

Flavonole und Flavone der Gemüsearten

II. Flavonole des Spargels

Martin Wöldecke* und Karl Herrmann**

Lehrstuhl für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Hannover (BRD)

Eingegangen am 21. Januar 1974

Flavonols and Flavones of Vegetables. II. Flavonols of Asparagus

Summary. The main glycoside of asparagus is rutin (quercetin-3-rhamnosylglucoside). The flavonol concentration in spears with white tips is very small (ca. 1 mg/kg fresh weight) and practically limited to the tips and increases with the tips colour (ca. 10 mg/kg). The herb of asparagus has a very high concentration of flavonol glycosides (1.4% quercetin and 0.05% kaempferol in the dry matter).

Zusammenfassung. Hauptglykosid des Spargels ist Rutin (Quercetin-3-rhamnosylglucosid). In Spargelstangen mit hellen Köpfen ist der Flavonolgehalt sehr gering (ca. 1 mg/kg Frischgewicht) und praktisch auf die Köpfe beschränkt. Sind die Köpfe stärker gefärbt, so steigt der Flavonolgehalt erheblich an (ca. 10 mg/kg). Im Spargelkraut ist der Gehalt an Flavonolglykosiden beträchtlich (1,4% Quercetin und 0,05% Kämpferol in der Trockensubstanz).

Einleitung

De Eds und Couch [1] wiesen als erste Rutin in amerikanischem Grünspargel nach. Stevenson [2] fand mit den damaligen analytischen Möglichkeiten, daß der Rutingehalt in der Spitze der Grünspargelsprosse 3–4 mal so hoch ist wie in der übrigen zum Verzehr dienenden Spargelstange. Verbunden mit dem zunehmenden Wachstum der Sprosse stellte er einen Anstieg des Gehalts an Rutin fest. Dame u. Mitarb. [3] bestätigten, daß der Rutingehalt in der Spitze der Spargelstangen am höchsten ist. Sie fanden weiterhin, daß er in den Spargelsprossen mit zunehmender Höhe über dem Boden und abnehmendem Durchmesser ansteigt. In den über dem Erdboden befindlichen Teilen des Sprosses ermittelten sie in 5 Proben 15–100 mg Rutin/100 g Frischgewicht [3], was mit Angaben von Stevenson [2] übereinstimmt.

Allerdings wurden die quantitativen photometrischen Bestimmungen [3] mit Rohextrakten ohne vorherige chromatographische Reinigung vorgenommen, wodurch die absolute Höhe der Werte problematisch wird, wenn auch größere Zu- oder Abnahmen damit durchaus erkennbar sein dürften.

Es sei erwähnt, daß Grünspargel nicht wie Weißspargel gestochen wird, wenn er die Erdoberfläche zu durchbrechen beginnt, sondern der Spargelsproß wird weiter wachsen gelassen, bis er eine Höhe von etwa 30 cm über dem Erdboden erreicht. Durch die dabei einsetzende Chlorophyllbildung wird er grün, daher die Bezeichnung Grünspargel.

Der relativ hohe Rutingehalt des Grünspargels kann bei der Dosenkonservierung zu grünlich-schwarzen Verfärbungen der Stangen und der Aufgußflüssigkeit, besonders aber der Köpfe, führen.

Diese Verfärbungen treten wenige min bis 3 Std nach Öffnen der Dosen auf. Bei Weißspargel ist unseres Wissens über flavonolbedingte Verfärbungen noch nicht berichtet worden. Diese Verfärbungen, mit denen sich bisher wegen ihrer großen wirtschaftlichen Bedeutung eine Reihe von Autoren in den USA [2, 4–6] befaßt hat, werden auf Komplexbildung des enthaltenen Rutins mit aus dem Dosenmaterial gelöstem Eisen zurückgeführt, das durch den Luftsauerstoff zu Eisen(III)-salzen oxidiert wird.

* Auszug aus der Promotionsarbeit von M. Wöldecke: Über die Flavone und Flavonole einiger Gemüsearten sowie die in Endivien vorherrschende Kaffeesäureverbindung. Diss. Techn. Univ. Hannover 1974.

** Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir herzlichst für die Unterstützung mit Personal- und Sachmitteln, dem Fonds der Chemischen Industrie für Lösungsmittelspenden.

