

Über die Zusammensetzung der Fruchtsäuren von schweizerischen Obstsäften. 1. Mitteilung, Die Fruchtsäuren der schweizerischen Mostbirnensäfte

Autor(en): **Rentschler, H. / Tanner, H.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **45 (1954)**

Heft 2

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984018>

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.

Über die Zusammensetzung der Fruchtsäuren von schweizerischen Obstsäften

1. Mitteilung:

Die Fruchtsäuren der schweizerischen Mostbirnensäfte

Von *H. Rentschler* und *H. Tanner* *)

(Eidg. Versuchsanstalt, Wädenswil)

Über die Zusammensetzung der in schweizerischem Mostobst enthaltenen organischen Säuren herrscht bis heute keineswegs Klarheit. Bei den schweizerischen Mostereifachleuten ist die irrige Auffassung verbreitet, in den aus schweizerischem Mostobst bereiteten Säften sei praktisch nur Äpfelsäure vorhanden. Keinem aufmerksamen Praktiker dürfte jedoch die sich fast alljährlich von neuem bestätigende Beobachtung entgehen, dass Birnensäfte, insbesondere jene aus bäuerlichen Betrieben, während ihrer Verarbeitung und Lagerung viel häufiger von Krankheiten befallen werden als Äpfelsäfte. Die dabei auftretenden nachteiligen Veränderungen lassen sich meistens an einem Ansteigen der Gehalte an flüchtiger Säure während der Gärung oder im Anschluss daran erkennen. Für die grössere Anfälligkeit der Birnensäfte für Krankheiten hat der Praktiker eine wenig überzeugende Erklärung zur Hand; er macht den niedrigen Gesamtsäuregehalt bzw. das höhere pH der Birnensäfte für deren Krankwerden verantwortlich, eine Erklärung, welche sich als nicht ausschlaggebend erwiesen hat.

Schon vor längerer Zeit hatten wir uns die Aufgabe gestellt, die Zusammensetzung des schweizerischen Mostobstes bezüglich der darin vorkommenden Fruchtsäuren zu studieren und die Ursachen der verstärkten Anfälligkeit der Birnensäfte für Krankheiten zu ergründen. Die organischen Säuren interessierten uns insbesondere deshalb, weil uns aus dem Studium der Literatur bekannt war, dass verschiedene ausländische Forscher in Tafel- und Mostbirnen ihrer Länder Citronensäure in einer Menge nachgewiesen hatten, welche in extremen Fällen die gleichzeitig vorhandene Äpfelsäure übertraf. Citronensäure wird aber von zahlreichen in Getränken vorkommenden Mikroorganismen — insbesondere in säurearmen Säften — leicht angegriffen und grösstenteils in flüchtige Säuren umgewandelt ¹⁾²⁾³⁾. Falls die aus unseren schweizerischen Mostbirnen bereiteten Säfte grössere Mengen Citronensäure enthalten würden, wäre die Ursache ihrer erhöhten biologischen Labilität erklärt. Gleichzeitig liess sich durch solche Versuche auch abklären, ob eventuell einzelne schweizerische Mostbirnensorten vorhanden sind, welche keine Citronensäure enthalten und infolgedessen weniger gefährdet sein würden. — In einer weiteren Arbeit untersuchten wir die Fruchtsäuren der in der Schweiz verarbeiteten Mostäpfel.

*) Herrn *J. Augustin* möchten wir für seine Mithilfe bei der Vorbereitung der Säfte bestens danken.

Allgemeiner Teil

Mit der Zusammensetzung der in schweizerischem Mostobst enthaltenen Fruchtsäuren befassten sich bisher unseres Wissens ausschliesslich *Baragiola* und *Mitarbeiter* ⁴⁾⁵⁾. Diese Forscher haben seinerzeit sowohl in schweizerischen Mostäpfeln als auch in Mostbirnen ausschliesslich Äpfelsäure auffinden können; Citronensäure konnten sie analytisch nie in nennenswerten Mengen nachweisen. Einige Jahre später befassten sich *Frantzen* und *Helwert* ⁶⁾ mit den in Äpfeln vorkommenden Fruchtsäuren. Nach der Auffassung dieser Forscher bestehen die Fruchtsäuren der von ihnen untersuchten Äpfel zu etwa 70 % aus Äpfelsäure und zu etwa 25 % aus Citronensäure, während ein Rest von ca. 4 % aus Bernsteinsäure und von ca. 1 % aus Milchsäure bestehen soll. Später unternahmen es die bekannten französischen Forscher *Tavernier* und *Jacquin* ⁷⁾⁸⁾ in verschiedenen Arbeiten, die in Tafel- und Mostobst französischer Provenienz enthaltenen Fruchtsäuren zu charakterisieren; gleichzeitig stellten die genannten Forscher genaue Säurebilanzen auf. Diese sehr aufschlussreichen und grundlegenden Arbeiten möchten wir wie folgt zusammenfassen:

Tavernier und *Jacquin* sind der Auffassung, dass die Fruchtsäuren französischer Tafel- und Mostäpfel zur Hauptsache aus Äpfelsäure bestehen (85—90 %; daneben sollen durchschnittlich 4—5 % Citronensäure vorhanden sein, während nur sehr kleine, zu vernachlässigende Mengen Bernstein- und Milchsäure enthalten sind. — Bei den *Birnen* sollen die Verhältnisse wesentlich komplizierter sein: In gewissen Mostbirnen sowie in den Tafelbirnen französischer Provenienz sei Äpfelsäure die vorherrschende Fruchtsäure; demgegenüber sei in verschiedenen Mostbirnen als vorherrschende Säure Citronensäure gefunden worden (50—68 %). — Die aufgestellten Säurebilanzen zahlreicher Tafel- und Mostobstsäfte lassen erkennen, dass eine oder sogar mehrere Fruchtsäuren vorhanden sein müssen, welche sich bisher jeder Bestimmung entzogen. Der Anteil dieser bisher nicht charakterisierbaren Fruchtsäuren betrage 3—15 % des gesamten Fruchtsäuregehaltes.

Es ist verständlich, dass in der jüngsten Zeit von verschiedenen Forschern versucht worden ist, das moderne und jeder präparativen oder analytischen Charakterisierung überlegene Verfahren der Papierchromatographie für die Identifizierung der Fruchtsäuren heranzuziehen. Während bekanntlich alle rein analytischen Bestimmungsverfahren für die in Früchten enthaltenen organischen Säuren darunter leiden, dass einander nahe verwandte Fruchtsäuren nur unvollständig voneinander getrennt werden können, lassen sich nach den papierchromatischen Verfahren oft auch einander sehr nahe verwandte organische Verbindungen einwandfrei differenzieren.

Mit dem Problem der papierchromatographischen Bestimmung der Fruchtsäuren von *Äpfeln* befassten sich erstmals die britischen Forscher *Lugg* und *Overell* ⁹⁾, sowie *Bryant* und *Overell* ¹⁰⁾. Die genannten Forscher fanden bei der Untersuchung von Äpfeln, nach dem Besprühen der Chromatogramme mit

Bromphenolblau, neben der Äpfelsäure zwei weitere Farbflecken, deren Charakterisierung ihnen nicht gelang.

Analoge Arbeiten führten *Buch* und Mitarbeiter ¹¹⁾ aus, wobei es den letzteren gelang, die Charakterisierung der einzelnen Fruchtsäuren durch Verwendung verschiedener Sprühreagentien, wie ammoniakalisches Silbernitrat, Essigsäureanhydrid-Pyridin u.a., und auch durch Betrachtung der resultierenden Farbflecken im Ultraviolett- und Tageslicht zu vervollkommen. Ähnliche Arbeiten wurden von *Denison* und *Phares* ¹²⁾ ausgeführt, wobei verschiedene besonders geeignete Lösungs- bzw. Laufmittel angewendet wurden.

