

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРИРОДНЫХ КОРИЧНЫХ КИСЛОТ, СОРБИРОВАННЫХ НА ПОВЕРХНОСТИ ОКСИДА АЛЮМИНИЯ**Н. Т. Картель, В. Н. Барвинченко, Н. А. Липковская***

УДК 544.723:547.587.51/52

*Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН Украины,
03164, Киев, Украина; e-mail: lipkovska@ukr.net**(Поступила 29 декабря 2020)*

Установлено, что спектральные характеристики (интенсивность и положение полос поглощения) структурно однотипных природных коричных кислот, сорбированных на оксиде алюминия, зависят от их поверхностной концентрации и pH водных растворов. Определены условные молярные коэффициенты поглощения (ϵ /(моль·см)) сорбированных коричной ($\epsilon_{274\text{nm}}^S = 1766$), кумаровой ($\epsilon_{286\text{nm}}^S = 2056$), феруловой ($\epsilon_{290\text{nm}}^S = 1139$) и кофейной ($\epsilon_{350\text{nm}}^S = 1163$) кислот. Найдено, что оптическая плотность сорбированных коричных кислот коррелирует с их концентрацией в исходном анализируемом растворе, вследствие чего высокодисперсный оксид алюминия может быть рекомендован как твердофазный реагент для определения коричной, кумаровой, феруловой и кофейной кислот в препаратах растительного происхождения спектрофотометрическим и визуально-тестовым методами. Показана возможность селективного определения кофейной кислоты.

Ключевые слова: коричная кислота, кумаровая кислота, феруловая кислота, кофейная кислота, оксид алюминия, спектральные свойства.

It was established that the spectral characteristics (intensity and position of absorption bands) of structurally similar natural cinnamic acids sorbed on the aluminum oxide surface depend on the surface concentration and the pH of aqueous solutions. The conditional molar absorption coefficients (g/(mole·cm)) of adsorbed cinnamic ($\epsilon_{274\text{nm}}^S = 1766$), coumaric ($\epsilon_{286\text{nm}}^S = 2056$), ferulic ($\epsilon_{290\text{nm}}^S = 1139$), and caffeic ($\epsilon_{350\text{nm}}^S = 1163$) acids were determined. It was found that the optical density of cinnamic acids correlates with their concentration in the initial testified solution. Owing to this, highly dispersed aluminum oxide can be recommended as a solid-phase reagent for the evaluation of cinnamic, coumaric, ferulic, and caffeic acids in plant-derived products by spectrophotometry or visually test methods. The possibility of selective determination of caffeic acid was also shown.

Keywords: cinnamic acid, coumaric acid, ferulic acid, caffeic acid, aluminum oxide, spectral properties.

Введение. Природные коричные кислоты (ПКК) — коричная кислота и ее производные — кумаровая (4-гидроксикоричная), феруловая (3-метокси-4-гидроксикоричная) и кофейная (3,4-дигидроксикоричная) кислоты, принадлежат к классу полифенолов растительного происхождения и обладают широким спектром фармакологических свойств [1, 2]. Для их определения в лекарственных растениях, медицинских препаратах, пищевых продуктах применяют преимущественно сорбционно-хроматографические методы высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием химически модифицированных силикагелей, цеолитов, сополимеров полистирола и дивинилбензола [3—8].

Реакционные центры коричных кислот включают в себя карбоксильные и гидроксильные группы, способные образовывать комплексы с ионами легкогидролизующих металлов (ЛГМ). Это делает перспективной разработку методик твердофазной спектрофотометрии, основанных на сорбционном концентрировании определяемых соединений на твердых носителях, содержащих ионы ЛГМ, или ок-

SPECTRAL CHARACTERISTICS OF NATURAL CINNAMIC ACIDS ADSORBED ON ALUMINUM OXIDE SURFACE**N. T. Kartel, V. N. Barvinchenko, N. A. Lipkovska*** (A. A. Chuiko Institute of Surface Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 03164, Ukraine; e-mail: lipkovska@ukr.net)

