

Acta Medica Okayama

Volume 4, Issue 1

1934

Article 6

FEBRUAR 1934

Über die Zustandsänderung der Milch- und Serumantigene durch hohe Erhitzung.

Sadamu Uwazumi*

*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Über die Zustandsänderung der Milch- und Serumantigene durch hohe Erhitzung.*

Sadamu Uwazumi

Abstract

Der Milcheiweißkörper besteht aus dem Milchkasein, -globulin und -albumin, der Serumeiweißkörper aus dem Serumglobulin und -albumin. Kollmeyer¹⁰), Bauer und Kleinschmidt¹¹) bestätigten, daß das Milchkasein nur in der Milchdrüse spezifisch erzeugt wird. Die Beziehungen zwischen den einzelnen Milcheiweißkörpern und Serumeiweißkörpern wurden serologisch und chemisch bis jetzt genau festgestellt. Es ist schon bekannt, daß das Kasein außergewöhnlich koktstabil ist, so daß seine Antigenität, d.h. das Prazipitogen und die Prazipitabilität, trotz Warmezusatz unverändert bleibt. Die Milchmolke dagegen ist sehr koktstabil; daher wird die Antigenität, d.h. das Prazipitogen und die Prazipitabilität, durch Erhitzung ziemlich leicht zerstört. Es gibt aber wenige Berichte über Untersuchungen, die den Verminderungsgrad der Prazipitogenität der Milch bei steigender Warmewirkung systematisch feststellen wollen. Daher untersuchte ich die Verminderung der Prazipitogenität der Milch als Ganzes und verglich sie mit der des Serums. Bei Erhitzung bis zu 80°C; geht die Verminderung sowohl bei der Milch als auch bei dem Serum parallel, aber die Verminderung der Milchprazipitogenität wird bei Erhitzung von mehr als 90°C; nicht mehr beobachtet. Sie bleibt bei Erhitzung auf 120°C; noch gut erhalten, während die des Serums durch Erhitzung bei 90°C; stark vermindert oder ganz vernichtet wird. Besonders klar kann die Prazipitogenitätsverminderung des Serums nach der Antikörperverdünnungsmethode festgestellt werden. Die Zustandsspezifität der Milch wird durch Erhitzung bei 80°C; noch nicht, bei 100°C; schwach, bei 120°C; deutlich nachgewiesen, während die des Serums bei 80°C; schwach, bei 100°C; und auch bei 120°C; ziemlich hochgradig nachgewiesen werden kann. Auf Grund dieser Tatsachen kann man wohl vermuten, daß durch schwache Erhitzung nur die Milchmolke angegriffen wird, während das Kasein unverändert bleibt. Erst durch starke Erhitzung wird auch das Kasein angegriffen, erst dann also kann die Zustandsspezifität der ganzen Milch in der Reaktion nachgewiesen werden. Meine eigenen Versuchsergebnisse fasse ich folgendermaßen kurz zusammen: 1. Die Prazipitogenität der Milch wird durch die Hitzewirkung abgeschwächt, sie ist aber gegen starke Erhitzung hitzebeständig, während die Prazipitogenität des Serumeiweißes schon durch Erhitzung bei 90°C; stark vermindert oder ganz vernichtet wird. 2. Die Zustandsspezifität der Milch ist bei schwacher Erhitzung schwerer als die des Serums nachweisbar. An dieser Stelle sei besonders Herrn Prof. Dr. M. Ogata mein warmster Dank ausgesprochen für die mannigfachen, sowohl während der Periode der Untersuchungen als auch bei Abfassung der Arbeit empfangenen Anregungen.

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

Aus dem Hygienischen Institut der Med. Fakultät Okayama
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

Über die Zustandsänderung der Milch- und Serumantigene durch hohe Erhitzung.

Von

Sadamu Uwazumi.

Eingegangen am 25. November 1932.

Einleitung.

Es ist wertvoll zu untersuchen, in welchem Verhältnis das Milcheiweiß zum Serumeiweiß steht. Untersuchungen über die Milch wurden schon von der biochemischen oder physikalisch-chemischen Seite ziemlich genau angestellt, während bisher nur wenige Untersuchungen von der serologischen Seite veröffentlicht wurden. Besonders in Bezug auf ihre Zustandsänderung ist die Milch nicht nur in theoretischer, sondern auch in praktischer Hinsicht sehr interessant. Deshalb beschäftigte ich mich eingehend mit der Hitzewirkung auf die Milch und verglich ihre Verhalten mit dem des Serumeiweißes.

