

## Untersuchungen über die Vorgänge beim Dämpfen von Kaffeebohnen \*,\*\*

S. Gál, P. Windemann und E. Baumgartner \*\*\*

Institut für Lebensmittelchemie der Universität Bern

### Summary

The reactions occurring during steam treatment of green coffee have been investigated. In the condensate as well as in the treated beans 3-methoxy-4-hydroxystyrene (3,4-MHS) could be detected. In the condensed steam also benzaldehyde, phenylacetaldehyde, isovaleric acid, furfural and coffeine were identified. The 3,4-MHS is formed from the feruloylquinic acid present in the raw coffee. A method for the quantitative determination of 3,4-MHS has been developed.

### Zusammenfassung

Die Vorgänge beim Dämpfen von rohen Kaffeebohnen wurden untersucht. Sowohl im gedämpften Kaffee wie auch im Wasserdampfkondensat wurde 3-Methoxy-4-hydroxystyrol (3,4-MHS) isoliert. Im Kondensat wurden ferner Benzaldehyd, Phenylacetaldehyd, Isovaleriansäure, Furfurol und Coffein identifiziert. Das 3,4-MHS entsteht aus der im Rohkaffee vorhandenen Feruloylchinasäure. Eine Methode zur quantitativen Bestimmung von 3,4-MHS wurde ausgearbeitet.

\* Eingegangen am 4. Dezember 1975

\*\* Die vorliegende Arbeit ist eine gekürzte Fassung der Dissertation von P. Windemann [1]. Der Firma Haco AG, Gümliigen, wird bestens dafür gedankt, dass sie diese Dissertation ermöglicht hat.

\*\*\* Prof. E. Baumgartner, Institut für Lebensmittelchemie der Universität Bern, Muesmattstrasse 19, CH-3012 Bern

### Einleitung

Der Genuss von Bohnenkaffee löst bei einigen Menschen Unverträglichkeitserscheinungen aus. Seit längerer Zeit versucht deshalb die kaffeeverarbeitende Industrie diese unerwünschten Nebenwirkungen durch geeignete Veredelungsverfahren zu eliminieren [2]. Zu diesen Verfahren zählt auch die Behandlung der grünen Kaffeebohnen in einem rotierenden Druckbehälter mit Wasserdampf, das sogenannte Lendrich-Verfahren [3]. Die Erfinder postulierten die Hydrolyse der Chlorogensäure zu Kaffee- und Chinasäure und betrachteten diese Spaltung als Ursache der Geschmacksverbesserung des behandelten Kaffees. Wenig später wurde dem gedämpften Kaffee auch eine bessere «Bekömmlichkeit» zugesprochen.

Seit der Erfindung des Patentes vor etwa fünfzig Jahren blieb dieses Verfahren in bezug auf seinen chemischen Effekt und seine physiologische Wirksamkeit umstritten. Richtung und Ausmass der Veränderungen wurden verschiedentlich untersucht, wobei sich die Versuchsergebnisse oft widersprachen [2]. Namentlich konnte bis heute keine Möglichkeit gefunden werden, die dampfbehandelten Bohnen von den unbehandelten mittels chemischer Analysenmethoden zu unterscheiden. Eine solche Unterscheidung wäre lebensmittelrechtlich von grosser Bedeutung.

Die Resultate verschiedener Untersuchungen deuten darauf hin, dass beim Dämpfen der Kaffeebohnen unter der kombinierten Einwirkung von Wärme und Feuch-

tigkeit durch hydrolytische Spaltung, Decarboxylierung oder Zyklisierung von Koffeinhaltsstoffen neue Verbindungen entstehen. Im Bestreben, den Prozess des Dämpfens analytisch nachweisen zu können, wurde von mehreren Autoren zunächst versucht, die Gehaltsdifferenzen von spezifischen Inhaltsstoffen vor und nach dem Dämpfen zu erfassen. Die Ergebnisse dieser Methoden sind jedoch mit einer relativ grossen Unsicherheit behaftet, da oft nur kleine Gehaltsdifferenzen festgestellt werden konnten, welche sich zu wenig von den natürlichen Gehaltsschwankungen abhoben.

