

文章编号: 0529-6579 (1999) 04-0036-04

高效毛细管电泳安培法检测神经递质多巴胺^{*}

杨冰仪, 莫金垣, 杨晓云, 王立世

(中山大学 化学与化学工程学院, 广州 510275)

摘 要: 采用高效毛细管电泳安培法对抗坏血酸、儿茶酚共存下的神经递质多巴胺的分离测定进行了研究. 讨论了工作电极、检测电位、缓冲溶液添加剂对分析检测的影响. 结果表明: 此法具有较高的灵敏度和较好的选择性, 能有效地消除抗坏血酸、儿茶酚的干扰. 测得多巴胺的线性范围为 $0.1 \sim 100 \text{ mg/L}$, 最低检出限为 0.02 mg/L .

关键词: 高效毛细管电泳; 安培检测; 多巴胺

中图分类号: O 658.61 **文献标识码:** A

大脑中枢神经传导递质的变化直接影响人体的行为和活动, 并与多种疾病有密切关系. 探索脑神经递质的传导机理是现代研究的重大课题. 多巴胺(DA)是一类重要的生命神经传导物质, 它在人体中特定区域的浓度分布将影响垂体内分泌机能的协调并直接与精神活动有关^[1]. 因此, 在体测定脑神经中多巴胺的浓度及其变化情况, 非常重要. 测定 DA 的一个难题在于动物脑中有抗坏血酸(AA), 儿茶酚等共存物的干扰. 在大鼠脑纹物体内, AA 浓度甚至高达 $2 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ^[2], 严重干扰了 DA 的测定. 对 DA 的测定, 往往是采用修饰电极^[3~7], 方法比较复杂, 繁琐, 修饰后的电极对 DA 测定的灵敏度有所下降^[5, 7], 另外修饰电极的制作往往比较复杂. 高效毛细管电泳(HPCE)是近年来发展得很快的一门分离分析技术, 已被成功地用于各个分析领域. 本文采用 HPCE—碳糊电极对 DA 的测定进行了研究, 不仅有效地消除了 AA, 儿茶酚等共存物的干扰, 而且获得了较低的检出限, 方法简便, 灵敏度较高.

1 实验部分

1.1 装置与药品试剂

高效毛细管电泳安培检测装置(自行组装)^[8]: CZE30PN 10 MCN Z2 型(美国 High Voltage Electronics Corp.) 高压电源, DF86 型伏安仪, 微机采样; 三电极体系: 铂电极和碳糊电极(自制), 饱和甘汞电极(SCE), 铂片辅助电极; pH5-25 型酸度计; JP3-1 型示波极谱仪; 盐酸多巴胺(AR); 盐酸多巴胺(针剂); 抗坏血酸(生化试剂); 儿茶酚

* 基金项目: 国家自然科学基金(29675033)资助项目

收稿日期: 1998-06-11 作者简介: 杨冰仪, 女, 1973 年生, 硕士研究生, 现在广东药学院预防医学系. 通讯联系人: 莫金垣.

(AR); 四硼酸钠 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$); PBS 缓冲溶液 (每 L 缓冲液加入的质量/g, $\text{pH}=7.2$): $1.15 \text{ Na}_2\text{HPO}_4 + 0.2 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 0.2 \text{ KCl} + 0.047 \text{ MgI}$; 所有的溶液均用二次蒸馏水配制.

1.2 实验过程

盐酸多巴胺, 儿茶酚, 抗坏血酸分别配制成所需的标准溶液. 分离毛细管使用前依次用 0.1 mol/L NaOH , 二次蒸馏水, 缓冲溶液清洗过, 检测池, 分离毛细管中装入相同的缓冲溶液, 采用压差进样. 进样后接上高压电源, 进行分离检测.

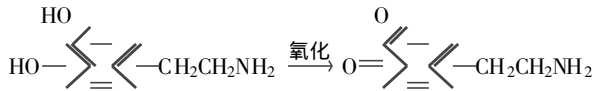
2 结果与讨论

2.1 工作电极的选择

经测定, 铂电极对盐酸多巴胺氧化产物有一定的吸附, 碳糊电极不会发生此现象, 因此选用碳糊电极作为工作电极.

