

SHENGMING KEXUE ZHONG
DE DIANFENXI HUAXUE

生命科学中的 电分析化学

● 彭图治 杨丽菊 编著

杭州大学出版社



杭州大学学术丛书

SHENGMING KEXUE ZHONG
DE DIANFENXI HUAXUE

生命科学中 的电分析化学

● 彭图治 杨丽菊 编著

藏书章

杭州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

生命科学中的电分析化学/彭图治, 杨丽菊编著. -杭州: 杭州大学出版社. 1999.1

ISBN 7-81035-514-7

I. 生… II. ①彭… ②杨… III. 电化学分析-应用-生命科学 IV. Q503

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 01129 号

生命科学中的电分析化学

彭图治 杨丽菊 编著

*

杭州大学出版社出版发行

(杭州天目山路 34 号)

*

杭州大学印刷厂印刷

850 mm × 1168 mm 1/32 12.25 印张 329 千字

1999 年 1 月第 1 版 1999 年 1 月第 1 次印刷

印数:0001 ~ 1000

ISBN:7-81035-514-7/O·074

定 价:16.00 元

杭州大学学术丛书

总 序

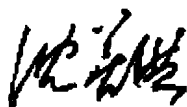
杭州大学出版社成立之初,即以传播新知,发展学术,出版高水平、高质量、高层次的教材和专著为宗旨。经过一段时间的筹备,现在相继推出《杭州大学学术丛书》和《钱塘青年学者论丛》两套丛书,这是值得庆贺的事。

以 1897 年创建的求是书院和育英书院为滥觞,杭州大学迄今已有近百年的历史。作为江南的著名高等学府,它素有优良的治学传统。名家辈出,著述宏富,成就卓著,在学术界享有很高的声誉。特别是 80 年代以来,欣逢改革开放的盛世,校内专家学者踴励奋发,辛勤笔耕,在学术研究领域多有创获,许多优秀成果为国内外人士所瞩目。两套丛书面世,就是对这些成果的集中展示。

《杭州大学学术丛书》收录不同学科的专家具有代表作性质的学术成果,反映了学校人文科学、社会科学和自

然科学研究的最高水准。它可以是体系严密的鸿篇巨制,也可以是同一主题的论文结集,但都应当具有学科上的前沿性和创新性,并且立论严谨、材料充实,力戒空泛和浮华。

培育人才,繁荣学术,是高等学校承担的双重任务。面对世纪之交,我们期待着有更多的佳作付梓,为学术文化事业的发展作出自己应有的贡献。

A handwritten signature in black ink, appearing to read '沈永康' (Shen Yongkang).

前 言

人类即将进入的 21 世纪,是生命科学蓬勃发展的时代。对生命科学的研究和开发,是世界科学领域的前沿课题和重要任务。随着现代科学技术的发展,人类已经能够遨游太空,深潜洋底,但是,人类对自身的生命过程及其变化规律却尚待深入研究。探索生命活动的奥秘,是摆在当代科学家面前的一项重大挑战。

生命现象最基本的过程是电荷运动,电化学是生命科学中最基础的学科。今天,人们已经能够从分子或亚分子水平来研究生命过程的许多现象,在这些多学科协同进行的研究中,电分析化学发挥了重要的作用。电分析化学方法具有极高的灵敏度,所用仪器相对价廉,并易于自动化和微型化,已经越来越多地为各个领域所接受和使用。当前,在生命科学领域中,采用现代电分析化学技术,不仅能够有效地测定生命体内各种复杂生物物质的含量和变化情况,而且为探索生命过程提供了许多重要的电化学信息。随着科学技术的不断发展,电分析化学将会在生命科学研究中发挥更大的作用。

本书对生命科学中,特别是生物学、医学、药学等领域使用的各种电分析化学方法的基本原理、仪器、应用和发展情况进行了论述。为了便于各种不同学科读者阅读,书中阐述方法原理时,突出基本概念和应用公式,避免抽象的数学推导,力求简明扼要,通俗易懂。本书的重点部分是介绍电分析化学在上述领域中的实际应用和特点,并对一些新技术、新方法及其应用领域和发展方向进行

评述,以期读者能够结合自己的工作加以应用。

本书共分六章。第一章扼要地概括了生命科学研究中广泛应用的伏安法及相关方法,对这类方法的有关理论、分类、适用范围及特点予以简明论述,为该类方法在后述有关章节中的应用奠定基础。本章重点介绍了伏安法在测定人体微量元素、药物及代谢物核酸等生化物质方面的应用。

