller nur beistimmen, wenn er, um den Unterschied mit einem Worte auszudrücken, das durch Lab ausgeschiedene Casein, als coagulierte, geronnene, unlösliche Modifikation von der durch Säure einfach gefällten unterscheidet.

Erwähnenswerth ist noch, dass die zur Fällung des Caseins aus der Milch erforderliche Säuremenge innerhalb gewisser enger Grenzen von der Temperatur umgekehrt abhängig ist, so dass erwärmte Milch einer geringeren Quantität Säure zur vollkommener Fällung des Caseins bedarf als kalte. Bei der spontanen Säuerung tritt deshalb immer ein Stadium ein, in welchem die Milch bei gewöhnlicher Temperatur noch flüssig ist, beim Erwärmen aber sogleich »gerinnt.« Ferner ergab sich auch, dass die im Augenblicke der Fällung in der Milch herrschende Temperatur die Löslichkeit des ausgeschiedenen Caseins in Natron und Essigsäure beeinflusste; dasselbe erschien um so schwerer löslich je höher die Fällungstemperatur war, doch bewegten sich auch diese Unterschiede nur innerhalb enger Grenzen, so dass selbst nach Einwirkung einer Temperatur von 50° C. das gefällte Casein auch nicht annähernd den Grad von Schwerlöslichkeit zeigte, den das durch Lab coagulierte regelmässig darbietet.

Die sogenannte spontane Milchgerinnung.

Die Richtigkeit der allgemein verbreiteten Annahme, dass die spontane Caseinausscheidung auf der Entstehung von Milchsäure aus Milchzucker beruht, lässt sich folgendermassen beweisen. Man entferne aus der Milch in der früher angegebenen Weise sämtlichen Milchzucker durch Dialyse, filtrire dann, lasse zum Ueberfluss das im Dialysator hinzugetretene Wasser im Vacuum abdunsten, nehme von der Flüssigkeit zwei Proben ab, löse in der einen etwas durch wiederholtes Auflösen in Wasser und Fällen durch Alkohol gereinigten Milchzucker auf und lasse beide Proben warm stehen. Nach Verlauf von 3—4 Stunden findet man dann die mit Milchzucker versetzte Probe stark sauer geworden und sämtliches Casein ausgeschieden, dagegen bewahrt die milchzuckerfreie Probe ihre neutrale Reaktion wenigstens 1½ bis 2 Tage, oft noch länger, dann erst wird sie sauer, die Säuerung nimmt langsam zu und gleichzeitig stellen sich ebenso langsam an Masse zunehmende Trübungen von ausgeschiedenem Casein ein. Diese spät eintretende spontane Säuerung und Caseinfällung in milchzuckerfreier Milch erklärt sich aus der Zersetzung der in der dialysirten Milch zurückgebliebenen Fette.

Eine wässrige Lösung von Milchzucker, welches durch wiederholtes Umkrystallisiren gereinigt worden ist, lässt sich 5—8 Tage lang warm aufbewahren, bevor sie sauer wird; wenn nun derselbe Milchzucker, in dialysirter Milch aufgelöst, ihr in wenigen Stunden eine stark sauer reagirende Reaction ertheilt, so liegt es nahe von den Pasteur'schen organisirten Fermenten abzusehen und in der Milch nach einem sog. chemischen Ferment zu suchen. Ich fällte daher die durch Dialyse ihres Zuckergehaltes beraubte Milch durch starken Alkohol, liess das Coagulum einige Tage unter Alkohol stehen, filtrirte dann, trocknete den Rückstand im Vacuum, zerrieb und extrahirte ihn mit Wasser und filtrirte. Das Filtrat reagirte neutral und behielt diese Reaction bei tagelang fortgesetzter Beobachtung trotz der Aufbewahrung an einem warmen Ort; ein Gemisch aus gleichen Theilen dieses Filtrates und einer mässig concentrirten Lösung gereinigten Milchzuckers war aber schon nach 7 Stunden nachweisbar sauer geworden und nach 21 Stunden war die entwickelte Säuremenge so gross, dass durch Zugiessen der Flüssigkeit zu einer ihr gleichen Menge frischer, auf 25° C. erwärmter Milch sämtliches Casein der letzteren gefällt wurde. Es kann nicht wundern, dass die reine Fermentlösung doch immer beträchtlich schwächer auf den Milchzucker wirkte, als die dialysirte Milch, weil die Darstellung der ersteren mit Verlusten verknüpft ist, besonders dadurch, dass sich aus dem durch Alkohol coagulirten Casein nicht alles Ferment durch Wasser extrahiren lässt.

Eine andere Methode, durch welche sich eine reine, namentlich, worauf es ankommt, keinen Milchzucker enthaltende und deshalb keine Neigung zum Sauerwerden besitzende Fermentlösung darstellen lässt, ist folgende: man fälle aus etwa 25 Ccm. Milch das Casein durch Zutropfen von Essigsäure, wasche den Niederschlag durch wiederholtes Decantiren und zuletzt auf dem Filtrum, vertheile ihn dann in viel Wasser, löse ihn durch verdünnte Natronlauge wieder auf, fälle nochmals mit Essigsäure, decantire, filtrire und wasche wieder, bringe die Substanz endlich, nachdem man sie durch Schütteln mit Wasser möglichst fein vertheilt und dann das letztere durch Abgiessen entfernt hat, unter Glycerin; nach 2—3 Tagen filtrire man durch Leinwand, versetze das Filtrat mit dem 20fachen Volum Alkohol und lasse das Gemisch wieder ein Paar Tage stehen; es bildet sich ein nur unbedeutender Bodensatz, welchen man durch Filtriren abtrennt und auf dem Filtrum im luftleeren Raum trocknet; dann füllt man das Filtrum mit Wasser, welches, nachdem es die den

