

Zeitschrift:	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber:	Bundesamt für Gesundheit
Band:	24 (1933)
Heft:	3
Artikel:	Citronensäurebestimmung in Wein
Autor:	Fellenberg, Th. von / Werder, J.
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-983826

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 05.02.2026

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

4. Die Kropfhäufigkeit nimmt im allgemeinen, aber nicht ausnahmslos, mit dem Alter der geologischen Formation, aus welchem das Wasser stammt, ab. Im gleichen Sinne nimmt auch meistens die Härte des Wassers ab.

5. Da Ortschaften mit Seewasserversorgung trotz relativ niedriger Härte ihres Trinkwassers stark vom Kropf befallen sind, ergibt sich mit Wahrscheinlichkeit, dass nicht die Härte des Wassers an sich kropfvermehrend wirkt, sondern andere Faktoren, welche zum Teil mit dem geologischen Alter der Gesteine, aus welchen die Wässer entspringen, abnehmen.

6. Die Vergleichung verschiedener Ortschaften mit Bodenseewasserversorgung zeigt im allgemeinen eine Zunahme des Kropfes mit der Entfernung vom Einfluss des Rheins in den See und im allgemeinen eine Abnahme des Jodgehalts des Wassers mit der Entfernung.

7. Ein eisenhaltiges Leitungswasser verlor bei der durch Entlüftung vorgenommenen Enteisenung den grössten Teil seines Jods.

Citronensäurebestimmung in Wein.

Von Dr. Th. von FELLENBERG.

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

Da nach der eidgenössischen Lebensmittelverordnung ein Zusatz von Citronensäure bis zu 0,5 g pro Liter Wein und bis zu 2 g pro Liter Obstwein gestattet, ein höherer Zusatz hingegen verboten ist, sehen wir uns vor die Notwendigkeit gesetzt, in die neue Auflage des Schweizerischen Lebensmittelbuches eine Vorschrift zur Bestimmung der Citronensäure aufzunehmen. Eine befriedigende Methode haben wir in der Literatur nicht gefunden. Die letzte Methode, die veröffentlicht wurde, diejenige von *W. Bartels*¹⁾ ist derart kompliziert, dass sie wohl schon deshalb für unsere Zwecke kaum in Betracht fallen dürfte. Sie beruht darauf, dass die Bariumsalze gefällt, in Essigsäure gelöst und unter genau vorgeschriebenen Bedingungen einer oxydierenden Destillation unterworfen werden, die mehrere Stunden dauert, worauf der durch Nebenreaktion gebildete Acetaldehyd mit Permanganat verbrannt und das aus der Citronensäure entstandene Aceton jodometrisch bestimmt wird.

Ich versuchte auf verschiedene Weise zum Ziel zu gelangen. Zuerst hoffte ich, eine Trennung der Säuren durch wiederholte Aetherextraktion²⁾ vornehmen zu können, wobei sich die Citronensäure wegen ihrer Schwerlöslichkeit in diesem Lösungsmittel in den letzten Fraktionen

¹⁾ Z. U. L., 65, 30, 1933.

²⁾ Vergl. Th. v. Fellenberg, diese Mitt., 13, 1, 1922.

hätte konzentrieren müssen. Diese Versuche verliefen ergebnislos. Eine quantitative Auswertung der Reaktion von *Denigés* gelang ebenfalls nicht. Es wurde nun versucht, die Reaktion von *Wagenaar*³⁾, welche auf der Bildung von Pentajodaceton beruht, zur quantitativen Bestimmung zu verwenden. Mit reiner Citronensäure wurden ermutigende Resultate erhalten, bei Wein blieb die Verbindung aber teilweise kolloidal in Lösung und liess sich daher nicht gut abfiltrieren. Auch schien neben Pentajodaceton ein niedrigeres Jodid aufzutreten, welches mit Wasserdampf leicht flüchtig ist. Das Trocknen der Verbindung bot Schwierigkeiten, die bei weiterem Studium vielleicht zu überwinden gewesen wären. Diese Versuche wurden ebenfalls als wenig versprechend abgebrochen; es wurde dabei aber eine Reinigung vorgenommen, welche bei den späteren Versuchen angewendet werden konnte. Wie ich schon früher angegeben habe⁴⁾, lassen sich die Farbstoffe und Gerbstoffe des Weins durch Bromieren grösstenteils in fester Form abscheiden. Diese Reaktion lässt sich benützen, um solche Verbindungen vor der Permanganatoxydation auszuschalten. Dies ist namentlich wünschenswert, wenn Reaktionen ausgeführt werden sollen, bei denen eine gleichzeitige Oxydation und Halogenierung vorgenommen wird, wie bei der Pentajodaceton-Reaktion von *Wagenaar* oder bei der Pentabromaceton-Reaktion nach *Stahre*⁵⁾. Diese letztgenannte Reaktion war es denn auch, welche schliesslich mit Erfolg zur Ausarbeitung einer quantitativen Methode benützt wurde.

Die *Stahre'sche* Reaktion wurde von *Wöhlk*⁶⁾ genauer untersucht. Er zeigte, dass durch Einwirkung von Permanganat auf Citronensäure in schwefelsaurer Lösung Acetondicarbonsäure entsteht, eine ziemlich labile Verbindung, welche in der Kälte allmählich, in der Hitze rasch in Aceton und Kohlensäure gespalten wird und welche mit Brom Pentabromaceton $\text{CHBr}_2\text{-CO-CBr}_3$ liefert.

Pentabromaceton bildet weisse, in Wasser sehr schwer lösliche Nadelchen vom Smp. 76°. Es ist verhältnismässig leicht flüchtig; im Trockenschrank bei 105° verdampft es rasch, selbst bei 40° findet schon innert 30 Minuten eine starke Gewichtsabnahme statt, während die Flüchtigkeit bei gewöhnlicher Temperatur erst nach Stunden ins Gewicht fällt. Es ist klar, dass gewisse Vorsichtsmassregeln notwendig sind, um einen Körper mit solchen Eigenschaften zur Wägung zu bringen.

