[Aus dem hygienischen Institut zu Göttingen.]

Ueber die Vorgänge beim Ranzigwerden und den Einfluss des Rahm- pasteurisirens auf die Haltbarkeit der Butter.

Von

Hugo Schmidt.

Zu einer Zeit, wo man unter dem Eindrücke der Pasteur'schen Entdeckungen von der Erregung der verschiedensten Gährungsvorgänge durch bestimmte niederste Lebewesen sehr dazu geneigt war, auch das Ranzigwerden der Butter ausschliesslich auf mikroparasitäre Einflüsse zurückzuführen, hat E. Duclaux (1) mit Sicherheit nachgewiesen, dass die Butter, wie die Fette überhaupt, auch allein unter der Einwirkung von Luft, Licht und Wärme der Zersetzung anheimfallen können (2). Duclaux sieht in dem Ranzigwerden eine spontan erfolgende Spaltung (Verseifung) der Triglyceride der Fettsäuren und der Oelsäure, aus welchen die Butter besteht, mit darauf folgenden Oxydationsvorgängen und weiteren Umsetzungen, an welchen sich auch Mikroorganismen betheiligen können. Letztere würden an und für sich in den wasserunlöslichen Fetten einen geeigneten Nährboden nicht finden, aber sie können darin doch bestehen, weil sowohl das in Folge der Spaltung frei werdende Glycerin als auch die frei gewordenen löslichen Fettsäuren, falls deren Menge nicht übermässig, ihnen zur Nahrung wird. Zudem finden die Mikroorganismen auch dadurch geeignete Lebensbedingungen in der Butter, dass diese nicht nur das MilCHFett, sondern auch andere Bestandtheile der Milch (Wasser, MilChzucker, MilChsäure, Casein, Salze) in sich schliesst.

Die Butter enthält, an Glycerin gebunden, sowohl Oelsäure und feste (in Wasser unlösliche) Fettsäuren, wie Palmitinsäure und Stearinsäure, als

auch flüchtige (in Wasser lösliche) Fettsäuren, wie Buttersäure, Capronsäure, Caprinsäure, Caprylsäure, wahrscheinlich auch Laurinsäure. Die beim Ranzigwerden auftretende Spaltung vollzieht sich nach und nach, daher finden sich in der ranzigen Butter neben den frei gewordenen Säuren noch die an Glycerin gebundenen vor; der Vorgang trifft zunächst die äusseren Schichten der Buttermasse. Nach Duclaux fallen die Glyceride der flüchtigen Fettsäuren leichter und früher der Zersetzung anheim, man findet in den Anfangsstadien verhältnissmässig mehr freie flüchtige als feste Fettsäuren in der ranzigen Butter. St. Bondzyński und H. Ruff (2) haben auf Grund einer freilich nicht ganz einwandfreien Untersuchung das Gegentheil gefunden, nach ihnen herrschen anfänglich die freien festen Fettsäuren vor.

Es genügen nach Duclaux schon sehr geringe Mengen freier flüchtiger Fettsäuren, um die Butter in Geruch und Geschmack ranzig erscheinen zu lassen, die geringsten Spaltungs- und Oxydationswirkungen haben schon zur Folge, dass die Butter das ihr eigene Aroma einbüsst.

Den Untersuchungen von Duclaux sind einige Jahre später die Ermittlungen von E. Ritsert (2) und von J. Arata (4) gefolgt, deren Ergebnisse noch mehr dazu angethan waren, den Einfluss der Mikroorganismen in Abrede zu stellen, während Duclaux diesen doch immerhin bedeutsame Nebenwirkungen bei dem Zerfall der nicht reinen Fette zuerkannt hatte. Erst durch experimentelle Beobachtungen von F. Lafar (5), O. Sigismund (6) und V. v. Klecki (2) erfuhren die Anschauungen eine Wendung zu Gunsten der Annahme einer wesentlichen Betheiligung der Mikroorganismen und insbesondere der Bakterien. Nicht bloss die Versuche an der Butter, sondern auch die zunehmende Erkenntniss in der Bakterienkunde und namentlich das Auffinden von Mikroorganismen, welche eine Spaltung der Fette bewirken können, welche den milchsauren Kalk in buttersauren umzuwandeln oder Buttersäure als Nebenproduct der Caseinvergährung zu liefern oder den Milchzucker direct zu Buttersäure u. s. w. zu vergähren vermögen, — hat dazu geführt, die bakteriologische Seite des Vorganges der Zersetzung der Butter in anderem Lichte erscheinen zu lassen.

Aber es waren auch Erfahrungen aus der Molkereipraxis und deren experimentelle Bestätigung, welche hierzu drängten, so namentlich die Thatsachen, dass ausgelassene Butter haltbarer ist, wie nicht ausgelassene, dass das Pasteurisiren des Rahms, wie auch das Salzen der Butter die Haltbarkeit wesentlich erhöhen. Man weiss, dass zwar durch keines der letztgenannten Verfahren das Bakterienleben vollständig vernichtet wird, aber eine Einwirkung auf dasselbe findet doch insofern statt, als ein grosser Theil der Keime dadurch zu Grunde geht und im Uebrigen die Lebensfähigkeit herabgesetzt wird.

Das Pasteurisiren des Rahms besteht in einem raschen Erhitzen auf Temperaturen von 65 bis 70° und mehr und darauffolgendem raschen Abkühlen auf etwa 12 bis 8°. Nach W. Fleischmann (7) erzielt man die besten Erfolge, wenn der Rahm 30 Minuten lang auf 68° gehalten, die Wärme nicht über 70° gesteigert und alsdann womöglich bis auf 5° abgekühlt wird. Mit diesem Vorschlage, der mit den bakteriologischen Erfahrungen sowohl über die Lebensfähigkeit der Saprophyten, als auch der pathogenen Keime in vollem Einklange steht, stimmen freilich die in der Molkereipraxis üblichen Pasteurisirungsverfahren wenig überein, weil diese zumeist im Interesse der Einfachheit und Raschheit des Betriebes continuirlich arbeiten und die einmal erreichte Erhitzungstemperatur nur kurze Zeit oder rasch vorübergehend einwirken lassen. Man behilft sich lieber durch Anwendung höherer Hitzegrade, was aber den Nachtheil hat, dass der Geschmackswerth des Rahms bzw. der Butter darunter leiden kann.

Im Gegensatze zur frischen Butter, die nach Chevreul und Duclaux schon freie Fettsäuren in geringer Menge enthalten kann, sind diese in der ranzigen Butter erheblich vermehrt, so dass man neben der Aenderung von Geruch und Geschmack im Hervortreten freier Fettsäuren ein Merkmal der ranzigen Beschaffenheit erblicken kann. Nichtsdestoweniger darf für letztere im Säuregehalt ein brauchbarer Maassstab nicht gesucht werden, weil die Säurebildung nicht unbedingt und nicht in allen Fällen gleichen Schritt mit der Geruchs- und Geschmacksänderung hält, und letztere in Anbetracht der Empfindlichkeit unserer Sinnesorgane früher in die Erscheinung treten kann, als die vermehrte Acidität. Die Säurebildung in der Butter beruht, wenigstens innerhalb gewisser Grenzen des Zersetzungs-vorganges zum guten Theil auf der Thätigkeit von Bakterien, welche den Milchzucker in Milchsäure überführen helfen. Letztere hat aber mit der ranzigen Beschaffenheit noch nichts zu thun, wenn sie auch später durch weitere Umsetzung dazu beitragen mag. Wenn man endlich erwägt, dass es in der Molkereitechnik üblich geworden ist, nach den Vorschlägen von Weigmann u. A. den pasteurisirten Rahm durch Zusatz von Säure-erregern in Reincultur oder von gesäuerter Milch künstlich anzusäuern, und dass sich mit diesem Verfahren nicht nur dem in manchen Gegenden vorherrschenden Geschmacksbedürfnisse Rechnung tragen, vielmehr auch die Haltbarkeit der Butter erhöhen lässt, wird man nicht weiter in Versuchung kommen können, Acidität und Ranzidität für gleichbedeutend zu halten.

Unter den Untersuchungen, welche in den letzten Jahren dem Gegenstande gewidmet worden sind, dürfte die Arbeit von V. v. Klecki die

bedeutsamste sein. Es sind vom Verfasser deren Ergebnisse wie folgt zusammengefasst worden:

1. Die Ranzidität der Butter lässt sich zwar nicht ohne Weiteres mit Hülfe der Bestimmung der Acidität derselben messen, wohl aber wächst die Acidität der Butter stetig mit der Zeit, und zwar rasch unter gewöhnlichen Umständen, langsam bei Einwirkung von Sonnenlicht oder Wärme; durch Sonnenlicht werden die Bakterien getötet, durch Wärme werden sie in ihrer Säureproduction gehemmt. Eine im Sonnenlicht oder in der Wärme aufbewahrte Butter kann „ranzig“ sein, ohne „sauer“ zu sein. Es lässt sich darnach aus der Säurezahl nur dann auf die Ranzidität der Butter schliessen, wenn die Art ihrer Aufbewahrung bekannt ist.