In England befasste sich *Hulme* ¹³⁾ mit der Charakterisierung der in britischen Äpfeln, wie Worcester Pearmain, enthaltenen Fruchtsäuren. *Hulme* gelang der Nachweis von Chinasäure, einer Fruchtsäure, welche sich bis dahin dem Nachweis in Äpfeln entzogen hatte. Für die genaue Charakterisierung der Chinasäure isolierte *Hulme* die letztere aus jungen Früchten der britischen Apfelsorte Worcester Pearmain und identifizierte sie papierchromatographisch einerseits direkt und andererseits in Form von Citronensäure nach erfolgter Oxydation der Chinasäure mit heissem Wasserstoffsuperoxyd.

Sehr ausführliche Arbeiten über papierchromatographische Untersuchungen der Fruchtsäuren britischer Äpfel verdanken wir dem an der Versuchsanstalt Long Ashton, Bristol, unter der Leitung von *A. Pollard* arbeitenden und leider kürzlich verstorbenen Forscher *J. D. Phillips* ¹⁴⁾, welcher sich für die Aufarbeitung der Fruchtsäuren der Ionenaustauscher bediente. Neben der von *Hulme* bereits erwähnten Chinasäure sollen nach *Phillips* in britischen Tafeläpfeln sehr kleine Mengen Chlorogensäure, Galakturonsäure und Bernsteinsäure enthalten sein. Hierzu ist zu erwähnen, dass Chlorogensäure bisher von keinem andern Forscher nachgewiesen werden konnte. Über die Auffindung von Mono-, Di- und Trigalakturonsäure, deren Anwesenheit sich aus dem enzymatischen Abbau von Pektin erklären lässt, wurden wir kürzlich von anderer britischer Seite mündlich unterrichtet. Bernsteinsäure wurde auch von andern Forschern vereinzelt nachgewiesen.

Unsere eigenen Untersuchungen erstreckten sich als erstes auf die bekannteren, von schweizerischen Mostereien verarbeiteten *Mostbirnen*. Analoge Untersuchungen führten wir mit schweizerischen Mostäpfeln aus; über die letztgenannten Arbeiten werden wir in einer späteren Mitteilung berichten.

Für unsere Versuche hielten wir uns weitgehend an die Arbeit von *Stark* und Mitarbeitern ¹⁵⁾. Insbesondere erwies sich das von diesen Forschern beschriebene phenolhaltige Lösungs- bzw. Laufmittel für die Trennung der in unseren Obst-säften enthaltenen Fruchtsäuren als besonders wertvoll. — Über die Vorbereitung der Birnensäfte für die papierchromatographische Bestimmung der Fruchtsäuren sei im experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit ausführlich berichtet. Im folgenden möchten wir eine Aufstellung der von uns untersuchten schweizerischen Mostbirnen geben und einige allgemeine Bemerkungen über die Vor-

bereitung der Säfte und die papierchromatographische Bestimmung der Fruchtsäuren anschliessen. Bezüglich aller Einzelheiten verweisen wir auf den experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit.

Es wurden folgende schweizerische Mostbirnen untersucht:

- | | |
|-----------------|--------------------------------|
| 1. Knollbirnen | 7. Theilersbirnen |
| 2. Herbstgütler | 8. Schweizer Wasserbirnen |
| 3. Fischbächler | 9. Sülibirnen |
| 4. Grünmöstler | 10. Spitzbirnen |
| 5. Gelbmöstler | 11. Ottenbacher Schellerbirnen |
| 6. Bergler | 12. Marxenbirnen |

Die für die papierchromatographische Bestimmung der organischen Säuren verwendeten Säfte wurden aus den entsprechenden sortenrein vorliegenden und voll ausgereiften Birnen der Ernte 1953 bereitet. Die Säfte ab Presse wurden mit Reinhefe vergoren und dafür gesorgt, dass Fehlgärungen oder andere nachteilige Veränderungen während oder nach Abschluss der Gärung ausblieben. Mit Absicht verzichteten wir vorerst darauf, unsere Versuche ausschliesslich mit *unvergorenen* Säften auszuführen, weil die von uns eingangs erwähnten, in bäuerlichen und Kleinbetrieben auftretenden nachteiligen Veränderungen fast ausschliesslich die unpasteurisiert lagernden *vergorenen* Säfte betrifft.

Gleichzeitig prüften wir, in welchem Umfang die von uns für vergorene Birnensäfte ermittelten Resultate sich auf die unvergorenen Säfte übertragen lassen. Zu diesem Zweck wurden von uns drei der in die Versuche einbezogenen sortenreinen Birnensäfte gleichzeitig *vor* und *nach Abschluss* der alkoholischen Gärung untersucht. *Abbildung 1* zeigt eindrucklich, dass die vorherrschenden Fruchtsäuren (Äpfelsäure und Citronensäure) sowohl in den süssen als auch in den vergorenen Säften in etwa gleicher Konzentration enthalten sind. Dagegen lassen sich, wie zu erwarten war, hinsichtlich der Bernsteinsäure und der Milchsäure gewisse Unterschiede erkennen: Kleine Mengen Bernsteinsäure werden bekanntlich im Verlaufe der Gärung gebildet, ebenso auch Milchsäure. Die übrigen von uns auf dem Papierchromatogramm ermittelten schwächeren Farbflecken (Chinasäure und Glykolsäure) sind in den süssen und vergorenen Birnensäften von fast gleicher Intensität. Wir glauben daher die von uns in den vergorenen Birnensäften ermittelten Werte, unter Ausschluss von Bernsteinsäure und Milchsäure, auf die entsprechenden unvergorenen Birnensäfte übertragen zu dürfen.

Für die der papierchromatographischen Trennung der Fruchtsäuren vorausgehende Aufarbeitung der Birnensäfte unterzogen wir die letzteren vorerst einer Behandlung mit einem stark sauren Kationenaustauscher. Durch diese Behandlung wurden die teilweise an basische Mineralstoffe gebundenen anorganischen und organischen Säuren restlos freigelegt. Daran schloss jeweils eine Behandlung mit einem stark basischen Anionenaustauscher an, wobei alle anwesenden anorganischen und organischen Säuren adsorbiert wurden. Die Elution des an den Anionenaustauscher adsorbierten Säuregemisches erfolgte nach Angaben von

