

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Band: 58 (1967)
Heft: 2

Artikel: Ueber den Nachweis eines Zusatzes von DL-Aepfelsäure zu Apfelsaft
Autor: Pilnik, Walter / Faddegon, Marijke
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982940>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 19.11.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Ueber den Nachweis eines Zusatzes von DL-Aepfelsäure zu Apfelsaft

Walter Pilnik und Marijke Faddegon

Laboratorium für Lebensmittelchemie und -Mikrobiologie der
Landwirtschaftlichen Hochschule, Wageningen (Niederlande)

I. Einleitung

Seit einiger Zeit werden der Lebensmittelindustrie verschiedene «neue» Säuren empfohlen (1), worunter sich auch «Pomalus Acid» befindet, ein Aepfelsäure-Razemat der Firma Allied Chemical Corporation, New York, USA. Es ist zu befürchten, daß diese DL-Aepfelsäure von weniger seriösen Fabrikanten verwendet wird, um einen Apfelsaft zu strecken oder um ein Apfelsaftkonzentrat höheren Säuregrades herzustellen, da solche Konzentrate gesuchter und oft auch teurer sind. Allerdings enthält Apfelsaft nur L(—)-Aepfelsäure, sodaß die Anwesenheit von D(+)-Aepfelsäure auf einen Zusatz schließen läßt.

II. Prinzip der angewandten Methode

Optische Antipoden lassen sich chromatographisch nicht ohne weiteres trennen. In Anlehnung an eine klassische Pasteur-Methode kann aber die L(—)-Aepfelsäure durch Mikroorganismen umgesetzt und daraufhin die zurückbleibende D(+)-Aepfelsäure papierchromatographisch nachgewiesen werden. In der vorliegenden Arbeit wird der sog. biologische Säureabbau, d. h. die Umwandlung von Aepfelsäure in Milchsäure durch bestimmte Milchsäurebakterien, ausgenützt.

III. Ausführung des Nachweises

1. Materialien

Als Apfelsaft wird ein in Flaschen abgefülltes Produkt einer bekannten Firma verwendet. Konzentrate müßten auf ca. 12 ° Brix verdünnt werden. Als Bezugs-substanzen dienen:

D(+)-Aepfelsäure purum (FLUKA)

L(—)-Aepfelsäure purum (FLUKA)

DL-Aepfelsäure für biochemische Zwecke (MERCK)

DL-Aepfelsäure «Pomalus Acid» Food Grade (ALLIED CHEMICAL CORP.)

L(+)-Milchsäure purum, 33 % L(+) + 7 % D(—) (FLUKA)

D(—)-Milchsäure purum (FLUKA)

DL-Milchsäure chemisch rein (RIEDEL-DE HAEN).

Der *Leuconostoc mesenteroides* Stamm kommt aus unserer eigenen Kollektion.

2. Säureabbau

Apfelsaft wird mit 2 N NaOH auf pH 5 gebracht. Es werden 2,5 g/L Difco Bacto-Yeast Extract B127 (2) zugefügt, sowie eventuelle Vergleichssubstanzen. Der Saft wird dann durch Filtration durch einen Seitz-Laboratoriumsfilter sterilisiert. Er wird nun mit *Leuconostoc mesenteroides* angeimpft, und zwar mit ca. 1 % einer 24 Stunden alten (30 ° C) Flüssigkultur in Difco MRS-Bouillon Code 0881 (3). Nach 24 Stunden bei 30 ° C wird durch Zentrifugation in einer Labor-Zentrifuge ohne weiteres ein wasserklarer Saft erhalten, der nun direkt zur Chromatographie verwendet wird.

3. Papierchromatographie

Es wird chromatographiert nach der Vorschrift der Internationalen Fruchtsaftunion (4) mit Laufmittel II (95 Teile mit Wasser gesättigter n-Butanol und 5 Teile Ameisensäure; Schleicher und Schuell Papier Nr. 2043 b; absteigend; Laufzeit 15 Stunden. Beobachtung mit Acridin im UV und/oder Sichtbarmachen mit Bromphenolblau). Vom Apfelsaft werden jeweils ca. 25 µl in 10 Portionen aufgetragen, wobei nach jeder Portion der Fleck mit dem Föhn getrocknet wird. Für die Chromatographie der reinen Säurelösungen werden jeweils in einer Portion 10 µl einer 2%igen Lösung verwendet.

