

## Использование неионогенных поверхностно-активных веществ в вольтамперометрии эвгенола в водно-органической среде

© Зиятдинова Гузель Камилевна,<sup>+</sup> Гиниятова Эндже Ришатовна  
и Будников Герман Константинович\*

Кафедра аналитической химии. Химический институт им. А.М. Бутлерова. КФУ.  
Ул. Кремлевская, 18. г. Казань, 420008. Республика Татарстан. Россия.  
Тел.: (843) 233-74-91. E-mail: Ziyatdinovag@mail.ru

\*Ведущий направление; <sup>+</sup>Поддерживающий переписку

**Ключевые слова:** циклическая вольтамперометрия, эвгенол, неионогенные ПАВ.

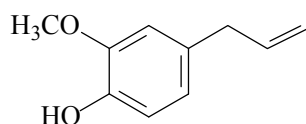
### Аннотация

Эвгенол окисляется в доступной области потенциалов на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1 М LiClO<sub>4</sub> в среде этанол/вода (10% об.) при 0.65 В. Оценено влияние неионогенных поверхностно-активных веществ (ПАВ) на окисление эвгенола в водно-органической среде. Установлено, что 0.1 М растворы ПАВ (*Triton X100* и *Brij® 35*) уменьшают ток окисления эвгенола вследствие включения молекулы аналита в мицеллы ПАВ. Наилучшая форма аналитического сигнала и его характеристики получены в среде 0.1 М *Triton X100*.

Градуировочный график линеен в диапазоне 0.02-1 мМ эвгенола, предел обнаружения 0.01 мМ. Разработан способ вольтамперометрического определения эвгенола в присутствии *Triton X100* с относительным стандартным отклонением, не превышающим 4%.

### Введение

Эвгенол (2-метокси-4-(2-пропенил)фенол) является главным компонентом гвоздичного масла с фенольной структурой. Он также содержится в различных специях. Интерес к его исследованию обусловлен широким спектром проявляемых свойств.



Эвгенол обладает анальгезирующим [1-3], противовоспалительным [4, 5], антибактериальным [6, 7], противогрибковым [8], противовирусным и антигипертензивным действием [9]. Кроме того, он оказывает влияние на центральную нервную систему и эффективен в терапии стрессов, тревожных состояний и депрессивных психозов, а также в качестве жаропонижающего средства [10-12]. Эвгенол проявляет про- и антиоксидантные свойства [13, 14] и используется в качестве добавки в пищевых и косметических продуктах.

Для определения эвгенола в различных объектах широко используются хроматографические методы, включая высокоэффективные тонкослойную [15-17] и жидкостную [18, 19], а также газовую хроматографию [20, 21] с масс-спектрометрическим, УФ и фотоионизационным детектированием. Разработаны способы определения эвгенола в эфирных маслах и специях [22], лекарственном растительном сырье и препаратах [23, 24], а также биологических жидкостях [25] и сигаретном дыме [26].

Среди физических методов следует выделить ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопию, которую применяли для определения эвгенола в масле базилика [27].

Как и все фенольные соединения, эвгенол легко окисляется, что позволяет использовать электрохимические методы как для его определения [28], так и изучения реакционной способности [29]. Однако число работ в этой области невелико. Так, разработан способ опреде-

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕИОНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ... 66-71  
ления эвгенола на активном стеклоуглеродном электроде в среде ацетатного буферного раствора с рН 6.0 в условиях дифференциально-импульсной инверсионной вольтамперометрии [30].

Градуировочный график линеен в диапазоне  $4.00 \times 10^{-6}$ – $2.58 \times 10^{-4}$  М с пределом обнаружения  $1.96 \times 10^{-6}$  М эвгенола.

Постоянно-токовая и дифференциальная импульсная полярография использована для определения эвгенола в растительном сырье и лекарственных формах. В качестве аналитического сигнала использована ступень восстановления эвгенола на фоне 0.1 М тартрата аммония с рН 6.7 при потенциале -1.03 В относительно насыщенного каломельного электрода [31].

