Die Untersuchung übermäßig stark präservierter Milchproben.

Von

Dr. M. Siegfeld.

Mitteilung aus dem milchwirtschaftlichen Institut Hameln.

Die außerordentlich große Zersetzlichkeit der Milch erschwert die Untersuchung von Proben, welche einen größeren Transport durchgemacht haben, ungemein, wenigstens in der warmen Jahreszeit. Proben, welche geronnen ins Laboratorium kommen, müssen durch Zusatz von Alkalien oder von Ammoniak verflüssigt werden; dadurch wird das spezifische Gewicht sehr stark, der prozentige Gehalt an Trockensubstanz und Asche in geringerem Maße, aber immerhin nicht unwesentlich beeinflusst, und hierdurch werden höchst lästige Korrekturen der ermittelten Analysenwerte notwendig. Ein weiterer Übelstand ist der, daß die wieder verflüssigte Milch außerordentlich viskös ist, und infolgedessen feine Luftbläschen, die beim Durchmischen unvermeidlich hineingelangen, mit großer Zähigkeit zurückhält. Daher ist es kaum möglich, das spezifische Gewicht genau zu ermitteln. Auch durch die Zersetzung selbst wird der Milchzuckergehalt mehr oder minder stark verringert, und dadurch wird das spezifische Gewicht und der Trockensubstanzgehalt erniedrigt, in merklicher Weise zuweilen schon vor Eintritt der Gerinnung, nach Eintreten derselben selbstverständlich noch stärker, und bei weitergehender Zersetzung unter Umständen in einer Weise, die es unmöglich macht, ein Urteil darüber abzugeben, ob die betreffende Milch verfälscht ist oder nicht¹⁾.

Infolgedessen ist es ratsam, Proben, die zur Untersuchung dienen sollen, durch Zusatz konservierender Chemikalien vor der Zersetzung zu schützen. Als ganz besonders wertvoll für diesen Zweck haben sich Formaldehyd (in 40 %-iger Lösung unter dem Namen Formalin bekannt) und Kaliumbichromat erwiesen, die auch eine große Verbreitung gefunden haben. Leider werden aber diese Präservierungsmittel oft in viel zu großen Mengen angewendet, wodurch die Untersuchung unter Umständen ebenso erschwert wird, wie durch die Gerinnung der Proben.

Durch den Zusatz großer Mengen von Formaldehyd wird das Kasein in Schwefelsäure schwer löslich und dadurch die Fettbestimmung nach Gerber schwierig; das spezifische Gewicht, die Trockensubstanz und die Asche werden nur durch Hinzufügung ganz übermäßiger Mengen erheblich beeinflusst.

Durch den Zusatz von Kaliumbichromat in Substanz dagegen wird das spezifische Gewicht sehr stark erhöht, ebenso der Aschengehalt; auch die Bestimmung der Trockensubstanz und des Fettgehaltes nach Gerber wird je nach der zugefügten Menge mehr oder weniger ungenau.

Die vorliegende Arbeit bezweckte, erstens Mittel und Wege zu finden, um die Fettbestimmung nach Gerber auch in stark mit Formaldehyd präservierten Proben leicht und genau zu ermöglichen, und zweitens festzustellen, in welcher Weise die

¹⁾ Vergl. Vieth, Forschungen auf dem Gebiete der Viehhaltung 1885, 2, 191 u. 332; Reinsch und Lührig, Molk.-Ztg. Hildesheim 1900, 14, 564; Lührig, Molk.-Ztg. Hildesheim 1900, 14, 869.

Untersuchungsergebnisse durch beträchtliche Mengen von Kaliumbichromat beeinflußt werden.

I. Mit Formaldehyd haltbar gemachte Proben.

Um Milchproben längere Zeit haltbar zu machen, genügt ein Zusatz von einem Tropfen Formalin auf 100 ccm Milch, oder besser von zwei Tropfen einer Mischung gleicher Teile Formalin und Wasser, deren spezifisches Gewicht von dem der Milch nur wenig abweicht. Daß durch größere Mengen das Kasein schwerer löslich wird, ist bekannt, ebenso, daß man dasselbe bei der Fettbestimmung nach Gerber durch längeres Erwärmen, zweckmäßig im Gerber'schen Wasserbade, und häufiges Durchschütteln in Lösung bringen kann¹⁾. Wenn die Lösung schon nach einigen Minuten beendet ist, wird dadurch das Ergebnis nicht, oder doch nicht erheblich beeinflußt. Es kommt jedoch vor, daß diese Behandlung $\frac{1}{4}$ Stunde oder mehr in Anspruch nimmt, und dann macht sich eine chemische Einwirkung der Schwefelsäure auf den Amylalkohol bemerkbar, in deren Verlaufe unlösliche Produkte (Amylene) entstehen, die mit dem Fette abgeschieden werden und das Ergebnis der Bestimmung erhöhen²⁾. Wenn sehr große Mengen Formaldehyd vorhanden sind, kann es auch vorkommen, daß das Verfahren gänzlich versagt.

Es sollte nun versucht werden, durch Zusatz anderer Chemikalien den Einfluß des Formaldehyds aufzuheben.

