

Vergleichende Prüfung einiger Käsefettbestimmungsmethoden mit besonderer Berücksichtigung eines abgeänderten Extraktionsverfahrens.

Von

Dr. N. A. Brodrick-Pittard.

(Mitteilung aus der Schweizerischen Milchwirtschaftlichen und Bakteriologischen Anstalt Liebefeld-Bern. Vorstand: Prof. Dr. K. Burri.)

[Eingegangen am 28. September 1914.]

In der Jahresversammlung 1913 des Schweizerischen Vereins analytischer Chemiker in Luzern unterzog O. Allemann¹⁾ die bekannteren Fettbestimmungsmethoden für Käse einer kritischen Betrachtung und berichtete ferner über eine in unserem

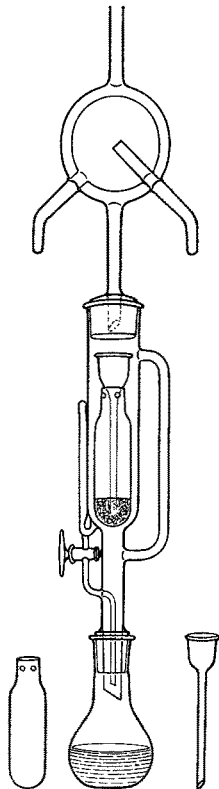
Laboratorium ausgearbeitete Abänderung der alten Soxhlet'schen Extraktionsmethode. Dieses abgeänderte Verfahren ist zur Feststellung seiner Brauchbarkeit mit der Methode von Schmid-Bondzynski, mit der von Ratzlaff empfohlenen Abänderung letzterer und mit der Methode von Gerber-van Gulik verglichen worden. Das Ergebnis dieser Untersuchungen bildet den Inhalt dieser Arbeit.

Der Gang des abgeänderten Extraktionsverfahrens sei der Vollständigkeit halber an dieser Stelle noch einmal kurz angeführt; im übrigen verweise ich auf den erwähnten Bericht, in welchem auch die bei diesem Verfahren zur Verwendung kommende Apparatur (siehe beistehende Abbildung) näher beschrieben wird.

1—5 g fein verriebener Käse (je nach dem Fettgehalt) werden in der gläsernen Hülse abgewogen und im siedenden Wasserbade mit 20 ccm 20—25%iger Salzsäure aufgeschlossen. Sodann wird die Hülse abgekühlt, äußerlich gereinigt und in den Extraktionsapparat gebracht. Nach dem Hineinbringen des kleinen Trichters in die Hülse wird das Salzsäure-Fettgemisch mit einem Fettlösungsmittel ausgezogen, das Lösungsmittel verdunstet und das Fett gewogen. Die Dauer der Extraktion ist natürlich abhängig von der Fettmenge; beispielsweise konnte bei Reihenuntersuchungen, bei 1,5 g angewandter Käsemasse, festgestellt werden, daß sämtliches Fett aus der Salzsäurelösung innerhalb 2 Stunden vollständig ausgezogen worden war. Eine Extraktionsdauer von 2½ bis 3 Stunden dürfte daher wohl in den meisten Fällen als genügend zu betrachten sein. Die diesbezüglichen analytischen Belege sind bereits in der erwähnten Arbeit veröffentlicht worden.

Von ganz besonderer Wichtigkeit bei der Fettbestimmung ist u. E. das Lösungsmittel für das Fett; gerade in dieser Hinsicht liegen nun noch verhältnismäßig wenig Untersuchungen vor, die begleitend dienen konnten. Aus diesem Grunde fühlten wir uns veranlaßt, einige diesbezügliche Feststellungen zu machen.

¹⁾ Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, veröffentlicht vom Schweiz. Gesundheitsamt 1913, 4, Heft 4.



Es sind nach der beschriebenen Extraktionsmethode vergleichende Fettbestimmungen einerseits mit Äther und andererseits mit einem Gemisch von gleichen Teilen Äther und Petroläther (Sdp. 30—50°) ausgeführt worden. Da von verschiedenen Seiten eine Zugabe von 5—10 ccm Alkohol zu dem Äther-Petroläthergemisch empfohlen wird, sind in einer weiteren Versuchsreihe 5 ccm Alkohol in die Einsatzhülse gegeben worden.

