

CHROM. 10,984

## QUANTITATIVE ANALYSE VON FLAVONOIDEN AUF DÜNNSCHICHT-PLATTEN

PAUL P. S. SCHMID

*Lehrstuhl für Obstbau der Technischen Universität München, 8050 Freising-Weihenstephan (B.R.D.)*

(Eingegangen am 12. Dezember 1977; geänderte Fassung eingegangen am 28. Februar 1978)

---

### SUMMARY

#### *Quantitative analysis of flavonoids on thin-layer plates*

Quantitative *in situ* analysis of flavonones, flavonols and flavonolglycosides was studied on thin-layer plates. Absorption and quenching were not satisfactory. Fluorometry was most effective after spraying the flavonoles, flavonones and flavonolglycosides with  $Al_2(SO_4)_3$  on thin-layer plates coated with cellulose powder. Flavonoles could be determined also without spraying. The wavelengths of excitation and fluorescence maxima of these substances were determined and the intensity of fluorescence in relation to the number and the position of the hydroxylgroups in the molecules are discussed. The quantitative determination of 0.01  $\mu g$  for flavonols and of 0.05  $\mu g$  for flavonones and flavonolglycosides is possible.

---

### EINLEITUNG

Die zunehmenden Erkenntnisse über die Bedeutung der Polyphenole als wichtige Pflanzenbestandteile<sup>1</sup> erfordern neben den qualitativen Trennungen auch mehr quantitative Analysen dieser Verbindungen. Obwohl neuerdings mit Erfolg verschiedene Polyphenole gaschromatographisch getrennt und analysiert wurden<sup>2-5</sup>, überwiegen die einfacheren dünnschichtchromatographischen (DC) Trennungen bei weitem. Wenig quantitative Direktanalysen auf DC-Platten wurden jedoch bisher ausgearbeitet<sup>6-8</sup>. Im Rahmen dieser Arbeiten sollten die verschiedenen Möglichkeiten der quantitativen Direktbestimmungen von Polyphenolen auf ihre praktische Anwendbarkeit überprüft werden. Als Kriterien für die Brauchbarkeit einer Methode wurden Fehlerbreite, Empfindlichkeit und Störungsanfälligkeit herangezogen. Ausserdem sollten möglichst viele verschiedenartige Polyphenole auf einer DC-Platte bestimmt werden können. An dieser Stelle wird über die Untersuchungen zur Analyse von Flavonen, Flavonolen und Flavonolglycosiden berichtet.

### METHODEN UND GERÄTE

Als Reinsubstanzen wurden die Flavone Chrysin und Apigenin, die Flavonole Kämpferol, Kämpferid, Quercetin und Myricetin und die Flavonolglycoside Quercitrin

und Rutin verwendet. Die Substanzen wurden von der Fa. Roth (Karlsruhe, B.R.D.) bezogen. Ferner wurden Flavonoide aus Blättern von Prunus- und Vaccinium-Arten untersucht.

Folgende DC-Fertigplatten wurden in die Untersuchungen einbezogen: Kieselgel 60, Cellulose F (mit Fluoreszenzindikator) und Cellulose (ohne Fluoreszenzindikator) von Merck (Darmstadt, B.R.D.), MN Cel 400-10 von Macherey, Nagel & Co. (Düren, B.R.D.) und SS Cellulose G 1440 von Schleicher & Schüll (Dassel, B.R.D.)

Zum Auftragen der Substanzen wurden kalibrierte Wegwerfkapillaren von Carag verwendet. Die chromatographischen Trennungen der Polyphenole erfolgten fast ausschliesslich mit Butanol-Bisessig-Wasser (BAW) (5:4:1, v/v; obere Schicht) und Ameisensäure (5%).

Soweit erforderlich erfolgte das Besprühen der Platten zweimal hintereinander nach Zwischentrocknung mit einem Unispray von Camag. Als Sprühlösungen wurden verwendet Naturstoffreagenz A nach Neu<sup>9</sup> in 1%iger methanolischer Lösung und eine 4%ige wässrige Aluminiumsulfatlösung nach Van Buren *et al.*<sup>7</sup>.

