

Afdeling Koolhydraat en Vetchemie

1985-12-16

RAPPORT 85.128

Pr.nr. 505.3020

Onderwerp: Glucosinolaten: Analyse-
mogelijkheden voor de bepaling
van glucosinolaten in
kruisbloemige gewassen.

Verzendlijst: directeur, directie VKA, sektorhoofd, afdeling KVC(4x),
bibliotheek (2x), projectleider, projektbeheer, circulatie,
IVVO, VZ (Schumer/Klaver), Prod. Veev. (Den Hartog), LH
Veev. (Boer), COVP (Janssen), Rijksdienst IJsselmeer Polders,
LH Koeman, Agralin., SVP (Toxopeus).

RAPPORT 85.128

Pr.nr. 505.3020

Project: Ontwikkeling van methoden voor de bepaling van glucosinolaten.

Onderwerp: Glucosinolaten analysemogelijkheden voor de bepaling van glucosinolaten in kruisbloemige gewassen.

Bijlagen: 8.

Doel:

Selectie van analysemogelijkheden voor de bepaling van glucosinolaten.

Samenvatting:

Er wordt een overzicht gegeven van de verschillende analysemogelijkheden van glucosinolaten (GSL), waarbij kort ingegaan wordt op de verschillende methoden.

Hierbij wordt aandacht besteed aan het toepassingsgebied, de bruikbaarheid, de gevoeligheid en de te verwachten resultaten. Verder wordt ingegaan op de problemen bij de kwantificatie. Tenslotte wordt een overzicht gegeven van de te verwachten GSL gehalten in verschillende kruisbloemige gewassen.

Conclusie:

Afhankelijk van het toepassingsgebied en de doelstelling van de gebruiker, zijn de meeste methoden bruikbaar. Analyse van de intacte glucosinolaten met HPLC en met fotometrie na complexering met palladium chloride leverde geen bruikbare resultaten.

De meeste informatie wordt verkregen met een HPLC en een GCC methode waarbij enzymatisch gedesulfateerde glucosinolaten worden gescheiden en gekwantificeerd. Deze methoden lijken toepasbaar voor alle doeleinden en zullen in het verdere onderzoek worden gebruikt.

Verantwoordelijk

: drs B.G. Muuse 

Medewerker(s)/Samensteller(s): H.J. van der Kamp/M.L. Essers

Projectleider

: drs B.G. Muuse

1. Inleiding

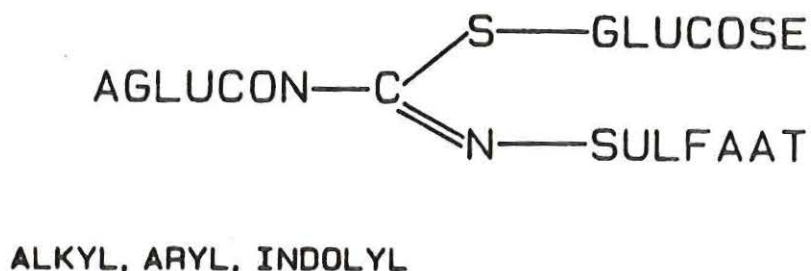
Glucosinolaten komen in de natuur vooral voor in kruisbloemige gewassen waartoe behoren de brassicazaden zoals kool/raapzaad en mosterdzaad, maar ook spruitjes, allerlei bekende koolsoorten, radijs, koolraap etc.

Van glucosinolaten is bekend dat deze stoffen een schildklierremmende werking hebben, leverafwijkingen kunnen geven bij hoge doseringen zoals in de diervoeding kan voorkomen⁽¹⁾ doch ook dat glucosinolaten een activerende werking hebben op detoxificerende enzymen⁽²⁾, waardoor hen een antimutagene werking wordt toegeschreven. Een toepassing van glucosinolaten zou kunnen zijn het gebruik van Brassicas als tussengewas bij de aardappel- en bietenteelt ter bestrijding van de aardappel en bietencyste aaltjes. Deze gedachte stamt van voor de oorlog en werd kort geleden weer opgenomen door Forrest en Farre⁽³⁾.

In het verleden werden GSL vooral bepaald in diervoeders. Met de toenmalige methode werden alleen de vluchtige isothiocyanaten bepaald (mosterdolie) na stoomdestillatie van de enzymatisch vrijgemaakte ITC gevolgd door argentometrische titratie. Deze methode werd vooral uitgevoerd in diervoeders waarin schroot afkosmtig van brassicazaden verwerkt was vanwege de giftigheid van ITC. Een nadeel van deze methode is dat slechts enkele van de aanwezige GSL bepaald worden. HPLC en GLC maken momenteel een meer gedetailleerde analyse van GSL mogelijk, hetgeen belangrijk is voor de bepaling van GSL in bv. groenten en de zogenaamde dubbel nul kool/raapzaadvariëteiten. Daarnaast zijn ook enige methoden bekend voor de bepaling van het totaal gehalte aan GSL.

Glucosinolaten bestaan uit een thiocyanaatkern waaraan gebonden een glucose en een sulfaat groep, terwijl het type GSL wordt bepaald door het aglucon bestaande uit alkyl, aryl of een indolyl verbinding (fig 1). Een aantal GSL verbindingen met triviaal namen en structuur zijn opgenomen in bijlage 1.

Figuur 1.



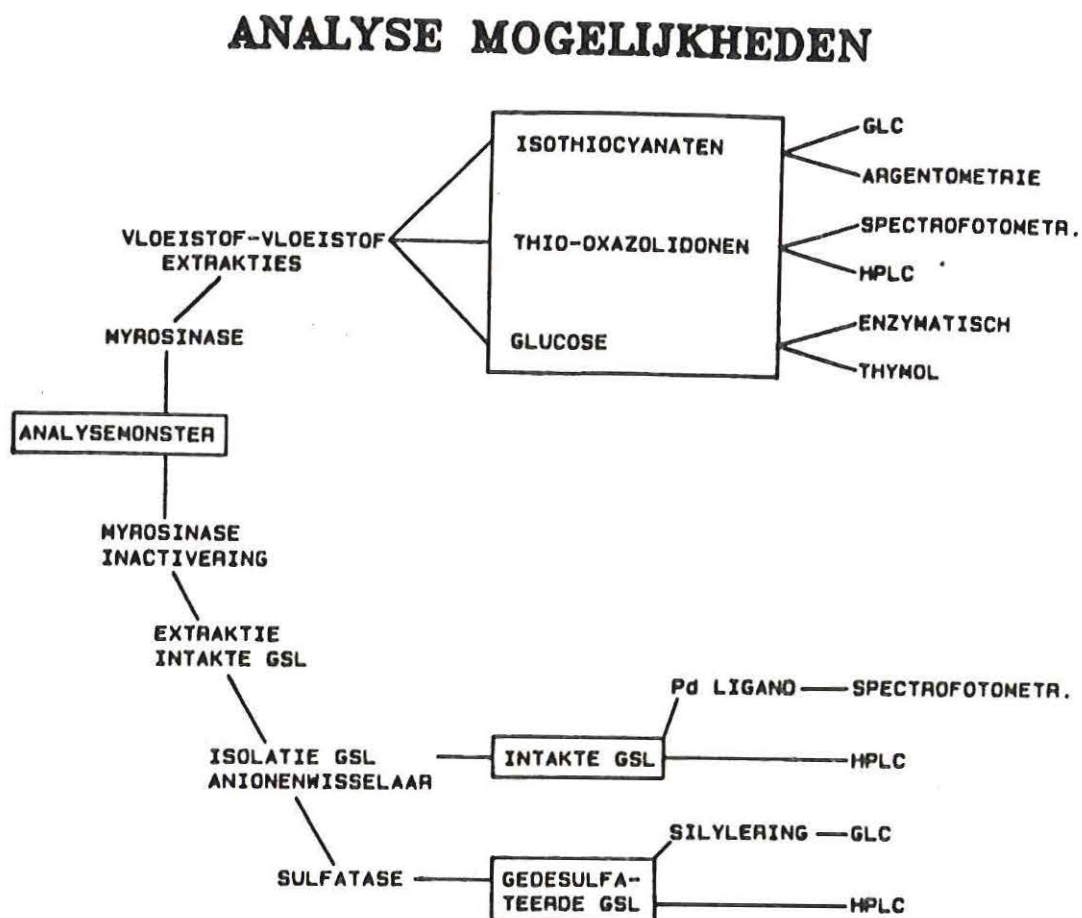
Alkenyl glucosinolaten ontstaan uit het aminozuur methionine door successive ketenverlenging met een CH₂-groep. Daarna wordt de CH₃-S groep afgesplitst en een dubbele band ingevoerd, waardoor het sinigrin, glucanapin resp. glucobrassicinapin ontstaan. Door invoering van een hydroxylgroep ontstaan vervolgens het progoitrin en glucanapoleiferin (4).

