

⑩

第17卷 第2期
1995年6月

重庆建筑大学学报
Journal of Chongqing Jianzhu University

Vol. 17 No. 2
June 1995

鸟嘌呤 微分伏安法 碳纤维 微电极

测定

63-66

碳微电极微分伏安法测定鸟嘌呤的研究

郭满栋

(山西师范大学化学系)

王琰

(重庆建筑大学基础科学系)

0626.413

A 摘要 选用1.5次微分伏安法和循环伏安法对鸟嘌呤在碳纤维微电极上的电化学生行为进行了研究。鸟嘌呤的阳极氧化峰电流与其浓度在 $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-7}$ mol/L范围内有良好的线性关系,最低检出限为 1.0×10^{-7} mol/L。本文讨论了实验条件,建立了新的灵敏的测定鸟嘌呤的方法,并对实际生物样品进行了测定,结果令人满意。

关键词 微分伏安法,碳纤维微电极,鸟嘌呤

中图分类号 O656.2

嘌呤是一类含有稠合嘧啶和咪唑环的杂环有机化合物。在自然界中,存在大量的取代嘌呤衍生物。鸟嘌呤是所有核酸的基本成份,在生物的遗传和代谢过程中起着非常重要的作用。同时,大量的嘌呤类化合物已经被研究开发为有效的化学治疗药物,因而检测嘌呤类化合物在生物分析中显得十分重要。常用的测定嘌呤类化合物的方法主要集中在光度法和色谱法上,用电化学方法测定鸟嘌呤的研究则主要集中在用碳电极、固体石墨电极或碳糊电极的伏安分析上。这些方法的建立,为分析和测定鸟嘌呤提供了有效的途径。但是,由于这些测定方法有的灵敏度不高,有的操作比较复杂,故在实际分析应用中有一定困难。微电极技术是近年来发展起来的新型分析技术,由于它的体积小、灵敏度高、传质速率快、讯噪比高、用量少等优点,在生物样品分析中日益显示出优越性,也愈来愈引起人们的关注和得到广泛的应用。目前,运用微电极测定鸟嘌呤的方法还未见文献报道,对此测定方法进行深入研究是很有意义的。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

901-PA 分析仪(福建宁德分析仪器厂),XY-3086函数记录仪(四川仪表四厂),CQ50型超声洗涤器(上海超声仪器厂)。实验用两电极系统,碳纤维微电极(40 μ m,自制)为工作电极,饱和甘汞电极为参比电极。文中所有电位值相对于饱和甘汞电极(vs. SCE)。

鸟嘌呤为美国 Sigma 公司产品(进口分装),其余试剂均为分析纯。实验用水全部为二次

* 收稿日期:1994-09-06

郭满栋, 1955年生,男,讲师,山西师范大学化学系,临汾(041004)

山西省自然科学基金资助项目

蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 电极的预处理

碳纤维微电极使用前需在硝酸(1+1)溶液、丙酮和二次水中分别超声洗涤5 min,然后在缓冲溶液中于0~1.0V范围内进行循环伏安扫描3 min,以便活化电极。

1.2.2 实验操作

鸟嘌呤在4℃的冰箱内保存,实验时根据需要当天配制溶液。磷酸盐缓冲溶液浓度为0.20 mol/L,用 NaH_2PO_4 配制,以0.10 mol/L NaOH溶液调节pH值。取一定量配制好的鸟嘌呤溶液于10 mL小烧杯中,加入磷酸盐缓冲溶液,用水稀释到10 mL,使溶液中支持电解质的浓度保持在0.10 mol/L左右。通高纯氮除氧5 min,放入电极,在氮气保护下于室温中(25℃)用1.5次微分伏安法进行阳极化扫描。

2 结果与讨论

2.1 支持电解质的选择

试验了鸟嘌呤在KCl-HCl、HAc-NaAc、磷酸盐等不同缓冲溶液中的伏安行为,发现在磷酸盐缓冲溶液中,试样的峰电流最大,峰形最好,故选择磷酸盐为支持电解质。

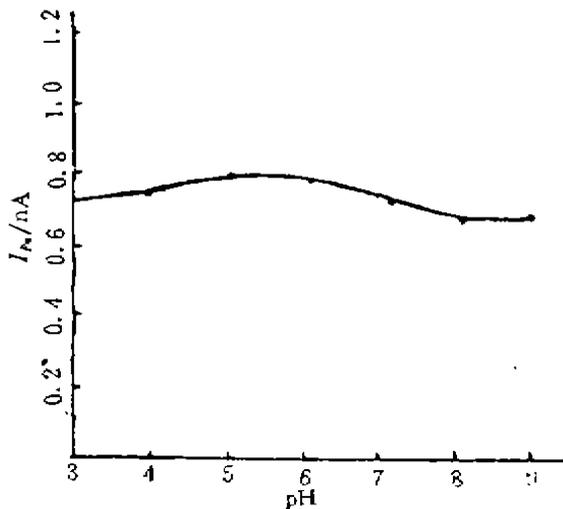


图1 鸟嘌呤的 I_p -pH图

(扫描方式: 1.5次微分伏安单扫;