Schon der erste Versuch führte bis zu einem gewissen Grade zum Ziel. Hierzu wurde Wasserstoffsuperoxyd verwendet und zwar in Form des in jeder Apotheke käuflichen Hydrogenium peroxydatum medicinale. Das hier verwendete Präparat hatte einen Wasserstoffsuperoxydgehalt von 1,54 %. Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt:

Eine Anzahl von Milchproben, deren Fettgehalt nach Gerber bestimmt war, wurden mit 3, 6 und 9 Tropfen käuflichen Formalins auf 100 ccm versetzt und 24 Stunden stehen gelassen. Dies geschah, weil die Einwirkung des Formaldehyds auf das Kasein erst nach längerer Zeit voll hervortritt und weil die Bedingungen den Verhältnissen der Praxis angepaßt werden sollten. Bei der Fettbestimmung nach Gerber war das Kasein je nach der Menge des zugesetzten Formalins mehr oder weniger schwer löslich geworden, und dem entsprechend mußten die Proben längere oder kürzere Zeit im Wasserbade erwärmt werden. Die prozentigen Ergebnisse der Fettbestimmung bei 12 verschiedenen Milchproben waren folgende:

	Zusätze auf 100 ccm Milch	No. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
I	Frische Milch ohne Zusätze	2,90	5,15	6,15	4,75	3,35	4,45	4,55	4,60	3,15	2,50	3,00	5,35
II	3 Tropfen	2,90	5,25	6,25	4,80	3,45	4,45	4,70	4,65	3,20	2,60	3,10	5,40
III	Formalin { 6 "	3,00	5,30	6,35	4,85	3,45	4,60	4,70	4,65	3,10	2,60	3,10	5,45
IV	9 "	3,00	5,30	6,30	4,95	3,45	4,50	4,60	4,70	3,15	2,60	3,10	5,45

¹⁾ Vergl. Molk.-Ztg., Hildesheim 1901, 15, 797.

²⁾ Siedel und Hesse, Milch-Ztg. 1901, 30, 337 ff.; Siegfeld, Molk.-Ztg., Hildesheim 1901, 15, 797.

Das Kasein war gelöst bei I sofort, bei II nach 5, bei III nach 8 und bei IV nach 15 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade.

Die Werte sind also im allgemeinen etwas zu hoch, was durch das lange Erwärmen im Wasserbade bewirkt wird. Nun wurde zu den mit drei Tropfen Formalin versetzten Proben 1 ccm, zu den mit sechs Tropfen versetzten 1,5 ccm, zu den mit neun Tropfen 2 ccm Wasserstoffsuperoxyd hinzugesetzt und die Proben nach sechsstündigem Stehen zur Fettbestimmung benutzt.

Daß das Wasserstoffsuperoxyd eine Wirkung ausgeübt hatte, zeigte schon der Augenschein. Während bei Gegenwart großer Mengen von Formaldehyd die Mischung von Milch mit roher (salpetersäurehaltiger) Schwefelsäure nicht die charakteristische tiefviolette Färbung annahm, die sie bei Anwesenheit geringer Mengen von Formaldehyd zeigt, sondern ein schmutziges Braun, trat die Violettfärbung bei den mit Wasserstoffsuperoxyd versetzten Proben wieder ein und die Lösung ging zum Teil völlig glatt, zum Teil wesentlich leichter und schneller vor sich als ohne Wasserstoffsuperoxydzusatz. Dementsprechend stimmen auch die gefundenen Fettgehalte, — die bei den mit Wasserstoffsuperoxyd versetzten Proben dem Zusatz entsprechend korrigiert sind, — mit den bei frischer Milch gefundenen besser überein.

Zusätze auf 100 ccm Milch			No. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Formalin	Wasserstoff- superoxyd													
I	FrISChe Milch ohne Zusätze }		2,90	5,15	6,15	4,75	3,35	4,45	4,55	4,60	3,15	2,50	3,00	5,35
II	3 Tropfen	1,0 ccm	2,83	5,10	6,11	4,75	3,38	4,44	4,60	4,65	3,13	2,47	3,03	5,30
III	6 "	1,5 "	2,95	5,13	6,14	4,83	3,30	4,42	4,47	4,57	3,15	2,49	3,01	5,33
IV	9 "	2,0 "	2,86	5,20	6,07	4,79	3,32	4,44	4,54	4,60	3,16	2,50	3,06	5,47

Das Kasein war gelöst bei I und II sofort, bei III ebenfalls meist sofort, in einigen Fällen nach 3 Minuten und bei IV nach 5—8 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade.

Ein zweiter Versuch wurde mit Milch angestellt, der 12 Tropfen Formalin auf 100 ccm und 2 ccm Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt waren. Die Formalinproben waren nach 20 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade, die Wasserstoffsuperoxydproben schon nach 8 Minuten gelöst. Die prozentigen Ergebnisse der Fettbestimmungen — bei III korrigiert — waren folgende:

Zusätze auf 100 ccm Milch			No. 13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Formalin	Wasserstoff- superoxyd													
I	FrISChe Milch ohne Zusätze }		3,15	3,40	3,20	3,40	3,15	3,40	3,30	3,10	3,40	3,25	3,25	3,70
II	12 Tropfen	0	3,15	3,55	3,25	3,50	3,20	3,65	3,30	3,20	3,50	3,30	3,40	3,70
III	{ 2 ccm		3,15	3,40	3,10	3,30	3,25	3,45	3,35	3,15	3,45	3,30	3,35	3,65

In beiden Fällen sind die Zahlen im allgemeinen also etwas zu hoch, wenn auch mit Wasserstoffsuperoxyd weniger als ohne dasselbe.

