

## 耐尔兰 A 修饰碳纤维微柱电极的电化学性质研究\*

鞠焜先 董 灵 陈洪渊

(南京大学化学系, 南京, 210093)

**摘要** 用循环伏安法将碳纤维微柱电极表面官能团化, 利用正负离子间的静电作用将耐尔兰 A 修饰在碳纤维微柱电极(CFMCE)表面. 对该修饰电极的电化学性质进行了研究, 讨论了它的稳定性, 测定了不同 pH 值下固定化耐尔兰 A 电极反应的表现电子转移速率常数  $k$ 、电荷转移系数  $\alpha$  以及参加电极反应的  $H^+$  数. 实验表明: 电极对血红蛋白在 CFMCE 上的还原有电催化作用.

**关键词** 碳纤维微电极, 化学修饰微电极, 耐尔兰 A, 血红蛋白, 电催化

许多染料被作为生物分子电化学氧化(或还原)的中间体或促进剂修饰在电极表面进行生物分子的测定及生物氧化还原电子传递过程的研究已有报道<sup>[1-3]</sup>. 但在微电极上, 由于其传质速率高, 使修饰电极的稳定性降低, 必须用高分子聚合物膜将修饰剂固定在电极表面<sup>[4-6]</sup>, 使电极的阻抗增加, 电流降低. 为了适应在特殊环境下测定生物物质的需要, 我们用电化学方法将碳纤维微电极表面氧化, 使其生成许多负离子官能团, 用正负离子间的静电作用制得了稳定性较好的耐尔兰 A(Nile blue A)修饰碳纤维微柱电极. 耐尔兰 A 在旋转圆盘电极、玻碳电极(GC)和银电极上对还原型辅酶 I 的氧化有电催化作用<sup>[2,7]</sup>, 但它是否对血红蛋白在电极上的氧化有电催化作用以及它在微电极上的修饰和电化学性质的研究还未见报道. 本文研究了耐尔兰 A 修饰 CFMCE 的电化学性质, 发现它对血红蛋白的电极反应有催化作用.

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

用 PA-1 Lowcurrent Module 放大电流并滤去噪音的 BAS-100B Electrochemical Analyzer 及 C<sub>2</sub> Cell Stand(美国 BAS 公司); EPG-310 Color Plotter(日本 Fujitsu 公司); 501 型超级恒温槽(上海实验仪器厂). 耐尔兰 A(NB)为分析纯(B. H. D. 分装), 牛血红蛋白为结晶纯(上海生物化学研究所分装). 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲溶液由磷酸氢二钠和柠檬酸按一定比例配制, pH 2~11. 试剂均为分析纯; 实验用水均为石英亚沸二次蒸馏水.

#### 1.2 实验方法

耐尔兰 A 修饰 CFMCE 为工作电极. 基体碳纤维微柱电极是将聚丙烯腈(PAN)型碳纤维(上海合成纤维研究所,  $\phi$  6~8  $\mu$ m)用 Epon 812 环氧树脂(美国)封于玻璃管内制得(暴露长度为 4~6 mm). 铂丝电极为对电极, 饱和甘汞电极(SCE)为参比电极. 在测试体中通纯 N<sub>2</sub> 气 10 min 后于 N<sub>2</sub> 气氛下法拉第屏蔽箱中进行电化学实验(温度控制在 25 $\pm$ 0.1 $^{\circ}$ C).

收稿日期: 1994-08-30. 修改稿收到日期: 1995-01-25. 联系人及第一作者: 鞠焜先, 男, 30 岁, 博士, 副教授.

\* 国家自然科学基金资助课题.

### 1.3 耐尔兰 A 碳纤维微柱修饰电极的制备

电化学预处理可使碳纤维电极表面生成  $\text{COOH}/-\text{C}=\text{O}/-\text{C}-\text{OH}$  官能团<sup>[8]</sup>。电化学处理的步骤可改变 3 种基团的比例<sup>[9,10]</sup>，长时间的电化学氧化可使电极表面生成更多的  $-\text{COOH}$ <sup>[11]</sup>。将碳纤维微柱电极用二次水超声清洗后，在  $1.0 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$  中循环伏安扫描 ( $-1.0 \text{ V} \sim +2.0 \text{ V}$ ,  $200 \text{ mV/s}$ )100 圈 (50 min)，然后将其在含  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L NB}$  的 pH 7.4 溶液在中在  $+0.2 \sim -0.7 \text{ V}$  范围循环伏安扫描 ( $100 \text{ mV/s}$ )15 min。用二次水冲洗后即可制得耐尔兰 A 修饰电极，将此电极保存在 pH 7.0 的缓冲溶液中备用。

