

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 19120051301874

UDC\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

# 赖氨酸和 DMPC 仿生膜的电化学 过程研究

**Electrochemical Process of Lysine and DMPC  
Biomimetic Membrane**

邱 瑾

指导教师姓名: 陈 声 培 副 教 授

孙 世 刚 教 授

专 业 名 称: 物 理 化 学

论文提交日期: 2008 年 7 月

论文答辩时间: 2008 年 7 月

学位授予日期: 2008 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_



**Electrochemical Process of Lysine and DMPC  
Biomimetic Membrane**



A Dissertation Submitted to the Graduate School of Xiamen  
University for the Degree of  
**Master of Science**

By

**Jin Qiu**

This work was carried out under the supervision of

Assoc. Prof. Sheng-Pei Chen

Prof. Shi-Gang Sun

At

Department of Chemistry, Xiamen University

July 2008

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(孙世刚教授)课题(组)的研究成果,获得(孙世刚教授)课题(组)经费或实验室的资助,在(SG405)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年    月    日



中文摘要.....	I
Abstract.....	II
<b>第一章 绪 论</b> .....	<b>1</b>
§1-1 电化学表面科学概述.....	1
§1-2 EQCM 技术在表面电化学和电催化中的应用.....	1
§1-2-1 EQCM 在电极表面吸附中的应用.....	2
§1-2-2 EQCM 在其它方面的应用.....	2
§1-2-3 EQCM 与其它技术联用.....	3
§1-3 表面等离子体共振光谱.....	3
§1-3-1 SPR 光谱的基本概念.....	4
§1-3-2 SPR 光谱技术的发展概况.....	5
§1-3-3 SPR 光谱分析技术的特点.....	6
§1-3-4 电化学 SPR 技术研究进展.....	7
§1-4 氨基酸的基本性质和研究进展.....	14
§1-4-1 氨基酸的基本性质.....	14
§1-4-2 简单氨基酸分子的电化学吸附和氧化研究.....	15
§1-5 生物膜的基本性质和研究进展.....	18
§1-5-1 生物膜的结构及基本性质.....	18
§1-5-2 生物膜的模型及制备方法.....	19
§1-5-3 生物膜的电化学研究.....	19
§1-5-4 基于生物膜的传感器的研究.....	21
§1-5-5 生物膜研究中膜片钳技术的应用.....	23
§1-6 本论文研究目的与设想.....	23
参考文献.....	26
<b>第二章 实 验</b> .....	<b>42</b>

§2-1	试剂.....	42
§2-2	电化学体系.....	42
§2-2-1	电极.....	42
§2-2-2	电解池.....	42
§2-2-3	电化学仪器.....	43
§2-3	电化学原位 FTIR 反射光谱实验.....	43
§2-3-1	红外电解池.....	43
§2-3-2	红外光谱仪器.....	44
§2-3-3	原位 FTIR 反射光谱.....	44
§2-3-4	红外透射池.....	46
§2-4	电化学石英晶体微天平.....	46
§2-4-1	基本原理.....	47
§2-4-2	电极及电解池构造.....	48
§2-5	表面等离子共振.....	49
§2-5-1	基本原理.....	49
§2-5-2	电化学与表面等离子体共振联合.....	50
§2-5-3	电极及电解池构造.....	50
§2-6	透射电子显微镜.....	52
§2-7	扫描电子显微镜.....	52
§2-8	台阶测厚仪.....	52
§2-9	紫外可见光谱实验.....	52
§2-10	椭圆偏振仪.....	52
	参考文献.....	53
 <b>第三章 湿化学法制备 SPR 响应的纳米金膜.....</b>		<b>54</b>
§3-1	纳米金膜自组装过程.....	55
§3-1-1	基底制备.....	55
§3-1-2	胶体金的制备.....	55
§3-1-3	金纳米薄膜的厚度对 SPR 信号的影响.....	57



§3-1-4 化学法镀金.....	58
§3-2 纳米金膜的 SEM 表征.....	58
§3-3 纳米金膜电化学应用的可行性.....	59
本章小结.....	60
参考文献.....	61
<b>第四章 碱性介质中 L-赖氨酸在纳米金膜电极上的吸附和氧化过程.....</b>	<b>64</b>
§4-1 碱性介质中 L-赖氨酸的透射红外光谱研究.....	64
§4-2 碱性介质中 L-赖氨酸在本体 Au 电极上的循环伏安研究.....	66
§4-3 碱性介质中 L-赖氨酸在 nm-Au/GC 电极上的循环伏安研究.....	66
§4-3-1 nm-Au/GC 电极的制备.....	66
§4-3-2 nm-Au/GC 电极上 L-赖氨酸吸附氧化的循环伏安研究.....	66
§4-4 碱性介质中 L-赖氨酸在 nm-Au/GC 电极上的原位 FTIR 研究.....	69
§4-5 L-赖氨酸在碱性介质中的 EQCM 研究.....	72
§4-6 L-赖氨酸在碱性介质中的 EC-SPR 研究.....	75
本章小结.....	77
参考文献.....	78
<b>第五章 对苯二酚在 DMPC 仿生膜上的电化学行为研究.....</b>	<b>80</b>
§5-1 DMPC 仿生膜制备和表征.....	81
§5-1-1 DMPC 仿生膜的制备.....	81
§5-1-2 DMPC 的红外透射光谱.....	81
§5-1-3 椭圆偏振仪测量 DMPC 仿生膜厚度.....	83
§5-1-4 DMPC 仿生膜的可能构型.....	85
§5-2 DMPC 仿生膜组装前后电化学性质的比较.....	86
§5-3 对苯二酚在金电极和 DMPC 修饰电极上的电化学反应.....	87
§5-4 DMPC 膜随电位变化的原位红外研究.....	90
§5-5 对苯二酚在本体金电极上电氧化的原位红外研究.....	90

§5-6 对苯二酚在 DMPC 膜电极上电氧化的原位红外研究.....	92
§5-7 对苯二酚在 DMPC 膜电极上电氧化的 EQCM 研究.....	94
§5-7-1 对苯二酚在 EQCM-Au 电极上电氧化的 EQCM 研究.....	94
§5-7-2 离子通道分析.....	97
§5-7-3 对苯二酚在 DMPC 膜电极上电氧化的 EQCM 研究.....	97
本章小结.....	102
参考文献.....	103
结 论.....	106
作者攻读硕士期间发表与交流的论文.....	108
致 谢.....	110

## Table of Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	I
<b>Abstract in English</b> .....	II
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	1
§1-1 <b>Preface of electrochemical surface science</b> .....	1
§1-2 <b>Applications of EQCM in electrochemistry of metal surface and electrocatalysis</b> .....	1
§1-2-1 Applications of EQCM in surface adsorption.....	2
§1-2-2 Other applications of EQCM.....	2
§1-2-3 Combination of EQCM with other techniques.....	3
§1-3 <b>Surface Plasmon Resonance</b> .....	3
§1-3-1 Basic conception of SPR.....	4
§1-3-2 Development of SPR.....	5
§1-3-3 Characteristic of SPR spectral analysis.....	6
§1-3-4 Progress studies of Electrochemical SPR.....	7
§1-4 <b>Properties and progress studies of amino acids</b> .....	14
§1-4-1 Properties of amino acids.....	14
§1-4-2 Electrochemical adsorption and oxidation of simple amino acids.....	15
§1-5 <b>Properties and progress studies of biomembrane</b> .....	18
§1-5-1 Structure and properties of biomembrane.....	18
§1-5-2 Model and preparation of biomembrane.....	19
§1-5-3 Electrochemistry of biomembrane.....	19
§1-5-4 Studies of sensor basic on the biomembrane.....	21
§1-5-5 Applications of patch clamp technique in the studies of biomambrane .....	23
§1-6 <b>Objectives and plans of this thesis</b> .....	23

---

<b>Reference</b> .....	26
<b>Chapter 2 Experimental</b> .....	42
§2-1 <b>Reagents</b> .....	42
§2-2 <b>Electrochemical systems</b> .....	42
§2-2-1 Electrodes.....	42
§2-2-2 Electrochemical cell.....	42
§2-2-3 Electrochemical apparatus.....	43
§2-3 <b>Electrochemical <i>in situ</i> FTIR spectroscopy</b> .....	43
§2-3-1 <i>In situ</i> FTIRS cell.....	43
§2-3-2 <i>In situ</i> FTIRS apparatus.....	44
§2-3-3 <i>In situ</i> FTIRS.....	44
§2-3-4 Transmission IR cell.....	46
§2-4 <b>Electrochemical quartz crystal microbalance</b> .....	46
§2-4-1 Principal of EQCM.....	47
§2-4-2 Electrode and cell of EQCM.....	48
§2-5 <b>Surface Plasmon Resonance</b> .....	49
§2-5-1 Principal of SPR.....	49
§2-5-2 Electrochemical SPR.....	50
§2-5-3 Cell and the electrode connections.....	50
§2-6 <b>Transmission electron microscopy</b> .....	52
§2-7 <b>Scanning electron microscope</b> .....	52
§2-8 <b>Step height measuring instrument</b> .....	52
§2-9 <b>UV-visible spectrum</b> .....	52
§2-10 <b>Spectro-Ellipsometer</b> .....	52
<b>References</b> .....	53
<b>Chapter 3 Preparation of SPR gold nano-film by wet chemical</b>	