Der vorliegenden Arbeit liegt der Gedanke zugrunde, dass man nach Substanzen sucht, welche erst beim Dämpfen entstehen. Da solche Substanzen mit den heutigen analytischen Methoden schon in kleinen Mengen erfasst werden können, kommt ihnen als Leitsubstanzen für den Nachweis einer Dämpfung erst-rangige Bedeutung zu.

## Experimentelles

### 1. Untersuchung der Kaffeebohnen und des Wasserdampfcondensates

Bei der Tryptamidbestimmung nach Harms und Wurziger [5] wurde auf den Zirkularchromatogrammen mancher Extrakte aus dem gedämpften Kaffee nach der Sichtbarmachung eine Zone gefunden, welche beim Rohkaffee fehlte.

Eine bessere Abtrennung dieser Zone von den übrigen Substanzen wurde mit Hilfe der zweidimensionalen Dünnschichtchromatographie erreicht<sup>1</sup>. Methanolextrakte aus gemahlenden, gedämpften Kaffeebohnen wurden auf eine Dünnschichtplatte in die Ecke aufgetragen. Als Sorptionsmittel diente eine mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung imprägnierte Kieselgel-G-Schicht. Es wurde zuerst mit einem Gemisch Chloroform/Äthanol = 9:1 und senkrecht zur ersten Laufrichtung mit Benzol/Essigsäure-äthylester = 4:3 aufgetrennt. Die Substanzen wurden mit 2,6-Dichlorchinon-4-chlorimid sichtbar gemacht, wobei die obenerwähnte Zone als violetter Fleck erschien.

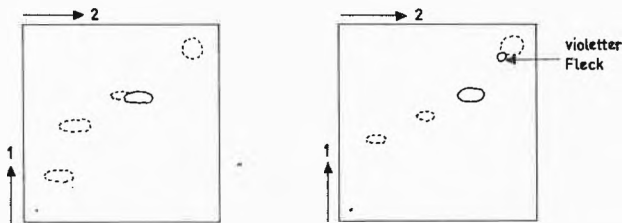


Abb. 1: Zweidimensionale Dünnschichtchromatographie eines Rohkaffees

Abb. 2: Zweidimensionale Dünnschichtchromatographie eines gedämpften Kaffees

Es zeigte sich, dass bei allen zweidimensionalen Chromatogrammen aus dem gedämpften Kaffee dieser violette Fleck sichtbar wurde. Im Rohkaffee konnte er nie nachgewiesen werden.

<sup>1</sup> Für Einzelheiten muss auf die Dissertation von P. Windemann [1] verwiesen werden.

Die Dämpfung der Kaffeebohnen wurde mit einem eigens hierfür konstruierten Laborautoklaven durchgeführt. Nach der Dämpfung wurde der beim Öffnen des Autoklaven entweichende Wasserdampf in einem Kühler kondensiert, das Kondensat mit Methylenchlorid extrahiert und wie die direkten Extrakte der Kaffeebohnen dünn-schichtchromatographisch untersucht. Auf dem Chromatogramm wurde neben anderen Flecken die im gedämpften Kaffee vorhandene, violett anfärbende Substanz ebenfalls sichtbar.

### 2. Isolierung und Identifizierung der neuen Substanz (3,4-MHS)

Da sich diese Substanz aus dem Wasserdampfcondensat besser anreichern liess als aus den gedämpften Kaffeebohnen, wurde für deren Isolierung und Identifizierung eine grössere Menge des Wasserdampfcondensates aus einer halbindustriellen Pilot-Anlage beschafft. Das Wasserdampfcondensat wurde zuerst mit Methylenchlorid extrahiert, der Extrakt konzentriert und im Kühlschrank abgekühlt, wobei sich eine gelbliche Substanz ausschied, die sich später als Coffein erwies. Das Gemisch wurde filtriert, das Filtrat im Rotationsverdampfer bei Zimmertemperatur fast zur Trockene eingengt und der Rückstand zwischen 70 bis 100°C bei 1,5 bis 2,0 Torr destilliert. Die Isolierung der neuen Substanz wurde mittels Säulenchromatographie vorgenommen.

