

Sitzungsberichte
der
mathematisch - physikalischen Classe
der
k. b. Akademie der Wissenschaften
zu München.

Band VII. Jahrgang 1877.



München.
Akademische Buchdruckerei von F. Straub.
1877.

In Commission bei G. Franz.

Herr v. Pettenkofer legt vor und bespricht nachstehende Abhandlung:

„Vorläufige Mittheilung über das Verhalten der Milch auf Thonplatten und über eine neue Methode der Casein- und Fettbestimmung in der Milch.“

Von Prof. Dr. Julius Lehmann.

Ein Jeder, der die bereits sehr zahlreichen, zur Prüfung der Milch vorgeschlagenen Methoden einer mit wissenschaftlicher Schärfe durchgeführten Controle unterworfen hat, ist zu der Erkenntniss gelangt, dass von allen denselben nur die quantitative chemische Analyse im Stande ist, über die Qualität der Milch derartig zu entscheiden, dass dadurch nicht allein den Zwecken der Wissenschaft, sondern auch — und zwar bei streitigen Fällen von Milchfälschungen — auch den der Gerichtsbehörden sichere Anhaltspuncte geboten werden können.

Leider ist jedoch die bisherige Art der Milch-Analyse sehr umständlich und zeitraubend, und gerade dieser Uebelstand verursacht eine in physiologischer und sanitätspolizeilicher Hinsicht viel geringere Anwendung derselben, als nach beiden Richtungen erforderlich wäre. Denn un edingt erforderlich wäre eine vermehrte Anwendung, um einestheils die so nöthige Kenntniss der innerhalb und ausserhalb des thierischen Organismus auf die Zusammensetzung der Milch

wirksamen Factoren beträchtlich zu erweitern, andernteils aber auch der Controle des Milchmarktes denjenigen Grad von Sicherheit zu geben, welchen sie zu ihrer gewissenhaften und erfolgreichen Ausübung bedarf.

Bei den verhältnissmässig wenigen Arbeitskräften, die den meisten physiologischen und sanitätspolizeilichen Instituten zur Verfügung stehen, dürften daher Wissenschaft und Praxis auf die Lösung jener wichtigen Aufgaben noch lange Zeit vergeblich zu warten haben. Ganz anders und viel vortheilhafter würde sich dies gestalten, wenn es gelänge, die Methode der Milch-Analyse wesentlich zu vereinfachen, ohne jedoch dadurch der Exactheit der Resultate irgendwie Eintrag zu thun.

Von dieser Ansicht geleitet, habe ich mich längere Zeit mit dahin einschlägigen Untersuchungen beschäftigt und werde weiter unten den Beweis liefern, dass dies nicht ohne Erfolg geschehen ist.

Ich bin hierbei von einzelnen, von mir angestellten Versuchen über das Verhalten der Milch auf gebrannten, porösen Thonplatten ausgegangen. Sie hatten ergeben, dass von der Milch, welche mittelst einer Pipette oder eines Spritzglases in einer zusammenhängenden Schicht bis ungefähr zu 2^{mm} Stärke langsam auf solche Platten aufgetragen wird, nach Verlauf von 1 bis 2 Stunden ein scharf abgegrenzter, consistenter, schwach gelblich gefärbter, fettglänzender Beleg zurückbleibt. Derselbe lässt sich mit einem scharfen Hornspatel von der Platte in der Form feiner, durchscheinender Lamellen sehr leicht vollständig abtrennen. Schon nach einigem Stehen an nicht zu feuchter Luft, noch mehr aber beim Trocknen über Schwefelsäure werden dieselben so spröde, dass sie sich zwischen den Fingern zerbrechen lassen. Unter Einfluss von einigen 30° C. Wärme schwitzt Fett aus den Lamellen und überzieht deren ganze Oberfläche. Nach dem Auswaschen mit Aether bleibt eine weisse, durch-

scheinende, leicht pulverisirbare Masse zurück. Dieselbe besteht, nachdem sie vom Fett befreit ist, aus aschehaltigem Casein und sehr geringen Antheilen von Albumin und Milchzucker.

