

[Co(phen)₃]³⁺ 和 SWCNTs 促进钌(Ⅱ)配合物对牛血清蛋白的电催化氧化

蔡雪萍, 陈琳琳, 许 旋, 李 红*
(华南师范大学化学与环境学院, 广州 510006)

摘要:应用循环伏安法、微分脉冲伏安法、荧光光谱法和扫描电镜等方法研究了[Co(phen)₃]³⁺ (phen = 1,10-邻菲咯啉)和单壁碳纳米管(SWCNTs)促进[Ru(bpy)₂(tatp)]²⁺ (bpy = 2,2'-联吡啶, tatp = 1,4,8,9-四氮三联苯)在铟锡氧化物(ITO)电极上对牛血清蛋白(BSA)的电催化氧化. 结果表明,[Ru(bpy)₂(tatp)]²⁺、BSA、[Co(phen)₃]³⁺和SWCNTs间相互作用明显,BSA-SWCNTs的加入促进了[Ru(bpy)₂(tatp)]²⁺在ITO上的电化学组装,[Co(phen)₃]³⁺的加入则促进了组装到ITO电极上的[Ru(bpy)₂(tatp)]²⁺对BSA的电催化氧化,在连续微分脉冲伏安图上呈现一个类似于色氨酸电催化氧化的特征氧化峰. 通过改变离子强度、Ru(Ⅱ)或Co(Ⅲ)配合物配体结构和BSA浓度的研究发现,增强BSA与双金属键合剂间作用的因素有利于Co(Ⅲ)配合物诱导Ru(Ⅱ)配合物对BSA的电催化氧化. 此外,BSA的电催化氧化响应在0.3~1.5 μmol/L BSA浓度区呈线性增加变化,Co(Ⅲ)配合物的伏安响应呈线性减小. 研究结果有助于理解双金属键合剂对蛋白质的电催化氧化作用,为蛋白质电化学传感器的构建提供强有力的依据.

关键词:牛血清蛋白; 钌(Ⅱ)配合物; 钴(Ⅲ)配合物; 碳纳米管; 电催化氧化

中图分类号: O657.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-5463(2015)02-0032-07

Electrocatalytic Oxidation of Bovine Serum Albumin Mediated by Ruthenium(Ⅱ) Complexes upon Incorporation of [Co(phen)₃]³⁺ and SWCNTs

Cai Xueping, Chen Linlin, Xu Xuan, Li Hong*

(School of Chemistry and Environment, South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: [Ru(bpy)₂(tatp)]²⁺ (bpy = 2,2'-bipyridine and tatp = 1,4,8,9-tetra-aza-triphenylene), single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) and [Co(phen)₃]³⁺ (phen = 1,10-phenanthroline) are successfully used to promote the electrochemical oxidation of bovine serum albumin (BSA) on an indium-tin oxide (ITO) electrode by means of cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry, fluorescence spectroscopy and scanning electron microscope. There are obvious interactions among [Ru(bpy)₂(tatp)]²⁺, BSA, [Co(phen)₃]³⁺ and SWCNTs. In the present protocol, the addition of BSA-SWCNTs is found to promote the electrochemical assembly of [Ru(bpy)₂(tatp)]³⁺ on the ITO electrode, and the simultaneous presence of [Co(phen)₃]³⁺ and SWCNTs facilitates the electrocatalytic oxidation of BSA mediated by [Ru(bpy)₂(tatp)]²⁺ assembled on the ITO surface. BSA shows a characteristic oxidation peak, which is similar to that of tryptophan (Trp) under our experimental conditions. The evidences from the effects of ionic strength, the structure of Ru(Ⅱ) and Co(Ⅲ) complexes and BSA concentration suggest that the strong binding interaction of Ru(Ⅱ) and Co(Ⅲ) complexes to BSA facilitates the electrocatalytic oxidation of BSA. In addition, the electrocatalytic oxidation response of BSA shows a linear increase in the range from 0.3 to 1.5 μmol/L, and the Co(Ⅲ)-based voltammetric current exhibits a linear decrease. The present study helps us understand the electrocatalytic oxidation of proteins mediated by double metal binding agents, as well as provides a

收稿日期: 2014-07-03

《华南师范大学学报(自然科学版)》网址: <http://journal.scnu.edu.cn/n>

基金项目: 国家自然科学基金项目(21271075); 广东省自然科学基金项目(10351063101000001; S2012010008763)

* 通讯作者: 李红, 教授, Email: lihong@scnu.edu.cn.

significant basis for protein electrochemical sensor.