2. Analyse mogelijkheden

In figuur 2 zijn de analyse mogelijkheden aangegeven voor de analyse van GSL (10,5).

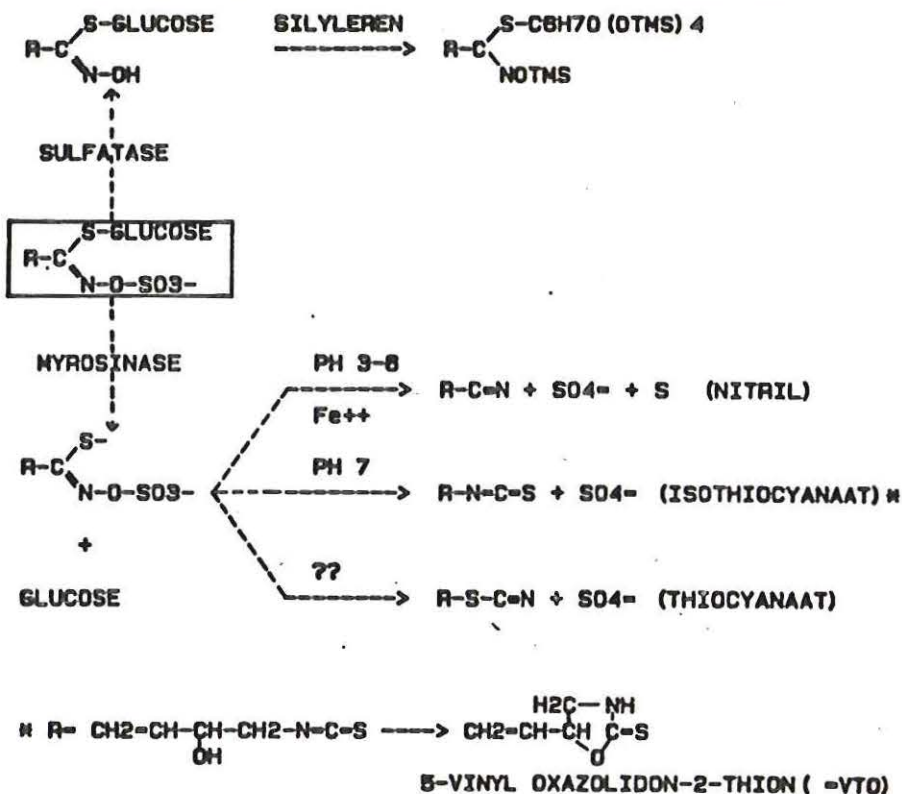
Bij de analyse van GSL zijn twee routes te onderscheiden nl. wel of geen hydrolyse van het GSL d.m.v. het enzym myrosinase. Verder zijn er methoden die alleen het totaal gehalte aan GSL geven en methoden die bovendien de samenstelling van de GSL geven.

Figuur 2.



Figuur 3.

EFFECT VAN MYROSINASE EN SULFATASE OP GLUCOSINOLATEN



Door het enzym myrosinase (5) wordt zowel glucose als de sulfaatgroep afgesplitst, waarbij afhankelijk van de analyse-omstandigheden nitrilen, thiocyanaten of isothiocyanaten ontstaan (fig. 3). Het totaal GSL gehalte kan bepaald worden via de bepaling van glucose. Alkyl isothiocyanaten kunnen gaschromatografisch bepaald worden. Hydroxy-alkenyl ITC's cycliseren tot thiooxazolidonen zoals VTO. Daar deze thiooxazolidonen weinig vluchtig zijn, worden ze niet met gaschromatografie doch m.b.v. spectrofotometrie of met een meer gevoelige HPLC methode geanalyseerd.

Wanneer geen myrosinase wordt gebruikt, kan het totaal GSL gehalte bepaald worden als Pd-Ligand (spectrofotometrisch), de GSL samenstelling met HPLC. Ook kan met het enzym sulfatase de sulfaatgroep van het GSL afgesplitst worden. De aldus verkregen gedesulfateerde GSL kunnen zowel met HPLC als GLC bepaald worden.

In het kort zal nu ingegaan worden op de verschillende analysemethoden.

2.1 ISO 5504 methode

Deze methode is tot nog toe het meest gebruikt naast de klassieke argentometrische methode (bepaling van het mosterdoliegehalte). Het toepassingsgebied ligt vooral op het gebied van de veevoeders en zaden zoals kool/raapzaad met een hoog gehalte aan GSL (ca. 100 $\mu\text{mol/g}$ onvet materiaal). Deze monsters bevatten hoofdzakelijk GSL uit de alkylgroep zoals glucobrassicinapin en progoitrin. Aryl en indolyl GSL worden met deze methode niet geanalyseerd.

Bij deze methode worden de GSL omgezet in isothiocyانات door myrosinase bij pH 7 waarbij het uit progoitrin afkomstige hydroxy-isothiocyanaat cycliseert tot 5-vinyl-oxazolidon-2-thion (VTO). In bijlage 2 zijn het analyseschema, de daarmee verkregen GLC resultaten en het absorptiespectrum van VTO opgenomen. Het GLC chromatogram toont de isothiocyانات uit een raapschroot met een totaal GSL gehalte van ca. 100 $\mu\text{mol/g}$.

Straight phase HPLC analyse van VTO is mogelijk waarbij de monster voorbereiding vrijwel overeenkomt met de ITC analyse. Gehalten vanaf ca. 5 mg/kg zijn op deze wijze te bepalen. VTO heeft een absorptie maximum bij 248 nm.

