

Bestimmung der Phenolcarbonsäuren (Hydroxybenzoesäuren und Hydroxyzimtsäuren) in Rebblättern, Weintrauben und Wein mittels Mikro-Polyamid-Dünnschichtchromatographie

von

A. RAPP und A. ZIEGLER

Analysis of the phenolcarboxylic acids (hydroxybenzoic acids and hydroxycinnamic acids) in grape leaves, berries, and wine by micro-polyamide thin-layer chromatography

S u m m a r y . — In order to achieve a rapid two-dimensional separation of hydroxybenzoic acids and hydroxycinnamic acids on micro-polyamide layer sheets, a series of solvent combinations was investigated. The most suitable solvents are given in Table 1. In a watery solvent, the cis-isomer and trans-isomer cinnamic acid derivatives can easily be separated from each other. In order to separate the methoxy compounds from the corresponding hydroxy compounds, the mixture benzol + glacial acetic acid proved successful as a solvent. The separation takes 20—80 minutes, according to the solvent.

A summary is given of the phenolcarboxylic acids in grapes and vine leaves. Free salicylic acid and gentisic acid in grapes are only to be found in the later maturity stages.

The main differences in the phenolcarboxylic pattern of the cultivars investigated are caused by the quantitative differences in syringic acid, ferulic acid and two other components which are not as yet identified.

Einleitung

Die Hydroxybenzoesäuren und Hydroxyzimtsäuren bilden eine in der Pflanzenwelt weitverbreitete Klasse aromatischer Verbindungen. Sie kommen in freier Form oder auch als Glycoside bzw. Ester in allen Pflanzenorganen vor und haben eine starke Wirkung auf das Wachstum von Mikroorganismen und Pflanzen. Ferner sind sie als Aromakomponenten für das Geschmacks- und Geruchsbild beim Verzehr von Lebens- und Genußmitteln von Bedeutung; sie spielen somit auch für die Charakterisierung einer Rebsorte eine Rolle.

Die gärfhemmende und antimikrobielle Wirkung phenolischer Verbindungen ist schon längere Zeit bekannt (MARCILLA *et al.* 1936, LÜTHI 1957, SCHANDERL 1962). So konnten MASQUELIER und RICCI (1964) nachweisen, daß Zimtsäurederivate im Wein die grampositiven Bakterien zerstören. Ferner zeigten MASQUELIER und DELAUNEY (1965), daß z. B. p-Cumarsäure stärker als Ferulasäure den Bakterienbefall des Weines verhindert; den geringsten Einfluß zeigen Protocatechusäure und Chlorogensäure. SIKOVEC (1966) hat den Einfluß verschiedener phenolischer Verbindungen auf die Physiologie von Weinhefen untersucht.

Auf das Pflanzenwachstum haben die Phenolcarbonsäuren in schwacher Konzentration eine fördernde, in starker eine hemmende Wirkung (SÖCHTIG 1964). Besonders p-Cumarsäure und Ferulasäure beeinflussen die Aktivität der Indolylessigsäure erheblich (HERRMANN 1965). SCHMID und FLAIG (1962) stellten eine Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung durch Phenolcarbonsäuren fest. Über die Hemmwirkung der Hydroxybenzoesäuren und Hydroxyzimtsäuren bei Pflanzen, die derjenigen der Abscisinsäure ähnlich ist, haben einige Autoren berichtet (GUERN 1964, JANGAARD *et al.* 1971). ISAIA (1971) fand bei Weizen eine signifikante Hemmung des

Längenwachstums durch Ferula- und p-Cumarsäure in Konzentrationen von $1,4 \cdot 10^{-4}$ mol/l.

In der Proteinsynthese wird der Einbau von Leucin u. a. durch Ferulasäure, o-Cumarsäure, Gallussäure gefördert, wobei die Wirkung mit steigender Anzahl von OH-Gruppen zunimmt (Köves *et al.* 1972).

Qualitative Angaben über das Vorkommen phenolischer Verbindungen in Obst finden sich in den Sammelreferaten von HERRMANN (1963, 1966, 1973) und VAN BUREN (1970), für Trauben und Wein bei RIBÉREAU-GAYON (1968) sowie SINGLETON und ESAU (1969). Die intensive Bearbeitung der phenolischen Inhaltsstoffe von Pflanzenmaterial wurde namentlich durch die Einführung der Papierchromatographie vor etwa 20 Jahren gefördert (zusammenfassende Darstellungen der papierchromatographischen Auftrennung von Phenolcarbonsäuren bei LINSKENS (1955) und PROCHAZKA *et al.* (1958)). In Weinen und Rebenblättern wurden durch HENNIG und BURKHARDT (1958) sowie durch RIBÉREAU-GAYON (1964, 1968) auf papierchromatographischem Wege einige Phenolcarbonsäuren bestimmt. Die Trennung dieser Komponenten auf Kieselgel-Schichten wird von STAHL und SCHORN (1961) sowie von PASTUSKA (1962) beschrieben. PIFFERI (1965) trennte Phenolcarbonsäuren verschiedener Weine auf Kieselgel-G-Schichten. WANG (1959) benutzte zur Trennung phenolischer Verbindungen als erster Polyamid-imprägniertes Papier. Nach ihm wandte eine Reihe von Autoren (EGGER 1961, LIN *et al.* 1962, UNION *et al.* 1963, HÖRHAMMER *et al.* 1968) die Polyamid-Dünnschichtchromatographie zur Auftrennung der Phenolcarbonsäuren aus unterschiedlichem Material an.