2.2 检测电位的选择

在 JP3-1 极谱仪上采用循环伏安法初步考察盐酸多巴胺的氧化还原情况. 以碳糊电极作为工作电极, 采用三电极体系, 在 PBS—硼酸盐缓冲溶液中扫描. 结果表明 (图 1), 多巴胺在约 0.9 V 有不可逆氧化峰. 从多巴胺的结构看:



然后在电泳仪上进行动态伏安实验 (结果见图 2).

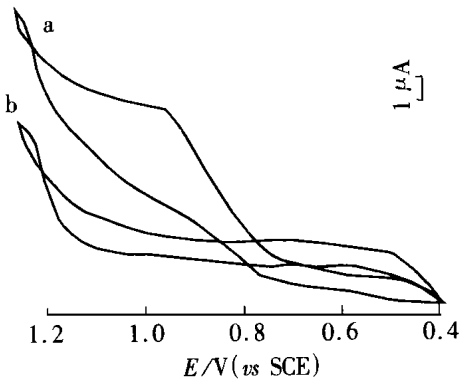


图 1 盐酸多巴胺的循环伏安图

Fig 1 Cyclic voltammogram of dopamine hydrochloride

(a) 盐酸多巴胺; (b) 底液

$c=1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$; 扫描速度 400 mV/s

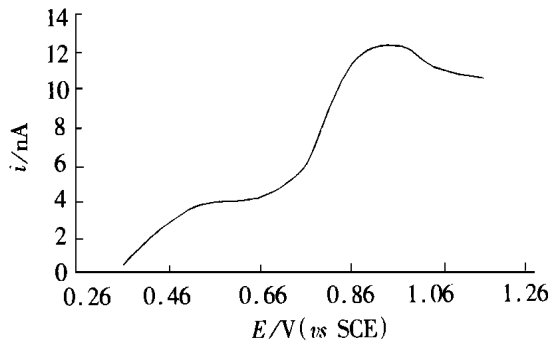


图 2 盐酸多巴胺动态伏安图

Fig 2 Hydrodynamic voltammogram

of dopamine hydrochloride

$c=1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$; 分离高压 24 kV ; 分离毛细管: id. $25 \mu\text{m} \times 72 \text{ cm}$; 压差进样: $H=15 \text{ cm}$, $t=10 \text{ s}$ $30 \text{ mmol/L PBS} + 16.7 \text{ mmol/L 硼酸盐} (\text{pH}=7.2)$

从图 2 可以观察到, 从 $0.36 \sim 0.76 \text{ V}$, 多巴胺的氧化电流随检测电位的增大而缓慢地增大, 在 $0.76 \sim 0.86 \text{ V}$, 氧化电流发生突跃, 0.96 V 时达到最大, 1.06 V 开始下降. 由于实验中采用碳糊工作电极, 比较稳定, 可以在较高的正电位下使用. 因此, 选用 0.96 V 作为工作电极的检测电位.

2.3 缓冲溶液添加剂硼酸盐的影响

本实验模拟人体内部环境，选用 PBS 缓冲溶液。抗坏血酸（AA）因其具有烯二醇结构，还原能力较强，在碱性环境中容易分解。在缓冲溶液中加入硼酸盐，AA 与硼酸盐形成络合物，可以抑制 AA 的分解，并进一步提高分离检测的选择性和灵敏度。

2.4 重现性实验

在最佳检测条件下，一定浓度的盐酸多巴胺标准溶液重复 8 次进样，其峰高和迁移时间相对标准偏差分别为 1.85%和 2.07%。

2.5 线性范围和检出限

在优化的实验条件下，经实验测定盐酸多巴胺的线性范围和计算检出限。在 100~2 0 mg/L 范围里， $H=0.28+0.12c$ ， $r=0.997$ ；2.0~0.1 mg/L 范围里， $H=0.51+0.25c$ ， $r=0.992$ 。最低检出限为 0.02 mg/L。

2.6 样品测定

取 2 种不同生产厂家的 DA 针剂，定量配制，于最优化的实验条件下测定其含量。准确称取盐酸多巴胺配制成一定浓度的溶液，加入样品 50 mg，进行回收实验。结果见表 1。

