

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 35 (1944)
Heft: 5

Artikel: Über die organischen Säuren in der Kakaobohne
Autor: Mosimann, Gustav
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983554>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 05.05.2025

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

MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER

LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN

Offizielles Organ der Schweiz. Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE À BERNE

Organe officiel de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 10.— per Jahrgang. Preis einzelner Hefte Fr. 1.80
Suisse fr. 10.— par année. Prix des fascicules fr. 1.80

BAND XXXV

1944

HEFT 5

ÜBER DIE ORGANISCHEN SÄUREN IN DER KAKAOBOHNE*)

Von *Gustav Mosimann*

(Aus dem Laboratorium der AG. Chocolat Tobler, Bern)

Freie oder metallisch gebundene organische Säuren sind, als Stoffwechselprodukte der lebenden Zelle, im ganzen Pflanzenreich verbreitet. Der Zweck ihres Daseins variiert mit der Eigenart der Pflanze, mit ihrer entwicklungsgeschichtlichen Stellung innerhalb der lebenden Materie. Vor allem scheint ihre Bedeutung zur Regelung der Wasserstoffionenkonzentration im Zellsaft, ihr Einfluss auf die Zellosmose sowie die der Entgiftung dienende Exkretbildung grössere Beachtung zu verdienen.

Über die organischen Säuren der Kakaorohbohne des Handels liegen nur äusserst spärliche Angaben aus der einschlägigen Literatur vor, die zudem teilweise, namentlich was die Art der Säuren betrifft, auf Vermutungen beruhen.

*) Diese Arbeit, welche hier auszugsweise veröffentlicht wird, wurde in den Jahren 1938—1941 in unserem Werklaboratorium als Promotionsarbeit unter der Leitung von Herrn Prof. *Waser*, Kantonschemiker (Zürich), ausgeführt. Nach dem Tode von Herrn Prof. *Waser* (1. Juni 1941) verpflichtete sich Herr Prof. *R. Eder* (ETH, Zürich) an Stelle von Prof. *Waser* das Korreferat zu übernehmen. Zuzufolge kriegswirtschaftlicher Arbeitsüberhäufung war es ihm jedoch nicht möglich, die Arbeit vollständig zu durchgehen, und schliesslich schied auch er unerwartet aus dem Leben (Mai 1944).

So z. B. die Weinsäurebefunde *Boussingaults*¹⁾ mit 3,4—3,7 % und diejenigen von *Weigmann*²⁾ mit 4,3—5,8 %, die ohne Nachprüfung schon seit Jahrzehnten von einem Buche ins andere hinübergenommen werden. Mit Recht schreibt daher *H. Fincke*³⁾, dass eine Nachprüfung des Gehaltes an nichtflüchtigen Säuren im Kakao dringend erwünscht sei. Als bisher nachgewiesene Säuren gibt er Äpfelsäure, Weinsäure und Oxalsäure an, wovon aber nur die Oxalsäure als qualitativ eindeutig festgestellt betrachtet werden kann. Auch nach *Knapp*⁴⁾ liegen über den Gehalt an nichtflüchtigen Säuren in den Kotyledonen recht unzulängliche Literaturhinweise vor. Als einwandfrei festgestellt gibt er nur die Oxalsäure an⁵⁾ und zwar in einer Menge von 0,30 % (Akkra). Er machte die Beobachtung, dass frischer Kakaosamen von der Goldküste (Akkra) neutral reagiert, dass sein pH sich erst im Verlaufe der Fermentation nach der sauren Seite hin verschiebt.

Auch hinsichtlich der Angaben über die Säuren der Pulpa (Fruchtmus, in das die Bohnen eingebettet sind) herrschen ganz undeutliche Verhältnisse. *Hardy*⁶⁾ hat darin nur Citronensäure nachgewiesen. *Harrison*⁷⁾, *Bainbridge* und *Davies*⁸⁾ und andere hätten dagegen nur Weinsäure, *Fickenday*⁹⁾ hauptsächlich Äpfelsäure festgestellt.

Weitere Anhaltspunkte über die Säuren der Keimblätter von *Theobroma Cacao* (Kakaobohnen) finden sich auch in diesem ausführlichen Buche nicht, woraus hervorgeht, dass auch in der anglo-amerikanischen Literatur bis zu diesem Zeitpunkte keine eingehendere Arbeit über dieses Gebiet vorgelegen hat. Auch seither ist mir keine Publikation hierüber zu Gesicht gekommen.

Eine Untersuchung anhand der einschlägigen Literatur über den Einfluss der Kakaofermentation auf den Säuregehalt der Handelsware ergab, dass die im Kakaokern nachgewiesenen Säuren in ihrer Hauptmenge entweder Stoffwechselprodukte des lebenden Embryos sein müssen, oder sie verdanken ihre Entstehung intracellulären enzymatischen Umsetzungen nach dem Abtöten des Zellplasmas. Die Tatsache, dass die kaum vergorenen südamerikanischen Edelsorten höhere Säurewerte aufweisen als die gut fermentierten westafrikanischen und südamerikanischen Forasterosorten, scheint eher für den Ursprung aus der lebenden Zelle zu sprechen. Durch das Eindringen des Gärstoffes in die tote Bohne errechnet sich darin ein Höchstzuwachs von 0,2 % Säure, als Citronensäure. Diese Frage wurde deshalb zu beantworten versucht, weil es während des Krieges trotz mehrfacher Anfragen unmöglich war, von den verschiedenen Kakaoinstitutionen (Bahia, Java) unvergorenen Kakao zu erhalten.

VORVERSUCHE

Für die vorliegende Arbeit hiess es, aus der Fülle der Methoden zur Bestimmung organischer Säuren in pflanzlichen Organen¹⁰⁾ diejenige herauszugreifen, die in kürzester Frist den grössten Erfolg versprach. Dabei fiel die Wahl auf das Fällungsverfahren von *G. Jörgensen*¹¹⁾, weil es für den ebenfalls gerbstoffhaltigen Wein ausgearbeitet war und trotz verhältnismässig einfacher Handhabung rund 90 % der Säuren zu erfassen versprach. Zugleich gestattet diese

Methode, was besonders wichtig ist, die einzelnen Säuren zu isolieren und sie so einer qualitativen Untersuchung zugänglich zu machen. Kannte man einmal die Arten der im Kakao vorliegenden Säuren und deren ungefähre Menge, schien es leicht zu sein, genauere Bestimmungsverfahren für die einzelnen Säuren auszuarbeiten. Doch wie schon die zahlreichen Arbeiten zur Bestimmung der Oxalsäure in den Kakaosamen und die sich oft widersprechenden Befunde dartun, sind ziemlich grosse technische Schwierigkeiten zu überwinden, die ihre Ursache zur Hauptsache im mengenmässigen Missverhältnis der freien und gebundenen Säuren zu den ebenfalls mit Säurecharakter ausgestatteten Gerbstoffen haben.

Über Oxalsäure haben nach *Fincke*¹²⁾ *Essbach*, *Girard*, *Albahary* und *Arbenz* gearbeitet. Deren Ergebnisse wurden jedoch durch die Arbeit von *Grossfeld* und *Lindemann*¹³⁾ stark in Frage gestellt, da gefunden wurde, dass etwas Oxalsäure durch Hydrolyse aus Kakaobestandteilen, durch die Vorbehandlung der Auszüge mit Mineralsäure, entstanden sein könnte. Es war deshalb auch hier erforderlich, neue Wege zu suchen, um diesem Probleme etwas näher zu rücken.

In bezug auf die Bestimmung der flüchtigen Säuren schienen die Verhältnisse bedeutend einfacher zu liegen. Man konnte sich an Vorschriften halten, die bereits Eingang in die Praxis der Kakaountersuchung gefunden haben. Immerhin zeigten sich auch da auf die Gerbstoffe zurückzuführende Schwierigkeiten, die dann schliesslich zu einer etwas abweichenden Beurteilung der sauren Destillate des Kakaos führten.

Als Untersuchungsmaterial für die Vorproben diente eine Mischung von Akkra- und Bahiakakao (geröstet, entschält und fein gemahlen), im Verhältnis von 1:1. Es wurde stets ein salzsaurer Auszug in der Weise hergestellt, dass 25 g dieses Kakaos in einem Messkolben von 250 ccm mit 200 ccm n/2 HCl von 60 Grad C übergossen, dann abgekühlt und mit derselben Säure auf 250 ccm ergänzt wurde. Die Wahl dieser niederen Temperatur erfolgte namentlich aus drei Gründen. Erstens sollte eine Verkleisterung der Stärke mit all ihren unangenehmen Folgen vermieden werden, und zweitens musste diese Temperatur genügen, um die metallisch gebundene Säure in Freiheit zu setzen. Drittens sollte dadurch die Gefahr der Bildung von Oxalsäure durch Hydrolyse aus Kakaobestandteilen auf ein Minimum beschränkt werden.

Es zeigte sich, dass mit dem Verfahren von *Jørgensen*¹⁴⁾, mit seinen etwas unscharfen Fällungsbedingungen für die Bariumsalze der Äpfel- und Citronensäure, kein befriedigendes Ergebnis zu erzielen war. Die Resultate fielen, trotz Testversuchen unter Zusatz chemisch reiner Säuren, sehr ungleich aus. Doch war schon hier festzustellen, dass Weinsäure in der untersuchten Mischung entweder gar nicht, oder dann nur in verschwindend kleinen Mengen vorkommen könne.

Die Entfernung der Gerbstoffe bereitete grosse Schwierigkeiten. Immer wieder entstanden aus klaren Lösungen beim Eindampfen erneut braune Kondensationsprodukte, die der Isolierung der Säuren hindernd im Wege standen. Neben Cinchoninsulfat kam aktive Kohle «Merck» (*Carbo activatus siccus pro analysi* No 2186) sowie das Klärverfahren nach *Carrez*¹⁵⁾ zur Anwendung. Alu-

miniumoxyd nach *Brockmann*¹⁶⁾ kam deshalb nicht in Frage, weil chemische Bindung organischer Säuren die Resultate beeinflussen müsste.

Während Versuche mit Cinchoninsulfatlösungen zufolge der damit verursachten grossen Verdünnungen der Untersuchungsflüssigkeit nicht gerade ermutigend waren, blieb auch die Wirksamkeit der Kohle ziemlich hinter den Erwartungen zurück. Dem Ziele am nächsten gelangte man in diesen Vorversuchen durch Anwendung des Klärmittels nach *Carrez*, das in Verbindung mit der gleichzeitig aufgenommenen Perforation mit Aethyläther wenigstens zu einem provisorischen Überblick über den Gesamtsäuregehalt des Sortengemisches Akkra-Bahia führte. Um den Umfang dieser Arbeit zu beschneiden, wird von einer ausführlichen Beschreibung sämtlicher Vorversuche Abstand genommen. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass weder Ameisensäure noch Bernsteinsäure und Weinsäure in dieser Mischung nachgewiesen werden konnten. Der Milchsäurenachweis fiel zwar schwach positiv aus, doch konnte es sich nur um Spuren handeln, die möglicherweise aus dem Gärsaft infiltriert waren. Der Äpfelsäurenachweis war vorerst ebenfalls positiv, doch zeigte sich, dass dieser Befund auf die bereits erwähnte unscharfe Trennung von Äpfelsäure und Citronensäure zurückzuführen war. Citronensäure wurde dagegen einwandfrei über Pentabromaceton festgestellt, und zwar in Mengen von 0,3 %.

A. Über die Brauchbarkeit von Klärmitteln zur Entfernung der Gerbstoffe in bezug auf deren Verhalten bezüglich Säureadsorption

a) Kohle (Carbo activatus Merck)

Im Verlaufe dieser orientierenden Vorversuche drängte sich die Notwendigkeit einer genaueren Kenntnis des Adsorptionsvermögens der aktiven Kohle sowie des Klärmittels nach *Carrez* für organische Säuren auf. Die Ansichten, ob Kohle für den erwähnten Zweck verwendbar sei oder nicht, gehen noch heute auseinander. Für diese Studie war es aber unbedingt erforderlich, hierüber eindeutig Bescheid zu wissen, namentlich in bezug auf Säurelösungen geringer Konzentration, wie sie bei Kakaoauszügen auf Grund der Vorversuche vorzuliegen schienen.