Необходимо отметить, что эвгенол нерастворим в воде и обычно определение проводят в органических полярных растворителях (чаще всего метаноле) или в водно-органических средах. Как известно [32, 33], ПАВ в водной среде могут быть хорошей альтернативой органическим растворителям в электроанализе. Поэтому определенный практический интерес представляет использование ПАВ для обеспечения солюбилизации эвгенола, что позволит уменьшить долю органического растворителя и тем самым приблизиться к условиям, подобным физиологическим.

Настоящая работа посвящена оценке возможностей использования неионогенных ПАВ в вольтамперометрии эвгенола в водно-спиртовой среде.

### Экспериментальная часть

Измерения проводили на вольтамперометрическом анализаторе “Экотест-ВА”. В электрохимическую ячейку объемом 20.0 мл вводили фоновый электролит (0.1 М LiClO<sub>4</sub>) и аликвоту исследуемого раствора. Поскольку эвгенол растворяли в спирте, то долю спирта в ячейке доводили до 10 % (об.). Общий объем раствора в ячейке составил 10.0 мл. При использовании ПАВ фоновый электролит состоял из 0.1 М ПАВ в 0.1 М LiClO<sub>4</sub>. В ячейку помещали рабочий (стеклоуглеродный), вспомогательный (платиновый) и насыщенный хлоридсеребряный электроды и снимали циклические вольтамперограммы в диапазоне от 300-1200 мВ с линейной разверткой потенциала. Скорость изменения потенциала 200 мВ/с.

Стандартный раствор эвгенола с концентрацией 0.01 М готовили по точной навеске, которую растворяли в спирте. Использовали эвгенол (*Aldrich, Germany*) с содержанием вещества 99%, этиловый спирт, ректификат, а также *Brij® 35* и *Triton X100 (Sigma, Germany)*. Растворы ПАВ с концентрацией 0.1 М готовили по точным навескам, которые растворяли в дистиллированной воде.

Математическую и статистическую обработку данных проводили при  $\alpha$  0.05 и  $n$  5 с помощью программы *SPSS for Windows software (SPSS Inc., USA)*. Все результаты выражали как  $X \pm \Delta X$ , где  $X$  – среднее значение и  $\Delta X$  – доверительный интервал.

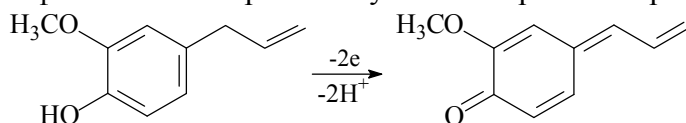
### Результаты и их обсуждение

Изучено вольтамперометрическое поведение эвгенола на стеклоуглеродном электроде в водно органической среде.

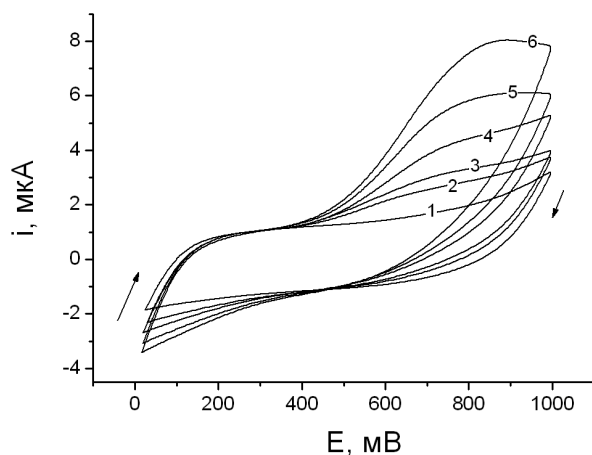
Установлено, что эвгенол необратимо окисляется при  $E_{1/2}$  0.65 В на фоне 0.1 М LiClO<sub>4</sub> в среде этанол/вода (рис. 1).

