Über eine neue Methode zur Untersuchung von Fetten.

Von

Dr. Rudolf Benedikt.

Die natürlichen Fette sind, wie bekannt, als meist sehr complicirte Gemenge von Glyceriden verschiedener Fettsäuren aufzufassen. Die Gewichtsverhältnisse der einzelnen Glyceride zu einander und damit der daraus darstellbaren Fettsäuren sind für jede Fettgattung nahezu constant, mehr oder weniger verschieden aber für Fette verschiedener Abstammung. Die Kenntniss des Gehaltes einer Fettprobe an jedem einzelnen Glyceride würde somit vollkommen sicheren Aufschluss über die Natur des Fettes und über etwa vorhandene Verfälschungen geben. Die Analyse der Fette ist nun allerdings nicht so weit vorgeschritten, um die Gehalte an jeder einzelnen Fettsäure zu bestimmen, doch besitzt sie Methoden, welche ein Mass für das Mengenverhältniss einzelner Gruppen von Fettsäuren liefern, und ist dadurch im Stande, über viele die Untersuchung der Fette betreffende Fragen Aufschluss zu geben.

Die Eintheilung der in den natürlichen Fetten vorkommenden Fettsäuren in Gruppen kann in folgender Weise geschehen:

Fettsäuren	
flüchtige, wasserlösliche Säuren	Nicht flüchtige, unlösliche Säuren
Gesättigte Säuren	Ungesättigte Säuren
Säuren der Öl- und Leinölsäurereihe	
	Oxyfettsäuren

Zur Gehaltsbestimmung eines Fettes an verschiedenen Fettsäuren hatte man bisher folgende Methoden¹⁾:

Das Reichert'sche Verfahren. Dasselbe liefert ein Mass für den Gehalt an flüchtigen Fettsäuren.

Die Hehner'sche Methode lehrt die Menge der unlöslichen Fettsäuren bestimmen.

Das nach v. Hübl gemessene Jodadditionsvermögen gestattet, Schlüsse auf den Gehalt eines Fettes an ungesättigten Fettsäuren zu ziehen.

Nur zur Bestimmung des Gehaltes an

Oxyfettsäuren hatte man bisher kein Hilfsmittel. Ich habe nun in Gemeinschaft mit F. Ulzer (Monat. Chem. 8, 41) diese Aufgabe in folgender Weise zu lösen versucht.

Das aus dem zu untersuchenden Fette gewonnene Gemenge von Fettsäuren wird in der unten angegebenen Weise acetylirt. Dabei bleiben diejenigen Säuren, welche keine Hydroxylgruppen enthalten, unverändert. Man ermittelt nun die Kalimengen, welche einerseits zur Neutralisation, andererseits zur Verseifung der acetylirten Fettsäuren nothwendig sind. Enthält das ursprüngliche Fettsäuregemisch keine Oxsäuren, so werden diese beiden Zahlen bis auf kleine Versuchsfehler gleich sein, sind dagegen Oxyfettsäuren vorhanden, so ergibt sich ein bedeutender Unterschied.

Ist z. B. die Säure reine Ricinusölsäure, so erfolgen Neutralisation und Verseifung nach folgenden Gleichungen:

Somit ist zur Verseifung doppelt soviel Ätzkali als zur Neutralisation erforderlich.

Enthält die nicht acetylirte Säure 2, 3 ... n Hydroxylgruppen, so ist die zur Verseifung benötigte Kalimenge 2, 3 ... n mal so gross als die zur Neutralisation erforderliche.

Kennt man, wie dies bei Fetten häufig der Fall ist, die Natur der vorhandenen Oxyfettsäuren nicht, oder enthält das Fett mehrere Oxyfettsäuren, so lässt sich aus dem Resultate der Untersuchung der Procentgehalt an Oxyfettsäuren nicht berechnen, man gewinnt aber gerade so wie bei den Methoden von Reichert und v. Hübl werthvolle Anhaltspunkte zur Identificirung und Unterscheidung der Fette.

