

Projectnummer 505.0110

Ontwikkeling van methoden voor de bepaling van anticarcinogen in
voedingsmiddelen

Projectleider: ir P.C.H. Hollman

Rapport 91.05

Januari 1991

Literatuurstudie naar het voorkomen
van flavonolen in voedingsmiddelen en
de mogelijkheden tot isoleren van
flavonolen uit voedingsmiddelen

D.P. Venema

Afdeling: Micronutriënten en Natuurlijke Toxische Stoffen

Goedgekeurd door: ir P.C.H. Hollman

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Telefoon 08370-75400
Telex 75180 RIKIL
Telefax 08370-17717

Copyright 1991, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten.

Overname van de inhoud is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur

sectorhoofden

afdeling Micronutriënten en Natuurlijke Toxische Stoffen (4x)

programmabeheer en informatieverzorging (2x)

bibliotheek

circulatie

EXTERN:

Dienst Landbouwkundig Onderzoek

Directie Wetenschap en Technologie

Directie Voedings- en Kwaliteitsaangelegenheden

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Centrum voor Epidemiologie, prof. dr ir D. Kromhout

Vakgroep Humane Voeding Landbouwuniversiteit, prof. dr M.B. Katan
Agralin

ABSTRACT

Literatuurstudie naar het voorkomen van flavonolen in voedingsmiddelen en de mogelijkheden tot isoleren van flavonolen uit voedingsmiddelen

Literature study on the occurrence of flavonols in foodstuffs and the possibilities of isolation of flavonols from foodstuffs

Report 91.05

January 1991

D.P. Venema

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT)
P.O. Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

1 figure

Flavonols could possess an anticarcinogenic effect.

In a pilot study (Hertog, 1988), a negative correlation was found between quercetin intake and cancer mortality.

This report presents a study of the literature on the occurrence of flavonols in foodstuffs and on the hydrolysis, extraction and cleanup possibilities.

In the consulted literature little information was found on quantitative aspects of the methods employed.

Keywords: flavonoids, flavonols, anti-carcinogenic, quercetine, kaempferol, hydrolysis

()

()

INHOUD	<u>blz</u>
ABSTRACT	1
SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 FLAVONOLEN IN DE PLANT	7
2.1 Structuur	7
2.2 Voorkomen	8
3 ISOLEREN VAN FLAVONOLEN UIT VOEDINGSMIDDELEN	10
3.1 Extractie	10
3.2 Extractie/hydrolyse	12
3.2.1 Zoutzuurhydrolyse	12
3.2.2 Zwavelzuurhydrolyse	13
3.2.3 Andere hydrolyses	13
4 DISCUSSIE EN CONCLUSIE	14
5 LITERATUUR	17
BIJLAGE	
A FIGUREN	

()

()

SAMENVATTING

Flavonolen zouden mogelijk een anti-carcinogene werking kunnen bezitten.

Uit een oriënterend onderzoek (Hertog, 1988) bleek er een negatief verband te bestaan tussen quercetineopname en kankersterfte. Besloten is dit onderzoek voort te zetten.

Dit rapport bevat een literatuuronderzoek naar het voorkomen van flavonolen in voedingsmiddelen en naar de extractie- en hydrolysemogelijkheden.

Van de flavonolen komen quercetine en kaempferol het meest verspreid voor in groente en fruit. In levende plantendelen komen flavonolen waarschijnlijk uitsluitend als glycosiden voor. Voor een totaalgehaltebepaling moeten de flavonolen eerst gehydrolyseerd worden tot aglyconen. Zoutzuur- en zwavelzuurhydrolyses gecombineerd met een methanol/water extractie komen het meest voor, eventueel gevolgd door een verdere zuivering.

In the literatuur wordt weinig aandacht besteed aan kwantitatieve aspecten van de gebruikte methodes.

()

()

1 INLEIDING

In 1988 werd een oriënterende studie verricht naar de relatie tussen flavonoidopname (quercetine en kaempferol) en kankersterfte op basis van de voedingsgegevens en de kankersterftegegevens van de Zeven Landen Studie (Hertog, 1988).

De Zeven Landen Studie is een epidemiologisch onderzoek naar verbanden op populatieniveau tussen voeding en de sterfte aan chronische ziekten.

Uit dit oriënterend onderzoek bleek een negatief verband tussen quercetineopname en de kankersterfte.

Naar aanleiding van het positieve resultaat van deze studie werd besloten dit onderzoek voort te zetten.

Voor de bepaling van de flavonolen quercetine en kaempferol werd destijds een RP-HPLC methode met UV detectie ontwikkeld. De monsters werden geëxtraheerd/gehydrolyseerd met een methanol/H₂SO₄ mengsel. Conditie voor extractie en hydrolyse werden echter nog niet volledig onderzocht, bovendien werd voornamelijk aandacht gegeven aan quercetine en kaempferol, waarbij kaempferol vanwege de lagere gehalten vaak niet gekwantificeerd kon worden. Daarnaast ligt een uitbreiding van het onderzoek naar andere flavonolen voor de hand.

