

12. RF State Standard GOST R 54153–2010. Stal'. Metod atomno-émissi-onnogo spektral'nogo analiza [Steel. Method of atomic emission spectral analysis]. — Moscow: Standartinform, 2012. — 32 p. [in Russian].
13. Romanova N. B., Pechishcheva N. V., Shunyaev K. Yu., Titov V. I., Gundobin N. V. Determining low concentration of Zr, Ce, La, and Y in heat-resistant nickel alloys by inductively coupled plasma atomic emission / Inorg. Mater. 2012. Vol. 48. N 15. P. 1315 – 1319.
14. Maiorova A. V., Pechishcheva N. V., Shunyaev K. Yu., Bunakov A. V. Razrabotka metodiki ISP-AÉS opredeleniya vol'frama v ferrovol'frame s ispol'zovaniem termodinamicheskogo modelirovaniya [Development of the tungsten ICP-AES determination in ferrotungsten procedure using thermodynamic modeling] / Analitika Kontrol'. 2014. Vol. 18. N 2. P. 136 – 149 [in Russian].
15. Elinson S. V., Petrov K. I. Analiticheskaya khimiya tsirkoniya i gafniya [Analytical chemistry of zirconium and hafnium]. — Moscow: Nauka, 1965. — 240 p. [in Russian].
16. Organization Standard STO 1/2015. Metodika izmerenii massovoi doli kisloroda v stalyakh, v medno-tsirkonievyykh i medno-tsirkoniovo-aluminiyevyykh splavakh s primeneniem gazoanalizatora ELTRA ONH-2000 [Method for determination of mass fraction of oxygen in steel, copper-zirconium and copper-zirconium-aluminum alloys using a gas analyzer ELTRA ONH-2000]. — Yekaterinburg: Izd. IMET UrO RAN, 2015. — 16 p. [in Russian].
17. Kucharkowski R., Vogt. C. Simultaneous ICP atomic emission spectrometry for accurate stoichiometric determination: application to a YNi₂B₂C superconducting material system / J. Anal. At. Spectrom. 2002. Vol. 17. N 3. P. 263 – 269.
18. Maiorova A. V., Vorontsova K. A., Pechishcheva N. V., et al. Razrabotka metodiki opredeleniya oksida kremniya v rudnom syr'e metodom atomno-émissionnoi spektroskopii s induktivno-svyazannoi plazmoi [Determination of silica in ore raw materials by atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma] / Zavod. Lab. Diagn. Mater. 2013. Vol. 79. N 12. P. 9 – 15 [in Russian].
19. Vatolin N. A., Moiseev G. K., Trusov B. G. Termodinamicheskoe modelirovanie v vysokotemperaturnyykh neorganicheskikh sistemakh [Thermodynamic modeling in high-temperature inorganic systems]. — Moscow: Metallurgiya, 1994. — 353 p. [in Russian].
20. Podchainova V. N., Simonova L. N. Med' [Copper]. — Moscow: Nauka, 1990. — 279 p. [in Russian].

УДК 543.55.054.1

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

© И. О. Максимчук, Г. Б. Слепченко¹

Статья поступила 12 мая 2015 г.

Разработан способ определения молочной кислоты методом инверсионной вольтамперометрии на ртутно-пленочном и модифицированном стеклоуглеродном электродах. Выбраны условия определения, изучено влияние сопутствующих гидроксикарбоновых кислот на аналитический сигнал молочной кислоты. Предложенный способ применен для определения молочной кислоты в ветеринарных препаратах на ртутно-пленочном электроде, правильность результатов анализа подтверждена методом «введено – найдено». Диапазон определяемых концентраций составляет от 2 до 100 г/дм³.

Ключевые слова: молочная кислота; вольтамперометрия; стеклоуглеродный электрод; ртутно-пленочный электрод; модификатор; ветеринарные препараты; методика определения.