Wir haben vorläufig die wichtigsten Öle in den Bereich unserer Untersuchung gezogen und sind dabei in folgender Weise vorgegangen:

100 g des Öles werden mit 70 g in 50 cc Wasser gelöstem Kalihydrat und 150 cc starkem Weingeist bis zur vollständigen Verseifung am Rückflusskühler gekocht. Der Kolbeninhalt wird in eine geräumige Schale ausgegossen, mit 1 l Wasser verdünnt, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und

¹⁾ S. auch R. Benedikt: Die Fette und Wacharten. (Berlin 1886, J. Springer.)

so lange gekocht, bis die Fettsäuren als vollkommen klare Schicht oben aufschwimmen und der Alkohol vertrieben ist. Die Fettschicht wird noch zweimal mit Wasser ausgekocht, dann durch Abhebern oder mittels des Scheidetrichters vom Wasser getrennt und in ein kleines Becherglas gegossen, aus welchem sie nach dem völligen Absetzen des Wassers im Lufttrocknenkasten bei einer ihren Schmelzpunkt um 20 bis 30° übersteigenden Temperatur auf ein trockenes Filter gegossen werden.

50 g der Fettsäuren werden sodann mit 40 g Essigsäureanhydrid 2 Stunden in einem Kölbchen mit Rückflussrohr gekocht, die Mischung wird in ein hohes Becherglas von 1 l Inhalt entleert, mit 500 bis 600 cc heissem Wasser übergossen und gekocht²⁾. Um ein Stossen der Flüssigkeit zu vermeiden, leitet man durch ein nahe dem Boden des Bechers mündendes Capillarrohr einen langsamen Kohlensäurestrom ein. Nach einiger Zeit hebert man das Wasser ab und kocht noch dreimal mit der gleichen Wassermenge aus. Dann ist, wie man sich durch Prüfung mit Lackmuspapier überzeugen kann, alle Essigsäure entfernt. Endlich filtrirt man die acetylierten Säuren im Luftbade durch ein trockenes Filter und wägt 4 bis 5 g zur Bestimmung der Säurezahl, 1 bis 1,5 g zur Bestimmung der Verseifungszahl ab. „Säurezahl“ und „Verseifungszahl“ bezeichnen die Anzahl von Milligrammen Kalihydrat, welche zur Neutralisation, respective zur Verseifung von 1 g des Fettsäuregemisches nothwendig ist. Die Differenz zwischen diesen beiden Zahlen heisst „Acetylzahl“.

Zur Bestimmung der Säurezahl löst man die gewogenen Fettsäuren in fusel- und säurefreiem Weingeist auf und titirt sie nach Zusatz von Phenolphthalein als Indicator mit $\frac{1}{2}$ Normalnatronlauge.

Die Verseifungszahl wird nach der von Köttstorfer (Z. anal. 18, 199) gegebenen Vorschrift in folgender Weise ausgeführt: Man bereitet folgende Lösungen:

1. Titirte Salzsäure, am besten etwa $\frac{1}{2}$ -normal. Der Titer muss mit grosser Sorgfalt gestellt sein.

2. Titirte Kali- oder Natronlauge, ebenfalls etwa $\frac{1}{2}$ -normal.

3. Alkoholische Kalilauge. Man löst ungefähr 30 g aus Alkohol gereinigtes Kali-

hydrat in möglichst wenig Wasser und verdünnt mit fuselfreiem Weingeist auf 1 l. Man lässt die Lösung 2 Tage stehen und filtrirt sie in eine Flasche, in deren Hals man einen Kautschukpfropfen eingepasst hat, durch dessen einfache Bohrung eine bis an den Boden der Flasche reichende 25 cc-Pipette hindurchgeht. Dieselbe ist an ihrem oberen Ende mit einem Stückchen Schlauch und Quetschhahn verschlossen. Die Flasche wird an einem gleichmässig warmen Orte aufbewahrt. War der Weingeist rein, so nimmt die Flüssigkeit auch nach längerem Stehen keine braune, sondern nur eine gelbliche Färbung an.

4. Alkoholische Phenolphthaleinlösung mit etwa 1 g des Farbstoffes in 200 cc Weingeist. In den Kautschukpfropfen der Flasche ist eine 1 cc-Pipette eingesetzt. — Die Substanz wird in einem weithalsigen Kölbchen von 100 bis 150 cc Inhalt abgewogen. Dann füllt man die in die Vorrathsflasche eingesetzte 25 cc-Pipette genau bis zur Marke mit alkoholischer Kalilauge und lässt dieselbe in den Kolben fliessen. Ist die Hauptmenge abgelaufen, so lässt man noch einige Zeit abtropfen, wobei man die nachfliessenden Tropfen zählt, um bei allen folgenden Versuchen die Pipette genau bis zu demselben Punkte entleeren zu können. Sodann erhitzt man den mit einem kleinen Trichter bedeckten Kolben 15 Minuten auf dem Wasserbade zum schwachen Sieden, fügt 1 cc Phenolphthaleinlösung zu und titirt mit Salzsäure bis zur Entfärbung zurück.