Mangels eines UV-Detektors für die Identifizierung der aus der Säule austretenden Fraktionen wurde ein Sorptionsmittel mit Fluoreszenzindikator verwendet. Das Destillat aus dem Wasserdampfcondensat-Extrakt wurde in einem Quarzrohr auf eine Füllung von Kieselgel GF 254 für die Dünnschichtchromatographie aufgetragen. Als Elutionsmittel diente ein Petroläther/Chloroform-Gemisch wechselnder Zusammensetzung. Die Säule wurde unter Bestrahlung mit UV-Licht der Wellenlänge 254 nm mit einem leichten Überdruck eluiert. Die getrennten Substanzen wurden als dunkle Zonen durch Löschung der Fluoreszenz sichtbar. So konnte die Trennung des Gemisches direkt beobachtet und zur Optimierung der Trennung die Zusammensetzung des Elutionsgemisches verändert werden. Die getrennten Zonen wurden am Ausgang der Säule einzeln aufgefangen.

Die Strukturaufklärungen der isolierten Substanzen wurde mit Hilfe von NMR-, IR- und Massenspektroskopie durchgeführt<sup>2</sup>. Die Substanz konnte als 3-Methoxy-4-Hydroxystyrol identifiziert werden.

Es wurden gleichzeitig noch vier weitere, bei der Säulenchromatographie rein anfallende Substanzen aus dem

<sup>2</sup> Herrn Prof. Dr. M. Neuenschwander und seiner Gruppe und Herrn PD Dr. U. Schlunegger sei an dieser Stelle herzlich für die Hilfe und die vielen wertvollen Hinweise und freundliche Unterstützung gedankt.

<sup>3</sup> Für die Wasserdampfdestillation wurde eine vom Laboratorium der IKS Bern modifizierte Apparatur nach British Pharmacop. 68 (1968) 1273 benutzt.

Extrakt des Wasserdampfkondensates in ihrer Struktur aufgeklärt. Es handelte sich dabei um Benzaldehyd, Phenylacetaldehyd, Furfurol und Isovaleriansäure.

### 3. Quantitative Bestimmung des 3,4-MHS im gedämpften Kaffee

Für die genaue Beschreibung der Methode muss auf die Dissertation [1] verwiesen werden. Die untersuchten Kaffeebohnen wurden gemahlen und mit Chloroform extrahiert. Die Chloroformlösung wurde mit Hilfe von Celite gereinigt, im Rotationsverdampfer zu einem öligen Rückstand eingedampft und anschliessend mit Wasserdampf destilliert<sup>3</sup>. Das Destillat konnte im selben Gerät kontinuierlich mit Äther extrahiert werden. Der Ätherextrakt wurde bei 20°C auf etwa 1 ml eingengt und über eine kurze Aluminiumoxid-säule in die Mitte einer Dünnschichtplatte mit Sorptionsschicht Kieselgel GF 254 aufgetragen. Die Entwicklung der Platte erfolgte zirkular mit Chloroform unter die im UV-Licht (254 nm) sichtbaren Zonen. Die entsprechende im UV-Licht (254 nm) erkennbare Zone wurde abgekratzt, mit Methanol eluiert und der 3,4-MHS-Gehalt UV-spektroskopisch nach dem Vergleich mit einer Eichkurve bestimmt. Die relative Standardabweichung der Methode beträgt rund 7% im Bereich von unter 20 ppm. Die untere Erfassbarkeitsgrenze liegt im Rohkaffee bei 2 ppm.

### 4. Herkunft des 3,4-MHS in gedämpften Kaffeebohnen

Das 3,4-MHS entsteht leicht durch die Decarboxylierung der Ferulasäure. Die Ferulasäure ist in den Kaffeebohnen als Feruloylchinasäure enthalten. Es liegt nahe, dass auch durch die Decarboxylierung und Spaltung der Feruloylchinasäure beim Dämpfen das 3,4-MHS entsteht. Die Feruloylchinasäure wurde mit den Chlorogensäuren aus dem Kaffee isoliert und als schwer aufzutrennendes Gemisch im Laborautoklaven gedämpft. Im Dämpfungsprodukt konnte mittels Dünnschichtchromatographie das 3,4-MHS nachgewiesen werden.

Es konnte dünn-schichtchromatographisch gezeigt werden, dass der violette Fleck beim Dämpfen der zwei Isomeren der Chlorogensäure, der 3-Coffeoylchinasäure und 3,5-Dicoffeoylchinasäure, nicht entsteht.