Vermittelst Thonplatten lässt sich daher das Casein und Fett von dem Serum der Milch trennen.¹⁾ Weiter hat sich bei meinen Versuchen über das Verhalten der Milch auf Thonplatten die bemerkenswerthe Thatsache herausgestellt, dass auf diese Weise das Casein sich mit den nämlichen Eigenschaften abscheidet, wie das durch Lab gefällte. Mit Wasser verrieben, quillt es zu einer weichen, flockigen Masse auf, die beim Filtriren durch Fliesspapier zurückbleibt. Nur mit Kalkwasser geht es wieder in den Zustand über, in welchem es ursprünglich in der Milch enthalten war. Es läuft dann mit dem Wasser durch das Filter und lässt sich mit Essigsäure in Flocken ausfällen. Enthält das Casein noch die Fettmengen, mit welchen es auf Thonplatten zurückgeblieben war, dann bildet es mit Kalkwasser verrieben wieder eine der Milch ganz ähnliche Flüssigkeit.

In diesem, sowie in dem mit Lab ausgeschiedenen Casein sind gleich grosse Aschenmengen, und zwar im Durchschnitt 8,5 Proc., während in dem mit Essigsäure gefällten Casein nur 1,8 Proc. Asche enthalten sind. In dem letzteren Casein ist der Hauptbestandtheil Dihydrocalciumphosphat, in den ersteren beiden Caseinen neutrales Tricalciumphosphat. Ueber die specielle Zusammensetzung dieser Aschen und über deren Einfluss auf die Eigenschaften des einen und anderen Caseins werde ich später ausführlich berichten.

Die obigen, über das Verhalten der Milch auf Thonplatten gemachten Beobachtungen dürften noch insofern

1) Vgl. auch F. W. Zahn's Versuche über die Filtration der Milch durch Thonzellen unter Druck. Archiv für die gesammte Physiologie von Pfüger, Bd. II. S. 590.

von einigem Interesse sein, als sie die in neuerer Zeit von Hoppe-Seyler, Soxhlet und Hammarsten ausgesprochene Ansicht, dass das Casein in der Milch nicht in einem gelösten, sondern nur in einem stark aufgequollenen Zustande enthalten sei, bestätigen. Denn wäre das Casein gelöst, so müsste es ebenso wie das Albumin mit dem Serum von den Thonplatten aufgesaugt werden. Dies findet aber nicht statt. Das Casein bleibt, wie ich weiter unten bestimmt beweisen werde, selbst auf verhältnissmässig recht porösen Thonplatten vollständig zurück, während das Albumin eingesaugt wird. Man könnte zwar hierbei den Einwurf machen, dass das Casein nicht durch seine in der Milch unlösliche Form, möglicherweise aber durch das Butterfett auf der Oberfläche zurückgehalten werde. Dieser Einwurf wird jedoch schon dadurch hinfällig, dass dann das Fett in gleicher Weise auf das Albumin einwirken müsste, was jedoch nicht der Fall ist.

Ferner geben die obigen Beobachtungen über das Fett in dem Rückstand auf Thonplatten Veranlassung, die Fettkügelchen in der Milch als frei von einer festen Hülle anzunehmen, weil schon bei geringer Wärme das Fett aus den Lamellen ausschwitzt und sich mit Aether leicht auswaschen lässt. Würden die Milchkügelchen eine Hülle haben, so könnte eine derartige Erscheinung nicht eintreten; sie müssten sich dann in dem Thonplattenrückstand gegen Wärme und Aether ebenso renitent verhalten, wie sie dies in der Milch thun. Ich hoffe, durch weitere Untersuchung dieses Thonplattenrückstandes die Natur der Milchkügelchen mit Sicherheit feststellen zu können.

Das ganze Verhalten der Milch auf Thonplatten führte mich nun zu der Ansicht, dass es wohl möglich sei, darauf eine neue Methode der quantitativen Bestimmung des in der Milch enthaltenen Caseins und Fettes zu gründen. Das erste Erforderniss hierzu war die Ausföndigmachung von Thonplatten,

deren Poren das Serum, aber nicht die Milchkügelchen und das Casein durchlassen, und die ausserdem so glatt auf ihrer Oberfläche sind, dass sich davon der Rückstand mit quantitativer Genauigkeit ablösen lässt. Von diesen Bedingungen musste vor Allem der Erfolg abhängig sein.

