

DEUTSCHE LEBENSMITTEL-RUNDSCHAU

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m. b. H., Stuttgart N, Birkenwaldstraße 44, Postfach 40

Sonderdruck aus Heft 1, Januar 1962, Seite 1 bis 4

Aus der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe

Colorimetrische Bestimmung der Sorbinsäure im Wein

Von H. Schmidt

Von allen Konservierungsstoffen, die z. Zt. zum Haltbarmachen von Lebensmitteln noch zugelassen sind, wird besonders die Sorbinsäure in steigendem Maße verwendet. Noch Anfang 1959 war sie im Inland nur in wenigen Lebensmitteln zu finden, während sie heute in allen Lebensmitteln, bei denen ihre Anwendung erlaubt ist, angetroffen wird. Diese schnelle Verbreitung der Sorbinsäure nach ihrer offiziellen Zulassung durch das neue Lebensmittelgesetz dürfte auf ihrer bekannten physiologischen Unbedenklichkeit^{1, 2)} beruhen, sowie auf ihrer breiten Anwendungsmöglichkeit bei den verschiedensten Lebensmitteln. So werden neben vielen anderen Lebensmitteln nicht nur Fruchtsäfte und andere alkoholfreie Getränke mit Sorbinsäure haltbar gemacht, sondern in manchen Ländern, wie Frankreich, Italien, Österreich und den USA: auch Weißweine mit hoher Restsüße bzw. gezuckerte Weine. In den USA ist beispielsweise seit September 1958 der Zusatz von 1 g Sorbinsäure je Liter Wein erlaubt und in Frankreich seit dem 15. 10. 1959 die Verwendung von Sorbinsäure bis zu 200 mg je Liter Weißwein probe-weise zugelassen worden³⁾. Da im Bundesgebiet der Zusatz von Sorbinsäure zum Wein nicht bzw. noch nicht gestattet ist, ergibt sich die Forderung nach einer möglichst einfachen und genauen Methode zur Bestimmung von Sorbinsäure im Wein von selbst.

Trennung der Sorbinsäure vom Alkohol des Weines

Um den Sorbinsäuregehalt eines Lebensmittels bestimmen zu können, muß die Säure vom Lebensmittel getrennt werden. Für diese Trennung wird oft von der Wasserdampf- flüchtigkeit der Säure Gebrauch gemacht. Bei der Wasserdampfdestillation des Weines geht selbstverständlich neben der Sorbinsäure ein großer Teil des Alkohols mit in das Destillat über. Soll die Sorbinsäure im Destillat mit Hilfe ihres Absorptions-

maximums im UV bei etwa 260 $m\mu$ quantitativ bestimmt werden⁴⁾, so stört der Äthylalkohol nicht, da er in diesem Gebiet nicht absorbiert. Bei der bereits beschriebenen colorimetrischen Bestimmung der Sorbinsäure mit Thiobarbitursäure (TBS)⁵⁾ wird dagegen die bei diesem Verfahren erforderliche teilweise Oxydation des Konservierungsstoffes zu Malondialdehyd durch den Alkohol gestört. Er muß also von der Sorbinsäure getrennt werden.

Als einfachstes Trennverfahren erwies sich das Abdampfen des Alkohols im Vakuum der Wasserstrahlpumpe aus dem alkalisch gemachten Wein. Der Konservierungsstoff liegt in diesem Falle als nicht flüchtiges Sorbatanion vor und bleibt daher im Abdampfgefäß zurück. Allerdings wurden bei einer Wasserbadtemperatur von 100° C die den Weinproben zugesetzten Sorbinsäuremengen nicht quantitativ wiedergefunden, da das Sorbat im alkalisch-alkoholischen Milieu bei dieser Temperatur und unter der Einwirkung der durch die Siedekapillare eingesaugten Luft nicht beständig ist. Wurde jedoch die Wasserbadtemperatur auf 60° C gesenkt, so konnte die zugesetzte Sorbinsäure praktisch quantitativ mit Hilfe von Thiobarbitursäure bestimmt werden. Die geringe, bei diesem Verfahren benötigte Weinmenge — es genügen meist 5 ml — wurde dabei innerhalb weniger Minuten bis zur Trockene eingedampft. Nach dem Ansäuern des Rückstandes mit Schwefelsäure und der Zugabe von Magnesiumsulfat läßt sich die Sorbinsäure wie aus einem alkoholfreien Lebensmittel mit Wasserdampf isolieren und danach mit TBS colorimetrisch bestimmen.

