

2000-05-28

Electrochemical Quartz Crystal Microbalance Study on the Promoted Electron Transfer Process at Gold Electrode

Xia-qin WU

Zhe-su WANG

Xiao-yun MENG

Zong-rang ZHANG

Recommended Citation

Xia-qin WU, Zhe-su WANG, Xiao-yun MENG, Zong-rang ZHANG. Electrochemical Quartz Crystal Microbalance Study on the Promoted Electron Transfer Process at Gold Electrode[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2000 , 6(2): Article 14.

DOI: 10.61558/2993-074X.3218

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol6/iss2/14>

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(2000)02-0163-06

金电极上电子传递促进剂 作用的 EQCM 研究

吴霞琴*, 王浙苏, 孟晓云, 章宗穰

(上海师范大学化学系, 上海 200234)

摘要: 本文比较了 L-半胱氨酸、组氨酸和精氨酸等三种氨基酸在石英晶体微天平金电极上的吸附行为. 重点考察了超氧化物歧化酶在 L-半胱氨酸存在的混合溶液中以及事先经 L-半胱氨酸修饰的金晶振电极上的循环伏安曲线和频率响应曲线. 实验结果表明, 超氧化物歧化酶在 L-半胱氨酸修饰的金晶振电极上的电子传递过程是一个准可逆过程, 它同时对对应于一个可逆的吸脱附过程. 初步讨论了 L-半胱氨酸对超氧化物歧化酶电子传递过程的促进机制.

关键词: 超氧化物歧化酶, 氨基酸, L-半胱氨酸, 电化学石英晶体微天平

中图分类号: O 646.54

文献标识码: A

石英晶体微天平 (Quartz Crystal Microbalance, 简称 QCM) 由于其可测至纳克级的高质量灵敏度, 在新型传感器的开发研究中已取得很大进展^[1,2]. 近年来, 与电化学方法联用的 EQCM 技术 (Electrochemical Quartz Crystal Microbalance) 在基础电化学研究方面的报道也日益增多^[3~7]. 通过测量电化学反应过程中由于电极表面物质的吸脱附而引起的石英晶体振荡频率的改变, 可为反应机理的推测间接地提供有价值的参考信息.

本研究室对生物活性分子电化学行为研究的探索表明, 一些氨基酸可以起到加速生物分子电子传递过程的作用. 如精氨酸、组氨酸和 L-半胱氨酸对牛红细胞铜锌超氧化物歧化酶 (Cu, Zn-SOD, 简称 SOD) 在金电极上电子传递过程就有不同程度的作用. 其中, L-半胱氨酸能对 SOD 的电子传递过程起到明显的促进作用, 有望作为有效的促进剂. 组氨酸则仅对 SOD 的氧化过程具有较为显著的促进作用, 而精氨酸无明显的作用^[8,9].

本实验通过比较上述三种氨基酸在金晶振电极 (Au-QCM) 上的吸附行为, 并利用 EQCM 测试技术考察经 L-半胱氨酸修饰的 Au-QCM 上, 或 L-半胱氨酸存在于溶液中 SOD 氧化还原过程伴随的频率变化, 讨论 L-半胱氨酸对 SOD 在 Au-QCM 上的电子传递过程的促进作用.

收稿日期: 1999-09-29; 修订日期: 1999-12-20

* 通讯联系人

基金项目: 上海市科委自然科学基金资助项目 (97ZA14004)

1 实验部分

实验中所用的三种氨基酸都是 L 型的,为上海丽珠东风生物技术有限公司产品.牛红细胞超氧化物歧化酶为上海华东理工大学生产的精制品(8000 U/mg).所有溶液均用二次蒸馏水配制.

实验在美国 EG&G 的 QCA917 石英晶体微天平测试仪、M273 电化学测试系统上进行.电解池为 EG&G 公司的井状(Well-type holder)测量池.其中,以 9 MHz AT-cut 金晶振电极为工作电极,其金电极面积为 0.2 cm^2 .环状铂丝作辅助电极,参比电极为饱和甘汞电极(文中报道的电位均相对于饱和甘汞电极的电位).每次 EQCM 测量时均需先将金晶振电极置于研究溶液中待频率稳定后再继续.实验在氮气氛中进行.

