

# FLAVON SZÁRMAZÉKOK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSI LEHETŐSÉGEI SZÍNES FÉMKOMPLEX FORMÁJÁBAN

GÁBOR MIKLÓSNÉ DR.\*

## BEVEZETÉS

Egyes flavonoid vegyületek bizonyos fémionokkal színreakciót adnak. A szín intenzitása a flavonoid vegyület mennyiségével arányos, így ennek mérésével a flavonoidok mennyiségére lehet következtetni.

A flavonoid-fémkomplexek keletkezését több tényező befolyásolja. Elsősorban a flavonoid-származék kémiai összetétele. Irodalmi adatok szerint fémkomplekképzésre hajlamosak azok a származékok, amelyekben a 3', 4'-helyzetben szabad hidroxilcsoportok találhatóak. Lehetséges fémkomplex képződés a 3-hidroxi-flavon származékok esetében is (1., 2., 3., 4., 5., 6.).

Kísérleteinket különböző flavon-származékokkal folytattuk. Az alapkísérleteket quercetinrel végeztük.

A quercetin 3, 5, 7, 3', 4'-penta-hidroxi-flavon.

A quercetin elsősorban glikozidjai formájában (rutin: a quercetin 3-rutinozid származéka; quercitrin a quercetin 3-rhamnózid származéka) a természetben, elsősorban felsőbbrendű növények különböző részeiben — így számos gyümölcsben — megtalálható sok más flavon-származék mellett.

A rutin elsősorban gyógyászati szempontból fontos: a skorbut kevert avitaminózisos megbetegedés egyik gyógyszere. Bizonyos mértékig kivédi a röntgen sugarak káros hatását. Gyógyszerként is forgalmazzák.

A quercetin természetes antioxidánsként is ismeretes.

## 1. A MÓDSZER ELVE

A spektrofotometriás meghatározás elve azon a kémiai reakción alapul, hogy a 3', 4'-dihidroxi-flavon származékok 96%-os etanolos oldata ferri-klorid oldattal zöld színű komplexet képez, amelynek intenzitása a flavon koncentrációval arányos és spektrofotometriásan mérhető. Az optikai sűrűséget kalibrációs mérésorozattal nyert regressziós egyenlet segítségével lehet átszámolni konkrét flavon tartalomra.

\*Technológiai Intézet, Kémiai Osztály

## 2. A VIZSGÁLAT MENETE

### 2.1 Felhasznált oldatok

Standard quercetin oldat: (5 mg/100 cm<sup>3</sup> 96 tf% EtOH),

Reagens oldat: 50 mg FeCl<sub>3</sub> 100 cm<sup>3</sup> 96 tf% EtOH-ban oldva,

Kompenzáló oldat: 2,50 cm<sup>3</sup> reagens oldat + 15,00 cm<sup>3</sup> 96 tf% EtOH,

Mérő oldat (spektrum felvételhez): 10,00 cm<sup>3</sup> standard oldat + 2,50 cm<sup>3</sup> reagens oldat + 5,00 cm<sup>3</sup> 96 tf% EtOH,

Mérő oldat (kalibrációhoz): X cm<sup>3</sup> standard oldat + Y cm<sup>3</sup> 96 tf% EtOH + 2,50 cm<sup>3</sup> reagens oldat (X + Y = 15,00 cm<sup>3</sup>).

### 2.2. Az eljárás menete

A vizsgálandó, jól homogenizált, ismert tömegű mintát — gyümölcs vagy nagy víztartalmú készítmény esetében — CaSO<sub>4</sub> adagolással szárítjuk. (Amennyiben szükséges, a nagy savtartalmat előzetesen szilárd kalcium-karbonát adagolással 5—6 közötti pH-ra állítjuk be. A mintát háromszoros petroléteres extrakcióval, ha szükséges, zsírtalanítjuk.)

(A bemérést úgy kell megválasztani, hogy abban legalább 2,5 mg flavon-vegyület legyen, vagy a méréshez szükséges oldatok koncentrációját a vizsgálandó anyag hatóanyag tartalmához igazítjuk.)

A kiszáritott, zsírtalanított mintából a flavonoidokat 96%-os EtOH-val mossuk át. Az extraktumot 50 cm<sup>3</sup>-es mérőlombikba öntjük, majd jelig töltjük 96 tf%-os etilalkohollal. A vizsgálandó oldatból 10,00 cm<sup>3</sup>-t pipettázunk ki, 2,50 cm<sup>3</sup> reagens oldatot és 5,00 cm<sup>3</sup> 96 tf% etilalkoholt mérünk hozzá. (A keletkezett színes komplex spektrumának maximális fényelnyelése 427 nm-nél van. Itt mérjük a vizsgálandó oldat optikai sűrűségét a fotometriás kompenzáló oldattal szemben. A spektrumot az 1.1. fejezetben leírt mérőoldattal vesszük fel.) A mért optikai sűrűséget kalibrációs mérések segítségével számíthatjuk át hatóanyag tartalomra.