扫描速率: 80 mV/s; 鸟嘌呤浓度: 1.0×10^{-6} mol/L)

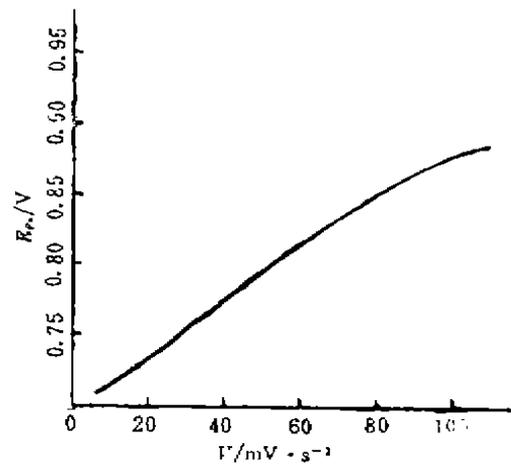


图2 E_p -v图

(图中pH=5.0,其余条件同图1)

2.2 pH对阳极峰电位的影响

鸟嘌呤的阳极峰电位受溶液酸度的影响。溶液的pH值增大,峰电位向负的方向移动,其关系为 $E_p = 1.01 - 0.059 \text{ pH (V)}$ (E_p 为阳极峰电位)。这说明在鸟嘌呤的氧化过程中有质子参加,这与文献报道一致^[1]。

2.3 pH对阳极峰电流的影响

图1是鸟嘌呤的 I_p -pH图。从图中可以看出,在pH值3.0~9.0范围内,鸟嘌呤的电流响

应在不断变化。在 pH 值为 5.0 时，其阳极峰电流 I_{pa} 最大。故实验选择的 pH 为 5.0。

2.4 扫描速率对峰电位的影响

图2为扫描速率 V 与峰电位 E_p 的关系曲线。曲线表明，在本实验条件下，鸟嘌呤的峰电位随扫速的增大而向正方向移动，说明其电极反应不可逆。

2.5 扫描速率对峰电流的影响

图3是扫描速率 V 与峰电流 I_{pa} 的关系曲线。从曲线中可以看出，随着扫描速率的增大，峰电流也随之增大， $I_{pa}-V$ 关系曲线具有一定的线性；而 $I_{pa}-V^{1/2}$ 关系曲线则呈现出随扫描速率的增大曲线向上弯曲的趋势，表现出吸附特性。这表明鸟嘌呤在碳纤维微电极上有吸附。

2.6 起扫电位、扫描方式及电位范围的选择

扫描的起始电位对峰电流的影响较大。起扫电位太正或太负都影响峰高及峰形。试验了从多个电位起扫，发现从 0V 起扫峰形较好，且峰电流较大。这可能是在该电位处鸟嘌呤易于在电极上吸附。实验选择 0V 为起扫电位。通过试验不同的扫描方式，发现 1.5 次微分扫描所得的灵敏度最高，峰形也较好，且峰电流与鸟嘌呤浓度在一定范围内有良好的线性关系，故实验中标准曲线和样品测定均采用 1.5 次微分伏安法。鸟嘌呤的氧化峰峰电位在 0.90V 左右，故实验选择的扫描电位范围为 0~1.2V。

2.7 检测线性范围及重现性

用 1.0×10^{-5} mol/L 鸟嘌呤溶液进行了 7 次测定，其相对标准偏差为 1%。在实验条件下测得本法对鸟嘌呤的检测限为 1.0×10^{-7} mol/L，线性范围为 $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-7}$ mol/L，说明本法可以满足实际样品分析。

2.8 循环伏安图

图4是鸟嘌呤的循环伏安图。从图中可以看出，鸟嘌呤在实验研究的电位范围内只有一个氧化峰而没有相应的还原峰，故其反应为不可逆反应，且依据 $\alpha n = \frac{0.048}{E_p - E_{p/2}}$ 可以计算出反应中 $\alpha n = 1.1$ 。设 $\alpha = 0.5$ ，则 $n = 2$ ，说明此反应所交换的电子数为 2。由前边的讨论中知 $E_p = 1.01 - 0.059 \text{ pH}$ ，综合考虑，反应中得失的电子数 n 也为 2。这和文献值一致^[2]。根据已有的文献报道，嘌呤氧化后的产物为氧嘌呤直至尿酸^[3]。经实验验证，尿酸在酸性的磷酸盐介质中在碳纤维电极上不还原。所以可以认为循环伏安图上没有阴极还原峰出现，是由于鸟嘌呤

