

Ueber die physikalisch-chemischen Vorgänge beim Altern des Eiklars

Autor(en): **Schweizer, Ch. / Werder, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **23 (1932)**

Heft 1-2

PDF erstellt am: **10.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983170>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Zusammenfassung.

Die polarimetrische Rohrzuckerbestimmung nach *Hasse* und *Bake* bzw. *Finke* wird nachgeprüft.

Es erweist sich als vorteilhaft, sich vom Volumen des Unlöslichen unabhängig zu machen, indem man die abgewogene Schokolade nicht auf ein bestimmtes Volumen auffüllt, sondern mit einer bestimmten Flüssigkeitsmenge versetzt.

Es wird festgestellt, dass ein Zuckerverlust durch Adsorption an die ausfallenden Bleiverbindungen stattfindet.

Diese Adsorption macht eine Korrektur nötig, welche mit steigendem Gehalt an fettfreier Kakaomasse zunimmt.

Zur Berechnung der fettfreien Kakaomasse wird ein rasch ausführbares Verfahren der approximativen Fettbestimmung angegeben, welches da angebracht ist, wo der Fettgehalt nicht zu andern Zwecken genau bestimmt wird.

Ueber die physikalisch-chemischen Vorgänge beim Altern des Eiklars.

Von Dr. C. H. SCHWEIZER.

(Aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes,
Vorstand: Prof. Dr. J. Werder.)

Bechhold¹⁾ hat kürzlich wieder darauf hingewiesen, dass die Nahrungsmittel fast ausschliesslich aus kolloidalen Systemen bestehen, und dass ihre Zubereitung vorwiegend angewandte Kolloidchemie sei. Ausser Wasser, den anorganischen Salzen und einigen wenigen organischen kristalloiden Stoffen, wie zum Beispiel Zucker und Harnstoff, kommen im pflanzlichen wie auch im tierischen Organismus ja tatsächlich nur Kolloide vor. Wenn wir vom Wasser absehen, so überragen diese an Menge ganz ausserordentlich die Kristalloide.

Dies ist ganz besonders beim Ei der Fall, welches bekanntlich aus folgenden Hauptteilen besteht:

Schale	ca. 10 %
Eiklar	ca. 60 %
Eidotter	ca. 30 %

Während im Eidotter die ätherlöslichen Bestandteile vorherrschen, überwiegen im Eiklar die Eiweisskörper, wie aus folgender Zusammensetzung des Eiklars hervorgeht:

Wasser	ca. 87 %
Eiweiss	ca. 12 %
Stickstofffreie Extraktstoffe	ca. 0,7 %
Aetherlösliche Bestandteile	ca. 0,3 %

¹⁾ Kolloide in Biologie und Medizin, S. 190, Dresden u. Leipzig (1929).

Vom Eiweiss entfallen etwa 10 % auf das Albumin, welches zu den bisher am eingehendsten studierten Proteinen gehört. Daneben enthält das Eiklar noch etwa 1,3% Ovomukoid und 0,7% Globulin.

Durch Dialyse, Ultrafiltration oder Elektrodialyse bzw. Elektroultrafiltration lässt sich nach Bechhold (S. 167) Eieralbumin gewinnen, welches nur noch rund 0,2% oder weniger Asche (namentlich Kalziumphosphat) enthält. In lebenden Organismen kommt aber Albumin stets mit Elektrolyten zusammen vor, welche seine Eigenschaften verändern. So lässt sich ein weitgehender Parallelismus zwischen dem Einfluss der Neutralsalze auf Viskosität und Hitzegerinnung feststellen. Lässt man nicht-neutrale oder hydrolytisch stark dissoziierte Salze auf amphoterer Eiweiss einwirken, so bildet sich Säure- oder Alkalieiwiss, welche beide sehr ähnliche Veränderungen zeigen. Während nämlich neutrales Eiweiss geringere Viskosität besitzt, leichter koaguliert und geringeres optisches Drehungsvermögen zeigt, hat ionisiertes Eiweiss hohe innere Reibung, koaguliert schwer und bewirkt starke optische Drehung. Neutralsalze setzen die Ionisation herab und bei ganz hohen Salzkonzentrationen wird das Albumin bekanntlich ausgeflockt. Noch weit verwickelter scheinen die Verhältnisse im Eiklar zu liegen, das auch noch die Gase der Luft gelöst enthält. Die Kohlensäure soll z. B. in einem Eiweissol ebenso löslich sein wie in Wasser. Nach Lescardé²⁾ hat man in 100 cm³ Eiklar 66,8 cm³ Kohlensäure, 2,3 cm³ Sauerstoff und 3,8 cm³ Stickstoff gefunden.

Trotzdem also im Eiklar die Verhältnisse weit komplizierter sind als in Solen von elektrolytfreiem Albumin, haben wir versucht, die an letzteren beobachteten Alterserscheinungen auch an dem komplizierten System des Eiklars direkt zu verfolgen.