## 2 结果与讨论

### 2.1 修饰电极的稳定性

实验表明，电化学前处理时间的长短及电位区间对修饰电极的性能都有很大的影响，扫描区间为  $-1.0 \sim +2.0 \text{ V}$  时，在含 NB 的溶液中扫描时间相同，前处理时间越长，修饰电极的稳定性越好。前处理时间小于 5 min 时，经 NB 溶液处理后的电极在空白溶液中 NB 的氧化还原峰电流开始即很小，仅有很少量的 NB 吸附在电极表面；前处理时间增加，峰电流也增加，但很快衰减；当前处理时间达到 40 min 后，峰电流的衰减速率减慢；前处理 50 min 可使电极具有很好的稳定性，在中性及弱酸性溶液中连续扫描 3 h 的峰电流基本不变。当电化学前处理扫描上限小于  $+2.0 \text{ V}$  时，上述同样条件所得 NB 修饰电极的性能也较差，制备修饰电极时所用 NB 溶液的 pH 值对其性能也有影响，在 pH 较低时，由于电极表面  $-\text{COO}^-$  基团质子化，使正电性的 NB 不易接近电极表面，因而所得的电极响应很小；当  $\text{pH} > 5$  后，响应逐渐增加，可逆性也变好，因为此时电极表面的  $-\text{COOH}$  渐渐电离；在  $\text{pH} > 7.4$  时，已达最佳状态，制得的 NB 修饰电极不但响应较大，而且稳定性和电极的可逆性均较好。

### 2.2 不同 pH 下耐尔兰 A 在 CFMCE 上的电化学响应

用文献<sup>[12]</sup>方法，在不同 pH 的磷酸盐缓冲溶液中，NB 在碳纤维微柱电极上于  $+0.2 \text{ V} \sim -0.7 \text{ V}$  范围内有一对氧化还原峰，其循环伏安图如图 1 所示。随着 pH 值的增加，循环伏安图的阳极和阴极峰电位都向负方向移动，可知电极过程有  $\text{H}^+$  参与。峰电位的差值及峰电流也都与体系的 pH 值有关。在中性条件下，峰电流最大， $\Delta E_p$  较小。半峰电位与 pH 值之间有斜率为  $55 \text{ mV/pH}$  线性关系，已知耐尔兰 A 电化学过程的电子转移数为 2<sup>[2,7]</sup>，因而在  $\text{pH} < 8.5$  的溶液中有 2 个质子参加电极反应。由于 NB 在电极过程中有  $2\text{H}^+$  参与及 2 电子转移，故产物与反应物均带正电荷，从而使 NB 的氧化还原态均与电极有较强的静电作用，为修饰电极有较好的稳定性提供了保证。

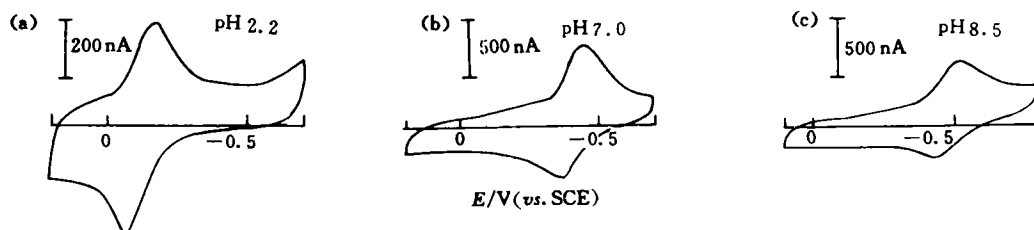


Fig. 1 The cyclic voltammograms of Nile blue A at carbon fiber microcylinder electrode

$$C_{\text{NB}} = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}, \nu = 100 \text{ mV/s}.$$

### 2.3 扫描速率对耐尔兰 A 修饰电极循环伏安图的影响

图 2 是耐尔兰 A 修饰电极在 pH 7.0 的磷酸盐缓冲溶液中的循环伏安图，随着扫速的增

加, 循环伏安图的阴极峰向负移, 阳极峰向正向移动, 其峰电流和扫描速率成正比. 这表明 NB 修饰电极的电极过程受表面吸附量控制. 当  $v > 50 \text{ mV/s}$  时, 峰电位与  $\ln v$  成正比, 电极过程是表面控制的准可逆或不可逆过程. 从  $E_{p,c} \sim \ln v$  的斜率及文献<sup>[13]</sup>可求得电极过程的电荷转移系数  $\alpha = 0.5$ . 因而, 可由  $E^0 = (E_{p,a} + E_{p,c})/2$  求得标准式量电位为  $-410 \text{ mV (pH 7.0)}$ , 与文献<sup>[2]</sup>在常规石墨电极上所得结果 ( $-420 \text{ mV}$ ) 相近.

