

# 聚 $\gamma$ -氨基丁酸修饰电极测定丹皮酚的 电化学研究

吕惠萍, 陈美凤\*, 马心英, 郭莹莹  
(菏泽学院化学化工学院, 山东 菏泽 274015)

**摘要:**用电化学方法将  $\gamma$ -氨基丁酸聚合在玻碳电极(GCE)表面,制备了聚  $\gamma$ -氨基丁酸修饰电极(poly  $\gamma$ -aminobutyric acid modified electrode, P- $\gamma$ -ABA/GCE)。探究了丹皮酚(paeonol, Pae)在此修饰电极上的电化学行为,建立了测定丹皮酚的新方法。结果表明,在 pH=7.0 的  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  缓冲溶液(PBS)中,Pae 的浓度与氧化峰电流在  $2.0 \times 10^{-7}$  ~  $8.0 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内有良好的线性关系,相关系数  $R$  为 0.992 7,检出限为  $8.0 \times 10^{-8}$  mol/L。在样品 Pae 的测定中,回收率为 96.3% ~ 103.7%。该方法可用于实际样品的测定。

**关键词:**  $\gamma$ -氨基丁酸;修饰电极;丹皮酚;循环伏安法

**中图分类号:** O657.14

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0253-4320(2022)07-0255-05

**DOI:** 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.07.049

## Determination of paeonol by a poly( $\gamma$ -aminobutyric acid) modified electrode

LV Hui-ping, CHEN Mei-feng\*, MA Xin-ying, GUO Ying-ying

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Heze University, Heze 274015, China)

**Abstract:** Poly ( $\gamma$ -aminobutyric acid) modified electrode (P- $\gamma$ -ABA/GCE) is prepared through electropolymerization of  $\gamma$ -aminobutyric acid on the surface of glassy carbon electrode (GCE). The electrochemical behavior of paeonol on P- $\gamma$ -ABA/GCE is studied, and a new method for the determination of paeonol is established. The results show that good linear relationships between current intensity and paeonol concentrations are obtained in the ranges of  $2.0 \times 10^{-7}$  ~  $8.0 \times 10^{-5}$  mol  $\cdot$  L $^{-1}$  under a  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  buffer solution with a pH value of 7.0, the correlation coefficient is 0.992 7, and the detection limit is  $8.0 \times 10^{-8}$  mol  $\cdot$  L $^{-1}$ . The modified electrode can be applied to detect paeonol with recoveries of 96.3%~103.7%. It is identified that this determination method can be used for the determination of actual samples.

**Key words:**  $\gamma$ -aminobutyric acid; modified electrode; paeonol; cyclic voltammetry

丹皮酚(paeonol, Pae)是从毛茛科植物牡丹的根皮中提取出来的一种有药用成分的物质,具有镇静<sup>[1]</sup>、抗过敏<sup>[2]</sup>、抑制病变反应<sup>[3-4]</sup>和消炎<sup>[5-6]</sup>等作用,在临床医学和美容护肤方面应用广泛。Pae 含量的测定可以为相关药物的开发利用提供毒理学上安全性评价数据。因此,建立更快更高效的 Pae 测定方法具有重要的意义。目前测定 Pae 的方法有高效液相色谱法<sup>[7-8]</sup>、气相色谱法<sup>[9-10]</sup>、电泳法<sup>[11-12]</sup>等,但是上述方法测定方法需要的成本较高,检测步骤较为烦琐,测试时间较长且灵敏度较低。电化学检测方法<sup>[13-16]</sup>则具有检测方便快捷、灵敏度高和稳定性好的优点。聚  $\gamma$ -氨基丁酸具有良好的催化作用,并且修饰电极的制作简单,稳定性良好,已被广泛应用于实际样品的分析检测中<sup>[17-18]</sup>。本实验制备了 P- $\gamma$ -ABA/GCE 电极,研究了 Pae 在此修饰电

极上的电化学行为,Pae 分子中的酚羟基具有一定的电化学活性,可以在聚  $\gamma$ -氨基丁酸修饰电极上发生氧化还原反应,因此建立了测定 Pae 的电化学新方法。该方法具有较高的灵敏度、重现性和选择性,可简单高效地用于实际样品中 Pae 含量的测定。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与仪器