Die Milchkügelchen haben nach den Untersuchungen verschiedener Forscher einen Durchmesser von 0,001 bis 0,025 Millimeter. Es müssen daher die Poren der Thonplatten so fein sein, dass sie die kleinsten Milchkügelchen nicht einsaugen können. Trotzdem ich Thonplatten von den verschiedensten Firmen bezogen, habe ich bis jetzt nur von einer dieser Firmen einzelne Platten erhalten, welche den Anforderungen vollständig entsprachen. Mit diesen Platten wurden dann aber auch ganz exacte analytische Resultate erzielt. Damit ist immerhin der Beweis geliefert, dass es überhaupt möglich ist, Platten von geeigneter Beschaffenheit zu obigem Zwecke herzustellen. Ausserdem werden auch zu poröse Platten nachträglich noch mit einem Ueberzug versehen werden können, welcher ihnen die zweckentsprechende Beschaffenheit ertheilt.

Die Ausführung meiner Methode der Bestimmung des Caseins und Fettes in der Milch besteht in Folgendem:

Geeignete Thonplatten werden, nachdem sie einige Zeit bis auf oder über 100° erhitzt und wieder abgekühlt worden waren, bei schräger Haltung auf der glatten Oberfläche mit einem dünnen Strahl Wasser schnell übergossen und auf ein verhältnissmässig weites Glasgefäss gesetzt, dessen Boden mit einer dünnen Schicht conc. Schwefelsäure bedeckt ist. Die zu untersuchende Milch wird dann, nach vorheriger Verdünnung mit genau der gleichen Gewichtsmenge destillirten Wassers, vermittelst eines kleinen Spritzglases vorsichtig und in vollem Zusammenhange auf den mittleren Theil der Platte aufgetragen und, um Verdampf-

ung zu vermeiden, mit einem glattrandigen Glasschälchen bedeckt.²⁾

Zur Bestimmung des Gewichtes der zu untersuchenden Milch wird vor und nach ihrem Auftragen das Spritzglas gewogen. Es genügen circa 9—10 grm. verdünnter Milch, um ein ganz sicheres analytisches Resultat zu erhalten. Damit man einen Anhaltspunct habe, nicht viel mehr oder weniger Milch zu nehmen, habe ich Spritzgläser in Cubikcentimeter-Theilung mit eingebrannten, schwarzen Linien herstellen lassen.

Das Serum von der oben angegebenen Menge verdünnter Milch wird schon nach Verlauf von 1—2 Stunden derartig von der Platte eingesogen, dass man den aus Casein und Fett bestehenden Rückstand mittelst eines von mir zu diesem speciellen Zweck angegebenen und hier angefertigten starken, an der unteren Seite gut zugeschärften Hornspatels abnehmen und in ein gewogenes Uherschälchen bringen kann. Dieser Rückstand wird dann bei 105° C. im Luftbade getrocknet — was stets nach 2 Stunden vollständig erfolgt ist — und gewogen. Man erhält auf diese Weise die gesammte Menge Casein und Fett als Trockensubstanz. Um darin jene beiden Bestandtheile getrennt zu bestimmen, wird die Trockensubstanz, ohne sie vorher pulverisirt zu haben, mittelst einer Pincette auf ein gewogenes, bei 105° getrocknetes Filter gebracht und zuerst mit einer kleinen Menge Aether abgewaschen. Ist dies geschehen, so bringt man sie in einen kleinen, glatten, mit Ausguss versehenen Glasmörser und pulverisirt sie unter Einfluss einiger Tropfen absoluten Alcohols auf's feinste, setzt nun Aether zu, spült sie damit auf das Filter und wäscht sie bis zu ihrer vollständigen Befreiung vom Fett aus. Nach Verdampfung des

2) Diese Operationen sind zur vollständigen Absaugung des Serums unbedingt erforderlich. Theilweise Verdampfung der Milch an freier Luft ist zu vermeiden.

abfiltrirten, alcoholhaltigen Aethers bleibt in dem vorher gewogenen Kölbchen das Fett zurück, was nach genügendem Austrocknen gewogen wird.

