DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.01.025

聚邻苯二胺pH修饰电极的研制

A study on electrode modified by 1,2-diaminobenzene polymer

邵 方 李明春 (第三军医大学基础部化学教研室) 630038
余佩武 (第三军医大学西南医院普通外科) 630038

医学研究中,常需测定动物模型胃、肠粘膜表面等某些微区的pH值。常规玻璃电极难以满足要求。本文以铂丝电极为基体,用电化学循环伏安法在其上修饰邻苯二胺聚合物膜,并采用等离子体技术提高聚合物膜的耐磨性。研究了电极的pH响应性能。用该修饰电极测定了鼠胃粘膜表面的pH值,结果与文献数据一致[1]。

1 材料与方法

1.1 主要仪器及试剂

HDV-7C晶体管恒电位仪;DCD-3低频、超低频函数发生器(福建三明市无线电二厂);X-Y函数记录仪(四川仪表四厂);SL-3型离子计(苏州市计量局实验工厂),所用试剂均为AR级,实验用水为去离子水。

pH测试液:称取3.8 g磷酸钠,2.0 g柠檬酸钠和0.71 g硼酸溶解后,稀释至1000 ml,通过滴加0.6(mol/L)的H_2SO_4或0.5(mol/L)的NaOH来调节pH。

1.2 修饰电极的制备

将直径为0.5 mm的铂丝一端烧封于玻璃管内,另一端以铜芯线实现电接触,暴露的铂丝为0.5 cm,端部磨为锥形。将此电极在丙酮及1∶1硫酸与硝酸混合液中各浸泡10 min后,用金相砂纸打磨电极,再置于0.5(mol/L)硫酸溶液中,进行循环伏安(CV)处理,直至得到标准的CV曲线[2],取出电极,冲洗干净,备用。

以上述处理过的铂丝电极为工作电极,大铂片作辅助电极,接有盐桥的饱和甘汞电极(SCE)为参比电极,在120 mV/s。扫描速度下,在邻苯二胺的修饰液中,于-0.2 V~+1.0 V电位范围内作多次循环扫描,可在铂丝电极表面修饰上一层致密均匀的红棕色聚邻苯二胺薄膜。

将修饰电极用红外灯烘干后,在等离子体发生器中充10^{2} Pa氮气的条件下,辉光放电30 s,取出待用。

1.3 测定方法

pH测试液的pH值由玻璃电极测定,同时记录修饰电极相对于SCE的电位变化,得到修饰电极的mV~pH曲线。

2 结果

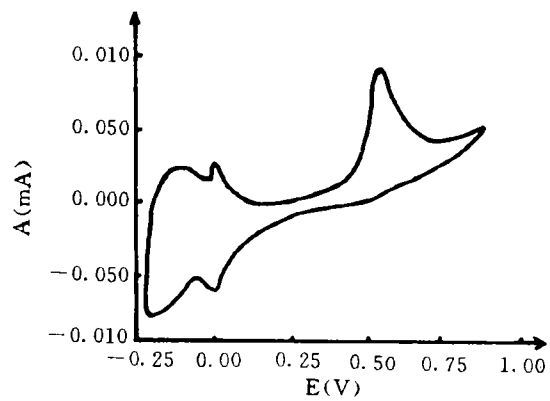
2.1 线性范围

由电极的mV~pH曲线知,该电极具有如下响应特征:

线性范围:pH 2.7~12.0

电极斜率:57.97(25℃)

线性范围对数回归得相关系数0.9997。



附图 邻苯二胺的循环伏安图

扫描速度:120(mV/s);

扫描范围:-0.2V~+1.0 V

2.2 响应速度

该电极在中偏碱性条件下较在酸性条件下响应快,在线性范围内响应时间均不足2 min。

2.3 电极的选择性

本文采用分别溶液法测定了该电极对K^{+}、Na^{+}的电位选择系数,结果均低于10^{-10}。

2.4 等离子体后处理

实验发现,长膜后的铂电极经等离子体处理后,可提高聚合物的交联度,从而提高电极的耐磨性,延长电极的使用寿命[3]。但该电极用于胃,肠粘膜组织内pH的测定,其膜的耐磨性仍达不到要求。