Die Analysenergebnisse sind in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

No.	Art des Käses	Extraktionsmittel		
		Äther	Äther-Petroläther	Äther-Petroläther + Alkohol
1	Emmentaler Käse .	33,91 % ; 33,96 %	33,43 % ; 33,38 %	33,14 % ; 33,18 % ¹⁾
2	" " .	33,00 " ; 33,17 "	32,79 " ; 32,72 "	32,03 " ; 30,52 " ¹⁾
3	" " .	34,73 " ; 34,73 "	33,96 " ; 34,10 "	34,32 " ; 34,61 "
4	" " .	32,47 " ; 32,59 "	32,08 " ; 32,06 "	32,32 " ; 32,23 "
5	" " .	32,50 " ; 32,47 "	31,94 " ; 32,10 "	32,33 " ; 32,22 "
6	" " .	30,89 " ; 30,73 "	29,94 " ; 30,34 "	30,66 " ; 30,85 "
7	Halbfettkäse . . .	13,12 " ; 13,12 "	12,47 " ; 12,72 "	11,04 " ; 13,11 "
8	Tilsiter	26,63 " ; 26,68 "	25,02 " ; 25,28 "	25,89 " ; 26,05 "

Ehe ich zur Betrachtung dieser Ergebnisse übergehe, möchte ich vorausschicken, daß die um durchschnittlich 0,5% niedrigeren Werte der Äther-Petroläther-Extraktion gegenüber der Extraktion mit reinem Äther es wünschenswert machten, die nach der Ratzlaff'schen Annahme durch Petroläther ausgeschiedenen Substanzen zu untersuchen und wenn möglich zu identifizieren.

Zu diesem Zwecke wurden 100 g Emmentaler Käse mit 20%-iger Salzsäure aufgeschlossen und im Katz'schen Extraktionsapparat mit Petroläther so lange ausgezogen, bis eine weitere zweitägige Kontrollextraktion kaum wägbare Mengen von Fett ergab. Bei der hierauf folgenden dreistündigen Extraktion mit Äther wurden etwa 0,25% eines Rückstandes erhalten, der sehr schnell erstarrte. Durch Behandeln mit Äther konnte das so gewonnene Extrakt in einen leicht löslichen Teil und in Spuren eines weniger leicht löslichen Teiles getrennt werden. Dieser letztere Anteil wurde wegen der äußerst geringen Menge vernachlässigt. Der in Äther leicht lösliche Teil zeigte unter dem Mikroskop feine Nadeln, die zum Teil zu Gruppen verwachsen waren und sich mit Schwefelsäure und etwas Jod-Jodkaliumlösung violett bis blauviolett färbten²⁾. Der Schmelzpunkt lag zwischen 147 und 150°. Die Krystalle waren leicht löslich in Alkohol, Chloroform, Äther und beinahe unlöslich in Petroläther und einem Gemisch von Äther und Petroläther. Eine geringe Menge von letzterem Lösungsmittel genügte, um aus der ätherischen Lösung die Substanz auszufällen; durch Zugabe von Alkohol entstand wieder vollkommene Lösung. Alle diese Befunde deuten darauf hin, daß diese Substanz zum größten Teil aus Cholesterin bestehen dürfte, und bestätigen die Angabe von M. Nierenstein³⁾, welcher im

¹⁾ Bei den Käsen 1 und 2 dieser Tabelle wurde mit gleichen Teilen Äther, Petroläther und Alkohol extrahiert.

²⁾ Abderhalden, Biochemische Arbeitsmethoden 2, 251.

³⁾ The Transformation of Proteins into fats during ripening of Cheese. Proc. of the Roy. Soc. B. Vol. 83.

Cheddarkäse gleichfalls 0,25 % Cholesterin nachgewiesen hat. Von A. Bömer¹⁾ und von A. Kirsten²⁾ sind quantitative Bestimmungen des Rohcholesterins in Milch- bzw. Butterfett durchgeführt worden. Ersterer fand bei 7 Proben Butter im Mittel 0,351 % Cholesterin und letzterer bei Anlaß einer Untersuchung des Einflusses der Lactationsperiode und des Alters der Kühe auf den Rohcholesteringehalt des Milchfettes bei 70 Analysen im Durchschnitt 0,423 %.

