

1998-08-28

Direct Electrochemical Reaction of Cytochrome c at the Poly (Ethylene Oxide) Film modified Gold Electrodes

Xiaogang Qu

Gongquan Sun

Recommended Citation

Xiaogang Qu, Gongquan Sun. Direct Electrochemical Reaction of Cytochrome c at the Poly (Ethylene Oxide) Film modified Gold Electrodes[J]. *Journal of Electrochemistry*, 1998 , 4(3): 260-264.

DOI: 10.61558/2993-074X.1363

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol4/iss3/3>

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.

细胞色素 C 在聚乙烯氧化物修饰的金电极上的直接电化学反应

曲晓刚 孙公权

(中国科学院长春应用化学研究所 长春 130022)

杨辉 陆天虹*

(南京师范大学化学系 南京 210097)

摘要 本文报道了细胞色素 C 在聚乙烯氧化物 (PEO) 修饰的金电极上的直接电化学反应, 发现 PEO 是细胞色素 C 电化学反应的促进剂, PEO 修饰膜的形态对细胞色素 C 电化学反应的可逆性有较大的影响.

关键词 细胞色素 C, 聚乙烯氧化物, 电化学反应, 促进作用

生物分子的电子迁移反应是生命过程的基础, 人们已花费很多的努力去理解生物分子内和生物分子间高效的和高选择性的电子迁移反应的机理, 电化学的方法特别适用于研究生物大分子, 如金属蛋白等的电子迁移反应. 一些生物大分子, 如细胞色素 C 在一般的金属电极上观察不到电化学反应, 但在 1977 年, Hill 研究组^[1]发现细胞色素 C 在 4,4'-联吡啶存在时能在金电极上进行准可逆的电化学反应, 4,4'-联吡啶因此被称为促进剂. 文献中已报道了许多的促进剂, 它们大多是有机化合物, 而且一般都用化学修饰电极的方法来评价它们的促进特性, 这些修饰电极大多是用吸附的方法制备的. 从实用的角度来看, 应该使用聚合物修饰电极, 因为它们有好的性能和长的寿命. 但这方面的报道却很少^[2-5]. 董绍俊研究组^[2]用薄层光谱电化学技术研究了细胞色素 C 在聚吡咯修饰电极上的准可逆的氧化还原行为. Caselli 等^[3]也报道了细胞色素 C 在聚吡咯修饰铂电极上的准可逆的氧化还原行为. Bartlett 等^[4]研究了细胞色素 C 在聚 5-羧基吡咯修饰电极上的电化学反应. 本文报道了细胞色素 C 在 PEO 修饰金电极上的电化学反应.

1 实验部分

马心细胞色素 C (型, 99%, Sigma 化学公司), 使用前未经进一步的提纯. PEO 和 PEO-PS (聚苯乙烯)-PEO, Aldrich 公司出品. 所用的几种 PEO 的平均分子量分别 1.1×10^3 、 6.0×10^3 、 5.0×10^4 、 6.0×10^5 和 7.5×10^6 . 其它化学试剂均为分析纯.

本文 1997-08-05 收到, 1998-01-08 收到修改稿

* 通讯联系人

循环伏安测量仪器 Princeton Applied Research 公司 Model 276 恒电位仪、Model 179 信号发生器和常规的三电极电化学池. 工作电极是密封在玻璃管中的金丝, 暴露的表面积大约为 0.8 mm^2 . 对电极为铂丝, 参比电极为饱和甘汞电极. 文中引用的电位均相对于此参比电极.

金电极依次用 5 、 0.30 和 $0.5 \mu\text{m}$ 的氧化铝和水的混合物抛光, 然后超声清洗干净. 电极表面干燥后, 将 $10 \mu\text{L}$ 的 10^{-6} mol/L 的 PEO 或 PEO-PA-PEO 的水溶液或氯仿溶液滴在电极表面, 于室温下干燥 2 h 后, 金电极表面形成一层聚合物修饰膜, 再于真空中干燥 2 h , 让水或氯仿完全挥发.

细胞色素 C 电化学测量的电解液组分为 0.38 mmol/L 细胞色素 C + 0.025 mol/L 磷酸缓冲剂 + 0.1 mol/L NaClO_4 , 溶液的 pH 大约为 7.0 . 每次实验前, 通氮 20 min , 以除去溶液中的氧. 进行循环伏安测量时, 电位扫描速率为 50 mV/s , 起扫电位为 0.2 V .

