

文章编号: 1005-0523(2011)01-0020-05

二茂铁对双层类脂膜的修饰及对抗坏血酸的催化研究

郑丹, 郑龙珍, 李引弟, 刘文, 刘强

(华东交通大学化学化工系, 江西 南昌 330013)

摘要: 采用二茂铁对双层类脂膜进行修饰, 考察了修饰膜的电化学行为, 发现二茂铁在双层类脂膜中起到跨膜传递电子的作用。进一步研究抗坏血酸在二茂铁-双层类脂膜上的电催化氧化反应, 发现氧化峰电流与其浓度在 $5.0 \times 10^{-6} \sim 5.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系, 检测下限为 $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 可用于抗坏血酸的定量检测。

关键词: 双层类脂膜; 二茂铁; 抗坏血酸; 电催化氧化

中图分类号: O657.1

文献标识码: A

双层类脂膜(bilayer lipid membranes, BLMs)是由类脂分子通过超分子自组装而构成, 易于形成和控制, 其厚度与天然生物膜相近, 一般在5~10 nm。由于其结构与天然生物膜非常相似, 具有生物相容性和选择性, 可用于模拟生物膜的基本特征。将生物分子或某些功能材料如酶、载体、通道、抗体、蛋白质复合物等嵌入其中, 可获得接近生物膜的敏感元件, 用来识别配体如底物、抗原、离子、电子受体或给体等。因此, 双层类脂膜成为一个研究热点。目前, 国内外对双层类脂膜的研究主要包括: BLMs的简单修饰^[1], BLMs的光电行为^[2-4], BLMs的pH传感器^[5], 离子通道^[6-8], 离子传感器^[9], 过氧化氢传感器^[10], 葡萄糖传感器^[11-12], 味觉传感器^[13-14], 免疫传感器^[15], 核酸传感器^[16-17], 谷氨酸传感器^[18]等。

本文采用二茂铁(Fe)对双层类脂膜进行修饰, 研究了Fc-BLMs的电化学行为和对抗坏血酸(AA)的电催化氧化反应。Fc-BLMs电极对AA具有响应快、检测限低和受干扰少等优点, 可用于抗坏血酸的定量检测。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

主要仪器: 电化学工作站(chi660a, 上海辰华仪器有限公司); 电子天平(PL203, 上海恒平科学仪器有限公司); 双向磁力加热搅拌器(78-2, 金坛市新航仪器厂); 超声波清洗器(SK1200H, 上海科学超声仪器有限公司); 三极电极: 玻碳(GC)电极为工作电极, Pt片电极为对电极, Ag/AgCl电极为参比电极。

主要试剂: 胆固醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 卵磷脂(生化试剂, 国药集团化学试剂有限公司); 二茂铁(化学纯, 汕头西陇化工有限公司); 抗坏血酸(分析纯, 上海市四赫维化工有限公司); 甲苯, KCl, $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 均为分析纯和购于汕头西陇化工有限公司。

1.2 Fc-BLMs修饰电极的制备

成膜液的制备: 配制质量分数为2%卵磷脂(PC)+0.5%胆固醇(CH)甲苯成膜液, 将25 mg二茂铁加入5 ml甲苯成膜液, 超声振荡, 使其充分溶解。

电极的预处理: 玻碳电极依次在金相砂纸、0.03 μm 和0.05 μm 的 Al_2O_3 粉末抛光成镜面。用蒸馏水冲洗后, 依次在乙醇和蒸馏水中超声清洗10 min。彻底洗涤后, 把三极电极系统置于 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ 电解液

收稿日期: 2010-09-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(20965003); 江西省科技厅青年科学家“井冈之星”培养对象计划项目(2008DQ01000); 江西省自然科学基金项目(2009GZH0025); 江西省教育厅科技计划项目(GJJ08246)

作者简介: 郑丹(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为电分析化学。

中,于 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 的扫速,用循环伏安法对电极进行活化,扫描范围 $-1.0 \sim 1.0 \text{ V}$,反复扫描直至达到稳定的循环伏安图为止。

依据文献[19]制备修饰电极:将预处理后的玻碳电极(GC)浸入甲苯成膜液或溶有二茂的成膜液中浸泡 10 min ,迅速移入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KCl}$ 溶液中静置 30 min ,使磷脂在亲水的玻碳电极表面自发的形成双层磷脂膜。

