

# EGYES ANTOCIÁN-KOMPLEX VEGYÜLETEK BEFOLYÁSA AZ ANTIOXIDÁNS HATÁSRA (SPEKTROFOTOMETRIÁS ÉS KROMATOGRÁFIÁS MÉRÉSEK)

GÁBOR MIKLÓSNÉ\*

## 1. Bevezetés

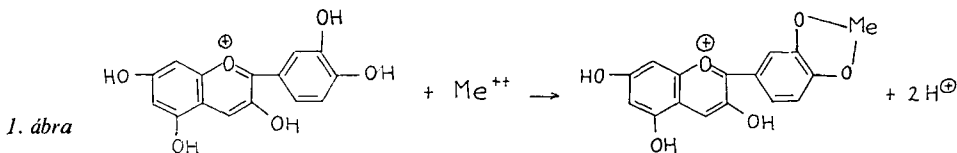
A flavonoid típusú, antioxidáns hatású vegyületek ezen aktivitása kétféle kémiai tulajdonságon alapulhat:

- a szabad o-dihidroxi csoportjaik proton-leadásával kapcsolatos direkt antioxidáns hatás;
- az oxidációs reakciót katalizáló fém-ion komplex formájában történő megkötéséből adódó indirekt antioxidáns hatás (1, 2).

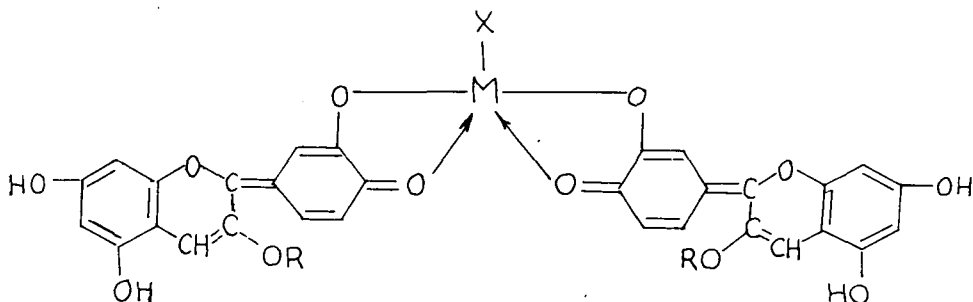
Kísérletsorozatunkban a flavonoid-vegyületek egyik nagy csoportját képező antociánok fém- komplex képződését vizsgáltuk, különböző körülmények között.

Fémkomplexeket azok az antocián-vegyületek tudnak adni, melyekben a fenilgyök oldalláncon szabad o-dihidroxi csoportok vannak. Tekintettel arra, hogy — eltérően sok más flavonoidtól — ezen vegyületekben oxo-csoport nincs, más lehetőség a fémkomplex képződésre nem adódik (3, 4, 5).

Kétértékű fém-ion esetében a komplex képződés általános mechanizmusa:



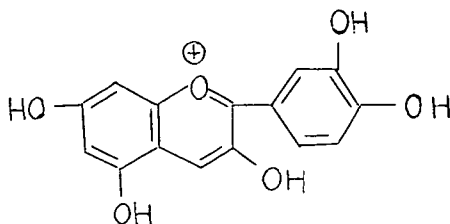
Háromértékű fémeknél lehetséges két molekula antocianidin kapcsolódása egy fém-ionnal (4):



\* Kémia Tanszék

Kísérletsorozatunkban szilvahéjból készített antocián-extrakt fémkomplex képző hatását vizsgáltuk.

A szilvahéjban cianidin- és peonidin-cukorszármazékok találhatók az antocián vegyületek közül (4, 6, 7). A kétféle antocián közül a cianidin-származékok tartalmaznak szabad o-dihidroxi csoportokat, melyek alkalmasak lehetnek fém-ion megkötésére:



3. ábra

Kísérletünk során  $\text{Cu}^{2+}$  és  $\text{Al}^{3+}$ -ionok reakcióit vizsgáltuk különböző pH értékű vizes oldatokban.

## 2. Kísérleti körülmények

### 2.1 Felhasznált oldatok

— Antocián-extrakt:

A szilvahéjat a hústól gondosan elkülönítettük és többszöri alapos átmosás után levegőn megszárítottuk. 2 g héjat Soxhlet-készülékben petroléter-etil-acetát (1:1) eleggyel lipid- és fenol-mentesítettünk 6 órás extrakcióval, majd az oldószer teljes eltávolítása után 50 ml 0,2 n sósavval egy éjjelen át állni hagytuk, szobahőmérsékleten. A leszűrt oldatot használtuk a kísérletekhez, melynek antocián-tartalma spektrofotometriásan mérhető.

— Réz-szulfát-oldat:

4,00 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  100 ml desztillált vízben oldva.

— Alumínium-klorid-oldat:

0,6 g vízmentes  $\text{AlCl}_3$  95% etanolban oldva.

— Fenollal telített víz;

— 0,01% HCl tartalmú metanol.

### 2.2 Reakcióelegyek

Alapoldat: 0,40 ml antocián extrakt 10,000 ml deszt. vízben.

A pH értékeket 3,0, 5,0, 6,0 és 7,0-ra kálium-hidrogénkarbonáttal állítottuk be.