#### 2.4 耐尔兰 A 在微柱碳纤维电极表面吸附量的测定

电极表面上 NB 的吸附量可从 CV 图的峰面积及  $\Gamma = Q/nFA = S/nFAv$  求得 ( $Q$  为电极表面上去极剂完全反应所消耗的电量,  $S$  为峰面积,  $A$  为电极面积). 实验测得在  $A = 2.5 \times 10^{-7} \text{ m}^2$  的微柱电极上, NB 的吸附量  $\Gamma_{\text{实验}} = 2.5 \times 10^{-6} \text{ mol/m}^2$ . 已知与 NB 有相似结构的同类染料甲苯胺蓝的理论单层吸附量约为  $2.2 \times 10^{-6} \text{ mol/m}^2$ <sup>[12]</sup>, 考虑到电极表面粗糙度的影响, 耐尔兰 A 在电极表面的吸附亦属单分子层吸附, 表明 NB 在电极上的吸附是单层的离子间的静电作用所致.

#### 2.5 表观电子转移速率常数的测定

由  $\lg k = \alpha \lg(1-\alpha) + (1-\alpha) \lg \alpha - \lg(RT/nFv) - \alpha(1-\alpha)nF\Delta E_p/2.3RT$ <sup>[13]</sup> 可求得吸附条件下的表观电子转移速率常数  $k$  (已知  $\alpha = 0.50$ ) 如表 1 所示. 当 pH 较低时, 虽然由于  $-\text{COO}^-$  的质子化使静电引力减弱, 但  $\text{H}^+$  浓度的增加使有 2 个  $\text{H}^+$  参与的电极反应速率增加, 因而  $k$  较大,  $\Delta E_p$  较小; 随着 pH 增加,  $\Delta E_p$  增大,  $k$  值减小; 但在  $\text{pH} > 5.4$  后,  $-\text{COOH}$  开始电离,  $\text{H}^+$  浓度较小, 此时电极表面的作用占优势, 因而  $k$  随 pH 的增加而增加; 但当  $\text{pH} > 8$  后,  $-\text{COOH}$  几乎全部生成  $-\text{COO}^-$ ,  $\text{H}^+$  浓度的影响再次占优势, 使  $k$  随 pH 增加而减小.

Table 1 The determination of the apparent electron transfer rate constant

pH	3.0	4.0	4.8	5.4	5.9	7.0	7.4	7.8	8.5	10.8
$\Delta E_p/\text{mV}$	99	110	109	115	114	99	87	81	112	123
$k/\text{s}^{-1}$	0.58	0.47	0.48	0.42	0.43	0.58	0.72	0.81	0.45	0.36

#### 2.6 耐尔兰 A 修饰碳纤维微柱电极对血红蛋白(Hb)的催化作用

图 3 曲线 a 和 b 分别是耐尔兰 A 修饰电极在 pH 5.5 HAc-NaAc 缓冲溶液中和溶液中加入 Hb 后的循环伏安图. 与曲线 a 相比, 曲线 b 上的阴极峰电流增大, 而阳极峰电流减小, 阴极和阳极峰的峰电位均向负电位方向移动约 60 mV, 表明耐尔兰 A 修饰 CFMC 电极对 Hb 在 CFMCE 上的电极反应有电催化作用. 峰电位的移动是由于 Hb 催化反应的存在使电极表面上 NB 的氧化态与还原态在某一电位下的浓度比发生变化, 从而使其与电极间的电子交换速率发生变化所致. 这一结果与前文<sup>[6]</sup>用聚合物膜修饰碳纤维微电极的结果不同, 后者对 Hb 在碳纤维电极上的氧化有电催化作用, 加入 Hb 后峰电位向正方向移动, 但它与文献<sup>[14]</sup>用吸附的方法制

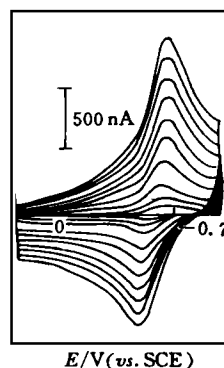


Fig. 2 Effect of scanning rate on CV of NB modified CFMCE

pH 7.0;  $v = 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 \text{ mV/s}$ .

