

wobei die Verbrennung ins Innere nur sehr langsam vor sich geht. Hingegen verglimmt dünner Draht in Luft und Sauerstoff mit weißem Licht ohne Flamme. Wird Tantaldraht in einem evakuierten Rezipienten elektrisch in Weißglut erhalten, so verbindet er sich mit Sauerstoff, den man einläßt, nicht, wenn sein Druck 20 mm., also 0,026 Atmosphären nicht übersteigt, erst bei Erhöhung des Druckes tritt Verbrennung ein. Deshalb ist es möglich, Tantal und seine Verwandten, Niob und Vanadin, die sich ähnlich verhalten, elektrolytisch aus ihren Sauerstoffverbindungen durch Hindurchschicken eines elektrischen Stromes im Vakuum bei höheren Temperaturen und kontinuierlich wirkender Luftpumpe zu isolieren.

#### Tantal und Stickstoff.

Ein in Stickstoff glühender Tantaldraht, der anfangs glänzend war, wird mattgrau und sehr brüchig unter Absorption von Stickstoff.

#### Tantal und Schwefel.

Äquivalente Teile dieser beiden Elemente innig gemischt und im Reagensglas unter einer Decke von Chlorkalium erhitzt, vereinigen sich unter Feuererscheinung zu einem schwarzen Körper, der sich zu einem spröden, schwarzen, glänzenden Blech auswalzen läßt. Salpetersäure zerlegt die Legierung beim Sieden, wobei das Tantal zu Tantsäure oxydiert wird.

#### Tantal und Selen

vereinigen sich miteinander, genau so wie Ta und S. Das Produkt ist schwarz, ebenso sein Blech. Beim Liegen an der Luft entwickelt sich allmählich Selenwasserstoff, und das Blech zerfällt. Durch kochende Salpetersäure wird es ebenfalls zerlegt und das Tantal oxydiert.

#### Tantal und Tellur

bilden unter Feuererscheinung einen grauschwarzen Körper, der allmählich unter Entwicklung von Tellurwasserstoff zerfällt und von siedender Salpetersäure zerlegt und oxydiert wird.

#### Tantal und Eisen.

Eisen, mit 5—10% Tantal zusammengeschmolzen, ergibt einen duktilen und sehr harten Regulus. Tantal wirkt also auf Eisen härtend wie Vanadin.

#### Tantal und Silber.

Mit Silber legiert sich das Tantal nicht. Schmelzendes Metall auf einen Silberklumpen gegossen, sinkt in ihn ein, wie eine heiße Metallkugel in Wachs, ohne eine Spur von Silber aufzunehmen.

#### Tantal und Quecksilber.

Ein Amalgam des Tants darzustellen, war nicht möglich. Bei keiner Temperatur war irgend eine Einwirkung von Quecksilber auf Tantal zu konstatieren.

#### Tantal und Molybdän.

Mit Molybdän legiert sich das Tantal in jedem Verhältnis, indem es bei einem Molybdängehalt von mehr als 5% eine spröde, brüchige und sehr harte Mischung ergibt; unter 5% dagegen ist das Material duktil und läßt sich zu Draht von 0,1 mm Querschnitt ausziehen.

#### Tantal und Wolfram.

Diese beiden Metalle verhalten sich als Legierung genau wie die des Tants mit Molybdän.

#### Tantal und Kohlenstoff.

Mit mehr als 1% Kohlenstoff legiert, nimmt Tantal wohl noch Hammerindrücke auf, läßt sich auch schwach walzen, ist aber doch sehr spröde und nicht ziehbar zu Draht, bei 1/2% C ist es durchaus nicht so hart und brüchig, wie Moissan bei seinem Produkt beschreibt, sondern es läßt sich sogar bis zu Draht von 0,1 mm Querschnitt ausziehen, vorausgesetzt, daß es in richtiger Weise geschmolzen worden ist. Spuren von Kohlenstoff machen das Tantal härter, ohne seine Duktilität zu schädigen, ebenso geringe Beimengungen von Bor und Silicium. Ein kohlenstoffhaltiger Draht, als elektrischer Leuchtkörper im Vakuum verwendet, zeigt kein wesentlich anderes Verhalten als das reine Material, es scheinen hierdurch im Gegenteil die molekularen Veränderungen günstig beeinflusst zu werden.

#### Tantal und Säuren.

Kochende Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure und Königswasser oder beliebige Gemische dieser Säuren sind auf kompaktes Tantal, sei es Barren, Blech oder Draht, ohne jede Einwirkung. Flußsäure greift es sehr träge an, wird aber Tantaldraht in Flußsäure getaucht und mit Platin in Verbindung gebracht, also in einem Platintiegel, so löst sich das Metall unter lebhafter Wasserstoffentwicklung und unter Aufnahme dieses Gases, wodurch es sehr brüchig wird.

#### Tantal und Alkalien.

Wässrige Natron- und Kalilauge wirken auf das Tantal weder in der Kälte, noch beim Sieden. Hingegen zerfällt Tantal in schmelzendem Alkali zu kristallähnlichen Klumpen.

Das Tantal ist also ein sehr edles Metall, wenn es in kompaktem Zustande vorliegt, seine Beständigkeit gegen Säuren und Alkalien, seine Unveränderbarkeit beim Liegen an der Luft machen es wahrscheinlich, daß man daraus Gefäße wird herstellen können, die bei chemischen und physikalischen Arbeiten von großem Nutzen sein werden.

## Über den Nachweis stattgehabter Erhitzung von Milch.

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten.)

Von Dr. E. SELIGMANN.

(Eingeg. d. 25./6. 1906.)

