

1995-05-28

## Electrochemical Reaction of Redox Proteins Speeded up by the Dye Modified Electrodes

Ting Chen

Shaojun Dong

Yuanwu Xie

---

### Recommended Citation

Ting Chen, Shaojun Dong, Yuanwu Xie. Electrochemical Reaction of Redox Proteins Speeded up by the Dye Modified Electrodes[J]. *Journal of Electrochemistry*, 1995 , 1(2): 125-131.

DOI: 10.61558/2993-074X.1274

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol1/iss2/2>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

# 染料修饰电极加速氧化还原 蛋白质的电化学反应<sup>①</sup>

陈 挺 谢远武 董绍俊\*

(中国科学院长春应用化学研究所电分析化学开放实验室, 长春 130022)

**摘要** 评述了染料修饰电极加速氧化还原蛋白质的电子传递反应. 讨论了染料修饰电极的修饰方法和性质. 简评了伏安法、流动分析、光谱电化学法等几种不同研究方法的应用. 提出了可逆电催化反应的机理, 并将数值计算与实验结果进行比较、验证. 引用了47篇文献.

**关键词** 染料修饰电极, 氧化还原蛋白质, 可逆电催化反应

氧化还原蛋白质在生命的代谢过程中起着重要作用. 二十多年来, 采用电极/溶液界面模拟生物膜研究蛋白质在体内的作用机制吸引了众多电化学家的兴趣. 对氧化还原蛋白质的早期电化学研究是细胞色素C在铂电极上的直接电化学还原和在滴汞电极上高度不可逆的电极反应<sup>[1]</sup>. 蛋白质在金属电极上的电化学反应的不可逆性限制了其研究的进程.

化学修饰电极的出现, 极大地推动了氧化还原蛋白质电化学研究的发展. 在电极表面导入各种功能分子, 这些功能分子有的通过改善蛋白质与电极间的界面相容性, 使蛋白质不发生变性吸附, 能与电极直接进行电子传递, 起着促进剂(promoter)的作用, 如4,4'-联吡啶<sup>[2]</sup>; 有的则是通过自身的氧化还原, 催化了蛋白质的反应, 起着媒介体(mediator)的作用<sup>[3,4]</sup>.

各种吩嗪、吩噻嗪、吩恶嗪类有机染料, 其分子结构都具有一个大的杂环共轭体系, 有利于分子在电极表面的吸附, 同时其自身都有着良好的电化学活性, 可以起到媒介体的作用. 采用染料修饰电极, 结合光谱电化学灵敏检测的特点, 已经成为研究氧化还原蛋白质热力学和动力学性质的有力手段<sup>[5~7]</sup>.

## 1 电极的修饰方法

染料分子的杂环结构使其容易在电极表面吸附. 一般地说, 催化效果好的染料分子的式量电位必须同氧化还原蛋白质的式量电位接近, 同时该分子与电极之间以及与蛋白质之间的反应速率都应是快速的, 而且染料分子的氧化还原态应是化学稳定的.

制备染料修饰电极的方法通常包括: 吸附法, 聚合物包埋法以及直接电聚合染料分子等方法.

① 本文1994-07-05收到, 1994-10-08收到修改稿; 国家自然科学基金资助项目

吸附法可分为直接吸附和施加电位吸附两种<sup>[8~11]</sup>。这类方法比较简单,也有效,但随着实验时间延长,部分染料分子会从电极表面脱落,从而导致电极活性的降低。Gorton 等<sup>[12,13]</sup>直接将染料加入碳粉中或先溶于有机溶剂中,再调制成碳糊修饰电极。这种电极中含有的染料分子的数量比在直接吸附法制得的修饰电极表面要多得多,这对于催化反应是有利的。

采用导电聚合物包埋法制备了聚吡咯-亚甲蓝修饰电极<sup>[14,15]</sup>。这种修饰电极除具有较好的催化效能外,还具有较高的稳定性。但要注意控制聚合物膜不能太厚,否则由于电阻较大等原因,催化效果反而降低。也有报导用阳离子交换膜 Esatman-AQ 包埋染料分子制备的修饰电极<sup>[12,16]</sup>。AQ 膜的使用可以阻止抗坏血酸、尿酸等阴离子达到电极表面,提高了电极的选择性和抗干扰能力。

对于带有电子给体氨基或羟基并具有至少一个未取代的邻位或对位的吩噻嗪类染料,其电化学聚合过程类似于胺或酚的自由基聚合<sup>[17]</sup>。董绍俊等曾采用两步法直接电聚合了甲苯胺蓝和天青 A<sup>[18~20]</sup>,即根据自由基聚合的特点,先施加一高电位引发,产生染料分子自由基,然后在低电位下循环扫描,继续聚合过程。也可以采用恒电位氧化法<sup>[21,22]</sup>,但聚合过程不易监测,而且制备的电极的催化活性亦有所降低。

## 2 修饰电极的性质

研究染料分子结构与其电化学性质间的关系,对于选择或合成具有预期催化性质的分子结构具有指导意义。水溶液中吩噻、吩噻嗪和吩噻嗪染料及其衍生物的基本骨架上一般发生两电子氧化还原反应,参与反应的质子总数以及化合物的式量电位 $E^\circ$ 则随着芳香骨架上的功能基团而变化<sup>[23]</sup>。当 pH 变化时, $E^\circ$ 可以按照  $-90 \text{ mV/pH}(3\text{H}^+)$ ,  $-60 \text{ mV/pH}(2\text{H}^+)$ , 或  $-30 \text{ mV/pH}(1\text{H}^+)$  变化,取决于参与反应的质子数目。随着 pH 值增加,当斜率  $\Delta E^\circ/\Delta \text{pH}$  发生改变,表明存在一个质子平衡<sup>[24]</sup>。