Vergelijking van de argentometrische methode (monsterdoliebepaling) met het via ISO 5504 verkregen isothiocyanaatgehalte (berekend als allyl ITC) gaf nagenoeg geen verschillen te zien bij gehalten vanaf ca. 0,2%, zoals voorkomen in koolraapzaad.

2.2 Analyse van intakte GSL

Analyse van de GSL als zodanig is mogelijk met HPLC (11). De cleanup bestaat uit binding van de GSL via het sulfaation aan een anionenwisselaar, verwijdering van verontreinigingen met water en vervolgens elutie van de GSL met loog. De GSL samenstelling kan daarna worden bepaald met ion pairing HPLC danwel kan het totaal gehalte aan GSL worden bepaald door complexering met Pd^{++} (6) en fotometrische bepaling. In bijlage 3 is het analyseschema met de verkregen HPLC scheiding opgenomen.

Gebleken is echter dat de cleanup procedure niet reproduceerbaar is uit te voeren waardoor zeker de Pd^{++} meting niet betrouwbaar is. HPLC met een externe standaardisatie heeft hetzelfde bezwaar, analyse met een interne standaard zou mogelijk een verbetering zijn doch alternatieve mogelijkheden bleken aantrekkelijker.

2.3 Analyse van gedesulfateerde glucosinolaten met HPLC of Capillair GC.

Voor analyse van de GSL is het mogelijk om een cleanup uit te voeren met een anionenwisselaar en vervolgens met sulfatase de GSL af te splitsen van de aan de anionenwisselaar gebonden sulfaat groep. De gedesulfateerde GSL kunnen vervolgens direct met reversed phase HPLC worden geanalyseerd (7,8) danwel kunnen de gedesulfateerde GSL worden gesilyleerd voor analyse met (capillair) GC (7,12,13,14), waarbij met een interne standaard wordt gekwantificeerd. Een nadeel bij de gaschromatografie is dat niet alle GSL thermisch stabiel zijn (bv. indolyl GSL) en dat de voor GC noodzakelijke silylering niet voor alle GSL even makkelijk gaat. Identificatie kan geschieden met Electron Impact of chemische ionisatie - GCMS (15,16,17,18). Het analyseschema, de HPLC resp. de GLC gegevens en chromatogrammen zijn opgenomen in figuur 4. Ook met radiaal compressie HPLC zijn goede resultaten verkregen waarbij de analysetijd korter is dan bij normale HPLC.

De methode is goed toepasbaar op hoge en lage gehalten zoals voorkomen in kool/raap zaden en gevriesdroogde groenten (b.v. spruitjes). Zowel alkyl-, aryl- als indolyl-glucosinolaten worden bepaald.

2.4 Bepaling van het totaal GSL gehalte middels meting van glucose.

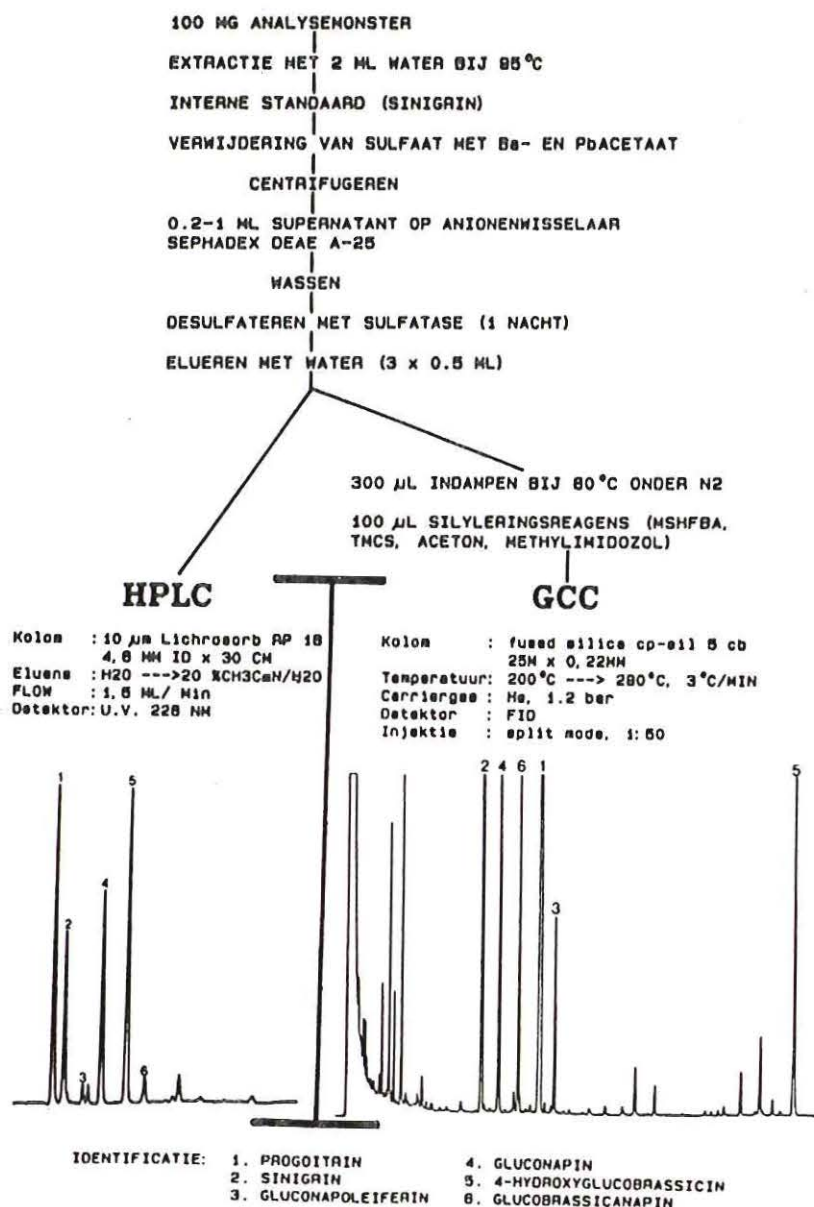
Na enzymatische afsplitsing van glucose met myrosinase kan het totaal GSL gehalte spectrofotometrisch bepaald worden door een kleurreactie van glucose met thymol of door enzymatisch het glucose gehalte te bepalen (9,19,20,21). De thymolmethode is nauwkeurig gebleken en wordt toegepast op brassicazaden (ook dubbel nul variëteiten).

3. Kwantificatie van de resultaten

De gaschromatografische resultaten worden berekend door integratie van de piekoppervlakken van de gesilyleerde GSL. Daar sprake is van verbindingen met een groot aantal koolstofatomen (ca. 25) mag worden aangenomen dat er geen responsverschillen in de vlamionisatiedetector bestaan. Het oppervlakte percentage is derhalve gelijk te stellen aan het massapercentage. Met behulp van de interne standaard, in de meeste gevallen kan dat sinigrin zijn doordat dit meestal ontbreekt in het produkt, is de samenstelling uit te drukken in absolute waarden.

Figuur 4.

ANALYSEMETHODE VOOR KOOL/RAAPZAAD



De voorkeur gaat uit naar uitdrukking van het resultaat in µmol per gram monster (eventueel ontvet), waardoor waarden worden verkregen die onafhankelijk zijn van het type GSL.

