

*Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Bonn*

## Über das Vorkommen von Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure in pflanzlichen Nahrungsmitteln

Von K. KUSNAWIDJAJA, H. THOMAS und W. DIRSCHERL

Mit 5 Abbildungen und 3 Tabellen

(Eingegangen am 23. Dezember 1968)

Vanillinsäure (3-Methoxy-4-hydroxy-benzoesäure) wurde 1959 erstmals von DIRSCHERL und SCHMIDTMANN (1) aus menschlichem Harn isoliert, nachdem ihr Vorkommen durch papierchromatographische Analyse von Harnextrakten (2) wahrscheinlich gemacht worden war. Die anfängliche Ausbeute – 40 mg aus 1000 l Harn – wurde später durch Verbesserung der Methodik auf etwa das Hundertfache gesteigert (3).

Quantitative Analysen im Harn von 12 gesunden Männern, die sich beliebig ernährten, ergaben eine mittlere Vanillinsäure-Ausscheidung von 9,2 ( $\pm 3,3$ ) mg/24 Std. In Diätversuchen ließ sich aber zeigen, daß sie bei pflanzenfreier Ernährung auf Werte von 0,15–0,7 mg/24 Std. absinkt (3). Man darf annehmen, daß diese Werte der „endogenen Vanillinsäurebildung“ entsprechen. Vanillinsäure kann endogen, wie erstmals von DIRSCHERL, THOMAS und SCHRIEFERS (4, 5) gezeigt worden ist, aus dem Brenzkatechinaminmetaboliten 3-Methoxy-4-hydroxy-mandelsäure und somit aus den Hormonen Adrenalin und Noradrenalin entstehen. Das gilt auch für den Menschen (6, 7). Die 3-Methoxy-4-hydroxy-mandelsäure ist somit eine endogene Vorstufe der Vanillinsäure.

Die Hauptmenge der mit dem menschlichen Harn ausgeschiedenen Vanillinsäure muß jedoch exogener Natur sein. Sie muß solchen Nahrungsmitteln entstammen, in denen Vanillinsäure selbst oder aber Vorstufen enthalten sind, die im Organismus zur Vanillinsäure metabolisiert werden können. Im Rahmen der schon erwähnten Diätversuche konnte gezeigt werden, daß die zunächst stark abgefallene Vanillinsäure-Ausscheidung nach Einnahme von Vanillin und Neskafee wieder anstieg. Daß auch das in manchen pflanzlichen Nahrungsmitteln enthaltene Lignin – es entsteht bei der Verholzung der Pflanzenzellwand – als Muttersubstanz der Vanillinsäure anzusehen ist, konnte ebenfalls bewiesen werden (3). Der menschliche Körper ist in der Lage, aus Lignin, das als Makromolekül vom Darm nicht resorbiert wird, möglicherweise mit Hilfe der Darmbakterien Vanillinsäure oxydativ abzuspalten. Beim Menschen ist neben der Vanillinsäurebildung aus Vanillin und Kaffeesäure (8) auch die aus Protocatechusäure (9) beschrieben. Die Verfütterung von Ferulasäure an Ratten führte zu einer erhöhten Ausscheidung an Vanillinsäure und Vanilloylglycin (8). BOOTH und Mitarb. haben gezeigt, daß im Organismus der Ratte und des Menschen die Umwandlung von Kaffeesäure in Vanillinsäure über die Zwischenstufen Dihydrokaffeesäure und Ferulasäure führt (8).

Ziel der vorliegenden Arbeit waren Nachweis und quantitative Bestimmung von Vanillinsäure und deren Muttersubstanzen Kaffeesäure und Ferulasäure

in pflanzlichen Nahrungsmitteln. Weiterhin wurden aus Haferflocken Vanillinsäure und darüber hinaus auch Syringasäure (4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzoesäure) in kristalliner Form isoliert.

Über das Vorkommen von Phenolcarbonsäuren in pflanzlichem Material war schon einiges bekannt. So wurde Vanillinsäure in Vanillefrüchten (10, 11, 12), in Chenopodium-Arten, Spinat, Melde und Mangold (13) nachgewiesen. OKAHARA und TANIGUCHI (14) isolierten Vanillinsäure aus der Rinde von *Melia azedarach*, einem asiatischen Paradiesbaum. Vanillinsäure und Ferulasäure ließen sich in der Zuckerrübe (15, 16), in Bucheckern (17, 18), in Lycopodiumarten (Bärlapp) (19) und in verschiedenen Holzarten (20) sowie in Lignin aus *Populus tremula* (Espe) (21) nachweisen. Die beiden Phenolcarbonsäuren wurden außerdem in Blättern von Reispflanzen (22) und in Reiswein („sake“) (23) gefunden, aus dem Ferulasäure in kristalliner Form isoliert werden konnte.

Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure kommen nebeneinander in Blättern einer Reihe von Pflanzenarten (24, 25) und in Weizensamen vor (26, 27). TOWERS und Mitarb. (28) fanden Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure in verschiedenen Species von *Gaultheria*.

