

聚 L-丝氨酸修饰电极循环伏安法测定异丙肾上腺素

李霞, 陈美凤, 孙中新

(菏泽学院化学与化工系 山东 菏泽 274015)

摘要: 建立修饰电极循环伏安法测定异丙肾上腺素的新方法. 用循环伏安法在 pH 6.0 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中制备了聚 L-丝氨酸修饰的玻碳电极, 在 pH 5.0 的 PBS 中研究了异丙肾上腺素在聚 L-丝氨酸修饰的玻碳电极上的电化学反应. 结果表明: 在 pH 5.0 的 PBS 中, 扫描速度为 80 mV/s, 循环扫描电位在 0~0.6 V 时, 异丙肾上腺素在聚 L-丝氨酸修饰玻碳电极上出现一对灵敏的氧化还原峰, 峰电位 E_{pa} 为 0.400 V, E_{pc} 为 0.370 V; 根据实验计算了电子传递速率常数为 3.74×10^{-3} cm/s, 测定异丙肾上腺素的线性范围为 $5.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L 和 $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.2 \times 10^{-4}$ mol/L, 检出限为 1.0×10^{-8} mol/L. 该方法表现出良好的再生性和重现性, 应用于针剂的测定, 结果满意.

关键词: 化学修饰电极; L-丝氨酸; 异丙肾上腺素

中图分类号: O 657.1

文章编号: 1671-6841(2009)03-0074-04

0 引言

异丙肾上腺素属于儿茶酚胺类药物, 临床广泛用于支气管哮喘、心脏骤停、房室阻滞以及抗休克等方面的治疗. 因此, 研究其测定方法在生理机能、临床医学等方面都具有重要的实际意义. 测定异丙肾上腺素的分析方法主要有: 毛细管电泳法^[1]、激光散斑法^[2]、高效液相色谱法^[3]、分光光度法^[4]、核磁共振波谱法^[5]以及化学发光分析法^[6]. 化学修饰电极^[7-8]是电化学分析法十分活跃的研究领域, 应用范围十分广泛. 用聚 L-丝氨酸修饰电极测定异丙肾上腺素尚未见报道. 本文通过循环伏安法的研究, 计算得到了异丙肾上腺素在聚 L-丝氨酸修饰电极上的电化学氧化的一些重要参数, 并根据实验结果推断了异丙肾上腺素在聚 L-丝氨酸修饰电极上的电化学反应过程.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

CHI660C 电化学工作站(上海辰华仪器公司); pH S-3B 型酸度计(上海精密科学仪器有限公司); KQ-100 型超声波清洗器(昆山市超声波仪器厂); 电化学实验用三电极系统: L-丝氨酸修饰电极(自制)为工作电极, 铂丝电极为对电极, 饱和甘汞电极为参比电极, 测量在室温(25 °C)下进行.

L-丝氨酸(上海生物研究所); 异丙肾上腺素(Sigma 公司); 抗坏血酸(上海试剂站分装厂); 磷酸氢二钠柠檬酸配制成 pH 2.2~7.0 范围的磷酸盐缓冲溶液(PBS, 0.1 mol/L). 其他所用试剂均为分析纯, 实验用水为二次石英重蒸水.

1.2 聚 L-丝氨酸修饰电极的制备

将玻碳电极($\Phi=3$ mm)在湿润的金相砂纸(粒度为 1 000)上磨光, 然后用 Al_2O_3 (0.05 μ m) 悬浮液抛光成镜面, 并依次用 HNO_3 (1+1)、无水乙醇、蒸馏水超声波清洗之后, 以玻碳电极为工作电极, 铂丝电极为对电极, 饱和甘汞电极为参比电极. 在浓度为 1.5×10^{-3} mol/L 的 L-丝氨酸 PBS (pH 6.0) 中, $-0.6 \sim 2.6$ V 电位范围内, 以 80 mV/s 循环扫描 12 周, 取出用亚沸水冲洗电极, 即制得聚 L-丝氨酸修饰电极.

收稿日期: 2009-02-18

基金项目: 菏泽学院科学研究基金资助项目, 编号 xy06hx03.

作者简介: 李霞(1960-), 女, 实验师, 主要从事电化学研究, E-mail: xlr-1x@163.com; 通讯联系人: 陈美凤(1981-), 女, 讲师, 硕士研究生, 主要从事电化学研究, E-mail: cmf369@sohu.com.

1.3 实验方法

将含有一定量异丙肾上腺素标准溶液的 PBS (pH 5.0) 放入电解池内, 以聚 L-丝氨酸修饰电极为工作电极, 饱和甘汞电极为参比电极, 铂丝电极为对电极, 在 0~0.6 V 电位范围内, 以 80 mV/s 的扫描速度扫描, 记录其循环伏安图. 每次扫描结束后, 将聚合修饰电极置于空白底液中循环扫描至无峰, 以保持其良好的稳定性和重现性, 用水淋洗, 滤纸吸干后即可进行下一次扫描.