Theoretisch sollte 1 Teil wasserhaltige Citronensäure 2,157 Teile Pentabromaceton liefern; in Wirklichkeit verläuft die Reaktion nicht ganz quantitativ.

³⁾ Z. U. L., **65**, 239, 1933, nach Pharm. Weekbl., **64**, 1135, 1927.

⁴⁾ Diese Mitt., **3**, 97, 1912; **4**, 14, 1913.

⁵⁾ Ztschr. analyt. Chem., **36**, 195, 1897.

⁶⁾ Ztschr. analyt. Chem., **41**, 77, 1902.

Bei der qualitativen Reaktion auf Citronensäure wird meist empfohlen, die angesäuerte, auf etwa 30° erwärmte Lösung zuerst mit Permanganat vorsichtig zu oxydieren und dann, eventuell nach Zusatz von Ammonoxalat, um die Lösung zu klären, Brom hinzuzufügen zwecks Bildung des weissen Niederschlages von Pentabromaceton.

Angesichts der Unbeständigkeit der Acetondicarbonsäure schien es mir für quantitative Zwecke richtiger, das Brom schon vorher im Ueberschuss zu setzen, damit die entstehende Acetondicarbonsäure gleich damit reagieren kann, bevor sie Gelegenheit hat, zu zerfallen. Ihr Zerfallsprodukt, das Aceton, reagiert nämlich nicht mehr.

Nach einigen Vorversuchen kam ich zu folgendem Arbeitsgang:

Steigende Mengen Citronensäure wurden in 5 cm³ Wasser gelöst, mit 0,5 cm³ H₂SO₄ (1+4) und einigen cm³ Bromwasser versetzt, auf 40° angewärmt und tropfenweise mit 5%iger Permanganatlösung versetzt. Erst wenn der zugesetzte Tropfen vollständig verbraucht ist, was bei reinen Citronensäurelösungen anfänglich über eine Minute dauern kann, setzt man einen weiteren Tropfen zu. Man fährt so fort, bis sich etwas Braunstein auszuscheiden beginnt. Brom muss stets im Ueberschuss vorhanden sein. Sollte es nahezu verbraucht sein, was sich darin zu erkennen gibt, dass der entstandene Niederschlag hell wird und dass keine Bromdämpfe mehr über der Lösung lagern, so gibt man sogleich noch einige cm³ zu.

Ich sah davon ab, die Isolierung des entstandenen Pentabromacetons etwa durch Filtration vorzunehmen. Bei reinen Citronensäurelösungen könnte man allenfalls an diese Isolierungsweise denken, bei Wein müsste sie versagen, da hier der Niederschlag oft recht feinkörnig ist und vielleicht auch wegen der anwesenden Verunreinigungen löslicher sein könnte, als normal. Die Isolierung wird daher durch Extraktion mit einem geeigneten Lösungsmittel vorgenommen. Als solche kommen vor allem Chloroform und Aether in Betracht. Bei Chloroform genügen bereits recht kleine Mengen des Lösungsmittels und es geht bei geeigneter Vorbehandlung nichts ausser Pentabromaceton in Lösung. Wird Aether verwendet, so lösen sich darin auch die Säuren des Weins, besonders Milchsäure und Bernsteinsäure. Man ist also genötigt, diese durch Ausschütteln mit Natronlauge dem Aether wieder zu entziehen, eine Operation, die nicht viel Zeit beansprucht. Der Aether hat aber im Gegensatz zu Chloroform die unerwünschte Eigenschaft, beim späteren Eindunsten der Lösung an den Wandungen des Gefäßes hinaufzukriechen. Daher ist Chloroform vorzuziehen.

Nach der Extraktion wird die Lösung mit Natriumsulfat getrocknet und in gewogenen, halbkugelförmigen Glasschälchen verdunstet. Das Eindunsten der Lösung kann bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen werden; angenehmer ist es, die Schälchen an einen ungefähr 40° warmen

Ort zu stellen, etwa auf einen Trockenschrank. Obschon Pentabromaceton bei 40° bereits merkbar flüchtig ist, lässt sich eine weitgehende Konzentrierung bei dieser Temperatur ohne Verlust vornehmen, da die Temperatur infolge der Verdunstungskälte stets niedrig bleibt. Uebrigens ist Pentabromaceton mit Chloroform- und mit Aetherdämpfen nach meinen Versuchen nicht flüchtig, wohl aber mit Wasserdampf. Die Gefahr beginnt also erst, wenn das Chloroform vollständig verdunstet ist. Dann erwärmt sich das Schälchen rasch auf die Temperatur der Umgebung und die Verluste beginnen sich einzustellen. Man lässt daher die Lösung bis auf ungefähr 0,5 cm³ eindunsten und schwenkt sie dann von Hand sorgfältig um, wobei auch der letzte Rest des Lösungsmittels innert wenigen Minuten verdampft. Nach 20 Minuten langem Stehen an der Luft wird gewogen.

Es ist nicht statthaft, mit dem Wägen beliebig lange zu warten, etwa bis am nächsten Tag, da auch bei gewöhnlicher Temperatur eine allmähliche Gewichtsabnahme eintritt, wie folgende Zahlen zeigen:

Anfangsgewicht der Rückstände . . .	8,0	29,3	41,8	46,5	65,2	77,1	mg
Gewichtsabnahme nach 39 Stunden	0,9	2,0	2,1	2,3	2,3	2,2	mg
Nach weiteren 25 Stunden	0,5	1,4	1,1	1,4	1,2	1,5	mg

Bei der niedrigsten Menge, 8,0 mg, beträgt die Abnahme pro Stunde durchschnittlich 0,023 und 0,020 mg, bei den übrigen Proben ist sie unter sich recht ähnlich und nicht mehr abhängig von der absoluten Menge. Sie beträgt pro Stunde durchschnittlich 0,055 mg bei der einen, 0,053 mg bei der andern Reihe. Bei dem Rückstand von nur 8 mg bedeckte die Substanz die Innenfläche des Schälchens weniger vollständig, als bei den übrigen Versuchen, daher die geringe Abnahme.