A különböző pH-értékű oldatokból párhuzamosokat készítettünk, melyek egyikét kontrollként kezeltük, és az azonos végtérfogat beállítására 0,10 ml desztillált vizet (95% etanol) adtunk hozzá, míg a megfelelő pH értékű párjához 0,10 ml fém-iont tartalmazó reagenst.

A reakcióelegyeket zárt rendszerben tároltuk szobahőmérsékleten.

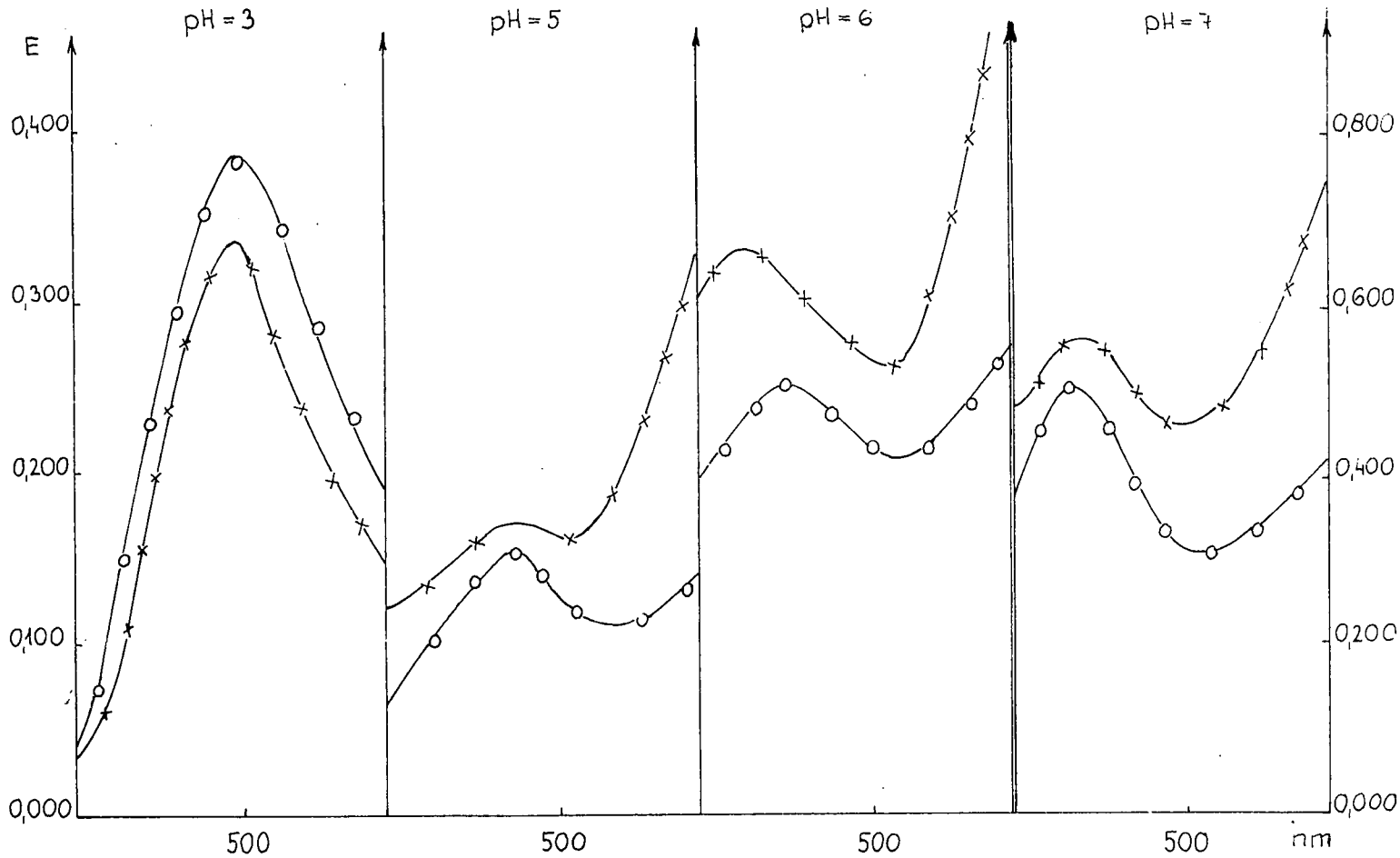
A pH értékek változtatása mellett vizsgáltuk a reakció időbeli alakulását is.

## 3. Vizsgálati eredmények

### 3.1 Kísérletek réz-ionokkal

#### 3.1.1 Spektrofotometriás adatok

A különböző reakcióelegyek idő függvényében kapott maximum értékeit az 1. táblázatban foglaltuk össze. A fémkomplex képződés által létrejött színváltozás az



4. ábra. Kontroll és réz-ion tartalmú reakcióelegyek spektruma az első reakcióórában 420—600 nm értékek között —○— Kontroll, —\*—+Cu<sup>2+</sup>

antociánok színét a pirosból a kék fele tolja el, így a 4. ábrán bemutatott 1 órás reakcióelegyek spektrumát csak egy szűk tartományban szemléltetjük.

A pH=3 értéken az antocián-vegyületek nagy stabilitást mutattak: az abszorpció maximumon észlelt extinkciók az időben gyakorlatilag nem változtak. A réz-ion-tartalmú mintákban maximum eltolódást nem észleltünk, ezek szerint fémvegyület nem keletkezett.

