

Kolorimetrischer Nachweis von Holunderbeerfarbstoff im Wein.

Von

F. Wobisch und J. Schneyder.

Aus der Landwirtschaftlich-chemischen Bundes-Versuchsanstalt Wien.

(Eingelangt am 5. Febr. 1952. Vorgelegt in der Sitzung am 14. Febr. 1952.)

Der Nachweis einer Auffärbung von Wein mit Teerfarbstoffen bereitet keine Schwierigkeiten; auch den Zusatz von Heidelbeersaft kann man mit Hilfe der *Plahs*chen Reaktion¹ unschwer feststellen. Das Problem des Nachweises einer Auffärbung mit dem Saft der Holunderbeeren (*Sambucus nigra*, „Schwarzer Holler“), die, zwar gleichfalls verboten, zur Farbverstärkung hellfärbigen Rotweines aber beliebt ist, wurde dagegen noch nicht zufriedenstellend gelöst, da es trotz Versuchen² bisher nicht gelang, ein analytisch einfaches, für die Lebensmittelkontrolle geeignetes Verfahren zu finden.

Holunderbeeren sind so farbkraftig, daß schon ein geringer Zusatz davon genügt, dem Wein die Farbe des Rotweines zu geben. Diese Überlegung ließ uns Versuche, etwa aus Veränderungen der chemischen Zusammensetzung des Weines auf einen Holundersaftzusatz zu schließen, zumal bei der Variationsbreite in der chemischen Zusammensetzung der Traubenweine, völlig aussichtslos erscheinen.

Wir waren daher bestrebt, den Nachweis auf ein unterschiedliches Verhalten der Farbstoffe des Rotweines und des Holundersaftes gegenüber Reagenzien zu gründen.

Man hat das „Verhalten natürlicher roter Pflanzenfarbstoffe gegen Reagenzien“ zwar tabellarisch zusammengestellt, muß aber im Hinblick auf die große Ähnlichkeit in ihrem Verhalten zugeben, daß man nur selten in der Lage sein wird, die einzelnen Farbstoffe sicher zu erkennen³.

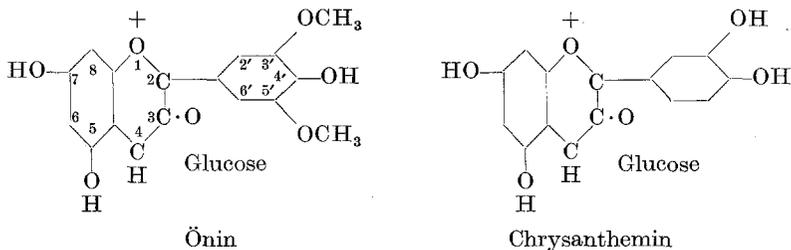
¹ *W. Plahl*, Z. analyt. Chem. **15**, 262 (1908).

² Vgl. *E. Waser*, *H. Mohler* und *F. Almasy*, Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. **28**, 243 (1932).

³ Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. II/2, S. 1182—1186.

Bekannt ist weiters, daß auch den Absorptionsspektren der natürlichen Farbstoffe der Fruchtsäfte vor allem in Gemischen kein besonderer diagnostischer Wert beizumessen ist⁴.

Der Hauptbestandteil sowohl des Rotweinfarbstoffes (Önin) als auch des Farbstoffes der Holunderbeere (Chrysanthemine) gehören zur Gruppe der Anthocyane; sie unterscheiden sich in ihrer Molekülstruktur lediglich durch die Substituenten des mit dem Benzopyryliumteil verbundenen Phenolkernes: Beim Önin ist es ein Dimethyläther des Pyrogallols von der Konfiguration der Syringasäure, beim Chrysanthemine ist es Brenzkatechin⁵.



Boeseken und Mitarbeiter⁶ haben in einer Reihe von Arbeiten den Einfluß von Hydroxylverbindungen auf das Leitvermögen der Borsäure studiert und unter anderem auch das Verhalten der mehrwertigen Phenole untersucht; von den drei Dioxybenzolen verleiht nur das Brenzkatechin der Borsäure ein stark erhöhtes Leitvermögen, von den dreiwertigen Phenolen das Pyrogallol. Man nimmt an, daß diese Wirkung (die Wasserstoffionenkonzentration der Borsäure wird z. B. nach unseren Versuchen durch Brenzkatechin in 0,1 mol. Lösung um nahezu 2 Zehnerpotenzen erhöht) darauf beruht, daß durch die benachbarten Hydroxylgruppen eine Komplexbildung ermöglicht wird.

Bei unseren Farbstoffen fällt auf, daß wohl die Brenzkatechin-komponente des Chrysanthemins zwei Hydroxylgruppen enthält, der Syringasäurerest des Önins jedoch nur eine.

