

多巴胺在聚异烟酸修饰玻碳电极上的电化学行为

赵红, 张玉忠, 袁倬斌*

(中国科学技术大学研究生院, 北京 100039)

摘要: 目的 在抗坏血酸(AA)存在下,用聚异烟酸修饰电极测定神经递质多巴胺(DA)。方法 用循环伏安法和示差脉冲伏安法研究 DA 在聚异烟酸膜修饰电极上的伏安行为。结果 聚异烟酸膜修饰电极对 DA 有明显的电催化作用。该修饰电极使 AA 的氧化峰电位负移,与 DA 氧化峰电位分开达 204 mV,从而消除了对 DA 测定的干扰。DA 在该修饰电极上的氧化峰电流与其浓度在 $1.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-5}$ 和 $2.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好线性关系;检测限为 $8.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论 聚异烟酸膜修饰电极使用寿命至少 3 周,可用于实际样品中 DA 的测定。

关键词: 多巴胺;聚异烟酸修饰电极;伏安法

中图分类号: R917; TQ460.72

文献标识码: A

文章编号: 0513 - 4870(2002)06 - 0454 - 04

多巴胺(dopamine, DA)是一重要的信息传递物质,其含量的改变可导致一些重要疾病如帕金森氏症^[1]。因此,DA 的测定一直是电分析化学、生物和医学领域的研究热点。但由于大量抗坏血酸(ascorbic acid, AA)与 DA 共存于脑内,其在固体电极上的氧化电位与 DA 重叠,因而严重干扰 DA 含量的测定。化学修饰电极可解决这一难题^[2-10]。由于在生理 pH 条件下,DA 为阳离子而 AA 为阴离子,因此通常采用阴离子聚合物膜修饰电极来排除 AA 的干扰^[5,6,8]。由于异烟酸分子中既含有带负电荷的 COO^- ,又含有富电子的 N 原子(其电化学反应已有报道^[11]),所以本文以异烟酸为修饰剂,通过电化学反应聚合制得了性能良好的聚异烟酸膜修饰电极。聚异烟酸膜可在有效排斥 AA 阴离子的同时能很好地吸收 DA 阳离子,使其氧化峰电位分开约 204 mV,从而有效地消除了 AA 对 DA 测定的干扰。DA 在该修饰电极上的氧化峰电流与其浓度在 $1.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-5}$ 和 $2.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好线性关系。该聚合物膜修饰电极制备简单,不仅克服了双层膜修饰电极^[9]和微生物电极^[10]制备的复杂性,而且具有较高的灵敏度和选择性。

材料与 方法

仪器和试剂 CHI 660A 电化学工作站(美国 CHI 公司),三电极系统:工作电极为玻碳电极($d = 2 \text{ mm}$),参比电极为饱和甘汞电极,对电极为铂片电极。异烟酸(美国 Acros 公司);盐酸多巴胺(中国药品生物制品检定所);抗坏血酸(北京化工厂);pH 7.4 PBS 缓冲溶液用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2 \text{HPO}_4 - \text{KH}_2 \text{PO}_4 + 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 配制,并用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaOH}$ 与 $\text{H}_3 \text{PO}_4$ 调节 pH 值。所用试剂均为分析纯,实验用水为石英重蒸水。

聚异烟酸膜修饰电极的制备 将玻碳电极在金相砂纸(800 号)上打磨,然后用 $\text{Al}_2 \text{O}_3$ 悬糊抛光至镜面,依次用 1:1 HNO_3 、丙酮、蒸馏水超声清洗(10 min/次)。再放入含 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 异烟酸和 pH 5.6 的 PBS 溶液中,在 $-1.5 \sim 2.5 \text{ V}$ (vs SCE) 电位范围内,以 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 的扫描速度循环扫描 10 周,取出洗净即制得修饰电极。

实验方法 取一定量的 DA 储备液置于 10 mL 量瓶中,用 pH 7.4 PBS 缓冲溶液稀释至刻度,摇匀,转移至电解池中,然后以 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 的扫描速率向正电位方向扫描,扫至 0.6 V 记录循环伏安图。每次扫描结束,将三电极置于空白底液中循环扫描至无峰,用二次水冲洗,滤纸吸干后即可进行下一次扫描,这样可保持修饰电极良好的稳定性和重现性。

测定前向溶液中通高纯 N_2 除氧 20 min,测定过程中溶液上方保持 N_2 气氛。

收稿日期: 2001-07-16。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29875027);中国科学院长春应用化学研究所电分析化学开放研究实验室基金资助项目(OC20001)。

作者简介: 赵红(1973-),女,博士研究生;

