Zeitschrift
für
Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel,
sowie der Gebrauchsgegenstände.

Heft 15.

1. August 1901.

4. Jahrgang.

**Ueber Vorkommen und Bestimmung der Milchsäure
im Weine.**

Von
Rudolf Kunz.

Mittheilung aus der k. k. allgemeinen Untersuchungsanstalt
für Lebensmittel in Wien.

Bei der Weinuntersuchung ist es gebräuchlich, den Gesamtsäuregehalt des Weines durch Titration zu bestimmen und als Weinsäure zu berechnen.

Von den sauren Salzen und Säuren des Weines selbst werden gewöhnlich nur der Weinstein, die Weinsäure und die flüchtigen Säuren ermittelt.

Führt man nun noch die Bestimmung der Bernsteinsäure aus und rechnet man die gefundenen freien Säuren und den Weinstein auf Weinsäure um, so zeigt es sich in jedem Falle, dass noch andere Säuren in bedeutender Menge im Weine enthalten sein müssen, die man unbestimmt gelassen hat.

Nach den bisherigen Anschauungen soll der weitaus grösste Theil dieses Säurerestes Aepfelsäure sein. Verlässliche Angaben über den Aepfelsäuregehalt im Weine liegen aber bisher nicht vor, da die zur Bestimmung dieser Säure in Vorschlag gebrachten Verfahren sämmtlich auch nicht entfernt richtige, einwandfreie Ergebnisse liefern.

Mit Hilfe eines neuen, vorläufig nur qualitativ angewendeten Verfahrens, das später veröffentlicht werden wird, überzeugte ich mich, dass die Aepfelsäure durchaus nicht in den angenommenen Mengen im Weine vorhanden ist. In den von mir bisher untersuchten Weinen wenigstens war sie nur in ganz geringen Mengen vorhanden, wie im Laufe dieser Abhandlung rechnungsmässig dargelegt werden wird.

Es musste demnach eine andere Säure den grössten Theil des unbestimmt gebliebenen Säurerestes bilden.

Meine Untersuchungen ergaben nun, dass es die inaktive Gährungs-Milchsäure ist, die sich als normaler Bestandtheil in jedem Weine vorfindet und zwar in Mengen, welche oft weit über diejenigen sämmtlicher anderen Säuren hinausragen.

Die bisherige Annahme, dass sich grössere Mengen von Milchsäure nur in verdorbenen, milchsäurestichigen bzw. zickigen Weinen vorfinden, ist unrichtig. Auch in tadellosen, aus bestimmt verlässlicher Quelle stammenden feinen Flaschenweinen wurde stets Milchsäure in grösseren Mengen gefunden.

Um diese Thatsache sicher feststellen zu können, galt es zunächst ein Verfahren zu finden, welches den Milchsäuregehalt des Weines möglichst genau zu bestimmen erlaubt.

Das Verfahren von R. Palm¹⁾ erwies sich nach der von E. Mach und K. Portele²⁾ ausgeführten Nachprüfung als unbrauchbar. Aber auch das von E. Mach und K. Portele selbst angegebene Verfahren schliesst, wie weiter unten dargelegt werden wird, ersichtliche Fehlerquellen ein.

Nach zahlreichen Versuchen kam ich schliesslich zu folgendem Bestimmungsverfahren, welches genau und überdies auch für Süssweine anwendbar ist:

I. Ausführung der quantitativen Milchsäurebestimmung.

200 ccm Wein werden in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade mit gepulvertem Baryumhydroxyd bis zur alkalischen Reaktion versetzt und ungefähr bis auf $\frac{2}{3}$ des ursprünglichen Volumens eingedampft. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit sammt dem entstandenen Niederschlage in einen Messkolben gebracht, wieder auf 200 ccm aufgefüllt und nach kräftigem Durchmischen abfiltrirt.

Von dem Filtrat dampft man 150 ccm auf dem Wasserbade bis zur dünnen Syrupkonsistenz ein. Um das Abdampfen der Flüssigkeit zu erleichtern, empfiehlt es sich, das darin enthaltene überschüssige Baryumhydroxyd durch Einleiten von Kohlensäure in Baryumkarbonat überzuführen.