### 2.3 Kalibrációs mérések

Az 1.1. fejezetben ismertetett kalibrációs mérőoldatból öt különböző hatóanyag tartalmú sorozatot készítünk, s az 1.2. fejezetben leírtak szerint mérjük az oldatok optikai sűrűségét, minden esetben 5—5 párhuzamost készítve. Az átlagolt optikai sűrűség értékekkel és az oldatok hatóanyag-tartalmával kalibrációs egyenes szerkeszthető, vagy regressziós egyenlet számolható. Az 1. táblázatban a kalibrációs mérés adatai láthatók.

## 3. SZÁMÍTÁSOK

A kalibráció adataiból lineáris program szerint regressziós egyenletet számoltunk:

$$Y = 0,850X + 0,159, \text{ ahol}$$

Y = a mért extinkció,

X = a quercetin mennyisége, mg.

# 1. TÁBLÁZAT

Kalibrációs mérések a quercetin spektrofotometriás meghatározásához

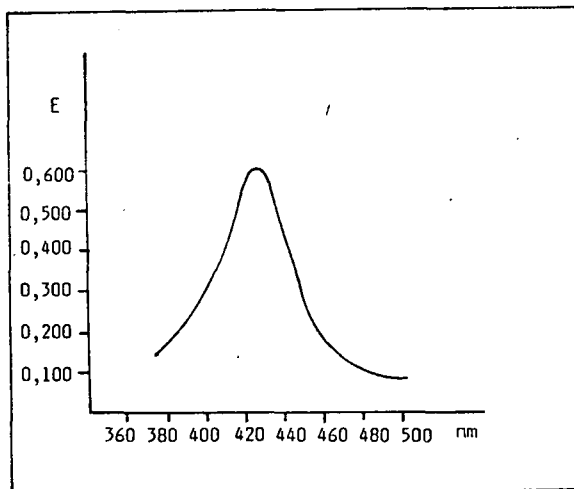
Mérőoldat (X) cm <sup>3</sup>	Optikai sűrűség (E)	Mérőoldat (X) cm <sup>3</sup>	Optikai sűrűség (E)
15,00	0,790	7,50	0,488
	0,790		0,490
	0,790 0,790		0,490 0,490
	0,790		0,490
	0,790		0,490
12,50	0,700	5,00	0,345
	0,682		0,350
	0,682 0,681		0,350 0,354
	0,670		0,370
	0,670		0,356
10,00	0,610		
	0,610		
	0,600 0,608		
	0,600		
	0,600		

Az egyenletből a vizsgált spektrofotometriás oldat quercetin tartalma az alábbiak szerint számolható:

$$X \text{ (mg)} = \frac{Y - 0,159}{0,850}$$

A vizsgált minta quercetin tartalmának számításához a bemérés és hígítás alapján az alábbi összefüggés használható:

$$\text{Quercetintart. mg\%} = \frac{X \cdot 5 \cdot 100}{B}, \text{ ahol}$$



1. ábra: A quercetin-vas komplex spektruma

$B$  = a bemért minta mennyisége, g,  
 $S$  = hígtási faktor,  
 $X$  = a spektrofotometriás oldat quercetin tartalma, mg.

#### 4. A MÓDSZER PONTOSSÁGA

A módszer pontosságát matematikai úton ellenőriztük. Tekintettel arra, hogy nem másik analitikai eljáráshoz hasonlítottuk a módszert, hanem a tiszta anyagbe-méréshez, ezt egyszerű szórásszámítással végeztük el. E célból 15 mérést végeztünk, amelynek adatait a 2. táblázat tartalmazza.

2. TÁBLÁZAT  
*Spektrofotometriás quercetin meghatározás mérési adatai*

Quercetin, mg (bemért)	Optikai sűrűség, E	Quercetin, mg (bemért)	Optikai sűrűség, E
0,5	0,580	0,5	0,590
0,5	0,597	0,5	0,590
0,5	0,598	0,5	0,602
0,5	0,587	0,5	0,580
0,5	0,590	0,5	0,588
0,5	0,598	0,5	0,588
0,5	0,610	0,5	0,588
0,5	0,593	0,5	0,588

*E* átlag: 0,592

*Szórás* ( $S$ ): 0,0085, ami azt jelenti, hogy a módszer pontos, alkalmas kis mennyiségek mérésére is.