Gorton 等对染料分子在碳材料电极上的吸附进行了研究<sup>[10,11,25]</sup>。染料分子能与石墨电极通过电子云重叠进行偶合,不仅增加了吸附强度,也使得电荷传递速率加快。各种染料修饰电极都显示了典型的不可逆吸附物种的可逆电极反应的特征<sup>[26]</sup>。在贵金属电极上的吸附也曾进行了研究<sup>[27]</sup>,可以通过聚合物包埋的方法提高这类修饰电极的稳定性<sup>[15,16]</sup>;加之贵金属电极背景电流比石墨电极小,有望在相同条件下降低对生物分子的检出限。

染料吸附于电极表面时,同样是两个电子参与基本反应过程。当染料分子从溶液态变为吸附态,通常导致式量电位下降约  $50 \sim 100 \text{ mV}$ <sup>[28]</sup>,这反映了吸附态分子与电极之间存在强烈作用,也说明吸附的芳香结构分子的氧化态与电极表面的作用比还原态要强得多<sup>[29]</sup>。这种  $E^\circ$  的降低据认为是与染料芳香骨架的位置 3 有关,当把位置 3 衍生化之后,便导致了  $E^\circ$  比溶液态的升高<sup>[26]</sup>。染料分子的吸附和衍生化对其酸碱性质也有着巨大影响<sup>[26]</sup>。

## 3 伏安法研究

目前已有大量工作报导采用各种染料修饰电极对氧化还原蛋白质进行电化学研究<sup>[6,7,30~32]</sup>。其中有代表性的是亚甲蓝分子(MB),不仅修饰电极本身具有良好的电化学性质,

而且对于多种氧化还原蛋白质均能表现出较好的催化效果。

图1是醋酸缓冲溶液中,亚甲基蓝修饰玻碳电极的循环伏安图<sup>[30]</sup>。空白溶液中的一对氧化还原峰对应于亚甲基蓝电对的氧化还原反应,叠加在较大的背景电流上。加入肌红蛋白后,还原电流增加,氧化电流减小,峰电位基本无变化,而且还原电流的增加与肌红蛋白的浓度成正比,说明肌红蛋白被催化还原。

#### 4 流动注射及液相色谱方法的研究

氧化还原蛋白质在裸电极上反应的过电位较大。采用染料修饰电极作为流动注射分析和液相色谱的电化学检测器,可以降低检测时施加的电位,从而也减少干扰物在电极上反应的可能,提高检测的选择性。Ye和Baldwin曾用亚甲基蓝修饰石墨电极检测了液相色谱分离的肌红蛋白和血红蛋白的电化学还原信号<sup>[30]</sup>。图2是考察该修饰电极稳定性的流动注射实验结果,观察到的电流峰表明了电极对肌红蛋白还原的电催化作用。电流峰经开始一段时间快速减小后,近似趋于恒定。即便8 h连续置于液流中,修饰电极的最后响应仍为起始值的70%,而且电流的陡降主要发生在第1 h内。这种响应的减小可能是由于亚甲基蓝从电极表面缓慢脱落所致。当施加电位为 $-0.12\text{ V}$ 时,亚甲基蓝修饰电极对肌红蛋白和血红蛋白的检测限分别为10和20 pmol,线性响应范围有2~3数量级。

另外,周建迅等报导将甲苯胺蓝<sup>[33]</sup>和硫堇<sup>[34]</sup>修饰电极用于流动注射分析,检测了肌红蛋白和血红蛋白的催化还原信号。

#### 5 光谱电化学方法研究

由于蛋白质分子的分子量大,因此

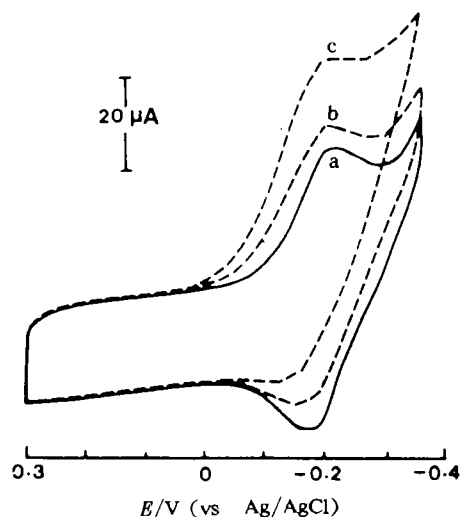


图1 亚甲基蓝修饰电极的循环伏安曲线

(a) pH 5.45 醋酸缓冲溶液中; (b) 0.05 mmol/L 肌红蛋白 + 缓冲溶液中; (c) 0.20 mmol/L 肌红蛋白 + 缓冲溶液中。扫速 20 mV/s