袁倬斌(1938-),男,教授,博士生导师。

* 通讯作者 Tel: (010) 68224596, Fax: (010) 68210501,

E-mail: zh-zhaohong@sina.com.cn

结果与讨论

1 电化学聚合

图1为异烟酸聚合过程的循环伏安图。由图1可见,从2.5 V开始以 $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 的扫速向-1.5 V扫描时,第1周出现两个还原峰(a,b),对应于单体的还原。反向扫描时,从第2周开始出现一明显的氧化峰(c),该结果与文献^[12]相一致。随着扫描次数的增加,峰电流不断增大,说明聚合物薄膜在不断地生长^[13]。连续扫描10周可得到性能良好的聚合物膜。

2 DA在聚异烟酸修饰电极上的电化学行为

图2为 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA在修饰电极和裸电极上的循环伏安曲线。由图可见,DA的氧化还原峰电位之差(ΔE_p)在裸电极上约为249 mV,在修饰电极上降至48 mV,且峰电流显著增加,说明聚异烟酸膜对DA的电氧化还原起一定的催化作用。

在 $20 \sim 300 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 扫速范围内, $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA的氧化峰电流与扫速的平方根成线性关系,线性回归方程为: $i_{pa} (\mu\text{A}) = -24.08 + 8.5847 v^{1/2} ((\text{mV}\cdot\text{s}^{-1})^{1/2})$, $r = 0.9984$ 。说明DA在修

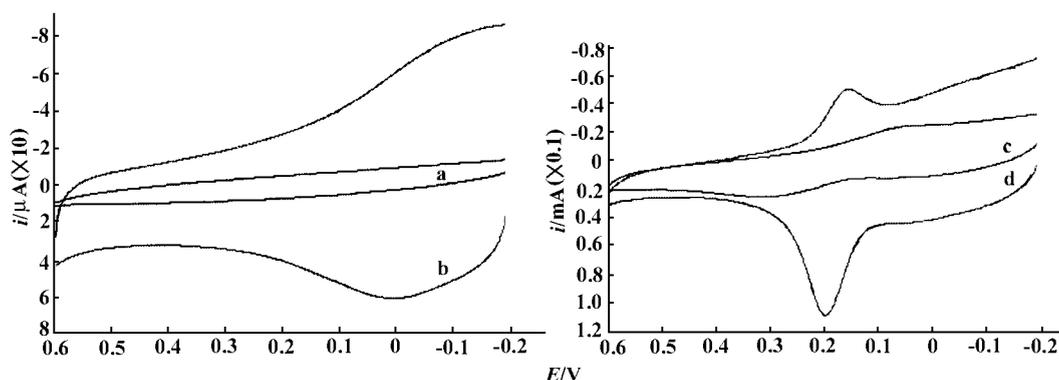


Figure 2 Cyclic voltammograms of bare glassy carbon electrode (a), poly(isonicotinic acid) modified glassy carbon electrode (b), a $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dopamine (c) and b $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dopamine (d) in pH 7.4 phosphate buffer solution; scan rate: $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$

3 在聚异烟酸膜修饰电极上同时测定 DA 和 AA

由图3可见,当DA与100倍的AA共存时,DA在聚异烟酸膜修饰电极上的氧化电位(E_{pa})为+184 mV,而AA的 E_{pa} 为-20 mV,两者的氧化峰电位分开达204 mV,因而可实现DA与AA的同时测定。

示差脉冲伏安法(differential pulse voltammetry, DPV)可提高选择性和灵敏度,因此本文又用DPV法研究DA和AA共存时的电化学响应。图4是不同浓度的DA在 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ AA存在时的DPV曲线,

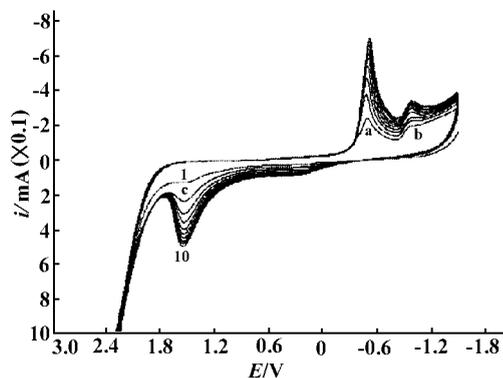


Figure 1 Cyclic voltammograms for $0.02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ isonicotinic acid recorded with a glassy carbon electrode under highly pure N_2 stream in pH 5.6 phosphate buffer solution; scan rate: $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$

饰电极上有扩散特性。此外,峰电位之差(ΔE_p)随扫速的增加而增大,说明DA在修饰电极上为准可逆反应。

在pH 2.7 ~ 8.63的PBS缓冲溶液中,浓度为 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA的峰电位随pH值的增大负移,表明有质子参与还原过程,且去质子化的DA比质子化的DA更易于氧化。因pH 7.4是生理环境下的pH值,所以本文选择pH 7.4的PBS为底液。