Apparatur zum Eindampfen des Weines im Vakuum und zur Wasserdampfdestillation der Sorbinsäure

Zur Vereinfachung der Bestimmung von Sorbinsäure im Wein wurde eine Apparatur entwickelt, in der so-

wohl der Wein im Vakuum eingedampft als auch die Sorbinsäure mit Wasserdampf übergetrieben werden kann (Abb. 1). Das Gerät besteht aus einem Dreihals-Rundkolben von 1 bzw. 2 l Inhalt, der beim Eindampfen des Weines als Wasserbad und bei der anschließenden Wasserdampfdestillation der Sorbinsäure zusätzlich als Dampfentwicklungskolben dient. Der mittlere weite Kolbenhals nimmt das dickwandige Destilliergefäß mit rundem Boden auf, das über einen Normalschliff mit der Destillierbrücke verbunden ist. In der Brücke sitzt das Dampfleitungsrohr, das kurz über dem Boden des Destilliergefäßes in eine Düse von 1,5 mm Durchmesser bzw. 1,8 mm² Querschnitt ausläuft. Das obere Ende des Rohres kann wahlweise mit einem Luftregler oder über Verbindungsschlauch, Tropfenfänger und einen äußeren Kolbenhals mit dem Dampfentwicklungskolben verbunden werden. Der dritte Kolbenhals nimmt das oben zu einer Kugel erweiterte Steigrohr auf. Der absteigende Teil der Brücke kann wahlweise mit dem Schliffstutzen für den Vakuumanschluß der Wasserstrahlpumpe oder mit dem Schlangenkühler verbunden werden.

