过氧化氢歧化模拟酶 $CoTPPS_4$ 用于电化学传感器的初步研究

奚星林 章咏华*

(中国科学院长春应用化学研究所电分析化学开放研究实验室,130022 长春)

关键词 模拟酶,过氧化氢歧化酶,钴卟啉,氧电极,生物传感器

随着模拟酶研究的深入,模拟酶在生物传感器方面的应用研究也逐渐开展起来[1,2]. Sigel[3]和 Saito[4]分别报道 *meso*-四(4-磺基苯)卟啉($TPPS_4$)及其钴络合物($CoTPPS_4$)可以作为过氧化氢歧化酶的模拟酶,并能催化 H_2O_2 的分解,但未见将此模拟酶应用于生物传感器的报道. 本文将 $CoTPPS_4$ 修饰的阴离子交换树脂用尼龙网固定在原电池式氧电极[5]上,由 H_2O_2 分解生成的 O_2 来定量 H_2O_2. 实验证明该模拟酶可以很好地应用于生物传感器.

仪器和试剂:FDH-3204 型循环伏安仪,60000 系列 X-Y 函数记录仪. *meso*-四(4-磺基苯)卟啉(东京化成工业株式会社),强碱性阴离子交换树脂,H_2O_2(浓度用 $KMnO_4$ 滴定法标定,贮于棕色瓶,并置于冰箱中保存). 按文献[6]中的方法合成 $CoTPPS_4$,并将产物溶液做可见分光光度分析,$TPPS_4$ 的特征吸收谱带(pH 8.0 时 $\lambda_{max}=413nm$)消失,形成了 $CoTPPS_4$ 的 Soret 带(pH 8.0 时 $\lambda_{max}=423nm$). 过量的 Co^{2+} 用 732 型阳离子交换树脂除去. 按文献[4]中的方法制备 $CoTPPS_4$ 修饰的阴离子交换树脂.

实验方法:按文献[7]中的方法安装检测系统,所不同的是这里使用的放大器是不加电位的循环伏安仪. 通 N_2 除去缓冲液中的氧,插入氧电极,磁力搅拌,当记录仪上电流-时间曲线达到平稳后加入一定量的 H_2O_2. 使待测液总体积为 10mL. 记下加入 H_2O_2 时的电流与加入 H_2O_2 后响应达到平衡时的电流差值 Δi.

结果与讨论

温度的影响 在 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液中(pH 8.2),固定 H_2O_2 浓度为 2.5×10^{-3}mol/L,电流响应值随温度的变化见图 1. 因而从响应值和响应速率考虑,我们选用 35℃.

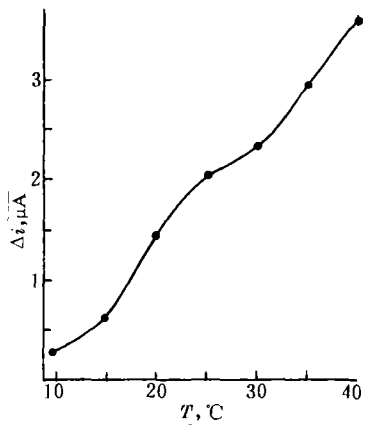


图 1 温度的影响

pH 值的影响 在 35℃下,选用 0.02mol/L Na_2HPO_4-NaH_2PO_4 为介质,在 2.5×10^{-3}mol/L H_2O_2 浓度下测得不同 pH 时电流响应值(图 2). 选择最佳 pH 值为 8.2.

回收率和电极的重现性 在选定条件下进行 5 次回收试验,结果(表 1)表明,H_2O_2 浓度低时回收率较低. H_2O_2 浓度为 2.5×10^{-3}mol/L 时电极有良好的重现性(表 2).

1992-03-31 收稿;1992-07-16 修回.

国家自然科学基金资助课题.

表 1　H_2O_2 的检出结果

H_2O_2 加入量,mol/L	H_2O_2 检出量,mol/L	回收率,%
1.5×10^{-3}	1.26×10^{-3}	84.0
2.5×10^{-3}	2.42×10^{-3}	96.8
3.0×10^{-3}	3.09×10^{-3}	103.0
3.5×10^{-3}	3.66×10^{-3}	104.6
4.5×10^{-3}	4.49×10^{-3}	99.8

表 2　电极的重现性

次数	1	2	3	4	5	6
Δi,μA	3.02	3.00	3.08	3.03	2.96	3.06

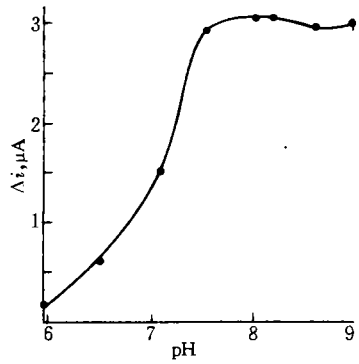


图 2　pH 值的影响

电极响应时间和寿命　电极响应一般需要 15 分钟达到平衡,这主要因为 $CoTPPS_4$ 催化效率不很高,经 15 次测定后需重换树脂. $CoTPPS_4$ 被 H_2O_2 氧化,导致其催化能力下降.

干扰试验　在 5 种干扰物质中,只有抗坏血酸浓度大于 1.0×10^{-3}mol/L 时,响应受到严重干扰(表 3).

表 3　电极干扰试验

干扰物	干扰物浓度 mol/L	H_2O_2 加入量 mol/L	H_2O_2 检出量 mol/L	干扰物	干扰物浓度 mol/L	H_2O_2 加入量 mol/L	H_2O_2 检出量 mol/L
氯化钠	0.2	2.5×10^{-3}	2.42×10^{-3}	尿	1.0×10^{-2}	2.0×10^{-3}	2.21×10^{-3}
葡萄糖	1.0×10^{-2}	2.5×10^{-3}	2.47×10^{-3}	抗坏血酸	1.0×10^{-4}	2.0×10^{-3}	1.87×10^{-3}
L-组氨酸	1.0×10^{-2}	2.0×10^{-3}	2.14×10^{-3}	抗坏血酸	1.0×10^{-3}	2.0×10^{-3}	干扰太大

参 考 文 献

1　Ho M Y K, Rechnitz G A. *Anal Chem*, 1987, **59**(3): 536

2　Tatsuma T, Watanabe T. *Anal Chem*, 1991, **63**: 1586; 1992, **64**: 143

3　Ruesch H, Sigel H. *Chimia*, 1973, **27**: 533

4　Saito Y, Mifune J Odo. *React Polym*, 1986, **4**: 243

5　陈毓麒,张耀山. 仪器仪表学报, 1981, **2**: 114

6　Adler A D, Longo F R, *et al*. *J Inorg Nucl Chem*, 1970, **32**: 2443

7　Aizawa M, Karube I, Suzuki S. *Anal Chim Acta*, 1974, **69**: 431

PRELIMINARY STUDY OF MIMETIC CATALASE $CoTPPS_4$ FOR ELECTROCHEMICAL SENSOR

Xi Xinglin and Zhang Yonghua*

(*Laboratory of Electroanalytical Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences*, 130022 *Changchun*)

Abstract　As a mimetic catalase, meso-tetra(*p*-sulfonatophenyl)porphyrin cobalt(Ⅲ) can catalyze the disproportionation of hydrogen peroxide. The linear relationship held in the hydrogen peroxide concentration range of $5.0\times10^{-4}\sim5.0\times10^{-3}$mol/L. The effects of temperature, pH, reproducibility, recovery and interference were given.

Keywords　mimetic enzyme, catalase, cobalt(Ⅲ) porphyrin, oxygen electrode, biosensor