

铁氰化镉修饰的电化学传感器的研制及其对半胱氨酸的测定

钟苑雯¹ 林谋宏¹ 周洁丹¹ 刘英菊^{* 1,2}

¹(华南农业大学理学院应用化学系, 广州 510642)

²(湖南大学化学生物传感与化学计量学国家重点实验室, 长沙 410082)

摘要 采用循环伏安法在 $\text{PtCl}_3 + \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液中于石墨电极表面电沉积铁氰化镉 (PHCF) 薄膜, 制备 PHCF 修饰电极。对该修饰电极电化学的行为进行分析, 包括扫描速度、 K^+ 浓度以及阴、阳离子对膜电极的影响。同时, 以红外和 XPS 对膜进行了表征, IR 谱图中氰基的伸缩振动峰证明了膜的存在; 而 XPS 谱图中 $\text{Fe}2p_{1/2}$ 和 $\text{Fe}2p_{3/2}$ 能级的分裂说明了在成膜过程中 Fe 的价态发生变化, 据此提出了可能的电聚合机理。同时, 此修饰电极对半胱氨酸具有电催化氧化活性, 并对其响应进行了研究。

关键词 半胱氨酸; 铁氰化镉; 电催化; 化学修饰电极

1 引言

半胱氨酸 (Cys) 是存在于各种蛋白质和许多天然物质中的一种重要生理活性物质。Cys 是 20 多种天然氨基酸中唯一含有巯基的氨基酸, 其巯基具有许多重要的生理作用, 可以缓解药物 (酚、萘、苯、氰离子) 的中毒, 增强生物体的抗病能力, 广泛应用于医药、食品及化妆品制造业^[1], 因而有关其分析测试和性质的研究备受关注^[2]。多核的过渡金属六氰合铁 (MHCFs) 是极好的电子媒介体可用作修饰电极材料。用复合物修饰电极表面包括电沉积、吸附、在聚合物里诱陷或在溶胶-凝胶里形成胶囊等多种方法。金属铁氰根复合膜在化学传感器、电荷贮存、电解、离子交换、电子介质和电催化作用等方面得到了广泛的应用研究。在多巴胺^[3]、硫代硫酸盐^[4]、亚硫酸盐^[5]、亚硝酸盐^[6]等的检测中, 该复合膜在电催化作用上的应用尤其广泛, 但是稀土金属的铁氰化膜的研究很少。此外, Abbaspour 报道了在鸟嘌呤^[7]和 DNA^[8]的测定中的应用。本实验采用循环伏安法在石墨电极表面电沉积铁氰化镉 (PHCF) 薄膜, 制备修饰电极 (PHCF/CME), 对膜进行了各种表征, 该膜对 Cys 具有良好的电催化性能。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

CHI 660C 电化学工作站 (上海辰华仪器公司); 采用三电极体系: 石墨电极为工作电极, Ag/AgCl 为参比电极, 铂片为辅助电极; Nicolet Avatar 360 红外光谱仪。ESCA LAB 250 XPS (中山大学测试中心)。所用试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水。 P_2O_5 (中国同济微量元素研究所); L-Cys 为生化试剂 (上海伯奥生物科技有限公司)。

2.2 PHCF 薄膜的制备

在精细砂纸上打磨石墨电极, 用水冲洗后在 $0.1 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$ 中于 $0 \sim 1.0 \text{ V}$ 扫描 40 圈, 去除电极表面的杂质。然后将石墨电极置于 $5 \text{ mmol/L PtCl}_3 + 5 \text{ mmol/L K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + 0.2 \text{ mol/L KCl}$ 新配制混合溶液中用 CV 法以 50 mV/s 在 $0 \sim 1.0 \text{ V}$ 电沉积, 30 圈后, 取出电极, 用水冲洗。

3 结果和讨论

3.1 PHCF 的循环伏安电聚合及表征

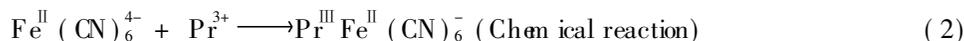
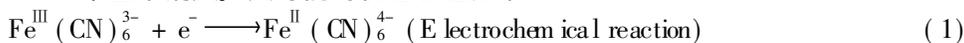
在 $5 \text{ mmol/L PtCl}_3 + 5 \text{ mmol/L K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + 0.2 \text{ mol/L KCl}$ 溶液中, PHCF 在石墨电极表面电沉积。