Молочная кислота (МК) в некотором количестве всегда присутствует в организме человека, выделяясь при анаэробных нагрузках в клетках мышечных волокон. Повышение концентрации молочной кислоты в крови является индикатором ряда заболеваний. В медицине молочную кислоту применяют в качестве антибактериального агента в борьбе с гемолитическим стафилококком и стрептококком при обработке процедурных кабинетов и палат. В пищевой промышленности МК широко используют как консервант (Е-270) при заготовлении плодов и овощей, для антимикробной обработки при производстве рыбы, мяса и продуктов из них. В пивоваренной отрасли МК применяют для наибольшего извлечения экстрактивных веществ из солода, улучшения органолептических свойств. Она незаменима в кондитерской промышленности и при изготовлении хлеба. В ветеринарии молочную кислоту

используют как основу лекарственных препаратов внутреннего и наружного применения для ухода за крупным рогатым скотом и другими животными, а в сельском хозяйстве — для улучшения вкусовых качеств и питательности заготавливаемых влажных кормов и в качестве альтернативы антибиотикам для обеззараживания кормов, воды и молока для животных.

В связи со столь широким применением молочной кислоты, в том числе и в диагностировании заболеваний, как никогда актуально ее простое, быстрое и экономически выгодное определение в различных объектах. В настоящее время основными методами определения МК являются титриметрический [1], хроматографический [2 – 4] и метод капиллярного электрофореза [5, 6]. Метод титриметрии основан на косвенном определении и включает в себя выполнение большого количества операций с соблюдением жестких условий. Один из способов хроматографи-

¹ Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия; e-mail: microlab@tpu.ru

ческого определения молочной кислоты предусматривает разделение на сульфокатионообменнике с последующим спектрофотометрическим детектированием. В качестве элюента используют 5–20 мМ серную кислоту с добавлением 1–10 % об. ацетонитрила, разделение проводят при температуре 50–70 °С. Для определения методом газожидкостной хроматографии молочную, янтарную и бета-оксимасляную кислоты непрерывно экстрагируют из подкисленного водного экстракта пробы диэтиловым эфиром, при этом получают производные кислот в виде их изопропиловых эфиров, для их разделения и определения используют насадочную колонку и внутренний стандарт. Метод капиллярного электрофореза при определении органических кислот основан на миграции и разделении анионных форм анализируемых компонентов под действием электрического поля вследствие их различной электрофоретической подвижности. Для детектирования кислот используют косвенный метод, регистрируя поглощение в ультрафиолетовой области спектра при 254 или 270 нм, этот способ в основном применяют для определения молочной кислоты в безалкогольной и алкогольной продукции. Очевидно, что данные методы требуют либо больших финансовых затрат на оборудование и реактивы, либо в связи с большим количеством манипуляций отнимают значительное время на проведение единичного анализа. В то же время в последние годы все большее распространение находят методы вольтамперометрического определения органических субстанций в лекарственных препаратах и биологических объектах [7–9]. Метод вольтамперометрии (ВА) является достаточно экспрессным, не требует особых финансовых затрат на приобретение оборудования и, как правило, использует недорогие реактивы и материалы. Этот метод позволяет определять вещества в растворах в широком диапазоне концентраций, поэтому он находит все более широкое применение в рутинном лабораторном анализе.

Целями работы являлись изучение возможности вольтамперометрического определения молочной кислоты и разработка соответствующей методики для анализа ветеринарных препаратов.

Все измерения проводили с использованием вольтамперометрических комплексов «СТА» (ООО «ИТМ», г. Томск). Комплекс «СТА» состоит из блока питания и блока электрохимических ячеек, рассчитанных на одновременное проведение трех параллельных определений. Каждая электрохимическая ячейка представляет собой кварцевый стаканчик, в который опускают рабочий электрод и электрод сравнения, также есть возможность введения в систему вспомогательного электрода и инертного газа для барботирования раствора.

Изучали поведение молочной кислоты на углеродсодержащих (графитовых импрегнированных и стеклоуглеродных игольчатых) и металлических (серебряных и ртутно-пленочных) электродах. Применяли

растворы фоновых электролитов различной природы с широким диапазоном значений pH. Все используемые реактивы имели квалификацию хч или чда. Использовали раствор концентрированной L(–)-молочной кислоты с массовой долей 79 %, реактив содержал незначительные количества ионов свинца, хлорид-ионов и винной кислоты. Измерения проводили в двух- и трехэлектродной системах. Электродом сравнения служил хлоридсеребряный электрод, заполненный раствором хлорида калия (насыщенным или с концентрацией 1 моль/дм³). Определение проводили как в присутствии в фоновом электролите растворенного кислорода, так и при его удалении путем барботирования раствора инертным газом.

