

titriert werden<sup>1)</sup>. Die verbrauchte Jodmenge wird nicht gemessen. Die Lösung wird nun mit 10 cm<sup>3</sup> 95-proz. Äthylalkohol und — nach Durchmischen — mit 3 cm<sup>3</sup> 5-proz. Natriumcarbonatlösung versetzt, worauf sie sich entfärbt. Jetzt titriert man möglichst rasch mit 0,01-n. Jodlösung. Die Jodfarbe der Stärke ist wegen des Alkohols kein reines Blau mehr, sondern hat einen rötlichen Ton. Der Endpunkt ist erreicht, wenn die Farbe mindestens 1 Minute erhalten bleibt und auch auf Zugabe einiger Tropfen Natriumcarbonatlösung nicht verschwindet. Für die Berechnung gilt:

1 cm<sup>3</sup> 0,01-n. Jodlösung entspricht 0,00015 g CH<sub>2</sub>O<sup>2</sup>).

### Fehlerbreite.

Dieselbe beträgt etwa 1 % der gefundenen Formaldehydmenge, wenn diese ihrerseits zwischen 1 bis 3 % des Caseingewichtes liegt. Wir fanden z. B. bei dreimaliger Wiederholung eines wie vorn beschriebenen Testversuches für technisches Casein:

|                                     |       |
|-------------------------------------|-------|
| % der zugegebenen Formaldehydmenge: | 99,6  |
|                                     | 99,7  |
|                                     | 100,1 |

Destilliert man im Blindversuch 0,5 g technisches Casein ohne Formaldehyd, so findet man einen scheinbaren Gehalt von 0,00015 g = 0,033 % des Caseingewichtes (lufttrocken). Dasselbe ist mit gereinigtem Casein nach *Hammarsten* der Fall. Im allgemeinen wird man diesen Fehler vernachlässigen können, anderenfalls kann am Resultat die entsprechende Korrektur angebracht werden.

Bern, Chemisches Institut der Universität, org. Abteilung.

---

### 29. Streulichtmessungen an Magermilch

von W. Lotmar und Hs. Nitsehmann.

(15. II. 41.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit vertreten *A. Künzel* und *K. Doehter*<sup>3)</sup> die Ansicht, dass das Casein in der Magermilch kugelige kolloide Teilchen bildet, welche bei Zusatz von Säuren oder Alkalien quellen. Die in solchen Lösungen beobachtete Strömungsdoppelbrechung soll nicht auf einer Orientierung nichtkugeliger, sondern auf der Deformierung derartig gequollener kugeliger Teilchen beruhen. Ihre Ansicht stützen die Verfasser unter anderem durch

<sup>1)</sup> Wir titrieren bis in die Nähe des Endpunktes mit 0,1-n., fertig mit 0,01-n. Jodlösung.

<sup>2)</sup> Die Einstellung der Jodlösung geschieht mit 0,01-n. Thiosulfatlösung, die ihrerseits am bequemsten mit Kaliumbromat als Urtiter bestimmt wird.

<sup>3)</sup> Koll.-chem. Beih. 51, 277 (1940). Dasselbst auch weitere Literatur.

Depolarisationsmengen an verdünnter Magermilch, indem sie das Ausbleiben eines *Gans*-Effektes (endlicher Depolarisationsgrad) als Beweis für die Kugelform der streuenden Teilchen ansehen.

Demgegenüber kommt *Nitschmann*<sup>1)</sup> zur Auffassung, dass zwar die Caseinteilchen in der nativen Magermilch als lockere kugelige Aggregate anzusprechen sind, dass diese aber durch Zusatz von Alkalien in kleinere Teilchen von länglicher Form zerfallen, welche zu Orientierungs-Strömungs-doppelbrechung Anlass geben.

Vor einiger Zeit hat *Lotmar* gezeigt<sup>2)</sup>, dass 1) die von *Küntzel* und *Doehner* verwendete Messmethode (Polarisationsphotometer und breites paralleles Lichtbündel) keine verlässlichen Ergebnisse liefert, und dass 2) die von diesen Autoren herangezogene *Gans*-sche Theorie bei nichtmetallischen Kolloiden auch für extreme Teilchenformen nur sehr kleine Werte des Depolarisationsgrades erwarten lässt.