Key words: bovine serum albumin; Ruthenium(II) complex; Cobalt(III) complex; carbon nanotube; electrocatalytic oxidation

蛋白质是生物体中行使着几乎所有生命活动的重要组成部分之一,其中部分氧化还原蛋白在新陈代谢催化过程中起着重要的电子传递作用^[1]. 然而,由于这些氧化还原蛋白质的辅基被肽链包裹,其与电极表面的距离较大,难于实现其直接的电化学反应^[2]. 为此,媒介体^[3]、表面活性剂^[4]等被用于调控蛋白质在电极表面的取向,以改善蛋白质与电极间的直接电子传递反应. 另一类非氧化还原蛋白由于缺少电子传递通道和电化学活性中心,即使引入碳纳米管(CNTs)和表面活性剂与其作用,也难于实现蛋白质与电极间的电子传递反应,导致通常不能依据该类蛋白质产生的电化学氧化响应来实现它的传感^[5].

牛血清蛋白(BSA)属于非氧化还原蛋白,具有来源广、成本低、化学稳定性高及与人血清蛋白结构相似的特点,常用作模拟蛋白用于吸附及与小分子药物间的相互作用研究^[6]. BSA由582个氨基酸残基组成,其中肽链上134和213位为色氨酸(Trp)残基,是作为BSA主要生色基团而应用于荧光分析^[7],但在一般固体电极上BSA却基本不能发生类似于色氨酸的直接氧化,因此难于借助BSA的电化学氧化来实现对BSA伏安检测,需要引用氧化还原媒介体间接地指示BSA浓度变化^[8]. 由于BSA与媒介体结合后,减小了媒介体的电化学信号,使该类BSA电化学传感器通常选择性和重现性较低^[9]. 在以前的研究中发现^[10],单壁碳纳米管(SWCNTs)和BSA能与多吡啶钌(II)配合物结合,并促进钌(II)配合物在铟锡氧化物(ITO)电极上的电化学共组装. 在该组装过程中,尽管不能发生BSA的间接氧化,但是具有氧化还原活性的钌(II)配合物能用于指示BSA浓度,并且是一个在线性区间内随BSA浓度增大而增大的伏安响应.

多吡啶钌(II)和钴(III)配合物除了可作为DNA或BSA的荧光探针外^[11-12],一些钌(II)配合物被发现能光电催化DNA中鸟嘌呤等碱基的氧化^[13],而具有良好氧化还原活性的钴(III)配合物则常常作为DNA或BSA的电化学指示剂^[14-15],但尚未见引入这两类配合物实现BSA间接氧化的报道. 为此,本文分别选择了 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatz})]^{2+}$ (bpy=2,2'-联吡啶, tatz=1,4,8,9-四氮三联苯)和 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ (phen=1,10-邻菲咯啉)作为代表,研究了钴(III)配合物和SWCNTs促进钌(II)配合物对

BSA的电催化氧化.

1 实验部分

1.1 试剂与材料

$[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatz})](\text{ClO}_4)_2$ 和 $[\text{Co}(\text{phen})_3]\text{Cl}_3$ 按文献^[16-17]方法合成和纯化. SWCNTs管径和管长分别为1~2 nm和5~30 μm ,购自中国成都有机化学有限公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris)、牛血清蛋白(BSA)、十二烷基硫酸钠(SDS)、L-色氨酸(Trp)及其余试剂均为分析纯. 支持电解质为10 mmol·L⁻¹ Tris/50 mmol·L⁻¹ NaCl/0.6 mmol·L⁻¹ SDS(pH 7.2,二次重蒸水配制).

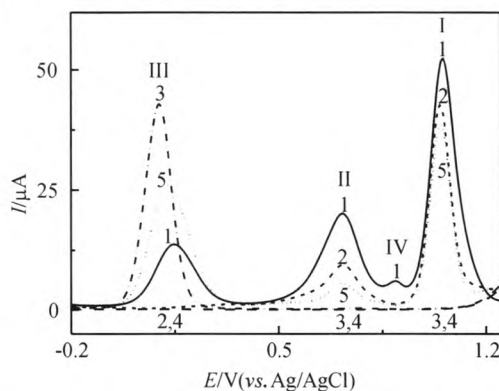
1.2 实验仪器和方法

电化学测量在CHI620d电化学工作站(上海辰华仪器公司)上进行. 实验采用三电极体系(0.5 mL):位于电池底部的ITO为工作电极(0.785 cm²),对电极为铂电极,参比电极为Ag/AgCl(50 mmol/L NaCl). 所有电位都相对于此参比电极. 微分脉冲伏安图(DPV)测定采用的脉冲宽度为0.05 s,阶跃电位为4 mV,调制幅值为25 mV. 稳态荧光光谱测定在Hitachi RF-2500荧光光谱仪(日本)上进行,激发波长为280 nm. Zeiss Ultra55场致发射扫描电子显微镜(SEM,德国)应用于修饰电极的表面形貌分析. 通过将3 mg SWCNTs和16.7 mg SDS加入5 mL水中用超声波分散5 h制得SDS-SWCNTs悬浮液. 实验温度为25~27 $^{\circ}\text{C}$.

