

(Aus dem physiologischen Institute zu Breslau.)

Mittheilung zweier einfachen Methoden, den Zuckergehalt der Milch zu bestimmen.

Von

Richard Gscheidlen.

Versetzt man Milch mit Natronlauge und lässt 24 bis 48 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen, so theilt sich die Mischung in eine klare rothe Flüssigkeit und ein gelblich weisses Coagulum, das aus Casein und Fett besteht. Den nämlichen Effekt erzielt man, wenn man Milch mit Natronlauge kocht; doch scheidet sich dann das Coagulum nicht im Zusammenhange, sondern in Flöckchen aus, weshalb filtriren nothwendig ist. Die Flüssigkeiten unterscheiden sich aber auch dadurch von einander, dass die Verdünnungen der bei gewöhnlicher Temperatur erhaltenen rothen Lösungen stets einen röthlichen Ton bewahren, während die Farbe der Lösungen, die durch Kochen mit Natronlauge erhalten wurde, mehr bräunlich ist und bei der Verdünnung allmählig gelblich wird.

Die rothe bis braunrothe Färbung der Milch bei der Behandlung mit Natronlauge ist allein auf den Gehalt derselben an Milchzucker zurückzuführen, denn weder das Casein noch das Albumin, noch die Fette geben mit Natronlauge behandelt röthliche Flüssigkeiten; von dem Milchzucker aber wissen wir seit Heller¹⁾, dass derselbe mit Aetzalkalien gekocht sich roth bis braunroth färbt. Dass dem so ist, erhellt noch weiter daraus, dass in Milch nach Entfernung obiger Stoffe bei Zusatz von Natronlauge die nämliche Färbung entsteht, die bei Anwesenheit dieser Stoffe in der frischen Milch durch die gleiche Menge Natronlauge

1) Heller. Höchst einfache und sichere Methode zur Diagnose des Zuckers in thierischen Flüssigkeiten; Unterscheidung des Harn-, Milch- und Rohrzuckers. Dessen: Arch. für physiol. und pathol. Chem. und Microscop. Jahrg. 1844. S. 297.

hervorgerufen wird. Zugleich aber ersieht man auch, dass die Anwesenheit des Caseins der Milch, welches durch den Zusatz der Natronlauge in Lösung gehalten wird und das durch Säuren, z. B. Salzsäure, unter Entfärbung der rothen Flüssigkeit abgeschieden werden kann, nicht störend einwirkt.

Die Intensität der Färbung der Milch durch Natronlauge zeigt sich abhängig einmal von dem Gehalte derselben an Milchzucker, dann von der Menge und der Concentration der zugefügten Natronlösung, der Zeit der Einwirkung derselben auf die Milch und der Temperatur, bei welcher diese statt hatte. Es wurde dies durch besondere Versuche ermittelt, in welchen verschiedene Mengen Milch, die Multipla von einander bildeten, durch Zusatz von Wasser auf gleiche Volumina gebracht, mit gleichen oder verschiedenen Mengen Natronlauge versetzt wurden. Die Mischungen blieben entweder bei gewöhnlicher Temperatur 24 bis 48 Stunden stehen oder wurden im Brütöfen bei 40° C. gehalten oder im Glycerinbade gleiche Zeit gekocht. Die auf diese Weise erhaltenen Flüssigkeiten bildeten je eine Skala, die sich innerhalb einer bestimmten Concentration abhängig von dem Zuckergehalte und der zugefügten Menge Natronlauge erwies. Um ihre Farbenintensität zu messen, wurden die Flüssigkeiten in planparallele Glaskästchen gebracht und in jedes soviel Wasser gegeben, bis Farbengleichheit eintrat. Den Ausgangspunkt für die Vergleichung bildete je die am geringsten gefärbte Flüssigkeit.