Durch Wasserstoffsuperoxyd werden demnach noch bei Proben, die mit dem Zwölffachen der erforderlichen und zulässigen Menge Formalin versetzt sind, recht günstige Erfolge erzielt.

Trotzdem befriedigte das Ergebnis nicht recht, und zwar aus verschiedenen Gründen. Bei Anwesenheit grösserer Mengen Formalin läßt sich das lästige Erwärmen im Wasserbade nicht umgehen, wenngleich der Zeitverlust geringer ist und die Ergebnisse genauer sind, als ohne Wasserstoffsuperoxyd. Auch wirkt das Wasserstoffsuperoxyd erst nach längerer Zeit, man muß die damit versetzten Proben mindesten 6 Stunden, am besten über Nacht stehen lassen. Und bei noch stärker präservierten Proben als sie zu den obigen Versuchen verwendet worden sind, versagt es zwar nicht gänzlich, ergibt aber auch keine so wesentliche Verbesserung, daß seine Anwendung sich lohnte. Man kommt aber, wie die Erfahrung lehrt, in die Lage, erheblich stärker präservierte Proben untersuchen zu müssen.

Es wurde daher nach einem anderen, für den vorliegenden Zweck besser geeigneten Mittel gesucht. Ein solches fand sich im Hydroxylamin.

Hydroxylamin wirkt sehr energisch auf Aldehyde und Ketone unter Oximbildung ein, und daher lag der Gedanke nahe, daß es auch den Formaldehyd in eine Verbindung überführen könnte, die nicht die ungünstige Wirkung auf Kasein hat. In freiem Zustande ist Hydroxylamin nicht haltbar; es wird daher meist in Form seines leichtlöslichen salzsaurer Salzes angewendet. Löst man einen Gewichtsteil Hydroxylaminchlorhydrat in zwei Gewichtsteilen Wasser auf, so erhält man eine Lösung, die in 100 ccm 40 g des Salzes enthält. Diese Lösung ist zu allen folgenden Versuchen verwendet worden. Es wurden Versuche mit verschiedenen Zusätzen von Formalin und Hydroxylaminchlorhydrat angestellt.

Alle Mengenangaben beziehen sich auf 100 ccm Milch; die abgelesenen Zahlen sind, soweit dies erforderlich war, den zugesetzten Flüssigkeitsmengen entsprechend korrigiert.

a) Erste Versuchsreihe

Zusätze auf 100 ccm Milch		No. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Formalin	Hydroxylaminchlorhydrat												
I	Frische Milch ohne Zusätze	3,70	5,50	3,15	3,20	3,65	3,10	2,75	3,25	2,95	2,85	3,30	4,75
II	3 Tropfen 0	3,80	5,80	3,30	3,30	3,75	3,10	2,90	3,30	3,05	2,90	3,40	4,85
III	3 „ 0,25 ccm	3,70	5,40	3,15	3,20	3,70	3,05	2,75	3,30	2,95	2,85	3,30	4,75
IV	6 „ 0	3,80	5,80	3,30	3,30	3,75	3,10	2,90	3,30	3,05	3,00	3,35	4,95
V	6 „ 0,50 ccm	3,70	5,45	3,15	3,20	3,65	3,05	2,75	3,30	2,95	2,85	3,30	4,75

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei I, III und V sofort, bei II dagegen war 4 Minuten und bei IV 15 Minuten langes Erwärmen im Wasserbade erforderlich.

b) Zweite Versuchsreihe.

Zusätze auf 100 ccm Milch		No. 13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Formalin	Hydroxyl- aminchlor- hydrat												
I	FrISChe Milch ohne Zusätze	2,90	5,15	6,15	4,75	3,35	4,45	4,55	4,60	3,15	2,50	3,00	5,35
II	0	2,90	5,25	6,25	4,80	3,45	4,45	4,70	4,65	3,20	2,60	3,10	5,40
III	3 Tropfen { 1,0 ccm	2,88	5,15	6,16	4,75	3,38	4,49	4,60	4,65	3,18	2,53	3,03	5,35
IV	0	3,00	5,30	6,35	4,85	3,45	4,60	4,70	4,65	3,10	2,60	3,10	5,45
V	6 " { 1,5 ccm	2,95	5,23	6,14	4,83	3,30	4,42	4,47	4,57	3,15	2,49	3,01	5,33
VI	0	3,00	5,30	6,30	4,95	3,45	4,50	4,60	4,70	3,15	2,60	3,10	5,45
VII	9 " { 2,0 ccm	2,91	5,16	6,22	4,79	3,47	4,54	4,54	4,64	3,16	2,55	3,11	5,30

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei I und III sofort, bei II nach 5 Minuten, bei IV nach 8 Minuten, bei V nach 2 Minuten, bei VI nach 15 Minuten und bei VII nach 3 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade.

c) Dritte Versuchsreihe.

Zusätze auf 100 ccm Milch		No. 25	26	27	28	29	30
Formalin	Hydroxyl- aminchlor- hydrat						
I	FrISChe Milch ohne Zusätze	2,80	3,35	3,20	3,50	4,00	3,70
II	0	2,95	3,50	3,25	3,65	4,00	3,80
III	0,5 ccm { 1,0 ccm	2,80	3,30	3,20	3,45	3,95	3,65

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei I und III sofort, bei II dagegen war $\frac{1}{2}$ -stündiges Erwärmen im Wasserbade erforderlich.

d) Vierte Versuchsreihe.