---

<b>methods</b> .....	54
§3-1 <b>Self-assemble process of gold nano-film</b> .....	55
§3-1-1 Preparation of substrate.....	55
§3-1-2 Preparation of Colloid gold.....	55
§3-1-3 The influence of the thickness of gold nano-film on SPR signal.....	57
§3-1-4 Electroless gold plating.....	58
§3-2 <b>SEM characterization of gold nano-film</b> .....	57
§3-2 <b>SEM characterization of gold nano-film</b> .....	58
§3-3 <b>The feasibility of the electrochemical application of gold nano-film</b> .....	59
<b>Summary</b> .....	60
<b>References</b> .....	61

## **Chapter 4 Adsorption and Oxidation of L-Lysine on Au Film**

<b>Electrodes in Alkaline solution</b> .....	64
§4-1 <b>Infrared transmission spectra of L-lysine in alkaline solution</b> .....	64
§4-2 <b>CV features of L-lysine on bulk Au electrode in alkaline solution</b> ....	66
§4-3 <b>CV features of L-lysine on nm-Au/GC electrode in alkaline solution</b> .....	66
§4-3-1 Preparation of nm-Au/GC electrode.....	66
§4-3-2 CV features of L-lysine on nm-Au/GC electrode.....	66
§4-4 <b>In situ FTIRS of L-lysine on nm-Au/GC electrode in alkaline solution</b> .....	69
§4-5 <b>EQCM studies of L-lysine in alkaline solution</b> .....	72
§4-6 <b>EC-SPR studies of L-lysine in alkaline solution</b> .....	75
<b>Summary</b> .....	77
<b>References</b> .....	78

---

<b>Chapter 5 The electrochemical behavior of p-dihydroxybenzene in the DMPC biomimetic membrane.....</b>	<b>80</b>
§5-1 Preparation and characterization of DMPC biomimetic membrane.....	81
§5-1-1 Preparation of DMPC biomimetic membrane.....	81
§5-1-2 Infrared transmission spectra of DMPC.....	81
§5-1-3 The measurement of the thickness of DMPC biomimetic membrane using Ellipsometer.....	83
§5-1-4 The possible modle of DMPC biomimetic membrane.....	85
§5-2 Comparison of electrochemical properties before and after the assembly of DMPC biomimetic membrane.....	86
§5-3 The electrochemical reaction of p-dihydroxybenzene on bulk Au electrode and DMPC/Au electrode.....	87
§5-4 In situ FTIRS of transformation of DMPC biomimetic membrane with the electrode potential.....	90
§5-5 In situ FTIRS of electro-oxidation of p-dihydroxybenzene on bulk Au electrode .....	90
§5-6 In situ FTIRS of electro-oxidation of p-dihydroxybenzene on DMPC/Au electrode.....	92
§5-7 EQCM studies of electro-oxidation of p-dihydroxybenzene on DMPC/Au electrode.....	94
§5-7-1 EQCM studies of electro-oxidation of p-dihydroxybenzene on EQCM-Au electrode.....	94
§5-7-2 Analysis of ion channel.....	97
§5-7-3 EQCM studies of electro-oxidation of p-dihydroxybenzene on DMPC/Au electrode.....	97
<b>Summary.....</b>	<b>102</b>

<b>References</b> .....	103
<b>Conclusions</b> .....	106
<b>Publications list during M.S. study</b> .....	108
<b>Acknowledgements</b> .....	110

## 摘 要

本论文运用电化学循环伏安、原位红外光谱、电化学石英晶体微天平和表面等离子体共振等技术研究了赖氨酸在金电极表面的吸附和氧化,以及对苯二酚在 DMPC 仿生膜上的电化学行为。主要结果如下:

1. 为了建立 EC-SPR 系统装置,用于电化学过程的研究,我们将金纳米粒子单层自组装与化学镀金技术相结合成功地用于湿化学法制备 SPR 响应基片,克服了真空溅射法制备的 SPR 镀金片的局限。

2. 检测到碱性介质中赖氨酸在低电位区间(-0.95V~-0.80V, vsSCE)即可发生 C-C键断裂,  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ 解离生成表面吸附态的  $\text{CN}^-$ 。同时赖氨酸阴离子的羧基侧还可通过两个氧原子与金电极表面相互作用。在-0.8至0.0 V 区间,  $\text{CN}^-_{\text{ad}}$ 可稳定存在于电极表面。当电位进一步升高,  $\text{CN}^-_{\text{ad}}$ 发生氧化生成  $\text{NCO}^-$ 、 $\text{OCN}^-$ 和  $\text{AuCN}$ 。同时赖氨酸也发生氧化生成  $\text{CO}_2$ 和  $\text{CO}_3^{2-}$ 。发展了氨基酸分子在金电极表面的吸附和氧化机理的认识。

3. 在金电极上构筑了一种双肉豆蔻磷脂酰胆碱(DMPC)仿生浇铸膜,研究了对苯二酚在这种仿生膜上的氧化过程并探讨其反应机理。探测到DMPC仿生膜构型和分子取向随着电位升高会发生变化,并且对苯二酚能够通过膜内的离子通道达到电极表面发生氧化还原。反应在仿生环境内进行,也为研究生物小分子在真正的生物体内的反应提供有益的帮助。

本文研究了氨基酸在 Au 表面上的解离吸附和氧化过程,对于从分子水平揭示氨基酸等生化分子与金电极表面的相互作用规律具有重要意义,同时在电催化、药物化学及生物传感器等方面亦具有应用价值。对苯二酚能够在脂质膜中进行电子转移,是一种重要的生物分子。本论文探讨了对苯二酚在仿生膜修饰电极上的电化学行为,为生物膜中的电子转移过程提供了十分重要的信息。

**关键词:** Au 电极; 赖氨酸; DMPC; 对苯二酚; 吸附和氧化; SPR; EQCM; *in situ* FTIRS



## Abstract

The adsorption and oxidation of lysine on Au electrodes in alkaline solutions, and the electrochemical behavior of p-dihydroxybenzene in DMPC biomimetic membrane were studied using cyclic voltammetry (CV), *in situ* FTIR spectroscopy (*in situ* FTIRS), electrochemical quartz crystal microbalance (EQCM) and electrochemical surface plasmon resonance (EC-SPR). The main results are listed below.

1. We have developed a new and alternative approach for preparing SPR active gold substrates. Our strategy is based on self-assembly of gold colloid monolayer and followed by electroless gold plating. The method affords facile control of both the thickness and the surface roughness of the resulting gold films on the nanometer scale, and the as-prepared substrates are more suitable for electrochemical studies.

2. The dissociative adsorption of lysine on Au surface can occur in low potential region, and the chemisorbed species were identified as adsorbed  $\text{CN}^-$  species. Another reversibly adsorbed species may be the deprotonated amino acid, which were bound to the surface by both oxygen atoms of carboxyl group. The  $\text{CN}_{\text{ad}}^-$  species which derived from  $-\text{CH}_x\text{NH}_2$  group are stable on Au electrodes in the potential region from -0.8 to 0.0 V, and can be oxidized to  $\text{NCO}^-$ , cyanate ( $\text{OCN}^-$ ), and gold cyanide ( $\text{AuCN}$ ) species. Concomitantly, lysine was also oxidized to  $\text{CO}_2$  and  $\text{CO}_3^{2-}$ . It has developed the knowledge concerning the reaction mechanism of amino acids.

3. We have used the casting method to form DMPC mimetic biomembrane on an Au electrode. The electrochemical behavior of p-dihydroxybenzene in this membrane was investigated. The orientation of the DMPC molecules could be changed with increasing electrode potential. P-dihydroxybenzene can reach the electrode surface and occur redox reactions by passing through the ion channels of biomembrane. This reaction occur in the bionic environment, which provide the useful help to study the real reaction of small molecules in the biological organisms.

The results obtained in this thesis have thrown a light on elucidating the interaction mechanism of amino acid molecules with Au surfaces at molecule level.

The current studies are also of importance in electrocatalysis, medication and bio-sensors applications. P-dihydroxybenzene is biologically important molecule because of its function of transferring electrons in lipid layers. Studies on the electrochemical behavior of p-dihydroxybenzene in the DMPC biomimetic membrane provide useful information for elucidating biological electron transfer processes concerning lipid layers.