In genau derselben Weise stellt man den Titer der alkoholischen Kalilösung. Man erwärmt also wieder 25 cc derselben 15 Minuten auf dem Wasserbade und titirt sodann mit Salzsäure. Da ihr Titer etwas veränderlich ist, so wird er vor jeder Versuchsreihe neu gestellt.

Aus der Differenz zwischen der zweiten und ersten Titirung lässt sich die Kalimenge leicht berechnen, welche zur Verseifung der Substanz nothwendig war und daraus ergibt sich die Verseifungszahl.

Die bei der Untersuchung der wichtigsten Öle gefundenen Zahlen sind in nebenstehender Tabelle zusammengestellt:

Die erste Spalte dieser Tabelle enthält die Säurezahlen der nicht acetylierten Fettsäuren, aus welchen nach der Formel $M = 56100 : S$ die in der zweiten Spalte stehenden mittleren Moleculargewichte berechnet sind. Die Säurezahlen des Rüböles und Ricinusöls sind auffallend niedrig. Es steht dies in voller Übereinstimmung mit den von Valenta (Dingl. 249, 271) ermittelten Verseifungszahlen dieser Öle. Der Grund

²⁾ Essigsäureanhydrid wird durch warmes Wasser sehr rasch zerlegt. Versuche, die Entfernung der Essigsäure dadurch zu beschleunigen, dass man nach dem Kochen mit Essigsäureanhydrid statt in Wasser in verdünnten Weingeist eingoss, haben ergeben, dass sich dabei ein Theil der Fettsäure leicht ätherificirt.

Fettsäuren aus:	Nicht acetylirt		Acetylirt		
	Säurezahl	Moleculargewicht	Säurezahl	Verseifungszahl	Acetylzahl
Arachisöl	198,8	282,2	193,3	196,7	3,4
Cottonöl	199,8	280,8	195,7	212,3	16,6
Crotonöl	201,0	279,1	195,7	204,2	8,5
Hanföl	199,4	281,3	196,8	204,3	7,5
Leinöl	201,3	278,7	196,6	205,1	8,5
Mandelöl	201,6	278,3	196,5	202,3	5,8
Mohnöl	200,6	279,7	194,1	207,2	13,1
Nussöl	204,8	273,9	198,0	205,6	7,6
Olivöl	197,1	284,6	197,3	202,0	4,7
Pfirsichkernöl	202,5	277,0	196,0	202,4	6,4
Ricinusöl	177,4	316,2	142,8	296,2	153,4
Rüböl	182,5	307,4	178,5	184,8	6,3
Sesamöl	200,4	279,9	192,0	203,5	11,5
Soluble castor oil.	195,2	287,4	184,5	246,7	62,2

dieser Erscheinung liegt in dem hohen Moleculargewicht der darin enthaltenen Fettsäuren, der Brassicasäure und Ricinusölsäure.

Die dritte, vierte und fünfte Spalte enthalten die Säurezahlen, Verseifungs- und Acetylzahlen der acetylirten Fettsäuren. Die Betrachtung der Acetylzahlen lehrt, dass von den natürlichen Ölen nur das Ricinusöl mit der Zahl 153,4 einen grossen Gehalt an Oxyfettsäuren besitzt, dass aber auch andere Öle, insbesondere Cottonöl, Mohnöl und Sesamöl, nicht ganz zu vernachlässigende Mengen solcher Säuren enthalten.

Das Verfahren lässt sich somit sehr gut zur Untersuchung von Ricinusöl anwenden, indem es ermöglicht, die Abwesenheit von Verfälschungen festzustellen und die Menge beigemischter Öle genau zu bestimmen, da schon ein Zusatz von nur 5 Proc. eines anderen Öles die Acetylzahl um 7,5 Einheiten erniedrigt.

Oxydirte Öle. Das in die Tabelle aufgenommene „Soluble castor oil“ oder „auflösliche Ricinusöl“ von Johnson Bros. in Hull enthält ebenfalls bedeutende Mengen von Oxyfettsäuren. Dieses Produkt dürfte zu den in den letzten Jahren in England fabricirten „oxydirten Ölen“ oder „Blown oils“ gehören. Man erhält dieselben, wenn man einen Luftstrom durch ein auf eine gewisse Anfangstemperatur erhitztes fettes Öl (Rüböl, Cottonöl) bläst, wobei sich die Fette oxydiren. Bei richtiger Leitung des Processes erhält man ein Produkt, welches dem Ricinusöl in Bezug auf das specifische Gewicht und die Viscosität sehr nahe steht. Die „oxydirten Öle“ unterscheiden sich vom Ricinusöl dadurch, dass sie in Alkohol schwer löslich und mit Mineralölen mischbar sind. Die letztere Eigenschaft gestattet ihre Anwendung zur Herstellung von Schmierölen.