2 结果与讨论

图1曲线1表明 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatz})]^{2+}$ /BSA/SWCNTs/ $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 在ITO电极上的DPV,可观察到4个明显的氧化峰(I、II、III和IV). 并与图1曲线2~5比较,曲线1的峰I和峰II与曲线2类似,表明峰I和峰II发生了基于Ru(II)中心离子的氧化反应,峰III与曲线3的相近,被看作Co(III)中心离子还原产物Co(II)的氧化,曲线4显示BSA在-0.20~1.25 V电位区间是稳定的,但是对照于曲线4和5, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatz})]^{2+}$ 和 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 的加入导致峰IV的出现,推测是BSA的电催化氧化造成的. 为了明确地归属各个氧化峰的反应,进一步

分析了各组分的相互作用、BSA-SWCNTs 促进电化学组装及 BSA 的电催化氧化。



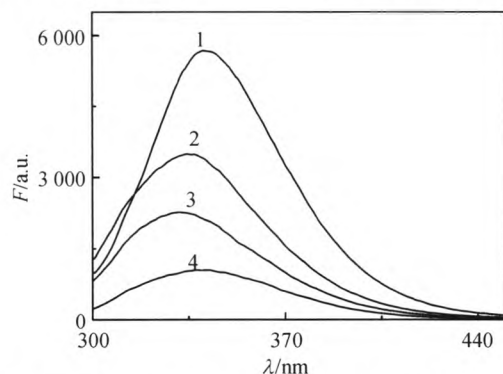
(1) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+} / 0.8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BSA} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ SWCNTs} / 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$; (2) $0.1 \text{ mmol} / \text{L} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$; (3) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ SWCNTs}$; (4) $0.8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BSA} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ SWCNTs}$; (5) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ SWCNTs} / 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$

图1 各体系第10圈 DPV 曲线

Figure 1 The 10th DPVs of all systems

2.1 BSA 与 SWCNTs、Ru(II) 和 Co(III) 配合物间的相互作用

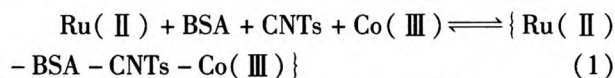
BSA 含有生色氨基酸残基(图2),在 280 nm 光激发下显示一个清晰的发射峰,加入 SWCNTs、Ru(II) 或 Co(III) 配合物后,BSA 的荧光强度明显地减弱,结合 Co(III) 对 BSA 的荧光淬灭作用及 BSA 能作为 SWCNTs 分散剂形成 BSA-SWCNTs 促进 Ru(II) 在 ITO 上的电化学共组装^[18],说明 BSA 与 SWCNTs、Ru(II) 和 Co(III) 配合物间存在相互作用而可能形成复合物^[19],可用反应式(1)表示:



(1) 空白; (2) 0.6 mg/L SWCNTs ; (3) $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ SWCNTs} / 8.3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$; (4) $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ SWCNTs} / 8.3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+} / 10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$

图2 10 $\mu\text{mol/L}$ BSA 加入不同物质下的荧光光谱

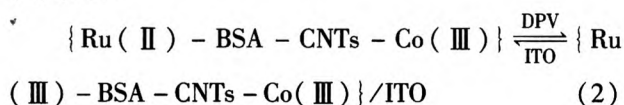
Figure 2 Emission spectra of 10 $\mu\text{mol/L}$ BSA after adding different complexes (or materials)