Dagegen ist es gelungen, durch Dämpfen von reiner 3-Feruloylchinasäure das 3,4-MHS zu erhalten<sup>4</sup>.

### 5. Dämpfen der Kaffeebohnen im Laborautoklaven

Die Dämpfung der Kaffeebohnen wurde in einem doppelwändigen Autoklaven durchgeführt. Die mit einer bestimmten Wassermenge vorgequollenen Kaffeebohnen wurden im Autoklaven in einem thermostatisierten Ölbad bei verschiedenen Temperaturen verschieden lange gedämpft. Mit Hilfe der unter 3 beschriebenen Methode wurde festgestellt, dass sich der 3,4-MHS-Gehalt der Kaffeebohnen je nach Dämpfungsbedingungen ändert; es wurden Gehalte zwischen 7 und 20 ppm gefunden. Bei 110°C nahm der Gehalt in Abhängigkeit

von der Zeit des Dämpfens und der zugesetzten Wassermenge zu. Bei 130°C hatte die Wassermenge einen grösseren Einfluss auf die Zunahme des 3,4-MHS-Gehaltes als die Dämpfungsdauer.

### Diskussion

Das 3,4-MHS entsteht aus der in den Kaffeebohnen enthaltenen Feruloylchinasäure wahrscheinlich durch hydrolytische Spaltung und Decarboxylierung. Nach Pictet und Brandenberger [6] enthält 1 kg Rohkaffee etwa 12 g Gesamt-Feruloylchinasäuren. Der durchschnittlich festgestellte Gehalt von 10 ppm 3,4-MHS in gedämpftem Kaffee würde somit einem Abbau von 0,1% entsprechen. Die Abbaurate ist offenbar nur sehr klein. Allerdings sind mögliche Abbaustufen der Feruloylchinasäuren vor und nach der 3,4-MHS-Bildung nicht bekannt, so dass das Ausmass des Gesamt-abbaus der Feruloylchinasäure nicht ohne weiteres abzuschätzen ist.

Die neue Methode für die Bestimmung des 3,4-MHS-Gehaltes im gedämpften Kaffee erlaubt, auch ohne Vorhandensein des Ausgangsmaterials die Dampfbehandlung an ungeröstetem Kaffee nachzuweisen und darüber hinaus gewisse Anhaltspunkte über die Dämpfungsbedingungen zu erhalten. Die Methode ist aber nur für ungerösteten Kaffee anwendbar, weil das 3,4-MHS auch beim Rösten, mit anderen Worten bei der Einwirkung von trockener Hitze auf Kaffeebohnen, entsteht [4].

Auch die vier anderen aus dem Wasserdampfkondensat isolierten Substanzen (mit Ausnahme des Coffeins) entstehen beim Rösten der Kaffeebohnen. Es sind allgemeine Abbauprodukte der Kaffeeinhaltsstoffe bei Wärme- und Wassereinwirkung. Es ist also anzunehmen, dass die Vorgänge, welche sich beim Dämpfen und beim Rösten der Kaffeebohnen abspielen, in der gleichen Richtung verlaufen. Insofern kann man die Dämpfung als eine Art Vorröstung interpretieren.

Schliesslich muss darauf hingewiesen werden, dass die absoluten Mengen der als Abbauprodukte isolierten Substanzen zu klein sind, um darauf schliessen zu können, dass die chemische Zusammensetzung der Kaffeebohnen durch das Dämpfen wesentlich verändert wird. Die festgestellten Veränderungen der Kaffeebestandteile werden zudem durch das anschliessende Rösten praktisch vollständig überdeckt. Die vorliegenden Resultate erlauben es deshalb nicht, irgendwelche Aussagen über die bessere Verträglichkeit des gedämpften Kaffees und deren Ursachen zu machen.

<sup>4</sup> Herrn Dr. J. Corse (US Department of Agriculture, Berkeley, Cal.) sei an dieser Stelle herzlich für die freundliche Zustellung der reinen 3-Feruloylchinasäure gedankt.

### Literaturverzeichnis

- 1 P. Windemann: Über die Vorgänge beim Dämpfen der Kaffeebohnen, Dissertation, Universität Bern, 1974.
- 2 S. Gál: Die Chemie und Technologie der Kaffee-Veredelung, Lebensmitt. Ernähr. 27 (1974) 218-220 und 27 (1974) 235-237.

