

聚天冬氨酸修饰玻碳电极伏安法检测阿魏酸

王晓岗¹, 王瑶², 樊雅娟³, 李静¹

(1. 同济大学 化学系, 上海 200092; 2. 盐城市第三人民医院 神经内科, 江苏 盐城 224000;
3. 同济大学 数学系, 上海 200092)

摘要: 通过在水溶液中直接电聚合的方法制备了聚天冬氨酸修饰玻碳电极. 在 pH 为 4.5, 0.1 mol · L⁻¹ HAc-NaAc 缓冲溶液中, 修饰电极对阿魏酸表现出良好的吸附能力, 显著地提高了阿魏酸的电信号强度. 探讨了聚天冬氨酸修饰玻碳电极的作用机理, 建立了阿魏酸的快速检测方法. 在浓度为 9.1 × 10⁻⁷ ~ 3.0 × 10⁻³ mol · L⁻¹ 范围内, 阿魏酸的微分脉冲氧化峰电流与其浓度呈线性关系, 检出限为 3.1 × 10⁻⁷ mol · L⁻¹. 此方法用于中成药逍遥丸中痕量阿魏酸的检测, 回收率为 97.9% ~ 102.2%.

关键词: 阿魏酸; 聚天冬氨酸修饰电极; 电化学检测

中图分类号: O 657.1

文献标识码: A

Voltammetric Determination of Ferulic Acid Using a GC Electrode Modified with Poly-aspartic Acid Film

WANG Xiaogang¹, WANG Yao², FAN Yajuan³, LI Jing¹

(1. Department of Chemistry, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Department of Neurology, the 3rd People's Hospital of Yancheng City, Yancheng 224000, China; 3. Department of Mathematics, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: A novel electrochemical sensor was prepared by direct electro-polymerization of DL-aspartic acid on the surface of glassy carbon electrode in aqueous media. In pH 4.5, 0.1 mol · L⁻¹ HAc-NaAc buffer solution, the film modified electrode exhibited excellent adsorption capacity to ferulic acid and improved the electrochemical responses significantly. The action mechanism of modified electrode was preliminarily explored, and a fast analytical method for ferulic acid was established. In the range of 9.1 × 10⁻⁷ to 3.0 × 10⁻³ mol · L⁻¹, the differential pulse voltammetric peak current had a linear relationship to the concentration, and the detection limit was estimated to be 3.1 × 10⁻⁷ mol · L⁻¹. This

method was adopted to detect the trace amount of ferulic acid in Chinese patent medicine of Xiaoyao Pills, and the recovery was from 97.9% to 102.2%.

Key words: ferulic acid; poly-aspartic acid modified electrode; electrochemical determination

阿魏酸(4-羟基-3-甲氧基肉桂酸, FA)是当归、升麻、蜂胶、川芎等中草药材的有效成分之一, 它具有抑止血小板聚集、促进血小板解聚、抗血栓形成、抗氧化、抗菌、消炎、镇痛、利肝保湿等药理功能^[1], 被广泛应用于食品、制药、化妆品等行业^[2]. FA 含量的检测方法主要有高效液相色谱法^[3]、薄层色谱法^[4]、毛细管电泳法^[5]、光谱法^[6]和电化学方法^[7]. 其中, 色谱和光谱法通常需要对样品进行前期预处理, 操作时间长, 仪器费用高. 比较而言, 电化学方法则具有快速、方便、成本低、在水溶液中不必前处理直接进行检测的特点. 目前已有玻碳(GC)电极^[7]、L-半胱氨酸自组装修饰金电极^[8]和碳纳米管修饰电极^[9]被成功用于 FA 的电化学检测, 但有关文献数量很少. 本文介绍了一种新型氨基酸修饰电极, 在水溶液中通过电聚合方式直接将天冬氨酸(aspartic acid)修饰到玻碳(GC)电极表面, 这种新型电极用于检测 FA 时具有电极制备简单、方便, 测定的线性范围宽, 检出限低等特点. 将此电极用于实际样品逍遥丸中 FA 的检测, 获得了令人满意的结果.

