

DA 和 AA 在 CPB 现场修饰碳糊电极上的 电化学行为及电分析方法

韩晓霞 高作宁*

(宁夏大学能源化工重点实验室, 化学化工学院 银川 750021)

摘 要 研究了多巴胺 (Dopamine DA) 和抗坏血酸 (Ascorbic acid AA) 在裸碳糊电极 (Carbon Paste Electrode CPE) 和溴化十六烷基吡啶 (Cetylpyrid bromide CPB) 现场修饰碳糊电极 (CPB/CPE) 上的电化学行为。与 CPE 相比, DA 在 CPB/CPE 上与 CPB 产生了静电排斥作用, 氧化峰电流减小, 氧化峰电位正移; AA 和 CPB 产生了静电吸引作用, 氧化峰电流增大, 氧化峰电位负移。循环伏安法研究表明, 在 DA 和 AA 共存体系中, DA 和 AA 的氧化峰电位相差约 340 mV 以此建立了 DA 和 AA 的电化学同时测定方法。微分脉冲伏安法研究结果表明, DA 和 AA 氧化峰电流和其相应浓度在 $1.0 \times 10^{-5} \sim 5.0 \times 10^{-3}$ mol/L 的范围内呈良好的线性关系。本方法也可用于 DA 和 AA 共存体系中选择性测定 DA。在 100 倍 AA 共存时 DA 的检出限为 2.0×10^{-6} mol/L。CPB 修饰碳糊电极直接用于市售针剂中 DA 含量的测定, 所得结果令人满意。

关键词 多巴胺, 抗坏血酸, 溴化十六烷基吡啶, 碳糊电极, 现场修饰

中图分类号: O657.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2007)07-0770-04

多巴胺 (Dopamine DA) 是存在于哺乳动物体内的重要的神经递质, 也是一种拟肾上腺素药物。抗坏血酸 (Ascorbic acid AA) 是一种维持机体正常生理功能的维生素。在哺乳动物组织中 AA 和 DA 共存, 因此对 AA 和 DA 同时测定以及选择性测定 DA 在生理功能研究和临床检测中有实际意义。DA 和 AA 可以基于电化学阳极氧化方法进行测定^[1], 然而在固体电极上, DA 和 AA 氧化电位相近, AA 对 DA 的测定产生干扰。化学修饰电极可以排除 AA 对 DA 的干扰, 其中 AA 共存对 DA 的选择性测定研究较多^[2,3], 而对 DA 和 AA 同时测定的研究报道较少^[4,5]。对神经递质电化学分析中, 碳糊电极 (Carbon Paste Electrode CPE) 具有生物相容性好, 电位窗口宽, 残余电流小, 易于修饰等优点。碳糊电极修饰的方法灵活多样, 在测定前修饰剂直接粘着或吸附在碳糊表面的现场修饰方法具有制作简单, 表面更新方便的特点。表面活性剂修饰碳糊电极用于 AA 共存时 DA 的选择性测定研究已有报道^[6], 但用现场修饰方法对 DA 和 AA 共存体系中同时测定 DA 和 AA 或选择性测定 DA 尚未见文献报道。本文在前期研究工作的基础上^[7,8], 以阳离子表面活性剂溴化十六烷基吡啶 (Cetylpyrid bromide CPB) 现场修饰碳糊电极 (CPB/CPE) 为研究电极, 用循环伏安法 (Cyclic Voltammetry CV) 研究了 DA 和 AA 在 CPB/CPE 上的电化学行为, 采用微分脉冲伏安法 (Differential Pulse Voltammetry DPV) 定量测定 DA 和 AA 方法准确、快捷。对市售针剂中 DA 的测定, 结果令人满意。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

CHI660A 电化学工作站 (美国 CHI 仪器公司), 以 CPE 和 CPB/CPE 为工作电极, 饱和甘汞电极 (SCE) 为参比电极, CHI15 铂丝为辅助电极。盐酸多巴胺 (DA Fluka 公司), 抗坏血酸 (AA), 溴化十六烷基吡啶 (CPB) 均为分析纯试剂; 石墨粉 (光谱纯), 盐酸多巴胺注射液 (上海禾丰制药有限公司, 产品批号: 5E11037 规格为 1×10^{-3} g/mL, 其它试剂均为分析纯, 实验用水为二次去离子水。