可以看出DA在AA的响应信号基本不变的情况下表现出极好的电化学响应,说明DA和AA在聚异烟酸膜修饰电极上的电化学响应是相对独立的。图5是不同浓度AA在 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA存在时的DPV曲线,从该图也可得出上述结论。

在pH 2.65 ~ 8.63用DPV法研究了DA与AA共存时二者的电化学响应。结果表明,DA与AA的氧化峰电位均随pH的升高而负移,其中DA负移更多。在上述pH值范围内,DA与AA的氧化峰均能

很好地分开,说明聚异烟酸膜修饰电极有良好的分子识别能力。

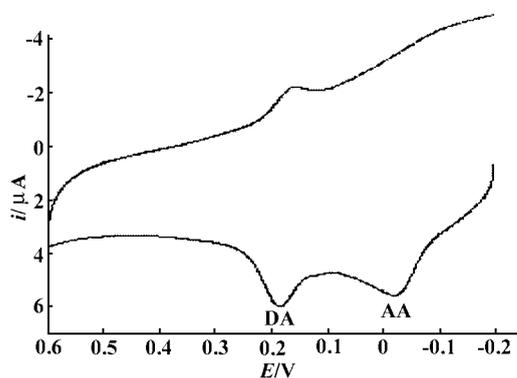


Figure 3 Cyclic voltammogram of $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dopamine (DA) and $1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ascorbic acid (AA) at poly (isonicotinic acid) modified electrode in pH 7.4 phosphate buffer solution; scan rate: $100 \text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$

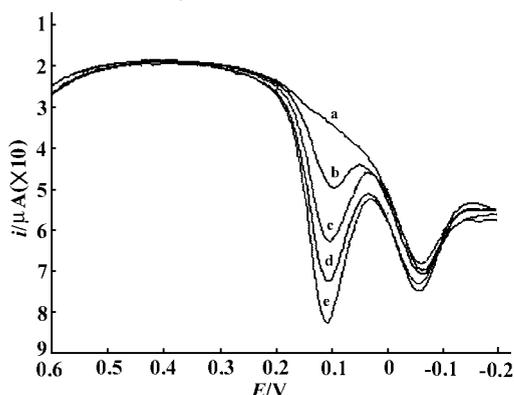


Figure 4 Differential pulse voltammetry (DPV) recordings of DA at poly (isonicotinic acid) modified electrode in pH 7.4 phosphate buffer solution and in the presence of $1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ AA. DA concentration ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): a, 0; b, 1; c, 3; d, 4; e, 5. Scan rate: $4 \text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$; pulse amplitude: 50 mV; pulse width: 50 ms; pulse time: 200 ms

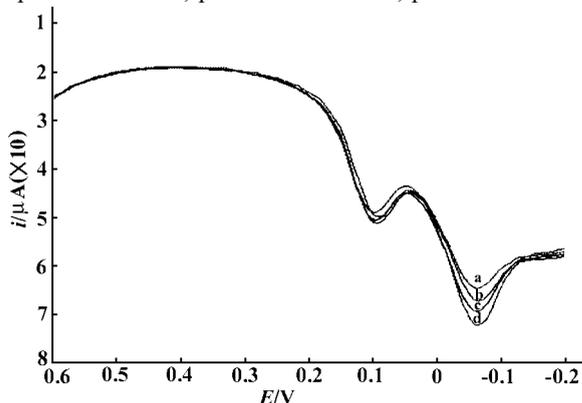


Figure 5 DPV recordings of AA at poly (isonicotinic acid) modified electrode in pH 7.4 phosphate buffer solution and in the presence of $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA. AA concentration ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$): a, 5; b, 6; c, 7; d, 9. Other conditions are same in Figure 4

4 线性范围和检出限

在 pH 7.4 PBS 介质中,用示差脉冲伏安法求得 DA 在该修饰电极上的氧化峰电流与其浓度在 $1.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-5}$ 和 $2.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 呈良好线性关系。其线性回归方程分别为 $i_p (\mu\text{A}) = 1.4036 + 1.8368 C (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$, $r = 0.9978$ 和 $i_p (\mu\text{A}) = 19.856 + 0.8699 C (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$, $r = 0.9984$ 。当信噪比(S/N)为 3,富集时间为 180 s 时,聚异烟酸修饰电极对 DA 的检出限为 $8.0 \times 10^{-9} \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (最低检出限是经过富集后测得的数据,线性范围则是未经富集的数据,从而导致两者数量级有较大差距)。对 $1.0 \times 10^{-6} \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DA 进行平行测定 10 次, RSD 为 1.8 %。