Die Sole werden nach Wiegner³⁾ bekanntlich unterschieden in:

1. Elektrokristische Systeme, welche ihre Beständigkeit einer elektrischen Ladung der dispersen Phase verdanken (Freundlich);
2. Solvatokristische Systeme, deren Beständigkeit durch Hydratation oder Solvatation der Teilchen, wodurch sie von Hüllen des Lösungsmittels umgeben sind, bedingt wird (Wo. Ostwald).

Im allgemeinen werden die solvatokratischen Systeme wohl den kolloidalen Systemen mit molekularer Struktur, die elektrokristischen denjenigen mit mizellarer Struktur entsprechen.

Die nicht denaturierten Eiweissstoffe gehören nun meistens den solvatokratischen Systemen an. In lebenden Organismen soll das Altern nach Vlad. Ruzicka⁴⁾ nicht, wie früher angenommen, durch Anhäufung

²⁾ L'œuf de poule, sa conservation par le froid, S. 9, Paris (1908).

³⁾ Ztschr. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde, Teil A, 11, 188 (1928).

⁴⁾ Pflügers Arch. ges. Physiol., 194, 135 (1922).

unlöslicher Stoffwechselprodukte (Schlackenprodukte nach Minot) bedingt sein, sondern vielmehr durch eine Verschiebung der solvatokratischen Systeme gegen den isoelektrischen Punkt, womit eine Abnahme der Dispersität verbunden ist. Mit letzterer deckt sich wohl die Ausflockung nach A. Lumière^{4a}). Nach Bechhold^{4b}) ist die allgemeinste Erscheinung des Alterns solvatokratischer Systeme eine Dehydratation, welche sich bei Gelen durch Entquellung (Abnahme des Wassergehaltes mit dem Alter von Organismen), sowie durch Abnahme der Permeabilität und der Elastizität bemerkbar macht, während sie bei Solen die erwähnte Abnahme der Dispersität und ferner diejenige der Viskosität und der Schutzwirkung erklärt. Nach The Svedberg^{4c}) hat man aus Röntgendiagrammen auch den Schluss gezogen, dass das Altern gewisser Kolloide in einer progressiven Kristallisation bestehen könne. Bechhold weist noch darauf hin, dass man bei solvatokratischen Systemen, im Gegensatz zu den elektrokratischen, bisweilen auch eine Peptisation (Verkleinerung) der dispersen Phase beobachtet hat.

Nach Grossfeld⁵) treten nun aber im Ei neben diesen Alterserscheinungen auch noch andere Veränderungen ein, wie Entwicklung des Embryos, sowie Zersetzungen und Fäulnis. Wir müssen also zwischen Altern und Verderben der Eier unterscheiden, worauf schon Lescardé (S. 15) hingewiesen hat. Sehr oft beobachtet man aber ganz alte Eier, die gar keine Verderbungserscheinungen aufweisen, sondern einfach eingetrocknet sind. Waren sie in Flüssigkeiten aufbewahrt, so zeigen sie auch keinen Wasserverlust, und wenn es sich gar um unbefruchtete Eier handelt, so ist auch keine Entwicklung des Embryo zu beobachten.

Das blosse Altern eines solvatokratischen Systemes kann nach Vlad. Ruzicka⁴) gemessen werden durch Bestimmung:

1. der Löslichkeit,
2. der Wasserstoffionenkonzentration,
3. der Viskosität,
4. des osmotischen Druckes,
5. der Ladung durch Elektroendosmose oder Kataphorese,
6. der Ausflockungsfähigkeit.

Was nun die Löslichkeit anbetrifft, so hat Vlad. Ruzicka festgestellt, dass ältere Stadien der Entwicklung des Frosches mit Trypsin längere Zeit benötigten als die jüngeren. Andererseits wuchs aber mit dem Fortlaufe der Entwicklung stetig auch die Menge des in Trypsin bereits unlöslichen Anteils. Diese Methode hat mit sehr grossen Schwie-

^{4a}) La vie, la maladie et la mort: Phénomènes colloïdaux. Masson & Cie., Paris (1928).

^{4b}) Kolloide in Biologie und Medizin, S. 78 u. 240, Dresden u. Leipzig (1929).

^{4c}) Colloid Chemistry, New York (1928).

⁵) Deutsche Nahrungsmittelsch., S. 9 u. 18 (1929).

rigkeiten zu kämpfen, denn vergleichbare Resultate erlangt man nur, wenn man auf verschiedene Entwicklungsstadien desselben Objektes dasselbe Dispersionsmittel in derselben Konzentration einwirken lassen kann. Ausserdem ist dieses Verfahren nur für feste Eiweissstoffe geeignet, weshalb es für unsere Zwecke nicht verwendbar schien.

Da im isoelektrischen Punkt die Ladung der dispersen Phase ihr Minimum erreicht, könnte man bei der Elektroendosmose oder Kataphorese nach Massgabe der zu den Elektroden des Ueberführungsapparates hinübergewanderten, mit Hilfe der Methode von Kjeldahl zu bestimmenden Eiweissmenge auf die Entfernung vom isoelektrischen Punkte schliessen. Ein solcher Apparat stand uns aber nicht zur Verfügung, auch ist diese Methode durch die einfachere Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration ersetzbar, wenn man den isoelektrischen Punkt bereits kennt.

Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration.

Der isoelektrische Punkt einer Ampholytlösung entspricht bekanntlich einer gewissen Wasserstoffionenkonzentration. Er wurde von Soerensen für kristallisiertes Eieralbumin bei $pH = 4,8$ gefunden. Nach Vlad. Ruzicka wäre also in einem Sol von elektrolytfreiem Albumin mit dem Altern eine Annäherung an diese Wasserstoffionenkonzentration zu erwarten. Im Eiklar verhielt es sich aber gerade umgekehrt. Schon Healy und Peter⁶⁾ sowie Sharp and Powell⁷⁾ hatten dieses Ansteigen des pH mit dem Altern des Eiklars beobachtet und auf den Verlust an Kohlensäure zurückgeführt.

Ich⁸⁾ verfolgte hierauf dieses Alkalisichwerden des Eiklars mit der nach Michaelis⁹⁾ schon früher von mir¹⁰⁾ zusammengestellten vereinfachten Farbenskala. Aus den erzielten Resultaten konnte ich schliessen, dass, wenn man als Altersgrenze für ein «frisches» Ei acht Tage annimmt, diese Altersgrenze mit der Phenolphthaleinreihe nach Michaelis bestimmt werden kann. Wenn man nicht bereits die ganze Phenolphthaleinreihe besitzt, die übrigens wegen ihrer geringen Haltbarkeit jedesmal neu hergestellt werden sollte, so dürfte es genügen, sich jeweilen nur die beiden Konzentrationen $pH = 9,2$ und $9,6$ vor Gebrauch frisch herzustellen.

Zur Ausführung der Methode werden folgende Reagenzien benötigt:

A. Indikatorstammlösung bestehend aus 0,1 g Phenolphthalein in 75 cm^3 Alkohol + 175 cm^3 destilliertem Wasser (zuerst in Alkohol lösen und dann Wasser zufügen);

6) Amer. J. Physiol., **74**, 363 (1925).

7) Proc. World's Poultry Congress, Ottawa, Canada, S. 399 (1927) u. Science, **69**, 278 (1929).

8) Mittl. Lebensm. Hyg., **20**, 203 (1929).

9) Ztschr. f. Immunitätsforsch., **32**, 194 (1921).

10) Mittl. Lebensm. Hyg., **13**, 295 (1922).

- B. Alkalilösung erhalten durch Verdünnen mit destilliertem Wasser von 4—5 cm³ n-Natronlauge auf 100 cm³;
- C. Indikatorverdünnung erhalten durch Versetzen von 1 cm³ Indikatorstammlösung «A» mit 9 cm³ Alkalilösung «B»;
- D. Indikatorröhrchen erhalten durch Abfüllen in Reagensgläser gleicher Weite von:
1. 4,5 cm³ Indikatorverdünnung «C» = p_H 9,6,
 2. 2,1 cm³ Indikatorverdünnung «C» = p_H 9,2
und Auffüllen auf 7 cm³ mit der Alkaliösung B.

Zur Messung wird in einem Reagensglas von gleicher Weite wie die Indikatorröhrchen 1 cm³ Eiklar mit 1 cm³ Indikatorstammlösung «A» und 5 cm³ isotonischer Kochsalzlösung (0,85%) versetzt und gut durchgemischt. Dann vergleicht man den Farbton mit demjenigen der beiden Indikatorröhrchen. Wenn sich die Färbung mehr derjenigen von p_H = 9,6 nähert als derjenigen von 9,2, so scheint nach den vorliegenden Untersuchungen bei einem an der freien Luft aufbewahrten Ei auf ein Alter von wenigstens acht Tagen geschlossen werden zu dürfen.

Nach dieser Methode bestimmte nun Gaggermeier¹¹⁾ bei Frischeiern während zehn Tagen täglich den p_H-Wert des Eiklars von je 25 Eiern und konnte meine Angaben bestätigen. Eier, deren Eiweiss mit Phenolphthalein als Indikator keinen höheren Wert als 9,2 zeigt, glaubt Gaggermeier als im allgemeinen nicht über drei Tage alt bezeichnen zu dürfen. Neben unseren zahlreichen Versuchen an von uns aufbewahrten Eiern hatten wir auch Gelegenheit, die Methode an einem Fall der Praxis auszuprobieren. Wir fanden nämlich bei einigen in einem Laden gekauften und als frische Trinkeier angeschriebenen Eiern p_H-Werte von 9,4 und 9,5. Der Händler gab dann nachträglich zu, dass sich diese Eier «erst» seit etwa zehn Tagen in seinem Besitze befinden und dass er nicht wisse, wie alt sie vorher schon waren.

Werden die Eier aber nicht an der freien Luft aufbewahrt, sondern in konservierenden und die Luft abschliessenden Flüssigkeiten, wie Wasserglaslösungen und Kalkwasser, so wird der Kohlensäureverlust und infolgedessen auch das Alkalisichwerden des Eiklars verhindert. Das gleiche ist auch in einer Kohlensäureatmosphäre der Fall, wie bereits Sharp und Powell gezeigt haben.