Untersuchungsmethode.

1. Das Erhitzen des Serums bei 60°C, 70°C, 80°C, 90°C und 100°C.
Frisches Serum wurde mit Wasser 10 fach verdünnt. 10 cc der Lösung wurden in Reagenzgläser gegossen, die Reagenzgläser mit Watte fest verstopft und 30 Minuten lang bei 60°C, 70°C, 80°C, 90°C und 100°C im Wasserbade erhitzt. Nach Abkühlung fügten wir kristallisiertes Kochsalz hinzu, sodaß die Emulsion eine physiologische Kochsalzlösung enthielt. Die abgekühlte Lösung wurde als Immunogen und Präzipitinogen benützt.
2. Das Erhitzen des Serums bei 120°C.
5 cc frisches Serum wurden in Autoklav 30 Minuten lang bei 120°C erhitzt. Das koagulierte Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung bis zur Menge von 10 cc versetzt und dann 24 Stunden lang bei 37°C im Brutschrank aufbewahrt, um das erhitzte Eiweiß gut extrahieren zu können. Der Extrakt wurde abzentrifugiert und die Abgußlösung als Immunogen und Präzipitinogen benützt.
3. Das Erhitzen der Milch bei 60°C, 70°C, 80°C, 90°C, 100°C und 120°C.

10 cc Milch wurden in Reagenzgläser gegossen, die Reagenzgläser mit Watte fest verstopft und 30 Minuten lang bei 60°C, 70°C, 80°C, 90°C und 100°C im Wasserbade erhitzt. Nach Abkühlung in kaltem Wasser wurde die Milchlösung als Immunogen und Präzipitinogen benützt. 10 cc frischer Milch wurden im Autoklav 30 Minuten lang bei 120°C erhitzt. Nach Abkühlung in kaltem Wasser wurde die Milchlösung als Immunogen und Präzipitinogen benützt.

4. Präzipitinreaktion.

Zur Präzipitinbestimmung wurden die folgenden zwei Methoden (Ringprobe) angewandt: die *Uhlenhuths*che Methode und die Antikörperverdünnungsmethode unseres Institutes. Bei der ersten Methode wurde das Präzipitinogen in absteigender Weise mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und auf das Originalserum überschichtet. Man nennt den höchsten Grad der Verdünnung, den diese Reaktion hervorrufen kann, den Präzipitintiter. In dieser Abhandlung werde ich nachher diese Methode kurz „U'sche M.“ bezeichnen. Bei der zweiten Methode wird das in absteigender Weise verdünnte Präzipitinogen auf das Immunserum, welches mit 1% Gummilösung oder 10% Meerschweinchenserum in gleicher Weiss verdünnt wird, überschichtet. Man heisst die Bindungszone des Immunserums diejenige Verdünnung, bei der das Antigen mit dem Immunserum am stärksten reagiert. Der höchste Verdünnungsgrad des Immunserums an der Bindungszone wurde der Präzipitintiter nach der Antikörperverdünnungsmethode genannt. In dieser Abhandlung werde ich nachher diese Methode kurz „O'sche M.“ nennen.

Experiment.

Experiment 1. Die Zustandsänderung des Serumeiweißes als Präzipitinogen durch Hitzewirkung.

Nach *Nuttall*¹⁾ wird die Präzipitinogenität des Serums durch 30 Minuten langes Erhitzen bei 65°C vollständig vernichtet. Nach *Graham-Smith*²⁾ wird die Präzipitinogenität des Rinderserums durch 30 Minuten langes Erhitzen bei mehr als 64°C stets ganz vernichtet. Nach *Horn* beginnt die Präzipitinogenitätsverminderung erst zwischen 50°C und 60°C. Dem widersprach *Schmidt* mit der Behauptung, daß die Präzipitinogenität durch 30-60 Minuten langes Erhitzen bei 60°C keineswegs beeinflußt und durch 30 Minuten langes Erhitzen bei 100°C vollständig vernichtet wurde.