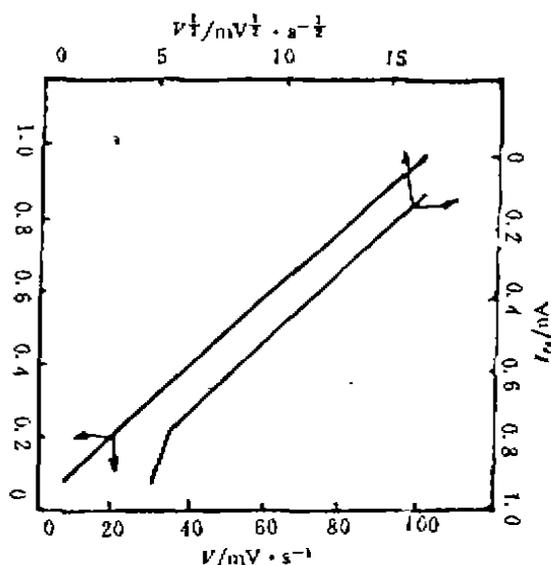


图3 $I_{pa}-V$ 、 $I_{pa}-V^{1/2}$ 曲线

(图中条件同图2)

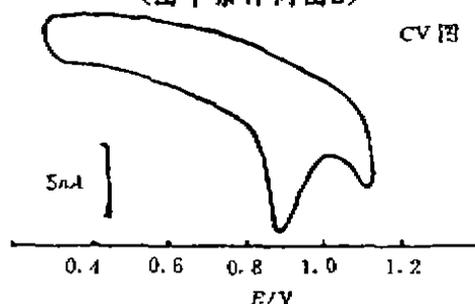


图4 循环伏安图

(图中条件同图2)

的氧化产物在实验的电位范围内不能发生还原反应。故此氧化产物可能是尿酸。

2.9 样品分析

取一定量 DNA 样品(由武汉大学生物系提供,系从猪脾中获得),在100℃下将其用高氯酸消化1 h,然后用水稀释,用磷酸盐缓冲溶液调节 pH 值为5.0备用。

准确称取混合样品1[#]和2[#](1[#]为鸟嘌呤与核苷的混合物,2[#]为鸟嘌呤与尿酸的混合物。由武汉大学化学系提供)各0.050克,分别为0.05 mol/L 的 NaOH 10 mL 溶解,然后将其分别转移到50 mL 容量瓶中,调节 pH 值为5.0,定容备用。

取适量上述样品溶液,按实验方法进行了测定,其结果见表1。

表1 样品分析结果

样品名称	标准值 (n_1/n_2)	本法结果($n=5$) (a_1/a_2)	RSD (%)
DNA	20.3%	20.1%	3
1 [#]	1.0%	0.96%	5
2 [#]	0.11%	0.13%	6

注: n_1 表示鸟嘌呤的物质的量(mol), n_2 为样品中各组份的物质的量之和(mol)

3 结 语

本文运用碳纤维微电极对鸟嘌呤的伏安行为进行研究,找出了测定鸟嘌呤的最佳测定条件,建立了一种测定鸟嘌呤的新方法,可用于生物样品的测定。有关测定的详细机理,有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 F. Anson 讲授,黄默声等编译. 电化学和电分析化学. 北京大学出版社,1983,20
- 2 Markas A. T. Gilmarin and John P. Hart. *Analyst*. 1992,117(10),1613
- 3 科学技术百科全书. 北京:科学出版社,1982,(15),224

(编辑:姚国安)

DETERMINATION OF GUANINE AT CARBON FIBER MICROELECTRODE USING DIFFERENTIAL VOLTAMMETRY

Guo Mandong

(Shanxi Normal University)

Wang Yan

(Chongqing Jianzhu University)

ABSTRACT The 1.5 order differential voltammetry and cyclic voltammetry are used to investigate the electrochemical oxidation of guanine at a carbon fiber microelectrode. The peak current is linearly proportional with guanine concentration in the range of $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-7}$ mol/L and the detection limit is 1.0×10^{-7} mol/L. The optimum experimental conditions are found. A sensitive method for determination of guanine in biological specimen is developed.

KEY WORDS differential voltammetry, carbon fiber microelectrode, guanine