2. Bei der Säuerung der Butter spielen die Bakterien die wichtigste Rolle, während die Oxydation des Butterfettes in Bezug auf Bildung freier Säure in weit geringerem Maasse hierbei in Betracht kommt.

3. Die in der Butter vorkommenden Bakterien sind vorzugsweise facultativ anaërob und vertragen Lichtabschluss.

4. Eiskälte und Brüttemperatur hemmen die in der Butter vorkommenden Bakterien in ihrer Säureproduction.

5. Fluorkali (4 Procent) vermag die Entwicklung der säurebildenden Bakterien der Butter fast vollständig zu unterdrücken; mit Fluorkali imprägnirte Butter bewahrt ihr Aroma, ihren Geschmack und ihre Consistenz; wegen der giftigen Eigenschaften des Fluors und mit Rücksicht auf den unangenehmen Geschmack, den das Fluor der Butter verleiht, ist dasselbe jedoch, wie alle anderen chemischen Zusätze (das Kochsalz ausgenommen) als Conservierungsmittel nicht verwendbar.

6. Dem Kochsalz ist eine gährungshemmende Wirkung auf die Bakterien der Butter zuzuschreiben.

7. Der Caseingehalt der Butter übt wenig Einfluss auf deren Säuerung aus, indem bei einer äusserst geringen Menge Casein die Säuerung doch rasch eintreten und zunehmen kann.

8. Die Bakterien sterben ab, nachdem sie ein bestimmtes Quantum Säure in der Butter erzeugt haben. Aus diesem Grunde vermehrt sich der Säuregehalt einer Butter von einem bestimmten Zeitpunkt ab nicht mehr. Dieses Maximum an Säure beläuft sich auf etwa 17 bis 18 „Ranziditätsgrade“.

9. Licht bei Luftabschluss und Luft bei Lichtabschluss haben, was die Säuerung der Butter anbetrifft, gleiche Wirkung, in beiden Fällen bildet sich (wie Ritsert nachgewiesen hat) im Butterfette keine Säure, und daher finden wir in der Butter nur soviel Säure, als durch die Bakterien erzeugt werden konnte.

10. Eiskälte wirkt auf die Butter bei Lichtmangel in ungefähr demselben Grade gährungshemmend, wie Kochsalz bei Luftzutritt.

11. Das zur Säurebestimmung in der Butter übliche Verfahren ist sehr mangelhaft und die mit dessen Hülfe ermittelten Zahlenwerthe wenig zuverlässig; sollen richtige Resultate nach dieser Methode erzielt werden, so muss der Absorption der CO_2 der Luft Rechnung getragen werden.

Dank einer von Hrn. Prof. Wolffhügel mir zu Theil gewordenen Anregung habe ich im hygienischen Institut der Universität Göttingen der Frage nach dem Einflusse des Rahmpasteurisirens und des Salzens auf die Haltbarkeit der Butter mit eigenen experimentellen Ermittlungen näher treten können. Dem Institut waren im September 1896 auf Veranlassung des Königl. Kreisphysikus Hrn. Dr. Herm. Sonntag vom Director der Molkerei Hankensbüttel Hrn. A. Jensen Proben einer mit grosser Sorgfalt und Reinlichkeit aus pasteurisirtem Rahm hergestellten Butter zur Beurtheilung des Geschmackswerthes und der Haltbarkeit zugegangen, und haben die so entstandenen Beziehungen es ermöglicht, dass mir einige Monate später solche Butterproben zu Beobachtungen, nach Art der von Lafar, Sigismund, v. Klecki u. A. ausgeführten bakteriologischen und chemischen Untersuchungen, aus Hankensbüttel wiederholt geliefert wurden. Ich nehme hier gern Gelegenheit, Hrn. Director Jensen sein freundliches Entgegenkommen dankend anzuerkennen. Die Bereitwilligkeit, mit der von dieser Seite meine Bestrebungen unterstützt wurden, erbrachte an Untersuchungsmaterial fast des Guten zu viel, denn anstatt, wie es ursprünglich geplant war, drei Butterarten (Butter ohne Zusatz und ohne Pasteurisirung, Butter aus pasteurisirtem Rahm, gesalzene Butter) in Vergleich gestellt wurden, waren die Parallelversuche an nachbenannten sechs Butterarten auszuführen:

Ia	Rahm	. . .	nicht pasteurisirt,	Butter ungesalzen.
Ib	„	„	„	„ gesalzen.
IIa	„	bei 70 bis 75°	„	„ ungesalzen.
IIb	„	„ „ „	„	„ gesalzen.
IIIa	„	„ 90 „ 95°	„	„ ungesalzen.
IIIb	„	„ „ „	„	„ gesalzen.

In Bezug auf die Art der Herstellung dieser Butter entnehme ich den Angaben des Hrn. Jensen Folgendes: Die Genossenschaftsmolkerei Hankensbüttel verarbeitet täglich etwa 6000 ^{kg} Milch, die einmal am Tage, des Morgens, eingeliefert wird. Die Milch kommt in einen Sammelbehälter und wird alsbald centrifugirt. Der so gewonnene Rahm gelangt sofort zum Pasteurisiren¹ unter Erhitzen auf die genannten Temperaturen

¹ Die Molkerei Hankensbüttel arbeitet mit dem vom Bergedorfer Eisenwerk gebauten „Rahmpasteur“ bezw. „Patentrahmheber mit Einrichtung zum Pasteurisiren“. Dieser ist an die Entrahmungsmaschine unmittelbar angeschlossen und dient eines Theils zum Heben des aus der Centrifuge kommenden Rahms, anderen Theils zum Pasteurisiren. Es wird der doppelte Zweck in einfacher Weise erreicht, indem der Apparat in der Hauptsache aus einem rotirenden Hohlkegel von Metallblech besteht, an dessen Innenwand der unten einlaufende Rahm der Centrifugalkraft folgend, in dünner Schicht aufsteigt; dieser Kegel ist von einem Wassermantel umgeben, der durch Dampfzuströmung auf die Pasteurisirungstemperatur erhitzt wird.

und Abkühlen auf 10° und im unmittelbaren Anschluss hieran zum Verbuttern. Die Butter wird gewaschen, geknetet, sowie eingeschlagen, und auch dieses so beschleunigt, dass das ganze Verfahren der Butterbereitung vom Eingang der Milch bis zum Einschlagen der Butter gerechnet, nur etwa 2 bis $2\frac{1}{2}$ Stunden in Anspruch nimmt. Das Salzen der Butter geschieht unter Zusatz von 2 Proc. Kochsalz, die gesalzene Butter bleibt 18 bis 22 Stunden stehen.

Ueber eine der Buttersendungen, die das Institut aus Hankensbüttel für meine Beobachtungen erhalten hat, die dritte Lieferung, will ich einige zeitliche Angaben machen: Das zu deren Herstellung verwendete Rohmaterial bestand aus Mittag- und Abendmilch vom 23. und Morgenmilch vom 24. März 1897, die Verarbeitung zu Butter geschah am 24. März (das Centrifugiren zwischen 7 und 10 Uhr, das Verbuttern bis 11 Uhr), die Absendung erfolgte am folgenden Tage um 4 Uhr Nachmittags, die Ankunft am 27. März früh. Ich will nicht in Abrede stellen, dass die grosse Entfernung zwischen der Ursprungsstätte meines Versuchsmaterials und dem Orte der Beobachtung unter Anderen den Nachtheil hatte, dass die Butter nicht unmittelbar nach der Herstellung hat in Untersuchung genommen werden können, und gebe gern zu, dass ich mir in mancher Hinsicht möglicher Weise leichter gethan hätte, wenn die Butter zu meinem Zweck am Orte, vielleicht im Laboratorium selbst, erzeugt worden wäre. Da aber die Beurtheilung der Haltbarkeit einer Butter, wie sie auf den Markt kommt und im Grossbetriebe entsteht, den Ausgangspunkt meiner Arbeit bildete, und diese neben theoretischen Betrachtungen nicht zum Wenigsten auch praktischen Interessen zu Gute kommen sollte, durfte ich mich mit einem aus der Ferne mir angelieferten Untersuchungsmaterial wohl zufrieden geben.

Es sei in Kürze mitgetheilt, in welcher Verpackung die Hankensbütteler Molkerei ihre Butter versendet. Bei der ersten Lieferung war die Butter sorgfältig in Pergamentpapier eingeschlagen und dann in Packpapier verpackt, in der Folge erhielten wir die Butter in cylindrischen Töpfen aus Steingut, deren aus dem gleichen Material bestehende Deckel mit Gummidichtung und Bügelverschraubung aufgesetzt sind; auf der obersten Schicht der Butter liegt ein Blatt Pergamentpapier. Diese neue Art der Verpackung kommt, wie wir uns überzeugt haben, der Haltbarkeit der Butter sehr zu Nutzen.

