©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Über die Gerinnungsursache erhitzter Milch

Dr. **Bruno Bardach.**

Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes zu Berlin.

Dass frische Milch durch starkes Erhitzen zur Gerinnung gebracht werden kann, ist eine bekannte Thatsache; die Ursache dieser Gerinnung ist jedoch nicht aufgeklärt. Unter Anderen haben auch Cazeneuve und Haddon[1] diese Gerinnungserscheinung studirt und zu erklären versucht. Bei ihren diesbezüglichen Untersuchungen hatten sie das Verhalten sowohl einstündig auf 130° erhitzter, sowie durch 7 Stunden gekochter und schliesslich auch 15stündig am Wasserbad erhitzter Milch berücksichtigt und mit dem Verhalten analog behandelter alkalischer Lactoselösungen von bestimmter Zusammensetzung verglichen.

Das Ergebniss dieser Versuche war, dass sie die von Hoppe-Seiler[2] erkannte Ameisen- und Milchsäurebildung bei dem Erhitzen von Lactose in Gegenwart von Alkali nicht nur bei ihren auf verschiedene Temperaturen erhitzten alkalischen Lactoselösungen, sondern auch in analog erhitzter Milch hinsichtlich der Ameisensäure nachwiesen.

Behufs Nachweis grösserer Mengen Ameisensäure hatten sie eine 14stündig am Wasserbad erhitzte, eine 7stündig gekochte und schliesslich auch eine einstündig auf 130° erhitzte Lactoselösung nach vorhergehendem Versetzen mit Schwefelsäure der Destillation unterworfen. Analog waren sie bei der

---

Compt. rend. de l'acad. d. sciences, 1895, p. 1272.

Dessen med.-chem. Untersuch., 4. Heft.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Milch verfahren, nur dass bei der einstündig auf 130° erhitzten Milch ohne vorhergehenden Zusatz von Schwefelsäure destillirt wurde.

Die nun in allen diesen Fällen nachgewiesene Ameisensäure veranlasste Cazeneuve und Haddon, den Säuerungsprocess in Milch und alkalischen Lactoselösungen bei diesen Temperaturen für identisch zu erklären und auf Grund weiterer Versuche, in welchen sie die Unveränderlichkeit des Caseïns bei dem Erhitzen auf 130° in Gegenwart von Alkali bewiesen, unter Anderem auch den Schluss zu ziehen, dass die Gerinnung der auf diese verschiedene Art erhitzten Milch eine Folge der in Gegenwart von Alkali oxydirten Lactose ist, indem sich bei dieser Oxydation Säuren bilden, unter anderen auch Ameisensäure, deren Anwesenheit genügt, um die Milchgerinnung, wie sie durch welche Säure immer entsteht, zu erklären, so, dass also diese Gerinnung als ausschliessliche Säurewirkung erklärt wird.

Dass nun diese, ebenso wie die früheren diesbezüglichen Erklärungen der Milchgerinnung nicht richtig sind, soll im Weiteren gezeigt und gleichzeitig der Versuch, die eigentliche Gerinnungsursache zu ergründen, unternommen werden.

A. Milch.

Um nun vorerst den Verlauf der Gerinnung näher kennen zu lernen, stellte ich einige Versuche unter verschiedenen Bedingungen an, wobei 100—250 cm^3 eines frischen, stets von mehreren mit Trockenfutter genährten Kühen stammenden Milchgemisches zur Verarbeitung gelangten.

Was nun zunächst das Verhalten bei Temperaturen unter 100° betrifft, so hatte Milch nach circa 35stündigem Erhitzen mit Rückflusskühler auf mässig siedendem Wasserbad einen grossen Theil einer bräunlichen, von vielen kleinen Milchhautstückchen durchsetzten Masse in bräunlicher, ganz undurchsichtiger Flüssigkeit abgeschieden, ohne jedoch nur annähernd das Bild einer wirklichen Milchgerinnung (vollkommene Abscheidung einer flockigen oder compacten Masse in mehr oder minder klarer Flüssigkeit) zu bieten. Dieses eigenthümliche Verhalten, auf welches ich später noch

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

einmal zurückkomme, deutet darauf hin, dass ein Unterschied zwischen einer wirklichen Gerinnung und einer nur theilweisen Ausscheidung von Eiweisskörpern, welche vielleicht als unvollkommene Gerinnung zu betrachten ist, besteht.

Des Weiteren wurde das Verhalten der Milch bei dem Siedepunkte untersucht, wobei des starken Stossens wegen nicht über freier Flamme, sondern unter Druck erhitzt wurde. Das Erhitzen unter Druck erfolgte hier wie auch in allen späteren Fällen so, dass für eine möglichst rasche Erwärmung der Autoclave auf die gewünschte Temperatur[1] und nach Ablauf der Erhitzungsdauer wieder für möglichst rasche Abkühlung durch kalte Zugluft, sowie vorsichtiges allmäliges Auslassen der letzten Dampfmengen durch das Ventil gesorgt wurde. Nur durch Einhaltung dieser Bedingungen konnten annähernd Zeit- und Temperaturangaben über die Erhitzung gemacht werden, da sonst das durch das allmälige Anwärmen wie Abkühlen bedingte Erhitzen zu sehr ins Gewicht fiel.