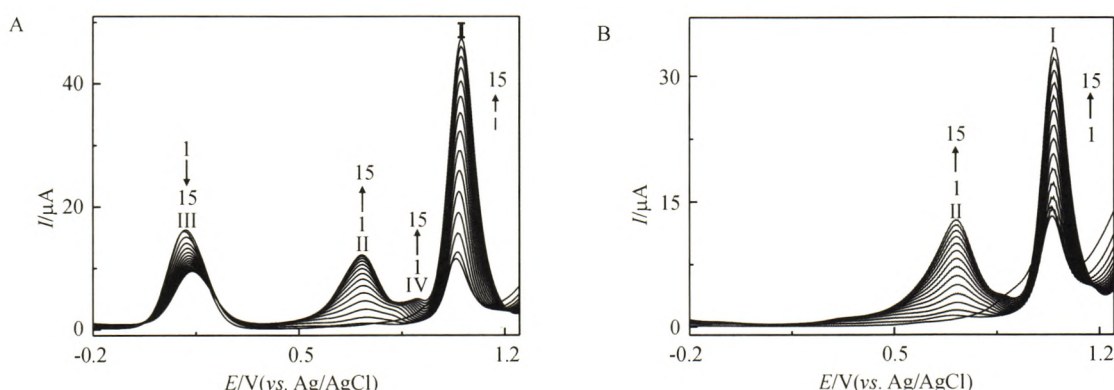


2.2 BSA-SWCNTs 促进 Ru(II) 配合物在 ITO 电极上的组装

图 3A 给出了 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+} / \text{BSA} / \text{SWCNTs} / [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 在 ITO 电极上的连续 DPV. 在第 1 圈 DPV 时,除了氧化峰 III 外,在 1.052 V 处出现一个氧化峰 I. 随着连续电位扫描的进行,不仅可观察到另 2 个氧化峰 II 和峰 IV 的出现,而且峰 I、峰 II 和峰 IV 的峰电流均随着电位扫描次数的增大而增大. 对比于无 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 存在时的 DPV(图 3B),峰 I 和峰 II 被认为是 Ru(II) 到 Ru(III) 的氧化. 对比我们以前有关多吡啶钌(II)配合物电化学性能的研究,峰 I 通常为扩散控制波,峰 II 为 Ru(II) 氧化产物在 ITO 电极上强吸附形成的前置波^[20]. 但由于加入的 BSA-SWCNTs 可以作为桥梁连接 Ru(II),很好的促进了 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$ 在 ITO 电极上的固定,导致峰 I (1.052 V) 和峰 II (0.714 V) 均随连续电位扫描次数的增大而增大,而且峰 II 较峰 I 负移了 0.338 V,所以峰 I 和峰 II 被归属为弱吸附和强吸附组装到 ITO 电极上 Ru(II) 配合物的氧化反应. 这观点也可从图 4 和图 5 的研究结果中得到进一步的证实.

当连续进行 21 次 DPV 后,在 0.1 V s^{-1} 扫速时,循环伏安图(CV)呈现的峰 I、峰 II 的氧化和还原电位分别为 1.088 V 和 1.047 V、0.738 V 和 0.705 V,氧化还原峰电位差分别为 41、33 mV. 所有扫速下氧化峰电流约等于还原峰电流,并且在 0.02 ~ 0.6 V/s 扫速范围内,峰 I 和峰 II 的氧化峰电流对扫速作图呈现一条直线(见图 4A 插图),说明峰 I 和峰 II 对应的反应符合表面电化学控制过程的特征. 当把修饰电极进一步转移至 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Tris} / 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ (pH 7.2) 溶液中,仍然观察到这两对氧化还原峰,其在图 5 所示的 SEM 图上也呈现了许多 CNTs,表明 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$ 及它的作用产物在连续 DPV 扫描过程已被组装到 ITO 电极上. 依据 Laviron E^[21] 的方法以及由图 4B 插图获得的斜率可知,组装层中 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$ 在条件电位下的反应速率常数为 0.51 s^{-1} ,是一个相对快速的电子转移过程^[22]. 另外,从对图 1 中曲线 1 和 2 的峰 II 电流对比可以知道,BSA-SWCNTs 能促进 Ru(II) 配合物在 ITO 上的电化学组装,可用反应式(2)表示:

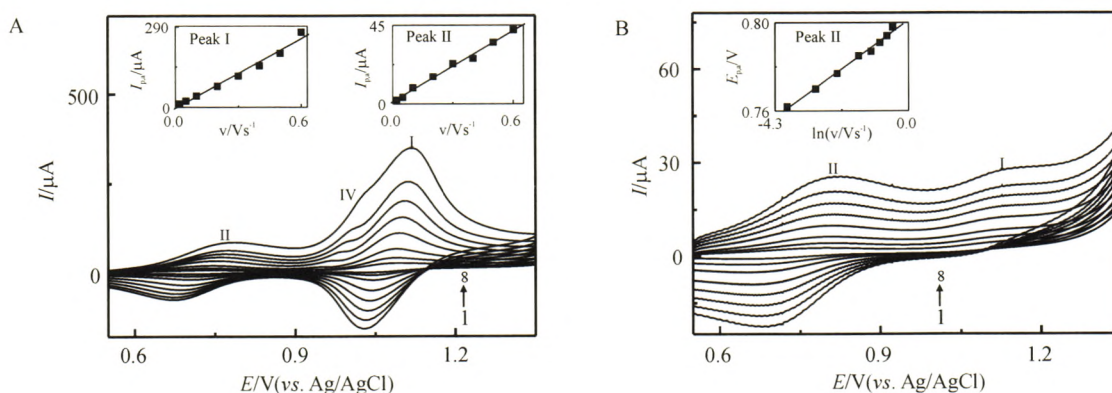




(A) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatp})]^{2+} / 0.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BSA} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SWCNTs}$; (B) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatp})]^{2+} / 0.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BSA} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SWCNTs} / 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$