Ich¹²⁾ konnte nun aber auch bei gewissen belgischen Importeieren des Handels einen ebenso niedrigen Wasserstoffionenexponenten wie bei ganz frischen Eiern feststellen. Wir konnten nicht in Erfahrung bringen, ob diese Eier vor ihrem Versand einer Behandlung unterzogen werden, die das Entweichen der Kohlensäure verhindert. Auch haben wir keine

¹¹⁾ Arb. Reichsgesundheitsamt, **63**, 489 (1931).

¹²⁾ Mittl. Lebensm. Hyg., **20**, 312 (1929).

Anhaltspunkte dafür, dass es sich um Kühlhauseier handeln könnte, da uns nur ein Kühlschrank mit einer Temperatur von 8° C. zur Verfügung stand. Bei diesem Kältegrad war aber nur eine geringe Verzögerung des Alkalischwerdens zu beobachten. Immerhin konnten wir bei halbjährigen steyrischen Kühlhauseiern nur einen p_H von 9,2 feststellen.

Wenn also das Eiklar einen p_H unter 9,4 hat, so kann daraus nicht mit Sicherheit geschlossen werden, dass das zugehörige Ei frisch sei. Dagegen kann man bei einem p_H von 9,4 oder mehr annehmen, dass das Ei ein Alter von wenigstens acht Tagen habe.

Bestimmung der Viskosität.

Die Verschiebung gegen den isoelektrischen Punkt macht sich in den solvatokratischen Systemen von Vlad. Ruzicka durch eine Abnahme der Viskosität bemerkbar, welche im isoelektrischen Punkt ein Minimum aufweist. Auch beim Eiklar hat Cortese¹³⁾ je nach der Temperatur ein schnelleres oder langsames Abnehmen der Viskosität festgestellt. Er zeigt, dass bei Anwesenheit eiweissabbauender Bakterien diese Verflüssigung besonders beschleunigt werden kann. Im Eiklar kann die Veränderung aber auch noch durch den Eiweissabbau bedingt sein, welcher unter dem Einfluss des soeben besprochenen Alkalischwerdens eintritt. Diese Proteolyse gibt auch bei keimfrei gebliebenen alten Eiern Anlass sowohl zum Flüssigwerden des Eiklars als auch des Eigelbs; ausserdem findet ein Erweichen der Eigelbmembrane statt, wodurch sich das Ineinanderfliessen von Eigelb und Eiklar bei ganz alten Eiern erklärt. Schon John und Green¹⁴⁾ sind aber zu dem Schluss gekommen, dass der Unterschied zwischen normalem und wässrigem Eiweiss nicht identisch ist mit demjenigen zwischen frischem und gelagertem Ei.

Immerhin hat es den Anschein, dass man schon bei ziemlich frischen Eiern eine Abnahme der Viskosität wahrnehmen könne. Wenn man nämlich mit den handelsüblichen 1 cm³-Messpipetten das Eiklar aufsaugt, so beobachtet man meistens, dass bei frischen und achttägigen Eiern das Eiklar nicht ohne zu blasen aus der Pipette herauszubringen ist, während bei vierzehntägigen Eiern das Eiklar leicht und ohne Nachhilfe ausläuft. Es gibt aber zahlreiche Ausnahmen, indem z. B. vierzehntägiges Eiklar ebenso viskös sein kann wie frisches. Erst in ganz alten Eiern war das Eiweiss durchwegs dünnflüssig. In vielen Fällen schien es, dass ein Maximum der Viskosität erst nach acht Tagen erreicht werde, wenn ein solcher Schluss überhaupt aus der oberflächlichen Betrachtung beim Abpipettieren gezogen werden darf.

¹³⁾ Giorn. Chim. Ind. Appl., **10**, 148 (1928) u. Ann. Chim. App. Roma, **19**, 260 (1929).

¹⁴⁾ Washington Agric. Expt. Sta. Ann. Rep., 1927—1927.

Zur vergleichenden Messung der Viskosität des unverdünnten Eiklars machten wir nun einen Versuch mit einer graduierten 1 cm³-Messpipette von gleichmässigem Durchmesser, indem wir je 1 cm³ Eiklar immer aus gleicher Höhe ausfliessen liessen. Die trockene Pipette wurde bei jedem neuen Eiklar zuerst durch mehrmaliges Aufsaugen und Auslaufenlassen des zu prüfenden Eiklars gespült, ehe man mit den Messungen begann. Die infolge von Klumpen unregelmässig ausfliessenden Proben wurden nicht berücksichtigt. Die anderen Messungen gaben folgende Auslaufzeiten in Sekunden:

Alter der Eier in Tagen	Messung Nummer:									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	5—10 Sekunden									
2	8	20	5	24	5	5	15	6	8	7
8	10	5	5	5	5	7	8	6	7	6
8	12	17	5	8	7	9	6	9	5	5
14	5	6	6	6	10	6	6	6	5	6
14	6	8	6	10	4	4	6	10	8	10
21	5	5	4	4	4	4	6	5	5	6
21	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3
48	6	7	7	9	8	4	4	4	6	7
48	5	6	4	6	5	5	5	4	5	5

Bei diesem Messverfahren liessen sich also keine Gesetzmässigkeiten erkennen.

