

## **Ueber die Bestimmung des Kuh-Caseïns durch Fällung mit Schwefelsäure.**

Von

**Joh. Frenzel und Th. Weyl.**

(Aus dem Privat-Laboratorium von Th. Weyl.)  
(Der Redaktion zugegangen am 16. Dezember 1884)

Im Verlaufe einer Untersuchung von wesentlich technischem Interesse handelte es sich um Auffindung einer Methode zur quantitativen Bestimmung des Caseïns der Kuhmilch, welche bei möglichst schneller und leichter Ausführbarkeit genügend genaue Resultate garantirte.

Nachdem das Princip derselben von dem einen (W.) von uns beiden gefunden war, haben wir die weitere Ausführung des Verfahrens gemeinsam unternommen.

Bekanntlich bestimmt man das Caseïn der Kuhmilch nach Hoppe-Seyler in der auf das 20fache verdünnten Milch durch Zusatz verdünnter Essigsäure und Durchleiten eines Kohlensäurestromes. Hierbei missglückt die Abscheidung sehr leicht, wenn man einen kleinen Ueberschuss von Essigsäure zugesetzt hat. Aus diesem Grunde schreibt Hoppe-Seyler vor, von derselben Milch drei Portionen anzusetzen und von diesen die bestgelungenste zu benutzen.

Nach unserem Verfahren scheidet man das Caseïn aus der nur auf das 4fache verdünnten Milch durch verdünnte Schwefelsäure ab. Man erhält nach kurzer Zeit — in der kalten Jahreszeit genügen wenige Stunden — eine leicht und klar filtrirende Flüssigkeit über einem feinflockigen Niederschlage, der sich sehr gut auswaschen lässt.

Auf Grund einer grossen Reihe von Versuchen mit Säuren verschiedener Concentration, blieben wir zuletzt bei einer Schwefelsäure von 1‰, d. h. bei einer Säure, welche 1 cbcm. reiner concentrirter Schwefelsäure von 1,84 specif. Gewicht auf 1 Liter destillirtes Wasser enthält, stehen. Diese Säure wurde bei allen im Folgenden mitgetheilten Analysen benutzt.

Man verfährt im Einzelnen folgendermassen:

In einem Becherglase von 150 cbcm. Inhalt befinden sich 60 cbcm. destillirtes Wasser. Zu diesen lässt man 20 cbcm. einer gut umgeschüttelten Milch, die mit der Pipette<sup>1)</sup> abgemessen sind, fliessen. Man rührt um und lässt unter fortwährendem Rühren zur verdünnten Milch aus einer Bürette 30 cbcm. Schwefelsäure von 1‰ (s. o.) fliesen. Der Rührstab wird abgespritzt und das Glas für einige Stunden bedeckt in einen kalten Raum gestellt<sup>2)</sup>.

Die über dem Niederschlage stehende Lösung wird ohne diesen aufzurühren, durch ein aschefreies gewogenes Filter gegossen. Zuletzt bringt man den Niederschlag auf dasselbe und wäscht 2mal mit Wasser nach. Nachdem das Filter abgetropft ist, wird 2mal mit Alkohol ausgewaschen. Zunächst mit Spiritus von etwa 90%, dann mit absolutem Alkohol. Zuletzt wäscht man das Filter mit Aether, und zwar bei abgesehnter Milch 10mal, bei voller Milch 15mal.

Das bei 110° getrocknete Filter wird gewogen und event. unter Zusatz von frisch ausgeglühtem Eisenoxyd «verascht»<sup>3)</sup>.

1) Mit den gewöhnlichen Büretten lässt sich Milch kaum genau genug abmessen. Höchstens mit solchen von sehr geringem Querschnitt.

2) Besondere Versuche zeigten, dass das Endresultat durch längeres Stehen nicht vergrössert wird.

3) Das beim Veraschen des Caseïns mit Eisenoxyd gefundene phosphorsaure Eisenoxyd als «Asche» im gewöhnlichen Sinne zu bezeichnen, halte ich für ungerechtfertigt. Die Phosphorsäure gehört zum Caseïnmolekül. Nur diejenigen unorganischen Bestandtheile des Caseïns, welche nicht Phosphorsäure sind, dürfen als Asche betrachtet werden. Vergl. die ausgezeichneten Untersuchungen von O. Hammarsten: Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII, S. 227 (1883).