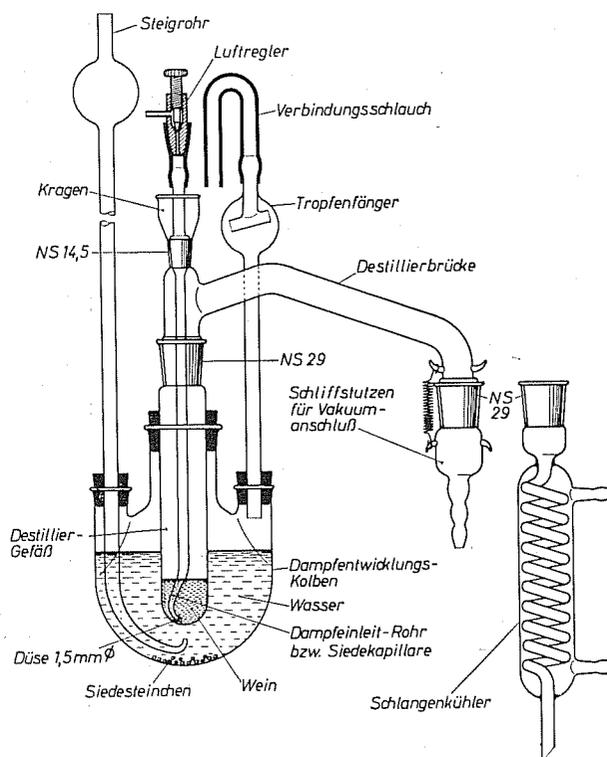
Arbeitsweise der Apparatur

Zum Eindampfen des Weines wird eine Probe mit 1 n NaOH oder KOH bis zur alkalischen Reaktion versetzt, bei Weißwein nach Zugabe von Phenolphthalein bis zur deutlichen Rotfärbung, bei Rotwein ohne Zugabe eines Indikators bis zum Farbumschlag nach Blau. Das Wasser im Dampfentwicklungskolben wird auf 60° C erhitzt und eine Probe des alkalischen Weines in das Destilliergefäß pipettiert. Nach Zugabe eines Tropfens Entschäumer wird die Destillierbrücke auf das Destilliergefäß aufgesetzt und der absteigende Teil der Brücke über einen Schliffstutzen mit der Wasserstrahlpumpe verbunden. Das Dampfleitungsrohr, das in diesem Falle als Siedekapillare fungiert, wird oben in die Brücke eingesetzt, so daß sich die Düse nur wenige Millimeter über dem runden Boden des Destilliergefäßes befindet. Auf das obere Ende des Rohres wird ein Luftregler oder ein zur Kapillare ausgezogenes Glasrohr aufgesetzt, damit nur ein ganz geringer Luftstrom nach dem Einschalten der Wasserstrahlpumpe durch die Weinprobe perlt. Die eingesaugte Luft verhindert das Stoßen der Probe während des Eindampfens unter Vakuum. Auf diese Weise ist die Weinprobe in wenigen Minuten zur Trockene eingedampft und somit der störende Alkohol restlos entfernt. Nach dem Eindampfen des Weines wird der Luftregler entfernt, das Dampfleitungsrohr angehoben, Magnesiumsulfat und Schwefelsäure zum Ansäuern des Weinrückstandes durch den Kragen am Hülsenschliff der Brücke zugegeben, das Einleitungsrohr wieder in den Schliff der Brücke eingesetzt und über Verbindungsschlauch und Tropfenfänger mit dem Dampfentwicklungskolben verbunden. Der Schliffstutzen am absteigenden Teil der Brücke wird durch einen Schlangenkühler ersetzt. Dann wird das Wasser im Kolben zum kräftigen Sieden erhitzt und die im Trockenrückstand verbliebene Sorbinsäure mit Wasserdampf in die Vorlage übergetrieben. Dabei braucht das Ende des Schlangenkühlers nicht in eine Flüssigkeitsschicht in der Vorlage einzutauchen.

Das Eindampfen der Weinprobe im Vakuum soll unter den üblichen Sicherheitsmaßnahmen durchgeführt werden (Schutzbrille, Schutzwand u. ä.), obgleich

die Bruchgefahr beim starkwandigen Destilliergefäß mit rundem Boden und bei der Destillierbrücke nicht besonders groß ist.

Während der Wasserdampfdestillation der Sorbinsäure herrscht im Dampfentwicklungskolben ein geringer Überdruck, der durch den kleinen Durchmesser der Düse des Dampfleitrohres von 1,5 mm bei gleichzeitiger starker Dampfentwicklung im Kolben bedingt ist. Der Überdruck kann an der Höhe des Wasserstan-



Schnell-Wasserdampf-Destilliergerät für Sorbinsäure und andere wasserdampfliche Stoffe.

des im Steigrohr abgelesen werden und beträgt normalerweise etwa 0,05 atü, d. h. der Wasserspiegel im Steigrohr liegt etwa 50 cm über dem Spiegel im Kolben. Die Größe des Durchmessers bzw. des Querschnitts der Düse und die Einhaltung des Überdrucks im Dampfentwicklungskolben sind wesentlich für die Durchführung der quantitativen Wasserdampfdestillation der Sorbinsäure. Mit Hilfe des in der Abb. 1 dargestellten Gerätes*) und der weiter unten angeführten Arbeitsanleitung können reproduzierbare Sorbinsäurewerte erhalten werden. Wegen analytischer und verfahrensmäßiger Einzelheiten über die Colorimetrie der Sorbinsäure mit Thiobarbitursäure sei auf die unter⁵⁾ angegebene Arbeit verwiesen.

Zum qualitativen Nachweis der Sorbinsäure im Weißwein kann dieser entweder in der beschriebenen Apparatur oder einfacher in einem dickwandigen Reagensglas bzw. einem kleinen Rundkolben mit Hilfe einer Siedekapillare unter Vakuum eingedampft werden, indem das entsprechende Gefäß in ein Wasserbad von maximal 60° C eingetaucht wird. Der Trockenrückstand kann dann nach der Arbeitsanleitung auf Sor-

*) Es wird von der Firma C. Desaga GmbH., Nachf. Erich Fecht, Heidelberg, Hauptstraße 60, hergestellt.

binsäure geprüft werden. Der Nachweis von Sorbinsäure im Rotwein sowie in anderen stark gefärbten Lebensmitteln, wie z. B. in Fruchtsäften, kann eindeutig nur in den entsprechenden Wasserdampfdestillaten durchgeführt werden.