**Keywords:** Au electrode; L-lysine; p-dihydroxybenzene; Adsorption and oxidation; SPR; EQCM; *in situ* FTIRS

## 第一章 绪论

### § 1-1 电化学表面科学概述

电化学作为物理化学的一个重要分支,是研究电子导体和离子导体界面现象及各种效应的一门科学。自 20 世纪 70 年代以来,电化学主要朝两个方向发展:一方面是电化学与各种学科交叉的横向发展,如光谱电化学、电催化、生物电化学和导电高聚物等领域;另一方面是电化学从宏观到微观、从唯像到原子和分子水平的纵向发展,人们开始利用各种先进手段获取电极界面各种吸附物种和反应中间体多维的信息,在微观层次和分子水平探索电极及界面结构和性质及其反应机理。电化学作为绿色化学的一个重要分支,在化工、能源、材料、环保和生命科学等领域扮演着重要角色,在自然科学研究中具有十分重要的地位<sup>[1-3]</sup>。

传统电化学研究方法主要以电信号作为激励和检测手段,通过电流、电压的测量获得电极|溶液界面结构、电化学反应机理和动力学性质等信息。虽然这些方法具有高灵敏度和定量分析的优点,如可以检测到千分之一的单层吸附,但都存在一个局限性:不具有分子表征能力。对于复杂反应,仅能提供电极|溶液界面和电极表面的各种平均信息<sup>[5]</sup>。20 世纪 60 年代开始发展起来的原位光谱电化学技术,将谱学技术(紫外可见 UV-vis、表面增强拉曼散射 SERS、红外光谱 IR 等)与电化学方法相结合,实现了在电化学反应进行的同时对电极|溶液过程进行原位检测,获取分子水平信息<sup>[4-6]</sup>。80 年代末扫描隧道显微镜(STM)技术的应用使得在实空间原位观察电极表面结构成为可能<sup>[7]</sup>。此外,其它的谱学技术如表面等离子共振光谱(SPR)、微分电化学质谱(DEMS)、电子磁共振(ESR)等也被相继应用到固|液界面的原位研究,不仅深化了对电化学表面及其反应过程的认识,而且极大地丰富了表面电化学科学的内涵。

### § 1-2 EQCM 技术在表面电化学和电催化中的应用

电化学石英晶体微天平(EQCM, Electrochemical Quartz Crystal Microbalance)是在传统的QCM技术基础上发展起来的新型检测技术。QCM是基于石英晶振频率随表面质量线性变化而进行测量的一种方法。它是根据Currie兄弟发现的正压

电效应发展而来。它可以提供电极表面纳克级质量变化的信息。EQCM目前已经被广泛应用于表面电化学、电催化和生物传感等方面。单面触液的压电石英晶体既是QCM的激励电极,同时也是电化学系统的工作电极。EQCM技术虽然不能识别表面物种,但通过实时测量电化学反应过程中由于电极表面物质的吸脱附和氧化还原等过程引起的石英晶体振荡频率的改变(即表面质量的变化),可以为反应机理的推测间接地提供有价值的参考信息。此外EQCM还可以检测非电化学活性物种在电极表面的行为,从而有助于认识电极表面的非电化学过程。

### § 1-2-1 EQCM 在电极表面吸附中的应用

EQCM作为研究吸附过程和机理的有力而广泛的工具之一,是基于对电极表面吸附物种(包括离子、溶剂分子、生物分子、气体和表面活性剂分子等)质量的实时监测。由此可以在原子分子水平层次获得定量数据,用于分析吸附物种的种类、取向和价态等。

EQCM首次应用于电极表面氧化还原过程是研究 Au 电极上 O 单层吸附的形成过程<sup>[8]</sup>。酸性溶液中 Au 电极在双电层频率的变化可归结为水分子吸附形式的改变以及阴离子的吸附<sup>[9]</sup>。而碱性介质中双电层区频率的升高则是由于在零电荷电位附近,原子量较大的  $K^+$ 被较轻的  $OH^-$ 所取代引起的<sup>[10]</sup>。卤素阴离子在金属电极表面的电化学吸附行为也得到了广泛研究<sup>[11-12]</sup>。Lei 等人<sup>[11-12]</sup>用 EQCM 方法比较了卤素离子 X 在 Au(111) 上的吸附行为,得出它们在 Au(111)面上吸附的强弱顺序为:  $I^- > Br^- > Cl^- > F^-$ , 此外 X 的吸附还会直接影响电极表面水的吸附量。Hoffmannova<sup>[13]</sup>研究了电位诱导下二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)在金电极表面的吸附模式; Bahenay 运用 EQCM 研究了 Pt 电极上聚乙二醇与  $Cl^-$ 的共吸附行为<sup>[14]</sup>。Wu 等<sup>[15]</sup>研究了 Sb 修饰 Pt 表面 CO 的吸附和氧化,指出 CO 可以和 Sb 形成混合吸附层,吸附态的 Sb 对 CO 的氧化具有催化作用。

### § 1-2-2 EQCM 在其它方面的应用

基于EQCM对质量的敏感性,聚合物修饰电极研究也是EQCM在电化学应用中的另一个活跃领域,它可以监测表面修饰膜的生长、厚度、膜内的质量传输和

膜上的电沉积等信息<sup>[16-17]</sup>。此外, EQCM还被广泛应用于自组装膜的表征以及物质相变动态过程研究等<sup>[18]</sup>。

### § 1-2-3 EQCM与其它技术联用

EQCM与其它技术尤其是光谱电化学技术相结合是一个重要的发展趋势。通过将EQCM与光谱电化学联用, 可以并行获取来自光谱、压电(质量、粘度等)及电化学(电流、电量)的多维、原位的信息, 从而更深入地认识反应机理<sup>[19-20]</sup>。目前所联用的谱学技术包括FTIR、UV-vis、Raman、DEMS、电化学扫描隧道显微技术(SECM)、电化学阻抗谱(EIS)、光电子能谱(XPS)、探测束偏转(PBD)、荧光检测(FD)和椭圆偏振光谱(SE)等技术。这些联用技术已广泛应用于电极表面物种吸附、金属欠电位沉积与溶解、自组装单分子膜和导电聚合物膜形成、金属腐蚀、纳米微粒生长、锂电极充放电循环过程监测研究等过程。如Jusys等<sup>[21]</sup>联用DEMS和EQCM技术研究了CO在Pt和Pt-Ru电极上的吸附和氧化; 谢青季等将UV-Vis和EQCM联用研究了聚邻苯二胺膜中两种链结构的转化<sup>[22]</sup>; 此外还将FD与EQCM相结合研究了碱性介质中吡哆醇<sup>[10]</sup>和维生素B6<sup>[23]</sup>在Au表面的吸附和氧化行为。Aurbach等<sup>[24]</sup>将EQCM与FTIR、AFM和EIS联用研究了非活性金属在不同电解液中SEI膜的形成; 而Bruckenstein及其合作者<sup>[25]</sup>更是将EQCM、旋转环盘电极(RRDE)、XPS和飞行时间二级离子谱(TOF-SIMS)联用来研究电极过程。其它的联用技术还包括: 将电化学暂态技术与毫秒级时间分辨EQCM(Time-resolved EQCM)联用, 测定甲酸在Pt电极上吸附氧化的动力学常数<sup>[26]</sup>; 将流动注射技术与EQCM技术联用(FL-EQCM), 通过改变微反应器中溶液组份、溶液温度、调节流速等方式来研究物种吸附的可逆性和质量转移速率、表面抗体-抗原之间的相互作用等<sup>[27-29]</sup>。

总之, 多学科之间的交叉、多种表征技术的联用已成为近年来电化学研究的重要特色。通过联用, 不同技术之间相互补偿和印证, 从不同角度全面反映研究对象也是当代压电技术发展一个重要趋势。

### § 1-3 表面等离子体共振光谱

## § 1-3-1 SPR 光谱的基本概念

### (1) SPR的基本概念

表面等离子体共振光谱(Surface Plasmon Resonance, SPR)是一种灵敏的表面实时光谱分析技术。

等离子体(Plasma)一词是1929年Tonks和Langmuir<sup>[30]</sup>在研究气体放电中的振荡时首次提出的概念,他们用这个词来描述带电粒子的集合体。目前,物理学中普遍将等离子体认为是由大量自由电子和离子组成的,且在整体上表现为近似电中性的低密度的电离气体,也称为物质的第四态。从广义上看,非气体的聚集体,只要含有大量的正负带电粒子,且呈电中性,也称为等离子体。

Surface Plasmons(SPs)是指表面(金属与介质界面)的电荷密度波。平面偏振光通过光学元件耦合激发SPs的光学现象被称为SPs的共振。Plasmon的实质是一种沿两相界面传播的电磁波。

### (2) SPR产生条件

电磁波发生共振的条件就是两个波具有相同的频率和波长,且传播方向一致。若隐失波与SPs波的频率和波矢相同,则二者将发生共振。共振时,界面处的全反射条件将被破坏,呈现衰减全反射,即反射出现最小值。反射强度是入射波长或入射角的函数,因此其最小反射率的出现点即为共振波长或共振角。

### (3) SPR的特性及影响因素

SPR光谱可以用3个基本的特征参数描述,即共振角(或共振波长)、共振峰宽度(共振峰高一半处的波宽)和共振深度(共振峰的高度,即相对能量反射率)<sup>[31]</sup>。而这三个特征参数则取决于金属薄膜及其表面介质的光学参数:膜厚度 $d$ 、折射率 $n$ 和吸收系数 $k$ 。