Bij het kwantificeren van de HPLC resultaten dient de molaire extinctie in het meetgebied bekend te zijn voor ieder GSL. Daar de GSL structuur nogal uiteen kan lopen zijn navenante verschillen te verwachten voor de verschillende glucosinolaten. Het ontbreken van standaardmaterialen noopt ons dan ook de HPLC resultaten te refereren aan de GLC

resultaten. Vergelijking van de resultaten gemeten bij diverse golflengten levert een zgn. relatieve molaire extinctie op t.o.v. sinigrin welke is geïllustreerd in bijlage 4. Indolyl GSL (4-hydroxy-glucobrassicin) bleek een ca. 5 maal hogere molaire extinctie te hebben dan de alkyl GSL en een absorptie maximum te hebben bij 222 nm.

Door deze onderlinge afhankelijkheid van HPLC en GLC zijn de resultaten verkregen met beide methoden identiek. HPLC biedt daarbij echter het voordeel dat de GSL niet gesilyleerd behoeven te worden hetgeen een voordeel is daar sommige GSL moeilijk silyleerbaar of thermisch minder stabiel zijn bij de GC analyse. Voor die gevallen is kwantificatie niet mogelijk voordat de mol. extinctie op enigerlei wijze bepaald kan worden.

4. Methodevergelijking

Van de diverse methoden is het niveau te vergelijken door de resultaten van twee onafhankelijke methoden naast elkaar te leggen zoals bv. ISO 5504 naast de HPLC methode of de som van de individuele GSL gehalten te vergelijken met totaal GSL gehalte verkregen via glucose.

In bijlage 4 is een vergelijking gemaakt van de ISO methode versus de GCC analyse van de gedesulfateerde en gesilyleerde GSL. Het totaal van progoitrin, gluconapin en glucobrassicinapin ligt voor de ISO methode ca. 15% lager, terwijl het totaal aan GSL voor de ISO methode ca. 25% lager ligt dan de GCC analyse. Worden de GCC resultaten vergeleken met een glucosebepaling met thymol zoals is gepubliceerd door Brzezinsky, dan wordt met GLC/HPLC van de desulfo-GSL ca. 10% meer GSL gevonden (bijlage 5).

5. Voorkomen in de natuur

Uit het onderzoek i.s.m. Brzezinsky bleek dat voor de onderzochte raapzaden met een toenemend gehalte aan totaal GSL het gehalte aan progoitrin en gluconapin verhoudingsgewijs constant was. Het gehalte aan hydroxyglucobrassicin (indolyl-GSL) bleek onafhankelijk te zijn van het gehalte (bijlage 5).

In bijlagen 6 t/m 8 worden onderzoekgegevens getoond uit een review artikel van Fenwick et al (1). Daaruit blijkt dat voor de brassicazaden die in de diervoeding veel gebruikt worden hoge gehalten voorkomen van 100-200 $\mu\text{mol/g}$ en dat in de humane voedingsmiddelen gehalten voorkomen

in het eetbare deel van de plant van 1-10 $\mu\text{mol/g}$. De indolyl GSL die met name de stimulerende werking hebben op detoxificerende enzymen, komen volgens de literatuur niet voor in de oliehoudende zaden doch wel in de bladkool en knolgewassen.

6. Conclusie

Analyse van intacte GSL met HPLC en met fotometrie na complexering met palladiumchloride leverde geen bruikbare resultaten. Afhankelijk van de doelstelling en het toepassingsgebied zijn de ISO 5504 methode, totaal GSL via thymol (meting glucose) en de HPLC/GCC methode (meting van enzymatisch gedesulfateerde GSL) goed bruikbaar.

Bij de HPLC/GCC methode wordt de meeste informatie gekregen over de individuele GSL. Kwantificatie van deze GSL is door het veelal ontbreken van standaarden en referentiematerialen momenteel alleen mogelijk door relateren met de GCC analyses en eventueel vergelijken van de totaalgehalten met de thymol methode.

LITERATUURLIJST

1. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants.
G.R. Fenwick, R.K. Heaney, W.J. Mullin.
CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1983, 18, 123-201.
2. Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods and feeding stuffs.
G.R. Fenwick, R.K. Heaney.
Food Chemistry, 1983, 11, 249-271.
3. The response of eggs of the white potato cyst nematode *Globodera pallida* to diffusate from potato and mustard roots.
J.M.S. Forrest, L.A. Farrer.
Ann. Appl. Biol., 1983, 103, 283-289.
4. Möglichkeiten einer Auslese auf Glucosinolat-Armut in der Grun-
masse von *Brassica Napus* und *B. Campestris*.
K. Jürges.
Z. Pflanzenzuchtg., 1982, 89, 74-87.
5. Review of analysis of glucosinolates.
Analytical methodology for determining glucosinolate composition and
content.
D.I. McGregor, W.J. Mullin, G.R. Fenwick.
J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1983, 66, 825-849.
6. Complex-formation between glucosinolates and tetrachloropalladate (II)
and its utilization in plant breeding.
W. Thies.
Fette-Seifen-Anstrichmittel, 1982, 9, 338-342.
7. The quantitative analysis of glucosinolates in cruciferous vegeta-
bles, oilseeds and forage crops using high performance liquid chroma-
tography.
E.A. Spinks, K. Sones, G.R. Fenwick.
Fette-Seifen-Anstrichmittel, 1984, 6, 228-231.
8. Separation of desulphoglucosinolates by reversed-phase high-perfor-
mance liquid chromatography.
I. Minchinton, J. Sang, D. Burke, R.J.W. Truscott.
J. of Chromatography, 1982, 247, 141-148.
9. Determination of total glucosinolate content in rapeseed meal with
thymol reagent.
W. Brzezinski, P. Mendelewski.
Z. Pflanzenzuchtg. 1984, 93, 177-183.
10. Recent advances in the analysis of glucosinolates.
O. Olsen, H. Sørensen.
JAOCS, 1981, 857-864.
11. Separation of glucosinolates by high-performance liquid chromato-
graphy.
P. Helboe, O. Olsen, H. Sørensen.
J. of Chromatography, 1980, 197, 199-205.