Fig. 1 Cyclic voltammograms of methylene blue modified electrode

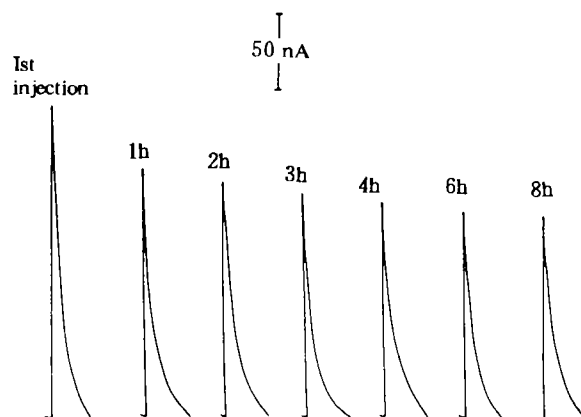


图2 亚甲基蓝修饰电极在流动注射分析中的稳定性  
每个峰表示注射1 mmol 肌红蛋白

Fig. 2 Stability of methylene blue modified electrode in flow injection

溶液中的浓度一般较低,产生的催化电流较小,其信号容易被充电电流、残余电流以及媒介体产生的法拉第电流等背景电流所掩盖,使得采用伏安方法进行研究具有一定困难,但采用光谱电化学的方法,通过选择合适的监测波长,可以完全消除其它背景吸收的干扰,从而方便地观察溶液中蛋白质分子氧化还原态的变化.另外,采用光谱电化学方法不仅能监测到单向催化过程的变化,还能得到逆过程的信息,这是前述方法所不具备的特点.

早期蛋白质的光谱电化学研究是用甲基紫精修饰金网栅电极<sup>[35,36]</sup>而获得.采用各种染料修饰电极结合光谱电化学方法,可以对氧化还原蛋白质进行热力学和动力学方面的研究<sup>[6~8,14,15,18~20]</sup>.董绍俊等在亚甲蓝修饰铂网电极上,用光谱电化学方法检测到血红蛋白、肌红蛋白和细胞色素C的准可逆反应<sup>[8,37]</sup>.

图3(a)是亚甲蓝修饰铂网电极上,血红蛋白还原过程的

恒电位吸收光谱.随着电位从0 V 逐步施加到-0.2 V,高铁血红蛋白在490 nm 和625 nm 的两个吸收峰逐渐降低直至完全消失,亚铁血红蛋白在550 nm 的吸收峰则逐渐增长,表明高铁血红蛋白被还原.每个施加电位下达到平衡时,存在Nernst 关系[3]:

$$E = E_M^0 + \frac{RT}{n_M F} \ln \frac{[M_O]}{[M_R]} = E_P^0 + \frac{RT}{n_P F} \ln \frac{[P_O]}{[P_R]} \quad (1)$$

其中M 代表染料分子,P 代表氧化还原蛋白质,O 和R 分别对应于氧化态与还原态.将E 对于吸

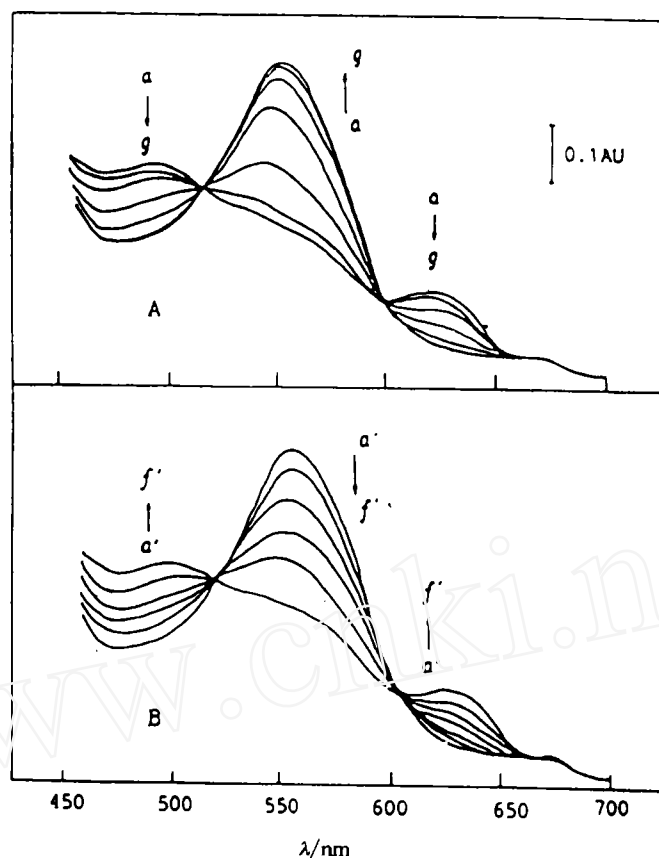


图3 1.2 mg/mL 血红蛋白在亚甲蓝修饰铂网电极上的薄层光谱 (A)还原光谱,施加电位(a)0 (b)-0.10 (c)-0.14 (d)-0.16 (e)-0.17 (f)-0.18 (g)-0.20 V; (B)氧化光谱,施加电位(a')-0.20 (b')-0.10 (c')-0.05 (d')0.0 (e')0.05 (f')0.10 V,每条光谱在施加电位2 min 后记录

Fig. 3 Thin layer spectrum of 1.2 mg/mL hemoglobin at methylene blue modified platinum gauze electrode

光度变化确定的 $\ln([P_o]/[P_r])$ 作Nernst图,由所得直线斜率确定电子转移数 $n=4$ ,截距确定式量电位 $E^{\circ'} = -0.154 \text{ V (vs. Ag/AgCl)}$ . 图3(b)是随后亚铁血红蛋白氧化过程的光谱变化,说明反应是个准可逆过程. 测定不同温度条件下的Nernst图,还可求出蛋白质的熵、焓等热力学参数<sup>[38]</sup>. 在不同的修饰电极表面测得的蛋白质的式量电位略有差异,其原因尚未搞清,有可能与蛋白质在不同电极表面的状态不同有关.