1.3 实验分析

采用三电极系统,以GC或修饰GC电极为工作电极,铂片电极为对电极,Ag/AgCl(饱和KCl)电极为参比电极,在 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KCl} + 2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液中进行循环伏安(CV)和交流阻抗(IMP)扫描,然后采用CV和电流时间法(I-T)在 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲底液(PBS, $\text{pH}=7.0$) 中进行研究。

2 结果与讨论

2.1 修饰电极的直接电化学研究

图1给出了玻碳电极(bare GC)、双层磷脂膜/玻碳电极(BLMs/GC)和二茂铁-双层磷脂膜/玻碳电极(Fe-BLMs/GC)在 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液中的循环伏安曲线。由图1可知,GC电极在 0.244 V 和 0.158 V 有一对可逆的氧化还原峰,而BLMs/GC电极未出现这一对可逆峰,这是因为双层磷脂膜有较好的封闭作用,阻碍了 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 电子对在电极表面发生氧化还原反应,由此可知双层磷脂膜已经组装到电极表面上。而Fe-BLMs/GC又重新出现这一对可逆峰,表明二茂铁嵌入到双层类脂膜中,在双层膜中起到跨膜传递电子的作用。

图2是3种电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 溶液中的电化学交流阻抗图。图中半圆直径的大小与电子传递电阻相对应,直径越大表明电子传递电阻越大^[20]。电路模拟结果表明,BLMs/GC电极的电子传递电阻约为 7000Ω ,远远大于裸GC电极(30Ω),主要原因是电极表面有磷脂膜存在,使电极表面的电子传递电阻增加,双电层电容减小,表明电极表面成功制备了双层磷脂膜。而Fe-BLMs/GC电极的电子传递电阻约为 1300Ω ,小于BLMs/GC电极,但大于裸GC电极,说明二茂铁嵌入到磷脂膜中,实现电子的跨膜传递。

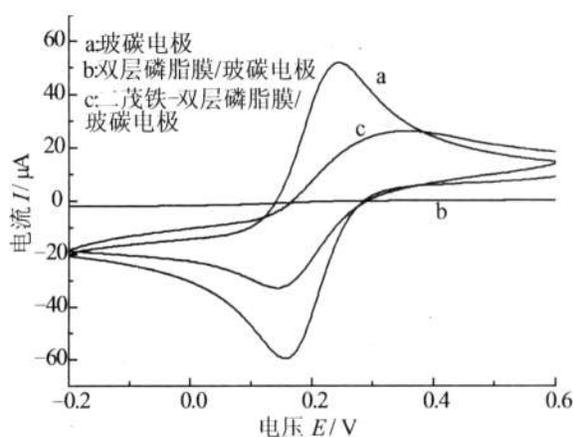


图1 不同电极的循环伏安图

Fig.1 Cyclic voltammograms of different electrodes

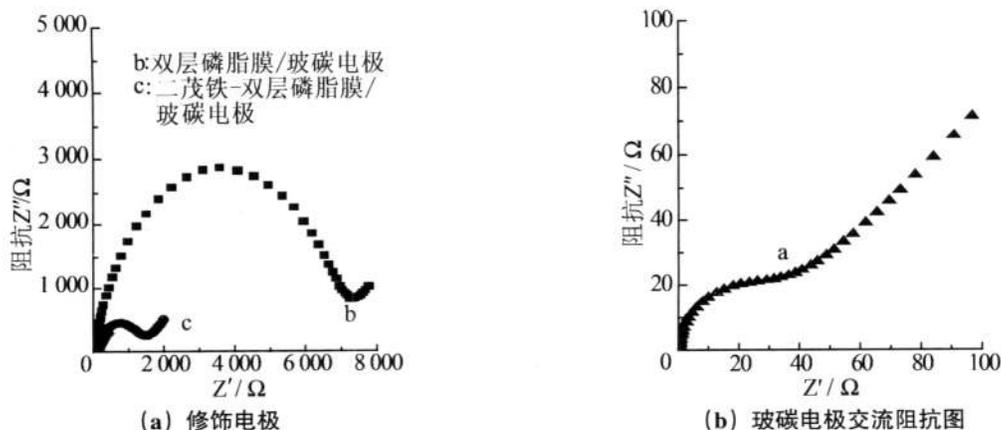


图2 不同电极的Nyquist图

Fig.2 Impedance spectroscopy of different electrodes

Fc在双层类脂膜中跨膜传递电子为两步的单电子转移过程。其跨膜传递电子过程为:膜内氧化态的二茂铁从溶液中的 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 获得电子,生成还原态的二茂铁,自由流动到另一层膜边缘将电子转移给电极。反应机理为