Zu diesem Zwecke wurden 250 ccm Säurelösung, enthaltend ca. 25 mg Säure, mit 0,5 g Kohle versetzt, während einer Stunde unter gutem Durchmischen auf dem kochenden Wasserbade erhitzt, durch ein Faltenfilter (*Schleicher und Schüll*, 15 cm Durchmesser) filtriert, dann mit je 70 ccm heissen Wassers verschiedene Male ausgewaschen und im Filtrat nach jedem Waschen die Säure gegen Phenolphthalein mit n/10 NaOH titriert. Dabei zeigte sich, dass die mehrbasischen Säuren von der Kohle stark zurückgehalten werden. Die Adsorption betrug in Prozenten der eingewogenen Säuren nach 2 Waschungen für Citronensäure 50 %, für Oxalsäure 38 %, für Äpfelsäure und Bernsteinsäure 28 % und für Weinsäure 19 %. Bei Weinsäure, die am schwächsten zurückgehalten wurde, verblieben nach 5 Waschungen immer noch 8,4 % an der Kohle haften.

Ganz anders verhalten sich die einbasischen Säuren. Die Adsorptionszahlen nach zwei Waschungen betrugen für Milchsäure nur 8,3 ‰, für Essigsäure 5,1 ‰ und für Ameisensäure 6,6 ‰. Nach fünfmaligem Auswaschen konnte bei diesen drei Säuren die gesamte vorgelegte Menge im Filtrat zurücktitriert werden.

Nun wurde zu ermitteln versucht, ob das Auswaschen neutralisierter Säurelösungen rascher zum Ziele führe. In erster Linie dachte man dabei an die Neutralisation mit Ammoniaklösung, da hierdurch die Bestimmungen der auswaschbaren Menge der verschiedenen Säuren alle einheitlich mittels einer Ammoniakdestillation vorgenommen werden konnten. Vorerst war aber noch die Frage abzuklären, ob nicht bei der hydrolytischen Spaltung der Ammonsalze die eine oder andere Komponente durch Adsorption an den Grenzflächen der Kohle vorzeitig in Verlust gerate. Bedingung ist, dass sowohl Kation wie Anion in gleichem Masse von der Kohle zurückgehalten werden, sonst erhält man über die Ammoniakdestillation falsche Werte.

Um diese Frage abzuklären, wurde eine Säurelösung erhitzt, mit Ammoniak gegen Methylrot genau neutralisiert, hierauf mit 0,5 g Kohle auf 250 ccm Lösung versetzt, geschüttelt und filtriert. Beim Versuche mit Weinsäure wurde das Filtrat auf erneuten Zusatz von Methylrot (der Indikator wird vollständig adsorbiert) wieder gelb, während das Citronensäurefiltrat rötlich war. In beiden Fällen genügte jedoch 1 Tropfen n/2 Säure bzw. Lauge, um den Umschlag hervorzurufen. Dieser Fehler ist somit tragbar für den Zweck dieses Versuches.

Vorerst wurde ein Versuch mit Citronensäure durchgeführt, weil diese Säure sehr stark adsorbiert wird. 23 mg Citronensäure (wasserfrei) in 250 ccm Lösung wurden mit verdünnter Ammoniaklösung gegen Methylrot genau neutralisiert. Hierauf wurde mit 0,5 g Kohle geschüttelt und 3 Stunden unter zeitweiligem Umschütteln bei Zimmertemperatur gehalten. (Die Adsorption der Säuren an Kohle ist bei Zimmertemperatur höher als in der Hitze.) Die Filtration erfolgte ebenfalls bei Zimmertemperatur, worauf mit je 70 ccm heissen Wassers zweimal ausgewaschen wurde. Das Filtrat samt Waschwässer wurden nun der Ammoniakdestillation unterworfen und aus dem Schwefelsäureverbrauch die äquivalente Menge Säure berechnet.

n/10 Schwefelsäureverbrauch	3,83 ccm
Entsprechende Menge Citronensäure	24,5 mg
Derselbe Versuch mit Oxalsäure: (23,9 mg Säure pro 250 ccm Lösung)	
n/10 Schwefelsäureverbrauch	5,5 ccm
Entsprechende Menge Oxalsäure	24,7 mg
Doppelbestimmung	24,7 mg
Derselbe Versuch mit Oxalsäure unter Verwendung von 1 g Kohle: (23,9 mg Säure pro 240 ccm Lösung)	
n/10 Schwefelsäureverbrauch	5,13 ccm
Entsprechende Menge Oxalsäure	23,1 mg

Dreimaliges Auswaschen dürfte auch im letzten Falle genügen, um das Salz vollständig auszuwaschen.

Derselbe Versuch mit einem Säuregemisch von je 100 mg Oxalsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Weinsäure und Citronensäure unter Verwendung von 0,5 g Kohle:

Die ausgewaschene Kohle samt Filter wurde in diesem Falle mit 250 ccm Wasser der Ammoniakdestillation unterworfen. n/10 Schwefelsäureverbrauch: 0,40 ccm. Die eingewogene Menge des Säuregemisches darf somit als nahezu vollständig ausgewaschen betrachtet werden.

Eine mit KOH neutralisierte Citronensäurelösung, entsprechend 15 ccm n-Kaliumcitrat oder 1,05 g kristallisierte Citronensäure, wurde mit Wasser auf 250 ccm verdünnt, mit 1 g Kohle eine Stunde erhitzt, heiss filtriert und zweimal mit je 70 ccm heissen Wassers gewaschen. Vom gesamten Volumen des Filtrates, das 380 ccm betrug, wurden 20 ccm in einer Platinschale auf dem Wasserbad eingedampft und bei ca. 105 Grad C getrocknet.

Die zu erwartende Menge wasserfreies Citrat sollte, wenn die Auswaschung vollständig war, 80,5 mg betragen. Gewogen wurden 95,0 mg. Davon sind als Blindwert 5 mg Extrakt aus der Kohle in Abzug zu bringen. Kaliumcitrat-ausbeute: 90,0 mg. Die Differenz von 9,5 mg muss wohl dem Kristallwasser zugeschrieben werden, das bei der gewählten Trocknungstemperatur nicht entfernt wurde. (Da das Molekulargewicht des wasserfreien Citrates 306,3 beträgt, so berechnet sich dasjenige des hier vorliegenden wasserhaltigen Citrates, unter Voraussetzung des vollständigen Auswaschens, aus der Proportion $80,5 : 90 = 306,3 : x$ und ist 342,4. Der Kristallwassergehalt betrüge somit $2 \text{ H}_2\text{O}$.)

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es sehr wohl möglich erscheint, die in Frage kommenden Säuren quantitativ auszuwaschen, wenn diese als Ammonium- oder Alkalisalze vorliegen.

b) Klärmittel nach Carrez ¹⁷⁾

Die Carrez'schen Klärlösungen bestehen aus Ferrocyanalilösung (150 g/Liter) und Zinksulfatlösung (250 g/Liter). Die zu klärende Lösung wird mit ca. $\frac{1}{50}$ ihres Volumens an Ferrocyanalilösung versetzt und gut durchgemischt. Hierauf wird eine gleiche Menge Zinksulfatlösung zugegeben, auf ein bestimmtes Volumen ergänzt, nochmals innig vermengt und dann unverzüglich filtriert. Dabei entsteht ein flockiger Niederschlag von $\text{K}_2\text{Zn}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$, der eine beträchtliche Adsorptionswirkung auf kolloide Substanzen ausübt.

Es ist selbstverständlich, dass sich dieses Klärmittel im organischsauren und neutralen Milieu schon zum vornherein für diejenigen Säuren verbietet, deren Zinksalze darin schlecht oder gar nicht löslich sind. Dies trifft von den in Frage kommenden Säuren nur für Oxalsäure zu. Ein Klärversuch mit dieser Säure

zeigte, dass im Filtrat nur rund 65 % der eingewogenen Säure wiedergefunden werden konnte.

Da von allen zur Prüfung herbeigezogenen Säuren die Citronensäure am stärksten von Kohle zurückgehalten wurde, schien es zweckmässig, den Adsorptionsversuch vorerst einmal mit dieser Säure vorzunehmen.

Es wurden 250 mg Citronensäure in 240 ccm Wasser gelöst, mit je 5 ccm der beiden Klärlösungen versetzt und in 50 ccm des klaren Filtrates die Citronensäure nach *Reichard*¹⁸⁾ bestimmt. Es sollten theoretisch darin 40 mg wasserhaltige Citronensäure gefunden werden. Die Analyse ergab 38,6 und 39 mg. Da diese Abweichungen innerhalb der Fehlergrenze der Methode liegen, kann von einer Adsorption kaum die Rede sein.

Als einbasische Säuren wurden nur Essigsäure und Ameisensäure zum Versuch herbeigezogen, wobei die Essigsäure im Filtrat mittels Wasserdampfdestillation, die Ameisensäure über *Calomel* bestimmt wurden. In beiden Fällen wurden die vorgelegten Mengen Säure verlustlos zurückgewonnen.

Das Klärmittel nach *Carrez* kann somit im organisch-sauren oder neutralen Milieu unbedenklich zur Bestimmung der im Kakao vorliegenden Säuren herangezogen werden, vorausgesetzt, dass die Oxalsäure gesondert ermittelt wird.

B. Über die Löslichkeit der Bariumsalze verschiedener, in Frage kommender organischer Säuren in wässrigem und alkoholischem Milieu

Die Erfahrungen, die während der ersten Versuche nach dem Verfahren *Jörgensens*¹⁹⁾ bezüglich Löslichkeit der Bariumsalze einiger organischer Säuren in alkoholischer Lösung gemacht wurden, liessen es als zweckmässig erscheinen, sich auch hierüber etwas genauere Daten zu verschaffen. Nach den Angaben der Literatur werden die organischen Säuren teils mit Bariumchlorid, teils mit Bariumhydroxyd und seltener auch mit Bariumacetat gefällt.

Um nicht allzu grosse Alkoholmengen umsetzen zu müssen, wurden Fällung und quantitative Bestimmung fast immer in 10 ccm Lösungsmittel ausgeführt und das Ergebnis mit 10 multipliziert. Nur dort, wo es sich um kleinste Mengen handelte, die schwer bestimmbar waren, wurde der Versuch auf 100 ccm ausgedehnt. Ferner wurde angenommen, dass eine Bariumfällung organischer Säuren aus Kakao mindestens innerhalb 24 Stunden zur Verarbeitung gelange, obwohl beobachtet wurde, dass bei längerem Stehen noch deutlich messbare Mengen der Salze ausfielen. Für Citrat in kaltem Wasser z. B. war der Abfall sogar sehr stark. Es blieben noch in Lösung :

nach 24 Stunden	630 mg Citrat
nach 42 Stunden	312 mg Citrat
nach 88 Stunden	264 mg Citrat

Zur Herstellung der verschiedenen Bariumsalze gelangten sowohl Bariumchlorid als auch Bariumhydroxyd zur Anwendung. In beiden Fällen wurden in

100 ccm Wasser soviel Säure gelöst, dass nach Zusatz der äquivalenten Menge Bariumchlorid oder -hydroxyd eine Übersättigung der Lösung mit dem in Frage kommenden Bariumsalz erreicht wurde. Eine Ausnahme bildet die Milchsäure, da deren Bariumsalz in Wasser fast in jedem Verhältnis löslich ist.

