

[研究简报]

多巴胺在 dsDNA/Ni²⁺/聚邻氨基酚 修饰碳糊电极上的伏安行为

杨涛^{1,2}, 焦奎¹, 杨婕¹, 赵常志¹, 曲文营¹

(1. 青岛科技大学化学与分子工程学院, 青岛 266042; 2. 中国海洋大学化学化工学院, 青岛 266003)

关键词 邻氨基酚; Ni²⁺; DNA; 多巴胺; 抗坏血酸

中图分类号 O657.1

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2006)12-2294-03

多巴胺(DA)是哺乳动物的一种非常重要的神经递质,人们制备了各种修饰电极用于DA的测定^[1~10].近年来,将DNA修饰电极用于电催化多巴胺的研究已有报道,如Lin等^[8]研制了DNA纳米网络碳纤维电极,Hu等^[9]制备了ssDNA-SWNTs(单壁碳纳米管)修饰电极.本文通过电化学聚合法在碳糊电极上共聚制备了聚邻氨基酚/Ni²⁺膜(Ni²⁺/P-OAP/CPE),研究了膜的伏安特性,并制成dsDNA修饰电极,通过电化学和紫外光谱法进行表征.将dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE电极应用于多巴胺的电催化氧化,同时将该方法用于盐酸多巴胺针剂的测定,亦获得了满意的结果.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 CHI 832 电化学分析仪(上海辰华仪器公司), Cary 50 紫外-可见分光光度计(Varian公司,澳大利亚),三电极系统:工作电极为碳糊或碳糊修饰电极,对电极为铂丝电极,参比电极为饱和甘汞电极(SCE). 0.20 mol/L 邻氨基酚(OAP,北京宏宇化工公司),鲑鱼精DNA(北京经科试剂公司),多巴胺(Sigma,美国),抗坏血酸(AA,上海化学试剂有限公司),0.1 mol/L 磷酸盐缓冲溶液(PBS). DA和AA溶液均用0.1 mol/L PBS新鲜配制并通氮除氧,其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水.

1.2 实验方法 将石蜡和石墨粉按1:3(质量比)的比例混合,在80℃下加热并搅拌使其混合均匀,然后装入洁净的玻璃管中,插入铜丝作为导线,压紧冷却.使用前将电极在80℃加热,压紧抛光.

将碳糊电极抛光后,置于含1.0 mL 0.2 mol/L的OAP、3.0 mL 1.0 mol/L的NiSO₄和6.0 mL 1.0 mol/L的HClO₄聚合液中,进行循环伏安实验,扫描电位区间-0.5~1.5 V,扫描速度50 mV/s,扫描周数为30周,聚合完成后用NaOH扫描至稳定,制得Ni²⁺/P-OAP/CPE修饰电极.在0.9 mol/L NaOH溶液中,用循环伏安法(扫描电位区间0.1~1.0 V)研究Ni²⁺/P-OAP/CPE电极的伏安特性.

将Ni²⁺/P-OAP/CPE电极放入到含一定浓度dsDNA的醋酸缓冲溶液中,依靠静电力吸附3 h,即制得dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE电极.以1.0 mmol/L Co(phen)₃²⁺(phen为邻菲咯啉)溶液为指示溶液,用循环伏安法分别对裸CPE电极、Ni²⁺/P-OAP/CPE电极和dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE电极进行电化学表征,扫描电位范围为-0.2~0.5 V,扫描速度为40 mV/s.根据Co(phen)₃²⁺在3种不同电极上氧化-还原峰电流的变化,判断其固定情况.将多支dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE电极置于小体积高离子强度的溶液(3.0 mol/L KCl溶液)中一段时间,并用Cary 50紫外-可见分光光度计记录此溶液在260 nm处有无吸收峰,以此来判断是否能够置换出其吸附的DNA,考察DNA固定情况.

采用微分脉冲伏安法在1.0 × 10⁻² mol/L AA共存下测定不同浓度的DA.

2 结果与讨论

2.1 dsDNA在Ni²⁺/P-OAP/CPE电极上的固定及其表征 分别以裸CPE电极、Ni²⁺/P-OAP/CPE电

收稿日期: 2006-01-26.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20375020)和青岛市自然科学基金(批准号: 04-2-JZP-8)资助.

联系人简介: 焦奎(1945年出生),男,博士,教授,博士生导师,主要从事电分析化学研究. E-mail: kjiao@qust.edu.cn

极和 dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极为工作电极,用循环伏安法在 1.0 mmol/L Co(phen)₃²⁺ 溶液中进行电化学表征^[11],与裸 CPE 电极相比,在 Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极上 Co(phen)₃²⁺ 的氧化-还原电流明显减小,而在 Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极上固定 dsDNA 以后,Co(phen)₃²⁺ 的氧化-还原电流又明显增加,其原因可能是 Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极表面带有正电荷,阻碍 Co(phen)₃²⁺ 聚集到电极表面参与电极反应,从而使 Co(phen)₃²⁺ 氧化-还原电对的电流减小,而在 Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极上固定 dsDNA 后,由于 DNA 的磷酸骨架上呈现电负性会抵消 Ni²⁺/P-OAP/CPE 膜上的一部分正电荷,从而使电极对溶液中的 Co(phen)₃²⁺ 的吸附力增强,加之 Co(phen)₃²⁺ 通过部分配体 phen 环以嵌插模式结合在 dsDNA 碱基 A-T 及 G-C 富集区,同时配合物的一部分与磷酸二酯键相互作用^[12],导致氧化-还原电流增加,并且随着该电极浸泡于 dsDNA 溶液中时间的增加,其电流增加的幅度有所增大.表明 dsDNA 已被成功地修饰到 Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极上.