Die Untersuchungsaufgabe, die mir gestellt war, bestand darin, zu beobachten, welche Veränderungen die Butter in Bezug auf den Geruch und Geschmack, auf die Acidität und auf den Bakteriengehalt unter verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen (mit und ohne Zutritt von Licht und Luft, in der Wärme und in der Kälte) erfährt.

Da nicht vorausgesetzt werden darf, dass diese Veränderungen auf das in Beobachtung genommene Stück Butter gleichmässig vertheilt erscheinen, ist es bei der Probeentnahme für die Bestimmung des Säuregrades und der Keimzahl rathsam, an verschiedenen Stellen zu untersuchen.

Die Beurtheilung des ranzigen Zustandes einer Butter, bezw. die Feststellung der Aenderungen, welche Geruch und Geschmack einer Butter in Folge des Ranzigwerdens zeigen, ist dadurch ausserordentlich erschwert, dass dieselbe des objectiven Maassstabes entbehrt, da dabei der Beurtheiler ausschliesslich auf die Sinneswahrnehmung angewiesen ist. Mit Recht sagt B. Fischer (8): „Die Beurtheilung der Genussfähigkeit einer Butter gehört zu den unangenehmsten Aufgaben, welche an den Nahrungsmittelchemiker herantreten, weil ihn hier die chemische Analyse vollständig im Stiche lässt, er daher nothwendig auf seinen Geschmack und sein persönliches Urtheil angewiesen bleibt.“ Da die Sinneswahrnehmung individuellen Verschiedenheiten unterliegt, habe ich es bei meinen Versuchen als ein Gebot der Vorsicht erachtet, zu derselben mehrere Personen heranzuziehen. Es gelingt auf diese Weise mit einiger Sicherheit verschiedene Butterproben nach Geruch und Geschmack in eine Reihenfolge einzuschätzen. Dagegen lässt uns das Unterscheidungsvermögen im Stiche, wenn entschieden werden soll, ob und in welchem Maasse sich Geruch und Geschmack im Verlauf der Zeit geändert haben, da hier zum Vergleich die Butter von der früheren Beschaffenheit fehlt. Der Gedanke liegt nahe, ob sich nicht zu diesem Zwecke durch Herstellung einer Reihe von verschieden dosirter Gemenge von Fettsäuren geeignete Vergleichsobjecte in den erforderlichen Abstufungen, so zu sagen eine Riechscala, gewinnen liessen. Leider haben wir mit bezüglichen Versuchen noch keinen befriedigenden Erfolg gehabt.

Entsprechend der Voraussetzung, dass der Vorgang des Ranzigwerdens durch Freiwerden von Fettsäuren chemisch zum Ausdruck kommt, war es in der Nahrungsmittelcontrole üblich geworden den Säuregehalt der Butter — sei es ausgedrückt in den zur Neutralisation von 100 ^{grm} Fett verbrauchten Cubikcentimetern alkoholischer Normallauge oder umgerechnet auf Oelsäure u. dgl. — als Maass für die ranzige Beschaffenheit der Butter anzusehen. Es wurde die Säurezahl, die Acidität, schlechtweg als „Ranzidität“ aufgefasst und war üblich geworden, die Befunde als „Ranziditätsgrade“ zu bezeichnen. Bei näherer Prüfung der Verhältnisse durch Besana, v. Klecki, B. Fischer, Schweissinger, v. Raumer, Sendtner (9) hat es sich aber herausgestellt, dass in der Bestimmung der freien Säuren überhaupt oder der freien flüchtigen Fettsäuren für sich ein Maassstab für die beim Ranzigwerden auftretenden Geruchs- und Geschmacks-

änderungen nicht gesucht werden darf. Die Gründe habe ich oben (S. 165) schon berührt. Demnach hat die Säurebestimmung auch für Untersuchungen nach Art der von mir aufgenommenen nicht mehr die Bedeutung, die ihr Ritsert, Sigismund und zum Theil auch v. Klecki beigemessen haben. Wenn ich nichtsdestoweniger auf dieselbe nicht verzichtet habe, so kommt dies daher, dass für mich es von Interesse war, nach Beziehungen zwischen Keimzahl und Acidität zu suchen, und ich den Wunsch hatte, das Ergebniss meiner Beobachtungen mit den Erfahrungen von Sigismund und v. Klecki vergleichen zu können.

Es lag anfänglich in meinem Untersuchungsplane, die oben erwähnte Abweichung zwischen den Angaben von Duclaux und jenen von Bondzyński und Rufi durch getrennte Ermittlung der Menge der flüchtigen und der nicht flüchtigen freigeordneten Fettsäuren nachzuprüfen. Ich hatte in meinen Vorarbeiten für diesen Zweck das in der Abhandlung von Bondzyński und Rufi angedeutete Verfahren auszubauen versucht, das darin besteht, dass sowohl die Gesamtmenge der freien Fettsäuren (also der flüchtigen bzw. löslichen und nicht flüchtigen bzw. nicht löslichen) als auch die Menge der freien flüchtigen für sich allein bestimmt, und in der Differenz der beiden Befunde die Menge der freien nicht flüchtigen Fettsäuren erhalten wird. Was Bondzyński und Rufi über die Methode zur Bestimmung der nicht flüchtigen Säuren sagen, ist zu kurz, als dass sich darnach ohne Weiteres arbeiten liesse: „Es wurde Butter in Wasser geschmolzen, auf ein Filter gebracht und das Filtrat zur Titration verwendet.“ Ich überzeugte mich durch eine Reihe bezüglicher Versuche, dass das einfache Schmelzen der Butter in Wasser nicht ausreicht, um alle freie Fettsäure ins Filtrat zu bekommen; denn dabei war der Verbrauch an Normallauge ($\frac{1}{20}$) auf 5 ^{grm} Butter um 0.45 bis 0.50 ^{ccm} zu wenig im Vergleich zu dem Vorgehen, das ich mir, wie folgt, ausprobiert hatte: Es wurden je 5 ^{grm} Butter in 3 Erlenmeyerkölbehen abgewogen, diese mit je 50 ^{ccm} destillirtem Wasser von 40° beschickt und durch Gummikappen geschlossen. Die drei Butterproben wurden geschüttelt, bis sich das Butterfett an der Oberfläche der Flüssigkeit als gelbliche Masse abschied, was etwa 10 Minuten Zeit in Anspruch nahm. Zwei der Kölbchen wurden in einem Wasserbade von 40° neuerdings bis zur Verflüssigung des abgeschiedenen Butterfettes erwärmt, und dann das Schütteln bis zur Abscheidung des Butterfettes wiederholt. Schliesslich wurde dieses Verfahren mit einem dieser zwei Kölbchen noch einmal durchgeführt, — alle drei Kölbchen auf kurze Zeit kalt gestellt und deren Inhalt dann filtrirt, das Kölbchen, Gummikappe und Filter mit 100 ^{ccm} destillirtem Wasser von 40° ausgewaschen, und endlich das Filtrat mit alkoholischer $\frac{1}{20}$ -Normal-Kalilauge titirt. Dabei ergaben sich im Ver-

brauch an Kalilauge keine Abweichungen, was zu der Annahme berechtigt, dass bei dem gedachten Vorgehen ein einmaliges Ausschütteln mit Wasser von 40° zum Ausziehen der Fettsäuren ausreicht. Das Verfahren hat indess das Missliche, dass trotz aller Vorsicht in der Auswahl der Filter und Filtration es mitunter nicht gelingen will, das Filtrat klar zu erhalten. Oefters bekam ich ein Filtrat von opalescirender Beschaffenheit, ohne dass ich mir die Ursache habe erklären können.

Mein ursprüngliches Vorhaben, von der getrennten Bestimmung der löslichen und unlöslichen freien Fettsäuren bei meinen Beobachtungen ausgedehnten Gebrauch zu machen, ist übrigens ohnehin dadurch vereitelt worden, dass ich bei dem Uebermaass an Untersuchungsmaterial die Arbeit nicht mehr zu bewältigen vermochte, seit ich auf mich allein angewiesen war, als Dr. H. Deichert, der mir bei der Ausbildung der chemischen Untersuchungsverfahren behülflich war, behufs Uebertritts in eine andere Berufsstellung aus dem Institut ausschied. Zur Bestimmung der Gesamtmenge der freien Säuren wählte ich das Verfahren von Franz Hofmann (10), welches E. Salkowski (11) als eine ebenso bequeme, wie sichere Methode anerkannt hat. Ich habe mich für dieses entschieden, nachdem mich bezüglich Vorarbeiten die Ueberzeugung hatten gewinnen lassen, dass die von anderer Seite (z. B. Ritsert, Besana, v. Klecki) gewählten Verfahren nennenswerthe Vortheile nicht darbieten, und dass vielmehr auch mit dem einfachen Vorgehen von Franz Hofmann bei gewissenhaftem Arbeiten, wenn auch keine absolut genauen Angaben, so doch für meine Beobachtungen brauchbare Vergleichswerthe erhalten werden.