a) Fällung mit Bariumhydroxyd

Die Säure wurde in ungefähr 100 ccm Wasser gelöst, mit Bromthymolblau versetzt und zum Sieden erhitzt. Nun wurde gesättigte Bariumhydroxydlösung bis zum Umschlag zugesetzt und hierauf heiss filtriert. Vom heissen Filtrat wurden 10 ccm abgemessen und darin der gelöste Anteil mit Schwefelsäure als Bariumsulfat gefällt. Der Rest der Lösung wurde 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und vom ausgeschiedenen Salze abfiltriert. 10 ccm des Filtrates dienten wieder zur Ermittlung des gelösten Anteils. Für die Bestimmung der Löslichkeit in verschiedenen Alkoholkonzentrationen wurde folgendermassen vorgegangen: Für 26 %ige Lösung wurden z. B. 14,8 ccm der kalt gesättigten Lösung mit 5,2 ccm Alkohol (96 %ig) versetzt. Da es sich nur um grob orientierende Versuche handelt, die fast ausschliesslich zu dem Zwecke durchgeführt wurden, den Endpunkt der Löslichkeit der Bariumsalze zu ermitteln, wurde eine Korrektur der Volumverminderung sowie des Wassergehaltes des Alkohols nicht vorgenommen. Die übrigen Zahlen wurden hauptsächlich deshalb ermittelt, um der Lage der wichtigen Endpunkte (als Schnittpunkte einer möglichst gesetzmässig verlaufenden Kurve mit der Abszisse) grössere Sicherheit zu verleihen. Nach dem Vermischen mit Alkohol wurde 24 Stunden stehen gelassen, anschliessend filtriert und in 10 ccm des Filtrates das Barium bestimmt. Die Ergebnisse sind, umgerechnet auf 100 ccm, in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1
Löslichkeit der Bariumsalze, hergestellt mit Bariumhydroxyd,
in 100 ccm Lösungsmittel

Wässriger Alkohol in Vol. %	Tartrat mgr	Succinat mgr	Oxalat mgr	Citrat mgr	Malat mgr	Lactat mgr
0 (heiss)	115	308	4,8	512	3140	
0 (kalt)	115	265	4,2	406	3060	
15	90,5	189	0	111	1520	
26	66	167		52	420	
40	41,6	91,2		3	148	
50	29,4	58,6		0	88	
60	0	36,9			52	
80		0			12	
90					3	7330
95					0	3950

b) Fällung mit Bariumchlorid

Im Prinzip wurde gleich verfahren wie bei der Fällung über das Bariumhydroxyd. Die saure Lösung wurde mit Ammoniak neutralisiert (Bromthymolblau) und hierauf mit der äquivalenten Menge Bariumchlorid versetzt. Die Bariumsalze fielen, mit Ausnahme des Oxalates, erst nach einigem Sieden aus. Wie aus der Tabelle hervorgeht, macht sich der Einfluss des bei der Umsetzung sich bildenden Ammonchlorids durch Erhöhung der Löslichkeit der Bariumsalze bemerkbar:

Tabelle 2

Löslichkeit der Bariumsalze, hergestellt durch Versetzen der Ammonsalzlösungen mit äquivalenten Bariumchloridmengen, in 100 ccm Lösungsmittel

Wässriger Alkohol in Vol. %	Tartrat mgr	Succinat mgr	Oxalat mgr	Citrat mgr	Malat mgr	Lactat mgr
0 (heiss)	416	525	32,8	807	5110	
0 (kalt)	262	471	23,3	630	3880	
15	200	245	0	158		
26	127	91		76	582	
40	66	47		40	282	
50	49	36		0	132	
60	0	0			86	
80					23	nicht bestimmt
90					0	

HAUPTVERSUCHE

A. Direkte Bestimmung einzelner, nichtflüchtiger Säuren in Kakaoauszügen

Gestützt auf die Erfahrungen aus den Vorversuchen konnte man nun daran gehen, die einzelnen Säuren auf direktem Wege zu ermitteln, um so eine grössere Genauigkeit der Ergebnisse zu erzielen. Mit Hilfe einer gründlichen Äthylätherperforation zweckmässig vorbereiteter Kakaoauszüge sollte es dann gelingen, die Gesamtsäuremenge im Kakao zu bestimmen und dadurch das Vorhandensein weiterer Säuren nachzuweisen.

Zahlreiche Misserfolge mussten vorerst in Kauf genommen werden, ehe man zu einem Ergebnis gelangte, das aller Wahrscheinlichkeit nach als richtig angesehen werden durfte. Allgemein ist noch vorzuschicken, dass die höchsten Ausbeuten durch vorherige Bromierung der salzsauren Auszüge erhalten wurden und der Kürze halber nur diese Methoden und deren Ergebnisse mitgeteilt werden.

Weinsäure. Diese Säure dient schon seit einer Reihe von Jahrzehnten als Berechnungsgrundlage für die nichtflüchtigen Säuren des Kakaos. *H. Fincke*²⁰⁾ war unseres Wissens der erste, der die von *Weigmann*²¹⁾ gefundenen hohen Werte von 4,3—5,8 % Weinsäure in Frage stellte. Hinter die Art der Säure, die zur Berechnung herangezogen wurde, hatte *König*²²⁾ schon im Jahre 1903 ein Fragezeichen gesetzt. In der Tat erfasste *Weigmann* durch seinen wässrigen Auszug nur einen Bruchteil der vorhandenen Säuren, fällte dann aber darin mittels Chlorcalcium amorphes, gerbsaures Calcium, das, als Weinsäure berechnet, zu den erwähnten hohen Zahlen führte. Nach *Freudenberg*²³⁾ hat aber die Bestimmung und Untersuchung solcher Salze keinen Sinn, da diese nicht nach stöchiometrischen Verhältnissen zusammengesetzt sind. Auch sei deren Bildung keineswegs vom Vorhandensein von Carboxylgruppen abhängig. Wir haben solche Calcium-, Barium- und Bleifällungen ebenfalls ausgeführt und erhielten, unter Anwendung dieser Berechnungsweise, ganz ähnliche Zahlen. Will man die Anwesenheit von Weinsäure beweisen, ist es nicht zu umgehen, dies über das saure Kaliumtartrat zu tun.

Methode: 25 g feingeriebener Kakaokern (nicht entfettet) wurden in einen 500 ccm fassenden Kolben mit eingeschliffenem Stopfen gegeben und hierauf 247 ccm *) auf 75 Grad C erwärmte n/2 Salzsäure unter stetem Umschütteln allmählich über den Kakao gegossen. Nach dem Aufsetzen des Stopfens wurde nochmals gut geschüttelt und nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur filtriert. 125 ccm des salzsauren Auszuges wurden in einen 250 ccm fassenden Messkolben übergeführt, mit 80 ccm n/2 HCl versetzt und mit frisch bereiteter Bromsalzsäure auf die Marke aufgefüllt. (Zur Herstellung der Bromsalzsäure schüttelte man etwa 5 ccm Brom in 100 ccm HCl n/2 und liess das überschüssige Brom sich absetzen.) Nun wurde gut gemischt und nach 20 Minuten durch ein Faltenfilter (*Schleicher* und *Schüll* 24 cm) glanzhell filtriert. Je 100 ccm des Filtrates, entsprechend 5 g Kakao, wurden nun in ein Becherglas von 250 ccm gebracht und zur Weinsäurebestimmung nach der deutschen amtlichen Vorschrift²⁴⁾ verwendet. Das vom überschüssigen Brom braungelb gefärbte Filtrat wurde mit etwa 20 Tropfen 40 %iger Natriumthiosulfatlösung aufgehellt und mit 1 g genau abgewogener Weinsäure (Merck, zur Analyse) versetzt, um die Kristallisation geringer Mengen kakaoeigener Weinsäure zu fördern. Nun wurde mit 50 %iger KOH neutralisiert. Für die kakaoeigene Weinsäure gab man einen sicheren Überschuss von 1 ccm KOH hinzu, säuerte mit 3 ccm Eisessig an und brachte 13 g gepulvertes KCl in Lösung. Nach Zugabe von 22 ccm Alkohol (96 %) wurde durch starkes Reiben an der Wand des Becherglases die Abscheidung des Weinstein eingeleitet. Um sicher eine vollständige Fällung des sauren Kaliumtartrates zu ermöglichen, wurde die Lösung mindestens 24 Stunden bei einer Temperatur um 0 Grad C herum aufbewahrt.

*) Von 25 g Kakao gehen unter diesen Umständen rund 3 g in Lösung. 100 ccm Filtrat entsprechen somit 10 g Kakao.

Die Filtration der weinsteinhaltigen Lösung erfolgte stets durch einen grossporigen *Jenaer* Glasfiliertiegel, der zuvor mit Papierfilterstoff und einer Porzellansiebplatte beschickt worden war. Mit einer Asbesteinlage ging die Filtration zu langsam vor sich und war oft sogar undurchführbar. Zum Säubern der Wand des Becherglases mit ebenfalls auf 0 Grad C gekühltem, kaliumchloridhaltigem Waschwasser wurde eine Gummifahne verwendet. Titration mit $n/2$ -NaOH, Umschlagfarbstoff: Phenolphthalein.

In den verschiedenen, uns zur Verfügung stehenden Kakaosorten wurden nach der oben beschriebenen Methode, einschliesslich der zugewogenen Weinsäure, folgende Mengen gefunden:

	Gesamtweinsäure in mgr	
Akkra (Westafrika)	986	992
Bahia (Brasilien)	1000	990
Trinidad (Antillen)	996	996
Arriba I (Ecuador)	996	996
Arriba II	1000	1000
Java (Sundainsel)	1002	1000
Puerto Cabello (Venezuela)	1000	1000

Entgegen den Vermutungen verschiedener Autoren scheint also tatsächlich keine Weinsäure im Kakao vorzuliegen. Wäre solche vorhanden, so müsste sich diese durch eine Erhöhung der Einwaage bemerkbar machen.

Oxalsäure. Als Grundlage für diese Untersuchung diene die Arbeit von *Grossfeld* und *Lindemann*²⁵⁾ über die Entstehung von Oxalsäure durch Hydrolyse aus Kakaobestandteilen.

Eine Anzahl von Versuchen wurde vorerst durchgeführt, um die Fällung des Ca-oxalates aus alkoholischer Lösung zu studieren; denn die Löslichkeit der Gerbstoffe ist in saurer alkoholischer Lösung hervorragend, und schliesslich versprach das geringere spezifische Gewicht des Milieus eine raschere Sedimentierung des Oxalates und somit eine Verminderung der Zahl der Umfällungen. Der grösste Nachteil dieses Verfahrens liegt darin, dass Pektin und Schleimstoffe in beträchtlicher Menge mit ausfallen, die dann die Filtration sowie die Reinigung des Niederschlages bedeutend erschweren.

Aus diesen Gründen wurde zu der *Grossfeld*'schen Fällungsweise Zuflucht genommen. Es schien dabei angezeigt, einige wesentliche Modifikationen anzubringen, nämlich:

1. Schonende Herstellung des salzsauren Extraktes zur Vermeidung von Hydrolyse.
2. Eliminierung der Gerbstoffe mittels Bromsalzsäure.
3. Abhebern der über dem Ca-oxalatniederschlag stehenden Lösung.

Methode: 125 ccm des salzsauren Auszuges (vide Weinsäure Seite 250), entsprechend 12,5 g Kakao, wurden in einem 250 ccm-Messkolben mit 75 ccm $n/2$ HCl und hierauf mit 50 ccm frischbereiteter Bromsalzsäure (vide Weinsäure) versetzt. Nun wurde gut gemischt und nach 20 Minuten durch ein Faltenfilter filtriert (*Schleicher und Schüll* 588, 24 cm). Das Schleudern mittels einer Zentrifuge (3000 Touren) führte oft rascher zum Ziel.

Das Filtrat wurde mit etwa 50 ccm Benzol im Scheidetrichter ausgeschüttelt und je 100 ccm der vom Brom befreiten Lösung, entsprechend 5 g Kakaokern, zur Oxalsäurebestimmung verwendet.

Zu diesem Zwecke wurde die Säurelösung (100 ccm) auf mindestens 90 Grad C erhitzt und mit 30 ccm Fällungsreagens versetzt (Fällungsreagens: in 170 ccm Eisessig werden unter Köhlen 80 ccm Ammoniak (0,91) eingerührt und schliesslich 50 ccm 10%ige Calciumchloridlösung zugegeben). Nach dem Abkühlen auf 60 Grad C (durch Stehenlassen) wurde durch Reiben mit einem Glasstabe die Kristallisation eingeleitet oder unterstützt und dann über Nacht beiseite gestellt. Das Calciumoxalat setzt sich klar ab und haftet als zusammenhängender Belag am Boden fest. Reine Oxalsäure wurde nicht mehr zugesetzt, da in einleitenden Versuchen völlig übereinstimmende Werte erhalten wurden, ob mit oder ohne Zusatz von Oxalsäure gearbeitet wurde.

