

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГИДРОКСИФЛАВОНОВ, СОРБИРОВАННЫХ НА ПОВЕРХНОСТИ ОКСИДА АЛЮМИНИЯ

Н. А. Липковская *, В. Н. Барвинченко

УДК 544.354.081.7+577.164.3

Институт химии поверхности НАН Украины
03164, Киев, ул. Генерала Наумова, 17, Украина; e-mail: lipkovska@ukr.net

(Поступила 28 февраля 2019)

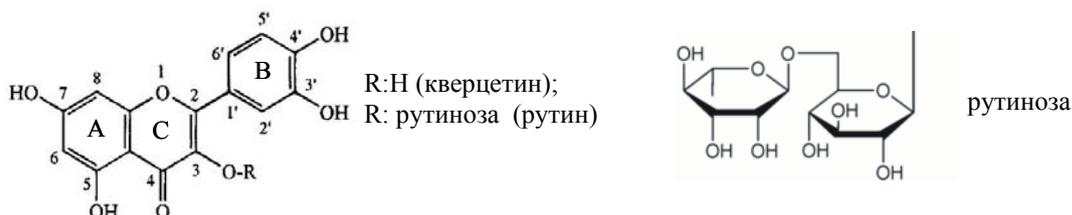
Установлено, что кверцетин и рутин при сорбции на оксиде алюминия образуют с его поверхностными группами окрашенные хелатные комплексы, аналогичные комплексам с ионами Al(III) в растворе. Оптическая плотность дисперсии оксида алюминия в присутствии данных гидроксифлавонов максимальна в нейтральной среде и линейно зависит от их концентрации в исходном растворе. Определены условные молярные коэффициенты поглощения сорбированных кверцетина ($\epsilon_{434}^S = 4386$ г/моль·см) и рутина ($\epsilon_{403}^S = 5280$ г/моль·см). Показано, что высокодисперсный оксид алюминия может быть предложен в качестве твердофазного реагента для определения кверцетина и рутина в препаратах лекарственных растений спектрофотометрическим или визуальным тест-методом.

Ключевые слова: рутин, кверцетин, оксид алюминия, спектральные свойства.

It was established that quercetin and rutin during sorption on alumina form colored chelate complexes with alumina surface groups, similar to complexes with Al (III) ions in solution. The optical density of the aluminum oxide dispersion in the presence of these hydroxyflavones is maximum in a neutral environment and linearly depends on their concentration in the initial solution. The conditional molar absorption coefficients of surface quercetin ($\epsilon_{434}^S = 4386$ g·mole⁻¹·cm⁻¹) and rutin ($\epsilon_{403}^S = 5280$ g·mole⁻¹·cm⁻¹) complexes were determined. It is shown that highly dispersed aluminum oxide can be proposed as a solid-phase reagent for the determination of quercetin and rutin in the preparations of medicinal plants by the spectrophotometric or visual test method.

Keywords: rutin, quercetin, aluminium oxide, spectral properties.

Введение. Гидроксифлавоны (ГФ) рутин (Рт) и его агликон кверцетин (Кв) —



представители низкомолекулярных многоатомных фенолов растительного происхождения [1] — входят в состав лекарственных растений, пищевых продуктов биологически активных добавок, лекарственных препаратов [2, 3], широко применяются в медицине [4—6], поскольку проявляют высокую антиоксидантную, противовоспалительную, противовирусную активность, способны уменьшать проницаемость и ломкость капилляров, повышать их резистентность.

SPECTRAL CHARACTERISTICS OF HYDROXYFLAVONES SORBED ON ALUMINIUM OXIDE SURFACE

N. A. Lipkovska *, V. N. Barvinchenko (Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, 17 General Naumov Str., Kyiv-164, 03164, Ukraine; e-mail: lipkovska@ukr.net)

