

Über die Bestimmung des Milchzuckers in der Milch durch Fällung mit Ammonsulfat.

Von
Erich Kretschmer.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 28. April 1913.)

Im vorigen Jahre hat E. Salkowski in dieser Zeitschrift¹⁾ ein neues Verfahren zur Bestimmung des Milchzuckers in der Milch mitgeteilt, welches darauf beruht, daß die Eiweißkörper der Milch mit Ammonsulfat ausgefällt und im Filtrate der Milchzuckergehalt polarimetrisch bestimmt wird. Auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Salkowski habe ich seiner Zeit eine Reihe von Bestimmungen nach diesem Verfahren ausgeführt, an deren Veröffentlichung ich bisher verhindert war, und die ich im folgenden mitteilen will.

Die Versuchsanordnung war dieselbe, wie sie Salkowski (l. c.) angibt. Zur Polarisation wurde ein sehr empfindlicher Apparat mit dreiteiligem Gesichtsfeld von Schmidt & Haensch verwandt, der eine sehr scharfe Einstellung ermöglichte. Das Polarisationsrohr war ein 2 dm-Rohr. Stets wurden 3 Ablesungen gemacht und daraus das Mittel genommen. Die abgelesenen Grade wurden durch Multiplikation mit einem Faktor²⁾ auf 100 gebracht und dann auf Prozente Milchzucker umgerechnet. Die Werte sind sämtlich auf $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ bezogen, wo $[\alpha]_D = 55,30$ ist. Die Umrechnung erfolgte nach der Formel $x = \frac{52,53 \cdot 2}{a \cdot 100}$, worin a die Anzahl der abgelesenen Grade (nach ihrer Multiplikation mit dem betreffenden Faktor) bedeutet.

¹⁾ E. Salkowski, Diese Zeitschrift, Bd. 78, 2. H., S. 88.

²⁾ Die Größe des Faktors hing natürlich von der bei der Untersuchung angewendeten Milchmenge ab, betrug also beim Ammonsulfatverfahren 2 (Milch = 50 ccm), bei der Eisenmethode 3 (Milch = 10 ccm).

Die folgenden Doppelbestimmungen zeigen, daß die nach der Ammonsulfatmethode erhaltenen Resultate sehr gut unter sich übereinstimmen.

Tabelle I.

| Nr. | a) | b) |
|-----|------|------|
| 1 | 4,08 | 4,10 |
| 2 | 4,34 | 4,39 |
| 3 | 4,38 | 4,39 |

Da es nicht ausgeschlossen erschien, daß durch die Anwesenheit des Ammonsulfats die Drehung des Milchzuckers irgendwie beeinflußt werden könnte, so verglich ich die Drehung einer reinen 5%igen Milchzuckerlösung — d. h. ungefähr von derselben Konzentration wie die zur Untersuchung kommenden Milchfiltrate — mit der einer 5%igen Milchzuckerlösung, welcher 17,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ zugesetzt waren. Hierbei fand ich (nach Ausgleichung der durch den Zusatz von Ammonsulfat bewirkten Volumenzunahme in der Kontrollprobe mit Wasser) keine Differenz. Nun hat kürzlich Jahnsen-Blohm¹⁾ angegeben, daß die polarimetrische Drehung des Milchzuckers durch Zusatz von Ammonsulfat minimal, aber deutlich herabgesetzt wird, so daß das Salkowskische Verfahren offenbar zu geringe Werte liefern würde. Jahnsen-Blohm schlägt daher vor, eine Korrektur von 0,10% anzubringen. Ich habe seine Versuche nachgeprüft, ohne sie jedoch ganz bestätigen zu können. Hierbei hielt ich mich streng an die von ihm angegebene Versuchsanordnung; in Versuch 3 der folgenden Tabelle wich ich insofern davon ab, als ich nicht zweimal genau 5 g Milchzucker abwog und daraus die beiden Vergleichslösungen herstellte, sondern einer genau 5%igen Milchzuckerlösung mittels einer Pipette je 50 ccm entnahm und diese im Meßkölbchen in der von ihm angegebenen Weise auffüllte. Ich wollte dadurch die Fehlerquelle des zweimaligen genauen Abwägens beseitigen, die, wie ich glaube, größer ist als die beim Abfüllen mit der Pipette entstehende. Es wurde die polarimetrische Drehung kurze Zeit

¹⁾ G. Jahnsen-Blohm, Diese Zeitschrift, Bd. 83, H. 6, S. 441.

nach dem Lösen des Milchzuckers, nach 24 und 48 Stunden nach bestimmt.