Wänden desselben anhaftende Schicht erweicht hat, langsam durchtropft. Das Filtrat reagirt neutral, enthält keinen Milchzucker und besitzt deshalb keine Neigung zum Sauerwerden, bewirkt aber die Entstehung von Milchsäure in einer Milchzuckerlösung. Auf diese Weise lässt sich das milchsäurebildende Ferment auch aus ganz frischer Milch darstellen. Statt des durch Essigsäure gefällten habe ich mich in anderen Fällen mit gleichem Erfolge auch des durch spontane Säuerung der Milch ausgeschiedenen und sorgfältig gewaschenen Caseïns zur Darstellung des Glycerinauszuges bedient. Immer erhält man aber bei Anwendung dieser Darstellungsmethode eine schwachwirkende Fermentlösung, weil man eben nur auf diejenigen Fermentmengen angewiesen ist, welche von dem gefällten Caseïn eingeschlossen werden und auch dann noch beim Extrahiren mit Glycerin und später mit Wasser weitere Verluste erleidet. Audrerseits ist aber die sorgfältige Entfernung der Milchserumbestandtheile und namentlich des Milchzuckers geboten, weil man sonst eine sehr unreine zuckerhaltige Fermentlösung erhält, die von selbst sauer wird und es deshalb unmöglich macht, dasjenige zu beobachten, worauf es ankommt: dass es nämlich einen Körper in der Milch giebt, welcher das Material zur Milchsäurebildung nicht selbst darbietet, welcher aber, mit Milchzucker zusammengebracht, in diesem sofort die betreffende Umsetzung einleitet.

Um aus frischer Milch das Ferment zu gewinnen, kann man auch ein einfacheres Verfahren einschlagen, durch welches man zwar immer eine kräftig wirkende, aber nicht immer eine reine Fermentlösung erhält. Man fällt nämlich die Milch nicht durch Säure, sondern coagulirt sie sogleich durch grosse Mengen Alkohol, wechselt denselben mehrere Male, um den Milchzucker möglichst zu entfernen, extrahirt nach wenigen Tagen das noch feuchte Coagulum mit Glycerin und verfährt weiter wie früher angegeben. Es ist mir einige Male gelungen auf diese Weise Fermentlösungen zu erhalten, welche entweder gar keinen oder doch nur höchst geringe Mengen von Milchzucker enthielten, bei längerem Stehen deshalb neutral blieben oder doch nur schwach sauer wurden, immer aber auf reine Milchzuckerlösungen sehr kräftig einwirkten.

Eine andere Methode ist folgende: man lässt die Milch spontan sauer werden, filtrirt nach beendeter Caseïnausfällung das Serum und bringt das Filtrat in den Dialysator. Durch sehr häufigen Wasserwechsel kann man es erreichen, dass die Flüssigkeit innerhalb 24 Stunden von der Milchsäure, dem

Milchzucker und den löslichen Milchsälsen vollständig befreit ist; sie stellt nun eine neutrale Fermentlösung dar, welche ausser dem specifischen Bestandtheil nur noch etwas Albumin und geringe Mengen der organischen krystalloiden Bestandtheile der Milch enthält und kann ohne Weiteres zu den Versuchen mit Milchzucker benutzt werden. Auf diese Weise habe ich die am kräftigsten wirkenden Fermentlösungen erhalten.

Um die Wirksamkeit einer Lösung des milchsäurebildenden Fermentes, welche nach irgend einer der beschriebenen Methoden dargestellt worden, zu prüfen, kann man sich statt des Milchzuckers auch der frischen Milch bedienen, wo dann der beschleunigte Eintritt der spontanen Säuerung und Käseausfällung die Gegenwart des Fermentes in der zugesetzten Flüssigkeit anzeigt. Andererseits ist eine nach dem früher angegebenen Verfahren dargestellte reine Lösung von Caseinnatron sehr gut geeignet, um die Mitwirkung des Milchzuckers bei der spontanen Milchgerinnung zu illustriren. Eine solche Lösung trübt sich bei längerem Stehen in der Wärme durchaus nicht, auch nicht nach Zusatz einer reinen Lösung von milchsäurebildendem Ferment, nach Zusatz von Milchzucker aber stellten sich die Caseinniederschläge und die saure Reaktion, selbst wenn überschüssiges Natron vorhanden war, sehr bald ein und zwar geschieht dieses auch ohne Zusatz von Ferment, weil die Caseinlösung von vorneherein Beimengungen des specifisch wirkenden Stoffes enthält.

Es ist wohl als sicher anzusehen, dass der in der Milch und der im Milchdiffusat spontan eintretende Säuerungsprocess ihrem Wesen nach identische Vorgänge sind; ob aber auch ihre Ursachen identisch sind, d. h. ob auch im Diffusat das in der Milch von Anfang an enthaltene Ferment das Wirksame ist, mag dasselbe nun als solches hineindiffundirt sein, oder mag es sich in demselben aus irgend welchem Material entwickelt haben, oder ob es sich hier um Gährungen durch organisirte Fermente handelt, ist eine Frage, welche ich mit Sicherheit nicht beantworten kann. Auffallend ist, dass man mit einer gekochten Lösung des milchsäurebildenden Fermentes Erfahrungen macht, welche ganz den Erscheinungen entsprechen, welche das Milchdiffusat nach dem Kochen darbietet. Die Siedetemperatur zerstört nämlich keineswegs die Wirksamkeit des Fermentes, sie schwächt sie nur und nicht selten so wenig, dass die Wirkung auf Milchzucker oder auf frische Milch nur um wenige Stunden verzögert erscheint. Wollte man nun auch hier an eine nach der totalen Zerstörung des chemischen Fermentes auftretende Wirkung niederer Organismen

denken, so fragt sich doch, warum eine reine, unter den gleichen äusseren Bedingungen aufbewahrte Milchzuckerlösung im Unterschiede von einer mit gekochter Fermentlösung versetzten tagelang ihre Reaction nicht ändert, warum sich also jene Organismen hier nicht eben so mächtig entwickeln wie dort; es scheint kaum denkbar, dass durch Hinzufügen einer wässerigen Flüssigkeit, welche nur Spuren gelöster Stoffe enthält, die Milchzuckerlösung soweit verändert werde, dass sie nun den geeigneten Boden darbieten sollte zu verhältnissmässig mächtiger Entwicklung organisirter Gährungserreger. Ich komme daher auch hier auf die bereits ausgesprochene Vermuthung zurück, dass sich das milchsäurebildende Ferment aus einem durch Sieden nicht zerstörbaren diffusionsfähigen Bestandtheil der Milch fort und fort entwickelt; dass Spuren dieser fraglichen Muttersubstanz des Fermentes in alle meine Fermentlösungen übergegangen sein können, ja dass ihre gänzliche Ausschliessung vielleicht überhaupt gar nicht möglich ist, liegt auf der Hand.