- 3 P. Lendrich, E. Wemmering und O. Lendrich: Dtsch. Pat. 576515 (1927).  
 4 M. Winter, F. Gautschi, I. Flament, B. Willhalm und M. Stoll: Die flüchtigen Aromastoffe des Kaffees, in «Aroma- und Geschmacksstoffe in Lebensmitteln», Fortbildungskurs für

- Agrotechnologen und Ingenieur-Agronomen, ETH Zürich, 1967, S. 8.1. bis 8.12.  
 5 U. Harms und J. Wurziger: KTM (Kaffee- u. Tee-Markt) 19 (1969) 9.  
 6 G. Pictet und H. Brandenberger: J. Chromatogr. 4 (1960) 396.

## Chlorierte Carotinoide bei der $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$ -Reaktion \*, \*\*

H. Pfander \*\*\* und U. Leuenberger

Institut für Organische Chemie der Universität Bern

### Summary

The chlorinated carotenoids I to IV have been isolated from the reaction of isozeaxanthin, zeaxanthin and lutein with  $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$  0,01 n.

### 1. Einleitung

Die Reaktion von Hydroxycarotinoiden mit  $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$  wurde erstmals von Karrer [1] beschrieben. Es konnte dabei gezeigt werden, dass primäre, sekundäre und tertiäre allylische Hydroxylgruppen unter Abspaltung von Wasser eliminiert werden. Die Abspaltung ist oft von einer Allylumlagerung begleitet, wobei die Ausbildung von Retrostrukturen bevorzugt erscheint [2] (Abb. 1).

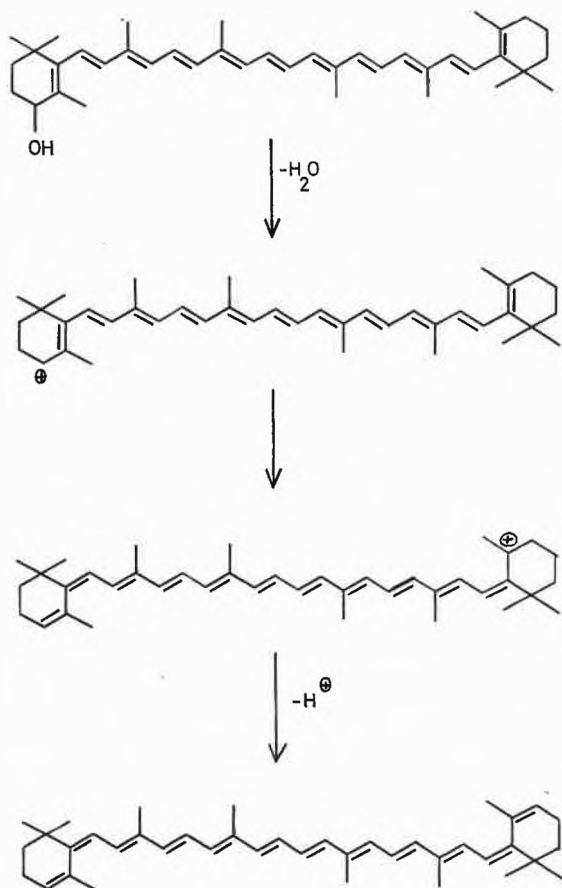


Abb. 1

Später konnte u. a. am Beispiel des Zeaxanthins ( $\beta, \beta$ -Carotin-3,3'-diol) gezeigt werden, dass mit  $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$  0,01 n bei einer Reaktionszeit von einer Stunde auch nicht-allylische Hydroxylgruppen eliminiert werden [3-6].

Da die Reaktion von Hydroxycarotinoiden mit  $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$  nicht nur routinemässig bei der Strukturklärung von unbekanntem Carotinoiden, sondern auch für Partialsynthesen angewandt wird, haben wir die Untersuchungen auf diesem Gebiet wiederaufgenommen.

In der vorliegenden Arbeit wurden Isozeaxanthin ( $\beta, \beta$ -Carotin-4,4'-diol), Zeaxanthin ( $\beta, \beta$ -Carotin-3,3'-diol) und Lutein ( $\beta, \epsilon$ -Carotin-3,3'-diol) auf ihr Verhalten in  $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$  0.01 n untersucht.