1 实验部分

1.1 试剂

FA 和 DL-天冬氨酸购买于上海化学试剂公司,

收稿日期: 2010-04-02

基金项目: 上海市自然科学基金(09ZR1434100)

作者简介: 王晓岗(1965—), 男, 副教授, 工学博士, 主要研究方向为纳米电化学. E-mail: xgwang@tongji.edu.cn

所有试剂均为分析纯.溶液用二次蒸馏水配置.修饰液将 DL-天冬氨酸 ($1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶解在 pH 为 6.84, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸盐缓冲液(PBS)中配制而得.

1.2 仪器

电化学实验在 CHI-660B 电化学工作站上进行(上海,辰华公司),采用三电极体系,参比电极为饱和甘汞电极(SCE),对电极为铂丝电极,工作电极为直径 3 mm 的 GC 电极或修饰电极.

1.3 修饰电极的制备

修饰前 GC 电极依次用 0.10, 0.05 μm 氧化铝粉末打磨,再在浓硝酸、二次蒸馏水、无水乙醇中超声以除去氧化铝粒子.打磨后的 GC 电极浸在 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 天冬氨酸修饰液中采用循环伏安(CV)技术进行电聚合,电位范围 $-1.0 \sim 1.5 \text{ V}$,扫描速度 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.扫描 15 周后,取出电极用二次蒸馏水清洗,再在 pH 为 6.84, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 缓冲溶液中超声 5 min 以去除电极表面吸附的、未反应的物质.电极在空气中晾干即得聚天冬氨酸(poly-Asp/GC)修饰电极.

1.4 测量步骤

以 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 为 4.5 HAc-NaAc 缓冲液为底液.测定前,修饰电极在底液中循环扫描数周至稳定,样品溶液通氮气除氧;测定时,电极置于样品溶液中搅拌开路富集 3 min,静止 2 s.实验采用循环伏安(CV)和微分脉冲(DPV)技术,扫描范围 $0 \sim 0.85 \text{ V}$.DPV 技术的参数选择:电位递增 0.004 V ,振幅 0.05 V ,脉冲宽度 0.05 s ,脉冲周期 0.2 s .每次测定后,修饰电极在空白底液($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HAc-NaAc)中循环扫描 10 周进行清洗,所有实验均在室温下进行.

2 结果讨论

2.1 FA 在 poly-Asp/GC 修饰电极上的电化行为机理分析

在以前的报道中,聚天冬氨酸修饰电极的制备均在有机相中进行,通常在含有 NBu_4BF_4 的乙腈溶液中实现天冬氨酸的电聚合^[10-11].本文采用的修饰方法有所不同,电聚合过程直接在 PBS 水溶液中进行,制备方法更为简便、快速.图 1 为 GC 电极在 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DL-天冬氨酸修饰液中的 CV 曲线.可以看出,正向扫描时 CV 曲线上出现一个氧化峰,对应峰电位为 1.037 V ;反向扫描时出现一个

还原峰,峰电位为 -0.577 V .随着扫描周数的增加,氧化峰电流和还原峰电流都有所增强,这说明天冬氨酸在 GC 电极表面上发生了聚合,形成了导电性能良好的聚合膜.

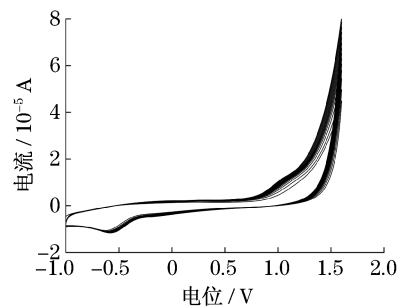


图 1 天冬氨酸在 GC 电极上的 CV 曲线

Fig.1 CV curves of aspartic acid at GC electrode

图 2 为 FA ($7.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在 GC 电极(曲线 1)和 poly-Asp/GC 修饰电极上(曲线 3)的 CV 曲线,曲线 2,4 为两电极在空白溶液中的 CV 曲线.可以看出,GC 电极和修饰电极均表现出微小的背景电流.曲线 1 显示:FA 具有两个氧化峰和一个还原峰,峰电位分别为 0.516 V (A)、 0.609 V (B)和 0.220 V (C).氧化峰 A 和还原峰 C 之间的电位差达 0.296 V .与曲线 1 相比,FA 在 poly-Asp/GC 电极上的电信号明显增强,峰电流 A 由 $1.65 \mu\text{A}$ 变为 $4.71 \mu\text{A}$,增加了 3 倍.与此同时,氧化峰 A 和还原峰 C 电位间距由原来的 0.296 V 减小到 0.218 V ,电化学反应的可逆性得到改善.