$\gamma$ -氨基丁酸(1.0 mmol/L,阿拉丁试剂上海有限公司);丹皮酚标准品(1.0 mmol/L,上海麦克林生物化学有限公司);213 铂丝电极(上海罗素科技有限公司);丹皮酚软膏(长春英平药业有限公司,20180405);不同 pH 磷酸盐缓冲溶液(PBS)用 0.2 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  溶液和 0.2 mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  溶液配制。其他所用试剂均为分析纯;实验用水为二

收稿日期:2021-07-10;修回日期:2022-05-01

基金项目:菏泽学院科研基金科技计划项目(牡丹研究院培育项目 PRI 20)

作者简介:吕惠萍(1985-),女,硕士,实验师,研究方向为电化学分析及检测;陈美凤(1981-),女,硕士,教授,研究方向为材料的合成与分析,通讯联系人,cmf3699@163.com。

次蒸馏水,且实验过程在室温下进行。

CHI-660E 电化学工作站(上海辰华仪器有限公司);KH-100DB 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);MT 红外灯(中山市古镇鑫煌灯饰电器厂);78HW-1 数显恒温磁力搅拌器(金坛市江南仪器厂);SYZ-550 石英亚沸高纯水蒸馏器(金坛市江南仪器厂);微量进样器(1、25  $\mu\text{L}$  尖头、50、100  $\mu\text{L}$  平头,上海高鸽工贸有限公司);场发射扫描电子显微镜(蔡司 Gemini SEM 300,德国)。

### 1.2 P- $\gamma$ -ABA/GCE 的制备

将 GCE 电极在含  $\text{Al}_2\text{O}_3$  悬浮液的麂皮上顺时针打磨 30 s,在超声波清洗器中依次用硝酸( $V_{\text{HNO}_3} : V_{\text{H}_2\text{O}} = 1:1$ )、无水乙醇、二次蒸馏水分别清洗 30 s,每次清洗过后均用二次蒸馏水冲洗,红外灯干燥。采用循环伏安法(CV),设置电位为 $-1.4 \sim 2.2 \text{ V}$ ,将处理好的 GCE 电极放在  $0.10 \text{ mmol/L}$  的  $\gamma$ -氨基丁酸( $\text{pH} = 7.0$ )溶液中以  $40 \text{ mV/s}$  的扫描速率循环扫描 14 段,取出清洗干净,即制备得 P- $\gamma$ -ABA/GCE。

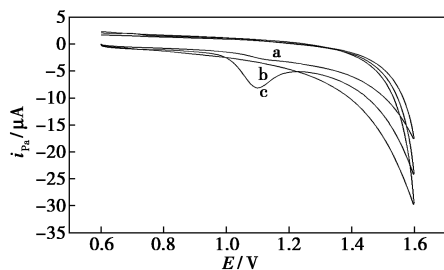
### 1.3 实验方法

以 GCE 电极或 P- $\gamma$ -ABA/GCE 为工作电极,Ag/AgCl 电极为参比电极,铂丝电极为对电极,用循环伏安法(CV)在 Pae 溶液(PBS 缓冲溶液  $\text{pH} = 7.0$ )中进行扫描,记录循环伏安法曲线。

## 2 结果与讨论

### 2.1 Pae 的电化学行为

图 1 为在相同实验条件下 GCE 电极测定 Pae 溶液(a)、P- $\gamma$ -ABA/GCE 测定空白 PBS 溶液(b)以及 P- $\gamma$ -ABA/GCE 测定 Pae 溶液(c)时的 CV 叠加对比图。如图 1 所示,用 GCE 电极测定 Pae 溶液的氧化峰电流和电位微弱, $i_{\text{pa}} = 0.38 \mu\text{A}$ , $E_{\text{pa}} = 1.08 \text{ V}$ 。而用 P- $\gamma$ -ABA/GCE 测定时氧化峰电流和电位明显变大, $i_{\text{pa}} = 5.97 \mu\text{A}$ , $E_{\text{pa}} = 1.10 \text{ V}$ 。Pae



