

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

MOLNÁRNE HAMVAS LÍVIA

Nyugat-Magyarországi Egyetem
Faipari Mérnöki Kar
Sopron

2003

Molnárné Hamvas Livia

A FAEXTRAKTANYAG - FÉMION KÖLCSÖNHATÁS
VIZSGÁLATA

Doktori (Ph.D.) értekezés

Témavezető:
Dr. DSc. Németh Károly
egyetemi tanár

Nyugat-Magyarországi Egyetem
Faipari Mérnöki Kar
Cziráki József Faanyagtudomány és Technológiák Doktori Iskola

2003.

A FAEXTRAKTANYAG - FÉMION KÖLCSÖNHATÁS VIZSGÁLATA

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében
a Nyugat-Magyarországi Egyetem
Cziráki József Faanyagtudomány és Technológiák Doktori Iskolája
Faanyagtudomány (F1) programjához tartozóan.

Írta:
Molnárné Hamvas Livia

A jelölt a doktori szigorlaton % -ot ért el,

Sopron,

.....
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

(Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....% - ot ért el

Sopron,

.....
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése

.....
Az EDT elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

I.	Bevezetés	3
I.1.	A faanyag, mint kémiai rendszer.....	3
I.1.1.	A faextraktanyagok	5
I.1.1.1.	Az extraktanyagok savas-bázikus jellege.....	6
I.1.1.2.	Az extraktanyagok színező hatása.....	10
I.1.2.	Fémionok a faanyagban.....	11
I.2.	A flavon-származékok.....	15
II.	Irodalmi áttekintés.....	23
II.1.	A kvercetin, a rutin és a robinetin kémiai vizsgálatának eredményei.....	24
II.1.1.	A kvercetin, a rutin és a robinetin geometriájának meghatározása.....	24
II.1.2.	A kvercetin, rutin és robinetin spektrofotometriás jellemzése.....	28
II.1.2.1.	UV-VIS abszorpciós spektrofotometria	28
II.1.2.2.	Derivatív spektrofotometria	30
II.1.2.3.	Különbségi (differencia) spektrofotometria	31
II.1.2.4.	Szilárd minták fényreflexiója	32
II.1.2.5.	Vékonyréteg-denzitometria.....	33
II.1.2.6.	Fluoreszcenciás analízis	35
II.2.	A kvercetin, a rutin és a robinetin oldatbeli sajátságai.....	36
II.3.	A kvercetin, a robinetin és a rutin sav-bázis tulajdonságai	37
II.3.1.	Disszociáció – protonálódási egyensúlyok.....	42
II.4.	A kvercetin, robinetin és rutin redoxi sajátságai	46
II.4.1.	Elektrokémiai viselkedés.....	52
II.5.	A fémionok - flavonoidok kémiai kölcsönhatása.....	56
II.5.1.	Koordinációs kémiai vizsgáló módszerek	58
II.5.2.	A flavonoidok alumínium-komplexei	61
II.5.2.1.	Észrevételek és megjegyzések az alumínium-flavonoid komplexek irodalmához.....	70
II.5.3.	A flavonoidok kölcsönhatása réz(II)ionnal	73
II.5.3.1.	Észrevételek és megjegyzések a réz - flavonoid kölcsönhatás irodalmához... ..	83
II.5.4.	A Cr(III)/Cr(VI) rendszer és a flavonoidok kölcsönhatása	84
III.	Kísérleti munka.....	87
III.1.	Kísérleti körülmények	88
III.2.	Vegyszerek, reagensek	90
III.3.	Műszerek, készülékek, eszközök.....	90
III.4.	Egyensúlyi állandók számításának módszerei	91

IV. Kutatási eredmények és értékelésük	95
IV.1. A flavonoidok oldatbeli sajátságainak vizsgálata	95
IV.2. Fény hatása a flavonoidok spektrális sajátságaira	99
IV.3. A flavonoidok sav-bázis tulajdonságainak vizsgálata	102
IV.3.1. A kvercetin szerkezeti változása bázikus közegben	103
IV.3.2. A rutin sav-bázis egyensúlya	108
IV.3.3. A robinetin átalakulása gyengén lúgos közegben	111
IV.4. A kvercetin és rutin protonálódási állandójának meghatározása	113
IV.4.1. A kvercetin protonálódási állandójának meghatározása	115
IV.4.2. A rutin protonálódási állandójának meghatározása	117
IV.5. A sav-bázis folyamatok molekulászerkezeti értelmezése	118
IV.6. A flavonoid - fémion kölcsönhatás tanulmányozása	121
IV.7. Az alumínium - flavonoid koordináció vizsgálata	122
IV.7.1. A kvercetin alumínium-komplexe	123
IV.7.2. Az alumínium-rutin komplex kialakulása	128
IV.7.3. Az alumínium-flavonoid-komplexek vizsgálati eredményeinek értékelése ..	131
IV.8. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata	132
IV.8.1. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata kálium-nitrát alapelektrolitban...	133
IV.8.2. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata kálium-klorid alapelektrolitban .	135
IV.8.3. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata ecetsav - kálium-acetát pufferben	138
IV.8.4. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálati eredményeinek értékelése	142
IV.9. A króm(III)/króm(VI) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata	145
IV.9.1. A Cr(III)/Cr(VI) - flavonoid kölcsönhatás oldatbeli vizsgálata	147
IV.9.2. A Cr(III)/Cr(VI) spektrális jellemzői szilikagél rétegen	148
IV.9.3. A kvercetin és a robinetin kölcsönhatása króm(III)-mal szilikagél rétegen...	149
IV.9.4. A kvercetin és robinetin reakciója króm(VI)-tal szilikagél rétegen	152
IV.9.5. A Cr(III) és Cr(VI) hatása a flavonoidok fotodegracációjára	154
IV.9.6. A Cr(VI) hatása a flavonoidok fotodegracációjára	158
V. A kísérleti eredmények összegzése	161
VI. Összefoglalás	164
VII. Irodalomjegyzék	I
VIII. Mellékletek	XV

I. BEVEZETÉS

I.1. A faanyag, mint kémiai rendszer

A faanyag esztétikai megjelenését, valamint számos, a gyakorlati felhasználás szempontjából fontos tulajdonságát – anatómiai sajátosságai mellett – alapvetően befolyásolják a fa élettani folyamatai (a faanyagot felépítő kémiai alkotórészek biokémiai szerveződése), valamint a különböző környezeti, illetve kémiai hatások, amelyek élő növényként vagy feldolgozása során érik.

A faanyag vázszerkezetét szerves makromolekulák – cellulóz, különböző poliózok és lignin – összetett rendszere képezi, változatos morfológiai szerkezetet alkotva. Ezek a szerves összetevők önmagukban is kompakt, inter- és intramolekuláris kötésekkel összekapcsolódó rendszert képeznek, de egymáshoz is kötődnek elsőrendű és másodrendű kémiai kötésekkel.

A makromolekulás anyagok mellett a faanyag kis molekulatömegű, rendszerint vízben vagy szerves oldószerben könnyen oldódó vegyületeket is tartalmaz, a főkomponensekhez képest viszonylag kis mennyiségben (1. táblázat). A fából való kioldhatóságuk miatt ezeket az anyagokat összefoglaló néven extraktanyagoknak nevezik.

1. táblázat *Különböző fafajok kémiai összetétele (FILLÓ 1976) alapján*

	poliszacharidok	lignin	extraktanyagok
	%		
lucfenyő	68,9	28,0	3,1
óriásnyár	70,2	25,2	4,6
közönséges bükk	71,0	24,0	5,0
fehérekák	63,6	31,1	5,3

Kémiai összetételük szerint az extraktanyagok igen változatosak: alkoholok, mono-, di- és oligoszacharidok, alifás savak és származékaik, zsírok és olajok, fenolok, terpének és származékaik. Elsősorban ezek a komponensek alakítják a faanyag színét, szagát és tartóságát, illetve befolyásolják a fa olyan tulajdonságait, mint ragaszthatósága, felületkezelhetősége, száríthatósága és kémiai feldolgozhatósága (NÉMETH 1997).

Az élő fa, és minden növény, érzékenyen reagál a környezeti körülmények megváltozására, vagyis fokozza a hatásoknak ellenálló vegyületek termelését, illetve olyan anyagokat választ ki, amelyek kompenzálni tudják a kiváltott kémiai folyamatokat. Az élő fában a

biokémiai folyamatok bonyolult reakciósor eredményeként mennek végbe, amelyben a makromolekulás mátrix mellett a víznek, az oldott állapotban lévő szerves komponenseknek és szervetlen ionoknak egyaránt fontos szerepük van.

A holt fában felhasználása és megmunkálása során bekövetkező hő-, fény- és vegyi hatásokra összetett kémiai és fizikai-kémiai változások – sav-bázis reakciók, komplexképződés, redoxi reakciók – játszódnak le, amelyek a faanyag mechanikai tulajdonságainak megváltozása mellett színének és más fizikai jellemzőinek módosulását is eredményezik. A holt faanyagban újabb vegyületek képződése nem lehetséges, így megindulnak a degradációs folyamatok.

A faanyagban biotikus és abiotikus hatásokra egyaránt rendkívül összetett biológiai, kémiai és fizikai-kémia folyamatok játszódnak le, amelyekben a faanyag anatómiai felépítése mellett a vázszerkezet és fafajra jellemző mobilis komponensek egyaránt fontos szerepet töltenek be. A főkomponensek elsődlegesen a faanyag degradációs folyamataiban, illetve a teljes lebomlásában meghatározóak. A kevésbé mélyreható kémiai átalakulásokban a vázanyagok mintegy mátrixhatást idéznek elő, és jelentős változás főleg a színező hatású extraktanyagok szerkezetében történik (NÉMETH 1998).

A faanyag szervetlen összetevői – a víz mellett – az élő növény számára nélkülözhetetlen, az életműködéséhez szükséges makro- és mikrotápelemek. A szervetlen komponensek legtöbbször híg elektrolitok alakjában vesznek részt a szervezetek elektrokémiai és ozmózis egyensúlyainak, valamint sav-bázis egyensúlyának fenntartásában, valamint elősegítik a különböző kolloidok oldódását, és mint aktivátorok, illetve inhibitorok az enzimreakciókat is befolyásolják (GASZTONYI - LÁSZTITY 1993).

A faanyag feldolgozása során a technológiai folyamatokban alkalmazott fémionok ugyanakkor jelentősen befolyásolják a fizikai és kémiai átalakulásokat. A faanyagvédelemben is kiemelkedően fontos szerepe van a különböző fémsóknak és ionoknak, amelyeket a kártevők elleni védekezés céljából a faanyag kezelésére használnak (pl. réz- és kromátionok). Fontossága következtében a faanyag - fémion kölcsönhatás során bekövetkező változások vizsgálata az 1970-es évek óta kiemelt témája a fakémiai kutatásoknak (DAHLGREN és HARTFORD 1972-1975; PIZZI 1981-1990; COOPER és UNG 1992, 1993). A vizsgálatok manapság is elsősorban a favedőszer - faanyag kölcsönhatás általános jellemzésére irányulnak (BULL 2000, 2001; STEVANOVIC-JANEZIC, COOPER és UNG 2001). Több kutatócsoport foglalkozik a különböző fémionok megkötődésének (AOYAMA és TSUDA 2001; YU és mtsai 2001; SHUKLA és mtsai 2002) vagy kioldódásának (SHIAU, SMITH és AVELLAR 2000) tanulmányozásával. Egyes közlemények csak a fafelület – a fémionok hatására bekövetkező – színváltozásának leírására

szorítkoznak (STIPTA, NÉMETH és MOLNÁRNÉ 2002a), mások viszont részletesen elemzik a kémiai kölcsönhatás kinetikáját (JORGE és mtsai 1999; NÉMETH és STIPTA 2002) is.

Kémiai szempontból tekintve a rendszert, a fafelület és a fémionok kölcsönhatása nem egyszerűen szorpciós folyamat, hanem fennáll a szilárd fafelületen végbemenő ioncsere folyamatok lehetősége is (AJMAL és mtsai 1998). Ezzel párhuzamosan sav-bázis, komplexképződési és redoxi reakciók is lejátszódnak a fémionok és a fa komponensek között (MOLNÁRNÉ 1994). A kémiai átalakulásokat jelentősen befolyásolják és módosítják a külső tényezők is (pl. a pH, a hőmérséklet és a fény) (PIZZI 1983; COOPER 1991). A fafelületen kialakuló fémkomplexek fontos fényvédő szerepet is betöltenek (HON és CHANG 1985), valamint befolyásolják a faanyag időjárás-állóságát (EVANS és SCHMALZL 1989; FEIST és WILLIAMS 1991).

A faanyag - fémion kölcsönhatás szempontjából elsődlegesen az extraktanyagok, illetve ezen összetevőn belül a növényvilágban legnagyobb változatosságban előforduló alkotórészek – a flavonoidok – eltérő minőségi és mennyiségi összetétele okozza az egyes fafajok különbözőségét. A fémionok szerepe pedig abban áll, hogy pozitív töltésük révén kölcsönhatásba lépnek a biomolekulák negatív töltéssűrűségű csoportjaival, aminek következtében lehetőség nyílik azok szerkezetének megváltozására és további összekapcsolódásokra.

A fémionok, az élő- és bizonyos mértékig a holt fában is, állandó kölcsönhatásban vannak a faanyag makromolekuláival és a kismolekulatömegű komponensekkel. Az ionok jellemzően koordinatív kötéssel kapcsolódnak a faanyag alkotórészeihez, elsősorban a lignin, a polifenolok és a flavonoidok hidroxil-csoportjaihoz, vagy a pektinben és tanninokban jelenlévő karboxil-csoportokhoz (SJØSTRØM 1993).

A faextraktanyag - fémion kölcsönhatás során lejátszódó folyamatok összetettsége, bonyolultsága indokoltá és szükségessé teszi egy-egy jelentős hatású kémiai komponens viselkedésének, valamint kémiai reakcióinak vizsgálatát a faanyagtól elkülönítetten is.

I.1.1. A faextraktanyagok

A faanyag vízben, vagy inert szerves oldószerben oldható komponensei – az extraktanyagok – igen nagy kémiai változatosságot mutatnak (bár mennyiségük általában csekély, száraz fára vonatkoztatva általában 2 ... 10 tömegszázalék). Az apoláris szerves oldószerekkel (pl. dietil-éter, diklór-metán) extrahálható lipofil frakció főleg zsírokat, viaszokat, terpenoidokat, és hosszú szénláncú alifás alkoholokat tartalmaz. A vízzel, vagy poláris szerves oldószerekkel (pl. aceton, etanol) kioldható hidrofil frakció fenolos anyagok nagy mennyiségét tartalmazza.

Az extraktanyagok minősége jelentős mértékben függ a fa családjától, nemzetségétől, fajától és még fajtajától is (UÇAR és FENGEL 1995), mivel bioszintézisük genetikailag meghatározott. A fa szerkezetében adott morfológiai helyeken található meg elsősorban, ezért az extraktanyagok egy törzsön belül is jelentős mennyiségi és minőségi különbségeket mutathatnak (HELM 2000). Általánosságban érvényes, hogy a szíjács lényegesen kisebb mennyiségben tartalmaz extraktanyagokat, mint a geszt (BURTON és MITSU 1998). Az értékek függenek továbbá az extraháló oldószer polaritásától (PASSIALIS és GRIGORIOU 1999), a kioldás módjától, időtartamától és a fa kivágásának időpontjától is (MONONEN, ALVILA és PAKKANEN 2002a).

I.1.1.1. Az extraktanyagok savas-bázikus jellege

A vízzel kioldható extraktanyagok savas-bázikus jellege meghatározó a faanyag savassága szempontjából. A vizes extraktum pH-ját a vízzel kioldható, a savas kémhatású puffer-rendszert alkotó komponensek (sók, szerves savak és fenolos anyagok) együttes hatása befolyásolja. Mivel minőségi és mennyiségi különbség figyelhető meg a fa különböző morfológiájú részeinek extraktanyag-tartalmában, ezért nem meglepő, hogy mindazok a tényezők hatással vannak a mért pH-értékre és a pufferkapacitásra, amelyek módosítják a faanyagból kioldható komponensek összetételét (ALBERT és MITSU 1999). Az átlagértékektől való jelentős mértékű eltérést okozhatnak környezeti hatások, továbbá kóros vagy védekező élettani folyamatok is, amelyek miatt megváltozik a fenolos anyagok mennyisége (ALBERT és MITSU 2003). A savas jelleg egyaránt befolyásolja az élő fa biológiai folyamatait és a holt fa feldolgozásának technológiáját is. A faanyag elszíneződésének, a favédőszerek felületi megkötődésének és telítődésének mértéke egyaránt kapcsolatban van a faanyag pH-jával és pufferkapacitásával.

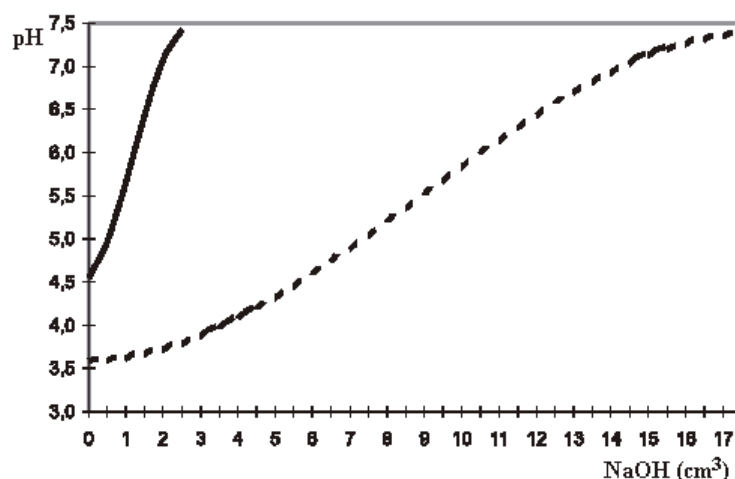
BALABAN és UÇAR (2001) korrelációt keresett a faanyag savassága és a kioldható komponensek mennyisége között. Extrakciós és pH-mérési, valamint pufferkapacitás meghatározási vizsgálataikat 18 fafajra végezték el, több esetben külön a gesztre és a szíjácsra vonatkozóan (2. táblázat). Összehasonlították a forró vízzel, valamint az 1 %-os NaOH-dal kivonható anyagok mennyiségét, a szabad- és az összes savnak megfelelő lúg ekvivalenciáját.

A mérési adatokból szembetűnő a geszt magas extrahálható anyag tartalma és savassága. A szerzők szerint az extraktanyagok savasságához kisebb mértékben a mannánok és a xilánok acetyl-csoportjai is hozzájárulnak, de a tölgy és gesztenye gesztjére mért magas lúg-ekvivalenciát a nagyobb mennyiségű tanninoknak tulajdonítják.

2. táblázat Fenyőfélék és lombos fák extraktanyag-tartalma és savassága (BALABAN és UÇAR 2001) alapján

	forró vízzel kioldható anyagok (%)	1 % NaOH-dal kivonható (%)	forróvízes extraktum pH	savasság (mmol NaOH / 100 g fa)	össz-savasság (mmol NaOH / 100 g fa)
<i>Pinus nigra</i>	4,18	15,78	4,53	2,87	6,4
<i>Pinus sylvestris</i>	4,98	16,50	3,93	6,75	10,8
<i>Populus tremula</i>	3,23	17,67	4,51	3,25	6,2
<i>Tilia argenta</i>	2,61	17,74	5,32	1,50	3,2
<i>Fagus sylvatica</i>	3,36	18,01	5,40	2,50	4,1
<i>Quercus petraea</i> (sz)	6,42	19,80	4,59	5,0	8,4
<i>Quercus petraea</i> (g)	10,83	25,55	3,60	18,7	22,0
<i>Castanea sativa</i> (sz)	6,33	19,83	4,29	8,3	11,0
<i>Castanea sativa</i> (g)	12,50	27,23	3,58	24,0	28,0

ROFFAEL, POBLETE és TORRES (2000) vizsgálatai szerint a gesztenye (*Castanea sativa*) faanyagának forróvízes extrakciója esetén a geszt kb. 3,2 %-kal több kioldható anyagot tartalmaz, mint a szíjács. Jelentős különbséget találtak a vizes kivonatok pH-jában is (geszt 3,24, szíjács 3,78), amit az anatómiai okok miatt eltérő illékony savtartalommal magyaráztak. Az anatómiai különbségek a pufferkapacitásban sokkal nagyobb eltérést eredményeztek. A geszt pufferkapacitása sokszorososa volt a szíjácsénak (6,694 és 0,905 mmol NaOH / 100 g fa). Látványos különbség figyelhető meg a geszt és a szíjács titrálási görbéjének alakjában is (1. ábra), ami egyértelműen mutatja, hogy az adatok differenciáját nem csupán a savtartalom mennyisége okozza, hanem minőségi összetétele is jelentősen különbözhet.



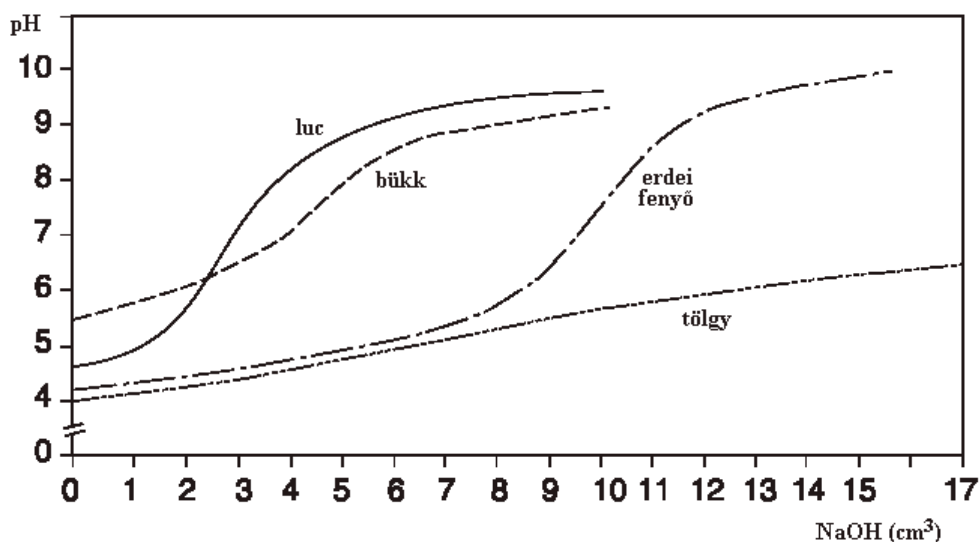
1. ábra Pufferkapacitás meghatározása gesztenye (*Castanea sativa*) faanyagából (ROFFAEL, POBLETE és TORRES 2000) (- - - geszt, — szíjács)

Észrevételek szerint az egyes publikációkban a különböző faanyagokra közölt sav- és bázisekvivalencia, vagy pufferkapacitás adatai legtöbbször egymással nem összehasonlít-

hatóak, mivel egyrészt nem azonos mértékegységben adják meg az eredményeket, másrészt a fogalom értelmezésében sem alakult ki egységes irányvonal.

Nagyon gyakran adnak meg a közleményekben pufferkapacitásra a mérési metodikával szoros kapcsolatban lévő adatot, amely attól függ, hogy mennyi fát, milyen térfogatú oldattal, mennyi ideig extraháltak. Legtöbbször az a NaOH oldat mennyiség szerepel, amelyet az extraktum adott térfogata a semlegesítésig (GRODZIŃSKA 1971), az ecetsav titrálási végpontjának eléréséig (pH = 8,87) (BALABAN és UÇAR 2001), vagy pH = 10,00-ig (PASSIALIS és GRIGORIOU 1999) elfogyaszt. Ezek az adatok inkább nevezhetők savtartalomra jellemző értékeknek, mint pufferkapacitásnak.

Máskor a titrálási görbéből határozzák meg a nátrium-hidroxid ekvivalenciát (ALBERT és mtsai 1999; JUNG és ROFFAEL 2002), és az eredményt extraktum térfogatára vonatkoztatják. Ebben az esetben azonban a titrálási görbék elnyújtott alakja gyakran megnehezíti az ekvivalenciapont korrekt megállapítását (2. ábra).



2. ábra Különböző faminták titrálási görbéi (JUNG és ROFFAEL 2002) alapján

Célszerű lenne az extraktumok pufferkapacitását a kémiában szokásos módon az 1,00 pH-egység eltérést okozó HCl-, illetve NaOH anyagmennyiségével jellemezni, és az adatot nem az extraktum térfogatára, hanem adott szemcseméretű faanyag tömegére vonatkoztatni. Így az eredmények egymással jobban összehasonlíthatóak és a mérési körülményektől függetlenek lennének.

Több dolgozatban feltüntetik a faanyag össz-savasságának mértékét is, mint a fajra, illetve a fában végbemenő folyamatokra jellemző számadatot. A szerzők a faanyagban lévő összes sav mennyiségi meghatározására SUBRAMANIAN, SOMASEKHARAN és JOHNS (1983) módszerét alkalmazzák, melynek során nátrium-acetát oldatot használnak a savas karakterű

komponensek extrakciójára. Az így kapott pufferoldat titrálása során az ekvivalenciapontig fogyott nátrium-hidroxid térfogatából számítják a szabad és a kötött savtartalom együttes mennyiségét (ALBERT és mtsai 1998; BALABAN és UÇAR 2001).

Ez a számadat véleményem szerint ténylegesen összetettebb folyamatok eredménye.

1. A fából vízzel kioldható, ecetsavnál erősebb savakról ledisszociált H^+ -ionok az acetát-ionokkal ekvivalens mennyiségű ecetsavat képeznek (szabad sav).
2. A nátrium-acetátos oldatban a makromolekulák karboxil-csoportjairól és szabad fenolos OH-csoportjairól is H^+ -ionok disszociálnak le (kötött sav).
3. A nátrium-acetát oldat lúgos kémhatása miatt a vízben egyébként nem oldható polifenolok és flavonoidok oldhatókká válnak, részleges disszociációjuk is bekövetkezik, és szintén H^+ -ionok szabadulnak fel. Ekkor ezek a vegyületek az ecetsavval összemérhető erősségű gyenge savként lesznek jelen, ami a kötött sav mennyiségére kapott eredményt növeli, holott valójában nem kötött savakról van szó.

A nátrium-acetátos vizes extraktum kémiaailag tehát egy ecetsav - nátrium-acetát pufferoldat, amely további, meghatározatlan minőségű gyenge savakat is tartalmaz. Ennek következtében a titrálási görbe gyakran elnyújtott, lapos lépcsőjű lesz, az ekvivalenciapont nem mérhető jól.

Saját vizsgálataim szerint a faanyag savtartalmának, illetve pufferkapacitásának meghatározásakor kapott eredményeket további tényezők is lényegesen befolyásolják.

- a. A gyengén lúgos oldatban bekövetkezik a kioldott flavonoidok kémiai átalakulása (szolvólízise) is, amely az egész rendszer összetételére kihat, mivel a lejátszódó folyamat OH^- -ion fogyasztó reakció (MOLNÁRNÉ 2002b).
- b. A makromolekulás vázon – már semleges elektrolitok (KCl, NaCl) hatására is – ioncsere folyamat játszódik le, a megkötött kationnal egyenértékű mennyiségben H^+ -ionok lépnek ki az oldatba. Vagyis az extraktum különböző mértékű savasodása figyelhető meg az elektrolit oldatbeli koncentrációja függvényében is (MOLNÁRNÉ 1998).
- c. Jelentős továbbá a faőrlemény szemcseméretének hatása, mivel a makromolekulás vázon lévő, szabad felszínre jutott funkciós csoportok száma lényegesen módosul, és az extraktum össz-savassága is megváltozik (3. táblázat).

3. táblázat *Feketefenyő faminták savasságának változása a szemcseméret függvényében elektrolitoldat hatására (extrakció 0,1 mol/dm³ KNO₃ oldattal) (saját eredmények)*

szemcseméret (mm)	1,4-1,0	1,0-0,63	0,63-0,2	0,2 alatt
savasság (mmol KOH / 100 g fa)	0,2	2,5	7,5	18,5

I.1.1.2. Az extraktanyagok színező hatása

Elsődlegesen az extraktanyagok okozzák a faanyag színét is, és a szín legtöbbször különböző hatásokra (napfény, fémionok, nedvesség, gombák) megváltozik, ami számottevő fontosságú a fa dekoratív célú felhasználásában is. A szín nem a szerkezeti főkomponensektől függ – a cellulóz, a hemicellulóz és a lignin színtelenek, vagy csaknem színtelenek –, hanem sokkal inkább a kis molekulatömegű szerves összetevőktől (MONONEN, ALVILA és PAKKANEN 2002b). Bár a színes anyagok a legtöbb fából elkülöníthetőek alkalmas inert oldószerekkel történő extrakcióval, általában nem távolítható el az összes színező anyag ezen a módon. Ez a tény azt mutatja, hogy a színező anyag jelentékeny mennyisége a fában oldhatatlan alakban lehet jelen, vagy olyan erősen kötődik a vázkomponensekhez (ligninhez és poliszacharidokhoz), hogy a fa szerkezeti lebomlása nélkül nem extrahálhatók oldószerek segítségével.

A színező anyagok kémiai sajátosságainak jobb megismerése hasznos tanácsot adhat abban is, hogy a fafeldolgozás során elkerülhetők legyenek a nemkívánatos színváltozások (IMAMURA 1989), mivel a fafelületet ért napfény hatására csaknem valamennyi faanyag színváltozást mutat.

Kimutatható, hogy a fafelület fizikai-kémiai sajátágaiban is megmutatkozó fotodegradációt elsősorban az ultraibolya sugárzás okozza, de több esetben a látható fény hatására is megtörténik. A bekövetkező színváltozás természete és sebessége (mértéke) egyedenként változik, és a megvilágítás hatására számos faanyag fakóvá, kevésbé figyelemfelkeltő árnyalatúvá válik, vagy megbarnul (STIPTA, NÉMETH és MOLNÁRNÉ 2002a). Ahhoz, hogy színméréssel szignifikáns változást lehessen látni, a faanyag több mint 0,5 % extraktanyagot kell tartalmazzon, és a fa eredeti színe csaknem fehér legyen (YOSHIMOTO 1989).

A faanyag fotodegradációjának vizsgálatához általánosan alkalmazott eljárás az infravörös spektroszkópia DRIFT módszere (FAIX és NÉMETH 1988; TOLVAJ 1991; BARTA és mtsai 1998). A színváltozás mértéke a faanyag fényabszorpciójában vagy reflexiójában bekövetkező különbséggel is jól kifejezhető (STIPTA, NÉMETH és MOLNÁRNÉ 2002b).

Kimutatható, hogy a foto-indukált gyökök mennyisége nagyobb azokban a fákban, amelyek könnyen változtatják színüket, mint a nem színeződő faanyagban (YOSHIMOTO 1989), ezért elsősorban fenolos extraktanyagok (flavonoidok) kémiai átalakulásának vizsgálata adhat további információt a fény hatására lejátszódó folyamatokról (MOLNÁRNÉ, NÉMETH és STIPTA 2003). A faanyag különböző fémionokkal történő kezelése (NÉMETH és

STIPTA 2002), illetve a flavonoidok és fémionok kölcsönhatása is jelentős változást idézhet elő a fotodegradációban (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2002-2003).

I.1.2. Fémionok a faanyagban

A faanyag – a víz mellett – csak nagyon alacsony mennyiségben tartalmaz szervesen komponenseket (főleg a sejtfalakban és azok felszínén lerakódott változatos sókat), amelyek hozzávetőlegesen a száraz fa tömegének 0,5...1 %-át teszik ki. Különböző fémek jellemző lerakódásai a karbonátok, szilikátok, oxalátok és foszfátok. Egyes ásványi anyagok csak kismértékben oldhatóak, vagy a fa szerkezetének megközelíthetetlen részében vannak jelen. A fémionok más része komplexképzéssel kapcsolódik a faanyag fenolos alkotórészeihez (ligninhez, flavonoidokhoz), vagy részlegesen kötődik a karboxil-csoportokhoz, ahonnan csak vizes savakkal, vagy komplexképzőkkel cserélhetők le, távolíthatók el (SJØSTRØM 1993).

A különböző kationok és anionok a biokémiai folyamatok és a környezeti hatások következtében kerülnek a faanyagba, vagyis elsősorban az életműködéshez szükséges makro- és mikrotápelemekből származnak. Mennyiségük a lombos fákban magasabb, mint a fenyő-félékben, a fán belül pedig a szíjács tartalmaz több szervesen alkotórészt, mint a geszt, illetve a levelek és a kéreg iontartalma kimagasló. A legnagyobb mennyiségben jelenlévő komponens a kalciumion (800-1500 mg/kg), amit a kálium- (200-1000 mg/kg) és magnéziumion (100-500 mg/kg) követ (NÉMETH 1997).

Az élő fa a talaj tápanyagaiból különböző ásványi anyagokat vesz fel, ezért a mikroelemek feldúsulása a faanyagban a biokémiai tényezők mellett elsősorban a talaj kémiai összetételétől függ. A fémionok felvételének mechanizmusában ugyanis fontos tényező a talaj kémhatása. Emellett komplexképző anyagok (a sejtek kismolekulatömegű komponenseinek) jelenléte is szükséges, mivel az élő szervezet egyes szöveteibe a fémionok elsődlegesen kelátképzés, ligandumcsere (vagyis komplexkémiailag folyamatok), vagy gyakran redoxi átalakulások útján kerülhetnek be (PAIS 2000).

Számos publikáció foglalkozik a különböző növények fémtartalmával és a fémionok extrahálhatóságával (FERRARA, MONTESANO és SENATORE 2001; LEMBERKOVICS és mtsai 2002; ŁOZAK és mtsai 2002). A közölt adatok alapján megállapítható, hogy az alumínium-, réz- és krómionok viszonylag magas koncentrációban találhatók meg a magasabbrendű növényekben, és hatásuk sem elhanyagolható.

A holt faanyagban történő fémionmegkötődés szignifikáns eltérése a fafaj extraktanyagának minőségével és mennyiségével hozható kapcsolatba, ami a fafelületen lejátszódó

ioncsere- (AJMAL és mtsai 1998), valamint komplexképződési folyamatokra utal (HON és CHANG 1985; SHUKLA és mtsai 2002).

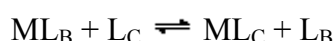
A faanyag - fémion (illetve faextraktanyag - fémion) kölcsönhatás szempontjából alapvető fontosságú a fémion oldatbeli állapota. Ez határozza meg ugyanis, hogy eljut-e azon helyekre, ahol biológiai vagy kémiai hatását kifejtheti. A faanyagban belül a fémionok szabad formában, vízmolekulákkal hidratálva csak igen kis koncentrációban vannak jelen, mert a jelenlévő nagyszámú potenciális fémionmegkötő molekulával történő kölcsönhatás eredményeként sorozatos átalakuláson mehetnek keresztül. A kis molekulatömegű bioligandumokhoz koordinálódott fémionok mobilisak, kémiai formájuk meghatározó jelentőségű számos reakcióban (pl. felszívódás, szállítás, sejtfalon való átjutás, fixálódás, kioldódás). Ezen folyamatok megértéséhez szükséges a kérdéses fémion komplexben kötött mennyiségének pontos ismerete, és a koordinációs kémiai arányokat meghatározó oldategyensúlyi folyamatok leírása (KISS és mtsai 2000).

Az egyes ionok bejutása a sejtekbe – vagy megkötődése, felvétele – többféle módon, több lépésben játszódhat le. A vizsgált rendszer kémiai összetétele, pH-értéke, ionerőssége és redoxipotenciálja egyaránt meghatározó az ionok felvételében.

A folyamat első lépéseként általában a fémion (M) valamely specifikus ligandum (L_A) segítségével kötődik a fázishatárhoz (GERGELY, ERDŐDI és VEREB 2001):



A kialakuló kötés jellegétől és erősségétől függően az egyes fémionok további ligandum-helyettesítési reakciók során jutnak az intracelluláris térbe:



Ezzel egyidejűleg, vagy már az első lépés során is megváltozhat a fémion oxidációs állapota, és ennek következtében más típusú ligandumokkal való kapcsolatok kerülnek előtérbe. A kölcsönhatások eredményeképpen különböző térbeli felépítésű és stabilitású komplexek alakulnak ki, amelyek kinetikai szempontból is különbözőképpen viselkednek. A fémion újabb komplexekbe való áttevődését elsődlegesen a kialakuló ML_A , ML_B , stb. komplexek stabilitása és a koncentrációviszonyok határozzák meg. Az egyes részlépések sebessége változó, a fémion felvétele általában lassú folyamat (GERGELY, ERDŐDI és VEREB 2001).

Az alumíniumot biológiai szempontból sokáig közömbös elemnek tartották, mivel az élő szervezetekben eredetileg nincs funkciója. Ennek egyik fő, de nem kizárólagos oka, hogy a

növények számára az alumíniumot a víz, valamint egyes egyszerű szerves komplexképzők csak igen kis mértékben tudják az aluminoszilikátokból kivonni, és oldatba vinni (KÖRÖS 1980). Az elmúlt 25 év vizsgálatai azonban kiderítették, hogy ennek ellenére az alumínium jelentős biokémiai hatással bír, mivel részben a savas esők, részben más környezeti változások miatt a korábbinál lényegesen több alumínium kerül a növényi sejtekbe (WAGNER és HENCSEI 2001). Az alumínium megakadályozza a magnézium, a kalcium, valamint más, létfontosságú elemek felszívódását, mivel képes az enzimek aktív helyeiről kiszorítani, és szerves komplexeiben helyettesíteni azokat (PAIS 2000).

Az alumínium oldhatósága nagymértékben pH-függő, a savanyú talajokon, valamint a savas esők hatására a talajban kialakuló pH-csökkenés miatt a növények számára felvehető mennyiség is megnő (KIDD, POSCHENRIEDER és BARCELÓ 2001). Amíg egyes növényfajták igen érzékenyek az alumíniumra, addig mások nagy alumíniumtartalmú talajokon is megélnek, kevésbé érvényesül bennük az alumínium fitotoxicitása. A vizsgált növények alumínium-rezisztanciáját kapcsolatba hozták polifenol-, illetve flavonoid tartalmukkal (BARCELÓ és POSCHENRIEDER 2002).

A növényeknek általában a gyökereiben lokalizálódik az alumínium, és gátolja a gyökérszövet fejlődését. A növények gyökereinek lassúbb növekedését összefüggésbe hozták azzal, hogy a talajsavanyodás következtében megnő az Al/Ca és az Al/Mg koncentrációarány. Zavart okoz a növény foszfát-háztartásában is, mivel az alumínium foszfát-só formájában kicsapódik, s a magasabb növényi részek – főleg a fiatal hajtások – foszfátszegényé válhatnak. (WAGNER és HENCSEI 2001). Az Al(III) szerves molekulákhoz (citromsavhoz, oxálsavhoz, flavonoidokhoz) kötve azonban átjuthat a sejtfalon, és lehetővé válik krónikus felhalmozása a növények egyéb részeiben is: pl. a teacserje (*Camellia sinensis*) idősebb leveleiben megdöbbenően magas koncentrációt ér el (friss hajtásban: 600-700 µg/g, idősebb levelekben: 20 mg/g!) (KISS 1996).

Az alumínium(III) - faanyag kölcsönhatás vizsgálata nem volt kiemelt témája a fakémiai kutatásoknak, mivel csak napjainkban mutatták ki, hogy a fás növények gesztjében flavonoidokhoz kötődve is akkumulálódik az alumínium (BARCELÓ és POSCHENRIEDER 2002). GIERER és mtsai (2001) vizsgálatának eredményei szerint az Al(III) – ugyancsak komplexképzése révén – szerepet játszik a lignin lebomlási folyamatában is.

A réz(II) a magasabbrendű növények esszenciális eleme, fontos szerepet játszik azok plasztocianin nevű kloroplasztfehérjéjében, az alacsonyabbrendű szervezetek (gombák, moszatok) számára viszont már igen kis koncentrációban is toxikus (PAIS 2000).

A fotoszintetikus folyamatok elektrontranszportjában elektront juttat a membránhoz kötött citokróm-*f*-ről a klorofill-P₇₀₀ rendszeréhez. A réz(II) a fehérje aktív centrumában nitrogén és kén donoratomokkal kapcsolódik, ami részleges stabilitást biztosít mind a Cu⁺, mind a Cu²⁺ számára, ezáltal könnyebbé válik az elektronátmenet. A réztartalmú fehérjékben az apoláris környezet fokozza a réz(I)-állapot stabilitását (GERGELY, ERDŐDI ÉS VEREB 2001).

A réz(II) részt vesz a növényi fehérjék és szénhidrátok metabolikus folyamataiban, valamint komponensként szerepel például a citokróm-oxidáz, aszkorbinsav-oxidáz, vagy a polifenol-oxidáz enzimekben. A réztartalmú enzimek speciális helyet foglalnak el a bioaktív molekulák között, mivel a fehérje-ligandumok jellege és geometriája függvényében széles határok között változik a redoxipotenciáljuk, és annak megfelelően tudják kifejteni hatásukat a rézhez koordinálódó oxidálandó anyagon. Így katalizálják többek között a flavonoidok redoxi reakcióit (STRACK 1997).

A réz(II) széles körben használt fvédőszer, amelyet általánosan Cr(VI)-tal juttatnak a fába, és együtt oldhatatlan réz-kromát csapadékot képeznek (BULL 2000, 2001). Egyre nagyobb jelentőségű azonban a krómmentes réztartalmú védőszerek felhasználása is, amelyek réz(II)-tartalma a faanyag makrokomponenseivel és extraktanyagaival egyaránt kölcsönhatásba léphet (DRUZ, ANDERSONE ÉS ANDERSONS 2001).

A króm(III) a vizsgálatok szerint a növényi élet számára nem esszenciális, de esetenként segíti a növények növekedését, és stimuláló hatású (PAIS 2000).

A króm(VI) formák (CrO₃, CrO₄²⁻, Cr₂O₇²⁻) a növények, az állatok és az ember számára egyaránt toxikusak. Mérgező hatásuk oxidáló és szabadgyök-képző képességükből ered, és veszélyességüket növeli, hogy áthatolnak a sejtfalon, mutációt indíthatnak meg (PÁLNÉ 2001).

A krómvegyületek semleges vagy gyengén savanyú talajokban nem vízoldhatóak (a növények számára nem hozzáférhető), viszont az erősen savanyú talajban lévő, jól oldódó króm(III)- és króm(VI)-vegyületeket a növények könnyen felveszik.

ZAYED és mtsai (1998) mesterségesen adagolt Cr(III) és Cr(VI) felvételét, valamint akkumulálódását tanulmányozták különböző zöldségfélékben. Röntgen abszorpciós spektroszkópiával (XAS) kapott eredményeik alapján megállapították, hogy a felvett króm (oxidációs állapotától függetlenül) a gyökerekben megmarad, és egy hetes vizsgálatuk alatt a hajtásban csak nagyságrendekkel kisebb koncentrációban volt mérhető. Elemzéseik egyértelműen kimutatták, hogy a kálium-kromát formájában adagolt króm(VI) már a növények gyökerében teljes mértékben Cr(III)-má redukálódott, és feltételezik, hogy a redukció a vas(III)-reduktáz enzim hatására azonnal bekövetkezik. Ezzel szemben a króm(III) felvétele viszonylag passzív

módon – a sejtfalak kationcserélő helyein – egyszerű megkötődéssel történik, és ezáltal a gyökerekben azonnal rögzül is.

A kromátok használata általánosan elterjedt és nagy jelentőségű faanyagvédelemben. A szabadban a talajba ásott vagy vízbe helyezett faanyag telítéséhez általában CuSO_4 - $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ - Na_3AsO_4 összetételű (CCA), vagy CuSO_4 - $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ - H_3BO_3 tartalmú (CCB) védőszeret alkalmaznak, amelyek egyszerre látnak el gomba- és rovarölő hatást (BULL 2001). A konzervált faanyag azonban idővel hulladékká válik, és benne a réz-, króm- és arzéntartalom sokszorosa a kezeletlen faanyagénak (4. táblázat).

4. táblázat CCA-val kezelt és kezeletlen faanyag réz-, króm- és arzéntartalma (PÁLNÉ 2001) alapján

	Cu [mg/kg]	Cr [mg/kg]	As [mg/kg]
kontroll minta	1,1 - 3	0,3 - 21	0,26 - 7,2
CCA-val kezelt fa	1040 - 1070	1740 - 2360	290 - 2050

A védőszerrel átitatott faanyagból idővel a vegyszerek fokozatosan kioldódnak, és az eredetileg Cr(VI) formában bevitt króm egy része Cr(III)-ként távozik (MOLNÁRNÉ 1994), miközben feltételezhető, hogy a fakomponensek (a lignin, a flavonoidok, valamint a poliszacharidok) hidroxil-csoportjai oxidálódnak (JORGE és mtsai 1999).

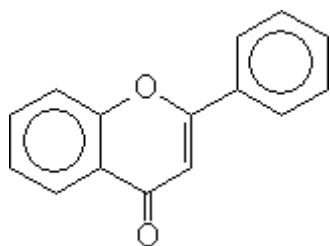
I.2. A flavon-származékok

Az aromás, fenolos extraktumok főbb csoportjai – sztilbének, lignánok, tanninok és flavonoidok – közül a legfontosabb fenolos alkotók a flavonoidok csoportjába tartoznak. Ezek a vegyületek analóg kémiai felépítésük ellenére változatos szerkezetűek, a fa tulajdonságaira kifejtett hatásuk igen sokrétű, és a faanyag felhasználása során a sajátságok alakulásában is jelentős szerepet játszanak (SJØSTRØM 1993).

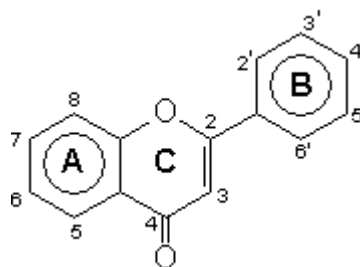
A természetes flavonoidok a magasabb rendű növények mindegyikében megtalálhatóak, biogenetikailag egy C_6 egységű malonát-származékból és egy sikiminsav-származék C_6 - C_3 fenil-propanoidból alakulnak ki, aminek kezdeti lépése a kalkonok kialakulása (1. melléklet). A kalkon - flavanon izomerpár azután további átalakulásokon megy át, mint oxidáció, átrendeződés, alkileződés, acileződés és glikozidáció, szerkezeti sokféleséget biztosítva a vegyületcsaládnak (MARBY és ULUBELEN 1980).

A flavonoidok szerkezeti alapvegyülete a flavon (2-fenil-kromon) (3. ábra), amely a nagy létszámú vegyületcsalád további osztályozásának kiindulási alapjául szolgál. A flavonoidokra

jellemző a $C_6-C_3-C_6$ (difenilpropán) alapszénváz. A két benzolgyűrű (**A** és **B**) egy oxigénatomot tartalmazó heterociklusos pirán- vagy pirongyűrűn (**C** gyűrű) keresztül kapcsolódik (*4. ábra*).



3. ábra A flavon szerkezete

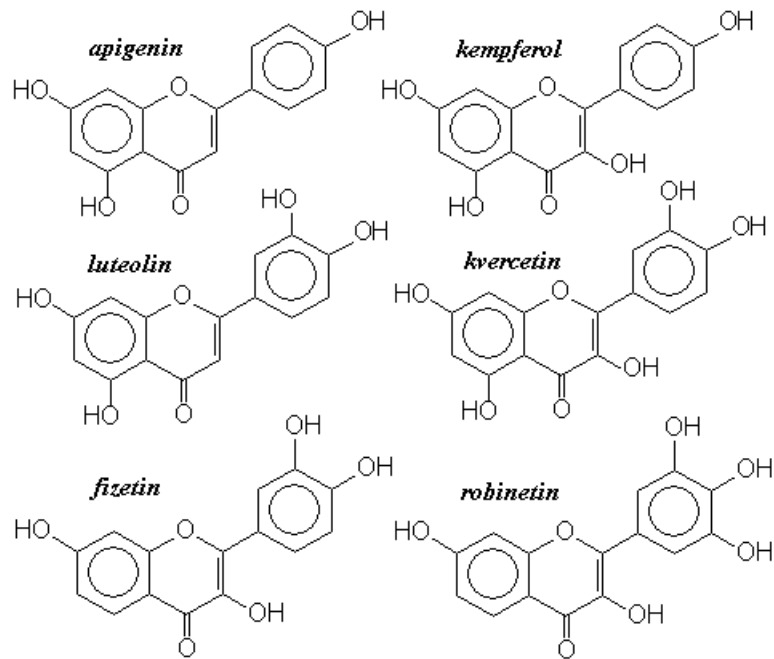


4. ábra A flavonoid alapváz számozása és gyűrűinek jelzése

A flavonoidok egyes típusai a heterociklusos gyűrű oxidáltsági fokában térnek el egymástól, azokon belül az egyes vegyületek pedig a vázon levő hidroxil- és metoxi funkciós csoportok számában és helyzetében. Az alapvázhoz (aglikon) különböző mono- és diszacharidok kapcsolódhatnak, és a glikozidokban más-más a cukormolekulák jellege, száma és helyzete. A flavonoidok aglikonjaihoz O-glikozidos kötést rendszerint hat monoszacharid létesít: a glükóz, a galaktóz, a xilóz, a ramnóz, az arabinóz és a glükuronsav. Ezek a monoszacharidok általában piranóz formában vannak jelen. A diszacharidokban is ezek a cukormolekulák kombinálódnak. A két glükózból felépülő diszacharid a leggyakoribb, míg a két különböző cukrot tartalmazó diszacharidok közül messze a legelterjedtebb az α -D-glükózból és β -L-ramnózból felépülő rutinóz (HARBORNE és WILLIAMS 1988).

A természetes flavonoidok között a legáltalánosabb a flavon-csoport, amelyben a bioszintézis alapját képező kalkon szerkezete miatt kitüntetett a hidroxil-csoportok jelenléte az A-gyűrűn az 5, 7, illetve a B-gyűrűn a 4' helyen. Enzimatis hatása okozza a C-gyűrű 3-as helyzetében a hidroxil-csoport beépülését, amely a variációk újabb sokaságát biztosítja (pl. a flavonolok és flavilium-ionok szerkezetében) (STRACK 1997) (5. ábra).

Az irodalomban a flavon-származékokat legtöbbször triviális névvel jelölik, és az általában valamilyen módon a növényi eredetre utal. Így például a kvercetin a *Quercus*-ból, a rutin a *Rutacea*-ból, a robinetin a *Robinia*-ból származik (MARKHAM 1989). Gyakran alkalmazzák a flavonvázra visszavezetett elnevezést is: *kvercetin* – 3,3',4',5,7-pentahidroxi-flavon, *robinetin* – 3,3',4',5',7-pentahidroxi-flavon, illetve a glikozidszármazékok nevét az aglikonból származtatják: *rutin* – kvercetin-3-rutinózid (MAKRIS és ROSSITER 2000). Ezek mellett a teljes szisztematikus elnevezés is előfordul a szakirodalomban, pl. kvercetin: 2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxi-4H-1-benzopirán-4-on (ALLUIS és DANGLES 2001).



5. ábra A flavon és flavonol aglikonok főbb képviselői

A növényvilágban azonosított közel 6500 flavon-származék közül egyes ritka típusok jelenléte specifikus, és fontos jellemző komponense egy-egy növénynek (pl. robinetin a fehérakácban), viszont van számos, általánosan megtalálható glikozidváltozat is, amelyeknek inkább a hiánya lehet jellemző egy-egy növényfajra, vagy családra (HARBORNE és WILLIAMS 1988). A flavonoidok általában a növényi szervezetek epidermisz sejtjeiben halmozódnak fel glikozidok vagy aglikonok formájában. Elsősorban a vakuólumokban vagy leukoplasztisban raktározódnak, de néhány flavon-származék a kloroplasztisban is megtalálható (SAKIHAMA és mtsai 2002). Bizonyos növények jelentős mennyiségű flavonoid tárolására képesek, és nem csak fajtájuktól, hanem termőhelyük földrajzi elhelyezkedésétől függően is eltérő származék akkumulálódhat bennük (VEIT és mtsai 1995).

A különböző faanyagokból tiszta alakban izolált növényi színezőanyagok többsége olyan flavonoid, amelyek színe csaknem fehér vagy sárga (pl. flavon-, flaván- és kalkon származékok). A narancsszínű színezékek korlátozott megjelenésűek a faanyagban és csak a szömörcefélék családjának néhány fajában találhatók meg. A fehérakácból (*Robinia pseudoacacia*) is számos ritka, különleges szerkezetű flavon-származékot izoláltak és azonosítottak (COETZEE és mtsai 1995), gesztjében pl. az erősen színező hatású robinetin az egyik fő flavonoid. A faanyagban ugyancsak nagyon ritkán vannak jelen a virágokban és gyümölcsökben tipikus flaviliumion-származékok, de azok színtelen leuko formái a fákban is előfordulnak (IMAMURA 1989). A japánakác (*Sophora japonica*) szárított virágjában különös

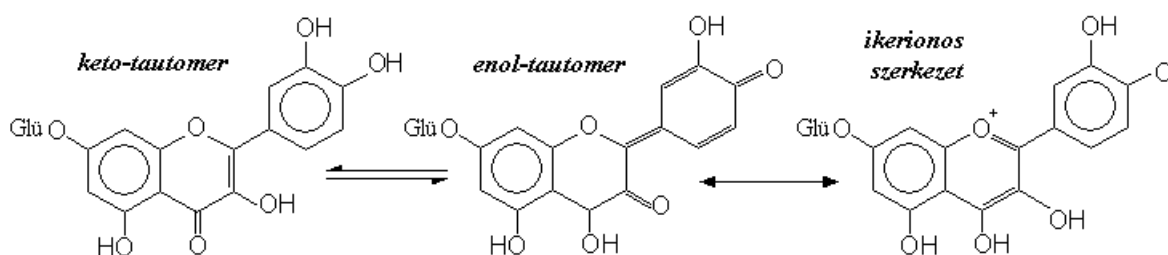
módon a rutin a fő flavonoid (202,8 mg/g) (CHEN, ZHANG és YE 2000), szemben a színes virágokban általánosan előforduló flaviliumion-származékokkal.

A flavonoidok bioszintézise a növényekben elsődlegesen azzal a céllal történik, hogy lassítsák, vagy megakadályozzák a kórokozók benyomulását, amelyek a sejtfal szerkezeti anyagát pusztítanak el (SJØSTRØM 1993). A flavon-származékok, mint fémkelátorok gátolják azokat a biokémiai reakciókat, amelyek során rendkívül reaktív szabad gyökök keletkeznek, ráadásul az antioxidáns tulajdonságaikat a flavonoid-fémion-komplex kialakulása után is megtartják (KANDASWAMI és MIDDLETON 1994). A flavonoidok az oxidációs folyamatokban résztvevő enzimek aktivitását is jelentős mértékben befolyásolják. Jelenlétük és mennyiségük hatással van a polifenoloxidáz enzim működésére, amely katalizálja a monofenolok *o*-hidroxilezését *o*-difenollá, és ezt követően az *o*-difenol - *o*-kinon oxidációt (JIMÉNEZ és GARCÍA-CARMONA 1999).

A növényt érő biotikus és abiotikus stressz legkülönbözőbb formái (pl. ultraibolya sugárzás, erős megvilágítás, alacsony hőmérséklet, sérülés, kevés tápanyag, kórokozók behatolása) a növényben kiváltják a flavonoidok felhalmozódását. Az abiotikus stressz ugyanis előidézi az aktív oxigén fokozott – a normál szabályozott mennyiségen felüli – keletkezését a sejten belül. A szuperoxid ($O_2^{\bullet -}$) diszproporcionálódik hidrogén-peroxiddá, amely képes keresztül diffundálni a sejtfalakon, és átmeneti fémek jelenléte esetén igen veszélyes hidroxil-gyök ($\bullet OH$) keletkezik belőle. Így a H_2O_2 eltávolítása elengedhetetlen a növényi sejtek oxidatív lebomlásának megakadályozásához. Kimutatták, hogy a flavonoidok, elektrondonor sajátjaik révén, alkalmasak a hidrogén-peroxid megkötésére (SAKIHAMA és mtsai 2002).

Jelentős, hogy a kambiumban és a levelek epidermisz sejtrétegében lévő flavon-származékok alkalmasak az ultraibolya sugárzás káros hatásának kivédésére, mivel ezek a sejtrétegek vannak kitéve a legintenzívebb sugárzásnak. A megnövekedett UV-B sugárzás az egyes növényekben kiváltja a flavonoidok szintézis útjának megváltozását, és mennyiségi növekedését (WINKEL-SHIRLEY 2002). Az UV sugárzás hatására a kvercetin-3-glükozid diacetilezett származékának 20-30-szoros növekedését tapasztalták az erdeifenyő (*Pinus sylvestris*) tűiben (SCHNITZLER és mtsai 1996), illetve hasonló eredményt mutatott a magyaltölgy (*Quercus ilex*) levélszőrök vizsgálata is (SKAL TSA és mtsai 1994). Bizonyított, hogy a DNS-t károsító ultraibolya sugárzás kiváltja fényabszorbeáló flavonoidok felhalmozódását a növényi test bőrszövetében (STRACK 1997). Kimutatták, hogy azok a flavonoidok a leghatékonyabb „UV-védők”, amelyeknek maximális fényelnyelése a 280-320 nm hullámhossz tartományban van (HARBORNE és WILLIAMS 2000).

SMITH és MARKHAM (1998) számos UV-toleráns növény flavonoid-összetételének analízise során kimutatta, hogy a növényt ért UV-B sugárzás hatására növekszik a B-gyűrűn *o*-dihidroxi-csoportot tartalmazó származékok (pl. kvercetin) relatív aránya a monohidroxi-flavonoidokkal szemben (pl. kempferol). A szerzők szerint ez azt sugallja, hogy a kvercetin sokkal hatékonyabb „UV-védő”, mint a kempferol, annak ellenére, hogy az UV-B tartományban az abszorpciós együtthatójuk közel azonos. Feltételezik, hogy a fotoindukált tautóméria, amely számos flavonoid esetében megfigyelhető, lehetőséget ad az elnyelt energia eloszlására és mechanizmusa magyarázat lehet az „UV-védő” molekulák szerkezeti feltételeire. Úgy vélik, hogy az enol tautomer alapállapotban kisebb energiájú sugárzást tud elnyelni, mint a túlsúlyban lévő keto-tautomer, és ezáltal többféle részecskéből álló mezomer rendszer tud kialakulni (6. ábra). Kimutatták, hogy a flavonol - flavonol asszociáció révén enol-tautomer kialakulása lehetséges a kvercetin telített vizes oldatában és cellulózhoz kötött állapotában egyaránt.



6. ábra A kvercetin-7-O-glükozid fotoindukált tautomériája (SMITH és MARKHAM 1998) alapján

Nagyszámú próbálkozás történt a funkciós csoportok, kettőskötések vagy szubsztituensek és a fény hatására bekövetkező színváltozás közötti kapcsolat kimutatására. Megállapították, hogy jellemző folyamat a kinoidális átrendeződés mellett végbemenő vízkilépés és dehidrogénezés, gyakran keletkeznek teljesen konjugált rendszerek. A flavonolokban fontos a 7-OH csoport jelenléte a fényabszorpcióhoz, mivel a kinoidális rész mindig ennél a funkciós csoportnál alakul ki a flavonok molekulájában, és nem a B-gyűrűnél (YOSHIMOTO 1989).

Összefüggést állapítottak meg a fenolos anyagok jelenléte és a növény vírus vagy gombafertőzés elleni védekező képessége között is (pl. az apigenin-glikozidok és a kvercetin-3-glükozid jelenléte tűz-elhalás rezisztanciát biztosít több almafajtában) (MARBY és ULUBELEN 1980). Kimutatták, hogy a flavonoidok gombaölő sajátsága hozzájárul a faanyag tartósságához. Potenciális gombaellenes vegyületek, pl. a dihidrokvercetin a duglász-fenyőben (*Pseudotsuga menziesi*), vagy a robinetin és a dihidrorobinetin a fehérakácban (*Robinia pseudoacacia*) (HART 1989). Egyes növények bakteriális fertőzéssel szembeni ellenálló-

képessége arányosnak mutatkozott a bennük található flavonoidok mennyiségével (LATTANZIO és mtsai 2000). DÜBELER és mtsai (1997) szerint a közönséges bükk (*Fagus sylvatica*) kérgének flavonoidtartalmát az évszakok váltakozása csak kis mértékben befolyásolja, de gombafertőzés hatására érzékenyen megváltozik, sőt a külső- és a belső kéreg válaszreakciójában is jelentős különbség van.

Jelentős szerepet játszanak a flavonoidok a rovar - növény kapcsolatban is. Kimutatták, hogy egyes molyfélék bábjának fejlődését a korai szakaszban a rutin és a kvercetin jelentős mértékben gátolja, és ezek a vegyületek akadályozzák a gabonasziszik kifejlődését és túlélését is (SIMMONDS 2001). Megfigyelték, hogy egyes fecskefarkú lepkék kifejlett nőtényei táplálékul a rutaféléket (*Rutacea*) választják, melyeknek megfelelő flavonglikozid tartalmú levelei peterakást serkentő hatással bírnak (HARBORNE és WILLIAMS 2000).

A nitrogén-megkötő növények nitrogén-anyagcseréjének szabályozásában is fontos szerepük van a flavonoidoknak, mivel a gyökérzetben serkentik a gyökérgümő kialakulását, valamint antioxidatív sajátságuk révén biztosítják az alacsony oxigénszintet. Ezzel készítetik a növényvel szimbiózisban élő *Rhizobium* baktériumokat, hogy a nitrogénmegkötéshez és a redukcióhoz szükséges enzimeket előállítsák (HAVSTEEN 2002).

A virágokban jól látható a flavonoid színezőanyagok jelenléte, amelyek megporzási csalogatóanyagként befolyásolják a szaporodási folyamatokat, valamint az allelopatikus hatóanyag funkcióját is betölthetik (MARKHAM 1989). A flavonoidok szabályozzák a növényi hormonok működését, illetve befolyásolják a növekedést is (HAVSTEEN 2002).

A flavonoidok az emberi szervezetben is igen széleskörű kémiai és biológiai aktivitást mutatnak. Nagy mennyiségben találhatóak élelmiszereinkben is, naponta jelentős mennyiséget (6-64 mg/nap) fogyasztunk ezekből a vegyületekből (GAMET-PAYRASTRE és mtsai 1999). A flavonoidok hatásukat az A- és C-vitaminnal, valamint a tokoferollokkal együttesen fejtik ki, azok hatását erősítik, illetve szinergizálnak velük, ezért valószínű, hogy számos betegség kialakulását képesek visszaszorítani (LUGASI 2000).

Régóta ismert, hogy a citrom-flavonoidok és a rutin csökkentik a vérfalak törékenységét (P-vitamin) (RUSZNYÁK és SZENT-GYÖRGYI 1936). A rutin tartalmú gyógyszerkészítmények (pl. Rutascorbin, Venoruton) kedvezően befolyásolják a véredényrendszer működését, néhány percen belül jelentősen enyhítik a véredényekből eredő fájdalmat, illetve duzzanatot. A citrusfélék flavonoidjai általános gyulladáscsökkentő (BENAVENTE-GARCÍA és mtsai 1997) és baktériumölő hatással (BRAVO és ANACONA 2001) bírnak.

Fontos a kvercetinnek a sejt kultúrák burjánzását gátló és a kémiai eredetű tumorok kialakulását megelőző biológiai szerepe (FILIPE és mtsai 2001). Antioxidáns jellege folytán meggátolja a szabad oxigén-gyökök és a lipid-peroxidáció hatását, ami kóros körülmények között érfal vastagodást, rákot és krónikus gyulladást válthat ki (BURDA és OLESZEK 2001; BROWN és mtsai 1998). A kvercetin az aszkorbinsavval együttesen védelmet nyújt a bőrszövetben a glutation ürítés által okozott oxidatív stressz ellen is (SKAPER és mtsai 1997). A luteolin és a kvercetin hatással van a H_2O_2 és peroxidáz jelenlétében bekövetkező glutation oxidációra is, mivel a reaktív szabad gyökök, és az átalakulással arányos mértékű oxigén, keletkezése elmarad (GALATI és mtsai 2001).

Az emberi szervezetben a flavonoidok az enzimaktivitás szabályozásában is fontos szerepet játszanak. A kvercetin erélyes inhibitora például a proteinkináz-C enzimnek, amely kulcsfontosságú a sejtek szaporodásában (GAMET-PAYRASTRE és mtsai 1999). A hatékony szerepet játszik továbbá a glutation-S-transzferáz P1-1 enzim aktivitásának csökkentésében is, ezáltal fokozza a rákellenes gyógyszerek hatékonyságát a kemoterápia során (VAN ZANDEN és mtsai 2003).

Az *in vitro* vizsgálatok alapján a flavonoidok kedvező hatásai számos humán-biokémiai folyamatban érvényesülnek, mint arról HAVSTEEN (2002) munkájában részletes összeggést ad.

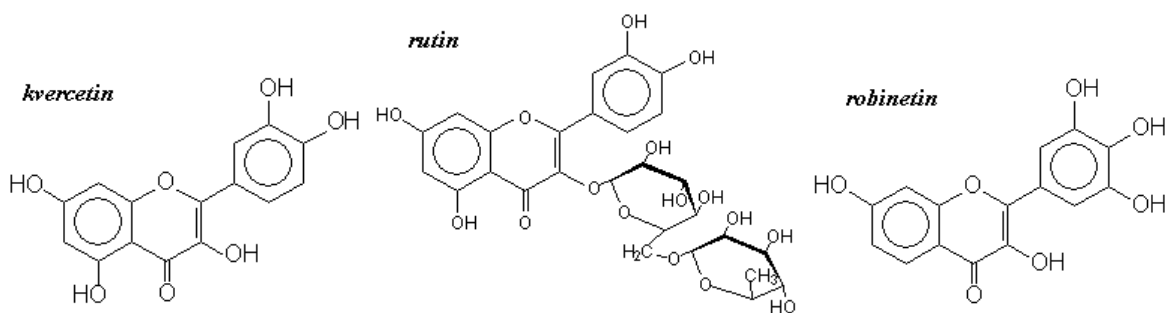
II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A flavonoid-kutatás eredményeit ismertető közlemények száma az 1970-es évektől kezdődően rohamos növekedést mutat. Ennek elsődleges oka, hogy többszörösére nőtt az elmúlt évek során a növényekben kimutatott, illetve izolált flavon-származékok száma. 1970-ben MABRY, MARHAM és THOMAS még csak néhány száz, 1989-ben HARBORNE már több mint 4000 különböző ismert flavonoidról számol be, manapság pedig 6500 körüli flavon-származékot említenek (HARBORNE és WILLIAMS 2000).

A kémiai kutatásoknak a flavonoidok jelentős mértékű, számos szakterületre kiterjedő gyógyászati hatása és alkalmazása is lendületet adott, mivel az élettani - biológiai sajátságok tanulmányozása nem nélkülözheti a kémiai vizsgálatok eredményeit. A flavonoidok *in vitro* vizsgálata elsősorban arra irányul, hogy a növényi, állati és emberi szervezetben lejátszódó különböző folyamatokat kontrollált körülmények között lehessen megfigyelni, modellezni, és azokból következtetni az összetett reakciók végbemenetelére. Összefüggés mutatkozik a flavonoidok szerkezete és antioxidáns (antiallergén, antikarcinogén, antibakteriális) hatása között (RICE-EVANS, MILLER és PAGANGA 1996; HEIM, TAGLIAFERRO és BOBILYA 2002). Jelentős mértékű bioaktivitást fejtenek ki a flavonoidok fémkomplexei is (ROSHAL és mtsai 1998, 1999), és a kelátképzés általában nem csökkenti biológiai hatásukat (FERRALI és mtsai 2001; BRAVO és ANACONA 2001), sőt egyes fémionok koordinációja növeli az aktivitást (AFANAS'EV és mtsai 1998, 2001).

A faextraktanyag - fémion kölcsönhatás tanulmányozásához a flavon-származékok közül a kvercetin, a rutin és a robinetin került kiválasztásra, ezért elsősorban ezen vegyületek sajátságait bemutató publikációkat idézem a flavonoidok vizsgálatát ismertető nagyszámú közlemény közül. A növényekben a kvercetin és a rutin széles körben megtalálható, így vizsgálatuk is kiterjedt. Az erősen színező hatású robinetin viszont a legritkábban vizsgált flavon-származékok közé tartozik.

A kvercetin és a robinetin egyaránt pentahidroxi-flavon molekula, egymás szerkezeti izomerei, a rutin pedig a kvercetin 3-hidroxi-csoportján rutinózzal (glükóz-ramnóz diszachariddal) kondenzált glikozid származék (7. ábra). A három vegyület összehasonlító tanulmányozása ezért számos új adattal szolgálhat a fakémiai kutatásokhoz, a kapott eredmények összevetése pedig lehetővé teszi, hogy számos elméleti információt nyerjünk a hidroxil-csoportok elhelyezkedésének és glikozidáltságának befolyásoló hatásáról.



7. ábra A quercetin, a rutin és a robinetin szerkezeti képlete

II.1. A quercetin, a rutin és a robinetin kémiai vizsgálatának eredményei

A flavon-származékok vizsgálatához napjainkban is nélkülözhetetlen alapként szolgál MABRY, MARKHAM és THOMAS (1970) összefoglaló munkája, amely spektrofotometriás, kromatográfiás és tömegspektrometriás adatokkal segíti az egyes származékok azonosítását (2. melléklet, 3. melléklet, 4. melléklet).

A műszerek és vizsgálati módszerek 1970-es évek óta bekövetkezett változása (azok érzékenységének, illetve hatékonyságának növekedése), a számos új analitikai eljárás, valamint az informatika rohamos fejlődése lehetőséget biztosít a flavon-származékok kémiai sajátosságainak és reakcióinak pontosabb megismerésére.

II.1.1. A quercetin, a rutin és a robinetin geometriájának meghatározása

A vegyületek egyes tulajdonságai, oldhatósága, várható reakciói és a kötések megváltozásának módja egyaránt megjósolható a molekulaszervezeti jellemzők alapján. A flavon alapváz AC gyűrűje kötésméleti okok miatt – az sp^2 hibridállapotú szénatomok kapcsolódása és a delokalizált π -kötés következtében – planáris szerkezetű, amelyhez rotációra képes σ -kötésen keresztül csatlakozik a szintén aromás jellegű B-gyűrű.

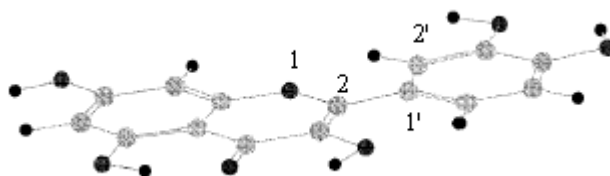
A kötéshosszak és kötésszögek szilárd állapotban röntgendiffrakciós mérési technikával meghatározhatók. A mai számítógépes molekulamodellező programok lehetővé teszik a legkisebb energiájú alakzatok paramétereinek meghatározását, így kvantumkémiai közelítő számítások alapján is becsülhetők a geometriai paraméterek.

Geometria-optimalizáción alapuló, félempirikus számításokat több kutatócsoport végzett a különböző flavon-származékok lehetséges molekulaszervezeti adatainak feltérképezésére. A kvantumkémiai számításokat az egyes kutatócsoportok általában valamilyen kísérletes munka

eredményeinek értelmezése érdekében végezték, pl. a flavonoidok antioxidáns, gyökfogó sajátságainak vagy komplexképző reakcióinak vizsgálatához kapcsolódóan.

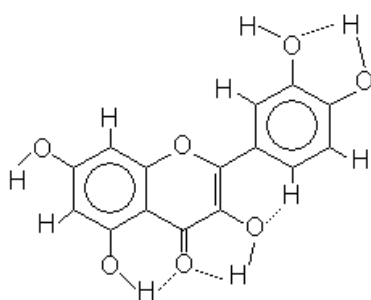
VAN ACKER és mtsai (1996) 12 flavonoid – köztük a kvercetin és a rutin – molekulaszerkezetének számítógépes modellezését végezték el, valamint ESR vizsgálattal összefüggést kerestek az egyes származékok szerkezetének és antioxidáns hatásának kapcsolatára.

Számításaik kiindulásaként a kvercetin röntgenszerkezeti adatait használták fel. Megállapították, hogy a kvercetin és rutin flavon-alapvázának AC gyűrűje merev, sík szerkezetű, ahogy az a kiterjedt konjugált π -kötések alapján várható, viszont jelentős eltérést tapasztaltak az AC és a B-gyűrű kapcsolódási módjában, ami alapján a kvercetin és rutin számos eltérő tulajdonságát tudták értelmezni. Számításaik szerint, a kvercetin teljesen sík molekula (az AC-B gyűrűk által bezárt szög $-0,29^\circ$ – csaknem nulla) (8. ábra), és az egész molekulára kiterjed a konjugáció. Ezzel szemben a rutin esetében az AC-B gyűrűsík $+27,17^\circ$ -ot zárnak be, vagyis az elektronfelhő csak az AC, illetve a B gyűrűre lokalizálódik.



8. ábra A kvercetin molekula számítógépes modellje (VAN ACKER és mtsai 1996)

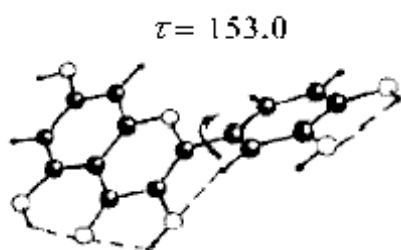
Modelljük a kvercetin molekulában három intermolekuláris hidrogénkötést is mutatott (9. ábra), ami jelentős mértékben stabilizálja a molekula szerkezetet, ugyanis ezek meglétének feltételezésével kapták a legkisebb képződési energiákat. Az elvégzett töltéseloszlási számítások szerint egy további H-kötésszerű kölcsönhatás tud kialakulni a 2'C vagy 6'C szénatomhoz kapcsolódó hidrogén és a 3-OH csoport között, mintegy a síkban rögzítve a molekulát.



9. ábra Feltételezett H-kötések a kvercetin molekulában (VAN ACKER és mtsai 1996)

Megállapították, hogy számításaik a vizsgált flavonoidok esetében akkor eredményeztek közel planáris molekulát (függetlenül a B-gyűrűn lévő hidroxidcsoportok számától), ha szabad 3-OH csoport található a molekulában és a 2C-3C szénatomok között kettőskötés van. Ezen két feltétel együttes megléte hiányában számításaik a flavonoidok B-gyűrűjének jelentős mértékű elfordulását jelezték.

RUSSO, TOSCANO és UCCELLA (2000) félempirikus számításai a kvercetin molekulaszervezetére az előzőtől jelentősen eltérő képet adott. A B-gyűrű rotációs szögének különböző értékeire elvégzett energiaminimum számítási módszerük nem síkszerű molekula létrejöttét eredményezte, hanem az A-C-B gyűrűsík által bezárt szögre legvalószínűbb értéként 153°-ot, illetve 27°-ot feltételezett (10. ábra). Bár hozzáfűzik, hogy a planáris szerkezet eléréséhez csak elhanyagolhatóan kis energia-befektetés szükséges. Számításaik szerint ugyancsak három intramolekuláris H-kötés kialakulása szükséges, amelyek közül a 3-OH és 4-



karbonil csoport között tartják stabilizáló hatásúnak, szerintük ez a kötés lehetővé teszi a 2'C-H és a 3-OH közötti gyenge kapcsolatot is.

10. ábra *A kvercetin molekula kötési*
(RUSSO, TOSCANO és UCCELLA 2000)

Úgy vélik, hogy a síktól való eltérés a nemkötő elektronpárok jelenléte miatt nem akadályozza meg a delokalizációt a molekulában, de az a kvercetin esetében is csak az A-C, illetve a C-B gyűrűk között alakulhat ki, semmiképpen nem az A-C-B gyűrűkön át. Közleményükben többször hivatkoznak VAN ACKER és mtsai (1996) számítási eredményeire, és a tapasztalt eltéréseket a számítási módszerek különbözőségével indokolják.

A molekulamodellezésről szóló közleményeikben CORNARD és mtsai a flavon-származékokban az egyes funkciós csoportok jelenlétének hatását, a H-kötések kialakulásának lehetőségeit ismertetik. UV-VIS és FT-Raman spektrofotometriás kísérletes vizsgálataik a különböző ligandumok komplexképződésére terjedtek ki. Számításaik szerint nem tapasztalható jelentős különbség a C-B gyűrűk síkjának rotációs szögében az egyes flavonoidok esetén (5. táblázat).

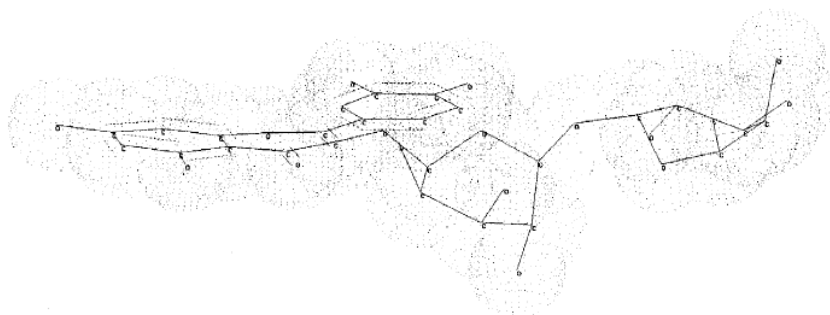
5. táblázat *AM1 módszerrel végzett geometriai optimalizáció eredményei*

a C-B gyűrű rotációs szöge (fok)		közlemény
3-hidroxi-flavon	27,88	(BOUDET - CORNARD - MERLIN 2000)
5-hidroxi-flavon	28,1	(CORNARD - MERLIN 2001)
3',4'-dihidroxi-flavon	28,4	(CORNARD - BOUDET - MERLIN 2001)
3,3',4',5,7-pentahidroxi-flavon (kvercetin)	26,7	(CORNARD - MERLIN 2002a)
kvercetin-3-glükózid	-14,3	(CORNARD - MERLIN 2002b)

A 3-hidroxi-, az 5-hidroxi- és a 3',4'-dihidroxi-flavonokban csak egy-egy intermolekuláris H-kötés kialakulása lehetséges, így ezekben a kvercetinnél tapasztalt összetett hatás nem

érvényesülhet. A számítógépes modellezésük ennek ellenére mindhárom flavon-származékban és a kvercetinben közel azonos mértékű B-gyűrű-elfordulást eredményezett, függetlenül a hidroxil-csoportok helyétől és számától. Számításaik szerint a kvercetin 3-O csoportján kapcsolódó glükóz ellentétes irányú rotációt indukál az A-C-B gyűrűk között, továbbá a komplexképződés minden esetben alapvetően módosítja a geometriai paramétereket.

SOLIMANI (1997) a rutin számítógépes modelljét használta, hogy értelmezze többek között a kvercetin és a rutin, valamint biológiai membránok, biopolimerek asszociációs kapcsolódásának módját. Megállapította, hogy a rutinmolekula kvercetin része egy síkban helyezkedik el, és a diszacharid-csoport glükóz és ramnóz gyűrűi ehhez a síkhoz közeli állapotban rendeződnek el (11. ábra).



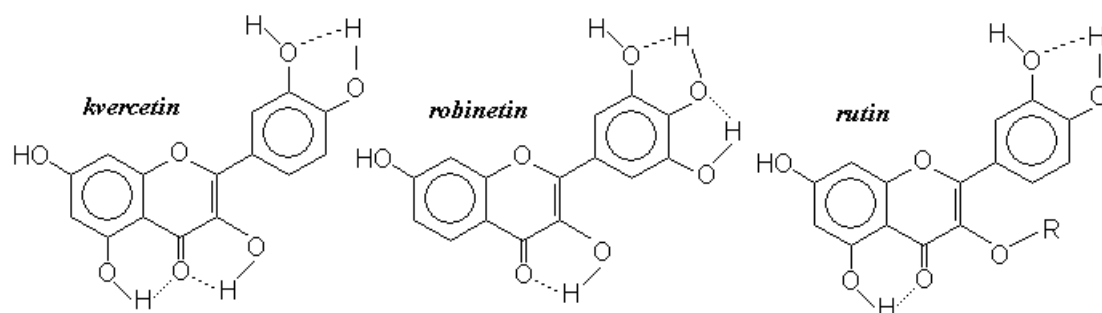
11. ábra A rutin számítógépes modellje (SOLIMANI 1997) alapján

A robinetinre nem végeztek hasonló molekulaszervezeti számításokat, de geometriájára a fentiek alapján a kvercetinrel analóg eredményt feltételezhetünk, mivel a szerkezeti adottságok nem különböznek lényegesen. A robinetinben is megtalálható a szabad 3-OH csoport, a kettőskötés a 2C-3C szénatomok között és a B-gyűrűn szimmetrikus az OH-csoportok elhelyezkedése.

A számítógépes modellezések irodalma alapján megállapíthatjuk, hogy a kvercetin, a robinetin és a rutin közel azonos felépítésű molekulájában az egymáshoz kapcsolt A-C-gyűrű valamennyi atomja bizonyosan egy síkban van (és ezen belül teljes az elektronok delokalizációja), továbbá számos intermolekuláris hidrogén-híd kialakulása lehetséges.

A kvercetin, robinetin és a rutin molekulája megfelelő térállásban egyazon molekulán belül tartalmaz protondonor és protonakceptor sajátságú funkciós csoportot, amelyek térbeli elhelyezkedése lehetővé teszi az intramolekuláris (gyűrűzáródással járó) hidrogénhidak kialakulását. Aktív helyek lehetnek az *o*-dihidroxil-, vagy a hidroxil- és karbonil-csoportok. Ha egymáshoz képest megfelelő térbeli közelségben (kvercetin), vagy *orto*-állásban kettőnél

több funkciós csoport is van (robinetin), akkor egyidejűleg több forma kialakulása lehetséges (12. ábra), attól függően, hogy az oldatban ezek a funkciós csoportok szabadok-e, azaz oldószer-molekulákkal kialakított H-kötés nem blokkolja-e az aktív helyeket (BARCZA 1976).



12. ábra Intramolekuláris hidrogénhidak kialakulásának lehetősége

CORNARD és MERLIN (2002a) vizsgálatai szerint a kvercetinben az 5-OH- és a karbonilcsoport között kialakuló intramolekuláris H-híd metanosos oldatban lényegesen erősebbnek mutatkozott, mint a 4-oxo- és 3-OH-csoport közötti hidrogénkötés.

A kvercetin (rutin és robinetin) szerkezetének pontos ismerete nélkül is valószínűsíthetjük, hogy oldatban az egyes oldószerek szolvatáló hatása, a disszociáció mértéke, újabb inter- és intramolekuláris hidrogénhidak kialakulása, a molekulák kötésátrendeződése is befolyásolja az aktuális szerkezeti paramétereket. Így pusztán energiaszámításokkal nem kaphatunk pontos képet a molekulák oldatbeli állapotára.

II.1.2. A kvercetin, rutin és robinetin spektrofotometriás jellemzése

II.1.2.1. UV-VIS abszorpciós spektrofotometria

Az ultraibolya-látható abszorpciós spektrofotometria klasszikus módszere a flavonoidok vizsgálatának. A széles körben alkalmazott és hatékony eljárás alkalmazási területe manapság is egyre szélesedik. A vegyületcsalád jelentős mértékű abszorpciója következtében alkalmas vizsgálati módszer a molekulászerkezeti problémák eldöntéséhez. A spektrumok felvétele, a maximum és minimum hullámhosszának megadása fontos eszköze a flavonoidok azonosításának, a kémiai kölcsönhatások következtében bekövetkező eltolódásuk pedig fontos információval szolgál a változások jellegének megítéléséhez. Az ultraibolya-látható spektrofotometria alkalmazása nagy jelentőségű a flavonoidok kvantitatív analitikai vizsgálata terén is.

MABRY, MARKHAM és THOMAS (1970) részletes spektrumtára lehetővé teszi a flavonoidok spektrofotometriás azonosítását, mivel 175 vegyület adatait ismerteti, illetve bemutatja azok abs. metanolos közegben, és különböző adalékok (NaOMe, NaOAc, NaOAc + H₃BO₃, AlCl₃, AlCl₃ + HCl) jelenlétében felvett UV-VIS abszorpciós görbéit. A nagyszámú, hasonló szerkezetű vegyület spektrumtára arra kiválóan alkalmas, hogy az alapvegyület funkciós csoportjainak számából, illetve elhelyezkedéséből adódó fényelnyelési különbségeket azonos körülmények mellett felvett görbék segítségével azonosítani lehessen.

6. táblázat *Jellemző fényelnyelési maximumok helye metanolos oldatban*
(MABRY, MARKHAM és THOMAS 1970)

	funkciós csoportok a flavonvázon	hullámhossz (nm)				
kvercetin	3,5,7,3',4' (OH) ₅	255	269v	301v		370
rutin	3-O-Ru, 5,7,3',4' (OH) ₅	259	266v	299v		359
robinetin	3,7,3',4',5' (OH) ₅	252	266v		320	367

A fényelnyelés változásának a spektrumtárban megadott ábrázolása azonban mennyiségi következtetésekre nem megfelelő, mert a vizsgálatok során nem törekedtek pontos mennyiségek bemérésére és megadására sem a flavonok, sem a reagensek tekintetében. A flavonoidok oldatát hozzávetőlegesen oly mértékben hígították, hogy a fényelnyelési maximumokon az abszorbancia értéke 0,6-0,8 legyen. Általában azonnali felvételeket készítettek, vagyis legtöbbször csak a pillanatreakciók eredményét rögzítették. Ezért a spektrumokon nem jelentkeznek olyan hatások, mint például az alumínium-komplexek teljes kialakulása, vagy a kvercetin lúgos közegű felvételeként a disszociációt követő szerkezeti változás eredményeként létrejött spektrumot adják meg, és nem hívják fel a figyelmet arra, hogy ez időben kialakuló spektrum (2. melléklet).

A flavonoidokban könnyen gerjeszthető kromofor csoportok jelenléte következtében (aromás, delokalizált és nemkötő elektronok egyaránt megtalálhatók) a kutatók a szerkezetre általánosan jellemző fényelnyelési sávokat tudtak azonosítani, és a molekulaszervezetben bekövetkező változásokra következtetni. Megállapításuk szerint a flavonolok általában két jellemző abszorpciós csúcsot mutatnak. Az I. sávot (328 - 385 nm) a B-gyűrű cinnamoil rendszeréhez, míg a II. sávot az A-gyűrű benzoil csoportjához rendelik hozzá (240 - 280 nm). Felismerték, hogy az ultraibolya spektrum alapján nem megkülönböztethetőek a flavonok és a 3-O-szubsztituált flavonolok, mivel mind a két vegyületcsoport I. sávja átfedi a 328 - 357 nm tartományt.

A flavonoidok spektrumfelvételeinek összehasonlításával általánosan megállapíthatjuk, hogy

- a 4'-OH származékok egyetlen II. csúcsot mutatnak, míg a 3', 4' OH-szubsztituált flavonok esetében egy váll jelenik meg a II. hosszabb hullámhossz felőli oldalán,
- a B-gyűrűn levő OH-csoportok – nemkötő elektronokat tartalmazó csoportok – számának növekedésével az I. sáv a magasabb hullámhosszak felé tolódik el (batokróm eltolódás), és hatással van a II. sáv alakjára is,
- a 3- és 5- vagy 4'-hidroxil csoportok metileződése vagy glikozidok képződése hipszokrom eltolódást eredményez (az abszorpciós sáv a kisebb hullámhosszak felé tolódik el), különösen az I. sávon, és hasonló változást okoz a molekulában a kromofor mellett egy pozitív töltésű centrum jelenléte is.

A mérés technika fejlődésével az UV-VIS abszorpciós spektrofotometria alkalmazása napjaikban is egyre nagyobb jelentőségű, és a flavonoid-kutatás számos területén is döntő fontosságú (GÖRÖG 1993, BURGER 1999).

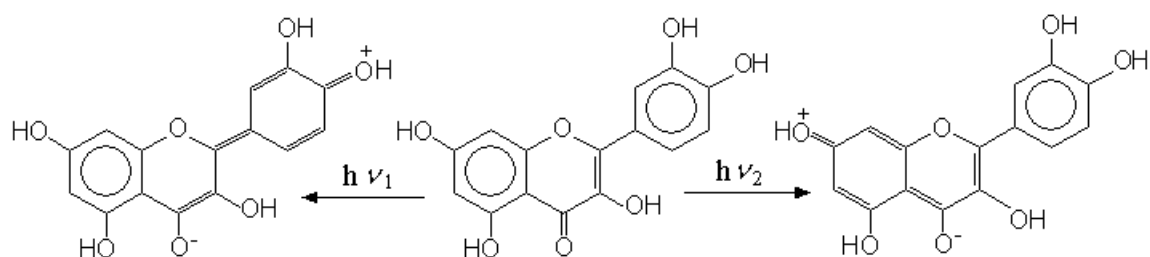
II.1.2.2. Derivatív spektrofotometria

Az ultraibolya-látható spektrumokból elektronikus úton képzett derivált görbék alapján lehetőség van a különböző kémiai állapotú részecskék összetett fényelnyelési sávjainak felismerésére. A módszer alkalmas minimális fényelnyelési különbségek kihangsúlyozására, felnagyítására is, mivel a derivatív spektrumok sokkal strukturáltabbak, mint az eredeti alapspektrumok (GÖRÖG 1993). Gyakran használják flavonoid keverékek összetételének közvetlen megállapítása, amely elsődlegesen a természetes kivonatok, extraktumok elemzése során nagy jelentőségű.

NIKOLOVSKA-ČOLESKA és mtsai (1996) derivatív módszerrel krizin (5,7-dihidroxi-flavon) és kvercetin meghatározását dolgozták ki, amelyet propolis flavonoid-tartalmának mérésére alkalmaztak. Etanolos oldatban felvették a két flavon-származék abszorpciós spektrumát, melyekből első- és második deriváltat képeztek. Megállapították azon hullámhossz értékeket, ahol az egyik komponens derivált görbéje metszi az abszcisszatengelyt, és a másik ettől jelentősen különbözik. Továbbá mindkét összetevőre megvizsgálták a Lambert-Beer-törvény érvényességi határait. Gyors és egyszerű eljárásuk jól használhatónak bizonyult etanolos extraktumban a krizin és a kvercetin szimultán meghatározására.

BARANOWSKA és RARÓG (2001) ugyancsak derivatív spektrofotometriás módszert alkalmazott metanolos közegben kétkomponensű flavonoid-keverékek (kvercetin - luteolin, kvercetin - kempferol, kvercetin - miricetin) összetételének meghatározására. Az eljárást HPLC elválasztás után kiegészítő technikaként használták, mivel nem mindegyik kromatográfiai metodika alkalmas mind a négy flavon-származék tökéletes elválasztására.

ZSILA, BIKÁDI és SIMONYI (2003) a második derivált alapján feltételezi, hogy a 374 nm-es fényelnyelési sáv a kvercetin UV-VIS abszorpciós spektrumában eleve legalább két, egymásra lapolódó csúcsból tevődik össze (367 és 387 nm). Szerintük ezt etanolos oldatban a kvercetin molekula kismértékű disszociációja okozhatja, ami fiziológiai körülmények között (Ringer-puffer, pH = 7,4) már intenzívebbé válik. Véleményük szerint ez a hatás mutatkozik meg az abszorpciós maximum magasabb hullámhosszra tolódásában és a fényelnyelési sávok kiszélesedésében. Elgondolásukat ugyan az abszorpciós sáv semleges etanolos oldatbeli összetettségről kellően nem támasztják alá – mivel dolgozatukban nem mutatják be a bizonyító második derivált görbét –, de tapasztalatom szerint a kvercetin disszociációja ilyen pH-jú etanol:víz elegyben már valóban jelentős mértékű (MOLNÁRNÉ 2000). Dolgozatukban tárgyalják még azt a feltevésüket, is, hogy a kvercetin fénygerjesztés hatására kétféle mezomer szerkezetű lehet etanolos oldatban. A gerjesztő fény hullámhosszától függően eltérő ikerionos formák alakulhatnak ki, amelyekben a pozitív és negatív töltésű részek a molekula elektron-szerkezetének kinoidális átrendeződésével jönnek létre (13. ábra).



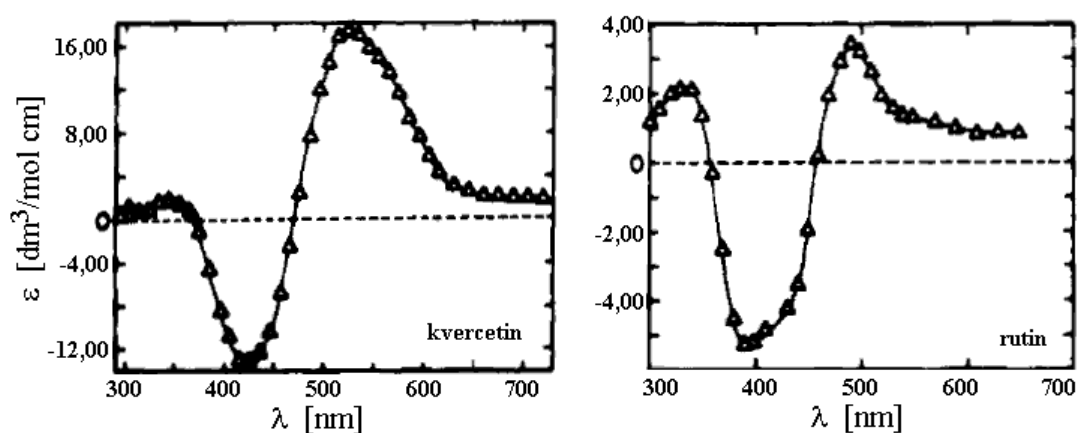
13. ábra A gerjesztett állapotú kvercetin mezomer alakjai ($\nu_1 < \nu_2$) (ZSILA, BIKÁDI és SIMONYI 2003) alapján

II.1.2.3. Különbbségi (differencia) spektrofotometria

Ennek a mérés technikának elsősorban a mérés szelektivitásának növelése, a meghatározás alapjául szolgáló abszorbanciához hozzáadódó idegen, zavaró fényelnyelések csökkentése, vagy kiküszöbölése a fő célja (GÖRÖG 1993). Azonban jól használható a sav-bázis és komplexképződési egyensúlyok folyamatainak feltárására, az időbeli kémiai reakciók nyomon követésére is (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2002). Nemcsak az UV-VIS tartományban kedvező az

alkalmazása, hanem az IR-spektrumok kiértékelésénél is nagy jelentőségű – pl. fafelületek degradációs folyamatainak vizsgálatában is, akár fény- (NÉMETH és STIPTA 2002), akár hő hatására (NÉMETH, MOLNÁR-HAMVAS és STIPTA 2003) bekövetkező változást követünk.

STEENKEN és NETA (1982) fenol-származékok oxidációs, gyökképző reakciójának időbeli változását vizsgálta a kiindulási oldatból felvett és az elektronátmeneti reakció lezajlása után detektált abszorpciós spektrum különbségét képezve. A különbségi fényelnyelés görbe a kvercetin és a rutin esetében is jelentős mértékű abszorpciósökkenést mutatott 400 nm táján. Viszont a fenoxi-gyök kialakulása miatt 500 nm hullámhossz körül intenzív növekedés volt tapasztalható mindkét esetben (14. ábra).