In der vorliegenden Arbeit soll ein Verfahren zur schnellen Trennung der Phenolcarbonsäuren aus Reblättern, Trauben und Wein auf Mikro-Polyamid-Schichten (Plattengröße $7,5 \times 7,5$ cm) beschrieben werden.

Material und Methoden

250 ml Wein werden in einem Rotationsverdampfer bei 35 °C auf die Hälfte eingengt und anschließend zuerst 1mal mit 25 ml, danach 9mal mit 10 ml Äther extrahiert (oder 20 h in einer Flüssig-Flüssig-Extraktionsapparatur). Die Ätherfraktion wird mit 10 ml Bicarbonatlösung, danach mit 10 ml Wasser ausgeschüttelt. Dieser Vorgang wird 7mal wiederholt. Die Bicarbonat- und Wasserfraktionen werden vereint, mit 2n H_2SO_4 angesäuert (pH 2–4) und anschließend 10mal mit 10 ml Äther (oder 12 h in einer Flüssig-Flüssig-Extraktionsapparatur) rückextrahiert. Der Ätherauszug wird über Na_2SO_4 getrocknet und im Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mit 1–2 ml Methanol aufgenommen und in Probemengen von 0,5 bis 10 μ l zur dünnschichtchromatographischen Analyse eingesetzt.

Bei Blattproben werden 200 g frische Blätter in 1000 ml 80%igem wäbrigem Methanol homogenisiert (Ultra-Turrax). Nach dem Abzentrifugieren wird die methanolische Lösung im Rotationsverdampfer eingedampft und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Die wäßrige Lösung wird mit Äther extrahiert, die weitere Aufarbeitung erfolgt wie oben.

Bei Traubenproben werden 200 g Beeren in 600 ml 80%igem wäbrigem Methanol homogenisiert und dann genau wie das Blattmaterial aufgearbeitet. — Zur Spaltung der glykosidisch gebundenen Phenolcarbonsäuren wird die wäßrige Lösung 2n schwefelsauer eingestellt und 2 h bei 70° C hydrolysiert; anschließend werden die gesamten Phenolcarbonsäuren mit Äther extrahiert.

Die dünnschichtchromatographische Auftrennung erfolgte auf Mikropolyamid 1700 Fertigplatten (Fa. SCHLEICHER & SCHÜLL), die wir in $7,5 \times 7,5$ Platten unterteil-

ten. Die Entwicklung wurde in Desaga Kammern vorgenommen. Die Fließmittelmenge betrug 20 ml, die Laufzeit je nach Fließmittel 20 bis 80 Minuten.

Da man einige Säuren wie Vanillinsäure und Syringasäure durch Fluoreszenz im ultravioletten Licht nicht, andere wie p-Cumarsäure, Ferulasäure, Salicylsäure und p-Hydroxybenzoesäure nur mit geringer Empfindlichkeit nachweisen kann, haben wir stets Sprühmittel zur Detektion benutzt. Dabei haben sich besonders gut geeignet:

- a) 5% FeCl_3 in methanolischer Lösung;
- b) diazotiertes p-Nitranilin (0,3 g p-Nitranilin werden in 8%iger HCl gelöst, davon werden 2 Teile mit 1 Teil 5% NaNO_2 -Lösung gemischt. Nach dem Besprühen mit p-Nitranilin wird auf der Platte durch nachfolgendes Besprühen mit 15%iger Na_2CO_3 -Lösung alkalisiert);
- c) diazotierte Sulfanilsäure (wie unter b hergestellt und angewandt);
- d) 2,6-Dibromchinonchlorimid (0,4% in Methanol; anschließend mit 10% Na_2CO_3 -Lösung auf der Platte alkalisieren).

Ergebnisse und Diskussion

Die Affinität der Phenolcarbonsäuren zu Polyamid, die mit der Zahl der OH-Gruppen zunimmt, beruht auf der Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen der Hydroxylgruppe und der Amidbindung. Wie GRASSMANN *et al.* (1960) aufgrund der Bindungsenergie von $\text{OH}\cdots\text{O}$ feststellten, kann die phenolische OH-Gruppe die intramolekularen Wasserstoffbrücken zwischen $\text{NH}\cdots\text{O}$ aufbrechen. Hierbei quillt das Polyamid, dies erklärt seine große Aufnahmekapazität. Wegen dieses Verhaltens wird das Polyamid von GRASSMANN als „festes Lösungsmittel“ bezeichnet. Zur Desorption der Phenolcarbonsäuren sind diejenigen Lösungsmittel besonders gut geeignet, die mit der Amidbindung des Polyamids eine feste Wasserstoffbrücke bilden (z. B. Alkohole), sowie solche, die als Protonenakzeptoren fungieren und zusätzlich noch eine starke Affinität zur Phenolcarbonsäure besitzen (z. B. Ketone).