3 电极的初步应用

用该电极测定了20只雄性Wistar鼠(体重120~140 g/只)胃幽门腺区与胃底腺区粘膜表面的pH,其平均值为4.15±0.58,与文献数据一致[1]。测定结果表明,本文研制的修饰电极可以用于动物模型某些微区体液及粘膜表面的pH测定。

关键词 电极;氢离子浓度

中图法分类号 R313

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参考文献

1 李兆申，金山丛，许国铭，等. 制作大鼠萎缩生胃炎模型的实验研究. 中华医学杂志，1992，72(2)：81

2 Shao Fang, Huang Zhongqin. Extended Abstract in 177th Meeting of the Electrochemical Soc. Motreal. Canada，May 6～11，1990

3 朱秀昌. 等离子体聚合法. 高分子通报，1991，1(6)：6～11

(收稿：1994-07-15；修回：1994-11-28)

一种改良的人淋巴细胞微核染色法

An improved staning method for micronuclei of the human lymphocytes

杨录军 曹 佳 (第三军医大学预防医学系分子毒理实验室) 630038

淋巴细胞微核试验是常用的评价各种损伤因子的致突变效应的试验，目前广泛用于暴露人群受到的遗传损害和各种理化因子的诱变和潜在的致癌效应，具有经济、简便、快速的特点。1985年，Fenech等人建立了胞质分裂阻滞微核法(cytokinesis-block micronucleus method)，简称CB微核法[1]。在我国其试验过程一般是将人外周血进行诱变处理后，微量全血培养法培养72 h(CB微核法需在44 h加入胞质分裂阻断剂——松胞素-B)，经低渗、固定，最后将浓集的淋巴细胞涂片、镜检，进行数据分析[2]。但我们在实验中发现，淋巴细胞经过72 h的培养增生后，胞质中合成了大量的RNA、蛋白质等，染色后镜下可见细胞内含有大量的蓝色、深蓝色的粗糙颗粒状、絮状物。这些物质甚至包绕在细胞核上。在这种情况下，对要辩认出细胞中大小为主核的1/3～1/16的微核来说，有时是非常困难的。

我们在长期的微核试验中总结出一个改良的染色法。我们参考姐妹染色体交换试验(也是一种诱变检测试验，简称SCE试验)的染色方法[3,4]，并加以改进，用于淋巴细胞微核试验，染色效果很好。具体方法是：

(1)涂片彻底干燥后，放入染片缸中，加入纯甲醇固定30 min。这个过程可以使细胞牢固地贴附在载玻片上，不致在后面的水育过程中脱落；

(2)倾去甲醇，放入70～80℃的烘箱中烘1 h，进行老化处理；

(3)取出稍稍冷却后，加入2×SSC液置于60℃的水育器中温育1 h；

(4)倾去2×SSC液，加入pH6.4，浓度为3%的Gimsa染液，染30 min。

染后镜下可见，胞浆染成淡淡的浅蓝色或灰蓝色，胞核、微核染成鲜红色，即使是结构疏松的微核也会染成淡红色，与胞浆的浅蓝色、灰蓝色形成鲜明的对比，区别明显；小的微核染成小小的红点，也可以轻松地辩别出来。

这个方法染出的片子色泽鲜艳，细节清晰，微核易于辨别，因而缩短了阅片时间，提高了阅片质量；更重要的是提高了检测结果的可靠性、准确性。但本染色法同原染色法一样都要避免细胞涂得太厚，以免太多的细胞碎片等杂物影响镜下片子的清晰度。

关键词 淋巴细胞；微核；染剂和染色法

中图法分类号 R446.5

参考文献

1 Fenech M. The cytokinesis-block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. Mutation Res, 1993，285：35～44

2 薛开先，沈宗丽，马国建. 培养人淋巴细胞分裂阻滞与常规微核测试法的比较研究. 遗传学报，1991，18(1)：12～16

3 刘毓谷. 卫生毒理学基础. 北京：人民卫生出版社，1987：196～198

4 Perry P, Wolf S. New Gimsa method for differential staining of sister chromatids. Nature，1974，251：156～158

(收稿：1994-11-16；修回：1995-01-02)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net