

Міністерство освіти і науки України
Закарпатський угорський інститут ім. Ференца Ракоці II
Кафедра біології та хімії

Реєстраційний № _____

Кваліфікаційна робота
ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО UV-B
ВИПРОМІНЮВАННЯ НА СИНТЕЗ ФЛАВОНОЇДІВ
У *CALENDULA OFFICINALIS* L.

ШІТЕВ РЕГІНА ЧАБАЇВНА

Студент(ка) IV-го курсу

Освітня програма: Середня освіта (Хімія)

Спеціальність: 014 Середня освіта (Хімія)

Рівень вищої освіти: бакалавр

Тема затверджена на засіданні кафедри

Протокол № 3 / 25 жовтня 2023 р.

Науковий керівник:

Когут Ержебет
Імріївна
доктор філософії, доцент

Завідувач кафедри:

Когут Ержебет
Імріївна
доктор філософії, доцент

Робота захищена на оцінку _____, «__» _____ 202_ року

Протокол № _____ / 202_

Міністерство освіти і науки України
Закарпатський угорський інститут ім. Ференца Ракоці II

Кафедра біології та хімії

Кваліфікаційна робота
ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО UV-B
ВИПРОМІНЮВАННЯ НА СИНТЕЗ ФЛАВОНОЇДІВ
У *CALENDULA OFFICINALIS* L.

Рівень вищої освіти: бакалавр

Виконавець: студент(ка) IV-го курсу

Шітев Регіна Чабайвна

освітня програма Середня освіта (Хімія)

спеціальність 014 Середня освіта (Хімія)

Науковий керівник: **Когут Ержебет Імріївна**

доктор філософії, доцент

Рецензент: **Молнар-Бабіля Джосія Імреївна**

к.х.н., доцент

Берегове

2024

**Ukrajna Oktatási és Tudományügyi Minisztériuma
II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola**

Biológia és Kémia Tanszék

**AZ UVB SUGÁRZÁS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA
A *CALENDULA OFFICINALIS* L. FLAVONOID TERMELÉSÉRE**

Szakdolgozat

Készítette: Sütő Regina

IV. évfolyamos

014 Középfokú oktatás (Kémia)

szakos hallgató

Témavezető: Kohut Erzsébet

PhD, docens

Recenzens: Molnár-Babilya Dzsoszija

kém. tudom kand., docens

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ I. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	9
1.1. Загальна характеристика флавоноїдів	10
1.2. Роль та корисні властивості флавоноїдів для організму людини	11
1.3. Якість світла та вплив світла на рослини	11
1.4. Ультрафіолетове світло	12
1.5. Загальні відомості про рідинну хроматографію	13
1.6. Методи рідинної хроматографії	15
1.6.1. Адсорбційна хроматографія.....	15
1.6.2. Іонна хроматографія	16
1.6.3. Розподільча хроматографія	17
1.6.4. Гель-хроматографія	18
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	19
2.1. Характеристика <i>Calendula officinalis</i> L.....	20
2.2. Попередні експерименти.....	21
2.2.1. Перший попередній експеримент	21
2.2.2. Другий попередній експеримент	23
2.2.3. Третій попередній експеримент	24
2.3. Вирощування власного <i>Calendula officinalis</i>	25
2.4. Експерименти на власноруч вирощеної квіткової сировини	29
2.4.1. Перший експеримент на власноруч вирощеної квіткової сировини	40
2.4.2. Другий експеримент на власноруч вирощеної квіткової сировини.....	41
2.4.3. Третій експеримент на власноруч вирощеної квіткової сировини	42
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	44
ВИСНОВКИ.....	64

РЕЗЮМЕ	65
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	66
ПОДЯКА	

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS.....	8
I. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
1.1. Flavonoidok általános jellemzése	10
1.2. A flavonoidok szerepe és jótékony hatásai az emberi szervezetben	11
1.3. Fényminőség és a fény hatása a növényekre	11
1.4. Az ultraibolya fény	12
1.5. A folyadékkromatográfiáról általánosan	13
1.6. A folyadékkromatográfiás módszerek	15
1.6.1. Adszorpciós kromatográfia	15
1.6.2. Ionkromatográfia.....	16
1.6.3. Megoszlásos kromatográfia	17
1.6.4. Gélkromatográfia	18
II. ANYAG ÉS MÓDSZERTAN.....	19
2.1. A <i>Calendula officinalis</i> L. jellemzése.....	20
2.2. Előzetes kísérletek	21
2.2.1. Első számú előzetes kísérlet.....	21
2.2.2. Második számú előzetes kísérlet.....	23
2.2.3. Harmadik számú előzetes kísérlet.....	24
2.3. Saját termesztésű <i>Calendula officinalis</i> L.	25
2.4. Általam termesztett viráganyagon végzett kísérletek	29
2.4.1. Első számú kísérlet az általam termesztett viráganyagból.....	40
2.4.2. Második számú kísérlet az általam termesztett viráganyagból	41
2.4.3. Harmadik számú kísérlet az általam termesztett viráganyagból	42
III. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS.....	44
ÖSSZEFOGLALÁS	64

UKRÁN NYELVŰ ÖSSZEFOGLALÁS	65
IRODALOMJEGYZÉK	66
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	

BEVEZETÉS

A *Calendula officinalis* L. antimikrobiális, fertőtlenítő, seb- és fekélygyógyító tulajdonságai miatt jól ismert gyógynövény, nagy elismerésnek örvend a természetgyógyászatban, vérnyomáscsökkentő hatása is közismert. Ez a gyógynövény széles körben megtalálható a gyógyszertárak polcain, szépségápolási termékekben és étrend-kiegészítőkben egyaránt. Ezen okok miatt tartottam fontosnak, hogy ebben a témakörben végezzek kutatásokat.

A kutatás fő célja: megvizsgálni milyen hatással van a megnövekedett UV-B fény expozíciója a *Calendula officinalis* L. flavonoid-, és antioxidáns termelésére.

A kutatás során végzett feladataim a következők voltak:

1. Szakirodalomból összegyűjteni mindazokat a módszereket, és műszereket, amelyek alkalmazhatók a flavonoid tartalom kimutatására.
2. Előzetes kísérletek elvégzése.
3. A *Calendula officinalis* L.szabadföldi termesztése a száraz anyag előkészítése.
4. A *Calendula officinalis* L.termesztése laboratóriumi körülmények között, UV lámpával történő megvilágítása a flavonoid tartalom növelése érdekében.
5. A minták előkészítése a vizsgálatra.
6. A vizsgálatok elvégzése nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC).
7. A kvercetin tartalom kimutatása.
8. A kapott eredmények kiértékelése.

I. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

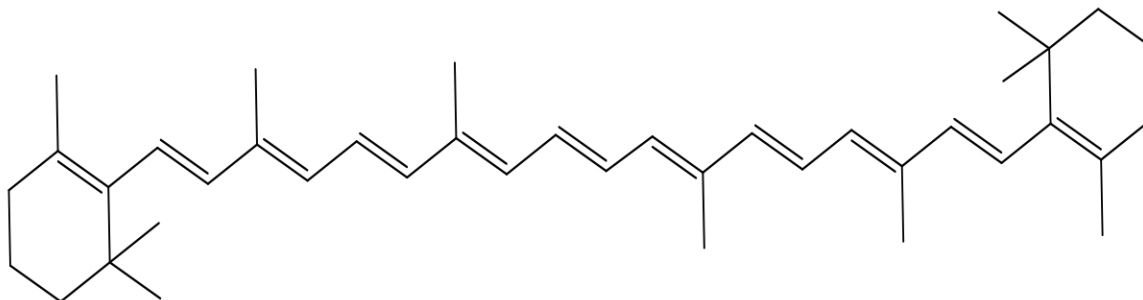
Az irodalom feldolgozása során részletesen megismerkedtem a *Calendula officinalis* L. jótékony és gyógyhatásaival, a benne található flavonoidokkal. Tanulmányoztam, hogy mely vegyületek felelősek a virágzat színéért, hogyan növelhető a flavonoid tartalom, milyen tényezők befolyásolják ezt. Továbbá áttekintettem a flavonoid tartalom kimutatására alkalmazható műszereket és módszereket is.

A munkámban szeretnék részletesebb leírást nyújtani a HPLC analitikai műszer fontosabb alkotó elemeinek sajátosságairól, amely képes kimutatni, elkülöníteni és mennyiségileg meghatározni a vizsgált mintában található kromofor egységgel rendelkező szerves molekulákat.

A *Calendula officinalis* L. másnéven körömvirág a népi és tudományos gyógyászat egyik legnépszerűbb növénye. A virág előfordulása a természetben sárgától narancssárgáig terjedő színekben pompázik. A virág színe többnyire a természetes pigmentektől: karotinoidoktól és flavonoidoktól függ. (PIENTEA, MTSAL., 2003)

A karotin felelős a növény sárga, narancssárga és piros színéért. A vizsgált növény flavonoidjai jelentős szerepet töltenek be az oxidatív stressz elleni védekezésben. A flavonoidok és karotinoidok természetes színezékként használhatók. Ezeknek a pigmenteknek a mennyisége és tulajdonságai alapvetően befolyásolják a körömvirág színező képességét. (PICCAGLIA MTSAL., 1997; SIMONOVA, 2010 ÉS HONÓRIÓ, MTSAL., 2016) A flavonoidok osztályába tartoznak az antocianinok – fontos pigmentek a virágokban, gyümölcsökben és levelekben, vizuális jelként szolgálnak a beporzók számára. Az antocianin pigmentek felelősek a virágok vörös, lila és kék színének többségéért. (JAAKOLA ÉS HOHTOLA, 2010)

A szakirodalomból ismert, hogy a *Calendula officinalis* L. egy olyan gyógynövény, amely nagy mennyiségben halmoz fel karotinoidokat a virágzatában.



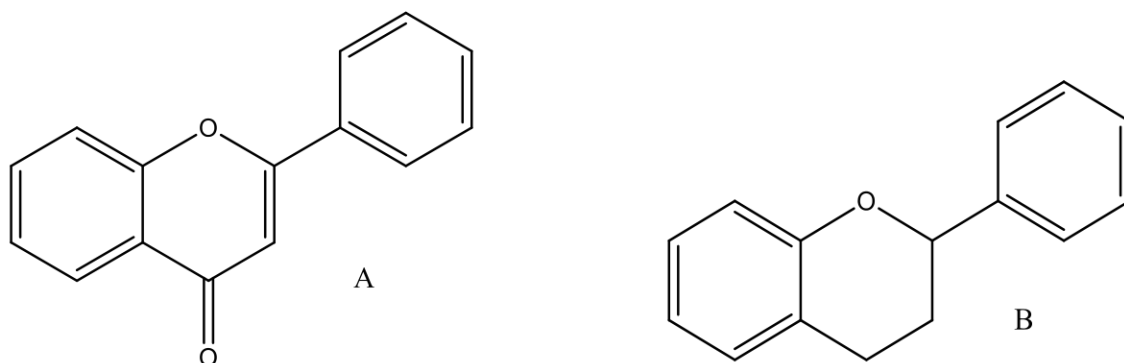
1.ábra: β - karotin szerkezete

A virágban, a leveleiben, a magjában, a gyökérzetében és a virágzatában, több mint 4000 flavonoidot azonosítottak. Ezeket az anyagokat a biológiai aktivitásuk miatt tanulmányozták. (HEIM MTSAL., 2002 ÉS (PICCAGLIA MTSAL., 1997)

A Sharovo és kollégái (2007) azt tapasztalták, hogy a növénynek a flavonoid összetétele az irodalmi forrásokban ellentmondásos: az egyikben a rutin, a másikban az izorhamnetin-diglükózid a domináns komponens.

1.1. Flavonoidok általános jellemzése

A növényeknek a flavonoidok védelmet nyújtanak az ultraibolya sugárzás, és a kórokozók ellen. A flavonoidok a másodlagos növényi fenolok egy osztálya, amelyek jelentős antioxidáns és kelátképző tulajdonságokkal rendelkeznek. Piccaglia és munkatársai (1997) kutatásában azt írja, hogy a flavonoidok valójában nagy kémiai stabilitással rendelkező anyagok. A flavonoidok glikozidokkal vannak kovalens kötésben, ami azt jelenti, hogy egy azonos vagy több különböző cukormolekulából és nem cukor jellegű molekulából – aglikonból – épülnek fel a flavonoidok. (HEIM ÉS MTSAL., 2002; BLIGH MTSAL., 2003)



2. ábra: Flavon (A) és Flaván (B) szerkezeti képlete

Mivel ezek a vegyületek a flaván vázon alapulnak, a hidroxil és szénhidrátok a pozíciói és a számuk befolyásolják a gyökfogó és kelátképző aktivitást. A több hidroxilcsoport jelentős antioxidáns és kelátképző hatást biztosít a molekulának. A metoxycsoportok kedvezőtlen szterikus hatást fejtenek ki, viszont növelik a lipofilitást. Egy kettős kötés és karbonil funkció (különbség a flavon és a flaván között 2. ábra) a heterociklusban vagy a szerkezet polimerizációja, növeli az aktivitást azáltal, hogy stabilabb flavonoid gyök konjugáció jöhet létre az elektrondelokalizáció révén.

1.2. A flavonoidok szerepe és jótékony hatásai az emberi szervezetben

A körömvirág jótékony hatással van az emberi szervezetre és egészségére. A virágain alapuló készítmények széles körű biológiai aktivitással rendelkeznek. Gyulladáscsökkentő, görcsoldó, choleretikus, antimikrobiális, nyugtató, antidermatikus, antitoxikus, hiposzenzitiváló, antimitotikus, helyreállító, vírusellenes és sebgyógyító hatásokat. A körömvirág gyógyászati tulajdonságai annak köszönhetőek, hogy az alapanyagokban biológiailag aktív vegyületek komplexei jelen vannak, nevezetesen: karotinoidok, flavonoidok és számos rokon anyag. Így fontos alkotóelemei étel- és étrendkiegészítőknak. (SHAROVO, MTSAI, 2007 ÉS RAAL, KIRSIPUU, 2011)

Az emberi táplálkozásban ezek a leinkább a gyümölcsökben, zöldségekben, borokban, teában és kakaóban vannak jelen. A flavonoidok az élelmiszerekben elsősorban, mint glikozidok és polimerjeik találhatóak, amelyek az emésztőrendszerben változó mértékben lebomlanak. (HEIM ÉS MTSAI, 2002)

A flavonoidokban antioxidánsokként hatnak. A flavonoidokat alkalmazzák még a feszültség kezelésére és nehéz elalvásra is. Szívvédő hatásuk a lipidperoxidációt gátló képességükből fakad, redox-aktív fémeket kelátoznak és más, reaktív oxidációs folyamatokat gátolnak. Az epidemiológiai és természetes vizsgálatok is bizonyítják, hogy fogyasztásuk bizonyos rákos megbetegedések és szív- és érrendszeri betegségek kockázatának csökkenésével jár. (HEIM ÉS MTSAI, 2002; NUUTILA MTSAI., É.N.)

1.3. Fényminőség és a fény hatása a növényekre

A sugárzás minősége és időtartama a Föld különböző területein eltérő. A fényminőség hullámhossz összetétel nem stabil, sok tényező miatt változó, még ugyanazon a területen is. A fény minőségét (azaz a fény spektrális eloszlását) befolyásolja a nap szöge, amely a szélességtől és a napszaktól függ. Emiatt az időjárási tényezők nagy hatással vannak a növény növekedésére. A Nap sugárzás szabályozza a mag csírázását és bioszintézisét. A túlzott napsugárzás egyértelműen befolyásolja a flavonoid összetételt. Összehasonlították a napsütötte és árnyékban nevelt növényt, és a több napsütésben részesült levelek flavonoid glikozidjainak jelentősebb növekedését tapasztalták. Továbbá a flavonoidok lokalizációja különbségeket mutatott a napos és árnyékos levelek között. Antocianinokat csak a közvetlen napsütés hatására növekvő növény (fekete áfonya) leveleiben mutattak ki. Azonban annak ellenére, hogy az antocianinok általában felhalmozódnak a fényfeleslegben, lehetséges szerepük a fényvédelemben nem egyértelmű. A flavonoidok emellett a reaktív oxigén

hatékony megkötői, és így megakadályozzák a lipidek peroxidációját a növényi szövetekben. Számos tanulmányban arról számoltak be, hogy a flavonolok, különösen a kvercetin vagy kaempferol felhalmozódnak a megnövekedett UV-B sugárzás hatására. (JAAKOLA ÉS HOHTOLA, 2010)

1.4. Az ultraibolya fény

Az ultraibolya sugárzást hagyományosan három sávra osztják:

- UV-C (200-280 nm), amely a spektrum körülbelül 1%-a, és veszélyes a növényekre, de normál körülmények között nem éri el a Föld felszínét;
- UV-B (280-320 nm) - a napsugárzás 1,5%-a, és általában negatív hatással van a növények növekedésére és fejlődésére, azonban egyes növényfajok normális fejlődéséhez ebben a tartományban kis mennyiségű sugárzás szükséges;
- UV-A (320-400 nm) - a napsugárzás hozzávetőlegesen 6,3%-a, és biztonságos az élő szervezetek számára, szabályozó szerepet játszik a növények fejlődésében, ezért célszerű kis mennyiségű sugárzást tartani ennek a tartománynak a spektrumában.

