

УДК 543.253:541.128.13

АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ДЕТЕКТИРОВАНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ НА ЭЛЕКТРОДЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА, В УСЛОВИЯХ ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННОГО АНАЛИЗА И ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

*Л.Г. Шайдарова, И.А. Челнокова, М.А. Ильина (Дегтева),
А.В. Гедмина, Г.К. Будников*

Аннотация

Наночастицы золота, осажденные на поверхности стеклоуглеродного электрода, проявляют каталитическую активность при окислении биогенных аминов (тирамина, дофамина, адреналина и серотонина). Катализ заключается в уменьшении перенапряжения окисления субстрата и увеличении тока при потенциале окисления модификатора. Разработаны способы амперометрического детектирования биогенных аминов на этом электроде в условиях проточно-инжекционного анализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Аналитический сигнал линейно зависит от концентрации биогенных аминов в проточных условиях в интервале от $1 \cdot 10^{-11}$ до $2 \cdot 10^{-7}$ моль.

Ключевые слова: химически модифицированные электроды, наночастицы золота, электроокисление дофамина, адреналина, тирамина, серотонина, проточно-инжекционный анализ, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Введение

Биогенные амины играют важную роль в деятельности сердечно-сосудистой, нервной и эндокринной систем [1]. Контроль их содержания в биологических жидкостях (урине, плазме крови) необходим при клинической диагностике различных заболеваний (болезней Паркинсона, Альцгеймера, феохромоцитомы, нейробластомы и др.) [2, 3].

Наиболее распространенными методами анализа биологических жидкостей на содержание биогенных аминов являются проточные методы анализа и обращенно-фазовая высокоэффективная хроматография с электрохимическим детектированием [4].

В качестве рабочих электродов в электрохимических детекторах чаще всего используют стеклоуглерод (СУ), что связано с его невысокой стоимостью, высокой стабильностью и устойчивостью к пассивации [5]. Однако на углеродных электродах биогенные амины окисляются практически при одних и тех же потенциалах, что затрудняет их совместное определение. Кроме того, определению мешают электроактивные матричные компоненты (например, аскорбиновая и мочевиная кислоты), которые окисляются в этой же области потенциалов. Другая проблема определения биогенных аминов обусловлена их низкой концентрацией в биологических жидкостях (10^{-6} – 10^{-9} моль/л) [6].

Использование ХМЭ с каталитическими свойствами позволяет повысить чувствительность и селективность вольтамперометрического определения биогенных аминов [7]. Для повышения чувствительности и селективности определения катехоламинов предложены электрохимические сенсоры на основе электродов, модифицированных частицами металлов и их соединений [7–9], обладающими способностью снижать перенапряжение окисления органических соединений, что способствует разделению анодных пиков. Например, разделение пиков окисления дофамина и аскорбиновой кислоты возможно на ХМЭ на основе оксидной пленки RuO_x [8]. Повышение селективности определения биогенных аминов происходит и за счет включения частиц металла в полимерную пленку [9–11]. Так, использование ХМЭ на основе перекисленного полипиррола с наночастицами золота позволяет проводить совместное определение дофамина и серотонина [10]. Селективное и высокочувствительное определение дофамина можно достигнуть на ХМЭ, полученном в результате формирования оксида рутения в пленке нафтона (НФ) [11].

В литературе имеются примеры применения ХМЭ в качестве амперометрических детекторов в проточно-инжекционном методе анализа (ПИА) [12]. В качестве модификаторов используют платиновые металлы, полимеры, углеродные нанотрубки, а также композиты на их основе [12]. Отмечена высокая стабильность таких электродов при использовании в проточном анализе.

Однако в условиях ПИА трудно добиться селективности определения самих биогенных аминов. А при анализе биологических жидкостей помимо чувствительности важным требованием является высокая селективность разделения близких по структуре компонентов пробы. Поэтому в лабораторно-диагностической практике основными методами определения биогенных аминов без перевода в производные являются обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с амперометрическим детектированием и различные варианты капиллярного электрофореза [13].

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности амперометрического детектирования тирамина (ТА), дофамина (ДА), адреналина (АД) и серотонина (5-ГТ) по каталитическому отклику электрода из СУ, модифицированного наночастицами золота, в условиях ПИА и ВЭЖХ.

1. Экспериментальная часть

Циклические вольтамперограммы регистрировали на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА» (ООО «ЭКОНИК-ЭКСПЕРТ», Россия). Использовали трехэлектродную ячейку. В качестве рабочего электрода применяли электрод из СУ с видимой поверхностью 0.10 см^2 и СУ с электроосажденными наночастицами золота (Au-СУ). Электродом сравнения служил хлоридсеребряный, вспомогательным – платиновая проволока. Циклические вольтамперограммы регистрировали при скорости наложения потенциала (v) 20 мВ/с .