Obwohl schon viele Untersuchungen über die Wirkung von Hitze auf die Präzipitinogenität des Serums veröffentlicht wurden, wurde der Verminderungsgrad bei der Einwirkung steigender Temperatur systematisch noch nicht nachgewiesen. Daher habe ich die Wirkung der Hitze auf die Präzipitinogenitätsverminderung bei 60°C, 70°C, 80°C, 90°C, 100°C und 120°C systematisch studiert.

Um die Hitzewirkung auf die Milch zu vergleichen, untersuchte ich zuerst die Hitzewirkung auf die Präzipitinogenität des Serumeiweißes. Wie aus der Tabelle 1 ersichtlich ist, bleibt die Präzipitinogenität des Rinderserums durch 30 Minuten langes Erwärmen bei 60°C unverändert. Durch Erwärmen bei 70°C wird die Präzipitinoge-

Üb. d. Zustandsänderung d. Milch- u. Serumantigene durch hohe Erhitzung. 145

Tabelle 1. Antirinderkaninchenimmunsrum.
(Präzipitintiter nach U'scher Methode.)

Nr.	Antigen	Antig.-verd.		50	100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000	
75	nativ			+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	60°C			+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	70°C			+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	80°C			+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	90°C			+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	100°C			+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	120°C			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	nativ			+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	60°C			+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	70°C			+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	80°C			+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	90°C			+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	100°C			+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	120°C			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 2. Antirinderkaninchenimmunsrum.
(Präzipitintiter nach der Antikörperverdünnungsmethode.)

Nr.	Antigen	Antik.-verd.		2	4	8	10	20	40	80	160	320	640
		Antig.-verd.											
75	nativ	500		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	60°C	500		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	70°C	250		+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	80°C	250		+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	90°C	250		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	100°C	100		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	120°C	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	nativ	100		+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	60°C	100		+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	70°C	100		+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	80°C	50		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	90°C	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100°C	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	120°C	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

nität einigermaßen abgeschwächt. Durch Erhitzen bei 80°C wurde sie jedoch deutlich abgeschwächt, sowohl nach U'scher Methode als auch besonders nach der Antikörperverdünnungsmethode, und mit der Steigerung der Einwirkungstemperatur vermehrte sich der Verminderungsgrad der Präzipitinogenität. Durch 30 Minuten langes Erhitzen bei 100°C ist die Präzipitinogenität nach U'scher Methode noch nicht ganz erloschen, in zwei Antirinderkaninchenimmunsera zeigte sich 2.5%iger Titer des Originalserums und durch 30 Minuten langes Erhitzen bei 120°C war die Präzipitinogenität nicht mehr nachweisbar, während nach der Antikörperverdünnungsmethode schon durch Erhitzen bei 90°C die Präzipitinogenität sich stark vermindert oder ganz erlischt. (Tabelle 1 u. 2).

Experiment 2. Die Zustandsänderung der Milch als Präzipitinogen durch Hitzewirkung.

Über die Präzipitinogenität der Milch machte *Bordet*³⁾ zum ersten Male eine Veröffentlichung. Er immunisierte intraperitoneal das Kaninchen mit Kuhmilch und stellte ein Antikuhmilchimmunserum her. *Schütze*⁴⁾ berichtete, daß die Präzipitinogenität der Milch durch 3 Stunden langes Erhitzen bei 100°C einigermaßen beeinflußt wurde, während die Antigenität zur Antikörperbildung durch diese Eingriffe ganz und gar nicht zerstört wurde. *Moro*⁵⁾ und *Fuld*⁶⁾ behaupteten, daß die erhitzte Milch mit dem Antikuhmilchimmunserum schnell reagiere. Weiter fügte *Fuld* noch hinzu, daß erhitzte Milch kein Präzipitin bilden kann. Auf Grund dieser Tatsache hat *Fuld* noch festgestellt, daß die Präzipitinogenität mit der Antigenität nicht identisch ist. Neuerdings berichtete *Okamoto*⁷⁾, daß die Antigenität durch 15 Minuten langes Erhitzen bei 120°C nicht viel beeinflußt wurde. *Bauer*⁸⁾ wies experimentell nach, daß die Antigenität des Kaseins durch Erhitzen nicht beeinflußt wird, und zog den Schluß, daß die Thermostabilität der Milch hauptsächlich in dem Kaseinteil liege. Bei der Komplementbindungsreaktion bestätigte *Versell*⁹⁾, daß das Antikaseinimmunserum mit der erhitzten Milch stark reagiert und das Immunserum, das aus der Milchmolke hergestellt wurde, mit den erhitzten Milchantigenen stets negativ bleibt.

