

Preparation of Poly-4-Aminobutyric Acid Modified Carbon Nanotube-Doped Carbon Paste Electrode and the Detection of Dopamine*

ZHENG Xinyu¹, ZHOU Xuechou¹, ZHENG Shuyan², SU Yan², ZHENG Lihui³, LIN Ruiyu^{1*}

(1. School of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

3. Fujian Center for Prevention and Control of Occupational Diseases and Chemical Poisoning, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Poly 4-aminobutyric acid modified carbon nanotube-doped carbon paste electrode (P-4-ABA/CNTPE) was constructed by electropolymerizing 4-ABA. Voltammetric behavior of dopamine (DA) was investigated at the modified electrode. In Britton-Robinson (BR) buffer solution (pH 2.0), DA has a pair of sensitive redox peak at the modified electrode, and the oxidation peak current was linearly increased with the concentration of DA in the range of 8.0×10^{-5} mol/L \sim 5.3×10^{-7} mol/L, with a detection limit of 2.0×10^{-7} mol/L. The modified electrode exhibited good repeatability, stability and avoided the interference of ascorbic acid (AA) and uric acid (UA). This method was used for the determination of DA in a DA hydrochloride injection and human urine samples with satisfactory results.

Key words: Carbon paste electrode; 4-aminobutyric acid; Carbon nanotubes-doped; Dopamine

EEACC: 7230

doi: 10.3969/j.issn.1004-1699.2013.01.002

聚4-氨基丁酸修饰碳纳米管掺杂碳糊电极的制备及其对多巴胺的测定*

郑新宇¹, 周学酬¹, 郑舒燕², 苏妍², 郑丽辉³, 林瑞余^{1*}

(1. 福建农林大学生命科学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学植物保护学院, 福州 350002;

3. 福建省职业病与化学中毒预防控制中心, 福州 350002)

摘要: 以4-氨基丁酸(4-ABA)为修饰剂, 制备了4-ABA修饰碳纳米管掺杂碳糊电极(P-4-ABA/CNTPE), 研究了多巴胺(DA)在此修饰电极上的电化学反应, 并用于DA的检测。在pH 2.0的BR缓冲溶液中, DA在P-4-ABA/CNTPE上产生一对灵敏的氧化还原峰。其氧化峰电流与DA的浓度在 8.0×10^{-5} mol/L \sim 5.3×10^{-7} mol/L范围内呈良好的线性关系, 检测限为 2.0×10^{-7} mol/L。所修饰电极具有较好的重现性、稳定性, 对抗坏血酸(AA)和尿酸(UA)具有较好的抗干扰能力。应用于针剂以及人体实际尿样中多巴胺含量的测定, 结果令人满意。

关键词: 碳糊电极; 4-氨基丁酸; 碳纳米管掺杂; 多巴胺

中图分类号: TP212

文献标识码: A

文章编号: 1004-1699(2013)01-0007-05

多巴胺(Dopamine, DA)是哺乳动物中枢神经系统中的一种非常重要的信息传递物质^[1]。脑组织内多巴胺神经能与多种病症, 如帕金森病、亨廷顿舞蹈症和多动症等息息相关^[2-4]。目前, 测量DA浓度的方法有滴定法^[5]、分光光度法^[6]、液相色谱法^[7]等。与这些检测方法相比, 电化学方法具有简便、快捷、灵敏度高、成本低廉等优点, 目前已成为一种重要的分析手段。但由于DA在固体电极上的过电位较大, 因此用未修饰的固体电极对DA进行直接测定, 灵敏度一般较低。经过化学修饰的电极, 能降低

过电位并增加DA的传质速率, 可提高测定DA的灵敏度, 因此在DA的测定中越来越受到重视^[8-9]。目前常见的电极修饰有聚合膜、Nafion膜和碳纳米管等^[10-13]。其中氨基酸聚合膜广泛用于制备化学修饰电极, 如半胱氨酸、赖氨酸、甘氨酸、组氨酸、谷氨酸、精氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色氨酸、异白氨酸、天冬氨酸等^[14]。氨基酸聚合膜修饰电极具有稳定性好、使用寿命长等特点, 被大量应用于实际样品中多巴胺的分析测定^[8-9, 15-16], 提高了检测的灵敏度。目前未见4-氨基丁酸(4-ABA)聚合膜修饰电极用于