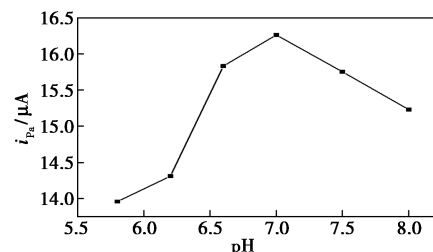
a—GCE 测定 Pae 溶液;b—P- $\gamma$ -ABA/GCE 测定空白 PBS 溶液;  
c—P- $\gamma$ -ABA/GCE 测定 Pae 溶液

图 1 CV 曲线

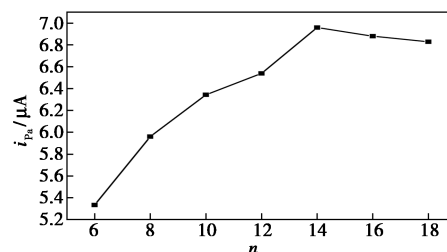
在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上的  $i_{\text{pa}}$  值是在 GCE 电极上的 15.71 倍,表明 P- $\gamma$ -ABA/GCE 催化了 Pae 的电化学活性,加快了反应的电子传递速率,使该修饰电极对 Pae 的检测具有较好的灵敏性。

### 2.2 P- $\gamma$ -ABA/GCE 最佳聚合条件

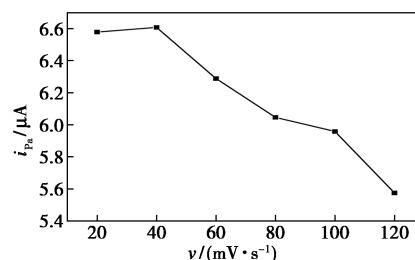
通过实验表明,修饰电极的灵敏度及性能与  $\gamma$ -氨基丁酸溶液  $\text{pH}$ [图 2(a)]、聚合段数( $n$ )[图 2(b)]、扫描速度[图 2(c)]、高低电位[图 2(d)、(e)]有一定的关系。通过实验优化了制备 P- $\gamma$ -ABA/GCE 的最佳聚合条件,如图 2 所示,当  $\gamma$ -氨基丁酸溶液( $1.0 \text{ mmol/L}$ )的  $\text{pH} = 7.0$ ,聚合段数为 14,扫描速率为  $0.04 \text{ V/s}$ ,电位范围为 $-1.4 \sim 2.2 \text{ V}$ 时,所制得的 P- $\gamma$ -ABA/GCE 测定 Pae 溶液的氧化峰电流值最大。



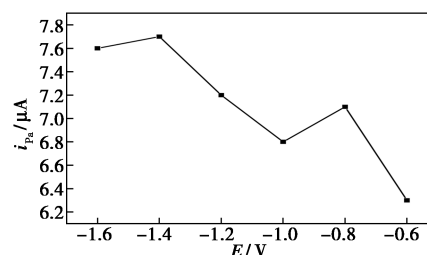
(a) P- $\gamma$ -ABA/GCE 最佳聚合 pH



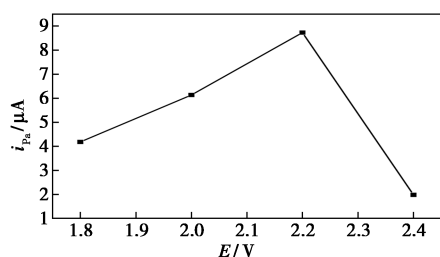
(b) P- $\gamma$ -ABA/GCE 最佳聚合段数



(c) P- $\gamma$ -ABA/GCE 最佳扫描速率

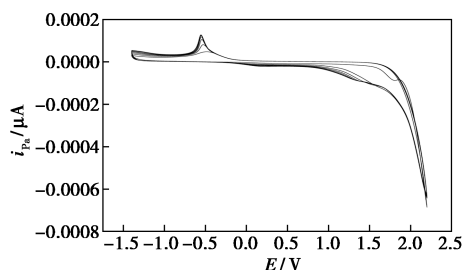
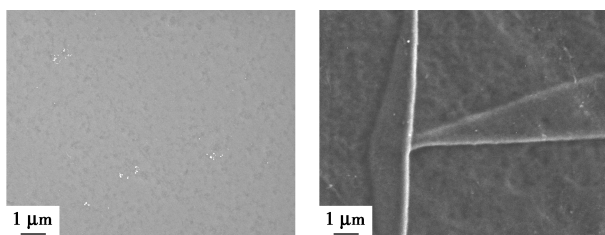