Die photometrischen Analysen der Polyphenole auf den DC-Platten wurden mit einem Farrand Vis-UV-2-Chromatogram Analyser durchgeführt. Durch die Ausrüstung dieses Scanners mit zwei Gittermonochromatoren, einem Anregungs- und einem Analyser-Monochromator, und zwei Photomultipliern als Proben und Referenzsignalempfänger kann man zwischen 200 und 720 nm Fluoreszenzen und Quenching bei jeder beliebigen Anregungs- und Fluoreszenzwellenlänge und die Absorption bei jeder Wellenlänge im Zweistrahlverfahren als Differenzsignal zwischen Substanz und Untergrund messen. Auch die Aufnahme von Absorptions-, Anregungs- und Fluoreszenzspektren der zu untersuchenden Verbindungen ist möglich, indem man hintereinander auf dem Plattenuntergrund und auf der Substanz + Plattenuntergrund den gewünschten Spektralbereich automatisch durchfährt. Das Differenzspektrum aus beiden so erhaltenen Spektren ergibt das der reinen Substanz (vgl. Fig. 1, 3–5).

Die quantitativen Analysen wurden meist an eindimensional getrennten Proben

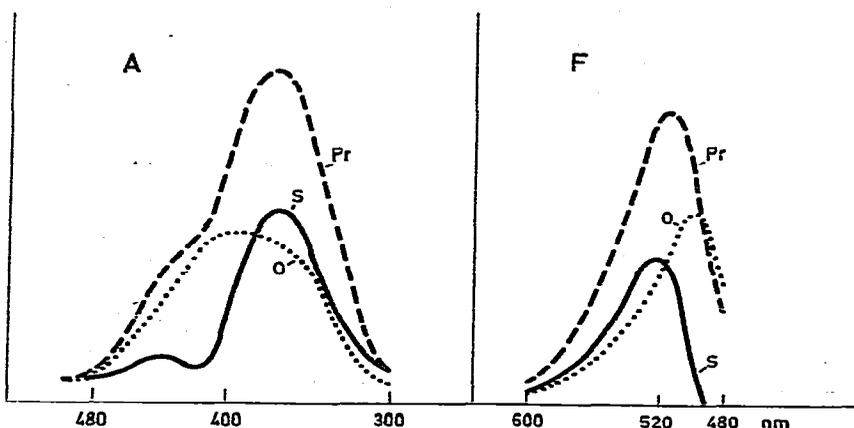


Fig. 1. Quercetin (ohne Besprühen). O, Spektren der Cellulose allein; Pr, Spektren der Probe + Celluloseuntergrund; S, durch Subtraktion gewonnenes Spektrum der Substanz allein. (A), Anregungsspektren, Fluoreszenzwellenlänge konstant, 520 nm. (F) Fluoreszenzspektren, Anregungswellenlänge konstant, 370 nm.

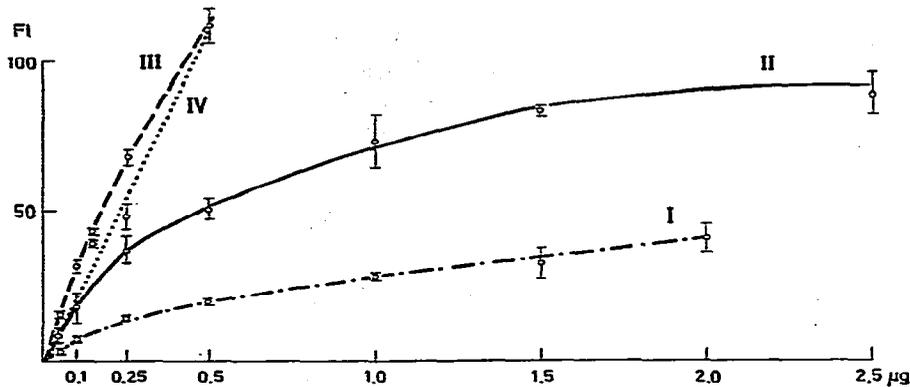


Fig. 2. Quercetin-Eichkurven. I, Absorptionsmessungen; II, Fluoreszenzmessungen (ohne Besprühen); III, Fluoreszenzmessungen nach Besprühen mit Aluminiumsulfat; IV, Fluoreszenzmessungen nach Besprühen mit Naturstoff Reagenz A.