Tabelle II.

| Nr. | Milchzucker | Zeit | Ohne | Mit | Differenz |
|-----|-------------|---------|-------------|-------|-----------|
| | g | Stunden | Ammonsulfat | Grade | |
| 1 | 2 | 1 | 2,22 | 2,14 | - 0,08 |
| | 2 | 24 | 2,10 | 2,10 | — |
| | 2 | 48 | 2,10 | 2,10 | — |
| 2 | 5 | 1/2 | 5,43 | 5,39 | - 0,04 |
| | 5 | 24 | 5,18 | 5,22 | + 0,04 |
| | 5 | 48 | 5,11 | 5,13 | + 0,02 |
| 3 | 5 | 1 | 5,35 | 5,37 | + 0,02 |
| | 5 | 24 | 5,27 | 5,29 | + 0,02 |
| | 5 | 48 | 5,26 | 5,23 | - 0,03 |

Die erhaltenen Resultate sind also durchaus nicht eindeutig. Bei den nach kurzer Zeit gemachten Ablesungen sehen wir zwar deutliche Differenzen, doch dürften sie vielleicht durch die Multirotation der frisch bereiteten Zuckerlösung verursacht sein, eine Erscheinung, mit der man ja bei der Milchuntersuchung nicht zu rechnen hat. In den meisten Fällen aber sind sogar die Werte der Lösungen Milchzucker + Ammonsulfat eine Kleinigkeit höher als die der reinen Milchzuckerlösungen. Die Abweichungen sind jedoch nach beiden Richtungen so minimal, daß sie meines Erachtens für die Praxis gar nicht in Betracht kommen. Ich halte daher die Anbringung einer Korrektur, wie sie Jahnson-Blohm vorschlägt, soweit man aus seinen Versuchen und aus den meinigen schließen kann, nicht für zweckmäßig. Weitere Versuche in dieser Richtung wären jedenfalls erwünscht.

Man erhält übrigens, wie die folgenden Versuche zeigen, mit dem Salkowskischen Verfahren allgemein höhere Werte als mit vielen andern Methoden.

Im Verlaufe der Untersuchung ergab sich, daß man auch das Weylsche¹⁾ Verfahren zur Enteiweißung der Milch für

¹⁾ Th. Weyl, Diese Zeitschrift, Bd. 65, S. 246.

die polarimetrische Bestimmung des Milchzuckers verwenden kann. Das schnell ablaufende Filtrat ist absolut blank und kann direkt polarisiert werden. Bezüglich näherer Angaben verweise ich auf die Weylsche Arbeit (l. c.). Die Werte stimmen mit den nach der Ammonsulfatmethode erhaltenen Werten sehr gut überein (s. Tab. III.)

Zum Vergleich und zur Kontrolle der mit dem Ammonsulfatverfahren erhaltenen Resultate bediente ich mich weiter des gravimetrischen Verfahrens nach Allihn, der Bleiacetatmethode nach Hoppe-Seyler¹⁾ sowie der Bestimmung von Oppenheim²⁾ mit kolloidalem Eisenhydroxyd nach Michaelis und Rona.

Bei der Anwendung des gravimetrischen Verfahrens konnte ich die Beobachtung Sebeliens³⁾ auch für das Salkowskische Verfahren bestätigen: Die gravimetrischen Werte fielen durchweg niedriger aus als die polarimetrischen.

Nach der Bleiacetatmethode erhielt ich ebenfalls fast stets niedrigere Werte als nach Salkowski. Hier ist die Differenz wohl daraus zu erklären, daß nach der Vorschrift die Milchbleiacetatmischung zur vollständigen Koagulation des Eiweißes aufgeköcht werden muß, wobei natürlich trotz Verwendung eines Aufsatzrohres sehr leicht eine Veränderung des Volumens bzw. der Konzentration eintreten kann.

Die Methode von Oppenheim (l. c.) beruht auf dem Enteiweißungsverfahren von Michaelis und Rona,⁴⁾ das von diesen Autoren speziell für die Enteiweißung des Blutserums ausgearbeitet worden ist. Vorbedingung für ein gutes Gelingen dieser Methode, welche sehr expeditiv und mit kleinen Mengen arbeitet, ist vor allem ein gutes Eisenpräparat. Es scheint auch, daß bei diesem Verfahren für die Erzielung eines klaren Filtrats sehr viel von der Art des Eisenzusatzes abhängt.

¹⁾ J. Hoppe-Seyler-Thierfelder. Handb. d. Physiol. u. Path.-Chem. Analyse, 9. Aufl., Berlin, S. 728.

