

Experimentelle und kritische
Beiträge zur Neubearbeitung der
Vereinbarungen

zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von
Nahrungs- und Genußmitteln sowie Gebrauchsgegenständen
für das Deutsche Reich.

I. Band.

Herausgegeben vom
Kaiserlichen Gesundheitsamte.



Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH
1911

**Experimentelle und kritische
Beiträge zur Neubearbeitung der
Vereinbarungen**

**zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von
Nahrungs- und Genußmitteln sowie Gebrauchsgegenständen
für das Deutsche Reich.**

I. Band.

Herausgegeben vom
Kaiserlichen Gesundheitsamte.



Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1911

ISBN 978-3-662-40867-4 ISBN 978-3-662-41351-7 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-662-41351-7

Sonderabdruck aus
„Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte“.

Vorwort.

In den Jahren 1894—1902 sind auf Anregung und unter Mitwirkung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes von einer Kommission erfahrener Vertreter der Nahrungsmittelchemie die „Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln sowie Gebrauchsgegenständen für das Deutsche Reich“ ausgearbeitet worden. Ohne daß diese Vereinbarungen einen amtlichen oder rechtsverbindlichen Charakter tragen, haben sie doch den Zweck erfüllt, eine gewisse — wenn auch nicht vollkommene — Einheitlichkeit in der Untersuchung und Beurteilung von Lebensmitteln im Deutschen Reiche herbeizuführen und die Bekämpfung von Mißbräuchen auf diesem Gebiete zu erleichtern. Indessen liegt es in der Natur der Sache, daß ein Werk dieser Art in verhältnismäßig kurzer Zeit abänderungs- oder ergänzungsbedürftig wird.

Einmal ist der Gegenstand, um den es sich handelt, die Nahrungs- und Genußmittel selbst, gewissen Veränderungen seines Bestandes unterworfen. Auf dem Markte der Lebensmittel tauchen neue Erzeugnisse auf, die bisher unbekannt waren oder wenigstens keine Rolle spielten; es ändern sich die Verfahren der Gewinnung, Reinigung, Zurichtung, ferner die Erhaltungsverfahren und — leider nicht zum wenigsten — auch die Mittel zur Nachahmung und Verfälschung.

Zweitens verschieben sich auch die Grundsätze für die Beurteilung der Lebensmittel, da die Ansprüche an die Reinheit und Unverfälschtheit der Lebensmittel und im Zusammenhang damit an ihre Bezeichnungen und Benennungen, die dem Verbraucher keinen Zweifel über die Beschaffenheit und Herkunft der Erzeugnisse lassen sollen, in dem Maße eine steigende Ausgestaltung erfahren, als die Erkenntnis in die Zusammensetzung der Lebensmittel tiefer eindringt.

Drittens endlich sind die Verfahren zur Untersuchung von Lebensmitteln in ständiger Entwicklung begriffen. Die Fortschritte der analytischen Wissenschaft, die Heranziehung der neuesten Denk- und Arbeitsweisen der Chemie, Physik und Biologie zur Lösung der auf diesem Sondergebiete sich bietenden Aufgaben, die tägliche Erfahrung eines immer größer werdenden Stabes von praktisch tätigen Nahrungsmittelchemikern, schließlich die Notwendigkeit, den neu auftauchenden Fälschungsmitteln auch die Untersuchungsverfahren anzupassen, zeitigen eine Fülle von Vorschlägen zur Ergänzung und Abänderung der üblichen Untersuchungsvorschriften, die in den Fach-

IV

zeitschriften aller Länder niedergelegt sind. Hatten in die „Vereinbarungen“ vielfach solche Untersuchungsverfahren — in Ermangelung von besseren — Aufnahme finden müssen, die einer vielseitigen Nachprüfung und Bestätigung noch bedurften, so ist es nunmehr um so notwendiger geworden, das gewaltig angewachsene Material kritisch zu sichten und durch gründliche experimentelle Studien die für die einzelnen Zwecke jeweils am besten geeigneten Untersuchungsverfahren festzulegen.

Eine Neubearbeitung der „Vereinbarungen“ erscheint somit unerlässlich, wobei die Frage, ob es möglich ist, den neuen Bestimmungen einen rechtsverbindlichen Charakter zu geben, einer zukünftigen Gesetzgebung überlassen bleiben muß und hier nicht erörtert werden soll.

Der außerordentlich große Umfang des Gebietes, um das es sich hier handelt, schließt es aus, daß die noch erforderlichen experimentellen und kritischen Vorarbeiten an einer einzelnen Stelle erledigt werden. Im Kaiserlichen Gesundheitsamte sind seit einigen Jahren Arbeiten ausgeführt worden, die von verschiedenen Punkten aus die gestellte Aufgabe systematisch in Angriff nehmen sollten, während andererseits auch bei der Bearbeitung anderer, hiermit nicht unmittelbar zusammenhängender Gegenstände im Gesundheitsamte jede Gelegenheit benutzt wurde, um nebenbei Unterlagen für die Neubearbeitung der „Vereinbarungen“ zu gewinnen. Die Ergebnisse solcher Untersuchungen sind jeweils in den „Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte“ veröffentlicht worden. Um jedoch das zerstreute Material übersichtlicher darzustellen und allmählich zu einer umfassenden kritischen Grundlage auszugestalten, auf die die Untersuchungsverfahren und Beurteilungsgrundsätze der Neubearbeitung der „Vereinbarungen“ sich aufbauen sollen, sind die hierher gehörigen Arbeiten zu besonderen Sammelbänden vereinigt worden, deren erster hiermit der Öffentlichkeit übergeben wird. Ein zweiter Band befindet sich im Druck.

Berlin, im November 1910.

Inhalt.

	Seite
Beiträge zur Kenntnis des Fleischextraktes. Von Professor Dr. Emil Baur und Dr. Hermann Barschall, früheren wissenschaftlichen Hilfsarbeitern im Kaiserl. Gesundheitsamte	1
Über ein Verfahren zur Trennung von Stärke und Glykogen. Von Professor Dr. Emil Baur, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter, und Technischem Rat Dr. Eduard Polenske, ständigem Mitarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	25
Über den Wassergehalt im Schweineschmalz. Von Technischem Rat Dr. Eduard Polenske, ständigem Mitarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	30
Über den Nachweis einiger tierischer Fette in Gemischen mit anderen tierischen Fetten. Von Technischem Rat Dr. Eduard Polenske, ständigem Mitarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	37
Die Peroxydasereaktionen der Kuhmilch mit besonderer Berücksichtigung ihrer Verwendung zum Nachweise stattgehabter Erhitzung der Milch. Von Privatdozent Dr. Percy Waentig, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	57
Anhang: Literaturübersicht betr. die Veränderungen der Kuhmilch beim Erhitzen. Von Privatdozent Dr. Percy Waentig, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	100
Nachtrag zu der Abhandlung: „Über den Nachweis einiger tierischer Fette in Gemischen mit anderen tierischen Fetten.“ Von Technischem Rat Dr. Eduard Polenske, ständigem Mitarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	129
Beiträge zur Chemie des Essigs mit besonderer Berücksichtigung seiner Untersuchungsverfahren. Von Privatdozent Dr. Johannes Brode, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter, und Dr. Wilhelm Lange, ständigem Mitarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	133
Über die Bestimmung des Fettes im Fleisch. Von Professor Dr. Emil Baur und Dr. Hermann Barschall, früheren wissenschaftlichen Hilfsarbeitern im Kaiserl. Gesundheitsamte	187
Über die Bestimmung des Zuckers im Fleisch. Von Professor Dr. Emil Baur, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	195
Über Krabbenextrakt. Von Dr. Hermann Barschall, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	206
Maßanalytische Bestimmung von Ameisensäure und ihren Salzen. Von Dr. Friedrich Auerbach, ständigem Mitarbeiter, und Dr. Jng. Werner Plüddemann, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	209
Beiträge zur Chemie des Honigs mit besonderer Berücksichtigung seiner Unterscheidung von Kunsterzeugnissen. Von Privatdozent Dr. K. Keiser, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte	227
Über den Gehalt der Handelsgelatine an schwefliger Säure. Von Dr. Wilhelm Lange, ständigem Mitarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	248
Über den Nachweis von Stärkesirup im Honig und in Fruchtsäften. Von Dr. J. Fiehe, wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte	262

Beiträge zur Kenntnis des Fleischextraktes.

Von

Privatdozenten Dr. **Emil Baur** und Dr. **Hermann Barschall**,
wissenschaftlichen Hilfsarbeitern im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Die vorliegenden Untersuchungen nehmen ihren Ausgang von der Frage nach dem Ursprung der Bernsteinsäure im Fleischextrakt, versuchen sie zu beantworten und führen in Zusammenhang damit zu Bestimmungsverfahren für Kreatin, Kreatinin und Aminosäuren in Fleischextrakten und Peptonen.

I. Über die Bernsteinsäure im Fleischextrakte.

Das Vorkommen der Bernsteinsäure im Fleischextrakte hat in der letzten Zeit Bedenken erregt. Zwar ist sie schon 1871 von Weidel¹⁾ im Fleischextrakt aufgefunden worden, doch ist dies Vorkommen erst verdächtig geworden, seitdem namentlich durch die Arbeiten E. Salkowskis²⁾ festgestellt wurde, daß Bernsteinsäure im frischen wässerigen Fleischauszuge nicht vorkommt, und daß dieselbe auch kein primäres Eiweiß-Spaltungsprodukt ist, das unmittelbar durch Hydrolyse von Eiweiß entstünde. Vielmehr ist sie erst ein sekundäres Spaltprodukt, und zwar entsteht sie aus Asparaginsäure durch die reduzierende Wirkung von Fäulnisbakterien³⁾, welche ganz allgemein Aminosäuren zu den entsprechenden Fettsäuren zu reduzieren vermögen. Dieselbe Reduktion durch Einwirkung solcher chemischer Stoffe, die in den organischen Gewebesäften vorhanden sind, ist bis jetzt als gesonderte chemische Reaktion noch nicht beobachtet worden. Nur lehren die Befunde bei der Selbstverdauung der Organe, der sogenannten Autolyse, daß diese Reduktion in den Organen selbst allerdings zustande kommt, vermutlich unter dem Einfluß gewisser Fermente⁴⁾ (Reduktasen). Es wäre aber autolytisch zersetztes Fleisch ebensowenig als „frisch“ zu bezeichnen, als durch Bakterienwirkung angefaultes. Daher haben Kutscher und Steudel⁵⁾,

¹⁾ Über eine neue Base aus dem Fleischextrakt. Liebigs Annalen **158**, 366 (1871).

²⁾ Über Autodigestion der Organe. Supplement zu Band **17** der Zeitschr. für klinische Medizin. S. 95 (1890).

³⁾ Vgl. Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper, Braunschweig 1900, S. 53.

⁴⁾ Vgl. Magnus-Levy, Hofmeisters Beiträge **2**, S. 261 (1902).

⁵⁾ Über Methoden zur Begutachtung von Fleischextrakten, Zeitschrift f. physiologische Chemie **88**, 103 (1903).

welche Mengen von 0,33 bis 0,88 g Bernsteinsäure in 50 g Fleischextrakt (Liebig) fanden, dem Verdacht Raum gegeben, daß zur Bereitung des Fleischextraktes kein frisches Fleisch zur Verwendung komme. Im Anschluß daran prüfte H. Wolff¹⁾ nach, wie viel Bernsteinsäure bei der Fleischfäulnis entsteht, und fand für 1 kg Fleisch am 7. Tage 0,069 g, am 9. Tage 0,173 g Bernsteinsäure. Da zu 50 g Liebig's Fleischextrakt etwa 3 kg Fleisch erforderlich sind, so erkennt man, daß die von Kutscher und Steudel gefundenen Mengen Bernsteinsäure verdorbenem Fleisch entsprechen würden, wenn wirklich die Bernsteinsäure durch Fäulnis entstanden wäre.

Dagegen wendet nun freilich M. Siegfried²⁾ ein, daß die Quelle der Bernsteinsäure ein eigentümlicher Stoff von saurem Charakter sei, welchen er Phosphorfleischsäure oder Muskelnucleon genannt hat. Dieser Stoff, der von Siegfried zwar nicht in einwandfreier Weise aus den Muskeln abgesondert wurde, soll bei seinem hydrolytischen Zerfall unter anderem Phosphorsäure, Bernsteinsäure und Milchsäure bilden. Siegfried sucht nachzuweisen, daß die Bernsteinsäure aus dem Nucleon, das im Extrakt vorhanden sein soll, während der analytischen Arbeit entstehe.

Man säuert nämlich das in Wasser gelöste Extrakt mit Schwefelsäure an und extrahiert darauf die saure Lösung mit Äther tage- und wochenlang. Da nun Siegfried bei verschiedenem Säurezusatz verschiedene und mit der Zeit wachsende Mengen von Bernsteinsäure erhält, so folgert er eine langsam verlaufende, Bernsteinsäure liefernde, Hydrolyse im angesäuerten Fleischextrakt. Doch kann man aus Siegfried's Versuchen³⁾ nicht klar ersehen, was der Einfluß der Zeit allein, getrennt von dem Einfluß stärkerer Azidität, auf die Ausbeute ausmacht. Ein Versuch, in dem die Wirkung der Zeit allein zur Geltung kommt, ist für die Frage nach der Existenz des Nucleons grundlegend. Siegfried⁴⁾ ist sich dessen bewußt, jedoch scheint er den entsprechenden Versuch nicht ausgeführt zu haben.

Daß die Konzentration der zugesetzten Schwefelsäure auf den Gang der Extraktion mit Äther von erheblichem Einfluß ist, ist sowohl erfahrungsgemäß bekannt⁵⁾, als

¹⁾ Über die Beurteilung des Fäulniszustandes des Fleisches nach dem Gehalt an Bernsteinsäure, Hofmeisters Beiträge **4**, S. 254 (1904).

²⁾ Über Methoden zur Begutachtung des Fleischextraktes, Zeitschrift f. physiologische Chemie **39**, S. 126 (1903).

³⁾ Im ersten Versuch erhält Siegfried nach 59stündiger Extraktion (6 Tage) bei 0,42n-H₂SO₄ keine merkliche Menge, darauf nach weiterer 60 Stunden langer Extraktion (12 Tage) bei derselben Azidität 0,0122 g, darauf, nachdem die Lösung 1,3 normal an H₂SO₄ gemacht worden war, nach 36 Stunden (5 Tage) 0,1018 g Bernsteinsäure. — Im zweiten Versuch jedoch entstehen in denselben Zeiten, wie oben, bei 0,45n-H₂SO₄, beziehungsweise: 0,1692 g — 0,0465 g — 0,0341 g Bernsteinsäure. Die Zahlen beziehen sich auf 50 g Fleischextrakt.

⁴⁾ In seiner Abhandlung über Phosphorfleischsäure (Ber. **28**, S. 515, 1895) sagt Siegfried: „Die Entstehung der Paramilchsäure aus dem Muskelnucleon durch Hydrolyse scheint mir sicher. Den einwurfsfreien Nachweis werde ich erst erbringen können, wenn sich nach Darstellung des nötigen Materials zeigen läßt, daß die Menge der gebildeten Milchsäure von der Dauer der Einwirkung und Konzentration der Barytlösung abhängig ist. Das Gleiche gilt von der Bernsteinsäure.“

⁵⁾ F. Blumenthal, Virchows Archiv **137**, 538 (1894). Der Verfasser macht von dem Umstande, daß Bernsteinsäure in verdünnter und schwach saurer Lösung sehr wenig in den Äther geht, Gebrauch, um diese Säure von Hydrozimmtsäure und Phenyllessigsäure zu trennen.

auch aus der elektrolytischen Dissoziation der Bernsteinsäure leicht berechenbar. In $\frac{1}{50}$ normaler Lösung ist Bernsteinsäure zu etwa 43% dissoziiert. Diese Dissoziation wird durch normale Wasserstoffionenkonzentration auf 0,6% zurückgedrängt, so daß dadurch die unter sonst gleichen Umständen mit Äther ausziehbare Menge auf das Doppelte etwa ansteigt. Tatsächlich hat man es mit noch stärkeren Verdünnungen zu tun, wobei die Wirkung der zugesetzten Mineralsäure prozentisch noch bedeutender wird.

Die Bestimmung, ob der Säurezusatz eine zeitliche Einwirkung auf Fleischextraktlösung im Sinne Siegfrieds wirklich besitzt, wurde nun zunächst durchgeführt.

Offenbar handelt es sich dabei nur darum, genau vergleichbare Versuche anzustellen, unnötig ist dagegen, die angesäuerte Fleischextraktlösung mit Äther völlig zu erschöpfen. Wir sind daher von der sehr langwierigen Extraktion im Ätherextraktionsapparat abgegangen und haben statt dessen die Lösungen mit bestimmten Mengen Äther im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Um einen Überblick zu bekommen, wie viel Äther zu nehmen ist, und wie oft ausgeschüttelt werden muß, haben wir das Teilungsverhältnis der Bernsteinsäure eigens bestimmt. Darüber wird im Anhang berichtet. Es ist danach das Teilungsverhältnis (bezogen auf undissoziierte Säure) zwischen Wasser und Äther etwa wie 6:1. Dafür, daß in den Versuchen die Bernsteinsäure in der wässrigen Schicht völlig undissoziiert vorliege, war durch Zusatz von soviel Schwefelsäure gesorgt, daß die Extraktlösung daran 1,5 normal war. Wir haben nun so gearbeitet, daß 500 ccm Extraktlösung sechsmal mit je 250 ccm Äther (dem etwas Alkohol zugesetzt war) geschüttelt wurden. Die Rechnung zeigt, daß unter diesen Umständen im ganzen $\frac{4}{10}$ der vorhandenen Menge Bernsteinsäure in den Äther hineingeht. Statt mit reinem Äther haben wir mit einer Mischung von 9 Raumteilen Äther und 1 Raumteil Alkohol geschüttelt, wie von F. Blumenthal¹⁾ empfohlen worden ist. Mit dieser Mischung bekommt man eine bessere Trennung der beiden Schichten. Der Alkoholzusatz wird wohl das Teilungsverhältnis zu gunsten der Ätherphase etwas verschieben, so daß man schätzen kann, daß bei dem eingeschlagenen Verfahren rund die Hälfte der vorhandenen Bernsteinsäure extrahiert wird²⁾.

In bezug auf die Abscheidung der Bernsteinsäure nach dem Verjagen des Äthers waren die Verfahren von F. Blumenthal³⁾ und von Kutscher und Steudel⁴⁾ zu vergleichen. Ersterer versetzt den Rückstand des Ätherextrakts mit geschlämmtem Bleihydroxyd, wobei unlösliches Bleisuccinat gebildet wird. Der Bleiniederschlag wird abfiltriert, in Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff entbleit. Das Filtrat vom Schwefelblei soll nach dem Eindampfen die Bernsteinsäure rein hinterlassen. Bei diesem Verfahren blieben jedoch stets Spuren von Schwefelsäure an der Bernsteinsäure haften, welche das Präparat verdarben, indem die Schwefelsäure naturgemäß zuletzt verkohlend einwirkte.

¹⁾ A. a. O.

²⁾ Beim Suchen nach geeigneten Extraktionsmitteln wurde zwar im Amylalkohol ein Lösungsmittel gefunden, das Bernsteinsäure sehr reichlich aufnimmt. Leider hat der Amylalkohol die schlechte Eigenschaft, sich zu emulgieren. Auch liegt seine Siedetemperatur unbequem.

³⁾ A. a. O.

⁴⁾ A. a. O.

Deshalb wurde schließlich dem Verfahren von Kutscher und Steudel der Vorzug gegeben. Nach diesem fällt man im Ätherrückstand nach dem Neutralisieren durch Ammoniak mit Silbernitrat, versetzt das Silbersuccinat mit Salzsäure, filtriert und verdampft zur Trockne.

Allerdings ist Silbersuccinat nicht sehr schwer löslich; da man es jedoch mit kleinen Flüssigkeitsmengen zu tun hat, mit einem starken Überschuß an Silbernitrat fällen kann und es nicht nötig ist, den Niederschlag völlig auszuwaschen, so fällt die verhältnismäßig große Löslichkeit des Silbersalzes nicht ins Gewicht.

Das eingedampfte Filtrat ergibt die Bernsteinsäure mehr oder minder gefärbt. Der Rückstand wurde daher nach der Vorschrift von Kutscher und Steudel mit etwas Wasser aufgenommen und mit Tierkohle entfärbt. Das eingedampfte Filtrat liefert dann die Bernsteinsäure gut kristallisiert und farblos. Nur konnten wir sie nicht ganz trocken bekommen, da ihr Spuren von Milchsäure anhafteten, welche aus dem Fleischextrakt beim Ausschütteln in den Äther hineingehen. (Kutscher und Steudel erwähnen hiervon nichts.) So erklärt es sich, daß der Schmelzpunkt dieses rohen Produkts etwas tiefer als derjenige der reinen Bernsteinsäure lag¹⁾.

Für den endgültigen Versuch wurden 150 g Fleischextrakt (Liebig) aus einer Büchse entnommen, mit 100 g reiner Schwefelsäure und Wasser zu 1500 ccm gelöst (= 1,5 normal an Schwefelsäure) und in drei gleiche Teile geteilt. Von diesen wurde der erste sofort verarbeitet, die beiden anderen blieben in verschlossenen Flaschen acht Tage stehen. Der erste dieser Teile wurde überdies mit Toluol versetzt, um Bakterienwirkung, die allerdings durch die Säure schon so gut wie unmöglich gemacht war, sicher zu vermeiden. Vor dem Ausschütteln mit Äther wurde von einem geringen Niederschlag von Eiweißkörpern abfiltriert. Bei der Extraktion ist sehr darauf zu achten, daß die Ätherschicht rein abgehoben wird und völlig klar ist, wozu es einiger Übung bedarf. Der weitere Verlauf ist der beschriebene.

Es wurden erhalten Gramme Bernsteinsäure aus je 50 g Fleischextrakt:

Fleischextrakt	Fleischextrakt	
sofort verarbeitet	nach 8 Tagen verarbeitet	
0,1770	0,1940	0,1936

Die Differenz von 9% zwischen den Ausbeuten aus frischer und gestandener Extraktlösung ist durchaus innerhalb der Fehlergrenzen des Verfahrens, da die danach erhaltene und zur Wägung gebrachte Bernsteinsäure doch nicht absolut rein ist und da es schwer fällt, die Ätherextraktion ganz gleichmäßig auszuführen. Aus demselben Grunde muß man die große Übereinstimmung der beiden letzten Zahlen als eine zufällige betrachten.

Wir können daher der in den Versuchsdaten hervortretenden Zunahme von 9% keine reelle Bedeutung zuerkennen und schließen, daß eine Vermehrung der Bernsteinsäure des Fleischextraktes durch Säurewirkung nicht stattfindet.

In Übereinstimmung mit denjenigen von Kutscher und Steudel sprechen daher die beschriebenen Versuche gegen die Ansicht von Siegfried, daß die Bernstein-

¹⁾ Die Erkennung der Bernsteinsäure an ihrem Schmelzpunkt, an ihrer Sublimation, an den dabei auftretenden Nebeln und an dem Hustenreiz, den diese ausüben, geschieht leicht.

säure erst durch eine zeitlich langsame Hydrolyse während der Verarbeitung des Extraktes entstehe.

Es bleibt demnach die Ursache für das Vorkommen der Bernsteinsäure im Fleischextrakt fraglich. Daß wirklich faules Fleisch zur Extrakterzeugung im großen verwendet werde, scheint von vornherein bei dem hohen Stande dieser Industrie nicht sehr glaublich. Auch wäre dieser Ursprung mit den sonstigen Eigenschaften des Extraktes schwer zu vereinigen.

Insbesondere wichtig ist hier das Vorkommen von Glykogen. Daß dieses im Fleischextrakt gefunden wird, hat zuerst Kemmerich¹⁾ angegeben und diesen Befund zur Prüfung der Güte des Extraktes heranzuziehen vorgeschlagen.

Daß sich in dem Liebigschen Fleischextrakte, der zu den vorstehenden Versuchen über den Gehalt an Bernsteinsäure benützt wurde, Glykogen findet, wurde durch folgenden Versuch bestätigt: 50 g dieses Fleischextraktes, welches aus derselben Büchse wie die zum Bernsteinsäureversuch verwandte Substanz entnommen war, wurden mit 50 ccm 60 %iger Kalilauge versetzt und nach Pflügers²⁾ Verfahren weiter verarbeitet. Es wurden erhalten 0,3366 g Glykogen³⁾, das durch die Jodreaktion leicht zu identifizieren war.

Außerdem kann man neuerliche Angaben Siegfrieds⁴⁾ in dem in Frage stehenden Sinne verwerten. Es finden sich nämlich rund 10 % des gesamten Phosphors des Fleischextraktes in organischer Bindung. Von diesem organisch gebundenen Phosphor aber stellt Siegfried fest, daß er durch Bakterienwirkung rasch verschwindet. Es dürfte sich also gar kein organisch gebundener Phosphor im Fleischextrakt vorfinden, wenn schon von vornherein Bakterien eingewirkt hätten.

Wenn es nun nach alledem nicht wahrscheinlich ist, daß die Bernsteinsäure durch Bakterienwirkung entstehe, so deutet sie trotzdem auf eine teilweise tiefgreifende Zersetzung der löslichen Eiweißkörper des Muskels bei der Bereitung des Extraktes hin, die schwer erklärlich wäre, wenn, wie man augenblicklich anzunehmen scheint⁵⁾ — genaues darüber weiß man nicht — das Extrakt nur mit etwa 80° heißem Wasser hergestellt würde und auch beim Eindicken des Extraktes höhere Temperaturen vermieden würden. Dies aber dürfte selbst bei Verdampfung in Vakuumapparaten Schwierigkeiten bereiten. Wird dagegen das Fleisch mit Wasser in Druckkesseln, also bei über 100°, extrahiert und wird beim Eindicken die Temperatur von 100° beträchtlich überschritten, dann sind allerdings bedeutende hydrolytische Wirkungen auf Eiweiß möglich, welche zur Abtrennung von Aminosäuren führen könnten.

Wir finden uns in diesem Zusammenhang nach zwei Richtungen zu Untersuchungen angeregt. Wenn nämlich Asparaginsäure entsteht, so müssen wohl auch andere Aminosäuren im Fleischextrakt vorhanden sein. Der Verdacht, daß dem tat-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chemie **18**, S. 409 (1894).

²⁾ Pflügers Archiv, **93**, S. 163 (1903).

³⁾ Das Präparat wurde darauf durch Inversion und Zuckerbestimmung analysiert. Ergebnis: 0,336 g Glykogen.

⁴⁾ Siegfried und Singewald, Zeitschr. Unters. Nahrungs- und Genußm. **10**, S. 521 (1905).

⁵⁾ König und Bömer, Zeitschr. analyt. Chemie **34**, S. 548 (1895).

sächlich so sei, ist nicht neu. König und Bömer¹⁾ haben schon nach dieser Stoffklasse gesucht, aber ohne Erfolg. Neuerdings wird diese Frage von neuem bearbeitet von Micko²⁾, doch stehen dessen Ergebnisse noch aus. Micko ist namentlich zu seiner Untersuchung angeregt worden durch den Unterschied zwischen dem gesamten und dem durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoff des Fleischextraktes. Darauf wird noch weiter zurückzukommen sein.

Nach anderer Seite hin fragt es sich, ob nicht vielleicht gerade bei höherer Temperatur die reduzierenden Stoffe des Fleischauszuges, zu denen vor allem der Traubenzucker gehört (allenfalls einschließlich des Glykogens), imstande wären, aus Aminosäuren, besonders aus Asparaginsäure, die Aminogruppe abzuspalten unter Überführung in die entsprechende Fettsäure.

II. Über die Verteilung des Stickstoffs im Fleischextrakte.

Im Sinne der am Ende des vorigen Abschnittes ausgesprochenen Vermutung müssen wir annehmen, daß außer der Asparaginsäure auch die anderen, aus den Proteinen entstehenden Aminosäuren, Glykokoll, Alanin, Leucin usw. im Fleischextrakt vorhanden sind, und man muß erwarten, daß ihre Menge zusammengenommen diejenige der vorgefundenen Bernsteinsäure jedenfalls um vieles übertrifft. Machen wir einen Überschlag, wieviel Aminosäuren im Fleischextrakt im Verhältnis zur Bernsteinsäure überhaupt vorhanden sein können, so begegnen wir einer doppelten Unsicherheit. Die Aminosäuren sind im Filtrat des Phosphorwolframsäureniederschlages. Aber sie sind nicht allein darin. Vielmehr kommt darin sicher auch noch das Kreatin vor, da dieses von Phosphorwolframsäure auch nicht bei langem Stehen (wie ein eigener Versuch lehrte) gefällt wird, und vielleicht sind in dem Filtrat noch andere, zur Zeit etwa noch unbekannt Basen³⁾ enthalten. Jedenfalls findet man eine obere Grenze für den mutmaßlichen Aminostickstoff, wenn man vom Gesamtstickstoff denjenigen des Phosphorwolframniederschlages und denjenigen des Kreatingehaltes abzieht. Nun besteht aber keine Sicherheit über den Kreatingehalt des Fleischextraktes und anscheinend auch keine Übereinstimmung über die Menge des durch Phosphorwolframsäure maximal fällbaren Stickstoffs. Halten wir uns im letzten Punkte an die Angaben von König und Bömer⁴⁾, so wären durch Phosphorwolframsäure bei genügend langem Stehen (acht Tage) im Mittel von vier Bestimmungen fällbar: 8,4 % N, während der gesamte N-Gehalt beträgt: 9,2 %. Der Unterschied wäre also: 0,8 %. Andererseits wird der Kreatingehalt von Karmrodt⁵⁾ auf 3,5 % (mit 1,13 % N) und von Micko⁶⁾ der von Kreatin und Kreatinin zusammen zu 6 % (mit 1,8 % N) veranschlagt. Danach wäre obiger Unterschied mehr als gedeckt durch den Kreatingehalt und für Aminosäuren bliebe nichts.

¹⁾ A. a. O.

²⁾ Zeitschr. Unters. Nahrungs- und Genußm. **10**, S. 393 (1905).

³⁾ Die kürzlich von Kutscher (Zeitschr. Unters. Nahrungs- u. Genußm. **10**, S. 528, 1905) im Fleischextrakt neu entdeckten Basen sind sämtlich durch Phosphorwolframsäure fällbar.

⁴⁾ Zeitschr. analyt. Chemie **34**, 548 (1895).

⁵⁾ Angeführt nach J. König, Chemie d. Nahrungs- und Genußm. II, S. 555 (1904).

⁶⁾ Ztschr. Nahrungs- und Genußm. **5**, S. 193 (1902).

Indessen sind nicht nur die Kreatinwerte durchaus unsicher, da sie auf umständlicher und schwer zu handhabender Absonderung in Substanz beruhen, sondern es erschienen auch die Werte des Stickstoffs der Phosphorwolframfällung von König und Bömer auffallend. Nach diesen Forschern soll die Ausfällung mit Phosphorwolframsäure erst nach acht Tagen beendet sein. Zwei Tage nach der Fällung fanden sie 7,3 % N im Niederschlag; diese Menge wuchs mit der Zeit und wurde erst nach acht Tagen bei den genannten 8,4 % konstant. Wir glaubten indessen zu bemerken, daß schon nach einem Tage die über dem Phosphorwolframniederschlag stehende Flüssigkeit ganz klar geworden war und eine Vermehrung des Niederschlages anscheinend nicht mehr stattfand. So schien es uns wünschenswert, unter Einhaltung der von König und Bömer gewählten Bedingungen deren Versuche zu wiederholen.

Weiterhin wurde nach einem bequemen und quantitativen Bestimmungsverfahren für Kreatin gesucht. Ein solches fand sich in der Reaktion von Jaffé¹⁾ zwischen Pikrinsäure und Kreatinin, worin Kreatin ja leicht überzuführen ist. Mit der Verwendung dieses Verfahrens dürfte für die Analyse der Fleischextrakte und Peptone eine längst empfundene Lücke ausgefüllt sein. Da Kreatin und Kreatinin die eigentlich bezeichnenden Bestandteile des Fleischextraktes sind, so wäre, wie Micko²⁾ wohl mit Recht hervorhebt, ein brauchbares Verfahren zur Bestimmung dieser Stoffe von großem Werte.

Das Ergebnis unserer Untersuchung besteht nun darin, daß in Liebigs Fleischextrakt durch Phosphorwolframsäure nur 7,4 % N fällbar sind, und daß nur etwa 0,4 % Kreatinstickstoff darin sind. Somit bleiben im Filtrat der Phosphorwolframfällung an unbekanntem Stickstoff: $9,2 - (7,4 + 0,4) = 1,4$ % N, welche allenfalls in Form von Aminosäuren vorliegen könnten.

Tatsächlich wurden nun auch im Filtrate von der Phosphorwolframfällung erhebliche Mengen Aminostickstoff nachgewiesen unter Benutzung des neuen vortrefflichen Gruppenreagens auf Aminosäuren, das von Emil Fischer³⁾ eingeführt worden ist, nämlich des β -Naphthalinsulfochlorids. Mit diesem Reagens erhält man starke Niederschläge, in denen sich, bezogen auf die Menge des angewandten Fleischextraktes, rund 1 % N fanden. Soviel Stickstoff wäre also in Form von Aminostickstoff vorhanden, und es blieben im Fleischextrakt nur noch 0,4 % N von den insgesamt vorhandenen 9,2 % N klassenmäßig unbekannt.

Von diesem Rest lassen sich noch 0,16 % auf Kreatininstickstoff beziehen, so daß tatsächlich nur die kleine Differenz von 0,24 % Stickstoff als unbekannt übrig bleibt. Es ist nämlich nach den Angaben in der Literatur⁴⁾ Kreatinin durch Phosphorwolframsäure nicht vollkommen ausfällbar. Um festzustellen, wieviel Kreatinin in unseren Fleischextraktanalysen noch im Filtrat verblieben sein konnte, untersuchten wir die Niederschläge in je 200 ccm von Lösungen, die a) 10, b) 20,

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chemie **10**, S. 339 (1886).

²⁾ Zeitschr. Unters. Nahrungs- und Genußm. **5**, S. 198 (1902).

³⁾ E. Fischer und Bergell, Ber. **35**, S. 3779 (1902).

⁴⁾ Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handbuch der Physiol.-chem. Analyse 7. Auflage 1903. Seite 130.

c) 30 und d) 100 mg Kreatinin und je 75 ccm der üblichen Phosphorwolframsäurelösung (s. unter II, 1.) enthielten und etwa normal an Schwefelsäure waren. Dies sind gerade die in unseren Analysen (s. unten) eingehaltenen Bedingungen. In d) entsteht sofort ein reichlicher Niederschlag; a), b), und c) bleiben übersättigt, geben aber nach Impfen mit Kristallen aus d) ebenfalls kristallinische Niederschläge derselben Art wie in d). Die Kristallisation erreicht in einigen Stunden ihr Ende. In a) entsteht wenig Niederschlag, man erkennt jedoch, daß die Löslichkeit des Kreatininphosphorwolframatens jedenfalls unter 10 mg Kreatinin auf 200 ccm liegt. Die Niederschläge in b) und c) wurden abfiltriert und nach Kjeldahl verbrannt. Sie enthielten b) 4,9 mg N = 13,2 mg Kreatinin; c) 8,96 mg N = 24,1 mg Kreatinin. Wir können also die gelöste Menge zu 6 mg Kreatinin = 1,6 mg Stickstoff veranschlagen. Dies macht für die Fleischextraktfällungen, in denen auf 200 ccm 1 g Extrakt kam, 0,16 % Stickstoff.

Ob die noch fehlenden 0,24 % Stickstoff eine reelle Bedeutung haben oder nur als die Summe der Versuchsfehler anzusehen sind, bleibe dahingestellt. Möglich, daß dieser kleine Betrag noch zu den Aminosäuren gehört, indem nämlich die Fällung mit β -Naphthalinsulfochlorid schwer vollständig zu machen ist.

Die Ermittlung erheblicher Mengen von Aminosäuren im Fleischextrakt zeigt, daß bei seiner Bereitung die Proteine des wässrigen Fleischauszuges doch zum Teil wohl weiter zersetzt werden, als man bisher angenommen hat. Wahrscheinlich werden beim Eindicken des Fleischauszuges Temperaturen erreicht, welche ziemlich weit über 100° hinausgehen dürften. Dabei übt dann wohl das Wasser seine hydrolysierende Wirkung aus und verwandelt die Proteine teils in Albumosen, teils in Aminosäuren. Merkwürdig ist es, daß die Zwischenglieder zwischen beiden Stoffklassen, die Peptone, dem Fleischextrakt zu fehlen scheinen. Wenigstens bekommt man bekanntlich keine deutliche Biuretreaktion in dem Filtrate des mit Zinksulfat gefällten Fleischextraktes.

Die hier gewonnenen Zahlen lassen einen nicht uninteressanten Vergleich zwischen der Verteilung des Stickstoffs im Extrakte und im frischen Fleisch zu. Dieses enthält etwa 75 % Wasser. Von den übrigen 25 % sind nach E. Salkowski und Gieske¹⁾ 10 % wasserlösliches Albumin, daher im frischen Fleisch $\frac{2,5}{6,25} = 0,4$ % Albuminstickstoff. Auf Fleischbasen kommen nach denselben Autoren $25 \times 0,125 = 3,1$ %. Den Stickstoffgehalt derselben wird man durchschnittlich zu $\frac{1}{3}$ ihres Gewichtes annehmen dürfen²⁾. Somit erhält man rund 1 % Fleischbasenstickstoff, bezogen auf das Gewicht des frischen Fleisches. Der wässrige Fleischauszug enthält also etwa 2,5 mal mehr Basenstickstoff, als Proteinstickstoff.

Nun wurde in Liebigs Fleischextrakt in 48,5 g eine kleine Menge wasserunlösliches Eiweiß gefunden, deren Bestimmung nach Kjeldahl 2,7 ccm n-NH₃, entsprechend 0,078 % N ergab. Der zehnte Teil des Filtrates gab in der Zinksulfatfällung 4,9 ccm n-NH₃, entsprechend 1,42 % N. Als Summe des Albumin- und Albumosenstickstoffs

¹⁾ Zitiert nach König, Chemie der Nahrungs- u. Genußm. II. S. 420 (1904).

²⁾ Vgl. die Tabelle bei Leach, Food inspection and Analysis (London 1904) S. 184.

findet man hiernach 1,5% N¹⁾. Weiter wurden in 10 g Liebigs Fleischextrakt durch Destillation mit Magnesia 2,25 ccm n-NH₃, entsprechend 0,3% N²⁾ gefunden. Der Phosphorwolframniederschlag enthielt 7,4% N, bezogen auf das Extraktgewicht. Im Filtrat davon sind noch 0,4% Kreatinstickstoff enthalten. Damit ergibt sich für den Fleischbasenstickstoff des Extrakts: $7,4 + 0,4 - (1,5 + 0,3) = 6,0\%$ N. Es ist also im Extrakt das Verhältnis Proteinstickstoff zu Basenstickstoff wesentlich anders als im frischen Fleisch, nämlich $6,0 : 1,5 = 4$ im fertigen Extrakt gegen $1,0 : 0,4 = 2,5$ in der frischen Fleischbrühe. Rechnet man nun aber zu den 1,5% Proteinstickstoff noch die neugefundenen 1,0% Aminostickstoff hinzu, so erhält man den Quotienten $6,0 : 2,5 = 2,4$, der sehr nahe mit dem für frisches Fleisch gefundenen Quotienten 2,5 übereinstimmt. Wir können hierin eine Gewähr dafür erblicken, daß wir jetzt über die Verteilung des Stickstoffs im Fleischextrakt im wesentlichen richtig unterrichtet sind.

Kommen wir nun auf die oben aufgeworfene Frage zurück, so ergibt sich folgendes: Es wurden in 50 g im Mittel 0,18 g Bernsteinsäure gefunden. Da etwa die Hälfte der vorhandenen Menge gewonnen wurde, so kommen wir auf 0,7% Bernsteinsäure. Dies entspricht etwa 0,8% Asparaginsäure; da diese 10% ihres Gewichts an Stickstoff enthält, so entspräche die sich in Form von Bernsteinsäure verratende Asparaginsäure einer Menge von 0,08% Aminostickstoff. Dies sind aber nur 8% der tatsächlich vorgefundenen Menge Aminostickstoff.

Demnach findet sich die früher (Seite 6) ausgesprochene Erwartung, daß die Gesamtmenge der im Fleischextrakt vorhandenen Aminosäuren um ein Vielfaches die daselbst vorgefundene Bernsteinsäure übertrifft, bestätigt.

Es läßt sich nun sofort eine weitere Folgerung aussprechen und prüfen. Wenn, wie angenommen, Zucker auf Asparaginsäure reduzierend unter Bildung von Bernsteinsäure einwirkt, so muß erwartet werden, daß Glykokoll, Alanin, Leucin usw. derselben Einwirkung unterliegen, und daß im Fleischextrakte dementsprechend auch kleine Mengen von Essigsäure, Propionsäure usw. vorkommen. Ob dies der Fall ist, ließ sich für Essigsäure prüfen, indem man versuchte, ob aus dem mit Phosphorsäure in der üblichen Weise versetzten Extrakte flüchtige Säure sich abdestillieren lasse. In der Tat ergaben 14 g Liebigs Fleischextrakt ein Destillat, welches 0,7 ccm n-Säure enthielt. Salzsäure enthielt das Destillat nicht. Die Essigesterprobe fiel positiv aus. Rechnet man den Säuretiter auf Essigsäure um (außer dieser käme höchstens noch Ameisensäure in Betracht, die wir wohl ausschließen können), so finden wir $\frac{0,7 \cdot 100}{14} \cdot 60 = 0,3\%$ Essigsäure im Fleischextrakt. Dies ist eine mit dem Bernsteinsäuregehalt (0,7%) ganz vergleichbare Menge.

Schließlich wurde auch nach den in Teil III beschriebenen Versuchen Bernsteinsäurebildung durch Reduktion der Asparaginsäure direkt nachgewiesen. Wir können

¹⁾ In ziemlicher Übereinstimmung damit gibt Micko (l. c.) 1,6% an, während König und Bömer (l. c.) nur 1,2% finden.

²⁾ Micko findet 0,39%, König und Bömer 0,4%.

daher sagen, daß die Möglichkeit dieser Entstehung für die Bernsteinsäure des Fleischextraktes besteht, und daß man nicht gezwungen ist, Fäulnis oder Autolyse oder die Annahme der Phosphorfleischsäure Siegfrieds in Anspruch zu nehmen.

Nach dieser Übersicht seien die Versuche im einzelnen dargelegt.

1. Die Phosphorwolframsäure-Fällung.

Damit diese Fällung vollständig wird, muß man einen großen Überschuß des Fällungsmittels anwenden. König und Bömer¹⁾ verwenden zur Fällung von 1 g Extrakt 75 ccm Phosphorwolframsäurelösung, welche im Liter 155 g WO_3 enthält²⁾. Damit sollen etwa 0,08 g Stickstoff gefällt werden. Man verwendet also $\frac{155}{232} \cdot \frac{14}{0,08} \cdot \frac{75}{1000}$ oder etwa neun Verbindungsgewichte WO_3 auf ein Verbindungsgewicht zu fällenden Stickstoffs. Verbraucht wird zur Fällung weniger als der zehnte Teil. Denn fällt man 1 g Fleischextrakt nur mit 7,5 ccm Phosphorwolframsäure, wenn das Volum der gemischten Lösungen 75 ccm beträgt, so enthält das Filtrat noch Wolfram. Aber im Niederschlag findet man alsdann nur 4,6% Stickstoff, also bedeutend zu wenig. — Auch braucht die Fällung Zeit, und zwar soll sie nach König und Bömer, wie erwähnt, erst nach acht Tagen beendet sein. Die in dieser Arbeit gemachten Erfahrungen weichen allerdings hiervon ab. König und Bömer lösen 0,5 g Extrakt in 50 ccm Wasser, säuern mit 20 ccm verdünnter Schwefelsäure an und fällen mit 50 ccm einer Mischung von drei Raumteilen Phosphorwolframat und einem Raumteil Schwefelsäure 1 + 3 (d. h. 1 g H_2SO_4 + 3 g H_2O). Nach der Vermischung ist die Flüssigkeit etwa 1,5 normal an Schwefelsäure. Der entstehende Niederschlag soll sofort nach der Fällung 5,8% N (bezogen auf das Gewicht des Extraktes) enthalten, nach einem Tag: 7,1%, nach zwei Tagen: 7,3%, nach drei Tagen: 7,5% und nach acht bis neun Tagen: 8,4% N. Bei der Wiederholung dieses Versuches hielten wir es für zweckmäßig, die doppelte Menge zu verwenden und den Niederschlag nebst der Lösung in zugestöpselten Flaschen verschlossen aufzubewahren, bis er verarbeitet wurde. 1 g Liebig's Fleischextrakt wurde in 100 ccm Wasser mit 7 g reiner Schwefelsäure gelöst und 100 ccm Phosphorwolframsäure hinzugefügt (bestehend aus 75 ccm Natriumwolframatlösung und 25 ccm Schwefelsäure, 1 + 3). Nach der Vermischung war die Lösung 1,5 normal an Schwefelsäure. Die Anfangskonzentration von WO_3 beträgt dabei etwa 60 g WO_3 im Liter, gegen etwa 15 g WO_3 im Liter in dem oben erwähnten Versuch, bei dem 4,6% Stickstoff gefällt wurden. Der nach bestimmter Zeit abgesaugte Phosphorwolframniederschlag wurde, wie üblich, mit verdünnter Schwefelsäure ausgewaschen und nach Kjeldahl verbrannt. Folgende Tabelle enthält die gewonnenen Werte:

¹⁾ Zeitschrift für analytische Chemie **43**, S. 548 (1895).

²⁾ Sie wird nach den „Vereinbarungen“ bereitet durch Lösen von 120 g phosphorsaurem und 200 g wolframsaurem Natrium in 1 l Wasser. Statt des letzteren Salzes kann man auch 155 g WO_3 mit 23 g NaOH lösen, dazu das Phosphat geben und zum Liter auffüllen. Die Wolframsäure ist darauf zu prüfen, ob sie frei ist von Ammoniak.

Niederschlag abfiltriert	ccm n-NH ₃	N g	N %
nach 3 Stunden	4,85	0,0679	6,8
„ 2 Tagen	5,30	0,0742	7,4
„ 3 „	5,20	0,0728	7,3
„ 5 „	5,20	0,0728	7,3
„ 7 „	5,26	0,0736	7,4
„ 10 „	5,32	0,0745	7,4
Gesamt-Stickstoff in 1 g Extrakt	6,60	0,0924	9,2

Hieraus geht hervor, daß schon nach zwei Tagen die Fällung gleichbleibend geworden ist. Sie wächst nur bis zum Betrage von 7,4% N an.

Für die analytische Praxis ergibt sich, daß zwar ein großer Überschuß des Reagens genommen werden soll, daß es aber nicht nötig ist, die Fällung länger als zwei Tage stehen zu lassen.

2. Kolorimetrische Bestimmung von Kreatin und Kreatinin.

Den physiologischen Chemikern ist es bekannt, daß Kreatinin mit Pikrinsäure in alkalischer Lösung eine Verbindung eingeht, die durch eine sehr kräftige rote Farbe ausgezeichnet ist. Diese Verbindung eignet sich zu einer kolorimetrischen Bestimmung des Kreatinins. Von den Nahrungsmittelchemikern scheint das Verfahren bisher noch nicht verwendet zu sein.

Die Reaktion ist von Jaffé¹⁾ entdeckt und von Folin²⁾ und neuerdings von van Hoogenhuyze und Veeploegh³⁾ zur Bestimmung des Kreatins und Kreatinins im Harn verwendet worden. Vermischt man eine Lösung, welche 0,1% Kreatinin enthält, mit alkalischer Pikratlösung, so entsteht alsbald eine granatrote Färbung, die nach einigen Minuten ihren höchsten Wert erreicht. Diese Färbung ist noch nach mehrhundertfacher Verdünnung sehr deutlich und gleicht in ihrem Farbenton in einem gewissen Konzentrationsgebiet vollkommen derjenigen von Kaliumbichromat. In größerer Verdünnung verblaßt die Farbe mit der Zeit allmählich, namentlich bei großer Helligkeit. Dies wird der unmittelbaren Betrachtung etwa nach einem Tage merklich, der kolorimetrischen Messung aber schon etwa nach einer halben Stunde. Deswegen benutzt man als Grundlage nicht eine Lösung bekannten Kreatiningehaltes, sondern an ihrer Statt eine solche von Kaliumbichromat, deren koloristische Äquivalenz mit einer Kreatininpikratlösung bekannten Kreatiningehaltes erstmals festzustellen ist. Beispielsweise ist eine halbnormale Lösung von Kaliumbichromat (24,54 g im l) in 8 mm Schichtdicke bei etwa 15° in ihrer Farbstärke und Farbnuance gleich 8,1 mm Schichtdicke einer Lösung von 10 mg Kreatinin, welche nach Zusatz von 15 ccm gesättigter Pikrinsäurelösung (1,2%ig) + 5 ccm Natriumhydroxyd (10%ige Lösung) bis auf 500 ccm verdünnt worden ist. Vor dem Verdünnen wartet man fünf Minuten, und nach dem Verdünnen muß man die kolorimetrische Messung inner-

¹⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie **10**, S. 399 (1886).

²⁾ Ebenda, **41**, S. 223 (1904).

³⁾ Ebenda, **46**, S. 415 (1905).

halb einer halben Stunde ausführen. Diese Beziehung ist von den genannten Autoren zur Grundlage ihrer kolorimetrischen Bestimmungen gemacht worden, und auch in der vorliegenden Arbeit wurde dieselbe benutzt.

Die kolorimetrische Gehaltsbestimmung gründet sich darauf, daß bei gleicher Farbstärke das Produkt aus Konzentration und Schichtdicke gleich bleibt. Bekanntlich enthält aber die Ableitung dieses Satzes (Gesetz von Beer) die Voraussetzung, daß mit homogenem Licht gearbeitet wird, und daß der chemische Zustand der untersuchten Lösung von der Verdünnung unabhängig ist. Das letztere trifft für den Kreatininpikrat-Komplex natürlich nicht zu, und das erstere unterläßt man der Einfachheit halber. Daher kann die Proportionalität auch nur in einem engeren Bereich, der empirisch zu bestimmen ist, mit genügender Annäherung gelten. Wie Folin festgestellt hat, beginnt die Unstimmigkeit über die Fehlergrenze der Beobachtung hinauszuwachsen, wenn der Kreatiningehalt der zu untersuchenden Lösung mehr als 16 mg oder weniger als 8 mg in 500 ccm beträgt. Stößt man also bei der Messung auf gehaltreichere Lösungen, so hat man nach entsprechender Verdünnung die Messung zu wiederholen. Umgekehrt im Falle zu armer Lösungen.

Hat man ferner einmal halbnormale Kaliumbichromatlösung im 8 mm Schichtdicke als Bezugsfarbe gewählt, so darf man von dieser Schichtdicke nicht mehr abgehen. Denn die Änderung der Farbe ist für Kreatininpikrat und Kaliumbichromat natürlich nicht genau die gleiche Funktion der Verdünnung.

Es ist klar, daß die vorliegende Kreatininbestimmung zugleich eine Kreatinbestimmung ist. Man verfährt so, daß man in einer Probe zunächst das Kreatinin bestimmt, dann in einer zweiten Probe mit Salzsäure auf dem Wasserbad das Kreatin in Kreatinin verwandelt und damit die kolorimetrische Messung wiederholt. Der Unterschied beider ergibt den Kreatiningehalt, zunächst in der Kreatineneinheit.

Wegen der außerordentlichen Empfindlichkeit des Verfahrens und der dadurch bedingten Untersuchung in sehr verdünnter Lösung kommt die geringe Färbung der Fleischextrakte nicht in Betracht. Ob aber die Anwendung des Verfahrens auf Fleischextrakte, Bouillonpräparate, Peptone und dgl. überhaupt zulässig ist und nicht etwa durch andere Farbenreaktionen getrübt wird, mußte der Versuch lehren. Dieser entschied dahin, daß keinerlei Störungen durch irgend einen der zahlreichen mit-anwesenden Stoffe bewirkt werden. Denn es konnten sowohl bekannte Mengen Kreatinin, welche zu den zu untersuchenden und an sich kreatininhaltigen Extrakten zugesetzt wurden, richtig wiedergefunden werden, als auch war dies der Fall bei dem Hefenextrakt *Ovos* und dem Pepton *Witte*, welche beide kein oder fast kein Kreatinin enthalten.

Ob in den Präparaten, welche die Kreatininreaktion geben, nicht etwa noch ein anderer Stoff enthalten ist, der zufällig dieselbe Farbenreaktion gibt, wurde außerdem in der Weise geprüft, daß zu Fleischextrakt Kalkmilch oder Ammoniak zugesetzt wurde. Nach *Liebig*¹⁾ geht dadurch Kreatinin allmählich in Kreatin über, allerdings nicht quantitativ. Immerhin konnten wir feststellen, daß das mit Kalkmilch oder

¹⁾ *Lieb. Ann.* **108**, 355.

Ammoniak versetzte Fleischextrakt nach etwa 20stündigem Digerieren auf dem Wasserbad rund $\frac{5}{6}$ seines kolorimetrisch nachweisbaren Kreatiningehaltes verliert und dann gleichbleibt. Ebenso verhält sich reine Kreatininlösung bei gleicher Behandlung. Hierdurch wird es doch äußerst wahrscheinlich, daß die Farbenreaktion die richtigen Werte ergibt. Daß unter den bekannten, im Harn vorkommenden Stoffen — diese kommen ja für das Fleischextrakt auch alle in Betracht — sich keine findet, welche unter den gewählten Versuchsbedingungen die Kreatininreaktion stören könnte, ist von Jaffé¹⁾, sowie von Folin²⁾ und van Hoogenhuyze und Veeploegh³⁾ geprüft worden. Man fand nur in Aceton, Acetessigsäure und Schwefelwasserstoff Stoffe, welche allenfalls Kreatinin vortäuschen könnten. Ob die neuen von Kutscher⁴⁾ aus dem Fleischextrakt neuerdings abgesonderten Basen die Reaktion geben, wurde von uns nicht geprüft, da man einerseits wohl zweckmäßig den Abschluß der Untersuchungen Kutschers erst abwarten muß⁵⁾, und da andererseits die Mengen dieser Basen, soviel sich bis jetzt erkennen läßt, so gering sind, daß sie gegen Kreatin und Kreatinin gar nicht ins Gewicht fallen.

Was die Überführung von Kreatin in Kreatinin anlangt, so vollzieht man dieselbe durch Erwärmen der zu untersuchenden Lösung auf dem Wasserbade in $\frac{1}{3}$ normaler salzsaurer Lösung während vier Stunden. Nach dieser Zeit ist die Umwandlung stets quantitativ.

Zur Messung diente ein Kolorimeter von Duboscq (Paris). Zur Prüfung des Instrumentes, sowie zur persönlichen Einübung wurde eine Lösung von 1 g Kreatinin in 1 l hergestellt, indem 1,32 g kristallisiertes Kreatin Merck ($C_4 H_9 N_3 O_2 \cdot H_2 O$) in $\frac{n}{3}$ HCl solange auf dem Wasserbade erwärmt wurde, bis alles Kreatin in Kreatinin übergeführt war. Die mit dieser Lösung angestellten Versuche bestätigten die Angaben von Folin, nämlich, daß 10 mg Kreatinin, mit 15 ccm gesättigter Pikrinsäure + 5 ccm 10%iger Natronlauge versetzt und nach fünf Minuten zu 500 ccm verdünnt, in 8,1 mm hoher Schicht gleiche Farbe hat, wie halbnormale Kaliumbichromatlösung in 8 mm Schicht.

Die Ablesungen an der Skala des Kolorimeters wurden acht bis zehnmal wiederholt und das Mittel genommen. Nach einiger Übung erreicht man es, daß die einzelnen Ablesungen nicht mehr als zwei bis drei Zehntelmillimeter verschieden ausfallen. Jedenfalls sind die nachfolgenden Gehaltsbestimmungen durchschnittlich auf 0,1 genau.

Die folgenden Präparate sind nun auf Kreatin und Kreatinin untersucht worden: Liebigs Fleischextrakt, das neue Fleischextrakt mit der Flagge (unter Kontrolle von Prof. Fresenius-Wiesbaden), Fleischsaft Puro, Oxo-Bouillon (von der Liebig Company), Cibils flüssiges Fleischextrakt, Maggis gekörntes Bouillon-Extrakt, Hefenextrakt Ovos, Mercks Pepton e carne, Wittes Pepton.

¹⁾ A. a. O.

²⁾ A. a. O.

³⁾ A. a. O.

⁴⁾ Ztschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel **10**, 528 (1905).

⁵⁾ Vergl. Kutscher, ebenda, **11**, 582 (1906).

Verfahren wurde so, daß 10 g des Präparates abgewogen und in Wasser zu 100 ccm gelöst wurden. Von der Lösung wurden 10 ccm mit 15 ccm gesättigter Pikrinsäure + 5 ccm 10%iger Natronlauge versetzt und auf 500 ccm verdünnt. Die Farbstärke dieser Lösung wurde im Kolorimeter gegen die einer halbnormalen Kaliumbichromatlösung in 8,0 mm Schichtdicke gemessen. Besteht Farbgleichheit bei a mm Schichtdicke, so ergibt die Proportion $\frac{8,1 \times 10}{a} = x$ die Anzahl mg Kreatinin, welche in 1 g des Präparates enthalten sind. Erweist sich dabei x größer als 16, so wird die Messung bei doppelter Verdünnung wiederholt.

In zweiter Linie wird zur Kreatinbestimmung geschritten und dabei ebenso verfahren, nur daß die 10 g abgewogener Substanz in etwa drittelnormaler Salzsäure zu 100 ccm gelöst und vier Stunden auf dem Wasserbad erwärmt werden.

In folgender Tabelle finden sich in Spalte 1 die Kreatininwerte des frischen, in Spalte 2 diejenigen des mit Salzsäure invertierten Präparates, beide in mg auf 1 g abgewogener Substanz. In Spalte 3 sind die Kreatiningehalte in Prozenten angegeben und in Spalte 4 die Kreatingehalte. Die ersteren sind auf kristallisiertes, wasserhaltiges Kreatin ($C_4H_9N_3O_2, H_2O$) berechnet und ergeben sich aus der Differenz zwischen Spalte 1 und 2, multipliziert mit 1,32.

Bezeichnung des Präparates	mg Kreatinin		Kreatinin %	Kreatin %	Bemerkungen
	vor der Inversion	nach der Inversion			
Liebigs Fleischextrakt	30,0	39,5	3,0	1,25	
Neues Fleischextrakt mit der Flagge	29,5	36,4	3,0	0,8	
Fleischsaft Puro	7,5	10,5	0,75	0,4	
Oxo-Bouillon	8,3	12,0	0,8	0,5	
Cibils flüssiges Fleischextrakt	5,9	11,6	0,6	0,8	
Maggis gekörntes Bouillon- Extrakt	12,6	16,6	1,3	0,5	
Hefenextrakt Ovos	—	—	—	—	höchstens 0,08 % Kre- atin + Kreatinin
Mercks Pepton e carne	9,0	9,4	0,9	0,05	
Wittes Pepton	—	—	—	—	höchstens 0,03 % Kre- atin + Kreatinin

Die Tabelle gibt zu einigen interessanten Bemerkungen Anlaß. Man sieht zunächst, daß die Kreatininmenge im allgemeinen die Kreatinmenge übertrifft. Dasselbe gilt auch für den Harn¹⁾, während für den Muskel das Umgekehrte angegeben wird. Sodann gewährt die Probe eine leichte Unterscheidung zwischen Fleischextrakten und Hefenextrakten, die sonst sehr ähnlich zusammengesetzt sind. Aber gerade die charakteristischen Bestandteile des Fleisches, Kreatin und Kreatinin, fehlen der Hefe. Allerdings wird man zur Zeit in der Praxis kaum in die Lage kommen, Hefenextrakte als solche zu kennzeichnen, da diese Präparate gegenwärtig vom Markte wieder verschwunden zu sein scheinen. Die in der Tabelle verzeichneten 0,08% dürften noch zu hoch sein, da zu ihrer Auswertung Konzentrationen und Schichtdicken verglichen

¹⁾ Vgl. Folin und van Hoogenhuyze und Veeploegh, a. a. O.

werden müssen, bei denen eine kolorimetrische Gehaltsbestimmung nicht mehr zuverlässig ist.

An Mercks Fleischpepton sehen wir, daß dasselbe fast kein Kreatin enthält. Dies hängt jedenfalls damit zusammen, daß das Fleisch, das zu seiner Herstellung diente, mit Pepsin und Salzsäure verdaut wurde, welche letztere das Kreatin in Kreatinin überführte.

Wittes Pepton erweist sich praktisch frei von Kreatin und Kreatinin. Daran läßt sich erkennen, daß zu seiner Herstellung jedenfalls kein Fleisch genommen wird, wie es vom Tier kommt, sondern höchstens bereits extrahiertes Fleisch oder aber andere Proteinstoffe. Würde Pepton aus Fleisch durch Alkohol-fällung des peptonisierten Fleisches gewonnen, so dürfte man zwar kein Kreatinin finden, da dieses in Alkohol gelöst bleibt, dagegen müßte das Kreatin mit in den Pepton-Niederschlag gehen.

Noch bevor dieses Verfahren, das zur Kennzeichnung und Bewertung von Fleischextrakten und insbesondere von Bouillonpräparaten Bedeutung erlangen dürfte, untersucht war, wurden Versuche gemacht, um den Kreatingehalt in Liebigs Fleischextrakt, der in dem oben entwickelten Zusammenhange von Interesse sein mußte, durch Darstellung des Kreatins in Substanz festzustellen. Es wurden dazu 50 g Liebigs Extrakt in 300 ccm Wasser gelöst, die Lösung mit Bleiacetat gefällt und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit. Darauf wurde zum dünnen Sirup eingedampft und zur Kristallisation hingestellt. Nach mehreren Tagen hatten sich reichliche Kristallmengen ausgeschieden, die unter dem Mikroskop zwischen Kristallen von Salzen auch Kristalle von Kreatin erkennen ließen. Der Kristallbrei wurde nun von der Mutterlauge, ca. 30 ccm, abgesaugt und mit Alkohol gewaschen, um etwa ausgeschiedenes Kreatinin wegzulösen. Darauf wurden die Kristalle samt Filter nach Kjeldahl verbrannt und darin 0,140 g N gefunden. Dies würde 0,28 % Kreatinstickstoff ausmachen. Diese Zahl bedarf aber einer Berichtigung für die in der Mutterlauge verbliebene Kreatinmenge, die freilich nur sehr unsicher angebracht werden kann. Nach den bestehenden Angaben¹⁾ löst sich 1 g Kreatin in 74 g kaltem Wasser. Der Stickstoffgehalt des wasserhaltigen Kreatins beträgt 28,2%. Danach würde sich finden, wenn unsere 30 ccm Mutterlauge wie Wasser behandelt werden: $\frac{30}{74} \cdot 0,282 = 0,114$ g N. Es wären also in 50 g Extrakt $0,140 + 0,114 = 0,254$ g Kreatinstickstoff oder 0,5 %. Nach unserer kolorimetrischen Methode wurde dagegen 0,4 % Kreatinstickstoff gefunden. Der Größenordnung nach besteht Übereinstimmung.

3. Die Behandlung mit β -Naphtalinsulfochlorid.

Zur Abscheidung der Aminosäure ist von Emil Fischer und Bergell²⁾ empfohlen worden, die Lösung der Aminosäuren in Alkali mit einer Lösung von β -Naphtalinsulfochlorid in Äther zu schütteln. Dabei tritt in langsamer Reaktion Bindung zwischen der Amino- und Sulfogruppe ein, und man bekommt in der wässrigen Schicht die Salze der entstandenen β -Naphtalinsulfonaminosäuren, beispiel-

¹⁾ Hoppe-Seyler-Thierfelder, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 7. Auflage S. 128.

²⁾ Berichte d. d. chemischen Gesellschaft **35**, 3779 (1902).

weise das Salz von β -Naphtalinsulfoglycin: $C_{10}H_7SO_2 \cdot NH \cdot CH_2 \cdot COOH$. Die Säuren selbst sind in Wasser schwer löslich, auf Zusatz von Salzsäure scheiden sie sich als Öl ab, das beim Stehen früher oder später kristallinisch erstarrt.

Man besitzt in diesem Verfahren ein Gruppenreagens auf Aminosäuren, das verhältnismäßig kleine Mengen derselben aus Lösungen abzuscheiden gestattet, und dessen sich bereits die Physiologen zur Untersuchung des Harnes mit Erfolg bedient haben¹⁾.

Die Verwendung dieser Reaktion wurde nun auf Fleischextrakt und Peptone ausgedehnt, indem die Filtrate vom Phosphorwolframniederschlag der Behandlung mit β -Naphtalinsulfochlorid unterworfen wurden. Den Aminostickstoff nach diesem Verfahren quantitativ zur Abscheidung zu bringen, wird durch zwei Umstände erschwert. Zunächst muß mit dem Reagens sehr lange geschüttelt werden, um die Hauptmenge der vorhandenen Aminosäuren in Verbindung zu bringen. Emil Fischer und Bergell²⁾ fanden beim Arbeiten mit reinen Aminosäuren 7-stündiges Schütteln ausreichend. Für Harn genügt dies nach Embden und Reese³⁾ und anderen Forschern nicht, vielmehr sind 16—20 Stunden erforderlich, um die Hauptmenge der Aminosäuren zu gewinnen. Gleiches fanden wir für unsere Verhältnisse. Wir haben im allgemeinen achtzehn Stunden geschüttelt, indem eine Verlängerung der Schüttelzeit auf vierundzwanzig Stunden eine erhebliche Vermehrung der Ausbeute nicht bewirkte, während zwölf Stunden Schütteln dieselbe erheblich herabdrückte.

Zweitens sind die Naphtalinsulfonaminosäuren nicht völlig unlöslich in Wasser. Dies bewirkt Fehler, die namentlich dann ins Gewicht fallen, wenn das Lösungsvolum groß im Vergleich zu der gesamten vorhandenen Menge ist. Hierfür wurde aus den vorliegenden Versuchen selbst eine Korrektur abgeleitet, auf die später zurückzukommen sein wird.

Das übliche Verfahren beim Schütteln besteht darin, die Lösung, welche die Aminosäuren enthält, schwach alkalisch zu halten und während des Schüttelns von Zeit zu Zeit die durch die Reaktion verschwundene Alkalimenge zu ersetzen. Dies änderten wir ein wenig dahin ab, daß wir von vorne herein der Lösung eine ausreichende Alkalität gaben, und zwar machten wir die zu schüttelnden Lösungen ungefähr $\frac{1}{10}$ normal an NaOH. Viel stärker darf die Alkalität nicht sein, da sonst das β -Naphtalinsulfochlorid in einer Nebenreaktion rasch verbraucht wird. Das letztere Reagens wurde in mindestens vierfachem Überschuß (bezogen auf die in Reaktion tretende Menge) in 5%iger ätherischer Lösung angewandt, sodaß bis zum Schluß des Schüttelns das Reagens in annähernd unveränderter Konzentration vorhanden war.

Wenn nach dem Schütteln die von der ätherischen getrennte wässrige Schicht mit Salzsäure übersättigt wird, so entsteht bei Anwesenheit von Aminosäuren eine voluminöse Fällung, welche die Lösung in eine weiße Milch verwandelt. Man läßt

¹⁾ Vergl. Abderhalden und Bergell, Zeitschrift für physiolog. Chemie **39**, S. 9 u. 465 (1903). — Ignatowsky, Ebenda **42**, S. 471 (1904). — F. Erben, Ebenda **46**, S. 323 (1904). — Embden und Reese, Hofmeisters Beiträge **7**, S. 411 (1905). — Gunnar Forssner, Zeitschrift für physiolog. Chemie **47**, S. 15 (1906).

²⁾ A. a. O.

³⁾ A. a. O.

diese einen Tag stehen, worauf der Niederschlag sich als Öl zu Boden gesenkt hat. Von der öligen Schicht kann jetzt bequem abgegossen werden. Ist die Flüssigkeit noch schwach getrübt, so schüttelt man sie mit Äther aus, bis völlige Klärung eingetreten ist, und vereinigt den Ätherrückstand mit der Hauptmenge des Niederschlages. Meistens ist die Ätherausschüttelung nötig. Durch Vernachlässigung der Trübung entstehen Verluste von beiläufig 0,1 % N.

Das Öl ist ein Gemenge von den Naphtalinsulfoverbindungen verschiedener Aminosäuren. Man überschichtet dasselbe zweckmäßig mit etwas Wasser und reibt mit dem Glasstabe, worauf es meist nach kurzer Zeit zu einem kristallinischen Gerinnsel erstarrt, das man bequem auf einem Filter sammeln kann. Da es zunächst nur auf die Gesamtmenge des Aminostickstoffs ankam, so wurde es nicht unternommen, aus dem Gemenge die Naphtalinsulfoverbindungen einzelner Aminosäuren, etwa des Glykokolls, Alanins usw., abzusondern, zumal da dies quantitativ doch nicht möglich wäre, sondern es wurde der gesamte Niederschlag nach Kjeldahl verbrannt.

Die Vorbereitung der Extrakte und Peptone zur Behandlung mit Naphtalinsulfochlorid bestand in der Fällung ihrer etwa 10%igen wässerigen Lösungen mit Phosphorwolframsäure, wobei etwa ein Verbindungsgewicht WO_3 auf ein Verbindungsgewicht zu fällenden Stickstoffs verwendet wurde. Der Niederschlag wurde nach zweitägigem Stehen abgesaugt, mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen und das Filtrat neutralisiert. Die neutralisierte Lösung wird nun mit soviel Natriumhydroxyd versetzt, daß sie etwa $\frac{1}{10}$ normal an Na OH wird.

Nach Überschreitung des Neutralitätspunktes fallen dabei geringe Mengen von phosphorsaurem Calcium flockig aus, welche abfiltriert werden. Dann wird die Lösung mit der ätherischen Lösung des Sulfochlorids geschüttelt.

Der Niederschlag, der nach dem Schütteln auf Zusatz von Salzsäure entsteht, kann außer den Aminoverbindungen noch die Sulfoverbindungen von Methylamin und seinen Homologen enthalten, wenn diese Stoffe im Untersuchungsobjekt vorhanden sind. Dagegen kann das Amid des Sulfochlorids nicht vorhanden sein, da der Amoniakstickstoff durch Phosphorwolframsäure mit ausgefällt wird. Bei den Fleischextrakten kann man im alkalisch gemachten Filtrat von der Phosphorwolframfällung stets einen Geruch nach Methylamin beobachten. Ob aber dessen Menge irgend erheblich ist, steht dahin. Daß das Kreatin, das sich ja noch im Filtrat von der Phosphorwolframfällung befindet, nicht mit in den Niederschlag der Naphtalinsulfoverbindungen geht, wurde schon aus den früheren Arbeiten über Harn, überdies aber aus eigener Prüfung an einer reinen Lösung von Kreatin entnommen.

Die bei diesen Versuchen aus Liebigs Fleischextrakt gefällte Stickstoffmenge wird wohl etwas hinter der in Abschnitt II, 1 (Seite 10) gefundenen zurückbleiben. Denn wir haben zwar die Anfangskonzentration an WO_3 bei der Ausfällung für die Schüttelversuche noch größer genommen als in jenen Versuchen, nämlich etwa 65 g WO_3 im Liter. Allein da die Extrakt-Konzentration hier rund zehnmal größer ist als dort, so wird die Endkonzentration an WO_3 (nach der Fällung) hier wohl geringer sein und damit vielleicht auch der Prozentsatz des gefällten Stickstoffs. Dies ist indes für die hier mit dem Filtrat vorzunehmende Behandlung gleichgültig, denn wenn auch

von Kreatinin, Xanthin, Hypoxanthin usf. noch kleine Mengen im Filtrat blieben, sie würden durch β -Naphtalinsulfochlorid nicht gefällt, da sie nur Imino-, aber keinen Aminostickstoff enthalten.

Die β -Naphtalinsulfoverbindungen der Aminosäuren sind nach den Bestimmungen von E. Fischer und Bergell durchschnittlich im Verhältnis von 1 zu 1000 löslich. Diese Löslichkeit bringt bei kleinen Mengen beträchtliche Verluste hervor. Um für diese eine ungefähre Schätzung zu haben, wurde die Ausbeute an Aminostickstoff aus Mercks Pepton e carne, das sehr reich an Aminosäuren ist, in konzentrierter und sehr verdünnter Lösung verglichen. Wenn 10 g Pepton nach der Phosphorwolframfällung in etwa 700 ccm gelöst der Einwirkung des Sulfochlorids unterworfen wurden, so erhielten wir 3% Aminostickstoff. Dagegen fand man im Naphtalinsulfoniederschlag aus 0,5 g Pepton, gelöst in 400 ccm (nach der Phosphorwolframfällung) nur 1,6% Aminostickstoff; also etwa nur die Hälfte. Der Fehlbetrag ist in Lösung geblieben, nämlich $0,016 \cdot 0,5 = 0,008$ g Aminostickstoff auf 400 ccm¹). Mit dieser durchschnittlichen Löslichkeit wurden die übrigen Zahlen korrigiert. Beispielsweise erhöhen sich dann die obigen 3% auf 3,14%.

Beim Schütteln der Fleischextraktlösungen (Filtrat vom Phosphorwolframniederschlag) mit Sulfochlorid entsteht eine gewisse Menge eines schmierigen Öles, das sich an die Wandungen des Schüttelgefäßes hängt. Es emulgiert sich mit NaOH, fällt beim Ansäuern flockig aus der Emulsion aus und ist auch stickstoffhaltig. Es ist zu vermuten, daß dieses Öl die Naphtalinsulfoverbindungen des Methylamins und seiner Homologen enthält. Die Menge des darin enthaltenen Stickstoffs beträgt etwa $\frac{1}{4}$ des aus der wässrigen Schicht mit Salzsäure fällbaren Stickstoffs (Aminosäurenstickstoffs). In der folgenden Übersicht sind beide Posten vereinigt aufgeführt und als Aminostickstoff betrachtet. Um zu wiederholen, sind die Zahlenwerte in folgender Weise gewonnen: Zu dem in Wasser (etwa 1 : 10) aufgelösten Extrakt oder Pepton werden nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure auf 15 g Extrakt oder 10 g Pepton 125 ccm der üblichen Natriumphosphorwolframatlösung (enthaltend 155 g WO_3 im Liter), welche mit 45 ccm verdünnter Schwefelsäure angesäuert werden, zugesetzt²). Darauf wird das Ganze mindestens zwei Tage stehen gelassen. Dann wird filtriert und mit verdünnter Schwefelsäure ausgewaschen. Das Filtrat wird neutralisiert und demselben 4 g Natriumhydroxyd auf ein Liter zugesetzt. Von dem sich dabei abscheidenden Calciumphosphat wird abfiltriert. Das Filtrat wird mit 150 (bzw. 300) ccm 5%iger ätherischer Lösung von β -Naphtalinsulfochlorid versetzt und 18 Stunden lang geschüttelt. Hierauf wird vom Äther abgetrennt, mit Salzsäure übersättigt und einen Tag stehen gelassen. Dann wird der Niederschlag auf einem Filter gesammelt,

¹) Rechnet man den Gehalt der Naphtalinsulfonaminosäuren an Stickstoff zu durchschnittlich 6%, so ergibt sich damit eine durchschnittliche Löslichkeit von $0,008 \cdot \frac{10}{4} \cdot \frac{100}{6}$ g im Liter. Das ist $\frac{1}{3}$ g; der Größenordnung nach in Übereinstimmung mit Löslichkeitsangaben von Emil Fischer und Bergell.

²) Beispiel: Löse 30 g Liebigs Fleischextrakt in 200 ccm Wasser, versetze mit 80 ccm Schwefelsäure (1+5) und fälle diese Lösung mit einer Lösung von 250 ccm Natriumphosphorwolframatlösung + 90 ccm Schwefelsäure (1+5). Weiter wie oben.

das Filtrat eventuell bis zur gänzlichen Klärung mit Äther extrahiert, der Äther-rückstand mit dem Niederschlag vereinigt und nach Kjeldahl verbrannt. Die erhaltenen Werte für Aminostickstoff werden schließlich für die in Lösung verbliebene Menge, 0,002 g N auf 100 ccm, korrigiert.

Bezeichnung	ange- wandte Menge g	in ccm schwefel- saurer Lösung	verbraucht ccm n-NH ₃	g Amino-N gefunden	g Amino-N korrigiert	% Amino-N
Liebig's Fleischextrakt	15	500	9,6	0,134	0,144	0,96
	30	1000	18,5	0,259	0,279	0,92
Neues Fleischextrakt (mit der Flagge)	30	1100	15,2	0,213	0,235	0,78
	30	800	13,8	0,193	0,209	0,69
Merck's Pepton e carne	10	500	23,0	0,312	0,322	3,2
	10	700	21,6	0,302	0,316	3,2
Witte's Pepton	10	700	2,6	0,037	0,051	0,5

Der große Unterschied in der Zusammensetzung der beiden Peptone springt in die Augen. Während Merck's Pepton e carne sehr reich an Aminostickstoff ist, fehlt er dem Pepton Witte fast ganz. Vielleicht darf man daraus schließen, daß letzteres Präparat aus der Verdauungsflüssigkeit durch Fällung mit Alkohol gewonnen wird. Bei diesem Verfahren würden die Aminosäuren größtenteils in der Lösung verbleiben.

Die erhaltenen Werte gewinnen an Interesse, wenn sie im Zusammenhang mit der sonstigen Zusammensetzung der untersuchten vier Präparate betrachtet werden. Im folgenden wird eine Aufstellung der ermittelten Bestandteile gegeben. Den Kreatinin-Stickstoff, der einen Teil des Phosphorwolframniederschlag ausmacht, führen wir dabei nicht gesondert auf, indem deswegen auf die Tabelle am Ende des Abschnittes II, 2 (Seite 14) verwiesen sei.

Liebig's Fleischextrakt.

Gesamt-Stickstoff	9,2%
Stickstoff des Phosphorwolframniederschlag	7,4%
Albumosen- (+ Albumin-) Stickstoff	1,5%
Ammonium-Stickstoff	0,3%
Kreatin-Stickstoff	0,4%
Amino-Stickstoff	1,0%
Wasser	23%
Asche	19,5%
Glykogen	0,7%
Bernsteinsäure	0,8%
Essigsäure	0,3%

Neues Fleischextrakt (mit der Flagge).

Gesamt-Stickstoff	9,0%
Stickstoff in Phosphorwolframniederschlag	7,4%
Kreatin-Stickstoff	0,2%
Amino-Stickstoff	0,8%

Mercks Pepton e carne.

Gesamt-Stickstoff	12,2%
Stickstoff im Phosphorwolframniederschlag	5,6%
Kreatin-Stickstoff	0,0%
Amino-Stickstoff	3,2%

Wittes Pepton.

Gesamt-Stickstoff	14,3%
Stickstoff im Phosphorwolframniederschlag	12,6%
Kreatin-Stickstoff	0,0%
Amino-Stickstoff	0,5%

Nachdem nunmehr im Fleischextrakt erhebliche Mengen Aminosäuren nachgewiesen sind, muß man auch mit der Möglichkeit rechnen, daß in der Phosphorwolframmfällung außer den Purinbasen auch Hexonbasen enthalten sind, und es erscheint nicht aussichtslos, den Phosphorwolframniederschlag daraufhin zu untersuchen.

III. Über die Reduktion der Asparaginsäure durch Glukose.

Wenn man Asparaginsäure mit Traubenzucker in neutraler, saurer oder auch alkalischer Lösung mehrere Stunden kocht, kann man keine Einwirkung bemerken. Es entsteht kein abdestillierbares Ammoniak. Auch Zusatz von etwas Kupfer- oder Quecksilbersalz als Katalysator ändert daran nichts. Läßt man hingegen den Traubenzucker im Autoklaven bei höherer Temperatur einwirken, bei saurer, neutraler oder alkalischer Reaktion, so bekommt man je nach der Einwirkungszeit kleinere oder größere Mengen abdestillierbares Ammoniak. Daß dies durch Hydrolyse (unter gleichzeitiger Bildung von Äpfelsäure) gebildet würde, läßt sich ausschließen, da Asparaginsäure im Autoklaven für sich oder in alkalischer Lösung in gleicher Weise, aber ohne Zucker behandelt, kein freies Ammoniak liefert. Es ist ferner bemerkenswert, daß in einem blinden Versuch bei Abwesenheit von Asparaginsäure, aber Gegenwart von Bernsteinsäure, also in saurer Lösung, die Zuckerlösung sich nicht bräunte, während eine parallel behandelte asparaginsäurehaltige Lösung sich durch Zersetzung tiefdunkel färbte. Es muß also in jenen Versuchen Ammoniak durch Reduktion entstanden sein unter gleichzeitiger primärer Bildung von Bernsteinsäure.

Die folgende Tabelle enthält in Prozenten der theoretischen Ausbeute die in verschiedenen Versuchen erhaltenen Mengen Ammoniak.

Zeit der Erhitzung in Stunden	120°	135°	145°	155°	170°
1				18	
2			30	35	
3		10		38	40
8	14				

Die dabei angewandten Mengen Asparaginsäure lagen zwischen 1 und 16 g, die des Zuckers zwischen 3 und 80 g, das Lösungsvolum zwischen 100 und 500 ccm.

Die Reaktionsmassen sind naturgemäß durch Karamelbildung stark gebräunt, bei 150° und darüber auch durch Ausscheidung kohligter Huminsubstanzen von breiartiger Beschaffenheit. Um daraus die mutmaßlich gebildete Bernsteinsäure zu isolieren, wurde mit großen Mengen Äther geschüttelt und im Rückstand vom Ätherextrakt die Bernsteinsäure teils durch Fällung mit Silbernitrat, teils mit Hilfe des Baryum- oder Bleisalzes abzusondern versucht. Zur Reinigung der aus ihren Salzen wieder in Freiheit gesetzten Säure sublimierten wir den Verdampfungsrückstand, der die Bernsteinsäure enthielt, zwischen zwei Uhrgläsern auf dem Sandbade.

Bei diesem Verfahren haben wir nun zwar meist etwas Sublimat erhalten, das die Eigenschaften der Bernsteinsäure besaß (charakteristisch zu ihrer Erkennung ist der intensive Hustenreiz, den ihre Dämpfe bewirken). Indessen war die Ausbeute gering. Erst bei Anwesenheit von 16 g Asparaginsäure erhielten wir einige Zentigramm reiner Bernsteinsäure, welche an ihrem Schmelzpunkt 183°, an ihrer Kristallform und an der ihres Baryumsalzes, die charakteristisch ist, identifiziert werden konnte.

Obwohl nun die Absonderung der Säure sicher mit großen Verlusten verknüpft ist, so hätte man doch eine bessere Ausbeute erhalten müssen, wenn in der Reaktionsmasse die dem abdestillierbaren Ammoniak äquivalente Säuremenge gebildet worden wäre. Unzweifelhaft finden also unter den eingehaltenen Bedingungen noch weitere Reaktionen statt, welche der Anhäufung der Bernsteinsäure entgegen wirken.

Inzwischen darf es als erwiesen gelten, daß die für die Bernsteinsäure des Fleischextraktes angenommene Bildungsweise aus Asparaginsäure durch reduzierende Einwirkung von Glukose bei Temperaturen oberhalb 100° in Wirklichkeit eintreten kann.

Anhang.

Versuche zur Bestimmung des Verteilungskoeffizienten von Bernsteinsäure zwischen Wasser und Äther bei 25°.

A. Versuche mit gesättigten Lösungen.

Um von den größten Konzentrationen auszugehen, wurde zuerst die Löslichkeit der Säure in an Äther gesättigtem Wasser und in an Wasser gesättigtem Äther bestimmt. Dazu wurde in einer 5 ccm-Pipette (genau 5,014 ccm) eine Probe der zu analysierenden Schicht entnommen, nachdem die mit Lösungsmitteln und Bodenkörpern beschickte Stöpselflasche längere Zeit bei 25° rotiert worden war. Die Filtration geschah durch Watte. Um bei der Analyse der wässrigen Lösung, über welche die ätherische geschichtet ist, eine Benetzung der Pipette mit dem Äther zu vermeiden, wurde ein genügend weites Glasrohr in die Flasche eingelassen und die darin stehende Flüssigkeit durch einmaliges Hineinblasen verdrängt. Bei der Rückkehr der Flüssigkeit in das Rohr dringt nur solche aus der wässrigen Schicht ein. Nun kann durch Einsenken der Pipette in das Glasrohr eine Probe entnommen werden. Die Titration erfolgte stets durch Alkalilauge (normale, halbnormale oder zehntelnormale). Handelte es sich um eine ätherische Schicht, so wurde der Äther nach Zusatz von Wasser, welches die Säure aufnehmen konnte, durch Verdampfen entfernt. Aber auch im Falle der wässrigen Schicht wurde der Äther nach Möglich-

keit vertrieben, weil seine Gegenwart die Löslichkeit für Kohlensäure erhöht, also eine Fehlerquelle bildet, die besonders bei kleinen Konzentrationen empfindlich ist.

Die Sättigungswerte sind:

1000 ccm ätherisches Wasser lösen bei 25° 85 g oder 0,72 Mole Säure.

„ „ wässriger Äther „ „ 25° 12,4 g „ 0,105 „ „

Zur Berechnung des Verteilungskoeffizienten der undissoziierten Säure bedürfen wir der Kenntnis der in der wässrigen Lösung enthaltenen Zahl undissoziierter Mole. Sei y diese Zahl, A die Gesamtzahl derselben, also $A-y$ die Zahl der Wasserstoff-, sowie der Bernsteinsäureionen, so gibt das Verdünnungsgesetz die folgende Beziehung:

$$\frac{(A-y)^2}{y} = k$$

Um y zu finden, ist die Gleichung in bezug auf y aufzulösen:

$$y = A + \frac{k}{2} \pm \sqrt{Ak + \frac{k^2}{4}}$$

In unserem Falle ist $k = 0,0066^1)$, $A = 0,72$. Also

$$y = 0,72 + 0,0033 \pm \sqrt{0,72 \times 0,0066 + 0,000019}$$

Da der erhaltene Wert kleiner sein muß als A , so ist nur die negative Wurzel zu berücksichtigen.

Dann wird $y = 0,6543$.

In 1000 ccm der gesättigten Lösung sind also 0,654 undissoziierte Mole enthalten. In demselben Volum der ätherischen Schicht 0,105 Mole. Der Verteilungskoeffizient beträgt hiernach **6,2 (6,23)**.

B. Versuche mit ungesättigten Lösungen.

In den ungesättigten Lösungen stellt sich das Gleichgewicht erfahrungsgemäß so schnell ein, daß mehrmaliges Schütteln genügt. Die gesuchten Konzentrationen wurden wieder durch Titration beider Schichten ermittelt. — Die nachfolgenden Versuche 5 und 6 mit sehr geringen Konzentrationen zeigen keine besonders gute Übereinstimmung mit den anderen Werten. Es muß dies so gedeutet werden, daß die Methode bei dieser Verdünnung den erforderlichen Grad von Genauigkeit einbüßt, sodaß die Berücksichtigung selbst der ersten Dezimale kaum gerechtfertigt ist.

Der Versuch Nr. 4 ist unter Schwefelsäurezusatz gemacht. Die Bestimmung wird dadurch sehr erleichtert, daß, wie bestätigt werden konnte, die Schwefelsäure nicht in nachweisbarer Menge in den Äther geht. Als Lösungsmittel der „wässrigen Schicht“ diente normale Schwefelsäure. Da aber während des Ausschüttelns mit Äther die Konzentration der Schwefelsäure voraussichtlich geändert wird, (hauptsächlich durch gegenseitige Löslichkeit von Wasser und Äther), so wurde in einem blinden Versuch, der sich von dem Hauptversuch nur durch die Abwesenheit der Bernsteinsäure unterschied, die Konzentration der Schwefelsäure nach dem Schütteln ermittelt. Die Subtraktion dieses Wertes von der Azidität der wässrigen Schicht in dem Hauptversuch ergab die Konzentration der Bernsteinsäure.

¹⁾ Ostwald, Z. physik. Chem. **3**, 170 (1889).

0,3 g Bernsteinsäure werden in 70 ccm n-H₂SO₄ gelöst. 35 ccm der Lösung kommen mit 75 ccm Äther in die Schüttelflasche. Nach dem Schütteln brauchen 5,014 ccm der ätherischen Schicht 1,06 ccm etwa $\frac{1}{10}$ n-NaOH oder **0,114 ccm n-NaOH** (entsprechend $0,0114 \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$).

5,014 ccm der wässrigen Schicht brauchen 11,68 ccm etwa $\frac{1}{2}$ n-NaOH. In dem blinden Versuch werden 35 ccm n-H₂SO₄ mit 75 ccm Äther geschüttelt. Nach dem Schütteln brauchen 5,014 ccm 10,19 ccm etwa $\frac{1}{2}$ n-NaOH. In dem Hauptversuch kam demnach auf die Bernsteinsäure 1,49 ccm etwa $\frac{1}{2}$ n-NaOH oder 1,434 ccm $\frac{1}{2}$ n-NaOH = **0,717 ccm n-NaOH** (entsprechend $0,0715 \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$). Bei Annahme einer zu vernachlässigenden Dissoziation der Bernsteinsäure ergibt sich das Teilungsverhältnis zu **6,3**. In Wahrheit dürfte etwa 1% dissoziiert sein.

Die folgende Tabelle enthält die Versuchsergebnisse:

Nr.	Gesamtkonzentration im Wasser	Konzentration der undissoziierten Bernsteinsäure im Wasser	Konzentration im Äther	Teilungsverhältnis	Bemerkungen
1	0,720	0,654	0,105	6,2	Sättigung
2	0,343	0,299	0,047	6,4	—
3	0,191	0,159	0,026	6,2	—
4	0,072	0,071	0,011	6,4	Schwefelsäurezusatz
5	0,083	0,062	0,011	5,6	—
6	0,050	0,035	0,006	5,9	—

Bereits im Jahre 1872 bestimmten Berthelot und Jungfleisch¹⁾ den Teilungskoeffizienten der Bernsteinsäure zwischen Wasser und Äther bei 0° und 15°. Diese Forscher fanden für das unkorrigierte Teilungsverhältnis bei 15° folgende Werte (die Zahlen der zweiten und letzten Kolumne sind von uns berechnet und hinzugefügt worden):

Gesamtkonzentration in der wässrigen Schicht in Molen pro l	Konzentration der undissoziierten Säure im Wasser	Konzentration im Äther	Teilungsverhältnis der Gesamtmenge	Teilungsverhältnis der undissoziierten Säure
$\frac{48,6}{118} = 0,417$	0,363	0,0621	6,6	5,9
$\frac{23,6}{118} = 0,200$	0,164	0,0351	5,7	4,7
$\frac{7}{118} = 0,059$	0,042	0,011	5,2	3,8

¹⁾ Ann. chim. phys. [4] **26**, S. 396.

Mit unseren Zahlen sind die Zahlen dieser Tabelle deshalb nicht vergleichbar, weil die Temperatur eine andere ist. Auffällig ist, daß der unkorrigierte und umso mehr der korrigierte Teilungskoeffizient einen sehr starken Gang aufweist. Derselbe übersteigt hier im Gegensatz zu unseren Versuchen die Versuchsfehler bedeutend.

Bemerkt sei, das Berthelot und Jungfleisch die Unabhängigkeit des Koeffizienten von der Verdünnung gar nicht zu erweisen bestrebt waren, sondern nur zeigten, daß das Konzentrationsverhältnis vom Volumen der beiden Phasen unabhängig ist, ein Gesetz, welches als eine Forderung der Energetik betrachtet werden muß.

Zusammenfassung.

1. Die Bernsteinsäure des Fleischextraktes kommt in demselben fertig gebildet vor, sie entsteht nicht erst nach Einwirkung von Säure auf das Extrakt.

2. Die Annahme wird begründet, daß als Quelle der Bernsteinsäure des Fleischextraktes die Asparaginsäure in Betracht kommt. Als sicheres Kennzeichen der Fäulnis kann das Vorkommen der Bernsteinsäure im Fleischextrakte nicht angesehen werden.

3. Im Autoklaven entstehen kleine Mengen von Bernsteinsäure aus Asparaginsäure und Traubenzucker. Die Vermutung liegt nahe, in dieser Reaktion den Ursprung der Bernsteinsäure des Fleischextraktes zu suchen.

4. Nach der Reaktion von Jaffé kann man Kreatin und Kreatinin in Fleischextrakten und Peptonen quantitativ bestimmen.

5. In Fleischextrakten und Peptonen sind — entgegen der bisherigen Annahme — Aminosäuren enthalten, welche nach dem Verfahren von Emil Fischer nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden können.

6. Bestimmungen von Kreatin, Kreatinin und Aminosäuren in einer Anzahl von Handelspräparaten lassen interessante und charakteristische Unterschiede zutage treten, welche auf Ursprung und Herstellungsweise dieser Waren Schlüsse zu ziehen gestatten.

7. Die Stickstoffverteilung in Liebigs Fleischextrakt kann mit den im Text gegebenen Analysenzahlen auf die Stickstoffverteilung im wässrigen Auszug von Fleisch in stimmender Weise zurückgeführt werden.

8. Das Verteilungsverhältnis von Bernsteinsäure zwischen Wasser und Äther wurde bei 25° im Mittel zu 6,3 bestimmt.

Vorstehende Arbeit wurde in der Zeit vom September 1905 bis zum März 1906 im Chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ausgeführt. Herrn Geheimen Regierungsrat Dr. W. Kerp, auf dessen Anregung dieselbe erfolgte, sind wir für sein Interesse und seine wertvollen Ratschläge zu lebhaftem Dank verpflichtet.

Über ein Verfahren zur Trennung von Stärke und Glykogen.

Von

Privatdozent **Dr. Emil Baur**,
wissenschaftlichem Hilfsarbeiter
und **Dr. Eduard Polenske**,
technischem Hilfsarbeiter
im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Bei der Untersuchung von Wurst auf etwaige Verfälschung mit Stärkemehl oder Mehl wird man in die Notwendigkeit versetzt, Stärke von Glykogen quantitativ zu trennen. Hierfür liegt ein zuverlässiges Verfahren zurzeit nicht vor¹⁾. Wir versuchten nun, mit Hilfe von gesättigter Ammoniumsulfatlösung ein solches zu schaffen.

Bei der üblichen Aufschließung von Wurst mit 8% iger alkoholischer Kalilauge (nach Mayrhofer-Polenske²⁾) oder mit 60% iger Kalilauge und Fällung der erhaltenen Lösung mit Alkohol (nach Pflüger³⁾) bekommt man zunächst Stärke⁴⁾ und Glykogen zusammen. Die Stärke ist dabei in einem Zustand der Wasserlöslichkeit, den sie durch Behandlung mit Kalilauge annimmt. Man mußte also bei der Prüfung der Wirkung von Ammonsulfat auf das Gemenge solche Stärke verwenden, welche eine Vorbehandlung mit Kali erfahren hatte.

Diese erhält man auf folgende Weise: 2 g Kartoffelstärke werden mit 100 ccm Wasser angerührt, dazu 100 ccm 60% iger Kalilauge gegeben, auf dem Wasserbade eine Stunde lang erwärmt und darauf mit Alkohol gefällt. Dabei fällt die Stärke schmierig-flockig aus und hängt sich an die Gefäßwandungen. Man filtriert den Niederschlag ab und wäscht ihn mit Alkohol. Dabei wird er pulverig.

Dieses Präparat ist in Wasser löslich. Mit so bereiteten, wässerigen, mit Essigsäure neutralisierten Lösungen wurden die nachfolgenden Versuche gemacht:

Die Lösung gibt mit Jod rein blaue Färbung. Bei der Kalibehandlung geht also eine Veränderung (Dextrinbildung) der angewandten reinen Stärke in irgend erheblichem Maße nicht vor sich. Versetzt man die Stärkelösung mit gesättigtem Ammoniumsulfat, so tritt bei Zusatz eines etwa gleichen Volums Fällung ein; bei Zusatz von etwa zwei Volumen gesättigter Ammoniumsulfatlösung ist die Fällung vollständig. Doch muß man die mit Ammoniumsulfat versetzte Lösung einige Zeit ($\frac{1}{2}$ Stunde) stehen lassen, bevor man filtriert. Wenn man dann das Filtrat durch einen Tropfen Jodlösung prüft, so findet man es stärkefrei. Aber man erhält im

¹⁾ Vergl. R. Hefelmann, Ztschr. Unters. Nahr- u. Genußmittel **5**, 580 (1902); auch Zeitschr. f. öffentl. Chem. **7**, 43 (1901).

²⁾ Vergl. Anhang.

³⁾ Pflügers Archiv f. Physiol. **93**, 163 (1903).

⁴⁾ Auf gewisse eigentümliche Veränderungen, welche Stärke in Fleischwaren bei dieser Behandlung erleiden kann, wird am Schluß eingegangen werden.

Filtrat stets eine geringe rote Jodreaktion. Diese rührt davon her, daß bei der Behandlung mit Kalilauge eine geringe Dextrinbildung eintritt. Bei längerem Aufbewahren der wässerigen Stärkelösung scheint die Dextrinmenge ein wenig zuzunehmen. Quantitativ ist die Dextrinmenge gering. Dies kann man durch den sehr geringen Jodverbrauch des Filtrates vom Ammoniumsulfatniederschlag erweisen. Dieser geringe Verbrauch wird daran deutlich, daß die auf Zusatz von einem Tropfen verdünnter Jodlösung rötlich sich färbende Flüssigkeit schon bei einem zweiten oder dritten Tropfen durch frei bleibendes Jod mißfarbig wird.

Die Stärkelösung, in der durch Ammoniumsulfat der Niederschlag erzeugt wurde, läßt sich mit Wasser auf das doppelte Volum und darüber verdünnen, ohne daß eine Rückauflösung des Niederschlages beginnt. Wäscht man den Stärkeniederschlag mit Wasser auf dem Filter aus, so geht er nur sehr langsam in Lösung. Dies läßt sich mit dem Auge leicht verfolgen, wenn man den Niederschlag mit Jodlösung blau färbt oder das Filtrat mit Jodlösung prüft.

Glykogenlösung verhält sich gegen Ammoniumsulfat anders. Es tritt zwar schließlich auch Fällung ein, aber erst wenn mehr als zwei Volume Ammoniumsulfat zugesetzt werden. Dieser Niederschlag ist gegen Wasserzusatz sehr empfindlich, schon eine kleine Verdünnung löst ihn sofort wieder auf.

Fällt man daher Glykogen und Stärke durch einen großen Ammoniumsulfatüberschuß zusammen aus und wäscht dann den Niederschlag mit einer halbgesättigten Lösung von Ammoniumsulfat, so geht Glykogen in Lösung, während Stärke zurückbleibt. Dies läßt sich wieder wie oben bequem verfolgen, wenn man den Niederschlag mit Jod färbt oder im Filtrat damit prüft.

Um im Filtrat eine kleine Menge etwa gelöster Stärke neben viel Glykogen zu erkennen, fügt man nur einen Tropfen einer verdünnter Jodlösung zum Filtrat hinzu. Bei Anwesenheit von Stärke färbt sich dann die Lösung rein blau. Fügt man mehr Jod hinzu, so wird sie violett, indem sich die rote Glykogenfärbung zur blauen Stärkefärbung hinzuaddiert. Es beruht dies darauf, daß die Verwandtschaft des Jods zur Stärke eine viel größere ist, als zum Glykogen. Haben daher beide um eine ungenügende Jodmenge zu konkurrieren, so reißt die Stärke praktisch das gesamte Jod an sich. (Das Maß dieser Verwandtschaft ist hier das Teilungsverhältnis von Jod zwischen Wasser und Stärke einerseits und Wasser und Glykogen andererseits. Da es sich um kolloidale Lösungen handelt, bestehen tatsächlich drei Phasen nebeneinander, in denen je Wasser, Glykogen und Stärke überwiegt.)

Auf das vorstehend beschriebene Verhalten läßt sich nun ein Verfahren gründen, welches zur quantitativen Trennung von Stärke und Glykogen dienen kann.

Anfangs arbeiteten wir so, daß wir den durch gesättigte Ammoniumsulfatlösung bewirkten und von dem in Lösung verbliebenen Glykogen durch Filtrieren getrennten Stärkeniederschlag mit halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung auswuschen und darauf zur Befreiung von Ammoniumsulfat umfällten. Bei dieser Arbeitsweise erhält man von dem salzreichen Filtrat, welches das Glykogen enthält und vor der Fällung mit Alkohol verdünnt werden muß, so große Mengen, daß man bei der Fällung das Glykogen in Form einer feinen Milch erhält, die sich nicht absetzt. Auch die

Bestimmung des Glykogens durch Inversion wird durch die Menge des Ammoniumsalzes vereitelt. Es war daher auf die direkte Bestimmung des Glykogens zu verzichten und, wie folgt, zu verfahren:

Man löst eine gewogene Substanzmenge (0,3—0,5 g) in Wasser (passend nicht mehr als etwa 30—40 ccm), versetzt mit der doppelten Menge kalt gesättigter Ammoniumsulfatlösung, läßt etwa eine halbe Stunde stehen, filtriert den Niederschlag und wäscht ihn dreimal mit halb gesättigter Ammoniumsulfatlösung.

Das Filtrat prüft man, bevor die Waschwässer dazu kommen, mit einem Tropfen verdünnter Jod-Jodkaliumlösung. Die Färbung darf nicht blau ausfallen, sondern muß in der Aufsicht rotviolett, in der Durchsicht bordeauxrot sein. Entsteht blaue Jodreaktion, so setzt man noch etwas gesättigte Ammoniumsulfatlösung zu dem Filtrat und läßt eine Zeitlang stehen. Den entstandenen Niederschlag vereinigt man mit dem schon auf dem Filter befindlichen.

Der, wie vorgeschrieben, mit halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschene Stärkeniederschlag wird auf dem Filter mit Natronlauge übergossen und das opaleszierende Filtrat in einem Becherglase aufgefangen. Man wäscht das Filter erst mit Natronlauge, sodann einige Male mit Wasser. Darauf wird das Filtrat mit Essigsäure neutralisiert und mit Alkohol gefällt. Der dabei entstehende, flockige, rein weiße Niederschlag wird auf gewogenem Filter gesammelt, mit 50% igem Alkohol und schließlich mit reinem Alkohol gewaschen, bei 100 ° getrocknet und gewogen.

Will man im Filtrat von der Stärke das Glykogen bestimmen, so verdünnt man dasselbe mit seinem drei- bis vierfachen Volum Wasser und fällt darauf mit einem gleichen Volum Alkohol. Den Niederschlag läßt man zwölf Stunden absetzen, sodann filtriert man ihn ab. Da er aus einer stark salzhaltigen Lösung abgeschieden wurde, so löst man den mit 50% igem Alkohol gewaschenen Niederschlag in wenig Wasser. Die erhaltene stark opaleszierende Glykogenlösung wird wieder mit Alkohol gefällt, durch ein gewogenes Filter filtriert, mit Alkohol gewaschen, der rein weiße Niederschlag bei 100 ° getrocknet und gewogen. Nach diesem Verfahren sind die folgenden Analysen ausgeführt worden:

	Angewandt	Gefunden
1	15 ccm Stärkelösung, enthaltend 0,114 g 5 ccm Glykogenlösung, enthaltend 0,086 g	Stärke: 0,100 g —
2	25 ccm Stärkelösung, enthaltend 0,190 g 5 ccm Glykogenlösung, enthaltend 0,09 g	Stärke: 0,181 g —
3	10 ccm Stärkelösung, enthaltend 0,076 g 15 ccm Glykogenlösung, enthaltend 0,135 g	Stärke: 0,080 g —
4	5 ccm Stärkelösung, enthaltend 0,08 g 20 ccm Glykogenlösung, enthaltend 0,340 g	Stärke: 0,088 g Glykogen: 0,295 g ¹⁾
5	15 ccm Stärkelösung, enthaltend 0,240 g 20 ccm Glykogenlösung, enthaltend 0,340 g	Stärke: 0,251 g Glykogen: 0,290 g ¹⁾

¹⁾ Der Glykogenverlust rührt davon her, daß das Filtrat vom Glykogen-niederschlag mit geringer Trübung durch das Filter ging.

In dieser Gestalt haftet dem Verfahren insofern noch eine Unvollkommenheit an, als das Glykogen aus der Differenz bestimmt wird, und es ist etwas umständlich, weil die Stärke zweimal gefällt wird. Außerdem bringt die Verwendung „kalt gesättigter“ Ammoniumsulfatlösung eine gewisse Unsicherheit in der Handhabung mit sich. Dies alles läßt sich jedoch durch den folgenden Arbeitsweg verbessern:

Man löst einige Zehntel Gramme der Substanz (des Gemenges von Stärke und Glykogen) in 30 ccm Wasser und setzt 11 g festes, fein gepulvertes Ammoniumsulfat zu. Hierdurch wird nur Stärke abgeschieden, Glykogen bleibt in Lösung. Die Stärke wird abfiltriert und mit einer Lösung, die 11 g Ammoniumsulfat in 30 ccm Wasser enthält, gewaschen. Das Filtrat, 60 ccm, wird mit der fünffachen Menge Wasser verdünnt und hierauf mit rund 500 ccm Alkohol das Glykogen gefällt. Dabei gewinnt man das Glykogen in filtrierbarer Form. Aus dem Stärkeniederschlag wird das anhaftende Ammoniumsulfat mit 50% igem Alkohol ausgewaschen, was leicht und vollständig gelingt. Beide Niederschläge werden auf ihren Filtern im Wasserdampfkasten getrocknet und gewogen. Nach diesem Verfahren bekamen wir folgende Analysenergebnisse:

	Angewandt	Gefunden
1.	0,30 g Glykogen 0,05 g wasserlösliche Stärke	Glykogen: nicht gewogen Stärke 0,045 g
2.	0,30 g Glykogen 0,05 g wasserlösliche Stärke	Glykogen: 0,281 g Stärke: 0,047

Wir möchten nun noch auf eine eigentümliche Beobachtung aufmerksam machen, die uns bei der Prüfung der Stärkebestimmung entgegen getreten ist und die übliche Aufschließung von Fleisch- und Wurstwaren mit starken Alkalien betrifft. Das hier beschriebene Verfahren gestattet zwar den Stärke-Glykogen-Niederschlag, den man durch Aufschließung von Fleischwaren durch Alkalien übrig behält, auf Stärke und Glykogen zu analysieren. Allein es scheint, daß die so bestimmte Stärkemenge geringer ist, als diejenige, welche tatsächlich in den zur Untersuchung gekommenen Fleisch- oder Wurstwaren enthalten ist. Wir versetzten je 50 g gehacktes Pferdefleisch a) mit 0,05 g (= 0,1 %) b) mit 0,1 g (= 0,2 %) Kartoffelstärke und verarbeiteten die Gemenge sogleich nach dem Verfahren von Mayrhofer-Polenske. Wir fanden im ersten Fall die Stärke vollständig verändert und nicht mehr nachweisbar, im zweiten Fall wurden aus dem Glykogenniederschlag 0,047 g wiedergewonnen. Es werden also offenbar kleinere Stärkemengen beim Aufschließen vernichtet. Daß hierbei ein enzymatischer Vorgang im Spiele sei, etwa derselben Art, wie beim allmählichen Verschwinden des Glykogens im Fleische, darf man kaum annehmen, da in vorstehenden Versuchen die Zeit, während welcher Stärke mit unverändertem Fleisch in Berührung war, ganz kurz war. Diese Beobachtung, die zu besonderer Untersuchung auffordert, da sie eine bisher anscheinend unbeachtet gebliebene Fehlerquelle des von Mayrhofer¹⁾ empfohlenen Verfahrens zur quantitativen

¹⁾ Forschungsber. über Lebensmittel, **3**, 141 (1896), Ztschr. f. Nahr.- und Genußmittel **4**, 1102 (1901).

Stärkebestimmung in Wurst aufzudecken verspricht, ist um so unerwarteter, als — wie eingangs erwähnt — reine Kartoffelstärke, wenn sie mit Kalilauge in gleicher Weise behandelt wird, nur in kaum merklichem Betrage in Dextrin umgewandelt wird.

Vorbehaltlich dieses vermutlichen methodischen Fehlers und nur beispielsweise wollen wir die Gehalte von Stärke und Glykogen mitteilen, die wir in zwei Würsten, nämlich a) in Leberwurst („erste Qualität“, „ungewürzt“) und b) in Mettwurst, angetroffen haben. Je 100 g der Würste wurden nach der Methode Pflüger's abgeschlossen und dabei erhalten aus a) 0,094 g und aus b) 0,046 g Stärke plus Glykogen. Die Analyse dieser Gemenge nach dem vorbeschriebenen Ammoniumsulfat-Verfahren ergab aus a) 0,073 g, aus b) 0,039 g Stärke. Es enthielt also b) keine merkliche Menge Glykogen; auch gab das Filtrat vom Ammoniumsulfat-Niederschlag keine Rotfärbung mit Jod. Für a) berechnet sich aus der Differenz 0,021 g Glykogen. Hier war die Jodreaktion im Filtrat vom Ammoniumsulfat-Niederschlag positiv.

Anhang.

Das von Polenske abgeänderte Mayrhofersche¹⁾ Verfahren zur Glykogen-Bestimmung.

50 g von anhaftendem Fett möglichst befreites, zerkhacktes Fleisch werden in einem Becherglase von etwa 400 ccm Inhalt mit 150 ccm alkoholischer Kalilauge übergossen. Letztere wird durch Lösen von 80 g Kaliumhydroxyd in einem Liter Alkohol von 90 Volumprozenten hergestellt. Das mit einem Uhrglase bedeckte Becherglas wird auf einem Wasserbade unter zeitweiligem Umrühren bis zur Lösung der Fleischfaser erwärmt, wozu etwa eine halbe Stunde Zeit erforderlich ist. Das Glykogen wird hierbei abgeschieden. Die heiße Flüssigkeit wird mit 100 ccm 50% igem Alkohol versetzt und nach dem Erkalten von dem Rohglykogen zweckmäßig mit Hilfe einer Witt'schen Filterscheibe abfiltriert. Der Rückstand wird zunächst mit etwa 30 ccm auf 50° erwärmter alkoholischer Kalilauge, alsdann mit 90% igem kaltem Alkohol so lange gewaschen, bis das Filtrat auf Zusatz einiger Tropfen verdünnter Salzsäure nicht mehr getrübt wird. Nunmehr bringt man den ungelösten Rückstand in einen 110 ccm Kolben und erwärmt nach Zusatz von 50 ccm wässriger Normalkalilauge eine halbe Stunde lang auf dem Wasserbade, um das Glykogen zu lösen. Nach dem Erkalten wird die Lösung mit konzentrierter Essigsäure angesäuert, mit Wasser auf das Volumen von 110 ccm gebracht und filtriert. Zu 100 ccm des Filtrats fügt man 150 ccm absoluten Alkohol. Nach 12 Stunden langem Stehen wird das abgeschiedene Glykogen in einem gewogenen Gooch'schen Platintiegel oder auf einem gewogenen Filter gesammelt und mit 70% igem Alkohol so lange gewaschen, bis das Filtrat einen Rückstand nicht mehr hinterläßt. Das hierauf mit absolutem Alkohol und schließlich mit Äther gewaschene Glykogen wird bei zunächst 40° und schließlich bei 100° bis zum gleichbleibenden Gewicht getrocknet. In einem Teil des Glykogens ist der Aschengehalt zu bestimmen.

Den Prozentgehalt des Fleisches an Glykogen erhält man durch Multiplikation der gefundenen Menge Glykogen mit 2,2.

¹⁾ Forschungsber. über Lebensmittel **3**, 141; 429 (1896).

Über den Wassergehalt im Schweineschmalz.

Von

Dr. **Ed. Polenske,**

technischem Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

I. Allgemeines.

Das als Speisefett feilgehaltene „Schweineschmalz“ enthält nicht selten eine Beimischung von Wasser.

Wenn man von vereinzelt Fällen, in denen der Wassergehalt im Schweineschmalz die Höhe von ungefähr 2 % erreichte, absieht, beträgt er im allgemeinen weniger als 1 %.

Im Hinblick darauf, daß wasserfreies Schweineschmalz haltbarer ist als wasserhaltiges, sollte man annehmen, daß im Großbetriebe schon im eigenen Interesse darauf Wert gelegt wird, besonders das für die Ausfuhr bestimmte Schmalz möglichst wasserfrei herzustellen. Unter dieser Voraussetzung dürfte daher das Vorhandensein größerer Wassermengen im Schmalze, die sich beim Abschmelzen sofort zu erkennen geben, mehr auf Fahrlässigkeit bei der Herstellung des Schmalzes, als auf Gewinnsucht zurückzuführen sein. Allerdings bleibt die Möglichkeit bestehen, daß in vereinzelt Fällen ein Wasserzusatz zum Schmalz zu dem Zwecke stattgefunden haben kann, einer mißfarbigen Ware durch Emulgierung mit Wasser eine weißere Farbe zu verleihen.

Das fabrikmäßig aus dem stets wasserhaltigen Rohmaterial entweder durch Abschmelzen über freiem Feuer oder mittels Wasserdampf abgeschiedene Schweineschmalz stellt bei seiner Schmelztemperatur nach vollständiger Abscheidung des darin verteilten Wassers eine klare durchsichtige Flüssigkeit dar, die noch jene geringe Menge Wasser enthält, die von dem Schmalze gelöst wird. Auch dieses gelöste Wasser läßt sich durch weiteres Erhitzen vollständig aus dem Fette entfernen; aber mit Rücksicht darauf, daß bei längerem Erhitzen des Schmalzes unter Aufnahme von Sauerstoff Oxydationsprodukte entstehen, welche die Güte der Ware, besonders bezüglich ihres Geruchs und Geschmacks, nachteilig beeinflussen, sieht man hiervon ab und hält in der Praxis das Schmalz für hinreichend wasserfrei, wenn es bei seiner Schmelztemperatur durchsichtig klar ist und keine sichtbaren Wassertröpfchen enthält.

In diesem Sinne sind auch wohl die Bestimmungen des Arzneibuchs für das Deutsche Reich (Vierte Ausgabe) aufzufassen, nach denen das zu Arzneizwecken zu

verwendende Schweineschmalz ein vom Wasser befreites Fett sein soll, welches bei Temperaturen von 36 bis 42 °¹⁾ zu einer klaren Flüssigkeit schmilzt.

Da es sich jedoch in vorliegendem Falle um das zu Speisezwecken dienende Schweineschmalz handelt, so kommt bei diesem Schmalze als Anhaltspunkt für die Beurteilung seines Wassergehaltes zunächst die Bestimmung der „Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln usw.“ Heft I, S. 106, Abs. 5 in Betracht. Nach dieser Bestimmung sind „Spuren von Wasser“ im Schweineschmalz nicht zu beanstanden. Da aber diese Spuren von Wasser in den Vereinbarungen zahlenmäßig nicht näher definiert sind, so bringt die Bestimmung nicht klar zum Ausdruck, ob unter diesen Begriff nur das vom Fette gelöste Wasser fällt, oder ob außer diesem auch noch weitere Spuren mechanisch beigemischten Wassers zulässig sind. In letzterem Falle würde eine geringe Trübung des geschmolzenen Schweineschmalzes, sofern sie vom Wasser herrührt, nicht zu beanstanden sein ²⁾.

Auf Grund der Anweisung zur chemischen Untersuchung von Fetten und Käsen ist gemäß Absatz III, B 1 eine Bestimmung des Wassergehalts im Schweineschmalz auszuführen, wenn sich dessen Gegenwart bei der Schmelzprobe zu erkennen gibt. Ob der in einem Schmalze gefundene Wassergehalt Grund zu einer Beanstandung gibt oder nicht, bleibt dem Ermessen des Chemikers überlassen. Wie weit aber die Ansichten der Sachverständigen über den zulässigen Wassergehalt im Schweineschmalz voneinander abweichen, ergibt sich aus den Antworten einer veranstalteten Umfrage, denen zufolge ein Höchstgehalt von einerseits 0,2 % und andererseits 0,5 % Wasser als zulässig zu erachten wäre.

