

间苯二酚杯[4]芳烃为涂层的压电石英传感器测定液相多巴胺

陈朗星 徐 华 何锡文*

(南开大学化学系 天津 300071)

摘要 研究了以间苯二酚杯[4]芳烃为敏感涂层的石英压电晶体(PQC)传感器,在中性磷酸盐缓冲液体系中对神经传递质多巴胺和抗坏血酸的响应,发现间苯二酚杯[4]芳烃对多巴胺有很好的响应选择性,这归因于间苯二酚杯[4]芳烃与多巴胺分子结构相匹配,形成主客体超分子体系.以间苯二酚杯[4]芳烃为涂层的PQC传感器对液相中多巴胺具有响应快、重现性好、灵敏度高的特点,线性响应范围为3.5~500 $\mu\text{g/g}$.

关键词 间苯二酚杯[4]芳烃,石英压电晶体,传感器,多巴胺,主客体作用

A Piezoelectric Quartz Crystal Coated with Resorcinolix[4]arene for the Determination of Dopamine in Liquid

CHEN, Lang-Xing XU, Hua HE, Xi-Wen*

(Department of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract The resorcinolix[4]arene derivative has been synthesized and studied as a sensitive material for the determination of dopamine in liquid through a piezoelectric quartz crystal (PQC) sensor. The PQC-coated resorcinolix[4]arene is highly selective for dopamine in comparison with ascorbic acid. The new selectivity dimension is attributed to host-guest interactions between resorcinolix[4]arene and dopamine. The PQC is used for monitoring of dopamine in liquid at phosphate buffer (pH = 7.40) with fast response time, good sensitivity and reproducibility. It exhibits a linear response in the range 3.5~500 $\mu\text{g/g}$ of dopamine.

Key words resorcinolix[4]arene, piezoelectric quartz crystal, sensor, dopamine, host-guest interaction

多巴胺(dopamine,又名3-羟酪胺或儿茶酚乙胺)是医学上研究较多的一种主要的神经传递质,在健康和疾病中起着重要角色,体内多巴胺含量多少与心脏病、血压、甲状腺荷尔蒙含量、神经肌肉失调和各种精神疾病有关^[1].临床上多巴胺受体激动药可兴奋心脏,增加肾血流量.近年来,对中枢神经系统细胞内液体中多巴胺的高灵敏度选择性测定已引起广泛关注,测定方法主要有分光光度法、荧光法、放射性酶法、HPLC法、电化学方法^[1,2],测试的主要难点源于几种共存物质的干扰,如抗坏血酸(维生素C)和3,4-二羟基苯乙酸^[3,4]、肾上腺素、邻苯二酚、

尿酸、乙酰氨基苯、过氧化氢等^[5].用压电石英晶体传感器(piezoelectric quartz crystal sensor, PQCS)测定多巴胺未见报道.

压电石英晶体传感器因其装置可制成微型化、自动化、实时在线检测,灵敏度高,现已逐步运用于医学检测、环境监测和工业品质控制.挑选具有选择性高、稳定性好并对分析物敏感的涂层,能提高PQCS的灵敏度.许多大环超分子化合物如冠醚、环糊精、穴配体、杯芳烃作为敏感材料涂层能增强响应信号强度,只有少量文献报道了化学涂层的PQCS响应识别液相中有机分子^[6~10].杯芳烃作为第三代

E-mail: xiwenhe@nankai.edu.cn

Received August 18, 2001; revised January 8, 2002; accepted March 17, 2002.

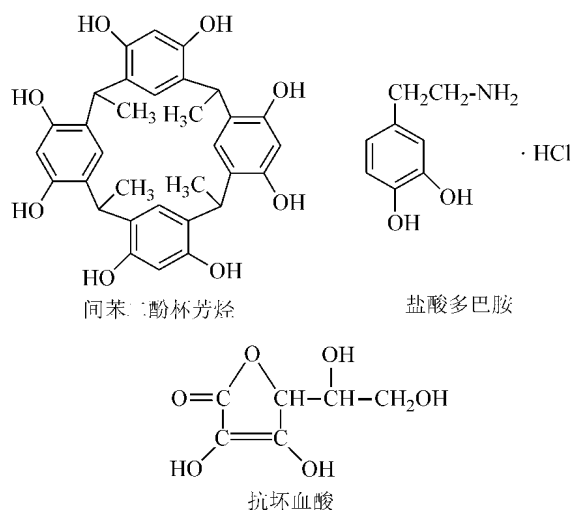
国家自然科学基金资助项目(No. 29975014, 20175009).