Auch Kappeller hat das milchsäurebildende Ferment aus der Milch darzustellen gesucht, indem er dieselbe durch Alkohol coagulirte, nach einigen Tagen filtrirte und den getrockneten und zerriebenen Rückstand mit Wasser extrahirte. Auf diese Weise erhält man jedoch eine sehr unreine Fermentlösung, die in ihrer Zusammensetzung vergleichbar ist mit diluirtem Milchdiffusat; Kappeller's Fermentlösung reagirte daher auch von vorneherein sauer und musste deshalb vor der Zumischung zum Milchzucker neutralisirt werden, was aber die Wiederkehr der sauren Reaction in der unvermischten Fermentlösung nicht hinderte; nun zeigte sich zwar, dass in dem Gemisch mit Milchzuckerlösung die saure Reaction schon nach 1—2 Tagen auftrat, in der unvermischten dagegen das eine Mal erst nach 8, das andre Mal gar erst nach 23 Tagen, ich glaube jedoch, dass zufällige Unempfindlichkeit des von Kappeller benutzten Reagenspapiers ihn gehindert hat, das viel frühere Auftreten der sauren Reaction in seinen Fermentlösungen zu bemerken, womit allerdings zugegeben ist, dass ein Unterschied in dem Säuregrad der von ihm beobachteten Flüssigkeiten existirt haben muss. So lange ich aber bei der Darstellung der Fermentlösung das von ihm angegebene Verfahren befolgte, fand ich diese Unterschiede immer nur sehr unbedeutend, gewöhnlich bezogen sie sich gar nicht auf die Zeit des Eintrittes der sauren Reaction, sondern auf die Intensität derselben, ein Umstand, welcher die ganze Methode, wenn man Sicherheit erlangen wollte, zu einer weitläufigen und wenig eleganten machte.

Kappeller giebt übrigens auch schon an, dass das milchsäurebildende Ferment von Glycerin aufgenommen wird.

Kappeller giebt ferner an, dass von zwei Portionen frischer Milch, von welchen die eine sogleich nach der Melkung, die andere erst nachdem sie drei Stunden bei 35° gestanden durch Alkohol coagulirt wurde, die letztere ihm eine Fermentlösung geliefert habe, deren Wirksamkeit diejenige der aus der ersten Portion erhaltenen beträchtlich übertraf; hieraus würde eine allmählig fortschreitende Entwicklung und Anhäufung des milchsäurebildenden Fermentes in der Milch folgen. Ich habe in Betreff dieses Punktes keine eigenen Erfahrungen gesammelt; bei der Darstellung der Fermentlösungen spielen so viele unberechenbare, die Wirksamkeit derselben beeinflussende Faktoren mit, dass es vielleicht überhaupt schwer sein möchte in dieser Hinsicht zu einem sicheren Urtheil zu gelangen. Sollte sich aber die Angabe Kappeller's bestätigen, so würde sie die Deutung, welche ich meinen Erfahrungen mit gekochtem Milchdiffusat und gekochten Lösungen des milchsäurebildenden Fermentes gegeben, wesentlich stützen.

Es ist bekannt, dass die gekochte Milch sich ebenso verhält wie das gekochte Milchdiffusat, d. h. dass der spontane Säuerungsprocess in ihr nicht aufgehoben, sondern nur verzögert erscheint. Es fragt sich nun, ob die Siedetemperatur nicht zugleich auch das Casein derart verändert, dass es aus seiner natürlichen Lösung durch die sich entwickelnde Milchsäure schwerer gefällt wird als aus der nicht gekochten Milch. Ich kochte deshalb eine neutrale concentrirte Lösung von Caseinnatron und versetzte sie nach dem Erkalten mit dem halben Volum eines gleichfalls sehr concentrirten Milchdiffusates; in diesem Gemisch waren nun also neben dem Natron zugleich die natürlichen Lösungsmittel des Casein's enthalten. Eine andere Portion der Caseinnatronlösung mischte ich in gleichem Verhältniss mit ungekochtem Milchdiffusat und brachte beide Mischungen in eine äussere Temperatur von 30°. Nach Verlauf von einigen Stunden begannen beide Mischungen sich zu trüben und zwar gleichzeitig, ein paar Stunden später war in beiden sämtliches Casein bei stark saurer Reaction der Flüssigkeiten ausgefällt. Die Verzögerung der spontanen Caseinausscheidung tritt also nicht ein, wenn die Wirkung der Siedhitze nur das Casein betrifft und nicht die Diffusatbestandtheile der Milch.

Die durch Lab bewirkte Milchgerinnung.