图4是血红蛋白在亚甲蓝修饰铂电极上的循环电位吸收曲线. 可以看到血红蛋白在该修饰电极上的还原过程要明显快于氧化过程. 这主要与血红蛋白和亚甲蓝的式量电位的关系有关. 根据Kuwana等确定 $\Delta E_p$ 的方法<sup>[39]</sup>以及Laviron提出的 $\Delta E_p \sim k_p^0$ 的关系<sup>[40]</sup>,求得血红蛋白在亚甲蓝/铂电极上的异相电子转移速率常数为 $1.1 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ .

对于双媒介体染料修饰电极的催化作用也进行了研究<sup>[41]</sup>. 以灿烂甲酚蓝(BCB)在内层、溴苯三酚红(BPR)在外层的双层染修饰铂电极对血红蛋白的氧化和还原过程都具有良好的催化效果. 图5是血红蛋白在BPR/BCB/Pt电极上的双电位跃计时吸收曲线,完全还原和完全氧化的时间分别为150 s和50 s,氧化反应较血红蛋白在BCB/Pt电极上(200 s)显著改善.

除了亚甲蓝外,其它能加速氧化还原蛋白质电子传递速率的染料包括吩嗪甲氧基硫酸盐<sup>[42]</sup>,亚甲

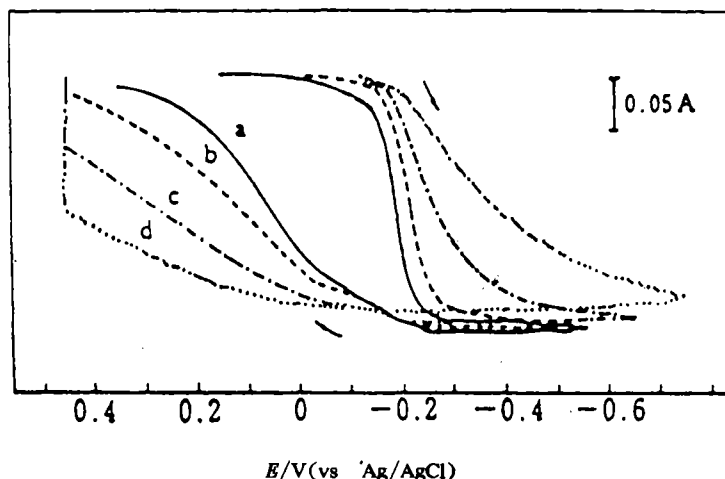


图4 血红蛋白在亚甲蓝修饰电极上于铂网OTTLE电解池中的稳态A-E响应曲线

溶液: 2 mg/mL 血红蛋白 + 0.1 mol/L  $\text{KNO}_3$  + pH 7.0 缓冲溶液; 监测波长 404 nm; 扫速: (a) 1 (b) 2 (c) 5 (d) 10 mV/s

Fig. 4 Steady A-E curve of hemoglobin at methylene blue modified platinum gauze electrode in the thin-layer cell

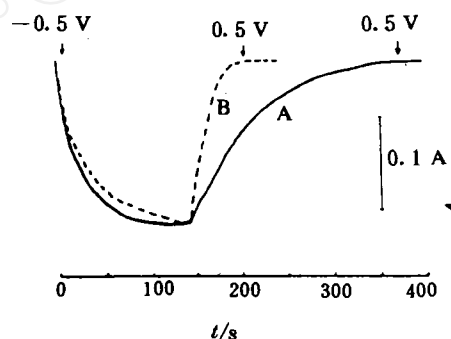


图5 2 mg/mL 血红蛋白双电位跃计时吸收曲线. 吸收波长 405 nm

溶液: 0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液 (pH 7.0) + 0.2 mol/L  $\text{KNO}_3$ , 电位阶跃  $-0.5 \text{ V} \sim +0.5 \text{ V}$ . (A) 在吸附BCB修饰铂网电极上; (B) 在BCB吸附于外层, BPR吸附于内层的双媒介体修饰铂网电极上

Fig. 5 Double potential step chronoabsorptometry of 2 mg/mL hemoglobin

绿<sup>[43]</sup>, 健那绿<sup>[44]</sup>, 甲苯胺盐<sup>[19]</sup>, 灿烂甲酚蓝<sup>[9,45]</sup>, 天青 A<sup>[18]</sup> 等. 表 1 列出了光谱电化学方法测定的肌红蛋白、血红蛋白和细胞色素 C 在各种修饰电极上的热力学和动力学参数.