主体超分子,金属离子和有机分子均可作为其客体^[11],杯芳烃分子为敏感涂层的PQC传感器已开始用于液相中有机分子的测定^[9,10].考虑到多巴胺的分子结构,我们从合成的数种杯芳烃衍生物中选择了一种间苯二酚杯[4]芳烃为涂层,其环外含8个羟基,并具有碗状构型,希望其能与含氧基团的极性客体分子形成主客体化合物.本实验证实了采用间苯二酚杯[4]芳烃作压电石英晶片的涂层,能有效识别多巴胺与抗坏血酸,对液相中多巴胺具有响应快、重现性好、灵敏度高、线性响应范围广的特点.可用于实际装置中,定量检测溶液中多巴胺的浓度.

1 实验部分

1.1 试剂

Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 (A. R., 天津市化学试剂二厂);无水甲醇(A. R., 天津市天泰精细化学品有限公司),抗坏血酸(A. R., 北京芳草医药化工研制公司),盐酸多巴胺(化学对照品,中国药品生物制品检定所),盐酸多巴胺与抗坏血酸均用二次蒸馏水配制成浓度为 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的溶液,放于容量管中.盐酸多巴胺溶液在每次使用完后均立即充入氮气加以保护,并将管口密封,管外套上照相馆用的遮光纸,避免盐酸多巴胺见光或遇空气被氧化.抗坏血酸溶液每天配制(防止其氧化).间苯二酚杯[4]芳烃、盐酸多巴胺与抗坏血酸的结构见图式1.



图式1 敏感涂层和分析物的结构式

Scheme 1 The structures of sensitive material and analyte

间苯二酚杯[4]芳烃的合成^[12]:将 27.52 g (0.25 mol) 间苯二酚溶于 125 mL 95% 乙醇,加入到 500 mL 三口瓶中,再加入 125 mL 水和 62.5 mL 浓 HCl,通氩气保护,开始搅拌,并将反应温度降低到

15℃,逐滴加入 11.01 g (0.25 mol) 乙醛,30 min 内加完,在 50℃ 反应搅拌 1 h 后,将温度降低到 25℃,一直通氩气,搅拌反应 4 d,将反应得到的沉淀物过滤,用水研磨固体产物后,过滤,用乙醇-水重结晶,得到产物 20.5 g (产率为 60%), m. p. > 360℃. 结构式经 IR 和 NMR 光谱证实.

1.2 仪器装置

实验用压电晶体振荡器为 JM5 型 AT 切双面被金晶振(北京 707 厂),石英电极的基频为 9 MHz,直径为 6 mm,晶体直径为 12.0 mm,频率以 N3165 型频率计(台湾 Sampo 公司)测定.频率测定用的振荡电路和数据采集系统由本实验室自行设计^[13].

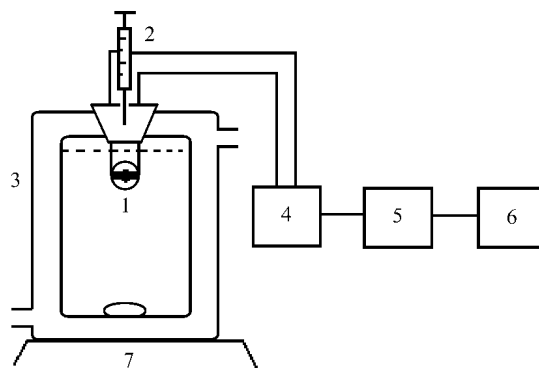


图1 间苯二酚杯[4]芳烃为涂层的压电晶体传感器实验装置

1—压电晶体传感器;2—微量注射器;3—恒温水浴;4—振荡电路;5—频率计;6—计算机;7—电磁搅拌器

Figure 1 Experimental set-up for the resorcinocalix[4]arene-coated PQC sensor

1—piezoelectric crystal sensor; 2—microsyringe; 3—thermostat; 4—oscillator; 5—frequency counter; 6—computer; 7—electromagnetic stirrer

1.3 敏感涂层的制备

间苯二酚杯[4]芳烃不溶于氯仿,用无水甲醇配制溶液.涂膜时,先准确称取 10 mg 间苯二酚杯[4]芳烃溶于 2 mL 无水甲醇,间苯二酚杯[4]芳烃浓度为 5 mg/L.将石英晶片金电极平放于台上,用微量注射器分别将 3.0 μL 间苯二酚杯[4]芳烃的甲醇溶液滴于金电极的两面,待溶剂挥发后,用电吹风热风吹约 30 s,得到很薄的间苯二酚杯[4]芳烃涂层.涂覆上间苯二酚杯[4]芳烃后,金电极在空气中的频率下降约 8000 ~ 10000 Hz.