Перед модифицированием углеродного электрода проводили предварительную подготовку его поверхности: электрод шлифовали на абразивных материалах, промывали дистиллированной водой.

Осаждение золота на поверхности СУ проводили из раствора тетрахлорозолотой кислоты (HAuCl_4) фирмы Aldrich методом потенциостатического электролиза. Рабочие условия электроосаждения золота на поверхности СУ определены ранее [14].

Для проведения ПИА применяли установку, описанную в статье [15].

Для анализа методом ВЭЖХ использовали хроматограф «ОРЛАНТ-112» (Россия). Прибор состоит из шприцевого насоса, устройства ввода пробы, предколонки 24×1.8 мм и разделительной колонки 80×2 мм с сорбентом Диасорб С18 с размером частиц 6 мкм, амперометрического детектора и персонального компьютера с хроматографической программой «Мультихром». Растворы ТА и 5-ГТ готовили растворением их точных навесок реактивов фирмы Aldrich. Растворы ДА и АД готовили растворением их точно взятых объемов в фоновом электролите. Растворы меньших концентраций готовили разбавлением исходного раствора непосредственно перед измерениями. В качестве фонового электролита в стационарных условиях и потока-носителя в GBF использовали 0.1 М раствор H_2SO_4 и фосфатный буферный раствор с pH 6.86. В условиях ВЭЖХ в качестве подвижной фазы использовали смесь водного раствора 0.1 М дигидрофосфата натрия и ацетонитрила.

2. Результаты и их обсуждение

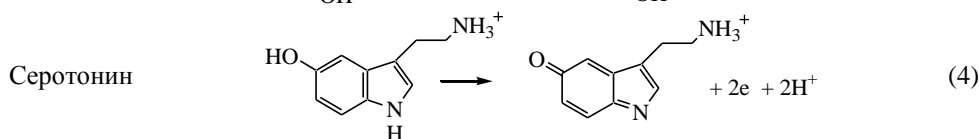
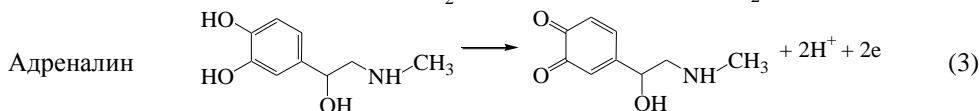
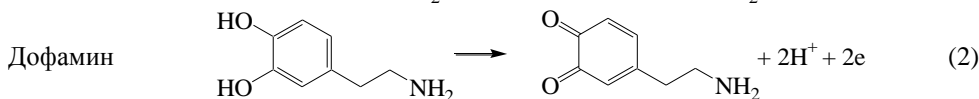
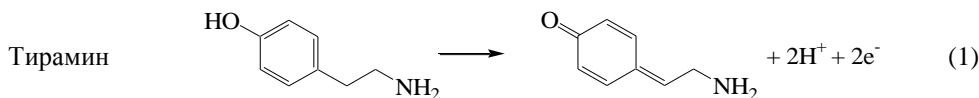
ДА, АД и 5-ГТ окисляются на электроде из СУ необратимо (табл. 1) в одной и той же области потенциалов при $E \sim 0.6$ и 0.7 В в нейтральной и кислой среде соответственно. ТА окисляется в области потенциалов при $E \sim 0.1$ В. В таблице приведены значения потенциалов (E_s) и предельного тока (I_s) окисления субстрата, а также наклона волны ($tg \beta$).

Табл. 1

Вольтамперные характеристики электроокисления биогенных аминов ($C = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) на стеклоглереде

Биогенный амин	pH 2 (0.1 М H_2SO_4)			pH 6.86 (фосфатный буфер)		
	E_s , В	I_s , мкА	$tg \beta$	E_s , В	I_s , мкА	$tg \beta$
Тирамин	1.07	30	72	0.95	25	73
Дофамин	0.70	23	71	0.60	20	77
Адреналин	0.75	10	72	0.65	6	74
Серотонин	0.73	16	76	0.60	15	73

Схемы электроокисления ТА, ДА, АД и 5-ГТ обычно представляют следующими уравнениями [16]:



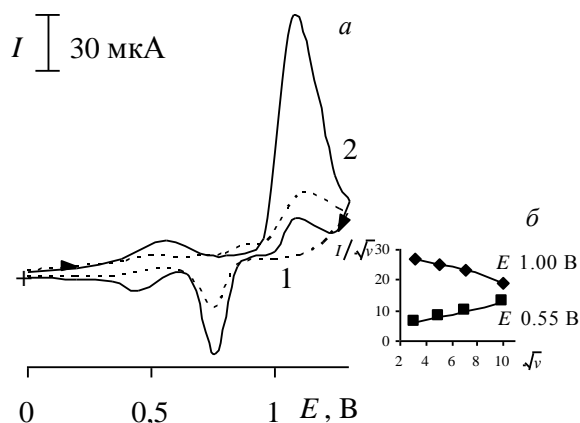


Рис. 2. (а) Циклические вольтамперограммы, полученные на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-СУ}$ в отсутствие (1) и в присутствии (2) адреналина ($C = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) на фоне $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$; (б) графики зависимости величины I/\sqrt{v} от \sqrt{v} при окислении адреналина на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-СУ}$

На анодной ветви циклических вольтамперограмм окисления биогенных аминов на СУ наблюдается один пик. В интервале $1 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л отмечается линейная зависимость анодного тока от концентрации этих биогенных аминов. Для повышения чувствительности метода рассмотрена возможность их окисления на электрокаталитически модифицированном электроде.

Известно, что благородные металлы являются универсальными катализаторами ряда электрохимических реакций [17], каталитические свойства которых во многом определяются размерами частиц металла и способом их нанесения на поверхность электрода. Особый интерес представляют наночастицы металлов, которые обладают специфическими свойствами, отличными от свойств микрокристаллов. Электрохимическое поведение частиц золота, иммобилизованных на поверхности электрода, а также условия формирования наночастиц золота описаны в работе [14].

Электроды, модифицированные частицами золота, можно применять в кислых и нейтральных электролитах [14]. Поэтому изучено электрохимическое поведение рассматриваемых биогенных аминов на электроде из СУ с электроосажденными наночастицами золота ($\text{Au}_{\text{нано}}\text{-СУ}$) в кислой и нейтральной средах.

Установлена каталитическая активность иммобилизованных наночастиц золота по отношению к ГА, ДА, АД и 5-ГТ. На вольтамперограммах окисления биогенных аминов на рассматриваемом ХМЭ на анодной ветви наблюдаются один или два пика, высота которых в несколько раз превышает пик окисления модификатора и увеличивается с ростом концентрации аналита. Регистрируемый ток контролируется адсорбцией или кинетикой химической реакции. В качестве примера на рис. 2 приведена циклическая вольтамперограмма окисления АД на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-СУ}$ на фоне $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$.

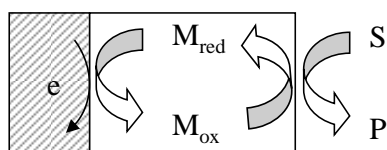
Окисление рассматриваемых биогенных аминов на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-СУ}$ можно объяснить с позиции электрокатализа, которое проявляется в уменьшении перенапряжения и увеличении тока окисления субстрата.

Табл. 2

Вольтамперные характеристики электроокисления биогенных аминов ($C = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) на электроде $Au_{\text{нано}}-Cu$

Субстрат	Фон	$E_{\text{кат}}, V$	$I_{\text{кат}}, \mu A$	$I_{\text{кат}}/I_{\text{мод}}$
Тирамин	0.1 M H_2SO_4	1.00	137.0	13.7
	фосфатный буферный раствор с pH 6.86	0.80	90.0	30.0
Дофамин	0.1 M H_2SO_4	0.50	107	21.4
	фосфатный буферный раствор с pH 6.86	0.30	96.0	30.0
Адреналин	0.1 M H_2SO_4	0.55	12.5	2.5
		1.00	79.0	7.9
	фосфатный буферный раствор с pH 6.86	0.30	23.2	7.3
Серотонин	0.1 M H_2SO_4	0.90	180	15.0
	фосфатный буферный раствор с pH 6.86	0.50	57.5	11.5
Серотонин	0.1 M H_2SO_4	0.50	57.5	11.5
	фосфатный буферный раствор с pH 6.86	0.40	96.6	30.2

Механизм электроокисления субстратов на ХМЭ с каталитическими свойствами можно представить известной схемой: модификатор M_{red} вступает в электрохимическую реакцию с образованием частиц M_{ox} , которые вступают в химическую реакцию с субстратом S , регенерируя исходную форму модификатора M_{red} и образуя продукты реакции P :



Электрод Модификатор Раствор

Регенерация частиц модификатора позволяет отнести этот процесс к каталитическому. Экспериментально каталитический эффект проявляется в уменьшении перенапряжения окисления субстрата и в увеличении тока окисления модификатора ($I_{\text{мод}}$) и субстрата (I_S).