сидах таких металлов с последующим прямым измерением их оптической плотности. Так, в [9] предложена методика экспресс-оценки антиоксидантной активности препаратов эхинацеи методом твердофазной спектрофотометрии, где в качестве аналитического сигнала использовано поглощение окрашенного комплекса кофейной кислоты с трехвалентным железом, содержащимся в виде ~0.01 %-ной примеси в силикагеле марки L 100-250. В то же время комплексные адсорбционные и спектральные исследования взаимодействия природных полифенолов класса флавоноидов (кверцетина и рутина) с пирогенным Al_2O_3 показали [10], что оксид алюминия может быть перспективным твердофазным реагентом для их определения в препаратах растительного происхождения сорбционно-спектрофотометрическим и визуально-тестовым методами. На основе свойства кофейной кислоты образовывать в растворах комплексы с ионами алюминия [11, 12] разработан способ ее спектрофотометрического определения в лекарственных растениях и их продуктах путем измерения поглощения раствора с pH 4.5—5.5 при $\lambda = 355$ нм.

Поскольку сведения об использовании оксида алюминия для концентрирования и анализа ПКК в литературе отсутствуют, разработка простых, экспрессных и недорогих методов выделения отдельных представителей этого класса соединений, основанных на сочетании их сорбционного концентрирования и последующего качественного и количественного определения непосредственно в фазе сорбента, является актуальной задачей.

Цель данной работы — изучение спектральных характеристик коричной, кумаровой, феруловой и кофейной кислот, сорбированных на оксиде алюминия, в зависимости от их концентрации в исходных растворах и на поверхности сорбента, а также pH равновесного раствора.

Эксперимент. Использован высокодисперсный пирогенный оксид алюминия Aeroxide Alu C с размером частиц 13 нм и удельной поверхностью 100 м²/г (Evonik Degussa AG) в форме 0.2 %-ной водной дисперсии (ионная сила 0.01 н), которую готовили перемешиванием навесок сорбента (1.00 г) и NaCl (0.29 г) с водой (500 мл) магнитной мешалкой в течение 2 ч. Исходные растворы коричной, кумаровой, феруловой и кофейной кислот (Sigma-Aldrich) готовили растворением точных навесок в горячей дистиллированной воде. Рабочие растворы готовили непосредственно перед экспериментом. Растворы хлористоводородной кислоты и щелочи получали из концентрированных HCl и NaOH марки ч.д.а. Кислотность растворов до и после сорбции контролировали с помощью стеклянного электрода универсального иономера Hanna instruments HI 221.

Электронные спектры растворов и дисперсий оксида алюминия, содержащих коричные кислоты, измерены на спектрофотометре Specord M-40 (Karl Zeiss Jena, Германия) в ячейке для мутных растворов в кварцевых кюветках. С целью устранения влияния фона на аналитический сигнал использован метод гетерохроматической экстраполяции при двух длинах волн [13].

Сорбцию коричных кислот из водных растворов на поверхности оксида алюминия изучали в статических условиях, для чего 10 мл раствора исследуемой кислоты различных концентраций смешивали с 10 мл 0.2 %-ной водной дисперсии сорбента, устанавливали необходимый 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 коричной, кумаровой, феруловой и кофейной кислот (A^s) определяли как арифметическую разницу:

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

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

В центрифугат добавляли раствор HCl для установления pH < 2.5—3.0 (при котором светопоглощение ПКК практически не зависит от pH), измеряли оптическую плотность и рассчитывали равновесную концентрацию кислот на основании экспериментально найденных при этих условиях молярных коэффициентов поглощения (ϵ). Для этого предварительно исследованы зависимости оптической плотности кислот от их концентрации в растворе, которые линеаризованы методом наименьших квадратов с коэффициентами корреляции $r^2 \geq 0.9997$. Найдены молярные коэффициенты поглощения коричных кислот (М⁻¹·см⁻¹): $\epsilon_{278\text{нм}} = 2.06 \cdot 10^4$ (коричная), $\epsilon_{310\text{нм}} = 1.97 \cdot 10^4$ (кумаровая), $\epsilon_{324\text{нм}} = 1.78 \cdot 10^4$ (феруловая) и $\epsilon_{324\text{нм}} = 1.63 \cdot 10^4$ (кофейная).