Wie bei dem Versuch mit Serumeiweiß habe ich die Präzipitinogenität der Milch durch die Hitzewirkung bei steigender Temperatur untersucht. Wie aus der Tabelle 3 ersichtlich ist, wird die Reaktionsfähigkeit der Milch mit dem Antimilchimmunserum durch 30 Minuten langes Erwärmen bei 60°C in keiner Weise beeinflußt. Eine Schwächung der Reaktionsfähigkeit wurde erst bei den bei 70°C 30 Minuten lang erhitzten Milchantigenen bemerkt. Mit der Steigerung der Einwirkungstemperatur auf 80°C, 90°C, 100°C und 120°C kann man wohl allmählich die deutliche Verminderung der Präzipitinogenität nachweisen. Die verminderte Reagierbarkeit wurde durch Erhitzen bei 80°C sowohl nach U'scher Methode als auch nach der Antikörperverdünnungsmethode deutlich bemerkbar, während die

verminderte Präzipitinogenität zwischen 80°C und 120°C nach der Antikörperverdünnungsmethode unverändert bleibt. Durch Erhitzen bei 120°C wurde die Präzipitinogenität auf die Hälfte der Präzipitinogenität bei 80°C nach U'scher Methode abgeschwächt. Die Reaktionsfähigkeit der Milch mit dem Antimilchimmenserum wird mit Steigerung der Einwirkungstemperatur graduell abgeschwächt, aber gegen die Hitzewirkung bei über 90°C behält die Milch noch eine ziemlich starke Präzipitinogenität. Aus diesen Tatsachen kann man schließen, daß in der Milch ein hitzebeständiger Eiweißkörper im Vergleich zu dem Serumeiweißkörper vorhanden ist. Wenn man diese Tatsache mit der Präzipitinogenitätsverminderung des Serums vergleicht, so kann man annehmen, daß sowohl nach U'scher Methode als auch nach der Antikörperverdünnungsmethode die Präzipitinogenität des Serums durch Erhitzen bei 80°C ziemlich stark abgeschwächt und bei über 120°C ganz vernichtet wird, während die Präzipitinogenität der Milch mit der Steigerung der Einwirkungstemperatur nicht parallel geht und dem Erhitzen bei 120°C noch gut standhält. (Tabelle 3 u. 4).

Tabelle 3. Antikuhmilchkaninchenimmenserum.
(Präzipitintiter nach U'scher Methode.)

Nr.	Antigen	Antig.-verd.		50	100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000	50,000
32	nativ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	60°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	70°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	80°C	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	90°C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	100°C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	120°C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
34	nativ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	60°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	70°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	80°C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	90°C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	100°C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	120°C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Tabelle 4. Antikuhmilchkaninchenimmunserum.
(Präzipitintiter nach der Antikörperverdünnungsmethode.)

Nr.	Antigen	Antik.-verd.		10	20	40	80	160	320	640
		Antig.-verd.								
32	nativ	100		+	+	+	+	-	-	-
	60°C	100		+	+	+	+	-	-	-
	70°C	100		+	+	+	+	-	-	-
	80°C	50		+	+	+	-	-	-	-
	90°C	50		+	+	+	-	-	-	-
	100°C	50		+	+	+	-	-	-	-
	120°C	50		+	+	+	-	-	-	-
34	nativ	250		+	+	+	+	+	+	-
	60°C	250		+	+	+	+	+	+	-
	70°C	250		+	+	+	+	+	-	-
	80°C	250		+	+	+	+	-	-	-
	90°C	100		+	+	+	+	-	-	-
	100°C	100		+	+	+	+	-	-	-
	120°C	50		+	+	+	+	-	-	-

Experiment 3. Die Zustandsänderung des Serums als Antigen durch Hitzewirkung.

Bezüglich der Zustandsspezifität des Serumeiweißes berichteten *Obermayer* und *Pick*, daß das Antiserum, welches mit dem gekochten Rinderserum hergestellt wurde, mit dem gekochten Serum stärker, mit dem 60°C- oder 90°C-Serum schwächer und mit dem nativen Serum gar nicht reagiert. Weiter berichteten sie, daß das Immunserum, das mit dem bei 70°C erhitzten Serum hergestellt wurde, mit dem korrespondierenden Serum, dem gekochten Serum und dem nativen Serum gleichwertig reagieren kann. Auch *Schmidt* bestätigte, daß das Antikoktimmunserum stärker mit dem Koktserum als mit dem nativen Serum reagiert.