## Material und Methoden

*Substanzen und pflanzliches Material.* Vanillinsäure (Dr. Th. Schuchardt GmbH, München), Kaffeesäure (Fluka A. G., Buchs), Ferulasäure (Carl Roth, Karlsruhe), Sulfanilsäure und p-Nitranilin (E. Merck A. G., Darmstadt) wurden in Form von Handelspräparaten verwendet. ROSES Reagenz, [ $\beta$ -Diäthylamino-äthyl]-[p-aminophenyl]-sulfon, wurde dankenswerterweise von Herrn Dr. ROSE (Imperial Chemical Industries, Macclesfield, England) zur Verfügung gestellt.

Von pflanzlichem Material wurden die folgenden Obst- und Gemüsesorten in frischem Zustand untersucht: Süßkirsche, Aprikose, Erdbeere, Johannisbeere, Pampelmuse, Erbse, Weißkohl, Möhre, Kartoffel und Tomate. Die pflanzlichen Nahrungs- und Genußmittel, die in getrocknetem Zustand untersucht wurden, sind: Kartoffel (kochfertig, Iglo GmbH, Hamburg), Spinat (kochfertig, Iglo GmbH, Hamburg), Reismehl, Haferflocken (großflockig, Fortin-Werke, Düsseldorf), Brot (Steinofen-Brot aus Roggen und Weizen, Brotfabrik Scharf, Bonn), Apfel (Ringäpfel, getrocknet und geschwefelt, H. Kluth, Hamburg), Pflaume (getrocknet und geschwefelt, H. Kluth, Hamburg) und Kaffee („Türkisch Gold“, Eduscho, Hamburg).

*Extraktbereitung.* Die Extrakte wurden in Anlehnung an die Vorschrift von IBRAHIM und TOWERS (24) gewonnen. Das fein zerkleinerte pflanzliche Material wurde in Methanol aufgenommen, mit konz. HCl bis pH 2 angesäuert und 12 Std. am Rückflußkühler gekocht. Der methanolische Extrakt wurde abfiltriert, zur Trockne gedampft, in 2 nHCl gelöst und wiederum 1 Std. am Rückflußkühler gekocht. Das Hydrolysat wurde 6 Std. im Universalextraktor kontinuierlich mit Äther extrahiert, der Ätherextrakt mit 5%igem NaHCO<sub>3</sub> ausgeschüttelt, die Hydrogencarbonatlösung mit konz. HCl auf pH 2 gebracht und mit Äther reextrahiert. Dieser Ätherextrakt, der die „saure Fraktion“ des pflanzlichen Materials enthielt, wurde eingedampft und in Methanol gelöst.

*Chromatographie.* Die zweidimensionale papierchromatographische Auftrennung von Extrakten erfolgte aufsteigend mit den Lösungsmittelgemischen Benzol/Essigsäure/Wasser 6:7:3 (System I; Faserrichtung des Papiers) und Natriumformiat/Ameisensäure/Wasser 10:1:200 (System II) auf WHATMAN-Papier Nr. 1 (24). Die Laufzeiten betrugen für beide Laufrichtungen je 1,5 Std. Von den in 4 ml gelösten Extrakttrockenrückständen wurden 0,01–0,05 ml chromatographiert.

Zur Lokalisation von Substanzen auf den Chromatogrammen dienten die UV-Kontaktphotographie (29) und als Sprühreagentien diazotiertes p-Nitranilin, diazotierte Sulfanilsäure (30) sowie diazotiertes [ $\beta$ -Diäthylamino-äthyl]-[p-aminophenyl]-sulfon (ROSES Reagenz). Außerdem wurde das Fluoreszenzverhalten der Substanzen in UV-Licht geprüft.

Die Rechromatographie von Substanzen, die nach vorhergehender Lokalisation durch UV-Kontaktphotographie aus Papierarealen eluiert wurden (31), erfolgte aufsteigend in den Systemen I und II, außerdem mit Benzol/Propionsäure/Wasser 2:2:1 (32) (System III).

Die Säulenchromatographie erfolgte an Amberlite CG 50/II (200–400 mesh, H<sup>+</sup>-Form) (33) mit dem Lösungsmittelgemisch Methyläthylketon/Aceton/0,2 n HCl 2:1:9 (34).

**Identifizierung.** Zur Identifizierung von Phenolcarbonsäuren, die in den Extrakten nachweisbar waren, dienten außer der Bestimmung von  $R_F$ -Werten und der Anfertigung von Mischchromatogrammen die folgenden Methoden:

1. Aufnahme von Absorptionsspektren von Eluaten nach Kupplung mit diazotiertem p-Nitranilin (35) und diazotiertem ROSES Reagenz (36),
2. Aufnahme von IR- und UV-Spektren von Eluaten: papierchromatographisch isolierte Substanzen wurden nach Elution auf vorgereinigtem WHATMAN-Papier rechromatographiert, dann nach einer Vorschrift von SELIGSON und Mitarb. (37) eluiert und (im Falle von Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure) direkt der UV-Spektroskopie und der IR-Spektroskopie (Vanillinsäure und Ferulasäure) zugänglich gemacht.

