

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2013.03.005

VB₁₂在多壁碳纳米管修饰电极上的电化学行为与含量测定

刘 景¹ 王 军² 全先高¹ 孙勤枢²

(¹ 济宁医学院药学院, 山东 日照 276826; ² 济宁医学院基础学院, 山东 济宁 272067)

摘 要 **目的** 研究了维生素 B₁₂ 在多壁碳纳米管修饰玻碳电极上的电化学反应与含量测定, 以期建立一种直接测定维生素 B₁₂ 的电化学分析方法。**方法** 利用循环伏安法, 通过改变缓冲体系、pH 值、扫描速度、修饰剂用量等找到维生素 B₁₂ 的最佳测定条件, 以便得出最佳测定结果。**结果** 修饰电极对维生素 B₁₂ 有良好的电催化活性, 最佳缓冲体系为 pH = 4.4 的醋酸-醋酸钠缓冲体系, 最佳的修饰剂用量为 20 μl。与裸电极相比, 多壁碳纳米管能显著提高维生素的峰电流, 且浓度在 $0.2 \times 10^{-4} \sim 0.5 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内峰电流与浓度呈良好的线性关系, 检出限为 1.0×10^{-7} mol/L。**结论** 多壁碳纳米管修饰玻碳电极对维生素 B₁₂ 有良好的电催化活性, 可用于药物制剂中维生素 B₁₂ 的检测。

关键词 多壁碳纳米管; 修饰电极; 维生素 B₁₂; 循环伏安

中图分类号: O657.1 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-9760(2013)06-171-03

Electrochemical behavior and determination of vitamin B₁₂ at a Multi-wall carbon nanotube modified electrode

LIU Jing, WANG Jun, QUAN Xian-gao, et al

(School of Pharmaceutical Sciences, Jining Medical University, Rizhao 276826, China)

Abstract: Objective The electrochemical behavior of vitamin B₁₂ at a multi-wall carbon nanotube modified glassy electrode was investigated, and a direct electroanalytical method for the determination of vitamin B₁₂ was developed. **Methods** The optimum determination condition was discussed through changing the buffer system, the pH value, the scanning speed, and the amount of modification agent by using cyclic voltammetry (CV). **Results** The results showed that this modified electrode exhibited an obvious electrocatalytic activity compared with bare electrode; the optimum buffer system was acetic acid-sodium acetate with pH equal to 4.4, and the optimum amount of modification agent was 20 μl. Under the optimized experimental conditions, the peak current and concentration showed a good linear relationship in the range of 0.2×10^{-4} mol/L $\sim 0.5 \times 10^{-5}$ mol/L, and the detection limit was 1.0×10^{-7} mol/L. **Conclusion** This multi-wall nanotube modified electrode exhibited an obvious electrocatalytic activity, so it can be used for the determination of vitamin B₁₂ in pharmaceutical preparations.

Key words: Multi-wall carbon nanotube; Modified electrode; Vitamin B₁₂; Cyclic voltammetry

维生素 B₁₂ 是一种常见的抗贫血药物, 是生命活动中重要的辅酶, 其中心原子 Co 金属元素能在 Co(Ⅲ)、Co(Ⅱ) 和 Co(Ⅰ) 之间转换, 具有良好的电催化性能^[1]。碳纳米管是 Ligima 于 1991 年研究发现的一种碳单质结构^[2], 具有优良的电子传导性, 可以加速物质的电子交换, 电化学性质稳定, 是一种良好的电极修饰材料, 目前已作为电极修饰材料用于多种物质的检测检验^[3-4]。本文研究维生素 B₁₂ 在多壁碳纳米管修饰玻碳电极上的电化学反应, 报道如下。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

实验主要仪器为 CHI660A 电化学工作站(上海辰华仪器公司), 实验采用三电极系统: 多壁碳纳米管修饰玻碳电极为工作电极, 铂电极为对电极, 饱和甘汞电极为参比电极。

多壁碳纳米管(简称 MWCNTs, 成都有机化学所); 维生素 B₁₂ (AR)(国药集团化学试剂有限公司); 维生素 B₁₂ 注射液(河南同仁制药有限公司); 其他试剂均为分析纯; 实验用水为二次重蒸水。

1.2 修饰电极的制备

将 MWCNTs 在 100ml 浓 HCl 超声 5h, 之后加浓 HNO_3 在 140°C 下回流 5h, 冷却后 3000r/min 离心, 倾出上清液, 去离子水洗涤, 再次离心后洗涤至近中性 (pH 约 6.0), 110°C 烘干、研成粉末^[5]。称取功能化的 MWCNTs 粉末 0.02g 于 10ml 去离子水中超声分散 30min, 取该分散液 1ml 稀释至 10ml 超声 30min 后形成黑色悬浊液备用。