Unsere Zahlen sind so regelmässig, dass man, falls die Wägung einmal erst am folgenden Tag vorgenommen werden sollte, den Verlust durch Rechnung kompensieren könnte.

Das skizzierte Verfahren ergab nun bei reiner Citronensäure folgende Werte:

Angewandte Menge Citronensäure mg:	10	20	30	40	
Pentabromaceton gefunden . . . mg:	19,2	39,0	56,2	77,8	
Auf 1 mg Citronensäure kommen Penta- bromaceton mg:	1,92	1,95	1,87	1,95	im Mittel 1,923

Statt der theoretischen Ausbeute von 2,157 erhalten wir nur 1,923 Teile auf 1 Teil Citronensäure, also nahezu genau 90%.

Daraus ergibt sich ein Umrechnungsfaktor von ungefähr 0,52. Wenn wir das gewogene Pentabromaceton mit diesem Faktor multiplizieren, erhalten wir:

Angewandt	10	20	30	40	mg
Gefunden	10,0	20,3	29,4	40,5	»

Die Werte sind befriedigend. Das Pentabromaceton hinterbleibt meist als öliger Körper, der innert Kurzem kristallisiert, oft kristallisiert er auch unmittelbar nach dem Verdunsten, stets aber beim Animpfen, etwa durch Kratzen mit einem Platindraht, der eine kleine Menge des Körpers enthält.

Wird der Rückstand der Schale in wenig Alkohol gelöst und die Lösung mit dem 1,5-fachen Volumen Wasser verdünnt, so trübt sie sich; nach einigen Stunden kristallisieren feine Nadeln aus, die stets nahezu den richtigen Schmelzpunkt von 76° zeigen.

Wie angegeben, wurde bei der bromierenden Oxydation in schwefelsaurer Lösung gearbeitet und zwar wurden $0,5 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{SO}_4$ (1+4) auf 5 cm^3 Citronensäurelösung zugesetzt. Dazu kommen dann noch wechselnde Bromwassermengen, die umso höher sind, je mehr Citronensäure vorliegt.

Dass die angewendete Schwefelsäuremenge günstig ist, zeigt folgende Versuchsreihe. Diesmal wurden je 10 cm^3 Citronensäurelösung, enthaltend 10 mg der Säure, mit steigenden Schwefelsäuremengen und überall mit 3 cm^3 Bromwasser versetzt und wie oben verarbeitet. Man fand folgende Werte:

Schwefelsäure (1+4) auf 10 cm^3	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9 cm^3
mg Pentabromaceton	11,9	14,3	17,8	18,4	18,5
mg Citronensäure	6,2	7,4	9,3	9,6	9,6

0,7 und $0,9 \text{ cm}^3$ Säure haben praktisch dasselbe Resultat ergeben. Man kann also sagen, dass wir mit 1 cm^3 Schwefelsäure auf 10 oder $0,5 \text{ cm}^3$ auf 5 cm^3 Citronensäurelösung das Richtige getroffen haben. Bei den beiden geringsten Gehalten dauert die Entfärbung des Permanganats recht lange und die Reaktion bleibt unvollständig.

Es muss nun noch erklärt werden, weshalb wir auch mit $0,9 \text{ cm}^3$ Säure ein etwas zu niedriges Resultat erhalten haben, 9,6 statt 10 mg. Bei der ersten Versuchsreihe, mit steigenden Citronensäuremengen wurde, gestützt auf einen Vorversuch, bei Verwendung von 5 cm^3 Ausgangslösung 3 mal mit Chloroform ausgeschüttelt und zwar mit 3,2 und 2 cm^3 . Bei der soeben besprochenen Versuchsreihe wandte ich dieselben Chloroformmengen an, obgleich die Flüssigkeitsmenge auf 10 cm^3 erhöht worden war. Diese Menge genügte nun nicht mehr ganz; es müssen in diesem Fall 3 mal 3 cm^3 Chloroform verwendet werden. Dass dies genügt, geht aus späteren Versuchen hervor.

Die Bestimmungen in Weinen und Obstweinen boten gewisse Schwierigkeiten. Zuerst wurde so vorgegangen. 20—25 cm^3 Wein werden mit Bromwasser versetzt und von den ausfallenden bromierten Körpern abfiltriert. Das Filtrat wird auf ca. 5 cm^3 konzentriert und nach dem Versetzen mit $0,5 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{SO}_4$ (1:4) der bromierenden Oxydation unterworfen.

Im Gegensatz zu den Lösungen der reinen Citronensäure wurde sehr viel Permanganat benötigt und zwar wurde dieses sehr rasch verbraucht. Der Endpunkt war stets recht schwer zu erkennen; die Resultate fielen unregelmässig aus. Bald erhielt man ungefähr richtige Werte, bald traten Verluste von 30, 50, 70% ein. Die Misserfolge wurden dem Umstand zugeschrieben, dass viel zu viel oxydierbare Stoffe zugegen sind. Wenn dann endlich diese Stoffe oxydiert sind, ist offenbar das entstandene Pentabromaceton auch schon durch das Permanganat teilweise weiter oxydiert. Es fehlt an einem richtigen Kriterium, um den Endpunkt der Reaktion zu erkennen.

Man versuchte nun, nach der Bromierung und Konzentrierung des Filtrats die Citronensäure als Bariumcitrat auszufällen und für sich weiterzuverarbeiten. Die Lösung wurde zu diesem Zweck neutralisiert, mit Bariumacetat gefällt und mit der doppelten Menge Alkohol versetzt. Nach dem Auszentrifugieren, Zersetzen mit Schwefelsäure und Abkochen des Alkohols wurde wie gewöhnlich weiterverarbeitet. Man erhielt nur 75—80% der erwarteten Ausbeute.