Ток окисления линейно связан с концентрацией аналита в ячейке ( $I = (0.23 \pm 0.09) + (15.2 \pm 0.3) \times 10^3 \times C$ ,  $R = 0.9982$ ) в диапазоне  $5 \times 10^{-6}$ – $8 \times 10^{-4}$  М.

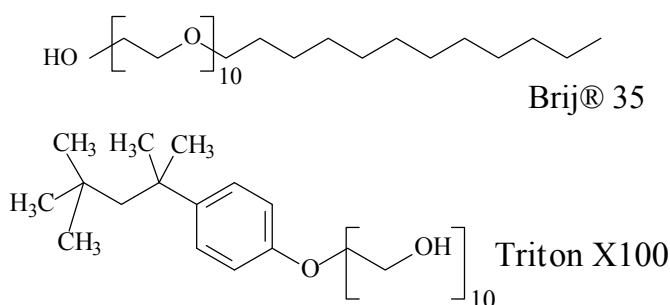
Присутствие фенольного фрагмента в структуре эвгенола обуславливает его способность достаточно легко анодно окисляться с образованием соответствующей хиноидной структуры [34, 35] согласно схеме. Кроме того, возможно образование продуктов димеризации вследствие взаимодействия феноксильных радикалов, что наблюдали ранее при использовании LiClO<sub>4</sub> в качестве фонового электролита в условиях хроноамперометрии [36].



Представляет интерес оценить возможности использования ПАВ в анодной вольтамперометрии эвгенола. В качестве объектов были выбраны неионные ПАВ *Brij® 35* и *Triton X100* (рис. 2). Установлено, что сами ПАВ электрохимически неактивны в исследуемой области потенциалов.

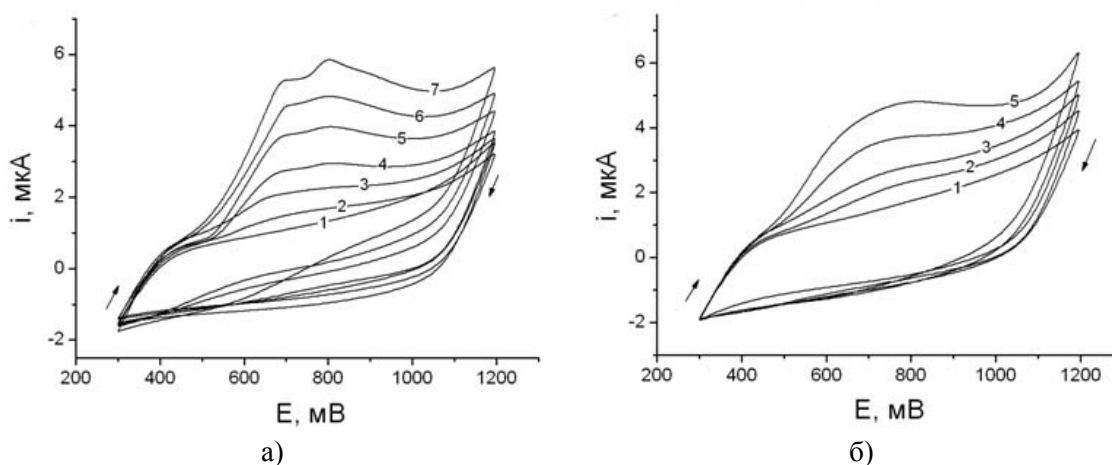


**Рис. 1.** Циклические вольтамперограммы эвгенола на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1 М LiClO<sub>4</sub> в 10% этаноле: 1 – 0; 2 –  $6.0 \times 10^{-5}$ ; 3 –  $1.0 \times 10^{-4}$ ; 4 –  $2.0 \times 10^{-4}$ ; 5 –  $3.0 \times 10^{-4}$ ; 6 –  $4.0 \times 10^{-4}$  М. Скорость изменения потенциала 200 мВ/с.