Основным методом определения ГФ в препаратах растительного происхождения является высокоэффективная жидкостная хроматография со спектрофотометрическим и масс-спектроскопическим детектированием [7—9]. В то же время все больше применяется простой и экспрессный метод твердофазной спектрофотометрии, основанный на сорбционном концентрировании определяемых соединений на твердом носителе и последующем прямом измерении его оптической плотности [10]. Природные полифенолы, к которым относятся и ГФ, характеризуются, с одной стороны, восстановительными свойствами, с другой — способностью образовывать комплексы с ионами легкогидролизуемых металлов [1]. Так, их редокс-свойства положены в основу разработанных методик твердофазно-спектрофотометрической и визуальной тест-оценок антиоксидантной активности препаратов эхинацеи, вин, зеленых и черных чаев с использованием синтезированного и иммобилизованного на силикагеле комплекса Cu(II) с тетрабензо[*b,f,j,n*][1,5,9,13]тетраазациклогексадеценом, характеризующегося контрастным изменением окраски [11, 12]. В [13] предложена методика сорбционно-спектрофотометрического определения концентрации полифенолов в препаратах растительного происхождения, основанная на измерении интенсивности окраски их комплексов с трехвалентным железом, содержащимся в виде ~0.01 % примеси в силикагеле марки L 100-250. Использование такого силикагеля в качестве твердофазного реагента не требует предварительной стадии синтеза реагента-модификатора и иммобилизации его на поверхности сорбента.

Учитывая, что ионы алюминия образуют в растворах интенсивно окрашенные комплексы с полифенолами, имеющими в своем составе комбинацию гидроксильной и карбонильной групп и/или две гидроксигруппы в ортоположении [14, 15], к которым также относятся Рт и Кв, для изучения в качестве потенциального твердофазного реагента выбран оксид алюминия. Дополнительный аргумент при выборе сорбента — отсутствие собственной окраски оксида алюминия, что делает возможным его применение в визуально-тестовых методах.

Цель данной работы — изучение спектральных характеристик кверцетина и рутина, сорбированных на поверхности оксида алюминия, в зависимости от pH и концентраций в исходных растворах.

Эксперимент. Пирогенный оксид алюминия Aeroxide Alu C с размером частиц 13 нм и удельной поверхностью 100 м²/г (Evonik Degussa AG) в форме 0.05 %-ной водной суспензии (ионная сила 0.01 М NaCl) готовили перемешиванием навесок сорбента (0.25 г) и NaCl (0.29 г) с водой (500 мл) с помощью магнитной мешалки в течение 2 ч. Исходные растворы Кв (Sigma) и Рт (Sigma) готовили растворением точных навесок в этаноле. Растворы хлористоводородной кислоты и щелочи получали из концентрированных HCl и NaOH марки ч.д.а. Электронные спектры растворов и дисперсий оксида алюминия, содержащих ГФ, измерены на спектрофотометре Specord M-40 (Karl Zeiss Jena, Германия) в ячейке для мутных растворов в кюветах с толщиной слоя 1 см. С целью устранения влияния фона на аналитический сигнал использован метод гетерохроматической экстраполяции при двух длинах волн [16]. Кислотность растворов до и после сорбции контролировалась с помощью стеклянного электрода универсального иономера Hanna instruments HI 221.

Исследования проведены в 40 %-ном растворе этанола, который обеспечивает стабильность растворов мало растворимых в воде ГФ. Сорбция Кв и Рт на поверхности оксида алюминия проведена в статических условиях, для чего 10 мл раствора ГФ соответствующей концентрации смешивали с 10 мл 0.05 %-ной водной суспензии сорбента, устанавливали необходимое значение pH раствора, перемешивали до установления равновесия (2 ч при 20 °С) и измеряли спектр поглощения дисперсии ($A_{\text{дисп}}$). Равновесный раствор отделяли центрифугированием (8000 об./мин, 15 мин) и измеряли его спектр ($A_{[C]}$). Спектр поглощения сорбированных на оксиде алюминия ГФ (A^c) определялся как арифметическая разница:

$$A^c = A_{\text{дисп}} - A_{[C]}. \quad (1)$$

В качестве образца сравнения использована дисперсия чистого оксида алюминия, проведенная через те же стадии, что и исследуемые образцы.