Ich führe keine Tabellen als Belege für das Gesagte an, da die Beobachtungen sich vollständig denen analog erwiesen, die von Vogel¹⁾ und Paschutin²⁾ über das Verhalten des Traubenzuckers gegen Kalilauge gemacht wurden. In Bezug auf die Dauer der Einwirkung der Wärme ist zu bemerken, dass je höher die Temperatur, desto rascher die Färbung der Zuckerlösung bei der Behandlung mit Natronlauge eintritt; werden die Lösungen gekocht, so ist, wenn das Kochen 2 bis 4 Minuten dauert, kein Unterschied in der Intensität der Farbe wahrzunehmen, dauert dasselbe aber

1) Vogel. Methode zur quantitativen Bestimmung des Zuckers im diabetischen Harn. Arch. d. Verf. f. wissensch. Heilk. Bd. I. S. 257. 1865.

2) Paschutin. Einige Versuche mit Fermenten, welche Stärke und Rohrzucker in Traubenzucker verwandeln. Arch. für Anat., Physiol. und wissensch. Med. Jahrg. 1871. S. 316.

6 bis 10 Minuten, so beobachtet man, dass die Farbe der Lösungen dunkler wird.

Mit der Feststellung dieser und obiger Befunde war die Möglichkeit gegeben, den unbekannten Gehalt einer Lösung von Milchzucker nach der Behandlung mit Natronlauge durch den Vergleich mit einer ebenso behandelten Lösung von bekanntem Gehalte auf colorimetrischem Wege zu finden oder durch den Spektralapparat, der mit der Vierordt'schen Einrichtung versehen ist, zu ermitteln. Wie man dabei zweckmässig verfährt, ist in nachfolgenden Zeilen enthalten.

Will man den Zuckergehalt der Milch auf colorimetrischem Wege finden, so gilt es zunächst, sich eine Normallösung zu verschaffen. Man bereitet sich eine solche, indem man eine 4—5 % Milchzuckerlösung mit dem nämlichen Volumen Natronlauge von etwa 20 % verdünnt und die Mischung 2 bis 3 Minuten kocht, oder indem man statt des reinen Milchzuckers Milch, deren Zuckergehalt nach Abscheidung der Eiweisskörper nach Hoppe-Seyler oder Ritthausen mittelst der Fehling'schen Lösung genau bestimmt, ebenfalls mit der nämlichen Menge 20 % Natronlauge verdünnt, 2—3 Minuten kocht und durch Asbest filtrirt.

Um nun den unbekannten Gehalt einer Milch an Milchzucker zu finden, misst man sich etwa 10 cbcm derselben ab, fügt ebensoviel Natronlauge von 20 % hinzu, kocht gleiche Zeit wie bei Herstellung der Normallösung und filtrirt. Hierauf misst man je 1 cbcm der so behandelten Milch und 1 cbcm der Normallösung in ein planparalleles Glaskästchen ab und verdünnt diese durch Zusatz von je 4 cbcm Wasser. Bei dem Vergleiche der Farbe beider Flüssigkeiten im durchfallenden Lichte wird sich nun ergeben, falls nicht Normallösung und zu untersuchende Milch gleichen Zuckergehalt besitzen, dass die eine dunkler ist als die andere. Um Farbengleichheit zu erzielen, setzt man zu der dunkleren Lösung so lange Wasser aus einer Preyer'schen Bürette bis Farbengleichheit eintritt. Aus dem Volumen der ursprünglichen Flüssigkeit und der Menge des zugesetzten Wassers bis zum Eintritt der Farbengleichheit berechnet sich dann der Gehalt der Milch an Milchzucker.

