der Verdünnung. — Eine mit Eisenchlorid versetzte Benzoesäurelösung 1:500 färbt sich mit den genannten Säuren, sowie mit Lävulinsäure grüngelb.

Die Bestimmung des Säuregrades suchen H. D. Richmond und H. C. Huish¹⁾ dadurch sicherer zu gestalten, dass sie je 11 *ccm* Milch in 2 Bechergläser bringen, zu der einen Menge, welche zum Vergleich dient, 1 Tropfen einer 0,01%igen Lösung von Rosanilinazetat in 96%igem Alkohol setzen und die andere Menge nach Zusatz von 1 *ccm* 0,5%iger Phenolphthaleinlösung mit $\frac{1}{11}$ n-Strontianlösung titrieren bis zur Farbgleichheit mit der Vergleichslösung. Das Ergebnis, berechnet als *ccm* n-Lauge auf 1 l, nennen sie Rosanilinstandard (R. S.). Auf diese Weise ist der Endpunkt der Titration einheitlich festgelegt. Die Ergebnisse sind etwa 1,5° höher als beim Titrieren bis zur schwachen Rosafärbung. Bezüglich der Säuerung selbst kommen die Verf. zu dem Schlusse, dass die das Säuern verursachenden Organismen beim Wachsen in der Milch an Aktivität gewinnen. Andererseits werden sie durch die von ihnen selbst erzeugte Säure im Wachstum gehemmt, wodurch ein Ausgleich erfolgt. Die Hemmung wird erst sehr gross bei einem Säuregrade von 45°, doch hängt dieser Punkt von der Art der in der Milch vorhandenen Salze ab. In Molken liegt er bei etwa 30°, in einer Milchzuckerlösung bei etwa 20°. Daraus ist zu schliessen, dass die das Säuern der Milch verursachenden Bakterien meist dieselben sind, die normal in der Milch vorkommen, und es ist nicht unwahrscheinlich, dass sie in den Eingeweiden ihren Ursprung haben.

Um die auf dem Gebiete der Säuregradbestimmung schon seit Jahren infolge der Einführung der verschiedensten Milchmengen und Titrierlauge eingerissene Verwirrung zu beseitigen, empfiehlt W. Morres²⁾, auf Grund internationaler Einigung allgemein den Säuregrad der Milch nach Dornic in der Abänderung von Marshal anzugeben, wobei 9 *ccm* Milch mit $\frac{n}{10}$ -Natronlauge titriert werden. 1 *ccm* Lauge = 0,10% Milchsäure.

Zur Säurebestimmung in kondensierter Milch wägt Dugardin³⁾ 10 g derselben genau ab, verdünnt mit 25 *ccm* ausgekochtem Wasser, titriert unter Zusatz von Phenolphthalein mit $\frac{n}{10}$ -Natronlauge auf Rosafärbung und berechnet den Milchsäuregehalt auf 100 g. Als Azidität fand er bei einer Anzahl einwandfreier Proben Werte von weniger als 0,5 g Milchsäure. 0,5—0,75 g deuten nach seiner Ansicht auf eingetretene Veränderungen, bei Werten über 0,75 g hält er die Milch für ungeeignet zum Genuss.

Alkoholprobe. Zur Kontrolle des Säuregrades ist vielfach auch die Alkoholprobe vorgeschlagen worden. Über die Empfindlichkeit derselben haben H. Krüger und F. Reiss⁴⁾ Versuche angestellt mit Mischungen von

¹⁾ Analyst. **37**, 168 (1912). — ²⁾ Milchw. Zentrbl. **43**, 229 (1914). — ³⁾ Ann. chim. anal. appl. **23**, 83 (1918). — ⁴⁾ Milchw. Zentrbl. **44**, 309 (1915).

9 Proben alkoholbeständiger süsser Milch mit Säuregraden von 5,6—9,2 und 5 Proben nicht mehr alkoholbeständiger Milch mit Säuregraden von 10,0—24,0. Während der Säuregrad als arithmetisches Mittel desjenigen der verwendeten Proben erst bei einem Gehalt von 50% saurer Milch in der Mischung über 10 lag, liess sich durch die Alkoholprobe noch ein Zusatz von 30% saurer Milch sicher nachweisen; bei Zusätzen von 20 und 10% nicht alkoholbeständiger Milch war noch ein mehr oder weniger deutlicher körniger Ansatz an den Glaswandungen entstanden, so dass auch noch in diesen Fällen bei aufmerksamer Beobachtung die Reaktion als positiv anzusehen war, während der Säuregrad nur 7—8° betrug. Solche Fälle von Beimischung saurer Milch, wodurch die Haltbarkeit der Mischung stark beeinträchtigt wird, können vielfach in der Praxis vorkommen, sie sind mittels der Alkoholprobe leicht nachweisbar. Es erscheint also nicht notwendig, bei einer grösseren Lieferung jedes einzelne Gefäss zu prüfen, es können auch Mischproben aus einer grösseren Anzahl von Gefässen entnommen werden.