1.2 CPB/CPE 制作

将石墨粉与液体石蜡以 3:1 比例混合研磨成糊状, 压入电极管一端 ($\phi = 3$ mm) 约 2 cm 另一端插

2006-08-19 收稿, 2006-09-16 修回

教育部科学研究重点项目 (204149) 及宁夏高等学校科学研究基金项目 (2006) 资助

通讯联系人: 高作宁, 男, 博士, 教授; E-mail: gaozn@nxu.edu.cn 研究方向: 电化学与表面化学

1 根铜丝做导线即制得裸碳糊电极 (CPE)。将 CPE 端面在硫酸纸上抛光, 浸入含有 6.0×10^{-4} mol/L CPB 的 0.10 mol/L PBS 溶液中, 搅拌 50 s 后静置 10 min 即得到现场修饰 CPB/CPE。每次测试之前推出部分碳糊抛光后重新修饰。

2 结果与讨论

2.1 DA和 AA的电化学行为

5.0×10^{-4} mol/L DA 和 5.0×10^{-4} mol/L AA 在 CPE 和 CPB/CPE 上的 CV 曲线分别如图 1 和图 2。DA 在 CPE 上 (图 1 曲线 a) 其 E_{pa} 为 307 mV 在 CPB/CPE 上 (图 1 曲线 b) E_{pa} 为 441 mV DA 在 CPB/CPE 上氧化峰电流 I_p 减小, 氧化峰电位正移; AA 在 CPE 上 (图 2 曲线 b) E_{pa} 为 394 mV 而在 CPB/CPE 上 (图 2 曲线 a) E_{pa} 为 148 mV AA 在 CPB/CPE 上氧化峰电位负移, 氧化峰电流 I_p 增大。

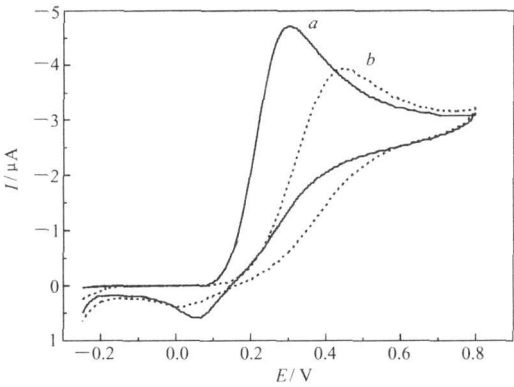


图 1 DA 的循环伏安图

Fig 1 CV diagrams of 0.5 mmol/L DA in 0.10 mol/L PBS (pH=6.8) at (a) CPE and (b) CPB/CPE
Potential scan rate 50 mV/s

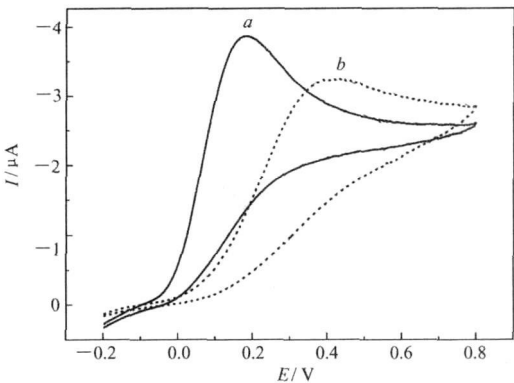


图 2 AA 的循环伏安图

Fig 2 CV diagrams of 0.5 mmol/L AA in 0.10 mol/L PBS (pH=6.8) at (a) CPB/CPE and (b) CPE
Potential scan rate 50 mV/s