Milchsäure
 Bernsteinsäure
 Glykolsäure
 Chinasäure
 Äpfelsäure
 Citronensäure

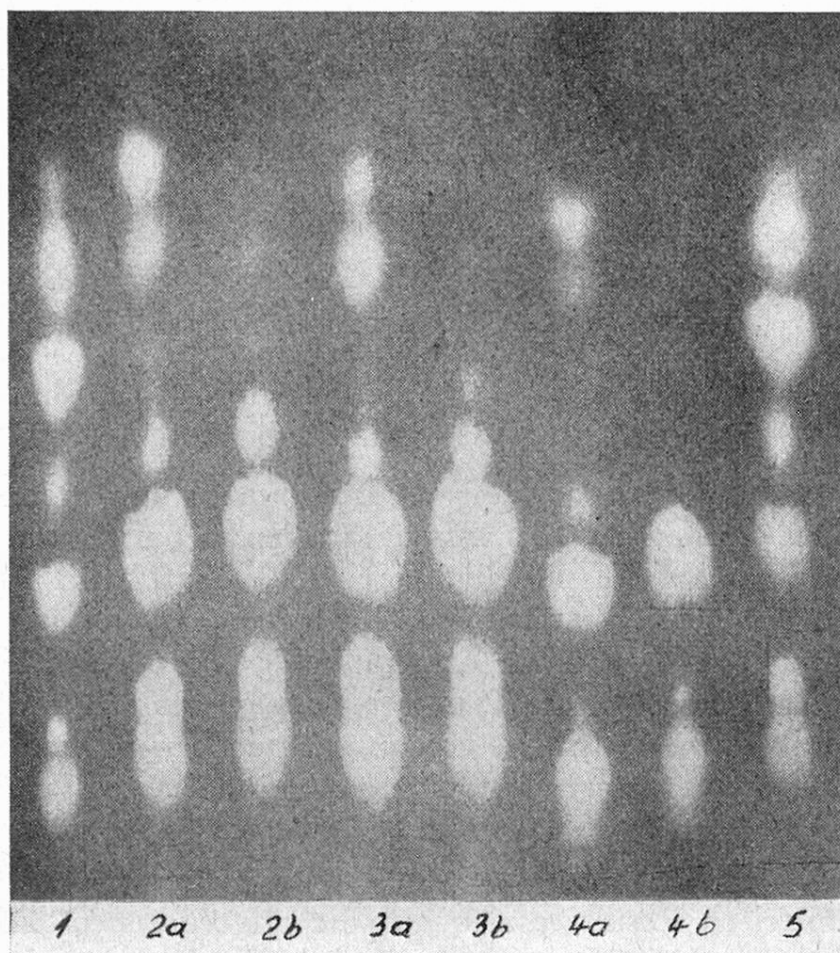


Abb. 1

1 und 5: Künstliches Gemisch der organischen Säuren
 2b: Theilersbirnensaft, süß 3b. Herbstgütlersaft süß
 2a: dito, vergoren 3a: dito, vergoren
 4b: Wasserbirnensaft süß
 4a: dito, vergoren
 (alle Säfte entsalzt)

Pollard *) mittels Ammoniumcarbonat. Nach dem Einengen der Lösung und dem Abdampfen des überschüssigen Ammoniaks wurden die an Ammoniak gebundenen Säuren durch Wiederholung der Behandlung mit dem Kationenaustauscher freigelegt.

Im Unterschied zu den Arbeiten anderer Forscher sind wir dazu übergegangen, die nach erneuter Behandlung mit Kationenaustauscher erhaltenen Lösungen mittels eines Diaphragmas von den anorganischen Begleitsäuren zu befreien. Wie aus *Abbildung 2* ersichtlich, hat dieses Vorgehen den grossen Vorteil, dass die

*) Wir sind Herrn Dr. *A. Pollard*, Leiter der Abteilung Cider and Fruit Juice der Agricultural and Horticultural Research Station, Long Ashton, Bristol ((England), für die uns freundlicherweise überlassenen und zum Teil unveröffentlichten Angaben zu grossem Dank verpflichtet.

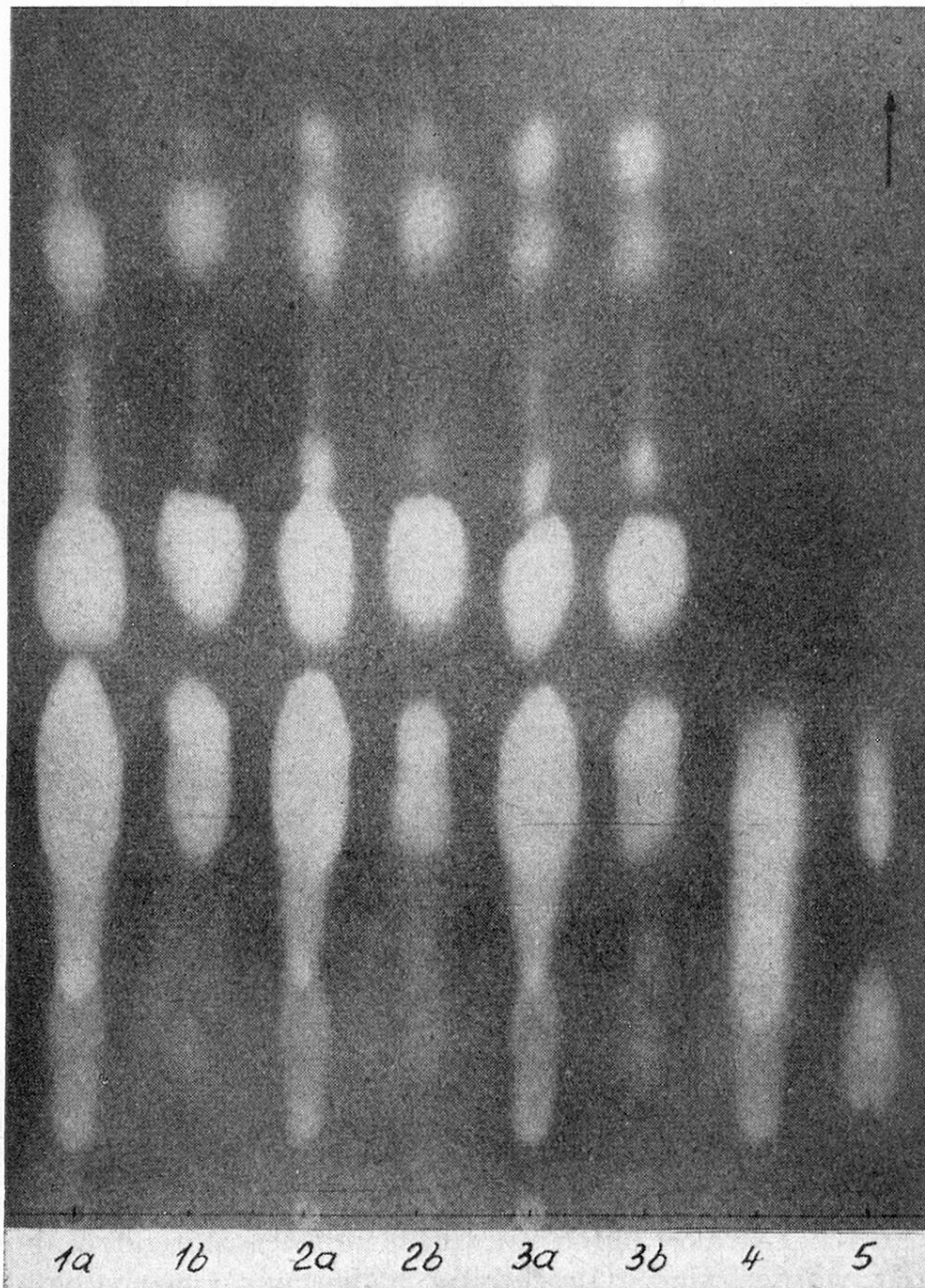


Abb. 2

- | | |
|--|---|
| 1a: Gr nm stler vergoren, nicht entsalzt | 2a: Spitzbirne vergoren, nicht entsalzt |
| 1b: dito, entsalzt | 2b: dito, entsalzt |
| 3a: Wasserbirne vergoren, nicht entsalzt | 4: Gemisch von Chlorid, Sulfat und Phosphat |
| 3b: dito, entsalzt | 5: Phosphat allein |

den einzelnen organischen Säuren entsprechenden Farbflecken nicht durch gleichzeitig anwesende *anorganische* Säuren, insbesondere durch Phosphorsäure, beeinträchtigt werden. Besonders jene organischen Säuren, welche R_f -Werte von weniger als 0,4 aufweisen, können ohne Vornahme einer solchen Entsalzung

kaum beurteilt werden. Insbesondere erweist sich Phosphorsäure als störend, welche unter Verwendung des von uns benützten Lösungsmittels zwei charakteristische Farbflecke ($R_f = 0,11$ und $0,26$) ergibt.

Wird die Entsalzung unterlassen, so erscheint besonders der der Citronensäure entsprechende Farbfleck stark vergrößert und gegen seine Startlinie hin verschmiert. Demgegenüber wird bei vorgängiger Entfernung der anorganischen Säuren durch Entsalzen ein auf sämtlichen Chromatogrammen auftretender und für die Citronensäure charakteristischer doppelter Fleck erhalten.

