

# Zeitschrift

für

## Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, sowie der Gebrauchsgegenstände.

---

Heft 7.

1. Oktober 1911.

Band 22.

---

### Über das Verhalten der Kuhmilch-Peroxydase beim Erhitzen.

Von

Dr. J. J. van Eck in Leiden.

*[Eingegangen am 9. Juni 1911.]*

Über das Verhalten der Kuhmilch-Peroxydase beim Erhitzen der Milch sind schon zahlreiche Arbeiten veröffentlicht worden. Meistens stellte man sich dabei die Frage: Bei welcher Temperatur verliert das Enzym seine Wirksamkeit? eine Frage, welche deshalb wichtig war, weil man sich bestrebt, die empfindlichen und charakteristischen Reaktionen der Peroxydase für die Beurteilung des Erhitzungsgrades von pasteurisierter Milch zu verwenden. Eine befriedigende Übereinstimmung aber wurde bis jetzt nicht erhalten. So z. B. gibt Storch<sup>1)</sup> an, daß das Enzym nach einer Erhitzung auf 75° während 2 Minuten noch nicht getötet ist; er gibt als obere Temperaturgrenze 79—80° C an. Leffmann<sup>2)</sup> fand noch wirksames Enzym nach einer Erwärmung bis 76,5°, nicht aber nach einer Erhitzung bis auf 82° C. Utz<sup>3)</sup> bekam nach einer kurzen Erwärmung der Milch auf 70° noch eine deutliche, bei 80° eine schwache und bei 90° eine negative Peroxydasereaktion, während auch nach längerer Erwärmung auf 70° kein wirksames Enzym mehr gefunden wurde. Seligmann<sup>4)</sup> fand nach Erhitzung über 75° C keine wirksame Peroxydase mehr. Bruère<sup>5)</sup> gibt 79° C als obere Temperaturgrenze an, während Rullmann<sup>6)</sup> nach einer halbstündigen Erhitzung auf 72° innerhalb 10 Minuten keine wahrnehmbare Reaktion bekam. Demgegenüber erhielten de Jong und de Graaf<sup>7)</sup> innerhalb 10 Minuten eine positive Peroxydasereaktion bei Milch, welche sehr schnell bis auf 86° C erhitzt worden war. Koning<sup>8)</sup> bekam eine schwache Reaktion nach einer Erwärmung der Milch während 1/2 Stunde auf 73° C und 45 Minuten auf 72° C, dagegen eine negative Reaktion, wenn er die Milch 1/2 Stunde lang auf 74° erhitzte. Schließlich sagt Lam<sup>9)</sup>, daß die Storch'sche Peroxydasereaktion merklich ver-

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift 1899, 2, 239.

<sup>2)</sup> Analyst 1898, 23, 85.

<sup>3)</sup> Pharm. Zentralhalle 1901, 42, 149.

<sup>4)</sup> Zeitschr. angew. Chemie 1906, 19, 1540.

<sup>5)</sup> Journ. Pharm. et Chim. 1906, [6] 24, 488.

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift 1904, 7, 81.

<sup>7)</sup> Tijdschr. v. Vuartsenijkunde 1906.

<sup>8)</sup> Pharm. Weekbl. 1905, 42, 530.

<sup>9)</sup> Verslagen Rotterdamsche Keuringsdienst 1905, 84.

zögert wird, wenn die Milch  $\frac{1}{2}$  Stunde auf  $68^{\circ}$  C erwärmt wird, daß aber die Endintensität der Reaktion ungeschwächt ist, wenn man nicht über  $71^{\circ}$  C erhitzt. Nach einer 45 Minuten langen Erwärmung auf  $73^{\circ}$  C wird die volle Intensität der Färbung nicht mehr erhalten; gleichen Einfluß hat eine 5—10 Minuten lange Erhitzung auf  $75^{\circ}$  C.