2 结果与讨论

2.1 电化学聚合条件的选择

改变底液的 pH 值进行聚合实验, 结果表明, 当底液的 pH 为 6.0 时, 制得的聚合修饰电极对 EP 的响应电流达到最大值, 故本实验选择在 pH 6.0 的 PBS 介质中聚合.

聚合底液浓度为 1.0×10^{-5} mol/L, 聚合电位范围为 -0.6~1.7 V 时, 改变聚合扫描次数进行实验, 结果表明, 聚合扫描 12 周时, 修饰电极对异丙肾上腺素的响应电流达到最大值, 扫描周数大于或小于 12 周时, 峰电流都会变小, 这与修饰电极表面聚合膜的厚度有关. 若聚合时间短, 则修饰电极表面聚合的氨基酸较少, 形成膜的厚度不够, 那么相应的活性电位点就少, 对异丙肾上腺素的响应电流也小; 若聚合时间过长, 修饰电极表面形成的膜增厚, 电子在膜中传递阻力变大, 导致对异丙肾上腺素的响应电流变低, 故实验选择聚合扫描次数为 12 周.

聚合扫描速度的大小对聚合效果影响较大. 当扫描速度为 80 mV/s 时, 氧化峰和还原峰的峰电流均达到最大值, 故实验以 80 mV/s 的扫描速度进行聚合.

2.2 异丙肾上腺素在修饰电极上的电化学特性

图 1 为 1.0×10^{-5} mol/L 异丙肾上腺素分别在裸电极和聚 L-丝氨酸修饰电极上的循环伏安曲线. 由图可见, 异丙肾上腺素在裸电极上无明显氧化还原峰, 而在聚 L-丝氨酸修饰电极上则呈现出一对峰形良好的氧化还原峰, 电极表面的可逆性明显增强. 根据 Randles-Sevcik 公式

$$I_p = 2.69 \times 10^{-5} n^{3/2} A D_0^{1/2} v^{1/2} c_0, \quad (1)$$

其中, A 为电极有效面积 (cm^2), D_0 为反应物的扩散系数 (cm^2/s), n 为电极反应的电子转移数, v 为扫描速度 (V/s), c_0 为反应物的浓度 (mol/L), I_p 为峰电流 (A).

在不同扫描速度下测定聚 L-丝氨酸在玻碳修饰电极上的 I_{pc} , 得到聚 L-丝氨酸修饰电极有效面积 $A_{\text{eff}} = 10.8 \text{ mm}^2$. 较之修饰之前的裸玻碳电极, 电极反应的有效面积增至原来的 2 倍, 其峰电位 $E_{pa} = 0.400 \text{ V}$, $E_{pc} = 0.370 \text{ V}$, $\Delta E = 30 \text{ mV}$. $I_{pa} = -6.806 \mu\text{A}$, $I_{pc} = 4.725 \mu\text{A}$, $|I_{pa}/I_{pc}| > 1$, 表明异丙肾上腺素在修饰电极上的电极反应为准可逆过程, 说明异丙肾上腺素在聚 L-丝氨酸修饰电极上有吸附作用. 由 $\Delta E = 59/n \text{ mV}$, 可算出 $n \approx 2$, 由此可以判断异丙肾上腺素在修饰电极上的氧化反应为

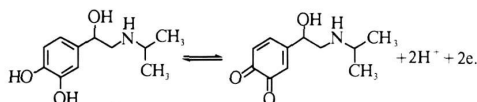


图 2 为聚 L-丝氨酸修饰电极在 1.0×10^{-5} mol/L 异丙肾上腺素的 PBS (pH 5.0) 中, 不同扫描速度 (20, 60, 100, 140, 180, 220, 260, 300, 340, 380 mV/s) 下的循环伏安图. 在 20~380 mV/s 范围内, 异丙肾上腺素的氧化峰和还原峰的峰电流均与扫描速度呈线性关系, 线性回归方程及相关系数分别为

$$i_{pa} (\text{A}) = -4.67 \times 10^{-6} - 5.54 \times 10^{-8} v (\text{mV}/\text{s}), R = 0.991 1;$$

$$i_{pc} (\text{A}) = 1.74 \times 10^{-6} + 5.51 \times 10^{-8} v (\text{mV}/\text{s}), R = 0.992 2.$$