金属薄膜的折射率 $n$ 是影响共振半峰宽度和共振深度的主要因素,随着膜折射率的增加,共振半峰宽增大,深度减小。金属薄膜的厚度 $d$ 是影响共振深度的重要因素,随着膜厚度的增加,共振深度变小,当膜厚度超过一定值时,共振峰将消失。当膜厚度在某一数值时,反射光强度近似为零,共振深度达最大。一般在55nm左右时,共振深度达到最大点。事实上, $n$ 、 $k$ 和 $d$ 这三个参数是互相制约的,彼此并不独立。当厚度 $d$ 增加时,折射率 $n$ 随之增大,而吸收系数 $k$ 则变小。所以,常把膜厚度做为首要考虑因素。

在SPR实验体系中,金属膜表面一般都吸附多层介质,当介质膜超过3层时,从理论上计算各光学常数将变得十分复杂。故在此仅以金属膜上吸附一层介质的情况加以讨论。

为讨论简单起见,首先设定吸收系数 $k$ 为0。在固定膜厚度的情况下,介质折射率的变化不仅影响共振峰位置(共振波长或共振角的值),且影响其半峰宽。当折射率增加时,共振角明显增大,半峰宽也略变大。在SPR光谱研究中,一般折射率变化与对应共振信号的改变作图,其低利率为SPR传感器的灵敏度。介质膜厚度的影响与折射率的影响十分相似。固定介质折射率,改变膜厚度,其SPR曲线形状与固定膜厚度、改变折射率时的曲线的变化相同。

对于吸收性介质,其 $k$ 值不为零,吸收性介质对SPR光谱的影响十分显著。但对于较薄和较厚的金属膜,影响结果却非常不同,虽然均使SPR光谱的共振半峰宽加大,共振峰位置向数值增大的方向移动,但对共振深度的影响结果却完全相反。当金属膜较薄时,共振深度显著增大,而当金属膜较厚时,共振深度明显减小。固定介质膜厚度和折射率,吸收系数对共振深度和共振半峰宽均有较强的影响,而对共振峰位置影响却较小。随着 $k$ 增加,半峰宽明显增大,共振深度明显减小;当 $n$ 增大时,共振角度增大,且半峰宽减小。介质膜厚度的增加,虽然也使共振角增大,但增加幅度较小,同时也使半峰宽增大。

### § 1-3-2 SPR 光谱技术的发展概况

SPR的研究可追溯到1902年,当时物理学家R.W.Wood<sup>[32-33]</sup>首先发现了SPR现象。他用一个连续的偏振光源照射一块金属薄片时,在背景中观察到一种异常的明暗相间的谱带,当时这种现象并未受到人们的重视。直到39年后的1941年,Fano<sup>[34]</sup>才对此光学现象进行了解释,认为它产生于金属和空气界面上表面电磁波的激发。随后有人对金属块状中自由电子的运动进行了研究<sup>[35]</sup>,提出了Volume Plasmon的概念,认为它是在金属中体积电子密度的一种纵向波动。

1957年,Ritchie<sup>[36]</sup>以此概念为基础,从理论上阐述了电磁波传输过程中在金属薄片的边界上存在能量损失峰,并提出了属于金属表面固有的Plasmon的振荡模型。1959年,Powell和Swan<sup>[37]</sup>通过实验证实了Ritchi理论的正确性。1960年,Stern和Farrell<sup>[38]</sup>研究了此种模型产生共振的条件,第一次提出了Surface Plasmon的概念。

这一概念被人们逐渐所接受,认为金属中自由电子是一种高密度的电子流,而 Surface Plasmon是在这种流体表面上的疏密波,它沿着金属和介质的界面传播。使 SPR 成为一种真正实用的光谱技术,具有划时代意义的工作是由 E.Kretschman<sup>[39]</sup>和 A.Otto<sup>[40]</sup>完成的。1968年他们分别采用衰减全反射法,利用金属薄膜和棱镜间不同的光学耦合,实现了 SPR 的光学激发。这使得通过简单的光路组合研究 SPR 现象成为可能。他们的工作激发了人们对 SPR 现象的浓厚兴趣,随后,大量的工作是在此基础上致力于 SPR 光学性质的研究。1978年 Pockrand 和 Gordon<sup>[41]</sup>将 SPR 首次应用于表征有机单层膜的性质。1980年 Gordon 等人<sup>[42]</sup>第一次采用 SPR 研究了电化学界面的性质。1982年 Nylander 和 Liedberg 等人<sup>[43-44]</sup>首次将 SPR 技术用于化学传感器领域,并成功地研制了第一个 SPR 生物传感器。

进入二十世纪九十年代以后,由于 SPR 在生物分子相互作用研究中显示出的独特优势,许多化学家、物理学家和生物学家开始进行 SPR 技术及应用的研究工作,特别是 SPR 商品仪器 BIACORE 的问世,使 SPR 研究呈现了蓬勃发展的局面。研究领域涉及化学、生物等许多方面<sup>[45-63]</sup>,是目前人们十分关注的一个热点研究方向之一。

### § 1-3-3 SPR 光谱分析技术的特点

SPR 是一种灵敏的表面实时光谱分析技术。由于它响应于两相界面膜的折射率  $n$ 、吸收系数  $k$  和膜的厚度  $d$  值的变化,因此 SPR 能够用于检测与膜的性质及其厚度变化有关的反应及其过程。目前主要应用的领域包括有机薄膜性质的表征,测定分子的浓度和质量,蛋白质吸附以及自组装和层一层组装等许多过程的研究,更重要的是 SPR 特别适合于生物分子识别及其相互作用的研究。作为一种表面分析方法,SPR 与其它表面分析技术有所不同,主要特点可归纳如下<sup>[64]</sup>:

- (1) SPR 的光源具有双重作用,既作激发 SPR 的光源,又作 SPR 光谱的检测光源。光路不通过本体溶液,因此测量信号一般很少受到本体溶液的背景干扰。
- (2) 具有较高的灵敏度。SPR 是基于衰减全反射的原理,隐失波电场在界面处会被放大,因此,方法本身具有较高的灵敏度。
- (3) 在分子识别及其相互作用的研究中具有独特的优点。其一,SPR 不仅可以通过分子识别反应(如抗原-抗体,配体-受体的反应等)灵敏地鉴别和测量相应



分子的浓度和质量,而且可实时、原位地用于反应的动态过程研究,并很方便地求出相关反应的动力学常数(如吸附常数、平衡常数、键合和解离常数等)。其二,SPR方法不需要对样品进行标记,可直接检测待测物的浓度变化。由于分子识别和相互作用时介质层的折射率会发生变化,SPR的共振角随即发生改变,从而可方便地得到其质量和浓度的信息。它并不像其它的生物分析方法(如放射免疫法和荧光免疫法等)那样,需要繁琐、费时的标记,通过标记物质产生的信号变化来确定待测物的种类和数量。其三,是SPR技术分析生物样品时,可不需预先对样品进行预处理和纯化,可直接用于分析。由于抗原-抗体反应、配体-受体反应的专一性,可确保待测物在混合物中被特异性的识别,非特性吸附的干扰可通过洗脱进行消除。

(4) SPR可进行多通道的同时检测,并且光路可聚焦到很小, $\mu\text{m}$ 甚至 $\text{nm}$ 的范围内,因此非常适合于制备SPR阵列传感器。

(5) 由于SPR的响应仅几百 $\text{nm}$ 厚度的范围内,因此它特别适合于超薄膜的性质表征。

(6) SPR技术很容易与其它分析技术如:质谱、红外、紫外、电化学、光声电磁和光热光谱等结合起来,可获得多种信息。

(7) SPR中使用的Au膜或Ag膜一般仅 $50\text{nm}$ 左右,本身是一个良好的纳米界面,因此很适合于物质(特别是生物分子)在纳米界面上性质及其构象变化的研究。

### § 1-3-4 电化学 SPR 技术研究进展

SPR是两相界面的一种表面电荷密度波,它对两相界面性质的变化非常敏感;而电化学反应是一个固有的两相界面过程,用于产生SPR的Au膜是电化学研究中一种常用的工作电极,因此SPR技术能够有效地和电化学技术结合起来,用于电化学界面有关过程的研究。自1980年Gordon等人<sup>[65]</sup>首次将SPR技术应用于有机薄膜性质的研究以来,SPR技术在电化学领域的研究得到了较大的发展。特别是近期,有关电化学SPR技术的论文迅速增加,使其成为目前人们倍受关注的一个热点研究方向。其研究领域主要涉及以下几个方面:

#### (1) 无机、有机薄膜的电化学SPR研究

相对于氧化金膜的形成而言,阴离子的特性吸附能引起更大的折射率变化,

折射率变化的时间微分曲线能反映出无电活性阴离子的吸附/解吸过程,而在CV图上却不能观察到<sup>[66]</sup>。纳米金属粒子表面其它金属的欠电位沉积(UPD)将引起SPR吸收的显著蓝移,银欠电位沉积到铂胶粒上将形成均相的银壳层,而金沉积到银胶粒上则将导致合金化<sup>[67]</sup>。Weber研究小组<sup>[68]</sup>利用光导纤维SPR技术表征了电沉积的普鲁士蓝膜的性质。他们证实,当普鲁士蓝(Prussian Blue, PB)和普鲁士白(Prussian White, PW)受电极电位的调制而相互转化时,SPR波长扫描曲线由于膜氧化还原前后介体性质的改变会发生很大的变化,且观察到的电流响应和SPR响应都与溶液中的阳离子有关,其中 $K^+$ 的响应性和可逆性最好,但由于PB在可见区的强吸收限制,只能给出定性的结果。美国Wisconsin大学的Corn等人<sup>[69-72]</sup>将电化学与SPR技术结合起来,基于交变电场作用下的光电效应测定了自组装磷酸锆多层膜中的电场强度及其分布。该方法也可用于研究两种或两种以上中心非对称分子单层膜共存时膜间的干涉效应,表明了这种膜的方向有序性,这种干涉效应也可通过多个中心非对称分子单层膜经过适当的组合而加以消除。

Georgiadis等人<sup>[73]</sup>用EC-SPR研究导电聚合物薄膜的性质。通过恒电流电解甘菊环(azulene, 乙腈作电解质)在Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Au电极表面形成导电聚合物膜,用SPR测定了氧化态(+1.0V)和还原态(-0.30V)的介电常数和膜厚,表明氧化态的吸收系数比还原态的吸收系数大,且还原态膜的厚度比氧化态膜的厚度小,认为与还原态时阴离子释放引起膜的收缩有关<sup>[74]</sup>。在0.1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.5M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>介质中恒电位聚合的聚苯胺膜从还原态(0.0V)到氧化态(0.4V)转变时,膜厚从150nm膨胀到180nm<sup>[75]</sup>。且氧化还原态互变时,可观察到两种动力学性质不同的SPR响应;电位变化瞬间的快速响应与膜折射率的变化有关;而这之后的慢速响应则与膜的膨胀和收缩有关。膜收缩时得到两个指数SPR动力学常数(分别为 $9 \times 10^{-3}$ ,  $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ ),认为与膜疏水骨架的变形而生成亚稳态以及有序的密堆积结构的形成有关;而膜膨胀时只得到一个指数SPR动力学常数( $3 \times 10^{-4} s^{-1}$ )。Knoll小组<sup>[76]</sup>以及董绍俊小组<sup>[77-78]</sup>将电化学方法和SPR技术相结合,分别独立地对聚苯胺的电化学聚合行为、聚苯胺膜在电化学氧化还原过程中膜的溶胀/收缩行为以及阴离子的掺杂/去掺杂行为进行了详细的考察。EC-SPR试验表明,间-丙烯酸酰胺苯基硼酸与丙烯酸酰胺的共聚物凝胶膜在葡萄糖存在与不存在时也将发生反复的膨胀和收缩,膜膨胀的幅度与溶液中葡萄糖浓度成正比,借此可构建相应的葡萄糖传感器<sup>[79]</sup>。鼠心脏

肌肉细胞中的钠离子通道蛋白质肽段N末端经酚修饰后能电化学氧化聚合到电极表面,SPR可实时研究该肽段在多克隆特性抗血清培育时的生长过程及配体—受体相互作用<sup>[80]</sup>。对超高真空沉积的中性bis(ethylenedithio) tetrathiafulvalene膜,电化学掺杂后显示出一定的导电性,SPR研究表明掺杂后介电常数发生了变化,掺杂过程首先从电极—膜界面开始并逐渐向外扩展<sup>[81]</sup>。

最近,Knoll小组<sup>[82]</sup>将SPR谱和表面等离子体(surface plasmons,SPs)增强的发光光谱同电化学技术联用,首次对聚(3,4-亚乙二氧基噻吩)(PEDOT)超薄膜的发光性质进行了测定。电化学SPR谱和SPs增强的发光光谱技术能在中性态记录PEDOT超薄膜的微弱发光。在电位相关的掺杂/去掺杂过程中,可观察到明显的膜的发光开关转换现象。

## (2) 电化学 SPR 技术用于金属离子的测定

双硫脲在络合滴定分析中是一种常用的络合剂,能够用于一些金属离子的络合滴定分析中。英国 Liverpool 大学的 Schiffrin 研究小组<sup>[83]</sup>通过化学键合或聚合物包埋等方法将含双硫脲的聚苯乙烯膜或者它的二羧酸衍生物的琼脂糖膜固定在金电极表面,采用 SPR 检测过渡金属离子存在下双硫脲膜的光学性质变化,进而测定过渡金属离子  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ 。美国 Washington 大学 Chinowsky 等人<sup>[84]</sup>将 SPR 与阳极溶出伏安法(ASV)结合起来,可灵敏地检测到  $500\text{ nM Pb}^{2+}$  和  $\text{Co}^{2+}$ 。通过分析电沉积时 SPR 信号的波长位置和共振深度,可知是何种物质在电极上还原。ASV-SPR 也可用于研究  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  在 Au 电极表面的沉积和溶出过程<sup>[85]</sup>, SPR 信号可消除由电流作测定信号时大面积工作电极引起的较大噪声的影响。

## (3) 电化学界面电极电位对 SPR 响应的影响

电极电位的变化能够引起电化学界面电子性质的变化,因此对SPR响应有一定的影响。电极电位对SPR响应的影响是EC-SPR技术中最基本、也是最关键的问题。一些小组已经开展了这一方面的工作。Kotz等人<sup>[86]</sup>观察到固定入射角时,高于零电荷电位时,随电位变正,共振入射光波长向长波方向移动;而在低于零电荷点电位时,共振入射光波长随电位变化不大。认为SPR的共振频率线性于表面电子密度的平方根,在正电位区域,电场强度拖尾在金属内部,则表面电子密度有所降低;而在负电位区域,电场强度拖尾在金属以外,过剩电荷将主要使双电层厚度增大,而电子密度变化不大。平行于表面的波矢量 $k$ 较大时,表面电磁

波被限定在静电场的穿透距离内, 因此电极电位的影响较大; 而 $k$ 较小时, 表面电磁波在金属内的扩展深度增加, 则电极电位的影响变小。Tadjeddine等人<sup>[87]</sup>观察到, 在镀Hg膜Au电极表面上有阴离子特性吸附发生时这种电位的调制会加剧, 这与特性吸附离子对表面静电场的屏蔽作用有关。综合各种影响因素, 后来提出了多层(包括电极表面区域, 沉积层, 离子或分子吸附层, 扩散层等)模型<sup>[48]</sup>, 认为电极电位对SPR的影响应为各层响应变化的贡献之和, 且SP共振位置的变化主要与电位对离子相的影响有关, 而SPR曲线形状的变化主要与表面电荷性质有关。

此外, SPR致敏于电极电位的变化也有有利的一面。SPR的光强用CCD (Charge-Coupled Device)检测时可用于电极表面电振荡反应( $S_2O_8^{2-}$ 的还原)电极电位的二维分布研究, 该电极电位的时空变化速率与神经纤维的受激反应传播速度相当, 比化学系统中反应-扩散的传播要快得多<sup>[89]</sup>, 且其传播速度与电解质的电导率有关<sup>[90]</sup>。实验结果表明, 电化学方法和SPR技术相结合可以研究电化学体系的时空图案形成。在另一个实验中, 他们还观测到了电极表面Turing-形图案的形成<sup>[91]</sup>。Balss等人<sup>[92]</sup>还通过动态电化学电势梯度来控制电化学反应, 用SPR图像法研究了Cu在Au膜上沉积与溶出的电化学反应。

#### (4) 电化学过程的 SPR 研究

SPR能够研究某些电化学过程如吸附/脱附、电极表面的修饰以及氧化/还原等过程。日本NTT公司的Iwasaki和Niwa研究小组将SPR与循环伏安法结合起来, 研究了烷基硫醇单层膜的电化学脱附<sup>[93-94]</sup>、甲基兰的吸附和 $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ <sup>[95]</sup>的氧化还原等过程。

Schlereth研究小组<sup>[96]</sup>在Au电极表面修饰一层荷电(如有羧基或胺基末端)的烷基硫醇分子膜后, 可使细胞色素C的电化学反应的可逆性提高, 也可防止它在电极表面的不可逆吸附而在电极表面形成变性的隔离层。时间微分 $\Delta\theta/\Delta t$ -E曲线表明, 细胞色素C的吸附/脱附过程与电极电位有关。而细胞色素C氧化酶在电极表面吸附后, 受较高浓度细胞色素C的调制, 电极电位变化时, 伴随着构像的转变。

Tao等人<sup>[97]</sup>证实多波长SPR光谱技术能够用于氧化还原蛋白质在电极表面的构象变化及其氧化还原电子传递过程的研究。共振角的变化( $\Delta\theta$ )与膜的折射率的