Es soll hier über Messungen des Depolarisationsgrades und der Streuintensität an neutraler und alkalischer Magermilch berichtet werden.

Präparate. Gewöhnliche frische Magermilch wurde erst durch ein *Schott*'sches Glasfilter G3 filtriert. Die ersten 200 cm<sup>3</sup> dienten zur Filterreinigung und wurden verworfen. Der Rest wurde darauf 40 Min. bei 3000 Touren zentrifugiert. Es bildete sich eine dünne Rahmhaut und am Boden etwas weisser Schlammb von Casein. Der mittlere Teil wurde sorgfältig abpipettiert und diente zum Ansatz der verdünnten Lösungen. Das zur Verdünnung benutzte Wasser entstammte der in (B IV) erwähnten Anlage, die Natronlauge (1-n.) hatte vor Gebrauch längere Zeit ruhig gestanden. Die wässrigen Lösungen erwiesen sich optisch als sehr staubarm, die alkalischen waren nicht ganz so gut. Das bei den Intensitätsmessungen verwendete entfettete Casein war „*Hammarsten-Casein*“ von *Merck*.

### Messungen. I. Depolarisationsgrad.

Die Apparatur war mit der in (B I) beschriebenen identisch; sie ist in Ergänzung der dortigen Angaben in Fig. 1 abgebildet. Es wurde wieder die *Cornu*-Methode verwendet, bei welcher ein scharf begrenztes schmales Lichtbündel im Streugefäß erzeugt wird. Die beiden polarisierten Streulichtanteile werden mittelst eines *Wollaston*-Prismas zerlegt und durch einen Analysator betrachtet, dessen Drehung sie auf gleiche Helligkeit bringt. Zur Messung des Depolarisationsgrades  $A_V$  bei polarisiertem Primärlicht wird der *Nicol P* eingeschaltet.

In (B III) war dargelegt worden, dass die *Cornu*-Methode  $A$ -Werte liefert, die von der Konzentration unabhängig sind, solange man sich in einem Intensitätsbereich hält, der nach oben durch das Auftreten von Mehrfachstreuung und nach unten durch die Mitwirkung des Lösungsmittels begrenzt ist. Als geeignete Konzentrationen erwiesen sich Verdünnungen von 1:300 für die wässrige und 1:10 für die alkalische Lösung. Für die Ausführung der Messungen und deren Genauigkeit gilt das in (B II) Gesagte. Die Ergebnisse finden sich in Tab. 1. Das verwendete Filter war GG 11.

<sup>1)</sup> Publikation bevorstehend.

<sup>2)</sup> *Helv.* **21**, 792 und 953 (1938), im folgenden als (A) und (B) angeführt. Siehe auch *E. Wöhlsch*, *Erg. d. Physiologie* **1940**.

Tabelle 1.  
Depolarisationsgrad von Magermilch.

|                                            | 100 $\Delta_U$ | 100 $\Delta_V$ |
|--------------------------------------------|----------------|----------------|
| Magermilch mit Wasser verdünnt 1 : 300 . . | 0,62           | 0,08           |
| „ „ 0,1-n. NaOH verd. 1 : 10 . .           | 5,5            | 0,11           |

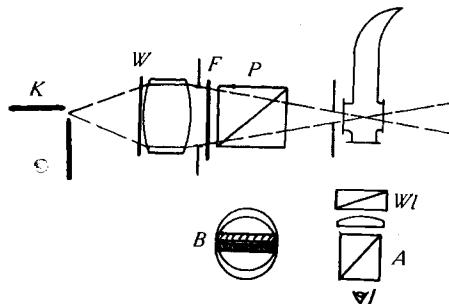


Fig. 1.

$K$  = Kohlebogen;  $W$  = Wärmefilter;  $F$  = Farbfilter;  $P$  = Polarisator;  
 $Wl$  = Wollaston-prisma;  $A$  = Analysator;  $B$  = visuelles Bild.

