

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 48 (1957)
Heft: 1

Artikel: Eine quantitative papierchromatographische Bestimmung der Aepfelsäure
Autor: Lehongre, Geneviève / Tanner, H. / Rentschler, H.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983765>

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: 27.01.2026

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

Eine quantitative papierchromatographische Bestimmung der Aepfelsäure

Von *Geneviève Lehongre, H. Tanner* und *H. Rentschler*
(Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil)

Allgemeines

In früheren Veröffentlichungen haben wir verschiedentlich auf die Bedeutung der genauen Kenntnis des Aepfelsäuregehaltes von Weinen hingewiesen und auch über die quantitative Bestimmung dieser Fruchtsäure berichtet ¹⁾. Inzwischen sind von anderer Seite verschiedene Veröffentlichungen bekannt geworden, welche sich eingehend mit der exakten, quantitativen Erfassung der Aepfelsäure beschäftigen. Aufbauend auf dem zuerst von *Hennig* und *Burkhardt* ²⁾ sowie von uns selbst ³⁾ veröffentlichten polarographischen Bestimmungsverfahren haben *Grohmann* und *Gilbert* ⁴⁾ einige die quantitative polarographische Bestimmung störende Faktoren, wie Milchsäure und Zucker, eruiert und das Bestimmungsverfahren verfeinert. Leider ist das Verfahren von *Grohmann* und *Gilbert* infolge der erforderlichen Vorreinigung der Aepfelsäure über das Silbersalz und die zur Entfernung der insbesondere in Rotweinen enthaltenen, die Bestimmung störenden Gerbstoffe mittels Kationen- und Anionenaustauschern etwas kompliziert, so dass es sich für Serienbestimmungen weniger eignet. Ein kolorimetrisches Bestimmungsverfahren für die in Getränken vorkommende Aepfelsäure haben *Kielhöfer* und Mitarbeiter ⁵⁾ beschrieben. Die mit α -Naphthol auftretende Farbreaktion wird ausgewertet; doch ist das Verfahren nicht spezifisch, weil andere organische Säuren, welche stets zusammen mit Aepfelsäure auftreten, ähnliche Farbreaktionen ergeben.

Aufbauend auf einem papierchromatographischen Bestimmungsverfahren, welches von *Jerchel* und Mitarbeitern ⁶⁾ beschrieben worden ist, haben wir ein Verfahren für die Bestimmung der in Weinen enthaltenen Aepfelsäure ausgearbeitet, welches exakte Werte liefert. Im Prinzip gehen wir so vor, dass die zum Teil an Metalle gebundene Aepfelsäure unter Einsatz von Kationenaustauschern freigelegt und nach dem Eluieren papierchromatographisch charakterisiert wird. Nach dem Besprühen der getrockneten Chromatogramme mit Acridinlösung werden die Ränder der im Ultraviolettlicht sichtbaren gelben Flächen mittels eines Bleistifts nachgezogen, anschliessend herausgeschnitten und gewogen. Innerhalb bestimmter Grenzen (s.u.) sind die erhaltenen Gewichte den Logarithmen der Aepfelsäurekonzentrationen proportional.

In Abänderung des Verfahrens von *Jerchel* und Mitarbeitern setzen wir die für die Aufarbeitung der Fruchtsäuren benützten Ionenaustauscher nicht im Batchverfahren ein, sondern im Säulenverfahren. Die hierfür erforderliche Mehrarbeit lohnt sich, weil durch Vermeidung der beim Batchverfahren auftretenden Veränderung der Volumina der Lösungen, verursacht durch Wasser-

aufnahme bzw. -abgabe durch die Ionenaustauscher, genauere Ergebnisse resultieren. Bei Anwendung von Ionenaustauschern im Batchverfahren können infolge Adsorption von Aepfelsäure überdies Verluste entstehen, welche bei der Anwendung der Ionenaustauscher im Säulenverfahren ausgeschlossen sind.