Es ist bereits erwähnt worden, dass das durch Labeinwirkung aus der Milch ausgeschiedene Casein sich durch seine ausserordentliche Schwerlöslichkeit in Natron und Essigsäure und seine Unlöslichkeit im Diffusat der Milch von dem durch Säuren gefällten Casein unterscheidet. Wenn nun die Gerinnung des Caseins durch Lab nach der verbreiteten Annahme nur die Folge wäre der Entwicklung von Milchsäure aus Milchzucker, wenn es sich also hierbei nur um eine indirekte Fermentwirkung handelte, so ist kein Grund einzusehen, warum das durch die entstandene Säure gefällte Casein ein andres sein sollte, als das durch die spontane Säuerung, also gleichfalls durch indirekte Fermentwirkung oder das einfach durch Zusatz von Essigsäure, Milchsäure u. s. w. ausgeschiedene. Der Unterschied in der Beschaffenheit des Caseins bleibt aber bestehen, auch wenn man die künstliche Ansäuerung oder die spontane Säuerung der Milch bei derselben Temperatur eintreten lässt, bei welcher die Coagulation durch Lab stattfand. Offenbar reicht man also mit der Annahme einer bloß indirekten Fermentwirkung von Seiten des Labs nicht aus, wenigstens muss man sich noch irgend eine andre Wirkung desselben hinzudenken, welche sich mit derjenigen der entstandenen Säure combinirt und den Schlusseffekt dadurch modificirt.

Aber es fragt sich, ob überhaupt eine Nöthigung vorliegt zur Annahme einer Säurebildung als Ursache der Coagulation des Caseins durch Lab, ob es nicht wenigstens eben so nahe liegt, an eine direkte Fermentwirkung des Labs zu denken und demgemäss in demselben nach einem Ferment zu suchen, dessen unmittelbare Wirkung sich nicht auf den Milchzucker bezieht, sondern auf die Eiweisssubstanz selbst, die er aus einem in Milchserum löslichen in einen eben darin unlöslichen Körper verwandelt.

In der That lässt sich die Säure als Ursache der Labgerinnung des Caseins vollkommen ausschliessen, schon durch den Umstand, dass dieselbe auch bei entschieden alkalischer Reaktion stattfinden kann, ohne dass das coagulirte Casein eine andre Beschaffenheit zeigte als nach der Coagulation mittelst Lab bei neutraler oder schwach saurer Reaktion der Milch. Die Reaktion erscheint also zunächst als etwas für diese Art der Caseingerinnung gleichgültiges, freilich nur, wie sich zeigen wird, innerhalb gewisser enger Grenzen.

Dass die Wirkung des Labs auch bei alkalischer Reaktion der Milch

stattfinden kann, ist schon früher von Selmi und Heintz behauptet worden; Heintz hat in jüngster Zeit seine Behauptung wiederholt, nach Kappeller's Befunden mit vollem Recht. Letzterer fand wiederholt in einem schwach alkalischen Gemenge von Milch und künstlichem Labsaft nach beendeter Gerinnung die Reaktion der Molke unverändert alkalisch. Es zeigte sich aber zugleich, dass von der Reaktion die Gerinnungstemperatur abhängt; sie war bei alkalischer Reaktion am höchsten, bei neutraler niedriger und bei saurer am niedrigsten. Auch Heintz hatte früher gefunden, dass die Labgerinnung der Milch bei alkalischer Reaktion höhere Temperaturen erfordert als bei saurer; nach seinen Versuchen trat die Gerinnung in schwach alkalisch reagirender Milch erst bei circa 60° und zwar nach einer viertel- resp. halbstündigen Einwirkung dieser Temperatur ein*). Kappeller gelang es, indem er eine sehr kräftig wirkende Labflüssigkeit benutzte und dieselbe zu gleichen Theilen mit der Milch mischte, die Gerinnungstemperaturen viel tiefer hinabzudrücken. In dem einen Versuch erfolgte die Gerinnung in der alkalischen Flüssigkeit bei 37°, in der neutralen bei 28° und in der sauren schon bei 20°, im zweiten Versuch, welcher nur mit einer alkalisch und einer sauer reagirenden Probe angestellt wurde, betrug die Gerinnungstemperatur 42 resp. 27°; dabei ist hervorzuheben, dass in allen diesen Versuchen die Coagulation momentan erfolgte, sobald die angegebenen Temperaturgrade erreicht waren.

Bei der Wichtigkeit dieser Versuche habe auch ich nicht unterlassen wollen, eigne Erfahrungen zu sammeln. Eine sehr kräftig wirkende Labflüssigkeit gewann ich, indem ich die abgeschabte und mit Glaspulver zerriebene Schleimhaut eines frischen Kalbsmagens 24 Stunden lang bei einer Temperatur von etwa 5° mit verdünnter Salzsäure von 0,12% extrahirte, sie dann mit Natronlauge neutralisirte und wegen der Trübungen, welche sich hierbei immer einstellten, nochmals filtrirte. Diese neutrale Flüssigkeit wurde alsdann zu den Versuchen je nach Bedürfniss entweder als solche, oder nachdem sie mehr oder weniger stark alkalisch oder sauer gemacht worden, angewendet. Die Mischung bestand immer aus 5 Theilen Milch und 1 Theil Labflüssigkeit, sie wurde in ein Probirgläschen gefüllt, die Kugel eines Thermometers in die Flüssigkeit getaucht und das Gläschen in Wasser von 60—70° gesenkt und

*) Heintz, Lehrbuch der Zoochemie p. 688. Journal für praktische Chemie, N. F. Bd. VI. p. 381.

in dem Moment des Gerinnungseintrittes wieder herausgehoben; beim Herumrühren mit der Thermometerkugel erkennt man diesen Moment sehr leicht daran, dass die Milch plötzlich als compacte Masse den Bewegungen der Kugel folgt. Die Gerinnungstemperatur wurde stets in wenigen Sekunden erreicht, sie lag bei den meisten meiner Versuche unter 45°.

Ich sah bald, dass äusserst feine Unterschiede der Reaktion auf die Gerinnungstemperatur von dem grössten Einfluss sind, weshalb ich, um möglichst feine Abstufungen zu erreichen, mich besonders bei diesen Versuchen nicht des Reagenspapieres, sondern immer nur einer blauen und einer rothen Lakmustinktur bediente. Nur bei Prüfung der Reaktion der frischen Milch musste ich mich an das Reagenspapier halten.

