

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0972.2010.01.035

# 聚 L-丝氨酸修饰电极循环伏安法测定肾上腺素

李霞\*, 陈美凤, 林宪杰

(菏泽学院 化学与化工系, 山东 菏泽 274015)

**摘要:**建立循环伏安法测定肾上腺素的新方法.制备聚 L-丝氨酸修饰的化学修饰电极,用其测定了肾上腺素.结果表明,在 pH 5.0 的磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 中,扫描速率为 140 mV/s,循环扫描电位在 0~0.6 V 时,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,峰电位为:  $E_{pa} = 0.364$  V,  $E_{pc} = 0.311$  V,  $E = 0.53$  V;测定肾上腺素的线性范围为  $5.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>,方法检出限  $1.0 \times 10^{-8}$  mol·L<sup>-1</sup>.该方法简单、快速、灵敏、电极稳定性好,用于针剂中肾上腺素的测定,取得满意的结果.

**关键词:**化学修饰电极; L-丝氨酸; 肾上腺素

**中图分类号:** O657.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-0972(2010)01-0137-04

## Voltammetric Determination of Epinephrine Using Poly(L-Serine acid) Modified Electrode

L I X i a \*, C H E N M e i f e n g, L I N X i a n - j i e

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

**Abstract:** The poly (L-serine acid) modified glassy carbon electrode had been prepared using cyclic voltammetric method, and the voltammetric behavior of EP and the determination of EP by cyclic voltammetric method had been studied on the poly(L-serine acid) modified electrode. In phosphate buffer solution (PBS) at pH 5.0, a couple of redox peaks of EP on the poly(L-serine acid) modified electrode are observed in cyclic voltammetric. The peak potentials are 0.364 V of  $E_{pa}$ , 0.311 V of  $E_{pc}$  and  $E = 0.53$  V at the scan rate 140 mV·s<sup>-1</sup>, and cyclic scan potentials range from 0 V to 0.6 V. The linear range of the method is  $5.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>. The detection limit is  $1.0 \times 10^{-8}$  mol·L<sup>-1</sup>. The method is simple and the electrode has high stability. It can be applied to the determination of adrenaline in injection with satisfactory results.

**Key words:** chemically modified electrode; L-serine; epinephrine

## 0 引言

肾上腺素 (EP) 是一种重要的激素,存在于神经组织和体液中,其浓度影响多种生理过程,其代谢的紊乱可导致某些疾病的发生<sup>[1]</sup>.因此,探索快速、方便、灵敏检测 EP 的方法在生理机能和临床医学等方面有重要的意义.目前测肾上腺素的方法有荧光法<sup>[2]</sup>、高效液相色谱<sup>[3-4]</sup>、毛细管电泳<sup>[5]</sup>、离子色谱法<sup>[6]</sup>、分光光度法<sup>[7-8]</sup>等,但这些方法与化学修饰电极<sup>[9-10]</sup>方法相比较,具有灵敏度低、检出限高的特点.尽管这些已有的化学修饰电极测定 EP 的选择性、重复性及富集时间有所提高,但检测线高,线性范围也不宽,且电极的实用寿命也未能

较大提高.用聚 L-丝氨酸修饰电极测定 EP 还未见报道.本文采用循环伏安法研究了 L-丝氨酸修饰电极测定 EP 的电化学方法.

## 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; pH5-3B 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 (SCE) 为参比电极.测量均在室温 (25 ) 下进行.

L-丝氨酸 (L-serine Acid), 上海生物研究所;

收稿日期: 2009-05-20; 修订日期: 2009-11-12; \* 通讯联系人, E-mail: szh369@yahoo.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20633060)

作者简介: 李霞 (1960-), 女, 山东单县人, 实验师, 主要从事电化学研究.

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 (pH 2.2~8.0) 缓冲溶液; 丝氨酸 (PBS),  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . 其他所用试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水.

### 1.2 聚 L-丝氨酸修饰电极的制备

在湿润的金相砂纸 (粒度为 1 000) 上磨光玻碳电极 ( $\phi = 3 \text{ mm}$ ), 然后用  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ( $0.05 \mu\text{m}$ ) 抛光, 并依次用  $\text{HNO}_3$  (1+1)、无水乙醇、蒸馏水超声波清洗. 玻碳电极为工作电极, 铂丝电极为对电极, 饱和甘汞电极 (SCE) 为参比电极. 在浓度为  $1.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH 6.0) 中,  $-0.6 \sim 2.6 \text{ V}$  电位范围内, 以  $80 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  循环扫描 11 周, 取出, 用亚沸水冲洗, 即制得聚 L-丝氨酸修饰电极.