Nach erfolgter Entsalzung des Säuregemisches wurden die von den anorganischen Begleitsäuren befreiten Lösungen eingengt; sie waren alsdann für die Auftragung auf die Filterpapiere bereit. Als Papiere für die chromatographische Bestimmung der organischen Säuren verwendeten wir zwei verschiedene Qualitäten, welche das Auftragen einerseits kleiner und anderseits grösserer Substanzmengen erlauben; das eine eignet sich besonders gut für quantitative Bestimmungen (siehe exp. Teil). — Als Lösungs- bzw. Laufmittel diente uns ein Gemisch von Phenol, Ameisensäure und Wasser, welches im experimentellen Teil dieser Arbeit genau beschrieben wird. Die Chromatogramme wurden nach dem Auftragen der entsalzten und in wenig Wasser gelösten Fruchtsäuren in absteigender Richtung und während einer Dauer von durchschnittlich 16 Stunden entwickelt. Nach dem Trocknen und Sichtbarmachen der entwickelten Chromatogramme durch Besprühen mit Bromphenolblau ergaben sich Bilder, wie sie in *Abbildungen 3 und 4* wiedergegeben sind.

Zur besseren Kennzeichnung der einzelnen Säuren haben wir am linken und rechten Rand der Chromatogramme (*Abb. 3 und 4*) ein künstlich zusammengestelltes Säuregemisch laufen lassen, welches die in unseren Säften vermuteten Fruchtsäuren enthält.

Die *Abbildungen 2, 3 und 4* erläutern wir im einzelnen wie folgt: *Abbildung 2* zeigt drei verschiedene Birnensäfte (siehe Legende). Bei den mit a bezeichneten Chromatogrammen handelt es sich um *nicht* entsalzte Säureextrakte, während die mit b bezeichneten Extrakte durch Entsalzen von den störenden anorganischen Säuren befreit worden sind. Gleichzeitig haben wir Chromatogramme eines Gemisches von Salzsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure einerseits (Nr. 4) und von Phosphorsäure allein (Nr. 5, zwei Farbflecken) anderseits laufen lassen. *Abbildung 2* zeigt sehr deutlich, dass die Charakterisierung des der Citronensäure zugehörigen doppelten Farbfleckens ohne die vorgängige Entsalzung der Lösung völlig unmöglich ist.

Die *Abbildungen 3 und 4* zeigen die Chromatogramme der einzelnen sortenrein verarbeiteten Birnensäfte (*Abb. 3: 1—6, Abb. 4: 7—12*). Zu den einzelnen Farbflecken ist folgendes zu bemerken: Die untersuchten Birnensäfte lassen, mit Ausnahme von Nr. 3 (Fischbächler), im untersten Teil der Chromatogramme doppelte Farbflecken erkennen, welche, wie erwähnt, der Citronensäure zugeordnet werden müssen und R_f -Werte von $0,24$ und $0,28$ besitzen. Als nächste Säure

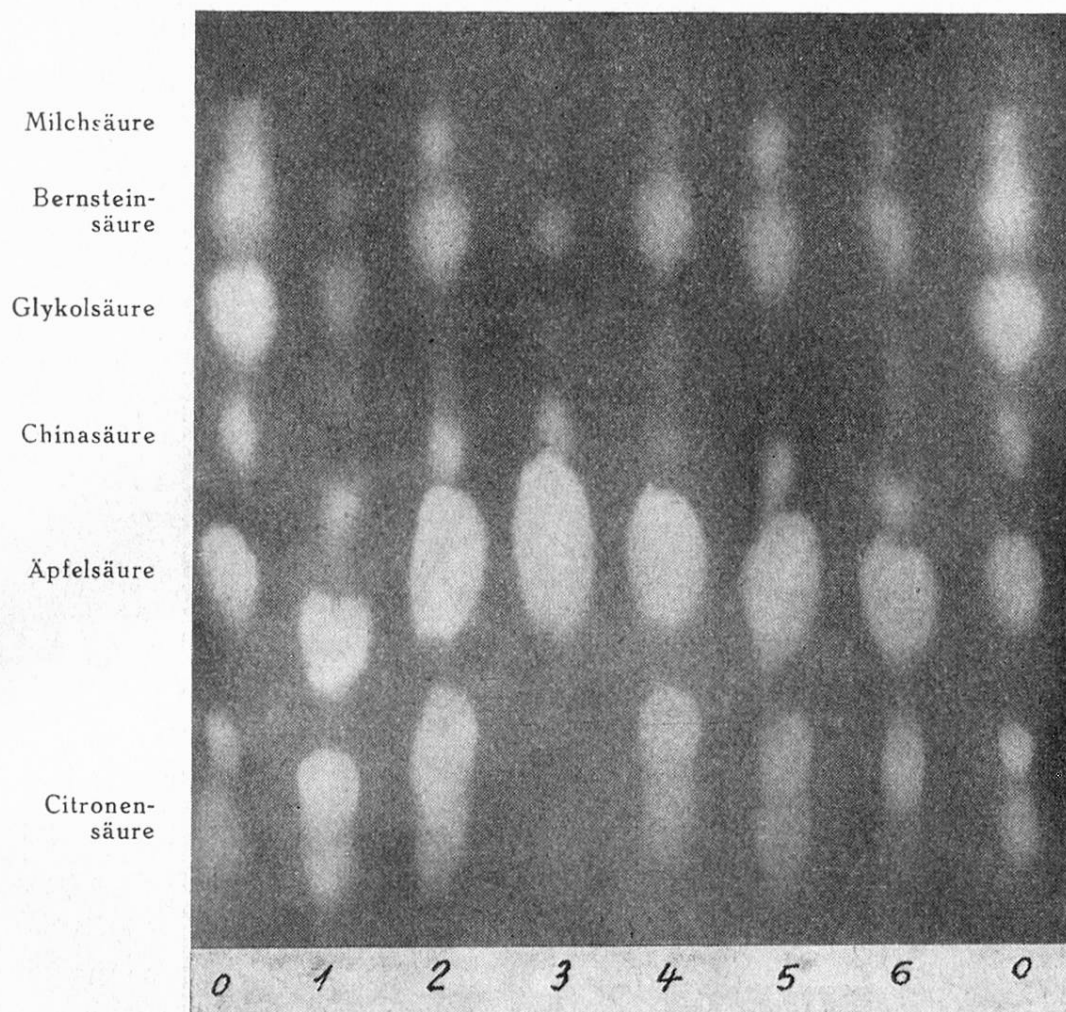


Abb. 3

- 0: Künstliches Gemisch der organischen Säuren
 1: Knollbirnensaft 4: Grünmöstlersaft
 2: Herbstgütlersaft 5: Gelbmöstlersaft
 3: Fischbächlersaft 6: Berglersaft
 (alle Säfte vergoren und entsalzt)

mit einem Rf-Wert von 0,42 erscheint Äpfelsäure. Unter dem Einfluss gewisser teils auf die Papierqualität, teils auf die aufgetragene Menge zurückzuführender Einflüsse treten wohl gewisse Unterschiede in den absoluten Distanzen der einzelnen Farbflecken von der Startlinie auf, doch erweisen sich die *relativen* Rf-Werte als gut übereinstimmend. Unmittelbar über den der Äpfelsäure zugeordneten Farbflecken ist die bis heute in Obstsaften fast unbekannt gebliebene und erst kürzlich in Äpfeln nachgewiesene *Chinasäure* sichtbar. Unseres Wissens ist Chinasäure bis heute weder in Birnen noch in den daraus bereiteten Säften je nachgewiesen worden. Dabei handelt es sich um Mengen in der Grössenordnung von ca. 0,5 g/l, so dass es erstaunlich erscheint, dass sich diese Säure bis heute