A pH=5 értékben az extinció-értékek az előzőekhez viszonyítva lényegesen kisebbek: irodalmi adatok szerint (3) ilyen körülmények között egyes antocián-vegyületek szintelen formába mehetnek át. Az abszorpció maximuma a fém-ion-tartalmazó mintákban nagyobb volt.

A pH=6 értéken a fémkomplex képződés azonnal, szemmel is jól észlelhető kékes árnyalat kialakulásával végbement. Ezen a pH értéken a kontroll antocián-vegyületei is molekulaszerkezet változást adnak (3), a kontroll színe lilás árnyalatúvá változott. A vegyületek időben megfelelő stabilitást mutattak.

A pH=7 értéken a réz-ion-tartalmú mintákban enyhe opaleszcencia volt észlelhető, mely a réz-ionok kiválását jelentette. Maguk az antocián-vegyületek is gyors átalakuláson mentek át.

## 1. TÁBLÁZAT

*Abszorpció maximumok alakulása a pH és a reakcióidő függvényében réz ion-tartalmú és kontroll oldatokban*

Idő (óra)	1		5		24	
	Kontroll	+Cu <sup>2+</sup>	Kontroll	+Cu <sup>2+</sup>	Kontroll	+Cu <sup>2+</sup>
3	510	510	510	510	510	510
5	520	540	520	540	520	540
6	560	580	560	580	560	580
7	570	570	570	570	570	570

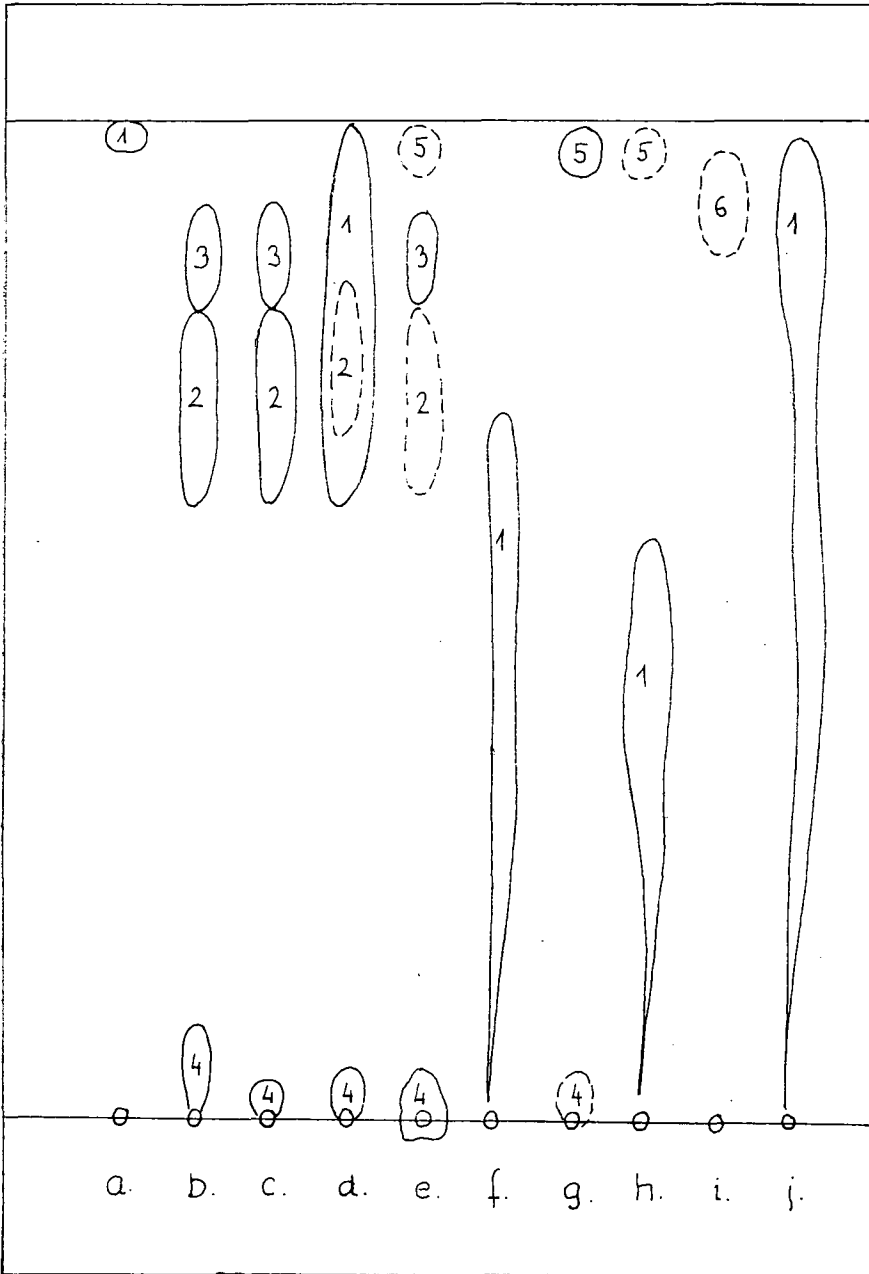
### 3.2.1 Kromatográfiás vizsgálatok

A reakcióelegyekből aliquot részt betöményítettünk, majd Whatman 3 MM papíron kromatografáltuk. Futtatószer fenollal telített víz. Futtási idő: 2 óra. A kromatogramokat UV-fényben, majd ammónia-gőzös kezelés után ugyancsak UV-fényben értékeltük. A kapott eredményeket az 5. és 6. ábrák szemléltetik.