Diese wenigen Angaben aus der sehr ausführlichen Literatur über diesen Gegenstand dürften genügen, um hervorzuheben, daß eine befriedigende Übereinstimmung über die höchste Temperatur, welche die Peroxydase ertragen kann, nicht besteht und daß das Verhalten dieses Enzyms beim Erhitzen nur unvollkommen bekannt ist. Die Ursache dieser Lücke ist zum Teil ohne Zweifel in den gänzlich verschiedenen Arbeitsmethoden der verschiedenen Forscher zu suchen; so wird der eine, der ein empfindliches Reagens gebraucht, noch wirksame Peroxydase finden, wo der andere mit einem weniger empfindlichen Reagens schon keine Reaktion mehr bekommt. Auch fehlen fast immer Angaben über die Schnelligkeit, mit welcher die Milch bis auf eine bestimmte Temperatur angewärmt wurde, die von großem Einfluß auf das Ergebnis sein kann, und schließlich fehlen ebenfalls alle Angaben über die Zusammensetzung der Milch, welche bei den Versuchen verwendet wurde, obgleich schon Storch auf den Einfluß des Säuregrades der Milch beim Abtöten des Enzyms durch Erhitzung hinwies.

Wenn man derartige Erhitzungsversuche mit Milch anstellt, zeigt sich alsbald, daß beim Erhitzen der Milch auf eine bestimmte Temperatur die Intensität der Peroxydasereaktionen allmählich abnimmt und zwar um so schneller, bei je höherer Temperatur man erwärmt. Überdies kann man durch eine gleichlange Erhitzung von zwei Proben derselben Milch auf zwei naheliegende Temperaturen niemals in der einen Milchmenge die Peroxydase völlig zerstören und in der zweiten Menge noch wirksames Enzym auffinden. Man sieht nur Unterschiede in der Intensität der Reaktionen, welche um so größer sind, je weiter die beiden gewählten Temperaturen auseinander liegen und je länger die Erhitzung fortgesetzt wird, aber von einer positiven Reaktion im einen Falle und einer völlig negativen im zweiten Falle kann niemals die Rede sein. Hieraus geht hervor, daß die Verminderung in Wirksamkeit der Peroxydase, wie sie durch die bekannten Reaktionen bemessen wird, von der Temperatur und von der Erhitzungsdauer beeinflusst wird. Nur wenn man die Aktivitätsverminderung des Enzyms in der gleichen Weise wie Temperatur und Erhitzungsdauer zahlenmäßig andeuten kann, wird man imstande sein, die Beziehung zwischen diesen drei Größen aufzudecken.

Zum Nachweise und zur Bestimmung der Peroxydase benutzte ich die Storch'sche Reaktion. 10 ccm Milch wurden mit 5 Tropfen einer frisch hergestellten 2%-igen Lösung von reinem salzsaurem Paraphenylendiamin und nach dem Umschütteln mit 5 Tropfen einer neutralen 1%-igen Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt. Weil die ersterwähnte Lösung ziemlich stark sauer reagiert und die Intensität der Reaktion durch den Säuregrad beeinflusst wird, ist es, namentlich bei vergleichenden Versuchen, notwendig, immer genau die gleichen Mengen des Reagens zu verwenden; dasselbe gilt auch für die Wasserstoffsuperoxydlösung. Auch wird der Farbenton der Reaktion in starkem Maße durch den Säuregrad der Milch beeinflusst. Bei nicht zu niedrigen Säuregraden ist die auftretende Färbung rein dunkelblau, bei weniger saurer Reaktion aber hat die blaue Farbe einen Stich ins Rote und zwar um so mehr, je weniger sauer die Flüssigkeit reagiert. Auch bei Verwendung von unreinen oder alten Reagenslösungen bekommt man häufig abweichende Färbungen, welche störend wirken können.

