

大黄酸微分脉冲伏安法的研究和应用

张 兰¹, 陈毅挺^{1,2}, 何 聿¹, 陈国南¹

(1. 福州大学 化学化工学院, 福建 福州 350002; 2. 闽江学院 化学与化学工程系, 福建 福州 350108)

摘 要: 利用循环伏安法(CV)、线性扫描伏安法(LSV)、方波伏安法(SWV)和微分脉冲伏安法(DPV)等现代电化学技术, 对大黄酸在玻碳电极(GCE)上的电化学氧化还原行为以及电极反应机理进行了研究, 同时还建立一种灵敏的测定大黄酸的分析方法. 实验结果表明, 在 pH 4.6 的 B R 缓冲液中, 大黄酸在 -0.492 V(vs. SCE) 电位处产生灵敏的微分脉冲阴极还原峰, 该还原峰的峰电流值与大黄酸的浓度在 4.0×10^{-7} mol/L ~ 1.0×10^{-5} mol/L 范围内呈良好的线性关系, 最低检测限($D = 3\sigma_K$)为 3.9×10^{-8} mol/L. 该法已成功地用于大黄碳酸氢钠片剂和兔血清中大黄酸的测定, 结果令人满意, 其回收率介于 90.0%~100.1% 之间. 并进一步对大黄酸在玻碳电极(GCE)上的电化学反应机理进行了探讨.

关键词: 大黄酸; 电化学; 伏安行为

中图分类号: O614.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-3757(2005)01-0017-05

大黄, 又称黄良、火参、绵纹、川军等, 含大黄酸、大黄素、芦荟大黄素、大黄酸甲醚等蒽醌类物质约 30%^[1]. 其中大黄酸是大黄中具有主要疗效的化合物之一, 具有抗菌、抗肿瘤、导泻和利尿之功效. 已有报道的大黄酸分析方法有薄层扫描法^[2]、线性扫描极谱法^[3]、高效液相色谱法^[4]和胶束电动毛细管色谱法^[5]等. 相对于上述方法, 电化学方法具有高灵敏度、设备简单等特点. 本文首次用现代电化学技术微分脉冲伏安法建立大黄酸检测的简单、快速、灵敏的方法, 并研究了大黄酸在玻碳电极(GCE)上的电化学行为.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

CHIA660(Bioanalytical System, Purdue, IN, USA): 采用三电极系统, 以玻碳电极($S = 0.0707 \text{ cm}^2$)为工作电极, 饱和甘汞电极为参比电极, 铂丝为辅助电极; PHS-2C 型精密酸度计(上海雷磁仪器厂).

1.1.2 试剂

1.0×10^{-3} mol/L 大黄酸标准溶液: 准确称取大黄酸对照品(中国药品生物制品检定所提供) 2.84

mg, 用无水乙醇溶解并定容至 10 mL, 避光保存, 用时适当稀释.

0.04 mol/L (pH 4.60) Britton-Robinson 缓冲液(硼酸、冰醋酸、磷酸的三酸混合液, 以下简称: B R 缓冲液)按常法配制; 其它试剂均为分析纯, 实验用水均为二次石英蒸馏水. 溶液均通高纯氮除氧.

1.1.3 测试样品的制备

大黄碳酸氢钠片剂样品溶液的制备: 取片剂 10 片, 磨碎后加入 2 mL 氯仿、50 mL B R 缓冲液, 超声波振荡至溶液中无气泡产生. 然后加入 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液, 将溶液的 pH 值调至 9.00, 振荡静置后取水层, 再加入 B R 酸将溶液将 pH 值调至 4.60, 静置, 取清液, 移入 500 mL 容量瓶中, 加入 B R 缓冲液(pH 4.60)定容.

空白血清样品的预处理: 取空白兔血清 0.5 mL, 于 10 mL 具塞离心管中, 加入无水乙醇至 2.0 mL, 摇匀, 振荡 2 min, 离心 10 min (4 000 r/min), 精密吸取清液 1.0 mL, 加入缓冲液至 5.0 mL, 待用. 空白兔血清由福建医科大学动物中心提供.

1.1.4 实验方法

圆盘状玻碳电极, 在每次使用前都用氧化铝

收稿日期: 2004-09-27; 修订日期: 2004-12-09.

基金项目: 福建省科技厅科技攻关重点基金(2004 Y003)和福州大学科技发展基金(2004 - XQ - 08)资助项目.