Принимая во внимание, что спектральные характеристики ГФ постоянны при pH < 3 [17], их равновесную концентрацию ($[C]$, М) определяли по собственному поглощению в кислой среде, для чего в центрифугат добавляли раствор HCl до установления pH 2.5±0.2, измеряли оптическую плотность раствора (A) и рассчитывали равновесную концентрацию ГФ исходя из молярных коэффициентов поглощения Кв ($\lambda_{\text{max}} = 376$ нм, $\epsilon_{\text{Кв}} = 22194$) и Рт ($\lambda_{\text{max}} = 360$ нм, $\epsilon_{\text{Рт}} = 18710$), которые определены для этих условий. Адсорбцию (a , моль/г) ГФ, которая соответствует их концентрации на поверхности оксида алюминия, и коэффициент концентрирования (K_k , мл/г) рассчитывали по формулам:

$$a = (C - [C])V/1000 m, \quad K_k = V/m, \quad (2)$$

где C и $[C]$ — начальная и равновесная концентрации ГФ, М; V — объем раствора (мл), который находится в контакте с адсорбентом массой m (г).

Результаты и их обсуждение. При внесении раствора ГФ в дисперсию оксида алюминия наблюдается быстрое возникновение желтой окраски сорбента (60 % максимальной оптической плотности за первую минуту). Дисперсия Al_2O_3 при концентрации 0.025 % имеет достаточно высокие седиментационную устойчивость и прозрачность, что позволяет путем прямого измерения ее оптической плотности исследовать спектральные свойства сорбированных на оксиде алюминия Кв ($Kв/Al_2O_3$) и Рт ($Рт/Al_2O_3$). На рис. 1 приведены спектры поглощения дисперсии оксида алюминия ($A_{дисп}$) в $5 \cdot 10^{-6}$ и $1 \cdot 10^{-4}$ М растворах ГФ после установления сорбционного равновесия, спектры соответствующих равновесных растворов ($A_{[C]}$) после центрифугирования и спектры ГФ, сорбированных на поверхности оксида алюминия (A^c). Видно, что при сорбции из растворов с начальной концентрацией $C = 1 \cdot 10^{-4}$ М спектры Кв/ Al_2O_3 и Рт/ Al_2O_3 (кривые 3') сдвинуты относительно спектров соответствующих равновесных растворов Кв и Рт (кривые 2') в длинноволновую область на 60 и 40 нм. Такой значительный батохромный сдвиг свидетельствует об образовании хелатных комплексов ГФ с $\equiv Al-OH$ группами на поверхности оксида алюминия, аналогичных комплексам ГФ с ионами $Al(III)$ в растворах [14, 15]. При малой начальной концентрации $C = 5 \cdot 10^{-6}$ М Кв и Рт сорбируются количественно, при этом спектры 1 и 3 практически совпадают, а оптическая плотность равновесных растворов близка к нулю (кривые 2). При увеличении концентрации ГФ на поверхности оксида алюминия положение максимума (λ_{max}) их спектров поглощения остается постоянным при данном рН.