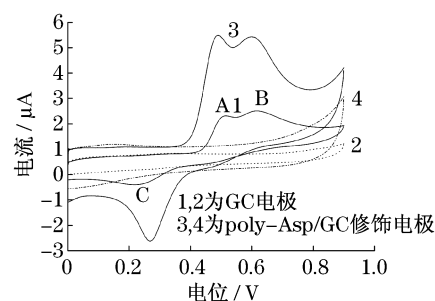


图 2 FA 在 GC 电极和 poly-Asp/GC 修饰电极上的 CV 曲线

Fig.2 CV curves of FA at the GC and poly-Asp/GC modified electrode

据报道,poly-Asp/GC 修饰电极可以改善多巴胺^[10]、对苯二酚和邻苯二酚^[12]的电化学反应动力学过程,但用于检测 FA 的研究尚未见报道.由图 2 可知,FA 在修饰电极上的氧化还原电流同步上升,但峰形变化不大,二者的作用表现出明显的表面吸附特征,据此,可以推测作用机理如下:DL-天冬氨酸

经电聚合氧化产生了相应的阳离子自由基, 自由基中的 N 原子和 GC 电极上的 C 原子通过共价结合, 在 GC 电极表面形成了聚合物薄膜^[10,13]. 聚合膜中的天冬氨酸含有大量的羟基和羧基, 这些基团极易和 FA 分子中的羟基形成氢键, 故而聚合膜对 FA 表现出良好的吸附能力, 有效地增加了 FA 在电极表面吸附的浓度, 与此同时, 氢键的形成可以降低 FA 分子中苯环上 O—H 键的键能, 羟基变得更易被氧化^[14]. 基于以上原因, FA 在 poly-Asp/GC 修饰电极上的电流响应得到显著提高.

图 3 为 FA ($7.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在 GC 电极 (曲线 1) 和 poly-Asp/GC 修饰电极 (曲线 2) 上的 DPV 曲线. 与图 2 相比, 图 3 中的第一个氧化峰变得更加尖锐, 这意味着 DPV 技术在检测 FA 时比 CV 技术具有更高的灵敏度. 因此, 本文在下面实验中将采用 DPV 技术, 通过测量氧化峰 A 来实现 FA 的定量检测.

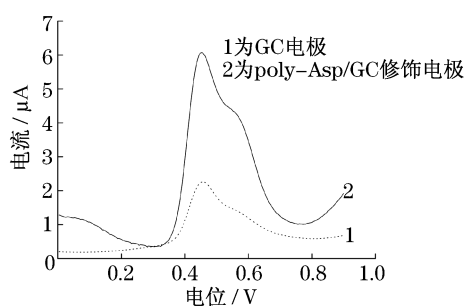


图 3 FA 在 GC 和 poly-Asp/GC 修饰电极的 DPV 曲线
Fig. 3 DPV curves of FA at the GC and poly-Asp/GC modified electrode

2.2 实验条件的优化

2.2.1 循环伏安扫描次数的影响

聚天冬氨酸聚合膜的厚度可以通过电聚合过程中循环伏安扫描的次数来控制. 在研究聚合膜厚度对 FA 电流影响时发现: 刚开始随着循环次数的增加, FA 的氧化峰电流明显增加, 伏安扫描循环 10 周之后, 氧化峰电流增加缓慢, 当循环次数增加到 20 周时, 电流峰值逐渐降低. 这一现象解释如下: 刚开始随着天冬氨酸聚合膜的形成, FA 在电极表面的吸附浓度不断增加, 氧化还原电流也随之上升, 当吸附达到饱和后, 再增加聚合膜的厚度, 由于电极表面反应活性点数量减少导致电流下降. 本文选择扫描 15 周来制备修饰膜.