第二章论述各种类型离子选择性电极的结构、功能及响应机理,特别介绍了其价格低廉、操作简便、电位响应快又具有一定准确度的特点及在生物学和医学临床分析中的广泛使用情况,并客观地讨论了该类电极的某些局限性、改进措施和发展前景。

第三章介绍酶电极和生物组织、细菌及微生物电极等各类电化学生物传感器,分别对它们的生物识别元件(酶等生物材料)和物理换能器(电化学电极)进行系统论述。本章重点评述电流和电位型两大类酶电极的原理、发展过程以及在生命科学研究中的应用,并讨论了所存在的问题和今后发展的方向。

第四章系统叙述电化学免疫分析的原理、分类、功能和特点,并从伏安免疫分析和免疫传感器两个方面介绍了该类方法近年来的迅速发展和在生命科学研究以及医学临床分析领域里的应用。

第五章对在生命科学研究中具有特殊作用的电化学生体内和无损分析及其进展作了全面评述,对活体伏安法、微型离子选择性电极、微透析和超滤取样、无损电化学传感器的各自特点及原理、仪器设备、应用及发展趋势均作扼要介绍。本章重点论述了采用微电极开展的大脑活体分析,对电极的制备和处理、特殊的仪器和实验方法作了深入介绍。同时,详细评价了近年来在动物实验中经常采用的微透析和超滤活体取样方法和与此有关的电化学检测技术。

第六章论述色谱和流动体系中电化学检测器的有关原理、特点、与检测器联用的要求和条件。重点介绍液相色谱、临床自动分

析仪和毛细管电泳所用的各种电化学检测技术,讨论了在实际工作中如何根据各自的特点,妥善地加以选择使用,并列举了它们在生物学和医学研究、临床检验、药物和毒物分析等方面的广泛应用。

本书内容是作者根据多年从事电分析化学教学和科研的实践编写而成,并提出了一些看法和评论。由于书中涉及学科较多,加之作者水平所限,错误和不当之处在所难免,敬请读者批评指正。杭州大学化学系吕荣山教授在本书编著过程中悉心指导,提出了许多宝贵意见,并审阅了全稿;美国新墨西哥州立大学 Joseph Wang 教授和堪萨斯大学 Ralph N. Adams 教授提供了大量有关资料,在此表示衷心的感谢。

彭图治

1997.12.24 于杭州

目 录

第一章 伏安法及有关技术	(1)
1.1 引言	(1)
1.2 仪器与样品	(5)
1.2.1 电极与设备	(5)
1.2.2 样品溶液	(7)
1.3 直流极谱法	(8)
1.4 脉冲伏安法	(14)
1.4.1 常规脉冲伏安法	(15)
1.4.2 示差脉冲伏安法	(16)
1.4.3 方波极谱法	(20)
1.5 交流极谱法	(22)
1.5.1 普通交流极谱法	(23)
1.5.2 相敏交流极谱法	(23)
1.5.3 二次谐波交流极谱法	(24)
1.5.4 张力电流法	(24)
1.6 线性扫描伏安法	(25)
1.7 循环伏安法	(28)
1.8 微电极伏安法	(33)
1.9 固体电极伏安法	(37)
1.10 溶出分析法	(40)
1.10.1 溶出分析原理	(40)

1.10.2 溶出伏安法	(42)
1.10.3 溶出电位法	(45)
1.10.4 吸附溶出伏安法	(45)
1.11 计时安培法和计时库仑法	(47)
1.12 库仑分析法	(50)
1.13 伏安分析在生命科学中的应用	(52)
1.13.1 人体微量元素的测定	(56)
1.13.2 人体体液中药物的测定	(63)
1.13.3 生命体中核酸等生化物质的测定	(74)
参考文献	(78)
第二章 离子选择性电极	(86)
2.1 离子选择性电极的结构和原理	(87)
2.1.1 离子选择性电极的基本结构	(87)
2.1.2 离子选择性电极的测定原理	(88)
2.2 离子选择性电极在生物和临床医学样品分析中的应用	(91)
2.2.1 酸度的电位法测定	(94)
2.2.2 钾离子和钠离子选择性电极	(97)
2.2.3 锂离子选择性电极	(101)
2.2.4 钙离子选择性电极	(102)
2.2.5 卤素离子选择性电极	(105)
2.2.6 其他离子选择性电极	(107)
2.2.7 气敏电极	(108)
2.2.8 固态镀膜电极	(115)
2.2.9 电位测定法中的多层膜技术	(118)
2.2.10 展望	(119)
参考文献	(120)
第三章 电化学生物传感器	(126)
3.1 引言	(126)