**Рис. 2.** Структурные формулы исследуемых ПАВ

Использованы 0.1 М растворы ПАВ, что значительно выше критических концентраций мицеллообразования (ККМ) для *Brij® 35* и *Triton X100*, поскольку присутствие фоновой соли и спирта несколько снижают ККМ [37, 38]. Спирты с числом атомов углерода менее 4 могут по-разному влиять на ККМ ПАВ в зависимости от доли спирта в воде. В частности, снижение ККМ в присутствии небольших количеств этанола объясняется уменьшением диэлектрической проницаемости раствора [39]. В условиях эксперимента доля спирта не превышает 10%, поэтому ККМ ПАВ снижается незначительно и эвгенол находится в мицеллярной среде.



**Рис. 3.** Циклические вольтамперограммы эвгенола на стеклоуглеродном электроде на фоне 0.1 М LiClO<sub>4</sub> в 10% этаноле. Скорость изменения потенциала 200 мВ/с. а) в присутствии 0.1 М *Brij® 35*. С<sub>эвгенола</sub> (М): 1 – 0; 2 –  $1.0 \times 10^{-4}$ ; 3 –  $2.0 \times 10^{-4}$ ; 4 –  $4.0 \times 10^{-4}$ ; 5 –  $6.0 \times 10^{-4}$ ; 6 –  $8.0 \times 10^{-4}$ ; 7 –  $1.0 \times 10^{-3}$ . б) в присутствии 0.1 М *Triton X100*. С<sub>эвгенола</sub> (М): 1 – 0; 2 –  $1.0 \times 10^{-4}$ ; 3 –  $2.0 \times 10^{-4}$ ; 4 –  $4.0 \times 10^{-4}$ ; 5 –  $6.0 \times 10^{-4}$ .

В присутствии ПАВ наблюдаются изменения вольтамперных характеристик окисления эвгенола, что иллюстрирует рис. 3. Потенциал полуволны смещается к меньшим значениям и составляет 0.6 В. Следует отметить, что в среде *Brij*® 35 при увеличении концентрации эвгенола появляется вторая ступень окисления при 0.8 В. Использование мицеллярной среды приводит к уменьшению токов окисления эвгенола, что объясняется включением молекулы аналита в гидрофобную полость мицеллы. Скорость диффузии такой частицы к поверхности электрода значительно меньше, чем в отсутствие ПАВ, что приводит к уменьшению токов окисления эвгенола и хорошо согласуется с полученными ранее данными для  $\alpha$ -токоферола и ретинола [32, 40]. Установлено, что ток окисления эвгенола в среде неионогенных ПАВ линейно связан с его концентрацией. Параметры градуировочных зависимостей приведены в табл. 1.

**Табл. 1.** Параметры градуировочных зависимостей окисления эвгенола в среде 0.1 М ПАВ на фоне 0.1 М LiClO<sub>4</sub> в 10% этаноле

ПАВ	Предел обнаружения, мМ	Диапазон концентраций, мМ	Уравнение регрессии $y = a + bx$		R
			a	$b \times 10^{-3}$	
<i>Brij</i> ® 35	0.02	0.05÷1	0.06±0.02	4.48±0.08	0.9997
<i>Triton X100</i>	0.01	0.02÷1	0.12±0.06	5.6±0.1	0.9982

Как видно из данных табл. 1, *Triton X100* показал лучшие аналитические характеристики, а также форму аналитического сигнала по сравнению с *Brij*® 35. Поэтому в дальнейших исследованиях использовали *Triton X100*.

Проведено определение эвгенола в модельных растворах в присутствии *Triton X100*. Правильность результатов оценена по методу “введено” – “найдено” (табл. 2). Величина относительного стандартного отклонения не превышает 4%.