PEO 膜的电镜照片由日本 JOEL 公司制造的 Model JXA-840 扫描电子显微镜拍摄.

2 结果和讨论

众所周知, 细胞色素 C 在裸金电极上不能进行快速的电子迁移反应. 但在用 PEO 水溶液所制得的 PEO 修饰的金电极上, 却能从循环伏安图中观察到一对氧化还原峰. 由于 PEO 在所研究的电位范围内不能进行电化学反应, 因此, 这一对峰起源于细胞色素 C. 第一次循环时, 峰电流很小, 随着循环次数的增加, 峰电流逐渐增加, 连续扫描 20 min 后, 达到一个稳定值. 图 1 示出, 达到稳定状态后, 其氧化还原峰的峰电位差为 70 mV , 略大于完全可逆的一电子的电化学反应的峰电位差 (59 mV). 氧化还原峰电位的平均值为 0.01 V , 与细胞色素 C 的氧化还原电位相近^[6]. 另外, 阴极峰与阳极峰的峰电流基本相等. 在 $10 \sim 200 \text{ mV}$ 的电位扫描范围内, 峰电流与扫速的平方根成正比, 表明电化学反应是由扩散控制的. 由峰电流与扫速平方根的所作的直线计算得的细胞色素 C 的扩散系数为 $5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$. 用 Nicholson^[7] 的方法, 计算得异相电子迁移速率常数为 $2 \times 10^{-3} \text{ cm/s}$. 由此可以得出结论, 细胞色素 C 在 PEO 修饰的金电极上能进行准可逆的电化学反应, PEO 是很好的细胞色素 C 电化学反应的促进剂.

用相同的方法制备了 PEO-PS-PEO 修饰金电极, 但发现在相应的循环伏安图中, 观察不到氧化还原峰, 表明 PEO-PS-PEO 对细胞色素 C 的电化学反应没有促进作用.

细胞色素 C 分子的表面电荷分布是不均匀的, 大多数的正电荷分布在它的反应活性中心(血红素)附近的赖氨酸残基上, 而 PEO 是一种具有

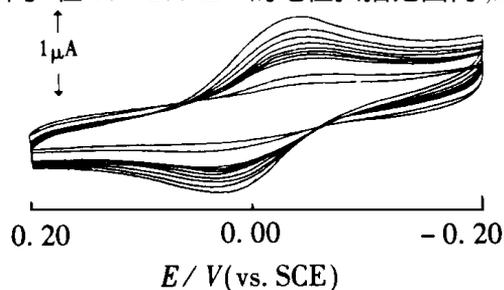


图 1 0.38 mmol/L 细胞色素 C 在含 0.1 mol/L NaClO_4 的磷酸盐缓冲溶液 ($\text{pH} = 7.0$) 中于 PEO 修饰电极上连续循环 20 min 的循环伏安图

Fig. 1 Cyclic voltammograms of 0.38 mmol/L cytochrome c at the PEO-modified electrode in the phosphate buffer solution ($\text{pH} = 7.0$) with 0.1 mol/L NaClO_4 for continuous cycling for 20 min

较多含氧基团的聚合物,当细胞色素 C 分子与 PEO 修饰电极接触时,细胞色素 C 分子中带正电荷的赖氨酸残基与 PEO 的含氧基团以氢键的形式相互作用,亦即,细胞色素 C 分子中的活性中心部分能尽量接近 PEO 修饰电极表面,从而使它容易发生电化学反应. 细胞色素 C 不能在 PEO-PS-PEO 修饰电极上进行准可逆的电化学反应的原因可能有两个,一是在 PEO-PS-PEO 中的含氧基团大大少于 PEO,较少的含氧基团不利细胞色素 C 的电化学反应. 另一原因可能是在 PEO-PS-PEO 中,PS 中的苯环阻碍了细胞色素 C 分子与 PEO 中氧基团的接触,致使细胞色素 C 不能在 PEO-PS-PEO 修饰电极上发生电化学反应.

细胞色素 C 在 PEO 修饰电极上的氧化还原峰电流随循环次数的增加而逐步增加的原因似表明细胞色素 C 分子逐步向 PEO 膜内部扩散,而扩散到膜内的细胞色素 C 分子能进行较可逆的氧化还原反应. 当将 PEO 修饰金电极浸泡在细胞色素 C 溶液中 20 min 左右,或连续循环扫描 20 min,让峰电流达到稳定值后,取出电极,用三次蒸馏水冲洗后放在没有细胞色素 C 的空白溶液中进行循环伏安测量,仍可观察到一对氧化还原峰,其峰电流随循环次数的增加而逐步下降(图 2). 这清楚地证明了细胞色素 C 已扩散进入 PEO 修饰膜的内部.