Seit längerer Zeit bin ich mit dem Studium gewisser enzymatischer Reaktionen der Milch beschäftigt, deren theoretischer Teil einem gewissen Abschluß nicht mehr allzufern ist<sup>1)</sup>. Auch eine praktische Verwertung meiner Befunde für die Beurteilung der Milch vom hygienischen Gesichtspunkte aus findet sich in den früheren Arbeiten bereits ange-

<sup>1)</sup> Vgl. dazu: Z. f. Hyg. u. Infektionskr. **49**, 325 (1905); **50**, 97 (1905); **52**, 161 (1906).

deutet und ist in einem gemeinsam mit Dr. F. C r o n e r veröffentlichten, kleinen Aufsätze des Katalogs der „Ausstellung für Säuglingspflege“ weiterhin besprochen worden. Inzwischen sind einige Arbeiten erschienen, die von ähnlichen Gesichtspunkten der praktischen Verwertung biologischer Methoden ausgingen wie ich, und teilweise zu entsprechenden Resultaten geführt haben. Ich meine besonders die Arbeiten: „Zur Untersuchung der pasteurisierten Milch“ von B u t t e n b e r g<sup>2)</sup> und: „Die Reduktionsprobe, ein Mittel zur Beurteilung des Frischzustandes der Milch“ von P a u l T h. M ü l l e r<sup>3)</sup>. Ich ziehe es daher vor, meine Studien über Hitzeveränderungen der Milch schon jetzt zu veröffentlichen, obgleich sie nur ein Kapitel einer größeren Arbeit über biologische Milchuntersuchungen bilden, deren Publikation aus äußeren Gründen noch einige Zeit auf sich warten lassen wird, die aber gleichfalls bereits abgeschlossen vorliegt. Die Resultate B u t t e n b e r g s und M ü l l e r s konnte ich nicht mehr berücksichtigen, da meine Arbeit beim Erscheinen jener beiden Veröffentlichungen längst abgeschlossen war.

Für den Nachweis vorangegangener Erhitzung der Milch gibt es eine große Reihe mehr oder minder sicherer Methoden, die zum überwiegenden Teile auf dem Verluste gewisser enzymatischer Reaktionen der Milch beruhen.

Eine erste Gruppe von Reaktionen wird durch oxydierende Fermente ausgelöst; sie beruhen sämtlich auf dem Prinzip, der Milch leicht oxydierbare, chromogene Substanzen organischer Natur zuzusetzen und gleichzeitig etwas Wasserstoffsuperoxyd hinzuzufügen. Es findet durch die Vermittlung der oxydierenden Fermente, der sogen. „indirekten Oxydasen“ eine Übertragung des Sauerstoffs auf diese leicht oxydablen, organischen Verbindungen statt. Die neu entstehenden Oxydationsprodukte sind Farbstoffe, die der Milch ihre Färbung mitteilen. Solche Reagenzien sind Ursol D, Paraphenyldiamin, mehrfach methyliertes Paraphenyldiamin, Paramidophenol, Kreosot, Guajakol, Guajak-tinktur u. a. m.

Erhitzte Milch hat die Fähigkeit, mit diesen Körpern und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Farbstoffe zu erzeugen, verloren. Das auslösende Ferment wird durch höhere Temperaturen vernichtet. Die Höhe des tödenden Temperaturgrades wird in der Literatur verschieden angegeben, so daß der Einfluß der Erhitzung auf die Oxydationsfermente der Milch in einer besonderen Reihe von Versuchen erst festgestellt werden mußte. Im Verlauf dieser Versuche schieden allmählich eine ganze Reihe von Reagenzien aus, die mancherlei Nachteile beim Gebrauch erkennen ließen, vor allem aber deshalb, weil eine wirklich exakte Grenze zwischen positivem und negativem Reaktionsausfall sich kaum finden ließ, vielmehr die Reaktionen zwar verzögert und weniger intensiv oberhalb gewisser Temperaturgrenzen ausfielen, nach einiger Zeit aber diese Unterschiede wieder ausgeglichen waren<sup>4)</sup>. Die Reaktionen, besonders die mit Para-

phenyldiaminchlorhydrat, wurden daher nur zur Unterstützung und Bekräftigung des auf andere Weise erhobenen Befundes herangezogen.

Die Reaktion mit Guajaktinktur erwies sich dagegen als recht zuverlässig; im Gegensatz zu den Erfahrungen, die T j a d e n , K o s k e und H e r t e l<sup>5)</sup> gemacht hatten. Eine 0,75%ige Lösung von Guajakharz in Alkohol, nicht ganz luftdicht verschlossen und dunkel aufbewahrt, war drei bis vier Tage nach der Herstellung ein scharfes und absolut sicheres Reagens, bei dem man sich auch den Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd ersparen konnte, da die Tinktur in der kurzen Zeit ihrer Aufbewahrung „aktiv“ geworden war, mithin nach der allgemein herrschenden Annahme selbst Peroxyde enthielt.

Zur Feststellung der Temperaturgrenze, bei der die Reaktion verschwindet, wurde folgendermaßen verfahren: in ein großes Wasserbad für konstante Temperaturen nach Ostwaldschem Prinzip mit etwas modifiziertem Regulator wurde eine Reihe von Reagensröhrchen mit je 5 ccm Milch gebracht. In eins dieser Röhrchen wurde ein Thermometer gestellt; sobald dies Thermometer anzeigte, daß die Temperatur der Milch der des Wasserbades gleich geworden war, wurde die Zeitrechnung des Versuchs begonnen, und nach 1 Minute, 2, 5, 10, 15 usw. Minuten je ein Röhrchen herausgenommen und sofort in Wasser von 14—17° abgekühlt. Dann wurde mit Guajaktinktur geprüft.