#### 5. ÖSSZEFOGLALÁS

A flavon-vegyületek ferri-kloriddal képzett színes fémkomplexet spektrofotomet-riás mérésével lehetőség adódik ezek érzékeny mennyiségi meghatározására. Az alkal-mazott speciális víztelenítési eljárás lehetővé teszi, hogy a vizsgálathoz szükséges koncentrációban nyerjük ki a flavon vegyületet egyes természetes forrásaiból.

A módszerrel jól meghatározható gyógyszerek rutintartalma és a quercetin antioxi-dánsként vagy természetes színezőanyagként használva különböző élelmiszerekben.

A természetes forrásaiban (pl. gyümölcsök) található quercetin származékok meghatározását zavarhatják más flavonoid vegyületek, ezeket az adott rendszerekben fel kell mérni. Ugyancsak megvizsgálandó, hogy hasonló körülmények között hogy viselkednek más flavon származékok a színreakció képződést illetően.

#### IRODALOM

2. Seikel, M. K., Geissman, T. A. (1950): J. Amer. Chem. Soc. 72, 5725.
3. Strohecker, R., Henning, M. H. (1963): Vitamin-Bestimmungen Verlag Chemie CMBH, Wein-heim/Bergstr.

4. *Geissman, T. A.* (1962): *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, Pergamon Press, Oxford.
5. *Harborne, J. B.* (1967): *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*, Academic Press, London.
6. *Fragner, J.* (1965): *Vitamine, Chemie und Biochemie*, VEB G. Fischer Verlag, Jena.

## POSSIBILITIES OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF FLAVONE DERIVATIVES IN THE FORM OF COLOURED METAL COMPLEXES

*Dr. Erzsébet Gábor*

There is a possibility for the sensitive quantitative determination of flavone compounds by spectrophotometric measurement of the coloured complexes formed with ferric chloride. The special dehydration procedure applied allows the flavone compounds to be obtained from the various natural sources in the concentration necessary for the examination.

The method can readily be used to determine the rutin content of drugs, or the quercetin content of various foodstuffs, in which it is used as an antioxidant or a natural colouring material.

The determination of quercetin derivatives to be found in natural sources (e.g. fruit) may be disturbed by other flavonoid compounds; these must be estimated in the given systems.

It is also necessary to examine how other flavone derivatives behave as concerns giving a colour reaction under similar conditions.

## MÖGLICHKEITEN DER QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER FLAVONDERIVATE IN DER FORM VON FARBIGEN METALLKOMPLEXEN

*Erzsébet Gábor*

Die spektrophotometrische Messung ermöglicht die sensible quantitative Bestimmung der Flavonverbindungen des Ferrichlorids mit farbigen Metallkomplexen. Das angewendete spezielle entwässernde Verfahren bietet Gelegenheit dazu, daß die Flavonverbindung aus einigen natürlichen Vorkommnissen in der zu der Forschung nötigen Konzentration gewonnen wird.

Durch diese Methode können der Rutingehalt der Arzneien und das Quercetin als Antioxydationsmittel oder natürliches farbgebendes Mittel in verschiedenen Lebensmitteln bestimmt werden.

Die Bestimmung der Quercetinderivate, die in natürlichen Vorkommnissen zu finden sind (z. B. Früchte) kann durch andere Flavonverbindungen gestört werden, und das muß in den gegebenen Systemen in Betracht gezogen werden.

Ebenfalls muß es untersucht werden, wie sich die anderen Flavonderivate hinsichtlich der Farbenreaktion bei ähnlichen Umständen benehmen.

## ВОЗМОЖНОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ В ФОРМЕ ЦВЕТНЫХ ФЕРРО-КОМПЛЕКСОВ

*Габор Миклошнэ*

С помощью спектрофотометрических измерений цветных ферро-комплексов, образующихся хлористым металлом флавоновых соединений, создается возможность их точного количественного определения. Применяемый специальный способ обезвоживания позволяет получить флавоновое соединение в концентрации, необходимой для исследования из его отдельных естественных источников.

Применяя этот метод, можно легко определить рутинное содержание лекарств, кверцетин в качестве антиокислителя или естественного красящего вещества, используя их в различных пищевых продуктах.

Определение производных кверцетина, находящихся в его естественных источниках (напр. фрукты), может препятствоваться другими флавоноидными соединениями; их необходимо учитывать в данных системах.

Предметом исследования должно стать и то обстоятельство, как ведут себя флавоновые производные относительно образования цветовой реакции в аналогичных условиях.