Zusätze auf 100 ccm Milch		No. 31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
Formalin	Hydroxyl- aminchlor- hydrat												
I	FrISChe Milch ohne Zusätze	0,10	3,15	3,20	3,20	3,40	3,40	2,95	3,30	3,30	3,60	3,00	3,10
II	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
III	1,0 ccm { 2,0 ccm	0,10	3,15	3,20	3,20	3,40	3,45	2,95	3,25	3,30	3,60	3,00	3,10

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei I und III sofort; bei II dagegen war das Kasein nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Erwärmen im Wasserbade noch nicht gelöst.

Der Erfolg des Hydroxylaminchlorhydrat-Zusatzes war also ein sehr günstiger. Ein Übelstand trat jedoch dabei sehr störend auf. Die mit grösseren Mengen Formalin und Hydroxylaminchlorhydrat versetzten Proben gerannen nach kurzer Zeit, so daß das Abmessen der Milch unmittelbar nach dem Hydroxylaminchlorhydrat-Zusatz stattfinden muss.

Dies ist dem Umstande zuzuschreiben, dass bei der Umsetzung zwischen Formaldehyd und Hydroxylaminchlorhydrat Salzsäure frei wird, nach der Gleichung:

Daß die Gerinnung tatsächlich der freiwerdenden Salzsäure zuzuschreiben ist und nicht der Wirkung des Hydroxylamins als solchen, wurde durch folgende Versuchsanordnung bewiesen:

Mehrere Milchproben von 10 ccm wurden mit 1 ccm Hydroxylaminchlorhydrat versetzt. Sie blieben flüssig. Auf Zusatz von 1 ccm Formalin jedoch trat augenblicklich Gerinnung ein, während die nicht mit Formalin versetzten Kontrollproben noch längere Zeit flüssig blieben.

Freies Hydroxylamin ist seiner Zersetzlichkeit halber nicht im Handel zu haben und auch mehrere Versuche, aus den Salzen die freie Basis abzuscheiden, blieben erfolglos.

Aus dem salzsauren Salz läßt sich diese zwar durch feuchtes Silberoxyd unter Bildung von Chlorsilber in Freiheit setzen, sie wird jedoch durch das überschüssige Silberoxyd sofort oxydiert unter Reduktion des letzteren zu metallischem Silber.

Das schwefelsaure Salz mit fein gepulvertem Baryumoxydhydrat in Baryumsulfat und freies Hydroxylamin umzusetzen, gelang ebenfalls nicht; die Substanzen reagierten nicht miteinander. Und durch Anwendung einer Lösung von Ätzbaryt wäre die Flüssigkeit zu verdünnt geworden, um für den vorliegenden Zweck brauchbar zu sein.

Es blieb also nichts übrig, als die frei werdende Salzsäure durch einen Zusatz von Ammoniak zu neutralisieren und zwar wurden bei den weiterhin angeführten Versuchen auf je 1 ccm Hydroxylaminchlorhydrat 0,4 ccm Ammoniakflüssigkeit vom spezifischen Gewicht 0,912 zugesetzt.

Ferner wurde bei den Versuchen die Beobachtung gemacht, dass die Proben um so leichter gelöst wurden, je weniger Zeit zwischen dem Einfüllen der Milch und dem Durchschütteln verflossen war. Bei den früheren Versuchsreihen war das Durchschütteln der Proben immer erst erfolgt, wenn sämtliche Butyrometer eines Satzes, also in der Regel 24 Stück, gefüllt und verschlossen waren, so daß also die Milch längere Zeit mit der Schwefelsäure in Berührung geblieben war. Das Kasein war dabei stets zu dicken Klumpen geronnen, die sich schwierig auflösten, während bei sofortigem Durchmischen der Proben eine solche Gerinnung ausgeschlossen war. Es wurde daher eine Versuchsreihe einmal in gewöhnlicher Weise angestellt und einmal so, daß jede einzelne Probe sofort nach dem Einfüllen verschlossen und durchgeschüttelt wurde.

Die Ergebnisse sind in der ersten Tabelle auf S. 403 wiedergegeben.

Es zeigt sich also, daß ein rasches Durchmischen auch bei einer schon recht starken Präservierung eine glatte Lösung des Kaseins bewirkt. Bedingung dafür ist sehr schnelles Arbeiten; schon ein Zeitverlust von wenigen Sekunden führt eine erhebliche Verschlechterung herbei.