Нами получены вольтамперограммы раствора молочной кислоты в двухэлектродной системе, в которой рабочим был ртутно-пленочный электрод (РПЭ), и в трехэлектродной системе со стеклоуглеродным электродом (СУЭ). Для выбора фонового электролита исследован ряд растворов солей и кислот с различными значениями pH и катионно-анионным составом: соляной кислоты (0,1 моль/дм³, pH 1), ацетатный буферный раствор (pH 4,0–5,4), раствор Бриттона – Робинсона (pH 2,3; 9,5), цитрата аммония (0,01–0,5 моль/дм³, pH 7), гидрофосфата натрия (0,01–0,1 моль/дм³, pH 6,6–7,6), хлорида калия (0,01–1,0 моль/дм³, pH 5,5–6,7), гидроксида натрия (0,01–0,1 моль/дм³, pH 12–13). В случае большинства фоновых электролитов не удалось зарегистрировать аналитический сигнал молочной кислоты. Таким образом, оказалось существенным влияние pH раствора электролита — все полученные сигналы были зарегистрированы в кислых или слабокислых растворах, в щелочных средах аналитический сигнал молочной кислоты обнаружить не удалось. Для ртутно-пленочного электрода оказалось существенным влияние как pH раствора электролита, так и солевого состава: сигналы МК наиболее устойчивы на фоне растворов соляной кислоты и хлорида калия в диапазоне концентраций 0,05–0,1 моль/дм³. В результате проведенных исследований фоновым электролитом в двухэлектродной системе был выбран раствор хлорида калия (0,1 моль/дм³), в трехэлектродной — раствор гидрофосфата натрия такой же концентрации.

На рис. 1 представлены полученные вольтамперограммы молочной кислоты на РПЭ.

Как видно из рис. 1, катодный пик молочной кислоты, определяемой на РПЭ, приходится на потенциал –1,0 В. Так как МК — оптически активное вещество, были использованы растворы L(–)- и D(–)-изомеров и их смесей, в ходе эксперимента установлено, что на аналитический сигнал МК не влияет ее оптическая активность.

Далее изучили кинетику накопления молочной кислоты, получив зависимости катодного тока пика от потенциала накопления (рис. 2).

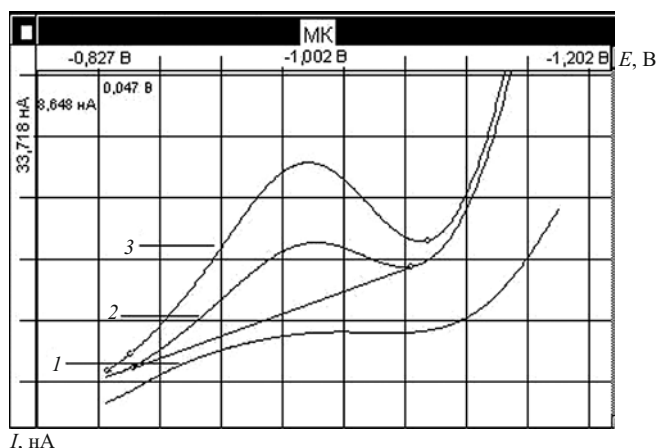


Рис. 1. Вольтамперограммы раствора молочной кислоты (фон — 0,1 М раствор KCl): 1 — фон; 2 — фон + 2 г/дм³ МК; 3 — фон + 4 г/дм³ МК