### 1.3 实验方法

将含有一定量 EP 的 PBS (pH 5.0) 溶液放入电解池内, 以聚 L-丝氨酸修饰电极为工作电极, 甘汞电极为参比电极, 铂丝电极为对电极, 在  $0 \sim 0.6 \text{ V}$  电位范围内, 以  $140 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  的扫描速率扫描, 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

研究了聚合底液酸度、聚合起止电位、聚合扫描速度及周数对修饰膜的性能的影响. 分别改变磷酸盐底液的 pH、起始电位、终止电位及扫描速度进行实验. 结果表明, 在 pH 6.0 PBS 中,  $-0.6 \sim 1.8 \text{ V}$  电位范围内, 扫描速度为  $80 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  时, 所制备的聚谷氨酸膜对异丙肾上腺素的催化效果最佳, 聚合伏安曲线见图 1.

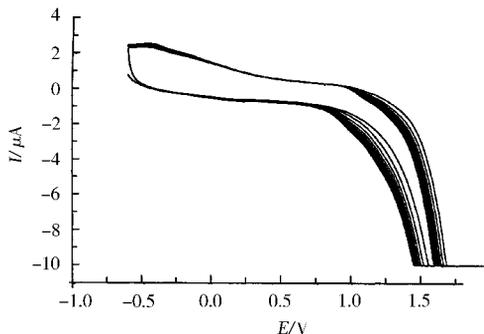


图 1 L-谷氨酸聚合过程的循环伏安曲线

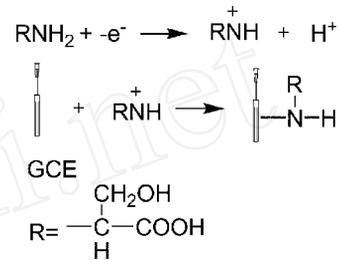
Fig 1 Cyclic voltammograms curves of L-glutamic acid in polymerization process

实验结果表明, 膜的厚度随扫描次数的增加而

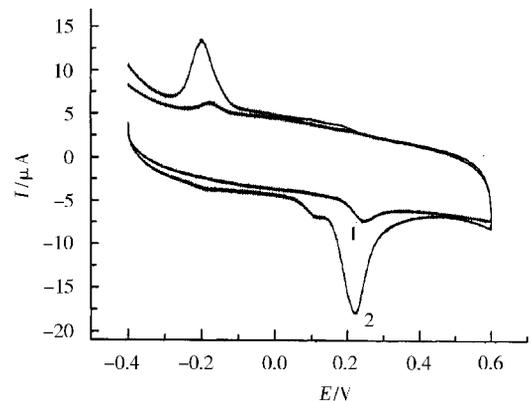
逐渐增加. 在谷氨酸饱和溶液中, 改变扫描次数进行实验, 聚合 11 周时, 修饰电极对异丙肾上腺素的响应电流达到最大值. 聚合 11 周后, 响应电流下降, 这是由于聚合时间长, 膜的厚度增加, 电子在膜中传递阻力变大, 致使响应电流降低. 故本实验选择聚合扫描次数为 11 周.

### 2.2 丝氨酸在玻碳电极上的聚合机理

丝氨酸在 (pH = 7.0 PBS) 玻碳电极上有一不可逆的氧化峰,  $E_{pa} = 1.3 \text{ V}$ . 反扫时观察不到明显的还原峰, 说明物种进行了一个化学反应, Deinharnmar 指出扩散速率和立体效应是影响氨基化合物在玻碳电极上固定的最重要的因素, 曾对氨基化合物在玻碳电极上的聚合过程作过报道<sup>[11]</sup>, 王艳玲等也对聚合过程机理作过报道<sup>[12]</sup>, 我们提出反应机理如下:



### 2.4 EP 在修饰电极上的电化学特性



扫描速率  $\nu = 140 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ ;  $C_{EP} = 1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

图 2 肾上腺素在裸电极 (1) 和聚 L-丝氨酸修饰电极 (2) 上的循环伏安图

Fig 2 Cyclic voltammograms of epinephrine at a bare electrode (1) and a poly(L-serine acid) modified electrode

图 2 为  $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 EP 分别在裸电极 (1) 和聚 L-丝氨酸修饰电极 (2) 上的循环伏安曲线. 由图可见, EP 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, 其峰电位分别为  $E_{pa} = 0.364$

$V, E_{pc} = 0.311V, E = 53 mV. i_{pa} = -13.26 \mu A, i_{pc} = 10.24 \mu A, i_{pa}/i_{pc} > 1$ ,表明 EP在聚 L-丝氨酸修饰电极上为准可逆过程。

图 3为聚 L-丝氨酸修饰电极在  $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  EP的 PBS(pH6.0)中不同扫描速率下的循环伏安图.在  $20 \sim 340 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 扫速范围内,EP的氧化峰和还原峰的峰电流均与扫描速率呈线性关系,线性回归方程及相关系数分别为:

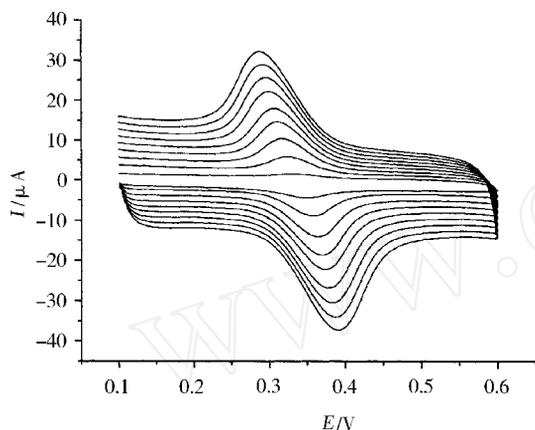
$$i_{pa} (\text{A}) = 2.5 \times 10^{-6} + 6.9 \times 10^{-8} v (\text{mV} \cdot \text{s}),$$

$$R = 0.9953;$$

$$i_{pc} (\text{A}) = 6.1 \times 10^{-7} + 6.4 \times 10^{-8} v (\text{mV}/\text{s}),$$

$$R = 0.9961.$$

由此表明,修饰电极表面对 EP有吸附特性.同时,峰电位之差随扫速的增大而增加,说明 EP在修饰电极上为准可逆反应。



扫描速率 (scanning rates)从内到外分别为:  
20, 60, 100, 140, 180, 220, 260, 300, 340  $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$

图 3 聚 L-丝氨酸修饰电极在 EP ( $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 中不同扫速下的循环伏安图

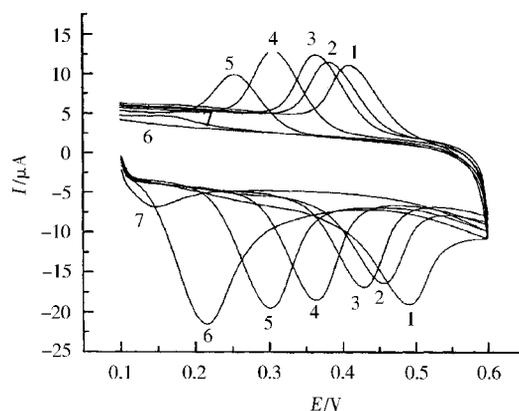
Fig 3 Cyclic voltammograms of  $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  epinephrine at the poly(L-serine acid) modified electrode under different scanning rates

## 2.4 电化学测定 EP条件的选择

### 2.4.1 pH值对 EP测定的影响

图 4是不同 pH下 EP在聚 L-丝氨酸修饰电极上的循环扫描伏安图. pH值在  $2.0 \sim 8.0$ 之间,氧化还原峰电位分别与 pH呈线性关系,其回归方程为:  $E_{pa} (\text{V}) = 0.61 - 0.048\text{pH}, R = 0.9970$ ;  $E_{pc} (\text{V}) = 0.51 - 0.04\text{pH}, R = 0.9956$  随着 pH值的升高,氧化峰和还原峰的峰电位负移,峰电流也逐渐增大.由此说明反应过程中有质子参与反应.当 pH值为 5.0时,其还原峰电流达到最大值,故本实验

选用 pH5.0的 PBS缓冲溶液。



1-7分别为: pH2.2, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0

图 4 肾上腺素在不同 pH磷酸盐缓冲溶液中循环伏安图

Fig 4 Cyclic voltammograms of  $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  epinephrine in phosphate buffer of different pH

### 2.4.2 扫描电位对测定 EP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  $0 \sim 0.6 \text{ V}$ 范围内,聚 L-丝氨酸修饰电极对 EP的响应电流最大,并且峰形对称性较好,故本实验选用扫描电位范围为  $0 \sim 0.6 \text{ V}$ 。

### 2.4.3 扫描速率对测定 EP的影响

改变扫速率进行实验,结果表明,在  $20 \sim 340 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 的扫描速率范围内,随着扫描速率的增加,氧化峰渐渐正移,还原峰负移,电位差不断增大,峰电流与扫描速率呈良好线性关系.在低扫速下,峰形对称性较好,但响应电流较小;在高扫速下,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,本实验选用扫描速率为  $140 \text{ mV}/\text{s}$

## 2.5 线性范围和检出限

最佳实验条件下,EP在  $5.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内与还原峰的峰电流分段呈线性关系,检出限为  $1.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,标准曲线分段绘制,其线性回归方程和相关系数见表 1所示。