Führt man die Storch'sche Reaktion in der obenbeschriebenen Weise in sterilisierter Milch — d. h. in Milch, welche wenigstens  $\frac{1}{2}$  Stunde lang auf  $100^{\circ}$  erhitzt worden ist — aus, so zeigt sich innerhalb  $\frac{3}{4}$  Stunden gar keine Färbung; rohe Milch aber wird in kürzester Zeit schön dunkelblau und diese Färbung nimmt nach 30 Minuten nicht mehr merkbar zu. Mit Milchproben, welche auf verschiedene Temperaturen erhitzt worden sind, kann man alle zwischenliegenden Färbungen bekommen. Man kann diese aber auch herstellen mit Mischungen von roher und sterilisierter Milch, und zwar ist die Farbe der Reaktion um so kräftiger, je höher der Prozentgehalt an roher Milch ist. Stellt man also eine Reihe von Mischungen von roher und sterilisierter Milch her, welche von 0—100 % der ersteren enthalten, so kann man durch Vergleichung der Farbe der Storch'schen Reaktion einer beliebigen erhitzten Milch mit den Färbungen dieser Gemische einen Maßstab für die Menge der noch wirksamen Peroxydase in der erhitzten Milch finden. Wenn z. B. die Färbung der Storch'schen Reaktion einer erhitzten Milch gleich stark ist, wie die einer Mischung von 25 Teilen roher und 75 Teilen sterilisierter Milch, so darf man sagen, daß die betreffende Milch noch ein Viertel der ursprünglichen Enzymmenge enthält.

Natürlich kann man diese Bestimmungsmethode der Peroxydase nur verwenden, wenn die Gemische von bekanntem Gehalt an roher Milch mit derselben Milch hergestellt sind, welche erhitzt worden ist, weil es eben nicht wahrscheinlich ist, daß der Peroxydasegehalt von Kuhmilch immer gleich groß ist. Zwar kann man mit verschiedenen Substanzen (Jodlösung, Kaliumpermanganat, Kaliumbichromat u. a.) in einer mit Paraphenyldiaminlösung versetzten Milch gleichartige Färbungen hervorrufen wie bei der Storch'schen Reaktion, und ohne Zweifel wäre es möglich, hierauf eine mehr absolute Bestimmungsmethode der Peroxydase zu gründen, bis jetzt aber habe ich in dieser Richtung noch keine befriedigend genauen Ergebnisse erhalten können.

Um die Genauigkeit dieser Bestimmungsmethode zu prüfen, ließ ich mehrere Gemische von roher und sterilisierter Milch herstellen und bestimmte in je 10 ccm derselben die vorhandene Menge roher Milch durch Vergleichung der Färbungen der Storch'schen Reaktion mit den Färbungen in von mir selbst hergestellten Mischungen von bekanntem Gehalt an roher Milch. Als Vergleichungsskala wurde hier wie bei allen folgenden Versuchen eine Reihe von 33 Mischungen verwendet (vergl. S. 396). Es stellte sich heraus, daß die in 10 ccm vorhandene Menge roher Milch ohne jede Schwierigkeit bis auf weniger als 0,25 ccm bestimmt werden konnte. Namentlich bei den Mischungen mit niedrigem Gehalt an roher Milch (unter 0,5 ccm) war der Fehler niemals größer als 0,125 ccm, eine für meinen Zweck genügende Genauigkeit.

Die Erhitzungsversuche wurden auf folgende Weise vorgenommen:

In einem großen, gut isolierten Behälter A (Fig. 1) steht auf einem Dreifuß die mit Blei beschwerte Woulff'sche Flasche B (Inhalt  $\frac{3}{4}$  Liter). In der einen Öffnung dieser Flasche befindet sich ein in  $\frac{1}{10}^{\circ}$  geteiltes Thermometer C, in der zweiten ein Glasrohr D, durch welches der gläserne Rührer E geführt ist, und in der dritten Öffnung ein mit einem Stopfen verschlossenes Röhrchen F. In entsprechenden Öffnungen im Deckel von A stecken der Rührer G, das Thermometer H und der Thermoregulator K. Die Rührer E und G werden von einem Heißluftmotor getrieben. Vor dem Anfang des Versuches wird das Wasser in A bis auf die gewünschte Temperatur erhitzt und der Regulator derartig eingestellt, daß diese Temperatur behalten wird. Durch F