IV. Resultate

Auf Chromatogramm I sind die reinen Säurelösungen aufgetragen:

- 1 = L(—)-Aepfelsäure
- 2 = DL-Aepfelsäure (MERCK)
- 3 = D(+)-Aepfelsäure
- 4 = L(+)-Milchsäure
- 5 = DL-Milchsäure
- 6 = D(—)-Milchsäure

Es zeigt sich, daß das Aepfelsäurerazemat von Merck eine Verunreinigung, wahrscheinlich Milchsäure, enthält. Dies ist bei der Pomalus Acid (Chromatogramm II) nicht der Fall. Auch die D(—) und DL-Milchsäuren geben noch einen zweiten Flecken.

Auf Chromatogramm II befinden sich nochmals Milch- und Aepfelsäure, sowie die Apfelsaftversuche, alle Zusätze sind vor dem Säureabbau gemacht.

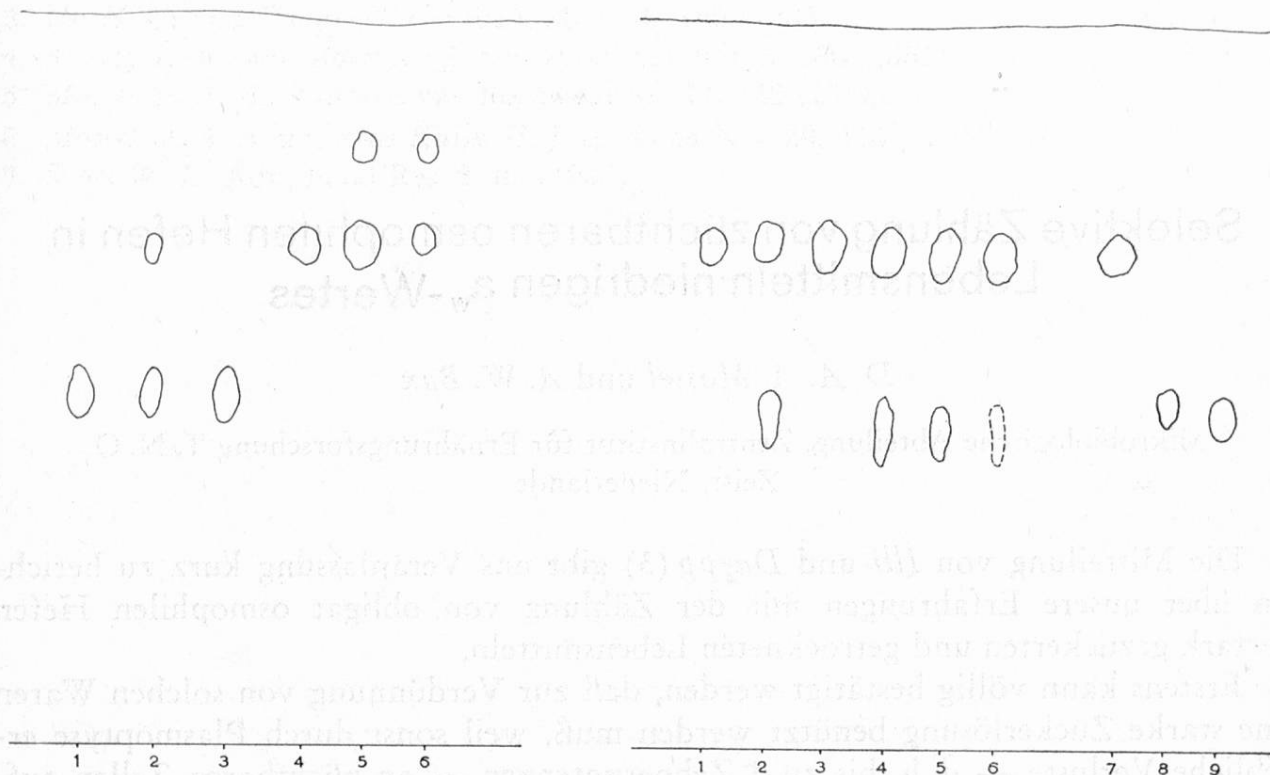
- 1 = Apfelsaft nach Säureabbau ohne Zusatz
- 2 = Apfelsaft nach Säureabbau mit D(+)-Aepfelsäure (500 mg/100 ml)
- 3 = Apfelsaft nach Säureabbau mit L(—)-Aepfelsäure (500 mg/100 ml)
- 4 = Apfelsaft nach Säureabbau mit DL-Aepfelsäure (500 mg/100 ml)
- 5 = Apfelsaft nach Säureabbau mit DL-Aepfelsäure (200 mg/100 ml)
- 6 = Apfelsaft nach Säureabbau mit DL-Aepfelsäure (100 mg/100 ml)
- 7 = L(+)-Milchsäure