2.2.2 pH 的影响

实验采用 NaOH 来调节溶液的 pH 值. 研究发现, FA 的氧化峰电位随 pH 增加而负移. 在 pH 为

3.0~6.0 范围内, 峰电位与 pH 值呈线性关系, 线性方程为 $E(V) = 0.6976 - 0.04638\text{pH}$, 相关系数 $R = 0.995$, 表明 FA 的电化学氧化有质子参与, 且参与质子数和传递的电子数相同. 图 4 为氧化峰电流与 pH 之间的关系, 可以看出, 在 pH 为 3.5~5.0 范围内电流值较大. 本文选择实测 pH 为 4.5.

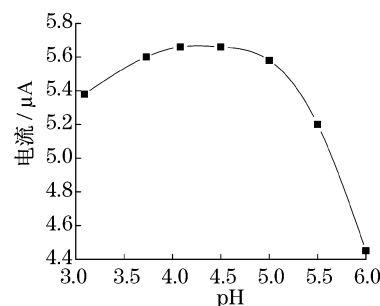


图 4 pH 对 FA 的氧化峰电流的影响
Fig. 4 The influence of pH on the oxidation peak current of FA

2.2.3 扫描速度的影响

室温下, 测定 FA 溶液 ($7.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在不同扫描速度 v 下的 CV 曲线. 在 $v = 10 \sim 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 范围内, FA 的氧化峰(A)电流与扫描速度呈线性关系, 回归方程为: $I = 0.0667v + 0.919$, 相关系数 $R = 0.995$. 根据 Laviron 理论可以推测 FA 的电氧化反应是吸附控制过程^[15].

2.3 标准曲线

在优化条件下, 采用 DPV 技术测定 FA 的氧化峰电流和浓度 $C(10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$ 的关系, 见图 6. 在浓度为 $9.1 \times 10^{-7} \sim 3.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, FA 的氧化峰电流与其浓度呈线性关系, 回归方程为 $I = 0.3787C + 2.835$, 相关系数 $R = 0.998$.

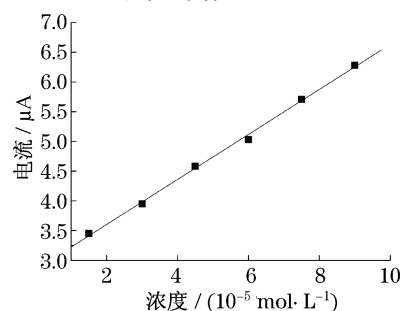


图 5 FA 的标准曲线
Fig. 5 The calibration of FA

2.4 干扰实验

干扰实验中, K^+ , Cu^{2+} , Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , NH_4^+ , NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} (浓度 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 L-苯丙氨酸, 色氨酸, 酪氨酸, 精氨酸, 丝氨酸, 葡

葡萄糖,甘氨酸,乳糖,尿素(10倍浓度)对FA的检测都没有影响,误差小于5%。但高浓度的抗坏血酸会干扰FA的测定。

2.5 重现性和检测限

poly-Asp/GC修饰电极重复制备5次,浸没在 $7.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的FA溶液中进行测定,相对标准偏差(RSD)为2.3%。室温下,修饰电极在PBS(pH为6.84)缓冲溶液中放置24h,电流峰值衰减约7%。以上数据表明,poly-Asp/GC修饰电极具有良好的重现性,但稳定性不太高,考虑到电极的制备简易、快速、方便,因而此缺点对其实际应用影响不大。由3倍信噪比方法得出检测限为 $3.1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.6 应用