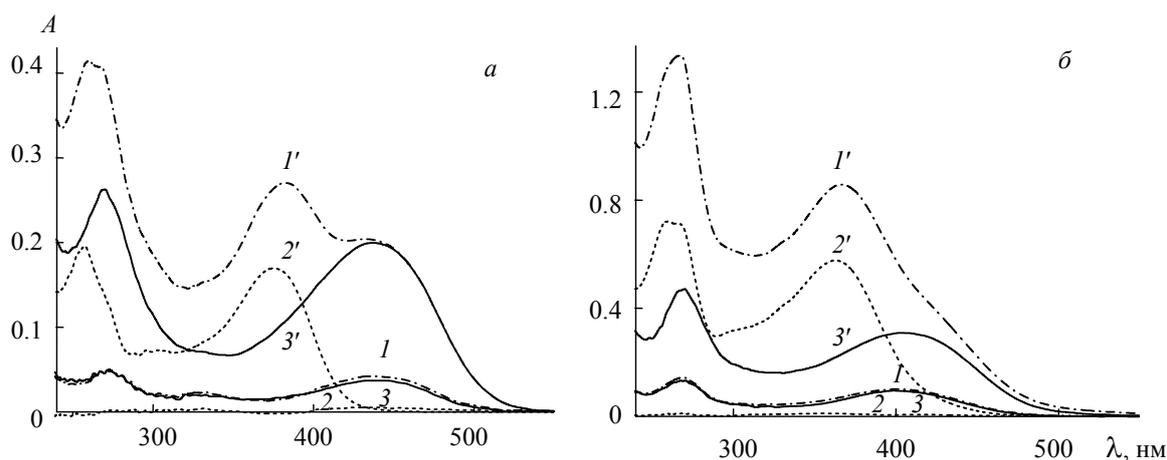


Рис. 1. Спектры поглощения в системах оксид алюминия с кверцетином (а) и рутином (б) после достижения сорбционного равновесия: 1, 1' — дисперсии оксида алюминия в растворах гидроксифлавонов, 2, 2' — равновесные растворы, 3, 3' — гидроксифлавоны на поверхности сорбента; $C = 5 \cdot 10^{-6}$ (1—3), $1 \cdot 10^{-4}$ М (1'—3'), рН 6.5 ± 0.2 , $l = 1$ см

Спектральные характеристики как ГФ, так и их комплексов с ионами металлов зависят от рН раствора, поэтому изучены рН-зависимости положения максимумов (λ_{max}) спектров поглощения сорбированных на оксиде алюминия Кв и Рт (рис. 2). Из сопоставления кривых 1 и 2 видно, что λ_{max} для Кв/ Al_2O_3 и Рт/ Al_2O_3 возрастают с повышением рН > 3 и выходят на постоянные значения при рН дисперсии 6—7. С ростом рН дисперсии наблюдается не только батохромный сдвиг, но и рост интенсивности спектров поглощения сорбированных на оксиде алюминия ГФ (кривые 3, 4), причем если в кислой области эти характеристики для обоих ГФ близки, то в нейтральной области рН A^c для сорбированного Кв существенно больше, чем для Рт.

На основании полученных экспериментальных данных рассмотрена возможность их использования при разработке методик количественной оценки содержания Кв и Рт как на поверхности Al_2O_3 , так и в исходных растворах. На рис. 3 приведены экспериментальные и рассчитанные по формуле (2) зависимости оптической плотности A^c поверхностных комплексов Кв и Рт от их сорбции. Эти зависимости описываются линейным уравнением $Y = A + BX$ с параметрами для Кв $A = \Delta A = -0.014 \pm 0.0101$,

$B \pm \Delta B = 4386 \pm 174$, $R = 0.991$, $n = 13$; для Рт $A \pm \Delta A = -0.004 \pm 0.001$, $B \pm \Delta B = 5280 \pm 225$, $R = 0.994$ и $n = 9$. Высокие коэффициенты корреляции R (0.991 и 0.994) свидетельствуют о том, что оптическая плотность поверхностных комплексов Кв и Рт на оксиде алюминия прямо пропорциональна экспериментальным величинам их сорбции. Коэффициент B соответствует условным молярным коэффициентам поглощения 0.025 %-ных дисперсий Кв/ Al_2O_3 ($\epsilon^S = 4386$ г/моль·см) и Рт/ Al_2O_3 ($\epsilon^S = 5280$ г/моль·см) при $\lambda = 434$ и 403 нм. Это позволяет на основании измеренной оптической плотности дисперсии оценивать количество ГФ, выделенных из растворов препаратов лекарственных растений путем сорбционного концентрирования на оксиде алюминия.

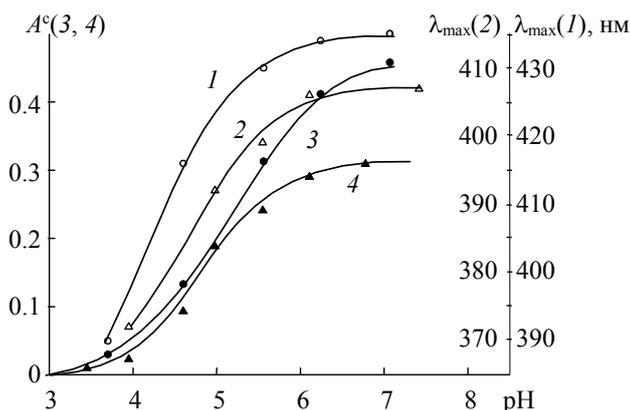


Рис. 2. Зависимости $\lambda_{\max}(1, 2)$ и оптической плотности $A^c(3, 4)$ спектров сорбированных кверцетина (1, 3) и рутина (2, 4) от pH; $C_{\text{Кв, Рт}} = 5 \cdot 10^{-5}$ М; $l = 1$ см; $\lambda_{\max} = 434$ (1) и 403 нм (2)