A Föld ózon rétege teljesen elnyeli a 280 nm-nél kisebb hullámhosszú rövidhullámú UV-sugárzást. Az ózon UV-sugárzás abszorpciós együtthatója a 280 nm-nél nagyobb hullámhossz növekedésével gyorsan csökken és 330 nm-en egyenlő a nullával. Valójában csak a 290 nm-nél nagyobb hullámhosszú sugárzás éri el a Föld felszínét. (SEMENOV, MTSAI, 2017)

Az UV-hatásokat az 1950-es évek óta vizsgálják. A felvidéki természetes növényzetben, amely magas UV-sugárzásban különbözik a síkságtól. Viszont a későbbiekben szigorúbb döntések létrehozása révén szükségszerű lett a kísérletek alatt az UV lámpa. (SEMENOV, MTSAI, 2017)

Ezek az UV lámpák alacsony nyomású indukciós higanykisülési plazmája (~10-2 Hgmm) hatékony forrása az ultraibolya (UV) rezonáns sugárzásnak 185 és 254 nm hullámhosszon, mind a fénycsővek, mind a lámpák baktériumölő hatásúak, víz és levegő fertőtlenítésére és tisztítására használnak. A belső elektródák hiánya miatt a lámpák a puffer inert gáz viszonylag alacsony nyomásán működhetnek ($p_{i.g.} = 0,05 \dots 0,5$ Hgmm), amelyen az alacsony nyomású higanyplazma UV-rezonáns sugárzásának maximális generálása érhető el. Ez a kialakítás elkerüli a drága és törékeny mágneses áramkörök használatát, amelyek csökkentik a lámpa megbízhatóságát, növelik annak költségeit. Gyakorlati

szempontból nagy érdeklődésre tartanak számot az UV elektródalámpákban használt, zárt kvarccsőves, 16 és 25 mm átmérőjű indukciós UV lámpák, amelyek a berendezés jelentős módosítása nélkül helyettesíthetik az U alakú elektródalámpákat. (STARSHINOV, MTSAI, 2019)

A Földön a növényi élet fő energiaforrása a Nap, ezért feltételezhetjük, hogy a vadnövények összes élettani szükségletének megfelelő mesterséges fényforrással a Naphoz közeli sugárzási spektrum szükséges. (SEMENOV, MTSAI, 2017)

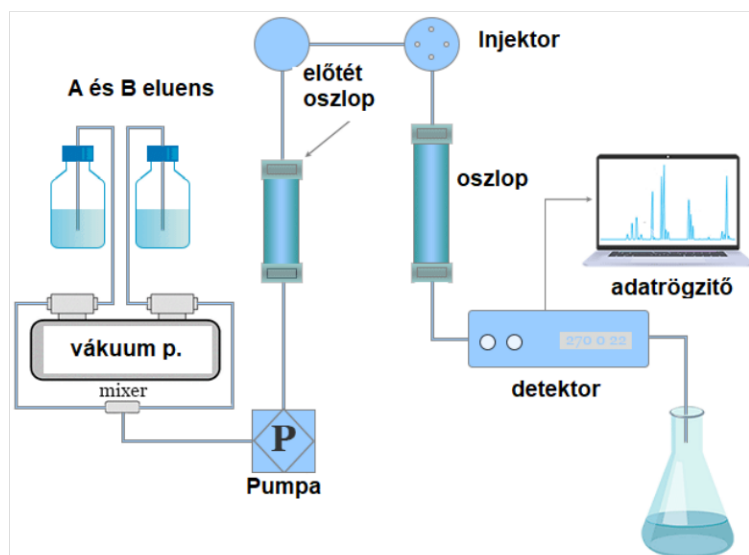
A nagy mennyiségű UV-sugárzás károsíthatja a makromolekulákat, például a DNS-t. Egyre többen kezdtek el foglalkozni az UV-sugárzásnak a másodlagos anyagcserére, különösen a flavonoidokra gyakorolt hatásával. (JAAKOLA ÉS HOHTOLA, 2010)

1.5. A folyékonykromatográfiáról általánosan

Napjainkban a folyadékromatográfiás módszerek széles körben elterjedtek. Ezek nemcsak különböző vegyületek szétválasztására alkalmasak, hanem mennyiségi és minőségi elemzésekre is használhatók.

A kromatográfia a XIX. században vette kezdetét. A jelenlegi nevét Mihail Szemjonovics Cvet orosz származású botanikus adta a XX. század első felében. Aki növények pigmentjeivel a színyanyagok szétválasztásával foglalkozott, ezzel kezdődött a kromatográfia. Az évek hosszú során létesített kromatográfiás eljárások és berendezések – az analitikai kémia nélkülözhetetlen részévé váltak. (ILISZ, É.N.; WIKIPÉDIA, 2020)

A folyadékromatográfiát, HPLC-nek (High Performance Liquid Chromatography) rövidítik. Ez egy olyan analitikai eszköz, amely képes kimutatni, elkülöníteni és mennyiségileg meghatározni a mintát. A berendezés az alábbiakból épül: eluensedény, pumpa, nyomás- és áramlás szabályozó, injektáló egység, kromatográfiás oszlop, detektor, adatrögzítő.



3.ábra: A folyadékkromatográfia elvi felépítése

Forrás: <https://sites.google.com/site/folyadékkromatografia1/home>

Ennél a műszernél meghatározó az, hogy gondosan válasszuk ki az álló- és mozgófázis minőségét (állófázis: szilárd; mozgófázis: folyadék). A molekuláris kölcsönhatásokra a minimális variálás hatással van az anyagokban. Oda kell figyelni arra, hogy várható, a bevizsgálendő minta interakciója a mozgófázissal, ezért az idő változó lehet.

Azt, hogy miként válasszunk mozgófázist az álló fázis polaritásán alapszik. Következésképpen az állófázis poláris – normál fázisú kromatográfiáról beszélünk. Az itt alkalmazható apoláris oldószerek a következők: diklór-metán, karbonsav (hangyasav), etil-acetát, furán stb. Amikor a fázisunk apoláris (pl: C18), ekkor viszont poláris szolvással – vízzel, metanollal, metil-cianiddal (acetonitrillel) stb. kell dolgozni.

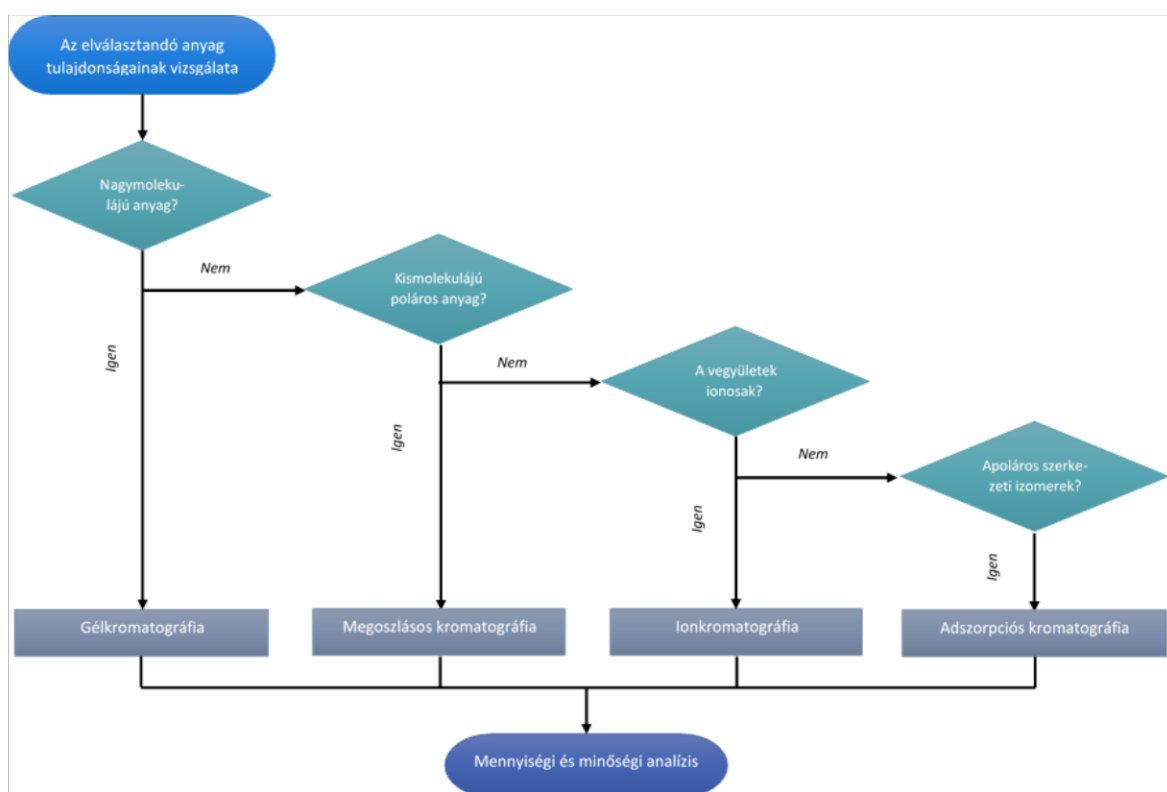
A folyadékkromatográfiánál elúcióról beszélünk, amikor kimosás történik. Tehát anyagok szétválasztása adszorbens által egy azonos oldatban. Másképpen fogalmazva adszorbensről folyadékkal (eluenssel) mossuk le az adszorbeált anyagot. Szoktak beszélni izokratikus elúcióról, amikor a folyadék összetétele a szétválasztás során állandó. Ennek ellentéte, ha változik – gradiens elúció lesz. (TOPSZÓTÁR; GRUBITS, É.N.)

A HPLC módszerek megválasztásánál, jelentős fontossággal bír a vizsgálandó anyag előkészítése, ugyanis egynemű oldatok vizsgálhatók.

1.6. A folyadékkromatográfiai módszerek

Az ide tartozó kromatográfiai módszerek, amikor folyadékot használnak. A legfontosabb eljárás módok: adszorpciós, megoszlásos, ioncserés és gélkromatográfiai. A négyféle metódust egymás kiegészítésére is használható. Szemléltetésül adszorpció mellett ioncsere vagy gélzsűrés mellett adszorpció. Megoszlók a módszerek alkalmazása. Adszorpciós kromatográfiai eljárást a legalkalmasabb az apoláris szerkezetű izomerek szeparálásánál, azonkívül csoportválasztásnál. Vannak esetek, mikor ionos minta elválasztása a cél, így ionkromatográfiai észszerű választani, ha nagymolekulát tartalmazó mintát kell bevizsgálni tanácsos a gélkromatográfiai használni. (GRUBITS, É.N)

A soron következő ábra segítségével egyszerűbben értelmezhetjük a feljebb leírtakat:



4.ábra. Sematikus ábra, amely alapján kiválasztjuk a vizsgálati módszert

Forrás: <https://sites.google.com/site/folyadékkromatografia1/home>

1.6.1. Adszorpciós kromatográfia

Az adszorpciós kromatográfiai LSC-nek rövidítik, a szakirodalomban folyadék-szilárd kromatográfianak is hívják. Az adszorpciós kromatográfia: az anyagkeverékek szétválasztásán alapul, egy adott adszorbens (álló fázis) eltérő adszorbeáló képességgel

rendelkezik. Az állófázis lehet alumínium-oxid (Al_2O_3) vagy szilícium-dioxid (SiO_2). Befolyásolja a funkciós csoport a molekula szerkezetét és annak térbeli elhelyezkedését, a kötődés erősségét, ezáltal az elúciós sorrendet. Példaként némely esetben a cisz- és transz-izomerek is különválaszthatóak. (MED-CHEMISTRY, É.N., 3.O.; GRUBITS, É.N)

Az abszorpciós folyamat akkor következik be, ha az abszorbeált komponens parciális nyomása (pl. gázkeverékben) nagyobb, mint az ezzel a gázzal érintkező folyékony abszorbensben, azaz az abszorpció lefolyásához szükséges, hogy a gáz és az abszorbens ne kerüljön érintkezésbe. Az adszorbens lehet szilárd vagy folyadék szorbens, amely térfogatában gázokat, gőzöket vagy folyékony keverékek komponenseit oldja. Olyan anyagok, amelyek képesek abszorbeálni, azaz elnyelni bármely más anyagot oldatból vagy gázból annak teljes tömegével.

Az LSC legfőbb felhasználása a kis mértékben apoláris jellegű anyagok szétválasztása. A legegyszerűbben az anyagok szétválasztásához ez a módszer szolgál segítségül munkánkban, melyek apoláris oldatokban maximálisan, csak hogy vizes oldószerekben mérsékelten oldódnak. Az izomerek szétválasztására is az egyetlen mód az adszorpciós kromatográfia. (GRUBITS, É.N)

1.6.2. Ionkromatográfia

Az ionkromatográfia (IC) analitikai módszerek egyike, amely az állófázis és mozgófázis közt ionok kicserélődésén-egyensúlyán alapszik. Ez a módszer kivitelezése főleg elúciós oszlop igénybevételével, ezenkívül alkalmanként kizsorításos analízis útján zajlik. Ámde a szakirodalomban a mai napig többféleképpen definiálják, bő értelemben mindent idesorolnak, amely kicsit is az ionok kromatográfias elméletén alapszik. Egy másik forrás alapján, azokat az eljárásokat értik ezalatt, melyek anionokat, kationokat, hidrofíil savakat és bázisokat különítenek el. (ILISZ, É.N.; SZABÓ, É.N.)

Az ionkromatográfia lényegében egyezik a folyadékkromatográfia szerkezetével, a következő főbb részekből áll: eluensédények, pumpa, adagoló, kolonna, detektor. Az ionok az egyes iontípusokra jellemző ioncsere reakciók eredményeként válnak szét. (ILISZ, É.N.; SZABÓ, É.N.)

Az ioncserélő kromatográfia lehetővé teszi a molekulák ionos kölcsönhatások alapján történő elválasztását. Az állófázis töltött funkciós csoportokat tartalmaz, amelyek kölcsönhatásba lépnek az elemzett ellentétes töltésű ionizált molekulákkal. A

kromatográfiának ezt a változatát két típusra osztják: kationos és anioncserélő kromatográfiára.

Kationos ioncserélő kromatográfia: megtartja a pozitív töltésű kationokat, mivel az állófázis negatív töltésű funkciós csoportokat tartalmaz.

Anion-ioncserélő kromatográfia: megtartja a negatív töltésű anionokat, mivel az állófázis pozitív töltésű funkciós csoportokat tartalmaz.

Az ioncserélő kromatográfia gyakorlati alkalmazási módszereit elsősorban az ionok szétválasztására alkalmazzák. A komponensek elválasztás utáni mennyiségi meghatározása, bármilyen alkalmas módszerrel elvégezhető. Az ioncserélő szétválasztás legegyszerűbb technikája az, hogy a keverék komponenseit ioncserélővel abszorbeálják és az egyes komponenseket egymás után megfelelő oldószerrel eluálják. Az ioncserélő kromatográfias módszerek sok aniont határoznak meg az ivó- és ipari vízben, az élelmiszer-, gyógyszer- és egyéb iparágak technológiai feldolgozási termékeiben. Az ioncserélő kromatográfia módszerei elsősorban az alkáli- és alkáliföldfémek kationjait, valamint a helyettesített ammóniumsók szerves kationjait határozzák meg. (БОРИЧЕВСЬКИЙ, É.N.)

1.6.3. Megoszlásos kromatográfia

Ez a módszer a kromatográfias elemzés egy külön típusa, amely az állófázis (folyékony) és a mozgó (gáz vagy folyadék) között eloszló anyagok tulajdonságain alapul, megoszlási hányadosuknak megfelelően. A megoszlási kromatográfia nagy előnye, hogy az egyes komponensek mozgása az oszlopban szinte független más anyagok jelenlététől, ami nagyban megkönnyíti a folyadék-kromatogramokon lévő komponensek azonosítását. Ezt a módszert széles körben használják aminosavak, tanninok (cserzőanyagok) és egyéb anyagok elválasztására. (MED-CHEMISTRY, É.N., 3.O.; PERCEV ÉS MTSAL, 1962)

A megoszlási kromatográfia a papíron végzett kromatográfia formájában érte el a legnagyobb sikerét. A papírkromatográfiának megvannak az előnyei az oszlopkromatográfiával szemben, mert rendkívül kis mennyiségű összetett keverék meghatározására alkalmas. A mozgófázis mozgása során feloldja a lerakódott anyagokat a papíron és azzal együtt mozgatja, a mozgó és állófázis közötti anyag folyamatos újraelosztásával. A megoszlási hányados pedig az anyag oldhatóságától függ mindkét fázisban.

Egy anyag papíron való mozgási képességét az R_f értékkel jellemezzük. Ez elsősorban az oldószerrendszertől, a hőmérséklettől és a papír minőségétől függ. Az azonos

körülmények között végzett kísérlet során az R_f értéke egy adott anyagot jellemző állandónak tekinthető. A papírkromatográfia nagy pozitív tulajdonsága, hogy kis mennyiségben (tized- és századmilligrammban) lévő anyagok elemzésére is használható. Másrészt előkészítő célra nem használható. A papíron végzett kromatográfiával nyert adatok felhasználásával azonban lehetőség nyílik ennek a folyamatnak a nagy léptékű reprodukálására cellulózoszlopon, és így a kívánt komponensek megfelelő mennyiségben történő izolálására. (PERCEV ÉS MTSAI, 1962)

1.6.4. Gélkromatográfia

A gélkromatográfias módszer lényege, hogy a vizsgált keverék oldatának szűrésekor a gél pórusaiba behatoló kisebb molekulák az ezekben a pórusokban lévő oldószerben elhúzódnak és lassabban mozognak a gélréteg mentén, mint a nagy molekulák, amelyek nem képesek áthatolni a pórusokon. Így a gélkromatográfia lehetővé teszi az anyagok keverékének szétválasztását az anyagok részecskéinek méretétől és molekulatömegétől függően. Ez az elválasztási módszer meglehetősen egyszerű, gyors, és ami a legfontosabb, lehetővé teszi az anyagok keverékeinek enyhébb körülmények közötti szétválasztását, mint a többi kromatográfias módszer. Az adszorpciós kromatográfiával ellentétben a géliszűrésnél az állófázis kémiaiilag inert marad és nem lép kölcsönhatásba az elválasztandó anyagokkal. (MED-CHEMISTRY, É.N., 3.0.; БОРИЧЕВСЬКИЙ, É.N., 3.0.; РЫСКИТА, 2015, 22.0.)

A kromatográfias oszlop gélgranulátummal (sephadex) van megtöltve, amely bizonyos méretű pórusokkal rendelkezik. A fehérjék keverékét adjuk az oszlophoz. A fehérjék, amelyek mérete kisebb, mint a sephadex pórusainak mérete, az oszlopban megmaradnak, mivel "beleakadnak" a pórusokba, a többi pedig szabadon elhagyja az oszlopot. A fehérje mérete a molekulatömegétől függ. (РЫСКИТА, 2015, 23.0.; БОРИЧЕВСЬКИЙ, É.N., 4.0.)

A gélkromatográfias alkalmazása: makromolekuláris vegyületek keverékeinek szétválasztására és polimerek molekulatömeg-eloszlásának meghatározására; közepes molekulatömegű és kis molekulatömegű vegyületek keverékének; anyagkeverékek szétválasztására, ha a vizsgált anyagok molekulatömege nagyon közel van, vagy akár egyenlő használják. (БОРИЧЕВСЬКИЙ, É.N., 9.0.)