本文方法被用于测定实际样品逍遥丸中FA的含量。逍遥丸是我国传统的中成药,用于治疗月经不

调、腹胀痛、头晕、食欲不振等,其主要成分有柴胡、当归、白芍、黄芪等^[16]。检测步骤如下:将12粒逍遥丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司)烘干后研磨成粉末,称取0.25g粉末溶解在100mL, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HAc-NaAc缓冲溶液(pH为4.5),超声震荡30min。室温下静置20min,取上层清液为试样溶液,采用标准加入法进行测定。每一样品平行检测3次取平均值。如表1所示,回收率大约为97.9%~102.2%。FA的平均浓度为 $3.08 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,由此推算得逍遥丸中FA的含量为 $2.39 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。文献^[17]采用反相高效液相色谱法检测不同逍遥丸样品中FA的含量,报道值为 $1.144 \sim 4.722 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,与本文的结果接近,表明本文方法具有高的灵敏度,可用于实际样品中FA的检测。

表1 逍遥丸中FA的检测

Tab.1 Determination of FA in Xiaoyao Pills

样品	C(原液)/ ($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	C(加入)/ ($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	C(检出)/ ($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率/%	平均回收率/%
1	0.308	0.500	0.797	98.6	
2	0.308	1.500	1.771	97.9	99.5
3	0.308	3.000	3.381	102.2	

3 结语

本文采用电聚合的方法制备了聚天冬氨酸修饰玻碳电极,此电极显著地提高了FA的电信号强度,通过测定微分脉冲氧化峰电流,实现了中成药逍遥丸中FA的定量检测。方法简便、快速、实用。

参考文献:

- [1] 欧仕益,包惠燕,兰志东.阿魏酸及其衍生物的药理作用研究进展[J].中药材,2001,24(3):220.
OU Shiyi, BAO Huiyan, LAN Zhidong. The progress of pharmacological effects of ferulic acid and its derivatives[J]. J Chin Med Mater, 2001, 24(3): 220.
- [2] Barone E, Calabrese V, Mancuso C. Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases[J]. Biogerontology, 2009, 10: 97.
- [3] Li Y J, Bi K S. HPLC determination of ferulic acid in rat plasma after oral administration of Rhizoma Chuanxiong and its compound preparation[J]. Biomed Chromatogr, 2003, 17: 543.
- [4] Prakash H O, Krishan B T, Bhupinder S. Thin-layer chromatography of gallic acid, methyl gallate, pyrogallol, phloroglucinol, catechol, resorcinol, hydroquinone, catechin, epicatechin, cinnamic acid, p-coumaric acid, ferulic acid and tannic acid[J]. J Chromatogr, 1998, 822: 167.

- [5] Holland L A, Harmony N M, Lunte S M. Characterization of an integrated on-capillary dual electrode for capillary electrophoresis electrochemistry [J]. Electroanal, 1999, 11: 327.
- [6] Wang H Y, Li Y F, Huang C Z. Detection of ferulic acid based on the plasmon resonance light scattering of silver nanoparticles [J]. Talanta, 2007, 72: 1698.
- [7] 艾珍,廖钊,朱林,等.阿魏酸在玻碳电极上的电化学行为及其分析测定[J].应用化学,2006,23(5):566.
AI Zhen, LIAO Fang, ZHU Lin, et al. Electrochemical behavior and determination of ferulic acid at glassy carbon electrode[J]. Chin J App Chem, 2006, 23(5): 566.
- [8] 李利军,喻来波,陈其峰,等.L-半胱氨酸自组装修饰金电极-不可逆双安培测定阿魏酸[J].分析化学,2007,35(7):933.
LI Lijun, YU Laibo, CHEN Qifeng, et al. Determination of ferulic acid based on the L-cysteine self-assembled modified gold electrode coupling irreversible biamperometry[J]. Chin J Anal Chem, 2007, 35(7): 933.
- [9] Yu Y Y, Wu Q S, Wang X G, et al. Electrochemical determination of ferulic acid in Chinese traditional medicine Xiaoyao Pills at electrode modified with carbon nanotube[J]. Russ J Electrochem, 2009, 45(2): 170.
- [10] Zhang L, Lin X Q. Electrochemical behavior of a covalently modified glassy carbon electrode with aspartic acid and its use for voltammetric differentiation of dopamine and ascorbic acid [J]. Anal Bioanal Chem, 2005, 382: 1669.

(下转第 1098 页)