

# 乳清酸的 2.5 次微分示波极谱法测定

王福民<sup>1,2</sup>, 过 玮<sup>1</sup>, 何 平<sup>1</sup>

(1. 西北大学 化学系, 陕西 西安 710069; 2. 渭南师范学院 化学系, 陕西 渭南 714000)

**摘要:**拟定了乳清酸的 2.5 次微分示波极谱测定新方法。结果表明:在 0.8 mol/L HCl 介质中,乳清酸产生一灵敏的极谱还原波,峰电位  $E_p = -0.77$  V(vs. SCE);其 2.5 次微分极谱峰峰电流  $e_p''$  与乳清酸浓度在  $4.0 \times 10^{-8} \sim 4.0 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内呈良好线性关系( $r=0.9996, n=9$ ),检测限为  $1.0 \times 10^{-8}$  mol/L;13 次平行测量  $4.0 \times 10^{-7}$  mol/L 乳清酸的峰电流,所得 RSD 为 1.8%。该方法可直接用于测定牛奶中乳清酸的含量。

**关键词:**乳清酸;去卷积;示波极谱法;牛奶

**中图分类号:**O657.14 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-274 X (2003)04-0428-03

近年来,生物活性物质的电化学研究已引起人们广泛的兴趣。乳清酸又名维生素 B<sub>13</sub>,是自然界中存在的一种重要的嘧啶类衍生物。它是人体内的一种促进剂和某些机能紊乱的预防剂,也是人体内嘧啶核苷酸合成的中间产物,具有重要的生理作用。

目前,有关乳清酸检测方法的报道较多,如光谱法、色谱法、电化学法等。文献[1,2]用差分脉冲极谱法在 HClO<sub>4</sub> 介质中测定了牛奶、人体血清及尿样中的乳清酸,其浓度线性范围为  $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-3}$  mol/L,检测限为  $8.8 \times 10^{-6}$  mol/L。文献[3]用单扫描示波极谱法在 HClO<sub>4</sub>-NaClO<sub>4</sub> 介质中研究了乳清酸的二阶微分极谱波特性,测得线性范围为  $1.0 \times 10^{-7} \sim 6.0 \times 10^{-5}$  mol/L,检测限为  $7.5 \times 10^{-8}$  mol/L,灵敏度得到了较大的提高。

去卷积极谱法具有对电解池  $iR$  降不敏感,不易受介质浓度影响,无充电电流等优点,能使分析灵敏度和分辨率得到较大的提高。本文拟定了乳清酸的 2.5 次微分示波极谱分析方法。在 0.8 mol/L HCl 介质中,乳清酸有一灵敏的极谱还原波,其 2.5 次微分极谱峰峰电流  $e_p''$  与乳清酸浓度在  $4.0 \times 10^{-8} \sim 4.0 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内呈良好线性关系,检测限为  $1.0 \times 10^{-8}$  mol/L,且灵敏,简便,快速,线性范围较宽,可直接用于测定牛奶中乳清酸的含量。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

JP3-1 型示波极谱仪(山东电讯七厂),三电极系统:滴汞电极为工作电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极,铂丝为对电极。扫描速率为 300 mV/s。CHI660 电化学工作站(CH 仪器公司,美国),CHI660 软件包在 Windows98 环境下运行。采用三电极系统:303A 型静汞滴电极系统(EG&G PAR 公司,美国)为工作电极,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝为对电极。

### 1.2 试剂

$2.0 \times 10^{-3}$  mol/L 乳清酸(生化试剂,上海试剂二厂)标准储备溶液:准确称取 0.1471 g 乳清酸,用 50 mL 0.1 mol/L NaOH 溶液溶解<sup>[4]</sup>,然后用水定容至 500 mL 容量瓶中,置暗处保存。乳清酸标准工作溶液由其储备液用水稀释而成。其他溶液按常规配制,所用试剂均为分析纯,实验用水均为二次蒸馏水。

### 1.3 实验方法

取一定量乳清酸标准工作溶液于 25 mL 容量瓶中,加入 5 mol/L HCl 溶液 4.0 mL,用水稀释至刻度,摇匀。将此溶液转移至电解池中,通入高纯氮

收稿日期:2001-12-07

基金项目:国家自然科学基金资助项目(29875017)

作者简介:王福民(1964-),男,陕西蒲城人,渭南师范学院讲师,从事电分析化学及配位化学研究。

气,除氧 10 min,在 JP3-1 型示波极谱仪上阴极化扫描,起始电位为  $-0.40\text{V}$ ,扫描速度  $300\text{ mV/s}$ 。测量乳清酸极谱还原波( $E_p$  为  $-0.77\text{V}$ )的 2.5 阶微分极谱峰峰电流值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 支持电解质的选择