Die überstehende Flüssigkeit, die völlig klar und somit oxalatfrei war, wurde bis auf wenige ccm abgehebert. (Zu diesem Zwecke bediente man sich mit Vorteil eines zur Kapillare ausgezogenen und an der Spitze umgebogenen Glasröhrchens, das an die Wasserstrahlpumpe angeschlossen war.) Diese Massnahme empfahl sich deshalb, weil sich die Filtration gegen das Ende ungemein verzögerte, ja sogar oft undurchführbar war, wenn man die ganze Lösung durch den Tiegel (1G4) gab. Nach der Filtration wurde mit kaltem Wasser (ca. 20 ccm) kurz gewaschen.

Man löste nun das Oxalat in 100 ccm heisser $n/2$ HCl, unter Verwendung eines Filtertopfes²⁶⁾ und sog die Flüssigkeit in ein 200 ccm fassendes Becherglas ab. Nach dem Erwärmen auf 90 Grad C wurde wieder in beschriebener Weise gefällt und mindestens 3 Stunden stehen gelassen. Diesmal liess sich ohne Schwierigkeit die ganze Lösung durch den Tiegel saugen. Das Oxalat war nun rein weiss und mikroskopisch einheitlich.

Das Becherglas im Filtertopf wurde nun durch eines von 400 ccm ersetzt und hierauf der Niederschlag mit 200 ccm heisser 30%iger Salpetersäure herausgelöst. (Der Salpetersäure muss deshalb der Vorzug gegeben werden, weil das Ca-sulfat die Glasfiltertiegel leicht verstopft.) Vorversuche mit dieser Säure zeigten, dass sie die Ergebnisse in keiner Weise ungünstig beeinflusst. Nach dem Wiedererwärmen auf 80 Grad C konnte nun gleich mit $n/10$ KMnO_4 titriert werden. Die Anzahl ccm der verbrauchten Permanganatlösung mal 0,09 ergab, unter Berücksichtigung der Löslichkeitsverluste nach *Grossfeld* und *Lindemann*²⁷⁾, die untenstehenden Oxalsäurewerte in Prozenten, berechnet auf den nichtentfetteten Kakaokern.

Akkra	0,36 ‰	0,36 ‰
Bahia	0,34 ‰	
Trinidad	0,32 ‰	0,32 ‰
Arriba I	0,45 ‰	0,46 ‰
Arriba II	0,41 ‰	0,39 ‰
Puerto Cabello	0,42 ‰	0,43 ‰
Java	0,50 ‰	0,50 ‰

Über die Entstehung von Oxalsäure durch Hydrolyse

Grossfeld und Lindemann²⁸⁾ stellten durch umfangreiche Versuche fest, dass bei längerem Erhitzen eines salzsauren Kakaoauszuges Oxalsäure durch hydrolytische Spaltung eines noch unbekannten Mutterstoffes entsteht. Es war daher von grossem Interesse, für die von mir gewählten Arbeitsbedingungen bezüglich Temperatur, Säurekonzentration und Dauer der Einwirkung, die Möglichkeit einer solchen Vermehrung der kakaoeigenen Oxalsäure zu überprüfen.

Zu diesem Zwecke wurden von der Sorte Akkra 3 salzsaure Auszüge unter folgenden Bedingungen hergestellt:

- nach dem für Weinsäure beschriebenen Verfahren (Seite 250).
- derselbe Auszug wurde anstelle der Filtration noch 30 Min. in ein kochendes Wasserbad gebracht (Rückflussrohr) und nach dem Erkalten filtriert;
- wie unter b), nur wurde die Wasserbadbehandlung auf 1 Stunde ausgedehnt.

In je zwei unabhängigen Versuchen wurden so folgende Oxalsäuremengen gefunden (Methode Seite 252):

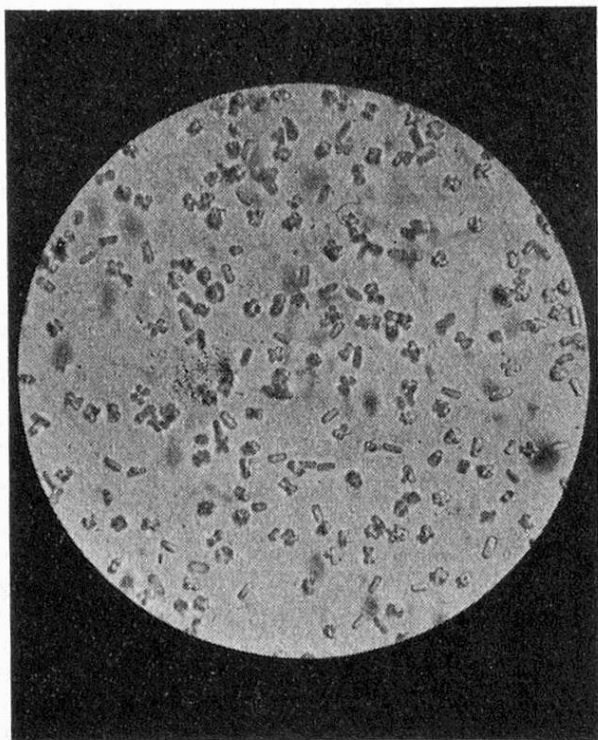
- | | | |
|--|--------|--|
| a) Normaler Auszug | | |
| 1. Brom mittels Benzol entfernt | 0,36 ‰ | 0,36 ‰ |
| 2. Brom mittels $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (40 ‰) ionisiert | 0,36 ‰ | 0,36 ‰ |
| b) Halbstündiges Erhitzen des Kakaos mit $n/2$ HCl. | | |
| Mit Thiosulfat aufgehellt | 0,36 ‰ | 0,36 ‰ |
| c) Einstündiges Erhitzen des Kakaos mit $n/2$ HCl. | | |
| Mit Thiosulfat aufgehellt | | flockige, scheinbar
amorphe Fällung |

Halbstündiges Erhitzen im siedenden Wasserbade hatte gegenüber Versuch a) keine Erhöhung des Oxalsäurewertes zur Folge. Dieser Wert gibt somit ebenfalls nur die präformierte Oxalsäure wieder.

Die flockige Fällung des Parallelversuches wurde mit $2n$ HCl $3/2$ Stunden ins kochende Wasserbad gebracht, nach Abkühlung und Neutralisation durch Ammoniak eine Oxalsäurebestimmung nach üblicher Methode vorgenommen. Oxalsäureausbeute 0,36 ‰.

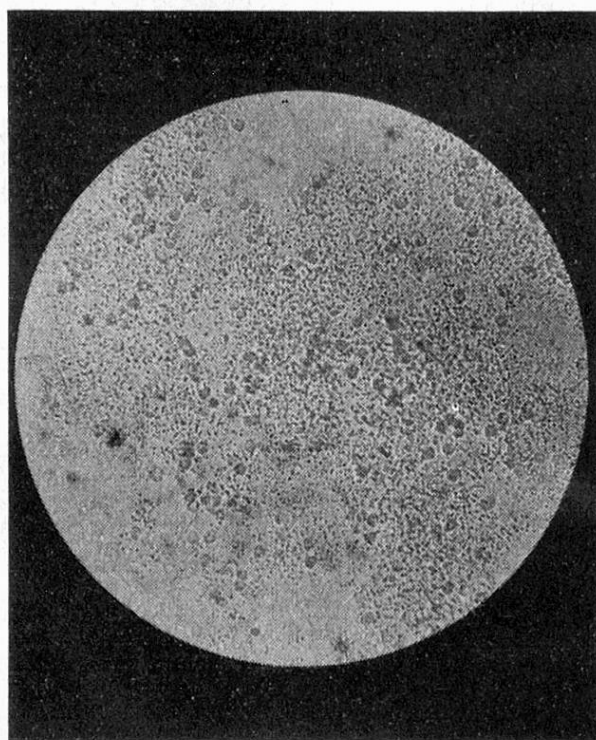
Die flockige Fällung ist nach der ersten Umfällung aus $n/2$ HCl ebenfalls rein weiss. Sie haftet jedoch, zufolge ihres geringeren spezifischen Gewichtes nicht am Boden fest wie das Oxalat der normalen Fällung.

Während die normale Fällung (a und b) ein mikroskopisch einheitliches Gefüge von Prismen und Durchkreuzungszwillingen, ohne erkennbare Verunreinigung, aufweist, scheint die flockige Fällung amorph zu sein. Man beobachtet eine feinkörnige, nicht weiter auflösbare Masse, in welcher grössere kugelige



ca. 500 fach

Normale Fällung a und b



ca. 500 fach

Flockige Fällung c

Gebilde, die mit Ausbuchtungen versehen sind, auffallen. Diese sind am ehesten mit gewissen Stärkearten vergleichbar. Im polarisierten Licht zeigen sie eigenümlicherweise sehr starke Doppelbrechung. Man hat in diesen Gebilden demnach, trotz des amorphen Aussehens, einen mikrokristallinen Feinbau anzunehmen.

Grossfeld und Lindemann²⁹⁾ stellten sich u.a. einen n/2 salzsauren Auszug her durch einstündiges Erhitzen eines nicht, genauer definierten Kakaos im Wasserbade und erhitzen dann die primäre schleimige Fällung in 12,5%iger HCl während je $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2 und 4 Stunden am Rückflusskühler. Dabei beobachteten sie ein Ansteigen der Oxalsäurewerte von 0,30 bis 0,43 %.

In einem weiteren Versuche erhitzen sie einen Frühstückskakao, «stark entölt» (15 % Fett), 4 Stunden mit 25%iger HCl im siedenden Wasserbad und erhielten eine Ausbeute von 0,88 % Oxalsäure. Im Gegensatz dazu wurde die durch einstündiges Erhitzen mit n/2 HCl erhaltene Primärfällung nachträglich 4 Stunden in 12,5%iger HCl gekocht. Ausbeute: 0,57 % Oxalsäure.

Da ich durch halbstündiges Erhitzen mit $n/2$ HCl im kochenden Wasserbade keine durch Hydrolyse erhöhte Oxalsäurewerte feststellen konnte, ging ich ebenfalls zur Verwendung stärkerer Säuren über. Ich erhitzte 25 g feingeriebenen Kakaokern der Sorte Java mit $n/2$, $2n$ und $6n$ HCl im siedenden Wasserbade und fand in diesen Auszügen nach dem auf Seite 252 beschriebenen Verfahren folgende Oxalsäuremengen im nichtentfetteten Kakaokern:

Versuchsnummern	Normalität der HCl	Wasserbadbehandlung Stunden	Oxalsäure %	Aussehen des Niederschlages
1	$n/2$	0	0,49 0,48	kristallin
2		1/4	0,48 0,48	kristallin
3		1/2	0,40 0,40	flockig
4		1	0,48 0,48	flockig
5	$2n$	0	0,43 0,42	kristallin
6		1	0,43 0,42	kristallin
7	$6n$	0	0,43 0,44	kristallin
8		1/2	0,46 0,47	kristallin

Hydrolyse der flockigen Fällung am Rückflusskühler:

Nr. 9 2 Stunden mit $2n$ HCl ergibt 0,41 % statt 0,48 %

Nr. 10 3/2 Stunden mit $4n$ HCl ergibt 0,41 % statt 0,48 %

Ein Versuch mit der Sorte Akkra ergab folgendes Resultat:

Versuchsnummern	Normalität der HCl	Wasserbadbehandlung Stunden	Oxalsäure %	Aussehen des Niederschlages
11	$n/2$	0	0,36 0,36	kristallin
12			0,36 0,36	kristallin
13		1	0,16 0,17	flockig
14			0,17 0,17	flockig
15	$4n$	1	0,35 0,35	teils kristallin, teils flockig

Hydrolyse der flockigen Fällung am Rückflusskühler:

Nr. 16 3/2 Stunden mit $2n$ HCl ergibt 0,36 % statt 0,16 % (krist.)