Um das Casein zu bestimmen, braucht man nur das Filter plus Rückstand wieder bei der oben angegebenen Temperatur so lange auszutrocknen, bis es nicht mehr an Gewicht verliert. Da aber in dem Casein noch ziemlich beträchtliche Antheile von Asche enthalten sind, so muss auch diese speciell bestimmt und in Abrechnung gebracht werden. Das auf angegebene Weise erhaltene Casein ergibt bei der Verbrennung mit Natronkalk, auf aschefreie Substanz berechnet, im Mittel 15,57 Proc. Stickstoff. Bei vergleichenden Versuchen mit der Methode von Hoppe-Seyler wird nach der meinigen stets etwas mehr Casein erhalten und zwar um so viel mehr, als nach jener Methode durch Auswaschen des mit Essigsäure erzeugten Niederschlags wieder löslich wird. Ansserdem sind, wie ich gefunden habe, in dem Casein nach Hoppe-Seyler stets im Durchschnitt noch 1,8 Proc. Asche, welche man bis jetzt gar nicht berücksichtigt hatte.

In wie weit die neue Art der Bestimmung des Fettes und Caseins geeignet ist, den analytischen Anforderungen zu entsprechen, wird aus beifolgender Zusammenstellung der Resultate ersichtlich werden, welche ich bei der Untersuchung verschiedener Milchproben sowohl nach meiner als auch gleichzeitig nach der bis jetzt allgemein üblichen Methode³⁾ erzielt habe.

A. Fettbestimmungen

in den Milchpr.	nach der gewöhl. Methode	auf Thonplatten von ge- eigneter Porosität	Differenz
II	2,97 Proc.	3,01 Proc.	plus 0,04
II ^b	2,04 „	1,99 „	minus 0,05
III	3,58 „	3,58 „	— —
III ^b	3,30 „	3,26 „	minus 0,04

3) Fettbestimmungen durch Eindampfen der Milch mit Seesand oder Marmorpulver, Trocknen des Rückstandes bei 100° C. und 6 stündiges

Fettbestimmungen

in den Milchpr.	nach der gewöhnl. Methode	auf Thonplatten von zu grosser Porosität	Differenz
I	2,92 Proc.	2,28 Proc.	minus 0,64
IV	3,10 „	2,47 „	„ 0,63
V	3,24 „	2,46 „	„ 0,78
VI	3,10 „	2,73 „	„ 0,37

Beim Vergleich der beiden vorderen Zahlenreihen der ersten Abtheilung wird ersichtlich, dass die auf zweckentsprechenden Thonplatten erzielten Resultate im Vergleich zu den nach der gewöhnlichen Methode erhaltenen kaum beachtenswerthe Differenzen ergeben. Aber auch diese werden sich — wenn es überhaupt noch nöthig sein sollte — durch weitere Ausbildung meiner Methode vermeiden lassen.

B. Caseinbestimmungen

in den Milchproben	nach	auf	Differenz
No.	Hoppe-Seyler	Thonplatten	
I	2,85	3,11 Proc.	plus 0,26
II	2,52	2,93 „	„ 0,41
III	2,42	3,04 „	„ 0,62
IV	2,36	2,51 „	„ 0,15
V	2,43	2,49 „	„ 0,06
VI	2,24	2,53 „	„ 0,29

Demnach wird auf Thonplatten stets eine grössere Caseinmenge gefunden, als durch Ausscheidung mit Essigsäure; es fragt sich daher, welche Resultate die richtigeren seien. Um darüber entscheiden zu können, schien es mir erforderlich, den Stickstoffgehalt der Trockensubstanz der einzelnen

Ausziehen desselben mit Aether im Verdrängungsapparat mit Rückflusskühler.

Caseinbestimmungen durch Ausfällen mit Essigsäure nach Hoppe-Seylers Vorschrift (Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse von demselben, 4. Auflage, S. 434), jedoch mit dem Unterschiede, dass noch die Asche im Casein bestimmt und in Abrechnung gebracht wurde.