与 CPE 相比, DA 和 AA 在 CPB/CPE 上氧化峰电位发生移动和峰电流发生变化是由于表面活性剂修饰 CPE 的表面性质发生改变^[9-10], CPB 阳离子表面活性剂以双层膜的形式吸附在 CPE 表面, 其亲油端朝向 CPE 表面, 极性端朝向本体溶液, 使 CPB/CPE 表面带有正电荷。在本实验中, 溶液 pH 值 (6.80) 高于 AA 的 pK_a ($pK_a=4.17$), AA 以单质子的形式存在并带负电荷, 其与 CPB/CPE 表面的正电荷产生静电吸引作用, 改变了 AA 在电极表面上的浓度, 降低了其在电极上的过电势, 加快了电子传递速率, 从而导致 AA 的氧化峰电位负移, 峰电流增大; 而 DA 的 pK_a ($pK_a=8.92$) 高于溶液 pH 值, 在此条件下 DA 以质子化的阳离子形式存在^[4], 由于与 CPB/CPE 表面产生静电排斥作用, 使 DA 扩散至电极表面变得相对较困难一些, 在电极上的过电势增高, 导致氧化峰电流减小, 氧化峰电位正移。

在 10 ~ 400 mV/s 扫描速度范围内, DA 在 CPB/CPE 上的氧化峰电流 I_a 与扫描速度平方根 ($\psi^{1/2}$) 呈现良好的线性关系, 线性拟合方程为 $I_a (\mu A) = 0.2251 + 0.4085 \psi^{1/2}$, $R=0.9988$ 在 10 ~ 100 mV/s 扫描速度范围内, AA 在 CPB/CPE 上的 I_a 与 $\psi^{1/2}$ 呈现良好线性关系, 线性拟合方程为 $I_a (\mu A) = 0.4882 + 0.5473 \psi^{1/2}$, $R=0.9983$ DA 和 AA 在 CPB/CPE 上的电化学氧化反应均是一个受扩散控制的电化学过程。

2.2 DA与 AA共存体系的伏安行为

图 3 为浓度均为 1.0×10^{-3} mol/L 的 DA 与 AA 共存体系的 CV 图。由图可见, DA 和 AA 在 CPE 上 (图 3 曲线 a) 氧化峰电位重叠, 而在 CPB/CPE 上 (图 3 曲线 b) 呈现 2 个分开的氧化峰, 峰电位差约 340 mV 基于此实验结果 CPB/CPE 可以用于 DA 和 AA 的电化学方法同时测定, 或选择性测定。DA 和 AA 共存体系在 CPE 上的 DPV 曲线 (图 4 曲线 a) 上氧化峰电位重叠, 只有 1 个氧化峰, 说明 DA 和 AA 相互干扰, 而在 CPB/CPE (图 4 曲线 b) 上呈现 2 个氧化峰, 峰电位差约为 330 mV 因此采用灵敏度较高的 DPV 方法对 AA 和 DA 共存体系进行定量测定。

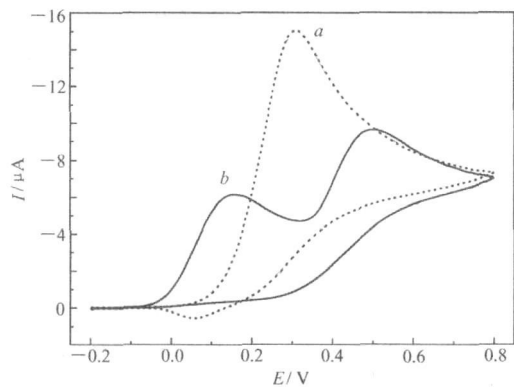


图 3 DA和 AA共存体系的循环伏安图
Fig 3 CV diagrams of DA and AA coexisting system (1 mmol/L for each) in 0.10 mol/L PBS (pH=6.8) at (a) CPE and (b) CPB/CPE Potential scan rate 50 mV/s