Meßergebnisse*)

Mit Wasser verdünnter Äthylalkohol sowie verschiedene Weinarten**) wurden mit Kaliumsorbat versetzt, und sofort nach der Zugabe wurde der Sorbinsäuregehalt nach dem beschriebenen Verfahren bestimmt. In der folgenden Tabelle sind die wiedergefundenen in Prozenten der zugegebenen Sorbinsäuremengen aufgeführt.

Arbeitsanleitung

1. Qualitativer Nachweis von Sorbinsäure im Weißwein 5—10 ml Weißwein werden mit etwa 1 n NaOH oder KOH bis zur deutlich alkalischen Reaktion (Phenolphthalein) versetzt und nach Zugabe eines Tropfens Entschäumer in einem dickwandigen, langen Reagenzglas oder in einem kleinen Rundkolben unter Verwendung einer Siedekapillare im Vakuum der Wasserstrahlpumpe und mit Hilfe eines auf 60° C erhitzten Wasserbades zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird mit einigen Millilitern verdünnter Schwefelsäure (0,5—1,0 n H₂SO₄) und 1—2 ml 0,01 n Kaliumdichromatlösung kurz bis zum Aufsieden erhitzt. Darauf gibt man eine Spatelspitze feste Thiobarbitursäure (20—30 mg) oder einige Milliliter einer etwa 0,3 %igen wäßrigen Thiobarbitursäurelösung zu und erhitzt die Mischung einige Minuten über dem Brenner zum Sieden. Eine während der zweiten Erhitzungsperiode auftretende Rotfärbung beweist die Anwesenheit von Sorbinsäure. Der Nachweis kann auch mit den bei der quantitativen Bestimmung beschriebenen Reagentienmengen durchgeführt werden.

Schweiz) wird in etwa 20 ml Wasser und 10 ml 1 n NaOH-Lösung unter Umschwenken gelöst. Die Lösung wird in einem 100 ml-Meßkolben mit 11 ml 1 n Salzsäure versetzt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Für genaue Messungen sollte die TBS-Lösung täglich neu hergestellt werden.

Ferner werden benötigt: 1 n und 0,3 n Schwefelsäure, 0,01 n K₂Cr₂O₇-Lösung und MgSO₄ · 7 H₂O (von letzterem DAB 6-Reinheitsgrad nicht erforderlich).

Eindampfen des Weines

In das dickwandige Destilliergefäß mit halbrundem Boden wird so viel Wein pipettiert, daß etwa 0,5—1,0 mg Sorbinsäure darin enthalten sind. Meist genügen 5 ml. Bei Weißwein werden 1—2 Tropfen alkohol. Phenolphthaleinlösung und darauf 1 n NaOH oder KOH bis zur deutlich alkalischen Reaktion (Rotfärbung) sowie ein Tropfen Entschäumer zugegeben. Bei Rotwein erübrigt sich die Zugabe eines Indikators, da die Farbe des Rotweins bei alkalischer Reaktion nach blau umschlägt. An Stelle des Kühlers wird ein Schließstutzen an die Destillierbrücke angesetzt und Destilliergefäß und -brücke mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe evakuiert. Das Wasserdampfeinleitungsrohr dient in diesem Falle als Siedekapillare und trägt am oberen Ende einen Luftregler*) oder ein zur Kapillare ausgezogenes Glasrohr. Durch das im Dampfentwicklungskolben auf maximal 60° C erhitzte Wasser wird der Inhalt des Destilliergefäßes in wenigen Minuten zur Trockene eingedampft.