wird sodann etwa  $\frac{1}{2}$  Liter Milch, welche in einer Kochflasche möglichst schnell etwas höher als die Versuchstemperatur erhitzt ist, in die Woulff'sche Flasche eingefüllt. Jetzt wird gewartet, bis die Milch die gewünschte Temperatur angenommen hat, und nachdem diese wenigstens 5 Minuten konstant geblieben ist, werden mit einer Pipette etwa 11 ccm Milch aus der Flasche B entnommen und möglichst schnell in ein in Eis stehendes dünnwandiges Reagensrohr übergeführt. Nach bestimmter Zeit wird diese Probeentnahme wiederholt. Als Zeitpunkt der Probeentnahme wird der Augenblick angenommen, wo die Pipette in F eingeführt wird. Zu erwähnen ist, daß die Temperatur der Milch in B bei den Versuchen um nicht mehr als  $0,1^{\circ}$  C schwankte. Inzwischen ist ein Teil derselben Milch, welche für den Erhitzungsversuch verwendet wird, sterilisiert und auf Zimmertemperatur abgekühlt. Aus diesem und einem weiteren roh aufbewahrten Teil der Milch werden die früher erwähnten 33 Mischungen von bekannter Zusammensetzung hergestellt. Von diesen Mischungen und von den wieder auf Zimmertemperatur gebrachten Milchproben aus der Woulff'schen Flasche werden je 10 ccm abpipettiert und mit den Storch'schen Reagenzien versetzt. Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde wird die Farbe jeder Probe mit der der Vergleichsskala verglichen.

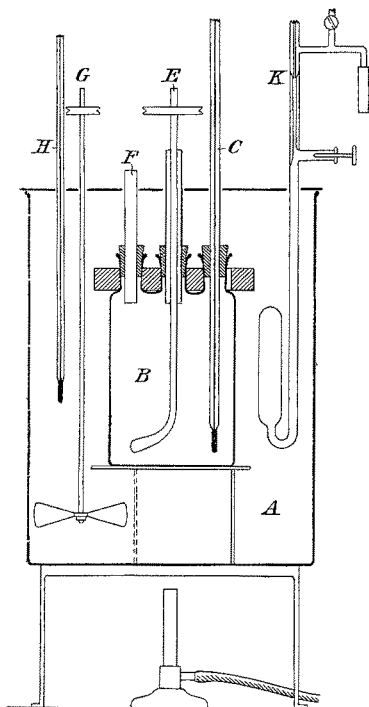


Fig. 1.

## Vergleichsskala.

No.	ccm Milch		No.	ccm Milch		No.	ccm Milch	
	roh	sterilisiert		roh	sterilisiert		roh	sterilisiert
1	0,10	9,90	12	2,25	7,75	23	5,00	5,00
2	0,20	9,80	13	2,50	7,50	24	5,25	4,75
3	0,30	9,70	14	2,75	7,25	25	5,50	4,50
4	0,40	9,60	15	3,00	7,00	26	5,75	4,25
5	0,50	9,50	16	3,25	6,75	27	6,00	4,00
6	0,75	9,25	17	3,50	6,50	28	6,25	3,75
7	1,00	9,00	18	3,75	6,25	29	6,50	3,50
8	1,25	8,75	19	4,00	6,00	30	6,75	3,25
9	1,50	8,50	20	4,25	5,75	31	7,00	3,00
10	1,75	8,25	21	4,50	5,50	32	7,50	2,50
11	2,00	8,00	22	4,75	5,25	33	8,00	2,00

Die nachfolgende Tabelle gibt eine Übersicht der Ergebnisse eines Erhitzungsversuches bei  $71,45^{\circ}$  C:

## Erhitzungsversuch.

Zeit	Tempera- tur (° C)	Probe	Farbe No.	Zeit	Tempera- tur (° C)	Probe	Farbe No.
10 Uhr 49 Min.	70,60	—	—	11 Uhr 15 Min.	71,45	D	10—11
10 „ 51 „	71,05	—	—	11 „ 20 „	„	E	9
10 „ 53 „	71,20	—	—	11 „ 25 „	„	F	8+
10 „ 56 „	71,40	—	—	11 „ 30 „	„	G	7+
10 „ 58 „	71,45	—	—	11 „ 35 „	„	H	6
11 „ — „	„	A	19	11 „ 40 „	„	K	5—6
11 „ 5 „	„	B	16—	11 „ 45 „	„	L	5—
11 „ 10 „	„	C	12—13				