Da nun andererseits Cholesterin in Alkohol leicht löslich ist, so lassen sich die Ergebnisse der dritten Versuchsreihe ganz zwanglos erklären. Die prozentuale Fettzunahme bei Alkoholzusatz, gegenüber der Bestimmung mit Äther-Petroläther, ist zweifellos darauf zurückzuführen, daß das durch den Petroläther herabgesetzte Lösungsvermögen des Äthers durch Zugabe von Alkohol zum Teil wieder hergestellt worden ist. Infolgedessen werden Zahlen erhalten, die sich denen der Extraktion mit reinem Äther nähern. Dieser die Fettausbeute begünstigende Einfluß des Alkohols geht auch aus der Arbeit von H. Höft³⁾ hervor. Dieser Autor hat an der Hand von 20 Fettbestimmungen im Käse nach dem abgeänderten Schmid-Bondzynski'schen Verfahren, d. h. also bei der Extraktion mit Äther-Petroläther, festgestellt, daß durch Zusatz von Alkohol eine Mehrausbeute von durchschnittlich 0,19 % Fett erhalten werden konnte.

Bei der Extraktion unter Zusatz von Alkohol darf aber nicht außer Betracht gelassen werden, daß dieses Lösungsmittel unter Umständen eine Esterifizierung der im Käse vorhandenen Fettsäuren herbeiführen kann. Diese Ester sind bei der zum Trocknen des extrahierten Fettes nötigen Temperatur zum Teil flüchtig und verursachen hierdurch ungenaue Ergebnisse; dafür sprechen die niedrigen Analysenzahlen der Käse 1 und 2 in der dritten Reihe der Tabelle, ebenso die nicht übereinstimmenden Ergebnisse bei Halbfettkäse.

Die Extraktion mit Äther ergibt dagegen stets gut übereinstimmende Werte und die beste Fettausbeute. Dies ist auch ohne weiteres verständlich, wenn man die Leichtlöslichkeit des Cholesterins in Äther berücksichtigt.

Da Cholesterin ein Bestandteil des Rohfettes ist, so ergibt sich aus obigen Betrachtungen, daß nur die Extraktion mit Äther allein ohne Petroläther und ohne Alkohol richtige Werte für das Rohfett ergeben kann. In der Literatur wird zwar verschiedentlich die Anwendung von Äther nicht empfohlen. So findet Ritthausen⁴⁾, daß bei der Bestimmung des Fettes in der Milch durch Extraktion mit Äther eine Substanz mit in Lösung geht, die er, ohne genauere Untersuchungen angestellt zu haben, für Dextrin hält; auch Liebermann und Székely⁵⁾ geben Petroläther den Vorzug. Ratzlaff⁶⁾ endlich empfiehlt ein Gemisch von Petroläther und Äther, und zwar aus dem Grunde, weil ersteres Lösungsmittel Substanzen, die vom Äther aufgenommen werden, wieder auszuscheiden vermag. Zu dieser Annahme ist er zweifellos durch Angaben anderer Forscher veranlaßt worden, denn aus seinen Untersuchungen ist nichts ersichtlich, was seine Anschauungen rechtfertigen würde, indem er keine Feststellungen über die Wirkungsweise der beiden Extraktionsmittel machte

¹⁾ Diese Zeitschrift 1898, 1, 90.

²⁾ Diese Zeitschrift 1902, 5, 833.

³⁾ Chem.-Zeitg. 1910, 34, 1343—1344.

⁴⁾ Jour. f. prakt. Chem. 1877, 15, 348.

⁵⁾ Zeitschr. f. anal. Chem. 1893, 32, 168.

⁶⁾ Milchzeitg. 1903, 32, 65.

und auch unterlassen hat, seine Abänderung mit dem ursprünglichen Verfahren zu vergleichen.

Zieht man aber nun in Erwägung, daß durch Anwendung eines Gemisches von Äther-Petroläther oder von Petroläther allein die Mitbestimmung des Cholesterins verhindert wird, so folgt, daß die Anwendung von Petroläther zu niedrige Werte für das Rohfett ergeben muß. Die Beigabe von Alkohol zu dem Extraktionsgemisch vermag zwar die Ergebnisse im günstigen Sinne zu beeinflussen, doch dürfte seine Anwendung wenig zweckmäßig sein und unter Umständen ungenaue Ergebnisse veranlassen.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit sind nun die Ergebnisse des abgeänderten Extraktionsverfahrens mit Äther mit den Ergebnissen des Ratzlaff'schen, des Schmid-Bondzynski'schen und des Gerber-van Gulik'schen Verfahrens verglichen worden.

In der Tabelle II sind die mit dem abgeänderten Extraktionsverfahren und der Ratzlaff'schen Methode erhaltenen Ergebnisse zusammengestellt.

Tabelle II.