Wenn die Milch von vorneherein schwach alkalisch oder amphoter reagirte, so wurde sie ohne Weiteres zum Versuch benutzt; war sie schwach sauer, was bisweilen vorkam, so wurde sie so lange mit höchst verdünnter Natronlauge versetzt, bis sie amphoter oder selbst schwach alkalisch reagirte. Der Labflüssigkeit aber ertheilte ich mit Zuhülfenahme der rothen Lakmustinktur immer eine sehr schwach alkalische Reaktion, welche etwas stärker war, wenn die mit ihr zu mischende Milch nicht entschieden alkalisch, sondern amphoter reagirte. So konnte ich als ziemlich gewiss annehmen, dass nach dem Zusammenmischen beider Flüssigkeiten die Reaktion immer alkalisch war, auch wo das Reagenspapier, in Bezug auf den einen Mischungsbestandtheil, die Milch, mir keine sichere Auskunft zu geben schien, eine Annahme, welche auch durch den Erfolg bestätigt wurde. War die Coagulation eingetreten, so wurde die trübe Molke filtrirt, und die Reaktion des Filtrates mit rother sowohl als blauer Lakmustinktur geprüft.

Ich fand bei allen diesen Versuchen die Reaktion der Molke stets entschieden alkalisch, nicht amphoter, ausser wo ich absichtlich dem Gemisch vor der Gerinnung die amphotere Reaktion ertheilt hatte. Die Alkalescenz war freilich, absolut gemessen, eine sehr geringe, durch Reagenspapier oft nicht nachweisbare, sie war aber eben doch entschieden vorhanden und da dafür gesorgt war, dass das Gemenge von Milch und Labflüssigkeit auch vor der Gerinnung eine nur äusserst geringe Alkalescenz besass, so ist es schon nach diesen Versuchen kaum denkbar, dass sich während der Coagulation überhaupt eine Säure entwickelt haben konnte. Die Gerinnungstemperatur lag bei diesen Versuchen zwischen 34 bis 41°, war also trotz der unzweifelhaften alkalischen Reaktion der Flüssigkeit durchaus nicht auffallend hoch; natürlich

war sie bei neutraler (amphoterer) oder schwach saurer Reaktion eine viel niedrigere; im letzteren Falle sank sie nicht selten auf 20—25°.

Es kam mir in diesen Versuchen darauf an, dem Gemisch von Milch und Labflüssigkeit eine zwar unzweifelhafte aber doch äusserst schwache alkalische Reaktion zu ertheilen; wenn es sich aber nur darum handelt, nach beendeter Labgerinnung eine alkalisch reagirende Molke zu beobachten, so braucht man nicht so ängstlich zu verfahren; im Gegentheil ist natürlich die alkalische Reaktion nach der Gerinnung um so deutlicher je stärker die Alkaleszenz vor derselben war; man bemerkt nur, dass die Gerinnungstemperatur wächst mit der Alkaleszenz; durch Vermehrung des Labzusatzes kann sie dann wieder herabgesetzt werden, doch wird im Allgemeinen mit der Zunahme der Alkaleszenz die Coagulation immer schwieriger, sie verzögert sich mehr und mehr, und endlich tritt sie gar nicht mehr ein. So wie aber hier die Labgerinnung der Milch nach der Seite der Alkaleszenz hin eine Grenze findet, so werden wir einer solchen Grenze auch auf der entgegengesetzten Seite begegnen.

Der Annahme von Soxhlet gegenüber, es könne trotz der alkalischen Reaktion freie Milchsäure vorhanden gewesen und die Coagulation des Caseins bewirkt haben, führe ich mit Heintz, dessen Ausführungen ich mich ganz anschliesse, an, dass in meinen Versuchen die nach der Gerinnung zurückbleibende Flüssigkeit immer nur alkalisch und nicht amphoter reagirte, d. h. sie färbte rothe Lakmustinktur blau und liess blaue unverändert; sie konnte also unmöglich freie Milchsäure enthalten. Wenn die Milchsäure zunächst alkalisch reagirende Salze bildet und die saure Reaktion nach Soxhlet erst dann eintreten kann, wenn wirklich reichlich freie Milchsäure vorhanden ist, so habe ich mich mit Heintz davon überzeugt, dass ohne Lab die Fällung des Caseins durch Milchsäure selbst beim Erwärmen der Milch eben auch nur bei sehr deutlich saurer Reaktion eintritt, also bei verhältnissmässig reichlichem Vorhandensein von freier Milchsäure. Wir wissen ausserdem nun, dass das durch Säure gefällte Casein in gewissen anderen Bestandtheilen der Milch bei alkalischer, neutraler (amphoterer) und schwach saurer Reaktion sich wieder auflöst, also kann dasselbe durch Milchsäuremengen, welche diese Reaktionen bestehen lassen, auch nicht aus der Milch gefällt werden, und wenn das Lab die Ausscheidung trotzdem bewirkt, so muss durch die Einwirkung desselben das Casein so verändert worden sein, dass es in seinen früheren Lösungsmitteln unlöslich geworden ist; es muss also ein andres Casein sich hierbei ausscheiden, als bei der Säure-

fällung, was ja auch in der That der Fall ist, und das setzt auch eine andre Fällungsursache im Labsaft voraus.

Wenn man also auch die Möglichkeit zugeben wollte, dass beim Digeriren der Milch mit Labflüssigkeit Milchsäure entsteht, so müsste ihre Menge, wie die angeführten Beobachtungen zeigen, doch so gering sein, dass es eben nur zur Bildung von milchsauren Salzen und nicht von freier Milchsäure kommt und dann muss die Coagulation des Caseins durch irgend eine andre Eigenschaft der Labflüssigkeit bedingt sein. Welcher Art diese Eigenschaft ist, ergibt sich leicht aus der Beobachtung, dass die Labflüssigkeit durch einmaliges Aufkochen ihre Fähigkeit, das Casein zu coaguliren, vollkommen einbüsst; die Wirkung blieb in meinen Versuchen aus, selbst bei schwach saurer Reaktion des Gemisches von Milch und gekochter Labflüssigkeit, und bei Erwärmung bis auf 60°. Natürlich durfte der Säurezusatz nicht so gross sein, um das Casein bei der gewählten Temperatur an sich zu fällen; die saure Reaktion des Gemisches war aber immerhin deutlich nachweisbar.