Die Bildung des wasserunlöslichen Rutin-Eisen-Komplexes ist pH-abhängig und tritt nicht auf, wenn genügend Zinn(II)-ionen in Lösung sind [5].

Ergebnisse

Ziel unserer Untersuchungen war, zu überprüfen, ob auch im Weißspargel Rutin als Hauptglykosid vorkommt, wie sich der Flavon(ol)gehalt über die Spargelstange verteilt und ob Gehaltsveränderungen eintreten, wenn der Spargelsproß die Erdoberfläche durchbricht. Daher gelangte einmal Spargel der Handelsklasse AII blau, dessen Köpfe mehr oder weniger blauviolett gefärbt waren, und zum anderen Spargel der Handelsklasse AII weiß mit fast ungefärbten Köpfen zur Untersuchung. Der Spargel wurde direkt vom Anbauer aus Burgdorf/Hann. bezogen. Das Ergebnis der quantitativen Aglykonbestimmung enthält Tab. 1.

Wie aus Tab. 1 hervorgeht, kommen neben Glykosiden des Quercetins auch solche des Kämpferols vor, wenn auch in erheblich geringerer Menge. Der deutlich niedrigere Flavonolgehalt des Spargels AII weiß gegenüber AII blau bestätigt, daß die Flavonol-Biosynthese erst unter der Einwirkung des Lichtes einsetzt, d. h. nachdem der Spargelkopf die Erdoberfläche durchstoßen hat. Zusammen mit den Anthocyaninen der Köpfe werden auch Flavonolglykoside gebildet. Das Innere der Spargelstangen ist praktisch flavonolfrei. Über 90% der Gesamtflavonole sind in den Köpfen lokalisiert.

Tabelle 1. Gehalt des Spargels „Huchels Auslese“ an Flavonolglykosiden (bestimmt und berechnet als Aglykon)

Spargel AII blau (1971):

Flavonol	ganze Stangen, ungeschält (mg/kg)	davon Köpfe + Schalen (mg/kg)	davon geschälte Stangen ohne Köpfe (mg/kg)
Quercetin	6,7	14,5	< 1
Kämpferol	0,7	1,5	0

Spargel AII weiß (1972):

Flavonol	ganze Stangen, ungeschält (mg/kg)	davon Köpfe (mg/kg)	davon Schalen (mg/kg)	davon geschälte Stangen ohne Köpfe (mg/kg)
Quercetin	1,1	9,0	0,3	< 0,1
Kämpferol	0,2	2,0	< 0,1	0

Anm.: Im Spargel AII weiß betrug der Anteil der Köpfe 11,2%, der Schalen 30,6% und der geschälten Stangen ohne Köpfe 58,2%. Beim Spargel AII blau entfielen auf Köpfe + Schalen 40%.

Nicht zuletzt zeigen die erhaltenen Werte, daß die vom Grünspar gel bekannten Verfärbungen, die auf seinem hohen Rutingehalt beruhen, bei der Dosenkonservierung guter Qualitäten Weißspargel mit hellen Köpfen nicht zu befürchten sind. Bei Dosenspar gel mit stärker gefärbten Köpfen sind indessen Verfärbungen durch Reaktion mit Eisen(III)-salzen, besonders an den Köpfen, nicht auszuschließen.

Gegenüber den Sprossen (Stangen) mit ihrem sehr geringen Flavonolgehalt ist der Gehalt des Spargelkrautes erheblich. So fanden wir 1971 im Kraut (ohne derbe Stengelanteile) 3,82 g/kg Quercetin = 1,4% in der Trockensubstanz und 151 mg/kg Kämpferol = 0,05% in der Trockensubstanz.

Das Glykosidmuster der Spargelssprossen und des -krautes ist sehr ähnlich. Von 4–5 erkennbaren Flavonolglykosid-Flecken trat im zweidimensionalen Dünnschichtchromatogramm (Cellulose-Platten; 15%ige Essigsäure; Phenol/Wasser (100 g + 39 g); Besprühen mit Flavonost) jeweils einer besonders stark hervor.