II. ANYAG ÉS MÓDSZERTAN

A kutatásunk során azt vizsgáltuk, hogy milyen módon befolyásolja a körömvirágra gyakorolt nagyobb mennyiségű UV B sugárzás a növényvédekező mechanizmusát. A védekező mechanizmus egyik fontos eleme az antioxidánsok, különösen a flavonoidok termelése. Ezen mechanizmusok vizsgálatához a körömvirág szárazanyagot használtunk.

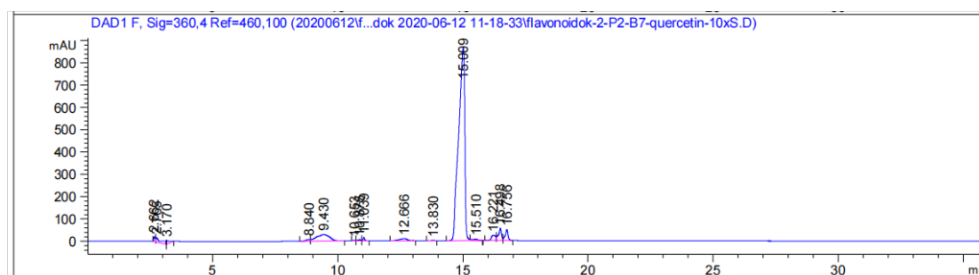
A 2021-2022 tanévben három kísérletet végeztünk el a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola Biológia és Kémia Tanszék szerves és biokémia laboratóriumában, HPLC műszeren. A minták két forrásból származtak. Az előzetes kísérleteinkhez Molnár Ferenc II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola II/4 MSc-s hallgatója szolgáltatta a száraz anyagot.

A többi kísérlethez a 2022-2023-as tanévben az általam termesztett száraz anyagot használtuk.

A 2023-2024-ben végzett kísérlethez a II RF KMF Biológia és Kémia Tanszék mikroszaporító laboratóriumának fényszobájában termesztett növényeket használtuk. Az UV-B megvilágítást a LN 090 Nüve lamináris boxban végeztük.

A mintákban lévő értékes hatóanyagok kimutatása bonyolult folyamat. Jellem munkánkban csak a kvercetin tartalmat vizsgáltuk. Mivel nem rendelkezünk standarddal, a laborban lévő kvercetin (quercetin) használtuk alapul. A kvercetin címkéjén feltüntetett 98%-os tisztaságnál alacsonyabb tisztaságot mértünk 360 nm-en. A 360 nm-es hullámhosszon mért kromatogram alapján a tisztasága körülbelül 90%-os lehet. Mivel a kvercetin protonáltsága befolyásolhatja a polaritását, ami eltérő retenciós időhöz vezethet, ezért a vásárolt mintához sósavat adtunk, hogy azonos körülményeket teremtsünk a HPLC analíziséhez. A protonált kvercetin adszorpciós maximuma körülbelül 375 nm-en található. (ASADOLLAHI MTSAL., 2015)

A laborban lévő kvercetin HPLC műszeren segítségével vizsgáltuk. Ennek eredményét használtuk a többi vizsgálathoz standardnak. A vizsgálat során a kromatogrammon egyértelműen látható a 360 nm-es hullámhossznál a 15.009 és 15.510 perces csúcspontnál van, amely valószínűleg a kvercetin jelzi (lásd 71.ábra). Lehetséges, hogy más polifenolok is ugyanezen a helyen mutatják maximális abszorbanciájukat, azonban a kvercetin esetében két csúcs figyelhető meg. A nagyobb csúcs egy keverékre jellemző, míg a kisebb csúcs a kvercetin specifikus jellemzője. Annak ellenére, hogy a kisebb csúcs alacsonyabb intenzitású, pontosabban reprezentálja a kvercetin jelenlétét. Ezen teszt eredményeit standardként alkalmaztuk.



71. ábra: A standard kvercetin kimutatása HPLC segítségével

Forrás: HPLC eredménye

3.táblázat: A standard kvercetin kimutatása százalékos aránya

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
11	15.009	BV R	0.2471	1.47588e4	865.00690	82.7034
12	15.510	VB E	0.1754	58.49069	4.75890	0.3278

Forrás: saját szerkesztés

A 25 mintát megvizsgáltuk négy különböző nanométer hullámhossz tartományban (250 nm, 280 nm, 360 nm, 375 nm). Minden egyes kromatogram felvétele külön-külön 35 perccel vett igénybe.

A kvercetin optimális abszorpciós hullámhossza 360 nm, ezért minden minta esetében ezen a hullámhosszon vettük fel a kromatogramokat. A kapott kromatogramokon a tizenötös retenciós időhöz tartozó értékeket hasonlítottuk össze a standard kvercetin megfelelő értékével. Mivel nem rendelkezünk HPLC tisztaságú standarddal, csak kvercetin referenciaanyaggal, ebből egy mintát futtattunk le. Az eredmények szerint a kvercetin retenciós ideje 15.5 perc, és az analízis 80-90% pontosságú. Emiatt nem tudjuk a kvercetin koncentrációját milligrammban megadni, mivel ehhez megfelelő tisztaságú standardra és különböző hígításokra lenne szükség. Ezért százalékos becsléseket fogunk alkalmazni az értékek meghatározásához. Nagyon sok esetben a kvercetin mellett egyéb polifenolok is jelen vannak, amit nem tudunk eltávolítani. Emiatt a kvercetin mennyiségét csak százalékos formában határozzuk meg.

2.1. A *Calendula officinalis* L. jellemzése:

A *Calendula officinalis* L az *Asterales* rend *Asteraceae* családba tartozó faj. A körömvirág egy éves, törpenövésű (30 cm), gyógy- és dísznövény nagy élénk narancssárga színű telt virágzattal. Fényszerető (a virága árnyékos helyen kevésbé szép). Hidegtűrő: -5 °C-ig fagyűrő és nem igényes növény. Leggyakrabban március – április között vetik 2-3 cm

mélyen a földbe. Könnyen tűri a pikírozást és az átültetést. Az első virágzása 45-50 napra várható kiültetése után. Általában késő őszig nyílik. Felhasználása sokrétű, alkalmas dísznövénynek járdaszegélyek mellé, virágágyásokba, fontos gyógynövény.

2.2. Első számú előzetes kísérletek:

Molnár Ferencről kapott száraz anyagon három különböző módszerrel vizsgáltuk a kvercetin. Az előzetes kísérletek során az alábbi cikkek által ajánlott módszereket alkalmaztam:

1. Souza, C. – Bott, R. – Oliveira, W. (2007): "Optimization of the extraction of Flavonoids Compounds from Herbal Material Using Experimental Design and Multi – response Analysis." *Latin American Journal of Pharmacy* 26:5, 682-690.o.
2. Vidal-Ollivier, E.- Elias, R.-Faure, F.-Babadjamian, A.-Crespin, F.-Balansard, G.-Boudon, G. (1989): "Flavonol Glycosides from *Calendula officinalis* Flowers." *Planta Medica* 55, 73-74.o.
3. Nuutila, A. M., Kammiovirta, K., & Oksman-Caldentey, K.-M. (2002): "Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis." *Food Chemistry* 76, 519 – 525.o.
4. Raal, A., & Kirsipuu, K. (2011): "Total flavonoid content in varieties of *Calendula officinalis* L. originating from different countries and cultivated in Estonia." *Natural Product Research*, 25(6), 658–662.o.

Ezen cikkekben leírt módszertani javaslatok alapján végeztem el az előzetes kísérleteket.

2.2.1. Előzetes kísérlet

2021. november 16. és 2021. november 23. között végeztem. A száraz virágot (szárastól, magvakkal és szirmokkal együtt) felaprítottuk. 4 g növényi anyagot mértünk ki három ismétlésben, és körömvirág tinktúráit készítettünk, amelyek széles körben elterjedtek. Az oldatok 1:2, illetve 2:1 arányú (% v/v) etanolos vízzel, valamint tiszta etanolal készültek,



5.ábra: *Calendula* tinktúrák.

Az 1. számú üvegsében lévő oldat (víz és etilalkohol, 2:1),
2. számú (víz és etilalkohol, 1:2) és a 3. számú (csak etanol) (2021.11.16)

Forrás: saját fotó

A vizsgálat célja a tinktúrák összetevőinek azonosítása, annak megállapítására melyik a legjobb oldószer a gyógynövény hatóanyag kivonáshoz.



6.ábra: *Calendula* tinktúrák leszűrése (2021.11.23)

Forrás: saját fotó

Egy hét múlva az 1. számú üvegsében lévő oldat (víz és etilalkohol, 2:1 arányban) erős barna színt mutatott, a 2. számú üvegsében lévő oldat (víz és etilalkohol, 1:2 arányban) világosabb aranybarna színű volt, míg a 3. számú üvegsében lévő oldat (csak etanol) aransárga színűvé vált. Az 1. számú üvegséből kivettük az oldatot, amelyben a víz és etilalkohol 2:1 arányban volt jelen, és leszűrtük. Egy 50 ml-es gömblombikba 10 ml mintát töltöttünk, majd hozzáadtunk 4 ml 12%-os sósavat. Az eszközt Bunsen állványba rögzítettük, és egy hűtőrendszerrel ellátott vízfürdő felé helyeztük. Az oldatot két órán át forraltuk az előmelegített, 80 °C-os vízfürdőn. (VIDAL-OLLIVIER MTSAL., 1989; NUUTILA MTSAL., 2002; RAAL ÉS KIRSIPUU, 2011)

Miután letelt a két óra, az oldatot levettük a Bunsen állványról és hagytuk lehűlni szobahőmérsékletre. Ezután 1 ml oldatot kimértünk egy 2 cm³-es pipettával egy pohárba, amelyet félretettünk és állni hagytunk. A maradék oldatot egy elválasztó tölcsérbe öntöttük, majd hozzáadtunk 10 ml hexánt (C₆H₁₄). A hexán nem elegyedik a vizes oldattal, ezért szükséges az összerázás. Az oldat és hexán összerázása során az illékonyabb oldószer gőznyomása miatt többször is meg kellett nyitni a tölcsér csapját. A felrázás után a hexán és a vizes oldat között jól látható határfelület alakult ki. Leengedtük a vizes oldatot, majd egy másik pohárba a hexánt. Ezt a folyamatot még háromszor megismételtük. A végén a színes oldatot (hexános oldatot) visszatöltöttük az elválasztó tölcsérbe, hozzáadtunk ismét 10 ml hexánt és megismételtük az eljárást, mivel az oldat szennyezett maradt. Ismét leengedtük a vizes oldatot, a hexános oldatot pedig külön gyűjtöttük. A színes oldatot újra az elválasztó tölcsérbe töltöttük, 10 ml hexánt adtunk hozzá és összeráztuk. Az oldatokat külön-külön leengedtük. Az oldat színe arra utalt, hogy a benne lévő anyagok bomlani kezdtek. A szerves fázishoz MgSO₄ sót adtunk, hogy megkösse a benne maradt vizet. A minta összetételét HPLC műszerrel vizsgáltuk meg.

2.2.2. Második számú előzetes kísérlet

2021. november 18-án száraz *Calendula officinalis* L. virágot (szárástól, magvakkal és szirmokkal együtt) aprítottunk fel. A felaprított növényből kétszer 4 g-ot kimértünk zsírpapírra. Egy 250 cm³ mintatároló edényt használtunk, amely az I. jelölést kapta, és ebbe szórtuk a kimért növényi anyagot. Pipettával 20 ml etilalkoholt és 10 ml desztillált vizet mértünk be az edénybe, majd lezártuk és fénytől elzárt helyen tároltuk 96 napig. Ezután az oldatot leszűrtük, és a leszűrt folyadékot visszahelyeztük az üvegbe.



7.ábra: *Calendula* tinktúra (2:1 (% v/v) alkohol víz arányban) (2021.11.18)

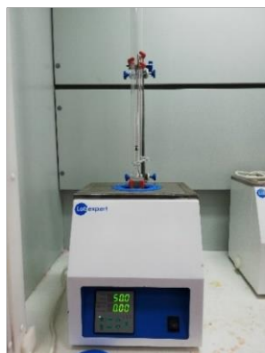
Forrás: saját fotó



8.ábra: *Calendula* tinktúra leszűrésének folyamata

Forrás: saját fotó

Az extrakciós módszert az alábbi Souza, C. – Bott, R. – Oliveira, W. (2007) cikk alapján választottuk, mivel egyszerűsége és kezelhetősége kiemelkedőnek bizonyult az első elővizsgálat során. A második adag szárított és porított növényi anyagot (4 g tételt) vízfürdővel extraháltuk 50 °C-on. Egy 50 cm³-es gömblombikba szórtuk a száraz körömvirágot, majd 20 ml etilalkoholt és 10 ml desztillált vizet mértünk bele. A flavonoidok kivonásához 55 °C-os vízfürdős extrakciót alkalmaztunk, a gömblombikhoz pedig Bunsen állványba rögzített csiszolatos hűtőállványt használtunk. Az extrakciós időt 2 órára állítottuk. Ez a II. jelölt minta lett.



9.ábra: A minta melegítési folyamata

Forrás: saját fotó

2.2.3. Harmadik számú előzetes kísérlet

2021. november 22-én a 2. számú oldatból 10 ml-t mértünk be, amit egy 50 cm³-es gömblombikba töltöttünk. Ehhez a mintához 4 ml 12%-os sósavat adtunk. A mintát előmelegített, 80 °C-os vízfürdőre helyeztük, és 2 órán át főztük, miközben hűtőberendezéssel elláttuk. Ebből a folyamatból származott mintát jelöltük meg 2a-ként.

Ugyanezt a folyamatot ismételtük meg a 3. számmal jelölt mintával is. 10 ml oldatot bemértünk egy gömblombikba, hozzáadva 4 ml sósavat (12%), majd ezt is főztük 2 órán át vízfürdőn, hűtő berendezéssel ellátva. Ez lett – 3a.



10.ábra: A vízfürdőre felhelyezett tinktúra főzetek (2a és 3a minták)

Forrás: saját fotó

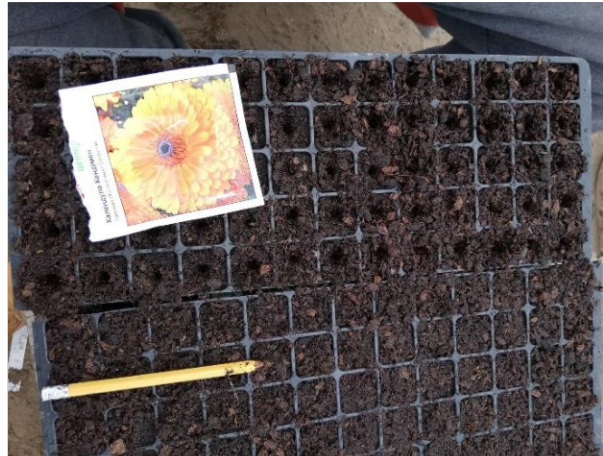
2.3. Saját termesztésű *Calendula officinalis*

2022. február 11-én Benében elvetettük 270 *Calendula* virágmagot sejttálcába. A magokat fóliasátorban melegben tartottam, hogy elősegítsem a gyors csírázást. Több fajta került kivetésre: a *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman* (rétes), *Calendula officinalis* L. *deja vu* (rétes), *Calendula officinalis* L. „Розовий сюрприз” fajtákat, a legnagyobb hangsúlyt a *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman* virágra fektettem. Sajnos a magok kikelési aránya nem volt jó.



11.ábra. *Calendula* virágmagok: *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman* (rétes), *Calendula officinalis* L. *deja vu* (rétes), *Calendula officinalis* L. „Розовий сюрприз”

Forrás: saját fotó



12.ábra: *Calendula Officinalis* L. virág vetésének első fázisa sejtálcába. (2022.02.11)

Forrás: saját fotó



13.ábra: *Calendula* virágok kikelési aránya a sejtárcában (2022.03.05)

Forrás: saját fotó

2022. március 15.-kén átültettük a virágokat sejtálcából cserépládákba, így megtörtént a pikírozási fázis. A kifejlet *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman* (rétesből) fajtából 20 virágpálanta került egy cserépládába, amit összesen 3 cseréplárával ültettem be. *Calendula officinalis* L. *deja vu* (rétesből) fajtából csak 22 palánta volt, ami 1 cserépládát jelentett. *Calendula officinalis* L. „*Розовуї цюпнуз*”-ból pedig 17 virágpálantát ültettem, szintén 1 cserépládába. A növények folyamatos gondozást igényeltek: amikor még nem voltak megfelelően fejlettek, fóliasátorban tartottam őket, de éjszaka, amikor fagyott, a növényeket fűtött melegházban tartottam. Mindennap öntöztem. Az első virágok megjelenése a *Calendula officinalis* L. *deja vu* (rétes) fajtánál volt megfigyelhető leghamarabb, majd három nap múlva a *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman* (rétes), *Calendula officinalis* L. „*Розовуї цюпнуз*” fajták is elkezdtek virágozni.



14.ábra: Az első virágok (2022.05.03)

Forrás: saját fotó

A virágok nagy részét szabad téren neveltem, ahol egész nap kitéve voltak a Nap UV fényének. Megfigyeléseim alapján a két féle rétes virág nagyobb virághozammal rendelkezett, míg a közönséges minimális, viszont ez a fajta jobban bírta a szárazságot. A cserépládában lévő virágokot május végére, naponta akár négy alkalommal is öntözni kellett, mivel a cserépládában lévő föld kevésnek bizonyult számukra. Célszerű kevesebb virágot ültetni egy cserépláda, hogy a nedvesség hosszabb ideig megmaradjon benne.

A három különböző fajta magból kinevelt virágoknak megmértem a virág fejek átmérőjét. A *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman* rétesnek 5-6,5 cm volt, míg a szintén rétes *Calendula officinalis* L. *deja vunek* 4,5-5,5 cm és a közönséges *Calendulának* 5 cm.



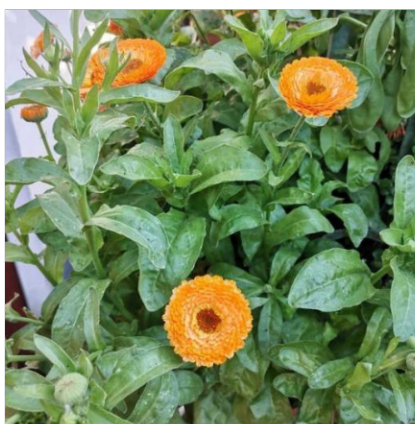
15.ábra: *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman* (rétes)

Forrás: saját fotó



16.ábra: *Calendula officinalis* L. *deja vu* (rétes)

Forrás: saját fotó



17.ábra: *Calendula officinalis* L. „*Розовиѹ сюрнпуз*” (rétes)

Forrás: saját fotó

2022. május 25-én elkezdtem begyűjteni a kinyílt virágokat, minden fajtát külön szortíroztam és szárítottam. Emellett a virágok szárait is gyűjtöttem és szárítottam, hogy azok is rendelkezésre álljanak a későbbi analízishez.