变化( $\Delta n$ )和膜厚度的变化( $\Delta d$ )有关:

$$\Delta\theta(\lambda)=C_1\Delta n(\lambda)+C_2\Delta d$$

因此,当吸附在Au膜上的细胞色素C受电极电位的调制在氧化态和还原态之间转变时, $\Delta\theta$ 随 $\lambda$ 有较大的变化,表明与吸收有关的分子氧化还原态的变化有关。当入射光波长 $\lambda$ 远离共振峰附近时, $\Delta\theta$ 值与 $\lambda$ 的变化无关,趋于一定值,说明细胞色素C由氧化态到还原态转变时引起了膜厚的变化,此膜厚度的变化是由构像的变化引起的,因此SPR信号可用于研究蛋白质分子氧化还原态变化时引起的构像变化。由以上研究结果可得到启示,通过选择适当的波长范围,使膜的某一性质表现出来,而其它性质的变化对SPR信号的变化没有贡献。

ECSPR技术也可用于研究吸附分子的斯托克效应(Stark Effect)<sup>[98]</sup>。在没有电化学反应,吸附,解吸等作用发生的情况下,电极电位的调制( $\Delta V$ )能引起共振角的变化( $\Delta\theta$ ),而 $\Delta\theta$ 应与在该条件下膜的折射率的变化( $\Delta n$ ),膜厚度的变化( $\Delta d$ )和电极表面电荷密度的变化( $\Delta\sigma$ )有关:

$$\Delta\theta(\lambda)/\Delta V=C_1\Delta n(\lambda)/\Delta V+C_2\Delta d/\Delta V+C_3\Delta\sigma/\Delta V$$

右边第一项与被吸附分子的电子态有关,即与摩尔吸光系数的变化( $\Delta\varepsilon$ )有关,是斯托克效应的主要因素。第二项和第三项与入射光波长无关,对斯托克效应没有贡献。对 $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ 的配合物,当施加200±10mv(频率为200Hz)的电位调制后, $\Delta\theta(\lambda)/\Delta V-\lambda$ 曲线出现负峰,且该曲线形状与理论曲线 $d\varepsilon/dV-\lambda$ 及由溶液相而得的 $(d\varepsilon/dV)_{sol}-\lambda$ 曲线相似,证明电极电位的变化对分子的吸收性有影响,产生了斯托克效应。而对甲基蓝则不存在这种相似性,在0.2V 电位时,吸附在电极上的还原态的甲基蓝与溶液中的甲基蓝在结构上有差异。

SPR技术也用于在电极表面的修饰等方面的研究。用SPR可监测铁一乙烯基吡啶在Au膜表面的电聚合过程<sup>[99]</sup>,随膜厚的增长,共振角增大,共振深度减小。

### (5) 电化学 SPR 生物传感器

Iwasaki和Niwa等人<sup>[100]</sup>将辣根过氧化物酶HRP/Os<sup>2+</sup>/Os<sup>3+</sup>-聚乙炔吡啶的氧化还原聚合物固定在Au电极表面,基于SPR对此Os<sup>2+</sup>/Os<sup>3+</sup>氧化还原导致的膜折射率变化的响应,建立了一种新的EC-SPR生物传感器。并且通过HRP和葡萄糖氧化酶的多酶层修饰可进一步提高其灵敏度<sup>[101]</sup>。类似地,基于辣根过氧化物酶(HRP)与聚苯胺(PAn)在H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>存在下由于PAn膜的氧化还原化学转化而导致膜折射率的

变化,也可用导电聚合物作介质建立HRP生物传感器,HRP能与聚苯胺的氧化态交换电子,而聚苯胺的氧化还原态可由电极电位很方便地控制<sup>[102]</sup>。

Willner小组在电化学SPR生物传感器方面也做了一些卓有成效的研究工作。他们<sup>[103]</sup>在吡咯并喹啉修饰的聚苯胺膜上通过脱辅基酶的表面重构,构筑了葡萄糖脱氢酶体系并用原位电化学SPR方法表征了该系统的生物电催化功能。他们<sup>[104]</sup>还通过脱辅基酶的表面重构,在聚苯胺/聚丙烯酸复合膜中构筑了氧化还原酶系统,用电化学原位SPR方法表征了该生物电催化体系对葡萄糖和乳酸的生物电催化氧化。此外,他们还<sup>[105]</sup>采用电化学SPR方法将聚合物膜的三态电子记忆转换成SPR光信号,并用于NADH的电化学传感应用。

Schlereth<sup>[106]</sup>等人基于亲水性烷基硫醇自组装单分子膜,构造了一个与脱氢酶有高度生物特异性亲合力的表面,该表面上吊挂着吡啶一核苷酸配基。NAD(H)一类脱氢酶通过人工辅酶类似物一吡啶核苷酸固定到烷基硫醇组装膜表面。这一特殊位点的生物亲和成键,为酶在金属电极上的定向附着提供了一种混和的固定方法。作者用SPR研究了蛋白质的吸附情况,并与电化学联用实时原位监测了吸附的蛋白质数量和电催化活性。通过获取在烷基硫醇单分子层上有和没有锚配基时酶电极的K值之比,证明脱氢酶是通过两个未参与酶的电化学反应的NAD一成键口袋锚着在配基单分子层上。这些结合位点并不参与电化学酶反应;且酶反应产物NADH和丙酮酸能使被固定的酶从电极表面解离,而不引起酶的变性。葡萄糖脱氢酶和6-磷酸葡萄糖脱氢酶也有类似的表面性质。

目前已有用于无机、有机化合物氧化还原调制过程的ECSPR传感器专利出现<sup>[107]</sup>。

## (6) 电化学控制释放或固定生物分子的 SPR 研究

Chicaga 大学 Mrksich 等人<sup>[108]</sup>通过酰胺基与羟基的缩合反应将生物素酞丙酸酯键合在有末端羟基的烷基硫醇修饰的 Au 电极上,抗生物素蛋白与生物素发生特异性免疫反应。在四亚乙基二醇基烷基硫醇与用该硫醇衍生化的苯酞组成的混合膜上,能固定被环戊二烯衍生化的生物素。SPR 实验表明,这样的膜能用于特异性地固定生物分子(streptavidin),而非特异性吸附可被避免<sup>[109]</sup>。生物活性分子也可经酚衍生后通过电化学聚合而被固定到金电极表面<sup>[110]</sup>。

## (7) 仿生膜及层一层组装体系的电化学 SPR 研究

仿生膜体系及生物分子相互作用的研究, 由于其在生物学和医学方面的重要意义而受到越来越多的关注。二苄基二硫化物(DBDS)自组装的金电极用十八烷基硫醇(OM)处理, 将发生OM取代已组装的DBDS分子, 随处理时间延长, 大部分DBDS分子都被OM取代, 只留下少部分的DBDS缺陷。该电极相当于一个超微电极阵列, 在该电极上可观察到二茂铁甲醇的可逆CV图, 但在纯OM修饰金电极上却观察不到。然而这类电极对 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 的响应却不可逆。认为与探针分子的电荷有关, 二茂铁甲醇是电中性分子, 而 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 荷负电。二肉豆蔻酰卵磷脂泡囊(DMPC)组装到(OM+DBDS)混合单层膜上, 形成另一层生物膜单层。电化学和SPR研究表明, 当有介体二茂铁甲醇存在时, 丙酮酸能还原大肠杆菌丙酮酸氧化酶, 随后该酶再与仿生膜结合而被激活有生物活性<sup>[111]</sup>。Knoll<sup>[112]</sup>使用SPR和电化学技术研究了二肉豆蔻酰-L- $\alpha$ -卵磷脂单分子层泡囊在烷基硫醇和硫醇化的磷脂自组装单层膜上的吸附和融合过程。Zhang<sup>[113]</sup>等人使用SPR、电化学和原子力显微镜研究了支撑在聚离子/烷基硫醇自组装分子层上的磷脂双层膜的性质, 并用于抗菌肽嵌入的测定。

Terrettaz<sup>[114]</sup>等人通过一种磷脂/洗涤剂稀释技术在烷基硫醇自组装分子层表面研究霍乱毒素和神经节苷脂之间的特异识别反应。在烷基硫醇单层膜上, 采用类脂/辛基糖苷稀释法在其表面形成类脂的单层膜, 用阻抗法和SPR分别研究了膜的性质及固定在该膜上的神经节苷脂与液相中的霍乱毒素的相互作用。膜中类脂和神经节苷脂的含量比例不同时, 其光学常数变化较小, 而膜电容变化较大; SPR对于霍乱毒素在膜表面与神经节苷脂的识别反应给出响应, 但阻抗变化不大, 表明霍乱毒素的水化程度是较高的。在经硫醇化后固定到金电极上的肽-脂分子单层表面结合脂质体后可作为仿生系统, 用SPR研究了膜的形成和膜蛋白的嵌合过程, Cytochrome C氧化酶嵌入到膜中后可被还原态的Cytochrome C活化, 用电化学方法研究了嵌合酶的活性, 可观察到电子转移和质子转移过程, 膜的阻抗随Cytochrome C的浓度升高而降低, 因此导电性与酶的转化速率有关<sup>[115]</sup>。