**Табл. 2.** Результаты вольтамперометрического определения эвгенола в модельных растворах в присутствии 0.1 М *Triton X100* на фоне 0.1 М LiClO<sub>4</sub> в 10% этаноле (n = 5, P = 0.95)

Введено, мкг	Найдено, мкг	$s_r$
32.8	32.5±0.4	0.011
98.5	98.1±0.5	0.0041
164	166±7	0.033
985	982±3	0.0025
1642	1643±9	0.0043

Результаты исследования показали, что предложенный подход можно использовать для определения эвгенола в реальных объектах.

## Заключение

Оценка возможностей использования ПАВ в электроанализе биологически активных веществ имеет фундаментальный характер. Полученные знания о закономерностях электроокисления эвгенола в водно-органической среде в присутствии ПАВ позволят прогнозировать его поведение в живых системах, а также разработать новые альтернативные способы электрохимического определения этого соединения в различных объектах.

## Выводы

1. Найдены вольтамперные характеристики окисления эвгенола на стеклоуглеродном электроде в водно-органической среде. Оценено влияние неионогенных ПАВ (*Brij*® 35 и *Triton X100*) на электрохимическое поведение эвгенола.
2. Разработан способ вольтамперометрического определения эвгенола в присутствии 0.1 М *Triton X100* на фоне 0.1 М LiClO<sub>4</sub> в среде 10% этанола. Градуировочный график линейен в диапазоне 0.02-1 мМ эвгенола, предел обнаружения составил 0.01 мМ.