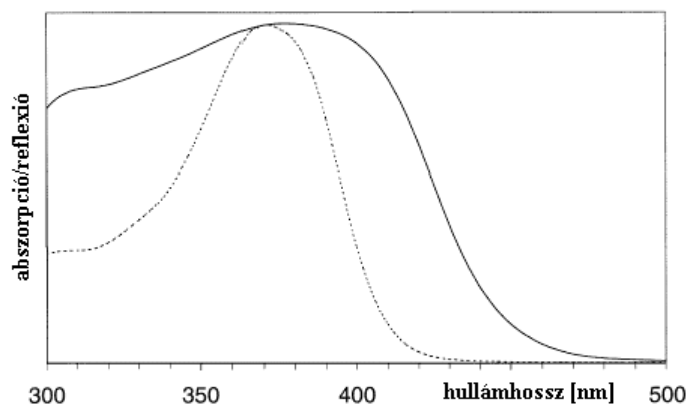


14. ábra A kvercetin és rutin különbségi abszorpciós spektruma lúgos oldatban kiváltott egyelektronos oxidáció lejátszódása után (STEENKEN és NETA 1982) alapján

II.1.2.4. Szilárd minták fényreflexiója

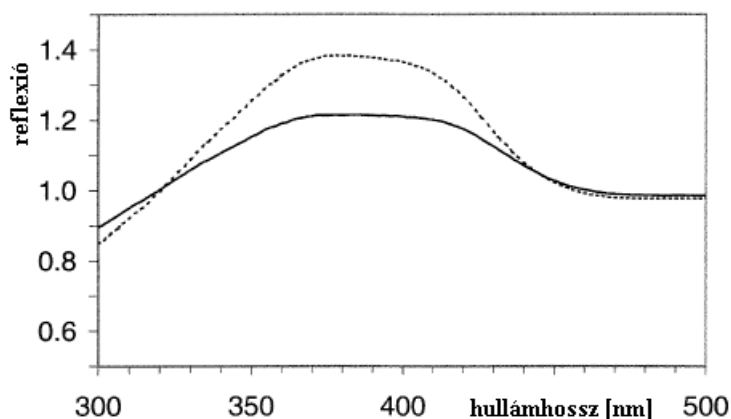
A modern kétsugármentes spektrofotométerek – megfelelő feltét alkalmazásával – lehetővé teszik szilárd minták UV-VIS diffúz reflexiós spektrumának felvételét is. A reflexiós spektrumok szoros korrelációban vannak az oldatfázisban felvett abszorpciós spektrumokkal, ami a bomlástermékek szerkezet-felderítésében nagy jelentőségű. Jól alkalmazható a technika a flavonoidok fény hatására bekövetkező degradációjának vizsgálata során (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2003).

SMITH és mtsai (2000) vizsgálatai szerint cellulóz rétegen a kvercetin széles, kb. 400 nm-ig kiterjedő fényelnyelési sávot mutat, ennek következtében a reflexió a látható tartományba tolódik el, sárgább színt eredményez (15. ábra).



15. ábra A kvercetin abszorpciós spektruma vizes metanolos oldatban (- - -) és cellulóz rétegen (—) (SMITH és mtsai 2000) alapján

Tapasztalatuk szerint a xenon lámpával (500 W, 300-400 nm) történő hosszú idejű besugárzás során a kvercetin cellulózzrétegen jelentős mértékben degradálódott és színe elhalványult, ami a reflexió csökkenésében mutatkozott meg, egyenletesen a teljes spektrumtartományban (320-450 nm) (16. ábra). Feltételezik, hogy a keletkező termék a 300 nm alatti tartományban nyel el, és ezáltal hatása nem érzékelhető a látható spektrumban. Megállapították, hogy a szabad 3-OH-csoport jelenléte meghatározó a fotostabilitás szempontjából, mivel annak oxigénnel szembeni reaktivitása lehetővé teszi a flavonoidok fotooxidációját.



16. ábra A kvercetin reflexiós spektruma cellulóz rétegen 17 (- - -) és 85 óra (—) fénybesugárzás után (SMITH és mtsai 2000) alapján

II.1.2.5. Vékonyréteg-denzitometria

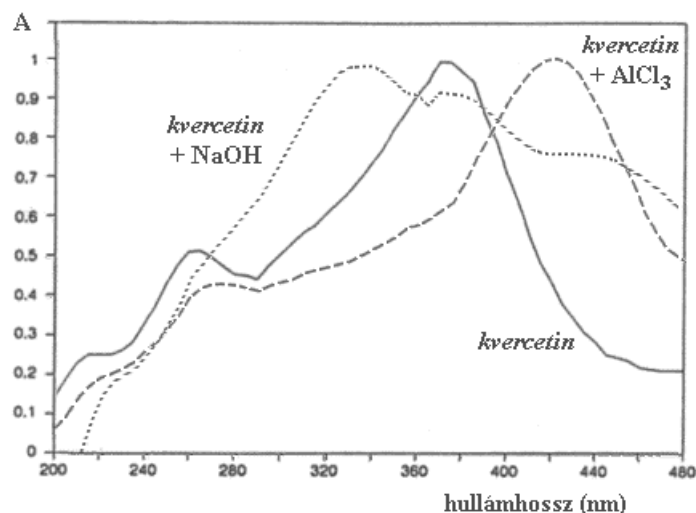
A denzitometriás méréssel kiegészített vékonyrétegekromatográfia (TLC) módszerét – amely az elválasztott komponensek *in situ* kvantitatív spektrofotometriás meghatározását is lehetővé teszi – régóta használják összetett rendszerekben található különböző biomolekulák elválasztására és azonosítására (MOLNÁR és mtsai 1983). A fényreflexió mérésével kapott eredményeket nem csupán keverékek elválasztás utáni mennyiségi összetételének megállapí-

tására lehet felhasználni, hanem kémiai folyamatok nyomon követésére is alkalmasnak bizonyult (MOLNÁRNÉ 1980).

GARCIA és mtsai (1993) szilikagél, cellulóz és poliamid rétegeken 12-féle flavonoidot – köztük a kvercetin és a robinetin – kromatografáltak. A flavonoid-foltok UV-VIS spektrumát előhívás nélkül és különböző előhívókat alkalmazva is felvették. Összehasonlító adatként megadják a metanolos oldatban, illetve a rétegeken mért fényelnyelési maximumok helyét (7. táblázat), valamint bemutatják a kvercetin abszorpciós görbéit az egyes rétegeken és különböző, metanolban oldott előhívó reagensek (NaOH, H₃BO₃, AlCl₃, CH₃COONa) jelenlétében (17. ábra).

7. táblázat A kvercetin és robinetin abszorpciós maximumainak hullámhossza (GARCIA és mtsai 1993) alapján

	metanolban		szilikagél rétegen		cellulóz rétegen		poliamid rétegen	
	λ [nm]							
kvercetin	255	370	262	372	260	380	265	385
+ CH ₃ COONa	274	390	270	385				
+ AlCl ₃	272	458	272	420			272	440
robinetin	252	367	260	370	260	375	262	382
+ CH ₃ COONa	257	346	280	338				
+ AlCl ₃	273	447	270	405			270	445



17. ábra A kvercetin denzitóméterrel felvett reflexiós spektruma szilikagél TLC lapon különböző előhívó reagensek alkalmazásával (GARCIA és mtsai 1993)

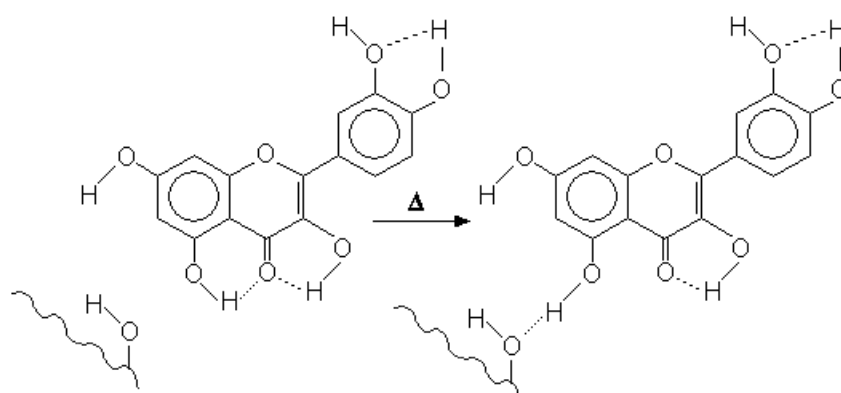
SMITH és mtsai (2000), valamint GARCIA és mtsai (1993) által cellulóz rétegen kapott abszorpciós spektrumok kismértékben különböznek egymástól, ami az egyszerű impregnálás és reflexiós mérési mód, illetve kromatográfias elúció és denzitometria körülményeinek el-

térése miatt lehetséges. Részletes, körültekintő közleményeik hasznos alapot szolgáltatnak kutatási eredményeim értékeléséhez, a kvercetin és a robinetin szilárd felületen végzett vizsgálatához (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2002).

II.1.2.6. Fluoreszcenciás analízis

Az ultraibolya-látható fényvel gerjesztett molekulák relaxációja fényemisszióval járhat, és az emittált fény spektruma, sávjainak energiája és intenzitása ugyanúgy a molekulaszerkezeti jellemzőkre ad felvilágosítást, mint az abszorpciós spektrofotometria (BURGER 1999).

FALKOVSKAIA, SENGUPTA és KASHA (1998) fluoreszcenciás vizsgálatokkal bizonyította, hogy etanolos oldatban kétféle szolvatált kvercetin-részecske lesz jelen a fénygerjesztés után. Az 5-OH- és a 4-karbonil-csoport közötti kelátban kötött hidrogén kilép az intramolekuláris kötésből és intermolekuláris hidrogén-hidat alakít ki a protonakceptor oldószerrel, és ezért válik a kvercetin intenzíven fluoreszkálóvá a gerjesztés hatására (18. ábra). Ezzel szemben azok a flavonolok, amelyek nem tartalmaznak 5-OH-csoportot (pl. fizetin, vagy robinetin) ilyen módon nem érzékenyek a fényindukcióra.



18. ábra A fotoindukált 5-OH intra - intermolekuláris H-kötés átalakulás (FALKOVSKAIA, SENGUPTA és KASHA 1998) alapján

Feltételezésük szerint a kvercetinnek mikrokristályos cellulóz bevonatú TLC lapokon megfigyelhető jellemző (de nem szokásos) zöld színű fluoreszcenciája is arra a jelenségre vezethető vissza, hogy a cellulózzréteg – számos hidroxil- és étercsoportja révén – hasonlóan protonakceptor szerepet tölt be, ezáltal lehetővé válik az 5-OH-csoport és a cellulóz mátrix hidrogénkötéssel történő összekapcsolódása.

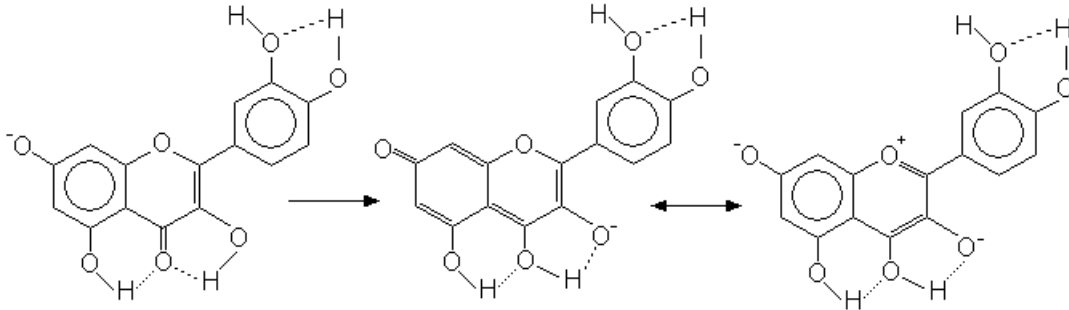
II.2. A kvercetin, a rutin és a robinetin oldatbeli sajátságai

Az alapváz döntő mértékben aromás jellege miatt a kvercetin és a robinetin vízben szinte nem oldódnak, míg a diszacharid oldalláncot is tartalmazó rutin kismértékben oldódik. A nagyszámú C–O poláris kötéssel magyarázható viszont, hogy mindhárom flavon-származék jól oldódik metanolban, etanolban (SOCZYŃSKA-KORDALA és mtsai 2001), valamint acetonban és alkohol - víz, valamint dioxán - víz elegyekben (JUNGBLUTH, RÜHLING és TERNES 2000). Ezek az oldószeres a donor-akceptor kölcsönhatások révén különböző módon változtatják meg a folyamatban résztvevő elektronpályákon az elektronsűrűséget. Ezen keresztül hatást gyakorolnak a szolvatált részecskék elektronszerkezetére, ami a rendszer kémiai tulajdonságainak és fizikai-kémiai paramétereinek megváltozásához vezethet (BURGER 1999). Így például jelentősen módosítják a biomolekulák ultraibolya (UV) és látható (VIS) tartományú abszorpciós spektrumát is, mind a fényelnyelés hullámhosszát, mind intenzitását tekintve (BURGER és mtsai 1976a), ezáltal az abszorpciós spektrum felvétele egyszerű lehetőséget nyújt az oldatban bekövetkező szerkezetváltozások nyomon követésére (GÖRÖG 1993).

GUHA RAY és SENGUPTA (1997) a robinetin tautomer átalakulási folyamatait vizsgálta különböző polaritású oldószeres fluoreszcenciás spektrumok alapján. Tapasztalatuk szerint azokban az oldószeres, amelyek hidrogéndonor és hidrogénakceptor tulajdonsággal egyaránt bírnak (pl. metanol, etanol) a robinetin normál fluoreszcens sávja jelentős mértékben a hosszabb hullámhosszak felé tolódik el, míg a tautomer sávok mérsékelt hipszokróm eltolódása figyelhető meg. Vizsgálatuk alapján az oldószer polaritásának növelése a kétféle sáv átfedését eredményezte. Megállapították, hogy az oldószer hidrogéndonor vagy -akceptor jellegétől függetlenül a normál emissziós sáv drasztikusan csökken. Eredményeik alapján feltételezik, hogy metanolban az oldószerrel két különböző típusú hidrogénkötést létesítő részecske van jelen.

DANGLES, DUFOUR és BRET (1999) megfigyelései szerint a kvercetin gyengén savas és semleges közegben nem mutat fluoreszcenciás sajátságokat, mivel ilyen körülmények között a molekula normál (4-oxo) alakja dominál. A szerzők kétféle tautomer jelenlétét feltételezik alapállapotban, amelyet az 5-OH és 4-karbonil valamint a 3-OH és 4-karbonil között kialakuló hidrogénkötés jellemez. Egyszeres töltésű kvercetin-anionra végzett félempirikus kvantummechanikai számításaik szerint a 4-oxo-tautomerek a legkisebb energiájúak (akár a 7-OH, akár a 4'-OH csoportok disszociációját feltételezik), de a molekulán belüli gyors

protonátmenetekkel 4-hidroxi-tautomerek (és azok ikerionos mezomerjeinek) létrejötte is lehetséges (19. ábra), amelyek már erős fluoreszcenciát mutatnak. Véleményük szerint az átrendeződéssel létrejövő ikerionos szerkezet pozitív töltésének tudható be a fluoreszcencia spektrumában 530 nm-nél észlelt intenzív emissziós sáv.



19. ábra *A kvercetin-7-O⁻-anion tautomer átrendeződése és mezomer szerkezetei (DANGLES, DUFOUR és BRET 1999) alapján*

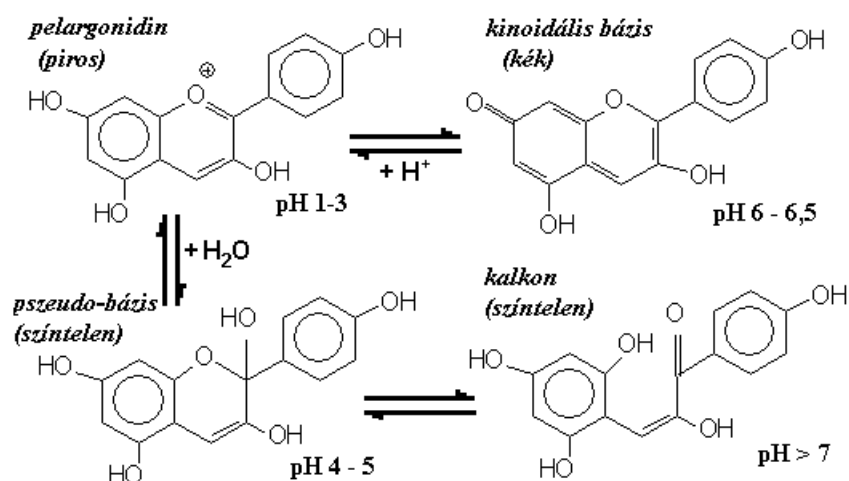
Gyakorlati (pl. oldhatósági) okok miatt a flavon-származékok vizsgálatát gyakran oldószeranyagokban lehet elvégezni, ami még összetettebb hatást eredményez (MOLNÁRNÉ 1997; JØRGENSEN és mtsai 1998). A solvatació a flavonoidok konformációja vagy szekunder szerkezete megváltoztatásának útján is változást okozhat a kölcsönhatásokban. Az oldószer tehát nem tekinthető inert mátrixnak, amelyben egy adott folyamat lezajlik, hanem a rendszer egésze szempontjából az oldószer fontos reaktáns, tulajdonságai egyaránt meghatározhatják a sav-bázis és komplexképződési folyamatok jellegét és mértékét (BURGER és mtsai 1976b; BURGER 1993).

II.3. A kvercetin, a robinetin és a rutin sav-bázis tulajdonságai

A faextraktanyagok savasságát jelentősen befolyásolja, hogy a különböző kémhatású oldatokban a flavonoidok a pH-tól, a kölcsönhatás időtartamától és szerkezeti felépítésüktől függően reverzibilis vagy irreverzibilis változást szenvedhetnek. Ez hatással van a különböző oldószerrel kapott faextraktumok összetételére is, és közvetlenül érzékelhető módon megmutatkozik az oldatok színváltozásában is.

Ismeretes, hogy a flavilium-ionokban (pl. pelargonidin, cianidin) a kémhatás változása során jelentős molekulaszervezeti átrendeződés megy végbe (STRACK 1997) (20. ábra). Erősen savas közegben az oxónium forma a stabil módosulat, amely növekvő pH hatására (hidroxid-ion felvételével) fokozatosan kinoidális szerkezetűvé alakul, és a gyengén savas - közel semleges tartományban színe pirosból ibolya, majd kék árnyalatúvá változik. Ezzel pár-

huzamosan víz-addíció megy végbe, amikor szintelen pszeudobázis alakul ki és az oldat fokozatosan elhalványodik, amit a gyűrű felnyílása követ és ugyancsak szintelen kalkonpszeudobázis jön létre.



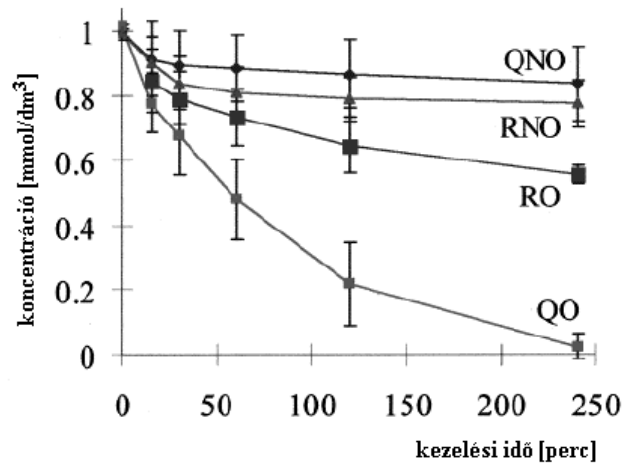
20. ábra A kémhatás változásának hatása a flavilium-ion (pelargonidin) szerkezeti átalakulására (STRACK 1997) alapján

Hasonlóképpen a flavonoidok más csoportjai is érzékenyek a kémhatás megváltozására. A disszociációval párhuzamosan, vagy azt követően feltételezhető a flavilium-ionokhoz hasonló pH-tól függő tautomer átalakulás, kinoidális átrendeződés, illetve vizes közegben hidrolízis is bekövetkezhet, valamint a levegő hatására autooxidáció is végbemehet, ami mind gátolja a protonálódási folyamatok kvantitatív leírását (GOTTLIEB 1988).

FRIEDMAN és JÜRGENS (2000) UV-VIS abszorpciós spektrum felvételével számos növényi polifenol időbeli pH-stabilitását tanulmányozta vizes oldatban (pH = 3 - 11 tartományban), de kismértékű vízoldhatóságuk miatt sem a kvercetin, sem a robinetin vizsgálatát nem tudták elvégezni. A rutin 72 órás vizsgálatának különböző időpontjában felvett fényelnyelési görbéi alapján megállapították, hogy a rutin időben közel állandó abszorpciót mutat még pH = 10,0 pufferben is. A lúgos kémhatás miatt bekövetkező batokróom sáveltolódás kivételével a spektrumban más változást – pl. bomlásra utaló időbeli intenzitásváltozást – nem tapasztaltak, a rutin disszociált alakja ellenállt a lúgos közegben várható oxidatív bomlásnak.

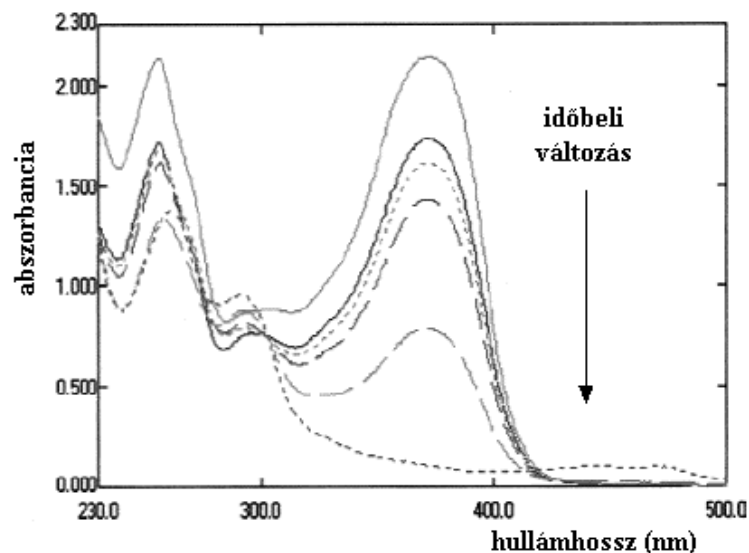
MAKRIS és ROSSITER (2000) hasonló közegben végzett vizsgálatait viszont egészen más eredményt mutattak. Gyengén lúgos vizes közegben, foszfát puffer jelenlétében (pH = 8,0) spektrofotometriás módszerrel vizsgálták a kvercetin és a rutin magas hőmérsékleten végbemelő oxidatív degradációját. A levegő oxigénjének kizárása esetén a 97 °C-on történő főzés 240 perc alatt kb. 16-22 %-os bomlást eredményezett a két flavonoid esetében. Levegő jelen-

létében, ugyanilyen körülmények között, a kvercetin 98 %-a, míg a rutin 45 %-a bomlott el (21. ábra).



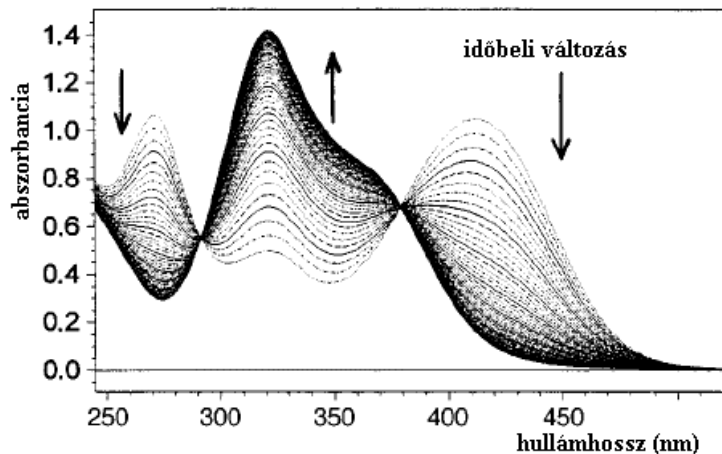
21. ábra A kvercetin (Q) és a rutin (R) termikus degradációja oxidatív (O) és oxigénmentes (NO) közegben (MAKRIS és ROSSITER 2000) alapján

A lejátszódó folyamatot abszorpciós spektrum felvételével is követték, amiből megállapították, hogy lúgos közeg és magas hőmérséklet hatására a flavonoidok szerkezete teljes mértékben módosul (22. ábra). A keletkező anyagokat kromatográfias (HPLC) és tömegspektrometriás vizsgálatnak vetették alá. A szerzők a kvercetin és a rutin fő bomlási termékeként egyaránt a 3,4-dihidroxi-benzoésavat ($\lambda_{\max} = 258$ és 292 nm) azonosították, azonban a keletkező anyagok jelentősen eltérő összetétele miatt a lejátszódó reakciók különbözőségét állapították meg.



22. ábra A kvercetin bomlásának folyamata $pH = 8,0$ foszfát-pufferben, 97 °C-on az idő függvényében (MAKRIS és ROSSITER 2000) alapján

DANGLES, FARGEIX és DUFOUR (1999) UV-VIS spektrumok alapján a kvercetin jellemző átalakulását figyelte meg vizes karbonát-pufferben (pH = 8,6-11,2), amely az abszorpciós sávok látszólagos elsőrendű kinetikájú csökkenésében és párhuzamosan egy rövidebb hullámhosszú sáv (324-314 nm) növekedésében mutatkozott meg (23. ábra).



23. ábra A kvercetin spektrumának változása pH = 9,4 karbonát-pufferben (DANGLES, FARGEIX és DUFOUR 1999) alapján

($C_{\text{kvercetin}}: 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; 25°C ; $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ NaCl}$ ionerősség; $0,05 \text{ mol/dm}^3 \text{ NaHCO}_3$; felvétel 10 s-onként)

A folyamatot a szerzők a kvercetin autooxidációjaként értelmezték, mivel a spektrumok átalakulását teljes mértékben analógnak találták a kvercetinnek metanolos oldatban nátrium-perjodát hatására bekövetkező változásával (28. ábra), de a lejátszódó folyamatokra nem adnak meg reakciósémát.

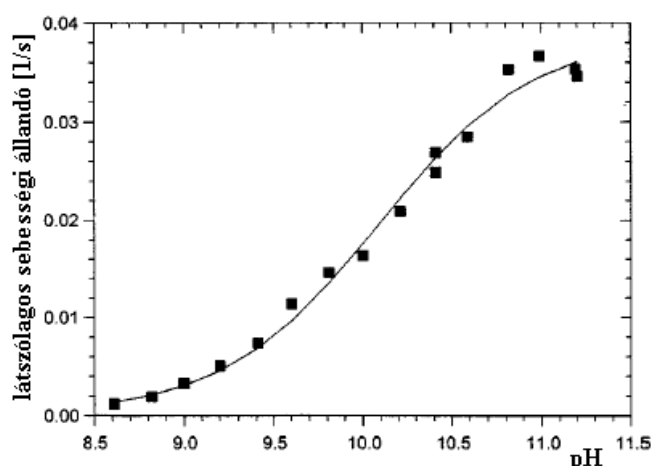
Saját vizsgálataink szerint (MOLNÁRNÉ, BÖRCsök és NÉMETH 2002) a kvercetin lúgos közegben bekövetkező átalakulásának kezdeti lépése mindenképpen egy hidrogénion pillanat-szerű disszociációja valamelyik OH-csoportról – amit a kvercetin molekula abszorpciós sávjának batokróm eltolódása is jelez –, majd ezt egy látszólagosan elsőrendű reakció követi – ami a kvercetin-anion fényelnyelésének csökkenésében, illetve egy új abszorpciós maximum kialakulásában mutatkozik meg.

A spektrumsorozatból az is megállapíthatjuk, hogy a lejátszódó folyamat nem lehet több-lépéses, összemérhető sebességű reakciók sorozata, mert akkor az átalakuló részecskék eltérő fényelnyelése miatt az izobesztikus pontok hullámhossza a reakció előrehaladtával módosulna. Ezek alapján vagy csak kétféle, időben fokozatosan átalakuló részecske van jelen (és az egyik mindenképpen a kvercetin-anion), vagy a folyamatokban a reakciólépések sebessége nem összemérhető. Az abszorpciós maximum hipszokróm eltolódásából pedig egyértelműen a delokalizáció – a reakció során bekövetkező – jelentős mértékű csökkenésére lehet következtetni. A lúgos közegű kvercetin spektrumot (23. ábra) és a metanolos nátrium-perjodáttal

kiváltott oxidáció görbesorozatát (28. ábra) összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy alakjuk nagyon hasonló, de nem azonos. Az eltérés nem az oldószer, hanem a kémhatás különbözősége és oxidálószer jelenléte miatt adódik. Egyrészt a folyamat kezdetén nem mutatkozik batokróom eltolódás (nincs hidrogénion disszociáció), másrészt az időben kialakuló új abszorpciós görbék alakja és maximumainak hullámhossza is eltérő, vagyis a lúgos közegben lejátszódó átalakulási folyamat nem azonos az oxidálószer jelenlétében végbemenő reakcióval.

DANGLES, FARGEIX és DUFOUR (1999) azt is megfigyelték, hogy karbonát-pufferben kb. kétszer olyan gyors a kvercetin átalakulása, mint glicin-pufferben ugyanolyan pH és kvercetin koncentráció esetén, azonban a jelenségre nem kerestek magyarázatot. Elgondolkodtató az az észrevételük is, hogy az „autooxidációs folyamatra” számított sebességi állandó a NaCl koncentrációval lineárisan növekszik a 0 - 2,5 mol/dm³ tartományban (kb. 17-szeresére).

A kvercetin „autooxidációjára” számított látszólagos elsőrendű sebességi állandó különleges összefüggést mutatott a karbonát-puffer pH-jával a 8,6 - 11,0 tartományban (24. ábra). A sebességi állandó pH-függését ábrázoló grafikonból görbeillesztéssel egyensúlyi állandót határoztak meg, amit a szerzők más irodalmi adatok alapján (ESCARDAR és SALA 1991) a negyedik hidrogénion disszociációjaként ($pK_a=10,09\pm 0,04$) értelmeztek. Az eredményből viszont újabb következtetést nem vontak le, a folyamatot továbbra is egy látszólagosan elsőrendű kinetikájú autooxidációnak vélték.



24. ábra A kvercetin átalakulásának látszólagos elsőrendű sebességi állandójának függése a NaHCO₃ oldat pH-jától (DANGLES, FARGEIX és DUFOUR 1999) alapján ($C_{\text{kvercetin}}: 5 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³, 0,2 mol/dm³ NaCl ionerősség, 25°C)

A rutin abszorpciós spektrumának hasonló vizsgálata során csak kismértékű átalakulást észleltek a 8,6 - 11,0 pH-tartományban (még 0,2 mol/dm³ NaOH oldatban is 34-szeresen lassabban változik, mint ilyen közegben a kvercetin – $k = 6,3 \pm 0,2 \cdot 10^{-4}$ 1/s).

Lúgos közegben a rutin és a kvercetin között tapasztalt jelentős mértékű reaktivitásbeli különbséget a szerzők a kvercetin szabad 3-OH-csoportjának gyökstabilizáló hatásával magyarázták. Szerintük a szabad hidroxil-csoport lehetővé teszi egy *p*-kinoidális vegyület képződését, amely gyors addíciós reakcióba lép az oldószerrel és tovább tud oxidálódni, deprotonált alakja pedig biztosítja a gyök tartós megmaradását, ezáltal véleményük szerint az autooxidáció már gyengén lúgos közegben is bekövetkezhet.

A robinetin sav-bázis tulajdonságának tanulmányozása, illetve lúgos közegben bekövetkező átalakulásának részletes vizsgálata nem volt témája a hasonló kérdéssel foglalkozó, felkutatott közlemények egyikének sem.

II.3.1. Disszociáció – protonálódási egyensúlyok

A flavonoidok disszociációs, illetve protonálódási folyamatainak kvantitatív ismerete nélkülözhetetlen a faextraktanyagok és a fémionok közötti kölcsönhatás magyarázatához, elsősorban a komplexkémiail egyensúlyok értelmezéséhez.

A kvercetin, robinetin és rutin molekulákban kialakuló intramolekuláris hidrogénkötések stabilizálhatják a hidrogének helyzetét, ami gátolja a hidrogén-ionok disszociációját az OH-csoportokról. Ezért rájuk is jellemző (mint a flavon-származékokra általánosan), hogy gyengén savas karakterűek – csak a 7-OH-csoport disszociálabilis kis mértékben.

Annak ellenére, hogy a flavon-származékok kémiai egyensúlyait évtizedek óta számos kutatócsoport vizsgálja (DETTY, HESTON és WENDER 1955; DELAPORTE és MACHEIX 1972; BELIKOV és TOCHKOVA 1973; MAKASHEVA és GOLOVKINA 1973; KENNEDY és mtsai 1984; MALEŠEV és RADOVIĆ 1987), a flavonoidok disszociációs egyensúlyára vonatkozó kvantitatív eredmények még ma is csak nehezen felderíthetők. A hivatalosan elfogadott „IUPAC Stability Constants Database” (80000 adattal) a kvercetin, a rutin vagy a robinetin disszociációs állandójára vonatkozó információt nem tartalmaz. Ennek oka lehet az is, hogy a kvercetin és a robinetin ilyen jellegű vizsgálata nagyon körülményes (MOLNÁRNÉ 2002b).

A *monohidroxi-flavonok* disszociációs készségét, illetve protonálódási állandóikat összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a potenciometrikus titrálással (THOMPSON, WILLIAMS és ELLIOT 1976), az UV-VIS spektrofotometriás és fluoreszcenciás vizsgálatokkal (WOLFBEIS és mtsai 1984), valamint az elméleti számításokkal (LEMAŃSKA és mtsai 2001) kapott eredmények jól egyező, analóg tendenciát mutatnak. Legkönnyebben a 7-OH és a 4'-OH csoportok hidrogénje tud disszociálni a flavonmolekuláról (8. táblázat).

8. táblázat *Monohidroxi-flavonok protonálódási állandói (pK_a) különböző irodalmi adatok alapján*

flavonoid		THOMPSON	WOLFBEIS	LEMAŃSKA
3-hidroxi-flavon	3-OH	10,34		9,9
5-hidroxi-flavon	5-OH	11,44		11,5
7-hidroxi-flavon	7-OH	8,48	7,39	8,5
4'-hidroxi-flavon	4'-OH		8,28	7,9
3'-hidroxi-flavon	3'-OH		9,75	9,5

LEMAŃSKA és mtsai (2001) a 3-hidroxi-flavon és az 5-hidroxi-flavon kismértékű disszociációját azzal magyarázza, hogy a molekulákban nagyon erős hidrogénhíd alakul ki az OH-csoport és a 4-karbonil között. Megfigyelték azt is, hogy ezen származékok abszorpciós spektruma a növekvő pH-val csak a növekvő anionkoncentrációt mutatja, vagyis csak disszociációs folyamatok mennek végbe, és egyéb reakciók nem.

A *kvercetin* protonálódási állandójának irodalmi adatai igen szélsőséges határok között változnak (9. táblázat). Ez egyrészt nagyon különböző tulajdonságú oldószerek használatából, másrészt a meghatározás kivitelezésének bonyolultságából adódik.

9. táblázat *A kvercetin és rutin disszociációs állandói (pK_a) különböző irodalmi adatok alapján*

	irodalom	pK_1	pK_2	pK_3	pK_4	pK_5	
kvercetin	TYUKAVKINA és POGODAEVA (1975)	6,74	9,02	11,55			
	THOMPSON, WILLIAMS és ELLIOT (1976)	8,46					
	ESCANDAR és SALA (1991)	sp.fotometr.	5,7	7,1	8,0	9,9	11,0
		potenciom.	5,54	6,95	8,21	9,77	
	SAUERWALD és mtsai (1998)	7,03	9,15				
	LEMAŃSKA és mtsai (2001)	7,0					
	KUNTIĆ és mtsai (2003)	3,52	9,36				
rutin	ESCANDAR és SALA (1991)	sp.fotometr.	7,1	8,3	10,0	10,9	
		potenciom.	6,95	8,30	10,04		
	JOVANOVIĆ és mtsai (1994)	7,1	9,15	11,65			

A szakirodalomban egyáltalán nem tükröződik az a tapasztalat (MOLNÁRNÉ 1997-2002), hogy a kvercetin lúgos közegben bekövetkező igen gyors szerkezeti változása nem teszi lehetővé a potenciometrikus titrálás metodikájának használatát. Még a napjainkban közölt dolgozatok között is megtalálható a kvercetin disszociációs állandójának sav-bázis-titrálással történő meghatározása.

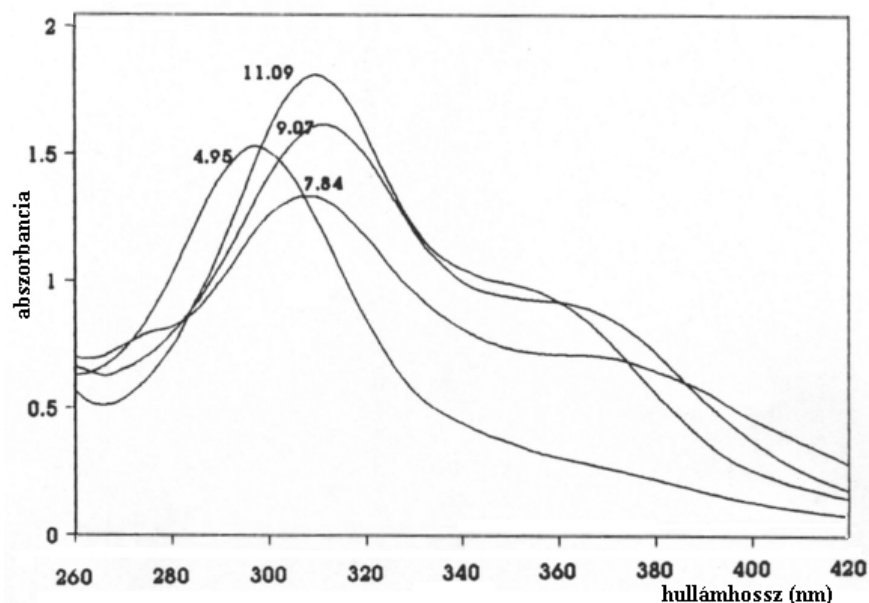
TYUKAVKINA és POGODAEVA (1975) a flavon-származékok spektrofotometriás vizsgálata során számos vegyület protonálódási állandóját meghatározta, amelyről közleménysorozatban számoltak be. A kvercetin esetében a molekula háromlépéses disszociációját tudták érzékelni különböző arányú metanol:víz elegyekben.

THOMPSON, WILLIAMS és ELLIOT (1976) az egyes flavonoidok protonálódási állandóját potenciometrikus titrálással határozták meg 25 °C-on, 50 %-os (v/v) 1,4-dioxán:víz elegyen, 0,1 mol/dm³ NaClO₄ ionerősség mellett. A kvercetin esetében csak egyetlen hidrogénion disszociációját érzékelték, amelyet az egyetlen OH-csoportot tartalmazó származékok vizsgálatában kapott eredményük összehasonlítása alapján a 7-OH csoporthoz rendeltek.

A potenciometrikus meghatározási módszer miatt sajnos erős kritikával kell fogadni (az egyébként körültekintéssel végzett) munkájukat, mivel – saját tapasztalatom alapján (MOLNÁRNÉ 2002c) – a kvercetin átalakulási reakciói következtében a nem pufferolt oldat pH-ja nem stabil, és a sav-bázis-titrálást csak különleges feltételek betartása esetén lehet elvégezni. A többi irodalmi adattal összehasonlítva megfigyelhető, hogy meghatározási módszerük azokra a vegyületekre mutat egybevágó értéket (8. táblázat), amelyek az oldat kémhatásának változása során valóban csak disszociációs egyensúlyi folyamatokban vesznek részt, további reakciók nem játszódnak le.

ESCANDAR és SALA (1991) potenciometrikus és spektrofotometriás módszert alkalmazott a kvercetin és rutin protonálódási állandójának meghatározására. Vizsgálatukat vizes közegben, 20 °C-on, 0,1 mol/dm³ NaNO₃ ionerősség beállításával végezték. Közleményükben a flavonoid-molekulák valamennyi OH-csoportjának disszociációjára adnak meg adatot, azonban nem megfelelő vizsgálati eljárásuk miatt azokat erős fenntartással kell kezelni.

A szerzők a kvercetin és a rutin oldását ugyanis nátrium-hidroxid oldatban végezték, és a pH-értékeket utólagos salétromsav adagolással állították be. Ez a – más esetben elvében jó – megoldás a kvercetin esetében a disszociációt követő szerkezetváltozásokat (pl. szolvólízis, autooxidáció, bomlási folyamatok) nem tudja elkerülni, ami a bemutatott abszorpciós spektrumokból egyértelműen megállapítható (25. ábra). Vagyis – az előbbi fejezetben ismertetett publikációk (DANGLES, FARGEIX és DUFOUR 1999; MAKRIS és ROSSITER 2000) alapján, valamint saját tapasztalatom szerint (MOLNÁR-HAMVAS és mtsai 2002) – a kvercetin fényelnyeléséből vagy a titrálási görbéjéből számított állandók nem a disszociáció, hanem valamilyen más reakció egyensúlyát fogják jellemezni. A szerzők ott követték el a hibát, hogy nem figyeltek fel a kvercetin savas közegű (pH = 4,95) abszorpciós spektrumának az irodalomban közölt görbétől teljesen eltérő alakjára (MABRY, MARKHAM és THOMAS 1970).



25. ábra *A kvercetin abszorpciós spektruma különböző pH-jú vizes oldatban lúgos oldást követő kémhatás beállítás esetén (ESCANDAR és SALA 1991) alapján*

SAUERWALD és mtsai (1998) spektrofotometriás módszert alkalmaztak növényi polifenolok protonálódási állandójának meghatározására. A kvercetin kis mértékű oldódásából eredő nehézségeket etanol:víz = 21,4:78,6 térfogatarányú elegy használatával küszöbölték ki. Méréseik során a pH = 7-10 tartományban tapasztalták a kvercetin fokozatos bomlását, ezért az átalakulás kinetikáját figyelembe véve, a $t = 0$ időpontra extrapolált abszorbanciákkal végezték a számításokat. Körültekintő munkájuk, adatokkal és ábrákkal alátámasztott érvelésük, a mérési eredményeik megbízhatóságát bizonyítja. A kvercetinre két lépcsőben történő disszociációt tudtak elkülöníteni, és – az analóg vegyületek állandóinak értéke alapján – első lépésben inkább a 4'-OH csoport deprotonálódását tartják valószínűnek.

LEMAŃSKA és mtsai (2001) elméleti számításokkal – a disszociációs energia és ionizációs potenciál számítógépes becslésével – határozták meg különböző flavonok relatív protonálódási állandóját. Számításaik összhangban vannak a különböző kísérleti módszerekkel kapott adatokkal, és megfigyelésekkel, hogy a 7-OH és a 4'-OH csoportokról disszociál leginkább a hidrogén-ion. Dolgozatukban összehasonlították az egyes polifenolok disszociációs készségét és a vizsgált vegyületek antioxidáns aktivitását, valamint tanulmányozták a pH hatását ezekre a folyamatokra.

KUNTIĆ és mtsai (2003) dolgozatukban a kvercetin disszociációs állandójának potenciometrius meghatározásának eredményeit ismertetik. A titrálást 50 t% etanol tartalmú vizes oldatban végezték, különböző hőmérsékleten. A számított értékek jelentős mértékben eltérnek a többi irodalmi adattól, és irreálisan erős savként jellemzik a kvercetint.

A rutin protonálódási állandói a második disszociációs lépéstől kezdődően egy nagyságrenddel különböznek a két publikációban közölt irodalmi adatok alapján (9. táblázat).

ESCANDAR és SALA (1991) vizsgálati módszere a kvercetinél használt metodikával megegyező. A rutin kisebb fokú lúgérzékenysége miatt ezek az eredmények talán elfogadhatóak, bár a savas közegben felvett abszorpciós spektrum széles összetett sávokat mutat – nem egyezik meg a spektrumtár megfelelő görbéjével (3. melléklet) –, ami ebben az esetben is kétségeket támaszt.

JOVANOVIĆ és mtsai (1994) a protonálódási állandókra kapott spektrofotometriás mérési eredményeiket táblázatos formában adják meg, más publikációkból átvett adatokkal együtt, és a mérési körülményeket nem ismertetik. A közleményben fenoxi-származékok spektrális, sav-bázis és redoxi sajátosságainak vizsgálati eredményeit mutatják be részletesen. A vizsgálatot vizes oldatok pulzáló radiolízis technikával, a közeg pH-jának függvényében végezték. A módszer gyökök képződését váltja ki, vagyis nem disszociáló H^+ -ion távozik a molekuláról, hanem H-atom. Így annak ellenére, hogy elnevezésében megegyezik a két folyamat, a kapott adat valójában nem a savi disszociáció mértékére ad felvilágosítást. A rutin „deprotonálódására” kapott eredmény számértéke is jelentősen különbözik az előzőtől ($pK = 4,3$), és a hidrogénatom disszociációját a 3'-OH-csoportról feltételezik.

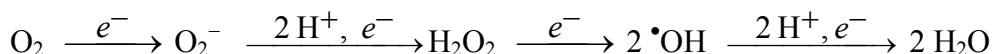
A fenti közleményekben ismertetett vizsgálati módszer több esetben nem volt megfelelő a kvercetin és a rutin savi disszociációs állandóinak meghatározására, így a kapott eredmény nem a valós savasságukat jellemzi. Napjainkban az analitikai műszerek fejlett technikai megoldásai viszont kedvező lehetőséget kínálnak a mérések ismételt elvégzésére, hogy a flavon-származékok sav-bázis tulajdonságait korrekt módon lehessen feltárni, illetve disszociációs egyensúlyukat, és a fémionokkal történő kölcsönhatásuk folyamatát helyesen tudjuk értelmezni.

II.4. A kvercetin, robinetin és rutin redoxi sajátosságai

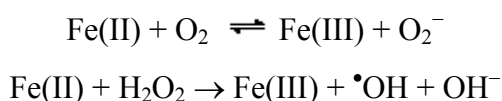
A szakirodalomban megjelent közlemények igen nagy hányada foglalkozik a flavon-származékok oxidációs folyamataival. A növényélettani - orvosi - biokémiai vizsgálatok tárgya legtöbbször a molekulák antioxidáns hatása, gyökfogó kapacitása, elektronátvitelt katalizáló, illetve enzim-inhibitor szerepe (HARBORNE és WILLIAMS 2000; HAVSTEEN 2002). A flavonoidok oxidációját előidézhetik különböző fémionok, enzimek, vagy a hidrogén-peroxid.

Több kutatócsoport vizsgálta a kvercetin és a rutin elektrokémiai sajátságait is (JØRGENSEN és mtsai 1998).

A biomolekulák oxidációja során a molekuláris oxigén lépésenkénti redukciójával megy végbe a vízzé történő átalakulás (és az egymásba átalakuló intermedierek között veszélyes szabad gyökök is megtalálhatóak):



Az átmeneti fémek általában hatékonyan katalizálják az oxidációs folyamatokat. Részletesen vizsgálták a vas(II) autooxidációját, illetve katalizáló hatását, amely szuperoxid- és hidroxil-gyök keletkezését is eredményezi (Fenton-reakció) (ZATTA és mtsai 2002):



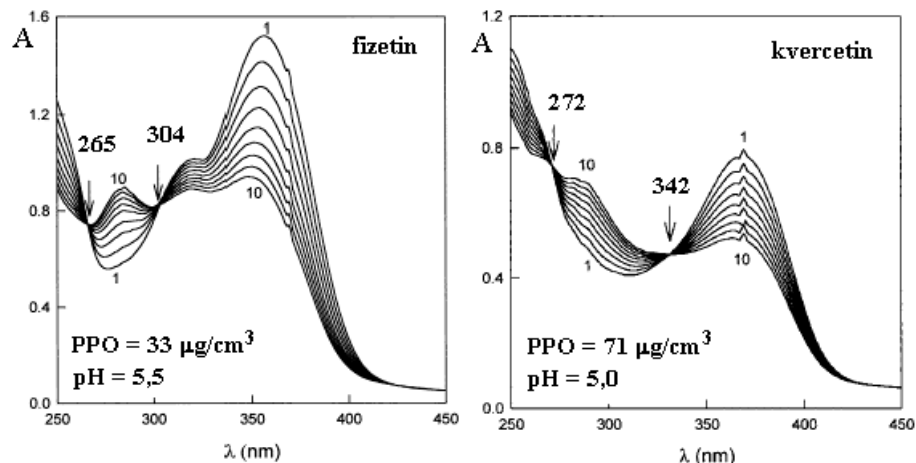
Ezek a reaktív részecskék további biokémiai kölcsönhatások révén hidroperoxidok (ROOH), alkoxi- (RO[•]) és peroxi-gyökök (ROO[•]) létrejöttét eredményezik.

A flavonoidok oxidációját is kiválthatják, illetve katalizálhatják a különböző fémionok. Ezekről a reakciókról részletesen a fémion - flavonoid kölcsönhatást tárgyaló fejezetben lesz szó, mivel ezek az oxidációs folyamatok általában komplexképződéssel együtt, vagy annak hatására következnek be, illetve a komplexek módosítják a flavonoidok antioxidáns hatását (VAN ACKER és mtsai 1998). A közlemények elsősorban a vas(III) (FERRALLI és mtsai 2001) és a réz(II) (BROWN és mtsai 1998) szerepét mutatják be.

Az oxidációs folyamatok gyorskinetikai vizsgálata, illetve a spektrális változások nyomon követése, és a keletkező termékek azonosítása lehetővé teszi annak megállapítását, hogy a kémiai vagy enzimatis oxidációban a flavonoid molekulák szerkezetében milyen változások következnek be, illetve milyen molekulászerkezet esetén várható nagyobb reakciókészség. Megállapították, hogy mind a kémiai-, mind az enzimek által katalizált oxidációban fontos szerepe van a 4-oxo- és az *o*-dihidroxil-csoportnak, a 2C-3C közötti kettőskötésnek, valamint a 3- és 5-hidroxil-csoportok által kialakított hidrogénkötésnek (RICE-EVANS, MILLER és PAGANGA 1996).

JIMÉNEZ és mtsai (1998-1999) a polifenol-oxidáz és a fizetin, illetve a polifenol-oxidáz és a kvercetin között, gyengén savas közegben lejátszódó *in vitro* oxidációs folyamatokat abszorpciós spektrumok időbeli felvételével követték. Mind a két esetben a flavonoidok I. sávjának (362, illetve 372 nm) gyors csökkenését tapasztalták, és párhuzamosan fényelnyelés

növekedést figyeltek meg 282, illetve 291 nm-nél (26. ábra). A közeg kémhatásának változtatásával megállapították, hogy az oxidációs folyamat (ecetsav - nátrium-acetát puffert alkalmazva) pH = 5,0 és 5,5 értéknél a leggyorsabb. A folyamatok kémiai magyarázatára, illetve a szerkezeti összefüggések feltárására nem vállalkoztak.



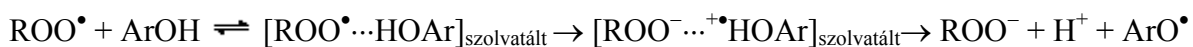
26. ábra *Flavon-származékok in vitro oxidációja polifenol-oxidáz enzim (PPO) hatására (JIMÉNEZ és mtsai 1998, 1999) alapján*
($C_{\text{fisetin}} = 75 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$, $C_{\text{kvercetin}} = 40 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$, spektrumfelvétel percenként)

A flavonoidok szerkezete és redoxi sajátságai között felállított összefüggést igazolja BURDA és OLESZEK (2001) vizsgálatának eredménye, akik különböző flavon-származékok – köztük a kvercetin, a robinetin és a rutin – antioxidáns hatását és gyökfogó képességét hasonlították össze (10. táblázat). Spektrofotometriás módszerrel mérték a flavonoidok gátló hatását a β -karotin és a linolsav hő hatására bekövetkező oxidációjára, valamint a metanolos oldatban szabad gyökök (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) által kiváltott oxidáció mértékét.

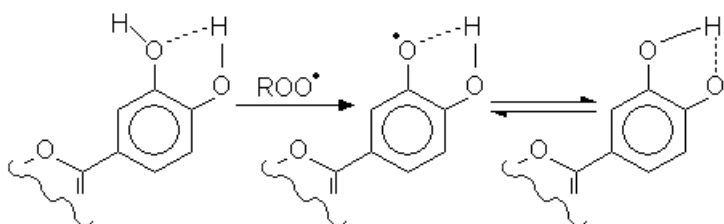
10. táblázat *Flavonoidok antioxidáns hatása és gyökfogó képessége*
(BURDA és OLESZEK 2001) alapján

		antioxidáns hatás (%)	gyökfogó kapacitás (%)
kempferol	$3,5,7,4'(\text{OH})_4$	65,3	93,5
kvercetin	$3,5,7,3',4'(\text{OH})_5$	63,6	89,8
robinetin	$3,7,3',4',5'(\text{OH})_5$	61,7	82,3
fisetin	$3,7,3',4'(\text{OH})_4$	61,6	79,0
7-hidroxi-flavon	7OH	0,0	2,8
rutin	$3\text{ORu}, 5,7,3',4'(\text{OH})_4$	-10,2	90,9
dihidro-kvercetin	$2,3\text{H}_2, 3,5,7,3',4'(\text{OH})_5$	-16,8	94,8
apigenin	$5,7,4'(\text{OH})_3$	-78,8	0,7

FOTI és RUBERTO (2001) feltételezik a folyamatban egy szolvatált, hidrogénhidas átmeneti komplex létrejöttét a flavonmolekula (ArOH) és a támadó gyök (ROO•) között, amely lehetővé teszi a hidrogénion gyors disszociációját a fenolos OH-csoportról:



Több kutatócsoport véleménye, hogy az antioxidációs hatás kifejtésében azért hatékonyak a flavonok 3',4'-dihidroxi-származékai, mert az *o*-difenol-csoportokon kialakuló fenoxi-gyök tartósan stabilizálódni tud a két OH-csoportot rögzítő hidrogénkötés miatt (PEDRIELLI, PEDULLI és SKIBSED 2001) (27. ábra).



27. ábra *A fenoxi-gyök stabilizálódásának folyamata (PEDRIELLI, PEDULLI és SKIBSED 2001) alapján*

Ez a sajátosság azonban nemcsak a szabad gyökök megfogásában, vagy a gyökös mechanizmusú láncreakció folyamatának megszakításában, hanem azok lehetséges iniciálásában, vagy más oxidációs folyamatok kiváltásában is nagy fontosságú. Ezeket a folyamatokat ezért együttesen, összefüggéseik figyelembevételével kell szemlélni (DANGLES, DUFOUR és FARGEIX 2000). Ide sorolható a flavonoidok szerkezete és a különböző enzimekre kifejtett inhibitor hatás közötti összefüggés vizsgálata is.

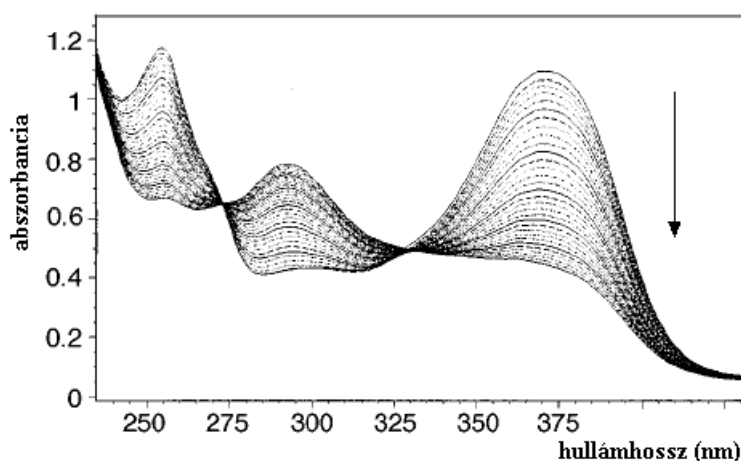
VAN HOORN és mtsai (2002) a xantin-oxidáz enzim működését gátló flavonoidok hatását hasonlították össze. Ez az enzim az oxidatív stressz során megnövekedett aktivitást mutat, ami szuperoxid-gyök, valamint hidrogén-peroxid keletkezésével jár együtt. Az inhibitor hatást az a flavon koncentráció mutatja, amely a xantin-oxidáz enzim aktivitását felére csökkentette (11. táblázat). A hatékonysághoz az 5,7-hidroxil-csoportok jelenléte szükséges, mivel ezek szerkezeti analógiát mutatnak a xantin enol alakjával, így az enzim részben rajtuk fejt ki hatását.

11. táblázat *A xantin-oxidáz enzim működését gátló flavon-származékok (VAN HOORN és mtsai 2002) alapján*

	OH-csop.	IC ₅₀ [μmol/dm ³]		OH-csop.	IC ₅₀ [μmol/dm ³]
fizetin	3,7,3',4'	11,3	kvercetin	3,5,7,3',4'	1,5
robinetin	3,7,3',4',5'	9,0	miricetin	3,5,7,3',4',5'	1,5

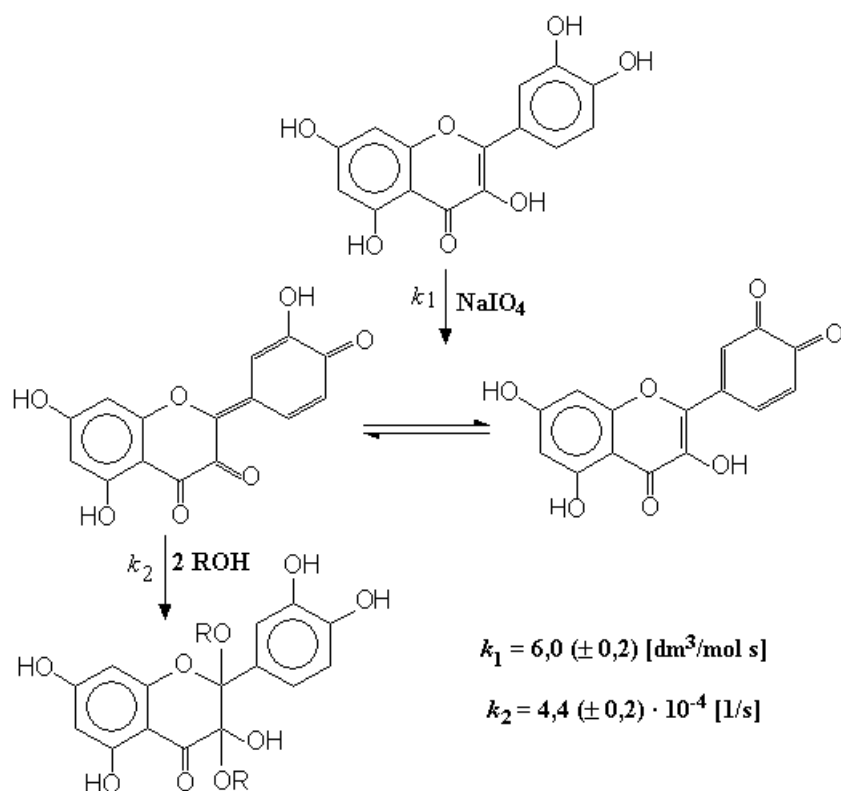
HODNICK, DUVAL és PARDINI (1994) megállapította, hogy a mitokondriális légzési folyamatokban kulcsfontosságú enzimeket gátló flavonoidok közül azok a leghatékonyabbak, amelyek szerkezete 4-oxo-csoportot, 2C-3C közötti kettőskötést és 3',4',5'-trihidroxi-csoportot tartalmaznak. Kimutatták, hogy a NADH-oxidáz aktivitását a legnagyobb mértékben a robinetin csökkentette ($IC_{50} = 19 \text{ nmol/mg}$ fehérje).

DANGLES, DUFOUR és BRET (1999) a kvercetin és a rutin nátrium-perjodát hatására bekövetkező kémiai oxidációját vizsgálta metanolos közegben, és a reakció lejátszódását UV-VIS spektrumok felvételével követték. A rutin fél órás időtartam alatt nem mutatott változást, a kvercetin abszorpciós sávjainak (372 és 255 nm) intenzitása viszont jelentős mértékben csökkent, miközben egy új csúc megjelenését regisztrálták 293 nm-nél (28. ábra).



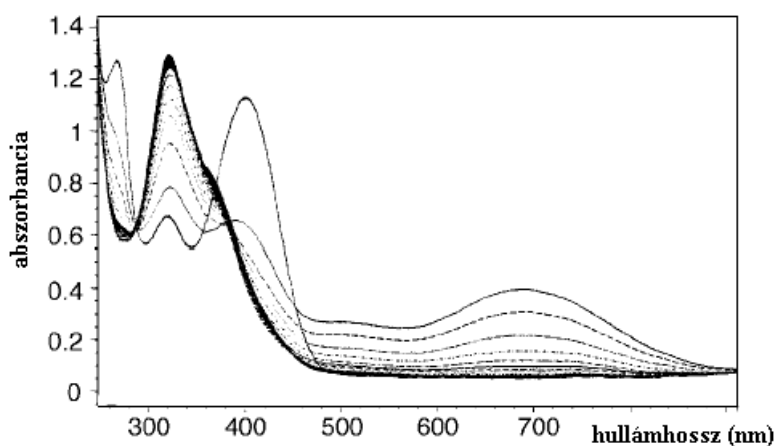
28. ábra A kvercetin spektrumának változása $NaIO_4$ hatására metanolos oldatban (DANGLES, DUFOUR és BRET 1999) alapján
($C_{\text{kvercetin}}: 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $NaIO_4$ 1 ekv., 25°C , felvétel időtartama 2 óra)

A szerzők az UV-VIS abszorpciós spektrumok, valamint NMR mérések alapján feltételezik a kvercetin kinoidális oxidációját (*o*-kinon és *p*-kinoidális tautomerek képződését), majd azt követően egy gyors oldószeraddíció végbemenetelét a 2C-3C kettős kötésre (29. ábra). Ezekre a folyamatokra a disszociálatlan kvercetinmolekula fényelnyelési maximumán (372 nm) az intenzitás időbeli változásából sebességi állandókat (k_1 és k_2) számítottak. A számításhoz szükséges a közbenső termékek moláris abszorpciós együtthatója és aktuális koncentrációja is, amelyekhez görbeillesztéses módszerrel jutottak, de ezeket az adatokat publikációjukban nem közlik.



29. ábra A kvercetin nátrium-perjodáttal kiváltott oxidációjának feltételezett lépései (DANGLES, DUFOUR és BRET 1999) alapján

Vizes pufferekben nátrium-perjodát hatására a lúgosodással együtt (pH = 5,5 - 9,0) a kvercetin sokkal gyorsabban lejátszódó oxidációs reakcióját tapasztalták (30. ábra), mint a puffertmentes metanolos oldatban.



30. ábra A kvercetin spektrumának változása NaIO_4 hatására pH = 9,0 vizes oldatban 25°C-on (DANGLES, DUFOUR és BRET 1999) alapján
 ($C_{\text{kvercetin}}: 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, NaIO_4 1 ekv., $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ NaCl}$ ionerősség, $0,05 \text{ mol/dm}^3 \text{ Na}_2\text{HPO}_4\text{-NH}_4\text{Cl}$ puffer)

A pH növekedésének arányában megfigyelték az abszorpciós maximumok batokrómm eltolódását, amit az egyszeres-, kétszeres- és háromszoros negatív töltésű kvercetin-anion

jelenlétének tulajdonítottak. Lúgos kémhatású (pH = 7,4 és pH = 9,0) NaIO₄ adagolása esetén egy gyorsan csökkenő fényelnyelési sáv is mutatkozott 690 nm körül, és a szerzők valószínűsítik, hogy az egy kinon - kvercetin töltésátviteli komplex keletkezése és elbomlása miatt volt megfigyelhető.

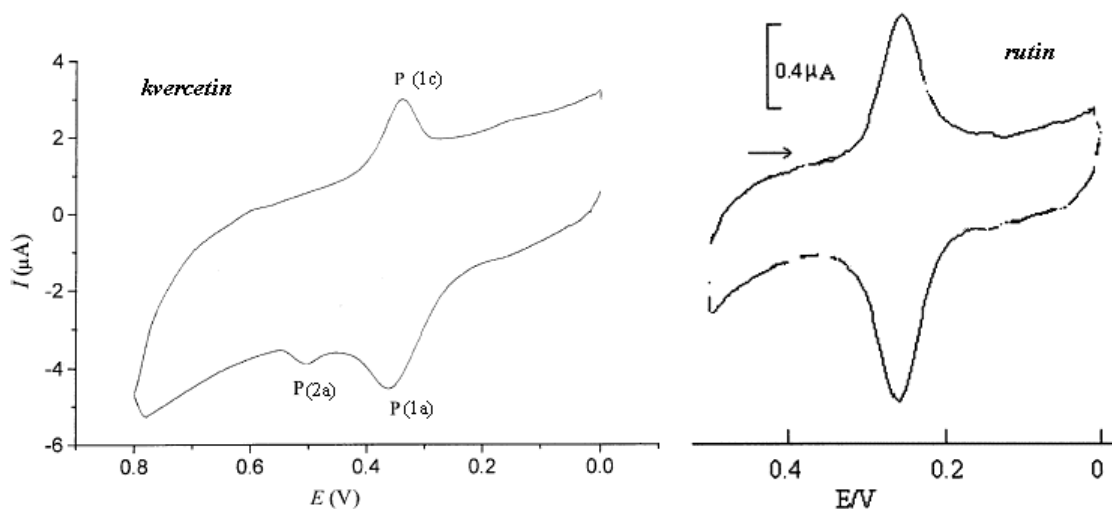
A szerzők nem tértek ki annak összehasonlítására, hogy a lúgos kémhatású vizes oldatban a kvercetin spektrumsorozata (23. *ábra*) lényegesen különbözik az oxidáló anyagot is tartalmazó oldatok görbéitől (30. *ábra*). Ez az eltérés szerintem viszont arra hívja fel a figyelmet, hogy a lejátszódó folyamatok alapjaikban eltérőek – vagyis a lúgos közegben végbemenő változás nem lehet analógja a nátrium-perjodátos oxidációnak. Másrészt amennyiben feltételezik a kvercetin autooxidációját gyengén lúgos közegben (23. *ábra*), akkor nem zárhatják ki ugyanezt a folyamatot akkor sem, ha a levegő oxigénjén kívül más oxidálószer is jelen van az oldatban (30. *ábra*). A két, párhuzamosan lejátszódó oxidációs lépés versengése viszont kinetikailag nagyon nehezen leírható. Amennyiben nem autooxidáció, hanem más molekulaszerkezeti változás okozza lúgos közegben a spektrumváltozást (23. *ábra*), hatását akkor is számításba kellene venni, mivel a 30. *ábra* szerint több párhuzamos folyamat mutatkozik a görbéken. A szerzők azonban számításaikban teljesen figyelmen kívül hagyták a levegő oxigénjének hatását (a párhuzamos autooxidáció lehetőségét), vagy más reakció lejátszódását.

II.4.1. Elektrokémiai viselkedés

A flavon-származékok elektrokémiai vizsgálata, a lehetséges oxidációs folyamatok mechanizmusának és reverzibilitásának feltárása, vagy a redoxi potenciálok meghatározása nagyban hozzájárul a más körülmények között lejátszódó redoxi reakciók korrekt értelmezéséhez.

JØRGENSEN és SKIBSTED (1998) ciklikus voltammetriás módszerrel több flavonoid – köztük a kvercetin és a rutin – redoxi potenciálját határozta meg argonnal telített vizes foszfát-pufferben (pH = 7,4), 0,16 mol/dm³ NaCl ionerősség mellett, és mérési eredményeiket más kutatók által közölt adatokkal is összehasonlították. A mérési körülmények különbözősége (hőmérséklet, polarizációs sebesség, pH, puffer) miatt kismértékű – de nem jelentős – eltérés van az egyes értékekben. Kvercetin: 0,27-0,33 V, rutin: 0,40-0,42 V. Egyes flavonokra a voltammetriás görbét is bemutatják, amelyek alapján az elektródreakció reverzibilitása is megállapítható. A kvercetinre és a rutinra ilyen információt a közlemény nem tartalmaz.

ZHU és mtsai a kvercetin és rutin kölcsönhatásainak vizsgálata során a flavonok elektrokémiai sajátságait is tanulmányozták. A kvercetin és a rutin ciklikus voltammogramja alapján megállapították, hogy mind a két flavonoid gyengén savas közegben reverzibilis felületi elektródreakcióban vesz részt, és erősen adszorbeálódik az elektród felületén.

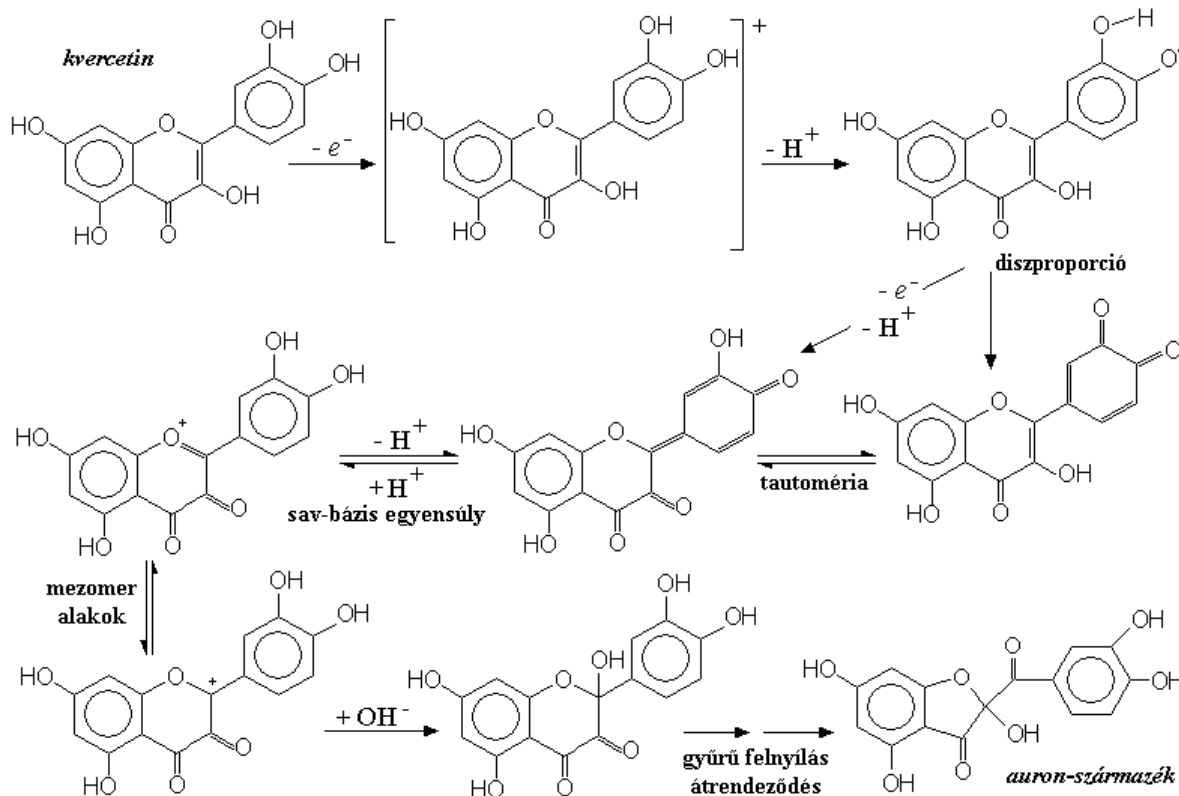


31. ábra A kvercetin és rutin ciklikus voltammogramja (ZHU, LI és LI 2001; BAO és mtsai 2002) alapján
 $C_{\text{kvercetin}} : 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $0,1 \text{ mol/dm}^3$ HAc-NaAc puffer, pH = 4,4, polarizáló sebesség: 100 mV/s, telített kalomel elektród
 $C_{\text{rutin}} : 5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$, $0,1 \text{ mol/dm}^3$ Britton-Robinson puffer, pH = 5,7, polarizáló sebesség: 50 mV/s, Ag/AgCl elektród)

A kvercetin görbén (31. ábra) a redukciós folyamatban egy, míg az oxidációs folyamatban két csúcs érzékelhető, 0,36 V-nál (P_{1a} és P_{1c}) a 3',4'-hidroxidok redukciója, míg 0,50 V-on (P_{2a}) a 3-OH oxidációja megy végbe (ZHU, LI és LI 2002). Az előzetes várakozásnak megfelelően a rutin szimmetrikus voltammogramján csak egy oxidációs (0,258 V) és egy redukciós csúcs (0,254 V) található, ami a dihidroxil-csoportokhoz rendelhető (BAO és mtsai 2001). A kémhatás, valamint a polarizáló sebesség változtatásával nyert információk alapján meghatározták, hogy a kvercetin és a rutin esetében is a szomszédos 3',4' hidroxil-csoportok elektródreakciójában két elektron, valamint két hidrogénion vesz részt.

JØRGENSEN és mtsai (1998) a kvercetin, kempferol és luteolin részletes és szerkezeti vizsgálatokkal alátámasztott elektrokémiai oxidációját tanulmányozták argonnal telített acetonitril oldatban (ionerősség: $0,10 \text{ mol/dm}^3 \text{ LiClO}_4$). Az elektrolízis különböző töltésmennyiséget felhasznált szakaszaiban UV-VIS abszorpciós spektrumokat vettek fel, illetve HPLC elválasztás után kétdimenziós ^1H és ^{13}C NMR, valamint tömegspektrometriás vizsgálatokat végeztek. A kvercetin 2 elektronos oxidációja során először egy erősen vörös színű intermedier keletkezett, melynek fényelnyelési maximuma 515 nm-nél volt mérhető, de a folyamat

végén a termék már szintelen volt ($\lambda_{\max} = 293 \text{ nm}$, 321 nm-nél vállal). Méréseik során megállapították, hogy a kvercetin és a kempferol oxidációja egyetlen oxidációs terméket eredményezett, amelyek moláris tömegét tömegspektrometriás mérés során 318, illetve 302 g/mol-nak találták, vagyis mindkét vegyület esetén 16 g/mol növekedést tapasztaltak. A luteolin esetében – annak ellenére, hogy az abszorpciós spektrumon a töltésmennyiség növekedésével párhuzamosan jelentős változás mutatkozott – nem tudtak oxidációs terméket azonosítani, sőt a kiindulási flavon közel fele az elektrolízis végén változatlanul megmaradt.

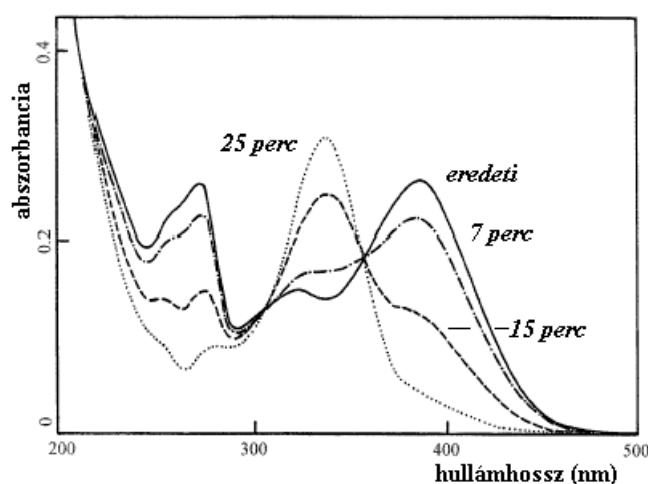


32. ábra A kvercetin elektrokémiai oxidációja (JØRGENSEN és mtsai 1998) alapján

Az NMR vizsgálatok a kvercetin és a kempferol oxidációs termékében egyaránt két karbonil-csoport jelenlétét és a 2C-3C kettőskötés hiányát mutatták ki, valamint a heterociklusos gyűrűben egy telített szénatomra utaló változást is észleltek. Ezek alapján feltételezték, hogy az elektrolízis során a benzopiranon vázas alapvegyületek helyett egy bezofuranon szerkezetű termék keletkezik, és a flavon-származékok B-gyűrűjén nem történik változás (32. ábra).

JØRGENSEN és mtsai véleménye szerint a kvercetin oxidációja során keletkező vörös színű közbenső termék a kvercetingyök diszproporcionálódásával keletkező *o*-kinon-származék, amely a további átalakulások során szintelen végtermékhez vezet. Mivel a kempferol esetében ilyen *o*-kinon-származék nem tud kialakulni, ezért a vörös színű tautomert nem észlelték.

YANG, ARAI és KUSU (2001) ugyancsak a kempferol és a kvercetin elektrokémiai vizsgálatát végezték el. Az elektrolizáló cellában aranyfóliát alkalmaztak elektródként, és metanol : vizes foszfátpuffer = 1:1 térfogatarányú elegyében *in situ* UV-VIS abszorpciós spektrumokat vettek fel az elektrolízis alatt több időpontban (33. ábra). A levegő oxigénjének zavaró hatását nitrogénatmoszférával kűszöbölték ki. A gyengén lúgos közegnek megfelelően a kiindulási oldatban a disszociált kvercetin fényelnyelési maximumai a magasabb hullámhosszak felé tolódtak el, majd a bekövetkező oxidáció hatására csökkennek és egy új sáv emelkedik ki.



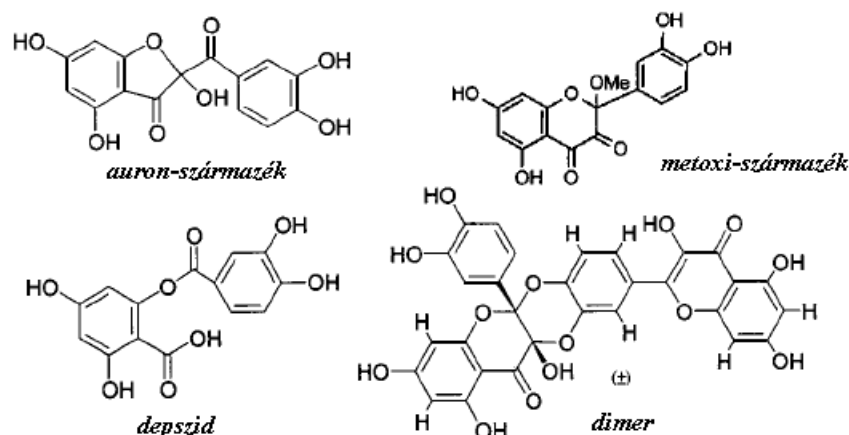
33. ábra A kvercetin abszorpciós spektruma az elektrolízis előtt és alatt (YANG, ARAI és KUSU 2001) alapján

A szerzők nem számolnak be arról, hogy az elektrolízis alatt észleltek volna más színű átmeneti terméket. Feltételezik, hogy az oldószer és a kémhatás befolyásoló szerepe miatt a kvercetin elektrolízise a kempferolhoz hasonlóan (az *o*-kinon-származék keletkezése nélkül) is végbemehet.

KRISHNAMACHARI, LEVINE és PARÉ (2002) a kvercetin oxidációs folyamatainak irodalomban közölt lehetőségeit összegzi, valamint a HPLC-vel elválasztott lehetséges termékek UV-VIS spektrofotometriás, NMR és MS azonosításáról számol be dolgozatában. Vizsgálataik során a kvercetin oxidációját acetonitriles oldatban peroxid gyök generálásával váltották ki. Erősen savas közeg (alacsony pH) eléréséhez sósavat használtak, és etanol vagy metanol adagolással változtatták az oldat nukleofil jellegét.

A különböző körülmények között elvégzett reakció termékeinek analízisével megállapították, hogy a kvercetin oxidációja összetett folyamat, és a kísérleti körülményektől, valamint az oxidálószer jellegétől (elektrolízis, szuperoxidion, fémionok, vagy enzimek) függően eltérő eredményre vezethet (34. ábra). Az oxidációs folyamat termékei között kimutatták a

JØRGENSEN és mtsai (1998) által felállított mechanizmus végtermékét (az auron-származékot), valamint a megelőző lépések vegyületeit is.



34. ábra A kvercetin oxidációjának fő termékei (KRISHNAMACHARI, LEVINE és PARÉ 2002) alapján

Az oldószer savassága és nukleofil jellegének változtatásával kapott eredményeik (12. táblázat) megerősítették a karbokationon (a 2C-atomon) keresztül megvalósuló oldószer kapcsolódást is, viszont kizárták az aniongyökös mechanizmust.

12. táblázat A kvercetin oxidációs termékeinek HPLC csúcsaránya különböző oxidációs körülmények között (KRISHNAMACHARI, LEVINE és PARÉ 2002) alapján

	CH ₃ CN	CH ₃ CN/H ⁺	CH ₃ CN/CH ₃ OH	CH ₃ CN/CH ₃ OH/H ⁺
auron-származék	1,83 ± 0,08	1,49 ± 0,09	3,40 ± 0,02	0,35 ± 0,04
metoxi-származék	-	-	-	2,68 ± 0,25
dimer	0,95 ± 0,21	0,60 ± 0,09	3,39 ± 0,41	1,99 ± 0,42
depszid	4,86 ± 0,24	4,47 ± 0,35	3,43 ± 0,17	1,53 ± 0,13

II.5. A fémionok - flavonoidok kémiai kölcsönhatása

A faextraktanyagok *in vivo* vagy *in vitro* rendszerében rendkívül sok komponens van jelen, amelyek egymással és a fémionokkal egyaránt kölcsönhatásban állhatnak. Ennek során a fémionok vízmolekulákkal, szerves biomolekulákkal, vagy szerves ionokkal kapcsolódva komplex ionokat, vegyületeket képeznek, illetve oxidációs-redukciós folyamatok mennek végbe. Annak ellenére, hogy ezekben a rendszerekben nagyszámú ligandum és számos fémion egyaránt található, csak bizonyos komplexek kialakulására van lehetőség – vagyis egy adott fémion egyes ligandumokat előnyben részesít, másokkal viszont gyakorlatilag nem lép kölcsönhatásba (KØRØS 1980).

A kvercetin és a rutin, valamint a különböző fémionok kölcsönhatását vizsgáló közlemények száma napjainkban egyre növekvő tendenciát mutat, mivel elsődlegesen a gyógyászati hatásuk felderítése kerül a figyelem középpontjába, amibe eddig a robinetin nem tartozott bele. Ezért a megjelenő dolgozatok többsége nem kifejezetten koordinációs kémiai szempontok alapján tárgyalja a kölcsönhatást, hanem főleg a biológiai aktivitás kifejtését vizsgálják. A hatékonyság mértékét kívánják felderíteni, és mintegy kiegészítésként végeznek olyan vizsgálatokat, amelyek azokat a komplexkémiai és redukciós-oxidációs folyamatokra vonatkozó információkat is tartalmazzák, amelyek a faextraktanyag - fémion kölcsönhatásban szintén jelentősek.

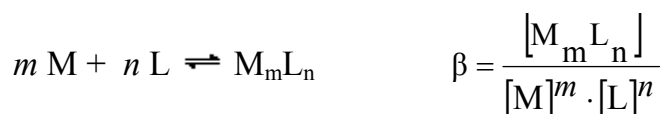
A fémionok vizet tartalmazó rendszerekben mindig szolvatált, illetve hidratált ionként vannak jelen. Általános sajátágaik, reakciókészségük és reakcióik jól értelmezhetőek a Pearson-féle koncepció alapján, függetlenül attól, hogy sav-bázis vagy oxidációs-redukciós folyamatok játszódnak-e le. A Pearson-féle koncepció alapvető szabálya, hogy a hard savak a hard bázisokkal, a soft savak pedig a soft bázisokkal reagálnak nagyobb sebességgel, és képeznek nagyobb stabilitású komplexet. Ezért fontos a vizsgált ligandumok és ionféleségek hard vagy soft jellege.

A vegyértékváltó fémionokkal kapcsolatban meghatározó még az is, hogy milyen hatással van a komplexképződés a biológiai szempontból is fontos redoxi-rendszerek redoxipotenciáljára (pl. $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$), vagyis hogy az adott ion milyen könnyen oxidálható vagy redukálható. A kémiai folyamatokban szerepet játszik még a reaktánsok töltése, elektronafinitása, polarizálhatósága, térigénye, a kialakuló kötés ionos, illetve kovalens jellegének mértéke, σ - vagy π -kötés képződése, elektronszerkezeti jelenségek, szolvatációs hatások, stb. (SZABÓ, BURGER és KÖRÖS 1970).

A flavonoidok oldatban egy- vagy többértékű gyenge savként viselkedhetnek, és a komplexképződés során a fémion kiszoríthatja kötéséből a fenol-csoportok hidrogénjét – ezért a különböző disszociációs egyensúlyok is befolyásolják a komplexképződési folyamatokat. A reakciókban különösen jelentős szerepe van az oldószer minőségének és összetételének is (mivel a komplexképződés éppen a központi ionhoz koordinált oldószer-molekulák kicserélődésével játszódik le). A különböző oldatokban tehát sokféle részecske jelenlétével, az egyensúlyi folyamatok igen bonyolult rendszerével kell számolni (INCZÉDY 1970).

A flavonoid molekulája vagy disszociált alakja – mint ligandum (L) – és a fémion (M) közt lejátszódó, több lépésből álló, egyensúlyi folyamatra felírható a fémkomplexek képző-

désére alkalmazott általános bruttó reakcióegyenlet és egyensúlyi állandó (stabilitási állandó, illetve komplex szorzat):



Az M központi iont és az L ligandumot tartalmazó oldatban természetesen nemcsak egyféle összetételű komplex létezhet, hanem a komplexeknek egész sorozata, amelyek adott sebességű reakcióban keletkeznek és bomlanak el, míg az oldat egyensúlyi összetétele ki nem alakul. A stabilitási állandó számértéke így a komplexképződés egyensúlyának mennyiségi viszonyaira ad fontos információt (BECK 1965).

II.5.1. Koordinációs kémiai vizsgáló módszerek

A fémionok és a biomolekulák közötti folyamatokat vizsgáló modern koordinációs kémiai kutatás a komplexképződés egyensúlyi körülményeinek feltárása során arra is választ keres, hogy az oldatban levő részecskék – fémionok, ligandumok, komplex-ionok, vagy molekulák – a kémiai folyamatban milyen átalakuláson mennek át.

A komplexképződés során mind a fémion, mind a ligandum számos molekuláris és makroszkópos fizikai-kémiai jellemzője megváltozhat. Ezek a változások lehetővé teszik, hogy bizonyos szerkezeti sajátságok kísérleti úton megállapíthatók legyenek (BURGER 1967).

➤ Az ultraibolya és látható tartományú abszorpciós spektrofotometria a flavonoidkomplexek vizsgálatában is az egyik legáltalánosabban használt vizsgálati módszer, mert a kapott spektrum sávjainak helye (energiája), a sávok szélessége és intenzitása értékes adatokat szolgáltat a komplexek, illetve a központi atomok elektronszerkezetére.

- Viszonylag egyszerű eszközökkel jellemezhető
 - a ligandum fényelnyelési tulajdonsága (NIKOLOVSKA-ČOLESKA és mtsai 1996; BARANOWSKA és RARÓG 2001),
 - protolitikus átalakulása (FRIEDMAN és JÜRGENS 2000),
 - esetleges oxidációs reakciója (MAKRIS és ROSSITER 2000).
- Széleskörű információhoz lehet jutni a komplexképződés lejátszódására (BARANAC, PETRANOVIĆ és DIMITRIĆ-MARKOVIĆ 1996).
- Segítségével nyomon követhető
 - a komplexképződés folyamata (SOCZYŃSKA-KORDALA és mtsai 2001),

- reverzibilitása (BROWN és mtsai 1998),
 - teljessé válása (CORNARD és MERLIN 2001),
 - illetve inertsége (GONZALEZ ALVAREZ, DIAZ GARCIA és SANZ-MEDEL 1989).
- Meghatározható a komplexek összetétele (MEL'NIKOVA, IOFFE és TSAREVA 2002),
 - a bekövetkező változások kinetikai (ROSHAL és mtsai 1998)
 - és termodinamikai paraméterei (ALLUIS és DANGLES 2001),
 - analóg összetételű komplexekben összehasonlítható a kötések kovalens jellege (CORNARD és MERLIN 2003).
- Az infravörös- és Raman-spektrometriás vizsgálatokkal meghatározhatók a ligandum és komplex molekula rezgései, csoportfrekvenciái. Ezekből az adatokból megismerhető a komplexet képező atomok közötti kötések jellege (NAGY és mtsai 1998), követhető a komplex képződésének hatása a ligandum elektronszerkezetére, polarizálhatóságára és szimmetriájára (CORNARD, BOUDET és MERLIN 2001), valamint következtetni lehet a komplex szerkezetére, izoméria jelenségeire (BRAVO és ANACONA 2001).
- A fluoreszcenciás vizsgálat a ligandumok és komplexek szerkezeti sajátosságaira ad tájékoztatást. Az UV-látható fényrel gerjesztett molekulák relaxációja során bekövetkező fényemisszióból következtetni lehet a molekulaváz merevségére, delokalizál p-elektronok jelenlétére, keto-enol-tautomer átalakulásokra (ROSHAL és mtsai 1999), valamint az oldatbeli disszociáció mértékére, protonálódási folyamatok végbemenetelére (GUTIERREZ és GEHLEN 2002).
- A röntgenfotoelektron-spektroszkópia (XPS) a központi atom kovalenciájára és oxidációs állapotára adhat felvilágosítást (DRUZ, ANDERSONE és ANDERSONS 2001). A röntgenabszorpciós élék finomszerkezetének vizsgálati módszerével (EXAFS) az előbbieket mellett a koordinációs számot és a szomszédos atomok távolságát is meg lehet határozni (STEINER, MEYER-KLAUCKE és DIJKSTRA 2002). A röntgenkristallográfiás vizsgálattal megállapítható a szilárd komplexek kristály- és molekulaszervezete, szimmetriája, a kötéstávolságok és kötésszögek (STEINER, KOOTER és DIJKSTRA 2002).
- A Mössbauer-effektus lehetővé teszi a komplex központi atomján, a mag helyén az elektronsűrűség, illetve az elektronsűrűség-változás közvetlen mérését, és ezáltal információt nyújt a vizsgált atom (pl. Fe, Sn, Sb, Eu, Au) kémiai kötésében, oxidációs állapotában bekövetkező változásról. A koordinációs kémiai kölcsönhatás a Mössbauer-spektrumban izomereltolódást

valamint kvadrupóusfelhasadást hoz létre, ami lehetővé teszi a komplexek térszerkezetének megállapítását (NAGY és mtsai 1998).

➤ A magmágneses rezonancia spektroszkópia (^1H -, ^{13}C - és fém-NMR) segítségével – a rezonanciafrekvencia kémiai eltolódásából – meghatározható a mágneses momentummal rendelkező atommagok körüli elektronkonfiguráció, a komplex szerkezete, szimmetriája (BOUDET, CORNARD és MERLIN 2000). A spin-spin kölcsönhatás által létrehozott felhasadás révén nyomon követhetők a bekövetkező konformáció- és tautomer szerkezet-változások (ALLUIS és DANGLES 2001), valamint az intermolekuláris kölcsönhatások és protoncsere folyamatok is (THOMPSON, WILLIAMS és ELLIOT 1976).

➤ A tömegspektrometria az ionizált részecskék moláris tömegének, ezáltal a komplex összetételének felderítésében nyújt lehetőséget. Az elektronütközési ionizációt (ES-MS) alkalmazzák a lehetséges koordinálódott ligandumok azonosítására (FERRALI és mtsai 2001), dimerizációs és protonálódási folyamatok bizonyítására (DENG és VAN BERKEL 1998), valamint a részecskék töltésének meghatározására is (SATTERFIELD és BRODBELT 2000). A gyors atom ütközési ionizáció (FAB) során pozitív ionképződés történik, ami szintén lehetővé teszi a flavonoid-ligandumok szerkezet-felderítését (DE KOSTER és mtsai 1985). A MALDI-technika az anyag lézerefénnyel történő bombázása révén a molekulák enyhe ionizációját biztosítja, azok kevésbé töredeznek, mint más tömegspektrometriás vizsgálatok során – a felvételen kevesebb csúcs keletkezik – ezáltal az egyes részecskék jobban azonosíthatók összetett rendszerekben is (WANG és SPORNS 2000).

➤ Az elektronspínrezonancia spektroszkópia (ESR) információt nyújt a párosítatlan elektronok számáról és helyéről az átmenetifém-komplexekben, a központi atom energiaszintjeinek finomszerkezetéről (oxidációs állapotáról) (DRUZ, ANDERSONE és ANDERSONS 2001). Jól követhető a szabad gyök képződésével járó reakciók végbemenetele (JØRGENSEN és mtsai 1999), kimutatható az oldószerhatás (PEDRIELLI, PEDULLI és SKIBSED 2001). A módszer alkalmas a flavonoid-ligandumok antioxidáns hatásának vizsgálatára is (VAN ACKER és mtsai 1996).

➤ A ciklikus voltammetria jól alkalmazható a flavonoid-ligandumok oxidatív átalakulási lehetőségeinek analízisére (YANG, ARAI és KUSU 2001), komplexképződési folyamatának vizsgálatára, függetlenül attól, hogy a fémion oxidációs száma megváltozik-e (FERRALI és mtsai 2001), vagy sem (BODINI és mtsai 1999). A redoxi reakciók mechanizmusának megismerése mellett (JØRGENSEN és SKIBSTED 1998) megállapítható a folyamat reverzibilitása (YANG és mtsai 2001), és a reverzibilis elektródfolyamatban részvevő elektronok száma (JØRGENSEN és mtsai 1998).

➤ A kromatográfiás elválasztás az egyes komplexek szétválasztására, mennyiségi viszonyaikra és a koordinációs kémiai folyamatokra, valamint a komplexek inertségére egyaránt felvilágosítást ad. Egymáshoz hasonló szerkezetű vegyületek eltérő komplexképző sajátosságait felhasználva a HPLC technika segítségével egymás jelenlétében is meghatározhatók (VISWANATHAN, SRIRAM és YOGESWARAN 2000). Ez az analitikai eljárás a különböző fémionok mérésére is felhasználható komplexeik révén (TIAN és SCHWEDT 1995). Az ioncserés kromatográfia, vagy az elektroforézis alkalmazásával a komplexek molekuláris - ionos jellegéről (kation-, anion- vagy semleges komplex), a kötések kovalenciájáról lehet elsősorban tájékozódni (CHEN, ZHANG és YE 2000).

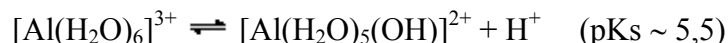
II.5.2. A flavonoidok alumínium-komplexei

A flavonoidok és az alumíniumion kölcsönhatása igen régóta ismert, mivel a festőcser (*Quercus tinctoria*) kérgének kivonatát – amelynek kvercetin tartalma kimagasló – általánosan használták hidrolizáló fémsókkal (elsősorban alumínium-vegyületekkel) pácolt textíliák színezésére. Ezen kívül az Al(III) kémiai analitikájában is alkalmazzák a flavon-származékokat (morint, kvercetint, kempferolt) az alumíniumion spektrofotometriás meghatározásra (BURGER 1969, CHERNAYA és MATYASHOV 1975; SAAD és mtsai 2002). Fordított folyamatban pedig az AlCl₃-ot használják a flavonoidok előhívó reagenseként a vékonyrétegekromatográfiában (GARCIA és mtsai 1993), valamint növényi drogvonatok kvercetintartalmának meghatározására is (BELIKOV és TOCHKOVA 1973). Az Al(III)-komplex képződését a HPLC-kromatográfiában is felhasználják testnedvek kvercetintartalmának rutinszerű meghatározására, illetve az érzékenység és szelektivitás fokozására (HOLLMAN, VAN TRIJP és BUYSMAN 1996). Feltételezik továbbá, hogy a flavonoid-komplexek képződése lehetővé teszi az alumíniumion koncentráció csökkentését az emberi szervezetben, megakadályozva ezzel az Alzheimer-kór kialakulását (ZATTA és mtsai 2002). A flavonoidok alumínium-komplexének koordinációs kémiai sajátosságait vizsgáló publikációk száma ezért meglehetősen nagy, de a kialakuló komplexek összetételének és stabilitásának tekintetében korántsem egységes a vélemény.

