

2009-08-28

Fabrication of Polyvinyl Alcohol Arrays and the Direct Electrochemistry of Adsorbed Cytochrome c

Yu-hua QIN

Ruo-kun JIA

Qing-juan WEI

Li MA

Xiao-hui GUAN

Nan LV

Recommended Citation

Yu-hua QIN, Ruo-kun JIA, Qing-juan WEI, Li MA, Xiao-hui GUAN, Nan LV. Fabrication of Polyvinyl Alcohol Arrays and the Direct Electrochemistry of Adsorbed Cytochrome c[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2009 , 15(3): 341-344.

DOI: 10.61558/2993-074X.2007

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol15/iss3/21>

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.

文章编号: 1006-3471(2009)03-0341-04

聚乙烯醇微透镜阵列的制备 及其固载细胞色素 c 的直接电化学

秦玉华^{1*}, 贾若琨¹, 魏庆娟¹, 马丽¹, 关晓辉¹, 吕男^{2*}

(1. 东北电力大学化学工程学院, 吉林 吉林 132012;

2. 吉林大学超分子结构与材料重点实验室, 吉林 长春 130023)

摘要: 利用自组合法以聚苯乙烯有序多孔膜为模板制备聚乙烯醇微透镜阵列膜. 在 pH 6.89 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液中, 固载在聚乙烯醇微透镜阵列膜修饰的玻碳电极上的细胞色素 c 于 0.072 V (vs Ag/AgCl) 处显示一对准可逆的氧化还原峰, 是细胞色素 c 血红素辅基 Fe(III)/Fe(II) 电对的特征峰. 考察了扫速、溶液 pH 及支持电解质浓度等因素对细胞色素 c 电子传递的影响, 体系的表观异相电子传递速率常数 k^0 为 $2.98 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$.

关键词: 聚乙烯醇; 微透镜阵列; 细胞色素 c 直接电化学

中图分类号: O657

文献标识码: A

随着纳米技术、微电极技术的不断发展, 微阵列电极及微阵列电化学生物传感器以其优异的电化学特性及其在电分析化学、生物电化学、生命科学和临床医学等领域潜在的应用前景引起了人们的广泛关注^[1-3]. 细胞色素 c 是研究生命过程电子转移的理想模型物之一, 其在各种修饰电极上的直接电化学至今仍是当前生物电化学的研究热点^[4]. 本文利用自组合法制备聚乙烯醇微透镜阵列膜, 方法简单、价格便宜, 孔隙规则有序; 研究了细胞色素 c 在聚乙烯醇微透镜阵列修饰的玻碳电极表面的电学性质.

1 实验部分

1.1 试剂

细胞色素 c (Cytochrome c Cyt c Sigma 公司), 未经提纯直接使用; 聚乙烯醇 (Polyvinyl Alcohol PVA) 等其它试剂均为分析纯. 实验用水由 Ultra-pure water system (北京历元电子仪器公司) 制得.

1.2 仪器

电化学测试采用传统的三电极系统, 玻碳修饰

电极为工作电极 ($\Phi = 3 \text{ mm}$), 铂丝为对电极, Ag/AgCl (饱和 KCl) 为参比电极, CH660B 电化学分析仪 (上海辰华); XS-212 型电子显微镜 (南京江南光电); 室温测试. 电化学测量前电解液通高纯氮气除氧不少于 20 min.

1.3 聚乙烯醇微透镜阵列制备

以聚苯乙烯有序多孔膜为模板制备聚乙烯醇微透镜阵列膜^[5]. 方法如下: 室温下将 5 mL 浓度为 3 g/L 的聚苯乙烯氯仿溶液置于培养皿中, 以相对湿度为 50%、速率为 4 L/min 的潮湿空气流吹向溶液表面, 随着有机溶剂的挥发, 水蒸气凝结在聚苯乙烯氯仿溶液表面形成有序的微小水珠阵列, 十几分钟后溶剂蒸发完毕, 在培养皿底部得到按水珠排列形貌的聚苯乙烯有序多孔膜. 将 10 mL 20 g/L 的聚乙烯醇水溶液填充到聚苯乙烯有序多孔膜板上, 待水蒸发完毕, 用氯仿洗掉聚苯乙烯即得到聚乙烯醇微透镜阵列膜. 溶液上方潮湿空气流的流速, 湿度, 溶液浓度、体积、溶剂的选择直接影响聚苯乙烯有序多孔膜的结构.