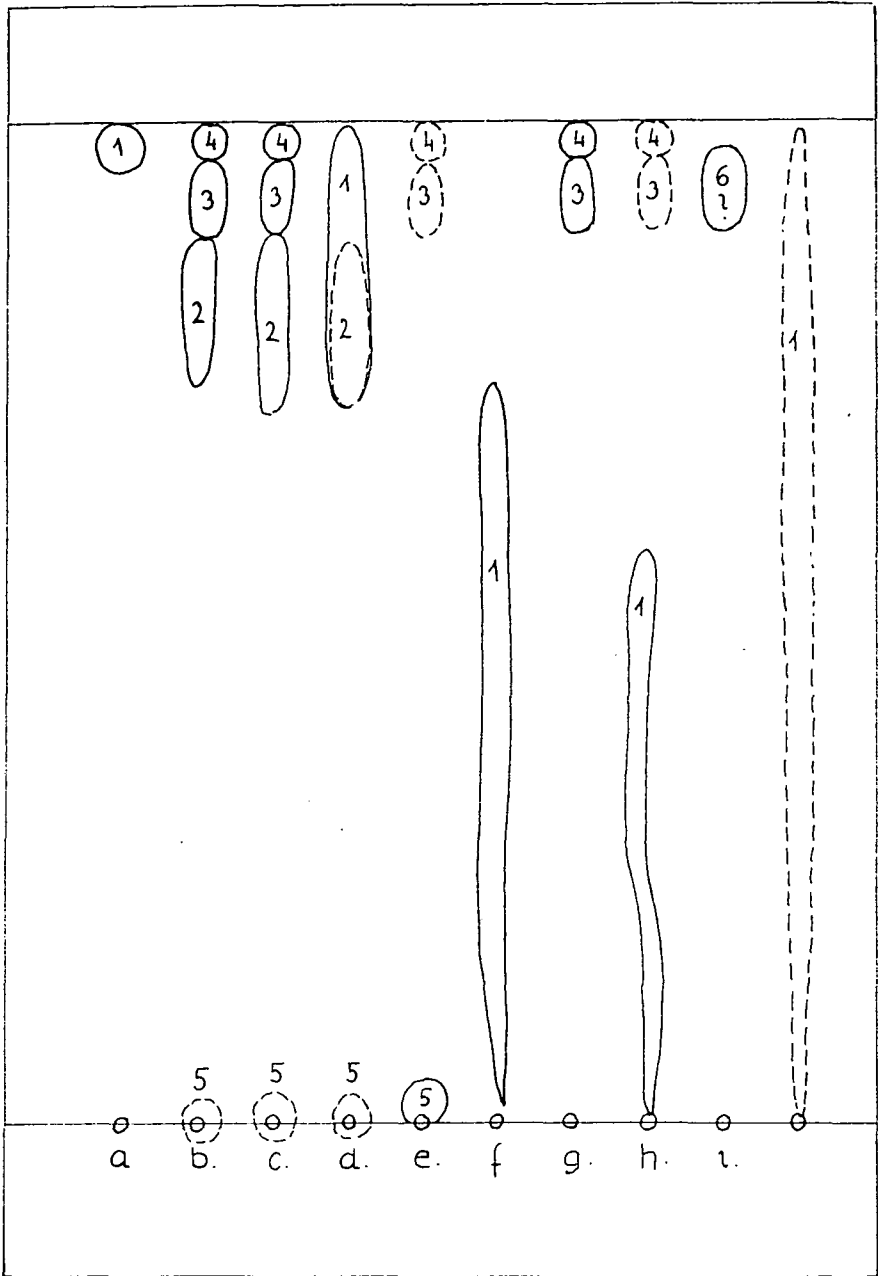
A pH=5, 6 és 7 réz-ion-tartalmazó reakcióelegyekből nem tudtunk kiértékelhető kromatogramokat készíteni: az oldatok töményítésekor csapadékkiválás indult meg. A kromatográfiás futtatás után észlelt sávok a réz-ionnak megfelelő színeződést adták.