Az alumíniumion a leginkább hard tulajdonságú háromértékű fémion, ami meghatározza kémiai kölcsönhatásait. Erősen elektropozitív, nem polarizálható, elsődlegesen az erősen hard tulajdonságú bázisokkal lép reakcióba. Legstabilabb komplexeit a negatív töltésű oxigén donoratomot tartalmazó többfogú ligandumokkal képezi (YOKEL 2002).

Az alumínium vizes oldatban csak +3-as oxidációs állapotban van jelen, redoxireakciókban nem vesz részt. Vizes oldata savas kémhatású, mivel az [Al(H₂O)₆]³⁺ összetételű

hidratált kation protondonorként viselkedik, miközben $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})]^{2+}$, $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_2]^+$, stb. részecskék képződnek (GREENWOOD és EARNSHAW 1999):



Az $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})]^{2+}$ -ion mérhető koncentrációban pH \approx 4,0-nél kezd képződni, ennél savasabb kémhatás esetén az $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ -ion domináns az oldatban. A pH fokozatos emelése során az egymagvú részecskék deprotonálódása mellett OH-hidas többmagvú komplexek is megjelennek – pl. $[\text{Al}_2(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_8]^{4+}$ –, ami magyarázatul szolgálhat az Al(III) biológiai szerepének hiányára is.

Ahhoz, hogy a hidroxó-hidas oligomerek képződése is bekövetkezzen, az Al(III)-koncentrációnak egy bizonyos határ (néhány mmol/dm³) felett kell lenni. Az alumínium fiziológiai körülmények között (pH \approx 7) már nem ionos állapotú részecske formájában van jelen, mert már sokkal savasabb kémhatásnál alumínium-hidroxó-polimerek formájában kicsapódik az oldatból, és ezt a csapadékot a komplexképzők legnagyobb része nem tudja feloldani.

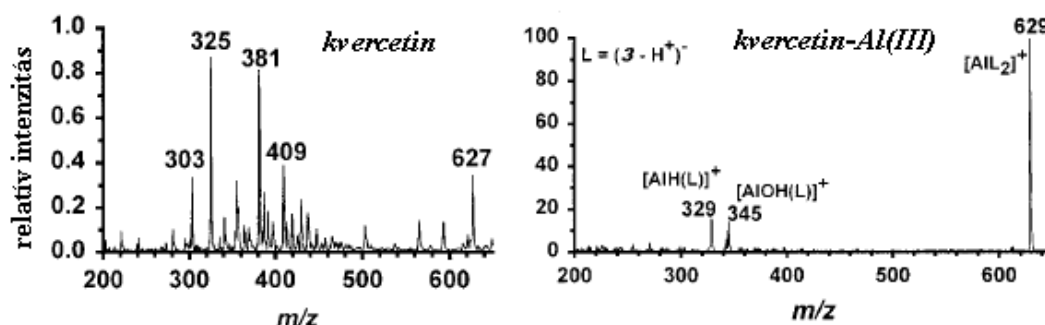
Az Al(III)-ion komplexképződés szempontjából általában mérsékelten labilis fémionnak tekinthető. A különböző Al(III)-komplexek ligandumcsere reakcióinak sebessége széles határok között változik. Néhány egyszerű szervetlen ligandummal a komplexképződés ezred másodpercnél is rövidebb idő alatt lejátszódik, de vannak olyan szerves komplexei is, amelyeknek képződése órák, napok vagy hetek alatt végbemenő folyamat, és ehhez a ligandumok lassú intramolekuláris átrendeződési reakciói is hozzájárulnak (KISS 1996). A biológiai rendszerekben a karboxilát-, a fenolát-, a foszfát- és az alkoholát a legerősebb Al(III)-kötő donorcsoportok. Az ilyen funkciós-csoportot tartalmazó biomolekulák vesznek részt leginkább az Al(III) felszívódásában, szállításában és feltehetőleg biológiai hatásának kifejtésében is (KISS és mtsai 2000).

PORTER és MARKHAM (1970) koordinációs kémiai vizsgálatai során metanolos oldatban részletesen tanulmányozta a kempferol, a morin, valamint a kvercetin és a rutin alumínium-komplexének spektrális sajátosságait, megállapították továbbá a komplexek összetételét. A semleges abs. metanolban végzett komplexképződési egyensúlyok vizsgálatát kiegészítették perklórsav és kálium-acetát tartalmú oldatokban folytatott kísérletekkel is. A kvercetin (Q) spektrumfelvételei alapján – alacsony fémion:ligandum aránynál – semleges és savas közegben egyaránt AlQ₂ részecske képződését feltételezték, viszont Al/Q \sim 1 esetén már az Al₂Q összetételt tartották valószínűbbnek. Kálium-acetát jelenlétében végzett vizsgálatuk nem egyféle komplex képződését mutatta. Úgy találták, hogy az 1:1 összetétel mellett kétféle bisz-

komplex is kialakulhat (a 3',4'-dihidroxi-kelát mellett vagy a 3-OH- vagy az 5-OH-csoportnál koordinálódik az alumínium). A rutin (Ru) esetében is AlRu és Al_2Ru összetételű komplexek kialakulását valószínűsítették semleges közegben, nagy Al(III) felesleg esetén. Perklórsav ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) jelenlétében felvett spektrumok alapján viszont feltételezték, hogy az Al(III) kelátkötést egyedül csak az 5-OH és 4-oxo csoportokkal létesít.

Az analitikai módszerek kidolgozása során BELIKOV és TOCHKOVA (1973) az Al(III) és a kvercetin 1:1 összetételű komplexének ($\lg K = 4,25$) keletkezését detektálták etanolos oldatban hexametilén-tetramin puffer jelenlétében. CHERNAYA és MATYASHOV (1975) ellenben megfigyelte, hogy növekvő kvercetin (Q) koncentráció esetén AlQ^{2+} , AlQ_2^+ és AlQ_3 komplexek képződnek, ha tisztán metanolos oldatban dolgoznak. Azonban metanol:víz = 40:60 elegy használata esetén csak AlQ^{2+} jelenlétét, és a moláris abszorpciós együtthatók jelentős mértékű csökkenését tapasztalták. SAAD és mtsai (2002) szennyvizek alumíniumtartalmának meghatározásakor vizes közegben, detergens jelenlétében viszont AlQ_3 komplex képződését tapasztalták ($\lg \beta = 13,41$).

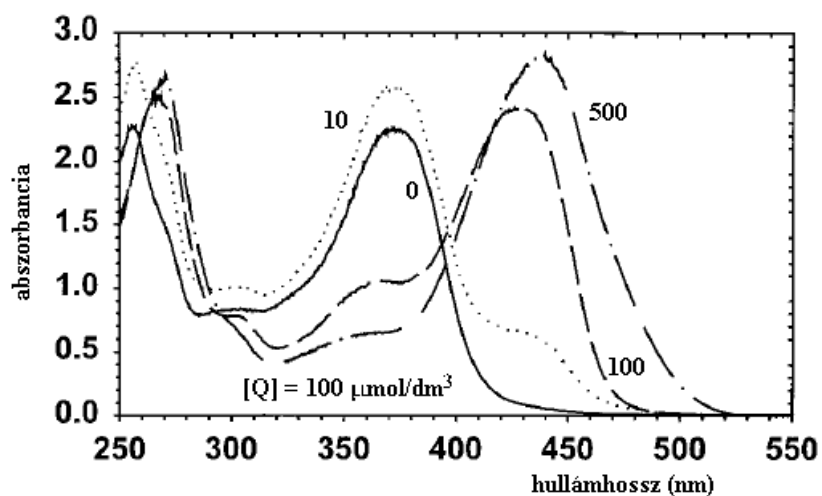
DENG és VAN BERKEL (1998) különböző oldószerekben vizsgálta a kvercetin és a kempferol alumínium-komplexeit. Az UV-VIS abszorpciós spektrum felvétel mellett elektronütközési ionizációt (ES-MS) alkalmaztak a komplexképződést kísérő dimerizációs és protonálódási folyamatok bizonyítására. Vizsgálataik célja volt a különböző oldószerek és oldószerelegyek hatásának tanulmányozása, és a komplexösszetétel meghatározása. Metanolban 1:1 = Al(III) :kvercetin koncentráció arány esetén is az $[\text{AlL}_2]^+$ összetételű komplex volt a domináns (35. ábra), míg acetonitrilben és propán-2-olban ez a részecske elhanyagolhatóan kis mennyiségben volt jelen.



35. ábra A kvercetin és a kvercetin- Al(III) -komplex metanolos oldatból felvett ES-MS spektruma (DENG és VAN BERKEL 1998) alapján

A komplex szerkezetére három, jelentősen eltérő koordinációs lehetőség is felvetnek, amelyek mindegyikében a 4-oxo-csoport kelát gyűrűjéhez (az 5-OH-val vagy a 3-OH-val) kapcsolódik az Al(III) . Sem az oldószerek koordinációját, sem a 3',4'-dihidroxi-csoportok kötését nem feltételezik.

A kvercetin komplexének kialakulását metanolos oldatban különböző Al(III)-koncentráció mellett felvett abszorpciós spektrummal is követték (36. ábra). Az a tény, hogy a görbék nem találkoznak egy közös izobesztikus pontban, felveti a többfajta fényelnyelő részecske (ligandum, különböző összetételű komplexek) egyidejű jelenlétét az oldatban. A görbék ilyen alakulása tapasztalatom szerint (BURGER és mtsai 1976b; MOLNÁRNÉ 1980) abból is következhet, hogy a vizsgált oldatban még nem állt be a kémiai egyensúly – ilyen jellegű utalás ugyanis hiányzik a publikációból. Az Al(III)-kvercetin-komplex képződése ugyan pillanat-szerűnek tűnik (az intenzív sárga szín azonnal kialakul), de kinetikai vizsgálataim szerint ez látszólagos csupán (MOLNÁRNÉ 1997).



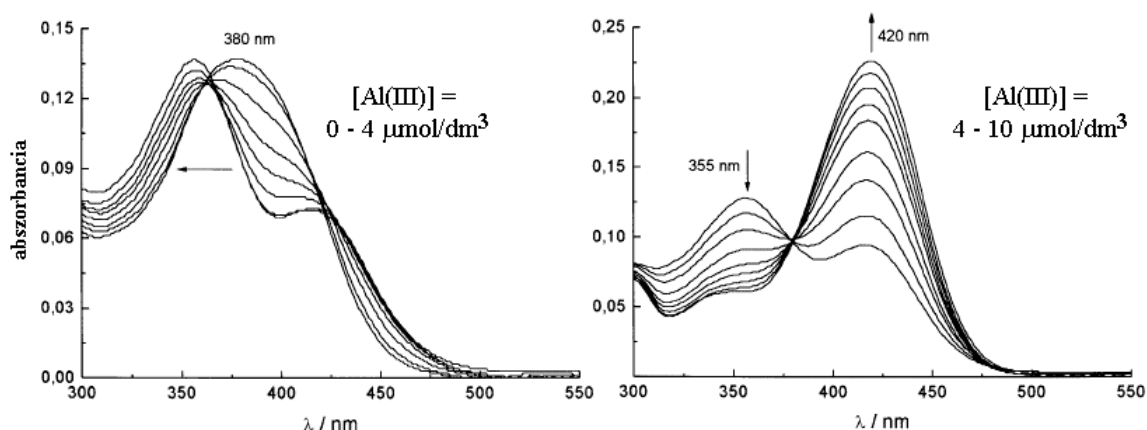
36. ábra A kvercetin abszorpciós spektrumának változása metanolos oldatban különböző Al(III) koncentráció esetén (DENG és VAN BERKEL 1998) alapján ([Q] = 100 µmol/dm³, [Al(III)] = 0 - 10 - 100 - 500 µmol/dm³)

ALLUIS és DANGLES (2001) szintén abszorpciós spektrumok felvételével tanulmányozta a kvercetin (Q) és rutin (Ru) alumínium-komplexét, gyengén savas kémhatású metanol : vizes acetát-puffer elegyben. AlQ, illetve AlRu összetételű komplexet feltételezve – a moláris abszorpciós együtthatók meghatározásával, a pH állandó értéken tartásával – lehetőségük nyílt a kvercetin és a rutin Al(III)-komplexének képződési állandójának számítására. A kvercetin származékainak vizsgálata révén megállapították, hogy az alumínium nem a 3',4'-dihidroxicsoporthoz koordinálódik, mert a 3'-származék esetén képződési állandó csökkenése helyett annak kismértékű növekedését tapasztalták a kvercetinhez képest (13. táblázat). A szerzők feltételezése szerint az alumínium a kvercetin 3-OH és 4-oxo csoportjain öttagú kelátgyűrű kialakításával kapcsolódik, mivel az 5-OH hidrogénje nagymértékben rögzített az intramolekuláris H-kötésben.

13. táblázat Az Al(III)-komplexek stabilitása (ALLUIS és DANGLES 2001) alapján

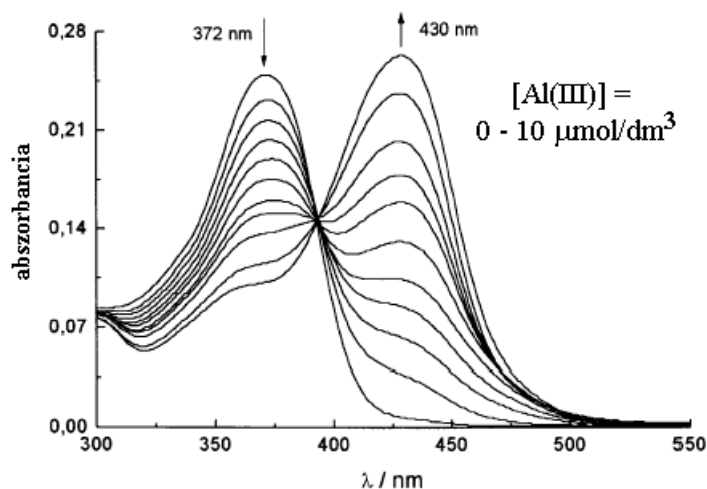
	$K \cdot 10^{-3}$ [dm ³ /mol]	oldószer
kvercetin	4,6 ($\pm 0,2$)	metanol : acetát puffer = 1:1 pH = 5,0
kvercetin-3'-glükózid	7,0 ($\pm 0,8$)	metanol : acetát puffer = 1:1 pH = 5,0
kvercetin-3-rutinozid	12,0 ($\pm 1,2$)	metanol : acetát puffer = 5:95 pH = 5,0

GUTIERREZ és GEHLEN (2002) kvercetin és morin alumínium-komplexek kialakulását metanolos oldatban UV-VIS abszorpciós spektrumok alapján detektálta. Állandó flavonoid és növekvő Al(III)-koncentrációt alkalmaztak, és a fényelnyelési görbék felvételére az egyensúly beállta után került sor. A morin esetében a spektrumváltozás két szakaszát tudták elkülöníteni. Először egy hipszokróm eltolódás figyelhető meg a spektrumsorozatban, amit egy újabb görbesor kialakulása követ (37. ábra). Az első szakaszt a morin molekula 4'-hidroxil-csoportján bekövetkező protonálódási egyensúlyának változásaként értelmezték, amelyet magasabb Al(NO₃)₃ koncentráció esetén a komplex kialakulása követett. Érvelésüket az is alátámasztotta, hogy salétromsavas metanolban (0,01 mol/dm³ HNO₃) csak a második (koordinációs) folyamat végbemenetelét tapasztalták.



37. ábra A morin alumínium-komplexének kialakulása metanolos közegben (GUTIERREZ és GEHLEN 2002) alapján ($C_{\text{morin}} = 10 \mu\text{mol/dm}^3$)

A kvercetin abszorpciós spektrumának változása ilyen jellegű változást nem mutatott, hanem azonnali batokróm eltolódás jelezte a komplex kialakulását, és a folyamat egyetlen izobesztikus pontot eredményezett a fényelnyelési görbesoron (38. ábra).



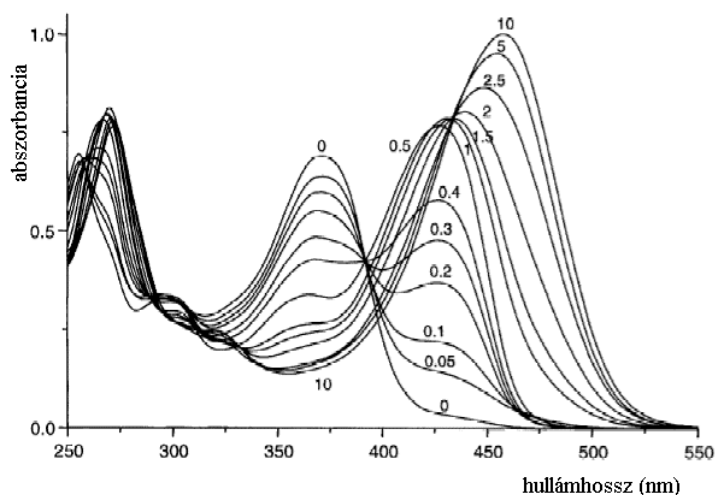
38. ábra A kvercetin alumínium-komplexének kialakulása metanolos közegben (GUTIERREZ és GEHLEN 2002) alapján ($C_{\text{kvercetin}} = 10 \mu\text{mol/dm}^3$)

A szerzők a keletkező részecskék típusára fluoreszcenciás spektrumok időbeli változása alapján következtettek. Megállapították, hogy savas közegben mind a két flavonoid 1:1 összetételű komplexet képez, míg a salétromsavat nem tartalmazó metanolos oldatban az Al: morin = 1:1 és 1:2 arányú részecskék vannak jelen, illetve a kvercetin (Q) esetében az Al_2Q , Al_2Q_3 fordul elő nagyobb mennyiségben. Koordinációs helyként mind a két flavon-származéknál a 4-oxo- és a 3-OH-csoportokat tartják valószínűnek, illetve a többmagvú komplexben a 3'- és 4'-OH-csoportok kelátkapcsolódását feltételezik.

CORNARD kutatócsoportja (2000-2003) szisztematikus elemzést végzett az Al(III) és a hidroxiflavonok között létrejövő komplexek összetételének, szerkezetének és sajátosságainak felderítése terén. Vizsgálataik során UV-VIS abszorpciós, Raman és NMR spektroszkópiás felvételeket készítettek, valamint kvantummechanikai számításokat végeztek.

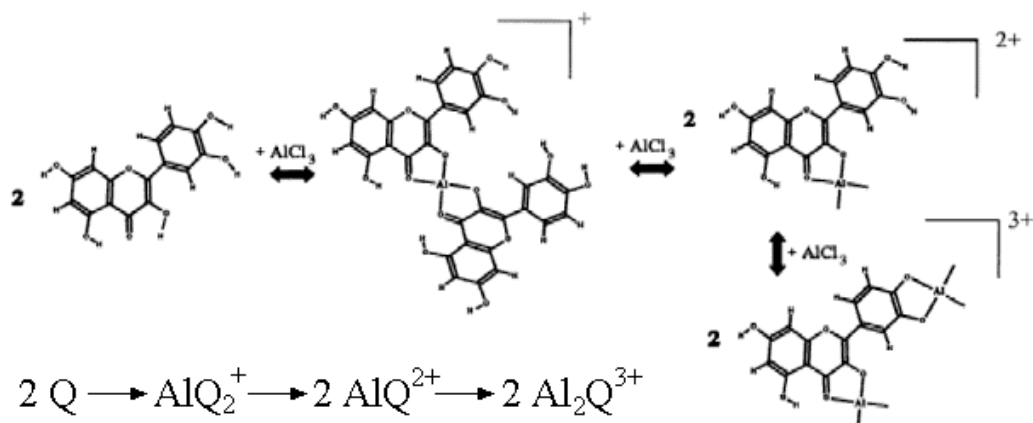
A kvercetin komplexképződését CORNARD és MERLIN (2002a) metanolos oldatban, semleges, savas és bázikus körülmények között tanulmányozta. A méréseket mindegyik esetben állandó kvercetin ($4 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$) és változó AlCl_3 koncentráció ($4 \cdot 10^{-7} - 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$) mellett végezték. A közeg kémhatásától függően jelentősen különböző folyamatokat detektáltak, és a komplexek kialakulásának mértéke is nagymértékben eltért.

Semleges oldatban a komplexképződés három szakaszát tudták elkülöníteni (39. ábra). Kis mennyiségű Al(III) jelenléte esetén ($[\text{AlCl}_3]/[\text{Q}] < 0,5$) fokozatosan csökken a kvercetin abszorpciós csúcsa (372 nm), miközben 428 nm-en új sáv alakul ki, és a görbék 392 nm-en izobesztikus pontban találkoznak. Feltételezésük szerint ekkor az AlQ_2^+ összetételű komplex alakul ki.



39. ábra A kvercetin-alumínium-komplex kialakulása metanolos oldatban különböző $[AlCl_3]/[Q]$ molarányok esetén (CORNARD és MERLIN 2002a) alapján

Az alumíniumion koncentráció növelésével újabb izobesztikus pont (434 nm) és újabb abszorpciós maximum (456 nm) mutatkozik, azaz két egymástól független szakaszban történik a különböző komplexek kialakulása. A növekvő fémion tartalom hatására csak akkor kezdődik más összetételű komplex képződése, ha a kvercetin teljes mennyisége kötött állapotba került. A szerzők szerint ekkor az AlQ^{2+} részecske, mint átmeneti összetételű komplex, további fémion felvételével Al_2Q^{3+} -vá alakul (40. ábra).



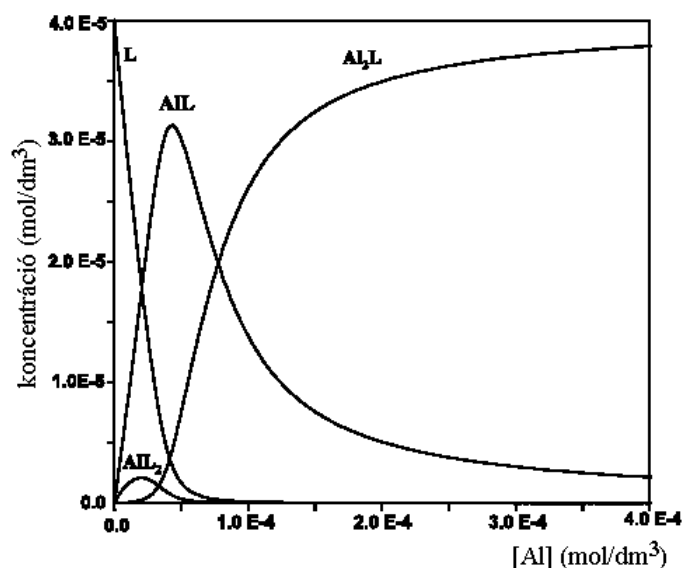
40. ábra A kvercetinkomplexek kialakulása növekvő mennyiségű $AlCl_3$ hatására (CORNARD és MERLIN 2002a) alapján

A két fényelnyelési maximum hullámhosszán mért adatokból mól-arány módszerrel meghatározták a részecskék összetételét, ezzel bizonyították a komplexekben az $Al(III):Q = 1:2$ és $2:1$ arányokat. Véleményem szerint a spektrumsorozat alapján valószínűleg az $1:1$ arányú részecske tartós jelenléte is bizonyítható lett volna, ha a molarány módszert az első izobesztikus pont hullámhosszán is alkalmazzák.

CORNARD és MERLIN (2002a) szerint az alumínium koordinációs szférájában metanolmolekulák kapcsolódnak a szabad helyekre, valamint a kelátkötés elsődlegesen a 4-oxo- és a

3-OH-csoportok révén jön létre, illetve nagy Al(III)-felesleg esetén a 3',4'-dihidroxi-csoportoknál történik kapcsolódás. A szerzők elgondolásukat a savas és lúgos közegű mérések, valamint monohidroxi-flavonok korábbi vizsgálati eredményére is alapozzák. Metanol-víz (90:10) elegyben sósav jelenlétében (pH = 2,5) még 100-szoros Al(III)-felesleg esetén is csak 1:1 összetételű kvercetin-komplex kialakulását tapasztalták, amelyben az alumínium koordinációját a 3-OH-csoporttal kialakuló keláthoz rendelik. Ezt támasztja alá az is, hogy a 3',4'-dihidroxi-flavon savas közegű vizsgálatokor egyáltalán nem észleltek komplexképződést (CORNARD, BOUDET és MERLIN 2001). Nátrium-acetátot tartalmazó oldatban (0,1 mol/dm³) még határozottabban tudták detektálni az egymást követő folyamatokban az Al(III):Q = 1:2, 1:1 és 2:1 összetételű komplexek jelenlétét, mivel a lépcsőzetes komplexképződés egyes szakaszai jobban elkülönültek. A kvercetin gyengén lúgos oldatban felvett abszorpciós spektrumán 382 nm-nél észlelték a fényelnyelés maximumát, és az Al₂Q³⁺ komplexre jellemző 456 nm-es csúcs kialakulását itt is nyomon lehetett követni. Nem említik a szerzők, hogy ilyen közegben a kvercetin abszorpciós spektruma időben milyen állandóságot mutatott, utalnak ugyanakkor arra, hogy lúgosabb közegben a kvercetin gyors átalakulása figyelhető meg.

CORNARD és MERLIN (2002b) a rutinhoz hasonló szerkezetű izokvercitrin (kvercetin-3-glükozid) (Iso) alumínium-komplexének kialakulását is vizsgálta, és az UV-VIS abszorpciós spektrumsorozat hasonlósága ellenére lényeges különbségeket tapasztaltak az aglikonhoz viszonyítva. A korai 1970-es évek rutinra vonatkozó publikációira (pl. PORTER és MARKHAM 1970) alapozva a szerzők a fényelnyelési görbék alapján először csak kétféle komplex létrejöttét feltételezték. Úgy vélik, hogy alacsony Al(III) koncentráció esetén az Al(Iso)⁺ összetételű komplexben az alumínium a 4-oxo- és 5-OH-csoportokhoz kapcsolódik, majd növekvő fémion koncentrációnál fokozatosan a 3',4'-dihidroxi-csoportnál is kialakul egy újabb kelátkötés, és Al₂(Iso)³⁺ komplex jön létre. A stabilitási állandó számítása során azonban akkor kapták a legkisebb szórású állandókat, és a mérési adatokra legjobban illeszthető számított képződési görbét, ha az Al(Iso)₂⁺ komplex jelenlétét is figyelembe vették. A részecske-eloszlási görbén (41. ábra) láthatóan nem domináns ez a forma, de a számítási eredményeket lényegesen módosítani tudja. Az is megfigyelhető a görbéken, hogy a kvercetinhez hasonlóan az *o*-difenol-csoport kelátképzése csak azután következik be, amikor már a ligandum teljes mennyisége kötött formában van jelen, vagyis a komplexképződési folyamat két egymást követő, független lépés eredménye.



41. ábra *A kvercetin-3-glükozid szabad- és különböző komplexben kötött alakjainak koncentrációja az alumínium koncentráció függvényében metanolos oldatban (CORNARD és MERLIN 2002b) alapján*

Mivel a 3-glükozidszármazékok lúgos közegben általánosan kisebb mértékű bomlást mutatnak, mint az aglikonok, ezért a nátrium-acetát jelenlétében végzett vizsgálat további információval szolgált a komplexképződés során kialakuló részecskék jellegéről. A fényelnyelési maximum (359 nm) batokrom eltolódásának (378 nm) mértékéből a szerzők a kvercetin-3-glükozid molekula egyszeresen disszociált alakjának jelenlétére következtettek, és a negatív töltés jelenlétét a 4'-OH-csoporthoz rendelték. Az 1:1 összetételű komplexben kialakuló kelát helyét a B-gyűrű katechol-csoportjánál azonosították, ami jelentős különbség a semleges oldathoz képest, ahol először a 4-oxo- és 5-OH- kelát létrejöttét feltételezik. Magas alumínium-koncentráció mellett nem tapasztaltak különbséget a semleges és a gyengén lúgos oldatban keletkező komplex felépítésében.

CORNARD és MERLIN (2003) a többéves kísérletes munkájukat összefoglaló közleményükben általános tendenciákat tudnak bemutatni a flavonoidok koordinációs helyeire, az adatok kémhatására vonatkozóan, és megadják a különböző összetételű komplexekre számított stabilitási állandókat (14. táblázat).

14. táblázat *A hidroxiflavonok alumínium-komplexeinek összetétele és stabilitási állandója (CORNARD és MERLIN 2003) alapján*

ligandum	összetétel	lg β	ligandum	összetétel	lg β
3-hidroxi-flavon	AlL_2^+	12,3	3',4'-dihidroxi-flavon	AlL^+	6,7
5-hidroxi-flavon	AlL^{2+}	6,5	kvercetin-3-glükozid	AlL^{2+}	6,5
kvercetin	AlL_2^+	11,8		AlL_2^+	10,5
	Al_2L^{3+}	10,2		Al_2L^{3+}	11,2

A kutatócsoport kvantumkémiai számításokat is végzett ezen flavon-származékok alumínium-komplexeire (15. táblázat). A térszerkezeti változások ismerete hozzájárul a szakirodalomban közölt kísérleti eredmények átfogó értelmezéséhez, hogy a kvercetin Al(III)-komplexének kialakulásakor milyen hatásokat célszerű figyelembe venni.

15. táblázat *A flavon-származékok és komplexeik geometriája*

a C-B gyűrű rotációs szöge (fok)				közlemény
szabad molekulában		Al(III)-komplexben		
3-hidroxi-flavon	27,88	AlL ₂	15,15	(BOUDET, CORNARD és MERLIN 2000)
5-hidroxi-flavon	28,1	[AlL(H ₂ O) ₄] ²⁺	7,6	(CORNARD és MERLIN 2001)
3'4'-dihidroxi-flavon	28,4	AlL	30,1	(CORNARD, BOUDET és MERLIN 2001)
kvercetin	26,7	[AlL ₂] ⁺	8,8	(CORNARD és MERLIN 2002a)
		[Al ₂ L] ³⁺	2,4	
kvercetin-3-glükózid	-14,3	[AlL(H ₂ O) ₄] ²⁺	-6,3	(CORNARD és MERLIN 2002b)
		[Al ₂ L(H ₂ O) ₈] ³⁺	27,8	

Az energiaminimum számítások során figyelembe vették a legvalószínűbb koordinációs számok előfordulását, illetve az oldószer jelenlétét. Meglepő módon az 5-hidroxi-flavon esetén az AC-B síkok által bezárt szög sokkal nagyobb mértékű változását tapasztalták a komplexképződés során, mint a 3-hidroxi-flavon esetében – amit a nagyobb stabilitású hatagú kelát létrejöttével magyaráztak. Feltételezték továbbá, hogy az 5-hidroxi-flavon [AlL(H₂O)₄]²⁺ komplexében nem kizárható egy gyenge kölcsönhatás kialakulása a heterociklus 1O atomja és a B-gyűrű 6'C hidrogénje között, vagyis a kapcsolódási helyek elektroneloszlásának módosulása az egész molekulára kiterjedő szerkezetátalakulást idéz elő. A számítások alapján legkevésbé a B-gyűrűn lévő *o*-difenol csoport komplexbevitelére változtatja meg az eredeti rotációs szöveget, a kialakuló koordinatív kötés alig befolyásolja a teljes molekula szerkezetét. A kvercetinben és 3-glükózidjában a B-gyűrű rotációs szöge egymástól teljesen eltérő módon változik meg az analóg összetételű komplexeik létrejöttékor. A szerzők szerint ennek kiváltó oka lehet az a tény, hogy míg a kvercetin koordinációja az alumíniumhoz a 4-oxo- és 3-OH-csoportok kelátgyűrűjén keresztül történik, addig a 3-glükózid esetében a 4-oxo- és az 5-OH- csoportoknál valószínűsíthető a kapcsolódás.

II.5.2.1. Észrevételek és megjegyzések az alumínium-flavonoid komplexek irodalmához

A kvercetin alumínium-komplexének kialakulásával foglalkozó publikációkban közölt abszorpciós spektrumsorozatok jellegzetes formája – a növekvő Al(III)-koncentráció hatására létrejövő izobesztikus pont (38. ábra) – minden esetben arra utal, hogy az oldatban egyide-

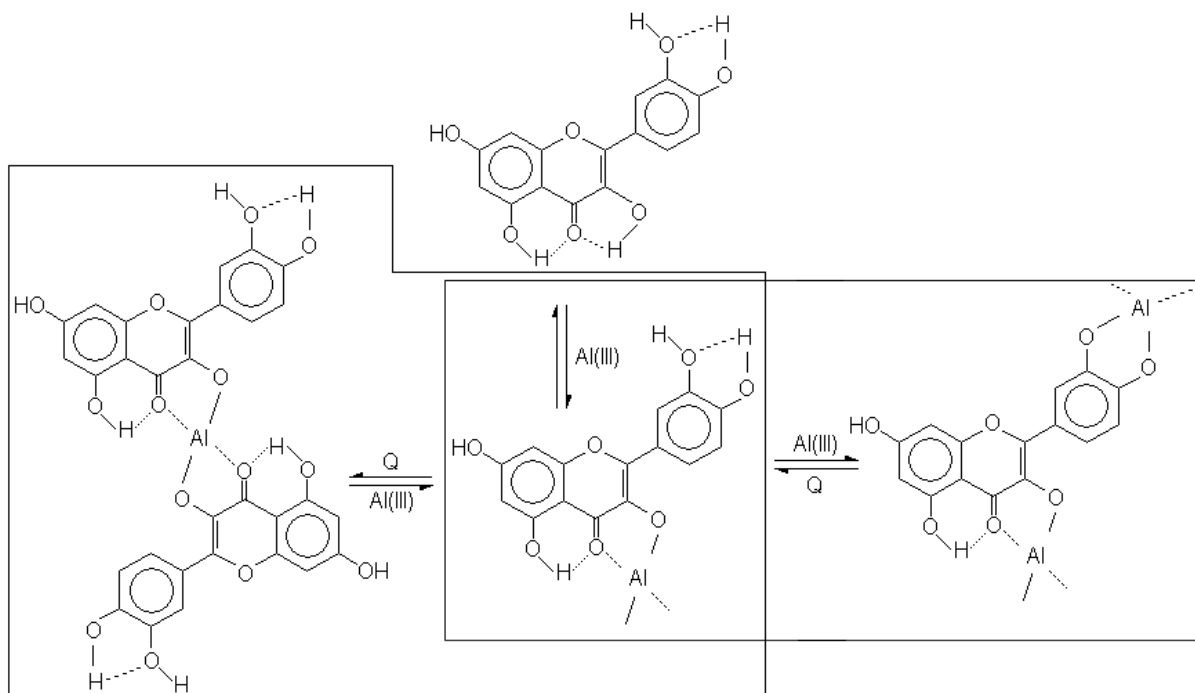
júleg csak kétféle, egymással egyensúlyban lévő fényelnyelő részecske található. Ezek egyike maga a kvercetin molekula, a másik pedig valamilyen összetételű komplex. Azonban a komplexegyensúlyt kvantitatívan leíró képződési görbék számítása során több kutatócsoport szembesült azzal a helyzettel, hogy további, nem észlelt részecske jelenlétét is figyelembe kellett venni a mért és számított adatok kisebb szórású egyezéséhez.

Véleményem szerint az lehet az ellentmondás egyik lehetséges feloldása, hogy az AlQ és az AlQ₂ részecske fényelnyelése a vizsgált tartományban közel azonos (sajnos az egyes részecskékre meghatározott moláris abszorpciós együtthatókat egyik közleményben sem ismeretik). Mivel CORNARD és MERLIN (2002a) publikációjukban utalnak is rá, hogy a kvercetin szempontjából e kétféle komplexben a ligandum szerkezete nem különbözik jelentősen, feltételezhetőnek tartom a nagyon hasonló fényelnyelési sajátságot, amit az UV-VIS spektrumok érzékenysége mellett nem lehet külön-külön detektálni. A derivatív spektrumok alapján viszont ki lehetne mutatni a sávok összetettségét, vagyis, hogy az izobesztikus pont csak látzólagos, és ténylegesen több mint kétféle fényelnyelő részecske van jelen az oldatban.

Az alumínium-kvercetin komplexek képződését leíró egyensúlyi folyamatokat véleményem szerint két független ágra kellene szétválasztani, és mindkét részlépésnek az 1:1 összetételű AlQ komplexből kellene kiindulni. A CORNARD és MERLIN (2002a) által javasolt séma (40. ábra) nagyon jól magyarázza a koordinált részecskék mennyiségi szempontjából a folyamatokat, azonban a komplexképződés ilyen módon végbemenő egyensúlyi lépései nehezen elképzelhetők mind a fémion, mind a ligandum tekintetében.

Ha feltételezzük, hogy első lépésként a metanol molekulákkal koordinált Al(III) azonnal két kvercetin molekulát köt meg, és ezt követi a nagyobb alumíniumion koncentráció hatására az 1:1 összetételű komplex kialakulása, akkor több kérdés merül fel, amelyeket a közleményekben nem tártak fel. Ilyenek például, hogy milyen hatásra disszociál az AlQ₂ összetételű komplex, hogyan fér be a koordinációs szférába a második alumíniumion, vajon a közölt stabilitási állandók (K_1 és K_2) meg tudják-e magyarázni ezt a fordított sorrendiséget?

Személyes koordinációs kémiai tapasztalatom alapján (MOLNÁRNÉ 1980-2003) sokkal inkább elfogadhatónak látom a folyamat olyan szemléletét, amely az AlQ komplex képződésén keresztül próbálja leírni a változásokat (42. ábra). Elképzelésem szerint az AlQ és AlQ₂ részecskék közötti dinamikus egyensúly révén a fémion és a ligandum relatív arányától függően kerül túlsúlyba a megfelelő összetételű komplex. Összemérhető koncentrációk esetén inkább az AlQ van jelen nagyobb mennyiségben, és ez a részecske további Al(III) hatására egy másik komplexképződési egyensúlyban alakul át Al₂Q összetételű bisz-komplexszé.



42. ábra A kvercetin – alumínium egyensúly két szakaszának lehetséges elkülönülése

A koordináció ilyen jellegű alakulását alátámaszthatja a folyamatok fordított körülmények között megvalósított vizsgálata, vagyis állandó fémion koncentráció mellett a ligandum mennyiségének változtatása. A részletes ismertetésre a saját mérési eredményeimet bemutató részben kívánok kitérni.

A másik szembevetendő hiányosság valamennyi publikációban, hogy nem foglalkoznak az alumíniumion saját koordinációs szférájának változásaival. Minden esetben úgy kezelik az Al(III) jelenlétét, mintha az a vizsgált körülmények között Al^{3+} -ion formában lenne – holott ez biztosan nem igaz. A kvercetinhez történő koordinációs folyamat kiindulási pontjaként az alumínium hexaakva-komplexe – $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ – vagy annak különböző mértékben deprotonált részecskéi – $[\text{Al}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ és $[\text{Al}(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_4]^+$ – jöhetnek számításba. Vagyis az egyensúlyi állandók számítása során figyelembe kellett volna venni egyrészt a $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Q}$ ligandumcsere reakciókat, valamint a kvercetin és az Al(III) protonálódási folyamatait is.

Nem utalnak arra a körülményre sem, hogy a növekvő Al(III) koncentrációval miként változott az oldat kémhatása. Tapasztalatom szerint ilyen feltételek mellett (puffer alkalmazása nélkül) az oldat növekvő fémion-koncentrációja a pH jelentős mértékű csökkenését vonja magával (MOLNÁRNÉ 1997), vagyis nagyon lényegessé válnak a komplexképződés mellett párhuzamosan lejátszódó sav-bázis folyamatok. Közel semleges ($\text{pH} \approx 5$), vagy gyengén lúgos közegben ($0,1 \text{ mol/dm}^3$ nátrium-acetát) pedig nemcsak a kvercetin szerkezetének átalakulása zavarhatja a koordinációs lépést, hanem a többmagvú alumínium-hidroxo-oligomerek

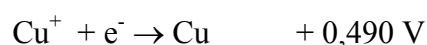
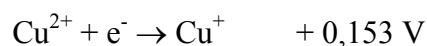
kialakulása is. Ezek jelenléte, és egyetlen részecskeként történő kapcsolódása a kvercetinhez is okozhat olyan eredményt, ami azt mutatja, hogy Al_2Q összetételű komplex keletkezik. Ekkor azonban nem a kvercetin két különböző helyén jön létre a kötés (nem bisz-komplex alakul ki), hanem a többmagvú alumínium-hidroxo-komplex koordinálódik a flavonoid-ligandumhoz (MOLNÁRNÉ 2002a).

II.5.3. A flavonoidok kölcsönhatása réz(II)ionnal

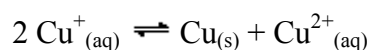
A flavonoid – réz(II) kölcsönhatásnak a kémia számos területén nagy jelentősége van, így vizsgálata az 1950-es évekig visszanyúlik (DETTY, HESTON és WENDER 1955). A flavon-származékok vékonyrétegekromatográfiás kimutatásában például a réz-szulfát tartalmú Benedict-reagenst is alkalmazták előhívóként, amely a kvercetinrel narancs-, a rutinnal pedig sárga színű vegyületet képez (CONDE, CADAHÍJA és GARCIA-VALLEJO 1992). A flavon-származékokkal képzett komplexek szerepet játszanak a faanyagban történő a Cu(II)-ionmegkötődésben és -fixálódásban is (MCDONALD, MILA és SCALBERT 1996). A kölcsönhatás során lejátszódó folyamatok vizsgálata napjainkban szorosan illeszkedik a flavon-származékok antioxidáns hatásának tanulmányozásához (VAN ACKER és mtsai 1998), továbbá a folyamat mechanizmusának felderítéséhez (MIRA és mtsai 2002). Az átmeneti fémek flavonoid-komplexei meggátolják, hogy ezek a fémionok (elsősorban a réz és a vas) szabad gyököt generáló reakciókban vegyenek részt (FERNANDEZ és mtsai 2002). Az *in vitro* végzett kutatások főként a réz-flavonoid-komplexek kialakulása és az oxidáció lehetősége között keresnek kapcsolatot (BROWN és mtsai 1998).

Vegyületeiben és kémiai folyamatokban a réz kétféle oxidációs állapotban fordul elő: Cu(II)- és Cu(I) formában. Vizes oldatban a Cu(II) stabilis, kék színű, hidratált $[Cu(H_2O)_6]^{2+}$ kation alakjában van jelen, enyhén hidrolizál.

A Cu^+ -ionok könnyen diszproporcionálódnak, ami jól értelmezhető a Cu^{2+} két lépésben lejátszódó redukciójával:



A pozitívabb standard redoxipotenciálú Cu^+/Cu oxidálja a Cu^{2+}/Cu^+ rendszert, ezért a reakció a diszproporcionálódás irányába tolódik el (GERGELY, ERDŐDI és VEREB 2001):

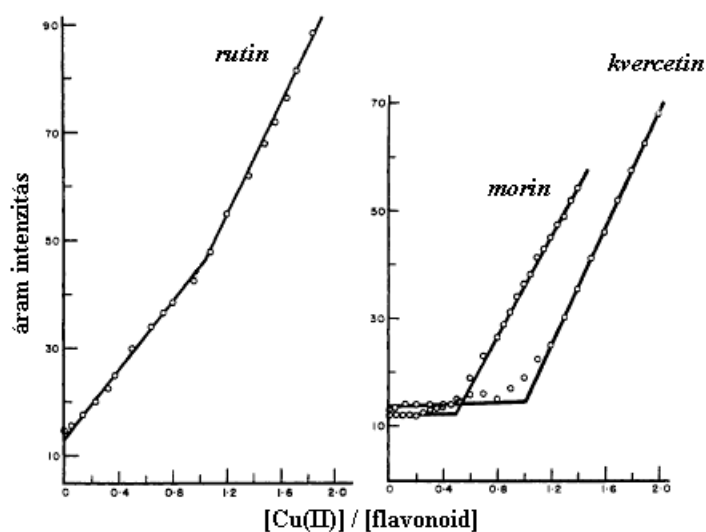


Különböző komplexképző ligandumok jelenlétében a réz(II)-, illetve a réz(I)-állapot egyaránt stabilizálódhat (KÖRÖS 1980). A Cu^{2+} a kationok Pearson-féle csoportosításában hard és soft jelleget is mutat. A Cu^+ -ion lágyabb Lewis-sav, mint a Cu^{2+} , és vizes oldatban csak kis mértékben hidratálódik. Apoláris oldószerekben a Cu^+ termodinamikai stabilitása fokozódik: pl. acetonitrilben a Cu^+ nem diszproporcionálódik, és a Cu^{2+} erős oxidálószerként hat.

A réz(II)ionok az oxigén donoratomot tartalmazó ligandumokkal stabilis komplexet képeznek, amelyek színe legtöbbször kék vagy zöld, egyetlen széles fényelnyelési sávval. A réz(II)ion komplexvegyületeiben a leggyakoribb koordinációs szám a 4, 5 és 6, de szabályos geometriák csak ritkán fordulnak elő, és a síknégyzetes és tetragonálisan torzult oktaédes szerkezetek között nem könnyű különbséget tenni (GREENWOOD és EARNSHAW 1999).

A réz(II) és a kvercetin, illetve a rutin kölcsönhatása – a megegyező koordinációs lehetőségeik ellenére – alapvetően különbözik egymástól. Eltérő komplexképző sajátságait számos publikációban ismertették.

DETTY, HESTON és WENDER (1955) több Cu(II)-flavonoid komplex összetételét amperometriás titrálással határozta meg. A méréshez olyan feszültség értékeket választottak, amely alacsonyabb a vizsgált flavonoid féllépcsőpotenciáljánál (ezzel kiküszöbölték az elektrokémiai oxidációt), de magasabb, mint ahol a Cu(II) redukálódhatna. Vizsgálatuk szerint vizes pufferoldatban a kvercetin és a rutin is 1:1 mólarányú komplexet képez a réz(II)-ionokkal (43. ábra).



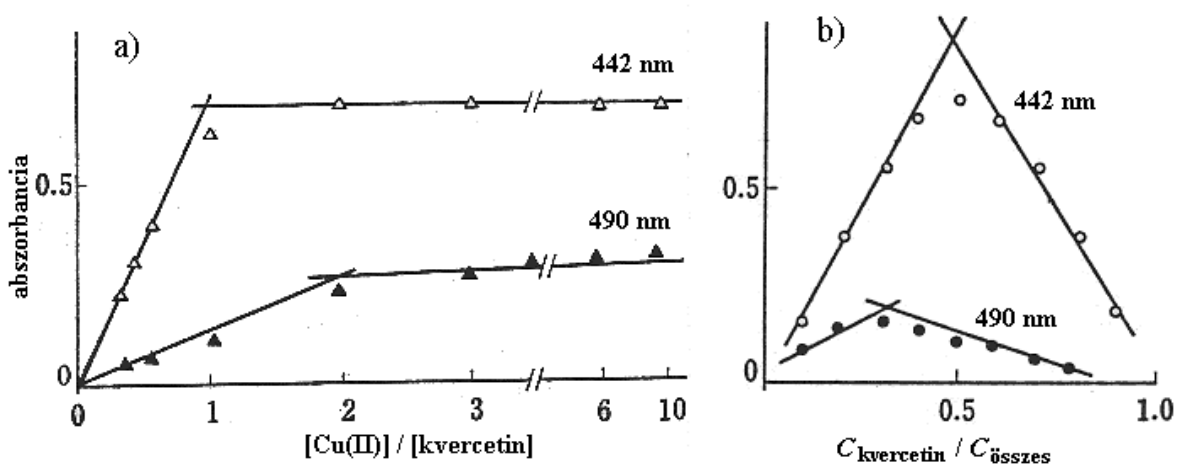
43. ábra A rutin ($\text{pH} = 7,0$), a morin ($\text{pH} = 9,3$) és a kvercetin ($\text{pH} = 7,5$) réz(II)-szulfáttal történő amperometriás titrálásának görbéje (DETTY, HESTON és WENDER 1955) alapján

MAKASHEVA és GOLOVKINA (1973) potenciometrikus és spektrofotometriás módszerrel vizsgálta a $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ és a kvercetin (HQ) komplexképző reakcióját etanol:víz elegyben (pH = 4,5-5,5 tartományban). A koordinációs folyamatban CuQ^+ és CuQ_2 összetételű komplexeket azonosítottak, és a stabilitási állandókat is meghatározták ($K_1 = 4,1 \cdot 10^6$, $\beta_2 = 6,8 \cdot 10^{12}$).

TAKAMURA és SAKAMOTO (1978) spektrofotometriás módszerrel metanolos oldatban vizsgálta a réz(II) és a kvercetin, valamint a rutin komplexek kialakulását.

Tapasztalatuk szerint növekvő réz(II) koncentráció hatására a rutin abszorpciós maximuma csökken, és egy új sáv alakul ki, a görbesorozat jól illeszkedő izobesztikus pontban találkozik. A komplex képződése azonban még magas réz-koncentráció esetén sem válik teljessé. A kialakuló komplex összetétele molarány módszerrel és folytonos variáció módszerével egyaránt 1:1 = fémion:ligandum arányt mutatott.

Ezzel szemben a kvercetin abszorpciós spektruma alapján a szerzők csak azt tudták megállapítani, hogy többféle fényelnyelő részecske van jelen az oldatban. A komplex összetételét – különböző hullámhosszon elvégezve a meghatározást – egymástól eltérőnek (CuQ és Cu_2Q) találták (44. ábra). Nátrium-acetát tartalmú oldatban nem kaptak komplexkémiailag szempontból értékelhető spektrumokat, amit a réz(II) jelenlétében bekövetkező katalitikus oxidációnak tulajdonítottak. Kvantitatív eredményeket (stabilitási állandókat) a szerzők nem tudtak megadni, mivel nem állt rendelkezésükre sem a kvercetin, sem a rutin – az adott oldószerben meghatározott – protonálódási állandója.

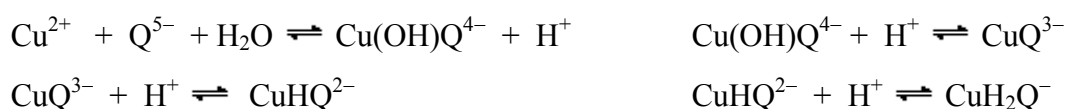


44. ábra A Cu(II) -kvercetin komplex összetételének meghatározása metanolos oldatban a) molarány módszerrel és b) folytonos variáció módszere szerint (TAKAMURA és SAKAMOTO 1978) alapján

ESCANDAR és SALA (1991) a kvercetin és a rutin protonálódási állandóinak meghatározása mellett (9. táblázat) vizsgálta ezen flavonoidok réz(II)-vel és vas(III)-mal képzett komplexek egyensúlyát is (vizes közegben, NaNO_3 jelenlétében). A flavonoidok lúgos oldását

követően végezték el a pH, és a fémion:ligandum arány beállítását, majd NaOH adagolással potenciometrikus titrálást végeztek.

A kvercetin (H_5Q) vizsgálata során, 1:1 =Cu(II):ligandum arány beállítása mellett, a titrálás elején (pH \approx 3 - 5 között) csapadék jelent meg az oldatban, amit a semleges CuH_3Q részecske kis oldhatóságával magyaráztak. Növekvő pH hatására – a fokozatos deprotonálódási lépések miatt – az oldat kitisztult. A szerzők az alábbi folyamatokat feltételezik, amelyek véleményük szerint az adott körülmények között befolyásolhatják a koordinációt:



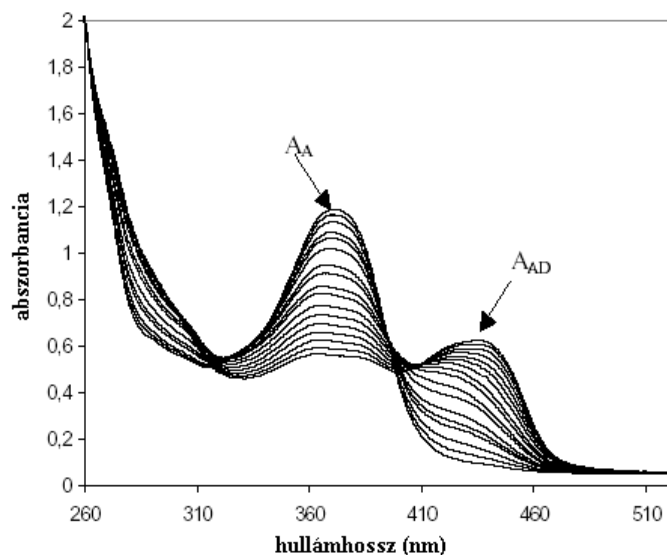
A kvercetin 2:1 Cu(II):ligandum aránynál végzett potenciometrikus titrálása a szerzők szerint kétmagvú komplex képződését jelezte, melyben két-két OH-csoport is koordinálódik a rézekhez. A $Cu(OH)Q$ részecske képződésére meghatározott stabilitási állandó irreálisan nagy ($\lg K = 19,30$).

A rutin vizsgálata (H_4Ru) szembeötlően más eredményt mutatott, mind az 1:1 mind a 2:1 Cu(II):ligandum arányú oldatban. Ebben az esetben a titrálás elején (alacsony pH-kon) tükrös oldat fokozatosan zavarossá vált, amit a szerzők a $Cu(OH)_2$ csapadék megjelenésével indokoltak. A Cu(II):rutin = 1:2 koncentráció alkalmazása viszont a teljes titrálási tartományban csapadékmentes oldatot eredményezett. A $Cu(Ru)_2$ részecskére számított bruttó stabilitási állandó a kvercetinhez hasonlóan valószínűleg magas érték ($\lg \beta = 23,51$).

Mint a protonálódási állandó meghatározásának összefoglaló fejezetében már említettem a szerzők által kivitelezett vizsgálati módszer elve kifogásolható, mivel a kvercetin lúgos oldása során nem csak disszociációs folyamat megy végbe, hanem molekulaszervezete is megváltozik (MOLNÁR-HAMVAS és mtsai 2002), így a stabilitási állandóra kapott eredmények nem fogadhatók el.

SOCZYŃSKA-KORDALA és mtsai (2001) a kvercetin és rutin réz(II)-vel, ólom(II)-vel és vas(II)-vel alkotott komplexeinek stabilitási állandóját metanolos oldatban határozták meg. A pontos mérési körülmények (ionerősség, koncentrációk, kémhatás) azonban nem ismertek, mivel eredményeiket csak egy rövid közleményben ismertetik.

A kvercetin réz-komplexének kialakulását spektrofotometriásan követték állandó kvercetin és változó Cu^{2+} koncentráció alkalmazása mellett 1:1 = fémion:ligandum arányig (45. ábra).



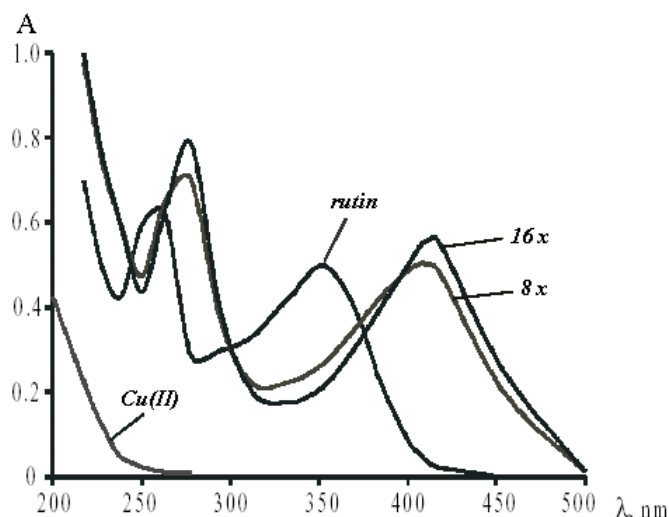
45. ábra *A kvercetin ($48,8 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$) titrálása metanolban réz(II)-ionokkal 1:1 arányig (SOCZYŃSKA-KORDALA és mtsai 2001) alapján*

A Cu(II) koncentrációjának függvényében jól detektálható a koordinációs folyamat a kvercetin fényelnyelésének fokozatos csökkenésével (A_A), illetve a komplex magasabb hullámhosszú abszorpciós sávjának kialakulásával (A_{AD}). A spektrumsorozat alapján ilyen mértékű rézion felesleg valószínűleg nem biztosítja a teljes komplexképződést.

Számításaik szerint metanolos oldatban közel azonos stabilitású komplexet képez a kvercetin ($K = 3,4 \cdot 10^4 \text{ dm}^3/\text{mol}$) és a rutin ($K = 2,34 \cdot 10^4 \text{ dm}^3/\text{mol}$).

MEL'NIKOVA, IOFFE és TSAREVA (2002) vizes közegben (pH = 6,4) egyéb adalék hozzáadása nélkül vizsgálta a kvercetin, rutin és dihidro-kvercetin valamint réz(II)-acetát között lejátszódó reakciót. A kvercetin és rézionok kölcsönhatása 1:1 mólaránynál azonnal megmutatkozott a vizes oldat sárgásbarna elszíneződésében (a 370 nm-es fényelnyelés teljesen eltűnt). A folyamat sötétbarna csapadék keletkezésével járt együtt és párhuzamosan az oldat pH-csökkenését is tapasztalták (0,15 egység). További vizsgálatot nem végeztek.

Részletesen tanulmányozták a réz(II)-acetát és a rutin kölcsönhatását a fémion:ligandum arány széles tartományában. Megállapították, hogy az abszorpciós sáv hullámhossza kis mértékben függ a rézfelesleg mértékétől, és intenzitása állandósul a $[\text{Cu}^{2+}]/[\text{rutin}] = 24$ koncentrációarány felett (46. ábra).

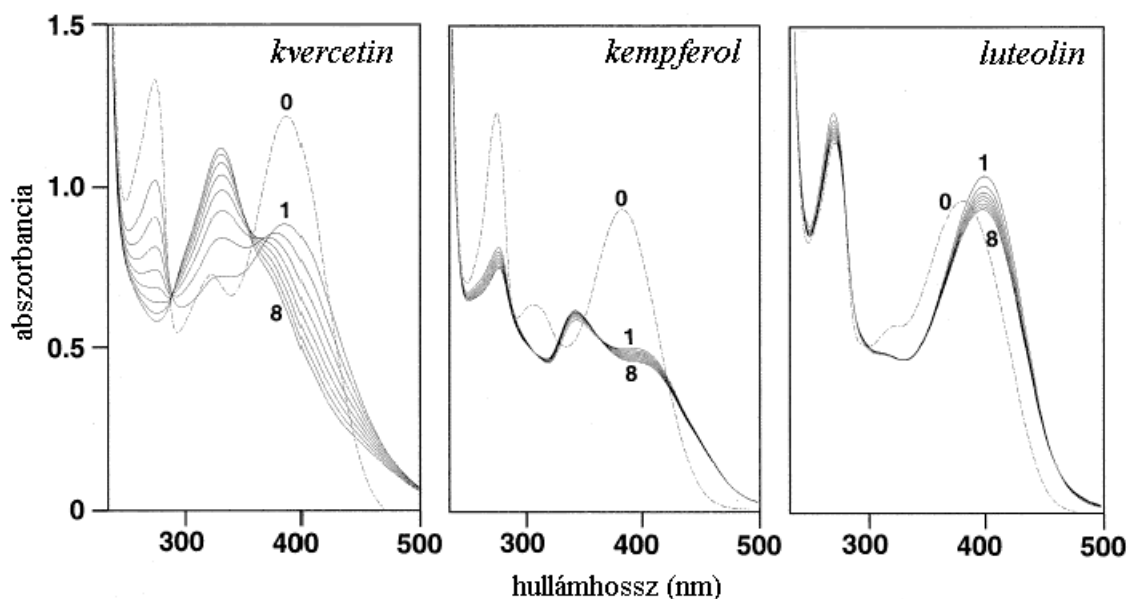


46. ábra A rutin ($4 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³) abszorpciós spektrumának változása 8-szoros és 16-szoros $\text{Cu}(\text{Ac})_2$ koncentráció esetén, valamint a réz(II)-acetát ($3,2 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³) abszorpciója (MEL'NIKOVA, IOFFE és TSAREVA 2002) alapján

A rutin abszorpciós sávjának batokróom eltolódásának tartományából (350 nm → 415 nm) arra a következtetésre jutottak, hogy a rutin 3',4'-dihidroxil-csoportjaival koordinálódik a réz(II)-höz. A koncentrációarányok és a spektrumadatok egybevetése alapján pedig feltételezik, hogy többmagvú réz-rutin-komplex képződik az oldatban, de azt sem tartják kizárhatónak, hogy különböző összetételű részecskék vannak egyidejűleg jelen. Az oldat kémhatásának változását nem vizsgálták (vagy nem észlelték) a komplexképződéssel egyidejűleg, így annak az abszorpcióra gyakorolt befolyásoló hatását nem tárgyalják.

A komplexképződési folyamatok mellett számos közleményben foglalkoznak a flavon-származékok oxidációs-redukciós reakcióinak réz(II) hatására bekövetkező megváltozásával, illetve magyarázatot keresnek a Cu(II)-flavonoid-komplexek különböző oldószerben tapasztalt eltérő viselkedésére.

YAMASHITA, TANEMURA és KAWANISHI (1999) a DNS oxidatív károsodásának lehetséges mechanizmusát tanulmányozta. Ehhez *in vitro* vizsgálta a folyamatot kiváltó flavonoidok és a CuCl_2 kölcsönhatását. A 37 °C-on nátrium-foszfát pufferben (pH = 7,8) bekövetkező réz(II) - flavonoid kölcsönhatást UV-VIS abszorpciós spektrum felvételével követték (47. ábra). A kvercetin, kempferol és luteolin abszorpciójában megmutatkozó azonnali változást töltés-átviteli komplex keletkezésékként értelmezték, és az időben lejátszódó folyamatot a flavonok különböző mértékű autooxidációjával magyarázták. A kvercetin esetében sokkal gyorsabb, és más jellegű változást tapasztaltak, mint a kempferolnál és a luteolinnál.



47. ábra A kvercetin, kempferol és luteolin spektrumának változása (0) nátrium-foszfát pufferben (pH=7,8) Cu(II) hatására (1-8) (YAMASHITA, TANEMURA és KAWANISHI 1999) alapján (flavonoid: 50 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$, Cu(II): 20 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$, 37 °C, felvétel 6 percenként)

Feltételezték, hogy a vizsgált flavonoidok közül egyedül a kvercetin redukálja a Cu^{2+} -t Cu^+ -ionná. A reakcióelegy beszárított mintájáról MALDI technikával készített tömegspektrumok fő sávjai 364 és 427 m/z értékeknél mutatkoztak, amit a kvercetin-komplexek CuQ^+ és Cu_2Q^+ összetételéhez rendeltek hozzá. A komplexképződés és a réz(II) redukciójának kapcsolatáról, vagyis a folyamatok lehetséges lejátszódásáról tényleges elképzelést publikációjukban nem közöltek.

A közleményben az orvos-csoport helytelenül feltételezi, hogy mind a három flavonoid esetében komplexképződés, és azt követően redoxi folyamatok játszódnak le. Az UV-VIS spektrumokon ugyanis jól azonosítható a luteolin esetében a komplexképzés (batokróm eltolódás), míg a kvercetin és kempferol átalakulásában egyáltalán nem mutatkoznak a koordinációra utaló jelek, hiszen csak hipszokróm eltolódás figyelhető meg. Ennek ellenére a MALDI-felvételeken megjelenhetnek a „réz-kvercetin” adduktummal megegyező tömegszámú sávok, mivel az nem az oldatról készül, hanem a beszárított mintáról.

Nem kizárható, hogy a flavonoidoknál kisebb koncentrációban alkalmazott Cu(II)ionoknak is lehet katalizáló hatásuk a kvercetin átalakulási folyamatában, azonban ilyen hőmérsékleten és kémhatás mellett, az oldat lúgossága miatt, a változás spontán is bekövetkezik. Saját vizsgálataink szerint ugyanis (BÖRCSÖK és MOLNÁRNÉ 2003) ugyanilyen átalakulás figyelhető meg foszfát-pufferben, szobahőmérsékleten, réz(II) hiányában is (62. ábra).

MAKRIS és ROSSITER (2000) gyengén lúgos vizes közegben, magas hőmérsékleten végzett vizsgálatai során a kvercetin és a rutin nagyfokú bomlását tapasztalta (21. ábra), amit méréseik szerint a réz(II)ion – koncentrációjával arányosan – jelentős mértékben fokozott. A réz(II) - kvercetin kölcsönhatás kezdetén kismértékű Cu(II)-koncentráció csökkenést tapasztaltak, amit komplexképződésnek tulajdonítottak. Úgy vélik, hogy a komplex kialakulása nem tudja megakadályozni a kvercetin oxidációját, illetve a Cu(II) redukcióját, mivel a levegő oxigénjének hatására a Cu(I) újból oxidálódik. Feltételezik, hogy a bomlási folyamat reaktív szabad gyökök keletkezése miatt fokozódik.

SATTERFIELD és BRODBELT (2000) elektronütközési tömegspektrumok (ES-MS) alapján több flavonoid (köztük a kvercetin és a rutin) komplexképzését vizsgálta átmeneti fémekkel. A kölcsönhatások előidézéséhez metanolban oldott flavon-származékokat és réz(II)-bromidot használtak, valamint a fémion:ligandum koncentrációt 1:1 mólarányban megfelelően állították be. A szabad ligandumok savas és bázikus oldatbeli tömegspektrumát is felvették (a metanolos oldathoz kis mennyiségű jégecet, illetve cc. ammóniát adtak), és az egyes részecskeformák mennyiségi arányát is megállapították (16. táblázat).

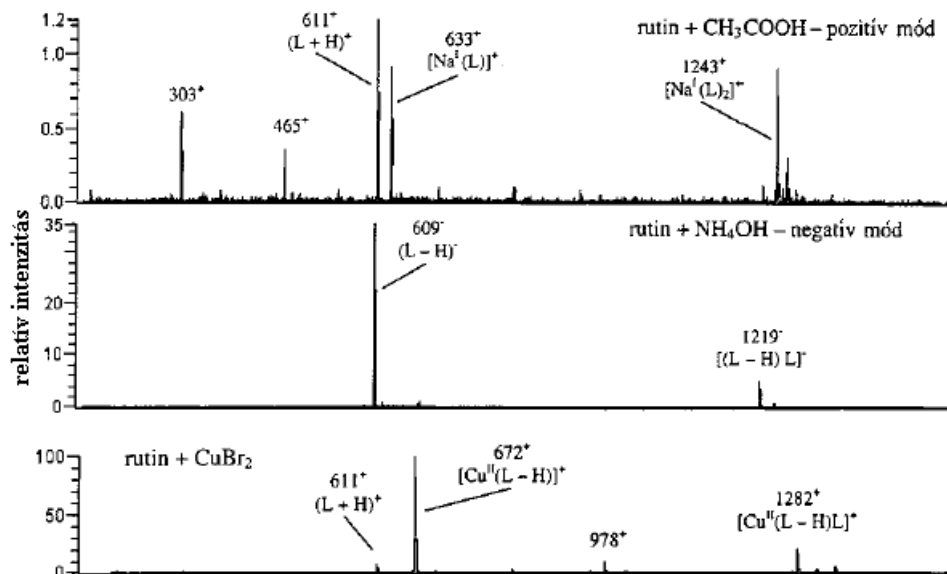
16. táblázat *A kvercetin és a rutin ES-MS vizsgálatának eredménye (SATTERFIELD és BRODBELT 2000) alapján*

CH ₃ COOH oldatban				NH ₄ OH jelenlétében			
részecskék (%)							
rutin		kvercetin		rutin		kvercetin	
(L+H) ⁺	30	(L+H) ⁺	> 95	(L-H) ⁻	90	(L-H) ⁻	50
[Na(L)] ⁺	25			[(L-H)L] ⁻	10	(L-H + 30) ⁻	40
[Na(L) ₂] ⁺	20					[(L-H)(L+30)] ⁻	10
[aglikon+H] ⁺	15						
(L-ramnóz) ⁺	5						

A részecskék előfordulását tekintve mind a kvercetin, mind a rutin esetében jelentős mennyiségben mutatkozik a dimer molekulák jelenléte savas és bázikus oldatban egyaránt, amelyek kialakulását előidézheti maga a vizsgálat, de nem kizárható, hogy eleve ilyen alakban is előfordulnak az oldatban. DENG és VAN BERKEL (1998) által a kvercetin fémionmentes metanolos oldatából készített ES-MS spektrumban szintén kimutatható volt a dimerek jelenléte (35. ábra).

A flavonoidok savas jellege miatt a kétértékű fémekkel semleges [M^{II}(L-H)₂] összetételű komplex keletkezése várható, azonban ez a részecske nem ad intenzív jelet az elektronütközési tömegspektrumban. A vizsgálat szerint a flavonoidok többsége két ligandummal –

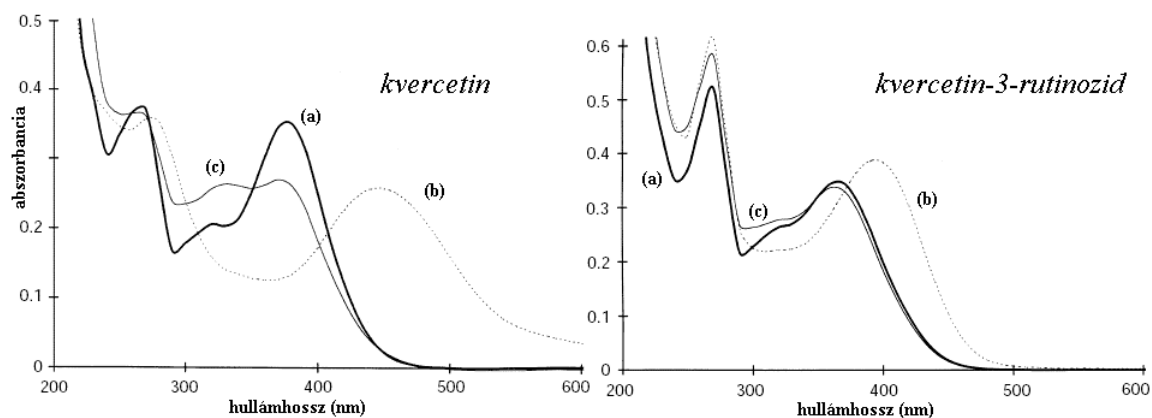
$[M^{II}(L-H)L]^+$ formában – kapcsolódott az átmeneti fémionokhoz, egyedül a rutin képzett egyszerűen deprotonált molekulával $[M^{II}(L-H)]^+$ összetételű komplexet (48. ábra).



48. ábra A rutin elektronütközési tömegspektrumai savas és bázikus oldatban, illetve réz(II)-bromid jelenlétében (SATTERFIELD és BRODBELT 2000) alapján

BROWN és mtsai (1998) az antioxidáns hatás szempontjából hasonlították össze a réz(II)-ion valamint a kvercetin, rutin, luteolin és kempferol kölcsönhatását. Spektrofotometriás vizsgálataikat kálium-biszulfát tartalmú (10 mmol/dm^3 , $\text{pH} = 7,4$) (vizes?) metanolos oldatban végezték, állandó flavonoid koncentrációt ($25 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$) és változó réz(II)-szulfát ($12,5\text{-}50,0 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$) mennyiséget alkalmaztak. Az UV-VIS abszorpciós spektrumokban a B-gyűrűhöz tartozó sáv nagyobb arányú eltolódása alapján arra következtettek, hogy a réz koordinációja elsősorban a flavon-származékok catechol-csoportján következik be. A komplexképződéssel együtt lejátszódó oxidáció tényének megállapítása érdekében 2,5-szeres feleslegben EDTA-t alkalmaztak – hogy a flavonoid-komplexből a rezet kiszorítsák –, ami láthatóvá tette a kvercetin és kempferol esetében a bekövetkezett jelentős mértékű változást, míg a rutin és luteolin esetén a ligandumok eredeti fényelnyelés görbéjét kapták vissza (49. ábra).

Megfigyeléseiket kapcsolatba hozzák a vizsgált flavonoidok redoxipotenciáljának értékével is, valamint a 3-OH-csoport jelenlétének fontosságával. Vizsgálataik alátámasztották saját korábbi véleményüket (RICE-EVANS, MILLER és PAGANGA 1996), és más kutatócsoportok által is támogatott elképzelést (HODNICK, DUVAL és PARDINI 1994), hogy a 2C-3C kettőskötést tartalmazó flavonoidok oxidációját megakadályozza a 3-hidroxil-csoport hiánya (pl. luteolin), illetve blokkoltsága (pl. rutin). A kutatócsoport vizsgálata nem elsősorban koordinációs kémiai folyamatok tárgyalására, hanem az oxidációs reakciók felderítésére koncentrált.



49. ábra A kvercetin és a rutin abszorpciója (a) eredeti, (b) 2-szeres Cu^{2+} hatására, (c) EDTA hozzáadása után (BROWN és mtsai 1998) alapján

A Cu(II):flavonoid különböző arányainál felvett spektrumokat nem mutatják be – ami a komplexképződés reverzibilitására is információt adna –, csupán a fényelnyelési maximumok fokozatos eltolódását alátámasztó hullámhossz adatokat foglalják táblázatba. A komplexképződés ténye nem vitatható, azonban kétségesnek vélem a közleményben megadott koordináció helyét. A szokásosan B-gyűrűhöz rendelt fényelnyelési sáv nagyobb mértékű batokróm eltolódásából ugyanis nem következik egyértelműen, hogy a réz(II)ion az *o*-difenol-csoportnál kapcsolódik. A fémionok koordinációja általában a teljes molekulaszervezetre kihat – függetlenül attól, hogy a ligandum mely funkciós csoportjai vesznek részt a kötés kialakításában –, és jelentős mértékben a kisebb energiájú gerjesztés fog dominálni. Ezért a koordinációs hely megállapítására a spektrofotometria módszere önmagában nem alkalmas.

JUNGBLUTH, RÜHLING és TERNES (2000) vizsgálatai nagy víztartalmú oldószerekben hét flavon-származék (köztük a kvercetin) valamint a Cu(II), a Fe(II) és a Fe(III) kölcsönhatására terjedt ki. Méréseikhez UV-VIS spektrofotometriát, HPLC-elválasztást, NMR spektroszkópiát és ciklikus voltammetriát használtak.

Tapasztalatuk szerint a kvercetin és CuCl_2 reakciója erősen függött az oldószer összetételétől. A spektrofotometriás vizsgálatokat a fémion:ligandum arányának széles tartományában végezték (1:16 és 5:1 között). Acetonitriles közegben rézionok hatására a kvercetin 370 nm-es abszorpciós maximumának csökkenését észlelték, miközben 290 nm táján új sáv kialakulása volt megfigyelhető. A komplexképződési folyamat végbemenetelének cáfolatát, illetve a reakció irreverzibilitásának bizonyítását úgy oldották meg, hogy kationcserélővel eltávolították a rézionokat az oldatból, és a megismételt UV-VIS abszorpciós spektrumfelvétellel egyértelműen igazolták az oxidációs folyamat lejátszódását. Ugyanis nem kapták vissza a szabad kvercetin jellemző fényelnyelési görbéjét, viszont $\lambda = 293$ nm-nél változatlan mér-

tékű abszorpció mutatkozott. Az oxigén befolyásoló hatását kizárták, mivel azonos spektrumokat kaptak a nitrogénárammal telített és nem kezelt oldatokból.

Acetonitril, víz és Cu^{2+} -ionok együttes jelenléte esetén a kvercetin, fizetin és miricetin oldatának mélyvörös elszíneződését is megfigyelték, amely a víztartalomtól függően kb. 15 perc alatt eltűnik (minél több a víz, annál kevésbé tartós a szín). A jelenségre nem kerestek magyarázatot. A kvercetin abszorpciós spektrumán az oxidációs folyamatot három izobesztikus pont jellemezte (245, 271 és 332 nm-nél), amely alapján egyetlen fényelnyelő részecske keletkezését valószínűsítik. Mivel spektrumadataikat azonosnak találták JIMÉNEZ és GARCÍA-CARMONA (1999) publikációjában közölt adatokkal, feltételezik, hogy ugyanaz a vegyület az oxidációs termék, mint ami a kvercetin és a polifenol-oxidáz kölcsönhatásakor (26. ábra). Beszámolnak továbbá arról is, hogy ha az acetonitril helyett alkoholokat (etanolt vagy metanolt) használtak, erősen sárga színű komplex kialakulását figyelték meg, és az oxidációs folyamat nagyon lelassult, 293 nm-nél csak kismértékű abszorpciónövekedést tapasztaltak.

Sajnos abszorpciós spektrumokat JUNGBLUTH, RÜHLING és TERNES (2000) publikációjukban nem közöltek, és eredményeik ismertetése sokszor olyan áttekinthetetlen, hogy nehezen választható el a saját munkájuk az irodalmi hivatkozástól.

II.5.3.1. Észrevételek és megjegyzések a réz - flavonoid kölcsönhatás irodalmához

A közlemények eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy a réz(II)ion és a flavonoidok kölcsönhatása rendkívül összetett folyamat, mert a komplexképződés mellett gyakran fennáll a redoxi reakció végbemenetelének lehetősége is. Igen nagy fontosságú az oldószeranyag hatása, amely befolyásolja a réz(II)/réz(I) redoxirendszer standard potenciálját, és ezáltal erősítheti vagy gyengítheti a réz(II) oxidáló jellegét. Egymással szinte azonos körülmények között acetonitril oldószerben a kvercetin egyértelműen csak oxidációs folyamatban vesz részt (DELAPORTE és MACHEIX 1972), míg metanolban tisztán komplexképzés következik be (SOCZYŃSKA-KORDALA és mtsai 2001). Az oldatok kémhatásának jelentőségét, illetve befolyásoló szerepét egyik közlemény sem tárgyalja, sőt a réz(II)-nek tulajdonítanak olyan folyamatokat is, amelyek – saját méréseink alapján (MOLNÁRNÉ, BÖRCSÖK és NÉMETH 2002) – a gyengén lúgos ($\text{pH} > 7$) közeg hatására, fémionok hiányában is spontán lezajlanak.

A publikációk többsége egy-egy kis részlet vizsgálatát öleli fel – átfogó, több részletre kiterjedő kutatásról nem jelent meg közlemény. Sokkal kevésbé kémiai szemléletűek ezek a dolgozatok, mint amilyenek az alumíniumra vonatkozó irodalmak voltak. Nagyon gyakran egy-egy meghatározott fémion:biomolekula arány vizsgálatát végezték csak el, ami alapján

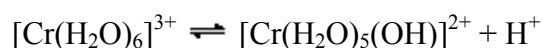
számos téves következtetésre jutottak. Domináns a téma orvos-élettani megközelítése, ezáltal hangsúlyos a redoxi sajátságok tárgyalása, ott is, ahol kifejezetten a komplexképződés a meghatározó folyamat. Teljes mértékben hiányoznak az egyensúlyi folyamatok kvantitatív leírására, illetve a koordinációs helyek megállapítására tett bizonyító kísérletek.

II.5.4. A Cr(III)/Cr(VI) rendszer és a flavonoidok kölcsönhatása

A króm(III)- vagy a kromátionok és a flavonoidok közötti kölcsönhatás folyamatának vizsgálata elsősorban ezen ionoknak a faanyagban történő megkötődése és fixálódása témakörében nyújt fontos ismereteket (PIZZI 1981; AOYAMA és TSUDA 2001). A flavonoidok kiválthatják a fávédőszerekben a króm(VI) redukcióját is (JORGE és mtsai 1999), illetve befolyásolhatják a kioldódás mértékét (STEVANOVIC-JANEZIC, COOPER és UNG 2001). A króm analitikája kapcsán módszert dolgoztak ki a kromátion HPLC kromatográfiás meghatározására, amely a rutinnal alkotott komplexképző reakción alapszik (TIAN és SCHWEDT 1995). Többen vizsgálták a Cr(III) / Cr(VI) – kvercetin kölcsönhatást is, és a komplex kialakulását a króm(III)-, illetve a kromátion spektrofotometriás mennyiségi meghatározására használták fel (GONZALEZ ALVAREZ, DIAZ GARCIA és SANZ-MEDEL 1989; EL-SAYED és mtsai 2000).

A króm +3 és a +6 oxidációs állapota kiemelkedően stabil vizes közegben. A két formában jelen levő króm aránya az adott körülményektől, kémiai és fotokémiai folyamatoktól, az ülepedéstől és az oldódástól, az adszorpciós és deszorpciós jelenségektől függ (PÁLNÉ 2001).

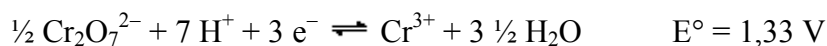
A Cr(III) vizes oldatában zöld színű $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ részecske képződik, amely a króm(III) kationos kémiájának alapvető ionja. A Cr(III) egyik legkézenfekvőbb jellemzője a hidrolízisre való hajlama, és hidroxohidas többmagvú komplexek képződése. Ez a koordinált víz protonleadásával, majd az ily módon képződött OH^- -nak egy másik kationhoz koordinálódásával játszódik le (GREENWOOD és EARNSHAW 1999):



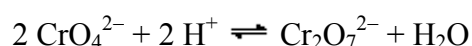
A proton leadására való hajlam erőssége megítélhető abból a tényből, hogy a hexaakva-króm(III)ion majdnem olyan erős sav, mint a hangyasav ($\text{p}K_s \sim 4$). A pH emelésével további deprotonálódási és polimerizációs folyamatok játszódhatnak le.

A kationok hard jellege szerint felállított sorrendben a Cr(III) középtájon helyezkedik el, úgyiszlóván minden elektronpár donálásra képes részecskével stabilis komplexet képez. Komplexei szinte kivétel nélkül hatos koordinációjúak, és oktaéderes szerkezetűek (SZABÓ,

BURGER és KÖRÖS 1970). A $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ igen renyhe ion, ligandumszubsztitúciós és -átrendeződési reakciói lassúak, komplexeinek kialakulása gyakran csak szilárd felületen, vagy felületaktív anyagok jelenlétében megy végbe mérhető sebességgel. A Cr(VI) redukciója során *in situ* keletkező, dehidratált Cr(III) komplexképző aktivitása sokkal nagyobb (KÖRÖS 1980). A Cr(VI) erős oxidálószer:



A tetraéderes kromátion vizes oldatát megsavanyítva egyensúlyi folyamatokon keresztül dikromáttá alakul:



A +5 és a +4 oxidációs számú króm mint instabilis köztitermék ismert. A +5 nem stabilis oxidációs állapota a krómnak, viszonylag gyorsan Cr(III)-má és Cr(VI)-tá diszproporcionálódik (GREENWOOD és EARNSHAW 1999).

Oxigénszegény környezetben kizárólag a Cr(III) fordulhat elő. Oxigéndús oldatban a pH-tól függ a részecskék oxidációs száma. A termodinamikai számítások szerint $\text{pH} \leq 6$ mellett inkább Cr(III), $\text{pH} \geq 7$ mellett inkább CrO_4^{2-} ionok dominálnak. Az átmeneti pH-tartományban a Cr(III)/Cr(VI) aránya erősen függ az oxigénkoncentrációtól (PÁLNÉ 2001).

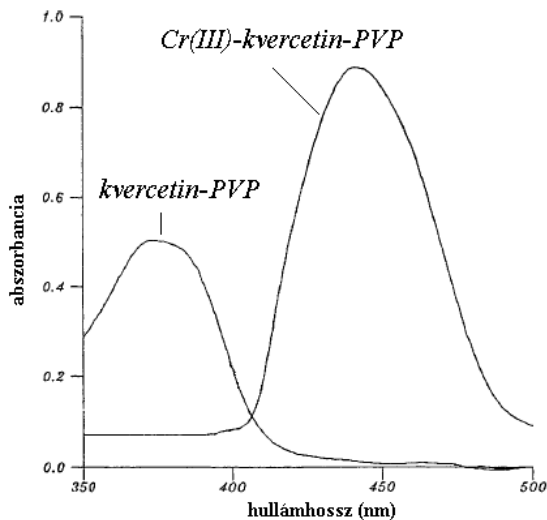
A vizes közegű króm(III)ion nagyfokú komplexkémiail renyhésege, és a króm(VI) erős oxidáló hatása miatt a krómformák és a flavonoidok koordinációs kölcsönhatásának vizsgálatára vonatkozó szakirodalomban a közvetlen reakciók tárgyalása kevésbé számottevő, viszont a Cr(III) és a Cr(VI) analitikájában kitüntetett jelentősége van a felületaktív anyagok jelenlétében képződő vegyeskomplexeknek.

GONZALEZ ALVAREZ, DIAZ GARCIA és SANZ-MEDEL (1989) a króm(III) és a króm(VI) spektrofotometriás meghatározásához detergens jelenlétében különböző flavonoidokat használt. A cetil-trimetil-ammónium-bromidot (CTAB) a kölcsönhatás szempontjából kedvező sajátságú felületaktív anyagnak találták. A Cr(III)ionnal csak a kvercetin komplexképzése volt kimutatható CTAB jelenlétében, etanol:víz 1:1 térfogatarányú elegyben. A keletkező vegyeskomplex nem mutatott fluoreszcenciát, fényelnyelési maximuma 430 nm-nél volt mérhető, és a maximális mértékű képződést $\text{pH} \approx 7,5$ felett tapasztalták. A Cr(VI) több flavonollal reakcióba lépett, analitikai meghatározásra mégis a kvercetint találták legalkalmasabbnak. A kvercetin - Cr(VI) - CTAB rendszerben savas kémhatás (acetát-puffer, $\text{pH} = 4,6$) esetén kb. 30 perc alatt 440 nm-nél nagy intenzitású fényelnyelést mutató termék alakult ki. Feltételezésük szerint a meghatározást a Cr(VI) redukációjában *in situ* keletkező Cr(III) komplexképzése tette lehetővé, mivel a króm(VI)-hoz képest a kvercetint kb. tízszeres feleslegben

alkalmazták. Megfigyelték, hogy a más úton (hidrogén-peroxiddal) oxidált kvercetin nem lépett kölcsönhatásba sem a Cr(III)-mal, sem a Cr(VI)-tal. A vizsgálati eljárást alkalmasnak találták a krómtartalom analitikai mérésére más fémionok jelenlétében is.

TIAN és SCHWEDT (1995) a rutin, kromation és cetil-trimetil-ammónium-bromid vegyes-komplexének képződését használta fel a Cr(VI) kvantitatív HPLC kromatográfiás meghatározására. Szilárd fázisú extrakciót követően a Cr(VI)-rutin-CTAB vegyeskomplexet Nucleosil C₁₈ tölteten kromatografálták, eluensként 42,5 térfogatszázalék tetrahidrofuránt és 0,003 mol/dm³ CTAB-ot tartalmazó metanolt használtak és spektrofotometriás detektálást (408 nm) alkalmaztak. A CTAB pozitív töltésű felületaktív anyag révén növeli a szelektivitást, mivel ionpár tud kialakulni rutin-komplexszel. Vizsgálták a mozgó fázis oldószer-összetételének, CTAB-tartalmának és pH-jának hatását is az elválasztás hatékonyságára. Az eljárást alkalmasnak találták közetminták kromáttartalmának meghatározására.

EL-SAYED és mtsai (2000) a kvercetin és a morin komplexképzésén alapuló, egyszerű, gyors és érzékeny analitikai eljárást dolgoztak ki a Cr(III) és W(VI) mérésére. A króm(III) spektrofotometriás meghatározásához ligandumként a kvercetint, és felületaktív anyagként a poli-vinil-pirrolidont (PVP) találták a legalkalmasabbnak (50. ábra).



Az eljárás optimális pH-ja a 4,0-4,6 tartományba esett, amihez acetát-puffert alkalmaztak. A komplexképződést $\geq 0,2$ % PVP tartalommal, valamint a reakcióelegy 10 perces melegítésével (90 °C) segítették elő. A kialakult színes termék 441 nm-nél mutatott fényelnyelési maximumot, aminek intenzitását 4 órán keresztül változatlanul megőrizte. A komplex összetételét molarány és folytonos variáció módszerével is meghatározták, és egyaránt Cr(III):Q = 1:2-nek találták.

50. ábra A kvercetin abszorpciós spektrumának változása poli-vinil-pirrolidon jelenlétében és króm(III)-ion hatására (EL-SAYED és mtsai 2000) alapján ($C_{\text{kvercetin}}: 2,0 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³, $C_{\text{Cr(III)}}: 8,7 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³, $C_{\text{PVP}}: 0,4$ %)

III. KÍSÉRLETI MUNKA

A faanyagot ért fizikai és kémiai effektusok együttes hatását olyan vizsgálati módszerekkel lehet nyomon követni, amelyek az összetett folyamatok egészére adnak felvilágosítást – pl. színmérés (STIPTA, NÉMETH és MOLNÁRNÉ 2002a), pufferkapacitás (ALBERT és mtsai 1999) vagy összes fenolos komponens meghatározása (ALBERT és mtsai 2003). Viszont a valóságosan reagáló és megváltozó részecskék felderítéséhez, koncentrációjának meghatározásához, a folyamatok részleteinek – esetleg mechanizmusának, vagy kinetikájának – tisztázásához olyan vizsgálati eljárások szükségesek, amelyek speciálisak (NÉMETH és STIPTA 2002), egyes molekulaszervezeti (NÉMETH, MOLNÁR-HAMVAS és STIPTA 2003), illetve koncentrációbeli változások jelzésére (BÖRCsök és MOLNÁRNÉ 2003) és kvantitatív mérésére alkalmasak (MOLNÁR-HAMVAS és mtsai 2002).

A fakomponensek tulajdonságaiban a környezeti tényezők hatására és kémiai anyagok jelenlétében végbemenő globális változásokat detektáló vizsgálatokat (NÉMETH, VARGA és ALBERT 1998) az egyes fakomponensek jól tervezett *in vitro* kísérleteivel kell megalapozni (MOLNÁRNÉ, BÖRCsök és NÉMETH 2002), és azok eredményei alapján lehet a faextraktanyag - fémion kölcsönhatásban bekövetkező összetett változásokat tisztázni (MOLNÁRNÉ 2002b). A fakomponensek és fémionok között lejátszódó kémiai folyamatok értelmezéséhez dolgozatomban néhány jellegzetes flavon-származék koordinációs kémiai átalakulásának kutatási eredményével járul hozzá.

A fémionok és a flavon-származékok között lejátszódó kémiai folyamatok korrekt értelmezéséhez szükséges:

1. az oldatbeli kémiai folyamatok és egyensúlyok feltárása:
 - hogyan viselkedik a kvercetin, a rutin és a robinetin különböző kémhatású oldatokban?
 - milyen sav-bázis és redoxi reakciók játszódhatnak le gyengén lúgos közegben?
 - a kvercetin és a rutin milyen mértékű disszociációjával kell számolni etanol:víz olószerkeletben?
 - milyen disszociációs állandóval jellemezhető a kvercetin és a rutin?
 - hogyan alakulnak a komplexképződési folyamatok alumínium-kvercetin és alumínium-rutin, valamint réz-kvercetin és réz-rutin rendszerekben?
 - hogyan befolyásolja a közeg összetétele és kémhatása a sav-bázis, valamint a komplexképződési egyensúlyokat és a redoxi reakciókat?
 - milyen a képződött alumínium- és réz-komplexek összetétele, és milyen látszólagos stabilitási állandókkal lehet jellemezni a komplexképződést?

- milyen hatással van oldatban a króm(III) és a króm(VI) a kvercetinre?
2. szilárd felületen fénybesugárzás hatására lejátszódó folyamatok tanulmányozása:
 - miben tér el az oldatbeli és inert felületen impregnált kvercetin és robinetin spektrális tulajdonsága?
 - milyen változásokat szenvednek ezek a modellanyagok szilikagél rétegen fénysugárzás hatására?
 - hogyan alakulnak a flavonoidok fotokémiai folyamatai krómionok jelenlétében?
 - miként befolyásolja a króm(III) és a króm(VI) jelenléte a fotodegradációs folyamatokat?
 3. a flavonoid-fémion kölcsönhatás kísérleti eredményeinek kémiai összegzése és a kutatások folytatásának lehetséges irányai.

III.1. Kísérleti körülmények

A sav-bázis és komplexképződési egyensúlyok vizsgálatához a flavonoidokból közvetlen beméréssel – a kísérlet szükséglete függvényében – 50,0-200,0 cm³ térfogatú mérőlombikban frissen készítettem abs. etanolos törzsoldatot (~ 3,00·10⁻⁴ mol/dm³), amelyből a vizsgálandó oldatsorozatot pontos hígítással (és egyéb adalékok hozzáadásával), 25,0 cm³-es mérőlombikban állítottam elő. Legtöbbször 5,00 cm³ / 25,0 cm³ hígítást alkalmaztam, ami a vizsgálandó oldatokban ~ 6,00·10⁻⁵ mol/dm³ flavonoid koncentrációt eredményezett.

A vizsgálandó oldatokban a végső oldószer-összetétel minden esetben etanol:víz = 1:1 térfogataránynak megfelelő volt (ez alól csak a kezdeti, oldószer-összetétel hatását vizsgáló mérések képeznek kivételt). A 25,0 cm³-es mérőlombikba bemért etanolos flavonoid-oldathoz azonos térfogatú vizes alapelektrolitot vagy pufferoldatot elegyítettem, majd – az etanol:víz elegyben oldott egyéb reagensek hozzáadása után – az oldószereleggyel a mérőlombikot jelre töltöttem, ezzel biztosítva az oldószerösszetétel állandóságát.

Alapelektrolithoz 1 mol/dm³ koncentrációjú vizes kálium-klorid-, vagy kálium-nitrát oldatot készítettem. A komplexképződési folyamatok vizsgálatához 1 mol/dm³ koncentrációjú vizes ecetsav- és kálium-acetát oldatok keverékét (HAc:KAc = 1:4) állítottam elő. A sav-bázis reakciók vizsgálatához különböző pH-jú foszfátpuffert alkalmaztam, Na₂HPO₄·2H₂O és KH₂PO₄ 1/15 mol/dm³ oldatának felhasználásával. A gyengén lúgos kémhatású oldatban végbemenő folyamatok összehasonlítására Na₂SO₃ · 7 H₂O, Na₂B₂O₇ · 10 H₂O és CH₃COOK különböző koncentrációjú vizes oldatát is felhasználtam. Az alapelektrolitokat és a puffereket általában 5,00 cm³ / 25,0 cm³ hígításban alkalmaztam.

A kémhatás befolyásoló szerepének vizsgálatához etanol:víz 1:1 térfogatarányú oldószerkeletben oldott, pontos titerű HCl és KOH mérőoldatokat is alkalmaztam. A koncentráció pontos értékét a sósav és a kálium-hidroxid klasszikus titrálásával határoztam meg (SCHULEK és SZABÓ 1971).

A vizsgálandó fémionok $0,1 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú vizes törzsoldatának elkészítéséhez $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ -t, $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ -t, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}$ -t, $\text{CrCl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ -t és $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ -t használtam fel. A koncentráció pontos értékét klasszikus titrálással ellenőriztem, és azután további hígítással (és az oldószer-összetétel beállításával) $1,00 \cdot 10^{-4}$ - $1,00 \cdot 10^{-2} \text{ mol/dm}^3$ munkaoldatokat készítettem. A fémion munkaoldatokat nagy pontosságú bürettából adagoltam a flavonoidhoz. A kálium-bikromát törzsoldata közvetlen beméréssel készült. Az Al(III) koncentrációt komplexometriás, visszatitrálási módszerrel határoztam meg. A Cu(II) és a Cr(III) tartalom mérésére jodometriás eljárást használtam (SCHULEK és SZABÓ 1971).