²⁾ K. Oppenheim, Chemikerzeitung 1909, Nr. 105.

³⁾ Sebelien, Hammarsten-Festschrift 1906, Nr. 17 zit. nach C. Neuberg, der Harn usw., Berl. 1911, S. 1036.

⁴⁾ Michaelis u. Rona, Bioch. Ztschr., Bd. 5, S. 365, 1907.

Zweckmäßigerweise läßt man die Eisenlösung ziemlich langsam tropfenweise unter kräftigem Umschütteln zufließen. Die Übereinstimmung in den Resultaten der Eisen- und der Ammonsulfatmethode war eine leidlich gute.

In den folgenden beiden Tabellen sind die Werte der Ammonsulfatmethode mit denen der Kontrollmethoden zusammengestellt.

Tabelle III.

| Nr. | Prozente Milchzucker | | Differenz für a im Mittel |
|-----|---------------------------|--------------------------|------------------------------|
| | a) | b) | |
| | Ammonsulfatmethode | Gravimetrisch | |
| 1 | 4,76; 4,76 | 4,53 | + 0,23 |
| 2 | 4,76 | 4,68 | + 0,12 |
| | | Bleiacetatmethode | |
| 3 | 4,28; 4,30; 4,28 | 4,39; 4,36; 4,39 | - 0,10 |
| 4 | 5,14 | 4,42; 4,47 | + 0,70 |
| 5 | 4,85 | 4,42; 3,09 | + 1,00 |
| 6 | 4,58; 4,43 | 4,08; 3,80 | + 0,56 |

Tabelle IV.

| Nr. | Prozente Milchzucker | | | Differenzen gegen a |
|-----|----------------------|--------------|---------------|------------------------|
| | a) | b) | c) | |
| | Ammonsulfat | Eisen | Aceton | |
| 1 | 4,66 | 4,51 | 4,66 | b) + 0,15 c) — |
| 2 | 4,38 | 4,07 | 3,76 | b) + 0,39 c) + 0,62 |
| 3 | 4,66 | 4,85 | 4,56 | b) - 0,19 c) + 0,10 |
| 4 | 4,74 | 4,99 | 4,71 | b) - 0,25 c) + 0,03 |
| 5 | 4,87 | 4,54 | 4,76 | b) + 0,33 c) + 0,11 |
| 6 | 4,77 | — | 4,90 | c) + 0,13 |

Die Ammonsulfatmethode eignet sich auch für die Bestimmung des Milchzuckers in anderen Milcharten als Kuhmilch. Ich habe einige Bestimmungen in Frauenmilch und in Yoghurt ausgeführt, deren Ergebnisse die folgende Tabelle zeigt. Diese beiden Milcharten wurden gewählt, weil in ihnen sowohl die Eiweiß- wie die Milchzuckerverhältnisse ganz andere sind als in der Kuhmilch. Merkwürdigerweise versagte die Eisenmethode bei den Bestimmungen mit Frauenmilch vollkommen. Es war auch trotz Verwendung gehärteter Filter und trotz mehrmaligen Filtrierens nicht möglich, nach dem Zusatz von kolloidalem Eisenhydroxyd ein brauchbares Filtrat zu bekommen.

Tabelle V. — Frauenmilch.

| Nr. | Ammonsulfat | Kontrollverfahren | Bemerkungen |
|-----|-------------|-------------------|---------------------------------|
| 1 | 6,49 | —→ | Eisenmethode versagt. |
| 2 | 6,37 | —→ | desgl. |
| 3 | 6,79 | 6,94 | Kontrolle durch Acetonverfahren |

Tabelle VI. — Yoghurt.

| Nr. | Ammonsulfat | Eisen | Differenz für Ammonsulfat |
|-----|-------------|-------|---------------------------|
| 1 | 4,56 | 4,02 | + 0,54 |
| 2 | 4,38 | 3,94 | + 0,44 |
| 3 | 4,38 | 4,08 | + 0,30 |
| 4 | 4,43 | 4,11 | + 0,32 |

In beiden Milcharten stimmen die gefundenen Milchzuckermengen durchaus mit den sonst in der Literatur angegebenen Werten überein.

Der Hauptvorteil der Salkowskischen Methode scheint mir darin zu liegen, daß sie ein sehr schnelles und leichtes Arbeiten ermöglicht und stets ein absolut blankes Filtrat liefert. Ich kann mich nicht entsinnen, jemals ein trübes Filtrat erhalten zu haben. Es sind dies wertvolle Vorzüge gerade für die Praxis, wo die geringfügigen Differenzen gegen andere Verfahren meiner Ansicht nach gar keine Rolle spielen.