Auf die Art bei circa 100° erhitzte Milch zeigte nach 6 Stunden wohl sehr intensive Gelbfärbung und kleine Hautstückchen, jedoch keine Gerinnung; die gleiche Milch auf 100° weiter erhitzt, war nach 3 Stunden und auch nach weiteren 2 Stunden noch nicht geronnen, nach abermaligem Erhitzen von 3 Viertelstunden war sie jedoch vollkommen geronnen.

Wurde Milch auf 110° erhitzt, so zeigte sie nach 3 Stunden saure Reaction, sowie Hautstückchen, aber noch keine Gerinnung. Annähernd dasselbe Bild bot sie bei der Unterbrechung nach folgendem $1^1/_2$stündigem Erhitzen, während sie nach einer weiteren halben Stunde vollkommen geronnen war.

Hier wie auch bei der auf 100° erhitzten Milch ist also bei der Angabe der Erhitzungsdauer die zur Beobachtung des Verlaufes nöthige wiederholte Unterbrechung und die damit in Verbindung stehende wiederholte Erwärmung und Abkühlung zu berücksichtigen.

Minder genau liess sich die Temperatur von 120° einhalten, da der dieser Temperatur entsprechende Druck nur wenig

[1] Die Temperatur wurde in allen Fällen der grösseren Genauigkeit wegen durch Erhitzen auf den entsprechenden Druck hergestellt.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

geringer ist, als der 130° entsprechende, somit wegen der kleinen Druckdifferenz ein nur geringes Abweichen einen bereits grösseren Fehler im Gefolge hatte.

Zur Verringerung des früher genannten Anwärmungsfehlers wurde hier, sowie bei den bei höherer Temperatur angestellten Versuchen die Milch in die vorher zum Kochen erhitzte Autoclave gebracht. Die auf die Art erhitzte Milch war nach $1^1/_4$ Stunden nicht geronnen, nach weiterem einviertelstündigen Erhitzen war Gerinnung eingetreten. Eine frische Menge Milch zeigte nach ununterbrochenem $1^1/_2$ stündigen Erhitzen auf diese Temperatur gleichfalls Gerinnung.

Was die Temperatur von 130° betrifft, so konnte übereinstimmend mit den vorhandenen Angaben nach einstündigem Erhitzen Gerinnung constatirt werden, während bei nur etwas kürzer andauerndem Erhitzen die Gerinnung schon ausblieb.

Auf 140° erhitzte Milch war nach 10 Minuten nicht coagulirt, nach weiteren 10 Minuten war Gerinnung eingetreten. Eine andere Probe der gleichen frischen Milch zeigte nach 20 Minuten ununterbrochener Erhitzung Gerinnung.

Schliesslich wurde noch das Verhalten bei 150° untersucht. Während 1 Minute auf diese Temperatur erhitzte Milch noch nicht geronnen war, zeigte ein anderer Theil frischer Milch 3 Minuten erhitzt, Coagulation.

Das Aussehen der Milch war bei vorzeitiger Unterbrechung in allen Fällen ziemlich dasselbe, nur war die auf 100° erhitzte Milch wesentlich dunkler gefärbt als die auf 140° und 150° erhitzte.

Fasst man die durch diese annähernden[1] Versuche gewonnenen Resultate zusammen, so ergibt sich, dass die zur Milchgerinnung durch Erhitzen nöthige Temperatur und Zeit in folgendem Zusammenhange stehen:

[1] Allerdings hätten genauere Angaben durch Eintauchen von im zugeschmolzenen Glasrohre befindlicher Milch in ein auf die Versuchstemperatur vorher erhitztes Ölbad erzielt werden können, doch sind die auf die obige Art gewonnenen Resultate einerseits für den vorliegenden Zweck hinreichend genau, anderseits ist das plötzliche Erhitzen solcher Glasrohre immerhin ein gewagtes Experiment.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Milch auf circa 100° erhitzt,	gerinnt in circa 12	Stunden.
110	5	
120	$1^1/_2$	
130	1	Stunde
140	20	Minuten
150	3	

Farbe, Aussehen und saure Reaction der so coagulirten Milch waren bei den verschiedenen Temperaturen nur wenig von einander verschieden. Stets hatte sich eine compacte, gelb gefärbte Masse in ebenso gefärbter Flüssigkeit am Boden des Gefässes abgeschieden, bloss das filtrirte Serum der bei 140° und 150° coagulirten Milch war merklich heller gefärbt als das Serum der bei 100° geronnenen Milch, welche schwächere Färbung augenscheinlich mit der geringeren Caramelisirung des Milchzuckers zusammenhing.