Катализ по потенциалу оценивали по разности формальных потенциалов окисления органического соединения на ХМЭ ($E_{\text{кат}}$) и СУ (E_S). Катализ по току рассчитывали по отношению каталитического тока окисления органического соединения на ХМЭ ($I_{\text{кат}}$) к току окисления модификатора: $I_{\text{кат}}/I_{\text{мод}}$.

Вольтамперные характеристики электроокисления ТА, ДА, АД и 5-ГТ на ХМЭ представлены в табл. 2. Сопоставление величины каталитического эффекта в зависимости от pH среды приводит к выводу, что наибольшую каталитическую активность золото проявляет в нейтральной среде (табл. 2).

Каталитический отклик электрода $Au_{\text{нано}}-Cu$ отличается высокой стабильностью и воспроизводимостью. Поэтому этот ХМЭ использовали в качестве амперометрического детектора в условиях ПИА и ВЭЖХ. В связи с тем, что для анализа биологических объектов следует давать предпочтение электродам-сенсорам, которые дают каталитический отклик при физиологических значениях pH,

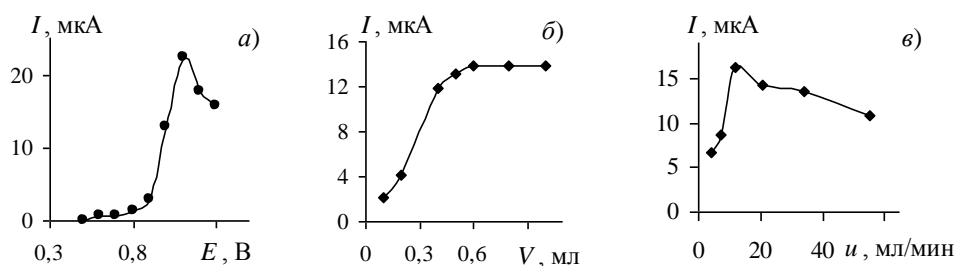


Рис. 3. Зависимость тока окисления тирамина на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-Cu}$ на фоне 0.1 М H_2SO_4 от налагаемого потенциала (а), объема пробы (б) и скорости потока (в)

Табл. 3

Условия проточно-инжекционного определения биогенных аминов на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-Cu}$

Аналит	Фон	Электрохимические условия	Гидродинамические условия	
		E , В	V , мл	u , мл/мин
Тирамин	0.1 М H_2SO_4	1.10	0.5	12
	Фосфатный буферный раствор с рН 6.86	0.50	0.6	12
Дофамин	0.1 М H_2SO_4	0.60	0.5	12
	Фосфатный буферный раствор с рН 6.86	0.50	0.6	20.5
Адреналин	0.1 М H_2SO_4	1.10	0.6	20.5
	Фосфатный буферный раствор с рН 6.86	0.40	0.5	12
Серотонин	0.1 М H_2SO_4	0.65	0.6	12
	Фосфатный буферный раствор с рН 6.86	0.50	0.5	12

а при проведении анализа в условиях ВЭЖХ используется подвижная фаза с кислотным значением рН, исследования проводили как в кислой, так и в нейтральной среде.

Изучена возможность амперометрического детектирования рассматриваемых биогенных аминов на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-Cu}$ в условиях ПИА. Измерения проводили в потенциостатическом режиме. Для каждого соединения определены электрохимические и гидродинамические условия регистрации ПИА-сигнала на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-Cu}$ в кислой и нейтральной средах. В качестве иллюстрации на рис. 3 представлены зависимости электрокаталитического отклика электрода $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-Cu}$ от объема пробы (V), скорости потока (u) и налагаемого потенциала при проточно-инжекционном определении тирамина.

На основании полученных результатов выбраны рабочие условия определения ТА, ДА, АД и 5-ГТ в ПИА (табл. 3). При этих условиях регистрировали зависимость ПИА-сигнала от концентрации рассматриваемых биогенных аминов.

Замена СУ на ХМЭ способствует росту величины аналитического сигнала (рис. 4) и уменьшению накладываемого потенциала (табл. 1 и 2), что ведет к уменьшению уровня химических шумов и, соответственно, к понижению предела обнаружения биогенных аминов. Зависимость ПИА-сигнала от концентрации аналита линейна в интервале от $1 \cdot 10^{-11}$ до $2 \cdot 10^{-7}$ молей (табл. 4).