Es lässt sich aber auch ferner beweisen, dass man es bei der Coagulation der Milch durch Lab nur mit dieser Fermentwirkung zu thun hat und dass von einer gleichzeitigen Entstehung von Milchsäure überhaupt gar nicht die Rede sein kann. Kappeller fand nämlich, dass im Lab allerdings auch ein milchsäurebildendes Ferment enthalten ist und ich kann die Richtigkeit dieser Beobachtung bestätigen, aber dieses Ferment wirkt ausserordentlich langsam, so dass die ersten Spuren der gebildeten Milchsäure sich erst nach vielen Stunden nachweisen lassen; dasselbe kann hier also bei der in wenigen Sekunden erfolgenden Gerinnung durch Labeinwirkung nicht in Betracht kommen.

Man kann sich von der Existenz dieses milchsäurebildenden Ferments leicht überzeugen, wenn man eine neutrale oder besser noch alkalische Lablösung zu etwa 1 Th. in 2 Th. Milchzuckerlösung bringt und das Gemisch in die Wärme stellt; nach 8—12 Stunden findet man die Reaktion desselben sauer, während die getrennt aufbewahrten Flüssigkeiten ihre Reaktion tagelang unverändert erhalten. Auch hier zeigt sich, dass Kochen die Wirksamkeit des Fermentes nicht vernichtet, sondern sie nur schwächt.

Dieser letztere Umstand könnte bei Gerinnungsversuchen mit Milch und Labflüssigkeit zu Irrthümern Veranlassung geben. Ist die letztere nämlich gekocht worden, so wirkt sie zwar nicht sogleich; lässt man nun aber das Gemisch stehen, so findet man nach Ablauf einer nicht genauer zu bestimmenden

längeren Zeit, dasselbe geronnen; durch Wärme wird diese Gerinnung beschleunigt, immer tritt sie früher ein, als *et. par.* die spontane Gerinnung in der reinen Milch. Man könnte nun an eine verzögerte, durch das Caseinferment des Labsaftes bewirkte Gerinnung denken. Eine solche hat aber durchaus nicht stattgefunden, sondern nur eine durch das milchsäurebildende Ferment des Labsaftes, dessen Wirksamkeit durch Kochen eben nicht ganz vernichtet wird, bedingte Beschleunigung der spontanen Gerinnung, was namentlich dadurch bewiesen wird, dass das unter diesen Umständen ausgeschiedene Casein die Eigenschaften des einfach durch Ansäuern gefällten besitzt, d. h. in Natron und Essigsäure leicht löslich ist.

Es giebt also neben einer Caseinfällung durch Säure auch eine Caseincoagulation durch Fermentation und durch die Untersuchung der Beschaffenheit des ausgeschiedenen Produktes lassen sich beide Processe auseinanderhalten. Von dieser Fermentation muss gesagt werden, dass sie bei alkalischer neutraler und saurer Reaktion stattfinden kann, dass aber die saure Reaktion für ihren Ablauf die günstigste, die alkalische die ungünstigste ist. Die Säure ist also nur als eine unterstützende, befördernde äussere Bedingung zu betrachten, wie die Wärme, nicht als wesentliche Ursache. Ja noch mehr, beide Arten der Fällung schliessen sich aus. Wo die Lablösung so stark sauer reagiert, dass die Säure an sich das Casein ausfällt, da findet man dasselbe immer leicht löslich in Natron, Essigsäure und im Milchdiffusat, das Caseinferment kommt in diesem Falle also gar nicht zur Wirkung und hiemit ist zugleich die Grenze gegeben für die Wirksamkeit dieses Fermentes nach der Seite der Säure hin. Wo aber das Gemisch von Milch und Labflüssigkeit *schwach* sauer, neutral oder alkalisch reagiert, da kann es trotz nachträglicher Säureentwicklung durch das milchsäurebildende Ferment doch niemals zu einer Säurefällung, wie bei der spontanen Gerinnung, kommen, sofern das Caseinferment zugegen ist, welches ja nur der gekochten Labflüssigkeit fehlt. Man denke sich die alkalische Reaktion so stark, dass die Wirkung des Caseinfermentes aufgehoben ist und die Milch flüssig bleibt. Es wird nun Milchsäure entwickelt werden, durch welche das überschüssige Alkali langsam abgestumpft wird; sobald aber die Abstumpfung so weit fortgeschritten ist, dass das Caseinferment wieder wirksam werden kann, so wird die Coagulation erfolgen müssen. Dieses kann je nach der Menge der zugesetzten Labflüssigkeit, nach ihrer Wirksamkeit und nach der Höhe der Temperatur schon bei noch alkalischer oder erst bei

neutraler oder schwach saurer Reaktion geschehen, immer aber muss es geschehen, bevor die Säure sich soweit angehäuft hat, dass sie an sich im Stande wäre, eine Fällung zu bewirken; auch die geringsten Quantitäten von Casein-ferment würden, eben weil ihre Wirksamkeit mit der sauren Reaktion wächst, der einfachen Säurewirkung zuvorkommen.

Im Magen wird je nach dem Mengenverhältniss zwischen Milch und Magensaft und je nach dem Gehalt des letzteren an freier Säure sowohl Casein-coagulation als auch Caseinfällung vorkommen können. Für den darauf folgenden Process der Verdauung aber scheint die Art der vorangegangenen Caseinfällung gleichgültig zu sein; bei künstlichen Verdauungsversuchungen wenigstens vermochte ich keinen Unterschied in der Verdaulichkeit der beiden Casein-modifikationen wahrzunehmen.