Es werden in einem Becherglase 5^{grm} Butter abgewogen, mit 20^{ccm} neutralem Aether übergossen und unter schwachem Erwärmen (auf 25 bis 30°) schnell vollständig gelöst. Die Aetherlösung wird mit dem Indicator (alkoholischer Alkannalösung) versetzt und mit alkoholischer $\frac{1}{20}$ -Normal-Kalilauge titirt. Dabei ist es wesentlich, die Menge des zuzusetzenden Indicators richtig zu treffen, weil ein zu grosser Zusatz die Reaction ebenso unauffällig hervortreten lässt, wie ein zu geringer. Ich habe, nachdem das Verfahren einmal ausprobiert war, mit 5 Tropfen meiner Alkannalösung stets einen durchaus befriedigenden Farbenübergang bekommen, namentlich wenn das Becherglas auf weisser Unterlage gehalten war.

Was Ritsert¹, Besana², v. Klecki³ als Mahnung für den, der sich solch einfacher Methoden zur Bestimmung der freien Säuren in Fetten

¹ A. a. O. S. 21 u. 22.

² A. a. O. S. 410.

³ A. a. O. S. 42.

bedienen will, gesagt haben, gilt freilich auch für das Verfahren von Franz Hofmann. Es ist unerlässlich, das Verfahren mit Sorgfalt und bis in die kleinsten Einzelheiten stets in derselben Weise auszuführen, wenn man übereinstimmende Ergebnisse und vergleichbare Befunde damit erzielen will. Der Vorsicht halber wurden von mir alle Bestimmungen wiederholt vorgenommen.

In den kritischen Betrachtungen über die Methoden zur Bestimmung der freien Säure in Fetten hat namentlich die Art des Titirens und die Wahl des Indicators zu Erörterungen wiederholt Anlass gegeben. v. Klecki erinnert an den Fehler, der in Folge der Einwirkung der Kohlensäure der Luft beim Titiren, wenn man viel oder wenig schüttelt, langsam oder rasch zulaufen lässt, entstehen kann, und rät die Aetherfettlösung im Kölbchen mit einer Gummikappe gegen die Kohlensäure zu verwahren. Auch gewinne die Empfindlichkeit bei der Bestimmung des Endpunktes der Titration, wenn man wie Bondzyński und Rufi anstatt der $\frac{1}{10}$ - die $\frac{1}{20}$ -Normallauge anwendet. Ritsert, Besana, Sigismund, v. Klecki nahmen nach dem Vorgange von Köttstorfer und Stockmeier Phenolphthalein als Indicator. Da aber die Kohlensäure der Luft bzw. die von der zu titirenden Flüssigkeit absorbierte Kohlensäure auf Phenolphthalein entfärbend einwirkt, während wir Indicatoren besitzen, welche nicht von der Kohlensäure beeinflusst werden, erscheint es zweckmässig, letzteren den Vorzug zu geben.¹ An Stelle des Phenolphthaleins hier Lackmus zu verwenden, wäre nach den Einwendungen, welche Franz Hofmann² gegen diesen Indicator erhoben hat, nicht rathsam; dasselbe ist hauptsächlich auch wegen des von Gottlieb (12) nachgewiesenen Mangels, dass es auf reine Oelsäure nicht reagirt, für unsere Zwecke ungeeignet. Franz Hofmann³ empfiehlt als Indicator Curcuma, Rosolsäure und Alkanna. Ich habe mich für die Anwendung einer alkoholischen Alkannalösung entschieden, welche den Eintritt der neutralen bzw. alkalischen Reaction mit einem augenfälligen Farbenwechsel, dem Uebergang der rothen Farbe in ein tiefes Blau, anzeigt.

Es ist üblich die Säurebestimmung an dem durch Auslassen zuvor von den Nichtfettbestandtheilen befreiten Material auszuführen. Im Gegensatze hierzu habe ich nach dem Vorschlage von

¹ Von Soxhlet wird der Vorschlag, bei der Reichert-Meissl'schen Methode an Stelle der Lackmustinctur Phenolphthalein als Indicator zu nehmen, wegen dessen Empfindlichkeit gegenüber der Kohlensäure als eine Verschlechterung des Verfahrens hingestellt. Soxhlet, Ueber Margarine, München 1894, S. 93.

² A. a. O. S. 136.

³ A. a. O. S. 139.

B. Fischer (13) die Acidität an der Butter selbst ermittelt.¹ Zu dieser Aenderung des Verfahrens, wofür ihm vorwiegend praktische Gründe die Veranlassung gegeben, bemerkt B. Fischer, dass die Abweichungen der Säurezahlen, wenn diese vergleichend an der Butter selbst und an deren Fett bestimmt werden, so geringe seien, dass sie bei der Beurtheilung füglich nicht ins Gewicht fallen können. Als ich, um diese Annahme nachzuprüfen, daraufhin die Breslauer Jahresberichte, soweit dieselben solche vergleichende Angaben enthalten, durchblätterte, habe ich doch mitunter auch etwas erheblichere Abweichungen gefunden und den Eindruck erhalten, dass für die Entstehung der Differenzen das Alter der Butterproben von Einfluss sein könnte. Bei niedrigen Säurezahlen, also in der ersten Zeit der Veränderung, werden grössere Beträge in der Butter, bei hohen Säurezahlen dagegen in dem Butterfette gefunden; bei mittleren Säurezahlen zeigen die vergleichenden Ermittlungen keine nennenswerthen Unterschiede. Um hierüber aus einem besonderen Versuche Aufschluss zu erhalten, wurde eine Probe Göttinger Molkereibutter in einer 115 Tage langen Beobachtungsperiode von Zeit zu Zeit untersucht. Das Ergebniss war wie folgt:

Alter der Butter	Verbrauch an $\frac{1}{20}$ Normal-Kalilauge auf 5 ^g Material.	
	a) für Butter	b) für Butterfett
1 Tag	1.90	0.92
2 Tage	2.40	1.10
25 Tage	7.30	7.38
37 „	9.87	9.79
115 Tage	47.85	60.75

Die Erklärung dürfte wohl darin zu suchen sein, dass im Anfang die in der Butter vorhandenen Nichtfettbestandtheile die Hauptquelle für die Säurebildung abgeben und erst später die Zersetzung des Butterfettes selbst mehr in die Erscheinung tritt.

¹ Im Interesse der Kürze des Ausdruckes werde ich für das Ergebniss der Titrirung mit Normalalkali, für die sogen. Acidität, die Bezeichnung „Säuregehalt“ oder „Säurezahl“ gebrauchen. Da ich 5 ^g Butter mit $\frac{1}{20}$ Normallauge titrire, so erhalte ich dieselben Zahlenwerthe, als ob ich auf eine Titrirung von 100 ^g Butter mit $\frac{1}{1}$ Normallauge rechne. Nichtsdestoweniger sind, wie ich vorsichtshalber ausdrücklich bemerken will, meine Befunde mit den als Köttstorfer'sche Zahl oder als Ranziditätsgrade nach Stockmeier ermittelten Werthen nicht unmittelbar vergleichbar, weil in der Art der Säurebestimmung Unterschiede vorliegen können, namentlich aber weil ich abweichend vom Bisherigen die Butter ohne vorherige Abscheidung des Nichtfettes acidimetrisch untersucht habe.

Bei der bakteriologischen Untersuchung habe ich auf die Ermittlung der an dem Vorgange des Ranzigwerdens beteiligten Bakterienarten von vornherein verzichten müssen und mich auf die Bestimmung der Keimzahl beschränkt. Es war mir, nachdem meine Arbeit durch äussere Umstände eine unliebsame Unterbrechung hatte erleiden müssen, mit dem besten Willen nicht mehr möglich, auch nach der gedachten Richtung die mir gestellte Aufgabe zu verfolgen.

Für die Ermittlung der Keimzahl sind in den Arbeiten von Lafar¹ und Sigismund² Methoden mitgetheilt. Von diesen weicht das von mir gewählte Vorgehen etwas ab; ich habe letzterem den Vorzug geben dürfen, nachdem zahlreiche Vorversuche mich von dessen Brauchbarkeit überzeugt hatten. Das Verfahren wird unter Anwendung sterilisirter Geräthe und der sonstigen Maassnahmen der Reincultur folgendermassen ausgeführt: Ein bohnergrosses Stückchen der zu untersuchenden Butter wird mit dem Platinspatel in ein kleines Probirröhrchen mit Watteverschluss gebracht, im Wasserbad (38°) verflüssigt und davon ein Tropfen rasch mit einer als Pipette dienenden ausgezogenen Glasröhre in ein mittelgrosses Reagensglas übergeführt, das unter Watteverschluss 5 ccm steriles destillirtes Wasser enthält. Letzteres Röhrchen ist zuvor (nach dem Sterilisiren im Dampföfen und Erkalten) gewogen worden und wird nun nach Aufnahme der Butter neuerdings gewogen, so dass die Gewichts-differenz die Menge der Butter angiebt. Hierauf wird das Röhrchen, nachdem behufs Verflüssigung der wieder erstarrten Butter neuerdings im Wasserbad (38°) erwärmt worden war, so lange geschüttelt, bis eine gleichmässige Emulsion entsteht, in welcher auch mit der Lupe Buttertheilchen nicht mehr zu unterscheiden sind. Von dieser Emulsion macht man füglich unter Anwendung einer Tropfpipette (einer ausgezogenen Glasröhre, welche darauf geachtet ist, wie viele Tropfen sie auf einen Cubikcentimeter Rauminhalt giebt) die Aussaat in die verflüssigte Nährgelatine und verfährt im Weiteren nach Art der bakteriologischen Wasseruntersuchung. Es werden zum Wenigsten drei Culturen angelegt, eine mit 1, die zweite mit 2, die dritte mit 3 Tropfen der Emulsion.