Nimmt man die Menge der in 10 ccm roher Milch vorhandenen Peroxydase = 10 an, so enthielt Probe A eine aktive Peroxydasemenge = 4,0, B = 3,25, C =  $\pm 2,4$ , D =  $\pm 1,9$  u. s. w.

Weil diese Peroxydasemengen sich immer auf ein Milchvolumen von 10 ccm beziehen, sind die erwähnten Zahlen ein Maß für die Peroxydase-Konzentration. Bei der graphischen Darstellung dieser Ergebnisse (Zeit und Enzymkonzentration als Koordinaten) bekommt man eine Kurve, nicht ungleich der logarithmischen Kurve, welche die Konzentrationsänderung bei einer monomolekularen Reaktion darstellt. Da schon bei einigen Enzymen nachgewiesen ist, daß die Verminderung ihrer Aktivität beim Erhitzen in wässriger Lösung nach den Gesetzen einer monomolekularen Reaktion vor sich geht, erschien es mir wünschenswert, die Aktivitätsverminderung der Peroxydase beim Erhitzen der Milch in dieser Hinsicht etwas eingehender zu betrachten. Die Konzentrationsänderung bei einer monomolekularen Reaktion findet bekanntlich statt nach der Gleichung:  $k = \frac{1}{T} \log. \text{nat.} \frac{a}{a-x}$ , wo a die Konzentration zur Zeit 0, x die Konzentration zur Zeit T und k eine Konstante bedeutet. Durch Einführung der für die Enzymkonzentration beim oben erwähnten Versuche ermittelten Werte für a und x und der zwischen je zwei Bestimmungen vergangenen Zeit in Minuten für T, kann man für jedes Intervall zwischen zwei Bestimmungen die Größe von k berechnen. Diese Werte für k müssen gleich groß sein, wenn es sich bei der Peroxydaseabtötung in der Tat um eine monomolekulare Reaktion handelt. Aus nachstehender Tabelle eines bei 70,8° ausgeführten Versuches ergibt sich, daß die Zahlenwerte von k, wenn sie auch nicht tadellos stimmen, um ein Mittel von 0,0276 schwanken und jedenfalls nicht mit der Zeit wachsen oder abnehmen. Mit Rücksicht auf die verschiedenen Versuchsfehler darf die Übereinstimmung für befriedigend erachtet werden, weil die Größe von k durch einen geringen Fehler in der Bestimmung von a oder x sehr merklich beeinflusst wird.

Zeit	Enzymkon- zentration gefunden	k	T'	Enzymkon- zentration berechnet
10 Uhr 35 Min.	6,6	—	15,05	6,68
10 „ 45 „	5,1	0,0258	13,3	5,07
10 „ 52 1/2 „	4,25	0,0243	13,5	4,12
11 „ — „	3,25	0,0358	15,7	3,35
11 „ 5 „	2,9	0,0228	14,85	2,92
11 „ 10 „	2,5	0,0297	15,2	2,54
11 „ 15 „	2,25	0,0211	14,0	2,22
11 „ 20 „	1,9	0,0338	15,2	1,93
Mittel	—	0,0276	14,6	—

Mit Hilfe der auf diese Weise gefundenen Mittelwerte für  $k = 0,0276$  kann man jetzt auch berechnen, während wieviel Minuten ( $T'$ ) die Milch auf  $70,8^{\circ}$  erhitzt werden muß, um die Enzymkonzentration von 10 (Konzentration der Peroxydase in roher Milch) bis auf die verschiedenen wahrgenommenen Werte sinken zu lassen für den theoretischen Fall, daß die Milch, ohne Vorwärmung, momentan bis auf  $70,8^{\circ}$  erhitzt worden war. Man hat in der obenerwähnten Formel für  $k$  einzusetzen  $0,0276$  für  $a$  den Wert 10 und für  $x$  die ermittelte Konzentration. Man findet sodann für  $T'$  verschiedene Werte, welche, wenn sie um die Anzahl Minuten vermindert werden, welche zwischen der ersten und jeder der folgenden Probeentnahmen liegt, wieder gleich