A kémiai folyamatok komplexképző jellegének megállapításához esetenként etiléndiamin-tetraecetsav nátriumsójának (EDTA) $0,01 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú oldatát használtam. Az adalékot a fémion - flavonoid kölcsönhatási folyamat lejátszódása után jutattam a kb. 90%-ig feltöltött mérőlombikba. A flavonoidok komplexből történő kiszorítását, és koncentrációjának megállapítását az azonos módon készített, adalékmentes oldattal történő összehasonlítás tette lehetővé.

Az oldatok pH-jának megállapításához felhasználtam a IUPAC kiadvány (1998) 3.5.1. táblázatában közzétett, szerves komponenst tartalmazó vizes oldatokra vonatkozó pH-korrektív adatokat. Eszerint az általam használt etanol:víz elegyben a $0,05 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú kálium-hidrogén-ftalát (KHP) puffer pH-ja $25 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 4,976. A használatra kiválasztott üvegelektrodót savas aktiválás után – hogy az üveg hirtelen zsugorodását elkerüljem – először fokozatosan növekvő alkoholtartalmú vízben kondicionáltam. A pH-mérő műszer illesztését etanol:víz = 1:1 térfogatarányú eleggyel készített standard pufferekkel végeztem, majd ellenőriztem a KHP pH-ját. Miután azt 4,97-4,98 közöttinek találtam, a továbbiakban a műszer által mutatott értékeket valós adatnak elfogadtam.

A favédőszer tartalmú vizes extraktumok króm-tartalmának meghatározása Cr(VI) alakban, spektrofotometriás módszerrel történt. A mérést az eredeti vizes oldatok különböző mértékű hígítása és difenil-karbazidos színreakciója után, 543 nm-en végeztem – $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ kalibráló oldatok felhasználásával. A mintaoldatok króm(VI) tartalmát közvetlenül, az összes króm mennyiségét pedig peroxidiszulfátos oxidáció után határoztam meg. Az extraktumok rézkoncentrációját, valamint összes krómtartalmát atomabszorpciós eljárással is ellenőriztem.

Ennek során az eredeti vizes oldatokat híg HNO_3 -val kétszeresére hígítottam, és a savas oldatok fémtartalmának detektálása jellemző hullámhosszaikon (Cu: 324,754 nm; Cr: 205,559 nm), azonosan készített kalibráló oldatok segítségével történt.

A felületi vizsgálatokhoz a flavonoidok $3,0 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³ koncentrációjú metanolos oldatát használtam. Az inert (szilikagél) rétegre egyenletes eloszlattással vittem fel a flavon-származékokat, és szobahőmérsékleten szárítottam a felületeket. Száradás és a megfelelő mintadarabok méretre vágása után három mintacsoportot képeztem. Egy-egy rész kezeletlen, illetve króm(III)-klorid, vagy kálium-bikromát 0,1 %-os vizes oldatával impregnált mintát vizsgáltam.

III.2. Vegyszerek, reagensek

A vizsgálatokhoz felhasznált kvercetin és rutin a Fluka AG. (Svájc) terméke, a robinetin pedig a ROTH GmbH. (Németország) nagytisztaságú készítménye volt, amelyek utólagos tisztítás nélkül kerültek felhasználásra. A további vegyszerek a Reanal Finomvegyyszer Rt. (Budapest) a.l.t. minőségű gyártmányai voltak.

Inert felületi réteggént Kieselgel 60 márkanévű szilikagél TLC lapokat (Merck KGaA. Németország) alkalmaztam.

III.3. Műszerek, készülékek, eszközök

Az UV-VIS abszorpciós spektrofometriás méréseket Shimadzu UV-3101PC típusú UV-VIS-NIR Scanning Spectrophotometer készüléken, 2, 5, 10 és 20 mm-es kvarc küvettában, valamint felületi reflexiós feltét alkalmazásával hajtottam végre. A spektrumok kiértékeléséhez felhasználtam az UV-2101/3101PC Personal Spectroscopy Software 2.2 verzióját.

A potenciometriás meghatározásokhoz OP-274 pH/ION Meter-t (OP0808-P kombinált üvegelektóddal), valamint OP-930 automata bürettát használtam – Radelkis Rt. (Budapest). A pH-mérő illesztése, illetve kalibrálása ugyancsak Radelkis gyártmányú standard oldatokkal történt.

A kvercetin- és alumínium-komplexének tömegspektrometriás vizsgálatát Finnigan LASERMAT 2000 típusú MALDI-TOF tömegspektrométerrel végeztem. Favédőszerek bükk és fenyő famintákból történő kioldódási vizsgálatához – réz- és krómtartalom mérésére –

GBC Integra XM típusú ICP-atomabszorpciós spektrofotométert is használtam. A fotodegradáció kivitelezésére pedig SUNTEST (Hanau No. 7011) típusú készüléket alkalmaztam, napfény spektrumú szűrővel.

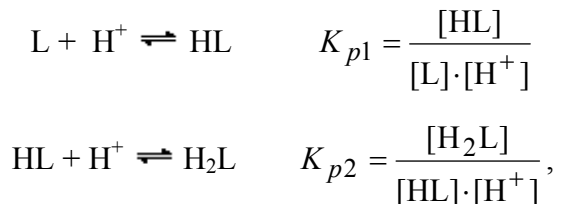
A flavonoidok 5-40 milligrammnyi tömegének mérésére 1 µg pontosságú Sartorius-Werke mikromérleget, egyéb tömegmérésekhez Chyo JL-180 analitikai mérleget használtam.

A komplexkémiail állandók számításához SCIENTIST for Windows (MicroMath Scientific Software, USA, 1994) számítógépes programot vettem igénybe.

III.4. Egyensúlyi állandók számításának módszerei

A kvercetin és a rutin oldatában lejátszódó kémiai egyensúlyi folyamatok kvantitatív jellemzésére az egyensúlyi állandók meghatározása adott lehetőséget. A disszociációs folyamatokról a protonálódási, a fémionok koordinációjáról pedig a stabilitási állandó nagysága nyújtott felvilágosítást. A számításaim alapját a részecskék spektrofotometriás eljárással meghatározott koncentrációja közötti összefüggések képezték.

A számításokban felhasználtam a protonálódási állandó definiáló egyenleteit:



amelyek alapján a H₂L sav első disszociációs állandója csak kitevőjének előjelében különbözik a második protonálódási állandótól (lg K_{p2} = pK_{s1}), de a komplexkémiail számítások során a szokásos savi disszociációs állandók helyett a stabilitási állandókhöz hasonló, és egyégesen értelmezhető protonálódási állandókat volt célszerű használni.

Az állandó meghatározásához szükséges volt a különböző mértékben protonált termékeket együttesen tartalmazó oldat pH-jának, valamint a két forma koncentrációarányának ismerete, és a számítást a

$$\lg K = \lg ([H_nL]/[H_{n-1}L]) + \text{pH}$$

összefüggés tette lehetővé. A lg K pontos kiszámításához a méréseket és a számításokat olyan oldatokkal volt ajánlatos végezni, amelyek pH-ja a (lg K ± 0,6) tartományba esik, ezért a protonálódási állandó meghatározásának mérési sorozata olyan különböző pH-jú ligandumoldatokból állt, amelyekben várható mindkét részecskeforma jelenléte.

Az abszorpciós spektrumok alapján ki lehetett választani azokat a mérési hullámhosszakat, ahol a lehető legnagyobb fényelnyelési különbség van a protonált (HL) és a deprotonált (L) alak abszorpciójában (A_{HL} és A_L), valamint a vizsgálat pontossága szempontjából is megfelelnek. Ezután az azonos ligandum-koncentrációjú oldatok pH-jának és adott hullámhosszon mért fényelnyelésének ismeretében (a moláris abszorpciós együtthatók nélkül) az abszorpció csökkenő vagy növekvő értékétől függően a protonálódási állandót a

$$\lg K = \lg \frac{A - A_L}{A_{HL} - A} + \text{pH} \quad (\text{ha } A_{HL} > A_L) \quad \text{vagy} \quad \lg K = \lg \frac{A_L - A}{A - A_{HL}} + \text{pH} \quad (\text{ha } A_L > A_{HL})$$

összefüggés alapján tudtam kiszámítani, illetve alkalmazható volt a protonálódási állandó grafikus módszerrel történő meghatározása is (GÖRÖG 1993).

A grafikus eljárás egyszerre több mérési adat felhasználásával ($y = n \cdot x + a$) alakú lineáris kapcsolatot állapít meg a $\lg (A_L - A)/(A - A_{HL})$ és a $\lg K$ között. Az egyes mérési adatokból számított $\lg (A_L - A)/(A - A_{HL})$ érték a pH függvényében ábrázolva egyenest ad, amelynek iránytangense ($n = -1$) a hidrogénionok számát jelzi, és a $\lg K$ az abszcissa metszési pontnak ($x = 0$) felel meg (INCZÉDY 1970). Ez a módszer a mérési adatok illeszkedése alapján azok helyességéről is vizuális képet adott.

A grafikus módszer abban az esetben is használható, ha többlépéses disszociációs folyamat megy végbe és az egyes állandók különbsége nagy ($\Delta \lg K > 2,8$), továbbá a választott hullámhosszon a különböző mértékben deprotonált részecskék fényelnyelése is jelentősen eltérő. Ha ezek a feltételek nem adóttak, csak számítógépes közelítéssel alkalmazható. Hasonlóképpen az egyes komplexek képződésére jellemző stabilitási állandók közvetlenül nem számíthatók – ehhez megfelelő függvénykapcsolatot kell találni az egyes állandók és a kísérletileg mérhető mennyiségek között (pH, abszorpció, analitikai koncentrációk). Bonyolítja a számításokat az oldatok fémion-koncentrációjának változtatásával együtt járó kémhatásváltozás is, ami a párhuzamosan lejátszódó (a flavonoid-komplex képződésével konkuráló) protonálódási - deprotonálódási folyamatokat is kiváltja. Az összetett rendszer következtében – mivel párhuzamosan számos reakció lejátszódásának eredménye mutatkozik meg a mért abszorbancia értékében – az egyszerű számítási metodika már nem volt alkalmas a számítások elvégzésére, hanem csak számítógépes közelítési eljárást lehetett alkalmazni.

A meglehetősen bonyolult matematikai összefüggések a komplexek összetételétől függően különböző alakban voltak megadhatók:

1. *Az oldat fényelnyelése* a szabad ligandum különböző mértékben protonált részecskéinek és a különféle komplexek abszorpciójából tevődik össze:

a. kétligandumos komplex képződése esetén:

$$A = a_0 \cdot [(\text{flav})] + a_{10} \cdot [\text{H}(\text{flav})] + a_{20} \cdot [\text{H}_2(\text{flav})] + a_{11} \cdot [\text{M}(\text{flav})] + a_{12} \cdot [\text{M}(\text{flav})_2]$$

b. vagy kétmagvú komplex kialakulásakor:

$$A = a_0 \cdot [(\text{flav})] + a_{10} \cdot [\text{H}(\text{flav})] + a_{20} \cdot [\text{H}_2(\text{flav})] + a_{11} \cdot [\text{M}(\text{flav})] + a_{21} \cdot [\text{M}_2(\text{flav})]$$

2. *Az oldat teljes fémion-koncentrációja* (C_M) a különböző komplexek és a szabad központi ion koncentrációjának összegéből adódik, és a stabilitási állandókkal, valamint a szabad részecskék koncentrációjával kétligandumos komplex képződése esetén a

$$C_{M(2L)} = [\text{M}] + [\text{M}(\text{flav})] + [\text{M}(\text{flav})_2] = [\text{M}] + K_1 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})] + K_1 \cdot K_2 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})]^2$$

egyenlettel, kétmagvú részecske keletkezésekor pedig a

$$C_{M(2M)} = [\text{M}] + [\text{M}(\text{flav})] + 2 \cdot [\text{M}_2(\text{flav})] = [\text{M}] + K_1 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})] + 2 \cdot K_1 \cdot K_{2M} \cdot [\text{M}]^2 \cdot [(\text{flav})]$$

összefüggéssel írható le.

3. Hasonlóképpen a *ligandum összes koncentrációját* $\text{M}(\text{flav})_2$ képződésekor a

$$C_{(\text{flav})(2L)} = [(\text{flav})] + [\text{M}(\text{flav})] + 2 \cdot [\text{M}(\text{flav})_2] = [(\text{flav})] + K_1 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})] + 2 \cdot K_1 \cdot K_2 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})]^2$$

fejezi ki, vagy az $\text{M}_2(\text{flav})$ létrejötte esetén a

$$C_{(\text{flav})(2M)} = [(\text{flav})] + [\text{M}(\text{flav})] + [\text{M}_2(\text{flav})] = [(\text{flav})] + K_1 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})] + K_1 \cdot K_2 \cdot [\text{M}]^2 \cdot [(\text{flav})]$$

kapcsolat adja meg.

4. A flavonoid-komplexek képződésében a *hidrogénion koncentrációjának* is jelentős szerepe van. Egyrészt a flavonoid ligandumok disszociációra hajlamosak, így az oldat pH-jától, illetve a flavonoid protonálódási állandóitól (K_{p1} és K_{p2}) is függ a ligandum valódi koncentrációja – az összes ligandum koncentrációja ebben az esetben a következő összefüggésekre módosul:

$$C_{(\text{flav})(2L)} = [(\text{flav})] + K_1 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})] + 2 \cdot K_1 \cdot K_2 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})]^2 + [\text{H}] \cdot [(\text{flav})] \cdot K_{p1} + [\text{H}]^2 \cdot [(\text{flav})] \cdot K_{p1} \cdot K_{p2}$$

$$C_{(\text{flav})(2M)} = [(\text{flav})] + K_1 \cdot [\text{M}] \cdot [(\text{flav})] + K_1 \cdot K_2 \cdot [\text{M}]^2 \cdot [(\text{flav})] + [\text{H}] \cdot [(\text{flav})] \cdot K_{p1} + [\text{H}]^2 \cdot [(\text{flav})] \cdot K_{p1} \cdot K_{p2}$$

A vizsgálati körülmények megfelelő megválasztásával az egyenletek ésszerű egyszerűsítésére is lehetőség volt. A komplexösszetétel előzetes meghatározásával, és az állandó pH-jú közeg alkalmazásával egyes részecskék jelenléte eleve kizárható volt. Ily módon a folyamatokat jellemző látszólagos (vagyis a közeg összetételétől, pH-jától függő) stabilitási állandót tudtam számítani.

Az általam használt MicroMath SCIENCE program segítségével a kvercetin és a rutin protonálódási állandóját, valamint a látszólagos stabilitási állandókat is meg tudtam határozni. Ez a program feltételezett moláris abszorpciós együtthatók és egyensúlyi állandók célszerű intervallumból kiindulva, a mérési adatok (pH, A, C_{flav} , $C_{\text{fémion}}$) és a szükséges matematikai összefüggések felhasználásával, több ciklusban futtatva iterációs módszerrel közelíti a valós együtthatók és az egyensúlyi állandók értékét.

A meghatározott egyensúlyi állandók realitásának ellenőrzésére az adott mérési sorhoz a program segítségével kiszámítottam az oldatban található részecskefajta koncentrációját és az elméleti fényelnyelés értékét is. A mért és a számított abszorpció hibáját pedig a

$$\check{h} = \pm \sqrt{\frac{\sum_1^n |A_{sz} - A_m|^2}{n-1}}$$

összefüggéssel jellemeztem.

IV. KUTATÁSI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A kvercetin, a rutin és a robinetin sav-bázis tulajdonságainak vizsgálatára, valamint különböző fémionokkal való kölcsönhatásuk tanulmányozására irányuló kutatási eredményeimet témakörönként csoportosítva mutatom be.

A kísérleti munka folyamán sikerült részletesen feltárni a flavonoidok sav-bázis tulajdonságait, és lehetővé vált a protonálódási állandók meghatározása is. A kvercetin és a rutin protonálódási állandójának ismerete lehetővé tette a különböző kémhatású oldatokban lejátszódó komplexképződési folyamatok pontosabb értelmezését, mivel a számításokban a fémion - ligandum kölcsönhatás mellett végbemenő disszociációs egyensúlyok is figyelembe vehetők voltak. A koordinációs folyamatok vizsgálata során megállapítottam a kvercetin és rutin alumínium- és réz-komplexeinek jellemző sajátosságait, összetételét és látszólagos stabilitási állandóikat. A kvercetin és a robinetin, valamint a króm(III)ion és a bikromation szilárd felületen végbemenő kölcsönhatásának vizsgálata révén tisztázni tudtam a folyamatok komplexkémiái és oxidációs-redukciós vonatkozásait. Vizsgáltam továbbá a kvercetin és a robinetin fotodegradációjának mértékét, és módosulását különböző oxidációs állapotú krómformák jelenlétében.

IV.1. A flavonoidok oldatbeli sajátosságainak vizsgálata

Az a tény, hogy a flavon-származékok vízben csak kissé oldódnak, sajnos nem teszi lehetővé a tisztán vizes közegű vizsgálatokat, pedig a biológiai és technológiai folyamatok szempontjából éppen e rendszerek lennének a legérdekesebbek.

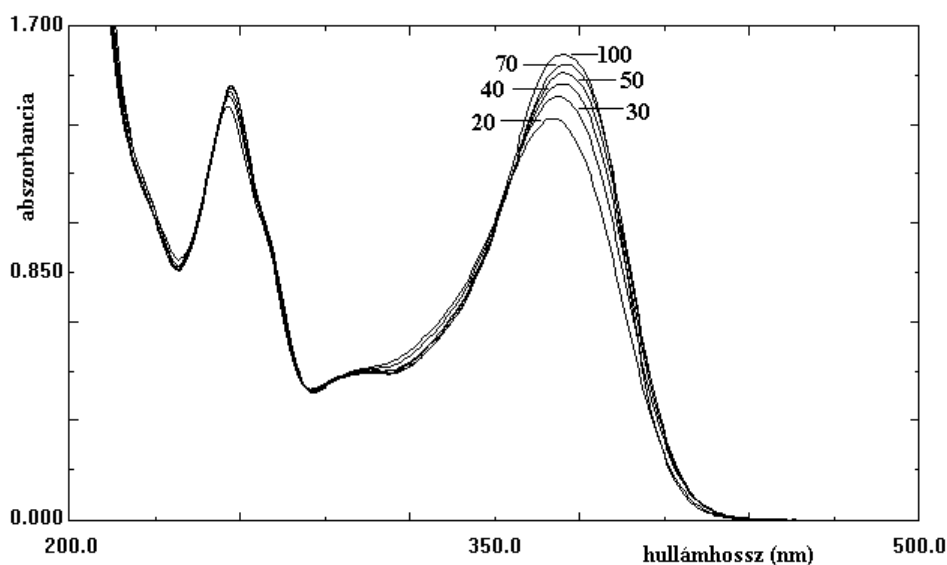
Az oldószer kellő megválasztása a flavonoidok megfelelő oldhatósága (és oldatban tartása) szempontjából, valamint a fémionok hidrolízisének, illetve redoxi reakcióinak elkerülése miatt egyaránt fontos tényező. A flavonoidok és fémionok kölcsönhatásának vizsgálatához olyan oldószer kiválasztása volt célszerű, amely biztosítja a kvercetin, rutin és robinetin jó oldódását, és a vizes közeghez hasonlóan protonakceptor - protondonor sajátosságú, valamint kevésbé dominál benne a réz(II)ion redoxi jellege. Ezen megfontolások alapján került kiválasztásra az etanol:víz rendszer (MOLNÁRNÉ 1997).

A koordinációs kémiai folyamatok nagymértékben oldószerfüggőek, mivel a komplexképződés elsődleges hajtóereje a fémion és a ligandum közötti kölcsönhatás, amit a solvatació jelentősen befolyásol. Egyes oldószerek – miként a víz, vagy az etanol is – donorként és akceptorként is reagálhatnak. Ezek oldataiban tehát a reaktánsok (fémion, ligandum) és a

reakciótermék (fémkomplex) egyaránt szolvatálva van. A szolvatáció megváltoztathatja a központi atom koordinációs számát, a ligandumok kötési módját és a keletkező komplex sztereokémiáját is, ezért az oldószer minőségétől, illetve az oldószerkegyek összetételétől függően jelentősen különböző komplexkémiai eredmény várható.

A spektrofotometriás mennyiségi vizsgálatok megkövetelik a flavonoidok adott hullámhosszhoz tartozó moláris abszorpciós együtthatóinak, illetve a Lambert-Beer-törvény érvényességi tartományának meghatározását is. A moláris abszorpciós együttható értéke nem csupán a flavonoidok minőségétől függ, hanem a közeg összetételével is változik. Az oldat kémhatása is jelentős szereppel bír, mivel a flavon-származékok disszociációs vagy asszociációs reakciói befolyással lehetnek a fényelnyelés változására. A sav-bázis vagy a komplexkémiai folyamatok kvantitatív értékeléséhez ezekre az adatokra általában a ligandumok vagy a kialakuló komplexek fényelnyelési maximumának hullámhosszán van szükség.

Az alkalmas oldószer-összetétel behatárolása érdekében vizsgáltam a kvercetin-oldatok spektrofotometriás sajátosságát (51. ábra), valamint időbeli változatlanóságát különböző etanol:víz arányok esetén. Alacsony etanoltartalom (10 - 30 térfogatszázalék) mellett kb. 1 óra alatt szemmel látható opalizáció alakult ki, amely miatt ilyen oldat a további vizsgálatoknál nem jöhetett számításba.



51. ábra A kvercetin fényelnyelésének változása vizes oldatban az etanoltartalom térfogatszázalékának függvényében ($C_{\text{kvercetin}} = 6,35 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$ /kivétel: 100/; felvétel 90 perc után 10 mm küvettában)

A mérési sorozatból megállapítható volt, hogy a víztartalom lényegesen befolyásolja az abszorpciós spektrum alakját és a fényelnyelés értékét, vagyis pontos betartására ügyelni kell. Legalkalmasabbnak az etanol:víz 1:1 térfogatarányú elegye mutatkozott, amely még viszony-

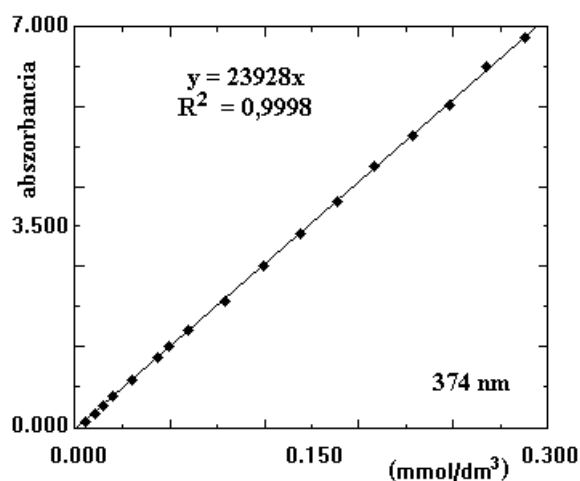
lag kevés etanolt tartalmaz, de már kevésbé érzékeny az összetétel piciny változására. Magasabb etanol-koncentráció még kedvezőbb lett volna, mivel a fényelnyelés értéke sokkal kevésbé függött az összetételtől, azonban nem tette volna lehetővé a komplexkémiai egyensúlyok vizsgálatához szükséges állandó alapelektrolit alkalmazását, mert a sók oldatban tartásához nem elegendő a víztartalom.

Az etanol:víz 1:1 térfogatarányú oldószer-összetétel a későbbiekben a rutin és a robinetin oldatbeli vizsgálatára is alkalmasnak mutatkozott. A fényelnyelési maximumok helye a víztartalom miatt kis mértékben eltérő az irodalmi értékektől (17. táblázat).

17. táblázat *A kvercetin, rutin és robinetin abszorpciós maximumainak helye és intenzitása etanol:víz 1:1 térfogatarányú elegyében (0,2 mol/dm³ KCl) (spektrumok: 5. melléklet)*

	C [mol/dm ³]	λ [nm]	A (1 cm)	λ [nm]	A (1 cm)	λ [nm]	A (1 cm)
kvercetin	$6,01 \cdot 10^{-5}$	256	1,462	308v	0,496	374	1,444
rutin	$6,05 \cdot 10^{-5}$	258	1,310	305v	0,535	360	1,127
robinetin	$6,69 \cdot 10^{-5}$	250	0,905	320	0,774	367	1,489

A Lambert-Beer-törvény érvényességének illusztrálására példaként a kvercetin fényelnyelési maximumán mért abszorpció 1 cm rétegvastagságra átszámított adatait mutatom be a flavonoid koncentrációjának függvényében (52. ábra).



52. ábra *A kvercetin fényelnyelésének változása a koncentráció függvényében 1 cm rétegvastagságra átszámítva (etanol:víz = 1:1 térf. arány; 0,2 M KCl)*

Megállapítottam, hogy etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyében a Lambert-Beer-törvény a flavonoidok széles koncentráció tartományában érvényes. Az abszorpció $5,95 \cdot 10^{-6}$ és $2,85 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ koncentrációk közötti lineáris összefüggése arra enged következtetni, hogy ilyen határok között nem következik be változás az oldott részecskék számában.

Vizsgálataim során több párhuzamos vizsgálatból meghatároztam a kvercetin, a rutin és a robinetin moláris abszorpciós együtthatóját a fényelnyelési maximumok hullámhosszán különböző alapelektrolitok mellett és savas kémhatású pufferoldatban (18. táblázat).

18. táblázat *A kvercetin, rutin és robinetin moláris abszorpciók együtthatója semleges és gyengén savas közegben*

	kvercetin		rutin		robinetin	
	λ [nm]	a [dm ³ /mol cm]	λ [nm]	a [dm ³ /mol cm]	λ [nm]	a [dm ³ /mol cm]
0,2 mol/dm ³ KCl	256	23340(±0,2%)	258	21877(±0,1%)	250	13530
					320	11570
	374	23950(±0,3%)	360	18785(±0,1%)	367	22255
0,1 mol/dm ³ KAc : HAc = 4:1	257	21715(±0,5%)	258	21780(±0,6%)		
	376	22470(±0,3%)	362	18655(±0,3%)		

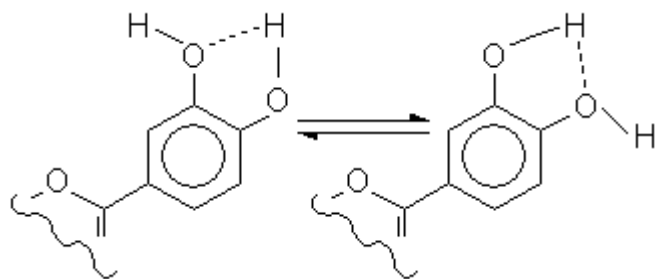
Eredmények, következtetések

Több publikáció a kvercetin abszorpciók spektrumának – disszociációból vagy mezo-mériából eredő – összetettségére hívta fel a figyelmet (13. ábra), és ezek alapján szükségesnek látszott újragondolni a flavonoidok A- és B-gyűrűjéhez rendelt sávok valódi tartalmát. Méréseim szerint a kvercetin, rutin és robinetin abszorpciók spektruma semleges (kálium-kloridos) közegben teljes mértékben megfelelt az irodalmi adatoknak. A fényelnyelési görbék további elemzése azonban meglehetősen bonyolult képet eredményezett. A spektrumok első és második deriváltjait képezve szembevetjük, hogy sok inflexió pontot tartalmaznak, és nemcsak a helyi maximumok és minimumok hullámhossz értékei azonosíthatók jól, hanem a vállként jelentkező rejtett csúcsok is (6. melléklet, 7. melléklet, 8. melléklet).

Semleges oldatban a *kvercetin* fényelnyelése az UV-tartományban összetett csúcsot tartalmaz (6. melléklet), az A-gyűrűhöz rendelhető 256 nm-es abszorpció mellett határozott vállként mutatkozik a 272 nm-es maximum. Az előbb idézett közlemény állítását – miszerint a kvercetin 374 nm-es abszorpciója 367 és 387 nm-es sávokból tevődik össze – az általam használt spektrumkiértékelő program segítségével nem tudtam igazolni, sem biztonsággal cáfolni. A szerzők feltételezése szerint a felhasadás a kvercetin molekula disszociációs egyensúlya miatt következik be.

A *rutin* abszorpciók spektrumát hasonló vizsgálatnak vettem alá, és megállapítottam, hogy az ultraibolya tartománybeli sáv (amit az A-gyűrűhöz szoktak rendelni) ugyanúgy megkettőződött, de a 360 nm körüli fényelnyelésnél itt sem mutatkozik határozott felhasadás (7. melléklet). A kvercetin és a rutin közös flavonoid alapváza következtében inert körülmények között a két spektrum jellegében nem különbözik egymástól.

Véleményem szerint a gerjesztési energia kismértékű különbözőségét okozhatja például a hidrogénkötések eltérő módon való kialakulása is (53. ábra), vagy a molekulán belüli



mezomer szerkezet lehetősége – mint azt más szerzők felvetik (ld. 6. ábra) –, illetve a molekulák hidrogénhidás dimerizációja, vagy asszociációja.

53. ábra A hidrogénkötés lehetséges egyensúlya a kvercetin és a rutin molekulájában

A robinetin fényelnyelése viszont lényegesen eltér a kvercetin és rutin abszorpciós spektrumától. Az UV-tartományban kb. 210 nm-nél nagyon intenzív abszorpciója van, amelynek a nagyobb hullámhosszak felőli oldalán egy kisebb kiemelkedés mutatkozik 250 nm-es maximummal. A B-gyűrűre jellemző fényelnyelési sávon pedig a kisebb hullámhosszak felőli oldalon (320 nm) található hasonló kis kiemelkedés (8. melléklet). A robinetin molekulájában jelentősen különbözik a hidrogénkötések kialakulásának lehetősége, ami szintén okozhatja az abszorpciós sávok megjelenését.

Vizsgálataimból kiderült, hogy ilyen koncentrációtartományban sem asszociációval, sem disszociációval nem kell számolni a koordinációs folyamatok vizsgálata során. Amennyiben ilyen körülmények között jelentős lenne a kvercetin disszociációja, az befolyásolná az abszorpció linearitását is, mivel az egyre töményebb oldatokban fokozatosan csökkenne a disszociáció foka, ami a fényelnyelés relatív arányát is mérsékelné. Ezt igazolja a kvercetin tömény oldatából készített MALDI-tömegspektrum is (9. melléklet), amely etanol-víz elegy esetén csak kis intenzitású csúcsokat mutatott ugyan, de egyértelműen látszik, hogy az asszociátumnak (dimernek) megfelelő tömegértéknél (600-650 m/z) teljes mértékben hiányzik a jel. A vizsgálat eredménye azt a véleményemet is alátámasztja, hogy a kvercetin spektrumában az abszorpciós sávok összetettségét nem a molekula kismértékű disszociációja okozza, hanem más szerkezeti magyarázatot kell keresni.

IV.2. Fény hatása a flavonoidok spektrális sajátosságaira

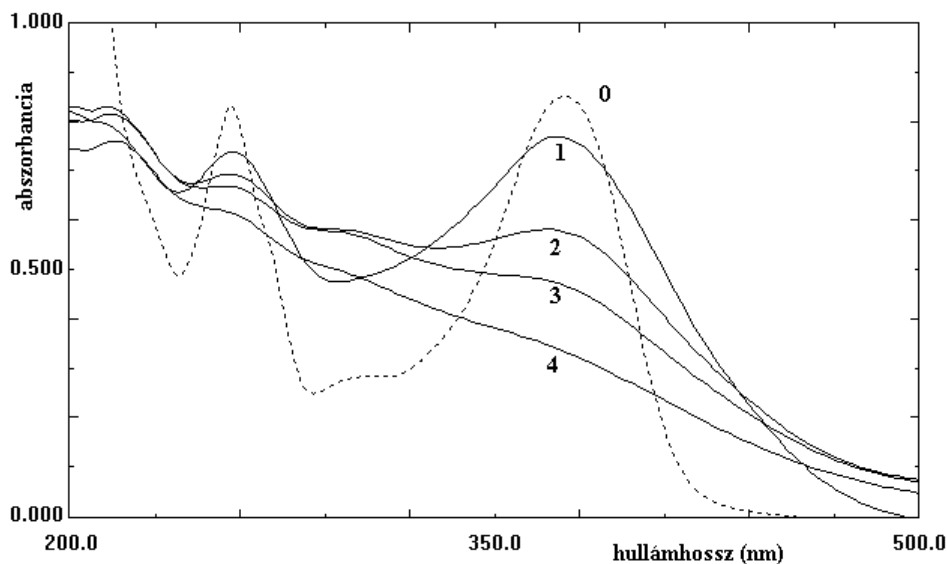
A szilárd felületen fénybesugárzás hatására lejátszódó folyamatok tanulmányozása során arra kerestem választ, hogy milyen szerepe van a változások jellegében a flavonoidoknak, illetve a szerkezeti különbségeik milyen hatással vannak a fotodegradációs folyamatok lejátszódásának módjára. A flavonoidok oldatbeli viselkedése alapvetően különbözik a szilárd fázison mutatott sajátosságoktól, ezért spektrofotometriás vizsgálataimat kiegészítettem inert (szilikagél) rétegen impregnált kvercetin és robinetin sajátosságainak megismerésével

(MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2002). Számos publikációban szerepel, hogy olyan flavonoid - fémion kölcsönhatás is megfigyelhető szilárd felületen, amelyek oldatban nem mennek végbe. Ezek a flavonoidok ráadásul jó modellanyagai a fafelületeken fénysugárzás miatt bekövetkező színváltozásnak is.

A szilárd felületen fényhatásnak kitett flavonoidok vizsgálata csak kevés közleményben jelenik meg, és a folyamatok bizonyító elemzése ott sem történik meg, csupán feltételezik a molekulák szerkezeti átrendeződését. A kvercetin vizsgálata során (nem túl intenzív fénysugárzás hatására) a 370 nm körüli sáv kismértékű csökkenését tapasztalták (16. ábra), de a szerzők nem vizsgálták a 300 nm alatti hullámhossz-tartományt.

A vizsgált flavonoidok szilikagél rétegen mutatott fényelnyelési görbéi nem különböztek alapvetően az etanol-víz oldószerkeletben mutatott jellegzetességektől (10. melléklet). Mindkét esetben megfigyelhető a látható tartománybeli sáv nagyfokú kiszélesedése, amit a szakirodalom a szilárd felülethez kapcsolódó hidrogénhidás kötések számbeli növekedésével hoz kapcsolatba.

A kvercetin abszorpciós spektrumában jól azonosítható a benzoil-csoport nagy intenzitású, 258 nm hullámhosszú fényelnyelése, valamint a cinnamoil-szerkezethez rendelhető 375 nm-es maximum (54. ábra).

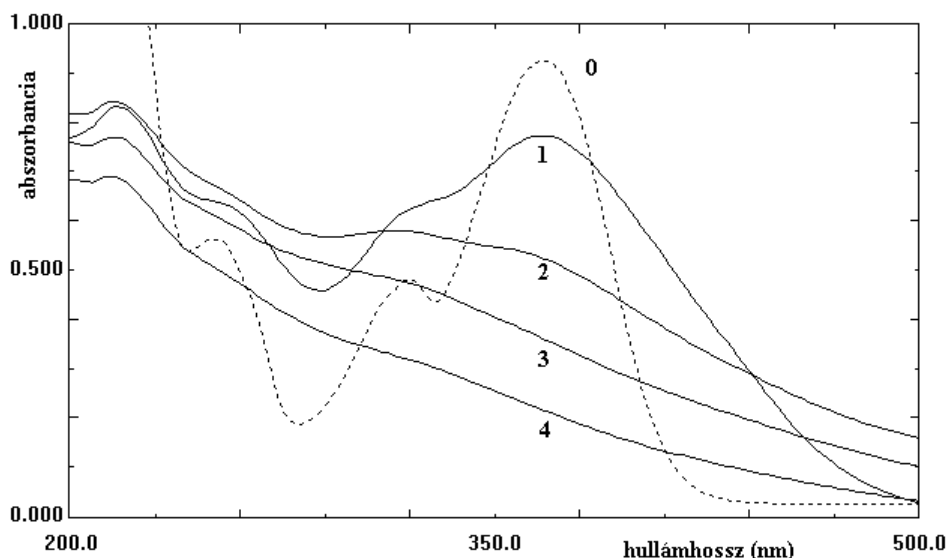


54. ábra A kvercetin abszorpciós spektruma oldatban (0), szilikagél felületen (1) és különböző ideig tartó fényhatás után (2-4: $t = 30, 60$ és 120 perc)

A különböző ideig tartó ultraibolya fényvel történő besugárzás alapvető változást idézett elő az abszorpciós spektrumban. Már 30 perces fényhatás is jelentősen csökkentette a kvercetin jellemző fényelnyelési csúcsait. Két órás fényhatás pedig olyan szerkezeti változást idé-

zett elő, amely az aromás gyűrűkre jellemző maximumok nélküli, csaknem lineárisan emelkedő abszorpciót eredményezett az teljes ultraibolya tartományban

A *robinetin* szilárd felületű spektrumában az irodalmi adatokkal megegyezően a benzoilcsoport fényelnyelése 252 nm-nél csak egy vállban mutatkozik, míg a B-gyűrű abszorbanciája 365 nm-nél intenzív maximumot ad, 320 nm hullámhossz körüli vállal (55. ábra).



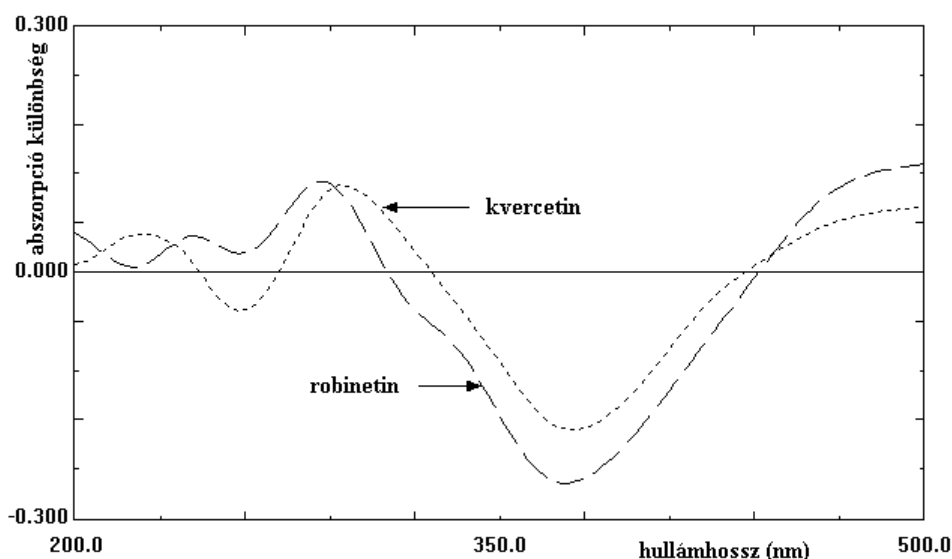
55. ábra *A robinetin abszorpciós spektruma oldatban (0), szilikagél felületen (1) és különböző ideig tartó fényhatás után (2-4: t = 30, 60 és 120 perc)*

Az ultraibolya fény hatásának kitett robinetin abszorpciós spektruma intenzív változást mutat. A B-gyűrű 365 nm-es maximumán a fényelnyelés csökkenés olyan jelentős mértékű, hogy abszorpciós csúcspont már 30 perc után nem detektálható, és 2 óra alatt lineárisan növekvő elnyelési görbévé alakul a teljes spektrum.

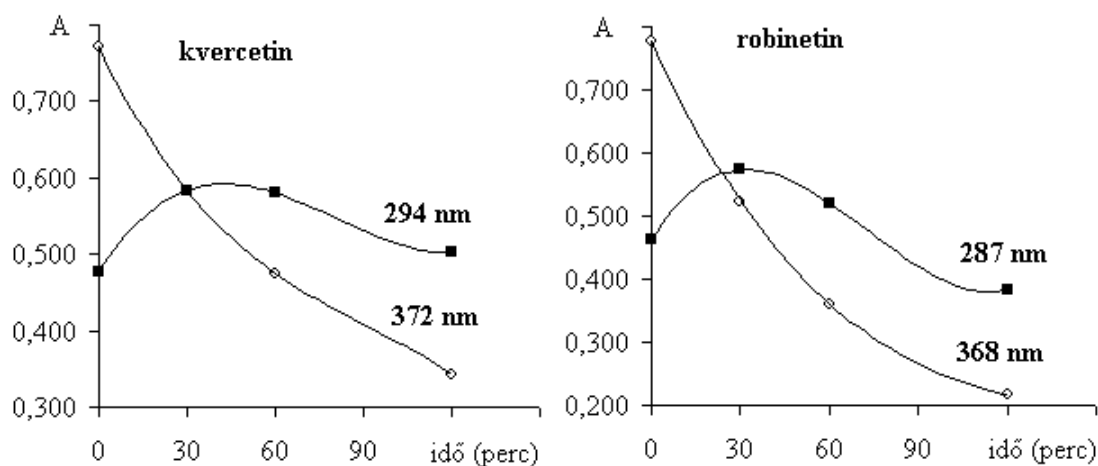
Eredmények, következtetések

Az időbeli spektrumok különbségét képezve mind a két flavonoid esetében megfigyelhető, hogy a molekulaszervezetre jellemző abszorpciós maximumok csökkenésével egyidejűleg 290 nm hullámhossz körül egy új sáv kezdetleges kialakulása is bekövetkezik. Továbbá a látható tartományban – 450 nm felett, adott hullámhosszhoz nem rendelhető – abszorpció-növekedés lép fel a fénybesugárzás után, ami a rétegek sárgás színének átmeneti erősödésében is megmutatkozik (56. ábra).

A kvercetin abszorpciójának 294 nm-nél és a robinetin 287 nm-nél mutatkozó kisebb növekedése – amit a molekulák kinoidális átrendeződéséhez lehet rendelni – azonban csak időleges (57. ábra), a további fényhatásra a molekulaszervezetek teljes degradációja következik be.



56. ábra *A 30 perces fényhatásnak kitett flavonoidok abszorpciós spektrumának és eredeti fényelnyelési görbéjüknek különbsége*



57. ábra *A fényabszorpció intenzitásának változása a fénysugárzás időtartamának függvényében a flavonoidok jellegzetes hullámhosszain*

Vizsgálataim alapján valószínűsíthető, hogy az intenzív fényhatás következtében (120 perc = kb. 2 év napsugárzás) a fotoindukált tautomer átalakulást követően a kvercetin és a robinetin teljes szerkezeti lebomlása következik be, azonban a keletkező részecskék azonosítása további (kromatográfias és tömegspektrometriás) vizsgálatokat igényelne.

IV.3. A flavonoidok sav-bázis tulajdonságainak vizsgálata

Az előzetes szakirodalmi publikációk ismeretében a koordinációs kémiai egyensúlyok tanulmányozása mellett szükséges volt annak vizsgálata is, hogy a kvercetin, a robinetin és a rutin miként reagál a közeg kémhatásának változására, milyen folyamatok mehetnek végbe savas és lúgos oldatokban. Az egyes közleményekben a kvercetin többféle módon lejátszódó reverzibilis és irreverzibilis átalakulásáról egyaránt beszámolnak. Ezeket a változásokat vagy

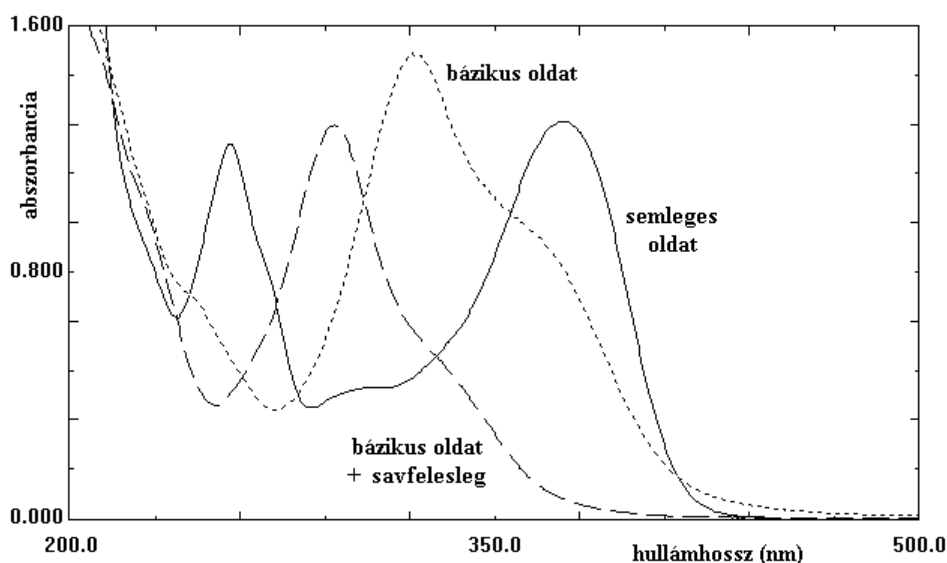
tisztán vizes, vagy tisztán alkoholos (metanol, etanol), illetve acetonitriles oldatban vizsgálták. Mivel az oldószer-összetétel jelentős befolyással bír a disszociációs folyamatokra és a molekulaszervezeti átrendeződés lehetőségére, a kvercetin, rutin és robinetin komplexkémiai vizsgálatához alapvető fontosságú volt először a kémhatás szerepének tisztázása.

A **savak hatását** 1:1 térfogatarányú etanol:víz elegyben, $0,2 \text{ mol/dm}^3$ KCl jelenlétében vizsgáltam. A kvercetin abszorpciós spektruma még $0,02 \text{ mol/dm}^3$ sósavat tartalmazó oldatban sem mutat eltérést a semleges oldatétól, és időben állandó. A rutin és a robinetin semleges és gyengén savas közegben (KH_2PO_4 , $\text{pH} \approx 4,5$) hasonló abszorpciós sajátságokat mutat, ami arra enged következtetni, hogy ilyen oldatban a semleges molekulák protonálódása nem megy végbe, valamint a rutin diszacharid oldalláncának hidrolízise sem következik még be.

Már a tájékoztató vizsgálatok során kiderült, hogy fokozottan ügyelni kell a **bázikus oldatokban** a kölcsönhatás időtartamára, mivel időben jelentősen megváltozik a flavonoidok abszorpciós spektruma. Ez abban is megmutatkozik, hogy az oldat összeöntéskor tapasztalt intenzív sárga színe fokozatosan elhalványodik, végül teljesen eltűnik. A folyamat lejátszódásának sebessége függ a hozzáadott bázis erősségétől és koncentrációjától. A jelenség pontosabb megismerése érdekében többféle bázikus kémhatású vegyület hatását tanulmányoztam.

IV.3.1. A kvercetin szerkezeti változása bázikus közegben

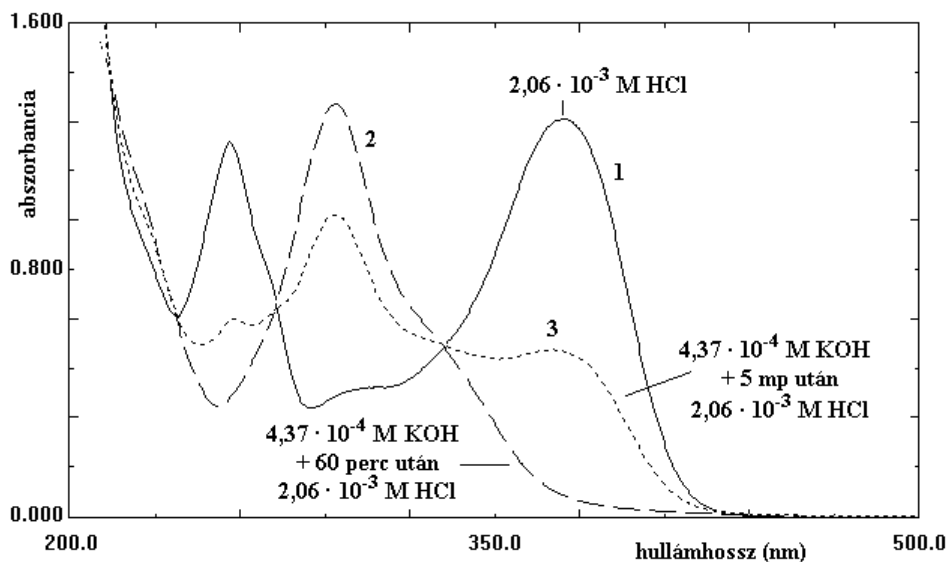
Erős bázis jelenlétében ($0,02 \text{ mol/dm}^3$ nátrium-hidroxid vagy $0,1 \text{ mol/dm}^3$ nátrium-karbonát hatására) a kvercetin oldatának fényelnyelése azonosan változik (58. ábra).



58. ábra *A kvercetin abszorpciós spektrumváltozása $0,02 \text{ mol/dm}^3$ NaOH, majd további $0,05 \text{ mol/dm}^3$ HCl hatására etanol-víz elegyben ($C_{\text{kvercetin}} = 6,05 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3$ KCl)*

Először intenzív sárga színeződés (majd zöldessárga és rózsaszín) mutatkozik, melynek gyors eltűnésével párhuzamosan a 256 és 374 nm-es jellemző sávok is csökkennek, helyettük egy új, nagyon intenzív abszorpciós csúcs jelenik meg 315-320 nm körül, amelynek jellegzetes válla van kb. 350 nm-nél. A teljes kialakulás után feleslegben adott sav hatására a színtelen oldat fényelnyelése további hipszokróm eltolódást szenved, és a csúcs intenzitása a semlegessel összemérhető lesz.

Az erős bázis jelenlétében végbemenő folyamat sebessége nagy, de időben (néhány másodpercen belül) adagolt sav segítségével befagyasztható (59. ábra). A kálium-hidroxid hozzáadása során megfigyelhető volt a kvercetin oldatának zöldessárga és rózsaszín elszíneződése, ami a sósav azonnali adagolásával rögtön elszíntelenedett. A három savas közegben felvett görbe izobesztikus pontokban találkozik, ami azt is jelzi, hogy a sav-bázis folyamatok szoros kapcsolatban vannak egymással, két-két fényelnyelő részecske található az oldatban.

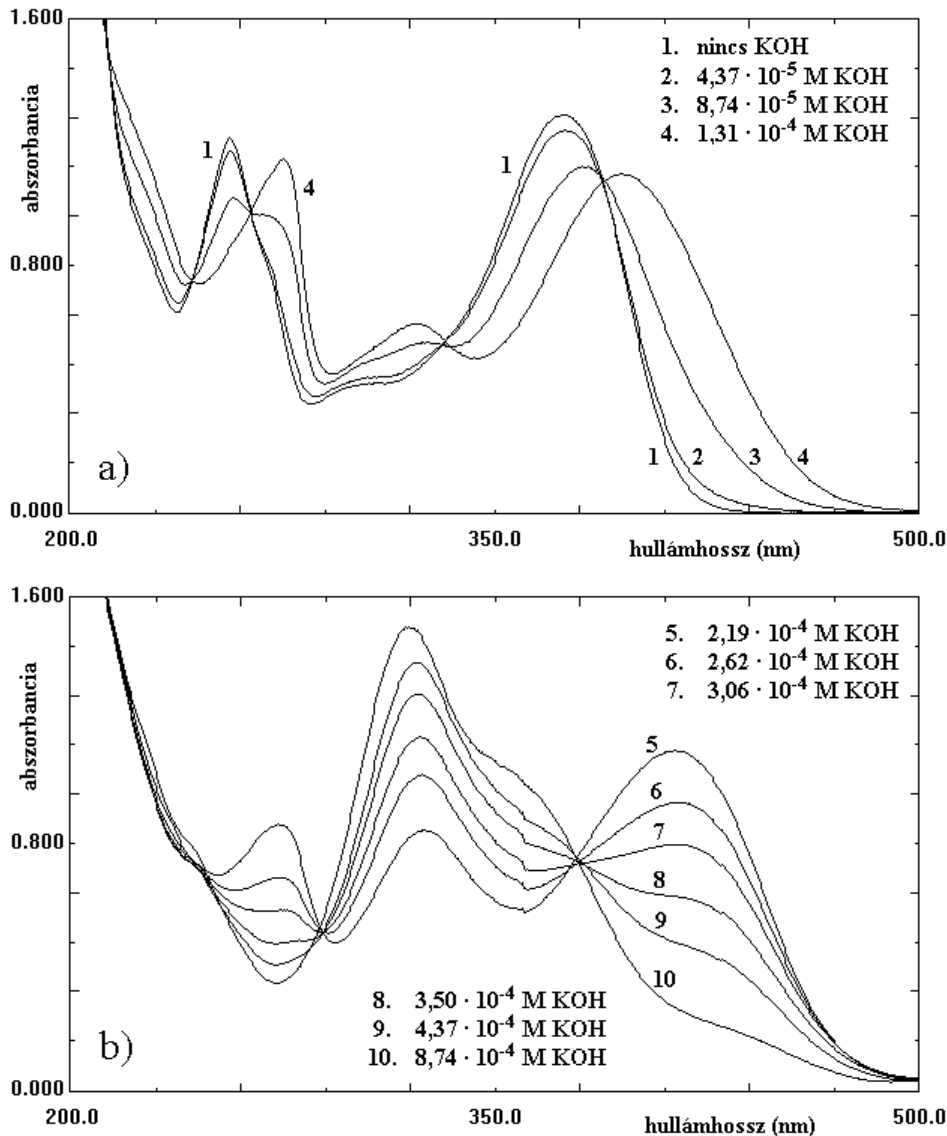


59. ábra A kvercetin savas kémhatású oldatban, illetve a lúgos oldat különböző időpontbeli visszاسavanyítása után felvett abszorpciós spektruma ($C_{\text{kvercetin}} = 5,71 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$)

Vizsgáltam továbbá a hidroxidion koncentrációjának hatását a kvercetin disszociációs reakcióira. Megállapítható volt, hogy a lejátszódó folyamatok mechanizmusa erősen függött a OH^- -ion és a kvercetin (Q) koncentrációarányától. A változások két szakasza volt elkülöníthető. Alacsony hidroxidion tartalom esetén – ha az $[\text{OH}^-]/[\text{Q}] < 2$ – az abszorpciós spektrumok egyértelműen jelzik a disszociáció lejátszódását, míg magasabb arány alkalmazása más molekulaszervezeti változásokat is jelez (60. ábra a.).

A kvercetin koncentrációjával összemérhető mennyiségű NaOH vagy KOH hatására egyre erősödő disszociáció következik be, ami az oldatok színében is megmutatkozik, mert a

növekvő OH^- -koncentráció hatására egyre nagyobb mértékben válnak sárga színűvé. Párhuzamosan az abszorpciós spektrumon a fényelnyelési sávok fokozatos batokróm eltolódása (276 és 395 nm-re), valamint izobesztikus pontok kialakulása (243, 264, 332, 387 nm) figyelhető meg.

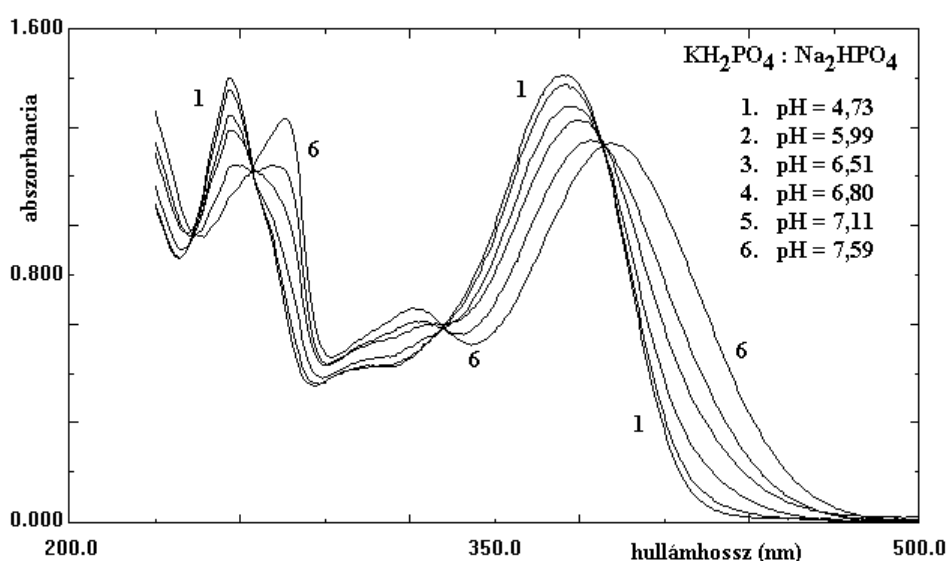


60. ábra *A kvercetin abszorpciós spektruma különböző koncentrációjú kálium-hidroxid jelenlétében ($C_{\text{kvercetin}} = 5,71 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³; felvétel 2 percen belül)*

A folyamat következő szakaszában – amikor a OH^- -ion a kvercetinhez képest háromszorosnál nagyobb koncentrációban van jelen – fokozódik a disszociációt követő folyamatok sebessége, és ennek következtében megváltozik az abszorpciós görbék alakja. A növekvő KOH koncentrációval párhuzamosan csökken a 274 és 414 nm-es csúcsok intenzitása, és új fényelnyelési maximum és váll jelenik meg 320 illetve 350 nm-nél, valamint izobesztikus pontok alakulnak ki (288 és 379 nm-en) (60. ábra b.).

A gyengén bázikus közegben lejátszódó folyamatok vizsgálatának kivitelezéséhez puffersorozatot állítottam elő KH_2PO_4 és Na_2HPO_4 oldatának különböző arányú keverésével, amely biztosította, hogy az eltérő pH-jú oldatokban a flavonoidok különböző mértékű disszociációja megfigyelhető legyen az abszorpciós spektrumok összehasonlítása révén.

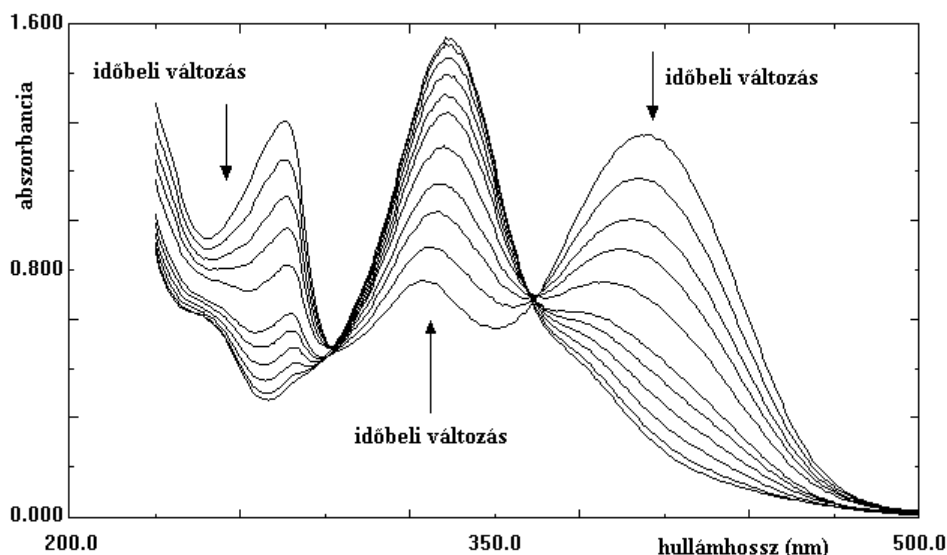
A kvercetin különböző pH-jú oldatairól 60-90 másodpercen belül felvett abszorpciós spektrumokon jól látható, hogy a változások azonos módon játszódnak le (61. ábra), mint amit az alacsony KOH-tartalmú oldatoknál lehetett tapasztalni (60. ábra a.). Vagyis a fényelnyelési maximumok fokozatosan a magasabb hullámhosszak felé tolódnak és egyszerre több izobesztikus pont is kialakul (243, 264, 332 és 387 nm), melyek hullámhossza megegyezik az alacsony KOH-tartalomnál tapasztalt értékekkel.



61. ábra A kvercetin abszorpciós spektruma különböző összetételű $0,013 \text{ mol/dm}^3$ KH_2PO_4 - Na_2HPO_4 -pufferoldatokban ($C_{\text{kvercetin}} = 5,91 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

Az oldatok pH-jának növekedésével párhuzamosan a spektrumok egyre gyorsabb időbeli módosulása következett be, ami legszembetűnőbben a $0,013 \text{ mol/dm}^3$ Na_2HPO_4 tartalmú oldatban (pH = 8,36) mutatkozott meg. Az oldat színe közel 3 óra alatt teljesen kifakult, miközben a fényelnyelési görbe is alapvetően megváltozott (62. ábra). Az időbeli folyamat végén kapott abszorpciós spektrum alakja lényegesen különbözik a magasabb koncentrációjú KOH tartalmú oldatok abszorpciós görbétől (60. ábra b.). Szembetűnő a 350 nm körüli váll hiánya a kialakuló új sávon (max. 335 nm), valamint a jellegzetes izobesztikus pontok hullámhossza is eltérő (292 és 365 nm, a 288 és 379 nm helyett).

További lúgosan hidrolizáló sók (Na_2SO_3 , $\text{Na}_2\text{B}_2\text{O}_7$ és CH_3COOK) hatását vizsgálva azt tapasztaltam, hogy anyagi minőségüktől függetlenül egyforma változást idéznek elő a kvercetin abszorpciós spektrumában (11. melléklet).



62. ábra *A kvercetin fényelnyelésének időbeli változása $0,013 \text{ mol/dm}^3 \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ oldatban ($C_{\text{kvercetin}} = 5,96 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; időpontok: $t = 2, 6, 10, 15, 20, 33, 45, 60, 90, 150$ és 200 perc)*

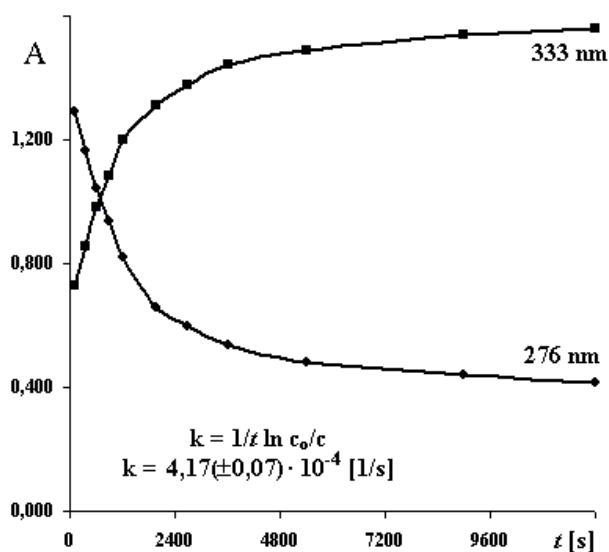
Eredmények, következtetések

Az etanol-víz elegyben a hidroxid-ion koncentráció függvényében kapott spektrum-sorozat vizuális képe, és jellegzetes pontjai megdöbbentően azonosak az irodalomban közölt, adott pH-jú vizes kvercetin-oldat időbeli változásával (ld. 23. ábra), ami arra utal, hogy lejátszódó folyamatban az etanolnak nincs befolyásoló hatása. Sajnos technikai feltételek hiányában nem tudtam rögzíteni az erős bázis hatására végbemenő (és jellegzetes meggyvörös szín megjelenésével járó) igen gyors folyamat kialakulását.

A kvercetin gyengén bázikus kémhatású oldatában lejátszódó folyamatok a spektrumok alapján jobban elkülöníthetők voltak, és meg lehetett különböztetni a gyors disszociációs lépést, valamint az azt követő, lassabban végbemenő reakciókat.

A disszociáció mértékének növekedésével párhuzamosan a kvercetin A-gyűrűjére jellemző sáv áthelyeződése egyértelműbben megmutatkozik az abszorpciós spektrumokban, mint a B-gyűrűé. Az anion részecske (276 nm) és a nem disszociált kvercetinmolekula fényelnyelése (256 nm) sokkal jobban szeparálódik, mint a kétféle részecske látható tartományba eső sávja. Az UV-tartományban a növekvő pH-val fokozódó disszociáció (az anion alak koncentrációjának emelkedése) határozottan megfigyelhető. Ezek a spektrumjellemzők kifejezetten alátámasztják azt a feltételezését, hogy a disszociáló hidrogénion leválása valóban a 7-OH-csoporton megy végbe, és a látható tartományban a sáveltolódást csupán a kvercetin molekulájának elektrongerjesztésében együttesen bekövetkező változás idézi elő.

A kvercetin fényelnyelésének időbeli változása a $\text{pH} \approx 8,0-8,5$ oldatokban (62. ábra) azt mutatja, hogy az anionforma koncentrációja fokozatosan csökken, és a kvercetin jelentős



mértékű szerkezeti átalakulása valószínűsíthető. Az anion mennyiségének csökkenése (276 nm) és a keletkező részecske növekedése (333 nm) egyaránt telítési görbével jellemezhető (63. ábra).

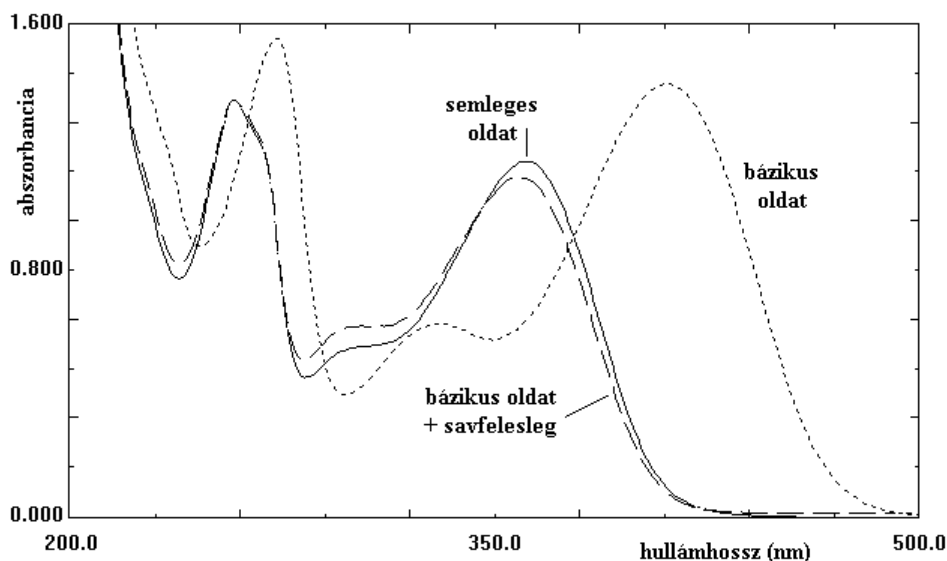
63. ábra A kvercetin fényelnyelésének változása az idő függvényében $0,013 \text{ mol/dm}^3 \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ oldatban és a folyamat reakciósebességi állandója ($C_{\text{kvercetin}} = 5,96 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

Az anion koncentrációjának csökkenéséből számított reakciósebességi állandó a folyamat kezdeti szakaszában (kb. 20 perc időtartamig) látszólagosan elsőrendű kinetikájú változást jelez (12. melléklet). Ez azonban az idő függvényében módosul. A vizsgálatok kivitelezésekor tapasztaltak alapján a reakciósebesség jelentős mértékben függ az oldat OH^- -ion koncentrációjától is.

A kvercetin átalakulása feltehetően más-más úton játszódik le a hidroxidion koncentrációtól függően, és a két folyamatban keletkező termék szerkezete spektruma alapján nem azonos. Ezért váratlan eredménye volt a vizsgálatoknak, hogy savfelesleg hatására oldatok spektruma meglepő módon teljesen azonos lesz akár alacsonyabb, akár nagyobb OH^- -ion koncentráció váltotta ki az időreakciót (ld. 59. ábra 2 spektrum). A folyamat feltételezett reakciósémáját a molekulászerkezeti magyarázat fejezetében ismertetem.

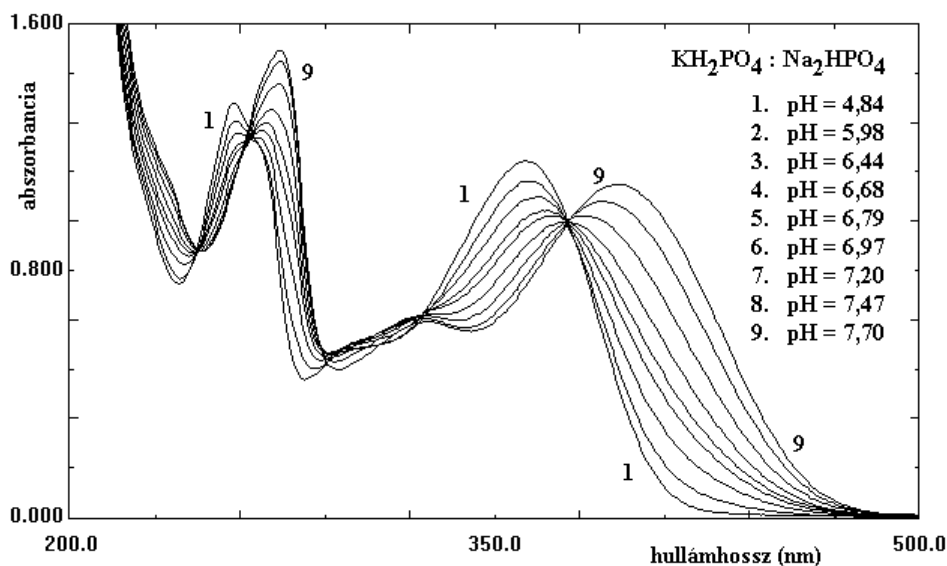
IV.3.2. A rutin sav-bázis egyensúlya

A rutin disszociációs egyensúlya gyengén lúgos oldatban hasonló módon alakul, mint a kvercetin esetében. Lényeges különbség azonban, hogy a disszociációt nem követi további szerkezeti változás, a folyamat reverzibilis (még $\text{pH} \approx 10-11$ -nél is). Kálium-hidroxid hatására intenzív zöldessárga színű oldat keletkezik, amely színét tartósan megőrzi, és a folyamat lejátszódása után adagolt savfelesleggel az eredeti abszorpciós görbe csaknem teljesen visszaállítható (64. ábra).



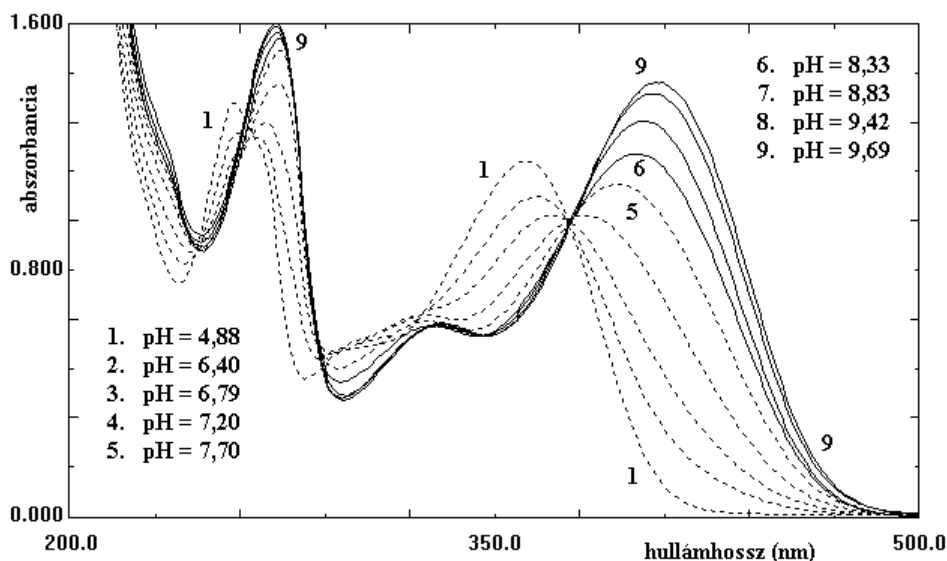
64. ábra A rutin abszorpciós spektrumának változása $4 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ KOH, majd további $8 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ HCl hatására ($C_{\text{rutin}} = 6,21 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3$ KCl; etanol:víz = 1:1 térf. arány)

A bázis és a sav egymást követő többszöri adagolásával arról is meggyőződtem, hogy a végbemenő reakció teljes mértékben reverzibilis, vagyis a rutin esetében a disszociációs folyamaton kívül más változás nem következik be. A pH növelésekor a jellemző fényelnyelési sávok batokróm eltolódása mellett egyszerre több izobesztikus pont kialakulása is megfigyelhető (245, 264, 324, 376 nm), amelyek pH $\approx 7,8$ -ig megmaradnak (65. ábra).



65. ábra A rutin abszorpciós spektruma különböző összetételű KH₂PO₄-Na₂HPO₄-pufferoldatokban ($C_{\text{rutin}} = 6,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

A rutin magasabb pH-tartományban felvett abszorpciós spektrumai azonban láthatóan nem illeszkednek a sorba (66. ábra), ami arra enged következtetni, hogy nagyobb [OH⁻]-koncentráció mellett a második hidrogénion disszociációja is megkezdődik a rutin molekulájáról.



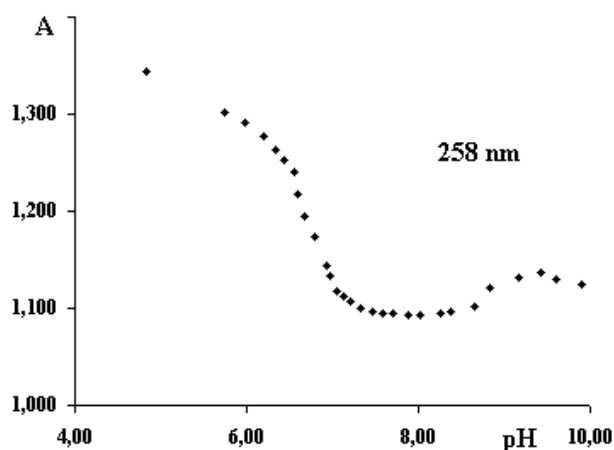
66. ábra A rutin abszorpciós spektrumának változása a pH függvényében ($C_{\text{rutin}} = 6,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

Eredmények, következtetések

A rutin növekvő pH-n bekövetkező fokozatos spektrumváltozása az ultraibolya tartományban egyértelműen mutatja a rutinanion kialakulását (274 nm), és a kvercetinhez hasonlóan a B-gyűrűre jellemző sáv csak kis mértékben tolódik a magasabb hullámhosszak felé (65. ábra). Az abszorpció ilyen jellegű változása ebben az esetben is a 7-OH-csoporton bekövetkező disszociációra utal.

A lúgos oldat spektrumának deriváltjait képezve meg lehetett állapítani, hogy a sávok nem összetettek, vagyis csak egyféle szerkezetű részecske van jelen (13. melléklet), és a spektrofotometriás mérési adatok segítségével a disszociációs egyensúly egyértelműen leírható.

A két fősávhoz kapcsolódó izobesztikus pontokban magasabb pH-n is csak kis mértékű elmozdulás figyelhető meg, azonban a spektrumok alakja alapvetően módosul (66. ábra). A görbék majdnem a teljes tartományban egymáson futnak, mintegy kötegeket alkotnak, csupán a B-gyűrűhöz rendelhető maximum fokozatos batokróom eltolódása, és ezzel együtt a sáv szélesedése mutatkozik. A növekvő pH-val változatlan intenzitású sávok jelenléte a spektrumban pedig a kromofor csoport állandósult koncentrációját tükrözi. Mivel lúgosabb közeg esetén is reverzibilisnek mutatkozott a rutin és KOH kölcsönhatásának folyamata, a spektrumváltozás további hidrogénion(ok) disszociációjához rendelhető. A folyamat összetettségét az is jelzi, hogy a disszociálatlan rutinhoz tartozó hullámhosszon mért fényelnyelést a pH függvényében ábrázolva lépcsőzetes változást mutató görbe keletkezik (67. ábra).

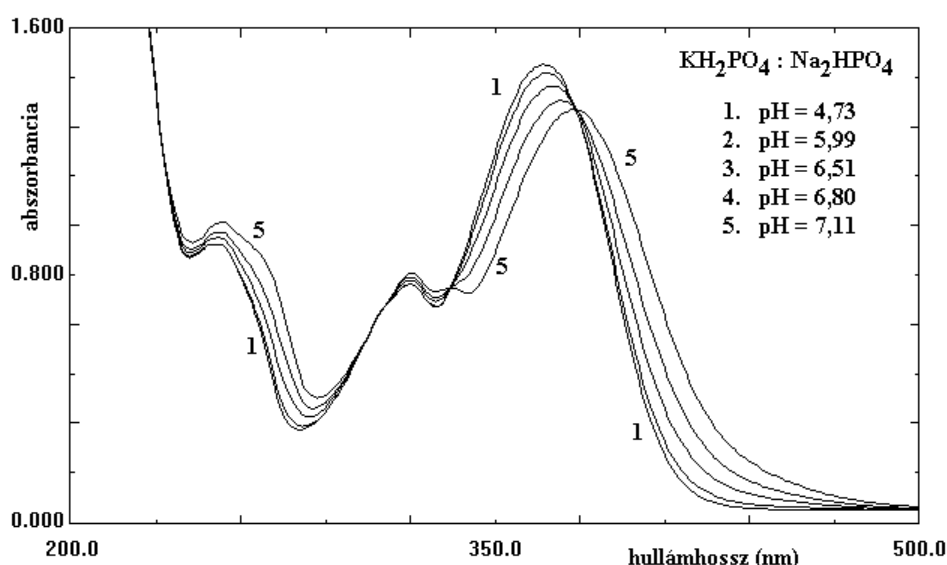


A görbe első szakaszában (4,8-7,7) az első disszociációs lépés mutatkozik meg, amely a protonálódási állandó kvantitatív számítását is lehetővé teszi. A második szakaszban mért adatokból azonban a második disszociációs lépés csak nagy hibával írható le.

67. ábra A rutin 258 nm-en mért fényelnyelésének 1 cm rétegvastagságra számított adatainak változása a pH függvényében ($C_{\text{rutin}} = 6,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

IV.3.3. A robinetin átalakulása gyengén lúgos közegben

A robinetin disszociációját jelző sárga szín kialakulása alacsonyabb pH-jú oldatokban következik be, és folyamatát hasonló görbesereg illusztrálja (68. ábra), mint amilyen a kvercetin esetében volt megfigyelhető.



68. ábra A robinetin abszorpciós spektruma különböző összetételű KH_2PO_4 - Na_2HPO_4 -pufferoldatokban ($C_{\text{robinetin}} = 6,69 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

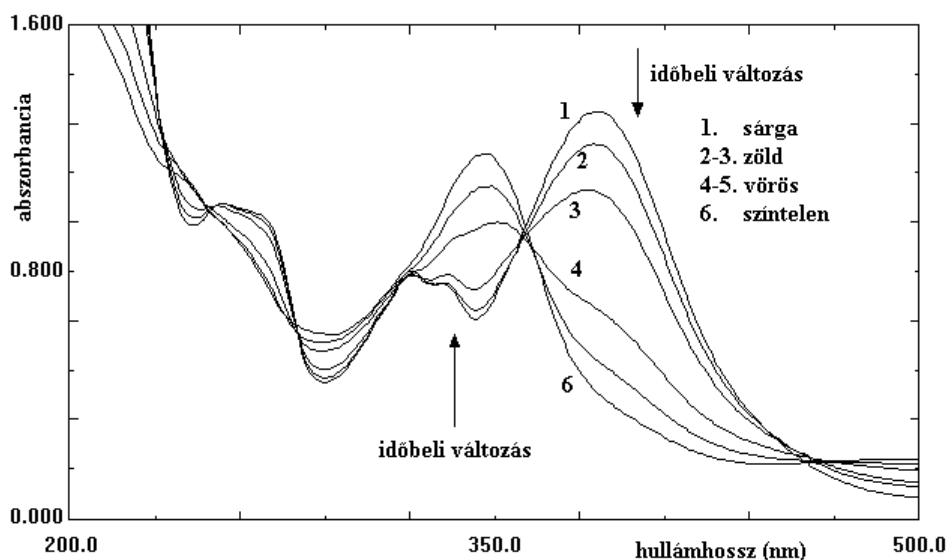
Az oldat pH-jának növekedésével a robinetin gyengén savas oldatában mért abszorpciós maximumok (250, 320, 367 nm) batokróm eltolódása kisebb mértékű, mint a kvercetiné volt, viszont jellemző, hogy a csúcsok megduplázódnak, illetve vállak keletkeznek (254, 265v, 321, 332 nm) és két maximum közvetlen közelében is kialakul izobesztikus pont (307, 338, 248, 278 nm) (14. melléklet).

A disszociációt követő átalakulási folyamatok már $\text{pH} \approx 7,0\text{-}8,0$ puffer hatására is nagyon látványosan zajlanak le. Az oldat színe először határozott zöldre változik, majd szürke átmeneti szín után hosszabban vöröses lilára módosul, ami fokozatosan elhalványul (15. melléklet).

Eredmények, következtetések

A robinetin disszociációja és molekulaszervezeti átalakulása a kvercetinhez képest nagyobb sebességgel megy végbe $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ -tal pufferolt közegben.

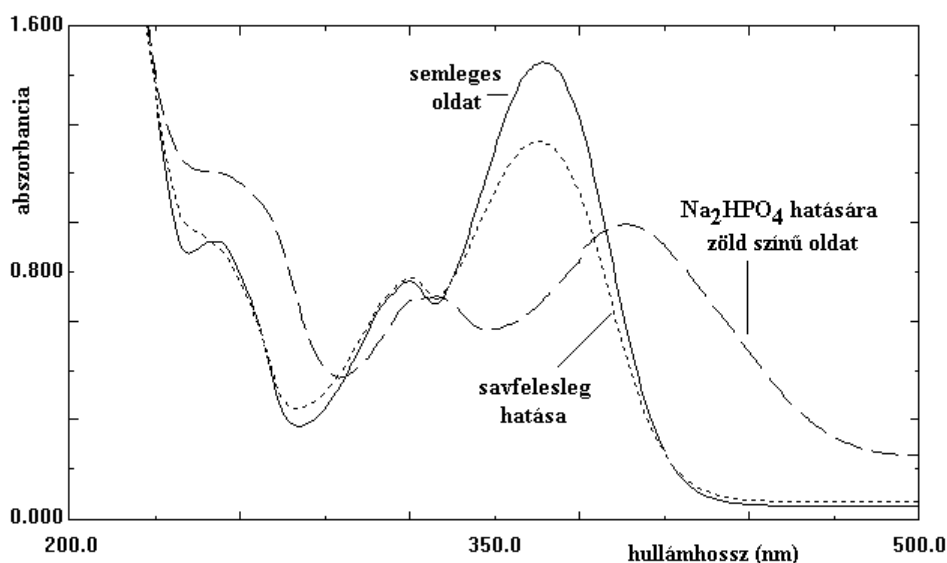
A kvercetin és a robinetin molekulaszervezeti változása egyrészt abban különbözik egymástól, hogy a robinetin oldatában alacsonyabb pH-n, sokkal gyorsabban mennek végbe a folyamatok. Másrészt az átalakulást a robinetin jellemző színváltozása is mutatja, ami a kvercetinnél nem tapasztalható. A színváltozás alapján egymást követően legalább négy különböző szerkezetű részecske jelenléte feltételezhető az oldatban (69. ábra).



69. ábra A robinetin abszorpciós spektrumának időbeli változása $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{:Na}_2\text{HPO}_4 = 1\text{:}9$ puffert tartalmazó oldatban ($\text{pH} = 7,59$), és a megfelelő oldat színe ($C_{\text{robinetin}} = 6,69 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, időpontok: $t = 2, 5, 10, 20, 30$ és 60 perc)

A zöld színű szakaszban lévő oldat sav hatására még nagymértékben visszaalakul, spektruma az eredetitől csak kisebb mértékben lesz eltérő (70. ábra), tehát a folyamat kezdetén egyensúlyi, reverzibilis átalakulást lehet feltételezni. Amennyiben a sav hozzáadása a vöröses lila árnyalat elérésekor történik, már nem lehet ilyen mértékben visszaállítani a semleges robinetin oldatra jellemző abszorpciós spektrumot, hanem egy elnyújtott, kis sáv-intenzitású, jellegtelen fényelnyelési görbe keletkezik, vagyis irreverzibilissé válik a reakció.

A folyamat spektrofotometriás eredményeken alapuló, feltételezett reakciósémáját a molekulaszervezeti magyarázat fejezetében ismertetem.



70. ábra *A robinetin spektrumának változása 0,013 M Na₂HPO₄-pufferben és feleslegben adagolt sósav hatására ($C_{\text{robinetin}} = 6,69 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)*

A robinetin további részletes vizsgálatának elvégzését sajnos a vegyület rendelkezésre álló kis mennyisége nem tette lehetővé, így disszociációs egyensúlyának kvantitatív leírásához szükséges méréseket sem volt módomban elvégezni.

IV.4. A kvercetin és rutin protonálódási állandójának meghatározása

Adott közegben a flavonoidok komplexképzési hajlamát jelentős mértékben befolyásolja az oldószer proton-akceptor vagy -donor jellege, valamint a ligandumok bázisosságának mértéke is. Minél kisebb a konjugált sav disszociációs állandója, annál erősebb bázis a ligandum, és általában annál nagyobb a keletkezett fémkomplexek stabilitása is. Mivel a flavonoidok rendszerint disszociációra hajlamosak, így a koordinálódó ligandum valódi koncentrációja az oldat pH-jától függ – azonos mennyiségű komplexképző jelenléte esetén is. A kvercetin és a rutin komplexképződési egyensúlyának kvantitatív értelmezéséhez ezért előzetesen szükséges volt – a sav-bázis reakciók megismerése mellett – a flavonoidok disszociációs (protonálódási) állandóját meghatározni.

A kvercetin és a rutin megegyező flavonváza alapján azt valószínűsíthetjük, hogy azonos körülmények esetén a disszociációs készségük is közel azonos. Továbbá mind a két molekula potenciálisan többértékű gyenge sav, és a fenolos OH-csoportokról a hidrogénionok lépcsőzetes disszociációja feltételezhető.

A protonálódási állandó meghatározásához potenciometrikus vagy spektrofotometriás módszert egyaránt felhasználhatunk. Ekkor a számítást az ismert koncentrációjú ligandum

potenciometriás titrálása során mért pH-értékek és a fogyott bázis (vagy sav) mennyiségének ismerete alapján lehet elvégezni, illetve a fényelnyelő részecskék koncentrációjának spektrofotometriás meghatározása, és az oldat pH-jának mérése, révén lehet kivitelezni.

A lúgos közegben lejátszódó folyamatok ismeretében várható volt, hogy a kvercetin esetében a meghatározásra potenciometriás módszert nem lehet alkalmazni. A titrálás valóban kivitelezhetetlen volt, mert a OH^- -ion felesleg elérése után olyan intenzív lett a hidroxid-fogyasztó mellékreakció, hogy lehetetlenné tette a pontos pH-értékek leolvasását. Mivel a folyamat sebessége egyre fokozódik a növekvő lúgkoncentrációval, nem volt célszerű a mérést egyéb feltételekhez kötni (mint pl. a titráló oldat adagolásának üteme, vagy a műszer leolvasásának időpontja), mivel a kapott titrálási görbe alakja teljes mértékben szubjektívvé vált volna.

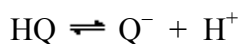
A kvercetin és a rutin protonálódási állandójának meghatározására egyaránt spektrofotometriás módszert alkalmaztam, mivel már megismertem a korrekt kivitelezéséhez szükséges előkövetelményeket. A vizsgálatok tervezésekor figyelembe vettem a kvercetin és a rutin sav-bázis tulajdonságainak tanulmányozásakor nyert tapasztalatokat. Olyan oldatsorozatot készítettem, amelynek minden tagja a flavonoidot azonos koncentrációban tartalmazta, és a pufferoldat hozzáadása után azonnal mértem az abszorpciót (minden oldatot a saját vakjával szemben). Ezáltal a disszociációt követő mellékreakció torzító hatását minimálisra tudtam csökkenteni. Az alkalmazott pufferoldat nagy kapacitása és az alacsony flavonoid-koncentráció pedig lehetővé tette, hogy a pH-mérést a vakoldatokból végezzem el (ezáltal elkerültem a pH-mérés bizonytalanságát).

Mivel tapasztalat szerint valamely ligandum teljes protonáltságához az oldat pH-jának hozzávetőlegesen $(\lg K - 2)$ -nél kisebb értéke szükséges, és a $\text{pH} > (\lg K + 2)$ a feltétele a teljesen disszociált alak létrejöttének, így a vizsgálatok várható tartománya a $\text{pH} = 4 - 10$ közé esett. Ebben az intervallumban a kvercetin és rutin molekulájának fényabszorpciós sajátosságát teljes spektrumok felvételével is követtem. A teljesen disszociált alakhoz tartozó spektrum felvételét erős bázis hozzáadásával nem lehetett megoldani, mert a kvercetin lúgos közegű gyors átalakulása ezt az eljárást nem teszi lehetővé, de a rutin esetében ez a módszer alkalmazhatónak tűnt.

A mérésorozattal arra is választ kerestem, hogy miből adódik az irodalmi adatok több nagyságrenddel eltérő eredménye (ld. 9. táblázat), illetve az általam használt oldószerkelegyenben miként módosulnak a protonálódási állandó számszerű értékei.

IV.4.1. A kvercetin protonálódási állandójának meghatározása

Az egyes kvercetin-oldatok pH-tól függő fényelnyelésének alakulását a 18. mellékletben mutatom be. A görbék alakja alapján a pH növekedésével a kvercetinmolekula egyszeres disszociációját tudtam megállapítani (vagyis egyértékű gyenge savként viselkedik):



A protonálódási állandó (K_p) meghatározásához a kvercetin savas közegben mutatott abszorpciós maximumait (257 és 374 nm), valamint a disszociált alakhoz rendelhető fényelnyelési sávokat (276 és 402 nm) egyaránt alkalmasnak találtam.

A számításokhoz számítógépes kiértékelő programot és grafikus ábrázolási módszert egyaránt alkalmaztam (19. táblázat) (a mérési adatokat és a számítások részeredményeit a 19. melléklet tartalmazza). Az egyes mérési pontokból közvetlen számításokat nem végeztem, mert feltételeztem, hogy a disszociációt követő (a pH növelésével egyre nagyobb sebességű) mellékreakciók miatt – éppen a szükséges pH-tartományban – az egyes oldatok abszorpciója nagy hibával terhelt.

19. táblázat A kvercetin protonálódási állandójának számítási eredménye etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben, foszfátpuffer alkalmazásával

	λ [nm]	savas közeg	bázikus közeg	$\lg K_p$	R^2	
		a [dm ³ /mol cm]	a [dm ³ /mol cm]			
grafikus	257	22407	15031	6,922	0,9959	$\lg K_p = 6,916$
	276	6848	22407	6,744	0,9953	
	322	7422	11009	6,806	0,9850	
	374	23276	14612	6,952	0,9956	
	402	8152	22049	7,044	0,9972	
számítógépes	257	21983	15213	6,953	0,9999	$\lg K_p = 6,952$
	276	9872	22620	6,935	0,9992	
	322	7999	11040	6,908	0,9998	
	374	22846	14745	6,979	0,9999	
	402	8615	21008	6,985	0,9993	

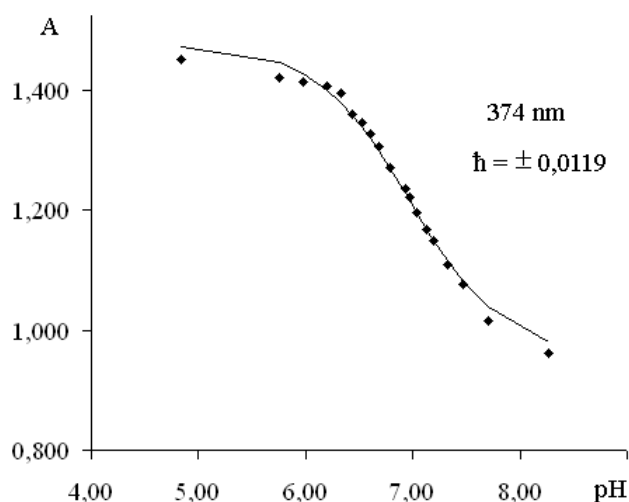
A grafikus értékelés során a kiválasztott hullámhosszakon a protonált és a disszociált részecskéhez tartozó abszorpciók, valamint az aktuális oldat fényelnyelése ismeretében minden egyes oldatra kiszámítottam a $\lg(A_Q - A)/(A - A_{HQ})$ adatokat. Ezeket az oldat pH-jának függvényében ábrázolva az abszcissa metszési pontból megállapítottam a $\lg K_p$ értékét (20. melléklet és 21. melléklet).

A mérési pontok közel azonos illeszkedése ellenére a csökkenő fényelnyelési sávokon (257 és 374 nm) egymással jobban egyezők a protonálódási állandók, mint a disszociáció fokozódásával növekvő abszorpciót mutató hullámhosszakon (276 és 402 nm). A savas és a bázikus alak fényelnyelésében 322 nm-en olyan kis különbség van, hogy a mérési adatok nagyobb szórással követik a meghatározott egyenest. Ennek ellenére a számított $\lg K_p$ nem tér el a többi hullámhosszon kapott eredménytől. Az egyes hullámhosszakon grafikus módszerrel és számítógépes programmal meghatározott protonálódási állandók egyezése jónak mondható.

A moláris abszorpciós együtthatók ismeretében, a protonálódási állandó és a kiindulási flavonoid-koncentráció segítségével minden pH-értékhez kiszámítottam az elméleti fényelnyelést, amelynek a mért adatokkal való egyezése megmutatja a $\lg K_p$ megbízhatóságát. A számítások elvégzéséhez a következő összefüggéseket tudtam felhasználni:

$$C_Q = [\text{HQ}] + [\text{Q}^-] \quad K_p = \frac{[\text{HQ}]}{[\text{Q}^-] \cdot [\text{H}^+]} \quad A_{sz} = a_{\text{HQ}} \cdot [\text{HQ}] + a_{\text{Q}^-} \cdot [\text{Q}^-]$$

A számított és mért abszorpció egyezése elfogadható hibával jellemezhető még a nagyobb szórású hullámhosszak esetén is (71. ábra). A mérési pontok illeszkedése azonban



csak a görbe középső szakaszán megfelelő, ami arra utal, hogy a disszociáció mellett végbemenő egyéb reakciók láthatóan befolyásolják a mérési eredményeket.

71. ábra A kvercetin mért (■) és számított (—) fényelnyelésének egyezése a 374 nm-en mért adatok alapján ($C_{\text{kvercetin}} = 6,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

A kvercetin első protonálódási állandójára kapott eredményem összhangban van az irodalomban közölt adatokkal. A kvercetin disszociációs folyamatát jellemző állandó – méréseim szerint – az adott körülmények között csupán egyetlen hidrogénion leválását igazolja. Ez a disszociációs lépés jól elkülönül az esetleges további deprotonálódási folyamatoktól. A második és további hidrogénion disszociációját a rendelkezésre álló technikai felszereléssel nem lehetett érzékelni, bár lúgosabb kémhatású oldatokban feltételezhető azok végbemenetele is.