Wir haben die Farbänderungen der beiden Farbstoffe bei verschiedenen pH-Werten beobachtet; die Farbe geht mit steigenden pH-Werten von Rot über Violett in Blau über. Dieser Übergang vollzieht sich beim Rotwein bei etwas höheren pH-Werten als beim Holundersaft; bei pH 9,23 ist bei beiden ein reines Blau erreicht. Ein wesentlich anderes Bild ergibt sich jedoch bei Verwendung einer Pufferlösung, die wohl auf den gleichen pH-Wert eingestellt, jedoch unter Verwendung von

⁴ Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. II/2, S. 205.

⁵ *P. Karrer*, Lehrbuch der organischen Chemie, S. 595. Aufl. 1948.

⁶ *J. Boeseken* und *A. van Rossem*, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **30**, 392 (1911); Ref. Chem. Zbl. **1912** I, 877.

Borsäure hergestellt ist: Der Rotwein zeigt kaum eine merkliche Veränderung gegenüber dem mit der früheren (gleichfalls auf pH 9,23 eingestellten) Pufferlösung erreichten Farbton, der mit Holundersaft gefärbte Wein hingegen behält seine rote Farbe!

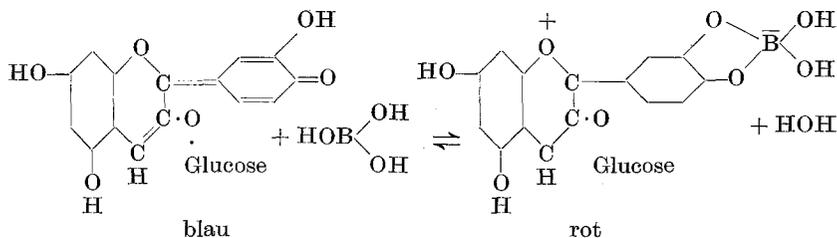
Man wäre versucht zu sagen, daß durch die Boratpufferlösung eine Umkehrung (Inversion) der Färbung gegenüber der gewöhnlichen (ohne Borsäure hergestellten) pH 9,23-Pufferlösung stattfindet.

Tabelle 1.

	Mit Glycinpuffer pH 9,23	Mit Boratpuffer pH 9,23
Rotwein.....	blau	blau
Durch Holundersaft rotgefärbter Wein.....	blau	rot

Die rote Färbung bleibt selbst bei einem pH-Wert von 11,0, soferne Boratpuffer verwendet wird, bestehen!

Wir glauben, diese Erscheinung damit erklären zu können, daß die im großen Überschuß vorhandene Borsäure durch Bindung der beiden in 3',4'-Stellung befindlichen, benachbarten Hydroxylgruppen das chemische Gleichgewicht zu ungunsten der Farbstoffbase verschiebt.



Der Nachweis benachbarter freier Hydroxylgruppen der Anthocyane verschiedener Fruchtsäfte, im besonderen der der sogenannten Direktträgertrauben, mit Hilfe dieser Methode ist im Gange.

Experimenteller Teil.

Reagenzien.

Glycin-Pufferlösung (pH 9,23). 6,184 g Glykokoll + 4,82 g Natriumchlorid + 17,6 ml n-NaOH im Liter.

Borat-Pufferlösung (pH 9,23). 12,404 g Borsäure + 100 ml n-NaOH im Liter.

Zu je 1 ml des auf Holunderbeerfarbstoff zu untersuchenden Weines werden 10 ml der Glycin-Pufferlösung bzw. 10 ml der Borat-Pufferlösung zugesetzt. (Die Lösung nimmt dabei einen pH-Wert von etwa 8,6 bzw. 8,75 an.)

Die entstandene Färbung wird am besten in einem lichtelektrischen Kolorimeter, das die Extinktionswerte abzulesen gestattet (Fa. Dr. B. Lange),

unter Verwendung eines Rotfilters (in unserem Falle das Jenaer Farbfilterglas RG 2, durchlässig oberhalb $625\text{ m}\mu$) nach etwa 15 Min. gemessen. (Nach längerer Zeit verändert sich die rote Färbung der Boratpufferlösung.) Das Extinktionsverhältnis Glycin-Pufferlösung : Borat-Pufferlösung beträgt unter diesen Bedingungen bei Rotweinen etwa 1,05; bei mit Holunderbeersaft gefärbten Weißweinen etwa 1,9. Ein Extinktionsverhältnis $\frac{E \text{ Glycinpuffer}}{E \text{ Boratpuffer}} > 1,15$ läßt mit Sicherheit auf einen Zusatz von Holunderbeerfarbstoff oder eines Pflanzenfarbstoffes schließen, der Cyanidin oder Delphinidin mit wenigstens zwei benachbarten freien Hydroxylgruppen enthält.

Mangels eines Kolorimeters kann die Farbänderung der Borat-Pufferlösung durch Holunderbeerfarbstoff enthaltenden Wein recht gut auch mit dem Auge beobachtet werden.

Zusammenfassung.

Es wird das verschiedene Verhalten der Anthocyane des Rotweines und der Holunderbeeren gegen Borat-Pufferlösung festgestellt, das zum Nachweis von Holunderbeersaft im Wein verwendet werden kann.