Nun wurde versucht, die Citronensäure zusammen mit andern Säuren als Bleisalz auszufällen, um es auf diese Weise von der Hauptsache der Extraktstoffe, wie Glycerin, Zuckerrest etc. zu befreien, in der Hoffnung, dadurch den Permanganatverbrauch sehr erheblich reduzieren zu können. Da Bleicitrat nach der Literatur⁷⁾ in Essigsäure unlöslich sein soll, wurde Bleizucker und nicht Bleiessig verwendet, um nicht mehr fremde Stoffe, als nötig mitzufällen. Die Resultate fielen aber wieder zu niedrig aus. Noch niedriger wurden sie, wenn der Niederschlag mit 1%iger Essigsäure ausgewaschen wurde. Die Angaben über die Unlöslichkeit des Bleicitrats in Essigsäure dürften somit in Gegenwart der übrigen aus Wein fällbaren Bleiverbindungen keine absolute Gültigkeit haben. Um nun auch die aus dem Bleizucker selbst entstehende Essigsäure auszuschalten, wurde in Zukunft so verfahren, dass der Wein vor der Fällung mit Natronlauge neutralisiert wurde. Die Fällungen werden heiss vorgenommen, damit der Niederschlag sich zusammenballt; dann wird abgekühlt in der Befürchtung, dass sich in der Hitze etwas Bleicitrat lösen könnte. Man zentrifugiert aus, kocht den Niederschlag mit viel Wasser unter Zusatz von etwas Bleizucker auf, kühlt wieder und zentrifugiert aus. Bei Rotweinen wird das Auswaschen wegen des beträchtlichen Volumens ihrer Bleifällung nochmals vorgenommen. Die Fällung wird mit Schwefelsäure aufgekocht und nun mit Bromwasser versetzt, um Farbstoff und Gerbstoff zu fällen. Man zentrifugiert aus, giesst die Lösung ab und führt die bromierende Oxydation aus. Auf Einzelheiten betreffend die Volumenmessung wird später eingegangen werden.

⁷⁾ Vergl. Rosenthaler, Der Nachweis organischer Verbindungen.

Dieser Analysengang führte endlich zu befriedigenden Resultaten. Ein dicker Rotwein, ein Weisswein und ein Obstwein wurden mit steigenden Mengen Citronensäure versetzt und verarbeitet. Man fand:

	Rotwein			Weisswein		
Auf 20 cm ³ zugesetzte mg Citronensäure	0	10	40	0	10	20
mg Pentabromaceton gefunden	0,7	16,6	69,9	6,8	27,0	44,2
entspricht dem Wein-Volum von cm ³ . .	18,5	19,1	18,8	19,7	19,7	19,7
mg Citronensäure gefunden	0,37	8,7	36,4	3,55	14,0	23,0
mg Citronensäure auf 20 cm ³ Wein . . .	0,4	9,1	38,9	3,6	14,2	23,4
Abzug des schon vorhandenen	—	0,4	0,4	—	3,6	3,6
		8,7	38,5		10,6	19,8
% des Zugesetzten		87	96,3		106	99,0
Pro L sind zugesetzt worden		0,5 g	2,0 g		0,5 g	1,0 g
Davon wurden gefunden		0,44	1,93		0,53	0,99
						1,45
	Obstwein					
Auf 20 cm ³ zugesetzte mg Citronensäure	0	10	20	30	40	50
mg Pentabromaceton gefunden	36,2	55,8	70,0	86,0	104,2	120,1
entspricht dem Wein-Volum von cm ³ . .	19,3	19,1	19,2	19,3	19,2	19,2
mg Citronensäure gefunden	18,8	28,5	36,5	44,8	56,4	62,7
mg Citronensäure auf 20 cm ³ Obstwein .	19,5	29,8	38,0	46,5	58,9	65,2
Abzug des schon vorhandenen	—	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5
		10,3	18,5	27,0	39,4	46,7
% des Zugesetzten		103	92,5	90	98,5	93,4
Pro L sind zugesetzt worden		0,5 g	1 g	1,5 g	2 g	2,5 g
Davon wurden gefunden		0,515	0,93	1,35	1,97	2,34

Die Resultate sind befriedigend; die zugesetzte Citronensäure ist mit praktisch genügender Genauigkeit wiedergefunden worden.

Es ist nun aber bei allen drei Ausgangsmaterialien schon ohne Zusatz eine gewisse Menge Pentabronaceton gefunden worden. Bei dem Rotwein entspricht sie 0,02 g Citronensäure im Liter, ist also ganz unbedeutend. Es soll auch nicht behauptet werden, dass es sich wirklich um Citronensäure handelt und nicht um irgend eine Verunreinigung, die zur Wägung gelangte. Beim Weisswein finden wir schon 0,18 g und beim Obstwein 0,98 g Citronensäure. Das macht im ersten Fall nahezu 40, im zweiten Fall 50% der erlaubten Menge aus. Vorerst schien es wahrscheinlich, dass ich hier gerade auf einen Wein und einen Obstwein gestossen sei, welchen Citronensäure zugesetzt worden ist. Die Frage musste an weiterem Material geprüft werden.

4 Weissweine aus der Rheinpfalz, die uns letztes Jahr von dort zugeschickt worden waren, wurden nun untersucht. Man fand:

	g Citronensäure im Liter
1. Edenkoben	0,33
2. Ungstein	0,17
3. Direnstein	0,07
4. Bissersheim	0,38

Der Schmelzpunkt des Pentabromacetons ergab beim Edenkoben 76° , beim Bissersheim $75,5^{\circ}$, statt der theoretischen 76° . Es handelte sich also tatsächlich um die genannte Verbindung; auch bei unserm Obstwein hatte ich den richtigen Wert von 76° gefunden. Um zu prüfen, ob auch bei diesen Pfälzerweinen zugesetzte Citronensäure quantitativ wiedergefunden wurde, wurde der Ungsteiner mit 20 mg Citronensäure auf 20 cm^3 versetzt. Man fand nach Abzug des schon vorhandenen 20,9 mg wieder.

