

# Ni 电极电化学流通池检测四环素类药品的研究

潘丹梅<sup>1</sup>, 胡荣宗<sup>1\*</sup>, 韦冬萍<sup>1,2</sup>, 丁昊冬<sup>1</sup>

(1. 厦门大学化学系 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005;

2. 广西民族大学化学与生态工程学院, 广西 南宁 530006)

**摘要:** 比较 Au、GC 和 Ni 电极对四环素的电化学响应, 讨论了纯 Ni 电极对四环素的电催化氧化特性, 提出以纯 Ni 为工作电极的电化学流通池, 优化结构, 建立了测定四环素类抗生素的电化学流通池安培检测法. 该方法对四环素、土霉素和强力霉素都有较高的响应灵敏度, 线性范围 0.1 ~ 15 mg/L. 最低检出限分别为 35、45 和 43  $\mu\text{g/L}$ . 用此方法可以直接测定四环素类药品的含量.

**关键词:** 镍电极; 四环素; 电催化氧化; 电化学流通池

**中图分类号:** O 657.1

**文献标识码:** A

四环素类抗生素 (TCs) 是一族大量用于预防和治疗禽畜疾病的广谱抗生素. 在禽畜养殖中 TCs 常作为饲料添加剂, 可以防止肠道感染和促进生长, 但容易导致耐药性和药物残留. 关于 TCs 的检测, 电化学方法以其快速、简便、灵敏度高、运行成本低等优点而备受关注. 电化学检测器常用的工作电极多为玻碳 (GC)、Au、Pt 和 Ag, 其中 Au 和 GC 电极对 TCs 有较好的电化学氧化响应, 但响应的氧化峰电势偏高. 研究表明, 在强碱介质中 Ni 对多羟基化合物有电催化氧化作用<sup>[1]</sup>, 而且纯 Ni 电极能够明显地降低四环素的氧化峰电势且响应灵敏. 据此本文提出了以纯 Ni 为工作电极的电化学流通池, 用于 TCs 药物含量的检测, 结果令人满意, 相关研究至今未见报道.

## 1 实验部分

### 1.1 实验仪器与试剂

电化学测试使用 CHI631b 电化学分析仪 (上海辰华); 三电极系统: 工作电极分别为 Au、GC 和纯 Ni 电极, Ag/AgCl 电极为参比电极, 铂电极为辅助电极; YSB-2 平流泵 (中科院上海原子核所科学仪器厂) 用于输送载液.

标准品: 四环素 (TC), 土霉素 (OTC), 强力霉

素 (DC) (上海生工生物工程技术服务公司). 药品: 四环素片 (成都锦华药业公司, 批号: H51022189), 土霉素片 (南宁康诺生化制药公司, 批号: H45020450), 强力霉素片 (江苏联环药业公司, 批号: H32021266). 其他试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水.

### 1.2 电化学流通池的研制

图 1 为本实验室研制的电化学流通池结构示意图, 池体为平面薄层结构, 由两片平板 PVC 塑料和夹在其中的聚四氟乙烯垫片组成, 可以通过调节垫片的厚度来控制流通池死体积. 系统运行时载液从进口流入, 依次流经工作电极、辅助电极和参比电极, 之后由出口排出.

### 1.3 实验方法

1) 分别以 Au 电极或 GC 电极在 0.05 mol/L 磷酸缓冲溶液 (pH = 2.5) 中于 0.0 ~ +1.3 V 电势区间 (vs. Ag/AgCl, 下同), 以纯 Ni 电极在 0.10 mol/L NaOH 溶液中于 0.0 ~ +0.6 V 电势区间作线性扫描伏安 (LSV) 测试, 扫描速率均为 100 mV/s.

2) 以纯 Ni 为工作电极作电流 ~ 时间 ( $i \sim t$ ) 变化测试.