作者简介: 张兰(1963 -), 女, 博士, 副教授, 主要从事生物电分析研究工作.

(0.5 μm) 悬浊液抛光,使其表面成为镜面,然后用二次蒸馏水将电极清洗干净,并用滤纸吸去水分.实验前,测定系统用 2 mmol/L 的 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 水溶液校准,电位测量误差为 $\pm 0.004\text{V}$.

取一定量大黄酸溶液置于 10 mL 容量瓶中,用 0.04 mol/L 的 B.R 缓冲液稀释至刻度,摇匀,转移至电解池中.选用适当仪器参数,在 -0.1 ~ -0.8 V 的电位范围内进行实验.实验均在室温 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) 下进行.

2 结果与讨论

2.1 检测体系工作条件的选择

影响伏安法测定灵敏度和分辨率的主要因素一般有伏安法的类型、电解质的类型、酸度、扫描电位等因素.下面以大黄酸的还原峰为测定对象,优化选择测定实验条件.

2.1.1 实验方法的选择

本实验应用循环伏安法(CV)、线性扫描伏安法(LSV)、方波伏安法(SWV)和微分脉冲伏安法(DPV)等对大黄酸-B.R($\text{pH} = 4.60$)溶液在玻碳电极(GCE)上的电化学还原行为进行了比较.结果表明,在相同的测定条件下,微分脉冲伏安法的测定灵敏度相对较高,因此,选用 DPV 法作为测定方法对大黄酸在玻碳电极上的电化学行为进行研究.

2.1.2 支持电解质 pH 值对峰电流、峰电位的影响

选用 pH 范围广泛的 B.R 缓冲溶液作为支持电解质,考察其 pH 值对大黄酸微分脉冲伏安行为的影响.配制一系列 pH 值为 2.00 ~ 11.00 范围内的 B.R 缓冲液,在相同的扫描条件下(电位扫描范围为 -0.1 ~ -0.8 V,扫描速度为 100 mV/s),分别测定大黄酸(1×10^{-5} mol/L)在 B.R 介质中的还原峰电流.实验表明,还原峰电流在 pH 4.20 ~ 5.00 范围内达到最大并且相对较稳定,偏离此范围峰电流值呈递减趋势(见图 1),因此选定缓冲液的 pH 值为 4.60.

2.1.3 支持电解质的选择

在相同实验条件下分别研究了 5 种支持电解质(pH 4.60)中大黄酸的 DPV 还原行为.5 种支持电解质分别为: HAc-NaAc 、 $\text{HCl-NH}_4\text{Cl}$ 、柠檬酸-柠檬酸钠、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 、B.R 缓冲液,结果发现大黄酸在 B.R 缓冲液中的峰电流值最大,峰型也比较理想.又因为介质浓度对大黄酸峰电流的影响不大,因此,在以后的实验中我们就选用离子强度适中

的 0.04 mol/L 的 B.R 缓冲液($\text{pH} = 4.60$)为支持电解质.

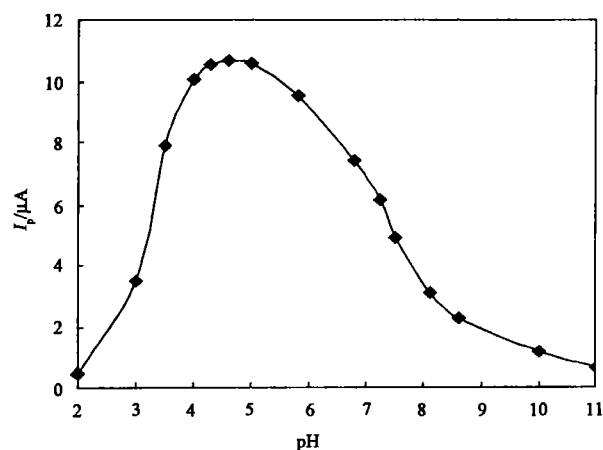


图 1 pH 值对大黄酸峰电流的影响

Fig. 1 The effect of pH on peak current of Rhein
Experimental conditions: $[\text{Rhein}] = 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L; Scan rate: 100 mV/s; Range of voltage: -0.1 ~ -0.8 V; B.R ($\text{pH} = 2.0 \sim 11.0$).

2.1.4 电位扫描范围的选择

在伏安法实验中,电位扫描范围的取值常常影响分辨率与测试灵敏度,因此,需要选择适当的扫描区间,通过实验确定电位扫描范围为 -0.1 ~ -0.8 V.