Nun wurden eine Reihe von Trockenbeerweinen untersucht, die vor einigen Jahren in unserm Laboratorium hergestellt worden waren. Ein Citronensäurezusatz kommt hier bestimmt nicht in Betracht; ebensowenig bei einem Griechenwein aus frischen Korinthen, den wir ebenfalls hier anführen:

		hergestellt	g Citronensäure i. L.
1.	Trockenbeerwein aus Korinthen I . . .	IV 29	0,19
2.	» » » II . . .	IV 30	0,13
3.	» » » III . . .	IV 30	0,18
4.	» » Sultaninen . . .	XII 29	0,02
5.	» » Smyrna - Sultaninen	IV 30	0,008
6.	» » kaliforn. Sultaninen	IV 30	0,045
7.	» » Malagatrauben . . .	IV 30	0,045
8.	» » Candia-Trauben . .	IV 30	0,63
9.	Wein aus frischen Korinthen . . .	—	0,024

Bei No. 1 wurde der Schmelzpunkt bestimmt und zu 76° gefunden.

Den höchsten Wert hat der Trockenbeerwein aus Candia-Trauben mit 0,63 g im Liter gegeben; die Weine aus getrockneten Korinthen enthalten 0,13—0,19, unter sich also ähnliche, ziemlich grosse Mengen, diejenigen aus Sultaninen und aus Malagatrauben nur 0,008—0,045 g im Liter.

Auffällig ist, dass der Wein aus frischen griechischen Korinthen 5—8 mal ärmer an Citronensäure ist, als die Weine aus getrockneten Korinthen.

Es konnte nun immer noch bezweifelt werden, ob das Pentabromaceton, welches wir in diesen Weinen finden, wirklich von Citronensäure stammt und nicht etwa von irgendwelchen andern, zufällig vorhandenen Weinbestandteilen. So gibt nach *Wichelhaus*⁸⁾ auch Brenztraubensäure mit Brom dieselbe Verbindung und da Brenztraubensäure ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung ist, so wäre es denkbar, dass sie gelegentlich auch im fertigen Wein vorkommen könnte.

Ich suchte nun auf folgendem Wege zu entscheiden, ob es sich in unseren Fällen wirklich um Citronensäure oder aber um eine andere Verbindung handelt. Es wurde der Verteilungskoeffizient zwischen Aether und Wasser als Kriterium benutzt.

⁸⁾ Siehe *Beilstein*.

Citronensäure ist in Aether sehr wenig löslich. Beim Schütteln von 2,5 cm³ 1%iger Citronensäurelösung mit dem 20-fachen Volumen Aether gingen 23,1% der Säure in die Aetherschicht. Derselbe Versuch mit einer, allerdings nicht ganz reinen Brenztraubensäure ausgeführt, ergab 73% der Säure im Aether.

Es wurden nun 60 cm³ unseres Trockenbeerweins aus Korinthen I mit Bleizucker gefällt; die gut ausgewaschenen Bleisalze wurden diesmal mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat auf 2,5 g eingekocht und mit der 20-fachen Aethermenge ausgeschüttelt. Im Rückstand und im Aetherextrakt wurde die Citronensäure bestimmt. Man fand 17,7 mg Pentabromaceton im Rückstand, 6,3 mg im Aetherextrakt, was 26,3% ausmacht. Der Wert liegt so nahe bei dem für Citronensäure gefundenen, dass wir daraus mit Sicherheit erkennen können, dass es sich wirklich um Citronensäure handelt und nicht um irgendwelche andere Verbindung, die ebenfalls dieselbe Bromverbindung liefert.

Es wurden nun noch eine Reihe von Weinen und Obstweinen untersucht, welche mir durch die Herren *Benvégnin* und Dr. *Widmer* von den Weinbau-Versuchsanstalten Lausanne und Wädenswil in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt worden sind. Bei diesen Produkten wurde ausdrücklich vermerkt, dass ein Citronensäurezusatz nicht stattgefunden hatte. Man fand:

Versuchsstation Lausanne:

Weissweine	g Citronensäure im Liter
1. Pully 1929, non filtré	0,23
2. Pully 1932, vase bois	0,20
3. Pully 1932, Cuve Borsari	0,14
4. Riesling-Silvaner 1932	0,16
5. Aigle 1932	0,19
 Rotweine	
6. Seibel 1000, 1932 (Schiller)	0,043
7. Rouge Pont-venant 1931	0,043
8. Rouge Pont-venant 1932	0,041
9. Rouge Mélange 1931	0,27
10. Rouge Mélange XVI 1932	0,15

Versuchsstation Wädenswil:

Weissweine	
11. Riesling-Silvaner 1932	0,15
12. Sternenhalder 1932	0,20
 Rotweine	
13. Klevner 1931	0,26
14. Klevner 1931 (dunkler als Nr. 13)	0,44

Obstweine	g Citronensäure im Liter
15. Teilersbirnensaft 1932, Späternte, Oktober . . .	2,94
16. Teilersbirnensaft 1932, Auflesware September . . .	0,05
17. Thurgauer Weinapfel 1929	0,02
18. Sauergräuech 1931, stark abgebaut	0,005
19. Bohnapfel 1932	0,013
20. Gemischter Obstwein 1932, vorwiegend Aepfel	1,90

Nach dem Eingiessen der alkoholischen Lösungen der Rückstände in Wasser entstanden überall die charakteristischen Trübungen, bei den geringsten Gehalten natürlich nur schwach, und bei den Proben 3, 5, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 20 schieden sich nach einigen Stunden die feinen Nadelchen des Pentabromids ab. Der Schmelzpunkt wurde bei No. 3, 5, 8, 9, 11, 12, 15 und 20 bestimmt und genau befunden.

Wir haben hier sehr wechselnde Mengen Citronensäure gefunden. Bei den Weissweinen schwanken sie von 0,14—0,23, bei den Rotweinen von 0,04—0,27, bei den Obstweinen von 0,013—2,94 g im Liter.