样品回收率在 95.1%~102.9%，结果比较满意。

图 4 为盐酸多巴胺，儿茶酚、抗坏血酸的毛细管电泳图。

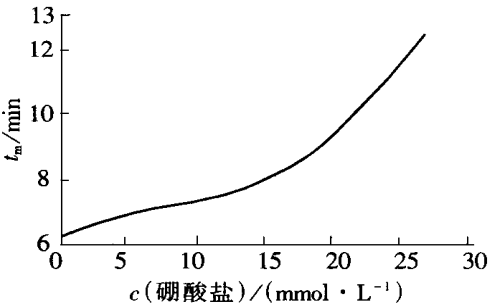
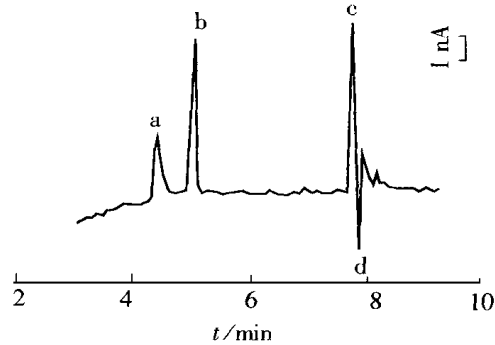


图 3 硼酸盐浓度与盐酸多巴胺迁移时间的关系
Fig 3 Relationship of borate concentration and DA's migration time

表 1 样品测定

Tah 1 Determination results of the samples

样品	$m(\text{样品})/\text{mg}$	$m(\text{总})/\text{mg}$	回收率/%
样品 1	9.94	57.48	95.1
样品 1	9.68	58.00	96.6
样品 2	10.02	61.48	102.9
样品 2	9.85	58.41	97.1

图 4 儿茶酚、抗坏血酸、盐酸多巴胺的电泳图

Fig 4 Electropherogram of pyrocatechol, ascorbic acid, and dopamine with carbon paste working electrode

- (a) 儿茶酚， $c=3.0\times10^{-5}\text{ mol/L}$;
 - (b) 抗坏血酸， $c=1.25\times10^{-4}\text{ mol/L}$;
 - (c) 盐酸多巴胺， $c=2.7\times10^{-3}\text{ mol/L}$;
 - (d) 溶剂峰;
- 其余条件同图 2。

参考文献:

[1] 北京医学院. 生物化学 [M]. 北京: 北京人民出版社. 1978. 467.
[2] 金文睿, 汪乃兴, 赵昕. 生物电分析化学 [M]. 济南: 山东大学出版社. 1994. 78.
[3] SARCEÑO R A., PACK J.G., EWING A.G. Catalysis of slow charge transfer reactions at polypyrrole-coated glassy carbon electrodes [J]. J Electroanal Chem, 1994, 365: 1-10.

- carbon electrodes [J]. J Electroanal Chem, 1986, 197: 265.
- [4] SUJARITVANICHPOONG S, AOKIK, TOKUDA K, et al. Electrochemical behavior of dopamine at carbon fiber electrode [J]. J Electroanal Chem, 1986, 198: 195.
- [5] 鞠幌先, 陈洪渊, 吴持平. 碳纤维微电极的研究 I . 微电极的制作, 预处理及伏安特性 [J]. 化学传感器, 1988 (8): 34.
- [6] FRANK M, DANIAI M. Self-assembled monolayers in electroanalytical chemistry: application of ω -mercapto carboxylic acid monolayers for the electrochemical detection of dopamine in the presence of a high concentration of ascorbic acid [J]. Anal Chem, 1993, 65: 37.
- [7] 何品刚, 于雁灵, 方禹之. 硫辛酸修饰碳纤维电极在抗坏血酸共存下选择性测定神经递质多巴胺 [J]. 分析化学, 1996, 24 (4): 407.
- [8] YANG X Y, MO J Y, XIE T Y, et al. A new amperometric detection cell for capillary zone electrophoresis [J]. Chin Chem Lett, 1998, 9 (8): 757.

Determination of Neurotransmitter Dopamine by High-Performance Capillary Electrophoresis

YANG Bing-yi, MO Jin-yuan^{*}, YANG Xiao-yun, WANG Li-shi

Abstract: A method of separation and determination of neurotransmitter dopamine (DA) in the presence of ascorbic acid (AA) and pyrocatechol was described by high-performance capillary electrophoresis with amperometric detection. The effects of electrode, detection potential and buffer addition were extensively investigated. Results showed the method has high sensitivity and good selectivity. It can effectively eliminate the interference of AA and pyrocatechol. The linear range was 100~0.1 mg/L and the detection limit was 0.02 mg/L.

Keywords: high-performance capillary electrophoresis; amperometric detection; dopamine

^{*} School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China