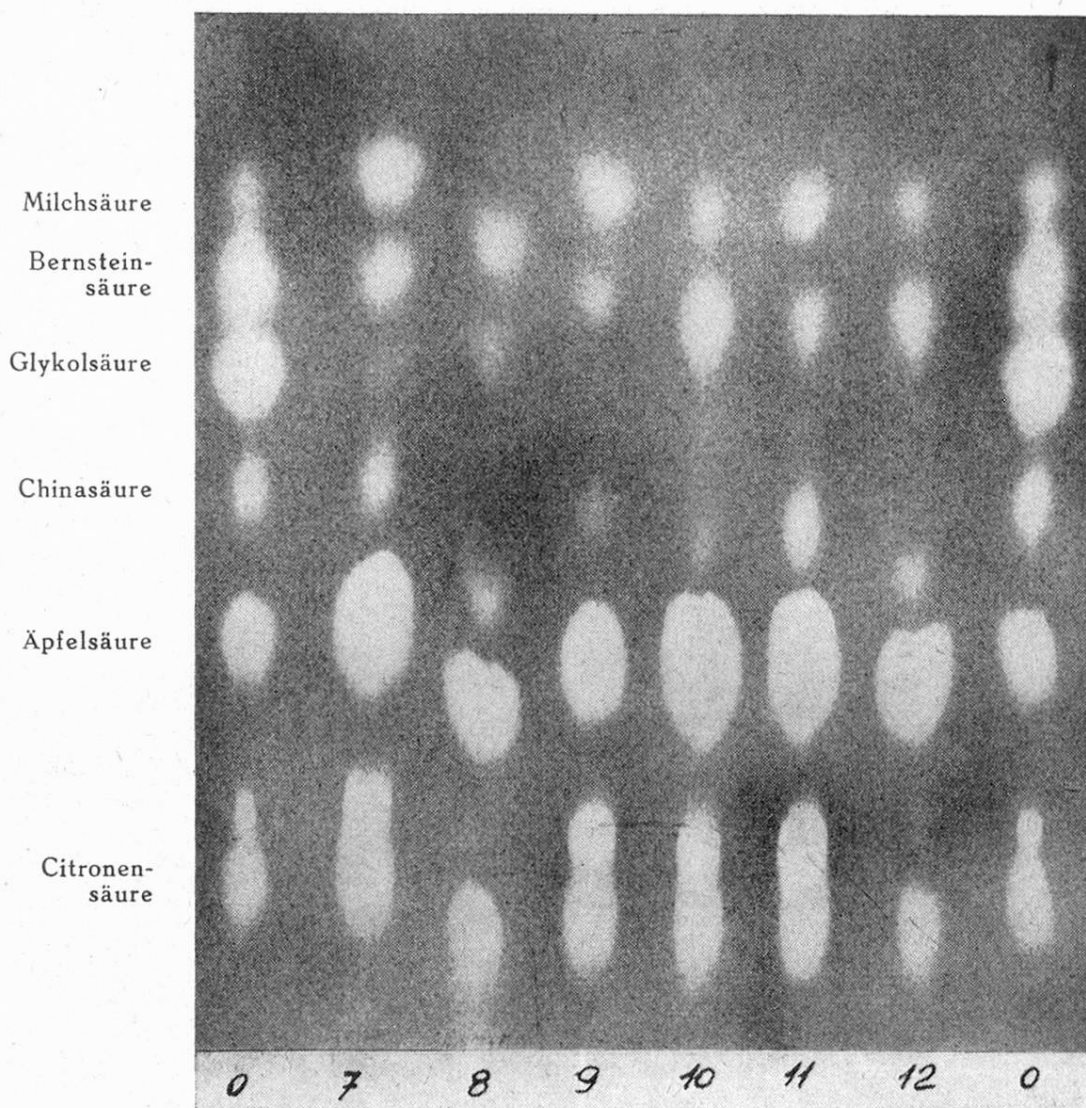


Abb. 4

- 0: Künstliches Gemisch der organischen Säuren
 7: Theilersbirnensaft 10: Spitzbirnensaft
 8: Wasserbirnensaft 11: Ottenbacher Schellerbirnensaft
 9: Sülibirnensaft 12: Marxenbirnensaft
 (alle Säfte vergoren und entsalzt)

jeder Charakterisierung und analytischen Bestimmung entziehen konnte. Neben dem der Chinasäure entsprechenden Rf-Wert (0,52) konnten wir einen weiteren Beweis für die Anwesenheit von Chinasäure in unseren Säften dadurch erbringen, dass wir in einem zweiten Versuch ein anders zusammengesetztes Laufmittelgemisch verwendeten (siehe experimenteller Teil). Unter Verwendung des letzteren gelang es uns, Chinasäure bei einem wesentlich niedrigeren Rf-Wert abzuscheiden (0,21), wobei, wie aus *Tabelle 1* hervorgeht, sowohl chemisch reine Chinasäure als auch die in einem Birnensaft enthaltene Chinasäure Farbflecken

Tabelle 1

	Phenol/ Ameisensäure/ Wasser	Isopropylalkohol/Tert. Butylalkohol/Benzyl- alkohol/Ameisensäure/ Wasser
	R _f - Wert	R _f - Wert
Chinasäure rein	0,52	0,21
Chinasäure in Birnensaft	0,52	0,21

von übereinstimmenden R_f-Werten ergaben. Mit diesem Beweis dürfte die Anwesenheit von Chinasäure in unseren schweizerischen Mostbirnensäften feststehen.

An Fruchtsäuren mit R_f-Werten, welche über jenem der Chinasäure liegen, lassen die Abbildungen 3 und 4 Glykolsäure, Bernsteinsäure und Milchsäure erkennen.

Glykolsäure ist in fast allen untersuchten Birnensäften in nur sehr kleiner Menge (weniger als 0,2 g/l) enthalten. Unter diesen Umständen ist es verständlich, dass sich diese Säure bisher sowohl dem Nachweis als auch der analytischen Bestimmung entziehen konnte. *Phillips*, welcher seine Versuche an Säften aus englischen Tafel- und Mostäpfeln ausführte, fand ebenfalls eine Fruchtsäure mit einem der Glykolsäure entsprechenden R_f-Wert. Der genannte Forscher ist jedoch der Auffassung, dass es sich bei der von uns als Glykolsäure bezeichneten Säure vom R_f-Wert 0,59 um *Chlorogensäure* handelt. Die Abklärung der Frage, welche der beiden Säuren vorliegt, ist zur Zeit bei uns in Bearbeitung; wir haben jedoch bereits Anhaltspunkte dafür gewonnen, dass es sich bei jener unbekanntenen Säure tatsächlich um *Glykolsäure* handelt. — In bezug auf *Bernsteinsäure* ist zu erwähnen, dass letztere in allen von uns untersuchten vergorenen Säften in Mengen von 0,5 bis 1 g/l vorkommt. Wie aus *Abbildung 1* ersichtlich ist, erfolgt im Verlaufe der Gärung eine starke Zunahme des Bernsteinsäuregehaltes. Entgegen der bisherigen Auffassung scheint jedoch auch in den *unvergorenen* Säften eine wenn auch sehr kleine Menge Bernsteinsäure enthalten zu sein (<als 0,1 g/l). Was die *Milchsäure* betrifft, so ist zu erwähnen, dass auch bei dieser Fruchtsäure im Verlaufe der Gärung stets ein Anstieg ihrer Menge beobachtet werden kann.

*Phillips*¹⁴⁾ erwähnt ferner das Vorhandensein von *Galakturonsäure* in den von ihm untersuchten britischen Äpfelsäften. Das Vorkommen von Galakturonsäure liesse sich prinzipiell mit dem enzymatischen Abbau des in den Säften enthaltenen Pektins gut erklären. — Wir haben uns daher bemüht, Galakturonsäure in den von uns untersuchten Birnensäften papierchromatographisch nachzuweisen. Da diese Säure, insbesondere bei Verwendung des von uns benützten Laufmittelgemisches, den sehr tiefen R_f-Wert von 0,23 besitzt, welcher mit jenem der Citronensäure (0,24) fast identisch ist, wird die Beurteilung der Galakturonsäure sehr erschwert. Eine weitere Erschwerung wird durch die ebenfalls

tiefe Rf-Werte aufweisenden Chloride, Sulfate und Phosphate verursacht, eine Schwierigkeit, welche sich durch das Entsalzen allerdings restlos ausschalten lässt. In diesem Zusammenhang sei erneut hervorgehoben, dass sich in nicht entsalzten Säuregemischen nach unseren Erfahrungen Rf-Werte, welche unter 0,4 liegen, überhaupt nicht richtig beurteilen lassen, so dass eine vorgängige Entsalzung in jedem Falle zweckmässig ist.