Dit rapport bevat een literatuuronderzoek naar het voorkomen van flavonolen in voedingsmiddelen en naar de extractie- en hydrolysemogelijkheden.

2 FLAVONOLEN IN DE PLANT

Als eerste wordt de structuur van de flavonolen behandeld en daarna het voorkomen van de flavonolen.

2.1 Structuur

Flavonolen behoren tot de groep van de flavonoïden, ook wel fenypropaanoiden genoemd (Marbry (1980)). Flavonoïden worden gekenmerkt door een difenypropaanstructuur: C₆-C₃-C₆. In de natuur zijn deze verbindingen aan beide ringen gehydroxyleerd. In plantaardig materiaal komt een grote verscheidenheid aan deze verbindingen met deze basisstructuur voor, onder te verdelen in acht hoofdgroepen

(figuur 1a). Er zijn ook nog vijf groepen nauw verwante verbindingen (figuur 1b) (Schwartz (1982)).

In dit literatuuronderzoek wordt voornamelijk aandacht besteed aan flavonolen. De flavonolen bezitten alle een hydroxylgroep aan de 3 plaats, een dubbelgebonden O-atoom aan de 4 plaats en een dubbele binding tussen C2 en C3 (zie figuur 1). Verschillen tussen de flavonolen worden bepaald door het aantal hydroxylgroepen. Ook methoxygroepen komen, zij het in veel mindere mate, voor. Bijna altijd zijn een of meer van de hydroxylgroepen geglycosideerd. Ook acylering van fenolische zuren aan de glycosides komt voor (Herrmann, 1988). Flavonolen waarbij geen van de hydroxylgroepen geglycosideerd is worden aglyconen genoemd.

Hydroxylering van de volgende C-atomen uit de B-ring komt in afnemende frequentie voor: 3',4' > 4' > andere combinaties (Herrmann (1976)).

Glycosidering komt met afnemende frequentie, overeenkomend met een afnemende zuurgraad van de hydroxylgroep, voor volgens Herrmann en volgens Henning aan de volgende posities: C3 >> C7 >> C4' = C3' = C5 voor monoglycosiden en C3,7 > C3,4' = C3,3' = C7,4' voor diglycosiden. Ook tri- en tetraglycosiden komen voor (Henning (1980)). Goodwin (1976) geeft 70% C3 substitutie, 20% C7 en 5% C4' substitutie.

De volgende suikers komen als glycoside voor in afnemende frequentie: D-glucose > D-galactose = L-rhamnose = L-arabinose = D-xylose = D-apiose > D-glucuronzuur > D-galacturonzuur (Herrmann, Goodwin).

In het algemeen zijn de suikers met een D-configuratie β gebonden en de suikers met een L-configuratie α gebonden (Herrmann, Henning, Goodwin).

Flavonolen zijn zeer sterke antioxidanten, sterker dan bijvoorbeeld gallaten en tocoferolen. Ze kunnen vitamine C beschermen tegen oxidatie. De 3-hydroxyl groep naast de 2,3 dubbele binding zijn bepalend voor deze sterke werking. Wanneer bijvoorbeeld de 3-hydroxyl groep geglycosideerd is wordt de antioxidatieve werking sterk verzwakt (Herrmann). Ook flavonen zijn door het missen van de 3 hydroxyl groep veel zwakkere antioxidanten.

2.2 Voorkomen

Quercetine (3,5,7,3',4', pentahydroxyflavon) is het meest voorkomende flavonol, gevolgd door kaempferol (3,5,7,4' tetrahydroxyflavon) en

myricetine (3,5,7,3',4',5' hexahydroxyflavon). Van deze verbindingen zijn ook de meeste gegevens bekend over voorkomen en concentraties. In tabel 1 staan gegevens over gehalten aan flavonolen in groente en in tabel 2 staan gegevens vermeld over gehalten aan flavonolen in fruit. Morine (3,5,7,2',4' pentahydroxyflavon) komt voor in moerbeien. Verreweg de meeste gegevens zijn afkomstig van de onderzoeksgroep van Herrmann. De meeste gehalten zijn verkregen in de zeventiger jaren met een verouderde analysemethode (hydrolyse, preparatieve dunnelaagscheiding op celluloseplaten, spectrofotometrische meting van de geïsoleerde flavonolen) (bijvoorbeeld Wildanger 1973).