Zur Trennung haben wir etwa 250 verschiedene Fließmittel geprüft. In Tabelle 1 sind diejenigen mit den besten Ergebnissen zusammengestellt. Tabelle 2 enthält die R_f -Werte der Phenolcarbonsäuren aus Blättern, Wein und Trauben bei den verschiedenen Fließmitteln. Es zeigte sich, daß Kombinationen einer stark polaren Komponente (Säure, Alokohol) mit einer schwach polaren (Äther, Ketone, Ester) und einer unpolaren (aliphatische Kohlenwasserstoffe, Benzol), bei ähnlichem Siedepunkt der einzelnen Verbindungen, sehr gut geeignet sind. Die Trenneigenschaften der Fließmittel nehmen mit steigendem Molekulargewicht ab (Ameisensäure ist besser geeignet als Essigsäure). Für die 2. Laufrichtung sind Fließmittel, die Wasser enthalten (siehe Tabelle 1: Nr. 13, 14, 15), besser geeignet als solche ohne Wasser. In nichtwäßrigen Fließmitteln sind die R_f -Werte um so größer, je weniger OH-Gruppen das Molekül besitzt. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, ist somit der R_f -Wert von Salicylsäure (bei Fließmittel 1—12) höher als der der Gentsinsäure. Dies gilt auch für die Reihe p-Hydroxybenzoesäure — Protocatechusäure — Gallussäure. Bei wäßrigen Fließmitteln werden die cis- und trans-Isomeren besser getrennt als bei nicht wäßrigen (Tabelle 2: Fließmittel 13—15). Dies wurde auch bei papierchromatographischer Trennung von HENNIG und BURKHARDT (1958) mit dem Fließmittelgemisch Butanol : Eisessig : Wasser festgestellt. In Fließmitteln ohne Säureanteil erhält man bei den o-Hydroxy-Säuren kleinere R_f -Werte als bei den p-Hydroxy-Säuren (vgl. Tabelle 2: Salicylsäure-p-Hydroxybenzoesäure, Fließmittel 14, 6, 3). Wird anstelle der Säure Alkohol als polare Komponente benutzt, so werden die in Startnähe befindlichen kondensierten Stoffe besser aufgetrennt. Dabei ist zu beachten, daß

T a b e l l e 1
Zusammensetzung der Fließmittel
Solvent combinations

Nr.		Volumenverhältnis		
1	Benzol	Ameisensäure-propylester	Äthanol	13 : 5 : 2
2	Pentanon-2	Ameisensäure-butylester	Ameisensäure	15 : 4 : 1
3	—	Nitromethan	Propanol-1	13 : 7
4	i-Octan	Ameisensäure-äthylester	Ameisensäure	9,25 : 10 : 0,75
5	—	Essigsäure-propylester	Essigsäure	18 : 2
6	—	Ameisensäure-butylester	Propanol-1	17 : 3
7	Benzol	—	Essigsäure	16 : 4
8	i-Octan	Äthylmethylketon	Ameisensäure	11,25 : 8 : 0,75
9	Hexan	Ameisensäure-äthylester	Methanol	10 : 8 : 2
10	i-Octan	Diisopropyläther	Ameisensäure	10 : 8,5 : 1,5
11	Hexan	Ameisensäure-propylester	Ameisensäure	15,25 : 4 : 0,75
12	Benzol	Ameisensäure-propylester	Ameisensäure	15,25 : 4 : 0,75
13	Pentanon-2	Wasser	Ameisensäure	2 : 12 : 6
14	—	Wasser	Methanol	3 : 7
15	—	Wasser	Aceton	5 : 5

man im allgemeinen doppelt soviel Alkohol wie Säure benötigt.

Zur Trennung von p-Cumarsäure und Ferulasäure ist Benzol besser geeignet als aliphatische Kohlenwasserstoffe. Enthält das Fließmittel Äther oder Diisopropyläther, so erscheinen p-Cumarsäure und Ferulasäure in umgekehrter Reihenfolge wie bei den übrigen Fließmitteln (Tabelle 2: Fließmittel 10).

Wird als Fließmittel Benzol-Eisessig verwendet, so können die Methoxyverbindungen sehr gut von den entsprechenden Hydroxyverbindungen abgetrennt werden (Fließmittel 7).

Bei Verwendung von wäßrigen Fließmitteln ohne Säureanteil (Nr. 14 + 15) zeigen die o-Hydroxy-Verbindungen (Salicylsäure, Gentsinsäure) eine stark verminderte Wanderungsgeschwindigkeit. HÖRHAMMER *et al.* (1968) führen diese Tatsache auf eine Wasserstoffbrückenbildung innerhalb des Phenolmoleküls zurück.