Wir hatten auch geglaubt, beim Filtrieren einer Eiklarlösung, die mit isotonischer Kochsalzlösung hergestellt worden war, mit vierzehntägigen Eiern eine Zunahme der Durchlaufgeschwindigkeit gegenüber frischen und achttägigen Eiern beobachtet zu haben. Aber auch hier wurden wieder zahlreiche Ausnahmen festgestellt. Nur bei ganz alten Eiern, die z. B. während einem halben Jahr in Kalkwasser aufbewahrt worden waren, machte sich eine eindeutige Zunahme der Filtriergeschwindigkeit bemerkbar.

Wir versuchten nun noch mit einem Ostwaldschen Viskosimeter genauere Messungen vorzunehmen. Der für 5 cm³ Flüssigkeit bestimmte Apparat zeigte mit destilliertem Wasser von 24° C. eine Auslaufgeschwindigkeit von einer Minute. Sowohl mit unverdünntem Eiklar als auch mit Verdünnungen 1:5 und 1:10 waren aber die Messungen mit diesem Instrument wegen Verstopfung der Kapillare durch Eiweissflocken nicht möglich. Wenn die Verdünnungen 1:5 und 1:10 aber durch gleich grosse Faltenfilter von Schleicher und Schüll (Nr. 588) filtriert wurden, so konnten mit Eiern verschiedenen Alters keine Unterschiede mehr in der Durchlaufzeit (63 Sekunden) beobachtet werden. Es wurde deshalb noch versucht, die Eiweissflocken durch Schleudern der Verdünnung

1:10 während 5 Minuten bei 2000 Umdrehungen zu entfernen. Mit den so geklärten Lösungen wurden in wiederholten Versuchen immer wieder folgende Auslaufzeiten gemessen:

Frisches Ei	65 Sekunden
Vierzehntägiges Ei	64 »
Kalkei, 1/2-jährig	63 »
Wasserglasei, 1/2-jährig	63 »

Diese Unterschiede sind aber zu gering, um in der Praxis selbst ein vierzehntägiges Ei einwandfrei nachweisen zu können.

Bestimmung des osmotischen Druckes.

Auch der osmotische Druck eines solvatokratischen Systemes nimmt nach Vlad. Ruzicka beim Altern ab und weist im isoelektrischen Punkt ein Minimum auf.

Der Gefrierpunkt, ein Mass für die osmotische Konzentration kristalloider Lösungen, wurde schon von verschiedenen Autoren sowohl für das Eiklar als auch für das Eigelb bestimmt. So wurden z. B. bei frischen Eiern folgende Durchschnittswerte der Gefrierpunktniedrigung gefunden:

	Bialaszewiez ¹⁵⁾	Rice u. Young ¹⁶⁾	Straub ¹⁷⁾
Eigelb	0,564	0,587	ca. 0,60
Eiklar	0,458	0,437	ca. 0,45

Dieser überraschende Befund eines so grossen Unterschiedes in osmotischer Konzentration zwischen Flüssigkeiten, die nur durch eine so zarte Wand getrennt sind, wie es die Dotterhaut ist, scheint nach Straub eine Lebenserscheinung zu sein. Diese Auffassung, dass die für die Erhaltung des stationären Zustandes notwendige Energielieferung eine Lebenserscheinung sei, wurde geprüft durch die vergleichende Untersuchung lebender und toter Eier. Dieselbe führte tatsächlich zu dem Ergebnis, dass mit dem Leben auch dieser osmotische Gegensatz verschwindet. Bei Eiern, welche die Durchleuchtungsprobe nicht mehr bestanden, war das osmotische Verhalten allerdings unregelmässig. Dagegen war der Gefrierpunktunterschied bei Kalkeiern und bei Gefrierhauseiern (auf -10^0 abgekühlt) grösstenteils verschwunden. Auch bei Zusatz von Giften (Morphin, Kokain, Zyankalium) hatte er ebenfalls etwas abgenommen. Allerdings bleibt sowohl in den verdorbenen Eiern als auch in den Kalkeiern und in den gefrorenen Eiern ein Gefrierpunktunterschied von 0,03—0,05 zwischen Eigelb und Eiklar bestehen. Straub nimmt an, dass auch in diesen Eiern noch ein letzter Lebensrest die

¹⁵⁾ Arch. Entwicklunsmech. Org., **34**, 489 (1912).

¹⁶⁾ Poultry Sci., **7**, 116 (1928).

¹⁷⁾ Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, **48**, 49 (1929).

geringe Menge der für diesen stationären Zustand notwendigen Energie liefert. Gibt man nämlich eine Eidottermasse in eine Pergamenthülle (Schleicher und Schüll) und stellt diese in das zugehörige Eiklar, so stellt sich ein Zustand ein bei dem die Gefrierpunkte innen und aussen sich um rund $0,01^{\circ}$ unterscheiden. Die Erkennung des Gegensatzes als Lebenserscheinung darf nun aber nach Straub nicht für seine Erklärung gehalten werden.