2.1.5 大黄酸体系的稳定性实验

考虑到大黄酸溶液如果长时间放置可能发生变化,为保证试验的可靠性,进行了稳定性实验.结果表明大黄酸体系在室温下至少可以稳定 20 h 左右,24 h 后峰电流有明显下降,因此在 20 h 内测定均可.实验过程中药品在室温下保存即可.

2.2 工作曲线和检测限

在最佳条件下,测得峰电流与大黄酸浓度在 $4.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内呈良好的线性关系($R = 0.9991$),可以满足定量分析的要求.由于 B.R 缓冲液在玻碳电极(GCE)上几乎无空白电流值,因此,利用 4.0×10^{-7} mol/L 大黄酸溶液进行空白测定,测得空白溶液的标准偏差为 0.0141,由此计算得出检测限($D = 3\sigma_K$)为 3.9×10^{-8} mol/L.在最佳实验条件下对大黄酸体系(4.0×10^{-6} mol/L)进行了重现性实验,测得峰电流相对标准偏差为 1.52%.

2.3 干扰实验

对可能与大黄酸共存的几种物质进行干扰实验.当大黄酸浓度为 5.0×10^{-6} mol/L 时,1 000 倍

的 Na^+ 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 K^+ 和无机阴离子 Cl^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 HCO_3^- , 20 倍的大黄素和 50 倍的大黄素甲醚均不干扰大黄酸的测定。

2.4 样品的测定与回收实验

2.4.1 大黄碳酸氢钠片剂的测定

按 1.1.3 步骤分别对广西半宙制药股份有限公司和上海黄海制药有限责任公司两个厂家三种大黄碳酸氢钠片剂处理后,对其中所含的大黄酸进行含量分析,测得($n=5$)500 mL 试样溶液中大黄酸浓度分别为 5.6 、 5.8 和 9.1×10^{-6} mol/L,计算得三种大黄碳酸氢钠片剂中大黄酸含量分别为 0.080 、 0.082 、 0.130 mg。

在大黄碳酸氢钠片剂配制成试样溶液中,分别加

入 1.2×10^{-6} mol/L 和 2.8×10^{-6} mol/L 的大黄酸标准溶液,进行回收率实验(其中 3 号样品稀释一倍后再进行回收率实验),实验结果见表 1。用本法测定两个厂家三个生产批号的大黄酸碳酸氢钠片剂五次测定的相对标准偏差分别为 0.98% 、 1.4% 、 0.75% ,样品测定的回收率在 $90.0\% \sim 100.1\%$ 之间。

2.4.2 兔血清模拟样品的测定

取按 1.1.3 步骤制得的空白兔血清 1.0 mL,加入 0.1 mL 的大黄酸溶液(1.0×10^{-4} mol/L),用 B R 缓冲液($\text{pH}=4.60$)定容至 10 mL,进行回收率实验,实验结果见表 1。五次测得大黄酸的平均浓度为 9.5×10^{-7} mol/L,相对标准偏差为 3.5% ($n=5$),回收率在 $93 \sim 96\%$ 之间。

表 1 样品的测定结果和回收率
Table 1 The sample determination results and recovery

样品	原含量/ ($\mu\text{mol/L}$)	加入量/ ($\mu\text{mol/L}$)	测得值/ ($\mu\text{mol/L}$)	回收率/ %
广西半宙制药股份有限公司 (批号:021012)	$5.6(RSD=0.98\%)$	1.2	$6.4(RSD=0.93\%)$	94.1
		2.8	$7.9(RSD=0.96\%)$	94.0
广西半宙制药股份有限公司 (批号:030603)	$5.8(RSD=1.4\%)$	1.2	$6.3(RSD=0.90\%)$	90.0
		2.8	$8.0(RSD=0.93\%)$	93.1
上海黄海制药有限责任公司 (批号:030310)	$9.1(RSD=0.75\%)$	1.2	$10.4(RSD=0.79\%)$	100.1
		2.8	$11.8(RSD=0.73\%)$	99.2
兔血清	$0.95(RSD=3.5\%)$	1.2	$2.0(RSD=2.6\%)$	93.0
		2.8	$3.6(RSD=1.7\%)$	96.0

Conditions: ($\text{pH}=4.60$, 0.04mol/L)B R; Scan rate: 100 mV/s ; Range of voltage: $-0.1 \sim -0.8\text{ V}$.