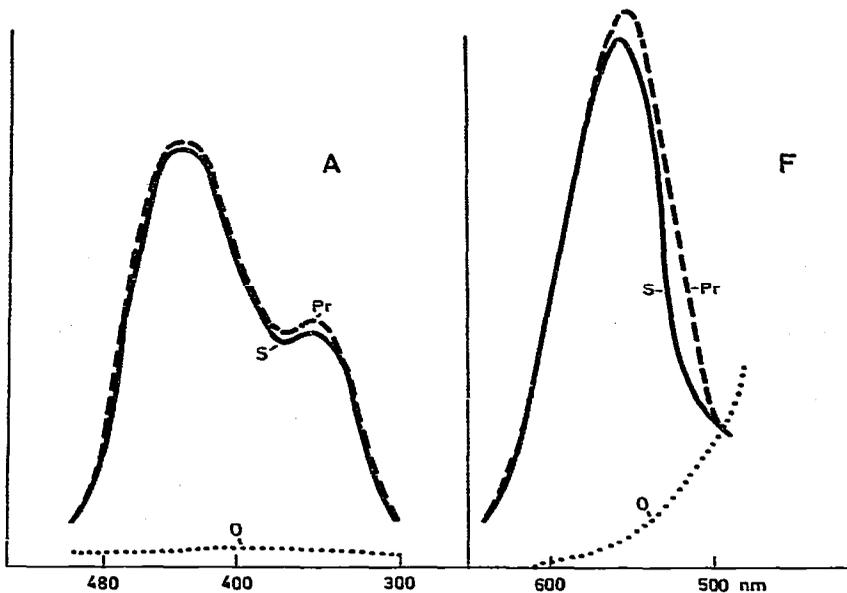


Fig. 3. Quercetin + Naturstoff Reagenz A. A, F, O, Pr und S vergl. Fig. 1. Fluoreszenz bei 560 nm, Anregung bei 370 nm.

vorgenommen. Soweit zweidimensionale Entwicklungen analysiert werden mussten, wurde die Platte auf dem mobilen Chromatogrammträger des Scanners so ausgerichtet, dass die zu messenden Flecken genau in der Fortbewegungsrichtung des Scannertisches lagen. Sind mehrere Substanzen in verschiedenen Richtungen auf einer Platte verteilt, werden jeweils Neujustierungen notwendig.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

DC-Platten

Die im methodischen Teil angeführten Flavonoide wurden verwendet, um

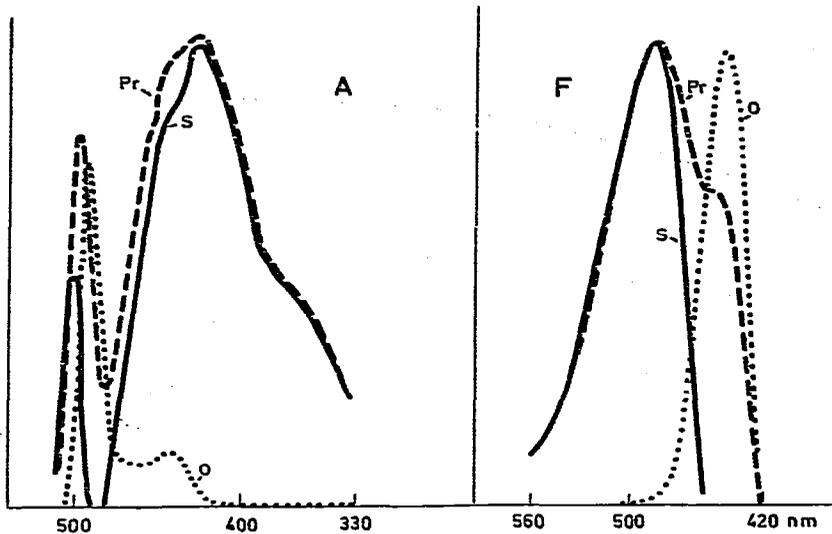


Fig. 4. Quercetin + Aluminiumsulfat. A, F, O, Pr und S vergl. Fig. 1. Fluoreszenz bei 485 nm, Anregung bei 420 nm.

