

1999-05-28

Electrochemical Behavior of Riboflavin on Glassy Carbon Electrode

Hong Li

Lincai Jiang

Recommended Citation

Hong Li, Lincai Jiang. Electrochemical Behavior of Riboflavin on Glassy Carbon Electrode[J]. *Journal of Electrochemistry*, 1999 , 5(2): Article 9.

DOI: 10.61558/2993-074X.3172

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol5/iss2/9>

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.

核黄素在玻碳电极上的电化学反应

李红 江琳才*

(华南师范大学化学系 广州 510631)

计亮年

(中山大学化学与化工学院 广州 510275)

摘要 用电位扫描、旋转环盘电极和微分电容等方法研究了核黄素在玻碳电极上的电化学反应。在 $\text{pH} < 6$ 的介质中, 观察到一个典型的氧化还原波, 它是可逆的二电子反应, 其还原产物 RFH_2 在电极上的吸附为弱吸附, 溶出性能良好。在 $6 < \text{pH} < 10$ 的介质中, 出现两个分离但仍有部分重叠的氧化还原波, 相应于两步单电子反应, 还原所生成的 RFH 和 RFH_2 发生强吸附, 很难溶出。在 $\text{pH} > 10$ 的介质中, 仍然出现两个分离但有部分重叠的氧化还原波, 其还原产物的溶出性能良好。

关键词 核黄素, 电化学还原, 玻碳电极, 吸附

核黄素(RF, 即维生素 B_2) 是黄素单核苷酸(FMN) 和黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD) 的组成部分, 乃生物体内的重要辅酶, 具有催化生物氧化还原反应的功能。对所有的天然辅酶, 只有 FMN 才具有传递 1 或 2 个电子的能力, 并可加速氧分子还原。又考虑到生物体内氧化还原过程和电化学过程的共性—电子传递, 因而, 采用电化学方法研究核黄素的氧化还原行为具有特殊重要的意义。

对于核黄素的电化学反应研究, 过去人们大多注重其在分析测定上的应用, 且较多工作是在滴汞电极上完成的^[1~3], 在玻碳电极上的研究虽也有若干报导^[4~6], 但偏重于对电极的修饰及其催化性能方面, 而就 RF 本身的氧化还原行为研究则较少。为此, 本文主要采用循环伏安法、环盘电极实验和微分电容测定等电化学方法, 着重研究核黄素在玻碳电极上的氧化还原反应行为。

1 实验部分

实验所用仪器为 EG&G 公司的 M173 恒电位仪、M175 信号发生器、M124A 锁相放大器、Pine 公司的 AFASR2E 旋转环盘电极装置和 AFRRDE4E 双恒电位仪, 并用 YEW3086X-Y 记录仪记录扫描结果。

实验所用的核黄素(纯)由广州侨光制药厂提供, 其它药品皆为分析纯试剂, 溶液使用二次重蒸水配制, 除特别说明外, 组成均为 $7.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} \text{ RF} + 0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ 。测定前均

本文 1998-07-13 收到, 1998-10-09 收到修改稿

* 通讯联系人

通入高纯氮气 20 min,以彻底除氧,实验温度为 25 ± 2 .

实验在常规三室电解池中进行.研究电极为玻碳电极,几何面积为 0.068 cm^2 ;对电极为大面积铂丝电极;参比电极为 $\text{Hg}-\text{Hg}_2\text{SO}_4(\text{sat. K}_2\text{SO}_4)$ 电极.

环盘电极实验使用玻碳盘铂环电极,盘面积为 0.459 cm^2 ,环面积 0.059 cm^2 .理论计算以及应用 Br^- 或 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 测定的收集系数皆为 0.179.

2 结果和讨论

2.1 循环伏安行为

图 1 给出 RF 在 $\text{pH}=3.39$ 的介质中的循环伏安图.从图可知峰电位和扫速无关,且 $E_p = E_{p,a} - E_{p,c} = 0.04 \text{ V}$, $i_{p,a}/i_{p,c} = 1$,以 i_p 对 $v^{1/2}$ 作图得一直线(图 2).此表明 RF 在玻碳电极上的行为符合可逆过程特征^[7],根据 Randles 公式 $i_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} D_0^{1/2} C_0 v^{1/2}$ 和反应电子数 n 为 2^[8],可以求得扩散系数 D_0 为 $2.3 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.这一数值跟一般离子的扩散系数的数量级相同.据此可以推断 RF 在该酸性介质中是以离子状态存在的.且存在以下质子合平衡:

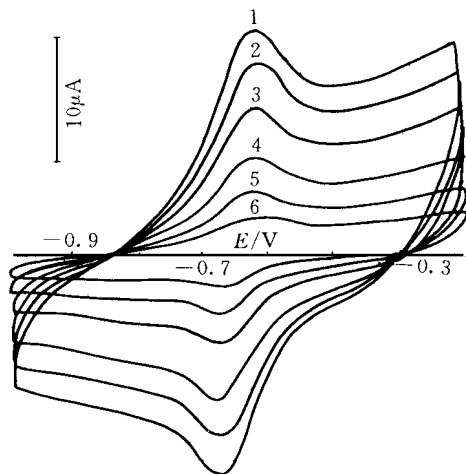
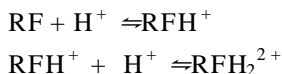


图 1 RF 在玻碳电极上的循环伏安图

Fig. 1 Cyclic voltammograms of RF on a GC electrode with $\text{pH}=3.39$

Scan rate $v/\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$: 1) 200; 2) 150; 3) 100; 4) 50; 5) 25; 6) 10

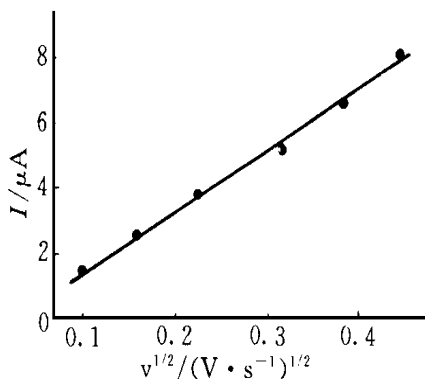
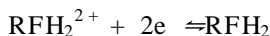


图 2 图 1 RF 的 i_p 与 $v^{1/2}$ 线性关系图

Fig. 2 Plot of i_p vs. $v^{1/2}$ for RF on the basis of Fig. 1

根据文献^[9]报导,RF 的一级质子合常数约为 10^{10} ,二级质子合常数约为 10^6 .故在 $\text{pH} < 6$ 的溶液中,RF 主要以 RFH_2^{2+} 的形式存在,电极的总反应可能是:



根据以上各式,溶液 pH 值的变化必然对 RF 的还原反应产生影响.为此,改变溶液 pH 值

进行循环伏安实验,发现随着 pH 值增加,RF 的还原峰电位明显负移,而峰电流则显著降低(见表 1)。

表 1 pH 值对 RF 在玻碳电极上氧化还原行为的影响

Tab. 1 Effects of pH on the electrochemical parameters of RF at glassy carbon electrode

pH	$-E_{p,c}$ or $-E_{p,c2}/V$	$-E_{p,a}/V$	E_p/V	$i_{p,c}/\mu$	$i_{p,a}/\mu$
1.45	0.55	0.51	0.04	9.0	9.0
3.39	0.66	0.62	0.04	6.0	6.0
5.76	0.80	0.74	0.06	4.5	4.5
6.06	0.98	0.91	0.07	2.0	2.0
6.55	0.98	0.89	0.09	1.5	1.8
6.98	0.98	0.92	0.06	2.0	2.0
7.45	0.96	0.91	0.05	2.0	1.6
8.94	0.99	0.93	0.06	2.0	2.0
10.34	1.02	0.94	0.08	1.5	1.5
11.28	1.06	0.99	0.07	1.7	1.7
12.34	1.12	1.08	0.04	2.0	2.0

以峰电位对 pH 值作图得图 3。从图可见,当 pH 值 = 6 时有一转折, pH < 6 时,二者呈线性关系,且斜率为 -0.070 V/pH ,表明氢离子参加 RF 的电极反应。而在 $6 < \text{pH} < 10$ 的介质中, E_p 和 i_p 不再随 pH 而变化,意味着 H^+ 离子不直接参与电极上进行的电子交换反应。与此同时,循环伏安图出现二个还原波,其峰宽变大。在约 pH > 10 以后, $E_{p,c}$ 再次随 pH 值升高而负移,表明电极反应又有 H^+ 离子参加,循环伏安曲线波形呈钟罩形(见图 4),显示出反应物质在电极上吸附的影响^[7]。