Eine Anschauung von der Leistungsfähigkeit der Methode gibt folgender Versuch: verdünnt man je 1 cbcm Milch mit 3 und 4 cbcm Wasser und fügt man zu jeder Mischung ihr gleiches Vo-

lumen Natronlauge von etwa 20 ‰, so erhält man Lösungen, die wenn z. B. der Gehalt an Milchzucker 4 ‰ beträgt, in 1 cbcm. 0,005 und 0,004 gr Milchzucker enthalten. Kocht man nun beide Flüssigkeiten, filtrirt und bringt gleiche Volumina in planparallele Glaskästchen, so wird man einen ganz bemerkenswerthen Unterschied in der Farbe erkennen. Um Farbengleichheit zu erzielen, wird man einige Cubikcentimeter Wasser zu der Flüssigkeit zuzusetzen haben, die 0,005 gr Milchzucker enthält.

Diese Methode der Zuckerbestimmung leidet wie alle colorimetrischen an einem Uebelstande. Sie setzt nämlich eine Zuckerlösung von bekanntem Gehalte als Vergleichsflüssigkeit voraus. Da aber eine solche auf oben angegebene Weise bereitet, sich nicht sehr lange hält, so wäre diese häufig frisch anzufertigen. Dem kann aber dadurch abgeholfen werden, dass man statt der Vergleichsflüssigkeit ein geeignet gefärbtes gelbes Glas sich wählt, welches der Farbe einer mit Natronlauge bestimmte Zeit gekochten Milch von bekanntem Zuckergehalte in 1 cm dicken Schicht entspricht. Man erlangt auf diese Weise ein für allemal ein Vergleichsobject, das stets zur Hand ist. Die Methode gewinnt dadurch wesentlich an allgemeiner Brauchbarkeit.

Hat man die Farbe des Glases mit einer Zuckerlösung von bekanntem Gehalte und 1 cm Dicke der Schicht verglichen und berechnet man den gefundenen Werth auf 100 cbcm, so findet man den Zuckergehalt einer Flüssigkeit, wenn man in beschriebener Weise verfährt, procentisch aus der Gleichung

$$x = 2(n + 1) \cdot y,$$

in welcher x den gesuchten Zuckergehalt, n die Anzahl der zur Verdünnung verwandten Cubikcentimeter, y den procentischen Gehalt der Normallösung bei 1 cm Dicke der Schicht resp. der gelben Glasplatte anzeigt.

War es z. B. nöthig, zu 1 cbcm der zu gleichen Theilen mit Natronlauge verdünnten und gekochten Milch 6 cbcm Wasser zu setzen bis die Flüssigkeit die gleiche Farbe wie die gelbe Glasplatte hatte und entspricht der Farbe der Platte ein Zuckergehalt von 0,307 ‰, so ist der Procentgehalt der Milch an Milchzucker

$$\begin{aligned} &= 2(6 + 1) \cdot 0,307 \\ &= 4,298. \end{aligned}$$

Nachfolgende Tabelle enthält Milchzuckerbestimmungen, die einmal nach der Methode von Fehling, dann mittelst des eben geschilderten colorimetrischen Verfahrens bestimmt wurden.

Versuch	Fehling'sche Methode	Colorimetrische Methode
I.	4,73	4,80
II.	4,76	4,78
III.	4,76	4,81
IV.	4,70	4,70
V.	4,49	4,54
VI.	4,49	4,50

Der Zuckergehalt der Milch kann nach der Behandlung mit Natronlauge wie auf colorimetrischem Wege, so auch durch den Spektralapparat, der mit der Vierordt'schen Einrichtung versehen ist, ermittelt werden.

Zu dem Zwecke ist es zunächst nöthig, den Exstinctionscoëfficienten sowie das Absorptionsverhältniss, wie Vierordt¹⁾ sich ausdrückt, der mit Natronlauge behandelten Milch von bekanntem Zuckergehalte ein für allemal festzustellen. Hat man dieselben einmal ermittelt, so ist es leicht, den unbekannten Gehalt einer mit Natronlauge behandelten Milch an Milchzucker aus dem jeweiligen Exstinktionscoëfficienten abzuleiten. Derselbe ergibt sich aus der Gleichung

$$c = A \cdot a,$$

bei der c den zu ermittelnden Gehalt, A das Absorptionsverhältniss und a den Exstinktionscoëfficienten bezeichnet.