IV.4.2. A rutin protonálódási állandójának meghatározása

A rutin 4-10 pH-tartományban felvett abszorpciós spektrumainak változása egyértelműen jelezte, hogy ebben az esetben nem egyetlen disszociációs lépés zajlik le, ezért azt a korábbi elgondolást, hogy a savas és a bázikus forma fényelnyelésének meghatározását sav és bázis hozzáadásával meg lehet oldani, el kellett vetni. A pH - abszorpció összefüggés ábrázolásakor kapott görbék aszimmetrikus alakja arra hívta fel a figyelmet, hogy egymást követően legalább két hidrogénion leválása megy végbe (22. melléklet):



A rutin vizsgálatához több hullámhossz mutatkozott megfelelőnek – a növekvő vagy csökkenő abszorpciós maximumok (274 és 408, illetve 258 és 361 nm) mellett két olyan hullámhossz is kiválasztható volt, ahol jelentős mértékű a savas és a lúgos közegű részecske fényelnyelés-különbsége (296 és 347 nm). Az egyes hullámhosszakon az egyszeresen negatív töltésű anionhoz tartozó fényelnyelés értékének meghatározására számítógépes közelítési módszert használtam.

A protonálódási állandók meghatározásához a grafikus ábrázoláson alapuló kiértékelés a két állandó kis különbsége miatt csak nagyobb hibával volt alkalmazható. Az UV-tartományban mért fényelnyelés értékeiből ugyan kis szórással közelíthető a $\lg [\text{H}_2\text{Ru}]/[\text{HRu}^-]$ és a pH között fennálló lineáris összefüggés (23. melléklet), azonban a második disszociációs folyamathoz a két állandó kis különbsége miatt grafikus módon nem lehetett állandót rendelni.

A grafikus és számítógépes meghatározás eredményei jó egyezést mutatnak (20. táblázat).

20. táblázat *A rutin disszociációs állandóinak számítási eredménye etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben, foszfátpuffer alkalmazásával*

λ [nm]	moláris abszorpciós együttható [$\text{dm}^3/\text{mol cm}$]			grafikus pK ₁	számítógépes pK ₁ pK ₂		R ²
	a _{H₂L}	a _{HL}	a _L				
258	21400	18095	18813	6,526	6,720	8,712	0,9866
274	15231	25453	27010	6,746	6,733	8,734	0,9891
361	21480	13025	11183	6,791	6,751	8,575	0,9891
408	2020	14835	22826	6,844	6,736	8,744	0,9822
				6,727	6,735	8,730	

Egyedül a disszociálatlan rutinmolekula fényelnyelési maximumán számított második disszociációs állandó tér el jelentősebb mértékben az átlagtól.

A protonálódási állandók megbízhatóságát a teljes mérési sorra számított fényelnyelés és a mért abszorpció összehasonlítása tette lehetővé. A számításokhoz az alábbi összefüggéseket használtam fel (feltételezve, hogy csak kétszeres a protonálódás):

$$C_{\text{Ru}} = [\text{H}_2\text{Ru}] + [\text{HRu}^-] + [\text{Ru}^{2-}] \quad K_{1p} = \frac{1}{K_{2s}} = \frac{[\text{HRu}^-]}{[\text{Ru}^{2-}] \cdot [\text{H}^+]} \quad K_{2p} = \frac{1}{K_{1s}} = \frac{[\text{H}_2\text{Ru}]}{[\text{HRu}^-] \cdot [\text{H}^+]}$$

Az egyes részecskék koncentrációja

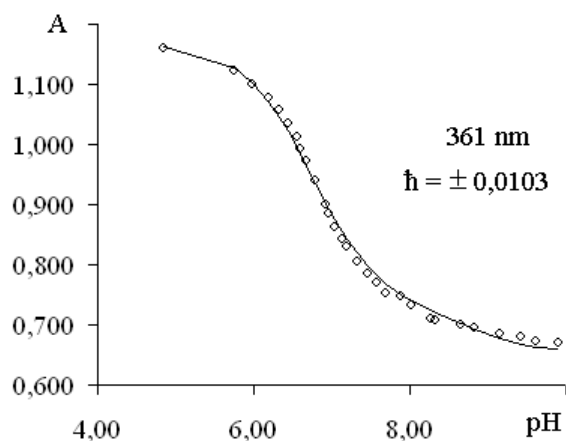
$$[\text{H}_2\text{Ru}] = \frac{C_{\text{Ru}}}{1 + \frac{1}{K_{2p} \cdot [\text{H}^+]} + \frac{1}{K_{1p} \cdot K_{2p} \cdot [\text{H}^+]^2}}$$

$$[\text{HRu}^-] = \frac{[\text{H}_2\text{Ru}]}{K_{2p} \cdot [\text{H}^+]} \quad [\text{Ru}^{2-}] = \frac{[\text{H}_2\text{Ru}]}{K_{1p} \cdot K_{2p} \cdot [\text{H}^+]^2}$$

segítségével meghatároztam az elméleti abszorpciót:

$$A_{\text{sz}} = a_2 \cdot [\text{H}_2\text{Ru}] + a_1 \cdot [\text{HRu}^-] + a_0 \cdot [\text{Ru}^{2-}]$$

A rutin protonálódási állandóinak irodalmi adatai (ld. 9. táblázat) kis mértékben különböznek az általam meghatározott értékektől. Az eltérés ebben az esetben a közeg eltérő anyagi minőségével magyarázható. A számított és mért fényelnyelés kis hibája ($\hbar = \pm 0,0103$)



ellenére 361 nm-en a két adatsor láthatóan eltér egymástól, mivel a számított görbét a mért adatok szakaszosan egy-egy oldalról követik (72. ábra). Ezen a hullámhosszon ugyanis a második disszociációs lépés állandója csak nagyobb hibával határozható meg.

72. ábra A rutin mért (o) és számított (—) fényelnyelésének egyezése a 361 nm-en mért adatok alapján ($C_{\text{rutin}} = 6,04 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

IV.5. A sav-bázis folyamatok molekulaszervezeti értelmezése

A kvercetin, rutin és robinetin lúgos közegben bekövetkező átalakulásának feltárásával eddig egyetlen kutatócsoport sem foglalkozott ilyen behatóan. Ennek következtében a szerkezeti magyarázatok mindegyikében megjelenik egy oxidációs lépésnek, vagy gyök kialaku-

lásának feltételezése. A kvercetin lúgos közegben végbemenő változását, amely az abszorpció hipszokróm eltolódásában is megmutatkozik, például többnyire a levegő oxigénjének hatására végbemenő oxidatív átalakulásnak értelmezi a szakirodalom. Azonban a spektrofotometriás vizsgálati eredményeim nem támasztják alá ennek egyértelmű végbemenetelét.

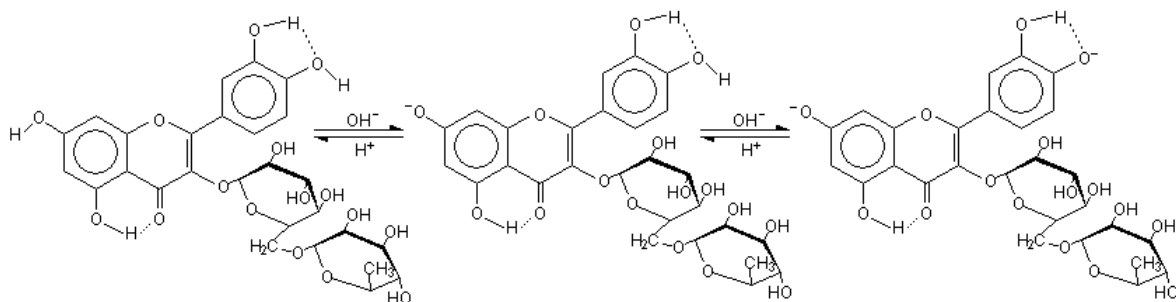
A kvercetin és robinetin abszorpciós spektrumának derivált görbéi alapján mind a bázikus (14. melléklet és 16. melléklet), mind a visszasavanyított oldat fényelnyelése összetett sávokból áll, ami több különböző szerkezetű részecske egyidejű jelenlétét mutatja (17. melléklet). A fényelnyelési maximum alacsonyabb hullámhosszak felé tolódása egyaránt jelezheti a konjugáció csökkenését (erősen lúgos közegben), vagy az átrendeződött szerkezetű molekulában pozitív töltésű centrum kialakulását (savas közegben).

A három flavonoid átalakulási folyamatai jellegükben is különböznek. A robinetin oldatának színváltozásai szemléletesen mutatták a részlépéseket, és ennek ismerete nagyban hozzájárult a lúgos közegben lejátszódó reakciók értelmezéséhez. A rutin diszacharid oldallánca jelentős hatása is megmutatkozott a sav-bázis folyamatokban, mivel teljes mértékben megakadályozta a disszociációt követő szerkezeti átrendeződést.

A három flavonoid molekulaszervezeti adottságait, a szakirodalmi kutatási eredményeket és saját spektrofotometriás méréseim tapasztalatait, valamint a protonálódási állandóra kapott értékeket egybevetve, megalapozott a molekulák disszociációt követő tautomer átrendeződésének és az oldószer szolvólízisének feltételezése, viszont nem szükségszerű az oxigén jelenléte a folyamatok lejátszódásához.

A vizsgálati eredményeimből kiindulva a következő kémiai folyamatokkal magyarázható a vizsgált flavonoidok lúgos közegű kölcsönhatása (ld. 24. melléklet és 25. melléklet):

1. Savas közegben majdnem szintelen kvercetin, rutin és robinetin disszociálatlan molekulaként van jelen az oldatban. A disszociációs állandójuk értékének megfelelő pH-nál lúgosabb kémhatású oldatban azonban jelentős hányaduk a 7-OH-csoportról disszociált hidrogénion miatt anion alakban fordul elő, ami az oldat erősen sárga színeződését okozza. Ez folyamat a disszociációs egyensúly következtében reverzibilis átalakulás.
2. Az egyszeres negatív töltésű molekulaionok 4-oxo-csoportján időbeli oxo-enol tautomer átrendeződés következik be, a negatív töltés pedig a kvercetin és a robinetin 3-OH helyén lokalizálódik, ezáltal az oldat színe zölde árnyalatúvá válik.
3. A rutinban az oxo-enol átalakulás a 3-rutinozid oldallánc miatt nem tud végbemenni. Az oldat pH-jának növelésével a 4'-OH-csoportnál bekövetkezik a rutin második disszociációs lépése (dominál a sárga szín) (73. ábra).



73. ábra *A rutin disszociációs egyensúlya*

4. A kvercetin és a robinetin oxo-enol tautomeriája már gyengén lúgos közegben megvalósul, sebessége függ a pH-tól is. A zöldes árnyalat erőssége feltehetően a 7-oxo-4-enol és a 3-enol-4-oxo alakok relatív arányának függvényében módosul. Sav hozzáadásával már nem lehet teljes mértékben az eredeti molekulához jutni, mivel a tautomériát gyorsan további reakciólépések követik (24. melléklet és 25. melléklet).
5. Időben a kvercetin és a robinetin oxo-enol-tautomeriája teljessé válik, a részecskék aránya mindjobban a 7-kinoidális alak irányába tolódik el, a szabad 3-OH-csoport révén gyors intramolekuláris átrendeződés is megvalósulhat, emiatt egyidejűleg több mezomer forma jelenléte is lehetséges. A mezomer részecskék a molekulán belüli ikerionos szerkezet kialakulásával jönnek létre.
6. A robinetin oldatában molekulaátrendeződéssel a 4'-kinon szerkezet létrejötté is törvényszerű már alacsonyabb pH esetén is, mert nagyon stabil intramolekuláris hidrogénhidás struktúra tud kialakulni a 3'- és az 5'-OH-, valamint a 4'-oxo-csoportok között. Ennek a formának egyre nagyobb mennyisége erősödő lilásvörös színeződést okoz. A 4'-kinon sav hozzáadásával más molekulává alakul, mint ami a 7-oxo-csoportot tartalmazó részecskéből jön létre, mivel a sav nincs hatással az oxo-csoportokra.
7. Az ikerionos szerkezetű részecskék töltésátrendeződése lehetővé teszi az oldószer (víz) addícióját a kvercetin és a robinetin molekulájában is, ami mindkét flavonoid esetében szintelen termékhez vezet, mivel a molekulában jelentősen csökken a delokalizáció mértéke, és a folyamat egyértelműen irreverzibilis (25. melléklet).
8. A kvercetin magas lúgkoncentráció esetén gyorsan kialakuló és eltűnő meggyvörös színe szintén a 4'-kinon létrejöttével, és intenzív átalakulásával magyarázható. Ebben a molekulában nem stabilizálja a hidrogénkötés a 4'-oxo szerkezetet, így gyors vízfelvételi reakció következik be (24. melléklet).

Ezek a feltételezett lépések kifogástalanul magyarázzák a kísérletek során tapasztalt jelenségeket, és összhangban vannak az irodalomban eddig közölt eredményekkel is. Újdonsága a

reakciósémának, hogy kimarad a levegő oxigénjének (vagy az oldatban oldott oxigénnek) hatására bekövetkező oxidációs lépés feltételezése, viszont az elméletbe jól beilleszthetővé válik a későbbi (CuCl₂-re vonatkozó) vizsgálataim eredménye is.

A fenti folyamatok megfontolása egyúttal magyarázattal szolgál arra is, miért nem alkalmas a faanyagok összes sav tartalmának kvantitatív mérésére a nátrium-acetátos kivonat készítése (hiszen a kölcsönhatás időtartamától és a vizsgált faanyag flavonoid összetételétől függően más és más a komponensek reakciója a bázikus oldattal). Figyelmet érdemlő azért is, mert rávilágít a polifenolok lúgos közegben bekövetkező, rendkívül összetett átalakulási folyamataira, amelyek miatt számos más vizsgálat is téves eredményt szolgáltathat.

IV.6. A flavonoid - fémion kölcsönhatás tanulmányozása

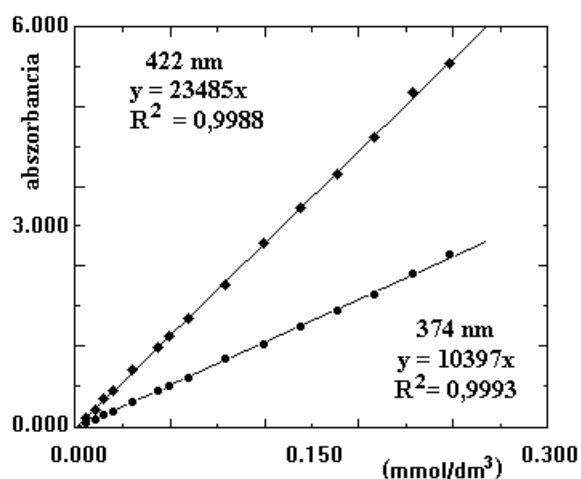
A fémionok és a biológiai molekulák kölcsönhatásának típusa, továbbá reverzibilis vagy irreverzibilis volta nemcsak a biológiai rendszerek működése szempontjából alapvető, hanem számos abiotikus folyamatban is meghatározó. Bármelyik fémion - biológiai ligandum rendszert vizsgáljuk, mindegyik esetben számtalan komplexkémiail problémával állunk szemben, ráadásul a flavonoidok a koordinációs kémiai folyamatok mellett redoxi reakciókban is fontos résztvevők.

Ahhoz, hogy a fémionok és a flavonoidok kölcsönhatása során lejátszódó kémiai folyamatokat egyértelműen meg lehessen magyarázni, elsősorban a kialakuló fémkomplexek összetételét, térbeli felépítését, valamint komplexegyensúlyi és kinetikai paramétereit kell megismerni. Ennek részeként figyelembe kell venni a közeg hatását a flavonoid - fémion kölcsönhatás folyamatára, valamint a komplexképződéssel együtt járó, vagy azzal párhuzamosan végbemenő reakciókat is.

A komplexkémiail folyamatokat alapvetően befolyásolja a flavonoid-molekulák térbeli szerkezete, koordinációra alkalmas funkciós csoportjainak száma és helyzete. A vizsgált ligandumok esetében egymástól térben jól elkülönülő helyen több kelátgyűrű kialakulására van lehetőség. Ezek a flavonoid-ligandumok merev vázúak, a kelátgyűrűk kialakulását csak a rutin esetében zavarhatja a kapcsolódó diszacharid térigénye. Az egyszerű, egymagvú komplexek keletkezése mellett (amikor egy fémionhoz csak egy, vagy két flavonoid tud kapcsolódni) a többmagvú komplexek létrejötte sem kizárt, vagyis egy flavonoidhoz több fémion is

koordinálódhat. Sőt – megfelelő koncentráció-arányok esetén – több flavonoid és több fémion is alkothat egy összetett komplexumot.

A spektrofotometria módszere előnyösen használható a flavonoid-komplexek oldatbeli vizsgálatára, mert nem zavarja az egyensúlyi viszonyokat, és kis mennyiségű anyagok nagy pontosságú mérését teszi lehetővé. A fényelnyelés mérésén alapuló egyensúlyi körülmények kvantitatív leírásának fontos feltétele, hogy a ligandum és a komplex fényelnyelése a koncentrációval egyenesen változzon, vagyis a koncentráció széles tartományában minden részecskére érvényes legyen a Lambert-Beer-törvény. Ha a fémion nagy feleslege mellett a kvercetin, illetve a rutin koncentrációját változtatjuk, ellenőrizni lehet az abszorpció - koncentráció összefüggés linearitását. Vizsgálataim szerint a mérési pontosságon belül a Lambert-Beer-törvény a képződött komplexekre is érvényesnek mondható (74. ábra).



74. ábra Az alumínium-kvercetin komplex fényelnyelésének változása a ligandum koncentrációjának függvényében 1 cm rétegvastagságra átszámítva ($C_{\text{Al(III)}} = 4,01 \cdot 10^{-2} \text{ mol/dm}^3$; 0,2 M KCl)

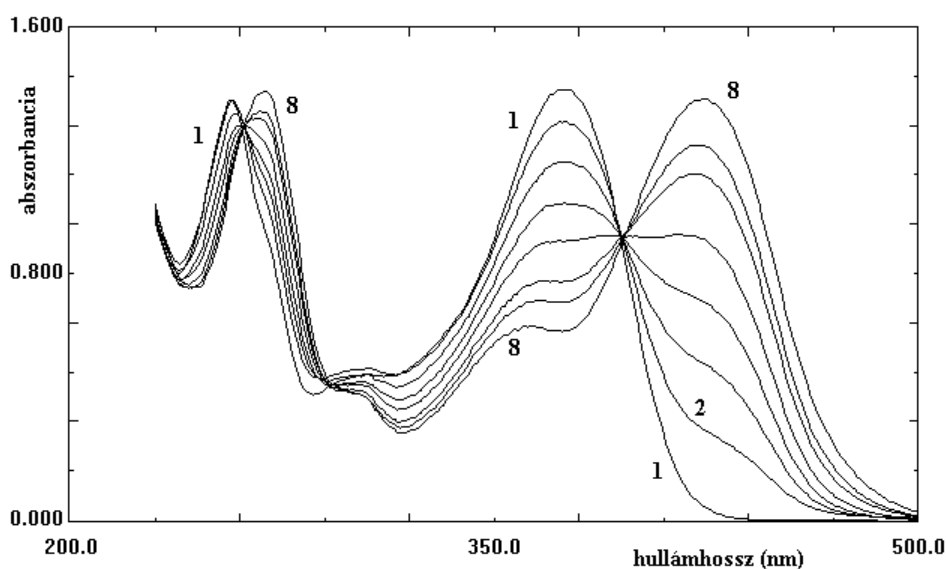
IV.7. Az alumínium - flavonoid koordináció vizsgálata

Az alumínium - flavonoid rendszerben az alumíniumion és a flavonoid-molekula oxigén-atomjai közötti koordinációs kémiai kölcsönhatás során redoxi reakció végbemenetével nem kell számolni. Az alumínium-flavonoid-komplex képződésének magyarázatakor viszont figyelembe kell venni a víz jelenlétében végbemenő egyéb reakciókat is – elsősorban az $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ részecske deprotonálódásának, dimerizációjának és esetleges polimerizációjának lehetőségét. Ezért a kvercetin és a rutin komplexképző reakcióinak vizsgálatát különböző kémhatású közeget biztosító rendszerekben is elvégeztem, ami lehetővé tette a kölcsönhatások folyamatának pontosabb leírását.

IV.7.1. A kvercetin alumínium-komplexe

A kvercetin alumínium-komplexének kialakulását etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben, kezdetben pufferoldat használata nélkül, csak kálium-klorid alapelektrolit jelenlétében vizsgáltam. A komplexre jellemző fényelnyelési sávokat nagy fémion-felesleg alkalmazása mellett felvett UV-VIS abszorpciós spektrumok (26. melléklet) alapján határoztam meg, majd néhány kiválasztott hullámhosszon követtem a komplex időbeli kialakulását. Az Al(III)ion renyhe sajátja ellenére szemmel láthatóan gyors lefolyású komplexképződést tapasztaltam. A kinetikai vizsgálatból megállapítottam, hogy a fényelnyelés kb. 90 perc után stabilizálódik (27. melléklet), vagyis ennyi idő szükséges a komplex-egyensúly beállításához.

A koordinációs folyamat vizsgálatához állandó kvercetin és változó Al(III) koncentrációjú oldatsorozatot alkalmaztam (a fémion:ligandum arányt széles határok között változtattam), és felvettem minden oldat abszorpciós spektrumát is a 200 - 500 nm hullámhossztartományban (75. ábra).



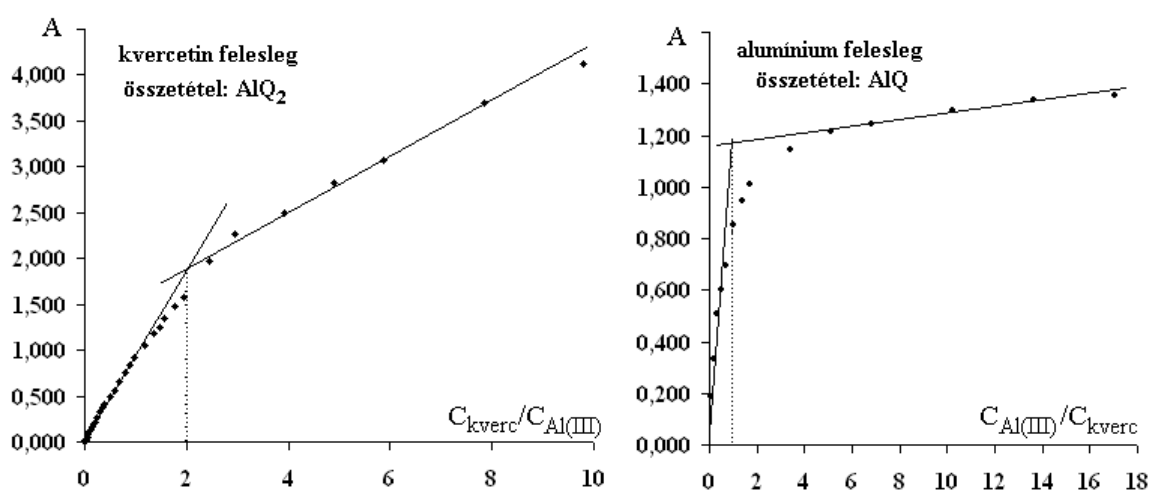
75. ábra A kvercetin alumínium-komplexének kialakulása növekvő Al(III)-ion koncentráció hatására etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldószerben ($C_{\text{kvercetin}} = 5,81 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$; **1-8.** $C_{\text{Al(III)}} = 0, 8 \cdot 10^{-6}, 2 \cdot 10^{-5}, 4 \cdot 10^{-5}, 8 \cdot 10^{-5}, 2 \cdot 10^{-4}, 4 \cdot 10^{-4}, 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

A fényelnyelés-görbék azt mutatják, hogy a komplex teljes kialakulása csak a központi ion nagy feleslege esetén valósul meg. A növekvő fémion koncentráció hatására – a kvercetinre jellemző abszorpciós maximumok csökkenésével párhuzamosan – új fényelnyelési sáv alakul ki 270 és 422 nm hullámhosszakon, a görbesereg izobesztikus pontban találkozik 261 és 395 nm-en. A spektrumok alapján a kvercetin mellett egyetlen fényelnyelő részecskeféle jelenléte feltételezhető, mivel az alumínium 80-szoros feleslege esetén sem mutatkozik újabb sáv, vagy izobesztikus pont.

Az alkalmazott vizsgálati körülmények között a spektrumok alakja a savas közegben felvett irodalmi görbéknek felel meg (2. melléklet). Az alumíniumion hidrolízise miatt a növekvő fémion-koncentráció az oldat fokozatos savasodását okozza (a vizsgált tartományban ~4,2-ről ~2,3-ra változik a pH). Az Al(III)-kvercetin-komplex kialakulását viszont a pH-csökkenés jelentős mértékben gátolja, mivel a ligandum teljesen protonált részecskéje lesz domináns az oldatban, a koordinációt viszont inkább a deprotonált (anion) forma segítené elő. Ez az oka, hogy a savas kémhatású oldatban egyre nagyobb feleslegű Al(III)ion jelenléte szükséges a komplex teljes kialakulásához.

A mért fényelnyelést a $\lg [\text{Al(III)}]$ függvényében ábrázolva a komplexképződés jellegzetes görbéi alakulnak ki (28. melléklet), amelyek láthatóvá teszik a kvercetin magas Al(III)-ion jelenlétében visszaszoruló koordinációját. A képződési görbéken az is megmutatkozik, hogy nincs nyoma a lépcsőzetes komplexképződésnek, vagyis több alumíniumion egymást követő, több lépésben végbemenő koordinációja nem valószínű.

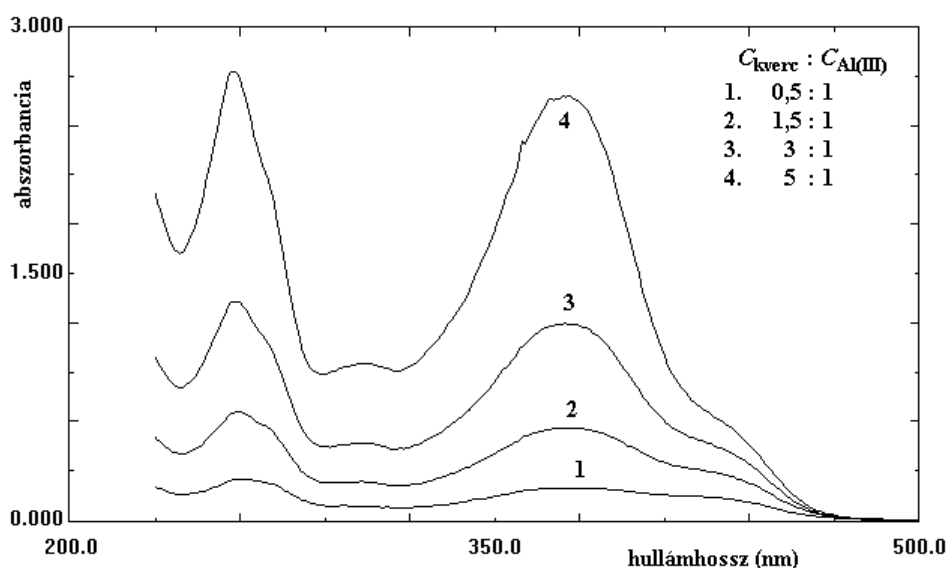
A korábban hivatkozott publikációk kutatóinak tapasztalata alapján a spektrumsorozat jellemző izobesztikus pontjainak változatlansága ellenére (ld. 38. ábra) többféle fényelnyelő részecske jelenléte volt várható az oldatban. Ezért a feltételezett komplexösszetétel megállapítására a molarány módszert alkalmaztam. Az oldatok fényelnyelését a képződő komplex hullámhosszán (422 nm-en) mértem, majd a változó és állandó koncentrációk hányadosának függvényében ábrázoltam (76. ábra). A görbe kezdeti és végső szakaszához húzott egyenesek metszéspontjához tartozó abszcissa-érték alapján a komplexben kötött ligandumok-, illetve fémionok számára (relatív arányuktól függően) eltérő eredményt kaptam.



76. ábra Az alumínium-kvercetin-komplex összetételének meghatározása molarány módszerrel

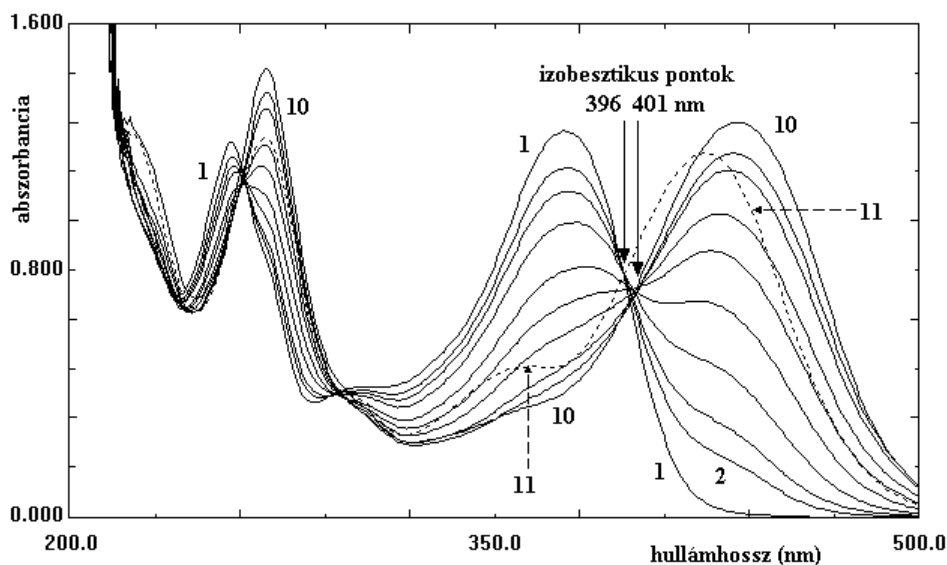
A metszéspontok alapján nem zárható ki a többligandumos komplex létrejötte (ha a kvercetin van jelen magasabb koncentrációban). Viszont látható, hogy – a várakozásnak megfelelően – a sokszoros alumíniumion koncentráció sem kedvez ilyen vizsgálati körülmények között a többmagvú komplex létrejöttének. A kvercetin:alumínium = 10:1 koncentrációarányú oldatból készített mintáról felvett MALDI-tömegspektrum is két kvercetin molekula koordinációját mutatta ki egy alumíniumhoz (AlQ_2^+), sőt kisebb mennyiségben még nagyobb ligandumszámú részecske is azonosítható volt (29. melléklet).

Nehezíti a kölcsönhatás folyamatának kvantitatív leírását, hogy az AlQ_2 -re jellemző fényelnyelést, illetve a moláris abszorpciós együtthatót csak nagy hibával lehet megállapítani, mivel kialakulásához nagy ligandumfelesleg szükséges. A kvercetin nagyfokú fényelnyelése viszont akadályozza a komplex valós abszorpciójának észlelését, mivel széles és intenzív sávja elnyomja a képződő komplexét (77. ábra). A savas közeg viszont kissé egyszerűsíti a folyamatok leírását, mivel $\text{pH} \approx 4$ alatt visszaszorul az oligomer alumínium-hidroxo-komplexek kialakulása, azaz biztosított, hogy az alumíniumion csak $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ vagy $[\text{Al}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ formában legyen jelen az oldatban.



77. ábra A kvercetin - Al(III) komplex kialakulása magas kvercetin koncentráció esetén ($C_{\text{Al(III)}} = 2,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$; 10 mm rétegvastagság)

Az $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ -ionok deprotonálódásából adódó mellékreakció befolyásoló hatásának feltárása érdekében a vizsgálat sorozatot megismételtem kálium-acetát - ecetsav pufferoldat jelenlétében is. A pufferolt ($\text{pH} = 5,15$) és a KCl-os közegben felvett abszorpció görbék eltérő alakja jellegében alapvetően különböző folyamatok végbemenetelét mutatta (78. ábra).

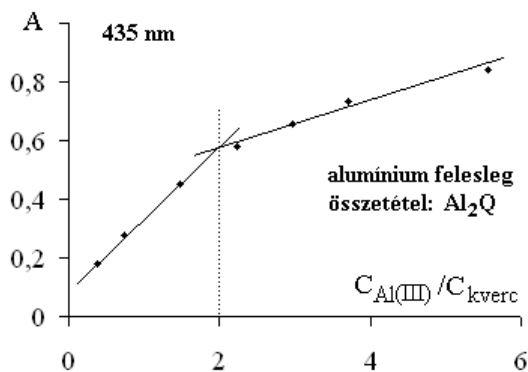


78. ábra A kvercetin alumínium-komplexének kialakulása növekvő Al(III)-koncentráció hatására etanol:víz=1:1 térfogatarányú elegyben 0,2 mol/dm³ kálium-acetát - ecetsav puffer jelenlétében (pH = 5,15)
 ($C_{\text{kvercetin}} = 5,59 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³, **1-11**. $C_{\text{Al(III)}} = 0 - 2,1 \cdot 10^{-5} - 4,1 \cdot 10^{-5} - 8,3 \cdot 10^{-5} - 1,7 \cdot 10^{-4} - 3,1 \cdot 10^{-4} - 6,2 \cdot 10^{-4} - 2,1 \cdot 10^{-3} - 4,1 \cdot 10^{-3} - 1,6 \cdot 10^{-2} - 4,1 \cdot 10^{-2}$ mol/dm³)

A növekvő alumíniumion-koncentráció hatására a spektrumok izobesztikus pontjának néhány nm-es elmozdulása is megfigyelhető, azonban ennél feltűnőbb a magas Al(III)-koncentráció mellett felvett spektrumok alakjának különbözősége a kétféle közegben (75. ábra és 78. ábra). Az acetát-pufferben kialakuló komplex abszorpciós maximuma magasabb hullámhosszra tolódik (435 nm), ami az oldatok kissé narancssárga színében is megmutatkozik, de a többi spektrális jellemző nem változik.

Az Al(III) magas koncentrációja (kb. 0,04 mol/dm³) esetén olyan nagy mennyiségű hidrogénion szabadult fel a deprotonálódási folyamatokban, hogy az alkalmazott puffer kapacitása már nem tudta kompenzálni azt, és a pH 3,22-re csökkent. Ez viszont a képződött komplexek felbomlását idézte elő, és az abszorpciós spektrumban is alapvető változást eredményezett (a - - - görbe teljesen megegyezik a KCl-os közegű felvétellel). A képződési görbéken szintén megfigyelhető a magas Al(III)-koncentráció mellett az alumínium-kvercetin-komplex képződésének visszaszorulása (30. melléklet).

A közeg kémhatása (pH = 5,15) elősegíti az alumínium-hidroxo dimerek képződését, ezáltal nem meglepő, hogy a komplex összetételére a savas oldatétól lényegesen eltérő eredményt kaptam a molarány módszer segítségével. Ebben az esetben többmagvú részecske kialakulása volt kimutatható (79. ábra).



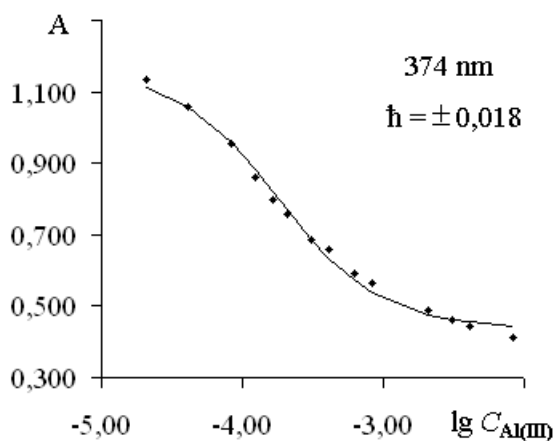
79. ábra Az $Al(III)$ -kvercetin komplex összetételének megállapítása $0,2 \text{ mol/dm}^3$ $KAc:HAc = 4:1$ pufferoldatban

A pufferolt közegben a kétmagvú komplex egyetlen lépésben keletkezik, amit a stabilitási állandók számítása is igazolt (21. táblázat).

21. táblázat Az Al_2Q összetételű komplex képződésének jellemző adatai $0,2 \text{ mol/dm}^3$ $KAc:HAc$ tartalmú etanol:víz 1:1 térfogatarányú elegyben ($pH = 5,15$)

λ [nm]	moláris abszorpciós együttható [$\text{dm}^3/\text{mol cm}$]		számítógépes $\lg K$	R^2
	$a_{\text{kvercetin}}$	$a_{\text{Al-kvercetin}}$		
257	21216	17030	4,022	0,9999
269	15628	25635	3,544	0,9998
374	21056	7765	3,916	0,9994
435	1824	21554	3,941	0,9993
			3,960	

A számítógépes közelítés ugyanis csak abban az esetben volt eredményes, ha feltételeztem, hogy nem két különálló alumíniumion koordinálódik a kvercetin két különböző pontján, hanem egy $Al(III)$ -dimer kapcsolódik a flavonoid-molekulához. A meghatározott látszólagos stabilitási állandó segítségével kiszámítottam az elméleti fényelnyelés értékeket, és összehasonlítottam a mérési adatokkal (80. ábra). Az adatsorok egyezése megfelelő, csak a magas $Al(III)$ -koncentrációnál tapasztalható kissé nagyobb hiba.



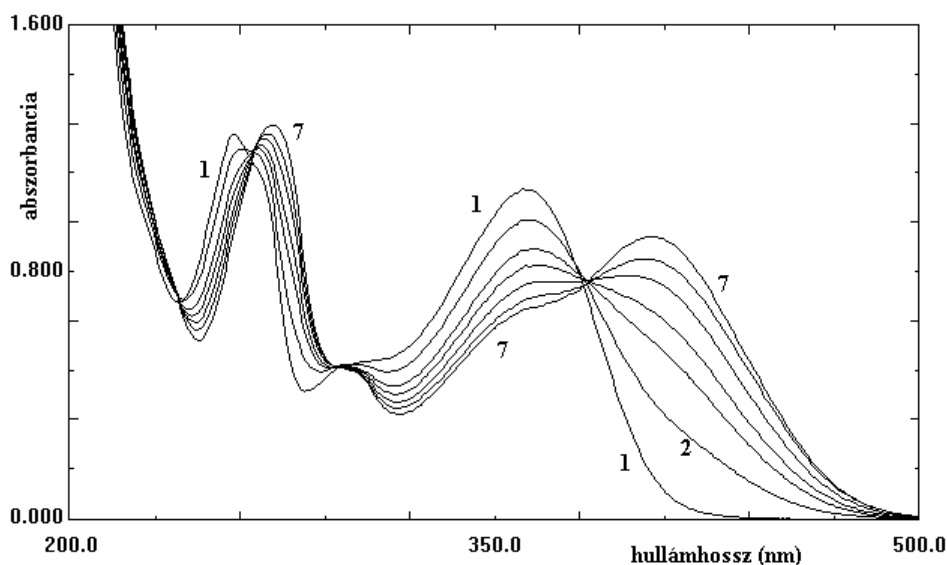
A látszólagos stabilitási állandó ebben az esetben a látható tartomány hullámhosszainál mutat jobb egyezést, míg a 269 nm-en mért adatokból számított állandó eltérése igen nagy.

80. ábra Az $Al(III)$ -kvercetin komplex képződése az összes alumíniumion koncentrációjának függvényében, (\blacksquare) mért és

(—) számított fényelnyelés

IV.7.2. Az alumínium-rutin komplex kialakulása

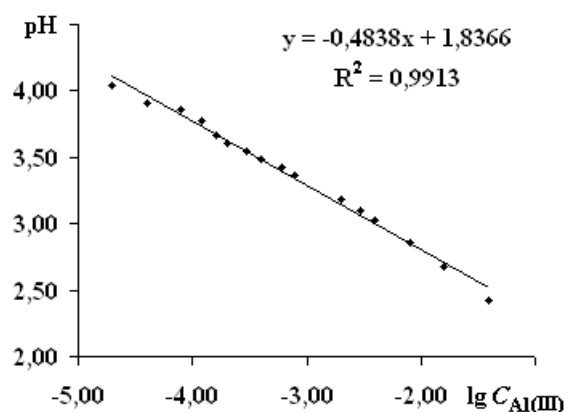
Az Al(III)-rutin-komplex képződésének vizsgálatát a kvercetinrel analóg módon végeztem. Ebben az esetben is kálium-klorid alapelektrolitot használtam, és a fémion koncentrációt változtattam. A abszorpciós spektrumokban már nagyon kis mennyiségű alumíniumion jelenléte esetén határozottan megmutatkozik a komplex kialakulása (81. ábra), viszont még igen nagy fémion-felesleg esetén sem válik teljessé



81. ábra A rutin alumínium-komplexének kialakulása növekvő Al (III)-koncentráció hatására etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldószerben, KCl jelenlétében ($C_{\text{rutin}} = 5,72 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$; **1-7.** $C_{\text{Al(III)}} = 0, 2 \cdot 10^{-5}, 8 \cdot 10^{-5}, 1,6 \cdot 10^{-4}, 4 \cdot 10^{-4}, 8 \cdot 10^{-4}, 8 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

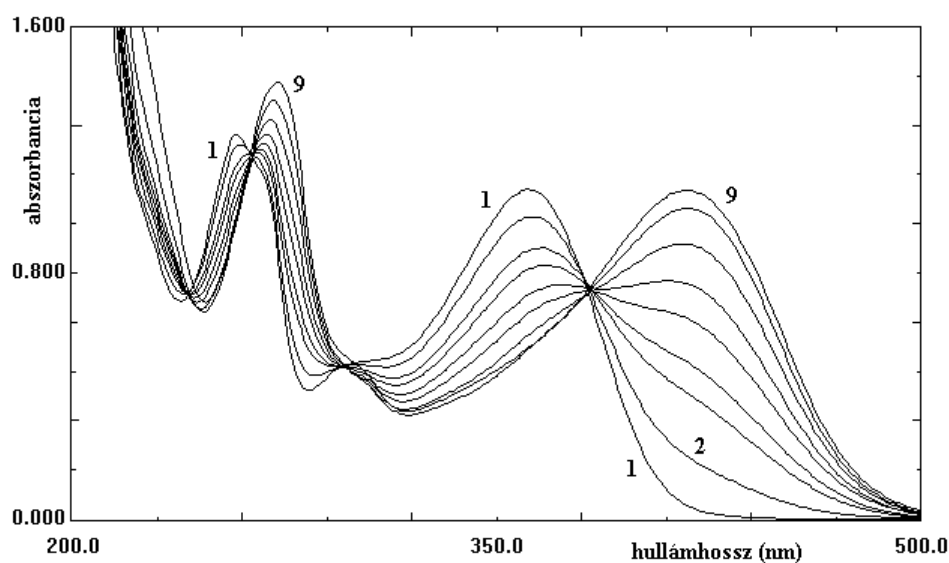
Új abszorpciós maximumok kialakulása figyelhető meg (271 és 404 nm), és egyszerre több izobesztikus ponton találkozik a görbesor (265, 294 és 383 nm). Az irodalmi spektrummal (3. melléklet) összehasonlítva a felvételeket, megállapítható, hogy a rutin mérési sorozata is savas közegre jellemző fényelnyelési görbéket eredményezett.

Az oldatok kémhatásának vizsgálata megerősítette, hogy a növekvő Al(III)-koncentrációval párhuzamosan csökken a rutin-oldatok pH-ja, ráadásul lineáris kapcsolat van az oldat összes Al(III)ion koncentrációjának logaritmusával és pH-ja között (82. ábra). Ez egyértelműen jelezte, hogy a pH csökkenés csaknem kizárólag az $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ részecske deprotonálásának eredménye.



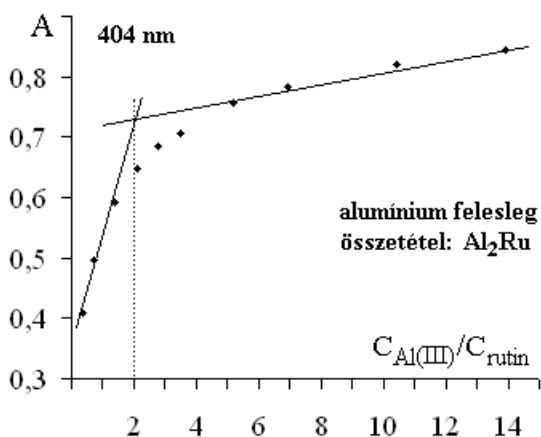
82. ábra Az Al(III) analitikai koncentrációja és az oldat pH-jának összefüggése a rutin-alumínium-komplex kialakulása során etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben ($C_{\text{rutin}}=5,72 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³; 0,2 mol/dm³ KCl)

Kálium-acetát - ecetsav puffert (pH = 5,44) alkalmazva a vizsgálatokhoz, az Al(III)-rutin-komplex kialakulása a kálium-kloridoshoz hasonló abszorpciós görbesort eredményezett (83. ábra).



83. ábra A rutin alumínium-komplexének kialakulása növekvő Al(III)-ion koncentráció hatására KAc:HAc pufferben, etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldószerben ($C_{\text{rutin}}= 5,72 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³; 0,2 mol/dm³ KAc:HAc = 4:1 (pH = 5,44); **1-9.** $C_{Al(III)}= 0, 2 \cdot 10^{-5}, 8 \cdot 10^{-5}, 1,6 \cdot 10^{-4}, 4 \cdot 10^{-4}, 8 \cdot 10^{-4}, 2 \cdot 10^{-3}, 8 \cdot 10^{-3}, 2,4 \cdot 10^{-2}$ mol/dm³)

Kismértékű eltérés mutatkozott a fényelnyelési maximumok hullámhosszában (271 és 418 nm), azonban az izobesztikus pontok helye nem változott a KCl-os alapelektrolitban felvett spektrumokhoz képest. Az alumíniumion kb. 100-szoros feleslege már jelentősen csökkentette az oldat pH-ját, és a további fémion adagolása –a kvercetinhez hasonlóan – a komplex képződésének visszaszorulását idézte elő, ami a képződési görbén is megfigyelhető (31. melléklet).



84. ábra Az alumínium-rutin-komplex összetételének meghatározása

Mivel a képződési görbék alakja a rutin esetében sem mutatott lépcsőzetes komplexképződésre utaló jeleket (31. melléklet), megalapozott volt az a feltevés, hogy az alumínium-rutin-komplex kialakulása nem két különálló fémion koordinációját jelenti, hanem az Al(III)-hidroxó-dimerek kapcsolódását. Ezt a feltételezést a számítógépes stabilitási állandó számítása teljes mértékben alátámasztotta, mert a mérési adatokból nem lehetett lépcsőzetes stabilitási állandót meghatározni (22. táblázat).

22. táblázat Az Al_2Ru összetételű komplex jellemző adatai

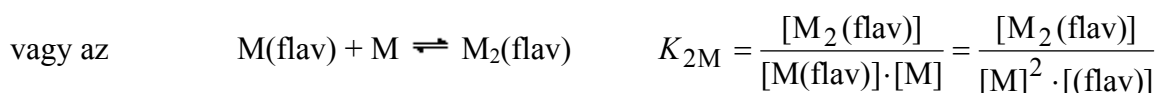
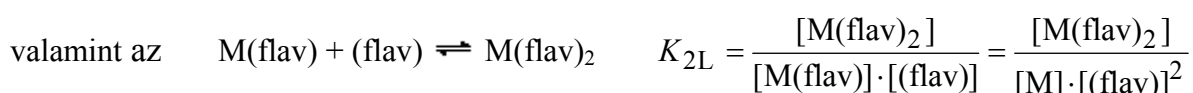
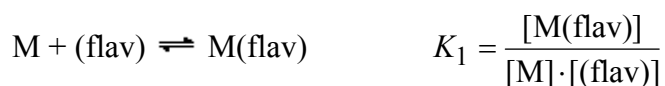
λ [nm]	moláris abszorpciós együttható [$dm^3/mol\ cm$]		számítógépes $\lg K$	R^2
	a_{rutin}	$a_{\text{Al-rutin}}$		
258	21105	16614	3,581	0,9999
271	18037	23827	3,400	0,9999
362	17105	9800	3,657	0,9996
376	15319	11788	3,581	0,9999
418	3915	17504	3,611	0,9981
			3,608	

A számításokat viszont csak az állandó pH-jú pufferolt oldatokból volt célszerű elvégezni, mert azokban volt biztosított a ligandum egyfajta részecskéinek jelenléte, és az alumíniumion környezetének megváltozását is ki lehetett zárni. Abban az esetben, ha ezek mellett a két Al(III) egyetlen lépésben történő koordinációját vettem kiindulási alapként, a számított látszólagos stabilitási állandók meglepően jó egyezést mutattak. Az egyes hullámhosszakon a mért és számított abszorpció hibája 0,007 - 0,015 nagyságú volt.

IV.7.3. Az alumínium-flavonoid-komplexek vizsgálati eredményeinek értékelése

A kísérletsorozat tapasztalatait egybevetve egy összetett kémiai rendszer képe tárul fel. A folyamatok tüzetes elemzése túlmutat ezen dolgozat keretein, és a kölcsönhatások részleteinek felderítéséhez további kiegészítő nagyműszeres vizsgálatok is szükségesek. Eredményeimből azonban az is kitűnik, hogy más kutatócsoportok vizsgálatai számos részlépést elhanyagoltak. Emiatt az eddig megismert megállapítások alapján nem lehet egyértelmű következtetést levonni a kvercetin vagy a rutin és az alumíniumion koordinációjának lefolyásáról.

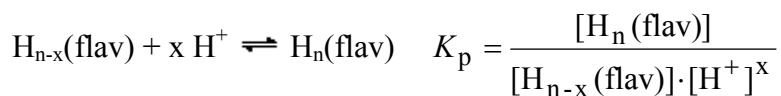
Az egyes publikációk **M** központi iont és a **(flav)** flavonoid-ligandumot tartalmazó oldatban általában lépcsőzetes komplexképződést feltételeznek, és az



komplexképződési folyamatok egyenletét írják fel, és azok egyensúlyi állandóit adják meg.

Vizsgálataim eredményei alapján azonban a Al(III)-flavonoid-komplexek képződése nem ilyen egyszerűen játszódik le.

1. Nem elhanyagolható az oldat kémhatásától függően a flavonoidok disszociációs, vagy protonálódási egyensúlya:

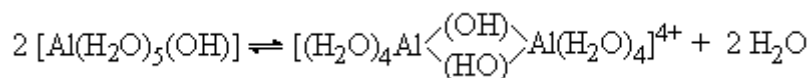


2. Az alumíniumion esetében ezeket a folyamatokat ki kell egészíteni a



deprotonálódási reakcióval.

3. Továbbá pH \approx 4,0 felett még a dimerizációs folyamat sem kizárt:



4. A pufferoldatok használata esetén az Al(III) egyéb egyensúlyi reakcióit is figyelembe kell venni, mivel az acetát-, a hidrogén-foszfát- vagy a citrát-ionnal képzett komplexei is befolyásolják a flavonoidokhoz történő koordináció mértékét.

A vizsgálataim során felvett abszorpciós spektrumok, valamint a képződési görbék egyértelműen arra utalnak, hogy a többmagvú komplexek kialakulása nem többlépéses folyamat – és az Al(III) koordinációja nem a flavonoidok két különböző pontján történik –, hanem a közeg kémhatásától és az alumínium koncentrációjától függően alumínium-hidroxo-dimerek vagy -oligomerek kapcsolódnak a flavonoidokhoz.

Indokolt annak feltételezése, hogy gyengén savas kémhatású ($\text{pH} \approx 4,5 - 5,5$) etanolos oldatban a kezdeti alacsony Al(III) koncentráció ($< 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$) még nem elegendő a többmagvú alumínium-hidroxo-dimerek kialakulásához – ezért akkor a kvercetinhez egyetlen alumíniumion koordinálódik. A növekvő fémion koncentráció hatására viszont előtérbe kerül az Al(III) dimerizációja, és már az alumínium-hidroxo-dimerek létesítenek kötést a kvercetinrel.

A komplexképződés szempontjából további informatív jelenség, hogy alacsony Al(III) koncentráció esetén a kálium-kloridos oldatban nagyobb mértékű a komplex kialakulása, mint az 5,1 - 5,4 pH-jú kálium-acetát - ecetsav pufferben. Ez azt jelzi, hogy az acetátiont tartalmazó oldatban az Al(III) és az CH_3COO^- közötti koordináció sem elhanyagolható mértékű.

Az alumínium-kvercetin- és alumínium-rutin-komplexek képződésének vizsgálata során kapott eredményeim rávilágítottak, hogy a komplexek összetételére, vagy a stabilitási állandók nagyságára vonatkozó irodalmi adatok jelentős mértékű eltérése elsősorban abból adódik, hogy a szerzők milyen mellékreakciókat tudtak figyelembe venni a mérési adatok kiértékelése során. Tekintettel arra, hogy a párhuzamosan számos reakció lejátszódásának eredménye mutatkozik meg a mért abszorbancia értékében – az egyes állandók és a kísérletileg mérhető mennyiségek (pH, abszorpció, analitikai koncentrációk) közötti valós függvénykapcsolat meglehetősen bonyolult. Emiatt az egyes Al(III)-flavonoid-komplexek képződését jellemző egyensúlyi (stabilitási) állandók korrekt számítása csak akkor válik lehetővé, ha a lejátszódó reakciók minden részletét sikerül majd feltárni.

IV.8. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata

A réz(II) - flavonoid kölcsönhatással foglalkozó közlemények nagy száma ellenére igen kevés a réz(II)-flavonoid-komplex kialakulását és egyensúlyát vizsgáló dolgozat, szinte kizárólagosan az oxidációs folyamatok kerülnek bemutatásra. Egy-egy bizonyos fémion:ligandum

arányánál tett megfigyelések pedig nem tudnak a komplexképződés folyamatára pontos magyarázattal szolgálni.

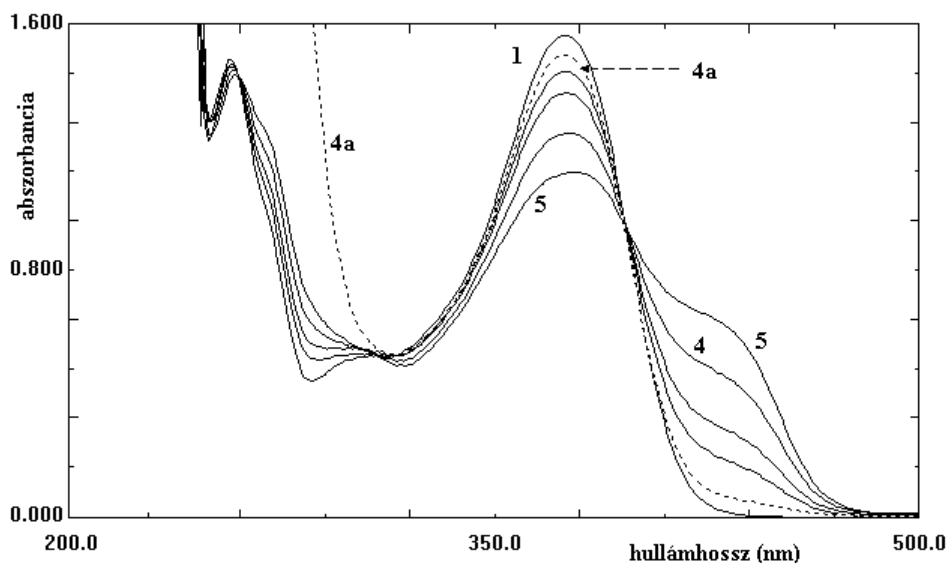
Kísérleteimben a komplexképződés és a lehetséges redoxi reakciók minél teljesebb különválasztására törekedtem, ezzel is bizonyítva a közeg nagyfokú befolyásoló szerepét. A vizsgálatokat mindegyik esetben állandó flavonoid és változó Cu(II) koncentráció alkalmazása mellett végeztem.

A réz(II) komplexképző és egyúttal oxidatív sajátossága következtében a réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata a körülmények körültekintő megválasztását igényelte. A kvercetin gyengén lúgos közegben bekövetkező molekulaszervezeti átalakulása, és a réz(II) hidrolízisre való hajlama ismeretében a koordinációs folyamatok tanulmányozására eleve csak gyengén savas, illetve közel semleges kémhatású – pufferoldatot (pH \approx 5,1 - 5,3) vagy különböző inert sókat (KCl, KNO₃) tartalmazó – etanol:víz elegy volt használható. A koordinációs folyamatok mellett bekövetkező mellékreakciók kimutatására az egyensúly beállta után erősebb komplexképző (etilén-diamin-tetraecetsav) adagolást alkalmaztam. Ennek hatására a kvercetin vagy rutin a komplexéből szabadabbá válik, és az így kapott oldat fényelnyelési görbáját a ligandum eredeti spektrumával összehasonlítva megállapítható, hogy milyen folyamatok játszódtak le.

IV.8.1. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata kálium-nitrát alapelektrolitban

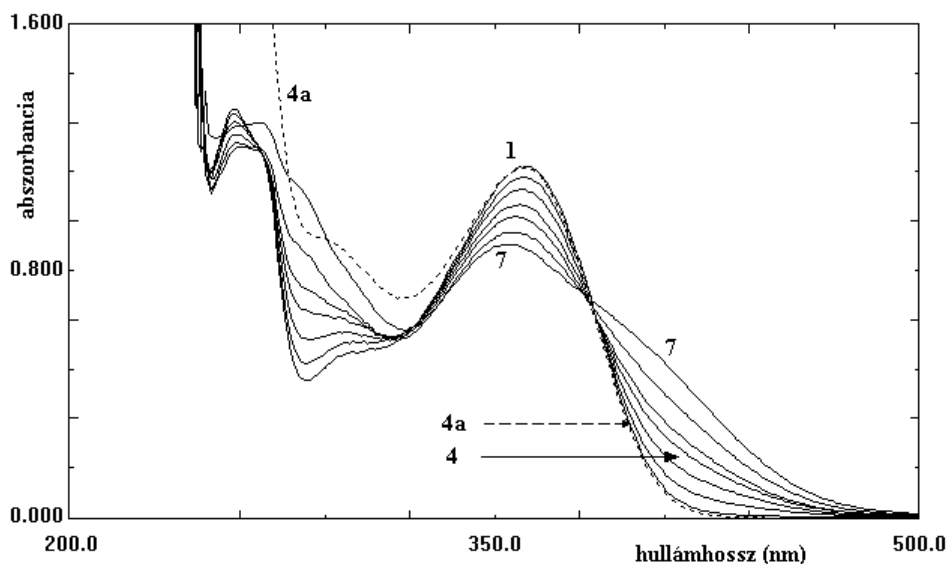
KNO₃ jelenlétében a réz(II)ion és a kvercetin, illetve a rutin kölcsönhatása során intenzív sárga színű oldat keletkezett, a komplex képződésének egyensúlya 25-30 perc alatt bekövetkezett.

A *kvercetin* abszorpciós spektrumában a növekvő Cu(NO₃)₂ koncentráció hatására új fényelnyelési sáv kezdődő kialakulása volt megfigyelhető 420 nm körül és a görbék 396 nm-en izobesztikus pontban illeszkednek (85. ábra). A Cu(II)-kvercetin-komplex kialakulása a háromszoros réz(II) feleslegnél láthatóan még nem teljes, azonban a koncentráció további növelése az oldat olyan mértékű savasodását okozta, amely a komplexképződés visszaszorulását idézte elő, így további vizsgálatokat nem végeztem. EDTA adagolás hatására a kvercetin eredeti spektruma csaknem teljes mértékben visszakapható (- - -), csak az UV-tartományban zavar a Cu(II)-EDTA komplex fényelnyelése.



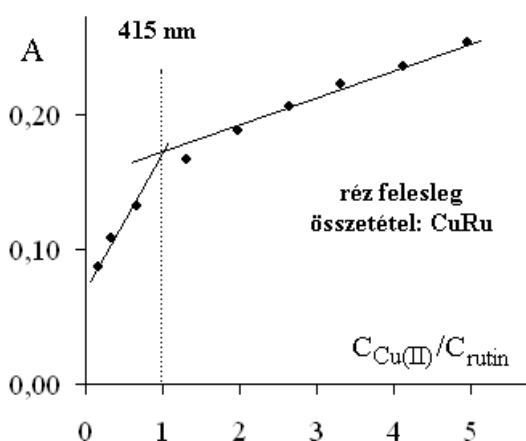
85. ábra *A kvercetin komplexképzése növekvő $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ koncentráció hatására*
 $(C_{\text{kvercetin}} = 6,48 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3; 0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KNO}_3, \mathbf{1-5. } C_{\text{Cu(II)}} = 0 - 2,0 \cdot 10^{-5} - 4,0 \cdot 10^{-5} - 1,0 \cdot 10^{-4} - 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3; \mathbf{4a: } + 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3 \text{ EDTA})$

A rutin spektruma az előzetes irodalmi adatokhoz képest csak igen csekély komplexképződést jelez (86. ábra). Más közegben, ilyen réz(II)-feleslegnél, szinte teljes mértékben kialakult komplexek képződéséről számolnak be. Az EDTA adalék után felvett spektrum viszont egyértelműen mutatja a redoxi reakció hiányát, mert a rutin jellemző sávja a ligandum eredeti koncentrációjával megegyező intenzitású.



86. ábra *A réz(II)-rutin-komplex kialakulása KNO_3 alapelektrolit jelenlétében*
 $(C_{\text{rutin}} = 6,09 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3; 0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KNO}_3; \mathbf{1-7. } C_{\text{Cu(II)}} = 0 - 2,0 \cdot 10^{-5} - 8,0 \cdot 10^{-5} - 2,0 \cdot 10^{-4} - 4,0 \cdot 10^{-4} - 8,0 \cdot 10^{-4} - 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3; \mathbf{4a: } + 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3 \text{ EDTA})$

Azonos koncentrációjú réz(II)-nitrát hatására a kvercetin spektruma (85. ábra) sokkal



intenzívebb változást jelez, mint a rutiné (86. ábra), ami arra utal, hogy a képződött kvercetin-komplex stabilitása nagyobb. EDTA hozzáadásával mind a két ligandum kiszorítható volt a komplexéből, és a spektrumok alapján nem, vagy csak igen kismértékű mellékreakciót lehetett megfigyelni. A képződő Cu(II)-rutin-komplex 1:1 arányú összetételét a vizsgálatsorozat egyértelműen megmutatta (87. ábra).

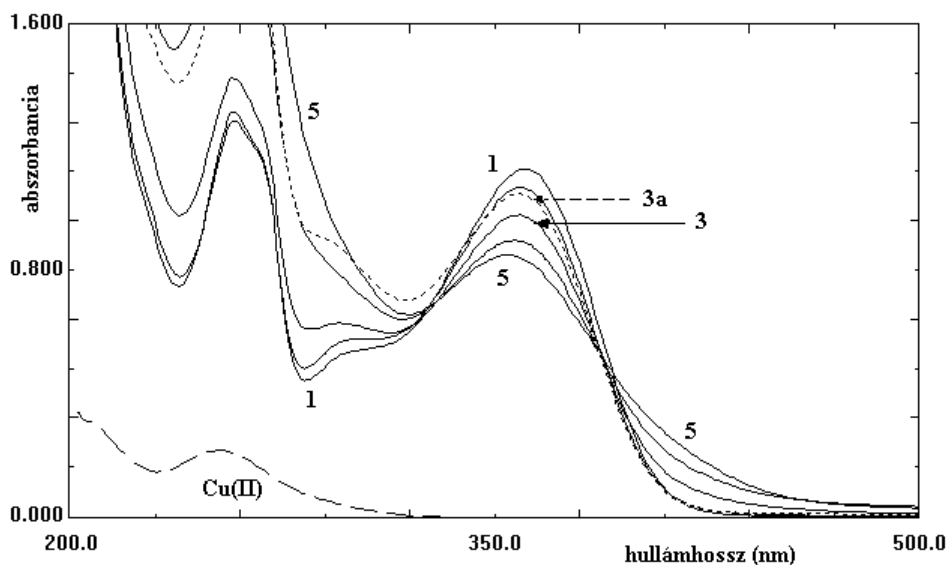
87. ábra A réz-rutin-komplex összetételének megállapítása molarány módszerrel

IV.8.2. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata kálium-klorid alapelektrolitban

A rutin azonos körülmények között elkészített spektrumfelvételei kálium-klorid alapelektrolitban is hasonló reakció lejátszódására utaltak, mint amilyen KNO_3 jelenlétében volt tapasztalható. Azonban abban különbözött az előbbi vizsgálatsorozathoz, hogy az oldatok elkészítésekor egy rövid ideig tartó meggyvörös elszíneződés mutatkozott, majd a rutin komplexképzésére jellemző krémsárga szín tartósan megmaradt. A kölcsönhatás reverzibilitását az erősebb komplexképző adagolása nem támasztotta alá, ugyanis a komplexéből kiszorított rutin eredeti spektrumát nem lehetett visszakapni (88. ábra).

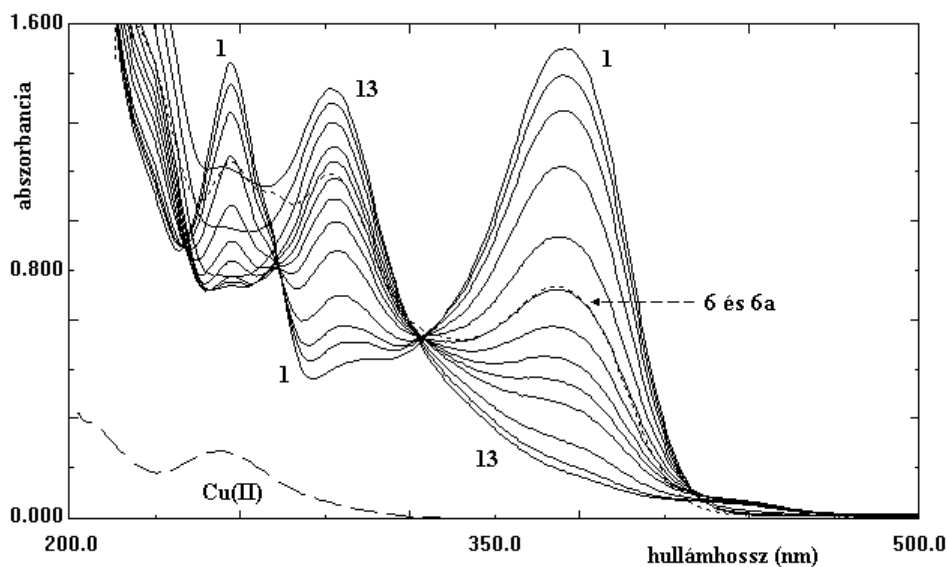
A fényelnyelési görbén nem jelent meg új sáv. A 360 nm hullámhosszú maximum csökkenése (és kismértékű hipszokróom eltolódása – 354 nm) mellett, csak a Cu(II)ionok nagy UV-tartománybeli abszorpciója növeli a 258 nm-es sávot. A növekvő rézkoncentrációval együtt két izobesztikus pont alakul ki (325 és 390 nm), és kissé emelkedik a látható tartománybeli fényelnyelés, amit nem lehet pontos hullámhosszhoz kötni. Maradandó változást csak a réz(II) feleslege idézett elő, viszont a rutinnál alacsonyabb, vagy vele összemérhető réz-koncentráció esetén a spektrumváltozás nem volt szignifikáns.

Fontos információval szolgálhatna a kölcsönhatási folyamat kezdetén mutató színes termék azonosítása, azonban megjelenése és eltűnése olyan gyors lefolyású, hogy az adott technikai felszereléssel a fényelnyelési sajátságai nem voltak felderíthetőek.



88. ábra *A rutin abszorpciós spektrumának változása növekvő CuCl_2 koncentráció hatására KCl alapelektrolitban, etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyében ($C_{\text{rutin}} = 6,03 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$, **1-5**: $C_{\text{Cu(II)}} = 0 - 2,0 \cdot 10^{-5} - 2,0 \cdot 10^{-4} - 8,0 \cdot 10^{-4} - 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$; **3a**: $+ 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3 \text{ EDTA}$; **Cu(II)**: $C_{\text{Cu(II)}} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$; $C_{\text{rutin}} = 0$)*

A kvercetin - réz(II)ion kölcsönhatás KCl tartalmú közegben a rutintól eltérő folyamatokra utaló fényelnyelést eredményezett a növekvő rézion koncentráció függvényében (89. ábra).

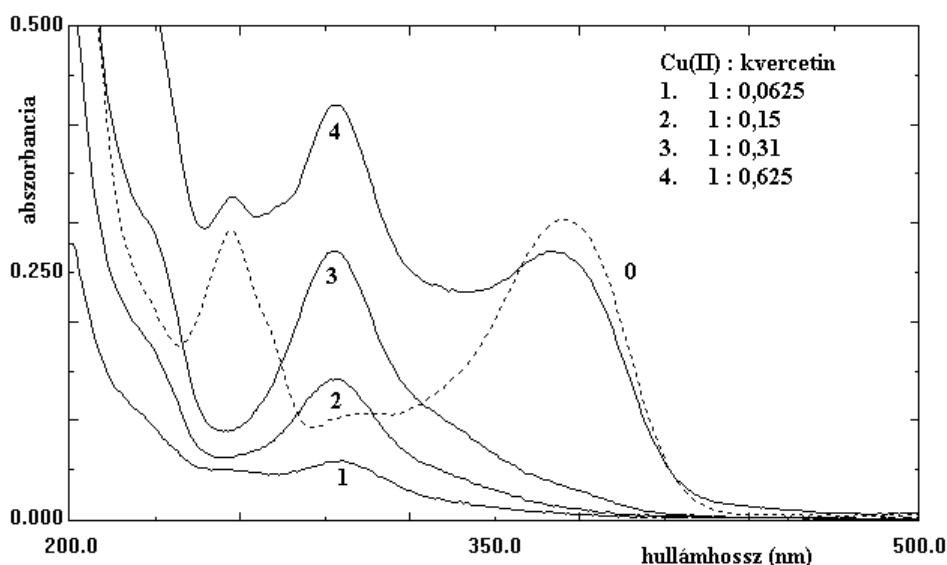


89. ábra *A Cu(II) - kvercetin kölcsönhatás spektrumsorozata KCl alapelektrolit tartalmú etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben ($C_{\text{kvercetin}} = 6,25 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$; **1-13**. $C_{\text{Cu(II)}} = 0 - 1,0 \cdot 10^{-5} - 2,0 \cdot 10^{-5} - 4,0 \cdot 10^{-5} - 8,0 \cdot 10^{-5} - 1,2 \cdot 10^{-4} - 1,6 \cdot 10^{-4} - 2,0 \cdot 10^{-4} - 2,5 \cdot 10^{-4} - 3,0 \cdot 10^{-4} - 4,0 \cdot 10^{-4} - 6,0 \cdot 10^{-4} - 8,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$; **6a**: $+ 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3 \text{ EDTA}$ **Cu(II)**: $C_{\text{Cu(II)}} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$; $C_{\text{kvercetin}} = 0$)*

A Cu(II) és a kvercetin oldatának elegyítésekor nem a komplexképződésre jellemző színeződés mutatkozott, hanem nagyon rövid ideig tartó meggyvörös árnyalatot követően zöldessárgára változott az oldat, majd fokozatosan elszíntelenedett. A spektrumsorozatban a kvercetin 374 nm-es maximumának csökkenésével egyidejűleg egy új fényelnyelési sáv kialakulása figyelhető meg 293 nm-nél, és a görbesereg 240, 273 és 324 nm-eknél izobesztikus pontokban találkozik.

A lejátszódó folyamatban a kvercetin egyértelműen irreverzibilis változást szenved, eredeti abszorpciós görbéje sem aszkorbinsav, sem EDTA hozzáadásával nem nyerhető vissza. A Cu(II)-EDTA komplex kialakulása következtében az ultraibolya tartományban kissé módosul a spektrum, de az nem érinti 374 nm hullámhossznál a maradék kvercetin fényelnyelését.

A kvercetin teljes átalakulását mutatják a kvercetin koncentrációjának függvényében felvett abszorpciós spektrumok, ha az oldat CuCl₂ koncentrációja meghaladja a kvercetinét (90. ábra).



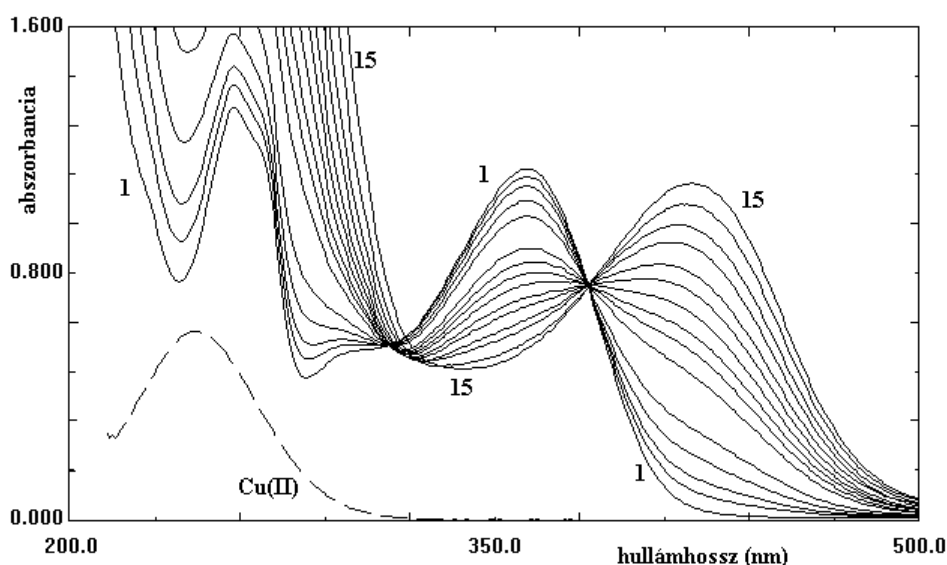
90. ábra Állandó CuCl₂- és változó kvercetin koncentrációjú oldatok abszorpciós spektruma 0,2 mol/dm³ KCl jelenlétében
 (0: C_{Cu(II)} = 0; C_{kvercetin} = 1,25·10⁻⁵ mol/dm³; 1-4: C_{Cu(II)} = 4,00·10⁻⁵ mol/dm³; C_{kvercetin} = 2,50·10⁻⁶ – 6,25·10⁻⁶ – 1,25·10⁻⁵ – 2,50·10⁻⁵ mol/dm³)

A folyamat bizonyosan nem a réz(II)-kvercetin-komplex képződése. A fényelnyelési sávok elmozdulása ugyanis nem a hosszabb hullámhosszak irányába történik, hanem csak hipszokróm eltolódás következik be. Átmeneti komplexek keletkezése feltételezhető ugyan, de jelenlétük nem kimutatható a kölcsönhatás eredményeként. Mivel a kvercetin A- és B-gyűrűire jellemző abszorpciós sávok teljesen eltűnnek, okkal feltételezhető a folyamatban a delokalizáció csökkenése, vagy teljes megszűnése.

IV.8.3. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata ecetsav - kálium-acetát pufferben

Mivel az etanol:víz elegy kevésbé kedvez a redoxi reakciók lejátszódásának, és az ecetsav - kálium-acetát puffert tartalmazó oldatban várható volt, hogy tisztán koordinációs folyamat megy végbe, ezért célszerűnek látszott a Cu(II) - flavonoid kölcsönhatást ilyen közegben is megvizsgálni. A várakozásnak megfelelően acetátos pufferben ($\text{pH} \approx 5,1-5,2$) réz(II)-nitrát hatására a kvercetinnek és a rutinnek egyaránt erősen sárga színű oldata keletkezett, amely színét tartósan megőrizte.

Az abszorpciós spektrumok alapján réz(II)-nitrát hatására a *rutin* egy lépéses koordinációs folyamatot mutatott (91. ábra). A képződött komplexet 420 nm-en egyetlen intenzív fényelnyelési maximum jellemezte, és a spektrumok 384 nm-nél jól definiált izobesztikus pontban találkoztak. Az alkalmazott Cu(II)-koncentráció (több mint 50-szeres felesleg a ligandumhoz képest) ugyan nem volt elegendő a komplex teljes kialakulásához, mint az a képződési görbéken is megmutatkozik (32. melléklet), de annak ívéből világosan látszik, hogy egyetlen komplex képződik a folyamatban.

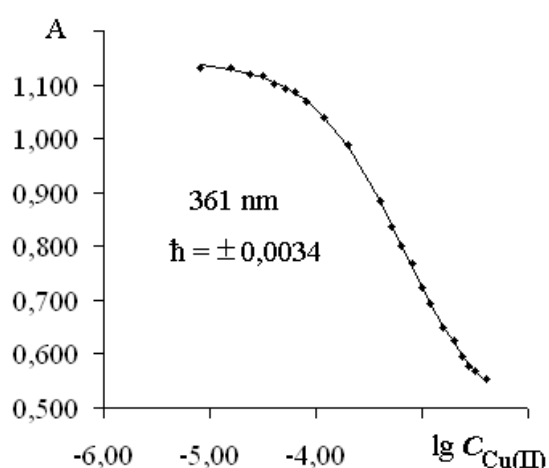


91. ábra *A rutin réz-komplexének kialakulása $0,2 \text{ mol/dm}^3$ KAc:HAc = 4:1 puffert tartalmazó etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyében ($\text{pH} = 5,22$) ($C_{\text{rutin}} = 6,07 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, **1-15.** $C_{\text{Cu(II)}} = 3,2 \cdot 10^{-5} - 4,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$; **Cu(II):** $C_{\text{Cu(II)}} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$; $C_{\text{rutin}} = 0$)*

Feleslegben adagolt EDTA hatására a Cu(II) a komplexekből teljesen kiszorítható volt, és a ligandumok abszorpciós spektruma a 360 nm-es fényelnyelési sávon eredeti értékére visszatért, az ultrabolya tartományban pedig a réz(II)-EDTA komplex nagy abszorpciója miatt összeadódott a fényelnyelés.

A fényelnyelési jellemzők csak a rutin csökkenő intenzitású hullámhosszán (361 nm) és a képződő komplex sávján (420 nm) tették lehetővé a látszólagos stabilitási állandó számítását. Mivel a pufferolt közegben a koordinációs folyamat során nem módosul sem a rutin protonáltsága, sem a réz hidrolízisének mértéke, viszonylag egyszerű egyenletekkel lehetett az egyensúlyt jellemző állandó matematikai összefüggéseit megadni.

A réz(II)-rutin-komplex stabilitási állandójának meghatározását először közelítő grafikus módszerrel végeztem el (33. melléklet), ami a komplex 1:1 arányú összetételét is bizonyította,



majd a pontos értékek kiszámításához számítógépes programot használtam. A számítógépes kiértékelés eredményeként a mért és a számított adatok (34. melléklet) a fényelnyelési görbén jó illeszkedést mutatnak (92. ábra), a látszólagos stabilitási állandók egyezése is megfelelő (23. táblázat).

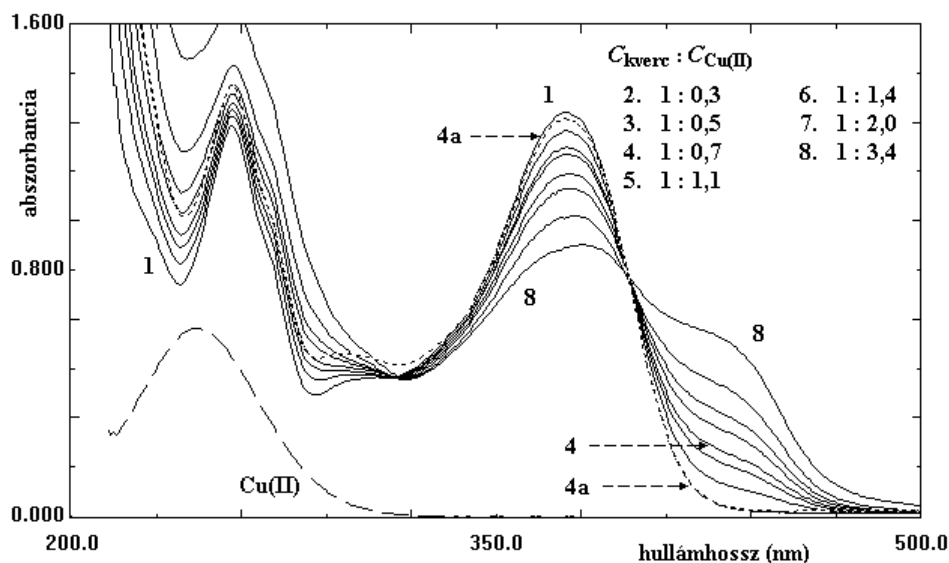
92. ábra Az 1:1 összetételű réz(II)-rutin-komplex képződéséhez tartozó mért (•) és számított abszorpció (—), és az adatok relatív hibája

23. táblázat A réz(II)-rutin-komplex (CuRu) látszólagos stabilitási állandójának meghatározása etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben 0,2 mol/dm³ KAc - HAc puffer jelenlétében (pH = 5,22)

λ [nm]	moláris abszorpciós együttható [dm ³ /mol cm]		grafikus lg K	számítógépes lg K	R ²
	a _{rutin}	a _{Cu-rutin}			
361	18845	7500	3,201	3,210	0,9999
420	822	21330	3,062	3,121	0,9999
			3,131	3,165	

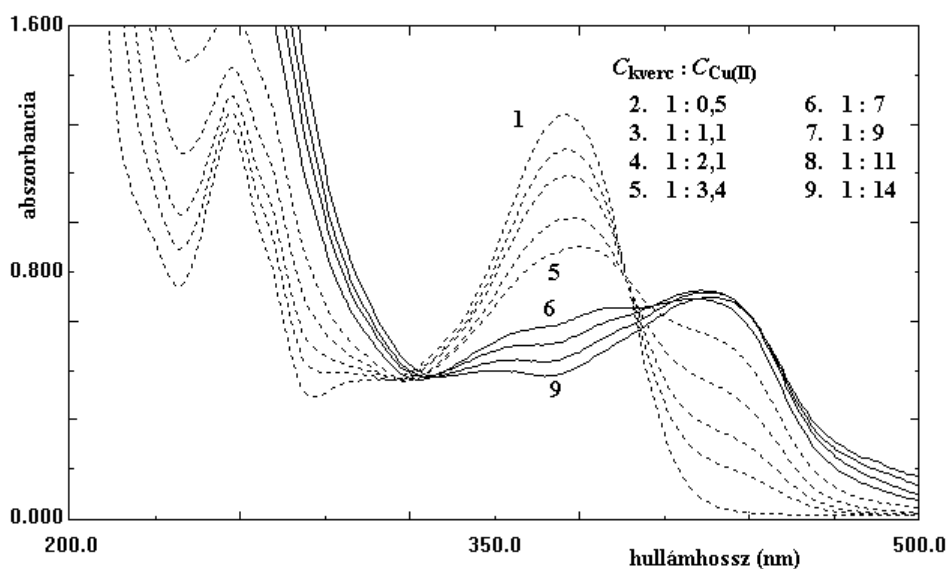
A réz(II) és a *kvercetin* acetát-puffert tartalmazó közegben (pH = 5,13) lejátszódó kölcsönhatása – a növekvő Cu(NO₃)₂ koncentráció mellett felvett abszorpciós spektrumok alapján – rendkívül összetett reakció (35. melléklet). A spektrumsorozat, valamint néhány jellegzetes hullámhosszon a képződési görbék (36. melléklet) egyaránt azt mutatták, hogy a kölcsönhatás folyamatában legalább két független szakaszt lehet felfedezni.

Az alacsony Cu(II)-koncentráció tartományában (kb. 8-10-szeres feleslegig) új fényelnyelési sáv alakul ki ~425 nm hullámhosszúságú maximummal, és a görbék 314 és 396 nm-en izobesztikus pontokban illeszkednek (93. ábra).



93. ábra A réz(II)-kvercetin-komplex kialakulása kálium-acetát - ecetsav puffert tartalmazó oldatban ($pH = 5,13$) alacsony $Cu(NO_3)_2$ koncentrációk esetén ($C_{kvercetin} = 5,84 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3$ KAc:HAc = 4:1; **1-8:** $C_{Cu(II)} = 0 - 1,6 \cdot 10^{-5} - 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$; **4a:** $+ 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ EDTA **Cu(II):** $C_{Cu(II)} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$; $C_{kvercetin} = 0$)

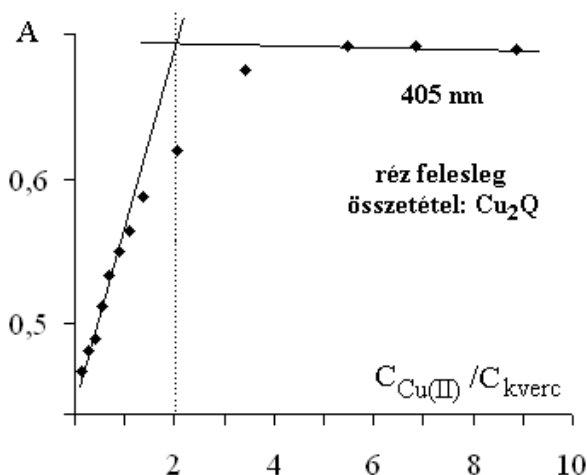
A lejátszódó reakció hatása egyáltalán nem mutatkozik a kvercetin ultraibolya tartománybeli fényelnyelési maximumán, mivel hullámhosszában eltolódás nem következik be, csupán a növekvő mennyiségű Cu(II) abszorpciója növeli egy additív értékkel. Ebben a szakaszban kizárólag komplexképződés megy végbe, mivel az egyensúly beállta után feleslegben adagolt EDTA hatására a kvercetin eredeti spektruma mutatkozik. A réz(II)-koncentráció további emelése a komplexképződési folyamat befejeződését idézi elő (94. ábra).



94. ábra A kvercetin - réz(II) kölcsönhatás spektrális változásai a közepes fémion-koncentráció tartományban kálium-acetát - ecetsav puffer jelenlétében ($C_{kvercetin} = 5,84 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $0,2 \text{ mol/dm}^3$ KAc:HAc = 4:1; **1:** Cu(II)-mentes, **2-5:** alacsony, **6-9:** közepes $Cu(NO_3)_2$ tartalom)

A magasabb réz(II)-koncentráció hatása a spektrumsorozatban is meglátszik, mivel a komplex 425 nm-es sávjának intenzitása állandósul, és a 314 nm-es izobesztikus pont 328 nm-re tolódik el, a 396 nm-es pedig 405 nm-re módosul, miközben a kvercetin 374 nm-es abszorpciós maximuma továbbra is fokozatosan csökken.

Ebben a koncentráció-tartományban meg lehetett állapítani a kialakuló komplex összetételét és stabilitási állandóját (95. ábra). Mólarány módszerrel és a stabilitási állandó



(komplex szorzat) grafikus meghatározásának egyenletéből (iránytangens) egyaránt Cu_2Q összetételű részecske keletkezéséhez lehetett megjósolni (34. melléklet). A kétmagvú komplex lépcsőzetes képződését nem lehetett kimutatni.

95. ábra A réz(II)-kvercetin-komplex összetételének megállapítása

A meghatározás több független hullámhosszon közel azonos látszólagos stabilitási állandó értéket eredményezett (24. táblázat). A számításokat csak a képződő többmagvú komplex abszorpciós maximumán, valamint az új izobesztikus ponton lehetett elvégezni, mivel a komplexképződési folyamat csak ezeken a hullámhosszakon zárult jól definiálható határértékű abszorpcióval.

24. táblázat A réz(II)-kvercetin-komplex (Cu_2Q) látszólagos stabilitási állandójának meghatározása számítógépes program segítségével etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben 0,2 mol/dm³ KAc - HAc puffer jelenlétében (pH = 5,13)

λ [nm]	moláris abszorpciós együttható [dm ³ /mol cm]		számítógépes lg K	R ²
	$a_{\text{kvercetin}}$	$a_{\text{Cu-kvercetin}}$		
328	9258	7820	4,377	0,9999
425	1151	14372	4,237	0,9998
442	433	13015	4,073	0,9998
			4,229	

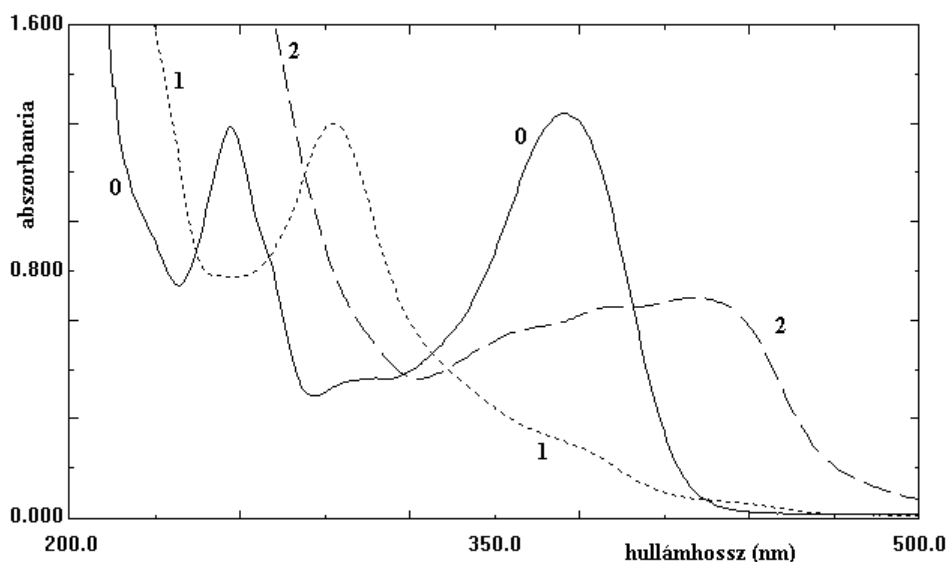
A magas réz(II) koncentrációjú második szakaszban (kb. 10-szeres réz(II)-felesleg felett) a fényelnyelési sávok egyenletes csökkenése mutatkozott (35. melléklet). A spektrumok nem találkoznak izobesztikus pontban, ami az egyensúlyi folyamat hiányára utal. Ebben a koncentráció-tartományban már nem lehetett EDTA adagolással a kvercetin eredeti abszorpciós

spektrumát visszaállítani, a magas Cu(II)-koncentráció kvercetin irreverzibilis változását idézte elő.

IV.8.4. A réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálati eredményeinek értékelése

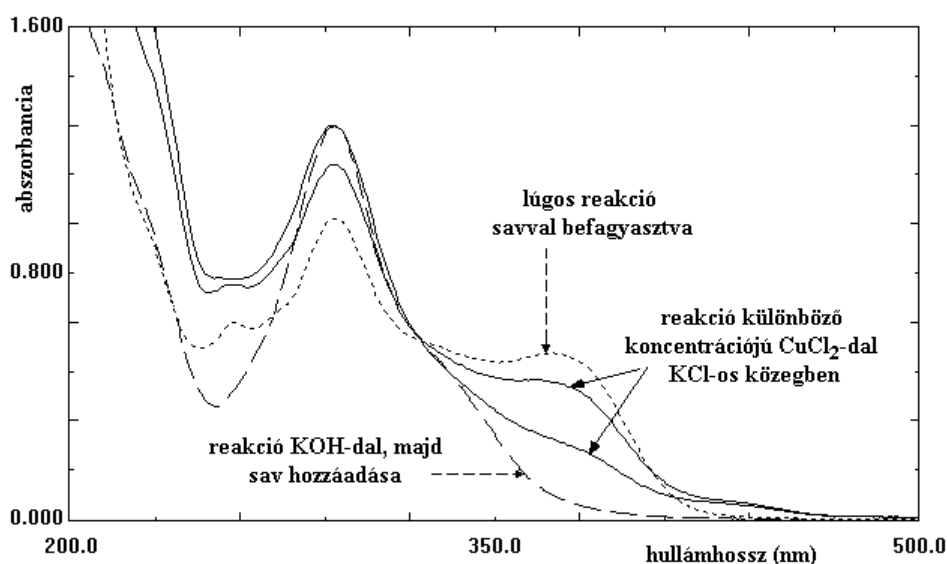
A különböző ionok jelenléte az etanol : víz elegyben jelentősen eltérő hatást eredményezett a réz(II) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálatában, ami magyarázatul szolgálhat a témával foglalkozó publikációk egymásnak ellentmondó következtetéseire is. Mindenesetre nyilvánvalóvá vált, hogy a közeg hatását sokkal nagyobb figyelemmel kell vizsgálni, mert jelentéktelennek tűnő különbségek is alapvetően másfajta folyamatot váltanak ki.

Vizsgálataim elsősorban a Cu(II) - flavonoid koordináció pontosabb megismeréséhez szolgáltatott újabb ismereteket. A kölcsönhatási folyamatok lejátszódásának értelmezéséhez döntő fontosságú az a megfigyelésem, hogy azonos Cu(II):kvercetin koncentrációviszonyok esetén is alapvetően eltérő folyamatok mennek végbe a közeg összetevőinek hatására. Nem elhanyagolható például az a spektrális különbség, amit a kvercetin és $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ között lejátszódó reakció kálium-klorid alapelektrolitban, illetve kálium-acetát - ecetsav pufferben eredményez (96. ábra). Bár a kvercetin tekintetében – bizonyos Cu(II) koncentráció felett – mind a két folyamat irreverzibilis változást idéz elő, a kölcsönhatás korántsem azonos módon megy végbe, és nem azonosak a képződött termékek sem.



96. ábra A kvercetin (0) abszorpciós spektrumának változása $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ hatására KCl alapelektrolit (1), illetve KAc:HAc = 4:1 puffer (2) jelenlétében ($C_{\text{kvercetin}} = 6,16 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; 1-2: $C_{\text{Cu(II)}} = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$)

A kálium-kloridot tartalmazó oldatban a reakció kezdetén megjelenő meggyvörös szín nagyon hasonló a kvercetin lúgos közegben bekövetkező változásához, ami a lejátszódó folyamatok hasonló kimenetelére is utalhat. Ellentmondhat ennek a feltételezésnek az a tény, hogy a kvercetin és a CuCl_2 kölcsönhatása savas közegben ment végbe. A feltevés helytálló voltát erősíti viszont a kétféle reakció befejeződése után felvett abszorpciós spektrumok összehasonlítása (97. ábra).



97. ábra A kvercetin abszorpciós spektruma különböző reagensek által kiváltott kölcsönhatások után

A kálium-klorid alapelektrolitot tartalmazó oldatban a kvercetin és a CuCl_2 között lejátszódó folyamat terméke, valamint a kvercetin és KOH reakciójában keletkező vegyület protonált alakjának abszorpciós spektruma csak a Cu(II) UV-tartománybeli magasabb fényelnyelése miatt megkülönböztethető. A kétféle reakció eredményeként kialakuló anyag abszorpciós maximumának helye és intenzitása, valamint az izobesztikus pont hullámhossza teljesen megegyező.

A kvercetin lúgos közegben végbemenő átalakulását az irodalom egységesen oxidációs reakcióként értelmezi, ami a levegő oxigénje hatására következik be. Továbbá a kvercetinnek a Cu(II)/Cu(I) redoxi rendszer hatására, savas közegben végbemenő oxidációja is általánosan elfogadott. Azonban a két folyamatot sohasem hozták egymással összefüggésbe, mert a kétféle oxidációban nem keletkezhet azonos termék, hiszen a feltételezett oxidációs lépések lényegesen eltérőek. Csak gyengén lúgos pufferoldatban kapott eredmények alapján vetik fel, hogy ilyen közegben a Cu(II) – a Fenton-reakcióval analóg módon – szabad gyököket (O_2^\bullet) generál, amely aztán az erősen lúgos közeggel azonos módon tud oxidálni.

Arra próbáltam választ keresni, hogy milyen – esetleg nem oxidációs – folyamat játszódhat le lúgos közegben és réz(II)-klorid hatására kloridionok jelenlétében savas közegben, ami a kvercetin átalakulási reakciójában azonos eredményre vezethet. Hangsúlyozni szükséges a réz(II) mellett mind a savas közeg, mind a klorid ionok együttes hatását, mert nitrát anion jelenléte, vagy ecetsavas puffer esetében nem tapasztalható ilyen jelenség. Ez arra hívja fel a figyelmet, hogy a magas kloridion koncentráció ($0,2 \text{ mol/dm}^3$) lehetővé teheti a kis stabilitású [tetrakloro-kuprát(II)]-komplex kialakulását is, amelynek sajátosságai lényegesen eltérnek a hidratált Cu(II)-ionétól.