(d) P- $\gamma$ -ABA/GCE 最佳低电位

(e) P- $\gamma$ -ABA/GCE 最佳高电位图 2 P- $\gamma$ -ABA/GCE 最佳聚合条件

### 2.3 P- $\gamma$ -ABA/GCE 的聚合循环伏安曲线

图 3 为最佳聚合条件下  $\gamma$ -氨基丁酸在玻碳电极上的聚合循环伏安曲线。从图中可以看出,在  $-0.6$  V 处出现了还原峰,随着扫描段数的增加,峰电位发生负移且峰电流逐渐增加,但增加的幅度逐渐减小,这说明  $\gamma$ -氨基丁酸在电极表面发生了聚合反应。在反应结束后可以看到在玻碳电极表面有一层深蓝色的膜。图 4 为裸电极 (a) 与 P- $\gamma$ -ABA/GCE 电极 (b) 的扫描电镜对比图,可以看出 P- $\gamma$ -ABA/GCE 电极表面形成了线状的空间结构。

图 3 P- $\gamma$ -ABA/GCE 的聚合循环伏安曲线

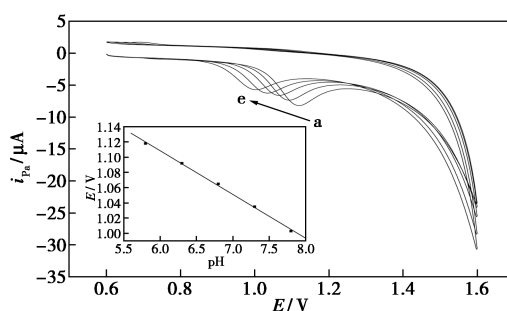
(a) 裸电极

(b) P- $\gamma$ -ABA/GCE图 4 裸电极与 P- $\gamma$ -ABA/GCE 扫描电镜图

### 2.4 Pae 测定的最佳实验条件

#### 2.4.1 Pae 溶液 pH 的选择

溶液的 pH 不同,测得 Pae 的氧化峰电流的大小不同,氧化峰电位也会发生移动。固定实验参数为高电位  $1.6$  V,低电位  $0.6$  V, $v=0.1$  V/s,只改变 Pae 待测液的 pH 依次进行实验,结果如图 5 所示,当溶液的 pH=5.8 时 Pae 的峰电流最大,Pae 氧化峰电流数值随着 pH 的升高而降低;pH 在  $5.8 \sim 7.8$

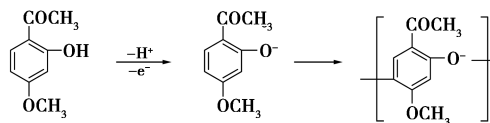


从 a 到 e 的 pH 为 5.8、6.3、6.8、7.3、7.8;

内插图为氧化峰电位与 Pae 溶液 pH 的关系曲线

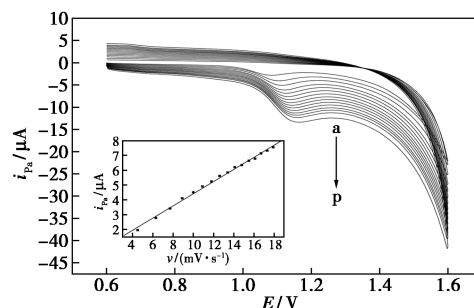
图 5 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上随 pH 变化的循环伏安曲线

的范围内,pH 与氧化峰电位  $E_{pa}$  呈良好线性关系: $E_{pa} = 1.45 - 0.057\text{pH}$ ,相关系数  $R$  为  $0.999 0$ ,斜率  $0.057$  接近于  $0.059$ ,表明质子转移数等于电子转移数<sup>[19]</sup>,即质子参与了 Pae 的氧化还原反应。推测反应机理如下<sup>[20]</sup>:



#### 2.4.2 Pae 扫描速率 ( $v$ ) 的选择

固定实验参数高电位为  $1.6$  V,低电位为  $0.6$  V,Pae 溶液的 pH=5.8,改变  $v$  进行测定,由图 6 可知,氧化峰电流值随着扫速增加而变大,氧化峰电流与  $v$  呈线性关系,线性方程为  $i_{pa} = 0.32 + 0.41\lg v^{1/2}$  (mV/s),相关系数  $R = 0.997 9$ ,说明 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上的电极反应过程为扩散过程。当  $v$  大于  $0.10$  V/s 时,会影响实验测定的灵敏度。故测定 Pae 扫描速率 ( $v$ ) 确定为  $0.10$  V/s。

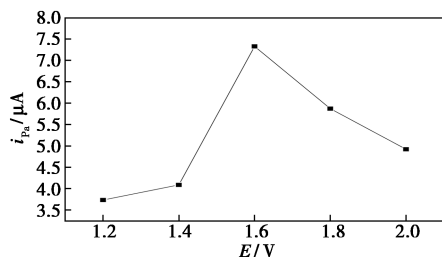


自 a 到 p 的扫速分别为  $0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18, 0.20, 0.22, 0.24, 0.26, 0.28, 0.30, 0.32$  V/s;内插图为 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上的氧化峰电流值随  $v$  的变化曲线

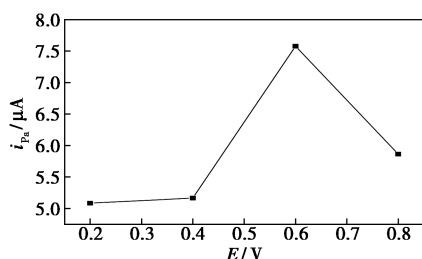
图 6 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上不同扫描速率 ( $v$ ) 下的循环伏安曲线

### 2.4.3 Pae 高、低电位的选择

高、低电位不同, Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 的  $i_{pa}$  会有所改变。固定其他实验条件不变, 从图 7 可以看出, 当高电位为 1.6 V 时, Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 的  $i_{pa}$  最大; 同样固定其他条件不变, 只改变低电位进行实验, 当低电位为 0.6 V 时, Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 的  $i_{pa}$  最大, 因此 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 的最佳实验测定电位范围是 0.6~1.6 V。



(a) 最佳高电位



(b) 最佳低电位

图 7 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上的最佳高低电位

### 2.4.4 Pae 搅拌时间 ( $t$ ) 的选择

测定 Pae 的搅拌时间不同, Pae 的  $i_{pa}$  也不相同。固定其他实验条件不变, 只改变  $t$  进行测定, 结果如图 8 所示, 当  $t=20$  s 时,  $i_{pa}$  最大。故测定 Pae 的最佳搅拌时间  $t=20$  s。

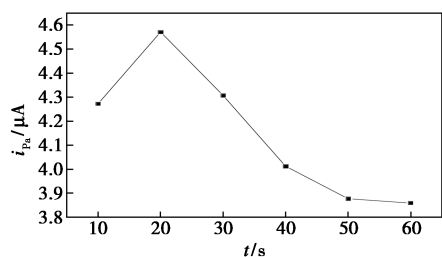
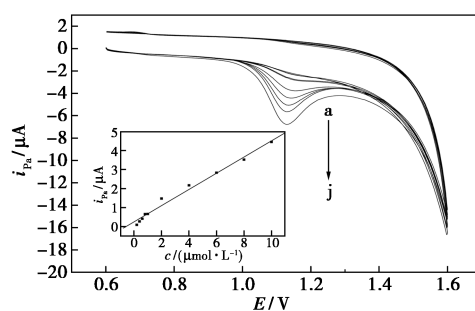