12. The analysis of glucosinolates in brassica species using gaschromatography. Direct determination of the thiocyanate ion precursors, glucosbrassicin and neoglucobrassicin.
R.K. Heaney, G.R. Fenwick.
J. Sci. Food Agric. 1980, 31, 593-599.
13. The quantitative analyses of indole glucosinolates by gaschromatography - the importance of the derivatisation conditions.
R.K. Heaney, G.R. Fenwick.
J. Sci. Food Agric. 1982, 33, 68-70.
14. Quantitative gas liquid chromatography of glucosinolates on a microliter scale.
W. Thies.
Fette-Seifen-Anstrichmittel, 1976, 6, 231-234.
15. Gas chromatography chemical ionization mass spectrometry of glucosinolate derivatives.
J. Eagles, G.R. Fenwick, R.K. Heaney.
Biomedical Mass Spectrometry, 1981, vol 8, 6, 278-282.
16. The mass spectra of glucosinolates and desulphoglucosinolates.
G.R. Fenwick, J. Eagles, R. Gmelin, D. Rakow.
Biomedical Mass Spectrometry, 1980 vol 7, 9, 410-412.
17. The chemical ionization mass spectra of glucosinolates (mustard oil glycosides) and desulphoglucosinolates. A useful aid for structural analysis.
J. Eagles, G.R. Fenwick, R. Gmelin, D. Rakow.
Biomedical Mass Spectrometry, 1981, vol 8, 6, 265-269.
18. Mass spectrometric characteristics of some pertrimethyl-silylated desulfoglucosinolates.
G.W. Christensen, A. Kjaer, J. Ogaard Madsen, C.E. Olsen, O. Olsen, H. Sørensen.
Tetrahedron, 1982, 38, 353-357.
19. The glucosinolate content of oilseed rape varieties.
E.A. Craig, S.R. Draper.
J. Natn. Inst. Agric. Bot., 1979, 15, 98-103.
20. A rapid and simple assay for identifying glucosinolate rapeseed.
D.I. McGregor, R.K. Downey.
Can. J. Plant Sci., 1975, 55, 191-196.
21. Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables: total glucosinolates by retention on anion exchange resin and enzymatic hydrolysis to measure released glucose.
C.H. Vanetten, M.E. Daxenbichler.
JAOAC, 1977, 60, 946-949.

NOMENCLATUUR

ALKYL GLUCOSINOLATEN

AGLUCON	TRIVIAALNAAM	R (STRUCTUUR)
1. METHYL	GLUCOCAPPARIN	CH ₃ -
2. ALLYL-PROP-2-ENYL	SINIGRIN	CH ₂ =CH-CH ₂ -
3. BUT-3-ENYL	GLUCONAPIN	CH ₂ =CH-CH ₂ -CH ₂ -
4. PENT- (4) -ENYL	GLUCOBRASSICANAPIN	CH ₂ =CH- (CH ₂) 3-
5. 2-HYDROXYBUT-3-ENYL	PROGOITRIN	CH ₂ =CH-CH-CH ₂ - OH
6. 2-HYDROXPENT-3-ENYL	GLUCONAPOLEIFERIN	CH ₂ =CH-CH ₂ -CH-CH ₂ - OH
7. 3-METHYLTHIOPROPYL	GLUCOIBERVERIN	CH ₃ -S-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -
8. 4-METHYLTHIOBUTYL	GLUCOERUCIN	CH ₃ -S- (CH ₂) 4-
9. 3-METHYLSULPHINYL- PROPYL	GLUCOIBERIN	CH ₃ -SO- (CH ₂) 3-
10. 4-METHYLSULPHINYL- BUTYL	GLUCORAPHANIN	CH ₃ -SO- (CH ₂) 4-
11. 5-METHYLSULPHINYL- PENTYL	GLUCOALYSSIN	CH ₃ -SO- (CH ₂) 5-
12. 3-METHYLSULPHONYL- PROPYL	GLUCOCHEIROLIN	CH ₃ -SO ₂ - (CH ₂) 3-
13. 4-METHYLSULPHONYL- BUTYL		CH ₃ -SO ₂ - (CH ₂) 4-

ARYL GLUCOSINOLATEN

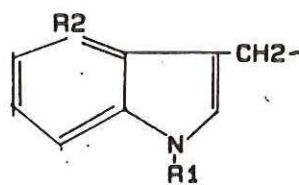
AGLUCON	TRIVIAALNAAM	R (STRUCTUUR)
1. BENZYL	GLUCOTROPAEOLIN	Ø-CH ₂ -
2. 2-PHENYLETHYL	GLUCONASTURTIIN	Ø-CH ₂ -CH ₂ -
3. 2-HYDROXY-2- PHENYLETHYL	GLUCOBBARBARIN	Ø-CH-CH ₂ - OH
4. 4-HYDROXYBENZYL		Ø-CH ₂ - OH
5. 4-HYDROXYBENZYL	GLUCOSINALBIN	HO-Ø-CH ₂ -

Ø=BENZEENRING

INDOL-GLUCOSINOLATEN

AGLUCON	TRIVIAALNAAM	R1	R2
1. 3-INDOLYLMETHYL	GLUCOBRASSICIN	H	H
2. 1-METHOXY-3- INDOLYLMETHYL	NEOGLUCOBRASSICIN	OCH ₃	H
3. 4-HYDROXY-3- INDOLYLMETHYL	4-HYDROXYGLUCO- BRASSICIN	H	OH
4. 4-METHOXY-3- INDOLYLMETHYL	4-METHOXYGLUCO- BRASSICIN	H	OCH ₃
5. SULFO-3-INDOLYL- METHYL	SULFOGLUCO-	SO ₃ -	H

3-INDOLYLMETHYL=



ANALYSE VAN ITC EN VTO (ISO 5504)

ITC

2 GR ANALYSEMONSTER

MYROSINASE +
FOSFAATBUFFER PH7 +
DICHLOORMETHAAN +
I.S. (BUTYL ITC)

CENTRIFUGEREN

GCC

VTO

2 GR ANALYSEMONSTER

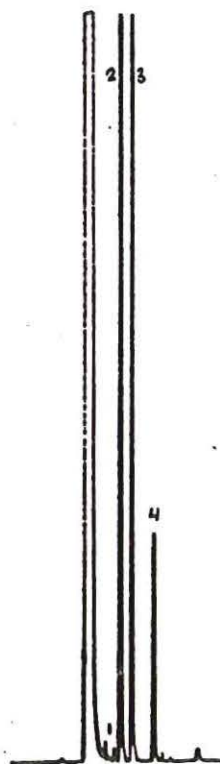
KOKENDE FOSFAATBUFFER PH7

MYROSINASE

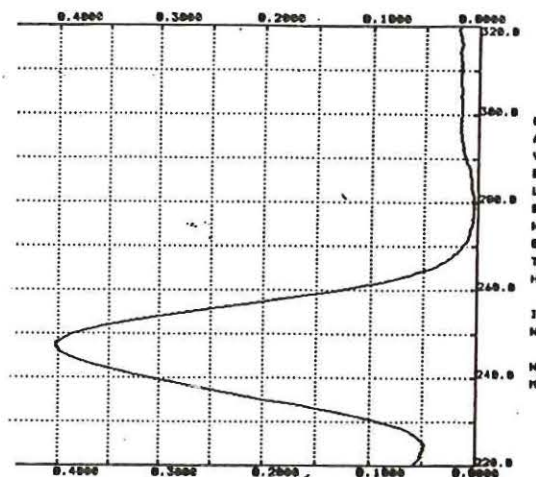
EXTRACTIE MET DI-ETHYLETHER

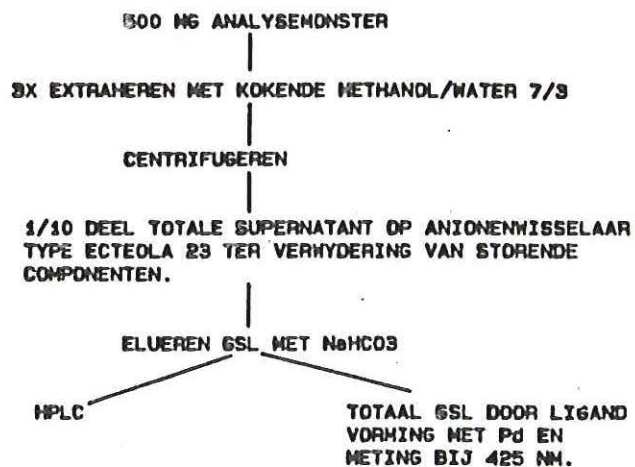
SPECTROFOTOMETRIE
248 EN 280 NM

Kolon : FUSED SILICA CP-WAX 57 CB
 25M x 0.22MM
 TEMPERATUUR: 130°C
 CARRIERGAS : He, 1.0 BAR
 Detektor : FID
 INJEKTIE : SPLIT MODE, 1: 100