Величину сорбции (a , моль/г) ПКК, которая представляет собой их концентрацию на поверхности оксида алюминия, рассчитывали по формуле:

$$A = (C - [C])l/1000m, \quad (2)$$

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

Результаты и их обсуждение. Спектральные свойства сорбированных коричневых кислот исследованы путем измерения оптической плотности дисперсии оксида алюминия в растворах ПКК после установления сорбционного равновесия и с учетом спектров соответствующих равновесных растворов. Высокая седиментационная устойчивость и достаточная прозрачность дисперсии при данной концентрации Al_2O_3 (0.1 %) позволяют исследовать спектральные характеристики ПКК в растворах и на поверхности сорбента в одинаковых условиях.

На рис. 1 приведены нормированные спектры поглощения коричневой, кумаровой, феруловой и кофейной кислот на поверхности оксида алюминия и в соответствующих равновесных растворах при $pH\ 2.5 \pm 0.2$. Видно, что спектры поглощения сорбированных коричневых кислот (кривые 1) значительно отличаются от спектров поглощения их равновесных растворов (кривые 2) при этом же pH. Так, сорбция на поверхности оксида алюминия приводит к гипсохромному сдвигу λ_{max} спектров коричневой кислоты и кумаровой на 3 и 11 нм. В спектре сорбированной феруловой кислоты, которая в растворе имеет две перекрывающиеся полосы в видимой области, происходит перераспределение их интенсивностей, а именно незначительное снижение для $\lambda_{max1} = 323$ нм и рост для $\lambda_{max2} = 294$ нм, т. е. максимум переходит от λ_{max1} к λ_{max2} , формально сдвигаясь на 29 нм. Несмотря на то что спектральные свойства растворов кофейной и феруловой кислот практически совпадают (рис. 1, в и з, кривые 2), спектр сорбированной кофейной кислоты (рис. 1, з, кривая 1) существенно отличается как от спектра ее равновесного раствора, так и от спектра феруловой кислоты на поверхности оксида алюминия — наблюдается определенный рост интенсивности полосы 294 нм, как и в случае феруловой кислоты, однако максимум спектра остается при $\lambda_{max1} = 323$ нм. Основное же отличие заключается в появлении полосы $\lambda_{max3} \sim 350$ нм, которая при данном pH раствора проявляется в виде плеча и, очевидно, обусловлена образованием кофейной кислотой хелатного комплекса с группами $\equiv Al-OH$ на поверхности оксида алюминия, поскольку известно [11, 12], что подобный спектр характерен для комплекса данной кислоты с ионами $Al(III)$ в растворах (рис. 1, з, кривая 4).