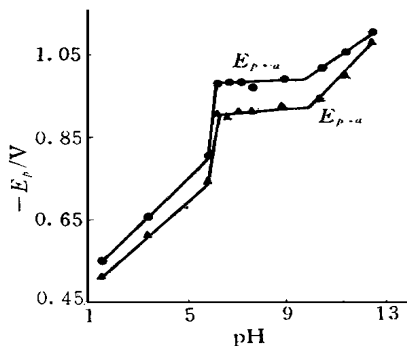


图 3 实验条件同图 1,RF 的 E_p 随 pH 变化关系
Fig. 3 Plots of E_p vs. pH for RF with the same conditions in fig. 1 a) $E_{p,c}$, b) $E_{p,a}$

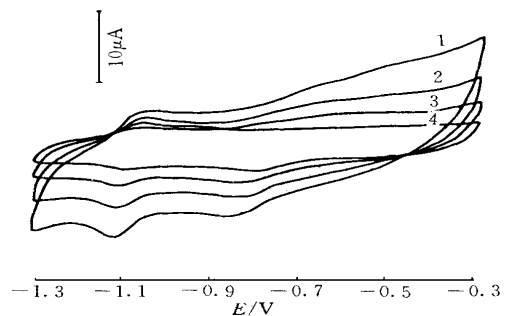


图 4 RF 在玻碳电极上的循环伏安图
Fig. 4 Cyclic voltammograms for RF at a GC electrode with pH = 12.34
Scan rate $v/\text{mV s}^{-1}$: 1) 200; 2) 100; 3) 50; 4) 25

实验中发现,如将玻碳电极放到研究溶液中,在较宽电位范围(-2.5~1.6 V)内多次循环扫描,然后在 1.6 V 电位下氧化 2 min,使电极表面得到修饰,可使电极上 RF 的吸附性能得到改善,从而得到更加典型的可逆吸附波,尤其是当溶液中同时含有乳酸和丙酮酸时修饰效果更佳.所得循环伏安图为理想的可逆吸附波(见图 5),其氧化波和还原波均呈钟形,彼此成镜象对称,峰电位和扫速无关,且 $E_{p,c} = E_{p,a} = 0.66$ V,半峰宽为 $E_p/2 = 125$ mV,表明图 5 所显示的波形乃为 RF 两步反应所产生的双峰叠加^[7].以峰电流对扫速作图可得一直线,其斜率为 $1.57 \times 10^{-4} \text{ A} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}$.根据可逆吸附波峰电流公式^[7]:

$$i_p = (n^2 F^2 / 4 RT) v$$

可从直线斜率求得饱和吸附量为: $\Gamma = 3 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$.此值与文献报导的单层吸附量 $5 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ 相近^[4],证实 RF 在玻碳电极上的吸附是单层物理吸附,服从 Langmuir 吸附等温式.至于乳酸和丙酮酸在电极修饰中的作用尚待研究.

2.2 环盘电极实验

为研究 RF 在玻碳电极上还原反应的产物,进行了一系列环盘电极实验.图 6 为 pH=0.5 时实验结果,图中 a 为盘电极的伏安曲线,它有一个极限电流平台,表明 RF 的还原是一步完成的. b 为环电极固定于 -0.2 V 处的电流随盘电位的变化情形,由其平台电流值可求得收集系数为 0.140.若以实测收集系数对理论收集系数(0.179)之比看作是还原产物的溶出率 D ,则 RFH_2 的溶出率 D 约 78.2%,表明还原产物 RFH_2 的溶出性能较好.

图 7 为 pH=6.0 时的实验结果.由图可见,盘电极的伏安图有二个还原波,第一个还原波出现在 -0.65 V,第二个还原波在 -0.90 V,并分别有各自的极限电流.与此同时,在固定于 -0.20 V 处的环电极上可以检测到与该二还原波相对应的二个氧化电流(见图 7 的 b 线),表明在此一溶液中 RF 的还原分二步完成.为确定各步还原产物的溶出性,根据所测得的环电流 i_R 和盘电流 i_D ,计算出各电位下的收集系数(见表 2).