Das in jedem einzelnen Falle durch wiederholtes Filtriren vollständig klar gewordene Serum zeigte auf Zusatz von Essigsäure eine sehr schwache Trübung;[1] im Filtrate derselben entstanden auf Zusatz der üblichen Eiweissfällungsmittel (Quecksilberchlorid, Phosphorwolframsäure + Salzsäure etc.) flockige Niederschläge.

Wurde des Weiteren nicht ganz frische Milch untersucht, so gerann sie schon nach dreiviertelstündigem; mehrere Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrte, nach einhalbstündigem Erhitzen auf 120° Im letzteren Falle war das Coagulum nur sehr wenig hellgelb gefärbt.

Durch diese Vorversuche über den Zusammenhang von Temperatur und Zeitdauer orientirt, wurden nun die Gerinnungsbedingungen von 130° für alle folgenden Versuche gleichmässig beibehalten.

In den auf 130° als Milchgerinnungstemperatur bezüglichen, von Cazeneuve und Haddon herrührenden Angaben heisst es nun, dass durch einstündiges Erhitzen von frischer Milch ein gelb gefärbtes Coagulum in caramelfarbiger Flüssigkeit erhalten wird. Bei der Destillation ist eine flüchtige Säure

---

[1] Offenbar von Caseïn herrührend.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

nachweisbar. Das Destillat vermag Milch zu coaguliren und gibt alle Reactionen der Ameisensäure.

Dieser sonst nicht näher beschriebene Vorgang wurde zunächst einer eingehenderen Untersuchung von mir unterzogen.

Versuch I.

a) Grössere Quantitäten des genannten frischen Milchgemisches wurden durch ziemlich rasches Erhitzen auf 130° und unter circa einstündiger Belassung bei dieser Temperatur zur Gerinnung gebracht. Das rasch abgekühlte Coagulum wurde filtrirt, etwas gewaschen, dann am Rückflusskühler mit Wasser kurze Zeit ausgekocht und schliesslich das Filtrat sammt Waschwässern einer Destillation unterworfen.

Ferner wurde in einem anderen Versuche die coagulirte Milch im kräftigen Dampfstrom unter Kühlung rasch destillirt.

Die auf diese verschiedenen Arten gewonnenen Destillate waren etwas trübe, zeigten sehr geringe Silberreduction und nur sehr schwach saure Reaction. Da aber bekanntlich mehrere mit Wasserdampf flüchtige Körper die Hauptreaction[1] der Ameisensäure, nämlich Silberreduction zeigen, und die Möglichkeit vorlag, dass die so schwach saure Reaction von der nach Béchamp[2] in jeder frischen Milch sich vorfindenden geringen Menge Essigsäure herrühren konnte, so musste zunächst das mit Soda alkalisirte Destillat zur Trockene gedampft und die wässerige Lösung nach Ansäuern mit Schwefelsäure einer erneuerten Destillation unterworfen werden. Das Destillat zeigte jetzt wieder sehr schwache Reductionsfähigkeit. Da von den nun bei Milch in Betracht kommenden Körpern nur noch Phenole und Ameisensäure zu berücksichtigen waren, erstere nicht nachgewiesen werden konnten, so war erst jetzt die Anwesenheit der Ameisensäure, allerdings nur in Spuren, erwiesen.

Mit dem so erhaltenen Destillate wurden ferner Gerinnungsversuche angestellt, doch schlugen alle mit einem Theile der gleichen frischen Milch und dem dieser Milchmenge ent-

---

[1] Eine Salzdarstellung bei diesen geringen Mengen ganz ausgeschlossen.

[2] Compt. rend. de l'acad. d. sciences, 1873, p. 836.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

sprechenden, sowie auch etwas grösserem Destillatantheile angestellten Gerinnungsversuche fehl.

Schliesslich wurde ein aliquoter Destillationsantheil mit $^1/_{50}$-Normalnatronlauge unter Anwendung von Phenolphtaleïn titrirt und die so erhaltenen Mengen Säure ohne Berücksichtigung eventuell gleichzeitig vorhandener anderer flüchtiger Säuren, als Ameisensäure berechnet.

So wurde in mehreren untersuchten Fällen des aus demselben Kuhstall entnommenen Milchgemisches bei Vermeidung überflüssiger Erhitzung nicht mehr als circa 0·003 *g* Ameisensäure pro 100 cm^3 Milch gefunden.

Erwähnt muss hiebei werden, dass hier ebenso wie auch bei den späteren Versuchen die lange dauernde, bei der Destillation der schon coagulirten Milch im Dampfstrom erforderliche Erhitzung eine weitere, wenn auch nur geringe Bildung flüchtiger Säure bewirkt, was bei der Zeitdauer der Destillation zu berücksichtigen ist.

Den in diesem Versuche erhaltenen geringen Mengen flüchtiger Säure, die ausserdem wie erwähnt sich nach Béchamp schon in jeder frischen Milch vorfinden können, ist also für den Coagulationsprocess kein Werth beizumessen.