进一步考察Fc-BLMs/GC在不同扫速的电化学行为,发现在0.23 V和0.30 V有一对可逆的氧化还原峰。随着扫速的增大,氧化还原峰电位基本不变,峰电流增加。研究其峰电流与扫速关系,发现电流与扫速的平方根呈线性关系,表明电极反应主要受表面扩散控制,Fc在膜内可以自由流动。

2.2 修饰电极的电催化作用

抗坏血酸在裸GC电极和Fc-BLMs/GC电极上的循环伏安图如图3所示。曲线a,c对应为裸玻碳电极在空白及含 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AA溶液的循环伏安曲线。曲线b,d对应的是Fc-BLMs/GC电极在空白及含 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AA溶液的循环伏安曲线。由图可知:与裸GC电极相比,抗坏血酸在Fc-BLMs修饰电极上的氧化峰电流大大增加,说明修饰电极提高了电流响应的灵敏度。修饰电极的氧化峰电位负移了250 mV,由此表明,Fc-BLMs修饰电极对抗坏血酸有明显的电催化氧化作用,较低的氧化电位有利于提高AA电化学测定的选择性,减小干扰物质的干扰。

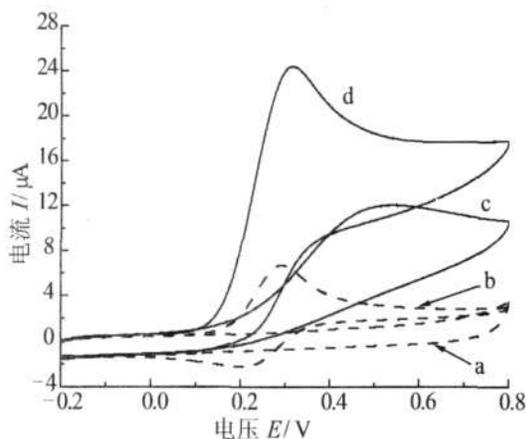


图3 AA在不同电极的循环伏安图
Fig.3 Cyclic voltammograms of AA at different electrodes

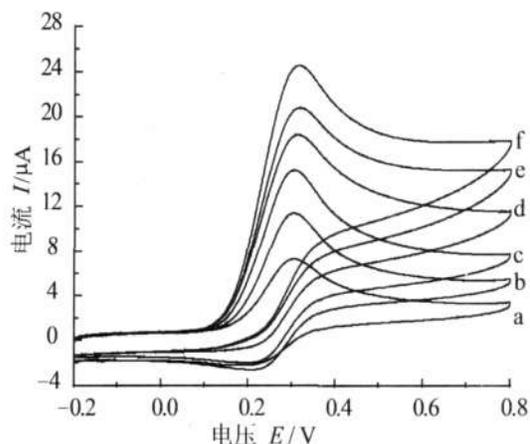


图4 不同浓度AA在Fc-BLMs/GC的循环伏安图
Fig.4 Cyclic voltammograms of different concentration of AA at Fc-BLMs/GC

图4为Fc-BLMs/GC在不同浓度AA下的循环伏安图。a为修饰电极在PBS溶液中的CV曲线。曲线b显示,当向溶液中加入 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AA后,Fc的氧化峰显著增大,还原峰减小。c,d,e,f分别为加入 $0.4, 0.6, 0.8, 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的CV曲线,表明修饰电极对抗坏血酸具有良好的催化氧化性能。这是因为二茂铁在反应体系中是作为电子媒介催化抗坏血酸氧化为脱氢抗坏血酸,还原态的二茂铁在电极上发生氧化反应,产生的氧化峰电流随AA浓度的增大而增大,氧化态的二茂铁立即又被AA所还原,故修饰电极的氧化电流增大,还原电流减小。

2.3 I-T法检测抗坏血酸

图5是在0.3 V下Fc-BLMs/GC对抗坏血酸的安培响应图。从图中可见:每次加入抗坏血酸,电

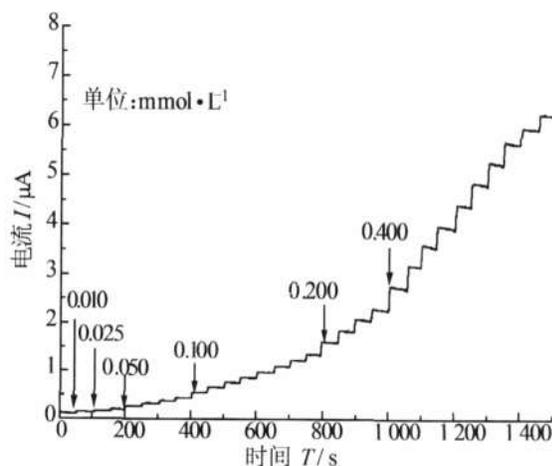


图5 Fc-BLMs/GC对AA的安培响应图
Fig.5 The chronoamperometric responses of AA at Fc-BLMs/GC