Das „Soluble castor oil“ ist hellgelb,

schwach getrübt und gibt eine rothbraune Seife, aus welcher sich die ebenso gefärbten Fettsäuren abscheiden lassen. Dieselben sind bei gewöhnlicher Temperatur fest und schmelzen bei 39 bis 41°. Der hohe Schmelzpunkt und die Verseifungszahl (195,2) der Fettsäuren machen es wahrscheinlich, dass das Produkt aus Cottonöl dargestellt ist. Ich bin in Gemeinschaft mit Herrn F. Ulzer beschäftigt, die Bereitung und die Eigenschaften der oxydirten Öle näher zu studiren.

Bei der Untersuchung von aus Mineralölen und fetten Ölen zusammengesetzten Schmierölen wird die Acetylzahl Aufschluss über die Anwesenheit oxydirter Öle geben können.

Wachsarten. Obwohl man in dem v. Hübl'schen Verfahren (Dingl. 249, 339) ein ausgezeichnetes Mittel zur Untersuchung von Wachsarten besitzt, kann es doch Fälle geben, in welchen dasselbe keinen genügenden Aufschluss gibt. Dann wird das Acetylverfahren häufig zum Ziele führen können. Verseift man ein Wachs und zerlegt die Seife mit Salzsäure, so scheidet sich eine Mischung von Fettsäuren und höheren Fettalkoholen ab. Acetylirt man dieses Gemenge, so werden die Alkohole in ihre Essigsäureester verwandelt, so dass die acetylirte Substanz stets eine ziemlich grosse Acetylzahl besitzen wird, die, wie wir uns überzeugt haben, bei verschiedenen Wachsarten verschieden gross ist.

Bei gelbem Bienenwachs war z. B. die Säurezahl der acetylirten Mischung von Fettsäuren und -alkoholen = 78,3, die Verseifungszahl = 154, somit die Acetylzahl = 75,7.

Wir werden eine eingehende Vergleichung der Wachsarten in dieser Richtung vornehmen, sobald wir uns eine grössere Anzahl derartiger Materialien aus verlässlichen Quellen verschafft haben werden.

Türkischrothöl. Durch eine ganze Reihe von Arbeiten ist nachgewiesen, dass die Türkischrothöle Oxyfettsäuren enthalten. Scheidet man die Gesamtfettsäuren aus den verschiedenen Türkischrothölen des Handels ab, so ergibt sich, dass die Acetylzahl von Ricinustürkischrothöl ungefähr derjenigen des Ricinusöles selbst gleich ist, wogegen die aus Oliven- und Cottontürkischrothöl dargestellten Fettsäuren weit grössere Acetylzahlen als die ursprünglichen Öle geben. Doch liegen die Zahlen immer noch weit unter der des Ricinusöles, so dass die Methode ein Mittel zur Unterscheidung der Türkischrothöle verschiedener Abstammung bildet.

Aus diesem Verhalten scheint sich über-

dies zu ergeben, dass der Process bei der Einwirkung von Schwefelsäure auf Olivenöl und Ricinusöl nicht gleich verläuft. Wir sind mit dem eingehenden Studium auch dieser Frage beschäftigt.

Wien, den 26. Februar 1886.

Zur mikroskopischen Wasseruntersuchung.

[Schluss von S. 76.]

Weitere Versuche ergaben, dass der Milzbrandbacillus in unfiltrirtem, filtrirtem wie stark verdünntem Pankewasser sich selbst bei 12 bis 15° gut weiterentwickelt.

Typhusbacillen, die Erreger des Ileotyphus, vermehren sich im unreinen Flusswasser bei 16° und darüber und bleiben bei niedriger Temperatur (8°) mindestens lebensfähig. Auch im Brunnenwasser ergab sich eine bemerkenswerthe Vermehrung der Einsaat oder doch eine längere Erhaltung der Entwicklungsfähigkeit. Selbst in destillirtem Wasser bewahren sie ihre Entwicklungsfähigkeit bis zum 20. Tage. Daraus folgt, dass ein Wasser, welches nach Massgabe seiner chemischen Beschaffenheit als Trink- und Nutzwasser nicht zu beanstanden wäre, immerhin noch in seiner Zusammensetzung an sich die geeigneten Bedingungen zu einer Vermehrung, sicherlich aber zu einer wochenlangen Erhaltung der Entwicklungsfähigkeit der Typhusbacillen darbieten kann. Leider lassen sich die Typhusbacillen bei der Gelatineplattencultur nur äusserst schwierig nachweisen, weil die Colonien derselben ein zu wenig charakteristisches Aussehen anderen Mikroorganismen, welche im Wasser heimisch sind, gegenüber besitzen.