Das auffälligste Resultat liefern die beiden Teilersbirnsäfte No. 15 und 16. Der letztere, aus offenbar unreifer Aufleseware bereitet, ist praktisch frei von Citronensäure, No. 15, aus gut ausgereiften Birnen, enthält gegen 3 g im Liter, also das anderthalbfache von der Menge, welche laut Lebensmittelverordnung einem Obstwein zugesetzt werden darf.

Die Citronensäure wird offenbar, wenigstens in den Birnen, erst bei der Reife gebildet. Auch bei den Trockenbeerweinen hatten wir ja etwas analoges festgestellt. Die Weine aus getrockneten Korinthen, also aus völlig ausgereiften Beeren, enthielten 5—8 mal mehr Citronensäure, als der Wein aus frischen Korinthen, die ja wohl verhältnismässig weniger ausgereift sein mochten.

Man suchte auch hier wieder den Beweis zu erbringen, dass wirklich Citronensäure und nicht eine ähnlich reagierende Verbindung im Obstwein enthalten ist. Man ging dabei bei der Aufarbeitung etwas weiter, um die Citronensäure in einer möglichst hohen Konzentration anzureichern.

50 cm³ Teilersbirnsaft No. 15 wurden neutralisiert und mit Bleizucker gefällt. Die Niederschläge wurden 3 mal mit heissem, bleiacetat-haltigem Wasser gewaschen, mit H₂S zersetzt und das Filtrat auf 2,5 g eingekocht. Diese Lösung wurde 3 mal mit 50 cm³ Aether ausgeschüttelt, die Aetherextrakte wurden titriert und die Citronensäure darin bestimmt. So erfuhr man ihren Citronensäuregehalt im Verhältnis zu den andern mitextrahierten Säuren. Man fand:

	1. Fraktion	2. Fraktion	3. Fraktion
Säuretitration, cm ³ $\frac{n}{10}$	2,53	2,07	1,43
Citronensäure, mg . . .	6,2	6,3	6,0
% Citronensäure . . .	18,4	22,8	31,2

Man findet, wie erwartet, ein prozentuales Ansteigen der Citronensäure mit der Häufigkeit der Extraktion, da sie weniger leicht in den Aether geht, als die andern vorhandenen Säuren, Aepfelsäure und Bernsteinsäure.

Der wässrige Anteil wurde nun mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt, wobei weisse Flocken ausfielen, die nicht weiter untersucht wurden. Das Filtrat dieser Flocken wurde eingedunstet. Nach 4 Tagen hatten sich keine Kristalle ausgeschieden. Der entstandene Syrup wurde nun auf Filterpapier geschmiert und mehrmals mit Aether ausgeschüttelt. Die Aetherlösung hinterliess 80,0 mg Rückstand, der in 2 cm³ Wasser gelöst und mit 40 cm³ Aether ausgeschüttelt wurde. Man fand:

	im Rückstand	im Aetherextrakt
cm ³ $\frac{n}{10}$ NaOH-Verbrauch	6,90	3,45
mg Citronensäure . . .	28,6	8,05 = 22 % im Aetherextrakt

Der im Aetherextrakt gefundene Anteil zeigt, dass es sich auch hier nur um Citronensäure handeln kann. Die 28,6 mg Citronensäure im Rückstand entsprechen 4,10 cm³ $\frac{n}{10}$ -Säure; das macht 59,3% der vorhandenen Säure aus. Wir haben also die Konzentrierung bis auf nahezu 60% gebracht.

Wie eingangs erwähnt, gestattet die eidgenössische Lebensmittelverordnung Citronensäurezusätze von maximal 0,5 g zum Liter Wein und maximal 2 g zum Liter Obstwein. Da wir nun in Naturweinen bereits Mengen bis zu 0,38 und in Obstweinen bis zu 2,94 g pro Liter gefunden haben und wir damit wohl kaum die obere Grenze erreicht haben, ist die genannte Bestimmung in ihrer jetzigen Form nicht wohl aufrechtzuerhalten.

Es bot nun ein gewisses Interesse, unsere beiden Teilersbirnsäfte mit so verschiedenem Citronensäuregehalt noch etwas näher kennen zu lernen. Ich bestimmte die einzelnen Säuren darin nach meinem früher beschriebenem Verfahren⁹⁾, welches darauf beruht, dass ein geeignet vorbereitetes Konzentrat mit Aether ausgeschüttelt, das Aetherextrakt titriert und darin die Silbersalze der Bernsteinsäure, Aepfelsäure und Weinsäure gefällt und auf geeignete Weise titriert werden. Da sich die Weinsäure besonders bestimmen lässt, die Milchsäure sich aus der Differenz zwischen den gesamten Säuren im Extrakt und den unlöslichen Silbersalzen liefernden Säuren ergibt, so haben wir genügende Daten in der Hand, um auch die Bernsteinsäure und die Aepfelsäure mit Hilfe ihrer Verteilungskoeffizienten zu bestimmen.

In unserm Falle müssen wir natürlich den Citronensäuregehalt des Obstweines und die Verteilung dieser Säure zwischen Aether und wässriger Lösung unter den gewählten Versuchsbedingungen kennen. Es zeigte

⁹⁾ Diese Mitt., 13, 1, 1922.

sich, dass unter diesen Bedingungen 4,4% der Citronensäure in den Aether gehen.

Es ergab sich daraus in Abänderung der S. 35 der genannten Arbeit für die Berechnung der Bernsteinsäure angegebenen Formel folgende Formel: $b = \frac{14,33 (\text{Age} - 0,043 c) + c + m - S}{6,24}$, wobei $c = \text{cm}^3 \text{ n}$.

Citronensäure im Liter bedeutet, während die übrigen Zahlen den l. c. zitierten entsprechen. Die übrige Berechnung bleibt sich gleich.