nach Möglichkeit einen Einblick zu gewinnen, inwieweit Zahl und Stellung der Hydroxylgruppen und eine Glycosidierung in 3-Stellung das optische Verhalten dieser Verbindungen auf DC-Platten beeinflussen. Ein visueller Vergleich der sowohl auf Cellulose als auch auf Kieselgel aufgetragenen Flavonoide zeigte bereits, dass alle auf Kieselgel aufgetragenen Substanzen (je 0.5  $\mu\text{g}$ ) unter dem langwelligen UV-Licht nur schwach zu erkennen waren und nicht fluoreszierten. Dagegen erschienen auf Cellulose die Flavonolglycoside als deutlich dunkel blauviolette Flecken und die Flavonole fluoreszierten gelb. Nach dem Besprühen beider Platten-Arten mit Aluminiumsulfat wurden die in Tabelle I zusammengestellten Farben der einzelnen Flavonoide gefunden. Man sieht, dass auf Cellulose im nahen UV-Licht alle Flavonoide fluoreszieren, während auf Kieselgel nur die Aglycone schwache Fluoreszenz zeigen. Da zudem auf Cellulose für die in Frage kommenden Polyphenole gute qualitative Trennungsergebnisse vorlagen<sup>10-13</sup>, erhielten diese Schichten später den Vorzug.

TABELLE I

FARBEN VON FLAVONOIDEN AUF CELLULOSE- UND KIESELGEL-PLATTEN NACH DEM BESPRÜHEN MIT ALUMINIUMSULFAT

l. = leicht; i. = intensiv; fl. = fluoreszierend.

Substanz (je 0.5 $\mu\text{g}$ )	Cellulose		Kieselgel	
	Im sichtbaren Licht	Unter UV-Licht	Im sichtbaren Licht	Unter UV-Licht
Apigenin	l. gelb	gelb-grün, fl.	l. gelb	gelb
Kämpferid	l. gelb	l. grün, fl.	—	—
Kämpferol	gelb-grün	i. grün, fl.	gelb	grün, fl.
Quercetin	gelb-grün	i. grün, fl.	gelb-braun	gelb-grün, fl.
Myricetin	gelb-grün	i. grün, fl.	gelb-braun	gelb, fl.
Quercitrin	l. gelb	gelb-grün, fl.	l. gelb	i. gelb
Rutin	l. gelb	gelb-grün, fl.	l. gelb	l. gelb

Die Cellulose-Platten verschiedener Herkunft wiesen zwar keine prinzipiellen, doch teilweise graduelle Unterschiede auf. So zeigte sich, dass die Absorption und Fluoreszenz der Cellulose innerhalb einer Platte in einigen Fällen bis zu 100% differierten. Schwankungen dieser Grössenordnungen wirken sich besonders bei Fluoreszenzmessungen auf die Genauigkeit der Ergebnisse aus, wenn das Fluoreszenzmaximum der Substanz von den Ausläufern der Eigenfluoreszenzbande der Cellulose stark unterlagert wird (vgl. Fig. 1). Als relativ konstant erwiesen sich bisher die Cellulose G 1440-Platten.

#### Absorptionsmessungen

Von allen angegebenen Flavonoid-Vergleichsubstanzen wurden die Absorptionsspektren sowohl auf Cellulose- als auch auf Kieselgel-Platten gemessen. Die ersten Absorptionsmaxima der Flavonoide auf Cellulose-Platten sind in Tabelle II aufgeführt. Zum Vergleich sind auch die von Mabry *et al.*<sup>14</sup> in Methanollösung bestimmten Absorptionsmaxima angegeben. Man sieht, dass bei allen Flavonoiden das Maximum auf Cellulose gegenüber dem in methanolischer Lösung bathochrom verschoben ist. Die Verschiebung ist um so stärker, je geringer die Zahl der Hydroxylgruppen ist. Wie man aus der sehr flachverlaufenden Eichkurve des Quercetins in Fig. 2 (Kurve I) sieht, ist die Empfindlichkeit der Methode jedoch gering. Auch die Unterschiede in der Empfindlichkeit einzelner Flavonoide sind nicht gross, da sich die Extinktions-

TABELLE II

#### ABSORPTIONS-, ANREGUNGS- UND FLUORESZENZ-MAXIMA VON FLAVONOIDEN AUF CELLULOSE-PLATTEN

AS = Aluminiumsulfat; RNA = Naturstoff Reagenz A; S = Schulter.