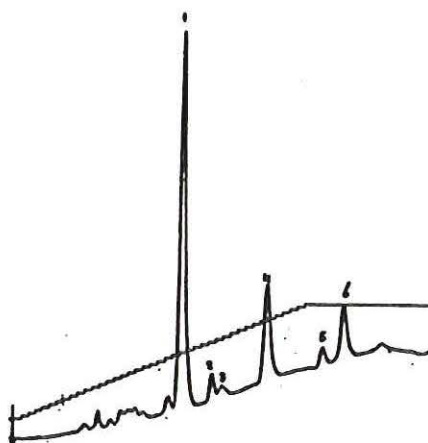


1. ALLYLISOTHIOCYANAAT
2. BUTYLISOTHIOCYANAAT (I.S.)
3. BUTENYLISOTHIOCYANAAT
4. PENTENYLISOTHIOCYANAAT

ABSORPTIE SPECTRUM VTO

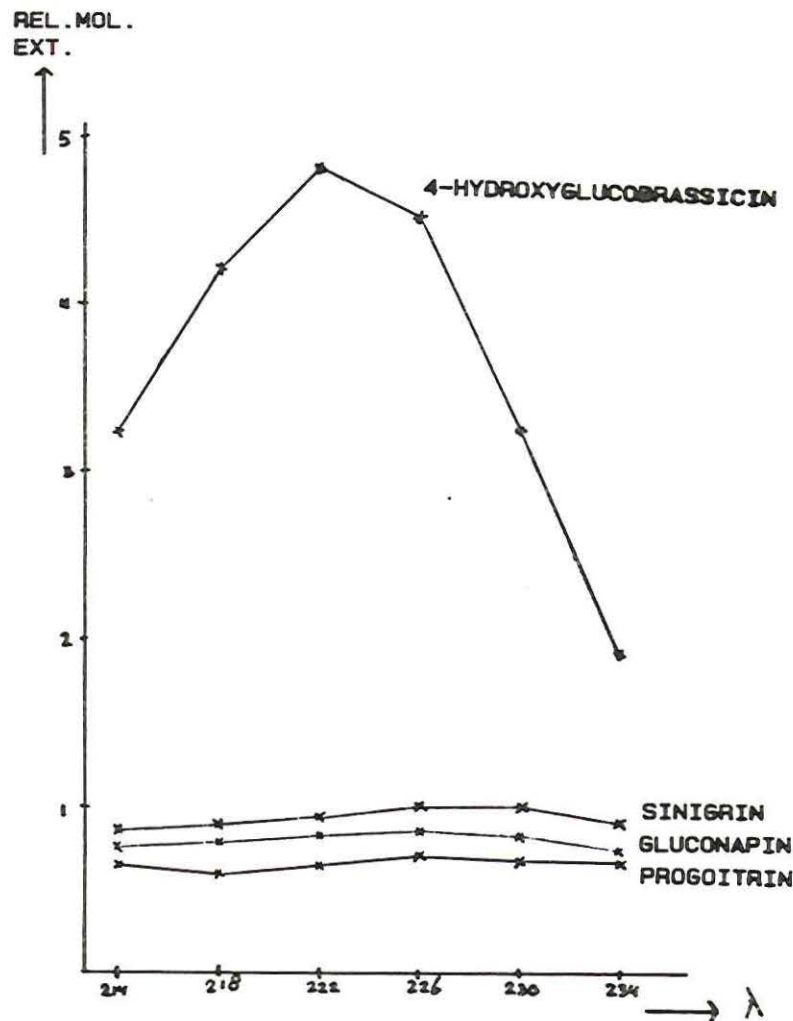
ANALYSE VAN INTAKTE GLUCOSINOLATEN -HPLC/Pd++

Kolom : 5 μ m Lichrosorb RP 18
 4,6 MM ID x 15 CM
 Eluens : METHANOL/FOSFAATBUFFER 0.01M
 55 -----> 85% METHANOL (20 MIN)
 6 MMOL THAB/LITER
 FLOW : 0,8 ML/ Min
 Detektor: U.V. 235 NM



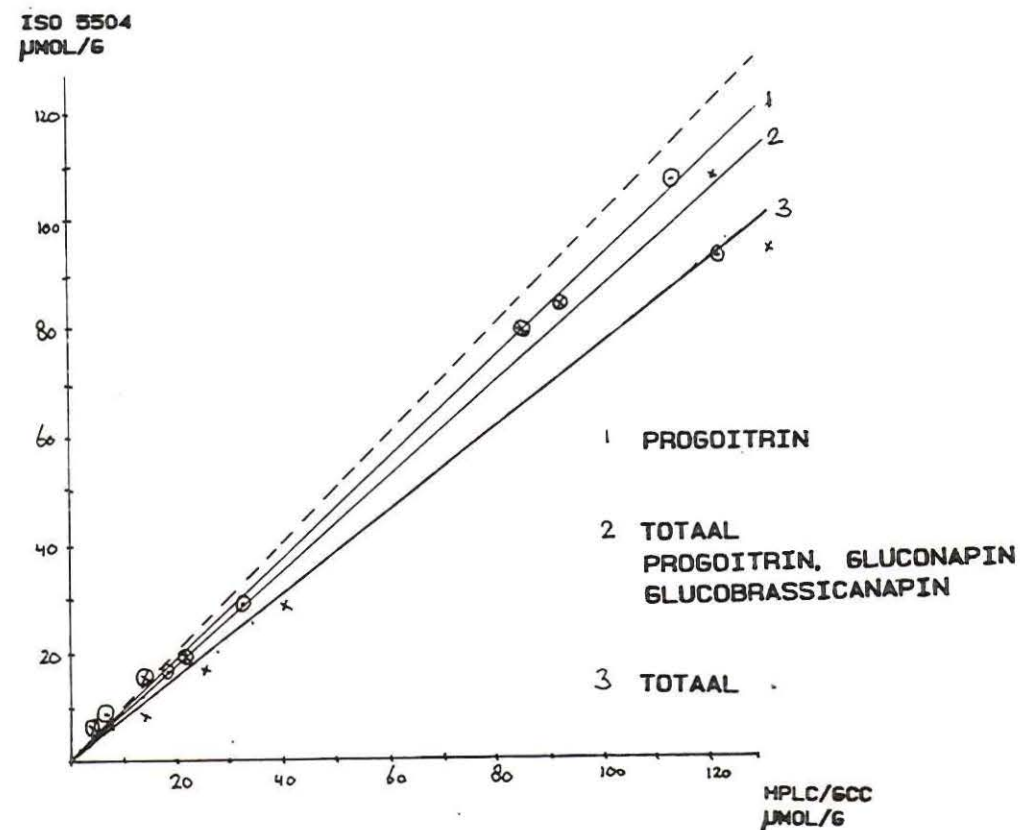
1. PROGOITRIN
2. SINIGRIN
3. GLUCONAPOLEIFERIN
4. GLUCONAPIN
5. GLUCOBRASSICANAPIN
6. 4-HYDROXYGLUCOBRASSICIN

RELATIEVE MOLECULAIRE EXTINCTIE
T.O.V. SINIGRIN VAN GEDESULFATEERDE
GLUCOSINOLATEN BIJ DIVERSE GOLFLENGTEN.