Ich glaube, dass die Annahme einer indirekten auf Milchsäurebildung beruhenden Wirkung des Magensaftes auf die Milch schon durch die angeführten Beobachtungen widerlegt ist. Zum Ueberfluss stellte ich noch Versuche mit milchzuckerfreier Milch an. Der Zucker war auf dialytischem Wege innerhalb 24 Stunden vollständig entfernt worden. Das Gemisch dieser Milch mit Labflüssigkeit reagirte schwach alkalisch und gerann bei 42° unter Beibehaltung der alkalischen Reaktion. Doch war der Niederschlag nicht klumpig sondern feinflockig; er war ferner an Masse geringer als bei normaler Milch. Letzteres erklärt sich aus dem Umstande, dass ich Verluste an Casein durch ziemlich beträchtliche Auscheidungen im Dialysator erlitten hatte, ausserdem war die Milch durch Wasserzutritt stark verdünnt worden. Es ist bei Anstellung dieses Versuches daher immer rathsam die dialysirte Milch vor dem Labzusatz im Vacuum zu concentriren.

Im zweiten Bande von Maly's Jahresberichten über die Fortschritte der Thierchemie findet sich eine Mittheilung von O. Hammarsten, aus welcher zu ersehen ist, dass dieser Forscher in Betreff der durch Labsaft bewirkten Milchgerinnung unmittelbar vor Kappeller und mir und auf anderen Wegen als wir zu Resultaten gelangt ist, welche mit den hier dargelegten im Wesentlichen durchaus übereinstimmen. Auch Hammarsten bestätigt die schon früher von anderen Forschern gemachte Angabe, dass frische, alkalisch gemachte Milch durch neutralisirten Magensaft bei unverändert alkalischer Reaktion des Gemisches coagulirt wird; er fand ferner gleichfalls, dass das von ihm nach einer von der unsrigen abweichenden Methode milchzuckerfrei erhaltene Casein durch

»Lab« bei amphoterer oder alkalischer Reaktion coagulirt wird; er ergänzt diese Mittheilung weiter durch die Beobachtung, dass das von ihm isolirte und genauer untersuchte Caseinferment, von welchem er angeibt, dass dasselbe bei neutraler saurer und alkalischer Lösung wirke, am besten bei saurer, auf den reinen Milchzucker ganz ohne Wirkung ist. Auch er fand endlich, dass das Infus der Magenschleimhaut neben dem Pepsin und dem Lab noch ein milchsäurebildendes Ferment enthält, trennt aber ebenfalls die Caseinausscheidung durch die Milchsäure von der eigentlichen Käsebildung durch Lab als einen besonderen chemischen Process ab. In dieser Uebereinstimmung der von Hammarsten und uns gemachten Beobachtungen liegt gewiss eine Garantie für ihre Richtigkeit, und ebendeshalb halte ich die ausführlichere Darlegung unsrer Untersuchungen auch jetzt für nützlich, abgesehen davon, dass die bei denselben vorzugsweise in Anwendung gekommene dialytische Methode wohl auch im Hinblick auf weitere Forschungen in diesem Gebiete fruchtbringend zu werden verspricht.

Ist nun der Milchzucker bei der Labgerinnung der Milch gewiss nicht betheilig, so geht aus dem zuletzt angeführten Versuch mit dialysirter Milch weiter hervor, dass auch die in Wasser löslichen Salze der Milch für dieselbe gleichgültig sind; ja Vermehrung des normalen Salzgehaltes der Milch durch Zusatz von Kochsalz steigerte sogar die Gerinnungstemperatur, wirkte also hemmend auf die Fermentation. Aber es blieb noch unentschieden, ob nicht die Gegenwart irgend einer der in der dialysirten Milch neben dem Casein zurückgebliebenen unbekannt Substanzen, eine nothwendige Bedingung für die fermentative Coagulation des letzteren darstellt, ähnlich wie die Gegenwart der Salze zum Zustandekommen der durch die Hitze bewirkten Albumingerinnung erforderlich ist. Es war ja denkbar, dass die dialysirte Milch neben den das Casein lösenden, noch andere bei der Labgerinnung desselben in specifischer Weise mitwirkende Stoffe enthielt.

Kappeller suchte diese Frage zu entscheiden, indem er künstlichen Magensaft auf seine durch Dialyse gereinigten Lösungen von Caseinnatron einwirken liess; die Reaktion nach dem Zusammenmischen durfte bei diesen Versuchen natürlich immer nur neutral oder schwach alkalisch sein. Das Resultat war der eben gesetzten Möglichkeit günstig; er fand, dass die Coagulation nur eintrat, wenn er dem Gemenge von reinem Casein und Magensaft neutralisirtes Milchdiffusat zugesetzt hatte. Häufig war der Effekt sogleich

sichtbar, in anderen Fällen schied sich im ersten Moment nur ein Theil des Caseins aus, während der Rest im Laufe von einigen Stunden nachfolgte, und zwar bei unverändert neutraler oder alkalischer Reaktion. Zuletzt wurden die Flüssigkeiten immer sauer, doch kann es sich nach dem Früheren auch in den Fällen, wo die Caseinausscheidungen sich bis in die Säuerungsperiode verschleppten, nur um fermentative Wirkungen und nicht um einfache Fällungen durch die Säure gehandelt haben; man vergesse hierbei nicht, dass zufolge der Zusammensetzung der Versuchsflüssigkeiten die Säure sich wiederum bis zu einem gewissen Grade angehäuft haben musste, ehe sie als solche das Casein hätte fällen können. Kappeller suchte nun weiter festzustellen, welche Bestandtheile des Milchdiffusates die Wirkung des Labsaftes auf das Casein vermittelten. Die durch Veraschen des Milchdiffusats erhaltenen löslichen Salze fand er in dieser Hinsicht gleichfalls unwirksam, nicht aber den Milchzucker, obgleich derselbe nicht so kräftig wirkte, wie das Gesamtdiffusat. Er schloss hieraus, dass der Milchzucker, noch mehr aber gewisse andre noch unbekannte Extraktivstoffe der Milch, Vermittler der Labsaftwirkung seien, aber nur als solche, nicht durch Säurebildung, wie sich aus dem Umstande ergebe, dass die saure Reaktion wiederum für das Zustandekommen der Gerinnung nicht nothwendig, sondern nur förderlich gewesen.