1 结果和讨论

2.1 不同氨基酸在金晶振电极上的吸附行为

首先,在开路电位下将 Au-QCM 分别置于作为背景电解质的磷酸盐缓冲溶液中,以及含 2 mmol L^{-1} 的精氨酸、组氨酸和半胱氨酸等三种氨基酸的磷酸盐缓冲溶液中,测试其频率随时间变化的响应曲线.反复测量的结果表明,在磷酸盐缓冲溶液中 Au-QCM 的频率变化(如图 1a 所示),仅出现了几个 Hz 的波动.而在氨基酸溶液中,开始几分钟内频率明显下降.此后,对精氨酸溶液,频移趋缓(图 1b);而在组氨酸和半胱氨酸溶液中,频率仍有持续下降趋势,约 30 分钟后频率才不再变化,趋向于达到饱和吸附(如图 1c、1d 所示).

上述说明,三种氨基酸在 Au-QCM 上均有不同程度的吸附.假设频率的降低主要是由氨基酸吸附所致,那么,根据 Sauerbrey 方程计算得到的吸附量如表 1 所列.

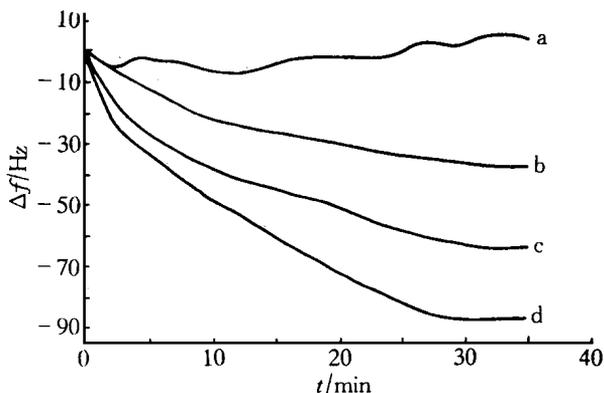


图 1 不同氨基酸(2 mmol L^{-1} , pH 7.0 磷酸盐缓冲溶液)在 Au-QCM 上的频率响应曲线

Fig. 1 The frequency response curve of different amino acids (2 mmol L^{-1}) in PB solution (pH 7.0) at Au-QCM.

a) PB solution b) Arginine c) Histidine d) Cysteine

表 1 不同氨基酸在金晶振电极上的吸附量

Tab. 1 Adsorption quality of different amino acids on Au-QCM

Amino acids	Arginine	Histidine	Cysteine
Adsorption quality/ mol cm^{-2}	1.12×10^{-9}	2.28×10^{-9}	3.29×10^{-9}

比较上述三种氨基酸在金电极上吸附量可进一步证明,吸附强度随精氨酸、组氨酸和半胱

氨酸依次增强.其中,半胱氨酸的吸附最强,可归应于其分子内所含的巯基能与金电极发生强烈键合.

2.2 半胱氨酸对 SOD 电子传递促进作用的 EQCM 研究

(1) SOD 在半胱氨酸修饰的 Au-QCM 上的 EQCM 测量

SOD 在裸金电极上观察不到氧化还原反应^[10].而在本文实验中,由金晶振电极得到的 CV 曲线也未见出现氧化还原电流峰,而且电位扫描过程中频率也几乎不发生变化.

图 2A、2B 分别是 SOD 在经半胱氨酸修饰的 Au-QCM 上测得的 CV 曲线,及对应的频率随电位变化的响应曲线.