In de plant worden de flavonolen geglycosideerd onder invloed van licht. De hoogste concentraties flavonolglycosiden worden gevonden in het blad terwijl de laagste concentraties gevonden worden in de wortels. Grote uitzondering op deze regel is de ui. Bij dit gewas komen hogere concentraties voor in de ui zelf dan in het blad. In veel vruchten en groenten als tomaten en radijs worden de hoogste concentraties gevonden in en net onder de schil. In groentes als kropsla en kool worden verreweg de hoogste concentraties gevonden in de buitenste bladeren. In prei zitten in het groene gedeelte tien keer zoveel flavonoïden als in het witte deel. Per ras kunnen grote verschillen optreden. Ook de hoeveelheid licht tijdens de groei is van grote invloed, zo worden in kasplanten lage concentraties flavonolen gevonden. De samenstelling kan tijdens de rijping veranderen, in die zin dat de flavonolen tijdens de rijping over het algemeen steeds hoger gehydroxyleerd worden. Ook de gehalten veranderen tijdens de rijping. Zowel het ras, de voorgeschiedenis van de plant, als de monsternamen (met of zonder schil, met of zonder buitenste bladeren) kunnen dus een grote invloed op de uiteindelijk te vinden gehalten hebben. De spreidingen van de gehalten die binnen een plantensoort worden aangegeven zijn dan ook vaak aanzienlijk.

In de levende delen van planten zijn de flavonolen waarschijnlijk altijd aanwezig als glycosiden. Er zijn gevallen bekend dat aglyconen in levende delen werden aangetoond, maar waarschijnlijk was dit te wijten aan enzymatische of chemische afbraak tijdens de bewerking. Het is des te meer aan te nemen dat de flavonolen alleen als glycosiden voorkomen, omdat de glycosiden goed wateroplosbaar zijn en de aglyconen slecht wateroplosbaar.

In verhoude en andere afgestorven delen van planten komen de flavonolen ook als aglyconen voor. In uienschil bijvoorbeeld komen bijzonder hoge concentraties aglyconen voor. Ook in gefermenteerde produkten zoals wijn en thee komen (veel) aglyconen voor.

3 ISOLEREN VAN FLAVONOLEN UIT VOEDINGSMIDDELEN

Als eerste stap in de monsteropwerking zijn er twee mogelijkheden. Worden er intacte flavonolglycosiden of vrije aglyconen geanalyseerd, dan wordt een extractie toegepast. Wordt het totaalgehalte flavonolen als aglyconen bepaald, dan wordt een gecombineerde extractie/hydrolyse toegepast.

3.1 Extractie

De aglyconen zijn oplosbaar in alcohol, ether, aceton en pyridine (Handbook of chemistry and physics, Merck index), maar slecht oplosbaar in water. De glycosiden zijn wel oplosbaar in water. In methanol, aceton en ethylacetaat zijn zowel de aglyconen als de glycosiden oplosbaar. In apolaire oplosmiddelen zoals tri- en tetrachloorkoolstof zijn noch de aglyconen, noch de glycosiden oplosbaar (Henning).

Marbry hanteert het volgende schema, dat instructief is voor de verschillen in oplosbaarheid:

- Plantenmateriaal extraheren met MeOH/H₂O=80/20
- Uitschudden met hexaan of dichloormethaan; deze laag bevat aglyconen vooral de gemethoxyleerde.
- Uitschudden met ethylacetaat; deze laag bevat meest mono- en diglycosiden en enige aglyconen.
- De overblijvende waterlaag bevat glycosiden in het bijzonder tri- en tetraglycosiden en gesulfateerde flavonoiden.

De meest simpele monsteropwerking bestaat uit een (m)ethanol of (m)ethanol/water extractie (Tamma (1985), Balz et al (1979), Asen (1977), Court (1977)).

Lunte (1987) brengt monsters wijn op een Sep-pak C18 kolommetje. De suikers en de organische zuren worden verwijderd met water. De fenolische zuren worden geelueerd met 1M NH₄OH, de flavonoiden met methanol. Ook Pietta (1986), Dondi (1986) en Eskins (1979) gebruiken een Sep-pak C18 kolommetje in de monsteropwerking.

Bilyk (1985) verwijderd chlorophyl en wasachtige bestanddelen uit monsters groente door toevoegen van actief kool aan een methanolextract. Toegevoegde quercetine en rutine werd voor 98 % teruggevonden.

Revilla (1986) analyseert de vrije aglyconen in wijn. Tienmaal geconcentreerde monsters worden viermaal uitgeschud met diethylether. Na drogen met Na_2SO_4 worden de gecombineerde etherfracties drooggedampt. Het residu wordt opgelost in methanol.

Dondi (1986) lost kamille-extracten op in water aangezuurd met 1M HCl tot pH 2-3. De extracten werden driemaal uitgeschud met ethylacetaat. De organische fase werd tweemaal geëxtraheerd met water. De organische fase werd gefiltreerd over natriumsulfaat, drooggedampt en opgelost in ethylacetaat/methanol=50/50. De oplossing werd gefiltreerd over een Sep-pak C18 kolommetje en op flavonoïden onderzocht met behulp van HPLC.