Für die Abklärung der Frage, ob die in unseren Chromatogrammen auftretenden, den Rf-Werten von 0,24 bis 0,28 entsprechenden Farbflecken vollumfänglich der Citronensäure zuzuordnen oder ob sie teilweise auf die Anwesenheit kleiner Mengen Galakturonsäure zurückzuführen sind, haben wir zwei verschiedene Versuche ausgeführt: Durch Bespritzen der entwickelten Papierchromatogramme mit ammoniakalischer Silbernitratlösung ergeben sich bei Anwesenheit von Galakturonsäure fast farblose Flecken, welche im ultravioletten Licht stark fluoreszieren. Wird dagegen mit *Nesslers* Reagens bespritzt, so resultiert ein schwarzer Farbfleck, welcher für Galakturonsäure charakteristisch ist.

Im Unterschied zu den Angaben von *Phillips* konnten wir weder in Birnen- noch in Äpfelsäften, über welche letztere in einer späteren Arbeit berichtet wird, Galakturonsäure jemals nachweisen. Es ist somit denkbar, dass sich der genannte Forscher durch die Anwesenheit von anorganischen Säuren täuschen liess.

Über die einzelnen Rf-Werte, welche unter Verwendung des Laufmittelmisches Phenol-Ameisensäure-Wasser (siehe experimenteller Teil) erhalten wurden, orientiert *Tabelle 2*.

Tabelle 2
Rf-Werte einiger organischer und anorganischer Säuren
(Lösungsmittelgemisch Phenol-Ameisensäure-Wasser)

Organische Säuren	R _f - Werte	Organische Säuren	R _f - Werte
Weinsäure	0,20	Fumarsäure	0,63
Galakturonsäure	0,23	Maleinsäure	0,64
Gallussäure	0,24	Bernsteinsäure	0,66
Zitronensäure	0,24—0,28	Brenztraubensäure	0,67
Oxalsäure	0,32	Diglycolsäure	0,68
Ascorbinsäure	0,41	Glutarsäure	0,79
Äpfelsäure	0,42	α-Ketobuttersäure	0,80
Protocatechusäure	0,45	Lävulinsäure	0,90
Aconitsäure	0,48		
Chinasäure	0,52	<i>Anorganische Säuren:</i>	
Malonsäure	0,56	Phosphorsäure	0,11—0,26
Glycerinsäure	0,56	Schwefelsäure	0,15
Glycolsäure	0,59	Salzsäure	0,30
α-Ketoglutarsäure	0,60		

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass wir in den von uns untersuchten vergorenen Birnensäften Ascorbinsäure nicht nachweisen konnten. Desgleichen konnte mit Sicherheit entschieden werden, dass Protocatechusäure, deren Anwesenheit sich im Zusammenhang mit den in Birnen enthaltenen Catechin-Gerbstoffen wohl erklären liesse, nicht vorhanden ist. — Allfällig vorhandene Aminocarbonsäuren werden durch die von uns vorgenommene Vorbehandlung der Säfte mit dem Kationenaustauscher IR 120 ausgeschaltet und treten in unseren Chromatogrammen nicht in Erscheinung.

Experimenteller Teil

Vorbereitung der Ionenaustauscher

Die für die Vorbehandlung der Säfte zu verwendenden Austauschersäulen werden wie folgt vorbereitet:

a) Kationenaustauscher IR 120 (Amberlite)

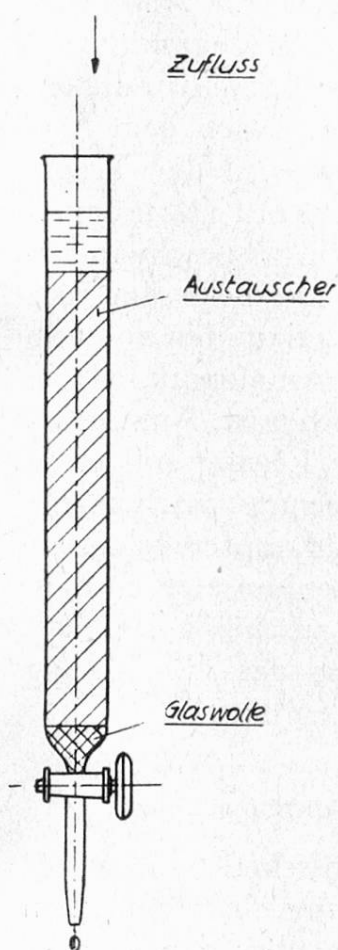


Abb. 5

Es wird ein Vorstoss von 30 cm Länge mit 2 cm Innendurchmesser verwendet, welcher unten mit Hahn und ausgezogener Spitze versehen ist (Abb. 5). Nach dem Einstossen einer kleinen Schicht Glaswolle in die Röhre wird der Vorstoss bis zur Hälfte mit destilliertem Wasser gefüllt und anschliessend etwa 100 ml des in einem Becherglas in Wasser gequollenen Kationenaustauschers IR 120 bis ca. 5 cm unter das obere Ende des Vorstosses eingefüllt. Die daran anschliessende Regeneration des Austauschers ist in der nachfolgenden Reihenfolge auszuführen: Durch einen Tropftrichter von 250 ml Inhalt, welcher mittels eines Gummizapfens mit dem Vorstoss verbunden ist, lässt man durch Öffnen des am Vorstoss befindlichen Hahns 100 ml einer 8%igen HCl-Lösung mit einer Geschwindigkeit von 1 Tropfen/sec durch den Kationenaustauscher fliessen (Dauer ca. 20 Minuten). Anschliessend wird bei doppelter Tropfgeschwindigkeit mit dest. Wasser so lange nachgewaschen, bis das Waschwasser völlig neutral abtropft. Hierfür werden etwa 500 ml dest. Wasser benötigt. Um allfällig im Austauscher zurückgehaltene Spuren der für die Regeneration verwendeten Salzsäure restlos zu entfernen, wird anschliessend mit 200 ml heissem dest. Wasser von 70° C nachgespült.

b) Anionenaustauscher IRA 410 (Amberlite)

In den, wie unter a beschrieben, vorbereiteten Vorstoss wird eine Aufschlemmung des Anionenaustauschers IRA 410 in analoger Weise wie oben eingefüllt. Die Regeneration der Austauschersäule wird wie folgt ausgeführt: 150 ml einer 8%igen Natriumhydroxydlösung werden mit einer Geschwindigkeit von 1 Tropfen/sec durch den Austauscher fließen gelassen. Anschliessend wird die Säule bei doppelter Tropfgeschwindigkeit mit dest. Wasser bis zu neutraler Reaktion des ablaufenden Wassers gespült. Zwecks Überführung des Anionenaustauschers in die Carbonatform wird nun eine Lösung von 20 g wässriger Soda in 150 ml Wasser langsam (1 Tr/sec) durch den Austauscher fließen gelassen und daran anschliessend wiederum mit dest. Wasser bis zur neutralen Reaktion des letzteren nachgespült.

