

A rozmaringsav kimutatása a jávai tealevélből (*Orthosiphon stamineus* Benth.) az I_p probabilitási faktor segítségével

Oláh Neli – Kinga¹, Hanganu Daniela², Gocan Simion³

¹Plantextrakt Kft., Radaia, Kolozs megye

²Iuliu Hațieganu Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Gyógyszerészeti Kar,

³Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kémia kar,
Kolozsvár

Abstract

*Compounds identification from complex mixture by TLC it isn't an easy problem. It was proposed a few methods for identification based on: comparison of the R_f , R_M or hR_f 's value of the separated compound and the standard; comparison of different spectra of the separated compound and the standard and a new method, based on I_p probability parameter. It was identified the rosmarinic acid from *Orthosiphon stamineus* Benth. leaves using the last method.*

1. Bevezetés

A növénykivonatokhoz hasonló komplex keverékek elemzése csak kromatográfias módszerekkel lehetséges. Vékonyréteg kromatográfias módszerrel elválasztott komplex keverék komponenseinek kimutatása nem könnyű feladat.

Kromatográfias módszerrel elválasztott komponensek kimutatása a megfelelő standarddal való összehasonlításon alapszik. Elsősorban az R_f , R_M vagy hR_f retenciók paraméterek értékeit kell összehasonlítani. Ezen retenciók paraméterek értékeit több faktor is befolyásolja és így az eltérések lehetségesek [1,2].

Különböző spektrumok összehasonlítása egy biztonságos kimutatási módszer, de a vékonyréteg kromatográfias elválasztások esetében elég nehéz a spektrumok felállítása [3].

Egy új módszer a következő hipotézisből indult ki: két komponens (a keverékből elválasztott és a standard) azonosnak minősíthető a retenciók paraméterek alapján, ha:

- a retenciók paraméterek értékei azonosak legalább három különböző álló fázison való elválasztás esetében;
- és/vagy
- a retenciók paraméterek értékei azonosak legalább három, az erősség és szelektivitás szempontjából különböző, mozgó fázissal való elválasztás esetében.

A módszert Nyiredy professzor és kutatócsoportja fejlesztette ki. Mivel a második feltétel könnyebb megvalósítani, a szerzők egy I_p probabilitási faktor kiszámítását ajánlják. Az I_p probabilitási faktor a három mozgó fázis közötti különbséget mutatja és ezáltal az elválasztott komponens és a standard azonosságának valószínűségét is. Az I_p probabilitási faktort a mozgó fázisok erősségi és szelektivitási faktorjaiból számítják ki. [4].

Snyder minden oldószert egy S_t erősségi és egy S_f szelektivitási faktoral jellemez. Az erősségi faktor az oldószert polaritását mutatja, míg a szelektivitási faktor az oldószert proton leadó és felvevő képességén alapszik [5]. Oldószertkeverékek esetében kiszámíthatók az S_T globális erősségi faktor és az S_F globális szelektivitási faktor:

$$S_T = \sum \varphi_i S_{ti}$$

$$S_F = \sum \varphi_i S_{fi}$$

ahol φ_i az I oldószert moláris frakciója.

Ha a három különböző mozgó fázis esetében kiszámítjuk a globális erősségi és szelektivitási faktorokat és ezeket grafikusán ábrázoljuk, $S_F = f(S_T)$, akkor egy háromszöget nyerünk. A háromszög területének értéke megegyezik az I_p probabilitási faktor értékével [4].

A kísérletek alapján a szerzők a rutin analízisek esetében 0,1 – 0,5-ös I_p faktort ajánlanak. Egy új komponens kimutatása végett az I_p faktor 0,6-nál nagyobb kell legyen, míg a természetes anyagok esetében 0,5-nél nagyobb értékek az elfogadhatóak [4].

A következőkben a jávai tealevélben levő rozmaringsav kimutatását írjuk le az I_p probabilitási faktoron alapuló módszer segítségével.

2. Kísérleti rész

A minta feldolgozása:

20 g jávai tealevél (*Orthosiphon stamineus* Benth., Caesar & Loretz, Németország) és 100 mL metanol (Euromedica, Románia) felhasználásával kivonatot készítettünk. A kivonást 15 perces kirázással végeztük. Szűrés után a kivonatot 10 mL-re koncentráltuk.