Für die Identifizierung der aus Haferflocken in kristalliner Form isolierten Substanzen (Vanillinsäure und Syringasäure) wurden folgende Methoden herangezogen: zweidimensionale Papierchromatographie in den erwähnten Systemen, Mikrosublimation und Mikrophotographie der Kristalle, Mikroschmelzpunktbestimmung auf dem Mikroskop-Heiztisch, UV-Spektroskopie sowie die Aufnahme von Absorptionsspektren nach Kupplung der Substanzen mit diazotiertem ROSES Reagenz.

**Quantitative Bestimmung.** Zur quantitativen Bestimmung von Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure in pflanzlichen Extrakten wurden aliquote Teile der in Methanol gelösten Extrakttrockenrückstände, wie beschrieben, zweidimensional chromatographiert. Nach Lokalisation der getrennten Substanzen mit Hilfe der UV-Kontaktphotographie wurden die ihnen entsprechenden Papierareale ausgeschnitten und mit Methanol eluiert (31). Die Eluattrockenrückstände wurden in 1 ml Methanol aufgenommen und nach Kupplung mit diazotiertem ROSES Reagenz (36) unter Berücksichtigung entsprechender Papierleerwerte spektrophotometrisch bestimmt.

**Wiederfindungsversuche.** Fein gemahlenes pflanzliches Material (Haferflocken, Reismehl, Kartoffeln), aus dem die Phenolcarbonsäuren vollständig extrahiert worden waren, wurde mit je 400  $\mu$ g Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure versetzt, wie beschrieben extrahiert und der quantitativen Analyse unterworfen.

## Ergebnisse

### Qualitative Untersuchungen

Im Hinblick auf die papierchromatographische Trennung der pflanzlichen Extrakte wurde zunächst ein Gemisch von authentischen Phenolcarbonsäuren, nämlich von Vanillinsäure, Ferulasäure, Kaffeesäure, Protocatechusäure und Syringasäure zweidimensional entwickelt (Abb. 1). Die Entwicklung in der 2. Dimension (System II) ergab im Falle von Kaffeesäure und Ferulasäure je zwei Flecken. Dabei handelt es sich jeweils um die cis- und trans-Form. Auch nach Angaben anderer Autoren (24, 38, 39, 40, 41, 42) lassen sich die isomeren Formen der beiden Säuren papierchromatographisch auftrennen. WILLIAMS (43, 44) bezeichnet den Substanzfleck mit dem niedrigeren  $R_F$ -Wert als die trans-Form.

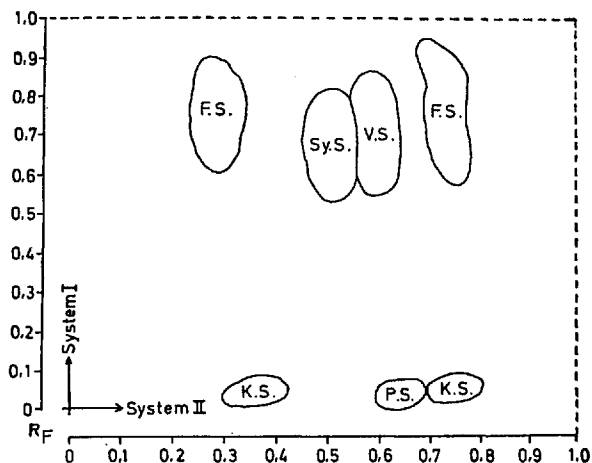


Abb. 1. Zweidimensionales Papierchromatogramm authentischer Phenolcarbonsäuren: Vanillinsäure (V.S.), Ferulasäure (F.S.), Kaffeesäure (K.S.), Syringassäure (Sy.S.) und Protocatechusäure (P.S.). Lösungsmittelsysteme I und II. Sichtbarmachung der Substanzen mit diazotierter Sulfanilsäure.

Abb. 2 zeigt ein charakteristisches Chromatogramm eines Haferflockenextraktes. Die Identifizierung der durch UV-Kontaktphotographie nachweisbaren Substanzflecken 1, 2, 2', 3 und 3' erfolgte einmal durch Bestimmung der  $R_F$ -Werte nach Rechromatographie in den Systemen I, II und III und mit Hilfe von entsprechenden Mischchromatogrammen mit Vanillinsäure (1), Ferulasäure (2, 2') und Kaffeesäure (3, 3').

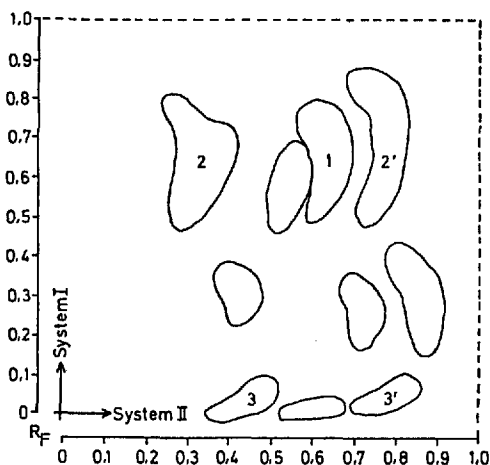


Abb. 2. Zweidimensionales Papierchromatogramm von Haferflockenextrakt. Lösungsmittelsysteme I und II.