Vorbereitung der Säfte für die papierchromatographische Bestimmung

50 ml des zu untersuchenden süssen oder vergorenen Obstsaftes werden mit einer Tropfgeschwindigkeit von 1 Tr/sec durch die beiden übereinander angeordneten und gemäss Anleitung regenerierten Austauscher (oben: Kationenaustauscher IR 120; unten: Anionenaustauscher IRA 410) fließen gelassen. Anschliessend wird bei gleicher Tropfgeschwindigkeit mit 50 ml Wasser nachgespült und das Nachspülen mit 150 ml Wasser bei etwa dreifacher Tropfgeschwindigkeit fortgesetzt; die durchgeflossenen Lösungen werden verworfen. Nach dem Entfernen des den Kationenaustauscher enthaltenden Vorstosses wird der Tropftrichter auf die Anionenaustauschersäule gesetzt und die letztere mit 150 ml einer frisch bereiteten 2n-Ammoniumcarbonatlösung bei einer Durchflussgeschwindigkeit von stets 1 Tr/sec eluiert. Die abfliessende Lösung, welche nunmehr sämtliche anorganischen und organischen Säuren enthält, wird durch Eindampfen auf dem Wasserbad auf ein Volumen von ca. 40 ml vom anwesenden Ammoniak befreit. Man überzeuge sich davon, dass aller Ammoniak entfernt worden ist: Ammoniak darf geruchlich nicht mehr wahrnehmbar sein; das pH der Lösung soll ca. 7 betragen. — Inzwischen hat man die vorher verwendete Kationenaustauschersäule gemäss vorstehender Anleitung regeneriert. Die nach dem Eindampfen erhaltene Lösung, welche die anwesenden Säuren in Form ihrer Ammoniumsalze enthält, wird jetzt durch erneute Behandlung mit dem Kationenaustauscher bei gleichbleibender Tropfgeschwindigkeit vom Ammonium befreit, so dass die Lösung nur noch die freien organischen und anorganischen Säuren enthält.

Entfernung der anorganischen Säuren (Entsalzung)

Die die papierchromatographische Bestimmung der organischen Säuren störenden anorganischen Begleitsäuren werden unter Verwendung einer einfachen Entsalzungsapparatur (Abb. 6) abgetrennt. Alle Einzelheiten über den Aufbau der von uns verwendeten Apparatur können der dieser Abbildung beigegebenen Legende entnommen werden. Im einzelnen verfahren wir wie folgt: In ein

Entsalzungs-Apparatur

60 V =

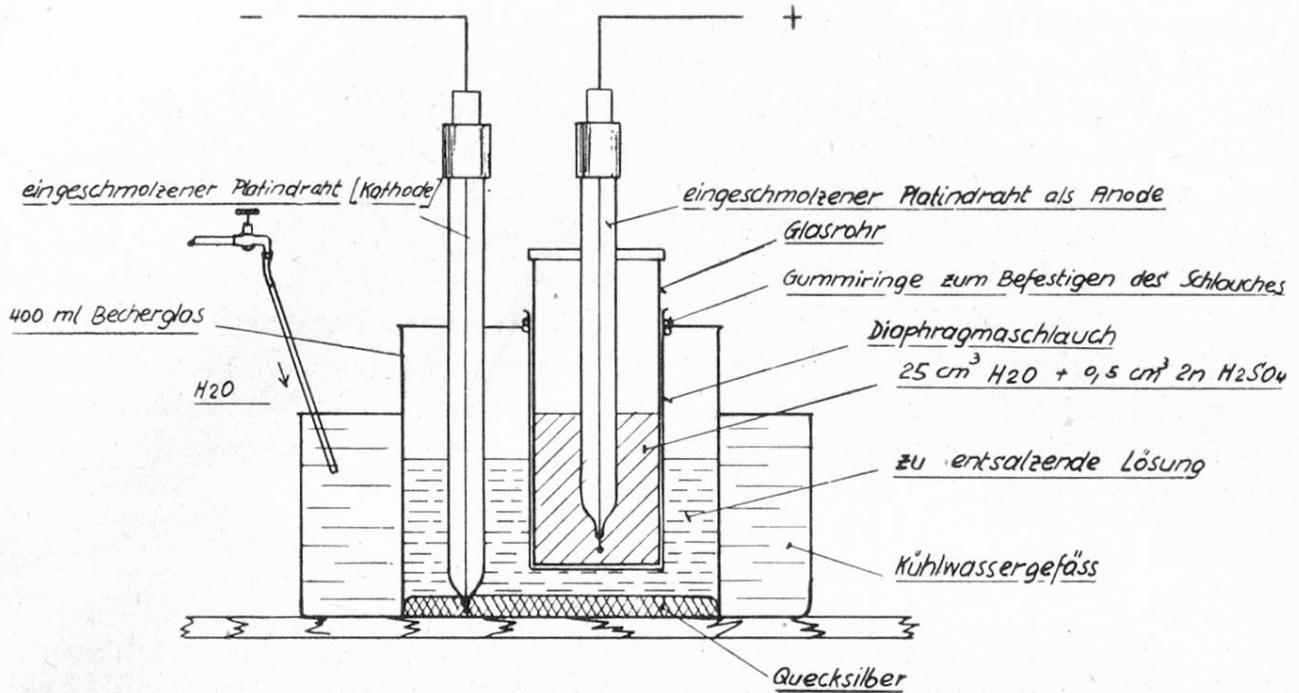


Abb. 6

Becherglas von 400 ml Inhalt wird bis zu einer Schichthöhe von 0,5 cm reines Quecksilber eingefüllt. Das Gefäß steht zwecks Ermöglichung seiner Kühlung in einer grösseren, flachen Glasschale, in welche dauernd Frischwasser einfließt. Der Wegfluss des Wassers erfolgt durch Überlaufen der Schale, weshalb die ganze Apparatur vorteilhaft in einem Schüttstein aufgestellt wird. Für die Stromzuführung verwenden wir ein Glasrohr von 3 cm Durchmesser, welches mit einem Diaphragmaschlauch (Darm) überzogen wurde. Wir verwenden hierzu ein Schlauchstück von ca. 12 cm Länge, welches nur etwa zur Hälfte über das Rohr gezogen wird; das lose Schlauchende wird gefaltet und an seinem Ende am Rohr befestigt. Noch zweckmässiger können natürlich Diaphragmasäcke verwendet werden. — Das mit dem Diaphragmaschlauch ausgerüstete Gefäß wird nun zur Ermöglichung der Stromleitung etwa zur Hälfte mit 0,2%iger Schwefelsäurelösung gefüllt; für die Stromzuführung wird eine Platinelektrode eingesetzt. Als Kathode verwenden wir wiederum eine Platinelektrode, welche in das am Boden des Becherglases befindliche Quecksilber eintaucht. Beim Einsetzen des Diaphragmarohres in das Becherglas ist darauf zu achten, dass sich das untere Ende des Rohres ca. 1 cm über dem Quecksilber befindet. — In das Becherglas wird nunmehr das zu untersuchende, auf 200 ml verdünnte Säuregemisch eingefüllt; dabei ist darauf zu achten, dass sich das Niveau der im Diaphragmagefäß befindlichen Flüssigkeit etwas über jenem des im Becherglas enthaltenen Säuregemisches befindet.

Für die anschliessende Elektrolyse wird ein Gleichstrom von 60 Volt und 0,4 Amp. angelegt. Die Entsalzung dauert unter den vorstehend genannten Bedingungen 3—4 Stunden; ihr Abschluss lässt sich meistens am Abfallen der Stromstärke erkennen. — Unmittelbar nach Abschluss der Entsalzung und nach dem Abstellen des Gleichstromes wird das Diaphragmarohr aus dem Becherglas entfernt, damit das Übergehen der im Rohr befindlichen Schwefelsäure in die entsalzte Lösung vermieden wird. Gleichzeitig wird das Diaphragmarohr durch Entfernen der Anode geöffnet, entleert und mit Wasser gut gespült; sofern das Diaphragma unter Wasser aufbewahrt wird, kann es für spätere Entsalzungen ohne weiteres wieder verwendet werden.