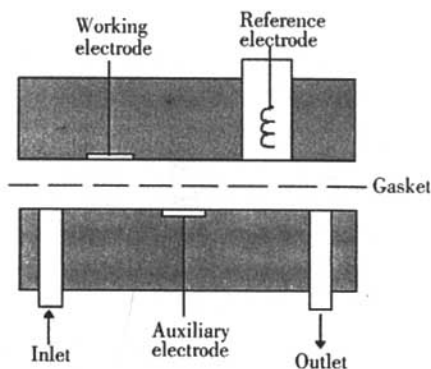


图 1 电化学检测流通池结构示意图  
Fig. 1 Structure of the flow-through electrochemical detection cell

### 1.4 样品测定

取待测药片 10 片,准确称量后研磨成细粉.称取细粉 0.1000 g 充分溶解.过滤后的滤液定容于 100 mL 容量瓶.取 100  $\mu$ L 溶液,用 0.10 mol/L NaOH 定容于 10 mL 容量瓶,待测.另按给定量加入标准品,备作回收率实验.

## 2 结果与讨论

### 2.1 几种电极对 TC 的电化学响应

#### 1) Au 和 GC 电极对 TC 的响应

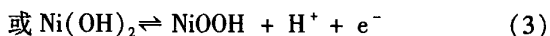
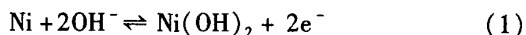
文献[2]报道了以 Au 电极为工作电极用脉冲安培法检测四环素.本文改以 LSV 方法作 TC 测试,图 2a 示出在 Au 电极上 TC 氧化峰电势约

+1.15 V,该电势很接近氧电势,故受析氧过程影响较大;况且,在此高电势下,电极表面会因生成氧化产物而受到严重污染,检测灵敏度不能达到要求.

GC 电极是另一种常见的工作电极,文献报道应用活化后的 GC 电极(PGC)检测 TC<sup>[3]</sup>.倘如改用 LSV 方法,则如图 2b 所示,TC 的氧化峰电势为 +1.0V,也和 Au 电极一样受到析氧过程的影响而不利检测.此外,该测试过程还要频繁拆卸流通池重新抛光、活化 GC 电极以保持对 TC 的响应灵敏度.

#### 2) Ni 电极对 TC 的响应

纯 Ni 电极在 0.10 mol/L NaOH 溶液中的 LSV 曲线显示一个稳定的氧化峰,峰电势  $E_{pa}$  约为 0.46 V,该峰可指认为 Ni<sup>II</sup>/Ni<sup>III</sup>电对的氧化还原<sup>[4]</sup>:



如于上述 NaOH 溶液中加入 TC,则对应的氧化峰电流明显上升(见图 3a).这是因为,TC 是多羟基化合物,它能和 Ni 电极表面形成的 Ni<sup>III</sup>(NiOOH)发生反应生成不稳定的中间产物,并在电极上进一步被氧化所致.反应式为:

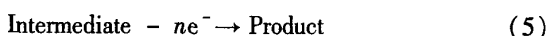
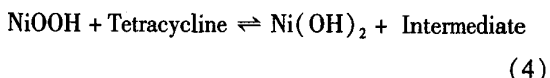


图 3b、3c 显示 OTC 和 DC 也有类似 TC 的响应.

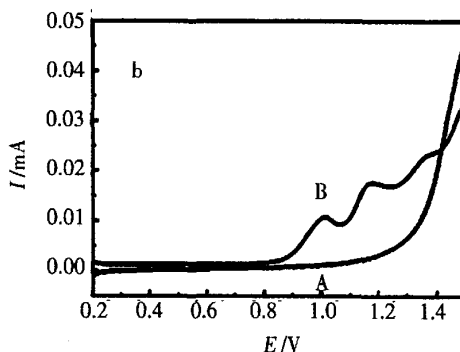
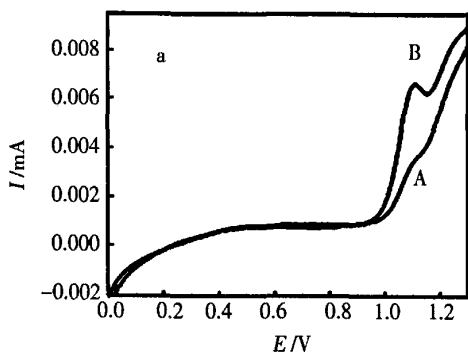