1.4 测量方法

实验测量装置如图1所示.图中描述了电脑控制的PQC传感器测定液相中多巴胺的实验装置.将连接到振荡电路中的PQC传感器,双面浸入到用二

次蒸馏水配制的 pH 值为 7.40 的 $0.0010 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 磷酸盐缓冲溶液中. 测量池的温度用恒温水浴控制在 $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. 压电晶体的振荡频率用自制的数据采集系统贮存在 386 微机中, 整个测量池的体积约为 16 mL, 将 $0.2 \sim 50.0 \mu\text{L}$ 浓度为 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的分析物用微量注射器注入到 16 mL pH 值为 7.40 的 $0.0010 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 磷酸盐缓冲溶液中, 搅拌速度固定在一个位置上. 每 5 s 记录一次频率变化数据, 裸露的压电石英金电极和涂覆有间苯二酚杯[4]芳烃涂层的压电石英金电极在空气中的频率变化为 $\pm 2 \text{ Hz}$, 可连续工作 24 h 以上. 实验证明, 加入分析物的体积为 $50 \mu\text{L}$ 以下时, 系统不会因样品体积的增加而导致超出实验误差以外的误差 ($\pm 5 \text{ Hz}$). 当间苯二酚杯[4]芳烃为涂层的 PQC 传感器双面放入液相中时, 没有加入分析物时, 频率变化的波动为 $\pm 10 \text{ Hz}$. 间苯二酚杯[4]芳烃涂层可连续使用 1 个月以上, 不会从压电晶片上脱落下来. 为了保证测定的重现性, 实验系统尤其是检测池在测定过程中保持位置不变, 每次测定时移取一定量的待测物加入检测池中. 读取加入样品前后的稳定频率差值. 然后用注射器抽出瓶中溶液, 换入二次蒸馏水洗涤, 重新注入 pH 值为 7.40 的 $0.0010 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 磷酸盐缓冲溶液测下一个样品. 每个样品平行测定 3 次以上, 以保证准确性.

2 结果与讨论

2.1 间苯二酚杯[4]芳烃涂层的选择性

图 2 为在 pH = 7.40 的 $0.0010 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 磷酸盐缓冲液中, 间苯二酚杯[4]芳烃为涂层的 PQC 传感器对多巴胺和抗坏血酸的吸附响应曲线. 从图 2 可看出, PQC 传感器对多巴胺和抗坏血酸有很快的响应, 加入分析物后, 频率变化很快, 5 s 后响应值 $> 90\%$, 响应值在 10 s 达到稳定. 我们对没有间苯二酚杯[4]芳烃作涂层的空白石英晶片对多巴胺和抗坏血酸的响应进行了测定, 发现空白石英晶片对多巴胺和抗坏血酸的响应频率变化在仪器噪声范围内 ($\pm 10 \text{ Hz}$), 可以说明没有吸附. 而涂有间苯二酚杯[4]芳烃的晶片对多巴胺的响应值 $f_{\text{DA}} = 2580 \text{ Hz}$, 对抗坏血酸的响应值 $f_{\text{AA}} = 280 \text{ Hz}$, 二者差别较大, 选择性系数 $K = f_{\text{DA}}/f_{\text{AA}} = 9.2$, 说明间苯二酚杯[4]芳烃为涂层的 PQC 传感器对多巴胺有较好的选择性, 能有效识别多巴胺和抗坏血酸. 间苯二酚杯[4]芳烃对多巴胺的高选择性归因于主客体的分子识别, 即间苯二酚杯[4]芳烃的空穴结构与被

测物多巴胺分子结构相匹配, 多巴胺的中性苯环部分能进入到间苯二酚型杯[4]芳烃的空穴中, 另外间苯二酚型杯[4]芳烃分子的 8 个羟基与多巴胺的胺基有氢键作用. 而在 pH 值 7.4 的缓冲溶液中, 抗坏血酸的五元环带负电荷使其不能进入到间苯二酚型杯[4]芳烃的空穴中, 但能和间苯二酚型杯[4]芳烃的羟基有氢键作用, 因此间苯二酚型杯[4]芳烃的 PQCS 对抗坏血酸有一定的响应.