表 2 RF 在 GC-Pt 盘环电极上收集系数 N 和盘电极电位的关系

Tab.2 The collection efficiency (N) as a function of disk potential (E_D) for the RE on GC-Pt RRDE with rotatig rate(f) = $10 \text{ r} \cdot \text{s}^{-1}$ and ring potential (E_R) = -0.2 V

- E_D /V	0.60	0.70	0.80	0.85	0.90	0.95	1.00	1.05	1.10
N	0.013	0.014	0.016	0.017	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024
$D/\%$	7.2	7.7	8.8	8.8	9.4	13.3	13.3	13.3	13.3

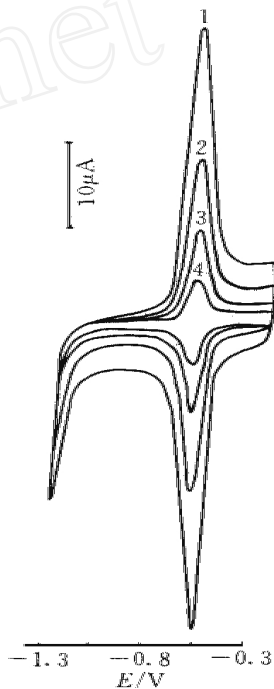


图 5 RF 在修饰玻碳电极上的循环伏安图

Fig. 5 Cyclic voltammograms of modified glassy carbon in a solution of $7.2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ RF + $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ + $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ lactic acid + $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pyruvic acid; Scan rate $v/\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$: 1) 200; 2) 100; 3) 50; 4) 20

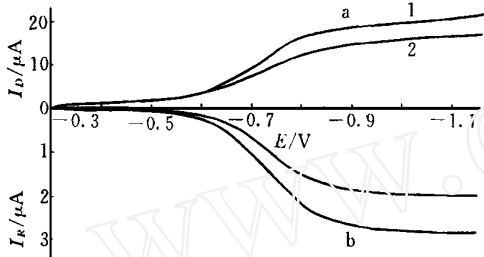


图 6 RF 在 GC-Pt 盘环电极上的伏安图 (pH = 0.5)

Fig. 6 The voltammograms of RF on a GC-Pt RRDE with pH = 0.5

- a) i_p vs. E_D
 - b) i_p vs. E_D with $E_R = -0.2 V$
- Rotating rate/ $r \cdot s^{-1}$: 1) 10; 2) 15

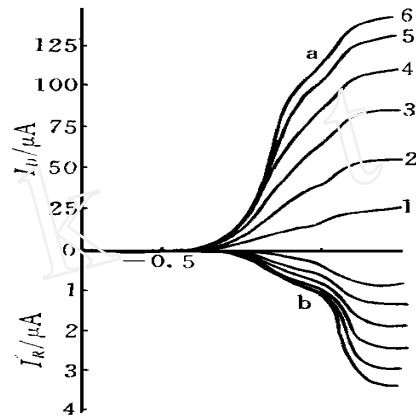


图 7 RF 在 GC-Pt 盘环电极上的伏安图 (pH = 6.0)

Fig. 7 The voltammograms of RF on a GC-Pt RRDE with pH = 6.0

- a) i_p vs. E_D
 - b) i_p vs. E_D with $E_R = -0.2 V$
- Rotating rate/ $r \cdot s^{-1}$: 1) 5; 2) 10; 3) 15; 4) 20; 5) 25; 6) 30

从表可见,在还原反应进行的电位范围内,所测收集系数皆很小,其对应的溶出率(D)如第一步还原产物的 D 只有 8% 左右,第二步还原产物的溶出率也只有 13.3%。此结果证明在这一溶液中,核黄素的还原产物溶出性能较差,这可能是其在玻碳电极上发生强烈吸附的导致。

改变溶液 pH,进行类似的环盘电极实验,并计算收集系数,发现随着溶液 pH 升高至 6 以后,收集系数迅速变小,再次证实 pH = 6 为电极反应发生陡然变化的转折点(见表 3)。在 $6 < pH < 10$ 区间,收集系数变化不大;而在 $pH > 10$ 以后,收集系数明显增大,还原产物的溶出性能又变为良好。

表 3 不同 pH 值下 RF 在 GC-Pt 盘环电极上的收集系数

Tab.3 Collection efficiencies (N) of RF on the GC-Pt RRDE in different pH

$f = 10 r \cdot s^{-1}$, $E_D = -1.1 V$, $E_R = -0.2 V$

pH	0.5	2	3	4	6	8	9	10	11
N	0.140	0.140	0.140	0.139	0.024	0.087	0.089	0.129	0.131
$D/\%$	78.2	78.2	78.2	77.7	13.3	48.6	49.7	72.1	73.2