Man fand folgende Resultate:

	Teilersbirnsaft, Spätermte		Teilersbirnsaft, Auflesware	
	cm ³ n i. L.	g i. L.	cm ³ n i. L.	g i. L.
Citronensäure .	42,0	2,95	0,7	0,05
Bernsteinsäure	24,0	1,42	9,4	0,56
Aepfelsäure .	50,0	3,35	19,5	1,30
Milchsäure . .	7,95	0,72	30,5	2,75
Essigsäure . .	21,2	1,27	30,5	1,83
Summe	107,9		90,6	

Wenn wir die Milchsäure durch Verdopplung ihrer Aequivalentzahl in Aepfelsäure umrechnen, aus welcher sie ja hervorgegangen ist und wenn wir die Gärungssäure, Bernsteinsäure und Essigsäure abziehen, so erhalten wir den ungefähren Säuregehalt der Säfte vor der Gärung. Er beträgt 107,7 cm³ n für den unvergorenen Spätbirnsaft und 81,2 cm³ n für den unvergorenen Saft aus Auflesware.

Demnach wären 26,5 cm³ n-Säure erst während der Reife entstanden und zwar offenbar Citronensäure; ja, die Zunahme dieser Säure beträgt sogar noch 14,8 cm³ normal mehr. Daraus ergibt sich, was ja schon von vorneherein angenommen werden musste, dass die Citronensäure nicht etwa aus einer andern Säure, etwa aus Aepfelsäure entstanden sein könnte; sie wird vielmehr aller Voraussicht nach aus Kohlenhydraten entstanden sein.

Es wurde auch geprüft, ob der Sorbitgehalt etwa mit dem Citronensäuregehalt in einer gewissen Beziehung stehe. Die Bestimmung erfolgte durch direkte Acetylierung. Die Ausbeute betrug 11,9 g im Liter Spätsaft und 7,5 g im Liter Frühsaft. Der Sorbit hat also bei der Reife ebenfalls erheblich zugenommen, aber längst nicht in dem Verhältnis, wie die Citronensäure.

Zum Schluss sei die Methode der *Citronensäurebestimmung* noch zusammenfassend wiedergegeben.

Erforderliche Lösungen: 20%ige Bleizuckerlösung (20 g Bleizucker + 80 cm³ Wasser).

Schwefelsäure (1+4), hergestellt durch Mischen von 1 Volumen Säure mit 4 Volumen Wasser:

Gesättigtes Bromwasser,
5%ige Permanganatlösung,
10%ige Natriumbisulfatlösung,
Chloroform.

20 cm³ Wein werden in einem Reagensglas von 18 cm Länge und 18 mm innerm Durchmesser mit n-NaOH gegen Lakmuspapier neutralisiert. Ein leichtes Ueberalkalisieren schadet nichts. Man fügt nun 3 cm³ Bleizuckerlösung hinzu, schwenkt um, erhitzt entweder über freier Flamme oder in einem Wasserbad bis zum beginnenden Sieden, kühlt unter der Wasserleitung ab und zentrifugiert einige Minuten. Nun werden zur überstehenden Lösung noch einige Tropfen Bleizuckerlösung zugesetzt, um zu prüfen, ob die angewendete Menge genügte. In der Regel entsteht kein weiterer Niederschlag. Man giesst die klare Lösung ab, schüttelt den Rückstand mit 25 cm³ Wasser und einigen Tropfen Bleizuckerlösung auf, erhitzt wieder, kühlt ab, zentrifugiert aus und giesst ab. Bei dicken Rotweinen, bei welchen der Bleiniederschlag sehr voluminös ist, empfiehlt es sich, das Waschen des Niederschlags nochmals zu wiederholen. Der Rückstand im Reagensglas wird nun mit 1 cm³ Schwefelsäure versetzt, gut durchgeschüttelt und aufgekocht. Man fügt zu der noch heissen Lösung Bromwasser hinzu und zwar bei Rotweinen 10 cm³, bei Weissweinen oder Obstweinen 3—5 cm³, indem man das Volumen des zugesetzten mit Wasser auf 10 cm³ ergänzt. Das Bromwasser muss im Ueberschuss vorhanden sein. Nun wird wieder scharf auszentrifugiert und die überstehende Lösung in ein auf eine Dezimale genau gewogenes 50 cm³-Erlenmeyerkölbchen gegossen und ihr Gewicht festgestellt. Das Volumen des Rückstandes misst man, indem man in ein gleich weites Reagensglas Wasser bis zur gleichen Höhe hineinpipettiert. Man nimmt das Volumen der im Rückstand verbleibenden Lösung zu $\frac{3}{4}$ des Rückstandes an. Das Volumen der abgegossenen Lösung entspricht dann $\frac{a \cdot 20}{a + 0,75 b}$ cm³ Wein, wobei a = abgegossene Flüssigkeit, b = Volumen des Bleisulfatniederschlags.

Die abgegossene Flüssigkeit wird nun mit 3 cm³ Bromwasser versetzt und auf etwa 40° angewärmt. Man setzt 1 Tropfen Permanganatlösung zu, schwenkt um und wartet, bis die rote Färbung verschwunden ist. Nun setzt man wieder einen Tropfen zu, wartet wieder bis zur Entfärbung und fährt so fort. Man kontrolliert dabei immer, ob überschüssiges Bromwasser vorhanden ist, d. h. ob Bromdampf über der Flüssigkeit lagert und setzt dieses, wenn nötig, in Mengen von je 2—3 cm³ zu. Die zuerst zugesetzte Menge von 3 cm³ genügt nur für sehr kleine