图3 2个体系的连续 DPV 曲线

Figure 3 Progressive DPVs of two systems



(A) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatp})]^{2+} / 0.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BSA} / 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SWCNTs}$; (B) 由图 3(A) 制备的组装电极 / $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Tris} / 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ (pH 7.2) 扫速: (1) 0.6; (2) 0.5; (3) 0.4; (4) 0.3; (5) 0.2; (6) 0.1; (7) 0.05; (8) 0.02 V/s

图4 2个体系的 CV 图(插入图为峰电流或峰电位与扫速间的变化关系)

Figure 4 CVs of two systems (Inset shows the relations of peak currents or peak potentials with scan rate)

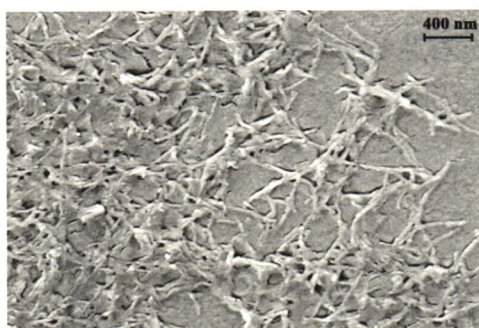


图5 由图 3(A) 制备的组装电极的形貌

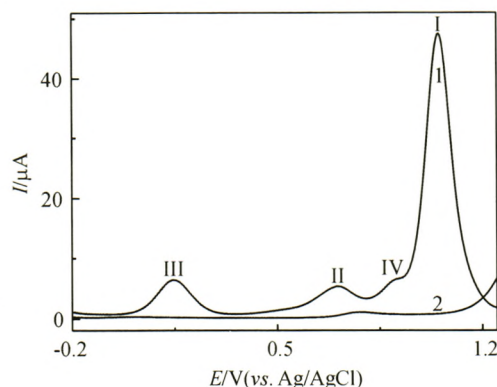
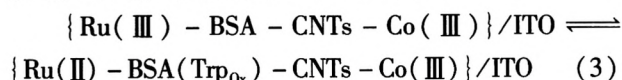
Figure 5 The pattern of the assembled electrode prepared by Figure 3(A)

2.3 $\text{Co}(\text{III})$ 配合物促进 $\text{Ru}(\text{II})$ 配合物对 BSA 的电催化氧化

值得注意的是,在含 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatp})]^{2+} / \text{BSA} / \text{SWCNTs} / [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 的缓冲溶液中进行连续 DPV 扫描时,在 0.9 V 电位可观察到氧化峰 IV。

也就是说, $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 的加入导致了峰 IV 的出现(图 3)。这现象类似于用 Trp 代替 BSA 的体系。在连续 DPV 过程不仅出现了峰 I、II、III 和 IV(图 6),而且峰高(峰 IV)随着 DPV 次数的增大而增大,同时单独 Trp 也在 ITO 电极上发生直接氧化反应,表明图 3 中峰 IV 基于 BSA 中 Trp 残基的氧化。在连续电位扫描过程中, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatp})]^{2+}$ 能被组装到 ITO 电极上,其氧化产物具有强氧化性,可能对 BSA 具有催化氧化作用,但由于 $\text{Ru}(\text{II})$ 配合物与 BSA 中 Trp 间的电子传递可能存在空间上的位阻,因此不能完成 $\text{Ru}(\text{II})$ 配合物对 BSA 的电催化氧化。然而,由于 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 和 SWCNTs 调控了 BSA 的微环境和构型^[23],进而改善了 BSA 中 Trp 与 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatp})]^{2+}$ 间的电子传递反应,结果实现了组装到电极上的 $\text{Ru}(\text{II})$ 配合物对 BSA 的电催化氧化,导致了峰 IV 的出现,且峰电流随着电位扫描次

数增大而增大,可用反应式(3)表示.



(1) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SWCNTs} / 0.07 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Trp} / 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$; (2) 0.07 mmol/L Trp

图6 2个体系的第10圈DPV曲线

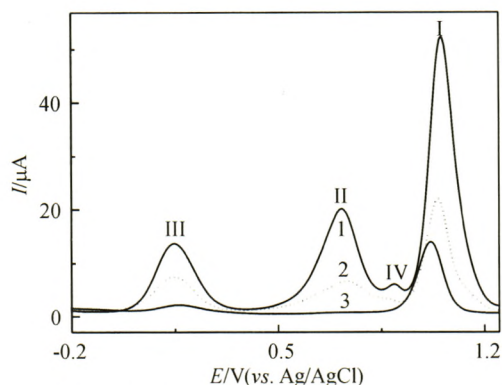
Figure 6 The 10th DPVs of two systems

2.4 影响BSA电催化氧化的因素

为了进一步阐明BSA的电催化氧化机理,研究了离子强度、Ru(II)和Co(III)配合物结构及BSA浓度对BSA电催化氧化的影响.