在用 PEO 氯仿溶液所制得的 PEO 修饰电极上,细胞色素 C 的循环伏安行为与上述用 PEO 水溶液所制得的 PEO 修饰电极的行为有所不同,首先,由 PEO 氯仿溶液所制得的 PEO 修饰电极,其峰电流随连续循环扫描只有很少的增加. 其次,峰电位差也较大,达 120 mV(图 3),表明前者对细胞色素 C 电化学反应的促进作用要比后者的差. 再者,当把用 PEO 氯仿溶液所制得的 PEO 修饰金电极浸泡在细胞色素 C 溶液中 20 min 左右后取出电极,用三次蒸馏水冲洗后放在没有细胞色素 C 的空白溶液中进行循环伏安测量,观察不到氧化还原峰,说明细胞色素 C 的空白溶液中进行循环伏安测量,观察不到氧化还原峰,说明细胞色素 C 并未扩散到修饰膜的内部. 另外,发现用两种不同溶剂所制得的 PEO 修饰膜的形态也不同,图 4 给出两种电极的扫描电镜图.

图 4 清楚表明,聚合物膜的形态对促进作用也有一定的影响,亦即,由 PEO 水溶液制备的 PEO 膜比较疏松(图 4, A),平均孔径在 60 Å 左右,细胞色素 C 能扩散进入 PEO 膜中,使电极真实的表面电阻降低,另外也使细胞色素 C 不容易变性,这种电极显示出较好的促进作用. 相反,用 PEO 氯仿溶液制备的 PEO 膜比较致密(图 4, B),致使细胞色素 C 不易扩散进入 PEO

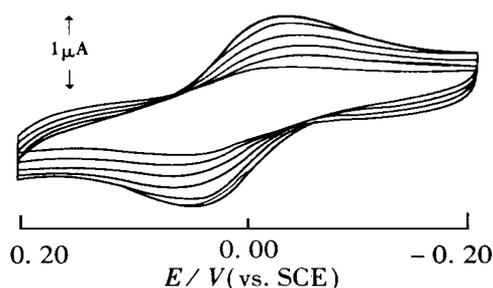


图 2 在含 0.38 mmol/L 细胞色素 C + 0.1 mol/L NaClO₄ 的磷酸盐缓冲溶液 (pH = 7.0) 中于 PEO 修饰电极上连续循环 20 min 后取出电极放在不含细胞色素 C 的电解液中连续循环 20 min 的循环伏安图

Fig. 2 Cyclic voltammograms of cytochrome c for continue cycling for 20 min at the PEO-modified electrode which was obtained after continuous cycling for 20 min in the phosphate buffer solution (pH = 7.0) with 0.38 mmol/L cytochrome c + 0.1 mol/L NaClO₄

膜内,因而促进作用较差.

图 5 示出细胞色素 C 在不同分子量的 PEO 修饰的金电极上,其循环伏安的峰电位差与 PEO 分子量的关系曲线.分子量增大时,峰电位差减小,表明分子量较高的 PEO 的促进作用较好.不同分子量的 PEO 修饰电极的促进作用的不同可能也是由于不同分子量的 PEO 膜的形态不同而引起的. PEO 分子量越高,形成的膜可能越疏松,因此,促进作用越好.

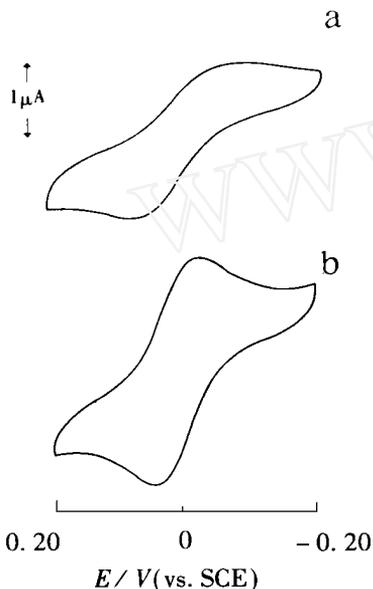


图 3 0.38 mmol/L 的细胞色素 C 在 pH 为 7.0 的含 0.1 mol/L NaClO₄ 的磷酸缓冲溶液中在 (a) 用 PEO 水溶液制备, (b) 用 PEO 氯仿溶液制备的 PEO 修饰电极上的循环伏安图