Citronensäuregehalte. Je weiter die Reaktion fortschreitet, desto rascher wird das Permanganat verbraucht. Wenn eine während mehrerer Minuten bleibende Ausscheidung von Braunstein erfolgt, ist die Oxydation beendigt. Ein nochmaliges Anwärmen im Laufe der Reaktion ist meist unnötig. Zum Schluss kühlt man, wenn nötig, unter der Röhre ab und setzt vorsichtig Bisulfatlösung zu bis zur Entfärbung. Ein weisser Niederschlag, der übrigens schon vorher in der braunen Lösung sichtbar war, zeigt die Gegenwart von Citronensäure an. Man giesst die Flüssigkeit in einen kleinen Scheidetrichter, gibt 3 cm^3 Chloroform hinzu, indem man damit gleichzeitig das Kölbchen nachspült und den Rest des darin haftenden Niederschlags herauslöst. Nach kräftigem Schütteln wird die Chloroformschicht in ein Reagensglas abgelassen und die Flüssigkeit noch 2 mal mit je 3 cm^3 Chloroform ausgeschüttelt. Wenn eine Zwischenschicht entsteht, lässt man diese mit dem Chloroform abfliessen. Die vereinigte Chloroformlösung enthält nun oft ein Tröpfchen Wasser an der Oberfläche. Man giesst sie in ein anderes Reagensglas über, wobei der Wassertropfen zurückbleibt. Nun wird etwas wasserfreies Natriumsulfat zugefügt, ca. 0,2—0,3 g, und geschüttelt. Man giesst nochmals sorgfältig in ein trockenes Reagensglas über, wobei das Natriumsulfat zurückbleibt und mit etwa $0,5 \text{ cm}^3 \text{ CHCl}_3$ nachgewaschen wird. Es kommt nun leicht vor, dass einige Körnchen Natriumsulfat mit übergegangen sind, besonders, wenn zu viel davon genommen wurde. Man giesst die Lösung vorsichtig in ein gewogenes halbkugelförmiges Glasschälchen von 5 cm^3 Durchmesser. Diesmal darf kein Natriumsulfat mitgeschleppt werden, sonst müsste nochmals übergegossen werden. Man lässt die Lösung bei gewöhnlicher Temperatur oder an einem warmen Ort (nicht über 40°) bis auf einen kleinen Rest von ca. $0,3 \text{ cm}^3$ eindunsten, nimmt das Schälchen in die Hand und schwenkt es sorgfältig um, wobei auch der letzte Rest des Lösungsmittels innert wenigen Minuten verdunstet. Ein völliges Eindunsten bei 40° würde leicht zu Verlusten führen. Man lässt nun das Schälchen 20 Minuten neben der Wage stehen und wägt. Das Schälchen muss natürlich auch vor der ersten Wägung an freier Luft und nicht im Exsikkator gestanden sein.

Das gewogene Pentabromaceton wird auf 1 Liter Wein umgerechnet und durch Multiplikation mit 0,52 weiter in Citronensäure umgerechnet.

Zusammenfassung.

1. Eine Methode der Citronensäurebestimmung in Wein wird auf Grund der Pentabromaceton-Reaktion ausgearbeitet.
2. In natürlichen Weinen wurden Citronensäuremengen von bis 0,38 g im Liter, in Obstweinen solche von bis 2,94 g im Liter gefunden.
3. Es wurde der Beweis geliefert, dass das gefundene Pentabromaceton wirklich von Citronensäure herrührt.

4. Durch Vergleichung zweier Teilersbirnsäfte aus aufgelesenen und aus völlig reifen Früchten ergab sich, dass die Citronensäure sich erst bei der Reife bildet. Bei der Bestimmung der einzelnen Säuren dieser beiden Säfte zeigte sich, dass die Bildung der Citronensäure nicht etwa auf Kosten der Aepfelsäure vor sich geht.

Beitrag zur Beurteilung von Safran.

Von Dr. CLEMENS ZÄCH.

(Mitteilung aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes in Bern,
Vorstand: Prof. Dr. J. Werder.)

Im Schweiz. Lebensmittelbuch¹⁾ sind als vorzunehmende Prüfungen für Safran neben der mikroskopischen Untersuchung die Bestimmung von Wasser, Asche, Sand, Färbekraft, ferner die Schwefelsäureprobe und die mikrochemische Prüfung nach Verda angeführt. Von der mit der Revision des Lebensmittelbuches, Kapitel Gewürze, beauftragten Kommission wurde der Wunsch geäussert, es sei zu untersuchen, ob nicht noch einige weitere Prüfungsmethoden für Safran aufgenommen werden sollten, speziell im Hinblick auf die in letzter Zeit besonders häufig auftretenden Verfälschungen durch Zusatz von Zuckerstoffen.

In einer vor kurzem erschienenen Publikation weist nun *Bonis*²⁾ auf derartige, für die Beurteilung von Safran von Wichtigkeit erscheinende chemische Untersuchungsmethoden hin, so auf die Bestimmung des wässerigen Extraktes, des Stickstoffgehaltes und des Zuckergehaltes vor und nach Inversion. Wie schon *Else Nockmann*³⁾ und später *Krzizan*⁴⁾ gezeigt haben, schwanken die Werte für wässerigen Extrakt und Zuckergehalt vor und nach Inversion bei reinem Safran, gleiche Versuchsbedingungen vorausgesetzt, in bestimmten, engen Grenzen. Aus einer Erhöhung dieser Zahlen kann somit auf Zusatz von Zuckerstoffen geschlossen werden. Nach *Pierlot*⁵⁾ ist auch der Stickstoffgehalt ziemlich konstant (2,3—2,4%) und bildet ein weiteres Kriterium zur Beurteilung der Reinheit von Safran.

Wir beschränkten uns darauf, die Methoden der Bestimmung von Extrakt und Zucker nachzuprüfen und die in der Literatur als Normalwerte angegebenen Zahlen an Hand von verschiedenen reinen Safranproben nachzuprüfen.

¹⁾ 3. Auflage (1917).

²⁾ Ann. fals., **25**, 268 (1932).

³⁾ Z. U. N. G., **23**, 453 (1912).

⁴⁾ Ztschr. öffentl. Chem., **20**, 109, 121 (1914).

⁵⁾ Ann. fals., **9**, 24 (1916); **16**, 215 (1923); **18**, 464 (1925); vergl. auch Chim. et Ind., **14**, 839 (1925).