Tab. 1 zeigt exemplarisch das Ergebnis der papierchromatographischen Analysen am Beispiel von Substanzen, die in Reismehlextrakt nachweisbar waren.

*Tabelle 1.* Papierchromatographische Identifizierung der in Reismehlextrakt nachgewiesenen Substanzen 1, 2 und 3. Aufsteigende Chromatographie auf WHATMAN-Papier Nr. 1. Lösungsmittelsysteme: I, II und III. Laufzeit: jeweils 1,5 Std. bei 25°

R <sub>F</sub> -Werte									
Lösungsmittelsystem	authentische Vanillinsäure	Substanz 1	Mischchromatogramm	authentische Ferulasäure	Substanz 2	Mischchromatogramm	authentische Kaffeesäure	Substanz 3	Mischchromatogramm
I	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,73	0,11	0,08	0,09
II	0,70	0,70	0,69	0,38	0,38	0,38	0,36	0,36	0,36
				0,70	0,70	0,70	0,80		0,80
III	0,78	0,78	0,78	0,74	0,73	0,73	0,27	0,26	0,26

In Tab. 2 sind die authentischen und papierchromatographisch abgetrennten Substanzen in ihrem unterschiedlichen Verhalten bezüglich der UV-Fluoreszenz sowie die Farben der auf den Chromatogrammen sichtbaren Kupplungsprodukte mit den Diazo-Reagentien aufgeführt.

*Tabelle 2.* Authentische und papierchromatographisch nachgewiesene Substanzen in ihrem Verhalten bezüglich der UV-Fluoreszenz und deren Farbreaktionen nach Behandlung mit Diazo-Reagenzien

	authentische Vanillinsäure	Substanz 1	authentische Ferulasäure	Substanz 2	authentische Kaffeesäure	Substanz 3
Fluoreszenz im UV	—	—	blau	blau	hellgrün	hellgrün
Diaz. Sulfanilsäure	orange	orange	violett	violett	graubraun	graubraun
Diaz. p-Nitranilin	violett	violett	blau	blau	braun	braun
Diaz. Roses Reagenz	rotviolett	rot-violett	violett	violett	graubraun	graubraun

Zum weiteren Beweis für die Identität von Eluaten mit Vanillinsäure, Ferulasäure bzw. Kaffeesäure wurden in einigen Fällen jeweils die Absorptionsspektren der Kupplungsprodukte mit diazotiertem p-Nitranilin aufgenommen (Abb. 3).

Analoge Absorptionsspektren, die nach Kupplung von Eluaten (Vanillinsäure aus Erbsen-, Ferulasäure aus Reismehl-, Kaffeesäure aus Pampelmuseneextrakt) mit diazotiertem ROSES Reagenz aufgenommen wurden, zeigten die gleichen Maxima wie die entsprechenden Spektren von Vanillinsäure (492  $m\mu$ ), Ferulasäure (HM<sup>1</sup>: 510  $m\mu$ , NM<sup>2</sup>: 330  $m\mu$ ) und Kaffeesäure (HM: 350  $m\mu$ , NM: 500  $m\mu$ ).

Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure (aus Haferflockenextrakt) wurden nach Rechromatographie und Elution (38) zusätzlich der UV-Spektroskopie zugeführt. Die Absorptionsmaxima wiesen Übereinstimmung mit denen der authentischen Substanzen auf (Vanillinsäure HM: 255  $m\mu$ , NM: 288  $m\mu$ ;

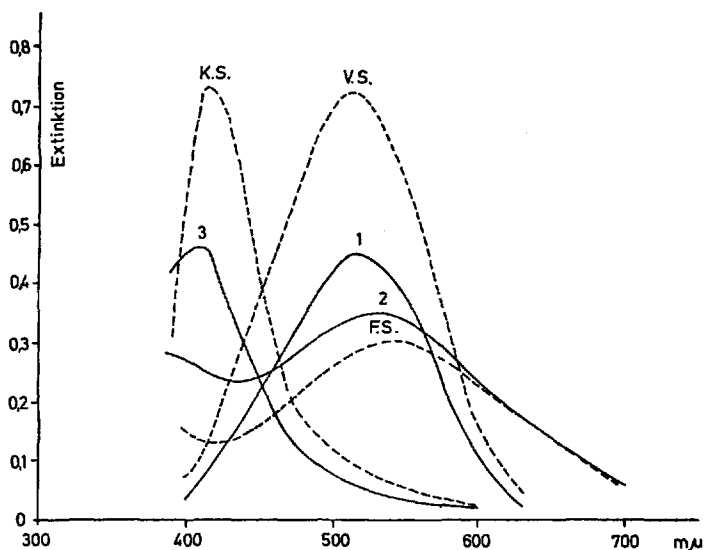
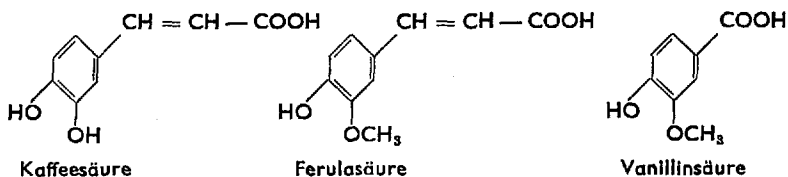