Wasserdampfdestillation

Nach dem Eindampfen des Weines wird das Dampfeinleitungsrohr angehoben, 5 g MgSO₄ · 7H₂O werden durch den mit einem Kragen versehenen Normalschliff der Destillierbrücke zugegeben und die im Schliff hängen gebliebenen Salzreste mit 5—6 ml 1 n H₂SO₄ in das Destilliergefäß gespült. Dann wird der Luftregler entfernt, das Dampfeinleitungsrohr mit dem Tropfenfänger verbunden und das

Alkohol- bzw. Weinart	Probemenge in ml	Zugesetzte Kaliumsorbatmenge je Probe in mg	Wiedergefundene Sorbatmenge in % der zugesetzten
12 %iger Äthylalkohol	5	1,34	99,8
12 %iger Äthylalkohol	5	1,34	100,9
12 %iger Äthylalkohol	5	1,34	98,6
Dalmatiner Weißwein	5	1,34	98,9
Deutscher Weißwein (Rheinhessen)	5	1,34	99,2
Wermut-Wein	5	1,34	99,4
Deutscher Weißwein (Kaiserstühler)	5	0,67	100,1
Wermut-Wein	5	0,67	98,9
Dalmatiner Weißwein	5	0,67	100,4
Französischer Weißwein	5	1,34	99,2
Italienischer Weißwein	5	1,34	99,1
Jugoslawischer Rotwein	5	1,34	100,2

2. Quantitative Bestimmung der Sorbinsäure.

Reagentien.

Zum Aufstellen der Eichgeraden kann Sorbinsäure oder besser Kaliumsorbat verwendet werden, da dieses leichter rein herzustellen, leichter in Wasser löslich und haltbarer ist als Sorbinsäure. Kaliumsorbat soll vor der Benutzung im Trockenschrank bei 105° C oder im Exsikkator über konz. Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden, sofern sein Feuchtigkeitsgehalt nicht von vornherein unter 0,1 % liegt. Sorbinsäure wird wegen ihrer Sublimierbarkeit nur im Exsikkator getrocknet.

0,5%ige Thiobarbitursäure-(TBS)-Lösung. 0,5 g TBS (Fa. Th. Schuchardt, München oder Fa. Fluka, Buchs/SG,

*) Meinem Assistenten, Herrn F. Nagel, danke ich für die gewissenhafte Durchführung der für die Entwicklung der Methode erforderlichen Versuche.

**) Der Staatl. Lebensmittel-Untersuchungsanstalt Karlsruhe sei für die freundliche Überlassung der Weinproben auch an dieser Stelle gedankt.

Wasser im Wasserdampfentwicklungskolben zum kräftigen Sieden erhitzt. Es wird so lange Wasserdampf in das Destilliergefäß eingeblasen, bis 100—150 ml Destillat**) übergegangen sind. Das Destillat wird mit Wasser auf 250 ml aufgefüllt.

*) Z. B. „Luftregler HM 1“ der Fa. J. P. Pöllath, Zeil am Main, Bayern.

**) Die zum vollständigen Übertreiben der Sorbinsäure erforderliche Destillatmenge wird am besten bei jedem neuen Gerät durch einen Versuch mit einer bekannten Menge Sorbinsäure bzw. Kaliumsorbat ermittelt, da sie u. a. von den Maßen der Destillierapparatur, besonders vom Querschnitt der Dampfaustrittsdüse des Einleitungsrohres abhängt. Die besten Ergebnisse haben wir mit einem Düsendurchmesser von 1,5 mm bzw. einem Querschnitt von 1,8 mm² und einem Überdruck von 50 cm Wassersäule im Dampfentwicklungskolben erhalten. Unter diesen Bedingungen läßt sich beispielsweise 1,0 mg Sorbinsäure in 10—15 min mit 100 ml Destillat praktisch quantitativ übertreiben.

Colorimetrie

2 ml des aufgefüllten Destillats gibt man in ein unten zugeschmolzenes Glasrohr von etwa 35 cm Länge und etwa 13 mm Innendurchmesser, setzt 2 ml einer Mischung gleichen Teile 0,01 n Kaliumdichromatlösung und 0,3 n Schwefelsäure zu und erhitzt Rohr mit Inhalt genau 5 min lang im siedenden Wasserbad. Darauf versetzt man mit 2 ml 0,5 %iger Thiobarbitursäurelösung und beläßt das Rohr weiter genau 10 min lang im Wasserbad. Dann wird das Rohr unter fließendem Wasser abgekühlt und die Extinktion der rot gefärbten Lösung (Absorptionsmaximum bei 532 m μ) im Colorimeter, z. B. Elko II mit Filter S 53 E, gemessen.