2.3 电极微分电容研究

为进一步确定 RF 在玻碳电极上反应过程中,反应物和产物的吸附行为,用交流伏安锁相

技术测定了电极微分电容随电位变化的变化. 图 8 为 pH = 1.45 时于溶液中测得的 C_d 对 E 曲线以及相应的循环伏安曲线. 从图可见, 在 RF 的还原反应开始后, 电容即开始增加, 并于 $E = -0.55$ V (循环伏安曲线的峰电位 $E_{p,c}$) 处出现一个很高的电容峰, 反向扫描时, 相应于电容峰值的电位为 -0.54 V, 和前者十分接近, 但较之循环伏安曲线阳极向扫描的峰电位 $E_{p,a}$ (-0.51 V), 则有一定的差值.

图 9 示出在宽广的 pH 值范围内扫描, 都会出现一个明显的电容突变电位 (电容峰). 随着溶液 pH 值增加, 该电容峰峰电位则逐渐负移 (见表 4). 图 9 中 a、b、c、d、e 分别为 pH = 6.06、6.98、10.34、11.28、12.34 时, 溶液中的 C_d 对 E 曲线. 在 $pH < 10$ 的介质中, 电容值随 pH 值增加而迅速减小, 当 $pH = 10$ 时, 电容峰值有重新增大的趋势.

为确定上述电极电容突变现象是否仅因电极反应的电子交换引起, 曾用 KBr 溶液进行过检验. 实验证明在玻碳电极上, Br^- 离子的阳极氧化峰电位为 0.51 V, 而阴极还原峰电位为 0.24 V, 其电容峰出现在 -0.13 V, 即在伏安曲线出现波峰的电位范围内, 并无电容突变峰. 相反, 在出现电容峰的电位处, 电极反应尚未发生, 可见电容峰的出现是因物质 (如 Br^- 离子) 在电极表面的吸附或脱附引起. 以上事实也表明: 如果实验中出现电容峰与氧化还原峰电位一致的现象, 则可以推断该电极反应会引起参加反应的物质在电极表面的吸附或脱附性能发生变化. 据此, RF 在玻碳电极上的电容曲线可以解释为下: 在 $pH < -pK_2$ 的溶液中, RF 主要存在形式为 RFH_2^{2+} , 它的吸附性能弱, 而其还原产物 RFH_2 吸附性相对较强, 因此电极反应会引起吸附、脱附现象, 从而随着还原反应的进行会导致电容峰的出现.

在 $-pK_2 < pH < -pK_1$ 溶液中, RF 的存在形式为 RFH^+ 和 RF, 这些物质和其还原产物 RFH 和 RFH_2 都可以在电极上吸附, (RRDE 实验收集系数小可以证明这点), 而且差异较小, 因而由电极反应所造成的吸附、脱附改变程度相对较小, 故虽然随着还原反应的发生伴随着有电容峰出现, 但其电容峰的数值要较前一情形小得多.

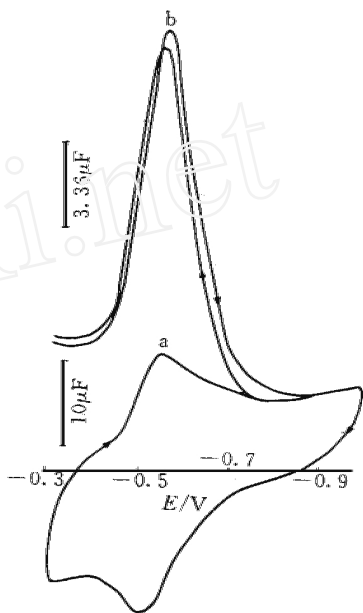


图 8 RF 在玻碳电极上的循环伏安曲线 (a) 和 $C_d \sim E$ 曲线 (b)

Fig. 8 Cyclic voltammogram (a) and differential capacitance versus potential curve (b) of RF at a GC electrode Scan rate : a) $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, b) $1 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$