Zunächst verglichen wir unser Verfahren mit Hoppe-Seyler's vorzüglicher Methode der Casein-Bestimmung in essigsaurer Lösung. Die benutzte Essigsäure war der angewandten Schwefelsäure äquivalent.

Tabelle I.

Milch.	Ab- gesahnte.	$\Delta$ in mgr.	Volle	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Asche.
20 M + 60 H <sub>2</sub> O + 30 SO <sub>3</sub>	0,47681)	— 6	0,4994	— 19	0,7685	— 21	0,595	— 17	0,6488	— 7	0,0051)
20 M + 400 H <sub>2</sub> O + 36,6 Essigsäure + CO <sub>2</sub> (Hoppe-Seyler's Methode.)	0,4822)	—	0,518	—	0,7895	—	0,6125	—	0,6564	—	0,00652)

1) und 2) vergl. Asche.

Wenn wir also Hoppe-Seyler's Methode als die beste dem Vergleiche zu Grunde legen, so werden nach unserem Verfahren stets um ein Geringes zu kleine Werthe erhalten. Der gefundene Fehler beträgt aus allen fünf Analysen berechnet:

$$\frac{6 + 19 + 21 + 17 + 7}{5} = \frac{70}{5} = 14 \text{ mgr.}$$

Dies entspricht also  $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{50}$  der überhaupt gewogenen Substanzmenge. Also pro Liter Milch ca. 0,7 Casein; oder, da Casein nach Hammarsten (a. a. O.) 15,65% Stickstoff enthält, 0,109 gr. N.

Darnach ist die angegebene Modification der Caseinbestimmung von durchaus genügender Genauigkeit<sup>1)</sup>.

Wir haben dann ferner geprüft, ob bei 20facher Verdünnung der Milch, wie sie Hoppe-Seyler vorschreibt, aus dem gleichen Quantum der gleichen Milch durch Schwefelsäure mehr Casein gefällt wird, als bei nur 4facher Verdünnung.

Tabelle II.

Milch.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Asche.
20 M + 60 H <sup>2</sup> O + 30 SO <sup>3</sup>	0,6465	+ 12	0,7128	+ 9	0,6488	+ 10	—
20 M + 400 H <sup>2</sup> O + 30 SO <sup>3</sup>	0,6345	—	0,7037	—	0,6385	—	—

Die Differenzen sprechen zu Gunsten der weniger stark verdünnten Milch.

Den Einfluss eines Ueberschusses an Schwefelsäure von 1%o illustriren die folgenden Analysen.

1) Für unsere Bestimmungsmethode des Caseins, welche technischen Zwecken dient, kann die Menge des im Filtrat gelösten Caseins durchaus vernachlässigt werden.

Tabelle III.

Milch.	Ab- gesahnte.	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Asche.
20 M + 60 H <sup>2</sup> O + 30 SO <sub>3</sub>	0,526 <sup>1)</sup>	+ 25	0,682	+ 19	0,6877	+ 39	0,0044 <sup>1)</sup>
20 M + 60 H <sup>2</sup> O + 45 SO <sub>3</sub>	0,5014 <sup>2)</sup>	—	0,6635	—	0,648	—	0,0033 <sup>2)</sup>

Hiernach wird wegen der Löslichkeit des Caseïns in einem Ueberschusse des Fällungsmittels weniger Caseïn gefunden bei Anwendung eines Ueberschusses der Schwefelsäure von 1‰.

Die Proben, welche 45 cbcm. Schwefelsäure enthielten, setzten sich nicht klar ab und filtrirten äusserst langsam.

Dass ein Ueberschuss an Essigsäure im gleichen Sinne wirkt, geht aus den folgenden Analysen hervor.

Die Essigsäure war der Schwefelsäure von 1‰ äquivalent.

Tabelle IV.

Milch.	Ab- gesahnte.	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Volle.	$\Delta$ in mgr.	Asche.
20 M + 400 H <sup>2</sup> O + 36,6 Essigs. + CO <sub>2</sub>	0,5533	+ 5	0,6564	+ 10	0,6125	+ 20	—
20 M + 400 H <sup>2</sup> O + 55,5 Essigs. + CO <sub>2</sub>	0,5486	—	0,6462	—	0,592	—	—

Die 36,6 cbcm. Essigsäure entsprachen 15 cbcm. Schwefelsäure von 10‰

Die 55,5 cbcm. Essigsäure entsprachen 45 cbcm Schwefelsäure von 10‰

Es geht aber ferner aus Tabelle III und IV hervor, dass von äquivalenten Mengen verdünnter Essig- und Schwefelsäure letztere in höherem Masse lösend auf Caseïn einwirkt als erstere.