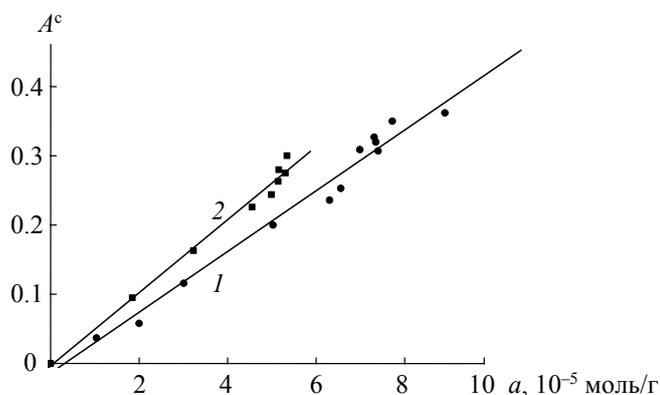


Рис. 3. Зависимость оптической плотности поверхностных комплексов кверцетина (1) и рутина (2) от их сорбции на поверхности оксида алюминия при варьировании начальной концентрации в растворе в диапазоне $(0-1) \cdot 10^{-4}$ М; pH 6.5 ± 0.2 , $\lambda_{\max} = 434$ (1) и 403 нм (2)

Рассмотрена возможность количественного определения Кв и Рт сорбционно-фотометрическим методом. На рис. 4 приведена зависимость оптической плотности дисперсии оксида алюминия $A_{\text{дисп}}$ от концентрации ГФ в исходных растворах. Поскольку в данных концентрационных условиях ($C < 1 \cdot 10^{-4}$ М) они сорбируются практически полностью ($[C] \sim 0$, рис. 1), то $A_{\text{дисп}} = A^c$. Следовательно, в качестве аналитического сигнала можно использовать непосредственно измеренную оптическую плотность дисперсии. Зависимости $A_{\text{дисп}}$ от концентрации Кв и Рт в растворе в диапазонах $C = (0.1-1.5) \cdot 10^{-5}$ и $(0.1-1.2) \cdot 10^{-5}$ М описываются следующими линейными уравнениями: для Кв $\lambda_{\max} = 434$ нм, $A_{\text{дисп}} = (0.001 \pm 0.003) + (1.216 \pm 0.036) \cdot 10^4 C_{\text{Кв}}$ (М), $R = 0.998$ и $n = 7$; для Рт $\lambda_{\max} = 403$ нм, $A_{\text{дисп}} = (0.004 \pm 0.004) + (1.613 \pm 0.058) \cdot 10^4 C_{\text{Рт}}$ (М), $R = 0.997$ и $n = 7$.

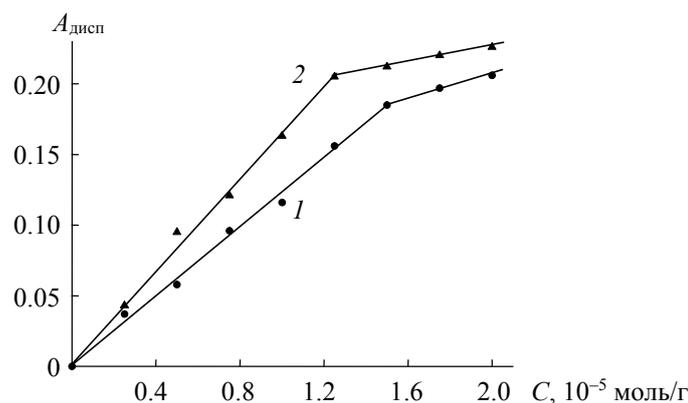


Рис. 4. Зависимость оптической плотности дисперсии оксида алюминия $A_{\text{дисп}}$ в присутствии кверцетина (1) и рутина (2) от их начальной концентрации в растворах; $\lambda_{\text{max}} = 434$ (1) и 403 нм (2); pH 6.5 ± 0.2

Следует отметить, что в данных экспериментальных условиях ГФ сорбируются на оксиде алюминия практически на 100 %, при этом коэффициент концентрирования 4000. Соответствующее повышение чувствительности определения, а также контрастность цветового перехода от белого до ярко-желтого свидетельствуют о том, что оксид алюминия может быть использован в качестве твердофазного реагента как для сорбционно-спектрофотометрического, так и для визуального тест-определения ГФ.