A vizsgálatom során felvett – növekvő Cu(II) koncentrációhoz tartozó – abszorpciós görbék meglepően pontos illeszkedése az izobesztikus pontokban (*89. ábra*) azt sejteti, hogy a spektrumsorozat valamilyen egyensúlyi folyamatot jellemez. A réz(II)-koncentráció - fényelnyelés összefüggést megvizsgálva, az ugyancsak az egyensúlyi képződési görbék jellegzetes alakját mutatja (*38. melléklet*), amelyhez meglepő pontossággal rendelhető egyensúlyi állandó is (*39. melléklet*). A folyamatot olyan összefüggés jellemzi, amelyben a Cu(II) koncentrációja első hatványon szerepel.

Oxidációs reakciót feltételezve azonban az egyensúlyi folyamatra utaló változások nehezen értelmezhetők. Továbbá a kvercetin reakciója lúgos közegben is teljesen hasonló koncentrációfüggést mutatott, ami a két folyamat analógiáját alátámasztja alá. A növekvő koncentrációjú kálium-acetáttal reagáltatott, majd a feleslegben vett sósavval megsavanyított kvercetin oldat abszorpciós spektrumai és a CuCl_2 -os reakció megegyező görbesort eredményeztek (*40. melléklet*).

Feltételezésem szerint a lúgos közegű és a réz(II)-klorid hatására végbemenő átalakulási folyamatok alapja a kvercetin azonos molekulaszervezeti változása lehet, amely a mezomer szerkezetek kialakulását, és az oxo-enol-tautomer átrendeződést követő szolvólízis révén jön létre. A feltételezett folyamat részleteinek tárgyalása a kísérletek jelenlegi stádiumában azonban nem célszerű, mivel a réz(II)/réz(I) átalakulás igen egyszerűen, az azonos közegben elvégzett ESR vizsgálatokkal azonnal bizonyítható vagy cáfolható lenne.

A savas pufferben végzett vizsgálatok eredményei arra hívták fel a figyelmet, hogy a Cu(II) - kvercetin kölcsönhatás folyamatában döntő jelentősége van a fémion:ligandum aránynak is. Számos koncentráció-aránynál elvégzett spektrumfelvétel alapján tudtam megállapítani az egyes folyamatok jellegét, illetve a változások szakaszosságát. Több kutatócsoport próbálkozott már felderíteni ezt az élettani szempontból is fontos kölcsönhatást. Igaz ugyan,

hogy a vizsgálatokat a szöveti nedvek lúgosabb kémhatása miatt $\text{pH} \approx 7,0\text{-}7,5$ tartományban végezték. Általában néhány kiragadott fémion:ligandum összetételt vizsgáltak, ezért nem volt szembetűnő, hogy a növekvő Cu(II) ion koncentráció hatására más-más úton játszódhat le a reakció. Így az átalakulás szisztematikus megismerésére korábban nem volt lehetőség.

IV.9. A króm(III)/króm(VI) - flavonoid kölcsönhatás vizsgálata

A flavonoidok és a különböző oxidációs állapotú króm közötti kölcsönhatás tanulmányozásának fontossága először akkor merült fel, amikor kromát-tartalmú favédőszerrel kioldási vizsgálata során keletkezett oldatok elemzését végeztem (MOLNÁRNÉ 1994). A favédőszerrel kezelt bükk (*Fagus sylvatica*) és lucfenyő (*Picea abies*) minták vizes extraktumában ugyanis eltérő mennyiségben jelentek meg a króm különböző oxidációs állapotú speciei (25. táblázat).

25. táblázat *Különböző bikromát-tartalmú védőszerrel kezelt faanyagból kioldott krómformák, és koncentrációjuk az extraktumban (MOLNÁRNÉ 1994)*

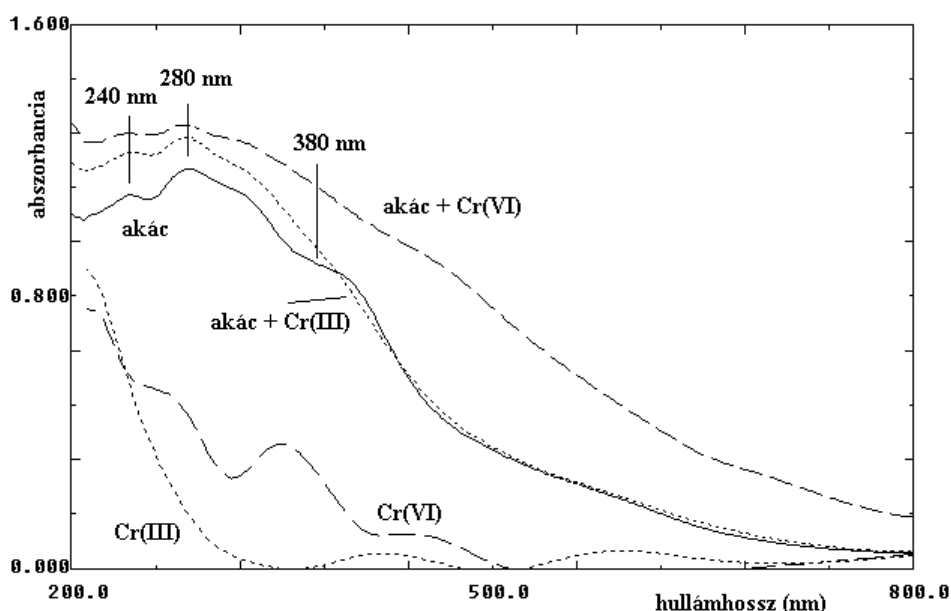
faminta	kezelő oldat	Mycotox B ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, F^-)		Tetol RKB ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, Cu^{2+})	
	koncentrációja (tömeg%)	kioldott krómforma és mennyisége [mg/dm^3]			
		Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)
bükk	2	-	19,0	-	7,8
	3	25,5	29,4	-	6,1
lucfenyő	2	31,8	12,0	1,3	1,9
	3	81,9	10,8	4,9	0,2

A mérési adatokból a fafajra jellemző szembeötlő különbségeket lehetett megállapítani. Azonos körülmények között végezve a kísérletet a króm döntő hányada Cr(III) ion formájában oldódik ki a bükk-mintából, szemben a lucfenyővel, amelynek extraktuma nagyrészt Cr(VI) -ot tartalmazott. A bükkből kioldott króm össz mennyisége is jóval kevesebb, mint amennyi a lucfenyőből távozik. Ez a tendencia hozzávetőlegesen akkor is megmarad, ha a kezelőoldat réz(II)-t is tartalmaz (Tetol RKB), de a képződő réz(II)-kromát csapadék miatt az áztatással kioldható króm mennyisége lényegesen lecsökken. A kölcsönhatási folyamatok eltérő eredményében jelentős szerepe van a két fafaj különböző extraktanyag-összetételének.

Króm(III)-, illetve króm(VI) hatására a fafelület színének (STIPTA, NÉMETH és MOLNÁRNÉ 2002a) és abszorpciós sajátosságainak vizsgálata során (MOLNÁRNÉ, STIPTA és

NÉMETH 2002) szintén tapasztaltuk a króm(VI) oxidációs számának megváltozására utaló jeleket.

Króm(III)-ionok hatására a nyár (*Populus robusta*) és az akác (*Robinia pseudoacacia*) faminták a fafajra jellemző jellegzetes eltéréseket mutattak az abszorpciós spektrumban. A nyár faminta abszorpciós spektruma alapján az extraktmentes faanyag felülete és a króm(III)-ion között jelentős kémiai változást okozó kölcsönhatás nem következett be, míg az akác esetében a fényelnyelési sáv kiszélesedése volt megfigyelhető (98. ábra), ami a faanyag-fémion kölcsönhatást jelzi, és feltételezhetően a fenolos anyagok, flavonoidok valamint a króm(III) koordinációja következtében jön létre. Ugyanis a flavonoidok jelenlétére utaló 320 és 380 nm hullámhossz körüli vállak eltűnnek, vagyis ezen komponensek kémiai szerkezete jelentősen megváltozott a króm(III)-ionok hatására.



98. ábra Az akác faanyag ultraibolya és látható abszorpciós spektrumának változása különböző oxidációs állapotú króm hatására, valamint a Cr(III) és Cr(VI) fényelnyelése inert felületen

A bikromátióval kezelt akác átlagos fényelnyelése a teljes látható tartományban lényegesen nagyobb, mint a natúr faanyagon meghatározott érték, ami a Cr(VI), valamint a sok különböző kémiai komponens között kialakuló kémiai folyamat eredményeként jön létre, illetve azok változatos termékei miatt következik be.

A Cr(III)/Cr(VI) és a kvercetin, illetve a robinetin kölcsönhatását vizsgáló kutatásaim arra irányultak, hogy milyen mértékben lehetnek okozói ezek a flavonoidok a fafelületen megkötődő króm(VI) vegyértékváltásának, a króm(VI) - króm(III) átalakulásnak, és a redoxi reakció mellett koordinációs kémiai folyamatok is lejátszódnak-e. Mivel víztartalmú oldatban

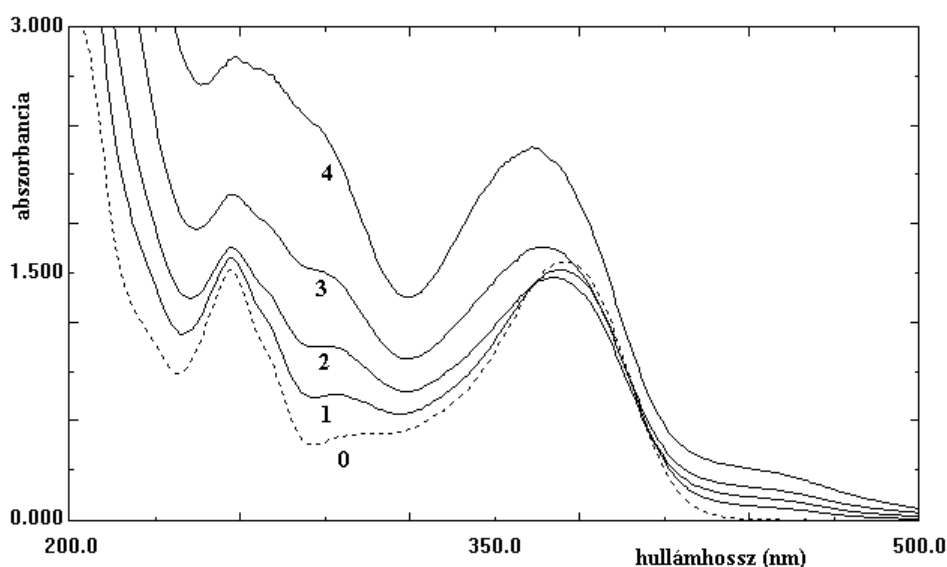
a Cr(III) közismerten renyhe sajátosságú (nehezen mozgatható ki hexaakva komplexéből), vizsgálataimban nagyobb hangsúlyt kapott a szilárd felületen megvalósuló folyamatok tanulmányozása.

Szilikagél rétegen a króm(III), illetve a króm(VI) és a flavonoidok kölcsönhatását elsősorban abból a szempontból vizsgáltam, hogy milyen hatása van ezeknek az ionoknak a kvercetin és a robinetin fénysugárzás hatására bekövetkező bomlási folyamataira. A kísérlet-sorozatban arra is választ kerestem, hogy miként módosítja a kvercetin és a robinetin fény hatására bekövetkező bomlását a különböző oxidáltsági fokú krómionok jelenléte, vagyis van-e degradációt csökkentő szerepe a króm(III)-mal vagy a króm(VI)-tal történő kezelésnek (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2002, 2003).

IV.9.1. A Cr(III)/Cr(VI) - flavonoid kölcsönhatás oldatbeli vizsgálata

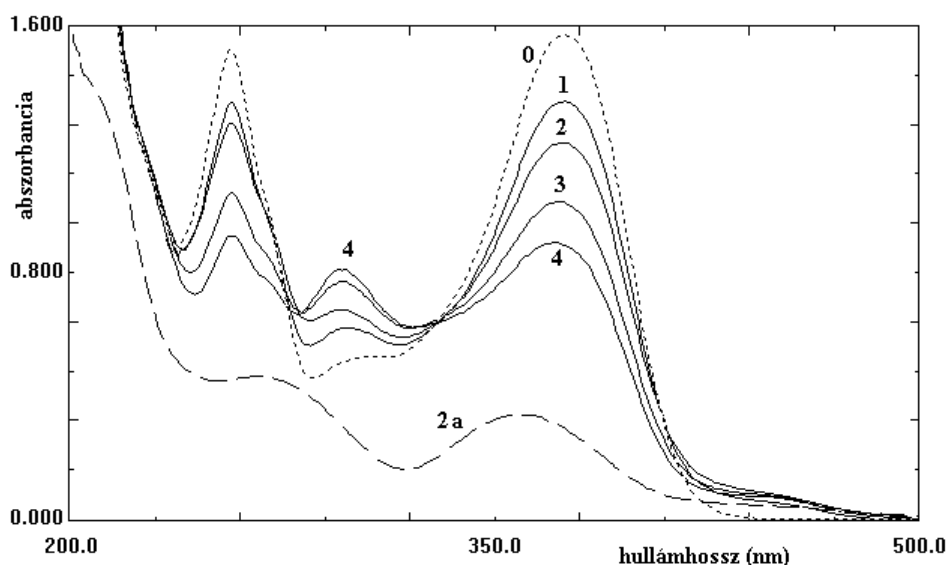
A króm(III)/króm(VI) oldatbeli sajátosságainak vizsgálata azt mutatta, hogy etanol:víz=1:1 térfogat-arányú elegyben a Cr(III) és a kvercetin fényelnyelése egyszerűen összegződik, 20 óra reakcióidő alatt sem alakul ki koordinatív kötés közöttük (41. melléklet).

Ezzel szemben a kvercetin jelentős mértékű spektrumváltozása következik be Cr(VI) hatására (99. ábra), bár az oldat színének semmilyen változását nem lehet észlelni (a KOH vagy CuCl₂ hozzáadásakor megjelenő meggyvörös szín nem mutatkozott).



99. ábra A kvercetin abszorpciós spektrumának változása bikromationok hatására 0,2 mol/dm³ KCl tartalmú etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldószerkelegyben (0-4: C_{kvercetin} = 6,64·10⁻⁵ mol/dm³; C_{Cr(VI)} = 0 – 2,0·10⁻⁵ – 4,0·10⁻⁵ – 1,0·10⁻⁴ – 2,0·10⁻⁴ mol/dm³)

Mivel a $K_2Cr_2O_7$ is erősen sárga színű – ebben a hullámhossz-tartományban a bikromátionnak is nagy intenzitású abszorpciója van – csak Cr(VI)-ot azonos koncentrációban tartalmazó vakoldattal szemben regisztrált felvételek voltak értékelhetők (100. ábra). A különbségi spektrumokon – a kvercetinre jellemző fényelnyelési maximumok hullámhosszának változatlan megmaradása mellett – megfigyelhető a 296 nm-es sáv fokozatos növekedése és az aromás csoportok fényelnyelésének gyors csökkenése a króm(VI) koncentráció függvényében. A görbesereg 280 és 330 nm-en két izobesztikus pontban találkozik.



100. ábra A kvercetin – bikromátion kölcsönhatásának különbségi spektrumai (0 - 4) és a $K_2Cr_2O_7$ abszorpciója (2a)

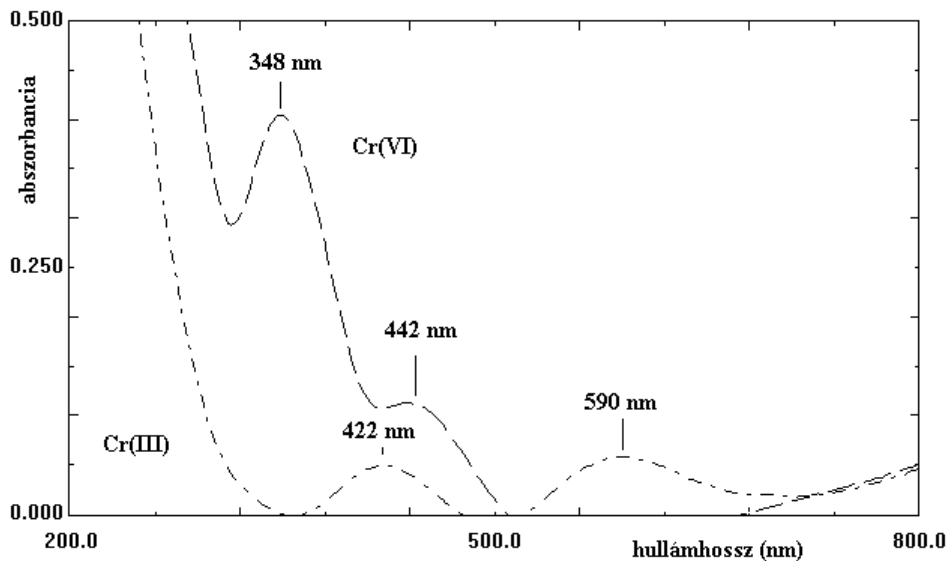
(0-4: $C_{\text{kvercetin}} = 6,64 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; $C_{\text{Cr(VI)}} = 0 - 2,0 \cdot 10^{-5} - 4,0 \cdot 10^{-5} - 1,0 \cdot 10^{-4} - 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$; 2a: $C_{\text{kvercetin}} = 0 \text{ mol/dm}^3$; $C_{\text{Cr(VI)}} = 4,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)

A vizsgált sorozatban a kvercetin és a króm(VI) koncentrációja egymással összemérhető nagyságú, ami a bikromátion fokozott reaktivitását is jellemzi. Az oldószerben lévő etanol és a kálium-bikromát közötti esetleges reakció meglétét nem tudtam detektálni, a spektrumok változásában nem okozott olyan hatást, amely egyértelműen az oldószer összetételének módosulását mutatta volna.

IV.9.2. A Cr(III)/Cr(VI) spektrális jellemzői szilikagél rétegen

A króm(III), illetve a króm(VI) kölcsönhatása során bekövetkező abszorpció-változás értelmezését nagymértékben megkönnyíti a színes krómformák vizsgált felületen felvett abszorpciós spektrumának ismerete. A fényelnyelési jellemzők alapján jól megkülönböztethető a króm két oxidációs állapota (101. ábra), és ez a spektrális eltérés lehetővé teszi a Cr(III) vagy a Cr(VI) és a flavonoidok kölcsönhatását követően is az oxidációs állapot, illetve

a komplexben kötöttség felismerését. A bekövetkező változások jellegének megállapításában segítséget nyújt továbbá a különbségi spektrumok elkészítése, ami a fényelnyelési görbék matematikai kivonása révén közvetlen információt ad a lezajló folyamat típusáról.



101. ábra *Króm(III)-klorid és kálium-bikromát szilikagél rétegen felvett abszorpciós spektruma*
(a felvételek 0,1%-os vizes oldatban felvitt sóoldatok beszárítása után készültek)

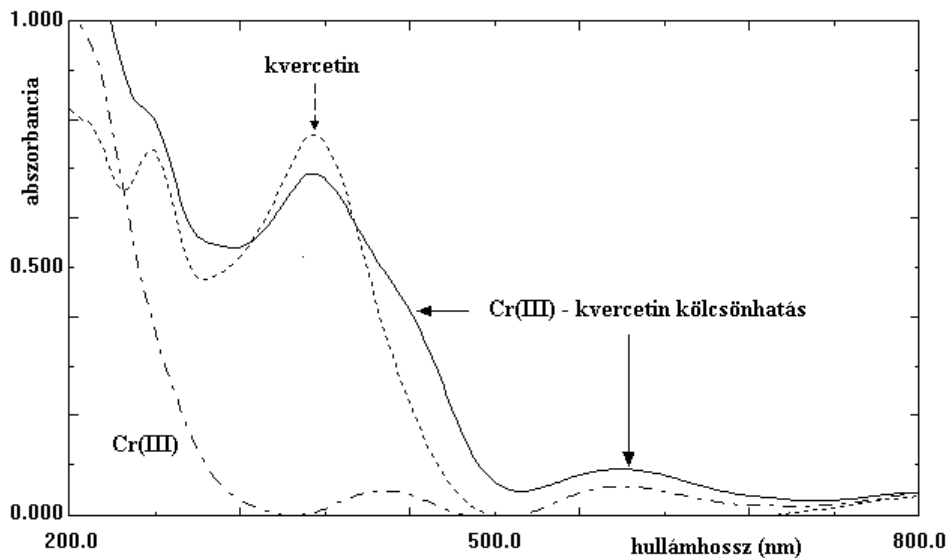
A króm(III)-oldattal kezelt inert réteg spektruma additíven tevődik össze a hordozó és a Cr(III) fényelnyeléséből. Így a látható tartományban a 420 nm, valamint 600 nm körüli maximumok csak a króm(III)-ion abszorpciójából származnak. Az alkalmazott Cr(III)-koncentrációnál mindkettő kis intenzitású, közel azonos értékkel. Az ultraibolya tartományban pedig összegződik a szilikagél réteg és a króm(III) fényelnyelése, ami a felület kissé kékes árnyalatú zöld színében is megmutatkozik.

A kálium-bikromát oldattal történt impregnálás hatására az szilikagél réteg abszorpciós spektrumában a Cr(VI) fényelnyelési sávjai jellemzőek. 265 és 440 nm körül egy-egy váll mutatkozik, míg 350 nm-nél jelentős fényelnyelési maximum jelentkezik, tehát egyszerűen összeadódik a felület saját UV-tartománybeli fényelnyelése és a $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ -ion abszorpciója.

IV.9.3. A kvercetin és a robinetin kölcsönhatása króm(III)-mal szilikagél rétegen

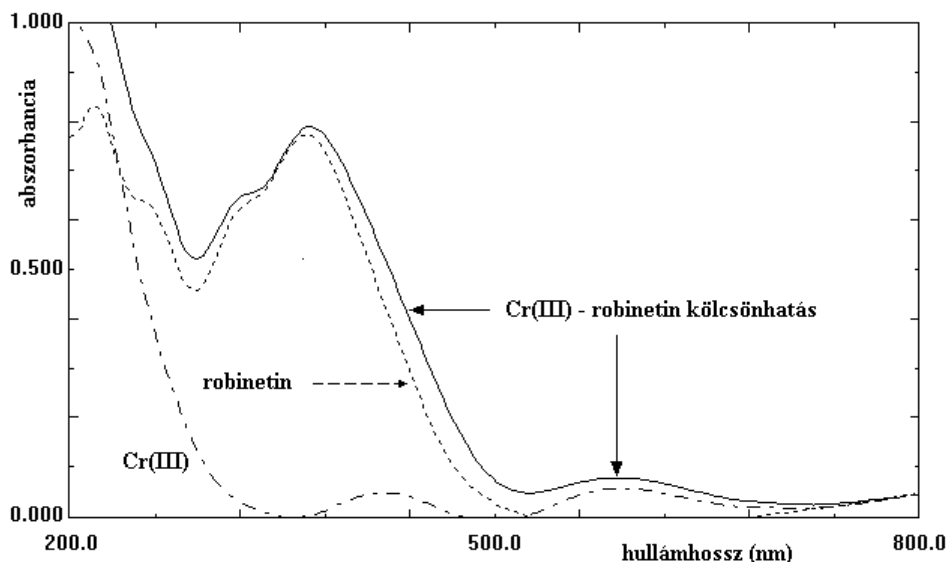
A szilikagél rétegre metanolos oldatban felvitt kvercetin – a minta száradása után – vizes króm(III)-klorid oldatával impregnáltam, majd ismételt szárítást követően vizsgáltam a fényelnyelés módosulását. A *kvercetin* UV-látható abszorpciós spektruma Cr(III)-ion jelenlétében számottevően megváltozott (102. ábra). A benzoil-csoportra jellemző 258 nm-es csúcs beol-

vadt az ultrabolya-tartománybeli emelkedő fényelnyelési sávba, és a B-gyűrű abszorpciós maximuma jelentős mértékben kiszélesedett mindkét irányban, valamint felismerhetővé vált a Cr(III)-ion fényelnyeléséből származó, elnyúlt, viszonylag gyenge maximum is 580 nm körül.



102. ábra A króm(III)-mal kezelt kvercetin abszorpciós spektruma szilikagél rétegen

A robinetin vizsgálata során analóg változásokat tapasztaltam. Króm(III) hatására szilikagél rétegen a robinetin fényelnyelése is csak kis mértékben változik. A 365 nm körüli sáv kiszélesedik, és a Cr(III)-ion jelenlétét az 590 nm körüli gyenge maximum mutatja (103. ábra).

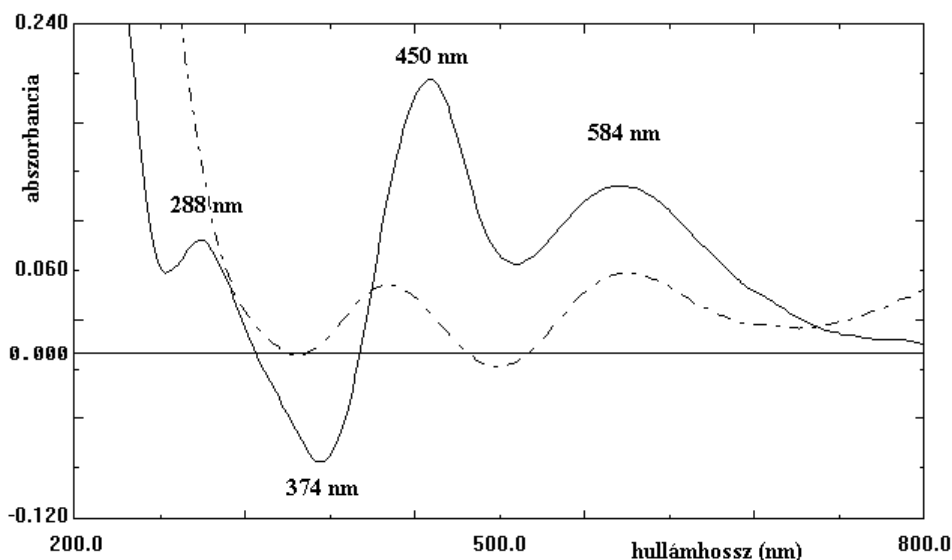


103. ábra A króm(III)-mal kezelt robinetin abszorpciós spektruma szilikagél rétegen

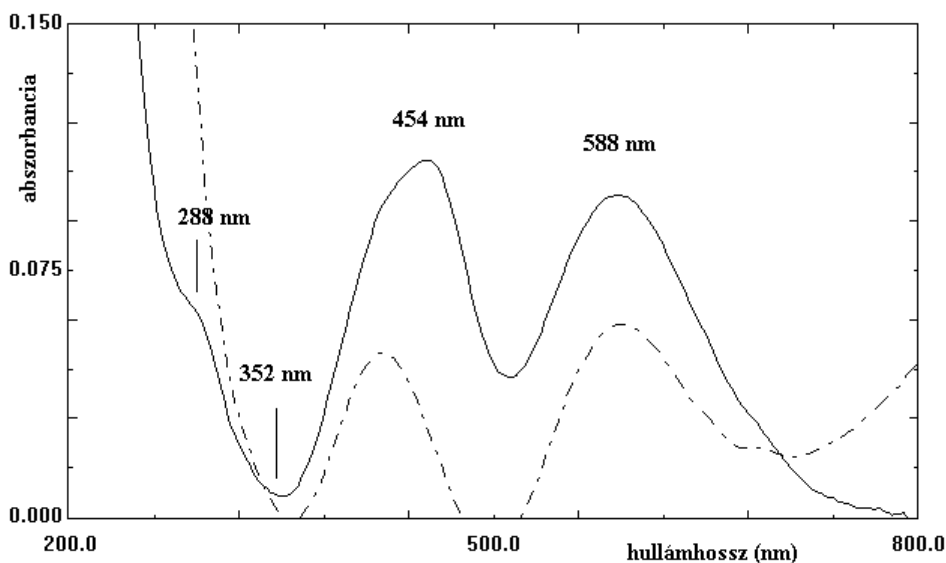
Eredmények, következtetések

A bekövetkezett változásokat sokkal szemléletesebben tükrözi Cr(III)-mal kezelt és az eredeti flavonoidok fényelnyelési görbéjének különbségi spektruma (104. ábra és 105. ábra),

amelyek mellett összehasonlításként az impregnáláshoz használt koncentrációjú króm(III) fényelnyelését is feltüntettem.



104. ábra A króm(III)-mal kezelt kvercetin és az eredeti kvercetin abszorpciós spektrumának különbsége (--- az impregnáláshoz használt Cr(III) abszorpciója)



105. ábra A króm(III)-mal kezelt robinetin és az eredeti robinetin abszorpciós spektrumának különbsége (--- az impregnáláshoz használt Cr(III) abszorpciója)

Ezek a görbék a Cr(III)-kvercetin, illetve Cr(III)-robinetin komplexre jellemző, 450-454 nm hullámhosszúságú abszorpciós sávok hangsúlyossá válásával mutatják a folyamat koordinációs jellegét. Másrészt – a króm(III)-ra jellemző maximum (584-588 nm) mellett – a kvercetin 374 nm-es, illetve a robinetin 352 nm-es abszorpciójának jelentős mértékű csökkenése révén jelzik a reakcióban résztvevő flavonoid mennyiségét is.

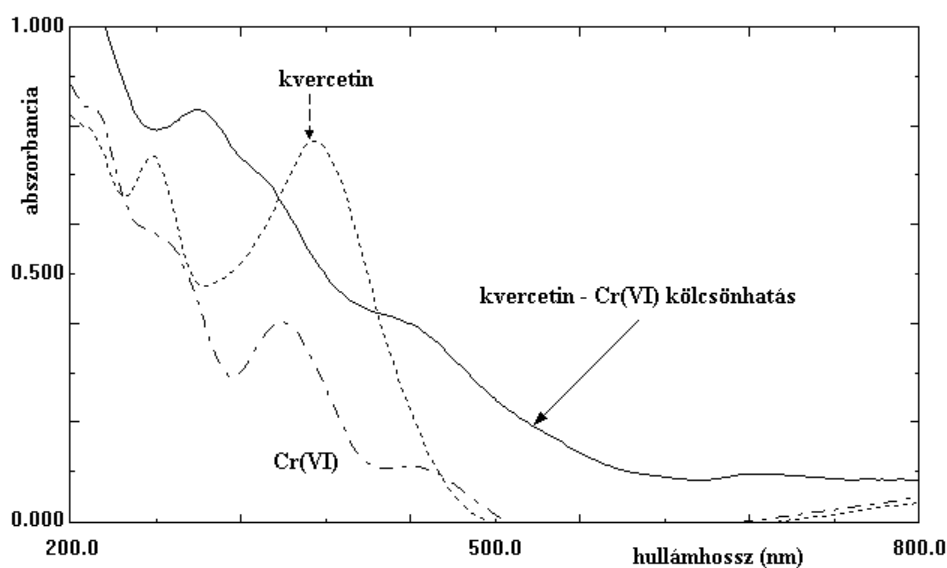
A spektrumfelvételek alapján megállapítható volt, hogy a szilikagél rétegen végbemenő folyamatok jelentősen különböznek az oldatbeli reakcióktól. Víztartalmú oldatban a króm(III)

$[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ komplexionként van jelen, és a koordinált vízmolekulák más ligandumra történő cseréje gátolt, vagyis a Cr(III)-flavonoid komplex nem tud létrejönni. A szilárd felület viszont biztosítja a Cr(III)-flavonoid komplex kialakulását, mert – a felülettel való kölcsönhatás révén, illetve a réteg száradása során – fokozatos vízvesztéssel a Cr(III)-ionhoz koordinált víz részben eltávozik, és ezáltal a $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_x]^{3+}$ részecske komplexkémiai inertsége megszűnik.

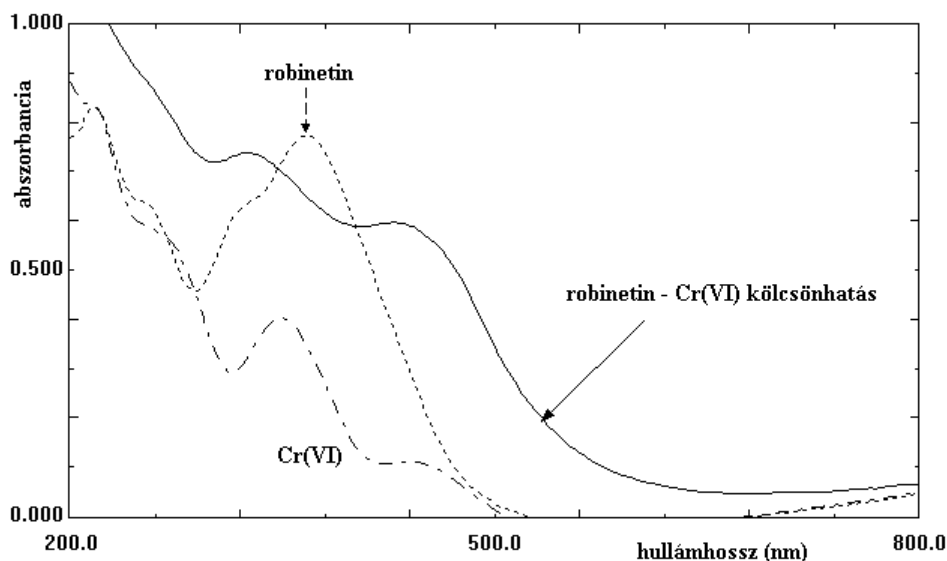
Különbségi spektrumok segítségével az irodalomban leírt komplexképződést is bizonyítani tudtam, mert ezek a görbék egyértelművé tették a lejátszódó folyamatokat, és igazolták, hogy a spektrumbeli sávszélesedést – a felszíni réteg kémhatásának változása, valamint a szilárd fázison kialakuló komplexek eredményeképpen létrejövő – többféle részecskéhez rendelhető abszorpciós maximumok egybeolvadása eredményezi.

IV.9.4. A kvercetin és robinetin reakciója króm(VI)-tal szilikagél rétegen

A szilikagélre metanolos oldatban felvitt kvercetin és robinetin, valamint a káliumbikromát kölcsönhatása következtében az előzőektől küllemében is különböző abszorpciós spektrumok jöttek létre. A Cr(VI) hatására a kvercetinre és a robinetinre jellemző fényelnyelési maximumok eltűntek. Mindkét esetben az ultraibolya tartományban a kisebb hullámhosszak felé folytonosan növekvő, nagy intenzitású, és jellegtelennek mondható fényelnyelési görbék mutatkoztak. 300 nm körül egy intenzív abszorpciós csúcs alakult ki, valamint 320 és 440 nm táján határozott vállak jelentkeztek (106. ábra és 107. ábra), ezek alapján azonban a flavonoidokat nem lehetett azonosítani.



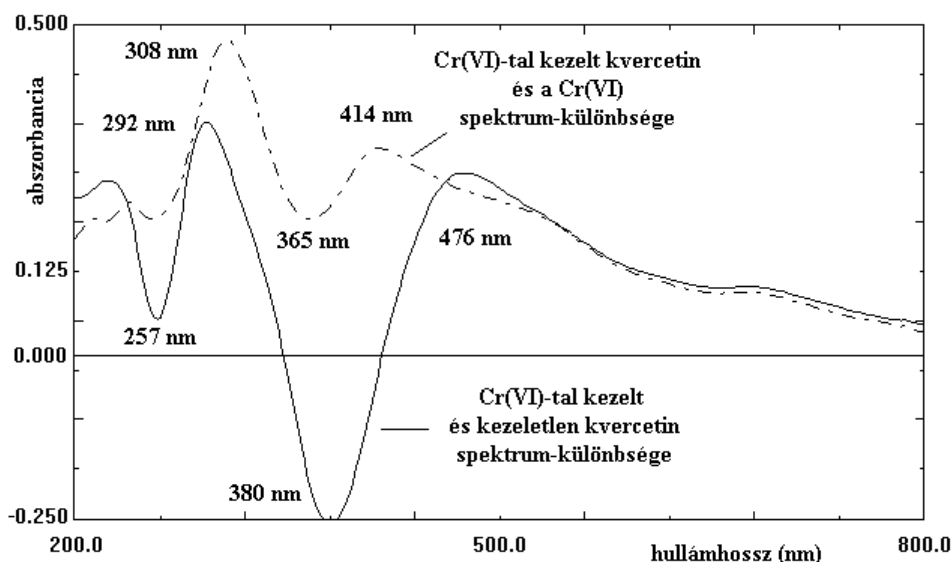
106. ábra A króm(VI)-tal kezelt kvercetin abszorpciós spektruma szilikagél rétegen



107. ábra A króm(VI)-tal kezelt robinetin abszorpciós spektruma szilikagél rétegen

Eredmények, következtetések

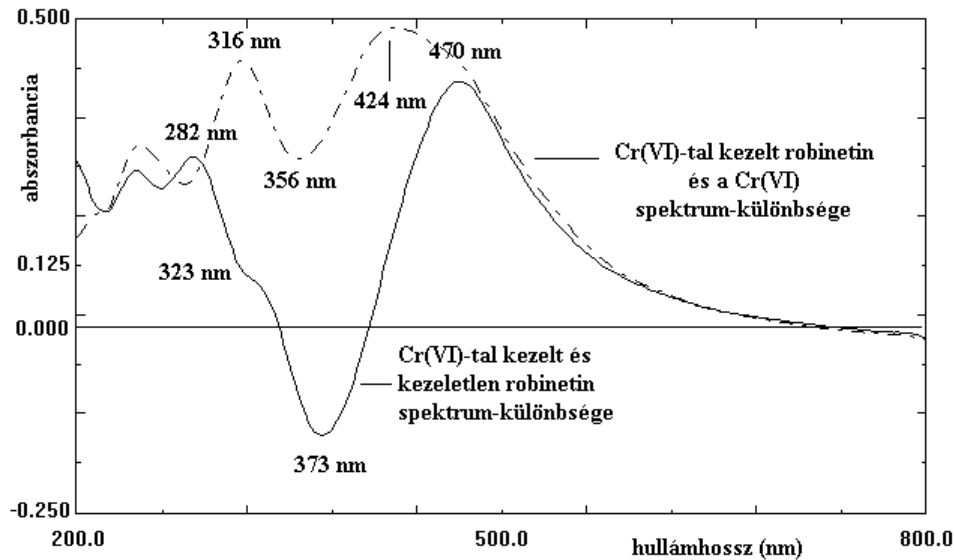
Az abszorpciós spektrumokon sem a flavonoidok, sem a bikromát sajátosságai nem voltak külön-külön felismerhetőek, ezért különbségi görbét képeztem, amelyek már számos jellegzetességet mutattak (108. ábra és 109. ábra). Ebben az esetben a bikromátion intenzív fényelnyelése miatt célszerű volt annak hatását is ellenőrizni, vagyis kétféle különbségi spektrumot készíteni.



108. ábra A króm(VI)-tal kezelt kvercetin különbségi spektrumai

A kezelt és a kezeletlen minták különbségi spektrumában (folytonos vonalak) jól azonosítható a kölcsönhatás eredményeként a kvercetin, illetve a robinetin fő sávjainak nagymértékű csökkenése, és helyettük két intenzív csúcs megjelenése. Ezekből a görbék

viszont teljes mértékben hiányoznak a króm(VI)-ra jellemző fényelnyelési maximumok, ami alapján feltételezhető a Cr(VI) nagyfokú redukálódása. Az új sávok (hullámhosszuk alapján) a flavonoidok oxidált származékai és a Cr(III) között kialakuló komplexek intenzív fényelnyeléséből származnak.



109. ábra A króm(VI)-tal kezelt robinetin különbségi spektruma

A Cr(VI)-tal impregnált minták és a bikromát különbségi spektrumaiból (szaggatott vonalak) is megállapítható a flavonoidok króm(VI) kezelés során bekövetkező mennyiségi csökkenése (365 - 356 nm), és párhuzamosan kimutatható a Cr(III) megjelenése a folyamatban (414 - 424 nm). A látható tartománybeli széles elnyújtott maximumok pedig a keletkező Cr(III)-(oxidált flavonoid)-komplexek jelenlétét igazolják.

A kvercetin és a robinetin, valamint a króm(VI) között inert felületen lejátszó kölcsönhatás részleteinek pontosabb megismeréséhez további kiegészítő vizsgálatok szükségesek, amelyek a reaktánsok koncentrációja, vagy más körülmények függvényében további részeredményeket szolgáltatnak, és ezáltal lehetővé teszik az oxidációs és komplexképző lépések azonosítását.

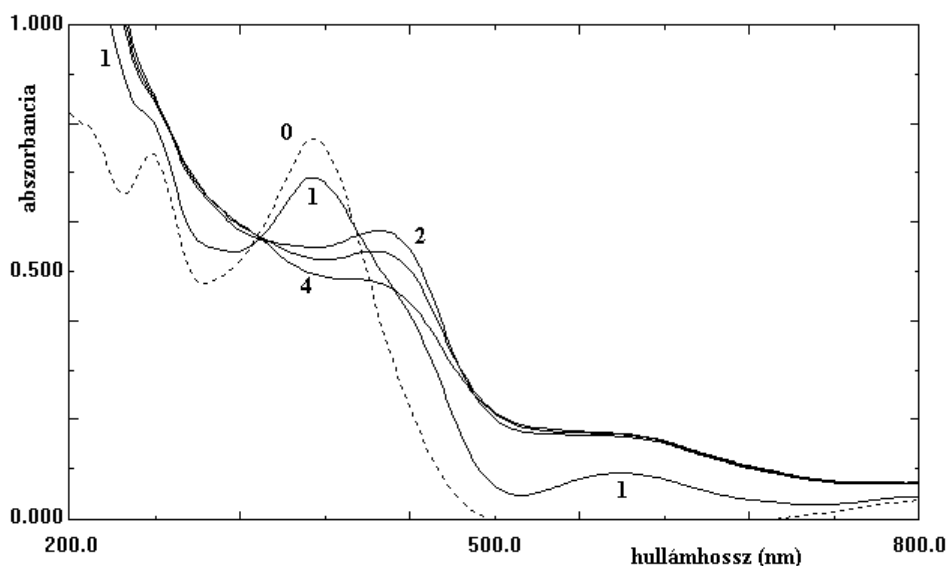
IV.9.5. A Cr(III) és Cr(VI) hatása a flavonoidok fotodegradációjára

Ultraibolya fénysugárzás hatására a króm(III)- vagy bikromátion tartalmú oldattal kezelt nyár (*Populus robusta*) és akác (*Robinia pseudoacacia*) faanyag színváltozása – méréseink szerint (STIPTA, NÉMETH és MOLNÁRNÉ 2002a) – jellemző különbségeket mutat a kezeletlen mintákhoz képest. Mivel a világosság és a színezet változását fafajtól függőnek tapasztaltuk, valószínűnek látszott, hogy az eltérések okát a két fafaj eltérő extraktanyag összetételében keressük.

Hasonlóan jelentős eltérést tapasztaltunk a Cr(III)-mal impregnált nyár és akác faminták abszorpciós spektrumában is a különböző ideig tartó ultraibolya fénysugárzás hatására (STIPTA, NÉMETH és MOLNÁRNÉ 2002b). A króm(III)-mal történő kezelést követő megvilágítás mind a két fafajnál megnövelte a fényelnyelő képességet, szinte a teljes vizsgált hullámhossz tartományban, amint az a különbségi spektrumokon jól követhető. Az akác faminta esetében komplexképződésre jellemző változásokat is azonosítani lehetett (42. melléklet).

A folyamatok tisztázásának érdekében szilikagél rétegre metanolos oldatban felvitt flavonoidokat króm(III)-kloridos, illetve kálium-bikromátos impregnálás után különböző időtartamú fénybesugárzásnak vettem alá, majd abszorpciós spektrumok felvételével követtem a bekövetkező változásokat (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2003).

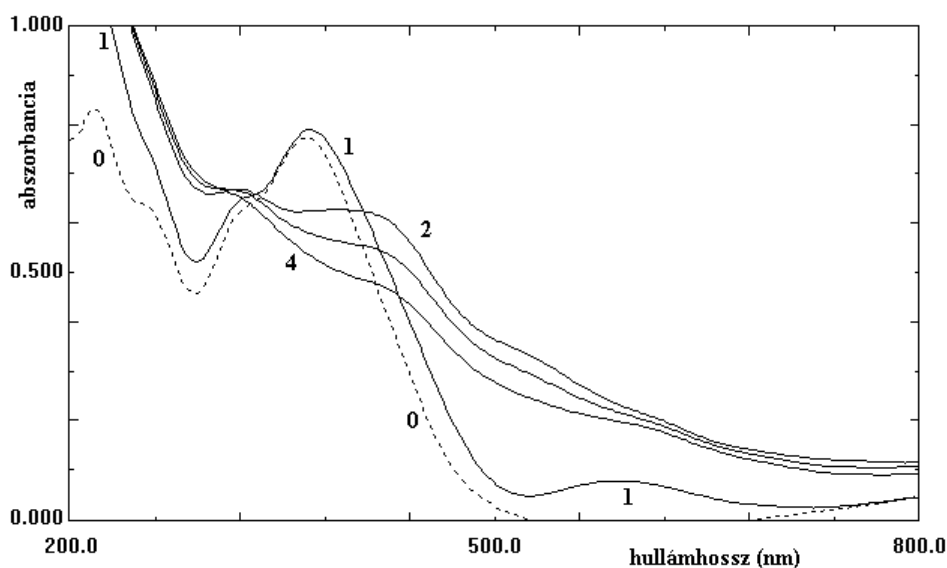
A Cr(III)-mal impregnált, *kvercetin* tartalmú felület abszorpciós spektruma már nagyon rövid idejű (30 perc) fénysugárzás hatására tovább módosult (110. ábra). A 375 nm-es kiszélesedett sáv maximuma határozottan a magasabb (425-430 nm) hullámhosszak felé toltódott, ami a kvercetin molekulájában a kötésviszonyok határozott megváltozására, illetve a Cr(III)-kvercetin-komplex egyértelmű kialakulására utalt. További fénysugárzás (60-120 perc) következtében viszont a fényelnyelési maximum fokozatos csökkenése volt megfigyelhető.



110. ábra A Cr(III)-mal impregnált kvercetin abszorpciós spektruma a fénybesugárzás időtartamának függvényében (0: kezeletlen kvercetin, 1-4: Cr(III)-mal impregnált kvercetin, $t = 0, 30, 60, 120$ perc)

A króm(III)-mal impregnált *robinetin* abszorpciós spektruma fény hatására a kvercetinéhez hasonlóan változott (111. ábra). A szabad robinetinre jellemző elnyelési maximum már nagyon rövid fénykezelés után eltűnt. A spektrumot döntően a kialakuló komplexre, valamint

a króm(III)-ionra jellemző abszorpciós maximumok és fényelnyelés intenzitások határozták meg. A besugárzás hatására a robinetin fokozatos fényelnyelés csökkenése figyelhető meg az ultraibolya tartományban, és jellegtelen abszorpciója lesz a magasabb hullámhosszaknál.

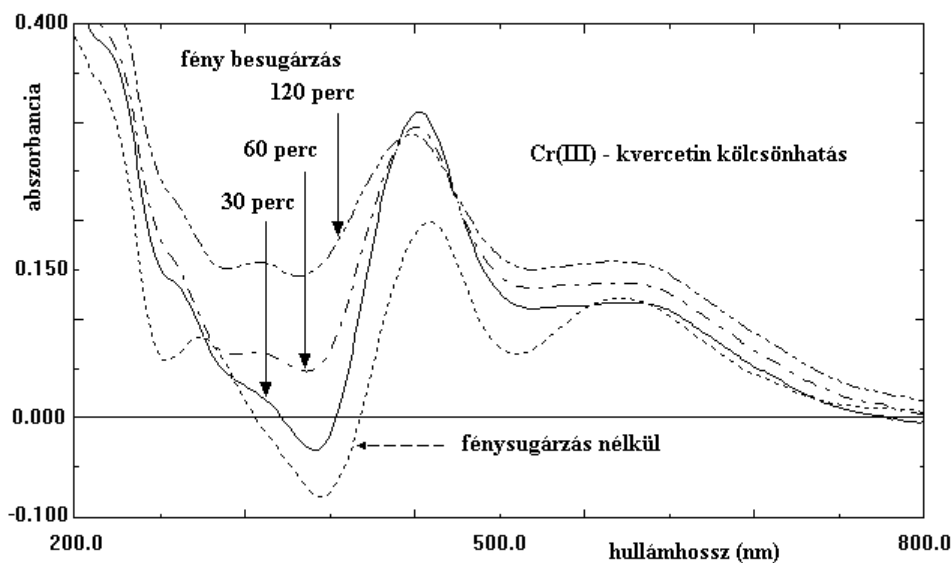


111. ábra A Cr(III)-mal impregnált robinetin abszorpciós spektruma a fénybesugárzás időtartamának függvényében (0: kezeletlen robinetin, 1-4: Cr(III)-mal impregnált robinetin, $t = 0, 30, 60, 120$ perc)

Eredmények, következtetések

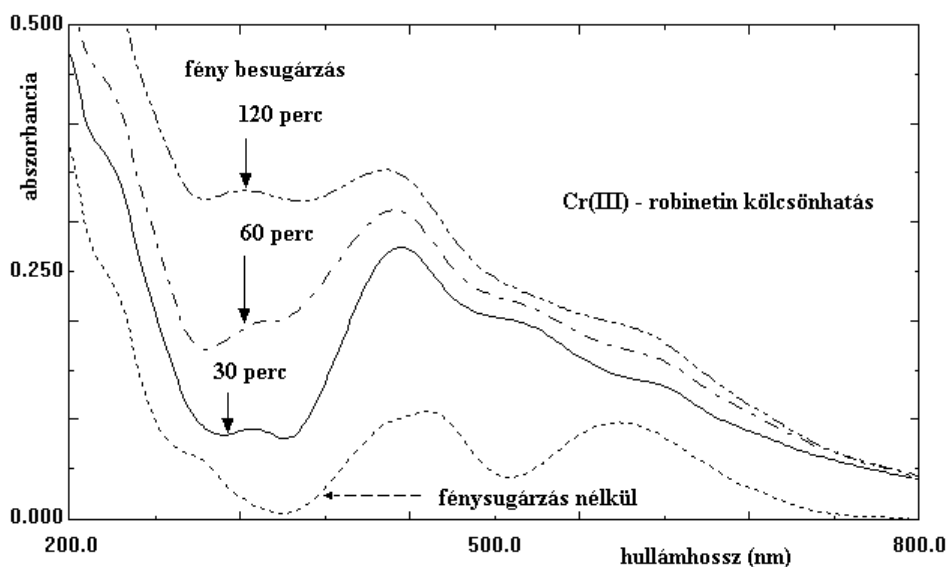
A krómmentes fotodegradáció vizsgálatának felvételével összehasonlítva ezeket a spektrumokat (43. melléklet és 44. melléklet), szembetűnő volt, hogy a króm(III)-oldattal történő impregnálás lassítja a flavonoidok bomlásának mértékét, de az nem volt megállapítható, hogy milyen módon valósul meg a gátló effektus.

Az azonos idejű fényhatásnak kitett krómmentes kvercetin fényelnyelését kivonva a króm(III)-mal impregnált kvercetin spektrumából különös eredményre jutottam. A különbségi spektrumok alapján a Cr(III)-kvercetin-komplex mennyisége a fényhatás elején majdnem kétszeresére növekszik, és a 120 perces fénybesugárzás hatására sem változik (112. ábra). Ez a különbségi görbesor azt bizonyítja, hogy a fénysugárzás csak a komplexben nem kötött kvercetin bomlását okozza, a kialakult króm(III)-komplex (≈ 440 nm) mennyisége nem változik, a fényhatásnak ellenáll. Mivel a komplexben nem kötött ligandum mennyisége Cr(III) jelenlétében jóval kisebb, mint az eredeti mintában, ezért az ultraibolya tartományba eső hullámhosszaknál (≈ 370 nm alatt) a besugárzás mértékével arányosan relatív sávintenzitás növekedés figyelhető meg.



112. ábra A Cr(III)-kvercetin kölcsönhatást követő fénybesugárzás hatása (különbégi spektrumok)

A robinetin különbségi spektrumaiban a fénybesugárzás időtartamával párhuzamosan a kezelt minta abszorpciójának relatív növekedése figyelhető meg, ami abból eredhet, hogy a vizsgálat kivitelezése nem volt kellően gondos (113. ábra). A flavonoid felviteli mennyiségét kontrollálni kellett volna a Cr(III)-mal történő impregnálás előtt, ami nem történt meg. Ennek következtében a két fotodegradált minta kis koncentráció-különbsége egy additív értékkel megnöveli a különbségi spektrumokban a fényelnyelést. Ettől eltekintve a kvercetinrel megegyező változást tapasztalunk a robinetinnél is, vagyis csak a komplexben nem kötött robinetin bomlása következik be a fénybesugárzás hatására.



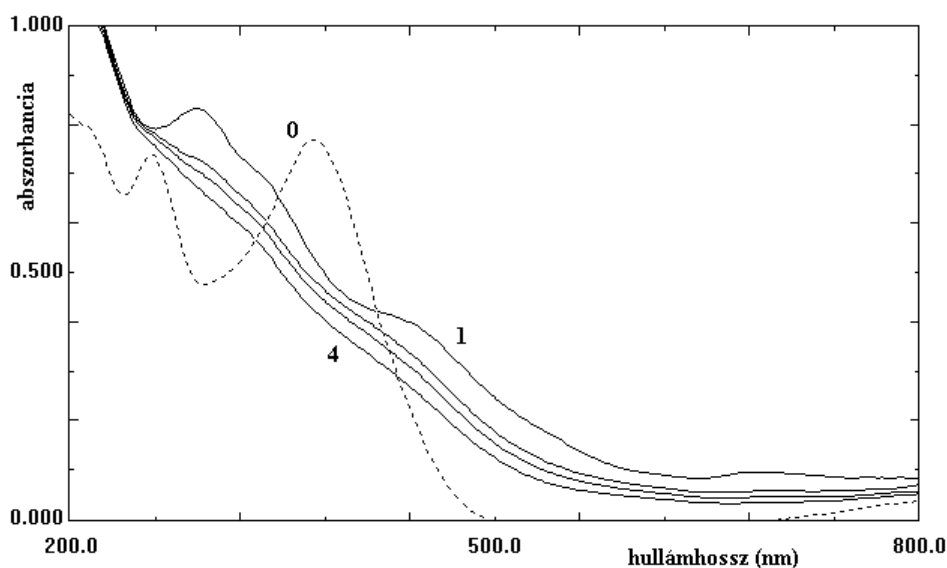
113. ábra A Cr(III)-robinetin kölcsönhatást követő fénybesugárzás hatása (kezeletlen mintához hasonlított különbségi spektrumok)

A vizsgálati eredményekből tehát az a következtetés vonható le, hogy a kvercetin és a robinetin króm(III)-mal történő kölcsönhatása egyértelműen fokozza a felület fényhatással szembeni ellenálló képességét, a képződő komplexek jelentős mértékben csökkentik a fotodegradáció mértékét. További vizsgálatot igényelne még annak megállapítása, hogy ez a sajátosság milyen fémion:ligandum aránynál a leghatékonyabb, illetve – a kvercetin és a robinetin kívül – mely flavonoidok alkalmasak ilyen hatás kiváltására.

IV.9.6. A Cr(VI) hatása a flavonoidok fotodegradációjára

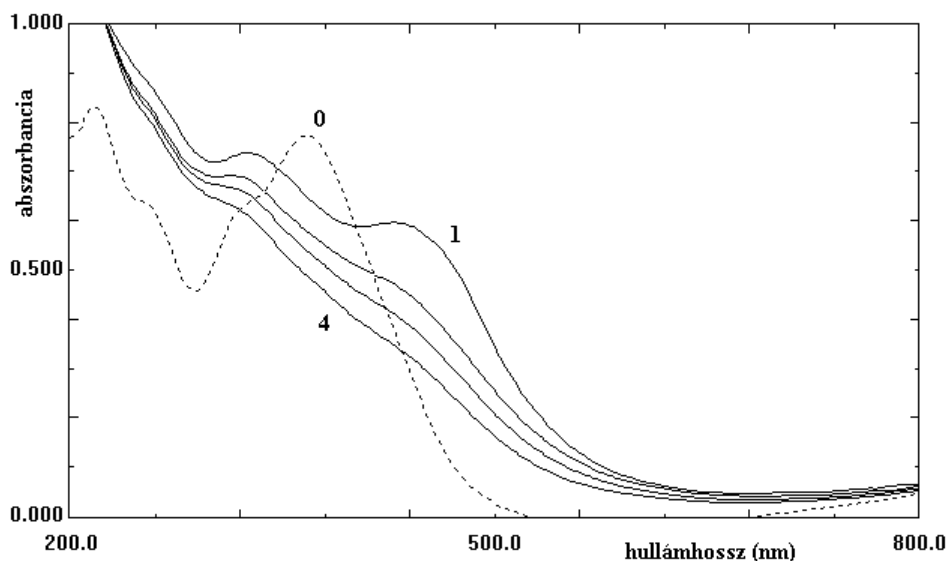
A króm(VI)-tal impregnált kvercetin és robinetin fény hatására bekövetkező átalakulásának vizsgálatát is hasonló elemzésnek vettem alá.

A króm(VI) - kvercetin kölcsönhatást követően a fény besugárzás hatására az abszorpciós spektrumban nem mutatkozott újabb fényelnyelési sáv kialakulása (114. ábra), hanem már 30 perces fényhatás esetén is egyenletes abszorpció-csökkenés volt tapasztalható a teljes hullámhossz-tartományban.



114. ábra Különböző időtartamú fénysugárzás hatása a Cr(VI)-kvercetin kölcsönhatásra (0: kezeletlen kvercetin, 1-4: Cr(VI)-tal impregnált kvercetin, $t = 0, 30, 60, 120$ perc)

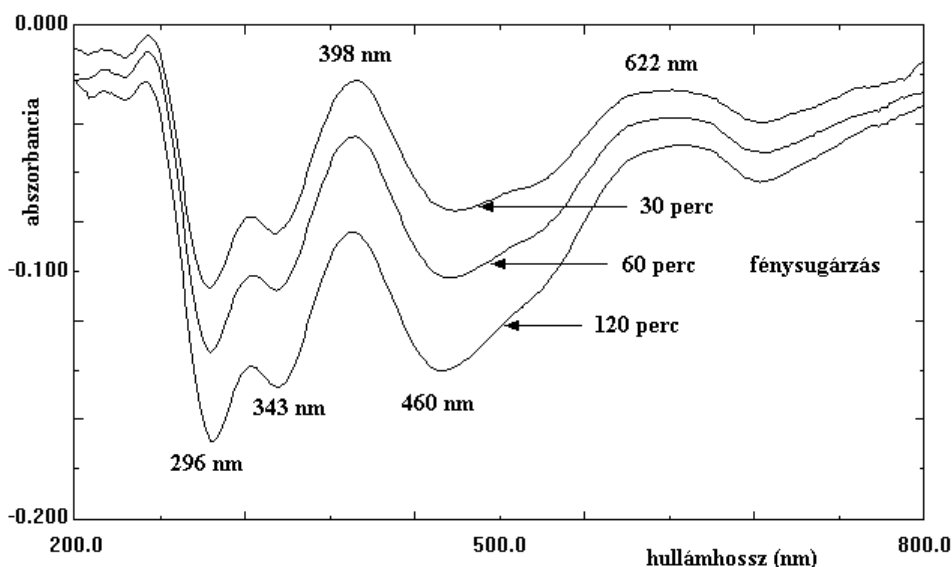
A króm(VI)-tal impregnált robinetin spektruma analóg módon változott a fénysugárzás hatására – a 326 és 428 nm-es maximumok fokozatos csökkenése mellett –, a teljes hullámhossz-tartományban az abszorbancia mérséklődése volt megfigyelhető (115. ábra). Az átalakulás jellege mind a két flavonoid esetében egyértelmű bomlási folyamatot jelzett (45. melléklet és 46. melléklet).



115. ábra *Különböző időtartamú fénysugárzás hatása a Cr(VI)-robinetin kölcsönhatásra (0: kezeletlen robinetin, 1-4: Cr(VI)-tal impregnált robinetin, $t = 0, 30, 60, 120$ perc)*

Eredmények, következtetések

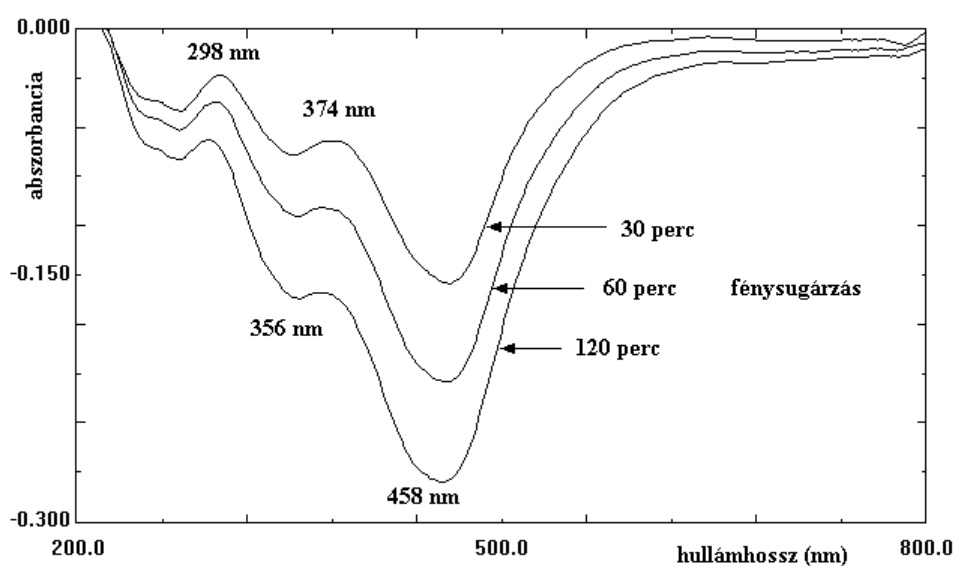
A folyamat összetettsége miatt a fényszugárzott mintából a flavonoid vagy a Cr(VI) kivonásával képzett különbségi spektrumok segítségével már nem lehetett kimutatni a párhuzamosan végbemenő folyamatokban esetleg változatlanul megmaradó komponenseket. Ugyanis valamennyi komponens kémiaiilag átalakul: a Cr(VI)-tal reagálnak a flavonoidok, és Cr(III)ion, valamint Cr(III)-komplex keletkezik. Továbbá a fény hatására a maradék kvercetin, illetve robinetin is degradálódik. Ezért csak a fénybesugárzás időtartamának függvényében ábrázolt fényelnyelés változások szolgálhattak információval az átalakulás lehetséges összetevőiről.



116. ábra *A különböző ideig fény besugárzásnak kitett Cr(VI)-tal kezelt kvercetin minta különbségi spektrumai*

Ily módon vizsgálva a Cr(VI)-tal kezelt *kvercetin* spektrum-változását – a 400 nm körüli, valamint a 600-640 nm közötti széles fényelnyelési sávok kisebb mértékű csökkenése alapján – a Cr(III) tartós jelenlétét tudtam azonosítani, míg az összes többi részecske mennyiségének folytonos, intenzív csökkenése volt megfigyelhető (116. ábra). A különbségi görbéken a kvercetin oxidált (kinoidális) alakjának fény hatására bekövetkező további bomlása (296 nm), illetve a képződött komplexek határozott átalakulása (460 nm) is láthatóvá vált.

A króm(VI)-tal impregnált *robinetin* különbségi spektrumai is hasonló változásokat jeleztek (117. ábra). A Cr(VI)-tal oxidált robinetin fénysugárzás hatására ugyan a kvercetin-nél nagyobb stabilitást tükrözött (298 nm), de az impregnálás során keletkezett króm-komplexek hasonlóan erőteljes bomlása volt kimutatható (458 nm).



117. ábra A különböző ideig fény besugárzásnak kitett Cr(VI)-tal kezelt robinetin minta különbségi spektrumai

A króm(VI)-tal impregnált és a kezetlen flavonoidok fény hatására bekövetkező változásának összehasonlítása révén (45. melléklet és 46. melléklet) megállapítható volt, hogy a Cr(VI)-os kezelés látszólag ellenállóbbá teszi a kvercetint vagy a robinetint a fotodegradációs folyamatokkal szemben, azonban a magasabb abszorpcióhoz a bikromát saját fényelnyelése is jelentős mértékben hozzájárul. Mivel a Cr(VI) eleve roncsolja a flavon-származékokat, a látszólagos fényvédelem nem a flavonoidok mennyiségének és minőségének lesz a függvénye, hanem az impregnáló bikromát-oldat felviteli koncentrációjának.

V. A KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÖSSZEGZÉSE

A faextraktanyagok és fémionok közötti kölcsönhatás összetettsége miatt kutatási feladatom a faanyag jellemző flavonoidjai közül a kvercetin, a rutin és a robinetin vizsgálatára terjedt ki. Ennek részeként vizsgáltam ezen flavon-származékok spektrofotometriás sajátságait szilárd felületen impregnálva és különböző kémhatású oldatokban, valamint tanulmányoztam kölcsönhatásuk kémiai folyamatait alumínium-, réz(II)-, króm(III)- és bikromátionok jelenlétében. Kutatásom során körültekintően tanulmányoztam a rendelkezésre álló szakirodalmat, amely – ezen flavonoidok koordinációs kémiai folyamatainak, redoxi reakcióinak feltárása mellett – lehetőséget nyújtott a biológiai, élettani hatások részletes megismerésére, és rávilágított az ipari szempontból is fontos kölcsönhatások során bekövetkező kémiai változásokra.

Kísérleti eredményeimet témakörönként csoportosítva mutatom be.

I. A flavonoidok sav-bázis tulajdonságainak tanulmányozása

1. Kiválasztottam a megfelelő összetételű oldószerkeletet (etanol:víz = 1:1 térfogataránya), amely protondonor és protonakceptor sajátságú, és egyúttal a fémionok kölcsönhatásának vizsgálatához kevésbé oxidatív körülményeket biztosít. Ebben az oldószerkeletben ellenőriztem a kvercetin, rutin és robinetin fő spektrális adatait, valamint a Lambert-Beer-törvény érvényességét (MOLNÁRNÉ 1997).
2. A pH függvényében felvett fényelnyelési görbék alapján felismertem, hogy a kvercetin egyértékű savként viselkedik, a rutin pedig két lépésben disszociál. Számítógépes program segítségével és grafikus ábrázolási módszer alkalmazásával meghatároztam a kvercetin és a rutin disszociációját jellemző egyensúlyi (protonálódási) állandók számértékét, amelyek csak a közeg eltérő összetétele miatt különböztek kissé az irodalmi adatoktól (19. táblázat és 20. táblázat).
3. A vizsgálat során tapasztaltam, hogy a kvercetin és a robinetin alapvető szerkezeti átalakulása megy végbe a disszociációt követően már gyengén lúgos közegben is, míg azonos körülmények között a rutinnak csupán disszociációja következik be (MOLNÁRNÉ 1998). A spektrofotometriás változásokból következtettem a kvercetin lúgos közeg hatására lejátszódó irreverzibilis átalakulására, és megállapítottam a folyamat látszólagos sebességi állandóját (63. ábra).
4. A kvercetin és robinetin különböző körülmények között felvett spektrumának elemzése alapján a molekulák szerkezetváltozásának valószínű útvonalt állítottam fel, amely

tartalmazza a disszociációs lépést, mezomer és tautomer átalakulásokat, valamint az oldószer szolvólízisét (24. melléklet és 25. melléklet). Felismertem, hogy erős és gyenge bázis hatására ugyan más útvonalon megy végbe a szerkezeti átalakulás, de a keletkező termék protonált alakja megegyezik (MOLNÁRNÉ 2000).

II. Az alumínium(III) - kvercetin és az alumínium(III) - rutin koordináció

1. Nyomon követtem az alumínium-komplexek kialakulását kálium-klorid alapelektrolitot, illetve ecetsav - kálium-acetát puffert tartalmazó közegben (MOLNÁRNÉ 1997, 2000).
2. Megállapítottam, hogy magas fémion:ligandum aránynál főként többmagvú komplexek képződnek, amelyekben az alumínium(III)-kapcsolódása nem a közleményekben feltüntetett módon megy végbe. Ugyanis a fémionok nem a ligandum két különböző helyére koordinálódnak, hanem alumínium-hidroxo-dimerek kapcsolódása következik be (MOLNÁRNÉ 2002a).
3. Számítógépes közelítéssel pufferolt közegben, több hullámhosszon mért adatokból – az Al(III)-dimerek kapcsolódását feltételezve – meghatároztam az alumínium-kvercetin és alumínium-rutin komplexek kialakulását jellemző látszólagos stabilitási állandókat (21. táblázat és 22. táblázat). A kapott eredmények jó egyezése is igazolta a feltevésemet, mely szerint az Al_2Q és az Al_2Ru komplexek képződése egyetlen lépésben történik meg.

III. A réz(II) - kvercetin és a réz(II) - rutin kölcsönhatás

1. A vizsgálatot három, jellegében különböző alapelektrolitot tartalmazó közegben végeztem. A kvercetin és a rutin reakcióit tanulmányoztam, és megállapítottam, hogy a közeg (azonos oldószer-összetétel esetén is) jelentős mértékben befolyásolja a komplexképződés lehetőségét, mivel a három esetben lényegesen különböző reakciók lejátszódását figyeltem meg (MOLNÁR-HAMVAS és mtsai 2002).
2. Mólarány-módszer alkalmazásával meghatároztam, hogy a rutin réz(II)-vel 1:1 = fémion:ligandum összetételű komplexet képez kálium-nitrát alapelektrolitot, vagy ecetsav - kálium-acetát puffert tartalmazó oldatban, de a kvercetin koordinációs folyamatára inkább a Cu_2Q képlettel leírható komplex keletkezése jellemző, amit a látszólagos stabilitási állandók meghatározásával is alátámasztottam (23. táblázat és 24. táblázat) (MOLNÁRNÉ, BÖRCsök és NÉMETH 2002).
3. A kvercetin olyan különleges viselkedését vettem észre kálium-klorid alapelektrolit jelenlétében, amilyen sajátosságát még nem írták le a szakirodalomban (MOLNÁRNÉ

2002a). A reakció alapos vizsgálata eredményeként feltételezhető, hogy a lejátszódó folyamat hasonló termék keletkezéséhez vezet, mint amilyen a kálium-hidroxid hatására bekövetkező változásban alakul ki (40. melléklet). A feltevés bizonyítása azonban további vizsgálatokat igényel.

4. A kvercetin réz(II)-komplexének képződését irodalmi adatok hiányában ecetsav - kálium-acetát pufferben is megvizsgáltam, amelyben magas Cu(II)-koncentráció esetén oxidációs folyamat végbemenetelét tapasztaltam (BÖRCsök és MOLNÁRNÉ 2003).

IV. A Cr(III)/Cr(VI) kölcsönhatása kvercetinnel és robinetinnel

1. Favédőszerrel kezelt bükk és lucfenyő faminták vizes extraktumainak vizsgálata során megállapítottam, hogy a bikromácion különböző mértékben redukálódik, amit elsősorban a két fafaj eltérő extraktanyag összetétele befolyásol (MOLNÁRNÉ 1994).
2. A króm(III) valamint a kvercetin és a robinetin szilárd fázison bekövetkező kölcsönhatásának vizsgálati eredményei alapján bizonyítottam, hogy egyértelműen komplexképződés megy végbe, ami eltér az oldatbeli folyamatoktól, ahol a Cr(III) ligandumcsere reakciói gátoltak (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2002).
3. Megállapítottam, hogy a kvercetin és a robinetin szilikagél rétegen bikromácion hatására oxidálódik, a folyamatban keletkező króm(III) pedig kölcsönhatásba lép az oxidálódott termékkel (MOLNÁRNÉ 2002b).

V. Fotodegradációs folyamatok vizsgálata

1. A kvercetin és robinetin – szilárd felületen – ultraibolyafény hatására bekövetkező spektrumváltozásából megállapítottam, hogy a kialakuló kinoidális molekulaszervezet csak időleges, már nagyon rövid fényhatásra a flavonoidok teljes bomlása következik be (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2002).
2. Különbségi spektrumok alapján kimutattam, hogy a króm(III)-mal vagy króm(VI)-tal kezelt flavonoidok fénysugárzás hatására alapvetően különböző módon változnak. A króm(III)-komplexek képződése a kvercetin és a robinetin jelentős mértékű fényvédő hatását eredményezi, míg a króm(VI)-tal oxidált flavonoidok esetében csak kis mértékű lassulás következik be a fotodegradációban, a felület fénnel szembeni ellenálló képessége elsősorban a bikromát mennyiségétől függ (MOLNÁRNÉ és NÉMETH 2003).

VI. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatási feladatom – a kvercetin, rutin és robinetin sav-bázis tulajdonságainak vizsgálata, valamint különböző fémionokkal való kölcsönhatásuk tanulmányozása révén – számos új, fakémiai vonatkozású tudományos eredményre vezetett.

Tanulmányoztam a vizes oldószer etanol-tartalmának hatását a kvercetin spektrális jellemzőire, melynek alapján a további spektrofotometriás vizsgálatokat etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyében végeztem. Részletesen vizsgáltam a kvercetin, a rutin és a robinetin abszorpciós spektrumának változását erősen lúgos- és gyengén bázikus közegben. Meghatároztam a kvercetin és a rutin disszociációs állandóját. A számításokhoz számítógépes programot és grafikus ábrázolási módszert egyaránt alkalmaztam. A különböző technikai megoldással kapott eredmények jó egyezést mutattak az irodalmi értékekkel. A kvercetin és a robinetin disszociációt követő átalakulásának hasonlósága, illetve eltérése alapján molekulaszerkezeti magyarázatot kerestem a végbemenő folyamatokra.

A flavonoidok sav-bázis tulajdonságainak részletes vizsgálata során tett megfigyeléseim magyarázattal szolgálnak a faanyag pH-jának, pufferkapacitásának és össz-savasságának mérésekor tapasztalt ellentmondásokra. Felhívják a figyelmet ezen módszerek hibáira, és az adatok mérési körülményektől függő pontatlanságára. További vizsgálatot igényelne a kvercetin és a robinetin lúgos közegben bekövetkező átalakulásának megismerése, a folyamat kinetikai paramétereinek pontosítása. A szerkezeti változások értelmezéséhez szükséges lenne a kölcsönhatás során keletkező részecskék azonosítása.

Kutatásom fontos része volt a flavonoidok komplexképződési egyensúlyának tanulmányozása. A feladat magában foglalta az oldatban levő ionfajták jellegének megállapítását, és a megfelelő stabilitási állandók meghatározását, amely által lehetővé vált az egyensúlyi rendszer alapvető tulajdonságainak leírása. Ezek a vizsgálatok feltárták a fémkomplexek létrejöttének, átalakulásának, illetve bomlásának lehetőségét és módját, a reakciók időbeli lefolyását is.

Különböző kémhatású közegekben tanulmányoztam a kvercetin és a rutin Al(III)ionnal képzett komplexének kialakulását, megállapítottam a komplexek összetételét, valamint meghatároztam a folyamat egyensúlyi állandóját. Vizsgálataimmal választ kerestem a szakirodalomban található ellentmondó eredmények okára.

A kvercetin és a rutin alumíniumionnal alkotott komplexének vizsgálati eredményei alapján értelmezni lehet az élő fa által felvett Al(III) koncentráció magas értékét. Mivel a flavonoidok képesek a kisebb oldhatóságú alumínium-speciesek koordinációjára, azokkal a részecskékkel is stabil komplexet képeznek, így lehetővé válik felvételük a talajból. Célszerű lenne a különböző Al(III)-részecskék vizsgálatára alkalmas speciális analitikai módszereket is alkalmazni a kutatásban. Különböző összetételű, eltérő kémhatású közegben végzett kiegészítő vizsgálatokkal pedig lehetőség nyílik az emberi szervezet Al(III) ürítésének fokozására alkalmas ligandumok kiválasztására is.

A vizsgált flavonoidok és a réz(II)ion kölcsönhatását a várható koordinációs és oxidációs folyamatok független vizsgálata érdekében többféle inert só jelenlétében és kálium-acetát - ecetsav pufferben is végeztem vizsgálatokat. Kálium-klorid alapelektrolit használata esetén a Cu(II) - kvercetin kölcsönhatás különleges, de egyértelműen nem komplexképződési spektrumváltozását figyeltem meg. Az egyensúlyi sajátságokat mutató folyamat a Cu(II)ion koncentrációjának első hatványával volt kapcsolatba hozható, míg a kvercetin irreverzibilis változást szenvedett. Kálium-acetát - ecetsav által pufferolt közegben 1:1 fémion:ligandum összetételű rutin-komplex képződését tapasztaltam, amelyre egyensúlyi állandót is meghatároztam. Ilyen közegben, a réz(II) – alacsony koncentrációja mellett – kis stabilitású, kétmagvú komplexet alkot a kvercetinnel, míg kb. tízszeres Cu(II) felesleg esetén irreverzibilis reakció játszódik le. A különböző közegben a kvercetin nem azonos átalakulása következik be.

A réz(II)-flavonoid kölcsönhatás részleteinek megismerése elengedhetetlen a réz-tartalmú favédőszerek kioldódását csökkentő technológiák kidolgozásához. Tudományos szempontból – a kinetikai mérések mellett – nagy jelentőségű lenne a lúgos közeggel analóg folyamat reakciósorának bizonyítása, a meggyvörös színű átmeneti termék azonosítása, valamint a Cu(II)/Cu(I) átalakulás lehetőségének feltárása.

A kvercetin és robinetin oldatbeli sajátságainak vizsgálatát kiegészítettem szilikagél rétegen bekövetkező fotodegradációs folyamataik elemzésével, ami lehetőséget ad a fafelületek színváltozásainak értelmezésére is. További vizsgálatot igényel a folyamatban keletkező részecskék azonosítása, a bekövetkező változások kinetikai és szerkezeti értelmezése, és szükséges a különböző szerkezetű flavonoidok összehasonlító elemzése.

Szilikagél rétegen vizsgáltam a króm(III)- és a bikromácionok kölcsönhatását kvercetin- és robinetinnel, valamint ezen ionok hatását a flavonoidok fotobomlási folyamatára. Az abszorpciós spektrumok alapján Cr(III)-flavonoid-komplexek képződése következik be

szilárd felületen, valamint oxidációs reakció játszódik le a Cr(VI) és a flavonoidok között. A fénysugárzás degradáló hatását egyedül a Cr(III)-mal történő impregnálás tudja hatékonyan csökkenteni.

A króm(III)-kvercetin és a króm(III)-robinetin kölcsönhatás vizsgálati eredményei magyarázatot adnak a króm(III) erős kötődésére a növények gyökérzetében. A fényvédő hatás fokozását célzó technológiai megoldások kifejlesztése a Cr(III)-flavonoid-komplexek további részletes tanulmányozását igényli, illetve annak megállapítását, hogy milyen optimális Cr(III):flavon arány a leghatékonyabb.

A bikromátion és a flavonoidok kölcsönhatása során tapasztalt reakció a fényvédő kromátok Cr(III)-má történő redukálódásának lehetséges módjára ad útmutatót. Azonban a tudományosan megalapozott eredmények megkövetelik a reagáló komponensek felületi koncentrációjának pontosítását, valamint az oxidációs és a komplexképző lépések termékeinek azonosítását.

VII. IRODALOMJEGYZÉK

1. VAN ACKER, S. A. B. E. - DE GROOT, M. J. - VAN DER BERG, D-J. - TROMP, M. N. J. L. - DEN KELDER, G. D-O. - VAN DER VIJGH, W. J. F. - BAST, A. (1996): *A Quantum Chemical Explanation of the Antioxidant Activity of Flavonoids*. Chem. Res. Toxicol. **9**. (8) pp. 1305-1312.
2. VAN ACKER, S. A. B. E. - VAN BALEN, G. P. - VAN DEN BERG, D-J. - BAST, A. - VAN DER VIJGH, W. J. F. (1998): *Influence of Iron Chelation on the Antioxidant Activity of Flavonoids*. Biochemical Pharmacology **56**. pp. 935-943.
3. AFANAS'EV, I. B. - OSTRACHOVICH, E. A. - KORKINA, L. G. (1998): *Effect of rutin and its copper complex on superoxide formation and lipid peroxidation in rat liver microsomes*. FEBS Letters **425**. pp. 256-258.
4. AFANAS'EV, I. B. - OSTRAKHOVITCH, E. A. - MIKHAL'CHIK, E. V. - IBRAGIMOVA, G. A. - KORKINA, L. G. (2001): *Enhancement of antioxidant and anti-inflammatory activities of bioflavonoid rutin by complexation with transition metals*. Biochemical Pharmacology **61**. (6) pp. 677-684.
5. AJMAL, M. - KHAN, A.H. - AHMAD, S. - AHMAD, A. (1998): *Role of sawdust in the removal of copper(II) from industrial wastes*. Water Research **32**. (10) pp. 3085-3091.
6. ALBERT, L. - NÉMETH, Zs. I. - HALÁSZ, G. - KOLOSZÁR, J. - VARGA, Sz. - TAKÁCS, L. (1998): *A szabad és a kötött savtartalom sugárirányú változása a vörös gesztű bükk (Fagus sylvatica L.) faanyagában*. Faipar **46**. (2) pp. 23-24.
7. ALBERT, L. - NÉMETH, Zs. I. - HALÁSZ, G. - KOLOSZÁR, J. - VARGA, Sz. - TAKÁCS, L. (1999): *Radial variation of pH and buffer capacity in the red-heartwooded beech (Fagus sylvatica L.) wood*. Holz als Roh- und Werkstoff **57**. pp. 75-76.
8. ALBERT, L. - HOFMANN, T. - NÉMETH, Zs.I. - RÉTFALVI, T. - KOLOSZÁR, J. - VARGA, Sz. - CSEPREGI, I. (2003): *Radial variation of total phenol content in beech (Fagus sylvatica L.) wood with and without red heartwood*. Holz als Roh- und Werkstoff **61**. pp. 227-230.
9. ALLUIS, B. - DANGLES, O. (2001): *Quercetin (= 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one) Glycosides and Sulfates: Chemical Synthesis, Complexation and Antioxidant Properties*. Helvetica Chimica Acta **84**. pp. 1133-1156.
10. AOYAMA, M. - TSUDA, M. (2001): *Removal of Cr(VI) from aqueous solutions by larch bark*. Wood Science and Technology **35**. pp. 425-434.
11. BALABAN, M. - UÇAR, G. (2001): *The correlation of wood acidity to its solubility by hot water and alkali*. Holz als Roh- und Werkstoff **59**. (1-2) pp. 67-70.
12. BAO, X. - ZHU, Z. - LI, N-Q. - CHEN, J. (2001): *Electrochemical studies of rutin interacting with hemoglobin and determination of hemoglobin*. Talanta **54**. pp. 591-596.
13. BARANAC, J. M. - PETRANOVIĆ, N. A. - DIMITRIĆ-MARKOVIĆ, J. M. (1996): *Spectrophotometric Study of Anthocyan Copigmentation Reactions*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **44**. (5) pp. 1333-1336.
14. BARANOWSKA, I. - RARÓG, D. (2001): *Application of derivative spectrophotometry to determination of flavonoid mixtures*. Talanta **55**. pp. 209-212.
15. BARCELÓ, J. - POSCHENRIEDER, C. (2002): *Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review*. Environmental and Experimental Botany **48**. pp. 75-92.

16. BARCZA L. (1976): *A hidrogénkötés*. - A kémia újabb eredményei 31., Akadémiai Kiadó, Budapest, pp.7-175.
17. BARTA, E. - TOLVAJ, L. - PAPP, Gy. - NAGY, T. - SZATMÁRI, S. - BERKESI, O. (1998): *Wood degradation caused by UV-laser of 248 nm wavelength*. Holz als Roh- und Werkstoff **56**. (5) pp. 318.
18. BECK M. (1965): *Komplex egyensúlyok kémiája*. Akadémiai Kiadó, Budapest
19. BELIKOV, V. V. - TOCHKOVA, T. V. (1973): *Quantitative spectrophotometric determination of quercetin in drug forms*. Farm. Zh. (Kiev) **28**. (5) pp. 40-44.
20. BENAVENTE-GARCÍA, O. - CASTILLO, J. - MARIN, F. R. - ORTUÑO, A. - DEL RÍO, J. A. (1997): *Uses and Properties of Citrus Flavonoids*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **45**. (12) pp. 4505-4515.
21. BODINI, E. M. - COPIA, G. - TAPIA, R. - LEIGHTON, F. - HERRERA, L. (1999): *Iron complexes of quercetin in aprotic medium. Redox chemistry and interaction with superoxide anion radical*. Polyhedron **18**. pp. 2233-2239.
22. BOUDET, A-C. - CORNARD, J-P. - MERLIN, J-C. (2000): *Conformational and spectroscopic investigation of 3-hydroxyflavone–aluminium chelates*. Spectrochimica Acta Part A **56**. pp. 829-839.
23. BÖRCSÖK E. - MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (2003): *A kvercetin és a rutin komplexképző sajátságai etanol-víz rendszerben*, A Kémiai Intézet Kiadványa, pp. 78-82.
előadás: A Kémiai Intézet Tudományos Ülése, Sopron, 2002. november 7.
24. BRAVO, A. - ANACONA, J. R. (2001): *Metal complexes of the flavonoid quercetin: antibacterial properties*. Transition Metal Chemistry **26**. pp. 20-23.
25. BROWN, J. E. - KHODR, H. - HIDER, R. C. - RICE-EVANS, C. A. (1998): *Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties*. Biochemical Journal **330**. pp. 1173-1178.
26. BULL, D. C. (2000): *The chemistry of chromated copper arsenate I. Characterisation of timber treatment plant chemical sludge*. Wood Sciences and Technology **34**. pp. 367-376.
27. BULL, D. C. (2001): *The chemistry of chromated copper arsenate II. Preservative-wood interactions*. Wood Sciences and Technology **35**. pp. 459-466.
28. BURDA, S. - OLESZEK, W. (2001): *Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **49**. (6) pp. 2774-2779.
29. BURGER K. (1967): *Modern koordinációs kémiai vizsgáló módszerek*, Akadémiai Kiadó, Budapest
30. BURGER K. (1969): *Szerves reagensek a fémanalízisben*. – Kémiai Analitika., Műszaki Könyvkiadó, Budapest
31. BURGER K. (1993): *Oldószerhatás a koordinációs kémiában*. – A kémia újabb eredményei 75., Akadémiai Kiadó, Budapest, pp.7-46.
32. BURGER K. (1999): *Az analitikai kémia alapjai – Kémiai és műszeres elemzés*. Semmelweis Kiadó, Budapest
33. BURGER, K. - MOLNÁR, J. - MOLNÁR-HAMVAS, L. - GAIZER, F. (1976a): *Equilibrium Investigation of Hemin mixed Complexes*, Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae Tomus 91. pp. 403-411. (ref. C.A. **87**:49213g, cit. 2)

34. BURGER K. - MOLNÁR J. - MOLNÁRNÉ HAMVAS L. - GAIZER F. (1976b): *Hemin vegyes-komplexek egyensúlyi vizsgálata*, Acta Pharmaceutica Hungarica No. 46. pp. 213-221.
35. BURTIN, P. - JAY-ALLEMAND, C. - CHARPENTIER, J.-P. - JANIN, G. (1998): *Natural wood colouring process in Juglans sp. depends on native phenolic compounds accumulated in the transition zone between sapwood and heartwood*. Trees **12**. (5) pp. 258-264.
36. CHEN, G. - ZHANG, H. - YE, J. (2000): *Determination of rutin and quercetin in plants by capillary electrophoresis with electrochemical detection*. Analytica Chimica Acta **423**. pp. 69-76.
37. CHERNAYA, N.V. - MATYASHOV, V.G. (1975): *Extraction-photometric determination of aluminium as its quercetin-antipyrine complexes*. Journal of Analytical Chemistry of the USSR **30**. (4) pp. 586-589.
38. COETZEE, J. - STEYNBERG, J. P. - STEYNBERG, P. J. - BRANDT, E. V. - FERREIRA, D. (1995): *Oligomeric Flavonoids. Part 18. Dimeric Prorobinetinidins from Robinia pseudacacia*. Tetrahedron **51**. (8) pp. 2339-2352.
39. CONDE, E. - CADAHÍJA, E. - GARCÍA-VALLEJO, M. C. (1992): *Optimization of TLC for Research on the Flavonoids in Wood and Bark of Species of the Genus Eucalyptus L'Héritier*. CHromatographia **33**. (9/10) pp. 418-426.
40. COOPER, P.A. (1991): *Leaching of CCA from treated wood: pH effects*. Forest Product Journal **41**. (1) pp. 30-32.
41. COOPER, P.A. - UNG, Y.T. (1992): *Leaching of CCA-C from jack pine sapwood in compost*. Forest Product Journal **42**. (9) pp. 57-59.
42. COOPER, P.A. - UNG, Y.T. (1993): *A simple quantitative measure of CCA fixation*. Forest Product Journal **43**. (5) pp. 19-20.
43. CORNARD, J-P. - BOUDET, A. C. - MERLIN, J-C. (2001): *Complexes of Al(III) with 3'4'-dihydroxy-flavone: characterization, theoretical and spectroscopic study*. Spectrochimica Acta Part A **57**. pp. 591-602.
44. CORNARD, J-P. - MERLIN, J-C. (2001): *Structural and spectroscopic investigation of 5-hydroxyflavone and its complex with aluminium*. Journal of Molecular Structure **569**. pp. 129-138.
45. CORNARD, J-P. - MERLIN, J-C. (2002a): *Spectroscopic and structural study of complexes of quercetin with Al(III)*. Journal of Inorganic Biochemistry **92**. pp. 19-27.
46. CORNARD, J-P. - MERLIN, J-C. (2002b): *Complexes of aluminium(III) with isoquercitrin: spectroscopic characterization and quantum chemical calculations*. Polyhedron **21**. pp. 2801-2810.
47. CORNARD, J-P. - MERLIN, J-C. (2003): *Comparison of the chelating power of hydroxyflavones*. Journal of Molecular Structure **651-653**. pp. 381-387.
48. DAHLGREN, S.E. - HARTFORD, W.H. (1972): *Kinetics and mechanism of fixation of Cu-Cr-As wood preservatives. Part I-III*. Holzforschung **26**. pp. 62-69, 105-112, 142-149.
49. DAHLGREN, S.E. (1974): *Kinetics and mechanism of fixation of Cu-Cr-As wood preservatives. Part IV*. Holzforschung **28**. pp. 58-61.
50. DAHLGREN, S.E. (1975): *Kinetics and mechanism of fixation of Cu-Cr-As wood preservatives. Part V*. Holzforschung **29**. pp. 84-89.

51. DANGLES, O. - DUFOUR, C. - BRET, S. (1999): *Flavonol-serum albumin complexation. Two-electron oxidation of flavonols and their complexes with serum albumin*. Journal of Chemical Society, Perkin Trans. 2 **1999**. pp. 737-744.
52. DANGLES, O. - DUFOUR, C. - FARGEIX, G. (2000): *Inhibition of lipid peroxidation by quercetin and quercetin derivatives: antioxidant and prooxidant effects*. Journal of Chemical Society, Perkin Trans. 2 **2000**. pp. 1215-1222.
53. DANGLES, O. - FARGEIX, G. - DUFOUR, C. (1999): *One-electron oxidation of quercetin and quercetin derivatives in protic and non protic media*. Journal of Chemical Society, Perkin Trans. 2 **1999**. pp. 1387-1395.
54. DELAPORTE, N. - MACHEIX, J-J. (1972): *Dosage oxydimetrique en milieu non aqueux de composés phenoliques d'origine vegetale. Oxydation des flavonols*. Analytica Chimica Acta **59**. (2) pp. 279-284. (CA 77:31269p)
55. DENG, H. - VAN BERKEL, G. (1998): *Electrospray Mass Spectrometry and UV/Visible Spectrophotometry Studies of Aluminium(III)-Flavonoid Complexes*. Journal of Mass Spectrometry **33**. pp. 1080-1087.
56. DETTY, W. E. - HESTON, B. O. - WENDER, S. H. (1955): *Amperometric Titrations of Some Flavonoid Compounds with Cupric Sulfate*. Journal of American Chemical Society **77**. pp. 162-165.
57. DRUZ, N. - ANDERSONE, I. - ANDERSONS, B. (2001): *Interaction of Copper-containing Preservatives with Wood. Part I. Mechanism of the Interaction of Copper with Cellulose*. Holzforschung **55**. pp. 13-15.
58. DÜBELER, A. - VOLTMER, G. - GORA, V. - LUNDERSTÄDT, J. - ZEECK, A. (1997): *Phenols from Fagus sylvatica and their role in defence against Cryptococcus fagitsuga*. Phytochemistry **45**. (1) pp. 51-57.
59. EL-SAYED, A-A. Y. - SAAD, E. A. - IBRAHIME, B. M. M. - ZAKI, M. T. M. (2000): *Flavonol Derivatives for Determination of Cr(III) and W(VI)*. Mikrochimica Acta **135**. (1-2) pp. 19-27.
60. ESCANDAR, G. M. - SALA, L. F. (1991): *Complexing behaviour of rutin and quercetin*. Can. J. Chem. **69**. pp. 1994-2001.
61. EVANS, P.D. - SCHMALZL, K.J. (1989): *A Quantitative Weathering Study of Wood Surfaces Modified by Chromium VI and Iron III Compounds*. Holzforschung **43**. pp. 289-292.
62. FAIX, O. - NÉMETH, K. (1988): *Monitoring of wood photodegradation by DRIFT spectroscopy*. Holz als Roh- und Werkstoff **46**. (3) pp. 112.
63. FALCOVSKAIA, E. - SENGUPTA, P. K. - KASHA, M. (1998): *Photophysical induction of dual fluorescence of quercetin and related hydroxyflavones upon intermolecular H-bonding to solvent matrix*. Chemical Physics Letters **297**. pp. 109-114.
64. FEIST, W.C. - WILLIAMS, R.S. (1991): *Weathering durability of chromium-treated southern pine*. Forest Product Journal **41**. (1) pp. 8-14.
65. FERNANDEZ, M. T. - MIRA, M. L. - FLORÊNCIO, M. H. - JENNINGS, K. R. (2002): *Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study*. Journal of Inorganic Biochemistry **92**. pp. 105-111.