McMurrough (1981) extraheert gerst en hop met aceton/water=75/25, door uitzouten met NaCl komt een fasenscheiding tot stand. De acetonfase wordt uitgeschud met hexaan. De onderste helft bevat de bulk van de enkelvoudige flavonolen en de flavonolglycosiden. De procedure verwijderd ongewenste fenolische zuren, depsides en polymere flavanolen.

Salagoity-Auguste (1984) bepaalt het gehalte aan de aglyconen van myricetine en quercetine in wijn. Na 1 op 1 verdunnen wordt de alcohol uit het monster afgedampt, het monster op pH 7 gebracht en 3 maal geëxtraheerd met ethylacetaat. De neutrale fenolische componenten gaan nu over in de ethylacetaatfase. De zure fenolische componenten zijn bij deze pH geïoniseerd en blijven achter in de waterfase. De waterfase wordt nu op pH 2 gebracht waarna de nu ongeïoniseerde fenolische zuren alsnog met ethylacetaat geëxtraheerd kunnen worden. De extractie-efficiëntie van myricetine en quercetine was 70-75%. De reproduceerbaarheidscoëfficiënt was 34% voor myricetine en 18% voor quercetine.

Siewek (1984) zuivert extracten in water over een polyamidekolom, elueert de flavonolen met methanol, en zuivert het methanolelueaat over een ionenwisselaarskolom van anthocyanen (de anthocyanen worden op de ionenwisselaarskolom gebonden).

Henning (1980) maakt onder andere gebruik van een polyamidekolom. Na elutie met methanol elueert hij ook nog met methanolische ammoniak. Nu pas worden de glucuroniden en de galacturoniden van de kolom geelueerd.

3.2 Extractie/hydrolyse

De flavonolglycosiden kunnen door middel van zure hydrolyse gehydrolyseerd worden tot aglyconen. Vanwege de geringe oplosbaarheid van de aglyconen in water worden de meeste hydrolyses uitgevoerd in (m)ethanol/waterig zuur mengsels.

3.2.1 Zoutzuurhydrolyse

Harborne hydrolyseert in 2 N HCl/ethanol=50/50 bij 100 C en vindt dat de glycosiden in de volgende volgorde hydrolyseren:

L-rhamnose = L-arabinose > D-glucose \approx D-galactose > D-glucuronzuur.

Ook de plaats van substitutie heeft invloed:

C3 > C4' > C7 (zie tabel 3).

Het 7-glucuronide was als flavonolglycoside na 3 uur koken volledig gehydrolyseerd. De methode Harborne wordt ook gebruikt door Koeppen (1977). Na hydrolyse wordt het mengsel ingedampt en geëxtraheerd met ethylacetaat. De niet opgeloste en de met ethylacetaat geëxtraheerde aglyconen worden gecombineerd en met TLC onderzocht. Eventueel niet gehydrolyseerde suikers worden niet kwantitatief uitgeschud.

McMurrrough hydrolyseert flavonolen uit hop en gerst in MeOH/4N HCl=75/25, gedurende 2 uur te koken. Het mengsel wordt gefiltreerd en het residu wordt 2 maal met MeOH gewassen. Na indampen en aanvullen met water wordt met hexaan uitgeschud en de waterfase met methanol aangevuld. Na filtreren worden de aglyconen met HPLC gescheiden.

Mueller-Harvey (1985) maakt een waterig acetonextract (aceton/water = 70/30). De fenolische bestanddelen werden neergeslagen als ytterbiumzouten en weer opgelost met oxaalzuur. Aan de oplossing werd HCl toegevoegd (eindconc 2M HCl) De oplossing werd 30 minuten bij 100 C verhit. De hydrolysaten werden met HPLC gescheiden. Een later artikel van Lowry (1990) maakt melding van het feit dat met deze methode zeer onvolledige precipitatie van fenolische componenten wordt bereikt. Alleen fenolische componenten met vicinale OH-groepen precipiteren goed.

Charpentier (1981) hydrolyseert 30 minuten bij 100 C in 2N HCl. De zure oplossing wordt tweemaal uitgeschud met ethylacetaat. De ethylacetaatfractie werd ingedampt en opgenomen in methanol.