项目来源: 国家自然科学基金项目(31070403); 福建省教育厅A类科技项目(JA12113)

收稿日期: 2012-09-26 修改日期: 2012-12-09

多巴胺测定的相关报道。本文采用在碳糊中掺入碳纳米管制备碳纳米管掺杂碳糊电极(CNTPE),并在电极表面修饰4-ABA,制成P-4-ABA/CNTPE,并对DA进行测定,结果显示DA峰电流大大增加,电位差减小。制备的电极具有简单,不易脱落,稳定性好及抗干扰能力强等特点。

1 实验部分

1.1 实验仪器及试剂

CHI660D 电化学工作站(上海辰华仪器公司)。

采用三电极系统:自制的P-4-ABA/CNTPE为工作电极,Ag/AgCl为参比电极,铂丝为辅助电极。PHS-3C型精密酸度计(上海大普仪器厂)用于测量溶液的pH值。

光谱纯石墨粉、碳纳米管、液体石蜡、4-ABA购自上海国药,盐酸多巴胺(DA)、抗坏血酸(AA)和尿酸(UA)购自中国生物药品制品检验所,盐酸多巴胺注射液购于广州白云山明兴制药有限公司。其余常用试剂均为分析纯以上试剂,实验用水为二次蒸馏水。

1.2 修饰电极的制备

称取适量的石墨粉,然后加入适量的液体石蜡与适量的碳纳米管混合,研磨均匀(时间5 min),将此碳糊压入电极管的顶端凹槽(直径3 mm,深2 mm),填充紧密,压实,然后在称量纸上打磨光滑。用二次蒸馏水冲洗电极头,常温下晾干备用。得到CNTPE。将制备好的CNTPE置于含有0.02 mol/L 4-ABA的0.02 mol/L磷酸缓冲液(pH 5.0)中,在-0.5~2.0 V电位范围内循环扫描6圈(扫描速度200 mV/s),取出用水冲洗干净,即得P-4-ABA/CNTPE。上述所有实验均在室温下进行。

1.3 多巴胺测定方法

取含一定量DA标准液的BR缓冲液(pH 2.0)5 mL于电解池内,采用三电极体系在0.2 V~1.2 V电位范围内进行CV扫描。DA在P-4-ABA/CNTPE上于0.710 V处出现了明显的氧化峰,在0.604 V处出现还原峰,基于氧化峰峰型好,峰电流大于还原峰,本实验则采用记录氧化峰峰电流与DA浓度的关系进行检测。

2 结果与讨论

2.1 碳糊电极制备

2.1.1 碳纳米管的影响

试验中固定石墨粉与液体石蜡的质量分别为0.2 g和0.1 g,然后分别掺入0、0.01 g、0.02 g、

0.03 g、0.04 g、0.05 g、0.06 g的碳纳米管,研究碳纳米管加入量变化时DA响应电流的变化情况,结果表明,随着碳纳米管加入量的增加,P-4-ABA/CNTPE对DA的响应电流出现先增加后减少的趋势。由于碳纳米管具有很大的表面积,掺入碳糊电极可增大电极的电化学反应面积,使多巴胺在电极上的反应电流增大。但碳纳米管用量过大,会吸附更多的液体石蜡,反而不利于增大电极的电化学反应面积,而导致DA的响应电流减小。当碳纳米管量为0.04 g(质量分数为16.67%)时,P-4-ABA/CNTPE对DA的响应电流最大(如图1)。因此本试验选择碳纳米管的量占石墨粉与碳纳米管总量16.67%。