An einem Beispiele darf ich zeigen, wie aus dem Befunde der Schalen-cultur die Zahl der Keime in 1 ^grm Butter zu berechnen ist. Es betrage die Aichzahl der Tropfpipette: 40 Tropfen = 1 ccm oder 1 Tropfen = $\frac{1}{40}$ ccm und das Gewicht des Tropfens Butter 0.01 ^grm, und die Menge der Emulsion im Reagensglase $5 \cdot 40 + 1 = 201$ Tropfen. Darnach enthält jeder Tropfen der Emulsion $\frac{0.01}{201} = 0.05$ ^{mg} Butter.

¹ A. a. O. S. 9.

² A. a. O. S. 21.

Die Butter mit 1 Tropfen Emulsion ergab 96, die mit 2 Tropfen 184, die mit 3 Tropfen 270 Keime, d. i. im Mittel pro 1 Tropfen Emulsion, oder 0.05 ^{mg} Butter 92.66 Keime. Daraus berechnet sich die Keimzahl für 1 ^{gmm} Butter zu 1 853 333.

Die Versuchsanordnung behufs Beobachtung der Veränderung der Butter bei verschiedener Art der Aufbewahrung war folgendermassen:

1. im Zimmer bei 13 bis 18° Wärme, zerstreutem Tageslicht und Zutritt der Luft,
2. im Zimmer bei 13 bis 18° Wärme, verdunkelt, ohne Abschluss gegen Luft,
3. im Eisschrank bei 3 bis 12° Wärme, verdunkelt, ohne Abschluss gegen Luft,
4. im Sonnenlicht, Temperatur je nach den Tageszeiten bzw. je nach Sonnenschein wechselnd, kein Luftabschluss,
5. im Brütofen bei 23° Wärme, verdunkelt, ohne Abschluss gegen Luft,
6. im Zimmer bei 13 bis 18° Wärme, zerstreutem Tageslicht aber Luftabschluss,
7. in der photographischen Dunkelkammer bei 12 bis 16° Wärme und Luftabschluss.

Die Versuchsreihen 1 bis 5 wurden sonach bei Luftzutritt, 6 und 7 bei Luftabschluss, die Versuchsreihen 1, 4 und 6 bei Lichtzutritt, 2, 3, 5 und 7 bei Lichtabschluss ausgeführt. Soweit ein Schutz vor Staub nöthig war, wurde dieser durch Glasglocken bewirkt, letztere aber, wo die Versuchsanordnung auf die Ermittlung des Einflusses der Luft abzielte, in einem etwa 3 ^{cm} grossen Abstände vom Teller gehalten, worauf die Butter sich befand. In der Versuchsreihe 2 ward der Lichtabschluss durch einen dunklen Kasten erzielt, in den Versuchsreihen 3, 5 und 7 brachte der Aufbewahrungsort von selbst die Verdunkelung mit sich. Den Luft- bzw. Sauerstoffabschluss für die Versuchsreihen 6 und 7 habe ich durch das Anaëroben-Culturverfahren H. Buchner's (14) erreicht. Es waren die Butterproben in grossen Exsiccatoren aufgestellt, welche anstatt der Schwefelsäure eine Lösung von 1 Theil Pyrogallol in 10 Theilen einer wässerigen Lösung von Aetzkali (10 Procent) enthielten. Die Absorptionsflüssigkeit wurde nach jeder Probeentnahme mit einer frisch hergestellten Lösung erneuert.

Die Beobachtungen an pasteurisirter Butter, über deren Ergebnisse ich berichten darf, beziehen sich auf drei Sendungen der Molkerei Hankensbüttel. Die erste war am 25. September 1896, die zweite am 31. Januar, die dritte am 25. März 1897 Nachmittags zum Versandt gekommen und im Institut mit der Morgenpost am 27. September, 1. Februar bezw. 27. März eingegangen.

Die erste Lieferung war vor der Zeit erfolgt, in der ich meine Arbeit im Institut aufgenommen hatte; deren Untersuchung hat Dr. Gg. Keferstein ausgeführt. Dieselbe bestand in drei, einzeln in Pergamentpapier eingeschlagenen Proben von Butter, für deren Herstellung der Rahm bei 85 bis 90° pasteurisirt war:

1. gesalzen, mit Reinculturen angesäuert,
2. aus süßem Rahm, gesalzen,
3. aus süßem Rahm, ungesalzen.

Diese Butterproben boten im Geschmack gewisse Unterschiede dar, nicht im Geruch, aber alle drei waren rein- und wohlschmeckend, wie frische gute Naturbutter und wichen von letzterer auch im Geruche nicht ab.

In Bezug auf die Haltbarkeit ergab sich, dass die drei Butterproben, wenn in Pergamentpapier eingeschlagen, vor Luft und Licht geschützt und im kühlen Raum gehalten, noch nach etwa 14 Tagen (am 9. October) eine wesentliche Veränderung im Geschmack und Geruch nicht hatten erkennen lassen. In diesem Zustande aufbewahrt, hielt die Butter sich noch bis zum 19. October frisch. Dagegen war dieselbe, als einzelne Portionen am 9. October Luft, Licht und Zimmerwärme ausgesetzt wurden, bald ranzig geworden, zuerst Nr. 3 schon nach drei Tagen, dann Nr. 2 nach fünf Tagen und endlich Nr. 1 nach sieben Tagen. Ein Parallelversuch mit nicht pasteurisirter frischer Süßrahmbutter aus der Göttinger Centralmolkerei hatte eine weit geringere Haltbarkeit ergeben.

Der Bakteriengehalt der Butter war gleich nach Empfang bestimmt worden. Zu den Culturen wurde aus der Mitte der Stücke je eine Platindrahtöse Butter entnommen. In allen Culturplatten entwickelten sich zahlreiche Colonieen (etwa 800 pro Oese), ohne dass die drei Butterproben sich nach der Keimzahl wesentlich unterschieden. Dagegen waren in Hinsicht der Art der Keime gewisse Abweichungen zu erkennen. Während in den Culturplatten von Nr. 2 und 3 mehrere stark verflüssigende Colonieen zu Tage getreten waren, fielen bei Nr. 1 zahlreiche thautropfenähnliche Colonieen auf, bestehend aus Kokken, welche die Eigenthümlichkeit haben, langsam zu wachsen und in mässigem Grade Säure zu bilden. — Soweit das Ergebniss dieser orientirenden Prüfung.

Die zweite Lieferung bestand aus 6 Butterproben, welche in der gleichen Weise wie die auf S. 167 beschriebenen der dritten Lieferung hergestellt waren. Es war deren Untersuchung auf die bei verschiedener Aufbewahrungsweise zu erwartenden Veränderungen schon in vollem Gange, als ich wegen Erkrankung zu einer längeren Unterbrechung und in der Folge zu einem Aufgeben dieser Beobachtungen mich gezwungen sah. Immerhin kann ich über die bei der ersten Untersuchung (12 Tage nach der Herstellung) erhaltenen Befunde Mittheilungen machen, welche dadurch Interesse beanspruchen könnten, weil sie aus einer getrennten Ermittlung der aeroben und anaeroben Keime und der löslichen und unlöslichen Fettsäuren hervorgegangen sind. Die Untersuchungsergebnisse sind in nachfolgender Tabelle zusammengefasst:

	Geruch	Geschmack	K e i m z a h l		Säuregehalt		
			aërobe	anaërobe	Gesamtmenge	an löslichen	an unlöslichen
Ia	etwas ranzig	normal	13 375 000	zahlreich, zum Theil verflüssigt	3·90	0·58	3·32
Ib	„	„	529 700	193 000	1·86	0·35	1·51
IIa	normal	„	10 200 000	zahlreich, zum Theil verflüssigt	2·42	0·47	1·95
IIb	„	„	48 000	45 000	1·67	0·23	1·44
IIIa	„	„	10 143 000	zahlreich, zum Theil verflüssigt	1·87	0·27	1·60
IIIb	„	„	33 300	28 000	1·42	0·14	1·28

Die Befunde weisen bemerkenswerthe Unterschiede nach, wenn auch eine Abweichung im Geschmack noch nicht auffällig und nur in der Butter aus nicht pasteurisirtem Rahm Ia, Ib das beginnende Ranzigwerden im Geruch bemerkbar war. Die nicht gesalzenen Butterarten (Ia, IIa, IIIa) und ebenso die gesalzenen (Ib, IIb, IIIb) unterschieden sich nach der Keimzahl und dem Säuregehalt unter einander in typischer Reihenfolge, indem die höchsten Beträge die Butter aus nicht pasteurisirtem Rahm, geringere die aus dem bei 70 bis 75° pasteurisirten, und die geringsten die aus dem bei 90 bis 95° pasteurisirten Rahm ergab. Das Salzen der Butter hatte sowohl die Keimzahl, als auch den Säuregehalt bedeutend vermindert und seinen Einfluss ebensowohl auf anaërobe wie aerobe Keime, als auch auf die löslichen wie unlöslichen freien Säuren geltend gemacht.