图 2 Au 电极(a)和玻碳电极(b)在 0.05 mol/L 磷酸缓冲溶液 (pH=2.5)(A)和含有 10 mg/L TC 的磷酸缓冲溶液 (B)的线性扫描伏安曲线

Fig. 2 Linear sweep voltammograms at Au electrode(a) and GC electrode(b) in 0.05 mol/L phosphate buffer solution(A) (pH=2.5) and buffer solution containing 10 mg/L TC(B)

比较图 2 和图 3a 可知,纯 Ni 电极对 TC 的响应电流明显比 Au 或 GC 电极的更灵敏,而且峰电势负移了许多.另一方面,尽管有许多 Ni 修饰电极,例如氢氧化镍修饰电极 (NiCME)<sup>[5]</sup>、铁氰化镍修饰电极 (NiHCF)<sup>[6]</sup> 以及 [Pt]-Ni(II) 电极<sup>[7]</sup>,都能够改进它的性能,但是在流动体系中修饰层容易脱落不利于长时间检测.实验证明,与 Au、GC 以及其他的 Ni 修饰电极相比,纯 Ni 电极对 TC 有更优良的电催化氧化性能且峰电流响应更灵敏.这是因为,以钝态的金属作电极,其氧化过程生成的产物不容易污染电极表面,电极不需要经常抛光、活化,因而性能稳定、使用寿命长,更适合作为电化学流通池检测 TCs 的工作电极.

参照图 3 中 TC、OTC 和 DC 显示的氧化峰电势,将电势恒定于 +500 mV,于 0.10 mol/L NaOH 溶液中逐次加入 1 mg/L 的 TC,记录响应的  $i-t$  曲线.随着溶液中 TC 浓度的增加,电流响应灵敏且在 30 s 内保持稳定,电流响应值与溶液中 TC 的浓度呈线性关系.OTC 和 DC 的响应情况与其类似,结果如图 4 所示.

### 2.2 实验条件的选择

#### 1) 电化学流通池结构优化

死体积和电极间的相对位置是影响流通池性能的重要参数.缩小流通池的垫片厚度,检测器的死体积也同时减小,响应电流随之增加,电化学检测器的灵敏度大大提高,本文选择 0.1 mm 的垫片.当工作电极和辅助电极之间距离增加时,响应值提高,基线稳定,噪音小.但两者距离太大会导致电流分布不均匀和较高的电阻电势降.本文最终选定两者距离为 10 mm,此时流通池死体积约为 5  $\mu$ L.

#### 2) 检测电势选择

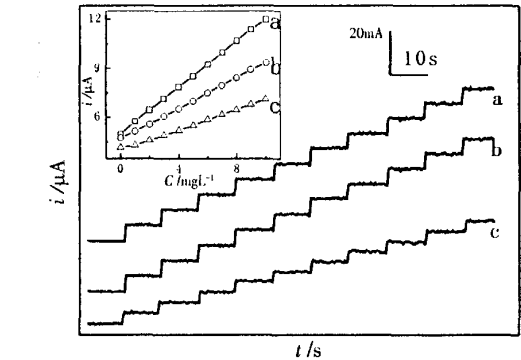


图 4 于 0.10 mol/L NaOH 溶液中逐次加入浓度递增为 1mg/L 的 TC (a), OTC (b) 和 DC (c)  $i-t$  曲线

Fig. 4 Current-time recordings obtained from an increasing concentration in 1 mg/L step for TC (a), OTC (b), DC (c) electrolyte: 0.10 mol/L NaOH

检测电势小于 +450 mV 时,几乎没有电流响应.随着电势增大,TC 的电流响应值增加.电势大于 +550 mV 时,受到析氧过程的影响,背景电流(噪音)明显增加.本文检测电势选择为 +500 mV.