1.4 修饰电极制备

将上述实验制得的聚乙烯醇微透镜阵列膜裁成合适大小后用熔融态石蜡固定在处理好的玻碳电极表面,即得微透镜阵列聚乙烯醇膜修饰玻碳电极(PVA/GC),将该电极浸于Cyt c溶液中12 h取出后用高纯水冲洗掉弱吸附的Cyt c,即得Cyt c-聚乙烯醇微透镜阵列修饰玻碳电极(Cyt c/PVA/GC).

2 结果与讨论

2.1 聚乙烯醇微透镜阵列膜的表征

用电子显微镜表征聚乙烯醇微透镜阵列膜的表面形貌.由图1可见实验制得的聚乙烯醇微透镜阵列膜呈规则的正六边形有序结构,且重现性好,其相邻正六边形的中心间距约10 μm.循环伏安实验表明:结构有序、均匀、致密的聚乙烯醇微透镜阵列膜是促进Cyt c电子传递的良好媒介.

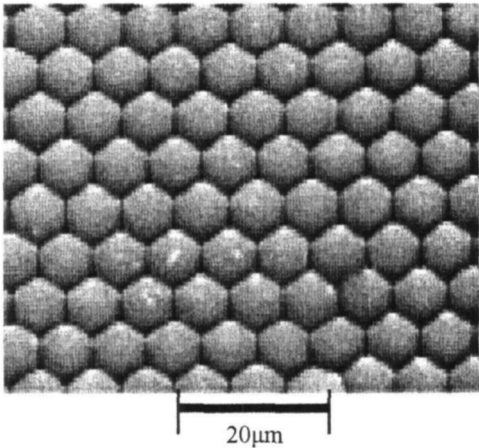


图1 PVA微透镜阵列表面形貌
Fig 1 The image of PVA microlens array

2.2 Cyt c/PVA/GC电极的电化学行为

图2是PVA/GC和Cyt c/PVA/GC电极在0.1 mol/L PBS (pH = 6.89)溶液中20 mV/s下的循环伏安曲线(CVs).如图2所示,在0.3~-0.1 V电位范围内,PVA/GC电极没有任何可观察到的电化学反应发生(曲线a),多次循环扫描后,其循环伏安曲线也几乎不起变化.而Cyt c/PVA/GC电极则出现一对稳定的氧化还原峰(曲线b),乃Cyt c 血红素辅基Fe(III)/Fe(II)发生氧化还原所致.在扫描速率20 mV/s下,其氧化还原式电位 [$E'_0 =$

$(E_{pa} + E_{pc})/2]$ = 0.072 V, 电位差 (ΔE_p) 为 65 mV, 与 Bowden报道^[6]的值基本一致.表明PVA微透镜阵列能促进Cyt c电子转移,且吸附在PVA微透镜阵列修饰玻碳电极上的Cyt c分子基本保持其天然构像不变.

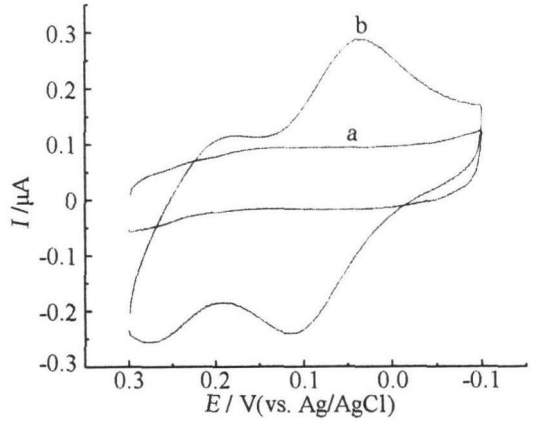


图2 PVA/GC(a)和Cyt c/PVA/GC(b)电极在PBS溶液中的循环伏安曲线

Fig 2 CVs of the PVA/GC (a) and Cyt c/PVA/GC (b) electrodes in 0.1 mol/L PBS (pH = 6.89) scan rate, 20 mV/s