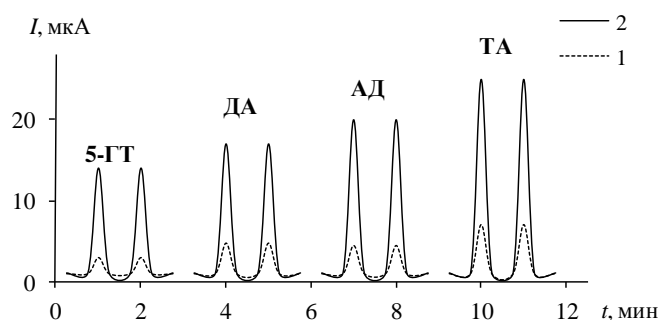


Рис. 4. ПИА – сигналы, полученные на немодифицированном (1) и модифицированном СУ (2): фоновый электролит – H_2SO_4 (рН 2), скорость потока – 12 мл/мин, объем пробы 0.5 мл, устанавливаемый потенциал E 0.60 В (ДА, 5-ГТ) и 1.10 В (ТА, АД)

Табл. 4

Аналитические характеристики определения биогенных аминов на электроде $\text{Au}_{\text{нано}}\text{-СУ}$ в условиях проточно-инжекционного анализа

Субстрат	Фон	Диапазон концентраций, моль	Уравнение регрессии $\lg I = a + b \lg C$ (I , мкА; C , моль)		R
			a	b	
Тирамин	0.1 М H_2SO_4	$1 \cdot 10^{-11} \div 1 \cdot 10^{-7}$	6.8 ± 0.2	0.90 ± 0.03	0.9995
	Фосфатный буферный раствор с рН 6.86	$1 \cdot 10^{-11} \div 2 \cdot 10^{-7}$	4.4 ± 0.1	0.54 ± 0.02	0.9978
Дофамин	0.1 М H_2SO_4	$1 \cdot 10^{-11} \div 2 \cdot 10^{-7}$	5.1 ± 0.2	0.68 ± 0.04	0.9898
	Фосфатный буферный раствор с рН 6.86	$1 \cdot 10^{-11} \div 2 \cdot 10^{-7}$	5.6 ± 0.2	0.73 ± 0.01	0.9995
Адреналин	0.1 М H_2SO_4	$1 \cdot 10^{-11} \div 2 \cdot 10^{-7}$	6.7 ± 0.3	0.88 ± 0.02	0.9976
	Фосфатный буферный раствор с рН 6.86	$1 \cdot 10^{-11} \div 2 \cdot 10^{-7}$	6.8 ± 0.3	0.78 ± 0.02	0.9989
Серотонин	0.1 М H_2SO_4	$1 \cdot 10^{-11} \div 2 \cdot 10^{-7}$	4.4 ± 0.1	0.56 ± 0.02	0.9989
	Фосфатный буферный раствор с рН 6.86	$1 \cdot 10^{-11} \div 2 \cdot 10^{-7}$	5.0 ± 0.2	0.63 ± 0.03	0.9988

Установлено, что при длительном использовании ХМЭ в проточной ячейке без обновления поверхности электрода воспроизводимость ПИА-сигнала практически не изменяется. Рассчитанные значения S_r для тока окисления рассматриваемых биогенных аминов не превышают 5% (при $n = 10$, $C = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л).

Использование электрокаталитического отклика ХМЭ в ПИА-условиях позволяет обеспечить теоретическую производительность до 90 проб/ч (при времени отклика ХМЭ 40 с). Однако селективное определение рассматриваемых соединений при совместном присутствии затруднено в условиях ПИА, поэтому для этих целей использовали предварительное хроматографическое разделение.

Выбраны условия селективного определения биогенных аминов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с амперометрическим детектором. В качестве амперометрического детектора использовали ХМЭ с наночастицами золота, покрытого НФ, так как на этом ХМЭ биогенные амины окисляются в одной области потенциалов.

Табл. 5

Времена удерживания биогенных аминов при использовании подвижных фаз разного состава (0.1 М NaH_2PO_4 , CH_3CN , H_2O); колонка – С18 (2×80 мм), скорость потока – 150 мкл/мин

Аналит	Состав подвижной фазы (вода : ацетонитрил, об.%)		
	90 : 10	70 : 30	50 : 50
	t_R , мин		
Адреналин	2.00	1.54	1.25
Дофамин	2.34	1.70	1.34
Тирамин	3.55	2.15	2.01
Серотонин	4.65	2.99	2.45

На хроматографические характеристики разделяемых соединений влияют состав, концентрация компонентов и pH подвижной фазы. В качестве растворителя для обращено-фазовой ВЭЖХ чаще всего используют полярный растворитель ацетонитрил, так как он обладает лучшими растворяющими свойствами и низкой вязкостью [18]. Для уменьшения элюирующей силы к ацетонитрилу добавляли воду. Биогенные амины определяли в форме катионов. Максимальная доля катионной формы этих соединений сохраняется до pH ~ 6, поэтому для создания определенного значения pH в состав элюента вводили соль NaH_2PO_4 .