Nr. 17 2 Stunden mit $n/2$ HCl ergibt unveränderter flockiger Zustand

Je nach Stärke der zum Aufschluss verwendeten Säure und Dauer der Hitzebehandlung ändern sich die Fällungsbedingungen. Die Ergebnisse der Versuche 1—10 lassen 2 Optima erkennen, nämlich bei nicht über 15 Minuten dauerndem Erhitzen mit $n/2$ HCl einerseits und bei halbstündiger Wasserbadbehandlung mit

6nHCl anderseits. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse in bezug auf die Sorte Akkra.

Durch Hydrolyse der flockigen Fällung erhielt man z. T. niedrigere, z. T. höhere Werte als durch die direkte Titration mit Permanganat. Im Falle des Versuches 16 könnte man wirklich an hydrolytisch gebildete Oxalsäure denken, da eine Erhöhung des Wertes um rund 100 % durch die Säurebehandlung festzustellen ist. Doch übersteigt auch dieser neue Wert die Normalausbeuten nicht, die aus n/2 HCl-Auszügen ohne Wasserbadbehandlung erhalten wurden.

Zu diesen Versuchen ist noch folgendes zu bemerken:

a) *Bromierung*: Bei Säurekonzentrationen der Kakaoauszüge, die $\frac{1}{2}$ Normalität überstiegen, wurde für die Bromierung statt Bromsalzsäure Bromwasser verwendet. Zunehmende Säurekonzentration bewirkte geringeren Niederschlag an bromierten Gerbstoffen. Bei Verwendung von 4- und 6nHCl entstand nach Zusatz von Bromwasser überhaupt keine Fällung mehr, so dass von einer Bromierung abgesehen werden konnte.

b) *Fällung und Kristallisation*: Je konzentrierter die Säure des Auszuges, desto grösser war die Verunreinigung des Niederschlages mit dunkeln Gerbstoffen. Durch dessen dreimaliges Umfällen erhielt man aber dennoch eine rein weisse Fällung. Eigenartig war in diesen Versuchen der Wechsel der Kristallformen in Abhängigkeit von der Art der Vorbehandlung. Während bei den mildesten Auszügen (1, 11, 12) längliche, wetzsteinförmige Einzelkristalle mit Durchkreuzungszwillingen auftraten, entstanden nach $\frac{1}{4}$ stündigem Erhitzen mit n/2-HCl (2) kurze Prismen, die jedoch nach der ersten Umfällung wieder die übliche Form aufwiesen. Bei Versuch 15 war eine halb kristalline, halb flockige Fällung zu beobachten, die aber ebenfalls bereits nach der ersten Umfällung aus heisser n/2 HCl rein kristallinen Charakter annahm. Versuch 7 lieferte als einziger grosse Mengen Bipyramiden (Briefumschlagform), während der Niederschlag von Versuch 8, der augenblicklich entstand, ausschliesslich aus äusserst feinen Wetzsteinformen, ohne jegliche Zwillingsbildung bestand.

Die einzelnen Körperchen der flockigen Fällungen schienen mit kristallinen Kernen versehen zu sein. Nicht selten beobachtete man, namentlich im polarisierten Licht, Furchen von der Form eines Kreuzes, die namentlich bei Versuch 4 stark in Erscheinung traten. Die Spaltung der Körperchen ging dort noch weiter, so dass sie am besten mit der bei der Reife zerspringenden fleischigen Fruchtschicht der Walnuss zu vergleichen waren.

c) *Hydrolyse der flockigen Fällung*: Durch 2 stündiges Kochen mit n/2 HCl am Rückflusskühler gelang es nicht, den flockigen Charakter des Niederschlages aus Versuch 4 irgendwie zu verändern. Mehrmaliges Lösen der flockigen Fällung in heisser n/2 HCl und Wiederfällen führte stets zum selben Ergebnis. Erst nach $\frac{3}{2}$ stündigem Kochen mit 2nHCl war der völlige Übergang in die rein kristalline Form des daraus hergestellten Niederschlages festzustellen. Die Kristallformen entsprachen nun denen des Ca-oxalates in jeder Beziehung. Vor der Titration

mit Permanganat musste allerdings nochmals aus $n/2$ HCl umgefällt werden, da noch geringe schleimige Verunreinigungen zugegen waren.

d) *Beeinflusst die oxydierende Wirkung des Broms die Oxalsäurewerte?* Die bisherigen Versuche scheinen nicht dafür zu sprechen. Immerhin wäre es denkbar, dass bei grösserem Bromüberschuss Oxalsäure aus organischen Substanzen entstünde, während andererseits ein partieller Abbau der bereits vorgebildeten Oxalsäure zu Kohlensäure und Wasser in Frage kommen könnte. Da anzunehmen ist, dass sowohl zunehmende Konzentration des Broms als auch Erhöhung der Temperatur und Dauer der Einwirkung diese Reaktionen begünstigen, dürfte sich durch verschieden lange Hitzebehandlung, in Verbindung mit einem bedeutenden Bromüberschuss, eine graduelle Beeinflussung der Oxalsäurewerte bemerkbar machen. Aus diesen Gründen wurden je 125 ccm eines $n/2$ salzsauren Auszuges *) aus Akkrakakao in einen 250 ccm-Messkolben übergeführt und wie folgt behandelt:

1. mit gerade genügend Bromsalzsäure versetzt, um eine vollständige Fällung der Gerbstoffe zu ermöglichen. Verbrauch: 20 ccm.
2. mit 40 ccm Brom-HCl versetzt.
3. mit 80 ccm Brom-HCl versetzt.
4. mit 40 ccm Brom-HCl versetzt und anschliessend 5 Minuten in ein siedendes Wasserbad übergeführt.
5. wurde ein $n/2$ salzsaurer Auszug, der durch einstündige Wasserbadbehandlung erhalten worden war, mit 40 ccm Bromsalzsäure versetzt und schliesslich noch 10 Minuten im kochenden Wasserbade erhitzt. Überschuss an Brom-HCl: 20 ccm.

Nach dem Ergänzen der Volumina auf 250 ccm mit $n/2$ HCl wurde filtriert. Je 100 ccm der Filtrate dienten nun zur Bestimmung der Oxalsäure nach oben beschriebener Methode (S. 252). Die flockige Fällung aus Versuch 5 wurde nach der ersten Umfällung direkt titriert. Es wurde gefunden:

	Oxalsäure in ‰	
Versuch 1	0,36	0,36
Versuch 2	0,36	0,36
Versuch 3	0,36	0,36
Versuch 4	0,36	0,36
Versuch 5	0,17	

Brom scheint somit die Ergebnisse nicht zu beeinflussen, denn auch der letzte Wert steht in völliger Übereinstimmung mit den im vorhergehenden Versuche (Nr. 13 und 14) gefundenen Oxalsäuremengen.

*) Vide Weinsäure, Seite 250.

Eine Erhöhung der Oxalsäurewerte durch Hydrolyse aus Kakaobestandteilen kann somit nach dem gewählten Verfahren kaum in Frage kommen. Die Annahme *Finckes*³⁰⁾, die sich übrigens auf die *Grossfelds*chen Untersuchungen stützt, dass im Kakaokern Oxalsäure nicht stets und häufig in sehr kleinen Mengen anzutreffen sei, scheint sich somit nicht bestätigen zu wollen. Vom rein ernährungsphysiologischen Standpunkte aus ist dies übrigens belanglos, da Oxalsäure in diesen Mengen nach Ansicht des deutschen Reichsgesundheitsamtes³¹⁾ völlig gesundheitsunschädlich sei.

Citronensäure. Auch die Frage, ob und in welchen Mengen Citronensäure im Kakao vorhanden sei, liegt noch im Dunkel. Da und dort stösst man in der Literatur auf Hinweise, die die Gegenwart dieser Säure im Kakao in den Bereich der Möglichkeit ziehen, doch fehlen auch hierüber an gut sichtbarer Stelle veröffentlichte Versuche.

In meinen Vorversuchen habe ich Citronensäure wiederholt nachgewiesen und versucht, sie quantitativ zu ermitteln. Doch sowohl die unsachgemässe Kohlebehandlung der Auszüge, sowie die unzureichende Fällungsbedingung für das Bariumcitrat aus alkoholischer Lösung (*Jørgensen*³²⁾ fällte aus 26%igem Alkohol) liessen nur etwa $\frac{1}{3}$ der wirklich vorhandenen Citronensäure erfassen. Der Ersatz der Kohle durch eine Cinchoninsulfatbehandlung sowie durch das Klärmittel nach *Carrez* führte, in Verbindung mit der *Reichard'schen*³³⁾ Methode, ebenfalls nicht zum Ziele, da ständig neben dem Pentabromaceton Oxydations- und Bromierungsprodukte von Gerbstoffen entstanden, deren Löslichkeit in Alkohol, Äther und warmem Wasser nicht bekannt sind und deshalb grobe Fehlerquellen bildeten. Die vorgängige Bromierung nach *Reichard* mit einer Kaliumbromid-bromatlösung beseitigte diesen Nachteil nicht. Auch der Versuch, die Klippe dadurch zu umsteuern, dass die Wägung dieses unreinen Pentabromacetons durch die Titration nach *Kometiani*³⁴⁾ ersetzt wurde, missglückte. Höhere Zusätze von Ferroammoniumsulfat verkleinerten diesen Nachteil etwas, ohne jedoch zu gleichmässigen Ergebnissen zu führen. Ausgeglichene Titrationsergebnisse wurden erst erhalten, nachdem die *Meyer'sche*³⁵⁾ Modifikation des Stahreverfahrens zur Anwendung gelangte. Der auf diese Weise erhaltene Niederschlag eignet sich vorzüglich zur Titration, da die Resultate bei Mehrfachbestimmungen ausgeglichen sind.

Da die vorgängige Anreicherung der Citronensäure aus 60%igem Alkohol keinen Erfolg hatte, wurde schliesslich das nachstehende Verfahren gewählt, das nicht nur die höchsten, sondern auch die wahrscheinlichsten Werte lieferte.

Methode: 125 ccm eines schwefelsauren Auszuges (Übergiessen des geriebenen Kakaos mit n/2 Schwefelsäure von 75 Grad C; vide bei Weinsäure, S. 250) wurden in einen 250 ccm-Messkolben übergeführt, mit 50 ccm Wasser und 20 ccm Schwefelsäure (1:1) versetzt und mit frisch bereitetem Bromwasser auf 250 ccm aufgefüllt. Nun wurde gut gemischt und nach 20 Minuten durch ein Faltenfilter (*Schleicher* und *Schüll* 588, 24 cm) filtriert oder geschleudert.

Je 100 ccm der bromierten Lösung wurden mit 5 ccm Bromkaliumlösung (50 g KBr in 40 ccm Wasser) und 0,3 g reinem Asbest (Merck, für Goochtiiegel) versetzt. Nun wurde auf 48 bis 50 Grad C erwärmt, während 5 Minuten auf dieser Temperatur belassen und dann auf einmal 20 ccm 5%iger Permanganatlösung zugefügt. Im allgemeinen genügte diese Menge Permanganat. Hellte sich die Lösung wieder auf, wurden weitere 10 ccm KMnO_4 zugegeben. Nach 15 Minuten kühlte man in Eiswasser ab und fügte 40 ccm eisgekühlte Ferrosulfatlösung (20 ccm Ferrosulfat in 100 ccm Wasser) hinzu. Nun wurde noch 5 Minuten unter Kühlung in Eiswasser geschüttelt, dann 12 Stunden in den Eisschrank gestellt.