Zusätze auf 100 ccm Milch			a) In gewöhnlicher Weise ausgeführt						b) Sofort nach dem Einfüllen durchgeschüttelt					
Formalin	Hydro- xyl- amin- chlor- hydrat	Ammo- niak	No. 1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
I	Frische Milch ohne Zusätze		3,60	3,60	3,50	3,45	3,45	3,45	3,60	3,60	3,50	3,45	3,45	3,45
II	3	0 0	3,70	3,65	3,50	3,50	3,50	3,50	3,55	3,55	3,45	3,45	3,40	3,40
III	Tropfen	0,5 ccm 0,2 ccm	3,57	3,52	3,47	3,37	3,40	3,37	3,55	3,57	3,42	3,37	3,42	3,42
IV	6	0 0	3,80	3,75	3,50	nicht gelöst	3,60	3,55	3,55	3,55	3,45	3,40	3,40	3,40
V	Tropfen	1,0 ccm 0,4 ccm	3,55	3,60	3,55	3,40	3,45	3,45	3,60	3,55	3,45	3,45	3,45	3,45
VI	9	0 0	3,75	3,80	3,65	3,50	3,55	3,55	3,50	3,55	3,45	3,40	3,35	3,40
VII	Tropfen	1,5 ccm 0,6 ccm	3,62	3,67	3,52	3,47	3,52	3,47	3,62	3,57	3,47	3,42	3,42	3,4

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei I und III sofort, bei II nach 12 Minuten, bei IV nach 22 Minuten (bei No. 4 gar nicht), bei V nach 5 Minuten, bei VI nach 25 und bei VII nach 5 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade.

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei sämtlichen Proben sofort.

Nicht ganz so günstig, wie der eben erwähnte Versuch, verlief der in der folgenden Tabelle wiedergegebene für die Proben ohne Hydroxylaminzusatz, während die mit Hydroxylamin versetzten Proben sich sofort auflösten. Jede einzelne Probe wurde sofort nach dem Einfüllen verschlossen und durchgeschüttelt.

Zusätze auf 100 ccm Milch			No. 1	2	3	4	5	6
Formalin	Hydro- xyl- amin- chlor- hydrat	Ammo- niak						
I	Frische Milch ohne Zusätze		4,70	3,35	5,10	2,95	3,10	3,40
II	3	0 0	4,65	3,35	5,00	3,00	3,10	3,40
III	Tropfen	0,5 ccm 0,2 ccm	4,70	3,40	5,10	2,95	3,10	3,40
IV	6	0 0	4,70	3,35	5,05	2,95	3,05	3,40
V	Tropfen	1,0 ccm 0,4 ccm	4,67	3,40	5,08	3,00	3,05	3,40
VI	9	0 0	4,60	3,30	5,00	2,95	3,05	3,40
VII	Tropfen	1,5 ccm 0,6 ccm	4,66	3,38	5,02	3,08	3,13	3,38

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei I, II, III, V und VII sofort, bei IV ebenfalls bis auf vereinzelte Flocken sofort und bei VI nach 3 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade.

Bei Anwesenheit noch größerer Mengen von Formalin kommt man indes ohne Hydroxylamin nicht zu dem gewünschten Ziel, wie folgende Ergebnisse zeigen :

a) Erste Versuchsreihe.

	Zusätze auf 100 ccm Milch			No. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Formalin	Hydro- xyl- amin- chlor- hydrat	Ammo- niak												
I	Frische Milch ohne Zusätze			3,85	3,05	3,50	2,75	2,90	3,05	4,05	3,05	2,80	3,55	3,25	3,00
II	9	0	0	3,85	3,10	3,50	2,80	2,90	3,05	4,00	3,05	2,85	3,60	3,25	3,05
III	Tropfen	1,0 ccm	0,4 ccm	3,86	3,10	3,55	2,79	2,94	3,10	4,06	3,05	2,84	3,60	3,30	2,95
IV	12	0	0	3,95	3,10	3,60	2,80	2,90	3,05	4,10	3,05	2,95	3,55	3,25	3,10
V	Tropfen	1,5 ccm	0,6 ccm	3,82	3,06	3,57	2,75	2,86	3,07	4,09	3,01	2,86	3,62	3,27	3,00
VI	15	0	0	3,95	3,10	3,65	2,80	2,95	3,10	4,10	3,10	2,95	3,65	3,30	3,15
VII	Tropfen	2,0 ccm	0,8 ccm	3,81	3,04	3,50	2,73	2,83	3,04	4,07	3,04	2,83	3,61	3,24	2,99

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei I, III, V und VII sofort, bei II nach 4 Minuten, bei IV nach 6 Minuten und bei VI nach 10 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade.

b) Zweite Versuchsreihe.

	Zusätze auf 100 ccm Milch			No. 13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
	Formalin	Hydro- xyl- amin- chlor- hydrat	Ammo- niak												
I	Frische Milch ohne Zusätze			3,95	3,60	3,95	3,25	5,70	3,80	2,95	3,10	2,65	2,75	3,45	3,15
II	0,5 ccm	0	0	4,10	3,65	4,00	3,35	5,80	3,85	2,95	3,15	2,70	2,80	3,45	3,15
III		2,0 ccm	0,8 ccm	3,97	3,61	3,96	3,24	5,72	3,77	2,94	3,09	2,63	2,73	3,45	3,19
IV	1,0 ccm	0	0	4,10	3,70	4,00	3,35	5,70	3,85	2,95	3,15	2,70	2,80	3,45	3,20
V		4,0 ccm	1,6 ccm	3,97	3,62	3,97	3,29	5,72	3,82	2,96	3,07	2,65	2,76	3,50	3,18

Die Lösung des Kaseins erfolgte bei I, III und V glatt, bei II nach 5 Minuten und bei IV nach 8 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade.