将玻碳电极依次用 4#、5#、6# 金相砂纸打磨, 然后用 $0.05\mu\text{m}$ Al_2O_3 抛光粉抛光至镜面, 依次用无水乙醇和二次蒸馏水超声清洗 5min, 晾干后, 用微量进样器取适量刚分散好的多壁碳纳米管分散液于干燥的玻碳电极表面, 在红外灯下烤干后备用。

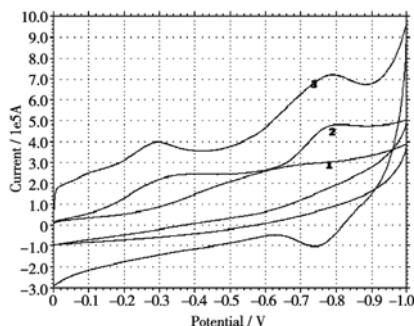
1.3 实验方法

修饰电极先在缓冲溶液中, $-1.0\sim 0\text{V}$ 的电位区间内进行循环伏安扫描, 待扫描曲线稳定后, 加入待测液, 静置一定时间后进行伏安扫描。每次扫描测定后, 电极需在空白的底液中循环扫描 20 圈以恢复电极活性。所有试验均在室温下进行。

2 结果与讨论

2.1 VB_{12} 在 MWCNTs 修饰电极上的电化学行为

图 1 中 1 线为修饰电极在 0.2mol/L 的 HAc-NaAc 缓冲电解液中的伏安曲线, 2 线为裸电极在含 VB_{12} 的电解液中的伏安曲线, 3 线为多壁碳纳米管修饰电极在相同浓度 VB_{12} 溶液中的伏安曲线, 扫速均为 100mV/s 。由图可知, 在空白底液中裸电极与修饰电极均未有任何氧化还原信号, 当将两电极置于含 VB_{12} 的溶液中时, 裸电极与修饰电极均在 -0.27V 和 -0.76V 左右有一对氧化还原峰, 分别对应于 Co(III) 、 Co(II) 和 Co(II) 、 Co(I) 之间的氧化还原。但修饰后的峰电流明显增大, 说明此修饰电极对 VB_{12} 有更强的电催化活性, 可提高维生素 B_{12} 的测定限量。



1. 底液; 2. 裸电极; 3. 修饰电极

图 1 修饰电极与裸电极的 CV 曲线

2.2 缓冲体系的选择

配制 0.2mol/L 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液、 0.1mol/L PBS 缓冲溶液、 0.2mol/L 磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲溶液以及 B-R 缓冲溶液等不同的缓冲体系。比较相同条件下不同缓冲体系的循环伏安曲线。由得到的伏安曲线图可知使用 HAc-NaAc 缓冲体系出峰效果最好, 峰形明显且峰电流适中, 背景电流较小, 故本实验选用 HAc-NaAc 缓冲体系。

2.3 pH 的影响

配制不同 pH 的 HAc-NaAc 体系的缓冲液, 分别测定其循环伏安曲线, 其峰电流、峰电位与 pH 的关系如表 1, 在 pH 为 4.4 的时候峰电流值虽不是最大, 但其峰形最佳, 又考虑到维生素 B_{12} 在 pH 值 $4.5\sim 5.0$ 的弱酸条件下最稳定, 因此本实验选择的 pH 值为 4.4。

表 1 不同 pH 值下峰电流

pH	4.0	4.4	4.8	5.2	5.6
电流 (e^{-4}A)	4.589	7.211	7.164	7.303	7.286

2.4 富集时间的影响

维生素 B_{12} 具有吸附性, 相同浓度条件下, 设置不同富集时间进行实验, 结果表明时间在 30s 以内时, 峰电流随富集时间的延长而增大, 而在 30s 之后, 峰电流随时间的延长变化较小, 故本实验选择富集 30s 后再进行伏安扫描。

2.5 扫描速度的影响

分别以不同扫描速度进行测定, 扫描电位在 $-1.0\sim 0\text{V}$ 范围内, 随着扫描速度的增加, 峰电流亦增大, 当扫速为 100mV/s 时峰形最佳, 峰电流适中, 扫速继续增大时, 虽然峰峰电流继续增大, 但氧化峰峰形变得不明显, 故本实验确定扫速为 100mV/s 。