18.ábra. A begyűjtési folyamat (2022.05.25), A) *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman* (rétes); B) *Calendula officinalis* L. *deja vu* (rétes); C) *Calendula officinalis* L. „*Розовиѹ сюрнпуз*” (rétes)

Forrás: saját fotó



19.ábra: *Calendula* szortírozása és szárítása (2022.05.25), A) *Calendula officinalis* L. dwarf Candyman (rétes); B) *Calendula officinalis* L. deja vu (rétes); C) *Calendula officinalis* L. „Pозовиű ciopnyű” (rétes)

Forrás: saját fotó



20.ábra: *Calendula* szárak begyűjtése és szárítása (2022.05.25), A) *Calendula officinalis* L. dwarf Candyman (rétes); B) *Calendula officinalis* L. deja vu (rétes); C) *Calendula officinalis* L. „Pозовиű ciopnyű” (rétes)

Forrás: saját fotó

A virágok begyűjtése 2022. június 11-én zárult, a terméséréssel. A tanév során kitűzött célok egy részét sikerült megvalósítani, így a további kutatást és kísérleteket a következő, 2022/23-as tanévben folytattam.

2.4. Általam termesztett viráganyagon végzett kísérletek

A kísérletnek ebben a szakaszában az általam termesztett anyagot UV-B sugárzásnak vettem alá.

A 2022-2023 tanévben megismételtem a vetést december 1-én. Mindenből ugyan annyit vetettem, mint februárban. 60 db *Calendula officinalis* L. *dwarf Candyman*, 22 db *Calendula officinalis* L. *deja vu* és 17 *Calendula officinalis* L. „*Позовуї цюпнуз*”-t. A vetési időpontot előre hozatala nem bizonyult sikeresnek, mivel a magok csíráztatása csak bizonyos kedvező feltételek mellett lehetséges. A háborús helyzet miatt, gyakori volt az áramkimaradás – napi szinten 6-7 órát volt áram. Ugyan a fény nem befolyásolja a faj csírázását, de jelentős szerepet játszik csírázását követő növekedés során. (SULYHA, 2020)



21-24.ábrák: Sejttálcák előkészítése a veteményezéshez, *Calendula* magok elvetése és beszórása földdel, locsolás (2022.12.01)

Forrás: saját fotó



25.-27.ábrák: (Első vetés) *Calendula* virágmagok kelési aránya:

A) Piros jelölés- *Calendula Officinalis dwarf Candyman*;

B) Sárga- *Calendula officinalis* L. *deja vu*;

C) Zöld – *Calendula officinalis* L. „*Позовуї цюпнуз*” (2022.12.04)

Forrás: saját fotó

A sejttálcák ez esetben az ablakpárkányra kerültek, mivel otthon a fóliásátorban nem kezdődött meg a szezon. A felnyurgulás miatt kialakult tőrothadás tovább rontotta a helyzetet, bár a palántákat "Previcur" gombaölő szerrel kezeltem (28.-29.ábra). A második vetés is sikertelennek bizonyult (30.ábra), így 2023.január 3-án újabb adag körömvirág mag

került elvetésre, ami három napon belül viszonylag jól kelt (31.-32.ábra). Bebizonyosodott, hogy a *Calendula officinalis* L. dwarf Candyman fajta strapabíróbb, mint a *Calendula officinalis* L. deja vu és *Calendula officinalis* L. „Розовий сюрпуз” ezek igényesebbek.



28.-29.ábra: (Első vetés) a) *Calendula* palánták felnyurgultak. (2022.12.15)

b) *Calendula* palánták, amelyek meg maradtak.

A) Piros jelölés-*Calendula officinalis* L. dwarf Candyman, B) Sárga- *Calendula officinalis*

L. deja vu, C) Zöld – *Calendula officinalis* L. „Розовий сюрпуз” (2023.01.06)

Forrás: saját fotó



30.ábra: (Másod vetés) *Calendula* palánták elpusztultak a nem megfelelő körülmények hiányában. (2023.01.03)

Forrás: saját fotó



31-32.ábrák: (Harmadvetés)

Calendula virágok csírázása és növekedése (2023.01.06.)

Forrás: saját fotó

2023. január 6.-án cserépládába átültettem az első vetésből megmaradt 13 szál palántát.



33.ábra. (Első vetés)

Calendula officinalis L. dwarf Candyman cserépbe ültetése (2023.01.10.)

Forrás: saját fotó

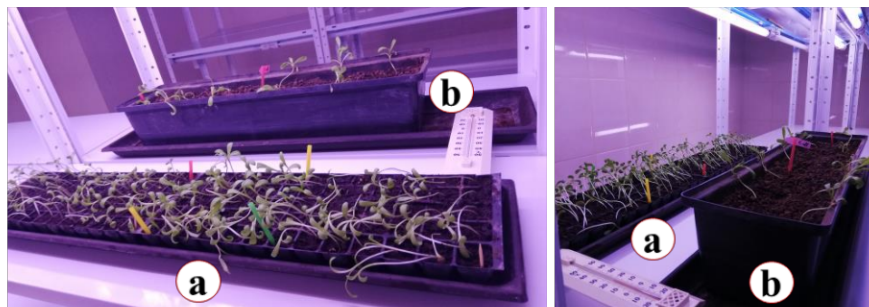
A harmadvetés szépen fejlődött, mivel hosszabbodtak a nappalok.



34.-35.ábra. (Harmadvetés) *Calendula* palánták: A) Piros jelölés- *Calendula officinalis* L. dwarf Candyman; B) Sárga-*Calendula officinalis* L. deja vu; C) Zöld – *Calendula officinalis* L. „Розовий сюрприз”(2023.01.17.)

Forrás: saját fotó

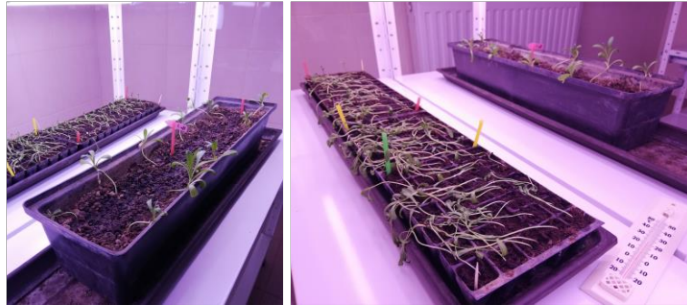
2023. január 18.-án sikerült a cserépládába elültetett és sejttálcás palántákat bevinni a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola mikroszaporító laboratóriumába (fényszobájába). Ahol a körülmények megfelelőek voltak, volt állandó mesterséges fény és stabil 23 °C fok. Elhelyeztem az állványon és meglocsoltam.



36.-37.ábrák: a) (Harmadvetés) és b) (Első vetés) *Calendula* virágpalánták (2023.01.18.)

Forrás: saját fotó

Rendszeresen öntöztem.

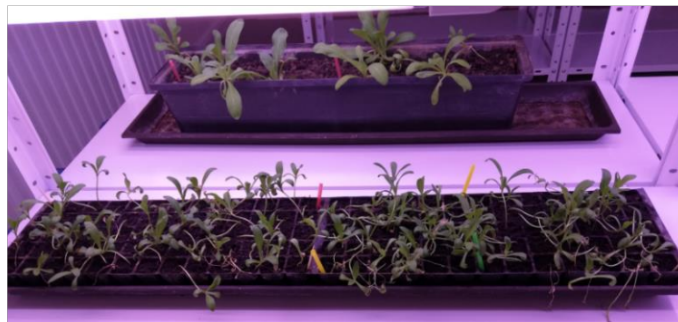


38.-39.ábrák: *Calendula* virágok fejlődése (2023.01.24.)

1) (Első vetés) *Calendula officinalis* L. dwarf Candyman

2) (Harmadvetés) *Calendula* virágpalánták

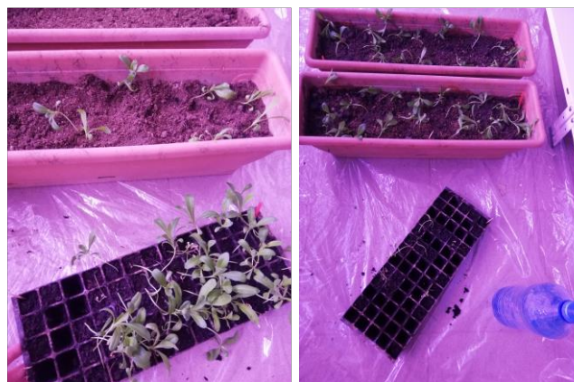
Forrás: saját fotó



40.ábra: Körömvirágok fejlődése (2023.02.02.)

Forrás: saját fotó

Február 6.-án a *Candyman* fajtát átültettem két azonos virágládába, elosztottam 20 – 20 palántára. Az egyik lett az UV-B sugárzással kezelt, a másik pedig a kontrol csoport. A többit nem tudtam átültetni, mert nem volt még erős a gyökérszete, így azt hagytam erősödni.



41.-42.ábrák: (Harmadvetés)

Calendula officinalis L. dwarf Candyman kiültetése cserépládákba (2023.02.06.)

Forrás: saját fotó



43.-44.ábra: Az átültetett körömvirágok elhelyezése, megöntözése és a megmaradt körömvirágok: *Calendula officinalis deja vu*, *Calendula officinalis* „Розовий цюпрус”, amelyeket hagytam erősödni (2023.02.06.)

Forrás: saját fotó

Február 7.-én és 8.-án „Previcur”-os vízzel meglocsoltam a szárát, hogy fertőtlenítssem a gomdásodástól. Az első vetésből megmaradt virágokom az első bimbók február 20.-án jelentek meg, a harmadvetésen - február 23.-án. Mihelyst megerősödött és megfogant a cserépládákban a virág, a lamináris boxban 15 perces UV sugárzást kapott. Ennyire van beállítva a berendezés időzítője.

Az első megvilágítást 2023.február 27. kezdtük a harmadvetésből kelt *Calendula officinalis dwarf Candyman* fajtán. A 15 perc elteltével nem volt szemmel látható változás (46.ábra). Következő nap ismételten megtörtént a besugárzás, miután kivettem a cserépládát a boxból, a kontrol csoporttal együtt bőségesen meglocsoltam. A besugárzási időről készítettünk egy összefoglaló táblázatot (1.táblázat) :

1. táblázat: Besugárzási idő a *Calendula officinalis dwarf Candyman* fajtára

Dátum	Besugárzási idő fényszoba fényvel (A csoport) X óra	Besugárzási idő UV fényvel (B csoport) Y óra	Besugárzási idő fényszoba fényvel (B csoport) X-Y óra
2023.02.27.	10	15 perc	9 óra 45 perc
2023.02.28.	10	15 perc	9 óra 45 perc
2023.03.01.	10	15 perc	9 óra 45 perc



45.-46.ábra: (Harmadvetés) *Calendula officinalis dwarf Candyman*
első megvilágítása után a Lamináris boxban (2023.02.27.)

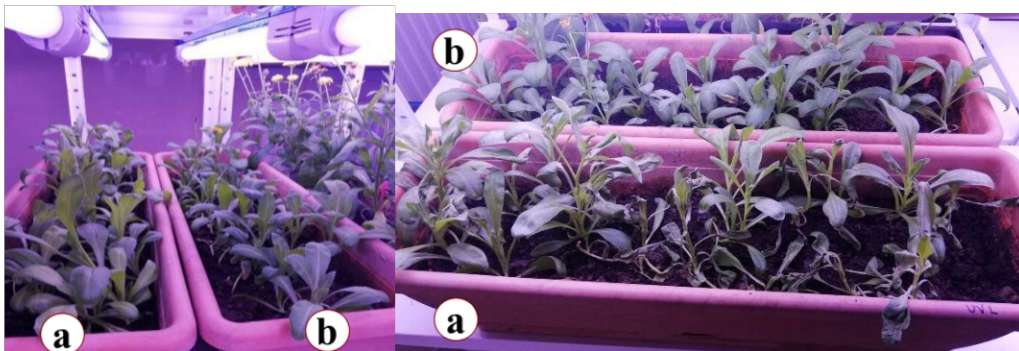
Forrás: saját fotó



47.ábra: (Harmadvetés) *Calendula officinalis dwarf Candyman*
második megvilágítás után a Lamináris boxban (2023.02.28.)

Forrás: saját fotó

A 48.ábrán egymás mellett látjuk bal oldalt az UV besugárzott körömvirágot és jobb oldalt a kontroll csoportot, de változás még mindig nem volt megfigyelhető. A levelek szép zöldek, talán a megvilágított növények levele nagyobb, szebb, mint a kontroll csoporté. Viszont azon megjelentek az első virágok.



48.-49.ábrák: (Harmadvetés) *Calendula officinalis L. dwarf Candyman* virágok:

a) UV besugárzott; b) Kontroll csoport

Forrás: saját fotó

Március 1.-re a besugárzott virágon jól látszottak a levélégés jelei, olyan volt, mint ami le lenne forrázva. Az alanyok szinte 50% nem élte túl, 11 egyed maradt. A megfigyelések alapján arra következtethetünk, hogy soknak bizonyosul a 15 perces UV-

besugárzás. Ezért úgy döntöttünk, hogy csökkentjük az UV-besugárzás időtartamát, és a hét többi napján pihentetjük, hagyjuk regenerálódni a növényt.

Március 1.-én átültettem a harmadvetésből megmaradt palántákat cserépládákba, tehát a *Calendula officinalis deja vu* és *Calendula officinalis* „*Розовий цюпрус*” -et. Mindegyikből 1 – 1 ládával lett (51.ábra). *Deja vu* fajtából 22 szál – sárga jelölést, „*Розовий цюпрус*” -ből 24 db – zöld jelölést kaptam (52.ábra). Az arány ugyan annyi, mint tavaly. Két nap múlva a *Calendula officinalis dwarf Candyman* fajtán drasztikus volt a kár, a levelek sárgulni, fonnyadni kezdtek, a szára világosodott. 9 db virág maradt élve (52.ábra).



50.-51.ábrák: (Harmadvetés) *Calendula* virágok átültetése cserépládákba:

a) Sárga - *Calendula officinalis deja vu*

b) Zöld - *Calendula officinalis*L. „*Розовий цюпрус*” (2023.03.01)

Forrás: saját fotó



52.ábra: (Harmadvetés) *Calendula officinalis dwarf Candyman* virágok:

a) UV besugárzott; b) Kontroll csoport (2023.03.03.)

Forrás: saját fotó

Egy hét elteltével a virágok fejlődése nagyot ugrott. A besugárzott virág elkezdett virágozni.



53.ábra: (Harmadvetés) *Calendula officinalis dwarf Candyman* virágok:

a) UV besugárzott; b) Kontroll csoport (2023.03.14.)

Forrás: saját fotó

Addig a többi virág, ami decemberről maradt meg szépen virágzott, bár a virág fejek átmérője nem haladta meg a 2 cm-t. Az állványon a hely szűkös volt, a cserépládjában a virág hamar elnyitott.



54.ábra: (Első vetés) *Calendula officinalis dwarf Candyman* (2023.03.15.)

Forrás: saját fotó

Ez idő alatt növekedett, virágzott a *Calendula officinalis deja vu* és *Calendula officinalis „Розовий цюрупз”* (55.-56.ábrák).



55.-56.ábrák: (Harmadvetés) *Calendula* virágok:

a) Sárga - *Calendula officinalis deja vu*

b) Zöld - *Calendula officinalis „Розовий цюрупз”* (2023.03.15.)

Forrás: saját fotó

Újabb hét elteltével kezdett a besugárzott virág magához jönni, megerősödni, virágozni.



57.ábra: (Harmadvetés) *Calendula officinalis dwarf Candyman* virágok:

a) UV besugárzott; b) Kontroll csoport (2023.03.20.)

Forrás: saját fotó

A témavezető utasítását követve, a *Calendula officinalis deja vu* fajtát, két felé osztottam, az egyik kontroll-, a másik UV besugárzott csoport lett.



58.ábra: *Calendula officinalis deja vu* fajta megfelezése és átültetése (2023.04.06.)

Forrás: saját fotó

Majd megkezdtem a UV-lámpával a megvilágítást. Minden napot táblázat formájában rögzítettem (2. táblázat), összességében 23 alkalommal volt 5 – 5 percet megvilágítva:

2.táblázat: Besugárzási idő a *Calendula officinalis deja vu* fajtára

Dátum	Besugárzási idő fényszoba fénnel (A csoport) X óra	Besugárzási idő UV fénnel (B csoport) Y óra	Besugárzási idő fényszoba fénnel (B csoport) X-Y óra
2023.04.06.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.12.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.13.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.18.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.19.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.20.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.21.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.24.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.25.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.26.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.27.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.04.06.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.03.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.04.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.08.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.09.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.10.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.11.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.12.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.15.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.17.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.22.	10	5 perc	9 óra 55 perc
2023.05.23.	10	5 perc	9 óra 55 perc



59-60.ábrák: *Calendula officinalis dwarf Candyman* begyűjtött szárazminták:
a) UV besugárzott; b) Kontroll csoport (2023.04.20.-05.26.)

Forrás: saját fotó



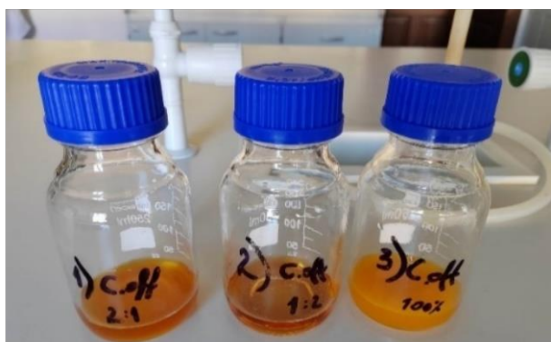
61.-62.ábrák: *Calendula officinalis deja vu* begyűjtött szárazminták:
a) UV besugárzott; b) Kontroll csoport (2023.04.20.-05.26.)

