

1991年4月 第15卷 第2期



临床生物化学与检验学分册

护 理 学 分 册

重庆市医学情报研究所

吉林省医学情报研究所

碳纤维微柱修饰电极测定血红蛋白的研究

南京市南京大学化学系(210008) 鞠熀先 荀以刚 陈洪涛

摘要 研究了MB/Nafion修饰微柱碳纤维电极的制备方法,在弱酸性介质中,该电极对血红蛋白的氧化有电催化作用,可用于测定 $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-4}$ mol/L的血红蛋白,对 6×10^{-6} mol/L血红蛋白测定6次变异系数为3.5%。

关键词 碳纤维微电极 Nafion修饰电极 血红蛋白

近年来,临床检验中电分析化学已取得很大发展,生命物质与电极之间的电子反应在某种程度上类似于生物分子之间的电子转移过程,但由于生物分子所具有的结构以及它在电极表面的吸附使电极钝化,使其具有很大过电位,甚至没有电化学响应。修饰电极为其提供了新方法。文献发现亚甲基蓝对血红蛋白

有电催化作用,但对血红蛋白进行直接电化学测定的报导还很少,而在微电极上,由于其很高的传质速率,电子传递媒体很快离开电极表面,使催化效率大大下降,因而在微电极上利用ECE过程进行测定还未见报导。由于微电极具有大电极无法比拟的优越性能,它可用于流动体系、毛细管电泳、生物在体等方面的测定,因而在微电极上研究ECE过程并利用它进行临床监测十分必要。本文利用Nafion膜将亚甲基蓝固定在微柱电极表面,降低了媒体(MB)的传质速率,大大提高了微电极的电催化效率和使用寿命,从而使MB/Nafion膜在弱酸性介质中能促使血红蛋白的氧化。对血红蛋白进行电化学测定,得到了比较满意的结果。

实验部分

1 仪器与试剂

BAS-100B(美国BAS公司),FPG-310ColorPotter(日本Fujitsu公司),Model-366Bi-Potentiostat及Model RE0150记录仪(美国EG&G公司),501型超级恒温槽(上海实验仪器厂)。

血红蛋白(牛,HB)(结晶纯,上海生物化学研究所),亚甲基蓝(MB)(A.R,上海试剂三厂),配制磷酸盐缓冲溶液(pH7.20,0.1mol/L)及醋酸盐缓冲溶液(pH5.5,0.1mol/L)所用试剂均为分析纯,所有实验用水均为石英亚沸二次蒸馏水,Nafion(5WT%乙醇溶液,美国Aldrich公司),Epon812环氧树脂(NewYork,美国)用于电极封口。

2 修饰电极的制备

将微柱碳纤维电极在1.0mol/LH₂SO₄中电化学处理后,浸入0.5%的Nafion溶液,几秒钟后取出晾干,在红外灯下烘干,重复一次涂饰步骤,然后将其浸入含1.0×10⁻³mol/L亚甲基蓝的pH=7.2的溶液,20min后取出,用蒸馏水冲洗,将其泡在pH=7.2的缓冲溶液中待用。

3 实验方法

以SCE作参比电极,Pt丝为辅助电极,亚甲基蓝/Nafion修饰单丝微柱碳纤维电极为工作电极($r=3.8\mu\text{m}$),在通N₂10min后,N₂气氛下进行电化学实验。

结果与讨论

1 修饰电极的稳定性 电极在MB浸泡后,在空白液(pH7.2)中于0.0V~-0.6V间作循环伏安扫描($v=100\text{mV/s}$),裸露及Nafion修饰的电极上峰电流都以一级动力学规律衰减,半衰期 $t_{1/2}$ 分别为87S和52小时,如亚甲基蓝/Nafion修饰电极在缓冲溶液中浸泡一周,浸泡前后峰电流基本上没变化。可见,修饰电极的稳定性非常好。

2 修饰电极对HB的电催化 HB是红细胞内重要的呼吸蛋白,对它实现直接的电化学测定具有重要的临床意义,尽管它有电活性中心,但由于它的特殊结构及易吸附在电极表面而使电极钝化,它在裸露的碳纤维电极上没有足够的电化学响应,使得在微电极上进行HB的测定极为困难,本文的结果表明,HB可使MB/Nafion修饰微柱碳纤维电极的空白氧化峰增加,同时还还原峰略有减少。可见,该电极对HB的氧化有电催化作用。

3 峰电流与HB浓度的关系 在pH5.5的醋酸溶液中,HB对修饰电极催化的峰电流在HB浓度为 $5\times 10^{-6}\sim 5\times 10^{-5}\text{mol/L}$ 范围内与浓度有线性关系,相关系数为0.998。连续测定 $6\times 10^{-6}\text{mol/L}$ 的血红蛋白六次,峰电流的变异系数为3.5%,表现出很好的重现性。

4 电催化机理 HB使MB/Nafion修饰电极的空白氧化峰电流增加,表明MB在电极上被氧化的同时,产物在电极表面附近被再生为还原态,使还原态浓度增加,同时,氧化态的浓度比没加HB时要小,同时,血红蛋白也没有渗入Nafion膜内,已知亚甲基蓝氧化还原过程的电子得失数为2。

参考文献(略)