Bevor ich zur Anwendung der Vierordt'schen Methode schritt, untersuchte ich eingedenk der Mahnung von Korniloff²⁾ die Leistungsfähigkeit meines Auges, indem ich die beiden über einander liegenden Spaltöffnungen des Spektralapparates abwechselnd erweiterte und sie dann genau gleich lichtstark zu machen suchte. Die Breite des einen Eintrittspaltes blieb stets gleich; sie entsprach der einmaligen Umdrehung einer Mikrometerschraube, die mit einer in 100 Grade getheilten Messtrommel versehen war. Die Grösse der Abweichung von 100° entsprach dem bei der Ablesung begangenen Fehler, der unmittelbar abgelesen werden konnte. Als Lichtquelle diente eine gleichmässig brennende Petroleumlampe. Bei der Untersuchung der verschiedenen Regionen des Spektrums stellte sich nun bei mir heraus, dass ich bei dem Bestreben, beide Spaltöffnungen gleich zu machen, wenn der übrige Theil des Spek-

1) Vierordt. Die Anwendung des Spektralapparates zur Photometrie der Absorptionsspektren und zur quantitativen chemischen Analyse. S. 26. 1873.

2) Korniloff. Vergleichende Bestimmungen des Farbstoffgehaltes im Blute der Wirbelthiere. Zeitschr. f. Biolog. Bd. 12. S. 516. 1876.

trums abgeblendet war, im Grün die geringsten Fehler machte. Die Bestimmung der Menge des Milchzuckers in der mit Natronlauge behandelten Milch auf spektral-analytischem Wege nahm ich deshalb stets im Grün vor. Dieselbe geschah in folgender Weise:

Nachdem die obere Spaltöffnung so eingestellt war, dass sie durch eine einmalige Umdrehung der Trommel vollständig verdeckt wurde, wurde die Milch mit Natronlauge gekocht, durch Asbest filtrirt und in einem planparallelen Trögehen von 1 cm Breite vor die untere Spalte des Spektralapparates gebracht. Nun wurde so lange an der oberen Messtrommel gedreht, bis beide Spektren nach meinem Dafürhalten gleich lichtstark waren und der Stand der Trommel notirt. Hierauf wurde die Spaltöffnung ganz zuge dreht und allmählig erweitert bis die beiden Spektren wieder gleich lichtstark waren und abermals der Stand der Trommel notirt. Das Mittel aus diesen beiden Ablesungen, die indessen stets mehreremale wiederholt wurden, ergab die übrig gebliebene Lichtstärke. Daraus wurde das Absorptionsverhältniss sowie der Extinktionscoefficient bei jeder einzelnen Bestimmung berechnet und dann weiter der Gehalt der Milch an Zucker aus obiger Formel abgeleitet.

Die mittelst dieser Methode erhaltenen Werthe enthält nachfolgende Tabelle. Zum Vergleiche sind die Werthe, die einestheils auf colorimetrischem Wege, andernteils nach Abscheidung der Eiweisskörper mittelst der Fehling'schen Lösung erhalten wurden, beigelegt.

Versuch.	Methode von Fehling.	Colorimetrische Methode.	Spektralanalytische Methode.
I.	4,73	4,80	4,77
II.	4,76	4,78	4,72
III.	4,76	4,81	4,82
IV.	4,70	4,70	4,64
V.	4,49	4,54	4,54
VI.	4,49	4,50	4,54

Der Vergleich der auf colorimetrischem Wege, mittelst des Spektralapparates und der Fehling'schen Lösung erzielten Werthe ergibt nahe Uebereinstimmung.