Um die Zustandsspezifität der Milch mit der des Serumeiweißes zu vergleichen, untersuchte ich zuerst die Zustandsspezifität des Serumeiweißes durch die Hitzewirkung bei 80°C, 100°C und 120°C. Wie aus der Tabelle 5 ersichtlich ist, reagieren natives, 60°C-, 70°C- und 80°C-Serum gleichwertig mit dem Anti-80°C-Serumimmunserum

und zeigen den Titer 1:5,000. 90°C-Serum zeigt den Titer 1:2,500, 100°C-Serum und 120°C-Serum den Titer 1:1,000 nach U'scher Methode. Aus den Tatsachen, daß das 80°C-Serum mit dem Immuns serum so stark wie das native Serum reagieren kann, daß mit der Verstärkung der Einwirkungstemperatur die Reaktionsfähigkeit allmählich abgeschwächt wurde und daß das 120°C-Serum nur den Titer 1:1,000 zeigt, kann man eine Zustandsspezifität nicht nachweisen. Nach der Antikörperverdünnungsmethode reagieren das 70°C-Serum und 80°C-Serum mit dem Immuns serum am stärksten und zeigen den Titer 1:160, das 90°C-Serum und 100°C-Serum zeigen den Titer 1:80, das native Serum, 60°C-Serum und 120°C-Serum zeigen den gleichen Titer 1:40. Bei dieser Reaktion ist eine Zustandsspezifität schon nachweisbar, weil das native Serum und das zu stark erhitzte Serum nur schwach reagieren können. Bei dem Anti-100°C-Serumimmuns serum reagieren das 80°C-Serum, 90°C-Serum, 100°C-Serum und 120°C-Serum am stärksten und zeigen den Titer 1:5,000. Das 70°C-Serum zeigt den Titer 1:2,500, das native Serum und das 60°C-Serum zeigen nur den Titer 1:1,000. Nach U'scher Methode ist eine Zustandsspezifität schon nachweisbar. Nach der Antikörperverdünnungsmethode können das 80°C-Serum, 90°C-Serum und 100°C-Serum am stärksten reagieren und zeigen den Titer 1:80, das 70°C-Serum und 120°C-Serum zeigen den Titer 1:40, das native Serum und das 60°C-Serum reagieren am schwächsten und zeigen den Titer

Tabelle 5. Antikoktserumimmuns serum.

Antigen	Immuns serum Reaktion	Anti-80°C-Immuns serum			Anti-100°C-Immuns serum			Anti-120°C-Immuns serum		
		U'sche M.	O'sche M.		U'sche M.	O'sche M.		U'sche M.	O'sche M.	
			B.z.	V.t.		B.z.	V.t.		B.z.	V.t.
nativ		5000	250	40	1000	100	10	250	50	4
60°C		5000	250	40	1000	100	10	250	50	4
70°C		5000	250	160	2500	100	40	500	100	8
80°C		5000	250	160	5000	100	80	500	100	8
90°C		2500	100	80	5000	250	80	1000	250	16
100°C		1000	100	80	5000	250	80	1000	250	32
120°C		1000	100	40	5000	250	40	1000	500	64

1:10. Eine Zustandsspezifität ist stark nachweisbar. Bei dem Anti-120°C-Serumimmunserum reagieren das 90°C-Serum, 100°C-Serum und 120°C-Serum am stärksten und zeigen den Titer 1:1,000, das 70°C-Serum und 80°C-Serum den Titer 1:500, das native Serum und das 60°C-Serum den Titer 1:250. Eine starke Zustandsspezifität ist nach U'scher Methode nachweisbar. Nach der Antikörperverdünnungsmethode reagiert das 120°C-Serum am stärksten und zeigt den Titer 1:64. Je schwächer die Hitzewirkung ist, desto schwächer ist die Reaktionsfähigkeit. Bei diesem Anti-120°C-Serumimmunserum ist eine starke Zustandsspezifität nachweisbar. (Tabelle 5).

Experiment 4. Die Zustandsänderung der Milch als Antigen durch Hitzewirkung.