从图 2 中可以清楚地看到,SOD 在经半胱氨酸修饰的金电极上,于 0.22 V 和 0.02 V 处可分别观察到一对氧化还原电流峰,表明半胱氨酸对 SOD 的电子传递已有明显的促进作用.连续循环伏安扫描时,不仅该氧化还原峰重现,而且氧化还原过程中伴随电极表面的吸脱附现象也完全重现.即从 -0.20 V 朝正向扫描时,一开始频率几乎不变,但随电位往正向移动,频率开始下降.比如从 0.10 V (接近 E^0 电位)扫至 0.22 V,其频率下降了 25 Hz 左右.随后,经历了一段无频移过程,接着,再从 0.10 V 开始负向扫描(对应于还原过程),频率又急剧上升,直至几乎回复到起始频率(起始频率和终态频率值仅差 3 Hz 左右).这一实验结果表明,SOD 在经半胱氨酸修饰的金晶振电极上发生了准可逆的电子传递过程,同时 Au-QCM 上伴随着明显的质量变化.而这一几乎可逆的吸脱附过程在未经半胱氨酸修饰的 Au-QCM 上是观察不到的.说明半胱氨酸在电极上的吸附是促进 SOD 电子传递过程的先决条件,而扫描过程所伴随的吸脱附现象当与 SOD 的电化学反应密切相关.因为,在电位扫描过程中,半胱氨酸和 SOD 之间的相互作用可能会引起 SOD 分子中部分结构重组,以有利于电子活性中心与电极之间的传递.有关吸脱附过程的机理、及其吸附物质的确定,有待应用原位拉曼光谱电化学测量进行较为深入的探讨.

(2) SOD 和 L-半胱氨酸混合溶液中的 EQCM

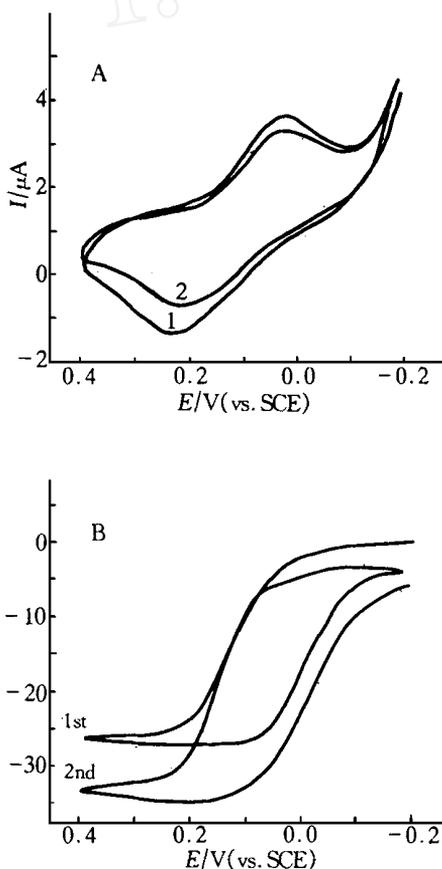


图 2 SOD (0.26 mmol L^{-1}) 在 L-半胱氨酸修饰的 Au-QCM 上的循环伏安图 (A) 和频率响应曲线 (B)

Fig. 2 The cyclic voltammograms (A) and frequency response (B) of SOD (0.26 mmol L^{-1}) at cysteine-modified Au-QCM. Scan rate: 100 mV s^{-1}

测量

将金丝电极置于半胱氨酸和 SOD 的混合溶液中进行电化学测量,其结果为:在循环伏安曲线上也能观察到明显的氧化还原电流峰.且峰电流随扫描圈数的增加而增大,氧化峰电流和还原峰电流之比(i_{pa}/i_{pc})从 0.7 增大至 1,表明经过连续扫描会产生改善可逆性的效果^[11].为了进一步考察半胱氨酸对 SOD 电子传递过程的促进机制,再用金晶振电极作工作电极进行 EQCM 测量.实验中得到与图 2A 相似的循环伏安曲线,但与半胱氨酸修饰的电极相比,其频率响应则有所不同,表现在电位扫描过程中频率下降和上升的幅度均增大.

图 3A 示出,从 -0.02 V 扫描至 0.20 V 时频率下降了约 50 Hz 左右,而回扫时(对应于 SOD 的还原过程)先经历了一个频率缓慢上升过程(约有十几 Hz),之后,当电位继续负移动至 0.10 V,频率又出现急剧上升直到接近起始值,这在频率响应曲线上便相应地出现了一个等质点(约在 0.16 V 处).反复扫描至第三圈,频率响应又开始出现显著的变化(如图 3B),此后即基本稳定.