Da schon Bialaszewiez beobachtet hat, dass der Unterschied zwischen dem osmotischen Druck des Eigelbs und des Eiklars mit dem Altern abnimmt, so hätte man hier eine Methode zur Bestimmung des Eialters vermuten können. Nun hat aber Straub gezeigt, dass sich das System Eigelb-Eiklar bei unverdorbenen Eiern wochenlang ohne merkliche Aenderung in seinem Zustand erhalten kann. Wir suchten dies auch noch durch die Methode der Messung des osmotischen Druckes von kolloidalen Lösungen, die Steighöhenmethode, zu bestätigen. Für Eigelb hatten wir keine geeignete Dialysierflüssigkeit gefunden, die ein teilweises Ausfällen verhindert hätte.

Zur Bestimmung des osmotischen Druckes des Eiklars verwandte ich das von Zakowski (18) beschriebene Osmometer nach Donnan mit Ultrafeinfiltermembranen, in welchem das Verhältnis zwischen dem Volumen der zu untersuchenden Flüssigkeit und der Dialysieroberfläche besonders günstig gestaltet ist. Auch haben die flachen Membranen den Vorteil, dass sie ohne zu zerreißen leicht montiert und fertig bezogen werden können. Auf die Eiweissdichtigkeit werden sie mit Kongorot geprüft. Die in Formalinlösung aufbewahrten Membranen wurden vor der Verwendung zuerst mit Wasser gespült und dann noch einige Zeit in 0,85%ige Kochsalzlösung, welche als Dialysierflüssigkeit verwendet wurde, eingelegt. Mit dieser Lösung wurden auch die Gummiringe vor der Verwendung befeuchtet, um einen guten Abschluss zu erhalten. Da unverdünntes Eiklar sehr schwer blasenfrei in das Osmometer einzufüllen war, stellte ich mit 0,85%-iger Kochsalzlösung eine Verdünnung 1:10 her, welche einer ungefähr 1%-igen Albuminlösung entsprach. Als Aussenflüssigkeit wurde die gleiche Kochsalzlösung ohne Eiweiss verwendet. Obschon reines Ovalbumin auch in destilliertem Wasser löslich gewesen wäre, ergab letzteres mit Eiklar keine klare Lösung, da die Globuline ausgefällt wurden.

Da ich nur relative Werte benötigte, habe ich nur die jeweils definitiv erreichte Steighöhe, gemessen vom freien Flüssigkeitsspiegel der Aussenflüssigkeit, unter jeweils gleichen Bedingungen abgelesen. Die Ablesungen konnten immer nach 24 Stunden vorgenommen werden, da sich nach dieser Zeit ein auch nach 48 Stunden noch konstantes Gleich-

¹⁸⁾ Chem. Fabrik, 2, 427 (1929).

gewicht eingestellt hatte. Es wurden so mit an der freien Luft aufbewahrten Eiern folgende Steighöhen in mm beobachtet:

Alter der Eier in Wochen	1. Osmometer				2. Osmometer			
	Versuch Nummer:				Versuch Nummer:			
	1	2	3	4	1	2	3	4
0	69	70	84	70	67	71	67	77
1	62	63	82	85	—	71	77	76
2	71	77	82	80	72	79	82	77
3	77	76	—	—	71	70	—	—
6	90	74	—	—	88	115	—	—

Die Messungen mit dem Osmometer lassen also auch keine gesetzmässige Veränderung feststellen, welche in der Praxis das Erkennen eines vierzehntägigen Eies gestattet hätte.

Auch die Bestimmung der Trockensubstanz des Eiklars ergab keine deutlicheren Unterschiede:

Alter der Eier in Wochen	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch
0	13,7	13,3	12,4	12,0
1	13,15	13,2	13,3	12,3
2	14,3	13,9	14,5	13,6
3	13,0	13,0	—	—
6	16,3	16,0	—	—

Bestimmung der Ausflockungsfähigkeit.

Mit der bei der Verschiebung gegen den isoelektrischen Punkt stattfindenden Abnahme der Dispersität konnte Vlad. Ruzicka eine entsprechende Zunahme der Ausflockungsfähigkeit feststellen, welche im isoelektrischen Punkt am grössten ist. Um dies nachzuweisen, zerkleinerte er die zu untersuchenden Objekte (Organismen, Gewebe) in einer Tumorenmühle oder durch Zerreiben mit Seesand. Der gewonnene Saft wurde dann je nach Notwendigkeit verdünnt, filtriert und zu dem Filtrat 96%iger Alkohol aus einer Burette tropfenweise zugesetzt. So verbrauchte er mit Kaulquappensubstanz 2,66 cm³ Alkohol, um einen ebenso starken Trübungsring an der Oberfläche der Flüssigkeit zu erzielen, wie mit 0,9 cm³ Alkohol bei der Substanz der ausgewachsenen Frösche. Frische Pflanzen wurden wie tierische Objekte behandelt und dann nach Verdünnen von 0,2 cm³ des Filtrates mit 1 cm³ destilliertem Wasser 0,5 cm³ Alkohol zugesetzt. Bei alten Spinatpflanzen stellte sich die Ausflockung nach 1 Stunde ein, während das Filtrat von jungen vollständig klar blieb. Menschliches Serum wurde einfach verdünnt, indem man 0,2 cm³ Serum zu 1 cm³ destilliertem Wasser gab und dann mit 0,2 cm³ Alkohol versetzte. Die Verdünnung des Serums mit Wasser ist aber keine Notwendigkeit. Serum einer 6 Jahre alten Kuh ergab bei Zusatz eines Tropfen

Alkohols den gleichen Niederschlag, wie dasjenige eines 6 Wochen alten Kalbes bei Zusatz von 10 Tropfen.