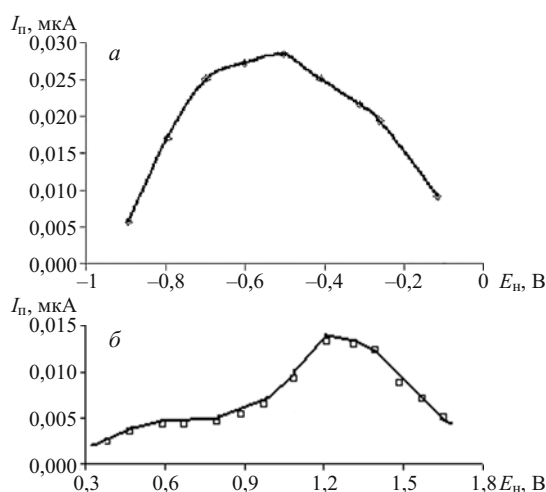


Рис. 2. Зависимость тока пика от потенциала накопления молочной кислоты: а — на рутно-пленочном электроде (фон — 0,1 М раствор KCl, $C_{МК} = 5$ г/дм³); б — на стеклоуглеродном электроде (фон — 0,1 М раствор Na_2HPO_4 , $C_{МК} = 5$ г/дм³)

Из рис. 2 видно, что значение аналитического сигнала максимально в области потенциалов от $-0,6$ до $-0,4$ В (РПЭ) и от $1,2$ до $1,4$ В (СУЭ). Таким образом, для дальнейших исследований были выбраны потенциалы накопления, равные $-0,6$ и $1,2$ В соответственно. Следует также отметить, что максимальное значение регистрируемого тока при использовании стеклоуглеродного электрода примерно в полтора-два раза ниже, чем при использовании РПЭ.

На рутно-пленочном электроде наибольшие значения аналитического сигнала получены при времени электролиза 1 с. При увеличении времени накопления ток пика молочной кислоты уменьшается и при накоплении более 30 с выходит на постоянные значения. На стеклоуглеродном электроде максимальный ток достигается при накоплении в течение 30 с.

Поскольку при определении МК на РПЭ зависимости значения тока пика молочной кислоты от вре-

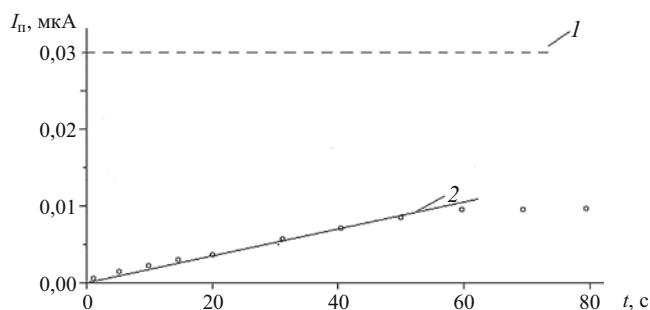


Рис. 3. Зависимость высоты тока пика МК от времени нахождения РПЭ в растворе МК (фон — 0,1 М раствор KCl; $E_n = -0,6$ В): 1 — в растворе МК ($C = 5$ г/дм³) при наложении потенциала; 2 — в фоновом электролите при предварительном адсорбировании МК на поверхности электрода без наложения потенциала из раствора с $C_{МК} = 5$ г/дм³

мени накопления практически не наблюдается, можно сделать вывод о протекающих на электроде адсорбционных процессах, о наличии которых также свидетельствует и характер зависимости катодного тока МК от времени выдержки электрода в ее растворе. При проведении эксперимента РПЭ погружали в раствор молочной кислоты на определенные промежутки времени (10 – 90 мин), после чего споласкивали и переносили в фоновый электролит, проводили электровосстановление и регистрировали вольтамперограмму, определяя количество молочной кислоты, адсорбированной на поверхности электрода (рис. 3).

Из зависимостей, представленных на рис. 3, видно, что значение тока в случае предварительной адсорбции приблизительно составляет 15 – 25 % от значения тока, зарегистрированного в растворе, содержащем исходную концентрацию МК.