Dieses Hauptglykosid identifizierten wir dünnschichtchromatographisch als Rutin (Quercetin-3-rhamnosylglucosid). Zur Erhärtung des Befundes isolierten wir das Rutin aus dem Spargelkraut mittels Säulenchromatographie an Polyamid und konnten es aus Methanol/Wasser kristallin erhalten. Bei der sauren Hydrolyse entstanden Quercetin sowie Glucose und Rhamnose, die dünnschichtchromatographisch nachgewiesen wurden. Die Identität wurde ferner durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit authentischem Rutin (Fp. 186–191° C) sowie durch UV- und IR-Spektroskopie nachgewiesen. Die Spektren stimmten in beiden Fällen mit denen von authentischem Rutin überein.

Methodik

Da sich die Untersuchungen nicht nur auf die quantitative Erfassung der durch Hydrolyse freigesetzten Aglykone erstreckten, sondern zumindest die vorliegenden Hauptglykoside aufklärt werden sollten, wurde die Extraktion der Flavon(ol)glykoside aus dem pflanzlichen Material gegenüber unseren Obstuntersuchungen [7] etwas modifiziert. Hierdurch wurde die Abtrennung von Begleitstoffen verbessert und die spätere Isolierung von Glykosiden erleichtert. Die säulenchromatographische Reinigung des Extraktes über eine Polyamidsäule, die hydrolytische Spaltung der Flavon(ol)glykoside, die DC-Auftrennung der Aglykone und die spektralphotometrische Messung erfolgten praktisch nach der von uns früher [7] angegebenen dünnschichtchromatographischen Methode.

1. Extraktion der Flavon(ol)glykoside aus dem pflanzlichen Material

Etwa 200 g Pflanzenteile, auf 0,1 g genau gewogen, unter Zusatz von ca. 200 ml Wasser und 10 ml schwefliger Säure (wäbrig, gesättigt) im Haushaltsmischer (Krups Charly) und anschließend mit dem Ultra-Turrax (Fa. Janke & Kunkel) fein zerkleinern. Die Suspension 5 min lang zum Sieden erhitzen und nach dem Abkühlen abzentrifugieren. Den Rückstand in einen 500 ml-NS-Rundkolben überführen, noch dreimal durch 10 min Erhitzen im siedenden Wasserbad mit je 200–300 ml Methanol am langsam laufenden Rotationsverdampfer (ohne angelegtes Vakuum) extrahieren und anschließend abzentrifugieren. Die drei Methanol-Auszüge mit dem zuerst erhaltenen wäbrigen Extrakt vereinigen, am Rotationsverdampfer bei maximal 40° C Badtemperatur auf ca. 200 ml einengen und nach Zusatz von ca. 150 ml Methanol 3–4mal mit je 300 ml Petroläther ausschütteln. Bei größeren vorhandenen Chlorophyllmengen erwies sich eine Extraktion der Lösung mit Petroläther am Perforator (12–30 Std) als zweckmäßig.

Die methanolisch-wäßrige Lösung am Rotationsverdampfer bei maximal 40° C auf ca. 30 ml einengen und unter Umschütteln mit etwa 500 ml heißem Methanol versetzen. Den dabei entstehenden Niederschlag abzentrifugieren, in etwa 30 ml heißem Wasser lösen, durch Zusatz von heißem Methanol in der gleichen Weise ausfällen und den Vorgang noch einmal wiederholen. Die vereinigten Zentrifugate durch Zusatz von etwa 150 ml Wasser und Einengen unter obigen Bedingungen auf ca. 100 ml in eine wäßrige Lösung überführen.

2. Zur säulenchromatographischen Reinigung des Extraktes mit Polyamid

Bei der Elution der Flavon(ol)glykoside von der Polyamidsäule ist die Zugabe von 0,5% 25%iger Ammoniakflüssigkeit zum Methanol wegen der Alkali-Empfindlichkeit der Flavon(ol)glykoside nicht quantitativ desorbiert werden konnten. Da sich nach unseren Erfahrungen aber oft schon ein Großteil der Flavon(ol)glykoside mit Methanol allein eluieren ließ, verfahren wir in der Weise, daß wir zuerst nur mit Methanol eluierten und dann erst den hiermit nicht ablösbaren Teil der Glykoside mit ammoniakalischem Methanol herauswuschen. Die getrennt aufgefangenen Eluate vereinigten wir erst nach Abziehen des Ammoniaks am Rotationsverdampfer. Hierdurch konnten die durch den Ammoniak-Zusatz bedingten Verluste von etwa 3–4% weiter herabgesetzt werden.