Selbst in den mit 1 ccm Formalin auf 100 ccm Milch versetzten Milchproben, welche also etwa das Dreißigfache der zulässigen Menge enthalten, läßt sich die Fettbestimmung nach Gerber ohne Schwierigkeit ausführen, wenn man 4 ccm Hydroxylaminchlorhydrat-Lösung sowie die entsprechende Menge Ammoniak hinzufügt und die Proben unmittelbar nach dem Einfüllen durchschüttelt. Selbstverständlich muss, wie bereits hervorgehoben ist, eine dem Zusatz der Flüssigkeit entsprechende Korrektur angebracht werden.

Hat man Proben mit unbekanntem Formalingehalt zu untersuchen, so empfiehlt es sich, zunächst einen Versuch mit 2 ccm Hydroxylaminchlorhydrat-Lösung auf 100 ccm Milch, und wenn dies nicht genügt, mit der doppelten Menge zu machen. Mehr wird so gut wie nie erforderlich sein.

II. Mit Kaliumbichromat haltbar gemachte Proben.

Der Zusatz großer Mengen von Kaliumbichromat wirkt störend bei der Untersuchung auf Verfälschungen. Zweckmäßig ist es, diese Substanz nur in etwa 5 0/0-iger Lösung anzuwenden, welche ungefähr das spezifische Gewicht der Milch hat, und in Mengen, die 15—20 Tropfen (enthaltend 0,025—0,035 g Kaliumbichromat) auf 100 ccm Milch nicht übersteigen. Sehr häufig wird das Salz aber in Substanz und in viel zu großen Mengen zugesetzt. Um den Einfluß eines derartigen Zusatzes bei der Untersuchung auf Verfälschungen festzustellen, wurden folgende Versuche angestellt: Die Milchproben wurden mit 0,25, 0,50, 1,00 und 2,00 g Kaliumbichromat auf 100 ccm Milch versetzt und in den frischen und präservierten Proben das spezifische Gewicht, die Gesamttrockensubstanz, das Fett nach Gerber, die Asche und in letzterer die Chromsäure bestimmt.

Bei dem Eindampfen der Milch zum Zwecke der Trockensubstanz-Bestimmung geht die Gelbfärbung in Grün über, ein Beweis, daß die Chromsäure in Chromoxyd übergeht unter gleichzeitiger Oxydation von Bestandteilen der Milchtrockensubstanz, höchst wahrscheinlich des Milchzuckers. Diese Vorgänge sind mit einem erheblichen Substanzverlust verbunden.

Beim Veraschen der Milch tritt die gelbe Farbe wieder auf, da beim Glühen mit Alkalien Chromoxyd-Verbindungen in Chromsäure übergeführt werden. Der Alkaligehalt der Milchasche genügt jedoch nicht, um die Oxydation des gesamten Chromoxyds zu Chromsäure zu bewirken, daher wurde der Aschengehalt stets zu niedrig gefunden. Ebenso wurden bei der Chromsäure-Bestimmung stets zu niedrige Ergebnisse erhalten, wenn diese direkt in der Asche vorgenommen wurde, vollkommen mit der Berechnung übereinstimmende dagegen, wenn die Asche vorher mit Soda geschmolzen war.

Die Bestimmung der Chromsäure in der Asche ist auf oxydimetrischem Wege sehr einfach auszuführen.

Man fügt zu der mit Schwefelsäure angesäuerten kalten Auflösung je nach der zu erwartenden Menge Chromsäure 5 bis 25 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Ferroammoniumsulfat-Lösung (39,2 g in 1 l). Es tritt augenblickliche Reduktion der Chromsäure zu Chromoxyd ein, was sich durch Umschlagen der gelben Färbung in Grün zu erkennen gibt. Tritt keine reine Grünfärbung auf, so war nicht genug Eisenoxydulsalz-Lösung vorhanden, und es muß noch etwas hinzugefügt werden. Der Überschuß des Eisens wird mit $\frac{1}{10}$ N.-Kaliumpermanganat-Lösung zurücktitriert. Die Differenz ergibt die Menge der Chromsäure; 1 ccm = 4,917 mg Kaliumbichromat.

Auch die jodometrische Bestimmung wird empfohlen: Die mit Schwefelsäure angesäuerte Auflösung wird mit Jodkalium im Überschuß versetzt und das ausgeschiedene Jod mit $\frac{1}{10}$ N.-Natriumthiosulfat titriert.

Bei allen diesen Bestimmungen tritt eine rechnungsmäßige Schwierigkeit auf. Durch den Zusatz des spezifisch schweren Kaliumbichromats wird das spezifische Gewicht stark erhöht. Da die Analysenwerte in Gewichtsprozenten ausgedrückt werden, so berechnen sich die einzelnen Zahlen nicht als die Summe des Gehalts der frischen Milch und des zugesetzten Kaliumbichromats, sondern etwas niedriger.