Рутно-пленочный электрод широко применяется в вольтамперометрическом анализе, однако в последнее время наблюдается переход от использования токсичных веществ к применению экологически безопасных. Поэтому в нашей работе наибольший интерес представляла возможность применения нетоксичного стеклоуглеродного электрода. Для увеличения чувствительности электрода было предложено провести его поверхностную модификацию. Известны работы [8, 9], в которых для модифицирования СУЭ применяли соли арилдиазоний тозилатов $ArN_2^+OTs^-$. В данной работе мы получили поверхностно модифицированные СУЭ путем их выдерживания в течение 5 – 10 с в водных растворах диазониевых солей $4-RC_6H_4N_2^+TsO^-$ (где R — COOH; NH_2 ; NO_2) с концентрацией 30 мг/дм³. В результате на поверхности электрода формируются ковалентно связанные с углеродом органические слои, содержащие три типа функциональных групп — СУЭ-Ph-COOH, СУЭ-Ph-NH₂ и СУЭ-Ph-NO₂. На рис. 4 представлены градуировочные зависимости для определения молочной кислоты на различных углеродсодержащих электродах с модифицированной поверхностью.

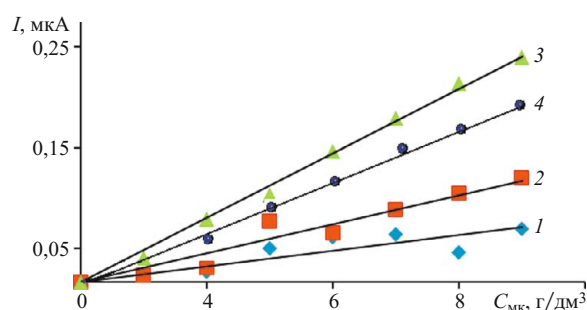


Рис. 4. Градуировочные зависимости для определения молочной кислоты (фон 0,1 М раствор Na_2HPO_4 , $t_n = 30$ с, $E_3 = 1,4$ В): 1 — на СУЭ-Ph- NO_2 ; 2 — на СУЭ-Ph- COOH ; 3 — на СУЭ-Ph- NH_2 ; 4 — на СУЭ

Как оказалось, электроды, модифицированные 4- $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ солями, обладают более высокой чувствительностью сравнительно с исходным стеклоуглеродным электродом, тогда как для остальных типов функциональных групп чувствительность более низкая.

В табл. 1 представлены условия вольтамперометрического определения молочной кислоты в зависимости от типа индикаторного электрода.

Соответствующие градуировочные зависимости показаны на рис. 5.

Исходя из градуировочных зависимостей (см. рис. 5), для определения МК предпочтительно использовать ртутно-пленочный электрод и стеклоуглеродный электрод, модифицированный фенилдиазоний тозилатом с заместителем в пара-положении аминогруппой. Линейный динамический диапазон составляет для СУЭ — от 5 до 130 г/дм³, для СУЭ-Ph- NH_2 — от 2 до 150 г/дм³, для РПЭ — от 2 до 200 г/дм³.

Согласно стандарту [1] вырабатываемая молочная кислота может содержать ряд примесей. Поэтому изучили влияние ряда гидроксикарбоновых кислот, сопутствующих производимой молочной кислоте в природных объектах, продуктах брожения и организме человека, а также некоторых ионов (хлоридов, сульфата-

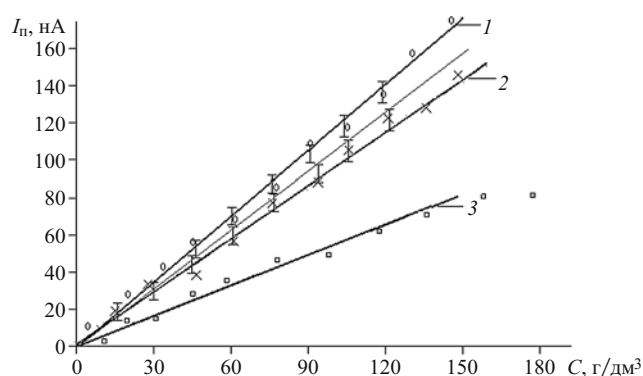


Рис. 5. Градуировочные зависимости для определения молочной кислоты: 1 — на РПЭ ($E_n = -0,6$ В, $t_n = 1$ с); 2 — на СУЭ-Ph- NH_2 ($E_n = 1,4$ В, $t_n = 30$ с); 3 — на СУЭ ($E_n = 1,2$ В, $t_n = 30$ с)

тов, катионов железа, свинца, кадмия), присутствующих в растворах молочной кислоты и регламентируемых стандартом [1]. Было отмечено, что на значение аналитического сигнала МК влияло присутствие десятикратного избытка винной кислоты, присутствие щавелевой и лимонной кислот не оказывало значительного влияния. При введении в модельные растворы ионов тяжелых металлов и указанных анионов в различных соотношениях аналитический сигнал молочной кислоты не изменялся.