### 2. Ergebnisse

Die erwähnten Carotinoide wurden während einer Stunde in  $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$  0,01 n zur Reaktion gebracht, die Reaktionsprodukte anschliessend chromatographisch getrennt und kristallisiert.

#### 2.1. Isozeaxanthin

Neben den bereits früher [4, 7] beschriebenen Carotinoiden, wie beispielsweise Anhydroeschscholtzanthin (2,3,2',3',4',5'-Hexadehydro-4,5'-retro- $\beta, \beta$ -carotin) und 3,4-Didehydro- $\beta, \beta$ -carotin und Oxidationsprodukten, die nicht näher charakterisiert wurden, konnten drei weitere Carotinoide (I bis III) isoliert werden.

Das Elektronenspektrum der Verbindung I ist mit demjenigen der Ausgangssubstanz Isozeaxanthin identisch (448, 473 nm in Hexan), was darauf hinweist, dass das chromophore System unverändert ist. Das Massenspektrum zeigt ein Molekül-Ion bei  $m/e$  570, wobei das Isotopenverhältnis ( $M : M + 1 : M + 2 = 100 : 42 : 42$ ) auf die Anwesenheit eines Chloratoms im Molekül hinweist. Neben den für Carotinoide charakteristischen

\* Eingegangen am 24. Dezember 1975

\*\* Teil der Dissertation von U. Leuenberger, Universität Bern, 1973

\*\*\* Dr. H. Pfander, Institut für Organische Chemie der Universität Bern, Länggassstrasse 7, CH-3012 Bern

Peaks wie M-92 und M-106 treten deutliche Fragmente bei  $m/e$  36 und 38 (HCl) auf. Somit dürfte der Verbindung die Struktur des 4-Chlor- $\beta,\beta$ -carotin (I) (Abb. 2) zukommen.

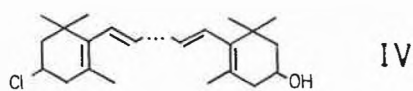
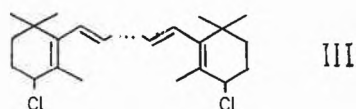
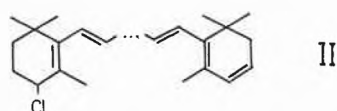
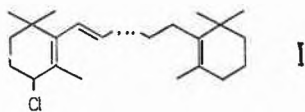


Abb. 2

Das Elektronenspektrum der Verbindung II zeigt keine Feinstruktur, weist ein Maximum von 458 nm (Hexan) auf und ist somit identisch mit demjenigen von 3,4-Didehydro- $\beta,\beta$ -carotin. Im Massenspektrum tritt das Molekel-Ion bei  $m/e$  568 auf, wobei das Isotopenverhältnis ebenfalls auf die Anwesenheit eines Chloratoms hinweist. Im übrigen sind analoge Fragmentierungen wie bei I zu beobachten, so dass für die Verbindung die Struktur des 4-Chlor-3',4'- $\beta,\beta$ -carotin (II) (Abb. 2) postuliert werden kann.

Das UV/Vis-Spektrum der Verbindung III ist mit demjenigen des Isozeaxanthins identisch, was auf das unveränderte chromophore System hinweist. Das Isotopenverhältnis des Molekel-Ions bei  $m/e$  604 ( $M : M + 1 : M + 2 : M + 3 = 100 : 47 : 75 : 32$ ) weist auf die Anwesenheit von zwei Chloratomen im Molekül hin. Die für Ca-

rotinoide charakteristische Fragmentierung, wie die Abspaltung von Xylol und Toluol sowie das mit Isozeaxanthin praktisch identische PMR-Spektrum ( $1,1,1',1'$ - $\text{CH}_3$ : 1,04 ppm;  $5,5'$ - $\text{CH}_3$ : 1,83 ppm) weisen auf die Struktur des 4,4-Dichlor- $\beta,\beta$ -carotin (III) (Abb. 2) hin.