由此表明, 修饰电极表面对异丙肾上腺素有吸附特性. 同时, 峰电位之差随扫描速度的增大而增加, 说明

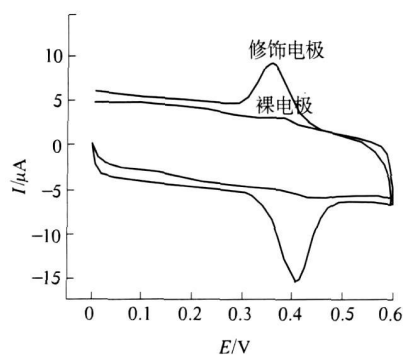


图 1 异丙肾上腺素在裸电极和聚 L-丝氨酸修饰电极上的循环伏安图

Fig. 1 Cyclic voltammograms of isoprenaline at a bare electrode and a poly(L-serine acid) modified electrode

异丙肾上腺素在修饰电极上为准可逆反应.

2.3 电化学测定异丙肾上腺素条件的选择

2.3.1 pH 值对测定异丙肾上腺素的影响 图3是不同pH值下异丙肾上腺素在聚L-丝氨酸修饰电极上的循环伏安图.pH值在2.0~7.0之间,异丙肾上腺素与pH值的线性关系为

$$E_{pa}(\text{V}) = 0.6102 - 0.05604 \text{ pH}, R = 0.9909;$$

$$E_{pc}(\text{V}) = 0.5167 - 0.04050 \text{ pH}, R = 0.9988.$$

在pH=7.0时,异丙肾上腺素在电极上钝化严重,且氧化还原峰对称性不好,当pH=5.0时,其还原峰电流达到最大值,并且对称性比较好,故本实验选用pH 5.0的PBS缓冲溶液.

2.3.2 扫描电位对测定异丙肾上腺素的影响 分别改变不同的起止电位与终止电位进行实验,结果表明,扫描电位在0~0.6V范围内,聚L-丝氨酸修饰电极对异丙肾上腺素的响应电流最大,并且峰形对称性较好,故实验选用扫描电位范围为0~0.6V.

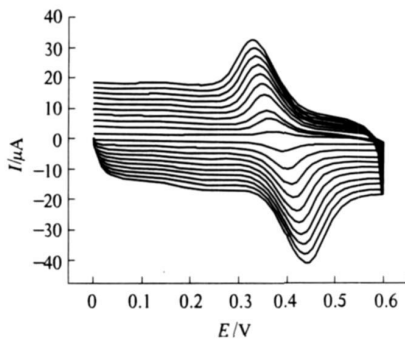
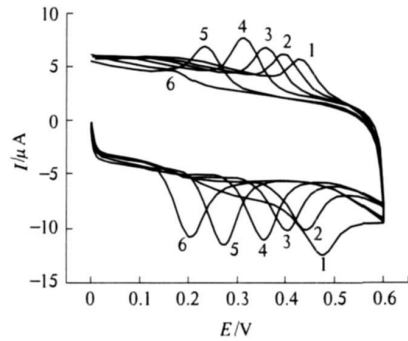


图2 异丙肾上腺素在不同扫描速度下的循环伏安图

Fig. 2 Cyclic voltammograms of isoprenaline at different scanning rates



1. pH=2.2; 2. pH=3.0; 3. pH=4.0;
4. pH=5.0; 5. pH=6.0; 6. pH=7.0

图3 异丙肾上腺素在不同pH值缓冲溶液中的循环伏安图

Fig. 3 Cyclic voltammograms of isoprenaline at different pH values

2.3.3 扫描速度对测定异丙肾上腺素的影响 在20~380 mV/s的扫描速度范围内,随着扫描速度的增加,氧化还原峰电流均有所增加(图2),氧化峰电位正移,而还原峰电位负移.在低扫描速度下,峰形对称性较好,但响应电流较小;在高扫描速度下,峰电流较大,但氧化还原峰电位差加大,对称性降低.考虑到测定的灵敏度,本实验选用扫描速度为80 mV/s.

电极反应受扩散过程控制,根据峰电流与峰电位的关系

$$I_p = 0.227 \times 10^{-3} nFAc_0 k_s \exp[\alpha nF(V_p - V_{1/2})]/RT. \quad (2)$$

以不同扫描速度下阳极支和阴极支各自的 $\ln I_p$ 对 V_p 作图,通过其斜率列方程组可计算得到传递系数 $\alpha = 0.580$,反应速率常数 $k_s = 3.74 \times 10^{-3} \text{ cm/s}$.

2.4 线性范围和检出限

在最佳实验条件下,异丙肾上腺素在 $5.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 和 $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.2 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 浓度范围内与氧化峰的峰电流分段呈线性关系;相关系数 $R_1 = 0.9972$, $R_2 = 0.9993$,检出限为 $1.0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$.其回归方程分别为: $i_{pa}(\text{A}) = -1.39 \times 10^{-6} + 0.80c(\text{mol/L})$; $i_{pc}(\text{A}) = -1.05 \times 10^{-5} - 0.15c(\text{mol/L})$.