Forrás: saját fotó

2.4.1. Első számú kísérlet az általam termesztett viráganyagból

A vizsgálatokat a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola bioszervetlen kémia és ökológiai laboratóriumában végeztük, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) alkalmazásával. Az elemzésekhez az általam termesztett száraz körömvirág alapanyagot használtuk fel. A száraz körömvirágot a mintához aprítottuk (*Calendula officinalis dwarf Candyman*, *Calendula officinalis deja vu* és *Calendula officinalis* „*Розовий цюпрюз*”) és előkészítettük a munkához.

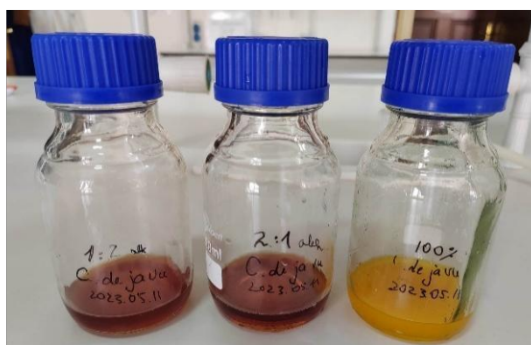
2023.03.02. és 2023.05.15. között végzett munkám során a 2022-ben termesztett *Calendula officinalis dwarf Candyman* és *Calendula officinalis deja vu* virágmintákat használtam fel. A kísérleteket az előzetes kísérletek során kidolgozott módszer szerint végeztem.



63.ábra: *Calendula* tinkturák (2023.03.28.):

- 1) *Calendula officinalis dwarf Candyman* (etanol – víz, 2:1);
- 2) *Calendula officinalis dwarf Candyman* (etanol – víz, 1:2);
- 3) *Calendula officinalis dwarf Candyman* (etanol – víz, 3:0)

Forrás: saját fotó



64.ábra: *Calendula* tinkturák (2023.05.15.):

- 1) *Calendula officinalis deja vu* (etanol – víz, 2:1);
- 2) *Calendula officinalis deja vu* (etanol – víz, 1:2);
- 3) *Calendula officinalis deja vu* (etanol – víz, 3:0)

Forrás: saját fotó

2.4.2. Második számú kísérlet az általam termesztett viráganyagból

A második számú kísérletet az általam termesztett viráganyagból 2023.04.25-én végeztem, a *Calendula officinalis dwarf Candyman* és a *Calendula officinalis deja vu* minták felhasználásával. A kísérletet a második számú előzetes kísérlet módszertani leírása szerint hajtottam végre. A vízfürdőn kezelt minták jelölése: C. Off. It° és C. deja vu It°, míg a nem kezelt minták jelölése: C. Off. II és C. deja vu II.



66.ábra: *Calendula* tinktúrák (2:1 (% v/v) alkohol víz arányban)

Forrás: saját fotó

2.4.3. Harmadik számú kísérlet az általam termesztett viráganyagból

A harmadik számú kísérlethez az általam termesztett viráganyagból készült a minta. A vizsgálatot 2023.05.11. és 2023.05.30. között végeztem. A minták a 2. és 3. számú oldatokból bemérve, az előzetes harmadik számú kísérletnek megfelelően készültek, melyeket 2) C.Off. 1:2 alk. és 2) C. de ja vu 1:2 alk. jelöléssel láttunk el. Ugyanezt a folyamatot megismételtük a 3. számmal jelölt mintákkal is, amelyek jelölése: 3) C.Off. 100% és 3) C. de ja vu 100%.



67.-68.ábrák: Tinktúrák a vízfürdős extrakció után (2023.05.11.-05.30.)

Forrás: saját fotó

A maradék hidrogén-kloriddal kezelt mintát hexánnal (C_6H_{14}) extraháltuk. (65.ábra). Háromszoros ismétlésben ráztuk össze 10 ml hexánnal. Ennek a lépésnek a célja az értékes hatóanyag kinyerése és az anyag tisztítása a nem kívánt alkotóelemtől. Az extrakció után a szerves és szervetlen fázist külön edényekbe gyűjtöttem.



65.ábra: Vízben oldott szerves vegyületek extrakciója
szerves oldószer hozzáadásával (2023.05.11.)

Forrás: saját fotó

A munkám során az UV-B sugárzással megvilágított növények és a kontrollcsoport mintái nem kerültek vizsgálatra. Ez egy későbbi kutatás tárgya lesz.

Minden elkészített mintából 1 cm³ oldatot vettünk ki, amit 0,45 µm PTFE fecskendőszűrőn szűrtünk át (66.ábra), majd ezt követően injektáltuk a HPLC készülékbe (67-69.ábrák).



66.ábra: A minták szűrésének folyamata (2024.05.07)

Forrás: saját fotó

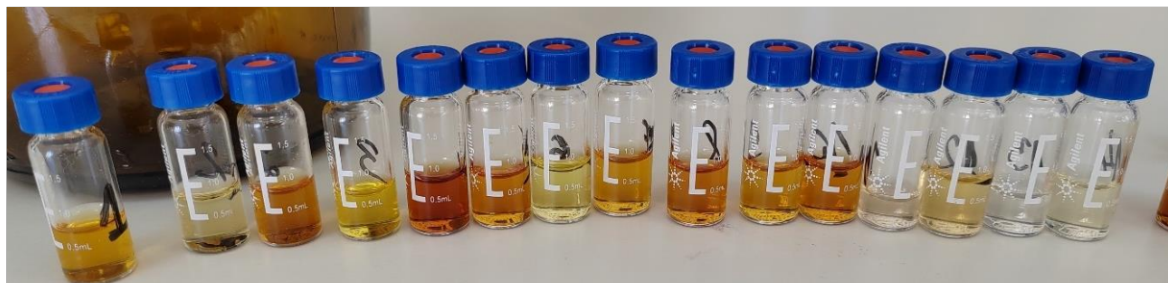


67-69.ábrák: Minták elhelyezése a műszerben (2024.05.07)

Forrás: saját fotó

III. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

A 2021 – 2022 tanévben végzett három előzetes kísérletből hat minta lett, de ezek nem voltak időben kiértékelve a kialakult háborús helyzet miatt. A fénytől védve egyes üvegekből az alkohol elpárolgott.



70. ábra: 2021-2023 tanévekben készített extraktumok

Forrás: saját fotó

Azokban az oldatokban, amelyekből teljesen elpárolgott az alkohol, pótoltuk a hiányzó kiindulási oldószert, hogy a HPLC műszerrel ki tudjuk vizsgálni a mintákat.

A kutatásom során még a 2021/2022 tanév elején három különböző fajta *Calendula* magot szereztem be. A Benében végzett kutatásom 2022. februárjától június 11-ig tartott, saját kertemben lévő melegházban. Összesen 270 magot vettem el, de csak 99 volt csíráképes: 60 *Calendula officinalis dwarf Candyman*, 22 *Calendula officinalis deja vu* és 17 *Calendula officinalis „Розовий сюрприз”*.

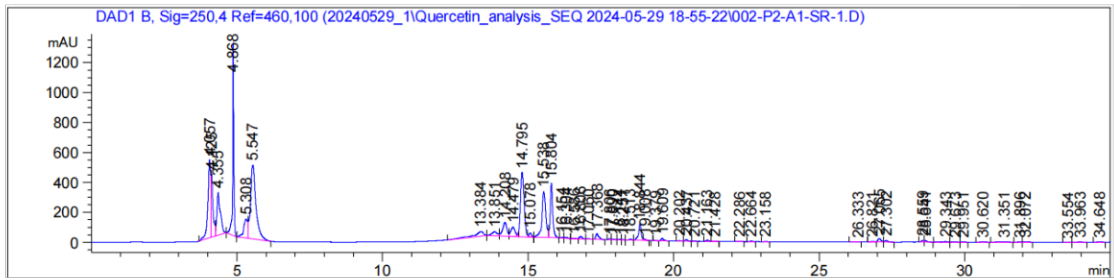
A virágokat 2022. március 15-én ültettem ki cserépládákba: három cserépládába *Calendula officinalis dwarf Candyman*, egybe *Calendula deja vu*, és egybe *Calendula „Розовий сюрприз”*. A növények folyamatos gondozását követően május végén nagyon vízigényessé váltak, és naponta akár négyszer is öntözni kellett őket. A virágok szépen fejlődtek, és gyönyörű virágfejeket hoztak.

Június 25-én kezdtem begyűjteni és szárítani a virágokat, melyeket a 2022/2023 tanévben terveztem vizsgálni.

2022/2023-as tanév során a gyakorlati részre fektettem a hangsúlyt. Megismételtük a virágok termesztését. Bár az időpont nem a legmegfelelőbb volt a veteményezésre. Ezért az áramkikapcsolások miatt január 3-ai harmadszori vetés bizonyult sikeresnek. A tanév második szemeszterében, amint megerősödött a palánta, megkezdtem a besugárzást. A megvilágítás a Lamináris boxban történt. A besugárzási időt 5 percre csökkentettük, és összesen 23 alkalommal sikerült megvilágítani a *Calendula officinalis deja vu* fajtát. A körömvirágnak az állványon a hely szűkösnek bizonyult, így csekély mennyiségű virág lett.

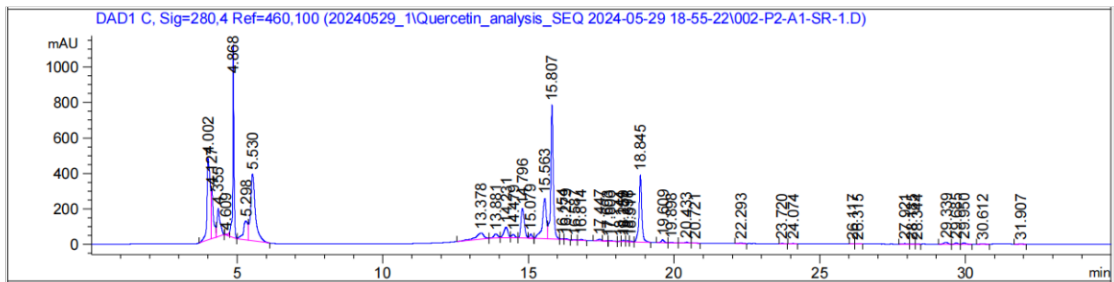
A 2022-ben begyűjtött általam termesztett mintákat használtam fel a kísérletekhez. Ahol először a *Calendula officinalis dwarf Candyman* fajtavál kezdtek, ennek ellenére a megvilágítási rész zátonyra futott, indokolt volt, hogy megismételjük a kísérleteket – a *Calendula officinalis deja vu* fajtán. A kísérleteket elvégeztük, de az áramkimaradások miatt nem sikerült kiértékelni.

A kísérletekből származó eredmények 2024 – ben sikerült HPLC műszeren bevizsgálni a következő eredmények születtek:



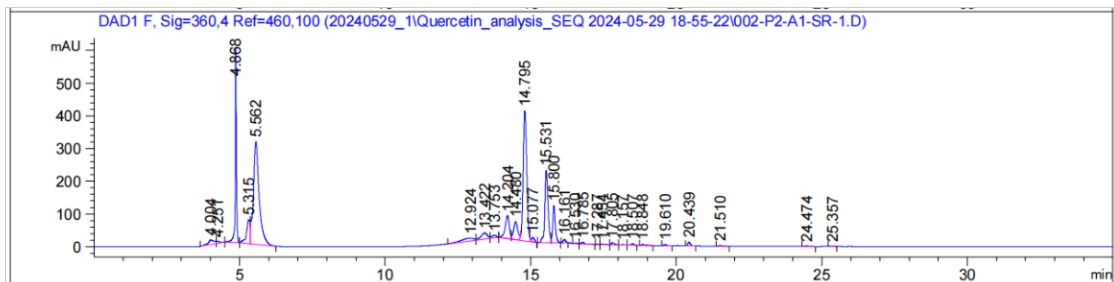
72. ábra: A1 minta kvercetin kimutatása 250 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye



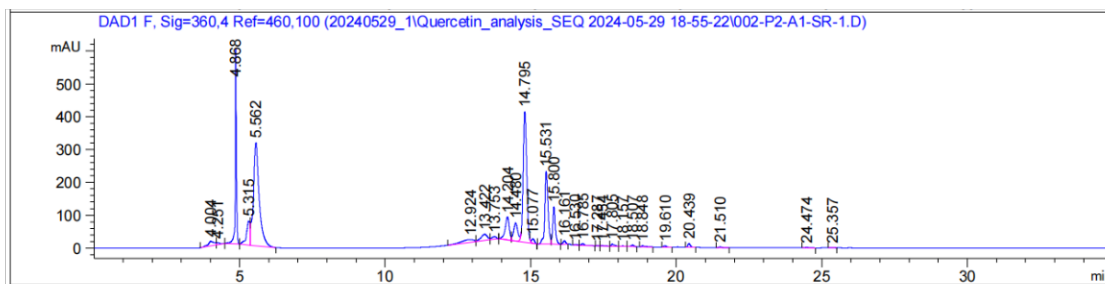
73. ábra: A1 minta kvercetin kimutatása 280 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye



74. ábra: A1 minta kvercetin kimutatása 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye



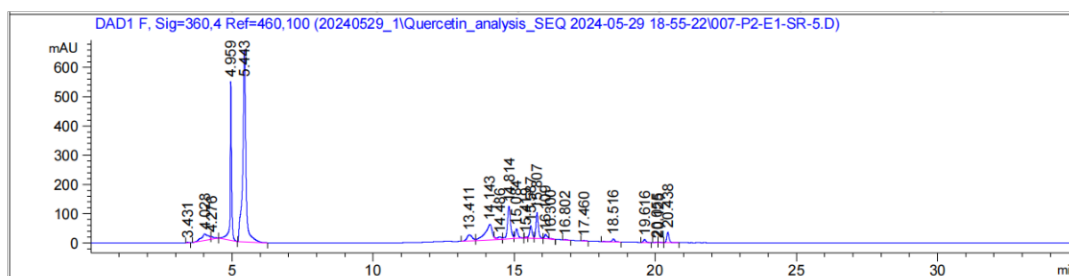
75. ábra: A1 minta kvercetin kimutatása 375 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

5.táblázat: A1 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
12	15.077	VB E	0.0986	82.31741	13.13910	0.5465
13	15.531	BV	0.1129	1673.22668	222.06613	11.1090
14	15.800	VB	0.0890	678.93719	113.90366	4.5076

Forrás: saját szerkesztés



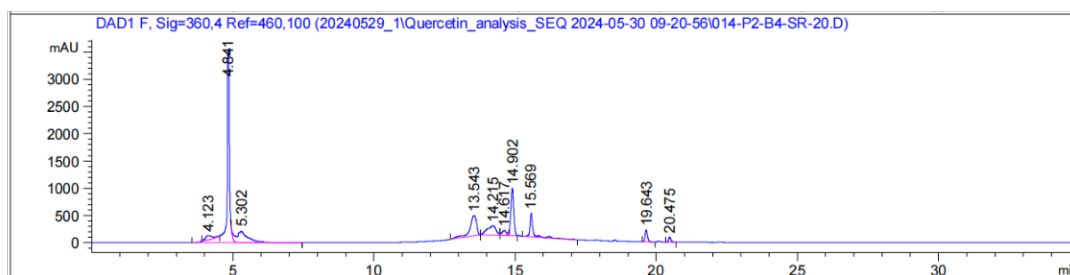
76.táblázat: E1 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

6.táblázat: E1 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
10	15.084	VB	0.0999	222.99634	33.17058	2.0188
11	15.419	BV E	0.0604	7.82501	1.96914	0.0708
12	15.587	VV R	0.0956	278.07190	42.62120	2.5174
13	15.807	VB	0.0847	492.15356	87.43721	4.4555

Forrás: saját szerkesztés



77.táblázat: B4 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

7.táblázat: B4 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
8	15.569	BV R	0.1187	3693.62036	436.42593	6.8114

Forrás: saját szerkesztés

Mivel egy módszert alkalmaztam, a mintákat csoportosítottuk, és összehasonlítottuk a különböző szárazminták kvercetin tartalmát. A standard kvercetin retenciós idő (RetTime) értéke 15.510 perc, az terület százalék (Area%) pedig 0.3278.

Az összehasonlítás az A1, E1 és B4 minták esetében a következő eredményeket mutatta:

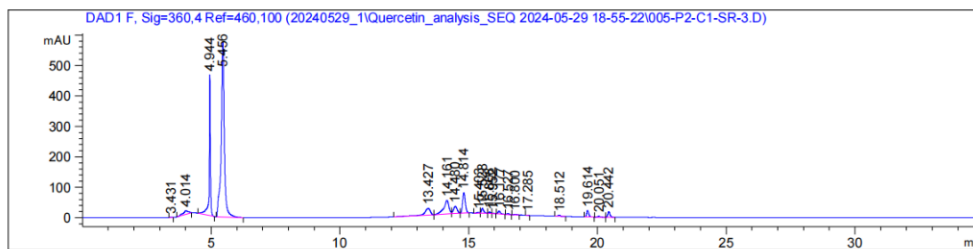
A1 mintában három retenciós időt mértek: 15.077 percnél, terület százalék: 0.5465% (a retenciós idő messze van a standardtól, így a kvercetin jelenléte nem egyértelmű). A második csúcsponat retenciós ideje szinte megegyezik a standard értékeivel, és magasabb százalékban tartalmaz kvercetint. A harmadik csúcsponat határértéken kívül esik, ezért nem egyértelmű, hogy kvercetin.

E1 mintában négy retenciós időt mért a műszer, amelyek mindegyike 15 perces értékű: Az első csúcsponat messze van a standardtól. A második csúcsponat retenciós ideje 0.1 perccel kevesebb, de jellemző a kvercetinre. A harmadik csúcsponat beleesik a standard tartományába, és az itt kapott százalékos eredmény mutatja, hogy növekedett a kvercetin szint. A negyedik érték messze áll a „tisztá” kvercetin standardjától, valószínűleg egyéb polifenolok zavarhatják meg a mérést. Ez arra utal, hogy nyomokban tartalmaz kvercetint.

B4 minta: 360 nm hullámhosszon egy kvercetinre jellemző értéket sikerült meghatározni, amely teljes mértékben azonos a standarddal, és az Area% értéke 6.8114%.

Következtetés: A három minta (A1, E1, B4) egy módszer szerint készült, etanol-víz (2:1 arányú). Mindegyik minta csúcsai, amelyek retenciós ideje közel áll a standard 15.510

perces retenciós idejéhez, jelentősen magasabb terület százalékokat mutatnak. Ez alapján elmondható, hogy mindhárom minta kvercetin tartalma magasabb, mint a standardban mért érték, és ez a módszer alkalmas a kvercetin kinyerésére az oldatból. Az A1 (*Calendula officinalis dwarf Candyman*) és E1 (*Calendula officinalis deja vu*) minták az általam termesztett szárazanyagból készültek, míg a B4 (*Első számú előzetes kísérlet eredménye*) a kapott alapanyagból származik.