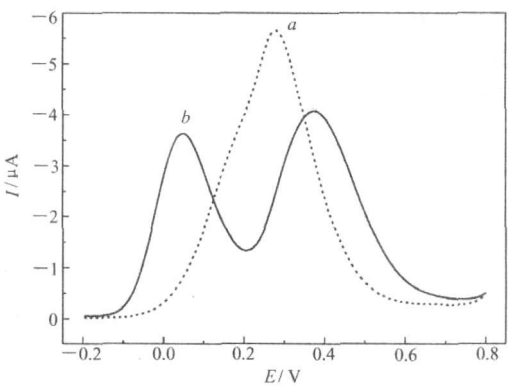


图 4 DA和 AA共存体系的微分脉冲伏安图
Fig 4 DPV diagrams for DA and AA coexisting system (0.5 mmol/L for each) in 0.10 mol/L PBS (pH=6.8) at (a) CPE and (b) CPB/CPE

2.3 pH值对 DA和 AA氧化峰电流和氧化峰电位的影响

在 pH值为 4~8 范围内考察了介质 pH对 DA和 AA的 E_p 和 I_p 的影响。在此 pH值范围内 DA和 AA的 E_p 随介质 pH值的增加而负移,表明 DA和 AA的电化学氧化均有质子参与,DA和 AA的氧化是去质子过程,介质 pH增高有利于电化学氧化反应的进行。在 pH值为 4.0~8.0 范围内,DA的 I_p 随介质 pH增加而增大;在 pH值为 4.0~7.0 AA的 I_p 基本保持不变, $pH>7.0$ I_p 随 pH值增加而减小。为保持与人体体液相近的条件,故选择中性介质条件即 0.10 mol/L PBS (pH=6.80) 水溶液。

2.4 分析测定应用

2.4.1 DA与 AA共存体系 定量测定 同时改变 DA和 AA的浓度,用 DPV法进行测定 (图 5 曲线)。在 $1.0\times 10^{-5} \sim 5.0\times 10^{-3}$ mol/L 浓度范围内,DA和 AA的 I_p 与各自浓度呈良好的线性关系,线性拟合方程分别为 $I_a(\mu A)=0.06478+3.075c(1\times 10^{-3} \text{ mol/L})$, $R=0.9975$; $I_b(\mu A)=0.009680+3.397c(1\times 10^{-3} \text{ mol/L})$, $R=0.9993$

保持 AA浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 改变 DA浓度。在 $5.0\times 10^{-6} \sim 1.0\times 10^{-3}$ mol/L 浓度范围内,DA的 I_p 与其浓度呈现良好的线性关系,线性拟合方程为 $I_b(\mu A)=0.02739+4.682c(1\times 10^{-3} \text{ mol/L})$, $R=0.9989$ 检出限 2.0×10^{-6} mol/L 实现了过量 AA共存时对 DA的电化学选择性测定。

2.4.2 共存物质的影响 在 0.10 mol/L PBS 溶液中 DA浓度为 5×10^{-4} mol/L 当相对误差小于 $\pm 5\%$ 时,1000 倍的尿素、葡萄糖、蔗糖、柠檬酸盐, K^+ , Na^+ , 300 倍的 Mg^{2+} , Zn^{2+} , 200 倍 Gl 氨基丙酸, L 酪氨酸, 100 倍的尿酸均不干扰 DA的电化学响应信号测定。

2.4.3 电极重现性 在同一电极上,对 5×10^{-4} mol/L DA 标准溶液进行 7 次平行测定,相对标准偏差 $RSD=2.6\%$,说明电极重现性良好。

2.4.4 样品测定 取市售盐酸多巴胺注射液 1 支,用二次去离子水定容至 50 mL 备用。每次取 1 mL 该样品溶液,加入含有 1.0×10^{-3} mol/L AA 的 0.10 mol/L PBS 水溶液中,按上述实验方法进行测定。然后加入已知量的 DA 标准品进行回收率测定