Von den Sprühreagentien hat sich diazotiertes p-Nitranilin als günstiges Mittel für den Nachweis der untersuchten Verbindungen erwiesen. Es färbt im Gegensatz

Tabelle 2

R_F-Werte der Phenolcarbonsäuren (bezogen auf Vanillinsäure = 100)
 R_F-values of the phenolcarboxylic acids (compared with vanillic acid = 100)

Nr. des Fließ- mittels	Salicyl- säure	p- Hydroxy- benzoe- säure	Proto- catechu- säure	Vanillin- säure	Gentisin- säure	Gallus- säure	Syringa- säure	p-Cumar- säure		Kaffee- säure		Ferula- säure		*	**
								trans	cis	trans	cis	trans	cis		
1	107	64	27	100	45	5	111	70	68	32	38	105	102	107—93	25
2	118	73	37	100	63	14	106	75	71	53	46	100	98	98	35
3	64	75	46	100	18	18	118	82	80	43	89	105	95	107—86	48
4	110	77	48	100	62	10	94	73	71	50	50	94	94	81	31
5	94	82	46	100	56	26	102	84	74	56	58	104	98	92—82	22
6	46	74	35	100	9	7	112	79	63	49	56	102	91	93—72	35
7	102	35	10	100	13	0	102	42	31	11	6	104	96	73—65	10
8	108	89	36	100	81	9	98	83	85	45	49	98	100	96	30
9	107	67	30	100	27	7	100	65	60	27	40	92	90	90—65	17
10	139	107	51	100	98	16	63	91	107	44	39	74	81	49	21
11	142	77	33	100	47	5	67	65	56	33	33	79	81	53—47	7
12	112	63	26	100	47	7	100	70	63	30	33	100	98	84—79	23
13	70	81	84	100	73	86	108	65	81	59	89	76	89	111	100
14	10	85	76	100	7	76	112	54	71	49	78	54	83	22	10
15	8	84	105	100	8	81	119	65	76	54	78	78	92	22	8

* ** unbekannte Komponenten (färben sich beim Besprühen mit diaz. Nitranilin rot).

Tabelle 3

Färbung der Phenolcarbonsäuren bei den angewandten Sprühmitteln
 Phenolcarboxylic acid colouring caused by the spraying agents used

	Diazotiertes Nitranilin	Diazotierte Sulfanil- säure	FeCl ₃	2,6-Dibrom- chinon- chlorimid
Salicylsäure	gelb	gelb	violett	(blau)
p-Hydroxybenzoe- säure	rotviolett	gelb(ocker)	grün	(blau)
Protocatechusäure	ocker	weiß (brauner Ring)	grün	grün(gelb)
Vanillinsäure	blau-violett	rotbraun	grün	blau
Gentisinsäure	weiß(-gelb)	weiß(-gelb)	—	—
Gallussäure	gelb (brauner Ring)	gelb (brauner Ring)	stahlblau	gelb
Syringasäure	blau	rot	—	—
p-Cumarsäure	olivgrün(-grün)	rotbraun	grün	blau
Kaffeesäure	gelb (brauner Ring)	weiß (brauner Ring)	stahlblau	grünblau
Ferulasäure	olivgrün	braun-rot	schwachblau	blau
Chlorogensäure	gelb (brauner Ring)	braun	stahlblau	grün
*	rot	gelb	—	—
**	rot	gelb	—	—

*, ** unbekannte Komponenten

zu anderen diazotierten Verbindungen die Phenolcarbonsäuren in einem breiten Farbspektrum an (Tabelle 3). Diazotierte Sulfanilsäure ist zur Erkennung der Syringasäure sehr gut geeignet; sie wird als einzige Komponente rot gefärbt. Während bei den diazotierten Sprühmitteln die Methoxy-Verbindungen stärker gefärbt sind als die Hydroxy-Verbindungen, ist dies bei der Verwendung von FeCl₃ oder 2,6-Dibromchinonchlorimid umgekehrt. Das Letztgenannte hat sich besonders gut für Kaffeesäure, Gallussäure und Protocatechusäure bewährt.