Aus diesen Antworten geht ferner hervor, daß man in Fachkreisen unter „Spuren von Wasser“ nicht nur das von dem Fette bei seiner Schmelztemperatur gelöste Wasser, sondern eine etwas größere Menge desselben verstehen will; denn bei der mittleren Schmelztemperatur des Schmalzes, die ungefähr bei 42 ° liegt, werden nur etwa 0,15 % Wasser vom Schmalze gelöst. Gegen diese in der Praxis bestehende Auffassung sind keine Bedenken zu erheben, sofern eine im übrigen angemessene Grenzzahl für den Wassergehalt im Schweineschmalz angenommen wird.

Zur Feststellung einer solchen Grenzzahl ist aber eine genaue Wasserbestimmung im Schweineschmalz notwendig. Nach den amtlichen Vorschriften ist die Wasserbestimmung im Schweineschmalz wie auch in der Butter nach der in der Anweisung zur chemischen Untersuchung von Fetten und Käsen unter I B, 1 gegebenen Vorschrift auszuführen. In dieser Vorschrift ist die während des Trocknens durch Oxydation des Fettes stattfindende Gewichtsvermehrung insofern berücksichtigt worden, als die Zeitdauer des Trocknens angegeben ist. Diese durch Oxydation des Fettes ent-

¹⁾ Aus Schweineliesien gewonnenes Schweineschmalz hat oftmals einen höheren Schmelzpunkt, als 42 °.

²⁾ Zuweilen werden die Trübungen auch durch nicht vollständig aus dem Fette entfernte Rückstände von Chemikalien verursacht, die zur Entsäuerung oder Entfärbung minderwertigen Schmalzes verwendet worden sind. Diese Trübungen lassen sich durch Erwärmen des Schmalzes nicht beseitigen.

stehende Gewichtsvermehrung ist zwar gering und für die Wasserbestimmung in Fetten mit einem höheren Gehalt an Wasser ziemlich belanglos. Bei Fetten dagegen, die nur 0,2 bis 0,3 % Wasser enthalten, macht sie sich meistens in einem solchen Maße geltend, daß nicht nur der durch Verdunsten des Wassers entstehende Gewichtsverlust ausgeglichen, sondern zuweilen schon nach halbstündigem Trocknen eine Gewichtszunahme des ursprünglichen Fettgewichts herbeigeführt¹⁾ wird.

In Fetten mit geringem Wassergehalte kann daher eine genaue Wasserbestimmung durch Trocknen nur bei Abschluß der Luft ausgeführt werden. Hierbei wird in der Regel ein getrockneter Wasserstoff- oder Kohlensäurestrom durch das erhitzte Fett geleitet.

Da aber eine derartige Wasserbestimmung für den praktischen Gebrauch viel zu umständlich und zeitraubend ist, so soll nachstehend der Versuch gemacht werden, auf Grund einer einfachen, zuverlässigen und schnell auszuführenden Wasserbestimmung im Schweineschmalz sowie unter Berücksichtigung des Wassergehalts besserer Handelsmarken zu einer Erörterung über den höchstzulässigen Wassergehalt im Schweineschmalz anzuregen.

II. Verfahren zur Bestimmung geringer Mengen Wasser im Schweineschmalz.

Bekanntlich steigt mit der Temperatur des Schmalzes auch sein Lösungsvermögen für Wasser.

Auf dieses Verhalten stützt sich das folgende Verfahren der Wasserbestimmung; es beruht darauf, daß geschmolzenes Schweineschmalz, welches bei höheren, jedoch unter 100° liegenden Temperaturen mit Wasser gesättigt worden ist, sich sofort deutlich trübt, sobald die Temperatur um etwa 2° unter die Sättigungstemperatur herabsinkt.

Nachdem festgestellt worden war, daß zur Sättigung von frischem wasserfreiem Schweineschmalz amerikanischer Herkunft bei einer bestimmten, über seinem Schmelzpunkt liegenden Temperatur auch stets eine annähernd gleiche Menge Wasser erforderlich war, wurde zunächst das Gewicht derjenigen Wassermengen ermittelt, die sich in dem erhitzten Schmalze bei den in Aussicht genommenen Temperaturen lösten.

Das hierzu erforderliche wasserfreie Schweineschmalz wurde durch 6 Stunden langes Einleiten eines sorgfältig getrockneten Kohlensäurestromes in klar filtrierte im Glycerin-Wassertrockenschrank auf 100 bis 101°²⁾ erhitztes Schweineschmalz erhalten. Das Schmalz befand sich hierbei in einer dünnwandigen Woulffschen Flasche.

Die folgenden Zahlen zeigen, daß nach diesem Verfahren eine Oxydation des Fettes nicht stattgefunden hatte und seine völlige Trocknung in einem Zeitraum von 4 Stunden erreicht worden war. Der Gewichtsverlust von 130 g filtriertem Schweineschmalz betrug:

¹⁾ Andere, bei 100° flüchtige Stoffe als Wasser können im frischen Schweineschmalz wohl nur in nicht wägbarer Menge vorhanden sein.

²⁾ Anstatt mit Wasser wurde der Trockenschrank mit 20 % Glycerin haltigem Wasser beschickt, wodurch im Trockenraume eine Temperatur von 100 bis 101° erzielt wurde.

	Versuch I.	II.
Nach 4 Stunden	0,075 g	0,084 g
„ 6 „	0,076 „	0,083 „
„ 8 „	0,074 „	0,086 „

Um diesen Versuch zu kontrollieren, wurden in dem getrockneten Schmalze 0,3 % Wasser gelöst und je 100 g dieses wasserhaltigen Fettes in gleicher Weise getrocknet. Das innerhalb 5 Stunden verflüchtigte in einem Chlorkalciumrohr aufgefangene Wasser wog:

bei Versuch I	0,288 g
„ „ II	0,296 „

Diesen Ergebnissen zufolge war das nach diesem Verfahren getrocknete Schmalz als wasserfrei zu betrachten.

Um die Löslichkeit des Wassers in wasserfreiem Schmalz bei verschiedenen Temperaturen zahlenmäßig festzustellen, wurde das folgende Verfahren angewandt.

In einem starkwandigen Reagiergläschen von 9 cm Länge und 18 cm Inhalt wurden eine bestimmte, durch Ausprobieren gefundene Menge Wasser und darauf 10 g des abgekühlten, aber noch flüssigen wasserfreien Schmalzes abgewogen. Das Gläschen wurde sofort mit einem durchlochtem Kautschukstopfen, in dessen Öffnung ein Anschützsches Thermometer so eingesetzt worden war, daß die Quecksilberkugel ungefähr bis in die Mitte des Fettes eintauchte, luftdicht verschlossen und der Stopfen gegen Lockerung gesichert. Das Fett wurde alsdann unter beständigem kräftigen Schütteln des Gläschens allmählich bis auf 95 ° erhitzt und etwa 2 Minuten lang bei fortgesetztem Schütteln auf dieser Temperatur erhalten; hierdurch wurde alles zugesetzte Wasser gelöst und das Fett vollkommen klar. Hierauf wurde das Gläschen in der Luft so lange mäßig stark weiter geschüttelt, bis sich eine deutlich sichtbare Trübung des Fettes zeigte. Nunmehr wurde das Erhitzen und Abkühlen unter beständigem Schütteln des Gläschens so oft wiederholt, bis alles Wasser wieder gelöst und das Fett bei 95 ° wieder vollkommen klar war und die Trübungstemperatur sich nicht mehr erhöhte, sondern konstant blieb; hierzu war meistens ein drei- bis viermaliges Erhitzen des Fettes erforderlich.

Nachdem durch diese Vorversuche festgestellt worden war, daß sich bei 96 ° ungefähr 0,45 % und bei 42 °, dem mittleren Schmelzpunkte des Schweineschmalzes, etwa 0,15 % Wasser lösten, wurden für die weiteren Versuche Zusätze von Wasser gewählt, die innerhalb dieser Grenzen lagen. Die hierbei erhaltenen Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt.

Auf Grund der in der nachstehenden Tabelle angeführten Trübungstemperaturen ist man in der Lage, nach dem angegebenen Verfahren jeden Wassergehalt im Schweineschmalz, der innerhalb der Grenzen von 0,15 bis 0,45 % liegt, in kurzer Zeit weit genauer festzustellen, als es nach der bisherigen Methode möglich ist.

Als deutliche Trübung ist die zuerst auftretende Opaleszenz anzusehen. In bezug auf die Schärfe des Verfahrens ist zu erwähnen, daß nach zahlreichen und von verschiedener Seite ausgeführten Versuchen die größte Abweichung in den beobachteten Trübungstemperaturen 1,5 ° betrug.

Trübungstemperaturen der Schmalzproben ° C				bei einem Wasser- gehalt von %	Trübungstemperaturen im Mittel °	Temperatur- unterschiede °
I °	II °	III °	IV °			
96	97	95	94	0,45	95,5	} = 4,7 } = 5,8 } = 9,8 } = 10,7 } = 11,5 } = 12,5
91	92	91	89	0,4	90,8	
84	87	85	84	0,35	85,0	
75	77	75	74	0,3	75,2	
65	66	64	63	0,25	64,5	
53	55	53	51	0,2	53,0	
40	42	41	39	0,15	40,5	

Zur Bestimmung des Wassers im Schweineschmalz wird folgendermaßen verfahren:

Das 9 cm lange starkwandige Reagiergläschen von 18 ccm Inhalt wird bis zur Höhe von etwa 5,5 cm mit der halbverflüssigten Schmalzprobe beschickt und in der vorher beschriebenen Weise verschlossen. Alsdann wird das Fett etwas über den höchstbeobachteten Schmelzpunkt des Schweineschmalzes und zwar auf 50—52° erwärmt. Hierbei können sich folgende Erscheinungen zeigen:

1. Das Fett ist bei 50—52° klar¹⁾. Alsdann schüttelt man das Gläschen so lange in der Luft, bis sein Inhalt die Temperatur von 40° angenommen hat. Tritt bei dieser Temperatur keine Trübung ein, so beträgt der Wassergehalt des Schmalzes nicht mehr als 0,15%. Tritt eine Trübung ein, so liegt der Wassergehalt zwischen 0,15—0,2%.

2. Das auf 50—52° erwärmte Fett ist deutlich trübe, die Trübung verschwindet aber beim allmählichen Erhitzen auf 95° vollständig. Dann rührt die Trübung von anwesendem Wasser her, dessen Menge 0,2—0,45% betragen kann. Das Wasser befindet sich im Fette meistens in Form mikroskopischer Tröpfchen, denen aber auch makroskopische Tropfen beigemischt sein können. Die mikroskopischen Tröpfchen entstehen bei der Abkühlung aus dem bei höheren Temperaturen vom Fette gelösten Wasser. Die makroskopischen Wassertropfen rühren von der nicht vollständigen Trennung des Wassers von dem Schmalze bei der Fabrikation her. Tritt beim Erhitzen der trüben Schmalzprobe bis auf 95° eine vollständige Klärung ein, ohne daß es nötig war, das Gefäß zu schütteln, dann bestand die Trübung aus mikroskopischen Wassertröpfchen, die sich auch ohne Schütteln des Gläschens in dem Fett bei erhöhter Temperatur wieder lösen. Makroskopische Wassertropfen können an ihrer Form in dem erhitzten und dadurch von den mikroskopischen Tröpfchen befreiten

¹⁾ Da eine Filtration des Fettes zu vermeiden ist, so muß eine sich zuweilen im geschmolzenen Schmalze zeigende ganz geringfügige Trübung, die gewöhnlich aus fein verteilter Zellschubstanz des Rohmaterials besteht, unterschieden werden von der weit stärkeren Trübung, die im Schmalze durch Ausscheidung mikroskopischer Wassertröpfchen verursacht wird.

Fette erkannt werden. Um sie in Lösung zu bringen, ist das Fett bis auf 95 ° unter fortwährendem Schütteln zu erhitzen.

Zur Bestimmung des Wassergehaltes solcher Schmalzproben ist das Fett daher unter fortwährendem Schütteln zu erwärmen, bis es völlig klar geworden ist, und nun durch fortwährendes Schütteln in der Luft bis zum Eintreten der Trübung abzukühlen. Mit Hilfe der vorstehend gegebenen Tabelle kann dann der Wassergehalt des Schmalzes durch Ablesung der Trübungstemperatur festgestellt werden.

3. Das bei 50—52 ° trüb geschmolzene Fett wird auch beim Erwärmen bis auf 95 ° unter fortwährendem Schütteln nicht klar. Die Trübung rührt dann davon her, daß das Schmalz entweder mehr als 0,45 % Wasser oder neben dem Wasser noch Reste von Stoffen in sehr feiner Verteilung enthält, welche, wie z. B. Kalk, Fullererde usw., bei der Behandlung minderwertigen Schmalzes Anwendung finden, um ihm den Schein einer besseren Beschaffenheit zu verleihen. Die Bestimmung des Wassers muß dann nach dem längere Zeit in Anspruch nehmenden Trockenverfahren bei 100 ° unter Luftabschluß ausgeführt werden. Die Anwesenheit der oben genannten Stoffe wird meist an der Eigenart der Trübung erkannt, die sich von der durch Wasser hervorgerufenen deutlich unterscheidet. Ausschlaggebend ist diese Beobachtung indessen nicht, und die Anwesenheit jener Stoffe muß in bekannter Weise besonders erwiesen werden¹⁾. Bei ihrer Anwesenheit dürfte eine Wasserbestimmung entbehrlich sein.

III. Über eine Grenze für den höchstzulässigen Wassergehalt im Schweineschmalz.

Nach der amtlich vorgeschriebenen Methode zur Bestimmung des Wassers im Schweineschmalz wird infolge der durch Oxydationsprodukte entstehenden Gewichtsvermehrung stets ein geringerer Wassergehalt gefunden, als in dem Schmalze wirklich vorhanden ist. Dieser bekannte Übelstand hat auch wohl dazu beigetragen, von der Aufstellung einer Grenzzahl für den höchstzulässigen Wassergehalt im Schweineschmalz bisher Abstand zu nehmen. Nachdem nunmehr durch das vorliegende Verfahren die Möglichkeit gegeben ist, auch geringe Mengen von Wasser, auf die es hier besonders ankommt, im Schmalze in kurzer Zeit und mit ausreichender Genauigkeit zu bestimmen, würden von diesem Gesichtspunkte aus der Festsetzung einer solchen Grenzzahl Bedenken nicht mehr entgegenstehen.

Will man sich bei dieser Festsetzung auf die „Vereinbarungen“ stützen, dann würde bei einer strengen Beurteilung der dort gegebenen Bestimmung unter dem Begriff „Spuren von Wasser“ nur diejenige Wassermenge zu verstehen sein, die sich im Schmalz bei seiner Schmelztemperatur zu lösen vermag, und die nach den vorstehend mitgeteilten Ergebnissen ungefähr 0,15 % beträgt. Durch eine derartig strenge Anforderung würde aber die fabrikmäßige Herstellung des Schmalzes vor eine oftmals kaum erfüllbare Aufgabe gestellt werden. Nach Lage der Sache und in Übereinstimmung mit den derzeitigen Anschauungen einer größeren Anzahl von Fachgenossen erscheint

¹⁾ Schweineschmalz, welches derartige Stoffe auch nur in geringer Menge enthält, sollte im Hinblick auf den Zweck ihrer Anwendung stets beanstandet werden.

daher eine weniger strenge Auffassung der betreffenden Bestimmung der Vereinbarungen angemessen. Als Grund hierfür kann auch die Tatsache geltend gemacht werden, daß im Großbetriebe das verflüssigte Schmalz, um es vollständig vom Wasser zu befreien, länger bei höheren Temperaturen erhalten werden müßte, als seiner Güte zuträglich sein würde.

Andererseits aber darf bei der Wahl dieser Grenzzahl die auf die Fabrikation zu nehmende Rücksicht nur soweit ausgedehnt werden, daß dadurch die charakteristische Eigenschaft des Schmalzes, klar abzuschmelzen, nicht wesentlich beeinträchtigt wird.

Ein geeigneter Anhaltspunkt zur Lösung dieser Frage dürfte der Wassergehalt besserer Marken amerikanischen Schweineschmalzes sein, der selten 0,2 % übersteigt, woraus sich schließen läßt, daß im Großbetriebe Schweineschmalz mit nur 0,2 % Wassergehalt ohne besondere Schwierigkeiten hergestellt werden kann.

Bestände kein Zweifel darüber, daß jene Wasserbestimmungen unter Luftabschluß ausgeführt worden sind, so würde als höchstzulässiger Grenzwert ein Wassergehalt von 0,2 % in Betracht kommen. Da aber anzunehmen ist, daß der Wassergehalt in dem Schmalze nach dem bisher üblichen Verfahren bestimmt worden ist, nach dem die Ergebnisse bei geringem Wassergehalt meistens zu niedrig ausfallen, so dürfte es sich vielleicht empfehlen, Schweineschmalz seines Wassergehalts wegen erst dann zu beanstanden, wenn seine konstante Trübungstemperatur über 75 ° liegt, d. h. wenn es mehr als 0,3 Prozent Wasser enthält.

Es würde im Sinne meiner Ausführungen sein, wenn das vorstehend geschilderte Verfahren möglichst vielfach einer Nachprüfung unterzogen und so zu Erörterungen über die in Rede stehende Frage Anlaß geben würde.

Über den Nachweis einiger tierischer Fette in Gemischen mit anderen tierischen Fetten.

Von

Dr. Ed. Polenske,

Technischem Rat im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Allgemeines.

Während Pflanzenfette in Gemischen mit tierischen Fetten oftmals schon durch Spezialreaktionen, allgemein aber durch die Phytosterinacetatprobe nachgewiesen werden können, ist der Nachweis des Fettes einer Tiergattung in Gemischen mit anderen tierischen Fetten z. Z. noch mit Schwierigkeiten verknüpft. Diese in der chemischen Untersuchung der Fette bestehende Lücke wird in der Praxis vielseitig ausgenützt, um wertvollere Tierfette mit solchen von geringerem Werte zu fälschen.

Erfahrungsgemäß nehmen derartige Fälschungen, die nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden können, stetig solange an Umfang zu, bis Untersuchungsmethoden bekannt geworden sind, die zu ihrer Entdeckung führen. Daher begegnet man in der Praxis häufiger mit Talg gefälschtem Schweineschmalz oder mit Schweineschmalz gefälschter Butter, weil die bisher bekannten, auf physikalischem oder chemischem Wege ermittelten Konstanten dieser Fette nicht so große Unterschiede zeigen, um hierdurch geringere Mengen des einen Fettes in Gemischen mit den anderen feststellen zu können.

Für den Nachweis von Talg im Schweineschmalz besteht zwar schon seit längerer Zeit die zuerst von Husson¹⁾ veröffentlichte mikroskopische Untersuchungsmethode, die sich auf die Verschiedenheit der Kristallformen beider Fette stützt, welche sich bei langsamer Verdunstung ihrer ätherischen Lösungen abscheiden. Während hierbei Schweineschmalz in länglichen geraden Tafeln kristallisiert, zeigen die Talgkristalle vorwiegend eine aus dünnen, spitzen, meist gebogenen Nadeln bestehende Büschelform. Nach Goske²⁾ scheiden sich diese Fettkristalle aus einer Lösung von 2 g Fett in 10 ccm Äther nach 6 Stunden langem Stehen an einem kühlen Orte ab. Hinsichtlich des Nachweises geringer Mengen von Talg im Schweineschmalz hat diese Methode zwar ihre Anhänger, aber auch namhafte Gegner gefunden.

Vor einigen Jahren haben H. Kreis und A. Hafner³⁾ aus dem Schweineschmalz durch oftmaliges Umkristallisieren aus ätherischer Lösung das Glycerid einer neuen

¹⁾ Journ. Pharm. chim. 1878, [4] 27, 100.

²⁾ Chem. Ztg. 1892. 16. 1597.

³⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel usw. 1904, 641.

Fettsäure von der Formel $C_{17}H_{34}O_2$ isoliert, die von den beiden Autoren Heptadekylsäure benannt worden ist. Dies Glycerid soll nur im Schweineschmalz und zwar als Heptadekyldistearin = $C_3H_5(C_{17}H_{33}O_2)(C_{17}H_{33}O_2)_2$, nicht aber im Rinder- und Hammeltalg vorkommen, und die Verschiedenheit der aus ätherischer Lösung des Schweinefettes erhaltenen Kristalle gegenüber den aus Talg erhaltenen Kristallen bedingen.

Soltsien¹⁾ hält jedoch auch nach dem Bekanntwerden der Arbeit von Kreis und Hafner seine frühere Ansicht aufrecht, daß durch die mikroskopische Untersuchungsmethode geringere Mengen von Talg im Schweineschmalz nicht nachgewiesen werden können.

Jedenfalls ist aus den bisherigen Literaturangaben²⁾ zu entnehmen, daß die Kristallisationsmethode für den Nachweis von geringeren Mengen Talg im Schweineschmalz nicht genügende Sicherheit bietet und die Ausarbeitung einer anderweitigen sicheren Untersuchungsmethode sehr erwünscht erscheinen läßt. Um diese in der Nahrungsmittelchemie vorhandene Lücke auszufüllen, sind im Gesundheitsamte schon seit längerer Zeit nach verschiedenen Richtungen hin Versuche in Angriff genommen worden. Diese führten schließlich zu dem in dieser Arbeit beschriebenen Verfahren, mit dem es nach den bisher erhaltenen Ergebnissen möglich ist, den in Rede stehenden Nachweis bis zu einem gewissen Grade zu erbringen.

Dem Verfahren liegt die meines Wissens bisher noch nicht bekannte Beobachtung zugrunde, daß die Temperaturdifferenz zwischen dem Schmelz- und Erstarrungspunkte bei den Fetten verschiedener Tierarten nicht gleich groß ist, aber für das Fett einer Tierart eine ziemlich konstante Größe besitzt³⁾.

Bevor auf die eigentliche Methode näher eingegangen wird, erscheint es nicht überflüssig, über Schmelz- und Erstarrungstemperaturen einige einleitende Bemerkungen voranzuschicken.

Handelt es sich um einheitliche chemische Stoffe, so sind der Schmelzpunkt sowie der Erstarrungspunkt eindeutig bestimmt. Sowohl während des Schmelzens, wie auch während des Erstarrens bleibt die Temperatur konstant, und beide Punkte fallen zusammen. Wenn gleichwohl beobachtet werden kann, daß man auch bei einheitlichen Verbindungen die Schmelzen unter den Schmelzpunkt abkühlen kann, ohne daß sie erstarren, so ist dies lediglich ein Phänomen der Unterkühlung. Bei so komplizierten Gemischen jedoch, wie sie die Fette darstellen, läßt sich eigentlich von einem Schmelzpunkte und einem Erstarrungspunkte nicht reden; denn sowohl das Schmelzen, wie das Erstarren erfolgt über ein mehr oder weniger großes Temperaturintervall. Es ist lediglich Sache der Übereinkunft, welcher Punkt als Schmelztemperatur und welcher Punkt als Erstarrungstemperatur angesehen werden soll.

¹⁾ Chem. Rev. über die Fett- und Harzindustrie 1906. 240.

²⁾ J. Lewkowitsch. Chem. Technologie und Analyse der Öle, Fette und Wachse 1905. Bd. II. 380.

³⁾ Im Verlaufe dieser Abhandlung werden die Anzahl der Temperaturgrade, die zwischen dem Schmelz- und Erstarrungspunkte eines Fettes liegen, als seine „Differenz-Zahl“, abgekürzt „D. Z.“, sowie der Schmelzpunkt und Erstarrungspunkt als S. P. und E. P. bezeichnet werden.

Im folgenden ist als Schmelzpunkt diejenige Temperatur gewählt, bei welcher unter den angegebenen Vorsichtsmaßregeln des Erhitzens das in der Kapillare befindliche Fett völlig klar erscheint. Als Erstarrungspunkt ist diejenige Temperatur angenommen, bei der das geschmolzene Fett einen bestimmten Trübungsgrad erlangt hat.

Wenn es möglich wäre, exakt bei der Bestimmung der Schmelztemperatur den Punkt zu treffen, bei dem gerade das Schmelzen beendet ist, und andererseits bei Bestimmung der Erstarrungstemperatur den ersten Punkt der Trübung festzustellen dann müßten beide Punkte identisch sein, vorausgesetzt, daß Unterkühlung ausgeschlossen werden könnte. Da aber unter den mitzuteilenden Bedingungen nicht diese ihrer experimentellen Feststellung und Beobachtung außerordentliche Schwierigkeiten darbietenden Punkte, sondern die oben definierten Punkte bestimmt werden, so folgt daraus, daß die Schmelz- und Erstarrungstemperatur der Fette voneinander verschieden sein müssen.

Die Veranlassung zur Ausarbeitung des Verfahrens gab eine Untersuchung aus dem Ausland eingeführter gesalzener Därme. Es sollte festgestellt werden, ob die Därme vom Rind oder Schwein abstammten. Nachdem die von tierärztlicher Seite ausgeführte anatomische Prüfung keine sichere Unterscheidung herbeigeführt hatte, wurde das den Därmen noch anhaftende Fett einer Untersuchung unterworfen und hierbei folgendes Ergebnis erhalten:

Konsistenz	schmalzartig	
Refraktometerzahl	49,	
Jodzahl	49,	
Schmelzpunkt	41,2°	} Temperaturdifferenz (D. Z.) = 12,8°.
Erstarrungspunkt	28,4°	

Die aus der ätherischen Lösung dieses Fettes erhaltenen Kristalle deuteten zwar ihrer Büschelform wegen auf Talg hin, andererseits aber stimmten der niedrige S. P. und E. P., die hohe Jodzahl und die schmalzartige Konsistenz des Fettes mehr mit den entsprechenden Konstanten des Schweineschmalzes überein. Da die Möglichkeit vorlag, daß sich das Darmfett durch seine längere Lagerung im Salzwasser verändert haben konnte, so wurde durch Versuche mit frischem und gesalzenem Darmfett festgestellt, daß dieses durch die Salzung nicht verändert wird. Diese Versuche wurden mit 4 Rinder- und 4 Schweinedarmfetten ausgeführt. Unter den Rinderdarmfetten befand sich nun auch eine Probe, die infolge ihrer schmalzartigen Konsistenz und der hohen Jodzahl von 48,6 dem aus den russischen Därmen erhaltenen Fette sehr ähnlich war. Andererseits aber wurde hier zum ersten Male die Beobachtung gemacht, daß ganz unabhängig von der verschiedenen Höhe der S. P. und E. P. die zwischen ihnen liegende Differenz bei den Rinderfetten innerhalb der Grenzen von 12,8 bis 14,2° lag und erheblich kleiner war, als die bei 19,5 bis 20,5° liegende Differenz bei den Schweinefetten.

Da auch in dem fraglichen Darmfette die niedrige D. Z. 12,8 gefunden worden war, so mußte auf Grund dieser Beobachtung angenommen werden, daß Rinderfett vorlag, vorausgesetzt, daß die bisher nur in geringer Anzahl vorliegenden Versuchsergebnisse durch weitere Versuche eine Bestätigung fanden.

Diese Voraussetzung ist denn auch durch die Bestimmung der D. Z. an einem umfangreichen Material, welches teils aus eigens ausgeschmolzenen Fetten, teils aus Handelsware bestand, bisher ohne Ausnahme bestätigt worden (vergl. Tabelle A).

Nach Ermittlung der D. Z. der verschiedenen hier in Betracht kommenden Tierfette war noch festzustellen, ob die D. Z. eines aus zwei Fetten bestehenden Gemisches sich so erheblich von den D. Z. der beiden Einzelfette unterscheidet, daß sich hierauf der Nachweis des einen oder andern Fettes in dem Gemisch begründen läßt.

Die zuerst mit Gemischen von Rindertalg und Schweineschmalz unternommenen Versuche ergaben, daß schon durch eine Beimischung von 15% Talg zum Schweineschmalz die D. Z. des Schmalzes so weit herabgesetzt wird, daß der Talgzusatz erkannt werden konnte.

Wie aus vorstehendem hervorgeht, liegt der neuen Methode nur eine Bestimmung des S. P. und E. P. des zu untersuchenden Fettes zugrunde. Es erweist sich aber als notwendig, die Bestimmung dieser beiden Punkte genau nach dem nachstehend in seinen einzelnen Teilen beschriebenen Verfahren auszuführen.

A. Beschreibung des Verfahrens.

1. Vorbereitung der Fettproben.

Das zu den Versuchen zu verwendende Fett muß vollkommen klar und wasserfrei sein. Dies ist dadurch zu erreichen, daß 20 bis 25 ccm des filtrierten klaren Fettes in einem Reagierglase $\frac{1}{2}$ Stunde lang in einem Glyzerinbade auf 102 bis 103° erhitzt werden, und daß während dieser Zeit durch das Fett ein langsamer, sorgfältig getrockneter Kohlensäurestrom geleitet wird.

2. Bestimmung des Schmelzpunktes.

Die zur Aufnahme des Fettes dienenden U-förmigen Kapillaren sollen einen Durchmesser von nicht weniger als 1,4 und nicht mehr als 1,5 mm haben¹⁾. Die Kapillaren werden aus einem leicht schmelzbaren Glasrohr, von etwa 1 mm Wandstärke und 1,2 cm lichter Weite durch Ausziehen hergestellt. Zu ihrer Füllung wird der eine Schenkel so tief in das geschmolzene Fett eingetaucht, bis die eingebrungene Fettsäule etwa 2 cm lang ist. Nachdem das geschmolzene Fett durch Eintauchen der Kapillare in Wasser von etwa 80° in beiden Schenkeln gleiche Höhe angenommen hat, bringt man es sofort in Eiswasser zum Erstarren. Vier bis sechs in dieser Weise von jeder Fettprobe hergestellte Kapillaren werden sogleich nach dem Erstarren des Fettes in eine kleine Blechbüchse eingeschlossen und diese 22 bis 24 Stunden lang unmittelbar auf Eis gelegt. Erst dann ist der S. P. zu bestimmen.

Zu jeder Bestimmung können gleichzeitig 2 äußerlich sorgfältig gereinigte Kapillaren, die an einem in Fünftelgrade geteilten Anschützschens Thermometer (Gradteilung + 10 bis + 80°) befestigt sind, verwendet werden. Um den S. P. genau

¹⁾ Vorschriftsmäßig hergestellte Kapillarröhrchen werden auch von der Firma Paul Altmann, Berlin NW., Luisenstraße 47, geliefert.

feststellen zu können, bedient man sich zweckmäßig bei jeder Bestimmung einer Kontrollkapillare, die mit hellfarbigem klarem Öle beschickt ist.

Das in einem Becherglase von etwa 350 ccm Inhalt befindliche Bad besteht aus 300 ccm einer Mischung von 200 ccm Glyzerin und 100 ccm Wasser; es soll eine Anfangstemperatur von etwa 20° haben. Die Quecksilberkugel des Thermometers befindet sich in der Mitte des Bades. Um jede Überhitzung zu vermeiden, muß das farblose, vollkommen klare Bad allmählich erwärmt und beständig mittels eines Glasrührers gemischt werden. Anfangs kann die Temperatur des Bades in 1 Minute um etwa 2° steigen, allmählich muß dagegen die Wärmezufuhr verringert und so geregelt werden, daß etwa 5° unter dem S. P. des Fettes die weitere Steigerung der Temperatur nur etwa $\frac{3}{4}$ ° in 1 Minute beträgt.

Die Versuche werden vor dem Fenster bei hellem Tageslicht ausgeführt. Die Beobachtung des S. P. erfolgt bei durchfallendem Licht und gegen einen ungefähr 15 cm hinter dem Becherglase angebrachten dunklen Hintergrund.

Als S. P. ist derjenige Temperaturgrad zu bezeichnen, bei dem die letzte opaleszierende Trübung der ganzen Fettsäule eben verschwindet und das Fett die Klarheit des Öles in der Kontrollkapillare angenommen hat.

Zuweilen zeigt es sich, daß durch eingetretene Oxydation diejenigen Fetteile, die an den Enden mit der Luft in Berührung stehen, in einer Länge von etwa 1 mm schwerer schmelzbar sind, als die übrige Fettschicht; in solchen Fällen sind die schwerer schmelzbaren Fettenden nicht zu berücksichtigen, und nur der S. P. der übrigen Fettschicht ist als maßgebend anzusehen. Auch wenn in beiden Kapillaren der S. P. zu gleicher Zeit eintritt, ist der Versuch zu wiederholen. Ergeben sich hierbei Temperaturunterschiede, die indessen nicht größer sein dürfen als 0,3°, dann ist die sich aus 6 Bestimmungen ergebende Durchschnittstemperatur als maßgebender S. P. anzusehen. Im anderen Falle sind neue Kapillaren herzustellen und die Bestimmungen zu wiederholen. Jede P. S.-Bestimmung nimmt etwa 15 Minuten Zeit in Anspruch. Es ist darauf zu achten, daß die Kapillaren den vorgeschriebenen Durchmesser haben, der sich als zweckmäßig erwiesen hat.

Hinsichtlich der Zeit, während welcher das Fett im Eise zu verweilen hat, wurde zwar nicht immer, aber doch häufiger die Beobachtung gemacht, daß nach 48stündiger Aufbewahrung die S. P. bis zu 0,3° höher ausfielen, als nach 24stündiger. Es erschien jedoch nicht ratsam, eine über 24 Stunden hinausgehende Zeitdauer vorzuschreiben, weil die Ergebnisse genügten und sich bei 48stündiger Aufbewahrung die Untersuchung um einen Tag verlängern würde. Wenn die Kapillaren von den außen anhaftenden Unreinigkeiten gut gesäubert sind, dann ist bei scharfer Beobachtung und guter Beleuchtung der Punkt, bei dem die letzte schwache Trübung verschwindet und das Fett in eine klare Flüssigkeit übergeht, mit Hilfe der Kontrollkapillare unschwer zu erkennen. Die sich bei Doppelbestimmungen ergebenden Unterschiede betragen selten mehr als 0,2°.

3. Bestimmung des Erstarrungspunktes.

a) Beschreibung des hierbei zu verwendenden Apparats¹⁾.

Der Apparat gleicht in seiner Gestalt dem Beckmannschen Apparat zur Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung. Das starkwandige äußere Kühlgefäß hat bei einer Höhe von 20 cm eine lichte Weite von 15 cm.

In dem Messingdeckel, welcher es bedeckt, befindet sich eine zentrale Öffnung zur Aufnahme des mit abgerundetem Boden versehenen Luftmantels aus 1 mm starkem Glase von 15 cm Höhe und 5 cm lichter Weite.

Genau in der Mitte des Luftmantels ist mittels eines Korkes das aus 1 mm starkem Glase bestehende Erstarrungsgefäß von 17 cm Höhe und 1,8 cm lichter Weite eingelassen. An der Außenseite des Erstarrungsgefäßes sind 1 cm oberhalb seines flachen Bodens 2 geschwärzte wagerechte Parallelstriche eingeritzt, die 2 mm lang, 0,5 mm breit und 0,25 mm weit voneinander entfernt sind. 2,7 cm vom Boden entfernt befindet sich noch eine wagerechte, schwarze Strichmarke, bis zu welcher das Fett einzufüllen ist; 2 mm oberhalb dieser Strichmarke beginnt eine kugelförmige Erweiterung des Gefäßes, deren Durchmesser etwa 2,5 cm beträgt.

Das Erstarrungsgefäß ist mit einem Kork versehen, in dem sich zwei Öffnungen, eine zentrale, zur Aufnahme des Thermometers, und eine seitliche, zur Aufnahme des Rührers, befinden.

Das Thermometer ist von $+ 10^{\circ}$ bis $+ 50^{\circ}$ mit Fünftel- und weiter hinaus bis $+ 70^{\circ}$ mit ganzer Gradteilung versehen. Wenn sich der Quecksilberbehälter des Thermometers zwischen den Parallelstrichen und der Marke befindet, muß die Skala bis $+ 50^{\circ}$ noch unterhalb des Korkes sichtbar sein und darf nicht über die Oberfläche des Wasserbades hinausragen.

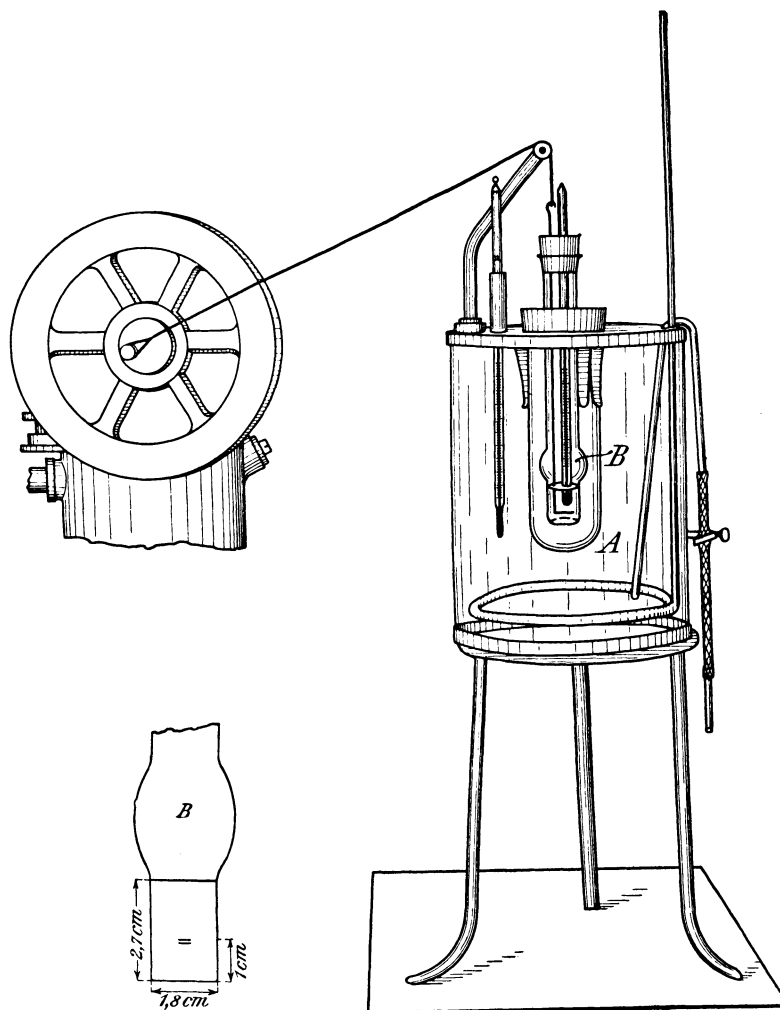
Der aus 2 mm starkem Nickeldraht hergestellte Rührer für das Fett hat unten einen etwas platt gepreßten Ring, dessen Öffnung größer ist, als der Durchmesser des Quecksilberbehälters des Thermometers. Dieser am oberen Ende durchlochte Draht hat eine Länge von 21 cm und ragt etwa 2 cm über den Kork hinaus, wenn sich der Ring am Boden des Gefäßes befindet.

Auf dem Messingdeckel des äußeren Kühlgefäßes ist noch ein starker gebogener Messingdraht befestigt, dessen Ende, welches sich ungefähr 4 cm über dem äußersten Ende des Rührers befindet, eine kleine Rolle trägt. Ferner hat der Metalldeckel eine größere längliche Öffnung zur Aufnahme eines Hebers und eines Rührers für das Wasserbad. Eine kleinere seitliche Öffnung ist zur Aufnahme eines gewöhnlichen Thermometers bestimmt.

Das Erstarrungsgefäß wird so tief in den Luftmantel hineingeschoben, daß sein unteres Ende etwa 3 cm vom Boden des Luftmantels entfernt ist. In dieser Lage befindet sich der untere Teil dieses Gefäßes bis zu seiner Marke für die Fetthöhe fast genau in der Mitte des Wasserbades.

¹⁾ Dieser Apparat wird genau der Beschreibung entsprechend von der Firma Paul Altmann, Berlin NW. 6, Luisenstraße 47, geliefert.

Der gleichmäßige Gang des Rührers in dem zu untersuchenden Fett wird zweckmäßig durch einen Heißluftmotor (von Louis Heinrici in Zwickau), der wohl in den meisten Laboratorien vorhanden sein dürfte, bewerkstelligt. Wie aus der nachstehenden Figur A ersichtlich ist, wird der Apparat mit dem Motorrade durch einen starken Zwirnfaden so verbunden, daß bei jeder Umdrehung des Rades der Rührer um etwa 2 cm gehoben wird. Hierbei muß der Ring des Rührers den Gefäßboden nahezu erreichen, darf ihn aber nicht berühren. Andererseits ist darauf zu achten,



daß der Ring des Rührers sich der Oberfläche des Fettes nicht so weit nähert, daß beim Rühren Luftblasen in das Fett gelangen.

Die vorstehende Figur veranschaulicht den Apparat; Figur B das Erstarrungsgefäß.

b) Ausführung der Bestimmung des Erstarrungspunktes.

Die Bestimmung ist bei Tageslicht auszuführen. Die Beobachtung des E. P. erfolgt bei durchfallendem Licht und gegen einen weißen Hintergrund, der durch ein an der Außenwand des Kühlgefäßes befestigtes Stück weißen Papiers von der Größe eines Kartenblattes hergestellt wird.

Das Kühlgefäß A ist fast bis an den Rand mit klarem Wasser von derjenigen Temperatur zu füllen, die bei den betreffenden Untersuchungen vorgeschrieben ist. Der Gang des Motors ist vorher durch Flamme und Bremsvorrichtung so zu regulieren, daß der Rührer in 1 Minute 180 bis 200 Mal gehoben wird.

Darnach wird das Erstarrungsgefäß B bis zur Marke mit dem etwa 15° über seinen S. P. erwärmten Fette angefüllt, alsdann der Kork mit Thermometer und Rührer eingesetzt und das Gefäß im Luftmantel in die vorgeschriebene Lage gebracht, worauf die Verbindung mit dem Motor herzustellen ist.

Wenn sich die Temperatur des Fettes dem E. P. nähert, macht sich zuerst eine schwache Opaleszenz des Fettes bemerkbar, die sich bei Talg sehr schnell, dagegen bei Schweineschmalz weniger schnell und bei Gänsefett und Butter noch langsamer bis zu dem Trübungspunkte, der hier als E. P. bezeichnet wird, verstärkt.

Als E. P. des Fettes ist die Temperatur zu bezeichnen, bei der die Trübung des Fettes so weit vorgeschritten ist, daß die beiden Parallelstriche an der Hinterwand des Erstarrungsgefäßes nicht mehr als getrennt sich unterscheiden lassen, sondern verschwommen zusammenhängend erscheinen.

Der Versuch ist mit einer Fettprobe dann nur einmal zu wiederholen, wenn beide Ergebnisse gleich ausfallen, oder sich nur Unterschiede bis zu $0,2^{\circ}$ zeigen. Sind die Unterschiede größer, dann ist von 3 bis 4 Bestimmungen die Durchschnittstemperatur als E. P. anzusehen.

Bei den Wiederholungen der Bestimmung des E. P. ist das Fett in dem Erstarrungsgefäß stets etwa 15° über seinen S. P. zu erhitzen, und darauf zu achten, daß es wieder vollständig geschmolzen ist.

Die sich aus Doppelbestimmungen ergebenden Abweichungen betragen bei richtiger Ausführung der Vorschrift nicht mehr als $0,2^{\circ}$.

Jede Bestimmung nimmt ungefähr 15 bis 20 Minuten Zeit in Anspruch.

Da die Methode auf einer genauen Bestimmung der Schmelz- und Erstarrungstemperaturen beruht, so sind die gegebenen Vorschriften zur Bestimmung des S. P. und E. P. streng zu beobachten.

B. Untersuchung einzelner Fettgemische.

1. Nachweis von Talg im Schweineschmalz.

Der E. P. ist bei einer Temperatur des Kühlwassers von 18° zu bestimmen.

Die bei diesen beiden Fetten bisher gefundenen D. Z. betragen für Rindertalg 12,8 bis 14,7 und für Schweineschmalz 19 bis 21° . Das Verfahren gestattet schon den Nachweis von 15% Talg im Schmalze. Hierbei ist die niedrigste D. Z. 19 des Schweineschmalzes maßgebend. Wird in der untersuchten Schmalzprobe eine kleinere D. Z. als 19 gefunden, dann ist das Schmalz gefälscht.

Im Hinblick darauf, daß die Fälschung nicht allein vom Talg, sondern von allen Fetten, die kleinere D. Z. als Schweineschmalz haben, herrühren kann, läßt sich nicht mit Sicherheit behaupten, daß eine mittels der D. Z. nachgewiesene

Fälschung des Schmalzes mit Talg ausgeführt worden ist. Hierdurch gewinnt aber die Methode nur an Wert, denn alle zur Fälschung des Schmalzes geeigneten tierischen Fette haben nach bisheriger Beobachtung kleinere D. Z. als 19. Der kleinste Unterschied zwischen der D. Z. beider Fette berechnet sich auf 4,3 (19—14,7) und der größte auf 8,2 (21—12,8). Aus dem sich hieraus ergebenden Mittel 6,3 berechnet sich, daß ein Zusatz von 10% Talg die D. Z. des Schmalzes nur um 0,63 herabsetzen kann. Es würde daher die höchste D. Z. des Schmalzes 21 erst durch einen Zusatz von 40% Talg auf 18,5 herabgesetzt werden. Die in nachstehender Tabelle B verzeichneten Ergebnisse zeigen jedoch, daß Gemische von Talg und Schmalz zwar mittlere E. P. geben, die aber nicht dem arithmetischen Mittel entsprechen, sondern sich mehr dem höheren E. P. des Talges zuneigen. Diese Erscheinung wird stets eintreten, weil die E. P. des Talges immer höher liegen als die des Schweineschmalzes.

Die S. P. der festeren Sorten Schweineschmalz erreichen oft dieselben oder annähernd die gleichen Schmelzpunkte wie Talg. In derartigen Gemischen wird der S. P. des Schmalzes durch den Talg überhaupt nicht erhöht (vergl. Tabelle B, Vers. 1 bis 4).

Bei den weicheren Sorten Schweineschmalz, deren S. P. niedriger liegen als die des Talges, zeigen die Gemische beider Fette wohl eine Erhöhung der S. P. des Schweineschmalzes, die aber weit geringer ist, als diejenige der E. P.

Von den zahlreichen Bestimmungen der D. Z. in reinen Fetten und deren Gemischen enthalten die nachstehenden Tabellen A und B (Seite 46 u. 47) eine instructive Auswahl.

Aus den D. Z. der Tabelle A ist zu ersehen, daß Rindertalg, Kalbsfett und Butterfett sehr nahe übereinstimmende D. Z. haben.

Da die höheren oder niedrigeren S. P. des Fettes einer Tiergattung auch stets entsprechende E. P. zur Folge haben, so werden hierdurch und durch die hiermit im Zusammenhang stehende härtere oder weichere Konsistenz des Fettes seine D. Z. nur wenig beeinflußt. Weicheres (amerikanisches) Schweineschmalz hatte meistens D. Z. von 19 bis 20 und festeres Schmalz solche von 20 bis 21. Hieraus ergibt sich auch die durch die Versuche bestätigte Tatsache, daß in weichem Schmalz, welches in der Praxis wohl vorzugsweise mit Talg gefälscht werden dürfte, schon ein kleinerer Prozentzusatz von Talg nachgewiesen werden kann als in festerem Schmalz.

Besonders ist noch darauf hinzuweisen, daß durch Beimischungen von Baumwollsamöl bis zu 10% sowohl die D. Z. von Schmalz und Talg, als auch die ihrer Gemische kaum verändert werden.

Im Hinblick darauf, daß umfangreichere Untersuchungen von Schweineschmalz noch eine etwas kleinere D. Z. als 19 ergeben könnten, ist aus vorstehend mitgeteilten Versuchen der Schluß zu ziehen, daß Schweineschmalz mit Talg oder anderen Fetten, die eine niedrigere D. Z. als Schweineschmalz haben, als gefälscht anzusehen ist, wenn die in dem Schmalze gefundene D. Z. kleiner ist als 18,5.

Sollte sich auf Grund umfangreicherer Untersuchungen für reines Schweine-

Tabelle A. Zusammenstellung der Schmelzpunkte, Erstarrungspunkte und Differenzzahlen von reinen Fetten.

Fortl. Nr. der Versuche	Bezeichnung des Fettes	S. P.	E. P. b. 18°	D. Z.	Bemerkungen
1	Schweineschmalz aus Liesen	49	28,8	20,2	Hoher S. P.
2	„ „ „ „	48,4	27,7	20,7	Hohe D. Z.
3	„ „ gesalzene Därmen	46,5	26,2	20,3	
	„ „ verschiedenen Körperteilen eines 7 Monate alten Schweines				
4	a) Liesenfett	48,5	28,3	20,2	
5	b) Darmfett	48,7	29	19,7	
6	c) Rückenspeckfett	45,2	24,2	21,0	Höchste D. Z., die bisher im hiesig. Schweineschmalz beobachtet worden ist.
7	d) Bauchspeckfett	46,3	26,7	19,6	
8	e) Vorderbeinfett	43,3	22,8	20,5	
9	f) Kopf- und Halsfett	44,8	24,4	20,4	
10	Schweineschmalz aus geräuchertem Vorder-schinken	42,2	23,0	19,2	Niedrigste D. Z. im hiesigen Schweineschmalz.
11	„ „ geräuchertem Hinter-schinken	45,0	25,0	20,0	
12	„ „ Dänemark	47,7	27,6	20,1	
13	„ „ „	49	28,4	20,6	
14	„ „ den V. St. v. Amerika	47,5	27,2	20,3	
15	„ „ „	42,5	23,5	19,0	Niedrigste D. Z., die bisher im Schweineschmalz beobachtet worden ist.
16	Rindertalg aus Nierenfett	49,7	35,2	14,5	
17	„ „ „	45,6	31,2	14,4	Sehr niedriger S. P. und E. P. im hiesigen Rindertalg.
18	„ „ russischen gesalz. Rinder-därmen	41,2	28,4	12,8	Niedrigste D. Z., die bisher im Talg beobachtet worden ist, anfallend niedriger S. P. und E. P.
19	„ „ England	50,0	35,4	14,6	
20	„ „ Frankreich	46,7	32,3	14,4	
21	„ „ den V. St. von Amerika	49,5	35,0	14,5	
22	18 Proben Rindertalg verschied. Herkunft	46,7—50,0	32,3—35,4	13,0—14,6	
23	6 „ Hammeltalg „ „	47,8—52,0	23,8—37,3	13,0—15,0	Die hohe D. Z. 15 wurde in 2 Proben Hammeltalg gefunden.
24	6 „ Premier jus aus den V. St. von Amerika	46,5—49,7	32,0—35,2	14,4—14,6	
25	8 „ Kalbsfett	40—44	27—30	12,3—14,2	
26	Oleomargarine aus den V. St. von Amerika	39,5	26,3	13,2	Hoher S. P.
27	„ „ „	33,0	20,3	12,7	Mittlerer S. P.
28	„ „ „	30,2	19,0	11,2	Niedriger S. P.
29	Preßtalg aus Österreich-Ungarn	54,2	41,5	12,7	
30	„ „ England	56,0	43,5	12,5	
31	Butter	35,5	21,2	14,3	Höchste D. Z., die bisher in der Butter beobachtet worden ist.
32	„	34,5	22,7	11,8	Niedrigste D. Z., die bisher in der Butter beobachtet worden ist.
33	Pferdefett	33,0	18,0	15,0	
34	„ „	35,3	19	16,3	
35	6 Proben Gänsefett	34—37	20,0—22,0	14,0—16,2	
	Pflanzenfette:				
36	5 Proben Kokosnußfett	24,5—26,0	19,0—22,5	4,8—6,0	
37	Sheabutter aus Togo	45,0	25,0	20,0	Dies Pflanzenfett hat eine ebenso hohe D. Z. als Schweineschmalz.
38	Borneotalg	48,5	40,0	8,5	

Tabelle B. Zusammenstellung der Schmelzpunkte, Erstarrungspunkte und Differenzzahlen verschiedener Fettgemische.

Nr. der Ver- suche	Bezeichnung des Fettes	S. P.	E. P.	D. Z.	Bemerkungen
	Rindertalg	49,7	35,2	14,5	Zu nachstehenden Mischungen verwendet (vgl. Tab. A No. 16).
1	Schweineschmalz aus Liesen	49,0	23,8	20,2	
	" + 10% Rindertalg	49,0	29,8	19,2	Der Talgzusatz ist nicht nachgewiesen.
2	" + 15 " "	49,0	30,6	18,4	Der Talgzusatz ist nachgewiesen.
3	" + 20 " "	49,0	31,1	17,9	desgl.
4	" + 30 " "	49,2	31,8	17,4	desgl.
5	" + 20 " " und 10 „Baumwollsamensöl	48,3	30,3	18,0	Die D.Z. des Schmalzes, sowie die der Schmalz-Talggemische werden durch den Zusatz von 10 % Baumwollsamensöl nur wenig verändert.
6	" + 10 " "	48,3	28,0	20,3	
7	" + 20 „ Pferdefett	47,3	27,5	19,8	Der Zusatz des Pferdefettes ist nicht nachgewiesen.
	" aus Bauchspeck	46,3	26,7	19,6	
8	" + 10% Rindertalg	47,6	28,8	18,8	Der Talgzusatz ist eben noch nachgewiesen.
9	" + 15 " "	47,9	29,9	18,0	Der Talgzusatz ist nachgewiesen.
10	" + 20 " "	48,1	30,7	17,4	desgl.
11	" + 30 " "	48,4	31,6	16,8	desgl.
12	" + 20 " " und 10 „Baumwollsamensöl	47,6	30,6	17,0	desgl. } Vergl. } No. 5/6
13	" + 10 " "	45,5	25,8	19,7	desgl.
	" aus den V. St. v. Amerika	42,8	23,5	19,3	
14	" + 10% Rindertalg	44,2	26,0	18,2	Der Talgzusatz ist nachgewiesen.
15	" + 15 " "	44,6	27,2	17,4	desgl.
16	" + 20 " "	45,2	28,2	17,0	desgl.
17	" + 30 " "	45,8	29,4	16,4	desgl.
18	" + 20 " " und 10 „Baumwollsamensöl	45,2	28,0	17,2	desgl. } Vergl. } No. 5/6
19	" + 10 " "	42,2	22,6	19,6	desgl.
20	" + 25 „ Pferdefett	40,4	22,0	18,4	Der Zusatz des Pferdefettes ist nachgewiesen.
21	20 Proben Amerikan. Schweineschmalz + 15% Rindertalg	42,8— 47,5	25,5— 29,5	17,0— 18,2	Der Talgzusatz ist nachgewiesen.
22	5 „ Dänisches Schweineschmalz + 15% Rindertalg	47,5— 48,6	29,0— 30,6	17,9— 18,3	desgl.
23	Schweineschmalz aus Liesen + 15% Oleo- margarin	47,0	27,6	19,4	Der Zusatz von Oleomargarin ist nicht nachgewiesen.
24	Amerikan. Schweineschmalz + 15% Oleo- margarin	41,5	22,8	18,7	Oleomargarin nachgewiesen.
25	Schweineschmalz aus Darmfett + 5% Preßtalg	47,0	28,6	18,4	Der Zusatz von 5% Preßtalg ist schon nachweisbar.
26	+ 10 " "	48,6	30,8	17,8	desgl.
27	+ 15 " "	49,3	32,3	17,0	desgl.
28	Amerik. Schweineschmalz + 5% "	44,8	26,8	18,0	desgl.
29	" " + 10 " "	46,0	28,8	17,2	desgl.
30	" " + 15 " "	46,8	30,4	16,4	desgl.

schmalz eine kleinere D. Z. als 19 ergeben, dann würde die für die Beurteilung als unterste Grenze aufgestellte D. Z. 18,5 ebenfalls eine entsprechende Herabsetzung erfahren müssen. Hierdurch würde zwar nicht die Methode selbst, wohl aber ihre Empfindlichkeit beeinträchtigt werden. Letzteres würde auch der Fall sein, wenn in reinem Schweineschmalz höhere D. Z. als 21 und bei Talg höhere D. Z. als 14,7 gefunden werden sollen.

2. Nachweis von Schweineschmalz im Gänseschmalz.

Der E. P. ist bei einer Temperatur des Kühlwassers von 16° zu bestimmen.

Sichere Anhaltspunkte für den Nachweis geringerer Mengen Schweineschmalz im Gänseschmalz sind bisher nicht bekannt. Für die vorliegenden Untersuchungen wurde das aus den Gänseflomen abgeschmolzene Fett, teils von Stoppel-, teils von Mastgänsen herkommend, verwendet.

Bei 6 verschiedenen Proben Gänseschmalz lagen die D. Z. innerhalb der Grenzen von 14 bis 16,2.

Schon durch einen Zusatz von 20% Schweineschmalz zum Gänseschmalz wurden in den Gemischen D. Z. erhalten, welche die obere Grenze der D. Z. des Gänse-schmalzes von 16,2 so erheblich überstiegen, daß dieser Zusatz deutlich erkannt werden konnte. Diese erhöhten D. Z. der Gemische beider Fette erklären sich dadurch, daß durch Schweineschmalz die S. P. des Gänseschmalzes stark erhöht, die E. P. dagegen nur wenig erhöht oder gar erniedrigt werden.

Sollte das Gänseschmalz bei 19° noch nicht erstarren, dann ist die Temperatur des Wasserbades von 16° in der Weise weiter zu erniedrigen, daß sie bis zum Beginn der Trübung des Fettes stets etwa 4° bis 5° unter der Temperatur des Fettes liegt.

In nachstehender Tabelle C (Seite 44) sind die Versuchsergebnisse, die mit 6 Proben Gänseschmalz und ihren Gemischen mit Schweineschmalz erhalten wurden, verzeichnet.

Versuch 21 ist mit Marktware ausgeführt, die mir von anderer Seite zur Verfügung gestellt wurde.

Mit Rücksicht auf die geringere Anzahl untersuchter Proben von Gänseschmalz wird vorläufig für reines Gänseschmalz als obere Grenze die D. Z. 17 aufgestellt, deren Erreichung und Überschreitung auf eine Fälschung des Gänseschmalzes mit Schweineschmalz oder anderen Fetten, die eine höhere D. Z. als Gänseschmalz haben, zurückzuführen ist.

3. Nachweis von Schweineschmalz in der Butter.

Der E. P. ist bei einer Temperatur des Kühlwassers von 16° zu bestimmen. Zu diesen Versuchen wurden außer mehreren Butterproben, die meistens aus hiesigen Butterhandlungen bezogen waren, noch aus 5 verschiedenen Molkereien herstammende Buttersorten verwendet. Soweit es sich aus der Bestimmung der Reichert-Meißl-Zahl und anderen in Betracht kommenden Konstanten feststellen ließ, mußten die Butterproben als rein bezeichnet werden.

Die D. Z. dieser Butterproben lagen innerhalb der Grenzen von 11,8 bis 14,3.

Tabelle C. Zusammenstellung der Schmelzpunkte, Erstarrungspunkte und Differenzzahlen von 6 Proben Gänseschmalz und ihrer Gemische mit Schweineschmalz.

Nr. des Versuchs	Bezeichnung des Fettes	S. P.	E. P. bei 16°	D. Z.	Bemerkungen: Das Zeichen + bedeutet: als gefälscht erkannt.
1	Gänseschmalz I.	36,0	20,6	15,4	Mastgans.
2	„ + 20% Amerik. Schweineschmalz	37,2	20,7	17,2	+
3	„ + 30 „ Schweineschmalz	37,8	20,3	17,5	+
4	„ + 20 „ Schweineschmalz aus Liesen	39,0	21,5	17,5	+
5	Gänseschmalz II.	36,3	20,8	15,5	Mastgans.
6	„ + 20% Amerik. Schweineschmalz	37,3	20,3	17,0	+
7	„ + 30 „ Schweineschmalz	38,0	20,6	17,6	+
8	„ + 20 „ Schweineschmalz aus Liesen	39,2	21,9	17,3	+
9	Gänseschmalz III.	35,8	19,8	16,2	Mastgans höchste D. Z.
10	„ + 20% Amerik. Schweineschmalz	36,8	19,5	17,3	+
11	„ + 20 „ Schweineschmalz aus Liesen	39,0	21,4	17,6	+
12	Gänseschmalz IV.	35,4	20,3	15,1	Mastgans.
13	„ + 30% Amerik. Schweineschmalz	37,5	20,0	17,5	+
14	„ + 30 „ Schweineschmalz aus Liesen	39,5	21,2	18,3	+
15	Gänseschmalz V.	34,2	19,8	14,4	Stoppelgans
16	„ + 30% Amerik. Schweineschmalz	37,0	19,4	17,6	+
17	„ + 30 „ Schweineschmalz aus Liesen	38,7	21,0	17,7	+
18	Gänseschmalz VI.	33,8	19,8	14,0	Stoppelgans niedrigste D. Z.
19	„ + 30% Amerik. Schweineschmalz	37,0	19,2	17,8	+
20	„ + 20 „ Schweineschmalz aus Liesen	38,0	20,7	17,3	+
21	Marktware	38,7	21,4	17,3	+

Die Fette Nr. 15 und 18 waren schon 6 Monate lang im Eisschrank aufbewahrt worden, ehe sie zu diesen Versuchen benutzt wurden.

Zwischen den D. Z. des Schweineschmalzes 19 bis 21 und denjenigen der Butter ergibt sich somit ein mittlerer Unterschied von 7°. Es müßte daher die D. Z. der Butter, die mit 10% Schmalz gemischt wird, um 0,7 erhöht werden. Auf diese Weise würde die niedrigste D. Z. der Butter 11,8 erst dann auf mehr als 14,3 erhöht werden, wenn die Fälschung der Butter mit mehr als 35% Schweineschmalz ausgeführt worden ist. Die Versuche haben denn auch ergeben, daß diese Berechnung zutrifft, wenn es sich um weiches Schweineschmalz mit niedrigem S. P. handelt.

Die geringste in der Butter noch nachweisbare Menge Schweineschmalz ist daher verschieden und abhängig von der Beschaffenheit des Schmalzes und von der Höhe

der D. Z. des damit gefälschten Butterfettes; je höher die D. Z. der Butter ist, desto kleiner wird die darin nachweisbare Menge Schweineschmalz sein. Im Einklang hiermit geht aus den in nachstehender Tabelle D verzeichneten Versuchsergebnissen hervor, daß die Methode in dieser Ausführung nicht empfindlich genug ist, weil Fettgemische mit einem Gehalt von selbst 25 % Schweineschmalz zuweilen noch kleinere D. Z. als 14,3 ergaben.

Tabelle D. Zusammenstellung der Schmelzpunkte, Erstarrungspunkte und Differenzzahlen von reiner Butter und Gemischen von Butter mit Schweineschmalz.

Nr. des Versuchs	Bezeichnung des Fettes	S. P.	E. P. bei 16°	D. Z.	Bemerkungen:
1	Reine Butter (Molkerei H.)	34,5	22,0	12,5	
2	„ „ + 15% Amerik. Schweineschmalz	34,5	21,7	12,8	
3	„ „ + 20 „ desgleichen	34,7	21,7	13,0	
4	„ „ + 25 „ desgleichen	34,9	22,0	12,9	
5	„ „ + 15 „ Schweineschmalz aus Liesen	35,3	22,4	12,9	
6	„ „ + 20 „ desgleichen	36,0	22,8	13,2	
7	„ „ + 25 „ desgleichen	37,0	23,0	14,0	
8	„ „ (Molkerei B.)	35,2	21,6	13,6	
9	„ „ + 15% Amerik. Schweineschmalz	35,0	21,5	13,5	In diesen Gemischen gaben nur die Zusätze von Liesenschmalz, nicht aber die von Amerik. Schmalz, höhere D. Z. als 14,3.
10	„ „ + 20 „ desgleichen	35,2	21,5	13,7	
11	„ „ + 25 „ desgleichen	35,5	21,6	13,9	
12	„ „ + 15 „ Schweineschmalz aus Liesen	36,7	22,2	14,5	+
13	„ „ + 20 „ desgleichen	37,5	22,7	14,8	+
14	„ „ + 25 „ desgleichen	39,0	23,8	15,2	+
15	„ „ (Molkerei P. M.)	35,0	22,0	13,0	
16	„ „ + 20% Amerik. Schweineschmalz	35,2	21,8	13,4	In diesen Gemischen gab nur der Zusatz von 25% Liesenschmalz eine höhere D. Z. als 14,3.
17	„ „ + 30 „ desgleichen	35,3	21,6	13,7	
18	„ „ + 20 „ Schweineschmalz aus Liesen	36,8	23,0	13,8	
19	„ „ + 25 „ desgleichen	38,6	23,4	15,2	+
20	November-Butter aus Ostfriesland ¹⁾	35,4	21,5	13,9	
22	„ + 20% Amerik. Schweineschmalz	35,0	21,2	13,8	
23	„ + 20 „ Liesenschmalz	36,0	21,8	14,4	+

Aus vorstehender Tabelle D ergibt sich, daß von den 19 Schweineschmalz enthaltenden Gemischen nur bei 5 Gemischen höhere D. Z. als 14,3 erhalten wurden.

¹⁾ Nach der Analyse von Dr. Siegfeld-Hamel, dem ich den Besitz dieser Butter verdanke, hat die Butter eine R. M. Z. von 18,8, eine n. B. Z. von 1,65, eine Vers. Z. von 215,2 und eine Jod Z. von 50,3. Dr. Siegfeld hält diese Butter nicht für verfälscht.

Um die Methode für den Nachweis von Schweineschmalz in der Butter empfindlicher zu machen, wurden Gemische von Butter mit verschiedenen Mengen von Rindertalg hergestellt und untersucht. Durch den Talgzusatz sollten die Grenzen der D. Z. der Butter eingeengt werden, ohne daß hierdurch der zwischen den D. Z. der Butter und des Schweineschmalzes bestehende Unterschied von 7° wesentlich verkleinert wird.

Diese Versuche führten zu dem Ergebnis, daß der beabsichtigte Zweck dann erreicht wird, wenn dem Butterfette mindestens 25% Rindertalg oder Premier jus zugesetzt wurden, deren S. P. bei 49,0 bis 49,8° und deren D. Z. bei 14,4 bis 14,6 lagen¹⁾ (vergl. Tab. A. Nr. 16 und 21).

In diesen Butter-Talggemischen werden die D. Z. der Butter 11,8 bis 14,3 auf die engeren Grenzen von etwa 14,0° bis 14,7° gebracht, und es wird gleichzeitig erreicht, daß schon nach Zusätzen von 20% Schweineschmalz zu den Butter-Talggemischen in den meisten Fällen D. Z. von 15 und darüber erhalten werden. Nachdem durch zahlreiche Versuche festgestellt worden war, daß die aus 75 Teilen reiner Butter und 25 Teilen Talg hergestellten Gemische nie eine höhere D. Z. als 14,7 ergaben, wurde zu den folgenden Versuchen anstatt des ursprünglichen Butterfettes ein Butter-Talggemisch von 75 Teilen Butterfett und 25 Teilen Rindertalg verwendet.

In der nachfolgenden Tabelle E (Seite 52 u. 53) finden sich zunächst die mit Butter-Talggemischen und verschiedenen Zusätzen von Schweineschmalz erhaltenen Ergebnisse.

In der vorletzten Spalte der Tabelle sind die als der Fälschung verdächtig erkannten Gemische mit D. Z. von 14,9 bis 15 durch ein ? und die als gefälscht anzusehenden Gemische mit D. Z. von mehr als 15 durch ein + gekennzeichnet worden.

Bei Durchsicht nachstehender Tabelle E findet man, daß die reinen Butter-Talggemische nie höhere D. Z. als 14,7 ergaben und daß nur in den Gemischen Nr. 2, 32 und 39 Zusätze von 15% Schmalz nicht erkannt worden sind. Die Gemische Nr. 22, 33, 35, 40 und 56 mit D. Z. von 14,9 bis 15,0 konnten nur als der Fälschung mit Schmalz verdächtig bezeichnet werden. In allen übrigen Gemischen sind die Schmalzzusätze nachgewiesen worden.

Die Vermutung, daß die Ostfriesische Butter (Nr. 58) mit der sehr niedrigen R. M. Z. 18,8 sich hinsichtlich ihrer D. Z. und derjenigen ihrer Butter-Talggemische auch abnorm verhalten würde, hat sich nicht bestätigt. Die Methode scheint daher auch für diese selten vorkommenden Buttersorten mit niedrigen Reichert-Meißl-Zahlen anwendbar zu sein.

¹⁾ Rindertalg, der diesen Anforderungen entspricht, begegnet man nicht selten im harten Nierentalg. Ebenso befanden sich schon unter 6 Proben Premier jus 2 brauchbare Proben. Der im Eisschrank aufbewahrte Talg ist sehr lange Zeit haltbar.

Tabelle E. Zusammenstellung der Schmelzpunkte, Erstarrungspunkte und Differenzzahlen von Butter-Talggemischen und von Mischungen dieser mit Schweineschmalz.

Nr. des Versuchs	Bezeichnung des Fettgemisches	S. P.		E. P. bei 16°		D. Z.	Bemerkungen
		I	II	I	II		
Butter-Talggemisch I.							
1	75% reine Butter aus der Molkerei H., 25% Rindertalg }	41,2	41,4	27,0	27,2	14,0	D. Z. der reinen Butter = 12,5.
2	desgl. + 15% Amerik. Schweineschmalz	41,6	41,8	27,0	27,0	14,7	
3	„ + 20 „ „	42,0	42,2	27,0	27,0	15,1 +	
4	„ + 25 „ „	42,7	42,6	27,2	27,3	15,4 +	
5	„ + 15 „ Schweineschmalz a. Liesen	43,0	43,2	27,9	28,0	15,1 +	
6	„ + 20 „ „	43,7	43,5	28,2	28,2	15,4 +	
7	„ + 25 „ „	44,3	44,6	28,4	28,3	16,1 +	
Butter-Talggemisch II.							
8	75% reine Butter aus der Molkerei S. H. 25% Rindertalg }	41,5	41,5	27,0	27,2	14,4	D. Z. der reinen Butter = 12,8.
9	desgl. + 20% Amerik. Schweineschmalz	42,5	42,5	27,2	27,1	15,3 +	
10	„ + 20 „ Schweineschmalz a. Liesen	43,8	43,7	28,0	28,0	15,7 +	
Butter-Talggemisch III.							
11	75% reine Butter aus der Molkerei B., 25% Rindertalg }	41,6	41,7	27,0	27,0	14,7	D. Z. der reinen Butter = 13,6.
12	desgl. + 15% Amerik. Schweineschmalz	42,2	42,2	27,0	27,0	15,2 +	
13	„ + 20 „ „	42,4	42,6	27,2	27,2	15,3 +	
14	„ + 25 „ „	43,0	43,0	27,2	27,4	15,7 +	
15	„ + 15 „ Schweineschmalz a. Liesen	43,4	43,2	28,0	28,0	15,3 +	
16	„ + 20 „ „	43,8	44,0	28,2	28,2	15,7 +	
17	„ + 25 „ „	44,3	44,4	28,3	28,4	16,0 +	
Butter-Talggemisch IV.							
18	75% reine Butter aus der Molkerei O. P. 25% Rindertalg }	41,8	42,0	27,4	27,4	14,5	D. Z. der reinen Butter = 12,5.
19	desgl. + 20% Amerik. Schweineschmalz	43,0	43,0	27,5	27,5	15,5 +	
20	„ + 20 „ Schweineschmalz a. Liesen	44,0	44,0	28,0	28,0	16,0 +	
Butter-Talggemisch V.							
21	75% reine Butter aus der Molkerei P. M. 25% Rindertalg }	41,8	42,0	27,4	27,5	14,4	D. Z. der reinen Butter = 13,0.
22	desgl. + 15% Amerik. Schweineschmalz	42,3	42,4	27,4	27,4	14,9 ?	
23	„ + 20 „ „	42,7	42,8	27,6	27,6	15,1 +	
24	„ + 25 „ „	43,2	43,3	27,7	27,8	15,5 +	
25	„ + 15 „ Schweineschmalz a. Liesen	43,5	43,4	28,3	28,3	15,1 +	
26	„ + 20 „ „	43,7	43,8	28,5	28,4	15,3 +	
27	„ + 25 „ „	44,2	44,2	28,6	28,5	15,6 +	
Butter-Talggemisch VI.							
28	75% reine Butter aus der Molkerei Ha., 25% Rindertalg }	41,3	41,5	26,8	27,0	14,5	D. Z. der reinen Butter = 13,1.
29	desgl. + 20% Amerik. Schweineschmalz	42,5	42,5	27,2	27,2	15,3 +	
30	„ + 20 „ Schweineschmalz a. Liesen	43,5	43,7	28,0	28,0	15,6 +	

Nr. des Ver- suchs	Bezeichnung des Fettgemisches	S. P.		E. P. bei 16°		D. Z.	Bemerkungen
		I	II	I	II		
Butter-Talggemisch VII.							
31	75% reine Butter vom Kaufmann W., 25% Rindertalg }	41,5	41,8	27,4	27,6	14,2	D. Z. der reinen Butter = 12,7.
32	desgl. + 15% Amerik. Schweineschmalz	42,0	42,0	27,4	27,6	14,5	
33	„ + 20 „ „	42,5	42,4	27,6	27,7	14,9 ?	
34	„ + 25 „ „	42,9	43,0	27,8	27,7	15,2 +	
35	„ + 15 „ Schweineschmalz a. Liesen	43,0	43,2	28,2	28,2	14,9 ?	
36	„ + 20 „ „	43,5	43,5	28,4	28,4	15,1 +	
37	„ + 25 „ „	44,4	44,4	28,5	28,5	15,9 +	
Butter-Talggemisch VIII.							
38	75% reine Butter vom Kaufmann S., 25% Rindertalg }	41,0	41,0	27,0	27,0	14,0	D. Z. der reinen Butter = 12,5.
39	desgl. + 15% Amerik. Schweineschmalz	41,5	41,5	27,0	27,0	14,5	
40	„ + 20 „ „	42,0	42,0	27,2	27,1	14,9 ?	
41	„ + 25 „ „	42,6	42,5	27,4	27,3	15,2 +	
42	„ + 15 „ Schweineschmalz a. Liesen	43,0	43,0	27,8	27,7	15,2 +	
43	„ + 20 „ „	43,7	43,5	28,0	28,0	15,6 +	
44	„ + 25 „ „	44,0	44,2	28,2	28,2	15,9 +	
Butter-Talggemisch IX.							
45	75% reine Butter aus Westfalen, 25% Rindertalg }	41,5	41,5	27,1	27,0	14,4	D. Z. der reinen Butter = 13,0.
46	desgl. + 20% Amerik. Schweineschmalz }	42,0	42,0	26,8	27,0	15,1 +	
47	„ + 20 „ Schweineschmalz a. Liesen	43,7	43,5	28,0	28,0	15,6 +	
Es war ursprünglich							
48	Butter + 20% Schmalz	42,5	42,5	27,3	27,2	15,2 +	Die Zusammen- setzung der 10 Fettproben Nr. 48 bis 57 wurde dem Analytiker erst nach Abgabe seines Unter- suchungsergeb- nisses bekannt gegeben.
49	„ „ + 15 „ „	42,5	42,5	27,4	27,2	15,2 +	
50	„ reine „	41,5	41,5	27,1	27,3	14,3	
51	„ „ + 25 „ „	43,5	43,7	28,0	28,0	15,6 +	
52	„ „ + 22 „ „	42,5	42,6	27,1	27,3	15,4 +	
53	„ „ + 24 „ „	43,6	43,6	27,8	27,8	15,8 +	
54	„ „ „	41,7	41,5	27,3	27,3	14,3	
55	„ „ + 10 „ „	41,5	41,5	27,0	27,0	14,5	
56	„ „ + 15 „ „	42,5	42,6	27,6	27,6	14,9 ?	
57	„ „ + 20 „ „	42,7	42,5	27,5	27,5	15,1 +	
Butter-Talggemisch X.							
58	75% Butter aus Ostfriesland, 25% Rindertalg }	42,1	42,2	27,7	27,7	14,4	Vergl. Tab. D. Versuchsnum- mer 20.
59	desgl. + 20% Amerik. Schmalz	42,1	42,0	27,6	27,6	15,4 +	
60	desgl. + 20 „ Liesenschmalz	44,0	43,8	28,2	28,2	15,7 +	

In der nachstehenden Tabelle F finden sich die Untersuchungsergebnisse einer größeren Anzahl Butterproben, die meistens aus Buttergeschäften Berlins und seiner Vororte entnommen und entweder als verfälscht erkannt oder der Fälschung verdächtig waren (vergl. in der Spalte: Bemerkungen über die Probenentnahme). Dies sehr wertvolle Untersuchungsmaterial ist mir von zwei verschiedenen Seiten zur Verfügung gestellt worden. Die Tabelle enthält die Untersuchungsergebnisse der ursprünglichen Butterfette, sowie auch die der Butter-Talggemische.

Tabelle F. Zusammenstellung der Schmelzpunkte, Erstarrungspunkte und Differenzzahlen von meist der Fälschung verdächtigen, aus dem Marktverkehr entnommenen Butterproben.

Nr. des Versuchs	Ursprüngliches Butterfett				Butter-Talg-gemisch			R. M. Zahl	Vers. Zahl	Refr. Zahl	Bemerkungen über die Probenentnahme		
	J.-Nr. der Probe	S. P.	E. P.	D. Z.	75% Butterfett 25 „ Rindertalg								
					S. P.	E. P.	D. Z.						
1	5	35,0	21,5	13,5	—	43,8	28,0	15,8	+	23,7	223,0	+ 1,6	Die Proben J.-Nr. 5, 6, 7 und 8 sind bei einem Händler, der beim Mischen von Butter mit Schmalz betroffen worden ist, entnommen. Die Fälschung wurde zugegeben.
2	6	44,4	25,0	19,4	+	46,0	29,5	16,5	+	8,8	205,3	+ 4,3	
3	7	34,7	21,7	13,0	—	43,7	27,8	15,9	+	24,75	223,5	+ 1,4	
4	8	43,5	24,8	18,7	+	45,5	29,2	16,3	+	19,6	215,6	+ 1,6	
5	9	34,0	21,0	13,0	—	Material unzureichend			—	29,6	230,8	— 1,6	Die Proben J.-Nr. 9, 10, 11 und 12 sind als normale Handelsbutter bezeichnet.
6	10	33,7	21,0	13,7	—	42,2	27,3	14,7	—	29,8	224,1	± 0	
7	11	34,5	22,0	12,5	—	42,6	27,9	14,7	—	26,1	228,0	— 1,0	
8	12	35,6	21,7	13,9	—	41,7	27,2	14,5	—	29,4	227,4	— 2,0	Die Proben J.-Nr. 13 und 15 sind bei einem Händler entnommen, der im Besitz einer Mischmaschine war.
9	13	35,5	22,3	13,2	—	43,2	28,0	15,2	+	25,7	220,1	+ 0,8	
10	14	37,5	23,2	14,3	—	44,0	28,3	15,7	+	24,1	217,3	+ 1,1	
11	15	38,0	22,5	15,5	+	44,0	28,3	15,7	+	24,3	222,4	+ 0,7	Die Proben J.-Nr. 14, 16, 18 und 25 sind bei einem verdächtigen Lieferanten entnommen und vielleicht holländischen Ursprungs.
12	16	35,7	22,1	13,6	—	43,2	28,3	14,9	?	24,5	220,7	+ 1,2	
13	17	39,7	23,1	16,6	+	43,0	27,0	16,0	+	23,05	219,8	+ 0,9	Probe J.-Nr. 17 stammt vermutlich von dem Fabrikanten der Proben 13 und 15 her.
14	18	37,0	23,8	13,2	—	43,0	28,5	14,5	—	24,6	222,4	+ 1,2	Probe J.-Nr. 19 ist vermutlich holländischen Ursprungs.
15	19	35,5	22,5	13,0	—	42,5	26,5	16,0	+	24,1	219,6	+ 2,1	
16	20	34,0	21,4	12,6	—	41,9	27,0	14,9	?	24,7	219,0	+ 2,8	Die Proben J.-Nr. 20, 21, 22 und 23 sind bei Kleinhändlern in Berlin angekauft worden.
17	21	37,0	23,5	13,5	—	42,5	28,0	14,5	—	23,75	218,5	+ 1,2	
18	22	36,5	23,0	18,5	—	42,6	28,0	14,6	—	24,9	221,2	+ 1,4	Probe J.-Nr. 24 soll aus Rahm hergestellt sein.
19	23	36,2	22,8	13,4	—	42,6	28,0	14,6	—	24,4	220,6	+ 1,3	
20	24	36,0	22,3	13,7	—	41,8	27,8	14,0	—	24,75	220,7	— 0,6	
21	25	36,0	22,8	13,2	—	42,2	27,8	14,4	—	23,85	220,6	+ 0,9	Die Proben J.-Nr. 32, 35, 36 und 47 sind von Kleinhändlern von einer Firma bezogen, welche der Verfälschung von Butter mit Schmalz überführt worden ist.
22	32	42,5	24,6	17,9	+	44,5	28,8	15,7	+	17,2	213,0	+ 2,0	
23	35	42,5	24,7	17,8	+	44,5	28,8	15,7	+	17,2	213,6	+ 1,8	
24	36	37,9	23,0	14,9	?	42,5	28,0	14,5	—	21	225,1	— 0,9	
25	47	33,8	21,0	12,8	—	41,0	27,0	14,0	—	20,2	219,0	+ 0,6	Die Proben J.-Nr. 49 und 50 sind von dem Wagen derselben Firma direkt entnommen.
26	49	39,0	23,2	15,8	+	44,0	28,2	15,8	+	18,85	216,2	+ 0,9	
27	50	36,3	23,5	12,8	—	44,2	28,4	15,8	+	18,8	216,2	+ 1,0	
28	51	38,0	23,1	14,9	?	44,0	28,3	15,7	+	19,95	217,9	+ 0,8	Die Proben J.-Nr. 8916 und 8915 sind auf Grund eingezogener Ermittlungen höchstwahrscheinlich mit Oleomargarin, die übrigen aber mit Schweineschmalz gefälscht.
29	52	37,0	23,0	14,0	—	44,0	28,2	15,8	+	20,0	217,9	+ 0,8	
30	5763	34,6	22,0	12,6	—	42,8	27,5	15,3	+	21,7	218,5	+ 2,1	
31	5834	41,0	24,3	16,7	+	44,6	28,6	16,0	+	20,7	216,9	+ 2,2	
32	5868	38,0	22,8	15,2	+	44,0	28,0	16,0	+	24,0	220,8	+ 1,5	
33	5867	34,5	22,0	12,5	—	43,0	27,6	15,4	+	20,0	217,0	+ 2,4	
34	8916	38,5	24,6	13,9	—	43,1	29,0	14,1	—	21,7	213,3	+ 1,0	
35	8915	38,5	24,8	13,7	—	43,2	29,0	14,2	—	21,8	212,5	+ 1,0	
36	11044	35,0	22,3	12,7	—	43,0	27,8	15,2	+	21,4	220,5	+ 1,5	
37	1658	37,5	23,2	14,3	—	44,5	28,2	16,3	+	—	—	—	
38	1659	37,5	23,8	14,2	—	44,7	28,5	16,2	+	—	—	—	Der Fälschung verdächtige Proben.
39	1661	34,0	21,4	12,6	—	41,0	27,0	14,0	—	—	—	—	
40	176	36,8	23,2	13,6	—	44,0	28,4	15,6	+	23,9	220,7	— 0,8	
41	186	36,9	23,2	13,7	—	44,0	28,3	15,7	+	24,1	221,2	— 0,8	
42	226	37,0	23,1	13,9	—	44,1	28,5	15,6	+	22,5	220,1	— 0,2	
43	778	36,5	22,7	13,8	—	43,7	28,5	15,2	+	25,3	219,0	+ 1,5	

Die in der Tabelle vermerkten Reichert-Meißl-, Verseifungs- und Refraktometerzahlen, sowie auch die Bemerkungen über die Probenentnahme wurden mir erst nach Bekanntgabe meines Untersuchungsergebnisses mitgeteilt.

Im allgemeinen ist in vorstehender Tabelle F sowohl aus den hohen D. Z. der Butter-Talggemische, als auch aus den übrigen abnormen Konstanten zu ersehen, daß in der Praxis die Fälschungen der Butter mit weit größeren Mengen minderwertiger Fette ausgeführt werden, als dies bei den von mir selbst hergestellten Gemischen der Tabelle E geschehen ist.

Aus den Bemerkungen über die Probenentnahme geht hervor, daß ein Teil der Proben sicher und die übrigen mit Ausnahme der Proben J.-Nr. 9, 10, 11 und 12, aller Wahrscheinlichkeit nach gefälscht waren. Diese Annahme wird durch die niedrigen Reichert-Meißl- und Verseifungszahlen unterstützt. Auf Grund der erhöhten D. Z. sind von den 39 als gefälscht anzusehenden Proben 27 als solche erkannt worden, bei 12 Proben blieb das Ergebnis zweifelhaft. Im Hinblick darauf, daß durch die vorstehende Methode von den zur Fälschung der Butter meist verwendeten Fetten nur der Nachweis des Schweineschmalzes infolge seiner sehr hohen D. Z. gelingt, liegt die Annahme nahe, daß von den obigen 12 der Fälschung verdächtigen Proben etwa 10 nicht mit Schweineschmalz, sondern mit Oleomargarin, Kokosfett oder anderen Fetten, deren D. Z. sich denen der Butter nähern, gefälscht waren. Ebenso wie die Proben J.-Nr. 8915 u. 8916 und auch wohl die aus derselben Quelle herstammende Probe J.-Nr. 1661; auf Grund eingezogener Ermittlungen höchstwahrscheinlich mit Oleomargarin gefälscht worden sind, kann diese Fälschung auch bei den übrigen durch die D. Z. nicht als gefälscht erkannten Proben stattgefunden haben.

Es muß jedoch noch besonders darauf hingewiesen werden, daß bei gleichzeitigem Vorhandensein von Kokosnußfett, je nach der Menge desselben, der Nachweis vom Schweineschmalz in der Butter sehr beeinträchtigt oder ganz verhindert werden kann, während er durch die Gegenwart von Oleomargarin eher gefördert wird. Dieser nachteilige Einfluß des Kokosnußfettes verliert aber dadurch seine Bedeutung, daß dieses Fett anderweitig nachgewiesen werden kann, und der Nachweis desselben schon eine Beanstandung der Butter herbeiführt.

Unter dem Vorbehalt, daß die für Butter angegebenen D. Z. sich allgemein als richtig erweisen sollten, ist eine Butter mit Schweineschmalz oder anderen Fetten, die eine höhere D. Z. als Butter haben, als gefälscht anzusehen, wenn in dem ursprünglichen Butterfette eine höhere D. Z. als 14,6 oder in dem aus 75 Teilen Butterfett und 25 Teilen Rindertalg hergestellten Gemisch eine höhere D. Z. als 15 erhalten wird. Der zu dem Gemische zu verwendende Rindertalg muß einen S. P. von 49,0 bis 49,7 und eine D. Z. von 14,4 bis 14,6 haben.

Unter sämtlichen bisher untersuchten tierischen Fetten nimmt das Schweineschmalz durch seine hohe D. Z. eine besondere Stellung ein. Dieses physikalische Verhalten des Schweineschmalzes kann vielleicht auf eine eigenartige Gruppierung seiner Fettglyceride zurückgeführt werden; andererseits kann es aber auch mit der

schon a. a. O. erwähnten, von H. Kraus und A. Haffner im Schweineschmalz entdeckten Heptadekylsäure im Zusammenhange stehen.

Außer im Schweineschmalz ist von mir nur noch in einem aus der Kolonie Togo herstammenden festen Pflanzenfette, der Sheabutter, welches durch Auskochen mit Wasser aus den Samen von *Bassia Parkii* gewonnen wird, eine gleich hohe D. Z. von 20 gefunden worden.

In diesem Rohfett wurden folgende Konstanten ermittelt:

Freie Säure	46,37	
Refr. bei 40°	54	
R. M. Z.	1,9	}
u. B. Z.	0,43	
Vers. Zahl	177,3	
Jodzahl	49,0	
S. P.	45	} D. Z. 20
E. P.	25	
Harzartige, unverseifbare Substanz	4,7%	

Ob dies Pflanzenfett schon zur Fälschung von Butter verwendet worden ist, darüber liegen noch keine sicheren Angaben vor. Es ist jedoch festgestellt worden, daß Mischungen, von Butter mit 10 — und 20% Sheabutter, auch ohne den Talgzusatz, schon D. Z. von 15,4 und 17,1 ergaben und hierdurch die Fälschung der Butter anzeigten.

Da es schon aus Mangel an erforderlichem Material nicht möglich ist, nur in einem Laboratorium genaue Grenzwerte zu sammeln, um für die reinen Fette endgiltige D. Z. feststellen zu können, so wäre es sehr wünschenswert, wenn die für diese Methode sich interessierenden Fachgenossen in erster Linie ihre Aufmerksamkeit den D. Z. der reinen Fette zuwenden würden, um hierfür erst allerseits anerkannte Werte zu schaffen. Diese Zahlen würden ohne Zweifel in vielen Fällen wichtige Anhaltspunkte für die Beurteilung der Reinheit der Fette darbieten. Auch die hierbei sich ergebenden oberen und unteren Grenzwerte für die S. P. und E. P. dürften für die Beurteilung mancher Fette, z. B. der Butter, ebenfalls wertvolle Anhaltspunkte geben.

Die Methode soll nicht den Zweck verfolgen, die Bestimmung und den Wert der bisher bei der Untersuchung der Fette geltenden Konstanten einzuschränken. In solchen Fällen dagegen, in denen andere Methoden versagen, wie z. B. beim Nachweis von Talg im Schweineschmalz und von Schweineschmalz im Gänseschmalz wird sie berufen sein, eine Entscheidung herbeizuführen.

Vielleicht eignet sich der Apparat zu exakten Bestimmungen der Erstarrungspunkte der Fette überhaupt; es wäre daher wertvoll, wenn die Fachgenossen auch hierüber Erfahrungen sammeln und mitteilen wollten.

Es ist mir eine angenehme Pflicht den Herren Professor Dr. Juckenack und Dr. Baier, die mir bereitwilligst das wertvolle Untersuchungsmaterial in Tabelle F zur Verfügung stellten, auch an dieser Stelle meinen Dank auszusprechen.

Die Peroxydasereaktionen der Kuhmilch mit besonderer Berücksichtigung ihrer Verwendung zum Nachweise stattgehabter Erhitzung der Milch.

Von

Dr. Percy Waentig,

früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Inhalt: I. Einleitung. — II. Methodisches. — III. Versuche über die Peroxydasereaktionen. — IV. Versuche über die Eigenschaften der Peroxydase der Kuhmilch im besonderen. — V. Schlußfolgerungen.

I. Einleitung.

Über die chemischen Vorgänge, die sich bei sog. Farbreaktionen abspielen, ist in vielen Fällen nur wenig bekannt geworden, was eine gewisse Unsicherheit in ihrer Handhabung in der chemischen Analyse und oft auch in der richtigen Deutung ihrer Ursachen zur Folge gehabt hat. Dies ist um so bedauerlicher, als ein großer Teil dieser Reaktionen einerseits wegen ihrer leichten Ausführbarkeit, andererseits wegen ihrer Empfindlichkeit mit Recht vielseitigstes Interesse und umfassende Anwendung beansprucht haben.

Der Nachweis stattgehabter Erhitzung von Milch beruht größtenteils auf derartigen Reaktionen; und mit dem wachsenden Interesse, das die moderne Nahrungsmittelchemie diesem Gegenstand entgegen zu bringen sich genötigt sieht¹⁾, sind auch die Ansprüche auf Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit dieser Reaktionen gestiegen und haben zahlreiche Prüfungen und Verbesserungsversuche im Gefolge gehabt.

Besonderes Interesse gewinnen jedoch diese Reaktionen noch durch die Tatsache, daß sie — wie man heute berechtigt ist anzunehmen — den Nachweis liefern für die Anwesenheit einer bestimmten Gruppe von Fermenten der Milch, deren Bedeutung für die Verdaulichkeit und den Nährwert der Milch gerade durch neueste wertvolle Versuche²⁾ wieder stark in den Vordergrund getreten ist. Dies berechtigt uns, die fraglichen Erscheinungen bis zu einem gewissen Grade der großen Gruppe der katalytischen Reaktionen einzureihen d. h. solcher, in denen ein Stoff, in meist schon sehr geringer Menge, eine spontan äußerst langsam verlaufende Reaktion zu beschleunigen vermag, ohne bei der ins Auge gefaßten Reaktion verbraucht zu werden.

¹⁾ Vergl. den Anhang zu dieser Arbeit (Seite 100).

²⁾ v. Behring, Exper. Ergebnisse, betr. die Veränderung der Nährstoffe und Zymasen in der Kuhmilch unter dem Einfluß hoher Temperaturgrade. Molkereizeitung, Berlin, 1906, S. 147.

Es ist im nachstehenden versucht worden, von diesem Gesichtspunkt aus die gebräuchlichsten Farbreaktionen, die zum Nachweis stattgehabter Erhitzung von Milch dienen, zu betrachten, und die Unsicherheiten, die immer noch einer zweckmäßigen Verwendung dieser sicherlich außerordentlich wertvollen Reaktionen, die weit über den Rahmen der Milchuntersuchung hinausgeht, im Wege stehen, möglichst zu beseitigen.

Als Arnold¹⁾ 1881 die Tatsache beobachtete, daß Guajaktinktur durch frische Milch gebläut werde, nicht aber durch gekochte, und sofort auch die Verwendbarkeit der Reaktion für den Nachweis gekochter Milch zeigte, gab er die Schuld daran einem Ozongehalt der Milch unter einer etwas ungenauen Benutzung der Schönbeinschen Entdeckungen und Theorien. Deutung der Reaktion wie Vorschrift zu ihrer Verwendung zum Nachweis stattgehabter Erhitzung von Milch führten jedoch bald zu Unwahrscheinlichkeiten bzw. Unsicherheiten, wofür die Untersuchungen von N. Kowalewski²⁾ einerseits, von E. Spaeth³⁾, Ostertag⁴⁾, Liebermann⁵⁾ und Carcano⁶⁾ andererseits Zeugnis ablegen. Namentlich die Arbeiten von Kowalewski, Liebermann und Carcano sind von besonderer Wichtigkeit, indem sie zeigten, daß noch ein dritter peroxydartiger Stoff nötig sei (sie empfehlen die Verwendung insolierten Terpentins), um die Bläuung der Tinktur mit frischer Milch mit Sicherheit hervorzurufen. Erscheint hier noch der peroxydartige Stoff in einer gewissen Maskierung (Terpentinöl), so fanden bald Dupouy in Frankreich und Storch in Dänemark, daß gewisse organische Substanzen, die durch Oxydation in Farbstoff übergeführt werden könnten, nur dann Farbbildung zeigten, wenn außer Milch auch noch eine gewisse Menge Hydroperoxyd zugegen sei. Dupouy⁷⁾ erkannte als solche „chromogene“ Stoffe, die mit frischer Milch und Hydroperoxyd Farbreaktionen zeigten, u. a. Guajakol, Brenzkatechin, Hydrochinon, α -Naphthol und p-Phenylendiamin und hat auch schon die Guajakprobe unter Verwendung von Hydroperoxyd empfohlen. Storch⁸⁾, den praktischen Zweck der Milchuntersuchung im Auge, arbeitete die Reaktion mit dem letztgenannten Stoff zu der bekannten nach ihm benannten Reaktion auf „gekochte“ Milch aus. Bei dem Versuch der Isolierung des wirksamen Stoffes der Milch ergaben sich eine Anzahl interessanter Tatsachen, auf die an anderer Stelle zurückzukommen sein wird. Er identifiziert die beobachtete Oxydationserscheinung mit der von Babcock⁹⁾ wohl zuerst beobachteten hydroperoxydzersetzenden Eigenschaft der Milch, meint aber, daß sie nicht einem Fibringehalt der Milch, sondern einem besonderen Enzym zugeschrieben werden müsse. Leffmann¹⁰⁾, der ungefähr gleichzeitig mit Storch das p-Phenyl-

¹⁾ Arch. Pharm. **219**, **41** (1881), vergl. auch H. Schacht, Arch. Pharm. **1842**, **3**. Nach Ed. Schär: „Chr. Fr. Schönbein“ (Leipzig 1901 S. 278) hat schon Schönbein diese Wirkung beobachtet.

²⁾ Zentralbl. f. Med. Wissensch. 1890, 145 u. 162.

³⁾ Forschungsber. über Lebensmittel **1**, 343 (1896).

⁴⁾ Zeitschr. Fleisch- u. Milchhyg. 1896. **7**, 6.

⁵⁾ Maly's Jahresber. f. Tierchem. **28**, 256.

⁶⁾ Ref. Vierteljahrsschr. Chem. Nahrungs- u. Genußm. 1897, 17.

⁷⁾ Répert Pharm. 1897, 206.

⁸⁾ Ref. Zeitschr. f. Unters. v. Nahrungs- u. Genußm. 1889, 239.

⁹⁾ Agr. Exper. Stat. Univ. of Wisconsin 1889, 6.

¹⁰⁾ The Analyst. 1898, S. 85.

diamin anwendet, kann die von diesem aufgefundene Analogie in der Wirkung von Milch und Malzdiastase auf eine Mischung von Hydroperoxyd und p-Phenylendiamin nicht bestätigen. Immerhin ist jetzt ein zweites wichtiges Reagens zum Nachweis stattgehabter Erhitzung von Milch gefunden und die Arbeiten von Glage¹⁾, Ed. Weber²⁾ Arnold und Mentzel³⁾ versuchen nicht durchgehend erfolgreich der Guajakprobe allgemeine Anerkennung in der praktischen Milchuntersuchung zu verschaffen, obgleich es Ed. Weber⁴⁾ in einer späteren Untersuchung gelingt, unzweifelhafte Mängel der Reaktion von Storch festzustellen. Endlich zeigt aber J. Zink⁵⁾ unter Benutzung gewisser Erfahrungen von Weber⁶⁾, Mauderer⁷⁾ und Neumann-Wender⁸⁾, daß bei Verwendung bestimmter Mengen Hydroperoxyd durchaus sichere Resultate mit der Guajakreaktion zu erhalten seien, und das Ergebnis völlig unabhängig zu machen sei von der „Vorgeschichte“ der Guajakharzlösung. Trotz der Bestätigung dieser Befunde von seiten Rullmanns⁹⁾, hält Utz¹⁰⁾, der in mehreren Untersuchungen die Praxis der Storchschen Reaktion zu vervollkommen sich bemühte, ferner auch I. v. Itallie¹¹⁾ und endlich auch Siegfeld¹²⁾ auf Grund einer sehr eingehenden Untersuchung die Ansicht aufrecht, daß die Guajakreaktion auch bei Verwendung von Hydroperoxyd keine so guten Resultate liefere, wie die Storchsche Probe. Buttenberg¹³⁾ endlich hat bei seiner im Vorjahr angestellten Untersuchung die Guajaktinktur mit gutem Erfolge verwendet.

Die im vorstehenden dargestellten Meinungsverschiedenheiten finden ihre Erklärung in der Tatsache, daß man die für die Reaktion wesentlichen Bestandteile weder ihrer Zahl noch ihrer chemischen Natur nach genügend kannte. Hinsichtlich der Guajaktinktur hat diese Unklarheit seit den Tagen Schönbeins bestanden, obgleich sie seitdem ein Reagens von sehr allgemeiner Anwendung gewesen ist und besonders zur Charakterisierung der tierischen und pflanzlichen Fermente eine große Rolle spielte¹⁴⁾. Erst in neuerer Zeit sind wichtigere Tatsachen über die Natur dieser Substanz festgestellt worden.

Erwähnenswert ist allerdings, daß es schon Hadelich¹⁵⁾ gelang, in der Guajakon-

¹⁾ Milchztg. 1901, 182.

²⁾ Milchztg. 1902, 657 u. 673.

³⁾ Zeitschr. Fleisch- u. Milchhyg. 1902, 205.

⁴⁾ Ebenda 1903, 84 u. 112.

⁵⁾ Milchzeitg. 1903, 193 u. 211.

⁶⁾ A. a. O.

⁷⁾ Deutsche Tierärztl. Wochenschr. 1902, Nr. 39 u. 40.

⁸⁾ Österr. Chem. Ztg. 1903, 1. Vgl. auch Zeitschr. f. angew. Chem. 1903, S. 764.

⁹⁾ Zeitschr. f. Untersuchung von Nahrungs- u. Genußmitteln 7, 81. 1904. — Molkereizeitg. Berlin, 137 (1904).

¹⁰⁾ Chemikerzeitung 1902, 1121. — Milchzeitung 1903, 129 u. 417. — Chemikerzeitung 1903, 27, 300. — Österr. Chemikerzeitung 1904, 416 u. 463.

¹¹⁾ Zeitschr. f. Untersuchung von Nahrungs- u. Genußmitteln 1905 (I), 557.

¹²⁾ Zeitschr. f. angew. Chemie 1903, 764.

¹³⁾ Zeitschr. f. Untersuchung von Nahrungs- u. Genußmitteln 1906, 377. Vgl. auch die Versuche v. Tjaden Koske und Härtel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1901, 219.

¹⁴⁾ vergl. z. B. GroB, Ber. d. bot. Gesellsch. 16, 129 (1898).

¹⁵⁾ Zeitschr. f. prakt. Chemie 87, 325.

säure die oxydable chromogene Substanz des Guajakharzes zu isolieren, und Ed. Lücker¹⁾ hat diesen Befund bestätigt und weitere Eigenschaften der wirksamen Substanz festgestellt. Auf die zahlreichen analytischen Arbeiten über das Guajakharz kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden, zumal diese in ausführlicher Weise von P. Richter²⁾ zusammengestellt wurden. Diesem gelang es im vorigen Jahre, den bisher als einheitlich angenommenen Stoff in eine sich am Licht und durch Einwirkung von „Ozoniden“ leicht bläuende α -Guajakonsäure und eine diese Eigenschaften nicht zeigende β -Guajakonsäure zu trennen. Interessant sind ferner einige Notizen in einer Arbeit Schärs³⁾, die zum Teil wohl noch auf Versuche oder Beobachtungen Schönbeins zurückgehen. So wird festgestellt, daß die Guajak-tinktur sich spontan bläuen, daß ein Überschuß des oxydierenden Stoffes („Ozonides“) die Beobachtung einer Bläuung verhindern kann, und endlich, daß der entstandene blaue Farbstoff unbeständig ist. Erst vor einigen Jahren aber hat Neumann-Wender⁴⁾ in einer Veröffentlichung der Chemikerzeitung und in der erwähnten Untersuchung die der praktischen Verwertung der Guajaktinktur entgegenstehenden Unstimmigkeiten durch Hervorhebung einiger interessanter Tatsachen über ihre Natur zu beseitigen gesucht. Schon durch die Untersuchungen Bourquelots⁵⁾ war erwiesen, daß eine ganze Reihe pharmazeutischer Tinkturen „beim Altern sich aktivieren“, d. h. die Fähigkeit gewinnen, kräftigere Oxydationswirkungen zu erzeugen als in frischem Zustand. Neumann-Wender zeigt nun, daß diese aktiven Stoffe durch Behandeln mit Wasser oder verdünnter Säure, oder durch Erhitzen zerstört werden können und beschreibt als charakteristische Reaktion auf solche Tinkturen eine der Storchschen analoge, in der das Hydroperoxyd durch aktive Tinktur ersetzt ist⁶⁾. Das hypothetische Peroxyd der Tinktur unterscheidet sich jedoch wesentlich von Hydroperoxyd und dessen Verhalten. Es verschwindet nach einiger Zeit wieder von selbst aus der Lösung, wodurch die Tinktur in ihren anfänglichen Zustand zurückkehrt. Ein helleres Licht werfen die Untersuchungen von L. Liebermann⁷⁾ auf die Vorgänge bei der Aktivierung der Guajaktinktur und bei ihrer Bläuung durch die Darstellung einer Analogie zwischen dem Verhalten von Platinsol und den die Guajakbläuung hervorrufenden Fermenten (pflanzlichen und tierischen Ursprungs) einerseits und zwischen dem Verhalten von Guajaktinktur und Terpentingöl andererseits. Wie er meint, daß die durch Platinsol bewirkbaren Oxydationen ihre beste Erklärung in der intermediären Bildung eines Platinoxid finden, so nimmt er auch für die Wirkung der organischen, Guajaktinktur bläuenden Fermente die Bildung eines „Fermentoxyds“ an. Hinsichtlich der zeitlichen spontanen Änderung der Guajaktinkturen kommt er zu der gleichen Auffassung wie Neumann-Wender. Doch muß betont werden, daß das hypothetische „Peroxyd“ auch nach seinen Versuchen die Reaktionen des Hydroperoxyds nicht zeigt, ein Peroxydcharakter von der Art

¹⁾ Zentralbl. 1892, S. 239 Vgl. auch Doebner u. Lücker, Arch. Pharm. **234** (1896), 599.

²⁾ Arch. Pharm. 1906, **244**, 90.

³⁾ Forschungsber. über Lebensmittel **3**, **1**, 1896.

⁴⁾ A. a. O.

⁵⁾ Vortrag intern. pharm. Kongreß 1900, Paris.

⁶⁾ Vgl. die Versuche von Carcano u. Liebermann. — A. a. O.

⁷⁾ Arch. f. g. Physiol. **104**, **119**, 1904.

des Hydroperoxyds mithin einigermaßen fraglich erscheint, daß andererseits von einer Isolierung des „Fermentoxyds“ keine Rede ist. Es hat daher auch Carlson¹⁾ neuerdings den Versuch gemacht, den Reaktionsmechanismus in einer ganz anderen, allerdings wenig einleuchtenden Weise darzustellen. Da die Beobachtung Siegfelds²⁾, daß eine Lösung aus Guajakharz in Äther von vornherein starke Aktivität besitzt, mit den dargestellten Annahmen Neumann-Wenders und L. Liebermanns, daß die spontane zeitliche Änderung von Guajaklösungen eine allgemeine, im wesentlichen vom Lösungsmittel unabhängige Eigenschaft des Harzes sei, im Widerspruch steht, wiederholt Arnost³⁾ Siegfelds Versuche, ohne ihr Ergebnis bestätigen zu können: Eine Lösung von Guajakonsäure in Äther zeigt ebenfalls die zeitlichen Änderungen.

Der Schluß, zu dem die vorstehend zusammengestellte Literaturübersicht berechtigt, scheint nun folgender. Während die Versuche, durch Benutzung bestimmter Harzmaterien, bestimmter Lösungsmittel, Abänderung der Reaktionsbedingungen usw. der Guajakreaktion eine sicherere Basis zu geben, versagten, hat die „Peroxydtheorie“ zweifellos die Angelegenheit in praktischer und theoretischer Hinsicht gefördert. Denn einerseits scheint der empfohlene Hydroperoxydzusatz bei der Reaktion tatsächlich ein sichereres Arbeiten mit der Tinktur zu gewährleisten und hat die Guajaktinktur als ein Glied in die Gruppe der Storch-Dupouyschen Reagenzien eingereiht, andererseits ist man nunmehr berechtigt, — was bisher nur vermutungsweise geschehen konnte, — für alle in Betracht kommende Reaktionen eine gemeinsame Ursache in einer bestimmten Eigenschaft der frischen Milch zu sehen. — Im folgenden ist zunächst versucht worden, diese Auffassung zu stützen, indem noch einmal die Eigenschaften des Guajakharzes einer sorgfältigen Prüfung unterzogen wurden. Das hierbei gewonnene Ergebnis ist kurz folgendes:

1. Das Guajakharz ist in Lösung, aber auch in trockenem Zustand (namentlich in feiner Verteilung) bei Zutritt von Licht und Luft einer allmählichen, für sein chemisches Verhalten charakteristischen Änderung unterworfen und zwar von der folgenden Art:

Das Guajakharz enthält einen autoxydablen Stoff, der befähigt ist, in trockenem Zustand in nur indirekt nachweisbaren, in Lösung in direkt nachweisbaren Mengen in einen sauerstoffhaltigen Körper überzugehen (A). Dieser Körper ist unbeständig und vermag die im Guajakharz enthaltene Guajakonsäure zu einem blauen Farbstoffe zu oxydieren (B). Dieser Farbstoff ist ziemlich beständig, wenn er in der Trockene entstanden ist, in Lösungen oder Emulsionszustand des Harzes zersetzt er sich leicht wieder in ein farbloses Produkt (C). Die genannten Reaktionen verlaufen freiwillig, aber langsam und mit solchen Geschwindigkeiten, daß es gelingt, nur geringe Mengen der sich bildenden Zwischenprodukte zu fassen. Das folgende Reaktionsschema gibt die Erscheinungen anschaulich wieder:

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie **43**, 69 (1906).

²⁾ A. a. O.

³⁾ Zeitschr. f. Unters. v. Nahrungs- u. Genußmitteln **10**, 538 (1905).

(A) Autoxydabler Stoff + Luft (im Licht) → sauerstoffhaltiger Körper (Peroxyd).

(B) Sauerstoffhaltiger Körper + Guajakonsäure → Guajakblau.

(C) Guajakblau → farbloses Produkt.

Aus diesem Verhalten ergeben sich die folgenden Zustände einer Guajakharz-
lösung von ihrer Bereitung an in zeitlicher Aufeinanderfolge:

Die Tinktur enthält:

I. Kein Peroxyd, aber Chromogen.

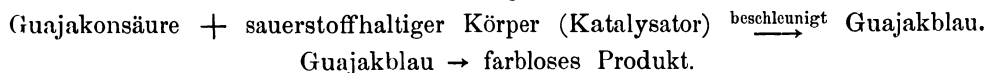
II. Peroxyd und Chromogen.

III. Kein Peroxyd und weniger Chromogen.

[IV. Weder Peroxyd noch Chromogen].

Es hat sich ergeben, daß Zustand IV nicht beobachtbar ist, daß also unter normalen Verhältnissen das Guajakharz einen großen Überschuß an Guajakonsäure enthält.

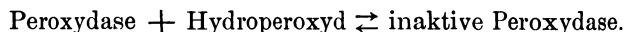
Durch gewisse katalytisch wirkende Stoffe, die auch in der Milch vorhanden sind, wird die Reaktion (B) außerordentlich beschleunigt, wodurch es zu einer Anhäufung des Reaktionsproduktes, mithin zu jener bekannten intensiven Bläuung der unter den Versuchsbedingungen gewöhnlich vorhandenen wässerigen Emulsion der Harzlösung kommt. Auch hier geht aber das Guajakblau in ein farbloses Produkt über, das wahrscheinlich zum Teil die zurückverwandelte Guajakonsäure ist. Damit würde also der Arnoldschen Probe das folgende Reaktionsschema zukommen:



2. Der sauerstoffhaltige Stoff, der aus einem Bestandteil des Harzes unter der Einwirkung der Luft entsteht, besitzt wenigstens bei Gegenwart von Wasser dem Hydroperoxyd analoge Eigenschaften, ist also als ein organisches Peroxyd anzusehen, das bei Gegenwart von Wasser zu Hydroperoxyd hydrolysiert.

Es besteht also eine vollkommene Analogie zwischen dem Vorgang der Bläuung der Guajaktinktur durch frische Milch und der Bläuung von p-Phenylendiamin bei Gegenwart von Hydroperoxyd durch frische Milch. Wir sind mithin berechtigt, für beide Reaktionen eine gemeinsame Ursache anzunehmen, die wir zunächst dahin zu deuten haben, daß sie in einer Eigenschaft der Milch besteht, die Oxydation eines Chromogens durch ein Peroxyd zu beschleunigen.

3. Eine nähere Betrachtung der Peroxydasereaktionen mit Hydroperoxyd als Sauerstoffspender führt zu der Annahme einer Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase, die ihren einfachsten Ausdruck in einer Nebenreaktion der folgenden Form findet:



Die beobachteten Erscheinungen bei Änderung der Versuchsbedingungen in der Peroxydasereaktion stehen mit dieser Tatsache in Einklang.

Diese eigentümliche Eigenschaft legte als eine weitere Aufgabe die Beantwortung der Frage nach der Natur des Trägers der Peroxydasefunktion in der Milch nahe, insbesondere seinen Anteil an den komplizierten Wechselwirkungen, die zwischen Milch und Hydroperoxyd bestehen.

Bevor jedoch auch hierzu zunächst die in der Literatur sich vorfindenden Befunde zusammengestellt werden sollen, mögen bei den Schwankungen in der Nomenklatur zur Vermeidung von Verwechslungen und Unklarheiten einige Definitionen angeführt werden.

Unter Oxydationsfermenten seien mit Schönbein solche verstanden, von denen die Annahme berechtigt erscheint, daß sie einen Oxydationsvorgang zwischen zwei Stoffen vermitteln (Induktion), bzw. beschleunigen (Katalyse), unter Katalase ein solches Ferment, das die Zersetzung von Hydroperoxyd in Wasser und Sauerstoff beschleunigt, unter Peroxydase endlich ein solches, das die Oxydation eines Stoffes durch Hydroperoxyd zu beschleunigen vermag.

Schon Schönbein¹⁾, der wohl zuerst Farbreaktionen zum Nachweis enzymatischer Wirkung benutzte, hat bei Beobachtung der Wechselwirkung zwischen Peroxyd und solchen Fermenten klar unterschieden zwischen einer einfachen Hydroperoxyd-Katalyse und der Peroxydaktivierung („Antozonaktivierung“), aber auch das charakteristische gleichzeitige Auftreten der beiden Funktionen nicht nur bei „vegetabilen Fermentmateriaen“, sondern auch beim Blutferment festgestellt. Die Tatsache, daß er sie auch bei dem nach seiner Überzeugung sicherlich stofflich einheitlichen fein verteilten Platin und dem basischen Bleiacetat vereinigt fand, bestimmte ihn zur Annahme eines einheitlichen Trägers beider Funktionen in der organischen Natur. Später hat sein Schüler Schär²⁾ gezeigt, daß in Hämoglobinlösung sich durch Einwirkung bestimmter Temperaturen und durch „Giftwirkung“ die Katalase vernichten ließe, ohne die Peroxydase in ihrer Wirkung zu beeinträchtigen. Aus einer späteren Arbeit³⁾ läßt sich nicht entnehmen, ob er diese Trennbarkeit für alle in Betracht kommenden Fälle annimmt. Erst Jacobson⁴⁾ scheint gezeigt zu haben, daß es durch Temperatureinfluß oder mit gewissen Fällungsreaktionen gelingt, die Katalase zu schwächen oder zu zerstören, ohne die Wirksamkeit der oxydierenden Fermente zu beeinträchtigen. Durch Raudnitz⁵⁾ Untersuchung wird das Vorhandensein spezifisch wirksamer Fermente in der Milch ziemlich wahrscheinlich. Er findet, daß zwar die Katalase allen von ihm untersuchten Milcharten zukommt, nicht aber die oxydierenden Enzyme, daß man da, wo beide Fermentarten vereinigt seien, durch bestimmte Fällungsreaktionen die beiden Funktionen trennen könne, und endlich, daß es nötig sei, zwischen typischen Peroxydasen und anderen Oxydationsfermenten zu unterscheiden. O. Loew⁶⁾ hält die Existenz von Katalasen für erwiesen; und den Arbeiten von Senter⁷⁾ über die katalytische Eigenschaft des Blutes, von Faitelowitz⁸⁾ und Reiß⁹⁾ über die Milch liegt die gleiche Auffassung zu-

¹⁾ Vergl. vor allem Chr. Fr. Schönbein: Von dem Vorkommen tätigen Sauerstoffs in organischen Materien, *Zeitschr. f. Biolog.* **3**, 325, 1867.

²⁾ *Zeitschr. f. Biolog.* **467**, 1870.

³⁾ *Forschungsber. über Lebensm.* **3**, 1 (1896).

⁴⁾ *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **16** (1892), 348.

⁵⁾ *Centralbl. f. Physiol.*, 1898, 760; *Zeitschr. f. Biolog.*, **42**, 91 (1901). Vergl. auch Spolverino, *Milchz.*, 1904, 404.

⁶⁾ *M. S. Depart. Agr. Rep. No. 68*, 1901; vergl. auch *Ber. d. d. chem. Gesellsch.*, **35**, 2487, 1901.

⁷⁾ *Zeitschr. f. phys. Chem.*, **44**, 257, 1903.

⁸⁾ *Dissertation*, Heidelberg 1904.

⁹⁾ *Zeitschr. f. klin. Med.*, **56**, 1, 1905.

grunde. Neumann-Wender¹⁾, der wie erwähnt, sich gleichfalls mit den enzymatischen Eigenschaften der Milch beschäftigt, kommt, gestützt auf die Erfahrungen Babcocks²⁾, der schon 1889 die Katalase-Eigenschaft der Milch beobachtete, ferner von Raudnitz³⁾, Loew⁴⁾, Babcock und Russell⁵⁾ zur Annahme dreier Milchenzyme. Im besonderen bestätigt er die Trennbarkeit der Katalase und Peroxydase. A. Bach und R. Chodat⁶⁾ gelingt gleichfalls bei ihren Versuchen über pflanzliche Fermente eine Trennung von Katalase und Peroxydase-Eigenschaften, die es ihnen ermöglicht, in künstlich hergestellten Gemischen von Katalase und Peroxydase ihre gegenseitige Beeinflussung zu studieren⁷⁾.