Изучено влияние состава подвижной фазы на хроматографическое время удерживания. Для этого варьировали соотношение водной и органической фаз элюента, концентрацию соли NaH_2PO_4 . Установлено, что с увеличением содержания воды в подвижной фазе происходит возрастание времен удерживания (t_R) для всех рассматриваемых биогенных аминов (табл. 5). Этот факт, вероятно, связан с уменьшением количества ассоциатов «сорбат – вода» за счет увеличения числа ассоциатов «вода – вода», поэтому сорбату энергетически выгоднее неспецифически взаимодействовать с неполярной неподвижной фазой, чем участвовать в специфических взаимодействиях с молекулами воды [19]. Наилучшее разделение исследуемых соединений получено с использованием подвижной фазы, содержащей 90 об.% H_2O , 10 об.% CH_3CN , 0.1 М NaH_2PO_4 .

Таким образом, оптимальное разделение хроматографических пиков наблюдается при следующих условиях: состав элюента 90 об.% H_2O , 10 об.% CH_3CN , 0.1 М NaH_2PO_4 , скорость потока 150 мкл/мин, объем инжектируемой пробы 10 мкл, потенциал рабочего электрода 0.55 В.

На рис. 5 приведена хроматограмма смеси биогенных аминов.

Биогенные амины идентифицировали путем сопоставления времени удерживания пика, полученного на хроматограмме анализируемой пробы, со временем удерживания t_R стандартного образца. Воспроизводимость по площадям пиков и времени удерживания составляет 4–6% и 0.5–1.5% соответственно.

Таким образом, применение ХМЭ с наночастицами золота по сравнению с немодифицированным СУ приводит к повышению чувствительности определения. Такой ХМЭ использован для амперометрического детектирования биогенных аминов в условиях проточно-инжекционного анализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Разработанный способ в условиях ПИА отличается

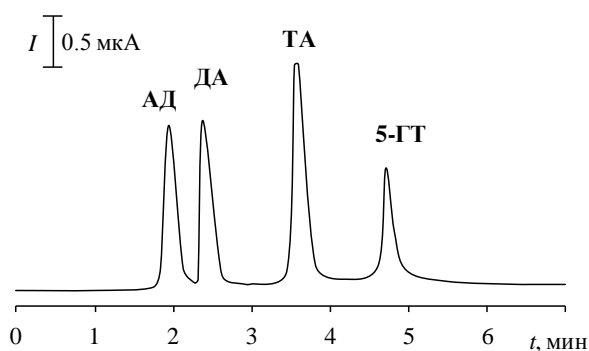


Рис. 5. Хроматограмма смеси биогенных аминов: амперометрический детектор, E 0.55 В – элюент 0.1 М NaH_2PO_4 , 10 об.% CH_3CN , 90 об.% H_2O , колонка – C18 (2×80 мм), скорость потока – 150 мкл/мин

простотой, высокой чувствительностью, воспроизводимостью и производительностью анализа, а в условиях ВЭЖХ – высокой чувствительностью и селективностью. Предлагаемые способы определения биогенных аминов могут быть использованы при диагностике различных заболеваний.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 13-03-01101).

Литература

1. Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2000. – 469 с.
2. Hanin I., Yoshida M., Fisher A. Alzheimer's and Parkinson's diseases: recent developments. – N. Y.: Springer US, 2013. – 744 p.
3. Arneson W.L., Brickell J.M. Clinical chemistry: A laboratory perspective. – F.A. Davis Company, 2007. – 582 p.
4. Trojanowicz M. Recent developments in electrochemical flow detections – A review: Part II. Liquid chromatography // Anal. Chim. Acta. – 2011. – V. 688, No 1. – P. 8–35. – doi: 10.1016/j.aca.2010.12.024.
5. Хенце Г. Полярография и вольтамперометрия. Теоретические основы и аналитическая практика. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. – 284 с.
6. O'Neill R.D. Microvoltammetric techniques and sensors for monitoring neurochemical dynamics in vivo – A review // Analyst. – 1994. – V. 119, No 5. – P. 767–779.
7. Будников Г.К., Евтюгин Г.А., Майстренко В.Н. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 416 с.
8. Shakkthivel P., Chen Sh.-M. Simultaneous determination of ascorbic acid and dopamine in the presence of uric acid on ruthenium oxide modified electrode // Biosens. Bioelectron. – 2007. – V. 22, No 8. – P. 1680–1687.
9. Schlesinger M. Applications of Electrochemistry in Medicine. – N. Y.: Springer US, 2013. – 452 p.
10. Li J., Lin X. Simultaneous determination of dopamine and serotonin on gold nanocluster/overoxidized-polypyrrole composite modified glassy carbon electrode // Sens. Actuators B. – 2007. – V. 124, No 2. – P. 486–493. – doi: 10.1016/j.snb.2007.01.021.