2009-06-08 收稿; 2009-09-03 接受

本文系湖南大学化学生物传感与化学计量学国家重点实验室开放基金 (No. 2007011), 广东省教育厅高校优秀青年创新人才培养项目资助

* E-mail: yingjulin@scau.edu.cn

出现两对明显的氧化还原峰。在 0.3 V 附近的一对氧化还原峰对应于 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ 离子对在电极上的峰, 这对峰在 0.2 mol/L KCl 中基本消失。其可能的机理表达如下^[9]:



而在 0.7 V 附近的一对氧化还原峰属于 PHCF 薄膜中 $\text{Pr}^{\text{III}}\text{Fe}(\text{CN})_6 / \text{KPr}^{\text{II}}\text{Fe}(\text{CN})_6$ 离子对在电极上的峰, 所发生的反应如下:



图 1a 是修饰膜的红外谱图。C—N 伸缩振动的峰是 2260~2240 cm^{-1} , 但是, 铁氰化物中 C—N 伸缩振动的峰会有所偏移^[9], 出现在 2100 cm^{-1} 附近, 证明 PHCF 已经聚合到电极表面。

从 PHCF 的 XPS 全谱图 (图 1b) 可以看出, Pr, Fe, C, N 等元素已经在电极表面存在, 而 K, Cl 是由溶液中的 KCl 背景溶液所引起。从而进一步证明了 PHCF 已经聚合到电极表面。

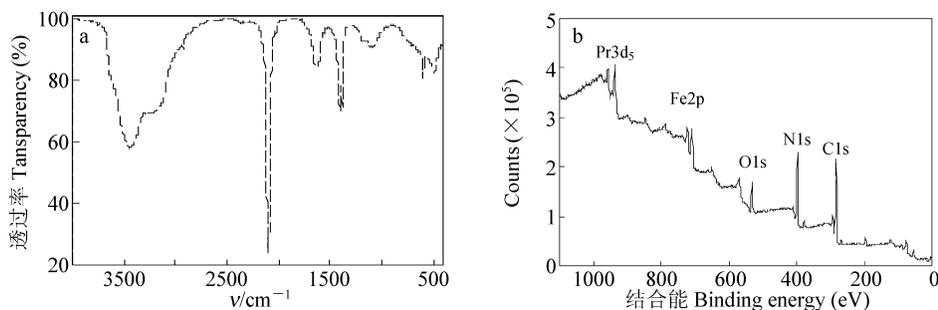


图 1 PHCF 的红外谱图 (a) 和 PHCF 的 XPS 谱图 (b)

Fig 1 IR spectrum (a) and XPS spectrum (b) of praseodymium hexacyanoferrate (PHCF)

从图 2a 可以看出, 在 710 和 725 eV 的峰分别是 $\text{Fe}2p_{1/2}$ 和 $\text{Fe}2p_{3/2}$, 并且可以看出, 这两个峰均发生能级分裂, 从而可以证明电极表面上的 $\text{Fe}2p$ 存在两个价态^[10]。从图 2b 可见, 931.1 和 958.3 eV 的峰分别是 $\text{Pr}3d_{3/2}$ 和 $\text{Pr}3d_{5/2}$, 可见只出现 Pr^{III} 的 XPS 峰。在 943.6 和 964.2 eV 分别对应于上述两个峰的肩峰。这表明电极表面的 $\text{Pr}3d$ 没有发生价态变化^[11], 从而证明了化学反应方程式 (1) ~ (3) 的正确性。