图 8 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上的最佳搅拌时间

### 2.5 工作曲线与检测限

在最佳实验条件下, 用循环伏安法对 Pae 溶液进行测试。结果如图 9 所示, Pae 氧化峰电流与浓度在  $2.00 \times 10^{-7} \sim 8.00 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内存在良好的线性关系, 线性方程为  $i_{pa} = 2.54 \times 10^{-7} + 0.43c$  (mol/L), 相关系数  $R=0.9927$ , 检出限为  $8.0 \times 10^{-8}$  mol/L。



a~j 的浓度依次为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10  $\mu\text{mol/L}$ ; 内插图为 Pae 的浓度与氧化峰相应电流的关系曲线

图 9 最佳实验条件下不同浓度的 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上的循环伏安曲线

### 2.6 P- $\gamma$ -ABA/GCE 重现性和稳定性

电极的重现性在 Pae 的测定中也会产生影响, 重现性差, 测定偏差也会变大。用 CV 法在最佳实验条件下对 Pae 平行测定 6 次, 如图 10 所示, 并对氧化峰电流数值进行数据处理, 结果如表 1 所示, 测得相对标准偏差 (RSD) 为 1.6%, 说明 P- $\gamma$ -ABA/GCE 有较好的重现性。平行测定后, 将 P- $\gamma$ -ABA/GCE 置于 pH 5.8 的缓冲溶液中扫描至无峰, 并置于空白溶液中 7 d, 再对 Pae 进行测试, 得出的结果为第一次测试值的 98.6%, 说明 P- $\gamma$ -ABA/GCE 稳定性良好。

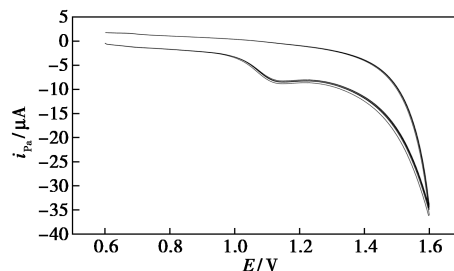


图 10 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上平行测定 6 次的循环伏安曲线图

表 1 Pae 在 P- $\gamma$ -ABA/GCE 上的相对标准偏差 (RSD)

序号	1	2	3	4	5	6
$i_{pa}/\mu\text{A}$	5.23	5.08	5.11	5.01	5.04	5.10
$\bar{i}$	5.10					
$d_i/\mu\text{A}$	0.13	-0.02	0.01	-0.09	-0.06	0
$s$	0.08					
RSD	1.6%					

### 2.7 干扰实验

在最佳实验条件下, 对于  $1.0 \times 10^{-6}$  mol/L 的丹皮酚溶液, 用 100 倍的  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ , 50 倍的甘

油、抗坏血酸进行干扰实验,允许  $RSD = \pm 5\%$  的范围内,以上离子都不干扰测定。

## 2.8 样品处理及回收率的测定

取 2.994 2 g 的丹皮酚软膏于样品管中,加入 5.0 mL 的无水乙醇使其溶解,充分溶解后进行离心并取上层清液,定容至 25 mL 容量瓶中,放置低温避光处备用。

在最佳实验条件下,对样品进行平行测定 6 次,计算结果如表 2,回收率在 96.3%~103.7%。与气相色谱法进行了比较<sup>[10]</sup>,2 种方法所测得回收率相接近,说明本实验方法准确可靠。

表 2 样品中 Pae 回收率的测定 ( $n=6$ )

样品 编号	样品测定值/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	加入的标准量/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	样品的测定总量/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	回收率/ %
1	0.27	0.300	0.58	103.7
2	2.70	3.00	5.60	96.3
3	27.00	28.00	55.80	103.0

## 3 结论

通过优化实验条件,制备了 P- $\gamma$ -ABA/GCE,实验结果表明,该修饰电极可应用于样品中 Pae 的测定。在  $2.0 \times 10^{-7} \sim 8.0 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内,Pae 的浓度与氧化峰电流有良好的线性关系,相关系数  $R$  为 0.992 7,检出限为  $8.0 \times 10^{-8}$  mol/L,  $RSD = 1.6\%$ 。在样品 Pae 的测定中,回收率为 96.3%~103.7%。该方法灵敏度高,有较好的稳定性和重现性,在 Pae 的实际检测中有一定的应用前景。