Es findet sich also im Gegensatz zu den Angaben von *Küntzel* und *Doehner* ein endlicher, wenn auch kleiner Depolarisationsgrad  $\Delta_U$ .

## II. Streuintensität.

Es ist bekannt, dass Magermilch durch Zusatz von Alkalien aufgehellt wird, d. h. die Intensität des Streulichtes nimmt ab. Mit Hilfe eines Colorimeters wurden einige vergleichende Intensitätsmessungen durchgeführt. Das Instrument befand sich in einem Dunkelzimmer, die Lösungen wurden von einer Lampe seitlich beleuchtet, sodass die Streuung unter  $90^\circ$  gemessen wurde. Die zu vergleichenden Lösungen wurden jeweils so weit verdünnt, dass ihre Intensitäten ähnlich und nur die restlichen kleinen Differenzen auszugleichen waren. Die unten angegebenen Werte sind durch Umrechnung auf gleiche Konzentration erhalten; ihre Genauigkeit beträgt ca. 5—10 %. Es ergab sich:

1. Die Streuintensität neutraler Magermilch sinkt durch Zusatz von Natriumhydroxyd (0,1-n. Endkonzentration) auf den 36. Teil. Dieser Wert ist jedoch zeitlich nicht ganz konstant. Zehn Minuten nach dem Alkalizusatz betrug er 1 : 40.

2. Es wurden 2,5-proz. neutrale Natrium-Caseinatlösungen a) von entfettetem, b) von nicht entfettetem Casein hergestellt. Das letztere war nach *Hammarsten* aus nachzentrifugierter Magermilch präpariert worden. Die Streuintensitäten von a) und b) verhielten sich wie 1 : 15.

3. Native Magermilch und Lösung 2 b) wurden mit 0,1-n. NaOH auf 1 : 20 verdünnt. Die Streuintensitäten der beiden Lösungen, welche in Casein- und Fettgehalt übereinstimmen, waren gleich.

Zwischen neutraler und alkalischer Magermilch ist ausser einem Intensitätsunterschied auch ein Farbunterschied des Streulichtes zu beobachten. Die neutrale Lösung streut bläulich, die alkalische weisslich. Durch Filterversuche (s. B II) wurde festgestellt, dass Fluoreszenz hierbei keine Rolle spielt.

#### Deutung der Ergebnisse.

Versuch 3) des vorigen Abschnitts besagt, dass bei Auflösung von nicht entfettetem *Hammarsten*-Casein das Fett dieselbe Dispersität annimmt wie in der nativen Magermilch. Aus Versuch 2) kann daher geschlossen werden, dass auch in alkalischer Magermilch das Fett 15 mal stärker streut als das Casein. Aus dem Ergebnis von Versuch 1) ist dann zu schliessen, dass die Streuintensität des Caseins bei Alkalizusatz um einen Faktor  $36 \times 15 = 540$  sinkt. In neutraler Magermilch röhrt also das Streulicht zur Hauptsache vom Casein her, in alkalischer vom restlichen Fett.

Hiermit stimmen nun auch ganz die Werte des Depolarisationsgrades und die Beobachtungen der Streulichtfarbe überein. Der sehr kleine  $\Delta_V$ -Wert der neutralen Milch, welcher von der Grössenordnung der Öffnungskorrektur ist (siehe B II), besagt nach (A II) mit Sicherheit, dass es sich um innerlich isotrope und kugelförmige oder wenigstens kugelsymmetrische Teilchen handelt. Wir kommen hier zwar zum selben Schluss, wie *Küntzel* und *Doehner*, aber auf Grund einer andern Überlegung. Wegen  $\Delta_V \sim 0$  ist der Wert von  $\Delta_U$  als allein durch die Teilchengrösse bedingt anzusehen. Wenn der endliche Wert nämlich durch Anisotropie hervorgerufen würde, so dürfte nach A (12)  $\Delta_U$  nicht grösser als  $2 \Delta_V$  sein. Diese Folgerung gilt zwar nur, wenn das streuende System dem *Rayleigh*-Bereich  $d \ll \lambda$  (Teilchendurchmesser klein gegen die Lichtwellenlänge) angehört. Dies ist aber der Fall, wie erstens aus der bläulichen Farbe des Streulichtes und zweitens aus dem Wert von  $\Delta_U$  selber hervorgeht. Aus einem Vergleich mit Tab. 1 in (A II) ergibt sich nämlich, dass die Teilchen eine Grösse von ca.  $120 \text{ m}\mu$  haben müssen, so dass genauer gesagt das System etwa der oberen Grenze des *Rayleigh*-Bereichs entspricht.