3.2.2 Zwavelzuurhydrolyse

De groep van Herrmann, waartoe ook Henning behoorde, heeft veel gehalten aan flavonolen in groente en fruit bepaald met de methode van Wildanger (1973). De methode, die zeer bewerkelijk is verloopt als volgt:

Gemalen groentedelen worden met waterig sulfiet oplossing geextraheerd (Ultra Turrax). Het mengsel wordt 5 minuten gekookt om enzymen te inactiveren en daarna gecentrifugeerd. Het neerslag wordt nog driemaal met methanol en een maal met methanol/water=50/50 geextraheerd. Alle extracten worden bij elkaar gevoegd. Het extract wordt ingedampt tot 200 ml en er wordt 100 ml methanol toegevoegd. Hierna wordt 12-30 uur met petroleumether gerefluxed om verontreinigingen te verwijderen. De oplossing wordt ingedampt tot 50 ml en met water tot 200 ml aangevuld. De oplossing wordt nu op een polyamidekolom gebracht. De kolom wordt ruim gewassen met water, de flavonoiden worden van de kolom geëlueerd met methanolische ammoniakoplossing. Het eluaat wordt ingedampt en kan nu gehydrolyseerd worden.

De hydrolyse vindt plaats door 1 uur te koken in methanol/2% zwavelzuur=50/50. Hierna wordt geneutraliseerd met methanolische ammoniak tot pH 8 (potentiometrisch) en ingedampt. Na toevoeging van water wordt vier maal met ethylacetaat/methanol=90/10 uitgeschud. De gecombineerde fracties worden ingedampt tot 1 ml residu en overgespoeld in 10 ml met methanol. Als controle op de hydrolyse werd rutine (quercetine-3--D-rutinoside) toegevoegd (8-10% verlies). Slecht hydrolyseerbare glycosides werden tot 5 uur gekookt (tot 5% verlies). Na scheiding van de flavonolaglyconen met behulp van preparatieve dunnelaag worden de gehalten van de afzonderlijke flavonolen bepaald door de extinctie te meten van de geëlueerde flavonolaglyconen.

3.2.3 Andere hydrolyses

Om de moeilijk te hydrolyseren glucuronides gehydrolyseerd te krijgen worden deze ook wel apart enzymatisch gehydrolyseerd met glucuronidase (Kunzemann, 1977).

Voor identificatiedoeleinden wordt ook veel gebruik gemaakt van enzymatische hydrolyses waarmee specifieke suikers gehydrolyseerd kunnen worden. Gebruikte enzymen zijn β -glucosidase, β -galactosidase (Henning, Koeppen).

Henning (1980) gebruikt een peroxide hydrolyse om specifiek glycosiden O-gebonden aan het C3-atoom te hydrolyseren.

Bij een basische hydrolyse worden de polyfenolen gesplitst onder vorming van onder andere benzoëzuren (Schuster (1985)).

Niemann beschrijft de autoxidatie van de aglyconen tijdens de hydrolyse in ethanolische of waterige HCl, vooral bij lage concentraties, waarbij vooral benzoëzuren ontstaan. Autoxidatie kan voorkomen worden door te werken in een stikstofatmosfeer.

4 DISCUSSIE EN CONCLUSIE

Quercetine en kaempferol zijn de meest verspreid voorkomende flavonolen in groenten en fruit, waarbij quercetine het meest frequent voorkomt. Kaempferolgehalten in fruit zijn meestal lager dan de quercetinegehalten. Myricetine komt voornamelijk voor in bessen en druiven. Vrije aglyconen komen alleen voor in gefermenteerde produkten zoals wijn, thee en bier. In levende plantendelen zijn de flavonolen waarschijnlijk altijd als glycosiden aanwezig.

Gegevens over de gehalten van flavonolen voor de meeste groente- en fruitsoorten zijn bijna uitsluitend verzameld door de groep van Herrmann met een methode waarbij men twijfels kan hebben over de nauwkeurigheid en het juiste niveau van de uitkomsten.

De gehalten in een bepaalde groente- of fruitsoort kunnen zeer variëren per ras en zijn ook sterk afhankelijk van de groeiomstandigheden. De hoogste gehalten bevinden zich over het algemeen in de buitenste groene delen met het meeste chlorophyl.

Voor de analyse van glycosiden komen (m)ethanolextracties het meest voor. Na deze extractie wordt eventueel een ethylacetaatextractie als concentrerings- en zuiveringsstap toegepast. Voor het verwijderen van fenolische zuren uit het extract worden Seppak C-18- of polyamidekolommetjes toegepast. Het extract kan worden gezuiverd van anthocyanen op een ionenwisselaarkolommetje.

Bij de hydrolyse van glycosiden tot vrije aglyconen is het van belang rekening te houden met de aard en de positie van de suikergroep in het glycoside om een volledige hydrolyse te garanderen.

In de geraadpleegde literatuur over de analytiek van flavonoïden wordt weinig aandacht gegeven aan de kwantitatieve aspecten van de analyse.

Tabel 1: Quercetine- en kaempferolgehalten in verschillende delen van groente. Gehalten uitgedrukt als mg aglycon per kg vers gewicht. Tenzij anders vermeld zijn de cijfers afkomstig van de onderzoeksgroep van Herrmann.