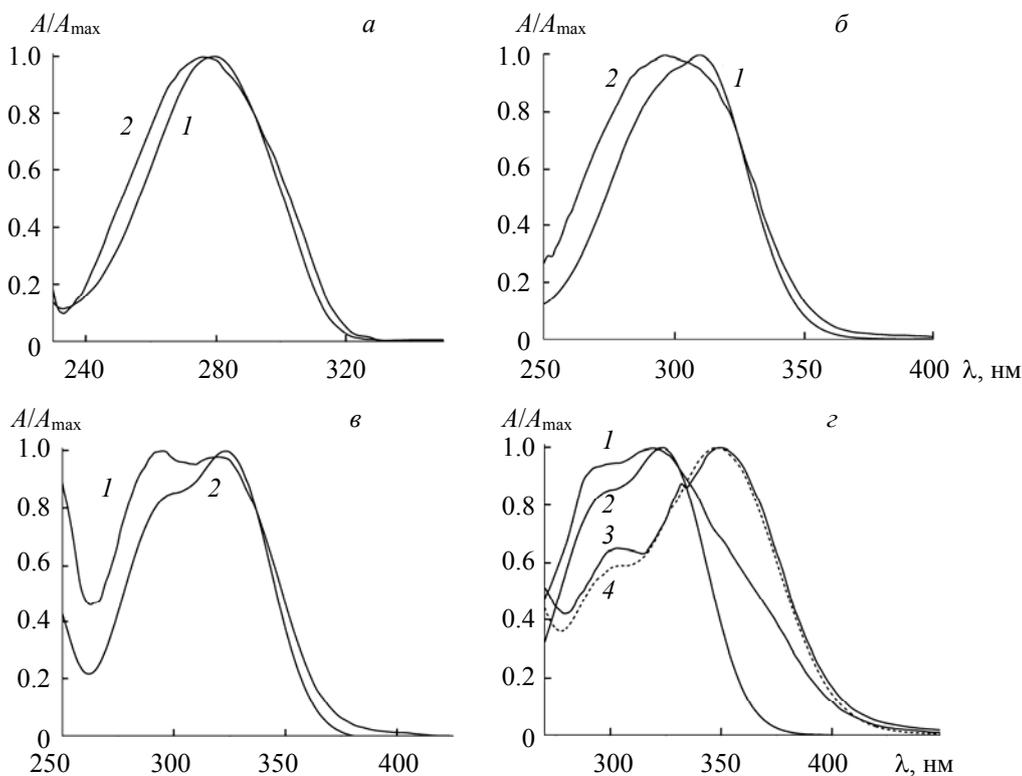


Рис. 1. Нормированные спектры поглощения коричневой (а), кумаровой (б), феруловой (в) и кофейной (з) кислот, сорбированных на поверхности оксида алюминия (1, 3), соответствующих равновесных растворов (2), раствора кофейной кислоты в присутствии $Al(III)$ (4); $pH\ 2.5 \pm 0.2$ (1, 2) и 5.0 (3, 4)

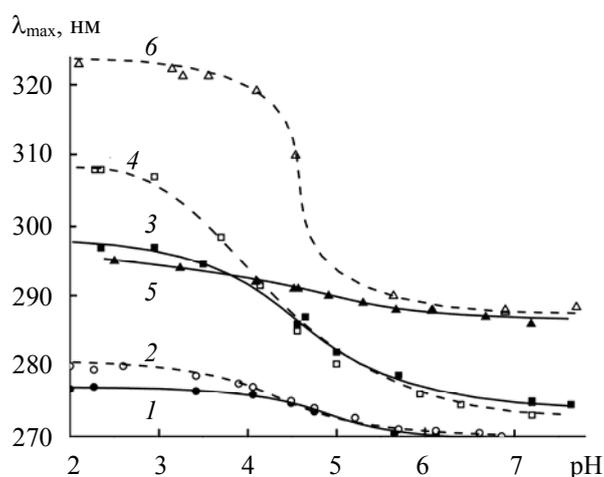


Рис. 2. Зависимости λ_{\max} спектров поглощения коричной (1, 2), кумаровой (3, 4), феруловой (5, 6) кислот, сорбированных на поверхности оксида алюминия (1, 3, 5) и в соответствующих растворах (2, 4, 6) от pH; $C = 1 \cdot 10^{-4} \text{M}$