Ein solcher Versuch gestaltete sich demgemäß folgendermaßen:

19./2. 1906 Temperatur des Wasserbades: 63°. 6 Röhrchen mit je 5 ccm Milch (eins davon mit Thermometer) werden in das Wasserbad gebracht. Temperatur der Milch = 63°: 12 Uhr 5 Min.

										Prüfung mit Guajak- tinktur
1 Röhrchen wird in Wasser	von 15° gebracht:	12 Uhr	6 Min.	+						
1 Röhrchen wird in Wasser	von 15° gebracht:	12 Uhr	10 Min.	+						
1 Röhrchen wird in Wasser	von 15° gebracht:	12 Uhr	15 Min.	+						
1 Röhrchen wird in Wasser	von 15° gebracht:	12 Uhr	20 Min.	+						
1 Röhrchen wird in Wasser	von 15° gebracht:	12 Uhr	35 Min.	+						

Im folgenden sollen nun nicht sämtliche geprüften Temperaturen aufgeführt werden, sondern nur diejenigen, die der tödlichen Grenztemperatur am nächsten stehen.

	Einwirkungsdauer:									
	Minuten					Stunden				
	1	5	10	15	30	1	2	3	4	
70°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
72°	+	+	+	—	—	—	—	—	—	
75°	+	—	—	—	—	—	—	—	—	
76°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

+ = positive; + = verzögerte; — = negative Reaktion.

<sup>3)</sup> Z. f. Unters. Nahr.- u. Genußm. 11, Heft 7 (1906).

<sup>4)</sup> Arch. f. Hyg. 56, Heft 1/2 (1906).

<sup>5)</sup> Außerdem aber gehen bei formalinhaltiger Milch, wie ich früher nachgewiesen habe, diese Reak-

tionen selbst durch längeres Erhitzen gar nicht verloren. Ihr Wert für den Nachweis der Hitzedenaturierung in Milch ist daher nur ein bedingter.

<sup>5)</sup> Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte 18, 219 (1901).

Es ergibt sich daraus, daß vierstundlanges Erhitzen auf 70° die Milch noch nicht der Fähigkeit beraubt, mit Guajak-tinktur zu reagieren; daß 10 Minuten langes Erhitzen auf 72° den positiven Reaktionsausfall bereits verzögert; daß ferner nach 15 Minuten währendem Erhitzen auf 72° die Milch ihre Reaktionsfähigkeit verloren hat. Erhitzen auf 75° wird höchstens eine Minute lang getragen, jedoch ist alsdann die Reaktionsenergie deutlich verlangsamt und abgeschwächt; Erhitzen auf 76° wirkt auch in kürzester Zeit absolut vernichtend.

Ein negativer Reaktionsausfall beweist also vorhergegangene Erhitzung auf mindestens 75°; verzögerter Reaktionsausfall macht eine stattgehabte Erhitzung auf 72—75° wahrscheinlich.

Erwähnt sei, daß die Prüfung mit Guajak-tinktur an einer großen Reihe von Milchproben ausgeführt wurde, die den verschiedensten Temperaturen ausgesetzt worden waren. Niemals war ein positiver Reaktionsausfall zu verzeichnen, sobald die Erhitzung 75° überstiegen hatte. Diese Befunde stehen im Gegensatz zu den von Tjaden, Koske und Hertel erhaltenen.

Für die Untersuchung mancher Milchproben kommen aber noch höhere Temperaturen als die eben erwähnten in Frage. Es wurde daher außer der Prüfung mit Guajak-tinktur auch die Prüfung auf noch gelöst vorhandenes Laktalbumin herangezogen. Das Laktalbumin, das in roher Milch gelöst vorhanden ist, gerinnt in der Hitze; hat die Erwärmungstemperatur daher bestimmte Grade, die sich mit der Koagulationstemperatur des Laktalbumins ungefähr decken, überschritten, so wird nach Ausfällen des Kaseins im Filtrat Laktalbumin nicht mehr nachweisbar sein.

Die Probe wurde so ausgeführt, daß 0,5 ccm Milch auf 25 ccm mit destilliertem Wasser verdünnt wurden und dann Zusatz von einem Tropfen 25%iger Essigsäure erhielten. Bei genauer Einhaltung dieser quantitativen Verhältnisse trat feinkörnige Gerinnung ein; vor einem Überschuß an Essigsäure ist zu warnen, da dieser die Gerinnung hindert. Der Essigsäurezusatz schädigt das Laktalbumin ebenso wenig wie das ursprünglich von Rubner vorgeschlagene Aussalzen des Kaseins mit Kochsalz. Vom Niederschlag wird bis zur völligen Klarheit des Filtrates abfiltriert; das Filtrat wird erhitzt. Ist Albumin vorhanden, so trübt sich die wasserklare Flüssigkeit beim Kochen. War die Milch schon vorher hoch erhitzt gewesen, so ist das Albumin auch schon vorher koaguliert und haftet dem Kaseinniederschlag an; das Filtrat bleibt beim Kochen klar.

Da die Angaben über die Koagulationstemperatur des Laktalbumins in der Milch gleichfalls schwanken, wurden sie mit Hilfe der gleichen, oben beschriebenen Methodik festgestellt.

Es ergab sich:

	Einwirkungsdauer:									
	Minuten					Stunden				
	1	5	10	15	30	1	2	3	4	
72°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
75°		+	+	+	+	+	+	—	—	
79°	+	+	+	+	+	+	+	—	—	

	Minuten					Stunden				
	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
81°	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
82°	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
83°	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
85°	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
86°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = deutliche Trübung; + = schwache; + = sehr schwache; — = keine Trübung beim Erhitzen des Filtrates.