In Frage kam nun, ob die bei 130° geronnene Milch nach dem Versetzen mit Schwefelsäure der Destillation unterworfen, grössere Mengen flüchtiger Säure liefert.

Versuch II.

Zur Entscheidung dieser Frage wurde frische Milch wie in Versuch I coagulirt, mit etwas Schwefelsäure (3 cm^3 20% Säure pro 100 cm^3 Milch) versetzt und im Dampfstrom destillirt; so wurde ein Lakmus stark röthendes Destillat erhalten, welches analog I auch bei der zweiten Destillation deutliche Silberreduction und somit auch die Gegenwart von Ameisensäure anzeigte.

Wie bei I bestimmt und berechnet, wurde thatsächlich ein viel grösserer Säuregehalt gefunden, welcher als Mittel der untereinander nur sehr wenig abweichenden Bestimmungen[1]

[1] Die so gefundenen Säuremengen sind, wie schon erwähnt, abhängig von der Art des Anwärmens, sowie namentlich der Abkühlungs- und Destil-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

circa 0·031 *g* flüchtiger Säure ergab. Gerinnungsversuche mit einem Theil derselben unterdessen im Eisschranke aufbewahrten Milch am selben Tage ausgeführt, liessen auf Zusatz des der verwendeten Milch entsprechenden Destillatantheiles weder bei Zimmertemperatur, noch bei kurzem Aufkochen eine Coagulation erkennen, während ein geringer Zusatz von Essigsäure Gerinnung herbeiführte.

Versuch III.

Verhalten frischer Milch bei dem Erhitzen mit Schwefelsäure.

Um den Einfluss der zugesetzten Menge Schwefelsäure zu ermitteln, wurde unter gleichen Verhältnissen wie in II dieselbe frische Milch mit Schwefelsäure destillirt. Die auf Zusatz der Säure natürlich sofort geronnene Milch zeigte nach der Destillation weder eine Farbenänderung, noch wesentliche Mengen flüchtiger Säure. Wie in I bestimmt und berechnet, wurden circa 0·004 *g* flüchtiger Säure erhalten.

Die sich aus II und III ergebende Differenz kann also als die während des einstündigen Erhitzens auf 130° gebildete Menge flüchtiger Säure betrachtet werden.

Es war somit erst jetzt bewiesen, dass in einstündig auf 130° erhitzter Milch direct bei diesem Erhitzungsvorgang erhebliche Mengen flüchtiger Säuren entstehen, welche sich im gebundenen Zustande vorfinden.

Da jedoch nach Hammarsten[1] frische verdünnte Milch auf Zusatz von Essigsäure erst bei deren Gehalt von 0·075% bis 0·1% gerinnt, die hier verwendete Milch sogar erst durch einen über 0·13% liegenden Säuregehalt zur Gerinnung gebracht werden konnte, so war eine Gerinnung selbst auf Grund dieser in *b)* gefundenen wesentlichen Mengen flüchtiger Säure, auch unter Berücksichtigung des sehr kleinen Wirkungsunterschiedes, welcher bekanntlich zwischen den verschiedenen

---

lationsdauer und jedenfalls etwas höher als die bei der Gerinnung gebildeten. Je schneller diese drei Manipulationen vor sich gehen, desto richtiger ist der gefundene Werth, wobei selbstverständlich eine genaue Temperatur, respective Druckeinhaltung vorausgesetzt ist.

Königl. Ges. der Wissensch. zu Upsala, 1877

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Säuren in ihrem Verhalten zu Milch liegt, bei Zimmertemperatur ganz ausgeschlossen.

Immerhin musste noch das Verhalten der Milch gegen Säure in der Hitze berücksichtigt werden. Diese Frage war jedoch nicht ohneweiters zu entscheiden, da bei höheren Temperaturen wegen der nachgewiesenen, ziemlich rasch zunehmenden Säuerung, sowie auch sonstigen möglichen Veränderungen, der ausschliessliche Einfluss der zugesetzten Säure allein nicht ermittelt werden konnte. Um dennoch wenigstens einige Anhaltspunkt diesbezüglich zu erlangen, wurde das Verhalten bei Temperaturen bis zum Siedepunkt unter kürzerer Einwirkungsdauer untersucht, wobei allerdings wie gesagt der Beginn einiger Veränderungen auch schon zu erwarten war.

Versuch IV

Verhalten künstlich angesäuerter frischer Milch bei dem Erhitzen.

a) Frische Milch mit Säure versetzt, durchgemischt und aufgekocht, zeigt bei einem Gehalte von circa 0·055% Essigsäure schon den ersten Beginn einer Gerinnung, doch ist bei diesen Säuremengen selbst bei etwas längerer Behandlung im lebhaft siedenden Wasserbade keine vollständige Coagulation zu erreichen und tritt eine annähernd vollständige Coagulation erst auf weiteren Säurezusatz bei circa 0·07% Gehalt ein.