## Литература

- [1] Fischer I.U., Dengler H.J. Sensitive high-performance liquid chromatographic assay for the determination of eugenol in body fluids. *J. Chromatogr. B.* **1990**. Vol.525. No.2. P.369-377.
- [2] Kermasha S., Goetghebeur M., Dumont J. Separation and characterization of pepper-contaminated cinnamon using HPLC analysis. *Lebensm.-Wiss. Technol.* **1994**. Vol.27. No.6. P.578-582.
- [3] Yuwono M., Siswandono, Hafid A.F., Poernomo A.T., Agil M., Indrayanto G., Ebel S. Eugenol. In: Analytical profiles and drug substances and excipients. *Academic Press, Elsevier Science.* **2002**. Vol.29. P.149-177.
- [4] Tung Y.-T., Chua M.-T., Wang S.-Y., Chang S.-T. Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs. *Bioresource Technol.* **2008**. Vol.99. No.9. P.3908-3913.
- [5] Lee Y.-Y., Hung S.-L., Pai S.-F., Lee Y.-H., Yang S.-F. Eugenol suppresses the expression of lipopolysaccharide induce proinflammatory mediators in human macrophages. *J Endod.* **2007**. Vol.33. No.6. P.698-702.
- [6] Friedman M., Henika P.R., Levin C.E., Mandrell R.E. Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *J. Agric. Food Chem.* **2004**. Vol.52. No.19. P.6042-6048.
- [7] Ali S.M., Khan A.A., Ahmed I., Musaddiq M., Ahmed K.S., Polasa H., Rao L.V., Habibullah C.M., Sechi L.A., Ahmed N. Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **2005**. Vol.4. P.20.
- [8] Chami F., Chami N., Bennis S., Trouillas J., Remmal A. Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**. Vol.54. No.5. P.909-914.
- [9] Pramod K., Ansari S.H., Ali J. Eugenol: a natural compound with versatile pharmacological actions. *Nat. Prod. Commun.* **2010**. Vol.5. No.12. P.1999-2006.
- [10] Sen P., Maiti P.C., Puri S., Ray A., Audulov N.A., Valdman A.V. Mechanism of anti-stress activity of *Ocimum sanctum* Linn, eugenol and *Tinospora malabarica* in experimental animals. *Ind. J. Exp. Biol.* **1992**. Vol.30. No.7. P.592-596.
- [11] Irie Y., Itokazu N., Anjiki N., Ishige A., Watanabe K., Keung W.M. Eugenol exhibits antidepressant-like activity in mice and induces expression of metallothionein-III in the hippocampus. *Brain Res.* **2004**. Vol.1011. No.2. P.243-246.
- [12] Norte M.C.B., Cosentino R.M., Lazarini C.A. Effects of methyl-eugenol administration on behavioral models related to depression and anxiety, in rats. *Phytomedicine.* **2005**. Vol.12. No.4. P.294-298.
- [13] Atsumi T., Fujisawa S., Tonosaki K. A comparative study of the antioxidant/prooxidant activities of eugenol and isoeugenol with various concentrations and oxidation conditions. *Toxicol. in Vitro.* **2005**. Vol.19. No.8. P.1025-1033.
- [14] Jirovetz L., Buchbauer G., Stoilova I., Stoyanova A., Krastanov A., Schmidt E. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *J. Agric. Food Chem.* **2006**. Vol.54. No.17. P.6303-6307.
- [15] Rusu M.L., Marutoiu C., Sandu I., Tita D., Gogoasa I., Barbu C.-H., Popescu A. HPTLC and GC-MS for separation and identification of eugenol in plants. *JPC-J. Planar Chromat.* **2007**. Vol.20. No.2. P.139-140.
- [16] Lalla J.K., Hamrapurkar P.D., Singh A. Quantitative HPTLC analysis of the eugenol content of leaf powder and a capsule formulation of *Ocimum sanctum*. *JPC-J. Planar Chromat.* **2007**. Vol.20. No.2. P.135-138.
- [17] Dhalwal K., Shinde V.M., Mahadik K.R., Namdeo A.G. Rapid densitometric method for simultaneous analysis of umbelliferone, psoralen, and eugenol in herbal raw materials using HPTLC. *J. Sep. Sci.* **2007**. Vol.30. No.13. P.2053-2058.
- [18] Yun S.M., Lee M.H., Lee K.J., Ku H.O., Son S.W., Joo Y.S. Quantitative analysis of eugenol in clove extract by a validated HPLC method. *J. AOAC Int.* **2010**. Vol.93. No.6. P.1806-1810.
- [19] Yu X.P. HPLC determination of the content of eugenol in *Flos caryophylli*. *Yaowu Fenxi Zazhi.* **2008**. Vol.28. No.6. P.975-977.
- [20] Wu Y.W., Sun S.Q., Tao J.X. Capillary GC determination of  $\alpha$ -pinene, methyl salicylate, eugenol in Zhenghonghua oil. *Yaowu Fenxi Zazhi.* **2008**. Vol.28. No.11. P.1869-1872.
- [21] Myint S., Daud W.R.W., Mohamad A.B., Kadhum A.A.H. Gas chromatographic determination of eugenol in ethanol extract of cloves. *J. Chromatogr. B.* **1996**. Vol.679. No.1-2. P.193-195.