极都能迅速做出响应,响应时间为3~5 s。所获得的响应电流和相应的抗坏血酸的浓度成线性关系,可以得到线性回归方程为 $Y=1.0873X+0.1506$,线性相关系数为 $R=0.9994$,线性范围为 $5.0\times 10^{-6}\sim 5.5\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,检测限(信噪比 $S/N=3$)为 $1.0\times 10^{-6}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.4 干扰性和稳定性研究

多巴胺(DA)的氧化峰电位与AA非常接近,很容易对AA的测定产生干扰。在 $\text{pH}=7.0$ PBS缓冲液中,加入DA对AA进行测定。实验结果如图6所示,0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的DA对实验结果不产生明显干扰。其原因可能是电极反应过程中生成带正电荷的 Fc^+ 可吸引带负电荷的AA,排斥带正电荷的DA,因此修饰电极既能催化AA,又能避免DA的干扰。考察其它干扰物质(0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的尿酸(UA)、L-半胱氨酸(L-Cys)、葡萄糖(Glu))发现均无明显干扰信号,可见该传感器具有良好的抗干扰能力。

在实验条件下, Fc-BLMs 电极对1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的AA溶液重复100次测量,其催化峰电流下降为原来的97.6%。把 Fc-BLMs 电极放入冰箱中保存,每两天测量1次,连续监测1个月,将得到的图叠加对比,发现氧化峰电位不变化,峰电流下降为原来的92%。这些实验都表明 Fc-BLMs 膜修饰电极的稳定性良好,这是因为 Fc 嵌入 BLMs 处于疏水的内膜中,使 Fc^+ 的水溶性大为减小,减少 Fc^+ 的流失,从而提高电极的稳定性。

3 结论

磷脂可通过亲水作用自发地组装到干净的玻碳电极上,形成双层类脂膜。同时疏水的二茂铁可以嵌入双层类脂膜中,实现电子的跨膜传递。二茂铁-磷脂修饰的玻碳电极对抗坏血酸具有电催化氧化作用,其催化峰电流与其浓度在 $5.0\times 10^{-6}\sim 5.5\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系,可用于抗坏血酸的定量检测。

参考文献:

- [1] CUI X L, JIANG D L, DIAO P, et al. Electron transfer between ferrocene-modified Autoctadecanethiol/lipid BLM electrode and redox couples in solution[J]. *Bioelectrochemistry & Bioenergetics*, 1999, 48(1): 243-247.
- [2] JIANG D L, LI J X, DIAO P, et al. Photoinduced electron transfer across a gold supported octadecanethiol/phosphatidylcholine hybrid bilayer membrane mediated by C_{60} in different redox species solution[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2000, 132(3): 219-224.
- [3] GAO H, LUO G A, FENG J, et al. Photoelectric conversion properties of bilayer lipid membranes self-assembled on an ITO substrate[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2001, 496(1/2): 158-161.
- [4] YE J S, CUI H F, WEN Y, et al. Self-assembly of bilayer lipid membrane at multiwalled carbon nanotubes towards the development of photo-switched functional device[J]. *Electrochemistry Communications*, 2005, 7(1): 81-86.
- [5] JING W G, WU Z Y, WANG E K. Electrochemical study of gramicidin D forming ion-permeable channels in the bilayer lipid membranes[J]. *Electrochimica Acta*, 1998, 44(1): 99-102.
- [6] IVNITSKI D I, WILKINS E, TIEN H T, et al. Electrochemical biosensor based on supported planar lipid bilayers for fast detection of pathogenic bacteria[J]. *Electrochemistry Communications*, 2000, 2(7): 457-460.
- [7] SHIRAI O, YAMANA H, OHNUKI T, et al. Ion transport across a bilayer lipid membrane facilitated by valinomycin[J]. *Jour-*