Ebenso tritt der Beginn der Gerinnung bei nachträglichem Zusatz von Säure zu aufgekochter, noch ganz heisser Milch auch schon früher ein, was auch mit der bekannten Thatsache, dass zur Coagulation gekochter und wieder ausgekühlter Milch etwas geringere Säuremengen wie zur Gerinnung ungekochter Milch nöthig sind, im Einklange steht.

In beiden Fällen aber sind diese kleineren Säuremengen noch immer wesentlich höher als die nach einstündigem Erhitzen von Milch auf 130° gefundene Menge flüchtiger Säure.

Eine vollständige Gerinnung auf Grund der in II und III gefundenen flüchtigen Säuremengen allein war daher auch bei einer der Kochhitze sehr nahen Temperatur in kürzerer Zeit ausgeschlossen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Versuch V

Zur Ergänzung der über den Säuerungsprocess der Lactose in der Hitze vorliegenden Angaben, soweit diese hier in Betracht kamen, wurden

a) circa 4—8% wässerige Lactoselösungen 1 Stunde auf 130° erhitzt. Die Reaction der nun gebräunten Flüssigkeit war nach wie vor neutral, es kam daher die nach J. Munk[1] bei längerem Erhitzen von Lactose auf noch höhere Temperatur durch die fermentähnliche Wirkung des Wassers entstehende Säuerung hier noch nicht in Betracht. Es fand sich somit bestätigt, dass das Auftreten flüchtiger Säuren, welche auch ich bei dem Erhitzen von Lactoselösungen mit Alkalien in grösserer Menge nachweisen konnte, ausschliesslich der Gegenwart der letzteren zuzuschreiben ist;

b) circa 5% Lactoselösungen mit einem Gehalt von 0·5% Dinatriumphosphat 1 Stunde auf 100° erhitzt, zeigten neben der Braunfärbung auch den Umschlag der alkalischen in die saure Reaction, ein Zeichen, dass dieser Vorgang nicht an sehr lange Wirkungsdauer gebunden ist.

c) Eine gleiche Lactoselösung wie in *b)* wurde rasch eben auf 150° erhitzt und rasch abgekühlt. Das Verhalten war das gleiche wie in *b)*, nur war die Lösung etwas lichter gefärbt.

War in den vorhergehenden Versuchen bewiesen worden, dass die Gerinnung unter den genannten Zeit- und Temperaturverhältnissen durch flüchtige Säure allein keine vollständige sein kann, so war es noch von Interesse, die Wirkung der gesammten unter obigen Bedingungen entstandenen flüchtigen und nichtflüchtigen Säuren zu prüfen. Da nun die schon von Cazeneuve und Haddon aufgestellte und für Temperaturen bei und unter 100° bestätigte Behauptung der Ähnlichkeit des Verlaufes der Säurebildung in circa 5% alkalischen Lactoselösungen und in Milch von mir in Versuch II auch für die durch Erhitzen auf 130° coagulirte Milch bestätigt wurde, so kann voraussichtlich auch eine derartige Lactoselösung nicht bloss über die unter diesen Umständen gebildete flüchtige, sondern

---

[1] Zeitschrift für phys. Ch. 2, S. 357.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

auch über die gesammten gebildeten Säuremengen und deren Verhalten Aufschluss geben.

Versuch VI.

Gleiche Volumina frischer Milch und einer einstündig auf 130° erhitzten Lösung von 10 *g* Lactose, 1 *g* Dinatriumphosphat und 100 *g* Wasser wurden gemischt und stehen gelassen. Ausser der von der braunen Lactoselösung herrührenden schmutziggelben Farbe zeigte das Gemisch keine weitere Veränderung, als die einer analog mit Wasser verdünnten Milch. Am Wasserbade kürzere Zeit erhitzt, oder einmal aufgekocht, veränderte sie sich ebensowenig.

Dieser Versuch liess also den betreffs der flüchtigen Säure auf Grund des gelieferten Beweises gezogenen Schluss mit sehr grosser Wahrscheinlichkeit dahin ausdehnen, dass die Gerinnung durch die gebildeten und vorhandenen Säuren allein, einerlei, ob dieselben flüchtig oder nichtflüchtig, nicht erklärt werden kann.

Zur weiteren Ergründung der Gerinnungsursache erübrigte in Anbetracht der bekannten Beständigkeit der Fette in der Hitze nur noch auf das Verhalten des Caseïns bei höherer Temperatur, worüber nur ganz kurze, sich widersprechende Angaben vorliegen, etwas näher einzugehen.

B. Caseïn.

Es gelangte ein mit Alkohol und Äther hergestelltes, reines Caseïn zur Verwendung.

Versuch I.

Verhalten von in Dinatriumphosphat gelöstem Caseïn bei dem Erhitzen auf 130°.

a) Nach der Vorschrift E. Salkowski's[1] wurde eine Caseïnlösung durch Verreiben von 8 *g* Caseïn mit 0·8 *g* Dinatriumphosphat unter allmäligem Zusatz von 80 cm^3 Wasser bei gelinder Wärme hergestellt.