表 1 标准曲线

Tab 1 Calibration curves

| 浓度范围/<br>( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 线性回归方程  | 相关系数率  |
|---|---|--------|
| $5.0 \times 10^{-7} \sim 1.5 \times 10^{-5}$  | $i_{pc} (\text{A}) = 1.8 \times 10^{-6} + 0.95c$  | 0.9965 |
| $1.5 \times 10^{-5} \sim 2.0 \times 10^{-4}$  | $i_{pc} (\text{A}) = 1.1 \times 10^{-5} + 0.081c$ | 0.9972 |

## 2.6 测定 EP 的稳定性和重现性

修饰电极在含有  $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  EP 的 PBS (pH 5.0) 缓冲溶液中连续测定 40 次, 测得结果的  $RSD = 3.2\%$ , 表明修饰电极对 EP 的测定具有良好的重现性. 修饰电极室温下放 50 d 或连续测定 60 次以上, 对 EP 的响应电流为初始响应电流的 95%. 将修饰电极浸入 pH 6.0 的 PBS 溶液中以  $80 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  的速度循环扫描 11 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.

## 2.7 干扰实验

聚 L 丝氨酸修饰电极在浓度为  $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的肾上腺素 (PBS, pH 5.0) 标准溶液进行测定, 当相对误差在  $\pm 5\%$  以内时, 抗坏血酸 (AA) 浓度达到  $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  以上时仍没有影响 (相对偏差小于 5%), 10 倍的葡萄糖、酒石酸; 100 倍的

$\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$  对肾上腺素的测定不产生干扰. 但多巴胺干扰严重, 两者氧化峰和还原峰均有部分重叠, 当多巴胺存在时, 可用纸层色谱法使其分离.

## 2.8 样品分析

将 3 支不同批号的肾上腺素注射液 (标示量:  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 分别移至 50 mL 棕色容量瓶中定容, 移取一定量样品按实验结果进行测定, 结果见表 2.

表 2 样品 EP 的分析结果

Tab 2 Determination of EP in injection samples ( $n = 6$ )

| 样品编号 | 测定值 /<br>( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 加入量 /<br>( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 测得总量 /<br>( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 回收率 /% | RSD /% |
|------|--|--|---|--------|--------|
| 1    | 5.08   | 5.00   | 10.15   | 101.4  | 2.64   |
| 2    | 5.12   | 5.00   | 9.95  | 96.6   | 3.56   |
| 3    | 4.95   | 5.00   | 10.01   | 101.2  | 2.35   |

## 参考文献:

- [1] 薛启冥. 神经系统的生理和病理化学 [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 102.
- [2] 熊忠, 索有瑞. 组织中去甲肾上腺素的荧光测定法 [J]. 光谱学与光谱分析, 1999, 19(1): 106-107.
- [3] 李桦, 胡先明, 谢颖峰. 高效液相色谱手性流动相添加剂分离肾上腺素类对映体 [J]. 色谱, 1998, 16(5): 424-426.
- [4] 辛梅华, 李明春, 徐金瑞, 等. 环糊精固定相—电化学检测测定肾上腺素和拟肾上腺素对映体 [J]. 化学通报, 2001, 64(8): 504-507.
- [5] 于遐, 罗振, 宋承木. 高效毛细管电泳法测定肾上腺素和去甲肾上腺素 [J]. 山东医科大学学报, 1994, 32(4): 347-349.
- [6] Guan CL, Ouyang J, Li QL, et al. Simultaneous determination of catecholamines by ion chromatography with direct conductivity detection [J]. Talanta (S0039-9140), 2000, 50(6): 1197-1203.
- [7] Zhu M, Huang XM, Li J, et al. Peroxidase-based spectrophotometric methods for the determination of ascorbic acid, norepinephrine, epinephrine, dopamine and levodopa [J]. Anal Chim Acta (S0003-2670), 1997, 357(3): 261-267.
- [8] Salem FB. Spectrophotometric and titrimetric determination of catecholamines [J]. Talanta (S0039-9140), 1987, 34(9): 810-812.
- [9] Chen SM, Pang KT. The electrochemical properties of dopamine, epinephrine, norepinephrine, and their electrocatalytic reactions on cobalt(II) hexacyanoferrate films [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry (S0022-0728), 2003, 547(2): 179-189.
- [10] 马心英. 聚赖氨酸修饰电极在抗坏血酸共存时测定肾上腺素 [J]. 化学研究与应用, 2008, 20(8): 980-983.
- [11] Deinhammer R S, Mankit H, James W A, et al. Electrochemical oxidation of Amine-containing compounds: a route to the surface modification of glassy carbon electrodes [J]. Langmuir (S0743-7463), 1994, 10: 1306-1313.
- [12] 王艳玲, 刘海燕, 张国荣. 多巴胺在聚甘氨酸化学修饰电极上的催化氧化及其痕量测定 [J]. 化学传感器, 2002, 22(1): 44-51.

责任编辑: 张建仓