Substanz	Absorptionsmax. (nm)	Absorptionsmax. in Methanollösung (lit. 14)	Anregungsmax. (nm)	Fluoreszenzmax. (nm)
Chrysin	335	313	—	—
+ AS		380	—	—
Apigenin	350	336	—	—
+ AS		384	390	500
Kämpferid	370	367		560
+ AS		423		
+ NRA			375 (420)	480 (560)
Kämpferol	400	367	367	530
+ AS		424	(360) 420	475
+ NRA			(380) 425	510
Quercetin	380	370	368 (440)	524
+ AS		458	(366S) 422 (440S)	488
+ NRA			(365) 435	558
Myricetin	375	374	375 (450)	530
+ AS		450	(370S) 420	485
+ NRA			(358) 450	550
Quercitrin	368	350	—	—
+ AS		430	400 (428)	495
+ NRA			(350) 440	525
Rutin	375	359	—	—
+ AS		433	405	500

\* Nicht gemessen.

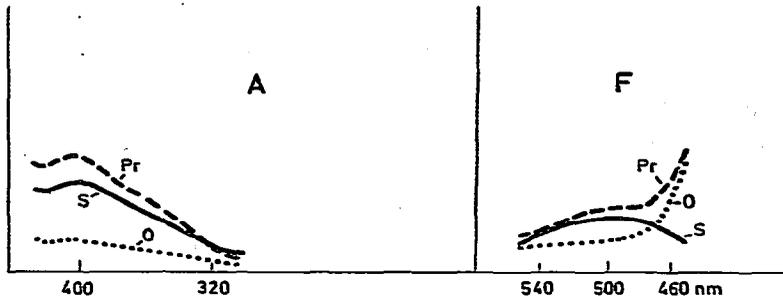


Fig. 5. Quercetin + Aluminiumsulfat. A, F, O, Pr und S vergl. Fig. 1. Fluoreszenz bei 490 nm, Anregung bei 400 nm.

module dieser Verbindungen nicht wesentlich unterscheiden. Für quantitative Analysen dieser Stoffklasse sind daher direkte Absorptionsmessungen schlecht geeignet.

### Quenching

Beim Quenching wird bekanntlich die Fluoreszenz des der Platte zugesetzten Leuchtstoffes durch die Substanzen, entsprechend ihren Konzentrationen, mehr oder weniger stark gelöscht. Das Anregungsmaximum der verwendeten Cellulose F-Platten wurde bei 272 nm und das Fluoreszenzmaximum bei 522 nm festgestellt. Leider lässt die Homogenität der Fluoreszenzintensität innerhalb der Platten sehr zu wünschen übrig. Die Nachweisgrenze der einzelnen Flavonoide steigt dadurch auf  $\geq 0.1 \mu\text{g}$  an und eine quantitative Analyse ist erst  $\geq 0.5 \mu\text{g}$  möglich. Die Schwankungsbreiten der Einzelwerte sind noch grösser als bei entsprechenden Absorptionsmessungen. Wie eingehende Messungen zeigten, liegen in diesen Wellenlängenbereichen jedoch keine Beeinflussungen der Ergebnisse durch Eigenfluoreszenz der Flavonoide vor. Die von Pollak<sup>15</sup> für Quenching beschriebenen Schwierigkeiten haben sich bestätigt. Für weitere quantitative Analysen der Flavonoide wurde Quenching nicht mehr berücksichtigt.

### Fluoreszenzmessungen

*Direkte fluorimetrische Methode.* Die Flavonole zeigen, im Gegensatz zu den Flavonolglycosiden und Flavonen, im langwelligen UV-Licht auf Cellulose auch ohne Besprühen mit Reagenzien leichte Gelbfluoreszenz. Durch die Aufnahme der Anregungs- und Fluoreszenzspektren—in Fig. 1 stehen stellvertretend die des Quercetins—wurden die in Tabelle II angegebenen Anregungs- und Fluoreszenzmaxima ermittelt. Aus der Fig. 1 geht hervor, dass das Quercetin bei 368 nm ein intensives und bei 440 nm ein kleines Anregungsmaximum hat. Ein kleines Fluoreszenzmaximum liegt bei 524 nm. Zwar ist bei 430 nm ein weit grösseres, nicht mehr eingezeichnetes Maximum vorhanden, die Substanzfluoreszenz bei einer aufgetragenen Menge von  $0.5 \mu\text{g}$  beträgt hier jedoch nur ca. 6% der sehr starken Eigenfluoreszenz der Cellulose. Da bereits kleine Änderungen des Plattenuntergrundes den Fehler der Quercetinbestimmung um ein Vielfaches verstärken, ist dieser Fluoreszenzbereich für quantitative Analysen nicht geeignet. Dem Fluoreszenzmaximum des Quercetins bei 524 nm sind nur noch ca. 30% Cellulose-Eigenfluoreszenz unterlagert. Die Basislinie bleibt trotz nötiger grösserer optischer und elektronischer Verstärkung ruhiger und dadurch wird