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, sind in den Rebenblättern und Traubenbeeren eine Reihe von Hydroxybenzoesäuren (Salicylsäure, p-Hydroxybenzoesäure, Protocatechusäure, Vanillinsäure und Gallussäure) und Hydroxyzimtsäuren (p-Cumarsäure, Kaffeesäure und Ferulasäure) mit unterschiedlicher Konzentration enthalten. In Weinen fanden wir im allgemeinen alle freien Phenolcarbonsäuren in höherer Konzentration vor als in den entsprechenden Traubenbeeren. Das verstärkte Auftreten der Phenolcarbonsäuren im Wein spricht für eine Spaltung der (glykosidisch)

Tabelle 4
 Phenolcarbonsäuren in Blättern und Trauben verschiedener Rebsorten
 Phenolcarboxylic acids in the leaves and berries of various vine cultivars

Sorte	Ernte- datum	Salicylsäure	p-Hydroxybenzoe- säure	Protocatechu- säure	Vanillinsäure	Gentisinsäure	Gallussäure	Syringasäure	p-Cumar- säure		Kaffee- säure		Ferula- säure		*	**
									trans	cis	trans	cis	trans	cis		
V. rupestris																
Blätter	6. 10. 71	+	+++	+++	++	++	+++	—	+++	++	+	+	+	(+)	+	+
Beeren	6. 10. 71	—	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++
Oberlin 595																
Blätter	6. 10. 71	+++	++	+++	++	++	++	+	+++	++	++	+	—	—	++	+
Beeren	6. 10. 71	—	+	++	+	—	+	+++	+	(+)	+	(+)	—	—	+	(+)
Silvaner																
Blätter	5. 10. 71	++	++	+++	+	++	+++	—	+	(+)	++	+	+	(+)	—	—
Beeren	5. 10. 71	—	+	+++	+	—	(+)	—	+	(+)	+	(+)	+	(+)	—	—

* ** = unbekannte Komponenten.

— = unter Nachweisgrenze.

gebundenen Säuren, was auch von anderen Autoren gefunden wurde (RENTSCHLER und TANNER 1956, HENNIG und BURKHARDT 1958, RIBÉREAU-GAYON 1963).

Zwischen Blatt und Beere sind die größten Unterschiede im Gehalt an Salicylsäure und Gentisinsäure vorhanden. Zum Untersuchungszeitpunkt (5. 10. bzw. 6. 10.) lag die Konzentration der freien o-Hydroxysäuren (Salicylsäure und Gentisinsäure) in den Beeren unter der Nachweisgrenze. Über das Auftreten dieser Säuren in den Beeren im Laufe der Reifeperiode werden wir in einer weiteren Arbeit berichten. Obwohl schon 1903 TRAPHAGEN und BURKE Salicylsäure in Concord-Trauben nachweisen konnten, bestanden doch lange Zeit unterschiedliche Auffassungen über das natürliche Vorkommen der Salicylsäure in Trauben und Wein. Der Befund von TRAPHAGEN wurde inzwischen von mehreren Autoren bestätigt (WEBB 1962, RIBÉREAU-GAYON 1963, CHAUDHARY *et al.* 1968).

Vanillin-, Syringa-, Gentisin- und Protocatechusäure wurden auch von RIBÉREAU-GAYON (1963) nachgewiesen. TOMASZEWSKI (1960) konnte außer in Trauben auch in 122 verschiedenen Pflanzenarten Gentisinsäure feststellen, jedoch nur in gebundener Form. Hingegen fanden wir in Blättern und auch in Trauben fortgeschrittenen Reifegrades freie Gentisinsäure. PIFFERI (1965) konnte in Weinen verschiedener Sorten (Merlot, Raboso sowie Abkömmlingen von *V. riparia* × *V. labrusca*) weder Vanillinsäure noch o-Cumarsäure aufzeigen.

Nach DURMISHIDZE (1955) ist in Trauben und Wein Gallussäure nur in veresterter Form vorhanden. HENNIG und BURKHARDT (1958) konnten in Rieslingtrauben ebenfalls keine freie Gallussäure nachweisen; sie fanden sie jedoch — wie auch RIBÉREAU-GAYON (1963) — im Wein.

Über das Vorkommen der Hydroxyzimtsäuren haben viele Autoren berichtet; diese Arbeiten sind von SINGLETON und ESAU (1969) zusammenfassend dargestellt. Cis- und trans-Isomere wurden auch von HENNIG und BURKHARDT (1958) sowie von RIBÉREAU-GAYON (1964) nachgewiesen.