图3为Cyt c/PVA/GC电极在不同扫速下的循环伏安曲线.由图可见,氧化还原峰电流及峰电位差 ΔE_p 均随扫速增加而增大.在20~100 mV·s⁻¹范围内,阴极峰电流与扫速成线性关系(见图内插图),线性相关系数为0.997,表明Cyt c在电极表面的电子传递反应是受吸附控制的准可逆单电子转移过程.据方程^[7] $I_p = nFv\Gamma/4RT$ $I_p \sim v$ 斜率计算出Cyt c在PVA微透镜阵列修饰电极上的覆盖量 $\Gamma = 2.37 \times 10^{-8}$ mol/cm².以图3阴极峰电位对扫描速率对数作图得一直线,由此求得体系电荷转移系数 $\alpha = 0.62$ ($n = 1$).已知体系扩散系数 $D_0 = 1.0 \times 10^{-6}$ cm²·s⁻¹^[8],根据Nicholson方程^[9],求得Cyt c在PVA修饰GC电极表面异相电子转移速率常数 k^0 为 2.98×10^{-6} cm·s⁻¹.

2.3 磷酸盐缓冲溶液浓度及pH值对Cyt c电化学行为的影响

图4为Cyt c/PVA/GC电极在不同浓度PBS中的循环伏安曲线.由图可知,磷酸盐缓冲溶液浓度对Cyt c电化学行为有显著影响,随着磷酸盐缓冲溶液浓度增加,峰电流增大,但当磷酸缓冲溶液

浓度增大到 100 mmol/L 之后, 氧化还原峰电流反而减小, 故本实验选择最佳的 PBS 浓度为 100 mmol/L

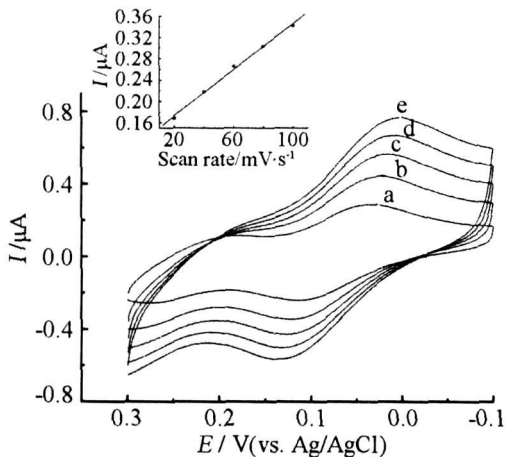


图 3 Cyt c/PVA/GC 电极在不同扫速下的循环伏安曲线

Fig 3 CVs of the Cyt c/PVA/GC electrodes at different scan rates
a~e/mV·s⁻¹: 20, 40, 60, 80, 100, other conditions are the same as Fig 2, inset shows the effect of scan rates on the cathodic peak currents

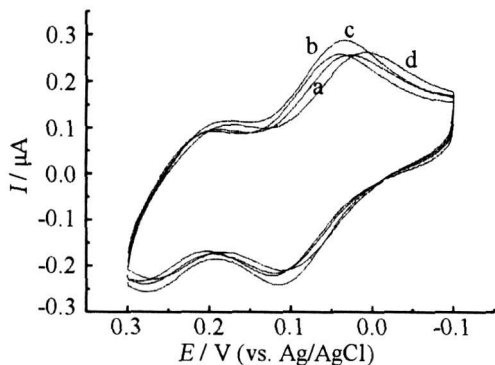


图 4 Cyt c/PVA/GC 电极在不同浓度 PBS 溶液中的循环伏安曲线

Fig 4 CVs of the Cyt c/PVA/GC electrodes in different concentrations of PBS
a~d/mm ol·L⁻¹: 20, 50, 100, 300, other conditions are same as Fig 2

图 5 表明, 当溶液 pH 值在 3.76 到 9.45 之间变化时, Cyt c 的阴、阳极峰电位基本保持不变, 说明质子并未参与 Cyt c 的血红素辅基 Fe(III)/Fe(II) 的电子传递过程. 可见, PVA 为保持 Cyt c 生

物活性提供了更广泛的 pH 范围, pH = 6.89 时峰电流值最高, 表明此时电极表面 Cyt c 电子传递速率最快.