Dem Abdampfrückstande wird nach dem Erkalten verdünnte Schwefelsäure im Ueberschuss zugefügt und darauf das ganze Gemisch sammt Niederschlag quantitativ in den Schacherl'schen Extraktionsapparat gebracht.

Dieser ausgezeichnet arbeitende Apparat ist bei uns schon seit mehreren Jahren in Gebrauch. Da derselbe noch nicht allgemein bekannt ist, lasse ich hier seine Abbildung (Fig. 26) und Beschreibung folgen:

Fig. 26.

Die zu extrahirende Lösung kommt in den Kolben C, und zwar muss dieser bis zum Halse (wie die Linie andeutet), nöthigenfalls durch Wasserzusatz gefüllt werden. In den Kolben A, welcher in ein Wasserbad gestellt wird, kommt das Extraktionsmittel. Die Dämpfe des letzteren gehen durch das Rohr B, und den Zwischenraum zwischen dem Trichter D und dem Kolbenhalse zum Kühler, werden dort kondensirt und fliessen in den Trichter D hinein. Sobald die Flüssigkeitssäule im Trichterrohr eine gewisse Höhe erreicht hat, tritt das Extraktionsmittel unten in kleinen

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1883, **22**, 223 u. 1887, **26**, 33.

²⁾ Landw. Vers. Stat. 1890, **37**, 305.

Kügelchen aus, durchströmt die wässrige Lösung, entzieht derselben die in ihm löslichen Stoffe und sammelt sich oben an.

Sobald die Höhe des seitlich einmündenden Rohres B erreicht ist, fließt das Extraktionsmittel oben in dem Maasse in das Kölbchen A ab, als neuer Aether etc. durch das Trichterrohr unten austritt. Die Extraktion kann quantitativ ausgeführt werden, die Dauer derselben ist abhängig von dem Grade der Löslichkeit des zu extrahirenden Körpers. Fig. 27 zeigt die Anordnung dreier Extraktionsapparate für den praktischen Gebrauch.

Um Korke zu vermeiden empfiehlt es sich ganz besonders Apparate zu verwenden, bei denen das Kölbchen A an das Rohr B angeschliffen ist¹⁾.

Fig. 27.

Fig. 28.

Als Extraktionsmittel dient in unserem Falle Aether. Nach 18 Stunden ist die Extraktion beendet. In das Kölbchen A bringt man nun ungefähr 30 ccm Wasser und verdampft den Aether unter öfterem Umschütteln auf dem Wasserbade. Die wässrige Lösung wird sodann in den Kolben des oben abgebildeten Destillationsapparates (Fig. 28) gebracht und die Destillation im Wasserdampfstrom so lange fortgesetzt, bis alle flüchtigen Säuren übergegangen sind, was in der Regel bei einer Destillatmenge von 600—800 ccm erreicht ist. Hierauf wird der Destillationsrückstand in eine Porzellanschale gespült und nach Zusatz eines Tropfens Phenolphthalein mit etwas überschüssigem, gepulvertem Baryumhydroxyd versetzt.

¹⁾ Diese Extraktionsapparate werden vom Glasbläser Paul Haack, Wien, IX/3, Garelligasse 4, in allen Grössen angefertigt.

Falls nach 15 Minuten währendem Erwärmen auf dem Wasserbade die alkalische Reaktion bestehen bleibt, leitet man Kohlensäure ein und engt dann die Flüssigkeit durch weiteres Abdampfen auf dem Wasserbade bis auf 10 ccm ein. Mit weiteren 40 ccm Wasser bringt man den Eindampfrückstand sammt Niederschlag in einen 150 ccm Messkolben und füllt darauf unter leichtem Umschwenken mit 95 Vol.-%-igem Alkohol bis zur Marke auf. Nach kräftigem Durchschütteln der Flüssigkeit kann sogleich abfiltrirt werden. Vom Filtrate werden 100 ccm in einer Porzellanschale bis zur Entfernung des Alkohols auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wird in ein Becherglas gebracht, mit Salzsäure schwach angesäuert und in der Hitze mit schwefelsaurem Natrium gefällt.

Da sich in der zur Fällung vorbereiteten Flüssigkeit ausschliesslich milchsaures Baryum vorfindet, so kann aus der Menge des gewogenen schwefelsauren Baryums ohne Weiteres die Milchsäure berechnet werden. Die gefundene Menge entspricht dem Milchsäuregehalte von 100 ccm Wein.