Andererseits besagen die weissliche Farbe des Streulichtes und der wesentlich grössere  $\Delta_U$ -Wert der alkalischen Lösung, dass dieses System bezüglich der Teilchengrösse oberhalb des *Rayleigh*-Bereichs liegt. Durch Vergleich mit Tab. 1 in (A II) ergibt sich ein Teilchendurchmesser von ca.  $250 \text{ m}\mu$ . Es handelt sich um die relativ grossen, noch nicht auszentrifugierten Fettröpfchen. Die Ähnlichkeit des  $\Delta_V$ -Wertes mit demjenigen von Serum (B Tab. 6) ist damit in Übereinstimmung. Über den Zustand des Caseins in der alkalischen Lösung kann auf Grund der  $\Delta$ -Messungen nichts ausgesagt werden.

Dagegen ist aus dem oben bestimmten Intensitätsverhältnis von rund 1:500 zwischen neutraler und alkalischer Magermilch mit

Sicherheit zu schliessen, dass es sich dabei um eine Dispergierung des Caseins handelt. Wie in (A IV) dargetan, würde nämlich eine Quellung von Teilchen, welche dem *Rayleigh*-Bereich angehören, keine Intensitätsänderung zur Folge haben. Hier kann zwar eingewendet werden, dass nach (A IV) dann, wenn bei der Quellung gerade auch eine Überschreitung des *Rayleigh*-Bereichs stattfindet, eine Intensitätsabnahme zu erwarten wäre. Diese müsste größenordnungsmässig der Volumzunahme bei der Quellung proportional gehen. Eine Quellung um einen Faktor 500 kann aber als ausgeschlossen gelten.

Bei Annahme der Gültigkeit des *Rayleigh*'schen Gesetzes A (1) ergibt sich eine Volumabnahme bei der Dispergierung auf den 540. Teil. (Wegen der gleichbleibenden Masse ist nämlich  $NV = \text{konst.}$ , daher  $J \sim V$ ). Wenn für die primären Caseinteilchen ein Durchmesser von  $120 \text{ m}\mu$  angenommen wird, so hätten sie in der alkalischen Lösung, als Kugeln betrachtet, einen solchen von ca.  $15 \text{ m}\mu$ . Aus den Ultrazentrifugenmessungen von *Svedberg, Carpenter* und *Carpenter*<sup>1)</sup> ergaben sich für Natrium-Caseinat-Lösungen Molekulargewichte von 100 000—400 000. Daraus berechnet man als obere Grenze einen Durchmesser von  $10 \text{ m}\mu$  (wieder für Kugeln). Die Differenz gegen unseren Wert mag sich einerseits dadurch erklären, dass die primären Caseinteilchen in der neutralen Magermilch wohl nicht als kompakte Zusammenlagerungen der kleineren Teilchen, sondern als lockere, stark hydratisierte bzw. Wasser einschliessende Aggregate aufzufassen sind. (Wegen des kleineren mittleren Brechungsindex würde sich aus den *Blumer*'schen Rechnungen dann allerdings auch ein etwas grösserer Durchmesser dafür ergeben.) Das berechnete Teilchenvolumen in der dispergierten alkalischen Lösung ist dann um das mittlere Hydratisierungsvolumen der Primärteilchen zu vermindern.