Eine weitere Verfeinerung des von *Jerchel* und Mitarbeitern beschriebenen Bestimmungsverfahrens erreichen wir dadurch, dass wir jede papierchromatographische Bestimmung unter Zusatz von Aepfelsäurelösung *bekannter* Konzentration vornehmen. Dieses Vorgehen hat den Vorzug, dass selbst sehr geringe Mengen Aepfelsäure einwandfrei erfasst werden können. — Eine zusätzliche Verfeinerung des Verfahrens erreichen wir durch Verwendung eines besser geeigneten Laufmittelgemisches, welches Flecken mit schärfer begrenzten Konturen liefert, ein Kriterium, welches schlechthin als Voraussetzung für die exakte Auswertung der gewonnenen Flecken zu betrachten ist.

Praktisch gehen wir so vor, dass wir auf die Chromatographiepapiere mittels Mikrometerspritze sechs zwischen den Werten 50 und 200 μg liegende Aepfelsäuremengen auftragen und die letzteren zusammen mit vier aufgetragenen Aepfelsäuremengen unbekannten Gehaltes im absteigenden Verfahren entwickeln. Nach einer Laufzeit von 12 bis 15 Stunden werden die Papiere getrocknet, mit Acridinlösung besprüht und die Flecken nach dem Ausschneiden genau gewogen. Die Flecken von bekannter Aepfelsäurekonzentration liefern eine Standardreihe, welche die Ermittlung der Aepfelsäure in den Flecken unbekannter Konzentration ermöglicht.

Das von uns vorgeschlagene Verfahren der papierchromatographischen Bestimmung der Aepfelsäure besitzt eine Fehlerbreite von $\pm 5\%$; gegenüber anderen Verfahren hat es den Vorzug, dass parallel zu der Aepfelsäurebestimmung die übrigen in dem untersuchten Wein oder Obstwein enthaltenen organischen und anorganischen Säuren erkannt und ihre Mengen abgeschätzt werden können, ein Vorteil, welcher besonders im Hinblick auf die Beurteilung des Fortschreitens des biologischen Säurerückganges (Umwandlung der Aepfelsäure in Milchsäure und Kohlensäure) von Interesse ist. Das Bestimmungsverfahren lässt sich auf Weine mit einem Zuckergehalt bis zu 10 g/l anwenden. — In Tabelle 1 haben wir die unter Verwendung des von uns benützten Laufmittelgemisches auftretenden R_f -Werte der anorganischen und organischen Säuren zusammengestellt.

Aus Tabelle 1 geht hervor, dass der der Chlorogensäure zuzuordnende Fleck einen mit jenem der Aepfelsäure nahezu identischen R_f -Wert aufweist. Dies bedingt, dass die exakte Bestimmung der Aepfelsäure in chlorogensäurehaltigen Getränken erschwert wird. Nachdem wir jedoch bis heute in Weinen Chlorogensäure nie haben nachweisen können, wird unsere Aepfelsäurebestimmung durch dieses Depsid in keiner Weise beeinträchtigt.

Versuche zur Eliminierung der in Kernobstsäften enthaltenen Chlorogensäure sind bei uns in Bearbeitung, so dass es uns in nächster Zeit möglich sein

Tabelle 1

R_F-Werte verschiedener anorganischer und organischer Säuren bei Verwendung des für die quantitative Bestimmung der Aepfelsäure verwendeten Laufmittelgemisches: tert. Amylalkohol (2,5 T.), n-Butylalkohol (7,5 T.), Ameisensäure 98%ig (3 T.) und Wasser (3 T.). Verwendung des Gemisches nach 24stündigem Stehenlassen.

Säure	R _F -Werte (absteigend entwickelt)
Galakturonsäure	0,04
Glukonsäure	0,05
Chinasäure	0,14
Weinsäure	0,18
Shikimisäure	0,24
Schwefelsäure	0,24
Phosphorsäure	0,25
Ascorbinsäure	0,28
Salzsäure	0,32
Citronensäure	0,32
Aepfelsäure	0,39
Chlorogensäure *)	0,41
Glycolsäure	0,49
α-Ketoglutarsäure	0,56
Maleinsäure	0,60
Milchsäure	0,67
Bernsteinsäure	0,67
Kaffeesäure	0,69
Aconitsäure	0,71
Ferulasäure	0,72
Glutarsäure	0,75
Fumarsäure	0,83