表 1 氧化还原蛋白质在几种修饰电极上的热力学和动力学参数

Tab. 1 Thermodynamic and kinetic parameters of redox proteins at several dye-modified electrodes

蛋白质	修饰物	$E^{\circ\prime}(\text{V})^a$	$n$	$k_s^{\circ\prime}(\text{cm} \cdot \text{s}^{-1})$	参考文献
细胞色素 C	亚甲蓝			$4.6 \times 10^{-4}$	37
细胞色素 C	健那绿	+0.064	1	$4.2 \times 10^{-4}$	44
肌红蛋白	亚甲蓝			$7.8 \times 10^{-5}$	37
肌红蛋白	灿烂甲酚蓝	-0.169	1.1	$5.6 \times 10^{-4}$	45
肌红蛋白	甲苯胺蓝	-0.154	1.0	$1.1 \times 10^{-4}$	19
肌红蛋白	天青 A	-0.144	1.1	$1.7 \times 10^{-4}$	20
血红蛋白	亚甲蓝	-0.16	4	$1.1 \times 10^{-5}$	8,37
血红蛋白	亚甲绿	-0.064	1.3	$2.0 \times 10^{-4}$	43
血红蛋白	灿烂甲酚蓝	-0.067	1.4	$3.7 \times 10^{-7}$	9
血红蛋白	天青 A	-0.11	1.8	$3.5 \times 10^{-6}$	18

a. 相对于 Ag/AgCl 参比电极

## 6 电极反应机理

由于染料分子是具有电活性的有机化合物, 尤其是在蛋白质如血红蛋白、肌红蛋白的式量电位附近可以发生氧化还原反应, 因此认为修饰在电极表面的染料起着媒介体的作用是合理的, 其与蛋白质的作用机理为



各物理量意义同式(1). 式(2)、(3)所示机理类似于一般的催化反应机理, 所不同的是这里应用了反向催化的概念. Andrieux 和 Saveant 曾经从理论上讨论了聚合物膜修饰电极上这类催化反应的几种情形<sup>[46]</sup>. 在通常的小分子电催化反应中, 由于催化产物的化学不稳定性, 而使催化反应单方向进行; 但对于氧化还原蛋白质来说, 蛋白质分子经催化还原后, 其还原态仍能稳定存在, 因此催化反应是可能表现出双向性的, 即染料不仅能催化蛋白分子的还原, 也能催化蛋白质分子的氧化, 只要二者的式量电位足够接近; 差异只是在于反应速率的不同. 正逆向反应的相互关系可表示为:

$$K = \frac{k_\text{f}}{k_\text{b}} = \frac{[\text{M}_\text{O}][\text{P}_\text{R}]}{[\text{M}_\text{R}][\text{P}_\text{O}]} = \exp\left[\frac{nF}{RT}(E_\text{P}^{\circ\prime} - E_\text{M}^{\circ\prime})\right] \quad (4)$$

我们采用数字模拟的方法对上述机理进行了验证<sup>[47]</sup>. 图 6 是不同媒介体式量电位对循环电位吸收曲线的影响. 当媒介体式量电位  $E_\text{P}^{\circ\prime}$  与蛋白质的式量电位  $E_\text{M}^{\circ\prime}$  比较接近时, 蛋白质的还

原和氧化反应均能较快进行;当 $E_M^0$ 比 $E_P^0$ 负得多时,其氧化过程则缓慢进行;当 $E_M^0 \geq E_P^0$ 时,染料分子将不能催化蛋白质的还原,如BPR( $E^0 = 0.23$  V)修饰铂电极不能催化Hb( $E^0 = -0.514$  V)的还原<sup>[41]</sup>. 对于蛋白质的还原和氧化反应均有催化作用的染料分子,通常在 $E_P^0$ 附近存在着电子交换步骤.

图7 是不同电位扫描速率的影响. 当化学反应速率常数 $k_f, k_b$ 及其它参数一定时,单位时间内参与化学反应的蛋白质分子的量是一定的;但当电位扫描速率增加时,单位时间内的电位变化也增加,因此吸光度随电位的变化速度减慢. 这与图4的结果是一致的.

图8 是分别采用单媒介体与双媒介体修饰铂网电极时,所得的循环电位吸收曲线. 当媒介体的式量电位与蛋白质分子的式量电位相差较远时,仅能较快地催化单一过程,而逆过程则缓慢进行;当选择两种合适的媒介体对电极表面进行修饰后,如不考虑两种媒介体间的相互作用影响,其结果表明,蛋白质的氧化和还原反应均明显加快. 其中一种媒介体( $E_M^0 < E_P^0$ )催化了还原过程,而另一种媒介体( $E_{M_2}^0 > E_P^0$ )则对氧化过程的加快起了主要作用.

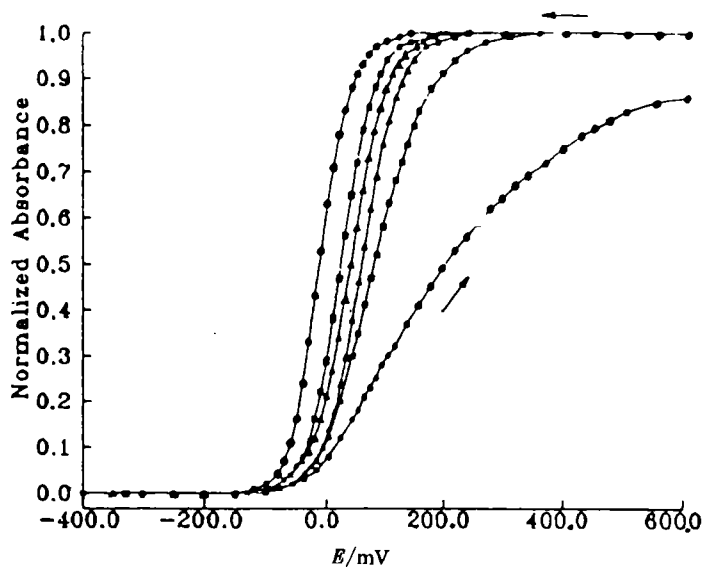


图6 媒介体氧化还原电位对循环电位吸收曲线的影响

$\Gamma^* = 2 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,  $E_b^0 = 50 \text{ mV}$ ,  $k_f = 1 \times 10^7 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $v = 2 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $E_M^0 (\text{mV})$ : (●) -50; (□) 0; (▲) 50