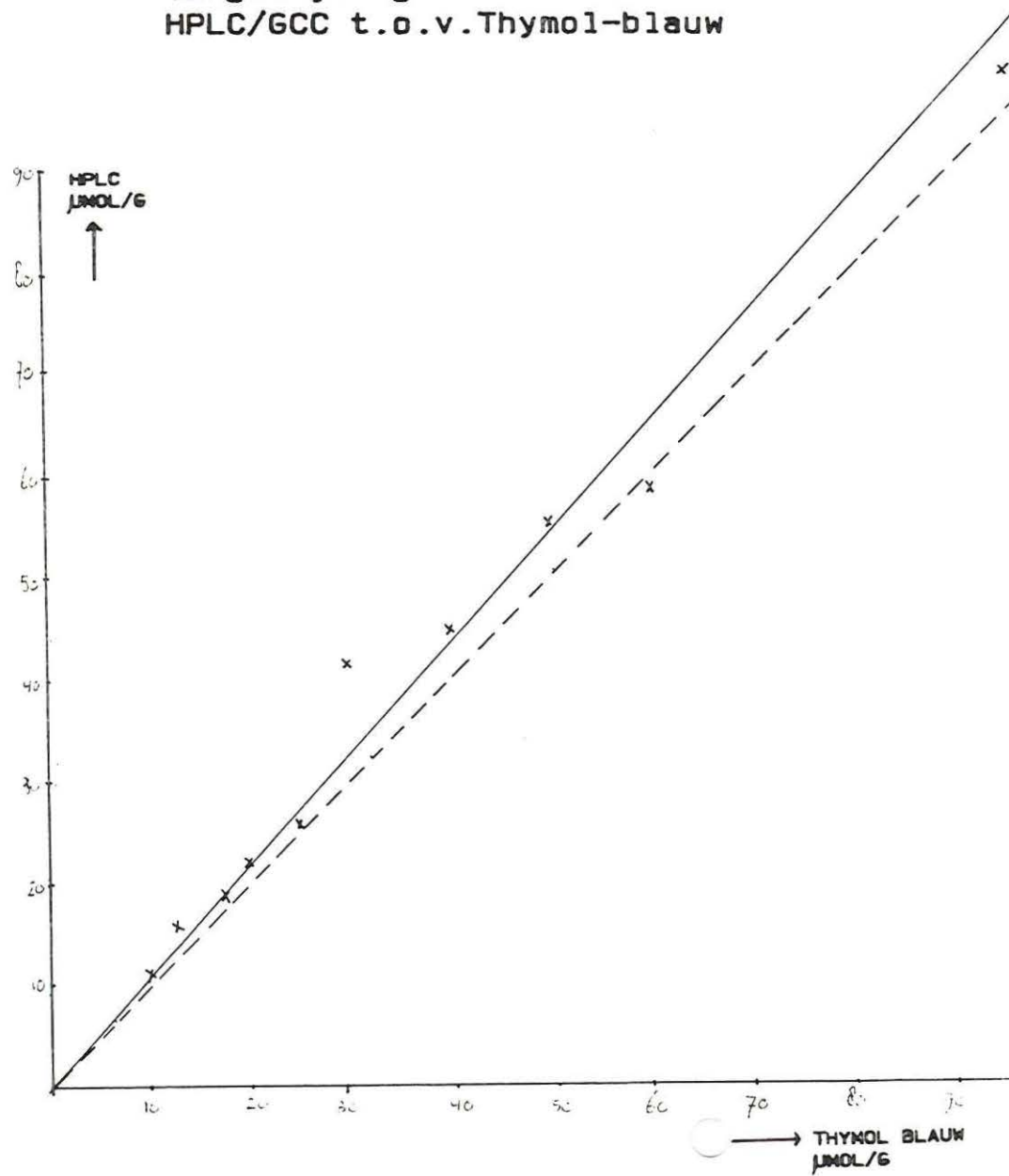
KORRELATIE DIAGRAM

VERGELIJKING TOTAAL GLUCOSINOLATEN MET
HPLC/GCC T.O.V. ISO 5504

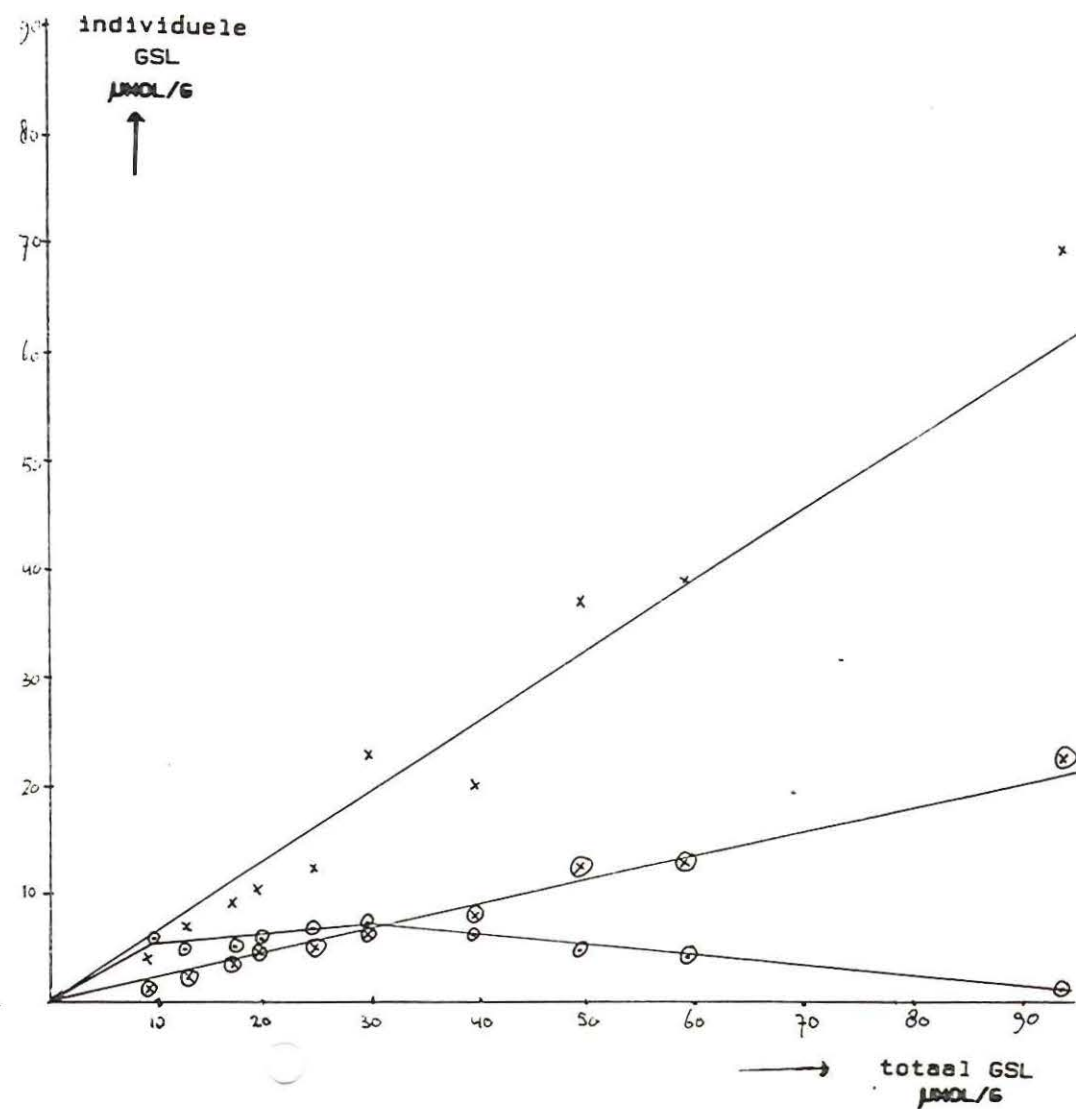


KORRELATIE DIAGRAM

Vergelijking totaal GSL met
HPLC/GCC t.o.v. Thymol-blauw

KORRELATIE DIAGRAM

Korrelatie tussen totaal GSL
gehalte en individuele GSL



**VARIATION IN INDIVIDUAL GLUCOSINOLATE
CONTENT IN CONDIMENTS, OILSEEDS,
AND FORAGES**

			Concentration ($\mu\text{g/g}$) ^a	
			Mean	Range
Boerenkool	Kale	2-Hydroxy-3-butenyl	3	—
		"Indole" ^b	230	—
Witte mosterd	<i>Sinapis alba</i>	<i>p</i> -Hydroxybenzyl	—	104400—128800 52200
Bruine mosterd	<i>Crambe abyssinica</i>	2-Hydroxy-3-butenyl	—	68000—76000
	<i>B. juncea</i>	2-Propenyl	5900	320—8000 13200—17600
		3-Butenyl	49700	32900—69400 9800—13100
		4-Pentenyl	200	0—320
		2-Propenyl	—	23700—50500 16000—72200
Raapzaad	<i>B. campestris</i>	3-Butenyl	55300	44000—66200
		4-Pentenyl	70	35—150
	Yellow sarson	2-Phenylethyl	360	110—510
	Brown sarson	3-Butenyl	39700	23300—47300
		4-Pentenyl	690	0—3200
	Toria	3-Butenyl	49100	43000—55700
		4-Pentenyl	340	300—540
		4-Methylthiobutyl	830	60—1400
Ethiopisch raapzaad	<i>B. carinata</i>	2-Phenylethyl	180	35—350
		2-Propenyl	—	20800—47800
		3-Butenyl	—	2300—4900
		4-Pentenyl	—	940—6600
		2-Hydroxy-3-butenyl	—	40—2600
Koolzaad	<i>B. napus</i>	2-Hydroxy-4-pentenyl	—	40—600
		3-Butenyl	13100	—
		4-Pentenyl	3500	—
		2-Hydroxy-3-butenyl	46700	—
		2-Hydroxy-4-pentenyl	2300	—

^a As K salt (seed contents expressed on defatted meal basis).

^b Estimated by released thiocyanate ion.

Fenwick, Meaney, Mullin

CRC 1983 18 123-201

**VARIATION IN INDIVIDUAL
GLUCOSINOLATE CONTENT IN
ROOT VEGETABLES**

		Concentration ($\mu\text{g/g}$) ^a	
	Glucosinolate	Mean	Range
Turnip	1-Methylpropyl	86	0—180
	3-Butenyl	94	4—501
	2-Hydroxy-3-butenyl	230	0—450
		233	40—410