Die häufige Verzögerung der Gerinnung bei Kappeller wird sich wohl daraus erklären, dass es ihm bei Anwendung des Reagenspapieres nicht immer gelang, die Flüssigkeiten genau zu neutralisiren oder innerhalb derjenigen Grenzen alkalisch zu machen, innerhalb welcher allein man eine sogleich eintretende Gerinnung erwarten kann. Ich wiederhole, dass man sich in diesen Grenzen mit Sicherheit nur mit Hülfe der Tinkturen bewegen kann, während das Reagenspapier denjenigen Grad von Alkaleszenz, der bereits hemmend wirkt, kaum noch anzeigt. Zu dieser Erklärung der Kappeller'schen Angaben glaube ich mich berechtigt, weil es mir bei Anwendung der Tinkturen ausnahmslos gelang, die Gerinnung sofort beim Erwärmen herbeizuführen, trotzdem ich den Flüssigkeiten stets eine entschieden alkalische Reaction theilte. Auch hier änderte sich die Reaktion im Moment der Coagulation niemals, die Säurebildung erfolgte immer erst viel später während des Stehens der Flüssigkeiten in der Wärme, und dann klärte sich die Flüssigkeit durch Verdauung des Niederschlages wieder; war aber die Labflüssigkeit vorher gekocht worden, so erfolgte die Fällung des Casein's erst in der Säuerungspe-

riode und der Niederschlag war dann bleibend. Um nicht zu verdünnte Flüssigkeiten zu erhalten, löste ich bei diesen Versuchen das gereinigte Casein in Substanz im Diffusat auf, entfernte den Ueberschuss durch Filtriren und setzte dann die Labflüssigkeit hinzu.

Es ist mir aber auch, immer indem ich beim Alkalisiren mit der äussersten Vorsicht verfuhr, im Gegensatz zu Kappeller gelungen die Caseincoagulation ohne Zusatz von Milchdiffusat in wässrigen Lösungen von gereinigtem Caseinatron zu bewirken. Doch glaube ich hieraus keinen Widerspruch gegen Kappeller's Annahme, dass die coagulirende Wirkung des Caseins nur bei Gegenwart gewisser Diffusatbestandtheile der Milch erfolgt, ableiten zu dürfen. Ein Mal nämlich war bei Gegenwart von Milchdiffusat die Coagulation immer viel mächtiger als in der reinen Caseinlösung, so dass ich es vortheilhaft fand, dieselbe, um die Wirkung des Labsaftes deutlich sichtbar zu machen, vor Zusatz des letzteren im Vacuum zu concentriren; dann aber waren die Caseinlösungen niemals ganz rein, sie hinterliessen beim Veraschen immer Spuren von Erdphosphaten und endlich habe ich nicht mit dem isolirten Casein ferment, sondern mit dem Infus der Magenschleimhaut gearbeitet, welches möglicherweise gleichfalls die von Kappeller präsumirten, die Casein fermentation vermittelnden Substanzen enthält. Nur insofern muss ich Kappeller widersprechen, als ich dem Milchzucker einen solchen vermittelnden Einfluss nicht zuschreiben kann; nur bei Gegenwart des ganzen Diffusates der Milch, nicht durch Zusatz von Milchzucker allein gelang es mir, die Gerinnung des gereinigten Caseins zu verstärken. Wenn es sich also um eine vermittelnde Wirkung der Diffusatbestandtheile handelt, so ist dieselbe weder von den in Wasser löslichen Salzen noch vom Milchzucker abhängig, sondern von irgend welchen anderen Stoffen, vielleicht von denjenigen, welche mit den Erdphosphaten verbunden sind.

Kappeller hat auch bei diesen Versuchen den Löslichkeitsgrad des coagulirten Caseins bestimmt; doch beanspruchen seine Zahlen keinen entscheidenden Werth, da sie sich nur auf gleiche Volumina der unmittelbar aus dem Dialysator erhaltenen Caseinlösungen beziehen; die letzteren waren aber immer durch Wasserzutritt während der Dialyse stark verdünnt worden und besaßen ausserdem einen sehr wechselnden Gehalt an Casein; die Zahlen fielen daher niedriger und dabei unregelmässiger aus, als bei seinen früheren Bestimmungen. Doch liess sich auch bei diesen Versuchen feststellen, dass das vermittelst

Labsaft coagulirte Casein schwerer löslich in Natronlauge und in Essigsäure ist, als das durch Säure allein gefällte. Die Unterschiede sind namentlich für die Essigsäure sehr bedeutend. —

Es ist kaum glaublich, dass ein und dasselbe Ferment im Magensaft, das Pepsin, die doppelte Fähigkeit haben sollte, das Casein zu coaguliren und zu lösen, und es wäre daher unsere nächste Aufgabe gewesen, das Pepsin von dem Caseinferment zu isoliren. Dass diese Trennung möglich ist, dafür bürgte schon die Angabe Brücke's, dass das von ihm dargestellte reine Pepsin gegen Milch sich unwirksam verhält. Von dem Versuche aber, das Caseinferment rein darzustellen, haben wir uns veranlasst gesehen abzusehen, da dieses von Seiten Hammarsten's, wie aus seiner citirten Mittheilung hervorgeht, schon geschehen ist und derselbe uns eine ausführlichere Arbeit verspricht, in welcher er uns wohl auch über das von ihm zum Unterschiede vom Pepsin »Lab« genannte Caseinferment genauere Auskunft geben wird.



Fl 874B
Schmidt