Die Filtration erfolgte am zweckmässigsten durch einen Goochtiiegel. Mit je 10 ccm eiskalter Schwefelsäure (1:100) wurde dreimal und hierauf ebenfalls dreimal mit je 20 ccm Eiswasser gewaschen. Zur Titration wurde der ganze Tiegelinhalt samt Siebplatte in einen 400 ccm fassenden *Erlenmeyer*kolben gegeben, mit 40 ccm Alkohol (96 %) übergossen (unter gleichzeitigem Ausspülen des Tiegels), dann die gepressten Asbestlagen mit einem Glasstabe zerdrückt und mit weitem 10 ccm Alkohol der Glasstab abgespült (Blindversuche mit diesem Asbest zeigten, dass er keine jodabsplattenden Stoffe enthielt). Nach dem Hinzufügen von 5 ccm Eisessig wurde im beinahe kochenden Wasserbade erwärmt und dann mit 5 ccm 20%iger Jodnatriumlösung (Jodkalium ist in Alkohol ungenügend löslich) 5 Minuten im Wasserbade mit aufgesetzter Kühlbirne umgesetzt. Dabei wurde besonders darauf geachtet, dass der Alkohol in leichtes Sieden kam, da sonst die Umsetzung nicht quantitativ verlief.

Nach dem Erkalten wurde mit Wasser auf ca. 300 ccm verdünnt und hierauf mit n/10 Thiosulfatlösung und Stärke titriert. 1 ccm Thiosulfatlösung wurde = 2,85 mg wasserfreier Citronensäure gesetzt. Dieser Faktor steht in weitgehender Abhängigkeit von der Konzentration der Citronensäure sowie vom angewendeten Verfahren zur Herstellung und Isolierung des Pentabromacetons, weshalb er für diese Untersuchung mit Hilfe reiner Citronensäure besonders festgestellt wurde.

In den verschiedenen, uns zur Verfügung stehenden Kakaosorten wurden nach dieser Arbeitsweise folgende Werte festgestellt:

	Citronensäure in %	
Akkra	0,54	0,52
Bahia	0,44	0,45
Java	0,75	
Arriba I	0,56	0,57
Arriba II	0,50	0,48
Puerto Cabello	0,66	0,64
Trinidad	0,55	0,55

Da *Hardy*³⁶⁾ Citronensäure bereits einwandfrei im Fruchtfleisch der Kakao-schote festgestellt hat, ist es nicht verwunderlich, diese Säure auch in den Kotyledonen vorzufinden. Die verhältnismässig grossen Mengen, die sich hier nach-

weisen lassen, erlauben den Schluss, dass es sich nicht um infiltrierte Säure aus dem Gärsaft handeln kann. Gegen diese Annahme spricht auch die Tatsache, dass die oberflächlich fermentierten südamerikanischen Edelsorten (Arriba, Puerto Cabello) sowie der Javakakao die höheren Werte aufweisen als die lange in ihrem Gärsaft liegenden Konsumsorten Akkra und Bahia. Nach dem Kriege wird es dann möglich sein, durch Untersuchung unvergorenen Materials diese Frage eindeutig zu beantworten.

B. Bestimmung der flüchtigen Säuren im Kakao

Die einwandfreie Bestimmung der flüchtigen Säuren im Kakao scheint auf den ersten Blick keine Schwierigkeiten zu verursachen. *H. Fincke*³⁷⁾ bestimmt die freien flüchtigen Säuren unter direkter Verwendung des zerstoßenen Kakao-kernes. Er schreibt wörtlich: «Zur Bestimmung der flüchtigen Säuren werden 10 g des grob zerstoßenen Kakaokernes in einem Literkolben mit 50 ccm Wasser übergossen und der Wasserdampfdestillation unterworfen, wobei man den Raum der Flüssigkeit im Kolben durch Erhitzen gleichmässig gross hält. Man gewinnt 750 ccm Destillat und misst die Säure dieses mit $\frac{1}{10}$ N-Alkali unter Benutzung von Phenolphthalein als Umschlagfarbstoff. Bei der Bestimmung der flüchtigen Säure im Kakaopulver ist ein Zusatz von 0,5 g Weinsäure erforderlich. Man gibt die flüchtige Säure in Kubikzentimeter N-lösung für 10 g Kakao an oder berechnet sie als Essigsäure.»

Im Verlaufe der Voruntersuchungen machte ich die Beobachtung, dass unter direkter Verwendung des zerkleinerten Kakaokernes niedrigere Essigsäurewerte erhalten wurden als mittels Destillation von sauren Kakaosauszügen, die vorgängig neutralisiert und hierauf mit Weinsäure angesäuert worden waren. Da ich für dieses Verhalten vorerst die grosse Menge unlöslicher Kakaobestandteile im Verhältnis zu den geringen Säuremengen verantwortlich machte, versuchte ich die Einwaage zu reduzieren, unter gleichzeitiger Beibehaltung des von *Fincke* empfohlenen Flüssigkeitsvolumens. Da für den verfolgten Zweck aufquellende Kakaoschalen nicht untersucht werden mussten, wählte ich auch einen etwas kleineren Destillationskolben. Um gut vergleichbare Resultate zu erzielen, wurde in allen folgenden Versuchen unter stets gleichbleibenden Bedingungen gearbeitet, nämlich:

An Stelle des Literkolbens verwendete man einen solchen von $\frac{1}{2}$ Liter Rauminhalt, reduzierte die Einwaage auf 5 g nicht entfetteten, fein zermahlenen Kakaokern und fügte 50 ccm Wasser hinzu. Der Destillationsaufsatz entsprach den von *Grossfeld*³⁸⁾ empfohlenen Ausmassen. Die Länge des Kolbenhalses betrug 15 cm. Zur Erhaltung des Volumens im Destillationskolben diente ein Mikrobrenner mit Glimmerrohr, dessen leuchtende Flammenspitze etwa 6 cm unter dem Kolbenboden lag. Um ein lokales Überhitzen zu vermeiden, wurde die Flamme erst unter den Kolben gestellt, nachdem der Wasserdampf bereits

eingeleitet war. Die Destillationsgeschwindigkeit wurde so geregelt, dass innert 25—30 Minuten 250 ccm Destillat aufgefangen werden konnten. Darnach wurde die Vorlage gewechselt (mindestens 3 mal), so dass in allen Fällen wenigstens 1 Liter Destillat zur Titration gelangte. Indikator: Phenolphthalein. Um allfällig gebundene flüchtige Säure erfassen zu können, wurde je eine Bestimmung ohne, die andere mit Zusatz von 1 g Weinsäure (Merck, zur Analyse) ausgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt:

Tabelle 3

Flüchtige Säure in der Kakaobohne; Titrationswerte der einzelnen Fraktionen von 250 ccm und prozentuale Ergebnisse; mit und ohne Weinsäurezusatz; Berechnung als Essigsäure

		Titrationswerte in ccm *				Gesamt	Essigsäure
							%
Akkra	ohne WS	0,50	0,25	0,10	0,05	0,90	0,11
	mit WS	1,10	0,50	0,25	0,15	2,00	0,24
Thomé	ohne WS	1,60	1,20	0,50	0,35	3,65	0,44
	mit WS	4,40	0,70	0,50	0,30	5,90	0,71
Java	ohne WS	0,70	0,40	0,30	0,20	1,60	0,19
	mit WS	2,25	0,40	0,40	0,20	3,25	0,39
Bahia	ohne WS	1,60	0,70	0,40	0,15	2,85	0,34
	mit WS	2,85	0,45	0,20	0,15	3,65	0,44
Trinidad	ohne WS	1,10	0,40	0,20	0,10	1,80	0,22
	mit WS	2,10	0,45	0,25	0,10	2,90	0,35
Arriba I	ohne WS	0,65	0,55	0,30	0,20	1,70	0,20
	mit WS	2,40	0,50	0,20	0,20	3,30	0,40
Arriba II	ohne WS	0,80	0,50	0,35	0,20	1,85	0,22
	mit WS	2,45	0,45	0,30	0,20	3,40	0,41
Puerto Cab.	ohne WS	0,25	0,20	0,15	0,05	0,65	0,08
	mit WS	0,95	0,45	0,10	0,10	1,60	0,19

* 1/10 normale NaOH.

Unter Zusatz von Weinsäure sind also Mehrwerte von 130—238 % feststellbar. Will man die Gesamtheit an freien und gebundenen Säuren ermitteln, so erscheint ein Zusatz von Weinsäure unumgänglich.

Man könnte vielleicht daran denken, dass durch den Zusatz von Weinsäure eine hydrolytische Spaltung unbekannter Stoffe stattgefunden habe, deren saure, flüchtige Komponenten den Alkalititer zu erhöhen imstande gewesen wären.

Würde diese Annahme den Tatsachen entsprechen, so müssten sich bei verschiedenen Konzentrationen des Säurezusatzes im Destillationskolben entsprechende Variationen im Titer bemerkbar machen. Ich habe deshalb unter genau den gleichen Bedingungen drei Destillationen mit Weinsäurezusätzen von 0,25 g, 1 g und 5 g durchgeführt. Das Untersuchungsmaterial bestand aus je 5 g der Sorte Arriba. Der Wasserzusatz betrug je 50 ccm. Es wurden wie üblich 4 Fraktionen zu je 250 ccm Destillat aufgefangen:

Weinsäurezusatz	0,25 g	1,00 g	5,00 g
1. Fraktion in ccm n/10 NaOH	2,15	2,40	1,60
2. Fraktion in ccm n/10 NaOH	0,60	0,50	0,80
3. Fraktion in ccm n/10 NaOH	0,35	0,20	0,40
4. Fraktion in ccm n/10 NaOH	0,15	0,20	0,50
Gesamtverbrauch an Lauge	3,25	3,30	3,30 ccm

Daraus lässt sich der Schluss ziehen, dass eine hydrolytische Spaltung unbekannter Stoffe durch Weinsäure kaum in Frage kommt, während anderseits Zusätze der stärker dissoziierten Mineralsäuren einen diesbezüglichen Einfluss deutlich zu erkennen geben. Ersetzt man nämlich die Weinsäure durch die ebenfalls nichtflüchtige Schwefelsäure, so erhält man folgendes Bild:

Schwefelsäurezusatz (1,84)	1 ccm	2 ccm
1. Fraktion in ccm n/10 NaOH	4,1	5,6
2. Fraktion in ccm n/10 NaOH	1,6	1,1
3. Fraktion in ccm n/10 NaOH	0,6	0,55
4. Fraktion in ccm n/10 NaOH	0,3	0,25
Gesamtverbrauch an Lauge	6,6	7,5 ccm

Zu einem ähnlichen Resultat gelangt man, wenn man den salzsauren Auszug (vide unter Weinsäure, Seite 250) nach der Neutralisation unter Zusatz von Weinsäure der Wasserdampfdestillation unterwirft.

Es findet demnach durch Behandlung von Kakao mit Mineralsäuren offensichtlich eine hydrolytische Spaltung von Kakaoinhaltstoffen (wahrscheinlich Gerbstoffen) statt, wobei der Anteil der flüchtigen sauren Komponente einen bemerkenswert hohen Betrag erreicht.

Verseift man Kakao mit Lauge, so kann man die gleiche Beobachtung machen. Auch durch nachträgliches Verseifen salzsaurer Auszüge lässt sich die Ausbeute an flüchtigen Säuren steigern:

Verseifung: 20 Minuten im kochenden Wasserbad	Essigsäure in Prozenten der nichtentfetteten Kakaobohne		
	Akkra	Thomé	Java
	‰	‰	‰
5 gr Kakao, unverseift			
ohne Weinsäurezusatz	0,11	0,44	0,19
mit Weinsäurezusatz	0,24	0,71	0,39
5 gr Kakao verseift mit			
5 ccm KOH 50‰ig	0,61	1,34	1,07
20 ccm n/2 NaOH	0,47	0,89	
5 gr Kakao (vorgängig entfettet)			
verseift mit 5 ccm KOH 50‰ig	1,27		1,75
50 ccm salzsaurer Auszug,			
entsprechend 5 gr Kakao,			
verseift mit 5 ccm KOH 50‰ig	1,07	1,28	0,84

Zwecks Ermittlung des ungefähren Äquivalentgewichtes der flüchtigen sauren Zersetzungsprodukte wurden (nach Vertreiben der präformierten Säure) die Kakaos unter Zusatz von Mineralsäure (bzw. Weinsäure) mit Wasserdampf destilliert, die Säuren neutralisiert, hierauf eingedampft, bei 100 Grad C getrocknet und gewogen. Man erhielt so als durchschnittliches Äquivalentgewicht (einschliesslich Kristallwasser) für die Hydrolysenprodukte 76,4, für die Verseifungsprodukte 66,6.