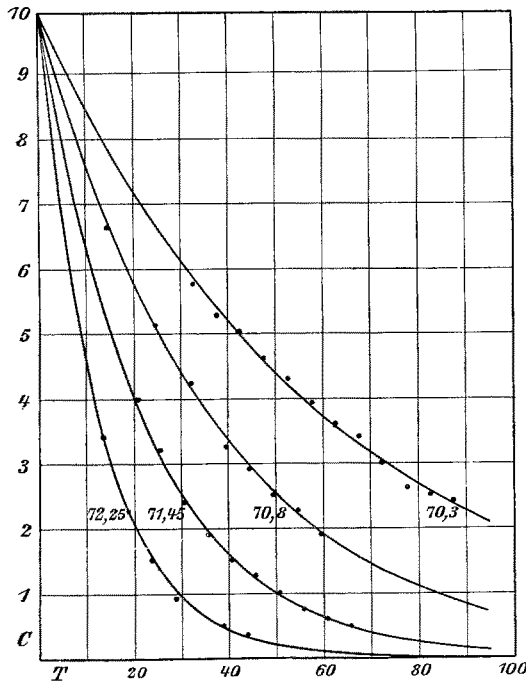


Fig. 2.

große Zahlen ergeben müssen, für die Zeit, während welcher die Milch — bei unendlich kurzer Vorwärmung — auf  $70,8^{\circ}$  erhitzt werden muß, um eine gleich große Aktivitätsverminderung der Peroxydase hervorzurufen, wie sie in der Tat durch die stattgefundene Erwärmung erzielt ist. Diese Zahlen finden sich in der vierten Spalte der vorstehende Tabelle (S. 397); sie schwanken um ein Mittel von 14,6 Minuten, welche Zeit mit der wirklichen Dauer der Vorwärmung nicht in Widerspruch steht. Schließlich kann man mit Hilfe der gefundenen Werte für  $k$  und  $T'$  die Enzymkonzentration für jeden Zeitpunkt während des Erhitzungsversuches berechnen. Die auf diese Weise berechneten Werte der Enzymkonzentrationen zur Zeit der Probeentnahmen finden sich in der fünften Spalte. Wie ersichtlich, ist die Übereinstimmung der berechneten und ermittelten Werte durchaus befriedigend und liegen die Differenzen innerhalb der Versuchsfehler.

Die Ergebnisse einiger gleichartiger Versuche mögen hier folgen; in Fig. 2 sind sie graphisch dargestellt.

I. Temperatur  $70,3^{\circ}\text{C}$ ;  $k = 0,0165$ ;  $T' = 32,6$ .

Zeit . . . . .		$10^{35}$	$11^{00}$	$11^{15}$	$11^{10}$	$11^{15}$	$11^{20}$	$11^{25}$	$11^{30}$	$11^{35}$	$11^{40}$	$11^{45}$	$11^{50}$
Konzentration {	berechnet	5,84	5,38	4,95	4,56	4,20	3,86	3,56	3,28	3,06	2,78	2,57	2,36
	gefunden	5,75	5,25	5,0	4,6	4,3	3,9	3,6	3,4	3,0	2,6	2,5	2,4

II. Temperatur  $70,8^{\circ}\text{C}$ ;  $k = 0,0276$ ;  $T' = 14,6$ .

Zeit . . . . .		$10^{35}$	$10^{45}$	$10^{52}$	$11^{00}$	$11^5$	$11^{10}$	$11^{15}$	$11^{20}$
Konzentration {	berechnet	6,68	5,07	4,12	3,35	2,92	2,54	2,22	1,93
	gefunden	6,6	5,1	4,25	3,25	2,9	2,5	2,25	1,9