## 参考文献

- [1] Chou T C. Anti-inflammatory and analgesic effects of paeonol in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2003, 139(6): 1146-1152.
- [2] Lee B, Shin Y W, Bae E A, et al. Antiallergic effect of the root of *Paeonia lactiflora* and its constituents paeoniflorin and paeonol [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2008, 31(4): 445-450.
- [3] Li N, Fan L L, Sun G P, et al. Paeonol inhibits tumor growth in gastric cancer in vitro and in vivo [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2010, 16(35): 4483-4490.
- [4] Wang J J, Li Q W, Ou Y T, et al. Antitumor effects of paeonol on mice bearing EMT6 breast infiltrating ductal carcinoma [J]. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2010, 29(3): 369-375.
- [5] Zong S Y, Pu Y Q, Xu B L, et al. Study on the physicochemical properties and anti-inflammatory effects of paeonol in rats with TNBS-induced ulcerative colitis [J]. *International Immunopharmacology*, 2017, 42: 32-38.
- [6] Li H K, Dai M, Jia W. Paeonol attenuates High-Fat-Diet-Induced atherosclerosis in rabbits by Anti-Inflammatory activity [J]. *Planta Medica*, 2009, 75: 7-11.
- [7] 朱昆,汪旭,代恩勇,等. HPLC 法测定清麻防风合剂中丹皮酚含量的研究 [J]. *特产研究*, 2019, 41(1): 92-94.
- [8] 吕士杰,李妍,芦晓晶,等. HPLC 测定岑丹颗粒中黄芩苷、栀子苷和丹皮酚 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(6): 81-84.
- [9] 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 [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2006, 54(1): 114-116.
- [10] 袁杰. 气相色谱法测定丹皮酚软膏中丹皮酚的含量 [J]. *现代中药研究与实践*, 2008, 22(2): 43-44.
- [11] Liu H X, Xiang X D, Wang X, et al. Determination of Paeonol in *Cynanchum paniculatum* by high performance capillary electrophoresis [C]. *Changsha: International Conference on Advances in Energy*, 2015: 715-718.
- [12] Liu H X, Fan Q H, Zhang Y P, et al. Determination of paeonol in huangliansu tablets by capillary electrophoresis [C]. *Changsha: International Conference on Advances in Energy*, 2015: 711-714.
- [13] 张瑞,犹卫,彭娟,等. 丹皮酚在 APTS 与离子液体复合修饰碳糊电极上的电化学性质及电分析方法 [J]. *分析测试学报*, 2014, 33(2): 150-155.
- [14] Wang X H, Huang W S, Li Q F, et al. Highly sensitive determination of paeonol using porous alumina microfibers modified electrode [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2017, 801: 98-103.
- [15] Sun D, Wang S. Highly sensitive electrochemical sensor for paeonol using NMP-exfoliated graphene-modified electrode [J]. *Ionics*, 2015, 21: 2905-2910.
- [16] 冯芸,张瑞,张龙,等. 丹皮酚在十二烷基苯磺酸钠现场自组装膜与离子液体复合修饰碳糊电极上的电化学性质及电分析方法 [J]. *分析科学学报*, 2015, 31(1): 23-27.
- [17] 陈美凤,孙章华,程道娟,等. 聚 $\gamma$ -氨基丁酸修饰电极测定食品中的莱克多巴胺 [J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(20): 262-266.
- [18] 郑新宇,周学酬,苏妍,等. 聚 4-氨基丁酸修饰电极的制备及其对多巴胺的测定 [J]. *分析试验室*, 2013, 32(5): 25-28.
- [19] Yang D G, Zhu L D, Jiang X Y, et al. Sensitive determination of Sudan I at an ordered mesoporous carbon modified glassy carbon electrode [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2009, 141(1): 124-129.
- [20] 王晔,吴剑,李端,等. 丹皮酚的电化学氧化及其反应机理研究 [J]. *分析化学*, 2006, 34(9): 1331-1334. ■

欢迎订阅《现代化工》杂志,邮发代号 82—67。