II. Besprechung und Prüfung des Verfahrens.

Das geschilderte quantitative Verfahren beruht im Wesentlichen auf der Extrahirbarkeit der Milchsäure aus wässriger Lösung durch Aether, auf ihrer Nichtflüchtigkeit mit Wasserdämpfen und auf der Löslichkeit ihres Baryumsalzes in Alkohol von bestimmter Konzentration.

Für die Extraktion wird der Wein durch Zusatz von Baryumhydroxyd bis zur alkalischen Reaktion vorbereitet. Es werden dadurch Extraktiv-, Gerb- und Farbstoffe, zum Theil auch der Weinstein und die Weinsäure zur Ausscheidung gebracht und es wird dabei ein Filtrat erhalten, welches während der Extraktion mit Aether keine Emulsionen bildet.

Leider muss gesagt werden, dass die Extraktion der Milchsäure niemals vollständig gelingt, auch wenn man sie noch so lange fortsetzt. Binnen 18 Stunden ist die Hauptmenge der Säure ausgezogen, darüber hinaus erzielt man nur noch sehr geringe Zunahmen. Die Unmöglichkeit der vollständigen Extraktion der Milchsäure aus wässriger Lösung ist der Hauptfehler des Verfahrens, dem bisher nicht abzuhelfen war.

Bei Vornahme von Extraktionsversuchen mit Lösungen von käuflicher Milchsäure, behufs Erprobung des Verfahrens, bin ich übrigens auf einen Umstand aufmerksam geworden, der bisher zumeist übersehen worden ist.

Die im Handel befindlichen Milchsäuren enthalten¹⁾ neben Milchsäurehydrat stets grössere Mengen von Milchsäureanhydrid oder

Will man also die Extraktion unter Verwendung von käuflicher Milchsäure kontrolliren, so muss man unbedingt sowohl das Milchsäurehydrat als auch die

¹⁾ Vergl. R. Kunz, in Zeitschrift des allg. österr. Apotheker-Vereines 1901, **39**, 186.

Laktylmilchsäure (Anhydrid) durch Titration und nachfolgende Verseifung mit titrirter Lauge bestimmen¹⁾.

Ist alles quantitativ in Alkalilaktat übergeführt, so wird mit Schwefelsäure angesäuert und die Extraktion begonnen. Wird nun nach beendeter Extraktion unter Zusatz von etwas Wasser der Aether im Extraktionskölbchen verjagt, so erhält man wiederum ein Gemisch von Milchsäurehydrat und Anhydrid, da die extrahierte Milchsäure in der Aetherlösung bei länger fortgesetztem Sieden derselben, selbst bei gleichbleibendem Volumen des Aethers theilweise in Anhydrid übergeht. Es muss daher nach der Extraktion abermals neben dem Milchsäurehydrat der in Anhydrid übergegangene Theil der Milchsäure bestimmt werden.

Nachstehend sind die Ergebnisse zweier Extraktionsversuche angeführt, welche die beiden vorstehenden Angaben belegen.

50 ccm Milchsäurelösung verbrauchten:		
zur Neutralisation	11,0 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Lauge	
zur nachherigen Verseifung des Anhydrids	2,3 „ „	
im Ganzen also		13,3 ccm = 0,5985 g Milchsäure

Es wurde gefunden:

a) Nach 18-stündiger Extraktion:

erforderlich zur Neutralisation . .	11,3 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Lauge	
zur Verseifung des Anhydrids . .	1,3 „ „	
im Ganzen also		12,6 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Lauge = 0,5670 g Milchsäure.
		Differenz — 0,0315 „ „

b) Nach 28-stündiger Extraktion:

erforderlich zur Neutralisation . .	10,6 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Lauge	
zur Verseifung des Anhydrides . .	2,2 „ „	
im Ganzen also		12,8 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Lauge = 0,5760 g Milchsäure.
		Differenz — 0,0225 „ „

Zahlreiche andere Versuche ergaben annähernd dieselben Differenzen.

Wir kehren nach dieser Abschweifung zum Verfahren der Milchsäurebestimmung im Weine zurück.