Ich habe nun versucht, auch für Eiklar eine solche Zunahme der Ausflockungsfähigkeit mit dem Altern nachzuweisen. Ich versetzte zuerst 1 cm³ Eiklar, das ich mit steriler Pipette direkt aus dem Ei entnommen hatte, mit 9 cm³ destilliertem Wasser und schüttelte das Gemisch durch. Dann filtrierte ich immer durch gleich grosse Faltenfilter Nummer 588 von Schleicher und Schüll. Hierauf wurden je 0,5 cm³ Filtrat in Jenaer-Reagensgläsern mit je 0,2 cm³ 96%-igem Alkohol versetzt. So erzielte ich:

- | | | | | |
|----|---------------|-------------------------|------------------|-----------------|
| 1. | frisches Ei: | Opaleszierende Trübung, | nach etwa 4 Std. | Ausflockung |
| 2. | » | » : | » | » » 4 » |
| 3. | » | » : | » | » » 4 » keine » |
| 1. | 8-tägiges Ei: | Schwache Opaleszenz, | nach etwa 4 Std. | keine Ausflock. |
| 2. | » | » : | » | » » 4 » » |
| 3. | » | » : | » | » » 4 » » |

Die Reaktion war auch nach 24 Stunden unverändert. Mit geringeren Mengen Alkohol wurden keine Trübungen mit frischen Eiern erhalten, während grössere Alkoholmengen die bei einem Alkoholzusatz von 0,2 cm³ erhaltenen Trübungen nicht wesentlich verstärkten. Dass die verschiedenen starken Trübungen nicht etwa auf verschieden grosse durch das Filter gegangenen Eiweissmengen bedingt waren, konnte ich dadurch zeigen, dass bei Erhitzen von 1 cm³ des Filtrates, Versetzen mit 1 Tropfen konzentrierter Salpetersäure, Verdünnen mit 1 cm³ destilliertem Wasser und Zentrifugieren in Mellimetern in allen Fällen gleich.grosse Sedimentmengen erhalten wurden (etwa 1 cm³).

Ich versuchte nun, die Trübung quantitativ zu messen, indem ich die zehnfachen Mengen (5 cm³ Eiweissfiltrat + 2 cm³ 96%-iger Alkohol) ebenfalls in Mellimetern ansetzte und sofort während fünf Minuten bei 2000 Umdrehungen ausschleuderte. Es wurden so folgende Niederschlagsmengen erhalten:

- | | | | |
|----|---------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 1. | frisches Ei: | 2 mm ³ | } (ohne dass die überstehende Flüssigkeit klar geworden wäre). |
| 2. | » | » : 3 mm ³ | |
| 1. | 8-tägiges Ei: | } undeutlicher Bodensatz von weniger als 1 mm ³ . | |
| 2. | » | | |

Da wir beim quantitativen Vorversuch nach einigen Stunden eine Ausflockung beobachtet hatten, haben wir auch den quantitativen Versuch nochmals angesetzt und diesmal erst nach 12 Stunden durchgemischt und zentrifugiert:

- | | | | |
|----|---------------|-------------------------|-----------------------------------------|
| 1. | frisches Ei: | starke Flockenbildung, | Zentrifugat von ca. 50 mm ³ |
| 2. | » | » : | starke Trübung, » » » 6 » |
| 1. | 8-tägiges Ei: | opaleszierende Trübung, | Zentrifugat von ca. 1,5 mm ³ |
| 2. | » | » : | » » » 1,5 » |

Der gleiche Versuch wurde mit vierzehntägigen Eiern wiederholt und wieder nach 12 Stunden beobachtet und zentrifugiert:

1. frisches Ei: deutliche Trübung, Zentrifugat von ca. 15 mm³
2. » » : starke Flockenbildung, Zentrifugat von über 50 mm³
3. » » : deutliche Trübung, Zentrifugat von 14 mm³
1. 14-tägiges Ei: deutliche Trübung, unzusammenhängendes Zentrifugat
2. » » : deutliche Opaleszenz, unzusammenhäng. Zentrifugat
3. » » : fast keine Opaleszenz, kein Zentrifugat.

Bei einer Eiklarverdünnung von 1:100 konnten auch mit der vierfachen Alkoholmenge keine deutlichen Unterschiede erhalten werden.