## 2.2. Zeaxanthin

Bei der chromatographischen Trennung der Reaktionsprodukte von Zeaxanthin konnten drei Fraktionen isoliert werden. Die polarste Zone konnte als nicht umgesetztes Zeaxanthin identifiziert werden, während sich die polaritätsmässig im Bereich der Carotine auftretende Fraktion als komplexes und schwierig zu trennendes Gemisch erwies, weshalb auf die Identifizierung der einzelnen Verbindungen verzichtet wurde. Immerhin zeigten massenspektrometrische Untersuchungen, dass auch in diesem Fall chlorierte Carotinoide auftreten.

Die im Bereich der Mono-ole auftretende Verbindung IV erwies sich als einheitliches Produkt. Das Elektronenspektrum ist identisch mit demjenigen von Zeaxanthin. Das Molekel-Ion bei  $m/e$  586,3951 (berechnet: 586,3940 für  $\text{C}_{40}\text{H}_{55}\text{OCl}$ ) mit einem entsprechenden Isotopenpeak und die charakteristischen Fragmente bei  $m/e$  568 ( $M - \text{H}_2\text{O}$ ); 550,4193 ( $M - \text{HCl}$ ; berechnet 550,4174 für  $\text{C}_{40}\text{H}_{54}\text{O}$ ); 494,3308 ( $M - \text{Toluol}$ ; berechnet 494,3315 für  $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{OCl}$ ) weisen auf eine Verbindung mit je einer Hydroxylgruppe und einem Chloratom hin. Das PMR-Spektrum von IV ist mit demjenigen von Zeaxanthin praktisch identisch, so dass dem Produkt die Struktur des 3-Chlor- $\beta,\beta$ -carotin-3'-ol (IV) (Abb. 2) zukommt.

## 2.3. Lutein

Im Gegensatz zu Zeaxanthin und Isozeaxanthin ist die Reaktion von Lutein in  $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$  bisher nicht eingehend untersucht worden. Lediglich Zechmeister [8] berichtete über Eliminierungsreaktionen von Lutein in einer Naphthalin-Borsäure-Schmelze und postulierte die in Abb. 3 dargestellten Reaktionsprodukte.

Kürzlich berichtete auch Buchecker über Eliminierungen [9, 10], wobei je nach Reaktionsbedingungen verschiedene kristalline Produkte isoliert werden konnten. Bei der von uns untersuchten Reaktion von Lutein in  $\text{CHCl}_3/\text{HCl}$  0,01 n konnten neben Retrodehydrocarotin (4',5'-Didehydro-4,5'-retro- $\beta,\beta$ -carotin), Retrobisdehydrocarotin (2,3,4',5'-Tetradehydro-4,5'-retro- $\beta,\beta$ -carotin) und Anhydroeschscholtzanthin und dem auch von Buchecker [9] auf anderem Weg gefundenen 3,4,3',4',5',18'-Hexadehydro-5',6'-dihydro- $\beta,\beta$ -carotin auch zwei chlorierte Produkte kristallin isoliert werden.

Bei der Verbindung V entsprechen Habitus und Lage der Maxima im Elektronenspektrum denjenigen von Lutein. Im Massenspektrum tritt das Molekel-Ion bei  $m/e$  568 auf; das Isotopenverhältnis zeigt die Anwesenheit eines Chloratoms. Im weiteren ist im Vergleich zum Lutein eine weitere Doppelbindung eingeführt worden, welche jedoch auf Grund des UV/Vis-Spektrums nicht

in Konjugation mit dem Chromophorsystem steht. Die vermutete 3-Chlor- $\beta$ -carotin-Endgruppe wird im PMR-Spektrum erhärtet, indem die für in 3-Stellung substituierten  $\beta$ -Endgruppen charakteristischen Signale auftreten (1,1-CH<sub>3</sub>: 1,08 ppm; 5-CH<sub>3</sub>: 1,72 ppm). Das PMR-Spektrum zeigt aber auch, dass es sich beim isolierten Produkt um ein Gemisch handelt, in dem im  $\epsilon$ -Ring die Doppelbindungen sowohl in 2',3';5',6' als auch in 3',4';5',18' auftreten können. Eine Trennung des Gemisches konnte weder durch Umkristallisation noch durch chromatographische Methoden erreicht werden.