Es wurden an freien Säuren durchweg mehr unlösliche als lösliche gefunden. Dieses Ergebniss erinnert an die Befunde von Bondzyński und Ruffi, indess bin ich weit entfernt, denselben eine abschliessende

1. Versuchsreihe. (Zimmer, 13 bis 18°)

	Beginn des Versuches.				Nach 12 Tagen.			
	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
Ia	wenig ranzig	normal	3·56	7 918 700	etwas ranzig	etwas ranzig	4·12	22 978 700
Ib	ganz wenig ranzig	„	1·62	977 500	„	wenig ranzig	2·00	7 870 400
IIa	normal	„	1·27	5 229 200	„	ganz wenig ranzig	1·45	16 532 300
IIb	„	„	0·65	070 500	normal	normal	0·88	5 770 500
IIIa	„	„	1·08	2 361 500	ganz wenig ranzig	„	1·39	14 987 200
IIIb	„	„	0·46	062 300	normal	„	0·80	4 638 700

2. Versuchsreihe. (Zimmer, 13 bis 18°)

	Beginn des Versuches.				Nach 14 Tagen.			
	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
Ia	wenig ranzig	normal	3·56	7 918 700	etwas ranzig	etwas ranzig	3·92	17 654 800
Ib	ganz wenig ranzig	„	1·62	977 500	„	wenig ranzig	1·88	6 413 300
IIa	normal	„	1·27	5 229 200	„	ganz wenig ranzig	1·35	11 247 800
IIb	„	„	0·65	70 500	normal	normal	0·75	5 132 100
IIIa	„	„	1·08	2 361 500	ganz wenig ranzig	„	1·19	10 847 000
IIIb	„	„	0·46	62 300	normal	„	0·61	4 111 700

3. Versuchsreihe. (Eisschrank, 3 bis 12°)

	Beginn des Versuches.				Nach 15 Tagen.			
	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
Ia	wenig ranzig	normal	3·56	7 918 700	etwas ranzig	etwas ranzig	3·9	16 334 800
Ib	ganz wenig ranzig	„	1·62	977 500	„	ganz wenig ranzig	1·86	7 546 000
IIa	normal	„	1·27	5 229 200	„	etwas ranzig	1·32	11 211 000
IIb	„	„	0·65	70 500	ganz wenig ranzig	normal	0·85	5 209 700
IIIa	„	„	1·08	2 361 500	normal	„	1·18	10 647 800
IIIb	„	„	0·46	62 300	„	„	0·6	4 885 100

Wärme, zerstreutes Tageslicht und Luft.)

Nach 26 Tagen.				Nach 63 Tagen.			
Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
ranzig	ranzig	6.11	16 504 900	ranzig	ranzig	20.57	576 600
„	„	4.55	24 782 600	„	„	8.5	1 745 700
weniger ranzig	etwas ranzig	5.11	—	„	„	15.65	838 600
„	„	3.71	18 334 800	weniger ranzig	„	10.25	—
„	„	4.15	25 637 800	ranzig	„	12.55	976 100
am wenig- sten ranzig	normal	2.9	16 237 400	weniger ranzig	„	9.15	4 047 900

Wärme, Luft, ohne Licht.)

Nach 28 Tagen.				Nach 65 Tagen.			
ranzig	ranzig	5.65	17 285 400	ranzig	ranzig	18.92	2 304 500
„	„	3.57	18 956 700	„	„	7.02	6 328 900
weniger ranzig	weniger ranzig	4.73	—	„	„	13.83	2 768 900
„	normal	2.9	13 170 900	weniger ranzig	„	9.75	—
„	weniger ranzig	4.0	19 550 100	ranzig	„	10.10	3 976 800
am wenig- sten ranzig	normal	2.58	11 590 000	weniger ranzig	„	8.6	8 541 700

Wärme, Luft, ohne Licht.)

Nach 30 Tagen.				Nach 70 Tagen.			
ranzig	ranzig	5.25	4 487 800	ranzig	ranzig	12.35	3 280 000
weniger ranzig	schwach ranzig	3.46	3 459 800	weniger ranzig	„	6.5	2 947 800
„	ranzig	3.8	—	ranzig	„	11.55	2 052 400
„	schwach ranzig	2.64	3 647 100	weniger ranzig	„	8.7	1 311 700
schwach ranzig	„	3.29	4 220 200	„	etwas ranzig	9.95	1 943 400
ganz schwach ranzig	ganz schwach ranzig	2.32	2 992 300	sehr wenig ranzig	sehr wenig ranzig	8.58	906 500

4. Versuchsreihe. (Brütofen,

	Beginn des Versuches.				Nach 17 Tagen.			
	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
Ia	wenig ranzig	normal	3·56	7 918 700	ranzig	ranzig	7·8	26 938 700
Ib	ganz wenig	„	1·62	977 500	„	etwas ranzig	4·97	10 448 000
IIa	normal	„	1·27	5 229 200	etwas ranzig	„	5·3	19 211 700
IIb	„	„	0·65	70 500	„	normal	3·11	8 039 300
IIIa	„	„	1·08	2 361 500	wenig ranzig	etwas ranzig	4·2	16 114 200
IIIb	„	„	0·46	62 300	„	normal	2·77	7 662 000

5. Versuchsreihe.

	Beginn des Versuches.				Nach 20 Tagen.			
	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
Ia	wenig ranzig	normal	3·56	7 918 700	taligig- ranzig	ungeniess- bar	3·7	57 800
Ib	ganz wenig ranzig	„	1·62	977 500	„	„	1·71	39 500
IIa	normal	„	1·27	5 229 200	„	„	1·29	85 100
IIb	„	„	0·65	70 500	„	„	0·7	49 500
IIIa	„	„	1·08	2 361 500	„	„	1·12	91 200
IIIb	„	„	0·46	62 300	„	„	0·55	51 300

6. Versuchsreihe. (Zimmer, 13 bis 18°

	Beginn des Versuches.				Nach 21 Tagen.			
	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
Ia	wenig ranzig	normal	3·56	7 918 700	wenig ranzig	ranzig	4·06	18 766 500
Ib	ganz wenig ranzig	„	1·62	977 500	„	wenig ranzig	1·97	7 324 500
IIa	normal	„	1·27	5 229 200	„	„	1·46	13 507 800
IIb	„	„	0·65	70 500	normal	normal	0·84	6 981 500
IIIa	„	„	1·08	2 361 500	„	„	1·3	12 410 000
IIIb	„	„	0·46	62 300	„	„	0·72	5 108 800

23° Wärme, Luft, ohne Licht.)

Nach 33 Tagen.				Nach 72 Tagen.			
Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
stark ranzig	ranzig	16.35	1 726 400	stark ranzig	stark ranzig	45.98	567 000
"	"	11.7	6 567 100	"	"	16.35	887 300
ranzig	"	14.23	4 168 600	"	"	31.25	—
"	"	8.65	9 471 600	"	"	16.09	950 000
"	"	8.08	5 001 600	"	"	30.09	899 500
"	"	6.82	9 221 900	"	"	14.9	987 600

(Sonnenlicht, Luft.)

Nach 35 Tagen.				Nach 73 Tagen.			
taligig- ranzig	ungeniess- bar	5.42	24 100	taligig- ranzig	ungeniess- bar	10.22	0
"	"	4.26	0	"	"	8.5	0
"	"	3.45	26 100	"	"	8.91	0
"	"	1.89	21 700	"	"	7.9	0
"	"	2.41	25 900	"	"	8.18	0
"	"	1.5	0	"	"	7.42	0

Wärme, zerstreutes Tageslicht, ohne Luft.)