Заключение. Спектральные свойства сорбированных кверцетина и рутина зависят от их концентрации в исходных растворах и pH дисперсии оксида алюминия. Установлено, что интенсивность поглощения гидроксифлавонов на поверхности оксида алюминия прямо пропорциональна их сорбции, исходя из чего рассчитаны условные молярные коэффициенты поглощения поверхностных комплексов. Найдены линейные корреляции между оптической плотностью гидроксифлавонов на поверхности сорбента и их начальной концентрацией в растворе, что показывает применимость предлагаемой методики регистрации аналитического сигнала непосредственно дисперсии сорбента. Таким образом, высокодисперсный оксид алюминия может быть успешно использован не только для предварительного выделения и концентрирования, но и как твердофазный реагент в методиках сорбционно-фотометрического и визуально-тестового определения кверцетина и рутина в различных растительных препаратах.

- [1] M. Andersen, K. R. Markham. *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications*, New York, Boca Raton CRC Press (2006)
- [2] A. Wach, K. Pyrzyska, M. Biesaga. *Food Chem.*, **100**, N 2 (2007) 699—704
- [3] Я. И. Яшин, В. Ю. Рыжнев, А. Я. Яшин, Н. И. Черноусова. *Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и влияние их на здоровье и старение человека*, Москва, ТрансЛит (2009)
- [4] Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдралилов, Е. Н. Музафаров. *Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина*, Пушино, Synchronbook (2013)
- [5] W. Wang, C. Sun, L. Mao, P. Ma, F. Liu, J. Yang, Y. Gao. *Trends. Food Sci. Technol.*, **56** (2016) 21—38
- [6] C. Chen, J. Zhou, C. Ji. *Life Sci.*, **87** (2010) 333—338
- [7] E. Rijke, P. Out, W. M. Niessen, F. Ariese, C. Gooijer, U. A. Brinkman. *J. Chromatogr. A*, **1112** (2006) 31—63
- [8] С. Г. Дмитриенко, В. А. Кудринская, В. В. Апари. *Журн. аналит. химии*, **67**, № 4 (2012) 340—353
- [9] M. Naczka, F. Shahidi. *J. Chromatogr. A*, **1054** (2004) 95—111
- [10] F. R. P. Rocha, I. M. Jr. Raimundo, L. S. G. Teixeira. *Anal. Lett.*, **44** (2011) 528—559

-
- [11] **O. A. Zaporozhets, O. A. Krushynska, N. A. Lipkovska, V. N. Barvinchenko.** *J. Agric. Food Chem.*, **52** (2004) 21—25
- [12] **О. А. Запорожець, О. А. Крушинська, Н. О. Ліпковська, В. М. Барвінченко.** *Фармаком*, № 1/2 (2006) 51—58
- [13] **Н. О. Ліпковська, О. А. Запорожець, О. А. Крушинська, В. М. Барвінченко, О. О. Довбій.** *Фармаком*, № 4 (2008) 69—74
- [14] **A. Pełal, K. Ryzynska.** *Food Anal. Methods*, **7** (2014) 1776—1782
- [15] **J. P. Cornard, J. C. Merlin.** *J. Inorg. Biochem.*, **92**, N 1 (2002) 19—27
- [16] **И. Я. Бернштейн, Ю. Л. Каминский.** *Спектрофотометрический анализ в органической химии*, Ленинград, Химия (1986)
- [17] **Н. А. Липковская, В. Н. Барвинченко, Т. В. Федянина, А. А. Ругаль.** *Журн. прикл. спектр.*, **81**, № 4 (2014) 589—593 [N. A. Lipkovska, V. N. Barvinchenko, T. V. Fedyanina, A. A. Rugal. *J. Appl. Spectr.*, **81** (2014) 644—648]