Abb. 3. Absorptionskurven der Kupplungsprodukte von diazotiertem p-Nitranilin mit authentischer Vanillinsäure (V.S.), Ferulasäure (F.S.) und Kaffeesäure (K.S.) im Vergleich zu den entsprechenden Spektren der aus Papierchromatogrammen eluierten Substanzen 1, 2 (Kirschenextrakt) und 3 (Haferflockenextrakt)

Ferulasäure HM: 320  $m\mu$ , NM: 280  $m\mu$ ; Kaffeesäure HM: 320  $m\mu$ , NM: 290  $m\mu$ ). Auch IR-Spektren von Eluatrückständen (Vanillinsäure und Ferulasäure aus Haferflockenextrakt) stimmten in ihrem Kurvenverlauf mit denen der authentischen Phenolcarbonsäuren überein.



<sup>1</sup>) HM = Hauptmaximum

<sup>2</sup>) NM = Nebenmaximum

Insgesamt wurden 18 verschiedene pflanzliche Nahrungsmittel (Tab. 3) qualitativ auf Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure untersucht. Im Falle der bisher noch nicht erwähnten pflanzlichen Nahrungsmittel wurde der Identitätsbeweis geführt aufgrund der  $R_F$ -Werte in den Lösungsmittelsystemen I und II sowie aufgrund der nach Kupplung mit diazotiertem p-Nitranilin und mit diazotierter Sulfanilsäure auf dem Papier entstandenen Farbflecke (Färbungen s. Tab. 2).

Tabelle 3. Vorkommen und Gehalt von Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure in pflanzlichen Nahrungs- und Genußmitteln. getr.: getrocknet (s. Material); fr.: frisch

	Vanillinsäure $\mu\text{g}/100\text{ g}$	Ferulasäure $\mu\text{g}/100\text{ g}$	Kaffeesäure $\mu\text{g}/100\text{ g}$
Apfel, getr.	65	56	323
Pflaume, getr.	45	54	320
Birne, getr.	91	+	+
Erdbeere, fr.	17	—	—
Johannisbeere, fr.	207	—	+
Süßkirsche, fr.	202	+	+
Aprikose, fr.	77	+	+
Pampelmuse, fr.	+	+	+
Spinat, getr.	320	+	+
Kartoffel, getr.	32	+	+
Kartoffel, fr.	10	60	74
Erbse, fr.	50	+	+
Weißkohl, fr.	18	+	+
Tomate, fr.	10	9	77
Möhre, fr.	+	+	—
Reismehl	152	680	368
Haferflocken	184	272	288
Brot	109	+	+
Kaffee	16	70	240

### Quantitative Untersuchungen

Die quantitative Bestimmung von Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure in Eluatn aus Papierchromatogrammen erfolgte spektrophotometrisch nach Kupplung mit diazotiertem Roses Reagenz (36). Abb. 4 zeigt die entsprechenden Eichkurven, die 60 Min. nach Beginn der Reaktion erstellt wurden.

In Tab. 3 sind die in 16 verschiedenen Nahrungs- und Genußmitteln pflanzlicher Herkunft gefundenen Mengen von Vanillinsäure bezogen auf 100 g Ausgangsmaterial (Trocken- bzw. Frischgewicht) angegeben. Bei 7 Produkten wurde außerdem der Gehalt an Ferulasäure und Kaffeesäure bestimmt.

Um die Genauigkeit der angegebenen Methode zur Bestimmung von Phenolsäuren in pflanzlichem Material zu ermitteln, wurden Wiederfindungs-

versuche (s. Methodik) durchgeführt. Die jeweilige prozentuale Wiederfindung ist aus der folgenden Aufstellung ersichtlich:

	Haferflocken	Reismehl	Kartoffeln
Vanillinsäure	76,0%	78,4%	68,0%
Ferulasäure	65,6%	68,8%	70,0%
Kaffeesäure	70,0%	82,0%	88,0%

Wir haben auf die Anwendung der entsprechenden Korrekturfaktoren verzichtet. In Tab. 3 sind also nur die tatsächlich gefundenen Werte enthalten.