66. FERRALI, M. - DONATI, D. - BAMBAGIONI, S. - FONTANI, M. - GIORGI, G. - PIETRANGELO, A. (2001): *3-Hydroxy-(4H)-benzopyran-4-ones as Potential Iron Chelating Agents In Vivo*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **9**. pp. 3041-3047.
67. FERRARA, L. - MONTESANO, D. - SENATORE, A. (2001): *The distribution of minerals and flavonoids in the tea plant (Camellia sinensis)*. *Il Farmaco* **56**. pp. 397-401.
68. FILIPE, P. - LANÇA, V. - SILVA, J. N. - MORLIÈRE, P. - SANTUS, R. - FERNANDES, A. (2001): *Flavonoids and urate antioxidant interplay in plasma oxidative stress*. *Molecular and Cellular Biochemistry* **221**. pp. 79-87.
69. FILLO Z. (1976): *A fa mint alapanyag*, in *Faipari kézikönyv* (szerk. Lugosi A.), Műszaki Könyvkiadó, Budapest, pp. 55-64.
70. FOTI, M. - RUBERTO, G. (2001): *Kinetic Solvent Effects on Phenolic Antioxidants Determined by Spectrophotometric Measurements*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**. (1) pp. 342-348.
71. FRIEDMAN, M. - JÜRGENS, H. S. (2000): *Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**. (6) pp. 2101-2110.
72. GALATI, G. - MORIDANI, M. Y. - CHAN, T. S. - O'BRIEN, P. J. (2001): *Peroxidative metabolism of apigenin and naringenin versus luteolin and quercetin: glutathione oxidation and conjugation*. *Free Radical Biology & Medicine* **30**. (4) pp. 370-382.
73. GAMET-PAYRASTRE, L. - MANENTI, S. - GRATACAP, M-P. - TULLIEZ, J. - CHAP, H. - PAYRATSRE, B. (1999): *Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase*. *General Pharmacology* **32**. pp. 279-286.
74. GARCIA, S. - HEINZEN, H. - MARTINEZ, R. - MOYNA, P. (1993): *Identification of Flavonoids by TLC Scanning Analysis*. *Chromatographia* **35**. (7/8) pp. 430-434.
75. GASZTONYI K. - LÁSZTITY R., (1993): *Élelmiszerkémia 1-2*. Mezőgazda Kiadó, Budapest
76. GERGELY P. - ERDŐDI F. - VEREB GY. (2001): *Általános és bioszervetlen kémia*. Semmelweis Kiadó, Budapest
77. GIERER, J. - REITBERGER, T. - YANG, E. - YOON, B-H. (2001): *Formation and involvement of radicals in oxigen delignification studied by the autooxidation of lignin and carbohydrate model compounds*. *Journal of Wood Chemistry and Technology* **21**. (4) pp. 313-341.
78. GONZALEZ ALVAREZ, M.J. - DIAZ GARCIA, M.E. - SANZ-MEDEL, A. (1989): *The Complexation of Cr(III) and Cr(VI) with Flavones in Micellar Media and Its Use for the Spectrophotometric determination of Chromium*. *Talanta* **36**. (9) 919-923.
79. GOTTLIEB, O. R. (1988): *Flavonols*, in *The Flavonoids - Advances in research* (ed.: Harborne, J. B.), pp. 296-374. Chapman and Hall, London
80. GÖRÖG, S. (1993): *Spektrofotometriás gyógyszeranalízis – Az ultraibolya-látható spektrofotometria gyógyszeranalitikai alkalmazásai*. Akadémiai Kiadó, Budapest
81. GREENWOOD, N. N. - EARNSHAW, A. (1999): *Az elemek kémiája I-III.*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest
82. GRODZIŃSKA, K. (1979): *Tree Bark - Sensitive Biotest for Environment Acidification*. *Environment International* **2**. pp. 173-176. 1979.

83. GUHA RAY, J. - SENGUPTA, P. K. (1997): *Excited-state proton-transfer and dual fluorescence of robinetin in different environments*. Spectrochimica Acta Part A **53**. pp. 905-912.
84. GUTIERREZ, A. C. - GEHLEN, M. H. (2002): *Time resolved fluorescence spectroscopy of quercetin and morin complexes with Al³⁺*. Spectrochimica Acta Part A **58**. pp. 83-89.
85. HARBORNE, J. B. (1989): *Flavonoids*, in Natural Products of Woody Plants I. (ed.: Rowe, J.W.), pp. 533-570. Springer-Verlag, Berlin
86. HARBORNE, J. B. - WILLIAMS, C. A. (1988): *Flavone and Flavonol Glycosides*, in The Flavonoids – Advances in Research (ed.: Harborne, J.B.), pp. 376-441. Chapman and Hall, London
87. HARBORNE, J. B. - WILLIAMS, C. A. (2000): *Advances in flavonoid research since 1992*. Phytochemistry **55**. pp.481-504.
88. HART, J. H. (1989): *The Role of Wood Exudates and Extractives in Protecting Wood from Decay*, in Natural Products of Woody Plants I-II. (ed.: J.W. Rowe) - Springer Series in Wood Science – Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp. 861-880.
89. HAVSTEEN, B. H. (2002): *The biochemistry and medical significance of the flavonoids*. Pharmacology & Therapeutics **96**. pp. 67-202.
90. HEIM, K. E. - TAGLIAFERRO, A. R. - BOBILYA, D. J. (2002): *Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships*. The Journal of Nutritional Biochemistry **13**. pp. 572-584.
91. HELM, R. (2000): *Wood/Bark extractives* (elektronikus publikáció)
<http://www.chem.vt.edu/chem-dept/helm/3434WOOD/info.html>
92. HODNICK, W. F. - DUVAL, D. L. - PARDINI, R. S. (1994): *Inhibition of mitochondrial respiration and cyanide-stimulated generation of reactive oxygen species by selective flavonoids*. Biochemical Pharmacology **47**. pp. 573-580.
93. HOLLMAN, P. C. H. - VAN TRIJP, J. P. M. - BUYSMAN, M. N. C. P. (1996): *Fluorescence Detection of Flavonols in HPLC by Postcolumn Chelation with Aluminum*. Analytical Chemistry **68**. (19) pp. 3511-3515.
94. HON, D. N-S. – CHANG, S-T. (1985): *Photoprotection of wood surfaces by wood-ion complexes*. Wood and Fiber Science **17**. (1) pp. 92-100.
95. VAN HOORN, D. E. C. - NIJVELDT, R. J. - VAN LEEUWEN, P. A. M. - HOFMAN, Z. - M'RABET, L. - DE BONT, D. B. A. - VAN NORREN, K. (2002): *Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids*. European Journal of Pharmacology **451**. pp. 111-118.
96. IMAMURA, H. (1989): *Contribution of Extractives to Wood Characteristics*, in Natural Products of Woody Plants I-II. (ed.: J.W. Rowe) - Springer Series in Wood Science – Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp. 843-860.
97. INCZÉDY J. (1970): *Komplex egyensúlyok analitikai alkalmazása*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest
98. IUPAC Kiadvány (1998) – *Compendium of Analytical Nomenclature* (Definitive Rules 1997) (ed. Inczedy J. - Lengyel T. - Ure, A. M.), Blackwell Science Ltd. Oxford
99. JIMÉNEZ, M. - ESCRIBANO-CEBRIÁN, J. - GARCÍA-CARMONA, F. (1998): *Oxidation of the flavonol fisetin by polyphenol oxidase*. Biochimica et Biophysica Acta **1425**. pp. 534-542.

100. JIMÉNEZ, M. - GARCÍA-CARMONA, F. (1999): *Oxidation of the Flavonol Quercetin by Polyphenol Oxidase*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **47**. (1) pp. 56-60.
101. JORGE, F. S. - SANTOS, T. M. - DE JESUS, J. P. - BANKS, W. B. (1999): *Reactions between Cr(VI) and wood and its model compounds. Part I: A qualitative kinetic study of the reduction of hexavalent chromium*. Wood Science and Technology **33**. pp. 487-499.
102. JOVANOVIC, S. V. - STEENKEN, S. - TOSIC, M. - MARJANOVIC, B. - SIMIC, M. G. (1994): *Flavonoids as antioxidants*. Journal of American Chemical Society **116**. pp. 4846-4851.
103. JØRGENSEN, L. V. - CORNETT, C. - JUSTESEN, U. - SKIBSTED, L. H. - DRAGSTED, L. O. (1998): *Two-electron Electrochemical Oxidation of Quercetin and Kaempferol Changes Only the Flavonoid C-ring*. Free Rad. Res. **29**. pp. 339-350.
104. JØRGENSEN, L. V. - MADSEN, H. L. - THOMSEN, M. K. - DRAGSTED, L. O. - SKIBSTED, L. H. (1999): *Regeneration of Phenolic Antioxidants from Phenoxy Radicals. An ESR and Electrochemical Study of Antioxidant Hierarchy*. Free Radical Res. **30**. pp. 207-220.
105. JØRGENSEN, L. V. - SKIBSTED, L. H. (1998): *Flavonoid Deactivation of Ferrylmyoglobin in Relation to Ease of Oxidation as Determined by Cyclic Voltammetry*. Free Radical Res. **28**. pp. 335-351.
106. JUNG, B. – ROFFAEL, E. (2002): *Über die Acidität einheimischer Holzarten*. Holz als Roh- und Werkstoff **60**. pp. 154.
107. JUNGBLUTH, G. - RÜHLING, I. - TERNES, W. (2000): *Oxidation of flavonols with Cu(II), Fe(II) and Fe(III) in aqueous media*. Journal of Chemical Society, Perkin Trans. 2 **2000**. pp. 1946-1952.
108. KANDASWAMI, C. - MIDDLETON, E. (1994): *Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids*. Adv. Exp. Med. Biol. **366**. pp. 351-376.
109. KENNEDY, J. A. – MUNRO, M. H. G. – POWELL, H. K. J. – PORTER, L. J. – FOO, L. Y. (1984): *The Protonation Reactions of Catechin, Epicatechin and Related Compounds*. Australian Journal of Chemistry **37**. (4) pp. 885-892.
110. KIDD, P.S. - POSCHENRIEDER, C. - BARCELÓ, J. (2001): *Does root exudation of phenolics play role in aluminium resistance in maize (Zea mays L.)?* - in Plant nutrition (eds. Horst, W.J. et.al.), Kluwer Academic Publishers, pp. 504-505
111. KISS T. (1996): *Az alumínium(III) kölcsönhatása biomolekulákkal: bioszervetlen kémiai és biológiai vonatkozások*. – A kémia újabb eredményei 82., Akadémiai Kiadó, Budapest, pp.7-97.
112. KISS T. - JAKUSCH T. - KILYÉN M. - KISS E. - LAKATOS A. (2000): *Élettani hatású Al(III)- és VO(IV)komplexek speciációja biológiai rendszerekben*. Acta Pharmaceutica Hungarica **70**. (3-6) pp. 175-186.
113. DE KOSTER, C. G. - HEERMA, W. - DIJKSTRA, G. - NIEMANN, G. J. (1985): *Fast Atom Bombardment of Flavonols*. Biomedical Mass Spectrometry **12**. (10) pp. 596-601.
114. KÖRÖS E. (1980): *Bioszervetlen kémia*. Gondolat Kiadó, Budapest
115. KRISHNAMACHARI, V. - LEVINE, L. H. - PARÉ, P. W. (2002): *Flavonoid Oxidation by the Radical Generator AIBN: A Unified Mechanism for Quercetin Radical Scavenging*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **50**. (15) pp. 4357-4363.

116. KUNTIĆ, V. - PEJIĆ, N. - MIĆIĆ, S. - MALEŠEV, D. - VUJIĆ, Z. (2003): *Determination of dissociation constants of quercetin*. Pharmazie **58**. (6) pp. 439-440.
117. LATTANZIO, V. - ARPAIA, S. - CARDINALI, A. - DI VENERE, D. - LINSALATA, V. (2000): *Role of Endogenous Flavonoids in Resistance of Mechanism of Vigna to Aphids*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **48**. (11) pp. 5316-5320.
118. LEMAŃSKA, K. - SZYMUSIAK, H. - TYRAKOWSKA, B. - ZIELIŃSKI, R. - SOFFERS, A. E. M. F. - RIETJENS, I. M. C. M. (2001): *The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones*. Free Radical Biology & Medicine **31**. (7) pp. 869-881.
119. LEMBERKOVICS, É. - CZINNER, E. - SZENTMIHÁLYI, K. - BALÁZS, A. - SZÖKE, É (2002): *Comparative evaluation of Helichrysi flos herbal extracts as dietary sources of plant polyphenols, and macro- and microelements*. Food Chemistry **78**. pp. 119-127.
120. ŁOZAK, A. - SOLTYK, K. - OSTAPCZUK, P. - FIJAŁEK, Z. (2002): *Determination of selected trace elements in herbs and their infusions*. The Science of the Total Environment. **289**. pp. 33-40.
121. LUGASI A. (2000): *Az élelmiszer eredetű flavonoidok potenciális egészségvédő hatása*. Orvosi Hetilap **141**. (32) pp. 1751-1760. Online Kiadvány
<http://www.vitalitas.hu/olvasosarok/online/oh/2000/32/1.htm>
122. MABRY, T. J. - MARKHAM, K. R. - THOMAS, M. B. (1970): *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
123. MABRY, T. J. - ULUBELEN, A. (1980): *Chemistry and Utilization of Phenylpropanoids Including Flavonoids, Coumarins and Lignans*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **28**. (2) pp. 188-196.
124. MAKASHEVA, I. E. - GOLOVKINA, M. T. (1973): *Reaction of quercetin with copper(II) ions in aqueous - alcohol solutions*. Zh. Obshch. Khim. **43**. (7) pp. 1640-1645. (CA 80:20073f)
125. MAKRIS, D. P. - ROSSITER, J. T. (2000): *Heat-Induced, Metal-Catalyzed Oxidative Degradation of Quercetin and Rutin (Quercetin 3-O-Rhamnosylglucoside) in Aqueous Model Systems*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **48**. (9) pp. 3830-3838.
126. MALEŠEV, D. - RADOVIĆ, Z. (1987): *Über Kobalt-Quercetin-Komplexe*. Pharmazie **42**. p. 59.
127. MARKHAM, K.R. (1989): *Flavones, Flavonols and their Glycosides*, in Methods in Plant Biochemistry, Vol. 1. (ed.: Harborne, J.B.), Academic Press, London, pp. 197-235.
128. McDONALD, M. - MILA, I. - SCALBERT, A. (1996): *Precipitation of Metal Ions by Plant Polyphenols: Optimal Conditions and Origin of Precipitation*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **44**. (2) pp. 599-606.
129. MEL'NIKOVA, N. B. - IOFFE, I. D. - TSAREVA, L. A. (2002): *Reaction of bioflavonoids with copper(II) acetate in aqueous solution*. Chemistry of Natural Compounds **38**. (1) pp. 33-39.
130. MIRA, L. – FERNANDEZ, M. T. – SANTOS, M. – ROCHA, R. – FLORÊNCIO, M. H. – JENNINGS, K. R. (2002): *Interactions of Flavonoids with Iron and Copper Ions: A Mechanism for their Antioxidant Activity*. Free Radical Research **36**. (11) pp. 1199-1208.

131. MOLNÁR, J. - MOLNÁR-HAMVAS, L. - SZEPESI, G. - BURGER, K. (1983): *Quantitative thin-layer chromatographic study of cobalamin complexes*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Vol. 1, No. 2. pp.181-188. (ref. C.A. **100**:109873w)
132. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (1980): *Egyes biológiai hatású makrociklus komplexek vizsgálata*. Gyógyszeranyagok-doktori értekezés, SOTE Gyógyszerész Kar, Budapest
133. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (1994): *Króm(III), króm(VI) és réz(II) kioldódásának vizsgálata fvédőszerekkel kezelt bükk- és fenyőfamintákból*, Kutatási jelentés a Faipari Kutatóintézet részére, Sopron, június 1.
134. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (1997): *Flavon-származékok komplexkémiai sajátosságai I. A quercetin - alumínium egyensúly vizsgálata*, XXXII. Komplexkémiai Kollokvium, Kecskemét, június 4-6.
135. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (1998): *Elővizsgálatok a fémion - extraktanyag kölcsönhatás tanulmányozásához*, MTA Természetes Polimerek Munkabizottság Előadó Ülése, Sopron, április 17.
136. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (2000): *A flavonoidok szerepe a faanyag-fémion kölcsönhatásban. A kvercetin, mint komplexképző ligandum*, NyME Az Erdőmérnöki Kar Tudományos Konferenciájának Előadásai pp. 155-160. Sopron, december 15.
137. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (2002a): *Flavon-származékok komplexkémiai sajátosságai II. Kvercetin – fémion kölcsönhatások vizsgálata*, XXXVII. Komplexkémiai Kollokvium, Mátraháza, május 29-31., Program és előadáskivonatok, p. 38.
138. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (2002b): *Kémiai komponensek a faanyag-fémion kölcsönhatásban*, MTA Természetes Polimerek Munkabizottság Előadó Ülése, Sopron, június. 4.
139. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (2002c): *A faextraktanyagok flavonoid-komponensei és különböző fémionok közötti kölcsönhatás. A kvercetin spektrofotometriás vizsgálata*, 45. Spektrokémiai Vándorgyűlés Előadásai pp. 122-125. Siófok, július 1-3.
140. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. - BÖRCsök E. - NÉMETH K. (2002): *Flavon-származékok – fémionok kölcsönhatásainak vizsgálata*, VIII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Románia, Kolozsvár, november 15-17., Erdélyi Magyar Műszaki Tudományos Társaság Kiadványa, pp. 219-223.
141. MOLNÁR-HAMVAS, L. - CSONKA-RÁKOSA, R. - STIPTA, J. - NÉMETH, K. (2002): *Interaction of metal ions and flavonol components of wood extractives*, Proceedings of 7th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp, pp. 249-252., Turku, Finland, August 26-29.
142. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. - NÉMETH K. (2002): *Ultraibolyafény hatása a flavon-származékok - fémionok kölcsönhatásaira*, VIII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Románia, Kolozsvár, november 15-17., Erdélyi Magyar Műszaki Tudományos Társaság Kiadványa, pp. 213-218.
143. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. - NÉMETH K. (2003): *A flavonoid–króm kölcsönhatás vizsgálata*, NyME, EMK, Kémiai Intézet Kiadványa, pp. 83-87.
előadás: A Kémiai Intézet Tudományos Ülése, Sopron, 2002. november 7.
144. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. - NÉMETH K. - STIPTA J. (2003): *A krómionok és fény hatása fás növények flavonoidjaira*, Faipar **51**. (2) pp. 12-16.

145. MOLNÁRNÉ HAMVAS L. - STIPTA J. - NÉMETH K. (2002): *Krómionokkal kezelt faanyag látható és UV spektruma*, Faipar (megjelenés alatt)
előadás: A Magyar Tudomány Napja Tudományos Konferencia, Sopron, november 28.
NyME FMK. Pallay Nándor professzor születésének 100. évfordulója alkalmából
146. MONONEN, K. - ALVILA, L. - PEKKANEN, T. T. (2002a): *CIEL*a*b* color measurement and analysis of methanol-soluble extractives of secondary xylem of Birch (Betula pendula)*. Proceedings of 7th EWLP pp. 245-248. Turku (Finland), August 26-29.
147. MONONEN, K. - ALVILA, L. - PEKKANEN, T. T. (2002b): *CIEL*a*b* Measurements to Determine the Role of Felling Season, Log Storage and Kiln Drying on Coloration of Silver Birch Wood*. Scandinavian Journal of Forest Research **17**. pp. 179-191.
148. NAGY, L. - MEHNER, H. - CHRISTY, A. A. - SLETTEN, E. - EDELMAN, F. T. - ANDERSEN, Ø. M. (1998): *Preparation and Structural Studies on Organotin(IV) Complexes with Flavonoids*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry **227**. (1-2), pp. 89-98.
149. NÉMETH K. (1997): *Faanyagkémia - Kémiai szerkezet, reakciók*. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest
150. NÉMETH K. (1998): *A faanyag degradációja*. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest
151. NÉMETH, K. - MOLNÁR-HAMVAS, L. - STIPTA, J. (2003): *Kinetic interpretation of processes in wood at mild-temperature*. Proceedings of the International Conference „Chemical Technology of Wood, Pulp and Paper” pp. 305-308. September 17-19. 2003. Bratislava (Slovak Republik)
152. NÉMETH K. - STIPTA J. (2002): *Összetett reakciók a krómionnal kezelt faanyag fotodegradációjában*. Faipar **50**. (2) pp. 7-10.
153. NÉMETH, K. - VARGA, V. - ALBERT, L. (1998): *Differences Between the Modification of Flavonols Caused by Stress and Abiotical Effects*. Proceedings of „5th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp” pp. 341-343. August 30 - September 1. 1998. Aveiro (Portugal)
154. NIKOLOVSKA-ČOLESKA, Ž. - KLISAROVA, LJ. - ŠUTURKOVA, LJ. - DOREVSKI, K. (1996): *First and Second Derivative Spectrophotometric Determination of Flavonoids Chrysin and Quercetin*. Analytical Letters **29**. (1) 97-115.
155. PAIS I. (2000): *A mikroelemek jelentősége az életben*, Mezőgazda Kiadó, Budapest
156. PASSIALIS, C. N. - GRIGORIOU, A. H. (1999): *Technical properties of branch-wood of apple, peach, pear, apricot and cherry fruit trees*. Holz als Roh- und Werkstoff **57**. (1) pp. 41-44.
157. PÁL K.-NÉ (2001): *Króm a környezetben*. Környezetvédelmi Füzetek. Országos Műszaki Információs Központ és Könyvtár, Budapest
158. PEDRIELLI, P. - PEDULLI, G. F. - SKIBSED, L. H. (2001): *Antioxidant Mechanism of Flavonoids. Solvent Effect on Rate Constant for Chain-Breaking Reaction of Quercetin and Epicatechin in Autoxidation od Methyl Linoleate*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **49**. (6) pp. 3034-3040.
159. PIZZI, A. (1981): *The Chemistry and Kinetic Behavior of Cu-Cr-As/B Wood Preservatives. I. Fixation of Chromium on Wood*. Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition **19**. pp. 3093-3121.

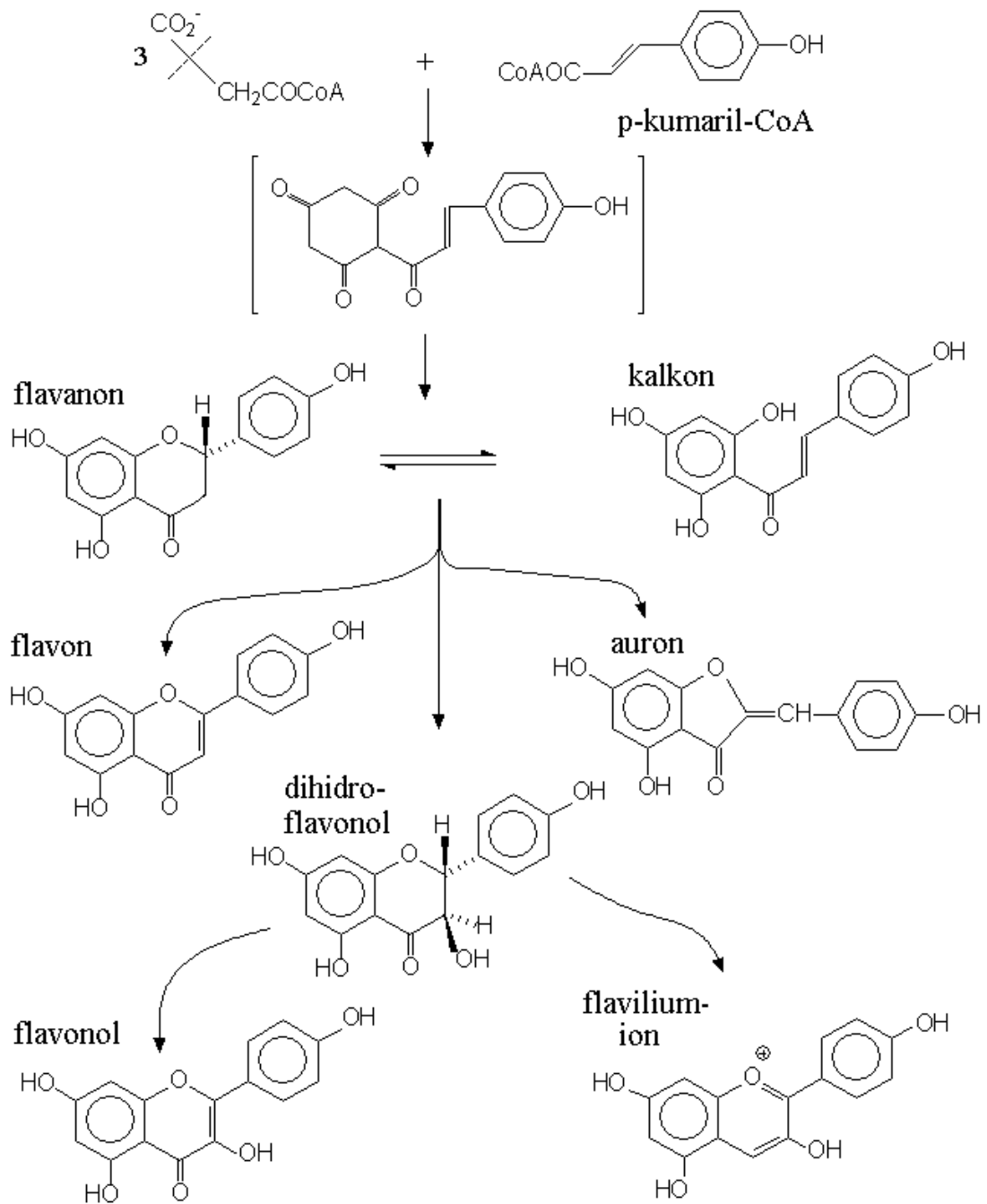
160. PIZZI, A. (1982): *The Chemistry and Kinetic Behavior of Cu-Cr-As/B Wood Preservatives. II-IV*. Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition **20**. pp. 707-724, 725-738, 739-764.
161. PIZZI, A. (1983): *A New Approach to the Formulation and Application of CCA Preservatives*. Wood Science and Technology **17**. pp. 303-319.
162. PIZZI, A. (1990): *Chromium Interactions in CCA/CCB Wood Preservatives I-II*. Holzforschung **44**. (5) pp. 373-380, **44**. (6) pp.419-424.
163. PORTER, L. J. - MARKHAM, K. R. (1970): *The Aluminium(III) Complexes of Hydroxyflavones in Absolute methanol. Part II. Ligands Containing More than One Chelating Site*. Journal of Chemical Society (C) pp. 1309-1313.
164. RICE-EVANS, C. - MILLER, N. J. - PAGANGA, G. (1996): *Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids*. Free Radical Biology & Medicine **20**. (7) pp. 933-956.
165. ROFFAEL, E. - POBLETE, H. - TORRES, M. (2000): *Über die Acidität von Kern- und Splintholz der Katanie (Castanea sativa) aus Chile*. Holz als Roh- und Werkstoff **58**. pp. 120-122.
166. ROSHAL, A. D. - GRIGOROVICH, A. V. - DOROSHENKO, A. O. - PIVOVARENKO, V. G. - DEMCHENKO, A.P. (1998): *Flavonols and Crown-Flavonols as Metal Cation Chelators. The Different Nature of Ba²⁺ and Mg²⁺ Complexes*. Journal of Physical Chemistry **102**. (29) pp. 5907-5914.
167. ROSHAL, A. D. - GRIGOROVICH, A. V. - DOROSHENKO, A. O. - PIVOVARENKO, V. G. - DEMCHENKO, A. P. (1999): *Flavonols as metal-ion chelators: complex formation with Mg²⁺ and Ba²⁺ cations in the excited state*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry **127**. pp. 89-100.
168. RUSSO, N. - TOSCANO, M. - UCCELLA, N. (2000): *Semiempirical Molecular Modeling into Quercetin Reactive Site: Structural, Conformational, and Electronic Features*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **48**. (8) pp. 3232-3237.
169. RUSZNYÁK S. - SZENT-GYÖRGYI A. (1936): *Vitamin nature of flavones*. Nature (London), **138**. p. 27.
170. SAAD, E.A. - KHALIL, L.H. - ZAKI, M.T.M. - EL-ELLA, A.A.A. (2002): *Determination of Zirconium(IV) and Aluminium(III) in Waste Water*. Microchimica Acta **140**. (1-2) pp. 87-91.
171. SAKIHAMA, Y. - COHEN, M. F. - GRACE, S. C. - YAMASAKI, H. (2002): *Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants*. Toxicology **177**. pp. 67-80.
172. SATTERFIELD, M. - BRODBELT, J. S. (2000): *Enhanced Detection of Flavonoids by Metal Complexation and Electrospray Ionization Mass Spectrometry*. Analytical Chemistry **72**. (24) pp. 5898-5906.
173. SAUERWALD, N. - SCHWENK, M. - POLSTER, J. - BENGSCHE, E. (1998): *Spectrometric pK determination of daphenin, chlorogenic acid and quercetin*. Z. Naturforsch. B. **53**. pp. 315-321.
174. SCHNITZLER, J. P. - JUNGBLUT, T. P. - FEICHT, C. - KOFFERLEIN, M. - LANGOBARTEK, C. - HELLER, W. - SANDERMAN, H. (1996): *UV-B screening pigments and chalcone synthase mRNA in needles of Scots pine seedlings*. New Phytologist **132**. pp. 247-258.

175. SCHULEK E. - SZABÓ Z. L. (1971): *A kvantitatív analitikai kémia elvi alapjai és módszerei*. Tankönyvkiadó, Budapest
176. SHIAU, R.. - SMITH, R.L. - AVELLAR, B. (2000): *Effects of steam explosion processing and organic acids on CCA removal from treated wood waste*. *Wood Science and Technology* **34**. pp. 377-388.
177. SHUKLA, A. - ZHANG, Y-H. - DUBEY, P. - MARGRAVE, J.L. - SHUKLA, S.S. (2002): *The role of sawdust in the removal of unwanted materials from water*. *Journal of Hazardous Materials* **B95**. pp.137-152.
178. SIMMONDS, M. S. J. (2001): *Importance of flavonoids in insect-plant interactions: feeding and oviposition*. *Phytochemistry* **56**. pp. 245-252.
179. SJØSTRØM, E. (1993): *Wood Chemistry – Fundamentals and Applications*, Academic Press, Inc. San Diego
180. SKAL TSA, H. - VERYKOKIDOU, E. - HARVALA, C. - KARABOURNIOTIS, G. - MANTEAS, Y. (1994): *UV-B protective potential and flavonoid content of leaf hairs in Quercus ilex*. *Phytochemistry* **37**. pp. 987-990.
181. SKAPER, S. D. - FABRIS, M. - FERRARI, V. - CARBONARE, M. D. - LEON, A. (1997): *Quercetin protects cutaneous tissue-associated cell types including sensory neurons from oxidative stress induced by glutathione depletion : cooperative effects of ascorbic acid*. *Free Radical Biology and Medicine* **22**. (4) pp. 669-678.
182. SMITH, G. J. - MARKHAM, K. R. (1998): *Tautomerism of flavonol glucosides: relevance to plant UV protection and flower colour*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **118**. pp. 99-105.
183. SMITH, G. J. - THOMSEN, S. J. - MARKHAM, K. R. - ANDARY, C. - CARDON, D. (2000): *The photostabilities of naturally occurring 5-hydroxyflavones, flavonols, their glycosides and their aluminium complexes*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **136**. pp. 87-91.
184. SOCZYŃSKA-KORDALA, M. - BAKOWSKA, A. - OSZMIAŃSKI, J. - GABRIELSKA, J. (2001): *Metal Ion – Flavonoid Associations in Bilayer Phospholipid Membranes*. *Cellular & Molecular Biology Letters* **6**. pp. 277-281.
185. SOLIMANI, R. (1997): *The flavonols quercetin, rutin and morin in DNA solution: UV-vis dichroic (and mid-infrared) analysis explain the possible association between the biopolymer and a nucleophilic vegetable-dye*. *Biochimica et Biophysica Acta* **1336**. pp. 281-294.
186. STEENKEN, S. - NETA, P. (1982): *One-Electron Redox Potentials of Phenols. Hydroxy- and Aminophenols and Related Compounds of Biological Interest*. *Journal of Physical Chemistry* **86**. (18) pp. 3661-3667.
187. STEINER, R. A. - KOOTER, I. M. - DIJKSTRA, B. W. (2002): *Functional Analysis of the Copper-Dependent Quercetin 2,3-Dioxygenase.1. Ligand-Induced Coordination Changes Probed by X-ray Crystallography: Inhibition, Ordering Effect, and Mechanistic Insights*. *Biochemistry* **41**. (25) pp. 7955-7962.
188. STEINER, R. A. - MEYER-KLAUCKE, W. - DIJKSTRA, B. W. (2002): *Functional Analysis of the Copper-Dependent Quercetin 2,3-Dioxygenase. 2. Absorption Studies of Native Enzyme and Anaerobic Complexes with the Substrates Quercetin and Myricetin*. *Biochemistry* **41**. (25) pp. 7963-7968.

189. STEVANOVIC-JANEZIC, T. - COOPER, P. A. - UNG, Y. T. (2001): *Chromated Copper Arsenate Preservative Treatment of North American Hardwoods*. *Holzforschung* **55**. (1) pp. 7-12.
190. STIPTA J. - NÉMETH K. - MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (2002a): *A faanyag és fémionok kölcsönhatása I. A krómionok és fény hatása a faanyag színére*, *Faipar* 50. (4) pp. 18-23.
191. STIPTA J. - NÉMETH K. - MOLNÁRNÉ HAMVAS L. (2002b): *Fény hatása a krómionokkal kezelt fafelületek abszorpciós spektrumára*, *Faipar* (megjelenés alatt) előadás: A Magyar Tudomány Napja Tudományos Konferencia, Sopron, november 28. NyME FMK. Pallay Nándor professzor születésének 100. évfordulója alkalmából
192. STRACK, D. (1997): *Phenolic Metabolism*, in *Plant Biochemistry* (ed. P. M. Dey, J. B. Harborne), Academic Press, San Diego, pp. 387-416.
193. SUBRAMANIAN, R. V. - SOMASEKHARAN, K. N. - JOHNS, W. E. (1983): *Acidity of Wood*. *Holzforschung* **37**. pp. 117-120.
194. SZABÓ Z. - BURGER K. - KÖRÖS E. (1970): *A Lewis-féle sav-bázis reakciók Pearson-féle értelmezéséről*. – A kémia újabb eredményei 1., Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 37-82.
195. TAKAMURA, K. - SAKAMOTO, M. (1978): *Spectrophotometric Studies on Flavonoid-Copper(II) Complexes in Methanol Solution*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **26**. (8) pp. 2291-2297.
196. THOMPSON, M. - WILLIAMS, C.R. - ELLIOT, G.E.P. (1976): *Stability of Flavonoid Complexes of Copper(II) and Flavonoid Antioxidant Activity*. *Analytica Chimica Acta* **85**. pp. 375-381.
197. TIAN, S. - SCHWEDT, G. (1995): *Separation of chromate and tungstate by reversed-phase high-performance chromatography using rutin as chelating reagent*. *Journal of Chromatography A* **709**. (2) pp. 381-386
198. TOLVAJ L. (1991): *Investigation of wood photodegradation by difference DRIFT spectroscopy*. *Holz als Roh- und Werkstoff* **49**. (10) pp. 356.
199. TYUKAVKINA, N. A. - POGODAEVA, N. N. (1975): *Ultraviolet-Absorption of Flavonoids. 8. Ionization Constants of Kempferol and Quercetin*. *Khim. Prir. Soedin.* **6**. pp. 708-711.
200. UÇAR, G. - FENGEL, D. (1995): *Variation in composition of extractives from wood of Pinus nigra varieties*. *Phytochemistry* **38**. (4) pp. 877-880.
201. VAN ZANDEN, J. J. - HAMMAN, O. B. - VAN IERSEL, M. L. P. S. - BOEREN, S. - CNUBBEN, N. H. P. - LO BELLO, M. - VERVOORT, J. - VAN BLADEREN, P. J. - RIETJENS, I. M. C. M. (2003): *Inhibition of human glutathion S-transferase P1-1 by the flavonoid quercetin*. *Chemico-Biological Interactions* **145**. (2) pp. 139-148.
202. VEIT, M. - BECKERT, C. - HÖHNE, C. - BAUER, K. - GEIGER, H. (1995): *Interspecific and intraspecific variation of phenolics in the genus Equisetum subgenus Equisetum*. *Phytochemistry* **38**. (4) pp. 881-891.
203. VISWANATHAN, P. - SRIRAM, V. - YOGESWARAN, G. (2000): *Sensitive Spectrophotometric Assay for 3-Hydroxy-Substituted Flavonoids, Based on Their Binding with Molybdenum, Antimony or Bismuth*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**. (7) pp. 2802-2806
204. WAGNER Ö. - HENCSEI P. (2001): *Bioszervetlen kémia*, Műegyetemi Kiadó, Budapest

205. WANG, J. - SPORNS, P. (2000): *MALDI-TOF Analysis of Food Flavonol Glycosides*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **48**. (5) pp. 1657-1662.
206. WINKEL-SHIRLEY, B. (2002): *Biosynthesis of flavonoids and effects of stress*. Plant Biology **5**. pp. 218-223.
207. WOLFBEIS, O. S. - LEINER, M. - HOCHMUTH, P. - GEIGER, H. (1984): *Absorption and Fluorescence Spectra, pKa Values, and Fluorescence Lifetimes of Monohydroxyflavones and Monomethoxyflavones*. Ber. Bunsenges. Phys. Chem. **88**. pp. 759-767.
208. YAMASHITA, N. - TANEMURA, H. - KAWANISHI, S. (1999): *Mechanism of oxidative DNA damage induced by quercetin in the presence of Cu(II)*. Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanism of Mutagenesis **425**. pp. 107-115.
209. YANG, B. - ARAI, K. - KUSU, F. (2001): *Electrochemical Behaviors of Quercetin and Kaempferol in Neutral Buffer Solution*. Analytical Sciences **17**. pp. 987-989.
210. YANG, B. - KOTANI, A. - ARAI, K. - KUSU, F. (2001): *Relationship of Electrochemical Oxidation of Catechins on Their Antioxidant Activity in Microsomal Lipid Peroxidation*. Chem. Pharm. Bull. **49**. (6) pp. 747-751.
211. YOKEL, R. A. (2002): *Aluminium chelation properties and recent advances*. Coordination Chemistry Reviews **228**. pp. 97-113.
212. YOSHIMOTO, T. (1989): *Effect of Extractives on the Utilization of Wood*, in Natural Products of Woody Plants I-II. (ed.: J.W. Rowe) – Springer Series in Wood Science – Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp. 920-931.
213. YU, B. - ZHANG, Y. - SHUKLA, A. - SHUKLA, S.S. - DORRIS, K.L. (2001): *The removal of heavy metals from aqueous solutions by sawdust adsorption – removal of lead and comparison of its adsorption with copper*. Journal of Hazardous Materials **B84**. pp. 83-94.
214. ZATTA, P. - KISS T. - SUWALSKY, M. - BERTHON, G. (2002): *Aluminium(III) as a promoter of cellular oxidation*. Coordination Chemistry Reviews **228**. pp. 271-284.
215. ZAYED, A. - LYTLE, C. M. - QIAN, J-H. - TERRY, N. (1998): *Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops*. Planta **206**. pp. 293-299.
216. ZHU, Z. - LI, C. - LI, N-Q. (2002): *Electrochemical studies of quercetin interacting with DNA*. Microchemical Journal **71**. pp. 57-63.
217. ZSILA, F. - BIKÁDI, ZS. - SIMONYI, M. (2003): *Probing the binding of the flavonoid, quercetin to human serum albumin by circular dichroism, electronic absorption spectroscopy and molecular modelling methods*. Biochemical Pharmacology **56**. pp. 447-456.

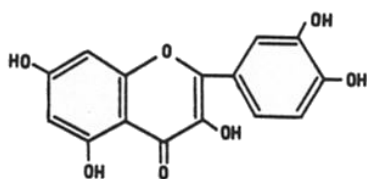
VIII. MELLÉKLETEK



1. melléklet *A flavonoid aglikonok típusai a bioszintézis útvonala szerint csoportosítva (MARBY - ULUBELEN 1980) alapján*

65

QUERCETIN



CHROMATOGRAPHIC DATA

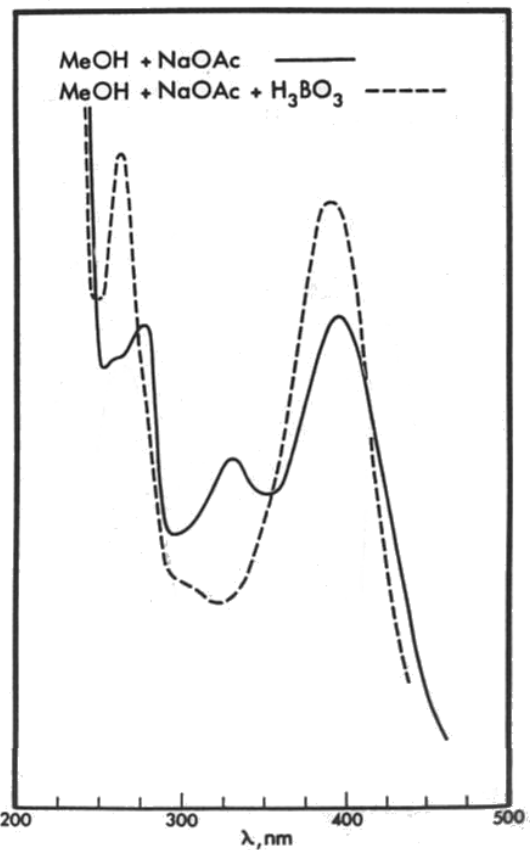
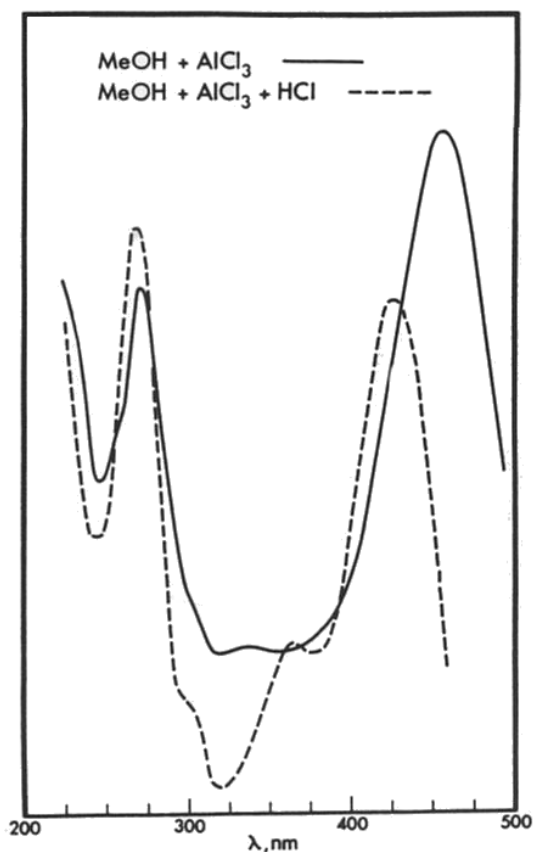
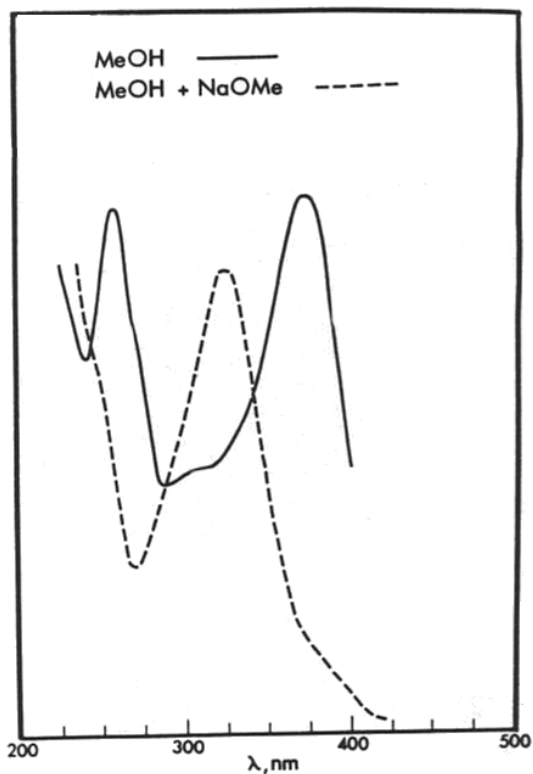
Spot Appearance: (UV) yellow
(UV/NH₃) yellow

R_f Values: 0.57 (TBA), 0.03 (HOAc)

UV SPECTRAL DATA (λ_{max}, nm)

MeOH	255, 269sh, 301sh, 370
NaOMe	247sh, 321 (dec.)
AlCl ₃	272, 304sh, 333, 458
AlCl ₃ /HCl	265, 301sh, 359, 428
NaOAc	257sh, 274, 329, 390 (dec.)
NaOAc/H ₃ BO ₃	261, 303sh, 388

(Proc. II)

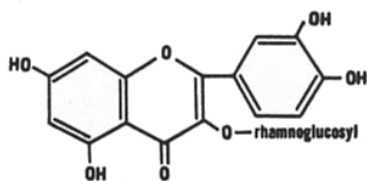


2. melléklet

A kvercetin különböző közegben felvett abszorpciós spektruma
(MABRY - MARKHAM - THOMAS 1970) alapján

69

RUTIN



CHROMATOGRAPHIC DATA

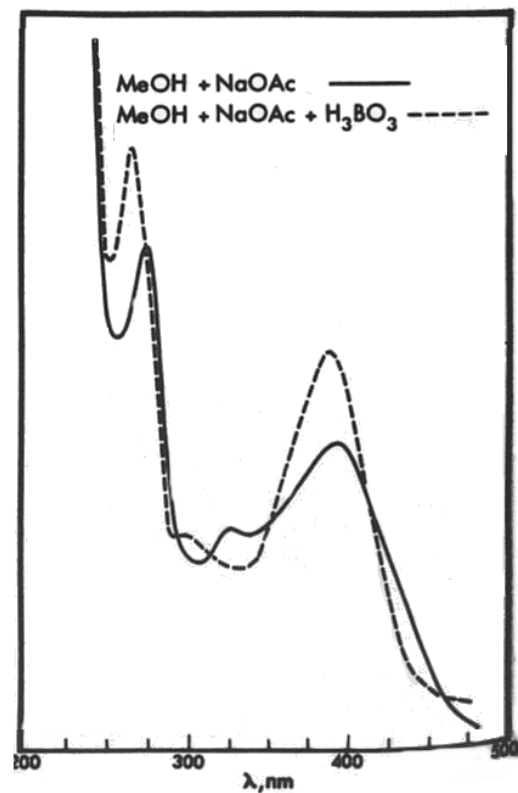
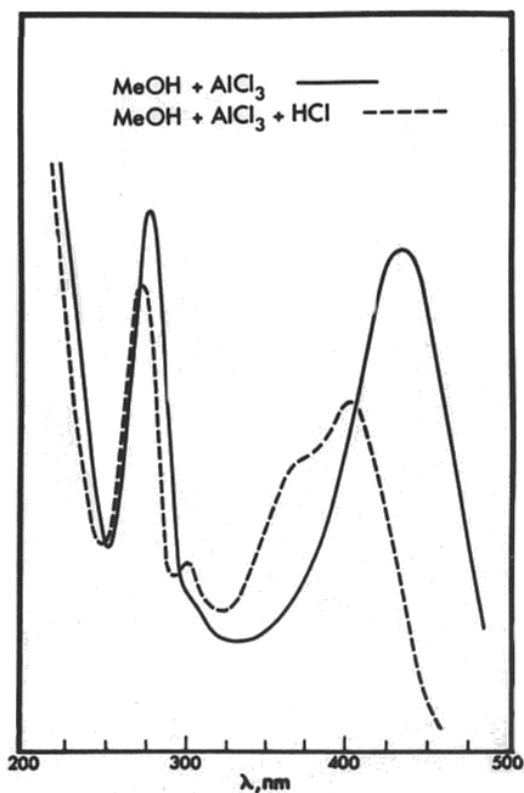
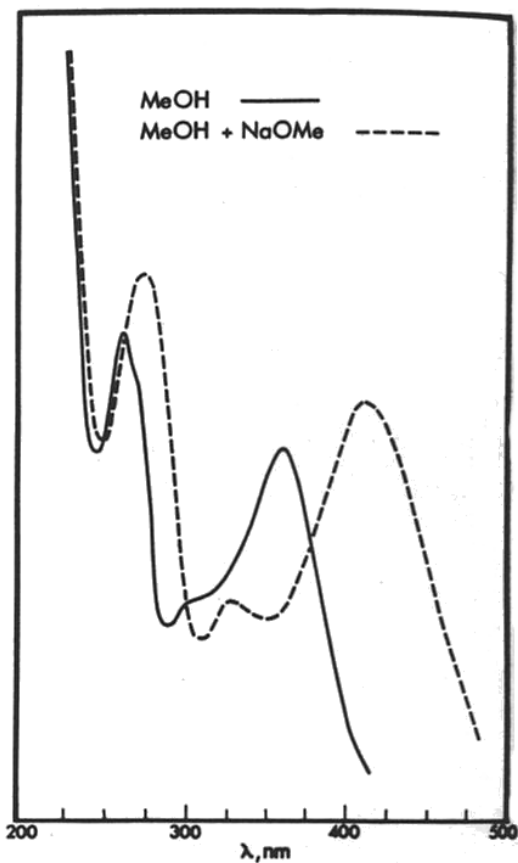
Spot Appearance: (UV) deep purple
(UV/NH₃) yellow

R_f Values: 0.44 (TBA), 0.56 (HOAc)

UV SPECTRAL DATA (λ_{max} , nm)

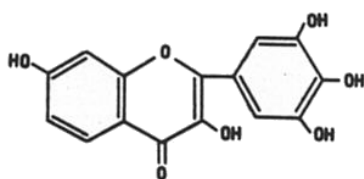
MeOH	259, 266sh, 299sh, 359
NaOMe	272, 327, 410
AlCl ₃	275, 303sh, 433
AlCl ₃ /HCl	271, 300, 364sh, 402
NaOAc	271, 325, 393
NaOAc/H ₃ BO ₃	262, 298, 387

(Proc. I)



3. melléklet

A rutin különböző közegben felvett abszorpciós spektruma
(MABRY - MARKHAM - THOMAS 1970) alapján



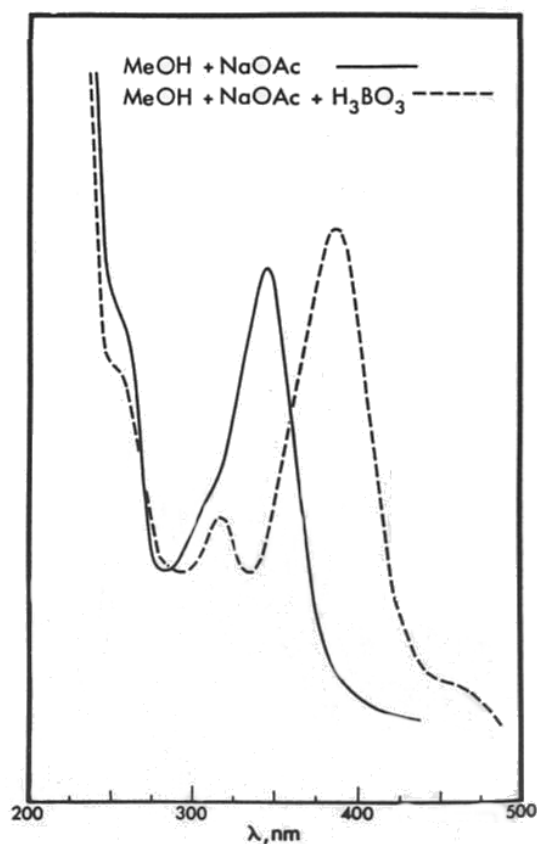
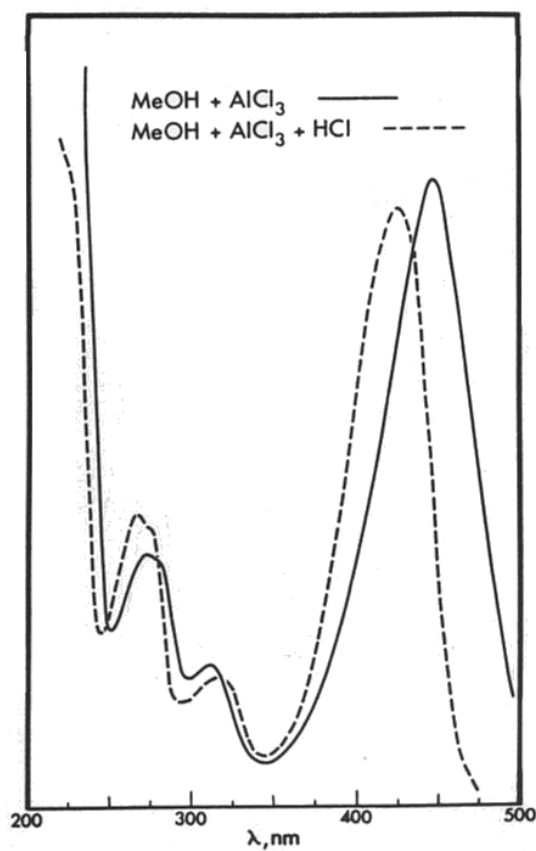
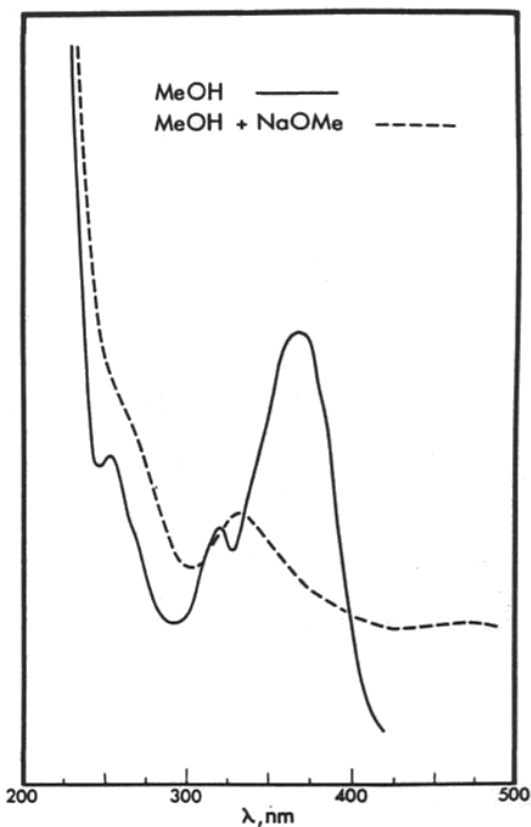
CHROMATOGRAPHIC DATA

Spot Appearance: (UV) fluorescent yellow
(UV/NH₃) fluorescent yellow

R_f Values: 0.25 (TBA), 0.03 (HOAc)

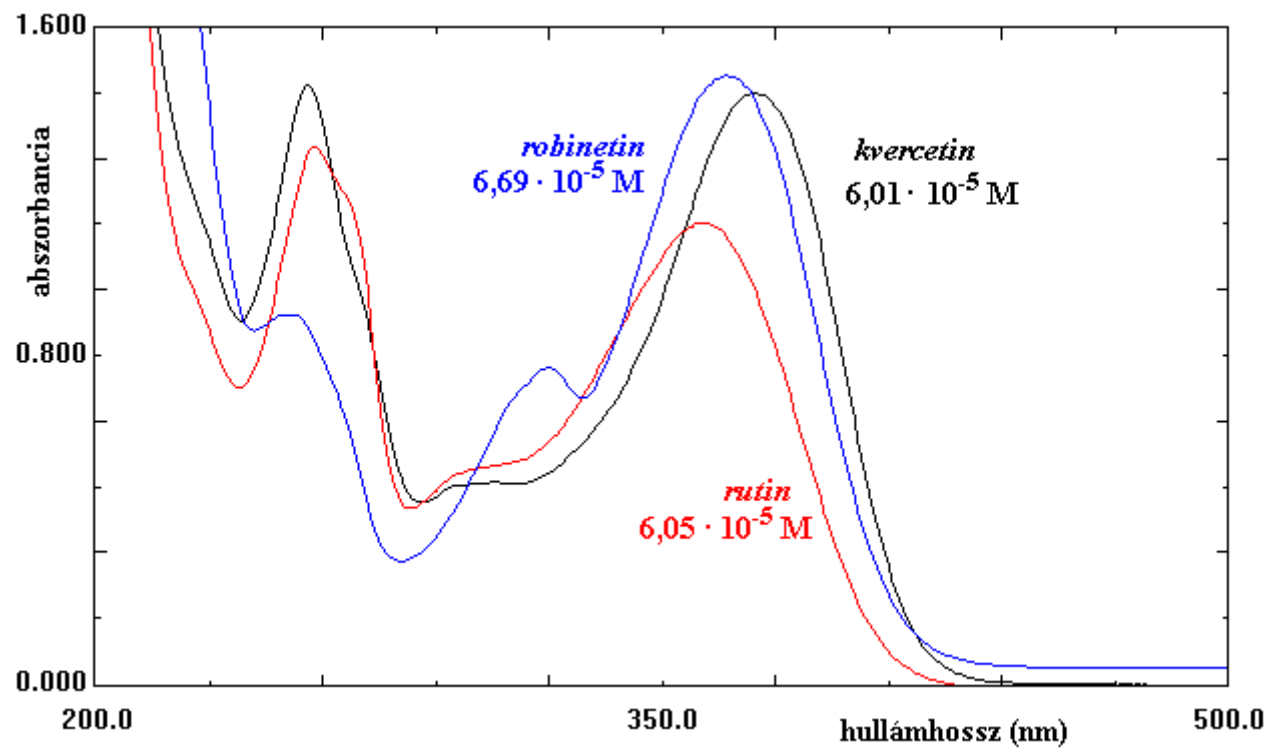
UV SPECTRAL DATA (λ_{max}, nm)

MeOH	252, 266sh, 320, 367
NaOMe	264sh, 333, 475 (dec.)
AlCl ₃	273, 281sh, 313, 447
AlCl ₃ /HCl	267, 275sh, 318, 426
NaOAc	257sh, 307sh, 346 (dec.)
NaOAc/H ₃ BO ₃	256sh, 316, 385, 462sh (Proc. II)

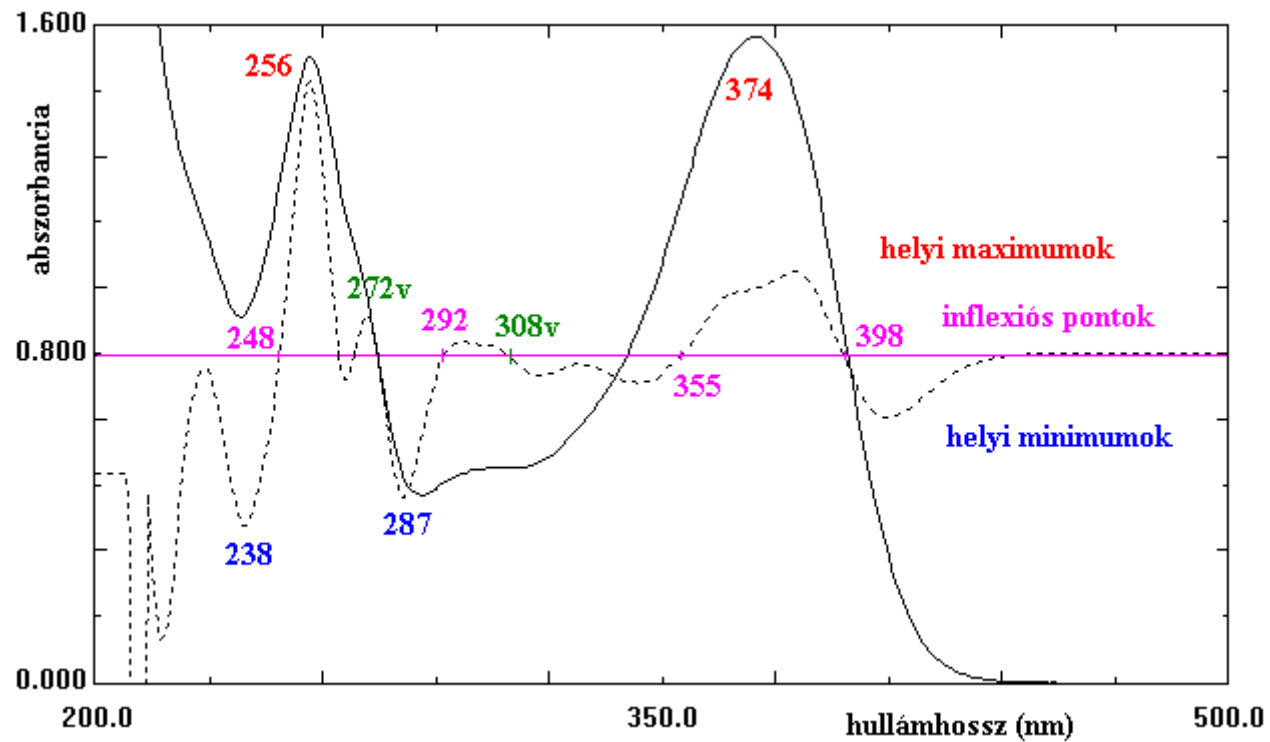


4. melléklet

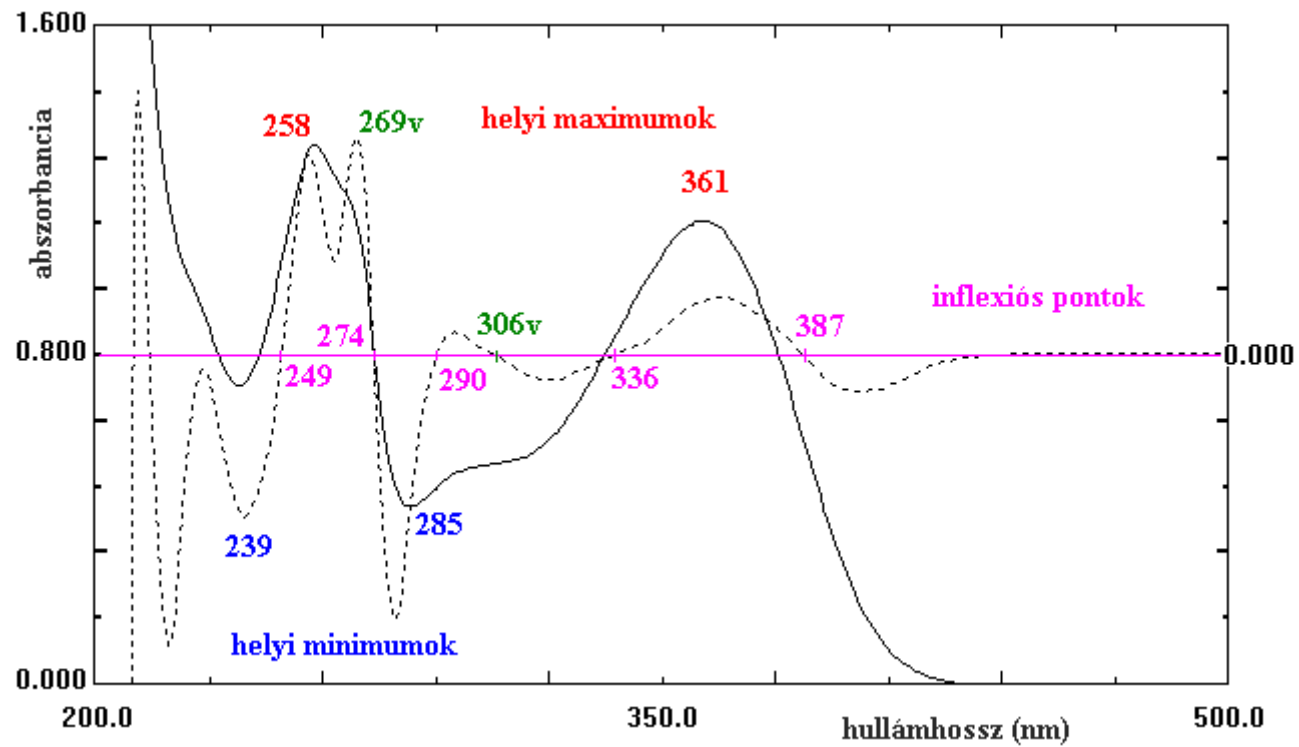
A robinetin különböző közegben felvett abszorpciós spektruma
(MABRY - MARKHAM - THOMAS 1970) alapján



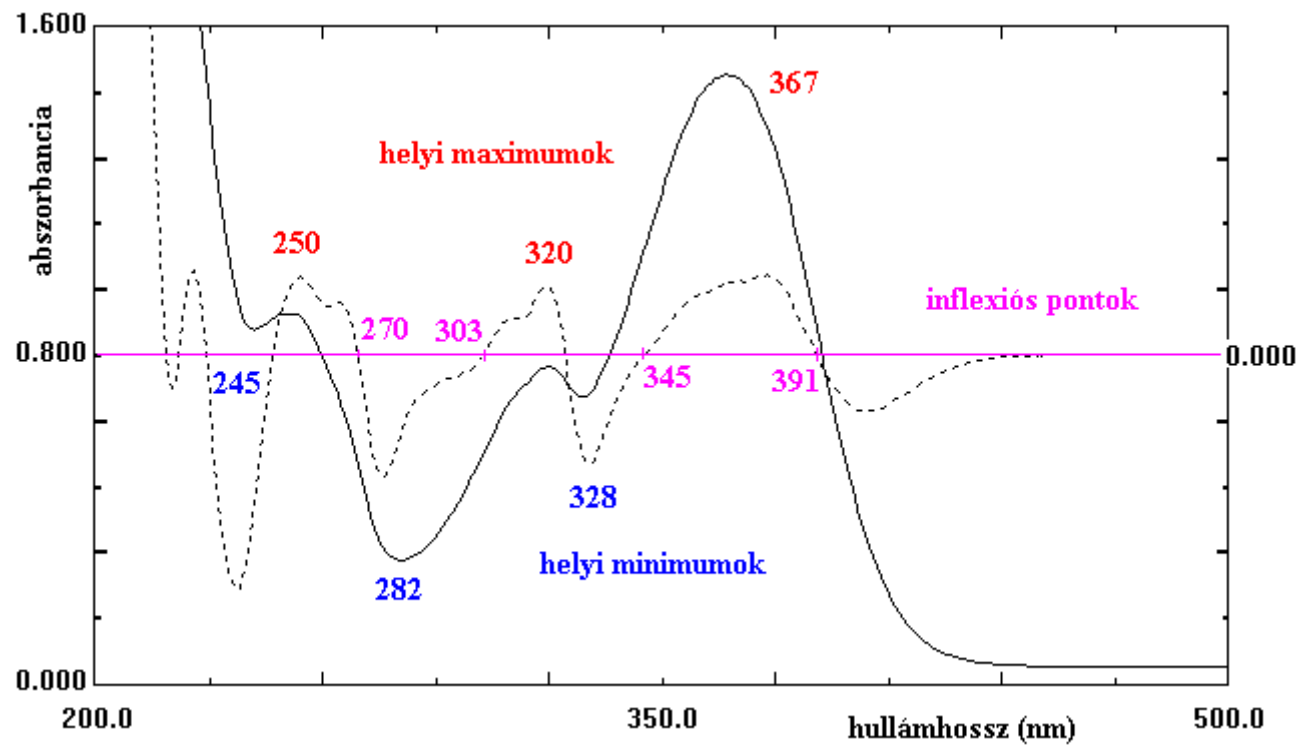
5. melléklet *A kvercetin, rutin és robinetin abszorpciós spektruma etanol:víz 1:1 térfogatarányú elegyében ($i = 0,2 \text{ M KCl}$)*



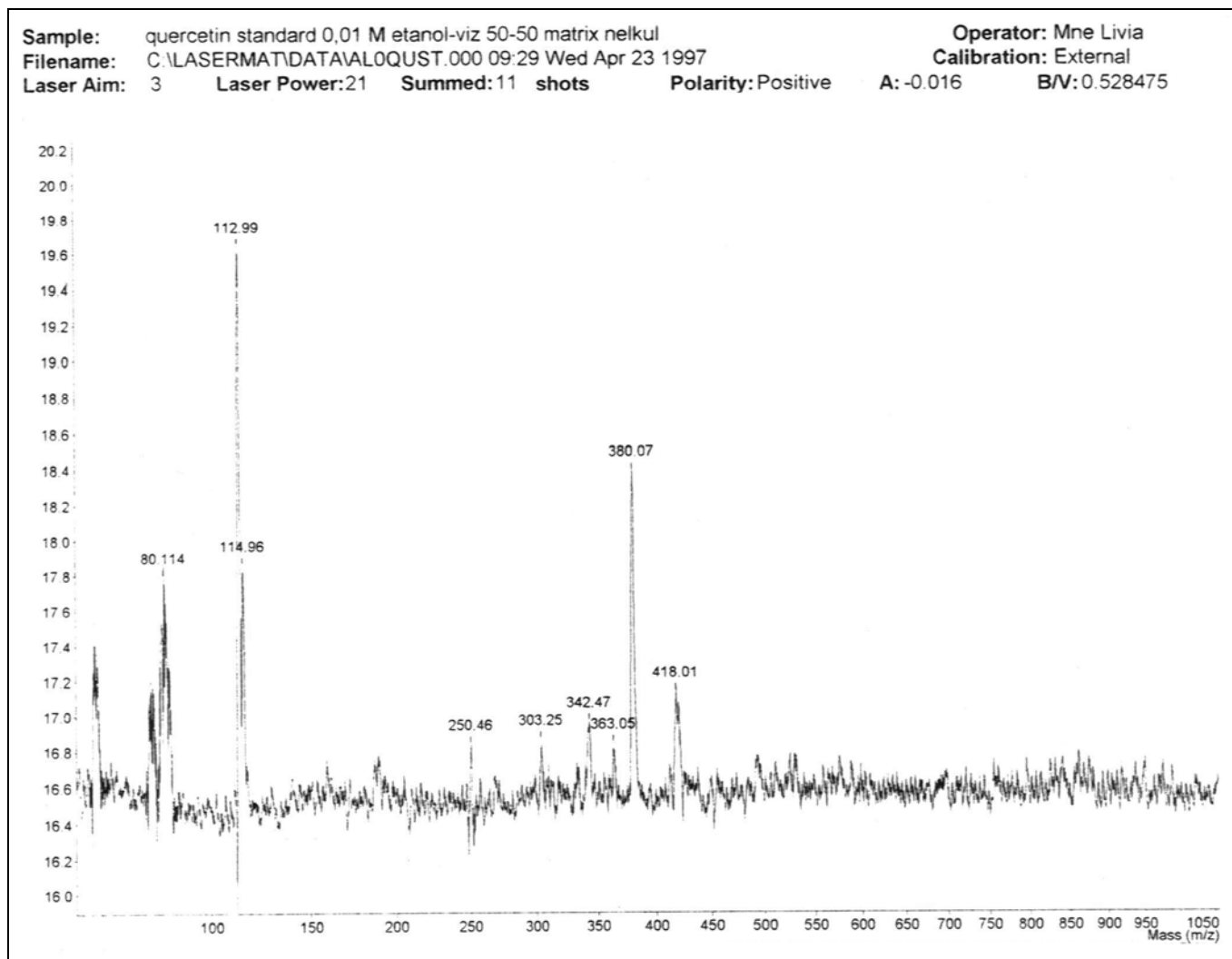
6. melléklet *A kvercetin abszorpciós spektruma 0,2 M KCl jelenlétében etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldatban (—) és a görbe második deriváltja (- - -) a jellegzetes hullámhossz adatokkal ($c_{\text{kvercetin}} = 6,48 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)*



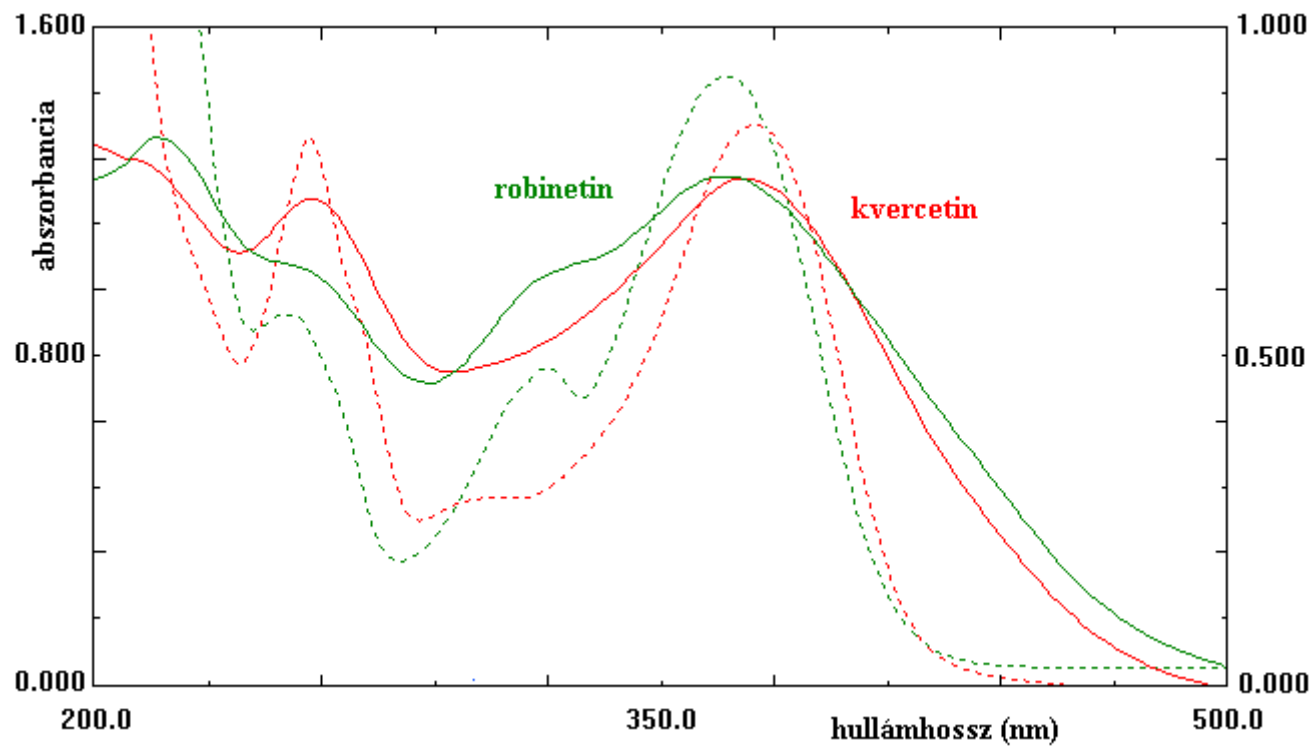
7. melléklet *A rutin abszorpciós spektruma 0,2 M KCl jelenlétében etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldatban (—) és a görbe második deriváltja (- - -) a jellegzetes hullámhossz adatokkal ($C_{\text{rutin}} = 6,05 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)*



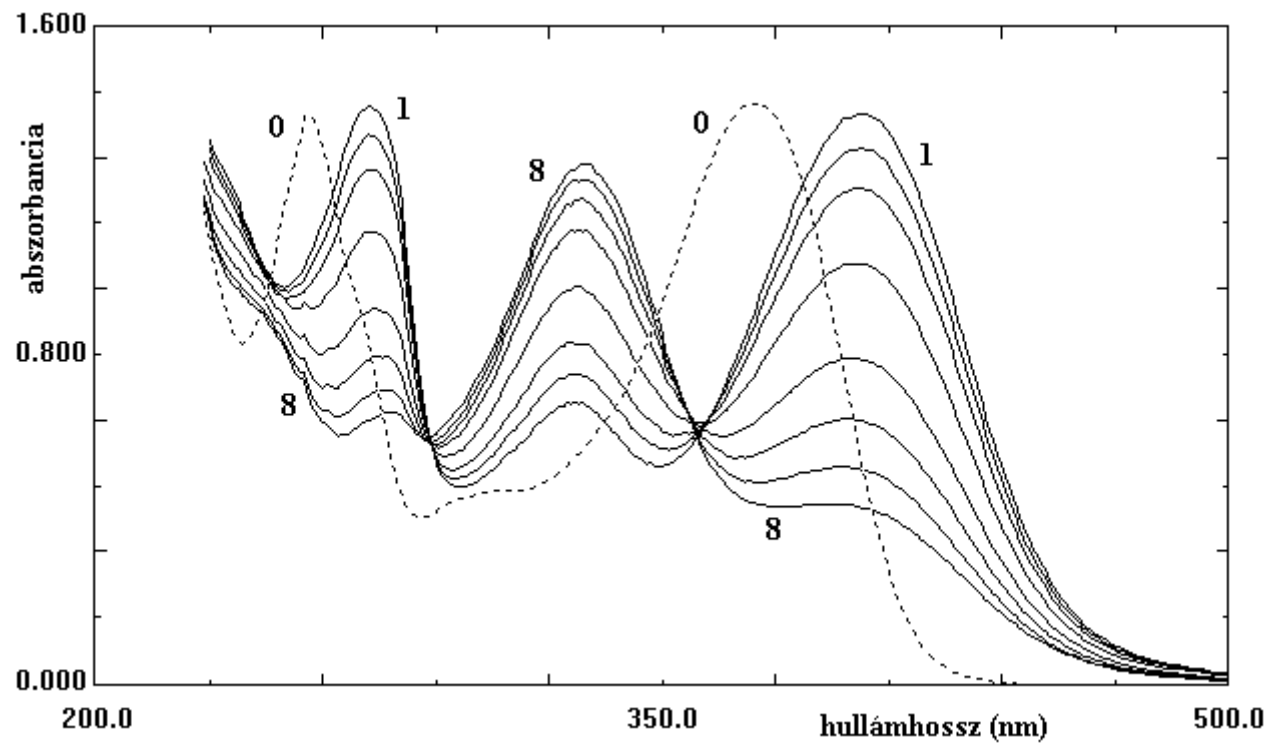
8. melléklet *A robinetin abszorpciós spektruma 0,2 M KCl jelenlétében etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldatban (—) és a görbe második deriváltja (- - -) a jellegzetes hullámhossz adatokkal ($C_{\text{robinetin}} = 6,69 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)*



9. melléklet *A kvercetin MALDI-tömegspektruma etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyében*



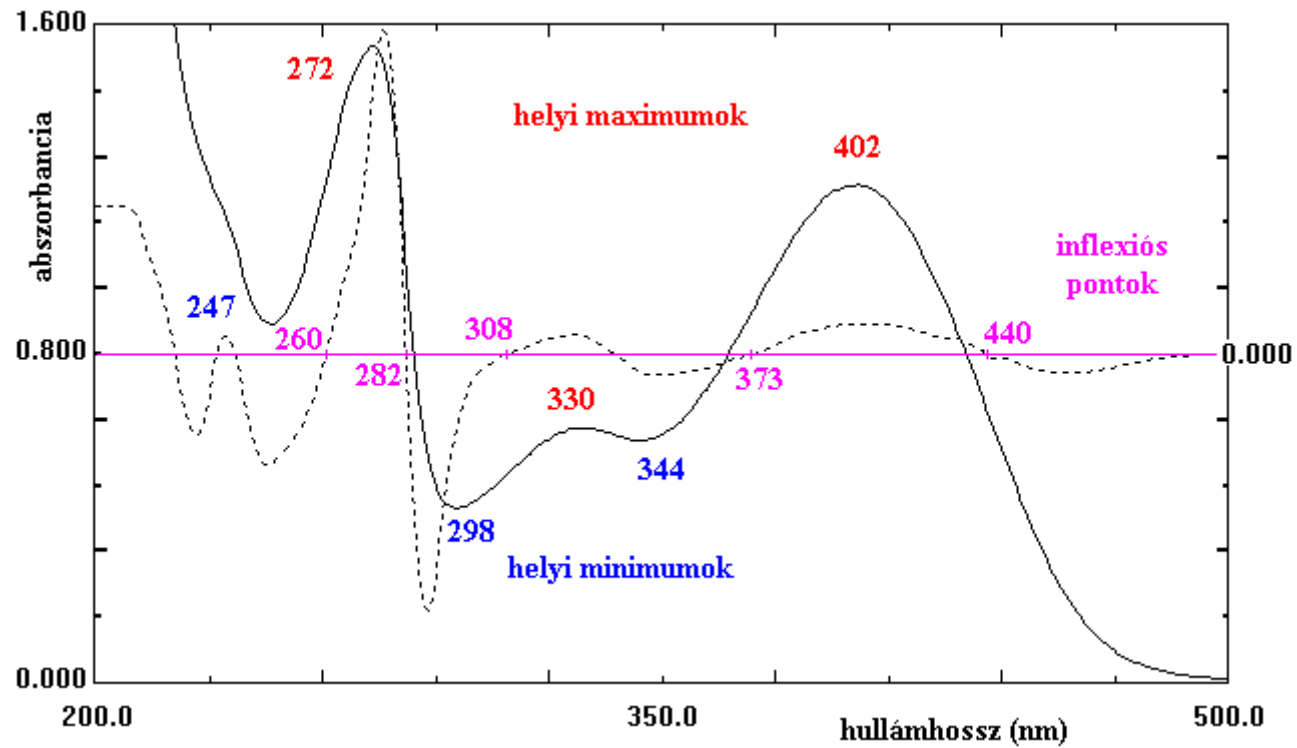
10. melléklet *A kvercetin és a robinetin abszorpciós spektruma etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyében (szaggatott vonal) és szilikagél rétegen impregnálva (folytonos vonal)*



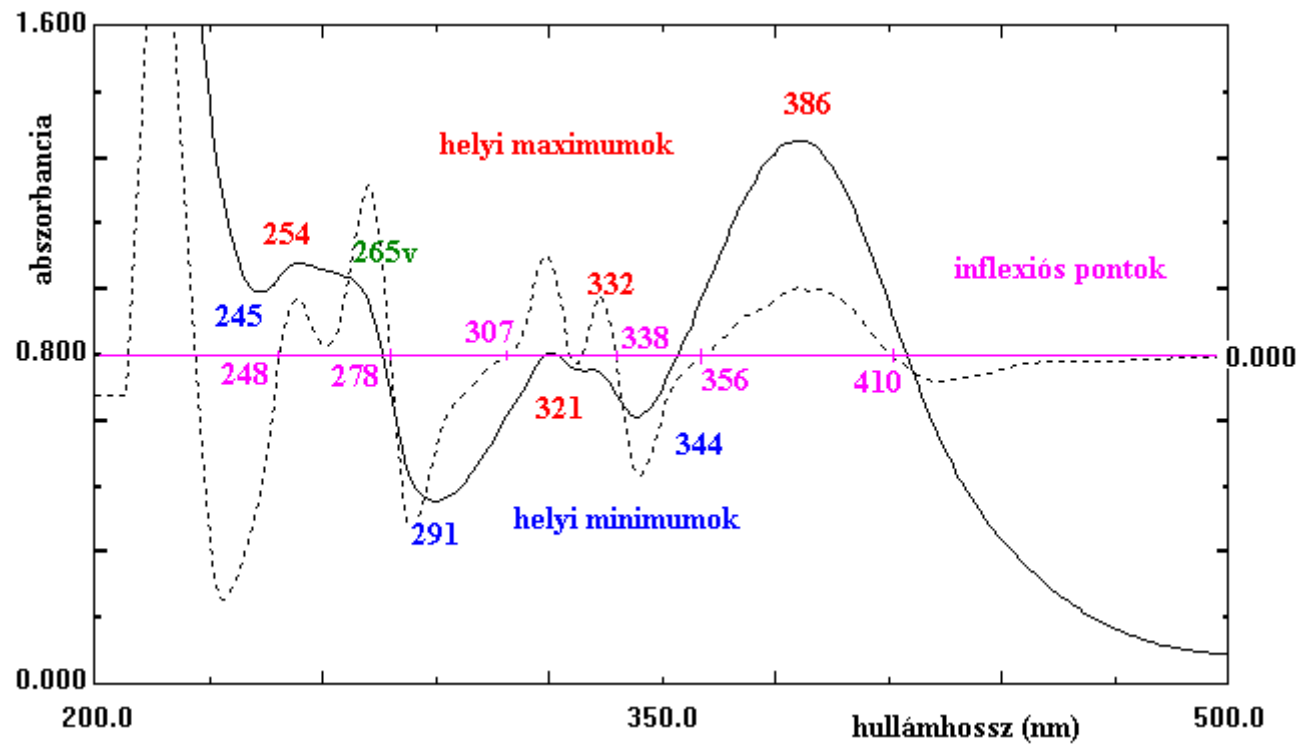
11. melléklet *A kvercetin spektrumának időbeli változása $0,01 \text{ mol/dm}^3 \text{ Na}_2\text{B}_2\text{O}_7$ jelenlétében etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben*
 ($C_{\text{kvercetin}} = 5,92 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$; **0**: bórax-mentes, **1-8** időpontok: $t = 3, 10, 20, 65, 120, 180, 240$ és 300 perc)

idő [perc]	[s]	abszorbancia	koncentráció [mol/dm ³]	$k = 1/t \cdot \ln c_0/c$	k (1/s)
		1,355	0,000059623		
2	120	1,289	5,67189E-05	0,000416123	4,17(± 0,07)·10 ⁻⁴
6	360	1,163	5,11746E-05	0,000424441	
10,5	612	1,044	4,59383E-05	0,000413876	
15	900	0,937	4,12301E-05	0,000409859	
20	1200	0,818	3,59938E-05	0,000420579	
33	1980	0,656	2,88655E-05	0,000366362	
45	2700	0,595	2,61813E-05	0,000304813	
60	3600	0,538	2,36732E-05	0,000256583	
90	5400	0,483	2,12531E-05	0,000191026	
150	9000	0,439	1,9317E-05	0,000125229	
200	12000	0,414	1,82169E-05	9,88076E-05	

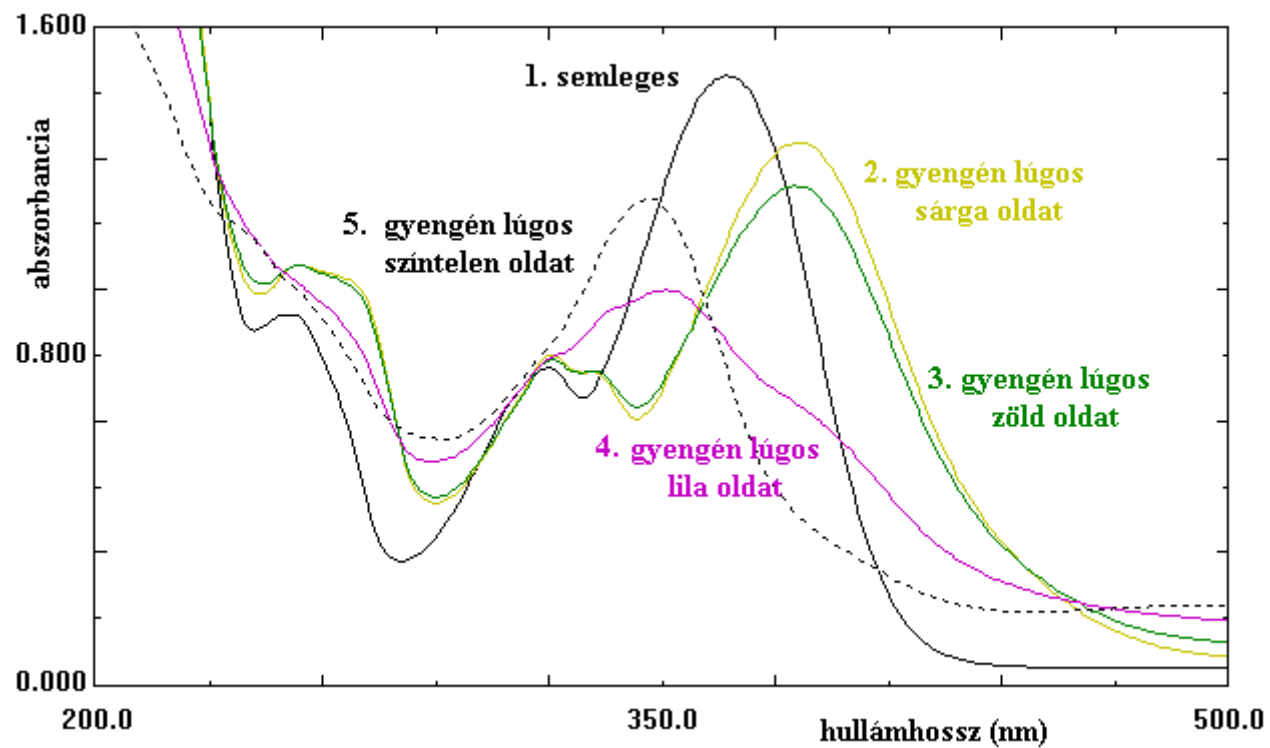
12. melléklet *A kvercetin átalakulásának kinetikai számítása gyengén lúgos Na₂HPO₄-pufferben (pH = 8,36) az anion fényelnyelési hullámhosszán (276 nm)*



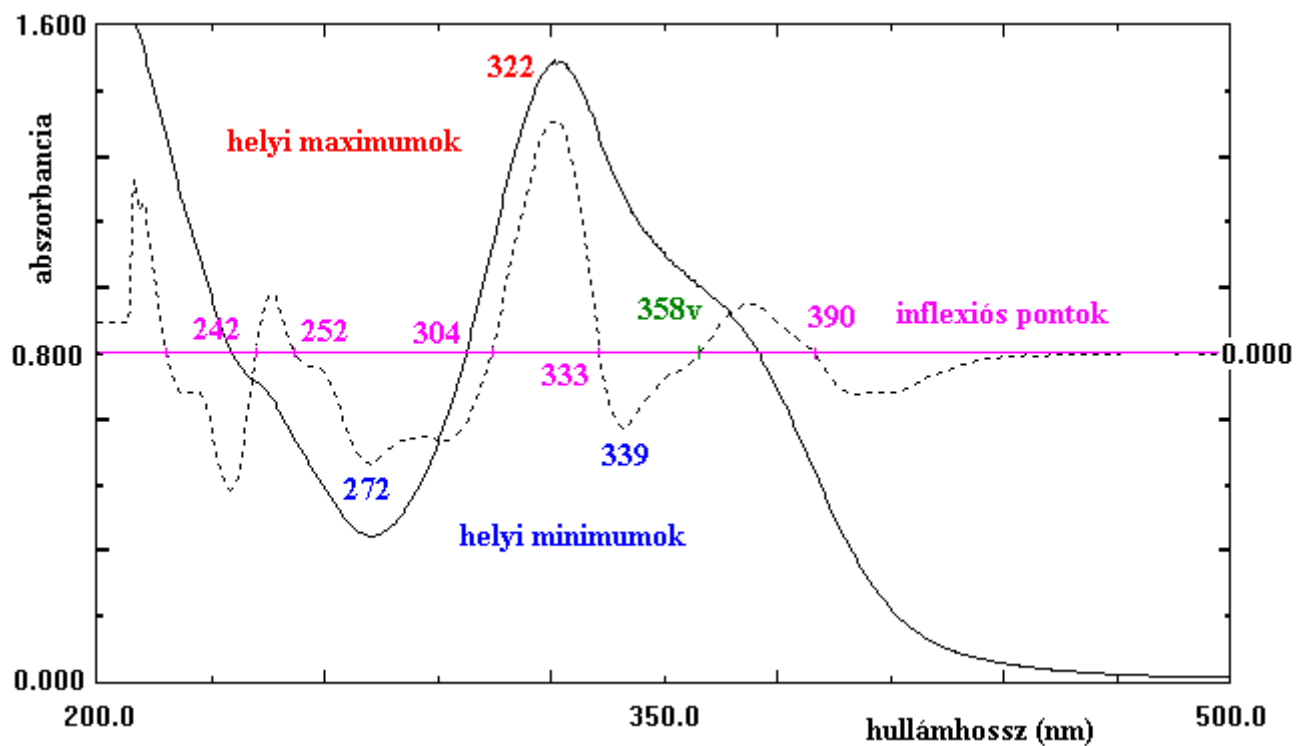
13. melléklet *A rutin abszorpciós spektruma 0,013 M Na₂HPO₄ jelenlétében (pH = 8,27) etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldatban (—) és a görbe második deriváltja (- -) a jellemző hullámhossz adatokkal (C_{rutin} = 6,04·10⁻⁵ mol/dm³)*



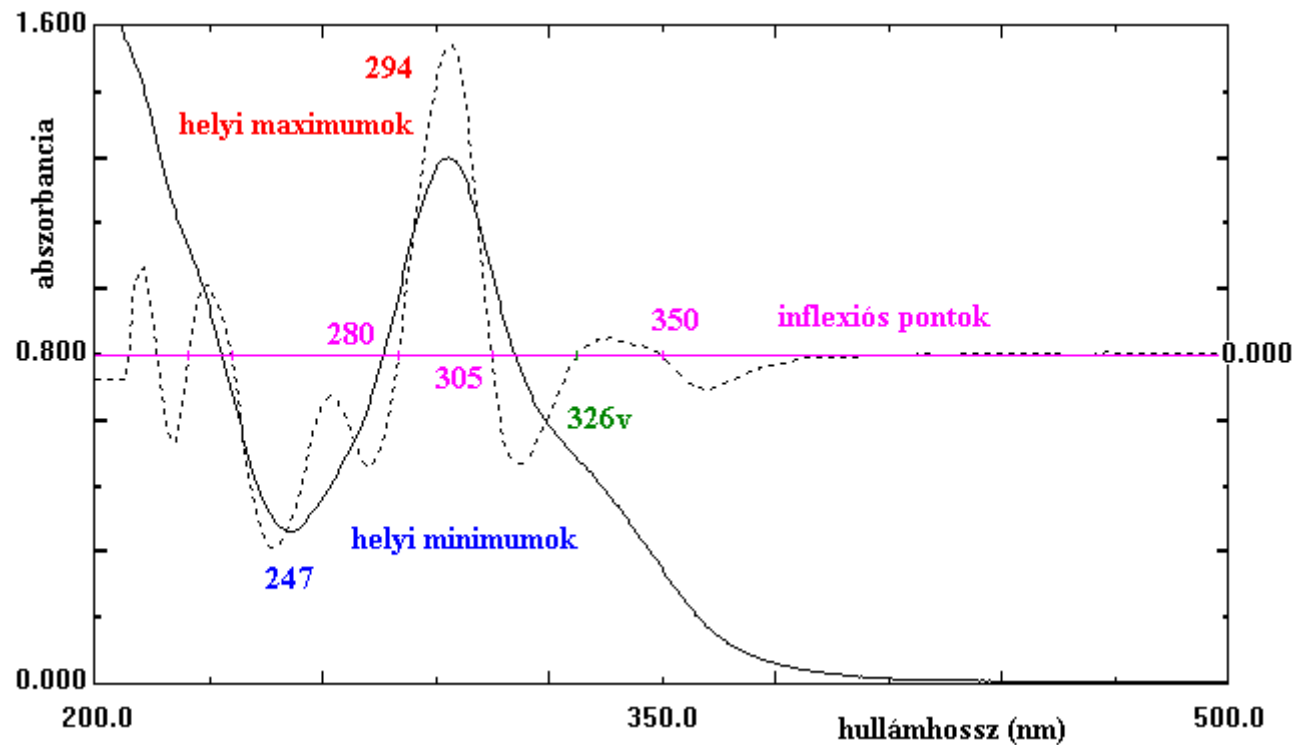
14. melléklet A robinetin abszorpciós spektruma 0,013 M KH_2PO_4 - Na_2HPO_4 puffert tartalmazó etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldatban ($\text{pH} = 7,6$) (—) és a görbe második deriváltja (- - -) a jellemző hullámhossz adatokkal ($C_{\text{robinetin}} = 6,69 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)