Andererseits erscheint aber auch die quantitative Gültigkeit des *Rayleigh*-Gesetzes für Fälle wie den vorliegenden fraglich, da es ja unter der Voraussetzung homogener Teilchen abgeleitet ist. Zudem befindet sich das System der nativen Magermilch wie erwähnt nahe der Gültigkeitsgrenze des *Rayleigh*-Gesetzes. Beides wirkt dahin, dass der gefundene Dispergierungsfaktor von 540 nur als untere Grenze aufzufassen ist. Man vergleiche hierzu die Ausführungen in (B VII). Außerdem ist zu berücksichtigen, dass die Dispersitätsverteilung in Natrium-Caseinatlösungen auch noch von den Lösungsgenossen abhängt, insbesondere von Salzen<sup>2)</sup>.

Größenordnungsmässig ist jedenfalls die Übereinstimmung recht befriedigend.

<sup>1)</sup> Am. Soc. **52**, 241, 701 (1930).

<sup>2)</sup> *H. Nitschmann, Helv.* **21**, 315 (1938); *T. Svedberg und K. O. Pedersen, Die Ultrazentrifuge* (1940), S. 342.

Dies gilt auch für die angegebene Teilchengrösse in der nativen Magermilch, wenn man berücksichtigt, dass unsere Angabe von 120 m $\mu$  sich auf die grössten Teilchen der jedenfalls polydispersen Lösung bezieht und daher eine obere Grenze darstellt. *Svedberg*<sup>1)</sup> fand nämlich für native Magermilch Teilchengrösse von 10—70 m $\mu$ . Dagegen geben *Küntzel* und *Doehner* auf Grund ultramikroskopischer Auszählung Durchmesser von 300—500 m $\mu$  an. Wir sind der Meinung, dass es sich bei diesen ultramikroskopisch sichtbaren Teilchen nur um die allergrössten handeln kann, d. h. wohl hauptsächlich um das Fett. Eine Angabe über den Grad der Auszentrifugierung ihrer Magermilch wird von den Verfassern nicht gemacht.

Es sei noch bemerkt, dass die aus den Intensitätsmessungen gezogenen Schlüsse auch gelten, wenn die dispergierten Teilchen der alkalischen Lösung nicht kugelförmig sind. In (A IV) war nämlich gezeigt worden, dass im *Rayleigh*-Bereich die Streuintensität nicht von der Teilchenform abhängt. Über die letztere kann daher aus den vorliegenden Daten auch keine Aussage gemacht werden.

Die früher in (B) Tab. 6 angegebenen  $\Delta$ -Werte für wässrige Natrium-Caseinatlösungen betrugen: 100  $\Delta_U = 1,1$ , 100  $\Delta_V = 0,26$ . Der erstere Wert ist grösser als der hier für neutrale Magermilch gefundene und würde daher auf grössere Teilchen schliessen lassen, während aus den vorliegenden Messungen das Gegenteil hervorgeht. Die früheren  $\Delta$ -Werte sind offenbar durch Staubgehalt stark gefälscht, was in (B V) bereits in Betracht gezogen wurde. Auch ein etwaiger restlicher Fettgehalt würde in derselben Richtung wirken.

#### Zusammenfassung.

Das Casein der nativen Magermilch befindet sich als lichtstreuendes System an der oberen Gültigkeitsgrenze der *Rayleigh*'schen Theorie. Durch Alkalizusatz wird eine Dispergierung der Teilchen bewirkt, wobei die Streuintensität auf etwa den 500. Teil und daher das Teilchenvolumen um mindestens ebensoviel abnimmt. Aus den Werten des Depolarisationsgrades  $\Delta$  kann für den Teilchendurchmesser der neutralen Magermilch eine obere Grenze von ca. 120 m $\mu$  angegeben werden, für die alkalische daher eine solche von ca. 15 m $\mu$ . Beide Angaben stehen in befriedigender Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Ultrazentrifugierung. Aus den  $\Delta$ -Werten kann außerdem für das native Casein auf Kugelform oder wenigstens Kugelsymmetrie geschlossen werden, während über die Form der dispergierten Teilchen keine Aussage möglich ist. Die von *Nitschmann* aus der Messung der Strömungsdoppelbrechung geschlossene längliche Form ist damit vereinbar.

Bern, Hallerianum (Physiologisches Institut der Universität) und Chemisches Institut der Universität, organische Abteilung.

<sup>1)</sup> Koll. Z. 51, 10 (1930).