---

[1] Berliner klin. Wochenschrift, 1894, Nr. 47

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Die milchähnliche Flüssigkeit wurde filtrirt, wobei sie unverändert durch das Filter ging und hierauf eine Hälfte 1 Stunde auf 130° erhitzt.

So wurde eine nur sehr wenig gefärbte, trübe Flüssigkeit erhalten, in welcher sich eine hohe Schichte einer stärker gefärbten, zusammenhängenden, dichten Masse ausgeschieden hatte. Aus der überstehenden Flüssigkeit konnte auch nach langem Stehen durch wenig Essigsäure noch etwas eines feinflockigen Niederschlages gefällt werden.

Wurde die überstehende Flüssigkeit aber sehr bald nach der Versuchsbeendigung abgegossen, so schied sich in wenigen Stunden noch ein Niederschlag von gleicher Beschaffenheit wie der nach dem Erhitzen erhaltene ab.

Die Reaction der Lösung hatte sich nicht merklich geändert und war nach wie vor dem Erhitzen gegen Lakmus schwach sauer.

Die andere Hälfte der ursprünglichen filtrirten, nicht erhitzten Caseïnlösung hatte bei Zimmertemperatur innerhalb 24 Stunden gar nichts abgesetzt.

Eine Lösung von annähernd halber Concentration wie die genannte verhielt sich beim gleichen Erhitzen ganz ähnlich, nur war der Absatz am Gefässboden eben in der Bildung begriffen, oder sehr dünn, und vollzog sich die sichtbare nachträgliche Ausscheidung noch langsamer. In einer Lösung von etwas geringerer Concentration blieb innerhalb kürzerer Zeit die Ausscheidung ganz aus.

Die ursprünglich durchscheinenden, schwach opalisirenden Lösungen zeigten nach dem Erhitzen Spuren einer Färbung und waren ganz undurchsichtig geworden.

Ein Theil der ursprünglichen filtrirten Lösung aber hatte wieder innerhalb der gleichen Dauer nichts abgeschieden.

Versuch II.

Verhalten von in verdünnter Natronlauge gelöstem Caseïn bei dem Erhitzen auf 130°

Es wurde eine concentrirte und eine verdünnte Lösung von gleichem Caseïngehalt wie in I in Natronlauge auf die Art

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

bereitet, dass wenige Tropfen sehr verdünnter Lauge unter Schütteln zu in destillirtem Wasser vertheilten Caseïn zugesetzt wurden. Mit sehr wenig stark verdünnter Salzsäure wurde dann neutrale bis sehr schwach saure Reaction hergestellt. Die so erhaltenen Lösungen hatten das gleiche Aussehen wie die entsprechenden Dinatriumphosphat-Caseïnlösungen.

Bei dem Erhitzen verhielten sie sich analog wie diese, doch waren die ausgeschiedenen Massen sehr abhängig von der Reaction, indem Spuren alkalischer Reaction die Menge der Ausscheidung bereits stark herabsetzten, oder die Ausscheidung, namentlich bei verdünnten Lösungen, ganz verhinderten.

Es war also gelungen, entgegen neueren diesbezüglichen Angaben, in auf verschiedene Art hergestellten Caseïnlösungen schon durch einstündiges Erhitzen auf 130° eine einer beginnenden Gerinnung sehr ähnliche Veränderung[1] (Ausscheidung) des Caseïns herbeizuführen. Diese Untersuchungen stehen auch im Einklange mit einer nachträglich gefundenen, ganz kurzen, älteren Notiz Hammarsten's,[2] wonach auf andere Art[3] hergestellte Caseïnlösungen durch Erhitzen auf 130—150° in zugeschmolzenem Rohre vollständig coagulirten.

Versuch III.

Es wurde eine Lösung aus 4 *g* Caseïn, 0·4 *g* Dinatriumphosphat und 100 *cm*³ Wasser hergestellt.

a) Ein Theil dieser Lösung wurde für sich 1 Stunde auf 130° erhitzt.

---

[1] Die so ausgeschiedenen Massen widerstanden länger der Fäulniss als die ursprüngliche Caseïnlösung.

[2] Die genannte Notiz wurde »Upsala läkerreförgs. Förhandlg.« 9, p. 452, sowie in dem von Hammarsten verfassten Bericht im »Jahresber. für Thierchemie« 1874, S. 135, in einer grossen Arbeit: »Über den chemischen Verlauf bei der Gerinnung des Caseïns mit Lab« gefunden. Merkwürdigerweise habe ich eine Erwähnung dieses Versuches weder in darauf bezughabenden Arbeiten, noch sonst in der späteren Literatur finden können.

[3] Durch wiederholte Essigsäurefällung gewonnenes Caseïn in Kalkwasser gelöst und mit Phosphorsäure neutralisirt.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

b) Ein gleicher grosser Theil wurde nach Zusatz des gleichen Volumens circa 10% Lactoselösung gleichzeitig mit *a)* für sich behandelt.

c) Der übrig bleibende kleinere Theil wurde mit dem gleichen Volumen 10% Lactoselösung gekocht.