Endlich beschäftigen sich in neuester Zeit einige Autoren mit der bis dahin nur wenig erwogenen Möglichkeit, die bisher als Fermentwirkung in der Milch angesprochenen Erscheinungen auf die Lebenstätigkeit der in ihr enthaltenen Bakterienflora zurückzuführen. Beobachtungen, wie die von Vaudin⁸⁾, Winter-Blyth⁹⁾, Neißer und Wechsberg¹⁰⁾ einerseits, von Schardinger¹¹⁾ andererseits regten dazu an, zunächst gewissen reduzierenden Eigenschaften der Milch den anfangs vermuteten enzymatischen Charakter abzuspüren und bakterielle Ursachen anzunehmen. Smidt¹²⁾ kommt auf Grund seiner Versuche zu dem Ergebnis, daß die Reduktionserscheinungen bei Milch ein ziemlich kompliziertes Phänomen sind, sich zusammensetzend aus der Wirkung des Milchzuckers und anderer, beim Kochen entstehender reduzierender Stoffe, der sogenannten Aldehydkatalase (Schardingers Reagens: FM) und aus Bakterienwirkung (Reagens von Neißer und Wechsberg). Die Aldehydkatalase ist vielleicht mit der Katalase von Raudnitz identisch; die Peroxydase ist seiner Meinung nach sicher kein echtes Ferment. Im letzteren Punkt scheint ihm auch Seligmann¹³⁾ beizupflichten, doch bestreitet dieser die Existenz der Aldehydkatalase von Smidt und der Katalase von Raudnitz¹⁴⁾, Eigenschaften, die er als der Lebenstätigkeit gewisser Bakterienarten eigene und nicht als integrierenden Bestandteilen der Milch zukommende ansieht.

Der Stand des gegenwärtigen Wissens über die behandelte Frage ist also etwa folgender: Die interessante Tatsache, daß in vielen Stoffen pflanzlicher und tierischer

¹⁾ a. a. O.

²⁾ Agr. Exp. Stat. Univ. of Wisconsin 1889.

³⁾ a. a. O.

⁴⁾ a. a. O.

⁵⁾ Anorg. Ferments of milk, Wisconsin 1897.

⁶⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. 1902—1904.

⁷⁾ R. Chodat, Les ferments oxydants, Journ. Suisse de Chim. et Pharm., 1905, No. 46 u. 48. A. Bach, Ber. d. d. chem. Gesellsch., 1906, 1670. P. Neuhaus, Rep. Chem. Zeitg., 1906, S. 96.

⁸⁾ Repert. d. Pharm., 1897, 538.

⁹⁾ The Analyst, 26, 148.

¹⁰⁾ Münch. med. Wochenschr., 1901, No. 37.

¹¹⁾ Zeitschr. Unters. Nahrungs- u. Genußm., 1902, S. 1113; Chem. Zeitg., 28, 1904, 704.

¹²⁾ Hyg. Rundschau, 13, 1137, 1904; Arch. f. Hyg., 58, 313 (1906). Vergl. auch A. F. Hecht, Arch. f. Kinderheilkunde, 38, 349 (1904).

¹³⁾ Zeitschr. Hyg. u. Inf., 49, 325, (1905); 50, 102, (1905); 52, 161, (1906).

¹⁴⁾ Vergl. dagegen E. Reiß, a. a. O.

Herkunft die Eigenschaften, Hydroperoxyd zu aktivieren und zu zersetzen gleichzeitig angetroffen werden, hat doch entgegen der Betrachtungsweise Schönbeins auch bei der Milch zur Annahme zweier Fermente geführt. Es muß betont werden, daß diese der gewichtigen Stimme Schönbeins entgegenstehende Auffassung für die Milch keineswegs als vollständig erwiesen zu erachten ist, und zwar aus folgenden Gründen. 1. Es ist bisher nicht gelungen, die Katalase zu „isolieren“. 2. Die Methoden, welche zu einer solchen Trennung der Milchbestandteile geführt haben, daß der eine Teil nur noch die katalytische, der andere nur noch die aktivierende Eigenschaft der Milch besaß, sind keineswegs derart, daß sie die Spaltung eines einheitlichen Trägers in allen Fällen ausschließen. 3. Neueste bakteriologische Befunde stellen die Existenz der Katalase überhaupt in Frage. Mit der Katalase ist aber auch die Peroxydase in Zweifel gestellt.

Es ergibt sich also, daß auch eine erneute Untersuchung über die Peroxydase der Milch als Fermenteigenschaft wünschenswert erscheint, insbesondere über ihre Beziehung zu den katalytischen Eigenschaften, wozu die oben festgestellte Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase eine gewisse Richtung angibt, in der die Prüfung zu erfolgen hat. Das Ergebnis, zu dem meine Versuche führen, mag auch hier vorweg genommen werden:

Der die zur Untersuchung stehenden Farbreaktionen auf frische Milch beschleunigende Katalysator ist in seiner Wirksamkeit nicht gebunden an die Tätigkeit von Mikroorganismen. Er ist in dem Serum verschiedener Herstellungsweise gelöst enthalten und kann in völlig trockenem Zustand gewonnen werden, ohne seine Peroxydase-Eigenschaft zu verlieren. In Lösung sowohl (unter gewissen Vorsichtsmaßregeln) als in trockenem Zustand ist er ziemlich beständig. Ob diese Eigenschaft zusammen mit der beschleunigenden Wirkung auf die genannten Reaktionen (über die Größe des Umsatzes ist nichts bekannt), genügt, um die Peroxydase als Ferment zu bezeichnen, bleibt dahingestellt und ist eine Frage der Definition der Fermente überhaupt.

Auch die katalytischen Eigenschaften der Milch scheinen in erster Linie einem integrierenden Bestandteil derselben zuzukommen, dessen Wirksamkeit unabhängig ist von einer Lebenstätigkeit. Daß die sich in der Milch entwickelnde Bakterienflora unter normalen Bedingungen Hydroperoxyd katalytisch zersetzt, wird bestätigt.

Die festgestellte Steigerung der Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase mit der Temperatur, die schon bei 50° zur Zerstörung der Peroxydase durch sehr geringe Hydroperoxydmengen führt, findet sich bei Katalase und Reduktase (Schar- dingers Reagenz) nicht in dem Maße wieder.

Diese Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase besteht unabhängig davon, ob die Lösung gleichzeitig die Katalase- bzw. Reduktase-Eigenschaften besitzt.

Sie steht auch in keinem Zusammenhang mit der Hitzekoagulation des Milch- albumins (Rubners Reaktion).

Sie zeigt sich auch an der Peroxydase, die sich in wässrigen Lösungen von Lintnerscher Diastase vorfindet.

Bei niederen Temperaturen ist die Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase so gering, daß die Milch große Mengen von Hydroperoxyd zu zersetzen vermag, ohne daß die Peroxydase zerstört wird.

Diese Tatsachen sind geeignet, die Auffassung zu bekräftigen, daß die Peroxydasefunktion der Milch einem besonderen Träger mit ganz spezifischen Eigenschaften zukommt, und daß die für das Verhalten des Hydroperoxyds bei den Peroxydasereaktionen erforderliche Annahme einer Nebenreaktion vollste Berechtigung hat.

II. Methodisches.

Die für die Versuche erforderliche Milch war eine Abend-Mischmilch und wurde allmorgendlich von derselben Bezugsquelle beschafft und stets vor ihrer Verwendung auf ihre äußere Beschaffenheit geprüft. Nie kam, wenn nicht ausdrücklich angegeben, Milch zur Verwendung, die länger als etwa 4 Stunden nach dem Ankauf im Eisschrank gestanden hatte. War es nötig, zu einer Versuchsreihe Milch längere Zeit im Zimmer aufzubewahren, so geschah es in einem in Eis verpackten, verschlossenen, ausgedämpften Glasgefäß. Überhaupt wurden sämtliche Gefäße, die zu Versuchen von einiger Dauer Verwendung fanden, kurz vor dem Gebrauch einer längeren Behandlung mit dem Dampf kochenden Wassers unterzogen. Es versteht sich von selbst, daß zu einer Versuchsreihe die gut durchmischte Milch derselben Ankaufprobe benutzt wurde. Eine erforderliche Erwärmung der Milch geschah je nach der Menge in dünnwandigen Reagenzgläsern oder Erlenmeyerkölbchen in Wasserthermostaten. Als solche dienten große Wasserbäder, die durch eine kleine vor Windzug geschützte Flamme bis zu Temperaturen von 70° bequem auf einer etwa innerhalb eines Grades konstanten Temperatur während der Versuchsdauer gehalten werden konnten. Überstieg die Versuchsdauer 6 Stunden, so wurde die Erwärmung der Milch, wie z. B. bei den Versuchen betr. die Hydroperoxyd-Zersetzung bei erhöhter Temperatur in mit Thermoregulator beschickten Thermostaten vorgenommen. Die Temperaturmessung erfolgte durch ein in der Milch befindliches Thermometer, das Anwärmen im siedenden Wasserbad unter kräftigem Rühren, bis die Milch gerade die gewünschte Temperatur angenommen hatte, und schnelles Überführen in den Thermostaten, die Abkühlung endlich durch Einführung des Kölbchens in Eiswasser und kräftiges Rühren. Die Erhitzungsdauer wurde gerechnet von dem Zeitpunkt, in dem gerade die gewünschte Temperatur erreicht war, bis zu dem, in welchem die Milch in das Eiswasser überführt wurde. Sollten aus einer auf konstante Temperatur erhitzten Milchprobe von Zeit zu Zeit Proben entnommen werden, so geschah dies mit einer sorgfältig gereinigten und mit Wasserdampf behandelten Pipette und Einfließenlassen des Inhalts in ein mit Eiswasser vorgekühltes Reagenzrohr.

Die Prüfung mit den Reagenzien erfolgte immer bei 20° (mit den Schardingerschen Reagenzien bei 45°). War die Milch kälter, so wurde sie rasch bis zu dieser Temperatur angewärmt, aber immer nur in solcher Menge, als zu der sofort anzustellenden Prüfung erforderlich war. Zu jedem Versuch wurde 5 oder 10 ccm Milch bzw. Fermentlösung angewandt. Der Zusatz der Reagenzien erfolgte aus Tropf-

fläschchen von möglichst gleicher Form und Größe¹⁾. Im allgemeinen wurde zunächst zur Fermentlösung das Hydroperoxyd zugegeben, umgeschüttelt und dann der Chromogenzusatz gemacht, gewöhnlich derart, daß ich abwechselnd in die beiden zu vergleichenden Proben Tropfen ohne Mischung einlaufen ließ. Schließlich wurde für beide Proben völlig gleichzeitig die Mischung der Reaktionskomponenten vorgenommen. Bei der Guajakprobe wurde meist die Harzlösung in der abgemessenen Menge in zwei weitere Reagenzröhrchen gebracht und dann die Ferment- bzw. Ferment-Hydroperoxydlösung in starkem Strom zugegossen, wodurch die Mischung noch schneller und gleichzeitiger zu erreichen war.

Bei den Versuchen über die Zersetzung des Hydroperoxyds in der Milch wurden mit einem Wattebausch verschlossene, gut ausgedämpfte Kölbchen benutzt, aus denen Proben von Zeit zu Zeit mit einer sterilen Pipette entnommen wurden. Da bei der Lüftung des Wattebausches eine Luftinfektion nicht ausgeschlossen werden konnte, so wurden Kontrollversuche auch derart vorgenommen, daß die zu untersuchende Milch von vornherein in soviel Kölbchen verteilt wurde, als Prüfungen vorgenommen werden sollten. Der Hydroperoxydzusatz erfolgte aus einer graduierten Bürette oder tropfenweise in verschiedenen Konzentrationen. Seinen Nachweis gestattete mit genügender Genauigkeit die Titansäurereaktion, wobei zum Vergleich der Farbnuance stets eine mit Titansäure versetzte peroxydfreie Milch herangezogen wurde²⁾. Außerdem bietet ein Gemisch von Paraphenyldiaminchlorhydrat und Peroxydase bei nicht zu großen Hydroperoxydkonzentrationen ein sehr empfindliches Reagenz auf letztere Verbindung.

Bei den Versuchen, die ausdrücklich zu dem Zwecke angestellt waren, die Entscheidung zu liefern, ob für die Reaktionen bakterielle oder enzymatische Ursachen anzunehmen seien, konnte bei dem oben erwähnten Reinigungsverfahren nicht stehen geblieben werden, sondern die Säuberung geschah auf folgende Weise: Die Gefäße und Geräte wurden zunächst mit einem Chromsäure-Schwefelsäuregemisch behandelt, dann 1—2 Stunden im Dampfstrom, und schließlich sofort mit einem Wattebausch verschlossen 1—2 Stunden im Trockenschrank auf 150° erhitzt.

III. Versuche über die Peroxydasereaktionen.

In der eingangs erwähnten Literatur finden sich abweichende Angaben über den Einfluß des einen oder anderen Faktors bei der Bereitung der Guajaklösung und bei Ausführung der Reaktion auf das tatsächliche Ergebnis der Versuche. So empfiehlt Carcano die Verwendung von käuflichem Harz, Glage und Schär z. B. käufliches

¹⁾ Es sei erwähnt, daß trotzdem die Tropfengröße der verschiedenen Flüssigkeiten infolge stark wechselnder Oberflächenspannung wesentlich verschieden ausfiel. Zur ungefähren Orientierung hierüber diene folgende Angabe:

3% ige wässrige Hydroperoxydlösung:	13 Tropfen = 1 ccm
2% iges wässriges p-Phenyldiamin:	15 „ = 1 „
20% ige alkohol. Guajaklösung:	38 „ = 1 „

²⁾ Dies wurde durch Vergleich mit dem von Chick (Centralbl. f. Bakt., 7, 705, 1901) empfohlenen Nachweis von Hydroperoxyd in Milch mit Jodkali im Serum festgestellt. Vergl. auch Utz, Milchwirtschaftl. Centralbl., 1, 175, 1905.

Holz, Zink kehrt zur Verwendung von Harz zurück. Als Lösungsmittel verwendet Arnold zunächst Alkohol, später Aceton, das auch Siegfeld empfiehlt, da es von vornherein aktive Lösung liefere, Zink und Arnost kehren zum Alkohol zurück und auch T. Wagner¹⁾ zieht es dem Aceton vor. Es schien daher zweckmäßig einige Versuche hierüber anzustellen.

1. „Holzlösung“ oder „Harzlösung“?

Soweit meine Versuche reichen, erwies sich die Art des verwendeten Guajaks als unwesentlich. Jedenfalls traten keine Verschiedenheiten im Ausfall der Reaktion ein, die nicht einfach auf Verschiedenheit in der Konzentration der wirksamen Substanz und der unwesentlichen Stoffe, deren das Harz eine große Menge enthält, hätten zurückgeführt werden können. Dies galt, wenn z. B. alkoholische Lösung aus verschiedenen Sorten käuflichen Holzes und Harzes hergestellt wurden. Von Probe zu Probe zeigte sich des primäre und zeitliche Verhalten fast stets mehr oder weniger verschieden, doch konnten Gesetzmäßigkeiten hierbei nicht aufgefunden werden. Käufliche Lösungen zeigten ein sehr verschiedenes Verhalten, wie das ja schon wiederholt festgestellt worden ist. Ein grundsätzlicher Unterschied von Harz- und Holzlösungen konnte jedoch auch hier nicht beobachtet werden.

2. Art des Lösungsmittels.

Von den in der Literatur angeführten Lösungsmitteln habe ich mich auf Alkohol, Äther und Aceton beschränkt. Die Forderungen, die man von vornherein an das Lösungsmittel stellen konnte, um ein empfindliches Reagenz zu erzielen, scheinen folgende:

1. Es muß die wirksamen Bestandteile des Harzes in möglichst hoher Konzentration lösen,
2. die unwirksamen, die Farbreaktion verdeckenden, in möglichst geringer.
3. Es muß möglichst beständige d. h. Lösungen konstanter Aktivität liefern,
4. eine möglichst vollständige Mischung der wirksamen Bestandteile mit der Enzymlösung gestatten.

Es soll von vornherein festgestellt werden, daß bezüglich des Punktes 3 die Untersuchung ergab, daß sämtliche Lösungen zeitlichen Änderungen unterworfen waren, danach auch dem Aceton eine Sonderstellung nicht zugewiesen werden kann. Im Gegensatz zu Siegfeld beobachtete ich sogar, daß eine Acetonlösung bereitet aus frisch gepulvertem Harz sich langsamer aktivierte als eine in genau der gleichen Weise hergestellte und aufbewahrte alkoholische Lösung²⁾. Bezüglich des Punktes 1 verweisen die Feststellungen Richters über die Löslichkeit der α -Guajaksäure auf den Alkohol. Seine Mischbarkeit mit dem wässerigen Serum gibt ihm einen weiteren Vorteil vor dem Äther, der nach Richter die α -Guajakonsäure nur unvollkommen löst. Allerdings löst der Alkohol offenbar auch in großer Menge die stark braungefärbten unwesentlichen Bestandteile, doch ist von ihrer farbeverdeckenden Wirkung nicht allzuviel zu befürchten, da die bei der Reaktion entstehende Emulsion

¹⁾ Zeitschr. Unters. Nahrungs- und Genußm. 8, 378, 1904.

²⁾ Vergl. Arnost, a. a. O.

des Harzes infolge ihrer feinen Verteilung eine fast weiße Farbe annimmt. Zweckmäßig erscheint es jedoch die alkoholische Lösung nicht konzentrierter als von 5—10% zu verwenden, doch liefert auch die vielfach benutzte 20%ige Lösung ein brauchbares Reagenz.

Ich habe mich daher in den folgenden Versuchen, wenn nicht ausdrücklich anderes angegeben, auf die Verwendung von alkoholischer Lösung aus käuflichem Harz beschränkt¹⁾.

Die von den Autoren beobachteten abweichenden Befunde scheinen hingegen eine Aufklärung zu finden, wenn man die Versuche in einer anderen Richtung vornimmt.

3. Einfluß der „Vorgeschichte“ des trockenen Harzes.

Ich bereitete aus Harzstücken sofort nach dem Pulvern und aus käuflichem Harzpulver derselben Bezugsquelle in genau der gleichen Weise alkoholische Lösungen und prüfte sie sofort: die aus Harzstücken bereitete Lösung zeigte sich gänzlich inaktiv²⁾, die aus käuflichem Pulver von vornherein schwach aber merklich aktiv. Besonders charakteristisch zeigten sich aber die Unterschiede, wenn man die Menge Hydroperoxyd betrachtet, die erforderlich war, um unter sonst gleichen Bedingungen der Tinktur die größte Aktivität zu geben. Läßt man die Lösungen etwa acht Tage unter denselben Bedingungen stehen, so kehren sich die Verhältnisse um: man hat aber wiederum Lösungen von gänzlich verschiedenartigem Verhalten. Tabelle I erläutert das Gesagte im einzelnen. Die Erklärung dieses Verhaltens werden spätere Versuche ergeben. Vorläufig möge nur das unterschiedliche Verhalten der beiden Tinkturen überhaupt im Auge behalten werden.

Tabelle I. Unterschied im Verhalten von Guajak-tinkturen gegen frische Milch und Hydroperoxyd, je nachdem sie aus käuflichem Pulver oder aus käuflichen Harzstücken bereitet sind.

Verwendete Milchmenge: 10 ccm.

„ Guajakharzlösung: 20 Tropfen einer 20%igen Lösung.

Zeit der Untersuchung: 8 Tage nach der Bereitung.

Hydroperoxydzusatz	Tinktur aus käuflichem Pulver reagiert	Tinktur aus käuflichen Harzstücken reagiert
0	negativ	stark positiv
1 Tropfen 0,03 %—H ₂ O ₂	desgl.	langsamer, aber schließlich intensiver
2 „ 0,03 % „ „	desgl.	desgl.
1 „ 0,3 % „ „	schwach positiv	} mit wachsendem Hydroperoxydzusatz zunehmende Schwächung
2 „ 0,3 % „ „	stark positiv	
3 „ 0,3 % „ „	desgl.	

¹⁾ Vergl. T. Wagner, Zeitschr. Unters. Nahrungs- und Genußmittel 8, 378, 1904.

²⁾ Unter einer aktiven Tinktur wird hier und im folgenden eine solche verstanden, die sich mit einer Peroxydlösung zusammengebracht ohne Hydroperoxydzusatz bläut, unter einer inaktiven eine solche, bei der unter diesen Verhältnissen nicht, wohl aber bei Anwesenheit von Hydroperoxyd die Bläuung eintritt.

Ein weiterer Versuch war der folgende: Es wurde eine große Menge fester Harzstücke möglichst fein gepulvert, der eine Teil in möglichst dünner Schicht der Einwirkung von Licht und Luft ausgesetzt, ein anderer in geschlossenem Gefäß vor Licht geschützt aufbewahrt. Nach einigen Wochen wurden Lösungen gleicher Konzentration in der gleichen, in der folgenden Tabelle dargestellten Weise geprüft.

Tabelle II. Unterschied im Verhalten von Guajak tinkturen gegen frische Milch und Hydroperoxyd, je nachdem sie aus in verschlossenem Gefäße einige Zeit aufbewahrt oder aus während der gleichen Zeit dem Licht und der Luft ausgesetztem Harzpulver bereitet wurden.

Verwendete Milchmenge: 5 ccm.

„ Guajaklösung: 10 Tropfen einer 20 %igen Lösung.

Zeit der Untersuchung	1. Guajakharzlösung aus „belichtetem“ Harzpulver reagiert			2. Guajakharzlösung aus „nicht belichtetem“ Harzpulver reagiert:		
	ohne H ₂ O ₂	mit 1 Tropfen 0,3 %—H ₂ O ₂	mit 1 Tropfen 3,0 %—H ₂ O ₂	ohne H ₂ O ₂	mit 1 Tropfen 0,3 %—H ₂ O ₂	mit 1 Tropfen 3,0 %—H ₂ O ₂
Sofort nach der Bereitung	negativ	positiv	nach langer Zeit positiv	negativ	stärker als 1	schwächer als 1
2 Tage nach der Bereitung	sehr schwach positiv	desgl.	desgl.	stärker als 1	schwächer als 1	desgl.

Das Ergebnis ist folgendes: Beide Lösungen sind zunächst inaktiv, aber sowohl in dem Grad der Aktivierung als in ihrem Verhalten zu H₂O₂ zeigen sie sich wesentlich verschieden. Auch auf diesen Versuch wird noch an anderer Stelle zurückzukommen sein (vergl. S. 73 und 74).

Endlich wurde noch geprüft, ob die Herstellungsweise der Lösung Unterschiede in ihrem Verhalten bedingen kann. Es ergab sich, daß unter Ausschluß von Licht und Luft bei der Herstellung die gewonnene Lösung sich unter gleichen Bedingungen der Aufbewahrung langsamer aktiviert.

Tabelle III. Unterschied im Verhalten zweier Guajakharzlösungen gegen frische Milch, von denen die eine unter möglichstem Ausschluß der Einwirkung von Licht und Luft, die andere auf gewöhnliche Weise hergestellt ist, nach Aufbewahren in verschlossenem Gefäß unter gleichen Bedingungen.

Zeit der Untersuchung	Die auf gewöhnlichem Weg bereitete Tinktur reagiert mit frischer Milch	Die unter Ausschluß von Licht und Luft hergestellte Tinktur reagiert mit frischer Milch
Nach 1 Tag Nach 6 Tagen	schwach positiv stark positiv	negativ schwach positiv

Damit ist festgestellt, daß das Guajakharz schon in fester Form Änderungen erfahren kann, die das Verhalten seiner Lösungen bei der Farbreaktion mit Milch beeinflussen.

4. Zeitliche Änderungen im Verhalten der Lösungen.

Schon Schönbein und nach ihm Schär haben das veränderliche Verhalten von Guajaktinkturen gegenüber Oxydationsfermenten gekannt und beschrieben. Bourquelot hat dann, wie erwähnt, vor einigen Jahren die spontane zeitliche Änderung oxydierender Eigenschaften als eine bei vielen verschiedenartigen pharmazeutischen Tinkturen auftretende Erscheinung gekennzeichnet. Neuerdings haben sich Neumann-Wender¹⁾, Siegfeld, Liebermann und Zink mit dieser Eigenschaft der Guajaktinkturen befaßt, ohne augenscheinlich zu derselben Auffassung über ihre Ursache zu gelangen. Neumann-Wender und Liebermann gelang es, — dem einen durch Behandeln der Tinktur mit verdünnter Säure oder Erhitzen, dem andern durch Eindampfen und Wiederaufnahme des Rückstandes mit Alkohol — die „Aktivität“ der Lösung zu vernichten; während jedoch Neumann-Wender einerseits zeigte, daß Hydroperoxyd Zusatz inaktive Tinktur reaktivierte, andererseits ein Zusatz von aktiver Tinktur zu einem Gemisch von Oxydationsferment und Chromogen die Farbreaktion auslöste wie Hydroperoxyd, gelingt es Liebermann nicht in der aktiven Tinktur einen Hydroperoxyd ähnlichen oder Hydroperoxyd liefernden Stoff nachzuweisen. Während ferner Zink die Ansicht auf Grund seiner Versuche vertritt, daß eine Tinktur beliebigen Alters und unabhängig vom Lösungsmittel durch Hydroperoxyd in gewissem Zusatz reaktivierbar sei, scheint Siegfeld die Anschauung zu vertreten, daß eine spezifische Wirkung des Lösungsmittels besteht, und daß bei Tinkturen, die durch Altern ihre Aktivität spontan eingebüßt hatten, letztere durch Hydroperoxydzusatz nicht wieder zu erreichen sei.

Mein Befund ist der folgende: Sämtlich von mir bereitete Guajakharzlösungen zeigen ziemlich unabhängig vom Lösungsmittel von ihrer Bereitung ab qualitativ das gleiche zeitliche Verhalten. Sie hatten zunächst eine geringe oder keine Aktivität, aktivierten sich allmählich bis zu einem Maximum und verloren schließlich die Aktivität wieder. Durch Aufbewahrung im Dunkeln, Verwendung gelber Flaschen, unter gutem Luftabschluß wurden diese Änderungen verzögert, mittels Durchleitens von Luft (der Luftstrom wurde vorher mit Alkoholdampf gesättigt, um Konzentrationsänderungen möglichst zu vermeiden), durch bloßes Stehen in offenen Gefäßen, besonders bei gleichzeitiger Insolation, beschleunigt. Setzte ich die wässrige, ziemlich weiß gefärbte Emulsion einer aktiven Guajakharzlösung dem Lichte aus, so konnte eine spontane schwache Bläuung beobachtet werden. Dasselbe konnte direkt bemerkt werden in der wenig gelb gefärbten ätherischen Harzlösung. Waren aktive Lösungen durch langes Stehen in verschlossenen Gefäßen inaktiv geworden, so konnten sie im allgemeinen durch Stehenlassen in offenem Becherglas am Licht wieder reaktiviert werden; jedoch konnte dieser Vorgang nicht unbegrenzt wiederholt werden. Es trat ein Zustand

¹⁾ Chem. Zeitung 1902, 1217 u. 1221.

ein, indem eine Aktivierung nicht mehr möglich war. Immer aber konnte durch Hydroperoxydzusatz eine Guajaktinktur wieder aktiv gemacht werden.

Stellt man diese Tatsachen mit der von Neumann-Wender und Liebermann übereinstimmend festgestellten Vernichtbarkeit der Aktivität, ferner mit den Befunden zusammen, die über die Veränderung des festen Harzes gemacht wurden, so ergibt sich, daß in dem Guajakharz spontan zwei Körper unter Einfluß der atmosphärischen Luft entstehen und wieder verschwinden, nämlich der bei der Peroxydase-reaktion entstehende blaue Farbstoff und andererseits ein Stoff, der in der Peroxydase-reaktion durch Hydroperoxyd ersetzbar ist. Wir wissen ferner, daß das Chromogen nicht gänzlich in der Lösung verbraucht wird, und endlich daß in der Peroxydase-reaktion (bei Gegenwart des Fermentes) wenigstens ein genetischer Zusammenhang besteht zwischen Hydroperoxyd bzw. den die Aktivität hervorrufenden Körper in der Tinktur und dem blauen Farbstoff. Es entstanden die Fragen: Ist die spontane Bläuung in der gleichen Weise abhängig von dem „Peroxyd“ und läßt sich also in der aktiven Lösung ein Stoff von dem Charakter des Hydroperoxydes nachweisen? Beide Fragen sind zu bejahen, und zwar erstere auf Grund folgender Befunde:

1. Nur solche ätherische Lösungen zeigten im Licht spontane Bläuung, die sich mit Milch ohne Hydroperoxydzusatz bläuten.

2. Goß man geringe Mengen verschiedener Tinkturen auf ascharmes Filtrierpapier (von Schleicher und Schüll) und ließ die Lösungen darauf eintrocknen, so trat bei stark aktiven Lösungen in kurzer Zeit starke Bläuung ein, die durch Hydroperoxydzusatz sich noch weiter beschleunigen ließ, bei inaktiven, aber noch aktivierbaren Lösungen trat sie zwar auch allmählich, aber viel langsamer auf, bei nicht mehr aktivierbaren Lösungen in nur verschwindender Weise. Durch Hydroperoxyd konnte aber wieder eine Bläuung, wenn auch nur schwach, bewirkt werden.

Dies erklärt sich wiederum aus der vielfach festgestellten Unbeständigkeit des blauen Farbstoffes, von der Richter zeigte, daß sie in einer Rückverwandlung des Blaus in die α -Guajakonsäure besteht.

Ob diese Rückverwandlung des Guajakblaus in das farblose Chromogen eine quantitative ist, wie Richter beim Erhitzen des Farbstoffes gefunden zu haben glaubt, ist für diesen Fall fraglich, da durch Hydroperoxyd tatsächlich die Bläuungsintensität der noch nicht „gealterten“ Tinktur nicht wieder zu erzielen ist, was dafür sprechen würde, daß Chromogen unwiederbringlich zerstört ist. Auch bei der Peroxydasereaktion gibt eine ganz frische Tinktur unter den optimalen Bedingungen der Peroxydkonzentration (s. später) eine intensivere Bläuung entsprechend einem höheren Chromogengehalt als eine alte. Die Entbläuung bei der Peroxydasereaktion selbst besteht sicherlich nicht nur in einer Rückverwandlung in das Chromogen, wie ein sehr einfacher Versuch lehrt. Setzt man zu der vollständig entbläuten Milch-Guajaktinktur Mischung eine Hydroperoxydlösung, so tritt keineswegs erneute Bläuung in der alten Stärke ein, sondern diese erfolgt erst, wenn neue Guajaktinktur zugefügt wird. — Beachtenswert ist die Beständigkeit der Bläuung, wenn man diese durch Eintrocknen von einer Lösung auf Filtrierpapier erzeugt.

3. Es müssen die Ergebnisse der Versuche in Tabelle II dahin gedeutet werden, daß mit der spontanen Bläuung des Pulvers ein Verlust an dem autoxydablen Stoff eingetreten ist.

Zur Beantwortung der zweiten Frage konnte im Gegensatz zu dem Befund von Leo Liebermann festgestellt werden, daß die aktive Tinktur einen peroxydartigen Körper enthält. Nachstehende Tabelle enthält die charakteristischen Versuche:

Tabelle IIIa.

1. Eine ätherische Guajakharzlösung, die durch frische Milch ohne Hydroperoxydzusatz gebläut wird, enthält nachweislich einen peroxydartigen Körper.
2. Durch Belichtung nimmt mit steigender Aktivität der Lösung die Menge des peroxyartigen Stoffes zu.

	Ätherische Lösung reagiert mit	Wässrige Ausschüttelung der ätherischen Lösung reagiert mit	
	frischer Milch	Titansäure	Frischer Milch + p-Phenylendiamin
Vor der Belichtung	schwach positiv	schwach	sehr schwach
Nach der Belichtung	stärker positiv	stärker	etwas stärker

Tabelle IIIb.

Bei der Einwirkung zerstreuten Tageslichts auf ätherische Guajakharzlösung beobachtet man eine spontane Bläuung, die allmählich wieder verschwindet. Die bläuliche Lösung zeigt den größten Gehalt an dem peroxyartigen Körper.

	Ätherische Lösung ist gefärbt	Wässrige Ausschüttelung der Ätherlösung		
		erscheint	reagiert mit	
			Titansäure	Diastase + p-Phenylendiamin
I. Nach 14 tägigem Aufbewahren im Dunkeln	gelblich	farblos	sehr schwach positiv	sehr schwach positiv
II. nach 3 tägiger Einwirkung vom Tageslicht	bläulich	farblos	stark positiv	positiv
III. nach 14 tägiger Einwirkung vom Tageslicht	gelblich	gelblich	schwächer positiv	positiv

Die wässrigen Ausschüttelungen von II und III entfärbten geringe Mengen von Permanganat augenblicklich, die Ausschüttelung von II gab auch die Chromsäurereaktion.

Die wässrige Ausschüttelung einer aktiven ätherischen Tinktur zeigt also die charakteristischen Reaktionen des Hydroperoxyd. Ob diese Reaktionen einem organischen in das Wasser übergelenden Peroxyd oder dem durch etwaige Hydrolyse entstandenen Hydroperoxyd zukommen¹⁾, bleibt dahin gestellt, betont sei jedenfalls, daß sowohl hier als bei der üblichen Ausführung der Peroxydasereaktion die Möglichkeit einer solchen Hydrolyse vorhanden scheint.

¹⁾ Vergl. C. Engler u. I. Weissberg, Kritische Studien über die Vorgänge der Autoxydation 1904, S. 40 f.: Fall IIa und IIb, Bildung sekundären Peroxyds durch partielle oder vollständige Verseifung.

Fassen wir die beobachteten Tatsachen mit den Befunden der anderen Autoren, so weit sie bestätigt werden konnten, zusammen, so verhält sich das Guajakharz so, als wenn sich drei aneinander „gekoppelte“ Reaktionen in ihm abspielten. Ein autoxydabler Stoff geht unter der Wirkung von Licht und Luft in ein Peroxyd über, das wiederum die α -Guajakonsäure zu dem blauen Farbstoff oxydiert¹⁾, der endlich in ein farbloses Produkt sich verwandelt. Der Vorgang II wird durch gewisse Katalysatoren beschleunigt und ergibt so die bekannte Farbreaktion.

Wäre diese Auffassung richtig, so müßte Vermehrung der Konzentration eines der wirksamen Stoffe, z. B. des Hydroperoxyds, die Reaktion beschleunigen. Dies ist nun nach den Versuchen Zinks nicht in unbeschränktem Maße der Fall, der feststellen konnte, daß gewisse Mengen Hydroperoxyd die Farbreaktion hemmen, größere sie sogar aufheben können. Aus diesem Grunde geschah es wohl, daß gewisse Autoren²⁾ die Verwendung des Hydroperoxyds verwerfen und einen Zusatz aktiven Terpentinöls³⁾ empfehlen.

5. Wirkung des Peroxyds auf die Peroxydase.

Die im folgenden beschriebenen Versuche zeigen nun, daß unbeschadet der oben dem Hydroperoxyd zugeschriebenen Rolle eine Wirkung des Hydroperoxyds auf die Peroxydase in dem Sinne vorliegt, daß ihre Peroxydase-Funktion geschwächt wird. Die Annahme dieser Tatsache genügt, um sämtliche für die Reaktion in Frage kommenden Erscheinungen zu erklären.

Führt man nämlich die Mischungsreaktion derart aus, daß man zu konstanter Peroxydase-(Milch)-Menge und konstanter Guajakmenge unter Verwendung verschiedenartiger Lösungen von 0 an wachsende Mengen Hydroperoxyds hinzufügt, so ergeben sich die folgenden charakteristischen Fälle:

- Nr. 1 Inaktive Tinktur ohne Hydroperoxyd: Keine Bläuung.
- Nr. 2 Schwach aktive Tinktur ohne Hydroperoxyd: Momentane, rasch verschwindende schwache Bläuung.
- Nr. 3 Stark aktive Tinktur ohne Hydroperoxyd: Fast momentane, langsamer verschwindende starke Bläuung.

Bei Zusatz von Hydroperoxyd:

- Nr. 4 Beliebige aktive Tinktur mit sehr wenig Hydroperoxyd: Beschleunigung der Bläuung, stärkste Bläuung intensiver als ohne Hydroperoxyd.

¹⁾ Vgl. hierzu Englers und Weissbergs zitierte Schrift, S. 40. — E. Bauer (Zeitschr. f. angew. Chemie 1902, Heft 3) betont, daß grundsätzlich dem Peroxyd kein höheres Oxydationspotential zukommen kann, als dem Sauerstoff der Luft, falls es sich bei dem Oxydationsvorgang in den autoxydablen Stoff zurückverwandelt, mithin nur Unterschiede in den Reaktionsgeschwindigkeiten den „Umweg“ erklären, daß hingegen intermediäre Bildung von Hydroperoxyd bei Gegenwart von Feuchtigkeit eine Erklärung in anderer Weise gestatten (vgl. S. 57). Es ist aber eben ein anderer Zerfall des Peroxyds möglich, der eine Erhöhung des Oxydationspotentials ermöglicht, und dies ist der wahrscheinlichere Fall, da tatsächlich der autoxydable Stoff ja nicht wieder regeneriert wird.

²⁾ S. Carcano, Liebermann a. a. O.

³⁾ Über die Beziehungen des in diesem Stoff enthaltenen Peroxyds zu H_2O_2 , vgl. Engler, Ber. 81, 3046; 83, 1090.

- Nr. 5 Dieselbe Tinktur mit etwas mehr Hydroperoxyd: Beginnende Verzögerung der Bläuung. Stärkste Bläuung intensiver als Nr. 4.
- Nr. 6 Dieselbe Tinktur mit noch mehr Hydroperoxyd: Weitere Verzögerung. Das Maximum von Nr. 5 wird nicht mehr erreicht.
- Nr. 7 Dieselbe Tinktur mit noch größerem Hydroperoxydzusatz: Änderung in demselben Sinne wie bei 6.
- Nr. 8 Dieselbe Tinktur mit weiterer Vermehrung des Hydroperoxyds: Die Bläuung tritt innerhalb mehrerer Stunden nicht mehr ein.

War die Erklärung dieses Verhaltens tatsächlich in einer Nebenreaktion zwischen Peroxydase und Peroxyd zu suchen, so mußte es unabhängig sein von anderen Bestandteilen der Milch. Die in der folgenden Tabelle dargestellte Untersuchung von Milchsera verschiedener Darstellungsweise¹⁾ bestätigt diese Vermutung.

Tabelle IV. Vergleich des Verhaltens von Milch und den aus einem Teil derselben Milchprobe bereiteten Sera bei Zusatz wechselnder Mengen Hydroperoxyd gegen Guajakharzlösung.

Angewandte Milch- bzw. Serummenge: 10 ccm.
„ Tinkturmenge: 20 Tropfen einer 20 %igen aktiven Lösung.
„ Hydroperoxydlösung: 0,3 % ig.

Die Zahlen bedeuten die Anzahl der zugesetzten Tropfen Hydroperoxydlösung.

Die Zeichen <, > bedeuten, daß die auf der Seite der Winkelöffnung stehende Tropfenzahl die intensivere Reaktion bewirkt hat.

Vollmilch.

10 < 5 < 3 < 2 > 1

Serum der Kochsalzfällung.

3 < 2 < 1 > 0

Serum der Essigsäurefällung.

3 < 2 > 1 > 0

Die in der weiteren Tabelle folgende Untersuchung von Diastaselösung sollte Fragen nach zwei Richtungen beantworten. Einmal sollte der Befund darüber Aufschluß geben, ob auch eine Peroxydase pflanzlichen Ursprungs das gleiche Verhalten zeige, andererseits mußte, falls ein analoges Verhalten von Serum und Diastaselösung festzustellen war, die Unabhängigkeit der Erscheinung von den aus dem Serum noch nicht entfernten Salzen und Zuckerarten an Wahrscheinlichkeit gewinnen. Der zuerst ausgeführte Vergleich einer Diastaselösung beliebiger Konzentration mit Vollmilch ergab zunächst eine auffallende Unempfindlichkeit der Diastaselösung gegen H_2O_2 . So fand ich, daß bei konstanter Menge und Konzentration der Diastaselösung (5 ccm) und konstantem Tinkturzusatz (10 Tropfen) eine Schwächung der Bläuung erst bei einem Zusatz von 6 Tropfen einer 3%igen Hydroperoxydlösung bemerkbar wurde; bei Milch hingegen war die Schwächung bereits bei 1 Tropfen 3%-Hydroperoxyds außerordentlich stark.

¹⁾ Über die Bereitungsweise dieser Lösungen und ihr Verhalten s. S. 94 f., ferner S. 96 f.

Tabelle Va. Vergleich des Verhaltens von Vollmilch und einer wässrigen Diastaselösung bei Zusatz wechselnder Mengen Hydroperoxyd gegen Guajakharzlösung.

Angewandte Menge Milch: 10 ccm.

„ „ Diastaselösung: 10 ccm.

„ Tinkturmenge: 20 Tropfen einer 20% igen aktiven Lösung.

Diastase reagiert		Milch reagiert	
Unter Zusatz von		Unter Zusatz von	
2 Tropfen	Ohne merkliche Schwächung stark positiv	1 Tropfen 3 % H ₂ O ₂	Nach langer Zeit schwach positiv
6 „	mit beginnender Schwächung	2 Tropfen 0,3 % H ₂ O ₂	sehr stark positiv

Nach der oben gegebenen Erklärung mußte aber auch die Enzymmenge von Einfluß sein und konnte der quantitative Unterschied im Verhalten darin seine Erklärung finden. Die in dieser Richtung angestellten Versuche enthalten die folgenden Tabellen. Das Ergebnis ist folgendes: Durch Verdünnen der Diastaselösung erhält man ein Reagens, das fast dasselbe Verhalten wie Milch zeigt. Andererseits konnte festgestellt werden, daß Verdünnung der Milch eine größere Empfindlichkeit gegen Hydroperoxyd zur Folge hat.

Tabelle Vb. Abhängigkeit der Hydroperoxydempfindlichkeit der Farb-reaktion von der Konzentration der Diastaselösung. (Die Diastase nähert sich mit wachsender Verdünnung in ihrem Verhalten der Milch.)

Mengenverhältnisse: vergl. vorige Tabellen.

Erklärung der Zeichen: vergl. Tab. IV (die Prozentzahlen hinter den Tropfenzahlen bedeuten die Konzentration der Hydroperoxydlösung).

Diastaselösung in der Verdünnung 1 : 10.

3 (3 %) ? 2 (3 %) < 1 (3 %) > 2 (0,3 %).

Diastaselösung in der Verdünnung 1 : 100:

3 (3 %) < 1 (3 %) < 2 (0,3 %) > 1 (0,3 %).

Tabelle Vc. Vergleich des Verhaltens von Vollmilch und Diastaselösung (1:100) bei Zusatz wechselnder Mengen Hydroperoxyd gegen Guajakharzlösung.

Milch:

1 (3 %) < 5 (0,3 %) < 1 (0,3 %).

Diastase:

1 (3 %) < 5 (0,3 %) < 1 (0,3 %).

Tabelle Vd. Abhängigkeit der Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydasereaktion in Milch von der Verdünnung (Zunahme mit der Verdünnung).

Mengenverhältnisse: vergl. vorige Tabellen.

Vollmilch:

2 (0,3 %) < 1 (0,3 %) > 6 (0,03 %)

Gewässerte Milch (1 : 2).

6 (0,03 %) < 4 (0,03 %) > 2 (0,03 %).

Zu einer weiteren experimentell leicht prüfaren Folgerung aus der oben gemachten Annahme führte die folgende Überlegung: War die Verzögerung der Reaktion bei größerem Hydroperoxydzusatz durch eine merkbar werdende Nebenreaktion zwischen Peroxydase und Peroxyd veranlaßt, so konnte die Menge der zugesetzten Tinktur wohl auf die absolute Intensität der Bläuung, nicht aber auf die Menge Hydroperoxyd von Einfluß sein, die bei konstanter Peroxydase-(Milch)-Menge die intensivste Reaktion gab. Der Versuch bestätigt dies, wie die folgende Versuchsreihe zeigt.

Tabelle VI. Die Hydroperoxydempfindlichkeit der Farbreaktion ist bei Verwendung inaktiver Tinktur und konstanter Fermentmenge in gewissen Grenzen unabhängig von der Menge der zugesetzten Tinktur.

Angewandte Diastasemenge: 1 : 100 (10 ccm).

Hydroperoxydzusatz	Menge der zugesetzten inaktiven Guajak-tinktur		
	5 Tropfen	10 Tropfen	20 Tropfen
2 Tropfen 0,3 %—H ₂ O ₂	schwächer	schwächer	schwächer
1 Tropfen 3,0 %—H ₂ O ₂	stärker	stärker	stärker

Dagegen mußte die Vorgeschichte der Guajak-tinktur insofern von Einfluß auf die letztgenannte Größe sein, als damit sich der Peroxyd-gehalt der Tinktur verschieden erwies — vorausgesetzt, daß wirklich das Hydroperoxyd vollständig die Stelle des organischen Peroxyds bezw. seines hydrolytischen Spaltungsproduktes einnehmen konnte —, und zwar in dem Sinn, daß die peroxydhaltigen Tinkturen sich empfindlicher erweisen mußten als die inaktiven. Dies bestätigen die folgenden Versuche (Tabelle VII, Seite 78), unabhängig davon, welches Lösungsmittel für das Harz und welche Peroxydase verwendet wurde.

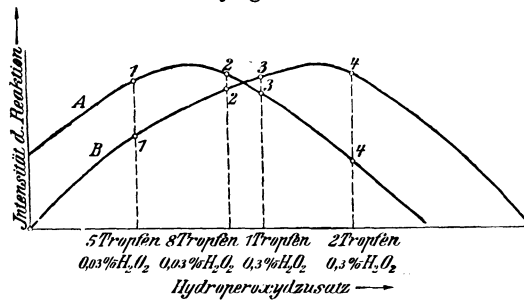


Fig. 1.

Dieselbe Betrachtung gilt natürlich für die Tinkturen, die aus Harz bereitet sind, in denen verschiedener Gehalt an autoxydablem Stoff bezw. Peroxyd von vornherein anzunehmen ist. Hierzu liefern die in Tabelle I und II niedergelegten Versuche eine Bestätigung, wie sie andererseits auch nun ihre vollständige Erklärung erhalten. Bei den in Tabelle I untersuchten Tinkturen ist der Sachverhalt offenbar der folgende: Das käufliche Pulver hat durch längeres Aufbewahren in diesem Zustand den größten Teil seiner autoxydablen Substanz durch Oxydation verloren. Es enthält zur Zeit der Bereitung der Tinktur eine größere Menge Peroxyd, welches die Tinktur von vornherein aktiv macht. Nach acht Tagen ist dieses Peroxyd verbraucht, ohne daß wesentliche Mengen nachgebildet werden konnten. Die aus festen Harzstücken bereite Lösung enthält zunächst kein Peroxyd, aber noch beträchtliche Mengen autoxydabler Substanz, was sich aus der starken zeitlichen Aktivierung ergibt. Der Hydro-

Tabelle VII¹⁾. Einfluß der Vorgeschichte der Guajakharzlösungen auf die Hydroperoxydempfindlichkeit der mit ihnen angestellten Farbreaktion.

a) Vergleich der in Tabelle I verwandten Tinkturen.

A = Tinktur aus durch Licht und Luft gebläutem Pulver. Es hat infolgedessen einen gewissen Teil der oxydablen Substanz verloren. Die Lösung wird also nach einer bestimmten Zeit (2 Tage) weniger Peroxyd gebildet haben als

B = Tinktur aus unverändertem Harzpulver.

Angewandte Milchmenge: 5 ccm.

„ Tinkturmenge: 10 Tropfen einer 20 %igen Lösung.

Hydroperoxydzusatz	Vergleich der Reaktionen ergibt:	Bemerkung
Ohne Zusatz	Nur Tinktur B ist schwach aktiv	
3 Tropfen 0,03 %—H ₂ O ₂	A < B	B kommt später zum Maximum A erreicht die Stärke der vorhergehenden Reaktion auch nach langer Zeit nicht. Die Unterschiede zwischen A und B werden immer deutlicher.
5 „ 0,03 %—H ₂ O ₂	A < B	
8 „ 0,03 %—H ₂ O ₂	A = B*)	
1 „ 0,3 %—H ₂ O ₂	A = B*)	
2 „ 0,3 %—H ₂ O ₂	A > B	
5 „ 0,3 %—H ₂ O ₂	A > B	
1 „ 3,0 %—H ₂ O ₂	A > B	
2 „ 3,0 %—H ₂ O ₂	die Reaktionen sind kaum mehr merklich	

b) Vergleich einer von der Bereitung ab im Dunkeln mit einer von der Bereitung ab im zerstreuten Tageslicht aufbewahrten Tinktur.

L = Tinktur, von ihrer Bereitung im Tageslicht in einer Tropfflasche aus weißem Glas aufbewahrt.

D = dieselbe Tinktur, von ihrer Bereitung ab im Dunkeln in einer Tropfflasche aus gelbem Glas aufbewahrt.

Angewandte PeroxydaseLösung: 5 ccm.

„ Tinkturmenge: 10 Tropfen einer 20 %igen Lösung.

Vergleich der Lösungen ca. 2 Tage nach der Bereitung ergibt geprüft mit:

Vollmilch		einer DiastaseLösung	
Hydroperoxydzusatz	Reaktion	Hydroperoxydzusatz	Reaktion
Ohne H ₂ O ₂	L > D	Ohne H ₂ O ₂	L > D
2 Tropfen 0,03 %—H ₂ O ₂	L > D	3 Tropfen 0,3—H ₂ O ₂	L > D
1 „ 0,3 %—H ₂ O ₂	L > D	5 „ 0,3—H ₂ O ₂	D > L
2 „ 0,3 %—H ₂ O ₂	D > L		

¹⁾ Zur Erklärung dieser und der folgenden Tabelle diene Figur 1 (Seite 77).

Kurve A u. B stellen das Verhalten der untersuchten Tinkturen beider Peroxydasereaktion verglichen durch die Stärke der auftretenden Bläuung unter variablem Hydroperoxydzusatz dar.

1 u. 4 sind beispielsweise Versuche, in denen die Reaktionen bei gleichem Hydroperoxydzusatz verschieden ausfallen. 2 u. 3 liegen dem Kurvenschnittpunkt, d. h. dem einer Hydroperoxydkonzentration entsprechenden Punkte, bei dem sich die verschiedenen Tinkturen gleich verhalten müssen, so nahe, daß der Unterschied in der Intensität der Reaktionen nicht beobachtbar ist. Hierdurch erklären sich Beobachtungen wie die in Tabelle VIIa u. c mit *) versehenen.

c) Vergleich zweier Tinkturen, die sich nur durch ihr Alter unterscheiden.

A = stark aktive, mehrere Wochen alte Tinktur.

N = schwach aktive, wenige Tage alte Tinktur.

Hydroperoxydzusatz:		Vergleich der Reaktionen mit Vollmilch ergibt:
	Ohne H ₂ O ₂	A > N
1	Tropfen 0,3 %iges H ₂ O ₂	A > N
2	„ 0,3 %iges H ₂ O ₂	A = N*)
5	„ 0,3 %iges H ₂ O ₂	A = N*)
2	„ 3,0 %iges H ₂ O ₂	A < N
5	„ 3,0 %iges H ₂ O ₂	A < N

peroxydzusatz, welcher hier nötig ist, um die optimalen Reaktionsbedingungen zu ergeben, ist niedriger als bei der Tinktur aus käuflichem Pulver, bei dem das organische Peroxyd gänzlich verschwunden scheint. Bei den in Tabelle II bzw. VIIa untersuchten Tinkturen liegen die Verhältnisse analog.

Endlich war zu erwarten, daß der Einfluß des Hydroperoxyds auch zu beobachten sein müsse bei anderen Peroxydase-Reaktionen, z. B. der von Storch untersuchten. Wie die Versuche lehren, läßt sich auch hier eine mittlere Hydroperoxydkonzentration ermitteln, bei der die Reaktion am stärksten eintritt, was auf eine Nebenreaktion schließen läßt. Verdünnung der Milch hat eine gleiche Steigerung der Empfindlichkeit gegen Hydroperoxyd zur Folge, wie sie bei der Guajakreaktion beobachtet wurde.

Tabelle VIII. Hydroperoxydempfindlichkeit der Storchschen Reaktion. Die Empfindlichkeit wächst mit steigender Verdünnung der Peroxydase-lösung (Milch).

Verwandte Milchmenge: 5 ccm.

2 Tropfen einer 2 %igen wässerigen p-Phenylendiaminchlorhydratlösung¹⁾.

Zur Erklärung der Zeichen vgl. Tab. IV.

Vollmilch:

5 (0,3 %) < 1 (3,0 %) > 2 (3,0 %) > 5 (3,0 %).

Verdünnte Milch 1:2.

3 (0,3 %) < 5 (0,3 %) > 1 (3,0 %) > 2 (3,0 %).

Verdünnte Milch 1:5.

1 (0,3 %) < 2 (0,3 %) > 4 (0,3 %) > 5 (0,3 %) > 1 (3,0 %).

Qualitativ erscheinen die Ergebnisse insofern geändert, als wir es hier mit einem beständigen Farbstoff zu tun haben. Vorgänge also, die seine Bildungsgeschwindigkeit herabsetzen, werden hier weniger in die Erscheinung treten. Für die quantitativen Unterschiede muß in Rücksicht gezogen werden, daß die Reaktion mit größerer Geschwindigkeit und größerer Farbintensität verläuft, so daß Unterschiede nur ziemlich beträchtlicher Art zur Beobachtung gelangen.

Die angeführten Versuche bestätigen also die eingangs gemachte Annahme. Die nachfolgende schematisch-graphische Darstellung der Vorgänge in einem Koordi-

¹⁾ Es ist zu beachten, daß bei dieser Reaktion die Menge des zugesetzten p-Phenylendiamins die Reaktion etwas anders beeinflusst als die Menge der zugesetzten Guajak-tinktur. Dies ist wahrscheinlich bedingt durch die saure Reaktion des Chlorhydrates.

natensystem mit der Zeit als Abszisse und Bläuungsintensität als Ordinate möge das in Versuchen dargestellte Ergebnis noch einmal zusammenfassen und veranschaulichen.

Die Kurvenschar I gibt die Änderung des Reaktionsverlaufs einer Reaktion mit Folgereaktion, dargestellt durch die zeitliche Konzentrationsänderung des Zwischenproduktes für den Fall wieder, daß die aktive Masse des einen Bestandteils der ersten Reaktion vermehrt wird.

Eine Betrachtung der Beeinflussung der einzelnen Reaktionen ergibt für diesen Fall, daß die Bildungsgeschwindigkeit des Zwischenprodukts zunehmen

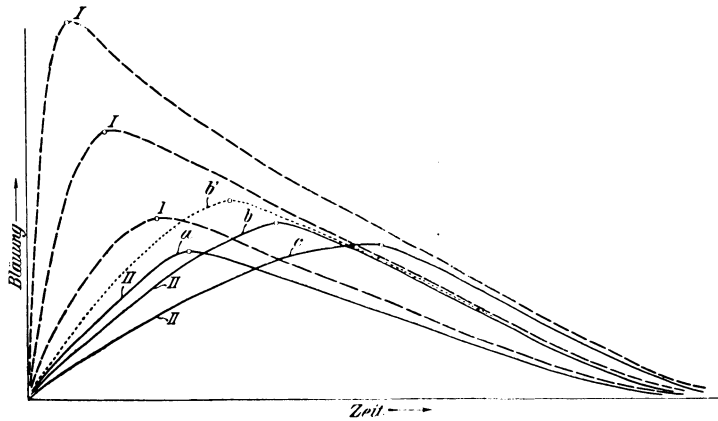


Fig. 2.

muß, und daß die bei Geschwindigkeitsgleichheit von Reaktion und Folgereaktion erreichte Konzentration desselben ständig zunimmt, d. h. die linken Äste der Kurven werden steiler, die Maxima werden höher und rücken nach links auseinander.

Für den Verlauf des 2. Teils der Reaktion ergibt sich, daß der Vor-

gang bei den einzelnen Reaktionen nur anfänglich verschieden sein wird, indem nämlich die in summa beobachtete Zersetzungsgeschwindigkeit des Zwischenproduktes zunächst um so größer sein wird, je größer die Anfangskonzentration der variablen Komponente ist. In ihrem späteren Verlauf werden die Kurven asymptotisch ineinander übergehen.

Betrachten wir den weiteren Fall der Änderung der Geschwindigkeit der ersten Reaktion durch einen Katalysatorzusatz in wechselnder Menge, so erhält wieder aus der Betrachtung der Einzelreaktionen, daß ein wesentlich anderes Bild im Verlauf der Kurven sich nicht ergibt.

Kombinieren wir nun die beiden Einflüsse derart, daß wir den Fall annehmen, daß durch Vermehrung der einen Komponente der ersten Reaktion eine Schwächung des dieselbe Reaktion beschleunigenden Katalysators veranlaßt würde! Es ergibt dann eine der obigen analoge Betrachtung, daß die rechten Äste der Kurven, welche den nun beobachteten Reaktionsverlauf in dem gleichen Koordinatensystem darstellen würden, ihre Lage zu denen gleicher Hydroperoxydkonzentration von der Kurvenschar I nicht wesentlich anders einnehmen würden als eine Änderung der Katalysatormenge bedingen würde. Weiter aber fordert der antagonistische Einfluß der Vermehrung der einen Komponente einerseits, der eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit zur Folge hat, und der Verminderung der Katalysatormenge andererseits, der eine Herabsetzung der Reaktionsgeschwindigkeit bedingt, daß eine mittlere Konzentration der variablen Komponente bestehen muß, bei der die beobachtete Bildungsge-

schwindigkeit des Zwischenproduktes am größten ist, mithin die linken Äste der Kurven ihre größte Steilheit erreicht haben.

Eine weitere Überlegung unter Berücksichtigung des bisher Besprochenen ergibt endlich, daß auch die maximale Konzentration des Zwischenprodukts in entgegengesetztem Sinne beeinflußt werden muß; d. h. es muß auch hier eine mittlere Konzentration der variablen Komponente bestehen, bei der das Zwischenprodukt eine maximale Konzentration erreicht. Über die relative Lage der beiden besprochenen Maxima läßt sich a priori nichts aussagen. Die der Hydroperoxydkonzentration 2 entsprechende Kurve kann z. B. die Lage b oder b' haben. Die Kurvenschar a, b, c, wie die a b' c entspricht den gemachten Forderungen.

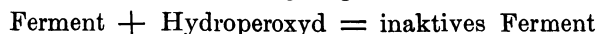
Vergleichen wir hingegen diese Darstellungen mit den Ergebnissen des Versuchs, so erhellt, daß nur die Kurvenschar a, b, c die Erscheinungen richtig wiedergibt. Der Versuch zeigte ja (vgl. S. 74—75), daß die stärksten Bläuungen, also die höchsten Konzentrationen des Zwischenproduktes, erst dann erreicht werden, wenn die Bläuungsgeschwindigkeit schon eine Verzögerung erlitten hat. In der Kurvenschar II haben wir also ein den Tatsachen adäquates Bild.

IV. Versuche betr. die Eigenschaften der Peroxydase der Kuhmilch im besonderen.

a) Die Hydroperoxydempfindlichkeit.

Der weitere Verfolg der Frage, in welcher Weise man sich die schädigende Wirkung des Hydroperoxyds auf die Peroxydase zu denken habe, mußte zu der allgemeineren nach den Eigenschaften der Peroxydase überhaupt, und besonders nach etwaiger Beziehung zwischen Hydroperoxyd und Peroxydase außerhalb der Peroxydase-reaktion führen. Hierzu ist zu bemerken, daß eine längst bekannte und ziemlich eingehend untersuchte Tatsache dabei zu berücksichtigen war. Die Milch besitzt nämlich außer der Peroxydaseeigenschaft noch die Fähigkeit, Hydroperoxyd katalytisch in Wasser und Sauerstoff zu zerlegen, eine Beobachtung, die zur Annahme eines weiteren Fermentes, dessen anderweitige weite Verbreitung schon längst bekannt war, führte, wie eingangs dargestellt ist. Von besonderem Interesse ferner für unsere Beobachtungen ist, daß man auf Grund reaktionskinetischer¹⁾ Messung eine Hemmung auch dieser Funktion durch das Hydroperoxyd anzunehmen genötigt wird. Ferner hat die Praxis der Farbreaktionen ergeben, daß die Peroxydase bei niederer Temperatur sich sehr träge zeigt, während andere Untersuchungen die geringe Abhängigkeit der Katalasefunktion von der Temperatur ergeben hatten.

Die allgemeinste Annahme, daß es sich bei der Hemmung der Peroxydase in der Peroxydasereaktion um einen Vorgang folgenden Schemas handle:



führte zu der folgenden Überlegung: War bei dieser Reaktion eine Wirkung der bekanntlich temperaturempfindlichen Peroxydase im Spiel, so war zu erwarten, daß mit einer Temperaturänderung auch eine geringere oder stärkere Beeinflussung der hypo-

¹⁾ Vergl. Faitelowitz, a. a. O.; E. Reiss, a. a. O.

thetischen Reaktion mit Hydroperoxyd zu erwarten sei. Dies bestätigte sich nun in der Tat.

Versetzt man nämlich Milch mit Hydroperoxyd in einer Menge, die die für einen guten Ausfall der Peroxydasereaktion erforderliche um ein geringes übersteigt, läßt sie bei Zimmertemperatur oder Eisschranktemperatur (3°) stehen und untersucht von Zeit zu Zeit ihr Verhalten bei der Peroxydasereaktion, so ergibt sich, daß sie die Farbreaktionen fast ungeschwächt innerhalb vieler Stunden weiter zeigt, erhitzt man jedoch die Milch mit dieser geringen Menge Hydroperoxyd (1—2 Tropfen 3%iges Hydroperoxyd auf 50 ccm frischer Milch)¹⁾ einige Zeit (10—20 Minuten) auf 50°, so hat die Milch die Fähigkeit verloren, die Peroxydasereaktion zu geben. Dieser Verlust ist ein dauernder, denn selbst nach 9tägiger Aufbewahrung im Eisschrank (es gelang in einem Fall die Milch so lange ohne Säuerung und wesentliche Geschmacksänderung zu erhalten) zeigte die Milch die gleiche negative Eigenschaft.

Dieser Befund hat nicht nur eine theoretische, eine über die Beziehung zwischen Peroxyd und Milchferment Einblick gewährende Bedeutung, sondern sie erschien auch von praktischem Wert, indem durch eine derartige Behandlung der Milch eine Pasteurisierung vorgetäuscht werden konnte, da die wichtigsten für deren Erkennung dem Nahrungsmittelchemiker zur Verfügung stehenden Reaktionen hier versagen. Es schien daher ratsam, zunächst diese praktische Seite der Frage zu behandeln.

Zunächst ist erwähnenswert, daß die so behandelte Milch einen Kochgeschmack nicht angenommen hat. Auch läßt sich das Hydroperoxyd nur manchmal unmittelbar nach der Behandlung, späterhin, wenn die Milch einige Zeit gestanden hat, überhaupt nicht mehr nachweisen, weder durch chemische Ermittlungsverfahren noch durch den Geschmack. Was die Haltbarkeit dieser Milch anbetrifft, so habe ich mich mit wenigen Versuchen darüber begnügt, denn die Literatur, welche an das Buddesche Patent anknüpft²⁾, zeigt genugsam, daß man höhere Temperaturen und weitaus größere Mengen Hydroperoxyd anwenden muß, um die Pasteurisierung bzw. Hitze-sterilisierung zu ersetzen. Der folgende Versuch mag zeigen, daß durch die beschriebene Behandlung für die Haltbarkeit der Milch wenig oder nichts gewonnen ist:

100 ccm frischer normaler Vollmilch wurden mit einigen Tropfen 3%igem Hydroperoxyd 30 Minuten auf 50° erwärmt, danach schnell auf Zimmertemperatur abgekühlt und bei dieser Temperatur ca. 36^h im verschlossenen Gefäß belassen. Die Milch war nach dieser Zeit ungenießbar geworden, während die nur durch Erhitzung behandelte vollkommen frisch erschien.

Durch Ändern von Temperatur, Erhitzungsdauer und Menge des Hydroperoxydzusatzes versuchte ich die Grenze festzustellen, innerhalb derer die beschriebene Veränderung der Milch eintritt. Es zeigte sich, daß, wie das ja auch aus den Bestimmungen der Vernichtung der Fermente durch reine Temperaturwirkung hervorgeht, genaue Grenzen nicht aufzustellen sind. Hier kommt hinzu, daß auch der Hydroperoxydzusatz, der unter im übrigen konstanten Bedingungen die Vernichtung der Peroxydase

¹⁾ Es ist das die geringe Menge von ca. 0,004 g H₂O₂ auf 100 ccm Milch.

²⁾ Vergl. vor allem H. Chick, Zentralbl. Bakt. II, 7, 795, 1901; Gottstein, Virchows Arch., 188, 295, 1893.

bewirkt, nicht bei jeder Milchprobe genau der gleiche ist. Die vorhin angegebenen Konzentrations- und Temperaturbedingungen genügen aber stets die Peroxydasefunktion aufzuheben. Durch Erhöhung der Temperatur läßt sich die Erhitzungsdauer stark herabsetzen. So genügen bei 65° mehrere Minuten, um die oben beschriebene Wirkung zu erzeugen. Bei niedrigerer Temperatur (40°) muß die Erhitzungsdauer schon auf eine Stunde verlängert werden, um die Peroxydase zu vernichten. Die Ergebnisse sind jedoch wegen der spontanen und bakteriellen Veränderungen der Milch bei diesen niedrigen Temperaturen unkontrollierbar. Erhöhung des Hydroperoxydzusatzes ist auf die Vernichtungsgeschwindigkeit von geringem Einfluß, geht man aber im Zusatz unter ca. 1 Tropfen 3%iges H₂O₂ auf 50 ccm Milch, so muß man bis zu der Vernichtungstemperatur des Fermentes durch reine Wärmewirkung gehen, um die Vernichtung vollständig herbeizuführen.

Besonders wichtig erschien es nun, das Verhalten der anderen bekannten Reagentien auf „gekochte“ Milch gegen derartig behandelte Milch zu prüfen.

Tabelle IX. Beeinflussung der Schardingerschen Reaktion bei einer Vorbehandlung frischer Vollmilch mit wenig Hydroperoxyd in der Wärme.

a) Kurze Erhitzungsdauer.

Hohe Temperatur.

Die eiskalte Milch erhält einen Zusatz von Hydroperoxyd und wird sofort auf die angegebene Temperatur angewärmt (Zusatz: 2 Tropfen 3 proz. H₂O₂ auf 50 ccm Vollmilch).

Die Milch reagiert:

	Ohne H ₂ O ₂		Mit H ₂ O ₂	
	P ¹⁾	FM ²⁾	P	FM
Vor der Erwärmung	stark positiv	6 ³⁾	stark positiv	15'
Nach der Erwärmung auf				
65° ³⁾	positiv	17'	negativ	29'
70°	positiv	19'	„	31' (22')
70° 5'	schwach positiv	33'	„	Keine Entfärbung
70° 10'	„	55'	„	„
75° 1'	schwach	46'	„	1 h 35'
75° 5'	sehr schwach	57 ¹ / ₄ '	„	} innerhalb 2 h keine Aufhellung
75° 10'	negativ	innerhalb 2 h keine Aufhellung	„	
80°	sehr schwach	1 ¹ / ₂ h	„	2 h

¹⁾ FM = Reaktion mit der Formalin-Methylenblaumischung unter den von Schardinger angegebenen Versuchsbedingungen. Die Reaktion mit Methylenblaulösung verläuft, wenn nichts anderes angegeben, negativ.

P = Storchsche Peroxydase-Reaktion.

²⁾ Diese Zahlen geben die Zeit in Minuten, die bis zur völligen Entfärbung erforderlich sind.

³⁾ Die Temperaturangaben bedeuten, daß die Milch eben auf die angegebene Temperatur gebracht und dann abgekühlt wurde.

b) Längere Erhitzungsdauer.

Niedere Temperaturen.

Die Milch reagiert mit:

Vor der Erwärmung	FM	P
Ohne Hydroperoxydzusatz	16'	stark positiv

Nach Hydroperoxydzusatz (3 ‰):

Nach Erwärmung auf 45° während	FM		P	
	1 Tropfen	5 Tropfen	1 Tropfen	5 Tropfen
10'	—	—	positiv	positiv
30'	—	—	negativ	negativ
1 h	—	—	"	"
2½ h	35'	19'	"	"
4 h ¹⁾	39'	18'	"	"

¹⁾ Nach eintägigem Aufbewahren dieser Milchproben bei 3°: FM 37' bzw. 16'.

Die Milch reagiert mit:

Nach Erwärmung auf 50° während	FM		P	
	nach Hydroperoxydzusatz (3 ‰)			
	1 Tropfen	5 Tropfen	1 Tropfen	5 Tropfen
10'	—	—	schwach positiv	sehr schwach
20'	24'	16'	kaum merklich	negativ
60'	24½'	17½'	negativ	"
5½ h	30'	20'	"	"

Nach Erwärmung auf 65° während	Nach Hydroperoxydzusatz (3 ‰)	
	1 Tropfen	1 Tropfen
15'	32½'	negativ
40'	—	"
50'	1½ h	"
3 h	keine Entfärbung	"

Bezüglich des Schardingerschen Reagenzes schien es erforderlich, zunächst festzustellen, ob etwa schon bei der Temperatur der Reaktion kleine Mengen von Hydroperoxyd den Verlauf der Methylenblaufärbung beeinflussen. Der Versuch bestätigte dies tatsächlich. Die Entbläuungsgeschwindigkeit wird bei Gegenwart von H₂O₂ verlangsamt.

Geht man nun zu einer Vorbehandlung der Milch über, die eine Vernichtung der Peroxydase bewirkt, so ergibt sich, daß zwar, wie bei den vorigen Versuchen, die Entbläuungsgeschwindigkeit unter Einhaltung der von Schardinger angegebenen Versuchsbedingungen herabgesetzt, nicht jedoch die Reaktion überhaupt aufgehoben wird. Allerdings muß man die Beobachtungszeiten über die von Schardinger angegebenen wesentlich ausdehnen, um dies zu erkennen, wie Versuche zeigen (vorstehende Tabelle IX).

Der Ausfall der Reaktion von Rubner wird hingegen durch die Vorbehandlung der Milch in der Wärme mit Hydroperoxyd in keinerlei Weise beeinflusst, wie aus den folgenden Versuchsreihen hervorgeht.

Tabelle X. Prüfung der Reaktion von Rubner an der mit Hydroperoxyd in der Wärme behandelten Milch.

A enthält auf 100 ccm 2—3 Tropfen 3%igen Hydroperoxyds.
B enthält kein Hydroperoxyd.

Nach Erwärmung auf 45° während	A reagiert mit		B reagiert mit	
	R ¹⁾	P	R	P
20' 90' ²⁾	Fällung wie B "	sehr schwach negativ	starke Fällung "	positiv "
Nach Erwärmung auf 50° während:				
20' 90' ³⁾	" "	" "	starke Fällung "	positiv "
Nach Erwärmung auf 70° während:				
8' 30' 60' 120' 4 h	— starke Fällung geringere Fällung " "	" — — — —	— wie A " " "	" geschwächt — — —
Nach Erwärmung auf 75° während:				
10' 30' 60' ³⁾	Fällung Trübung negativ	negativ — —	" Trübung negativ	negativ — —

Neben der Bedeutung für die Praxis, die dieses Ergebnis hat und auf die am Schluß der Untersuchung zurückzukommen ist, ergibt sich aus den vorigen Versuchen, daß die Wirkung des Hydroperoxyds auf die Peroxydase eine ganz spezifische zu sein scheint, daß es weder als allgemeines Fermentgift noch etwa als die löslichen Eiweißstoffe der Milch überhaupt verändernd zu betrachten ist. Es bleibt nur noch ein Zusammenhang mit den katalytischen Eigenschaften der Milch möglich. Hierüber liegen nun schon einige Versuche, angestellt an Pflanzenfermenten von A. Bach, R. Chodat⁴⁾ und F. Neuhaus⁵⁾ vor. Ihnen gelang es, Präparate

¹⁾ R = Rubners Reaktion, ausgeführt mit dem Filtrat der Kochsalzfällung.

²⁾ Das Verhalten dieser Milch hat sich nach 18 stünd. Stehen im Eisschrank nicht verändert.

³⁾ Das Verhalten dieser Milch hat sich nach mehrtägigem Stehen im Eisschrank nicht geändert.

⁴⁾ a. a. O.

⁵⁾ Rep. Chem. Zeitg., 1906, 96.

mit reiner Katalase- bzw. Peroxydasefunktion zu erhalten, die sich beiderseits als hydroperoxydempfindlich erwiesen. Diese Hydroperoxydempfindlichkeit der Katalase wurde auch durch Zusatz von Peroxydase nicht geändert. In einem solchen synthetischen Gemisch üben die beiden Fermente nebeneinander ihre Funktionen aus.

In unserem Fall drängt sich zunächst die Frage auf, ob es berechtigt ist, die katalytische Funktion der Milch in derselben Weise zu behandeln wie die oxydierende, d. h. als die eines toten Fermentes. Die Gesetzmäßigkeiten, die Faitelowitz, Reiß u. a. für das katalytische Verhalten der Milch beobachteten, die Isolierungsversuche von Raudnitz sprechen dafür. Hingegen ist ebenfalls unzweifelhaft festgestellt, daß in der Milch Bakterien wachsen, die bei ihrer Lebenstätigkeit Hydroperoxyd katalytisch zersetzen¹⁾, und Seligmann glaubte in seinen neuesten Arbeiten die katalysierende Eigenschaft der Milch in ihrer Gesamtheit dieser Wirkung zuschreiben zu müssen. Daß wirklich eine solche Ursache in die Erscheinung treten kann, zeigt der folgende Versuch, in dem erwiesen wird, daß das bloße Altern der Milch ohne merkliche Änderungen im Geschmack, in der Azidität, Peroxydaseeigenschaft und im Verhalten gegenüber dem Schardingerschen Reagens, die Intensität der katalytischen Wirkung ganz beträchtlich steigern kann.

Tabelle XI. Einfluß des Alterns der Milch auf die Geschwindigkeit der Hydroperoxydzersetzung.

- I. 25 ccm Milch werden mit $\frac{1}{2}$ ccm 30 %-Hydroperoxyd im Thermostaten bei 13° geschüttelt und der entwickelte Sauerstoff gemessen.
- a) Frische Milch entwickelt in 55 Minuten 11,9 ccm Sauerstoff.
 - b) Dieselbe Milch nach 1 tägigem Stehen im Eisschrank²⁾ entwickelt in 55 Minuten 29,95 ccm Sauerstoff.
- II. 50 ccm Milch werden mit 1 ccm 30 %-Hydroperoxyd im Thermostaten bei 13,5° geschüttelt und der entwickelte Sauerstoff gemessen.
- a) Frische Milch entwickelt in 30 Minuten 11,65 ccm Sauerstoff.
 - b) Dieselbe Milch nach 1 tägigem Stehen im Eisschrank²⁾ entwickelt in 30 Minuten 47,40 ccm Sauerstoff.

Auch scheint die folgende zufällig gemachte Beobachtung für obige Annahme zu sprechen: Versetzt man frische Milch bei ca. 40° mit gewissen Mengen Hydroperoxyd, die Milch unter normalen Bedingungen zu zersetzen vermag, so hört die Zersetzung bald auf, indem die Katalase offenbar unter diesen Bedingungen starke Schwächung oder Vernichtung erleidet, nach einiger Zeit aber setzt die Zersetzung wieder stark ein, nachdem die Milch Gelegenheit gehabt hatte, sich an der Luft bei der Probeentnahme zu infizieren. Gleichzeitig verdarb die Milch (vergl. Tabelle XIII).

Andererseits lassen sich Tatsachen anführen, die mit einer reinen Bakterienwirkung recht schwer vereinbar scheinen.

¹⁾ J. Sarthou, Bull. soc. pharm., Bordeaux 1905.

²⁾ Mit dem Reagens von Schardinger verhält sich diese Milch noch normal: FM:15 M: negativ.

³⁾ Die Milch ist von normaler Beschaffenheit.

1. Die Hydroperoxydkatalyse durch frische Milch findet bei 3° außerordentlich lebhaft statt, bei einer Temperatur also, bei der andere bakterielle Wirkungen in der Milch, wie bekannt, außerordentlich gehemmt sind (vergl. Tab. XIII).

2. Meine Versuche bestätigen die mehrfach festgestellte Tatsache, daß ein bestimmtes Volumen Vollmilch eine ziemlich konstante Menge Hydroperoxyd zersetzt, und fügen den Befund hinzu, daß es gleichgültig für das Ergebnis ist, ob das Hydroperoxyd in kleinen Mengen nacheinander oder auf einmal zugegeben wird (vergl. Tab. XIII).

3. Es gelang mir nicht, durch Versetzen von gekochter (enzymfreier, Hydroperoxyd nicht zersetzender) Milch mit roher (bakterienhaltiger, Hydroperoxyd in normaler Weise zersetzender) und Stehenlassen der Mischungen während 24 h bei 3° und Zimmertemperatur, Bedingungen, unter denen starke Hydroperoxydzersetzung bei normaler Milch, mithin Lebenstätigkeit und Vermehrung der Bakterien statthaben müßte, danach bemerkenswerte Hydroperoxydzersetzung in solcher Milch zu beobachten.

Tabelle XII. Versuch durch Versetzen gekochter Milch mit geringen Mengen roher Milch Katalase und Peroxydase wieder darin zu erzeugen.

a.

Von einem Quantum frischer, roher Milch werden einige 100 ccm im siedendem Wasserbad $\frac{1}{2}$ h erhitzt. Nach dem Abkühlen davon 2 mal je 100 ccm in 2 von 3 auf die gleiche Art steril. Kölbchen gebracht. Eines dieser Kölbchen wird darauf noch mit 1 ccm roher Milch versetzt. In das dritte Kölbchen werden 100 ccm von der noch übrigen rohen Milch gebracht und alle 3 Kölbchen einen Tag bei Eisschranktemperatur verschlossen stehen gelassen. Darauf wird auf Katalase und Peroxydase geprüft.

	Rohe Milch reagiert mit		Erhitzte Milch reagiert mit		Erhitzte und mit roher Milch versetzte Milch reagiert	
	Titansäure	p-Phenylendiamin	Titansäure	p-Phenylendiamin	Titansäure	p-Phenylendiamin
Nach 1 tägiger Aufbewahrung im Eisschrank. Ohne Hydroperoxyd	—	positiv	—	negativ	—	negativ
Nach Versetzen mit 7 ccm 3% igem Hydroperoxyd und Aufbewahren bei 3° während						
4 Tage	positiv	„	positiv	„	positiv	„
6 Tage	sehr schwach	„	„	„	„	„
8 Tage	negativ	„	„	„	„	„
10 Tage	„	„	„ (unvermindert)	„	„	„

b.

Zur Versuchsordnung vergleiche I. Anstatt 100 kommen nur 75 ccm zur Anwendung. Dem einen Kölbchen werden 5 ccm roher Milch zugesetzt und die beiden mit gekochter Milch beschickten Kölbchen 1 Tag bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der Hydroperoxydzusatz erfolgt in kleineren Mengen, um eine Giftwirkung möglichst herabzusetzen. Das Kölbchen mit roher Milch wird während des einen Tages bei Eisschranktemperatur aufbewahrt.

	Rohe Milch reagiert mit			Erhitzte Milch reagiert mit		Erhitzte und mit roher Milch versetzte Milch reagiert mit	
	Titan-säure	p-Phenyl-endiamin		Titan-säure	p-Phenyl-endiamin	Titan-säure	p-Phenyl-endiamin
Nach 1 tägigem Aufbewahren im Eisschrank ohne Hydroperoxyd	—	positiv	Nach 1 tägigem Aufbewahren bei Zimmertemperatur ohne Hydroperoxyd	—	negativ	—	negativ
Nach Zusatz von 1½ ccm H ₂ O ₂ u. Aufbewahren bei 3° während 1 Tages	negativ	—	Nach Zusatz von 1½ ccm H ₂ O ₂ u. Aufbewahren bei 3° während 1 Tages	stark positiv	—	stark positiv	„
Nach weiterem Zusatz von 1 ccm H ₂ O ₂ und Aufbewahren während 1 Tages	„	—	Weitere Aufbewahrung während 1 Tages ohne Zusatz	allmähliche geringe Abnahme, aber immer deutliche Reaktion	—	Abnahme etwas stärker als bei der Versuchsanordnung 2	—
Nach der gleichen Behandlung	„	—	Nach der gleichen Behandlung		—		—
„	„	—	„		—		—
„	schwach positiv	—	„	positiv	—	schwach positiv	—
Ohne Zusatz nach weiteren 3 Tagen	„	sehr schwach positiv	Nach weiteren 3 Tagen	„	negativ	„	negativ

Halten wir diese Tatsachen mit den Befunden anderer Autoren zusammen, so läßt sich schließen, daß die bakterielle Ursache für die Hydroperoxydkatalyse zum mindestens eine untergeordnete ist, und daß man mithin berechtigt ist, Erfahrungen, die man bezüglich dieser Eigenschaft an frischer oder — soweit erkennbar — unveränderter Milch macht, als Eigenschaften der Katalase anzusehen. Die Verwendung von Konservierungsmitteln habe ich hier absichtlich vermieden¹⁾.

Zur Methodik der Versuche ist noch das folgende zu sagen. Man hat vielfach zur Messung der katalytischen Kraft einer organischen Fermentlösung die Menge des mit einem bestimmten Volum Fermentlösung aus Hydroperoxyd entwickelbaren Sauerstoffs bestimmt. Man erkennt leicht, daß eine solche Messung nur den Zweck erreicht, wenn gewisse Voraussetzungen für den Zusammenhang zwischen Zerstörbarkeit des Fermentes und der Hydroperoxydkatalyse zutreffen, ein wirkliches Maß für die Fermentstärke liegt nur in der Reaktionsgeschwindigkeit der Katalyse.

Ich begnügte mich, durch einmaligen oder wiederholten Zusatz bestimmter

¹⁾ Vergl. hiertber die Versuche von E. Reiß (a. a. O.) und Stoklasa (Arch. Hyg. 50, 165, 1905).

Mengen Hydroperoxyd zu einem bestimmten Volum der zu prüfenden Milch und durch Prüfung solcher Milch auf ihren Gehalt an Hydroperoxyd in zweckmäßigen zeitlichen Abständen eine Schätzung ihrer katalytischen Wirkung zu erreichen. Ich benutzte die Änderung der Intensität der Titansäurereaktion in der Milch, um vergleichsweise die Änderung im Gehalt an Hydroperoxyd festzustellen¹⁾. Verschwand z. B. die Titansäurereaktion in der zu prüfenden Milch, die mit einer bestimmten Menge Hydroperoxyd versetzt war, bei derselben Temperatur in derselben Zeit wie in frischer roher Milch, so wurde angenommen, daß die Katalase unverändert sei, ging die Intensität der Titansäurereaktion langsamer zurück oder konnte die Reaktion nur bei Zusatz einer kleineren Menge Hydroperoxyd in der gleichen Zeit zum Verschwinden gebracht werden, so wurde eine Abnahme der Katalasewirkung vermutet, blieb endlich die Intensität der Titansäurereaktion auch bei sehr geringem Hydroperoxydzusatz unverändert, so führte dies zur Annahme des Fehlens der Katalase. Die Prüfung auf Peroxydase mußte bei Anwesenheit größerer Mengen Hydroperoxyd natürlich immer mit der gegen letzteres wenig empfindlichen Storcheschen Reaktion angestellt werden.

Die folgenden Tabellen geben Einzelheiten über Versuchsanordnung und Ergebnis der Versuche.

Die große Empfindlichkeit der Milchperoxydase gegen Hydroperoxyd in der Wärme scheint bei niederen Temperaturen (3°) fast zu verschwinden, indem die Milch große Mengen Hydroperoxyd bis zur Erschöpfung der Katalase zu zersetzen vermag, ohne daß eine Vernichtung der Peroxydase eintritt. Allerdings tritt, wie aus Tabelle XIII hervorgeht, eine Schwächung im Verlauf einiger Tage auffallender Weise dann ein, wenn das Hydroperoxyd in kleinen Konzentrationen allmählich der Milch zugefügt wird. Daß diese Schwächung im wesentlichen in einer Wirkung des Hydroperoxyds auf die Peroxydase zu suchen sei, scheint deshalb sehr unwahrscheinlich, als sie ja gerade, wie die Versuche zeigen, bei großen Hydroperoxydkonzentrationen unmerklich wird. P. Adam²⁾ fand übrigens, daß die Milch beim Altern spontan ihre Peroxydaseeigenschaften verliert, und ich beobachtete, daß Milch, welche bis zur Erschöpfung der Katalase mit Hydroperoxyd behandelt war, ohne eine Schwächung der Peroxydase zu zeigen, beim weiteren Stehen allmählich jetzt die Peroxydase verlor. Bei Zimmertemperatur konnte die Wirkung des Hydroperoxyds auf Katalase und Peroxydase nur bei hohen Hydroperoxydkonzentrationen untersucht werden, denn nur so konnte die Milch während der Versuchsdauer hinsichtlich ihres Geschmackes, Geruches und ihrer Azidität normal erhalten werden³⁾. Die katalytische Kraft ist hier noch anscheinend ungeschwächt, hingegen macht sich jetzt alsbald eine Schwächung der Peroxydase bemerkbar, die in kurzer Zeit zu ihrer Vernichtung führt. Nimmt man die Katalyse endlich bei 35° und 45° vor, so vermag die Milch einerseits nur wenig Hydroperoxyd zu zerlegen, andererseits ist die Peroxydase bei 35° schon nach einem Tag vernichtet.

¹⁾ Vergl. Amberg, Journ. of biolog. chem. 1, 129, Utz, Milch, und Centralbl. 1, 175 1905. Der Nachweis von H₂O₂ in der Milch.

²⁾ Bull. Soc. Chim. [3], 36, 247, 1906.

³⁾ Bei kleineren Mengen Hydroperoxyd wird das Bakterienwachstum nicht genügend gehemmt und die Milch verdirbt schnell.

Tabelle XIII.

Verhalten der Peroxydase und Katalase in der Milch unter der Einwirkung größerer Mengen Hydroperoxyd bei Eisschranktemperatur.

Die Hydroperoxyd-konzentration wird niedrig gehalten	Peroxydase (geprüft mit p-Phenylendiamin)	Katalase (geprüft mit Titansäure)	Angaben über den sonstigen Zustand der Milch		
			FM	M	Geschmack usw.
50ccm Milch werden mit 1 ccm H ₂ O ₂ (3 %) versetzt und geprüft nach 24 Stunden	kräftig positiv	H ₂ O ₂ zersetzt	30'	negativ	ohne merkliche Veränderung
50 ccm Milch werden mit 2mal 1 ccm H ₂ O ₂ ¹⁾ versetzt und geprüft nach 48 Stunden	"	"	"	"	"
50 ccm Milch werden mit 3 mal 1 ccm H ₂ O ₂ versetzt und geprüft nach 72 Stunden	schwach positiv	"	"	"	"
50 ccm Milch werden mit 4 mal 1 ccm H ₂ O ₂ versetzt und geprüft nach 96 Stunden	sehr schwach positiv	"	"	"	"
Dieselbe Milch wird mit noch 1 ccm H ₂ O ₂ versetzt und geprüft nach 4 Tagen	"	Enthält noch Hydroperoxyd (die Milch hat also annähernd 0,15 g Hydroperoxyd zersetzt)	"	"	Dumpfig, Metallgeschmack ²⁾
Die Hydroperoxyd-konzentration ist anfangs hoch					
50ccm Milch werden mit 2 ccm H ₂ O ₂ versetzt und geprüft nach 4 Tagen	positiv	H ₂ O ₂ zersetzt	53'	negativ	ohne merkliche Änderung
Dieselbe Milch mit weiteren 2 ccm Hydroperoxyd versetzt und geprüft nach 2 Tagen	"	"	—	—	—
Dieselbe Milch ohne weiteren Hydroperoxydzusatz geprüft nach weiteren 4 Tagen	"	"	negativ	negativ	dumpfig, sonst scheinbar unverändert
50 ccm Milch mit 4 ccm H ₂ O ₂ versetzt und geprüft nach 4 Tagen	"	"	60'	"	ohne merkliche Änderung
Dieselbe Milch mit weiteren 2 ccm Hydroperoxyd versetzt und geprüft nach 2 Tagen	"	Enth. noch größere Mengen Hydroperoxyd	—	—	—
Dieselbe Milch ohne weiteren Hydroperoxydzusatz geprüft nach weiteren 4 Tagen	"	desgl. (Die Milch hat also annähernd 0,15 g H ₂ O ₂ zersetzt)	negativ	negativ	Hydroperoxyd-Geschmack

¹⁾ Der zweite ccm H₂O₂ wird 24 h nach dem Zusatz des ersten zugesetzt, der dritte in der nächsten Probe nach weiteren 24 h u. s. f.

²⁾ H. Chick, Zentrabl. f. Bakt. II 7, 705, 1901 fand, daß noch Hydroperoxyd in der Verdünnung 1 : 1000 in der Milch durch den Geschmack deutlich erkennbar sei.

Verhalten der Peroxydase und Katalase in der Milch unter Einwirkung größerer Mengen Hydroperoxyd bei Zimmertemperatur, 35 ° und 45 °.

Nach Aufbewahrung im Thermostaten während	100 ccm Milch reagieren nach Zusatz von 10 ccm H ₂ O ₂ und Aufbewahrung bei											
	45 °			35 °			Zimmertemperatur			3 °		
	T ¹⁾	P.	Zu-stand	T.	P.	Zu-stand	T.	P.	Zu-stand	T.	P.	Zu-stand
1 Tag	stark positiv	negativ	—	stark positiv	kaum merklich	—	schwach positiv	positiv	normal	schwach	positiv	normal
2 Tage	unverändert	„	—	unverändert	negativ	—	sehr schwach	sehr geschwächt	„	sehr schwach	„	„
3 „	Abnahme	„	verdorben	„	„	—	negativ	sehr schwach	?	negativ	„	„
5 „	negativ	„	—	„	„	—	—	sehr schwach positiv	sauer	—	schwach	„
6 „	—	„	—	„	„	verdorben	—	„	—	—	sehr schwach	„

¹⁾ T = Titansäurereaktion.

Es ergibt sich also, daß die Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase wie diejenige der Katalase mit der Temperatur zunimmt, was berechtigt, diese Hemmungs- bzw. Vernichtungserscheinungen in beiden Fällen auf die gleiche Ursache, das Eintreten einer Zwischenreaktion, zurückzuführen. Die eigentümlich große Steigerung der Empfindlichkeit der Peroxydase durch die Temperatur wird jedoch bei der Katalase in demselben Maße nicht wiedergefunden. Milch nämlich, die durch die beschriebene Behandlung mit wenig Hydroperoxyd in der Wärme die Peroxydase völlig verloren hat, vermag nunmehr bei Eisschranktemperatur beträchtliche Mengen Hydroperoxyd zu zerlegen, ein Zeichen, daß noch größere Mengen unangegriffener Katalase vorhanden sind. Daß eine gewisse Schwächung zu beobachten ist, welche sich durch reine Temperaturwirkung nicht erklärt, steht mit den oben erwähnten Versuchen im Einklang. Einwirkung höherer Temperaturen und größerer Hydroperoxydmengen scheint aber auch die Katalase in kurzer Zeit zu vernichten, wie der Versuch ergab (s. Tabelle XIV S. 92).

Bemerkenswert ist nun für die Beurteilung der behandelten Frage das Verhalten der Filtrate von Kasein und Fett, die man erhält, wenn man Milch mit Magnesiumsulfat oder Kochsalz sättigt oder mit etwas Essigsäure behandelt und von dem entstehenden Koagulum abfiltriert. Diese Filtrate sollen hier und im folgenden der Kürze halber Sera genannt werden (vergl. auch Versuche Tabelle IV), obgleich wohl eigentlich nur dem Tonzellenfiltrat der unveränderten Milch diese Bezeichnung mit einem gewissen größerem Rechte zukommt. Die Sera haben nämlich, worauf später ausführlicher zurückzukommen ist, die Peroxydaseeigenschaft ungeschwächt erhalten, während die katalytische Eigenschaft praktisch vollständig verschwunden ist. Die

Tabelle XIV. Verschiedene Beeinflussung von Katalase und Peroxydase bei Erwärmung von Milch mit geringen Mengen Hydroperoxyd.

	100 ccm Milch mit 4 Tropfen 3%igem H_2O_2 60' auf 50° erwärmt reagieren mit		100 ccm Milch ohne H_2O_2 60' auf 50° erwärmt reagieren mit		100 ccm Milch ohne Erwärmung und ohne Zusatz reagieren mit	
	Titansäure	p-Phenylendiamin	Titansäure	p-Phenylendiamin	Titansäure	p-Phenylendiamin
Nach 1 tägigem Stehen mit 1 ccm 3%igen H_2O_2 bei 3°	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	positiv
Nach 1 tägigem Stehen mit weiteren 2 ccm H_2O_2 bei 3°	sehr schwach positiv	„	sehr schwach positiv	schwach positiv	„	schwach positiv
Nach 1 tägigem Stehen mit 4 ccm H_2O_2 bei 3°	positiv	„	schwach positiv	—	—	—
Nach weiterem 1 tägigen Stehen ohne H_2O_2 -Zusatz	schwach positiv	„	negativ	—	—	—

Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase ist aber hier noch fast größer geworden. So genügte bei mit Hydroperoxyd behandeltem¹⁾ „Kochsalzserum“ ein Erwärmen auf 50° während 1 Minute, bei dem „Essigsäureserum“ die gleiche Temperatur und Erwärmungsdauer, nach Neutralisierung eine Erwärmungsdauer von 5 Minuten bei der gleichen Temperatur, um die Peroxydase zu vernichten. Beachtenswert ist, daß die Vernichtungstemperatur der Peroxydase in diesen Lösungen für reine Temperaturwirkung nicht wesentlich anders liegt als bei Vollmilch. Damit scheint ein weiterer Beweis erbracht, daß die Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase der Milch in keinem direkten Zusammenhang steht mit ihrer Katalaseeigenschaft.

Diese Versuche sind weiterhin insofern interessant, als das Arbeiten mit den teilweise ganz, teilweise annähernd klaren Lösungen jetzt gewisse Trübungs- und Fällungserscheinungen, die der Vernichtung der Peroxydase einhergehen und bei bloßer Temperaturwirkung keineswegs auftreten, beobachtbar macht. Es liegt nahe, diese Erscheinungen mit der Vernichtung der Peroxydase in Zusammenhang zu bringen und zu vermuten, daß unter der Einwirkung des Hydroperoxyds eine schwerlösliche (denaturierte) Modifikation der Peroxydase entsteht, deren Bildung durch Temperaturerhöhung wesentlich beschleunigt wird.

b) Versuche betr. die Fermentnatur der Peroxydase.

Legen wir uns schließlich die Frage vor, ob es berechtigt ist, was bisher stillschweigend geschehen ist, die Peroxydasfunktion der Milch als Wirkung eines Fermentes zu betrachten, so können wir, falls wir diesen Begriff dem des Ostwald-

¹⁾ 2 Tropfen 3%iges Hydroperoxyd auf 50 ccm Serum.

schen Katalysators subsumieren, dies zunächst nur mit einer gewissen Einschränkung behaupten: Es liegen bislang noch keine Versuche vor über die Mengenverhältnisse, die zwischen oxydierbarem Stoff und Ferment bestehen¹⁾, und es ist sehr wohl möglich, daß das Ferment bei der Reaktion im stöchiometrischen Verhältnis verbraucht wird, ohne in die Brutto-Gleichung der ins Auge gefaßten Reaktion einzugehen (Katalysatorhemmung durch Nebenreaktion). (Vgl. Engler und Weißberg.)²⁾ Weiter besteht die Frage, ob man „Induktoren“ (R. Luther)³⁾ als Fermente bezeichnen darf, und ob wir es in diesem besonderen Falle mit einem Induktionsvorgang zu tun haben. An physiologischer Wichtigkeit würden die Fermente als solche sicherlich verlieren.

Praktisch wichtiger erscheint die Frage, ob wir es mit einer Funktion der Milch zu tun haben, die von ihrer Bakterienflora als unabhängig betrachtet werden darf. So weit mir die Literatur zur Verfügung steht, scheint dies nie bezweifelt worden zu sein und sogar die Spezialfrage, ob man das Ferment als ein Stoffwechselprodukt bakterieller Tätigkeit aufzufassen habe analog den toxischen Stoffwechselprodukten der pathogenen Kleinwesen, scheint durch den Nachweis der Peroxydasereaktion in „aseptisch“ gewonnener Kuhmilch und bakterienfreier Frauenmilch erledigt zu sein.

Immerhin schien es wertvoll, nach den bakteriologischen Befunden Seligmanns⁴⁾ über die Katalase, die, wie Schönbein schon anzunehmen geneigt war und was mit den vorausgegangenen Versuchen keineswegs im Widerspruch steht, vielleicht doch in funktioneller Beziehung zur Peroxydase steht, dieser Frage noch einmal näher zu treten.

Meine Versuche gingen dahin, die Milch oder ihre aktiven Bestandteile in Zustände überzuführen, in denen eine bakterielle Lebenstätigkeit unwahrscheinlich oder ausgeschlossen war.

Zunächst befreite ich die Milch von Kasein- und Fettballast. Schon Dupouy⁵⁾, Storch⁶⁾, Raudnitz⁷⁾, Kolle⁸⁾, Weber⁹⁾, Spolverini¹⁰⁾, Zink¹¹⁾, Rullmann¹²⁾, Marfan¹³⁾, Gillet¹⁴⁾, Breteau¹⁵⁾ haben auf diese Weise die Milch auf die Per-

¹⁾ Von A. Bach und R. Chodat sind solche an Pflanzenfermenten angestellt worden. Sie fanden, daß bei der Peroxydaseaktivierung die Peroxydase vom Hydroperoxyd im konstanten Verhältnis verbraucht wurde. (Oxydation v. Pyrogallol bzw. HJ.)

²⁾ Kritische Studien über die Vorgänge der Autoxydation. Braunschweig 1904.

³⁾ Vgl. N. Schilow, Zeitschr. phys. Chemie 1903. **42**, 641 u. R. Luther u. N. Schilow 1903, **46**, 777.

⁴⁾ a. a. O.

⁵⁾ *Révue intern. scient. et popul. de falsif. des denrées alim.* **10**, 126.

⁶⁾ a. a. O.

⁷⁾ a. a. O.

⁸⁾ *Pharm. Post.* **36**, 741, 1903.

⁹⁾ a. a. O.

¹⁰⁾ *Arch. d. méd. des enfants* **4**, 705, 1901.

¹¹⁾ a. a. O.

¹²⁾ a. a. O.

¹³⁾ *Hypothèse sur le rôle des zymases du lait.* — *Jahrb. f. Tiersch.* 1902, 1030.

¹⁴⁾ *Journ. de Physiol. et Path.* 1902, 439.

¹⁵⁾ *Journ. Pharm. Chim.* **7**, 1898.

oxydase untersucht, jedoch mit verschiedenem Ergebnis. Weber ist der Ansicht, daß weder die Milch noch die Molke aktive Eigenschaften besäße. Dupouy und Storch finden das Serum der Essigsäurefällung inaktiv, das Raudnitz, Zink und Breteau reaktionsfähig erklären, Storch das Serum der Magnesiumsulfatfällung aktiv, Raudnitz dasselbe inaktiv.

Ich fand, daß die Guajakreaktion im Serum ungeachtet, ob es durch H⁺-Ionen-zusatz, durch freiwillige Gerinnung oder durch Kochsalzfällung hergestellt war, schnell und annähernd in derselben Stärke wie bei unveränderter Milch auftrat. Die Storchsche Reaktion hingegen erwies sich außerordentlich empfindlich gegen H⁺-Ionen derart, daß schon durch die geringe Menge Säure die durch den Zusatz des käuflichen verdünnten Hydroperoxyds und des schwach sauer reagierenden Chlorhydrats des Paraphenylendiamins in das Reaktionsgemisch gelangte, die Farbreaktion beeinträchtigt wurde. In der Vollmilch waren diese geringen Säuremengen offenbar durch das amphotere Kasein bzw. die Phosphate der Milch beseitigt worden.

Setzte man zu dem Serum der Kochsalzfällung (das Serum der MgSO₄-Fällung verhält sich ganz analog) vor der Reaktion soviel einer verdünnten Na₂CO₃-Lösung, daß nach Zusatz von Hydroperoxyd und dem Chromogen eine neutrale Lösung entstand, so trat die Peroxydasereaktion mit derselben Intensität ein wie bei frischer Milch. Im Serum freiwillig geronnener oder dem durch Zusatz geringer Mengen Essigsäure gewonnenen blieb sie ganz aus und trat erst bei sorgfältiger Neutralisierung in der oben angegebenen Weise auf. Eigentümlich war es, daß es hier und auch in den mit dialysiertem Serum¹⁾ vorgenommenen Versuchen nie gelang, die mit frischer Milch beobachtete Farbnuance zu erhalten. Führte man nämlich die Reaktion in der sorgfältig neutralisierten Lösung aus, so ging die Färbung während der Reaktion aus einem schönen Grün über Blau in ein dunkles Rotviolett über. Es ist das wahrscheinlichste, daß diese Farbänderung durch während der Reaktion eintretende Änderung der Azidität veranlaßt ist. Führt man die Reaktion in alkalischer Lösung aus, so erhält man eine prachtvolle rote Färbung. Alleinige Konzentrationsänderung veranlaßte übrigens die vorhin beschriebenen Farbenwechsel nicht.

Die Prüfung auf die Wirkung antiseptischer Mittel geschah nun so, daß die auf dem üblichen Wege, aber so rasch als möglich gewonnenen Sera — es kamen auch ihre Dialysate zur Verwendung — mit Thymol und Chloroform²⁾ in auf die oben beschriebene Art vorbereitete Kölbchen gebracht und diese verschlossen bei Zimmertemperatur und im Eisschrank (3⁰) aufbewahrt wurden. Von Zeit zu Zeit wurden Proben zur Untersuchung entnommen. Gleichzeitig wurde das Verhalten der Sera ohne Zusatz der Konservierungsmittel geprüft. Über Einzelheiten geben die nachfolgenden Tabellen Aufschluß:

¹⁾ Siehe Seite 95.

²⁾ Vgl. E. Buchner, Die Zymasegärung.

Tabelle XV. Über die Haltbarkeit der Peroxydase im Milchserum.

I. Essigsäureserum.

Je 30 ccm des Filtrates der Essigsäurefällung in frischer Milch wurden mit einigen Tropfen einer 15%igen alkohol. Thymollösung bezw. mit einigen Tropfen Chloroform versetzt und im verschlossenen Gefäß bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Beide Lösungen zeigen nach 10 Tagen noch die Guajakreaktion ungeschwächt. Die mit Chloroform behandelte Lösung ist noch nach 5 Wochen aktiv. Desgleichen eine im Eisschrank aufbewahrte Lösung ohne Zusatz von Konservierungsmittel.

II. Dialysiertes Serum der Kochsalzfällung.

Je 30 ccm des Serums werden mit Thymolzusatz (s. o.) bezw. ohne einen solchen bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Nach 7 Tagen zeigt die thymolfreie Probe die Peroxydasereaktion nur noch ganz schwach. Nach einigen Tagen verschwand letztere ganz. Die thymolhaltige Probe zeigt noch nach 45 Tagen die Peroxydasereaktion ungeschwächt.

III. Serum der Kochsalzfällung (undialysiert).

Bei Zimmertemperatur verlor es die Peroxydase nach 8—10 Tagen.

Bei Aufbewahrung im Eisschrank und geschlossenen Gefäß hielt sich die Lösung monatelang aktiv.

Es ergibt sich also, daß der Zusatz von antiseptischen Mitteln, aber auch schon bloße Temperaturenmiedrigung oder hoher Kochsalzgehalt die Haltbarkeit der Peroxydase sehr wesentlich erhöht, und daß erstere die Reaktion in keiner Weise ungünstig beeinflussen, daß aber immer dann, wenn infolge von Veränderungen (Geruch, Trübungen) eine bakterielle Infektion des Serums (wie sie durch Luftinfektion nach Verflüchtigung der Konservierungsmittel möglich wurde) angenommen werden mußte, die Peroxydase alsbald beeinträchtigt bezw. vernichtet wird.

Auch das dialysierte Serum erhält seine Aktivität, wie aus vorangegangenen Angaben hervorgeht, vollständig. Es seien hier nur noch einige Bemerkungen angegeschlossen, in welcher Weise ich das Serum von den dialysierbaren Bestandteilen weitgehend befreite. Ich benutzte schließlich das Serum der Kochsalzfällung, weil es durch diese gelang, in kürzester Zeit völlig wasserklares Serum in größerer Menge zu gewinnen. Wenn das Serum im Verlauf der Dialyse kochsalzarm wurde, verdarb es sehr leicht, jedenfalls infolge bakterieller Infektion. Schließlich aber gelang es, die Dialyse 48^h in möglichst kalt gehaltenem, strömendem Wasser fortzusetzen, ohne daß die Peroxydase eine wesentliche Trübung erfahren hatte¹⁾. Der Pergamentbeutel, welcher die Lösung fassen sollte, wurde zunächst mehrere Stunden ausgekocht und sofort nach der Entnahme aus dem Dampfraum und Einfüllen des eiskalt gehaltenen Serums verschlossen; das Wasser, das den Pergamentbeutel umströmte, wurde vorher mit Thymol gesättigt. Die nach zweitägiger Dialyse erhaltene Lösung enthielt nur noch Spuren von Kochsalz.

Eigentümlich waren die Ergebnisse, als ich versuchte, die gewonnenen Sera durch Chamberlandkerzen zu filtrieren. Ich verwendete zunächst ein dialysiertes Serum der Kochsalzfällung und erhielt ein vollkommen klares, aber gänzlich inaktives

¹⁾ Eine sehr schwache Trübung trat allerdings ein, doch darf diese wohl auf das beginnende Ausfallen der Globuline zurückgeführt werden.

Filtrat¹⁾. Als ich darauf nach erneuter sorgfältiger Reinigung und Sterilisierung des Apparates zur Filtration eines Serums der Essigsäurefällung unter Benutzung derselben Kerze übergang, erhielt ich wiederum ein völlig klares Serum, aber jetzt von fast ungeschwächter Aktivität. Eine Wiederholung der Versuche mit einer neuen Kerze in der gleichen Reihenfolge hatte dasselbe Ergebnis. Die Vermutung, daß die absorbierende Wirkung der Kerze von gewissen indifferenten Bestandteilen des Serums abhängt, die je nach seiner Herstellungsweise darin sich vorfinden oder nicht, bestätigte sich indessen nicht vollständig. Bei Filtration eines Essigsäureserums durch eine ungebrauchte Kerze wurde zunächst ein inaktives Serum erhalten²⁾. Setzte man die Filtration eine Weile fort, so erhielt man wieder aktive Filtrate. Umgekehrt gelang es hingegen allerdings nicht, das Serum der Kochsalzfällung bei der Filtration durch ein in seiner absorbierenden Kraft auf die obige Weise geschwächtes Filter aktiv zu erhalten.

Daß es sich bei der Inaktivierung der Sera durch die Filtration nicht um Zurückhaltung „aktiver“ Bakterien handelt, sondern um eine mehr oder minder merkliche Absorption des gelösten aktiven Stoffes durch die große Filteroberfläche, erhellt schon daraus, daß in ersterem Falle die beobachteten Erscheinungen wohl gerade in der umgekehrten Reihenfolge hätten eintreten müssen. Der folgende Versuch spricht gleichfalls für die letztere Annahme: Ich konnte die in sterilen Röhren aufgefangenen Filtrate, gleichgültig, ob sie aktives oder inaktives Serum enthielten, eine Woche und länger bei Brut- und Zimmertemperatur aufbewahren, ohne daß sie irgendwelche Zersetzung oder Trübung erkennen ließen, wurde jedoch zu den Filtraten, die unter genau den gleichen Bedingungen aufbewahrt wurden, ein geringer Zusatz unfiltrierten Serums gemacht, so entstanden in kurzer Zeit starke Trübungen. Gleichzeitig ging die Peroxydase-reaktion verloren, wie dies schon an anderer Stelle hervorgehoben wurde.

Das etwas andere Verhalten des dialysierten Kochsalzserums gegenüber dem Essigsäureserum erklärt sich, wenn man eine Schutzwirkung der dialysierbaren Bestandteile des Serums (vielleicht des Milchzuckers) gegen die absorbierende Wirkung der Kerze annimmt.

Ich habe schließlich auch die aktiven Filtrate in einer durch einen Elektromotor angetriebenen Zentrifuge von großer Umdrehungszahl zentrifugiert, ohne eine Verschiedenheit der oberen und unteren Schicht bezüglich ihrer Aktivität beobachten zu können, was möglicherweise eintreten konnte, wenn Teilchen anderer Dichte als die der Flüssigkeit (Bakterien) sich in der Lösung vorgefunden hätten.

Schließlich habe ich versucht aus dem dialysierten Serum das Enzym in trockenem Zustande zu gewinnen. Schon Storch gibt an, beim Eindicken und Trocknen von Serum im Vakuum bei 40° eine hornartige Masse erhalten zu haben, die die Peroxydasereaktion noch gab. Hier schien es zweckmäßig, den aktiven Stoff möglichst

¹⁾ Marfan, Gillet und Rullmann haben dies ebenfalls beobachtet und daraus den Schluß gezogen, daß die Peroxydase nicht filtrierbar sei.

²⁾ Dieses Verhalten gegenüber einer ungebrauchten Kerze ändert sich nicht, wenn das Serum längere Zeit gestanden hat, der vorhandenen Bakterienflora also Gelegenheit geboten ist, sich zu vermehren. Ich untersuchte ein Essigsäureserum, das 8 Tage im Eisschrank gestanden hatte, und erhielt das gleiche Ergebnis.

rasch in Bedingungen zu versetzen, unter denen eine Bakterienwucherung unmöglich schien. Bei Vorversuchen fand ich, daß sich durch Ausfrierenlassen des Serums in Kältemischung die Fermentlösung an der wirksamen Substanz anreichern ließ. Mit Alkohol konnten dann Fällungen erhalten werden, die stark aktiv waren. Bei längerem Stehen des zunächst in der alkoholischen Lösung suspendierten Niederschlages setzte er sich jedoch bald zu Boden und wurde inaktiv. Verwandte man eine Mischung von Alkohol und Äther, wie dies E. Buchner¹⁾ zur Fällung der Zymase getan, so erhielt man einen schnell absitzenden Niederschlag, der jedoch ebenso rasch seine Aktivität verlor. Schließlich wählte ich zur Abscheidung folgende Methode: Das Serum wurde mit dem gleichen Volum absoluten Alkohols versetzt und der entstandene Niederschlag sofort auf dichtem doppeltem Filter mittels eines Büchnerschen Trichters an der Pumpe abgesaugt und nach scharfem Absaugen der Hauptmenge anhaftender Flüssigkeit im Vakuumexsikkator getrocknet. Die trockene, ziemlich harte Masse lieferte nach dem Verreiben in der Reibschale ein den käuflichen Eiweißstoffen ähnliches Pulver. Bei der Behandlung mit verschiedenen Lösungsmitteln, Wasser, wässriger Glycerinlösung, sehr verdünnter Alkali- oder Säurelösung ergab sich, daß das Pulver nur noch in sehr geringem Maße im Wasser löslich war. Filtrierte man — am besten nach mehrstündiger Digestion mit sehr verdünnter Säure — die Mischung, so erhielt man ein wasserklares Filtrat, das deutlich die Peroxydasereaktion zeigte. Daß es sich hierbei um einen Lösungsvorgang handelte, ließ sich zeigen, indem es leicht gelang, durch mehrmalige Digestion des Pulvers mit kleinen Mengen verdünnter Säure zu bewirken, daß sowohl die zunächst aktiv befundene Suspension des Pulvers als auch die schließlichen Waschwässer die Peroxydasereaktion nicht mehr zeigten. Auch diese Versuche wurden unter Zusatz von Thymol ausgeführt. Mehrmonatliches Trocknen des Pulvers über Phosphorperoxyd hatte keine wesentliche Schwächung zur Folge. Als ich nach einem halben Jahr das über Phosphorperoxyd aufbewahrte Pulver untersuchte, hatte es allerdings an Aktivität wesentlich verloren, doch konnte immer noch daraus eine die Guajaktinktur deutlich bläuende Lösung auf die oben beschriebene Art hergestellt werden.

V. Schlußfolgerungen.

1. Die sogenannte Arnoldsche und Storchsche Reaktion zum Nachweis stattgehabter Erhitzung von Milch zeigen den gleichen Reaktionsmechanismus. Sie beruhen auf der Beschleunigung eines Oxydationsvorganges zwischen einem Chromogen und einem Peroxyd durch eine der „frischen Milch“ zukommende Eigenschaft.

2. Das das Chromogen der Arnoldschen Probe enthaltende Guajakharz weist die folgenden Besonderheiten auf:

a) Es enthält einen autoxydablen Stoff, der in trockenem Zustand, besonders aber in Lösung unter der Einwirkung des Lichtes an der Luft in ein Peroxyd übergeht, durch das einerseits eine langsame spontane Bläuung des Chromogens bewirkt wird, das andererseits unter den Bedingungen der Arnoldschen Probe wahrscheinlich

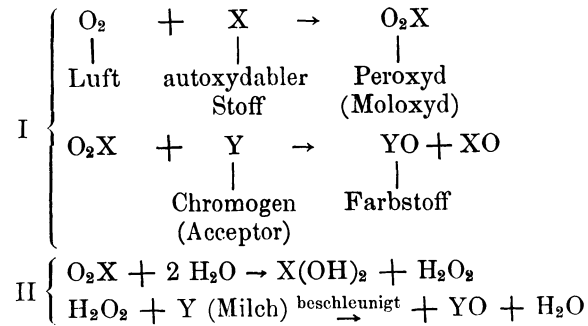
¹⁾ Vgl. E. Buchner, Die Zymasegärung. S. 240 ff.

zu Hydroperoxyd hydrolysierend auch ohne Zusatz dieses Stoffes beim Zusammenbringen der Harzlösung mit frischer Milch die Reaktion veranlaßt.

b) Das entstehende Peroxyd ist, da es mit dem Chromogen reagiert, unbeständig.

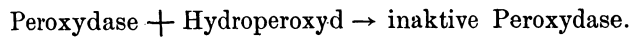
c) Desgleichen ist der entstehende Farbstoff, das Guajakblau, in Lösung, insbesondere unter den Bedingungen der Arnoldschen Probe, sehr unbeständig.

Unter Annahme der Englerschen Moloxydtheorie finden die beschriebenen Vorgänge demnach folgenden schematischen Ausdruck:



3. Träger jener beschleunigenden Eigenschaft der Milch ist ein im Serum gelöster und aus diesem in völlig trockenem Zustande gewinnbarer Stoff, dessen Funktion von der Lebenstätigkeit der Bakterienflora der Milch unabhängig ist.

4. Unbeschadet der Fähigkeit, Peroxyd zu aktivieren, ist dieser Stoff hydroperoxydempfindlich. Der einfachste und hinreichende Ausdruck für diese Eigenschaft ist das folgende Reaktionsschema:



Zu der Annahme einer solchen Nebenreaktion führen:

a) Die Beobachtung über die Änderung des Verlaufs der Peroxydasereaktionen bei wachsendem Hydroperoxydzusatz, aus der sich Maxima für Reaktionsgeschwindigkeit und für die größte Bläuungsintensität bei bestimmten (ziemlich geringen) Hydroperoxydzusätzen ergeben.

b) die Tatsache, daß die Hydroperoxydempfindlichkeit stark von der Temperatur abhängig ist, derart, daß

Einwirkung geringer Mengen von Hydroperoxyd während weniger Minuten bei 50° Vernichtung der Peroxydase zur Folge hat,

bei 3° jedoch sehr beträchtliche Mengen Hydroperoxyd mit der Peroxydase zusammengebracht werden können, ohne sie zu schwächen.

c) Die Tatsache, daß die Hydroperoxydempfindlichkeit der Peroxydase in keinem Zusammenhang steht mit den katalytischen und reduzierenden Eigenschaften der Milch.