Es ist deshalb anzunehmen, dass man nur unter direkter Verwendung unbehandelten Kakaos richtige Essigsäurewerte erhält. Ohne Zusatz von Weinsäure destilliert die freie Säure, mit Zusatz von Weinsäure die freie und gebundene Essigsäure über. Säuert man alkalisierten Kakao im Destillationskolben mit Weinsäure an, so erhält man die freie und gebundene flüchtige Säure sowie, je nach dem Grad der Alkalisierung, variierende Mengen flüchtiger saurer Verseifungsprodukte. Ein Ansäuern mit Mineralsäure führt ebenfalls zu unbrauchbaren Werten.

C. Ermittlung der Gesamtsäuren im Kakao

Umfangreiche Versuche wurden durchgeführt, um den Wert des Perforators von *Grossfeld* und *Payfer*³⁹⁾ für den Zweck dieser Untersuchung zu ermitteln. Leider musste dieses verhältnismässig bequeme Verfahren zur Extraktion organischer Säuren aus wässriger Lösung mittels Äthyläther wieder aufgegeben werden, da namentlich die Citronensäure viel zu langsam und unvollständig herauszubringen war. Man war schliesslich gezwungen, wieder zum Ausschüttelverfahren zurückzukehren.

Zur Entfernung der Gerbstoffe wurde von Bromwasser abgesehen, um möglichst von zwei Seiten an das Problem heranzugehen und den so ermittelten Werten grössere Sicherheit zu verleihen. Tatsächlich ging dann auch aus der geringen Differenz: Gesamtsäure minus einzeln ermittelte Säuren hervor, dass in den untersuchten 8 Kakaosorten ausser Citronensäure und Oxalsäure keine ätherlösliche nichtflüchtige Säure in nennenswerter Menge zugegen sein kann.

Methode: 100 ccm salzsaurer Auszug, entsprechend 10 g Kakao, wurden mit Ammoniak (0,91) neutralisiert, mit 1 g Kohle versetzt und auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit etwas warmem Wasser zu einem homogenen Brei zerrieben und schliesslich auf 60 ccm verdünnt. Nach dem Schleudern konnte die überstehende klare Flüssigkeit abgegossen werden. Der Rückstand im Zentrifugenglas wurde mit einem Glasstabe gut aufgerührt, mit 60 ccm warmen Wassers gut vermischt und wieder geschleudert. Die klare, aber etwas dunkel gefärbte Lösung wurde zur ersten gegeben und hierauf das Waschen des Niederschlages noch zweimal vorgenommen.

Die vereinigten Auszüge wurden auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, mit warmem Wasser wieder zu einem homogenen Brei angerührt, nach dem Abkühlen mit 5,5 ccm Schwefelsäure (1:1) angesäuert und das Volumen mit Wasser auf 50 ccm ergänzt. Nach gründlichem Durchmischen wurden 20 ccm, entsprechend 4 g Kakao, in einen Messzylinder mit Schliffstopfen von 200 ccm übergeführt und mit je 180 ccm Äther 25—30 mal ausgeschüttelt.

Die Dauer des Ausschüttelns betrug stets 2 Minuten, worauf der Zylinder 20 Minuten schräg hingelegt wurde. Der Äther wurde nun, unter Zuhilfenahme eines an der Spitze zur Kapillare ausgezogenen und umgebogenen Glasröhrchens, an der Wasserstrahlpumpe in ein im Filtertopf sich befindendes Destillationskölbchen sorgfältig abgesaugt. Die Ätherlösung der ersten 5 Ausschüttelungen wurde vor der Destillation mit je 10 ccm n/10 NaOH ausgeschüttelt und der Rückstand gegen Phenolphthalein mit HCl zurücktitriert. Das durch den Äther mitgenommene Wasser wurde im Schüttelzylinder fortlaufend ersetzt. Als Titrationsbeispiel seien nachfolgend die Zahlen der Sorte Java, die von den untersuchten Sorten den höchsten Citronensäurewert aufweist, folglich am schwierigsten extrahierbar ist, aufgeführt:

Tabelle 4

*Ausschüttelung von 20 ccm Säurelösung, entsprechend 4 g Javakakao,
mit je 180 ccm Äther*

Ausschüttelungen	Verbrauch an ccm n/10 NaOH		Durchschnitt je Ausschüttelung
1.	3,32		
2.	2,00		
3.	1,60		
4.	1,02		
5.	0,62	8,56	1,71
6.	0,46		
7.	0,34		
8.	0,35		
9.	0,40		
10.	0,30	1,85	0,37
11.	0,32		
12.	0,35		
13.	0,31		
14.	0,32		
15.	0,35	1,65	0,33
16.	0,33		
17.	0,20		
18.	0,10		
19.	0,10		
20.	0,12	0,85	0,17
21.	0,08		
22.	0,10		
23.	0,05		
24.	0,05		
25.	0,12	0,40	0,08
26.	0,09		
27.	0,04		
28.	0,05		
29.	0,08		
30.	0,04	0,30	0,06
Summe	13,61		

Bei citronensäureärmeren Sorten wird der Endtitrationswert von 0,30 ccm n/10 Lauge für die letzten 5 Ausschüttelungen etwas früher erreicht. Unter diesen Wert sinkt der Laugenverbrauch nicht, auch wenn noch weitere 5 Ausschüttelungen vorgenommen werden. Er muss deshalb, ausser durch mitlaufende Schwefelsäure, noch durch saure Zersetzungsprodukte bedingt sein. Da das Übergehen dieser beiden Komponenten bei gleicher Konzentration der wässrigen Phase sehr wahrscheinlich sämtliche Titrationswerte der einzelnen Ausschüttelungen gleichmässig beeinflussen dürfte, so ist vom Gesamtsäurewert 30 mal 0,06 = 1,8 ccm n/10 NaOH in Abzug zu bringen. Auch die flüchtige Säure, die im Verlaufe der ersten 5 Ausschüttelungen mittels Natronlauge immobilisiert wurde, musste getrennt bestimmt und vom Gesamtlaugenverbrauch abgezogen werden. So errechnet sich die Menge nichtflüchtiger Säuren aus Javakakao wie folgt:

Gesamttitrationswert		13,61 ccm n/10 NaOH
Abzug für Schwefelsäure (ermittelt)	0,60 ccm	
für saure Zersetzungsprodukte		
(1,80—0,60)	1,20 ccm	
für flüchtige Säure (ermittelt)	2,50 ccm	4,30 ccm
Nichtflüchtige Säure in 4 g Kakao		9,31 ccm n/10 NaOH
Nichtflüchtige Säure in 100 g Kakao		23,28 ccm n NaOH
Einzeln ermittelte Säure		22,83 ccm n NaOH
Oxalsäure	0,50 % (11,11 ccm)	
Citronensäure	0,75 % (11,72 ccm)	
Nicht identifizierte Säure		0,45 ccm n NaOH

Es ist klar, dass auch diese Extrakte zur Nachprüfung der direkt ermittelten nichtflüchtigen Säuren Verwendung fanden. Dabei liessen sich jene Befunde in vollauf befriedigender Weise sowohl für Oxalsäure als auch für Citronensäure bestätigen. Für nicht identifizierte Säure erhält man einen zu vernachlässigenden Wert, der im ungünstigsten Falle 4,7 % der Summe der nichtflüchtigen Säuren beträgt.

Man kommt somit zum Schluss, dass in den 7 untersuchten Kakaosorten nur Citronensäure und Oxalsäure als nichtflüchtige Säuren vorliegen können.

Tabelle 5

Vergleich der Mengen einzeln ermittelter Säuren mit den durch Äthyläther extrahierten Säuren in Milliäquivalenten pro 100 g nichtentfetteten Kakao.

Differenz: Nicht identifizierte Säuren

	Nichtflüchtige		Differenz
	einzeln ermittelte Säuren	extrahierte Säuren	
Akkra	16,4	16,9	+ 0,5
Bahia	14,6	14,2	— 0,4
Trinidad	15,7	15,6	— 0,1
Thomé	15,0	15,0	— 0,0
Arriba I	18,9	19,8	+ 0,9
Arriba II	16,9	17,6	+ 0,7
Java	22,8	23,3	+ 0,5

Es folgt noch eine vergleichende Zusammenstellung sämtlicher ermittelter Säurewerte.

Tabelle 6
Organische Säuren in 100 g Kakaokern

	Bahia		Trinidad		Arriba I		Arriba II	
	o/o	ccm n-NaOH	o/o	ccm n-NaOH	o/o	ccm n-NaOH	o/o	ccm n-NaOH
Essigsäure	0,44	7,33	0,35	5,83	0,40	6,66	0,41	6,83
Citronensäure	0,45	7,03	0,55	8,60	0,57	8,91	0,50	7,82
Oxalsäure	0,34	7,56	0,32	7,12	0,45	10,00	0,41	9,12
Gesamt	1,23	21,92	1,22	21,55	1,42	25,57	1,32	23,77
Nichtflüchtige Säuren	0,79		0,87		1,02		0,91	
Freie Säure*		20,00		18,50		16,50		17,00
pH nach Wulff**	4,4		4,5		5,0		5,3	
	P. Cabello		Java		Akkra		Thomé	
	o/o	ccm n-NaOH	o/o	ccm n-NaOH	o/o	ccm n-NaOH	o/o	ccm n-NaOH
Essigsäure	0,19	3,16	0,39	6,50	0,24	4,00	0,71	11,83
Citronensäure	0,66	10,31	0,75	11,72	0,54	8,43	0,46	7,18
Oxalsäure	0,44	9,78	0,50	11,11	0,36	8,00	0,35	7,78
Gesamt	1,29	23,25	1,64	29,33	1,14	20,43	1,52	26,79
Nichtflüchtige Säuren	1,10		1,25		0,90		0,81	
Freie Säure		15,00		15,00		18,00		23,50
pH	5,3		5,4		5,2		4,5	

*) nach *H. Fincke* ⁴⁰⁾

**) Folienkolorimeter ⁴¹⁾

NACHTRAG

Über zwei leicht abspaltbare Gerbstoffkomponenten

Schon im Verlaufe der Vorversuche beobachtete ich zwei durch saure Hydrolyse leicht abspaltbare Gerbstoffkomponenten, die mit Rücksicht auf ihre auffälligsten Eigenschaften als Kakaorot-Mutterstoff und Phenolkörper bezeichnet werden.

a) *Kakaorot-Mutterstoff*. Kühlt man das warme Filtrat *) des schonend hergestellten, salzsauren Auszuges (vide unter Weinsäure, S. 250) in Eiswasser ab, so scheidet sich, neben geringen Mengen des erwähnten Phenolkörpers, ein weiterer, jedoch ätherunlöslicher Stoff aus, der leicht durch Schleudern isoliert werden kann. Mittels verdünnter Salzsäure und Äthyläther lässt er sich (ebenfalls durch Schleudern) leicht reinigen. Mit Eiswasser kann die Salzsäure zuletzt noch entfernt werden.

Die Farbe dieses Stoffes ist leicht bräunlich. Die einzelnen Körperchen, die mikroskopisch das Aussehen von Kokken haben, erscheinen in wässriger Aufschwemmung farblos. Aus nichtvergorenem, ungeröstetem Kakao liesse sich möglicherweise ein farbloses Präparat erzielen. Eine oberflächliche Überprüfung dieses Stoffes ergab folgende Daten:

Die Löslichkeit in Alkohol ist gering. Durch Zusatz von wenig HCl entsteht augenblicklich eine klare Lösung, die durch FeCl_3 grün gefärbt wird. In Pyridin, stark verdünntem, wässrigem Alkali und Ammoniak ist die Löslichkeit sehr gut.