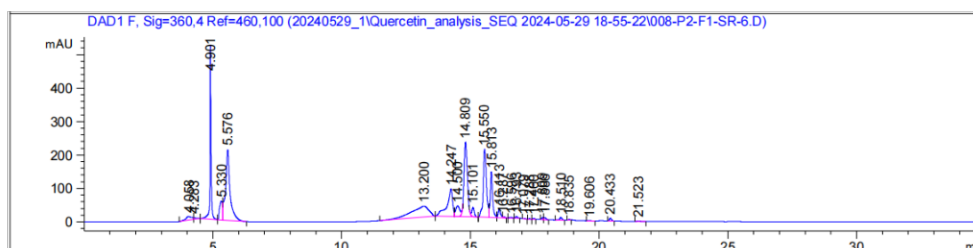
78.táblázat: C1 minta kvercetin csúcpontok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

8.táblázat: C1 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
9	15.403	BV	0.0986	24.27547	3.36819	0.2816
10	15.528	VB	0.0942	103.28526	16.03104	1.1983
11	15.808	BV	0.0744	21.63038	4.47193	0.2509
12	15.952	VB	0.0887	9.36798	1.60327	0.1087

Forrás: saját szerkesztés



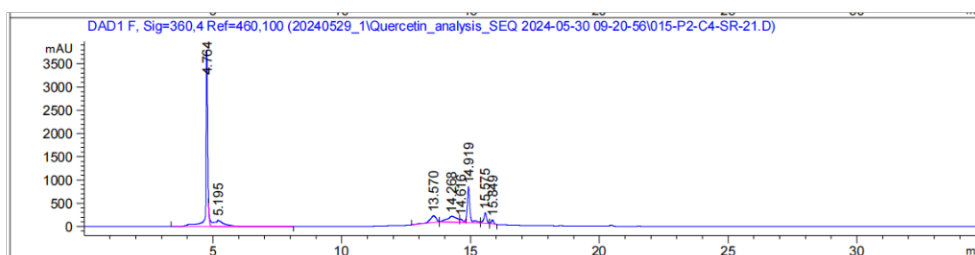
79.táblázat: F1 minta kvercetin csúcpontok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

9.táblázat: F1 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
10	15.101	VB E	0.0994	175.77544	27.01393	1.3263
11	15.550	BV	0.1361	1791.39075	203.69357	13.5172
12	15.813	VV	0.0943	880.14941	137.26349	6.6413

Forrás: saját szerkesztés



80.táblázat: C4 minta kvercetin csúcsponok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

10.táblázat: C4 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

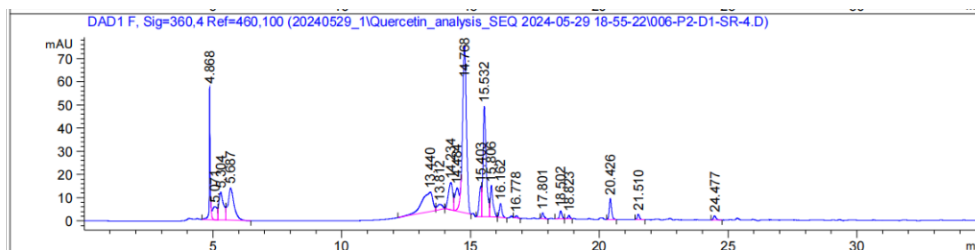
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
8	15.575	VB	0.1142	1745.31458	225.72287	4.7652
9	15.849	BB	0.0916	505.14075	87.22427	1.3792

Forrás: saját szerkesztés

A kvercetin jelenlétére akkor utalunk, ha a retenciós idő érték 0.1 percen belül van a standard retenciós időhöz képest, *C1 minta* két csúcsponja 15.403 és 15.528 percek közelítik meg a standard értékét, tehát ez a minta tartalmaz kvercint. Az *F1 minta* két csúcsa esik pontosan a standard retenciós idejére ez a 15.505 perc, a kvercetin tartalom megegyezik a standardéval. De a 15.550 perces csúcs közel van hozzá. Ez a két csúcs a kvercint jellemzi. A *C4 minta* egyik csúcsa (15.575 perc) közel esik a standard RetTime-hez (0.065 perccel magasabb), ami azt jelzi, hogy ez a csúcs valószínűleg kvercint tartalmaz. A másik csúcs jelentősen eltér a standardtól.

Következtetés: A három minta *C1 (Calendula officinalis dwarf Candyman)*, *F1 (Calendula officinalis deja vu)* *C4 (Második előzetes kísérlet)* egy egységes módszerrel készült. Az eredmények azt mutatják, hogy a kvercetin tartalma a mintákban magasabb a

standardhoz képest, ami arra utal, hogy a módszer hatékonyan képes kimutatni és mérni a kvercetin jelenlétét a növényekben. A deja vu fajta esetében az etanol-víz (1:2 arányú) keverékkel is jó eredményt kaptunk (13,5172%), míg a *Calendula officinalis* dwarf Candyman fajtánál ez a módszer kevésbé volt sikeres.



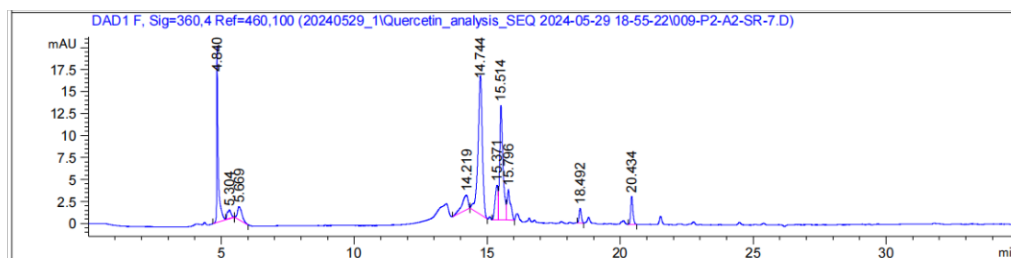
81.táblázat: D1 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

11.táblázat: D1 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
10	15.403	BV	0.0983	82.41759	13.11469	3.1027
11	15.532	VV	0.1244	422.22821	47.64611	15.8952
12	15.806	VB	0.1088	103.41570	13.51019	3.8932

Forrás: saját szerkesztés



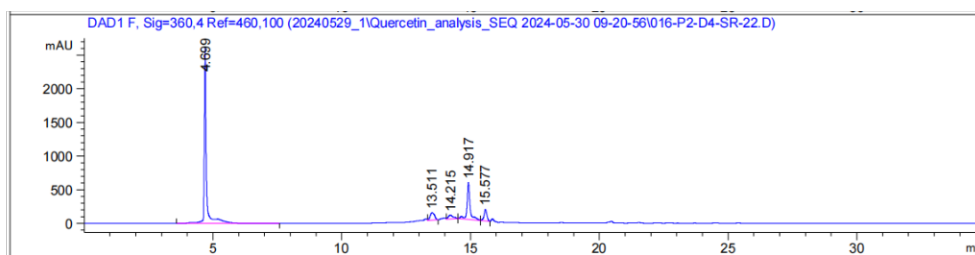
82.táblázat: A2 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

12.táblázat: A2 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
6	15.371	BV	0.1136	30.73491	3.95819	5.9854
7	15.514	VV	0.1226	114.35719	13.06186	22.2703
8	15.796	VB	0.1225	30.23011	3.44029	5.8871

Forrás: saját szerkesztés



83.táblázat: D4 minta kvercetin csúcsponok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

13.táblázat: D4 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
5	15.577	BV	0.1194	1354.74072	172.88469	5.8490

Forrás: saját szerkesztés

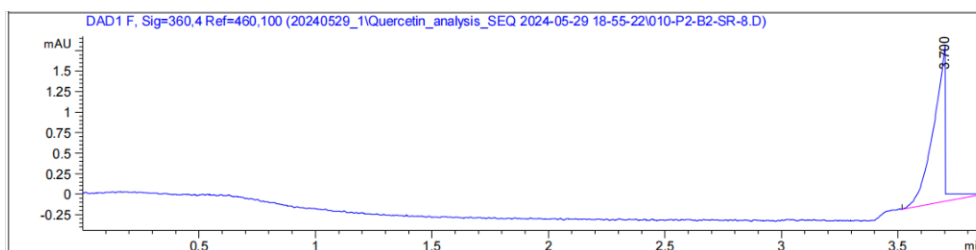
A vizsgálatok alapján az alábbi következtetéseket vonhatjuk le:

D1 minta: Két csúcsponok (15.403 és 15.532 perc) közel esik a standard RetTime-hez, így tartalmaz kvercint és 15.8952% mennyiségű kvercintet sikerült meghatározni a mintában.

A2 minta egy csúcsponkjára (15.514 perc) bele esik a standard retenciós idő intervallumába és 22.2703% kvercintet tartalmaz.

D4 minta csúcsponkjára (15.577 perc) szinte megegyezik a standard RetTime-val, fixen tartalmaz kvercintet méghozzá 5.8490%-ban.

Következtetés: A kvercetin terület%-os értékeinek vizsgálata alapján a legnagyobb mennyiségű kvercintet (22,2703%) 30 ml etilalkohol használatával sikerült leválasztani. Ugyanezen módszerrel a *Calendula officinalis dwarf Candyman* fajtából is jelentős kvercintet (15,8952%) nyertünk ki. Ezek az értékek jelentősen meghaladják a standard értékét (area% 0,3278). Mindhárom minta (D1, A2, D4) tartalmaz kvercintet, és egy egységes eljárás szerint lettek elkészítve. A minták a következők: D1 (*Calendula officinalis dwarf Candyman*), A2 (*Calendula officinalis deja vu*) és D4 (*kapott virágminta*). Az itt alkalmazott módszer több kvercintet tartalmú komponens jelenlétét mutatja a kromatográfias elválasztás alapján és egyben a leghatékonyabb módszernek bizonyult!



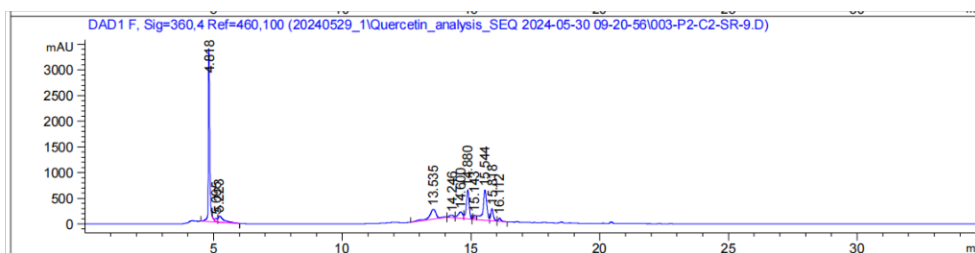
84.táblázat: B2 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

14.táblázat: B2 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	3.700	BBA	0.0474	6.85195	1.90882	100.0000

Forrás: saját szerkesztés



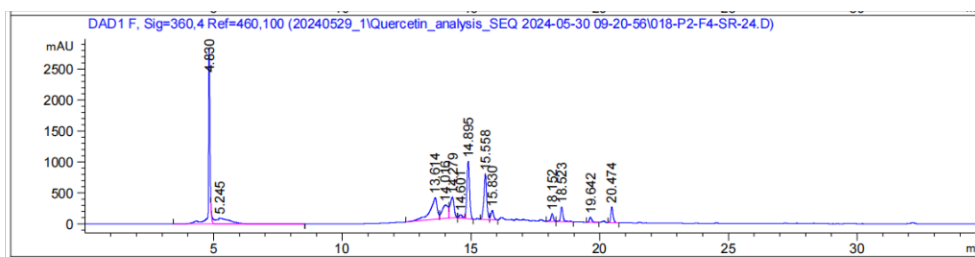
85.táblázat: C2 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

15.táblázat: C2 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
14	15.146	BV E	0.0921	723.14203	122.96040	0.8884
15	15.307	VV E	0.1606	878.15521	74.71152	1.0788
16	15.547	VV R	0.1724	1.10400e4	947.72253	13.5625
17	15.821	VB	0.0957	4456.27539	686.50708	5.4745

Forrás: saját szerkesztés



86.táblázat: F4 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

16.táblázat: F4 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
8	15.558	BV	0.1092	5344.89355	732.02570	10.9735
9	15.830	VB	0.1065	1056.78369	149.38924	2.1697

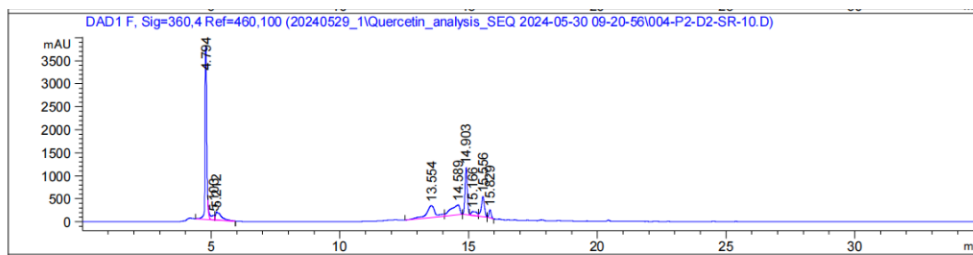
Forrás: saját szerkesztés

B2 minta: A retenciós idő értéke messze eltér a standardtól, ezért ez a minta nem tartalmaz kvercetint.

C2 minta: Egy csúcs (15.547 perc) RetTime értéke van 0.1 percen belül a standardhoz képest, így kvercetint tartalmaz. Az Area% érték (13.5625%) jelentősen magasabb, mint a standardé, ami a minta magasabb kvercetin koncentrációját jelezheti.

F4 minta: Egy csúcs (15.558 perc) standard értékeihez közelít - ez a minta is tartalmaz kvercetint., méghozzá 10.9735%-ban. Szintén magasabb, mint a standardé.

Következtetés: A második legjobb elválasztási módszernek az etanol-víz (2:1 arányú) és 50°C-ra előmelegített vízfürdőn történő főzése bizonyult, amely 13,5625%-os (*Calendula officinalis deja vu* fajta) és 10,9735%-os (második számú előzetes kísérlet) kvercetin leválasztást eredményezett. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy bár azonos módszer alapján készültek a minták és egy mintabevétel alatt történtek a mérések, az eltérő körülmények és tényezők miatt különbségek adódhatnak a retenciós időkben és az Area% értékekben. Az elemzések megerősítik, hogy a C2 (*Calendula officinalis deja vu*) és F4 (kapott körömvirág) mintákból több kvercetint sikerült kinyerni, míg a B2 (*Calendula officinalis dwarf Candyman*) mintában valami hiba csúszott be.



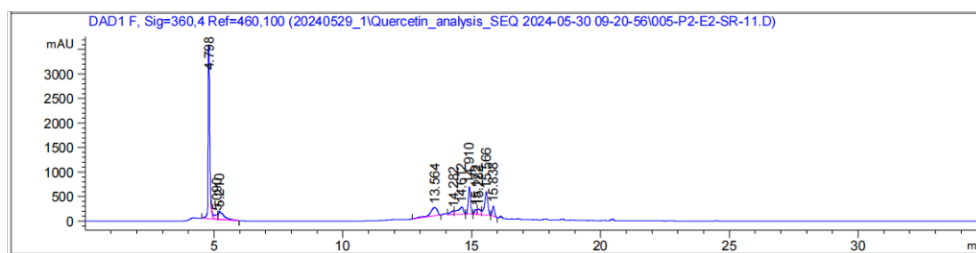
87.táblázat: D2 minta kvercetin csúcsponok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

17.táblázat: D2 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
7	15.166	VV E	0.2092	1388.45496	87.45118	3.0351
8	15.556	VB	0.1239	3771.14258	440.51727	8.2436
9	15.829	BB	0.0904	1008.51062	177.27737	2.2046

Forrás: saját szerkesztés



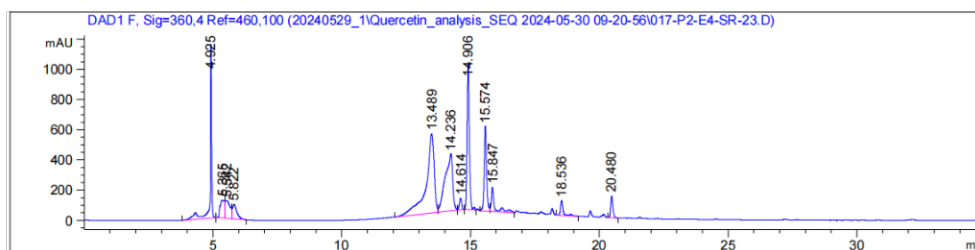
88.táblázat: E2 minta kvercetin csúcsponok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

18.táblázat: E2 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
8	15.172	BV	0.0975	641.84155	101.94222	1.8103
9	15.282	VV	0.1400	1047.66882	109.15133	2.9549
10	15.566	VB	0.1349	4128.05078	468.16840	11.6431
11	15.838	BB	0.0919	1183.78650	203.35165	3.3389

Forrás: saját szerkesztés



89.táblázat: E4 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

19.táblázat: E4 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

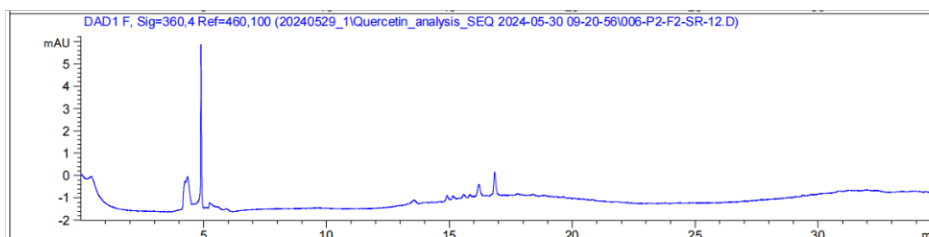
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
12	15.149	BV	0.0782	224.94206	45.10695	0.2970
13	15.269	VB	0.0862	325.59674	56.12150	0.4298
14	15.571	BV	0.0988	4761.19922	709.02411	6.2856
15	15.848	VB	0.0851	3742.66772	650.58655	4.9410

Forrás: saját szerkesztés

A vizsgálat során három mintát (D2, E2, E4) elemeztünk a kvercetin tartalom meghatározása céljából. Az eredmények az alábbiak szerint összegezhetők:

Mindhárom minta egy-egy csúcsa (D2: 15.556 perc, E2: 15.566 perc, E4: 15.571 perc) RetTime értékkel rendelkezik, amelyek 0.1 percen belül vannak a standardhoz képest, így valószínűsíthető, hogy a minták kvercetint tartalmaznak. Az Area% értékek minden esetben jelentősen magasabbak a standardnál, jelezve a minták magasabb kvercetin koncentrációját: D2 (*Calendula officinalis dwarf Candyman*) - 8.2436%, az E2 (*Calendula officinalis deja vu*) - 11.6431% és E4 (kapott *Calendula* minta) - 6.2856%.