2.6 修饰剂用量的选择

分别取 $5\mu\text{l}$ 、 $10\mu\text{l}$ 、 $15\mu\text{l}$ 、 $20\mu\text{l}$ 、 $25\mu\text{l}$ 、 $30\mu\text{l}$ 多壁碳纳米管水分散液滴涂于玻碳电极表面, 制成不同修饰剂量的修饰电极, 然后分别进行同浓度维生素 B_{12} 的循环伏安测定, 比较峰电流。由结果知, 随着修饰量的增加, 峰电流增大; 当修饰用量为 $20\mu\text{l}$ 时, 维生素 B_{12} 峰电流最大; 之后峰电流基本稳定, 稍有降低, 这可能与修饰量增加到一定程度, 修饰剂在电极表面的分布达到饱和, 再增加修饰量, 使得修饰膜变厚, 部分阻碍了电子的传递有关, 故本实验选择修饰剂用量为 $20\mu\text{l}$ 。

2.7 线性范围及检测限

在上述优化后的条件下,对不同浓度的 VB_{12} 溶液进行了伏安扫描,由扫描结果知,在 $0.2 \times 10^{-4} \sim 0.5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 浓度范围内,峰电流与浓度呈良好的线性关系。回归方程为 $y = 0.0855x + 4.3749$, R 为 0.987。开路富集 30s 的检出限为 $1.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 。用同一电极相同方法不同时间相同条件修饰后,对同一 VB_{12} 溶液进行扫描测定,其 RSD 值为 6.9%,说明此修饰电极的重现性较好,可用于样品测定。

2.8 样品测定

分别取 5 支 VB_{12} 针剂(1ml)于 50ml 容量瓶中,加入上述实验条件中相同的底液稀释至刻度,用循环伏安进行测定,将测得结果带入上面的线性直线方程进行计算,测定结果与标示含量差别较小,进一步说明此电极可用于样品测定。

表 2 样品分析结果

标示含量 (mg/支)	测定值 (mg/支)	平均值 (mg/支)	RSD (%)
0.50	0.508	0.4978	1.25
	0.491		
	0.497		
	0.501		
	0.492		

2.9 稳定性试验

将上述修饰好的 5 支电极,分别放置 1d、3d、1 周、及 2 周后再次测量,发现随着时间延长,所得峰电流值有所下降,说明此修饰电极的稳定性有待提高,这可能是由于水分散的多壁碳纳米管易脱落,故需要寻找好的碳纳米管分散介质,用以提高修饰

膜的稳定性。

3 讨论

本实验尝试采用多壁碳纳米管修饰玻碳电极对 VB_{12} 的含量进行了测定,通过实验确定了最佳缓冲体系为 $\text{pH} = 4.4$ 的醋酸-醋酸钠缓冲体系,最佳的修饰剂量为 $20 \mu\text{l}$ 。在优化条件下,利用修饰电极对不同浓度的 VB_{12} 进行了伏安曲线扫描测定,结果表明在 $0.2 \times 10^{-4} \sim 0.5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 浓度范围内峰电流与浓度呈良好的线性关系,且重复性良好,可用于 VB_{12} 的实际测量。但此修饰电极的稳定性欠佳,需要继续摸索提高。

参考文献:

- [1] Umasankar Y, Huang TY, Chen SM. Vitamin B_{12} in incorporated with multiwalled carbon nanotube composite film for the determination of hydrazine[J]. Anal Biochem, 2011, 408: 297-303.
- [2] Lijima S. Helical microtubules of graphitic carbon[J]. Nature, 1991, 354(1): 56-58.
- [3] 沈臻霖, 聂海瑜, 王海芳, 等. 表面不同修饰的两种多壁碳纳米管引起 RAW264.7 细胞蛋白质差异表达[J]. 北京大学学报(医学版), 2010, 42(3): 345-350.
- [4] 陈静, 金叶玲. 维生素 B_{12} 在碳纳米管修饰玻碳电极上的电化行为[J]. 淮阴工学院学报, 2010, 19(5): 73.
- [5] Tu XM, Yan LS, Luo XB, et al. Electroanalysis of Bisphenol A at a multiwalled carbon nanotubes-gold nanoparticles modified glassy carbon electrode[J]. Electroanalysis, 2009, 21(22): 2491-2494.

(收稿日期 2013-03-21)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对来稿中表、图的要求

来稿中的表、图均须置于正文中,切勿单独放于文后。每幅表、图应有言简意赅的题目。

统计表格一律采用“三线表”格式,不用纵线、斜线。要合理安排纵表的横标目,并将数据的含义表达清楚;若有合计或统计学处理行(如 F 值、 P 值等),则在该行上面加一条分界横线;表内数据要求同一指标保留的小数位数相同。

图片应清晰,不宜过大。图的宽×高为 $7\text{cm} \times 5\text{cm}$,最大宽度半栏图不超过 7.5cm ,通栏图不超过 17.0cm ,高与宽的比例应掌握在 5:7 左右。

本刊编辑部