Knoll小组<sup>[116]</sup>在金电极表面自组装一层硫醇修饰的 $\alpha$ -、 $\beta$ -和 $\gamma$ -环糊精分子, 采用SPR和电化学方法研究了阴离子客体, 如1-苯胺基萘磺酸与环糊精的主客体相互作用。Friggeri等人<sup>[117]</sup>采用相同的方法研究了杯(4)芳烃-间苯二酚(4)芳烃受体自组装单层膜和甾族化合物间的主-客体相互作用。在混合单层膜中,

脱氢皮醇-21-乙酸酯、皮质酮-21-乙酸酯、可的松-21-乙酸酯的浓度相关实验表明客体分子的吸附为Langmuir一型吸附，且亲和常数在 $2.0 \times 10^5$ 和 $3.5 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ 之间。11-氨基十一烷基羧酸以羧基端组装在纳米 $\text{TiO}_2$ 粒子表面，形成稳定的 $\text{TiO}_2$ 纳米粒子。该 $\text{TiO}_2$ 纳米粒子通过其表面氨基与盐酸聚丙烯铵中的铵离子共用质子氢的方式被层一层组装到金电极表面，形成sandwich多层，用SPR和电化学表征了该多层的性质，它的功能相当于一个Schottky（金属-半导体结）整流二极管<sup>[118]</sup>。

### (8) 电化学增强的 SPR 传感

在这方面是电化学 SPR 最具特色的应用，对于发展 SPR 放大技术，开展小分子的 SPR 研究尤其有适用价值。金纳米粒子被广泛用于 SPR 增强的生物亲和过程的检测<sup>[119]</sup>，例如免疫分析<sup>[120]</sup>，DNA 传感技术<sup>[121]</sup>等。最近，Willner 研究小组<sup>[122]</sup>基于酶催化的生物泵浦纳米粒子充电现象，发展了电化学增强的 SPR 传感技术。平均直径为 1.4nm 的金纳米粒子(Au-NP)用黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)功能化后，脱辅基的葡萄糖氧化酶(apo-GOx)在金纳米粒子表面定向重组，这种GOx/Au-NP 通过二硫醇 (short dithiol, 1,4-benzenedithiol or alonedithiol, 1,9-nonanedithiol)固定到 SPR 传感膜表面，这样 FAD 能与 Au-NP 进行电连接。由于硫醇自组装单层提供了电子隧穿的障碍，因此溶液中葡萄糖与 GOx 的生物催化反应使纳米粒子充电，充电的纳米粒子改变了局域等离子体共振频率和介电常数，反映在 SPR 共振角的明显移动。生物催化充电现象由葡萄糖浓度控制，因此 SPR 共振角度移动也与葡萄糖浓度相关。用 GOx/Au-NP 电极体系充电后的微分电容变化和外加电压对 Au-NP 充电后引起同样的 SPR 共振角变化证实了该充电过程。

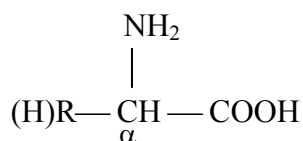
## § 1-4 氨基酸的基本性质和研究进展

### § 1-4-1 氨基酸的基本性质

氨基酸和多肽是生命体中重要的基本配体，特别是二十种基本氨基酸，是组成蛋白质的基本单元，它们与过渡金属形成的配合物由于具有特殊的转运机制及生物活性（包括抗菌、激素、酶的抑制、免疫能力调节和感觉等性质），其研究和应用在分子细胞学、临床医学、药物化学等领域正变得益发重要。



组成蛋白质的20种氨基酸称为基本氨基酸。它们中除脯氨酸外都是 $\alpha$ -氨基酸，其结构式如下：



氨基(-NH<sub>2</sub>)连接在与羧基(-COOH)相邻近的 $\alpha$ -碳原子上，侧链 R 基团是氨基酸物理和化学性质的决定者。20 种基本氨基酸按 R 基的特点可分为 8 类：脂肪族类；羟基类；酸性；碱性；酰胺类；含硫类；芳香族类和亚氨基酸<sup>[123]</sup>。氨基酸一般都溶于水，除甘氨酸外，所有天然氨基酸的 $\alpha$ -碳原子都是不对称碳原子，因而它们具有旋光活性。氨基酸含有碱性的氨基与酸性的羧基，是一种两性电解质，随着溶液 pH 值的升高，氨基酸依次主要以阳离子(cationic)、两性离子(zwitterionic)和阴离子(anionic)形式存在。气相中氨基酸主要以酸性或中性分子形式存在。

### § 1-4-2 简单氨基酸分子的电化学吸附和氧化研究

对有机小分子在电极|电解质溶液界面吸附行为的研究是当前活跃的领域。氨基酸作为多官能团分子，同时含有-COOH、-NH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>OH 和-SH 等多种基团，可作为理想的模型分子用于研究有机小分子在过渡金属电催化剂表面上的吸附和反应活性。研究生物分子在固体表面上的吸附行为在生物材料、生物技术等很多方面具有广泛的科学意义，而氨基酸作为构成蛋白质和多肽的基本结构单元，其性质与生物大分子的生化功能紧密关联，可以为深入研究蛋白质与金属表面复杂的相互作用提供基础信息。

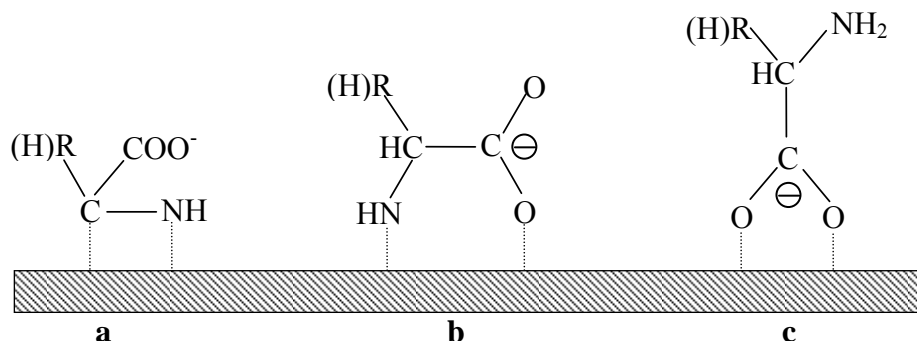


Fig. 1-5 Proposed adsorption modes of amino acids at metal surface.

影响氨基酸吸附取向的因素有：电极电位；溶液 pH 值；侧链 R 结构、电极覆盖度、溶液温度以及晶面结构等。

目前通常认为氨基酸在金属表面(Au、Pt、Ag、Cu等)的吸附模式有以下三种(图1-5, 以阴离子为例)：

示踪技术(Radiotracer)是最早被运用于研究氨基酸分子在铂电极表面的电化学习吸附和氧化的原位技术<sup>[123-131]</sup>。早期Honaryi<sup>[130-131]</sup>根据示踪技术研究, 推测碱性介质中氨基酸是以碳氮双原子形式锚定于Pt电极表面而形成强的不可逆化学吸附态(图1-5a)。但最新的SERS、FTIR和SFG等谱学研究结果证实, 在电化学习环境, 这种C—M键实质为氨基酸发生C<sub>α</sub>—C断键解离后形成的表面吸附态CN物种, 而并非氨基酸分子本身的吸附。模式b<sup>[132]</sup>的提出还基于氨基酸作为生化配体的协同作用、以及侧链能够显著改变分子吸附和氧化的难易程度。模式a与b中均存在α-NH<sub>2</sub>与电极表面的相互作用。在酸性或中性介质中, 当电位较负时, α-NH<sub>2</sub>可在表面吸附, 但这种情形通常只发生在侧链与金属表面存在较强相互作用时, 如L-组氨酸<sup>[82]</sup>和DL-同型半胱氨酸<sup>[83]</sup>。在较低电位下, 当L-组氨酸中的杂环平行于电极表面时, SERS检测到α-NH<sub>2</sub>与Pt电极表面的相互作用<sup>[133]</sup>。半胱氨酸含有极活泼的巯基, 易于通过形成Au-S键吸附于金电极表面, 已广泛应用于自组装膜修饰电极。Zhang等<sup>[134]</sup>运用原位STM研究了酸性溶液中同型半胱氨酸在Au(111)表面的电位诱导吸附, 发现E<sub>pzc</sub>附近为有序单层吸附。在E<sub>pzc</sub>时仅为S-端吸附; 负于E<sub>pzc</sub>时氨基同时参与表面成键; 而当电位正于E<sub>pzc</sub>时, 则转化为羧基的两个氧原子与S同时参与表面成键。

图1-5c的模式为化学可逆吸附。目前已有直接的SERS和FTIR结果表明, 在较正的电极电位下, 对尚未发生解离的氨基酸分子吸附而言, α-羧基与金属表面的作用力最强, 所有的基本氨基酸分子均存在模式c的吸附方式, 即以α-羧基的两个氧原子与金属表面相互作用。而氨基酸分子中的侧链会影响吸附分子的羧基与电极表面成键的角度、或者同时参与成键, 这些变化都是倾向于降低空间位阻, 在表面形成更稳定的吸附态。