图 3B 也是一条闭合曲线,可见经电位扫描后,不论是氧化过程还是还原过程都伴随有频率先下降后上升的现象.如果结合对应的循环伏安曲线进行分析,则不难确定,该氧化过程伴随的频率下降值为 50 Hz 左右,而还原过程的频率上升值为 25 Hz 左右,再参照图 2B 实验结果,这 25 Hz 左右的频率变化可推测为是与 SOD 的电化学反应相关.也就是说,SOD 的氧化反应伴随一个吸附过程,而还原过程则伴随有物质的脱附.除此之外的频率变化,可认为是与半胱氨酸和 SOD 分子在电极上的竞争吸附相关.

以上结果显示,半胱氨酸不管是存在于溶液中还是先修饰到电极上,都能对 SOD 的氧化还原过程起促进作用,且电极上的氧化还原均伴随有可逆的吸脱附现象.主要差别在于,半胱氨酸修饰的金晶振电极表面是半胱氨酸的稳定吸附;而混合溶液中的电极表面则经历了一个变化

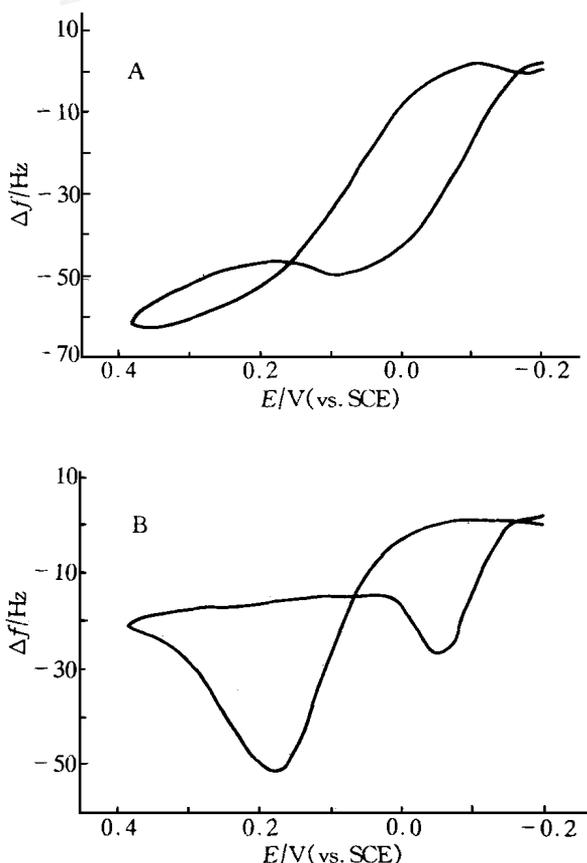


图 3 L-半胱氨酸(2 mmol L⁻¹)存在下 SOD(0.26 mmol · L⁻¹)在 Au-QCM 上的频率响应

Fig. 3 The frequency response of SOD (0.26 mmol/L) at Au-QCM in presence of cysteine (2 mmol L⁻¹) during potential scan.

Scan rate: 100 mV s⁻¹. A) first cycle B) third cycle

过程. 即当电极插入溶液时, 初始阶段可能发生 SOD 和半胱氨酸的共吸附, 这从频率的大幅度下降已可得到证明. 随着扫描过程的进行, 半胱氨酸通过 S-Au 键的作用更牢固地吸附在电极表面(拉曼光谱的测量已对此进行了验证, 可参见文献[12]), 并将起先吸附在电极表面的 SOD 取而代之. 同时, 电极的界面状态也在不断地朝着有利于 SOD 电子传递的方向调整. 期间, 并伴随 SOD 分子中某些部位结构的变化, 使 SOD 的活性部位与电极之间的电子传递通道更加畅通.

以上实验结果也有助于进一步理解精氨酸和组氨酸为什么不能对 SOD 的电子传递起到很好的作用. 因为此二者分子中没有像半胱氨酸那样的可与 SOD 分子发生竞争吸附的巯基. 或者说, SOD 在电极上的吸附能力强于精氨酸和组氨酸, 而 SOD 在电极表面的直接吸附反而不利于它与金电极之间进行电子传递.

3 结 论

EQCM 的实验表明, SOD 能在半胱氨酸修饰的 Au-QCM 上产生明显的氧化还原电流峰. 证明 SOD 的电子传递过程得到了明显的改善. 该氧化还原对应于电极表面发生了一个可逆的吸脱附过程. 当半胱氨酸存在于溶液中时也能对 SOD 的电子传递起促进作用, 但其作用机制要比事先将半胱氨酸修饰到电极上的情况复杂得多.