Спектральные характеристики соединений, содержащих карбоксильные и гидроксильные группы, являются чувствительными маркерами кислотно-основных равновесий. Изучены pH-зависимости λ_{\max} спектров поглощения ПКК в растворах и на поверхности оксида алюминия после установления сорбционного равновесия. Предложенная методика измерения спектров поглощения водной дисперсии сорбента в присутствии ПКК и соответствующего равновесного раствора, отделенного центрифугированием, позволяет исследовать в одинаковых равновесных условиях (включая величину pH) спектральные характеристики ПКК в растворах и на поверхности сорбента. Результаты изучения влияния pH на λ_{\max} спектров поглощения ПКК, сорбированных на оксиде алюминия, и в соответствующих растворах представлены на рис. 2. Видно, что с увеличением pH максимумы спектров поглощения растворов коричной, кумаровой и феруловой кислот сдвигаются в сторону меньших длин волн, что, исходя из термодинамических констант диссоциации карбоксильной группы кислот ($pK_{\text{COOH}} = 4.5 \pm 0.1$) [14] обусловлено ее депротонированием. Сорбция на поверхности оксида алюминия приводит к однотипным изменениям спектров данных кислот. Так, при $\text{pH} < 4.5$ λ_{\max} сорбированных коричной, кумаровой и феруловой кислот (кривые 1, 3, 5) сдвинуты в сторону меньших значений по сравнению со спектрами их растворов (кривые 2, 4, 6), что указывает на большую степень депротонирования сорбированных кислот и, соответственно, на поляризующее действие поверхности оксида алюминия. Максимальное отклонение λ_{\max} сорбированных кислот от λ_{\max} в растворах наблюдается при pH 2, т. е. в области pH, где в растворе коричные кислоты существуют только в молекулярной форме. Очевидно, под влиянием поверхностных групп оксида алюминия депротонирование кислот начинается уже при $\text{pH} 1.5\text{—}2.0$ и сорбция происходит за счет взаимодействия образовавшихся анионов с протонированными группами $\equiv \text{AlOH}_2^+$, которые доминируют в области $\text{pH} 1\text{—}6$ [15]. По мере увеличения pH раствора и количества ПКК в анионной форме разность ($\lambda_{\max \text{ сорб}} - \lambda_{\max \text{ раст}}$) спектров сорбированных и растворенных кислот уменьшается до нуля к pH 4.5 и далее pH-зависимости практически совпадают, поскольку кислоты находятся преимущественно в анионной форме как на поверхности сорбента, так и в растворе.

Принципиально иная картина наблюдается для кофейной кислоты, в спектрах которой при сорбции на поверхности оксида алюминия появляется новая полоса $\lambda_{\max} = 350 \text{ нм}$, максимум которой практически не сдвигается с увеличением pH раствора. Можно предположить, что кофейная кислота сорбируется в виде комплекса с поверхностными группами оксида алюминия с образованием хелата, характеризуемого полосой с $\lambda_{\max} = 350 \text{ нм}$ (рис. 1, 2, кривая 4), доля которого увеличивается с ростом pH. Видно, что при pH 3 в спектре сорбированной кофейной кислоты наблюдается лишь плечо при 350 нм (кривая 1), а при pH 7 (кривая 3) нормированный спектр кофейной кислоты на поверхности практически совпадает со спектром комплекса с Al(III) в растворе.

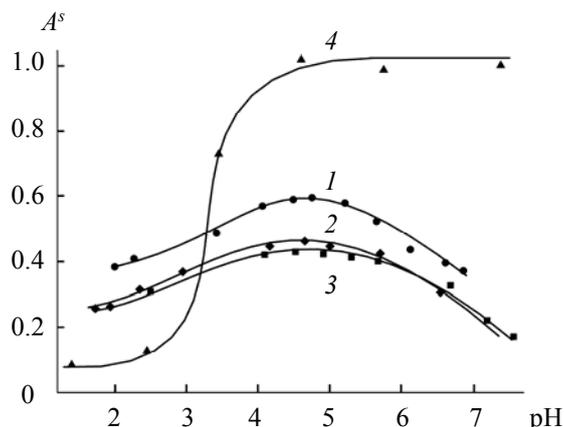


Рис. 3. Зависимости оптической плотности сорбированных коричной (1), кумаровой (2), феруловой (3) и кофейной (4) кислот от pH; $\lambda = 274$ (1), 286 (2), 290 (3) и 350 нм (4)