Demnach ist alles Laktalbumin koaguliert, wenn die Erhitzungstemperatur 85° überstiegen hat. Bei 1 Minute während Erhitzung auf 85° tritt noch eine ganz schwache Reaktion ein, bei 86° oder bei länger als 1 Minute einwirkender Temperatur von 85° nicht mehr. 10 Minuten lange Einwirkung einer Temperatur von 81° genügt ebenfalls, um alles Albumin zu fällen; kürzere Einwirkungsdauer führt bis zu 83° resp. 85° (s. o.) noch zu schwacher Reaktion. Wird die Erhitzung auf drei Stunden und mehr ausgedehnt, so genügen bereits Temperaturen von 75—79°, um alles Albumin zu koagulieren.

Praktisch ergibt sich aus diesen Befunden, daß eine Milch, die Laktalbumin noch gelöst enthält, niemals zu Temperaturen über 85° erhitzt worden ist.

Die schwachen und sehr schwachen Reaktionen sind dem individuellen Ermessen des Untersuchers zu sehr unterworfen, als daß sie zu einem sicheren Urteil über den Grad vorangegangener Erhitzung benutzt werden könnten.

Eine weitere Eigenschaft, die rohe Milch durch Erhitzen einbüßt, ist die Fähigkeit, Wasserstoff-superoxyd in Wasser und Sauerstoff zu zerlegen. Diese Eigenschaft beruht in der Hauptsache auf der Tätigkeit gewisser Milchbakterien<sup>6)</sup>; es ist daher verständlich, wenn neben der Höhe der Erhitzungstemperatur ganz besonders die zeitliche Dauer der Wärmeeinwirkung in Betracht kommt. Die Grenztemperatur zeigt daher eine größere Breite und geringe Schwankungen, die sich nach dem mehr oder minder hohen Anfangsgehalt der Milch an katalytischen Fähigkeiten richten.

	Einwirkungsdauer:									
	Minuten					Stunden				
	1	5	10	15	30	1	2	3	4	
56°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
60°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
62°	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
63°	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
66°	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
67°	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
68°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

+ = mehr als 1,5 ccm gasförmiger Sauerstoff aus 0,3 ccm Perhydrol gebildet;

± = 0,5—1,5 ccm gasförmiger Sauerstoff aus 0,3 ccm Perhydrol gebildet;

± = meßbare Mengen bis 0,5 ccm Sauerstoff aus 0,3 ccm Perhydrol gebildet;

— = kein meßbarer Sauerstoff aus 0,3 ccm Perhydrol gebildet.

<sup>6)</sup> Z. f. Hyg. u. Infektionskr. 50, 102 (1905).

Der alleinigen, praktischen Verwertung dieser Methode steht folgendes Hindernis im Wege: schon Chick<sup>7)</sup> hat gezeigt, daß man sterilisierter Milch durch Einimpfen von roher die verlorene Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen, wiedergeben kann. Ich habe das gleiche Resultat durch Einimpfen katalysierender Bakterien erzielt<sup>8)</sup>. Wird also eine erhitzte gewesene Milch nachträglich bakterieller Verunreinigung ausgesetzt, was sich in praxi kaum vermeiden läßt, so kann sie durch das Wachstum der verunreinigenden Bakterien wieder katalytische Eigenschaften bekommen. Eine solche Milch kann also energisch Wasserstoffsuperoxyd spalten, obwohl sie ziemlich hoch erhitzt worden ist.

Ein solcher Befund, wie es z. B. bei Milch VIII und XI (s. Tabelle) erhoben wurde, deutet mit ziemlicher Sicherheit auf nachträgliche Verunreinigung hin. Kann man daher auf andere Weise, etwa durch eine der oben angegebenen Proben, eine vorhergegangene Erhitzung nachweisen, so ist die Prüfung der katalytischen Kraft ein gutes Mittel zur Feststellung von nachträglichen Verunreinigungen.

Ganz wertlos für den Nachweis der Erhitzung ist die Methode trotzdem nicht; vielmehr deutet sie, bei sehr schwachem Ausfall und bei

gleichzeitig sehr schwacher Reduktion von Methylenblau (s. u.), mit ziemlicher Sicherheit eine Erhitzung von 65—70° an, während Oxydasen- und Albuminreaktionen bei diesen Temperaturgraden im Stiche lassen. Ein Beispiel hierfür bietet Milch II. Eine früher von dem gleichen Lieferanten bezogene Probe (Milch I) zeigte sehr verzögerte Oxydasenreaktion bei schwacher Katalase- und Reduktasewirkung. Milch II zeigt normale Oxydasenreaktion, dagegen gleichfalls schwache Katalase- und Reduktasewirkung. Milch I war also etwa auf 72—75° erhitzt gewesen, für Milch II wurde eine Erhitzung auf nicht höher als 70° angenommen.

Ein weiteres Mittel, den Nachweis stattgehabter Erhitzung zu führen, ist in den reduzierenden Eigenschaften der Kuhmilch gegeben. Die von Schardinger<sup>9)</sup> erdachten zwei Methoden benutzen zwei verschiedene Reagenzien, einmal eine schwach alkoholische Methylenblaulösung und zweitens eine formalinhaltige Methylenblaulösung; der äußere Verlauf des Reduktionsprozesses ist für die beiden Reagenzien etwas verschieden, so daß Smidt<sup>10)</sup> die Reduktion der formalinhaltigen Lösung auf Enzymwirkung („Aldehydkatalase“), die Reduktion der formalinfreien Lösung dagegen auf Bakterientätigkeit zurückführte. Ich konnte aber nachweisen, daß beide Reaktionen bakteriellen Ursprungs sind<sup>11)</sup>. Sie werden daher für den Nachweis der Er-

<sup>7)</sup> Centralbl. f. Bakt. (2) **7**, 705 (1901).

<sup>8)</sup> a. a. O.

<sup>9)</sup> Z. Unters. Nahr.- u. Genußm. **5**, 1113 (1902).