Fig. 6 Effect of formal potential of the mediators on the chronoabsorptometric curves

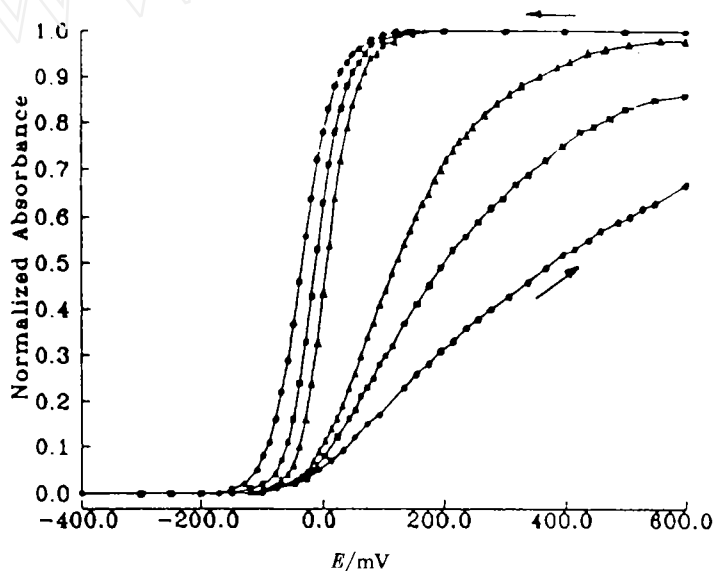


图7 不同电位扫描速度对循环电位吸收曲线的影响

$\Gamma^* = 2 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,  $E_b^0 = 50 \text{ mV}$ ,  $E_M^0 = -50 \text{ mV}$ ,  $k_f = 1 \times 10^7 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $v (\text{mV} \cdot \text{s}^{-1})$ : (●) 4; (□) 2; (▲) 1

Fig. 7 Effect of potential sweep rate on the chronoabsorptometric curves



原和氧化反应均能较快进行;当 $E_M^0$ 比 $E_P^0$ 负得多时,其氧化过程则缓慢进行;当 $E_M^0 \geq E_P^0$ 时,染料分子将不能催化蛋白质的还原,如BPR( $E^0 = 0.23$  V)修饰铂电极不能催化Hb( $E^0 = -0.514$  V)的还原<sup>[41]</sup>. 对于蛋白质的还原和氧化反应均有催化作用的染料分子,通常在 $E_P^0$ 附近存在着电子交换步骤.

图7 是不同电位扫描速率的影响. 当化学反应速率常数 $k_f, k_b$ 及其它参数一定时,单位时间内参与化学反应的蛋白质分子的量是一定的;但当电位扫描速率增加时,单位时间内的电位变化也增加,因此吸光度随电位的变化速度减慢. 这与图4的结果是一致的.

图8 是分别采用单媒介体与双媒介体修饰铂网电极时,所得的循环电位吸收曲线. 当媒介体的式量电位与蛋白质分子的式量电位相差较远时,仅能较快地催化单一过程,而逆过程则缓慢进行;当选择两种合适的媒介体对电极表面进行修饰后,如不考虑两种媒介体间的相互作用影响,其结果表明,蛋白质的氧化和还原反应均明显加快. 其中一种媒介体( $E_M^0 < E_P^0$ )催化了还原过程,而另一种媒介体( $E_{M_2}^0 > E_P^0$ )则对氧化过程的加快起了主要作用.

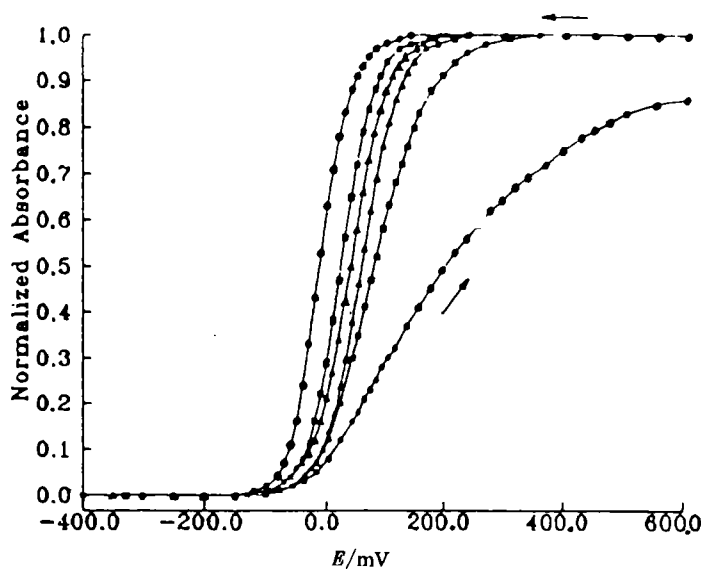


图6 媒介体氧化还原电位对循环电位吸收曲线的影响

$\Gamma^* = 2 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,  $E_b^0 = 50 \text{ mV}$ ,  $k_f = 1 \times 10^7 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $v = 2 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $E_M^0 (\text{mV})$ : (●) -50; (□) 0; (▲) 50