Кислотность раствора оказывает существенное влияние на сорбцию ПКК на оксиде алюминия, о величине которой можно судить по интенсивности спектров поглощения кислот на поверхности Al_2O_3 . На рис. 3 приведены зависимости оптической плотности сорбированных коричной, кумаровой и феруловой кислот от pH, максимумы которых соответствуют pH 4.6 ± 0.2 , совпадающему с термодинамическими константами диссоциации карбоксильной группы ПКК. В случае сорбированной кофейной кислоты в качестве аналитического сигнала выбрано поглощение при 350 нм, соответствующее образованию поверхностного комплекса. В отличие от остальных трех кислот оптическая плотность сорбированной кофейной кислоты (кривая 4) начинает расти при pH раствора > 2.5 и достигает максимального значения в области pH $4.5 - 7.0$. Такой вид pH-зависимости свидетельствует о том, что повышение pH раствора смещает равновесие в сторону образования поверхностных хелатных комплексов с участием *ortho*-гидроксидов кофейной кислоты, которые доминируют при pH > 4.5 (рис. 1, 2, кривые 1, 3), аналогичных комплексам с Al(III) в растворе (кривая 4).

На основании экспериментальных данных, полученных при изучении спектральных свойств сорбированных коричных кислот, исследована возможность их использования при разработке методик количественной оценки содержания ПКК как на поверхности Al_2O_3 , так и в исходных растворах. Установлено, что зависимости оптической плотности A^s поверхностных комплексов коричной, кумаровой, феруловой, кофейной кислот от их сорбции a (моль/г), определенные экспериментально и рассчитанные по уравнению (2), линейны во всем диапазоне величин сорбции и описываются уравнением $Y = A + BX$ с параметрами, приведенными в табл. 1.

Высокие коэффициенты корреляции R (0.983—0.994) свидетельствуют о том, что оптическая плотность поверхностных комплексов коричных кислот на оксиде алюминия пропорциональна экспериментальным значениям их сорбции. Коэффициент B в уравнениях соответствует условным молярным коэффициентам поглощения ($\text{г}/(\text{моль} \cdot \text{см})$) поверхностных комплексов коричной ($\epsilon_{274\text{нм}}^s = 1766$), кумаровой ($\epsilon_{286\text{нм}}^s = 2056$), феруловой ($\epsilon_{290\text{нм}}^s = 1139$) и кофейной ($\epsilon_{350\text{нм}}^s = 1163$) кислот, что позволяет оценивать концентрацию сорбированных на оксиде алюминия из препаратов растительного происхождения коричных кислот по их оптической плотности. Рассмотрена принципиальная возможность

Т а б л и ц а 1. Параметры уравнения $Y = A + BX$, описывающего зависимость A^s от a (моль/г) при сорбции коричных кислот из растворов в диапазоне начальных концентраций $C = (0-1) \cdot 10^{-4}$ М, pH 4.6 ± 0.2

Кислота	λ_{max} , нм	$A \pm \Delta A$	$B \pm \Delta B$	R	n
Коричная	274	0.001 ± 0.010	1766 ± 75	0.994	9
Кумаровая	286	-0.024 ± 0.011	2056 ± 89	0.990	13
Феруловая	290	-0.003 ± 0.012	1139 ± 76	0.983	10
Кофейная	350	-0.011 ± 0.006	1163 ± 51	0.990	13

количественного определения коричных кислот сорбционно-фотометрическим методом с использованием оксида алюминия как твердофазного реагента. Зависимости $A_{\text{дисп}}$ от концентрации коричных кислот C (М) в их начальных растворах линейны в диапазонах концентраций $2 \cdot 10^{-6}$ — $9 \cdot 10^{-5}$ М и описываются следующими уравнениями:

$$\text{коричная кислота: } A_{\text{дисп}(274)} = (0.001 \pm 0.002) + (18345 \pm 200)C, n = 8;$$

$$\text{кумаровая кислота: } A_{\text{дисп}(286)} = (-0.009 \pm 0.008) + (17629 \pm 138)C, n = 13;$$

$$\text{феруловая кислота: } A_{\text{дисп}(290)} = (-0.008 \pm 0.009) + (12578 \pm 166)C, n = 10;$$

$$\text{кофейная кислота: } A_{\text{дисп}(350)} = (0.005 \pm 0.005) + (11035 \pm 166)C, n = 14.$$