Als praktische Folgerungen aus diesen Ergebnissen läßt sich teils in Bestätigung der Mitteilung anderer Autoren teils in Erweiterung derselben folgendes anführen:

Die Guajakreaktion sollte immer unter Verwendung von Hydroperoxyd angestellt werden; dann ist sie, falls andere Oxydationsmittel, welche das Guajakharz rasch zu bläuen vermögen, ausgeschlossen sind, wie die Dupouy-Storchschen Reagenzien als

Mittel zum Nachweis einer Peroxydase zu betrachten. Ob es zweckmäßig ist, die Guajakreaktion zur Ermittlung anderer Oxydationsfermente z. B. der sog. „Oxydasen“ zu verwenden, scheint nach den gemachten Erfahrungen verneint werden zu müssen, und es verdient jedes andere Reagens den Vorzug, bei dem die Anwesenheit eines Peroxyds mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

Für die praktische Frage der Milchuntersuchung ergibt sich, daß, um die größte Empfindlichkeit der Reaktion zu erhalten, mit dem Zusatz von Hydroperoxyd außerordentlich vorsichtig umzugehen ist, über den sich bestimmte Angaben nicht machen lassen, da die optimale Menge von der Peroxydasemenge einerseits und von dem Zustand der Guajaktinktur andererseits abhängt. Dies ist besonders für die Untersuchung von Mischungen pasteurisierter und roher Milch beachtenswert, in denen der Gehalt an Peroxydase sehr gering ist.

Der negative Ausfall der unter den notwendigen Versuchsmaßregeln angestellten Reaktion bedeutet aber stets die Zerstörung eines integrierenden Bestandteils der Kuhmilch: der Peroxydase.

Diese Zerstörung kann jedoch nicht nur durch reine Temperaturwirkung, sondern auch durch die Wirkung geringer Hydroperoxydmengen bei Temperaturen hervorgerufen werden, die einerseits weit unter der für eine Pasteurisierung geforderten Temperatur (mindestens 65° C.), andererseits weit unter der Vernichtungstemperatur der Peroxydase durch reine Wärmewirkung liegt. Da die Hydroperoxydmengen alsbald aus der Milch verschwinden, so kann durch den negativen Ausfall der Peroxydasereaktionen bei so behandelter Milch Erhitzung auf 75°—80° vorgetäuscht werden. In solchen Fällen können die Schardingersche Reaktion (unter Verlängerung der Beobachtungszeit) und die Rubnersche Reaktion, die durch die besprochene Behandlung wenig oder nicht beeinflusst werden, orientierende Dienste leisten.

Bei Einwirkung größerer Hydroperoxydmengen in der Kälte sowohl als in der Wärme (Buddeisieren, Behrings Perhydraseverfahren) wird auch die Schardingersche Reaktion unbrauchbar, und man wird bei positivem Ausfall der Rubnerschen Reaktion an der Schwächung oder Vernichtung der Katalasefunktion derartige Behandlung erkennen, wobei freilich nicht aus dem Auge zu lassen ist, daß die Katalaseeigenschaft der Milch keine eindeutige Ursache hat.

Vorstehende Arbeit wurde in der Zeit vom Januar 1906 bis zum Januar 1907 im Chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ausgeführt. Dem Direktor des Laboratoriums, Herrn Geheimen Regierungsrat Dr. W. Kerp bin ich für das dem Fortgang der Untersuchung entgegengebrachte Interesse zu lebhaftem Danke verpflichtet.

Endlich möchte ich es nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. E. Baur, früherem kommissarischen Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte, auch an dieser Stelle für seine wertvollen Ratschläge und die mir von seiner Seite zuteil gewordenen wissenschaftlichen Anregungen herzlichst zu danken.

A n h a n g :

Literaturübersicht betr. die Veränderungen der Kuhmilch beim Erhitzen.

Von

Dr. Percy Waentig,

früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Inhalt: I. Einleitung. — II. Anorganische Bestandteile. — III. Fett. — IV. Milchzucker. — V. Gase. — VI. Eiweiß. — VII. Geschmack. — VIII. Verdaulichkeit und Nährwert. — IX. Fermente. — X. Mikroorganismen.

Einleitung.

Die Wirkung erhöhter Temperaturen auf Milch und Molkereiprodukte muß noch immer als das beste Mittel zu ihrer teilweisen oder vollständigen Sterilisierung betrachtet werden. Der Wert der letzteren erhellt in erster Linie aus der Bedeutung dieses Nahrungsmittels für die künstliche Ernährung der Säuglinge und ergibt sich ferner aus der großen Infektiosität dieses Nahrungsmittels, welche auf seiner Gewinnungsart und seiner chemischen Zusammensetzung beruht. Das Studium der Veränderung der Milch durch Wärmewirkung hat jedoch ergeben, daß einerseits der gewollte Zweck der Sterilisierung nur schwierig zu erreichen ist, und daß andererseits unter Bedingungen von Temperatur und Erhitzungsdauer, die zweifellos für eine solche nicht ausreichen, Veränderungen eintreten, von denen zum mindesten festzustellen war, ob sie die Bedeutung der Milch als Nahrungsmittel, insbesondere für das Kindesalter, zu beeinträchtigen geeignet sind.

Bei dem Interesse, welches Industrie, Landwirtschaft, medizinische und chemische Wissenschaft dem Gegenstand entgegenbringen, ist das sich hieraus ergebende Problem in zahlreichen Untersuchungen von sehr verschiedenem Standpunkte aus bearbeitet worden, ohne daß eine Einigung erzielt wurde. Vielmehr scheinen die daran beteiligten Forscher in drei Lager gespalten: Die einen wollen die vollständige Sterilisierung als das Haupterfordernis für eine hygienische Säuglingsmilch nicht aufgeben und erklären die Beeinträchtigung des Nährwertes der Milch durch anderweitige Änderungen bei den hohen Temperaturen für vernachlässigbar im Vergleich zu dem erreichten Ziele. Die anderen halten die Hitzedenaturierung der Milch für so bedenklich, daß sie andere Wege für Präservierung und Sterilisierung einschlagen. Die dritten endlich sprechen für eine partielle Sterilisierung, durch die die Hitzedenaturierung in unbedenklichen Grenzen gehalten werde und andererseits wenigstens die Krankheitserreger beseitigt werden könnten.

Fragen wir nach den Gründen dieser Abweichungen, so ist einer schon in den oben erwähnten verschiedenen Interessenssphären berührt, die sich hier begegnen. Dies hat nämlich zur Folge, daß die Bewertung der Argumente in sehr ungleicher Weise erfolgt. Andererseits bietet aber das Studium der Wärmeveränderungen eines so komplizierten

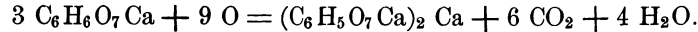
chemischen und physikalischen Systems, wie es die tierische Milch darstellt, schwierige Aufgaben. Ihre Schwierigkeit erhellt einerseits wiederum aus unserer mangelhaften Kenntnis über den normalen Zustand der Milch, ferner aber im besonderen daraus, daß unsere Erfahrungen über die Chemie der Eiweißkörper noch nicht vollkommen genug sind, um ihre subtileren Veränderungen beobachten und beschreiben zu können, und endlich daraus, daß uns die physikalisch-chemischen Erfahrungen fehlen über Existenzbedingungen und Veränderungen eines solchen Systems wie die Milch, in dem uns echte Lösung, Emulsionszustand und Colloidallösung gleichzeitig entgegen-treten. Unter diesen Umständen erscheint eine möglichst vollständige Zusammenstellung und Sichtung des bisher gewonnenen Tatsachenmaterials förderlich, was im nachstehenden versucht worden ist. Vorausgeschickt sei der Hinweis auf die bisher erfolgten Zusammenstellungen von Raudnitz, Sebelien, Weber, Lecornu und anderen, die hier Verwertung fanden.

Anorganische Bestandteile.

Söldner hat festgestellt, daß ungefähr 15 % des in der Milch gelösten Kalkphosphats beim Kochen unlöslich werden, indem diese in ein Tricalciumphosphat übergehen. Auch Courant scheint diese Anschauung zu haben. Duclaux dagegen vertritt einen anderen Standpunkt. Nach ihm ist die Lösbarkeit des Calciumphosphats in der Milch zu einem Teil durch ihren Gehalt an Zitraten bedingt: Die Löslichkeit der Zitrate sinkt mit steigender Temperatur nach Vaudin. Es tritt infolgedessen bei erhitzter Milch Fällung des Zitrats und infolgedessen eine Fällung des Calciumphosphats ein. Ihrer Natur nach sind jedoch diese Fällungen umkehrbar: Beim Abkühlen tritt der Anfangszustand wieder ein. Daß dies unwahrscheinlich ist, erhellt schon daraus, wie Henkel die Zitronensäure der Milch fand, nämlich bei der Untersuchung der Abscheidungen sterilisierter Milch des Handels. Corbette und Netter betrachten nun auch die Zitratfällung als einen nicht umkehrbaren Vorgang, bestehend in dem Übergange eines leichtlöslichen amorphen in ein schwerer lösliches kristallisiertes Zitat. Neuerlich haben Bockhout und de Vries Söldners Angaben quantitativ bestätigt, doch finden sie nur eine Abnahme von in maximo 5,5 mg auf 100 g Milch. Auch Grelleys Beobachtung scheint dafür zu sprechen. Er fand, daß eine Probe roher Milch in dem oberen und unteren Teile die gleiche Menge Phosphorsäure, nämlich 0,0526 g auf 50 g Milch enthielt, während eine während 1/2 Stunde gekochte Milch in ihrem oberen Teile einen Gehalt von 0,0475 g, unten einen solchen von 0,725 g auf 50 g Milch zeigte. Im vorigen Jahre endlich hat Diffloth noch eine viel erheblichere Abnahme gelöster Phosphate bei Temperaturen gefunden, die zum Teil bedeutend unter der Kochtemperatur liegen.

Nach Erwärmung der Milch		Verlust an löslichen Phosphaten
auf:	während:	um:
60°	30'	25,9 %
95°	30'	46,5 „
110°	30'	54,2 „

Zur obigen Frage der Zitratabscheidung ist zu erwähnen, daß Willoughby sie offenbar auch als eine nicht umkehrbare ansieht. Obermaier verfolgte die Erscheinung näher und legte ihr den folgenden Vorgang zugrunde:



Er findet, daß beim Erwärmen auf 75° während 30 Minuten 3,4 %, bei 5 Minuten langem Erwärmen auf 100° 30 % Verlust an Zitronensäure eintreten. Damit stimmen die von Dieudonné ermittelten Zahlen recht gut überein.

Im Zusammenhang mit dieser Erscheinung stehen die über die Änderungen von physikalisch-chemischen Konstanten gemachten Beobachtungen. Während Söldner und Soxhlet die Beobachtung, daß die Milch beim Kochen alkalische Reaktion annehme, bestreiten, indem letzterer diese Beobachtung als eine auf die Zunahme der Hydrolyse der Salze zurückzuführende Erscheinung betrachtet, glaubt Engling eine bleibende Zunahme der Alkalität beobachtet zu haben und auch Girard scheint eine solche anzunehmen. Ebenso hat Höft gezeigt, daß diese Veränderung schon vor dem Siedepunkte der Milch eintrat. Jensen und Plattner zeigten jedoch, daß bei dauerndem Erhitzen zunächst eine Abnahme, später eine Zunahme des Säuregrades eintrete, und schieben erstere auf den Verlust an Kohlensäure, letztere auf die Entstehung phosphorhaltiger organischer Säuren. Courant fand andererseits, daß das Säurebindungsvermögen der Milch nach dem Kochen um 60 ccm $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure pro Liter gesunken ist, was von Siegfeld, der auch eine Abnahme des Basenbindungsvermögens feststellte, ferner von Hittcher und Kirsten bestätigt wurde.

Mit der Abnahme der in echter Lösung befindlichen, also auch ionisierten Salze mußte eigentlich eine Erhöhung des Gefrierpunktes bzw. eine Verminderung der Gefrierpunktserniedrigung eintreten, welche als ein Maß für die in echter Lösung befindlichen Mole betrachtet werden kann. Von Hotz, Neumann und Bonnemma ist dies bestätigt worden. Neumann gibt die Änderung zu 0,01—0,12° C. an. Bei Hotz finden sich folgende Angaben:

Erwärmung:	Abnahme d. Gefrierpunktserniedrigung	
	Magermilch	Vollmilch
Aufkochen . . .	0,003 °	0,015 °
10' langes Kochen .	0,005 °	0,020 °
45' langes Kochen .	0,010 °	0,024 °
	Abnahme von spez. Leitfähigkeit	
45' langes Kochen .	0,66	1,13

Winther und Nencki-Podczasky haben sie nicht beobachten können. — Van der Laan und Hotz finden auch die spezifische Leitfähigkeit herabgesetzt. — Die nach Weigmann aus dem Wasserverlust erklärliche Zunahme der Viskosität bei längerem Kochen geht in eine Abnahme (Babcock) über, wenn man das fehlende Wasser ersetzt und zwar macht sie sich nach Steiner bei 60°, nach Woll schon bei 30° bemerkbar.

Fett.

Leeds bringt die Änderung der Viskosität der Milch beim Kochen mit der Änderung des physikalischen Zustandes des Fettes in der Milch in Zusammenhang, indem er ein Zusammenfließen der Milchfettkügelchen als Ursache der ersteren Erscheinung betrachtet. Woll konnte diese Erklärungsweise nicht experimentell bestätigen. Er fand bei 20 Minuten langem Erhitzen auf 67° die Viskosität der Milch von 261 auf 250 sinkend, bei dem Rahm von 577 auf 495. Die Zahl der Fettkügelchen aber war konstant geblieben. Bei Milch, die im Arnoldschen Dampfsterilisator 30–35 Minuten erhitzt worden war, konnte infolge der Albuminkoagulation und Hautbildung eine genaue Viskositätsbestimmung nicht vorgenommen werden. Die Zahl der Fettkügelchen aber war hier sogar gestiegen. Sebelien schließt sich der Auffassung an, daß die Fettkügelchen in erhitzter Milch weder ihrer Form noch ihrer Größe nach verändert werden. Die hiernach also unaufgeklärte Viskositätsänderung glaubt neuerdings Babcock und Russell dadurch deuten zu können, daß die in der rohen Milch unter dem Mikroskop beobachtbare ungleiche Verteilung der Fettkügelchen durch Erwärmung auf 60° noch nicht, aber durch eine solche auf 68° aufgehoben würde, eine Temperatur, bei der auch die Viskositätsänderung einträte. Sie fanden noch, daß durch Calciumsaccharatzusatz die Viskosität und die ungleiche Verteilung der Kügelchen sich wiederherstellen lasse. Béchamp meint, daß die Hüllen der Milchfettkügelchen beim Kochen koagulierten, und Raudnitz nimmt wohl ähnliches an, wenn er von einer Änderung der viskösen Grundlage der Milch spricht, deren Vorhandensein sich daraus ergäbe, daß flüssiges Butterfett sich in sterilisierter Milch schwerer emulgiere als in roher. Auch Jensen und Plattner sprechen von einem Zusammenfließen der Milchfettkügelchen als Folge der Hitzewirkung: eine kurz dauernde Erhitzung auf 120° läßt die Erscheinung sehr deutlich werden, aber schon eine Erwärmung auf 70° während 5 Stunden macht sie bemerkbar. Oxydation und Hydrolyse halten sie bei den gewöhnlich in der Praxis üblichen Sterilisierungsverfahren für ausgeschlossen, Vorgänge, die Lecornu hingegen hier wohl für möglich hält. Fleischmann sagt: In sehr vorsichtig sterilisierter Milch beträgt die Menge des zusammengeschmolzenen Fettes 0,2 — 0,5%. Daß gewisse Änderungen beim Erhitzen der Milch vor sich gehen, die in dem Verhalten des Milchfettes zum Ausdruck gelangen, zeigte auch Renk, der fand, daß im Flaakschen Milchsterilisierungsapparat behandelte Milch in 30 bis 37 Tagen 25—43% ihres Fettes in einer zusammenhängenden Schicht abscheide und daß durch Bewegung dieser Vorgang verzögert würde, eine Beobachtung, die auch Farrington und Russell machten. Blasius und Beckurts beobachteten erst eine Verminderung der Emulgierung am 4. Tage nach der Sterilisierung. Die gleiche Beobachtung wie Renk hat auch Bendix bei Milch gemacht, die längere Zeit auf 100° oder über 100° erhitzt worden war.

Interessant in diesem Zusammenhange sind auch die Versuche über Aufnahmefähigkeit erhitzter Milch und über das Ausbuttern pasteurisierten Rahmes. So finden Farrington und Russell, daß bei längerem Erhitzen auf 60° nicht, auf 68° dagegen deutlich eine Verminderung der ersteren Eigenschaft eintrete. Weigmann beobachtete

die Abnahme bei 10 Minuten langem Erhitzen auf 70° noch nicht, sondern bezeichnete sie erst bei 85° als erheblich. Girard erwähnte diese Eigenschaft als eine solche der gekochten Milch ebenfalls. Neuerdings hat Kaufmann festgestellt, daß der Prozeß des Aufrahmens mit wachsender Temperatur bis 60° sich mit immer größerer Leichtigkeit vollziehe. — Über den Vorgang des Ausbutterns stellte Steiner folgendes fest: Ausbutterungszeit und Fettgehalt der Buttermilch ist bei pasteurisiertem Rahm etwas geringer als bei rohem Rahm. Der Ausbutterungsgrad beträgt 97% des von Rohrahm. Remington machte die gleiche Beobachtung hinsichtlich der Ausbutterungszeit, fand aber, daß Butter aus pasteurisiertem Rahm in der Regel einen höheren Wassergehalt aufwies.

Eine Spaltung des Lecithins vermutet schon Baginsky. Bordas und Raszkowsky bestätigen dies und finden eine auffallende Abhängigkeit der Lecithinveränderung von der Art des Erhitzens der Milch.

Nach 30' langem Erwärmen über freier Flamme auf 60°	Verlust an Lecithin	14%
„ 30' „ „ „ „ „ auf 80°	„ „ „	28%
„ 30' „ „ „ „ „ auf 96°	„ „ „	28%
„ 30' „ „ auf dem Wasserbad auf 95°	„ „ „	12%

Nach Lecornu beginnt die Lecithinspaltung erst bei 76° und führt bei Erwärmung der Milch auf 110° zur vollständigen Zerstörung.

Milchzucker.

Schon Baginsky hat 1883 eine Abnahme des Milchzuckers beim Kochen beobachtet und zwar von 4,86 auf 3,88 bzw. von 3,72 auf 3,11%. Leeds bringt die schon beim Kochen der Milch auftretende bräunliche Farbe mit einer Caramelisierung des Zuckers in Zusammenhang. Später haben dann Cazeneuve und Haddon die Ansicht vertreten, daß die leichtere Gerinnung der Milch beim Kochen und der Einfluß dieses auf den Milchzucker in Zusammenhang stünden. Sie nahmen nämlich an, daß eine auf den Diphosphatgehalt der Milch zurückführbare Caramelisierung des Zuckers eintrete, bei der Ameisensäure gebildet werde, die wiederum die leichtere Koagulation des Eiweißes veranlasse. Gautrelet glaubt an die Bildung von Bernsteinsäure. Eine solche Ursache für die Braunfärbung der Milch beim Sterilisieren scheint Duclaux und Renk dagegen ausgeschlossen. Auch Flügge konnte während einstündigem Erwärmen der Milch auf 100° eine Abnahme des Zuckers nicht feststellen. Andererseits aber hat schon Schröder gezeigt, daß der Käsestoff sich erst beim Kochen unter 3—5 Atmosphärendruck bräune. Bardach aber scheint in einer Arbeit über die Gerinnungsursachen erhitzter Milch die Auffassung von Cazeneuve und Haddon zu bestätigen. Dasselbe tun die Versuchsergebnisse von Wroblewsky, der folgendes feststellte:

	Milch 3 Stunden erhitzt auf:		
	80°	110°	120°
Farbe: . . .	unverändert	gelblich	bräunlich gelb
Reaktion: . . .	neutral	merklich sauer	deutlich sauer

Er nimmt die Bildung von Milchsäure an, eine Auffassung, der König beipflichtet. Sebelien spricht ebenfalls von einer Karamelisierung bei 100°, und auch Susailow beobachtet im Papinschen Topf bei 100—125° Karamelbildung. Cann und Shinert rechnen ebenfalls mit Karamel- und Säurebildung in der Milch beim Sterilisieren infolge der Milchzuckerzersetzung.

Nachdem Weinland zeigte, daß eine Milchzuckerlösung beim Kochen mit Zitronensäure invertiert werde, haben Droop-Richmond unterschieden zwischen Milchzuckeränderungen, ermittelbar durch Bestimmung der Drehungsänderung der Ebene des polarisierten Lichtes und durch Bestimmung des Reduktionsvermögens der Lösung. Sie finden, daß der titrimetrisch ermittelte Gehalt sich durch Kochen nicht verändere, wohl aber, daß die Drehung dabei abnehme, und führten diese Abnahme auf Bildung einer halb rotierenden Modifikation des Milchzuckers zurück. Willoughby spricht auch von dieser Abnahme des Drehungsvermögens, bringt sie aber mit der Karamelisierung und der Braunfärbung, also mit einer Zersetzung des Zuckers in Zusammenhang. Jensen und Plattner beobachteten erst nach dem Erwärmen auf 120°—130° eine Abnahme des Drehungsvermögens, erst nach dem Erwärmen auf 140°—150° eine Abnahme des Reduktionsvermögens. Eine reine 5% Milchzuckerlösung bliebe bis 140° noch unverändert, bei Gegenwart von Alkali werde sie zersetzt, in Säurelösung invertiert. Die eintretenden Veränderungen in der Milch seien komplizierter Natur. Die Bräunung der Milch resultiere aus einer Wechselwirkung zwischen Kasein und Zucker.

Gase.

Über den Gasgehalt der Milch liegen wenig exakte Untersuchungen vor. In erhöhtem Maße ist dies natürlich von den Arbeiten über die Veränderungen dieser Bestandteile der Milch zu sagen. Thörner stellte fest, daß bei 10 Minuten langem Kochen der Milch der Kohlensäureverlust $\frac{9}{10}$, der Verlust an den übrigen Gasen die Hälfte der ursprünglich vorhandenen gelösten Gasmengen betrage. Auch von Obermaier ist der Kohlensäureverlust in gekochter Milch bestimmt worden. Nach Raudnitz könnte die gesamte Abnahme der Azidität auf Kohlensäureverlust zurückgeführt werden. Nach Söldner ist die Kohlensäure an der Lösung des Calciumphosphats beteiligt, was daraus hervorgehe, daß Milch, die durch Auspumpen von Kohlensäure befreit ist, schlechte Labgerinnung zeigt. Auch Jensen und Plattner erklären die Änderung der Labfähigkeit der Milch nach Erhitzen bei niedriger Temperatur zum Teil durch Verlust an Kohlensäure.

Über die Bildung von Ammoniak in erhitzter Milch berichten Meissel, Trillat und Souton und Klemperer. Ersterer nimmt eine Bildung des Ammoniaks beim Sterilisieren an, Trillat und Sauton führen sie auf bakterielle Tätigkeit zurück. — Endlich haben Henseval und Wauthy Milch destilliert und in den ersten Fraktionen das Aroma roher, in den späteren das gekochter Milch gefunden.

Eiweiß.

a) Hautbildung.

Ein besonders eingehendes Studium ist den Eiweißkörpern zu teil geworden, deren Wärmeempfindlichkeit ja eine ihrer charakteristischen Eigenschaften ist. Bei der sinnfälligsten Erscheinung, in der sich die Wärmewirkung auf die Eiweißkörper verrät, der Hautbildung, scheint noch das Fett in gewissem Grade mitbeteiligt zu sein. Ältere Forscher wie Löwig und Scherer hielten die Erscheinung für einen Oxydationsvorgang: Beim Überleiten von Kohlensäure über die Milch entstand keine Kochhaut. Willoughby hält die Haut, die sich nach seinen Angaben bei 60° zu bilden beginnt, für ein Oxydationsprodukt des Kaseins, womit die Beobachtung von Susailoff in Zusammenhang gebracht werden kann, daß Milch, die zwischen 100° und 125° im Papinschen Topf gekocht wurde, keine Kochhautbildung zeigt. Eingehender prüfte Sembritzky das Phänomen und stellte fest, daß es bereits bei Erwärmung auf 50° beginne, daß mit steigender Temperatur die Bildungsgeschwindigkeit zunehme, starke Verdünnung der Milch und Überschichten mit Öl die Entstehung der Haut verhindere. Daß es sich dabei um eine bloße oberflächliche Wasserverdunstung handle, glaubt er damit zu widerlegen, daß er zeigt, daß einerseits über konzentrierter Schwefelsäure die Hautbildung nicht auftritt, andererseits das sog. „Angelegte“, das sich an Wänden und Boden der Gefäße bildende Gerinnsel, eine solche Erklärung ja gar nicht zulasse. Endlich weist er darauf hin, daß auch andere kolloidale Lösungen (Leim, Kleister) Hautbildung zeigen. Siedel untersuchte die Zusammensetzung des sich beim Kochen ansetzenden Milchrückstandes und fand einen sehr hohen Kalkgehalt der Asche: 38,91%, und einen sehr hohen Fettgehalt: 18,47%. Osborne und Rettger teilen die Ansicht, daß die Hautbildung in der Hauptsache durch das Kasein veranlaßt sei. Osborne stellt jedoch im besondern fest, daß Lösungen von Kaseinalkali keine Haut bilden, Rettger, daß die Fettemulsion und oberflächliche Verdampfung in gewisser Weise die Hautbildung begünstigen. Jamison und Hertz sprechen auch von einer Beteiligung der MilCHFettkügelchen. Sie finden, daß auf Sahne bereits bei 53°, auf Magermilch erst bei 60° Hautbildung auftrete, und daß Fettkügelchen in Eiweißlösungen ganz allgemein Hautbildungen zeigten. Bezüglich der Zusammensetzung der Haut stellen sie eine Veränderlichkeit mit der Temperatur fest: Unterhalb 60° besteht sie aus „Kaseinogen“ („Kasein“ nach Raudnitz) und Fett, oberhalb 60° außerdem noch aus koaguliertem Laktalbumin. Hingewiesen sei schließlich auch auf die ausführlichen Tabellen bei Girard über die Änderung der Zusammensetzung der Milch beim Pasteurisieren, wobei besonders auf die Veränderung durch Hautbildung Rücksicht genommen ist. Die Befunde über die sonstigen Hitzeveränderungen der Eiweißstoffe lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

b) Nichtkaseineiweiß.

Wroblewski stellte fest, daß eine 0,5%ige Albuminlösung nach 1/2- bis 1-stündigem Kochen vollständig geronnen ist; Sebelien, daß eine reine Globulin-

lösung in 5- bis 10%iger Kochsalzlösung bei 72°—74° C. koaguliere. Rubner zeigte, daß in dem Filtrat der Kochsalzfällung gekochter Milch das gelöste hitzkoagulable Eiweiß fehle, und gründete darauf eine Methode zum Nachweis gekochter Milch, die auch von Droop-Richmond und Boseley für empfehlenswert gehalten wird (vergl. auch die Untersuchung von Bernstein). Auch Middeltou und Raudnitz bestätigen, daß das Filtrat der Kochsalzfällung frei sei von hitzkoagulablem Eiweiß, wenn die Milch gekocht war. Solomin hingegen und später Sebelien zeigen, daß ein Teil des Albumins der Hitzefällung beim Kochen zu entgehen scheine. Solomin stellt fest, daß bis 55° keine Fällung eintrete, daß nach Erwärmung auf 100° nicht die von Hoppe-Seyler als der normale Gehalt der Kuhmilch festgestellte Albuminmenge im Niederschlag gefunden werde, daß bei 130° bis 140° jedoch sämtliche Eiweißstoffe einschließlich des Fettes und des an Kalk gebundenen Phosphors gefällt würden. Sebelien gibt die gleiche Temperatur für die Hitzekoagulation des Kaseins an. Für weitere Veränderungen gibt er folgende Tabelle:

	Frische Milch	Nach Erwärmen während	
		½ ^h auf 100°	10' auf 120°
Gesamtstickstoff	0,49	0,44	0,50
N der Alaunfällung	0,38	0,44	0,45
N der Gerbsäurefällung	0,11	0,04	0,05

Nach ihm wird das Globulin bei 73°, das Albumin bei 80° vollständig gefällt, wenn reine Lösungen vorliegen. Lefman und Beam geben in ihrem Buche über Nahrungsmittelanalyse folgende interessante Tabelle nach einer Untersuchung von Stewart.

Lösliches Albumin in frischer Milch	Erwärmungszeit		Lösliches Albumin in erhitzter Milch
0,423	10'	60°	0,418
0,435	30'	60°	0,427
0,395	10'	65°	0,362
0,395	30'	65°	0,333
0,422	10'	70°	0,269
0,421	30'	70°	0,253
0,380	10'	75°	0,07
0,380	30'	75°	0,05
0,375	10'	80°	0
0,375	30'	80°	0

Nach dieser würde die Albuminfällung nach Erwärmung auf 75°—80° vollständig sein. König nimmt nach Wroblewsky, Steiner, Babcock und Solomin einen Beginn der Albuminkoagulation bei 60° an. Nach Steiner gerinnen beim Erhitzen zwischen 70°—80° nur 50% Albumin. Willoughby drückt sich folgendermaßen aus: 70°: the albumin undergoes a change; it is not precipitated, but is converted into a form, that is precipitated by acids, magnesiumsulphate and other reagents, that coagulate casein.

Eine solche Auffassung teilen auch Fuld und de Jager, die eine wirkliche Fällung des Albumins nicht annehmen. Da aber diese bei Erhitzen von süßer Molke eintritt, so glauben sie, daß das Albumin durch Kasein in Lösung gehalten wird. Damit stimmt auch die Beobachtung Johannessens überein, der feststellte, daß der Albuminstickstoff bis zur Hälfte sich der Koagulation beim Kochen der Milch entziehe. Zu anderem Ergebnisse kam Popper: Nicht das Kasein, sondern der Alkaligehalt der Milch bedingt die unvollständige Koagulation des Albumins beim Kochen. Die 25 % Serum-Eiweiß, die sich der Koagulation entziehen, sind in der gekochten Milch noch in Form aussalzbaren Eiweißes enthalten. Von Freudenreich konstatiert in seinem Pasteurierungsapparat, bei dem die Milch auf 68° erwärmt wird, eine Koagulation von 15 % des Albumins. Jensen und Plattner sprechen von einer Koagulation des Albumins in folgender Weise:

Es wird das Albumin koaguliert teilweise	bei: 60° in 5 ^h
„ „ „ in größeren Mengen „	70°—75°
„ „ „ vollständig	77,5° in
1 Stunde, 80° in 1/2 Stunde, 90° in 5 Minuten.	

Von Peptonbildung beim Sterilisieren der Milch sprechen Meißel, Christiaens, Baginsky und Billon. Nach Fleischmann und Morgen findet sich in der nach dem Scherffschen Verfahren sterilisierten Milch kein Pepton, nach Lecornu entsteht es bei 110°.

c) Kasein.

Das Kasein scheint unter den Bedingungen, unter denen es in der Milch sich findet, widerstandsfähiger als das Albumin. Die Veränderungen sind gering und setzen trotz des Interesses, das gerade sie für den Nährwert der Milch besitzen, ihrer Erforschung ziemliche Schwierigkeiten entgegen, die um so bedeutender sind, als der Zustand, in dem sich das Kasein in der Milch unter normalen Bedingungen findet, noch keineswegs völlig geklärt ist. Eine spezifische Reaktion des Milchkaseins ist seine Gerinnung durch das Labferment. Es hat sich ergeben, daß das Kasein in erhitzter Milch ein anderes Verhalten gegen Lab zeigt, als das der rohen. Das verschiedene Verhalten zeigt sich in doppelter Weise: Einmal wird die Labgerinnung verlangsamt bzw. ganz aufgehoben, ferner ist das entstandene Koagulum von anderer Beschaffenheit als das von roher Milch (Fleischmann und Sachtleben). Schreiner stellte fest, daß die Gerinnung mit Lab bei gekochter Milch äußerst schwer erfolge, Baginsky, daß sie mit viel Lab und bei hoher Temperatur während des Labens doch zu erreichen sei, und vor allem durch Peptonzusatz begünstigt werde, Wroblewsky, daß die Verzögerung bei sterilisierter Milch, die bei pasteurisierter ebenfalls, aber in geringerem Grade auftrete, durch Phosphorsäurezusatz aufgehoben werden könne. Remington erwähnt ebenfalls die Abnahme der Labungsfähigkeit in pasteurisierter Milch. Leeds und Fleischmann sprechen sogar von einer Vernichtung der Labungsfähigkeit. Jedenfalls hängt der Grad der Veränderung dieser Eigenschaft des Kaseins von der Temperaturhöhe und Erhitzungsdauer ab. Munck fand, daß Scherffsche Milch (100° bei 3 Atmosphärendruck) mit Magensaft wie Frauen-

milch gerinnt. Conradi beobachtet, daß bei 80° eine Verzögerung der Labfällung eintrete, Steiner, bei 15 Minuten langem Erhitzen auf 70°. König spricht sich folgendermaßen aus: „Die Labfähigkeit nimmt der Höhe und Dauer des Erhitzens entsprechend ab, aber nicht parallel mit der Veränderung der Proteinsubstanz.“ Schweitzer gibt bei der Prüfung seines Pasteurierungsapparates an, daß bei 1—1½-stündigem Warmhalten der Milch, bei der sie sich von 65° auf 58° abkühlt, keine Veränderung der Labfähigkeit eintrete, Smeliansky, daß je länger Milch gekocht werde, umso langsamer die Labung erfolge, Silberschmidt, daß hohe Pasteurisierungstemperatur und lange Erhitzungsdauer die Labgerinnung der Milch völlig aufhalte. Jensen und Plattner endlich konstatieren zwei kritische Punkte hinsichtlich Temperatur und Erhitzungsdauer, die das Kasein derartig verändern, daß seine Labung beeinflusst wird. Der kritische Punkt 1 wird erreicht durch

1. Aufkochen,
2. 5 Minuten langes Erwärmen auf 80°,
3. 1stündiges Erwärmen auf 77,5°,
4. 5stündiges Erwärmen auf 70°.

Der zweite kritische Punkt wird erreicht durch

1. 5 Minuten langes Erwärmen auf 120°,
2. ½stündiges Erwärmen auf 110°.

Sie beschäftigen sich auch eingehend mit der veränderten Beschaffenheit des Kaseingerinnsels und suchen die Ursache dafür zu ergründen. Über die erwähnten Eigentümlichkeiten äußern sie sich folgendermaßen: „Durch Erwärmung der Milch entweicht nach und nach die Kohlensäure, was zur Folge hat, daß die Labungszeit allmählich verlängert wird. Hierzu trägt wahrscheinlich die Zerstörung des Milchlabs und in einigen Fällen auch die Ausfällung von Kalksalzen bei, die eigentliche Konsistenzveränderung des Gerinnsels wird jedoch lediglich durch die bei dem ersten kritischen Punkte eintretende, noch unbekannt Umbildung des Kaseins verursacht. Wenn diese Umbildung sich vollzogen hat, ist ein weiteres Erwärmen bis zum zweiten kritischen Punkte ohne jeden Einfluß auf die Labfähigkeit der Milch. Überschreitet man dagegen diese Grenze, bei welcher eine tiefe Zersetzung des Kaseins beginnt, so nimmt die Labungsfähigkeit noch weiter ab und geht bald gänzlich verloren“.

Silberschmidt macht über die Veränderung des Gerinnsels die folgenden Angaben. Ein der Frauenmilch ähnliches Gerinnsel entsteht bei Milch, die 20 Minuten gekocht worden ist, grobflockiges bis klumpiges bei pasteurisierter Milch, sehr feinflockiges, wenn die Milch 1 Stunde auf 100° erhitzt wurde. Fleischmann und Söldner halten das Unlöslichwerden der zur Labung nötigen Kalksalze für die Ursache der Verzögerung bei erhitzter Milch. Sebelien beobachtet, daß durch Einleiten von Kohlensäure oder Zusatz von Phosphaten die Labungsfähigkeit gekochter Milch wiederhergestellt werden kann, und auch Willoughby meint, daß die Änderung der Labfähigkeit unter den Bedingungen der Pasteurisierung nicht einer Veränderung des Kaseins (chemical or molecular change), sondern dem Ausfallen der Kalksalze zuzuschreiben sei. Bockhout und de Vries halten dagegen eine Veränderung des Kaseins als die Ursache der Erscheinung für wahrscheinlich. Bemerkenswert ist auch

die Beobachtung Roettgers, daß in alkalischer Lösung gekocht das Kasein in kürzester Zeit seine Labungsfähigkeit verliert, ferner die Beobachtung Chodats, daß die sog. Sycochymase, das Labferment von *ficus carica*, sterilisierte Milch besser labt als rohe, endlich die von Smeliansky, daß Schleimzusatz die Labung erhitzter Milch begünstigt.

Inwieweit aus anderen Gründen chemische Änderungen des Kaseins beim Erhitzen anzunehmen sind, zeigen die folgenden Untersuchungen: Schon Schreiner schob den Geruch und Geschmack gekochter Milch auf die Bildung von Schwefelwasserstoff. Müller, der eine Kaseinsuspension längere Zeit in viel Wasser kochte, beobachtete auch Schwefelwasserstoffabspaltung, das gleiche Baginsky beim Kochen von Milch. Niemann fand in einer sterilisierten Milch des Handels 3—5 mg Schwefelwasserstoff pro 300 ccm Milch. Die Milch war steril. Rubner bestritt die Entwicklung von Schwefelwasserstoff bei erhitzter normaler Milch. Doch ist sein Auftreten von Schardinger, der fälschlich die nach ihm benannte Reaktion zum Nachweise stattgehabter Erhitzung von Milch auf dies zurückführte, ferner von Utz bestätigt worden, desgleichen von Oppenheimer beim längeren Erhitzen auf dem kochenden Wasserbade, endlich von Rettger beim Erwärmen über 85°. Fynn beobachtete es ebenfalls, glaubt aber für seine Bildung das Nichtkasein verantwortlich machen zu müssen.

Nach Lubawin gibt eine Caseinlösung beim Kochen allmählich allen seinen Phosphor ab. Söldner und Duclaux beobachteten beim Erhitzen der Milch eine Zunahme des anorganischen Phosphors. Nach Baginsky steigt die anorganische Phosphorsäure bei 1stündigem Erhitzen auf 103° von 0,749 auf 0,788 ‰. Nach Billon beginnt die Veränderung des Kaseins bei 75°; beim Kochen werde Nuklein abgespalten, das dann einen Teil seines Phosphors abgibt. Geuns will von einer Änderung des Kaseins unterhalb 80° nichts wissen; Späth hält sie auch bei kürzerem Kochen für ausgeschlossen.

Bei Temperaturen über 100° treten offenbar tiefere Veränderungen des Kaseins ein. Hamarsten spricht von einer Denaturierung der Kaseinsalze bei 120°—130°. Nach Lövenhart gerinnt frische Milch zwischen 120° und 130°, nach Sebelien bei 130°. Von Bardach rührt die folgende tabellarische Übersicht her:

Frische Milch gerinnt	
bei:	in:
100°	12 ^h
110°	5 ^h
120°	1½ ^h
130°	1 ^h
140°	20′
150°	3′

Als Ursache der Veränderungen sieht er mit Jensen und Plattner das Eintreten der Säuerung und eine wirkliche Spaltung des Kaseins an. Nach Duclaux ist die gelbe Farbe und der eigentümliche Geschmack sterilisierter Milch auf Kaseinzersetzung zurückzuführen.

Wichtig von praktischen und theoretischen Gesichtspunkten aus sind endlich eine Anzahl Untersuchungen, die sich mit dem Vorgange der Käseerifung bei Verwendung erhitzter Milch befassen. Klein und Kirsten fanden, daß die von ihnen festgestellte und untersuchte Herabsetzung der Verkäsungsfähigkeit pasteurisierter Milch durch Chlorcalcium beseitigt werden könne. Hamilton will bei der Bereitung von Backsteinkäse aus bis auf 120° erhitzter Milch bessere Erfolge erzielt haben, als mit roher Milch. Jensen und Freudenreichs Resultate bei Bereitung von Emmenthaler Käse mit pasteurisierter Milch sind aber nicht günstig. Auch du Roi, Hittcher und Fascetti haben Abweichungen von dem gewöhnlichen Verhalten bei Benutzung erhitzter Milch zur Käsebereitung bemerkt.

Geschmack.

Über die Ursache und die Bedingungen des Auftretens von Geschmacksänderungen haben sich außer Duclaux und Schreiner noch andere Forscher geäußert. Dornic meint, daß einer bei 70° pasteurisierten Milch der Kochgeschmack noch fehle. Auch nach Freeman tritt er erst bei 75° auf, Bitter beobachtete dagegen schon bei 35 Minuten langem Erwärmen auf 68° eine Geschmacksänderung, die bei 15 Minuten langem Erhitzen auf 75° sehr stark wurde. Nach Sebelien tritt sie aber erst mit 80° (Vernichtungstemperatur der Galaktase) ein. Rullmann zeigte, daß die nach dem Gerberschen Pasteurisierungsverfahren (70° unter Umschütteln während einer Stunde) behandelte Milch keinen Kochgeschmack besitze. Schweitzer behauptet das gleiche von einer Milch, die während einer halben Stunde von 65° auf 58° sich abkühlt. Jensen und Plattner geben für das Eintreten des Kochgeschmacks folgende untere Grenzen an: Autkochen, längeres Erwärmen auf 76° , 5 stündiges Erwärmen auf 70° .

Verdaulichkeit und Nährwert.

In engem Zusammenhang mit der Veränderung der Eiweißstoffe der Milch steht die Frage nach der Änderung des Nährwertes und der Verdaulichkeit. In ersterer Linie interessant in dieser Hinsicht sind die Verdauungsversuche, die mit Milch, die erwärmt gewesen, im Glase ausgeführt wurden. Hofmann stellte fest, daß eine zwei Stunden bei 70° gehaltene Milch ein feinflockigeres Labgerinnsel gibt und bei Verdauung mit Pepsin in der gleichen Zeit mehr Pepton liefere als rohe. Uffelmann räumt der gekochten Milch keinen Vorzug in der Verdaulichkeit vor roher ein, entgegen den Beobachtungen von Albu, Soltmann und Munck. Weder gekochte noch bei 120° eine Stunde lang gehaltene Milch gibt nach ihm ein dünnflockiges Gerinnsel, auch peptonisiert solche Milch nicht rascher als rohe. Ellenberger und Hofmeister betonen das Unvermögen sterilisierter Milch mit Darm- und Magensaft zu verkäsen. Die Verdaulichkeit halten sie nicht für beeinträchtigt. Stutzer findet dagegen, daß rohe Milch etwas schneller verdaut werde als erhitzte. Michel hat bei sterilisierter Milch das Gegenteil beobachtet. Jemma hat die menschlichen Verdauungssäfte einzeln und nacheinander auf rohe und sterilisierte Milch wirken lassen und beobachtete leichtere Verdaulichkeit für die eine oder andere Milchart bei folgender Behandlung:

Pepsinsalzsäure: rohe Milch.

Pepsin, Lab und Salzsäure: rohe Milch.

Lab und Pankreatin: sterilisierte Milch.

Bei sukzessiver Einwirkung von Lab, Pepsinsalzsäure, Pankreatin: sterilisierte Milch.

Hougardi fand, daß 20 Minuten lang bei 60° pasteurisierte Milch bei Verdauung im Glas mit Pankreasferment an Verdaulichkeit eingebüßt hatte. Sidler untersuchte die gebräuchlichsten Milchkonserven des Handels auf ihre Verdaulichkeit im Glase und konnte keine Veränderungen feststellen. Leeds suchte die Hitzeveränderung der Eiweißstoffe in einer größeren Widerstandsfähigkeit dieser gegen die verdauenden Fermente, was nach seiner Auffassung wiederum eine Beeinträchtigung der Verdaulichkeit der Fettkügelchen zur Folge habe. v. Behring endlich beobachtete an roher, aufgekochter und bei während einer halben Stunde auf 85° erhitzter und dann nochmals aufgekochter Milch bei sukzessiver Behandlung mit Pepsinsalzsäure und Pankreatin folgendes Verhalten:

Es enthielt nach der vorgenannten Behandlung:

Rohe Milch: Aufgekochte Milch: $\frac{1}{2}$ Stunde auf 85° erwärmte
und dann aufgekochte Milch:

an unverdaulichem Eiweiß: 11 % 18 % 30 %

Besonders zweimaliges Erhitzen hält er für sehr bedenklich, da das Albumin dabei bis auf einen verschwindenden Rest zerstört werde und eine wesentliche Steigerung des Peptongehaltes dabei auftrete.

Weniger wertvoll für die Frage nach der Verdaulichkeit der Milch für den Menschen, interessant aber u. a. für das Problem, inwieweit der tierische Organismus sich als Reagens auf chemische bzw. physikalische Änderung der Milch durch Wärmewirkung verwenden läßt, sind die Verdauungsversuche an Tieren. Raudnitz beobachtete, daß Kalk und Stickstoff beim Hund bei Ernährung mit gekochter Milch schlechter ausgenützt würde als bei Ernährung mit roher Milch, doch mißt er diesem Ergebnisse keine Bedeutung für eine Verschiedenheit des Nährwertes beider Milcharten bei. Rodet fand, daß junge mit gekochter Milch aufgezogene Hunde schneller zunehmen, als mit roher Milch aufgezogene. Gerlach dagegen beobachtete bei Kälberaufzucht das Gegenteil. Er fand eine Verbesserung der Verdaulichkeit, wenn er einen Zusatz von Kochsalz zur gekochten Milch machte. Brüning stellte sehr umfassende Versuche an Schweinen, Kaninchen, Hunden, Meerschweinchen und Ziegen an und kam dabei zu folgendem Ergebnis: Arteigene rohe Milch ist ein besseres Nahrungsmittel als arteigene gekochte, artfremde gekochte ein besseres als artfremde rohe. Doane und Price geben in Übereinstimmung damit an, daß rohe Milch von Kälbern besser ausgenützt werde als gekochte und pasteurisierte. In einer späteren Untersuchung bestätigte Price wieder dieses Ergebnis. Trischetta verfuhr so, daß er Hunde einmal mit reiner sterilisierter Milch, das andere Mal mit sterilisierter Milch aufzog, der ein Zusatz von Trypsin, Pepsin und Emulsin gemacht worden war. Er fand, daß der mit reiner sterilisierter Milch aufgezogene Hund schnell einging, und daß Trypsinzusatz den Nährwert ersterer am günstigsten beeinflusse. v. Behring hat neuerdings

sehr umfassende Untersuchungen an Kälbern angestellt, die ergaben, daß bei einer Erhitzung der Milch auf 75° während 30 Minuten noch keine Beeinträchtigung des Nährwerts eintrete, wohl aber bei längerer und höherer Erhitzung.

Angaben über die Verdaulichkeit und den Nährwert von Milch, die erhitzt wurde, welche sich auf klinische Befunde bzw. sonstige ärztliche Erfahrungen stützen, sind ziemlich zahlreich, aber auch oft sich widersprechend. Soxhlet hat immer warm eine gewisse Hitzesterilisierung der Milch zum Zwecke der Säuglingsernährung empfohlen, betont aber ausdrücklich schon 1891, daß eine wesentlich über die in seinem Apparat empfohlene Erwärmung hinausgehende Hitzewirkung infolge der damit verbundenen Veränderungen des Emulsionzustandes der Milch die Verdaulichkeit derselben stark beeinträchtigen könne. Uhlig stellte Versuche über die Ernährung kranker Säuglinge mit Soxhlet-Milch an und fand, daß auch unter den denkbar ungünstigsten Verhältnissen diese künstliche Ernährungsmethode immer noch die zweckmäßigste sei. Brush hingegen bekämpft die Verwendung sterilisierter Milch als Kindernahrung wegen der mit der Sterilisierung verbundenen Veränderungen des Eiweißes. Wasileff untersuchte den Nährwert roher und gekochter Milch, indem er 6 junge Leute im Alter von 18 bis 23 Jahren nacheinander mit der einen und der anderen Milchart ernährte und fand, daß Fett und Stickstoffsubstanz in der rohen Milch besser ausgenutzt wurden. Bei Säuglingsernährung mit sterilisierter Milch machte Lange die Beobachtung, daß die Stickstoffausnutzung ebensogut sei wie bei roher Milch. Koplick hat aber betont, daß bei derartigen Stoffwechselversuchen aus dem Stickstoffgehalt der Fäces nicht auf die Größe der Stickstoffassimilation geschlossen werden könne. Troitzky stellte darüber keinen Versuch an, beobachtete aber, daß Kinder, die mit Milch aufgezogen wurden, die im Apparat von Tedeschi hergestellt war (100° 1½—2 Stunden), gesund blieben und keine Verdauungsstörungen bekamen. Flügge äußerte sich 1894 in dieser Beziehung folgendermaßen: „Der Effekt unserer jetzigen Milchsterilisierung läßt sich durchaus noch nicht übersehen, die Beziehungen derselben zu den Darmkrankheiten sind noch dunkel und die Technik der Verfahren ist keineswegs auf praktisch und experimentell bestätigte hygienische Erfahrungen gestützt.“ v. Stark nimmt einen ähnlichen skeptischen Standpunkt ein, indem er zunächst in einer Untersuchung über die Ursachen der Barlowschen Krankheit als ihre wahrscheinlichste die Ernährung der Kinder während längerer Zeit mit hoch erhitzter und dann längere Zeit aufbewahrter Milch hinstellt, Operationen, die physikalische und chemische Veränderungen der Milch zur Folge hätten.

1898 äußerte er sich folgendermaßen: „Die fortgesetzte und ausschließliche Ernährung der Säuglinge mit sterilisierter Milch führt bei einer erheblichen Zahl von Kindern zu Verdauungsstörungen, die sich in starker Anämie, Skorbut, Rhachitis usw. äußern“. Noch pessimistischer hat sich nach Look Meinert geäußert mit den Worten: „Das Soxhletverfahren hat eine kranke Generation erzeugt“. De Jager stellte fest, daß Kasein und Käse aus roher Milch schneller verdaut würden als aus gekochter, daß ein großer Nachteil des Nährwertes gekochter Milch in der stattgehabten Abspaltung organischer Phosphorsäure läge, weshalb er sich gegen die Verwendung gekochter Milch für die Ernährung der Säuglinge ausspricht. Volpe stellte auch eine

unvollkommene Assimilation der Eiweißstoffe bei auf 100 ° erhitzter Milch fest. Gagnoni bestätigte dies für Soxhletmilch nicht. Netter fand gleichfalls, daß die Verdauungsvorgänge bei den Säuglingen, die mit sterilisierter Milch aufgezogen wurden, sich in gleicher Weise abspielten wie bei den Brustkindern. Bei der wichtigen Diskussion über die Entstehungsursache der Barlowschen Krankheit, die in besonders hohem Maße die französischen Kinderärzte beschäftigt hat, haben sich Guignet, Coffin und Laurent dahin ausgesprochen, daß die sterilisierte Milch (110 °) dafür verantwortlich zu machen sei, während Marfan, Variot und Hutinel in ihren zahlreichen Untersuchungen zu dem Schlusse gelangen, daß lediglich die Entziehung der Brust als Ursache der atrophischen Erscheinungen bei den Säuglingen zu betrachten sei. Eine gewisse Stütze erhält aber die erstere Ansicht durch den Befund, — wie u. a. auch von Monrad gezeigt wurde —, daß Kinder, die durch Ernährung mit sterilisierter Milch atrophisch geworden waren, durch eine solche mit roher wieder gesund wurden. Cohnheim und Müller bemerkten nachteilige Folgen langer Ernährung mit sterilisierter Milch namentlich für die Knochenbildung der Säuglinge. Karawja hält die bei Säuglingen auftretende Rhachitis und Blutarmut für eine Folge der Ernährung mit sterilisierter Milch und empfiehlt, nicht über eine 10 Min. lange Erhitzung auf 70 ° hinauszugehen und die Milch möglichst aseptisch zu gewinnen. Auch Jensen und Plattner sprechen sich gegen die Verwendung von sterilisierter Milch als Säuglingsnahrung aus. Optimistisch äußert sich Girard: „Ce petit inconvenient (gemeint ist die Bräunung beim Sterilisieren) ne nuit d'ailleurs en rien à la valeur alimentaire du produit“.

Variot kommt auf Grund einer mehrjährigen Erfahrung zu folgendem Ergebnis:

1. auf 105 ° erhitzte Milch behält ihren vollen Nährwert;
2. weder die Zerstörung der Enzyme, noch die Veränderung des Milchzuckers, noch die der Lecithine, noch die Fällung des zitronensauren Kalkes haben einen merklichen Einfluß auf diesen.
3. Es wurde kein Fall von Rhachitis und Skorbut bei mit sterilisierter Milch ernährten Säuglingen beobachtet, bisweilen Verstopfung und Bleichsucht.
4. Nur 4 % der Kinder konnten die sterilisierte Milch nicht mit Erfolg genießen.

Grasset fand, daß von 20000 Kindern, die mit hoch sterilisierter Milch ernährt worden waren, nur vier die Barlowsche Krankheit bekamen. Lecornu weist besonders auf die günstige Wirkung der Wärme auf das Milchkasein insofern hin, als es sein Koagulum dem des Frauenkaseins ähnlich mache, erwähnt aber andererseits auch die für die Verdauung ungünstige Veränderung, die der Emulsionszustand der Milch durch Wärmewirkung erfahre. Erwähnenswert ist ferner der Befund Blandinis, daß die Virulenz von *Bacterium coli* für mit sterilisierter Milch ernährte Kinder geringer ist als für solche, die mit roher Milch ernährt werden. Doane und Price haben eine Umfrage bei Ärzten vorgenommen über die zweckmäßigste künstliche Kinderernährung mit dem folgenden Ergebnis: Die Mehrzahl empfahl rohe Milch, wenn sie tadellos sei, sonst pasteurisierte. Alle mit einer Ausnahme sprachen sich gegen sterilisierte Milch aus. Manteufels Versuch, aus stati-

stischen Feststellungen den Wert der Ernährung mit sterilisierter Milch zu ermitteln, hatte keinen Erfolg, da es sich zeigte, daß die Säuglingsernährung mit sterilisierter Milch so unbedeutend sei im Vergleich zu der gesamten Tiermilchernährung, daß eine Beurteilung darnach ausgeschlossen sei. Camescasse will die vielfach festgestellte schlechtere Verdaulichkeit pasteurisierter Milch auf die Vernichtung der für die Verdauung wichtigen, in der Milch enthaltenen Fermente zurückgeführt wissen, eine Seite der Frage, die auch Jensen und Plattner in Rücksicht ziehen und die vor allem neuerdings von v. Behring in den Vordergrund der Betrachtung gestellt worden ist. Auch Backhaus erwähnt die Bedeutung dieser Erscheinung. v. Behring glaubt nämlich mit Bertrand, daß die enzymatischen Wirkungen der Milch dem an Proteinsubstanzen gebundenen Kalk und Magnesium zu verdanken seien und daß mit der Hitzedenaturierung dieser Verbindungen eine Zerstörung der Enzyme und eine mit dieser einhergehende Verminderung des Nährwertes der Milch eintrete. Der Veränderung des Milchezuckers durch Wärmewirkung von 100° mißt er keine, der Veränderung des Kaseins (Jensen und Plattner) und des Lecithins (Bordas und Rasczkowsky) bei dieser Temperatur wohl eine trophische Bedeutung bei.

Fermente.

Hiermit kommen wir auf das Gebiet derjenigen Wärmeveränderungen der Milch, die auf die Zerstörung oder Schwächung von Fermenten zurückgeführt worden sind. Seit dem Nachweise von Fermenten in der Milch durch Schönbein, Arnold, Raudnitz, Storch, Dupouy, Babcock, Spolverini, Bellei, Utz u. a. ist ihre Erforschung, insbesondere auch ihre Wärmeempfindlichkeit Gegenstand zahlreicher Untersuchungen geworden. Rullmann zeigte, daß nach Gerber und Forster pasteurisierte Milch (1 St. bei 70° unter Umschütteln) die Guajakreaktion (Peroxydase), die bei 10 Min. langem Erhitzen der Milch auf 75° verschwinde, noch zeige. Schweitzer erwähnt das gleiche für Milch, die während 1—1½ St. von 65° auf 58° gebracht worden, sei. Gillet gibt die Zerstörungstemperatur der „Oxydase“ zu 79° an; Seligmann zu 75° 1 Min. bzw. 72° 10 Min., Buttenberg zu 70° 30 Min. und 75° 15'. Rullmann endlich fand in einer neueren Untersuchung, daß die Peroxydasereaktion noch positiv war bei Milch, die kurze Zeit auf 68° bzw. 70° erhitzt war, negativ bei während 1 St. auf 69°—70° erhitzter Milch. Jensen und Plattner geben als Vernichtungstemperatur der Peroxydase folgende Daten an: Momentan 80°; 5' 75°; 30' 72,5°; 50' 70°. — König gibt an 73°—74° Neumann-Wender 83°.

Über die Katalase stellte Renard fest, daß sie bei 75° zerstört werde. Nach Seligmann, der allerdings bakterielle Tätigkeit für die Ursache dieser Erscheinung annimmt, hört die Funktion bei 30 Min. langem Erwärmen der Milch auf 67° bzw. bei 1 Min. langem Erwärmen auf 68° auf. Lam gibt die noch niedrigere Temperatur von 30 Min. 63° an und die gleiche Angabe macht v. Itallie. Bier dagegen sagt, daß die Katalase bei 10 Min. langem Erwärmen auf 65° nur auf die Hälfte ihrer Stärke zurückgehe, und erst beim Aufkochen der Milch ganz vernichtet werde. Neumann-Wender gibt 80° als Vernichtungstemperatur der Reduktase an (Schardingens

Reagenz). Für dieselbe Funktion ermittelte Seligmann 5' 65° bzw. 1' 66°, Buttenberg 20' 70°, Koning $\frac{1}{2}$ St. 65°.

Auf die Zerstörung fermentativer Eigenschaften der Milch durch Siedehitze haben ferner schon Siedel und Béchamp hingewiesen (Galaktozymase). Babcock ist es dann gelungen zu zeigen, daß die Milch auch ein Eiweiß verdauendes Enzym, die Galaktase, enthalte, und er fand, daß diese durch 10 Min. langes Erhitzen auf 71° in ihrer Wirkung beeinträchtigt, beim Erhitzen auf 76° vernichtet würde. v. Freudenreich bestätigt den Befund und gibt an, daß bei 60° noch keine Schädigung eintrete, daß bei 75° eine solche merklich werde, die bei 85° zur momentanen Vernichtung führe. Übrigens spricht auch Hippus von einem solchen Ferment. Neumann-Wender schließt sich den Angaben Babcocks an. Die Angaben von Moro und Hamburger, ferner von Perrando und Granelli über ein siedebeständiges Fibrin-ferment — eine Beobachtung, die auch von Poppe und Soltmann bestätigt wurde —, die von Benoit über eine siedebeständige Salolase sind mit Vorsicht aufzunehmen. Hippus gibt an, daß das Laktoserum pasteurisierter, gekochter und das während einer Stunde auf 120° erhitzter Milch das Serum roher Milch präzipitiere. Die von Gillet aufgefundene Lipase in der Milch wird nach diesem bei 60°—68° vernichtet. Marfan und Cann sprechen von einer Diastase der Milch, die durch Siedehitze zerstört wird, nach König sogar schon bei $\frac{1}{4}$ stündigem Erhitzen auf 68°. Neuerdings hat auch Hippus ziemlich eingehend die Wirkung der Wärme auf die Fermenteigenschaften der Milch untersucht. Er fand eine Schwächung der Peroxydase bei 1 Min. 73°, eine Vernichtung bei 1 Min. 76°. Von der Lipase stellte er fest, daß sie die Temperatur von 64° vertrage und auch einstündiges Erwärmen auf 60° sie nicht beeinträchtige, von dem proteolytischen Ferment, daß es bei 100° vernichtet werde. Zusammenfassend erklärt er, daß eine zweckmäßige Pasteurisierung die wichtigsten biologischen Eigenschaften der Milch wenig beeinträchtige.

Endlich sind einige Angaben über die Veränderung der sogenannten bakteriziden Eigenschaften der Milch durch Erhitzung erwähnenswert. Fokker fand, daß sterilisierte Milch mit wenig Bakterien geimpft in 24 St. gerinne, frische Milch dagegen unter den gleichen Bedingungen erst in 2 bis 4 Tagen. Basenau konnte keine bakteriziden Eigenschaften der rohen Milch gegen den *Bacillus bovis moribificans* entdecken. Knolle hingegen beobachtete, daß die entwicklungshemmenden Eigenschaften der rohen Milch gegen Dysenteriebazillen bei Erhitzung auf 70° verloren gingen. Hippus stellte fest, daß sie bei Erhitzung auf 60° erhalten blieben. Klimmer bestreitet eine bakterizide Eigenschaft der Milch ganz allgemein und auch die Angabe Troizkys, daß sterilisierte Milch ein schlechterer Nährboden für die Bakterienflora der Milch sei als rohe, steht den vorigen Angaben entgegen. Eine besonders hohe Bedeutung hat v. Behring dieser Eigenschaft der Milch beigemessen, besonders für die Säuglingsernährung im ersten Lebensalter. Er erwähnte im besonderen die antibakterielle Eigenschaft der normalen Kuhmilch gegen *Bacterium coli immune*, die schon bei einstündigem Erhitzen auf 60° verloren gehe. Flügge meint dagegen allerdings, daß er „auf Grund des vorliegenden experimentellen Materials den bakteriziden Eigenschaften der rohen Kuhmilch einstweilen eine Bedeutung nicht zuerkennen könne.“

Mikroorganismen.

Schließlich kommen wir zu den durch Sterilisierung und Pasteurisierung beabsichtigten Veränderungen der Milch, der Tötung der der Milch eigentümlichen Bakterienflora. Man hat sein Augenmerk in erster Linie der Vernichtung der pathogenen Keime zugewandt. Allgemeine Angaben finden sich schon bei Dornic, der in Milch, die bei 70° pasteurisiert war, keine pathogenen Keime mehr findet. Die gleiche Erfahrung hat Oppenheimer gemacht. Russell untersuchte die Bakterienarten in roher und pasteurisierter Milch und fand in ersterer 15, in letzterer 6 Arten, von denen 3 Arten Labgerinnung verursachten, 3 die Milch unverändert ließen. Pictet untersuchte die Milch, die $\frac{1}{2}$ St. 102° ertragen hatte. In ihr waren die aeroben Bakterien vernichtet, die anaeroben noch vorhanden, diese aber hatten keine pathogenen Eigenschaften. Auerbach meint, daß 5 Min. langes Kochen ausreichend sei, um alle pathogenen Keime abzutöten, zur Vernichtung der Milchsäurebakterien, von *Bacterium Proteus* und *coli* genüge einmaliges Aufkochen der Milch. Jemma zeigte aber, daß Soxhlet-Milch beim Aufbewahren bei Bruttemperatur pathogene Eigenschaften annehme. Dagegen fehlt es nicht an Stimmen, die viel niedrigere Temperaturen zur Vernichtung der pathogenen Keime für ausreichend erachten, so gibt Freeman $\frac{1}{2}$ St. 68°, Kobrack 1— $\frac{1}{2}$ St. 65°, Schweitzer die gleiche Temperatur und Erhitzungsdauer, Tjaden 1 St. 63° oder kurzes Erwärmen auf 85°, Knolle 60° 10', Hôton, 60°—65° an. Hippus fand, daß auch unter ungünstigen Verhältnissen Pasteurisierung der Milch bei 60° während einer Stunde unter Umschütteln ausreicht, die pathogenen Keime zu vernichten. Henseval hält überhaupt die technischen Pasteurisierungsverfahren für ausreichend dazu. Zelensky untersucht besonders die Hitzevernichtung von *bacterium coli* und gibt hierfür kurzes Erwärmen auf 84°, 3 Min. langes Erwärmen auf 75°, 78 Min. langes Erwärmen auf 60° für ausreichend an. Schon bei 56° werde seine Entwicklungsfähigkeit stark gehemmt.

Über die Haltbarkeit pasteurisierter Milch wurde folgendes ermittelt. Geuns stellte fest, daß bei 80° pasteurisierte Milch 1—3 Tage lang haltbar sei, Dornic das gleiche von auf 70° erhitzter Milch. Weigmann fand bei seinen Pasteurisierungsversuchen, daß rohe Milch sich 15 St., pasteurisierte 24 St., in einem längere Zeit im Gange befindlichen Apparat pasteurisierte sich 46 St. bei zweckmäßiger Aufbewahrung frisch erhielt. Roger ermittelte, daß der Keimgehalt von Marktmilch beim Pasteurisieren bei 85° von 10 000 000 auf 800 Keime zurückginge, Wolff, daß der Keimgehalt Berliner Marktmilch beim Pasteurisieren bei 65°—68° von 3 bis 12 Millionen auf 10—163 zurückginge, aber nach 6 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur schon wieder 19000—900000 betrüge.

Für eine vollkommene Sterilisierung der Milch sind ziemlich übereinstimmende Temperaturen angegeben worden. Dietzelt findet erst 115° für ausreichend, Baert $\frac{3}{4}$ stündiges Erwärmen auf 110°; Duclaux 5' langes Erhitzen auf 110°; Spring meint, daß $\frac{3}{4}$ stündiges Erhitzen auf 105° genügt, um die in einigen Tagen entwicklungsfähigen Keime zu töten. Weber untersuchte eingehend die sterilisierte Milch des Handels und fand häufig darin gewisse Arten peptonisierender Bakterien. Sog. thermophile Bakterien, auf deren Bedeutung für die Milchsterilisierung Schillinger hinwies, spielen nach Weber

eine untergeordnete Rolle. Ein besonderes Augenmerk hat man daher nur auf die ersteren richten müssen.

Jacoby hält Temperaturen von 115°, Löw 120° für ausreichend, um ihre Sporen zu vernichten. Die im Neuhaus-Gronwald-Oelmannschen Apparat sterilisierte Milch (102° 1/2 Stunde) wird nach den Versuchen von Bleisch unter Umständen bitter. Hueppe empfahl zur Abtötung der peptonisierenden Bakterien eine diskontinuierliche Sterilisierung in strömendem Dampf, eine Erhitzung auf 80° ist jedoch nach Baert für den genannten Zweck unzureichend. Migula erwähnt in bezug auf die Milchsterilisierung, daß die Sporen der Kartoffelbazillen in schwachsaurem Medium leichter durch Hitze zu vernichten seien als in neutralem. Auerbach fand, daß Erhitzen während 80' auf Siedetemperatur auch zur Abtötung der Sporenbildner genüge. Demgegenüber behaupten Cann und Shinert, daß die peptonisierenden Sporen 2—6 St. strömendem Dampf widerstehen. Vallagussa und Ortena teilten die Bakterienflora der Milch in 3 Gruppen: die Streptokokken usw., die bei 60°, die Tuberkelbazillen usw., die bei 100°, und die Kartoffelbazillen (sporogenen Bakterien), die bei einstündigem Erwärmen auf 120° vernichtet würden. Pasteurisieren bei 75° während 6 Min. ist nach Severin und Budinoff nicht geeignet, auch nur die Lebensfähigkeit der sporogenen Bakterien zu beeinträchtigen, und auch Ostertag weist auf diese bedenkliche Eigenschaft der pasteurisierten Milch hin. Erwähnenswert erscheint hier auch die Ansicht von Weber, der glaubt, daß durch ungenügend hohe Erwärmung der Entwicklung der peptonisierenden Bakterien insofern Vorschub geleistet wird, als die ihr Wachstum unter normalen Bedingungen schädigenden Milchsäurebakterien in so behandelter Milch fehlen. Bernstein empfiehlt daher geradezu einen Zusatz von Milchsäurebakterien in Reinkultur. Die Vernichtung der Milchsäurebakterien erfolgt nach Cazeneuve bei 95°, eine Hemmung ihrer Entwicklung aber anscheinend schon viel früher. Interessant in dieser Hinsicht sind die Angaben Buttenbergs. Nach ihm tritt Milchsäuregärung ein bei einer Milch, die nicht länger und höher als 20 Min. auf 65°, Buttersäuregärung bei solcher, die nicht länger und höher als 20' auf 75°, Peptonfäulnis bei solcher, die nicht länger und höher als 10 Min. auf 95° erhitzt wurde. Das Auftreten der Buttersäuregärung bezeichnet auch Bonnemma als Kennzeichen einer pasteurisierten, aber nicht überhitzten Milch.

Im einzelnen ist besonders der Abtötung der Tuberkelbazillen durch Temperaturerhöhung große Aufmerksamkeit zugewandt worden. Forster stellte fest, daß sie einer 15 Min. langen Erwärmung auf 65° nicht widerstehen. Smith wies auf die Schutzwirkung hin, die die Milchhaut hierbei ausübt. Er fand, daß Suspensionen von Tuberkelbazillen in der Milch bei 60° in 15'—20' getötet würden, während die in die Haut eingebetteten noch nach 60 Min. am Leben waren. Auch Hesse sagt, daß die Hautbildung vermieden werden müsse, wenn man durch Pasteurisierung bei 60° während 20 Min. die Tuberkelbazillen abtöten wolle. Neuerdings hat Swellengriebel festgestellt, daß neben der Haut auch dem Schaume solche Schutzwirkung zukomme. In gewisser Übereinstimmung mit diesem Befunde steht die Beobachtung von Galtier, der fand, daß Milch unter Umständen noch Tuberkelbazillen enthielt, die 20' auf 75° erhitzt war, womit die Angabe von Zelensky übereinstimmt, nach der noch in

20 Min. lang auf 70° erhitzter Milch Tuberkelbazillen aufzufinden waren. Sehr pessimistisch sehen Cann und Shinert die Frage an, die durch Pasteurisierung überhaupt eine Befreiung der Milch von Tuberkelbazillen nicht für möglich halten. Barthel und Stenström fanden, daß in stark veränderter Milch besonders in dem Koagulum die Tuberkelbazillen über 80° aushielten, während sie im allgemeinen bei 1 Min. langem Erwärmen auf 80° vernichtet würden. Hadlich und Rogers empfehlen auch Temperaturen von 85° für kontinuierliche Pasteurisierung, um die Tuberkelbazillen sicher zu beseitigen. Russel und Hastings hingegen halten 10 Min. langes Erwärmen auf 60° für ausreichend, Levy und Bruns geben wenigstens ein etwas weiteres Temperaturintervall an, indem ihnen die Abtötung möglich erscheint bei Temperaturen zwischen 65° und 70° innerhalb 15—25 Min., je nach der Beschaffenheit der Milch. Dagegen behauptet Michellazzi, daß durch Temperaturen von 100° die in der Milch tuberkulöser Tiere enthaltenen Toxine nicht vernichtet würden und daß daher bei längerem Genuß solcher Milch, auch wenn sie frei von lebenden Tuberkelbazillen sei, langsame chronische Intoxikationen eintreten können. Rullmann gibt an, daß es nicht gelänge, Tuberkelbazillen bei 1/2stündigem Erwärmen der Milch auf 65° abzutöten. Remington meint, daß die meisten vegetativen Bakterien bei 10 Min. langer Erwärmung der Milch zwischen 56° und 60° zugrunde gingen, zur Vernichtung der Tuberkelbazillen im besonderen die folgende Erhitzungsart nötig sei: 65° 30'; 69° 15'; 75° 10'. Soxhlet endlich hat sich neuerdings über diesen Punkt folgendermaßen ausgesprochen: „Das zuverlässigste Mittel, die Übertragung von Tuberkelbazillen durch Milch zu verhindern, wird immer das Erhitzen der Milch auf Siedetemperatur bleiben“. Tjaden, Koske und Hertel fassen die Ergebnisse ihrer Untersuchung dahin zusammen, daß eine Pasteurisierungstemperatur von 90° im kontinuierlichen Betriebe im allgemeinen ausreichend sei, die Tuberkelbazillen zu töten, daß hingegen das häufig im Haushalt zur Haltbarmachung der Milch ausgeführte Aufwallenlassen (98°) nicht immer zu dem genannten Zweck ausreiche.

Über die Abtötung anderer pathogenen Keime in der Milch liegen die von Hesse und Weigmann gemachten Versuche über die Cholerabazillen vor. Sie fanden übereinstimmend, daß Cholerabazillen in sterilisierter Milch langsamer zugrunde gehen als in roher. Ferner liegt eine Untersuchung von Bassenge über den Typhuserreger vor, der nach seinen Versuchen in der Milch bei 5' langem Erwärmen auf 60° zugrunde geht. Kolle und seine Mitarbeiter geben für die Abtötung von Typhusbazillen, bacterium enteridis, Dysenteriebazillen, Cholerabazillen und bacterium coli 10 Min. langes Erhitzen auf 60° für ausreichend an. L. Rabinowitsch erklärte diese Temperatur zur Tötung von Streptokokken für unzureichend.

Autorenverzeichnis zur Literaturübersicht,

betr. die Veränderungen der Kuhmilch beim Erhitzen.

N. Auerbach, Über Präservierung von Kuhmilch und Milchsterilisierung. Berl. klin. Wochenschr. **30**, 340, 1893.

Derselbe, Über Produktion von Kindermilch und Milchsterilisierung. Milchzeitung 1893, Nr. 30 und 31.

Derselbe, Therap. Monatsh. **9**, 21, 1895.

- S. M. Babcock, XII. rep. agric. exp. stat. Wisconsin 1895.
- Derselbe und W. Russel, Die Wiederherstellung der Konsistenz in pasteurisierter Milch. Milchzeitung 1896, **25**, 731.
- Derselbe und H. L. Vivian, Eigenschaften der Galaktase, eines verdauenden Fermentes der Milch. Arch. f. Hyg. **39**, 1901, 390.
- Backhaus, Fortschritte der Milchgewinnung und Kindermilchbereitung. Molkereizeitung Berlin 1905, 493.
- Derselbe, Milchsterilisierung und aseptische Milchgewinnung. Milchzeitung 1906, Nr. 26, 302.
- C. G. Baert, Milchsterilisierung. Jahrb. f. Tierchem. 1901, 238 u. 239.
- A. Baginsky, Zeitschr. physiol. Chem. **7**, 354, 1883. — Arch. f. Kinderheilk. **4**, 259, 1883. — Berliner klin. Wochenschr. 1894, Nr. 43. — Dasselbst, 1895, Nr. 18.
- B. Bardach, Über die Gerinnungsursachen erhitzter Milch. Monatsh. f. Chem. **18**, 199, 1887. Chem.-Zeitung 1897, 290.
- Chr. Bartel und O. Stenström, Beitrag zur Frage des Einflusses hoher Temperaturen auf die Tuberkelbazillen in der Milch. Münch. med. Wochenschr. **48**, 1712, 1901.
- Basenau, Über die Ausscheidung von Bakterien durch die tätige Milchdrüse und die sog. bakteriziden Eigenschaften der Milch. Arch. f. Hyg. **23**, 1895, 44.
- L. Bassenge, Verhalten der Typhusbazillen in der Milch und deren Produkten. Deutsche med. Wochenschr. 1903, 675 u. 693.
- A. Béchamp, Über die spontanen Veränderungen der Milch usw. Bull. Soc. Chim. 1896, **15**, 453.
- Beckurts, Über Milchsterilisierung und Fettausscheidung aus sterilisierter Milch. Apothekerzeitung **9**, 658, 1894.
- v. Behring, Über den Wert der Milcherhitzung. Milchzeitung 1904, 68.
- Derselbe, Experimentelle Ergebnisse betr. die Veränderung der Nährstoffe und Zymasen in der Kuhmilch. Verh. d. **24**. Plenarversamml. d. deutsch. Landwirtschaftsrates. Berlin 1906. Molkereizeitung, Berlin 1906, S. 38 u. S. 147.
- G. Bellei, Zentralbl. f. Bakt. II, **12**, 548, 1904.
- Bendix, Verdaulichkeit sterilisierter Kindermilch. Jahrb. f. Kinderheilk. **38**, 393, 1894.
- Benoit, Contribution à l'étude des ferments solubles du lait de femme. Thèse, Montpellier 1903.
- D. H. Bergey, Einfluß der Pasteurisierung auf die chem. und physikal. Eigenschaften der Kuhmilch. Proc. Pathol. Soc. Philadelphia 1905.
- A. Bernstein, Untersuchung von roher und gekochter Milch. Zeitschr. analyt. Chem. **41**, 579, 1900.
- Derselbe, Die hygienischen Folgen der Erhitzung von Milch. Milchzeitung **33**, 1904, 133.
- Ph. Biedert, Berliner klin. Wochenschr. 1882, 5. — Dasselbst, 1894, Nr. 44.
- L. Bier, Über die Katalase in der Milch. Jahrb. f. Tierch. **35**, 1905, 324.
- Bilik, Die Pasteurisierung und Sterilisierung der Milch und deren Bedeutung für die Ernährung der Säuglinge. Russ. Arch. f. klin. Med., Path. u. Bakt. 1901.
- Billon, Note sur les modifications des laits par la chaleur. Rev. crit. d. méd. chir. 1900.
- H. Bitter, Versuche über die Pasteurisierung von Milch. Zeitschr. f. Hyg. **8**, 1890, 240.
- Blandini, Zentralbl. f. Bakt. **40**, 271, 1906.
- R. Blasius und H. Beckurts, Deutsch. Viertelj. öffentl. Gesundheitspflege **27**, Nr. 3, 1895.
- M. Bleisch, Über bittere Milch und Sterilisierung von Milch unter Luftabschluß. Zeitschr. f. Hyg. **13**, 81, 1893.
- A. Bonnemma, Pharmac. Weekbl. **43**, 434, 1900.
- Bordas und Raczkowsky, Diminution du taux des lécithines dans les laits chauffés. Bull. Acad. Sc. 5. Jan. 1903.
- H. Brünig, Münch. med. Wochenschr. **52**, 349, 1903. — Wiener klin. Wochenschr. **18**, 27, 1905.
- Derselbe, Beitr. z. Lehre der natürl. und künstl. Säuglingsernährung. Jahrb. für Tiermed. **10**, 198, 1906.
- E. F. Brush, Sterilized milk. Hyg. Rundschau 1891, 619.
- Buddes Patent, Kopenhagen: Eine neue Methode, Milch zu sterilisieren. Milchzeitung **32**, 690, 1903.

- Buttenberg, Zeitschr. f. Unters. Nahrungs- u. Genußm. **11**, 1906, 377.
- Camescasse, Eine Missetat der sterilisierten Milch. Chem.-Zeitung **1902**, Rep. **26**, S. 178.
- C. E. Cann und J. G. Shinert, Die Bakterien der Milch und ihre Beziehungen zur Pasteurisierung und Sterilisierung. Chem. Zentralbl. **1900**, I. **730**.
- A. Carstens, Über Fehler bei der Ernährung der Säuglinge mit sterilisierter Milch. Jahrb. f. Kinderheilk. **36**, 1893, 144.
- P. Cazeneuve, Bull. Soc. Chim. [3] **13**, 502, 1895.
- Cazeneuve und Haddon, Compt. rend. **120**, 1895, 1272.
- R. Chodat und E. Rouge, La sycochimase ou le ferment du ficus carica. C. Bakt. **16**, II, 1, 1906.
- W. Chonheim und E. Müller, Untersuchung über den Einfluß der Sterilisierung der Milch. Jahrb. Kinderheilk. **57**, 45, 1903.
- A. Christiaens, Contribution à l'étude du lait stérilisé. L'Union pharm. **1894**.
- O. Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper. Braunschweig **1900**.
- N. W. Cone und W. M. Ester, Einfluß der Temperatur auf die Art der sich entwickelnden Bakterien. Ref. Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm. **1906**, 409.
- H. Conradi, Über den Einfluß erhöhter Temperatur auf das Kasein der Milch. Münch. med. Wochenschr. **1901**, **48**, 175.
- Corbette, Brit. med. Journ. **2**, 572, 1901.
- Courant, Pflügers Archiv **50**, 109, 1891.
- Crolas, Lait cru ou lait bouilli? Soc. d. méd. d. Lyon **1899**.
- F. Delcominette, Die Theorie der löslichen Fermente und die Milchsterilisierung. Le Scalpel **54**, 272.
- E. Dietzelt, Über Präservierung von Kuhmilch. Ref. Jahresb. f. Tierch. **12**, 169, 1883.
- Dieudonné, Über das Verhalten der Zitronensäure in der Milch beim Erhitzen. Sitzungsber. d. phys. med. Gesellsch. Würzburg **1903**, S. 99.
- P. Diffloth, Über die Rolle einiger physik. und chemischer Einflüsse auf die Unlöslichkeit der Phosphate in der Milch. Ref. Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm. **1906**, S. 455.
- C. F. Doane u. C. N. Price, Vergleich der Verdauung von roher, pasteurisierter und gekochter Milch. Zeitschr. f. Unters. Nahrungs- u. Genußm. **1903**, **221**, Maryland agric. exp. stat. Bull. Nr. 77, **1901**.
- P. Dornic, Pasteurisierte und sterilisierte Milch. Rev. intern. sc. et pop. des falsif. d. denrées aliment. **9**, 203, 1896.
- Droop-Richmond und L. K. Boseley, Analyst **22**, 1895. Ref. Vierteljahrsschr. **1897**, 172.
- Dieselben, Analyst **26**, 310, 1901.
- E. Duclaux, Ann. Inst. Past. **3**, 30, 1889.
- Derselbe, Principes de laiterie, Paris.
- Derselbe, Phosphates du lait — Lait stérilisé. Ann. Inst. Past. **1895** und **1896**.
- Dunbar und Dreyer, Deutsch. med. Wochenschr. **26**, 413, 1900.
- Dupouy, Mittel zur Untersuchung von roher und gekochter Milch. Rép. Pharm. **1897**, 206.
- Ellenberger und Hofmeister, Verhalten sterilisierter Milch zu Magensaft. Molkereizeitung, Berlin **1892**, Nr. 6.
- Engling, Landwirtschaftl. Versuchsstat **1884**, 31.
- Th. Escherich, Über Milchsterilisierung zum Zwecke der Säuglingsernährung. Berl. klin. Wochenschr. **45**, 1029, 1890.
- Farrington und Russel, Chem. Zeitung **1900**, **24**, 1051.
- G. Fascetti, Jahresb. f. Tierch. **35**, 287, 1905.
- N. F. Fjord und H. P. Lunde, Chem. Zentralbl. **63**, II, 804, 1892.
- K. Flaak, Milchz. **22**, 119, 1893.
- Fleischmann, Lehrbuch der Milchwirtschaft **1898**.
- M. Fleischmann und A. Morgen, Landwirtsch. Versuchsstat. **28**, 321, 1883. Jahresb. f. Tierch. **13**, 174, 1884.
- C. Flügge, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Kinder. Zeitschr. f. Hyg. **17**, 272, 1894.
- Derselbe, Abwehr der von Behringschen Theorie. Molkereizeit. Berlin **1904**, 97.
- A. P. Fokker, Chem. Zentralbl. **1889**, 330. Forschungsber. d. Medizin **8**, 7, **1890**.

- Forster, Über die Einwirkung hoher Temperaturen auf die Tuberkelbazillen. Hygien. Rundschau 1893, Nr. 15, 669.
- C. Fränkel, Ein neues Verfahren zur Milchsterilisierung. Hyg. Rundsch. **7**, 621, 1893.
- E. Freeman, Pasteurisierung von Milch bei niederer Temperatur. Milchzeit. **25**, 780, 1896.
- E. v. Freudenreich, Über die Pasteurisierung der Milch. Milchzeit. **29**, 245, 1900.
- Derselbe, Molkereizeit. Berlin 1905, 421.
- Fuld, Beitr. zur chem. Physiol. u. Pathol. **2**, 169, 1903.
- E. Fynn, Berliner Molkereizeit. 1902, Nr. 32.
- E. Gagnoni, V. ital. pediatr. Kongreß 1906.
- N. Galtier, Compt. rend. soc. biol. **52**, 120, 1900.
- Gautrelet, Influence de la tempér. sur l'état de divisibilité de la caséine dans le lait de vache. Soc. méd. des hôpitaux 25 mars 1895.
- Derselbe, Soc. Méd. Chir. Paris 1895.
- Derselbe, Recherches physico-chimiques sur les laits alimentaires. Bull. Soc. Méd. prat. 1891.
- N. Gerber und P. Wieske, Flaschenpasteurisierung im Großbetrieb. Molkereizeit., Hildesheim, **17**, 116, 1903.
- F. Gernsheim, Grad der Sterilisierung bei Kindermilch. Dissert. Heidelberg 1897.
- Gerlach, Milchzeit. **30**, 136, 1901.
- J. v. Geuns, Über die Einwirkung sog. Pasteurisierung auf die Milch. Arch. f. Hyg. **3**, 464, 1885.
- Derselbe, Über die Pasteurisierung von Bakterien. Arch. f. Hyg. **9**, 1889, 369.
- Ch. Gillet, Journ. Physiol. et Pathol. **4**, 439, 1902.
- Derselbe, Journ. Physiol. et Pathol. **5**, 503, 1903.
- Girard, Analyse des matières alimentaires. Paris 1904.
- Gottstein und Michaelis, Deutsche med. Wochenschr. 1901, 28. Febr.
- Grelley, L'alimentation artificielle des nourrissons et le scorbut infantile. Thèse de Paris 1902.
- Guinon et Coffin, Soc. de Péd. 1902.
- Guinon und Laurent, Un cas de scorbut infantile. Soc. de Péd. 1903.
- H. A. Harding und L. A. Rogers, Die Wirkung einer kontinuierlichen Pasteurisierung bei verschiedenen Temperaturen. Biederm. Zentralbl. f. Agrikulturch. **30**, 503, 1901, cf. Jahresber. Tierch. 1901, 306.
- C. Hagemann, Zentralb. f. Bakt. II, **7**, 640, 1901.
- G. Hamilton, Einiges über die Herstellung von Käse aus pasteurisierter Milch. Milchzeit. **29**, 145 (Nr. 10), 1900.
- P. v. Hamm, Ein neues Verfahren zur Sterilisierung von Milch. Milchzeit. **20**, 461, 1891.
- O. Hammarsten, Jahresb. f. Tierch. **4**, 135, 1874.
- Derselbe, Zeitschr. f. physiol. Chem. **7**, 227, 1883.
- Th. Henkel, Zitronensäure als normaler Bestandteil der Kuhmilch. Landwirtschaftl. Versuchsstat. **39**, 143, 1891.
- M. Henseval und G. Wauthy, Compt. rend. soc. biol. **52**, 809, 1900.
- M. Henseval und G. Mullie, Die Pasteurisierung der Milch. Jahresber. Tierch. 1905, 314.
- J. Herz, Die gerichtliche Untersuchung der Kuhmilch. 1889.
- W. Hesse, Deutsch. med. Wochenschr. 1886, Nr. 19.
- Derselbe, Über Sterilisierung der Milch. Molkereizeit. Berlin 1891, 9.
- Derselbe, Über Milchsterilisierung im Großbetriebe. Zeitschr. f. Hyg. **18**, 42, 1893.
- Derselbe, Über die Beziehungen zwischen Kuhmilch und Cholera Bazillen. Zeitschr. f. Hyg. **17**, 238, 1894.
- Derselbe, Über das Verhalten pathogener Mikroorganismen in pasteurisierter Milch. Zeitschr. f. Hyg. **34**, 346, 1900.
- O. Heubner, Über die Kindermilch als Säuglingsnahrung. Berl. klin. Wochenschr. 1894, Nr. 37, 841 und Nr. 38, 870.
- Hittcher, Berl. Molkereizeit. 1901, 437.
- A. Hippus, Über Pasteurisierung der Milch. Deutsch. med. Wochenschr. **27**, 481, 1901.
- Derselbe, Biologisches zur Milchpasteurisierung. Jahrb. f. Kinderheilk. **61**, 365, 1905.

- K. Hochsinger, Praktische Winke und Neuerungen zum Soxhletmilchkochverfahren. Wien. med. Presse 1896, Nr. 15.
- M. Hoffmann, Über die Verdaulichkeit des Kaseins aus erhitzter Milch. Mediz. Zentralbl. 1882, 759.
- H. Höft, Veränderung der Acidität der Milch beim Erhitzen. Milchzeit. 30, 103, 1901.
- Hoppe, Virchows Arch. 17, 417, 1859
- L. L'Hôte, Über die Sterilisierung und Pasteurisierung der Milch. Zeitschr. angew. Chem. 1898, 135.
- V. Höton, Die häusliche Pasteurisierung der Milch. Jahresb. Tierch. 1905, 313.
- Hotz, Phys.-chem. Untersuchungen über Kuhmilch. Diss. Zürich 1902.
- A. Hougardy, Versuche über die Verdaulichkeit der Milch. Jahresb. Tierch. 35, 285, 1905.
- Hueppe, Über Milchsterilisierung und bittere Milch mit besonderer Rücksicht auf die Kinderernährung. Zentralbl. f. Bakt. 11, 15, 1892.
- Hutinel, La maladie de Barlow et son traitement. Soc. de Péd. 1902.
- Jacobi, Deutsch. Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege 14, 656, 1882.
- L. de Jager, Über die beim Kochen der Milch eintretenden Veränderungen. Zentralbl. f. med. Wissensch. 1896, Nr. 9, 145.
- Jamison und Hertz, Über die Haut erhitzter Milch und anderer Albuminstofflösungen. Journ. Physiol. 27, 26, 1901.
- R. Jemma, Über die künstliche Verdauung der Milch. Zentralbl. f. inn. Med. 21, 671, 1900.
- Derselbe, Die fermentbildenden Mikroben des Kaseins der Milch. Münch. med. Wochenschr. 47, 749, 1900.
- O. C. Jensen, Grundriß der Milchkonservierung und Milchhygiene, Stuttgart 1903.
- O. Jensen und E. v. Freudenreich, Zentralbl. f. Bakt. II, 6, 12, 1900.
- O. Jensen und E. Plattner, Über den Einfluß der Erhitzung auf die Kuhmilch. Molkereizeit. Berlin 1905, 217
- A. Johannessen, Über Sterilisierung der Milch. Jahrb. Kinderheilk. 53, 265, 1903.
- J. v. Itallie, Distinction des liquides albumineux provenant de divers animaux. Compt. rend. soc. biol. 60, 150, 1906.
- A. Karawja, Über die schädlichen Einflüsse sterilisierter Milch auf die Ernährung der Säuglinge. Milchzeit. 1905, 638.
- J. Kaufmann, Über das scharfe Abrahmen der Milch bei verschiedenen Temperaturen. Milchzeit. 1905, 375.
- A. Keller, Fütterungsversuche an Mäusen mit hochsterilisierter Milch. Zeitschr. diät. physik. Therapie 7, 2, 1903
- G. Klemperer, Physiolog. Gesellsch. 1902.
- A. Kirsten, Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm. 5, 97, 1902.
- E. Klebs, Versuche zur Konservierung der Milch. Med. Zeitschr. 1878, 734.
- J. Klein und A. Kirsten, Wiederherstellung der Verkäsungsfähigkeit erhitzter Milch durch Chlorcalciumzusatz. Milchzeit. 27, 785 und 803, 1898.
- Dieselben, Weitere Versuche betr. die Herstellung von Käse aus erhitzter Milch. Milchzeit. 1901, 30, 6, 21, 35.
- Klimmer, Besitzt unerhitzte Milch bakterizide Eigenschaften? Arch. Kinderheilk. 36, 1, 1905.
- E. Kobrack, Zeitschr. Hyg. 34, 518, 1900.
- Derselbe, Über Sterilisierung von Säuglingsmilch bei möglichst niederen Temperaturen. Berl. Klin. Wochenschr. 39, 187, 1901.
- Kolle, Milchhygienische Untersuchungen. Molkereizeitung Berlin 1905, 25. Klin. Jahrb. Bd. 13.
- J. König, Die menschlichen Nahr.- u. Genußm. 1904, IV. Aufl., Berlin, Springer.
- Derselbe, Über die Keimfreiheit von Milch usw. Münch. med. Wochenschr. 1889.
- Derselbe, Versuche über die Pasteurisierung von Milch. Vierteljahrsschr. Chem. Nahr.- u. Genußm. 5, 144, 1890.
- C. J. Koning, Ref. Jahresb. f. Tierchem. 1905, 324.
- Koplick, Arch. f. Kinderheilk. 19, 279, 1896.

- J. Kramsztyk, Ein Beitrag zur Sterilisierungsfrage der Milch. *Jahrb. f. Kinderheilk.* **37**, 249, 1894.
- H. M. Kroon, Kontrolle der pasteurisierten und gekochten Milch. *Ref. Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm.* **9**, 160, 1905.
- von der Laan, Dissert. Utrecht 1896, zit. W. Raudnitz, *Erg. d. Physiol.* **3**, S. 323.
- A. Lam, *Ref. Chem. Zeitschr.* 1906, No. 39, 467.
- J. Lange, *Jahrb. f. Kinderheilk.* **39**, 216, 1895.
- Langemann, *Centralbl. Bakt.* **13**, 439, 1893.
- E. Laqueur, Über die Wirkung der Labfermente auf Milch und Kasein. *Bioch. Centralbl.* **4**, 333, 1905.
- Lazarus, Die Wirkung der gebräuchlichsten Konservierungsmittel auf Milch. *Zeitschr. f. Hyg.* **8**, 207, 1890.
- Lecornu, *Les laits industriels*, Paris 1904, (vergl. die Literaturübersicht daselbst).
- Lédé, *Sterilisation du lait. Progrès med.* 1893, No. 13.
- A. R. Leeds, Chemische und physiol. Änderungen der Milch beim Sterilisieren. *Journ. Amer. Chem. Soc.* **13**, 34, 1891.
- A. R. Leeds, Die Protein der Kuhmilch. *Journ. Amer. Chem. Soc.* **13**, 72, 1891.
- Leeds and Davis, The chemistry and clinical value of sterilized milk. *Amer. Journ. med. sc.* 1891, 101.
- H. Lefman u. W. Beam, *Food Analysis* 1901, S. 224.
- Legay, *Milchsterilisator. Milchz.*, **22**, 360, 1893.
- E. Levy u. H. Bruns, Über die Abtötung von Tuberkelbazillen in der Milch durch Einwirkung von Temperaturen unter 100°. *Hyg. Rundsch.* **11**, 669, 1901.
- Lindet u. Amman, Contribution à l'étude des matières albuminoïdes du lait. *Compt. rend.* **142**, 1906, 1282.
- Look, Neues Verfahren zur Herstellung von Säuglingsmilch. *Zeitschr. öffentl. Chem.* **9**, 385, 1903, *Chem. Centralbl.* 1903, 1385.
- A. S. Lövenhart Über die Gewinnung der Milch. *Zeitschr. physiol. Chem.* **41**, 177, 1904.
- O. Löw, Über Veränderungen konservierter Milch. *Ber. d. d. chem. Gesellsch.* 1882, 1482.
- Lubawin, *Ber. d. d. chem. Gesellsch.* **12**, 1897, 1021.
- Manteufel, Statistische Erhebungen über die Bedeutung der sterilisierten Milch für die Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit. *Münch. med. Wochenschr.* **53**, 303, 1906.
- Marfan, s. die Literaturübersicht b. Lecornu, a. a. O. 1896—1903.
- Derselbe, *L'amylose du lait. Soc. de Péd.* 1902, 18. Mai.
- A. Mayer, Einige Versuche über Milchkonservierung. *Milchzeit.* 1882, 321.
- Meissel, *Ber. d. d. chem. Gesellsch.* **15**, 1882, 1259.
- Meyer, Über die Barlowsche Krankheit. *Arch. f. Kinderheilk.* **20**, 1896.
- Ch. Michel, *Digestion artificielle du lait. L'Obstétrique*, 1896, 25.
- Michelazzi, Die toxische Wirkung prolongierter Ernährung mit sterilisierter Milch von tuberkulösen Tieren. *Ann. d'Igiene sper.* 1901, 2.
- Middelton, *Hyg. Rundschau* **11**, 601, 1901.
- Migula, Ein Beitrag zur Milchsterilisierung. *Deutsche tiermed. Wochenschr.* 1896, 119.
- Molkereizeitg.-Berlin, Abdr. eines dänischen Gesetzes betr. die Pasteurisierungstemperatur von Milch. 1904, S. 161.
- J. Monrad, Pasteurisierte und rohe Milch. *Milchzeit.* **30**, 194, 1901.
- E. Moro u. F. Hamburger, *Wien. Klin. Wochenschr.* 1902 Nr. 5.
- W. Müller, *Jahrb. Kinderheilk.* **34**, 439, 1892.
- P. Th. Müller, *Arch. Hyg.* **56**, 108, 1905.
- J. Munk, Über die Scherffsche konservierte Milch. *Deutsch. med. Wochenschr.* 1881, Nr. 36.
- Nencki u. Podczasky, Kryoskopie der Milch. *Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm.* 1903, 1139.
- M. Netter, *Rev. mens. de maladies de l'enfance* **20**, 543, 1902.
- Derselbe, *Chimisme gastrique chez les nourrissons nourris au lait stérilisé. Progrès méd.* 1899, 225.
- Neumann-Wender, Die Enzyme der Milch. *Österr. Chem. Zeitg.* **6**, 1, 1903.
- F. Niemann, *Arch. f. Hyg.* **19**, 126, 1893.

- F. Niemann, Molkereizeit., Berlin 1894, 50; Hyg. Rundsch. 1894. 1021.
Neumann, Bemerkungen zur Barlowschen Krankheit. Deutsch. med. Wochenschr. 1902, 628.
G. Obermaier, Über die Abnahme des Citronensäuregehaltes der Milch beim Kochen. Arch. f. Hyg. 50, 52, 1904.
K. Oppenheimer, Münch. med. Wochenschr. 1899, Nr. 44, 1462.
K. Oppenheimer, Deutsch. med. Wochenschr. 27, 105, 1901.
Th. Osborne, Zeitschr. f. analyt. Chem. 56, 25, 1902.
Ostertag, Wie hat sich die Gesundheitspolizei gegenüber dem Verkehr mit pasteurisierter Milch zu stellen? Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 15, 293, 1905.
Ferrando u. Granelli, Rif. med. 1904, Nr. 70.
M. Perret, De la pasteurisation du lait. L' Obstétrique 10, 199, 1905.
Petri u. Maassen, Über die Herstellung von Dauermilch. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 7, 13, 1891; (vergl. die Literaturübersicht daselbst).
Dieselben, Zur Beurteilung der Hochdruckpasteurisierungsapparate. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 14, 55, 1898.
E. Pfeiffer, Jahrb. für Kinderheilk. 24, 248.
R. Pictet u. Th. Weyl, Über die Herstellung von Dauermilch. Berl. Klin. Wochenschr. 1891, 1009.
T. Pope u. P. Sollmann, Bioch. Centralbl. 2, 282, 1903.
R. Popper, Über die Wirkung des Kochens auf d. Eiweißstoffe der Kuhmilch. Jahrb. Kinderheilk. 59, 112, 1904.
F. M. Price, Die relative Verdaulichkeit von roher, pasteurisierter und sterilisierter Milch. New York med. Journ. 79, 405, 1905, ref. Jahrb. Tierchem. 1905, 301.
L. Rabinowitsch, Über die thermophilen Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. 20, 154, 1894.
Raszkowsky, Compt. rend. 136, 56, 1903.
R. W. Raudnitz, Über die Verdaulichkeit gekochter Milch. Zeitschr. f. physiol. Chem. 14, 1, 1890.
Derselbe, Centralbl. f. Physiol. 12, 790, 1898.
Derselbe, Monatsschr. f. Kinderheilk. 1, Nr. 5, 1903.
Derselbe, Ergebnisse d. Physiol. II. Biochemie S. 321, 1903 (vergl. die Literaturübersicht daselbst).
E. Reiss, Die Katalase der Milch. Zeitschr. f. klin. Med. 56, 1, 1905.
J. S. Remington, Über die Änderungen der Milch und des Rahmes durch Pasteurisieren. Jahresb. Tierch. 35, 239, 1905.
A. Renard, La conservation du lait par l'eau oxygénée. Biochem. Centralbl. 2, 544, 1903.
Renk, Über Fettausscheidung aus sterilisierter Milch. Arch. f. Hyg. 17, 313, 1893.
Derselbe, Weitere Untersuchungen über den Austritt des Fettes aus der Emulsion in der sterilisierten Milch. Arch. f. Hyg. 22, 153, 1895.
L. F. Rettger, Das Freiwerden von flüchtigen Schwefelverbindungen aus Milch beim Erhitzen. Amer. Journ. Physiol. 6, 450, Exp. Stat. Rec. 13, 1034.
Rodet, Compt. rend. soc. biol. 48, 555, 1896.
L. A. Rogers, Über die Wirkung minder hochgradiger Erhitzung auf das Verhalten der in der Milch vorkommenden Bakterien. Molkereiztg. Berlin 1906, 163.
Du Roi, Versuche über die Herstellung von Käse aus erhitzter Milch. Milchzeitg. 32, 163, 1903.
A. Rosam, Über die Konservierung von Milch mit H₂O₂. C. Bakt. II. 8, 739 u. 769, 1901.
M. Rubner, Notiz über die Unterschiede gekochter und ungekochter Milch. Hyg. Rundschau 5, 1021, 1895.
W. Rullmann, Über Pasteurisierung und Sterilisierung von Milch usw. C. Bakt. II. 9, 658, 1902.
Derselbe, Über die Abtötung von Tuberkelbazillen in erhitzter Milch. Münch. med. Wochenschr. 1903, 1342.
Derselbe, Reaktionen des oxydierenden Enzyms der Kuh- und Frauenmilch. Zeitschr. f. Unters. Nahr. u. Genussm. 7, 81, 1904.
H. L. Russell, C. Bakt. II, 2, 719, 1896.
Derselbe, 12. annual rep. agric. exp. stat. Wisconsin 1900, 158.

- H. L. Russel u. L. A. Hastings, Biederm. Centralbl. Agrikulturchem. **80**, 784, 1901.
- J. Sarthou, Sur la localisation de la catalase de lait de vache — Sur une cause l'erreur dans la recherche de la catalase du lait — Sur la catalase du lait. Bull. soc. pharm. Bordeaux 1905.
- A. Scheunert u. W. Grimm, Zur Kenntnis der in den Nahrungsmitteln enthaltenen Enzyme und ihrer Mitwirkung bei der Verdauung. Zeitschr. physiol. Chem. **48**, 27, 1906.
- J. Scherer, Liebigs Ann. **40**, 1, 1841.
- Schreiner, Tagebl. d. 50. Vers. deutsch. Naturforscher und Ärzte 1878. — Jahresb. Tierch. **8**, 146, 1879.
- A. Schillinger, Über sog. thermophile Bakterien. Hyg. Rundschau 1898, 568.
- Schnorf, Neue physikalisch-chemische Methode der Milchuntersuchung. Zürich 1905.
- H. Schröder, Liebigs Ann. **117**, 273, 1861.
- G. Schweitzer, Milchhygienische Studien. C. Bakt. II. **10**, 501 u. 563. 1903.
- J. Sebelien, Zeitschr. physiol. Chem. 1885, 9.
- Derselbe, C. Bakt. **12**, 98, 1892.
- Derselbe, Chem. Zeitg. **25**, 293 u. 307, 1901 (vergl. die Literaturübersicht daselbst).
- Seligmann, Zeitschr. Hyg. **49**, 325, 1905.
- Derselbe, Zeitschr. Hyg. **50**, 97, 1905.
- Derselbe, Zeitschr. Hyg. **52**, 101, 1906.
- Sembritzky, Pfügers Arch. **37**, 460, 1885.
- S. Severin u. L. Boudinoff, Beitrag zur Bakteriologie der Milch. C. Bakt. II, **14**, Nr. 15.
- F. Sidler, Untersuchung über die gebräuchlichsten Milchpräparate. Arch. f. Hyg. **47**, 327, 1903.
- Siedel, Molkereizeit. Berlin 1904, 125.
- M. Siegfeld, Molkereizeit. Hildesheim 1900, Nr. 42 u. Nr. 43.
- Siegfried, Zeitschr. physiol. Chem. **22**, 575, 1897.
- W. Silberschmidt, Über den Einfluß der Erhitzung auf die Gerinnung der Kuhmilch. Deutsch. med. Wochenschr. **29**, 473 u. 502, 1903.
- Sior, Eine Untersuch. über den Bakteriengehalt der Milch bei Anwendung einiger bei der Kinderernährung zur Verwendung kommender Sterilisierungsverfahren. Jahrb. f. Kinderheilk. **84**, 1, 1892.
- M. Smeliansky, Über den Einfluß verschiedener Zusätze auf die Labgerinnung der Kuhmilch. Arch. f. Hyg. **59**, 187, 1906.
- H. Smidt, Hyg. Rundschau **18**, 1137, 1904.
- Derselbe, Arch. Hyg. **58**, 313, 1906.
- Th. Smith, Abtötung der in der Milch enthaltenen Tuberkelbazillen. Journ. Exp. Med. 1899, 217. Ref. Jahresb. Tierch. 1900, 226.
- Söldner, Landw. Versuchsstation. **35**, 354, 1888. Dissert. Erlangen 1888.
- Solomin, Arch. Hyg. **28**, 43, 1896.
- P. Sommerfeld, Berl. Klin. Wochenschr. **36**, 916, 1900.
- v. Soxhlet, Journ. f. prakt. Chem. **6**, 1, 1872.
- Derselbe, Über Kindermilch und Säuglingsernährung. Münch. med. Wochenschr. 1886, Nr. 15 u. 16.
- Derselbe, Münch. med. Wochenschr. 1891, Nr. 19 u. 20.
- Derselbe, Kuhmilch als Säuglingsnahrung. Münch. med. Wochenschr. **47**, 2051, 1903.
- Derselbe, Breslauer N. Fr. Ver. Agrikulturchem. 1904.
- Derselbe, Über die Anforderungen der Gesundheitspflege an die Milch. Deutsche Vierteljahrsschr. öffentl. Gesundheitspfl. **24**, 1, 1891.
- Derselbe, Hygiene der Milchversorgung. Molkereiztg. Berlin 1904, 73.
- E. Spaeth, Forschungsber. über Lebensm. **1**, 343, 1894.
- M. Spolverini, Sur les ferments solubles du lait. Arch. d. méd. des enfants. **4**, 705, 1901.
- O. Spring, C. Bakt. I **32**, 665, 1902.
- J. v. Stark, Jahrb. Kinderheilk. **37**, 1894
- Derselbe, Münchener med. Wochenschr. 1895, Nr. 42, 976.
- Derselbe, Berl. Klin. Wochenschr. 1898, Nr. 46, 1028.
- R. Steiner, Milchztg. **80**, 401 u. 435, 1901.

- W. Stieger, Die Hygiene der Milch.
- J. Stohmann, Milch- und Molkereiprodukte 1898.
- Storch, Eine chemische Methode um festzustellen, ob Milch und Rahm bis auf mindestens 80° C erwärmt worden ist oder nicht. Ref. Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm. 1899, 239.
- E. Strub, Zentralbl. f. Bakt. 7 (I) 665, 689, 721, 1890.
- A. Stutzer, Dauermilch als Kindernahrung. Vortrag 1895.
- Derselbe, Ist sterilisierte Milch schwerer verdaulich als rohe? Landw. Versuchst. 40, 307, 1892.
- M. A. Susailow, Veränderungen der Milch beim Sterilisieren usw. Ref. Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm. 1901, 277.
- N. Swellengrebel, Zentralbl. f. Bakt. II 12, 440, 1904. Deutsche med. Wochenschr. 29, 544, 1903.
- S. Székely, Säuglingsmilch. Biochem. Zentralbl. 1, 343, 1903.
- Thörner, Chem. Ztg. 18, 1845, 1896.
- H. Tiemann, Versuche mit aufgestapeltem Rahm usw. Molkereiztg. Hildesheim 16, 225, 1902.
- P. Timireff, Untersuchung über die Leistungsfähigkeit einiger moderner Sterilisierungsapparate. Russ. med. Rundschau 3, 278, 1905.
- Tjaden, Abtötung der pathogenen Keime im Molkereibetrieb durch Erhitzung ohne Schädigung der Milch und Molkereiprodukte. Deutsch. med. Wochenschr. 29, 961, 1903.
- A. Tjaden, F. Koske u. K. M. Hertel, Zur Frage der Erhitzung von Milch. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 18, 221, 1901 (vgl. die Literaturübersicht daselbst).
- E. Trillat u. Sauton, Über das Vorkommen von NH₃ in der Kuhmilch. Compt. rend. soc. biol. 58, 816, 1906.
- V. Trischetta, Einfluß der löslichen Fermente auf die Verdaulichkeit der Kuhmilch. Jahresb. Tierch. 1904, 806.
- J. W. Troitzky, Arch. f. Kinderheilkunde 19, 97, 1896.
- J. Uffelmann, Pfügers Arch. 29, 399, 1882.
- R. Uhlig, Über Versuche einer Ernährung kranker Säuglinge mit sterilisierter Milch. Jahrb. f. Kinderheilk. 30, 81 u. 105, 1891.
- Utz, Milchztg. 32, 129 u. 417. 1903.
- Derselbe, Milchztg. 32, 354, 1903.
- F. Valagussa u. C. Ortena, Über die Resistenz und pathogene Kraft einiger Mikroorganismen in der Milch. Jahresber. Tierch. 1901, 305.
- F. Valagussa, Die künstliche Milchverdauung mittels Kasease bei der Kinderernährung. Jahresber. f. Tierch. 32, 1004, 1902.
- Variot, vgl. die Literaturübers. bei Lecornu a. a. O. 1896—1903.
- Derselbe, Über den Wert hochgradig erhitzter Milch für die Ernährung der Säuglinge. Compt. rend. 139, 1002, 1905.
- Vaudin, Ann. Inst. Pasteur 8, 502 u. 856, 1894.
- L. Verney, Zentrbl. f. Bakt. II, 7, 646, 1901.
- Villiers-Collin, Altérations et falsifications des substances alimentaires, Paris 1900.
- Vinay, Jahrb. f. Kinderheilk. 35, 383, 1892.
- A. Volpe, Il Poliklinico 4, 206, 1900.
- de Vries u. Bockhout, Landw. Versuchst. 55, 221, 1901.
- Wasileff, Untersuchung über den Nährwert roher und gekochter Milch. Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm. 1892, 9.
- A. Weber, Die Bakterien der sog. sterilisierten Milch des Handels usw. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 17, 108, 1900 (vgl. die Literaturübers. daselbst).
- H. Weigmann, Die Methoden der Milchkonservierung speziell der Pasteurisierung und Sterilisierung der Milch, 1892.
- Derselbe, Forschungsber. über Lebensm. 1, 533, 1896.
- Derselbe, Zentralbl. f. Bakt. 15, 286, 1894
- Derselbe, Milchztg. 30, 417 u. 433, 1900.
- Derselbe, Versuch über Pasteurisierung von Milch. Ref. Jahresb. f. Tierch. 1903, 343. Arb. d. Versuchst. f. Molkereiw. in Kiel 7, 155, 1903.

- Weinland, Inversion von Milchzucker beim Kochen mit Zitronensäure. *Zeitschr. Biol.* **38**, 607 1899.
- P. Wieske, Über Abtötung von Tuberkelbazillen in erhitzter Milch. *Milchztg.* **32**, 593, 1903.
- E. F. Willoughby, *Milk, etc.* London 1903.
- Winter, Température de congélation des liquides de l'organisme appliqué à l'analyse du lait. *Compt. rend.* **121**, 696, 1895.
- K. Wolf, Berl. med. Dissert. 1906.
- F. W. Woll, Über den Einfluß der Pasteurisierung und Sterilisierung auf die Viskosität der Milch und des Rahms usw. *Zeitschr. f. Unters. Nahr.- u. Genußm.* 1897, 499.
- M. Woll, XII. rep. agric. exp. stat. Madison 1896.
- A. Wroblewsky, Einige Beobachtungen über den Einfluß der Sterilisierung auf die chemische Beschaffenheit der Milch. *Österr. Chem. Ztg.* **1**, 5, 1898.
- K. Zander, Brauchbarkeit des Milchthermophors. Dissert. Halle 1901.
- Th. Zelenski, Zur Frage der Pasteurisierung der Säuglingsmilch. *Jahrb. f. Kinderheilk.* **63**, 288, 1906.
-

Nachtrag zu der Abhandlung „Über den Nachweis einiger tierischer Fette in Gemischen mit anderen tierischen Fetten“.

Von

Dr. Ed. Polenske,

Technischem Rat im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Für das von mir angegebene Verfahren¹⁾ zum Nachweis einiger tierischer Fette in Gemischen mit anderen tierischen Fetten haben sich auf Grund weiterer Versuche einzelne Ergänzungen und Abänderungen als nötig herausgestellt, die ich nicht verfehlen möchte, den Fachgenossen zur Kenntnis zu bringen.

Um den Schmelzpunkt²⁾ gleichzeitig in zwei Kapillaren bestimmen zu können, wird die dritte mit hellfarbigem Öle beschickte Kontrollkapillare zweckmäßig durch Tieferstellung am Thermometer aus dem Beobachtungsfelde der beiden anderen Kapillaren gebracht.

Bei der Bestimmung des Erstarrungspunktes bringt man in den Luftmantel 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure, um die oft störende Feuchtigkeit zu beseitigen.

Im übrigen ist auch durch weitere Versuche festgestellt worden, daß nach den in der Abhandlung gegebenen Vorschriften genau übereinstimmende S. P. und E. P. erhalten werden. Die bei mehreren Bestimmungen mit einem gegebenen Fette sich zeigenden Abweichungen betragen untereinander nicht mehr als 0,2° und nur selten 0,3°.

Die in meiner Abhandlung vertretene Ansicht, daß nach den daselbst gegebenen Vorschriften sowohl die S. P. als auch die E. P. genauer, d. h. mit geringeren Abweichungen der Einzelversuche untereinander, festgestellt werden können als durch irgend eine der hierfür bisher gebräuchlichen Methoden, die nicht selten Abweichungen bis zu 1° ergeben, ist durch die von mir nachträglich ausgeführten Versuche bestätigt worden. Beide vorschriftsmäßig ermittelten Punkte stellen somit Konstanten dar, mit denen in der Fettanalyse gerechnet werden kann, und die sich erfolgreicher als früher für die Beurteilung der einzelnen Fette und ihrer Verfälschungen verwerten lassen.

Bei der Bestimmung dieser beiden Punkte ist darauf zu achten, daß beide Thermometer richtig zeigen und genau übereinstimmen. Sowohl von mir als auch von anderer Seite ist schon die Beobachtung gemacht worden, daß sich infolge einer

¹⁾ Vergl. die Abhandlung „Über den Nachweis einiger tierischer Fette in Gemischen mit anderen tierischen Fetten“ S. 37 ff.

²⁾ Die Bezeichnungen: Schmelzpunkt und Erstarrungspunkt werden in der Folge durch S. P. bzw. E. P. und die Bezeichnung: Differenzzahl durch D. Z. abgekürzt.

Überhitzung des Thermometers Quecksilberteilechen abgetrennt hatten, die im oberen Teile des Röhrchens hängen geblieben waren, wodurch falsche, viel zu niedrige E. P. erhalten wurden.

Über den Nachweis von Talg im Schweineschmalz ist zu berichten, daß die D. Z. der hier nachträglich untersuchten Schmalzsorten genau wie früher zwischen 19 bis 21 lagen. In zwei mir zur Kontrolle zugesandten amerikanischen Schmalzproben von sehr weicher Konsistenz und glasigem Ansehen konnten die von anderer Seite gefundenen D. Z. von 18,8 bis 18,9 bestätigt werden. Sollten von anderen an der Nachprüfung beteiligten Fachgenossen keine größeren Unterschreitungen der von mir beobachteten niedrigsten D. Z. 19 gefunden werden, dann würde keine Veranlassung zu einer Abänderung des in der Abhandlung auf Seite 45 aufgestellten Leitsatzes vorliegen, demzufolge eine im Schweineschmalz gefundene kleinere D. Z. als 18,5 eine Fälschung desselben anzeigt.