	4-Methylthiobutyl	49	9—137
		40	2—120
	4-Pentenyl	117	4—250
	2-Hydroxy-4-pentenyl	71	0—190
	5-Methylthiopentyl	102	24—220
		20	2—90
	2-Phenylethyl	250	28—553
		122	8—340
Rutabaga	"Indole" ^b	250	60—560
	1-Methylpropyl	123	0—240
	2-Hydroxy-3-butenyl	330	220—670
		233	40—410
	4-Methylthiobutyl	150	37—380
		40	2—120
	5-Methylthiopentyl	150	4—330
		35	0—100
	5-Methylsulfinylpentyl	40	0—110
	2-Phenylethyl	50	5—470
		83	10—290
	"Indole" ^b	255	70—570
Kohlrabi		171	69—319
	2-Methylpropyl	105	—
	3-Butenyl	45	—
	3-Methylsulfinylpropyl	89	—
Radish	"Indole" ^b	133	—
	<i>trans</i> -4-Methylthio-3-butenyl	455	230—750

^a As K salt.

^b Estimated by released thiocyanate ion.

Fenwick, Meaney, Mullin

CRC 1983 18 123-201

VARIATION IN INDIVIDUAL GLUCOSINOLATE CONTENT IN LEAF VEGETABLES

		Concentration ($\mu\text{g/g}$) ^a	
	Glucosinolate	Mean	Range
Brussels sprouts	2-Propenyl		110—1560
	3-Butenyl		30—500
	2-Hydroxy-3-butenyl		40—990
	3-Indolylmethyl		220—1110
Red cabbage	2-Propenyl	40	6—102
			44—56
	3-Butenyl	41	19—64
			57—67
	3-Methylsulfinylpropyl	69	22—143
			57—91
	4-Methylthiobutyl	9	1—35
			3—4
	4-Methylsulfinylbutyl	250	150—390
			222—318
Savoy cabbage	4-Methylsulfonylbutyl	7	3—26
			12—23
	"Indole" ^b		155—330
			207—500
	2-Propenyl	60	0—160
			142
	3-Methylsulfinylpropyl	220	70—420
			464
	4-Methylsulfinylbutyl	25	1—40
			33
White cabbage	4-Methylsulfonylbutyl	27	20—33
			26
	"Indole" ^b	400	300—526
			541
	2-Propenyl		35—590
		144	17—585
	3-Methylsulfinylpropyl		46—270
		160	60—327
	4-Methylsulfinylbutyl		0—144
		32	1—137
Chinese cabbage	"Indole" ^b		51—510
		240	136—517
	3-Butenyl	53	0—250
	4-Pentenyl	88	13—275
	2-Hydroxy-3-butenyl	37	3—194
	5-Methylsulfinylpentyl	64	4—257
	2-Phenylethyl	73	22—320
	"Indole" ^b	207	97—547

^a As K salt.

^b Estimated by released thiocyanate ion.

Fenwick, Heaney, Mullin

CRC 1983 18 123—201