Es bleibt noch übrig, die Leistungsfähigkeit der beiden beschriebenen Methoden mit denen zu vergleichen, die zur Bestimmung des Milchzuckers der Milch am häufigsten in Gebrauch sind. Zu dem Ende bestimmte ich den Zuckergehalt der Milch nach der

Methode von Haidlen, mittelst des Circumpolarisationsapparates und der Fehling'schen Lösung nach den von Boudet und Boussingault, Hoppe-Seyler und Ritthausen angegebenen Verfahrungsweisen.

Die Methode der Milchzuckerbestimmung von Haidlen¹⁾ besteht bekanntlich darin, dass man Milch mit Gyps vermischt zur Trockene verdampft, den Rückstand mit Aether auszieht und das, was in Aether unlöslich geblieben, so lange mit Spiritus von 0.85 spec. Gew. behandelt, als derselbe noch etwas aufnimmt. Hat man die in Angriff genommene Milchmenge zu Anfang bestimmt und den Rückstand nach der Extraction desselben mit Aether gewogen und wiegt man denselben nach Behandlung mit Spiritus wieder, so giebt der Gewichtsverlust die Menge des Milchzuckers und der in Spiritus löslichen Salze an.

Das Verfahren ist umständlich und giebt, da die Salze der Milch, die in Alkohol löslich sind, den Milchzuckergehalt vermehren, zu hohe Werthe. Genauer werden natürlich die Resultate, wenn man die Menge der durch den Alkohol ausgezogenen Salze durch Einäschern bestimmt und hiernach das zuerst ermittelte Gewicht corrigirt. In der weiter unter folgenden Tabelle ist diese Correktur an den gefundenen Milchzuckermengen vorgenommen.

Die Bestimmung des Milchzuckers der Milch durch Circumpolarisation geschieht am besten nach der von Hoppe-Seyler²⁾ angegebenen Vorschrift. Dieselbe besteht darin, dass man Milch mit dem halben Volumen einer wässrigen Lösung von Bleiacetat von 1.080 spec. Gew. versetzt, das Gemisch in einem Kolben zum Kochen erhitzt und rasch filtrirt. Das Filtrat ist dann meist klar, fast wasserhell. Wird dieses in einen Soleil-Ventzke-Hoppe-Seyler'schen Polarisationsapparat gebracht, so giebt die beobachtete Drehung mit 1.44 multiplicirt den Procentgehalt der Milch an Milchzucker bei 1 dec. Länge der Flüssigkeitsschicht an. Eine Irrung von 0.1 Skalenthail bringt, wie man sieht, schon eine Differenz von 0.144 % mit sich. Nach diesem Verfahren wurden die in der unten folgenden Tabelle verzeichneten Werthe erhalten, die das Mittel aus mehreren Bestimmungen bilden.

1) Haidlen. Ueber die Salze und die Analyse der Kuhmilch. *Annal. der Chem. und Pharm.* Bd. 45 S. 273, 1843.

2) Hoppe. Bestimmung des Milchzuckergehaltes der Milch mittelst des Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparates. *Virchow's Archiv* Bd. 13, S. 276, 1858.

Mittelst der Fehling'schen Lösung erzielt man nur dann genaue Resultate, wenn die Eiweisskörper der Milch vollständig entfernt sind, wie dies von Hoppe-Seyler¹⁾ oder jüngst von Ritthausen²⁾ angegeben wurde. Bestimmt man den Zuckergehalt der Milch direkt mittelst der Fehling'schen Lösung, wie Boudet und Boussingault³⁾ vorschlugen, so erhält man fehlerhafte Resultate trotz der Versicherung dieser Forscher, dass man in der unverdünnten Milch den Zuckergehalt mittelst der Fehling'schen Lösung ebenso genau bestimmen könne, als nach Abscheidung dieser Stoffe.