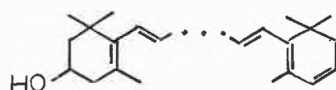
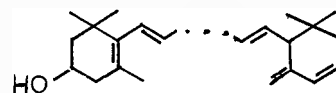
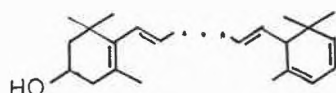


Abb. 3



Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Verbindung VI, wo das Massenspektrum mit einem Molekel-Ion von  $m/e$  604 auf eine Dichlorverbindung hinweist. Andererseits lassen aber das Elektronen- und PMR-Spektrum den Schluss zu, dass es sich um ein Gemisch handelt, dessen Trennung jedoch nicht gelang.

### 3. Diskussion

Kürzlich haben auch Jensen und Mitarbeiter [11–13] über halogenierte Carotinoide berichtet. So wurde bei der Umsetzung von Allencarotinoiden mit der Endgruppe VII in CHCl<sub>3</sub>/HCl neben Acetylderivaten auch Verbindungen mit der chlorierten Endgruppe VIII beobachtet (Abb. 4).

Zusätzlich konnte bei der Reaktion von Peridinin in POCl<sub>3</sub>/Pyridin eine Substitution der Hydroxylgruppe in 3-Stellung durch Chlor beobachtet werden.

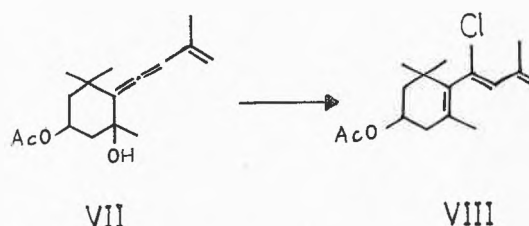


Abb. 4

Wie wir nun an den Beispielen von Isozeaxanthin, Zeaxanthin und Lutein zeigen konnten, findet auch bei der oft angewendeten CHCl<sub>3</sub>/HCl-Reaktion eine Substitution von allylischen und nicht-allylischen Hydroxylgruppen in 3- und 4-Stellung durch Chlor statt. Die erstaunlich stabilen chlorierten Carotinoide sind chromatographisch den entsprechenden Carotinen sehr ähnlich, so dass die Trennung oft sehr schwierig ist. Somit ist bei der Strukturaufklärung der Reaktionsprodukte der CHCl<sub>3</sub>/HCl-Reaktion auch bei nicht-allenischen Carotinoiden das Auftreten von Halogenderivaten zu beachten, welche sich in erster Linie massenspektrometrisch nachweisen lassen.

### 4. Literaturverzeichnis

- 1 P. Karrer und E. Leumann: *Helv. Chim. Acta* 34 (1951) 445.
- 2 S. Liaaen-Jensen, in «Carotenoids», ed. by O. Isler, Birkhäuser Verlag, Basel 1971, S. 79.
- 3 E. C. Grob und R. P. Pflugshaupt: *Helv. Chim. Acta* 45 (1962) 1592.
- 4 H. Pfander: Dissertation, Universität Bern, 1968.
- 5 B. Brunner: Dissertation, Universität Bern, 1968.
- 6 E. C. Grob, B. Brunner und H. Pfander: *Chimia* 22 (1968) 244.
- 7 H. Pfander, B. Brunner und E. C. Grob: *Chimia* 22 (1968) 496.
- 8 L. Zechmeister: *J. Amer. Chem. Soc.* 75 (1953) 4493.
- 9 R. Buchecker: Dissertation, Universität Zürich, 1972.
- 10 R. Buchecker, P. Hamm und C. H. Eugster: *Helv. Chim. Acta* 57 (1974) 631.
- 11 J. E. Johansen und S. Liaaen-Jensen: *Acta Chem. Scand. B* 28 (1974) 949.
- 12 R. Buchecker und S. Liaaen-Jensen: *Helv. Chim. Acta* 58 (1975) 89.
- 13 J. E. Johansen und S. Liaaen-Jensen: *Acta Chem. Scand. B* 29 (1975) 315.

Diese Arbeit wurde durch die Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, unterstützt. Besonderer Dank gilt den Herren Dres. L. Chopard, G. Englert und W. Vetter sowie Herrn W. Meister für die Aufnahme der Spektren und Herrn Dr. H. Thommen für die interessanten Diskussionen.