III. Temperatur 71,45° C;  $k = 0,0462$ ;  $T' = 20,37$ .

Zeit . . . . .	11 <sup>00</sup>	11 <sup>05</sup>	11 <sup>10</sup>	11 <sup>15</sup>	11 <sup>20</sup>	11 <sup>25</sup>	11 <sup>30</sup>	11 <sup>35</sup>	11 <sup>40</sup>	11 <sup>45</sup>	
Konzentration {	berechnet	3,90	3,10	2,46	1,95	1,55	1,23	0,96	0,77	0,61	0,49
	gefunden	4,0	3,2	2,4	1,9	1,5	1,25	1,0	0,75	0,6	0,5

IV. Temperatur 72,25° C;  $k = 0,0792$ ;  $T' = 13,6$ .

Zeit . . . . .		11 <sup>17</sup>	11 <sup>22</sup>	11 <sup>27</sup>	11 <sup>32</sup>	11 <sup>37</sup>	11 <sup>42</sup>	11 <sup>47</sup>
Konzentration {	berechnet	3,40	2,29	1,54	1,04	0,70	0,47	0,32
	gefunden	3,4	2,25	1,5	0,9	—	0,5	0,35

Aus der sehr befriedigenden Übereinstimmung der gefundenen Werte für die Peroxydasekonzentration und der Werte, welche für diese berechnet sind, unter der Voraussetzung, daß die Vernichtung der Aktivität der Peroxydase nach der Formel einer monomolekularen Reaktion vor sich geht, glaube ich schließen zu dürfen, daß die „Abtötung“ der Peroxydase beim Erhitzen der Milch in gleichartiger Weise wie bei anderen Enzymen beim Erhitzen ihrer wässerigen Lösungen stattfindet und durch die Formel dargestellt werden kann:

Aktive Peroxydase  $\pm$  H<sub>2</sub>O = inaktive Peroxydase,

ohne daß damit gesagt sein soll, daß in der Tat Aufnahme oder Abspaltung eines Wassermoleküls stattfindet.

Aus dieser Auffassung ergibt sich eine befriedigende Erklärung für einige schon längst bekannte Tatsachen. Es ist klar, daß man durch bloßes Erhitzen der Milch die Peroxydase theoretisch nicht vollständig vernichten kann, und obgleich die Zerstörung des wirksamen Enzyms bei einer einigermaßen hohen Temperatur sehr bald eine praktisch vollkommene ist, kann man bisweilen die Anwesenheit der letzten unversehrt gebliebenen Reste der Peroxydase erkennen. Wird die Milch z. B. während nicht zu langer Zeit auf 80° C erhitzt, so bekommt man mit den Storch'schen Reagenzien eine sehr geringe Blaufärbung. Wenn es sich hier, wie man allgemein annimmt, um eine Oxydation des Paraphenylendiamins durch das Wasserstoffsuperoxyd handelte, ist keine befriedigende Erklärung für die Tatsache zu finden, daß diese Blaufärbung um so später und um so schwächer auftritt, je länger die Milch erhitzt wird, und daß in sterilisierter Milch sogar nach längerer Zeit gar keine Reaktion auftritt. Ich glaube diese geringen Blaufärbungen in ziemlich stark erhitzter Milch zurückführen zu müssen auf die Anwesenheit von Spuren Peroxydase, welche die Erhitzung der Theorie gemäß überstanden haben und welche sich durch die außerordentliche Empfindlichkeit der Storch'schen Reagenzien erkennbar machen. Auch läßt sich aus dem Vorstehenden eine Erklärung entnehmen für die unbefriedigende Übereinstimmung der von verschiedenen Autoren angegebenen oberen Temperaturgrenze der Peroxydasevernichtung. Von einer derartigen Grenze kann eigentlich überhaupt nicht die Rede sein. Die Vernichtung der Peroxydase geht um so schneller vor sich, bei je höherer Temperatur die Milch erhitzt wird, immer aber braucht man einige Zeit, um einen so großen Teil des Enzyms zu zerstören, das man den Rest nicht mehr nachweisen kann. Wenn man versucht, eine obere Temperaturgrenze zu bestimmen durch allmähliches Erhitzen einer bestimmten Menge Milch, und ermittelt, bis auf welche Temperatur man erhitzen muß, um eine negative Reaktion zu erhalten, wird es nur bedingt durch die Schnelligkeit, mit welcher die Temperatur ansteigt, welche Temperaturgrenze man finden wird. Weil aber diese Schnelligkeit vor allem durch die Größe der verwendeten Milchmenge