Aufstellen der Eichgeraden. 134 mg Kaliumsorbat werden im Meßkolben in 1 l Wasser gelöst. 50 ml dieser Lösung 1 werden entnommen und in einem weiteren Meßkolben auf 1 l aufgefüllt (Lösung 2). Von Lösung 2 werden 0,4, 0,8, 1,2, 1,6, 2,0 ml in 5 Glasröhren gegeben und die ersten 4 Portionen mit Wasser auf 2 ml aufgefüllt. In den 5 Röhren sind dann 2, 4, 6, 8 und 10 μ g Sorbinsäure je 2 ml Lösung enthalten. Diese 5 Eichlösungen werden wie oben angegeben weiterbehandelt. Als Eichkurve erhält man eine Gerade.

Berechnung

Die Berechnung des Sorbinsäuregehaltes erfolgt entweder über die vom Untersuchenden selbst aufgestellte Eichgerade oder mit Hilfe folgender Formeln bei Verwendung des Elko II. Filter S 53 E: mg-% Sorbinsäure = 181 e/d · A, bzw. bei Verwendung eines Spektralphotometers, gemessen bei 532 m μ : mg-% Sorbinsäure = 147 e/d · A (e = gemessene Extinktion; d = Schichtdicke in Zentimeter; A = Einwaage in Gramm).

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird eine colorimetrische Methode zur Bestimmung der Sorbinsäure in Wein beschrieben. Zur Entfernung des Alkohols aus der Weinprobe wird diese mit Alkali versetzt und in einem neu entwickelten Schnell-Wasserdampf-Destilliergerät im Vakuum der Wasserstrahlpumpe zur Trockene eingedampft. Nach dem Ansäuern des Rückstands wird die Sorbinsäure in der gleichen Apparatur mit Wasserdampf übergetrieben und im Destillat mit Kaliumdichromat teilweise zu Malondialdehyd oxydiert. Dieser Aldehyd gibt mit Thiobarbitursäure einen beständigen roten Farbstoff, mit dessen Hilfe die Sorbinsäure colorimetrisch bestimmt wird. Da die Methode sehr empfindlich ist, lassen sich noch wenige mg Sorbinsäure pro Liter Wein erfassen.

LITERATUR

- 1) Deuel, H. J. jr., R. Alfin-Slater, C. S. Weil, H. F. Smyth, jr.: „Sorbic acid as a fungistatic agent for foods. I. Harmlessness of sorbic acid as a dietary component.“ Food Res. 19 (1954) 1
- 2) Lang, K.: „Behandlung von Lebensmitteln mit chemischen Zusätzen.“ Dtsch. med. Wchr. 82 (1957) 97, 137
- 3) Schanderl, H.: „Zur Frage der Verwendung von Sorbinsäure zur mikrobiologischen Weinstabilisierung.“ Wein u. Rebe 41 (1959) 680
- 4) Florentin, D.: „Emploi de l'acide sorbique en alimentation.“ Ann. Falsificat. Fraudes 52 (1959) 454
- 5) Schmidt, H.: „Eine spezifische colorimetrische Methode zur Bestimmung der Sorbinsäure.“ Z. analyt. Chem. 178 (1960) 173

Die DEUTSCHE LEBENSMITTEL-RUNDSCHAU erscheint monatlich. Bestellungen nimmt jede Buchhandlung des In- und Auslandes, die Post oder der Verlag entgegen. In den Ländern Belgien, Dänemark, Großbritannien, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Portugal, Schweden, der Schweiz und der Vatikanstadt ist der Bezug durch die Post ebenfalls möglich. Bezugspreis: viertelj. DM 6.—, Einzelheft DM 2.20, Studenten und Assistenten in nicht voll bezahlter Stellung viertelj. DM 4.80.

Probeheft kostenlos durch den Verlag.

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H., Stuttgart N, Birkenwaldstraße 44, Postfach 40.