Nach vollendeter Extraktion und Entfernung des Aethers werden die mit-extrahirten flüchtigen Säuren durch Destillation im Wasserdampfstrom entfernt. Die Destillation muss mit der Vorsicht geleitet werden, dass das Volumen der Flüssigkeit im Destillationskolben nicht unter 50 ccm sinkt, und so lange fortgesetzt werden, bis 200 ccm Destillat nicht mehr als 0,1 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Lauge zur Neutralisation bedürfen. Diese Grenze erscheint gewöhnlich, wie schon oben erwähnt wurde, erreicht, sobald das Gesamtdestillat 600—800 ccm beträgt.

Ein nennenswerther Verlust an Milchsäure ist dabei nicht zu befürchten, wie dies auch schon die diesbezüglichen Versuche von E. Mach und K. Portele gezeigt haben.

Zu bemerken ist, dass während der Destillation im Wasserdampfstrom das

¹⁾ Vergl. Wislicenus, Ann. Chem. u. Pharm. 164, 181.

Anhydrid (Estersäure) nur theilweise in Milchsäurehydrat übergeht. Ein Theil des Anhydrids bleibt bestehen und wird erst bei der darauffolgenden Behandlung mit Baryumhydroxyd in Baryumlaktat übergeführt.

Durch die neuerliche Behandlung mit Baryumhydroxyd und das Versetzen der Flüssigkeit mit dem doppelten Volumen 95 Vol.-%-igen Alkohols wird die Trennung der Milchsäure von der im Extrakte noch vorhandenen Weinsäure, Aepfelsäure und Bernsteinsäure erreicht. In einer Mischung von einem Theil Wasser und zwei Theilen 95 Vol.-%-igem Alkohol ist nämlich das milchsaure Baryum leicht löslich, während die Baryumsalze der anderen hier in Betracht kommenden Säuren darin vollkommen unlöslich sind. Die Trennung ist daher eine vollständige. Mit bekannten Milchsäuremengen ausgeführte Versuche lieferten stets gute Ergebnisse, gleichgiltig in welchen Mengenverhältnissen die einzelnen Säuren miteinander gemischt waren.

Ich führe z. B. zunächst folgenden Kontrollversuch an:

Das angewendete Säuregemisch hatte nachstehende Zusammensetzung:

Milchsäure	Weinsäure	Aepfelsäure	Bernsteinsäure
0,612 g ¹⁾	0,200 g	0,200 g	0,150 g

Das Gemisch wurde in 100 ccm Wasser gelöst und genau wie oben beschrieben behandelt. Zunächst wurde die Lösung mit überschüssigem gepulvertem Baryumhydroxyd $\frac{1}{4}$ Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, um alles vorhandene Milchsäureanhydrid in Baryumlaktat überzuführen. Darauf wurde zur Beseitigung des überschüssigen Baryumhydroxyds Kohlensäure eingeleitet und bis auf ungefähr 10 ccm weiter eingedampft. Der Eindampfdruckstand wurde mit 40 ccm Wasser in einem Messkolben, der mit einer 150 ccm Marke versehen ist, gebracht. Sodann unter leichtem Umschwenken mit 95 Vol.-%-igem Alkohol bis auf 150 ccm aufgefüllt. Nach kräftigem Durchmischen der Flüssigkeit wurde vom Niederschlage abfiltrirt und in 100 ccm der Lösung nach Verjagung des Alkohols das Baryum als Baryumsulfat bestimmt und dessen Menge auf Milchsäure umgerechnet.

100 ccm Filtrat ergaben: 0,5230 g Baryumsulfat = 0,404 g Milchsäure.

Daher sind enthalten in 150 ccm = 0,606 „ „

Angewendete Milchsäure = 0,612 „

Gefundene „ = 0,606 „

Nimmt man weniger als das doppelte Volumen Alkohol zur Fällung der unlöslichen Baryumsalze, so gelingt die Trennung schlechter.

Bei einem zweiten Versuche, mit demselben Säuregemische, wurden zur Trennung der Baryumsalze gleiche Theile Wasser und 95 Vol.-%-iger Alkohol angewendet. Dabei wurden 0,6368 g, demnach 0,0256 g zu viel Milchsäure gefunden.