die Empfindlichkeit grösser und die Nachweisgrenze der Verbindung niedriger als vergleichsweise bei 430 nm. Maximale Anregung und Fluoreszenz ist also nicht in jedem Falle mit optimaler Nachweismöglichkeit identisch. In Fig. 2 (Kurve II) ist als Beispiel die Eichkurve des Quercetins bei Anregung 368 nm und Fluoreszenz 524 nm wiedergegeben. Wie man sieht, bleibt die Fluoreszenz bei Substanzmengen grösser als 1.5  $\mu\text{g}$  nahezu konstant. Das optische Verhalten der übrigen untersuchten Flavonole ist, mit Ausnahme kleiner Verschiebungen der Maxima (vgl. Tabelle II), dem des Quercetins sehr ähnlich.

Bei Flavononen und Flavonolglycosiden konnte unter diesen Bedingungen keine Fluoreszenz nachgewiesen werden. Auch für Flavonole ist diese Methode zur quantitativen Analyse nur mit Einschränkungen zu empfehlen.

*Fluoreszenzmessungen nach dem Besprühen mit Naturstoffreagenz A nach Neu.* Unmittelbar nach dem Besprühen mit Naturstoffreagenz A (Lit. 9) und Trocknen der Platte fluoreszieren auch die Flavone und Flavonolglycoside deutlich gelb. Die Fluoreszenz der Flavonole verstärkt sich erheblich. In der Fig. 3 sieht man am Beispiel des Quercetins, dass die Anregungs- und Fluoreszenzmaxima von der Eigenfluoreszenz der Cellulose-Platte praktisch nicht mehr beeinflusst werden. Die in Tabelle II zusammengestellten Anregungs- und Fluoreszenzmaxima aller untersuchter Flavonoide liegen in den gleichen Wellenlängenbereichen. Der hohen Empfindlichkeit dieser Methode, zu ersehen aus der Eichkurve des Quercetins in Fig. 2 (Kurve IV) steht leider die geringe Beständigkeit der Fluoreszenz entgegen. So haben zeitabhängige Intensitätsmessungen ergeben, dass die Fluoreszenz innerhalb von 7 h unregelmässig bis zur Hälfte absinken kann. Dadurch ist auch diese Methode für Serienmessungen schlecht geeignet.

*Fluoreszenzmessungen nach dem Besprühen mit Aluminiumsulfat.* Die vollen Fluoreszenzintensitäten der mit Aluminiumsulfat behandelten Flavonoide wird erst nach einigem Stehen der behandelten Platten, am besten über Nacht, erreicht, ist aber dann lange Zeit beständig. Stellvertretend für die aufgenommenen Anregungs- und Fluoreszenzspektren auch der übrigen Verbindungen sind in Fig. 4 die des Quercetins und in Fig. 5 die des Quercitrins wiedergegeben. Die entsprechenden Anregungs- und Fluoreszenzmaxima sind in Tabelle II zu finden. Die Hauptanregungsbanden der mit Aluminiumsalz behandelten Flavonole sind bereits als schwache Vorbanden ohne Besprühen vorhanden, während umgekehrt die ursprünglichen Hauptbanden nach der Behandlung zu untergeordneten Nebenbanden oder Bandenschultern reduziert werden (vgl. Fig. 1 und 4). Ähnliche Erscheinungen waren auch nach der Behandlung der Flavonole mit Naturstoffreagenz A zu beobachten. Die Anregungsmaxima der mit Aluminiumsalz besprühten Glycone liegen im Schnitt ca. 20 nm weiter im kürzeren Wellenlängenbereich als die der Aglycone. Die Fluoreszenzmaxima der mit Aluminiumsalz behandelten Verbindungen liegen zwischen 480 und 500 nm und sind gegenüber denen der nicht bzw. mit Naturstoffreagenz A besprühten Flavonolen 30–40 nm hypsochrom verschoben. Durch die langwellige Verschiebung der Anregungsmaxima nach der Behandlung der Flavonoide mit Aluminiumsulfat wird die Fluoreszenzanregung der Cellulose und damit die Untergrundfluoreszenz der Platten stark unterdrückt. Damit wird wiederum die Empfindlichkeit und die Nachweisgrenze der Methode stark erhöht. Wie die in Fig. 2 dargestellte Eichkurve III für Quercetin zeigt, ist die Fluoreszenz bis 0.5  $\mu\text{g}$  nahezu linear der Substanzkonzentration. Bei höheren Konzentrationen neigt sich auch diese Kurve langsam zur