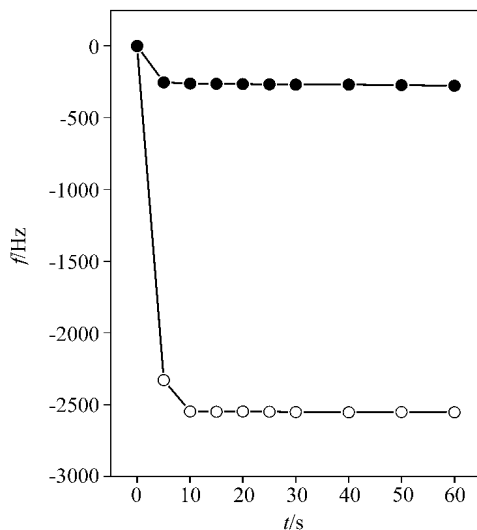


图 2 PQC 传感器对盐酸多巴胺和抗坏血酸 (均为 $312.5 \mu\text{g/g}$) 的吸附响应曲线

Figure 2 The response of PQC sensor to $312.5 \mu\text{g/g}$ of dopamine and ascorbic acid respectively

—dopamine; —ascorbic acid

2.2 吸附的重现性

图 3 中列出了在 pH = 7.40 的磷酸盐缓冲体系中, $315 \mu\text{g/g}$ 多巴胺在涂有间苯二酚型杯[4]芳烃的晶片上的吸附重现性曲线, 我们进行了 9 次重复性实验, 测定结果的相对误差 $< 5.0\%$. 重现性能满足定量实验的要求.

2.3 多巴胺的定量测定

我们定义本测量体系的检测限为 2 倍噪声所对应的多巴胺的浓度. 检测系统的噪声为 $\pm 10 \text{ Hz}$, 2 倍噪声 40 Hz 所对应的多巴胺浓度为 $3.5 \mu\text{g/g}$, 因此 PQC 对多巴胺的检测限为 $3.5 \mu\text{g/g}$. 在 pH = 7.40 的 $0.0010 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 磷酸盐缓冲体系中, 我们测定间苯二酚型杯[4]芳烃涂层的 PQC 对不同浓度的多巴胺的响应, 由图 4 可知, 当多巴胺的浓度在 $3.5 \sim 500 \mu\text{g/g}$ 范围内, 随着多巴胺浓度的增加, 其吸附引起的频率变化值成比例增加, 对多巴胺的响应值进行了线性回归, 在 $3.5 \sim 500 \mu\text{g/g}$ 范围内有非常好的线性关系, $R = 0.9998$.

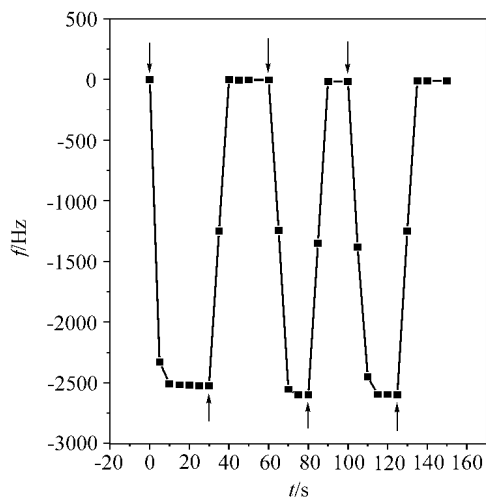


图3 涂有间苯二酚型杯[4]芳烃的晶片对多巴胺的吸附重现性曲线

Figure 3 The reproducible response of PQC coated with resorcinalex[4]arene to dopamine