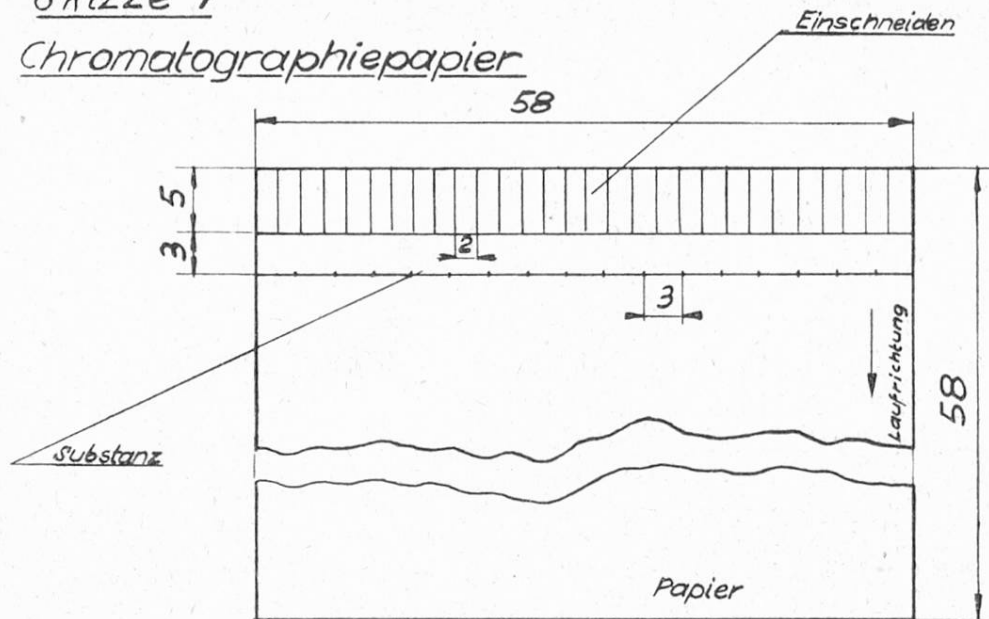
*) Langer Flecken

dürfte, die papierchromatographische Bestimmung der Aepfelsäure auch auf vergorene Aepfel- und Birnensäfte auszudehnen.

Zur Ermöglichung der gleichzeitigen Ausführung mehrerer Aepfelsäurebestimmung nebeneinander haben wir in Ermangelung einer entsprechend grossen Apparatur erstmals eine für die Entwicklung besonders breiter Chromatographiepapiere geeignete Aufhängevorrichtung verwendet. Ihr Aufbau ist aus den beiden *nachstehenden Skizzen* ersichtlich. Die für das Aufhängen der Papiere benützte Apparatur weist gegenüber den bisher verwendeten Vorrichtungen verschiedene Verbesserungen auf, insbesondere die Verunmöglichung der Berührung des Glases durch den abfallenden Teil des Chromatographiepapiers, ein Nachteil, der bisher wiederholt aufgetreten ist und der das gleichmässige Fortschreiten der Lösungsmittelfront behindert hat. Die Apparatur kann unter Verwendung geeigneter Laboratoriumstrichter in einfacher Weise selbst aufgebaut werden; um den Bedarf an Laufmittelgemisch möglichst klein