Wie aus Tabelle 4 weiter hervorgeht, sind in *V. rupestris* und Oberlin 595 zwei zusätzliche Komponenten enthalten, die sich mit diazotiertem Nitränilin rot anfärben, wobei die Komponente mit niedrigerem R_f -Wert bei frühen Reifestadien zuerst auftritt. Um welche Komponenten es sich hierbei handelt, soll weiter untersucht werden. Oberlin 595 unterscheidet sich von den beiden anderen Sorten auch durch einen unterschiedlichen Gehalt an Syringasäure und Ferulasäure. Die hier aufgezeigten Unterschiede im Vorhandensein einiger Phenolcarbonsäuren sind nur quantitativer Natur. Das Fehlen einer oder mehrerer Komponenten besagt lediglich, daß bei gleicher Ausgangsmenge und unter gleichen Versuchsbedingungen die Konzentration der entsprechenden Verbindungen die Nachweisgrenze der angewandten Methode nicht erreicht. Sortenspezifische Phenolmuster wurden auch von anderen Autoren gefunden. Nach RIBÉREAU-GAYON (1968) sind in Cabernet-Sauvignon keine p-Hydroxybenzoesäure und Sinapinsäure, p-Hydroxybenzoesäure dagegen in Semillon enthalten. Die Blätter von *V. vinifera* weisen höhere Flavonolgehalte als die von *V. amurensis* auf (SABAEW 1970). HENKE (1959) zufolge unterscheiden sich die reblausresistenten (= nicht befallbaren) *V. cinerea* ARNOLD und *V. vinifera* in der Zusammensetzung ihrer Flavonoide. YAP und REICHARDT (1964) sowie WAGNER *et al.* (1967) fanden bei *V. cinerea* ARNOLD Flavon-C-Glycoside (z. B. Vitexin, i-Vitexin, Orientin) und vermuteten eine Beziehung zwischen der Reblausresistenz dieser Rebenart bzw. ihrer Kreuzungsnachkommen und dem Vorhandensein dieser Komponenten. Nach den Befunden von KOSUGE (1969) bei mehreren Pflanzenspecies ist der Resistenzgrad mit dem Phenolgehalt korreliert. Das Vorkommen von Malvin bei *V. rupestris*- und *V. riparia*-Abkömmlingen ist aus verschiedenen Untersuchungen

bekannt (RENTSCHLER *et al.* 1961, DIEMAIR *et al.* 1963, CAPPELLERIE 1965, DORIER und VERELLE 1966, SOMERS 1966, FLANZY und BOURZEIX 1968). REUTHIER (1961) weist auf die Korrelation zwischen den physiologischen Resistenzmerkmalen gegen *Plasmopara viticola* und dem Diglycosid Malvin hin. BIEBER (1968) stellte Malvin jedoch auch in *V. vinifera*-Sorten fest.

Während über die Bitterstoffe in pflanzlichen Lebensmitteln (VAN BUREN 1970, HERRMANN 1972) und auch die Geschmacksbeeinflussung durch verschiedene phenolische Verbindungen (phenolische Glycoside: HOROWITZ 1969, Gallotanninsäure: JOSLYN und GOLDSTEIN 1964, Phenol: DADIC und VAN GHELUWE 1971, Naringin: DRAWERT 1970) Untersuchungen vorliegen, ist über die geschmackliche Bedeutung der Hydroxyzimtsäuren und der Hydroxybenzoesäuren für das Weinaroma nichts bekannt.

Zusammenfassung

Zur schnellen zweidimensionalen Trennung der Hydroxybenzoesäuren und Hydroxyzimtsäuren auf Mikro-Polyamid-Fertigplatten wurde eine Reihe von Fließmittelkombinationen untersucht. Die am besten geeigneten Fließmittel werden tabellarisch zusammengefaßt. In wäßrigen Fließmitteln lassen sich die cis- und trans-isomeren Zimtsäureabkömmlinge gut voneinander trennen. Zur Abtrennung der Methoxyverbindungen von den entsprechenden Hydroxyverbindungen hat sich ein Fließmittelgemisch aus Benzol-Eisessig sehr gut bewährt. Die Laufzeiten betragen je nach Fließmittel 20 bis 80 Minuten.

Es wird ein Überblick über die in Trauben und Rebblättern vorhandenen Phenolcarbonsäuren gegeben. Salicylsäure und Gentisinsäure treten in freier Form in den Trauben erst in späteren Reifestadien auf.

Die Hauptunterschiede im Phenolcarbonsäuren-Muster der untersuchten Sorten sind durch quantitative Differenzen von Syringasäure, Ferulasäure und zwei noch nicht identifizierten Komponenten bedingt.

Literatur

- BIEBER, H., 1968: Der Malvingehalt von Erzeugnissen aus *Vitis vinifera*. Mitt. Klosterneuburg 18, 266—267.
- VAN BUREN, J., 1970: Fruit phenolics, In A. C. HULME: The biochemistry of fruits and their products, Bd. 1, 269—304, Acad. Press, London.
- CAPPELLERIE, G., 1965: Der Nachweis von Malvin in Weinen aus *Vitis vinifera* (ital.). Riv. Viti-colt. Enol. 18, 350.
- CHAUDHARY, S. S., WEBB, A. D., and KEPNER, R. E., 1968: GLC investigation of the volatile compounds in extracts from Sauvignon blanc wines from normal and botrytised grapes. 19, 6—12.
- DADIC, M., VAN GHELUWE, J. E. A., and VALYI, Z., 1971: Phenolgeschmack im Bier. Wallerstein Lab. Commun. 34, 5—16.
- DIEMAIR, W., POSTEL, E. und SENGWALD, W., 1963: Untersuchung über Anthocyane, insbesondere Malvin. I. Mitteilung: Beitrag zur Analytik des roten Farbstoffs in Hybridenwein. Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch. 120, 173—189.
- DORIER, P. et VERELLE, L. P., 1966: Nouvelle méthode de recherche des glucosides anthocyaniques dans les vins. Ann. Fals. Expert. Chim. 59, 1.
- DRAWERT, F., 1970: Causes déterminant l'amertume de certains vins blancs. Bull. OIV 43, 19—27.
- DURMISHIDZE, S. V., 1955: Die Gerbstoffe und Anthocyane in Traubenmost und Wein (russ.). Izda. Akad. Nauk SSSR, Moskau, 323.
- EGGER, K., 1961: Unterscheidung von Glykosidtypen der Flavonole durch Polyamid-Dünnschicht-chromatographie. Z. Analyt. Chem. 182, 161—166.
- FLANZY, M. et BOURZEIX, M., 1968: L'utilisation de la chromatographie sur couche minces de cellulose pour l'isolement quantitatif des anthocyanes diglucosides présentes à faible teneur dans les jus de raisin et les vins, en vue de leur dosage. Qualit. Plant. Mater. Vegetab. 16, 303—311.