x-Achse. Der durchschnittliche Fehler beträgt beim Nachweis von  $0.05 \mu\text{g}$  Quercetin  $\pm 3.0\%$ . Bei entsprechender optischer und elektronischer Verstärkung des Signals ist eine quantitative Analyse bis  $0.01 \mu\text{g}$ , ein qualitativer Nachweis bis  $0.005 \mu\text{g}$  möglich. Die übrigen Flavonole verhalten sich ähnlich. Die Nachweisgrenze der Flavonolglycoside und Flavone liegen um *ca.* Faktor 5 höher.

Mit dieser Methode wurden auch Reihenuntersuchungen von Flavonolglycosiden aus *Prunus avium* L., *P. cerasus* L., und *Vaccinium vitis idea* L. bestimmt. Die Anregung erfolgte bei 400 nm und die Fluoreszenz wurde bei 490 nm gemessen. Der mittlere Fehler, einschliesslich des Auftragfehlers, betrug bei den *Prunus*-Arten  $\pm 2.3\%$  und bei *V. vitis idea*  $\pm 3.1\%$ . Durch eine verbesserte, automatische Auftragemethode lässt sich dieser Fehler sicher noch senken.

#### Fluoreszenz der Flavonoide in Abhängigkeit von Zahl und Stellung der Hydroxylgruppen

Zahl und Stellung der Hydroxylgruppen zueinander und zur Ketogruppe im heterocyclischen Ring beeinflussen bei Zusatz von Aluminiumsalzen zu Flavonoid-Lösungen vor allem die bathochromen Verschiebungen der Absorptionsmaxima<sup>14,16</sup>. Durch Besprühen der Substanzen auf Celluloseplatten mit Aluminiumsulfat werden dagegen vor allem die Fluoreszenzintensitäten unterschiedlich verändert. Um quantitative Vergleiche anstellen zu können, wurde mit  $0.5 \mu\text{g}$  Myricitin auf Celluloseplatten bei einer Anregungswellenlänge von 420 nm und einer Fluoreszenzwellenlänge von 490 nm der Scanner-Abgleich vorgenommen und alle Flavonoide in derselben Menge und bei den gleichen Wellenlängen in Relation gemessen. In Tabelle III sind die erhaltenen Intensitäten als Flächenintegrale angegeben. Diese Werte wurden mit den angeführten Molekulargewichten linear auf Molekularbasis umgerechnet. Da nicht bei allen Flavonoiden die Anregungs- und Fluoreszenzmaxima genau bei 420

TABELLE III

RELATIVE FLUORESZENZ-INTENSITÄT VON FLAVONOIDEN AUF CELLULOSE-DC-PLATTEN NACH DEM BESPRÜHEN MIT  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$

Anregung bei 420 nm, Fluoreszenz bei 490 nm.

Substanz	Flächenintegral pro $0.5 \mu\text{g}$ Substanz ( $\text{cm}^2$ )	Molekular- gewicht	Flächenintegral pro $10^{-9}$ Mol ( $\text{cm}^2$ ) *	
			Nicht korrigiert	Korrigiert
Apigenin (4',5,7-Trihydroxyflavon)	33.5 (300 V)	270.23	6.04 (100 V)	11.0
Kämpferid (3,5,7-Trihydroxy-4'-methoxyflavon)	58.0 (300 V)	300.27	11.61 (100 V)	
Kämpferol (3,4',5,7-Tetrahydroxyflavon)	117.5 (100 V)	286.24	67.27 (100 V)	
Quercetin (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavon)	106.0 (100 V)	302.24	64.08 (100 V)	
Myricetin (3,3',4',5,5',7-Hexahydroxyflavon)	101.0 (100 V)	318.24	64.28 (100 V)	
Quercitrin (Quercetin-3-rhamnosid)	24.5 (300 V)	482.42	7.88 (100 V)	8.7
Rutin (Quercetin-3-rutinosid)	24.0 (300 V)	664.58	10.63 (100 V)	11.9

\* Die linearproportionale elektronische Verstärkung ist in Klammern angegeben.

nm bzw. 490 nm liegen, war es teilweise notwendig auf die Fluoreszenzintensitäten an den Maxima mit Hilfe der aufgenommenen Spektren zu korrigieren. Bei Flavonolen ist der ohne Korrektur entstehende Fehler vernachlässigbar klein. Bei Flavonolglycosiden beträgt er *ca.* 10% und bei Apigenin sogar *ca.* 80%.