Ver- such.	Methode von Haidlen.	Methode von Bou- det und Boussin- gault.	Feh- ling'sche Lösung.	Polar- isations- apparat.	Colori- metrische Methode.	Spektral- analytische Methode.
I	—	4,16	4,73	4,46	4,80	4,77
II.	—	4,04	4,76	4,84	4,78	4,72
III.	4,70	4,32	4,76	4,70	4,81	4,82
IV.	4,72	4,52	4,70	4,04	4,70	4,64
V.	4,42	3,94	4,49	4,89	4,54	4,54
VI.	4,48	4,28	4,49	4,70	4,50	4,54

Aus dieser Tabelle ersieht man, dass der Zuckergehalt der Milch mittelst der colorimetrischen Methode oder mittelst des Spektralapparates bestimmt mit der Fehling'schen Methode übereinstimmendere Resultate giebt, als mittelst der Methode von Boudet und Boussingault oder mittelst des Circumpolarisationsapparates zu erreichen sind. Beide hier mitgetheilten Methoden empfehlen sich durch ihre Einfachheit und rasche Ausführbarkeit zu allgemeiner Anwendung, um so mehr, da sie nur wenig Material erfordern. Als Beleg für diese Behauptungen führe ich die Bestimmung des Zuckergehaltes der Milch von Wöchnerinnen an, welche sich im Beginn der Lactation befanden; Bestimmungen des Zuckergehaltes solcher Milch liegen wenig vor. Das Material zu diesen Versuchen verdankte ich der Freundlichkeit des Herrn Dr. Alberts, Assistenten an der hiesigen gynäkologischen Klinik. Die von mir

1) Hoppe-Seyler, Handbuch der physiolog. und pathologisch-chemischen Analyse. S. 367, 1870.

2) Ritthausen, Neue Methode zur Analyse der Milch und über ein vom Milchzucker verschiedenes Kohlehydrat in der Milch. Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 15, S. 329, 1877.

3) Boudet, Note sur le dosage de la lactine dans le lait. Journ. de pharm. et de chimie, III. Sér. T. XXXIII. S. 416. 1858.

ermittelten Werthe in 100 Theilen Milch enthält nachfolgende Tabelle.

Alter der Wöchnerin.	Zeit nach der Geburt in Stunden.	Zahl der Geburten.	Zucker colorimetrisch bestimmt.	Zucker spektral-analytisch bestimmt.
18	2	1	3,438	3,424
28	45	2	4,297	—
23	74	2	3,070	—
23	78	2	3,684	3,604
28	130	1	4,420	4,450

Aus dieser Tabelle geht hervor, dass der Zuckergehalt der Frauenmilch einige Tage nach der Geburt geringer ist als in späterer Zeit, wo er nach Brunner¹⁾ etwas mehr als 6 % beträgt. Diese Beobachtung steht im Widerspruch zu der allenthalben citirten Angabe Simon's²⁾, dass der Zuckergehalt der Frauenmilch nach der Geburt abnimmt, im Einklange jedoch mit dem Befunde von Crusius³⁾ bei Kühen, dass der Gehalt der Milch an Zucker nach dem Kalben allmählig bis zu einer constanten Grösse zunimmt.

Ueber die Secretion der Niere.

Von

Dr. **Moritz Nussbaum.**

Für die Bowman'sche Theorie hat Heidenhain wichtiges Beweismaterial geliefert durch planmässig ausgeführte Injectionen von indigschwefelsaurem Natron in das Blut lebender Säugethiere. Eine unbefangene Kritik wird aber zugeben müssen, dass bis heute die Theorie Bowman's noch nicht als unumstösslich richtig gelten kann. Wollte man mit Sicherheit den Antheil an der

1) Brunner. Ueber die Zusammensetzung der Frauenmilch. Dieses Archiv Bd. 7 S. 453, 1873.

2) Simon. Die Frauenmilch nach ihrem chemischen und physiologischen Verhalten. S. 52, 1838.

3) Crusius. Ueber einige Veränderungen der Kuhmilch in deren Zusammensetzung und Nahrungswerth während der ersten Melkzeit. Journ. f. prakt. Chem. Bd. 68 S. 7, 1857.