2.5 电化学反应机理探讨

2.5.1 循环伏安行为

在含 1×10^{-5} mol/L 的大黄酸 B R 缓冲液($\text{pH}=4.60$)中,在 -0.3 V 至 -0.7 V 范围内对大黄酸进行循环伏安扫描,结果示于图 2。由图 2 可知,第一次扫描在 -0.492 V 处出现一个明显的还原峰,在 -0.433 V 处出现一个小的氧化峰。连续扫描实验发现,随着扫描次数的增多,还原峰电流明显降低,表明电极表面的反应产物有一定的吸附性。

2.5.2 动力学参数的测定

由线性扫描实验可得,当大黄酸浓度 $C=3 \times 10^{-6}$ mol/L 时,峰电流与扫描速率呈简单线性关系,说明浓度 $C=3 \times 10^{-6}$ mol/L 时,有明显的吸附性。扫速较慢时,峰电位与扫速无关,当扫速越来越大时,峰电位不再恒定,而随着扫速的增大而负移。

根据 $E_{\text{pc}}-\ln v$ 直线图的斜率 $\frac{RT}{\alpha n F}$,可以计算得出

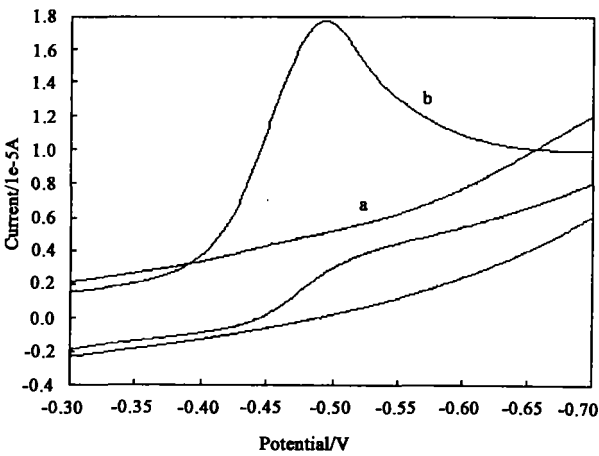


图 2 大黄酸循环伏安图

Fig.2 Cyclic voltammogram of Rhein

a-BR blank solution($\text{pH}=4.60$), b-a + Rhein($1 \times 10^{-5}\text{mol/L}$)
Experimental conditions: Scan rate 100 mV/s , $[\text{Rhein}]=1.0 \times 10^{-5}\text{mol/L}$

$\alpha_n = 2.11$ (25 °C). 因为 $n = 2$, 所以电子转移系数 $\alpha = 1.06$.

2.5.3 电极反应的电子转移数(n)和质子转移数(m)

通 N_2 除氧 1h, 采用恒电位库仑法在 - 0.492 V 处电解大黄酸溶液(浓度 20 $\mu\text{mol/L}$, 体积 70 mL), 记录一定量样品电解所消耗的电量(见表 2). 另取底液按上述条件进行电解, 记录在该电位处底液所消耗的电量, 作为空白扣除. 进行了 3 次平行实验, 根据式: $n = \Delta Q / (FCV)$, 求出电极反应电子数 n . 由表 2 可知, 测得 $n = 1.90 \approx 2$, 因此判断电极反应电子数为 2.

表 2 大黄酸库仑电解结果

Table 2 Coulometric results for electrolysis of Rhein

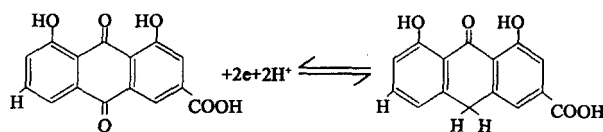
C _{大黄酸} ($\mu\text{mol/L}$)	Q _{空白} (Mc)	Q (Mc)	ΔQ (Mc)	电子数 n	n 平均
20	22 497	169 903	267 489	1.98	1.90
20	25 678	193 730	243 147	1.80	
20	24 352	17 8577	25 8931	1.92	

Experimental conditions as in Fig. 2.

在 pH 值与峰电流/峰电位的关系实验中得知, 峰电位 E_{pc} 随底液 pH 值增加而负移, 表明有 H^+ 参加电极反应, 在 pH 3.0~7.0 的 B R 缓冲液中, 电极反应质子数(m)与 E_{pc} 和 pH 的线性关系, 斜率 $\Delta E_p / \Delta pH = -2.303RT \cdot m \cdot nFpH$, 求得: $m \approx 2$.