### 3.2 Kísérletek alumínium-ionnal

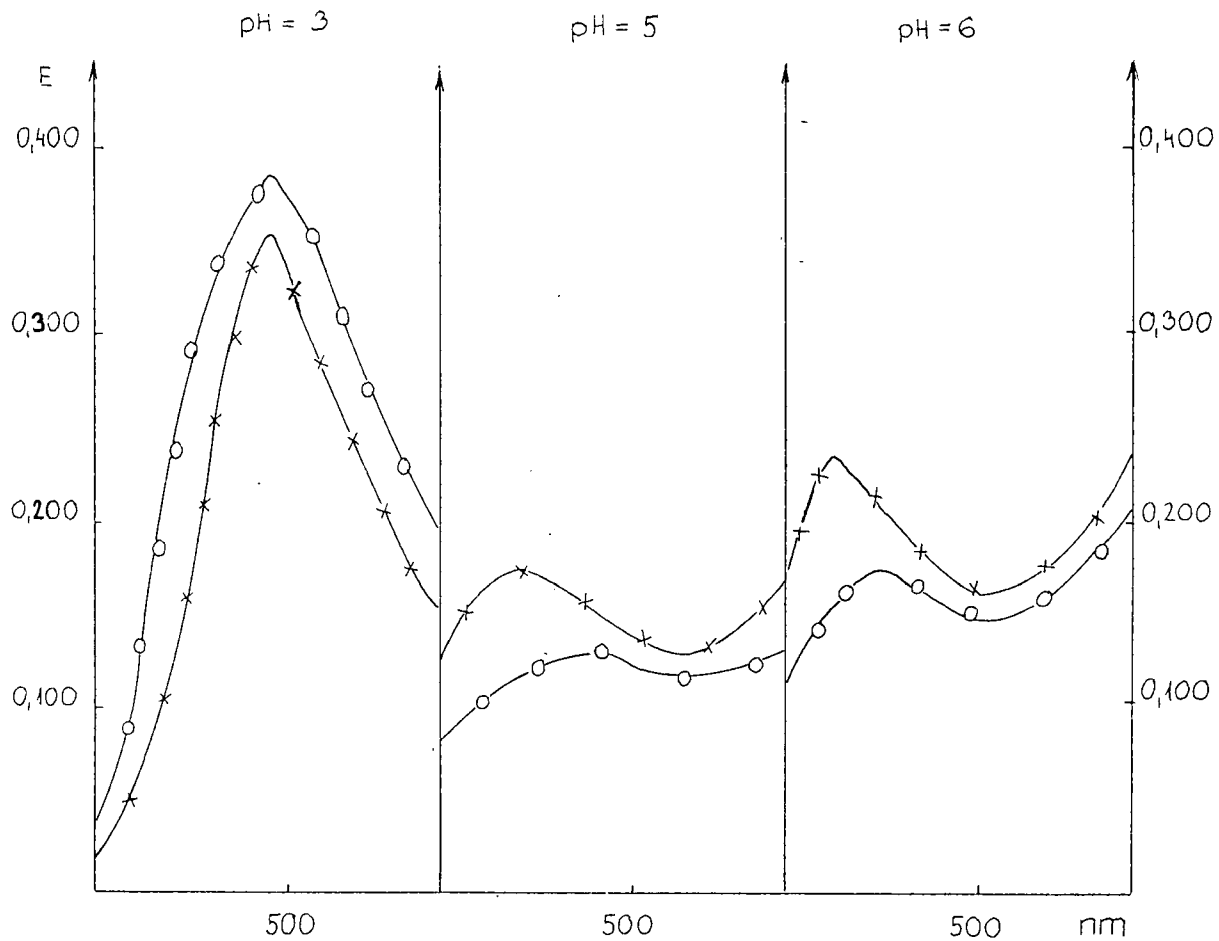
Az előző tapasztalatok alapján csak pH=3, 5 és 6 értékű reakcióelegyeket készítettünk. A reagens hozzámérésekor a pH=3 rendszerben nem észleltünk színváltozást, a pH=5 és 6 reakcióelegyekben rózsaszínes lila, illetve kékeslila elszíneződés lépett fel.



5. ábra. Kontroll és réz-ion tartalmú reakcióelegyek kromatogramjai UV fényben  
 a.  $\text{Cu}^{++}$  oldat; b. eredeti extrakt; c. Kontroll (pH 3); d. +Cu (pH 3); e. Kontroll (pH 5); f. + $\text{Cu}^{++}$  (pH 5); g. Kontroll (pH 6); h. + $\text{Cu}^{++}$  (pH 6); i. Kontroll (pH 7); j. + $\text{Cu}^{++}$  (pH 7). — 1. sötétkék; 2. ciklámén; 3. sötétlila fluoresszkál; 4. mályva, fluor; 5. fehér fluor; 6. sárga



6. ábra. Kontrol és réz-ion tartalmú reakcióelegyek kromatogramjai ammóniás kezelés után UV fényben  
a.  $\text{Cu}^{2+}$  oldat; b. eredeti extrakt; c. Kontroll (pH 3); d.  $+\text{Cu}^{2+}$  (pH 3); e. Kontroll (pH 5); f.  $+\text{Cu}^{2+}$  (pH 5); g. Kontroll (pH 6); h.  $+\text{Cu}^{2+}$  (pH 6); i. Kontroll (pH 7); j.  $+\text{Cu}^{2+}$  (pH 7). — 1. sötétkék; 2. piros; 3. halványkék fluoreszcencia; 4. fehér fluoreszcencia; 5. mályva fluor.; 6. sárga.



7. ábra. Kontroll és alumínium-ion tartalmú reakcióelegyek spektruma az első reakcióórán 420–600 nm értékek között —○— Kontroll —\*— alumínium-ion tart. elegyek

### 3.2.1 Spektrofotometriás adatok

A spektrumok alakulását az első reakcióórában a 7. ábra szemlélteti.

Az egyes reakcióelegyek abszorpciós maximumait a 2. táblázatban foglaltuk össze.

2. TÁBLÁZAT

*Abszorpciós maximumok alakulása a pH és az idő függvényében  
kontroll és Al<sup>+++</sup> – tartalmú oldatokban*

Idő (óra)	1		5		24	
pH	Kontroll	+ Al <sup>+++</sup>	Kontroll	+ Al <sup>+++</sup>	Kontroll	+ Al <sup>+++</sup>
3	510	510	510	510	510	510
5	520	560	520	560	520	560
6	560	580	560	580	560	580

A pH=3 reakcióelegyben itt sem alakult ki fémkomplex. A rendszer a spektrumok időbeli alakulását tekintve, stabilis. Az 5 pH értékű reakcióelegyekben a pH beállításakor szintén nagyfokú szín-intenzitás csökkenést észleltünk, melyet a kapott extinció értékek jól mutatnak. A keletkezett fémkomplex stabilis.