- GRASSMANN, W., HÖRMANN, H. und VON PORTATIUS, H., 1960: Chromatographie aromatischer Nitroverbindungen an Polyamid. Z. Physiol. Chem. 321, 120.
- GUERN, J., 1964: Remarques à propos des méthodes d'extraction, de purification et d'identification des inhibiteurs de croissance. In: Régulateurs naturels de la croissance végétale, C.N.R.S. Paris.
- HENKE, O., 1959: Untersuchungen über den Einfluß von *Vitis cinerea* ARNOLD auf einige biochemische Eigenschaften von Kreuzungsnachkommen. Z. Pflanzenzücht. 41, 253—270.
- HENNIG, K. und BURKHARDT, R., 1958: Der Nachweis phenolhaltiger Verbindungen und hydroaromatischer Oxy-carbonsäuren in Traubenbestandteilen, Wein und weinähnlichen Getränken. Weinberg u. Keller 5, 542—552; 593—600.
- HEHRMANN, K., 1963: Über die phenolischen Inhaltsstoffe der Trauben und des Weines (Flavonoide, Phenolcarbonsäuren, Farbstoffe, Gerbstoffe). Weinberg u. Keller 10, 154—164; 208—220.
- , 1965: Handbuch der Lebensmittelchemie. Band I: Pflanzenphenole in Lebensmitteln. Springer Verlag, Berlin, 619—648.
- , 1966: Über Hydroxyzimtsäuren und ihre Bedeutung in Lebensmitteln. Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch. 133, 158—178.
- , 1972: Über Bitterstoffe in pflanzlichen Lebensmitteln. Dt. Lebensm.-Rundsch. 68, 105—110; 139—142.
- , 1973: Die phenolischen Inhaltsstoffe des Obstes. I. Bisherige Kenntnisse über das Vorkommen, Gehalte, sowie Veränderungen während des Fruchtwachstums. Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch. 151, 41—51.
- HÖRHAMMER, L., WAGNER, H. und MACEK, K., 1968: Polyamid Dünnschichtchromatographie. Chromatog. Rev. 9, 103—114.
- HOROWITZ, R. M. und GENTILI, G., 1969: Geschmack und Struktur bei phenolischen Glykosiden. J. Agricult. Food Chem. 17, 696—700.
- ISAIA, A., 1971: Influence comparée de l'($\pm$)acide abscissique, de la coumarine, de l'acide p-coumarique et de certains de leur dérivés sur la croissance de la première feuille de blé. Planta 96, 175—182.
- JANGAARD, N. O., SCHERL, M. M., and SCHIEFERSTEIN, R. H., 1971: Role of phenolic — and abscisic acid in nutsedge tuber dormancy. Weed Sci. 19, 17—20.
- JOSLYN, M. A. and GOLDSTEIN, J. L., 1964: Astringation of fruits and fruit products in relation to phenolic content. Advan. Food Res. 13, 179—217.
- KÖVES, E., SIROKMÁN, F., and MILASSIN, M., 1972: Connection between the growth regulation action of plant phenolic compounds and the protein synthesis. Z. Pflanzenphysiol. 67, 370—372.
- KOSUGE, T., 1969: The role of phenolic in host response to infection. Ann. Rev. Phytopathol. 7, 195—222.
- LIN, Y. T., WANG, K. T. and LIN, Y. S., 1962: J. Chinese Chem. Soc. (Taiwan) 9, 68. [Ref. in Chem. Abstr. 58, 9412 (1963).]
- LINSKENS, H. F., 1955: Papierchromatographie in der Botanik. Springer Verlag, Berlin.
- LÜTHI, H., 1957: Über die Ursachen unvollständiger Vergärung von Obstweinen. Mitt. Geb. Lebensmitteluntersuch. u. Hyg. 48, 201—217.
- MARCILLA, A. J., ALAS, G. y FEDUCHY, E., 1936: Contribucion al estudio de las levaduras que forman velo sobre ciertos vinos de elvado grado alcohólico. Ann. Centro Invest. Vinic. (Madrid) 1, 1—230.
- MASQUELLIER, J. et RICCI, R., 1964: Chromatographie des dérivés cinnamiques du vin. Qualit. Plant. Mater. Vegetab. 11, 244—248.
- et DELAUNEY, D., 1965: Action bactérienne des acides — phenols du vin. Bull. Soc. Pharm. (Bordeaux) 104, 152—156.
- PASTUSKA, G., 1962: Die Kieselgelschicht-Chromatographie von Phenolen und Phenolcarbonsäuren. Z. Analyt. Chem. 179, 355—358.
- PIFFERI, P. G., 1965: Thin-layer chromatography on silica gel G of some phenol carboxylic acids. Vitis 5, 24—26.
- PROCHÁZKA, Z., HAIŠ, I. M. und MACEK, K., 1958: Phenole und aromatische Säuren. Handbuch der Papierchromatographie. Fischer Verlag, Jena, 311—341.
- RENTSCHLER, H. und TANNER, H., 1956: Über Polyphenole der Kernobst- und Traubensäfte. Mitt. Geb. Lebensmitteluntersuch. u. Hyg. 47, 28—32.
- , — und BRUNNER, M., 1961: Zur Identifizierung der für rote Hybridtraubensäfte und -weine charakteristischen Anthozyanfarbstoffe. Mitt. Geb. Lebensmitteluntersuch. u. Hyg. 52, 312—320.
- REUTHER, G., 1961: Genetisch-biochemische Untersuchungen an Rebartbastarden. Züchter 31, 319—328.
- RIBÉREAU-GAYON, P., 1963: Les acides phénols de *Vitis vinifera*. C. R. Séances Acad. Sci. (Paris) 256, 4108—4111.