Fig. 6 Effect of formal potential of the mediators on the chronoabsorptometric curves

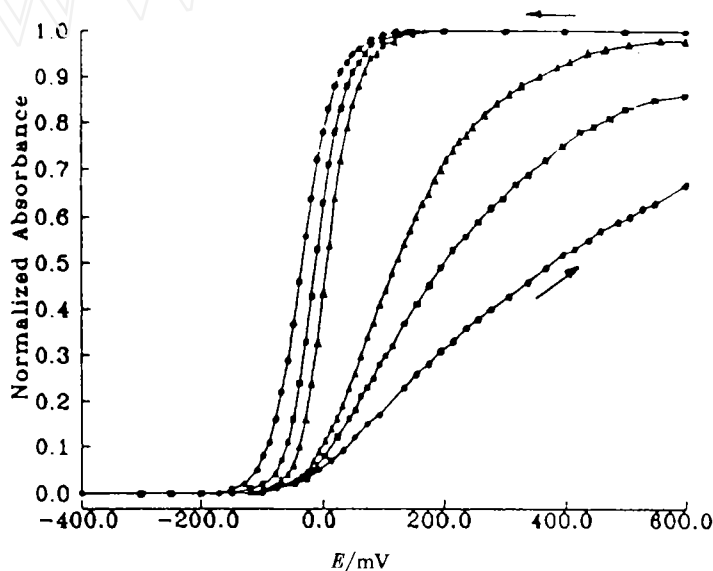


图7 不同电位扫描速度对循环电位吸收曲线的影响

$\Gamma^* = 2 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,  $E_b^0 = 50 \text{ mV}$ ,  $E_M^0 = -50 \text{ mV}$ ,  $k_f = 1 \times 10^7 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $v (\text{mV} \cdot \text{s}^{-1})$ : (●) 4; (□) 2; (▲) 1

Fig. 7 Effect of potential sweep rate on the chronoabsorptometric curves

spectroelectrochemical method, were reviewed. A reversible electrocatalytic reaction mechanism was proposed and verified by comparing the digital calculation results with the experimental results. 47 references were cited.

**Key Words** Dye modified electrode, Redox proteins, Reversible electrocatalytic reaction

## References

- 1 Betso S R, Klapper M H, Anderson L B. Electrochemical studies of heme proteins: coulometric, polarographic, and combined spectroelectrochemical methods for reduction of the heme prosthetic group in cytochrome c. *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, 94:8 197
- 2 Eddowes M J, Hill H A O. Novel method for the investigation of the electrochemistry of metalloproteins: cytochrome c. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1977:771
- 3 Heineman W R, Hawkrige F M, Blount H N. in "Electroanalytical Chemistry". Bard A J (Ed.), vol. 13, New York: Marcel Dekker, 1984
- 4 谢远武,董绿俊. 光谱电化学方法—理论与应用. 长春:吉林科学技术出版社,1993
- 5 董绍俊. 薄层光谱电化学. 分析化学, 1985, 13(1):70
- 6 Dong S, Niu J, Cotton T M. in "Biochemical Spectroscopy", Sauer K (Ed.), one volume of "Methods in Enzymology", Orlando: Academic Press, in press
- 7 Dong S. Advanced electroanalytical chemistry in China (2): Chemically modified electrodes, spectroelectrochemistry, bioelectrochemistry and microelectrodes. *Denki Kagaku*, 1991, 59:664
- 8 Song S, Dong S. Spectroelectrochemistry of the quasi-reversible reduction and oxidation of hemoglobin at a methylene blue adsorbed modified electrode. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1988, 19:337
- 9 Dong S, Zhu Y, Song S. Electrode processes of hemoglobin at a platinum electrode covered by brilliant cresyl blue. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1989, 21:233
- 10 Gorton L, Johansson G, Torstensson A. A kinetic study of the reaction between dihydronicotinamide adenine dinucleotide (NADH) and an electrode modified by adsorption of 1,2-benzophenoxazine-7-one. *J. Electroanal. Chem.*, 1985, 196:81
- 11 Gorton L, Torstensson A, Jaegfeldt H et al. Electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide coenzymes by graphite electrodes modified with an adsorbed phenoxazinium salt, meldola blue. *J. Electroanal. Chem.*, 1984, 161:103
- 12 Bremle G, Persson B, Gorton L. An amperometric glucose electrode based on carbon paste, chemically modified with glucose dehydrogenase, nicotinamide adenine dinucleotide, and a phenoxazine mediator, coated with a poly (ester sulfonic acid) cation exchanger. *Electroanalysis*, 1991, 3:77
- 13 Gorton L, Bremle G, Csoregi E et al. Amperometric glucose sensors based on immobilized glucose-oxidizing enzymes and chemically modified electrodes. *Anal. Chim. Acta.*, 1991, 249:43
- 14 Song S, Zhang W, Dong S. Electrocatalysis of polypyrrole-methylene blue film modified electrode for direct redox reaction of cytochrome c. *Chin. Sci. Bull.*, 1990, 35:1 961