3.2 酶的基本概念	(128)
3.2.1 酶和酶促反应特点	(128)
3.2.2 酶的命名和分类	(129)
3.2.3 酶的结构	(131)
3.2.4 酶促反应速率及影响因素	(134)
3.3 酶电极	(139)
3.3.1 酶电极结构	(141)
3.3.2 酶电极原理及发展过程	(149)
3.3.3 固化技术	(155)
3.3.4 酶电极特性	(165)
3.3.5 酶电极的应用	(169)
3.4 生物组织、细菌和微生物电极	(188)
3.4.1 原理和特性	(188)
3.4.2 分析应用	(189)
参考文献	(196)
第四章 电化学免疫分析	(212)
4.1 引言	(212)
4.2 电化学免疫分析基本原理	(214)
4.2.1 免疫反应类型——竞争反应和夹心反应	(214)
4.2.2 免疫分析方法——异相分析和均相分析	(216)
4.2.3 抗原(或抗体)标记物	(218)
4.3 伏安免疫分析及有关的分析方法	(221)
4.3.1 非酶标记伏安免疫分析	(222)
4.3.2 酶标记伏安免疫分析及控制电位免疫分析	(224)
4.4 电化学免疫传感器	(225)
4.4.1 固化抗体免疫传感器	(227)
4.4.2 固化抗原免疫传感器	(232)
参考文献	(233)

第五章 体内和无损电化学分析	(236)
5.1 活体伏安法及有关方法	(237)
5.1.1 中枢神经系统活体伏安分析	(237)
5.1.2 一氧化氮活体伏安分析	(270)
5.1.3 葡萄糖和氧的活体伏安分析	(274)
5.1.4 其他活体伏安分析	(276)
5.2 微型离子选择性电极活体分析	(277)
5.2.1 钾、钠离子分析	(281)
5.2.2 活体 pH 测定	(283)
5.2.3 钙离子和其他物质分析	(284)
5.3 微透析和超滤取样活体分析	(287)
5.3.1 引言	(287)
5.3.2 微透析和超滤原理	(288)
5.3.3 微透析和超滤方法比较	(290)
5.3.4 微透析和超滤取样电化学分析	(295)
5.4 无损电化学传感器	(297)
参考文献	(298)
第六章 色谱和流动体系的电化学检测器	(308)
6.1 液相色谱电化学检测器	(308)
6.1.1 伏安检测器(控制电位安培检测器)	(308)
6.1.2 电导和电位检测器	(322)
6.1.3 电化学检测器在生命科学和临床医学中的应用	(324)
6.2 临床自动分析仪电化学检测器	(340)
6.2.1 自动流动体系中的电位检测器	(341)
6.2.2 自动流动体系中的伏安检测器	(342)
6.2.3 具有特效生化反应的电化学检测器	(344)
6.2.4 化学修饰电化学检测器在流动分析体系中的应用	(347)
6.3 毛细管电泳电化学检测器	(353)

6.3.1 分离系统和检测系统的联结	(353)
6.3.2 毛细管电泳电化学检测器在生命科学中的应用	(355)
参考文献	(364)

第一章 伏安法及有关技术

1.1 引言

在生命科学中,特别对生物物质的研究和分析,伏安法(Voltammetry)是一种十分有用的技术,该方法具有很高的灵敏度、精密度和准确性;同时,测定线性范围宽,而且无需使用昂贵的仪器设备。采用伏安技术已经测定了很多具有重要生物意义的电活性物质,例如药物、激素、维生素和人体微量元素等。此外,采用伏安法对一些重要生物活性物质如吡啶类辅酶和黄素类衍生物等的氧化还原特性和机理研究,为生命活动过程提供了重要的信息。伏安法作为一种电化学分析专门技术,在生物学、医学和药学等领域中得到日趋广泛的应用,成为一项非常有效的研究方法和得力的分析工具。

伏安法是泛指一类根据电流-电位关系进行研究和测定的电化学方法。在这类方法中,向工作电极施加电位,测量所产生的电流,由此得到电流-电位关系曲线。这里的工作电极是指有被测物质发生反应的电极。电极电位是进行电化学反应的动力,也就是说,它是溶液中电活性物质能否在电极上电解(氧化或还原)的决定性因素。电极氧化或还原能力的大小完全由所加的电位控制,例如,当电极电位向负方向变化时,电极就像变成越来越强的还原剂一样,供给反应物以电子;反之,电位向正方向变化,电极氧化性

增加,促使反应物失去电子。

在伏安实验中,施加在工作电极上的电位往往按一定规律变化,例如,线性电位变化(扫描)方式或脉冲电位变化(扫描)方式等等。如果溶液中存在电活性物质,当电极电位超出它们的标准电位(E^0)时(还原时,比 E^0 更负;氧化时,比 E^0 更正),这些电活性物质在电极表面发生氧化还原反应,并产生电流。对于受热力学定律控制的反应体系(O 为氧化态,R 为还原态):