2.4.1 离子强度 当NaCl浓度从0.05增加到2.0 mol/L(图7),第10圈DPV图上各峰高均减小,甚至消失,说明 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+} - \text{BSA-SWCNTs} - [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 复合物的形成依赖于荷正电的 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$ 和 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 与荷负电的BSA-SWCNTs间的静电吸引作用.高的离子强度由于减弱了各组分间的静电吸引作用,因而抑制了BSA-SWCNTs对Ru(II)配合物在ITO上电化学组

装的促进作用及Ru(II)和Co(III)配合物对BSA的电催化氧化,结果4个氧化峰的峰高都被明显削弱.为了保持电解质溶液的导电性,除非特别说明,电解质溶液pH为7.2,NaCl浓度为0.05 mol/L.

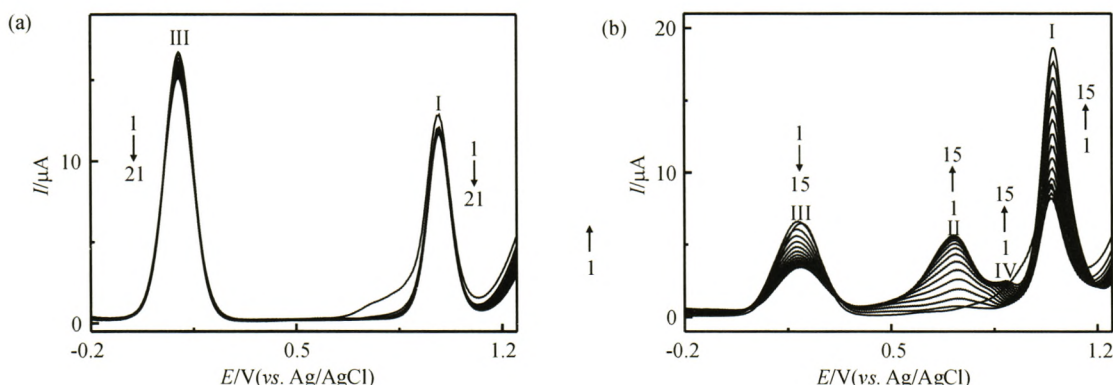


体系: $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+} / 0.8 \text{ μmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BSA} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SWCNTs} / 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$; NaCl浓度: (1) 0.05; (2) 0.5; (3) 2.0 mol/L

图7 不同离子强度下的第10圈DPV曲线

Figure 7 The 10th DPVs at different ionic strengths

2.4.2 Ru(II)配合物结构 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 和SWCNTs能促进 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$ 对BSA的电催化氧化,为了了解Ru(II)和Co(III)配合物结构是否影响BSA的电催化氧化,用 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 替代 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$ 进行了相应的实验(图8).即使加入了 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$,也只是显示峰I和峰III,氧化峰II和峰IV基本上消失.可能是由于 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 与BSA-SWCNTs间仅存在静电吸引作用,导致BSA-SWCNTs难以推动 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 吸附组装到ITO电极上,因此无法实现BSA的电催化氧化.换句话说, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+}$ 与BSA-SWCNTs间除了静



(a) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+} / 0.8 \text{ μmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BSA} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SWCNTs} / 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$; (b) $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tstp})]^{2+} / 0.8 \text{ μmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BSA} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SWCNTs} / 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} [\text{Co}(\text{phen})_2(\text{tstp})]^{2+}$, 箭头显示扫描次数的变化