Der Nachweis von Schweineschmalz im Gänsefett ist dahin zu ergänzen, daß sich unter 12 nachträglich hier untersuchten Proben von reinem Gänsefett mehrere befanden, deren D. Z. die von mir früher angenommene höchste D. Z. 16,2 teilweise überschritten. Die in den 12 Proben ermittelten S. P., E. P. und D. Z. sind nachstehend zusammengestellt worden:

S. P.	= 32,2 bis 38,3
E. P. bei 16°	= 17,5 bis 21,7
D. Z.	= 14,7 bis 16,7.

Durch Beimischung von 20% amerikanischen Schweineschmalzes erhöhten sich vorstehende D. Z. auf 17,1 bis 18,2, so daß der Zusatz von Schweineschmalz sich nachweisen läßt.

Der in der Abhandlung auf S. 48 aufgestellte Leitsatz, daß Gänsefett erst dann als gefälscht anzusehen ist, wenn seine D. Z. höher als 17 liegt¹⁾, würde sich auch auf Grund der Ergebnisse der nachträglich untersuchten 12 Proben aufrecht erhalten lassen. Andererseits aber bleibt die Möglichkeit noch bestehen, daß weitere Untersuchungen es nötig machen können, die für die D. Z. des reinen Gänseschmalzes angenommene obere Grenze von 17 noch zu erhöhen.

Die höchsten D. Z. werden in dem bei etwa 18° noch halb flüssig bleibenden Gänsefett gefunden; wenn man daher von der Prüfung solcher Sorten, bei denen ihrer flüssigen Konsistenz wegen eine Fälschung mit Schweineschmalz kaum anzunehmen ist, absieht, dann ist eine größere Wahrscheinlichkeit dafür vorhanden, daß der in der Abhandlung aufgestellte Leitsatz keiner Abänderung bedarf.

Über den Nachweis von Schweineschmalz in Butter ist zu berichten, daß die Versuche, welche nachträglich mit einem ausgedehnteren Probematerial von reiner in Berlin konsumierter Butter ausgeführt worden sind, mit nur einer Ausnahme keine höheren D. Z. als 14,3 ergeben haben. Diese Ausnahmeprobe hatte eine D. Z. von 14,5, wodurch die in dem Leitsatze auf S. 55 der Abhandlung angenommene höchste

¹⁾ Die beiden Worte „Erreichung und“ widersprechen dem Sinne des Leitsatzes und müssen daher fortfallen.

D. Z. für reine Butter von 14,6 fast erreicht wird. Auch in dem Berichte der chemischen Untersuchungsanstalt der Stadt Altona für das Jahr 1907 erwähnt Direktor Dr. A. Reinsch, daß die höchste daselbst beobachtete D. Z. für reine Inlandbutter 13,8 betrug.

Die nur in der einen hiesigen Butterprobe gefundene D. Z. 14,5 würde noch keinen Anlaß zu einer Abänderung des in der Abhandlung aufgestellten Leitsatzes geben, wenn nicht in 6 mir zur Nachprüfung der D. Z. eingesandten Butterproben D. Z. bis zur Höhe von 15,9 festgestellt worden wären. Hierdurch kann der erste Teil jenes Leitsatzes, demzufolge Butter mit höheren D. Z. als 14,6 als gefälscht anzusehen ist, nicht mehr aufrecht erhalten werden, zumal ein besonderer Anlaß zum Zweifel an der Reinheit dieser 6 Butterproben gerade nicht vorlag. Vier von den Proben, die mir von Herrn Dr. Fischer in Bentheim zugesandt wurden, stammten von Holländischer, mit Kontrollmarke versehener Ausfuhrbutter, und die beiden anderen, von Herrn Dr. Fritzsche in Cleve eingesandten Proben, deren Echtheit verbürgt worden war, entstammten einer Molkerei bei Cleve.

In nachstehender Tabelle sind die mit den 6 Butterproben und ihren Gemischen mit Schweineschmalz und Rindertalg erhaltenen Ergebnisse zusammengestellt worden.

Tabelle.

Zusammenstellung der Schmelzpunkte, Erstarrungspunkte und Differenzzahlen von 6 Butterproben mit Differenzzahlen von 15,5 bis 15,9 und von deren Schmalzgemischen ohne und mit Zusatz von 25% Rindertalg mit einem S. P. von 49,5 und einer D. Z. von 14,4.

Nr. des Versuchs	Herkunft der Butter	A			B			C			D			E			F		
		ursprüngliches Butterfett			Butterfett + 25% Rindertalg			Butterfett + 20% amer. Schweineschmalz (D. Z. = 19,4)			Butterschmalzgemisch C + 25% Rindertalg			Butterfett + 20% Schweineschmalz + 25% Rindertalg (D. Z. = 20,5)			Butterschmalzgemisch E + 25% Rindertalg		
		S. P.	E. P. bei 16°	D. Z.	S. P.	E. P. bei 16°	D. Z.	S. P.	E. P. bei 16°	D. Z.	S. P.	E. P. bei 16°	D. Z.	S. P.	E. P. bei 16°	D. Z.	S. P.	E. P. bei 16°	D. Z.
1	Holland	41,2	25,7	15,5	44,7	29,6	15,1	41,8	25,4	16,4	45,1	29,3	15,8	43,0	25,7	17,3	45,2	29,5	15,7
2	„	39,3	23,8	15,5	44,0	28,8	15,2	—	—	—	—	—	—	41,3	24,2	17,1	44,5	28,8	15,7
3	„	39,5	24,0	15,5	44,0	28,8	15,2	—	—	—	—	—	—	41,4	24,2	17,2	44,6	29,0	15,6
4	„	39,4	23,5	15,9	44,0	28,5	15,5	39,8	23,2	16,6	44,5	28,6	15,9	41,5	24,2	17,3	44,6	28,8	15,8
5	Molkerei der Rheinprovinz	39,3	23,5	15,8	44,0	28,5	15,5	—	—	—	—	—	—	42,0	24,4	17,6	45,0	29,0	16,0
6	„	39,3	23,7	15,6	43,7	28,8	14,9	39,6	23,2	16,4	44,5	28,8	15,7	42,0	24,6	17,4	—	—	—

Das wesentliche Interesse nehmen die Spalten A und B der Tabelle in Anspruch. Sie zeigen, daß die ungewöhnlich hohen D. Z. dieser Butterproben durch den Talgzusatz herabgesetzt werden. Da bei allen von mir früher hergestellten Butterschmalzgemischen die D. Z. durch den Talgzusatz erhöht wird, so kann der frühere Leitsatz in folgender Abänderung aufrecht erhalten werden:

„Eine Butter ist mit Schweineschmalz oder anderen Fetten, die eine höhere D. Z. als Butter haben, gefälscht, wenn in dem aus 75 Teilen

Butterfett und 25 Teilen Talg hergestellten Gemisch eine höhere D. Z. als 15, in dem ursprünglichen Butterfette aber eine niedrigere D. Z. als in dem Talggemisch erhalten wird.“

Führt die Untersuchung zu einem positiven Ergebnis, dann wird auch die eine oder andere von den übrigen festgestellten Konstanten Anlaß zum Zweifel an der Echtheit der Butter geben.

Zu berücksichtigen bleiben nur noch solche Fälle, in denen Butter mit ungewöhnlich hoher D. Z. ihrerseits noch mit Schweineschmalz gefälscht ist. Über das Verhalten solcher Gemische geben die Spalten C bis F der Tabelle Aufschluß. Sie zeigen, daß die D. Z. derartiger Butter (im Gegensatz zu den früher untersuchten Butterproben mit niedrigeren D. Z.) durch den Schmalzzusatz stark erhöht werden, daß aber ein Zusatz von 25% Talg die D. Z. wieder herabdrückt. Hiernach kann der Nachweis von Schweineschmalz in Butter, die ursprünglich höhere D. Z. als etwa 15 hatte, durch einen Zusatz von 25% Rindertalg nicht erbracht werden. In derartigen mit Talg versetzten Butterschmalzgemischen machen sich die entgegengesetzten Wirkungen von Talg und Schweineschmalz in der Weise geltend, daß der die D. Z. herabsetzende Einfluß des Talges den diese Zahl erhöhenden Einfluß des Schmalzes ausgleicht.

Anscheinend gehört Butter mit D. Z. über 14,6 zu den Seltenheiten; jedoch habe ich die Absicht, auf Grundlage der Methode die Versuche betr. den Nachweis von Schweineschmalz in Butter mit höheren D. Z. als 14,6 fortzusetzen.

In den weitaus meisten Fällen haben nicht nur reine Inlandbutter, sondern auch Gemische derselben mit Schweineschmalz bis zu 25% niedrigere D. Z. als 14,6 (vergl. Tabelle D auf Seite 50 der Abhandlung).

Zur Aufstellung einer höchsten D. Z. für Butter, deren Überschreitung auf eine Fälschung zurückzuführen ist, können die bisher vorliegenden Ergebnisse nicht als ausreichend angesehen werden.

Die Beschaffung von Rindertalg mit einem S. P. von 49 bis 49,8 und einer D. Z. von 14,4 bis 14,6, der häufiger unter den Talgsorten magerer Rinder angetroffen wird, bietet hierorts keine besonderen Schwierigkeiten; da ich aber von verschiedenen Seiten erfahren habe, daß derartiger Talg schwierig zu beschaffen und oft gar nicht zu haben sei, so kann — allerdings mit etwas geringerem Erfolge — ein öfter anzutreffender Talg einem S. P. von 49 bis 49,5 und der D. Z. 14,2 verwendet werden. Auch können mehrere passende Talgsorten gemischt werden. Je mehr sich die D. Z. des Talgs derjenigen von 14,6 nähert, desto schärfer ist der Nachweis des Schweineschmalzes in der Butter.

Beiträge zur Chemie des Essigs mit besonderer Berücksichtigung seiner Untersuchungsverfahren.

Von

Privatdozent **Dr. Johannes Brode**, und **Dr. Wilhelm Lange**,
früherem wissenschaftlichem Hilfsarbeiter, ständigem Mitarbeiter
im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Inhaltsübersicht: 1. Allgemeines über Wasserstoffionkonzentration und Indikatorreaktion. 2. Bestimmung der Essigsäure im Essig. 3. Qualitative Prüfung auf starke Säuren. 4. Quantitative Bestimmung starker Säuren. 5. Ermittlung der Abstammung des Essigs; a) Allgemeines, b) Bestimmung des Glycerins, c) Bestimmung des Extrakts. 6. Nachweis und Bestimmung der Oxalsäure. 7. Nachweis und Bestimmung der Borsäure. 8. Prüfung auf Schwermetalle (Kupfer, Blei, Zinn und Zink). 9. Nachweis und Bestimmung der Salizylsäure. 10. Nachweis der Benzoesäure.

I. Allgemeines über Wasserstoffionkonzentration und Indikatorreaktion.

Bei der Untersuchung des Essigs spielt eine wesentliche Rolle die Erkennung der natürlich vorhandenen oder dem Essig absichtlich zugesetzten Säuren wie z. B. Weinsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Borsäure, Oxalsäure, Salizylsäure und Benzoesäure.

Die Lösung dieser Aufgabe sowie die quantitative Bestimmung der Essigsäure selbst und einiger der übrigen Säuren setzt die genaue Kenntnis des Verhaltens der Säuren verschiedener Stärke in wässriger Lösung, insbesondere ihrer Reaktionen gegenüber den Indikatoren voraus. Es seien daher zunächst eine kurze Erörterung unserer heutigen Auffassung von dem Wesen starker und schwacher Säuren und einige Überlegungen über Indikatoren vorausgeschickt.

Nach der Arrheniusschen Dissoziationstheorie bestehen saure und basische Eigenschaften einer Flüssigkeit in einer bestimmten Konzentration des Wasserstoff- bzw. des Hydroxylions. Zur quantitativen Messung dieser Konzentration gibt es verschiedene Verfahren. Hierzu gehört auch die Beobachtung der Farbe, die ein Indikator in der betreffenden Lösung annimmt. Da die einzelnen Indikatoren je nach der Stärke der Azidität verschieden reagieren, hat sie schon F. Glaser¹⁾ in säureempfindliche, halbempfindliche und alkaliempfindliche eingeteilt. Nach der Dissoziationstheorie ist ein säureempfindlicher Indikator ein solcher, der bei einer verhältnismäßig niedrigen Wasserstoffionkonzentration, ein alkaliempfindlicher, der bei

¹⁾ F. Glaser, Indikatoren der Alkalimetrie und Azidimetrie, Wiesbaden 1901.

einem niedrigen Hydroxyliongehalt — mithin hohen Wasserstoffiongehalt — seine Farbe ändert. Es bot sich daher die Möglichkeit, die Glasersche Einteilung mehr quantitativ durchzuführen, die Empfindlichkeit der einzelnen Indikatoren gegenüber dem Wasserstoffiongehalt näher zu prüfen und sie dementsprechend in eine Reihe zu ordnen. In dieser Richtung haben fast gleichzeitig H. Friedenthal¹⁾ und E. Salm²⁾ einerseits, W. Salessky³⁾ und B. Fels⁴⁾ andererseits Versuche angestellt. Unter Anwendung der Kenntnis der Dissoziationskonstanten von Säuren und Basen, sowie durch Messung der elektromotorischen Kräfte von Wasserstoffketten stellten die genannten Forscher Lösungen mit bestimmtem Wasserstoffiongehalt her und prüften mit ihnen die Indikatoren.

Gegenüber Salessky und Fels, die den Umschlag eines Indikators bis auf die dritte Stelle einer Zehnerpotenz der Wasserstoffionkonzentration anzugeben versuchten, betont Salm mit Recht, daß es einen scharfen Umschlagspunkt bei einer bestimmten Wasserstoffionkonzentration nicht gibt, sondern daß der Umschlag innerhalb einiger Zehnerpotenzen der Wasserstoffionkonzentration erfolgt; es ist daher nötig, wenn man von einem Umwandlungspunkt reden will, diesen genauer zu definieren und zwar als die Wasserstoffionkonzentration, bei der gerade die Hälfte des Indikators umgesetzt ist. Der so definierte Punkt liegt nun aber teilweise nicht in dem Gebiet, in dem wir bei Änderung des Wasserstoffiongehaltes am schärfsten eine Änderung der Farbe beobachten.

Nach der Ostwaldschen Indikatorentheorie⁵⁾ beruht der Umschlag der Indikatoren auf einer verschiedenen Färbung von Indikatorion und undissoziierter Indikatormolekel und auf der Beeinflussung der Dissoziation des Indikators durch den Wasserstoff- oder Hydroxyliongehalt der zu prüfenden Flüssigkeit. Nun scheint allerdings nach den neueren Untersuchungen von Stieglitz, Hantzsch und anderen diese Theorie einer wesentlichen Modifikation zu bedürfen, insofern die Farbänderung des Indikators nicht durch die bloße Ionisation, sondern durch gleichzeitige Umlagerungen in der Indikatormolekel hervorgerufen wird. Indessen werden die Schlußfolgerungen über die Bedingungen des Farbumschlags durch den Wechsel der Theorie nicht sehr beeinflußt, und wir können daher die nachfolgenden Betrachtungen und Rechnungen der Einfachheit halber auf den ursprünglichen Ostwaldschen Annahmen aufbauen.

Nach diesen können wir quantitativ die Abhängigkeit des Indikatorumschlages vom Wasserstoffiongehalt feststellen, wenigstens in solchen Fällen, in denen der Indikator eine binäre Säure oder Base ist. Bei einer Säure haben wir stets das Gleichgewicht: $\frac{[H^+] \cdot \alpha}{1 - \alpha} = k$, wobei H⁺ die Konzentration des Wasserstoffions, α den disso-

¹⁾ Zeitschr. f. Elektrochem. **10**, S. 113—119.

²⁾ Ebenda, S. 341—346.

³⁾ Ebenda, S. 204—208.

⁴⁾ Ebenda, S. 208—214.

⁵⁾ W. Ostwald, Die wissenschaftlichen Grundlagen der analytischen Chemie, 3. Aufl. 1901. S. 117.

ziierten, $1-\alpha$ den undissoziierten Anteil und k die Dissoziationskonstante der Indikatorsäure bedeutet. Wir kommen dann zu folgenden Werten:

I	II	III	IV	V
Wasserstoffionkonzentration, [H ⁺]	Dissoziierter Anteil der Indikatorsäure, α	Undissoziierter Anteil der Indikatorsäure, $1-\alpha$	Relative Farbstärke des Ions	Relative Farbstärke der undissoziierten Säure
$10^3 k$	$\frac{1}{1001}$	$\frac{1000}{1001}$	0,0999	99,9
$10^2 k$	$\frac{1}{101}$	$\frac{100}{101}$	0,99	99,01
$10 k$	$\frac{1}{11}$	$\frac{10}{11}$	9,1	90,9
k	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	50	50
$10^{-1} k$	$\frac{10}{11}$	$\frac{1}{11}$	90,9	9,1
$10^{-2} k$	$\frac{100}{101}$	$\frac{1}{101}$	99,01	0,99
$10^{-3} k$	$\frac{1000}{1001}$	$\frac{1}{1001}$	99,9	0,0999

Je nachdem Ion oder undissoziierter Anteil eine stark hervortretende Farbe besitzen, werden wir den Umschlag bei verschiedener Wasserstoffionkonzentration beobachten. Im Grenzfall ist überhaupt nur eines von beiden gefärbt. Ist z. B. das Ion gefärbt, der undissoziierte Anteil aber farblos, so haben wir, wie Spalte IV der vorstehenden Tabelle zeigt, bis zur Konzentration von $H^+ = 10^3 k$ eine farblose oder äußerst schwach gefärbte Lösung; von $H^+ = 10^3 k$ bis $H^+ = 10 k$ nimmt pro Zehnerpotenz des Wasserstoffiongehaltes die Farbe um ungefähr das Zehnfache zu, von $H^+ = 10 k$ bis $H^+ = k$ beträgt die Zunahme nur ungefähr das Fünffache, und bei weiterer Erniedrigung des Wasserstoffiongehaltes kann die Farbstärke nur sehr wenig zunehmen. Das erste Auftreten der Farbe werden wir in obigem Beispiel bei ungefähr $H^+ = 10^2 k$ beobachten; haben wir den Indikator in höherer Konzentration, so wird sich eine Farbe schon zeigen, wenn die Ionkonzentration weniger als ein Prozent, etwa nur 1 Promille, wie dies bei $H^+ = 10^3 k$ der Fall ist, beträgt. Durch Konzentrationsänderung des Indikators kann daher der Punkt, bei dem wir eine Farbänderung am schärfsten beobachten, verschoben werden, während der von Salm definierte Umschlagpunkt, bei dem Ion und undissoziierter Anteil gleiche Konzentration haben, dadurch nicht geändert werden kann; dieser, bei dem $\alpha = 1-\alpha = \frac{1}{2}$ sein muß, liegt stets bei dem Wasserstoffiongehalt $H^+ = k$. Auf diese Weise klärt sich der Widerspruch auf zwischen Salessky, der den Umschlagpunkt im wesentlichen von der Konzentration des Indikators unabhängig fand, und Salm, der eine Abhängigkeit vom Indikatorgehalt experimentell feststellte.

Als selbstverständlich ist bei dieser Überlegung angenommen, daß die Wasserstoffionkonzentration durch Hinzubringen des Indikators nicht wesentlich geändert wird. Diese Bedingung läßt sich, wie Friedenthal jedenfalls nicht genügend beachtet, Fels aber dargelegt hat, durch eine geeignete Wahl der Lösungen, in denen die durch Hinzufügen des Indikators verbrauchte geringe Wasserstoff- oder Hydroxylionmenge durch Dissoziation der vorhandenen Elektrolyte nachgeliefert wird, stets erfüllen.

Für die Indikatorprüfungen stellt man nach Friedenthal zweckmäßig Normallösungen von bestimmten Wasserstoffiongehalten her, die nach Zehnerpotenzen ab-

gestuft sind. Durch Vergleich mit diesen Normalflüssigkeiten läßt sich alsdann in einer Lösung, deren Wasserstoffionengehalt nicht bekannt ist, dieser unter Benutzung eines geeigneten Indikators mit angenäherter Genauigkeit bestimmen. Den Wasserstoffionengehalt der Vergleichslösungen ermittelt man entweder durch Berechnung aus Konzentration und Dissoziationskonstante der benutzten Elektrolyte, oder durch die Messung der elektromotorischen Kraft einer Wasserstoffelektrode in der betreffenden Lösung gegen eine Normalelektrode. Um die Lösungen längere Zeit aufbewahren zu können, wird man Stoffe, die in Lösung kaum einer Änderung unterliegen, benutzen; man wird also organische Verbindungen tunlichst vermeiden. Ferner sind die Lösungen so zu wählen, daß die Wasserstoffionkonzentration durch geringen Säure- oder Alkalizusatz nicht wesentlich beeinflußt wird, so daß sie jedenfalls nach Zusatz einer sauren oder alkalischen Indikatorflüssigkeit noch als unverändert angesehen werden kann und auch durch Lösung von Bestandteilen des Glases oder durch Aufnahme geringer Mengen Kohlendioxyd nicht merklich geändert wird. Solche Lösungen kann man dadurch erhalten, daß eine schwache Säure oder Base bis zu einem bestimmten Anteil mit einer starken Base oder Säure neutralisiert wird. Da die Salze fast vollständig, die schwachen Säuren, bezw. Basen nur äußerst wenig dissoziiert sind, so ist hierbei die Konzentration des Ions gleich der des neutralisierten Anteiles, und die des undissoziierten Anteils gleich der der noch nicht neutralisierten Säure bezw. Base zu setzen. Bei einer Säure, von welcher a Äquivalente neutralisiert und b Äquivalente nicht neutralisiert sind, haben wir daher die Beziehung $\frac{H \cdot a}{b} = k$; wenn also gerade die Hälfte neutralisiert und $a = b$ ist, wird die Wasserstoffionkonzentration gleich der Dissoziationskonstante $H = k$.

Bei einer schwachen Base haben wir entsprechend $\frac{[OH'] \cdot a_1}{b_1} = k_1$. Da in wässrigen Lösungen das Produkt der Ionen des Wassers einen konstanten Wert hat: $[H'] \cdot [OH'] = k$, und dieser nach Kohlrausch bei 24° den Wert 10^{-14} hat¹⁾, erhalten wir bei einer teilweise neutralisierten Base: $\frac{10^{-14} \cdot a_1}{[H'] b_1} = k_1$.

Da bei der Verdünnung einer solchen, teilweise neutralisierten Lösung sich wohl der Wert von a und b , aber nicht das Verhältnis $a : b$ verschiebt, so ändert sich in ihr bei der Verdünnung der Wasserstoffionengehalt nicht. Kommt zu einer solchen Lösung eine geringe Verunreinigung durch Säure oder Base hinzu, so wird, wenn der Wert für a und b genügend hoch ist, das Verhältnis nicht wesentlich verschoben. Ist z. B. $a = 0,05$ und auch $b = 0,05$ und wird jetzt so viel einer starken Säure hinzugesetzt, daß reines Wasser vom H' -gehalt 10^{-7} auf den von 10^{-3} kommen würde, so wird hierdurch der neutralisierte Anteil um 0,001 kleiner, der nicht neutralisierte um ebensoviel größer; statt des Verhältnisses $0,05 : 0,05$ haben wir daher jetzt $0,049 : 0,051$. Ihm proportional hat sich die Wasserstoffionkonzentration um vier Prozent geändert, während die Änderung in reinem Wasser verschiedene Zehnerpotenzen des ursprünglichen Wertes betragen würde.

¹⁾ Fels hat in seiner Arbeit den Wert $1,4 \cdot 10^{-14}$ für Zimmertemperatur benutzt, während er bei 18° nach den verschiedenen Verfahren zu $0,6 \cdot 10^{-14}$ ermittelt worden ist.

Es erschien uns wichtig, vor der Anwendung dieser Überlegungen auf die Untersuchung von Essig die Ergebnisse der oben genannten Forscher durch eigene Beobachtungen nachzuprüfen und uns eine für unsere Zwecke geeignete Stufenfolge von Normalflüssigkeiten mit bestimmtem Wasserstoffionengehalt und von Indikatoren herzustellen. Als Normallösungen wurden die folgenden Lösungen benutzt:

Lösung	besteht aus	Wasserstoffionengehalt	
A	Konzentrierter Salzsäure		
B	1 n-Salzsäure		
I	0,1 n "	10 ⁻¹	} berechnet aus: $\frac{[H^+][CH_3CO_2']}{[HCH_3CO_2]} = 1,8 \cdot 10^{-5}$
II	0,01 n "	10 ⁻²	
III	0,1 n-Essigsäure	10 ^{-2,9}	
IV	0,083 n-Essigsäure + 0,017 n-Natriumacetat	10 ⁻⁴	
V	0,034 " + 0,066 "	10 ⁻⁵	
VI	0,005 " + 0,095 "	10 ⁻⁶	
VIa	0,026 mol. Na ₂ HPO ₄ + 0,074 mol. NaH ₂ PO ₄	10 ⁻⁶	} intrapoliert aus den Messungen von Friedenthal; durch eigene Gaskettenmessungen 10 ^{-6,09} bzw. 10 ^{-6,97} gefunden.
VII	0,072 " " + 0,028 " "	10 ⁻⁷	
VIII	0,0045 n-NH ₃ + 0,0955 n-NH ₄ Cl	10 ⁻⁸	} berechnet aus: $\frac{[OH'] [NH_4']}{[NH_4 OH]} = 2,3 \cdot 10^{-5}$ und $[H^+][OH'] = 10^{-14}$.
IX	0,0305 " + 0,0695 "	10 ⁻⁹	
X	0,081 " + 0,019 "	10 ⁻¹⁰	
XI	0,099 " + 0,001 "	10 ⁻¹¹	
XII	0,01 n-Natronlauge	10 ⁻¹²	
XIII	0,1 n "	10 ⁻¹³	
XIV	1 n "	10 ⁻¹⁴	
XV	Konzentrierter Natronlauge		

Die untersuchten Indikatoren wurden meist nach den Angaben von Glaser in Lösung gebracht; ihre Konzentration wurde dabei tunlichst so gewählt, daß sie in Lösung 0,01 normal waren. Lösungsmittel und Konzentration sind bei den einzelnen Indikatoren näher angegeben. Von diesen Indikatorlösungen wurden 0,2 ccm zu 20 ccm der Normallösungen — so daß also die Indikatorkonzentration 0,0001 normal war — hinzugesetzt, und die Farben in Reagenzglaschen von gleicher Größe verglichen. Dabei wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1. Tropäolin 00 (0,94 g in 125 ccm Alkohol + 125 ccm Wasser).
 A und B tiefrot, I bordeauxrot, II himbeerrot, III schwach rotorange, warm stärker orange, IV—XIV orange, bei XIV am nächsten Tage geringer Niederschlag, XV trübe, fast farblos, in Essigsäure unter Orange-färbung wieder löslich.
 (Ausgeäthert. Wässriger Anteil: I rot, II rotorange, III orange, IV gelb; ätherischer Anteil: I gelb, II schwach gelb, dann farblos).
2. Neutralrot (0,75 g in 250 ccm Wasser).
 A und B blau, I—VI rot, VII rotorange, warm heller, VIII orange, warm orangerot, IX—XV orange, Niederschlag.

- (Ausgeäthert. Wässeriger Anteil: VII orangerot, VIII und IX gelb; ätherischer Anteil: gelb).
3. Methylviolett (0,75 g in 250 ccm Wasser).
A goldgelb, B grün, fast farblos, I schwach grünlichblau,
II blau
III blauviolett } warm mehr nach violett verschoben,
IV—XV violett.
(Ausgeäthert. Bei I erscheint der wässerige Anteil bläulich statt grünlich, sonst keine Änderung).
4. Methylorange (0,82 g in 250 ccm Wasser).
A, B, I und II rosenrot, III rot mit einem Stich ins orange, warm mehr orange, IV orange mit einem Stich ins rote, warm orange, V—XIV orange, XV Trübung.
(Durch Ausäthern tritt kaum eine Änderung ein).
5. Kongo (0,87 g in 250 ccm Wasser).
A, B, I—III blau mit Niederschlag, IV blau, V mißfarbig, warm rotorange, VI—XV rot.
(Ausgeäthert. Wässeriger Anteil: III bläulich, IV rotviolett, V, VI rot; ätherischer Anteil: mißfarben).
6. Gallein (0,9 g in 125 ccm Alkohol + 125 ccm Wasser).
A, B und I goldgelb, II und III fahlgelb, warm unverändert, IV gelb, mit einem Stich ins rote, V rot, mit einem Stich ins gelbe, warm unverändert, VI—XIV violett, XV blau. VI—XIV werden farblos, am raschesten die Lösungen mit hohem OH'-gehalt (beim Eingießen in konz. Natronlauge oder -Säure kehrt die Farbe nicht wieder).
(Ausgeäthert. Wässeriger Anteil: III und IV farblos, V schwach rosa, VI—XV wenig geändert; ätherischer Anteil: III—V braun, VI hellbraun, dann farblos).
7. p-Nitrophenol (0,35 g in 250 ccm Alkohol).
A—IV farblos, V schwach grüngelb, VI—XV grüngelb.
(Ausgeäthert. Wässeriger Anteil: VII fast farblos, VIII nur wenig entfärbt; ätherischer Anteil: farblos).
8. Alizarin (0,58 g in 250 ccm Alkohol).
A—VI gelb trübe, VII fahlschmutzig, warm rotviolett, VIII—X rotviolett, XI—XV blauviolett.
(Ausgeäthert. Wässeriger Anteil: III—VI farblos, VII schwach rosa, VIII und IX violett; ätherischer Anteil: III—VIII gelb, dann farblos).
9. Alizarinsulfosaures Natrium (0,85 g in 250 ccm Wasser; da eine Trübung entstand und nicht verschwand, filtriert).
A—IV gelbgrün, V gelb, mit einem Stich ins rote, warm etwas tiefer rot, VII—XI rotviolett, XII—XV blauviolett, mit dem OH'-gehalt an Farbstärke zunehmend.

10. Rosolsäure (0,76 g in 125 ccm Alkohol + 125 ccm Wasser).
A, B und I gelb, II etwas schwächer gelb, III noch schwächer, IV und V bräunlich, fast farblos, VI bräunlich, mit einem Stich nach rosa, VII schwach rosa, VIII—XV rosa. Die Lösungen werden langsam farblos, in der Wärme kehrt die Farbe wieder, auch beim teilweisen Neutralisieren. (Ausgeäthert. Wässriger Anteil: I gelb, II fast farblos, III—VI farblos, VII schwach rosa, VIII rosa, IX rotviolett; ätherischer Anteil: IX farblos, sonst gelb).
11. Phenolphthaleïn (0,8 g in 250 ccm Alkohol).
A, B, I—VII farblos, geringe Trübung, VIII schwach rosa, warm farblos, IX rosa, warm schwach rosa, X—XV rot; XIV wird langsam, XV rasch farblos. Bei teilweisem Neutralisieren kehrt die Farbe wieder, beim Eingießen in NH_4Cl -Lösung nicht. (Ausgeäthert. Wässriger Anteil: A, B, I—X farblos).
12. Poirriers Blau (0,75 g in 250 ccm Wasser).
A und B cyanblau und Niederschlag, I—XI blau (VI—XI entfärben sich rasch), XII violett, XIII—XV fleischfarben (beim Eingießen der entfärbten Lösung in Salzsäure kehrt die Farbe rasch, in Essigsäure langsam zurück). (Ausgeäthert. Wässriger Anteil: A, B, I—XI farblos, XII und XIII fleischfarben; ätherischer Anteil: trübe).
13. α -Naphtholbenzoïn (1,85 g in 240 ccm Alkohol + 10 ccm $\frac{1}{2}$ n-Natronlauge).
A grüner Niederschlag in grüner Lösung, B schmutzig rotbrauner Niederschlag, I—VII schmutzig-rötlicher Niederschlag, VIII braungelb, IX gelb, mit einem Stich ins grüne, X oliv-grün, XI—XV grün.
14. Cyanin (0,75 g in 250 ccm Alkohol, von kleinem Rest abfiltriert).
A, B, I—VI farblos, VII ganz schwach gefärbt, warm blau, VIII und IX blau, X—XV blauviolett; XIV wird langsam, XV rasch farblos. (Ausgeäthert. Die violetten Farben erscheinen mehr blau, sonst unverändert).
15. Curcumin (0,8 g in 250 ccm Wasser, filtriert).
A fahlgelblich, B, I—VI gelb, VII mit einem Stich ins rote, warm etwas fahler, VIII rotgelb, IX—XV rotgelb, etwas tiefer als VIII. (Ausgeäthert. Wässriger Anteil: A, B, I—IX gelb, dann farblos; ätherischer Anteil: A, B, I—VIII schwach gelb, dann gelbrot).
16. Cochenille (3 g in 250 ccm 25 proz. Alkohol, filtriert).
A, B, I—IV schwach gelbrot, V mit einem Stich ins rote, VI—XV rosa, mit konz. Ammoniak sich rasch entfärbend, XV rosa, sich langsamer entfärbend. (Ausgeäthert: kaum verändert).
17. Lackmoïd (0,8 g mit 50 proz. Alkohol stehen lassen, dann filtriert).
Da bei einem Zusatz von 0,2 ccm der Indikatorlösung die Farbe zu schwach war, wurden 0,5 ccm zugegeben.

A, B, I—IV rosa, V mit einem Stich ins violette, warm mehr violett, VI und VII violett, VIII—XV blau.

(Ausgeäthert. Wässriger Anteil: A, B, I—V farblos, dann schwach blau; ätherischer Anteil: A, B, I—VI rosa, VII fast farblos, dann farblos).

18. Lackmus (1 g Azolithmin in lauwarmem Wasser unter Zusatz von 5 ccm $\frac{1}{2}$ n-NaOH gelöst, durch 2 ccm 1 n-HCl violette Farbe erhalten).

A, B, I—V rot, VI rotviolett, VII blauviolett, warm tiefer nach blau, VIII—XV blau.

19. Phenacetolin (1 g in 100 ccm Alkohol, filtriert).

A, B, I—III gelber Niederschlag, IV gelbe Lösung mit Niederschlag, mit einem Stich ins braune, V braunrote Lösung mit Niederschlag, VI hellrötlich, VII—X rotviolett, farblos werdend, am schnellsten bei X, XI violett, rasch farblos werdend, XII—XV schwach gelb, fast farblos.

(Ausgeäthert. Wässriger Anteil: A, B, I—V gelb, von VII an rosa; ätherischer Anteil: A, B, I—VII gelblich, dann farblos).

20. Tropäolin 000 (0,8 g in 250 ccm Wasser).

A roter Niederschlag, B, I—X orange, XI rotorange, mit einem Stich ins orange, XII—XV rotorange.

(Ausgeäthert: unverändert).

21. Äthylorange (0,9 g in 250 ccm Wasser).

A, B, I—II rot, III rot, mit einem Stich ins orange, IV orangerot, V—XIV orange, XV gelber Niederschlag.

(Ausgeäthert: unverändert).

22. Jodeosin (0,7 g in 250 ccm Wasser + 2,5 ccm 1 n-KOH, filtriert).

A, B, I Niederschlag, II und III rotorange, IV orangerot, V—XV rosa. (Ausgeäthert. Wässriger Anteil: A, B, I—IV farblos, V schwach, von VI an stark rosa Färbung; ätherischer Anteil: A, B, I—V gelb, VI schwach gelb, dann farblos).

23. Hämatoxylin (0,75 g in 250 ccm Wasser).

A rosa, B schwachrosa, I—III farblos, IV—VI gelb, VII rosa, VIII—XIII bordeauxrot, XIV—XV blau.

(Ausgeäthert: unverändert).

Die für den Umschlagspunkt erhaltenen Ergebnisse sind gemeinsam mit den von anderen Untersuchern erhaltenen in der Tabelle 1 (Seite 142 u. 143) zusammengestellt. Mit Ausnahme einiger Werte ist die Übereinstimmung der von den verschiedenen Autoren gefundenen Werte befriedigend. Es kann hierbei die Frage aufgeworfen werden, ob außer Wasserstoff- und Hydroxylion auch andere in Lösung befindliche Ionen, wie dies z. B. das Borsäureion mit Kurkuma tut, etwa infolge einer Komplexbildung eine spezifische Farbreaktion hervorrufen. Dann hätte sich die Farbe der Lösungen A, B, I—II, welche Cl' , III—VI, welche Natrium- und Acetation, VIa und VII, welche Natrium- und Phosphation, VIII—X, welche NH_4 - und Cl' -ion, und XI—XV, welche Natriumion enthielten, wesentlich voneinander unterscheiden müssen. Da dies aber bei keinem Indikator der Fall war, so darf gefolgert werden, daß jedenfalls die benutzten Elektrolyte keine spezifischen Farbreaktionen verursachen.

Bei dieser Gelegenheit wurde auch geprüft, ob sich der Umschlagspunkt durch Erwärmen ändert. In allen Fällen, in denen eine Verschiebung sich zeigte, ist dies angegeben. In der Tabelle ist dafür die Wasserstoffionkonzentration angegeben; streng richtig ist dies nicht, da in den einzelnen Normallösungen der Wasserstoffiongehalt nur bei gewöhnlicher Temperatur als bekannt angenommen werden darf und nicht untersucht worden ist, wie stark er sich mit der Temperatur ändert. Würde bei allen Elektrolyten die Dissoziationskonstante sich nicht oder proportional ändern, so wäre der Umschlag von der Temperatur unabhängig. Da die Temperatur im allgemeinen nur einen geringen Einfluß auf den Dissoziationsgrad, wie dies aus den geringen Dissoziationswärmen hervorgeht, ausübt und sich auch der Dissoziationsgrad des Wassers bei Erhöhung der Temperatur um 80° (bei 18° $0,80 \cdot 10^{-7}$, bei 100° $8,5 \cdot 10^{-7}$) nur um eine Zehnerpotenz verschiebt, so beeinflußt die Temperatur den Umschlagspunkt nur wenig.

Da wir Indikatoren für alle Gebiete der Wasserstoffionkonzentration haben, werden wir in einer Lösung mit unbekanntem Wasserstoffiongehalt diesen bis auf die Genauigkeit von etwa einer Zehnerpotenz mit Hilfe des geeigneten Indikators ermitteln können. Eine etwas größere Genauigkeit läßt sich in den Fällen erreichen, in welchen der Umschlag von farblos in gefärbt erfolgt. Hier können wir in einfacher Weise kolorimetrisch die Farbstärke bestimmen und unter Benutzung der auf Seite 134 u. 135 entwickelten Beziehung die Wasserstoffionkonzentration berechnen. Um festzustellen, bis zu welcher Genauigkeit man hierbei etwa gelangt, wurden an den drei in Frage kommenden Indikatoren: p-Nitrophenol, Cyanin und Phenolphthaleïn Messungen unter Benutzung eines Kolorimeters von Duboscq ausgeführt, jedoch erwies sich das Cyanin als ungeeignet, weil seine Farbe zu rasch abnahm; mit den beiden andern Indikatoren wurden folgende Werte erhalten:

Phenolphthaleïn.

Lösung Nr.	Farbstärke		
	theoretisch, wenn $k = 10^{-10^1}$ ist	gefunden	
		I	II
XII	99	84	80
XI	91	79	70
X	50	50	50
IX	9	9,2	7,1

p = Nitrophenol.

Lösung Nr.	Farbstärke		
	theoretisch, wenn $k = 10^{-7^2}$ ist	gefunden	
		I	II
IX	99	100	—
VIII	91	100	95
VII	50	50	50
VI	9	7,3	6,3
V	1	1	—

¹⁾ Nach Mc Coy (Amer. chem. Journ. 31, 503—521) ist die Dissoziationskonstante des Phenolphthaleïns $k = 10^{-10,13}$.

²⁾ Dissoziationskonstante = $1,2 \cdot 10^{-7}$ (nach Bader, R., Zeitschr. f. physik. Chem. 6, 1890, S. 299).

Tabelle 1. Farbumschlag der Indikatoren und

Indikator	Nach eigenen Beobach-		
	bei gewöhnlicher Temperatur	beim Erwärmen	Beim Ausschütteln
			riger Lösung wässriger Anteil
	Farbumschlag	Mol H ⁺ in 1 Liter	
Tropäolin 000 . . .	rot bis orange	10 ⁻⁰	—
Neutralrot . . .	blau bis rot	10 ⁻⁰ bis 10 ⁻¹	—
Tropäolin 00 . . .	rot bis orange	10 ⁻² bis 10 ⁻³	10 ^{-1,5} bis 10 ^{-2,5}
Methylviolett . . .	blau bis violett	10 ⁻² bis 10 ⁻³	10 ^{-1,5} bis 10 ^{-2,5}
Äthylorange . . .	rot bis orange	10 ^{-2,5} bis 10 ^{-4,5}	—
Methylorange . . .	rot bis orange	10 ⁻³ bis 10 ⁻⁴	10 ^{-2,5} bis 10 ^{-3,5}
Jodeosin	orange bis rosa	10 ⁻³ bis 10 ⁻⁵	— farblos bis rosa 10 ⁻⁴ bis 10 ^{-5,5}
Gallein	gelb bis violett	10 ⁻³ bis 10 ⁻⁵	— farblos bis rotviolett 10 ⁻⁵ bis 10 ^{-6,5}
Kongo	blau bis rot	10 ^{-3,5} bis 10 ^{-5,5}	10 ^{-3,5} bis 10 ⁻⁵ bläulich bis rot 10 ⁻³ bis 10 ^{-4,5}
Rosolsäure	gelb bis bräunlich bis rosa	10 ^{-3,5} bis 10 ^{-7,5}	— gelb bis farblos 10 ⁻¹ bis 10 ^{-2,5} farblos bis rotviolett 10 ⁻⁷ bis 10 ^{-8,5}
Phenacetolin . . .	gelb bis rötlich	10 ⁻⁴ bis 10 ⁻⁷	—
Alizarinsulfs. Natr.	grün bis violett	10 ^{-4,5} bis 10 ⁻⁶	10 ^{-4,5} bis 10 ^{-5,5}
Lackmoid	rosa bis violett	10 ^{-4,5} bis 10 ⁻⁶	10 ⁻⁴ bis 10 ^{-4,5} farblos bis blau 10 ⁻⁵ bis 10 ^{-6,5}
Cochennille	gelbrot bis rosa	10 ⁻⁵ bis 10 ⁻⁶	—
p-Nitrophenol . . .	farblos bis gelb	10 ^{-5,5} bis 10 ^{-6,5}	— farblos bis gelb 10 ⁻⁷ bis 10 ⁻⁸
Lackmus	rot bis blauviolett	10 ^{-5,5} bis 10 ⁻⁷	—
Hämatoxylin	gelb bis rosa	10 ⁻⁶ bis 10 ⁻⁷	—
Alizarin	gelb bis rotviolett	10 ^{-6,5} bis 10 ^{-7,5}	10 ⁻⁶ bis 10 ⁻⁷ farblos bis rotviolett 10 ⁻⁷ bis 10 ^{-8,5}
Cyanin	farblos bis blau	10 ^{-6,5} bis 10 ⁻⁸	10 ⁻⁶ bis 10 ^{-7,5}
Curcumin	gelb bis rotgelb	10 ⁻⁷ bis 10 ⁻⁸	—
Neutralrot	rot bis orange	10 ⁻⁷ bis 10 ^{-8,5}	10 ^{-7,5} bis 10 ⁻⁹
Phenolphthalein . .	farblos bis rot	10 ^{-7,5} bis 10 ^{-9,5}	10 ⁻⁸ bis 10 ⁻¹⁰ farblos bis rot 10 ⁻¹⁰ bis 10 ⁻¹¹
α-Naphtholbenzoin	braungelb bis grün	10 ⁻⁸ bis 10 ⁻¹⁰	— farblos bis grünlich 10 ⁻¹⁰ bis 10 ⁻¹²
Poirriers Blau . . .	blau bis violett	10 ⁻¹¹ bis 10 ⁻¹²	—
Tropäolin 000 . . .	orange bis rot	10 ^{-11,5} bis 10 ^{-12,5}	—
Poirriers Blau . . .	violett b. fleischfarb.	10 ⁻¹² bis 10 ⁻¹³	—
Gallein	violett bis blau	10 ⁻¹⁴	—

Wie zu erwarten war, ist die kolorimetrische Bestimmung nicht mehr anwendbar, wenn H⁺ kleiner als k ist, da hier die Farbstärke mit Änderung des Wasserstoffionengehalts nur wenig variiert. Durch Konzentrationserhöhung des Indikators wird die Farbstärke erhöht und es war anzunehmen, daß bei genügend hoher Indikatorkonzentration diese auch in Lösungen, in denen der relative Wert 1 Prozent oder nur 1 Pro-

zugehörige Wasserstoffionkonzentration.

tungen von 10 ccm wässe- mit 2 ccm Äther ätherischer Anteil	Nach Beobachtungen von			
	Salm	Friedenthal	Salessky	Fels
	Mol H ⁺ in 1 Liter			
—	—	—	—	—
—	10 ⁻⁰ bis 10 ⁻²	10 ⁻⁰ bis 10 ⁻¹	—	—
—	—	—	—	—
—	10 ⁻² bis 10 ⁻³	10 ⁻² bis 10 ⁻³	10 ^{-2,7}	10 ^{-2,05} bis 10 ^{-2,38}
—	—	—	—	—
—	10 ⁻³ bis 10 ^{-4,5}	10 ⁻³ bis 10 ^{-4,5}	10 ^{-2,8} bis 10 ^{-5,2}	10 ^{-4,06}
gelb bis farblos 10 ^{-4,5} bis 10 ⁻⁶	—	—	—	—
braun bis farblos 10 ^{-6,5} bis 10 ⁻⁷	10 ⁻³ bis 10 ^{-5,5}	10 ⁻¹ bis 10 ⁻⁵	—	—
—	10 ^{-3,5} bis 10 ^{-4,5}	10 ^{-3,5} bis 10 ^{-4,5}	10 ^{-4,23}	10 ^{-3,67} bis 10 ^{-4,41}
gelb bis farblos 10 ⁻⁸ bis 10 ^{-9,5}	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	gelb bis rosa 10 ⁻⁵ bis 10 ⁻⁶	gelb bis rosa 10 ⁻⁷ bis 10 ⁻⁸	—	—
rosa bis farblos 10 ⁻⁶ bis 10 ^{-7,5}	10 ^{-5,5} bis 10 ^{-7,5}	10 ⁻⁴ bis 10 ⁻⁵	—	—
—	—	—	—	—
farblos	10 ⁻⁵ bis 10 ⁻⁶	10 ⁻⁴ bis 10 ⁻⁶	—	10 ^{-6,13} bis 10 ^{-6,74}
—	10 ^{-5,5} bis 10 ^{-6,5}	10 ⁻⁵ bis 10 ⁻⁹	10 ⁻⁸ bis 10 ^{-7,2}	10 ^{-6,97}
—	—	—	—	—
gelb bis farblos 10 ⁻⁸ bis 10 ^{-9,5}	gelb bis orange 10 ⁻⁵ bis 10 ^{-6,5} , orange bis rot 10 ^{-7,5} bis 10 ^{-0,5}	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	10 ⁻⁹ bis 10 ⁻¹⁰	—	—
farblos	10 ^{-8,5} bis 10 ^{-9,5}	10 ⁻⁹ bis 10 ⁻¹⁰	10 ^{-8,7} bis 10 ^{-8,5}	10 ^{-7,76} bis 10 ^{-7,51}
—	10 ⁻⁹ bis 10 ^{-10,5}	10 ⁻¹⁰ bis 10 ⁻¹¹	—	—
—	10 ⁻¹¹ bis 10 ⁻¹²	10 ⁻¹¹ bis 10 ⁻¹²	—	—
—	—	—	—	—
—	10 ⁻¹² bis 10 ⁻¹³	10 ⁻¹² bis 10 ⁻¹³	—	—
—	10 ⁻¹³ bis 10 ⁻¹⁴	10 ⁻¹² bis 10 ⁻¹⁴	—	—

mille beträgt, noch erkannt und gemessen werden kann. Wegen der schweren Löslichkeit läßt sich jedoch die Konzentration der beiden Indikatoren nicht wesentlich steigern, sondern es tritt in den Lösungen, in denen nur ein relativ kleiner Teil zur Ionbildung gelangen kann, Ausfällung ein.

Bei den übrigen Indikatoren, bei welchen der Umschlag von einer in eine andere

Farbe erfolgt, sind wegen der Mischfarbe kolorimetrische Bestimmungen nicht gut direkt ausführbar, doch läßt sich bei vielen mit Hilfe eines Kunstgriffes, der unseres Wissens bisher nur bei Titrations mit Jodeosin (wie es scheint, ohne Kenntnis der Theorie, weshalb auch seine Anwendbarkeit bei andern Indikatoren noch nicht geprüft worden ist) benutzt ist, eine Trennung von Ion und undissoziiertem Anteil, also auch eine Trennung der beiden Farben durchführen. Wird die wässrige Lösung mit einem anderen Lösungsmittel, z. B. Äther, in dem der undissoziierte Anteil leicht löslich ist, ausgeschüttelt, so findet eine Verteilung derart statt, daß sich ein bestimmtes Konzentrationsverhältnis (das Verhältnis der Löslichkeiten in den beiden Lösungsmitteln)¹⁾ zwischen undissoziiertem Anteil in der wässrigen und ätherischen Lösung einstellt. Ist dieses Konzentrationsverhältnis gleich k' und bleibt der Anteil β vom Indikator als Ion in der wässrigen Lösung, so haben wir vom undissoziierten Anteil $1-\beta$ den Bruchteil $\frac{1-\beta}{1+k'}$ in der wässrigen und $\frac{1-\beta}{1+k'}$ k' in der ätherischen Lösung. Ist die Löslichkeit des Indikators in Äther erheblich größer als in Wasser, so hat k' einen großen Wert; es bleibt alsdann nur ein sehr kleiner Teil des Indikators in wässriger Lösung, so daß diese nur die Farbe des Ions, der Äther nur die der undissoziierten Verbindung zeigt. Bei einer binären Säure besteht nun in der wässrigen Lösung zwischen Ion und undissoziiertem Anteil das Gleichgewicht:

$$\frac{[\text{H}^+]\beta}{1-\beta} = k \text{ oder } \text{H}^+ = \frac{1-\beta}{\beta} \frac{k}{1+k'}$$

Nach der von Salm gegebenen Definition bedeutet der Umwandlungspunkt die Wasserstoffionkonzentration, bei der gerade die Hälfte des Indikators als Ion (also $\beta = 1-\beta$) in Lösung ist. Wird nicht mit einem andern Lösungsmittel ausgeschüttelt, so war diese Bedingung, wie auf S. 134 u. 135 gezeigt worden ist, erfüllt, wenn $\text{H}^+ = k$ war; beim Ausschütteln mit dem Lösungsmittel ist sie dagegen erfüllt, wenn $\text{H}^+ = \frac{k}{1+k'}$ ist, und die in Tabelle auf S. 135 gegebenen Beziehungen behalten ihre Gültigkeit, wenn wir statt k $\frac{k}{1+k'}$ setzen. Durch das Ausäthern tritt also wegen Trennung der Farben der Umwandlungspunkt nicht nur schärfer hervor, sondern er wird auch im Verhältnis $\frac{1}{1+k'}$ verschoben. Die obige Beziehung ist gültig, wenn ebensoviel Äther zum Ausschütteln benutzt wird, als wässrige Lösung vorhanden ist. Schütteln wir jedoch a ccm wässrige Lösung mit b ccm Äther aus, so verteilt sich der undissoziierte Anteil im Verhältnis $1 : \frac{b}{a} k'$, der Umwandlungspunkt wird daher erhalten bei $\text{H}^+ = \frac{k}{1+\frac{b}{a}k'}$; also auch durch Anwendung verschieden großer Mengen Äther können wir den Umwandlungspunkt in weiten Grenzen verschieben. Die Richtigkeit obiger Ableitungen

¹⁾ Über die Theorie siehe unter anderem W. Nernst, Theoretische Chemie, 2. Aufl., S. 261. (Findet im Äther eine Polymerisation statt, so hat eine höhere Potenz dieses Verhältnisses einen konstanten Wert.)

läßt sich leicht qualitativ am Phenolphthaleïn, bei dem sich ja auch ohne Ausschütteln der Umschlagspunkt scharf beobachten läßt, zeigen.

Umschlagspunkte des Phenolphthaleïns beim Ausschütteln wässeriger Lösungen mit verschieden großen Äthermengen.

Teile Wasser	Teile Äther	Der Umschlagspunkt liegt bei dem H ⁺ -ionengehalt
10	0	10 ⁻⁸
10	10	10 ^{-10,5}
1	10	10 ^{-11,5}

Danach verschiebt sich der Umwandlungspunkt um eine Zehnerpotenz der Wasserstoffionkonzentration, wenn das Raumverhältnis der beiden Lösungsmittel zehnfach wird. Diese Beziehung muß stets eintreten, wenn $\frac{b}{a}k'$ im Verhältnis zu 1 sehr groß ist, denn dann geht obige Formel in $H \cdot \frac{b}{a} = \frac{k}{k'}$ oder $H = \text{konst.} \frac{a}{b}$ über¹⁾.

Die Methode des Ausschüttelns ist natürlich nur dann anwendbar, wenn von den in Lösung befindlichen Elektrolyten nur der undissoziierte Anteil des Indikators sich ausschütteln läßt, ihre Anwendbarkeit ist daher eine beschränkte. Von den in unsern Normallösungen enthaltenen Elektrolyten ging nur die Essigsäure in merklicher Menge in den Äther über. Beim Ausschütteln der Essigsäure mit gleichen Teilen Äther geht ungefähr $\frac{1}{3}$ des undissoziierten Anteiles²⁾ in den Äther über. Bei unsern Versuchen betrug jedoch die Äthermenge nur ein Fünftel der wässerigen Lösung, dieser wurde daher nur $\frac{1}{15}$ ihrer Essigsäure entzogen. Da die Wasserstoffionkonzentration in den Lösungen III—VI direkt proportional der Essigsäure ist, so nimmt sie um $\frac{1}{15}$ also etwa 7 Prozent durch das Ausäthern ab. Diese Änderung ist ohne Einfluß, da es sich nur um die Bestimmung der Größenordnung handelt.

Mit Hilfe der Indikatoren und unter Benutzung des angegebenen Kunstgriffes werden wir in allen Fällen die Größenordnung des Wasserstoffiongehaltes feststellen können. Haben wir eine sehr hohe Wasserstoff- bzw. Hydroxylionkonzentration (über $\frac{1}{100}$ normal) so kann diese im allgemeinen nur durch die Anwesenheit einer starken Säure oder Base verursacht sein. Von dieser können wir annehmen, daß sie so gut wie vollständig dissoziiert ist. Wenn wir jetzt neutralisieren, so tritt bei dem Punkte, an welchem gerade die äquivalente Menge zugesetzt ist, eine plötzliche Änderung des Wasserstoffiongehaltes ein, auch wenn sich andere Elektrolyte, die infolge ihrer Dissoziation eine bestimmte Wasserstoffionkonzentration bedingen, in Lösung befinden. Mit Hilfe eines geeigneten Indikators (bei einer Säure eines solchen, der bei ver-

¹⁾ Die Methode bietet die Möglichkeit: a) die Dissoziationskonstanten gewisser Indikatoren, bei denen durch Ausschütteln eine Farbtrennung stattfindet, durch kolorimetrische Messungen zu ermitteln, b) als Indikatoren auch Elektrolyte, bei denen Ion und dissoziierter Anteil gleiche Farbe haben, zu benutzen, da ja durch das Ausschütteln eine Trennung stattfindet.

²⁾ A. Hantzsch und F. Sebaldt, Zeitschr. f. phys. Chem. **80**, 287 (1899).

hältnismäßig hohem, bei einer Base entsprechend niedrigem Wasserstoffiongehalt seine Farbe ändert) werden wir diesen Punkt durch Titration feststellen können. In Mischungen von Salzsäure mit schwachen Säuren oder sauer reagierenden hydrolytisch gespaltenen Salzen kann der Wasserstoffiongehalt gleich der Salzsäurekonzentration gesetzt werden und diese ist durch Titration mit Methylviolett, Tropäolin 00 oder auch Methylorange für sich allein bestimmbar, da wir hierbei den Farbumschlag erhalten, bevor Alkali für die schwachen Säuren oder hydrolytisch gespaltenen Salze verbraucht wird. Dasselbe gilt für die Bestimmung eines sehr niedrigen Wasserstoffion- also hohen Hydroxyliongehaltes, wenn die starke Base mit einem Indikator, der

bei niedrigen Wasserstoffiongehalt einen Farbumschlag zeigt, wie z. B. Naphtholbenzoin oder Phenolphthalein, titriert wird.

Die Wasserstoff- und Hydroxylionkonzentrationen lassen sich natürlich nur dann durch Titration bestimmen, wenn die betreffenden Elektrolyte schon vorher so gut wie vollständig dissoziiert waren. War dies nicht der Fall, so findet, sobald durch Neutralisation Wasserstoffion oder Hydroxylion verbraucht ist, stets augenblicklich eine Nachlieferung durch neue Dissoziation des noch vorhandenen Elektrolyten statt und die Wasserstoffionkonzentration nimmt nur um ein geringes ab, solange von diesem Elektrolyten noch genügend übrig bleibt.

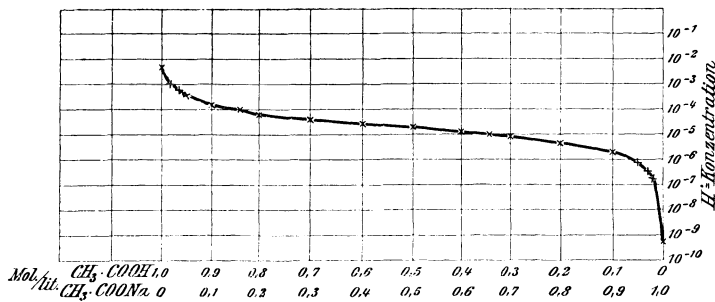


Fig. 1. Abnahme der Wasserstoffionkonzentration bei der Neutralisation von Essigsäure mit Natronlauge.

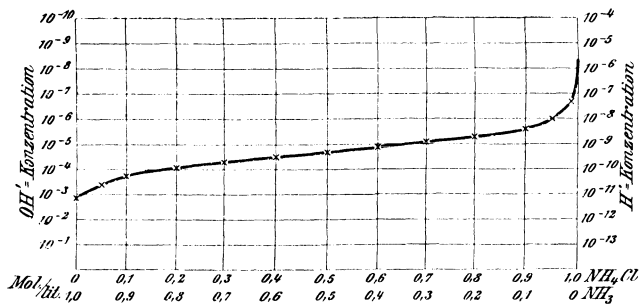
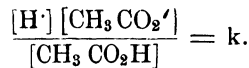


Fig. 2. Zunahme der Wasserstoffionkonzentration bei der Neutralisation von Ammoniak mit Salzsäure.

In Fig. 1 ist die Wasserstoffionkonzentration, die wir beim Neutralisieren der Essigsäure mit einer starken Base, und in Fig. 2 die, welche wir beim Neutralisieren des Ammoniaks mit einer starken Säure durchschreiten, graphisch dargestellt.

Der Übersichtlichkeit halber ist die Volumvermehrung durch die zugefügte Titrationsflüssigkeit vernachlässigt worden, d. h. es sind Lösungen verglichen worden, die bei wechselndem Neutralisationsgrade stets die gleiche Gesamtkonzentration (1 n) besitzen. In Lösungen von Essigsäure stellt sich stets, wie S. 135 gezeigt worden ist, das Gleichgewicht ein:



In reiner Essigsäure ist die Konzentration des Wasserstoffions gleich der des Essigsäureions, also $H^+ = CH_3CO_2' = \alpha$ Mol/lit; der undissoziierte Anteil ist hier im Verhältnis zum dissoziierten sehr groß, wir können daher seine Konzentration gleich der Gesamtkonzentration der Essigsäure c setzen und erhalten daher:

$$\alpha^2 = kc, \quad \alpha = \sqrt{kc}.$$

Werden nur a Äquivalente Essigsäure neutralisiert, so wird der undissoziierte Anteil gleich $c-a$, und da das Natriumacetat praktisch vollständig dissoziiert ist, ist die Acetationkonzentration $a + \alpha_1$, die Wasserstoffionkonzentration α_1 ; wir erhalten also

$$\alpha_1 (a + \alpha_1) = k(c-a). \quad (I)$$

Solange a im Vergleich zu c sehr klein ist, erhalten wir die Wasserstoffionkonzentration

$$\alpha_1 a + \alpha_1^2 = kc,$$

$$\alpha_1 = -\frac{a}{2} + \sqrt{\frac{a^2}{4} + kc}.$$

Hat a größere Werte, dann ist α klein gegen a , Formel I geht dann über in $\alpha_1 a = k(c-a)$. Bezeichnet a den neutralisierten, $c-a = b$ den nicht neutralisierten Anteil und α_1 die Wasserstoffionkonzentration H^+ , so erhalten wir

$$\alpha_1 = k \frac{c-a}{a} \text{ oder } H^+ = k \frac{b}{a}.$$

Diese Funktion gilt für den weitaus größten Teil der Kurve. Wie man sieht, ist also im größten Teil der Kurve H^+ von c unabhängig, so daß für die Anwendung dieser Überlegungen die Konzentration der zu titrierenden Essigsäure oder das Gesamtvolumen der Flüssigkeit keine Rolle spielt. In der Nähe des Neutralisationspunktes haben wir durch Hydrolyse des Neutralsalzes eine größere Menge undissoziierter Säure als der Differenz der ursprünglich vorhandenen c und neutralisierten a entspricht. Ist $a = c$, was der Fall ist, wenn gerade die äquivalente Menge Lauge zugesetzt ist, so ist die Hydroxyliionkonzentration x gleich der durch Hydrolyse entstandenen undissoziierten Säure; die Wasserstoffionkonzentration ist in diesem Falle gleich $\frac{10^{-14}}{x}$, wir haben also den Ausdruck:

$$\frac{10^{-14} [CH_3CO_2']}{x^2} = k.$$

Da nur ein sehr geringer Teil zur Bildung undissoziierter Säure verwandt worden ist, so ist die Acetationkonzentration gleich c zu setzen; es ergibt sich also:

$$x = \sqrt{\frac{10^{-14} c}{k}} \text{ und } H^+ = 10^{-14} \cdot \sqrt{\frac{10^{-14} c}{k}} = \sqrt{\frac{10^{-14} k}{c}}.$$

Der Wert von x ist, solange k eine nicht sehr kleine Größe ist, sehr klein, bei 1 n-Natriumacetat beträgt er $10^{-4,7}$, also $H^+ = 10^{-9,3}$; geben wir einen kleinen Überschuß d von Essigsäure hinzu, so erhalten wir: $\frac{10^{-14} c}{x(d+x)} = k$. Schon wenn d nur $1/1000$ -normal ist, hat es etwa den 15fachen Wert von x , die Hydroxyliionkonzentration wird daher durch diesen geringen Zusatz schon sehr stark zurückgedrängt; kurz vor dem Neutralisationspunkt fällt also, wie dies der linke Teil der Kurve zeigt, der Wasserstoffiongehalt sehr stark.

Dieselben Beziehungen, wie hier für das Wasserstoffion, gelten beim Neutralisieren einer schwachen Base für das Hydroxyion.

Als Indikator beim Titrieren dieser schwachen Elektrolyte müssen wir daher einen Stoff nehmen, dessen Farbumschlag bei derjenigen Wasserstoffionkonzentration, die kurz vor Erreichung des Neutralisationspunktes oder erst, nachdem ein kleiner Überschuß der zur Titration benutzten starken Säure oder Base vorhanden ist, erhalten wird. Sobald ein derartiger Überschuß vorhanden ist, ändert sich die Wasserstoffionkonzentration sehr rasch. Haben wir z. B. Ammoniak mit $\frac{1}{10}$ n-Salzsäure titriert, so bekommen wir ganz nahe am Neutralisationspunkte den Umschlag mit p-Nitrophenol; Methylorange würde den Umschlag erst ergeben, wenn der Wasserstoffiongehalt 10^{-4} bis 10^{-3} ist. Beträgt das Titrationsvolumen 100 ccm, so müssen wir, um den Wasserstoffiongehalt von 10^{-4} zu erhalten, einen Überschuß von 0,1 ccm anwenden, will man den Wasserstoffiongehalt von $10^{-3,5}$ erhalten, bei dem wir erst ganz deutlich die Rotfärbung des Methylorange erkennen, so muß sogar 0,3 ccm der $\frac{1}{10}$ -Normallsösung hinzugefügt werden¹⁾. Diese Ableitung stimmt mit der Erfahrung gut überein. Mit den verschiedenen Indikatoren werden verschiedene Werte erhalten, und eine Übereinstimmung kann sich nur ergeben, wenn der für den Umschlag erforderliche Mehrverbrauch in entsprechender Weise in Rechnung gesetzt wird.

2. Bestimmung der Essigsäure im Essig.

Die vorstehenden allgemeinen Darlegungen über Indikatoren sind bei der Untersuchung des Essigs näher geprüft worden. Bei dieser Untersuchung handelt es sich darum,

1. die Essigsäure möglichst genau titrimetrisch zu bestimmen,
2. andere stärkere Säuren, die dem Essig zugesetzt worden sind, zu erkennen und
3. diese quantitativ zu bestimmen.

Aus der Neutralisationskurve Fig. 1 geht hervor, daß ein Indikator, dessen Farbumschlag bei einer höheren Wasserstoffionkonzentration als 10^{-7} liegt, zur Titration der Essigsäure unbrauchbar ist. Es kommen daher nur Phenolphthaleïn und α -Naphtholbenzoïn in Betracht; Poirriers Blau ist als Indikator wegen der großen Unbeständigkeit der Farbe nicht gut anwendbar. Praktisch wird man nur das Phenolphthaleïn, dessen Farbumschlag sehr schön zu erkennen ist, benutzen. Nun reagiert infolge seiner hydrolytischen Spaltung reines Natriumacetat mit Phenolphthaleïn schon ganz schwach alkalisch; die Rosafärbung verschwindet allerdings sofort, wenn zu Normalnatriumacetatlösung sehr wenig Säure (zu 20 ccm 1 Tropfen n-HCl) hinzugesetzt wird, dagegen tritt eine viel intensivere Färbung auf, wenn ein ebenso großer Überschuß von Normallauge hinzugefügt wird. Das Auftreten der Rosafärbung entspricht also in diesem Falle genau dem Neutralisationspunkt, ein Überschuß von nur einem Promille gibt sich durch Farblosigkeit, bezw. stärkere Färbung zu erkennen. In gefärbten Lösungen erweisen sich nun Indikatoren häufig als unbrauchbar; in solchen Fällen kann der

¹⁾ Glaser (a. a. O. 10—11) hat eine Tabelle über die Mengen Alkali bezw. Säure, welche zu reinem Wasser hinzugefügt werden müssen, um den Umschlag bei den einzelnen Indikatoren zu erhalten, aufgestellt.

Neutralisationspunkt jedoch durch Tüpfeln auf Indikatorpapier meistens festgestellt werden. Ein für Titrations brauchbares Phenolphthaleinpapier ließ sich, wie dies auch mit anderen Erfahrungen im Einklang steht, nicht herstellen. Dagegen gelang es auch in stark gefärbtem Essig, sowohl in reinem Weinessig, wie in mit Zuckercouleur versetzter Essenz bei genügend starker Verdünnung mit Wasser den Umschlag des Phenolphthaleins stets scharf zu beobachten. Solange die Verdünnung mit kohlen-säurefreiem Wasser vorgenommen wird, entsteht hierbei kein Fehler, ein Mehrverbrauch an Titrierflüssigkeit tritt durch die Verdünnung, wie dies durch einen Versuch mit reiner Essigsäure bestätigt wurde, nicht ein.

Auch ohne Verdünnung ließen sich einigermaßen scharfe, allerdings nicht fehlerfreie Bestimmungen ausführen und zwar durch Tüpfeln auf violetter Lackmuspapier. Da der Umschlagspunkt für Lackmus bei einer Wasserstoffionkonzentration von $10^{-6,5}$ erfolgt, diese aber schon durchschritten wird, wenn etwa 95% der Essigsäure neutralisiert sind, so bekommen wir mit diesem Indikator schon zu früh eine Farbänderung und zwar erfolgt diese durchaus nicht scharf¹⁾. Annähernd richtige Werte erhält man, wenn man als Neutralisationspunkt nicht den Punkt ansieht, bei dem blaues Lackmuspapier nicht mehr rot gefärbt wird, sondern den, bei welchem rotes oder violettes Papier stark gebläut wird. Benutzt wurde zu den Untersuchungen glattes, schwach gefärbtes Papier.

Um zu ermitteln, welche Unterschiede sich bei der Titration von Essig unter Verwendung von Lackmuspapier als Indikator einerseits und von Phenolphthalein andererseits ergeben, wurden je 10 ccm dreier Essige mit $\frac{1}{2}$ n-Natronlauge und den genannten Indikatoren titriert. Dabei ergab sich folgendes:

Verdünnte reine Essigsäure		Weinessig von gelblicher Farbe		Spritessig	
Anzahl der verbrauchten ccm $\frac{1}{2}$ n-Natronlauge bei Verwendung von:					
Lackmus	Phenolphthalein	Lackmus	Phenolphthalein	Lackmus	Phenolphthalein
16,30	16,48	28,86	29,32	28,80	29,10
16,40	16,52	28,90	29,33	28,90	29,15
		29,15	29,38		
		29,00	29,32		
		29,10	29,32		

Die Abweichungen bei den Bestimmungen des Säuregehaltes bei Verwendung von Lackmus einerseits und Phenolphthalein andererseits betragen daher ungefähr 1 Prozent des relativen Wertes.

3. Qualitative Prüfung auf starke Säuren.

Sobald dem Essig eine starke Säure²⁾ zugesetzt worden ist, wird sich diese durch eine Erhöhung des Wasserstoffiongehaltes zu erkennen geben. In normaler, also

¹⁾ Dem Vorschlage Farnsteiners in der Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 2, 200 (1899), sich für die Titrations von Essig auf die Verwendung von Lackmus zu einigen, kann daher nicht beigestimmt werden.

²⁾ In der Literatur findet sich hierfür stets der Ausdruck Mineralsäure; da es jedoch auch schwache Mineralsäuren gibt, so ist diese Bezeichnung nicht einwandfrei.

6%iger Essigsäure beträgt die Wasserstoffionkonzentration $10^{-2,9}$, wenn aber eine starke Säure in $1/100$ -normaler Konzentration hinzugefügt ist, beträgt sie mehr als $10^{-2,9}$; die Indikatoren Tropäolin 00 und Methylviolett müssen daher, wie aus der Tabelle 1 ersichtlich ist, in diesem Falle eine andere Farbe zeigen, als in reiner Essigsäure. In der Tat sind diese beiden Indikatoren¹⁾ auch schon zum Nachweise starker Säuren im Essig verwandt worden. Nach unseren Untersuchungen läßt sich eine starke Säure, die im Essig in einer etwa 0,01 normalen Konzentration enthalten ist, sowohl mit Tropäolin 00, das eine tiefere Rotfärbung, als auch mit Methylviolett, das eine mehr blaue als violette Farbe annimmt, erkennen; die Empfindlichkeit beider Indikatoren ist ziemlich gleichwertig. Nach Thoms-Gilg²⁾ ist es möglich, mit Rosanilinchlorhydrat einen Zusatz starker Säuren zu erkennen. Wir konnten mit dessen Hilfe noch Schwefelsäure in einer $1/50$ -normalen Konzentration erkennen; dabei ist es indessen, um den Farbenunterschied wahrzunehmen, erforderlich, die Lösung in einer flachen Porzellanschale so zu verteilen, daß man eine nur sehr dünne Schicht der Lösung beobachten kann. Aus diesem Grunde eignet sich dieser Indikator nicht zur titrimetrischen Bestimmung; in einer stärkeren Schicht ist der Farbenunterschied kaum zu erkennen. Versuche, durch Tüpfeln auf einer weißen Porzellanplatte eine Titration auf starke Säuren auszuführen, lieferten kein befriedigendes Resultat.

Zum qualitativen Nachweis starker Säuren sind noch einige andere Methoden vorgeschlagen worden³⁾, die aber meist kein besonderes Interesse beanspruchen dürften. Unbrauchbar sind solche Methoden⁴⁾, bei denen nicht eine Bestimmung der Wasserstoffionzunahme, sondern eine Untersuchung auf Anionen vorgenommen wird, da die Salze mit den in Frage kommenden Anionen Chlor, Sulfat, Nitrat im Essig vielfach vorhanden sind.

Da Kongo und Methylorange in wässriger Lösung mit Essigsäure saure Reaktion zeigen, sind sie höchstens in einem anderen Lösungsmittel, in dem die Dissoziationsverhältnisse anders liegen, zum Nachweis starker Säuren brauchbar. Als ein solches Lösungsmittel muß auch Reagenzpapier angesehen werden. Nach Glaser⁵⁾ soll es möglich sein, mit Hilfe von Kongo- und Methylorangepapier starke Säuren im Essig zu erkennen und annähernd genau zu bestimmen. Nach unseren Versuchen wurden mit Kongopapier und einem genau nach Glasers Angabe hergestellten Methylorangepapier nur ungenaue und kaum verwertbare Ergebnisse erhalten, es ließ sich Schwefelsäure in einer geringeren als $1/30$ -normalen Konzentration nicht mehr mit Sicherheit erkennen.

Ein recht brauchbares Verfahren zur Bestimmung von starken Säuren im Essig hat Ph. Schidrowitz⁶⁾ angegeben; bei diesem Verfahren wird unter Verwendung von Methylorange das Lösungsmittel durch Zusatz von Alkohol stark geändert. In

¹⁾ v. Hilger, Arch. f. Hygiene 8, 448 (1888), J. König, a. a. O. 1032.

²⁾ Thoms und Gilg, Einführung in die praktische Nahrungsmittelchemie S. 103.

³⁾ J. König, a. a. O.

⁴⁾ G. Rupp, Die Untersuchung von Nahrungsmitteln usw. 2. Aufl. 198.

⁵⁾ a. a. O. 115—117.

⁶⁾ The Analyst 28, 233 (1903).

einer 50% Alkohol enthaltenden Lösung ist nämlich die Dissoziation der Essigsäure so gering, daß Methylorange rein gelb erscheint. Sobald aber eine starke Säure zugesetzt wird, tritt, wie wir bei unseren Versuchen bestätigen konnten, eine rotgelbe Farbe auf. Essige, die Schwefelsäure in $\frac{1}{200}$ -normaler Konzentration enthielten, unterschieden sich schon deutlich von Essig ohne Säurezusatz. Selbst in stark gefärbten Essigen ließ sich der Säurezusatz bis zu einer Konzentration von fast $\frac{1}{100}$ -normal noch durch Tüpfeln auf Methylorangepapier¹⁾ erkennen. Als maßgebend ist dabei die Farbe anzusehen, die erhalten wird, sobald die alkoholische Lösung auf das Papier gebracht wird; infolge Verdunstens des Alkohols ändert sich die Farbe ziemlich rasch. Für genauere Bestimmungen war es erforderlich, die erhaltene Farbe mit der, welche ein Tropfen eines alkoholischen, von starker Säure freien Essigs auf dem Reagenzpapier hervorrief, zu vergleichen. In Fällen, in denen auch der im Essig enthaltene Farbstoff beim Tüpfeln auf dem Reagenzpapier eine spezifische Farbe hervorruft, läßt sich der Säurezusatz dadurch nachweisen, daß man neutralisiert und die Farbe, die diese Lösung hervorbringt, mit der, welche eine nicht neutralisierte Probe hervorruft, vergleicht. Ergibt sich dann kein Farbenunterschied, so ist keine freie starke Säure im Essig enthalten.

4. Quantitative Bestimmung starker Säuren.

Diejenigen Indikatoren, mit Hilfe deren man die Anwesenheit starker Säuren im Essig erkennen kann, eignen sich auch zu deren quantitativen Bestimmung. Wenn man zu der Mischung einer starken Mineralsäure mit Essigsäure Natronlauge hinzusetzt, so wird im wesentlichen zunächst die starke Säure neutralisiert; sobald gerade die dieser Säure äquivalente Menge Alkali hinzugesetzt ist, ist die durch Dissoziation der freien Säure vorher bewirkte höhere Wasserstoffionkonzentration verschwunden und es bleibt nur der geringe, durch die Dissoziation der schwachen Säure erzeugte Wasserstoffiongehalt übrig. Durch einen geeigneten Indikator kann dieser Umschlagspunkt kenntlich gemacht werden.

Hilger²⁾ hat als erster die Titration starker Säuren im Essig mit Methylviolett als Indikator durchgeführt. Vermutlich aus dem Grunde, weil in verdünnter Lösung der Umschlag der Farbe wenig scharf erfolgt, hat er die Lösung konzentriert und, um beim Abdampfen nicht freie Säure entweichen zu lassen, die gesamte Säure vorher mit Natronlauge neutralisiert. Nach der Einengung wurde Methylviolett hinzugesetzt und mit Salzsäure zurücktitriert. Der Mehrverbrauch an Natronlauge gegenüber der Säure gibt dann die schon vorher im Essig vorhandene freie starke Säure an. Nach dem Verfahren von Hilger neutralisiert man vor dem Eindampfen die gesamte freie Essigsäure, doch ist es weder erforderlich noch empfehlenswert, so viel Alkali zuzusetzen; es ist nur nötig, eine bestimmte Menge Alkali zugeben, die nur um ein wenig größer zu sein braucht als die, die der Menge der anwesenden stärkeren Säure entspricht. In diesem Falle ist nämlich beim Eindampfen sämtliche starke

¹⁾ Genaue Ergebnisse wurden jedoch nur mit durch Methylorange gefärbtem Filtrierpapier erhalten, glattes Papier erwies sich als unbrauchbar.

²⁾ a. a. O.

Säure gebunden, dagegen kann die größte Menge der vorhandenen Essigsäure verdunsten. Durch dieses Verfahren erreicht man nicht nur eine größere Konzentration der ursprünglich frei in Lösung befindlichen Säure, sondern entfernt auch einen großen Teil der bei der Titration störenden Essigsäure.

Nach dem Hilgerschen Verfahren konnten wir nur bei reiner Essigsäure befriedigende Resultate erhalten. Bei einer 9-prozentigen, aus Eisessig hergestellten Essigsäure, welcher soviel Schwefelsäure zugesetzt war, daß sich diese in 0,150 äquivalent-normaler Konzentration im Essig befand, wurden statt 0,150 1. 0,140, 2. 0,147 und 3. 0,150 Äquivalente Schwefelsäure auf ein Liter gefunden. Bei Benutzung von Sprit- und Weinessig trat beim Konzentrieren eine Trübung ein, die das charakteristische Blau und Violett des Methylvioletts nicht mehr zu erkennen, geschweige denn zu unterscheiden gestattete; das Verfahren erscheint daher in einem solchen Falle unbrauchbar. Auch die anderen Indikatoren, welche in wässriger Lösung verwandt wurden, waren bei diesen Essigsorten nicht brauchbar.

Dagegen ließ sich der Zusatz starker Säure in alkoholischer Lösung mit Methylorange als Indikator nach dem bereits erwähnten Verfahren von Schidrowitz auch in trüben und gefärbten Essigen leicht und sicher bestimmen, und zwar durch Tüpfeln auf Methylorangepapier. Die Titration läßt sich meist direkt ausführen; der Farbumschlag erfolgt freilich nicht so scharf, wie in rein wässriger Lösung. Es empfiehlt sich daher, eine Lösung, die keine starke Säure enthält, in gleicher Weise mit Alkohol und Methylorange zu versetzen und bei der Titration auf die Farbe dieser Lösung einzustellen. Bei unsern Versuchen zeigte sich, daß der Farbumschlag schärfer beobachtet werden kann, wenn der Zusatz von Methylorange nicht zu gering ist. Ferner ist es wesentlich, daß der Alkoholgehalt prozentual derselbe bleibt. Es wurden daher, wenn zu der Lösung, die vor der Titration zur Hälfte aus Alkohol bestand, a ccm Titrierflüssigkeit hinzugegeben worden waren, durch Hinzufügen von $\frac{a}{2}$ ccm Alkohol der ursprüngliche Prozentgehalt an Alkohol wieder hergestellt. Bei direkter Titration in ungefärbten Essigen, die wir mit bekannten Mengen starker Säuren versetzten, fanden wir:

0,171 ccm	$\frac{n}{2}$ -H ₂ SO ₄	statt	0,173 ccm,
0,173	„	„	0,180 „
0,039	„	„	0,040 „
0,060	„	„	0,080 „

In einem gelb gefärbten Weinessig wurden unter Verwendung von Methylorangepapier erhalten:

0,51 ccm	$\frac{n}{2}$ -H ₂ SO ₄	statt	0,53 ccm,
0,29	„	„	0,30 „
0,29	„	„	0,30 „
0,02	„	„	0,03 „

doch erfolgte hier der Umschlag weniger scharf. Schärfere Umschläge und somit genauere Ergebnisse wurden erhalten, als wir in derselben Weise, wie wir dies bei

der Nachprüfung des Hilgerschen Verfahrens getan hatten, die Essige nach Alkali-zusatz konzentrierten und nun den Überschuß des Alkalis über die starke Säure in alkoholischer Lösung mit Normalsäure unter Verwendung von Methylorange als Indikator zurücktitrierten. Es wurden auf diese Weise durch Tüpfelung auf Methylorangepapier erhalten:

1. Im Weinessig.	2. Im Spritessig.
0,113 ccm $\frac{n}{2}$ -H ₂ SO ₄ statt 0,105 ccm,	0,041 ccm $\frac{n}{2}$ -H ₂ SO ₄ statt 0,040 ccm,.
0,089 } 0,095 } „ n-HNO ₃ „ 0,098 „ 0,093 }	0,039 „ n-HCl „ 0,040 „ .
0,013 } 0,0098 } ccm n-HCl statt 0,010 ccm,	
0,045 ccm $\frac{n}{2}$ -H ₂ SO ₄ statt 0,040 ccm,	
0,044 ccm n-HCl statt 0,040 ccm;	

Wie nach theoretischen Erwägungen zu erwarten, ließen sich die starken Säuren ebenso scharf durch Titration mit Ammoniak wie mit Alkalilaugen bestimmen. Es wurden so bei einer direkten Titration erhalten:

0,112 ccm $\frac{n}{2}$ -H ₂ SO ₄ statt 0,100 ccm,
0,053 } 0,050 } „ „ „ 0,050 „ .

Als die Konzentration der Essigsäure in derselben Weise, wie es Hilger angegeben hatte, nach Neutralisation der gesamten Säure versucht wurde, ergaben sich bei der Bestimmung der freien Schwefelsäure unbrauchbare Resultate. Es liegt dies daran, daß für die Zersetzung des Natriumacetats zunächst eine größere Menge Schwefelsäure verbraucht wird, und, da nun eine größere Menge Sulfate sich in Lösung befinden, sich der erste Überschuß an freier Schwefelsäure schwer zu erkennen gibt. Durch die Anwesenheit des Neutralsalzes Na₂SO₄ wird die Dissoziation der freien Säure H₂SO₄ in der alkoholischen Lösung stark herabgesetzt. Wir haben das Gleichgewicht: SO₄'' + H ⇌ HSO₄', in Folge der hohen Konzentration des SO₄'' ist der Gehalt an H' ein entsprechend niedriger. In Lösungen mit 50% Alkoholzusatz, die in bezug auf Natriumsulfat $\frac{1}{4}$ äquivalent-normal waren, mußte der Gehalt an freier Schwefelsäure $\frac{1}{20}$ äquivalent-normal sein, um mit Methylorange dieselbe Rötung zu ergeben, die in Lösungen ohne Neutralsalz durch $\frac{1}{100}$ äquivalent-normale Schwefelsäure hervorgebracht wurde.

Noch viel auffälliger als bei der Schwefelsäure zeigte sich der Einfluß von Neutralsalz bei der Oxalsäure. Nach der Schidrowitzschen Methode konnte Oxalsäure, die frei von Neutralsalz war, noch in fast $\frac{1}{100}$ äquivalent-normaler Konzentration nachgewiesen werden. Als aber versucht wurde, die zugegebene Oxalsäure durch Alkali zurück zu titrieren, wurde nur ungefähr die Hälfte der äquivalenten Menge ver-

braucht. Während die Dissoziation $\text{HO}_2\text{CCO}_2\text{H} = \text{H} \cdot + \text{O}_2\text{CCO}_2\text{H}'$ noch genügend weitgehend ist, ist in der alkoholischen Lösung die zweite Dissoziation $\text{O}_2\text{CCO}_2\text{H}' = \text{H} \cdot + \text{O}_2\text{CCO}_2''$ offenbar sehr gering; die Oxalsäure verhält sich hierbei nur wie eine einwertige Säure, und es ist der Umschlag des Indikators kein genügend scharfer, um darauf ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Oxalsäure zu begründen.

Ungleich schärfer als durch Indikatoren lassen sich Wasserstoffionkonzentrationen durch Verfolg des zeitlichen Verlaufs von Reaktionen, auf welche das Wasserstoffion proportional seiner Konzentration katalytisch einwirkt, feststellen. Es lag daher nahe,

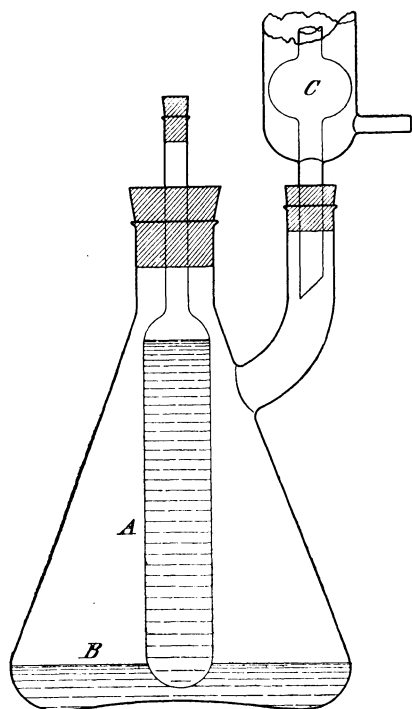


Fig. 3. Apparat zur Bestimmung der Inversionsgeschwindigkeit von Rohrzuckerlösung durch Säuren bei der Temperatur des siedenden Chloroforms.

A: Rohrzuckerlösung, B: Chloroform, C: Kühler.

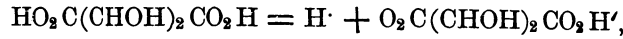
ebenso wie dies Th. Paul und A. Günther¹⁾ beim Wein durchgeführt haben, mit Hilfe der Inversionsgeschwindigkeit einer Rohrzuckerlösung den Essig auf Zusatz stärkerer Säuren zu untersuchen. Die zu diesem Zweck angestellten Versuche führten wir bei der Temperatur des siedenden Chloroforms (61°) aus. Um einen jedermann leicht zugänglichen Thermostaten zu haben, wählten wir den in Fig. 3 abgebildeten Apparat. Bei unsern Versuchen schwankte die Temperatur um etwa 1°; bei der großen Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur konnte daher in den Versuchen, deren Ergebnis in den Fig. 4 und 5 graphisch dargestellt ist, keine sehr große Genauigkeit erzielt werden, immerhin zeigen die Versuche deutlich den erheblichen Einfluß, den ein ganz geringer Zusatz von Salz- und Schwefelsäure auf die Inversionsgeschwindigkeit von Rohrzucker durch Essig ausübt. Ein Essig mit $\frac{1}{200}$ n-Salz- oder Schwefelsäure unterscheidet sich wesentlich von einem solchen ohne diesen Zusatz. Die Genauigkeit des Nachweises starker Säuren weiter zu steigern, als sie bereits durch Indikatoren erreicht wird, dürfte indessen Bedenken erregen,

da auch durch einen Gehalt an Weinsäure eine nach der Inversionsmethode leicht nachweisbare Erhöhung der Wasserstoffionkonzentration bewirkt sein kann. Wie die Kurven in Fig. 5 zeigen, wird die Inversionsgeschwindigkeit durch Zusatz von Weinsäure, in demselben Maße, wie es theoretisch zu erwarten war, gesteigert.

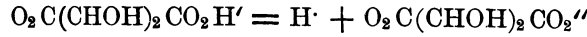
Überraschend kann es vielleicht erscheinen, daß durch Zusatz von Weinstein, also dem sauren Salz einer bedeutend stärkeren Säure als Essigsäure, die Wasserstoffionkonzentration zurückgedrängt wird. Diese Erscheinung erklärt sich jedoch dadurch, daß die Weinsäure nur infolge der Dissoziation des ersten Wasserstoffions, das im

¹⁾ Arb. a. d. Kaiserlichen Gesundheitsamte Bd. 28, 189 (1906).

Weinstein also gerade neutralisiert ist, eine stärkere Säure ist. Die Angabe der Dissoziationskonstante $k_w = 9,7 \cdot 10^{-4}$ bezieht sich nur auf den Vorgang:



während die Konstante der zweiten Dissoziation



nicht bekannt ist und jedenfalls sehr klein sein dürfte. Durch Zusatz des Weinstein

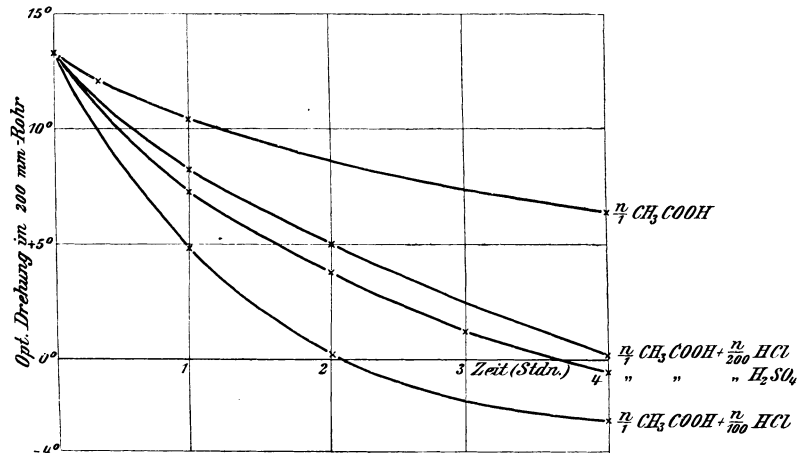


Fig. 4. Inversionsgeschwindigkeit von 10% iger Rohrzuckerlösung durch Essigsäure mit und ohne Zusatz von Mineralsäuren bei 61°.

wird daher trotz der größeren Dissoziationskonstante der Weinsäure die Essigsäure bis zu einem gewissen Grade neutralisiert und dadurch der Wasserstoffionengehalt herabgedrückt.

Die Inversionsgeschwindigkeit läßt sich, da die Resultate schon durch Anwesenheit geringer Mengen Weinsäure beeinträchtigt werden, zur quantitativen Bestimmung

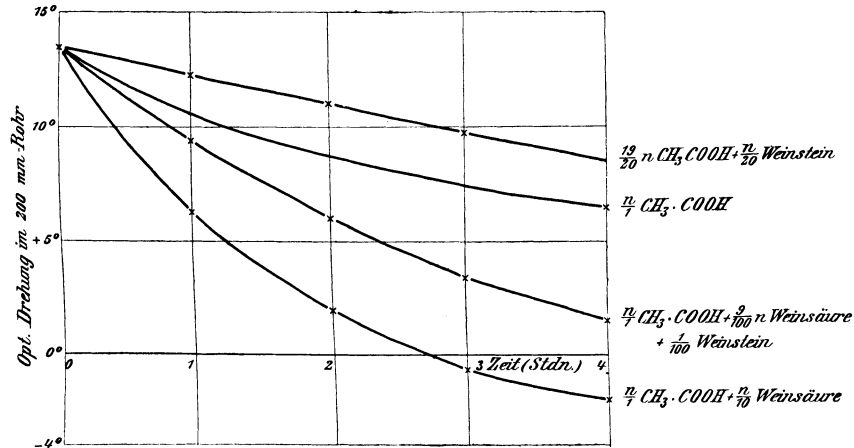


Fig. 5. Inversionsgeschwindigkeit von 10% iger Rohrzuckerlösung durch Essigsäure unter Zusatz von Weinsäure und Weinstein bei 61°.

des Zusatzes starker Säuren zu Essig im allgemeinen nicht empfehlen. Die bedeutend unempfindlichere Indikatormethode reagiert nur wenig auf Weinsäure. Bei der Prüfung einer normalen Essigsäure, die mit der gleichen Menge $1/10$ -molarer Weinsäurelösung gemischt war, ergab sich nach dem Verfahren von Schidrowitz eine rotgelbe Lösung,

die freilich bedeutend stärker rot gefärbt war, als eine Essigsäurelösung ohne Weinsäure, jedoch schwächer gefärbt war, als normale Essigsäure mit einem Zusatz von $\frac{1}{100}$ -normaler Salzsäure. Nachdem die Weinsäure zu einem Zehntel mit Alkali neutralisiert worden war, unterschied sich die Weinsäure-Essigsäure-Mischung durch die Schidrowitzsche Reaktion kaum mehr von reiner Essigsäure.

Essige, die nur freie Weinsäure und keinen Weinstein enthalten, dürften kaum vorkommen. Die Schidrowitzsche Reaktion kann daher zu Verwechslungen der Weinsäure mit den Mineralsäuren nur dann Veranlassung geben, wenn freie Weinsäure in höherer Konzentration zugesetzt ist.

5. Ermittlung der Abstammung des Essigs.

a) Allgemeines.

Über die Abstammung eines Essigs dürfte im allgemeinen nur die quantitative Bestimmung der in ihm enthaltenen Stoffe einen einigermaßen sicheren Aufschluß geben. Mit Hilfe von besonders charakteristischen chemischen Reaktionen können die einzelnen Essigsorten kaum erkannt werden und es erscheint ausgeschlossen, insbesondere Mischungen mehrerer Sorten durch solche Reaktionen zu erkennen. Besondere Schwierigkeiten bietet der Nachweis des aus Essigessenz hergestelltem Essigs in Gärungsessig. Um einen Anhalt zu bekommen, worauf etwaige Verfahren zu einem solchen Nachweise begründet sein können, ist es zweckmäßig, sich diejenigen wichtigeren flüchtigen Stoffe zu vergegenwärtigen, die in den Ausgangsmaterialien für die Herstellung der Essigessenz — dem rohen Holzeßig — sowie im Wein und Branntwein (Sprit) enthalten sind und welche in die daraus hergestellten Erzeugnisse gelangen können. Die nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über diese Stoffe und die Ausgangsmaterialien, in welchen sie enthalten sind.

+ bedeutet: vorhanden, — bedeutet: nicht vorhanden.			
Nebenbestandteil	im Branntwein (Sprit) ¹⁾	im Wein ²⁾	im Holzeßig ³⁾
Methylalkohol	—	—	+
Propylalkohol	+	+	—
Butylalkohol	+	+	—
Amylalkohol	+	+	—
Ameisensäure	—	+	+
Propionsäure	—	—	+
Buttersäure	—	+	+
Valeriansäure	—	+	+
Andere höhermolekulare Säuren .	—	+	+
Aldehyde	+	+	+
Furfurol	+	—	+ ⁴⁾
Aceton	—	—	+
Guajacol	—	—	+
Kreosol	—	—	+

¹⁾ Nach König, Chemie d. menschl. Nahrungs- u. Genußmittel, 4. Aufl., Bd. I, S. 1339—1340.

²⁾ Ebenda S. 1273 ff.

³⁾ Nach Muspratt, Handb. d. techn. Chemie, Bd. II, S. 1868.

⁴⁾ Vergl. auch Victor Meyer, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 11, 1870 (1878).

Nach dieser Tabelle kommen für den Nachweis von Essigessenz in Gärungsessig von vornherein nur Methylalkohol, Aceton, Guajakol und Kreosol in Frage, da die übrigen Stoffe entweder in allen drei Rohprodukten enthalten sind, oder, wie z. B. Propionsäure, bei der Essiggärung aus dem entsprechenden Alkohole gebildet werden können. Es lag daher nahe, die vorher genannten Produkte zu berücksichtigen. In der Tat sind auch Verfahren angegeben worden, die auf dem Nachweise von Methylalkohol und Holzteerbestandteilen beruhen. Wenn diese auch in einzelnen Fällen in Essigessenz oder der konzentrierten Säure des Handels nachgewiesen worden sind, so dürften bei dem jetzigen Stande der Holzessigindustrie, welche die Essigsäure fast ausschließlich aus essigsaurem Calcium herstellt¹⁾, diese Verfahren an praktischer Bedeutung verloren haben. Bei mehreren Sorten Essigessenz und konzentrierter Essigsäure des Handels konnten wir weder Holzteerbestandteile, noch Methylalkohol und Aceton nachweisen. Die Reduktion von Permanganat mit Methylalkohol, die von Cazeneuve und Cotton²⁾ für die Erkennung von Methylalkohol in denaturiertem Alkohol verwertet worden ist, läßt sich für die Erkennung von Essigessenz in Gärungsessig schon deswegen nicht verwenden, weil gerade die Gärungsessige so viel reduzierbare Bestandteile enthalten, daß diese die Reaktion mit Permanganat in viel stärkerem Maße ergeben. Bei Versuchen, in denen wir 1 ccm 0,5 %iger Kaliumpermanganatlösung zu 5 ccm verschiedener, bis auf die Konzentration von 3 % Essigsäure gebrachter Essige setzten, verschwand bei reinem Spirit-, Wein- und Apfelweinessig, ebenso wie bei zwei käuflichen Essigessenzen die Rosafärbung sofort, dagegen hielt sie sich bei einer reinen, aus dem Handel bezogenen Essigessenz fast ebensogut wie bei chemisch reiner Essigsäure. Hiermit steht auch die Vorschrift des deutschen Arzneibuches³⁾ im Einklang, nach der die Beständigkeit gegen Permanganatlösung für die officinelle 30 %ige Essigsäure, die wohl zum überwiegenden Teile aus Holzessigsäure hergestellt wird, kennzeichnend ist.

Der Verband Deutscher Essigfabrikanten schrieb im Jahre 1901⁴⁾ einen Preis für ein Verfahren aus, welches den Nachweis von Essigessenz in Gärungsessig ermöglichen sollte. Die drei, von den Preisbewerbern eingereichten Verfahren, auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden soll, sind auf Reaktionen begründet, die nicht der Essigessenz, sondern dem Gärungsessig eigentümlich sind. Sie bedeuten nach dem Urteile des Preisrichters⁵⁾ zwar einen Fortschritt in der Essiganalyse, aber die Lösung der gestellten Aufgabe ist nicht gelungen, vor allem ist kein Weg gefunden worden, um Essigessenz in Gemischen mit Gärungsessig nachweisen zu können.

Bei der quantitativen Analyse verschiedener Essige, über deren Abstammung wir zum Teil zuverlässige Angaben erhalten hatten, ergaben sich die in der Tabelle 2 zusammengestellten Werte.

¹⁾ Vergl. O. N. Witt, Die chemische Industrie **21**, 113 (1898).

²⁾ Bull. de la Soc. Chim. **35**, 102.

³⁾ 4. Ausgabe S. 6.

⁴⁾ Die Deutsche Essigindustrie **4**, 50 (1900).

⁵⁾ Ebenda **6**, 49—50, 59—64 (1902).

Tabelle 2. Zusammensetzung

Nr.	Essigsorte	Spezifisches Gewicht bei 15°	Gesamt-säure (auf Essig-säure be-rechnet. Indikator: Phenol-phtalein) ¹⁾	Säure-haltiger Extrakt ¹⁾	Säure im Extrakt (auf Essig-säure be-rechnet) ¹⁾	Säure-freier Extrakt ¹⁾	Asche ¹⁾	Alkalität der Asche (Verbrauch an ccm Normal-säure)
1	Spritessig	1,0138	8,65	0,26	0,03	0,23	0,03	0,28
		1,0138	8,69	0,27	0,03	0,24	0,03	0,28
2	Weinessig, sogenannter	1,0085	4,87	0,26	0,03	0,23	0,06	0,56
		1,0085	4,86	0,27	0,03	0,24	0,06	0,60
3	Weinessig, echter (Kühne)	1,0100	5,71	0,55	0,06	0,49	0,12	1,06
		1,0100	5,70	0,55	0,05	0,50	0,12	1,06
4	Weinessig D	1,0125	6,06	1,36	0,22	1,14	0,17	1,28
		1,0125	6,08	1,35	0,21	1,14	0,17	1,26
5	Weinessig J	1,0211	6,69	2,66	0,20	2,46	0,53	4,46
		1,0211	6,70	2,63	0,18	2,45	0,54	4,52
6	Weinessig G	1,0082	2,31	2,47	0,35	2,12	0,27	1,76
		1,0082	2,29	2,48	0,36	2,12	0,27	1,74
7	Äpfelweinessig	1,0129	2,33	3,02	0,11	2,91	0,28	2,63
		1,0127	2,31	3,03	0,13	2,90	0,28	2,61
8	Malzessig	1,0211	4,93	4,14	0,68	3,46	0,33	1,88
		1,0211	4,93	4,13	0,70	3,43	0,33	2,18

¹⁾ Die Zahlen dieser Reihe bedeuten g in 100 ccm Essig.

²⁾ Maltose + Achroodextrin.

Die Versuche bezweckten, einerseits das Material, welches nötig ist, um aus der Analyse eines unbekanntes Essigs Schlüsse auf dessen Abstammung zu ziehen, um einen Beitrag zu vermehren, andererseits aber hauptsächlich die Zuverlässigkeit der in Frage kommenden Untersuchungsverfahren zu prüfen.

Für die Untersuchung gelangten folgende Essige zur Verwendung:

1. Spritessig, aus einer Berliner Essigfabrik.
2. Weinessig, sogenannter; bezogen aus dem Berliner Kleinhandel.
3. Weinessig, echter; in Originalpackung einer Berliner Essigfabrik.
4. Weinessig D } unvermischter reiner Weinessig, her- { aus deutschem Wein,
5. Weinessig J } gestellt in einer Berliner Essigfabrik { „ italienischem „ .
6. Weinessig G } aus verbürgt reinem Wein, bezw. Äpfelwein; halbfertiges,
7. Äpfelweinessig } noch alkoholhaltiges Produkt.
8. Malzessig.

Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes, des Alkohols, der Asche, der Phosphorsäure, der Weinsäure und des Stickstoffs wurde in der üblichen Weise ausgeführt. Der Zuckergehalt wurde durch Reduktion Fehlingscher Lösung ermittelt. Zur Bestimmung des Dextrins und der Stoffe, die sich mit Salzsäure verzuckern

einiger Essigsorten.

Phosphor- säure ¹⁾	Alkohol ¹⁾	Glyzerin, bestimmt nach dem Verfahren von		Dex- trose ¹⁾	Dextrin ¹⁾	Wein- säure ¹⁾	Stick- stoff ¹⁾	Polarisa- tion im 200 mm- Rohr ²⁾
		Pasteur ¹⁾	Zeisel u. Fanto ¹⁾					
0,01	0,03	0,03	0,01 ₁	0,08	0,02	0,00	0,00	
—	0,05	0,04	0,01 ₆	0,08	0,02	0,00	—	+ 0,13 °
0,00	0,00	0,03	0,04	0,03	0,08	0,00	0,00	
0,00	0,00	0,03	0,04	0,03	0,08	0,00	—	+ 0,12 °
0,01	0,63	0,17	0,21	0,11	0,03	0,00	0,01	
0,01	0,63	0,11	0,24	0,11	0,03	0,00	0,01	+ 0,16 °
0,03	1,19	0,33	0,37	0,25	0,00	0,07	0,03	
0,03	1,22	0,34	0,37	0,25	—	0,07	0,03	+ 0,05 °
0,04	0,19	0,57	0,79	0,61	0,00	0,02	0,03	
0,04	0,19	0,80	0,77	0,61	—	0,02	0,03	— 0,23 °
0,02	2,97	0,55	0,73	0,43	0,00	0,14	0,01	
0,02	2,97	0,44	0,70	0,43	—	0,14	0,01	— 0,03 °
0,02	1,86	0,46	0,68	0,25	0,00	0,03	0,01	
0,02	1,86	0,41	0,68	0,23	—	0,03	0,01	— 0,11 °
0,17	0,00	0,50	0,47	0,39 ^{*)}	0,99	0,00	0,10	
0,17	0,00	0,43	0,47	0,41 ^{*)}	0,95	0,00	0,10	+ 1,16 °

^{*)} Die Zahlen dieser Reihe sind Mittelwerte aus je fünf Einzelbestimmungen.

lassen, wurden 100 ccm Essig bis auf etwa 30 ccm abgedampft; der Rückstand wurde mit so viel Wasser in ein 100 ccm-Kölbchen gespült, daß die Gesamtmenge etwa 60 ccm betrug und mit 6 ccm 25 %iger Salzsäure, nachdem das Kölbchen mit einem Kühlrohr versehen worden war, 3 Stunden lang im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten wurde neutralisiert, auf 100 ccm aufgefüllt und in dieser Lösung der Gehalt an Dextrose wie üblich ermittelt. Aus den gefundenen Zahlen ergab sich unter Berücksichtigung der ursprünglich in dem Essig vorhandenen Dextrose die gesuchte Menge Dextrin.

Über die Bestimmung des Glycerins und des Extraktes ist folgendes zu bemerken:

b) Bestimmung des Glycerins.

Das in der amtlichen Anweisung zur chemischen Untersuchung des Weines vom 25. Juni 1896¹⁾ (Abschnitt II Nr. 9) angegebene Verfahren zur Bestimmung des Glycerins leidet an dem Übelstand, daß einerseits beim Abdampfen der Flüssigkeiten und Trocknen der Rückstände Verluste entstehen, andererseits außer dem Glycerin andere in Alkohol bezw. der Alkohol-Äthermischung lösliche Stoffe mit dem als

¹⁾ Zentralblatt f. d. Deutsche Reich 1896 S. 197; vergl. auch Bekanntmachung des Reichskanzlers vom 2. Juli 1901, daselbst 1901 S. 234.

Glyzerin in Rechnung zu setzenden Abdampfrückstände gewogen werden. Wird dieses Verfahren in unveränderter Form auf die Bestimmung des Glyzerins im Essig angewandt, so sind zur Neutralisation der Essigsäure größere Mengen Kalkhydrat erforderlich. Bei einer Reihe hier ausgeführter Versuche wurde infolgedessen ein größerer Abdampfrückstand erhalten; von dem reichlich vorhandenen Calciumacetat ging beim Ausziehen mit Alkohol eine größere Menge in Lösung, die sich später beim Zusatz von Äther in sehr voluminöser Form wieder abschied und kaum abfiltrieren ließ. Aus diesem Grunde ist es, wie auch K. Farnsteiner¹⁾ angibt, erforderlich, den Essig zunächst bis zur Trockne zu verdampfen, wodurch die Hauptmenge der Säure vertrieben wird.

Um beurteilen zu können, wie sehr die bezeichneten Nachteile des Verfahrens bei der Bestimmung des Glyzerins im Essig das Untersuchungsergebnis beeinflussen, stellten wir die folgenden Versuche an:

Zunächst wurden 100 ccm Berliner Leitungswasser genau nach dem für die Untersuchung von Wein vorgeschriebenen Verfahren auf Glyzerin geprüft. Erhalten wurden 2,2 und 2,5 mg Rückstand.

Wenn demnach ein solches Wasser zur Essigbereitung oder -verdünnung benutzt wird, entsteht der kaum ins Gewicht fallende Fehler von 0,002 bis 0,003 %.

Bei Verwendung von 10 ccm destilliertem Wasser, welches 0,097 g Glyzerin enthielt, wurden 0,0821 und 0,0794 g Rückstand erhalten, es war daher ein Verlust von 15 bzw. 18 % angetreten.

Dieselben Versuche wurden ausgeführt, nachdem 40 ccm 5 % ige Essigsäure zu diesen 10 ccm Glyzerinlösung hinzugesetzt und die Lösung einmal bis zur Sirupkonsistenz verdampft worden war. Bei der weiten Behandlung dieses Rückstandes nach der amtlichen Glyzerinbestimmungsmethode wurden 0,0803 und 0,0831 g Rückstand gefunden, d. h. der Verlust betrug 17 bzw. 14 %; ein Verlust läßt sich daher wohl kaum vermeiden.

S. Zeisel und R. Fanto²⁾ haben ausführlichere Versuche über die Fehlerquellen des Verfahrens angestellt. Nach ihren Versuchen beträgt der Verlust an Glyzerin:

- | | |
|--|--------|
| 1. Beim Eindampfen von 100 ccm der glyzerinhaltigen Flüssigkeit
bis auf 10 ccm | 0,9 %, |
| 2. beim Eindampfen bis zur Trockne nach Zusatz von Kalkhydrat,
beim Extrahieren mit Alkohol und Abdampfen der alkoholischen
Lösung | 15,3 „ |
| 3. beim Behandeln des Rückstandes der alkoholischen Lösung mit
Alkohol-Äther, Abdunsten desselben und einstündigem Trocknen | 11,1 „ |

Der Gesamtverlust beträgt demnach 27,3 %.

Andere Forscher haben von den vorstehend aufgeführten Zahlen teilweise abweichende Werte erhalten, was wohl auf die Verschiedenheit der gewählten Versuchsbedingungen zurückzuführen ist. Die Temperatur des die Glyzerinlösung enthaltenden

¹⁾ K. Farnsteiner, Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahr.- u. Genußmittel **2**, 198 (1899).

²⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie, **42**, 575 (1903).

Gefäßes wird beispielsweise in hohem Grade von der Art der Heizung beeinflusst; selbst wenn man auf dem Wasserbade erhitzt, ist die Temperatur der Glycerinlösung sehr von der Stärke des Siedens des Wasserbades abhängig.

S. Zeisel und R. Fanto¹⁾ haben ein Verfahren zur Glycerinbestimmung ausgearbeitet, welches auf einer völlig neuen Grundlage beruht und zwar darauf, daß Glycerin durch Kochen mit Jodwasserstoffsäure in Isopropyljodid übergeführt wird. Letzteres ist in Wasser unlöslich, siedet bei 89,5° und setzt sich quantitativ mit alkoholischer Silbernitratlösung unter Bildung von Jodsilber um. Die durch Wägung bestimmbare Menge Jodsilber ist äquivalent dem Glycerin. Durch Multiplikation der gefundenen Menge Jodsilber mit dem Verhältnis der Äquivalentgewichte — 0,3922 — wird die gesuchte Menge Glycerin ermittelt. Die Brauchbarkeit der Methode für die Bestimmung des Glycerins im Wein haben Zeisel und Fanto durch eine größere Reihe von Analysen erwiesen. Von den im Wein enthaltenen Stoffen veranlassen bei diesem neuen Verfahren Störungen: Alkohol, Aldehyd, Ester, Schwefelverbindungen, Mannit sowie größere Zuckermengen. Alkohol, Aldehyd und Ester müssen daher vor der Bestimmung durch Abdampfen des Weines auf mindestens die Hälfte des Volumens entfernt werden, Sulfate werden durch Baryumacetat, Eiweißkörper durch Tanninlösung ausgefällt, Mannit und Zucker lassen sich nicht gut entfernen, indessen ist ihr Gehalt im Wein gewöhnlich so gering, daß die durch ihre Anwesenheit verursachten Fehler vernachlässigt werden können.

Zur Überführung des Glycerins in Isopropyljodid und zu dessen Umsetzung in Jodsilber haben Zeisel und Fanto einen Apparat angegeben, der von M. J. Stritar²⁾ etwas vereinfacht worden ist.

Wir führten Bestimmungen sowohl mit dem von Zeisel und Fanto, als auch mit dem von Stritar angegebenen Apparat aus und zwar zunächst mit reinen Glycerinlösungen. Es wurden hierbei die folgenden Reagentien benutzt:

1. Jodwasserstoffsäure, spez. Gew. 1,96, von der Firma C. A. F. Kahlbaum nach Angaben von Zeisel und Fanto hergestellt.

2. Aufschwemmung von rotem Phosphor. Der zu unsern ersten Versuchen verwendete rote Phosphor der Fabrik von E. Merck war ohne weitere Reinigung nicht brauchbar und wurde daher, wie Stritar³⁾ empfiehlt, durch mehrstündiges Kochen mit 10%iger Natronlauge gereinigt. Der so behandelte Phosphor hatte in wässriger Aufschwemmung einen schwachen Geruch. Seine Brauchbarkeit wurde durch einen blinden Versuch erwiesen; hierbei entstand in dem Einleitungsrohre, das in die in der Vorlage befindliche Silberlösung eintaucht, ein nicht nennenswerter, bräunlicher Anflug. Nach zwei- bis dreitägigem Stehen der Aufschwemmung hatte sich jedoch der Geruch erheblich verstärkt, auch konnte der nun bei einem blinden Versuche entstehende Beschlag nicht mehr vernachlässigt werden. Um die Reinigung des Phosphors durch Kochen mit Alkalilauge, bei dem sich nicht unbeträchtliche Mengen von

¹⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie, **42**, 549—578 (1903); Zeitschr. f. das landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich **4**, 977 (1901); **5**, 729 (1902); **7**, 111 (1904).

²⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie **42**, 579 (1903).

³⁾ a. a. O., S 588.

Phosphorwasserstoff entwickelten, oder durch Auswaschen mit Wasser, Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff zu umgehen, wurden einige Versuche angestellt, um auf leichtere Weise einen brauchbaren Phosphor zu erhalten. Bei diesen Versuchen erwies sich das folgende Verfahren als zweckmäßig:

0,5 g roter Phosphor werden in einem mit Glasstopfen versehenen Gefäße mit ca. 50 ccm Wasser übergossen, zu dem Gemisch wird dreimal je 1 ccm einer wässrigen Jodkaliumlösung, die 5% Jod gelöst enthält, zugesetzt und nach jedesmaligem Zusatz kräftig umgeschüttelt. Dann läßt man die Mischung einige Minuten stehen, bis sich der Phosphor abgesetzt hat, und gießt die überstehende Lösung ab. Der so behandelte Phosphor läßt sich ohne weiteres verwenden. Bei Verwendung der angegebenen Jodmenge gehen 2,4% des Phosphors (= 12 mg) durch Oxydation verloren. Um das Verfahren auf seine Brauchbarkeit zu prüfen, wurden die nachstehenden Phosphorsorten auf die angegebene Weise behandelt und sowohl vor, wie nach der Behandlung durch blinde Versuche geprüft. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Nr.	Phosphorsorte der Firma	Der ungereinigte Phosphor ergab bei einem blinden Versuch:	Der gereinigte Phosphor ergab bei einem blinden Versuch:
1	Merck	schwarzen Beschlag	keinen Beschlag
2	Kahlbaum . .	„ „	„ „
3	de Haën . . .	starken schwarzen Beschlag	sehr schwachen, braunen Beschlag
4	Riedel	schwarzen Beschlag	keinen Beschlag

Es zeigte sich, daß sämtliche geprüften Phosphorsorten, die ohne Reinigung für die Glycerinbestimmung nicht geeignet waren, infolge der Behandlung mit Jodlösung soweit gereinigt wurden, daß sie entweder überhaupt keinen oder einen so schwachen Beschlag ergaben, daß dieser außer Acht gelassen werden konnte.

3. Alkoholische Silbernitratlösung. 40 g Silbernitrat wurden in 100 ccm Wasser gelöst und durch Zusatz von Alkohol auf 1 Liter aufgefüllt. Hierzu benutzten wir absoluten Alkohol der Firma Kahlbaum; die Lösung war noch nach mehreren Wochen klar, und eine Reinigung des Alkohols, welche Zeisel und Fanto¹⁾ empfehlen, war somit nicht erforderlich.

Bei unseren ersten Versuchen erwies es sich als sehr störend, daß die Jodwasserstoffsäure sich in hohem Grade überhitzen ließ, gleichgültig ob die Lösung im Ölbad oder über freier Flamme erhitzt wurde. Durch Hineinbringen von Glaskapillaren und Tonsplittern konnte diesem Übelstand nicht abgeholfen werden. Es trat auch hierbei so heftiges Stoßen ein, daß Phosphor aus der Waschflasche in die Silbernitratlösung hinübergetrieben wurde. Bimssteinstückchen, die in die Jodwasserstofflösung hineingebracht wurden, schwammen zunächst auf der Oberfläche der Flüssigkeit; erst als sie durch Beschwerung mit einem Glasstäbchen auf dem Boden festgehalten wurden, trat ein etwas ruhigeres Sieden ein. Vollständig konnten wir dem Stoßen nur dadurch vorbeugen, daß wir das Kohlendioxyd, das zum Übertreiben des Isopropyljodids durch

¹⁾ a. a. O., S. 553.

den Kühler, die Phosphorwaschflasche und die Silbernitratlösung geleitet wird, nicht, wie dies Zeisel und Fanto sowie Stritar angegeben, über die Jodwasserstofflösung, sondern durch diese Lösung leiteten. Zu dem Zwecke gaben wir dem Siedekolben die in Fig. 6 dargestellte Gestalt. Bei den folgenden Versuchen sind die mit dem ursprünglichen Apparat von Zeisel und Fanto erhaltenen Resultate mit I, die mit dem Stritarschen, von uns abgeänderten Apparate gewonnenen Ergebnisse mit II bezeichnet. Unter Verwendung von 15 ccm Jodwasserstoffsäure, 4 ccm Wasser und 1 ccm — bzw. 2 ccm bei Versuch IIb — einer wässrigen Lösung, welche 0,0485 g — bzw. 0,0970 g — Glycerin enthielt, wurden erhalten:

Ia	116,2 mg Ag J.,	entsprechend	0,0456	(statt 0,0485 g)	Glycerin,
b	118,0 „ „	„	0,0463	„ 0,0485 g	„ ,
c	117,8 „ „	„	0,0462	„ 0,0485 g	„ ,
d	116,8 „ „	„	0,0458	„ 0,0485 g	„ ;
IIa	120,0 „ „	„	0,0470	„ 0,0485 g	„ ,
b	242,0 „ „	„	0,0949	„ 0,0970 g	„ .