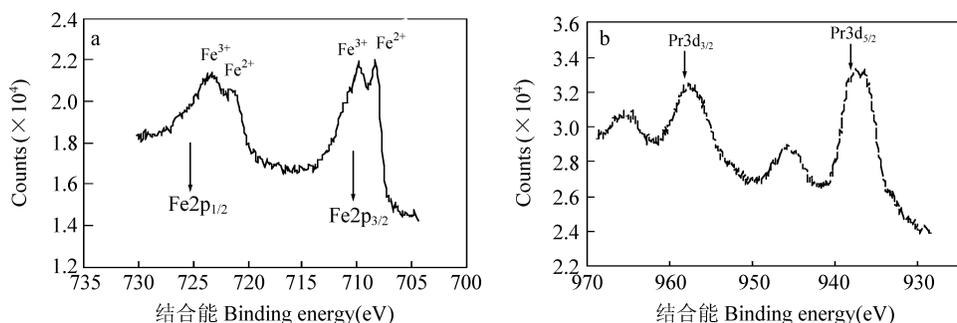


图 2 $\text{Fe}2p$ (a) 和 $\text{Pr}3d$ (b) 的 XPS 图

Fig 2 XPS spectrum of $\text{Fe}2p$ (a) and $\text{Pr}3d$ (b)

3.2 扫速对修饰膜的影响

PHCF/CME 在 0.2 mol/L KCl 溶液中进行 CV 扫描。在低扫速时, 氧化还原峰电流随扫速的增大而增大, 但其还原氧化峰电位变化很小。在 0.7 V 处的氧化峰和还原峰电流在 20~200 mV/s 范围内与扫速呈线性关系, 其线性回归方程分别为: $i_{pc} = -0.135x + 1.040$ ($r = 0.9963$) 和 $i_{pa} = 0.171x + 7.740$ ($r = 0.9987$), 其中, i_{pa} 和 i_{pc} 分别为氧化峰电流和还原峰电流, x 为扫速。此外, i_{pa}/i_{pc} 几乎一致, 证明电子在电极的传输是表面型行为。

较高扫速, 可使氧化与还原峰电位发生偏移。根据电化学理论, 还原峰电流与扫描速度的关系为:

$$E_p = E_0 + \frac{RT}{\alpha n F} - \frac{RT}{\alpha n F} \ln v \quad (4)$$

其中, α 为阴极电子转移系数; n 为电子转移数。 E_{pc} 与 $\ln v$ 呈线性, 其线性方程为 $E_{pc} = 0.64 - 0.048 \ln v$ ($r = 0.9805$)。 根据方程 (4) 可以计算出 $\alpha n = 0.53$ 。 因为 $0.3 < \alpha < 0.7$, 所以 $n = 1, \alpha = 0.53$ 。 此外, E_{pa} 与 $\ln v$ 也呈线性关系, 其线性回归方程为 $E_{pa} = 0.81 + 0.049 \ln v$ ($r = 0.9872$)。 两条曲线的交点为 $\ln v_c = \ln v_a = -1.75$ 。 根据电化学理论可计算出电子转移反应速率常数 $k_s = 3.36/s$ 。

3.3 K⁺ 浓度对修饰膜的影响

将 PHCF/CME 在 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4 和 0.5 mol/L KCl 中进行 CV 扫描, 还原峰电位和氧化峰电位均随着 K⁺ 浓度的增加而逐渐正移, 说明 K⁺ 是膜的组成成分之一。 其半电位与浓度的对数之间的拟合关系为:

$$E_p = 0.055 \lg [K^+] + 0.75 (r = 0.9946) \tag{5}$$

从式 (6) 也可以确定, 只有一个 K⁺ 参与电化学反应, 进一步验证了 PHCF 的电化学反应是伴随着一个电子和一个相反阳离子的转移, 故



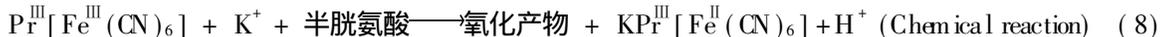
3.4 阴、阳离子对修饰膜的影响

支持电解质的性质对 PHCF 的电化学行为的影响显著^[12]。 PHCF/CME 在 K₂SO₄ 溶液中的氧化峰与 KCl 溶液相似, 但是还原峰电流有所降低, 而 PHCF/CME 在 KNO₃ 溶液中氧化峰电流有所降低。 在循环伏安扫描中, 电解质溶液的阴离子会部分渗透在 PHCF 晶格中, 导致 PHCF 电化学性质的变化。