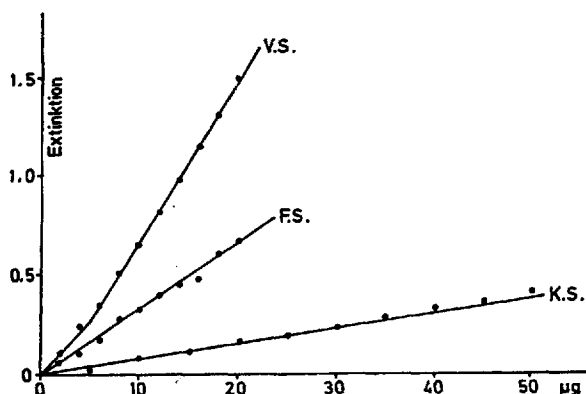


Abb. 4. Eichkurven von Vanillinsäure (V.S.), Ferulasäure (F.S.) und Kaffeesäure (K.S.), aufgestellt nach Kupplung der Substanzen mit diazotiertem Rosés Reagenz

#### *Isolierung von Vanillinsäure und Syringasäure in kristalliner Form aus Haferflocken*

Der Extraktrockenrückstand aus 500 g Haferflocken wurde in 4 ml Methanol gelöst und in aliquoten Teilen (wie beschrieben) der zweidimensionalen Chromatographie unterworfen. Aus insgesamt 34 so erhaltenen Papierchromatogrammen wurden jeweils Papierareale, die gemäß ihrer durch UV-Kontaktphotographie ermittelten Lage Vanillinsäure bzw. Syringasäure enthielten, ausgeschnitten und eluiert. Der Trockenrückstand aller vereinigten Eluate wurde säulenchromatographisch an Amberlite aufgetrennt (s. Methodik).

Aus den gemäß papierchromatographischer Kontrolle Vanillinsäure enthaltenden Fraktionen (160–165) ließ sich durch Ätherextraktion eine kristalline Substanz isolieren und als Vanillinsäure identifizieren. Nach Mikrosublimation zeigte die isolierte Substanz das gleiche Kristallbild wie Vanillinsäure. Sie schmolz auf dem Mikroskop-Heiztisch bei 195° (unkorr.) und zeigte mit authentischer Substanz vom Schmelzpunkt 192° (unkorr.) keine Schmelzpunktniedrigung. Die UV-Spektren der isolierten und der authentischen Substanz (Abb. 5) sowie die Absorptionsspektren der Kupplungsprodukte von isolierter und authentischer Vanillinsäure mit diazotiertem Rosés Reagens stimmten jeweils in ihrem Kurvenverlauf überein.



Aus den gemäß papierchromatographischer Kontrolle Syringasäure enthaltenden Fraktionen (142–155) ließ sich nach Ätherextraktion ebenfalls eine kristalline Substanz isolieren. Ihr Mikroschmelzpunkt lag bei  $195^{\circ}$  (unkorr.). Der Mischschmelzpunkt mit authentischer Syringasäure [Schmelzpunkt:  $190^{\circ}$  (unkorr.)] war nicht erniedrigt. Das UV-Spektrum der isolierten Substanz stimmt mit dem der authentischen überein (Abb. 5). Die Kupplungsprodukte von isolierter und authentischer Syringasäure mit diazotiertem Roses Reagenz haben übereinstimmend ein Extinktionsmaximum bei  $520\text{ m}\mu$ .

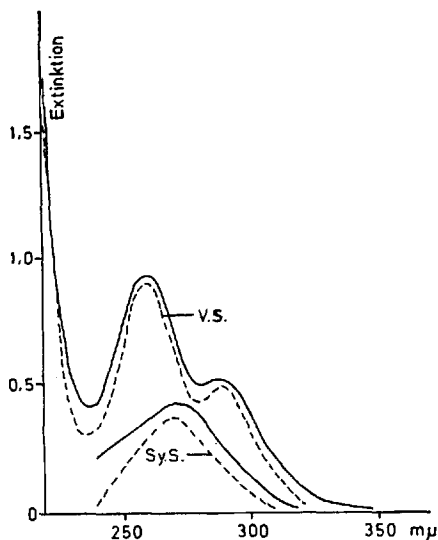


Abb. 5. UV-Spektren der aus Haferflocken isolierten Vanillinsäure und Syringasäure (ausgezogen) im Vergleich zu denen der authentischen Substanzen (gestrichelt)

### Diskussion

Als exogene Quellen der im menschlichen Harn ausgeschiedenen Vanillinsäure kommen eine Reihe von Nahrungs- und Genußmitteln pflanzlicher Herkunft in Betracht, die diese Phenolcarbonsäure selbst oder auch deren Muttersubstanzen Ferulasäure und Kaffeesäure enthalten. (Auf die Bestimmung weiterer Vorstufen, wie z. B. Protocatechusäure und Katechin, wurde verzichtet.) Von den 18 verschiedenen Nahrungs- und Genußmitteln, die in dieser Arbeit untersucht wurden, enthielten alle Vanillinsäure. Ferulasäure bzw. Kaffeesäure wurden lediglich in Erdbeere und Johannisbeere bzw. Erdbeere und Möhre nicht gefunden.

Johannisbeere und Süßkirsche wiesen den höchsten Vanillinsäuregehalt auf (ca.  $200\text{ }\mu\text{g}/100\text{ g}$  Frischgewicht). Die anderen Obstsorten enthalten wesentlich weniger Vanillinsäure, ebenso die Gemüsesorten, mit Ausnahme des Spinats, wobei zu berücksichtigen ist, daß es sich um Trockenspinat handelte. Erwähnenswert ist noch der Gehalt von Haferflocken und Reismehl an Vanillinsäure. Reis enthält eine auffallend hohe Menge an Ferulasäure ( $680\text{ }\mu\text{g}/100\text{ g}$ )

und Kaffeesäure (368  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ). 100 g der untersuchten Brotsorte enthielten rund 100  $\mu\text{g}$  Vanillinsäure.