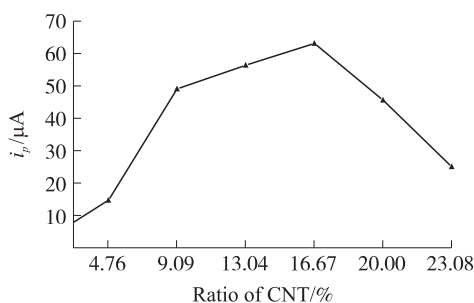


图1 碳纳米管比例对DA氧化峰电流的影响

2.1.2 粘合剂的影响

液体石蜡作为CNTPE的粘合剂,为了考察粘合剂的影响。固定碳纳米管的量占石墨粉与碳纳米管总量16.67%的前提下,逐步改变液体石蜡与石墨粉和碳纳米管总量的比例。试验表明,随着液体石蜡含量的提高,峰电流逐渐减小(如图2),但石蜡比例偏小会导致电极强度变差,碳糊容易脱落。当液体石蜡与石墨粉和碳纳米管总量的比例为1:3时,峰电流较大,机械强度也较好。所以本试验选择粘合剂与固体粉末的比例为1:3。

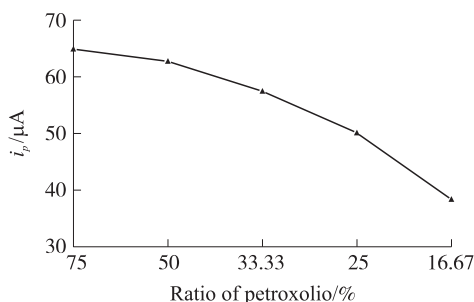


图2 粘合剂比例对DA氧化峰电流的影响

2.2 电聚合条件的影响

2.2.1 聚合底液pH的影响

试验选定磷酸盐缓冲溶液(PP)作聚合底液,分别试验了pH值为5.0~8.0的磷酸盐缓冲溶液进行电聚合,并将聚合后的P-4-ABA/CNTPE对2.0×

10^{-5} mol/L DA 进行 CV 扫描。试验结果得出:不同酸度底液聚合得到的电极对 DA 峰电流和峰电位均有影响:随着底液 pH 值的不断增大,响应电流不断减小,氧化峰电位不断负移,还原峰电位不断正移。故实验选定 pH 为 5.0 的 PP 缓冲溶液作聚合底液。

2.2.2 聚合底液 4-ABA 浓度的影响

在选定的 pH 为 5.0 的磷酸盐缓冲溶液中进行电聚合,逐步提高底液 4-ABA 的浓度,分别为:0.005 mol/L、0.01 mol/L、0.02 mol/L、0.04 mol/L 和 0.06 mol/L。然后将聚合后的 P-4-ABA/CNTPE 电极对 2.0×10^{-5} mol/L DA 进行 CV 扫描。结果发现 4-ABA 的浓度对聚合后电极的性能有较大的影响,结果如图 3 所示。当 4-ABA 的浓度过大时,所得 P-4-ABA/CNTPE 电极对 DA 的响应峰电流较小,测量重现性较差,这可能是高浓度聚合得到的膜比较致密,表面积下降造成的。但若其浓度过低,修饰电极对 DA 的响应电流也很小,这可能是电极表面的聚合物膜覆盖程度低所致^[17]。故实验选定浓度为 0.02 mol/L 的 4-ABA 磷酸缓冲溶液为聚合底液。

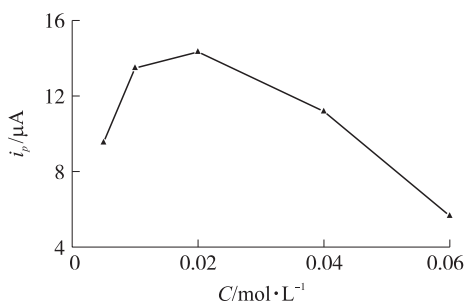


图3 修饰剂浓度对 DA 氧化峰电流的影响

2.3 4-ABA 在碳纳米管掺杂碳糊电极上的电聚合

图 4 所示为 4-ABA 在碳糊电极上的电聚合曲线。在扫描第一圈时,氧化峰电流较小,峰形不明显,这可能是因为在开始时碳纳米管碳糊电极导电性较差引起的。到了第二圈后,峰电流变大,峰形也变好了,这说明聚合一圈后,4-ABA 在电极表面再聚合变得