为检验固定在 Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极上的 dsDNA 的稳定性,将 dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极放入高离子强度的 3.0 mol/L KCl 电解质中,每经过一定时间测试溶液的 UV 吸收谱线,结果显示,在 6 h 以内,UV 吸收谱线上并未出现 dsDNA 在 260 nm 处的特征吸收,表明溶液中没有 DNA,即固定在电极上的 dsDNA 未被洗脱下来.在 42 °C 下,机械搅拌 40 min,再测试溶液的 UV 吸收曲线,结果在 260 nm 处有 DNA 的特征吸收^[13],表明 dsDNA 确实被固定在此电极上.将没有固定 DNA 制得的 Ni²⁺/P-OAP/CPE 也在 42 °C 下机械搅拌 40 min,UV 谱图中没有吸收峰出现,说明 Ni²⁺/P-OAP 膜很稳定.

2.2 dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极电催化多巴胺

图 1 是多巴胺在 pH 值为 5.1 的 PBS 溶液中于裸 CPE、Ni²⁺/P-OAP/CPE 和 dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE 修饰电极上的循环伏安图.在裸 CPE 电极上(图 1 曲线 a),DA 在 0.630 V 左右产生小的氧化电流,在 0.030 V 产生相应的还原电流.氧化-还原电位差为 600 mV.在 Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极上(图 1 曲线 b),DA 的峰电流明显增加,氧化峰电位负移至 0.304 V,还原峰电位正移至 0.192 V,峰电位差为 112 mV,氧化-还原峰形变得更加可逆.在 Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极上固定 dsDNA 后(图 1 曲线 c),DA 氧化-还原电对的峰电流进一步增大,峰电位差减小至 96 mV.

2.3 dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE 修饰电极对多巴胺选择性检测

图 2 是 1.0 × 10⁻² mol/L AA 存在下,不同浓度的 DA 在 pH 值为 5.1 的 PBS 溶液中于 dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE 电极上的微分脉冲伏安曲线.在裸 CPE 上,DA 和 AA 呈现出一个宽的氧化峰,两者峰完全重叠不可分辨^[8].然而在 dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE 上,DA 和 AA 完全重叠的氧化峰被分成两个独立而尖锐的氧化峰.出现这种情况的原因是 dsDNA 的磷酸骨架上的负电荷较强烈吸引 DA,而排斥 AA,并且 DA 和 DNA 可能以某种形式相互作用^[14]使峰电位差变大.如此宽的峰间距足以对混合液中的 DA 和 AA 进行同时测定.氧化峰电流与 DA 浓度在 5.0 × 10⁻⁶ ~ 2.0 × 10⁻⁴ mol/L 范围内呈现良好的线性关系,线性回归方程为 $i_p = -43.26c - 5.130$ ($n = 5, \gamma = 0.993$),检测限为 2.6 × 10⁻⁷ mol/L.

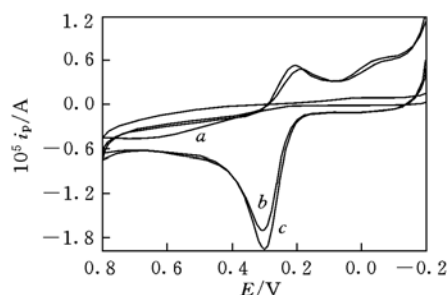


Fig. 1 Cyclic voltammograms of 1.0 × 10⁻⁴ mol/L DA solution at bare CPE (a), Ni²⁺/P-OAP/CPE (b) and dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE (c) Scan rate: 5 mV/s.

2.3 dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE 修饰电极对多巴胺选择性检测

图 2 是 1.0 × 10⁻² mol/L AA 存在下,

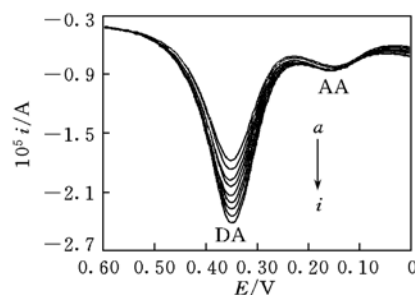


Fig. 2 Differential pulse voltammograms of different DA concentrations with 1.0 × 10⁻² mol/L AA in pH 5.1 PBS at dsDNA/Ni²⁺/P-OAP/CPE

$c(\text{DA})/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$: a. 1.0 × 10⁻⁴; b. 1.2 × 10⁻⁴; c. 1.3 × 10⁻⁴; d. 1.4 × 10⁻⁴; e. 1.5 × 10⁻⁴; f. 1.6 × 10⁻⁴; g. 1.7 × 10⁻⁴; h. 1.8 × 10⁻⁴; i. 2.0 × 10⁻⁴. DPV parameters: amplitude: 50 mV, pulse period: 0.2 s, pulse width: 60 ms.