Eine sehr verdünnte Lösung des Mutterstoffs in Wasser wurde mit KOH, Wasserstoffsuperoxyd, KOH plus H_2O_2 und KOH plus Phloroglucin versetzt und neben der zusatzfreien Lösung in Reagensgläsern in ein Wasserbad von ca. 80 Grad C gestellt. Nach ca. 20 Minuten war folgendes festzustellen:

Zusatzfreie Lösung (hellbraun)	unverändert
Mit KOH	dunkelbraun
Mit H_2O_2 (3 %)	farblos
Mit KOH plus H_2O_2	farblos
Mit KOH plus Phloroglucin	bräunlich

Die Braunbildung aus diesem Mutterstoff wird durch oxydierende Substanzen verhindert.

Ca. 50 mg Mutterstoff plus 50 ccm Alkohol und 2 ccm 12,5%ige HCl werden am Rückflusskühler 20 Minuten gekocht. Die helle Lösung geht dabei in ein schönes Kakaorot über, welches nach Zusatz von Alkali in ein reines Blau umschlägt. Setzt man für diesen Versuch etwas H_2O_2 zu, so wird die Rotbildung ebenfalls verhindert.

Ca. 100 mg Mutterstoff wurden in 100 ccm n/1HCl 20 Minuten am Rückflusskühler gekocht. Der anfänglich nur wenig lösliche Stoff geht gegen den Siedepunkt allmählich in Lösung und wechselt vom hellen Ton in ein reines Zinnoberrot hinüber. Beim Erkalten scheidet sich der schwerlösliche Farbstoff teilweise ab und setzt sich. Er lässt sich klar abfiltrieren und löst sich mit satter karminroter Farbe in Alkohol. Zusatz von alkoholischer Kalilauge bewirkt den Umschlag nach einem reinen Blau.

Ganz anders verhalten sich dagegen die gelblichweissen amorphen Calciumsalze der Gerbstoffe. Eine Verwechslung mit diesen ist daher ausgeschlossen.

*) Für diesen Zweck ist es erforderlich, den Auszug heiss zu filtrieren.

b) *Phenolkörper*. Filtriert man den normalen salzsauren Kakaoauszug*) (vide unter Weinsäure) unverzüglich, so trübt sich das Filtrat zusehends durch mikroskopisch feine Körperchen von der Form und Grösse eines Kokkus. Schüttelt man die trübe Lösung mit Äthyläther oder Essigester aus, so wird sie wieder klar. Im Rückstand der Ätherdestillation, die unter Vakuum und Durchsaugen von Kohlensäure durch die Kapillare vorgenommen wird, beobachtet man einen aromatisch riechenden, sauerstoffempfindlichen, gelblichen Rückstand, der in Alkohol gut löslich ist und mit Eisenchlorid eine reine grüne Färbung gibt. Durch Verdampfen des Alkoholes erhält man feine Nadeln.

Sowohl Mutterstoff als Phenolkörper erhält man nicht aus alkalisiertem Kakao. Durch Alkalisieren gehen beide in amorphe, braune Kondensate über und werden somit zu Bestandteilen der Phlobaphene.

Zusammenfassung

1. Die bisherigen Kenntnisse über die freien und metallisch gebundenen, nichtflüchtigen Säuren des Kakaosamens sind entweder stark umstritten (Oxalsäure) oder aber von durchaus fraglichem Werte, sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht.

2. Zur Methodik der Bestimmung nichtflüchtiger Säuren im Kakaokern liegen bis heute nur Arbeiten über Oxalsäure vor. Für die übrigen nichtflüchtigen Säuren wurde noch keine Methode ausgearbeitet, obwohl die Abklärung dieser Frage sowohl vom wissenschaftlichen als auch vom praktischen Standpunkte aus sehr begrüsst würde.

3. Versuche zur Ermittlung des Adsorptionsvermögens der zur Verwendung gelangenden aktiven Kohle führten zu dem Ergebnis, dass diese unter gewissen Voraussetzungen zur quantitativen Bestimmung organischer Säuren gut verwendbar ist. Vor allem verdient die leichte Auswaschbarkeit neutraler Säurelösungen hervorgehoben zu werden.

4. Über die Löslichkeit der Bariumsalze einiger organischer Säuren in Wasser und Alkohol verschiedener Konzentration wurden Tabellen aufgestellt.

5. Die Weinsäurebefunde von *Boussingault* und *Weigmann* wurden nachgeprüft und widerlegt.

6. Auch die früheren Äpfelsäurebefunde konnten nicht bestätigt werden, wogegen Citronensäure als bisher im Kakaokern noch nicht nachgewiesene Säure festgestellt wurde.

7. Die höchsten und scheinbar auch zuverlässigsten Werte für nichtflüchtige Säuren im Kakao erhält man unter Verwendung bromierter Auszüge. Das überschüssige Brom kann dabei mittels Benzol ausgeschüttelt oder durch Thiosulfat (ev. Alkali) ionisiert werden.

*) Für diesen Zweck ist es erforderlich, den Auszug heiss zu filtrieren.

8. Die durch *Grossfeld* und *Lindemann* festgestellte Oxalsäurebildung durch Hydrolyse aus Kakaobestandteilen konnte durch eigene Versuche nicht bestätigt werden. Die Ausbeute an präformierter Oxalsäure ist in hohem Masse abhängig von den gewählten Fällungsbedingungen sowie von der Art der Vorbereitung der Auszüge. Eine Beeinflussung der Oxalsäurewerte durch die vorgängige Bromierung der Auszüge zwecks Entfernung der Gerbstoffe ist nicht zu befürchten.

9. Will man in Kakao die freie und metallisch gebundene flüchtige Säure bestimmen, so ist ein vorheriges Ansäuern mit einer nichtflüchtigen organischen Säure unerlässlich. Bei Verwendung von Mineralsäure entstehen flüchtige, saure Hydrolysenprodukte, die die Ergebnisse zu hoch ausfallen lassen. Auch die vorgängige Behandlung des Kakaos mit Alkalien führt zur Bildung saurer Sekundärprodukte flüchtiger Natur, weshalb bei alkalisiertem Kakao die Bestimmung der Essigsäure durch Wasserdampfdestillation unter Zusatz von Weinsäure ebenfalls zu entstellten Werten führen muss.

10. Durch die Differenzbestimmung: Gesamtsäuren minus einzeln ermittelte Säuren wurde der Beweis erbracht, dass in den untersuchten 8 Kakaosorten ausser Citronensäure und Oxalsäure keine weitere nichtflüchtige, freie oder metallisch gebundene Säure mehr zugegen sein kann, deren Ätherlöslichkeit nicht wesentlich unter derjenigen von Citronensäure liegt.

11. Besondere Beachtung verdienen noch zwei durch saure Hydrolyse leicht abspaltbare Gerbstoffkomponenten in bezug auf die Erforschung der Kakao-gerbstoffe, nämlich ein phenolartig riechender, sauerstoffempfindlicher Körper sowie ein durch Hydrolyse mit alkoholischer Mineralsäure scheinbar reines Kakaorot liefernder Mutterstoff, auf dessen Anwesenheit in der Kakaobohne bereits *Fincke*⁴²⁾ hingewiesen hat. Beide sind aus unbehandeltem Kakao verhältnismässig leicht isolierbar, nicht aber aus alkalisiertem Kakao.

Literatur

- 1) Zit. nach *A. Beythín*, Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. 6, Berlin, Julius Springer, S. 183.
- 2) Zit. nach *J. König*, Chemie der Nahrungs- und Genussmittel, Bd. 1, Berlin, Jul. Springer, 1903, S. 1021.
- 3) *H. Fincke*, Handbuch der Kakaoerzeugnisse, Berlin, Jul. Springer, 1936, S. 295.
- 4) *Arthur Knapp*, Cacao Fermentation, London, John Bale, Sons & Curnow, Ltd., 1937.
- 5) Ebenda, S. 78.
- 6) *F. Hardy*, The Non-volatile Acids of Cacao Seed Pulp and Cacao Sweetings. J. Soc. Chem. Ind., Transactions, 1925, No 44, P. 305.
- 7) *J. B. Harrison*, Report, Agri. Station, British Guiana, 1897. Zit. nach *A. Knapp*, Cacao Fermentation, S. 42.
- 8) *Bainbridge* and *J. Davies*, Chem. Soc. 1912, No 28, T 2209—2214. Zit. nach *A. Knapp*, Cacao Fermentation, S. 42.
- 9) *E. Fickendey*, Amtsblatt für das Schutzgebiet Kamerun, Nr. 15, 1909. und Gordin Nr. 346, 1909, 2901. Zit. nach *A. Knapp*, Cacao Fermentation, S. 42.

- 10) A. Bömer und Windhausen, Handbuch der Lebensmittelchemie, Jul. Springer, Berlin, II. Bd., 2. Teil, S. 1072—1168, sowie Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, Spezielle Analyse, I. Bd., S. 362—493 (Wien, Jul. Springer).
- 11) G. Jörgensen, Zeitschrift f. Untersuch. der Nahr. u. Genussmittel, Bd. 13, S. 241, Bd. 17, S. 396.
J. König, Chemie der menschlichen Nahr. und Genussmittel, III. Bd., 1. Teil, S. 462.
- 12) H. Fincke, Handbuch der Kakaoerzeugnisse, S. 296.
- 13) Grossfeld und Lindemann, Entstehung von Oxalsäure durch Hydrolyse von Kakaobestandteilen, Zeitschr. f. Unters. der Lebensmittel, Bd. 68, S. 612—631.
- 14) G. Jörgensen, Z. f. Unt. d. Nahr. u. Genussmittel, Bd. 13/17.
- 15) C. Carrez, Ann. Chim. analyt. appl. Bd. 14, 187 (1909).
Z. f. Unt. d. Nahr. u. Genussmittel 1910, Bd. 20, S. 231.
Z. f. Unt. d. Lebensmittel 1934, Bd. 68, 613, Bd. 78, S. 23.
- 16) Brockmann, zit. nach Zechmeister und Chohnoky, Die chromat. Adsorptionsmethode, Wien, Jul. Springer, S. 47.
- 17) Carrez, vide unter 15.
- 18) O. Reichard, Zeitschr. f. Unt. der Lebensmittel, Bd. 68, 157.
- 19) G. Jörgensen, vide unter 14.
- 20) H. Fincke, Handbuch der Kakaoerzeugnisse, S. 295.
- 21) Weigmann, vide unter 2.
- 22) J. König, vide unter 2.
- 23) K. Freudenberg, Tannin, Cellulose, Lignin. Berlin, Jul. Springer, 1933, S. 13.
- 24) J. Grossfeld, Anleitung zur Untersuchung der Lebensmittel, Berlin, Jul. Springer, 1927, S. 69.
- 25) Grossfeld und Lindemann, vide unter 13.
- 26) Grossfeld und Lindemann, vide unter 13, S. 616.
- 27) Ebenda, S. 613.
- 28) Ebenda, S. 612—631.
- 29) Ebenda, S. 616.
- 30) H. Fincke, Handbuch der Kakaoerzeugnisse, S. 297.
- 31) Ebenda, S. 404.
- 32) G. Jörgensen, vide unter 14.
- 33) O. Reichard, vide unter 18.
- 34) Kometiani, Z. f. anal. Chemie, Bd. 86, S. 363.
- 35) H. Meyer, Nachweis und Bestimmung organischer Verb., Berlin, Jul. Springer, S. 163.
- 36) F. Hardy, vide unter 6.
- 37) H. Fincke, Handbuch der Kakaoerzeugnisse, S. 474.
- 38) J. Grossfeld, Anleitung zur Untersuchung der Lebensmittel, Berlin, Jul. Springer, 1927, S. 66.
- 39) Grossfeld und Payfer, Z. f. Unters. der Lebensmittel, Bd. 78, S. 22.
- 40) H. Fincke, Handbuch der Kakaoerzeugnisse, S. 474.
- 41) Wulff, zit. nach Kordatzky, Taschenbuch der praktischen pH-Messung, München, Müller & Steinicke, 1934, S. 141.
- 42) H. Fincke, Handbuch der Kakaoerzeugnisse, S. 324.