综上所述, 在 B R 缓冲液(pH = 4.60)中, 大黄酸在电极表面进行的是 2 电子 2 质子的准可逆反应, 这与文献当中所介绍的蒽醌类物质在酸性溶液中的还原机理类似^[6].

由此, 推测在酸性溶液中大黄酸的电极反应的机理为:



3 结论

本文详细研究了大黄酸在玻碳电极上的电化学行为, 表明大黄酸在电极表面进行的是 2 电子 2 质子的反应. 此外还建立了一个微脉冲溶出伏安法测定体系, 其线性范围为 $4.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L, 最低检测限为 3.9×10^{-8} mol/L. 该法应用于药物大黄碳酸氢钠片剂和生物样品兔血清中大黄酸含量的测定, 结果令人满意.

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2000 版一部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 18-19.
- [2] 周晶, 房志仲, 李崇芳. 薄层扫描法测定中成药中大黄 [J]. 中成药研究, 1987, 10 : 31-35.
- [3] 邹洪, 袁倬斌. 大黄的极谱行为及应用研究 [J]. 药学学报, 1997, 32(4) : 310-313.
- [4] 郑俊华, 西泽信, 山岸乔, 等. 商品大黄 34 种化学成份的高压液相色谱法定量分析 [J]. 北京医科大学学报, 1989, 21 : 499-502.
- [5] 宗玉英, 余满堂, 朱自强, 等. 胶束电动毛细管色谱法分离和测定几种大黄含量 [J]. 药学学报, 1995, 30 : 594-596.
- [6] 肖崇原, 陆蕴如. 中药化学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987. 143.

Studies on Electrochemical Behaviour of Rhein

ZHANG Lan¹, CHEN Yi-ting^{1,2}, HE Yu¹, CHEN Guo-nan¹

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350002, China;

2. Department of Chemistry and Chemical Engineering, Mingjiang Institute, Fuzhou, 350108, China)

Abstract: In 0.04 mol/L Britton-Robinson buffer solution (pH = 4.60), the electrochemical behavior of rhein at a glassy carbon electrode has been studied by cyclic voltammetry, linear sweep and pulse voltammetry. The experimental results indicated that the number of electron involved in this electrochemical reaction was 2, and the electrode transfer coefficient was 1.06. Meanwhile, the electrochemical reaction

mechanism of this system has also been discussed. The linear response range for Rhein was 4.0×10^{-7} mol/L $\sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L with a detection limit of 3.9×10^{-8} mol/L ($D = 3\sigma K$). The method has been used for the determination of Rhein in Rhubarb and Sodium Bicarbonate Tablets and in serum of rabbit.

Key words : Rhein ; electrochemistry ; voltammetric behaviors

Classifying number : O614.1

动 态

网上仪器展览全面改版

由中国分析测试协会主办、中国仪器仪表学会分析仪器学会协办、仪器信息网(www.instrument.com.cn)承办的网上仪器展览(www.netshow.com.cn)平台自 2001 年 9 月开通以来,受到广大业界人士的关注和欢迎,大家足不出户,即可查到所需仪器产品和厂商的详细资料,并可对同类产品不同型号的仪器进行比较。目前,已有近 300 家国内外著名仪器厂商参展,展出仪器 1800 多台(含图片和详细文字介绍),发布各类仪器应用文章 1400 多篇。

为使网上仪器展览真正成为广大仪器采购者身边的选型采购手册,根据多位用户的建议,网上仪器展览近期将做全面改版。

将新增以下栏目:

- 1、“本网推荐仪器”:将把一批有多位用户推荐的较稳定的仪器产品、或是正在搞促销的产品,以及获过奖的仪器产品及时推荐给用户。
- 2、“二手仪器”:为促进二手闲置仪器的流通而设置,大家可免费发布二手仪器的供求信息。
- 3、“展商动态”:仪器厂商最新的产品动态、培训讲座、迁址等信息。
- 4、“下载中心”:仪器厂商的仪器样本、用户通讯、报价单等文件可在此直接下载获取。
- 5、“报价中心”:将收录仪器常用零配件、耗材及试剂的最新产品信息。

欢迎大家访问: www.netshow.com.cn

(仪器信息网 www.instrument.com.cn 供稿)

2004 - 7 - 15