Következtetés: Ez alapján a D2, E2 és E4 minták kvercetin tartalma magasabb, mint a standard referenciaértéké. A módszer, amely szerint ezeket az eredményeket kaptuk, egy olyan eljárás alapult, ahol az etanol és víz aránya 2:1 volt, és ez rendkívül hatékony módszernek bizonyult.



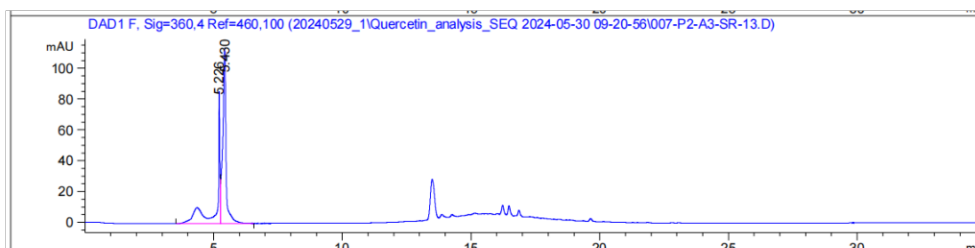
90.táblázat: F2 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

20.táblázat: F2 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.891	BB	0.0321	10.57735	4.63457	100.0000

Forrás: saját szerkesztés



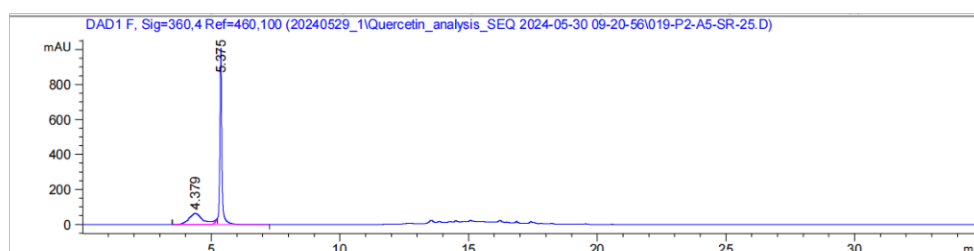
91.táblázat: A3 minta kvercetin csúcsponok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

21.táblázat: A3 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	5.226	VV R	0.1574	648.27301	80.98479	38.9230
2	5.430	VB	0.1245	1017.25183	113.58564	61.0770

Forrás: saját szerkesztés



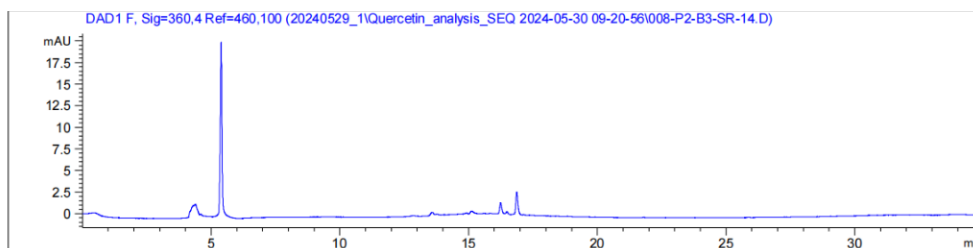
92.táblázat: A5 minta kvercetin csúcsponok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

22.táblázat: A5 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.379	BV E	0.4993	2417.86060	64.80326	29.0516
2	5.375	VB R	0.0848	5904.77490	1000.85480	70.9484

Forrás: saját szerkesztés



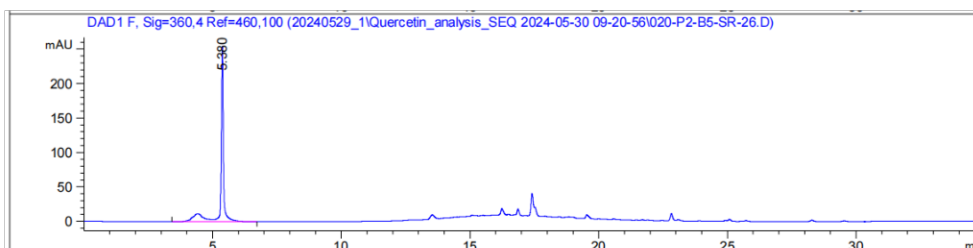
93.táblázat: B3 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

23.táblázat: B3 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
2	16.871	BB	0.0799	6.64672	1.21339	8.9880

Forrás: saját szerkesztés



94.táblázat: B5 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

24.táblázat: B5 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

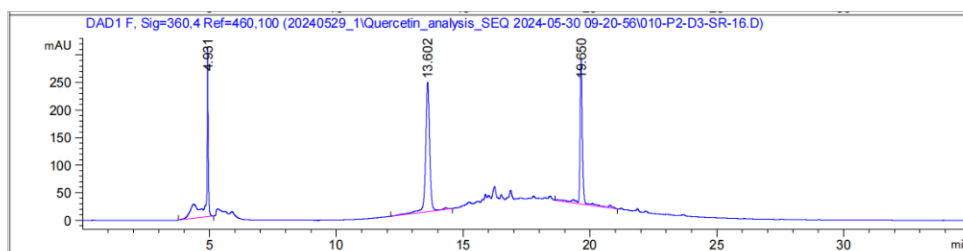
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	5.380	VB R	0.1042	1824.70313	252.68359	100.0000

Forrás: saját szerkesztés

A vizsgálat során három mintának F2 (*Calendula officinalis dwarf Candyman*, C1 minta lett folytatva), A3 (*Calendula officinalis deja vu*, F1 minta lett folytatva), A5 (C4 minta lett folytatva), B3 (*Calendula officinalis dwarf Candyman*, D1 minta lett folytatva), C3 (*Calendula officinalis deja vu*, A2 minta lett folytatva), B5 (D4 minta lett folytatva) egy módszert alkalmaztunk és megvizsgáltunk a kvercetin tartalmát. Az eredmények alapján egyik minta sem tartalmaz kvercint, mivel mindegyik minta retenciós idő értékei jelentősen eltérnek a standard értékektől. A B3 minta esetében a retenciós idő értéke 16.871

perc volt, ami +1.361 perces eltérést mutat a standard értéktől. Ez az eltérés nem utal kvercetin jelenlétére. A C3 minta értékelése nem történt meg, mivel a minta nem került bevizsgálásra. Ennek oka, hogy a műszer éjszaka is üzemelt, és egy áramkimaradás következtében leállt, majd nem indult újra automatikusan. Csak később vettük észre, hogy a C3 mintáról nincs mérési eredmény, így ennek a mintának az értékelése nem lehetséges.

Következtetés: A mintákat egy eljárással készítettük, amely során 30 ml etanolt és 4 ml 12% sósavat használtunk, és mindezt vízfürdőn végeztük. A C3 minta esetében az értékelés nem lehetséges, mivel nincs rendelkezésre álló megbízható adat. Az összes többi minta retenciós idő értékei a standard tartományon kívül esnek. A B3 és B5 minták retenciós idő és területszázalék értékei alapján nem valószínű, hogy kvercetint tartalmaznak. Az F2, A3 és A5 minta biztos nem kvercetint jelöli. Ez valószínűleg annak tudható be, hogy a kivonás során kevés kvercetint sikerült kinyerni, és a minták csak nyomelemeket tartalmaznak.



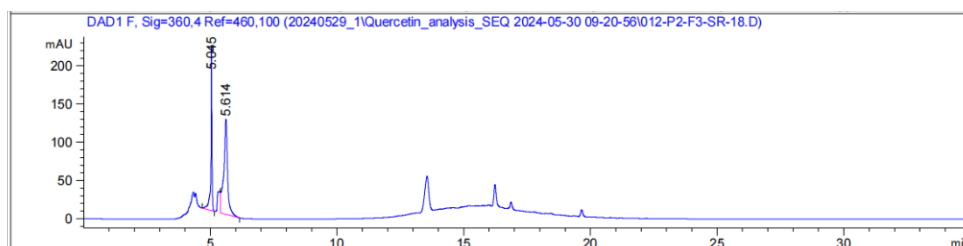
95.táblázat: D3 minta kvercetin csúcspontok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

25.táblázat: D3 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
2	13.602	BV R	0.1671	2636.99878	234.64937	42.7722
3	19.650	VV R	0.1068	1856.95483	261.73715	30.1199

Forrás: saját szerkesztés



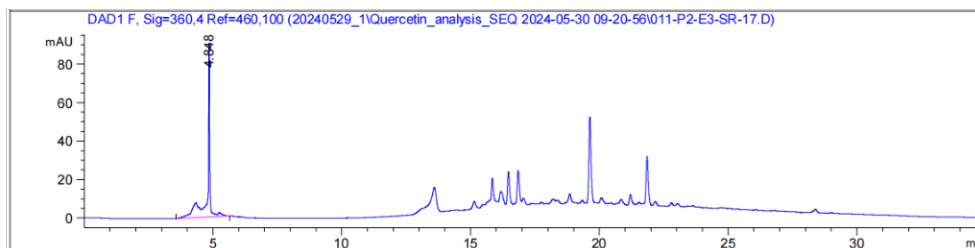
96.táblázat: F3 minta kvercetin csúcspontok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

26.táblázat: F3 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	5.045	BB	0.0489	634.27869	200.72879	32.4567
2	5.614	VB	0.1528	1319.95435	123.38960	67.5433

Forrás: saját szerkesztés



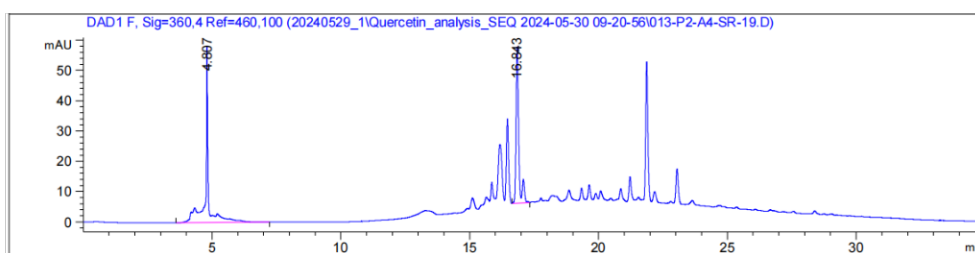
97.táblázat: E3 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

27.táblázat: E3 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.848	VV R	0.0841	529.37170	85.66873	100.0000

Forrás: saját szerkesztés



98.táblázat: A4 minta kvercetin csúcsponatok 360 nm hullámhossz tartományban

Forrás: HPLC eredménye

28.táblázat: A4 minta kvercetin 360 nm hullámhossz tartományban

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
2	16.843	BV R	0.1136	394.64142	51.41059	46.7603

Forrás: saját szerkesztés

A D3, F3, E3 és A4 minták egy egységes módszer szerint készültek különböző alapmintákból. A pontos minták és azok folytatásai a következők: D3 (*Calendula officinalis deja vu, A3*), F3 (*Calendula officinalis dwarf Candyman, F2*), E3 (*Calendula officinalis deja vu C3*), és A4 (*Calendula officinalis dwarf Candyman, B3*).

Az elemzések során az alábbi megállapításokat tettük:

D3 minta: Retenciós idők: 13.602 perc és 19.650 perc, amelyek -1.908 és +4.140 perces eltérést mutatnak a standardtól. Ezek az eltérések nem utalnak kvercetin jelenlétére. Terület% értékek: 42.7722% és 30.1199%. Bár magasak, nem relevánsak, mivel a retenciós idők jelentősen eltérnek.

F3 és E3 minták: Nagy eltérést van a retenciós időkben. A terület% értékeik nem a „tisztá” kvercetin jelzik, hanem valamilyen más polifenol vegyület jelenlétét.

A4 minta: Retenciós idő: 16.843 perc, amely +1.333 perces eltérést jelent a standardtól, szintén nem utalva kvercetin jelenlétére.

Következtetés: A D3, F3, E3 és A4 mintákban, melyeket hexánnal extraháltunk, nem sikerült kvercetin kimutatni a jelentős retenciós idő eltérések miatt. Ezek kiértékelésére más módszert kellene használni, amely jelenleg nem áll rendelkezésre. Lehetséges, hogy a hexán nem megfelelő extraháló szer, ezért a minta nem tartalmaz kimutatható mennyiségű kvercetin. A kvercetin oldhatósága hexánban nem biztosított, ami megmagyarázhatja a negatív eredményeket.

Megjegyzés: Ott, ahol nincs kiugró csúcs, de van egy kis emelkedés, nyomokban kvercetin jelenléte feltételezhető. Az alapvonalon azonban nem lehet precízen megállapítani a kvercetin jelenlétét, mivel a kromatogram elmosódott lehet a különböző sebességgel és oldószerrel történő elválasztás miatt. Egy nagyon keskeny csúcs precíz meghatározásához speciális műszereket, módszereket, standardokat és hígításokat kellene használni, amelyek jelenleg nem állnak rendelkezésünkre. Az elemzéseket gyorsan kellett elvégezni, így nem volt lehetőség alapos optimalizálásra minden egyes minta esetében.

A minták kiértékelése során az eredmények érthetőbbé tétele érdekében készítettem egy táblázatot, amelyben összesítettem minden releváns információt (29.táblázat). Ez a táblázat tartalmazza a mérések legfontosabb adatait és eredményeit, amelyek alapján a következtetések levonhatók:

Jelmagyarázat:

✓ igen tartalmaz kvercetin

~ nyomokban tartalmaz kvercetin, de több polifenolt

- nem tartalmaz kvercetin

A **félkövér szöveg** jelöli a leghatékonyabb módszereket és azok eredményeit.

Az adott táblázat első oszlopában a **narancssárga, sárga és kék** színnel jelölt minták azt jelentik, hogy az adott mintákból származnak. A második oszlop pedig azt mutatja, hogy a módszer hogyan folytatódik, vagyis az adott mintából milyen eljárással készült további mérés (elemzés).

Szürke színnel a *Calendula officinalis dwarf Candyman* fajta terület% van jelölve, zölddel - *Calendula officinalis deja vu* fajta értékei lettek kiemelve.

29.táblázat: Összesített táblázat a minták kvercetin tartalmáról

№ HPLC név	Leírás	Név	Elkészítésének ideje	Tartalmaz kvercetin	Kvercetin standard:	
					Retenció idő (perc): 15.510	Terület%: 0,3278
A1	4 g aprított szárazminta + 20 ml C₂H₅OH + 10 ml H₂O	<i>1) Calendula officinalis dwarf Candyman (etanol – víz, 2:1);</i>	2023.03.02	✓	15.531	11.1090
E1		<i>1) Calendula officinalis deja vu (etanol – víz, 2:1);</i>		✓	15.587	2.5174
B4		<i>1.számú</i>	2021.11.16	✓	15.569	6.8114
D2		<i>C. Off. II</i>	2023.04.25	✓	15.556	8,2436
E2		<i>C. deja vu II</i>		✓	15.566	11,6431
E4		<i>II</i>	2021.11.22	✓	15.571	6,2856
B2		4 g aprított szárazminta + 20 ml C₂H₅OH + 10 ml H₂O (2 óra vízfürdőn 50°C) leszűrtük	<i>C. Off. I t°</i>	2023.04.25	-	3.700
C2	<i>C. deja vu I t°</i>		✓		15.547	13,5625
F4	<i>I t°</i>		2021.11.22	✓	15.558	10.9735
C1	4 g aprított szárazminta +10 ml C₂H₅OH + 20 ml H₂O	<i>2) Calendula officinalis dwarf Candyman (etanol – víz, 1:2);</i>	2023.03.02	✓	15.528	1.1983
F1		<i>2) Calendula officinalis deja vu (etanol – víz, 1:2);</i>	2023.05.11.	✓	15.550	13.5172
C4		<i>2.számú</i>	2021.11.16	✓	15.575	4.7652

D1	4 g aprított szárazminta +30 ml C ₂ H ₅ OH	3) <i>Calendula officinalis dwarf Candyman</i> (etanol – víz, 3:0)	2023.03.02	✓	15.532	15.8952
A2		3) <i>Calendula officinalis deja vu</i> (etanol – víz, 3:0)	2023.05.11.	✓	15.514	22.2703
D4		3.számú	2021.11.16	✓	15.577	5,8490
F2	Minden mintából (etanol-víz, 1:2) bemértünk 10 ml + 4 ml HCl (12%) (2 óra vízfürdőn 80°C), leszűrtük	2) <i>C.Off. 1:2 alk.</i>	2023.05.11.	~	4.891	0
A3		2) <i>C. deja vu 1:2 alk.</i>		~	5.430	0
A5		2a	2021.11.22	~	5.375	0
B3	Minden mintából (etanol-víz, 3:0) bemértünk 10 ml + 4 ml HCl (12%) (2 óra vízfürdőn 80°C), leszűrtük	<i>C. deja vu 100%</i>	2023.05.30	~	16.871	0
C3		<i>C.Off. 100%</i>		-		
B5		3a	2021.11.22	-	5.380	0
D3	↓ Előző minták folytatása extraháltuk + C ₆ H ₁₄ (3x 10 ml)	<i>C. deja vu 1:2 alk. hexános</i>	2023.05.31	~	13.602	0
F3		<i>C. deja vu 100% alk. hexános</i>		-	5.614	0
E3		<i>C. Off. 1:2 alk. hexános</i>		~	4.848	0
A4		<i>C. Off. 100% alk. hexános</i>		~	16.843	0

Forrás: saját szerkesztés

Összegzés: Amint az eredményekből jól látszik – az eltérések az alkalmazott módszerek és a körülmények változásaiból adódtak. Mindezekből kiindulva elmondhatjuk, hogy a kvercetin tartalom kimutatására a Vidal - Ollivier módszer bizonyult a leghatékonyabbnak. Ez alapján az etilalkoholos leválasztás adta a legnagyobb mennyiségű kvercetint a *Calendula officinalis deja vu* fajta esetében. Az etanol-víz (2:1 arányú) keverékkel és vízfürdőben történő főzéssel is jelentős eredményeket értünk el, a *Calendula officinalis dwarf Candyman* fajta esetében. Tehát viszonylag jó módszernek bizonyult a Souza és munkatársai módszerének alkalmazása.