Bei Versuchen mit unterschiedlichen Polyamid-Präparaten erhielten wir bei gleichen aufgegebenen Flavonolmengen bei einigen Präparaten Verluste bis zu 25%. Unsere Untersuchungen ergaben, daß diese Präparate eisenhaltig waren. Da Flavon(ol)e mit Schwermetallen Komplexe bilden, sind die Verluste offenbar auf die Komplexbildung der Flavon(ol)e mit Eisen zurückzuführen, wodurch sie irreversibel auf der Säule festgehalten werden.

Wir benutzten daher bei unseren Untersuchungen an Gemüse nur Polyamid-Präparate, die wir vorher auf Eisenfreiheit geprüft hatten. Gleichzeitig achteten wir auf ein gutes Sorptionsvermögen dieser Präparate, das nach unseren Feststellungen im wesentlichen von der Körnungs-

größe abhängt. Allzu viele Feinanteile (unter etwa 0,03 mm Durchmesser) sind jedoch unerwünscht, da diese die Poren der Säule verstopfen, wodurch die Tropfgeschwindigkeit der Säule zu langsam wird. Als günstig erwies sich eine Körnungsgröße von 0,05–0,16 mm¹.

Zur Prüfung des Polyamidpulvers auf Eisen versetzten wir etwa 0,5 g Polyamid mit 5 ml Wasser, säuerten mit 2 ml verdünnter Salzsäure an und gaben 2 ml 5%ige Ammoniumthiocyanatlösung hinzu. Es trat keine deutliche Rosa- oder Rotfärbung auf; das Präparat war demnach praktisch eisenfrei.

3. Isolierung von Rutin aus Spargelkraut

145 g Spargelkraut der Sorte „Huchels Auslese“ (ohne derbe Stengelanteile) entsprechend der oben beschriebenen allgemeinen Aufarbeitungsmethode für Gemüse extrahieren. Den Extrakt an einer Polyamidsäule von 6,7 cm Durchmesser und 24 cm Länge reinigen. Die erhaltene Glykosidlösung nach Zusatz von 30 ml Wasser auf 20 ml einengen; die wäßrige Lösung auf eine mit Methanol und Wasser gewaschene Polyamidsäule (6,7 × 25 cm) pipettieren und mit Wasser/Methanol/Ameisensäureäthylester (60:25:15) eluieren. Nach einem Vorlauf von etwa 800 ml 20 Fraktionen zu 50 ml auffangen. Die Hauptmenge des Rutins ist in den Fraktionen 6–12. Diese zur Trockne einengen und den Rückstand in etwa 15 ml heißem Methanol lösen.

Nach Zusatz von ca. 300 ml heißem Wasser kristallisierte das Rutin beim Abkühlen der Lösung in gelben, nadelförmigen Kristallen aus und schied sich im Kühlschrank nahezu quantitativ ab. Nach Umkristallisieren aus Methanol/Wasser betrug die Ausbeute 855 mg; der Schmelzpunkt lag bei 186–191° C.

Literatur

1. de Eds, F., Couch, J.F.: Food Res. **13**, 378 (1948)
2. Stevenson, A.E.: Food Res. **15**, 150 (1950)
3. Dame, C., Jr., Chichester, C.O., Marsh, G.L.: Food Res. **22**, 658 (1957)
4. Davis, R.B., Guyer, R.B., Daly, J.J., Johnson, H.T.: Food Technol. **15**, 212 (1961)
5. Hernandez, H.H., Vosti, D.C.: Food Technol. **17**, 95, 100 (1963)
6. Lueck, R.H.: J. Agr. Food Chem. **18**, 607 (1970)
7. Wildanger, W., Herrmann, K.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. **151**, 103 (1973)

Professor Dr. K. Herrmann
D-3000 Hannover
Wunstorfer Str. 14
Bundesrepublik Deutschland

¹ Als geeignet verwendeten wir auf Eisenfreiheit geprüftes Polyamid SC-6, 0,05–0,16 mm, der Fa. Macherey-Nagel & Co., Düren.