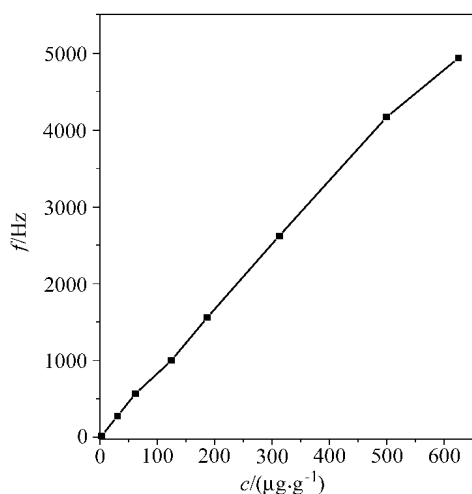


图4 多巴胺在间苯二酚型杯[4]芳烃为涂层的PQC上的定量响应范围

Figure 4 The response range of dopamine on PQC coated with resorcinalex[4]arene

我们取 $10\ \mu\text{L}\ 0.10\ \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 多巴胺溶液和 $25\ \mu\text{L}\ 0.10\ \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 抗坏血酸溶液一起加入到体积为 $16\ \text{mL}$, $\text{pH}=7.40$ 的 $0.0010\ \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 磷酸盐缓冲液测量池中,对应的多巴胺和抗坏血酸的含量分别 11.9 和 $27.5\ \mu\text{g/g}$. 用 PQC 传感器测定了在 1 倍抗坏血酸存在下,多巴胺的含量,并与分子印迹聚合物敏感薄膜的循环伏安法^[14]进行了对比实验. 本方法测定多巴胺的含量为 $12.5\ \mu\text{g/g}$ ($n=5$),回收率为 106% ,而分子印迹聚合物敏感薄膜的循环伏安法为 $11.4\ \mu\text{g/g}$ ($n=5$),回收率为 96% ,两者测定结果基本一致.

3 结论

通过以间苯二酚杯[4]芳烃涂层的晶片和空白晶片,对多巴胺和抗坏血酸的吸附实验,表明由于间苯二酚杯[4]芳烃能与多巴胺形成主客体化合物,能较好识别多巴胺和抗坏血酸,本实验首次用压电传感器测定液相中的多巴胺,体系具有响应快、重现性好、灵敏度高、线性响应范围广的特点. 杯芳烃的独特分子识别性能,使其在压电传感器中得到进一步应用.

References

- Whitley, R. J.; Meikle, A. W.; Watts, N. B. In *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Edn., Eds.: Burtis, C. A.; Ashwood, E. R., Saunders, Philadelphia, **1994**, pp. 1739 ~ 1764.
- Rosano, T. G.; Swift, T. A.; Hayes, L. W. *Clin. Chem.* **1991**, 37, 1854.
- Amatore, C.; Kelly, R. S. J. *Electroanal. Chem.* **1986**, 213, 31.
- Zetterstorm, T.; Sharp, T. J. *Neurochem.* **1983**, 41, 1769.
- Capella, P.; Ghasemzadeh, B. *Electroanalysis* **1990**, 2, 175.
- Charlesworth, J. M. *Anal. Chem.* **1990**, 62, 76.
- Auge, J.; Hauptmann, P.; Harman, J.; Rosler, S.; Lucklum, R. *Sens. Actuators* **1995**, B24 - 25, 43.
- Dalcanale, E.; Hartmann, J. *Sens. Actuators* **1995**, B24 - 25, 39.
- Zhou, X.-C.; Ng, S.-C.; Chan, H. S. O.; Li, S. F. Y. *Sens. Actuators* **1997**, B42, 137.
- Chen, L.-X.; He, X.-W.; Hu, X.-B.; Xu, H. *Analyst* **1999**, 124, 1767.
- Gutsche, C. D. In *Monographs in Supramolecular Chemistry, Calixarenes Revisited*, Vol. 6, Royal Society of Chemistry, Cambridge, U. K., **1998**.
- Tunstad, L. M.; Tucker, J. A.; Dalcanale, E.; Weiser, J.; Bryant, J. A.; Sherman, J. C.; Helgeson, R. C.; Knobler, C. B.; Cram, D. J. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 1305.
- Pan, W.; Liu, H.-Q.; Xing, W.-L.; He, X.-W. *Chin. J. Anal. Chem.* **1997**, 25, 1104 (in Chinese).
(潘卫, 刘鸿铨, 邢婉丽, 何锡文, 分析化学, **1997**, 25, 1104.)
- Guo, H.-S. *Ph. D. Dissertation*, Tianjin, **2001** (in Chinese).
(郭洪声, 博士论文, 南开大学, 天津, **2001**.)