In Milch bleiben die Typhusbacillen, sowie auch die Cholera bacillen lebensfähig und vermehren sich darin stark, so dass das Tausen der Milch mit schlechtem Wasser sehr gefährlich werden kann.

Die Versuche mit Cholera bacillen ergaben in den ersten Tagen nach der Impfung eine Abnahme, dann aber eine Vermehrung der Keime. Allem Anscheine nach brauchen die Cholera bacillen einige Zeit, um sich nach der Einführung ins Wasser an dasselbe zu gewöhnen. Dem entsprechend zeigen die an den Aufenthalt im Wasser gewöhnten Cholera bacillen schon in den ersten 24 Stunden eine erhebliche Vermehrung. In hohem Grade beachtenswerth ist noch, dass die Cholera bacillen selbst 7 Monate nach dem Einbringen in das Wasser noch in reichlicher Anzahl und entwicklungsfähig vorhanden waren.

Durch diese sorgfältigen Arbeiten wird die Angabe von M. Bolton (Ztsch. f. Hygiene 1886, 111) widerlegt, dass die Typhusbacillen in gewöhnlichem Brunnenwasser nicht vermehrungsfähig seien, so dass die in einen Brunnen gelangten infectiösen Bakterien diesen meistens nicht für lange Zeit gefährlich machten. — Uebrigens hat auch W. Heräus (das. 234) zuweilen eine erhebliche Vermehrung der Typhusbacillen im Wasser beobachtet.

Odling, Crookes und Tidy (J. Ch. Ind. 1886, 544) stellten Versuche mit dem die Milzkrankheit der Wollsortirer veranlassenden Virus an und fanden, dass dieses nach 18 Stunden im Wasser keine Vermehrung mehr zeigte. Wunderbarer Weise schliessen sie daraus, dass man keine Befürchtungen über die Verbreitung von Krankheiten durch den Genuss von Themsewasser zu haben brauche, ohne zu berücksichtigen, dass jede Art von Organismen besondere Lebensbedingungen verlangt, dass somit Versuche mit einem Mikroorganismus nicht massgebend ist für die Lebensfähigkeit anderer.

In einem Trinkwasser, welches mit Typhusentleerungen verunreinigt war, glaubt auch Moers (Erg. f. allg. Gesundheitspf. 1886, 2, 133) Typhusbacillen nachgewiesen zu haben. — Rheinwasser enthielt in 1 cc 20680, nach der Filtration durch das Wasserwerk Mühlheim nur noch durchschnittlich 62 Keime.

Der Bakteriengehalt des Mainwassers oberhalb und unterhalb Würzburg wird nach B. Rosenberg (Arch. Hygiene 1886, 446) wesentlich beeinflusst durch die Schmutzwässer der Stadt.

Beachtenswerth sind auch die bakteriologischen Untersuchungen natürlicher Gewässer von R. v. Malapert-Neufville (Z. anal. 1886, 39). Aus der Wasserprobe wurde mittels einer zuvor sterilisirten Pipette 1 cc des Wassers entnommen und in zuerst aufgekochte, dann auf 30 bis 35° wieder abgekühlte 10proc. Nährgelatine fliessen gelassen, welche sich in einem Proberöhrchen befand. Nährgelatine und Wasser wurden durch Schütteln gemischt, die Mischung wurde sodann auf eine horizontal eingestellte, abgekühlte Glasplatte ausgegossen und mit einem sterilisirten Platindraht auf der Glasplatte gleichmässig vertheilt. Die Glasplatte, welche zuvor mit einer Glasglocke bedeckt gewesen war, wurde sogleich wieder mit der Glasglocke zugedeckt. Als Nährgelatine diente eine Fleischextract-Pepton-Zucker-Gelatine. Die verwendeten feuchten Kammern bestehen aus einem etwa 25 cm im Durchmesser haltenden, starken Glasteller mit etwa 6 cm hohem, steilem Rand. In