Wird dem Gemische der freien Säuren überdies noch Weinstein zugefügt, so tritt eine wesentliche Veränderung der Verhältnisse ein. Die Wein-

¹⁾ Unter Berücksichtigung des vorhandenen Anhydrids.

säure des Weinstein's verbindet sich dann zum Theil mit dem Baryum, während eine äquivalente Menge Kalium von der Milchsäure gebunden wird. Dieser an Kalium gebundene Theil der Milchsäure geht zwar in die alkoholische Lösung über, wird aber dann selbstverständlich bei der Berechnung der Milchsäure aus der Menge des in Alkohol gelösten Baryums übersehen. Dies ist auch der Grund, weshalb die Extraktion des Weines mit Aether bei der Bestimmung der Milchsäure nicht zu umgehen ist, obwohl diese Extraktion, wie schon erwähnt wurde, kleine Verluste an Milchsäure herbeiführt.

An diese Ausführungen mögen hier noch einige Ergebnisse ange reiht werden, die in der beschriebenen Weise sowohl mit bekannten Säuregemengen, als auch mit Wein selbst erhalten worden sind.

I. Versuch.

Angewendet wurden:

Milchsäure	0,4635 g	Bernsteinsäure	0,20 g
Weinstein	0,50 g	Aepfelsäure	0,25 „
Weinsäure	0,20 „	Essigsäure	0,20 „

Erhalten wurde: a) 0,4296 g Milchsäure,
b) 0,4327 „ „

II. Versuch.

Milchsäure	0,774 g	Bernsteinsäure	0,20 g
Weinstein	0,60 „	Aepfelsäure	0,30 „
Weinsäure	0,25 „	Essigsäure	0,25 „

Erhalten wurde: a) 0,7436 g Milchsäure,
b) 0,7372 „ „

III. Versuch.

100 ccm Wein (Albendorfer Oesterreicher) enthielten 0,4004 g Milchsäure.
Zu 200 ccm dieses Weines wurden 0,5085 g Milchsäure zugesetzt.
In 100 ccm Wein sind demnach enthalten: 0,6546 g Milchsäure.
Gefunden: 0,6538 „ „

IV. Versuch.

100 ccm Wein (Zöbinger Riesling 1895) enthielten 0,3447 g Milchsäure.
Zu 200 ccm Wein wurden 0,306 g Milchsäure zugesetzt.
In 100 ccm Wein sind demnach enthalten: 0,4977 g Milchsäure.
Gefunden: 0,4706 „ „

V. Versuch.

100 ccm Wein (Maria-Enzersdorfer 1885) enthielten: 0,3372 g Milchsäure.
Zu 200 ccm Wein wurden 0,495 g Milchsäure zugesetzt.
In 100 ccm Wein sind demnach enthalten: 0,5847 g Milchsäure.
Gefunden: 0,5757 „ „

Nach Ausführung dieser Bestimmungen musste noch der Beweis erbracht werden, dass die im Weine gefundene Milchsäure auch wirklich Milchsäure und nichts anderes ist.

Zu diesem Zwecke wurden die nach Ausfällung des Baryums bei den ver-

schiedenen Versuchen erhaltenen Filtrate gesammelt, vereinigt und nochmals mit Aether extrahirt.

Die nun in grösserer Menge erhaltene Milchsäure wurde durch Erwärmen mit Zinkoxyd in Zinklaktat übergeführt, da das milchsaure Zink von allen milchsauren Salzen das am besten charakterisirte ist. Die vom überschüssigen Zinkoxyd abfiltrirte Lösung wurde zunächst auf ihre optischen Eigenschaften geprüft und im polarisirten Licht als optisch inaktiv befunden; sodann wurde die Lösung durch entsprechendes Einengen zur fraktionirten Krystallisation gebracht.

Die Krystallisations-Fractionen wogen:

Fraktion:	I	II	III	IV	V	Im Ganzen
g:	1,52	0,74	0,48	0,42	0,38	3,54

Wie nun aus Folgendem zu ersehen ist, stimmte sowohl der Gehalt an Krystallwasser als auch der Zinkgehalt sämmtlicher Antheile mit dem des Zinksalzes der inaktiven Gährungsmilchsäure (mit 3 Molekülen Wasser) überein.