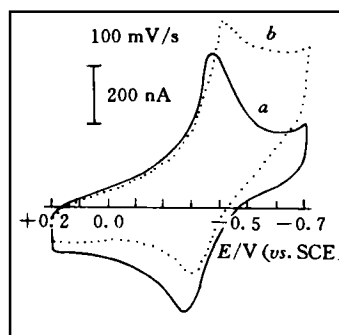


Fig. 3 The cyclic voltammograms of Nile blue A modified micro-cylinder electrode

a. pH 5.5; b. a +  $5.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L Hb}$ .

得的常规 MB 修饰电极一致, 表明聚合物膜修饰电极的催化过程与吸附型修饰电极不同。

催化峰电流随着 Hb 浓度的增加在  $5 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-3}$  mol/L 范围而线性增加, 同样可用前文<sup>[6]</sup>的方法进行 Hb 的直接电化学测定。实验表明, 该电极在测试 Hb 后再放入 pH 5.5 缓冲溶液中扫描, 其性能没有发生变化, 连续测定  $5.0 \times 10^{-4}$  mol/L Hb 溶液 6 次的变异系数为 2.3%, 连续测定样品 2 h 电流基本不变。在 pH 7.0 缓冲液中存放 1 周后电流下降 87%。因而其稳定性可以达到测试要求, 能够进行实际样品的测定。

### 参 考 文 献

- 1 Gorton L. ; J. Chem. Soc. , Faraday Trans. 1 , 1986, **82**: 1245
- 2 Persson B. , Gorton L. ; J. Electroanal. Chem. , 1990, **292**: 115
- 3 DONG Shao-Jun(董绍俊), CHU Qing-Hui(褚庆辉); Acta Chimica Sinica(化学学报), 1992, **50**: 589
- 4 Navra E. N. , Suzuki M. , Tamiya E. ; Electroanalysis, 1993, **5**: 17
- 5 Yokoyama K. , Nakajima K. , Uchiyama S. ; Electroanalysis, 1992, **4**: 859
- 6 JU Huang-Xian(鞠煊先), XUN Yi-Gang(荀以刚), CHEN Hong-Yuan(陈洪渊); Chem. J. Chinese Univ. (高等学校化学学报), 1994, **15**: 827
- 7 Ni F. , Feng H. , Gorton C. ; Cotton T. M. ; Langmuir, 1990, **6**(10): 66
- 8 JU Huang-Xian(鞠煊先), CHEN Hong-Yuan(陈洪渊), WU Chi-Ping(吴持平); Chemical Sensors(化学传感器), 1988, **8**(4): 34
- 9 Edmonds T. E. ; Anal. Chim. Acta, 1985, **175**: 1
- 10 Proctor A. , Sherwood P. M. A. ; Carbon, 1983, **21**: 53
- 11 Pantano P. , Kuhr W. G. ; Anal. Chem. , 1991, **63**: 1413
- 12 JU Huang-Xian(鞠煊先), CHEN Hong-Yuan(陈洪渊); Acta Chim. Sinica(化学学报), 1994, **52**: 1118
- 13 Laviron E. ; J. Electroanal. Chem. , 1979, **101**: 19
- 14 Ye J. , Baldwin R. ; Anal. Chem. , 1988, **60**: 2263

## The Study on the Electrochemical Behaviour of Nile Blue A Modified Carbon Fiber Microcylinder Electrode

JU Huang-Xian\*, DONG Ling, CHEN Hong-Yuan

(Department of Chemistry, Nanjing University, Nanjing, 210093)

**Abstract** The functional group —COOH on carbon fiber microcylinder electrode(CFMCE) was formed by electrochemical oxidation with cyclic voltammetry, and the Nile blue A modified CFMCE was manufactured by means of electrostatic attraction. The electrochemical behaviour of the modified electrode was studied, and its stability was discussed. The apparent standard electron transfer rate constant and charge transfer coefficient of fixed Nile blue A at various pH, and the number of H<sup>+</sup> participating in electrode reaction were determined. The experiments indicated the modified electrode can catalyze the electrode reaction of hemoglobin at carbon fiber microcylinder electrode.

**Keywords** Carbon fiber microelectrode, Chemically modified microelectrode, Nile blue A, Hemoglobin, Electrocatalysis

(Ed. : Z, A)

— 1203 —