Sajnos az UV-B-vel besugárzott mintát az áramkimaradás miatt nem sikerült kivizsgálni. A jövőben tervezzük megismételni a vizsgálatot, hogy teljes körű eredményeket szerezhessünk a minta reakciójáról az UV-B besugárzásra. Továbbá szeretnénk fajtákra lebontható használható módszereket alkalmazni.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az szakdolgozatom a *Calendula officinalis* L. növény flavonoid tartalmán alapszik. A témám első részében szakirodalmi áttekintést végeztem. Jellemeztem a körömvirágot, annak hatékonyságát az emberi szervezetre, felhasználását, a flavonoid szerepét, a fényminőség és az ultraibolya fény hatását a növényre. Kevés szakirodalmi adat volt fellelhető e témában elsősorban hasonló kísérleteket és megfigyeléseket kis rágcsálókön végeztek. Kiderült, hogy sok minden befolyásolhatja a növény flavonoid összetartalmát, még pedig a kellő mennyiségű fény és a folytonos gondozás. Valamint választ kaptam arra, milyen vizsgálatokat alkalmazhatunk a flavonoid kimutatásához. Nagyon sok analitikai vizsgálatnál a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát alkalmazták. Ez a mai napig több évtizeden keresztül formálódott így ki, amit végül az elválasztási technikák közé sorolnak be.

A vizsgálathoz szükséges szárazanyagot saját magam állítottam elő, ez a természetes folyamat sok ismeretet, sok tudást igényelt a részemről, amelyet a kísérlet elvégzése megírása közben elsajátítottam. A munka elvégzése során megismerkedtem három különböző kvercetin kivonására alkalmazható módszerrel. Megtanultam a HPLC műszer működését, alkalmazását, és részben a minta feldolgozását.

Kutatásom során bemutatom a körömvirág termesztési folyamatát otthoni és mesterséges laboratóriumi körülmények között 2022-2023 években. Folyamatos jelleggel végig kísértem a növények fejlődését. Kísérleteket végeztem a 2022-ben begyűjtött szárazmintákból. Az eddigi tapasztalatok alapján a virágok előállítása a természetes körülmények között a legoptimálisabb. Igaz, hosszabb időbe telik, de a virágzás bőséges nem úgy, mint mesterséges körülmények között, ahol felgyorsíthatjuk a folyamatot.

A 2024-es tanév során bebizonyítottam, hogy a növény kvercetin tartalma kimutathatósága növekszik a megfelelő elválasztási módszerek alkalmazásával. Mivel azonban nem sikerült a kontroll csoportot és az UV-B megvilágított mintákat teljeskörűen kivizsgálni, szándékomban áll folytatni ezt a kutatást a magiszteri képzés keretében.

РЕЗЮМЕ

Моя кваліфікаційна робота базується на вмісті флавоноїдів у рослині *Calendula officinalis* L. У першій частині своєї роботи опрацювала наукову літературу. Я досліджувала нагідки, їх ефективність на людський організм, використання, роль флавоноїдів, вплив якості світла та ультрафіолетового випромінювання на рослину. Було знайдено мало літературних даних з цієї теми, в основному подібні експерименти проводилися на дрібних гризунах. Виявилось, що на загальний вміст флавоноїдів у рослині може впливати багато факторів, зокрема достатня кількість світла та постійний догляд. Також я отримала відповідь на питання, які методи досліджень можна застосовувати для виявлення флавоноїдів. Для багатьох аналітичних досліджень використовувалася високоефективна рідинна хроматографія. Цей метод сформувався протягом кількох десятиліть і тепер відноситься до методів розділення.

Необхідний для дослідження сухий матеріал я підготувала самостійно. Цей процес вирощування вимагав від мене багато знань, які я здобула під час проведення експерименту. Під час роботи я ознайомила з трьома різними методами екстракції кверцетину. Я навчилася працювати з приладом ВЕРХ (високоефективна рідинна хроматографія), його застосуванням та частковою обробкою зразків.

У своєму дослідженні я демонструвала процес вирощування нагідок у домашніх і штучних лабораторних умовах у 2022-2023 роках. Постійно спостерігала за розвитком рослин. Проводила експерименти зі зразками, зібраними у 2022 році. З досвіду виходить, що вирощування квітів у природних умовах є найоптимальнішим. Хоча це займає більше часу, врожай рясний, на відміну від штучних умов, де можна прискорити процес.

Протягом 2024 навчального року я довела, що виявлення вмісту кверцетину в рослині зростає при застосуванні відповідних методів розділення. Оскільки мені не вдалося повністю дослідити контрольну групу та зразки, освітлені UV-B, я маю намір продовжити це дослідження в рамках магістерської програми.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Andor Gál (2008): SlidePlayer. *Folyadék-kromatográfia*. 14. Letöltés ideje: 2022.05.06. Interneten: <https://slideplayer.hu/slide/11755953/>
2. Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., Martínez-Vitela, C., & Serna-Saldívar, S. O. (2015). Topical anti-inflammatory effects of isorhamnetin glycosides isolated from *Opuntia ficus-indica*. *BioMed Research International*. Letöltés ideje: 2021.12.07. Interneten: https://pdfs.semanticscholar.org/e93c/a25e4578313ce443eb07692928c9b4ed8249.pdf?_ga=2.76514773.1944268903.1643212697-1305594004.1643212697
3. A. O. Szemenov, T. B. Száxna, H. M. Kozsuska (2017): Analiz roli UV-veprominuvannya na rozvetok i produktivnist riznex keltur. 3.-4.o., Letöltés ideje: 2022.04.26. Interneten: file:///C:/Users/Gabriella/Downloads/svitteh_2017_2_3.pdf
4. Asadollahi, R. - Dadfarnia, S. - Haji Shabani, A.M. - Amirkavei, M. (2015): Separation/preconcentration and determination of quercetin in food samples by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop - flow injection spectrophotometry. - *J Food Sci Technol* 52:2, p. 1103-1109.
5. Bilia, A. R., Salvini, / D, Mazzi, / G, & Vincieri, F. F. (2001). *Characterization of Calendula Flower, Milk-Thistle Fruit, and Passion Flower Tinctures by HPLC-DAD and HPLC-MS* (Vol. 53). Letöltés ideje: 2021.12.02. Interneten: https://www.researchgate.net/publication/225354728_Characterization_of_Calendula_flow_er_milk-thistle_fruit_and_passion_flower_tinctures_by_HPLC-DAD_and_HPLC-MS
6. BioMax (2021.06.22): *Carotenoids are bright and useful*. Letöltés ideje: 2022.05.05 Interneten: <https://biomax.org.ua/ua/karotinoidy-yarkie-i-poleznye/>
7. Bligh, S. W. A., Ogegbo, O., & Wang, Z. T. (2013). Flavonoids by HPLC. In *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes* (pp. 2107–2144). Springer Berlin Heidelberg. Letöltés ideje: 2021.12.02. Interneten: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-642-22144-6_97
8. Prof. Dr. Csapó János (é.n): *Élelmiszerek összetételének folyadékkromatográfiai vizsgálata*. 26.o. Letöltés ideje: 2022.05.07. Interneten: <https://core.ac.uk/download/pdf/161065467.pdf>
9. Engida, A. M., Kasim, N. S., Tsigie, Y. A., Ismadji, S., Huynh, L. H., & Ju, Y. H. (2013). Extraction, identification and quantitative HPLC analysis of flavonoids from sarang semut (*Myrmecodia pendan*). *Industrial Crops and Products*, 41(1), 392–396. Letöltés ideje:

2021.11.27. Interneten: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/34076564/INDCRO6106-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1643220736&Signature=F2tIRp1JqSZN~1ElMrrqGtafBN~hcQG2vz8pqMK9XYmseG44LSjqldTKtJrZ7XQw3pK7q-0P-E6gepdN~u3FFn-KdywVHmdUGeLRLzGfu1fJbtAOonQHglRactORGL5XpfSL-gIbcg9n2H05-o-SMzO6I38M9d8ev9pt4lBDn-0sEqsdhY2Ec7dl~zes1NAy3p2wuYUOd8dABIYICUX4AwNm~TzbiTEevcbzCIbJ5qKwVsOVBHvMKaQwHV6vw~YjD03qGwpmKpDjwGFyeMuvwyVYCScZr5Fe3FtOxC3wBdCO4yiwejDbcrpOqNsf3p8DN~qeMgDxsrPzBWDjb6lkg__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

10. Grubits Anna (é.n.): *Folyadékkromatográfia*. Letöltés ideje: 2022.05.05. Interneten: <https://sites.google.com/site/folyadékkromatografia1/home>

11. Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). *REVIEWS: CURRENT TOPICS Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships*. Letöltés ideje: 2021.12.07. Interneten: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.864.5202&rep=rep1&type=pdf>

12. Honório, I. C. G., Bonfim, F. P. G., Montoya, S. G., Casali, V. W. D., Leite, J. P. V., & Cecon, P. R. (2016). Crescimento, desenvolvimento e teor de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.). *Acta Scientiarum - Agronomy*, 38(1), 69–75. Letöltés ideje: 2021.11.27.

Interneten: https://www.researchgate.net/publication/295892051_Growth_development_and_content_of_flavonoids_in_calendula_Calendula_officinalis_L

13. Ilisz István (2013): Illusztrált segédanyag a modern műszeres analitikai kémia oktatásához. 5.fejezet. Elválasztástechnikai módszerek. 5.2. *Ionkromatográfia*. Letöltés ideje: 2022.05.10. Interneten: <http://www2.sci.u-szeged.hu/inorg/MOMA/ch05s02.html>

14. Jaakola Laura és Anja Hohtola (2010): Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. Blackwell Publishing Ltd, 2-4. Letöltés ideje: 2022.04.24 Interneten: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-3040.2010.02154.x>

15. Kromatográfia elvi alapjai. Letöltés ideje: 2022.05.07. Interneten: <http://www.em.sapientia.sicilorum.ro/pdf/oktatasi%20segedanyagok/01%20Elelmiszer%20hamisitas%20eloadas/05%20Hamisitas%20Kromatografia%20Elvi%20Alapjai.pdf>

16. Med-chemistry (é.n.): *Хроматография*. 3.o. Letöltés ideje: 2022.05.07. Interneten: <https://med->

chemistry.pdmu.edu.ua/storage/resources/docs/2QSvXtSLNWpUOLvOkkPFhdXhAdztP
WY5eIQQ0xxf.pdf

17. M. Simonova (2010): Carotinoids: structura, proprietates actionum biologicarum. Lviv, Studia Biologica. Letöltés ideje: 2022.05.05 Interneten: https://www.researchgate.net/profile/Maryana-Simonova/publication/326078871_Carotenoids_their_structure_properties_and_biological_action/links/5ea718f545851553fab34e79/Carotenoids-their-structure-properties-and-biological-action.pdf

18. Nuutila, A. M., Kammiovirta, K., & Oksman-Caldentey, K.-M. (n.d.). Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis. In *Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section*. Letöltés ideje: 2021.12.07. Interneten: https://www.researchgate.net/publication/223365958_Comparison_of_methods_for_the_hydrolysis_of_flavonoid_and_phenolic_acids_from_onion_and_spinach_for_HPLC_analysis

19. Piccaglia, R., Marotti, M., Chiavari, G., & Gandini, N. (1997). Effects of harvesting date and climate on the flavonoid and carotenoid contents of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Flavour and Fragrance Journal*, 12(2), 85–90. Letöltés ideje: 2021.11.27. Interneten: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199703\)12:2%3C85::AID-FFJ616%3E3.0.CO;2-L](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(SICI)1099-1026(199703)12:2%3C85::AID-FFJ616%3E3.0.CO;2-L)

20. Pinteá, A., Bele, C., Andrei, S., & Socaciu, C. (2003). HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. In *Acta Biol Szeged* (Vol. 47, Issue 4). Letöltés ideje: 2021.12.02. Interneten: <http://abs.bibl.u-szeged.hu/index.php/abs/article/view/2329/2321>

21. Raal, A., & Kirsipuu, K. (2011). Total flavonoid content in varieties of *Calendula officinalis* L. originating from different countries and cultivated in Estonia. *Natural Product Research*, 25(6), 658–662. Letöltés ideje: 2021.12.07. Interneten: https://www.researchgate.net/publication/50401657_Total_flavonoid_content_in_varieties_of_Calendula_officinalis_L_originating_from_different_countries_and_cultivated_in_Estonia

22. Souza, C. – Bott, R. – Oliveira, W. (2007): Optimization of the Extraction of Flavonids Compounds from Herbal Materialu sing Experimental Design and Multi – response Analysis. *Latin American Journal of Pharmacy* 26:5, 682-690. o.

23. Stefova, M., Stafilov, T., & Kulevanova, S. (2003). *HPLC analysis of flavonoids Secondary metabolite production in Hypericum perforatum transgenic cultures View project ANTHROPOGENIC EFFECTS ON THE HUMAN ENVIRONMENT IN THE NEOGENE BASINS IN THE SE EUROPE View project*. Letöltés ideje: 2021.12.02. Interneten: https://www.researchgate.net/publication/233990443_HPLC_analysis_of_flavonoids
24. Szabó Mária (é.n.): *Ionkromatográfia*. Egyetemi jegyzet. 3-4.o. Letöltés ideje: 2022.05.10. Interneten: <http://inorg.unideb.hu/download/kurzusok/public/37/M%C5%B1szeres%20analitika-Ionkromatogr%C3%A1fia.pdf>
25. Szilágyiné Regina, dr. András Melinda (é.n.): *Műszeres analitika. Folyadékkromatográfia. Ionkromatográfia. Gélkromatográfia. Affinitás kromatográfia. Gázkromatográfia*. 7.o. Letöltés ideje: 2022.05.12. Interneten: <https://adoc.pub/9-het-myszeres-analitika-folyadékkromatografia-ionkromatograf.html>
26. Topszótár. Interneten: <https://topszotar.hu/idegen-szavak/el%C3%BAci%C3%B3>
Letöltés ideje: 2022.05.05
27. Zvezdanović, J. B., Stanojević, J. S., Marković, D. Z., & Cvetković, D. (2012). Irreversible UV-induced quercetin and rutin degradation in solution studied by UV spectrophotometry and HPLC chromatography. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 77(3), 297–312. Letöltés ideje: 2021.12.07. Interneten: <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0352-5139/2012/0352-51391100180Z.pdf>
28. Vibha Gupta, Ajay Deep Kumar Jain Jain, Gill NS és Kapil Guptan (2012): *HPLC módszer fejlesztése és validálása – áttekintés. International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*. Letöltés ideje: 2022.05.06. Interneten: <https://scienztech.org/index.php/irjpas/article/view/307>
29. Vidal – Ollivier, E. – Elias, R. – Faure, F. – Babadjamian, A. – Crespin, F. – Balansard, G. – Boudon, G. (1989): Flavonol Glycosides from *Calendula officinalis* Flowers. *Planta Medica* 55, 73-74.o.
30. Wikipédia (2020.09.12): *Mihail Szemjonovics Cvet*. Letöltés ideje: 2022.05.10. Interneten: https://hu.wikipedia.org/wiki/Mihail_Szemjonovics_Cvet
31. I. М. Перцев, I. В. Красовський, Г. П. Півненко (1962): *Вибір методу хроматографічного дослідження*. Фармацевтичний журнал, Надійшла 2.VII. 1.o. Letöltés ideje: 2022.05.12. Interneten: <https://dspace.nuph.edu.ua/bitstream/123456789/2187/1/%D1%84%D0%B6%201963%20%E2%84%963%20%D1%8134-38.pdf>

32. Шульга Інна Михайлівна (2022): На урок. Презентація "Умови проростання насіння". Letöltés ideje: 2022.12.17. Interneten: <https://naurok.com.ua/prezentaciya-umovi-prorostannya-nasinnya-181938.html>

KÖSZÖNETNÍLVÁNÍTÁS

Szeretném kifejezni hálámat mindazoknak, akik erkölcsi vagy tevéleges támogatásukkal segítettek a munkám létrejöttét. Különösen köszönöm Dr. Kohut Erzsébet tanszékvezetőnek és egyben témavezető tanáromnak, akinek tanácsai, alapos és részletekbe menő munkája, valamint folyamatos biztatása és támogatása nélkül nem jöhetett volna létre ez a dolgozat.

Hálás vagyok Filep Mihály tanár úrnak is, aki mindig ellátott jótanácsokkal, biztatott, amikor kétségek merültek fel bennem tanulmányaim vagy a szakdolgozatom írása során, és segített a HPLC műszer előkészítésében a mintabevételezéshez.

Köszönöm Molnár Krisztina tanárnőnek, hogy közbenjáróként segítette munkám előrehaladását, különösen, amikor a HPLC műszer használatához szükséges szakemberrel kellett egyeztetni.

Külön köszönöm Szaniszló Szabasziánnak a HPLC műszeren végzett munkáját.

Köszönöm a Biológia és a Kémia Tanszék valamennyi oktatójának a segítségét, akik valamilyen módon hozzájárultak a munkám létrejöttéhez.

Köszönettel tartozom a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola vezetőségének, az intézmény alapítóinak, hogy tanulmányaimat anyanyelvemen végezhettem.

Köszönöm szeretett családomnak, hogy mindig mellettem álltak és támogattak, segítettek a kísérleti folyamatokban. Végül mindazoknak, akik mindvégig bíztak szakdolgozatom írása közben.

Звіт про перевірку схожості тексту Oxsico

Назва документа:

Suto R 2024.pdf

Ким подано:

Михайло Філеп

Дата перевірки:

2024-06-07 14:48:28

Дата звіту:

2024-06-07 16:27:32

Ким перевірено:

I + U + DB + P + DOI

Кількість сторінок:

63

Кількість слів:

11159

Схожість 1%	Збіг: 38 джерела	Вилучено: 0 джерела
Інтернет: 10 джерела	DOI: 0 джерела	База даних: 0 джерела
Перефразовування 0%	Кількість: 6 джерела	Перефразовано: 15 слова
Цитування 15%	Цитування: 146	Всього використано слів: 4921
Включення 0%	Кількість: 2 включення	Всього використано слів: 48
Питання 0%	Замінені символи: 0	Інший сценарій: 0 слова