外加电位(E)决定了电极表面电活性物质的浓度。在 25℃ 时,可由能斯特方程表示:

$$E = E^0 + \frac{0.059}{n} \lg \frac{c_o}{c_R} \quad (1-2)$$

式中 n 为反应中电子转移数, c_o 和 c_R 分别为氧化态和还原态浓度。当电极电位比 E^0 更正时,在氧化还原电对中氧化态是稳定的,此时,如果还原态物质到达电极表面,即被电极氧化为氧化态。当电位比 E^0 更负时,则情况与上述情况相反。这种由电活性物质氧化或还原所产生的电流,称为法拉第电流,因为它遵循法拉第定律:

$$Q = nF \frac{W}{M} \quad (1-3)$$

式中 Q 为电解电量, W 为反应物重量, M 为反应物的摩尔质量, F 为法拉第常数,即 1 mol 反应物在电极上完全电解所需的电量

(96485 库仑)。

法拉第电流直接反映了电极上氧化还原反应的速率即电极反应速率。该速率主要由两个因素控制:

(1)反应物质从溶液本体移动到电极表面的速率,即通常所称的传质速率。

(2)电子在电极表面和溶液之间的转移速率,即电子转移速率。

当电极上发生电化学反应时,所产生的法拉第电流大小由上述两因素中较慢的一个所决定。所谓电极上反应过程的可逆性和不可逆性就是这两个控制因素所产生的结果,也就是说,反应过程是否可逆,取决于电子转移速率与平均传质速率之比。一般来讲,若反应物传质速率比电子转移速率低很多,反应物传质速率成为决定性因素,那么这个电极反应过程称为可逆过程;如果电子转移速率比传质速率慢很多,电子转移速率成为决定性因素,这时的电极反应过程称为不可逆过程;当这两个速率相当时,共同影响整个过程的速率,则称为准可逆过程,它介于可逆和不可逆过程之间。

在实际情况中,电极过程要复杂得多,还会碰到一些其他的表面过程(如吸附)和伴生的化学反应。要深入研究电极反应过程,需要动力学、热力学以及流体力学方面的专门知识,有关的基本概念和研究方法,请参考有关专著^[1~4,166~176]。

在处理伏安实验数据时,以垂直轴表示电流,以水平轴表示电位,所得的图形称为伏安图。该图相当于光学分析中的光谱图,是进行研究和分析的主要依据。在伏安图中,电流是电位变化的响应信号,不同的实验方法,可以得到不同的波形或峰形的响应。伏安图的精确形状与电极反应过程有密切关系。对于受传质速率控制的可逆反应过程,电极反应产生的电流(i)与反应物向电极表面的流量有关,可用以下方程表示:

$$i = nFAD(\partial c / \partial Z)_{Z=0,t} \quad (1-4)$$

式中 A 为电极面积, D 为反应物扩散系数, $(\partial c / \partial Z)_{Z=0,t}$ 为扩散方向上的浓度梯度。当溶液中存在多种电活性组分时, 伏安图可以显示出每一组分的电流波或峰(在一些情况下, 可能会产生重叠现象)。在电极的电流信号中, 除了法拉第电流之外, 还有一部分为背景电流或残余电流。这部分电流主要是由溶液中杂质电解以及方法本身而引起的, 它的大小直接影响分析方法的灵敏度和检测下限。

仔细分析所得的伏安图, 可以获得许多关于电极反应的重要的定性和定量信息。例如, 电流波上升部分或峰顶电位, 与氧化还原电对的标准电位 (E^0) 有关, 因此, 可以作为定性判别的参考。法拉第电流与反应物浓度成正比, 是进行定量分析的依据, 并且, 根据法拉第电流与背景电流的比值, 可以确定分析方法的检测下限。

目前, 大多数先进的伏安方法都可以有效地减少背景电流在测量电流中的比例, 因此, 可以使检测下限达到 $10^{-10} \sim 10^{-9} \text{ mol/L}$ 水平。随着伏安技术的不断改进, 检测灵敏度越来越高, 该技术已经用来测定人体体液和组织中的微、痕量生物活性物质和药物, 并发展和转化为商用多组分伏安测定仪。在下面的几节中, 将介绍一些常用伏安技术的基本原理及其在生物样品分析中的具体应用。由于篇幅所限, 关于伏安技术的详细理论请读者参考文献所列的专著。本书着重介绍这些方法在生命科学研究中的应用。