Zusammenfassend lässt sich über die Beeinflussung der Fluoreszenz von Flavonoiden durch Aluminiumsulfat folgendes sagen: Fehlen Hydroxylgruppen sowohl in 3- als auch in 4'-Stellung (Chrysin), so ist keine Fluoreszenz feststellbar. Durch eine OH-Gruppe in 3- oder 4'-Stellung scheint die Fluoreszenzintensität gleich stark beeinflusst zu werden. Die Methoxylgruppe in 4'-Stellung (Kämpferid) trägt anscheinend, im Gegensatz zur freien Hydroxylgruppe (Kämpferol), wenig zur Steigerung der Intensität bei. Zusätzliche Hydroxylgruppen in 3'- und 5'-Stellung zur 4'-OH-Gruppe bringen weder stärkere spektrale Verschiebungen noch Fluoreszenzsteigerungen. Durch Glycosidierung der 3-Hydroxylgruppe werden die Hauptanregungsmaxima nach kürzeren und die Fluoreszenzmaxima nach längeren Wellenlängen verschoben und die Fluoreszenzintensität stark vermindert. Die Daten kommen denen des Flavonons Apigenin nahe, das keine 3-Hydroxylgruppe besitzt. Die Glycosidierung der 3-OH-Gruppe wirkt sich ähnlich fluorezenzmindernd aus wie eine Veresterung der 4'-Hydroxylgruppe in Kämpferid.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die direkte quantitative Analyse von Flavonen, Flavonolen und Flavonolglycosiden auf Dünnschichtplatten wurde untersucht. Absorptionsmessungen und Quenching erwiesen sich als nicht befriedigend. Am besten eignen sich Fluoreszenzmessungen auf Celluloseplatten, die bei Flavonolen bereits ohne weitere Behandlungen, bei den meisten Flavononen und Flavonolglycosiden am besten nach besprühen mit  $Al_2(SO_4)_3$  vorgenommen werden können. Die Wellenlänge der Anregungs- und Fluoreszenzmaxima wurden bestimmt und die Fluoreszenzintensitäten in Abhängigkeit von der Zahl und Stellung der Hydroxylgruppen im Molekül diskutiert. Der quantitative Nachweis ist bei Flavonolen bis  $0.01 \mu g$ , bei Flavonen und Flavonolglycosiden bis  $0.05 \mu g$  möglich.

#### LITERATUR

- 1 W. Barz, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, 88 (1975) 71.
- 2 F. Drawert und G. Leupold, *Chromatographia*, 9 (1976) 605.
- 3 F. Drawert und G. Leupold, *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.*, 162 (1976) 401 und 407.
- 4 K. van de Castele, H. de Pooter und C. F. van Sumere, *J. Chromatogr.*, 121 (1976) 49.
- 5 H. Morita und W. G. Montgomery, *J. Chromatogr.*, 123 (1976) 454.
- 6 R. K. Ibrahim, *J. Chromatogr.*, 42 (1969) 544.
- 7 J. van Buren, L. de Vos und W. Pilnik, *J. Food Sci.*, 38 (1973) 656.
- 8 M. Hanefeld und K. Herrmann, *J. Chromatogr.*, 123 (1976) 391.
- 9 Neu, in K. Randerath (Editor), *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim, 1962, p. 178.
- 10 M. Nachit und W. Feucht, *Mitt. Klosterneuburg*, 26 (1976) 199.
- 11 W. Feucht und M. Nachit, *Z. Pflanzenphysiol.*, 78 (1976) 385.
- 12 W. Feucht und B. Damsend, *Mitt. Klosterneuburg*, 22 (1972) 349.
- 13 W. Feucht und M. Nachit, *Physiol. Plant*, 40 (1977) 230.
- 14 T. J. Mabry, K. T. Markham und M. B. Thomas, *The systematic identification of flavonoids*, Springer, New York, 1970.
- 15 V. Pollak, *J. Chromatogr.*, 133 (1977) 49.
- 16 L. Jurd, *Phytochemistry*, 8 (1969) 445.