No.	Art des Käses	Abgeändertes Extraktionsverfahren		Verfahren nach Ratzlaff ¹⁾			
		1	2	1	2	3	4
1	Emmentaler Käse .	33,91 % ; 33,96 %		33,01 % ; 32,59 % ; 32,64 % ; 32,76 %			
2	" " .	34,73 " ; 34,73 "		33,17 " ; 33,14 " ; 33,12 " ; 33,46 "			
3	" " .	32,47 " ; 32,59 "		32,56 " ; 32,32 " ; 32,66 " ; 32,35 "			
4	" " .	32,50 " ; 32,47 "		32,58 " ; 32,24 " ; 33,50 ⁽²⁾ ; 32,47 "			
5	" " .	30,89 " ; 30,73 "		30,64 " ; 30,64 " ; 30,14 " ; 30,89 "			
6	" " .	13,12 " ; 13,12 "		12,52 " ; 12,12 " ; 11,30 " ; 12,58 "			
7	Tilsiter	26,63 " ; 26,68 "		26,21 " ; 26,50 " ; 26,46 " ; 26,80 "			
8	Roquefort	37,00 " ; 36,96 "		36,78 " ; 36,77 " ; 37,01 " ; 37,13 "			

Beim Vergleich dieser Zahlen bemerkt man, daß mit einigen Ausnahmen das Ratzlaff'sche Verfahren niedrigere Werte liefert als das Extraktionsverfahren. Dies erklärt sich zum Teil durch die verschiedene Löslichkeit des Cholesterins, zum Teil aber durch die Apparatur bezw. die Arbeitsweise.

Bei der Fettbestimmung der Käse 1 und 2 ist die Pipette, mit welcher die Äther-Petroläther-Fettlösung abgehoben wurde, nicht nachgespült worden. Diesem Umstand dürften die niedrigen Ergebnisse bei diesen Käseproben zuzuschreiben sein, denn, wie schon Reuchlin und Rachel²⁾ nachgewiesen haben, hinterbleibt nach dem Abfließen der Fettlösung an der inneren Wand der Pipette eine gewisse Menge von Fett, welches erst durch das Nachwaschen entfernt werden kann und mit der Hauptmenge des zu bestimmenden Fettes vereinigt werden sollte. Eine andere Fehlerquelle liegt in der Konzentrationsänderung der Fettlösung in der Pipette, die beim Aufsaugen erfolgt und die schwer zu vermeiden ist. Daraus ergibt sich, daß die gefundene Menge Fett höher ist als die tatsächlich im Extraktionsmittel gelöst enthaltene. Des weiteren kann man daraus folgern, daß sich die beiden Fehlerquellen

¹⁾ Extraktionsapparat nach Rieter (Knierohr).

²⁾ Diese Zeitschrift 1913, 26, 20.

gewissermaßen ausgleichen können und so annähernd richtige Werte ergeben. Die genannten Fehlerquellen sind bei dem abgeänderten Extraktionsverfahren nicht vorhanden.

Die Ergebnisse der vergleichenden Bestimmungen nach dem abgeändertem Extraktionsverfahren und nach dem Verfahren von Schmid-Bondzynski und Gerber-van Gulik sind in Tabelle III zusammengefaßt:

Tabelle III.

Art des Käses	Abgeändertes Extraktionsverfahren	Verfahren nach Schmid-Bondzynski	Verfahren nach Gerber-van Gulik
Emmentaler Käse I .	32,78 % ; 32,66 %	32,06 % ; 32,66 %	33,5 % ; 33,5 %
	32,84 „ ; 32,71 „	32,46 „ ; 32,04 „	33,2 „ ; 33,0 „
	32,68 „ ; 32,89 „	31,84 „ ; 32,46 „	33,6 „ ; 33,2 „
	32,74 „ ; 32,77 „	31,98 „ ; 32,31 „	33,4 „ ; 33,2 „
	32,60 „ ; 32,90 „	32,36 „ ; 32,47 „	33,1 „ ; 33,0 „
Mittel	32,75 %	32,22 %	33,3 %
Emmentaler Käse II .	32,00 % ; 31,83 %	31,49 % ; 31,64 %	31,5 % ; 32,0 %
	31,89 „ ; 31,91 „	31,34 „ ; 31,82 „	31,8 „ ; 32,0 „
	31,82 „ ; 31,87 „	31,44 „ ; 31,64 „	31,8 „ ; 31,9 „
	31,79 „ ; 31,98 „	31,30 „ ; 31,46 „	31,5 „ ; 32,1 „
	31,85 „ ; 31,72 „	31,51 „ ; 31,48 „	32,0 „ ; 31,7 „
Mittel	31,86 %	31,51 %	31,83 %
Emmentaler Käse III	32,82 % ; 32,62 %	32,12 % ; 32,22 %	33,2 % ; 33,7 %
	32,69 „ ; —	32,35 „ ; —	33,3 „ ; —
Mittel	32,72 %	32,23 %	33,4 %
Frischer Käsebruch .	24,97 % ; 25,21 %	— —	26,3 % ; 26,2 %
	25,03 „ ; —	— —	26,0 „ ; —
Mittel	25,07 %	—	26,2 %
Romadurkäse . . .	9,77 % ; 9,63 %	9,21 % ; 8,97 %	10,0 % ; 10,4 %
	9,61 „ ; —	8,93 „ ; —	10,2 „ ; —
Mittel	9,69 %	9,04 %	10,2 %