Berechneter Wasser-Gehalt = 18,51 %

I. 0,6227 g Subst. : 0,1132 g Wasser = 18,21 „	} Gefundener Wasser-Gehalt.
II. 0,5490 „ „ : 0,0995 „ „ = 18,06 „	
III. 0,4332 „ „ : 0,0794 „ „ = 18,12 „	
IV. 0,3220 „ „ : 0,0576 „ „ = 17,89 „	

Berechneter Zinkoxyd-Gehalt = 33,44 %

I. 0,5093 g Subst. (wasserfrei) : 0,1703 g Zinkoxyd = 33,43 „	} Gefundener Zinkoxyd-Gehalt.
II. 0,4495 „ „ „ : 0,1498 „ „ = 33,32 „	
III. 0,3588 „ „ „ : 0,1191 „ „ = 33,19 „	
IV. 0,2644 „ „ „ : 0,0881 „ „ = 33,32 „	
V. 0,3507 „ „ „ : 0,1172 „ „ = 33,41 „	

Bei der Fraktion V wurde keine Wasserbestimmung gemacht, da dieses Zinksalz durch Alkohol gefällt wurde.

In einem Falle wurde die aus Wein erhaltene Milchsäure in das Zinksalz übergeführt und die gesammte Lösung ohne auszukrystallisiren zu lassen auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht. Nach dem Erhitzen auf 105°C. ergaben 0,7532 g (wasserfreie) Subst.: 0,2547 g = 33,81% Zinkoxyd.

Aus allen diesen Zahlen geht hervor, dass wirklich Milchsäure in genügend analysenreinem Zustande vorliegt.

III. Das Verfahren von E. Mach und K. Portele.

Es sei mir gestattet, an das Gesagte einige kurze Bemerkungen über das von E. Mach und K. Portele angegebene Verfahren der quantitativen Bestimmung der Milchsäure im Weine anzuknüpfen.

Nach diesem Verfahren werden 500 ccm Wein neutralisirt und unter Zusatz von Bimssteinpulver auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Der sandige Rückstand wird in einem Mörser zerrieben, dann in eine Soxhlet'sche Schüttelflasche gebracht und nach dem Befeuchten mit verdünnter Schwefel-

säure dreimal mit je 200 ccm Aether ausgeschüttelt. Die Aetherauszüge werden in einem Erlenmeyer'schen Kolben vereinigt und darin auf dem Wasserbade vorsichtig abgedunstet.

Behufs weiterer Trennung der Milchsäure von der in den ätherischen Auszug mit übergegangenen Weinsäure, Aepfelsäure und Bernsteinsäure wird der Aetherrückstand mit Wasser aufgenommen, ein gleiches Volumen Alkohol zugefügt, dann auf dem Wasserbade mit frisch gefälltem Bleikarbonat längere Zeit digerirt.

Unter diesen Umständen geht die Milchsäure, wenn sie allein vorhanden ist, allerdings vollständig in wasser- und alkohollösliches Bleilaktat über. Es muss aber zunächst erwähnt werden, dass etwa vorhandenes Anhydrid dabei als solches unzersetzt erhalten bleibt.

Sind ferner neben Milchsäure noch andere Säuren, Weinsäure, Aepfelsäure u. s. w. vorhanden, so setzen sich diese Säuren nur theilweise in ihre Bleisalze um, so dass im Filtrate von der Bleifällung und dem überschüssigen Bleikarbonat eine bedeutend grössere Menge Säure gefunden wird, als Milchsäure ursprünglich vorhanden war. Eine quantitative Trennung erfolgt auch nach öfters wiederholter Behandlung mit Bleikarbonat nicht. Der daraus sich ergebende Fehler wird durch die im weiteren Verfahren, nach der Entfernung des Bleies durch Schwefelwasserstoff, folgende Ueberführung der Säuren in die Natriumsalze und Behandeln der letzteren mit absolutem Alkohol wohl gemildert, vollständig gehoben wird er aber dadurch nicht.

Ausserdem ist das Verfahren jedenfalls sehr umständlich, da die Ueberführung der Säuren in ihre Natronsalze nochmals ein dreimaliges Ausschütteln mit Aether erfordert und nach Abdunstung des Aethers wiederum mit Bleikarbonat behandelt werden muss.