- 1964: Les composés phenoliques du raisin et du vin. I. Les acides phénols. Ann. Physiol. Vég. 6, 119—147.
- —, 1968: Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- SABAWE, S. I., 1970: Gehalt an Flavonolen und aromatischen Säuren in den Blättern verschiedener Rebsorten (russ.). Vinodel. i Vinogradar. SSSR (Moskau) 5, 48—50.
- SIKOVEC, S., 1966: Der Einfluß einiger Polyphenole auf die Physiologie von Weinhefen. II. Der Einfluß von Polyphenolen auf die Vermehrung und Atmung von Hefen. Mitt. Klosterneuburg 16, 272—281.
- SINGLETON, V. L. and ESAU, P., 1969: Phenolic substances in grapes and wines and their significance. Acad. Press. New York.
- SÜCHTIG, H., 1964: Beeinflussung des Stoffwechsels der Pflanzen durch Humus und seine Bestandteile und die Auswirkung auf Wachstum und Ertrag. Landbauforsch. Völkenrode 14, 9—16.
- SOMERS, T. C., 1966: Grape phenolics: the anthocyanins of *Vitis vinifera*, variety Shiraz. J. Sci. Food Agric. 17, 215—219.
- SCHANDERL, H., 1962: Der Einfluß von Polyphenolen und Gerbstoffen auf die Physiologie der Weinhefe und der Wert des p_{H-7} Testes für die Auswahl von Sektgrundweinen. Mitt. Klosterneuburg A 12, 265—274.
- SCHMID, G. und FLAIG, W., 1962: Pflanzenstoffwechsel und Wirkstoffe. Landbauforsch. Völkenrode 12, 51—56.
- STAHL, E. und SCHORN, P. J., 1961: Dünnschichtchromatographie hydrophiler Arzneipflanzenauszüge. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 325, 263—274.
- TOMASZEWSKI, M., 1960: The occurrence of p-hydroxybenzoic acid and some other simple phenols in vascular plants. Bull. Acad. Polon. Sci. Sér. Sci. Biol. 8, 61—65.
- TRAPHAGEN, F. W. and BURKE, E., 1903: Occurrence of salicylic acid in fruits. J. Amer. Chem. Soc. 25, 242—244.
- URION, E., METCHE, M. und HALUK, J. P., 1963: Bestimmung der Phenolsäuren der Gerste mittels Polyamid-DC. Brauwissenschaft 16, 211—215.
- WAGNER, H., PATEL, J., HÖRHAMMER, L., YAP, F. und REICHARDT, A., 1967: Flavon-C-Glycoside in den Blättern von *Vitis cinerea* Darwin. Z. Naturforsch. 22b, 988—989.
- WANG, K. T., 1959: J. Chinese Chem. Soc. (Taiwan) 6, 73. [Ref. in HÖRHAMMER *et al.* (1968)].
- WEBB, A. D., 1962: Present knowledge of grape and wine flavors. Food Technol. 16, 56—59.
- YAP, F. und REICHARDT, A., 1964: Vergleichende Untersuchungen der Flavonoide und Oxyzimtsäuren in den Blättern artreiner *Vitis*-Sorten und ihrer Bastarde. Züchter 34, 143—156.

Eingegangen am 30. 6. 1973

Dr. A. Rapp
BFA für Rebenzüchtung
Geilweilerhof
Abt. Biochemie
6741 Siebeldingen