Fig. 3 The cyclic voltammograms of 0.38 mmol/L cytochrome c in phosphate buffer solution (pH = 7.0) with 0.1 mol/L NaClO₄ at PEO film modified gold electrodes prepared with (a) PEO aqueous solution, (b) PEO chloroform solution

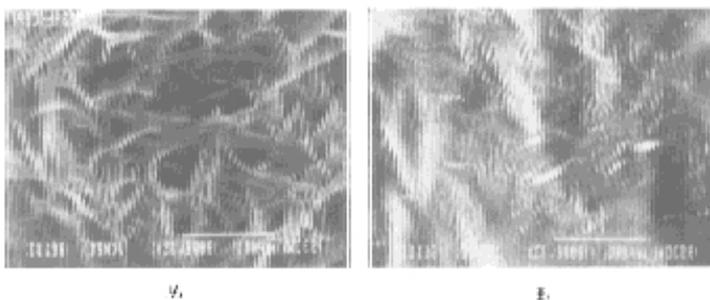


图 4 用 (A) PEO 水溶液, (B) PEO 氯仿溶液制备的以金电极为基底的 PEO 膜的扫描电镜照片

Fig. 4 Scanning electron microscope photos of PEO films at the gold electrodes prepared with (A) PEO aqueous solution, (B) PEO chloroform solution

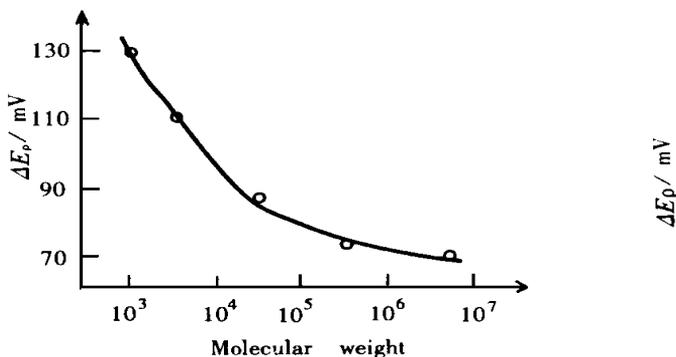


图 5 阴阳极峰电位差与 PEO 平均分子量的关系曲线

Fig. 5 The plot of the separation between the cathodic and anodic peak potentials as a function of the average molecular weight of PEO

Direct Electrochemical Reaction of Cytochrome c at the Poly (Ethylene Oxide) Film-modified Gold Electrodes

Qu Xiaogang , Sun Gongquan

(Changchun Inst. of Applies Chem. , Chinese Academy of Sci. , Changchun 130022)

Yang Hui , Lu Tianhong *

(Dept. of Chem. , Nanjing Normal Univ. , Nanjing 210097)

Abstract In this paper , the direct electrochemical reaction of cytochrome c was studied at the poly (ethylene oxide) [PEO] film modified gold electrodes. It was found the PEO is a good promoter for the electrochemical reaction of cytochrome c , and the reversibility of reaction of cytochrome c was found to depend on the molecular weight of PEO and the morphology of the PEO films.

Key words Cytochrome c , Poly (ethylene oxide) , Electrochemical reaction , Promotion effect.

References

- 1 Eddowes M J , Hill H A O. Normal method for the investigation of the electrochemistry of metalloproteins:cytochrome c. J. Chem. Soc. Chem. Commun. ,1977 :3154
- 2 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
- 3 Caselli M , Monica M D , Portacci M. Electrochemical and spectroscopic studies of cytochrome c immobilized in polypyrrole films. J. Electroanal. Chem. ,1991 ,319 :361
- 4 Bartlett P N , Farington J. Electrochemistry of cytochrome c at a conducting polymer electrode. J. Electroanal. Chem. ,1989 ,261 :471
- 5 De Castro E S ,Huber E W ,Villarreal D , Caliaatsos C , Mark J , Heinemen W R , Mary T. Electrode with polymer network films by irradiation crosslinking. Anal. Chem. ,1987 ,69 :134
- 6 Henderson R W ,Rawlinson W R. Potentiometric and other studies on preparations of cytochrome c from ox⁻ and horse-heart muscle. Biochem. ,1956 ,62 :21
- 7 Nicholson R S. Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics. Anal. Chem. 1965 ,37 :1351