Es ergibt sich die Frage, wie weit die bei gemischter Kost erfolgende Vanillinsäure-Ausscheidung im Harn durch den Gehalt pflanzlicher Nahrungsmittel an Vanillinsäure selbst und an Vorstufen derselben, wie Ferula- und Kaffeesäure, erklärbar ist.

Dabei spielen eine Rolle a) die aufgenommene Menge der betreffenden Nahrungsmittel, b) ihr Gehalt an Vanillinsäure, c) ihr Gehalt an Vorstufen, d) der Grad der Umwandlung dieser Vorstufen in Vanillinsäure.

Die mit der Nahrung aufgenommene Vanillinsäure wird vom menschlichen Körper nicht weiter abgebaut und als solche bzw. teilweise als Vanilloylglycin im Harn ausgeschieden (die gebundene Vanillinsäure wird bei unserer Bestimmungsmethode mit erfaßt, da der Harn zunächst sauer hydrolysiert wird).

Die beiden Vorstufen werden im Organismus nur teilweise in Vanillinsäure umgewandelt. So wurden nach Gabe von 1 g Kaffeesäure beim Menschen 16% als Vanillinsäure (frei + gebunden) ausgeschieden (8).

Auch mit Homogenaten menschlicher Autopsielebern fand nur eine teilweise Umwandlung von Kaffee- und Ferulasäure in Vanillinsäure statt (9).

Wenn man alle erwähnten Faktoren berücksichtigt, vor allem auch in Betracht zieht, in welchen Mengen die einzelnen Nahrungsmittel aufgenommen zu werden pflegen, dann tragen die in Tab. 3 erwähnten Produkte vielleicht zu einer Ausscheidung von 1–2 mg Vanillinsäure bei, die zu der endogenen Vanillinsäure zu addieren wären.

Aus der Tab. 3 ist aber auch zu entnehmen, daß es möglich ist, die Vanillinsäureausscheidung auch bei gemischter Kost durch Auswahl geeigneter Vegetabilien sehr niedrig zu halten. Eine solche Diät ist geeignet zu prüfen, welche Nahrungs- und Genußmittel in größerem Umfang zur Vanillinsäureausscheidung beitragen. Darüber wird in einer weiteren Arbeit berichtet werden.

### *Zusammenfassung*

18 verschiedene pflanzliche Nahrungs- und Genußmittel wurden qualitativ auf Vanillinsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure untersucht. Die Identität der papierchromatographisch isolierten mit den authentischen Phenolsäuren wurde aufgrund der  $R_F$ -Werte und der Farben der mit diazotiertem p-Nitranilin und diazotierter Sulfanilsäure auf dem Papier entstandenen Kupplungsprodukte bewiesen. In mehreren Fällen wurden zur Identifizierung weitere Untersuchungsmethoden herangezogen: Rechromatographie in verschiedenen Lösungsmittelsystemen, Mischchromatogramme; Absorptionsspektren von Papiereluat nach Kupplung mit diazotiertem p-Nitranilin und diazotiertem [ $\beta$ -Diäthylamino-äthyl]-[p-aminophenyl]-sulfon; UV- und IR-Spektren von Papiereluat.

Vanillinsäure und Syringasäure wurden mit Hilfe der Säulenchromatographie an Amberlite in kristalliner Form aus Haferflocken isoliert.

In 16 verschiedenen Nahrungs- und Genußmitteln pflanzlicher Herkunft wurde Vanillinsäure, in 7 von ihnen wurden außerdem Ferulasäure und Kaffeesäure quantitativ bestimmt.

Die Ergebnisse werden in bezug auf die Vanillinsäure-Ausscheidung im menschlichen Harn diskutiert.

### *Literatur*

1. DIRSCHERL, W. und W. SCHMIDTMANN, *Naturwiss.* **46**, 329 (1959). — 2. BOSCOIT, R. J. und W. T. COOKE, *Quart. J. Med. N.S.* **23**, 307 (1954). — 3. DIRSCHERL, W. und A. WIRTZFELD, *Z. physiol. Chem.* **336**, 81 (1964). — 4. DIRSCHERL, W., H. THOMAS und