- 15 Zhang W, Song S, Dong S. Heterogeneous electron transfer of cytochrome c facilitated by polypyrrole and methylene blue polypyrrole film modified electrodes. *J. Inorg. Biochem.*, 1990, 40:189
- 16 Tian M, Dong S. The electrochemical behavior fo Eastman-AQ/meldola blue coated microelectrodes. submitted to *J. Electroanal. Chem.*
- 17 Bauldreay J M, Archer M D. Dye-modified electrodes for photogalvanic cells. *Electrochim. Acta*, 1983, 28:1515
- 18 Dong S, Chu Q. Study of the electrode process of hemoglobin at a polymerized Azure A film electrode. *Electroanalysis*, 1993, 5:135
- 19 Dong S, Chu Q. Study on electrode process of myoglobin at a polymerized toluidine blue film electrode. *Chin. J. Chem.*, 1993, 11:12
- 20 董绍俊,褚庆辉. 肌红蛋白在聚天青A 薄膜修饰电极上电极过程的研究. 化学学报, 1992, 50:589
- 21 Albery W J, Foulds A M, Hall K J et al. The thionine-coated electrode for photogalvanic cells. *J. Electrochem. Soc.*, 1980, 127:654
- 22 Torstensson A, Gorton L. Catalytic oxidation of NADH by surface-modified graphite electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 1981, 130:199
- 23 Ottaway J M. in "Indicators", Bishop E(Ed. ), Oxford;Pergamon Press, 1972:490~509
- 24 Clark W M. *Oxidation-Reduction Potentials of Organic Systems*, Baltimore; Williams and Wilkins, 1960
- 25 Persson B. A chemically modified graphite electrode for electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide based on a phenothiazine derivative, 3- $\beta$ -naphthoyl-toluidine blue O. *J. Electroanal. Chem.*, 1990, 287:61
- 26 Persson B, Gorton L. A comparative study of some 3,7-diaminophenoxazine derivatives and related compounds for electrocatalytic oxidation of NADH. *J. Electroanal. Chem.*, 1990, 292:115
- 27 Dong S, Zhu Y. Study on the electrode process of brilliant cresyl blue by optically transparent thin-layer spectroelectrochemistry. *J. Electroanal. Chem.*, 1989, 263:79
- 28 Gorton L, Csoregi E, Dominguez E, et al. Selective detection in flow analysis based on the combination of immobilized enzymes and chemically modified electrodes. *Anal. Chim. Acta.*, 1991, 250:203
- 29 Laviron E. in " *Electroanalytical Chemistry*". Bard A J(Ed. ), vol. 12 New York; Marcel Dekker, 1982:53~157
- 30 Ye J, Baldwin R P. Catalytic reduction of myoglobin and hemoglobin at chemically modified electrodes containing methylene blue. *Anal. Chem.*, 1988, 60:2 263
- 31 鞠焜先,荀以刚,陈洪渊. 亚甲基蓝/Nafion 修饰微柱碳纤维电极测定血红蛋白的研究. 高校化学学报, 1994, 15:827
- 32 韩吉林,陈洪渊,高 鸿. 血红蛋白在甲酚固紫修饰石墨电极上的电催化. 化学学报, 1993, 51:568
- 33 周建迅,汪尔康. 甲苯胺蓝化学修饰电有流动注射分析测定肌红蛋白和血红蛋白. 科学通报, 1991, 36(4): 240
- 34 Zhou J, Wang E. Thionine-containing chemically modified electrodes for electrocatalytic reduction of hemoglobin. *Chin. Chem. Lett.*, 1991, 2:239
- 35 Bowden E F, Hawkrige F M. Thin-layer spectroelectrochemical kinetic study of viologen cation radicals reacting at hydrogen-evolving gold and nickel electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 1981, 125:367
- 36 Landrum H L, Salmon R T, Hawdrige F M. A surface-modified gold minigrid electrode which heterogeneously

- reduces spinach ferredoxin. *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, 99; 3 154
- 37 董绍俊,宋士华. 亚甲基蓝修饰电极推动的血红素蛋白质直接电子转移反应,化学学报,1991,49:493
- 38 Sailasuta N, Anson F C, Gray H B. Studies of the thermodynamics of electron transfer reactions of blue copper proteins. *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101:455
- 39 Zak J, Porter M D, Kuwana T. Thin-layer electrochemical cell for long optical path length observation of solution species. *Anal. Chem.*, 1983, 55:2 219
- 40 Laviron E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. *J. Electroanal. Chem.*, 1979, 101:19
- 41 Zhu Y, Dong S. Rapid electrochemical oxidation of hemoglobin at a dye modified electrode. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1991, 26:351
- 42 Heineman W R, Meckstroth M L, Norris B J et al. Optically transparent thin layer electrode techniques for the study of biological redox systems. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1979, 6:577
- 43 Zhu Y, Dong S. Rapid redox reaction of hemoglobin at methylene blue modified platinum electrode. *Electrochim. Acta*, 1990, 35:1 139
- 44 朱毅缙,董绍俊. 双功能有机物修饰电极的修饰层结构对催化细胞色素c的电极反应的影响. 催化学报, 1992,13:209
- 45 董绍俊,朱毅缙. 肌红蛋白在灿烂甲酚蓝修饰电极上的可逆电子传递反应. 化学学报,1990,48:565
- 46 Andrieux C P, Saveant J M. Kinetics of electrochemical reactions mediated by redox polymer films. *J. Electroanal. Chem.*, 1982, 142:1
- 47 谢远武,陈挺,董绍俊. 染料修饰电极上氧化还原蛋白质电化学反应的机理研究. 待发表