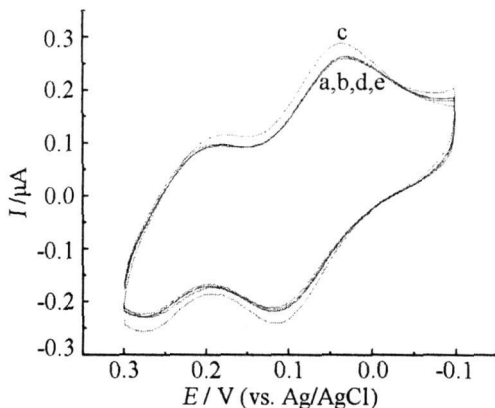


图 5 Cyt c/PVA/GC 电极在不同 pH 值下的循环伏安曲线

Fig 5 CVs of the Cyt c/PVA/GC electrodes with different pH
a~e(pH): 3.76, 5.89, 6.89, 8.14, 9.45, other conditions are the same as Fig 2

3 结 论

PVA 微透镜阵列为保持 Cyt c 生物活性不变提供了更为广泛的 pH 范围, 且吸附在 PVA 修饰 GC 电极表面的 Cyt c 具有快速的直接电子转移行为, 该体系为研究蛋白质与电极之间的电子转移动力学提供了良好的界面, 也有希望为发展稳定可靠的微阵列生物传感器开辟一条新路.

参考文献 (References):

[1] Severion E J, Lew is N S Relationships among resonant frequency changes on a coated quartz microbalance thickness changes and resistance responses of polymer carbon black composite chem ical resistors [J]. Anal Chem 2000, 72: 2008-2015.

[2] Liu Hai-bo (刘海波), Zhuang zhi-xia (庄峙厦), Chen Cheng-xiang (陈成祥), et al Lum inophore-doped silica nanoparticle as fluorescent probe in protein microarray assay [J]. Chinese J Anal Chem (in Chinese), 2006, 34(9): 1227-1230.

[3] Zhu Ming-zhi (朱明智), Jiang Zhuang-de (蒋庄德). Application of micro/nanofabrication technologies in the ultramicroelectrode fabrication [J]. Chinese J Anal Chem (in Chinese), 2006, 34 (12): 1794-1800.

- [4] Oellerich S, Wackerbarth H, Hildebrandt P. Spectroscopic characterization of non-native conformational states of cytochrome c [J]. *J Phys Chem B*, 2002, 106, 6566-6580.
- [5] Arsenault A C. Photonic - crystal full - colour displays [J]. *Nature Photonics*, 2007, 1, 468-472.
- [6] Bowden E F, Hawkrige F M, Chlebowski J F, et al. Interfacial electrochemistry of cytochrome c at tin oxide, indium oxide, gold, and platinum electrodes [J]. *J Electroanal Chem*, 1984, 161, 355-376.
- [7] Laviron E, Bard A. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems [J]. *J Electroanal Chem*, 1979, 101, 19-28.
- [8] Armstrong F A, Hill H A O, Walton N. Direct electrochemistry of redox proteins [J]. *Acc Chem Res*, 1988, 21, 407-413.
- [9] Nicholson R S. Theory and application of cyclic voltammetry of measurement of electrode reaction kinetics [J]. *J Anal Chem*, 1965, 37, 1351-1355.

Fabrication of Polyvinyl Alcohol Arrays and the Direct Electrochemistry of Adsorbed Cytochrome c

QIN Yu-hua^{1*}, JIA Ruo-kun¹, WEI Qing-juan¹, MA Li¹, GUAN Xiao-hui¹, LV Nan^{2*}

(1. College of Chemical Engineering, Northeast Dianli University, Jilin 132012, Jilin, China;

2. Key Lab for Supramolecular Structure and Materials, Jilin University, Changchun 130023, China)

Abstract: Regular polyvinyl alcohol arrays were prepared with porous polystyrene films by a self-assembly method. Cyt c immobilized on PVA microlens arrays modified glassy carbon electrodes gave a pair of stable, well-defined and quasi-reversible cyclic voltammetric peaks at about 0.072 V (vs Ag/AgCl) in 0.1 mol/L PBS buffer (pH = 6.89) solution. The effects of scan rate, pH and concentration of buffers on the electrochemical behaviors of Cyt c were studied in detail. The apparent heterogeneous electron transfer rate constant (k^0) was evaluated to be $2.98 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$.

Key words: polyvinyl alcohol arrays; cytochrome c; direct electrochemistry