Soort groente	varieteit	schil		blad		overige eetbare delen	
		kaem	quer	kaem	quer	kaem	quer
		mg/kg		mg/kg		mg/kg	
spruiten	'Unigrade'			75	50	40	25
bloemkool	'Gordan'			270	30	2	1
broccoli						30	6
boerenkool	open lucht			250	50		
	kas			70	35		
	(Bilyk)			13-30	7-20		
witte kool	'Indw Marne'					<1	<1
rode kool	'Lagr Marne'					<1	6
chin kool	'Kantoner'					11	3
Savoye kool	'Hammer':						
	met buitenste bladeren					29	5
	zonder buitenste blad					<1	<1
koolrabi	'Primavera':						
	open lucht	6	7	80	25	<1	<1
	kas			5	<0,1	<1	<1
kl. radijs	'Saxa treib'	27	0	825	0	8	0
	'Eiszapfen'			150	30	1	<1
	'Neckarperle' (kas)			16	0	1	0
radijs	'Kitzinger S'			130	35	<1	0
rutabaga	'Seefeldler'			400	40	<1	<1
mieriksw.		76	0	1600	50	20	0
venkel						<1	<1
schorseneren						<1	<1
prei	9 soorten			90-200	10-25		
	(Bilyk) witte deel			20			
bieslook				10	300		
	(Bilyk)			55	9		
aardappel	'Hansa'			50	770	1	2
	'Grata'			60	1000	1	2
tomaat	'Ronald V' (0,2) (7)			20	420	<1	7
paprika	'Yolo wonder' 0 63						
erwt	'Juwel'			140	1580	<1	<1
erwtpeul						3	125
erwt	'Aldermann'			150	1590	<1	<1
erwtpeul						5	130
tuinboon	'Felix'			800	1340	5	19
tuinb. peul						28	36
sla:							
open lucht	'Blanco'	buiten blad		60			
		binnen blad		3			
open lucht	'Valentine'	buiten blad		462			
		binnen blad		8			
kas	'Valentine'	binnen blad		11			
		buiten blad		<1			
	(Bilyk)			0-3	1-28		
andijvie	open lucht	buiten blad		258			
		binnen blad		6			
asperge	'Huch A wit'	<1	<1			0	<1

Tabel 2: Quercetine- en kaempferolgehalten in fruit. Gehalten uitgedrukt in mg aglycon per kg vers gewicht. Tenzij anders vermeld zijn de cijfers afkomstig van de onderzoeksgroep van Herrmann.

Soort	varieteit mg/kg		kaempferol mg/kg	quercetine mg/kg	myricetine mg/kg
appel	3 soorten	schil	<1-7	58-263	
		rest	0-<0,1	<1-2	
peer	'Will Chr'	schil	12	28	
		rest	0	<0,1	
kweepeer	'Port.Q.'	schil	210	180	
		rest	<0,01	<0,01	
zoete kers	3 soorten		0-6	6-24	
zure kers	2 soorten		5-17	23-80	
pruim	3 soorten		0-2	0-15	
perzik	3 soorten		0-2	0-4	
abrikoos			2	53	
framboos	Schönemann		<0,1	29	
braam	Th.Reimers		14	33	
		(Bilyk)	1-3	5-35	
zwarte bes	4 soorten		0-10	33-68	41-95
rode bes	3 soorten		0-2	2-27	
wit bes	2 soorten		0-2	0-3	
kruisbes	2 soorten		0	<0,1	
bosbes	wild		0	32	
	3 soorten		0-6	105-160	
(Bilyk)	4 soorten			24-29	
vlierbes			0	105-237	
cranberry	(Bilyk)		0-3	112-250	11-24

LITERATUUR

Asen, S.

Flavonoid chemical markers as an adjunct for cultivar identification.
Hort. Science, (1977), 12, 447-448.

Balz, J.P., N.P.Das.

Uncaria elliptica a major source of rutin.
Planta Med., (1979), 36, 174-177.

Bilyk, A., P.L.Cooper, G.M.Sapers.

Varietal differences in distribution of quercetin and kaempferol in onion (Allium cepa L.) tissue.
J. Agric. Food Chem., (1984), 32, 274-276.

Bilyk, A., G.M.Sapers.

Distribution of quercetin and kaempferol in lettuce, kale, chive, garlic chive, leek, horseradish, red radish and red cabbage tissues.
J. Agric. Food Chem. (1985), 33, 226-228.

Castelee, K. vande, H.Geiger, C.F.van Sumeren.

Separation of flavonoids by reversed phase HPLC.
J. Chrom., (1982), 240, 81-94.

Charpentier, B.A., J.R.Cowles.