Nach zweistündiger Einwirkungsdauer waren die Versuche trotz lebhaften Siedens der Jodwasserstofflösung meist nicht beendet, es entstand in einer neuen Vorlage meist noch ein deutlich wahrnehmbarer Niederschlag; nach vierstündiger Versuchsdauer war eine Zunahme des Niederschlages jedoch nicht mehr erkennbar.

Zeisel und Fanto leiten das Gas durch zwei hintereinander gelegte Vorlagen, weil sie befürchten, daß das aus der ersten Silbernitratlösung austretende Gas noch merkliche Mengen Isopropyljodid enthalten könne. Nach unseren Erfahrungen ist diese Furcht unbegründet, der Inhalt der zweiten Vorlage blieb bei sämtlichen Bestimmungen klar.

Zur Bestimmung des Glycerins im Essig bereiteten wir diesen in ähnlicher Weise wie Zeisel und Fanto den Wein vor. Der aus Eiweißstoffen mit Tannin entstehende Niederschlag ist in Säuren und auch in Essigsäure etwas löslich. Bei einem blinden Versuche entstand in konzentrierter Essigsäure beim Zusammenbringen von Peptonlösung und Tannin kein Niederschlag, in verdünnter wurde ein solcher erhalten. Als dieser abfiltriert und die Lösung neutralisiert wurde, entstand von neuem eine Trübung. Um einen, hierdurch etwa möglichen Fehler zu vermeiden, wurden daher 100 ccm Essig zunächst fast bis zur Trockne verdampft, wobei die größte Menge der Essigsäure entwich. Der Rückstand wurde mit wenig Wasser aufgenommen, in ein 50 ccm-Kölbchen gebracht, mit Tanninlösung versetzt und mit Barytwasser neutralisiert (erforderlichen Falles wurde noch Baryumacetatlösung zugesetzt), mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt und filtriert. 5 ccm des Filtrats wurden alsdann zur Glycerinbestimmung verwandt. Durch besondere Versuche überzeugten wir uns davon, daß nach diesem Verfahren die von uns benutzte Tanninlösung, ebenso eine Essigsäure in größerer Konzentration und Dextrinlösung für sich allein keine flüchtigen Produkte ergeben, die in der Silbernitratlösung einen Niederschlag erzeugen. Die

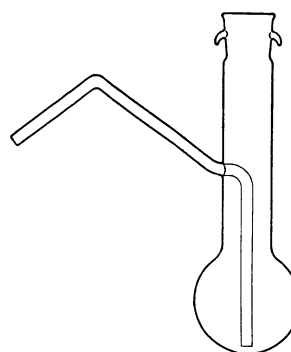


Fig. 6.

Kontrollversuche mit Dextrin waren erforderlich, weil Malzessig größere Mengen dieses Stoffes enthält.

Die gewonnenen Werte sind in der Tabelle 2, Seite 158 u. 159 zusammengestellt, der eine Wert ist stets mit dem Apparat von Zeisel und Fanto, der andere mit dem von Stritar erhalten worden.

Die von Zeisel und Fanto vorgeschriebenen Konzentrationsverhältnisse des Reaktionsgemisches müssen im wesentlichen innegehalten werden. Als bei einem Versuche nicht 5, sondern nur 2 ccm der Glycerin enthaltenden Lösung zu 15 ccm Jodwasserstoffsäure vom spez. Gewicht 1,96 zugesetzt worden waren, entstand in der vorgelegten Silbernitratlösung ein auffallend starker Niederschlag. Der Grund dafür lag darin, daß beim Zusatz der geringen Wassermenge zu der rauchenden Jodwasserstoffsäure die Konzentration des Jodwasserstoffs zu hoch blieb; der nun beim Sieden entweichende Jodwasserstoff wurde im Rückflußkühler und in der Phosphoraufschwemmung nur unvollkommen zurückgehalten.

Um zu prüfen, wie weit die nach dem Kalk- und dem Jodidverfahren erhaltenen Werte mit einander übereinstimmen, wurden auch nach ersterem Verfahren die vorher genannten Essigsorten analysiert. Die erhaltenen Werte sind ebenfalls in der Tabelle 2 enthalten. Es wurden 50 ccm Essig bis zur Sirupkonsistenz eingedampft, 2—3 g gelöschter Kalk sowie 10 g Sand hinzugegeben und das Gemisch auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde fein zerrieben und im Soxhletschen Apparate 8 Stunden lang mit absolutem Alkohol extrahiert. Die alkoholische Lösung wurde mit 1½ Raumteilen Äther versetzt und der meist sich bildende, vorwiegend aus Calciumacetat bestehende Niederschlag abfiltriert. Nach dem Verdampfen des Äthers und Alkohols wurde der Rückstand 1 Stunde lang im Wasserdampftrockenschranke erhitzt und schließlich gewogen.

Die Übereinstimmung der nach beiden Verfahren erhaltenen Werte ist eine leidlich gute, doch dürfte sie wohl bis zu einem gewissen Grade als eine zufällige zu betrachten sein.

Das Jodidverfahren hat jedenfalls vor dem Kalkverfahren den großen Vorteil voraus, daß es schneller ausführbar ist und daß die gegen das Kalkverfahren erhobenen großen Bedenken bei ihm in Wegfall kommen. Der einzige Einwand, der theoretisch erhoben werden könnte, ist der, daß es im allgemeinen nötig ist, die Essige wegen ihres geringen Gehaltes an Glycerin und zur Verteilung von noch vorhandenem Alkohol und Estern zu konzentrieren. Die hierbei entstehenden Verluste sind jedoch, wie das in der Tabelle Seite 165 zusammengefaßte Ergebnis einiger mit reinen Glycerinlösungen ausgeführter Versuche beweist, verhältnismäßig klein. Das Glycerin wurde hierbei durch Oxydation mit Kaliumbichromat bestimmt. Eine direkte Titration, bei der nach Angaben von M. Maurice Nicloux¹⁾ die Farbänderung der Chromsäurelösung als Indikator dienen soll, gelang nicht. Wir versetzten daher 5 ccm der etwa 0,1% igen Glycerinlösung mit einem bekannten Überschuß von Chromat, fügten 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzu und erhitzen bis zum Kochen.

¹⁾ Bull. Soc. chim. [3] 29, 245—249; Ref. Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 7, 632 (1904).

Nach dem Abkühlen und nach Zusatz von Jodkaliumlösung wurde die dem überschüssigen Bichromat äquivalente Menge Jod durch Titration mit Thiosulfatlösung ermittelt.

2 ccm der 19 g reinstes Kaliumbichromat im Liter enthaltenden Lösung waren 8,46 ccm der verwendeten Thiosulfatlösung äquivalent. Der Gehalt der etwa 0,1% enthaltenden Glycerinlösung war dadurch gegeben, daß 5 ccm derselben 8,07 ccm Thiosulfatlösung äquivalent waren; er betrug also 0,096%.

Bei den hierunter verzeichneten Versuchen wurde das 150 ccm betragende Gemisch zunächst über freier Flamme vorsichtig bis auf etwa 2 ccm, sodann auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz eingedampft. Sodann wurde der Rückstand mit Wasser auf 100 ccm gebracht und in je 5 ccm der Gehalt an Glycerin nach dem beschriebenen Verfahren bestimmt.

Tabelle.

Ver- such	Zusammensetzung des Gemisches	Statt 8,07 ccm Thio- sulfatlösung wurden gebraucht:	Der Verlust an Glycerin beträgt also, aus- gedrückt in % der angewandten Menge:
1	100 ccm Glycerinlösung + 50 ccm Wasser	7,99	1,0
2	100 ccm Glycerinlösung + 40 ccm Wasser + 10 ccm gesättigte Borsäurelösung	7,79	3,6
3	100 ccm Glycerinlösung + 40 ccm Wasser + 10 ccm n-Kalilauge	7,86	2,7
4	100 ccm Glycerinlösung + 40 ccm Wasser + 10 ccm n-Schwefelsäure	7,85	2,8

Es traten also in allen Fällen bestimmbare Glycerinverluste ein. Daß Alkali- und Säuregehalt keinen Einfluß ausübten, erklärt sich daraus, daß das Glycerin weder saure, noch basische Eigenschaften besitzt und somit sich stets in derselben Konstitution in Lösung vorfindet. Da Glycerin, in ähnlicher Weise wie Mannit, mit Borsäure eine komplexe Säure bildet, erschien es möglich, daß die Flüchtigkeit des Glycerins in borsäurehaltiger Lösung herabgesetzt wird, doch dies ist nach Versuch 2 der vorstehenden Tabelle in merklichem Maße nicht der Fall.

Die beim Eindampfen der 0,1%igen Glycerinlösung entstandenen Verluste betragen in allen vier Fällen nur wenige Hundertstel des gesamten Glyzeringehaltes, so daß, wenn die Konzentration in der oben angegebenen Weise vorgenommen wird, kein erheblicher Fehler entsteht.

Ist das Glycerin in komplexer Verbindung mit einer anderen Säure im Essig enthalten, so läßt sich nicht voraussagen, ob das bis zu einem bestimmten Grade gebundene Glycerin sich in derselben Weise wie vollständig freies Glycerin glatt in Isopropyljodid überführen läßt. Die komplexen Glycerinverbindungen werden ja meist bis zu einem meßbaren Gleichgewicht freies Glycerin abspalten und zwar wird bei dem Siedepunkte der Jodwasserstofflösung (etwa 127°) sich das Gleichgewicht auch genügend rasch einstellen. Es muß daher auch alles anfangs gebundene Glycerin hierbei in Isopropyljodid umgesetzt werden, doch kann diese Umsetzung unter Umständen längere Zeit erfordern. Um hierüber wenigstens einen Anhaltspunkt zu haben,

fürten wir einige Glycerinbestimmungen im Essig, dem Borsäure zugesetzt worden war, aus. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Essigsorte	Ohne Zusatz von Borsäure. Gefunden: mg Jodsilber			Mit Zusatz von 0,1 g Borsäure. Gefunden: mg Jodsilber		
	I	II	Im Mittel	I	II	Im Mittel
Malzessig	120	117	118,5	119	112	115,5
Spritessig	4,0	3,2	3,6	2,9	4,0	3,5

Wie diese Versuche lehren, ist wenigstens Borsäure trotz der Möglichkeit der Glycerinborsäurebildung ohne störenden Einfluß auf die Bestimmung.

Die allgemeine Anwendung des Jodidverfahrens zur Bestimmung von Glycerin im Essig kann auf Grund der vorliegenden Versuche durchaus empfohlen werden, sie hat jedoch, worauf schon Zeisel und Fanto aufmerksam machten, den einen Nachteil, daß der Preis der Reagentien recht hoch ist. Die für einen Versuch erforderlichen 15 ccm (= 29,4 g) Jodwasserstoffsäure kosten allein nach dem Preisverzeichnis der Firma C. A. F. Kahlbaum vom Mai 1907 1,76 Mark, 100 g = 6,00 Mark. Bei dem Versuch bleiben ungefähr 20 ccm unreiner Jodwasserstoffsäure, vom spezifischen Gewicht etwa 1,7 ccm übrig, die sich voraussichtlich leicht in reine Jodwasserstoffsäure überführen läßt. Wenn diese Säure, wie Zeisel und Fanto anregen, von den chemischen Fabriken zu einem angemessenen Preise zurückgenommen wird, so würden sich die Kosten wesentlich einschränken lassen, so daß der allgemeinen Einführung dieser Methode dann nichts im Wege stehen würde.

c) Bestimmung des Extraktes.

Die Bestimmung des Extraktes im Essig wird in der Regel in derselben Weise wie im Wein ausgeführt und zwar durch Abdampfen auf dem Wasserbade bis zur dickflüssigen Beschaffenheit und 2 $\frac{1}{2}$ stündiges Trocknen im Dampfschranke bei 100°. Die nachstehenden, hier angestellten Versuche zeigen indessen, daß der nach diesem Verfahren gewonnene Extrakt stets größere Mengen Essigsäure enthält. Wird der Essig vor dem Eindampfen verdünnt, so wird — auf die gleiche Menge unverdünnten Essigs bezogen — ein erheblich geringerer Extraktgehalt gefunden.

50 ccm eines Spritessigs, der 8,67 g Essigsäure in 100 ccm enthielt, ergaben bei zwei Bestimmungen 258 und 265 mg Extrakt. Durch Auflösen des Extraktes und Titration mit $\frac{1}{2}$ n-Natronlauge wurde festgestellt, daß der Gehalt an Säure, berechnet als Essigsäure, im ersten Falle 150, im zweiten 147 mg, also mehr als die Hälfte der Gesamtmenge des Extraktes betrug. Darauf wurde der Extrakt in vollständig gleicher Weise in 25 ccm desselben Essigs, die mit 25 ccm Wasser versetzt worden waren, bestimmt. Es wurden im ersten Versuch 95, im zweiten 101 mg Extrakt mit 39 bzw. 45 mg Säure erhalten.

Wenn die Verdünnung der Essige keinen Einfluß ausübte, so hätten in den zuletzt angeführten Versuchen die Werte gerade einhalbmal so groß sein müssen, was aber nicht der Fall ist. Zieht man die im Extrakt enthaltene Säure, berechnet

als Essigsäure, von dem als Extrakt gewogenen Abdampfrückstand ab, so ergibt sich bei den Versuchen mit unverdünntem Essig:

$$\left. \begin{array}{l} 258-150 \text{ mg} = 108 \\ 265-147 \text{ „} = 118 \end{array} \right\} \text{ im Mittel } 113 \text{ mg} = 0,226\% \text{ Extrakt,}$$

und bei denen mit verdünntem Essig (1:1)

$$\left. \begin{array}{l} 95-39 \text{ mg} = 56 \\ 101-45 \text{ „} = 56 \end{array} \right\} \text{ im Mittel } 56 \text{ mg} = 0,224\% \text{ Extrakt.}$$

Der säurefreie Extrakt ist also, wie dies zu erwarten war, wenn außer Essigsäure keine anderen flüchtigen Stoffe vorhanden sind, in dem verdünnten Essig gerade einhalb mal so groß, wie in dem unverdünnten. Durch Verdampfen des Essigs und Titration der in dem Extrakt enthaltenen Säure, werden sich daher einwandfreie Extraktbestimmungen ausführen lassen, solange Essigsäure als einzige zurückbleibende Säure in Betracht kommt. Da aber im Wein- und Obstessig vielfach auch andere freie Säuren, wie z. B. Wein-, Milch- und Äpfelsäure vorhanden sind, so war es erwünscht, festzustellen, unter welchen Bedingungen es möglich ist, einen von Essigsäure freien Extrakt zu erhalten.

Zu diesem Zweck wurden in drei Versuchsreihen 50 ccm Spritessig bis zur Sirupkonsistenz abgedampft und nach Vorschrift getrocknet. Der Rückstand wurde 6- bis 8 mal stets von neuem mit 50 ccm Wasser aufgenommen und wie vorher behandelt. Der Verlauf dieser Versuche ist in folgender Übersicht zusammengestellt:

Gewicht des Rückstandes	Versuch I	Versuch II	Versuch III
nach der 1. Abdampfung in mg:	231,8	254,8	240,7
„ „ 2. „ „	109,0	141,2	140,7
„ „ 3. „ „	103,2	99,7	116,1
„ „ 4. „ „	97,1	97,0	99,0
„ „ 5. „ „	95,3	95,0	96,7
„ „ 6. „ „	94,4	93,3	95,0
„ „ 7. „ „	93,6		93,8
„ „ 8. „ „	93,2		93,5

Die Unregelmäßigkeit der Zahlen im Verlauf des Abdampfens erklärt sich dadurch, daß sich auf dem zähen Extrakte stets ein Häutchen bildet, das je nach der Größe der Fläche, die es bedeckt, mehr oder weniger Säure einschließt.

Die obigen Versuche lehren, daß sich die Säure selbst durch wiederholtes Abdampfen nur schwer entfernen läßt. Um einigermaßen vergleichbare Zahlen zu erhalten, muß das Abdampfen mindestens 4mal hintereinander wiederholt werden. Gut übereinstimmende Zahlen wurden erst nach siebenmaligem Abdampfen erhalten. Der Extrakt betrug dann etwa 94 mg, während er nach dem ersten Abdampfen unter Abzug des durch Titration ermittelten Säuregehaltes sich zu 113 mg berechnete. Bei dem wiederholten Abdampfen hatten sich auch zweifellos außer Essigsäure andere Bestandteile verflüchtigt.

Daß beim Abblasen mittels eines Dampfstromes die Essigsäure rascher entfernt werden könne, war nicht zu erwarten, denn hierbei tritt nicht, wie bei den obigen

Versuchen, eine Konzentration der Lösung ein. Aus einer konzentrierten Lösung ist aber ein Stoff leichter flüchtig als aus einer verdünnten. Um den Beweis hierfür zu erbringen, wurden die folgenden Versuche über das Verhalten der Essigsäure bei der Destillation im Dampfstrom angestellt.

50 ccm käuflicher Weinessig wurden im Dampfstrom nach dem amtlichen Verfahren zur Bestimmung der flüchtigen Säuren im Wein (Anweisung zur chemischen Untersuchung des Weins vom 25. Juni 1896, Abschnitt II, Nr. 7) behandelt; die entweichenden Dämpfe wurden kondensiert und in verschiedenen Fraktionen aufgefangen.

Fraktion	Käuflicher Weinessig				Äpfelweinessig			
	Versuch I		Versuch II		Versuch III		Versuch IV	
	Menge des Destillates ccm	Anzahl der verbrauchten $\frac{n}{1}$ KOH ccm	Menge des Destillates ccm	Anzahl der verbrauchten $\frac{n}{1}$ KOH ccm	Menge des Destillates ccm	Anzahl der verbrauchten $\frac{n}{1}$ KOH ccm	Menge des Destillates ccm	Anzahl der verbrauchten $\frac{n}{1}$ KOH ccm
1	100	59,0	110	58,5	110	12,0	75	11,9
2	80	7,0	120	11,0	75	3,0	75	4,5
3	100	5,4	100	1,6	75	1,4	75	0,8
4	110	1,3	145	2,1	75	0,5	75	0,2
5	200	0,5	140	0,12	75	0,2	75	0,05
6	—	—	120	0,02	75	0,1	75	0,02
7	—	—	—	—	75	0,05	—	—
8	—	—	—	—	75	0,02	—	—

Es wurden nun einige Extraktbestimmungen sowohl mit dem in obigen Versuchen ausgedämpften, als auch mit unverändertem Essig ausgeführt.

50 ccm des Essigs ergaben:

Ohne Vorbehandlung						Nach vorherigem Ausdämpfen					
Käuflicher Weinessig			Äpfelweinessig			Käuflicher Weinessig			Äpfelweinessig		
Säurehaltiger Extrakt g	Verbrauch an $\frac{n}{1}$ KOH ccm	Säurefreier Extrakt g	Säurehaltiger Extrakt g	Verbrauch an $\frac{n}{1}$ KOH ccm	Säurefreier Extrakt g	Säurehaltiger Extrakt g	Verbrauch an $\frac{n}{1}$ KOH ccm	Säurefreier Extrakt g	Säurehaltiger Extrakt g	Verbrauch an $\frac{n}{1}$ KOH ccm	Säurefreier Extrakt g
1,091	2,10	0,965	1,582	1,46	1,494	0,964	1,15	0,895	1,541	1,16	1,474

Es ist nicht anzunehmen, daß die Säure, die sich auch im Extrakt des ausgedämpften Essigs befand, aus Essigsäure besteht; setzt man sie aber als solche in Rechnung, so würde sich als säurefreier Extrakt beim ausgedämpften Essig 0,895 bzw. 1,474 g, beim unveränderten 0,965 bzw. 1,494 g ergeben; es sind also beim Ausdämpfen auch andere Stoffe als Essigsäure (z. B. Glycerin) in einer 0,06 bzw. 0,02 entsprechenden Menge entwichen, so daß auch nach diesem Verfahren keine einwandfreien Extraktbestimmungen ausführbar sind.

Da der Siedepunkt der reinen Essigsäure bei 118° liegt, so müßte schon durch kurzes Trocknen bei einer mehr als 118° betragenden Temperatur die Essigsäure entfernt werden. Es wurden daher bei einigen Versuchen die Extraktaschen in einem V. Meyerschen mit Xylol gefüllten Trockenapparat gestellt. Der Raum, in dem die Extraktasche stand, zeigte während des Versuches eine konstante Temperatur von 132°

Auf diese Weise wurden in ausgedämpftem, käuflichem Weinessig, der auch zu den vorstehenden Versuchen gedient hatte, gefunden:

Nach einstündigem Trocknen bei 132°: 0,9045 g Extrakt,
 nach zweistündigem „ „ „ : 0,8600 g; der Säuregehalt entsprach $0,85 \text{ ccm } \frac{n}{1}$ -Kalilauge.

Mit unverändertem Essig wurden nach einstündigem Trocknen bei 132° erhalten: 0,9433 g Extrakt. Die Versuche zeigen also, daß bei dem Trocknen des Extraktes bei 132° wesentlich geringere Mengen Extrakt erhalten werden, als bei dem gebräuchlichen Verfahren; die Differenz ist größer als der vorhandenen Essigsäure entspricht. Auch bei weiterem Trocknen nimmt der Extrakt rasch an Gewicht ab. Es ist bei dieser Temperatur zweifellos auch die Flüchtigkeit anderer Stoffe, wie z. B. Glycerin, beträchtlich größer, so daß dieses Verfahren für die Extraktbestimmungen im Essig nicht in Frage kommen kann.

Bei der Untersuchung der verschiedenen Essigsorten wurde daher an dem für die Bestimmung des Extraktes im Wein vorgeschriebenen Verfahren keine Änderung vorgenommen. Der Extrakt wurde nach dem Trocknen und Wägen im Wasser aufgelöst und sein Säuregehalt durch Titration mit Normalalkali bestimmt. Als Indikator mußte hierbei, da nach dem Abdampfen der 50 ccm Essig reichliche Mengen färbender Stoffe vorhanden waren und jetzt der Gehalt an Essigsäure verhältnismäßig gering war, Lackmuspapier verwendet werden. Die für den Extrakt gefundenen Werte sind in hohem Grade davon abhängig, wie der Extrakt vor dem Festwerden sich in der Abdampfschale verteilt. Sorgt man durch Umschwenken der Schale, sobald der Essig bis zur sirupförmigen Konsistenz abgedampft ist, für eine gute Verteilung, so werden, wie dies die nachstehende Tabelle zeigt, wesentlich niedrigere Werte als sonst erhalten.

Abhängigkeit der Extraktmenge von der Verteilung des Extraktes
 in der Abdampfschale.

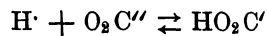
Essigsorte		Schale nicht umgeschwenkt			Schale wenig umgeschwenkt			Schale gründlich umgeschwenkt		
		Säurehaltiger Extrakt	Säure, als Essigsäure berechnet	Säurefreier Extrakt	Säurehaltiger Extrakt	Säure, als Essigsäure berechnet	Säurefreier Extrakt	Säurehaltiger Extrakt	Säure, als Essigsäure berechnet	Säurefreier Extrakt
		%	%	%	%	%	%	%	%	%
Handelsweinessig	I	0,79	0,20	0,59	0,64	0,08	0,56	0,55	0,06	0,49
	II	0,75	0,17	0,58	0,65	0,08	0,57	0,55	0,05	0,50
Käufl. Weinessig ohne nähere Bezeichnung	I	0,36	0,15	0,21	—	—	—	0,26	0,03	0,23
	II	0,42	0,21	0,21	—	—	—	0,26	0,03	0,23

Ist der Essig ohne Umschwenken der Schale abgedampft worden, so ist der Boden der Schale im allgemeinen gleichmäßig bedeckt; durch das Umschwenken wird die Haut, die sich auf der Oberfläche des Extraktes bildet und flüchtige Stoffe einschließen kann, leicht zerrissen. Auf diesen Umstand und weniger auf die durch das Umschwenken verursachte gleichmäßige Verteilung dürften die Unterschiede in den

Extraktwerten zurückzuführen sein. (Die in der Tabelle 2 [Seite 158 u. 159] über die Zusammensetzung der Essige verzeichneten Werte sind ohne Umschwenken der Schale erhalten.)

6. Nachweis und Bestimmung der Oxalsäure.

Für die Bestimmung der Oxalsäure im Essig dürften nur solche Verfahren in Betracht kommen, die auf der geringen Löslichkeit des Calciumoxalats beruhen. Um die Oxalsäure möglichst vollständig auszufällen, ist einerseits ein größerer Überschuß an Calciumion erforderlich, andererseits muß dafür gesorgt werden, daß in der Lösung die Konzentration des Oxalsäureions, das mit dem Calciumion den Niederschlag ergibt, möglichst groß ist. Das hier in Betracht kommende O_2C'' -Ion kann nur in neutraler und alkalischer Lösung in größerer Menge vorhanden sein, da es bei einem größeren Wasserstoffionengehalt entsprechend der Gleichung



zum großen Teile verschwindet. Aus diesem Grunde ist die Löslichkeit des Calciumoxalats in einer stärker sauren Lösung eine sehr hohe und selbst schon in Essigsäure merklich. Man wird daher gut tun, bei einer Prüfung auf Oxalsäure den Essig zunächst ganz oder teilweise zu neutralisieren.

Wird zur Ausfällung der Oxalsäure Gipslösung verwandt, so ist man zwar sicher, daß in dem erhaltenen Niederschlage kein Calciumsulfat enthalten ist, jedoch wird die Löslichkeit des Calciumoxalats infolge der geringen Konzentration des Calciumions relativ groß sein. Da die durch Calciumchlorid oder Calciumacetat in neutraler Lösung erhaltenen Niederschläge auch Calciumkarbonat, -sulfat und -phosphat enthalten können, so versuchten wir, die Oxalsäure titrimetrisch mit Permanganat zu bestimmen, nachdem sie durch Ausfällen mit Calciumsalz und Wiederauflösen des Niederschlages in Schwefelsäure von andern reduzierenden Stoffen getrennt worden war.

Für die nachstehenden Versuche wurde eine Lösung von Oxalsäure benutzt, die in 1 ccm 54 mg $(COOH)_2$ enthielt; dieser Menge entsprachen 7,05 ccm der verwendeten Permanganatlösung; 1 ccm dieser Lösung war daher 7,8 mg $(CO_2H)_2$ äquivalent.

Je 1 ccm der Oxalsäurelösung wurde zu 50 ccm 10 %iger reiner Essigsäure und zum Vergleich zu 50 ccm Wasser hinzugesetzt und die Lösungen in einer Versuchsreihe mit Gipslösung, in der anderen mit Chlorcalciumlösung in der Siedehitze versetzt. Das ausgefallene Calciumoxalat wurde nach 24-stündigem Stehen abfiltriert, und in der schwefelsauren Lösung des Niederschlages die Oxalsäure titrimetrisch bestimmt. Das Ergebnis war folgendes:

	Der Niederschlag gebrauchte ccm Permanganat- lösung:	Das Filtrat gebrauchte ccm Permanganat- lösung:
I. 50 ccm 10 %iger Essigs. + 1 ccm Oxalsäurel. + Gipslösung:	6,15 statt 7,05	1,00
II. " " Wasser " " " " " "	6,40 " "	0,70
III. " " 10 %iger Essigs. " " " " Chlorcalciuml.:	6,70 " "	—
IV. " " Wasser " " " " " "	6,85 " "	—

In diesen Versuchen war die Wasserstoffionkonzentration infolge des Gehaltes der Essigsäure bzw. des Wassers an Oxalsäure ziemlich hoch. Die Versuche wurden wiederholt, nachdem eine dem 1 ccm Oxalsäurelösung äquivalente Menge Kalilauge zugesetzt worden waren. Es ergaben sich nun folgende Zahlen:

	Der Niederschlag gebrauchte ccm Permanganatlösung:	Das Filtrat gebrauchte ccm Permanganatlösung:
I. Lösung wie vorher:	7,05 statt 7,05	0,00
II. " " "	6,70 " "	0,40
III. " " "	7,00 " "	—
IV. " " "	7,05 " "	—

Ist die Lösung somit neutral, so werden leicht die richtigen Werte für die Oxalsäure erhalten; in essigsaurer Lösung ist bei einem großen Überschuß an Calciumion kein Fehler zu befürchten, auch bei der Fällung mit Gipslösung ist der Fehler nicht erheblich. Die bei Versuch II der zuletzt angeführten Versuchsreihe zu wenig verbrauchten 0,4 ccm Permanganatlösung sind 3,1 mg Oxalsäure äquivalent; da 50 ccm zur Untersuchung gelangten, so entspricht dies einem Gehalt von nur 0,0062 % Oxalsäure. Immerhin läßt sich auch dieser Fehler bei Verwendung von Calciumacetat oder Calciumchlorid vermeiden.

Bei der Bestimmung von Oxalsäure in Gärungssessigen erhält man vielfach durch organische Stoffe verunreinigte Niederschläge, die einen zu hohen Permanganatverbrauch ergeben. So erhielten wir mit neutralisiertem Spritessig, dem 1 ccm Oxalsäurelösung zugefügt worden war, einen verunreinigten Niederschlag von Calciumoxalat, der bei der Titration 7,15 und 7,18 (statt 7,05) ccm Permanganatlösung verbrauchte. Auch bei Weinessig, dem 1 ccm der Oxalsäurelösung zugesetzt war, entstand bei der Ausfällung unter verschiedenen Versuchsbedingungen mit etwa 10 %iger Calciumacetatlösung ein stark verunreinigter Niederschlag, der, wie die nachstehenden Versuche zeigen, einen zu hohen Permanganatverbrauch erforderte:

1. Der Essig war nicht neutralisiert. Nach dem Auflösen des Niederschlages in Schwefelsäure wurden bei Titration der heißen Lösung 7,85 und 7,45 (statt 7,05) ccm verbraucht; der Umschlag erfolgte nicht scharf.
2. Der Essig war zur Hälfte neutralisiert; es wurden verbraucht: 7,60 und 8,05 ccm Permanganatlösung.
3. Der Essig wurde nicht neutralisiert, bei nur 40° titriert, sonst wie unter 1. behandelt; es wurden 7,50 und 7,40 ccm Permanganatlösung verbraucht.
4. Bedingungen wie unter 3.; das in verdünnter Schwefelsäure aufgelöste Calciumoxalat wurde jedoch nochmals nach dem Neutralisieren des Säureüberschusses durch Zusatz von Calciumacetat ausgefällt. Der Niederschlag war auch hier nach noch dunkel gefärbt, der Umschlag beim Titrieren erfolgte jedoch ziemlich scharf. Es wurden 7,02 und 7,10 ccm Permanganatlösung verbraucht.

Aus den vorstehend mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß durch wiederholtes Auflösen und Ausfällen des Calciumoxalats in neutraler Lösung mit Calciumionüberschuß befriedigende Werte erhalten werden.

Die gewichtsanalytische Bestimmung der Oxalsäure durch Fällen als Calciumoxalat und Überführen dieses Salzes in Calciumkarbonat ist wesentlich zeitraubender als die titrimetrische Bestimmung, sie bietet auch hinsichtlich der Genauigkeit keine Vorteile. Die organischen Verunreinigungen des schmutzig gefärbten Niederschlages werden sich zwar durch Glühen entfernen lassen, jedoch ist zu befürchten, daß der

aus neutraler Lösung mit Calciumsulfat erhaltene Niederschlag mit Calciumphosphat und vielleicht auch mit aus dem Essige stammenden Eisen verunreinigt ist, wodurch leicht Fehler entstehen können, die bei der maßanalytischen Bestimmung vermieden werden.

7. Nachweis und Bestimmung der Borsäure.

Nach dem zuerst von Jörgensen¹⁾ angegebenen Verfahren wird die Borsäure quantitativ dadurch bestimmt, daß man zunächst eine gegen Methylorange neutrale Lösung herstellt, die alsdann mit Glyzerin, Mannit oder einem anderen mehrwertigen Alkohol versetzt wird; dadurch entsteht eine stärkere komplexe Säure, die unter Benutzung von Phenolphthaleïn als Indikator mit kohlenstoffreier Lauge titrimetrisch bestimmt werden kann. Bei zahlreichen Untersuchungen hat sich diese Methode bewährt, jedoch ist es nicht möglich, bei Gegenwart von Phosphaten das Verfahren anzuwenden.

K. Windisch²⁾ einerseits und A. Beythien³⁾ andererseits glaubten diese Schwierigkeit dadurch beseitigt zu haben, daß sie bei beiden Titrationen, also sowohl vor wie nach dem Zusatz von Mannit, denselben Indikator, und zwar Phenolphthaleïn verwendeten. An der Hand unserer Darlegungen über die Säuredissoziationen und Indikatorreaktionen läßt sich die Frage entscheiden, ob und wie weit es überhaupt möglich ist, Borsäure bei Gegenwart von Phosphaten nach der Methode von Jörgensen zu bestimmen. Borsäure ist eine schwache Säure, sie hat nach Walker⁴⁾ die Dissoziationskonstante $1,7 \cdot 10^{-9}$. Die durch Berechnung hieraus gefundene Wasserstoffionkonzentration einer Zehntelnormal-Borsäurelösung beträgt etwa 10^{-5} . Nach F. Auerbach⁵⁾ verhält sich die Borsäure in verdünnten Lösungen wie eine einwertige Säure. Nach der auf Seite 147 gegebenen Beziehung durchschreiten wir daher bei ihrer Neutralisation folgende Wasserstoffionkonzentrationen:

$\frac{1}{10}$ n-Borsäurelös., neutralisiert zu:	0 %	1 %	9 %	50 %	91 %	92 %
Die zugehörige Wasserstoffionkonzentration beträgt:	10^{-5}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	10^{-11}

Die durch Vergleich mit den von uns hergestellten Wasserstoffionnormallösungen gefundenen Werte stimmen mit den vorstehend berechneten gut überein. Es wurden in verschieden weit neutralisierten Borsäurelösungen folgende H-Konzentrationen festgestellt:

10^{-5} (bis 10^{-6}) in $\frac{1}{10}$ n-Borsäurelös., ohne Zusatz, unter Benutzung v. Lackmoïd,						
10^{-6} (bis 10^{-7})	"	"	, zu 1% neutralis., "	"	"	" und Nitrophenol,
10^{-8}	"	"	, "10" " "	"	"	" Phenolphthaleïn,
10^{-9}	"	"	, "50" " "	"	"	"
10^{-10}	"	"	, "90" " "	"	"	" Naphtholbenzoin.

¹⁾ Zeitschr. f. angew. Chem. 1897, 5.

²⁾ Zeitschr. f. Unters. der Nahr.- u. Genußmittel **9**, 641 (1905); dort ist auch eine ausführliche Literaturübersicht über die Bestimmung der Borsäure gegeben.

³⁾ Dasselbst **10**, 283 (1905).

⁴⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. **32**, 137 (1900).

⁵⁾ Zeitschr. f. anorg. Chem. **87**, 353 (1903).

Als wir die Versuche in höherer Konzentration mit fast gesättigter Borsäurelösung anstellten, ergab sich in der reinen Säure sowohl, wie in der zu 10 % neutralisierten eine höhere Wasserstoffionkonzentration. Dies hat darin seinen Grund, daß in höherer Konzentration durch Assoziation neben der einwertigen Borsäure HBO_2 Polysäuren entstehen, die einen stärker sauren Charakter besitzen. Für Borsäure gilt daher in höherer Konzentration nicht das Gesetz, daß der Wasserstoffiongehalt der teilweise neutralisierten Lösung von der Verdünnung unabhängig ist¹⁾.

Nach Messungen von G. Manganini²⁾ wächst die elektrische Leitfähigkeit der Borsäure durch Zusatz von Mannit um das 50- bis 100-fache; die in der Lösung entstehende Mannitborsäure ist daher um etwa denselben Betrag mehr dissoziiert. Zu demselben Ergebnis gelangten wir bei der Prüfung der Mannitborsäure mit Indikatoren. Wir erhielten folgende Wasserstoffionkonzentrationen:

10^{-3}	in $\frac{1}{10}$ n-Mannitborsäurel.,	ohne Zusatz,	unter Benutzung von	Methylorange u. Methylviolett,
10^{-4}	„ „	„	„	„ „ Kongo und Lackmoïd,
10^{-5}	„ „	„	„	„ „ Kongo und p-Nitrophenol,
10^{-6}	„ „	„	„	„ „ p-Nitrophenol.

Beim Verdünnen nimmt die Wasserstoffionkonzentration in Mannitborsäurelösungen stark ab, wie dies das Verhalten der Indikatoren deutlich erkennen läßt. Dies erklärt sich dadurch, daß die Bildung der Mannitborsäure keine vollständige ist; bei größerer Verdünnung findet ein weitgehenderer Zerfall statt. Wurde jedoch zu der verdünnten Lösung von neuem Mannit zugegeben, so kehrte der saure Charakter wieder und die Indikatoren zeigten dieselbe Farbreaktion wie vor der Verdünnung; entsprechend dem Massenwirkungsgesetz wird durch Konzentrationserhöhung des Mannits der Gehalt an Mannitborsäure ein größerer. Nach Seite 136 ist in einer halbneutralisierten Lösung die Wasserstoffionkonzentration gerade gleich der Dissoziationskonstante der Säure, die Dissoziationskonstante der Mannitborsäure ist daher etwa gleich 10^{-5} .

Mannitborsäure ist somit eine etwas stärkere Säure als Essigsäure, sie läßt sich mit Phenolphthaleïn und allenfalls mit Lackmus quantitativ bestimmen, jedoch nicht mit Methylorange oder Kongo. In reiner Borsäure haben wir die Wasserstoffionkonzentration von 10^{-5} , also etwa dieselbe Wasserstoffionkonzentration einer mit Methylorange oder Kongo gerade neutralisierten Lösung. Benutzen wir dagegen beim Neutralisieren Phenolphthaleïn als Indikator, so ist in dem Augenblicke, wo der Farbumschlag eintritt, der H⁺-gehalt 10^{-8} erreicht; d. h. es sind, wie oben S. 172 gezeigt worden ist, bereits etwa 10 % der insgesamt vorhandenen Menge Borsäure neutralisiert.

Die Methode der Borsäurebestimmung nach Jörgensen beruht darauf, daß ohne Mannitzusatz von der vorhandenen Borsäure noch nichts neutralisiert sein darf, und bei der Titration nach Mannitzusatz gerade die der Borsäure äquivalente Menge Alkali verbraucht werden muß. Im ersten Falle haben wir die Wasserstoffionkonzentration

¹⁾ Vergl. Th. Paul und A. Günther, Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte **28**, 211 (1906).
Zeitschr. f. physik. Chem. **6**, 62 (1890).

der freien Borsäure von 10^{-5} , im zweiten die der neutralisierten Mannitborsäure von 10^{-8} . Während der Titration haben wir die dazwischen liegenden Wasserstoffionkonzentration zu durchschreiten. Solange keine schwachen Säuren oder Basen zugegen sind, läßt sich durch Hinzubringen von 10^{-5} ccm n-Natronlauge zu einem ccm Lösung, oder $0,01$ ccm $\frac{1}{10}$ n-Natronlauge zu 100 ccm Lösung diese Änderung des Wasserstoffiongehaltes erreichen, und wenn von schwachen Elektrolyten nur die Borsäure bzw. Mannitborsäure zugegen ist, so entspricht eben der Mehrverbrauch an Alkali dem Gehalt an Borsäure. Solange jedoch andere schwache Elektrolyte, bei deren Neutralisation auch die Wasserstoffionkonzentration von 10^{-5} bis 10^{-8} durchschritten wird, vorhanden sind, so muß eine erhebliche Menge Alkali mehr verbraucht werden. In zu einem Drittel neutralisierter Phosphorsäure haben wir nach Salm¹⁾ die Wasserstoffionkonzentration $10^{-4,5}$ und, sobald sie zu $\frac{2}{3}$ neutralisiert ist, 10^{-8} ; in Gegenwart von Phosphaten wird daher der Mehrverbrauch an Alkali etwa $\frac{1}{3}$ der dem Phosphat äquivalenten Menge betragen. Die Methode mit Hilfe anderer Indikatoren zu verbessern, ist ausgeschlossen, da Methylorange bzw. Kongo und Phenolphthaleïn gerade die in Frage kommenden Wasserstoffionkonzentrationen anzeigen.

Bei Versuchen nach der Vorschrift von Windisch verbrauchten wir, um in $\frac{1}{10}$ n-Borsäurelösung die Rotfärbung mit Phenolphthaleïn zu erzeugen, etwa $\frac{1}{10}$ der der Borsäure äquivalenten Menge Alkali. Der Übergang trat, da sich hierbei die Wasserstoffionkonzentration nur allmählich ändert, keineswegs scharf ein. Wurde nun Mannit hinzugegeben, so waren nur noch $\frac{9}{10}$ der der Borsäure äquivalenten Menge Alkali erforderlich, um die Mannitborsäure zu neutralisieren. Ein durch diese Differenz bedingter Fehler muß demnach regelmäßig bei Verwendung nur eines Indikators auftreten. Die Differenz ist im übrigen abhängig von der Konzentration; so trat bei Neutralisation einer konzentrierten Borsäurelösung die erste Rotfärbung erst dann auf, nachdem etwa $\frac{1}{4}$ der äquivalenten Menge Lauge hinzugefügt worden war.

Nur insofern bietet die Verwendung nur eines Indikators einen Vorteil, als von dem schwachen Elektrolyten — z. B. Phosphorsäure — vor dem Mannitzusatz genau dieselbe Menge neutralisiert ist, wie nachher und die nach dem Mannitzusatz verbrauchte Menge Alkali ausschließlich einem aliquoten Teil der vorhandenen Borsäure entspricht. Da aber dieser Teil von der Verdünnung abhängig ist, da ferner der erste Neutralisationspunkt stets kein bestimmter ist, und in Gegenwart sehr schwacher Säuren oder schwacher Basen auch der zweite Neutralisationspunkt nicht scharf gemessen werden kann, so wird sich das Verfahren nach Windisch und Beythien nur zu angenäherten Bestimmungen verwenden lassen.

Daß beim Neutralisieren einer borsäurehaltigen Lösung unter Verwendung von Phenolphthaleïn auch die Borsäure einen Teil Alkali verbraucht, hat Windisch übersehen, Beythien jedoch richtig erkannt; er multipliziert daher die nach Mannit- oder Glycerinzusatz verbrauchte Anzahl ccm Alkali nicht mit dem theoretischen Faktor 62 (1 ccm Normallauge = 62 mg Borsäure), sondern mit einem höheren Werte, der

¹⁾ a. a. O.

aber selbst von der Konzentration abhängig ist. Bei höherer Konzentration ist der Faktor größer, was mit unsern Versuchen übereinstimmt. Daß die Rotfärbung beim Neutralisieren der Borsäure allmählich entsteht, und daß das erste Auftreten auch von der Konzentration des Phenolphthaleins abhängig ist, erwähnt Beythien nicht.

Aus den vorstehenden Erörterungen ergibt sich, daß bei der Bestimmung der Borsäure nach dem Verfahren von Jörgensen — falls es sich nicht um nur angenäherte Genauigkeit handelt — eine Beseitigung der Phosphorsäure nicht zu umgehen ist.

Da, wie vorher gezeigt wurde, in Gegenwart von schwachen Säuren die Bestimmung der Borsäure nicht gut ausführbar ist, müssen vor allem die vorhandenen organischen Säuren zerstört werden. Bei der Ausführung ist darauf Rücksicht zu nehmen, daß Borsäure sowohl beim Glühen wie auch schon mit Wasserdämpfen flüchtig ist. In neutralisierter und alkalischer Lösung ist verhältnismäßig wenig undissoziierte Borsäure vorhanden; da die Borate aber nicht flüchtig sind, so wird man in der Regel erst nach Alkalizusatz eine borsäurehaltige Lösung eindampfen und veraschen. Beim Essig und anderen viel freie organische Säure enthaltenden Lebensmitteln bringt dieses Verfahren insofern einen Übelstand mit sich, als nach dem Neutralisieren die gesamte Essigsäure als Acetat im Abdampfückstande zurückbleibt. Dieser ist infolgedessen sehr voluminös, bläht sich beim Verkohlen stark auf und läßt sich nur schwer vollständig veraschen. Um zu sehen, ob sich die infolge der Neutralisation entstehende Schwierigkeit der Veraschung vermeiden läßt, prüften wir die Frage, ob die beim Eindampfen einer sauren Lösung entweichenden Mengen Borsäure erheblich sind, und wie weit durch etwaige Verluste die Genauigkeit der qualitativen und quantitativen Borsäurebestimmung beeinträchtigt wird.

In der Literatur finden sich quantitative Versuche von F. W. Skirrow¹⁾ über die Flüchtigkeit der Borsäure mit Wasserdämpfen. Nach einer auf Seite 87 seiner Abhandlung gebrachten Figur geht bei der Destillation einer Lösung, die 150 oder mehr g H_3BO_3 im Liter enthält, eine Lösung mit 0,60 bis 0,65 g im Liter über. Bei niedrigerer Konzentration scheint zwischen dem Gehalt der destillierenden Lösung und dem des Destillates eine angenäherte Proportionalität zu bestehen und zwar enthält das Destillat nur etwa $\frac{1}{200}$ soviel H_3BO_3 wie die ursprüngliche Lösung. Da die Versuche nur in verhältnismäßig hohen Konzentrationen ausgeführt wurden, können sie zur Entscheidung der oben gestellten Frage nicht weiter herangezogen werden.

Um über die Genauigkeit des qualitativen Borsäurenachweises ein Urteil zu gewinnen, führten wir daher Versuche aus, bei denen wir zu einem Essig bestimmte Mengen Borsäure hinzufügten und diese Lösung teils unmittelbar, teils nach Neutralisation, teils nach Zusatz von Mannit eindampften. Durch Mannitzusatz wird infolge der Bildung von Mannitborsäure die Konzentration der freien Borsäure erheblich herabgesetzt, es war daher eine Steigerung der Empfindlichkeit des Borsäurenachweises denkbar. Die Veraschung des beim Eindampfen hinterbleibenden Rückstandes wurde durch den Mannitzusatz nicht erschwert, da der Mannit schnell abbrannte und sich

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. **37**, 84—90 (1901).

ungleich leichter wie Natriumacetat veraschen ließ. Die Asche wurde mit HCl aufgenommen und mit Curcumapapier nach den für die Untersuchung von Fleisch geltenden Vorschriften¹⁾ geprüft. Die Versuche lehrten, daß sich Borsäure, die in einer Konzentration von 0,0005 g in 100 ccm Essig vorhanden war, noch mit hinreichender Genauigkeit nachweisen läßt, wenn der Essig ohne jeden Zusatz und ohne Neutralisation zunächst eingedampft, dann mit $\frac{1}{2}$ bis 1 ccm Normallauge aufgenommen und verascht wird. Diese Genauigkeit, die wohl allen Anforderungen entsprechen dürfte, wurde durch Mannitzusatz nicht merklich gesteigert. Neutralisiert man aber den Essig vor dem Eindampfen, so läßt sich die erhebliche Aschenmenge nur durch eine größere Menge verdünnter Salzsäure in Lösung bringen; infolge der größeren Verdünnung vermindert sich unter diesen Umständen die Empfindlichkeit wesentlich.

Nach den obigen Versuchen ist die Flüchtigkeit der Borsäure so gering, daß sie bei der qualitativen Untersuchung nicht berücksichtigt zu werden braucht. Es war nun weiter zu entscheiden, welcher Fehler bei der quantitativen Bestimmung durch die Verflüchtigung der Borsäure verursacht wird. Zunächst stellten wir einige Versuche über die Flüchtigkeit der Borsäure im Wasserdampfstrom an. Durch eine Lösung, von der 10 ccm eine 6,82 ccm $\frac{1}{10}$ n-Kalilauge äquivalente Menge Borsäure (= 0,0421 g H_3BO_3) enthielten, wurde Wasserdampf geblasen, wobei durch Erhitzen des Kölbchens dafür gesorgt wurde, daß das Volumen sich nicht wesentlich änderte; der austretende Dampf wurde in einem Kühler kondensiert. Nachdem 100 ccm Destillat erhalten waren, wurde der Versuch abgebrochen, und Rückstand und Destillat in der bekannten Weise nach Mannitzusatz titriert. Bei zwei Versuchen wurden folgende Werte gefunden:

	I	II	
Das Destillat verbrauchte:	0,08	0,10 ccm	$\frac{1}{10}$ n-Kalilauge,
Der Rückstand verbrauchte:	6,73	6,72 „ „ „	
Insgesamt:	6,81	6,82 „ „ „	(statt 6,82).

100 ccm des Destillates einer $\frac{1}{10}$ normalen Borsäurelösung enthalten demnach etwa $0,1 \cdot 0,1 \cdot 61,9 \text{ mg} = 0,0006 \text{ g } H_3BO_3$.

Diese Mengen sind so gering, daß beim kurzen Kochen borsäurehaltiger Lösungen, wie dies z. B. vor der titrimetrischen Bestimmung zur Vertreibung der Kohlensäure erforderlich ist, ein Verlust ausgeschlossen ist. Aber auch beim Eindampfen borsäurehaltiger Lösungen bis zur Trockne ist der Verlust nur sehr gering, wie folgende Versuche lehren:

1. Je 10 ccm der gesättigten Lösung (entsprechend 6,82 ccm n-Kalilauge) wurden mit 200 ccm Wasser versetzt und diese Lösung über einer kleinen Flamme auf dem Drahtnetz im Becherglase langsam bis auf ca. 5 ccm eingedampft, ohne daß dabei Sieden eintrat; der Rest wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Es wurden gebraucht: 6,52 und 6,53 (statt 6,82) ccm n-Kalilauge.

¹⁾ Anlage D, Abschnitt II, Ziffer 1 der Ausführungsbestimmungen zum Gesetz vom 3. Juni 1900, betr. die Schlachtvieh- und Fleischschau (Reichs-Gesetzbl. 1900 S. 547).

2. Bedingungen wie bei 1., jedoch unter Zusatz von 4 g Mannit eingedampft. Es wurden gebraucht: 6,78 und 6,79 (statt 6,82) ccm n-Kalilauge.

3. Menge und Konzentration der Lösung wie bei 1.; das Eindampfen geschah ohne Zusatz von Mannit, aber ausschließlich auf dem Wasserbade. Es wurden gebraucht: 6,71 und 6,64 (statt 6,82) ccm n-Kalilauge.

Nach den Versuchen unter 3. scheint beim Abdampfen auf dem Wasserbade sich weniger Borsäure zu verflüchtigen, als beim Konzentrieren über freier Flamme, wie dies bei den Versuchen unter 1. geschah. Der Grund dafür dürfte darin zu suchen sein, daß bei den Versuchen unter 1. die Temperatur der Lösung — wenn auch ein direktes Sieden vermieden wurde — eine höhere war; das Abdampfen ging hierbei jedenfalls wesentlich rascher vonstatten, als auf dem Wasserbade. Der Dampfdruck der mit Wasserdämpfen flüchtigen Borsäureverbindung muß ja von der Temperatur abhängig sein, und so ist die Erscheinung, daß beim langsamen Abdunsten weniger Borsäure verloren geht, als bei raschem Konzentrieren, nicht besonders auffällig.

Wie erwartet werden konnte, und wie der Versuch unter 2. bestätigt, verringert ein Zusatz von Mannit die Flüchtigkeit der Borsäure beim Eindampfen ihrer wässerigen Lösung. Indessen ist der durch die Flüchtigkeit der Borsäure in reiner wässriger Lösung bedingte Fehler nur gering, nach den Versuchen unter 3. gingen von 0,0421 g Borsäure beim Eindampfen in 100 ccm Wasser 0,0009 g, also etwa 2% der Gesamtmenge verloren.

Da Borsäure eine äußerst schwache Säure ist, und ihre Salze weitgehend hydrolysiert sind, war es zu erwarten, daß durch Zusatz der äquivalenten Menge Alkali die Flüchtigkeit zwar beeinträchtigt, aber nicht vollständig verhindert wurde. Diese Erwartung wurde durch den Versuch bestätigt. Eine mit einer äquivalenten Menge Kalilauge versetzte Borsäurelösung verbrauchte nach dem Eindampfen bei der üblichen Bestimmung 6,77 statt 6,82 ccm n-Kalilauge; d. h. 0,7% Borsäure waren beim Eindampfen entwichen.

Nach der bisher üblichen Methode der Borsäurebestimmung im Essig wird die gesamte Säure unter Verwendung von Lackmus oder Phenolphthalein als Indikator neutralisiert; hierbei wird aber nur die stärkere Essigsäure neutralisiert, während von der sehr schwachen Borsäure noch der größte Teil als undissoziierte Säure in Lösung bleibt. Geschieht die Neutralisation durch Soda, so ist, da Kohlensäure ungefähr ebenso stark wie Borsäure ist, diese überhaupt nicht zu binden; nur durch einen großen Überschuß an freiem Alkali läßt sich eine nur wenig undissoziierte Borsäure enthaltende Lösung gewinnen. Durch Neutralisation des Essigs in der bisher üblichen Weise kann der Flüchtigkeit der Borsäure mithin nicht vollständig gesteuert werden.

Mit Rücksicht darauf, daß einerseits die durch Verflüchtigung der Borsäure beim Eindampfen entstehenden Fehler immerhin unerheblich sind, andererseits aber die Veraschung des voluminösen Rückstandes, der beim Eindampfen eines mit Lauge neutralisierten oder selbst im Überschuß versetzten Essigs entsteht, prüften wir folgendes vereinfachte Verfahren:

Dem borsäurehaltigen Essig wurde mindestens soviel Kalilauge zugesetzt, wie der vorhandenen Menge Borsäure äquivalent ist, aber nicht die großen Mengen, die zur

Neutralisation der gesamten Essigsäure erforderlich sind. Hierbei gingen wir von der Erwägung aus, daß, trotzdem Essigsäure eine viel stärkere Säure als Borsäure ist, diese infolge ihrer geringeren Flüchtigkeit die Essigsäure aus ihren Salzen zu verdrängen vermag. Im Trockenrückstand ist somit keine freie Borsäure vorhanden, sodaß dieser verascht werden konnte, ohne Verluste an Borsäure befürchten zu müssen. Die Borsäure wurde alsdann in der üblichen Weise durch Versetzen der Asche mit Salzsäure, Vertreiben der Kohlensäure durch Aufkochen, Neutralisation bei Gegenwart von Methylorange und schließlich nach Mannitzusatz mit Kalilauge unter Verwendung von Phenolphthaleïn als Indikator titrimetrisch bestimmt.

Hierbei wurden folgende Resultate erhalten:

40 ccm Spritessig + 10 ccm Borsäure (äquivalent 9,61 $\frac{1}{10}$ n-Kalilauge) wurden vor dem Eindampfen mit 20 ccm $\frac{1}{10}$ n-Kalilauge versetzt.

Bei der Titration wurden gebraucht 1. 9,50, 2. 9,60 ccm $\frac{1}{10}$ n-Kalilauge (statt 9,61 ccm).

Bei denselben Versuchen, aber nach Zusatz von 1 g Mannit vor dem Eindampfen, wurden gebraucht: 1. 9,50, 2. 9,45 ccm $\frac{1}{10}$ n Kalilauge (statt 9,61 ccm).

Die Versuche zeigten also, daß die Abweichung der erhaltenen Zahlen vom richtigen Werte etwa 1% der gesamten Borsäuremenge beträgt und somit innerhalb der unvermeidlichen Fehlergrenzen liegt. Die bei diesen Versuchen nach Wegkochen der Kohlensäure erforderliche Neutralisation mit Methylorange ließ sich nur mit einer Genauigkeit von etwa 0,1 ccm einer $\frac{1}{10}$ -Normallösung ausführen, und zwar wurde diese Genauigkeit auch nur dann erhalten, wenn die Aschenauszüge ziemlich konzentriert waren, und die Farbeinstellung gegen eine Vergleichslösung — ganz schwach angesäuertes Wasser, das gerade die Übergangsfarbe des Methylorange zeigte — ausgeführt wurde.

8. Prüfung auf Schwermetalle (Kupfer, Blei, Zinn, Zink).

Die bisher ausgearbeiteten Verfahren zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Schwermetallen in Lebensmitteln, insbesondere auch im Essig, dürften in bezug auf Genauigkeit weitgehenden Ansprüchen genügen. Für gewisse Fälle, in denen es auf große Genauigkeit nicht ankommt, ist es jedoch von Wert, über eine Methode zu verfügen, die den Nachweis geringer Mengen von Schwermetallen im Essig gestattet, ohne daß man den veraschten Verdampfungsrückstand größerer Essigmengen in Arbeit zu nehmen braucht. Es lag daher nahe, zu versuchen, ob und mit welcher Genauigkeit der Nachweis kleiner Mengen von Kupfer, Blei, Zinn und Zink durch Fällung mit Schwefelwasserstoff auch bei Gegenwart der im Essig enthaltenen organischen Säuren und Extraktstoffe gelingt. Die Versuche wurden zunächst mit farblosen oder wenig gefärbten Essigsorten ausgeführt und zwar derart, daß in etwa 10 ccm des zu prüfenden Essigs, der in 1 Liter ungefähr 25 mg des betreffenden Schwermetalls gelöst enthielt, Schwefelwasserstoff kurze Zeit eingeleitet wurde. In allen Fällen entstand zunächst eine Trübung (kolloidale Lösung), deren Farbe durch das zugesetzte Metall bedingt war; nach kurzer Zeit setzte sich dann ein Niederschlag ab. Zur Bestimmung der Grenzen, bis zu welchen die Metalle noch nachweisbar sind,

wurden einige, mit verschiedenen großen Zusätzen versehene Essigsorten in dieser Hinsicht untersucht. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

1	Spritessig		Weinessig		3%iger Essig aus farbloser Essigessenz		Wasser	
	In 1 l sind nachweisbar		In 1 l sind nachweisbar		In 1 l sind nachweisbar		In 1 l sind nachweisbar	
	Grammolekül	mg	Grammolekül	mg	Grammolekül	mg	Grammolekül	mg
2	3		4		5			
Blei	$\frac{1}{25000}$	8	$\frac{1}{12500}$	16	$\frac{1}{25000}$	8	$\frac{1}{25000}$	8
Kupfer	$\frac{1}{5000}$	13	$\frac{1}{3000}$	21	$\frac{1}{5000}$	13	$\frac{1}{5000}$	13
Zinn	$\frac{1}{7500}$	16	$\frac{1}{4000}$	30	$\frac{1}{7500}$	16	$\frac{1}{7500}$	16
Zink	$\frac{1}{5000}$	13	$\frac{1}{3000}$	21	$\frac{1}{5000}$	13	$\frac{1}{5000}$	13

Das Ergebnis dieser Versuche lehrt, daß in ungefärbtem Essig aus Essigessenz sowie in dem schwach gefärbten Spritessig die Anwesenheit der Schwermetalle noch mit derselben Schärfe nachweisbar ist, wie im Wasser. Beim Weinessig war infolge der stärkeren Färbung die Erkennung der Metalle nicht mit der gleichen Genauigkeit möglich. Organische Stoffe, die mit den Metallen durch Schwefelwasserstoff unzerlegbare Komplexe bilden, waren daher nicht vorhanden.

Bei den stärker gefärbten Essigsorten ist die Erkennung der Sulfidniederschläge erschwert oder unmöglich, falls nicht auf irgend eine Weise die störende Farbe beseitigt wird. Dies gelingt, wie die Versuche mit den nachstehenden Essigsorten — Weinessig aus italienischem Rotwein, Malzessig sowie aus dunkelgefärbter Essigessenz hergestellter Essig — zeigten, leicht auf folgende Weise: Zu etwa 10 ccm des zum Sieden erhitzten Essigs wurden 1 ccm konzentrierte Salzsäure sowie unter ständigem Erhitzen Kaliumchlorat in kleinen Mengen gegeben, bis die Lösung nach kurzer Zeit eine hellgelbe Farbe aufwies. Zur Entfärbung genügten 0,10 bis 0,15 g Kaliumchlorat. Sodann wurde etwa während einer Minute gekocht und nach dem Abstumpfen der Salzsäure mit Natriumacetat Schwefelwasserstoff eingeleitet. Auch bei diesen Versuchen wurde zu entscheiden versucht, welche Mindestmengen der Schwermetalle sich in den drei genannten, gefärbten Essigen nachweisen lassen und zwar mit dem Ergebnis, daß der Nachweis mit derselben Schärfe möglich ist, wie bei Wasser (vergl. Spalte 5 der obigen Tabelle). Die Entfärbung ließ sich auch bei allen anderen zur Untersuchung herangezogenen Essigsorten ohne Schwierigkeit durchführen; es empfiehlt sich, auch die weniger gefärbten Essige zur Erleichterung der Erkennung der Sulfidniederschläge nach dem angegebenen Verfahren zu entfärben. Im Gegensatz zu reinem Wasser fallen die Schwefelmetalle bei den extraktreicheren Essigen nur langsam aus, es gibt sich jedoch die Anwesenheit der Metalle durch das veränderte Aussehen der Lösung mit genügender Schärfe zu erkennen.

9. Nachweis und Bestimmung der Salizylsäure.

Zur Erkennung und Bestimmung der Salizylsäure in Lebensmitteln wird fast allgemein die rotviolette Färbung, die diese Säure mit Eisenchlorid ergibt, herangezogen. Zuvor muß jedoch die Salizylsäure von anderen Stoffen getrennt werden, was durch Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln meist leicht gelingt.

Auf das Ausschütteln organischer Säuren mit Lösungsmitteln läßt sich im allgemeinen nicht der Berthelotsche Verteilungssatz anwenden, nach welchem die Konzentrationen der gelösten Stoffe in den beiden Phasen — unabhängig von dem Gesamtgehalt — in einem konstanten Verhältnisse stehen. Die Konstanz des Teilungsverhältnisses gilt nur, soweit die Konzentration des undissoziierten Anteiles der Säure in Rechnung gesetzt wird; dieser läßt sich jedoch nicht in einfacher Weise aus der elektrolytischen Dissoziation berechnen, zumal die betreffenden organischen Säuren sich häufig bis zu einem Gleichgewichte polymerisieren. Anders liegen die Verhältnisse, wenn es sich um neutrale oder alkalische Lösungen handelt, in denen der undissoziierte Anteil der Säuren verschwindend klein ist, und aus denen sich daher die Säuren nicht ausschütteln lassen. Dies wird erst ermöglicht durch Erhöhung der Wasserstoffionkonzentration, also durch Zusatz starker Säuren. Die Ausschüttelung erfolgt um so vollständiger, je höher die Wasserstoffionkonzentration ist.

Die bei der Bestimmung von Salizylsäure im Essig in Betracht kommenden Verteilungsverhältnisse sind, soweit sie aus der Literatur bekannt sind, in der Tabelle 1 zusammengestellt. Zu ihrer Ergänzung führten wir noch einige Bestimmungen aus, deren Ergebnisse in Tabelle 2 niedergelegt sind. Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt: 50 ccm einer wässrigen Salizylsäurelösung wurden mit der gleichen Menge des organischen Lösungsmittels in einem auf 25° eingestellten Thermostaten einige Zeit durchgeschüttelt. Nachdem die Lösung kurze Zeit gestanden und eine Trennung der beiden Schichten eingetreten war, wurden je 20 ccm der beiden Phasen mit $\frac{n}{10}$ -Kalilauge unter Verwendung von Lackmus titriert, indem bei jedesmaligem Hinzufügen der Lauge das organische Lösungsmittel mit dem wässrigen Anteil ausgeschüttelt wurde.

Tabelle 1.

Verteilungsverhältnis von Salizylsäure zwischen Wasser und Benzol ¹⁾ :	
	0,0529 : 0,0782 bis 0,2584 : 0,9427 bei 10°.
	0,0520 : 0,0800 bis 0,4028 : 1,5250 bei 40°.
Verteilungsverhältnis von Salizylsäure zwischen Wasser und Chloroform ¹⁾ :	
	0,0587 : 0,0884 bis 0,2472 : 1,2538 bei 10°.
	0,0671 : 0,0950 bis 0,6106 : 3,5140 bei 40°.
Verteilungsverhältnis von Essigsäure zwischen Wasser und Äther ²⁾ .	
	2,031 : 1 bei 0°.
	2,211 : 1 bei 25°.
Verteilungsverhältnis von Essigsäure zwischen Wasser und Benzol ²⁾ .	
	57,6 : 1 bei 6°.
	54,6 : 1 bei 18,5°.

¹⁾ W. S. Hendrixson, Beiträge zur Kenntnis der Dissoziation in Lösungen. Zeitschr. f. anorg. Chemie **13**, 78 u. 79 (1897).

²⁾ A. Hantzsch u. Sebaldt, Zeitschr. f. physikal. Chemie **30**, 284 (1899).

Tabelle 2.

c_1 = Anzahl der für 20 ccm der wässerigen Phase verbrauchten ccm $\frac{n}{10}$ - Lauge

c_2 = Anzahl der für 20 ccm der nichtwässerigen Phase verbrauchten ccm $\frac{n}{10}$ - Lauge.

Temperatur = 25°.

I. Verteilung der Salizylsäure zwischen Wasser und vor dem Schütteln wasserfreiem Äther.

c_1	c_2	$c_1 : c_2$	$c_1 : c_2$ Mittelwert
0,10	3,31	1 : 33	1 : 50,5
0,05	3,41	1 : 68	

II. Verteilung der Salizylsäure zwischen Wasser und wasserhaltigem Äther.

c_1	c_2	$c_1 : c_2$	$c_1 : c_2$ Mittelwert
< 0,03	3,30	1 : ca. 110	1 : ca. 110
< 0,03	3,30	1 : ca. 110	

III. Verteilung der Salizylsäure zwischen Wasser und Chloroform.

c_1	c_2	$c_1 : c_2$	$c_1 : c_2$ Mittelwert
0,77	2,40	1 : 3,1	1 : 3,1 ₅
0,75	2,41	1 : 3,2	

IV. Verteilung der Salizylsäure zwischen Wasser und Tetrachlorkohlenstoff.

c_1	c_2	$c_1 : c_2$	$c_1 : c_2$ Mittelwert
1,58	1,54	1 : 1	1 : 1
1,56	1,56	1 : 1	

Va. Verteilung der Salizylsäure zwischen Chloroform und Wasser, das eine der Salizylsäure 3-fach äquivalente Menge H_2SO_4 enthält.

c_1	c_2
—	2,78
—	2,77

Vb. Kontrollversuch ohne Salizylsäure.

c_1	c_2
—	0,06
—	0,06

VIa. Verteilung der Salizylsäure zwischen Chloroform und Wasser, das eine der Salizylsäure äquivalente Menge Natriumacetat enthält.

c_1	c_2	$c_1 : c_2$	$c_1 : c_2$ Mittelwert
1,97	0,64	1 : 0,32	1 : 0,32 ₅
1,98	0,65	1 : 0,33	

VIb. Kontrollversuch ohne Salizylsäure.

c_1	c_2
—	< 0,03
—	< 0,03

VII. Verteilung der Essigsäure zwischen Chloroform und Wasser.

c_1	c_2	$c_1 : c_2$	$c_1 : c_2$ Mittelwert
12,6	0,83	1 : 0,066	1 : 0,066 ₅
12,6	0,85	1 : 0,067	

Diese Versuche lehren, daß Äther die Salizylsäure aus saurer Lösung vollständig aufnimmt, jedenfalls ließ sich die Konzentration der in der wässerigen Phase zurückbleibenden Säure nicht mit Sicherheit titrimetrisch feststellen. Bedeutend ungünstiger ist das Verhältniß bei Chloroform, es bleibt bei einmaligem Ausschütteln

etwa $\frac{1}{4}$ der Salizylsäuremenge im Wasser enthalten. Die Versuche Va, Vb und VIa, VIb zeigen deutlich den Einfluß der Wasserstoffionkonzentration. Da in reiner Salizylsäurelösung die Konzentration des Salizylsäureions schon ziemlich klein ist, so kann sie durch Säurezusatz nicht erheblich verringert werden; der Einfluß der Schwefelsäure ist daher auch gering. Sobald die Salizylsäure zusammen mit dem Salze einer schwächeren Säure in Lösung gebracht wird, verdrängt sie diese zum großen Teile aus dem Salze; da ihr undissoziierter Anteil ziemlich groß ist, so läßt sich auch nur wenig von der Säure durch Ausschütteln entfernen. In allen Fällen ist es daher nötig, den Essig, der auf Salizylsäure untersucht werden soll, vorher mit einer starken Säure zu versetzen, weil man nur dann die Gewißheit hat, die bei weitem größte Menge als undissoziierte Säure in Lösung zu haben. Dieser Zusatz ist auch deswegen erforderlich, weil die Salizylsäure als Salz zugesetzt sein oder mit vorhandenem Natriumacetat sich umgesetzt haben kann.

Reine Salizylsäure läßt sich nach dem Verfahren von Fr. Freyer¹⁾ quantitativ bestimmen. Das Verfahren besteht im wesentlichen darin, daß Salizylsäure sich mit Bromwasser zu Tribromphenolbrom verbindet, das sich mit Jodkalium nach der Gleichung $C_6H_2Br_3OBr + 2KJ = C_6H_2Br_3OK + KBr + 2J$ umsetzt. Das ausgeschiedene Jod wird mit Thiosulfatlösung titriert. Wir versuchten, dieses Verfahren auch für die Salizylsäurebestimmung im Essig zu verwenden. Hierbei zeigte sich jedoch, daß andere organische Stoffe, welche mit Brom reagieren, leicht mit in den zum Ausschütteln verwendeten Äther gelangen. Auch Essigsäure, die etwa im Verhältnis 1:3 in die ätherische Phase übergeht, wird bei der in Frage kommenden Reaktion, wenn auch langsam, bromiert. Die Mehrzahl der anderen in den Äther gelangenden Stoffe werden, da sie keinen sauren Charakter haben, auch in alkalischer Lösung vom Äther aufgenommen werden. Es war daher die Möglichkeit gegeben, durch Ausschütteln der abwechselnd sauer und alkalisch gemachten Lösung die Salizylsäure rein zu erhalten. Jedoch führten die in dieser Richtung unternommenen Versuche nicht zum Ziel, da sowohl in dem als rein bezogenen Äther als auch in dem Chloroform Stoffe enthalten sind, die mit Brom reagieren. Diese Stoffe sind zwar prozentual in einer sehr geringen Menge vorhanden, bei den in Rede stehenden kleinen Salizylsäurekonzentrationen veranlassen sie aber erhebliche Fehler, die die Anwendbarkeit des Freyerschen Verfahrens in diesem Falle ausschließen.

Das kolorimetrische Verfahren zur Bestimmung von Salizylsäure ist frei von diesen Fehlerquellen und dürfte daher, obgleich die Einstellungen des Kolorimeters leicht bis zu 10% des gesamten Wertes schwankende Zahlen ergeben, für die quantitative Bestimmung der Salizylsäure in Frage kommen. Falls in den Ferrisalz-Salizylsäurelösungen komplizierte Verhältnisse bestehen, z. B. infolge Bildung mehrerer Komplexe, oder dadurch, daß die Reaktion zwischen Ferrisalz und Salizylsäure unvollständig ist, so kann zwischen der Farbstärke und Salizylsäurekonzentration keine Proportionalität bestehen. Um den Einfluß der Eisen- und Salizylsäurekonzentration

¹⁾ Chemiker Zeitung 20, 820 (1896); Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- und Genußmittel 2, 898 (1899).

festzustellen, führten wir einige Versuche mit Hilfe des Kolorimeters aus. Da bei größerer Farbstärke die Ablesungen unscharf werden, so stellten wir die Versuche nur mit Lösungen von sehr niedriger Konzentration an; die Stärke der Lösungen war in bezug auf Eisen und Salizylsäure nicht über 0,005 normal. Die Versuche lehrten, daß im Bereiche dieser Konzentrationen die Farbstärke der Ferrisalzkonzentration proportional ist, falls Salizylsäure im Überschuß vorhanden ist. Ist jedoch Ferrisalz im Überschuß vorhanden, so ist die Farbstärke der Salizylsäurekonzentration proportional.

Die Bildung des Ferriionsalicylsäurekomplexes ist eine annähernd vollständige; die kolorimetrischen Versuche lassen eben noch erkennen, daß die Reaktion nicht ganz zu Ende verläuft. Werden nämlich genau äquivalente Mengen Ferrisalz und Salizylsäure in Lösung zusammengebracht, so tritt sowohl bei einem weiteren Zusatz von Salizylsäure, als auch bei Erhöhung der Eisenkonzentration eine kleine Zunahme der Farbstärke ein, das Maximum wird jedoch schon bei einem sehr geringen Überschuß erreicht. Da die Salizylsäure zum größten Teile in einer solchen Lösung gebunden ist, so läßt sich, wie Versuche zeigten, nur wenig Salizylsäure aus Lösungen, die einen Überschuß an Ferrichlorid enthalten, ausschütteln.

Schon ein geringer Säurezusatz beeinträchtigt die Komplexbildung, da einerseits durch Konzentrationserhöhung des Säureions die Dissoziation des Eisensalzes, andererseits durch Vermehrung des Wasserstoffions die der Salizylsäure zurückgedrängt wird. Versuche, die Salizylsäure aus solchen sauren Lösungen auszuschütteln, ließen dies deutlich erkennen. Auch in der Farbe der Lösung zeigt sich dieser Einfluß. Eine Lösung, die neben äquivalenten Mengen von Eisenchlorid und Salizylsäure Schwefelsäure in $\frac{1}{20}$ normaler Konzentration enthält, hat nur ungefähr die halbe Farbstärke wie eine neutrale Lösung. Essigsäure übt einen erheblich geringeren Einfluß aus; ist ihre Konzentration in der Lösung $\frac{1}{20}$ normal, so ist der Unterschied kaum wahrnehmbar, bei $\frac{1}{6}$ normaler Konzentration beträgt die Abnahme der Farbstärke etwa 30%.

Wird Salizylsäure dem Essig durch Äther entzogen, so gelangen stets, da sich die Essigsäure zwischen Äther und Wasser etwa im Verhältnis von 1 : 2 verteilt, erhebliche Mengen Essigsäure mit in den Auszug. Durch wiederholtes Schütteln mit Wasser läßt sich die Essigsäure leicht dem Äther wieder entziehen, während die Salizylsäure fast ihrer ganzen Menge nach im Äther verbleibt. War die Konzentration der Essigsäure in der wässerigen Lösung anfangs normal (6%iger Essig), so ist sie in der gleichen Raummenge Äther, mit dem sie ausgeschüttelt worden war, $\frac{1}{3}$ normal; nach einmaligem Ausschütteln dieses Äthers mit der gleichen Menge Wasser ist der Äther in bezug auf Essigsäure $\frac{1}{9}$, nach zweimaligem Ausschütteln $\frac{1}{27}$ normal. Da die aus dem Ätherauszuge erhaltene Salizylsäurelösung zur kolorimetrischen Bestimmung meist noch verdünnt werden muß, so dürfte in der Praxis im allgemeinen ein einmaliges Ausschütteln des ätherischen Auszuges mit Wasser zur Herabsetzung des störenden Gehalts an Essigsäure genügen.

Zur Bestimmung der Salizylsäure im Essig wählten wir daher folgendes Verfahren:

Zu einer bestimmten Menge Essig (höchstens 50 ccm) wurden einige Tropfen Schwefelsäure hinzugesetzt; dann wurde die Lösung mit der gleichen Menge Äther einmal ausgeschüttelt, der Äther mit schwefelsäurehaltigem Wasser zweimal durchgeschüttelt, die ätherische Lösung mit wenig Wasser in ein Kölbchen gebracht und dort unter Durchleiten eines Luftstromes auf dem Wasserbade verdunstet. Der die gesamte Salizylsäure enthaltende wässrige Rückstand wurde in einen Meßkolben gebracht, mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und ein aliquoter Teil der Lösung, der nicht mehr als 2 mg Salizylsäure enthalten durfte — bei höherem Gehalte ist infolge der zu intensiven Färbung die Einstellung unsicher — im Kolorimeter nach Zusatz einer geeignet verdünnten Eisenchloridlösung mit einer Lösung von bekanntem Gehalte an Salizylsäure verglichen. Zur Beschickung des Kolorimeters benutzten wir 10 ccm einer im Verhältnis von 1 : 500 ccm verdünnten Ferrichloridlösung, die nach der Vorschrift des Deutschen Arzneibuches hergestellt war und etwa 30% FeCl_3 enthielt.

Wir erhielten unter Benutzung von Spritessig, der bekannte Mengen Salizylsäure enthielt, folgende Werte:

50 ccm Spritessig enthielten:	1,0	5,0	10	10 mg Salizylsäure,
Es wurden gefunden:	0,88	5,0	11	9,5 „ „

Eine größere Genauigkeit läßt sich mit Hilfe der kolorimetrischen Methode nicht erzielen, immerhin dürften die obigen Werte den Anforderungen an Genauigkeit und dem praktischen Bedürfnis genügen.

10. Nachweis der Benzoesäure.

Nach dem meist gebräuchlichen Verfahren — Ausschütteln mit Äther und Prüfen des beim Verdunsten hinterbleibenden Rückstandes mit Eisenchloridlösung — läßt sich Benzoesäure in wässriger Lösung noch mit Sicherheit in einer Flüssigkeitsmenge von 100 ccm nachweisen, wenn darin 2 mg dieses Stoffes vorhanden sind. Benzoesäure verteilt sich bei 25° und bei den geringen Konzentrationen, wie sie bei der Untersuchung von Nahrungsmitteln vorliegen, zwischen Wasser einerseits und den in erster Linie in Betracht kommenden Lösungsmitteln, Äther und Chloroform anderseits in den folgenden Verhältnissen:

- 1 : 42 zwischen Wasser und Äther,
- 1 : 9 zwischen Wasser und Chloroform.

Für die meisten Fälle der Praxis genügt demnach eine einmalige Ausschüttelung mit Äther. Legt man aus irgend einem Grunde Wert darauf, bei der Prüfung eines Essigs möglichst wenig Essigsäure neben der Benzoesäure in dem Auszuge zu haben, so sind für die Ausschüttelung nach den Tabellen 1 und 2 (S. 180 u. 181) Benzol oder Chloroform geeigneter als Äther. Da aber bei Verwendung von Chloroform z. B. nach dem erstmaligen Ausschütteln etwa 10% Benzoesäure in dem wässrigen Anteil hinterbleiben, so ist eine zweite Ausschüttelung vorzunehmen. Bei der Prüfung des Verdunstungsrückstandes mit Eisenchloridlösung ist zu beachten, daß benzoesaures Eisen verhältnismäßig leicht löslich ist und infolgedessen die durch Aufnehmen des Rückstandes mit Natriumacetatlösung erhaltene Lösung nicht zu verdünnt und auch

nicht warm sein darf. Wir fanden, daß die Bildung des Niederschlages nicht mehr eintritt, wenn 2 mg Benzoesäure in mehr als 0,5 ccm Lösung enthalten sind.

Für den Nachweis der Benzoesäure im Essig ist ferner zu berücksichtigen, daß die Säure eine etwa dreimal so starke Säure wie Essigsäure darstellt. Die Affinitätskonstante k beträgt für Benzoesäure¹⁾ $6,0 \cdot 10^{-5}$, während sie für Essigsäure gleich $1,8 \cdot 10^{-5}$ ist. Es gilt daher, das im vorigen Abschnitt (S. 180) über den Zusatz von Mineralsäuren beim Ausschütteln von Salizylsäure gesagte bis zu einem gewissen Grade auch für Benzoesäure. Wenn auch wegen der im Vergleich zu Salizylsäure erheblich geringeren Stärke dieser Säure der Zusatz einer starken Säure vor dem Ausschütteln der Benzoesäure nicht so wichtig ist, wie bei der Salizylsäure, so ist auch hier ein solcher Zusatz zu empfehlen. Beispielsweise ist in einem, mit 50 mg Benzoesäure auf 1 Liter versetzten 5%igen Essig die Benzoesäure größtententeils in undissoziiertem — also ausschüttelbaren — Zustande vorhanden und zwar in einer Menge von 86% der insgesamt vorhandenen Benzoesäure. Diese Menge wird aber bei Zusatz weniger Tropfen verdünnter Schwefel- oder Salzsäure durch Zurückdrängen des dissoziierten Anteils auf nahezu 100% erhöht.

In den von uns geprüften Handelssorten des Essigs — Spritessig, Handelsweinessig, reiner Weinessig und Malzessig — sind Körper enthalten, die beim Ausschütteln in die ätherische Lösung hineingehen und mit Eisenchlorid entweder eine schwarzbraune Fällung oder eine dunkle Färbung verursachen, welche die Bildung und Erkennung des Benzoatniederschlages unmöglich machen. Aus diesem Grunde ließ sich in 100 ccm Spritessig und Handelsweinessig, die mit je 5 mg Benzoesäure versetzt waren, diese quantitativ nicht mehr nachweisen. Es wurde daher die Anwendbarkeit des von A. E. Leach²⁾ abgeänderten Verfahrens bei mehreren Essigsorten geprüft. Dieses Verfahren dient ursprünglich zum Nachweis von Benzoesäure in Marmeladen und Gelees, denen ein ätherlöslicher Farbstoff zugesetzt ist; es beruht darauf, daß Benzoesäure im Rückstande des Ätherextraktes nicht unmittelbar, sondern nach Trennung von den, die Reaktion störenden Stoffen durch Sublimation geprüft wird. Zu diesem Zweck wurde der ätherische Auszug auf einem nicht zu kleinen Uhrglase zur Trockne verdunstet, dieses mit einem Uhrglase derselben Größe bedeckt, und zwischen beide ein Stück Filtrierpapier gelegt. Das Filtrierpapier, durch welches die Benzoesäure hindurch sublimiert, bewirkt, daß gewisse flüchtige Verunreinigungen zurückgehalten werden. Das untere Uhrglas wurde sodann unmittelbar über sehr kleiner Flamme erhitzt. Dabei sublimierte die Benzoesäure und haftete in festem Zustande an dem oberen Glase; durch mikroskopische Betrachtung der Kristalle oder ihr Verhalten gegen Eisenchlorid wurde sie genauer erkannt. Zur Lösung des Sublimats benutzt man zweckmäßig einen bis zwei Tropfen Natriumacetatlösung. Die Brauchbarkeit dieses Verfahrens wurde an mehreren Essigsorten erprobt. Einige nähere Angaben über die Versuchsergebnisse enthält die nachstehende Tabelle.

¹⁾ W. Nernst, Theoretische Chemie 2. Aufl., S. 471.

²⁾ State Board of Health of Massachusetts, 34. Jahresber. 1903, S. 486; Ref. Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- und Genußmittel 1905, I, 50.

100 ccm Essig enthielten Benzoessäure mg	Spritessig		Weinessig		Malzessig	
	Kristall- beschlag	Fe-Benzot- niederschlag	Kristall- beschlag	Fe-Benzot- niederschlag	Kristall- beschlag	Fe-Benzot- niederschlag
2	deutlich	deutlich	deutlich	deutlich	ölig, undeutlich	eben noch erkennbar
1	undeutlich	nicht erkennbar	deutlich	deutlich	ölig, undeutlich	nicht erkennbar

Es zeigt sich somit, daß die Empfindlichkeit des Benzoessäurenachweises durch das Sublimationsverfahren wesentlich gesteigert wird und daß nach diesem Verfahren der Nachweis der Benzoessäure in Handelsessigen mit annähernd derselben Schärfe gelingt, wie in wässrigen Lösungen.

Über die Bestimmung des Fettes im Fleisch.

Von

Dr. Emil Baur, und **Dr. Hermann Barschall,**
a. o. Professor, früherem wissenschaftlichem Hilfsarbeiter
früherem wissenschaftlichem Hilfsarbeiter,
im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

In den letzten Jahren hat man sich vielfach bemüht, das herkömmliche und auch in die „Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln“ aufgenommene Verfahren zur Bestimmung des Fettes im Fleisch durch andere, schneller ausführbare und zuverlässigere Verfahren zu ersetzen.

Das übliche Verfahren besteht darin, Fleisch möglichst vollkommen zu trocknen, darauf zu pulvern und im Soxhletschen Apparat mit wasserfreiem Äther auszuziehen. Daß dieses Verfahren langwierig sein muß, geht schon daraus hervor, daß es sich um intrazelluläres Fett handelt und daher die Geschwindigkeit des Vorganges gegeben ist durch die Diffusion des Äthers durch die Zellwand und die Rückdiffusion der ätherischen Lösung. Dazu kommen die technischen Schwierigkeiten des Trocknens des Fleisches. Um Zersetzung zu vermeiden, soll die Trocknung bei möglichst niedriger Temperatur erfolgen¹⁾. Dann ist sie sehr zeitraubend.

Das Hauptbedenken aber besteht darin, daß einerseits Dormeyer²⁾ nach dem Vorgange von Pflüger³⁾ und Argutinsky⁴⁾ feststellte, daß selbst nach monatelangem Extrahieren ein Endpunkt nicht erreicht wird, andererseits Bogdanow⁵⁾ zeigte, daß die späteren Extrakte (vom 2. bis 8. Tage) nicht reines Fett seien, sondern viel flüchtige niedrige Fettsäuren⁶⁾ enthielten.

Dazu kommt, daß bei sehr langdauernder Ätherextraktion auch stickstoffhaltige, in Äther schwer lösliche Stoffe, die nicht Fett und nicht Lezithin sind, in das Extrakt übergehen.

¹⁾ Köhler, Zeitschr. physiol. Chem. 31, 479 (1901).

²⁾ Pflügers Archiv 65, 90 (1897).

³⁾ Pflügers Archiv 51, 229 (1892) (Über die Entstehung von Fett aus Eiweiß im Körper der Tiere).

⁴⁾ Pflügers Archiv 55, 350 (1894).

⁵⁾ Pflügers Archiv 68, 408 (1897).

⁶⁾ Vergl. auch K. Windisch, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 14, 506 (1898). Dort wird angegeben, daß aus Käse durch Ätherextraktion nach 6 Stunden die größte Menge des Fettes (bis 97%) erhalten werden kann. Der Rest geht aber sehr langsam heraus und nicht mehr als reines Fett, sondern bedeutend verunreinigt mit Milchsäure, harzigen Stoffen usw.

Diese beiden Fehlerquellen wirken der ersteren entgegen. Man hat versucht, die Nichtfette aus dem Rückstand des Ätherextraktes zu entfernen, indem man diesen in Petroläther löst. Doch zeigt sich, daß diese Umlösung ihren Zweck nur ziemlich unvollständig erreicht. Denn von dem Rückstand des Chloroformextraktes von Fleischpulver, wie er nach dem von Schlesinger¹⁾ und Rosenfeld²⁾ empfohlenen Verfahren erhalten wird — ein Extrakt, welches nachweislich mehr stickstoffhaltige Fremdstoffe enthält, als das Ätherextrakt — geht, wie aus einer Arbeit von Glikin³⁾ hervorgeht, durch Petroläther prozentisch etwa ebensoviel in Lösung, wie von dem reineren Rückstand der Ätherextraktion. Glikin erhält durch 72-stündige Ätherextraktion eines Fleischpulvers 13,9 % Fett, nach dem Umlösen in Petroläther 13 %. Dasselbe Fleischpulver gibt ihm nach 7-stündiger Chloroformextraktion 18,8 %, nach dem Behandeln des Rückstandes mit Petroläther 17,8 % Fett.

Es kommt also durch die Unvollständigkeit der Entfettung des Fleischpulvers bei der Ätherextraktion und durch die eigentlich unkontrollierbare, mehrfache Verunreinigung des Extraktes eine doppelte Unsicherheit in die Bestimmung hinein.

E. Voit⁴⁾ hat das Verfahren zu verteidigen gesucht durch den Hinweis, daß die Unsicherheit bei zweckentsprechender Extraktion immerhin nur wenige Prozente, bezogen auf das Gewicht des Gesamtfettes, ausmache. Dies dürfte zutreffend sein, wenn man imstande wäre, die Vorbereitung des Fleisches (Trocknen, Zerreiben) und die Extraktion selbst in stets gleicher Weise zu leiten. Man würde dann Werte für den Fettgehalt bekommen, die, wenn auch nicht fehlerfrei, so doch vergleichbar wären.

Allein wie vor zwei Jahren Loges⁵⁾ auf der 21. Hauptversammlung des Verbandes landwirtschaftlicher Versuchsstationen zutreffend hervorhob, läßt sich der Gang der Extraktion gar nicht einheitlich regeln. Man kann wohl gleiche Apparate und Zeiten vorschreiben, nicht aber gleiche Destillationsgeschwindigkeit. Loges führt aus, daß je nach der Geschwindigkeit der Destillation in seinem Apparate in der Stunde Mengen zwischen 1 und 8 Liter Äther das Extraktionsgut umspülten. Schwerlösliche Nichtfettstoffe würden sich danach im Extrakte in der beiläufig 1- bis 8-fachen Menge anhäufen.

Diese Schwierigkeit bleibt auch bestehen für die Abänderungsvorschläge des Extraktionsverfahrens, die nach drei Seiten hin gemacht wurden. Zwei davon betreffen den Ersatz des Äthers durch andere geeignete Lösungsmittel. Es sind von diesen zwei vorgeschlagen worden: Chloroform⁶⁾ und Petroläther⁷⁾. Das erstere darf man ohne Zweifel sofort ausscheiden lassen, da Chloroform noch viel mehr Nichtfett aus dem Fleisch herauslöst, als Äther. Das erhaltene Extrakt enthält nach Glikin⁸⁾

¹⁾ Zeitschr. Unters. Nahr. u. Genußm. **1902**, 267.

²⁾ " " " " " **1901**, 1030.

³⁾ Pflügers Archiv **95**, 107 (1903).

⁴⁾ Zeitschr. f. Biologie **35**, 555 (1897).

⁵⁾ Versammlungsber. a. d. landwirtsch. Versuchsstationen **64**, 28 (1906).

⁶⁾ Rosenfeld, Zeitschr. Unters. Nahr. u. Genußm. **1901**, 1030.

Schlesinger, " " " " " **1902**, 267.

⁷⁾ W. Glikin, Pflügers Archiv **95**, 107 (1903).

⁸⁾ Derselbe, Ebenda.

viel stickstoffhaltige Bestandteile. Das von Glikin untersuchte Fleischmehl, das nach Dormeyers unten zu besprechender Methode, die als Norm gelten kann, 13,5 % Fett enthielt, gab ein Chloroformextrakt, das 17,9 % ausmachte. Durch Ermittlung seines Phosphor- und Stickstoffgehaltes und Umrechnung dieser Daten auf Lezithin und Cholin ließen sich darin 3,6 % Nichtfett nachweisen.

Was den Petroläther anlangt, so kann man bei Benutzung der bei 50—60 ° siedenden Fraktionen wegen der höheren Temperatur gegenüber dem Siedepunkt des Äthers gewiß die Operation des Extrahierens beschleunigen, worin ein Vorteil gegenüber der Verwendung des Äthers liegt. In der Tat waren in Glikins Versuchen die zu extrahierenden Proben schon nach 36 Stunden praktisch völlig erschöpft. Allein auf die Reinheit des Extraktes scheint man sich nicht mehr verlassen zu können als beim Ätherextrakt. Glikin findet in den Petrolätherextrakten zwar etwas weniger Nicht-Lezithin-Stickstoff, dafür aber mehr Lezithin als in den Ätherextrakten. Der Menge nach beträgt das Petrolätherextrakt bei dem von ihm untersuchten Fleischmehl 15,3 %, die nach Anbringung der Korrektur für Lezithin u. a. auf 14,1 % verringert werden, gegenüber 13,5 % nach Dormeyers Methode.

Der dritte Abänderungsvorschlag läuft auf eine Behandlung des Fleisches mit Alkohol hinaus. Entweder soll eine Vorbehandlung mit Alkohol vorgenommen werden, welche den Zweck hat, dem Fleisch eine zur nachfolgenden Ätherextraktion geeignetere Beschaffenheit zu geben, die eine raschere Erschöpfung an Fett gewährleistet. Oder es soll auf die Ätherextraktion mehrmaliges Auskochen des Extraktgutes mit Alkohol nachfolgen. In beiden Fällen werden, da ja Alkohol auch Nichtfette extrahieren kann, die Alkohol- und Ätherückstände vereinigt und aus Petroläther umgelöst.

Das erste Verfahren, welches von O. Frank¹⁾ empfohlen worden ist, bietet technisch den Vorteil, daß man Fleisch nicht zu trocknen braucht, indem das mehrmalige Dekantieren mit Alkohol die Wasserentziehung mitbesorgt. Bei dem andern von Bogdanow²⁾ empfohlenen Verfahren tritt an die Stelle des Extrahierens ein mehrmaliges Stehenlassen des gepulverten Fleischmehls unter Äther. Darauf wird der Äther vom Extraktgut abgegossen und dieses mit Alkohol ausgekocht.

Es scheint, daß Bogdanow auf diese Weise tatsächlich weiter kommt, als es mit der gewöhnlichen Ätherextraktion möglich ist. Doch darf man sagen, daß die Verwendung von drei Lösungsmitteln (Äther-Alkohol-Petroläther) immerhin umständlich erscheint; auch ist das Auskochen mit Alkohol nach den Versuchen Glikins³⁾ 24 Stunden fortzusetzen, nachdem zuvor die Digestion mit Äther fünf Tage gewährt hat.

Inzwischen ist diese Abänderung am alten Extraktionsverfahren durch ganz andersartige Methoden überholt worden, die von dem grundsätzlichen Mangel jeder Auslaugung frei sind. Diese Methoden bestehen darin, daß man den trägen Diffusionsvorgang dadurch ausschaltet, daß man durch gänzliche Auflösung des Fleisches alles Fett auf einmal bloßlegt.

¹⁾ Zeitschr. f. Biol. **35**, 549 (1897).

²⁾ Pflügers Archiv **68**, 431 (1897).

³⁾ Ebenda **35**, 119 (1903).

Es stehen hierzu drei Mittel zur Verfügung: die Auflösung des Fleisches durch starke Säuren, durch starke Alkalien und durch die peptische Verdauung. Die einwandfreieste Methode darunter ist jedenfalls die letzte, da die Verdauung in schwach saurer Lösung stattfindet, wobei die Fette praktisch gar nicht angegriffen werden. Auch von starken Säuren werden die Fette in den in Betracht kommenden Zeiten kaum hydrolysiert; dagegen bekommt man mit starken Alkalien zunächst Seifen, die nachträglich auf Fett umzurechnen sind. Dieses Verfahren charakterisiert sich daher von vornherein als das weniger einfache.

Den Weg der peptischen Verdauung beschriftet zuerst Dormeyer¹⁾, und es sind ihm darin N. Schulz²⁾, E. Voit³⁾, Köhler⁴⁾, Kumagara und Suto⁵⁾ u. a. gefolgt. Ein gewisser Einwand gegen die Methode, der nach Nerking⁶⁾ darin bestehen sollte, daß durch dieselbe nicht nur das im Gewebe vorgebildete Fett bestimmt werde, sondern auch noch Fett, das als Radikal einen Bestandteil der Eiweißstoffe ausmache und bei der peptischen Verdauung daraus gelöst werde, konnten Posner und Gies⁷⁾ zurückweisen. Nach diesen Autoren ist in den Eiweißsubstanzen kein fettartiger Kern enthalten.

Dormeyer, dem es vor allem auf eine kritische Bearbeitung und Beurteilung des Extraktionsverfahrens ankam, ging so vor, daß er das getrocknete und gepulverte Fleisch zunächst einige Zeit mit Äther extrahierte und darauf durch Verdauen mit Pepsinsalzsäure löste. Nachdem die Hauptmenge des Fleisches sich gelöst hatte, filtrierte er von ungelösten Resten ab. Diesen Rückstand extrahierte er von neuem mit Äther, und das Filtrat (das Verdauungsgut) schüttelte er mit Äther aus. Sämtliche Ätherlösungen wurden vereinigt, verdampft und aus Petroläther umgelöst.

Hat man sich erst für die Brauchbarkeit des Verdauungsverfahrens entschieden, so liegt es nahe, dieses einfacher zu gestalten. Man wird zunächst die Trocknung des Fleisches wegfällen lassen, da sie ja für die Verdauung nicht nur nicht benötigt wird, sondern ihr abträglich ist, da das trockne Fleischpulver von der Pepsinsalzsäure naturgemäß viel schwerer angegriffen wird. In der Tat löst sich das frische gewiegte Fleisch darin ohne nennenswerten Rest auf, während vom getrockneten Pulver noch eine solche Menge übrig bleibt, daß es sich nach Dormeyer verlohnte, dieselbe noch eigens zu extrahieren.

Bei den unten anzuführenden Versuchen wurde daher so verfahren, daß die Gewinnung des Fettes in einer Operation erfolgte: das frische, gewiegte Fleisch wurde in Pepsinsalzsäure gelöst und die durch die Verdauung erhaltene Lösung mit einer stets gleichen Menge Äther ausgeschüttelt. Das Ausschütteln mit einer bekannten und immer gleichbleibenden Menge Äther hat den Vorteil, daß die Verunreinigung des Ätherextraktes mit Nichtfetten, wie Milchsäure, stickstoffhaltigen, basischen

¹⁾ Ebenda **65**, 90 (1897).

²⁾ Ebenda **66**, 145 (1897).

³⁾ Zeitschr. f. Biol. **35**, 555 (1897).

⁴⁾ Zeitschr. physiol. Chem. **31**, 479 (1901).

⁵⁾ Hofmeisters Beiträge **4**, 185 (1904).

⁶⁾ Pflügers Archiv **85**, 330 (1901).

⁷⁾ Amer. Journ. Physiol. **7**, 331 (1902).

Stoffen usw., die aus wässriger Lösung nur in sehr geringem Betrage in den Äther übergehen, unter einer bestimmten, ungefähr gleichbleibenden und sehr niedrigen Grenze bleibt. Neben der vollständigen Gewinnung des Fettes besteht ja gerade hierin der Vorzug der Aufschlußmethoden vor der Extraktion, indem bei letzterer, wie auseinandergesetzt, die Menge der Nichtfette unkontrollierbar ist und, absolut genommen, nicht nur deswegen größer, weil die zugeführte Äthermenge weit bedeutender ist, sondern auch deswegen, weil aus dem trocknen Extraktionsgut mehr Nichtfette in den Äther gehen müssen, als aus der verdünnten wässrigen Lösung.

Es würde kein Bedürfnis vorliegen, die Verdauungsmethode durch andere Verfahren zu ersetzen, wenn nicht die Verwendung von Pepsin eine gewisse Unbequemlichkeit mit sich brächte. Um schnell wirkendes Pepsin zu erhalten, muß man es aus frischen Schweinemägen selbst herstellen. Nimmt man statt dessen käufliches Pepsin, so dauert die Verdauung im Thermostaten bei 37° mehrere Tage. Die Praxis aber verlangt schnelle Analysen.

Diese Überlegung führt zu der Aufschließung des Fleisches mit starken Säuren. Schon seit längerer Zeit ist diese Methode für die Bestimmung des Milchfettes in Übung und von N. Gerber¹⁾ zu dem nach ihm benannten Verfahren ausgebildet worden. N. Gerber versetzt bekanntlich gewogene Mengen Milch oder Butter mit starker Schwefelsäure (gleiche Raumteile käufliche konzentrierte Schwefelsäure und Wasser), digeriert die Gemische einige Zeit bei 70° im Wasserbade und zentrifugiert darauf in geeigneten, graduierten Gefäßen (Butyrometern). Die Menge des Fettes wird sodann an der Gradeinteilung unmittelbar abgelesen.

Grundsätzlich dasselbe Verfahren ist von K. Windisch²⁾ für die Fettbestimmung in Käse angewendet worden, mit dem Unterschiede jedoch, daß an Stelle der Schwefelsäure starke Salzsäure zum Aufschließen verwendet und das Fett in Äther aufgenommen und nach Gewicht bestimmt wurde. Bevor man mit Äther schüttelt, muß man dabei die salzsaure Lösung genügend verdünnen, um zu vermeiden, daß Salzsäure in den Äther mit übergeht. Auf pflanzliche Futtermittel ist diese Methode in der Folgezeit durch Wintgen³⁾ übertragen worden, nachdem schon früher Weibull⁴⁾ und E. Polenske⁵⁾ die Fettbestimmung im Brot unter Verwendung von starker Schwefelsäure in ähnlicher Weise durchgeführt hatten.

Schließlich ist in jüngster Zeit das Gerbersche Verfahren durch Toyokichi Kita⁶⁾ auch auf Fleisch übertragen worden. Dieser schlägt vor, 2,5 bzw. 5 g Fleisch im Butyrometer mit einem Gemisch gleicher Raumteile Schwefelsäure vom spez. Gew. 1,82 und Wasser bei 60—70° im Wasserbade aufzuschließen und unter Zusatz von etwas Amylalkohol (zur besseren Trennung der Fettschicht) zu zentrifugieren. Die

¹⁾ Molkereizeitung 1889, S. 137. — Auch N. Gerbers Azid-Butyrometrie. Universalbestimmungsmethode für alle Milcharten und Milchprodukte. 8. Aufl. 1900.

²⁾ Über Margarinkäse. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh. 14, 506 (1898).

³⁾ Zeitschr. Unters. Nahr. Genußmittel 1902, 289.

⁴⁾ Zeitschr. angew. Chem. 1892, 450.

⁵⁾ Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh. 8, 678 (1893).

⁶⁾ Archiv f. Hygiene 51, 165 (1904).

Menge des abgeschiedenen Fettes ist dann an der Gradeinteilung abzulesen, nachdem dieselbe zuvor geeicht worden ist.

In bezug auf Schnelligkeit und Kürze der Operationen ist dieses Verfahren dem gravimetrischen ohne Zweifel überlegen. Allein wir fanden bei der Nachprüfung desselben Schwierigkeiten in der glatten Auflösung des Fleisches, die vielleicht nur durch längere Übung zu bewältigen sind. Wir konnten weder bei den vorgeschriebenen noch bei abweichend gewählten Säurekonzentrationen im Butyrometer, in welchem kräftiges Umschütteln nicht gut geht, eine klare Lösung des Fleisches erzielen, so daß stets die Grenze der Fettschicht durch Fasern verunreinigt und eine sichere Ablesung verhindert war.

Deswegen gingen wir dazu über, das Fleisch in gewöhnlichen Kölbchen mit starker Schwefelsäure auf dem Wasserbade zu behandeln und nach erfolgter Lösung das Fett mit Äther aufzunehmen. Dieses Verfahren haben wir mit dem Verdauungsverfahren, das als Norm gelten muß, verglichen und gefunden, daß es mit diesem übereinstimmende Ergebnisse liefert, so daß wir es als leicht und schnell ausführbare Methode, die aus lauter einfachen Operationen besteht, empfehlen können.

Weiter unten werden wir das Verfahren genau beschreiben und die Belege dazu anführen.

Es wäre nun noch die von Leo Liebermann und Szekeli¹⁾ empfohlene Verseifungsmethode zu besprechen. Dieselbe besteht im Lösen von Fleisch mit 50 %iger Kalilauge, Zersetzen der Seifen mit Schwefelsäure, Ausschütteln der Fettsäuren mit Petroläther, Titration derselben mit $\frac{1}{10}$ normaler alkoholischer Kalilauge und Phenolphthalein als Indikator, Eintrocknen der so entstandenen Seifen und Wägen derselben. Die gewogenen Seifen werden schließlich auf Triglyceride umgerechnet.

Diese Methode ist offenbar umständlicher als die Säureauflösung, während man in ihr einen grundsätzlichen Vorzug nicht erblicken kann. Tatsächlich haben verschiedene Arbeiten, die danach ausgeführt wurden, stets Werte für den Fettgehalt der untersuchten Substanzen ergeben, die höher sind, als die nach den übrigen Methoden gefundenen²⁾. Ob in der Titration und der Wägung der Seifen systematische Fehler liegen, die zu viel finden lassen, ist nicht untersucht worden. Frentzel und Scheurer³⁾ scheinen dieser Ansicht zuzuneigen, wenn man die Bemerkung, die Liebermannsche Methode liefere Maximalzahlen, „weil die analytisch bestimmten Fettsäuren als Fett berechnet werden“, dahin verstehen darf. L. Liebermann sieht die Ursache dafür, daß seine Methode Maximalzahlen ergibt, darin, daß danach „alle vorhandenen Fettsäuren, mögen sie nun (in der untersuchten Substanz) in Neutralfetten, Seifen, Lezithinen oder Lezithalbuminen oder auch als freie Säuren

¹⁾ Pflügers Archiv **72**, 360 (1898); vergl. auch Tangl u. Weiser ebenda **72**, 367 (1898).

²⁾ Vergl. Glikin, Unters. zur Methode d. Fettbest. in tier. Materialien, Pflügers Archiv **95**, 107 (1903). — Frentzel u. Scheurer, Verbrennungswärme u. physiol. Nutzwert der Nährstoffe. Archiv f. Anatomie u. Physiol., Abteil. f. Physiol. **1901**, S. 284. — F. Tangl u. Koloman Farkas, Energetik der Ontogenese, Pflügers Archiv **104**, 172.

³⁾ a. a. O.

⁴⁾ Pflügers Archiv **108**, 481 (1905).

vorhanden sein“ in die Bestimmung eingehen. Dies dürfte aber von der Schwefelsäure-Aufschließung ebenso gelten. Nach dem Stand der Dinge ist jedenfalls eine Überlegenheit der Verseifungsmethode über die Schwefelsäuremethode nicht zu erkennen.

Es soll nunmehr dieses letztere Verfahren, wie es von uns ausprobiert und mit dem Verdauungsverfahren verglichen wurde, geschildert werden:

Man schneidet von dem zu untersuchenden Fleisch Fett und Sehnen weg und läßt es viermal durch die Fleischhackmaschine gehen. Einen Anteil des zerkleinerten Fleisches zerquetscht man in einer großen Reibschale, bis er möglichst breiig geworden ist. Davon wägt man Mengen von etwa 2 g in Standkolben von passender Größe ein. In diesen wird das Fleisch teils mit starker Schwefelsäure, teils mit Pepsinsalzsäure gelöst.

Von der Pepsinsalzsäure nimmt man 100 ccm. Einen Vorrat von dieser stellt man sich her durch Lösen von 3 g Pepsin-Merck in 500 ccm Wasser und Hinzufügen von 100 ccm Normalsalzsäure.

Die mit Pepsinsalzsäure überschichteten Proben kommen in den Thermostaten von 37 °C. Dort bleiben sie solange, bis alles Fleisch gelöst ist. Dies erfolgt unter zeitweiligem Umschütteln in zwei bis vier Tagen, je nach der Wirksamkeit des Pepsinpräparates.

Die mit starker Schwefelsäure zu behandelnden Proben werden mit 20 ccm Schwefelsäure übergossen, welche aus 1 Volum Schwefelsäure (spez. Gew. 1,81) + 1 Volum Wasser hergestellt ist. Die Mischung von Fleischprobe und Schwefelsäure wird auf ein Wasserbad gestellt. Unter zeitweiligem Umschwenken löst sich das Fleisch in 20 bis 30 Minuten. Wenn keine ungelösten Teile mehr zu sehen sind, entfernt man den Kolben vom Wasserbad und verdünnt mit Wasser auf etwa 100 ccm.

Die auf die eine oder andere Art erhaltenen Fleischlösungen werden in einen Scheidetrichter gegossen und daselbst mit 100 ccm Äther überschichtet. Den Äther gießt man zuerst in den Kolben, welche die Fleischlösung enthalten hatte, und schwenkt ihn damit aus, um so die Fettröpfchen, welche an den Wandungen kleben, in den Scheidetrichter überzuführen. Dann wird im Scheidetrichter geschüttelt, wobei das Fett vom Äther aufgenommen wird.

Nach dem Absetzen trennt man die beiden Schichten. Die Ätherschicht gießt man aus der oberen Mündung des Scheidetrichters in ein Becherglas. Dort läßt man die Ätherlösung eine Zeitlang stehen, damit kleinste Wassertröpfchen, die sie noch enthalten könnte, sich auf den Boden des Becherglases absetzen können.

Die Ätherausschüttelung wiederholt man nochmals in gleicher Weise; diese zweite Behandlung ergibt naturgemäß nur noch wenig Fett.

Aus dem Becherglase gießt man die Ätherlösung vorsichtig in ein gewogenes Destillierkölbchen (Extraktionskölbchen) und destilliert den Äther ab. Die Ätherlösungen der Pepsinaufschlüsse sind etwas trübe und werden zum Klären durch ein kleines Filter in das Kölbchen hineinfltriert.

Nach dem Verjagen des Äthers stellt man die Kölbchen mit dem Fettrückstand etwa eine halbe Stunde in den Wasserdampfschrank zum Trocknen und läßt hierauf im Exsikkator erkalten. Dann wird gewogen.

So haben wir die in der folgenden Tabelle enthaltenen Analysendaten erhalten. Diese zeigen, daß die Aufschließung des Fleisches mit Schwefelsäure in der vorstehend beschriebenen Ausführungsform als völlig gleichwertig mit der Verdauungsmethode gelten darf und sich ihre Anwendung zur Bestimmung des Fettes im Fleisch daher empfiehlt.

Fleischsorte	Gewicht der angewandten Fleischmenge	Daraus ab- geschiedenes Fett (mit Pepsin- salzsäure) %	Daraus ab- geschiedenes Fett (mit Schwefel- säure) %
Rindfleisch {	2,4	1,9	1,8
	2,4	1,7	1,5
Schweinefleisch . . . {	2,3	10,3	10,5
	2,3	10,3	10,4
Rindfleisch {	2,0	3,5	3,4
	2,0	3,4	3,2
Hammelfleisch . . . {	2,0	4,3	4,6
	2,0	4,4	5,0
Schweinefleisch . . . {	2,0	7,7	7,7
	2,0	7,2	—

Berlin, im März 1908.

Über die Bestimmung des Zuckers im Fleisch.

Von

Dr. Emil Baur,

a. o. Professor, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Um den Gehalt an Traubenzucker in wässerigen, zur Abscheidung der gelösten Eiweißstoffe gekochten und filtrierten Fleischauszügen zu bestimmen, wird gewöhnlich auf die „üblichen“ Methoden verwiesen¹⁾. Unter diesen kommt die polarimetrische Methode wegen anwesender linksdrehender Stoffe nicht in Betracht; von den Reduktionsmethoden eignet sich die gewichtsanalytische Bestimmung des Kupferoxyduls wegen der unreinen Beschaffenheit, in der es aus Fleischauszügen ausfällt, auch nicht, sodaß schließlich nur die Titration nach der Methode von Soxhlet²⁾ übrig bleibt. Doch auch hier stößt man auf Schwierigkeiten in der Bestimmung des Endpunktes der Titration, da das entstehende Kupferoxydul kolloidal ist und durch das Filter geht.

Daher erweist sich eine Abänderung des Verfahrens, welche von Ed. Polenske³⁾ empfohlen wurde, als durchaus erforderlich. Diese besteht darin, zur Titration ammoniakalische Kuprisalzlösung zu verwenden, wie von Z. Peska⁴⁾ vorgeschlagen wurde. Alsdann bleibt das Kupferoxydul gelöst, sodaß der Endpunkt der Titration durch das Verschwinden der blauen Farbe des Kuprisalzes in der klaren Lösung sich erkennen läßt.

Bei der Anwendung dieses Verfahrens auf die Zuckerbestimmung in Fleischauszügen stößt man allerdings auf die Schwierigkeit, daß die Lösung nicht farblos, sondern schmutzig rötlichbraun wird und der Übergang von blau in diese Farbe unscharf ist. Man kann dies zwar einigermaßen vermeiden, indem man den Fleischauszug mit Tierkohle behandelt. Doch entsteht hierdurch eine neue Schwierigkeit insofern, als bei dieser Behandlung außer den färbenden Stoffen auch Zucker adsorbiert wird.

Ein einfacheres und leichter auszuführendes Verfahren zur Bestimmung des Muskelzuckers wäre daher sowohl für die Analyse des Fleisches als Nahrungsmittel, als auch für die physiologische Chemie des Fleisches nicht unerwünscht. Auf der

¹⁾ Vergl. „Vereinbarungen“ Heft I, S. 32 (1897). — Röttger, Lehrb. d. Nahrungsmittelchemie 2. Aufl. 1903, S. 90. — Hoppe-Seyler-Thierfelder, Lehrb. d. physiol. und pathol. chem. Analyse 7. Aufl. 1903, S. 572.

²⁾ Journ. f. prakt. Chem. 21, 227, 289.

³⁾ Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 14, 149 (1898).

⁴⁾ Neue Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 34, 165 (1895).

Suche nach einer geeigneten Reaktion kam ich zu der Meinung, daß die Furoprobe von Molisch-Udransky¹⁾ sich für diesen Zweck mit besserem Erfolge verwerten läßt als bisher geschehen. Es soll im folgenden über die Ergebnisse berichtet werden, die für die Bestimmung des Zuckers in Fleischauszügen und im Harn unter Zugrundelegung dieser Farbreaktion erhalten wurden.

Die fragliche Reaktion besteht in einer intensiven, roten Färbung, welche auftritt, wenn Kohlenhydrate in Gegenwart von α -Naphthol oder Thymol mit konzentrierter Schwefelsäure im Überschuß versetzt werden, und beruht auf der Bildung von Furo durch die Einwirkung starker Schwefelsäure auf Kohlenhydrate. Nun hängt zwar die Menge des gebildeten Furols und damit die Stärke der Färbung und die Empfindlichkeit des Nachweises sehr ab von dem Grade der Selbsterhitzung, welche durch die Vermischung der zu prüfenden Lösung mit der zugesetzten reinen Schwefelsäure entsteht. Hierdurch wird der Ausfall der Reaktion sehr abhängig von der Art ihrer Ausführung, und dies erschwert naturgemäß die Verwendung der Reaktion zu quantitativen Zwecken. Doch sind die Schwierigkeiten in der Reproduzierbarkeit nicht unüberwindlich, und es ist auch tatsächlich diese Reaktion zur quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers, oder genauer der gesamten Kohlenhydrate, im Harn von Udransky, Roos und Luther schon benutzt worden. Diese Autoren gingen so vor, daß sie von der zu prüfenden Flüssigkeit einen Tropfen in ein Reagenzglas brachten, dazu zwei Tropfen einer 15%igen alkoholischen Lösung von α -Naphthol gaben, dann vorsichtig $\frac{1}{2}$ ccm reine Schwefelsäure in das Reagenzglas laufen ließen und umschüttelten. Bei positivem Ausfall der Reaktion verdünnten sie die zu prüfende Flüssigkeit solange, bis die Färbung ausblieb. Nachdem zuvor festgestellt worden war, bei welchem Gehalt reiner Traubenzuckerlösungen die Färbung undeutlich wird, kann man nach diesem Verfahren den Gehalt einer Lösung an Zucker der Größenordnung nach feststellen.

Dieses etwas unsichere Verfahren läßt sich genauer gestalten, wenn man aus der Farbstärke selbst den Gehalt bestimmt. Die Schwierigkeit besteht hier nur darin, solche Versuchsbedingungen zu treffen, die eine genügende Reproduzierbarkeit verbürgen. Ohne bei den mannigfaltigen Abänderungen, die probiert wurden, zu verweilen, wird in der folgenden Darstellung sogleich diejenige Ausführungsform beschrieben, welche schließlich beibehalten wurde.