Nach 37 Tagen.				Nach 75 Tagen.			
ranzig	ranzig	8.81	14 481 400	ranzig	ranzig	20.70	1 637 000
schwach ranzig	schwach ranzig	4.92	21 301 600	weniger ranzig	"	7.72	4 720 000
wenig ranzig	ranzig	6.83	19 064 900	ranzig	"	18.1	2 111 000
schwach ranzig	schwach ranzig, geniessbar	3.0	15 260 800	weniger ranzig	"	6.3	—
wenig ranzig	ranzig	5.98	18 276 500	"	"	27.4	885 300
ganz schwach ranzig	schwach ranzig	2.79	12 132 000	schwach ranzig	schwach ranzig	8.4	953 900

7. Versuchsreihe. (Dunkelkammer,

	Beginn des Versuches.				Nach 22 Tagen.			
	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
Ia	wenig ranzig	normal	3.56	7 918 700	wenig ranzig	ranzig	4.0	17 561 500
Ib	ganz wenig ranzig	„	1.62	977 500	„	wenig ranzig	1.67	7 438 500
IIa	normal	„	1.27	5 229 200	„	„	1.02	12 981 600
IIb	„	„	0.65	70 500	normal	normal	0.76	6 127 000
IIIa	„	„	1.08	2 361 500	„	„	1.27	11 864 500
IIIb	„	„	0.46	62 300	„	„	0.69	5 057 800

Bedeutung beimessen zu wollen. Um zu entscheiden, ob bei der Zersetzung der Butter wirklich die Triglyceride der unlöslichen Fettsäuren sich an erster Stelle betheiligen, sind bezügliche Untersuchungen in grosser Anzahl erforderlich, und bedarf es auch einer Beobachtungsmethode, die frei von Mängeln ist; wie ich oben bemerkt habe, hatte ich in meinem Verfahren wiederholt Schwierigkeiten beim Filtriren.

Ueber die dritte Lieferung habe ich schon S. 168 das Nähere berichtet und ingleichen an früheren Stellen den Gang der Untersuchung erkennen lassen. Es darf daher hier unmittelbar die Mittheilung der Ergebnisse folgen: Nahezu gleichzeitig mit der Anordnung der Versuchsreihen, in welchen das Verhalten der Butter unter den verschiedenen äusseren Bedingungen studirt werden sollte, sind am 31. März, also 7 Tage nach der Herstellung, die einzelnen Buttersorten auf Geruch und Geschmack, sowie auf Säuregehalt und Keimzahl untersucht worden. Abgesehen von der Zeit der Zusendung war inzwischen die Butter an kühlem Orte und geschützt gegen Luft und Licht aufbewahrt.

Die Butter war im Geschmack ohne Ausnahme noch unverändert, dagegen roch die aus nicht pasteurisirtem Rahm erzeugte Butter schon leicht ranzig. Die Butter, welche aus pasteurisirtem Rahm hergestellt war, zeichnete sich durch feinen Geruch und Wohlgeschmack aus, auch sind Unterschiede in Geruch, Geschmack und Aussehen der Butter je nach der beim Pasteurisiren aufgewendeten Temperaturhöhe nicht bestimmt zu erkennen gewesen. Die Befunde der ersten Untersuchung, welche den Zustand der Butter im Anfange der Beobachtung nachweisen, sind in den vorstehenden Versuchsreihen aufgeführt. Eine vergleichende Betrachtung der Ergebnisse zeigt, dass diese, wenn auch die gefundenen Zahlenwerthe nicht die gleichen sind, im Grossen und

12 bis 16° Wärme, ohne Luft.)

Nach 42 Tagen.				Nach 79 Tagen.			
Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl	Geruch	Geschmack	Säure- gehalt	Keimzahl
ranzig	ranzig	8.28	15 137 000	ranzig	ranzig	18.1	1 672 300
weniger ranzig	weniger ranzig	4.5	21 203 000	weniger ranzig	„	7.4	5 372 200
„	ranzig	5.87	18 439 100	ranzig	„	16.0	1 000 100
„	weniger ranzig	2.75	14 257 600	weniger ranzig	„	6.2	8 517 100
„	ranzig	5.45	18 338 900	„	„	25.92	811 700
ganz schwach ranzig	ganz schwach ranzig	2.33	11 704 600	schwach ranzig	schwach ranzig	7.87	3 748 300

Ganzen mit den bei Untersuchung der zweiten Butterlieferung im Februar gemachten Nachweisungen übereinstimmen. Es gruppieren sich nach Säuregehalt und Keimzahl die Butterarten in der Reihenfolge: Ia, IIa, IIIa und Ib, IIb, IIIb, d. h. Säuregehalt und Keimzahl sind erheblich geringer in der gesalzenen und in der pasteurisirten Butter und zwar um so geringer, je höher die beim Pasteurisiren angewandte Temperatur war, die niedrigsten Werthe hatte das Salzen der Butter aus pasteurisirtem Rahm erbracht.

Die Anordnung der Versuchsreihen zur Beobachtung der Veränderungen, welche die Butter bei verschiedener Art der Aufbewahrung erfährt, habe ich oben (S. 175) schon kurz dargelegt. Die Butter wurde von Zeit zu Zeit auf Geruch, Geschmack, Säurebildung und Keimzahl geprüft. Die Beobachtungsergebnisse sind in vorstehenden 7 Tabellen (S. 178 bis 183) zusammengestellt.

Mit Hülfe graphischer Darstellungen, auf deren Wiedergabe in dieser Veröffentlichung leider verzichtet werden muss, lässt sich leichter als an den Beobachtungszahlen das gesammte Ergebniss der sieben Versuchsreihen überblicken und das hier zu beschreibende unterschiedliche Verhalten je nach Art der Herstellung und Aufbewahrung der Butter erkennen.

a) Keimgehalt und Säurebildung. Wenn zunächst die Beobachtungen an ungesalzener Butter (Ia, IIa, IIIa) mit einander verglichen werden, so weisen dieselben gemeinsam ein steiles Ansteigen der Keimzahl nach, die zwischen dem 20. und 40. Tage den Höhepunkt erreicht, um von da ab in raschem, wenn auch minder starkem Abfall mehr und mehr zu sinken. Eine Ausnahme hiervon macht die dem Sonnenlicht

ausgesetzte Butter (Versuchsreihe 5), in welcher von vornherein ein Niedergang der Curve vorhanden ist; der Keimgehalt erreicht schon am 20. Tage der Beobachtung ungewöhnlich niedrige Beträge und geht im Weiteren fort und fort zurück, so dass am 35. Versuchstage von 6 Butterproben 2 und am 73. sämtliche Butterproben keimfrei befunden werden.

Diese Befunde dürften nicht überraschen, stehen sie doch in vollem Einklange mit bekannten Thatsachen. Sie finden ihre Erklärung, sobald die Curven des Säuregehaltes mit in Betracht gezogen werden. Der Säuregehalt nimmt von Tag zu Tag zu, im Anfange in minder steiler Curve wie später. Hat derselbe eine gewisse Höhe erreicht, so geht die Keimzahl zurück, die saure Beschaffenheit der Butter macht dieselbe zum Nährboden ungeeignet, die Keime sterben nach und nach ab. Bei der Aufbewahrung in der Sonne bedarf es der Säurebildung nicht, um die Keime zum Absterben zu bringen, hier wirkt das Licht und wohl auch die Temperatur vernichtend ein.

Eine Feststellung der Höhe des Säuregehaltes, bei welchem die Keime sich nicht mehr vermehren, ist aus unseren Beobachtungen in bestimmten Zahlenangaben nicht zu machen, hierzu wären um die kritische Zeit tägliche Ermittlungen von Acidität und Keimzahl nöthig gewesen. Ich bedauere dies, weil es von Interesse gewesen wäre, diese Befunde mit den bezüglichen Angaben von Richet, Hueppe, Marpmann u. A. über das Absterben der Milchsäurebakterien bei einem bestimmten Säuregrad der Milch zu vergleichen.

Die Säurecurven erscheinen in den sieben Versuchsreihen bald steiler, bald flacher, am steilsten in Versuchsreihe 4, bei der im Dunkeln bei 23° aufbewahrten, am wenigstens steil in Versuchsreihe 5, bei der dem Sonnenlicht ausgesetzten Butter, bei der die Säurebildung am geringsten war.

Im Gegensatze zu den Erfahrungen v. Klecki's geht die Säurebildung weiter, wenn der Bakteriengehalt sinkt, ja der Säuregehalt zeigt zur Zeit des Niederganges der Keimzahl fast ein lebhafteres Ansteigen, und in der Butter, welche der Sonne ausgesetzt war, schritt die Säurebildung auch nach dem völligen Absterben der Keime weiter. Man könnte hierin einen Beweis für die Annahme erblicken, dass die Säurebildung überhaupt von der Lebensthätigkeit der Bakterien ganz und gar unabhängig, also als ein rein chemischer Oxydationsvorgang aufzufassen sei. Aber es liegen doch noch andere Möglichkeiten vor, welche bei einer Deutung dieser Thatsache in Betracht zu kommen haben. Einmal könnten bei der Säurebildung anaerobe Keime mit im Spiele sein, und auf diese waren meine Ermittlungen nicht gerichtet, dann wäre es auch denkbar, dass bei der Säurebildung ein im Protoplasma der Keime gegebenes

Enzym beteiligt ist. Auf die Möglichkeit einer solchen Fermentwirkung deutet aber hin, dass die Acidität bis zum Absterben der Bakterien langsamer ansteigt, ferner dass der Höchstbetrag der Keimzahl annähernd bestimmend ist für den schliesslich erreichten Säuregehalt der Butter.

Bei der gesalzenen Butter (Ib, IIb, IIIb) haben die Curven für Keimzahl und Säuregehalt im Allgemeinen denselben Verlauf, wie bei der nicht gesalzenen, nur liegen dieselben entschieden tiefer. Unter sich zeigen die Curven bisweilen kleine Abweichungen in der Reihenfolge.