Rapid method of analyzing phenolic compounds in Pinus ellioti using HPLC.
J. Chrom., (1981), 208, 132-136.

Court, W.A.

HPLC of naturally occurring phenolic compounds.
J.Chrom., (1977), 130, 287-291.

Dondi, F.Y., D.Kahie, G.Lodi, M.Remelli, P.Reschiglian, C.Bighi.

Evaluation of the number of components in multicomponent liquid chromatograms of plant extracts.
Anal. Chim. Acta, (1986), 191, 261-273.

Eskins, K., H.J.Dutton.

Sample preparation for HPLC of higher plant pigments.

Anal. Chem., (1979), 51, 1885-1886.

Uit : T.W.Goodwin ed. Chemistry and biochemistry of plantpigments,
Ac. Press N.Y. (1976), T.Swain, chapter 8, 425-463.

Nature and properties of flavonoids.

Harborne, J.B.

Plant polyphenols XIV, characterisation of flavonoid glycosides by
acidic and enzymic hydrolyses.

Phytochemistry (1965), 4, 107-120.

Henning, W.

Proefschrift, 1980, Bestimmung der in Pflaumen, Kirschen, Pfirsichen
und Aprikosen vorkommenden flavonolglykoside unter anwendung von
Hochdruckfluessigkeitschromatografie.

Herrmann, K.

Flavonols and flavones in food plants: a review.

J.Fd.Technol, (1976), 11, 433-448.

Herrmann, K.

On the occurence of flavonol and flavone glycosides in vegetables.

Z. Lebensm. Unters. Forsch. (1988), 186, 1-5.

Hertog, M.G.L.

Flavonoiden (biologische eigenschappen, analysemethode, relatie met
kanker).

Afstudeerscriptie Rijksuniversiteit Limburg, (1988).

Koeppen, B.H., K. Herrmann.

Flavonoid glycosides and hydroxycinnamicacid esters of blackcurrants
(Ribes nigrum). Phenolics of fruits 9.

Z. Lebensm. Unters. Forsch., (1977), 164, 263-268.

Kunzemann, J., K. Herrmann.

Isolierung und Identifizierung de Flavon(ol)-O-glykoside in Kümmel (Carum carvi L.), Fenchel (Foeniculum vulgare Mill.), Anis (Pimpinella anisum L.) und Koriander (Coriandrum Sativum L.) und von Flavon-C_glykosiden im Anis.

Z. Lebensm. Unters. Forsch., (1977), 164, 194-200.

Lowry, J.B., E.A.Sumpter.

Problems with the Ytterbium precipitation as a method for the determination of plant phenolics.

J. Sci. Food Agric. (1990), 52, 287-288.

Lunte, S.M.

Structural classification of flavonoids in beverages by liquid chromatography with UV-Vis and electrochemical detection.

J. Chrom., (1987), 384, 371-382.

Murrough, I.Mc.

HPLC of flavonoids in barley and hops.

J. Chrom., (1981), 218, 683-693.

Marbry, T.J., A. Ulubelen.

Chemistry and utilisation of phenylpropanoids including flavonoids, coumarinss and lignans.

J. Agric. Food Chem., (1980), 28,188-196.

Mueller-Harvey, I., J.D.Reed, R.D.Hartley,

Characterisation of phenolic compounds, including flavonoids and tannins of ten Ethiopian Browse species by HPLC.

J. Sci. Food Agric., (1987), 39, 1-14.

Niemann, G.J.

Acid degradation of flavonoids as an aid in their identification (short note).

J. Chrom., (1972), 74, 155-156.

Peinado, J., J.Florindo.

Kinetic-Fluorimetric determination of flavonoids at the nanomole level.

Analyst, (1988), 113, 555-558.

Pietta, P., E.Manera, P.Ceva.

Isocratic liquid chromatographic method for the simultaneous determination of Passiflora incarnata L. and Crataegus monogyna flavonoids in drugs.

J. Chrom., (1986), 233-238.

Pilnik, W.

Collegedictaat LU Wageningen, Vakgroep levensmiddelentechnologie.
(1978).

Revilla, E., E.Alonso, M.I.Estrella.

Analysis of flavonol aglycones in wine extracts by HPLC.

Chromatographia, (1986), 22, 157-159.

Salagoity-Auguste, M.H., A.Bertrand.

Wine phenolics. Analysis of low molecular weight components by HPLC.

J. Sci. Food Agric., (1984), (35), 1241-1247.

Schuster, B., K.Herrmann.

Bildung van Hydroxybenzoesauren aus Flavonoiden bei enzymatischen und alkalischen Hydrolysen.

Z. Lebensm. Unters. Forsch., (1985), 181, 467-469.

Schwartz, S.J., J.H. von Elbe.

HPLC of plant pigments- A review.