11. *Ti Ch.-Ch., Kumar A.S., Chen Sh.-M.* Electrochemical preparation, characterization, and electrocatalytic studies of nafion–ruthenium oxide modified glassy carbon electrode // *J. Solid State Electrochem.* – 2009. – V. 13, No 3. – P. 397–406. – doi: 10.1007/s10008-008-0568-5.
12. *Шайдарова Л.Г., Будников Г.К.* Амперометрические сенсоры с каталитическими свойствами в органической вольтамперометрии // *Проблемы аналитической химии.* Т. 14: Химические сенсоры / Под ред. Ю.Г. Власова. – М.: Наука, 2011. – С. 203–284.
13. *Карцова Л.А., Сидорова А.А., Казаков В.А., Бессонова Е.А., Яшин А.Я.* Определение катехоламинов методами капиллярного электрофореза и обращенно-фазовой ВЭЖХ // *Журн. аналит. химии.* – 2004. – Т. 59, № 8. – С. 826–831.
14. *Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Дегтева М.А., Лексина Ю.А., Гедмина А.В., Будников Г.К.* Порционно-инжекционное определение креатинина на электроде, модифицированном наночастицами золота // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки.* – 2014. – Т. 156, кн. 4. – С. 40–51.
15. *Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Махмутова Г.Ф., Дегтева М.А., Гедмина А.В., Будников Г.К.* Проточно-инжекционное и порционно-инжекционное определение гидроксипуринов на электроде, модифицированном смешанновалентными оксидами рутения и иридия // *Журн. аналит. химии.* – 2014. – Т. 69, № 9. – С. 946–956.
16. *Hawley M.D., Tatawawadi S.V., Piekarski S., Adams R.N.* Electrochemical studies of the oxidation pathways of catecholamines // *J. Am. Chem. Soc.* – 1967. – V. 89, No 2. – P. 447–450.
17. *Шайдарова Л.Г., Будников Г.К.* Химически модифицированные электроды на основе благородных металлов, полимерных пленок или их композитов в органической вольтамперометрии // *Журн. аналит. химии.* – 2008. – Т. 63, № 10. – С. 1014–1037.
18. *Стыскин Е.Л.* Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. – М.: Химия, 1986. – 285 с.
19. *Шафигуллин Р.В., Буланова А.В., Туманин А.Н., Пурьгин П.П.* Удерживание некоторых производных индола в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Сорбционные и хроматографические процессы.* – 2009. – Т. 9, Вып. 1. – С. 99–103.

Поступила в редакцию
02.07.15

Шайдарова Лариса Геннадиевна – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: LarisaShaidarova@mail.ru

Челнокова Ирина Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: Irina.Chelnokova@mail.ru

Ильина (Дегтева) Марина Андреевна – аспирант кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: degteva_marina@rambler.ru

Гедмина Анна Владимировна – кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: Anna.Gedmina@kpfu.ru

Будников Герман Константинович – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: *Herman.Budnikov@kpfu.ru*

* * *

**AMPEROMETRIC DETECTION OF BIOGENIC AMINES
AT THE ELECTRODE MODIFIED BY GOLD NANOPARTICLES
UNDER THE CONDITIONS OF FLOW-INJECTION ANALYSIS AND HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

L.G. Shaidarova, I.A. Chelnokova, M.A. Il'ina (Degteva), A.V. Gedmina, H.C. Budnikov

Abstract

Gold nanoparticles electrodeposited on the glassy carbon electrode show catalytic activity in the electrooxidation of biogenic amines (tyramine, dopamine, epinephrine, and serotonin). Catalysis consists in decreasing of overvoltage of substrate oxidation and in increasing of oxidation current of modifier. The method of amperometric detection of biogenic amines at this modified electrode under the conditions of flow-injection analysis and high performance liquid chromatography has been suggested. The dependence of the analytical signal from the concentration of biogenic amines is linear in the range from $1 \cdot 10^{-11}$ to $2 \cdot 10^{-7}$ mol.

Keywords: chemically modified electrodes, gold nanoparticles, electrooxidation of dopamine, epinephrine, tyramine, and serotonin, flow-injection analysis, high performance liquid chromatography.