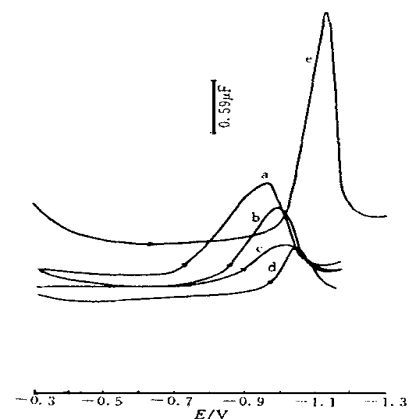


图 9 不同 pH 值下 RF 在玻碳电极上的 $C_d \sim E$ 曲线

Fig. 9 Curves differential capacitance (C_d) versus potential (E) in different pH for RF on the GC electrode at $1 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ scan rate pH : a) 6.06 ; b) 6.98 ; c) 10.34 ; d) 11.28 ; e) 12.34

3 结 论

1) 在 $\text{pH} < 6$ 的溶液中, RF 在玻碳电极上的还原一步完成, 反电子数为 2, 且有可逆电化学反应的特征, 还原产物的溶出率高。

2) 在 $6 < \text{pH} < 10$ 的溶液中, RF 还原时分开为两个单电子步骤, 氢离子不直接参加电极反应, 还原产物溶出率很小。

3) RF 是两性物质^[10], 在 $\text{pH} > 10$ 的介质中, RF 可以释放质子形成负离子。

其相关电极反应生成的物质在电极上吸脱附现象变化较大, 从而导致电容峰重新增大, 又因有 H_2O 参加反应, 故 E_p 与 pH 有关。

Electrochemical Behavior of Riboflavin on Glassy Carbon Electrode

Li Hong Jiang Lincai *

(Dept. of Chem., South China Normal Univ., Guangzhou 510631)

Ji Liangnian

(School of Chem. and Chem. Engin., Zhongshan Univ., Guangzhou 510275)

Abstract The electrochemical behavior of riboflavin (RF) on glassy carbon has been investigated by using potential sweep, rotating ring-disc electrode and the measurement of differential capacitance. It is shown that a single well-behaved oxidation-reduction wave corresponding to a reversible two-electrons reaction appears in medium of $\text{pH} < 6$, and the adsorption of RFH_2 formed by electro-reduction is weak and hence its solubility is good. In medium of $\text{pH} > 6$, there are two separating but overlapping partly oxidation-reduction waves corresponding to two-step one-electron reaction. The adsorptions of RFH and RFH_2 produced by reduction reactions in medium of $6 < \text{pH} < 10$ are strong and their solubilities are poor. However, in medium of $\text{pH} > 10$, the solubilities of the adsorbed species produced by electro-reduction are good.

Key words Riboflavin, Electrochemical reduction, Glassy carbon electrode, Adsorption

References

- 1 Wenfeng Peng, Huimei Li, Erkang Wang. Highly Selective determination of riboflavin by flow injection analysis using parallel dual-cylinder microelectrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 1994, 375: 198~192
- 2 Foresti M L, Pergola F, Aloisi G, Guidelli R. The Riboflavin-Dihydroriboflavin System in Acidic Medium on

- Mercury. Part . A Chronocoulometric Investigation. *J. Electroanal. Chem.* ,1982 ,137 :341 ~ 353
- 3 Pergola F, Foresti M L , Aloisi G, Guidelli R. The Riboflavin-Dihydroriboflavin System in Acidic Medium on Mercury. Part A
- 4 Berchmans S, Vijayavalli R. Surface Modification of Glassy Carbon by Riboflavin. *Langmuir* ,1995 ,11 :286 ~ 290
- 5 Bowers M L , Yenser B A. Electrochemical behavior of glassy carbon electrodes modified by electrochemical oxidation. *Aal. Chim. Acta* ,1991 ,243 :43 ~ 53
- 6 Gorton L , Johansson G. Cyclic Voltammetry of FAD Adsorbed on Graphite , Glassy Carbon , Platinum and Gold Electrodes. *J. Electroanal. Chem.* ,1980 ,113 :151 ~ 158
- 7 Bard A J , Faulkner L R. *Electrochemical Methods* , John Wiley & Sons ,1980 : 521 ~ 522
- 8 Durfor C N , Yenser B A , Bowers M L. Attachment of Ribflavin Derivatives to Electrode Surfaces. *J. Electroanal. Chem.* , 1988 , 244 :287 ~ 300
- 9 Ksenzhek O S , Petrova S A. Electrochemical properties of flavins in aqueous solutions. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1983 , 11 : 105 ~ 127
- 10 Windholz , M , Budavari S et al. *The Merck Index* , Merck & Co. Inc. , 1983 : 8 090