Wie aus dieser Zusammenstellung ersichtlich ist, ergibt das nach Allemann abgeänderte Extraktionsverfahren höhere Werte als das Verfahren nach Schmid-Bondzynski. Dieser Befund erklärt sich zum Teil aus Fettverlusten infolge des Unterlassens des Nachspülens der Pipette, zum Teil nach Windisch¹⁾ dadurch, daß in der salzsauren Lösung der Käsemasse eine nicht unbedeutende Menge Äther bleibt, der seinerseits eine nicht zu vernachlässigende Menge Fett in Lösung hält.

Um dies nachzuprüfen, wurde das Schmid-Bondzynski'sche Verfahren zunächst genau nach Vorschrift durchgeführt, wobei bis auf 1—2 ccm Äther-Fettlösung abpipettiert wurde; darauf wurde die Röhre nochmals mit Äther angefüllt, geschüttelt

¹⁾ Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 1898, 14, 506—600.

und zentrifugiert. Diese Extraktion ergab nun stets mehr Fett als sich nach dem Ergebnis der ersten Extraktion in den 1—2 ccm Äther-Fettlösung berechnen ließ. Die Differenz der gefundenen und der berechneten Menge Fett ist also das in der Salzsäure zurückgebliebene Fett, welches durch Äther in Lösung gehalten wird. Addiert man diese Menge Fett zu derjenigen der ersten Extraktion, so stimmen die so erhaltenen Zahlen gut mit denen des Extraktionsverfahrens überein, wie aus den in Tabelle IV zusammengestellten Belegen hervorgeht:

Tabelle IV.

Versuch	Verfahren nach Schmid-Bondzynski			Abgeändertes Extraktionsverfahren
	1. Extraktion	2. Extraktion	Summe	
1 a	30,57 %	0,28 %	30,85 %	30,99 %
1 b	30,80 "	0,12 "	30,92 "	—
2 a	30,42 %	0,39 %	30,81 %	30,76 %
2 b	30,59 "	0,26 "	30,85 "	30,62 "

Diese Fehlerquelle kann man mittels des Extraktionsverfahrens gut vermeiden, da stets neue Mengen von Äther durch die aufgeschlossene Käsemasse streichen.

Die nach dem Gerber-van Gulik'schen Verfahren gefundenen Zahlen ergeben meistens etwas zu hohe Werte.

Obwohl das Verfahren nach Schmid-Bondzynski-Ratzlaff zurzeit sehr viel benutzt und letzthin auf dem VI. Internationalen Milchwirtschaftskongreß in Bern neben dem Smetham'schen Verfahren als „Standardmethode“ empfohlen worden ist, dürfte es doch nicht überflüssig gewesen sein, auf die prinzipiellen Fehler, welche demselben anhaften, hinzuweisen. Vielleicht gibt die vorliegende Mitteilung Anregung zu weiteren Arbeiten in dieser Richtung, sodaß zu hoffen ist, daß mit der verallgemeinerten Erkenntnis der Grundlagen der Weg zu einem wirklich guten, auch vom wissenschaftlichen Standpunkte befriedigenden, einheitlichen Käsefettbestimmungsverfahren gebnet wird.

Über die Fiehe'sche Reaktion in Mischhonigen.

Von

Dr. O. Lünig.

Mitteilung aus der Nahrungsmitteluntersuchungsstelle an der Herzogl.
Technischen Hochschule in Braunschweig.

(Vorstand: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Beckurts, Leiter Dr. O. Lünig.)

[Eingegangen am 5. Oktober 1914.]

Gegen ein Honigversandgeschäft in einer Stadt des Herzogtums Braunschweig liefen während der letzten Jahre mehrfach bei der Staatsanwaltschaft Anzeigen wegen Honigverfälschung mittels Invertzuckers ein, welche alle vornehmlich darauf fußten,