1) und 2) vergl. unter Asche.

Endlich haben uns Versuche gezeigt, dass eingeleitete Kohlensäure die Caseïnmenge in keiner Weise beeinflusst.

Durch Kohlensäure wird vielmehr nur die Form der Ausscheidung modificirt. Die Caseïnflocken sind bei Anwendung von Kohlensäure feinflockiger als ohne dieselbe.

Das durch verdünnte Schwefelsäure (1‰) frisch gefällte, dann in wenig Ammoniak gelöste Caseïn verhielt sich, nachdem der angegebene Reinigungsprozess noch 2 mal wiederholt war, gegen die üblichen Reagentien wie das durch verdünnte Essigsäure gefällte.

Ammoniak löste beide Präparate auf. Säuren fällten aus der Lösung Caseïn, das durch einen Ueberschuss des Fällungsmittels gelöst wurde.

Ebenso verhielt sich Sodalösung, Baryt- und Kalkwasser.

In Salzsäure von 1‰ lösten sich beide Präparate bei 40° zu einer etwas trüben Flüssigkeit, welche die bekannten Eiweissreaktionen zeigte.

In der nachfolgenden Tabelle V haben wir die erhaltenen Caseïnwerthe auf Procente der frischen Milch berechnet.

Tabelle V (Caseïn in Procenten der frischen Milch).

Nr.	Milch.	Ab- gesamte.	Volle.	Volle.	Volle.	Volle.	Vergl. Tabelle Nr.
Ia	$\left\{ \begin{array}{l} 20 \text{ M} + 60 \text{ H}^2\text{O} + \\ 30 \text{ SO}^3 \end{array} \right\}$	2,38	2,497	3,843	2,975	3,24	I.
Ib	$\left\{ \begin{array}{l} 20 \text{ M} + 400 \text{ H}^2\text{O} + \\ 36,6 \text{ Essigs.} + \text{CO}^2 \end{array} \right\}$	2,41	2,590	3,948	3,06	3,23	
IIa	$\left\{ \begin{array}{l} 20 \text{ M} + 60 \text{ H}^2\text{O} + \\ 30 \text{ SO}^3 \end{array} \right\}$	—	3,23	3,56	3,24	—	II
IIb	$\left\{ \begin{array}{l} 20 \text{ M} + 400 \text{ H}^2\text{O} + \\ 30 \text{ SO}^3 \end{array} \right\}$	—	3,17	3,52	3,19	—	
IIIa	$\left\{ \begin{array}{l} 20 \text{ M} + 60 \text{ H}^2\text{O} + \\ 30 \text{ SO}^3 \end{array} \right\}$	2,63	3,41	3,44	—	—	III.
IIIb	$\left\{ \begin{array}{l} 20 \text{ M} + 60 \text{ H}^2\text{O} + \\ 45 \text{ SO}^3 \end{array} \right\}$	2,51	3,32	3,24	—	—	
IVa	$\left\{ \begin{array}{l} 20 \text{ M} + 400 \text{ H}^2\text{O} + \\ 36,6 \text{ Essigs.} + \text{CO}^2 \end{array} \right\}$	2,77	3,28	3,06	—	—	IV.
IVb	$\left\{ \begin{array}{l} 20 \text{ M} + 400 \text{ H}^2\text{O} + \\ 55,5 \text{ Essigs.} + \text{CO}^2 \end{array} \right\}$	2,74	3,23	2,96	—	—	

Die mitgetheilten Analysen dürften zu folgenden Schlüssen berechtigen:

1. Ohne die Genauigkeit der Caseinbestimmung wesentlich zu beeinträchtigen, genügt es, die Milch auf das 4fache zu verdünnen.
2. Die Anwendung der Kohlensäure ist entbehrlich.
3. Die hier mitgetheilte Methode der Caseinbestimmung ist schneller als die bisher geübte ausführbar, weil sie eine Operation weniger erfordert (Einleiten von Kohlensäure), und weil die zu filtrierende Flüssigkeitsmenge bedeutend geringer ist.

Berlin, im Dezember 1884.

(Privat-Laboratorium.)