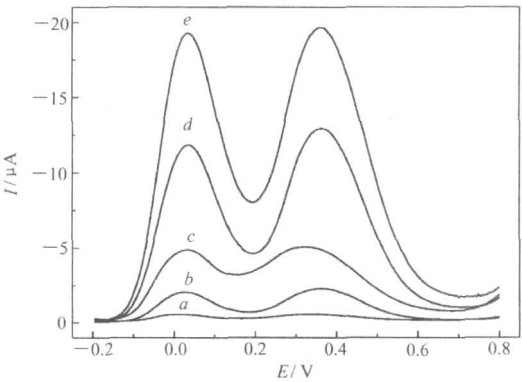


图 5 不同浓度 DA和 AA的 DPV图

Fig 5 DPV curves of DA and AA in 0.10 mol/L PBS (pH=6.8) Concentrations of both DA and AA are simultaneously changed as 1.0×10^{-5} , 5.0×10^{-5} , 5.0×10^{-4} , 1.0×10^{-3} , 5.0×10^{-3} mol/L, respectively

(测定结果见表 1), 所得结果令人满意。

表 1 多巴胺注射液测定结果 (n= 6)
Table 1 Determination results of DA injection samples

$\rho(\text{CA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	Content/ (mg·L ⁻¹)	RSD/%	Added/ (mg·L ⁻¹)	Found/ (mg·L ⁻¹)	Recovery/%
1	94.81	2.2	18.96	114.5	100.7
			56.88	152.0	100.2
2	94.63	2.4	18.96	112.2	98.78
			56.88	147.1	97.08
3	94.05	2.7	18.96	109.3	95.72
			56.88	148.6	98.46

参 考 文 献

1 HE Chun-Xiang(赫春香), ZHAO Chang-Zhi(赵常志), TANG Zhen-An(唐祯安), QIU Jie-Shan(邱介山), WANG Li-Ding(王立鼎). Chinese J Anal Chem(分析化学)[J], 2003, 8: 958
2 LIU Chuan-Yin(刘传银), LU Guang-Han(陆光汉). PTCA(Part B: Chem Anal)(理化检验—化学分册)[J], 2005, 9: 644
3 Forzani E S, Rivas G A, Solis V M. J Electroanal Chem [J], 1995, 382: 33
4 A P dos Reis, Tarley C R T, Manassos N, Kubota L T, Takantq [J], 2005, 67: 829
5 ZHANG Jun(张军), DENG Pei-Hong(邓培红), KUANG Yun-Fei(匡云飞), LI Ju-Nan(黎拒难). Chinese J Anal Lab(分析实验室)[J], 2004, 8: 679
6 Zhang J B, Zhong X L. Bioelectrochemistry [J], 2006, 71: 106
7 Peng J, Gao Z N. Anal Bioanal Chem [J], 2006, 384: 1525
8 PENG Juan(彭娟), GAO Zuo-Ning(高作宁). Chinese J Anal Chem(分析化学)[J], 2006, 6: 817
9 D Guck, Kauffmann J M, Delplanck J L. Electroanalysis [J], 1994, 6: 451
10 Al Bahadi F N, Motola H A. Anal Chem [J], 1987, 59: 958

Electrochemical Behavior of Dopamine and Ascorbic acid at CPB/CPE and Its Application

HAN Xiaoxia GAO Zuoning

(Ningxia Key laboratory of Energy Sources and Chemical Engineering College of Chemistry and Chemical Engineering Ningxia University Yinchuan 750021)

Abstract The electrochemical behavior of Dopamine(DA) and Ascorbic Acid(AA) at both carbon paste electrode(CPE) and in situ CPB modified carbon paste electrode(CPB/CPE) was investigated. On the surface of CPB/CPE electrode, owing to the electrostatic interaction of CPB and negatively charged AA, the oxidation peak potential shifted more negatively and the peak current increased. On the other hand, the positively charged DA was repelled from the electrode surface and the oxidation peak potential shifted more positively and the peak current decreased. The anodic potential difference between AA and DA is about 340 mV, and AA does not interfere with the electroanalytical determination of DA at CPB/CPE. Linear calibration curves were obtained for both AA and DA in a concentration range of $1.0\times 10^{-5} \sim 5.0\times 10^{-3}$ mol/L. The detection limit of DA in the presence of AA 100-fold that of DA was 2.0×10^{-6} mol/L. The CPB/CPE was used to determine DA in dopamine injection samples spiked with AA.

Keywords ascorbic acid; dopamine; cerpyrid bromide; carbon paste electrode; in situ modification