На основе проведенных исследований предложена методика определения молочной кислоты на ртутно-пленочном электроде в водных растворах, так как в случае РПЭ результаты определения МК обладают лучшими повторяемостью и точностью в сравнении с модифицированным стеклоуглеродным электродом. Правильность определения проверяли методом «введено — найдено». Модельные растворы готовили на основе дистиллированной воды из образца раствора молочной кислоты (страна-производитель — Китай) с концентрацией 790 г/дм³ (определенной по стандарту [1]), который содержал незначительные количества ионов свинца, хлорид-ионов и винной кислоты. Готовые ветеринарные препараты, прозрачные бесцветные

Таблица 1. Вольтамперометрические условия определения молочной кислоты

Тип электрода	Схема	Удаление кислорода	Фоновый электролит	Потенциал накопления, В	Потенциал пика, В
СУЭ, СУЭ-Ar- NH_2	Трехэлектродная, вспомогательный хлоридсеребряный	Барботаж азотом	0,1 М Na_2HPO_4	1,2 – 1,4	0,20 – 0,35
Ртутно-пленочный	Двухэлектродная		0,1 М KCl	(–0,7) – (–0,4)	(–0,95) – (–1,10)

Таблица 2. Результаты определения молочной кислоты на ртутно-пленочном электроде в условиях повторяемости ($n = 3$; $P = 0,95$)

Проба	Содержание МК, г/дм ³			Δ , %
	По рецептуре	Введено	Найдено	
Модельный раствор 1	Менее 10^{-3}	2	$2,08 \pm 0,41$	19,7
Модельный раствор 2	Менее 10^{-3}	100	$99,5 \pm 14,2$	14,3
Ветеринарный препарат 1	40	—	$37,1 \pm 5,8$	15,6
Ветеринарный препарат 2	20	—	$17,9 \pm 3,3$	18,4

растворы без ярко выраженного запаха, были предоставлены ветеринарной службой области. Результаты анализа представлены в табл. 2.

Таким образом, исследована возможность вольтамперометрического определения молочной кислоты на ртутно-пленочном электроде на фоне 0,1 М раствора хлорида калия, а также на стеклоуглеродном и модифицированных стеклоуглеродных электродах на фоне 0,1 М раствора гидрофосфата натрия в диапазоне концентраций от 2 до 200 г/дм³. Разработанная методика с применением ртутно-пленочного электрода предполагает определение молочной кислоты в водных растворах в диапазоне концентраций от 2 до 100 г/дм³, при этом общая относительная погрешность не превышает 20 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ 490–2006. Кислота молочная пищевая. Технические условия. — М.: Стандартинформ, 2007. — 27 с.
2. ГОСТ 32152–2013. Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы определения содержания янтарной, молочной и 3D-оксимасляной кислот. — М.: Стандартинформ, 2014. — 14 с.
3. Методика выполнения измерений массовой концентрации органических кислот в напитках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии ФР 1.34.2005.01732. — М.: ФГУП «ВНИИМС», 2008.
4. Нестеренко Н. П., Кебес П. А. Определение молочной кислоты методом ионоэкслюзионной хроматографии на сульфированном сверхсшитом полистироле / Вестн. Моск. ун-та. 2002. Т. 34. № 1. С. 34–36.
5. Голубенко А. М. Определение гидроксикарбоновых кислот в продуктах питания методом капиллярного электрофореза / Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 9. С. 866.
6. Phillips M. M., Case R. J., Rimmer C. A., et al. Determination of organic acids in Vaccinium berry standard reference materials / Anal. Bioanal. Chem. 2010. Vol. 398. N 1. P. 425–434.
7. Патент 2180748 РФ G 01 N 27/48. Способ количественного определения левомицетина в пищевых продуктах и фармпрепаратах / Анисимова Л. С., Слипченко В. Ф., Федорчук В. А.; заявитель и патентообладатель Томский политех. ун-т. — № 2000131453/28; заявл. 14.12.2000; опубл. 20.03.2002.
8. Мартынюк О. А., Слепченко Г. Б., Приходько В. А. и др. Возможности применения новых органомодифицированных электродов в контроле качества соков и нектаров / Изв. Томского политех. ун-та. 2011. Т. 318. № 3. С. 65–68.
9. Слепченко Г. Б., Мартынюк О. А., Трусова М. Е., и др. Вольтамперометрическое определение водорастворимых витаминов и флавоноидов на модифицированных тозилатными солями арилдиазония графитовых электродах / Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2009. Т. 75. № 12. С. 11–14.