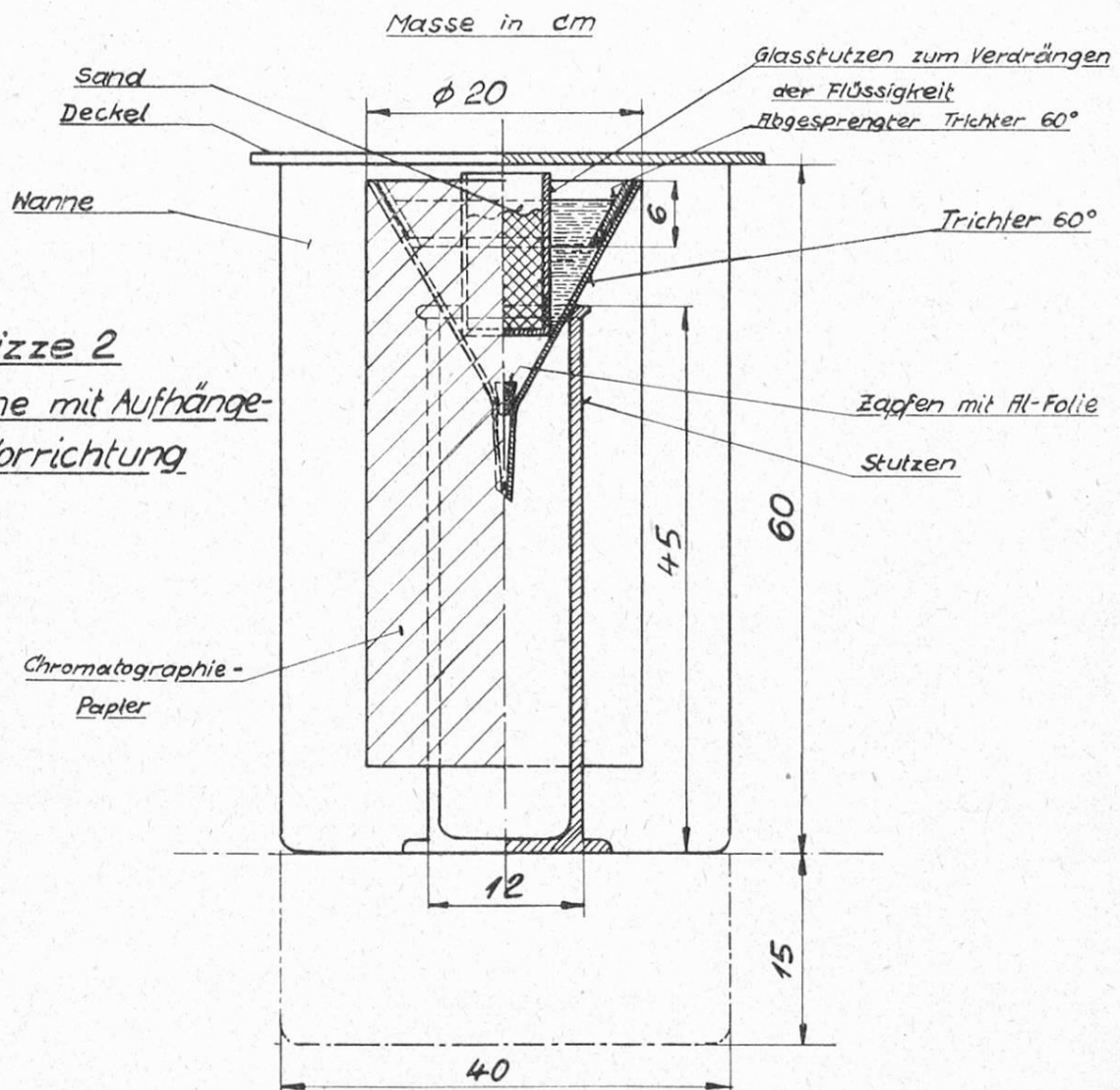
Skizze 1

Chromatographiepapier



Skizze 2

Wanne mit Aufhänge-Vorrichtung



zu halten, wird ein beschwerter Glasstutzen (z.B. mit Sand gefüllter Stutzen) in das Innere des Trichters gestellt, wodurch Lösungsmittel verdrängt wird (siehe Skizze 2).

Experimentelles

Vorbereitung des zu untersuchenden Weines

50 ml des auf Aepfelsäure zu prüfenden Weines werden mit genau 25 mg l-Aepfelsäure, gelöst in einigen ml Wasser, versetzt. Die Lösung wird zwecks Freilegung der im Getränk enthaltenen Säuren durch eine mit den Austauschern Dowex 50 oder Amberlite IR 120 beschickte Säule von etwa 20 cm Länge und 2 cm Durchmesser mit einer Durchflussgeschwindigkeit von etwa 1 Tropfen pro Sekunde fließen gelassen. Mit destilliertem Wasser wird so lange nachgespült, bis in einem 150 ml-Messkolben nahezu 150 ml Flüssigkeit aufgefangen worden sind. Nach Durchlauf dieser Flüssigkeitsmenge befinden sich, wie wir uns davon überzeugen konnten, die Säuren vollumfänglich im Durchlauf. Dennoch ist es empfehlenswert, nach dem Durchfließen von 150 ml Flüssigkeit zu prüfen, ob die den Kationenaustauscher verlassende Lösung tatsächlich neutral ist. Nun wird der 150 ml-Messkolben bis zur Marke aufgefüllt, gemischt, 75 ml der erhaltenen Lösung in eine Porzellanschale gebracht und auf dem siedenden Wasserbad so weit eingengt, bis etwa 5 ml Flüssigkeit verbleiben. Nach dem Erkalten wird die konzentrierte Lösung mit Hilfe eines Kapillartichters quantitativ in ein 10 ml-Messkölbchen übergeführt und mit destilliertem Wasser zur Marke aufgefüllt. Diese Lösung wird für die papierchromatographische Bestimmung verwendet. Sofern es sich um besonders säurereiche Weine mit Gesamtsäuren von mehr als 9 g/l, ausgedrückt als Weinsäure, handelt, wird vorteilhaft auf das doppelte Volumen, d.h. auf 20 ml, verdünnt.