bedingt wird, wird man eine um so höhere Grenze finden, mit je weniger Milch man den Versuch anstellt. Dies ist die Ursache, daß de Jong und de Graaf, welche mit geringen Milchmengen arbeiteten, nach einer Erhitzung bis auf 86° C noch wirksames Enzym nachweisen konnten.

Bezüglich der Beständigkeit der Milchperoxydase gegen Erhitzen würde man bei fortgesetzter Untersuchung nur feststellen können, wie lange man eine Milch auf einer bestimmten Temperatur halten muß, um mit einer Reaktion von bestimmter Empfindlichkeit keine wirksame Peroxydase mehr nachweisen zu können. Hierbei wäre die Zusammensetzung und namentlich der Säuregrad der Milch in Betracht zu ziehen.

Bezüglich der Beurteilung von pasteurisierter Milch mittels der Peroxydase-reaktion ergibt sich aus dem Vorstehenden folgendes:

Eine negative Peroxydasereaktion läßt uns über die stattgefundene Erhitzungsweise im unklaren. Eine kurze Erhitzung auf höhere Temperatur kann, gleich wie eine längere Erwärmung bei niedrigerer Temperatur eine praktisch vollständige Vernichtung der Peroxydase herbeiführen. Und solange es nicht feststeht, daß diese beiden Erhitzungsweisen auf die zu vernichtenden pathogenen Organismen eine gleiche abtötende Wirkung ausüben, darf man aus einer negativen Peroxydasereaktion nicht auf eine zweckmäßige Pasteurisation schließen.

Gleiches gilt für eine abgeschwächte Storch'sche Reaktion. Die Intensität dieser Reaktion in pasteurisierter Milch wird durch zwei Faktoren, Temperatur und Dauer der Erhitzung, bedingt. Selbst wenn also die Intensität der Reaktion der rohen Milch bekannt war, wäre es unmöglich, aus einer einzigen Bestimmung die Größe dieser beiden Faktoren kennen zu lernen.

Eine Storch'sche Reaktion von bestimmter Intensität kann man hervorrufen durch verschieden lange Erhitzung bei einer Reihe von Temperaturen und daher muß man auch hier sagen, daß eine mehr oder weniger kräftige Storch'sche Reaktion kein sicherer Beweis ist für die Unzweckmäßigkeit oder Zweckmäßigkeit der stattgefundenen Pasteurisation, weil man eben nicht weiß, ob die verschiedenen Erhitzungsweisen, welche einen gleichen Teil der Peroxydase zerstören, auch auf die zu tötenden Bakterien eine gleich große schädliche Wirkung ausüben. Bei der regelmäßigen Kontrolle der pasteurisierten Milch kann jedoch die Storch'sche Reaktion von Nutzen sein, weil in der Praxis die Vorwärmung und die Abkühlung der Milch nicht ganz willkürlich geändert werden können und weil man meistens mit der in jedem Betriebe angenommenen Arbeitsmethode bekannt ist. Änderungen im Betriebe werden sich bald erkennbar machen durch Änderungen in der Intensität der Peroxydasereaktion und in diesem Sinne wird diese Reaktion wertvolle Dienste leisten können. An und für sich aber kann sie nicht mehr geben als Andeutungen, welche immer durch eingehendere bakteriologische und chemische Untersuchungen ergänzt werden müssen, um sich über die Zweckmäßigkeit der stattgefundenen Pasteurisation ein richtiges Urteil bilden zu können.