- 8 = DL-Aepfelsäure (Pomalus Acid)
 9 = Apfelsaft ohne Säureabbau, ohne Zusatz

Man erkennt, wie durch den Säureabbau mit *Leuc. mes.* alle natürlich vorkommende, sowie zugefügte L(—)-Aepfelsäure in Milchsäure umgewandelt wird. Zugefügte D(+)-Aepfelsäure hingegen bleibt zurück und der Aepfelsäure-Fleck bei den Razematzufügungen muß offensichtlich auch D(+)-Aepfelsäure sein. Zusätze von weniger als 100 mg DL-Aepfelsäure per 100 ml Saft sind mit der beschriebenen Methode nicht mehr einwandfrei nachzuweisen; es ist allerdings auch kaum zu erwarten, daß solche geringe Mengen zugefügt werden.

Chromatogramm I

Chromatogramm II



Zusammenfassung

Ein Zusatz von DL-Aepfelsäure zu Apfelsaft läßt sich papierchromatographisch dadurch erkennen, daß die D(+)-Komponente, die im naturreinen Saft nicht vorkommt, von *Leuc. mes.* nicht in Milchsäure umgesetzt wird und daher auch nach dem biologischen Säureabbau im Saft zurückbleibt.

Résumé

La falsification d'un jus de pommes avec de l'acide malique racémique est facile à déceler par chromatographie sur papier après une fermentation malo-lactique. L'acide D(+)-malique qui ne se trouve point dans les jus naturels n'est pas fermenté et reste donc dans le jus.

Summary

Addition of DL-malic acid to apple juice is easily detected by paper chromatography after malic-lactic fermentation with leuc. mes. Only L(—)-malic acid is fermented and D(+)-malic acid which does not occur in natural apple juice remains unchanged.

Literatur

1. Anon.: New Acids challenge citric. Food Engineering **37** (10) 101—102 (1965).
2. Difco Manual, 9th Edition (1953), Seite 271.
3. Difco Supplementary Literature 1962, reprinted 1964, Seite 133.
4. Internationale Fruchtsaftunion (Eschenz, Schweiz), Analysenmethoden, Nr. 23 (1964): Nachweis von organischen Säuren.

Selektive Zählung von züchtbaren osmophilen Hefen in Lebensmitteln niedrigen a_w -Wertes

D. A. A. Mossel und A. W. Bax

Mikrobiologische Abteilung, Zentralinstitut für Ernährungsforschung T. N. O.
Zeist, Niederlande

Die Mitteilung von *Illi* und *Daepf* (3) gibt uns Veranlassung kurz zu berichten über unsere Erfahrungen mit der Zählung von obligat osmophilen Hefen in stark gezuckerten und getrockneten Lebensmitteln.

Erstens kann völlig bestätigt werden, daß zur Verdünnung von solchen Waren eine starke Zuckerlösung benützt werden muß, weil sonst durch Plasmoptyse erhebliche Verluste — d. h. bis zu 2 Zehnerpotenzen — an züchtbaren Zellen auftreten können.

Auf Grund unserer Erfahrungen, die diejenigen von *Burcik* (1) bestätigen, dürfte jedoch erst in Medien mit einem a_w -Wert (7) unter 0,88 mit einer absoluten Selektivität für osmophile Hefen gerechnet werden. Ein solches Medium müßte wenigstens 60 Gew.-% Hexose enthalten. Seit 1950 hat sich zu diesem Zweck folgendes Medium (5) gut bewährt: Fructose 60 Gew.-%, Hefeextrakt-pulver 0,5 %, Agar 2 %, a_w -Wert 0,84. Ein solcher Agar braucht nicht im Autoklaven sterilisiert zu werden. Die Erhitzung im kochenden Wasserbad, die normalerweise zur Lösung der Bestandteile erforderlich ist, reicht dazu völlig aus, weil die, die Erhitzung eventuell überlebenden Sporen von Bacillaceae unter einem a_w -Wert von 0,87 nicht keimen können (2, 6).

Zur Verhinderung des Austrocknens der Agar-Platten während der Bebrütung benützen wir seit 1950 Blechdosen mit Deckel von etwa 12 cm Durch-