<sup>10)</sup> Hyg. Rundschau **13**, Heft 23 (1904).

<sup>11)</sup> Z. f. Hyg. u. Infektionskr. **52**, 161 (1906).

Nr. der Milch und Datum der Untersuchung	Guajak- tinktur	Albu- min- probe	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> - Spaltung	Geringste reduzie- rende Menge	Folgerungen.
Milch I 2./1. 1906	+	+	0,7 ccm	2,0 ccm	Auf etwa 72—75° erhitzt gewesene, ziemlich frische Milch
Milch II 15./1. 1906	+	+	1,0 „	2,0 „	Wahrscheinlich auf 60—70° erhitzt gewesene, ziemlich frische Milch
Milch III 13./12. 1905	—	+	0,3 „	0,5 „	Auf 75—83° erhitzt gewesene, ziemlich frische Milch
Milch IV 15./12. 1905	—	—	1,0 „	0,1 „	Auf über 85° erhitzt gewesene, wenig frische Milch
Milch V 5./1. 1906	+	+	1,8 „	0,25 „	Auf etwa 72—75° erhitzt gewesene, mäßig frische Milch
Milch VI 11./1. 1906	+	+	2,8 „	0,25 „	Auf etwa 72—75° erhitzt gewesene, wenig frische Milch
Milch VII 16./1. 1906	—	+	2,5 „	0,25 „	Auf 75—83° erhitzt gewesene, wenig frische Milch
Milch VIII 18./1. 1906	+	+	7,5 „	1,0 „	Auf 72—75° erhitzt gewesene, nachträglich verunreinigte Milch
Milch IX 24./1. 1906	—	+	2,8 „	2,0 „	Auf 75—83° erhitzt gewesene, mäßig frische Milch
Milch X 2./2. 1906	—	+	2,8 „	0,1 „	Auf 75—83° erhitzt gewesene, wenig frische Milch
Milch XI 5./2. 1906	—	+	12,8 „	0,5 „	Auf 75—83° erhitzt gewesene, nachträglich verunreinigte Milch
Milch XII 6./2. 1906	—	+	1 Blase	1,0 „	Auf 75—83° erhitzt gewesene, frische Milch
Milch XIII 8./2. 1906	—	+	1 Blase	1,0 „	Auf 75—83° erhitzt gewesene, frische Milch

hitzung nur eine ähnlich beschränkte Bedeutung haben, wie das Wasserstoffsuperoxydspaltungsvermögen.

Für die Schar d i n g e r s c h e Reaktion wurden folgende Grenztemperaturen festgestellt:

	Einwirkungsdauer:								
	Minuten					Stunden			
	1	5	10	15	30	1	2	3	4
60°	+	+	+	+	+	+	+	+	+
63°	+	+	+	+	+	+	+	+	+
65°	+	—	—	—	—	—	—	—	—
66°	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Prüfung mit Schar d i n g e r s c h e m Reagens geschah nicht im Wasserbade bei 40–50°, sondern im Brutschrank bei 37°; die Beobachtungsdauer betrug 24 Stunden. Als negativ (—) wurde der Reaktionsausfall bezeichnet, wenn mehr als das halbe Volumen der Milch blau geblieben war.

Die Reaktion verläuft nämlich derart, daß die Entfärbung vom unteren Teile des Röhrchens beginnt und allmählich nach oben hin fortschreitet. Machte der Entfärbungsprozeß aber schon Halt, bevor noch die halbe Höhe erreicht war, so daß also der größere Teil der Milch blaßblau blieb, so wurde nicht mehr von einem positiven Resultate gesprochen.

Für die Reduktion der formalinfreien Lösung wurde versucht, in gleicher Weise eine Grenztemperatur festzustellen, wie bisher. Es zeigte sich jedoch, daß selbst nach Erhitzung auf 100° die Milchprobe (5 ccm) nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank vollkommen entfärbt wurde<sup>12)</sup>.

Diese zuerst auffällige Erscheinung erklärt sich dadurch, daß durch die Erhitzung zwar ein großer Teil der Milchbakterien, keineswegs aber alle vernichtet werden. Der Aufenthalt im Brutschrank wirkt begünstigend auf die Vermehrung der überlebenden Bakterien, zu denen auch reduzierende Arten gehören müssen, ein, so daß im Verlauf einiger Stunden genügend bakterielle Energie neugebildet ist, um den Reduktionsprozeß an der zugesetzten Methylenblaulösung zu vollführen.

Besonders auffällig und scheinbar im Widerspruch mit unserer Auffassung von der Identität beider Reaktionen, der Schar d i n g e r s c h e n und der mit formalinfreier Methylenblaulösung, erscheint die Beobachtung, daß für die Reduktion von Schar d i n g e r s Reagens eine exakte Temperaturgrenze bestimmbar war, während bei gleicher Versuchsanordnung eine solche Grenze für die formalinfreie Methylenblaulösung nicht nachzuweisen war. Es schien also wirklich ein Unterschied zwischen den beiden Reduktionsformen im Sinne S m i d t s (s. o.) zu bestehen.

Nun wissen wir aber aus früheren Untersuchungen<sup>13)</sup>, daß eine Milch, die nach dem Pasteuri-

sieren Formalinzusatz erhält, außerordentlich keimarm, mitunter absolut steril wird. Ferner ist bekannt, daß Formalinzusatz zu Nährflüssigkeiten die Entwicklung von Mikroorganismen keinesfalls begünstigt, meistens sogar empfindlich schädigt. Es lag daher nahe, den Formalingehalt des Schar d i n g e r s c h e n Reagens als schädlich anzusehen; seine desinfektorische Kraft könnte ausreichend sein, die wenig zahlreichen Bakterien, die der Erhitzung entgangen waren, niederzuhalten bzw. zu vernichten. Verstärkt wird diese Wirkung des Formalins besonders noch durch die Temperatur von 37°, bei der Formalin bekanntlich eine noch größere Wirksamkeit besitzt als bei Zimmertemperatur.