#### 3) 载液浓度的选择

增加 NaOH 溶液浓度,电极响应峰电流随之增加,但浓度偏高又会导致背景电流增大.较高的背景电流不利于 Ni 电极对 TC 的响应,本文选择 0.1 mol/L NaOH 溶液作为载液.

#### 4) 载液流速的选择

当载液流速从 0.5 mL/min 增加到 1.0 mL/min 时,TC 的响应峰电流明显增加.之后响应峰电流增加趋缓.因为流速增大,流体边界层和扩散层同时变薄,促使传质速率加快,使峰电流增加.但流速太快必然导致电解效率降低,并伴随背景电流及噪音显著增大.本文选定的流速为 1.0 mL/min.

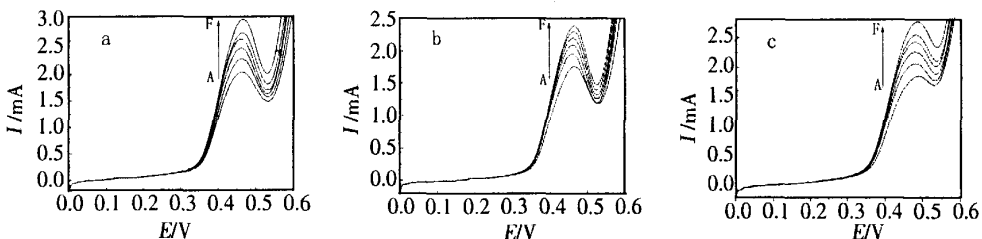


图 3 纯 Ni 电极在含有不同抗生素的 0.10 mol/L NaOH 溶液中的线性扫描伏安曲线

Fig. 3 Linear sweep voltammograms of the Ni electrode in 0.10 mol/L NaOH containing different antibiotics (a) TC; (b) OTC; (c) DC; Concentration of antibiotics/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (A ~ F): 0, 1, 3, 5, 7, 10

表1 药物含量以及样品回收率测定结果

Tab.1 Determination results of drug formulations and recovery of samples

Drug formulations	Label amount /mg	Found/mg ( $\bar{X} \pm S$ )	RSD/% ( $n=7$ )	Added /mg	Found /mg	Recovery/%
TC	250.0	268.3 $\pm$ 4.6	1.70	67.2	70.1	104.2
OTC	125.0	122.2 $\pm$ 5.2	3.22	37.8	39.7	105.1
DC	100.0	103.1 $\pm$ 5.0	3.18	47.2	49.7	105.3

## 2.3 线性关系和检出限

以自制的电化学流通池用于流动体系安培分析法,记录响应峰电流随浓度变化情况,绘制标准工作曲线.图5给出TC的流动体系安培响应,图中给出不同TC浓度的响应曲线.计算表明,在0.1~15 mg/L范围内,响应峰电流与浓度成良好的线性关系,回归方程为  $i_p = 0.4522C + 0.5260$  ( $i_p$  为  $1 \times 10^{-7}$  A,  $C$  为 mg/L),  $R=0.9978$ . 同时 OTC 和 DC 也都有良好的响应,回归方程分别为,  $i_p = 0.4422C + 0.1902$ ,  $i_p = 0.4563C + 0.1815$ , 相关系数各为 0.9985, 0.9983. 据此可得 TC, OTC, DC 的检出限 ( $S/N=3$ ) 分别为 35, 45, 43  $\mu\text{g/L}$ .

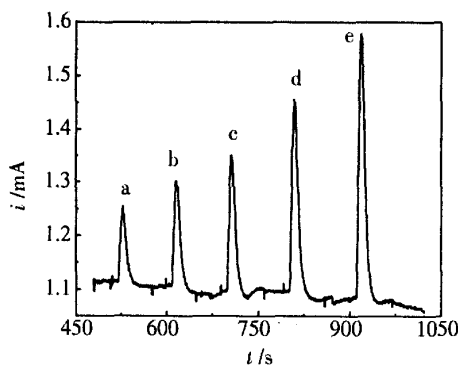


图5 不同浓度TC的安培响应

a)1, b)3, c)5, d)7, e)10 mg/L

Fig.5 Amperometric response to TC with different concentrations/mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>

a)1, b)3, c)5, d)7, e)10

## 2.4 干扰实验

$\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 等金属离子以及乙腈等对四环素类抗生素的检测没有明显影响.