In der folgenden Tabelle sind außer den gefundenen Werten auch die berechneten aufgeführt:

No. der Milch	Kalium- bichro- mat-Zu- satz auf 100 cem Milch g	Spezi- fisches Ge- wicht	Fett	Trocken- Substanz		Asche		Kaliumbichromat			
								in der Asche direkt bestimmt		in der Soda- Schmelze be- stimmt	
				ge- funden	berech- net	ge- funden	berech- net	gefunden	berechnet	gefunden	berechnet
1	0	1,0318	3,70	12,54	—	0,72	—	—	—	—	—
	0,25	1,0334	3,75	12,48	12,75	0,95	0,96	0,21	0,24	—	—
	0,50	1,0351	3,75	12,66	12,97	1,17	1,20	0,44	0,48	—	—
	1,0	1,0385	3,85	13,02	13,41	1,64	1,68	0,87	0,96	—	—
	2,0	1,0456	3,90	13,64	14,28	2,54	2,63	1,72	1,91	—	—
2	0	1,0322	3,55	12,43	—	0,71	—	—	—	—	—
	0,25	1,0338	3,65	12,36	12,56	0,93	0,95	0,20	0,24	—	—
	0,50	1,0357	3,70	12,83	12,87	1,18	1,19	0,45	0,48	—	—
	1,0	1,0388	3,75	12,93	13,22	1,65	1,68	0,95	0,96	—	—
	2,0	1,0468	3,70	13,79	14,17	2,60	2,61	1,53	1,91	—	—
3	0	1,0328	3,40	12,48	—	0,75	—	—	—	—	—
	0,25	1,0346	3,45	12,43	12,70	0,97	0,99	0,21	0,24	—	—
	0,50	1,0364	3,50	12,59	12,92	1,22	1,23	0,45	0,48	—	—
	1,0	1,0395	3,50	12,93	13,36	1,64	1,71	0,91	0,96	—	—
	2,0	1,0474	3,85	13,55	14,22	2,59	2,64	1,52	1,91	—	—
4	0	1,0335	3,80	12,79	—	0,73	—	—	—	—	—
	0,25	1,0353	3,90	12,88	13,01	0,95	0,97	0,21	0,24	0,24	0,24
	0,50	1,0372	3,90	13,03	13,23	1,17	1,21	0,45	0,48	0,48	0,48
	1,0	1,0402	4,00	13,36	13,67	1,64	1,68	0,91	0,96	0,96	0,96
	2,0	1,0465	4,00	13,93	14,54	2,42	2,63	1,58	1,91	1,91	1,91
5	0	1,0322	3,30	12,21	—	0,72	—	—	—	—	—
	0,25	1,0337	3,35	12,00	12,43	0,91	0,96	—	—	0,24	0,24
	0,50	1,0354	3,40	12,15	12,65	1,17	1,20	—	—	0,48	0,48
	1,0	1,0392	3,45	12,48	13,09	1,63	1,67	—	—	0,96	0,96
	2,0	1,0467	3,50	13,65	13,95	2,59	2,62	—	—	1,91	1,91
6	0	1,0331	3,20	12,17	—	0,77	—	—	—	—	—
	0,25	1,0351	3,25	12,26	12,39	0,96	1,01	—	—	0,24	0,24
	0,50	1,0369	3,25	12,37	12,60	1,22	1,26	—	—	0,48	0,48
	1,0	1,0405	3,25	12,66	13,04	1,68	1,73	—	—	0,96	0,96
	2,0	1,0466	3,40	13,45	13,92	2,61	2,68	—	—	1,91	1,91

Bei der Betrachtung dieser Tabelle ergibt sich folgendes:

Die Erhöhung des spezifischen Gewichtes ist nicht gleichmäßig; sowohl bei Zusatz gleicher Mengen des Salzes zu verschiedenen Proben, als auch bei Zusatz verschiedener Mengen zu derselben Probe treten Abweichungen auf. Ob dies durch die Beobachtungsfehler bedingt ist, oder ob durch das Kaliumbichromat chemische oder physikalische Veränderungen in der Milch hervorgerufen werden, muß dahingestellt bleiben.

Die Erhöhung des spezifischen Gewichts ergibt sich wie folgt:

Zusatz auf 100 cem Milch:	0,25 g	0,50 g	1,0 g	2,0 g
Probe No. 1	0,0016	0,0033	0,0067	0,0138
" " 2	0,0016	0,0035	0,0066	0,0146
" " 3	0,0018	0,0036	0,0067	0,0146
" " 4	0,0018	0,0037	0,0067	0,0130
" " 5	0,0015	0,0032	0,0070	0,0145
" " 6	0,0020	0,0038	0,0074	0,0135
Mittel	0,0017	0,0035	0,0069	0,0140

Als Mittelwert aus allen diesen Zahlen berechnet sich eine Erhöhung des spezifischen Gewichtes um 0,006925 für 1 g Kaliumbichromat auf 100 cem Milch. Wenn es sich darum handelt, eine Korrektur anzubringen, wird man hierfür mit genügender Genauigkeit 0,0070 setzen können.

Die Trockensubstanz fiel stets, und zwar um wechselnde Beträge, zu niedrig aus infolge der Oxydation durch das Kaliumbichromat. In den meisten Fällen gab sogar die Trockensubstanz-Bestimmung für die mit 0,25 g präservierte Milch niedrigere Werte als für die nicht präservierte. Man muß die Trockensubstanzbestimmung in stark präservierten Proben, also als unsicher bezeichnen, ohne durch Anbringung einer Korrektur brauchbare Werte erreichen zu können.

Auch die Aschen-Bestimmung fiel stets zu niedrig aus, allerdings mit einer einzigen Ausnahme nur um Beträge von einigen Hundertstel Prozent. Immerhin deuten die Zahlen darauf hin, daß unter Umständen noch größere Abweichungen gefunden werden können, und daß auch diese Bestimmung als unsicher angesehen werden muß.