图8 2个体系的连续DPV曲线

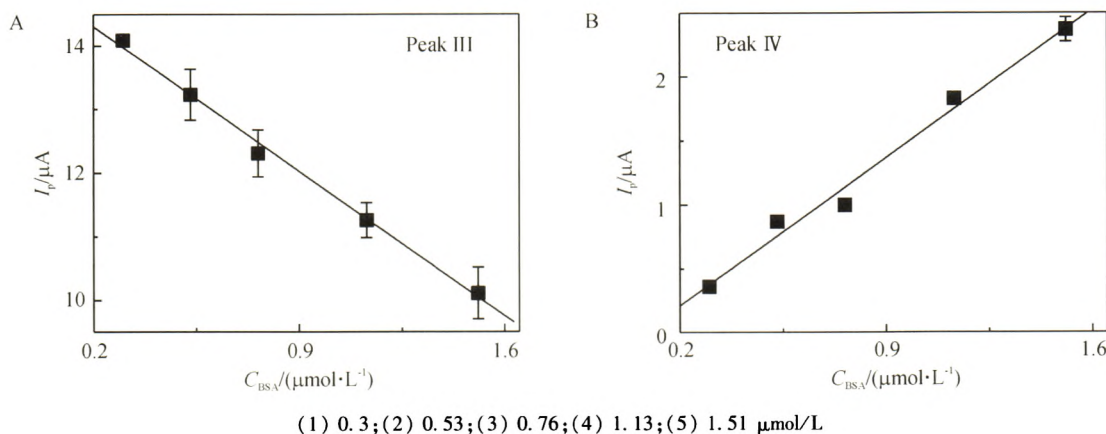
Figure 8 Repetitive DPVs of two systems

电作用,可能存在嵌入作用^[24](图2)。

2.4.3 Co(III)配合物结构与Ru(II)配合物结构的影响有所不同,当用[Co(phen)₂(tatz)]³⁺替代[Co(phen)₃]³⁺进行连续的DPV时(图8B),所显示的4个氧化峰(峰I~IV)与含[Co(phen)₃]³⁺体系的一致(图3A),结合文献的报道^[25],Co(III)配合物能基于静电作用和疏水作用键合到BSA的疏水袋中,导致BSA微环境和构型的变化,因此[Co(phen)₂(tatz)]³⁺和[Co(phen)₃]³⁺均能调控[Ru(bpy)₂(tatz)]²⁺对BSA的电催化氧化。

2.4.4 BSA浓度 显然,峰I~IV的伏安响应会受

到BSA浓度的影响(图9),峰III和峰IV的峰高与BSA浓度在0.3~1.5 μmol/L区间呈现良好的线性关系,相关系数分别为0.998和0.993,相对标准偏差分别为4.5%和4.4%。峰III电流随着BSA浓度的增大而减小,主要是由于Co(III)配合物与BSA-SWCNTs结合后导致其在溶液中质量传输速度减小。值得注意的是,峰IV的电流随着BSA浓度的增大而增大,这不仅说明了较高BSA浓度有利于促进各组分间相互作用形成复合物及BSA的电催化氧化,而且为BSA的电化学传感提供了一种新方法。



(1) 0.3; (2) 0.53; (3) 0.76; (4) 1.13; (5) 1.51 μmol/L

图9 峰III和IV的峰电流与BSA浓度的关系图

Figure 9 Plots of peak current of peaks III and IV versus BSA concentration

3 结论

通过引入多吡啶Ru(II)和Co(III)配合物及SWCNTs成功实现了非氧化还原蛋白BSA的电催化氧化。BSA-SWCNTs促进了[Ru(bpy)₂(tatz)]²⁺在ITO电极上的电化学组装,[Co(phen)₃]³⁺的加入则促进了[Ru(bpy)₂(tatz)]²⁺对BSA的电催化氧化,在0.3~1.5 μmol/L BSA浓度区间呈现良好的线性关系,相关系数大于0.993,相对标准偏差小于4.5%。通过对电位扫描次数、扫描速度、离子强度、Ru(II)或Co(III)配合物结构及BSA浓度等影响因素的研究,进一步阐明了BSA的电催化氧化机理。

参考文献:

[1] 张会娜, 郭智勇, 盖盼盼. 蛋白膜伏安法研究进展[J]. 分析化学, 2009, 37(3):461-465.
Zhang H N, Guo Z Y, Gai P P. Research progress in protein film voltammetry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2009, 37(3):461-465.

[2] 刘慧宏, 庞代文. 氧化还原蛋白质电化学研究[J]. 化学进展, 2002, 14(6):425-437.
Liu H H, Pang D W. Studies in electrochemistry of redox proteins[J]. Progress in Chemistry, 2002, 14(6):425-437.
[3] Hirsch R, Katz E, Willner I. Magneto-switchable bioelectrocatalysis[J]. Journal of the American Chemical Society, 2000, 122(48):12053-12054.
[4] 胡乃非, 李臻, 马红艳. 肌红蛋白在双十二烷基二甲基溴化铵-粘土多层复合薄膜电极上的电化学与电催化[J]. 高等学校化学学报, 2001, 22(3):450-454.
Hu N F, Li Z, Ma H Y. Electrochemistry and electrocatalysis with myoglobin at DDAB-clay multibilayer composite film electrodes[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2001, 22(3):450-454.
[5] Liu G Z, Gooding J J. An interface comprising molecular wires and poly(ethylene glycol) spacer units self-assembled on carbon electrodes for studies of protein electrochemistry[J]. Langmuir, 2006, 22(17):7421-7430.
[6] Hu Y J, Liu Y, Zhang L X, et al. Studies of interaction