在多种支持电解质中考察了乳清酸的极谱行为。结果表明,在 HAc-NaAc,  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}-\text{NH}_4\text{Cl}$ , Britton-Robinson,  $\text{KH}_2\text{PO}_4-\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$ , HCl 等介质中,乳清酸均有极谱响应,可产生一还原波,但在 HCl 介质中还原波的灵敏度最高。因此,本文在 HCl 支持电解质中,记录了乳清酸还原波的 2.5 次微分极谱峰(见图 1)。

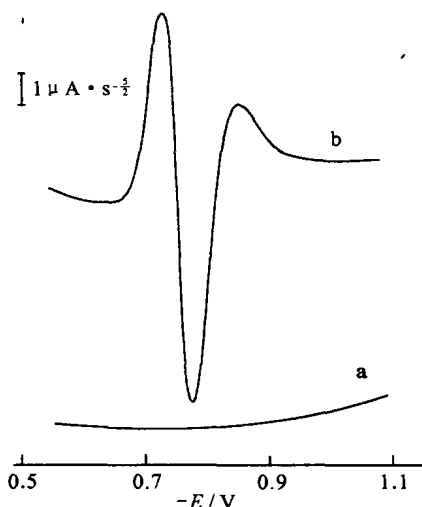


图 1 乳清酸的 2.5 次微分示波极谱图

Fig. 1 2.5-order derivative oscillogram of orotic acid  
a 0.8 mol/L HCl 支持电解质 b a +  $4.0 \times 10^{-7}$  mol/L 乳清酸 电位扫描速率  $v = 300\text{ mV/s}$ 。

### 2.2 介质浓度的影响

实验表明,乳清酸还原波 2.5 次微分极谱峰峰电流  $e_p''$  随 HCl 浓度升高而逐渐增大。当 HCl 浓度在  $0.5 \sim 1.2\text{ mol/L}$  时,极谱峰形尖锐, $e_p''$  达到最大且保持稳定,峰电位  $E_p$  维持在  $-0.77\text{ V}$  保持不变。因此,本文选取  $0.8\text{ mol/L}$  HCl 为支持电解质。

### 2.3 微分阶次及扫描速率的影响

由于去卷积极谱法具有对电解池  $iR$  降不敏感,不易受介质浓度影响,无充电电流等优点,故能使分析灵敏度和分辨率得到较大提高。因此,本文考察了

不同微分阶次对峰电流的影响。实验表明:在  $0.8\text{ mol/L}$  HCl 支持电解质中,0.5 次微分极谱的分辨率很低,峰电流  $e_p$  很小;1.5 次微分分辨率得到较大的提高,但 1.5 次微分峰峰电流  $e_p'$  较小;使用 2.5 次微分时,分辨率很高,且微分峰峰电流  $e_p''$  最大。此外,采用 2.5 次微分极谱法测定乳清酸时,也考察了扫描速率对峰电流的影响。当扫描速率  $v$  增大时,乳清酸还原波 2.5 次微分峰峰电流  $e_p''$  也逐渐增加,在  $v$  为  $300\text{ mV/s}$  左右时  $e_p''$  达到最大,然后逐渐降低,当  $v$  达到  $941\text{ mV/s}$  时极谱峰形已严重失真。

### 2.4 稳定性及重现性实验

实验结果表明:至少 48 h 内乳清酸极谱还原波峰电流  $e_p''$  和峰电位  $E_p$  基本不变,稳定性良好;13 次平行测量  $4.0 \times 10^{-7}\text{ mol/L}$  乳清酸还原波 2.5 次微分峰峰电流,所得相对标准偏差 RSD 为 1.8%,重现性良好。

综上所述,本文所选支持电解质为  $0.8\text{ mol/L}$  HCl 溶液,采用 2.5 次微分极谱法,电位扫描速率  $v = 300\text{ mV/s}$ ,测定了乳清酸的含量。

### 2.5 校准曲线及检测限

在本文所选定的支持电解质中,乳清酸还原波 2.5 次微分极谱峰峰电流  $e_p''$  与其浓度在  $4.0 \times 10^{-8} \sim 4.0 \times 10^{-5}\text{ mol/L}$  范围内有良好的线性关系,其线性方程为  $e_p'' = 1.26 \times 10^7 c + 0.374$ ,相关系数  $r = 0.9996$  ( $n = 9$ )。其中, $e_p''$  的单位为  $\mu\text{A/s}^{5/2}$ ,为乳清酸的浓度。检测限为  $1.0 \times 10^{-8}\text{ mol/L}$ ,方法灵敏度与已报道文献相比提高了一个数量级。