Die Fett-Bestimmung nach Gerber wird in doppelter Hinsicht störend beeinflusst. Erstens wird der Amylalkohol oxydiert, wodurch unlösliche und gefärbte Produkte entstehen, die die Ablesung erschweren und die Ergebnisse erhöhen¹⁾. Zweitens wird entweder durch das Kaliumbichromat als solches oder durch das entstehende Chromisulfat das Kasein schwer löslich und kann erst durch längeres Erwärmen im Wasserbade in Lösung gebracht werden, wodurch abermals eine Fehlerquelle hinzukommt. Daß die Bestimmung nicht glatt geht, ergibt sich schon durch den Augenschein. Während bei 0,25 % Zusatz äußerlich noch nichts Außergewöhnliches wahrzunehmen ist, sind bei 0,50 % die Fettschichten trübe, bei 1,0 % braun gefärbt und bei 2,0 % tiefdunkelbraun, so daß das Ablesen schwierig ist. Tatsächlich fallen auch sämtliche Ergebnisse zu hoch aus und zwar um so höher, je mehr Kaliumbichromat zugesetzt ist. In einem Falle (Nr. 3) wurde sogar eine Differenz von 0,45 % erhalten. Ein Mittel, welches den schädlichen Einfluß des Kaliumbichromats aufhebt, konnte bis jetzt nicht gefunden werden.

Wenn also Milchproben außerordentlich große Mengen Kaliumbichromat enthalten, so sind alle Bestimmungen mehr oder weniger unsicher. Zu einigermaßen brauchbaren Ergebnissen wird man auf folgende Weise gelangen können:

Man bestimmt zunächst das spezifische Gewicht, dann das Kaliumbichromat durch Veraschen der Milch, Schmelzen der Asche mit Soda und Titration der Chrom-

¹⁾ Vergl. Mol.k.-Ztg. Hildesheim 1900, 14, 799.

säure auf oxydimetrischem oder jodometrischem Wege, und korrigiert das spezifische Gewicht durch Subtraktion von 0,0070 für je 1 g Kaliumbichromat auf 100 ccm Milch. Dann bestimmt man das Fett nach Gerber, oder, wenn die Menge des Kaliumbichromats 0,5 % übersteigt, gewichtsanalytisch und berechnet nach der Fleischmann'schen oder Hehner'schen Formel, die Trockensubstanz und die übrigen erforderlichen Werte.

Praktische Anwendungen der Sublimation.

Von

A. Nestler.

Mitteilung aus der K. K. allgemeinen Untersuchungsanstalt für
Lebensmittel in Prag (Deutsche Universität).

Unter Berücksichtigung des Umstandes, daß es einerseits in vielen Fällen genügt, einen nur qualitativen Nachweis des Theins (Kaffeins) in Flüssigkeiten vorzunehmen, andererseits bisweilen nur sehr geringe Mengen des zu untersuchenden Gegenstandes zur Verfügung stehen, welche für eine makrochemische Untersuchung nicht ausreichen würden, dürfte der Hinweis auf das bereits früher¹⁾ von mir beschriebene und erprobte Verfahren der Sublimation mittels Uhrglases, Glasplatte und Mikrobrenners zum raschen Nachweise jener Substanz erwünscht sein.

Abgesehen von dem gebräuchlichen Thee- und Kaffeeaufguß sind gegenwärtig theinhaltige Getränke sehr oft im Handel anzutreffen; ich erinnere nur an Kolawein, Kolacognac, Thee express u. a.

Das Verfahren des Theinnachweises in allen diesen Flüssigkeiten ist, wie aus den folgenden Beispielen ersichtlich sein wird, überaus einfach:

„Thee express“ ist eine im Handel vorkommende, braune, alkoholisch riechende Flüssigkeit, welche angeblich durch Extraktion aus „hochprima Theesorten“ hergestellt und zur raschen Bereitung eines Theeaufgusses oder als „wirksames Mittel gegen Unwohlsein“ angepriesen wird. Einige Tropfen dieser Flüssigkeit werden in einem unbedeckten Uhrglase von 8—10 cm Durchmesser rasch zum Verdampfen gebracht und zwar entweder auf dem Drahtnetze über der Mikroflamme, wie bei dem Sublimieren oder auf dem Wasserbade. In wenigen Minuten ist das Flüssige verdunstet; man unterbricht hierauf sofort die Erwärmung. Der Boden des Uhrglases ist nun mit einer braunen, glasigen, spröden, unter dem Mikroskope homogen erscheinenden Kruste bedeckt, welche Gerbstoffreaktion zeigt; sie läßt sich leicht mit einem Skalpell abkratzen, so daß man ihre Teilchen auf dem Boden des Uhrglases zu einem Häufchen vereinigen kann. Nun bedeckt man dasselbe mit der Glasplatte; unter dem Einflusse der Mikroflamme bildet sich nach 10 Minuten ein deutlicher Beschlag, welcher aus zahlreichen, durchschnittlich 36 μ langen Theinnadeln besteht.

Man kann die nach dem Verdampfen der Flüssigkeit sichtbare, braune Kruste auch sofort zur Sublimation verwenden; jedoch bei einem vermutlich nur schwachen Theingehalt und bei sehr dünner Kruste ist es stets notwendig, diese Kruste sorgfältig

¹⁾ Diese Zeitschr. 1901, 4, 289 und 1902, 5, 245.