Man läßt von der zu prüfenden zuckerhaltigen Flüssigkeit aus einer Pipette 1 ccm auf den Boden eines mit einem eingeschliffenen Glasstopfen versehenen Reagenzglases auslaufen. Dazu gibt man 9 ccm reine Schwefelsäure, welche man aus einer Bürette so in das Reagenzglas laufen läßt, daß die Ausflußspitze des Büettenhahnes die Wand des etwas schräg gehaltenen Reagenzglases berührt. Dann läßt man aus

¹⁾ Literatur: Molisch, Sitzungsber. d. Wiener Akad. d. Wissensch. **93**, II, 912; Monatshefte f. Chem. **7**, 198; Zentralbl. mediz. Wissensch. **1887**, Heft 3 und 4 (Repertor. d. Chem.-Ztg. **11**, 52). — Mylius, Zeitschr. physiol. Chem. **11**, 492 (1887). — Udransky und Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **21**, 2744 (1888). — Udransky, Zeitschr. physiol. Chem. **12**, 355; 377 (1888); Seegen, Mediz. Zentralbl. **24**, 785; 801 (Chem. Zentralbl. **1887**, I, 99). — E. Roos, Zeitschr. physiol. Chem. **15**, 513 (1891). — Luther, Inaug.-Diss. Berlin 1890.

einem Tropfglase 8—10 Tropfen einer alkoholischen Thymollösung zutropfen, welche 15 g Thymol in 100 ccm Lösung enthält. Nun verschließt man das Reagenzglas und dreht es zweimal rasch hintereinander um. Hierdurch wird eine nahezu augenblickliche, homogene Durchmischung des Inhalts des Reagenzglases bewirkt. Bei Anwesenheit von Zucker oder anderen Kohlenhydraten tritt nach dem Umschwenken sofort eine je nach der Konzentration mehr gelbrote oder rosenrote Färbung auf, welche allmählich an Stärke zunimmt, bis die heiß gewordene Lösung erkaltet ist. Nach rund einer halben Stunde ist die Abkühlung auf Zimmertemperatur vollzogen und damit auch die Farbentwicklung zu Ende gekommen. Die Färbung bleibt etwa einen Tag lang in Art und Stärke gleich; später wird eine allmählich fortschreitende Bräunung sichtbar.

An Stelle des von den früheren Autoren bevorzugten α -Naphthols erwies sich Thymol wegen der größeren Beständigkeit seiner alkoholischen Lösung geeigneter. Die Prüfung des Einflusses der Menge des zugesetzten Thymols ergab, daß die Stärke der Färbung bei Mengen von 4 bis 20 Tropfen Thymollösung gleich bleibt. Man hat also bei Anwendung von 8—10 Tropfen einen ausreichenden Überschuß an Thymol.

Es war nunmehr zu prüfen, ob die Farbstärke dem Gehalte der Zuckerlösungen proportional ist. Dies ist bis zu Gehalten von 0,6% Traubenzucker der Fall. Die Farbstärke ergibt sich gleich, ob die Reaktion beispielsweise mit einer 0,1%igen Zuckerlösung ausgeführt wird oder mit einer 0,2%igen oder 0,4%igen und diese dann auf das Doppelte oder Vierfache mit reiner Schwefelsäure verdünnt werden.

¶ Zur Bestimmung des Gehaltes der Zuckerlösungen aus der Farbstärke war zunächst zwischen zwei Wegen eine Entscheidung zu treffen: man konnte den Gehalt entweder kolorimetrisch oder spektrophotometrisch messen. Die Kolorimetrie scheidet indessen alsbald aus, da der Farbenton des Furol-Thymolfarbstoffes in schwefelsaurer Lösung sich mit der Verdünnung stark ändert. Er schlägt von Gelbrot in konzentrierter Lösung nach Rosenrot in verdünnter um. Der Anwendung der Spektrophotometrie steht entgegen, daß sie nur für einen engen Konzentrationsbereich brauchbar ist und in diesem für den vorliegenden Fall zu genau arbeitet, nämlich genauer, als die Wiederherstellbarkeit der gefärbten Lösungen ist. Dazu kommt, daß tierische Flüssigkeiten wie Fleischauszüge, Harn usw., welche außer Zucker noch viele andere Stoffe enthalten, die durch Schwefelsäure mehr oder weniger gebräunt werden, spektrophotometrische Messungen erheblich fälschen können. Auch erfordert die Methode einen teuren Apparat und eine eigene Einübung.

So wurde zuletzt der Ausweg beschritten, gerade diejenige Eigenschaft der Farblösung zu benutzen, welche die gewöhnliche Kolorimetrie verhindert. Was die Furolreaktion vor einer beliebigen Verfärbung auszeichnet, ist der Umstand, daß der entstehende Farbstoff durch ein nach Lage und Begrenzung scharf charakterisiertes Absorptionsband bestimmt ist, dessen Maximum im Grün bei $\lambda = 506 \mu\mu$ liegt. Bei steigender Konzentration des Farbstoffs entwickelt sich das Absorptionsband stärker nach der blauen Seite des Spektrums hin, schwächer nach der roten. Schließlich wird nur noch Rot, Gelb und ein Teil des Grünen durchgelassen, alles Blau und Violett aber

absorbiert. Die Begrenzung des Absorptionsstreifens nach der roten Seite ist sehr scharf. Es ist nun offenbar, daß man durch Messung der Breite des Absorptionsstreifens einer gegebenen Lösung im Spektroskop ein Maß für den Gehalt derselben gewinnen kann¹⁾. Hierzu ist nur erforderlich, mit Glukoselösungen bekannten Gehaltes die Reaktion von Mohlich-Udransky in der beschriebenen Weise anzustellen und damit die Absorptionskurve des Thymol-Furol-Farbstoffs aufzunehmen. Man erhält diese Kurve, indem man für eine Reihe von Glukosekonzentrationen die zugehörigen Breiten des Absorptionsstreifens an der Skala eines gewöhnlichen Spektroskops abliest,

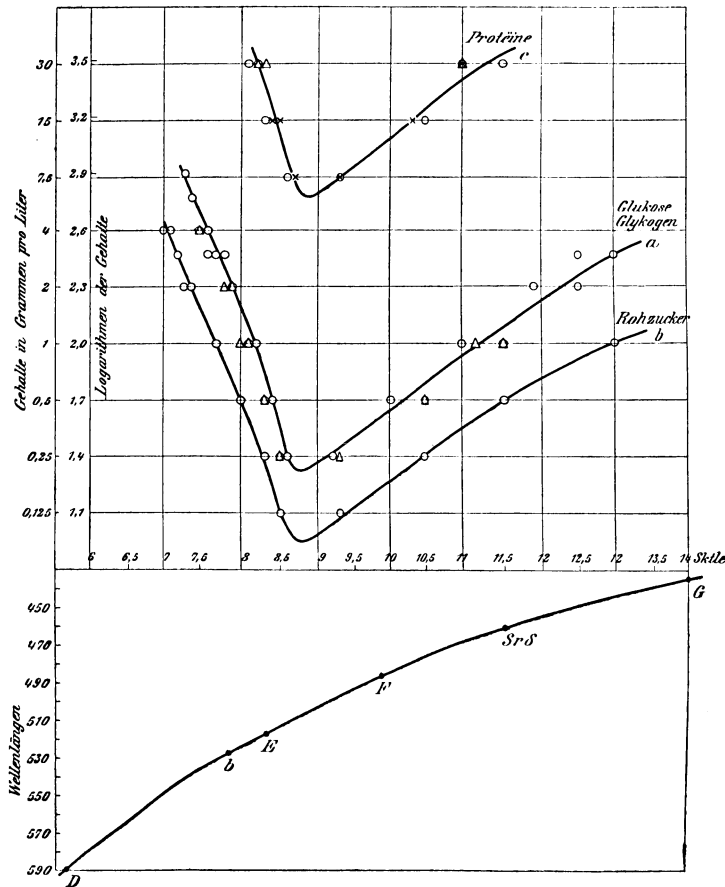


Fig. 1.

die Werte in Koordinatenpapiereinträgt und die so fixierten Punkte durch einen Kurvenzug verbindet. Die Skala des benutzten Instruments selbst dient als Abszisse, während man zur Ordinate zweckmäßig den Logarithmus der Konzentration wählt.

Die so erhaltenen Kurven veranschaulicht die beigegebene Kurventafel (Fig. 1). Der untere Teil derselben enthält die Eichungskurve des benutzten Instruments (einfaches Bunsensches Spektroskop von Schmidt und Haensch), welche die willkürliche Skala auf Wellenlängen zu beziehen gestattet.

Die Bestimmung der Grenze des Absorptionsbandes gegen Blau (rechter Zweig der Absorptionskurve) ist wegen ihrer mangelhaften Schärfe wenig genau; zur Bestimmung des Gehaltes einer Lösung aus der Lage dieser Grenze würde sie sich auch deswegen weniger eignen, als in Fleischauszügen und dergleichen durch eine allgemeine Bräunung dieser Lösungen der blaue Teil des Spektrums gewöhnlich mehr oder minder verdunkelt ist. Dagegen kann die Ablesung der scharfen Grenze des Absorptionsstreifens gegen

¹⁾ Obwohl dieses Verfahren sehr nahe liegt, scheint es bisher noch nicht in Anwendung gebracht worden zu sein, sodaß die vorliegende Arbeit nach dieser Richtung methodisch Neues bringt.

Rot stets auf einen Skalenteil genau geschehen. Der Rückschluß von solcher Ablesung auf die Zuckerkonzentration geschieht dann so, daß man auf der Absorptionskurve den Punkt aufsucht, welcher der Ablesung (einem bestimmten Abszissenwert) entspricht und hierauf an der Ordinate den zugehörigen Logarithmus der Konzentration entnimmt.

Es ist klar, daß die Untersuchung der Absorption sich auf eine bestimmte und stets gleichbleibende Schichtdicke zu beziehen hat, und daß zur vollständigen Definition entsprechender Angaben auch eine bestimmte Öffnung des Spektroskopspaltes und eine bestimmte Beleuchtung gehören. Im vorliegenden Fall geschah die Beobachtung mit einem Spalt von $\frac{1}{4}$ mm Breite, beleuchtet wurde mit einem Auerbrenner in 1 m Entfernung vom Spalt. Als Absorptionsgefäß diente ein Glastrog mit planparallelen Wänden von 11 mm lichter Weite, der dicht vor dem Spalt aufgestellt und mit der Farblösung angefüllt wird. Zur Wahl eines Gefäßes mit 11 mm Weite bestimmte der Umstand, daß solche Gefäße im Handel erhältlich und auch in allen Laboratorien, welche mit spektroskopischen Apparaten ausgerüstet sind, vorrätig sind, da sie zur Aufnahme des Schulzchen Glaswürfels dienen und in der quantitativen Spektralanalyse allgemein verwendet werden.

Die Furoleaktion tritt mit sämtlichen Kohlenhydraten ein, sodaß man eigentlich mit ihr nur die Summe der vorhandenen Kohlenhydrate bestimmen kann. In den in Betracht kommenden Auszügen überwiegt jedoch die Glukose so sehr, daß die für die gesamten Kohlenhydrate gefundenen Werte bis auf einen meist zu vernachlässigenden Fehler als Glukose betrachtet werden können.

Bedenklicher erscheint es, daß auch die Eiweißkörper die Furoleaktion geben, worin man einen Beweis für die Existenz einer Kohlenhydratgruppe in den Eiweißen erblickt¹⁾. Zwar ist nach meinen Bestimmungen die Stärke der Furoleaktion bei Fibrin (aus Blut), Albumin (aus Ei), Kasein, Witte-Pepton, Mercks-Pepton (e carne) rund dreißigmal schwächer als bei Glukoselösung, doch können trotzdem erhebliche Fehlanzeigen dadurch entstehen, wenn, wie im Blutserum, Eiweißharn und auch in kalt bereiteten wässrigen Fleischauszügen, die Menge der anwesenden gelösten Proteine diejenige des Zuckers um ein vielfaches übertrifft. Es ist aber einfach, sich gegen diese Fehlerquelle zu schützen, da die hier in Betracht kommenden Albumine und Globuline durch Kochen der zu prüfenden Flüssigkeit leicht abzuscheiden sind. Dagegen bleiben bei dieser Behandlung das Hämoglobin und der Leim in Lösung. Für diese Stoffe aber konnte festgestellt bzw. bestätigt werden, daß sie die Furoleaktion nicht in meßbarer Stärke geben.

Die Genauigkeit, mit der aus der Absorptionskurve auf den Gehalt geschlossen werden kann, ist nicht groß. Sie ist einerseits beschränkt durch die Unschärfe des Übergangs von Hell zu Dunkel an der Grenze des Absorptionsbandes, welche nicht erlaubt, diese Grenze genauer als auf einen Teilstrich der Skala des Instrumentes anzugeben, andererseits dadurch, daß die Wiederherstellbarkeit der Reaktion ungefähr in derselben Breite (von einem Teilstrich unserer Skala) schwankt. Hierdurch bestimmt sich die Fehlergrenze auf rund 20% des absoluten Wertes des Gehalts.

¹⁾ Udransky, Zeitschr. physiol. Chem. 12, 393 (1888).

Dazu ist zu bemerken, daß unter den erschwerenden Umständen, die bei der Zuckerbestimmung in tierischen Flüssigkeiten und Organauszügen vorliegen, die üblichen Reduktionsmethoden auch kaum zuverlässigere Werte ergeben dürften, wenn man erwägt, daß bei diesen auch Nichtzuckerstoffe in schwer zu übersehender Weise mitbeteiligt sind, und wie sehr das Ergebnis der Reduktion von der Ausführungsform abhängt. Die unten folgende Gegenüberstellung der polarimetrischen, titrimetrischen und der neuen spektralanalytischen Zuckerbestimmung in Harn und Fleischauszug wird erkennen lassen, daß dies letzte Verfahren bei geringen Gehalten (von 0,3% abwärts) den beiden ersten gewiß überlegen ist, abgesehen davon, daß es auch überhaupt wegen seiner raschen Ausführung empfohlen werden kann. Da der Zuckergehalt der tierischen Säfte auch bei demselben Individuum steten zeitlichen und örtlichen Veränderungen unterworfen ist, so wird man für viele Zwecke mit der dem spektralanalytischen Verfahren zukommenden Genauigkeit zufrieden sein.

Es folgt nun zunächst eine Übersicht über die Bestimmungen der Absorption von Traubenzucker, Glykogen, Rohrzucker und Eiweißkörpern (vergl. Tab. 1 u. 2). Die graphische Darstellung der Ergebnisse befindet sich auf der vorstehenden Kurventafel (Fig. 1).

Tabelle 1. Spektralanalytische Zuckerbestimmung in Lösungen von Kohlenhydraten.

a) Glukose ¹⁾ .			b) Glykogen ²⁾ .		
Gehalt pro Liter g	Breite der Absorption ³⁾ in Teilstrichen der Skala des benutzten Spektroskopes	Anzahl der Versuche	Gehalt pro Liter g	Breite der Absorption ³⁾ in Teilstrichen der Skala des benutzten Spektroskopes	Anzahl der Versuche
8	7,3 — U	(3)	4	7,5 — U	(2)
6	7,4 — U	(2)	2	{ 7,8 — U 7,9 — U	(2) (1)
4	{ 7,6 — U 7,5 — U	(3) (2)	1	{ 8,0 — 11,5 8,1 — 11,2	(2) (1)
3	7,7 — 13,0	(1)	0,5	8,3 — 10,5	(3)
	7,6 — 12,5	(1)	0,25	8,5 — 9,3	(1)
	7,8 — U	(1)			
2	{ 7,9 — 11,9 7,9 — 12,5	(1) (3)			
1	{ 8,1 — 11,5 8,2 — 11,0	(3) (2)			
0,5	{ 8,4 — 10,0 8,3 — 10,5	(4) (1)			
0,25	{ 8,6 — 9,2 8,5 — 9,2	(3) (1)			

c) Rohrzucker ⁴⁾ .		
Gehalt pro Liter g	Breite der Absorption ³⁾ in Teilstrichen der Skala des benutzten Spektroskopes	Anzahl der Versuche
4	{ 7,1 — U 7,0 — U	(2) (1)
3	7,2 — U	(3)
2	{ 7,4 — U 7,3 — U	(2) (1)
1	7,7 — 13,0	(3)
0,5	8,0 — 11,5	(3)
0,25	8,3 — 10,5	(3)
0,125	8,5 — 9,3	(1)

¹⁾ In der Tafel der Absorptionskurven dargestellt durch Kreispunkte.

²⁾ U bedeutet Ultraviolett.

³⁾ In der Tafel der Absorptionskurven dargestellt durch Dreieckspunkte der Kurve a.

⁴⁾ Dargestellt durch Kreispunkte der Absorptionskurve b.

Tabelle 2. Spektralanalytische Zuckerbestimmung in Lösungen von Proteinen.

Angewandtes Präparat	Gehalt pro Liter g	Breite der Absorption ¹⁾ in Teilstrichen der Skala des benutzten Spektroskopes	Anzahl der Versuche
Albumin ²⁾	30	{ 8,1 — 11,5	(2)
"		{ 8,2 — 11,0	(1)
"	15	8,3 — 10,5	(1)
"	7,5	8,6 — 9,3	(1)
Fibrin ³⁾	30	{ 8,2 — 11,0	(1)
"		{ 8,3 — 11,0	(1)
Witte-Pepton ⁴⁾	30	8,3 — 11,0	(3)
"	15	{ 8,4 — 10,3	(1)
"		{ 8,5 — 10,3	(1)
"	7,5	8,7 — 9,3	(1)
Merck-Pepton	30	8,5 — 10,5	(3)
Kasein	30	8,4 — 10,5	(2)
"	15	8,6 — 9,3	(1)

Nunmehr wurde die Prüfung der Methode an einigen Harnproben unternommen. Es kam eiweißfreier Harn eines Gesunden und zweier Diabetiker zur Verwendung. Bei den letzteren konnte die spektrale Prüfung durch die Polarisation und durch Titration mit Fehlingscher Lösung in der von Soxhlet angegebenen Ausführungsform⁵⁾ kontrolliert werden. Ersichtlich werden nach der spektralen Methode Höchstwerte erhalten, da im Harn etwa vorhandenes Harndextrin oder Glykogen mit als Traubenzucker gewertet wird.

Die Ausführung der Reaktion geschieht genau wie oben angegeben, sei es mit 1 ccm unverdünntem oder geeignet verdünntem Harn. Im Spektrum wird allein die gegen Rot liegende Grenze des Absorptionsbandes abgelesen und danach mit Hilfe der Absorptionskurve für Glukose der Gehalt bestimmt. Meist werden die Ablesungen zu ihrer gegenseitigen Kontrolle mit mehreren Verdünnungen des zu untersuchenden Harnes wiederholt.

I. Harn eines Gesunden. Es wird geprüft, ob sich zugesetzte Glukose richtig wiederfinden läßt.

Tabelle 3. Spektralanalytische Zuckerbestimmung im normalen Harn.

Verdünnung des Harns	Breite der Absorption in Skalenteilstrichen	Gehalt des verdünnten Harns an Glukose %	Gehalt des Harns an Glukose %
unverdünnt	8,2	0,08	0,08
zur Hälfte verdünnt	8,5	0,035	0,07
Derselbe Harn, zu gleichen Teilen mit 0,4% iger Glukoselösung versetzt.			
unverdünnt	7,8	0,24	0,24
zur Hälfte verdünnt	8,1	0,11	0,22

¹⁾ In der Tafel der Absorptionskurven dargestellt durch Kreispunkte.

²⁾ Dargestellt durch Kreispunkte der Absorptionskurve c.

³⁾ Dargestellt durch Dreieckspunkte der Absorptionskurve c.

⁴⁾ Dargestellt durch Kreuzpunkte der Absorptionskurve c.

⁵⁾ Siehe Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handb. d. physiol. u. pathol. chem. Anal. 7. Aufl.

Wie man aus Tabelle 3 sieht, findet man den zugesetzten Zucker richtig wieder, da 1 Teil Harn mit 0,08% Glukose und 1 Teil 0,4%ige Glukoselösung zusammen eine Lösung mit 0,24% Glukose geben müssen.

II. Diabetische Harne. Dieselben wurden nach Filtration 1. polarisiert, 2. mit Fehlingscher Lösung titriert, 3. spektralanalytisch untersucht, mit dem in der folgenden Tabelle 4 dargestellten Ergebnis.

Tabelle 4. Spektralanalytische Zuckerbestimmung im diabetischen Harn.

Nummer des Versuchs	Polarimetrische Bestimmung		Titrimetrische Bestimmung			Spektralanalytische Bestimmung			
	Drehung im 1 dm Rohr	Zucker-gehalt des Harns %	Ver-dünnung des Harns	Menge der verbrauchten zuckerhaltigen Lösung ccm	Zucker-gehalt des Harns %	Ver-dünnung des Harns	Breite der Absorption in Teilstrichen der Skala	Zucker-gehalt des verdünnten Harns %	Zucker-gehalt des Harns %
1	1,10 °	2,1	3 fach	26	2,7	5 fach	7,4	0,6	} 3,0
						10 "	7,7	0,3	
						20 "	8,0	0,15	
2	2,55 °	5,0	5 "	21,5	5,3	10 "	7,4	0,6	} 6,0
						20 "	7,7	0,3	
						40 "	8,0	0,15	
3	0,20 °	0,38	unverdünnt	31	0,76	5 "	8,0	0,15	0,75
4	1,25 °	2,4	3 fach	24	3,0	10 "	7,7	0,3	} 3,0
						20 "	8,0	0,15	
						40 "	8,3	0,07	
5	0,08 °	< 0,2	unverdünnt	etwa 75	< 0,3	2 "	8,0	0,15	} 0,3
						4 "	8,3	0,07	

Man sieht, daß die polarimetrischen Werte Mindestwerte sind; dies hängt offenbar damit zusammen, daß der zuckerfreie Harn etwas links dreht; die spektralen Werte sind denen der titrimetrischen Methode gleich oder etwas höher; von 0,5% abwärts wird das polarimetrische wie das titrimetrische Verfahren unsicher, während die spektrale Untersuchung ihre Schärfe behält.

Nachdem die Brauchbarkeit der Methode in dieser Weise festgestellt war, erfolgten die Anwendungen auf Fleischauszüge.

Zur Bereitung der Fleischauszüge wurde, wie folgt, verfahren: 100 g frisches, von Sehnen, Fett usw. befreites und in der Maschine zerkleinertes Fleisch werden in der Reibschale mit 125 ccm Wasser, das in kleinen Portionen nach und nach zugesetzt wird, zu einem gleichmäßigen Brei verrieben. Dieser wird in ein Becherglas gefüllt und mit einigen Tropfen Essigsäure versetzt; das Becherglas mit dem Brei wird tariert, darauf der Inhalt unter Umrühren zum Sieden erhitzt und kurze Zeit im Sieden erhalten. Das verdunstete Wasser wird danach auf der Tariervage wieder zugewogen. Dann läßt man den Brei, mit einem Uhrglas bedeckt, einen Tag lang stehen. Während dieser Zeit gleicht sich die Konzentration der wässerigen Lösung im Innern der Fleischfasern und außerhalb derselben aus. Da Fleisch durchschnittlich 25% Trockensubstanz enthält, so besteht der Brei aus 200 ccm wässriger Lösung. Die Konzentration des Zuckers darin ist also halb so groß, als in dem angewendeten Fleisch. Nachdem der Brei einen Tag gestanden hat, wird er abgesaugt. Das Filtrat

ist bei Rind-, Hammel- und Pferdefleisch durch das Hämoglobin etwas rötlich gefärbt, bei Schweine- und Kalbfleisch erscheint es hellgelblich; es ist ziemlich klar, nur bei Schweinefleisch stärker trübe durch feinste Fetttropfchen. In diesen Filtraten wurde der Gehalt an Zucker bestimmt; die Umrechnung auf den Gehalt des Fleisches selbst geschieht, wie angedeutet, durch Multiplikation mit 2.

Versuch 1. In diesem Versuch sollte zunächst die Reaktion mit unverdünnten und verdünnten Fleischauszügen ausgeführt werden, um zu prüfen, ob die gefundenen Gehalte der Verdünnung proportional bleiben. Es ergab sich dabei, daß man die Auszüge auf das Doppelte, bei höheren Gehalten zweckmäßig auf das Vierfache verdünnen muß. Die unverdünnten Auszüge geben zu hohe Werte, weil die Bräunung derselben durch die bloße Wirkung der Schwefelsäure eine allgemeine Absorption bedingt, wodurch die Grenze des Absorptionsstreifens des Furolofarbstoffs etwas unscharf wird und ein wenig nach Rot hin verschoben erscheint. Bei Verdünnung auf das doppelte Volumen hört der störende Einfluß durch das Einsetzen einer Bräunung auf, wie man dies an den Zahlen der Tabelle 5 erkennt.

Tabelle 5. Spektralanalytische Zuckerbestimmung in Fleischauszügen.

Fleischauszug von:	Verdünnung	Breite der Absorption in Skalenteilstreichen	Gehalt des verdünnten Auszuges an Zucker %	Gehalt des Fleisches an Zucker %
Rindfleisch	1 fach	7,8	0,24	} 0,4
	2 „	8,2	0,09	
	4 „	8,4	0,05	
Kalbfleisch	1 „	7,6	0,4	} 0,6
	2 „	8,0	0,15	
	4 „	8,3	0,07	
Hammelfleisch	1 „	7,8	0,24	} 0,4
	2 „	8,2	0,09	
	4 „	8,4	0,05	
Schweinefleisch	1 „	7,3	0,8	} 1,0
	2 „	7,8	0,24	
	4 „	8,1	0,11	
	8 „	8,3	0,07	
Pferdefleisch	1 „	7,0	0,5	} 1,9
	2 „	7,5	0,24	
	4 „	7,8	0,11	
	8 „	8,1	0,07	

Des weiteren haben wir, ähnlich wie oben beim Harn, geprüft, ob den Fleischauszügen zugesetzter Traubenzucker richtig wiedergefunden wird. Die Prüfung fiel bejahend aus; auf die Wiedergabe der betreffenden Zahlenwerte kann verzichtet werden. Zugleich ergab die Prüfung, daß der Anteil, der von dem Filter zuerst abfließt, und jener, der aus dem Brei später abgesaugt wird, sich gleich verhalten. Auch gibt der Auszug von Fleischbrei, der nicht durch Auskochen, sondern durch eintägiges Stehenlassen des Breies mit Wasser gewonnen wurde (zur Sterilisierung war der Brei mit

Chloroform versetzt), im wesentlichen die gleichen Zuckerwerte, wie der gekochte Auszug. Das Auskochen ist indessen nicht nur grundsätzlich, sondern auch wegen der damit verbundenen leichteren Filtration vorzuziehen.

Die Auszüge von Rind-, Kalb-, Hammel-, Schweinefleisch geben keine Glykogenreaktion mit Jodlösung; beim Pferdefleisch-Auszug ist sie positiv, aber nicht sehr stark, entsprechend dem Umstand, daß das in den Muskelfasern abgelagerte Glykogen nicht zu diffundieren vermag und daher nur wenig Glykogen in den Auszug gegen kann.

Versuch 2. Nunmehr wurde die spektralanalytische Methode mit dem Reduktionsverfahren in ammoniakalischer Lösung nach Peska¹⁾ verglichen, das von Polenske²⁾ auf die Bestimmung des Zuckers in Fleischauszügen angewendet worden ist. Man läßt dabei in 100 ccm der von Peska angegebenen ammoniakalischen Kupfersulfatlösung, die, mit Paraffinöl bedeckt, in einem Becherglas auf etwa 85° erhitzt wird, aus einer Bürette solange den Fleischauszug zulaufen, bis nach zwei Minuten Reaktionsdauer die blaue Farbe der Kuprisalzlösung verschwunden ist. Aus der verbrauchten Anzahl ccm ergibt sich der Zuckergehalt nach einer von Peska mitgeteilten Tabelle.

Zur Reduktion wurden die, wie oben beschrieben, gewonnenen Fleischauszüge benutzt, ohne daß sie zuvor durch Behandlung mit Tierkohle und Eindampfen einer umständlichen Vorbereitung unterworfen worden wären. Die Kupferlösung wird bei der Reduktion mit diesen Fleischlösungen nicht farblos, sondern der Farbenton geht in ein schmutziges, rötliches Braun über. Hierdurch wird die Bestimmung des Endpunktes der Titration ungenau. Aber davon abgesehen scheint auch die Reaktion selbst wechselnd zu verlaufen; denn es wurden nach diesem Verfahren bald höhere, bald niedrigere Zuckerwerte erhalten, als nach der spektralanalytischen Bestimmung. Es scheint danach, daß das Reduktionsverfahren mit ammoniakalischem Kupfersulfat für Fleischauszüge, wenn man nicht vorher eine umständlichere Reinigung mit ihnen vornimmt, ohne deutlichen Vorteil ist.

Folgendes sind die bei der Gegenüberstellung beider Methoden erhaltenen Gehalte an Zucker (vergl. Tabelle 6, Seite 73). Die angegebenen Auslöschungsgrenzen sind stets in mehreren Parallelversuchen übereinstimmend gefunden worden.

An den in beiden Versuchsreihen (vergl. Tab. 5 u. 6) erhaltenen Werten für den Zuckergehalt des Fleisches fällt auf, daß sie vielfach höher sind, als diejenigen, welche W. Niebel³⁾ und E. Polenske⁴⁾ fanden. Niebels höchster Wert beträgt 0,42% für Pferdefleisch, Polenskes höchster Wert beträgt 0,56% für Rindfleisch nach vorhergegangener Inversion. Ob die von den genannten Autoren untersuchten Fleischproben tatsächlich erheblich weniger Zucker enthielten, wie diejenigen, welche in dieser Arbeit vorgelegen haben, oder ob die Unterschiede zum Teil durch die Methode bedingt sind, muß dahingestellt bleiben. An und für sich ist vor auszusehen,

¹⁾ a. a. O.

²⁾ a. a. O.

³⁾ Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene **1**, 210 (1891).

⁴⁾ a. a. O.

Tabelle 6. Vergleich der spektralanalytischen Methode mit der Reduktionsmethode nach Peska zur Bestimmung des Zuckers in Fleischauszügen.

Fleischauszug von:	Reduktionsmethode		Spektralanalytische Methode			
	Verbrauchte Menge der zuckerhaltigen Lösung nach Peska ccm	Gehalt des Fleisches an Zucker %	Verdünnung des Auszugs zur Spektral- analyse	Breite der Absorption in Skalen- teilstrichen	Gehalt des verdünnten Auszugs an Zucker %	Gehalt des Fleisches an Zucker %
Rindfleisch 1	40	0,4	2 fach	8,4	0,05	0,2
Hammelfleisch 1	23,5	0,7	3 „	{ 8,1 8,0 }	0,13	0,78
Pferdefleisch	23	0,7	5 „	8,0	0,15	0,75
Rindfleisch 2	55	0,3	2 „	8,3	0,07	0,28
Kalbfleisch	45	0,4	2 „	8,0	0,15	0,6
Schweinefleisch	58	0,3	2 „	8,4	0,05	0,2
Hammelfleisch 2	45	0,4	2 „	8,0	0,15	0,6

daß der Zuckergehalt der Muskeln den größten Schwankungen unterworfen sein wird; denn der Zucker ist erstens als Vorratsstoff von dem augenblicklichen Zustande des Muskels zur Zeit des Todes sehr abhängig, zweitens nimmt seine Menge nach dem Tode teils durch Milchsäurebildung während der Totenstarre, teils durch Übergang in andere Stoffe bei der Einwirkung der Bakterien rasch ab. Erst nach dem Verbrauch des Zuckers setzt die eigentliche Fäulnis des Fleisches ein¹⁾.

Was die Zuverlässigkeit der spektralanalytischen Methode im Vergleich zu der Reduktionsmethode anlangt, so erscheint es berechtigt, die spektralanalytische Methode als diejenige zu bezeichnen, nach der man sicherer arbeiten kann. Daneben mag die einfache und rasche Ausführung dem Verfahren zur Empfehlung dienen. Nur ist stets im Auge zu behalten, daß man damit nicht eigentlich Traubenzucker allein, sondern die Gesamtheit vorhandener Kohlenhydrate im Fleisch bestimmt.

Berlin, im März 1908.

¹⁾ Vergl. Tissier u. Martelly, Annales de l'Institut Pasteur **16**, 865—903 (1902). Die Autoren geben an, daß Fleisch durchschnittlich 1% Glukose enthalte.

Über Krabbenextrakt.

Von

Dr. Hermann Barschall,

wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

In der Arbeit von Baur und mir „Beiträge zur Kenntnis des Fleischextraktes“ (Seite 1 u. ff.) wurden die Ergebnisse von Untersuchungen mitgeteilt, deren Zweck es war, ein erweitertes Urteil über die Verteilung des Stickstoffs im Fleischextrakte und in den sogenannten „Peptonen“ zu gewinnen. Zum Vergleich mit diesen verbreiteten Erzeugnissen sollte auch Fischextrakt zur Untersuchung herangezogen werden; jedoch gelang es damals nicht, ein solches Präparat aufzufinden. Inzwischen ist hier ein Extrakt von Krabben bekannt geworden, dessen Analyse im Zusammenhange mit den einschlägigen früheren Untersuchungen von Interesse zu sein schien. Es sei deshalb im folgenden der analytische Befund nachtragsweise kurz mitgeteilt und mit den früheren Daten verglichen.

Bereits im Anfang des vorigen Jahres machten Ackermann und Kutscher¹⁾ Krabbenextrakt zum Gegenstand einer Untersuchung. Die Verfasser heben hervor, daß das von ihnen untersuchte Extrakt von den meisten Handelsmarken desselben Namens, welche in der Hauptsache aus Fett und wenig löslichen Extraktstoffen bestanden, grundverschieden war. Dasselbe gilt für das hier untersuchte Erzeugnis, dessen Eigenschaften der von Ackermann und Kutscher gegebenen Beschreibung entsprechen. Es hatte das Aussehen einer dunkelrotbraun gefärbten Paste, besaß einen deutlichen Krebsgeruch, war frei von Fett und lieferte eine stark rötlich gefärbte Lösung, bei deren Herstellung ein kristallinisches Sediment hinterblieb. Der Farbstoff ließ sich der wässerigen Lösung weder mit Äther noch mit Benzol oder Chloroform entziehen und dürfte als ein dem Extrakt eigentümlicher, natürlicher Farbstoff zu betrachten sein.

Mit der vorliegenden Untersuchung war nicht beabsichtigt, alle einzelnen stickstoffhaltigen Bestandteile des Extraktes zu ermitteln; inbezug hierauf und insbesondere auf die Zerlegung des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs in verschiedene basische Komponenten sei auf die Versuche von Ackermann und Kutscher²⁾ verwiesen. Die hier mitzuteilenden Versuche beschränken sich vielmehr auf die Be-

¹⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel XIII, 1907, I, S. 180, 610.

²⁾ a. a. O.

stimmung des Stickstoffs nach den von Baur und Barschall für Fleischextrakt ausgearbeiteten Methoden.⁷

Zur Bestimmung der Aminosäuren nach dem Verfahren von E. Fischer wurde eine wässrige Lösung von Krabbenextrakt mit Schwefelsäure angesäuert und mit schwefelsäurehaltiger Natriumphosphorwolframatlösung versetzt. Danach wurde von dem entstandenen Niederschlage und gleichzeitig von dem zurückgebliebenen Sediment des Krabbenextraktes abfiltriert, das Filtrat alkalisch gemacht, von dem sich dabei abscheidenden Calciumphosphat abfiltriert und das nunmehr erhaltene Filtrat mit einer 5%igen ätherischen Lösung von β -Naphtalinsulfochlorid 18 Stunden lang geschüttelt. Danach sind die Aminosäuren in die β -Naphtalinsulfonaminosäuren übergeführt, welche als Salze in der wässrigen Schicht gelöst enthalten sind. Die wässrige Schicht wird nach dem Abtrennen der ätherischen Schicht mit Salzsäure übersättigt, der hierbei entstehende Niederschlag der β -Naphtalinsulfonaminosäuren gesammelt und der Stickstoff darin nach Kjeldahl bestimmt. Die erhaltenen Werte werden schließlich für den in Lösung gebliebenen Anteil der Säuren korrigiert, indem pro Liter ursprünglicher wässriger Lösung 0,02 g zu dem gefundenen Stickstoffwert hinzugefügt werden. — Zur Bestimmung von Kreatinin und Kreatin wurde wie in der früheren Arbeit die Farbreaktion des Kreatinins mit alkalischer Pikratlösung nach der Methode von Jaffé¹⁾ benutzt. Die Kreatininmenge wird kolorimetrisch durch Vergleich mit einer bestimmten Kaliumbichromatlösung ermittelt, deren Farbstärke einer Kreatininpikratlösung von bekannter Konzentration gleich ist. Zur Bestimmung des Kreatins hat man das Kreatin durch Behandeln mit Salzsäure in der Wärme in Kreatinin überzuführen. Zur Anwendung der kolorimetrischen Methode ist es notwendig, den Farbstoff des Extrakts nach Möglichkeit zu entfernen. Zu diesem Zweck mußte die Lösung des Extrakts mit Tierkohle aufgeköcht und filtriert werden. Um zu zeigen, daß etwa vorhandenes Kreatinin nicht durch Tierkohle adsorbiert wird, wurde ein Parallelversuch mit verdünnter (0,1%iger) Kreatininlösung gemacht. Es zeigte sich, daß die Reaktion in dem Filtrat von der mit Tierkohle behandelten Kreatininlösung deutlich eintrat. Im übrigen wurde verfahren, wie in der früheren Abhandlung S. 11—15 angegeben ist. Jedoch konnte weder Kreatin noch Kreatinin in dem Krabbenextrakt nachgewiesen werden. Auch Albumosen waren in dem Extrakt in nachweisbarer Menge nicht vorhanden.

Abgesehen von den angeführten Bestimmungen waren zur Feststellung der Stickstoffbilanz des Krabbenextraktes noch die Mengen des Gesamtstickstoffs, des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs und des Ammonium-Stickstoffs zu ermitteln, was in der üblichen Weise geschah.

Nachstehend sind die Untersuchungsergebnisse zusammengestellt:

1. Gesamt-Stickstoff des Extraktes einschließlich Sediment: 1,5 g Substanz verbrauchten 8,57 ccm n-HCl = 0,12 g N = 8,0% N, 1 g Substanz verbrauchten 5,26 ccm n-HCl = 0,074 g N = 7,4% N.

¹⁾ Literatur vergl. S. 11.

2. Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff: 3 g Substanz verbrauchten 5,76 ccm n-HCl = 0,081 g N = 2,7% N, 3 g Substanz verbrauchten 5,78 ccm n-HCl = 0,081 g N = 2,7% N.

3. Aminosäuren-Stickstoff: 30 g Substanz verbrauchten 17,40 ccm n-HCl, entsprechend 0,244 g N. Korrektur für die Löslichkeit des Niederschlages 0,02 g, also zusammen 0,264 g N = 0,9% N.

4. Ammonium-Stickstoff: 15 g Substanz verbrauchten 1,6 ccm n-HCl = 0,023 g N = 0,15% N.

Aus der nachstehenden Tabelle läßt sich die Verteilung des Stickstoffs im Krabbenextrakt im Vergleich mit derjenigen in den früher untersuchten Erzeugnissen entnehmen:

Erzeugnis	Gesamt-Stickstoff %	Phosphorwolframsäure-Stickstoff %	Kreatinin-Stickstoff %	Kreatin-Stickstoff %	Amino-Stickstoff %	Ammonium-Stickstoff %
Liebigs Fleischextrakt . . .	9,2	7,4	1,1	0,4	1,0	0,3
Neues Fleischextrakt . . .	9,0	7,4	1,1	0,2	0,8	—
Mercks Pepton e carne . . .	12,2	5,6	0,3	0,01	3,2	—
Wittes Pepton	14,3	12,6	0	0	0,5	—
Krabbenextrakt.	7,7	2,7	0	0	0,9	0,15

Aus der Tabelle ergibt sich zuerst, daß, wie schon Ackermann und Kutscher feststellten, das Kreatin und Kreatinin im Krabbenextrakt vollkommen fehlen. Auffällig ist ferner die geringe Menge des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs, sowie der Unterschied zwischen dem Gesamtstickstoff und der Summe der einzeln bestimmten Stickstoffmengen. Es muß demnach der Stickstoff noch in einer anderen Form, als in den hier ermittelten in dem Krabbenextrakt vorhanden sein. Diese noch aufzusuchen war, wie bereits angegeben, nicht Zweck der vorstehenden Untersuchung.

Berlin, im März 1908.

Maßanalytische Bestimmung von Ameisensäure und ihren Salzen.

Von

Dr. Friedrich Auerbach,
ständigem Mitarbeiter,

und

Dr. Jug. Werner Plüddemann,
früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter

im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Inhalt: Einleitung. — Die Titration von Quecksilberchlorid gegen Kaliumjodid. — Theoretische Ableitung der Korrekktionsfaktoren. — Die Reduktion von Quecksilberchlorid durch Ameisensäure und Formiate. — Die erforderlichen Lösungen und Maßgefäße. — Ausführung der Analyse. — Berechnung der Analyse. — Beleganalysen. — Zusammenfassung.

Einleitung.

Die außerordentliche Reaktionsfähigkeit der Ameisensäure und andererseits der Mangel an charakteristischen schwer löslichen Salzen oder Derivaten erschwert ihren qualitativen Nachweis, sowie ihre quantitative Bestimmung. Man ist deswegen auch trotz vieler Bemühungen noch zu keinem Bestimmungsverfahren gelangt, das unter allen Umständen angebracht und durchführbar wäre, wenn auch in fast allen Zweigen der analytischen Chemie Ameisensäurebestimmungen ausgearbeitet und empfohlen worden sind. Fast alle diese Methoden beruhen auf dem Prinzip, die Säure durch Anwendung von Oxydationsmitteln oder anderen Stoffen zu zersetzen und entweder die Reaktionsprodukte oder die Mengen des verbrauchten Reagens zu bestimmen. Die erstere, direkte Bestimmungsform ist nur von Wegener¹⁾ benutzt worden; er zerlegt die Ameisensäure mit starker Schwefelsäure in Wasser und Kohlenoxyd und mißt dieses gasvolumetrisch. Lieben²⁾ titriert Ameisensäure mit Permanganat in alkalischer Lösung, ein Verfahren, welches jedoch auch nach seiner eigenen Angabe nur bei Abwesenheit von anderen, hierbei oxydierbaren Substanzen angeht. Auch ist die Endreaktion selbst beim Titrieren in der Hitze nach Freyer³⁾ nur schwer erkennbar. Denselben Übelstand weist auch eine ältere Bestimmungsart von Klein⁴⁾ auf, nach welcher mit einem Überschuß von Permanganat oxydiert und dieser sodann in saurer Lösung mit Oxalsäure zurücktitriert wird. Den großen Nachteil dieser oxydimetrischen Methoden, daß zahlreiche fremde Substanzen neben Ameisensäure mitoxydiert und auf diese Weise mitbestimmt werden, haben auch die jodometrischen, wie sie von verschiedenen Seiten angegeben sind. So erwärmt Freyer³⁾ Ameisensäure

¹⁾ Zeitschr. f. anal. Chem. 42 (1903), 427.

²⁾ Monatshefte f. Chemie 14 (1893), 746.

³⁾ Chem. Zeitg. 19 (1895), 1184.

⁴⁾ Arch. d. Pharm. [3] 25 (1887), 522.

zwecks Oxydation mit Bichromat und Schwefelsäure und bestimmt den Überschuß an Bichromat durch Titration. Rupp¹⁾ oxydiert mit einer eingestellten Bromlauge oder — weniger genau — mit Jodsäure oder Bromsäure²⁾ und titriert den Überschuß jodometrisch. Endlich hat Nicloux³⁾ für geringe Ameisensäuremengen eine kolorimetrische Bestimmung mit Hilfe verschiedener Bichromatlösungen angegeben.

Neben Permanganat und Bichromat oxydiert bekanntlich Quecksilberchlorid Ameisensäure in neutraler Lösung zu Kohlendioxyd; jedoch ist das Oxydationspotential des Quecksilberchlorids bei seiner Reduktion zu Kalomel erheblich geringer, als das der erstgenannten Oxydationsmittel, so daß die Zahl der neben Ameisensäure oxydierbaren fremden Stoffe beschränkter ist. Deswegen gründet sich auf diese Reaktion eine weitere Reihe von Methoden. So beruht bereits die älteste Form der Ameisensäurebestimmung von Portes und Ruysen⁴⁾ auf der Reduktion einer abgemessenen Quecksilberchloridmenge zu Kalomel und nachfolgendem Zurücktitrieren des Quecksilberchloridüberschusses gegen Jodkalium. Die Titration wurde von Scala⁵⁾ als ungenau und korrektionsbedürftig erkannt und auf seinen Vorschlag durch die Wägung des Reduktionsproduktes Kalomel ersetzt. Diese gravimetrische Methode wurde sodann von Lieben⁶⁾ nachgeprüft und dahin berichtet, daß sie nur bei einem sehr großen Überschuß von Sublimat richtige Ergebnisse liefere. Leys⁷⁾ befand jedoch auch diese Bestimmungsart für ungenau und ersetzte sie durch eine äußerst langwierige und umständliche Methode, nach der durch Ameisensäure Mercuriacetat in Mercuroacetat übergeführt und dieses nach dem Auflösen in Salpetersäure mit Natriumchlorid als Kalomel gefällt und als solches gewogen wird. Die Unbrauchbarkeit dieses Verfahrens für eine oft erwünschte schnell ausführbare Analyse bewog Fin Sparre⁸⁾, die Portes und Ruysensche Methode wieder aufzunehmen, mit der er unter gewissen Bedingungen brauchbare Werte erhalten haben will. Coutelle⁹⁾ fand das Verfahren von Leys fehlerhaft, während ihm die gravimetrische Bestimmung nach Lieben-Scala unter Einhaltung bestimmter Bedingungen genaue Werte ergab.

Da nun die Reduktion von Sublimat für Ameisensäure viel charakteristischer ist, als jede andere der erwähnten Reaktionen, versuchten wir, sie zu einer bequemen Ameisensäurebestimmung auszugestalten, und, da eine Wägung des Kalomels nach Scala oder Leys zu langwierig für eine beabsichtigte große Anzahl von Ameisensäureanalysen schien, zudem aber auch ungenau ist, wegen der merklichen Flüchtigkeit von Kalomel oberhalb 100°¹⁰⁾, die alte Portes und Ruysensche titrimetrische Methode genauer auszuarbeiten. Hierüber wird im Folgenden berichtet.

¹⁾ Arch. d. Pharm. **243** (1905), 69.

²⁾ ibid. S. 98.

³⁾ Bull. soc. chim. [3] **17** (1897), 839.

⁴⁾ Compt. rend. **82** (1876), 1504.

⁵⁾ Gazz. chim. ital. **20** (1890), 393.

⁶⁾ a. a. O.

⁷⁾ Bull. soc. chim. [3] **19** (1898), 472.

⁸⁾ Zeitschr. f. anal. Chem. **39** (1900), 105.

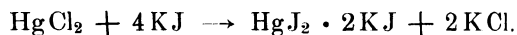
⁹⁾ Journ. f. prakt. Chem. [2] **73** (1906), 67.

¹⁰⁾ Leys, a. a. O.

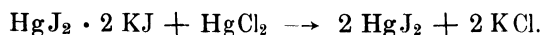
Die Titration von Quecksilberchlorid gegen Kaliumjodid.

Das Ameisensäurebestimmungsverfahren zerfällt in zwei Teile, Reduktion von Quecksilberchlorid zu Kalomel und Titration des Quecksilberchloridüberschusses mit Jodkalium. Während die erstere Reaktion unter geeigneten Bedingungen, wie später gezeigt werden wird, stets glatt verläuft, erkannten schon Portes und Ruysen, daß bei der Titration eine Korrektur anzubringen sei, und schreiben deswegen vor, dem gefundenen Werte „un quart“ hinzuzufügen; jedoch ist die Bedeutung dieser Vorschrift unklar. Sparre geht auf diese Ungenauigkeit nicht ein, dagegen gibt Classen¹⁾ bei der Besprechung der titrimetrischen Bestimmung von Jodkalium mit Quecksilberchlorid an, daß nur etwa 95% des angewendeten Kaliumjodids gefunden werden. Er bezeichnet die Methode daher nur als rohe, ohne auf die Beträge und Ursachen des Fehlers näher einzugehen.

Titriert man mit einer Quecksilberchloridlösung in Jodkaliumlösung, so findet zunächst folgender Vorgang statt:



Das entstehende Doppelsalz bleibt in Lösung und die Lösung bleibt dabei farblos bis schwach gelb. Nur beim Einfallen jedes Tropfens bildet sich etwas von der gelben Modifikation des Quecksilberjodids, löst sich aber beim Bewegen der Flüssigkeit noch vor der Umwandlung in die rote Modifikation wieder auf. Eine weitere Zugabe von Sublimat erzeugt dann eine bleibende Fällung von rotem Quecksilberjodid, deren Beginn sich als leichte rötliche Trübung deutlich bemerkbar macht. Bei längerem Stehen der Flüssigkeit scheint mitunter die Trübung wieder zu verschwinden; doch beruht dies meist nur auf einem Zusammenballen der feinen Suspension zu wenigen roten Körnchen. Der chemische Vorgang ist folgender:



Den Beobachtungen zufolge tritt nun bei der Zugabe von Quecksilberchlorid zu Kaliumjodidlösung die Ausscheidung von Quecksilberjodid stets zu früh ein, d. h. ehe die stöchiometrischen Verhältnisse der ersten Gleichung erreicht sind. Diese Abweichung findet jedoch ganz regelmäßig statt, und zwar in genauer Abhängigkeit von den Konzentrationsverhältnissen. Geht man stets von der gleichen Menge gleich starker Kaliumjodidlösung aus, so hängt der Wert des „Fehlers“ nur von dem Gesamtvolumen der Lösung am Schluß der Titration, also, wenn man Verdünnung mit Wasser vermeidet, nur von dem zur Titration verbrauchten Volumen der Quecksilberlösung oder, anders ausgedrückt, von deren Konzentration ab. Es konnte daher, zunächst rein empirisch, eine Korrektionstabelle ausgearbeitet werden, deren Benutzung die Bestimmung von Quecksilberchlorid mittels Kaliumjodid zu einer brauchbaren und recht genauen Analysenmethode macht.

Diese Korrektionstabelle wurde in der Weise bestimmt, daß eine Sublimatlösung von genau bekanntem Gehalt zu verschiedenen Konzentrationen verdünnt und mit

¹⁾ Mohrs Lehrb. d. Titrimethode 6. Aufl. (1886), S. 476.

diesen Lösungen in jeweils die gleiche Menge Kaliumjodidlösung titriert wurde. Das Verhältnis der stöchiometrisch berechneten zu der tatsächlich verbrauchten Menge Quecksilberchlorid ergibt für jede Konzentration den Korrektionsfaktor. Da man bei der praktischen Anwendung die Quecksilberkonzentration nicht kennt, sondern eben durch die Analyse ermitteln will, wurden die Faktoren nicht auf die Konzentration sondern auf die Anzahl ccm bezogen, welche gebraucht wurden, um in 2 ccm einer etwa 1,25-normalen, mit Silbernitratlösung genau eingestellten Jodkaliumlösung, entsprechend etwa 2,5 Millimol KJ, die Endreaktion hervorzurufen. Der Faktor bedeutet alsdann die Zahl, mit der die verbrauchte Anzahl ccm zu multiplizieren ist, um die Anzahl ccm zu erhalten, welche der Berechnung zugrunde zu legen ist. An einem Beispiel sei die Art der Bestimmung ausführlich erläutert.

Von einer Sublimatlösung, welche in 100 ccm 453,2 mg HgCl₂ enthielt, wurden zur Titration von 2,07 ccm¹⁾ einer eingestellten Jodkaliumlösung a) 35,35, b) 35,37, c) 35,40, d) 35,40, also im Mittel 35,38 ccm = 160,33 mg HgCl₂ verbraucht. 2,07 ccm¹⁾ Jodkaliumlösung entsprachen bei der Einstellung 25,04 ccm einer 0,09931-n Silberlösung, sind also äquivalent

$$\frac{25,04 \cdot 0,09931 \cdot 270,9}{4} = 168,41 \text{ mg HgCl}_2.$$

Daraus ergibt sich der Faktor zu $\frac{168,41}{160,33} = 1,050$.

In analoger Weise wurden die Faktoren für verschiedene Quecksilberchloridlösungen unter Anwendung stets der gleichen Jodkaliummenge bestimmt. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 1.

Zur Titration von 2,07 ccm etwa 1,25 normaler KJ-Lösung wurden verbraucht v ccm HgCl₂-Lösung, während sich v f ccm berechnen.

ccm HgCl ₂ — Lsg. v	Korrektions- faktor f	ccm HgCl ₂ — Lsg. v	Korrektions- faktor f
21,63	1,035	50,75	1,072
26,75	1,042	53,94	1,074
* 26,76	1,047	* 54,00	1,078
* 26,80	1,045	* 54,05	1,077
28,27	1,044	* 54,10	1,076
30,40	1,049	54,30	1,072
33,95	1,051	64,50	1,084
35,38	1,050	65,75	1,085
44,90	1,067	69,85	1,094
45,05	1,064	70,20	1,089
45,10	1,064		
45,15	1,063		

Wie aus der Tabelle 1 und ihrer graphischen Wiedergabe in Fig. 1 hervorgeht, steigen die Faktoren recht regelmäßig mit der Anzahl der zur Titration verbrauchten ccm Quecksilberlösung, d. h. mit deren Verdünnung. In den mit * bezeichneten

¹⁾ Mit Wasser ausgewogene Pipette.

Parallelversuchen wurden die Bedingungen der Titration verschiedentlich variiert, um die bei der Anwendung zur Ameisensäurebestimmung herrschenden Verhältnisse möglichst genau nachzuahmen. So wurden der Quecksilberlösung Natriumchlorid, Natriumacetat und Essigsäure in wechselnden Mengen zugesetzt; der Faktor änderte sich dabei jedoch nur um wenige Einheiten der dritten Dezimale, d. h. innerhalb der Fehlergrenzen der Methode. Auch ein Erhitzen der mit Natriumacetat versetzten Quecksilberlösung vor der Titration in der bei der Ameisensäurebestimmung später zu beschreibenden Weise, zur Prüfung auf etwaige Verflüchtigung kleiner Mengen von Quecksilberverbindungen, erwies sich ohne Einfluß.

Wie die Fig. 1 zeigt, liegen die Mittelwerte der gefundenen Korrekturfaktoren sehr annähernd auf einer geraden Linie. Mit Hilfe dieses Diagramms oder der folgenden, daraus entnommenen Interpolationstabelle kann man für jede Zahl verbrauchter ccm Quecksilberchloridlösung den zugehörigen Faktor ermitteln, mit dem diese Zahl zu multiplizieren ist.

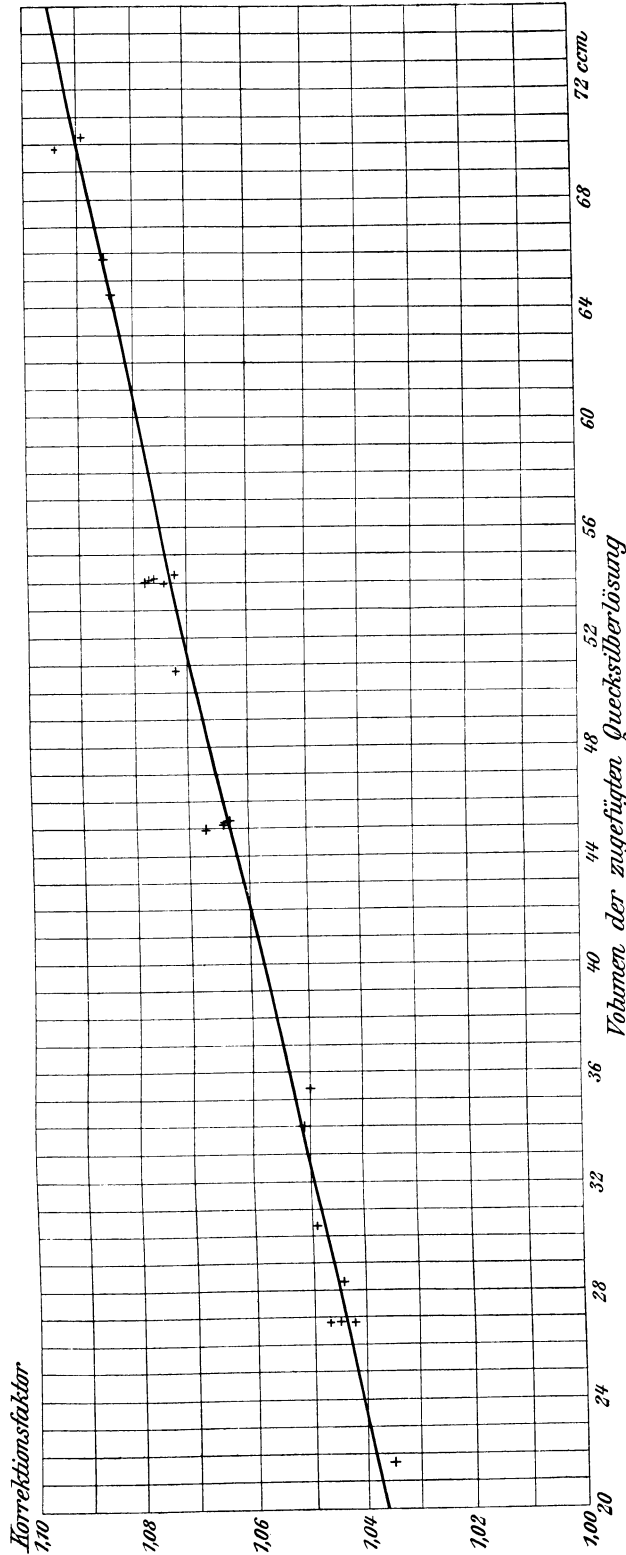


Fig. 1.
Korrekturfaktoren bei der Titration von Quecksilberchloridlösung in 2 ccm einer 1,25-normalen Kaliumjodidlösung.

Tabelle 2. Korrekturstabelle für die Titration von Quecksilberchloridlösung in 2 ccm einer 1,25-normalen Kaliumjodidlösung.

v = ccm Hg-Lösung, die bis zur beginnenden Rötung verbraucht sind.
f = Faktor, mit dem v zu multiplizieren ist, um die dem angewandten KJ äquivalente Menge Hg-Lösung zu finden.

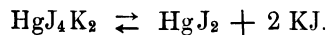
v	f	v	f
20	1,036	50	1,069
25	1,042	55	1,074
30	1,047	60	1,079
35	1,052	65	1,084
40	1,058	70	1,090
45	1,063	75	1,095

Da der Korrektionsfaktor von dem Endvolumen der Lösung im Titrationsgefäß abhängt, so darf diese vor oder während der Titration nicht mit Spülwasser verdünnt werden. Auch ist zu beachten, daß die Tabelle nur für die angegebene Menge Kaliumjodid gilt. Kleinere Abweichungen sind dabei allerdings belanglos, da eine Änderung der KJ-Menge um 1% den Korrektionsfaktor erst in der vierten Dezimale beeinflußt. Natürlich muß aber die absolute Menge des angewandten KJ genau bekannt sein, am besten durch Titration einer mit der gleichen Pipette wie beim eigentlichen Versuch entnommenen Probe der KJ-Lösung mittels Zehntelnormalsilberlösung unter Anwendung von Kaliumchromat als Indikator oder nach Volhard. Wir benutzten stets die gleiche Lösung, die durch Wägung reinsten, chlorid- und bromidfreien¹⁾ Kaliumjodids hergestellt, vor Licht geschützt aufbewahrt und von Zeit zu Zeit mit Silberlösung nachgeprüft wurde. Will man aus irgend einem Grunde von einer erheblich größeren oder kleineren Menge KJ ausgehen, so müßte hierfür die Korrekturstabelle neu bestimmt werden.

Theoretische Ableitung der Korrektionsfaktoren.

Die vorstehende Tabelle der Korrektionsfaktoren war rein empirisch aufgestellt worden. Wenn nun die Abweichungen von den stöchiometrischen Verhältnissen in der Tat auf unvollständige Bildung des Doppelsalzes $\text{HgJ}_2 \cdot 2 \text{KJ}$ zurückzuführen sind, so mußte eine theoretische Ableitung eine Kontrolle für die gefundene Kurve oder wenigstens eine Erklärung für ihren annähernd linearen Verlauf ermöglichen.

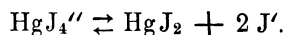
Nach der Annahme handelt es sich um die von beiden Seiten nur bis zu einem Gleichgewicht verlaufende Reaktion:



Bei der Titration wird dementsprechend die Doppelsalzbildung schon aufhören, ehe alles KJ verbraucht ist, und das weiter zugesetzte Quecksilberchlorid wird nunmehr nur noch Quecksilberjodid bilden, das seiner Schwerlöslichkeit wegen zum größten Teile ausfällt.

¹⁾ Vergl. S. 222, Fußnote.

Während Kaliumjodid und das komplexe Kaliummercurijodid in verdünnter Lösung weitgehend in ihre Ionen gespalten sind, ist die elektrolytische Dissoziation des Mercurijodids bekanntlich außerordentlich gering (der Dissoziationsgrad in gesättigter rein wässriger Lösung beträgt nur etwa 0,0001),¹⁾ sodaß sie praktisch vernachlässigt werden kann. Man kann daher die Reaktion einfacher schreiben:



Diesem Gleichgewicht entspricht die Massenwirkungsgleichung

$$[\text{HgJ}_2] \cdot [\text{J}']^2 = k \cdot [\text{HgJ}_4''] \quad (1)$$

wobei die eckigen Klammern die Konzentrationen der einzelnen Molekel- und Ionenarten, ausgedrückt als Mol in 1 Liter oder Millimol in 1 ccm, und k die Zerfallskonstante des komplexen Anions bedeuten.

Am Schluß der Titration ist die Lösung gerade an Mercurijodid gesättigt, $[\text{HgJ}_2]$ hat dann also die Bedeutung der Sättigungskonzentration, die wegen der verschwindend geringen elektrolytischen Dissoziation auch durch die Gegenwart gleichioniger Salze nicht merklich beeinflusst wird; dieser konstante Wert soll mit

l bezeichnet werden. Bedeuten ferner

a = Millimole HgCl_2 , die der angewandten Menge KJ nach der Reaktionsgleichung $\text{Hg}^{++} + 4 \text{J}' \rightarrow \text{HgJ}_4''$ äquivalent sind, also

4a = Millimole KJ in der angewandten Menge Jodkaliumlösung,

b = Millimole HgCl_2 in der tatsächlich zur Titration gebrauchten Menge der Quecksilberlösung,

$f = \frac{a}{b}$ = Korrektionsfaktor,

v = ccm HgCl_2 -Lösung, die zur Titration gebraucht werden,

v' = v + 2 = ccm Gesamtlösung am Schluß der Titration,

so ergeben einfache stöchiometrische Überlegungen, daß am Schlusse der Titration

$$[\text{HgJ}_4''] = \frac{b}{v'} - 1$$

und

$$[\text{J}'] = \frac{4(a-b)}{v'} + 2 \text{ l ist.}$$

Die Gleichgewichtsgleichung (1) nimmt daher für den Punkt der beginnenden Ausscheidung von HgJ_2 die Form an:

$$1 \cdot \left(\frac{4(a-b)}{v'} + 2 \right)^2 = k \left(\frac{b}{v'} - 1 \right)$$

oder

$$\frac{16(a-b)^2}{(v')^2} + \frac{16(a-b)l}{v'} + 4l^2 = \frac{k}{l} \left(\frac{b}{v'} - 1 \right) \quad (2)$$

Nun ist l, die Löslichkeit von Mercurijodid, nach den Angaben von Morse²⁾ bei 25° etwa $1,3 \cdot 10^{-4}$ Mol im Liter (bei niedrigerer Temperatur noch etwas kleiner), d. i. nur etwa 1% von dem mittleren Werte von $\frac{b}{v'}$ bei unseren Versuchen; ebenso beträgt

¹⁾ H. Morse, Zeitschr. f. physik. Chem. **41**, 733 (1902); vergl. M. S. Sherrill, Zeitschr. f. physik. Chem. **47**, 104 (1904).

²⁾ Zeitschr. f. physik. Chemie **41**, 731 (1902).

41² nur wenige Prozente von dem mittleren Werte der linken Seite von Gleichung (2). Zur Vereinfachung der Rechnung kann man daher diese beiden Glieder vernachlässigen und näherungsweise setzen:

$$\frac{16 (a-b)^2}{(v')^2} + \frac{16 (a-b)l}{v'} = \frac{k \cdot b}{l \cdot v'} \quad (3)$$

Da es darauf ankommt, den Faktor f als Funktion von v' darzustellen, so setzt man zweckmäßig in Gleichung (3) $\frac{a}{f}$ für b ein. Man erhält dann nach einigen Umformungen die quadratische Gleichung:

$$f^2 (a + lv') - f \left[2a + v' \left(\frac{k}{16l} + 1 \right) \right] + a = 0$$

und als deren Auflösung:

$$f = 1 + \frac{v'}{2a + 2lv'} \left[\frac{k}{16l} - 1 \pm \sqrt{\frac{ak}{4lv'} + \left(\frac{k}{16l} + 1 \right)^2} \right] \quad (4)$$

Gleichung (4) stellt also die gesuchte Abhängigkeit des Korrektionsfaktors f von dem Flüssigkeitsvolumen v' und den Konstanten a , k und l dar, wobei sich sofort ergibt, daß nur der positive Wert der Wurzel einen Sinn hat, da nach den gemachten Annahmen wie auch auf Grund der Versuche $f > 1$ sein muß.

Gleichung (4) läßt sich aber noch weiter vereinfachen. Zunächst ist $2lv'$ bei unseren Versuchen im Mittel nur etwa 1% von $2a$, kann also daneben vernachlässigt werden, was den Wert von f erst in der vierten Dezimale beeinflusst. Ferner geht aus Versuchen von Sherrill (s. w. u.) hervor, daß k , die Zerfallskonstante des komplexen Mercurijodid-Anions, von der Größenordnung 10^{-6} bis 10^{-7} , also k/l von der Größenordnung 10^{-2} bis 10^{-3} ist; daraus folgt, daß das zweite Glied unter der Wurzel $\left(\frac{k}{16l} + 1 \right)^2$ nur etwa 1–2% des ersten Gliedes $\left(\frac{ak}{4lv'} \right)$ ausmacht und daher ebenfalls vernachlässigt werden kann. Führt man beide Vereinfachungen, die in entgegengesetzter Richtung wirken und sich daher teilweise aufheben, aus, so ergibt sich

$$f = 1 + \frac{v'}{2a} \left[\frac{k}{16l} - 1 + \sqrt{\frac{ak}{4lv'}} \right]$$

und nach einer kleiner Umformung

$$f = 1 + v' \left(\frac{r}{2} - s \right) + \sqrt{rv'} \quad (5)$$

worin $r = \frac{k}{16al}$ und $s = \frac{1}{2a}$ gesetzt ist.

Die Gleichung (5) zeigt zunächst qualitativ, in Übereinstimmung mit den Versuchen, daß der Korrektionsfaktor f bei konstanter Jodkaliummenge a mit steigendem Flüssigkeitsvolumen v' zunimmt. Allerdings ist die Abhängigkeit keine lineare; berücksichtigt man aber, daß v' sich in unseren Versuchen nur zwischen etwa 20 und 75 bewegt, so berechnet sich leicht, daß der Neigungswinkel der Kurve in diesem Intervall nur wenig sich ändert, die Gestalt der Kurve also nur wenig von einer Geraden abweicht.

Zur Auswertung von f auf Grund von Gleichung (5) sind nun für die Konstanten a , k und l die entsprechenden Zahlenwerte einzusetzen. Da bei den Versuchen die

angewandte Kaliumjodidmenge = 4 a stets sehr annähernd 2,5 Millimol betrug, so ist $a = 0,625$. Die Löslichkeit des Mercurijodids, l, beträgt nach Morse, wie oben bereits erwähnt, bei 25° $1,3 \cdot 10^{-4}$ Mol/lit.; bei $17,5^{\circ}$ wurde sie von Bourgoïn¹⁾ zu $0,9 \cdot 10^{-4}$ bestimmt. Man kann daher für Zimmertemperatur l rund $= 10^{-4}$ setzen. k, die Komplexzerfallskonstante des Anions HgJ_4'' in HgJ_2 und 2 J' hat M. S. Sherrill²⁾ durch Verteilung von HgJ_2 zwischen Benzol und einer wässrigen KJ-Lösung bei 25° zu ermitteln versucht; die dabei erhaltenen Werte (die er in reziproker Form, als Komplexbildungskonstanten angibt) schwanken jedoch zwischen $1,7 \cdot 10^{-6}$ und $3,2 \cdot 10^{-7}$. Da zudem der Einfluß der Temperatur auf die Konstante nicht bekannt ist, zogen wir es vor, k zunächst als unbekannt anzunehmen. Durch Probieren ergab sich dann, daß ein Wert von $k = \text{etwa } 10^{-7}$ einem mittleren Punkte der empirischen Kurve entspricht. Wir nahmen daher $k = 10^{-7}$ als annähernden Wert der Zerfallskonstante $\frac{[HgJ_2] \cdot [J']^2}{[HgJ_4'']}$ bei Zimmertemperatur an, was mit den Ergebnissen von Sherrill nicht in Widerspruch steht. Mit den Werten

$$\begin{array}{l} a = 0,625 \quad l = 10^{-4} \quad k = 10^{-7}, \\ \text{also} \quad r = 10^{-4} \quad s = 8 \cdot 10^{-5} \end{array}$$

wurden dann nach Gleichung (5) für einzelne Werte von v' die zugehörigen Korrektionsfaktoren berechnet und mit den empirisch gefundenen (aus Tab. 2 entnommenen) verglichen. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 3 zusammengestellt und in Fig. 2 graphisch veranschaulicht.

Tabelle 3. Vergleich der theoretisch berechneten und empirisch gefundenen Korrektionsfaktoren f bei der Titration von Quecksilberchloridlösung in Kaliumjodidlösung.

(Vergl. Tabelle 2).

$v = \text{ccm Hg-Lösung, die zur Titration verbraucht sind.}$
 $v' = v + 2 = \text{ccm Gesamtlösung am Schluß der Titration.}$

v	v'	f berechnet	f gefunden
25	27	1,051	1,042
30	32	1,056	1,047
35	37	1,060	1,052
40	42	1,064	1,058
45	47	1,067	1,063
50	52	1,071	1,069
55	57	1,074	1,074
60	62	1,077	1,079
65	67	1,080	1,084
70	72	1,083	1,090

Die recht befriedigende Übereinstimmung zwischen Rechnung und Versuch läßt schließen, daß die zugrunde gelegten Annahmen im allgemeinen richtig sind, daß also die Abweichung von den stöchiometrischen Verhältnissen bei der Titration auf

¹⁾ Landolt-Börnstein-Meyerhoffer, Tabellen, 3. Aufl., S. 541.

²⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. 48, 724 (1903).

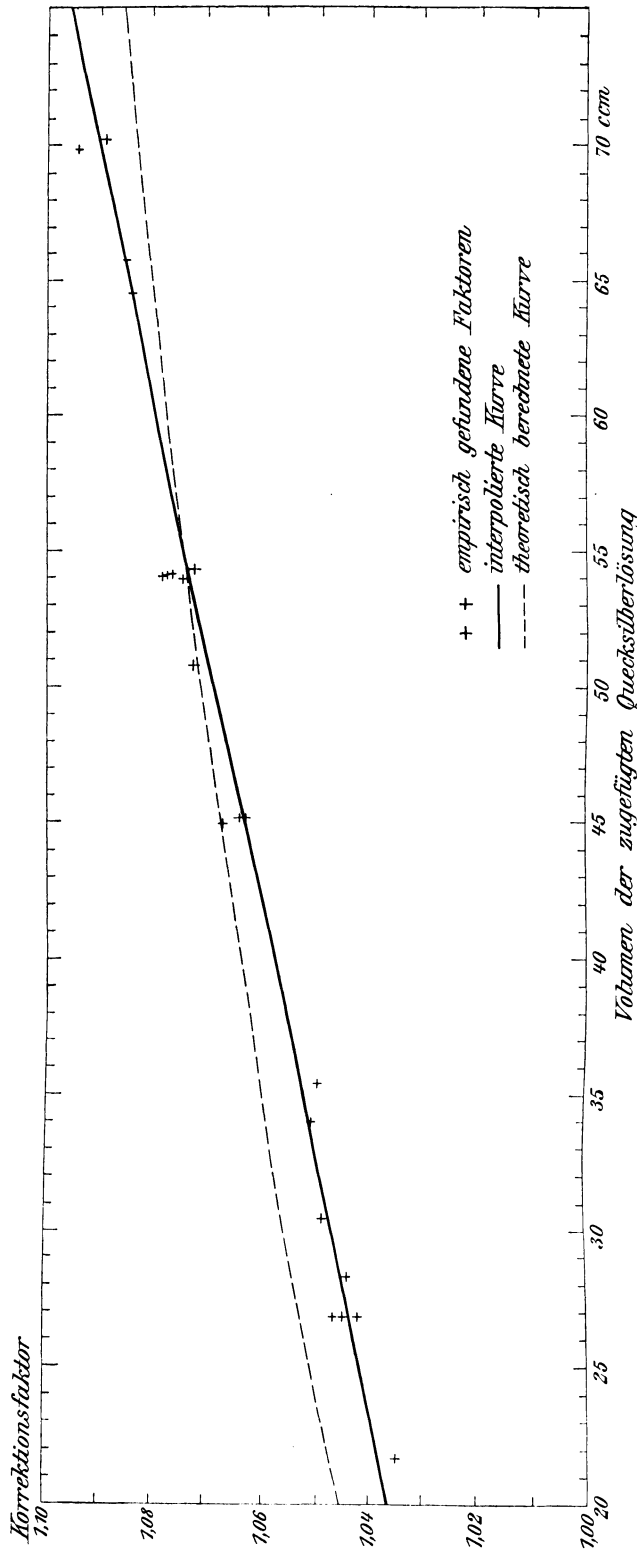


Fig. 2. Vergleich der theoretisch berechneten und empirisch gefundenen Korrekturfaktoren bei der Titration von Quecksilberchloridlösung in 2 ccm einer 1,25-normalen Kaliumjodidlösung

dem teilweisen Zerfall oder der unvollständigen Bildung des Doppelsalzes HgJ_4K_2 beruht. Die Abweichungen der theoretischen von der empirischen Kurve sind zurückzuführen auf die Unsicherheit der Werte von l und k , auf einige Vernachlässigungen bei der Rechnung (z. B. die Annahme völliger elektrolytischer Dissoziation von KJ und HgJ_4K_2), endlich aber auf den Umstand, daß in den Lösungen, besonders den konzentrierteren (kleines v'), neben dem Doppelsalz $(\text{HgJ}_2)_2(\text{JK})_2$ noch ein anderes, quecksilberreicheres, $(\text{HgJ}_2)_3(\text{JK})_3$, in merklichen Mengen anzunehmen ist, wie aus den Untersuchungen Sherrills¹⁾ hervorgeht. Die Bildung eines solchen Doppelsalzes muß natürlich den Quecksilberverbrauch erhöhen, also das Zurückbleiben hinter den stöchiometrischen Verhältnissen verringern, d. h. den Korrekturfaktor kleiner machen, als er sich nach unseren Annahmen berechnet.

Von der Gegenwart anderer Anionen, wie Cl' und $\text{CH}_3\text{CO}_2'$, ist in Übereinstimmung mit den Versuchen eine merkliche Stö-

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. 48, 724, 726, 738 (1903).

rung nicht zu erwarten, da die elektrolytische Dissoziation der entsprechenden Mercurisalze größer, ihre Komplexbildungstendenz aber geringer ist als beim Jodid.

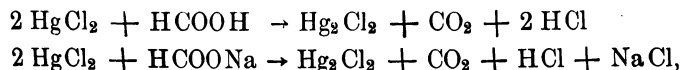
Aus der Gleichung (5) geht auch hervor, daß bei einer Veränderung des Wertes von a , d. h. wenn man von einer anderen Kaliumjodidmenge ausgeht, auch der Korrektionsfaktor f sich ändern muß, und zwar im umgekehrten Sinne. Zur Prüfung dieser Folgerung wurden Kaliumjodidlösungen hergestellt, die statt 1,25-normal 1-n bzw. 1,5-n waren, und mit verschiedenen starken Quecksilberlösungen einige Titrationen in je 2 ccm dieser Lösungen ausgeführt. Andererseits wurden nach Gleichung (5) mit den entsprechenden a -Werten die theoretischen Kurven für die Korrektionsfaktoren berechnet, die in geringer Entfernung von der für $a = 0,625$ berechneten Kurve nahezu parallel zu dieser verlaufen. Die empirisch für die beiden Kaliumjodidlösungen gefundenen Punkte lagen den entsprechenden theoretischen Kurven etwa ebenso nahe, wie bei der 1,25-n Lösung. Daß bei kleinen Abweichungen der angewandten Kaliumjodidmenge von dem Werte 2,5 Millimol (etwa um 1—2%) die Änderung des Faktors wegen ihrer Geringfügigkeit nicht berücksichtigt zu werden braucht, ist bereits oben erwähnt worden (S. 214).

Natürlich wird man für Berechnung von Analysen nicht die theoretischen, sondern die tatsächlich gefundenen Korrektionsfaktoren nach Tab. 2 benutzen. Eine Unsicherheit der Faktoren kommt bei der Anwendung zur Ameisensäurebestimmung nicht etwa mit ihrem vollen Betrage, sondern in der Regel nur mit einem kleinen Bruchteile zur Geltung, da man ja nur das überschüssige Quecksilberchlorid zurücktitriert und den Überschuß tunlichst klein wählen wird.

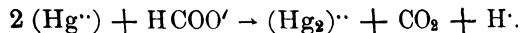
Die Reduktion von Quecksilberchlorid durch Ameisensäure und Formiate.

Nach Ausarbeitung der titrimetrischen Bestimmung des überschüssigen Mercurichlorids war es notwendig, die vorangehende Reduktion desselben zu Mercurchlorid (Kalomel) durch Ameisensäure und ihre Salze einer Nachprüfung zu unterziehen.

Beim Erwärmen einer Sublimatlösung mit einer wässrigen Lösung von Ameisensäure oder Formiaten entwickelt sich Kohlendioxyd, und Kalomel schlägt sich nieder. Die chemische Umsetzung dabei entspricht den Formeln:



oder einfacher, in Ionenform geschrieben, für beide Fälle:



Die Reaktion würde jedoch in dieser Richtung nicht vollständig verlaufen, da mit zunehmender Wasserstoffionenkonzentration (d. h. zunehmender Acidität) das Oxydationspotential des Mercuri-Mercurgemisches so weit sinkt, daß die Oxydation des Formiat-Ions zum Stillstand kommt. Es ist also nötig, die Acidität auf einem kleinen Werte festzuhalten; dies geschieht am einfachsten durch Zusatz reichlicher Mengen von Acetaten, wobei durch die Acetationen die entstehenden Wasserstoffionen unter Bildung undissoziierter Essigsäure abgefangen werden, bis auf die sehr geringe Menge, die der Dissoziation von Essigsäure bei Gegenwart eines großen Über-

schusses von Acetat entspricht und die das Oxydationsvermögen von HgCl_2 gegenüber Formiat nicht mehr beeinflusst.

Demgemäß hatten schon Portes und Ruysen für die Reduktion den Zusatz von Natriumacetat vorgeschrieben, um die freiwerdende Salzsäure in dem Maße, wie sie entsteht, sofort abzusättigen. Diese Vorschrift scheint jedoch vielfach (z. B. auch von Lieben und von Coutelle) übersehen worden zu sein.

Welche Konzentration an Natriumacetat nötig ist, um die H-Ionenkonzentration genügend zurückzudrängen, wurde durch einige Versuche ermittelt. Zur Anwendung kamen stets die gleichen Mengen Ameisensäure und Quecksilberchlorid in einem Gesamtvolumen von 60—80 ccm, und die Analysen wurden in der später zu beschreibenden Weise ausgeführt. Es wurde gefunden

bei Zusatz von 0,7 g	$\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$	107,1 mg	HCOOH
„ „ „	1 „	107,9 „	„
„ „ „	2 „	108,5 „	„
„ „ „	3 „	108,5 „	„
„ „ „	4 „	108,5 „	„
„ „ „	5 „	108,4 „	„

Danach wären 2 g Natriumacetat gerade ausreichend, zur Sicherheit wurden jedoch stets 3 g auf das 60—80 ccm betragende Volumen der Gesamtlösung verwandt. Wie man sieht, ist viel mehr Natriumacetat erforderlich, als zur Absättigung der Ameisensäure und der entstehenden Salzsäure gebraucht wird; der größte Teil dient eben zur Zurückdrängung der Dissoziation der entstehenden Essigsäure.

Läßt man das Natriumacetat ganz weg, so werden bei der Analyse von Ameisensäure unter Umständen ganz falsche Ergebnisse erhalten, z. B. statt 110,5 mg Ameisensäure 28,0 mg—37,0 mg—38,3 mg, je nach dem Überschuß an Sublimat.

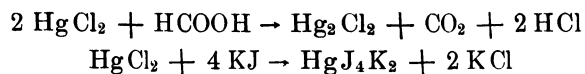
Neben dem Zusatz von Natriumacetat sind Dauer und Art des Erhitzens für die Vollständigkeit der Reduktion von Wichtigkeit. Ein Erwärmen auf dem Dampfbade erwies sich als unzureichend, dagegen wurden genaue Ergebnisse erhalten, wenn die Reaktionsflüssigkeit in kleinen langhalsigen Kölbchen, die sich im siedenden Wasserbade befanden, zwei Stunden lang erhitzt wurde. Die Kölbchen dürfen nicht bis zum Halse angefüllt sein, damit die Flüssigkeit bei der Kohlendioxydentwicklung nicht überschäumt, und der Hals muß aus dem Bade herausragen. Diese einfache Kühlung genügt bereits, um ein Verdampfen von freier Ameisensäure zu verhindern, die zudem bei reichlichem Acetatzusatz nur in sehr geringer Konzentration vorhanden sein kann. Dagegen wurden beim Erhitzen in offenen Schalen auf dem Wasserbade Verluste von Ameisensäure durch Verflüchtigung beobachtet, während Quecksilberchlorid auch unter diesen Umständen nicht merklich flüchtig war.

Die erforderlichen Lösungen und Maßgefäße.

Die von Portes und Ruysen und ihren Nachfolgern angegebenen Konzentrations- und Mengenverhältnisse erscheinen wenig zweckmäßig; jene führen nämlich die Reduktion in einem so großen, nachher noch weiter zu verdünnenden Flüssigkeitsvolumen aus, daß von der Gesamtflüssigkeit (wenn man nicht unbequem große

Büretten oder für eine Titration zahlreiche Bürettenfüllungen benutzen will), nur ein kleiner Bruchteil zur Bestimmung des überschüssigen Quecksilberchlorids Verwendung finden kann. Dadurch muß natürlich die Genauigkeit der Differenzbestimmung leiden. Es empfiehlt sich vielmehr, die Reduktion in einem möglichst kleinen Gefäß — wir wählten 100 ccm-Kölbchen — vorzunehmen, so daß nach dem Auffüllen und Abfiltrieren das Filtrat nur zu 1—2 Titrationen ausreicht. Die 100 ccm-Kölbchen eichten wir mit der für die Aufnahme des Filtrates bestimmten Bürette, also bei Anwendung einer 25 ccm-Bürette durch viermaliges Auslaufenlassen in das trockene Kölbchen, so daß unabhängig von der absoluten Genauigkeit der Bürette die Richtigkeit des Verhältnisses zwischen der zur Titration verbrauchten und der Gesamtflüssigkeit gesichert war. Zu berücksichtigen wäre dabei nur noch das Volumen des Kalomelniederschlags, welches das Volumen der Gesamtflüssigkeit etwas kleiner als 100 ccm macht, und das natürlich von der Menge der vorhandenen Ameisensäure abhängt. Da 46 mg HCOOH 470,9 mg Hg₂Cl₂ erzeugen und das spezifische Gewicht von Kalomel 7,1 beträgt¹⁾, so würde bei Anwendung von 100 mg Ameisensäure das Volumen der Flüssigkeit 99,86 anstatt 100 ccm und der dadurch verursachte Fehler 0,14% des überschüssigen Quecksilberchlorids betragen. Auf das Analysenergebnis berechnet, ist der Fehler natürlich kleiner (um so kleiner, je geringer der relative Quecksilberchloridüberschuß war), so daß wir ihn bei unseren sämtlichen Versuchen völlig vernachlässigen konnten. Will man ihn in besonderen Fällen, z. B. bei Analyse erheblich größerer Ameisensäuremengen, berücksichtigen, so läßt sich eine entsprechende Korrektur leicht anbringen.

Auch abgesehen von dem letztgenannten Punkte ist für die Genauigkeit der Analyse ein nicht zu großer Überschuß an Quecksilberchlorid wesentlich. Wir wählten daher auch die Kaliumjodidmenge, mit der dieser Überschuß zu messen ist, recht klein, etwa 2,5 Millimol, was nach den Gleichungen:



$\frac{1}{8} \cdot 2,5$ Millimol = 14,4 mg HCOOH entspricht. Mit dieser Kaliumjodidmenge kann, je nach dem zur Titration verbrauchten, zweckmäßig zwischen 20 und 75 ccm (= $\frac{1}{5}$ bis $\frac{3}{4}$) liegenden Anteil der Gesamtflüssigkeit, ein Quecksilberüberschuß gemessen werden, der etwa 20 bis 70 mg Ameisensäure entspricht.

Anstatt das Kaliumjodid für jede Titration einzeln abzuwägen, bedienen wir uns, wie schon mehrfach erwähnt (vgl. S. 212), einer Lösung, die durch Auflösen von etwa 20,7 g (genau abgewogen) reinsten, chlorid- und bromidfreien Kaliumjodids zu 100 ccm hergestellt und vor Licht geschützt aufbewahrt wurde. Die Reinheit des angewandten Kaliumjodids muß sich bei der Titration mittels Zehntelnormalsilberlösung (entweder mit Kaliumchromat als Indikator oder nach Volhard) bestätigen, während sich ein Gehalt an Chlorid oder Bromid durch zu hohen Titer gegenüber

¹⁾ Landolt-Börnstein-Meyerhoffer, Tabellen, 3. Aufl., S. 244.

der Wägung zu erkennen gibt¹⁾. Von Zeit zu Zeit wird die Lösung mittels Silberlösung auf Konstanz des Gehaltes nachgeprüft.

Von dieser Jodkaliumlösung wurden stets 2 ccm in einer durch Auswägen mit Wasser geeichten Pipette zur Quecksilbertitration benutzt. Eine Ungenauigkeit der Analyse wird durch Abmessen einer so kleinen Menge einer verhältnismäßig konzentrierten Lösung in diesem Falle nicht verursacht. Die Zähigkeit der Kaliumjodidlösung beträgt etwa 0,9 von der des Wassers, so daß ein merklich verschiedenes Auslaufen der Pipette bei der Eichung und bei der Benutzung nicht anzunehmen ist; übrigens spielt die Eichung der Pipette keine Rolle, wenn — wie stets bei unseren Versuchen — zur Einstellung der Kaliumjodidlösung dieselbe Pipette benutzt wird, wie bei den Analysen. Endlich ist noch zu berücksichtigen, daß eine Abweichung der abgemessenen KJ-Menge um $\frac{1}{2}\%$ ihres Wertes — sei sie durch die Einstellung oder durch die Pipette verursacht — nach der obigen Rechnung nur einen Fehler von 0,1–0,3 mg Ameisensäure hervorrufen kann.

Die Konzentration der Quecksilberchloridlösung kann beliebig gewählt werden; sie ist nur nach unten dadurch begrenzt, daß die erforderliche Menge der Lösung zusammen mit der zu untersuchenden Substanz oder Lösung in dem Reduktionskölbchen bequem Platz finden muß. Die Herstellung starker Sublimatlösungen wird durch reichlichen Zusatz von Natriumchlorid infolge Doppelsalzbildung sehr erleichtert; daß eine Störung der Analyse hierdurch nicht hervorgerufen wird, ist oben (S. 213) gezeigt worden. Wir benutzten anfangs eine Lösung, die aus 30,000 g reinen Quecksilberchlorids und 40 g reinen Natriumchlorids mit heißem Wasser hergestellt und in einem geeichten Kolben auf 1000 ccm aufgefüllt war, später eine genau doppelt so starke Lösung. Will man die Berechnung der Analysen möglichst einfach gestalten, so kann man z. B. 58,87 g HgCl_2 mit Natriumchlorid zu 1 Liter lösen: es entspricht dann jeder ccm dieser Lösung 5,0 mg Ameisensäure. In jedem Falle empfiehlt es sich, den Gehalt der Quecksilberchloridlösung in ihrem Ameisensäureäquivalent auszudrücken. Man verwendet dann zu jeder Analyse soviel von der Lösung, daß der in der zu untersuchenden Probe ungefähr anzunehmende Ameisensäuregehalt um mindestens 20 bis höchstens 70 mg Ameisensäure überschritten wird. Die dazu erforderliche Menge der Quecksilberlösung wird in ausgewogenen Pipetten oder auch in Büretten abgemessen.

Ausführung der Analyse.

Die Ausführung der Ameisensäurebestimmung gestaltet sich nun wie folgt, wobei wegen der Einzelheiten auf die vorhergehenden Abschnitte verwiesen werden muß:

Die zu untersuchende Lösung wird, falls sie sauer oder alkalisch reagiert, neutralisiert und erforderlichenfalls in diesem Zustande auf ein kleines Volumen ein-

¹⁾ Ein von E. Merck als „Kalium jodatum purissimum neutrale pro analysi“ bezogenes Präparat zeigte einen viel zu hohen Titer und schon qualitativ einen starken Chlorid- oder Bromidgehalt; es lieferte daher auch bei der Quecksilbertitration ganz unbrauchbare Resultate. Dagegen ergab Kahlbaums „Kaliumjodid“ bei der Titration gewogener Mengen: 99,9 — 100,1 — 99,9% KJ.

gedampft. Dann bringt man sie unter Zusatz von mindestens 3 g Natriumacetat in ein langhalsiges 100 ccm-Kölbchen und fügt eine genau abgemessene Menge der Quecksilberchloridlösung hinzu, und zwar soviel als dem vermutlichen Ameisensäuregehalt, zuzüglich 20—70 mg (möglichst 30—50 mg) Ameisensäure, entspricht. Das Kölbchen, das nicht ganz gefüllt sein darf, wird bis an den Hals in ein siedendes Wasserbad gestellt, zwei Stunden darin belassen, dann abgekühlt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen des Kolbeninhalts filtriert man durch ein trockenes Faltenfilterchen in ein trockenes Kölbchen, wobei die ersten Anteile des Filtrates wegen etwaiger Konzentrationsänderungen durch Adsorption am Filterpapier verworfen werden. Das Filtrat füllt man in eine Bürette und titriert damit in 2 ccm der 1,25-normalen Kaliumjodidlösung — unter Vermeidung einer Verdünnung durch Spülwasser — bis zum ersten Auftreten einer rötlichen Trübung.

Berechnung der Analyse.

Sind v ccm des Filtrates zur Titration verbraucht worden, so liest man aus Fig. 1 oder der Korrektionsstabelle (Tab. 2, S. 214) den zugehörigen Korrektionsfaktor f ab; dann sind $f \cdot v$ ccm des Filtrates dem angewendeten Kaliumjodid äquivalent. Bedeutet j das in mg HCOOH ausgedrückte Ameisensäureäquivalent der 2 ccm Kaliumjodidlösung, so entspricht der Quecksilberchloridüberschuß in den gesamten 100 ccm $\frac{j \cdot 100}{f \cdot v}$ mg Ameisensäure. Ist h das in mg HCOOH ausgedrückte Ameisensäureäquivalent der angewandten ccm-Zahl der Quecksilberchloridlösung, so enthält die untersuchte Probe

$$\left(h - \frac{j \cdot 100}{f \cdot v} \right) \text{ mg HCOOH}$$

oder eine äquivalente Menge Formiat.

Beleganalysen.

Die Methode wurde an kristallisiertem Natriumformiat (Kahlbaum) erprobt, dessen Reinheit durch Natriumbestimmungen geprüft wurde. Das Salz wurde hierzu mit einem kleinen Überschuß von Schwefelsäure im Platintiegel zuerst im Sandbade, dann über freier Flamme bis zur Gewichtskonstanz erhitzt.

$$\begin{array}{l} 2,007 \text{ g ergaben } 0,2082 \text{ g Na}_2\text{SO}_4 = 33,64\% \text{ Na} \\ 2,015 \text{ g } \quad \quad \quad 0,2087 \text{ g } \quad \quad = 33,59\% \quad \quad \end{array}$$

Der Mittelwert von 33,615% Na entspricht 65,64% HCOO oder 67,11% HCOOH, während sich für HCOONa berechnet: 33,87% Na und 66,13% HCOO oder 67,61% HCOOH.

Die Quecksilberchloridlösung enthielt 30,000 g HgCl₂ in 1 l, jeder ccm entsprach also $\frac{30 \cdot 46,015}{2 \cdot 270,9} = 2,548$ mg HCOOH.

Von der Kaliumjodidlösung verbrauchten bei der Einstellung 2,07 ccm¹⁾ 24,99 ccm einer 0,09931-n Silberlösung, diese Menge entsprach also $\frac{24,99 \cdot 0,09931 \cdot 46,015}{8} = 14,275$ mg HCOOH.

Zur ersten Analyse wurden angewandt 0,1217 g Natriumformiat und 49,97 ccm¹⁾ der Sublimatlösung.

¹⁾ Mit Wasser ausgewogene Pipetten.

Zur Titration wurden verbraucht: a) 29,9 ccm, b) 30,0 ccm, im Mittel 29,95 ccm des Filtrates. Der zugehörige Korrektionsfaktor ist 1,047.

Daraus berechnet sich die gefundene Ameisensäure zu

$$49,97 \cdot 2,548 - \frac{14,275 \cdot 100}{1,047 \cdot 29,95} = 81,80 \text{ mg HCOOH}$$

$$= 67,21 \% \text{ HCOOH}$$

Die mit Natriumformiat erhaltenen Analyseergebnisse sind in der folgenden Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4.

Ameisensäurebestimmungen in Natriumformiat.

(Konzentration der Quecksilberchlorid- und Kaliumjodidlösung siehe oben.)

Angewandt:		Zur Titration in 2,07 ccm KJ — Lsg. verbraucht ccm	Korrektions- faktor	Gefunden HCOOH %
Substanz g	HgCl ₂ — Lsg. ccm			
0,1217	49,97	29,95	1,047	67,21
0,1302	49,97	33,95	1,051	67,06
0,1417	49,97	42,0	1,060	67,23
0,1432	49,97	43,5	1,062	67,32
0,1608	55,25	41,5	1,059	67,34
0,1620	55,25	42,7	1,061	67,44
0,1725	55,25	54,15	1,073	67,36

Im Mittel gefunden: 67,28 %

Nach der Na-Bestimmung berechnet: 67,11 %

Theoretisch für HCOONa: 67,61 %

Die Ergebnisse sind äußerst befriedigend.

Bei der Anwendung der Methode zur Analyse wässriger Ameisensäure wurden zunächst regelmäßig etwas höhere Werte gefunden, als der acidimetrischen Titration mit Natronlauge entsprach, im Mittel etwa 100,8 : 100. Offenbar enthielt die käufliche reine Ameisensäure geringe Mengen anderer, nicht saurer, reduzierender Stoffe. Zur Herstellung einer möglichst reinen Ameisensäurelösung wurde daher käufliche wasserfreie Ameisensäure (vom spez. Gewicht 1,20) der fraktionierten Destillation unterworfen und nur der bei 101° übergehende mittlere Anteil in Wasser gelöst. Der Gehalt dieser Lösung wurde durch Titration mittels kohlenstofffreier (aus Natriummetall bereiteter) Natronlauge festgestellt, die ihrerseits auf reinste kristallisierte Bernsteinsäure mit Phenolphthalein eingestellt war.

9,62 ccm¹⁾ der Lösung verbrauchten 8,84 ccm 0,5018 n-Lauge

9,62 " " " " 8,84 " 0,5018 "

Die Ameisensäurelösung ist also 0,4611-normal, oder auf 100 Raumteile berechnet: 2,122prozentig.

¹⁾ Mit Wasser ausgewogene Pipette.

Die mit dieser Lösung ausgeführten Ameisensäurebestimmungen sind in der folgenden Tabelle 5 zusammengestellt.

Tabelle 5.

Ameisensäurebestimmungen in wässriger Ameisensäure.
(Konzentration der Quecksilberchlorid- und Kaliumjodidlösung siehe oben.)

Angewandt:			Zur Titration in 2,07 ccm KJ — Lsg. verbraucht ccm	Korrektions- faktor	Gefunden:	
HCOOH—Lsg. ccm	= HCOOH mg	HgCl ₂ —Lsg. ccm			HCOOH mg	HCOOH %
3,98	84,5	49,97	32,25	1,050	85,2	2,14
3,98	84,5	49,97	32,2	1,049	85,2	2,14
3,98	84,5	49,97	32,5	1,050	85,5	2,15
3,98	84,5	49,97	32,6	1,050	85,6	2,15
5,278	112,0	55,25	46,2	1,064	111,7	2,12
5,278	112,0	55,25	46,65	1,065	112,0	2,12
5,278	112,0	55,25	46,8	1,065	112,1	2,12
5,278	112,0	59,59	34,82	1,052	112,9	2,14
5,278	112,0	59,59	34,75	1,052	112,8	2,14
6,05	128,4	59,59	56,8	1,076	128,5	2,12
6,05	128,4	59,59	57,0	1,076	128,7	2,13
7,96	168,9	74,87	57,5	1,077	167,7	2,11
7,96	168,9	74,87	58,2	1,077	168,0	2,11

Im Mittel gefunden: 2,13 %

Nach der acidimetrischen Bestimmung: 2,122 %

Die Methode bewährte sich ferner für die Bestimmung von Ameisensäure neben Formaldehyd; darüber soll in einer späteren Mitteilung berichtet werden.

Zusammenfassung.

Bei der Titration von Quecksilberchlorid gegen Kaliumjodid beginnt die Ausscheidung von Quecksilberjodid schon eher, als die zur Doppelsalzbildung erforderliche Menge von Quecksilberchloridlösung hinzugefügt ist. Geht man stets von derselben Menge Kaliumjodid aus, so ist die Abweichung von den stöchiometrischen Verhältnissen nur von dem Endvolumen der Lösung abhängig. Es konnte daher empirisch eine Korrektionstabelle aufgestellt werden, welche die genaue Bestimmung von Quecksilberchlorid mittels Kaliumjodid erlaubt.

Theoretische Überlegungen und Rechnungen auf Grund der Annahme eines teilweisen Zerfalls von Kaliumquecksilberjodid führten zur Aufstellung einer Gleichung, welche die empirisch gefundenen Korrekturen mit befriedigender Annäherung bestätigt.

Die Reduktion von Quecksilberchlorid durch ameisen-saure Salze verläuft in schwach essigsaurer Lösung, bei Gegenwart reichlicher Mengen von Natriumacetat, unter zweistündiger Erhitzung im siedenden Wasserbade, quantitativ.

Auf diesen Grundlagen konnte die Ameisensäurebestimmungsmethode von Portes und Ruyssen zu einem genauen und bequemen Verfahren ausgearbeitet werden.

Durch Beleg-Analysen von kristallisiertem Natriumformiat und von wässriger Ameisensäure wurde die Zuverlässigkeit des Verfahrens bestätigt.

Vorstehende Untersuchungen wurden, einer Anregung von Herrn Geh. Regierungsrat Dr. Kerp entsprechend, im Sommer 1908 im Chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ausgeführt.

Beiträge zur Chemie des Honigs mit besonderer Berücksichtigung seiner Unterscheidung von Kunsterzeugnissen.

Von

Privatdozent **Dr. K. Keiser,**

früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Inhaltsübersicht. A. Allgemeiner Teil. — B. Besonderer Teil. I. Nachprüfung der Resorzinprobe. Beschaffenheit des verwendeten Äthers. Einfluß des Lichtes auf die Oxydation des Äthers. Die Untersuchung von Bienen- und Kunsthonig. Das Verhalten von Bienenhonig in Gemischen mit Kunsthonig und dergl. — II. Versuche zur Ermittlung der chemischen Verbindung, welche die Rotfärbung der Resorzinprobe bedingt. Das Verhalten verschiedener Zuckerarten und anderer Kohlehydrate gegen salzsaure Resorzinlösung. Die Untersuchung verschiedener Invertzuckerpräparate. Die Beeinflussung der Resorzinprobe durch vorangehende Erwärmung der Kohlehydrate. Der Einfluß einer gelinden Erwärmung auf das Verhalten des Honigs bei der Resorzinprobe. Der negative Ausfall der Resorzinprobe bei dem mittels Invertin hergestellten Invertzuckersirup. Untersuchung der durch längere Einwirkung von Salzsäure auf Rohrzucker entstehenden Verbindungen. Untersuchung der bei der trockenen Destillation von Kohlehydraten entstehenden Stoffe. Das Verhalten längere Zeit erhitzter Trauben- und Fruchtzuckerlösungen bei der Resorzinprobe. Darstellung des Oxymethylfurfurols. Derivate des Oxymethylfurfurols. Der Nachweis des Oxymethylfurfurols im Kunsthonig und Invertzucker. Identifizierung des durch Extraktion von Kunsthonig und Invertzucker mit Äther erhaltenen Sirups mit dem Oxymethylfurfurol.

A. Allgemeiner Teil.

Auf der im Jahre 1908 zu Bad Nauheim abgehaltenen Hauptversammlung der Freien Vereinigung Deutscher Nahrungsmittelchemiker wurde von Fiehe ein neues Verfahren zur Unterscheidung und Erkennung von Honig und Kunsthonig sowie zum Nachweis von Honigverfälschungen bekannt gegeben¹⁾. Das Verfahren beruht auf dem verschiedenen Verhalten von Kunsthonig und echtem Honig gegen eine Lösung von Resorzin in rauchender Salzsäure. Nach den Angaben von Fiehe gibt ein ätherischer Auszug von Kunsthonig, nach dem Verdunsten des Äthers mit einigen Tropfen dieser Resorzinlösung befeuchtet, eine anfangs gelbe bald intensiv kirschrote Färbung, während bei der Prüfung von Naturhonig keine derartige Farbstoffbildung eintritt. Das Verfahren ist von Fiehe und auch bereits von anderer Seite an zahlreichen Honigsorten erprobt und im allgemeinen bestätigt worden²⁾; über die Ursache für das Auftreten der Rotfärbung ist jedoch bisher nur soviel bekannt geworden, als die bei der Inversion von Zucker mit Säuren durch weitere Zersetzung der Lävulose entstehenden Nebenprodukte die Farbreaktion zu veranlassen scheinen.

¹⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel 1908, Bd. 16, S. 75.

²⁾ Zeitschr. f. angew. Chem. 1908, Heft 45, S. 2315. Utz, Über Fiehes Reaktion usw.

Da ein zuverlässiges und leicht auszuführendes Verfahren zur Auffindung von Invertzuckerzusätzen im Honig bisher nicht zu Gebote stand, und die Auffindung eines solchen für die Überwachung des Verkehrs mit Honig von großer Bedeutung ist, so wurde im chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes das Verfahren nachgeprüft und zugleich umfassende Versuche angestellt, um den chemischen Stoff, dessen Vorhandensein den Eintritt der Reaktion bedingt, zu ermitteln.

Der Gang der Untersuchung war folgender:

Zunächst wurde eine Anzahl Proben von verbürgt reinem Bienenhonig und von Kunsthonig nach der von Fiehe vorgeschlagenen Vorschrift untersucht. Dabei wurde die Beobachtung gemacht, daß bei der Ausführung der Reaktion zum Ausziehen der Honiglösung Äther verwendet werden muß, der frei von Oxydationsprodukten ist und nach dem Verdunsten keinen Rückstand hinterläßt. Der beim Verdunsten unreinen Äthers hinterbleibende Rückstand gibt mit der Resorzinlösung einen intensiv orange-roten Niederschlag, durch den die eigentliche Reaktion verdeckt und unter Umständen dem weniger geübten Beobachter der Eintritt einer Reaktion vorgetäuscht werden kann. Im übrigen wurden die Angaben Fiehes bestätigt. Reiner Bienenhonig gab mit dem Reagens keine oder nur eine schwach gelbliche Färbung; nur bei drei Proben wurde das Auftreten einer schwach rötlichen und wenig beständigen Färbung beobachtet, deren Auftreten, wie später erörtert werden wird, wahrscheinlich auf eine gelinde Erwärmung dieser Honigproben bei ihrer Gewinnung zurückzuführen ist. Die bei den Kunsthonigproben auftretende intensiv kirschrote Färbung wurde bei reinem Bienenhonig in keinem Falle beobachtet¹⁾.

Durch die Prüfung einiger Gemische von natürlichem Honig mit Kunsthonig, käuflichem Invertzucker oder Kapillärsirup wurde festgestellt, daß auch Verfälschungen des Bienenhonigs mit Hilfe der Resorzinprobe erkannt werden können. So genügt z. B. schon eine Beimengung von 8% Invertzucker zum Honig, um eine deutlich erkennbare Reaktion herbeizuführen.

Um für die weiteren Versuche zur Ermittlung des die Reaktion verursachenden Stoffes einige Anhaltspunkte zu gewinnen, insbesondere um festzustellen, ob die Bildung des roten Farbstoffes eine Eigenschaft gewisser Zuckerarten sei oder von Beimengungen herrühre, wurden mehrere Zuckerarten und verwandte Stoffe auf ihr Verhalten gegen die salzsaure Resorzinlösung untersucht. In Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen, nach denen bei reinen Zuckerarten eine Reaktion mit Resorzinsalzsäure erst beim Erhitzen eintritt, ergab sich, daß weder Pentosen (Arabinose) noch die hier hauptsächlich in Betracht kommenden reinen Zucker der Hexosegruppe für sich imstande sind, mit der Resorzinlösung einen Farbstoff zu bilden, daß aber die ätherischen Auszüge aller Arten von Zucker und verwandten Stoffen (Dextrine), denen von ihrer Herstellung her geringe Mengen von bestimmten Verunreinigungen und Zersetzungsprodukten anhaften, mit dem Resorzin, und zwar zum Teil sehr lebhaft, reagieren.

Besonders eingehend wurde der Invertzucker untersucht, der in erster Linie zur Verfälschung des Bienenhonigs verwendet wird, und — mit Bienenhonig, meist Heide-

¹⁾ Vergl. Utz, a. a. O.

honig gemischt und durch Zusatz honigähnlich riechender Ester aromatisiert — den Hauptbestandteil des in den Handel gebrachten Kunsthonigs bildet.

Es wurde daher Invertzucker auf verschiedenem Wege, einerseits aus Rohrzucker unter Verwendung anorganischer und organischer Säuren andererseits durch Fermente hergestellt und die ätherischen Auszüge der Resorzinprobe unterworfen. Diese Versuche führten zu dem bemerkenswerten Ergebnis, daß der auf fermentativem Wege mittels Invertin gebildete Invertzucker die fragliche Farbreaktion nicht gibt. Die auf anderem Wege, insbesondere die mit Kohlensäure und organischen Säuren dargestellten Invertzuckerproben gaben mit der Resorzinlösung eine deutliche Farbreaktion. Dieses Ergebnis ist später von Kikton bestätigt worden¹⁾.

Die Tatsache, daß der mit dem Resorzin wirksame Stoff unter den Zersetzungsprodukten zu suchen ist, die sich aus den Kohlehydraten unter der Einwirkung von Säuren und auch unter dem Einfluß höherer Temperaturen bilden, wurde durch eine Reihe von Versuchen bestätigt.

Durch Erwärmen verschiedener Kohlehydrate auf höhere Temperaturen und den Vergleich ihrer Reaktion mit dem Resorzin vor und nach dem Erhitzen wurde festgestellt, daß:

1. bei solchen Stoffen, welche mit dem Resorzin schon vor dem Erwärmen eine Färbung gaben, die Intensität der Reaktion durch die Erhitzung wesentlich erhöht wird;
2. bei den Stoffen, die, wie z. B. Honig und mit Invertin hergestellter Invertzucker mit dem Resorzin nicht reagierten, der Eintritt einer Reaktion durch das Erwärmen hervorgerufen wird.

Auch diese Beobachtung ist inzwischen von anderer Seite mehrfach bestätigt worden, so von E. v. Raumer²⁾ und Klassert³⁾. Letzterer hat beobachtet, daß der Eintritt der Reaktion beim Erwärmen reinen Honigs von dem Säuregehalt des Honigs abhängig ist (siehe dagegen Riechen-Fiehe⁴⁾ und Jägerschmid⁵⁾).

So gibt z. B. Honig, nachdem er einige Zeit auf 50—60⁰ erwärmt gewesen ist, im ätherischen Auszuge mit dem Resorzin eine deutlich sichtbare Rotfärbung. Diese Beobachtung ist insofern von praktischer Bedeutung, als Honige, sowohl die weniger wertvollen ausländischen Honigsorten — Havannahonig — als auch die mittleren im Inlande hergestellten Mischhonige, bei der Zubereitung vielfach erwärmt werden. Wenn daher bei einem Honig mit dem Resorzin eine schwache Rotfärbung beobachtet wird, so darf vermutet werden, daß ein in dieser Weise gewonnenes Erzeugnis vorliegt.

Die Untersuchung der Huminsubstanzen, die sich aus den Kohlehydraten unter der Einwirkung von Säuren bilden, ergab, daß die Huminsubstanzen selbst mit dem Resorzin nicht reagieren; dagegen gab eine Probe der Mutterlauge eine intensiv kirschrote Färbung. Die Mutterlauge enthält neben anderen Stoffen Ameisensäure und

¹⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel 1908, Heft 10, S. 577.

²⁾ Desgl. 1909, Heft 3, S. 118 und 122.

³⁾ Desgl. 1909, Heft 3, S. 127.

⁴⁾ Chem. Ztg. 1908, Nr. 90, S. 1090.

⁵⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel 1908, Heft 3, S. 113.

Lävulinsäure. Beide Säuren geben mit Resorzin keine Färbung. v. Raumer¹⁾ hatte mit Lävulinsäure manchmal den Eintritt der Reaktion beobachten können, manchmal nicht²⁾).

Von den bei der Karamelisierung verschiedener Kohlehydrate durch Erhitzen auf 170—180° entstehenden Erzeugnissen gaben nicht nur die flüchtigen Destillate, sondern auch die karamelhaltigen Rückstände mit salzsaurer Resorzinlösung eine lebhaftere Färbung. Wurde Kunsthonig mit Wasserdampf destilliert, so gab das aufgefangene Destillat mit Resorzin nur eine schwach rötliche Färbung, während die intensive Reaktion des Kunsthonigs auch nach der Destillation unverändert blieb.

Die Überlegung, daß als Ausgangsprodukte für die Bildung der die Reaktion bedingenden chemischen Verbindung nur Glukose oder Fruktose in Frage kommen konnten sowie die Tatsache, daß letztere viel leichter zersetzlich ist als Glukose, gab Veranlassung, den Körper unter den Zersetzungsprodukten der Fruktose zu suchen. Versuche, welche in dieser Richtung angestellt wurden, führten zu folgendem Ergebnis. Zwei gleichprozentige Lösungen von reinem Traubenzucker und reinem Fruchtzucker, deren ätherische Auszüge die Reaktion zunächst nicht zeigten, wurden längere Zeit zum Sieden erhitzt; hierauf gab der ätherische Auszug der Traubenzuckerlösung mit Resorzin nur eine schwach rosa Färbung, während die Fruchtzuckerlösung sehr stark reagierte. Wurde eine geringe Menge der erhitzten Fruchtzuckerlösung zu einer Lösung von reinem Bienenhonig hinzugesetzt, so gab der ätherische Auszug des Gemisches ebenfalls eine deutlich erkennbare Reaktion.

Bei einem Versuch, aus käuflichem Invertzucker durch wiederholte Fällung mit Alkohol ein Produkt zu erhalten, das die Reaktion nicht gab, wurde beobachtet, daß die Reaktion der ausgefallten, also an Glukose angereicherten Anteile mit der Zahl der Fällungen stets schwächer wurde, während die alkoholischen Mutterlaugen intensivere Färbungen gaben. Der fragliche Stoff wird demnach durch Alkohol nicht ausgefällt.

Unter den chemischen Verbindungen, welche sich bei der Zersetzung der Fruktose bilden, zeichnen sich Furfurol und seine Derivate durch die Fähigkeit aus, mit aromatischen Phenolen eine Reihe charakteristischer Farbreaktionen zu geben. In der Annahme, daß unter diesen der gesuchte Körper zu finden sei, wurde ein frisch dargestelltes Präparat von Furfurol auf das Verhalten gegen salzsaure Resorzinlösung geprüft. Das Furfurol gab hierbei einen schmutzig blaugrauen Niederschlag, der von dem mit Kunsthonig erhaltenen kirschroten Farbstoff durchaus verschieden war.

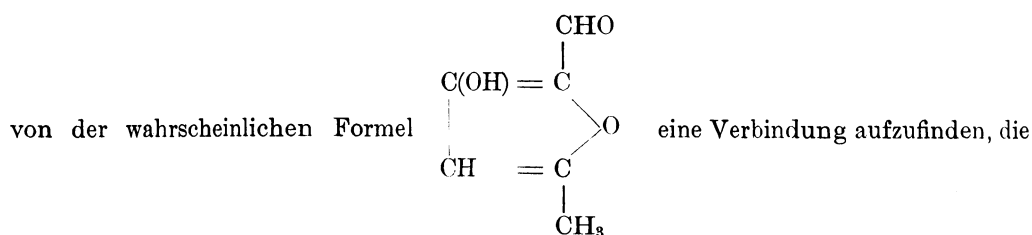
Dagegen gelang es, in einem Derivate des Furfurols, dem zuerst von Düll³⁾ aufgefundenen und nachher von Kiermeyer⁴⁾ näher untersuchten β -Oxy- δ -methyl-furfurol

¹⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel 1908, Bd. 16, S. 77.

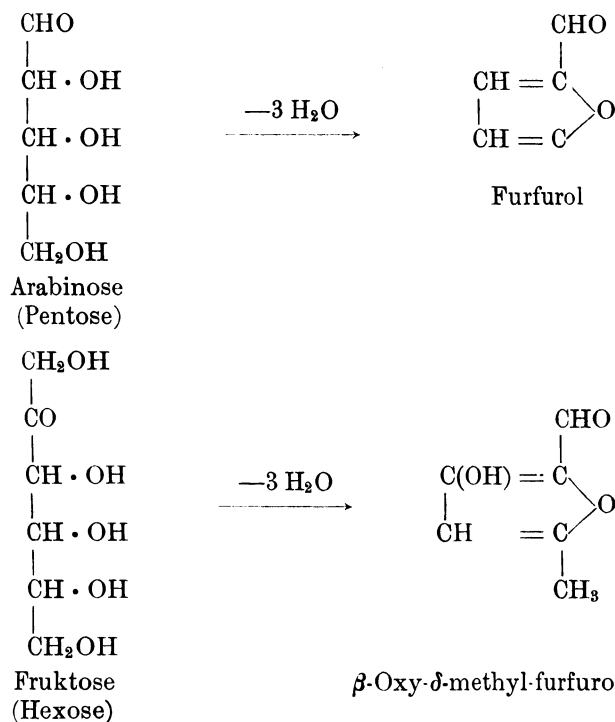
²⁾ Anmerkung bei der Korrektur: Nach einer jüngst erschienenen Mitteilung von v. Raumer (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel 1909 Bd. 17 S. 120) gibt reine Lävulinsäure die Reaktion nicht. Ein chemisch reines Präparat von Merck ließ keine Reaktion erkennen, so daß v. Raumer vermutet, früher mit einer nicht reinen Lävulinsäure gearbeitet zu haben.

³⁾ Chem. Ztg. 1895, 19. Jahrg., S. 217.