Für die quantitative papierchromatographische Bestimmung verwenden wir das Papier 2043 b, glatt, der Firma Schleicher & Schüll, Feldmeilen (Zürich). Mittels einer Mikropipette tragen wir steigende Mengen der zu analysierenden Lösung auf und zwar 5, 15, 25 und 40 μ l, entsprechend 1, 3, 5 und 8×25 Mikrometer-Skalenteilen. Auf das gleiche Papier tragen wir Lösungen von bekannter Konzentration auf, und zwar von einer 10 g l-Aepfelsäure im Liter enthaltenden Lösung $2\frac{1}{2}$, 5, $7\frac{1}{2}$, 10, 15 und 20 μ l. Unter Verwendung der im allgemeinen Teil beschriebenen Vorrichtung ist es uns möglich, gleichzeitig drei Bestimmungen der Aepfelsäure auszuführen. — Anschliessend an das Auftragen der unterschiedlichen Mengen wird das Papierchromatogramm während 13 bis 15 Stunden im absteigenden Verfahren entwickelt, wobei wir folgendes Lösungsmittelgemisch verwenden:

7,5 Teile	n-Butanol
2,5 Teile	tert. Amylalkohol
3 Teile	Ameisensäure 98 ⁰ /oig
3 Teile	Wasser

Dieses Gemisch ist mindestens 24 Stunden vor Gebrauch frisch zu bereiten. Die anfänglich mischbaren Bestandteile bilden nach einigen Stunden 2 Phasen. Die untere wässrige Schicht wird weggeworfen, während die überstehende Schicht als Laufmittelgemisch Verwendung findet.

Nach erfolgter Entwicklung des Chromatogramms wird das Papier in einer gut ventilierten Kapelle aufgehängt und während 3 Stunden getrocknet. Dabei ist darauf zu achten, dass weder alkalische noch saure Dämpfe mit dem zu trocknenden Papier in Berührung kommen. Nun wird das Papier mit einer alkoholischen Acridinlösung möglichst gleichmässig und beidseitig besprüht und das Papier unmittelbar darauf unter eine in einem verdunkelten Raum befindliche Ultraviolettlampe *) gelegt. Die einzelnen Säuren lassen sich im UV-Licht als gut voneinander getrennte und scharf umränderte gelbe Flecken erkennen. Die der Aepfelsäure zuzuordnenden Flecken vom R_f -Wert $\sim 0,4$ werden mit Hilfe eines harten, spitzigen Bleistiftes exakt abgegrenzt, die so markierten Flecken mittels einer Schere ausgeschnitten und ihr Gewicht auf einer analytischen Waage ermittelt.

Die Gewichte der den Standard-Aepfelsäure-Konzentrationen entsprechenden Flecken werden auf logarithmischem Papier auf der Ordinate aufgetragen, während auf der Abszisse die zugehörigen Konzentrationen aufgetragen werden. Bei exaktem Arbeiten liegen die gefundenen Werte auf einer Geraden, und zwar zumindest innerhalb den zwischen 50—200 μg liegenden Konzentrationen.