Milchproben und in den letzteren gleichzeitig auch das Albumin und im Filtrat von diesem den restirenden Stickstoff⁴⁾ zu bestimmen. Berechnet man nach diesem analytischen Befund das Casein zu 15,7 Proc. Stickstoff und das Albumin zu 15,5 Proc., addirt die auf diese Weise gefundenen Mengen Stickstoff zu den restirenden, so muss sich annähernd dieselbe Menge Stickstoff wie bei der directen Bestimmung des gesammten Stickstoffs in der Milch ergeben. Ich habe dies mit vier der obigen Milchproben durchgeführt:

Milchpr.	nach Hoppe-Seyler	Stickstoff	auf Thonplatten	Stickstoff
I. Casein	2,85	= 0,447	3,11	= 0,488%
Albumin	0,330	= 0,051	. . .	0,051 „
Restird. Stickstoff		0,055	. . .	0,055 „
Stickstoff in Summa		= 0,553%	. . .	0,594%
Stickstoff ⁵⁾ in der Milch		= 0,599 „	. . .	0,599 „
Differenz		minus 0,046%		minus 0,005%
II. Casein	2,52	= 0,396	2,93	= 0,460%
Albumin	0,327	= 0,051	. . .	0,051 „
Restird. Stickstoff		= 0,055	. . .	0,055 „
Stickstoff in Summa		= 0,502%	. . .	0,566%
Stickstoff in der Milch .		= 0,620 „	. . .	0,620 „
Differenz		minus 0,118%		minus 0,054 „
III. Casein	2,42	= 0,379	3,04	= 0,477%
Albumin	0,66	= 0,102	. . .	= 0,102 „
Restird. Stickstoff		= 0,050	. . .	= 0,050 „
Stickstoff in Summa . .		0,531%	. . .	0,629%
Stickstoff in der Milch . .		0,585 „	. . .	0,585 „
Differenz		minus 0,054%		plus 0,044%

4) Der Stickstoff im Filtrat vom Albumin ist jedenfalls in der Form von Peptonen und in Spuren als Harnstoff, Kreatin, Kreatinin, Leucin und Tyrosin ursprünglich in der Milch enthalten.

5) Der Stickstoff in der Milch wurde durch Verbrennen der Milchtrockensubstanz mit Natronkalk bestimmt.

Milchpr.	nach Hoppe-Seyler	Stickstoff	auf Thonplatten	Stickstoff
IV. Casein	2,24	= 0,352	2,53	= 0,397%
Albumin	0,67	= 0,104	. .	= 0,104 „
Restird. Stickstoff		= 0,040	. .	= 0,040 „
Stickstoff in Summa		= 0,496%	. . .	0,541%
Stickstoff in der Milch .		= 0,530 „	. . .	0,530 „
Differenz		minus 0,034%	. .	plus 0,011%

Aus diesem analytischen Befund und den darauf basirten Berechnungen wird ersichtlich, dass beide Methoden der Caseinbestimmung ganz befriedigende Resultate ergeben. Denn nach Hoppe-Seyler betragen die Differenzen zwischen dem direct bestimmten und dem durch Berechnung gefundenen Stickstoff 0,034 bis 0,118 Proc., im Mittel 0,063 Proc., nach meiner Methode jedoch nur 0,005 bis 0,054 Proc., im Mittel 0,028 Proc. Stickstoff.

Wenn berücksichtigt wird, welcher Zeitaufwand seither nöthig war, um das Casein und Fett in der Milch quantitativ zu bestimmen, so lässt sich annehmen, dass meine in verhältnissmässig sehr kurzer Zeit auszuführende Methode in physiologischen, agriculturchemischen und sanitäts-polizeilichen Laboratorien die allgemeinste Anwendung finden werde.

Anmerk. Sobald zweckentsprechende Thonplatten angefertigt sein werden, soll die Firma, von welcher dieselben, sowie die übrigen, zur genauen Durchführung der neuen Methode nöthigen Geräthschaften bezogen werden können, bekannt gegeben werden.

D. V.