REFERENCES

1. RF State Standard GOST 490–2006. Kislota molochnaya pishcheyaya. Tekhnicheskie usloviya [Lactic acid for use in foodstuffs. Specifications]. — Moscow: Standartinform, 2007. — 27 p. [in Russian].
2. RF State Standard GOST 32152–2013. Pishchevye produkty pererabotki yaits sel'skokhozyaistvennoi ptitsy. Metody opredeleniya soderzhaniya yantarnoi, molochnoi i 3D-oksimaslyanoi kislot [Foodstuffs of processed poultry eggs. Methods for determination of succinic, lactic and 3D-hydroxybutyric acids]. — Moscow: Standartinform, 2007. — 14 p. [in Russian].
3. Metodika vypolneniya izmerenii massovoi kontsentratsii organicheskikh kislot v napitkakh metodom vysokoéffektivnoi zhidkostnoi khromatografii FR 1.34.2005.01732. [The methodology for measuring the mass concentration of organic acids in beverages by high performance liquid chromatography FR 1.34.2005.01732]. — Moscow: Izd. VNIIMS, 2008 [in Russian].
4. Nesterenko N. P., Kebets P. A. Opredelenie molochnoi kisloty metodom ionoéksklyuzionnoi khromatografii na sul'firovannom sverkhsshitom polistirole [Definition of lactic acid by the method inclusive chromatography on sulfonated hypercrosslinked polystyrene] / Vestnik Mosk. Univ. 2002. Vol. 34. N 1. P. 34–36 [in Russian].
5. Golubenko A. M. Opredelenie gidroksikarbonovykh kislot v produktakh pitaniya metodom kapillyarnogo élektroforeza [Definition hydroxycarboic acids in food by capillary electrophoresis] / Zh. anal. himii. 2012. Vol. 67. N 9. P. 866 [in Russian].
6. Phillips M. M., Case R. J., Rimmer C. A., et al. Determination of organic acids in Vaccinium berry standard reference materials / Anal. Bioanal. Chem. 2010. Vol. 398. N 1. P. 425–434.
7. RF Pat. No. 2180748. Sposob kolichestvennogo opredeleniya levomitsetina v pishchevykh produktakh i farmpreparatakh [Method for the quantitative determination of chloramphenicol in food products and pharmaceuticals] / Anisimova L. S., Slipchenko V. F., Fedorchuk V. A., applicant and owner is Tomsk Politekh. Univ., appl. 14.12.2000, publ. 20.03.2002.
8. Martynyuk O. A., Slepchenko G. B., Prihod'ko V. A., et al. Vozmozhnosti primeneniya novykh organo-modifitsirovannykh élektrodov v kontrole kachestva sokov i nektarov [The use of new organo-modified electrodes to control the quality of juices and nectars] / Izv. Tomsk. Politekh. Univ. 2011. Vol. 318. N 3. P. 65–68 [in Russian].
9. Slepchenko G. B., Martynyuk O. A., Trusova M. E., et al. Vol'tamperometricheskoe opredelenie vodorastvorimykh vitaminov i flavonoidov na modifitsirovannykh tozilatnymi solyami arildiazoniya grafitovykh élektrodakh [Voltammetric Determination of Soluble Vitamins and Flavonoids on Graphite Electrodes Modified with Tosylate Salts of Aryldiazoni] / Zavod. Lab. Diagn. Mater. 2009. Vol. 75. N 12. P. 11–14 [in Russian].