Während nun *a)* das schon unter I geschilderte Verhalten zeigte, war in *b)* vollständige Coagulation eingetreten, das Coagulat sah der durch Erhitzen auf 130° geronnenen Milch ganz gleich.

Die gefärbte compacte Ausscheidung am Boden des Gefässes, die klare gelbliche Flüssigkeit, welche auf Zusatz geringer Mengen Essigsäure Spuren einer Trübung, sowie auch die übrigen Eiweissreactionen zeigte, schliesslich die Zunahme der sauren Reaction, alles das stimmte mit dem Verhalten einstündig auf 130° erhitzter Milch überein.

c) war ebenso unverändert geblieben wie gleichbehandelte Milch.

Die durch die gleichzeitige Anwesenheit der Lactose und des in der Caseïnlösung enthaltenen Alkalis bei längerem Erhitzen gebildeten Säuren hatten also im Gegensatze zu der lactose- und somit auch säurefreien Caseïnlösung, welche wohl eine wesentliche Veränderung und beginnende Abscheidung, aber keine vollendete Gerinnung zeigte, unter sonst ganz gleichen Verhältnissen eine vollständige Coagulation herbeigeführt.

Unter welchen Bedingungen nun diese Säuremengen einen solchen Einfluss auf diesen Gerinnungsvorgang nehmen können, darüber soll der nächste Versuch Aufklärung geben.

Versuch IV

Verhalten von Caseïnlösungen gegen die durch Erhitzen alkalischer Lactoselösungen auf 130° gebildete Säuren.

Eine circa 4% Caseïnlösung mit circa 0·4% Na_2HPO_4-Gehalt wurde in zwei gleiche Theile getheilt.

a) Der eine Theil, wie in *A* IV mit erhitzter alkalihaltige Lactoselösung behandelt, blieb unverändert.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

b) Die andere Hälfte derselben Caseïnlösung wurde wie gewöhnlich 1 Stunde auf 130° erhitzt; die starke Trübung, sowie geringe Abscheidung wieder bestätigt. Ein Theil dieser noch nicht ganz abgesetzten Lösung ohne Aufrühren der am Boden beginnenden Abscheidung durch ein Filter abgegossen, mit dem gleichen Volumen erhitzter Lactoselösung wie in *a)* versetzt, zeigte sofort wieder die dunkelbraune Mischfarbe. Bei einmaligem Aufkochen dieses Gemisches begann bereits die Gerinnung, die bei nochmaligem Aufkochen mit der Bildung einer an der Wand haftenden Masse und eines klaren Serums endete; beide waren mehr oder weniger braungelb gefärbt.

In dem Filtrate konnte wieder mit Essigsäure eine Spur einer Trübung und mit den üblichen Reactionen ein Eiweisskörper in geringer Menge nachgewiesen werden. Mit alkalifreier erhitzter Lactoselösung analog verfahren, blieb das Gemisch unverändert.

Dieser Versuch bewies also wieder sehr deutlich, dass das Caseïn bei dieser Erhitzung eine wesentliche Veränderung eingegangen, sowie ferner, dass nur dieses so veränderte Caseïn thatsächlich schon mit geringeren Mengen Säure, wie sie eben in dieser einstündig auf 130° erhitzten alkalischen Lactoselösung sich bilden, vollständig coagulirbar ist.

Das so veränderte Caseïn ist also sowohl gegen Säure, wie namentlich gegen Alkali sehr empfindlich. Eine bestimmte Menge Säure wirkt fördernd auf diesen Vorgang und bewirkt schon bei einer tieferen als der dem Caseïn entsprechenden Gerinnungstemperatur eine vollständige[1] Ausscheidung (Gerinnung). Die hiezu erforderliche Säuremenge ist geringer wie die zur Fällung ungekochter kalter oder eben aufgekochter Caseïnlösung nöthige Menge.

Ist überschüssiges Alkali vorhanden, so bleibt der sonst bei neutraler oder schwach saurer Reaction schwer lösliche Körper vollkommen in Lösung und kann unter solchen Umständen das Caseïn nach dem Erhitzen auf den ersten Anblick unverändert erscheinen. Dieses Verhalten erklärt auch die

[1] Abgesehen von den geringen, Filtrat durch Essigsäure noch abscheidbaren Mengen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

neuere Literaturangabe, nach welcher die Unveränderlichkeit des Caseïns auf Grund solcher mit überschüssigem Alkali ausgeführten Versuche zu beweisen versucht wurde.

Was die Veränderung des Caseïns, sei es gequollen oder gelöst in der genannten milchweissen opalisirenden Flüssigkeit, bei diesem Erhitzen betrifft, so schliesse ich mich der von Hammarsten für die Labgerinnung bewiesenen und auch bei der durch Erhitzen geronnenen Milch angewandten Erklärung, wonach das Caseïn eine Spaltung erleidet, an.