Найденные коэффициенты корреляции ($R = 0.999$) указывают на высокую точность и воспроизводимость определения коричных кислот данным методом. Отличие сорбционных и спектральных свойств кофейной кислоты позволяет селективно определять ее на фоне остальных коричных кислот. Так, из рис. 3 видно, что при pH 7 сорбция кофейной кислоты существенно выше, чем кислот, не содержащих *орто*-дигидроксильной группировки. Кроме того, сопоставление спектров поглощения всех сорбированных кислот (рис. 1) показывает, что для селективного определения кофейной кислоты оптимальна длина волны 370 нм, при которой поглощение остальных кислот равно нулю. Таким образом, благодаря высокой чувствительности и контрастности (цветной переход от белого до ярко-желтого) оксид алюминия может быть рекомендован для анализа ПКК методом твердофазной спектрофотометрии и для визуального тест-определения кофейной кислоты.

Заключение. Спектральные свойства сорбированных коричной, кумаровой, феруловой и кофейной кислот зависят от их концентрации в исходных растворах и pH дисперсии оксида алюминия. Найденные линейные корреляции между оптической плотностью сорбированных коричных кислот и их начальной концентрацией в растворе и величинами сорбции могут быть использованы при разработке методик их сорбционно-фотометрического определения непосредственно в фазе сорбента. На основании выявленных закономерностей выработаны практические рекомендации по селективному определению кофейной кислоты, выделенной из различных растительных препаратов сорбцией на оксиде алюминия.

- [1] H. R. El-Seedi, A. M. El-Said, S. A. Khalifa, U. Göransson, L. Bohlin, A. K. Borg-Karlson, R. Verpoorte. *J. Agric. Food Chem.*, **60** (2012) 10877—10895
- [2] N. Razzaghi-Asl, J. Garrido, H. Khazraei, F. Borges, O. Firuzi. *Curr. Med. Chem.*, **20** (2013) 4436—4450
- [3] Е. А. Шилько, В. В. Милевская, З. А. Темердашев, Н. В. Киселева. *Аналитика и контроль*, **22**, № 3 (2018) 303—314
- [4] M. Silva, L. Castellanos, M. Ottens. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **57**, N 15 (2018) 5359—5369
- [5] V. Simon, A. Thuret, L. Candy, S. Bassil, S. Duthen, C. Raynaud, A. Masseron. *Chem. Eng. J.*, **280** (2015) 748—754
- [6] A. Arceusz, M. Wesolowski, P. Konieczynski. *Nat. Prod. Commun.*, **8**, N 12 (2013) 1821—1829
- [7] Д. В. Моисеев. *Химия растит. сырья*, № 3 (2014) 171—174
- [8] R. J. Robbins. *J. Agric. Food. Chem.*, **51**, N 10 (2003) 2866—2887
- [9] Н. О. Ліпковська, О. А. Запорожець, О. А. Крушинська, В. М. Барвінченко, О. О. Довбій. *Фармаком*, № 4 (2008) 69—74
- [10] Н. А. Липковская, В. Н. Барвинченко. *Журн. прикл. спектр.*, **86**, № 4 (2019) 614—619 [N. A. Lipkovska, V. N. Barvinchenko. *J. Appl. Spectr.*, **86** (2019) 666—670]
- [11] О. А. Запорожец, Е. А. Крушинская, В. Н. Барвинченко, Н. А. Липковская, В. К. Погорелый. *Хим. фарм. журн.*, **37**, № 12 (2003) 11—14
- [12] О. А. Запорожець, О. А. Крушинська, В. М. Барвінченко, Н. О. Ліпковська. Спосіб спектрофотометричного визначення гідроксикоричної кислоти та її похідних у лікарських рослинах та їх препаратах, патент № 54887, Україна (2003)
- [13] И. Я. Бернштейн, Ю. Л. Каминский. *Спектрофотометрический анализ в органической химии*, Ленинград, Химия (1986)
- [14] В. Н. Барвинченко, Н. А. Липковская, Т. В. Кулик, Н. Т. Картель. *Коллоид. журн.*, **81**, № 1 (2019) 3—9
- [15] E. Tombácz, M. Szekeres, E. Klumpp. *Langmuir*, **17**, N 5 (2001) 1420—1425