Die im Becherglas befindliche, die Fruchtsäuren enthaltende entsalzte Lösung wird durch Dekantieren vom Quecksilber getrennt und mit wenig Wasser wiederholt nachgespült. Die Lösung wird durch Einengen auf dem Wasserbad auf ein Volumen von ca. 5 ml gebracht; sie ist nunmehr für die Ausführung der papierchromatographischen Trennung bereit.

Papierchromatographische Trennung der Fruchtsäuren

Für die papierchromatographische Trennung der Fruchtsäuren verwenden wir die Filterpapiere Nr. 2043 a und 2043 b der Firma Schleicher-Schüll, Feldmeilen, Zürich (Schweiz).

Papier Nr. 2043 a eignet sich besonders für die Trennung geringer Substanzmengen, während Papier Nr. 2043 b für die Trennung grösserer Mengen und für die Ausführung quantitativer Bestimmungen geeignet ist. Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgt mit dem im allgemeinen Teil erwähnten, von Stark und Mitarbeitern¹⁵⁾ beschriebenen und für unsere Versuche vorzüglich geeigneten phenolhaltigen Lösungsmittelgemisch, welches wie folgt zusammengesetzt ist:

150 g Phenol
50 g Wasser
2 ml Ameisensäure (100 %)

Die Chromatogramme werden in einem geschlossenen Glasgefäss von 40 cm Breite, 30 cm Tiefe und 55 cm Höhe im absteigenden Verfahren entwickelt. Bei beiden von uns verwendeten Papierqualitäten genügt eine Entwicklungsdauer der Chromatogramme von ca. 16 Stunden. Nach dieser Zeit hat sich die Lösungsmittelfront jeweils um ca. 35 cm fortbewegt. Nach dem Entfernen und dem Trocknen der Papiere im Warmluftstrom (es wurde ein «Föhn» verwendet) erfolgt ihre möglichst homogene Besprühung mit einer 0,04%igen alkoholischen Lösung des Indikators Bromphenolblau.

Für den besonderen Zweck der im allgemeinen Teil der vorliegenden Arbeit beschriebenen Charakterisierung der Chinasäure verwendeten wir ein Lösungsgemisch, welches gegenüber dem oben beschriebenen Gemisch stark veränderte Rf-Werte aufweist. Die Zusammensetzung dieses Gemisches lautet:

50 ml Isopropylalkohol
50 ml Tert. Butylalkohol
150 ml Benzylalkohol
50 ml Wasser
6 ml Ameisensäure (90 %).

Zusammenfassung

Die Verfasser untersuchten süsse und besonders vergorene Säfte aus Mostbirnen schweizerischer Provenienz bezüglich der darin enthaltenen organischen Säuren. Für die Abtrennung der störenden anorganischen Säuren wurden die unter Verwendung von Ionenaustauschern aufgearbeiteten Säfte entsalzt. Neben Äpfelsäure konnten in fast allen schweizerischen Mostbirnensäften bemerkenswerte Mengen *Citronensäure* nachgewiesen werden; im Durchschnitt sind etwa 30—50 % der anwesenden Fruchtsäuren in Form von Citronensäure vorhanden. Dieser Tatsache wird insofern besondere Bedeutung beigemessen, als Citronensäure — im Gegensatz zu Äpfelsäure — durch Mikroorganismen weitgehend in *flüchtige Säuren* zerlegt wird. Die Tatsache der Anwesenheit grösserer Mengen Citronensäure in den aus Mostbirnen bereiteten Säften vermag eine Erklärung dafür zu geben, dass, insbesondere in bäuerlichen Betrieben, diese Säfte viel häufiger verderben als die nur wenig Citronensäure enthaltenden Äpfelsäfte. Über die letzteren werden die Verfasser in einer späteren Arbeit ausführlich berichten. — In den *unvergorenen* Birnensäften sind nur Spuren von Milchsäure und Bernsteinsäure ($< 0,1$ g/l) gefunden worden. Demgegenüber weisen die *vergorenen* Säfte durchschnittlich 0,5 bis 1,0 g/l Bernsteinsäure auf; an Milchsäure wurden durchschnittlich etwa 0,5 g/l gefunden; doch können infolge des allfälligen Fortschreitens des biologischen Abbaues der Äpfelsäure unter Umständen wesentlich höhere Milchsäuregehalte auftreten.

In allen untersuchten süssen und vergorenen Birnensäften konnten die Verfasser *Chinasäure* in Mengen von etwa 0,5 g/l nachweisen und die Identität dieser bis heute in Birnensäften nicht aufgefundenen organischen Säure belegen. Als weitere in Mengen von allerdings weniger als 0,2 g/l vorkommende Fruchtsäure konnte *Glycolsäure* aufgefunden werden.

Demgegenüber konnte die von andern Forschern in Äpfeln gefundene Chlorogensäure, sowie Galakturonsäuren nicht nachgewiesen werden. Desgleichen sind Ascorbinsäure und Protocatechusäure — die erstere wahrscheinlich infolge Oxydation während der Aufarbeitung der Säuren — nicht nachweisbar.

Résumé

Les auteurs ont examiné, par chromatographie sur papier, les acides organiques de cidres préparés à partir de poires à poiré de provenance suisse.

A part l'acide malique la présence de grandes quantités d'acide citrique a toujours été constatée. On a également trouvé d'autres acides comme les acides quinique et glycolique, non prouvés jusqu'à ce jour; par contre, on n'a pas constaté la présence des acides chlorogénique et galacturonique.

La raison pour laquelle les cidres de poires sont plus sensibles que les cidres de pommes aux maladies provient de la teneur plus élevée des poirés en acide citrique, comparée à celle — beaucoup plus faible — des jus de pomme.

Summary

The organic acids contained in ciders, prepared from Swiss cider pears, have been determined by paper chromatography.

Beside malic acid large amounts of citric acid have been found. Other acids, such as quinic and glycolic acids, have been detected that not been found up to now. As a set-off there was no chlorogenic and galacturonic acids.

Literatur

- 1) *H. Lüthi*: Zur Citronensäurebehandlung der Weine. Schweiz. Zeitschrift für Obst- und Weinbau **58**, 315 (1949).
- 2) *H. Rentschler*: Schützt ein Citronensäurezusatz unsere Schweizerweine vor dem Säurezusammenbruch? Schweiz. Zeitschrift für Obst- und Weinbau **57**, 285 (1948).
- 3) *K. Täufel* und *F. Krusen*: Der Abbau der Citronensäure durch Milchsäurebakterien. Zentralblatt für Bakteriologie II, **107**, 291 (1953).
- 4) *W. I. Baragiola*: Landw. Jb. der Schweiz **30**, 441 (1916).
- 5) *W. I. Baragiola* und *J. B. Kléber*: Landw. Jb. der Schweiz **31**, 303 (1917).
- 6) *Z. Physiol. Ch.* **127**, 14 (1923).
- 7) *Ind. Agr. et Alim.* **66**, 513 (1949).
- 8) *Ind. Agr. et Alim.* **68**, 599 (1951).
- 9) *J. W. H. Lugg* und *B. T. Overell*: Aust. J. Sci. Res. **1**, 98 (1947); *Nature* **160**, 87 (1947).
- 10) *F. Bryant* und *B. T. Overell*: *Biochim. Biophys. Acta* **10**, 471 (1953).
- 11) *M. L. Buch*, *Rex Montgomery* und *W. L. Porter*: *Analyt. Chemistry* **24**, 489 (1952).
- 12) *F. W. Denison* und *E. F. Phares*: *Analyt. Chemistry* **24**, 1628 (1952).
- 13) *A. C. Hulme*: *Journ. of Experim. Botany* **2**, 298 (1951); *Nature* **168**, 254 (1951).
- 14) *J. D. Phillips*: The Annual Report of the Agricultural and Horticultural Research Station, Long Ashton, Bristol, 1952, S. 137.
- 15) *J. B. Stark*, *A. E. Goodbean* und *H. S. Owens*: *Analyt. Chemistry* **23**, 413 (1951).