J. Prescher¹⁾ hält den Ersatz des für die Prüfung erforderlichen 68—70 Vol.-%igen Alkohols durch entsprechend verdünnten denaturierten Alkohol für zulässig, sofern das allgemeine, aus Holzgeist und Pyridinbasen bestehende Vergällungsmittel zugesetzt ist. Untauglich dagegen ist Alkohol von saurer Reaktion, solcher muss vorher über Alkali destilliert werden, wobei die zuerst übergelenden Anteile zu entfernen sind.

A. Auzinger²⁾ prüfte die Verwendbarkeit der Alkoholprobe zum Nachweise abnormer, bzw. pathologischer Milch. Er fand, dass die Alkoholgerinnung bei frischer Einzelmilch nicht selten zu beobachten ist. Sie ist mit Ausnahme des Kolostrums unabhängig von der Azidität, Auzinger nimmt daher an, dass sie nur durch eine Verschiebung in dem Verhältnis zwischen den Milchsäuren, insbesondere dem Kalk und den Eiweissstoffen hervorgerufen wird. Mit 68—70 %igem Alkohol gerinnen häufig: Kolostrum, Milch frisch- und altmelker Kühe, Milch euterkranker und besonders euterkrank gewesener Kühe, abnorme Milch, wahrscheinlich auch die Milch von Kühen, die verkalbt haben. Wahrscheinlich tritt leichte Alkoholgerinnung auch bei Allgemeinerkrankungen, krankhafter Brunst und krankhaften Veränderungen der Geburtswege auf. Die Alkoholprobe der Einzelmilch ist daher namentlich für die hygienische Stallkontrolle geeignet, besonders in Verbindung mit der Leukozytenprobe und der Katalasenreaktion.

Von den mehrfach vorgeschlagenen Abänderungen der Alkoholprobe hat sich hauptsächlich die sog. einfache Alkoholprobe (gleiche Raumteile Milch und Alkohol) eingeführt, neben ihr ist aber auch die sog. doppelte Alkoholprobe in Gebrauch (1 Raumteil Milch, 2 Raumteile Alkohol von 68, bzw. 70 Vol.-%).

¹⁾ Ztschrft. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 36, 287 (1918). —
²⁾ Milchw. Zentrbl. 5, 293, 352, 393 u. 430 (1909).

H. Grosse-Bohle¹⁾ hat neben der doppelten Probe mit 70%igem Alkohol noch diejenige mit 50%igem Alkohol eingeführt. Er stellte fest, dass frische oder schwach zersetzte Milch (bis etwa 8° Säure) nicht mit 2 Vol. 70%igem Alkohol gerinnt, dass mäßig zersetzte Milch (8—9°) mit dem doppelten Volumen 70%igem, aber nicht mit dem doppelten Volumen 50%igem Alkohol gerinnt, dass stark zersetzte Milch (9° und mehr) mit dem doppelten Volumen 50%igem Alkohol gerinnt. G. Fendler und C. Borkel²⁾ haben aber feste Beziehungen zwischen Alkoholprobe und Säuregrad nicht feststellen können. Nur die doppelte Probe mit 50%igem Alkohol ist für die Beurteilung des Frischezustandes der Marktmilch zur Vorprüfung bei der ambulanten Nahrungsmittelkontrolle geeignet, doch darf ihr eine ausschlaggebende Bedeutung nicht zuerkannt werden. Dagegen ist die doppelte Probe mit 70%igem Alkohol zur Beurteilung des Frischezustandes der Marktmilch einschliesslich der Kinder- und Vorzugsmilch nicht geeignet. Gleiches gilt auch für Magermilch und pasteurisierte Vollmilch.