- [22] Dighe V.V., Gursale A.A., Charegaonkar G.A. Quantitation of eugenol, cinnamaldehyde and isoeugenol from *Cinnamomum tamala* Nees and Eberm. leaf powder and *Cinnamomum zeylanicum* Breyne stem bark powder by LC. *Chromatographia*. **2009**. Vol.70. No.11/12. P.1759-1762.
- [23] Yu B.S., Lai S.G., Tan Q.L. Simultaneous determination of cinnamaldehyde, eugenol and paeonol in traditional Chinese medicinal preparations by capillary GC-FID. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**. Vol.54. No.1. P.114-116.
- [24] Fell J.T., Combe E.C. Quantitative determination of eugenol in powder supplied with a zinc oxide-eugenol cement. *J. Dent. Res.* **1972**. Vol.51. No.2 P.671.
- [25] Beaudry F., Guénette S.A., Vachon P. Determination of eugenol in rat plasma by liquid chromatography-quadrupole ion trap mass spectrometry using a simple off-line dansyl chloride derivatization reaction to enhance signal intensity. *Biomed. Chromatogr.* **2006**. Vol.20. No.11. P.1216-1222.
- [26] Polzin G.M., Stanfill S.B., Brown C.R., Ashley D.L., Watson C.H. Determination of eugenol, anethole, and coumarin in the mainstream cigarette smoke of Indonesian clove cigarettes. *Food Chem. Toxicol.* **2007**. Vol.45. No.10. P.1948-1953.
- [27] Das R.C., Saikia B.K. Quantitative analysis of eugenol in *Ocimum gratissimum* oil by proton NMR. *J. Assam Sci. Soc.* **1987**. Vol.29. No.3. P.22-24.
- [28] Iguchi M., Nishiyama A., Terada Y., Yamamura S. Voltammetric and coulometric studies on eugenol and related compounds. *Anal. Lett.* **1979**. Vol.12. No.10. P.1079-1087.
- [29] Garg A., Gupta B., Prakash R., Singh S. Preparation and characterization of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex of eugenol: differential pulse voltammetry and  $^1\text{H-NMR}$ . *Chem. Pharm. Bull.* **2010**. Vol.58. No.10. P.1313-1319.
- [30] Luo H.-m., Liao F., TAN B.-y. The electrochemical behavior of eugenol on active glassy carbon electrode. *Guangzhou Chemical Industry*. **2009**. No.3. [http://e.mail.ru/cgi-bin/link?check=1&cnf=c8fd9c&url=http%3A%2F%2Fen.cnki.com.cn%2FJournal\\_en%2FB-B016-GZHA-2009-03.htm](http://e.mail.ru/cgi-bin/link?check=1&cnf=c8fd9c&url=http%3A%2F%2Fen.cnki.com.cn%2FJournal_en%2FB-B016-GZHA-2009-03.htm)
- [31] Thakur K., Pitre K.S. Modified electrochemical methods for the determination of eugenol in clove (*Syzygium Aromaticum*) and pharmaceutical formulations. *Rev. Anal. Chem.* **2007**. Vol.26. No.3. P.199-208.
- [32] Jaiswal P.V., Ijeri V.S., Srivastava A.K. Voltammetric behaviour of  $\alpha$ -tocopherol and its determination using surfactant + ethanol + water and surfactant + acetonitrile + water mixed solvent systems. *Anal. Chim. Acta*. **2001**. Vol.441. No.2. P.201-206.
- [33] Ziyatdinova G., Giniyatova E., Budnikov H. Cyclic voltammetry of retinol in surfactant media and its application for the analysis of real samples. *Electroanalysis*. **2010**. Vol.22. No.22. P.2708-2713.
- [34] Yamamura S. Oxidation of phenols. In: The chemistry of phenols. *Chichester: John Wiley & Sons Ltd.* **2003**. P.1153-1346.
- [35] Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность. *М.: Наука*. **1988**. 247с.
- [36] Iguchi M., Nishiyama A., Terada Y., Yamamura S. Anodic oxidation of 4-allyl-2-methoxyphenol. Syntheses of demethoxyacetone and demethoxyisoacetone. *Chem. Lett.* **1978**. Vol.7. No.4. P.451-454.
- [37] Nishikido N., Moroi Y., Uehara H., Matuura R. Effect of alcohols on the micelle formation of nonionic surfactants in aqueous solutions. *Bull. Chem. Soc. Japan*. **1974**. Vol.47. No.11. P.2634-2638.
- [38] Myers D. Surfactant science and technology. 3<sup>d</sup> Ed. *New Jersey: John Wiley & Sons Inc.* **2006**. 400p.
- [39] Lopez-Grio S., Baeza-Baeza J.J., Garcia-Alvarez-Coque M.C. Influence of the addition of modifiers on solute-micelle interaction in hybrid micellar liquid chromatography. *Chromatographia*. **1998**. Vol.48. No.9-10. P.655-663.
- [40] Ziyatdinova G., Giniyatova E., Budnikov H. Voltammetry of natural lipophilic antioxidants in surfactant media. *Chem. Listy*. **2010**. Vol.104. No.16s. P.s533-s534.