2.5 测定的重现性和稳定性

修饰电极在含有 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 异丙肾上腺素的PBS(pH 5.0)中连续测定40次, RSD 为3.2%,表明修饰电极对异丙肾上腺素的测定具有良好的重现性.修饰电极室温下放50d或连续测定60次以上,对异丙肾上腺素的响应电流为初始响应电流的95%.将修饰电极浸入pH 5.0的PBS溶液中以80 mV/s的速度循环扫描12周,即可再生.由此表明,聚L-丝氨酸修饰电极具有较高的电化学稳定性.

2.6 干扰试验

按实验方法对 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 异丙肾上腺素在PBS(pH 5.0)中进行测定,当相对误差在 $\pm 5\%$ 时,抗坏血酸浓度达到 10^{-3} mol/L 以上时仍没有影响(相对偏差小于5%),1000倍的 K^+ , Na^+ , Ba^{2+} , Mg^{2+} ,

Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} ; 100 倍的 NH_4^+ , 葡萄糖, 淀粉; 10 倍的 Zn^{2+} , Ca^{2+} 均不干扰测定。

2.7 样品分析

将 3 支不同批号的异丙肾上腺素注射液(标示量为 1 mg/mL)分别移至 50 mL 棕色容量瓶中, 定容, 移取一定量样品进行测定, 结果见表 1。

表 1 异丙肾上腺素注射液的分析结果

Tab.1 Determination of isoprenaline in injection samples ($n=6$)

样品编号	样品中的测定值/(mg · L ⁻¹)	加入标准量/(mg · L ⁻¹)	测得总量/(mg · L ⁻¹)	回收率/%
1	2.08	2.00	4.05	98.5
2	2.12	2.00	4.15	101.5
3	2.05	2.00	4.03	99.0

参考文献:

- [1] 程寒, 吴剑虹, 陈荣生, 等. 芯片毛细管电泳集成电化学检测装置和 4 种碳纤维电极的比较研究[J]. 分析化学, 2008, 36(1): 1-6.
- [2] 程海英, 骆清铭, 王征, 等. 用激光散斑技术监测药物作用下淋巴流的变化[J]. 光电子·激光, 2002, 13(3): 300-304.
- [3] Lee E J, Joseph L S, James A M. Determination of isoproterenol sulfate on surfaces using high performance liquid chromatography with electrochemical detection[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 723: 235-241.
- [4] Nagaraja P, Vasantha R A, Sunitha K R. A sensitive and selective spectrophotometric estimation of catechol derivatives in pharmaceutical preparations[J]. Talanta, 2001, 55(6): 1039-1046.
- [5] Talebpour Z, Haghgoo S, Shamsipur M. ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy analysis for simultaneous determination of levodopa, carbidopa and methyldopa in human serum and pharmaceutical formulations[J]. Anal Chim Acta, 2004, 506(1): 97-101.
- [6] 聂峰, 刘华俊, 朱小梅. NaIO₄-H₂O₂-盐酸异丙肾上腺素-Cu²⁺体系化学发光测定盐酸异丙肾上腺素[J]. 分析科学学报, 2005, 21(5): 527-529.
- [7] 王南平, 张其平, 张湛斌, 等. β-环糊精修饰金电极对神经递质的电化学测定[J]. 分析测试学报, 2003, 22(5): 29-32.
- [8] 何里存, 陈孟林, 蒋毅民, 等. 多巴胺在修饰电极上的电催化氧化及其测定[J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 1999, 17(2): 64-67.

Cyclic Voltammetric Determination of Isoprenaline Using Poly (L-Serine Acid) Modified Electrode

LI Xia, CHEN Mei-feng, SUN Zhong-xin

(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Heze College, Heze 274015, China)

Abstract: A new method for the determination of isoprenaline using L-serine modified electrode is established. A poly (L-serine acid) modified glassy carbon electrode has been prepared by cyclic voltammetry in phosphate buffer solution (PBS) of pH 6.0. In PBS of pH 5.0, the peak potentials are 0.400 V of E_{pa} and 0.370 V of E_{pc} at the scanning rate 80 mV/s and cyclic scanning potentials range from 0 to 0.6 V. The calculated rate constant (k_s) is 3.74×10^{-3} cm/s. The peak current and the concentration of isoprenaline are a linear relationship in the range of $5.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L and $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.2 \times 10^{-4}$ mol/L. The detection limit is 1.0×10^{-8} mol/L. The method exhibits good recovery and reproducibility and is applied to the determination of isoprenaline in injection with satisfactory results.

Key words: chemically modified electrode; L-serine; isoprenaline