Zur Prüfung dieser theoretischen Überlegungen wurden folgende zwei Versuche unternommen:

I. 10 ccm Milch werden 1/2 Stunde auf 68° erhitzt. 5 ccm werden mit 3 Tropfen formalinfreier Methylenblaulösung versetzt (A); 5 ccm erhalten Zusatz von 3 Tropfen einer 2 1/2%igen Formalinlösung (entsprechend dem Formalingehalt des Schar d i n g e r s c h e n Reagens) (B).

Nach 24 Stunden ist A entfärbt, B unverändert.

Jetzt wird B mit 3 Tropfen formalinfreier Methylenblaulösung versetzt.

Nach 24 Stunden ist B blau geblieben.

Dieser Versuch zeigt: 1/2 stündiges Erhitzen auf 68° alteriert die Reduktionsfähigkeit der Milch gegenüber formalinfreier Methylenblaulösung nicht merklich (A). Läßt man aber auf die erhitzte gewesene Milch Formalin einwirken in genau den Mengenverhältnissen, die dem Zusatz von Schar d i n g e r s Reagens entsprechen, so verliert die Milch die Fähigkeit, formalinfreie Methylenblaulösung zu reduzieren.

II. 10 ccm werden 1/2 Stunde auf 68° erhitzt. 5 ccm dieser Milch werden mit 3 Tropfen von Schar d i n g e r s Reagens versetzt (A), 5 ccm bleiben unbehandelt im Brutschrank (B).

Nach 24 Stunden ist A blau geblieben, B unverändert.

Jetzt wird B mit 3 Tropfen von Schar d i n g e r s Reagens beschickt.

Nach 24 Stunden ist B entfärbt.

Dieser Versuch zeigt: 1/2 stündiges Erhitzen auf 68° hebt die Reduktionskraft der Milch gegenüber Schar d i n g e r s Reagens scheinbar auf (A). Läßt man die erhitzte gewesene Milch aber 24 Stunden im Brutschrank stehen, ehe man die Reaktion anstellt, so tritt die Reaktionsfähigkeit wieder auf (B). Die reduzierenden Bakterien haben Gelegenheit zur Entwicklung gefunden, die ihnen bei Gegenwart von Schar d i n g e r s Reagens mit seinem Gehalt von 2 1/2% Formalin unnötig war.

Die beiden Versuche bilden daher eine Bestätigung unserer früheren Befunde von dem bakteriellen Ursprung der Reduktionserscheinungen und von der Identität der beiden Reaktionsformen.

Gleichzeitig bieten sie einen Hinweis auf die Verwendbarkeit der Reduktionsproben. Denn eine Milch, die beträchtlich reduziert, trotzdem sie erhitzt

<sup>12)</sup> Der Milchzucker als reduzierendes Agens kommt für diese Reduktionswirkung nicht in Betracht, da er nur in alkalischer Lösung wirksam ist und da ferner unten gezeigt wird, daß Formalinzusatz die Reduktionen aufhebt; schon aus diesem Grunde ist ein Einfluß des Milchzuckers hier ausgeschlossen.

<sup>13)</sup> Z. f. Hyg. u. Infektionskr. 50, 103 [Anmerkung] (1905).

gewesen ist, muß entweder nicht mehr frisch, vielmehr bakterienreich oder nachträglich verunreinigt sein; jedenfalls ist es in ihr schon zu einer beträchtlichen Bakterienentwicklung gekommen. In Gemeinschaft mit den anderen Methoden des Erhitzungsnachweises und in Parallele mit dem  $H_2O_2$ -Spaltungsvermögen bieten die Reduktionsproben daher wichtige Fingerzeige für die hygienische Beurteilung der Milch, besonders solcher Milch, die vorher erhitzt gewesen war.

Wie oben geschildert, gelang es mit der bis dahin von uns angewandten Methodik nicht, eine Grenztemperatur festzustellen, oberhalb deren die Milch ihre Reduktionskraft gegenüber formalinfreier Methylenblaulösung einbüßt. Es wurde daher ein anderer Weg eingeschlagen, der zum Ziele führte.

Nach der Erhitzung, die wie bisher vorgenommen wurde, kamen nicht mehr die ganzen 5 ccm zur Prüfung auf Reduktionsfähigkeit in den Brutschrank, sondern es wurde die geringste reduzierende Menge nach dem von Smidt<sup>14)</sup> ausgearbeiteten, quantitativen Verfahren bestimmt. Die erhaltenen Werte wurden mit denen der rohen Milch verglichen und zeigten, daß ein Heraufrücken der geringsten, noch wirksamen Milchmenge schon bei längerer Erhitzung auf 68° zu konstatieren ist. Die resultierenden Zahlenwerte sind von der ursprünglichen Reduktionsenergie der rohen Milch abhängig und daher individuell etwas verschieden. Bei Temperaturen um 80° herum, die für die untersuchten Milchproben besonders in Betracht kamen, stellen sich die Verhältnisse folgendermaßen:

		Milchmenge:						
		4	2	1	0,75	0,5	0,25	0,1 ccm
Rohe Milch		+	+	+	+	+	+	+
Dieselbe Milch								
1 Minute auf								
80° erhitzt		+	+	+	—	—	—	—
Dieselbe Milch								
10 Min. auf								
80° erhitzt		+	+	+	—	—	—	—
Dieselbe Milch								
1 Stunde auf								
80° erhitzt		+	+	—	—	—	—	—

+ = entfärbt; — = blau geblieben.