## 3 样品测定及回收率实验

按照1.4方法测定3种四环素类药品的含量,根据标准曲线法求得各种药品的含量以及回收率,

结果见表1.

以上表明,应用Ni电极电化学流通池对四环素类药物进行检测,方法简单可靠,能够快速准确测定出药物中抗生素的含量.

## 4 结论

选用对四环素有良好的电催化氧化作用的纯Ni为工作电极,研制了电化学流通池.相关的电化学实验证实:这种新型的电化学流通池在检测四环素类抗生素时,线性范围较宽,检测下限低于50  $\mu\text{g/L}$ .该流通池为检测四环素类抗生素建立了一种高灵敏度的流动体系安培检测法,灵敏度高,检出限低,可用于四环素类药物的直接检测.

## 参考文献(References):

- [1] El-Shafei A A. Electrocatalytic oxidation of methanol at a nickel hydroxide/glassy carbon modified electrode in alkaline medium [J]. *Electroanalytical Chemistry*, 1999, 471:189.
- [2] Sanit Palaharn, Orawon Chailapakul. Flow injection analysis of tetracycline in pharmaceutical formulation with pulsed amperometric detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2003, 499:191.
- [3] Hou Wei-Ying, Wang Er-Kang. Liquid chromatographic determination of tetracycline antibiotics at an electrochemically pre-treated glassy carbon electrode [J]. *Analyt*, 1989, 114:699.
- [4] Chen Mei-Cheng, Huang Hsuan-Jung. Application of a nickel-microelectrode-incorporated end-column detector for capillary electrophoretic determination of alditols and alcohols [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1997, 341(1): 83.
- [5] Liu You-Qin(刘有芹), Shen Han-Xi(沈含熙). Preparation of nickel hydroxide modified glassy carbon electrode and its electrochemical behavior [J]. *Journal of Analytical Science*, 2005, 21(4): 378.

- [6] Wang Shen-Fu (王升富), Jiang Mian (蒋勉), Zhou Xing-Xiao (周性晓). The electrocatalytic oxidation of dopamine on nickel hexacyanoferrate film modified electrode[J]. *Journal of Analytical Science*, 1994, 10(1): 15.
- [7] Chai Li-Fen (蔡丽芬), Chen Yan-Zhen (陈衍珍), Gao Yuan-Zhong (高远忠). Studies on [Pt]-Ni(II) electrode[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 1991, 12:1675.

## Determination of Tetracyclines Based on the Flow-through Electrochemical Detection Cell with Nickel Electrode

PAN Dan-mei<sup>1</sup>, HU Rong-zong<sup>1\*</sup>, WEI Dong-ping<sup>1,2</sup>, DING Hao-dong<sup>1</sup>

(1. *Department of Chemistry and the MOE Key Laboratory of Analytical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China,*

2. *College of Chemistry and Ecological Engineering, Guangxi University for Nationalities, Nanning 530006, Guangxi, China*)

**Abstract:** The electrochemical responses to tetracycline at the nickel electrode in alkaline solution were compared with that of gold and glassy carbon electrode by voltammetry. The electrocatalytic oxidation characteristics of tetracycline at nickel electrode were discussed. Subsequently a flow-through amperometric detection cell with nickel as the working electrode was designed to detect tetracycline, oxytetracycline, and doxycycline. Standard calibration graphs for the tetracyclines yielded linear ranges of 0.1 ~ 15 mg/L. Detection limits ( $S/N = 3$ ) of 35, 45 and 43  $\mu\text{g/L}$  were obtained for tetracycline, oxytetracycline and doxycycline, respectively. The system was applied for the determination of the three antibiotics in single-component drug formulations.

**Key words:** nickel electrode; tetracyclines; electrocatalytic oxidation; flow-through cell