- H. SCHRIEFERS, Gewebs- und Neurohormone, 8. Symp. Deutsch. Ges. Endokrinol., München, 1.-3. 3. 1961, S. 18 (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962). — 5. DIRSCHERL, W., H. THOMAS und H. SCHRIEFERS, *Acta Endocrinol.* **39**, 385 (1962). — 6. ROSEN, L. und M. C. GOODALL, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* **110**, 767 (1962). — 7. DIRSCHERL, W. und B. BRISSE, *Acta Endocrinol.* **45**, 641 (1964). — 8. BOOTH, A. N., O. H. EMERSON, F. T. JONES und F. DEEDS, *J. Biol. Chem.* **229**, 51 (1968). — 9. DIRSCHERL, W. und B. BRISSE, *Z. physiol. Chem.* **346**, 55 (1966). — 10. STOLL, S. und Y. BOUTEVILLE, *Ann. fals. fraudes* **47**, 183 (1954). Zitiert nach C. A. **48**, 131, 71 (1954). — 11. ANWAR, M. H., *Anal. Chem.* **35**, 1974 (1963). — 12. SYNODINOS, E., E. KOKKOTI-KOTAKIS und G. KOTAKIS, *Riv. Ital. Sostanze Grasse* **41**, 156 (1964). Zitiert nach C. A. **62**, 7583 (1965). — 13. MASSART, L. und A. JANSSENS, *Arch. intern. physiol. biochim.* **65**, 163 (1957). — 14. OKAHARA, K. und S. TANIGUCHI, *Osaka Shiritsu Daigaku Igaku Zasshi* **9**, 441 (1960). Zitiert nach C. A. **54**, 17580 (1960). — 15. OBATA, Y., Y. SENBA und M. KOSHIKA, *Agr. Biol. Chem. (Tokyo)* **27**, 340 (1963). Zitiert nach C. A. **59**, 5351 (1963). — 16. MASSART, L., *Biokhimiya* **22**, 417 (1957). Zitiert nach C. A. **51**, 11487 (1957). — 17. BECKMANN, S. und A. MANZ, *Chem. Ber.* **92**, 161 (1959). — 18. BECKMANN, S. und D. VOLKMANN, *Naturwiss.* **52**, 208 (1965). — 19. ACHMATOWICZ, O. und F. WERNER-ZAMOJSKA, *Roczniki Chem.* **32**, 1127 (1958). Zitiert nach C. A. **53**, 5590 (1959). — 20. IMAMURA, H. und M. SUDA, *Nippon Mokuzai Gakkasishi* **8**, 127 (1962). Zitiert nach C. A. **57**, 14033 (1962). — 21. SMITH, D. C. C., *J. Chem. Soc.* **2347** (1955). Zitiert nach C. A. **49**, 15231 (1955). — 22. KUWATSUKA, S. und Y. OSHIMA, *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **35**, 67 (1961). Zitiert nach C. A. **59**, 11889 (1963). — 23. YAMAMOTO, A., K. SASAKI und R. SARUNO, *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **35**, 715 (1961). Zitiert nach C. A. **60**, 3455 (1964). — 24. IBRAHIM, R. K. und G. H. N. TOWERS, *Arch. of Biochem.* **87**, 125 (1960). — 25. CAVALIE, G., *Compt. Rend.* **258**, 689 (1964). Zitiert nach C. A. **60**, 12384 (1964). — 26. EL BASYOUNI, S. und G. H. N. TOWERS, *Can. J. Biochem.* **42**, 203 (1964). — 27. EL BASYOUNI, S. und A. C. NEISH, *Phytochemistry* **5**, 683 (1966). — 28. TOWERS, G. H. N., A. TSE und W. S. G. MAASS, *Phytochemistry* **5**, 677 (1966). — 29. BUSH, I. E., *Biochem. J.* **50**, 370 (1952). — 30. BRAY, H. G., W. V. THORPE und K. WHITE, *Biochem. J.* **46**, 271 (1950). — 31. SCHRIEFERS, H., H. THOMAS und F. POHL, *Clin. Chim. Acta* **8**, 744 (1963). — 32. ARMSTRONG, M. D., K. N. F. SHAW und P. E. WALL, *J. Biol. Chem.* **218**, 293 (1956). — 33. THOMAS, H., *J. Chromatog.* **34**, 106 (1968). — 34. SEKI, T., K. INAMORI und K. SANO, *J. Biochem. (Tokyo)* **46**, 1653 (1959). — 35. WIRTZFELD, A., *Dissertation Med. Fak. (Bonn 1964)*. — 36. THOMAS, H. und W. DIRSCHERL, *Arzneimittel-Forsch.* **12**, 429 (1962). — 37. SELIGSON H., B. KRAMER, D. SELIGSOHN und H. BALTRUSH, *Analyt. Biochem.* **6**, 362 (1963). — 38. DEEDS, F., A. N. BOOTH und F. T. JONES, *J. Biol. Chem.* **225**, 615 (1957). — 39. YANG, C. H., Y. NAKAGAWA und S. H. WENDER, *J. Org. Chem.* **25**, 658 (1960). — 40. PICTET, G. und H. BRANDENBERGER, *J. Chromatog.* **4**, 396 (1960). — 41. YANG, C. H. und S. H. WENDER, *J. Chromatog.* **8**, 82 (1962). — 42. TANNER, H. und H. RENTSCHLER, *Fruchtsaft-Ind.* **1**, 231 (1956) Zitiert nach C. A. **51**, 12377 (1957). — 43. WILLIAMS, A. H., *Chemistry and Industry* **1955**, 120. — 44. WILLIAMS, A. H., *Chemistry and Industry* **1956**, 478.

Anschrift der Verfasser:

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Bonn, 5300 Bonn