Die Reduktionsenergie der Milch wird also durch Erhitzen geschwächt; zum Ausdruck kommt diese Schwächung bei Anstellung des quantitativen Verfahrens in einem Ansteigen des Zahlenwertes für die geringste reduzierende Milchmenge. Zur Beurteilung einer vorangegangenen Erhitzung ist das Verfahren nur mit Einschränkung brauchbar; bei nachgewiesener Erhitzung kann es für das Alter und eine eventuelle Verunreinigung nach der Erhitzung verwertet werden.

Eine Totalanalyse der Milch nach all diesen Gesichtspunkten und mit den erwähnten Methoden ausgeführt, gibt daher ein anschauliches Bild für die hygienische Bewertung erhitzter Milch.

Im Folgenden sollen die Milchproben aufgeführt werden, die auf Grund einer solchen Totalanalyse als „erhitzt“ bezeichnet wurden.

Die Ausführung der einzelnen Reaktionen geschah stets nach folgender Methodik:

1. Reaktion mit Guajakaktinktur: 5 ccm Milch wurden mit 0,5 ccm „aktiver“ Guajakaktinktur überschichtet.

2. Albuminprobe: 0,5 ccm Milch mit destilliertem Wasser auf 25 ccm verdünnt, erhalten Zusatz von 1 Tropfen 25%iger Essigsäure. Nach Absitzen des Niederschlages wird bis zu völliger Klarheit des Filtrats filtriert und das Filtrat zum Sieden erhitzt.

3.  $H_2O_2$ -Spaltung: 25 ccm Milch werden in sterilem, graduiertem Gärröhrchen mit 0,5 ccm Perhydrol Merck versetzt. Nach einstündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° wird der entwickelte, gasförmige Sauerstoff in Kubikzentimetern abgelesen.

4. Reduktionsprobe: Smidts Verfahren (s. o.) wurde folgendermaßen modifiziert: 8 sterile Reagensröhrchen, in die folgende Milchmengen gebracht wurden: I 4 ccm, II 2 ccm, III 1 ccm, IV 0,75 ccm, V 0,5 ccm, VI 0,25 ccm, VII 0,1 ccm, VIII 0.

Der Inhalt sämtlicher Röhrchen wurde durch Zusatz von steriler, physiologischer Kochsalzlösung (0,85 %) auf 4 ccm gebracht. Zu jedem der Röhrchen kamen 3 Tropfen verdünnter Methylenblaulösung (cf. Zusammensetzung bei Smidt). Dann wurde mit flüssigem Paraffin überschichtet und die ganze Röhrchenreihe auf 24 Stunden in den Brutschrank (37°) gebracht.

#### Schlusssätze.

1. In der vorliegenden Arbeit wurden die Temperaturen festgestellt, die eine Vernichtung verschiedener enzymatischer Reaktionen der Milch, sowie eine Koagulation des Laktalbumins zur Folge haben.

Diese Vernichtungstemperaturen liegen bei verschiedenen Graden für die einzelnen Reaktionen. Für die Oxydasen (Guajakreaktion) liegt die tödliche Grenze bei 72—75°; das Albumin wird bei Temperaturen von 80—85° koaguliert; die Dauer der Hitzeeinwirkung ist neben der Höhe des Temperaturgrades von Einfluß.

Für Reduktase und Superoxydase, die im wesentlichen bakteriellen Ursprungs sind, läßt sich dagegen eine allgemein gültige, exakte Vernichtungstemperatur nicht feststellen; hier spielen individuelle Schwankungen der betr. Milcharten eine Rolle. Im allgemeinen jedoch kann man sagen, daß Erhitzungsgrade von 60—70° schon beträchtlich schädigend einwirken, besonders bei längerer Dauer der Erhitzung.

2. Die Vernichtung der reduzierenden und katalysierenden Eigenschaften der Milch ist keine dauernde. Diese Eigenschaften treten in der erhitzten Milch mit der Zeit wieder auf; es kommt zu Bakterienentwicklung und Vermehrung entweder infolge der längeren Zeit, die nach der Erhitzung verflossen ist, oder infolge nachträglicher Verunreinigung.

3. Nimmt man aber eine Prüfung erhitzter Milch nach allen erwähnten Methoden nebeneinander vor, so kann man den Temperaturgrad des vorgenommenen Erhitzungsverfahrens erfahren, sowie auch ein Urteil über den hygienischen Wert der vorliegenden Milchprobe, über ihre Frische, über

<sup>14)</sup> a. a. O.

die Zweckmäßigkeit der seitherigen Aufbewahrung und über eine eventuelle Verunreinigung abgeben.

4. Die Prüfung der reduzierenden Energie bestätigt unsere früher erhobenen Befunde von dem bakteriellen Ursprung der Reduktasen und von der Identität der beiden Reduktionsformen (Reduktase und „Aldehydkatalase“).

Ausgeführt wurde diese Arbeit in der chemischen Abteilung des Institutes unter Leitung von Herrn Geheimrat Prof. Proskauer.

## Über die Extraktion der Oliventrester durch Schwefelkohlenstoff oder durch Tetrachlorkohlenstoff.<sup>1)</sup>

Von Dr. R. JÜRGENSEN-Prag-Zizkow.

(Eingeg. den 16./6. 1906.)

Die Oliventrester sind die Rückstände der zermalmten und gepreßten Oliven, nachdem man daraus das Tafelöl durch mehr oder minder geeignete Pressen bekommen hat. Natürlich sind diese Trester um so reicher an Öl, als die Mittel, das Öl durch Druck aus den Oliven zu erhalten, weniger vollkommen sind. Bei Anwendung von hydraulischen Pressen von großer Leistungsfähigkeit, wie es in Frankreich geschieht, enthalten die Trester nur etwa 10% Öl. In Italien enthalten die Trester 10–12%, in Tunis 12–13%. In Spanien ist der Ölgehalt sehr verschieden; im Norden ist das Mittel 12%, im Süden schwankt der Gehalt zwischen 12–16%.