将 PHCF 修饰电极分别在 NaCl 和 NH₄Cl 溶液中进行 CV 扫描, 其峰电流与 KCl 溶液相比有所降低, 且氧化还原峰电位发生移动。 同样的现象出现在已有的研究工作中^[4, 13]。 K⁺ 和 Na⁺ 的水化半径分别为 0.125 和 0.185 nm, 而金属铁氰化物膜的空穴一般为 0.16 nm^[14], 因此 Na⁺ 在进入 PHCF 薄膜的空穴时会受到限制。 此外, 由于 NH₄⁺ 的流动性较差, 所以其氧化还原峰不如 K⁺ 明显^[13]。 表明 K⁺ 的大小最适合 PHCF 薄膜的空穴。

3.5 PHCF 修饰电极对半胱氨酸的电催化氧化

裸电极在 Cys 溶液里基本未见氧化还原峰 (图 3b), 与裸电极在 KCl 溶液的 CV 行为 (图 3a) 相似。 图 3c 是修饰电极在 KCl 溶液中的 CV 图。 当加入不同浓度的 Cys 后, 还原峰电流逐渐减弱, 氧化峰逐渐增强。 因此, 同其它铁氰化物修饰电极对鸟嘌呤的催化作用一样, 这种修饰电极对半胱氨酸具有电催化氧化作用。 可能的电催化氧化机理如下:



因此, 加入 Cys 后, 铁氰化物的氧化态与 Cys 之间发生氧化还原反应, 使得在电极表面的铁氰化物的氧化态减少, 还原态增加, 从而使氧化峰电流增加, 还原峰电流减小。

3.6 PHCF 修饰石墨电极检测半胱氨酸

在适量缓冲液中连续加样作 $i-t$ 曲线。 考察 pH 值的影响 (见图 4a)。 在 pH 4.94~6.98 范围内, 响应随 pH 值增高而增大; 当 pH > 6.98 响应随 pH 值增高而减小。 因此, PHCF/CME 对 Cys 的检测的最适 pH ≈ 7。 在 0.5~0.75 V 范围内, 响应随着电压增大而增大; 当电压大于 0.75 V 时, 响应随电压增大而减小 (见图 4b)。 因此, PHCF/CME 对 Cys 的检测电位为 0.75 V。

在 5 mL 含有 0.2 mol/L KCl 的磷酸盐缓冲溶液中加入不同浓度的 Cys, PHCF/CME 的响应电流与半胱氨酸浓度为线性相关, 在 2~100 μmol/L 范围内, 其拟合方程为 $i = 0.103C - 0.151$ ($r = 99.88\%$)。

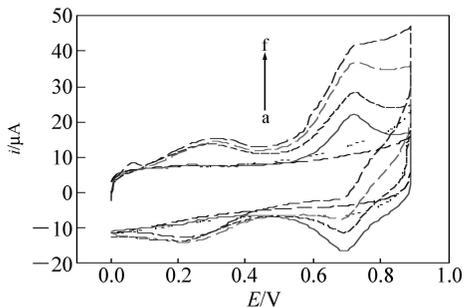


图 3 不同电极上的 CV 图: (a) 裸电极; (b) 裸电极在 0.2 mmol/L Cys 中; (c) PHCF 修饰电极; (d) ~ (f) PHCF 修饰电极在不同浓度的 Cys 溶液中, C_{Cys} : 0.2, 0.4, 0.6 mmol/L

Fig 3 Cyclic voltammograms of (a) bare electrode (b) bare electrode in 0.2 mmol/L cysteine (c) PHCF modified electrode (d) - (f) PHCF modified electrode in different concentrations of cysteine as 0.2, 0.4, 0.6 mmol/L