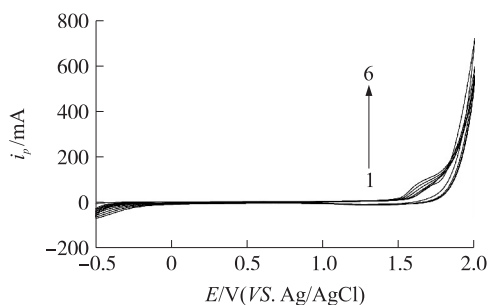


图4 4-ABA 在修饰电极上的电聚合循环伏安图
扫速:200 mV/s;圈数:6;电位范围:-0.5 V~2.0 V。

更容易。因为聚 4-ABA 是导电聚合物,第一圈扫描后碳纳米管碳糊电极表面修饰了部分聚 4-ABA,使电极导电性增强,有利于后续 4-ABA 的电聚合。

2.4 DA 在不同电极上的循环伏安曲线

分别以 CPE(1)、P-4-ABA-CPE(2)、CNTPE(3)、P-4-ABA/CNTPE(4) 为工作电极,在 DA 浓度为 4.0×10^{-5} mol/L 的 B-R 缓冲液(pH 2.0)中于 0.2 V~1.2 V 进行循环伏安扫描(扫速为 200 mV/s)。结果如图 5 所示。在 CPE(1)电极上,DA 出现了一对极其微弱的氧化还原峰,峰电流很低;峰型较差, $\Delta E_1 = 445$ mV。对于掺入碳纳米管的 CNTPE(3)而言,其氧化峰电流是 CPE(1)的 1.5 倍,还原峰则是 CPE(1)的 1.8 倍,且氧化峰和还原峰均正移,峰电位差减为 376 mV,说明碳纳米管的掺入,增大了电极表面积。P-4-ABA-CPE(2)电极是 CPE(1)电极经 4-ABA 修饰处理得到的,其氧化峰和还原峰电流较 CPE(1)电极而言均增大,与此同时 ΔE_2 也减少为 131 mV。把 CNTPE(3)修饰 4-ABA 得到的电极 P-4-ABA/CNTPE(4)对 DA 进行测定,电极响应电流变为原来的 2.4 倍,电位差变为 106 mV。比较上述四种电极对 DA 的循环伏安曲线,可以发现 P-4-ABA/CNTPE(4)电极对 DA 的响应电流最大,峰形最佳,峰电位差最小。本实验采用该电极作为工作电极,建立检测 DA 的方法。

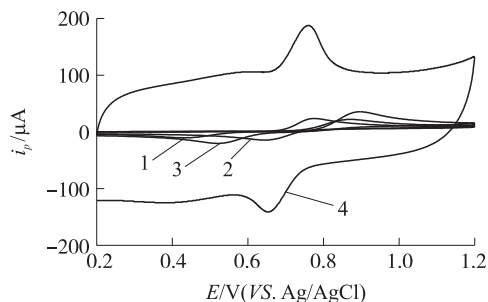


图5 DA 在各种电极上的循环伏安图
扫速:200 mV/s。

2.5 扫描速率的影响

在扫速 10 mV/s~600 mV/s 下对含 1.0×10^{-4} mol/L 的 DA 在 0.02 mol/L、pH 2.0 的 BR 缓冲溶液中进行线性伏安扫描(如图 6),随着扫速 v 的增加,DA 的氧化峰峰电位逐渐正移,还原峰峰电位逐渐负移。其氧化峰电流和还原峰电流与扫速的平方根呈线性关系,线性方程分别为 $i_p = 2.5158 V^{1/2} - 1.0576$, $R^2 = 0.9948$, $i_p = 2.5025 V^{1/2} - 2.5486$, $R^2 = 0.9927$ 。由此可见,DA 在 P-4-ABA/CNTPE 上的电化学反应是受扩散控制的^[18]。

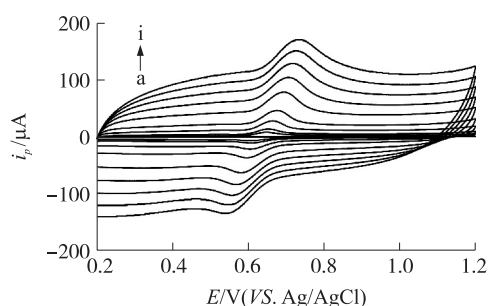


图6 DA在修饰电极上的线性扫描伏安图

扫速:a为10 mV/s,b为20 mV/s,c为50 mV/s,d为100 mV/s,e为200 mV/s,f为300 mV/s,g为400 mV/s,h为500 mV/s,i为600 mV/s。