A pH=6 reakcióelegyben elsődlegesen az antociánok szerkezeti átalakulása volt tapasztalható a pH beállításakor. Ezt a kontroll oldat abszorpciós maximuma igazolja, mely erősen a nagyobb hullámhosszak fele tolódott el. Fémkomplex képződött, mely időben stabilisnak mutatkozott.

### 3.2.2 Kromatográfias vizsgálatok

A kromatogramokat a 3.2.1 pontban leírtak szerint ételemszerűen készítettük, s az értékelést is hasonlóan végeztük, melyeket a 8. és 9. ábrán mutatunk be.

A kérdéses reakcióelegyekből az alumínium-komplexeket sikerült szétválasztanunk.

### 3.2.3 Azonosító vizsgálatok

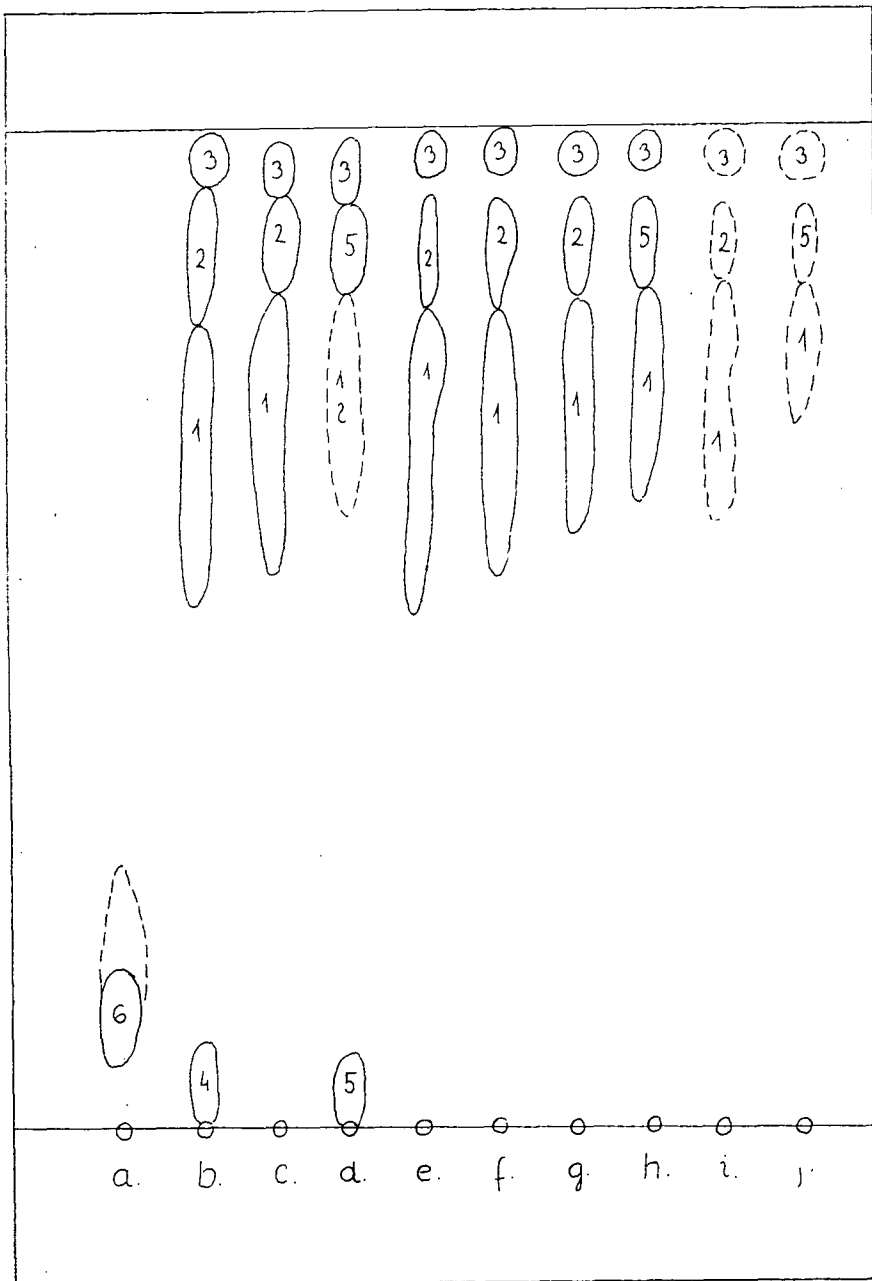
A 3.1.2 pontban leírtak szerint a kérdéses reakcióelegyket kvantitatív is mérhető mennyiségben vittük fel a papírra. Futtatás után a foltokat kiértékeljük, szétvágjuk, s leoldottuk a papírról sósavas metanollal. Felvettük a spektrumokat, s a kapott maximum és  $\frac{E_{440}}{E_{\max}} \cdot 100$  értékeket irodalmi adatokkal vetettük össze (4.)

Ennek alapján az alumínium komplex antocián része cianidin 3-monoglükozid ( $E_{\max} = 523$ ;  $\frac{E_{440}}{E_{\max}} \cdot 100 = 21$ ).