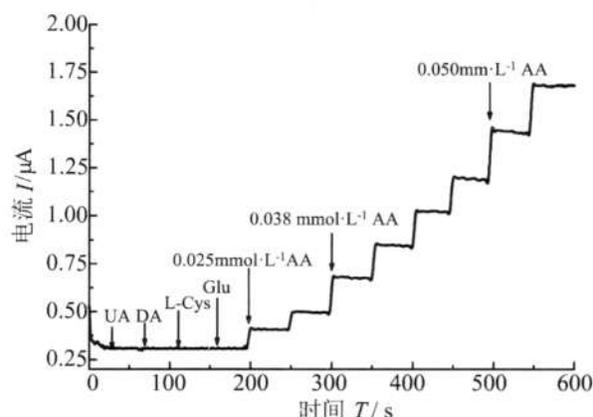


图6 UA, DA, L-Cys, Glu和AA对Fc-BLMs/GC的安培响应图

Fig.6 The amperometric response of UA, DA, L-Cys, Glu and AA at Fc-BLMs/GC

- nal of Electroanalytical Chemistry, 2004, 570(2): 219-226.
- [8] SHIRAI O, YOSHIDA Y, KIHARA S, et al. Ion transport across a bilayer lipid membrane facilitated by gramicidin a-effect of counter anions on the cation transport[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2006, 595(1): 53-59.
- [9] 蔡红, 王斌, 张占军. C₆₀修饰的BLMs离子传感器的研究与应用[J]. 安徽大学学报, 2003, 27(1): 84-88.
- [10] WU Z Y, WANG B Q, CHENG Z L. A facile approach to immobilize protein for biosensor: self-assembled supported bilayer lipid membranes on glassy carbon electrode[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2001, 16(1/2): 47-52.
- [11] TROJANOWICZ M, MIERNIK A. Bilayer lipid membrane glucose biosensors with improved stability and sensitivity[J]. Electrochimica Acta, 2001, 46(7): 1053-1061.
- [12] YE J S, OTTOVA A L, TIEN H TI, et al. S-BLMs Nanostructured platinum-lipid bilayer composite as biosensor[J]. Bioelectrochemistry, 2003, 59(1-2): 65-72.
- [13] 张泽实, 王磊光. S-BLM 味觉物质生物敏感器件的研究[J]. 南开大学学报, 1999, 32(2): 82-86.
- [14] SZYMAŃSKA I, RADECKA H, RADECKI J, et al. Fullerene modified supported lipid membrane as sensitive element of sensor for odorants[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2001, 16(9/12): 911-915.
- [15] 谭学才, 李荫, 梁汝萍, 等. 双层类脂膜非标记乙型肝炎表面抗原免疫传感器[J]. 分析测试学报, 2005, 24(5): 1-5.
- [16] LIU N, GAO Z X, ZHOU H Y, et al. Detection of SEB gene by bilayer lipid membranes nucleic acid biosensor supported by modified patch-clamp pipette electrode[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2007, 22(9/10): 2371-2376.
- [17] HIANIK T, OSTATNIK L, POLOHOVA V, et al. Changes of conductance and compressibility of bilayer lipid membranes induced by oligonucleotide-cationic polyene antibiotic complexes[J]. Bioelectrochemistry, 2008, 74(1): 2-8.
- [18] FAVERO G, CAMPANELLA L, CAVALLO S, et al. Glutamate receptor incorporated in a mixed hybrid bilayer lipid membrane array, as a sensing element of a biosensor working under flowing conditions[J]. Journal of the American Chemical Society, 2005, 127(22): 8103-8111.
- [19] TONGY H, HAN X J, SONG Y H, et al. Characterization and property of DNA incorporated bilayer lipid membranes[J]. Biophysical Chemistry, 2003, 105(1): 1-9.
- [20] ZHENG L Z, YAO X, LI J H. Layer-by-layer assembly films and their applications in electroanalytical chemistry[J]. Current Analytical Chemistry, 2006, 2(3): 279-296.

Bilayer Lipid Membrane Modified with Ferrocene and Its Electrochemical Response to Ascorbic Acid

Zheng Dan, Zheng Longzhen, Li Yindi, Liu Wen, Liu Qiang

(School of Basic Sciences, East China Jiaotong University, Nanchang 330013, China)

Abstract: Bilayer lipid membrane incorporated with ferrocene (Fc) is fabricated and its electrochemical behaviors are investigated by cyclic voltammetry and ac impedance. The results show that Fc acted as a shuttle for electron transfer across the bilayer lipid membranes. The electrocatalytic oxidation of ascorbic acid (AA) on Fc-BLMs is studied. It is found that the catalytic peak current increases linearly with the concentration of AA in the range of 5.0×10^{-6} - 5.5×10^{-3} mol·L⁻¹. The Fc-BLMs can be used for determining AA in samples.

Key words: bilayer lipid membranes; ferrocene; ascorbic acid; electrocatalytic oxidation