J. Liq. Chrom., (1982), 5, 43-73.

Siewek, F., R.Galensa, K.Herrmann.

Nachweis eines Zusatzes von roten zu schwarzen Johannisbeer-Erzeugnissen über die HPLC Bestimmung der Flavonolglykoside.

Z. Lebensm. Unters. Forsch., (1984), 179, 315-321.

Tamma, R.V., G.C.Miller, R.Everett.

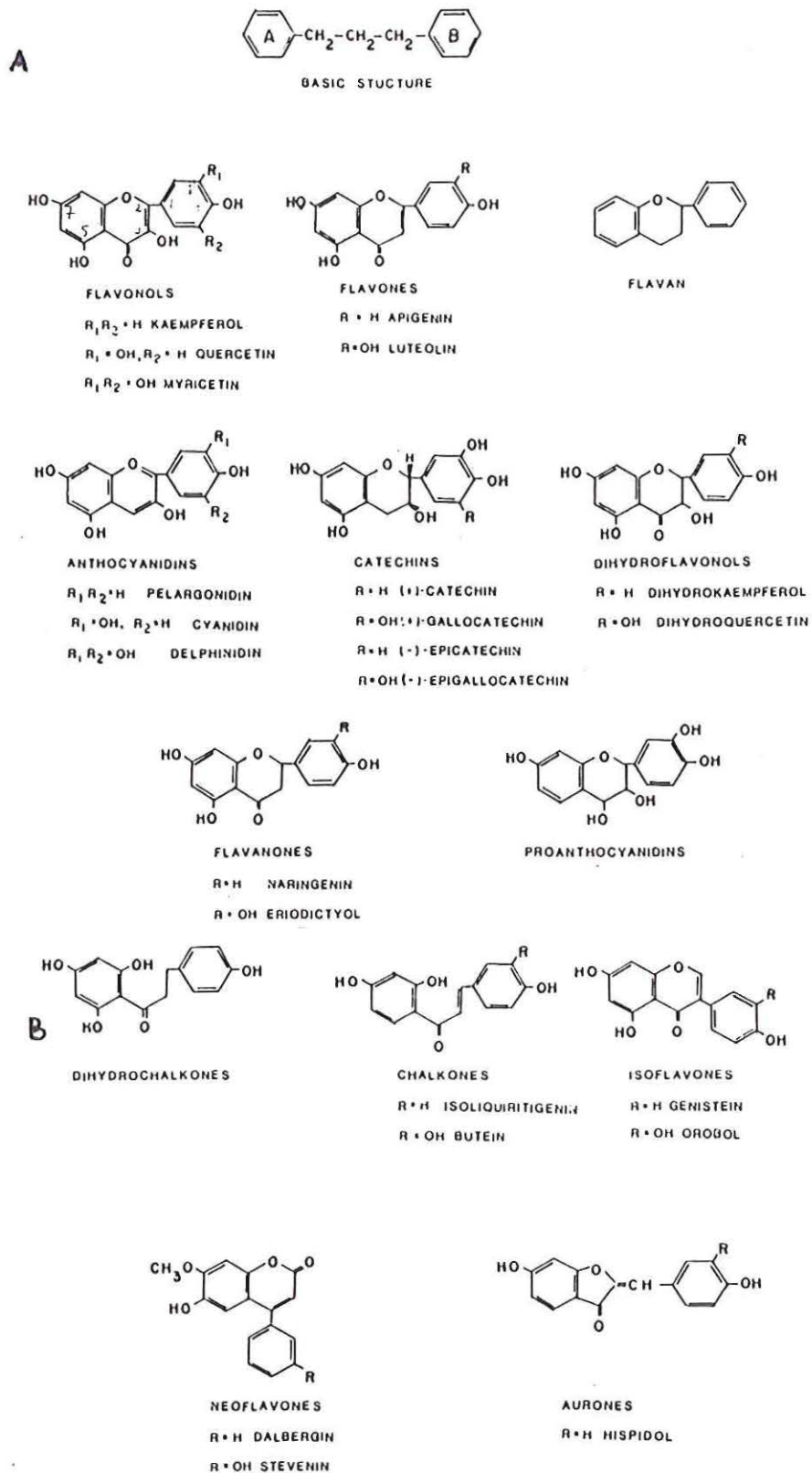
HPLC analysis of coumatins and flavonoids from section Tridentatae of Artemisia.

J.Chrom. (1985), 322, 236-239.

Wildanger, W., K.Herrmann.

Qualitativier Nachweis und quantitative Bestimmung von Flavonolen und flavonen.

J. Chrom., (1973), 76, 433-440.



Figuur 1: Structuren van de flavonoidgroep.

A : Ware flavonoiden.

B : Andere componenten behorende tot de flavonoidgroep.

Uit : Schwartz (1982)