Auch A. Auzinger³⁾ fand die Alkoholprobe bei der Prüfung von pasteurisierter und sterilisierter Milch nicht zuverlässig; ebenso wie erhitzte, verträgt auch gewässerte Milch höheren Alkoholzusatz. Kalkfällende Stoffe (Fluornatrium, Ammoniumoxalat) verhindern die Alkoholgerinnung, ebenso wirken Formalin, Sublimat, Ammoniumsulfat, Silbernitrat, Kaliumpermanganat und Kaliumbichromat. Während des Verfütterns von phosphorsaurem Kalk tritt Gerinnen schon mit geringerem Alkoholvolumen ein. Bestimmte Beziehungen zwischen der Alkoholprobe und den Fermentreaktionen (Reduktase, Katalase, Diastase) sowie der Trommsdorffschen Leukozytenprobe fand er nicht. Für die praktische Kontrolle empfiehlt der Verf. die einfache, nicht die doppelte Probe mit 70%igem Alkohol. Als Kindermilch darf keinesfalls Milch verwendet werden, welche die einfache Alkoholprobe nicht besteht.

W. Morres⁴⁾ legt die Ursachen des Gerinnens dar und zeigt, dass der Käsestoff chemisch verändert werden kann: a) durch Milchsäurebildung, b) durch Spaltung in unlösliches Parakasein und lösliches Molkenprotein durch die Tätigkeit labausscheidender Bakterien der Heubazillengruppe und c) durch eine gemischte Gärung, welche durch die verflüssigenden oder Lab und Säure bildenden Euterkokken veranlasst wird. Bei reiner Milchsäuregärung liegt die Kochbarkeitsgrenze bei 11 Säuregraden, der Gerinnungspunkt bei 25—30°. Bei reiner Labgärung gerinnt die Milch, ohne dass sie sauer wird, also bei dem normalen Säuregrad 7—8°. Das sind die Fälle, in denen Fendler und Borkel (s. oben) keine Abhängigkeit zwischen Säuregrad und Alkoholgerinnung fanden. Die Säuregradsbestimmung ist also nur eine einseitige Haltbarkeits-

¹⁾ Ztschrft. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 14, 82 (1907). — ²⁾ Ztschrft. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 21, 477 (1911). — ³⁾ Molk.-Ztg. Hildesh. 28, 457 (1914). — ⁴⁾ Ztschrft. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 22, 459 (1911).

prüfung, sie muss versagen, wenn es sich nicht um reine Säuregärung handelt. Die Gerinnung mit Alkohol erfolgt um so feiner, je schwächer der Alkohol ist; und je stärker die Säuerung ist, desto schwächerer Alkohol genügt zur Hervorbringung der Gerinnung. Verf. hat daher die Kochfähigkeitsprobe mit 44 %igem Alkohol angestellt; grobflockige Gerinnung zeigt in diesem Falle, dass die Milch beim Kochen vollständig gerinnt, gleichgültig ob Säure- oder Labgärung vorliegt, während sehr feinflockige Gerinnung diejenigen Milchproben anzeigt, welche eben an der Kochfähigkeitsgrenze angelangt sind. Für die Marktkontrolle hält Verf. die Probe mit 68 %igem Alkohol für zu scharf, hier genügt 50 %iger Alkohol, nicht dagegen für Vorzugs- oder Kindermilch. Eine wesentliche Erweiterung und Ergänzung der Alkoholprobe erblickt Verf. in der Alizarin-Alkohol- (oder Alizarol-) Probe, welche mit einer gesättigten Lösung von Alizarin in 68 vol.-%igem Alkohol ausgeführt wird. Das Alizarin wirkt hierbei als Säureindikator, indem es von lilarot bei 7 Säuregraden über rotbraun und braun in bräunlichgelb und gelb bei 16 und mehr Säuregraden übergeht. Daneben bringt das Reagens die verschieden grobflockigen Alkoholgerinnungen hervor. Man kann also feststellen, ob Labgärung vorliegt (geringe Farbenänderung bei feinhis dickflockiger Gerinnung) oder Säuregärung, bzw. gemischte Gärung. Verf. ist ferner der Ansicht, dass die Alizarolprobe mit der Reduktaseprobe in gewissen Beziehungen steht. Diesen Gedanken verfolgt W. Morres¹⁾ dann weiter und er findet, dass die Alizarolprobe mit der Reduktasenprobe gleichen Schritt hält bezüglich Flockenstärke und Farbenänderung, wenn reine Milchsäuregärung vorliegt. Die unterste Empfindlichkeitsgrenze der Alizarolprobe liegt bei etwa 8 Säuregraden, hierbei beträgt die Entfärbungszeit bei der Reduktaseprobe 16 Minuten bei 40°. Die Alizarolprobe macht also nur diejenigen Milchproben kenntlich, welche nach Orla-Jensen als »sehr schlecht« zu bezeichnen sind und mehr als 20 Millionen Keime im *ccm* enthalten. Diese Bezeichnung ist aber selbst für die Käserei zu streng, da eine sehr bakterienreiche, schon in 12 Minuten Methylenblau entfärbende Milch, wenn sie vorwiegend Milchsäurebakterien enthält, viel besser sein kann als eine bakterienärmere, erst in 3 Stdn. entfärbende, die vorwiegend schädliche Bakterien enthält. Bei der Klassifizierung der Milch wäre daher eine andere Einteilung zu empfehlen, z. B. »keimarme«, »mittelmäßig keimhaltige«, »ziemlich keimreiche«, »keimreiche«, »sehr keimreiche« Milch. Die keimreicheren Milchsorten können auch durch die Alizarolprobe erkannt werden, die keimärmeren dagegen können nur mit der Reduktasenprobe genauer beurteilt werden. Um ein Bild über die Arten der Bakterien zu erhalten, ist die Gärprobe oder die Gär-Reduktaseprobe heranzuziehen. Die Reduktaseprobe kann anstatt bei 40° auch bei 20° ausgeführt werden, sie beansprucht dann aber längere Zeit und zwar ungefähr $\frac{3}{4}$ der Minutenzahl mehr.