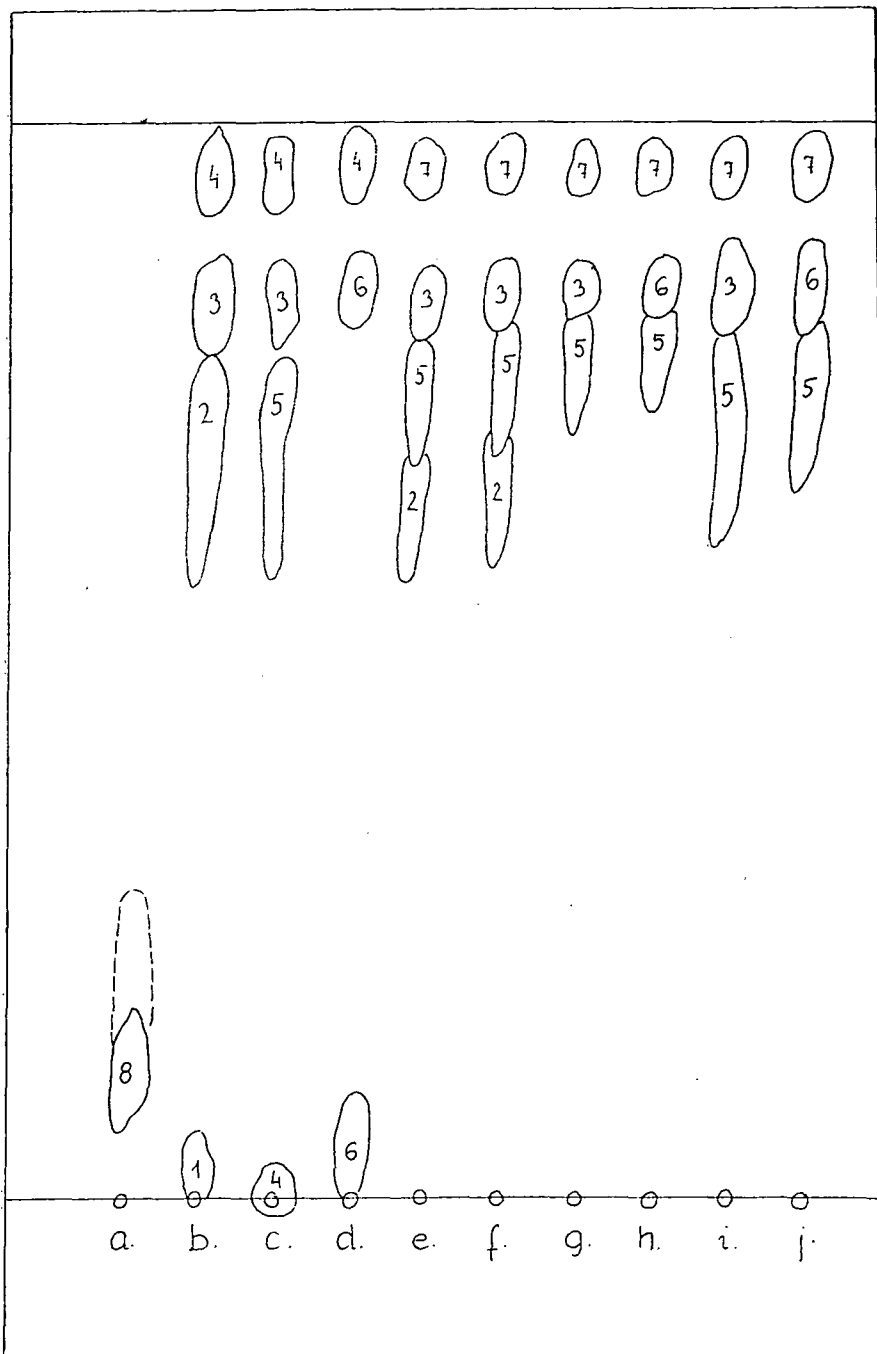
## 4. Kiértékelés

Vizsgálataink adatait összegezve, azt állapíthatjuk meg, hogy a fémkomplex képzésre alkalmas pH értékek — az adott reakció körülmények között, vizes rendszerben — 5 és 6. A réz-ionok komplexképző tulajdonsága igen gyengének mutatkozott, s az ismertetett vizsgálatokkal nem tudtuk megnyugtatóan kimutatni. Az alumínium-ion karakterisztikus reakciót adott.





8. ábra. Kontroll és alumínium-ion tartalmú reakcióelegyek kromatogramjai UV fényben  
 a.  $Al^{+++}$  oldat; b. savas extrakt; c. vizes extrakt; d. savas extrakt +  $Al^{+++}$ ; e. Kontroll (pH 3); f.  
 +  $Al^{+++}$  (pH 3); g. Kontroll (pH 5); h. +  $Al^{+++}$  (pH 5); i. Kontroll (pH 6); j. +  $Al^{+++}$  (pH 6). —  
 1. ciklámen; 2. sötétlila fluor.; 3. halványkék fluor.; 4. mályva; 5. sárga; 6.