⁴⁾ Über ein Furfurolderivat aus Lävulose. Inaug.-Diss. Basel 1905. Vergl. auch Chem. Ztg. 1895, 19. Jahrg. S. 1003.



noch in größter Verdünnung mit dem salzsauren Resorzin die charakteristische rote Färbung gibt. Das β -Oxy- δ -methyl-furfurol steht in chemischer Hinsicht zur Fruktose in gleicher Beziehung wie das Furfurol zur Pentose, wie dies durch die nachstehenden Strukturformeln veranschaulicht wird:



Das Oxymethylfurfurol bildet sich nach den Angaben der Literatur wenig und nur vorübergehend aus Glukose, dagegen in größerer Menge bei der Zersetzung der Fruktose. Es ist zuerst bei der Einwirkung von Oxalsäure auf Inulin unter erhöhtem Druck aufgefunden worden und wird zweckmäßig durch dreistündiges Erhitzen einer 30prozentigen wässerigen Zuckerlösung mit 0,3% Oxalsäure im Dampftopf unter einem Druck von drei Atmosphären dargestellt. Es stellt einen unbeständigen Körper von obstähnlichem Geruch dar, der sich nur schwer ganz rein in Form eines hellgelben, am Lichte sich bald braun färbenden Sirups gewinnen läßt, und bildet einige sehr gut kristallisierende Derivate, so ein Phenylhydrazon, ein Benzoylderivat und ein Antioxim. Mit einer Anzahl von Phenolen entstehen charakteristische Farbreaktionen, von denen die mit Resorzin auftretende kirschrote Färbung bereits erwähnt worden ist. Diese Farbreaktionen des Oxymethylfurfurols sind äußerst empfindlich. Wie durch Versuche festgestellt wurde, genügt ein Zusatz von 2 mg der Verbindung zu 100 g Bienenhonig,

um bei diesem eine sogleich eintretende lebhaftere Reaktion mit Resorzin zu verursachen, und selbst ein Gehalt von 1 mg Oxymethylfurfurol in 100 g Honig läßt sich noch deutlich nachweisen.

Durch andauerndes Extrahieren von Kunsthonig und Invertzucker mit Äther und Essigester konnten nach dem Verdampfen des Lösungsmittels geringe Mengen eines Sirups erhalten werden, der vollkommen die gleichen Farbreaktionen gab, wie das Oxymethylfurfurol. Auch konnten aus ihm zwei Derivate, eine Phenylhydrazin- und eine Benzoylverbindung erhalten werden, die bei einem Vergleich mit den entsprechenden Verbindungen des Oxymethylfurfurols sich mit diesem identisch erwiesen. Besonders aus einem Kunsthonig wurde ein in prächtigen Nadeln kristallisierendes Benzoylderivat erhalten und mit der gleich kristallisierten Verbindung des Oxymethylfurfurols identifiziert.

Es ist somit durch diese Untersuchung der Beweis erbracht worden, daß die Eigenschaft des Kunsthonigs bzw. des Invertzuckers, mit einer Lösung von salzsaurem Resorzin einen intensiv kirschroten Farbstoff zu bilden, auf einen Gehalt an Oxymethylfurfurol zurückzuführen ist.

Die Ergebnisse der Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Verbürgt reine Bienenhonige geben bei der Resorzinprobe in der Regel nur eine geringe Gelbfärbung oder eine schwach rötliche Färbung.

2. Kunsthonig, Invertzucker des Handels und Stärkesirup geben eine intensiv kirschrote Färbung.

3. Gemische von Bienenhonig mit Kunsthonig, Invertzucker des Handels und Stärkesirup geben rötliche bis kirschrote Färbungen. Bei einem Gehalt von 10 bis 20% käuflichem Invertzucker, 20 bis 30% Kunsthonig, 40 bis 50% Stärkesirup sind diese Färbungen noch intensiv rot bis intensiv kirschrot.

4. Mit Invertin hergestellter Invertzucker gibt keine Färbung und erst nach mehrstündigem Erhitzen, insbesondere bei Gegenwart von Säuren Rotfärbungen.

5. Bienenhonige geben nach vorhergegangenem Erhitzen auf 100 bis 120° Rotfärbungen. Ein einstündiges Erhitzen auf 100° rief in keinem Falle kirschrote, sondern hellrote bis lebhaft rote Färbungen hervor. Ein gelindes Erwärmen auf etwa 60° verursachte nach einer Stunde schwach rötliche, nach zwei Stunden schwach rötliche bis hellrote Färbungen.

6. Der Eintritt der Rotfärbung wird durch die Anwesenheit von β -Oxy- δ -methylfurfurol hervorgerufen, das sich bei der Zersetzung von Fruktose bildet.

7. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß ein unnötiges oder längeres Erwärmen der Honige im Imkereibetriebe nach Möglichkeit vermieden wird, weil hierunter die Beschaffenheit des Honigs leidet, dürfte die in Rede stehende Reaktion als diagnostisches Mittel zur Beurteilung des Honigs von großem Wert sein. Auf Grund der beobachteten Farbintensität ist es dem mit der Reaktion länger vertrauten Beobachter möglich, mit Wahrscheinlichkeit zu beurteilen, ob es sich um einen auf

warmem Wege gewonnenen Bienenhonig oder, besonders beim Auftreten kirschroter Färbungen, um einen stark verfälschten oder Kunsthonig handelt.

B. Besonderer Teil.

I. Nachprüfung der Resorzinprobe.

Als Reagens zur Unterscheidung von Honig und Kunsthonig dient nach Fiehe eine einprozentige Lösung von Resorzin in rauchender Salzsäure. Für die Ausführung der Reaktion wurde folgende Vorschrift vorgeschlagen: Eine wässrige Honiglösung aus 5 g Honig und 5 ccm Wasser wird mit Äther ausgezogen, der Äther wird klar filtriert und bei niedriger Temperatur auf 1 bis 2 ccm eingedampft. Der konzentrierte Auszug wird auf einer Porzellanplatte (Platte zur Tüpfelmethode) bei gewöhnlicher Temperatur verdunstet, und der trockene Rückstand mit einigen Tropfen der Resorzinlösung befeuchtet.

Diese Vorschrift wurde auch bei den nachfolgenden Versuchen eingehalten. Zum Ausziehen der Honiglösung wurden ungefähr 10 ccm Äther verwendet; statt der Tüpfelplatte wurden kleine runde Porzellanschälchen verwendet.

Beschaffenheit des verwendeten Äthers. — Als bei einigen Vorversuchen zum Ausziehen der Honiglösung Äther benutzt wurde, der längere Zeit in halbgefüllter Flasche am Lichte gestanden hatte, wurde die Beobachtung gemacht, daß auch die Extrakte von unverfälschtem Bienenhonig mit Resorzinlösung einen intensiv orangeroten Niederschlag gaben, dessen Auftreten die Beurteilung zu erschweren schien. Es stellte sich heraus, daß dieser Niederschlag Oxydationsprodukten seine Entstehung verdankte, mit denen der verwendete Äther verunreinigt war. Der Äther hinterließ nach dem Verdunsten einen äußerst stechend, unter anderem nach Akrolein riechenden Rückstand, der mit der Resorzinlösung unter Entwicklung von Acetaldehyd einen voluminösen, anfangs gelben, dann dunkel orangeroten Niederschlag entstehen ließ.

Einfluß des Lichtes auf die Oxydation des Äthers. — Durch einen Versuch wurde festgestellt, daß nur Äther, der längere Zeit in Berührung mit Luft am Licht aufbewahrt worden war, Verbindungen enthält, die mit Resorzinlösung in der beschriebenen Weise reagieren. Zwei Flaschen von je 500 ccm Inhalt wurden mit je 200 ccm Äther, der beim Verdunsten keinen merklichen Rückstand hinterließ, beschickt und dann, die eine am Fenster eines lichten Raumes, die andere, von einer Hülle von dunkelblauem dicken Papier umgeben, im Dunkeln drei Monate lang aufbewahrt. Nach Verlauf dieser Zeit hinterließ eine Probe des am Lichte aufbewahrten Äthers nach dem Verdunsten denselben stechend riechenden und mit Resorzin lebhaft reagierenden Rückstand, wie der anfangs benutzte Äther, während der im Dunkeln aufbewahrte Äther einen geringen Rückstand hinterließ, der keinen stechenden Geruch hatte und mit der Resorzinlösung nur eine sehr schwache gelbe Färbung erzeugte.

Es ist demnach erforderlich, zum Extrahieren der Honiglösung nur solchen Äther zu verwenden, der frei von Oxydationsprodukten ist und nach dem Verdunsten keinen stechend riechenden Rückstand hinterläßt. Bei den folgenden Untersuchungen wurde stets Äther verwendet, der über Natriumstückchen aufbewahrt wurde und mit Resorzin keine Reaktion gab.

Die Untersuchung von Bienen- und Kunsthonig. — Es wurden zehn Sorten verbürgt reinen Bienenhonigs und zwei Sorten Kunsthonig der Resorzinprobe unterworfen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 unter Nr. 1—12 dargestellt. In Spalte 3 dieser Tabelle ist der Ausfall der Reaktion beim Auftreten der Rotfärbung mit „positiv“, bei deren Ausbleiben mit „negativ“ bezeichnet. Spalte 4 enthält Angaben über die Art und die Intensität der beobachteten Färbung. Die beiden untersuchten Kunsthonige gaben mit dem Reagens eine intensiv kirschrote Färbung, die, in Übereinstimmung mit den Angaben von Fiehe, bei den zehn Proben reinen Honigs nicht beobachtet wurde. Bei diesen war meist nur eine sehr geringe Gelbfärbung zu beobachten, eine Sorte Koniferenhonig, der kalt aus den Waben ausgelassen war, gab keine, drei Proben Bienenhonig zeigten eine schwach rötliche Färbung.

Im Anschluß hieran wurden käuflicher Invertzucker und Kapillärsirup untersucht, die hauptsächlich zur Verfälschung von Honig und zur Kunsthonigbereitung Verwendung finden. Bei beiden Produkten trat eine sehr intensive Färbung auf. (Vergl. Tabelle 1, Nr. 13 und 19.)

Tabelle 1. Das Verhalten verschiedener Kohlehydrate bei der Resorzinprobe.

Nummer	Bezeichnung der Probe	Ausfall der Reaktion	Art der beobachteten Färbung
1	2	3	4
1	Deutscher Bienenhonig	negativ	ganz schwache Gelbfärbung
2	Bienenhonig	„	„ „ „
3	Feinster Blüten-Schleuderhonig	„	„ „ „
4	Extrafeiner Bienenhonig	„	„ „ „
5	Reiner Blütenhonig	„	„ „ „
6	Feinster ungar. Blütenhonig	„	„ „ „
7	Reiner Honig	„	sehr schwache rötliche Färbung
8	Honig aus Orangenblüten	„	ebenso
9	Koniferenhonig	„	ebenso
10	Koniferenhonig aus Urmatt, kalt aus den Waben gelassen	„	keine Färbung
11	Kunsthonig	positiv	lebhaft kirschrote Färbung
12	„	„	„ „ „
13	Stärkesirup	„	„ „ „
14	Wasserfreier Traubenzucker, technisch rein	„	„ „ „
15	Wasserfreier Traubenzucker, aus Alkohol umkristallisiert	negativ	keine Färbung
16	Fruchtzucker, kristallisiert, rein	„	„ „
17	Arabinose	„	„ „
18	Rohrzucker	„	„ „
19	Invertzucker, Handelsprodukt	positiv	intensiv kirschrote Färbung
20	Lösliche Stärke	negativ	keine Färbung
21	Dextrin, hellgelb	positiv	lebhaft kirschrote Färbung
22	Dextrin, weiß	„	„ „ „
23	Achroodextrin	negativ	keine Färbung
24	Maltose	„	„ „
25	Raffinose	„	„ „

Das Verhalten von Bienenhonig in Gemischen mit Kunsthonig, Invertzucker usw. — Es wurden Gemische von Bienenhonig mit wechselnden Mengen von Kunsthonig, Kapillärsirup und Invertzucker hergestellt. Die einzelnen Bestandteile wurden zusammen abgewogen, nach Verflüssigung durch mäßiges Erwärmen auf dem Wasserbade gut durcheinandergemischt und je 5 g des Gemisches nach der bezeichneten Vorschrift untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Von Honigsorten wurden ungarischer Blütenhonig, reiner Blütenhonig und reiner Bienenhonig verwendet.

Tabelle 2. Das Verhalten von Bienenhonig im Gemisch mit Kunsthonig, Stärkesirup und Invertzucker bei der Resorzinprobe.

Bestandteile des untersuchten Gemisches	Intensität der beobachteten Färbung bei einem Gehalt des Gemisches an Kunsthonig bzw. Stärkesirup oder Invertzucker von								
	50 %	40 %	30 %	20 %	10 %	8 %	6 %	4 %	2 %
Ungarischer Blütenhonig und Kunsthonig	intensiv kirschrot	intensiv kirschrot	kirschrot	rot	hellrot	rosa	schwach rosa	schwach rötlich	schwach rötlich
Feinster Blütenhonig und Stärkesirup (Kapillärsirup)	kirschrot	rot	hellrot	rötlich	rosa	hellrosa ¹⁾	keine ¹⁾ Färbung	keine ¹⁾ Färbung	—
Reiner Bienenhonig und Invertzucker	intensiv kirschrot	intensiv kirschrot	kirschrot	kirschrot	lebhaft rot	rot	hellrot	hellrosa ²⁾	schwach rosa ²⁾

Bei einem Gehalt des Bienenhonigs von 50 % Kapillärsirup und bis zu 40 % Kunsthonig oder Invertzucker war die Reaktion des ätherischen Extraktes sehr lebhaft und von der beim Invertzucker selbst beobachteten kaum zu unterscheiden. Gemische, die geringere Mengen dieser Zusätze enthielten, gaben hellere Färbungen, jedoch konnte noch ein Gehalt von 20 % Kapillärsirup, von 10 % Kunsthonig und 8 % Invertzucker deutlich erkannt werden. Auch bei sehr geringen Beimengungen wurden mit der Resorzinlösung bisweilen schwache Färbungen erhalten, die aber für die Beurteilung außer Betracht bleiben müssen, da die salzsaure Lösung des Resorzins selbst sich leicht rötlich färbt. Hierzu kommt noch, daß, wie schon erwähnt, eine Erwärmung des Bienenhonigs bei seiner Gewinnung den Eintritt einer schwachen Reaktion mit dem Resorzin hervorruft, so daß das Auftreten einer Färbung beim Behandeln eines ätherischen Honigauszuges mit salzsaurem Resorzin durch eine vorangegangene Erwärmung des Honigs verursacht sein kann.

¹⁾ Nach längerem Stehen wurde auch hier das Auftreten einer geringen Rotfärbung beobachtet, die aber auf eine Färbung der Resorzinlösung selbst zurückzuführen ist.

²⁾ Die Reaktion war hier zweifelhaft.

II. Versuche zur Ermittlung der chemischen Verbindung, welche die Rotfärbung bei der Resorzinprobe bedingt.

Das Verhalten verschiedener Zuckerarten und anderer Kohlehydrate gegen salzsaure Resorzinlösung. (Vergl. Tabelle 1, Nr. 13 bis 25.)

Um zu entscheiden, ob die Fähigkeit, mit salzsaurem Resorzin in der Kälte einen roten Farbstoff zu bilden, eine Eigenschaft bestimmter Zuckerarten ist oder ob sie auf vorhandene Verunreinigungen zurückgeführt werden muß, wurde eine Anzahl von Mono- und Polysacchariden untersucht. Wie aus den Angaben der Tabelle 1 ersehen werden kann, tritt bei den chemisch reinen Verbindungen die Reaktion nicht ein, auch dann nicht, wenn sie vorher einige Zeit auf höhere Temperatur erwärmt worden waren. Chemisch reine Arabinose, Fruchtzucker¹⁾ und Rohrzucker wurden in Pulverform und in wässriger Lösung im Paraffinbade während einer Stunde auf 110° und während einer halben Stunde auf 125° (die Arabinose auch auf 160°) erhitzt. In keinem Falle gaben die ätherischen Auszüge mit Resorzinlösung eine Rotfärbung.

Dagegen wurde bei den nicht chemisch reinen und nicht einheitlichen Kohlehydraten, die zur Untersuchung herangezogen wurden, das Eintreten der Reaktion auch vor dem Erhitzen beobachtet, so beim technisch reinen Traubenzucker (der nach wiederholtem Umkristallisieren aus Alkohol nicht mehr reagierte), beim Kapillärsirup und käuflichen Invertzucker. Alle diese Stoffe gaben bei der Resorzinprobe eine intensiv kirschrote Färbung.

Die Untersuchung verschiedener Invertzuckerpräparate.

Zur Untersuchung des Invertzuckers auf sein Verhalten gegen Resorzin wurden mehrere Präparate aus Rohrzuckerlösungen durch Erhitzen unter Druck und bei Gegenwart von Salzsäure, Kohlensäure und von verschiedenen organischen Säuren, sowie mittels Invertin hergestellt.

Zur Inversion des Rohrzuckers durch Erhitzen unter Druck wurde eine 80 %ige neutrale wässrige Lösung von Rohrzucker in einem fest verschlossenen Gefäße 6 Stunden lang im Paraffinbade auf 120 bis 125° erhitzt. Der erhaltene Sirup reduzierte Fehlingsche Lösung sehr stark.

Die Inversion bei Gegenwart von Salzsäure wurde nach dem in den Ausführungsbestimmungen zum Zuckersteuergesetz vorgeschriebenen Verfahren²⁾ und nach den Angaben von Wohl³⁾ ausgeführt.

1. 13,024 g Rohrzucker wurden mit 75 ccm Wasser gelöst, 5 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 hinzugefügt und die Lösung unter häufigem Umschütteln 5 Minuten lang auf 65—70° erwärmt.

2. 80 Teile Rohrzucker, 20 Teile Wasser und 0,004 Teile wasserfreie Salzsäure wurden auf dem siedenden Wasserbade während einer Stunde erhitzt. Es entstand ein farbloser Invertzuckersirup.

¹⁾ Daß Lösungen von reinem Fruchtzucker kürzere Zeit ohne Zersetzung erhitzt werden können, ist schon bekannt (vergl. Lippmann, Chemie der Zuckerarten III. Auflage (1904) S. 829 bis 830). Bei längerem Kochen tritt Zersetzung ein, vergl. S. 638 u. 639 dieser Arbeit.

²⁾ Zentralblatt f. d. Deutsche Reich 1903, S. 316.

³⁾ Berichte der deutsch. Chem. Ges. 23, S. 2084.

Eine Inversion durch Kohlensäure wurde herbeigeführt, indem eine 30 %ige Rohrzuckerlösung nach längerem Einleiten von Kohlensäure in fest verschlossener Flasche drei Stunden lang auf ungefähr 100° erhitzt und alsdann auf dem Wasserbade zur Sirupkonsistenz eingedampft wurde.

In allen diesen Fällen wurde die eingetretene Inversion des Rohrzuckers durch das Verhalten der invertierten Lösungen gegen Fehlingsche Lösung nachgewiesen. Die ätherischen Auszüge der Invertzuckerproben gaben ausnahmslos mit Resorzinlösung sehr lebhaft kirschrote Färbungen¹⁾.

Von organischen Säuren wurden zur Inversion des Rohrzuckers Oxalsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Weinsäure und Zitronensäure benutzt. Je 20 ccm einer 50-prozentigen Rohrzuckerlösung wurden nach Zusatz von 0,1 % bzw. 1 % der betreffenden Säure während einer bis drei Stunden auf ungefähr 80° erwärmt und die Inversion mit Fehlingscher Lösung nachgewiesen.

Die Ergebnisse der Prüfung des Verhaltens dieser Invertzuckerlösungen bei der Resorzinprobe sind in der nachstehenden Tabelle 3 übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle 3. Das Verhalten mittels organischer Säuren aus Rohrzucker hergestellter Invertzuckerlösungen bei der Resorzinprobe.

Art und Menge der zur Inversion des Rohrzuckers verwendeten Säuren %	Dauer der Einwirkung der Säure. Minuten	Temperatur °	Ausfall der Resorzinprobe	Intensität der beobachteten Färbung.	
Oxalsäure {	0,1	60	80—85	positiv	Die Färbung tritt erst nach einiger Zeit ein.
	0,1	120	80—85	"	" " " sogleich lebhaft ein.
	1	180	80—85	"	Sogleich intensiv kirschrote Färbung.
Bernsteinsäure {	0,1	60	80—85	"	Die Färbung entsteht erst nach einiger Zeit.
	0,1	120	80—85	"	" " " " " " "
	1	180	80—85	"	" " entwickelt sich langsam.
Äpfelsäure {	0,1	60	80—85	"	Die Färbung entsteht erst nach einiger Zeit.
	0,1	120	80—85	"	" " " " " " "
	1	180	80—85	"	Sogleich lebhaft rote Färbung.
Weinsäure {	0,1	60	80—85	"	Die Färbung entsteht erst nach einiger Zeit.
	0,1	120	80—85	"	" " tritt sogleich ein.
	1	180	80—85	"	Sogleich lebhaft rote Färbung.
Zitronensäure {	0,1	60	80—85	"	Die Färbung entsteht erst nach einiger Zeit.
	0,1	120	80—85	"	" " tritt sogleich ein.
	1	180	80—85	"	Sogleich lebhaft kirschrote Färbung.

Schon nach einstündiger Einwirkung der Säuren auf die Rohrzuckerlösungen, die vorher mit Resorzinlösung keine Farbstoffbildung hatten erkennen lassen, konnte das Eintreten der Reaktion beobachtet werden, deren Intensität sich mit der Zeitdauer der Erhitzung steigerte.

¹⁾ Vergl. auch Kikton a. a. O. S. 576.

Anders verhielt sich der mittels Invertin hergestellte Invertzucker.

Zur Inversion des Rohrzuckers mit Invertin wurden zwei Invertinpräparate benutzt, von denen das eine ein mehrere Jahre altes, von Prof. Dr. von Hüfner hergestelltes Präparat von Bierhefeinvertin, das andere ein frisch bezogenes Präparat von der Firma Merck (Darmstadt) darstellte. Beide Präparate erwiesen sich als wirksam. Es erschien am zweckmäßigsten, die Inversion in folgender Weise vorzunehmen: Eine Lösung von Rohrzucker, welche in 100 ccm das halbe Normalgewicht = 13 g Rohrzucker gelöst enthielt, wurde mit wenig Invertin versetzt und während 2—3 Tagen im Wasserbade bei 35—37° gehalten. Alsdann wurde die Flüssigkeit filtriert und auf dem Wasserbade vorsichtig bis zur Sirupkonsistenz eingedampft, wozu ungefähr 2 bis 3 Stunden erforderlich waren. In diesem Sirup wurde der Gehalt an Invertzucker gewichtsanalytisch mit Fehlingscher Lösung bestimmt. Auf diese Weise wurde ein Präparat erhalten, welches rund 75 % Invertzucker enthielt. Mit salzsaurem Resorzin gab dieser Invertzuckersirup keine Färbung.

Hiermit war der Beweis erbracht worden, daß der durch Einwirkung des Invertins gebildete Invertzucker sich dem Resorzin gegenüber wie reiner, kaltgewonnener Bienenhonig verhält und in Gemischen mit Bienenhonig mit Hilfe der Resorzinprobe nicht erkannt werden kann.

Die Beeinflussung der Resorzinprobe durch vorangehende Erwärmung der Kohlehydrate.

Einige Proben Kunsthonig, Kapillärsirup und käuflicher Invertzucker, sowie verschiedene Sorten Bienenhonig wurden $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang im Paraffinbade verschieden hoch erhitzt und alsdann der Resorzinprobe unterworfen. Zum Vergleich wurde jedesmal die Reaktion mit einer nicht erwärmten Probe ausgeführt. Dabei ergab sich, daß das Verhalten dieser Zuckergemische gegen Resorzin in rauchender Salzsäure durch das Erwärmen stark beeinflußt wird. Diejenigen Stoffe, welche schon vor dem Erwärmen mit dem Resorzin reagierten, gaben, nachdem sie erhitzt worden waren, eine bedeutend intensivere Färbung. Andererseits wurde bei solchen Stoffen, die, wie Bienenhonig und mit Invertin hergestellter Invertzucker vorher mit Resorzin keinen Farbstoff bildeten, durch die Erwärmung der Eintritt der Reaktion erst hervorgerufen. (Vergl. die Zusammenstellung in Tabelle 4, Seite 239.)

Beim Kunsthonig, Stärkesirup und dem Invertzucker des Handels genügte schon ein einstündiges Erhitzen auf 120°, um die eintretende Rotfärbung bei der Resorzinprobe intensiver erscheinen zu lassen. Bienenhonig konnte meist schon durch einstündiges Erwärmen auf 100° soweit verändert werden, daß er mit Resorzin deutlich reagierte. Koniferenhonig zeigte bei 100° noch keine Veränderung; erst nach längerem Erhitzen auf 110° trat eine deutlich wahrnehmbare Färbung mit Resorzin ein¹⁾.

Je höheren Temperaturen die Proben ausgesetzt waren, um so intensiver war später die Reaktion. Kunsthonig, Stärkezucker und Bienenhonig, die während einer Stunde auf 170° erhitzt worden waren und dabei eine weitgehende Zersetzung erlitten hatten, scheiden bei der Resorzinprobe einen fast schwarzen Farbstoff ab.

¹⁾ Dies dürfte vielleicht auf einen geringeren Säuregehalt des Honigs zurückzuführen sein. Vergl. Klassert a. a. O., S. 127.

Tabelle 4. Die Beeinflussung des Ausfalls der Resorzinprobe durch stärkeres Erwärmen des Honigs und der Zuckergemische vor Anstellung der Probe.

Bezeichnung der Probe	Temperatur °	Dauer der Erhitzung. Minuten	Ausfall der Resorzinprobe	Art der beobachteten Färbung
Kunsthonig	75	60	positiv	lebhaft kirschrot
	120	60	„	dunkel kirschrot
Stärkesirup (Kapillärsirup)	75	60	„	lebhaft rot
	120	60	„	dunkel kirschrot
	170	60	„	tief schwarzrot
Käuflicher Invertzucker	75	60	„	intensiv kirschrot
	120	60	„	dunkel kirschrot
	170	60	„	tief schwarzrot
Reiner Honig	100	60	„	hellrot
	120	30	„	intensiv kirschrot
	170	60	„	dunkel kirschrot
Blütenhonig	100	60	„	hellrot
	120	30	„	intensiv kirschrot
Bienenhonig	100	60	„	lebhaft rot
	120	30	„	intensiv kirschrot
Koniferenhonig	100	60	negativ	—
	110	60	positiv	schwach rot
	120	30	„	lebhaft rot

Der Einfluß einer gelinden Erwärmung auf das Verhalten des Bienenhonigs bei der Resorzinprobe.

In Erwägung des Umstandes, daß gewisse Sorten Honig bei der Herstellung für den Gebrauch einer gelinden Erwärmung unterworfen werden, schien es erwünscht, festzustellen, wie ein derart gewonnener Honig sich bei der Resorzinprobe verhält. Verschiedene Proben Honig wurden daher längere Zeit auf dem Wasserbade auf 50 bis 60° erwärmt. Schon nach einstündiger Erhitzung konnte bei allen Proben, die vorher mit dem Resorzin keine oder nur eine sehr schwache gelbe Färbung gegeben hatten, das Auftreten einer rötlichen Färbung beobachtet werden. Nach längerem Erhitzen war die Intensität der Reaktion wesentlich stärker¹⁾. Die einzelnen Beobachtungen sind in Tabelle 5 niedergelegt.

¹⁾ Diese Beobachtung ist inzwischen auch von anderer Seite bestätigt worden. Vergl. Drawe, Zeitschrift für öffentl. Chem., 14. Jahrg., Heft 18, S. 352. Dagegen konnten Riechen und Fiehe eine Verstärkung der Farbreaktion, die zu Zweifeln oder Irrtümern führen könnte, bei erwärmten Honigen nicht wahrnehmen, a. a. O., S. 1090.

Tabelle 5. Das Verhalten schwach erwärmten Bienenhonigs bei der Resorzinprobe.

Bezeichnung der Probe	Dauer der Erwärmung Minuten	Temperatur °	Art der beobachteten Färbung
Blütenhonig	60	54	rötliche Färbung
	120	54	rote Färbung
	180	54	„ „
Bienenhonig	60	57	schwach rötliche Färbung
	120	57	„ „ „
	300	60	hellrote Färbung
Bienenhonig	60	57	schwach rötliche Färbung
	120	57	hellrote Färbung
	300	60	rote Färbung

Diese Veränderung des Honigs ist wahrscheinlich dem Säuregehalt des Bienenhonigs zuzuschreiben, der während des Erwärms eine geringe Zersetzung des im Honig enthaltenen Fruchtzuckers herbeiführt. Wird nämlich eine Honiglösung vorsichtig neutralisiert, so läßt sie sich längere Zeit auf dem Wasserbade erhitzen, ohne daß die Reaktion mit salzsaurem Resorzin eintritt.

Der positive Ausfall der Resorzinprobe bei dem mittels Invertin hergestellten Invertzuckersirup.

Im Hinblick auf das vorerwähnte Verhalten des Honigs und auf die Tatsache, daß der mit Invertin hergestellte Invertzucker gleichfalls bei der Resorzinprobe keine Rotfärbung gibt, erschien die Feststellung erwünscht, ob und unter welchen Bedingungen auch bei diesem Invertzucker der Eintritt der Reaktion hervorgerufen werden kann. Zu diesem Zweck angestellte Versuche führten zu folgendem Ergebnis:

1. Auch der mit Invertin bereitete Invertzucker gibt eine Reaktion mit salzsaurem Resorzin, wenn er genügend lange erwärmt wird. Wie oben dargelegt wurde, kann eine Lösung dieses Invertzuckers während 2—3 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt werden, ohne daß die Reaktion eintritt. Wird aber das Erwärmen noch länger fortgesetzt, so gibt das Produkt mit Resorzinlösung gleichfalls eine lebhafte Rotfärbung.

2. Ebenso kann bei Invertin-Invertzuckerlösungen der Eintritt der Reaktion durch sehr geringe Mengen von Säuren hervorgerufen werden. Wurden Invertzuckerlösungen nach Zusatz eines Tropfens der Lösung einer organischen Säure, wie Äpfelsäure, Weinsäure, oder einer anorganischen Säure, wie Phosphorsäure, auf dem Wasserbade eingedampft, so gaben sie bei der Resorzinprobe eine lebhafte Rotfärbung, während die gleich behandelten säurefreien Lösungen nicht reagierten.

Untersuchung der durch längere Einwirkung von Salzsäure auf Rohrzucker entstehenden Verbindungen.

Bei längerer Einwirkung von Säuren auf Kohlehydrate bei höherer Temperatur entstehen u. a. die sogenannten Huminsubstanzen, die zuerst von Achard aus dem Torf und der Ackerkrume isoliert und dann als Produkte vieler chemischen und physiologischen Zersetzungs Vorgänge beobachtet worden sind. Sie werden zweckmäßig nach dem von Konrad und Gutzeit¹⁾ beschriebenen Verfahren aus Rohrzucker dargestellt.

20 g Rohrzucker wurden mit 50 ccm verdünnter Salzsäure, die 5,11 g Salzsäuregas enthielten, 17 Stunden im Kochsalzbade am Rückflußkühler erhitzt. Nach dem Erkalten wurden die abgeschiedenen braunschwarzen Huminsubstanzen abfiltriert, zu einem feinen Pulver verrieben und am Rückflußkühler so lange mit Wasser ausgekocht, bis sie selbst und auch die abfiltrierten Waschwässer nicht mehr sauer reagierten. Der ausgewaschene Rückstand wurde im Luftbade bei 130° getrocknet.

Bei der Prüfung der so erhaltenen Huminsubstanzen und ihrer ursprünglichen Mutterlauge ergab sich, daß die Huminsubstanzen mit Resorzin nicht reagieren und somit als Ursache für den positiven Ausfall der Resorzinprobe nicht in Frage kommen können. Dagegen gab eine Probe der durch Eindampfen konzentrierten Mutterlauge eine intensive rote Färbung. Die Mutterlauge enthält neben anderen löslichen Umwandlungsprodukten des Zuckers größere Mengen von Ameisensäure und besonders Lävulinsäure²⁾. Aus diesem Grunde wurden diese Säuren der Resorzinprobe unterworfen, welche zu einem negativen Ergebnis führte. Weitere Versuche, aus der neutralisierten Mutterlauge den reaktionsfähigen Stoff zu gewinnen, blieben ohne Erfolg.

Untersuchung der bei der trocknen Destillation von Kohlehydraten entstehenden Stoffe.

Werden Kohlehydrate längere Zeit auf 170—180° erhitzt, so entsteht neben verschiedenen flüchtigen Zersetzungsprodukten Karamel, ein Gemisch verschiedener Verbindungen.

Zur Untersuchung der bei der Karamelisierung sich bildenden Stoffe wurden reiner Traubenzucker, Fruchtzucker, Rohrzucker und Bienenhonig in einem weiten Reagenzrohr im Paraffinbade auf 170—180° erhitzt; das Rohr war mit einem doppelt durchbohrten Stopfen verschlossen, durch dessen eine Öffnung ein Glasrohr auf den Boden des Gefäßes führte, während es andererseits durch ein doppelt gebogenes Glasrohr mit einem leeren, wiederum mit einem doppelt durchbohrten Stopfen verschlossenen Erlenmeyerkölbchen verbunden war. Der lange Schenkel des Glasrohres reichte bis auf den Boden des Kölbchens. Dieses stand durch ein doppelschenkliges Glasrohr mit einem zweiten, ebenfalls mit einem Stopfen versehenen Reagenzrohr in Verbindung, das durch ein kurzes Glasrohr mit dem Schlauch einer Saugpumpe verbunden war. Das leere Erlenmeyerkölbchen wurde durch Eiswasser gekühlt; das vor-

¹⁾ Berichte der Deutsch. Chem. Ges. 18, S. 440.

²⁾ Vergl. Lippmann, Chemie der Zuckerarten, III. Aufl. (1904), S. 1243.

gelegte Reagenzrohr wurde mit einer wässrigen Lösung von reinem Honig beschickt. Während der Dauer des Erhitzens wurde durch den Apparat ein Luftstrom gesaugt, um die flüchtigen Destillationsprodukte möglichst vollständig in die beiden Vorlagen überzuführen. Nach Beendigung des Prozesses wurden das gebildete Karamel, die in dem Erlenmeyerkölbchen angesammelten Destillationsprodukte und die vorgelegte Honiglösung auf ihr Verhalten gegen salzsaure Resorzinlösung untersucht. Die Befunde sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Tabelle 6. Verhalten der bei der trockenen Destillation von Kohlehydraten entstehenden Zersetzungsprodukte bei der Resorzinprobe.

Ausgangsstoff	Temperatur °	Mit salzsaurer Resorzinlösung geben		
		die vorgelegte Honiglösung	das Kondensat im Erlenmeyerkölbchen	der Rückstand
Reiner Traubenzucker	170—175	kirschrote Färbung	kirschrote Färbung	keine Färbung
Fruchtzucker	165—170	„ „	„ „	intensive Rotfärbung
Rohrzucker	170—180	„ „	„ „	lebhaftere Rotfärbung
Bienenhonig	170—180	„ „	„ „	rote Färbung

Es ergab sich, daß bei der trockenen Destillation von Kohlehydraten der reaktionsfähige Stoff ebenfalls gebildet wird. Dieser befand sich nicht nur in den übergegangenen, zum Teil in dem Erlenmeyerkölbchen kondensierten, zum Teil in der vorgelegten Honiglösung absorbierten Destillaten, sondern auch im Destillationsrückstand. Das in dem Erlenmeyerkölbchen angesammelte Destillat bestand aus einer wässrigen Flüssigkeit von saurer Reaktion und einem gelblich gefärbten Öl von eigenartigem, an Benzaldehyd erinnernden Geruch. Mit Resorzinlösung reagierte es ziemlich stark und vermochte, in sehr kleiner Menge zu einer Lösung von Honig hinzugesetzt, auch bei dieser den Eintritt der Reaktion herbeizuführen. Der bei der Destillation des Traubenzuckers verbliebene Rückstand gab mit Resorzin keine Färbung, ein Beweis, daß der gesuchte Stoff unter den Zersetzungsprodukten des reinen Traubenzuckers sich nicht in erheblicher Menge befindet.

Das Verhalten längere Zeit erhitzter Trauben- und Fruchtzuckerlösungen bei der Resorzinprobe. — Durch einen weiteren Versuch wurde der Nachweis geführt, daß sich der die Reaktion bedingende Stoff hauptsächlich bei der Zersetzung des Fruchtzuckers bildet. Zwei 50%ige Lösungen von chemisch reinem Trauben- und Fruchtzucker, die bei einer Prüfung mit Resorzin keine Färbung zeigten, wurden gleichzeitig nebeneinander vier Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Nach dieser Zeit gab eine Probe der Fruchtzuckerlösung eine intensiv kirschrote Färbung, während bei der Traubenzuckerlösung nur eine sehr schwache rosa Farbe beobachtet wurde.

Ein weiterer Versuch zeigte, daß sehr kleine Mengen des bei der Zersetzung des Fruchtzuckers gebildeten Stoffes mit der Resorzinlösung nachgewiesen werden können. Zu 5 ccm einer 20%igen Honiglösung wurden wechselnde Mengen der zum Sieden

erhitzten LävuloseLösung hinzugesetzt, und die Mischung der Resorzinprobe unterworfen. Schon bei einem Zusatz von 0,1 ccm der LävuloseLösung wurde eine hellrosa Färbung beobachtet. Mit steigendem Zusatz steigerte sich die Intensität der Färbung, die bei einem Zusatz von 0,5 ccm sofort eintrat (vergl. Tabelle 7).

Tabelle 7. Der positive Ausfall der Resorzinprobe nach Zusatz zum Sieden erhitzter LävuloseLösung zu Honig.

Nr.	Zu 5 ccm Honiglösung wurden von der Fruchtzuckerlösung hinzugesetzt:	Art der beobachteten Färbung	Bemerkungen
1	0 ccm	keine Färbung	—
2	0,1 „	hellrosa Färbung	} die Reaktion begann nach wenigen Sekunden
3	0,3 „	rote Färbung	
4	0,5 „	kirschrote Färbung	
5	0,8 „	intensiv kirschrote Färbung	} die Reaktion trat sogleich ein
6	1,0 „	„ „ „	

Nachdem durch diese Versuche ermittelt war, daß als Ursache für das Auftreten der Reaktion ein Zersetzungsprodukt des Fruchtzuckers angesehen werden mußte, wurde das Furfurol und seine Derivate, die zahlreiche Farbreaktionen der in Frage stehenden Art eingehen, näher untersucht. Das Furfurol selbst kam, wie sich zeigte, nicht in Betracht, da es wie oben erwähnt, mit salzsaurem Resorzin eine von der kirschroten Färbung durchaus verschiedene blaugraue Färbung gibt. Schließlich wurde in dem Oxymethylfurfurol der gesuchte Stoff aufgefunden.

Darstellung des Oxymethylfurfurols.

Oxymethylfurfurol wird als Nebenprodukt bei der Einwirkung von Säuren, z. B. Oxalsäure, auf Inulin gewonnen, wird aber am besten nach der von Kiermeyer¹⁾ gegebenen Vorschrift aus Rohrzucker dargestellt. Eine 30%ige Lösung von Rohrzucker wird mit 0,3% Oxalsäure in einem Autoklaven drei Stunden lang bei einem Druck von 3 Atm. erhitzt. Dann wird die noch warme Flüssigkeit mit Kaliumkarbonat neutralisiert, filtriert und nach Zusatz von Bleiessig mehrere Stunden stehen gelassen, wobei sich die gelösten, die Braunfärbung verursachenden Zersetzungsprodukte größtenteils abscheiden. Die Flüssigkeit hat dann einen helleren Farbenton angenommen. Zur Extraktion wird zweckmäßig an Stelle des Äthers, in dem das Oxymethylfurfurol verhältnismäßig schwer löslich ist, Essigäther verwendet; ein 5—6 maliges Ausschütteln mit diesem genügt, um den größten Teil des Oxymethylfurfurols zu gewinnen. Die Reindarstellung des Aldehydes wird durch seine Zersetzlichkeit bei der Destillation, auch im luftverdünnten Raum, seine geringe Flüchtigkeit mit Wasserdämpfen und seine Neigung, beim Erhitzen oder bei längerem Stehen im Exsikkator über Schwefelsäure unter Wasserabspaltung in ein Methylfurfuroxyd überzugehen, sehr

¹⁾ A. a. O., S. 8—9.

erschwert. Auf umständlichem Wege gelang es, den Aldehyd ziemlich rein als hellgelben, sich leicht dunkelbraun färbenden Sirup von obstähnlichem Geruch zu erhalten. Kleine Mengen von Essigester und Wasser lassen sich indessen nicht ganz entfernen. Für längere Zeit kann man den Aldehyd anscheinend am besten unverändert aufbewahren, wenn man ihn in etwas Essigäther auflöst. Die Reaktionen des Aldehydes werden durch die Anwesenheit des Essigesters nicht beeinflusst.

Derivate des Oxymethylfurfurols.

Von Derivaten des Oxymethylfurfurols wurden das Phenylhydrazon, das Benzoylderivat und ein Oxim dargestellt.

Das Phenylhydrazon wird nach Kiermeyer durch Einwirkung der berechneten Menge von essigsaurem Phenylhydrazin auf eine wässrige Lösung des Rohaldehydes gewonnen. Ebenso leicht entsteht die Verbindung, wenn eine wässrige Lösung des Aldehydes mit kleinen Mengen des Phenylhydrazins versetzt wird, bis keine Abscheidung von Öltröpfchen mehr eintritt. Das Öl erstarrt nach kurzer Zeit. Das rohe Produkt wird auf Ton abgepreßt und möglichst schnell aus heißem Benzol umkristallisiert. Schmelzpunkt: 137—138°. Längeres Kochen mit Benzol führt leicht zur Bildung harziger Produkte.

Analyse: 0,1528 g Substanz gaben 0,3728 g CO₂ und 0,081 g H₂O
entsprechend: 66,49% C und 5,89% H
Berechnet für C₁₂H₁₂N₂O₂: 66,20% C und 5,55% H.

Das Antialdoxim wurde erhalten, indem zu der wässrigen Lösung des Aldehydes etwas mehr als zwei Molekel salzsaures Hydroxylamin in pulverisiertem Zustande und dann die berechnete Menge kohlenensaures Natrium in konzentrierter Lösung hinzugefügt wurden; eine Erhöhung der Temperatur wurde durch Einstellen des Reaktionsgefäßes in kaltes Wasser vermieden. Nach mehrstündigem Stehen wurde die wässrige Lösung mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Äthers hinterblieb ein gelbgefärbtes Öl, das im Vakuum zu einer strahligen kristallinischen Masse erstarrte. Aus heißem Chloroform schied sich das Oxim in schwach gelb gefärbten Nadelchen ab, die bei 81°—82° schmolzen.

Die Benzoylierung wurde nach der Methode von Schotten-Baumann durchgeführt. Der Aldehyd wurde in Wasser gelöst, die 1½-fache Gewichtsmenge Benzoylchlorid hinzugesetzt und unter allmählichem Zusatz einer 10%igen Ätznatronlösung bis zum Verschwinden des Geruches nach Benzoylchlorid geschüttelt. Es schied sich alsdann ein gelbes Öl ab, das nach mehrfachem Waschen mit sehr verdünnter Natronlauge oder auch nach kurzem Aufbewahren im Eisschrank erstarrte. Aus sehr verdünntem Alkohol schied sich der Körper in schönen hellgelben Nadeln ab, deren Schmelzpunkt bei 57—57,5° lag.

Analyse: 0,1544 g Substanz gaben 0,3829 g CO₂ und 0,0616 g H₂O
entsprechend: 67,63% C und 4,43% H
Berechnet für C₁₂H₁₀O₄: 67,82% und 4,34% H.

Die Empfindlichkeit der Reaktion des Oxymethylfurfurols mit Resorzin.

Das Oxymethylfurfurol gibt mit Resorzin eine äußerst intensive, kirschrote Färbung, die der bei der Untersuchung des Kunsthonigs beobachteten vollkommen gleicht. Die Reaktion ist so empfindlich, daß der Aldehyd noch in einer Verdünnung von 1:50000 durch den sofortigen Eintritt einer lebhaft roten Färbung mit Resorzin erkannt werden kann. Selbst bei einer Verdünnung von 1:100000 wird nach einigen Augenblicken noch eine deutlich wahrnehmbare, hellrote Färbung beobachtet. Dies wurde nachgewiesen, indem reiner Bienenhonig mit wechselnden Mengen einer 0,1%igen wässerigen Lösung des Aldehydes versetzt und der Resorzinprobe unterworfen wurde. Berücksichtigt man, daß der verwendete Aldehyd noch mit etwas Wasser und Essigester verunreinigt war, so ist die Empfindlichkeit der Reaktion in Wirklichkeit noch etwas größer.

Der Nachweis des Oxymethylfurfurols im Kunsthonig und Invertzucker.

Es blieb nun noch die Aufgabe zu lösen, die Anwesenheit des Oxymethylfurfurols im Kunsthonig und im Invertzucker nachzuweisen. Zu diesem Zwecke wurden von diesen Stoffen größere Mengen in wässriger Lösung durch oft wiederholtes Ausschütteln mit Äther und Essigester ausgezogen. Obwohl sich der Aldehyd sehr leicht in Wasser löst und der wässerigen Lösung daher nicht völlig entzogen werden kann, war es erforderlich, den Kunsthonig in entsprechender Weise zu verdünnen, da sonst in dem Extraktionsmittel störende Emulsionen auftraten, die nur mit Mühe beseitigt werden konnten und selbst nach mehrtägigem Stehen nicht verschwanden. Nach dem Verdampfen des Extraktionsmittels hinterblieb neben kleinen Mengen Wachs in geringer Menge ein Sirup, der den gleichen obstähnlichen Geruch aufwies wie das Oxymethylfurfurol. Da angesichts der sehr geringen Mengen, die erhalten wurden, eine Reinigung des erhaltenen Sirups nicht in Frage kommen konnte, mußte die Untersuchung sich darauf beschränken, durch Darstellung gut kristallisierter Derivate und durch den Vergleich charakteristischer Reaktionen die Identität des Sirups mit dem Oxymethylfurfurol nachzuweisen. Ergänzend sei erwähnt, daß der Sirup in kleinster Menge mit Resorzinlösung eine sehr intensive Färbung gab.

Identifizierung des durch Extraktion von Kunsthonig und Invertzucker erhaltenen Sirups mit dem Oxymethylfurfurol.

Zum Nachweis der Identität des aus dem Kunsthonig und aus dem Invertzucker des Handels durch Extraktion mit Äther bezw. mit Essigester gewonnenen Sirups mit dem Oxymethylfurfurol wurden aus dem Sirup ein Phenylhydrazon und ein Benzoylderivat hergestellt und mit den entsprechenden Derivaten des Oxymethylfurfurols verglichen.

Das Phenylhydrazon wurde in der oben beschriebenen Weise durch Behandeln einer wässerigen Lösung des Sirups mit essigsauerm Phenylhydrazin dargestellt. Das abgeschiedene Öl erstarrte bald zu orangeroten Flocken. Durch Umkristallisieren aus heißem Benzol wurden gelbe Nadelchen erhalten, die sich durch ihren Habitus, ihren

Schmelzpunkt von 137° und das Ergebnis der Elementaranalyse als mit dem Hydrazon des Oxymethylfurfurols identisch erwiesen.

Analyse: 0,1426 g Substanz gaben 0,3484 g CO₂ und 0,0730 g H₂O
entsprechend: 66,62% C und 5,68% H

Berechnet für C₁₂H₁₂N₂O₂: 66,20% C und 5,55% H.

Von dem Benzoylderivat wurde ein besonders schönes Präparat aus dem Extrakt des Kunsthonigs erhalten. Aus sehr verdünntem Alkohol wurden prächtige, schwach gelb gefärbte Nadeln erhalten, deren Schmelzpunkt bei 57° lag. Auch dieses Produkt glich vollkommen dem entsprechenden Derivate des Oxymethylfurfurols.

Analyse: 0,1480 g Substanz gaben 0,3668 g CO₂ und 0,0546 g H₂O
entsprechend: 67,56% C und 4,09% H

Berechnet für C₁₃H₁₀O₄: 67,82% C und 4,34% H.

Die Identität des erhaltenen Sirups mit dem Oxymethylfurfurol wurde außerdem durch den übereinstimmenden Ausfall der Reaktionen mit fuchsinschweflicher Säure, mit Aminen und einigen Phenolen nachgewiesen. Die Reaktionen, zu denen die wässrige Lösung eines ätherischen Extraktes von Kunsthonig einerseits und eine 1%ige wässrige Lösung von Oxymethylfurfurol andererseits dienten, wurde in der Weise ausgeführt, daß einige Tropfen der zu prüfenden Lösung mit einigen Tropfen des entsprechenden Reagens in einem Porzellanschälchen vermischt wurden. Die Färbungen traten ausnahmslos sofort ein und erwiesen sich nach ihrer Entwicklung und ihrem Farbcharakter als vollkommen identisch. Die Beobachtungen im einzelnen sind in Tabelle 8 wiedergegeben.

Tabelle 8. Vergleich einiger Farbreaktionen des Oxymethylfurfurols mit denen des aus Kunsthonig durch Extraktion gewonnenen Sirups.

Reagens	Farbreaktion bei Verwendung	
	einer 1%igen wässrigen Lösung von Oxymethylfurfurol	einer wässrigen Lösung des Extraktes aus Kunsthonig
Fuchsinschweflige Säure	rote Färbung	rote Färbung
Essigsaures Anilin	intensiv rote Färbung	intensiv rote Färbung
Phlorogluzin in salzsaurer Lösung	intensiv orangerote Färbung	intensiv orangerote Färbung
Orzin ¹⁾ (1%ige Lösung in Salzsäure)	orangerot, dann ziegelrot	orangerot, dann ziegelrot
In Alkohol gelöst, die Reaktion verläuft in Gegenwart von konz. Schwefelsäure	intensiv scharlachrot	intensiv scharlachrot
Thymol, (15%ige Lösung)	intensiv rotviolett	intensiv rotviolett
α-Naphtol, (verd. Lösung)	intensiv rotviolett	intensiv rotviolett
Diphenylamin, (konz. Lösung)	weinrot, nach Zusatz von viel Säure grün	weinrot, nach Zusatz von viel Säure grün

Besonders charakteristisch waren die mit Thymol und β-Naphtol erhaltenen Färbungen.

¹⁾ Das Orzin wurde in einem Gemenge von gleichen Teilen Salzsäure (Spez. Gew. 1,18) und Wasser gelöst.

Die vorstehenden Untersuchungen wurden in den Sommer- und Herbstmonaten des Jahres 1908 im chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes auf Anregung des Direktors der chemisch-hygienischen Abteilung Herrn Geheimen Regierungsrats Dr. Kerp ausgeführt.

Berlin, im Dezember 1908.

Nachtrag.

Nach Abschluß dieser Arbeit erschien eine Abhandlung von W. Alberda van Ekenstein und J. S. Blanksma über das β -Oxy- δ -methylfurfurol als die Ursache einiger Farbreaktionen der Hexosen¹⁾. In dieser Abhandlung wird festgestellt, daß sich sowohl bei trockener Erhitzung, wie auch beim Erwärmen von Hexosen mit verdünnter Säure unter Abspaltung von drei Molekeln Wasser β -Oxy- δ -methylfurfurol bildet. Die Verfasser schreiben die Farbreaktionen nach Fiehe, Seliwanoff und Baudouin der Bildung dieses Körpers zu.

¹⁾ Chemisch Weekblad 1909 Nr. 14.

Über den Gehalt der Handelsgelatine an schwefliger Säure.

Von

Dr. Wilhelm Lange,

Ständigem Mitarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Unter Gelatine versteht man diejenigen Sorten Leim, die sich dadurch vor gewöhnlichem Leim auszeichnen, daß sie nahezu farb-, geruch- und geschmacklos sind. In chemischer Beziehung unterscheiden sich — wenn man von den in beiden Erzeugnissen enthaltenen Nebenbestandteilen, deren Art und Menge je nach dem Ausgangsmaterial und der Herstellungsweise wechselt, absieht — Leim und Gelatine nicht von einander. Beide bestehen im wesentlichen aus Glutin, bisweilen auch aus einem Gemisch von Glutin und Chondrin, zwei zur Gruppe der Albuminoide gehörenden und in ihren Eigenschaften einander nahe stehenden Stoffen, die sich bilden, wenn man die sogenannten leimgebenden Substanzen der tierischen Körper, das Collagen bezw. Chondrogen, mit Wasser erhitzt. Die fabrikmäßige Darstellung des Leims erfolgt in seinen Grundzügen in der Weise, daß das Ausgangsmaterial, welches meist aus Knochen, Knorpeln, Haut- und Lederabfällen und dergl. besteht, von den nicht leimgebenden Stoffen, besonders den Mineralbestandteilen der Knochen sowie dem Fett, befreit und die hinterbleibende leimgebende Substanz durch Erhitzen mit Wasser in Leim übergeführt wird. Die Bereitung der Gelatine unterscheidet sich von der des Leims im allgemeinen nur dadurch, daß besondere Sorgfalt auf die Auswahl sowie die weitere Verarbeitung des Rohmaterials, als das sich besonders Kalbsknochen und Abfälle aus Kalbshäuten eignen, gelegt wird.

Gelatine wird in mannigfachster Weise verwandt. Neben den hier nicht in Betracht kommenden zahlreichen Verwendungsarten in der Technik dient sie bei der küchen- und gewerbsmäßigen Bereitung gewisser gallertartiger Speisen, z. B. der Fleisch- und Fischgelees (Sülzen, Aspiks) sowie der meist unter Verwendung von Wein oder Fruchtsäften hergestellten süßen Geleespeisen; sie findet ferner Anwendung bei der Klärung von Wein, Bier und anderen Getränken sowie zum Einschließen von Fleisch zwecks dessen Konservierung. In der medizinischen Praxis gebraucht man sie in Form von Kapseln zum Einhüllen von Heilmitteln sowie zu Injektionen; in der Bakteriologie wird sie zur Herstellung von Nährböden verwandt.

Bei der Fabrikation des Leims sowohl wie der Gelatine spielt die schweflige Säure eine wichtige Rolle, indem sie verschiedenen Zwecken dient. In erster Linie

sind es wohl die bleichenden Eigenschaften gewesen, die ihr schon früh Eingang in diesen Fabrikationszweig verschafft haben; so wurde bereits im Jahre 1839 G. Nelson ein Patent auf ein Verfahren zur Gewinnung von Leim und Gelatine aus Hautabfällen¹⁾ erteilt, bei dem die schweflige Säure zur Bleichung des Leimguts verwendet wird. Terne²⁾ wies darauf hin, daß eine Behandlung mit schwefliger Säure auch deshalb von großem Vorteil sei, weil dadurch das leimgebende Gewebe in einen Zustand der Schwellung und Lockerung versetzt wird, in dem sich die Umwandlung in Leim sehr leicht vollzieht. Ferner ist sie bei der Verarbeitung von Knochen auf Leim und Gelatine insofern von Bedeutung, als nach Gerland³⁾ und Bobierre⁴⁾ die Phosphate durch eine wässrige Lösung von schwefliger Säure aus den Knochen extrahiert werden können. Vor der zu diesem Zwecke sonst meist verwendeten Salzsäure soll schweflige Säure den Vorzug haben, daß sie durch Erhitzen der entstandenen Phosphatlösung leicht zurückgewonnen werden kann. Nach dem im Jahre 1889 erteilten deutschen Reichspatente 50360 soll sich komprimierte flüssige schweflige Säure auch zum Entfetten der Knochen eignen. Eine Wirkung anderer Art besteht noch darin, daß schweflige Säure die damit behandelte Gallerte vor dem Verderben schützt. Daß sich diese verschiedenen Anwendungsarten in der Leim- und Gelatinefabrikation auch bewährt haben und in großem Umfange zur Ausübung gelangen, geht aus den von Kissling erstatteten periodischen Berichten über die Fortschritte dieses Fabrikationszweiges⁵⁾ hervor.

Es ist daher auffallend, daß sich in der nahrungsmittelchemischen Literatur nur spärliche Angaben über den Gehalt der für die Bereitung von Speisen bestimmten Gelatine an schwefliger Säure finden.

Erst neuerdings haben Buttenberg und Stüber⁶⁾ gezeigt, daß die geschwefelte Gelatine unter den im Handel befindlichen Sorten die Regel bildet; sie untersuchten eine größere Anzahl von Gelatineproben und fanden in allen schweflige Säure. Ähnliche Beobachtungen wurden bei einer im chemischen Laboratorium des Kaiserl. Gesundheitsamtes ausgeführten Untersuchung gemacht, über deren Ergebnis im nachstehenden berichtet werden soll. Die Untersuchung ging von der Absicht aus, festzustellen, in welchem Umfange in denjenigen Gelatinesorten, die ausdrücklich zu Speisezwecken in den Handel kommen, schweflige Säure enthalten ist. Desgleichen wurden verschiedene Arten von Gelatinekapseln, die in der medizinischen Praxis zum Einhüllen von Heilmitteln dienen, sowie von Gelatine, die zum Zweck der Weinklärung in den Handel kommt, auf schweflige Säure geprüft und im Anschluß hieran einige Versuche über das Verhalten der schwefligen Säure zu Gelatine ausgeführt.

Zur qualitativen Prüfung auf schweflige Säure hat sich das in der Anlage d der Ausführungsbestimmungen D zum Fleischbeschauengesetze⁷⁾ für Fleisch vor-

¹⁾ Vergl. Muspratts Handbuch der technischen Chemie Bd. 5, S. 46.

²⁾ Dinglers Polyt. Journ. **221**, S. 251.

³⁾ Muspratt, a. a. O. S. 43.

⁴⁾ Dinglers Polyt. Journ. **214**, S. 294.

⁵⁾ Chemiker-Zeitung **1892**, S. 1315; **1894**, S. 838; **1896**, S. 697; **1904**, S. 431.

⁶⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **12** (1906 II), 408.

⁷⁾ Vergl. Bekanntmachung des Reichskanzlers vom 22. Februar 1908 (Zentralblatt f. d. deutsche Reich, S. 59).

geschriebene Verfahren als recht brauchbar erwiesen; dieses kann in der folgenden Ausführungsform empfohlen werden: Man läßt 5—10 g zerschnittene Gelatine in einem weithalsigen, etwa 150 ccm fassenden Kölbchen mit 30—40 ccm Wasser quellen, löst bei gelinder Wärme auf dem Wasserbade auf, fügt 5—10 g Phosphorsäure (spez. Gewicht 1,15) hinzu, verschließt das Kölbchen lose mit einem Kork, an dem vermittels eines Einschnitts ein am unteren Ende befeuchteter Streifen Kaliumjodatstärkepapier befestigt ist, und erwärmt auf dem Wasserbade. Enthält die Gelatine erhebliche Mengen schweflige Säure, so tritt fast augenblicklich eine Blaufärbung des Streifens ein, die je nach der Menge der Säure in mehr oder weniger kurzer Zeit verschwindet. In diesen Fällen gibt sich das Vorhandensein der schwefligen Säure auch durch ihren intensiven Geruch beim Abheben des Stopfens zu erkennen. Falls nur geringe Mengen vorhanden sind, erwärmt man das Kölbchen einige Minuten, wobei man den Inhalt hin und wieder durch Umschwenken bewegt; die Blaufärbung des Streifens tritt dann meist an dem oberen Rande der feuchten Zone des Papierstreifens auf. Mit diesem Verfahren ließen sich 0,002% schweflige Säure noch mit Sicherheit nachweisen.

In der Absicht, das zeitraubende Destillationsverfahren zur quantitativen Bestimmung der schwefligen Säure durch ein schneller ausführbares Verfahren zu ersetzen, wurde geprüft, ob sich zu diesem Zwecke die jodometrische Titrationsmethode eignet. Zunächst wurde ermittelt, daß Jod in einer bei der Titration üblichen Verdünnung und in der Zeit, die zur Titration erforderlich ist, auf reine Gelatine nicht merkbar einwirkt; erst bei längerem Stehen des Gemisches wird ein Teil des Jods von der Gelatine aufgenommen. Versetzt man daher eine Lösung von reiner Gelatine, die eine bekannte Menge schweflige Säure sowie etwas Stärkelösung als Indikator enthält, tropfenweise mit $\frac{1}{10}$ -normaler Jodlösung, so erfolgt nach einer der Menge der vorhandenen schwefligen Säure entsprechenden Zeit ein scharfer Umschlag, indem ein Tropfen Jodlösung eine deutliche und länger als eine Stunde unverändert bleibende Blaufärbung hervorruft. Die verbrauchte Menge Jodlösung entspricht, wie das nachstehende Ergebnis von zwei Versuchen zeigt, ziemlich genau der in der Gelatine enthaltenen, nach dem später beschriebenen gewichtsanalytischen Verfahren bestimmten Menge schwefliger Säure:

Versuch	Prozentgehalt an schwefliger Säure	
	nach dem gewichtsanalytischen Verfahren ermittelt	aus dem Verbrauch an $\frac{1}{10}$ -normaler Jodlösung berechnet
1	1,241	1,249
2	0,242	0,234

Anders liegen indessen die Verhältnisse bei den weitaus meisten schweflige Säure enthaltenden Gelatinesorten des Handels. Läßt man eine Probe von diesen durch 10—15 Minuten langes Stehen mit der 100fachen Menge Wasser aufquellen, löst dann durch gelindes Erwärmen auf dem Wasserbade auf und fügt nach dem Zusatze von Stärkelösung $\frac{1}{10}$ -normale Jodlösung hinzu, so beobachtet man, daß das zugesetzte Jod anfangs fast augenblicklich in Reaktion tritt; dann aber verschwindet die Blaufärbung langsamer, sodaß ein scharfer Umschlagspunkt nicht deutlich erkannt werden

kann. Immerhin ist ein solcher nach einiger Übung mit einer gewissen Sicherheit wahrnehmbar. Bei den in der tabellarischen Übersicht S. 254 u. 255 unter Spalte V aufgeführten Werten für den Gehalt an schwefliger Säure wurde derjenige Jodverbrauch zugrunde gelegt, der sich ergab, wenn 2 Tropfen einer $\frac{1}{10}$ -normalen Jodlösung eine deutliche, mindestens 10 Sekunden lang beständige Blaufärbung hervorriefen. In dieser Weise wurde der Jodverbrauch der meisten in der Tabelle verzeichneten Gelatinesorten ermittelt. Beim Vergleich der so gefundenen Werte mit den auf gewichtsanalytischem Wege durch das Destillationsverfahren erhaltenen, in Spalte IV aufgeführten Zahlen zeigt sich, daß das titrimetrische Verfahren für die genaue Bestimmung des Gehaltes an schwefliger Säure ungeeignet ist. Die gefundenen Zahlen sind meist zu hoch. (Vergl. z. B. die Proben Nr. 3, 9, 11, 15, 17, 21, 22 und 41.) Offenbar enthalten diese Gelatinesorten neben schwefliger Säure noch Stoffe, die mit Jod eine Verbindung eingehen. Der hierdurch entstehende Fehler fällt naturgemäß umso mehr ins Gewicht, je kleiner der Gehalt an schwefliger Säure ist; er tritt bei denjenigen Gelatinesorten, die mehr als 0,1% schweflige Säure enthalten, so weit zurück, daß er nicht mehr als 15% der vorhandenen Menge an schwefliger Säure ausmacht. Bei der Probe Nr. 19 dagegen wurde nach dem titrimetrischen Verfahren der Gehalt an schwefliger Säure viel zu niedrig gefunden. Worauf dies zurückzuführen ist, konnte nicht aufgeklärt werden. Es handelt sich bei dieser Sorte um eine sehr minderwertige Gelatine. Wenn somit das titrimetrische Verfahren für genauere Bestimmungen nicht ausreichend ist, so hat es immerhin einen gewissen Wert für die Prüfung von Gelatinesorten mit einem höheren Gehalt an schwefliger Säure. Es kann wegen seiner schnellen Ausführbarkeit besonders dann mit Vorteil angewandt werden, wenn es sich darum handelt, aus einer größeren Anzahl von Gelatineproben diejenigen mit einem höheren Gehalt an schwefliger Säure schnell zu ermitteln und diesen Gehalt mit annähernder Genauigkeit zu bestimmen.

Zur genauen Bestimmung des Gehalts der Gelatine an schwefliger Säure wurde ein Verfahren angewandt, das bis auf die nachstehenden Änderungen dem in der Anlage d der Ausführungsbestimmungen D zum Schlachtvieh- und Fleischbeschau-gesetze¹⁾ für die Untersuchung des in das Zollinland eingeführten Fleisches auf schweflige Säure vorgeschriebenen Verfahren nachgebildet ist:

Man läßt 10—20 g zerschnittene Gelatine in einem Rundkolben von $\frac{3}{4}$ l Inhalt durch etwa 15 Minuten langes Stehenlassen mit 500 ccm Wasser aufquellen und bringt sie durch gelindes Erwärmen auf dem Wasserbade unter häufigerem Umschwenken des Kolbens in Lösung, wobei darauf zu achten ist, daß nicht an den Wandungen des unteren Kolbenteiles geringe Mengen Gelatine haften bleiben, die beim Erhitzen verkohlen und infolgedessen leicht ein Springen des Kolbens verursachen können. Da einige Sorten zum Schäumen neigen, ist es zweckmäßig auf je 10 g Gelatine 2—3 g Tannin, das in wenig Wasser gelöst ist, hinzuzufügen. Dieses bildet einen flockigen, auf der Lösung schwimmenden Niederschlag, der sich später beim Erwärmen langsam wieder löst; auf diese Weise wird zugleich die Gefahr des Anbrennens des

¹⁾ A. a. O.

Kolbeninhalts erheblich verringert. Bevor mit dem Erhitzen begonnen wird, vertreibt man die Luft aus dem Kolben und Kühler durch Kohlensäure, setzt 20 ccm Phosphorsäure (spez. Gew. 1,15) hinzu und erwärmt vorsichtig unter häufigem Umschütteln bis zum Sieden. Sodann destilliert man unter fortwährendem langsamen Einleiten von Kohlensäure 200—250 ccm der Lösung in eine Jodlösung enthaltende Vorlage ab, filtriert von etwa übergegangenen unlöslichen Fettsäuren ab und bestimmt die Schwefelsäure auf die übliche Weise als Bariumsulfat. Die meisten Gelatinesorten enthielten mehr oder weniger geringe Mengen löslicher und unlöslicher flüchtiger Fettsäuren, von denen sich ein Teil in fester Form im Kühlrohr absetzte, während ein anderer Teil in die Vorlage gelangte und sich dort zum Teil löste. Aus diesem Grunde kann das von Franz und Sonntag empfohlene Verfahren zur Bestimmung der überdestillierten Menge schwefliger Säure¹⁾ bei der Untersuchung von Gelatine nicht angewendet werden.

Da der wichtigste Bestandteil der Gelatine, das Glutin, ein schwefelhaltiger Stoff ist, und außer diesem — abgesehen von der schwefligen Säure — andere schwefelhaltige Stoffe²⁾ in der Gelatine enthalten sein können, so war die Möglichkeit nicht außer acht zu lassen, daß sich unter den Versuchsbedingungen, wie sie bei dem oben beschriebenen Verfahren herrschen, flüchtige schwefelhaltige Produkte bilden, die sich mit der vorgelegten Jodlösung zu Schwefelsäure oxydieren und so das Analysenergebnis beeinflussen. Dieser Einwand gegen das Destillationsverfahren ist bereits von J. Alexander³⁾ erhoben worden. Dieser ließ mehrere Gelatinesorten, die nicht mit schwefliger Säure behandelt worden waren, von drei Untersuchungsanstalten nach dem Destillationsverfahren auf einen Gehalt an schwefliger Säure untersuchen; dabei ergab sich, daß sämtliche Proben scheinbar solche enthielten, und zwar waren die für schweflige Säure gefundenen Werte verschieden hoch; sie schwankten zwischen 0,009 und 0,04%. Ob den Versuchen besonderer Wert beizumessen ist, erscheint fraglich; jedenfalls fällt es auf, daß auch die Bestimmung des Aschengehaltes, die ebenfalls vorgenommen wurde, zu erheblich voneinander abweichenden Werten geführt hat. Bei einer Probe betrug die von zwei Analytikern ermittelten Werte 3,72 und 3,00% Asche. Die ungewöhnliche Höhe des Aschengehaltes legt übrigens die Vermutung nahe, daß bei dieser Untersuchung keine normalen Gelatinesorten vorgelegen haben.

Um aber möglichst einwandfrei festzustellen, ob solche Stoffe tatsächlich überdestillieren, wurden die folgenden Versuche angestellt:

1. 8 g der in 10%iger Lösung von der Firma E. Merck in Darmstadt für Injektionszwecke in den Handel gebrachten *Gelatina sterilisata*, die sich bei der qualitativen Prüfung mit Kaliumjodatstärkepapier als frei von schwefliger Säure erwies, wurden in derselben Weise wie die übrigen Gelatinesorten dem Destillationsverfahren unterworfen, wobei die ursprünglich 200 ccm betragende Flüssigkeitsmenge bis auf

¹⁾ Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 28, S. 231. Das Verfahren beruht darauf, daß man das Destillat in eine Wasserstoffsperoxydlösung, durch welche schweflige Säure zu Schwefelsäure oxydiert wird, leitet; die Menge der letzteren wird durch Titration mit Normallauge ermittelt.

²⁾ Nach J. König, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, 4. Aufl., Bd. II, S. 48 enthält die feinste käufliche Gelatine stets etwas Eiweiß eingeschlossen.

³⁾ Journ. Amer. Chem. Soc. 29 (1907), S. 783—785.

$\frac{1}{3}$ eingeeengt wurde. Die bei den Versuchen verwendete Kohlensäure wurde vor dem Einleiten in die Gelatinelösung zur Beseitigung etwa vorhandener geringer Mengen Schwefelwasserstoff durch zwei mit Kupfersulfatlösung beschickte Waschflaschen geleitet; die vorgelegte Jodlösung erwies sich bei einem blinden Versuche, bei dem 100 ccm verarbeitet wurden, als frei von Schwefelsäure. Damit auch bei ihrer weiteren Verarbeitung die Jodlösung keine schweflige Säure aus den Verbrennungsprodukten des Leuchtgases aufnahm, wurde statt des Bunsenbrenners eine Spirituslampe verwendet. Bei sorgfältigster Prüfung des im übrigen wie üblich behandelten Destillates war keine Spur von Bariumsulfat zu erkennen.

2. 15 g einer 0,031 % schweflige Säure enthaltenden Gelatine (Nr. 1 der Tabelle) wurden durch Aufquellenlassen in 1 %iger Salzsäure und 12-stündiges Wässern in fließendem Wasser von schwefliger Säure befreit. Nachdem in einer ebenso behandelten Gegenprobe die Abwesenheit von schwefliger Säure qualitativ festgestellt worden war, wurden die 15 g wie vorstehend behandelt, nur mit dem Unterschiede, daß von der anfänglich 400 ccm betragenden Flüssigkeitsmenge die Hälfte abdestilliert wurde. In dem wie üblich behandelten Destillate bildete sich beim Stehen über Nacht ein kaum wahrnehmbarer Niederschlag von Bariumsulfat, dessen Menge 0,4 mg betrug. Dies entspricht einem Gehalte der Gelatine an schwefliger Säure von 0,0007 %.

3. 15 g der Probe Nr. 19, die 0,467 % schweflige Säure enthielt und die auch im übrigen als eine sehr geringwertige Handelsware anzusehen ist, wurden wie vorstehend angegeben, behandelt. Die Menge des gefundenen Bariumsulfats betrug 0,6 mg, was einem Gehalte der Gelatine an schwefliger Säure von 0,0011 % entspricht.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß bei dem Destillationsverfahren allerdings kleine Mengen Schwefelsäure gebildet werden, die nicht auf einen Gehalt der Gelatine an schwefliger Säure zurückgeführt werden können. Die Verhältnisse liegen in dieser Beziehung bei der Gelatine ähnlich wie bei einigen anderen Lebensmitteln. So fand H. Schmidt¹⁾, daß frische Früchte sowie gewisse Sorten frisches Gemüse bei dem Destillationsverfahren Bariumsulfat in geringen Mengen liefern; während diese bei den Früchten innerhalb der Grenzen 0,5—1,0 mg — auf 100 g Ausgangsmaterial berechnet — liegen, was einem scheinbaren Gehalte an schwefliger Säure von 0,0001 bis 0,0003 % entspricht, bewegen sich die Werte bei den Gemüsen zwischen 3,1 und 4,4 mg Bariumsulfat, entsprechend 0,0008—0,0012 % schwefliger Säure. Ebenso machte C. Mentzel²⁾ bei der Prüfung von frischem Fleisch die Erfahrung, daß sich bei der Destillation mit Phosphorsäure Stoffe bilden, die durch Jod zu Schwefelsäure oxydiert werden. Ihre Menge entspricht, auf 100 g Fleisch bezogen, etwa 0,001 g schwefliger Säure. Bei der Bestimmung der schwefligen Säure in der Gelatine wird man daher, ebenso wie bei den genannten anderen Lebensmitteln auf diesen Umstand Rücksicht nehmen müssen.

Das Ergebnis der Prüfung einer Anzahl von Gelatinesorten ist in der nachstehenden Tabelle niedergelegt:

¹⁾ Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 21, S. 246 u. 249.

²⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 11 (1906 I) S. 320.

I Laufende Nr.	II Handelsbezeichnung	III Bezugsquelle, oder falls bekannt, Fabrik	IV Gehalt an schwefliger Säure, ermit- telt nach dem Destillations- verfahren %	V Verbrauch an $\frac{1}{10}$ n-Jod- lösung, aus- gedrückt als Prozent- gehalt an schwefliger Säure	VI Gehalt an		VII
					Asche %	Wasser %	

Weiße Gelatine.

1	Golddruck extrafein ¹⁾	Fabrik in Süd- westdeutschland	0,031	0,03	1,57	16,2	
2	Golddruck 0		0,111	0,11	1,68	16,1	
3	Golddruck I		0,002	0,09	1,51	17,3	
4	Silberdruck		0,049	0,04	1,88	14,2	
5	Kupferdruck	Schweizerisches Fabrikat	0,181	0,19	1,51	15,6	
6	Schwarzdruck		0,247	0,22	2,30	15,5	
7	Golddruck ¹⁾		0,168	0,17	1,71	15,9	
8	Silberdruck		Fabrik in Südwest- deutschland	0,053	0,05	1,88	15,2
9	Golddruck extrafein		aus dem Berliner Kleinhandel	0,026	0,04	2,38	15,8
10	Golddruck ¹⁾			0,058	0,06	1,60	15,6
11	desgl.			0,020	0,04	1,93	14,2
12	desgl. ¹⁾	0,049		0,04	1,54	15,5	
13	Silberdruck	0,219		0,19	2,20	15,4	
14	Golddruck 0	0,031		0,03	2,29	15,8	
15	Schwarzdruck	0,042		0,06	2,67	16,5	
16	Golddruck 0 ¹⁾	0,070		0,07	1,91	15,1	
17	Golddruck I ¹⁾	0,051		0,07	1,92	16,1	
18	Silberdruck ¹⁾	aus dem Berliner Großhandel		0,216	0,19	2,13	15,1
19	Kupferdruck ¹⁾	0,467	0,13	1,68	15,3		
20	Schwarzdruck ¹⁾	0,371	0,36	1,82	15,2		
21	Gelatine in Fragmenten	Fabrik in Süd- westdeutschland	0,037	0,07	2,17	15,6	
22	Golddruck, Deutsches Arz- neibuch IV		0,032	0,06	2,69	15,5	
23	Silberdruck, desgl.		0,054	0,06	1,01	15,0	

Rote Gelatine.

24	Golddruck	aus dem Berliner Kleinhandel	0,047	wegen der Rotfärbung der Gela- tine nicht bestimmbar	2,26	15,2
25	desgl. ¹⁾		0,052		} ist nicht bestimmt worden	
26	desgl.		0,067			
27	desgl. ¹⁾		0,024			
28	desgl. ¹⁾	aus dem Berliner Großhandel	0,067	1,62	15,1	
29	Golddruck extrafein	Fabrik in Süd- westdeutschland	0,129	1,64	14,9	
30	Golddruck I		0,079	1,70	13,1	

Gelatinepulver (weiß).

31	Gelatinepulver fein	Fabrik in Süd- westdeutschland	0,130	0,12	2,47	11,8
32	" grob		0,183	0,18	2,57	11,9

¹⁾ Die Probe befand sich in Originalumhüllung der Fabrik.

I Laufende Nr.	II Handelsbezeichnung	III Bezugsquelle, oder falls bekannt, Fabrik	IV Gehalt an schwefliger Säure, ermit- telt nach dem Destillations- verfahren %	V Verbrauch an $\frac{1}{10}$ n-Jod- lösung, aus- gedrückt als Prozent- gehalt an schwefliger Säure	VI Gehalt an		VII
					Asche %	Wasser %	

Gelatine zum Weinklären (in Tafeln).

33	Gelatine Ostéocolle . .	Großhandlung in Berlin	0,016	} ist nicht bestimmt worden	1,60	13,1
34	„ Coignet . .	Großhandlung in Mannheim	0,025		1,76	12,1
35	„ Lainé . .	desgl.	0,262		2,39	12,3
36	Gelatineleim Coignet .	Großhandlung in Berlin	0,080		1,41	13,4

Gelatinekapseln.

37	Capsulae cavae Nr. 0 .	} Berliner Groß- handlung	0,014	} ist nicht bestimmt worden	} ist nicht bestimmt worden	
38	„ „ „ 1 .		0,020			
39	„ „ „ 2 .		0,026			
40	„ „ „ 4 .		0,021			0,02
41	„ „ „ $4\frac{1}{2}$.		0,014			0,03
42	„ „ „ 5 .		0,014			0,01

Im Hinblick auf Spalte II der Tabelle ist folgendes zu bemerken: Die Qualität der in Form von Blättern in den Handel kommenden Gelatine wird durch die Art des auf den Originalumhüllungen angebrachten Druckes bezeichnet; so unterscheidet man Gold-, Silber-, Kupfer- und Schwarzdruck. Für Speisezwecke werden vorwiegend nur die besseren Sorten — Gold- und Silberdruck — verwendet; daß hierfür aber auch die geringeren Sorten in den Handel gebracht werden, zeigen die in der Tabelle unter Nr. 19 und 20 aufgeführten Sorten, die sich zwar nach Farbe und Geruch als minderwertig darstellen, trotzdem aber gemäß der Aufschrift auf der Umhüllung als geeignet zur Bereitung von Speisen bezeichnet waren.

Das in Spalte IV der vorstehenden Tabelle niedergelegte Ergebnis zeigt, daß die Verwendung der schwefligen Säure in der Gelatinefabrikation anscheinend allgemein gebräuchlich ist, da sämtliche untersuchten Proben einen mehr oder weniger erheblichen Gehalt an schwefliger Säure aufwiesen. Dieser ist sowohl im Durchschnitt, wie bei einzelnen Proben so hoch, wie er bei anderen Lebensmitteln bisher nicht beobachtet wurde. Läßt man die Gelatine zum Weinklären (Nr. 33–36) sowie die Gelatine-kapseln (Nr. 37–42) außer Betracht, so enthalten 22 Proben (= 69 %) bis zu 0,125 % schweflige Säure und 10 Proben (= 31 %) mehr als 0,125 %. Der Durchschnittsgehalt der 32 Proben betrug 0,105 %. Die fünf höchsten Werte sind 0,216 % (Nr. 18), 0,219 % (Nr. 13), 0,247 % (Nr. 6), 0,371 % (Nr. 20) und 0,467 % (Nr. 19). Zur Beurteilung dieser Zahlen seien vergleichsweise zwei andere Lebensmittel betrachtet, die ebenfalls mit schwefliger Säure behandelt zu werden pflegen

und zwar Wein und kalifornisches Dörrobst. Nach W. Kerp¹⁾ betrug der Gehalt von 1071 Proben Wein in den weitaus meisten Fällen — bei 1039 Proben (= 97 %) — bis zu 0,020 % an schwefliger Säure, während nur 32 Proben (= 3 %) Mengen von 0,020—0,050 % schweflige Säure enthielten. Was den Gehalt des kalifornischen Dörrobstes an schwefliger Säure angeht, so enthielten nach H. Schmidt²⁾ von 179 bis zum Jahre 1904 untersuchten Proben Aprikosen, die vorwiegend in Betracht kommen, 79 Proben mehr als 0,125 %, davon 27 Proben mehr als 0,200 % schweflige Säure. Seitdem jedoch in mehreren Bundesstaaten — so in Preußen durch den Ministerialerlaß vom 12. Januar 1904³⁾ — ein Gehalt von 0,125 % als zulässiger Höchstgehalt für Dörrobst festgesetzt worden ist, ist ein Überschreiten dieser Grenze in verhältnismäßig wenigen Fällen und ein Gehalt an schwefliger Säure von 0,200 % nur vereinzelt beobachtet worden. Ein auch nur annähernd so großer Gehalt an schwefliger Säure, wie ihn die Gelatineprobe Nr. 19 mit 0,467 % aufweist, ist bei Dörrobst niemals gefunden worden.

Die Proben Nr. 33—35 — Gelatine zum Weinklären — stellen etwa $\frac{1}{2}$ cm dicke, quadratische Tafeln von bernsteingelber bis dunkelbrauner Farbe dar; Probe Nr. 36 ist erheblich heller gefärbt und hatte, abgesehen von der größeren Dicke, die Form der gewöhnlichen Gelatineblätter. Da geschwefelte Gelatine, wie weiter unten gezeigt werden soll, die schweflige Säure bei der Behandlung mit Wasser leicht an dieses abgibt, so muß man annehmen, daß sich Wein nicht anders verhält und daß bei Verwendung geschwefelter Gelatine zum Weinklären schweflige Säure auf diesem bisher nicht beachteten Wege, wenn auch in nur außerordentlich geringer Menge in den Wein übergeht.

Der Gehalt an Asche und Wasser (vgl. Spalten VI u. VII der Tabelle) wurde ermittelt, um weitere Anhaltspunkte für die Beurteilung der Gelatine, für die sonst im allgemeinen die Farbe, der Geruch und der Geschmack maßgebend sind, zu gewinnen. Der Wassergehalt wurde durch Trocknen von 10 g Substanz bei 100° bestimmt. Da eine Gewichtskonstanz erst nach verhältnismäßig langer Zeit erreicht wird — bei der Probe Nr. 6 waren hierzu 36 Stunden erforderlich — und die getrocknete Gelatine begierig Wasser aus der Luft anzieht, so wurde ein $2\frac{1}{2}$ cm hohes und 9 cm breites Wäageglas verwendet, in dem die in etwa 2 cm breite Streifen zerschnittene Gelatine in senkrechter Lage, die eine gute Durchlüftung gestattete, untergebracht wurde. Wie durch einen Vorversuch nachgewiesen wurde, verläuft bei dieser Anordnung die Trocknung etwa doppelt so schnell, wie bei Anwendung eines Wäagegläschens der gebräuchlicheren hohen Form.

Zur Bestimmung des Gehaltes an Asche verwendet man zweckmäßig die getrocknete Gelatine, weil sich diese beim Verkohlen weniger aufbläht als die wasserhaltige. Das Veraschen selbst in der üblichen Weise ist wegen der äußerst porösen Beschaffenheit der Gelatinekohle sehr zeitraubend, selbst wenn man, was zur Beschleunigung der Verbrennung empfohlen wird, öfter erkalten läßt. Es wurde daher

¹⁾ Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 21, S. 148.

²⁾ Dasselbst S. 245.

³⁾ Vgl. Veröffentl. d. Kaiserlichen Gesundheitsamtes 1904, S. 179.

die Veraschung in einem zu dunkler Rotglut erhitzten elektrischen Muffelofen vorgenommen, der für diesen Zweck sehr empfohlen werden kann, da sich die Veraschung der vorher verkohlten Gelatine innerhalb einiger Minuten vornehmen läßt. Da bei der Gelatine nicht, wie bei den meisten anderen, besonders den vegetabilischen Lebensmitteln, flüchtige Mineralbestandteile in der Asche enthalten sind, so liegen gegen die vorbezeichnete Art der Aschebestimmung Bedenken nicht vor.

Im Anschluß hieran sei noch über einige Versuche berichtet, die zur Entscheidung der für die gesundheitliche Beurteilung der geschwefelten Gelatine wichtigen Frage angestellt wurden, in welcher Bindungsform die schweflige Säure in der Gelatine vorhanden ist. Die Versuche, die zugleich über das allgemeine Verhalten der schwefligen Säure zu Gelatine sowie über die Möglichkeit der Entfernung derselben aus der Gelatine Aufschluß geben sollten, erstreckten sich nach folgenden Richtungen: 1. Verhalten von Gelatine gegen gasförmige schweflige Säure, 2. Verhalten von geschwefelter Handelsgelatine beim Lüften sowie 3. beim Kochen ihrer wässerigen Lösung, 4. Verhalten geschwefelter Gelatine beim Wässern, 5. Einwirkung von Jodlösung auf geschwefelte Gelatine.

1. Verhalten von Gelatine gegen gasförmige schweflige Säure.

Etwa 100 g einer Handelsgelatine bester Qualität (Nr. 1 der Tabelle), deren Folien eine durchschnittliche Dicke von 0,08 mm aufwiesen, wurden in trockenem Zustande in ein lose verschlossenes geräumiges Glasgefäß gebracht, in das etwa zwei Stunden lang ein langsamer Gasstrom von schwefliger Säure eingeleitet wurde. Dann wurden die Folien in Abständen von etwa 5 cm auf eine Schnur gereiht, diese in einem gut durchlüfteten Raum aufgehängt, und von Zeit zu Zeit der Gehalt der Folien an schwefliger Säure bestimmt, wobei die bereits vor dem Versuch vorhandene Menge von 0,03% in die unten angegebenen Werte eingerechnet wurde. Die Bestimmung erfolgte durch Titration mit $\frac{1}{10}$ -normaler Jodlösung, nachdem festgestellt worden war, daß der Farbumschlag scharf erfolgt, und daß diese Methode dieselben Werte ergibt, wie das Destillationsverfahren. Der Gehalt der Gelatine an schwefliger Säure erwies sich nach verschiedenen Zeitabschnitten als der folgende:

Nach Tagen:	1	3	4	6	7	10
% = Gehalt an SO ₂	2,16	1,10	0,57	0,47	0,33	0,28

Der kurze Zeit nach der Schwefelung vorhandene intensive Geruch nach schwefliger Säure war nach einem Tage eben noch merkbar; er trat jedoch deutlich hervor, wenn die Gelatine eine halbe Stunde lang in ein Glasgefäß eingeschlossen wurde. Dies war bei der drei Tage lang gelüfteten Gelatine nicht mehr der Fall; dagegen konnte die schweflige Säure nach dieser Zeit und selbst nach sechstägiger Lüftung, d. h. bei einem Gehalt von 0,47%, noch durch den Geschmack erkannt werden.

Zur Prüfung des Verhaltens feuchter Gelatine gegen gasförmige schweflige Säure wurden die Folien durch einstündiges Wässern aufgeweicht und dann in einem aus Holz gefertigten Kasten, in dem sich zur Aufnahme der aufgequollenen Gelatine

10 in horizontaler Lage angebrachte Glasscheiben befanden, der schwefligen Säure ausgesetzt, die während vier Stunden in langsamem Strome eingeleitet wurde. Nach dieser Zeit wurden die vor dem Versuche gründlich gereinigten und zur Vermeidung des Festhaftens der trockenen Gelatinefolien mit Talkum abgeriebenen Glasplatten samt der auf ihnen befindlichen Gelatine herausgenommen und zum Trocknen aufgestellt, was in wenigen Stunden eintrat. Nach zwei Tagen wurden die Folien abgezogen und näher geprüft. Sie zeigten, selbst nachdem sie eine Stunde in einem Glasgefäß eingeschlossen waren, keinen Geruch nach schwefliger Säure, die auch durch den Geschmack nicht zu erkennen war. Der Gehalt an schwefliger Säure ergab sich zu 0,12%.

Diese Versuche zeigen somit, daß trockne Gelatine eine große Menge gasförmige schweflige Säure aufzunehmen vermag, die bei Berührung mit der Luft nur langsam und unvollkommen wieder abgegeben wird. Die zu den Versuchen verwendete Gelatine, deren spezifisches Gewicht zu 1,341 ermittelt wurde, nahm 2,16 Gewichtsprozent schweflige Säure, d. h. 10,1 Volumteile gasförmige schweflige Säure, (bezogen auf 760 mm Druck und 0° Temperatur) auf 1 Volumteil Gelatine auf, nach zehntägiger Berührung mit der Luft sank der Gehalt auf 0,28%. Auffallend ist, daß Gelatine, die in Wasser aufgequollen und mit schwefliger Säure behandelt worden ist, nach dem Trocknen eine erheblich geringere Menge schweflige Säure enthält. Ihr Gehalt betrug nach 48 Stunden nur 0,12%, d. h. weniger als die Hälfte der trocken geschwefelten und 10 Tage lang gelüfteten Gelatine.

2. Verhalten von geschwefelter Handelsgelatine beim Lüften.

Nachdem festgestellt war, daß der ursprünglich sehr hohe Gehalt der selbst geschwefelten Gelatine in Berührung mit der Luft erheblich abnimmt, wurde ermittelt, wie sich in dieser Beziehung die im Handel befindliche geschwefelte Gelatine verhält, und zwar wurde für die ersten beiden der nachstehenden Versuche die Gelatinesorte Nr. 19 gewählt. Wenn diese auch den für Handelsgelatine hohen Gehalt von 0,467% schwefliger Säure aufweist, so war doch anzunehmen, daß, falls innerhalb der immerhin beschränkten Versuchszeit eine Abnahme an schwefliger Säure überhaupt eintreten würde, diese verhältnismäßig gering sein müsse und nur bei Innehaltung besonderer Versuchsbedingungen erkannt werden könne; da andernfalls die Handelsgelatine bei ihrer Lagerung allmählich die schweflige Säure zum größten Teil verlieren müßte. Es wurde daher für die beiden ersten Versuche die folgende Anordnung gewählt: die in kleine Stücke zerschnittene Gelatine befand sich in einem 50 cm hohen Glaszylinder von 5 cm Durchmesser, der mit einem doppelt durchbohrten, mit Ein- und Ausleitungsrohr versehenen Gummistopfen verschlossen war. Das Einleitungsrohr reichte bis zum Boden des Zylinders. Die Luft wurde mit Hilfe einer Wasserstrahlluftpumpe angesaugt und durchstrich, ehe sie in den Zylinder eintrat, je einen mit Jodlösung und alkalischer Bleilösung gefüllten Absorptionsapparat. Diese verfolgten den Zweck, etwa mit der Luft angesaugte Schwefelverbindungen zu beseitigen; die alkalische Bleilösung verhinderte ein Übertreten von Joddämpfen in den Zylinder. Zwischen diesen und die Luftpumpe war ein zweiter Jodlösung enthaltender Absorptionsapparat eingeschaltet,

der zur Aufnahme der aus der Gelatine entweichenden schwefligen Säure diente. Da eine Abnahme des Gehaltes der Gelatine an schwefliger Säure außer durch Verflüchtigung auch infolge der Oxydation der letzteren in der Gelatine selbst eintreten konnte, so wurde einerseits die vorgelegte Jodlösung auf Schwefelsäure geprüft, anderseits festgestellt, ob eine Zunahme der in der Gelatine als Sulfat enthaltenen Menge Schwefelsäure stattfand. Bei den Versuchen I und II, die mit je 80 g Gelatine an- gestellt wurden, dauerte das Durchleiten des Luftstromes 50 Stunden; er wurde so geregelt, daß in etwa 12 Minuten 1 Liter Luft den Apparat durchstrich. Bei Versuch I wurde getrocknete Luft angewendet und zu diesem Zwecke zwischen dem mit der alkalischen Bleilösung gefüllten Absorptionsapparate und dem die Gelatine enthaltenden Zylinder eine energisch wirkende Trockenvorrichtung eingeschaltet, beim Versuch II wurde die feuchte Luft, wie sie aus den vor dem Zylinder angebrachten Absorptions- apparaten austrat, verwendet.

Versuch I (mit getrockneter Luft). Bei der Prüfung der vorgelegten Jodlösung wurden 3,8 mg Bariumsulfat entsprechend 0,9 mg schweflige Säure gefunden. Da 80 g einer 0,467% schweflige Säure enthaltenden Gelatine verwendet wurden, so sind von der in der Gelatine insgesamt vorhandenen Menge (= 0,374 g) schweflige Säure nur 0,24% verflüchtigt worden. Diese Menge ist so gering, daß der ursprüngliche Gehalt an schwefliger Säure von 0,467% um nur 0,001% vermindert worden ist. Eine Zunahme der in der Gelatine vorhandenen Schwefelsäure fand ebenfalls nicht statt; es wurden sowohl vor wie nach dem Versuche 0,66% H_2SO_4 gefunden.

Versuch II (mit feuchter Luft). Es wurden ebenfalls 80 g Gelatine Nr. 19 verwendet. Die vorgelegte Jodlösung ergab 0,9 mg Bariumsulfat, die 0,2 mg schweflige Säure entsprechen. Die Abnahme der Gelatine an schwefliger Säure war daher noch geringer wie bei dem ersten Versuche. Der Schwefelsäuregehalt der Gelatine betrug nach dem Versuche wiederum 0,66%; er erfuhr also keine Zunahme.

Versuch III (mit nicht vorbehandelter Zimmerluft bei 100°). Zu diesem Ver- suche diente eine 0,111% schweflige Säure enthaltende Gelatine (Nr. 2 der Tabelle). Etwa 50 g von dieser wurden in einer flachen Schale im Dampftrockenschranke, durch den ein ziemlich lebhafter Luftstrom gesaugt wurde, 50 Stunden lang bei einer Temperatur von 100° gehalten. Die Menge der entweichenden schwefligen Säure wurde, da in Anbetracht der Schnelligkeit des Luftstroms eine auch nur annähernd völlige Absorption nicht zu erwarten war, nicht wie bei den vorigen Versuchen durch Bestimmung der in einer vorgelegten Jodlösung sich bildenden Menge Schwefelsäure bestimmt, sondern es wurde vor Beginn und nach Beendigung der Durchlüftung der Gehalt der Gelatine sowohl an schwefliger Säure als auch an Schwefelsäure festgestellt. Bei dem Versuche ergab sich, daß der Gehalt an schwefliger Säure, der vor dem Versuche 0,111% betrug, auf 0,098% — auf lufttrockne Substanz berechnet — sank, also eine Abnahme von ca. 12% erfuhr; der Schwefelsäuregehalt veränderte sich bei dem Ver- suche nicht; er wurde vor demselben zu 0,80% und nachher zu 0,79% gefunden.

Das Ergebnis der vorstehenden Versuche kann folgendermaßen zusammengefaßt werden: Bei Berührung geschwefelter Handelsgelatine sowohl mit trockner als auch mit durch Wasserdampf gesättigter Luft von Zimmertemperatur wird weder schweflige

Säure abgegeben, noch findet eine Abnahme derselben infolge von Oxydation zu Schwefelsäure statt. Eine solche erfolgt auch nicht, wenn der Luftwechsel häufiger erfolgt und gleichzeitig die Gelatine auf einer Temperatur von 100° gehalten wird. Unter diesen Bedingungen findet allerdings eine Verflüchtigung der schwefligen Säure in geringen Mengen statt.

3. Verhalten geschwefelter Handelsgelatine beim Kochen ihrer wässrigen Lösung. Zur Entscheidung der Frage, ob beim Erhitzen einer wässrigen Lösung von Handelsgelatine ohne Zusatz von Phosphorsäure schweflige Säure entweicht, wurden 5 Gelatinesorten geprüft, die den größten Gehalt an schwefliger Säure aufwiesen. Da durch einige Vorversuche ermittelt wurde, daß die Seite 250 beschriebene Reaktion zum qualitativen Nachweis von schwefliger Säure bei weitem weniger scharf ist, wenn der Kaliumjodatstärke-Papierstreifen gänzlich angefeuchtet ist, und die Reaktion in dem Streifen überhaupt nicht eintritt, wenn dieser heiß wird, so wurde das Papier nicht wie bei der oben angegebenen Arbeitsweise unmittelbar an dem Stopfen des Kölbchens befestigt, sondern in diesen erst ein 20 ccm langes dünnwandiges Rohr von ca. $1\frac{1}{2}$ cm Durchmesser befestigt, welches an seinem oberen Ende mit einem das Reagenspapier tragenden Stopfen lose verschlossen war. Das aufgesetzte Rohr diente als Luftkühler, indem das Erhitzen derart vorgenommen wurde, daß die Flüssigkeit etwa $\frac{1}{2}$ Minute langsam im Sieden blieb, ohne daß das Papier feucht wurde. Auf diese Weise konnten, wie ein blinder Versuch zeigte noch 0,2 mg schweflige Säure deutlich nachgewiesen werden.

Die Prüfung der oben bezeichneten fünf Proben ergab jedoch, daß schweflige Säure aus der Handelsgelatine bei kurzem Kochen ihrer wässrigen Lösung nicht entweicht.

4. Verhalten geschwefelter Handelsgelatine beim Wässern. Nachdem durch einige vorläufige Versuche festgestellt worden war, daß bereits durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Wässern der in trockenem Zustande geschwefelten Gelatine der Gehalt an schwefliger Säure erheblich zurückgeht — bei den Proben mit einem durchschnittlichen Gehalte von 0,62% SO_2 sank dieser auf 0,12% —, wurden einige Versuche vorgenommen, um zu entscheiden, ob eine völlige Beseitigung der in der Handelsgelatine enthaltenen schwefligen Säure durch Wässern möglich ist. Da die Folien der geringerwertigen Gelatinesorten beim Liegen im Wasser leicht in mehr oder weniger große Stücke zerfallen — bei den besseren Sorten tritt selbst bei längerem Wässern ein Zerfall nicht ein —, so wurden die in etwa 4 qcm zerschnittenen Folien in nicht zu kleine und engmaschige Mullsäckchen eingebunden, die über Nacht in fließendes Leitungswasser gelegt wurden. In einer nach diesem Verfahren behandelten Probe der Gelatine Nr. 19, die 0,467% schweflige Säure enthielt, war diese qualitativ noch nachweisbar; ihr Gehalt ergab sich bei einer quantitativen Bestimmung zu 0,03%. In derselben Weise wurden die Sorten Nr. 6, 13, 18 und 20, die sich ebenso wie die Sorte Nr. 19 vor den übrigen Proben durch einen über 0,20% liegenden Gehalt an schwefliger Säure auszeichneten, geprüft. Es ergab sich, daß nach der Wässerung nur in Nr. 6 schweflige Säure qualitativ nachweisbar war. Einen günstigen Einfluß übt ein vor dem Wässern eingeschaltetes $\frac{1}{2}$ -ständiges Vorbad mit einer 1% HCl enthaltenden

Salzsäure aus, wie eine Wiederholung der mit den Proben Nr. 6 und 19 vorgenommenen Wässerung zeigte. Nach Anwendung des Vorbades war nach 12stündigem Liegen in fließendem Wasser auch in diesen Proben keine schweflige Säure mehr nachweisbar. Nach diesem Verfahren sind auch die sämtlichen anderen Gelatinesorten der Reihe Nr. 1 bis 30 geprüft worden, in keiner der Proben blieb schweflige Säure zurück.

5. Einwirkung von Jodlösung auf geschwefelte Gelatine. Über diese Versuche ist, da sie gleichzeitig angestellt worden sind, um das jodometrische Verfahren zur quantitativen Bestimmung der schwefligen Säure auf seine Brauchbarkeit zu prüfen, bereits oben (S. 250) berichtet worden; sie lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Während, wie durch die Untersuchungen von W. Kerp¹⁾ nachgewiesen worden ist, Jodlösung auf die im Wein und im geschwefelten Dörrobst enthaltenden komplexen Verbindungen, die acetaldehyd- und der glukoseschweflige Säure, in der Weise einwirkt, daß eine Oxydation durch die Jodlösung nur in dem Maße erfolgt, wie ein Zerfall der komplexen Verbindung in freie schweflige Säure und Aldehyd, bezw. Traubenzucker eintritt, wirkt sie auf die in der Gelatine enthaltene schweflige Säure ununterbrochen ein. Diese ist daher in der Handelsgelatine nicht in einer ähnlichen Form wie im Wein oder im Dörrobst enthalten, sondern im freien Zustande; die Frage, ob ihre Hauptmenge als schwefligsaures Salz vorhanden, oder lediglich durch Adsorption gebunden ist, läßt sich auf Grund der Versuche nicht eindeutig beantworten.

Die vorstehenden Untersuchungen sind auf Anregung des Herrn Geh. Regierungsrates Dr. Kerp in der ersten Hälfte des Jahres 1908 im Chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ausgeführt worden. Sie sollen lediglich einen experimentellen Beitrag zu der Frage des Vorkommens und der Bindungsform von schwefliger Säure in Gelatine liefern. Dagegen ist von einer Verwertung der erhaltenen Versuchsergebnisse zur Beurteilung dieser Frage im Sinne des Nahrungsmittelgesetzes und der Nahrungsmittelkontrolle zunächst Abstand genommen worden. Hierzu werden noch weitere Unterlagen und namentlich auch ein Studium der Fabrikation der Handelsgelatine in ihren einzelnen Phasen notwendig sein. Gegebenenfalls soll hierüber später berichtet werden.

¹⁾ Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 21, S. 156.

Über den Nachweis von Stärkesirup im Honig und in Fruchtsäften.

Von

Dr. J. Fiehe,

wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Zum Nachweis von Stärkesirup im Honig dienten früher Verfahren, welche auf der Unlöslichkeit der im Stärkesirup enthaltenen Stärkedextrine in Alkohol beruhten. Nachdem aber von verschiedenen Forschern in einwandfreier Weise festgestellt worden war, daß auch im reinen Bienenhonig Stoffe von dextrinartiger Beschaffenheit vorkommen, welche ebenfalls durch Alkohol gefällt werden, mußte ein anderer Untersuchungsweg eingeschlagen werden. Die Literaturangaben über Honigdextrine sind sehr zahlreich; es seien nur einige der wichtigsten hier angeführt.

v. Raumer¹⁾ und Mader²⁾ gewannen aus der durch Bierhefe vergorenen Honiglösung den rechtsdrehenden Bestandteil des Tannenhonigs durch Fällung mit Alkohol. O. Künnemann und Hilger³⁾ isolierten aus Tannenhonig ein Dextrin, welches sie als Achroodextrin ansahen. Beckmann⁴⁾ fand in der Anwendung von Methylalkohol und Barytwasser eine Reaktion, welche geeignet erschien, Stärkedextrine von Honigdextrinen zu unterscheiden. E. Burkardt⁵⁾ kam bei seinen Untersuchungen über Honigdextrine zu dem Resultat, daß diese ein kleineres Molekulargewicht besitzen als die Stärkedextrine. J. Monnheim und E. Beckmann⁶⁾ glaubten aus ihren Versuchen den Schluß ziehen zu können, daß das Honigdextrin ein Disaccharid ist. Zu dem gleichen Resultat kam v. Raumer⁷⁾, welcher außerdem für die Honigdextrine ein geringeres spezifisches Drehungsvermögen fand als für die Stärkedextrine. Hilger und Wolff⁸⁾ untersuchten die im Koniferenhonig vorkommenden Dextrine. Sie schlossen aus ihren ausgedehnten Untersuchungen, daß die Honigdextrine als Übergangsstufen von Stärke zu Zucker anzusehen seien und den Charakter der Achroodextrine besitzen. Jeder Koniferenhonig enthalte ein ihm eigentümliches Dextrin von konstanter spezifischer Drehung, das entweder der Stärke oder dem Zucker näher stehe. Barschall⁹⁾

¹⁾ Zeitschr. f. angew. Chemie 1889, S. 607.

²⁾ Archiv. f. Hygiene X, 1890, S. 436.

³⁾ Forschungsberichte f. Lebensmittel 1896, S. 211.

⁴⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie 35, 1896, S. 263.

⁵⁾ Beiträge zur Kenntnis des Honigs und der Dextrine. Inaug. Diss. Erlangen 1897.

⁶⁾ Beitrag z. Kenntnis d. Tannenhonigs. Inaug. Diss. Erlangen 1899.

⁷⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie 41, 1902, S. 333—350.

⁸⁾ Beitrag z. Kenntnis d. im Koniferenhonig vorkommenden Dextrine. — Zeitschr. z. Unt. d. Nahrungs- und Genußmittel 8, 1904, S. 110.

⁹⁾ Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt 28, 1908, S. 405.

bestimmte das Molekulargewicht verschiedener Dextrine und stellte fest, daß dasjenige der Honigdextrine kleiner ist, als das der Stärkedextrine; mit Wahrscheinlichkeit könne angenommen werden, daß die Honigdextrine Stoffe von der Zusammensetzung der Trisaccharide seien.

Die Untersuchungsverfahren, welche auf Grund dieser Feststellungen ausgearbeitet wurden und eine Unterscheidung der Honig- und Stärkedextrine ermöglichen sollten, sind zum Teil recht umständlich; sie beruhen auf der Bestimmung der spezifischen Drehung der reinen Dextrine sowie auf ihrer Vergärbarkeit durch bestimmte Hefearten. Das verschiedene Verhalten der Baryumverbindungen der Honig- und Stärkedextrine gegen Methylalkohol wird von Beckmann¹⁾ zu seiner bekannten Reaktion benutzt.

Die wesentlichen Unterscheidungsmerkmale der Honig- und Stärkedextrine scheinen durch das verschieden große Molekulargewicht bedingt zu sein. Während die Honigdextrine sich in ihren Eigenschaften den Zuckerarten nähern, zeigen die Stärkedextrine typischen Dextrincharakter.

Die Annahme, daß die Honigdextrine als Abbauprodukte höher molekularer Kohlenhydrate anzusehen sind, erscheint berechtigt. Als solche kommen in erster Linie die dextrinartigen Verbindungen eines süßen Saftes in Betracht, welcher zuweilen in heißen Jahreszeiten Blätter und Zweige der Pflanzen mit einem klebrigen Überzug bedeckt und den Namen „Honigtau“ führt. Bei den Forschungen nach dem Ursprunge dieses Saftes wurden hauptsächlich zwei Quellen aufgefunden — eine pflanzliche und eine tierische. Während über die Art der Abscheidung des pflanzlichen Honigtaues keine näheren Beobachtungen vorliegen, ist die Herkunft des tierischen einwandfrei festgestellt worden. Letzterer wird nämlich am After der Blattläuse abgeschieden und durch die Honigröhren des Hinterleibes auf die Blätter und Zweige gespritzt. Untersuchungen über „Honigtau“ liegen in großer Zahl vor und stimmen sämtlich darin überein, daß derselbe einen hohen Gehalt an Mineralbestandteilen und dextrinartigen Stoffen besitzt. v. Raumer²⁾ isolierte das Dextrin eines Honigtaues und bestimmte dessen spezifisches Drehungsvermögen zu 181,5°. H. Kreis³⁾ untersuchte den Honigtau der Ahornblätter und fand darin 40,1% Dextrine, die er als Achroodextrine anspricht. Die Dextrine des Honigtaues scheinen in ähnlicher Weise wie der Rohrzucker im Honigmagen der Bienen weiter abgebaut zu werden und sich so in ihren Eigenschaften den Zuckerarten immer mehr zu nähern.

Die Eigenschaft der Honigdextrine, leichter durch tierische Membranen zu diffundieren als die Stärkedextrine, findet durch den weiteren Abbau des Moleküls ebenfalls seine Erklärung. Diese Stoffe stellen gewissermaßen eines der untersten Glieder in der großen Reihe der Kolloide dar und bilden eine Brücke von den kolloiden zu den kristalloiden Kohlenhydraten.

Bei der Herstellung von Honigdextrin aus Koniferenhonig nach den Angaben von Wolff⁴⁾ wurde nun die Erfahrung gemacht, daß diese Dextrine bei Gegenwart von

¹⁾ a. a. O.

²⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie 33, 1894, S. 397.

³⁾ Bericht des kantonalen Laboratoriums Basel 1906.

⁴⁾ a. a. O.

Salzsäure durch Alkohol nicht mehr gefällt werden. Der Gedanke lag daher nahe, eine Unterscheidung der Dextrine nach ihrem Verhalten zu Alkohol und Säure zu ermöglichen. Zahlreiche Versuche ergaben, daß bei Gegenwart von anorganischen sowie auch von organischen Säuren in bestimmter Konzentration die Fällung des Honigdextrins vollkommen vermieden wird, wohingegen Stärkedextrine noch gefällt werden.

Die Untersuchung führte schließlich zur Ausarbeitung des folgenden Verfahrens zum Nachweis von Stärkedextrinen im Honig, das sich als praktisch bewährt hat.

10 g Honig werden mit der doppelten Menge Wasser auf dem Wasserbade erwärmt und zur Entfernung der Eiweißstoffe, welche bei der Reaktion störend wirken, mit 1 ccm einer 5%igen Gerbsäurelösung versetzt. Nach mehrstündigem Stehen der Lösung wird von dem ausgeschiedenen Niederschlag abfiltriert; 2 ccm des klaren Filtrates werden dann mit 2 Tropfen Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 und darauf mit 20 ccm Alkohol von 94 Volumenprozent versetzt. Bei Proben von reinem Bienenhonig bleibt die Lösung vollkommen klar, während Stärkedextrine sich durch Bildung einer milchigen Trübung bemerkbar machen.

Selbst ein Zusatz von nur 5% Stärkesirup zu reinem Bienenhonig, unter denen sich zwei Muster von Koniferenhonig mit hohem Dextringehalt befanden, konnte mit Hilfe des neuen Verfahrens noch mit Sicherheit nachgewiesen werden. Geringere Mengen im Honig nachzuweisen, dürfte für die Praxis belanglos sein, wenngleich es bei einiger Übung auch gelingt, noch geringere Mengen zu erkennen. Die Gegenwart von Zucker scheint übrigens die Fällung der Stärkedextrine durch Alkohol ungünstig zu beeinflussen und so der Empfindlichkeit der Reaktion eine Grenze zu setzen.

Nach den Untersuchungen von Barschall¹⁾ enthalten die beiden Proben Koniferenhonig, welche zu den Versuchen verwandt wurden, Dextrine mit kleinem Molekulargewicht. Auch von zahlreichen anderen Forschern ist den im Koniferenhonig verschiedenster Herkunft aufgefundenen Dextrinen ein kleines Molekulargewicht zugeschrieben worden.

Die von mir aufgefundene Methode läuft somit darauf hinaus, Dextrine von niedrigem Molekulargewicht von solchen mit hohem Molekulargewicht zu unterscheiden und so den Nachweis von Stärkedextrinen auch da zu erbringen, wo diese gemischt mit anderen Dextrinen vorliegen.

Der Anwendung des Verfahrens auf Fruchtsäfte stellten sich zunächst Schwierigkeiten entgegen, da die Säfte sowohl nach Säurezusatz wie ohne einen solchen durch Alkohol getrübt wurden, ohne dabei durch Gerbsäure fällbare Eiweißstoffe zu enthalten. Durch zahlreiche Versuche wurde festgestellt, daß es Calciumverbindungen der organischen Säuren waren, die die Trübung durch Alkohol hervorriefen. Nach Entfernung des Calciums mußten also die reinen, lediglich mit Zucker eingekochten Säfte bei Zusatz von Säure und Alkohol vollkommen klar bleiben; dies bestätigte sich durch den Versuch.

¹⁾ a. a. O.

Ausgangsmaterial	Ausfall der Reaktion bei Anwendung von 2 Tropfen Salzsäure vom spez. Gew. 1,19	Ausfall der Reaktion bei Anwendung von 4 Tropfen sirupförmiger Milchsäure	Ausfall der Alkoholfällung ohne Säurezusatz	Bemerkungen
Reiner Bienenhonig Nr. 1	vollkommen klar	vollkommen klar	schwache weißliche Trübung	Die Honigproben waren von heller Farbe und drehten die Polarisations ebene nach links
Reiner Bienenhonig Nr. 2	„ „	„ „	desgl.	
Reiner Bienenhonig Nr. 3	„ „	„ „	desgl.	
Reiner Bienenhonig Nr. 4	„ „	„ „	desgl.	
Honig Nr. 1 + 5% Stärkesirup	milchige Trübung	milchige Trübung	milchige Trübung	Die Honigproben 2, 3 und 4 verhalten sich nach dem Zusatz von Stärkesirup in der gleichen Weise wie die mit Stärkesirup versetzte Honigprobe Nr. 1
Honig Nr. 1 + 10% Stärkesirup	starke milchige Trübung	starke milchige Trübung	starke milchige Trübung	
Koniferenhonig Nr. 1	vollkommen klar	minimale hauchartige Trübung	starke Trübung und Fällung	Tief dunkelbraun gefärbte, typische Muster von Koniferenhonig. Nr. 1 stammt aus Baden, Nr. 2 aus dem Elsaß
Koniferenhonig Nr. 2	„ „	desgl.	desgl.	
Koniferenhonig Nr. 1 + 5% Stärkesirup	starke milchige Trübung	starke milchige Trübung	desgl.	
Koniferenhonig Nr. 2 + 5% Stärkesirup	desgl.	desgl.	desgl.	
Handeldextrin in 5%iger Lösung Nr. 1	sofort starke Fällung	sofort starke Fällung	sofort starke Fällung	Zu vorliegendem Zweck aus Koniferenhonig eigens hergestellt
Handeldextrin in 5%iger Lösung Nr. 2	desgl.	desgl.	desgl.	
Achroodextrin in 5%iger Lösung	starke milchige Trübung	starke milchige Trübung	starke milchige Trübung u. Fällung	
Honigdextrin in 5%iger Lösung	vollkommen klar	minimale hauchartige Trübung	starke Trübung und Fällung	
Himbeersaft Nr. 1	„ „	vollkommen klar	schwache milchige Trübung	
„ Nr. 2	„ „	„ „	ziemlich starke Trübung	
„ Nr. 3	„ „	„ „	desgl.	
„ Nr. 4	„ „	„ „	schwache milchige Trübung	
„ Nr. 5	„ „	„ „	desgl.	
„ Nr. 2 + 5% Stärkesirup	starke milchige Trübung	starke milchige Trübung	starke milchige Trübung	
Himbeersaft Nr. 2 + 3% Stärkesirup	schwache milchige Trübung	schwache milchige Trübung	schwache milchige Trübung	
Kirschsafft Nr. 1	vollkommen klar	vollkommen klar	desgl.	Zu vorliegendem Zweck eigens hergestellt
Kirschsafft Nr. 2	„ „	„ „	desgl.	
Nachpresse und Kirschsafft	„ „	„ „	ziemlich starke Trübung	

Bei Fruchtsäften wurde daher die Reaktion in der folgenden abgeänderten Form angewandt:

10 g Saft werden mit der gleichen Menge Wasser verdünnt und unter Zusatz von 8 Tropfen Ammoniumoxalatlösung aufgeköcht. Der jetzt trüben Flüssigkeit setzt man etwas Tierkohle zu, schüttelt kräftig um und filtriert durch ein dichtes Papierfilter. 2 ccm des klaren Filtrates werden dann mit 2 Tropfen Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 und der zehnfachen Raummenge Alkohol von 94 Volumenprozent versetzt. Reine, nur mit Zucker eingekochte Fruchtsäfte geben bei dieser Behandlung vollkommen klare Lösungen, während ein auch nur geringer Prozentsatz von Stärkesirup sich durch eine milchige Trübung bemerkbar macht.

Es wurden bisher auf diese Weise 5 verbürgt reine Himbeersäfte und 2 Kirschsäfte untersucht. Der deutlich erkennbare Unterschied zwischen einer klaren und einer auch nur schwach getrüben Lösung ermöglicht auf dem vorstehenden Wege den Nachweis auch geringer Mengen von Stärkedextrinen.

In der vorstehenden Tabelle sind die Ergebnisse des neuen Prüfungsverfahrens bei einer Anzahl von Honigproben und Fruchtsäften, die in der angegebenen Weise vorbehandelt wurden, sowie bei einigen Dextrinen, deren Lösungen keiner weiteren Vorbehandlung bedurften, zusammengestellt. Um den wesentlichen Einfluß der Säure hervortreten zu lassen, sind den Alkoholfällungen nach Zusatz von Salzsäure oder der fast ebenso wirksamen Milchsäure stets noch die Alkoholfällungen ohne Säurezusatz gegenübergestellt. Die Ergebnisse lassen die Beeinflussung der Dextrinfällung durch die Säure klar erkennen.

Während die gewöhnlichen Handelsdextrine durch den Zusatz von Säure und Alkohol gefällt werden, treten bei den durch Dialyse gewonnenen Achroodextrinen nur milchige Trübungen auf; die Honigdextrinlösungen bleiben dagegen vollkommen klar.

Die Frage, ob es sich bei der neuen Reaktion um eine rein physikalische Erscheinung oder um eine chemische Umsetzung handelt, bei welcher sich esterartige Verbindungen bilden, konnte noch nicht endgültig entschieden werden.

Vorstehende Untersuchung wurde im chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ausgeführt.

Berlin, im Mai 1909.