Die Frage nach der Zustandsspezifität und der Artspezifität der Milch und der einzelnen Eiweißkörper wurde von *Fisch, Wassermann, Müller, Bauer und Hamburger* untersucht. *Okamoto* berichtete, daß ein Immunserum, das mit der bei 120°C 15 Minuten lang erhitzten Menschenmilch hergestellt wurde, nur mit der erhitzten Milch, aber nicht mit der nativen Milch reagieren kann.

Wie aus der Tabelle 6 ersichtlich ist, stellte ich Anti-80°C-Milchimmunserum, Anti-100°C-Milchimmunserum und Anti-120°C-Milchimmunserum her und untersuchte die Reaktionsfähigkeit der verschiedenen Antigene mit diesen Immunsera. Nach U'scher Methode reagieren die native Milch, die 60°C-Milch und 70°C-Milch am stärksten und zeigen den Titer 1:2,500. Das korrespondierende Antigen, die 80°C-Milch, reagiert etwas schwächer und zeigt den Titer 1:1,000. Mit der Steigerung der Einwirkungstemperatur reagieren die Antigene allmählich schwächer und die 90°C-Milch, 100°C-Milch und 120°C-Milch zeigen den Titer 1:500. Die Zustandsspezifität ist noch nicht nachweisbar. Nach der Antikörperverdünnungsmethode können die native Milch, die 70°C-Milch, 80°C-Milch und 90°C-Milch gleichwertig mit dem Anti-80°C-Milchimmunserum reagieren und zeigen den Titer 1:80. Nur die 100°C-Milch und 120°C-Milch zeigen den Titer 1:40. Die Zustandsspezifität ist also bei dieser Hitzewirkung nicht nachweisbar.

Bei dem Anti-100°C-Milchimmunserum reagieren alle Antigene gleichwertig und zeigen den Titer 1:1,000 nach U'scher Methode. Nach der Antikörperverdünnungsmethode reagieren 4 Antigene, die 80°C-Milch, 90°C-Milch, 100°C-Milch und 120°C-Milch am stärksten und zeigen den Titer 1:40. Die native Milch, die 60°C-Milch und 70°C-Milch zeigen den Titer 1:20. Bei diesem Versuche reagiert die stark erhitzte Milch mit dem Immunserum zustandsspezifisch.

Bei dem Anti-120°C-Milchimmunserum reagieren die 90°C-Milch,

Üb. d. Zustandsänderung d. Milch- u. Serumantigene durch hohe Erhitzung. 151

100°C-Milch und 120°C-Milch am stärksten und zeigen den Titer 1:10,000 nach U'scher Methode. Die 80°C-Milch zeigt den Titer 1:2,500. Nach der Antikörperverdünnungsmethode reagieren die 100°C-Milch und 120°C-Milch am stärksten und zeigen den Titer 1:80, die 80°C-Milch und 90°C-Milch haben den Titer 1:40, die 70°C-Milch hat den Titer 1:20, die native Milch und die 60°C-Milch zeigen den Titer 1:10. Bei diesem Immunserum reagieren die Antigene stark zustandsspezifisch in beiden Präzipitinversuchen. Bei dem Anti-erhitzten-Milchimmunserum kann man die Zustandsspezifität bei der 80°C-Milch gar nicht, bei der 100°C-Milch nur schwach, bei der 120°C-Milch erst deutlich nachweisen. (Tabelle 6).

Tabelle 6. Antikoktmilchimmunserum.

Antigen	Immuns- serum Reaktion	Anti-80°C- Immunserum			Anti-100°C- Immunserum			Anti-120°C- Immunserum		
		U'sche M.	O'sche M.		U'sche M.	O'sche M.		U'sche M.	O'sche M.	
			B.z.	V.t.		B.z.	V.t.		B.z.	V.t.
nativ		2500	100	80	1000	50	20	2500	50	10
60°C		2500	100	80	1000	50	20	2500	50	10
70°C		2500	100	80	1000	100	20	2500	100	20
80°C		1000	250	80	1000	100	40	5000	100	40
90°C		500	100	80	1000	100	40	10000	250	40
100°C		500	100	40	1000	250	40	10000	250	80
120°C		500	100	40	1000	250	40	10000	250	80

Zusammenfassung.