Vékonyréteg kromatográfiás elválasztás leírása:

- Álló fázis: szilikagél réteg 254 nm-es fluoreszcenciás indikátorral (Merck, Németország);
- Mozgó fázisok:
 - I. toluol (Riedel de-Haen, Németország) – metilacetát (Chimopar, Románia) – hangyasav (Roth, Németország) = 50:40:10, v/v;
 - II. kloroform (Merck, Németország) – jégcet (Chimopar, Románia) – metanol – víz = 60:32:12:8, v/v;
 - III. etilacetát (Carlo Erba, Olaszország) – kétszeres felfuttatás;
- felfutási hossz: 7 cm;
- minta: koncentrált metanolos kivonat, melyből 25 μ L-t cseppentünk fel a lapokra;
- standard: rozmaringsav (Roth, Németország) 1,08 mg/mL metanolos oldat, melyből 10 μ L-t cseppentünk fel a lapokra;
- megjelenítés: fluoreszcenciaoltás 254 nm-en.

3. Eredmény elemzés

Az 1-es táblázat a három mozgó fázissal nyert R_f értékeket mutatja be a standard rozmaringsav és a kivonatból elválasztott rozmaringsav esetében. Az R_f értékek különbözőek a különböző mozgó fázisok esetében.

1-es táblázat. Az elválasztott és a standard rozmaringsav R_f értékei a három mozgó fázis esetében

Komponens	R_f
<i>I-es mozgó fázis</i>	
Standard rozmaringsav	0.27
Elválasztott rozmaringsav	0.25
<i>II-es mozgó fázis</i>	
Standard rozmaringsav	0.64
Elválasztott rozmaringsav	0.61
<i>III-as mozgó fázis</i>	
Standard rozmaringsav	0.06
Elválasztott rozmaringsav	0.05

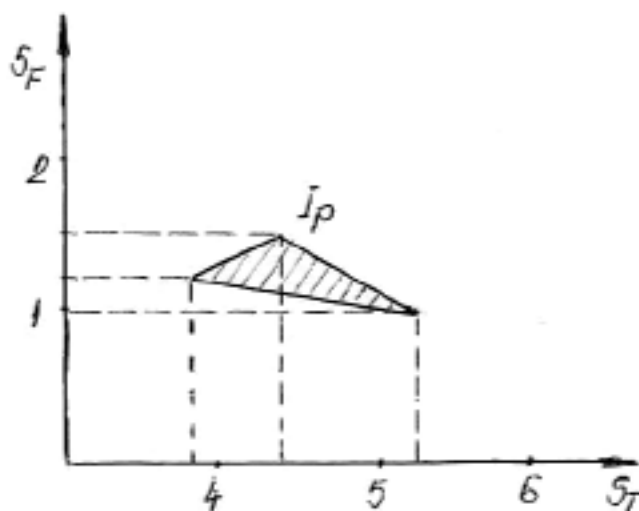
Az I_p faktort az S_T globális erősségi és az S_F globális szelektivitási faktorokból számítottuk ki. A 2-es táblázat az oldószerek és a mozgó fázisok erősségi és szelektivitási faktorjait tartalmazza.

Az 1-es ábra a grafikus ábrázolást mutatja be. A kiszámított I_p faktor értéke 0,515. Mivel az érték 0,5-nél nagyobb és a rozmaringsav természetes anyag, megfelelő biztonsággal kimutattuk, hogy a jávai tealevél rozmaringsavat tartalmaz.

A jávai tealevél rozmaringsav tartalmát az UV-Vis spektrumok is alátámasztják. 2-es táblázat. Erősségi és szelektivitási faktorok

Oldószer	S_T erősségi faktor	S_F szelektivitási faktor
Toluol	2.4	0.89
Metilacetát	5.1	1.50
Hangyasav	6.0	1.25
Kloroform	4.1	0.61
Jégecet	6.0	1.25
Metanol	5.1	2.18
Víz	10.2	1.00
Etilacetát	4.4	1.48

Mozgó fázis	S_T globális erősségi faktor	S_F globális szelektivitási faktor
I	3.48	1.17
II	5.28	0.99
III	4.40	1.48



1. ábra

Az I_p faktor kiszámításához használt háromszög

4. Összefoglaló elemzés

Megfelelő biztonsággal kimutattuk a rozmaringsavat a jávai tealevélből az I_p probabilitási faktoron alapuló módszer segítségével.

Az I_p faktoron alapuló kimutatási módszer könnyű, nem szükséges komplex műszer és megfelelő probabilitást nyújt a kimutatáshoz. A megoldás kulcsa a három egymástól különböző mozgó fázis megtalálása.

Irodalom

- 1] F. Geiss, Fundamental of Thin Layer Chromatography (Planar Chromatography), Hüthig, Heidelberg, 1987.
- 2] D.S. Galanos, V.K. Kapoulos, J. Chromatogr., 13 (1964) 128.
- 3] A.C. Moffat, J. Chromatogr., 110 (1975) 341.
- 4] Sz. Nyiredy, Zs. Fatér, B. Szabady, J. Planar Chromatogr. – Mod. TLC, 7 (1994) 406.
- 5] L.R. Snyder, J. Chromatogr. Sci., 16 (1978) 223.