Werden zu den Kontrollbestimmungen nach diesem Verfahren anhydridhaltige Milchsäurelösungen verwendet, so geht bei der Destillation der flüchtigen Säuren im Wasserdampfstrom ein Theil des Anhydrids in Milchsäure über. Es wird dann im Destillationsrückstande mehr Milchsäure gefunden, als ursprünglich bei Nichtbeachtung des Anhydridgehaltes berechnet war.

E. Mach und K. Portele führten die Kontrollbestimmungen im Weine selbst aus. Zu 500 ccm eines 1888-er Weissweines wurden 1,254 g Milchsäure zugefügt. Bei Einhaltung ihres Verfahrens wurden 1,053 g, bei einem zweiten Versuch 1,164 g Milchsäure gefunden.

Ein anderes Mal wurden zu 500 ccm 1888-er Weisswein $0,9312 \text{ g} = 1,8624\text{‰}$ Milchsäure zugesetzt. Gefunden wurde $1,889\text{‰}$ und $1,740\text{‰}$. Diese Ergebnisse erscheinen sehr befriedigend. Es ist aber nicht angegeben, ob die zugesetzte Milchsäure anhydridfrei war und ob der verwendete 1888-er Weisswein vorher auf die Abwesenheit von Milchsäure geprüft wurde.

IV. Ergebnisse der Milchsäurebestimmung in Weinen.

Die Milchsäurebestimmungen nach dem neuen Verfahren wurden an Weinen

No.	Bezeichnung der Weine	Gesamtt- säure be- rechnet als Wein- säure	Wein- stein	Wein- säure	Flüchtige Säuren berechnet als Essig- säure	Bern- stein- säure	Milch- säure	Zur Neu- tralisation von 100 cem Wein ver- brauchte cem 1/2 N.- Lauge	Den er- mittelten Säuren, einschl. Weinstein- äquiva- lent ent- sprechen cem 1/2 N.-Lauge	Unbe- stimmt geblie- bene Säuren als cem 1/2 N.- Lauge	
											Gramm in 100 cem Wein
1	Istrianer Rothwein (Landwein 1899)	0,83	0,37	0,06	0,090	0,0932	0,3338	22,1	19,12	+ 2,98	
2	Burgunder-Wein 1893 (Tyroler)	0,60	0,2406	0,03	0,084	0,0908	0,2251	16,0	13,84	+ 2,16	
3	Traminer 1893 (Tyroler)	0,57	0,3308	0	0,075	0,0811	0,1773	15,2	12,71	+ 2,49	
4	Rothwein-Verdot (Tyroler)	0,525	0,2557	0	0,0735	0,0954	0,3158	14,0	15,42	— 1,42	
5	Vernatsch 1893 (Tyroler)	0,60	0,2068	0,015	0,093	0,0778	0,2114	16,0	12,90	+ 3,10	
6	Blauer Burgunder 1899 (Tyroler)	0,48	0,2068	0	0,072	0,0828	0,2677	12,8	13,34	— 0,54	
7	Teroldigo 1894 (Tyroler)	0,63	0,2875	0	0,108	0,1253	0,2931	16,8	17,4	— 0,60	
8	Maria-Engersdorfer Weisswein 1885 (Oesterreicher)	0,757	0,2594	0,057	0,078	0,0958	0,3372	20,2	16,86	+ 3,34	
9	Weine aus d. Wiener Rathhaukeller	Weisser Schankwein	0,675	0,3083	0,069	0,072	0,0826	0,2841	18,0	15,71	+ 2,29
10		Alberndorfer Weisswein	0,712	0,2218	0,057	0,084	0,0855	0,4004	19,0	17,88	+ 1,12
11		Retzer Züngeln Weisswein 1889	0,7575	0,2481	0,081	0,090	0,0935	0,3287	20,2	17,22	+ 2,98
12		Zöbinger- Heiligensteiner Riesling 1895 Weisswein	0,75	0,2180	0	0,0924	0,0879	0,3447	20,0	16,06	+ 3,94
13		Mailberger- Anglisberger 1893	0,6825	0,3384	0	0,091	0,0781	0,3524	18,2	17,08	+ 1,12
14	Landwein aus Mistelbach	0,84	0,176	0,021	0,074	0,0832	0,6444	22,48	21,74	+ 0,74	
15	Landwein aus Mistelbach	0,87	0,319	0	0,0408	0,059	0,7340	23,2	23,07	+ 0,13	
16	Mailberger 1889 Oesterreicher	0,54	0,263	0	0,072	0,0678	0,3210	14,4	13,43	+ 0,97	
17	Weisskirchner 1900 Ungar-Wein	0,528	0,127	0	0,0804	0,0972	0,3136	14,1	13,83	+ 0,27	
18	Siebenbürger 1900	0,607	0,188	0	0,0384	0,0649	0,3221	16,2	12,64	+ 3,56	
19	Modern 1900 Ungar-Wein	0,675	0,304	0	0,0732	0,1003	0,3766	18,0	17,45	+ 0,55	
20	Badacsony 1900 Ungar-Wein	0,48	0,195	0	0,0564	0,0885	0,3297	12,8	14,28	— 1,48	
21	Plattensee- Riesling 1900	0,66	0,2406	0,045	0,0516	0,1047	0,1185	17,6	10,99	+ 6,61	
22	Oesterreicher 1900	0,84	0,282	0,105	0,026	0,0886	0,1684	22,4	11,85	+ 10,55	
23	Malaga	—	—	—	—	—	0,4360	—	—	—	