Während also in den angeführten Beispielen, entgegen der Theorie, aber in Uebereinstimmung mit der Entfernung vom isoelektrischen Punkt, mit frischen Eiern ein stärkeres Sediment erhalten wurde als mit acht- und vierzehntägigen Eiern, kamen auch Fälle vor, wo mit frischen Eiern keine abzentrifugierbaren Niederschläge erhalten wurden. In diesen Fällen zeichneten sich aber die frischen Eier wenigstens durch eine deutlich stärkere Trübung aus als die acht- und vierzehntägigen. Wir fanden nur eine einzige Ausnahme. Bei der Untersuchung wurde stets gleichzeitig ein frisches Ei (1—2-tägig) von bekannter Herkunft untersucht.

Bei der Untersuchung von Kalkeiern auf Ausflockungsfähigkeit des Eiklars erhielten wir nun aber eine aussergewöhnlich starke Ausfällung. Dass dabei das Kalzium eine Rolle spielt, geht daraus hervor, dass beim Versetzen frischen Eiklars mit steigenden Mengen von Kalziumchlorid ein Ansteigen des Niederschlages bei gleichbleibender Alkoholzentration beobachtet wird. Starke Ausflockungsfähigkeit des Eiklars mit Alkohol lässt also nur dann auf das Vorliegen eines frischen Eies schliessen, wenn ein Kalkei ausgeschlossen ist.

Zusammenfassung.

Es wurde versucht, die an elektrolytfreien Albuminsolen beobachteten Alterserscheinungen auch an dem komplizierten System des Eiklars direkt zu verfolgen. Bei einem solvatokratischen System beruht das Altern auf einer Verschiebung gegen den isoelektrischen Punkt, verbunden mit Abnahme der Dispersität und der Hydratation (Vlad. Ruzicka). Wenn wir Verderbungserscheinungen, Entwicklung des Embryos und Wasserverlust ausschalten, so kann das blosse Altern solvatokratischer Sole gemessen werden durch Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration, der Viskosität, des osmotischen Druckes und der Ausflockungsfähigkeit. Bei Eiklar zeigt nun aber die Wasserstoffionenkonzentration keine Annäherung an den isoelektrischen Punkt von kristallisiertem Albumin an, sondern vielmehr eine Verschiebung nach der alkalischen Seite, was durch Kohlensäureverlust beim Altern des Eies erklärt

werden kann (Healy und Peter). Wenn das Eiklar einen pH unter 9,4 hat, so kann daraus nicht mit Sicherheit geschlossen werden, dass das zugehörige Ei frisch sei. Dagegen kann man bei einem pH von 9,4 oder mehr annehmen, dass das Ei ein Alter von wenigstens acht Tagen habe. Auch die Viskosität und der osmotische Druck, welche im isoelektrischen Punkt ein Minimum aufweisen, sollten mit dem Altern abnehmen. Die Abnahme der Viskosität war aber zu gering, um in der Praxis ein acht- oder ein vierzehntägiges Ei einwandfrei nachweisen zu können. Auch der osmotische Druck veränderte sich kaum und liess überhaupt keine Gesetzmässigkeiten erkennen. Die Ausflockungsfähigkeit sollte im isoelektrischen Punkt am grössten sein. Mit Eiklar wurde im allgemeinen entgegen der Theorie, aber in Uebereinstimmung mit der Entfernung vom isoelektrischen Punkt, eine stärkere Ausfällung bei frischen Eiern erzielt als bei acht- und vierzehntägigen. Starke Ausflockungsfähigkeit mit Alkohol lässt aber nur dann auf das Vorliegen eines frischen Eies schliessen, wenn Kalkeier ausgeschlossen sind. Viskosität und osmotischer Druck zeigten also keine deutlichen Veränderungen während vierzehn Tagen, während sowohl die Wasserstoffionenkonzentration als auch die Ausfällbarkeit von Eiklar auf ein Entfernen vom isoelektrischen Punkt des kristallisierten Albumins infolge Kohlensäureverlustes hinweisen.

Nachweis der Solubilisierung und Bestimmung des Solubilisierungsgrades von Kakao.

Von Dr. Th. von FELLEBERG.

(Aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Vorstand: Prof. Dr. J. Werder.)

Nach der eidgenössischen Lebensmittelverordnung darf nur ein Kakao-pulver als löslicher Kakao bezeichnet werden, welches durch Behandlung mit kohlensauren Alkalien oder mit Dampf aufgeschlossen ist. Löslicher Kakao darf höchstens 3% zugesetztes kohlensaures Alkali enthalten.

Im Ausland sind noch andere Verfahren gebräuchlich. Nach den Leitsätzen zur Beurteilung von Kakao und Kakaoerzeugnissen, die Härtel¹⁾ an der 23. Hauptversammlung deutscher Nahrungsmittelchemiker vorgetragen hat, ist aufgeschlossene Kakaomasse eine mit Alkalien, Carbonaten von Alkalien bzw. alkalischen Erden, Ammoniak oder deren Salzen bzw. mit Dampfdruck behandelte Kakaomasse. Der Zusatz von Alkalien oder alkalischen Erden darf 3% des Rohmaterials nicht überschreiten. Der Aschengehalt mit Alkalien oder alkalischen Erden aufgeschlossenen

¹⁾ Z. U. L., 52, 94, 1926.