¹⁾ Milchw. Zentrbl. 7, 441 (1911).

Man muss daher die bei 20° beobachtete Minutenzahl mit $\frac{4}{7}$ multiplizieren, um die Reduktionszeit bei 40° zu erhalten.

Auf Grund von 4 Versuchsreihen mit Marktmilch, pasteurisierter Milch, gemischter und saurer, mit Natriumkarbonat neutralisierter Milch kommen A. Devarda und A. Weich¹⁾ bezüglich der Brauchbarkeit der Alizarolprobe zu dem Ergebnis, dass der Säuregrad sich praktisch genügend genau feststellen lässt. Jedoch gibt bei stark vorgeschrittener Säuerung oder beim Entstehen alkalisch reagierender Zersetzungsprodukte der Farbenton der Alizarolprobe den Säuregehalt nicht immer mit genügender Schärfe an. In strittigen Fällen ist daher die titrimetrische Bestimmung des Säuregrades vorzuziehen. Eine bei der Alizarolprobe auftretende Gerinnung, die dem Säuregehalt oder dem Farbenton der Probe nicht entspricht, deutet auf anormale oder vorgeschrittene Zersetzungen hin, die durch labbildende oder peptonisierende Bakterien verursacht sind. Durch die Alizarolprobe lässt sich nicht sicher feststellen, ob reine Labgärung oder gemischte Gärung vorliegt. Man kann auch nicht entscheiden, ob es sich um eine Mischung von frischer und saurer Milch oder um saure Milch handelt, deren Säure teilweise durch Alkali neutralisiert wurde. Der Hauptvorteil der Alizarolprobe besteht in der leichten und raschen Ausführbarkeit. Zur Prüfung der Milch auf Haltbarkeit genügt aber, wie A. Devarda²⁾ in einer weiteren Arbeit ausführt, für die Marktkontrolle die Alkoholprobe, da der Säuregrad hierbei keine ausschlaggebende Rolle spielt. Der diagnostische Wert der Alizarolprobe beschränkt sich auf eine empirische Prüfung der Milch, hauptsächlich auf ihre Käseereitauglichkeit.

Demgegenüber bleibt W. Morres³⁾ bei der Ansicht, dass die Alizarolprobe die Alkoholprobe an Brauchbarkeit übertrifft. Sie zeigt nicht nur qualitativ die Art der Zersetzung an, sondern sie gibt auch über den Grad der Zersetzung Auskunft und kann daher das Titrierverfahren und die Alkoholprobe ersetzen.