## 3 样品分析

准确移取  $0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50\text{ mL}$  牛奶(西安市东方乳品厂),分别加入  $10\text{ mL}$   $0.8\text{ mol/L}$  HCl 溶液,混合加热至沸腾<sup>[5]</sup>,使奶蛋白凝固沉淀,冷却后过滤,沉淀用  $20\text{ mL}$   $0.8\text{ mol/L}$  HCl 溶液洗涤数次。收集滤液于  $50\text{ mL}$  容量瓶中,用水定容,得 5 份样品储备溶液。

准确移取一定体积的上述样品储备液,加入  $4.0\text{ mL}$   $5\text{ mol/L}$  HCl 溶液,用水定容至  $25\text{ mL}$ 。按实验方法测量样品液的 2.5 阶微分峰峰电流值。利用校准曲线求得样品中乳清酸的含量,同时在样品液中做乳清酸的回收率试验,结果见表 1。

表 1 牛奶中乳清酸含量及回收率

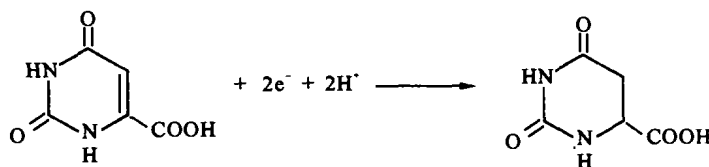
Tab. 1 Content of orotic acid in milk and recovery test

测定值/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	平均值/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%	加入量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%
75.82			13.45	13.27	98.7
75.40			13.45	13.58	101.0
75.72	75.66	0.4	13.45	13.52	100.5
75.30			13.45	13.67	101.6
76.05			13.45	13.34	99.2

#### 4 极谱还原过程

循环伏安法实验表明,在本文选定条件下,阴极乳清酸产生一还原峰,峰电位  $E_p$  为  $-0.77 \text{ V}$ 。当电位扫描速率  $v$  从  $0.10 \text{ V/s}$  增至  $1.50 \text{ V/s}$  时,峰电位  $E_p$  从  $-0.761 \text{ V}$  逐渐负移到  $-0.774 \text{ V}$ ,表明在

$0.8 \text{ mol/L}$  的  $\text{HCl}$  介质中乳清酸的还原波为一不可逆波。此外,在电位扫描速率  $v=0.10\sim 1.50 \text{ V/s}$  范围内,乳清酸阴极还原峰峰电流  $i_p$  与  $v^{1/2}$  呈线性关系,回归方程为  $i_{p,c} = -2.4 + 95.9v^{1/2}$  ( $r=0.9951, n=7$ ),表明乳清酸在电极表面受吸附影响较小。因此,在强酸性介质中乳清酸的还原为  $2e^-$ ,  $2\text{H}^+$  过程<sup>[3]</sup>,其电极还原过程可表示为:



#### 参考文献:

- [1] CALVO L, RODRIGUEEZ J, VINAGRE F, *et al.* Determination of orotic acid (Vitamin B<sub>13</sub>) in human serum and urine by differential-pulse polarography [J]. *Analyst*, 1988, 113(2): 321-323.
- [2] CALVO L, RODRIGUEEZ J, VINAGRE F, *et al.* Determination of orotic acid (Vitamin B<sub>13</sub>) in milk by differential-pulse polarography [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1990, 338(1): 80-81.
- [3] 邹洪, 袁倬斌. 乳清酸的单扫描示波极谱研究[J]. 中国科学院研究生院学报, 1996, 13(1): 38-42.
- [4] 欧阳平凯, 张赣道, 祁嘉义. 生物化工产品[Z]. 北京: 化学工业出版社, 1999.
- [5] GIL A, SAMCHEZ-MEDINA F. Effects of thermal industrial processing on acid-soluble nucleotides of milk [J]. *J Dairy Res*, 1982, 49(2): 295-300.

(编辑 张银玲)

## Determination of orotic acid by 2.5-order derivative polarography

WANG Fu-min<sup>1,2</sup>, GUO Wei<sup>1</sup>, HE Ping<sup>1</sup>

(1. Department of Chemistry, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. Department of Chemistry, Weinan Teacher College, Weinan 714000, China)

**Abstract:** A 2.5-order derivative polarographic method for the determination of orotic acid was proposed. In  $0.8 \text{ mol/L}$   $\text{HCl}$  supporting electrolyte, a reduction wave of orotic acid with peak potential  $-0.77 \text{ V}$  (vs. SCE) achieved high sensitivity. The 2.5-order derivative peak current of the reduction wave was rectilinear to orotic acid concentration in the range of  $4.0 \times 10^{-8} \sim 4.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  ( $r=0.9996, n=9$ ). The limit of detection was  $1.0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ . Relative standard deviation (RSD) was 1.8% by performing 13 independent measurements for  $4.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$  orotic acid. The proposed method can be applied to direct determination of orotic acid in milk.

**Key words:** orotic acid; deconvolution; oscillopolarography; milk