ausgeführt, welche mit Ausnahme von No. 14 und 15 aus wohlverbürgter Quelle stammten, zum Theile sehr edlen Jahrgängen angehörten und zuverlässig eine sachgemässe Kellerbehandlung erfahren hatten.

Um ein Bild von dem gesammten Säuregehalte der untersuchten Weine in quantitativer Beziehung zu geben, wurden ausser Milchsäure noch Weinstein, freie Weinsäure, flüchtige Säuren und Bernsteinsäure bestimmt.

Die Ermittlung der Bernsteinsäure erfolgte dabei nach einem neuen Verfahren, das in nächster Zeit veröffentlicht werden wird.

Endlich wurde die Anzahl ccm $\frac{1}{2}$ N.-Lauge ermittelt, welche zur Neutralisation von 100 ccm Wein erforderlich waren.

Für Weinstein und die anderen einzeln bestimmten Säuren wurde die zur Sättigung erforderliche Menge $\frac{1}{2}$ N.-Lauge berechnet. Diese Aequivalente wurden zusammengezählt. Die Differenz zwischen ihrer Summe und der Gesamtmenge der zur Neutralisation von 100 ccm Wein verbrauchten ccm $\frac{1}{2}$ N.-Lauge wurde in der letzten Kolonne der vorstehenden Tabelle (S. 682) als Maass für den unbestimmt gebliebenen Säurerest eingestellt.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, dass in allen untersuchten Weinen Milchsäure enthalten war. Welche Höhe der Milchsäuregehalt erreichen kann, zeigen die Weine No. 14 und No. 15.

Bei den Weinen No. 4, 6, 7 und 20 überschreitet die Summe der auf die äquivalente Menge $\frac{1}{2}$ N.-Lauge umgerechneten, einzelnen Säuren die Anzahl ccm Lauge, welche bei der direkten Titration der Weine verbraucht worden sind. Die Erklärung dafür kann nur darin gefunden werden, dass der Säuregehalt dieser Weine zum Theil mit kohlensaurem Kalk abgestumpft worden ist und ein Theil der Säure daher in der Form von Neutralsalzen darin enthalten war. Wie schon erwähnt, setzt sich dabei der Weinstein mit dem Kalk um, während das Kalium von der Milchsäure gebunden wird.

In allen anderen Fällen ergibt sich ein kleiner Säurerest für unbestimmt gebliebene Säuren. In diesen Rest theilen sich Aepfelsäure, Gerbsäure, saure Phosphate etc. Er ist in den meisten Fällen sehr gering.

Bei den von mir untersuchten Weinen steht daher in fast allen Fällen der Gehalt an Aepfelsäure dem an Milchsäure erheblich nach.

Weitere Untersuchungen, die bereits begonnen sind, werden lehren, in wie weit sich diese Verhältnisse verallgemeinern lassen.

Referate.

Allgemeine analytische Methoden und Apparate.

Alph. v. Engelen: Zur Bestimmung des organischen Stickstoffs nach Kjeldahl und Will-Varrentrapp. — Bull. Assoc. Belg. Chim. 1900, 14, 397.

Nach einer kurzen geschichtlichen Einleitung, in welcher von allen denen, die