References

1. Koolman J., Roehm K.H. Evident Biochemistry. Moscow, Mir, 2000. 469 p. (In Russian)
2. Hanin I., Yoshida M., Fisher A. Alzheimer's and Parkinson's Diseases: Recent Developments. N. Y., Springer US, 2013. 744 p.
3. Arneson W.L., Brickell J.M. Clinical Chemistry: A Laboratory Perspective. F.A. Davis Company, 2007. 582 p.
4. Trojanowicz M. Recent developments in electrochemical flow detections – A review: Part II. Liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 2011, vol. 688, no 1, pp. 8–35. doi: 10.1016/j.aca.2010.12.024.
5. Henze G. Polarography and Voltammetry. Theoretical Bases and Analytical Practice. Moscow, Binom. Laboratoriya znanii, 2008. 284 p. (In Russian)
6. O'Neill R.D. Microvoltammetric techniques and sensors for monitoring neurochemical dynamics in vivo – A review. *Analyst*, 1994, vol. 119, no. 5, pp. 767–779.
7. Budnikov H.C., Evtugun G.A., Maistrenko V.N. The Modified Electrodes for Voltammetry in Chemistry, Biology, and Medicine. Moscow, Binom. Laboratoriya znanii, 2010. 416 p. (In Russian).
8. Shakkthivel P., Chen Sh.-M. Simultaneous determination of ascorbic acid and dopamine in the presence of uric acid on ruthenium oxide modified electrode. *Biosens. Bioelectron.*, 2007, vol. 22, no. 8, pp. 1680–1687.
9. Schlesinger M. Applications of Electrochemistry in Medicine. N. Y., Springer US, 2013. 452 p.
10. Li J., Lin X. Simultaneous determination of dopamine and serotonin on gold nanocluster/overoxidized polypyrrole composite modified glassy carbon electrode. *Sens. Actuators B*, 2007, vol. 124, no. 2, pp. 486–493. doi: 10.1016/j.snb.2007.01.021.
11. Ti Ch.-Ch., Kumar A.S., Chen Sh.-M. Electrochemical preparation, characterization, and electrocatalytic studies of nafion–ruthenium oxide modified glassy carbon electrode. *J. Solid State Electrochem.*, 2009, vol. 13, no. 3, pp. 397–406. doi: 10.1007/s10008-008-0568-5.
12. Shaidarova L.G., Budnikov H.C. Amperometric sensors with catalytic properties in organic voltammetry. *Problemy analiticheskoi khimii. T. 14: Khimicheskie sensory* [Problems of Analytical Chemistry. Vol. 14: Chemical Sensors], Vlasova Yu.G. (Ed.). Moscow, Nauka, 2011. pp. 203–284. (In Russian)

13. Kartsova L.A., Sidorova A.A., Kazakov V.A., Bessonova E.A., Yashin A.Ya. Determination of catecholamines by capillary electrophoresis and reversed-phase high performance liquid chromatography. *J. Anal. Chem.*, 2004, vol. 59, no. 8, pp. 737–741.
14. Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Degteva M.A., Leksina Y.A., Gedmina A.V., Budnikov H.C. Batch-injection determination of creatinine at an electrode modified by gold nanoparticles. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2014, vol. 156, no. 4, pp. 40–51. (In Russian)
15. Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Makhmutova G.F., Degteva M.A., Gedmina A.V., Budnikov H.C. Flow injection and sequential injection of hydroxypurins on an electrode modified with mixed-valence ruthenium and iridium oxides. *J. Anal. Chem.*, 2014, vol. 69, no. 9, pp. 864–874.
16. Hawley M.D., Tatawawadi S.V., Piekarski S., Adams R.N. Electrochemical studies of the oxidation pathways of catecholamines. *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, vol. 89, no. 2, pp. 447–450.
17. Shaidarova L.G., Budnikov H.C. Chemically modified electrodes based on noble metals, polymer films, or their composites in organic voltammetry. *J. Anal. Chem.*, 2008, vol. 63, no. 10, pp. 922–942.
18. Styskin E.L. Practical High Performance Liquid Chromatography. Moscow, Khimiya, 1986. 285 p. (In Russian)
19. Shafigullin R.V., Bulanova A.V., Tumanin A.N., Purygin P.P. Retention of certain indole derivatives using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Sorbtsionnye Khromatogr. Protsessy*, 2009, vol. 9, no. 1, pp. 99–103. (In Russian)

Received
July 2, 2015

Shaidarova Larisa Gennadievna – Doctor of Chemistry, Professor, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Chemical Institute, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: LarisaShaidarova@mail.ru

Chelnokova Irina Aleksandrovna – PhD in Chemistry, Associate Professor, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Chemical Institute, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: Irina.Chelnokova@mail.ru

Ирина (Degteva) Marina Andreevna – PhD Student, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Chemical Institute, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: degteva_marina@rambler.ru

Gedmina Anna Vladimirovna – PhD in Chemistry, Associate Professor, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Chemical Institute, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: Anna.Gedmina@kpfu.ru

Budnikov Herman Constantinovich – Doctor of Chemistry, Professor, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Institute of Chemistry, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: Herman.Budnikov@kpfu.ru