支持电解质 (Supporting electrolyte): 0.2 mol/L KCl

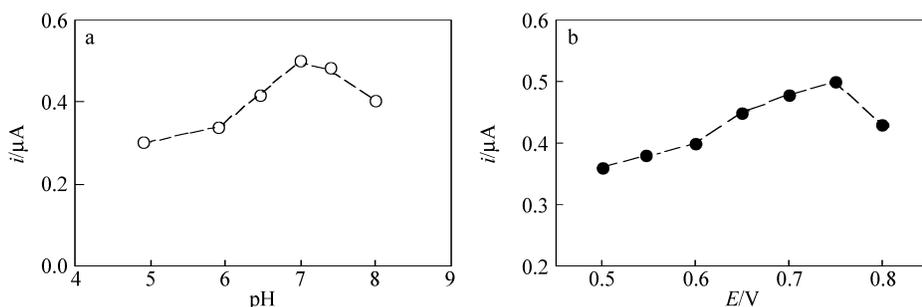


图 4 pH 值 (a) 和检测电位 (b) 对 4 $\mu\text{mol/L}$ 半胱氨酸的电流响应的影响

Fig 4 Effect of pH (a) and detection potential (b) on peak current for 4 $\mu\text{mol/L}$ cysteine

References

- Zhang S, Sun W L, Xian Y Z, Zhang W. *Anal Chim Acta*, **1999**, 399(1-2): 213~ 221
- Fei S D, Chen J H, Yao S Z, Deng G H, He D L, Kuang Y F. *Anal Biochem.*, **2005**, 339(1): 29~ 35
- Razmi H, Azadbakht A. *Electrochim. Acta*, **2005**, 50(11): 2193~ 2201
- Tao W Y, Pan D W, Liu Y J, Nie L H, Yao S Z. *J. Electroanal Chem.*, **2004**, 572(1): 109~ 117
- García T, Casero E, Lorenzo E, Pariente F. *Sens Actuators B*, **2005**, 106(2): 803~ 809
- Zen J M, Kumar A S, Chen H W. *Electroanalysis*, **2001**, 13(14): 1171~ 1178
- Abbaspour A, Mehrgardi M A. *Anal Chem.*, **2004**, 76(1-4): 5690~ 5696
- Abbaspour A, Mehrgardi M A, Kia R. *J. Electroanal Chem.*, **2004**, 568(1): 261~ 266
- Wu P, Lu S, Cat C X. *J. Electroanal Chem.*, **2004**, 569(1): 143~ 150
- Gao Y, Chambers S A. *J. Crystal Growth*, **1997**, 174(1-4): 446~ 454
- Suchorski Y, Woebel R, Becker S, Opalska A, Narkiewicz U. *Acta Physica Polonica A*, **2008**, 114: S125~ S134
- ZHANG Sheng-Tao (张胜涛), HAN Xiao-Yan (韩晓燕), XUE Ming-Yue (薛茗月). *Electrochemistry (电化学)*, **2007**, 13(3): 334~ 338
- Wang P, Wang X, Ren C. *J. Mater Chem.*, **2000**, 10(12): 2863~ 2867
- Jayasri D, Nanyanan S S. *Sens Actuators B*, **2006**, 119(1): 135~ 142

Construction of Electrochemical Sensor Based on Praseodymium Hexacyanoferrate Modified Graphite Electrode and Its Application for Cysteine Determination

ZHONG Yuan-Wen¹, LN Mou-Hong¹, ZHOU Jie-Dan¹, LIU Ying-Ju^{* 1, 2}

¹(Department of Applied Chemistry, College of Sciences, Guangzhou 510642)

²(State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, Changsha 410082)

Abstract Praseodymium hexacyanoferrate film was modified on the graphite electrode by cyclic voltammetry in the solution of PrCl_3 and $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. Its electrochemical properties, including the influence of different scan rates, ions, and K^+ concentrations on the film, were studied. The membrane was characterized by IR and XPS. In IR spectrum, the vibration of cyano group verified from the formation of the film on the electrode. In XPS spectrum, the splitting of $\text{Fe}2p_{1/2}$ and $\text{Fe}2p_{3/2}$ showed that the valence of iron has been changed in the film formation, and a proper electropolymerization mechanism was put forward. The results showed the PrHCF film have some electrocatalytic activity to the oxidation of cysteine. The detection conditions for cysteine such as the potential and pH were also discussed.

Keywords Cysteine; Praseodymium hexacyanoferrate; Electrocatalysis; Chemically modified electrode

(Received 8 June 2009; accepted 3 September 2009)