Im frischen Oliventrester, der die Pressen soeben verlassen hat, hat das Öl eine Acidität von 1–2% höchstens. Wenn jedoch der Oliventrester einige Tage lang der oxydierenden Wirkung der Luft ausgesetzt bleibt, so wird das Öl allmählich sauer, verliert mehr und mehr an Wert und wird schließlich sogar unverkäuflich.

Um das Öl der Oliventrester durch Extraktion zu gewinnen, hat man in den großen Zentren der Olivenproduktion Fabriken errichtet, welche geeignete Lösungsmittel verwenden, wie z. B. Äther, Benzin und besonders Schwefelkohlenstoff. Alle diese Lösungsmittel sind leider äußerst feuergefährlich und haben überdies die unangenehme Eigenschaft, in dem erzeugten Öl Spuren zu hinterlassen.

Die Dämpfe des Schwefelkohlenstoffs entzünden sich bei 149°. Ein Gemisch von Schwefelkohlenstoffdämpfen und Sauerstoff entzündet sich leicht und ruft eine Explosion hervor. Dasselbe Phänomen erscheint, obgleich mit geringerer Heftigkeit, bei einem Gemisch von einem Volumen Schwefelkohlenstoff mit 15 Volumina Luft. Schwefelkohlenstoff ist giftig und hat auf Leute, welche es einige Zeit einatmen, eine ungünstige Wirkung.

Benzin und Äther sind, wie man weiß, äußerst leicht entzündliche Stoffe.

Die großen Extraktionsfabriken für Oliventrester müssen beträchtliche Vorräte von Oliven-

trester halten, die sie, so gut es es geht, zu konservieren trachten, indem sie sie im Lager aufhäufen, so daß die Luft möglichst wenig Zutritt hat. Man wäscht sie wohl auch mit Meerwasser. Bei dem Einlagern in Gruben tritt bald eine sehr starke Erwärmung als Begleiter der mehr und mehr zunehmenden Fermentation und Säurebildung in den Trester ein.

Jedenfalls erhalten diese Fabriken keine neutralen Öle, wie sie von den Pressen kommen (ein Öl, welches zum Einfetten der Wolle und zum Schmieren von Maschinen, namentlich bei der Marine, geeignet ist und verlangt wird). Sie erhalten nur sogenannte Oliventresteröle, die man nur in der Seifenfabrikation verwendet. Die Preisdifferenz zwischen diesen beiden Sorten ist recht bedeutend. Die neutralen Öle werden leicht mit 65 Fcs. am Erzeugungsorte verkauft, während man für die anderen kaum 45 Fcs. erhält. Die großen Fabriken haben auch beträchtliche Spesen, um sich ihren Vorrat an Oliventrester zu sichern, durch Manipulationen, Transport, Straßenabgaben usw.; diese Spesen machen häufig mehr als ein Drittel des Wertes der Ware aus; auch die Generalunkosten sind beträchtlich, da man nur einen Teil des Jahres arbeitet.

Der Erzeuger der Trester, welcher eine bedeutende Olivenölfabrik besitzt, hätte alles Interesse, seine Trester selbst aufzuarbeiten. Sehr häufig würde er hierbei mehr gewinnen als bei seinen Olivenölen, die er durch Pressen erhält, aber er benötigt hierzu einen Apparat, der leicht zu warten und leicht mit den Lösungsmitteln zu versehen ist, der ferner vollständige Sicherheit besitzt.

Der Tetrachlorkohlenstoff, welcher durch Regnaud und Dumas entdeckt wurde, ein nicht explodierbares, nicht entzündliches Mittel, war berufen, alle anderen Lösungsmittel zu ersetzen, jedoch gestattete bis in die letzten Jahre sein Preis nicht die industrielle Verwendung, ebenso, wie man auch erkannte, daß er nur in einem speziell konstruierten Apparate zu verwenden wäre. Heute kann man ihn infolge neuer elektrolytischer Darstellungsmethoden für das Chlor industriell in chemisch reiner Qualität und zu annehmbaren Preisen liefern.

Abgesehen von der Ölextraktion empfiehlt sich der Tetrachlorkohlenstoff als Ersatz für Benzin ganz besonders für die Extraktion von Fett aus Fleisch- und Speckabfällen, sowie aus Knochen. Das mit Tetrachlorkohlenstoff extrahierte Fett ist von schöner Farbe, geruchlos und ist per 100 kg 5 bis 6 Fcs. mehr wert. Bei Anwendung von Benzin ist der Geruch des Lösungsmittels stets bemerkbar im extrahierten Material, außerdem löst es Zersetzungsprodukte mit auf, die dem Knochenfett einen üblen Geruch erteilen.

Die Knochen, welche bei der Anwendung von Tetrachlorkohlenstoff einer verhältnismäßig niederen Temperatur ausgesetzt werden, sind für die Leimfabrikation besser geeignet; es tritt eine Aufbesserung der Qualität und der Ausbeute ein.

Schließlich muß man auch außer den Vorteilen berücksichtigen, daß bei Anwendung des nicht entzündlichen Tetrachlorkohlenstoffs die Versicherungsprämien der betr. Fabriken sehr geringe sind. Außerdem ermöglicht diese Eigenschaft des Tetrachlorkohlenstoffs die Aufstellung von Extraktionsapparaten in einem beliebigen Teil einer bereits be-

<sup>1)</sup> Vortrag, gehalten auf dem Internationalen Kongreß für angewandte Chemie in Rom.