9. ábra. Kontroll és alumínium-ion tartalmú reakcióelegyek kromatogramjai ammóniás kezelés után UV fényben  
 a.  $\text{Al}^{+++}$  oldat; b. savas extrakt; c. vizes extrakt; d. savas extrakt +  $\text{Al}^{+++}$ ; e. Kontroll (pH 3); f. +  $\text{Al}^{+++}$  (pH 3); g. Kontroll (pH 5); h. +  $\text{Al}^{+++}$  (pH 5); i. Kontroll (pH 6); j. +  $\text{Al}^{+++}$  (pH 6). — 1. ciklámen; 2. mályva; 3. halványkék fluor.; 4. lila fluor.; 5. piros; 6. sárga; 7. fehér fluor.; 8. szürke

## IRODALOM

1. *Bate-Smith, E. C.*: Advances Food Res. 5, 261 (1964).
2. *Herrmann, K.*: Zeitschr. Lebensmittel—Unters. u. Forsch. Band 148, 290 (1972).
3. *Ribéreau-Gayon, P.*: Les composés phénoliques des végétaux; Dunod, Paris, 1968.
4. *Harborne, J. B.*: Anthocyanins and their Sugar Components Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe 20, 165 (1962).
5. *Bayer, E.*: Agew, Chemie, 78, 834 (1966).
6. *Geissman, T. A.*: The Chemistry of Flavonoid Compounds Pergamon Press, London, 1962.
7. *Harborne, J. B.*: Comparative Biochemistry of the Flavonoids Academic Press, London, 1967

## INFLUENCE OF CERTAIN ANTHOCYANIN COMPOUNDS ON THE ANTIOXIDANT EFFECT

*E. Gábor*

Certain anthocyanin compounds can exert their antioxidant effects by forming complex compounds with metal ions catalyzing the oxidation processes.

A study was made in aqueous systems at pH 3.0, 5.0, 6.0 and 7.0 (this latter value could not be established in the case of aluminium) of the reactions of copper and aluminium ions with anthocyanin compounds extracted from plum skin.

Evaluation was performed by spectrophotometric and chromatographic methods. Formation of metal complex is indicated by shift of the absorption maximum towards longer wavelength compared to the control (at given pH). In the case of copper ions this occurred at pH values of 5 and 6, but the new compounds could not be separated chromatographically. The aluminium ion proved a good complex-former: the course of the reaction was shown by the shift in absorption maximum of the reaction mixtures of pH 5 and 6, and the characteristic change in colour. The new substance could also be detected chromatographically. The separated substance was dissolved up and subjected to photometric measurements again, and on the basis of literature data the anthocyanin part of the metal complex was shown to be cyanidine-3-glucoside.

## DER EINFLUSS EINIGER ANTOCYANVERBINDUNGEN AUF DIE ANTIOXYDANTWIRKUNG

*E. Gábor*

Manche Antocyanverbindungen können ihren Antioxydanteneffekt auch dadurch entfalten dass sie mit den die Oxydationsprozesse katalysierenden Metallionen komplexe Verbindungen bilden.

Verfasserin hat die Reaktion von aus Pflaumenschalen extrahierten Antocyanverbindungen mit Kupfer- und Aluminiumionen in wässrigen Systemen bei pH-Werten von 3,0, 5,0, 6,0 und 7,0 studiert (im Falle des Aluminium wurde letzterer nicht eingestellt).

Die Auswertungen geschahen mit spektrophotometrischen und chromatographischen Methoden. Die Verschiebung des Absorptionsmaximums in Richtung der grösserer Wellenlängen — bei einem gegebenen pH-Wert — gegenüber den Kontrollen deutet die Entstehung eines Metallkomplexes an. Im Falle der Kupferionen zeigte sich dies bei pH 5,0 und 6,0; chromatographisch konnten die neuen Verbindungen nicht getrennt werden. Das Aluminiumion hat sich als guter Komplexbildner erwiesen: die Verschiebung der Adsorptionsmaxima der Reaktionsgemische vom pH 5,0 und 6,0, der typische Farbumschlag des Reaktionsgemisches selbst, zeigte den Ablauf der Reaktion an. Das neue Material war auch chromatisch nachweisbar. Nach Eluieren und erneuter Photometrierung der getrennten Substanz stellt aufgrund von Literaturangaben der Antocyan-Anteil des Metallkomplexes ein Cyanidin-3-Glykosid dar.

## ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ СОЕДИНЕНИЙ АНТОЦИАНА НА АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ

*Э. Габор*

Некоторые соединения антициана могут проявлять свое антиоксидирующее влияние таким образом, что формируют сложные соединения с катализирующими окислительные процессы ионами металлов.

Автор исследовал реакции экстрагированных антициановых соединений из кожицы сливы с ионами железа и алюминия. В водной системе при pH = 3,0; 5,0; 6,0; 7,0 (в случае алюминия последний вариант отсутствовал).

Оценка результатов проводилась спектрофотометрическим и хроматографическим методами. Отклонение абсорбционного максимума в сторону большей длины волн при данных показателях pH — по сравнению с контролем — свидетельствует об образовании металлокомплексных соединений. В случае ионов железа это наблюдалось при pH = 5,0 и 6,0; хроматографическим методом не удалось разделить новые соединения. Ион алюминия оказался продуктивным в смысле образования соединений: отклонение адсорбционных максимумов реагирующей смеси при pH = 5 и 6, само характерное изменение цвета смеси свидетельствует о прохождении реакции. Новый материал был показан и хроматографически. Растворяя и снова фотометрируя выделенный материал, с помощью литературных данных установлено, что антициановая часть металлического соединения: цианидин-3-глюкозид.