Die erhaltene Gerade dient zur quantitativen Bestimmung der in den Flecken unbekannter Konzentration enthaltenen Aepfelsäure, indem der Eichgeraden die jedem beliebigen, zwischen den Werten 50 und 200 μg liegenden Fleckengewicht zugehörige Anzahl μg Aepfelsäure entnommen werden kann. Für die Umrechnung der gefundenen Aepfelsäuremengen in g/l dient die nachfolgende Formel:

$$\text{Aepfelsäure in g/l} = \frac{x \cdot 0,4}{a} - 0,5$$

wobei x die gefundene Menge Aepfelsäure (in μg) und a die auf das Papier aufgetragene Anzahl μl bedeuten. Der Betrag von 0,5, welcher abzuziehen ist, entspricht der vor Ausführung der Bestimmung zugesetzten Aepfelsäuremenge.

Zwecks Erhöhung der Genauigkeit wird das arithmetische Mittel aus allen möglichen, zwischen 50 und 200 μg liegenden Einzelwerten errechnet. — Ferner sind wir gegenwärtig damit beschäftigt, durch Modifikation des beschriebenen Verfahrens die Aepfelsäurebestimmung auch auf Getränke mit einem Zucker-gehalt von mehr als 10 g/l auszudehnen.

*) Wir verwenden eine *Hanauer*-Analysenlampe, Typ PL 342.

Zusammenfassung

Es wird über eine quantitative papierchromatographische Bestimmung der Aepfelsäure in Weinen berichtet. Die Bestimmung beruht darauf, dass Aepfelsäure quantitativ aufgetragen und die nach dem Entwickeln erhaltenen Flecken im Ultraviolettlicht markiert, nachher ausgeschnitten und gewogen werden. Mittels einer gleichzeitig aufgenommenen Eichgeraden lässt sich die jedem Fleckengewicht entsprechende Aepfelsäurekonzentration ablesen.

Das Verfahren erlaubt die Bestimmung der Aepfelsäure mit einer Genauigkeit von $\pm 5\%$; es lässt sich auf Weine mit einem Zuckergehalt von bis zu 10 g/l anwenden. Gegenüber andern Bestimmungsverfahren besitzt es den Vorzug, dass gleichzeitig mit der Aepfelsäurebestimmung die übrigen im Wein enthaltenen anorganischen und organischen Säuren erkannt und ihre Mengen abgeschätzt werden können, ein Vorteil, welcher für die Beurteilung des Fortschreitens des biologischen Säurerückganges von Weinen sowie zur Vornahme von Identitätsnachweisen von Bedeutung ist.

Résumé

Description du dosage quantitatif de l'acide malique des vins par chromatographie sur papier. Le dosage repose sur le principe suivant: l'acide malique, présent sous forme d'acide libre et de sels métalliques, est libéré par un échangeur d'ions (résine cationique); l'acide malique est porté sur le papier, développé et rendu visible en UV par pulvérisation avec une solution d'acridine. On marque alors au crayon, toujours en UV, le bord des taches, puis découpe ces dernières et les pèse. Les poids ainsi obtenus sont, dans des limites déterminées, proportionnels au logarithme des concentrations en acide malique. On examine en même temps ce que donnent des concentrations connues d'acide malique pur.

L'exactitude du dosage est de $\pm 5\%$. Cette méthode peut être utilisée avec des vins contenant jusqu'à 10 g de sucre par litre; elle a l'avantage de permettre d'estimer en même temps la quantité des autres acides minéraux et organiques du vin, ce qui est utile pour suivre la marche de la rétrogradation biologique des acides et pour des identifications.

Summary

Description of a method for the quantitative determination of malic acid in wines by paper chromatography. Malic acid is set free by a cationic ion exchanger and chromatographed on paper. After spraying with an acridine solution, the spots are marked with a pencil, under UV light, cut and weighed. They are compared with spots obtained with known quantities of pure malic acid. Accuracy: $\pm 5\%$. This method can be used with wines containing up to 10 g of sugar per litre and has the advantage of permitting at the same time the estimation of the other inorganic and organic acids.

Literatur

- 1) Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. **39**, 30 (1948).
- 2) Zeitschrift Lebensmittel-Unters. Forsch. **92**, 245 (1951).
- 3) Schweiz. Zeitschrift für Obst- und Weinbau **62**, 74 (1953).
- 4) Zeitschrift Lebensmittel-Unters. Forsch. **98**, 185 (1954); **103**, 32 (1956).
- 5) Zeitschrift Lebensmittel-Unters. Forsch. **100**, 449 (1955).
- 6) P. Flesch und D. Jerchel, Die Wein-Wissenschaft **9**, 1 (1955).