2.4 样品分析 将 2 mL 盐酸多巴胺注射液(购自江苏金坛市制药厂)移入 100 mL 容量瓶中,以 PBS 稀释至刻度,按实验方法测得结果($n = 5$)为 20.2 g/2 L,与标示值(20 g/2 L)相符,相对标准偏差 2.5%.

参 考 文 献

- [1] Saraceno R. A., Pack J. G., Ewing A. G. J. *Electroanal. Chem.* [J], 1986, **197**(2): 265—278
- [2] WANG Sheng-Fu(王升富), JIANG Mian(蒋勉), ZHOU Xing-Yao(周性尧). *J. Anal. Sci. (分析科学学报)* [J], 1994, **10**(1): 15—19
- [3] HE Pin-Gang(何品刚), YU Yan-Ling(于雁灵), FANG Yu-Zhi(方禹之). *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)* [J], 1996, **24**(4): 407—410
- [4] Zhou D. M., Ju H. X., Chen H. Y. *J. Electroanal. Chem.* [J], 1996, **408**(2): 219—233
- [5] SUN Deng-Ming(孙登明), GU Hai-Ying(顾海鹰), YU Ai-Min(俞爱民) *et al.*. *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)* [J], 1997, **18**(3): 376—380
- [6] XU Jing-Juan(徐静娟), WANG Yun(汪云), FANG Hui-Qun(方惠群) *et al.*. *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)* [J], 1998, **26**(4): 428—430
- [7] SUN Yuan-Xi(孙元喜), YE Bao-Xian(冶保献), ZHOU Xing-Yao(周性尧). *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)* [J], 1998, **26**(5): 506—510
- [8] Lin X. Q., Lu L. P., Jiang X. H. *Microchim. Acta* [J], 2003, **143**(4): 229—235
- [9] Hu C. G., Zhang Y. Y., Bao G. *et al.*. *J. Phys. Chem. B* [J], 2005, **109**(43): 20072—20079
- [10] Kalakodimi R. P., Nookala M. *Anal. Chem.* [J], 2002, **74**(21): 5531—5537
- [11] Pang D. W., Abruna H. D. *Anal. Chem.* [J], 1998, **70**(15): 3162—3169
- [12] DONG Li-Qin(董丽琴), ZHOU Jian-Zhang(周剑章), WU Ling-Ling(吴玲玲) *et al.*. *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)* [J], 2003, **24**(2): 315—319
- [13] JIAO Kui(焦奎), XU Gui-Yun(徐桂云), ZHANG Xu-Zhi(张旭志) *et al.*. *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)* [J], 2005, **26**(5): 841—843
- [14] Liu J., Wang Z. H., Luo G. A. *et al.*. *Anal. Sci.* [J], 2002, **18**(7): 751—755

Voltammetric Behavior of Dopamine at dsDNA-modified Ni²⁺/poly(*o*-aminophenol) Carbon Paste Electrode

YANG Tao^{1,2}, JIAO Kui^{1*}, YANG Jie¹, ZHAO Chang-Zhi¹, QU Wen-Ying¹

(1. College of Chemistry and Molecular Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China;

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract The Ni²⁺/poly(*o*-aminophenol) electropolymerization was carried out by a continuous cyclic voltammetric scanning at a carbon paste electrode in a mixture of 0.02 mol/L *o*-aminophenol, 0.3 mol/L NiSO₄ and 0.6 mol/L HClO₄. dsDNA was linked to the conducting polymer *via* three-dimensional structure of polymer film and electrostatic attraction between the negatively charged phosphate backbone of DNA and Ni²⁺ ion. The results were testified by the electrochemical methods by using Co(phen)₃²⁺ as an electrochemical indicator. The currents of redox peaks of Co(phen)₃²⁺ increased after immobilizing dsDNA. The conditions for the preparation of Ni²⁺/P-OAP/CPE and DNA immobilization were optimized. The voltammetric behavior of dopamine was investigated at the modified electrode. It was found that the modified electrode exhibited a highly electrocatalytic activity toward dopamine oxidation. Differential pulse voltammetry was used for determination of dopamine in pH 5.1 phosphate buffer solution. A linear response of the peak current *versus* the concentration was found in the range from 5.0 × 10⁻⁶ to 2.0 × 10⁻⁴ mol/L with 1.0 × 10⁻² mol/L AA (ascorbic acid) coexisting. The presence of a high concentration of AA did not interfere with the determination. The proposed method exhibits a good recovery and reproducibility.

Keywords *o*-Aminophenol; Ni²⁺; DNA; Dopamine; Ascorbic acid

(Ed.: A, G)