Grimmer und A. Hopffe⁴⁾ machen darauf aufmerksam, dass die zur Beurteilung des Ausfalls der Alizarolprobe angefertigte Farbenscheibe im Laufe der Jahre mehrfache Veränderungen erlitten hat, was bei der Ausführung zu berücksichtigen ist. Bei der Anwendung der Probe auf erhitzte Milch und solche von kranken Tieren wurde beobachtet, dass bei roher Milch die Alizarolprobe mit der Säuregradbestimmung im allgemeinen gleichen Schritt hält, während bei erhitzter Milch Unstimmigkeiten hervortreten, was durch Entwicklung einer verschiedenen Pilzflora während der Aufbewahrungszeit zu erklären ist. Verf. prüften auch die Einwirkung von Reinkulturen verschiedener Bakterienarten

¹⁾ Arch. Chem. Mikr. **6**, 207 (1913). — ²⁾ Milchw. Zentrbl. **43**, 154 (1914). — ³⁾ Milchw. Zentrbl. **43**, 208 (1914). — ⁴⁾ Milchw. Zentrbl. **44**, 257 (1915).

und fanden, dass das Auftreten der Farbtöne 9 und 10 der Farben-
tafel ohne weiteres dafür spricht, dass erhitzte Milch unerwünschte
Gärungserscheinungen durchgemacht hat; bei den übrigen in Frage
kommenden Farbtönen scheint zur einwandfreien Beurteilung der
Veränderungen die gleichzeitige Bestimmung des Säuregrades (gegen
Phenolphthalein) nötig zu sein. In dieser Kombination kann die Alizarol-
probe als ein brauchbares Hilfsmittel zur Beurteilung der Qualität
erhitzter Milch betrachtet werden.

An Stelle der einfachen qualitativen Alkoholprobe empfiehlt
F. Löhnis¹⁾ eine Titration der Milch mit Alkohol, er nennt Alkohol-
zahl die Anzahl der *ccm* Alkohol von 70, 80 oder 90 Vol.-%, welche
erforderlich ist, um 2 *ccm* Milch bei 15—20° zum Gerinnen zu bringen,
und führt die Bestimmung im Becherglase über schwarzer Unterlage aus.
Frische Milch einzelner Kühe kann recht überraschende Werte ergeben,
bei Handelsmilch liefert die Alkoholzahl gewisse Anhaltspunkte für den
Keimgehalt. Bei Mischmilch lassen mehr als 4 *ccm* 80%iger Alkohol
auf niedrigen, 2—4 *ccm* auf mittleren, weniger als 2 *ccm* 80%iger
Alkohol auf hohen und weniger als 2 *ccm* 70%iger Alkohol auf sehr
hohen Keimgehalt schliessen. Im allgemeinen gehen die Alkoholzahlen
mit den Werten der Methylenblau-Reduktion parallel, sie geben auch
Auskunft über die Haltbarkeit der Milch. Für die Ausführung dieser
Alkoholtitration schlägt W. D. Kooper²⁾ vor, Reihen von Reagenz-
gläsern mit je 2 *ccm* Milch zu beschicken und 0,25—6 *ccm* 80%igen
Alkohol in Abstufungen von je 0,25 *ccm* zuzufügen. Indessen hält er
es für zweifelhaft, ob die Alkoholtitration sich überhaupt zur annäher-
nden Ermittlung des Keimgehaltes eignet. A. Scholl.

2. Auf Handel, Industrie und Landwirtschaft bezügliche Methoden.

Die Bestimmung des Dicyandiamids im Kalkstickstoff haben
F. W. v. Dafert und R. Miklaur³⁾ einer eingehenden Prüfung
unterzogen und zugleich ein Verfahren für diesen Zweck ausgearbeitet,
das auf anderer Grundlage beruhend, viele Mißstände der bisher an-
gewandten Methoden⁴⁾ vermeidet, namentlich einwandfreiere Resultate
liefert und wesentlich geringere Kosten verursacht.

Sie gründeten es auf die von H. Grossmann⁵⁾ zur Bestimmung
des Nickels angewandte Reaktion zwischen Verbindungen desselben und
Dicyandiamidsalzen, und in dieses letztere lässt sich das Dicyandiamid
durch Erwärmen mit schwachen Säuren leicht überführen. Versuche
nach dieser Richtung waren schon vor längerer Zeit von N. Caro⁶⁾

¹⁾ Molker.-Ztg. Hildesh. 28, 153 (1914). — ²⁾ Molk.-Ztg. Hildesh. 28, 715
(1914). — ³⁾ Ztschrft. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich 1919, S. 1;
nach eingesandtem Sonderabdruck. — ⁴⁾ Vergl. diese Ztschrft. 58, 87 (1919).
— ⁵⁾ Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 39, 3356 (1906); diese Ztschrft. 47, 170
(1908). — ⁶⁾ Ztschrft. f. angew. Chem. 23, 2407 (1910).