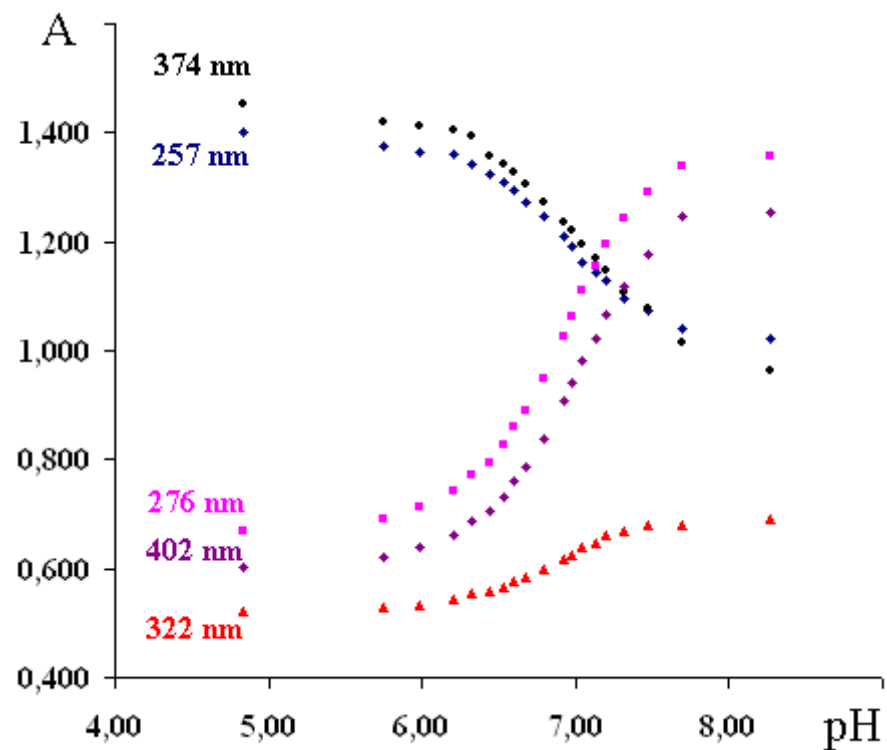
15. melléklet *A robinetin abszorpciós spektrumának időbeli változása 0,013 M $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ puffert tartalmazó etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben ($\text{pH} = 7,6$) ($C_{\text{robinetin}} = 6,69 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)*



16. melléklet A kvercetin abszorpciós spektruma $4,37 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ kálium-hidroxid jelenlétében etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldatban (—) és a görbe második deriváltja (- -) a jellemző hullámhossz adatokkal



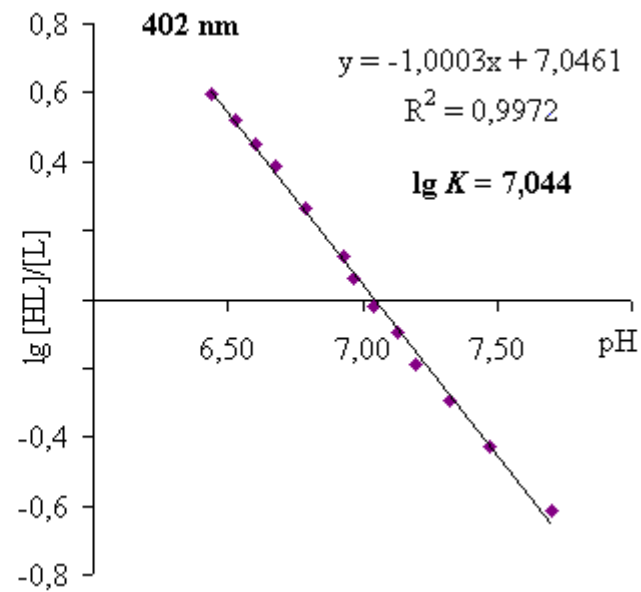
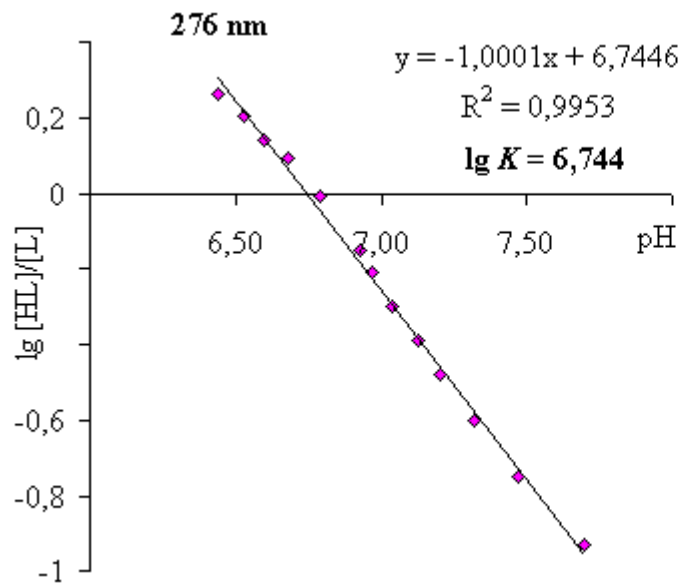
17. melléklet A kvercetin abszorpciós spektruma bázissal ($4,37 \cdot 10^{-4}$ M KOH, vagy $0,013$ M Na_2HPO_4) való kölcsönhatás után megsavanyított ($2,06 \cdot 10^{-3}$ M HCl) etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben (—) és második deriváltja (- - -) a jellemző hullámhossz adatokkal



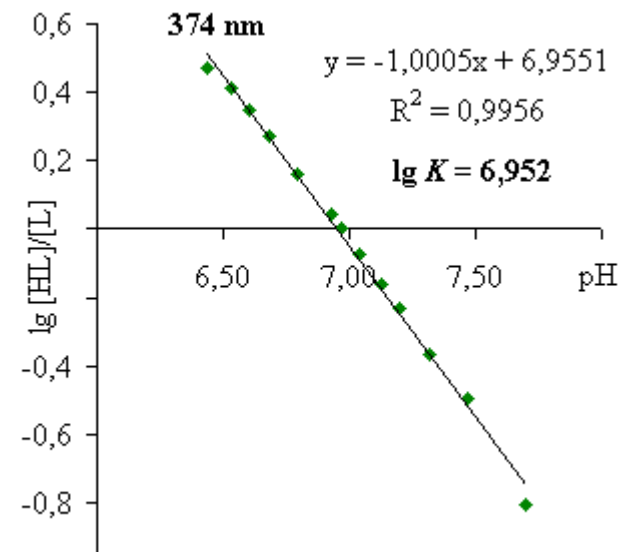
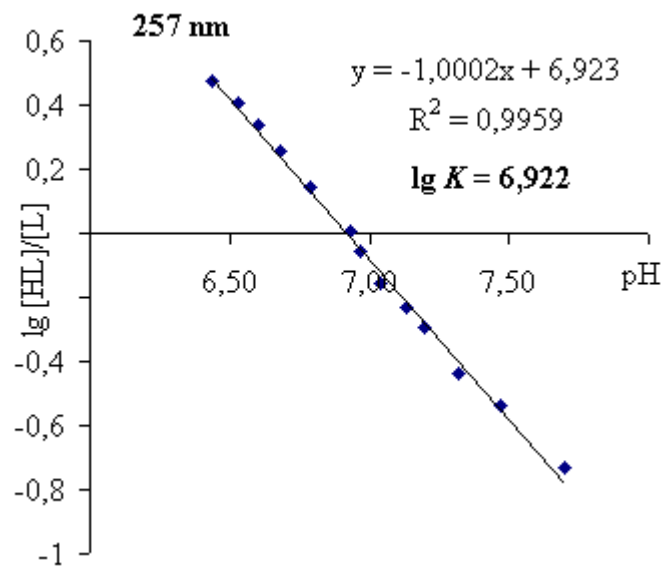
18. melléklet *A kvercetin fényelnyelésének változása foszfátpuffer tartalmú etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben adott hullámhosszakon a pH függvényében*
 ($C_{\text{kvercetin}} = 6,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, a pufferek összeállítása: KH_2PO_4 és Na_2HPO_4 különböző arányú keverésével)

pH	257 nm	276 nm	322 nm	374 nm	402 nm	257 nm	276 nm	322 nm	374 nm	402 nm
	abszorbancia					$\lg [HL]/[L] = \lg(A_L - A)/(A - A_{HL})$				
4,84	1,402	0,668	0,523	1,451	0,601					
5,75	1,375	0,690	0,528	1,421	0,620					
5,98	1,363	0,712	0,534	1,413	0,638					
6,20	1,360	0,743	0,545	1,405	0,662					
6,33	1,342	0,770	0,553	1,393	0,686					
6,44	1,324	0,795	0,559	1,358	0,705	0,475903	0,262572	0,267606	0,470917	0,599034
6,53	1,309	0,826	0,564	1,344	0,732	0,40565	0,204824	0,22687	0,414973	0,521618
6,60	1,293	0,861	0,576	1,326	0,759	0,335792	0,141674	0,132626	0,347415	0,450986
6,68	1,273	0,889	0,583	1,305	0,785	0,253851	0,092232	0,079181	0,2733	0,3878
6,79	1,245	0,948	0,597	1,271	0,839	0,145815	-0,0104	-0,02633	0,160579	0,267246
6,93	1,208	1,027	0,619	1,234	0,908	0,009143	-0,1488	-0,19498	0,043622	0,126071
6,97	1,190	1,061	0,626	1,221	0,941	-0,05677	-0,21033	-0,25118	0,003113	0,061242
7,04	1,163	1,109	0,638	1,196	0,982	-0,15712	-0,30103	-0,35286	-0,0749	-0,01844
7,13	1,144	1,153	0,647	1,168	1,023	-0,23016	-0,39008	-0,4355	-0,1638	-0,09844
7,20	1,128	1,194	0,660	1,148	1,067	-0,29419	-0,4806	-0,56988	-0,22934	-0,18622
7,32	1,095	1,243	0,669	1,108	1,118	-0,43778	-0,60314	-0,67897	-0,36946	-0,29305
7,47	1,075	1,292	0,680	1,076	1,177	-0,53646	-0,75095	-0,84295	-0,49601	-0,42864
7,70	1,042	1,338	0,681	1,016	1,245	-0,73391	-0,9316	-0,86034	-0,80889	-0,61429
8,27	1,022	1,358	0,691	0,962	1,255					

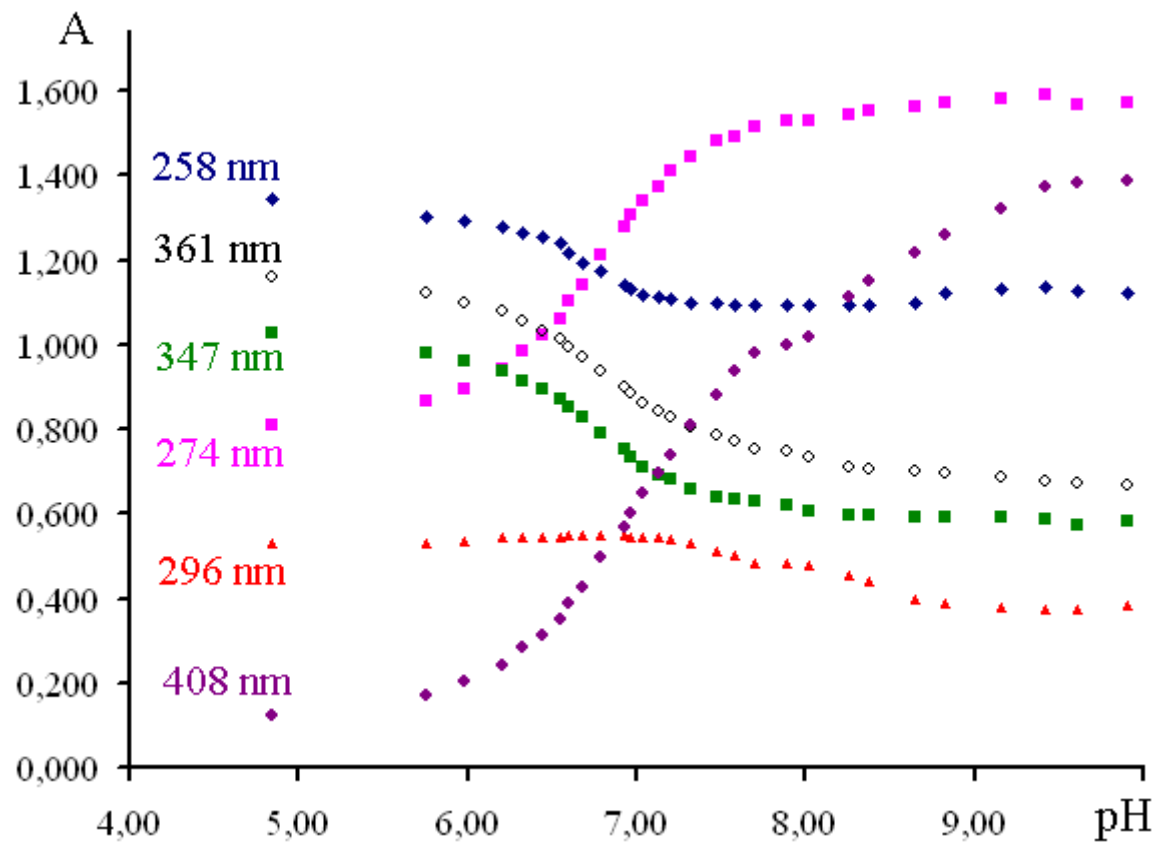
19. melléklet *A kvercetin protonálódási állandójának meghatározása során mért és 1 cm rétegvastagságra számított fényelnyelési adatok és a számított protonált - deprotonált részecske koncentrációarányának logaritmus*



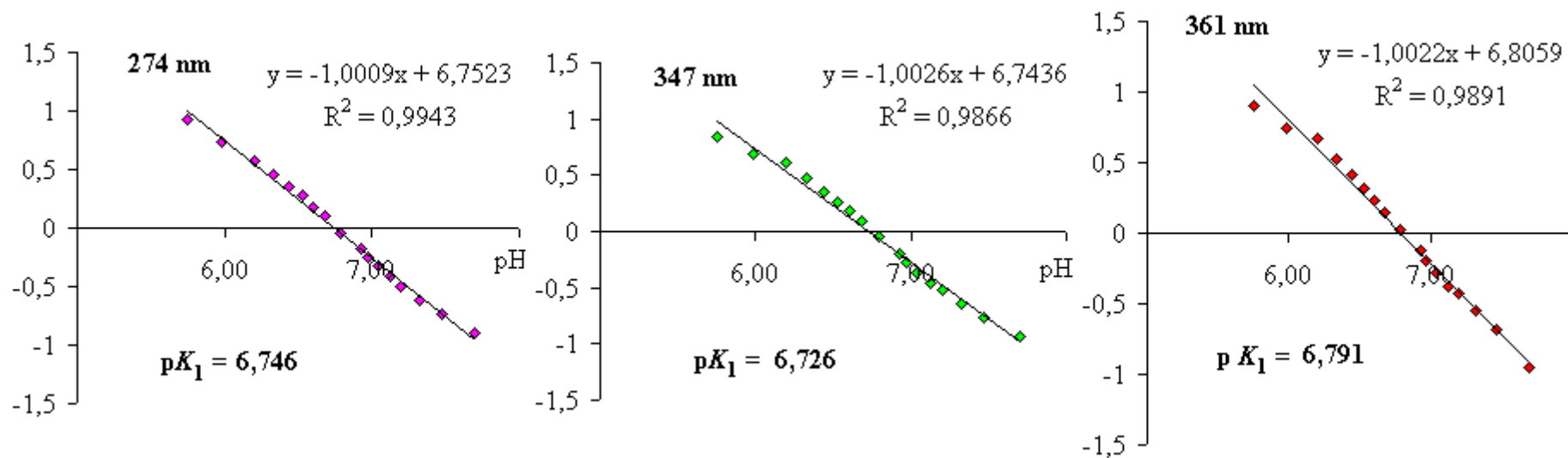
20. melléklet *A kvercetin protonálódási állandójának grafikus meghatározása különböző hullámhosszak esetén*



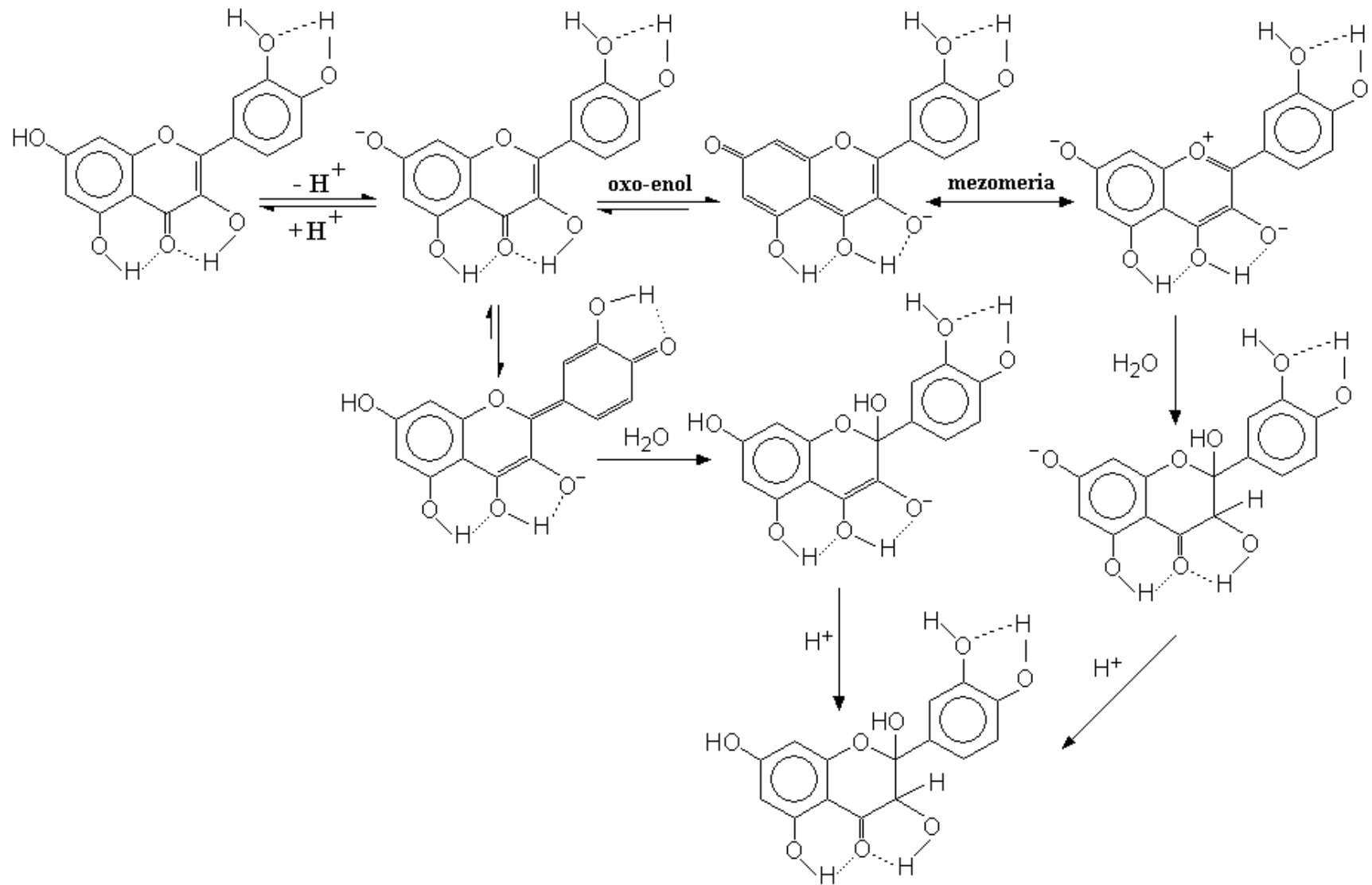
21. melléklet *A kvercetin protonálódási állandójának grafikus meghatározása különböző hullámhosszak esetén*



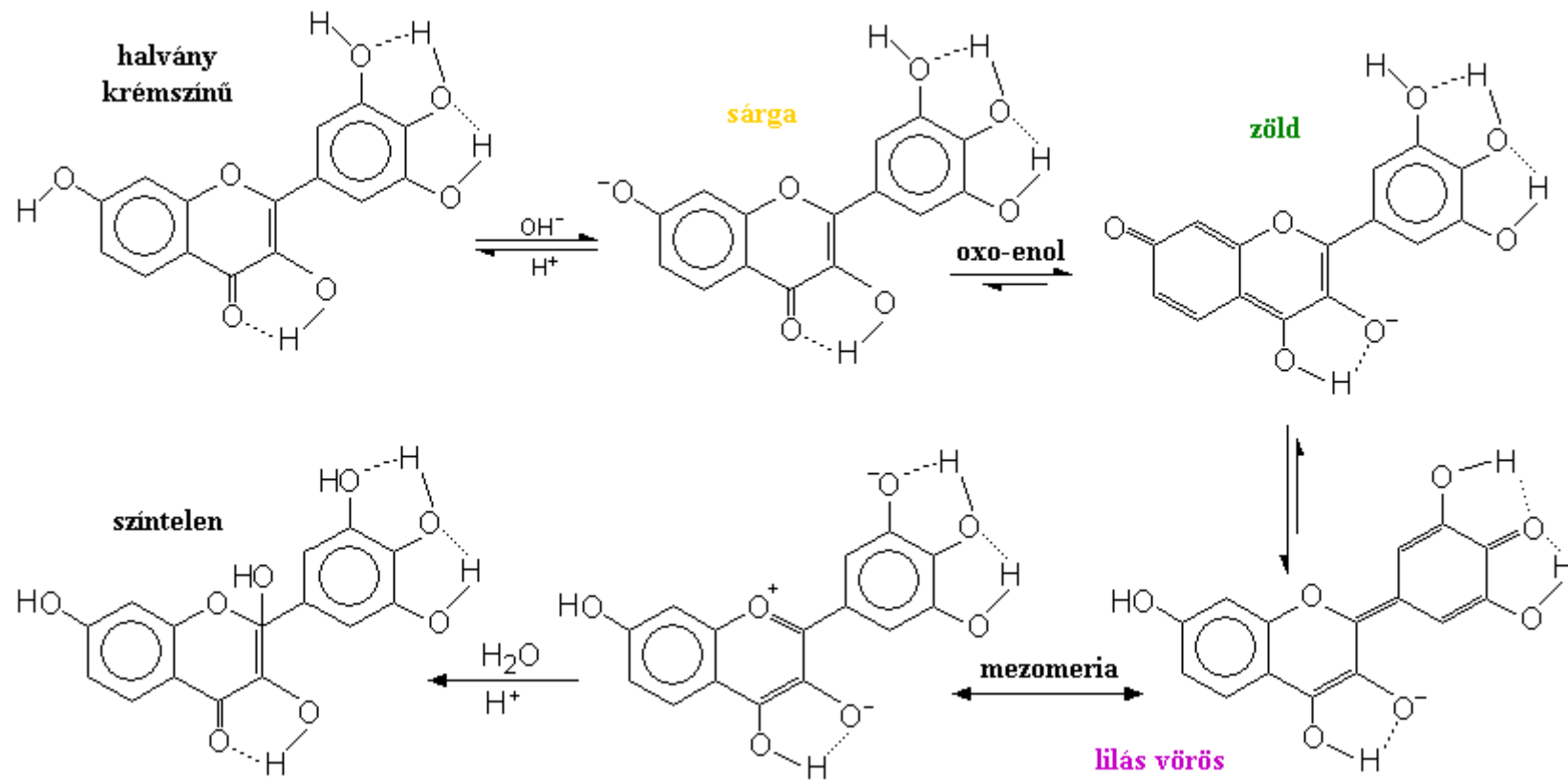
22. melléklet *A rutin fényelnyelésének változása foszfátpuffer tartalmú etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben adott hullámhosszokon a pH függvényében*
 ($C_{\text{rutin}} = 6,04 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, a pufferek összeállítása: KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 és KOH különböző arányú keverésével)



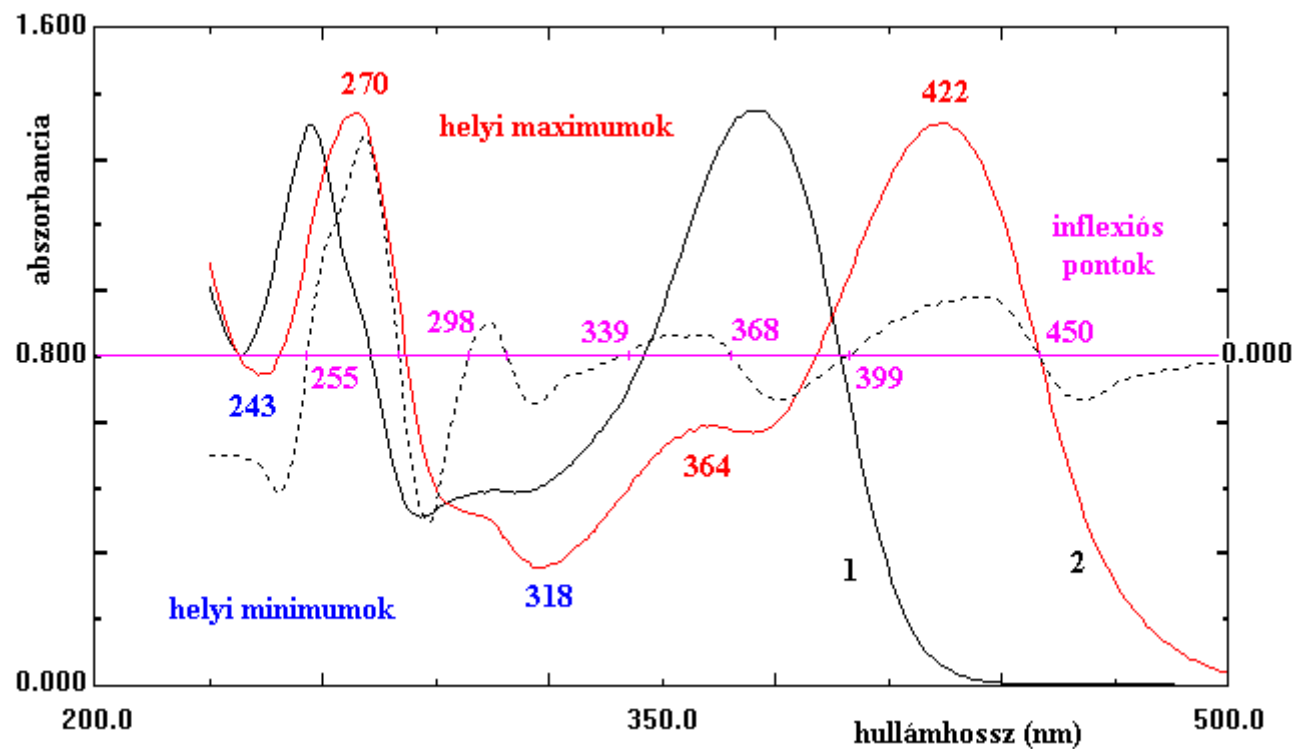
23. melléklet *A rutin első disszociációs állandójának grafikus meghatározása különböző hullámhosszak esetén*



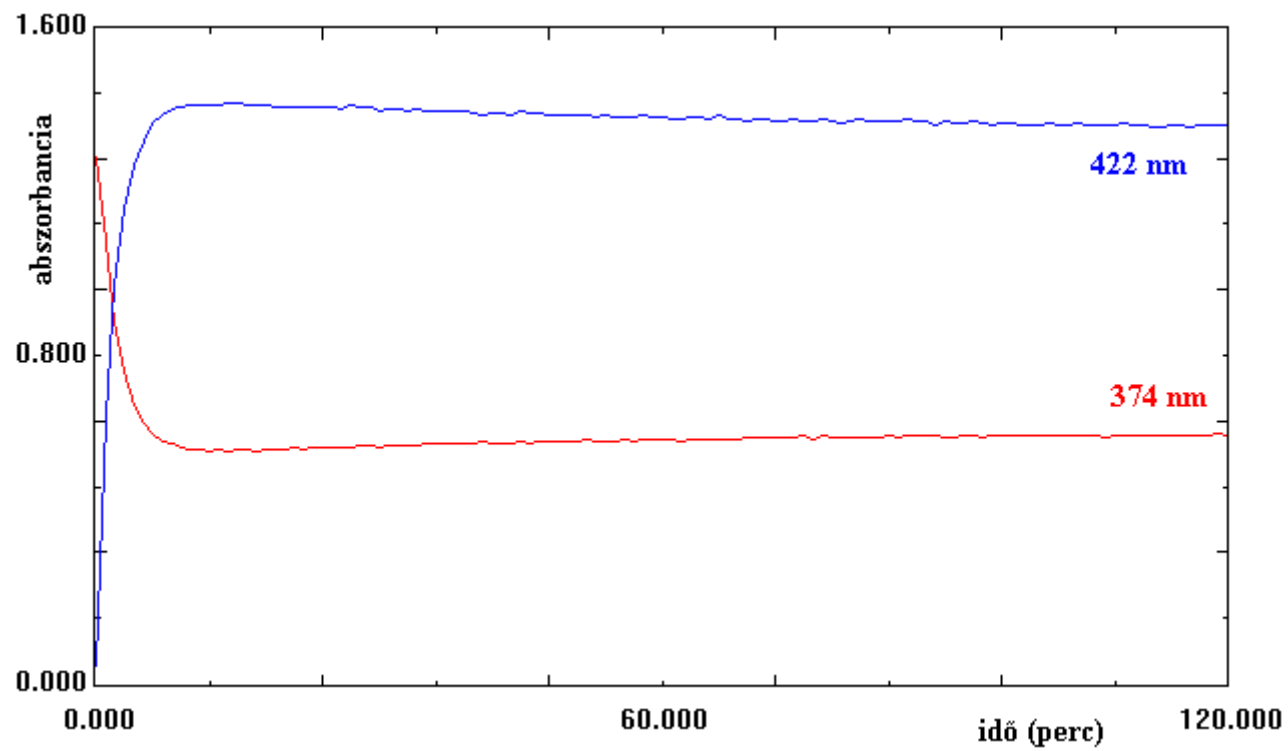
24. melléklet *A kvercetin átalakulásának lépései lúgos kémhatású oldatban*



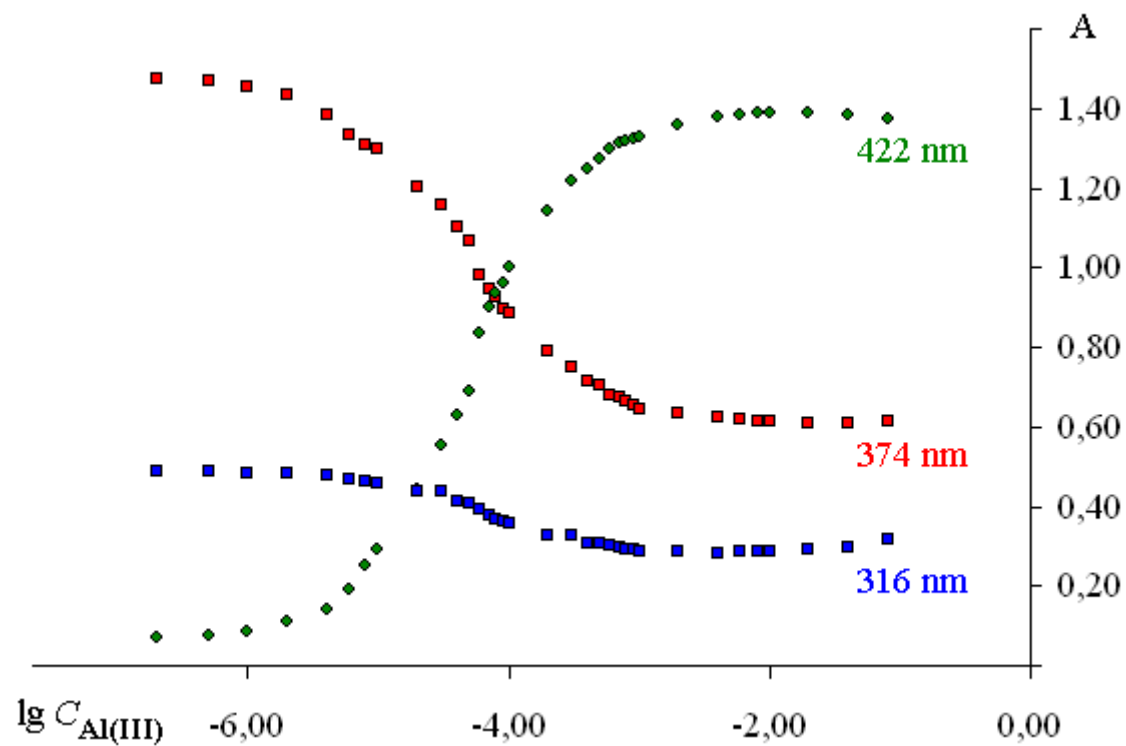
25. melléklet *A robinetin átalakulásának lépései lúgos kémhatású oldatban*



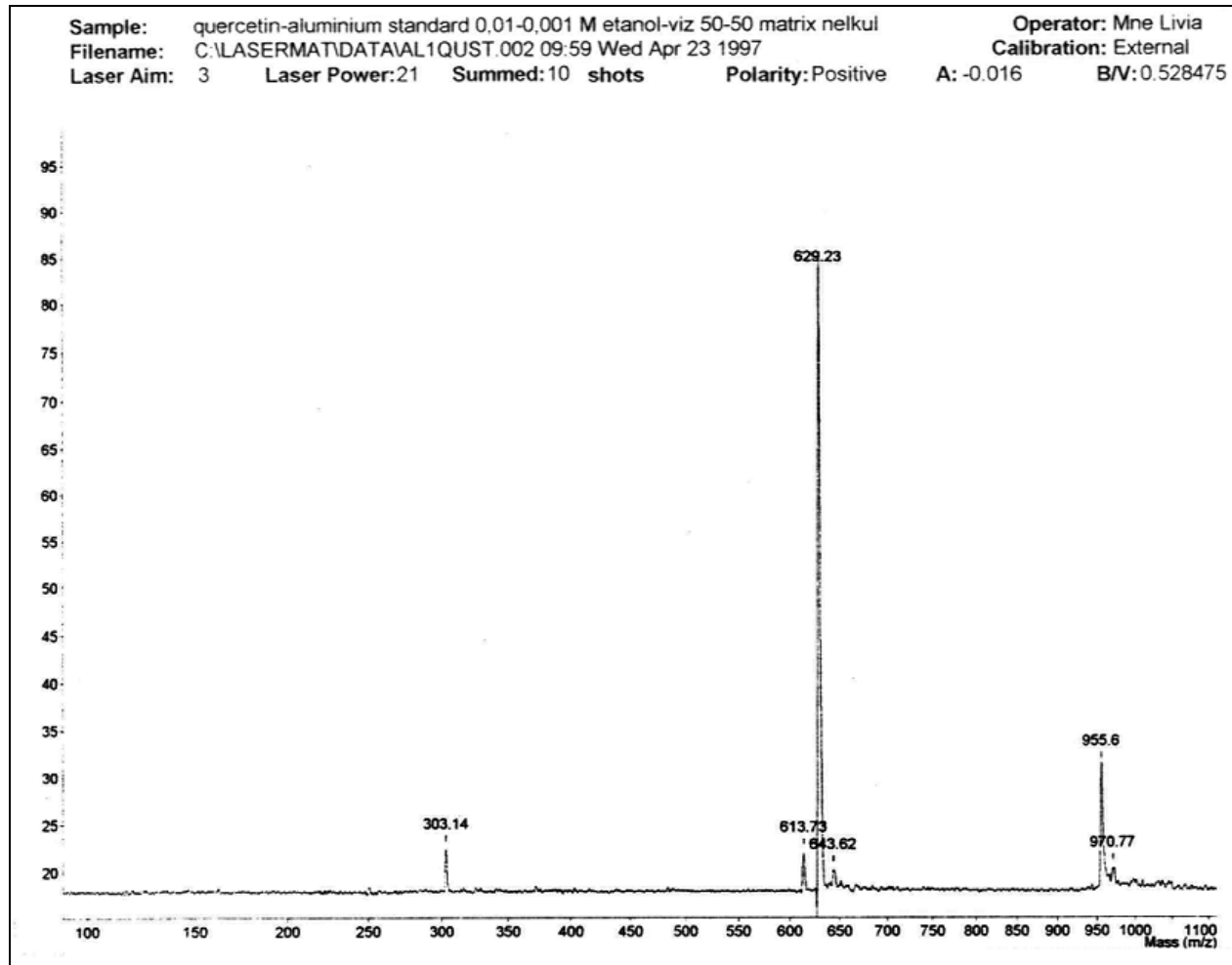
26. melléklet *A kvercetin (1) és alumínium-komplexének (2) abszorpciós spektruma etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben 0,2 mol/dm³ kálium-klorid alapelektrolit jelenlétében és a komplex második deriváltja (- - -)*
 ($C_{\text{kvercetin}} = 5,81 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $[\text{Al}^{3+}] = 4,02 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)



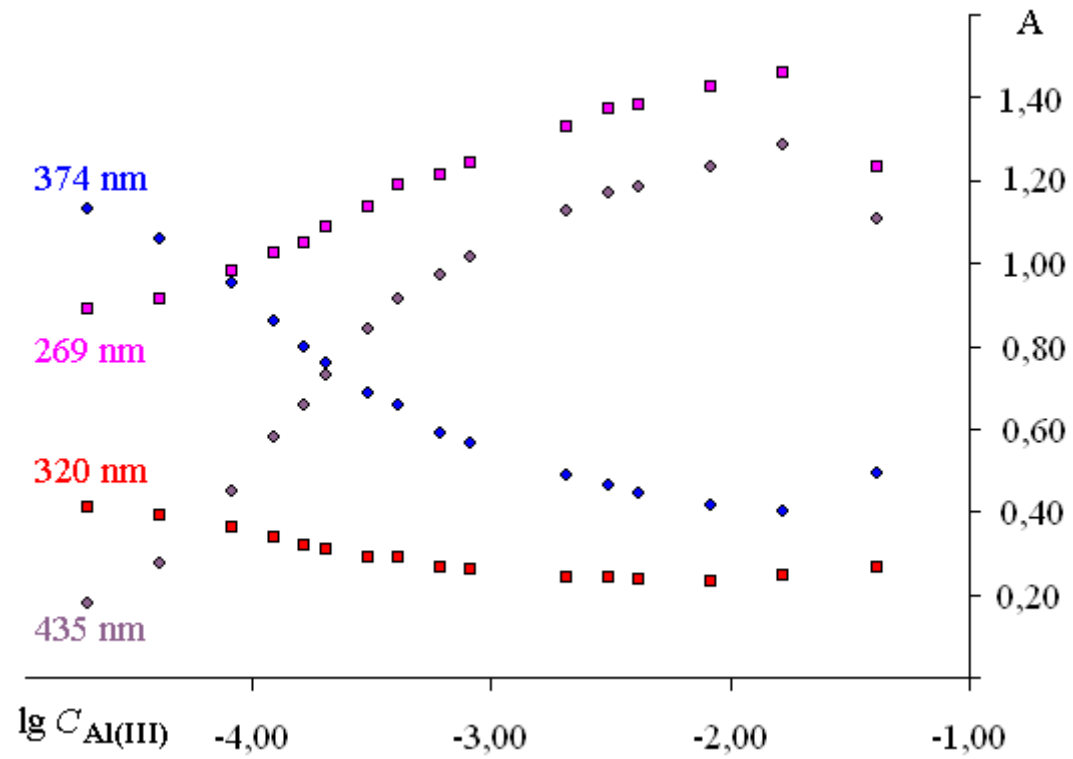
27. melléklet *Az alumínium-kaempferin komplex kialakulásának időfüggése ($C_{\text{kaempferin}} = 5,96 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $[\text{Al}^{3+}] = 8,02 \cdot 10^{-2} \text{ mol/dm}^3$)*



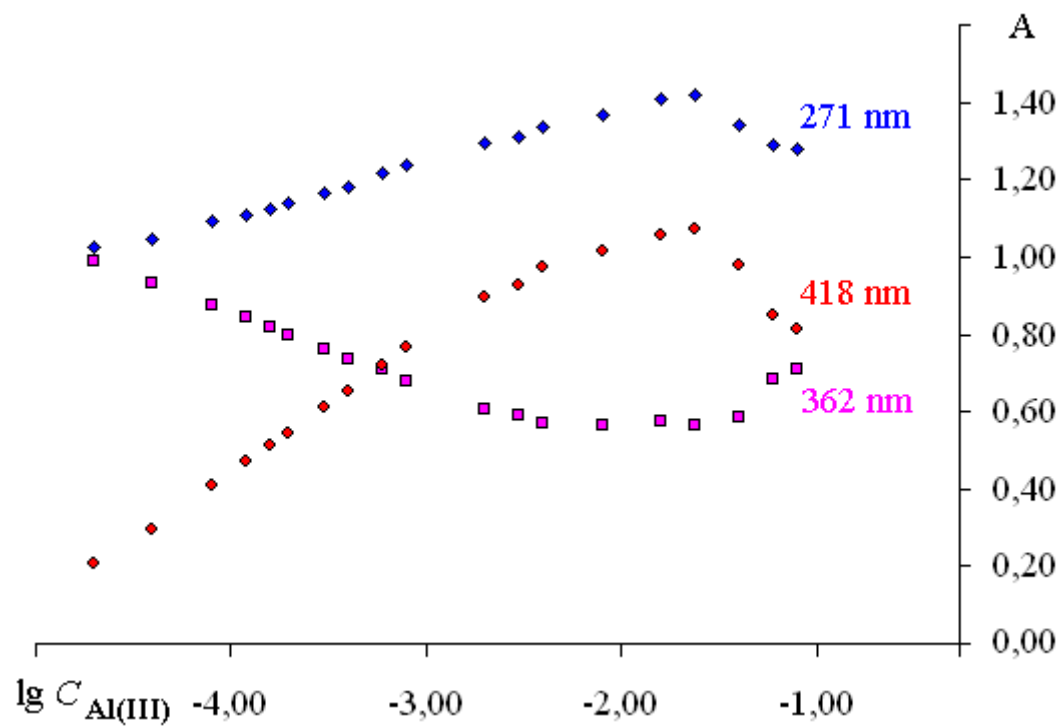
28. melléklet Az alumínium-kvercetin-komplex képződési görbéje az Al(III)-koncentráció függvényében
 ($C_{\text{kvercetin}} = 5,91 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $i = 0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$)



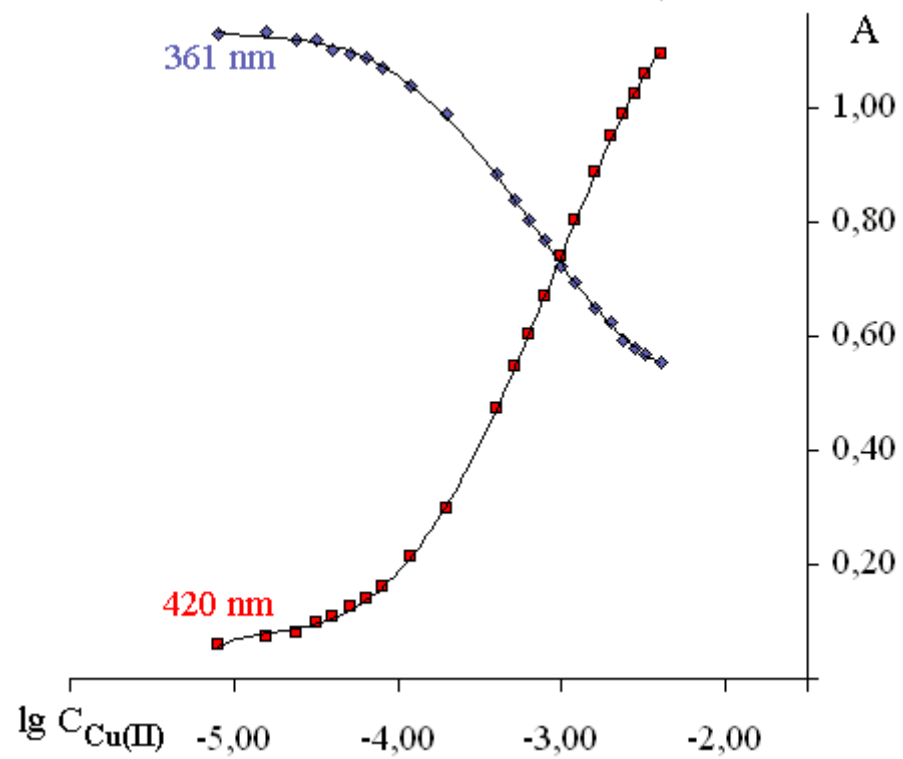
29. melléklet *Alumínium-kvercetin-komplex AlQ_2^+ összetétele etanol-víz elegyben a fémion:ligandum=1:10 koncentráció-arányú oldatából készített MALDI-tömegspektrumon*



30. melléklet *Az alumínium-kvercetin-komplex képződése különböző hullámhosszakon mért abszorpció alapján*
 ($C_{\text{kvercetin}} = 5,59 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KAc:HAc} = 4:1$, $\text{pH} = 5,15$)

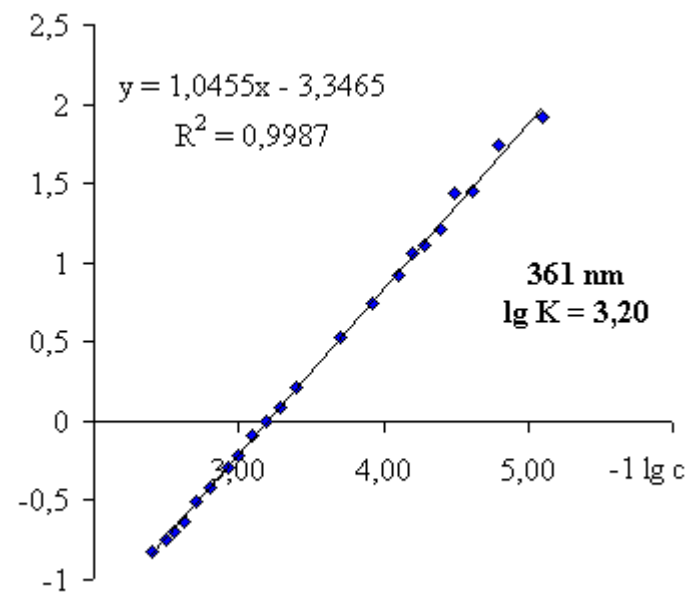
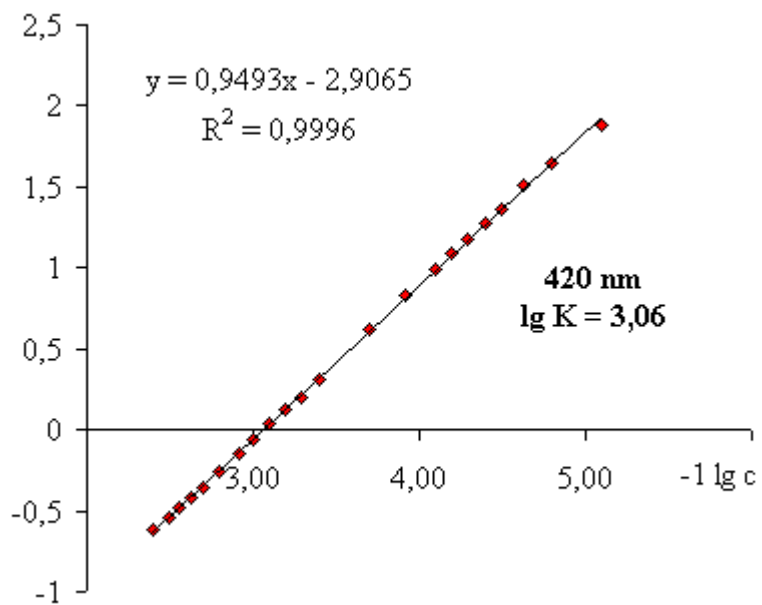


31. melléklet *A rutin alumínium-komplexének kialakulása különböző hullámhosszokon mért abszorpció alapján, etanol:víz = 1:1 térfogatarányú oldószerkegyben (C_{rutin} = 5,72 · 10⁻⁵ mol/dm³, 0,1 mol/dm³ KAc:HAc = 4:1, pH = 5,44)*



32. melléklet *A rutin réz(II)-komplexének képződési görbéje 0,1 mol/dm³ ecetsav - kálium-acetát puffert tartalmazó etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben (pH = 5,22)*

(C_{rutin} = 6,07 · 10⁻⁵ mol/dm³, KAc:HAc = 4:1)

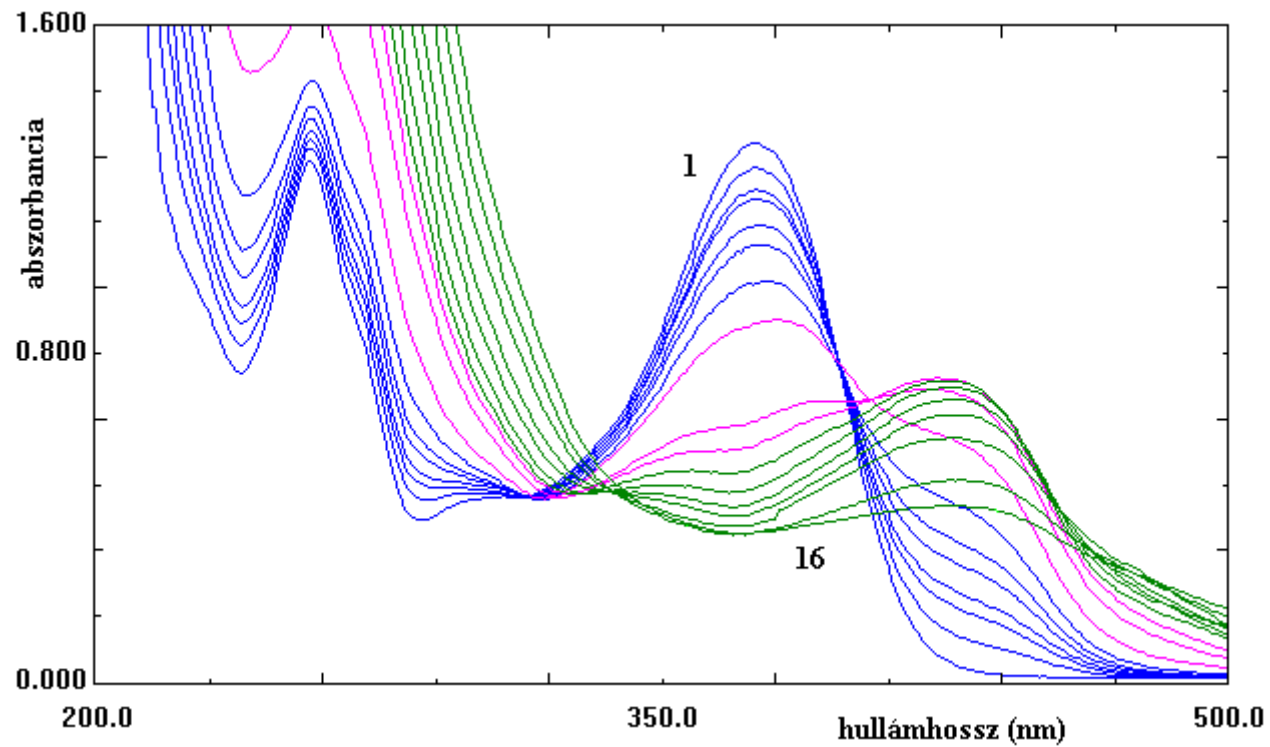


33. melléklet *Cu(II)-rutin-komplex stabilitási állandójának és összetételének megállapítása különböző hullámhosszakon mért fényelnyelési adatokból*

($C_{\text{rutin}} = 6,07 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ KAc:HAc} = 4:1$ (pH = 5,22), etanol:víz = 1:1 térfogatarány)

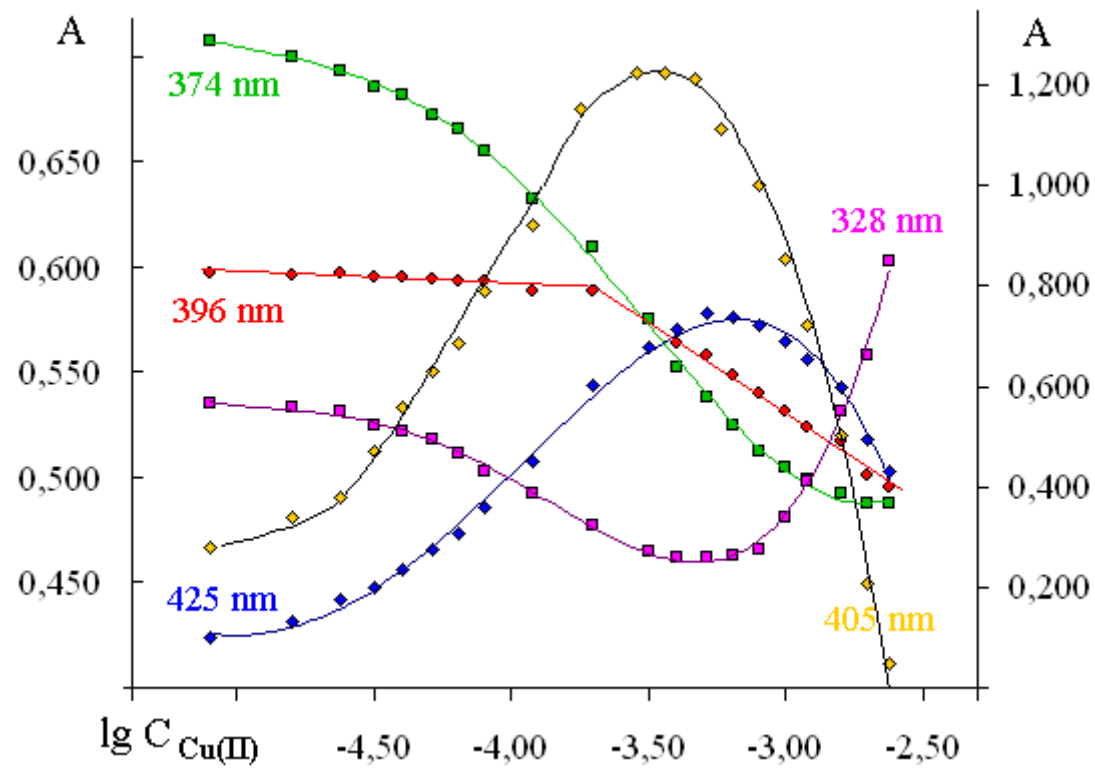
$C_{\text{Cu(II)}}$	$\lg C_{\text{Cu(II)}}$	361 nm		420 nm	
		$A_{\text{mért}}$	$A_{\text{számított}}$	$A_{\text{mért}}$	$A_{\text{számított}}$
7,99E-06	-5,09765	1,131	1,136204	0,060	0,062004
1,60E-05	-4,79661	1,132	1,128338	0,072	0,073851
2,40E-05	-4,62053	1,119	1,120637	0,082	0,085487
3,19E-05	-4,49559	1,118	1,113095	0,097	0,096919
3,99E-05	-4,39868	1,103	1,105709	0,109	0,108152
5,19E-05	-4,28474	1,093	1,094912	0,125	0,124636
6,39E-05	-4,19456	1,087	1,08444	0,142	0,140699
7,99E-05	-4,09765	1,070	1,070962	0,163	0,161485
0,00012	-3,92156	1,038	1,039507	0,213	0,210495
0,00020	-3,69971	0,989	0,984863	0,298	0,297387
0,000399	-3,39868	0,884	0,883172	0,472	0,465619
0,000519	-3,28474	0,838	0,838472	0,547	0,542529
0,000639	-3,19456	0,802	0,80202	0,603	0,606704
0,000799	-3,09765	0,767	0,762808	0,671	0,677279
0,000983	-3,00745	0,722	0,727156	0,740	0,7429
0,001198	-2,92156	0,693	0,694674	0,802	0,803943
0,001597	-2,79661	0,650	0,651061	0,888	0,887877
0,001997	-2,69971	0,625	0,620818	0,952	0,947457
0,002396	-2,62053	0,594	0,598634	0,988	0,991903
0,002795	-2,55359	0,578	0,581679	1,025	1,026306
0,003195	-2,49559	0,569	0,568299	1,058	1,053723
0,003993	-2,39868	0,554	0,548543	1,095	1,094646

34. melléklet *A réz(II)-rutin-komplex képződésének mért és számított fényelnyelési adatai az összes Cu(II) koncentrációja függvényében*

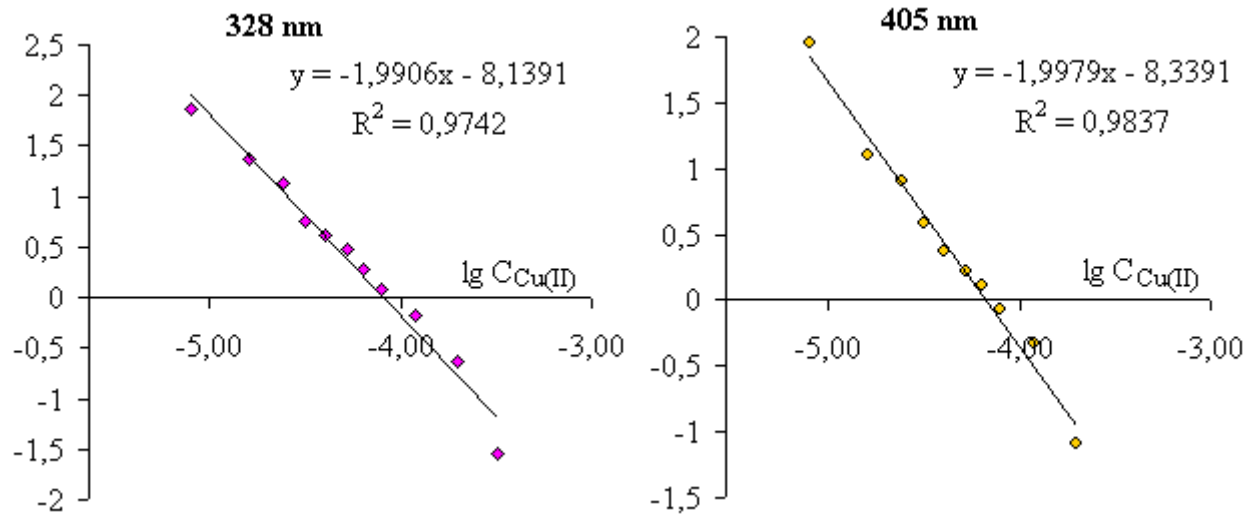


35. melléklet *A Cu(II) - kvercetin kölcsönhatás folyamata növekvő $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ koncentráció hatására kálium-acetát - ecetsav = 4:1 puffert tartalmazó etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyben*

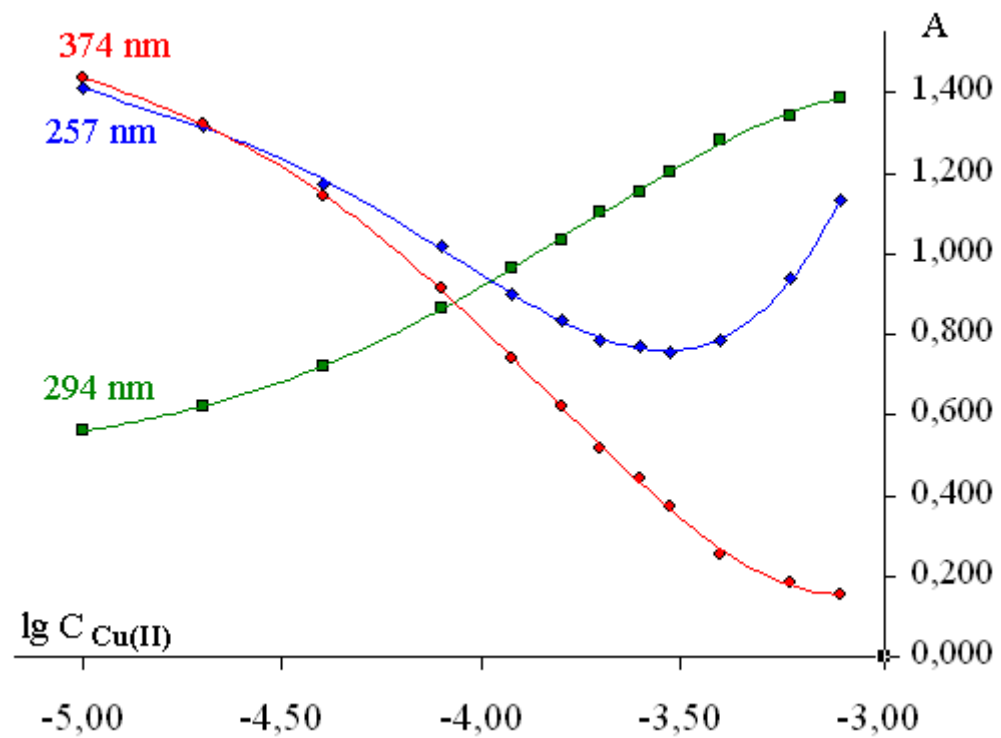
$(C_{\text{kvercetin}} = 5,84 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3, 0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ KAc:HAc} = 4:1 \text{ (pH} = 5,13), 1: \text{Cu(II)-mentes, 2-16: } 1,6 \cdot 10^{-5} - 2,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3 \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2)$



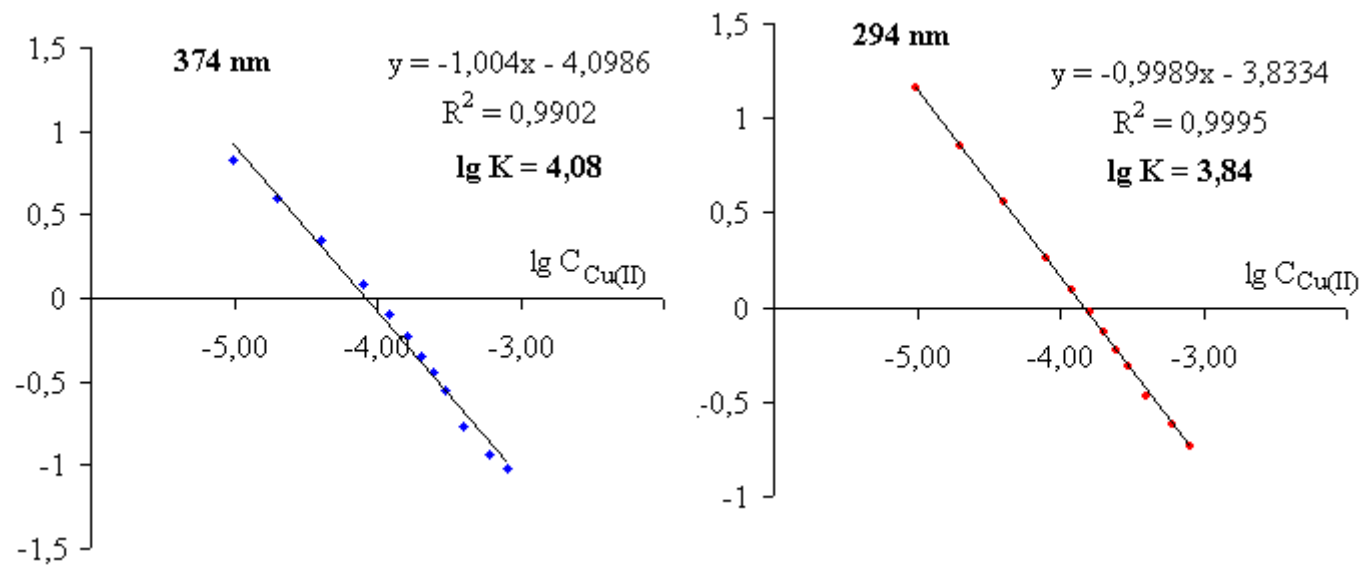
36. melléklet A réz(II) és a kvercetin kölcsönhatásának fényelnyelés változása kálium-acetát - ecetsav pufferoldatban ($pH = 5,13$) ($C_{\text{kvercetin}} = 5,84 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ KAc:HAc} = 4:1$)



37. melléklet *A réz(II)-kvercetin komplex képződés látszólagos stabilitási állandójának meghatározása kálium-acetát - ecetsav pufferoldatban ($pH = 5,13$) ($C_{\text{kvercetin}} = 5,84 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ KAc:HAc} = 4:1$)*

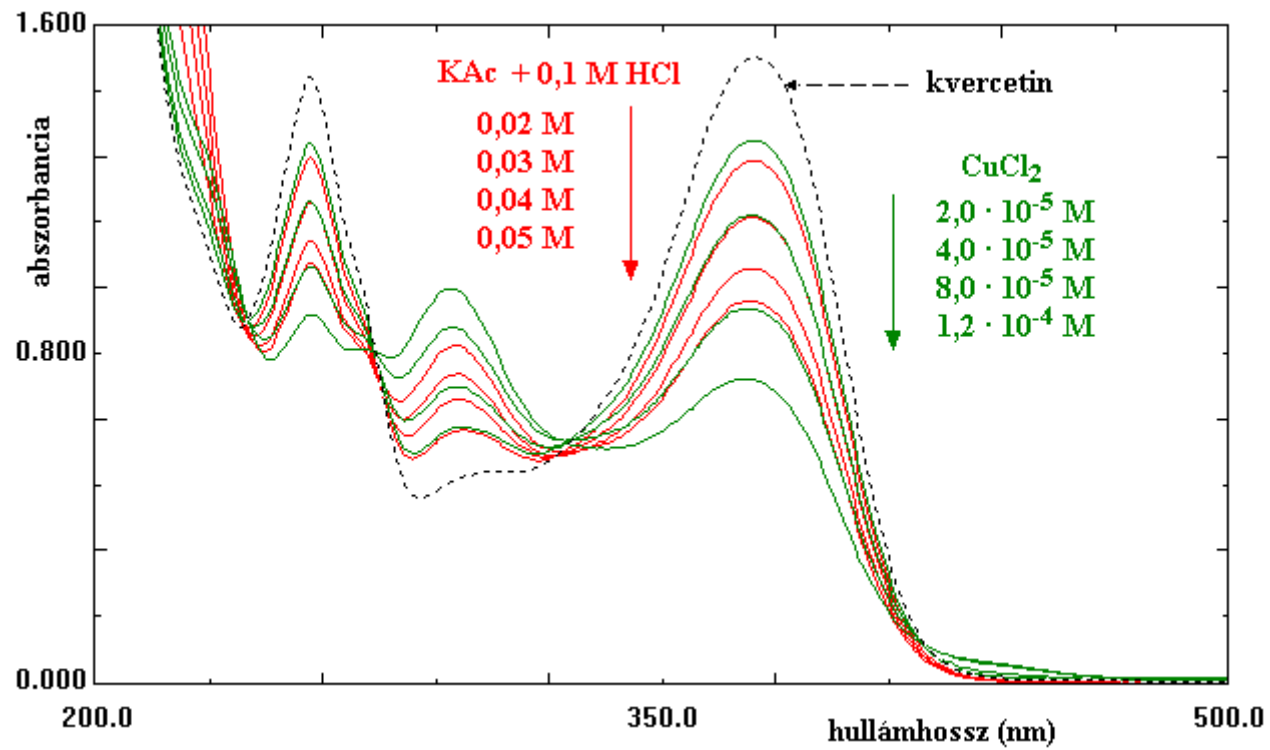


38. melléklet *A réz(II)-klorid - kvercetin kölcsönhatás során a fényelnyelés változása a Cu(II)-koncentráció logaritmusának függvényében ($C_{\text{kvercetin}} = 6,25 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $i = 0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$)*



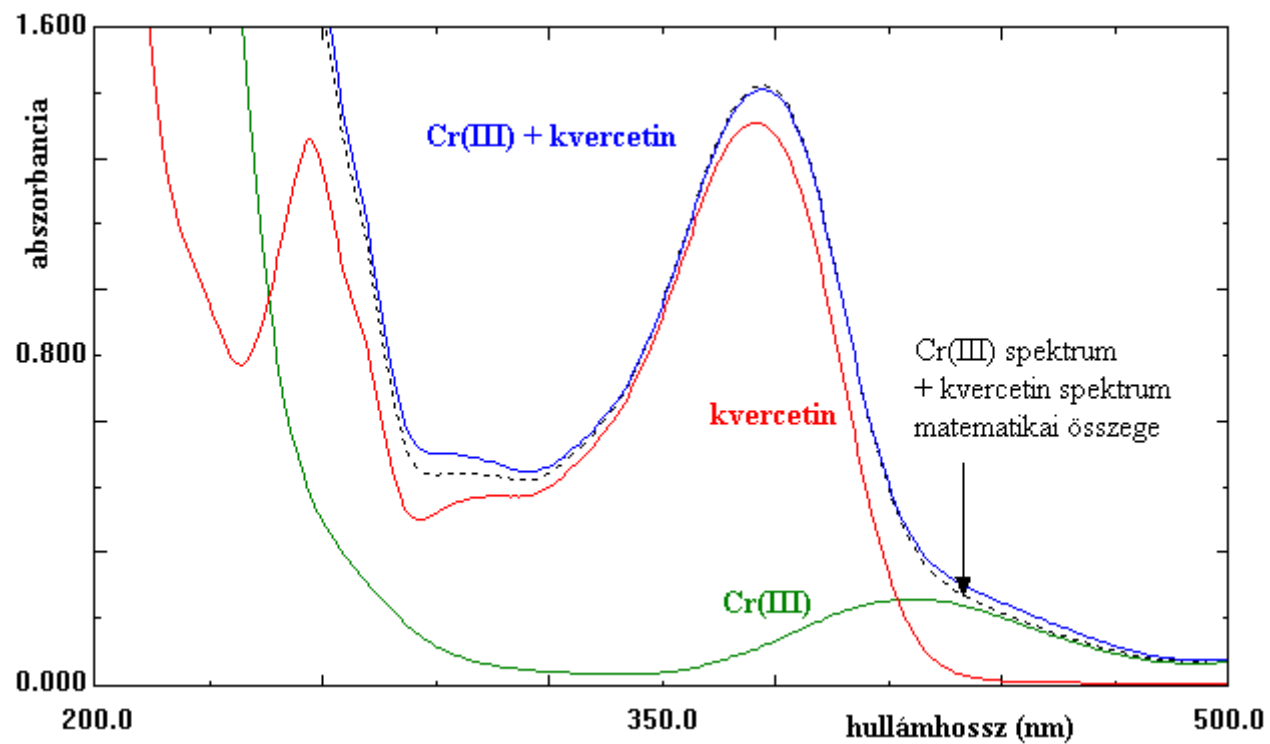
39. melléklet *A réz(II)-klorid - kvercetin kölcsönhatás egyensúlyi állandójának grafikus meghatározása*

($C_{\text{kvercetin}} = 6,25 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $i = 0,2 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$)



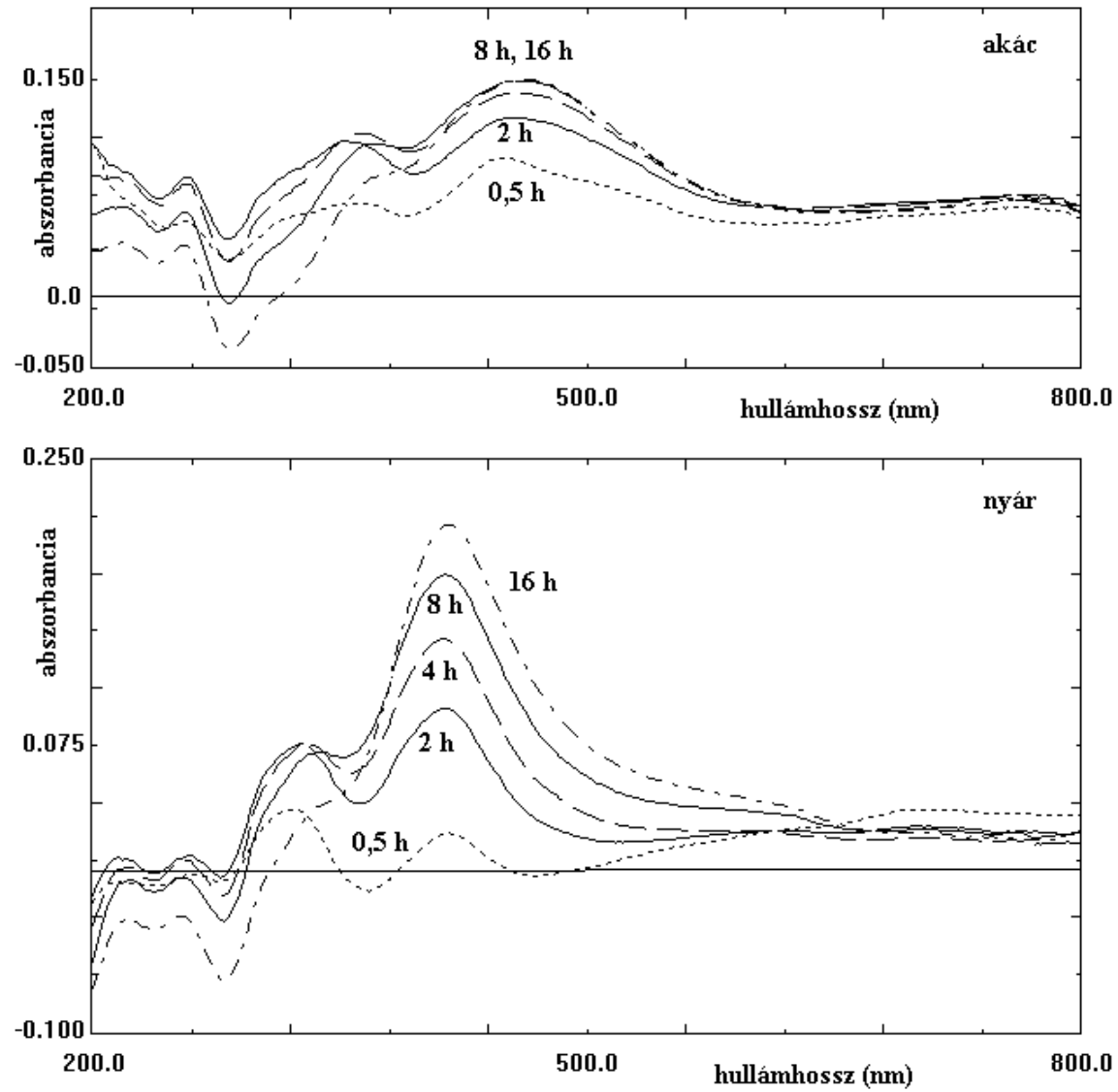
40. melléklet *A kvercetin abszorpciós spektrumai növekvő koncentrációjú kálium-acetát visszasavanyított oldatában és növekvő koncentrációjú réz(II)-klorid hatására kálium-klorid alapelektrolit jelenlétében*

$$(C_{\text{kvercetin}} = 6,24 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3)$$

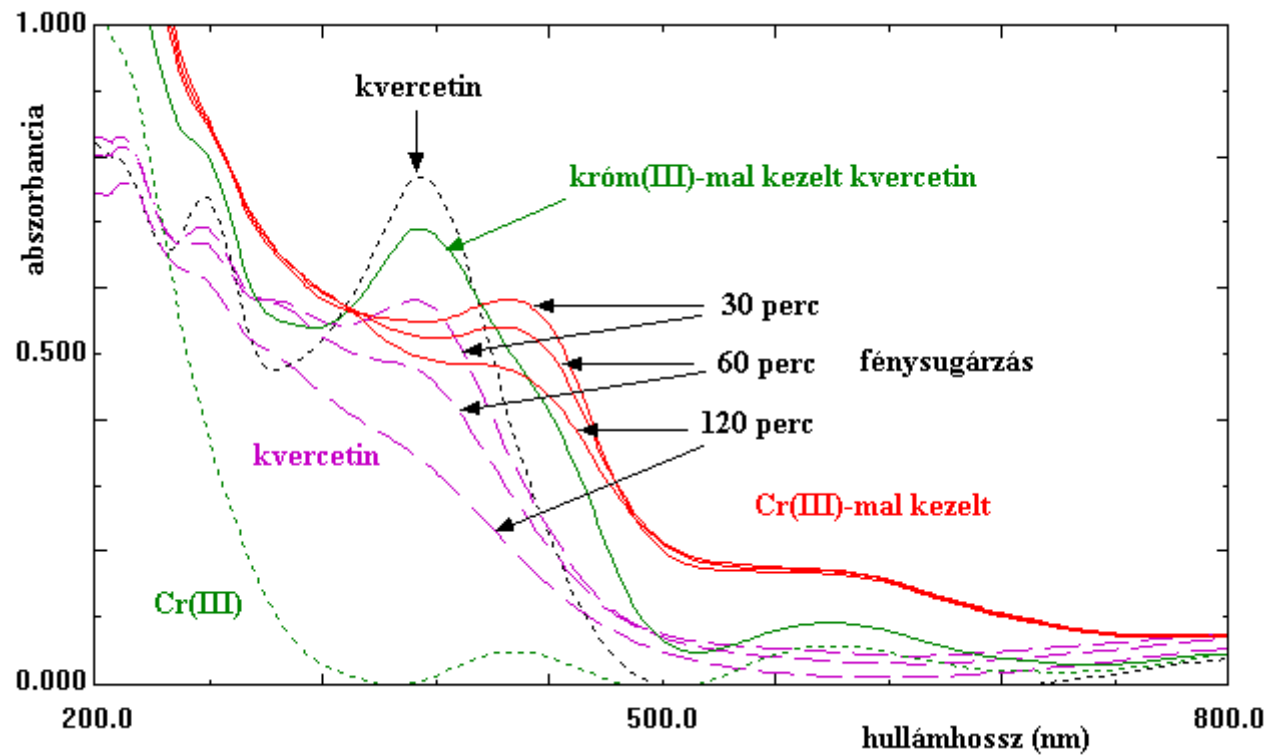


41. melléklet *A kvercetin abszorpciós spektrumának alakulása Cr(III) jelenlétében, 20 óra reakcióidő után, etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyében*

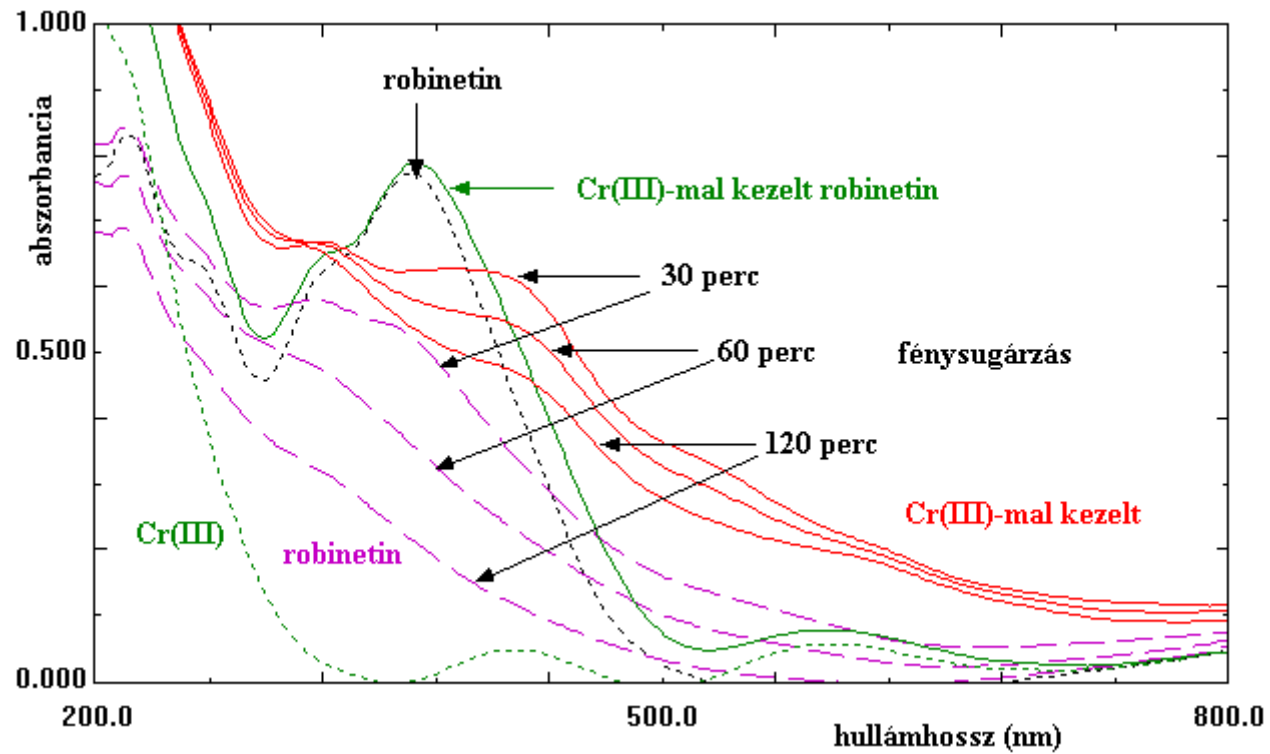
($C_{\text{kvercetin}} = 6,16 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $C_{\text{Cr(III)}} = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$, alapelektrolit nélkül)



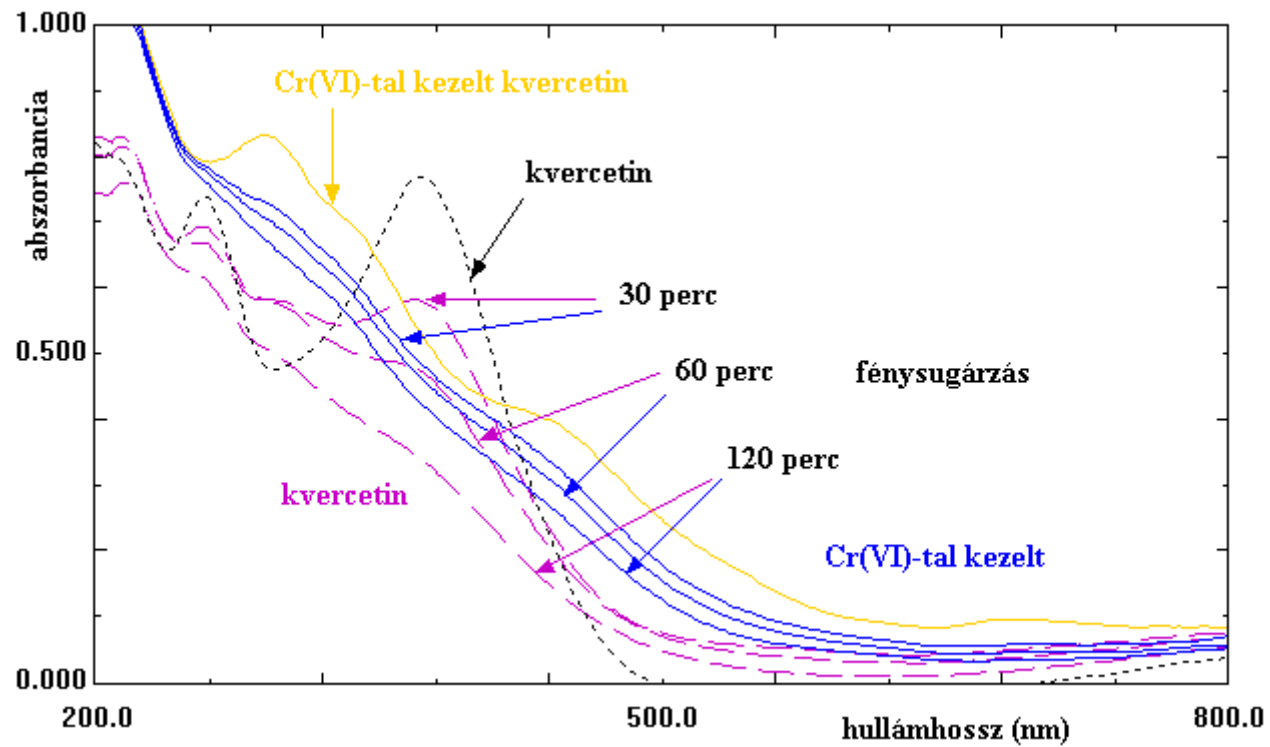
42. melléklet *Króm(III)-oldattal impregnált akác és nyár faminták különbségi spektrumai a fénykezelés időtartamában*



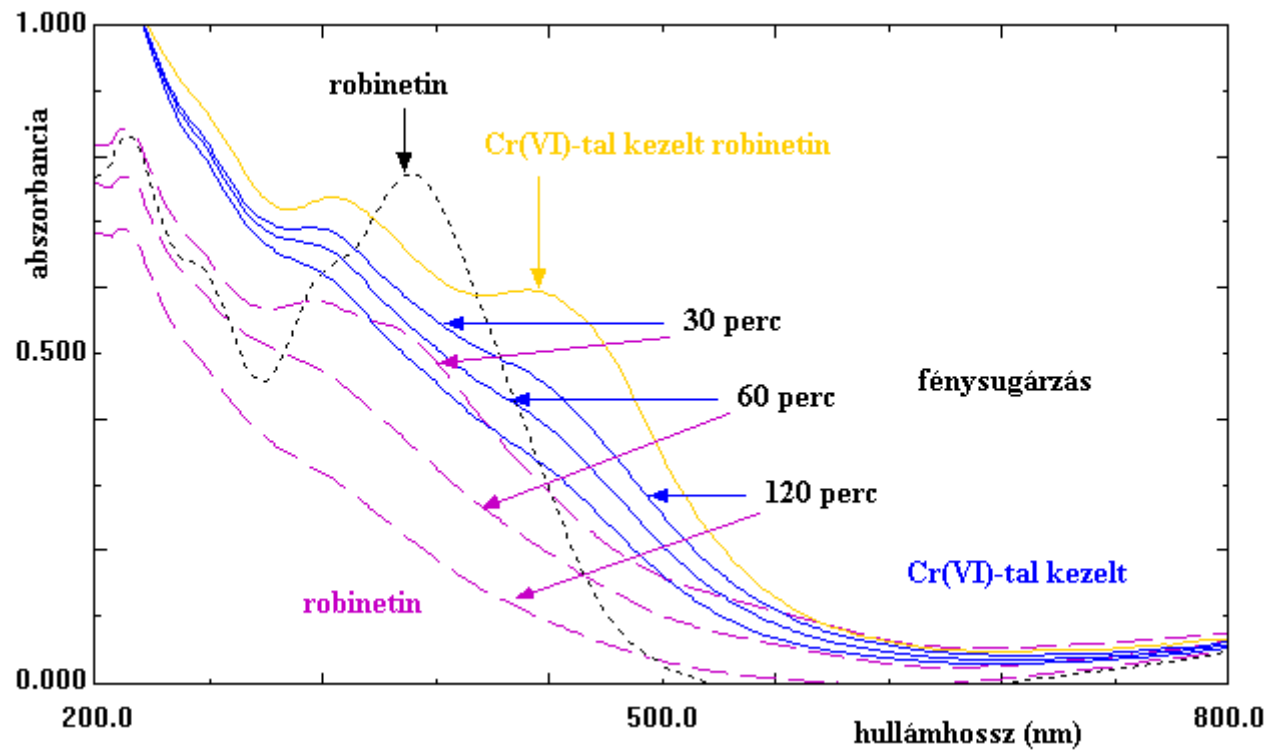
43. melléklet *A kvercetin fotodegradációjának összehasonlítása króm(III)-mal történő impregnálás után és kezeletlen minta esetén*



44. melléklet *A robinetin fotodegradációjának összehasonlítása króm(III)-mal történő impregnálás után és kezeletlen minta esetén*



45. melléklet *A kvercetin fotodegradációjának összehasonlítása króm(VI)-tal történő impregnálás után és kezeletlen minta esetén*



46. melléklet *A robinetin fotodegradációjának összehasonlítása króm(VI)-tal történő impregnálás után és kezeletlen minta esetén*

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom Dr. Albert Levente intézetigazgató egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tette disszertációm elkészítését a Nyugat-Magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar Kémiai Intézetében.

Hálás köszönetemet fejezem ki Dr. Németh Károly akadémikus egyetemi tanárnak, témavezetőmnek, hogy éveken keresztül messzemenően támogatta munkámat, ami nélkül a Ph.D. dolgozat nem születhetett volna meg. Köszönöm – a kutatás irányításán, a több éves közös gondolkodáson túl – kitartó biztatását és törődését is.

Köszönöm továbbá konzulenseim Dr. Albert Levente intézetigazgató egyetemi tanár és Dr. Szakál Pál tanszékvezető egyetemi tanár hasznos és segítő tanácsait, melyek értekezésem átszerkesztésére serkentettek.

Megköszönöm Dr. Kiss Tamás akadémikusnak, a kémiai tudományok doktorának, a Szegedi Egyetem tanárának a szerves oldószer tartalmú oldatok pH-méréséhez, és a komplexegyensúlyi vizsgálatok kidolgozásához nyújtott szakmai segítségét.

Ezúton is köszönetet mondok Dr. Noszál Béla akadémikusnak, a Semmelweis Egyetem tanárának, hogy megismertetett a SCIENCE számítógépes program használatával, amely jelentősen megkönnyítette számomra a koordinációs kémiai számítások elvégzését.

Köszönettel tartozom munkatársaimnak is, hogy a hosszadalmas mérési sorozatok kivitelezésében segítségemre voltak. Külön köszönöm Börcsök Eszter Ph.D. hallgató érdeklődő közreműködését, valamint Dankó Tiborné és Szurok Lászlóné laboránsok lelkiismeretes munkáját.

A Ph.D értekezés tartalmi kivonata

A disszertációban a faextraktanyagok közül a flavonoidok jellegzetes képviselői, illetve néhány kiválasztott fémion között lejátszódó kémiai kölcsönhatások tanulmányozása során elért eredményeit mutatja be a szerző. Számos flavonoid meghatározó egy-egy adott fafaj színének kialakításában. A faanyagban gyakran ezen vegyületek leuko-formája van jelen, ami csak savak-lúgok, fémionok, vagy oxidáció hatására válik színessé. Ez indokolja kölcsönhatásaik részletes vizsgálatát.

A dolgozat elsődlegesen a favédelemben fontos szerepet játszó fémionok – a réz(II)-, a króm(III)-, illetve a kromátionok –, továbbá a környezeti hatások miatt a talajban egyre nagyobb mértékben mobilizálódó, és az élő fában is jelentősen akkumulálódó, alumíniumion hatására oldatban és szilárd felületen, a fekomponensek jelenlétében végbemenő kémiai folyamatokat tárja fel. A kémiai változások kutatásához bioligandumként a flavonoidok közül a kvercetin, a rutin és a robinetin került kiválasztásra. Ultraibolya-látható tartományú abszorpciós spektrofotometria, valamint a potenciometria volt a disszertáció fő vizsgálati módszere.

A szerző tanulmányozta a vizes oldószer etanol-tartalmának hatását a kvercetin spektrális jellemzőire, melynek alapján a további spektrofotometriás vizsgálatokat etanol:víz = 1:1 térfogatarányú elegyében végezte. A kvercetin és robinetin oldatbeli sajátságainak vizsgálatát kiegészítette szilikagél rétegen bekövetkező fotodegradációs folyamataik elemzésével is, ami lehetőséget ad a fafelületek színváltozásainak molekuláris szinten történő értelmezésére.

Az értekezés részletesen tárgyalja a kvercetin, a rutin és a robinetin abszorpciós spektrumának változását erősen lúgos- és gyengén bázikus közegben. A szerző meghatározta a kvercetin és a rutin disszociációs állandóját is, a számításokhoz számítógépes programot és grafikus ábrázolási módszert egyaránt alkalmazott. A különböző technikai megoldással kapott eredményei jó egyezést mutatnak az irodalmi értékekkel. A kvercetin és a robinetin disszociációt követő átalakulásának hasonlósága, illetve eltérése alapján molekuláris szerkezeti magyarázatot ad a végbemenő folyamatokra.

A disszertáció fontos része a flavonoidok komplexképződési egyensúlyának tanulmányozása. A feladat magában foglalja az oldatban levő ionfajták jellegének megállapítását, és a megfelelő stabilitási állandók meghatározását, amely által a szerzőnek lehetősége nyílt az egyensúlyi rendszerek alapvető tulajdonságainak leírása. Ezek a vizsgálatok feltárták a fém-

komplexek létrejötte, átalakulásának, illetve bomlásának lehetőségét és módját, a reakciók időbeli lefolyását is.

Az értekezés bemutatja a kvercetin és a rutin Al(III)ionnal képzett komplexének kialakulását különböző kémhatású közegekben, ismerteti a komplexek összetételét, valamint bemutatja a folyamat egyensúlyi állandójának meghatározását. A vizsgálatok eredményei választ adnak a szakirodalomban található ellentmondó adatok és magyarázatok okára.

A várható koordinációs és oxidációs folyamatok független vizsgálata érdekében a flavonoidok és a réz(II)ion kölcsönhatásának vizsgálatát többféle inert só jelenlétében, valamint kálium-acetát - ecetsav pufferben is elvégezte a szerző. Kálium-klorid alapelektrolitban a Cu(II) - kvercetin kölcsönhatás különleges, de egyértelműen nem komplexképződési spektrumváltozásáról számol be a dolgozat. A látszólagosan egyensúlyi folyamatot a szerző a Cu(II)ion koncentrációjának első hatványával tudta jellemezni, és a kvercetin irreverzibilis változását is bizonyította a reakcióban. Kálium-acetát - ecetsav által pufferolt közegben viszont 1:1 fémion:ligandum összetételű rutin-komplex képződését tapasztalta, amelynek egyensúlyi állandóját is meghatározta. A disszertáció beszámol arról is, hogy ilyen közegben a kvercetinrel a réz(II) – alacsony koncentrációja mellett – kis stabilitású, kétmagvú komplexet alkot, míg kb. tízszeres Cu(II) felesleg esetén irreverzibilis, és a kálium-kloridostól eltérő reakció játszódik le.

A szerző szilikagél rétegen vizsgálta a króm(III)- és a bikromátionok kölcsönhatását kvercetinrel és robinetinnel, valamint ezen ionok befolyását a flavonoidok fotobomlási folyamatára. Az abszorpciós spektrumok alapján Cr(III)-flavonoid-komplexek képződését, valamint a Cr(VI) és a flavonoidok közötti oxidációs reakció lejátszódását mutatta ki szilárd felületen. Vizsgálataival igazolta, hogy a fénysugárzás degradáló hatását egyedül a Cr(III)-mal történő impregnálás tudja hatékonyan csökkenteni.

A dolgozatban ismertetett kutatási feladat – a kvercetin, rutin és robinetin sav-bázis tulajdonságainak vizsgálata, valamint különböző fémionokkal való kölcsönhatásuk tanulmányozása révén – számos új, fakémiai vonatkozású tudományos eredményre vezetett, amelyek jól hasznosíthatók a favédelem és fafeldolgozás különböző területein.

Investigation of interaction between wood-extractives and metal ions

Abstract of dissertation

The most important results on spectrophotometric investigations on some of the most common and unique wood components – quercetin, rutin and robinetin – are summarized in the dissertation. Each chosen flavonoid shows strong electron-donor properties in ethanol-water medium and has some possible metal chelating sites in their molecules.

The irreversible changes caused by alkaline salts were detected in the structure of quercetin and a complete mechanism is proposed for it with calculated rate constant. While the effect of the solution alkalinity was pointed out having importance in the interaction of metal ions and wood components the ionisation constants of quercetin and rutin were established, too.

The coordination of Al(III) and Cu(II) ions to quercetin and rutin molecules were recorded in acetate buffer solution. The stability constants of the Al(III)-complexes were determined by iteration method and the results make the forming of binuclear ones probable. The interaction between copper(II) ion and quercetin was found to have significant depend on the components of the solution.

The own and simultaneous effects of UV light irradiation and treatment with Cr(III) or Cr(VI) were investigated on inert surface impregnated with quercetin or robinetin. The changes of spectral bands were indicative of complexation process produced by chromic ion. But the reduction of hexavalent chromium and the decomposition of flavonoids were observed, too. More increased changes were detected in the case of simultaneous effects of UV light and chromium ions.

All these results of flavonoid research can be well-used not only in different fields of wood-protection and treatment, but in the chemical analysis or in the food-industry and medicine, too.