2.6 富集时间的选择

浓度为 4.0×10^{-5} mol/L的DA,在pH 2.0的BR缓冲介质中,以修饰电极为工作电极,分别静置富集2 s、5 s、10 s、20 s、30 s,结果表明,静置时间为10 s时,峰电流即达最大。因此试验选择静置10 s后,再进行CV扫描。

2.7 修饰电极的重现性

对 4.0×10^{-5} mol/L的DA进行10次重复测定,峰电流的相对标准偏差RSD为4.13%。这表明该P-4-ABA/CNTPE对DA的测定具有良好的重现性。同样研究了该修饰电极的稳定性,将该修饰电极放置10 d后,再对相同浓度的DA进行测量,峰电流值仅下降5.23%,表明该P-4-ABA/CNTPE具有较好的稳定性。

2.8 DA在修饰电极上的线性范围和检测限

在最优实验条件下,利用循环伏安法(CV)对DA进行测定。发现DA氧化峰电流与其浓度在 $8.0 \times 10^{-5} \sim 5.3 \times 10^{-7}$ mol/L内呈线性关系,回归方程为 $i_p = 0.0873C + 0.4516$ (i_p 为峰电流/ μA , C 为浓度/ $\mu\text{mol/L}$, $R^2 = 0.9941$),检测限为 2.0×10^{-7} mol/L。

表1 盐酸多巴胺注射液测定结果($n=5$)

样品	测定值/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	加入量/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	测得值/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率/%	相对标准偏差/%
DA	5.46	10.00	14.21	87.50	3.67
		50.00	57.59	104.26	4.82

表2 实际尿样测定结果($n=5$)

样品	测定值/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	加入量/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	测得值/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率/%	相对标准偏差/%
DA	0	10.00	9.23	92.30	2.35
		50.00	48.52	97.04	2.62

3 结论

本文制备的P-4-ABA/CNTPE修饰电极,对

2.9 干扰实验

按试验方法对 4.0×10^{-5} mol/L的DA溶液进行测定,当相对误差 $<5\%$ 时,100倍的柠檬酸,10倍的酒石酸,50倍的葡萄糖,400倍的氯化钠、氯化钾和200倍的氯化钙不干扰测定。

对 2.0×10^{-5} mol/L的DA和 2.0×10^{-3} mol/L的AA、 2.0×10^{-5} mol/L的UA存在的混合液中进行CV扫描。试验结果如图7所示,AA、DA和UA的电位分别为0.405、0.710、0.835V,100倍的AA以及同等浓度的UA的存在并不干扰DA的测定。三者可以明显分离开,说明P-4-ABA/GCE电极对DA具有良好的选择性,可在AA和UA存在的溶液中对DA进行测定。

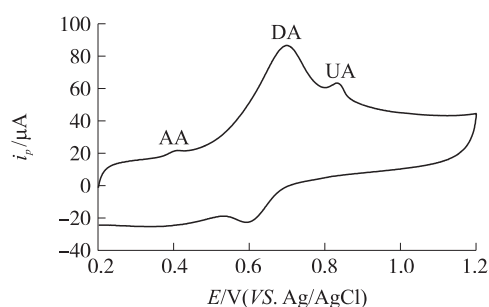


图7 AA,DA和UA在修饰电极上的循环伏安图

2.10 样品的测定及加标回收率实验

量取1 mL盐酸多巴胺注射液(标示浓度为10 g/L,2 mL/支)先用蒸馏水稀释100倍,后量取1 mL该稀释液于100 mL棕色容量瓶中,用pH 2.0的BR缓冲溶液定容,采用标准加入法进行定量测定。结果见表1。将一男性志愿者的尿样,用pH 2.0的BR缓冲溶液稀释200倍后,采用P-4-ABA/CNTPE进行测定,结果见表2。从表1、表2可以看出,两种实际样品的回收率分别在87.50%~104.26%和92.30%~97.04%之间,说明该方法可用于实际样品的测定。

DA具有良好的电催化作用,可较大程度提高DA检测的灵敏度。P-4-ABA/CNTPE制作简单、成本低廉、稳定性好,在用于盐酸多巴胺注射液和人体实际

尿样的测定时,结果令人满意。

参考文献:

- [1] Wightman R M, May L J, Michael A C. Detection of Dopamine Dynamics in the Brain[J]. *Anal Chem*,1988,60:769A-779A.
- [2] Neubold C, Kaleber K, Diewald W, et al. Voltammetric Determination of Nitrate with a Modified Carbon Paste Electrode [J]. *Electroanalysis*,1994(6):227-236.
- [3] Gerhardt G A, Gezanagy O G, Moghaddam B, et al. Nafion-Coated Electrode with High Selectivity for CNS Electrochemistry[J]. *Brain Research*,1984,290:390-395.
- [4] Rice M E, Oke A, Bradberry C W, et al. Simultaneous Voltammetric and Chemical Monitoring of Dopamine Release in Situ[J]. *Brain Research*,1985,340:151-155.
- [5] Salem F B. Spectrophotometric and Titrimetric Determination of Catecholamines[J]. *Talanta*,1987,34(9):810-812
- [6] Maminski M, Olejniczak M, Chudy M, et al. Spectrophotometric Determination of Dopamine in Microliter Scale Using Microfluidic System Based on Polymeric Technology[J]. *Analytica Acta*,2005,540(1):153~157
- [7] Guan C L, Ouyuang J, Li Q L, et al. Simultaneous Determination of Catecholamines by Ion Chromatography with Direct Conductivity [J]. *Talanta*,2000,50(6):1197-1203
- [8] Zhang W, Yuan R, Chai Y Q. A Simple Strategy Based on Lanthanum-Multiwalled Carbon Nanotube Nanocomposites for Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Dopamine, Uric Acid and Nitrite[J]. *Sens Actuat B* 166-167(2012)601-607.
- [9] Chitravathi S, Kumara Swamy B E, Mamatha G P, et al. Simultaneous Electrochemical Determination of Dopamine and Ascorbic Acid Using Poly (L-Serine) Modified Carbon Paste Electrode[J]. *Journal of Molecular Liquids*,2011,160:193-199.
- [10] 刘蓉,钟桐生,雷存喜.多巴胺电化学传感器的研究进展[J]. *化学传感器*,2011,31(3):10-15.
- [11] 王存娣,阳明辉,鲁亚霜,等.一种新的多层碳纳米管复合膜修饰的葡萄糖生物传感器制备[J]. *传感技术学报*,2003,20(1):18-21.
- [12] 张晓敏,任春生,应敏,等.四氨基钴酞菁(CoTAPc)在金电极上成膜过程的研究[J]. *传感技术学报*,2004,2:306-313.
- [13] 许红岩,王丽莉,王彦怀,等.没食子酸在Nafion/单壁碳纳米管/聚(3-甲基噻吩)复合膜修饰电极上的电化学行为及测定[J]. *传感技术学报*,2008,21(7):1113-1118.
- [14] 王春燕,李云辉,田坚.氨基酸化学修饰电极的制备及其应用[J]. *长春理工大学学报(自然科学版)*,2011,34(1):150-153.
- [15] 杨怀成,陆喜良,魏万之.聚L-丝氨酸/碳纳米管复合导电薄膜的制备及在多巴胺的电化学测定中的应用[J]. *化学试剂*,2010,32(10):907-909.
- [16] 孙登明,由文颖.聚L-谷氨酸修饰电极的制备及对多巴胺的测定[J]. *分析科学学报*,2005,21(5):530-532.
- [17] 廖文利,李忠彬,李念兵.抗坏血酸在聚L-谷氨酸修饰玻碳电极上的电化学行为研究[J]. *重庆文理学院学报(自然科学版)*,2010,29(5):57-60.
- [18] 李启隆,胡劲波.离子注入修饰电极及其在药物分析中的应用[J]. *化学通报*,2000,63(3):32-36.



郑新宇(1977-),男,福建仙游人,分析化学硕士,讲师。现工作于福建农林大学化学生物系,主要研究方向为化学及生物传感器,zhengxinyu0621@sina.com;



林瑞余(1968-),男,福建仙游人,博士,教授,博士生导师。现工作于福建农林大学生命科学学院,主要研究方向为化学生态学,lylin2004@163.com。