Das in der Anfangsgruppierung gegebene Verhältniss zwischen Butter aus gewöhnlichem und aus pasteurisirtem Rahm bleibt im Ansteigen der Curven für Säure- und Keimgehalt bestehen, höchstens mit dem Unterschiede, dass im Keimgehalt der Höhepunkt von der Butter aus nicht pasteurisirtem Rahm früher erreicht wird, und damit auch der Niedergang zeitiger beginnt. Dagegen kommt es im Absteigen der Keimzahlcurven ab und an zu Kreuzungen.

b) Einfluss der Aufbewahrungsweise. In den Versuchsreihen 1 und 2 (bei Zimmertemperatur und Luftzutritt, aber mit und ohne Zulassung von zerstreutem Tageslicht) unterschieden sich, wenn auch die Curven ähnlich verlaufen, die Ergebnisse dadurch, dass im Dunkeln nicht nur der Säuregehalt, sondern auch die Keimzahl niedriger ausfiel.

In den Versuchsreihen 3 und 4 (bei Luftzutritt im Dunkeln, aber mit niedriger und höherer Temperatur) erbrachte im Säure- und Keimgehalt die Aufbewahrung im Eisschrank niedrige, die Aufbewahrung im Brutschrank hohe Beträge mit steilen Curven. Die höhere Wärme bietet eben günstigere Bedingungen dar sowohl für die Vermehrung wie für das Absterben der Keime.

In der Versuchsreihe 5 (bei Luftzutritt und Sonnenlicht) zeigen die Curven für den Keimgehalt kein Ansteigen, sondern von vornherein einen steilen Abfall; die Keime sterben alsbald ab und sind gegen Ende der Beobachtung alle vernichtet. Die Säurecurven steigen flach, aber gleichmässig an, die Säurebildung ist unter den gegebenen Bedingungen eine geringe, sie beruht hier wahrscheinlich vornehmlich auf rein chemischen Vorgängen.

In Versuchsreihe 6 und 7 (Luftabschluss mit und ohne Zulassung von zerstreutem Tageslicht) halten sich die Keimzahlcurven in der anfänglichen Reihenfolge, nur überholt die gesalzene Butter aus nicht pasteurisirtem Rahm die anderen im Höhepunkte. In der Säurebildung überragt am Ende der Beobachtung die Butter aus dem bei 90 bis 95° pasteurisirten Rahm die Butter aus gewöhnlichem und die Butter aus dem bei 70 bis 75° pasteurisirten Rahm und zwar sowohl bei der gesalzenen, wie

bei der nicht gesalzenen Butter. Die Ursache dieses Verhaltens ist nicht aufgeklärt, wir dachten, dass vielleicht eine zufällige Verunreinigung mit anaëroben Keimen daran schuld gewesen sein könnte. Auffällig ist die grosse Aehnlichkeit im Curvenbilde der beiden Versuchsreihen, was darauf hinweist, dass unter solchen Verhältnissen der Einfluss des diffusen Lichtes kein erheblicher ist.

c) Acidität und Ranzidität. Beim Prüfen von Geruch und Geschmack der Butter traf es im Allgemeinen zu, dass Butter mit hohem Säuregehalt auch mehr oder weniger ranzig befunden wird, aber dies doch nicht ohne Ausnahme. Die grösste Abweichung hiervon erbrachte, wie dies nach den Beobachtungen von Duclaux, Ritsert, v. Klecki nicht anders zu erwarten war, die Aufbewahrung bei Sonnenlicht. Die Butter ward bald hochgradig ranzig, talgig, körnig (griesig), gebleicht und völlig ungeniessbar, obwohl die Acidität nur Beträge von 0.55 bis 10^{cem} erreichte, bei welchen sonst die Butter nicht bezw. nicht so stark ranzig erscheint.

Mitunter wurden nach Geruch und Geschmack Butterproben noch für normal erklärt, deren Säuregehalt bis 1.3^{cem} betrug, während bei anderen Schätzungen wieder Butterproben sogar schon bei 0.85, 1.19 u.s.w. bereits mit „sehr wenig ranzig“ bezeichnet worden waren. Eine Probe (IIIb in Versuchsreihe 3) hatte 8.58^{cem} Acidität und erschien dennoch recht wenig ranzig. Im Uebrigen wurden aber, abgesehen von der dem Sonnenlicht ausgesetzten Butter, Butterproben von 1.39 bis 2.79^{cem} Säuregehalt als „sehr wenig ranzig“ geschätzt. Als „stark ranzig“ erwiesen sich nach Geruch und Geschmack Butterproben mit 16.09 bis 31.25 und 45.98 Acidität.

d) Das Ranzigwerden. Bei der Aufbewahrung im Sonnenlicht trat in der Butter das Ranzigwerden am raschesten auf und erreicht die höchsten Beträge (Versuchsreihe 5). Nach dem Sonnenlicht begünstigte die Aufbewahrung im Brütschrank bei einer Temperatur von 23° im Dunkeln am meisten (Versuchsreihe 4).

Am besten schützte vor dem Ranzigwerden die Aufbewahrung im Eisschrank (Versuchsreihe 3).

Butter aus gewöhnlichem Rahm wurde rascher und erheblicher ranzig als Butter aus pasteurisirtem Rahm und zwar gewinnt die Butter an Haltbarkeit, wenn das Pasteurisiren bei höheren Temperaturen bewirkt worden ist.

Gesalzene Butter wurde weniger rasch und weniger stark ranzig als ungesalzene. Bisweilen erwies sich das Salzen aber weniger wirksam wie das Pasteurisiren.

Die beste Haltbarkeit erreicht man durch Verbindung des Rahm-pasteurisirens mit dem Salzen der Butter und der Aufbewahrung in der Kälte. Derart behandelte Butter war am 15. Tage noch normal, am 30. Tage erst ganz schwach ranzig, aber selbst am 70. Tage noch geniessbar.

Am Schlusse meiner Arbeit sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer Hrn. Prof. Dr. Wolffhügel für die Anregung zu dieser Arbeit und für die gütige Unterstützung bei derselben, sowie Hrn. Privatdocenten Dr. Reichenbach für das meinen Untersuchungen entgegengebrachte freundliche Interesse meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Litteratur.

1. E. Duclaux, III. Mémoire sur le lait. *Etude du beurre*. Nancy 1886. p. 27.
 - La Migration des matières grasses. *Annales de l'Institut Pasteur*. I. 1888. p. 352.
 2. Die Litteratur über den Gegenstand haben Ritsert und v. Klecki in ihren Inauguralabhandlungen ausführlich besprochen, so dass ich auf diese verweisen darf: Ed. Ritsert, Untersuchungen über das Ranzigwerden der Fette, *Dissertation*, Bern 1890 und Val. v. Klecki, Untersuchungen über das Ranzigwerden und die Säurezahl der Butter. *Dissertation*. Leipzig 1894.
 3. St. Bondzyński und H. Ruff, Zur Kenntniss des Butterfettes. *Zeitschrift für analytische Chemie*. 1890. Bd. XXIX. S. 5.
 4. J. Arata, Sull' modificazione che subisce il grasso del burro, nell' irrancimento. *Annali dell' Istituto d'Igiene sperimentale della Università di Roma*. 1891. Vol. II. Fasc. II. p. 5.
 5. Franz Lafar, Bakteriologische Studien über Butter. *Archiv für Hygiene*. 1891. Bd. XIII. S. 1.
 6. Olaf Sigismund, Untersuchungen über die Ranzidität der Butter unter Berücksichtigung der Marktverhältnisse zu Halle a/S. *Inaug.-Diss.* Halle a/S. 1893.
 7. Wilh. Fleischmann. *Lehrb. d. Milchwirthschaft*. Bremen 1898. 2. Aufl. S. 206.
 8. Bernhard Fischer. *Jahresbericht des chemischen Untersuchungsamtes der Stadt Breslau für 1889/90*. S. 11.
 9. E. v. Raumer und R. Sendtner, Zur Beurtheilung verdorbenen Butterfettes. *Bericht über 14. Versammlung der freien Vereinigung bayerischer Vertreter der angewandten Chemie*. Bayreuth 1895. S. 9 und 16.
 10. Franz Hofmann, Ueber die Reaction der Fette und die quantitative Bestimmung von Fettsäuren in Fetten. *Beiträge zur Anatomie und Physiologie*. Als Festgabe Karl Ludwig gewidmet. Leipzig 1875. S. 144.
 11. *Zeitschrift für analytische Chemie*. 1887. Bd. XXVI. S. 575.
 12. Joh. Gottlieb, Untersuchungen des Gänsefettes und der Oelsäure. *Annalen der Chemie und Pharmacie*. 1846. Bd. LVII. S. 38.
 13. Bernh. Fischer. *Jahresbericht des chem. Untersuchungsamtes der Stadt Breslau für 1890/91*. S. 20.
 14. Hans Buchner, Eine neue Methode zur Cultur anaërober Mikroorganismen. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1888. Bd. IV. S. 149.
-