不同的氨基酸在金电极上的吸附能力不同, 尤其是在电位的影响下, 氨基酸与 SOD 以及金电极之间的作用也各有不同, 因而表现出对 SOD 的电子传递促进作用也互不相同.

以上信息可为促进剂对生物分子电子传递过程的作用机制研究提供有一定价值的参考.

Electrochemical Quartz Crystal Microbalance Study on the Promoted Electron Transfer Process at Gold Electrode

WU Xia-qin^{*}, WANG Zhe-su, MENG Xiao-yun, ZHANG Zong-rang
(Dept. of Chem., Shanghai Teachers Univ., Shanghai 200234, China)

Abstract: The adsorption behavior of amino acids, such as L-cysteine, histidine and arginine at gold-quartz crystal microbalance (Au-QCM) was investigated. The adsorption quantity of cysteine is more appreciable than others because of the stronger interaction between its thiol group and the gold electrode surface. The electron-transfer process of superoxide dismutase (SOD) in presence of cysteine at Au-QCM has also been studied using the electrochemical quartz crystal microbalance (EQCM) technique which reveals clearly the quasi-reversible electron-transfer process accompanied by the frequency shift cycle. The reversible adsorption and desorption processes are discussed.

Key words: Superoxide dismutase, Amino acids, L-Cysteine, EQCM

References :

- [1] J. A. J. Brunink, C. Di Natale, G. Ferri, et al. The application of metalloporphyrins as coating material for quartz microbalance-based chemical sensors[J]. *Analytica chimica acta*, 1996, 325:53.
- [2] R. Zhou, U. Weimar, W. Göpel, et al. Silicon-containing monomers, oligomers and polymers as sensitive coatings for the detection of organic solvent vapors[J]. *Sensors and Actuators B*, 1995, 26-27:121.
- [3] Mark R. Deakin, Daniel A. Buttry, Electrochemical applications of the quartz crystal microbalance[J]. *Anal Chem*, 1989, 61(20):1147A.
- [4] Xie Qinji, Yao Shouzu. The applications of piezoelectric crystal sensors on electrochemical research[J]. *Chemical Sensors(Chinese)*, 1994, 14(3):180.
- [5] James S. Gordon, Dennis C. Johnson. Application of an electrochemical quartz crystal microbalance to a study of water adsorption at gold surfaces in acidic media[J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1994, 365:267.
- [6] Z. Jusys, G. Stalnionis, E. Juzeliunas, et al. The kinetic H/D isotope effect in electroless copper plating. An EQCM study[J]. *Electrochimica Acta*, 1998, 43:301.
- [7] Zenonas Jusys, Stanley Bruckenstein. Electrochemical quartz crystal microgravimetry of gold in perchloric and sulfuric acid solution[J]. *Electrochemical and Solid-state Letters*, 1998, 1(2):74.
- [8] Xiaqin Wu, Xiaoyun Meng, Zongrang Zhang, et al. Study on direct electrochemical reaction of superoxide dismutase[J]. *Bioelectrochem and Bioenerg.*, 1999, 48(1):227.
- [9] Wu Xiaqin, Meng Xiaoyun, Zhang Zongrang, et al. The electrochemical behaviors of superoxide dismutase at promote-modified gold electrode[J]. *Electrochemistry(Chinese)*, 1999, 5(4):27.
- [10] Wu Xiaqin, Liu Qian, Zhang Zongrang, et al. Electrochemical behavior of superoxide dismutase on gold minigrad with thin-layer cell[J]. *Electrochemistry(Chinese)*, 1997, 3(2):136.
- [11] Wu Xiaqin, Meng Xiaoyun, Zhang Zongrang, et al. Study on the electron transfer process of superoxide dismutase at cysteine-modified gold electrode[J]. *Chem. Lett.*, 1999, 12:1271.
- [12] Cao Xiaowei, Meng Xiaoyun, Zhang Zongrang, et al. In-situ raman spectroscopic study on the electrochemical behaviors of SOD on the L-cysteine modified gold electrode[J]. *Chinese J. Light Scattering(Chinese)*, 1999, 11(4):30.