Der Milcheiweißkörper besteht aus dem Milchkasein, -globulin und -albumin, der Serumeiweißkörper aus dem Serumglobulin und -albumin. *Kollmeyer*¹⁰⁾, *Bauer* und *Kleinschmidt*¹¹⁾ bestätigten, daß das Milchkasein nur in der Milchdrüse spezifisch erzeugt wird. Die Beziehungen zwischen den einzelnen Milcheiweißkörpern und Serumeiweißkörpern wurden serologisch und chemisch bis jetzt genau festgestellt. Es ist schon bekannt, daß das Kasein außergewöhnlich

koktstabil ist, so daß seine Antigenität, d.h. das Präzipitinogen und die Präzipitabilität, trotz Wärmezusatz unverändert bleibt. Die Milchmolke dagegen ist sehr koktstabil; daher wird die Antigenität, d.h. das Präzipitinogen und die Präzipitabilität, durch Erhitzung ziemlich leicht zerstört. Es gibt aber wenige Berichte über Untersuchungen, die den Verminderungsgrad der Präzipitinogenität der Milch bei steigender Wärmewirkung systematisch feststellen wollen. Daher untersuchte ich die Verminderung der Präzipitinogenität der Milch als Ganzes und verglich sie mit der des Serums. Bei Erhitzung bis zu 80°C geht die Verminderung sowohl bei der Milch als auch bei dem Serum parallel, aber die Verminderung der Milchpräzipitinogenität wird bei Erhitzung von mehr als 90°C nicht mehr beobachtet. Sie bleibt bei Erhitzung auf 120°C noch gut erhalten, während die des Serums durch Erhitzung bei 90°C stark vermindert oder ganz vernichtet wird. Besonders klar kann die Präzipitinogenitätsverminderung des Serums nach der Antikörperverdünnungsmethode festgestellt werden. Die Zustandsspezifität der Milch wird durch Erhitzung bei 80°C noch nicht, bei 100°C schwach, bei 120°C deutlich nachgewiesen, während die des Serums bei 80°C schwach, bei 100°C und auch bei 120°C ziemlich hochgradig nachgewiesen werden kann. Auf Grund dieser Tatsachen kann man wohl vermuten, daß durch schwache Erhitzung nur die Milchmolke angegriffen wird, während das Kasein unverändert bleibt. Erst durch starke Erhitzung wird auch das Kasein angegriffen, erst dann also kann die Zustandsspezifität der ganzen Milch in der Reaktion nachgewiesen werden. Meine eigenen Versuchsergebnisse fasse ich folgendermaßen kurz zusammen:

1. Die Präzipitinogenität der Milch wird durch die Hitzewirkung abgeschwächt, sie ist aber gegen starke Erhitzung hitzebeständig, während die Präzipitinogenität des Serumeiweißes schon durch Erhitzung bei 90°C stark vermindert oder ganz vernichtet wird.

2. Die Zustandsspezifität der Milch ist bei schwacher Erhitzung schwerer als die des Serums nachweisbar.

An dieser Stelle sei besonders Herrn Prof. Dr. *M. Ogata* mein wärmster Dank ausgesprochen für die mannigfachen, sowohl während der Periode der Untersuchungen als auch bei Abfassung der Arbeit empfangenen Anregungen.

Literaturverzeichnis.

- ¹ *Nuttal*, Biochem. Zeitschr. Bd. 14, S. 294, 1908. — ² *Graham-Smith*, Journ. of Hyg. Vol. 3, P. 356, 1903. — ³ *Bordet*, Ann. Past. No. 4, P. 273, 1849. — ⁴ *Schütze*,

Über d. Zustandsänderung d. Milch- u. Serumantigene durch hohe Erhitzung. 153

Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36, S. 5, 1901. — ⁵ *Moro*, W. Kl. W. Nr. 44, S. 1023, 1901. —
⁶ *Fuld*, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiolog. u. Patholog. Bd. 2, S. 425, 1902. —
⁷ *Okamoto*, Tokyo Ijishinshi Nr. 247, 1926 (Japanisch). — ⁸ *Bauer*, Zeitschr. f.
Immunf. Bd. 7, S. 417, 1910. — ⁹ *Versell*, ebenda Bd. 24, S. 267, 1916. — ¹⁰ *Kollmeyer*,
Zeit. f. Biolog. Bd. 14, S. 64, 1910. — ¹¹ *Kleinschmidt*, Monatsschr. f. Kinderheil. Bd.
10, S. 402, 1912.