5 样品分析

取盐酸多巴胺注射液 1 支移至 50 mL 棕色量瓶中定容,然后取一定量样品置于 10 mL 量瓶中,用 pH 7.4 的 PBS 缓冲溶液稀释至刻度。对 $1.0 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标样,按实验方法连续测定 10 次的平均值为 $1.02 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;按中国药典(1995 年版二部)方法连续测定 10 次的平均值为 $1.05 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,两者结果基本一致。

REFERENCES:

- [1] Zou G. *Basic Neuropharmacology* (基础神经药理学) [M]. Beijing: Science Press, 1999. 203.
- [2] Wang ZH, Zhang D, Zhang Y, et al. Voltammetric behavior of dopamine at poly (4-aminopyridine) film modified electrode and its determination by adsorptive stripping voltammetry [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 2000, 35 (9): 692 - 695.
- [3] Xu JJ, Wang Y, Fang HQ, et al. Electrochemical behaviours and amperometric determination of dopamine at gold electrode modified by thionine covalently bound to self-assembled monolayers [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 1998, 26(4): 428 - 430.
- [4] Sun YX, Ye BX, Wang Y, et al. Study on the determination of neurotransmitters using poly (neutral red) coated carbon fiber microelectrodes [J]. *Microchem J*, 1998, 58(2): 182 - 191.
- [5] Tian M, Dong SJ. Voltammetric behavior of neurotransmitter dopamine in polymer AQ film microarray disk electrode and its determination by stripping voltammetry [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 1994, 22(1): 15 - 18.
- [6] Yang LJ, Peng TZ. Construction of monomeric modified carbon fiber electrode and its *in vivo* detection of neurotransmitter [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 2001, 22(2): 197 - 200.
- [7] Qian JH, Liu HY, Deng JQ. Determination of catechols on ferric porphyrin electrode by electrocatalytic oxidation [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 1993, 15(5): 22

- 25 .
- [8] Ciszewski A, Milczarek G. Poly Eugenol modified platinum electrode for selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid [J]. *Anal Chem*, 1999, **71**(5) :1055 - 1061 .
- [9] Ju HX, Ni JA, Gong Y, *et al.* Electrocatalytical oxidation and determination of dopamine at redox polymer/ nafion modified electrodes [J]. *Anal Lett*, 1999, **32**(15) :2951 - 2964 .
- [10] Cosnier S, Innocent C, Laurence A, *et al.* An electrochemical method for making enzyme microsensors . Application to the detection of dopamine and glutamate [J]. *Anal Chem*, 1997, **69**(5) :968 - 971 .
- [11] Mathieu E, Meunier Prest R, Laviron E. The reduction mechanism of the $\text{C}=\text{O}$ group III . The electrochemical reduction of isonicotinic acid in an aqueous medium [J]. *Electrochim Acta*, 1997, **42**(2) :331 - 336 .
- [12] Cheng FL, Mo JY, Dai XY. Electrochemical behavior of nicotinic acid and its determination [J]. *J Instrum Anal (分析测试学报)*, 1999, **18**(1) :21 - 23 .
- [13] Wang J, Chen SP, Lin MS. Use of different electropolymerization conditions for controlling the size-exclusion selectivity at polyaniline, polypyrrole and polyphenol films [J]. *J Electroanal Chem*, 1989, **273**(1 - 2) :231 - 242 .

ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF DOPAMINE AT THE POLY (ISONICOTINIC ACID) MODIFIED GLASSY CARBON ELECTRODE

ZHAO Hong, ZHANG Yu-zhong, YUAN Zhuo-bin

(Department of Chemistry, Graduate School, University of Science and Technology of China,
Academia Sinica, Beijing 100039, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the determination of dopamine (DA) in the presence of ascorbic acid (AA) using poly (isonicotinic acid) film modified electrode . **METHODS** The cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry were used to study the electrochemical behavior of DA at the poly (isonicotinic acid) film modified electrode . **RESULTS** The poly (isonicotinic acid) film modified electrode showed an electrocatalytic effect on DA, and shifted the oxidation of AA to negative potential . The difference between the oxidation potentials of DA and AA was 204 mV, thus, AA did not interfere with the determination of DA. The linear range between the anodic currents and DA concentration was : $1.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-5}$ and $2.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The detection limit was $8.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. **CONCLUSION** The useful life period of the modified electrode is three weeks at least . The modified electrode can be used to the determination of DA in the sample .

KEY WORDS: dopamine ; poly (isonicotinic acid) modified electrode ; voltammetry