Das Hauptproduct dieser Spaltung, ein schwerer löslicher Körper, fällt bei dem Erhitzen concentrirter Lösungen zum grössten Theil in sehr kurzer Zeit, bei verdünnten Lösungen naturgemäss viel schwerer, also erst nach mehreren Stunden und in viel geringerer Menge aus oder bleibt bei stärkerer Verdünnung suspendirt.

Wie in diesen milchähnlichen Lösungen, scheint sich das Caseïn auch in der Milch bei gleichem Erhitzen auf 130° zu erhalten; die schon unter der Caseïngerinnungstemperatur durch die Wärme eingeleitete Veränderung kann auch hier durch Säure vervollständigt werden. Die bei diesem Erhitzen auftretenden Säuremengen reichen ebensowenig wie bei den entsprechenden Caseïnlösungen zur Gerinnung bei tieferer Temperatur aus.

Dieses letztere Verhalten deutet vielleicht darauf hin, dass innerhalb gewisser Grenzen die zur Herbeiführung der Gerinnung nöthigen Säuremengen umso grösser sein müssen, je tiefer die Temperatur liegt.

Man kann demnach zwischen einer Gerinnung der Milch als ausschliessliche Säurewirkung, wie sie schon bei niederer Temperatur auf Zusatz grösserer Mengen Säure eintritt, und einer Gerinnung, hervorgerufen durch das gleichzeitige Zusammenwirken einer Caseïnveränderung und geringeren Mengen Säure (combinirten Gerinnung), wie es z. B. bei einstündigem Erhitzen der Milch auf 130° der Fall ist, unterscheiden. Die gleiche Gerinnungsursache wie bei 130° liegt auch den Eingangs erwähnten, bei 100°, 150° und den dazwischenliegenden Temperaturen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

angestellten Gerinnungsversuchen zu Grunde. Ich kann mich daher auch Hammarsten's[1] Ansicht, dass der chemische Verlauf bei der Gerinnung mit Lab und bei dem Gerinnen durch Hitze derselbe sei, nicht anschliessen.

Die Grenze dieser combinirten Gerinnung ist nach oben hin wegen der bei selbst so kurzem Erhitzen, wie es auf 150° erhitzte Milch zur Gerinnung erfordert, sich schon bildenden Säure,[2] nicht direct festzustellen; was die untere Grenze betrifft, so liegt diese nach meinen Untersuchungen jedenfalls unter 100°, voraussichtlich jedoch über 60°, da nach Meissel's[3] Untersuchungen nach 2—3wöchentlichem Erhitzen auf diese Temperatur bereits theilweise Peptonisirung eintrat, somit das Eintreten einer vollkommenen Gerinnung der ursprünglich vorhandenen Eiweisskörper unmöglich wird. Allerdings ist hiebei die Möglichkeit, dass die vorhandene Säure das noch unveränderte Caseïn zur Gerinnung bringt, wenn auch gerade nicht wahrscheinlich, so doch nicht ganz ausgeschlossen. Wahrscheinlicher ist es, dass bei der durch 35stündiges Erhitzen auf mässig siedendem Wasserbade stark gefärbten Milch, welche bei stark saurer Reaction keine vollkommene Abscheidung zeigte, jedoch durch Zusatz kleiner Mengen Essigsäure zum Gerinnen gebracht werden konnte, bei weiterem Erhitzen noch eine combinirte Gerinnung möglich ist, umsomehr, als auch nach der neuesten, eben erschienenen Arbeit P. Solomin's[4] in nur ganz kurze Zeit auf 80° erhitzter Milch schon ausgeschiedenes Caseïn nachweisbar ist. Der Beginn dieses gleichen Vorganges der Caseïnveränderung und Säuerung findet auch schon bei der durch kürzeres Erhitzen über 100° und darauffolgendes wiederholtes Erhitzen nahe unter 100° präservirten Milch statt.

Sind meine Untersuchungen hinsichtlich der Grenze dieser combinirten Gerinnung, sowie der Säurebildung der Lactose

---

[1] Jahresbericht für Thierchemie, Bd. IV.

[2] Siehe das Verhalten der Lactose.

[3] Berichte der deutschen chem. Ges. XV, S. 1263.

[4] Arch. Hyg. 28, p. 43. — In dieser Arbeit unterscheidet auch Solomin zwischen Ausscheidung und Gerinnung, ohne jedoch weiter darauf einzugehen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

und des Verhaltens von Caseïn auch noch nicht abgeschlossen, so ist jedenfalls einstweilen der Beweis erbracht, dass die durch einstündiges Erhitzen auf 130° erhitzte Milch nur in Folge des gleichzeitigen Zusammenwirkens beider Factoren gerinnt.

Schliesslich ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. E. Salkowski anlässlich der liebenswürdigen Unterstützung bei diesen Untersuchungen meinen Dank auszudrücken.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse

Jahr/Year: 1897

Band/Volume: 106_2b

Autor(en)/Author(s): Bardach Bruno

Artikel/Article: Über die Gerinnungsursache erhitzter Milch. 218-235