- between colchicine and bovine serum albumin by fluorescence quenching method[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2005, 750(1):174–178.
- [7] Ghosh S, Jana S, Nath D, et al. Fluorescent probing of protein bovine serum albumin stability and denaturation using polarity sensitive spectral response of a charge transfer probe[J]. *Journal of Fluorescence*, 2011, 21(1):365–374.
- [8] Chen H J, Zhang Z H, Luo L J, et al. Surface-imprinted chitosan-coated magnetic nanoparticles modified multi-walled carbon nanotubes biosensor for detection of bovine serum albumin[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2012, 163(1):76–83.
- [9] Hamilton A, Breslin C B. The incorporation of bovine serum albumin into a polypyrrole film in one simple step[J]. *ECS Transactions*, 2014, 58(46):1–13.
- [10] Ji S B, Yan Z H, Wu J W, et al. One-step electrochemically co-assembled redox-active $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tatp})]^{2+}$ -BSA-SWCNTs hybrid film for non-redox protein biosensors[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 39(1):106–111.
- [11] Li Q, Chao H, Chen M J, et al. Chemical modulation of the luminescence of a DNA-bound diruthenium(II) complex by copper(II) ion and EDTA[J]. *Transition Metal Chemistry*, 2010, 35(6):707–711.
- [12] Lahiri D, Roy S, Saha S, et al. Anaerobic DNA cleavage activity in red light and photocytotoxicity of (pyridine-2-thiol)cobalt(III) complexes of phenanthroline bases[J]. *Dalton Transactions*, 2010, 39(7):1807–1816.
- [13] Hong W, Li H, Yao S, et al. Mediated oxidation of guanine by $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{dpp}]^{2+}$ and their electrochemical assembly on the ITO electrode[J]. *Electrochimica Acta*, 2009, 54(12):3250–3254.
- [14] Liu X, Qu X, Fan H, et al. Electrochemical detection of DNA hybridization using a water-soluble branched polyethyleneimine-cobalt(III)-phenanthroline indicator and PNA probe on Au electrodes[J]. *Electrochimica Acta*, 2010, 55(22):6491–6495.
- [15] Wang Y M, Xiong H Y, Zhang X H, et al. Electrochemical study of bovine serum albumin damage induced by Fenton reaction using tris(2,2'-bipyridyl) cobalt(III) perchlorate as the electroactive indicator[J]. *Electrochimica Acta*, 2012, 67:147–151.
- [16] Zwelling L A, Michaels S, Schwartz H, et al. DNA cross-linking as an indicator of sensitivity and resistance of mouse L1210 leukemia to *cis*-diamminedichloroplatinum(II) and L-phenylalanine mustard[J]. *Cancer Research*, 1981, 41(2):640–649.
- [17] Grassini-Strazza G, Sinibaldi M, Messina A. Preparation and characterization of cobalt(III) bipyridine and phenanthroline complexes[J]. *Inorganica Chimica Acta*, 1980, 44:295–297.
- [18] Liu H Y, Xu Z H, Liu X, et al. Analysis of binding interaction between bovine serum albumin and the cobalt(II) complex with salicylaldehyde-2-phenylquinoline-4-Carboylhydrazone[J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2009, 57(11):1237–1242.
- [19] Xu S D, Lu C J, Shao J Y, et al. DNA oxidation mediated by $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{tatp}]^{2+}$ upon incorporation of $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2011, 661(2):287–293.
- [20] Li H, Liu Y J, Xu J, et al. DNA-enhanced assembly of $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{ITATP}]^{3+/2+}$ on an ITO electrode[J]. *Electrochimica Acta*, 2007, 52(15):4956–4961.
- [21] Laviron E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1979, 101:19–28.
- [22] Aalstad B, Ahlberg E, Parker V D. Normalized potential sweep voltammetry: Part II: Application to heterogeneous charge transfer kinetics[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 1981, 122:195–204.
- [23] Edri E, Regev O. “Shaken, not stable”: Dispersion mechanism and dynamics of protein-dispersed nanotubes studied via spectroscopy[J]. *Langmuir*, 2009, 25(18):10459–10465.
- [24] Li H, Le X Y, Pang D W, et al. DNA-binding and cleavage studies of novel copper(II) complex with L-phenylalaninate and 1,4,8,9-tetra-aza-triphenylene ligands[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2005, 99(11):2240–2247.
- [25] Zhang Y Z, Li H R, Dai J, et al. Spectroscopic studies on the binding of cobalt(II) 1,10-phenanthroline complex to bovine serum albumin[J]. *Biological Trace Element Research*, 2010, 135(13):136–152.

【中文责编:成文 英文责编:李海航】