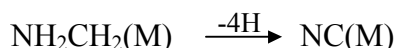
在不同的介质中, 含有芳环和杂环的氨基酸在 Au(111)<sup>[135]</sup>、多晶 Au<sup>[136]</sup>和多晶 Pt<sup>[137-139]</sup>上的电化学习吸附行为均表现出类似的性质: 热力学和原位 FTIR 的数据表明在 E<sub>pzc</sub> 附近, 溶液中的中性氨基酸分子在金属表面存在弱的物理吸附, 此

时氨基酸分子中的芳环（L-苯丙氨酸）或杂环（酪氨酸）几乎平行于电极表面，以利于其 $\pi$ 电子和金属表面的相互作用，而且 $\alpha$ -NH<sub>2</sub>与 $\alpha$ -COOH均与表面相互作用；而当电位高于 $E_{pzc}$ 时，则通过羧基上的两个氧原子直立吸附于金属表面，以利于更紧致有序地排列，形成强的化学键。对含有两个羧基的天冬氨酸而言，其侧链上的 $\beta$ -羧基也可能吸附于电极表面<sup>[140]</sup>。相对于酸性、碱性和芳香族类的氨基酸而言，脂肪族类（甘氨酸、丙氨酸）和羟基类（丝氨酸、苏氨酸）的侧链与电极表面的相互作用较弱<sup>[141]</sup>。

目前对基本氨基酸的电化学吸附和氧化进行较系统研究的有F Huerta(Spain)<sup>[142-147]</sup>、K Ogura(Japan)<sup>[137, 148-149]</sup>、孙世刚组<sup>[132, 150-152]</sup>以及早期的G Horanyi(Hungary)<sup>[130-131]</sup>等研究小组。这些研究工作主要包括：运用CV、FTIR、EQCM和原位示踪等方法、研究在不同介质中甘氨酸、丙氨酸和丝氨酸等在Pt多晶和一系列Pt单晶晶面上的电化学吸附和氧化行为。不论是酸性还是碱性介质中，氨基酸在电极表面氧化的机理都要经历象Kolbe<sup>[139]</sup>反应中的两个步骤，即通过羧基官能团脱羧的过程吸附于电极表面、同时发生电子转移形成产物，以甘氨酸阴离子为例，其过程可表示如下：



而后 $\text{NH}_2\text{CH}_2(\text{M})$ 进一步脱氢形成反应中间体，即表面吸附态的 $\text{CN}^-$ 物种：



但由于氨基酸的反应是一个表面结构敏感的化学反应，氧化电位、电极晶面结构、侧链基团以及溶液的pH值等均会影响氨基酸的反应机理和最终产物的生成。如在0.1M NaOH溶液中，三个Pt基础晶面对丝氨酸氧化的催化活性依次为 $\text{Pt}(111) > \text{Pt}(100) > \text{Pt}(110)$ ，当研究电位低于0.0V时(SCE)时，丝氨酸的 $\text{C}_\alpha-\text{C}$ 键断裂，解离产生吸附态的CO和 $\text{CN}^-$ 物种；而当电位高于0.2V至0.6V时（0.6V为此电化学窗口的上限），丝氨酸最终氧化成 $\text{OCN}^-$ 和 $\text{CO}_3^{2-}$ ，同时伴随表面Pt原子以 $\text{Pt}(\text{CN})_4^-$ 形式的溶解<sup>[150]</sup>。同样在0.1M NaOH溶液中，基于氨基酸氧化抑制了Pt电极表面的析氧过程、而将研究电位设置为高达1.6V(SCE)时，氨基酸可进一步发生 $\text{C}_\alpha-\text{N}$ 键断裂，最终氧化分解产物则变为 $\text{CO}_2$ 、 $\text{NH}_3$ 和 $\text{HCOOH}$ 等<sup>[148]</sup>。

在有机小分子电化学氧化所用到的贵金属材料中，Pt和Au是高活性的催化剂，Pt在酸性溶液中催化活性最高，而在碱性介质中，由于OH<sup>-</sup>在表面的吸附作用，Au对于HCHO、CO、醇类（包括葡萄糖等）的氧化以及氧的还原均具有很高的电催化活性<sup>[153-156]</sup>。同时，高度分散的纳米Au表面也具有较高的催化活性。如负载于过渡金属氧化物载体上的Au催化剂在低温即具有催化CO氧化和NO<sub>x</sub>分解的高催化活性，这在消除汽车尾气方面有重大应用价值<sup>[157]</sup>。利用分散的Au纳米粒子的热稳定性低（如尺度为2 nm的金粒子的熔点仅为600 K），将其应用于低温燃料电池阴极材料，等等。此外，由于Au良好的生物相容性和无毒副作用，一直是生物化学、生物医学近几十年来研究和应用的热点。如自19世纪末发现金的药用价值以来，氰化金，硫代硫酸金钠以及金的有机金属化合物等含金药物已实际应用于临床<sup>[158-160]</sup>。然而，目前关于氨基酸在Au电极表面的电化学吸附、尤其是氧化反应机理还较少报道。肖晓银<sup>[161]</sup>研究发现碱性介质中氨基酸在多晶Au表面的氧化产物有OCN<sup>-</sup>和CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>阴离子；Ogura等人研究了在含Cu<sup>2+</sup>和甘氨酸的强碱性溶液中CuO薄膜在金电极上形成的机理，指出水和甘氨酸作为还原剂参与Cu(II)(NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>)<sub>2</sub> → CuOH<sup>2+</sup> → CuO的形成过程<sup>[162]</sup>。Lori等用EQCM方法研究了pH = 7.4的溶液中甘氨酸在金上的吸附<sup>[163]</sup>。根据文献报道，半胱氨酸<sup>[164]</sup>、组氨酸<sup>[165]</sup>以及苯丙氨酸<sup>[135]</sup>在Au电极表面的氧化均仅观察到脱羧生成CO<sub>2</sub>或CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>（与溶液的pH值有关），然而对于其详细的反应机理的研究还有待进一步深入。

## § 1-5 生物膜的基本性质和研究进展

### § 1-5-1 生物膜的结构及基本性质

生物膜是镶嵌有蛋白质的脂双层，起着划分和分隔细胞和细胞器作用，也是与许多能量转化和细胞内通讯有关的重要部位，它由多种脂类、蛋白质、糖类及能与膜表面结合的离子和水组成。其中类脂是构成生物膜总体结构的主要成分，它属极性脂质，具有一个亲水的头部（极性端）和一个疏水的尾部（非极性端），因此具有双亲性的特点，主要包括三种类型：磷脂、糖脂和固醇。

脂双分子层本身具有稳定性、非对称性、通透性、流动性的特点，同时它具有相变温度，在不同的温度下，双层磷脂膜存在不同的相。

### § 1-5-2 生物膜的模型及制备方法

人工制备的脂双分子层可以当作生物膜的模型,从而模拟生物膜的某些基本特性,因此模拟生物膜的制备越来越受到人们的重视。生物膜的模型从层数来可分为单层膜、双层膜和多层膜。单层膜主要是指 Langmuir-blodgett(L-B)膜,脂双层膜又包括平板双层膜(planar bilayer)和脂质体(liposome),平板双层膜又可分为非支撑平板双层膜(BLM)和支撑双层膜(s-BLM),多层膜主要指磷脂浇铸膜(cast lipid film)。

### § 1-5-3 生物膜的电化学研究

#### (1) 平板双层膜(BLM)上的电化学研究

平板双层磷脂膜的电化学研究,特别是循环伏安研究,源于 Tien 等人 [165-167]在 80 年代初所做的一系列开创性工作,并由此逐渐建立起来。未经修饰的 BLM 是良好的绝缘体,内阻 $>10^8\Omega$ ,因此产生的电流很小。人们从生物膜内嵌入蛋白质的结构得到启发,用一定的修饰物来使 BLM 具有一定的功能,同时也可增大电流响应。这些修饰物使 BLM 具有一定的功能,同时也可增大电流响应。这些修饰物包括多肽、蛋白质、染料、碘、“有机金属”和半导体粒子等。

生物膜有两个膜/液界面,从电化学角度来看,穿过两个界面的电位不能独立控制,而且双层结构的厚度一般小于 7nm,界面尺寸与膜尺寸有可比性,电荷在穿过膜/液界面时有着与其它电化学体系不同的特性。目前,将传统电化学引入 BLM 体系,许多实验结果很难解释清楚,因此不但要从理论上,也要从实验技术入手,彻底解决这一难题。

#### (2) 平板双层膜中的电子传递

受 BLM 光电研究工作的启发,Tien 小组<sup>[168-170]</sup>最早用电化学方法研究了 BLM 的电子转移。用电子导体修饰 BLM,在膜的两侧加入氧化还原电对分别作为电子的给体和受体,给出很好的伏安相应。他们认为 BLM 掺杂电子导体后,显示出双偶电极的行为,也就是 BLM 一侧是进行氧化还原反应的阴极,另一侧是进行氧化还原反应的阳极,在膜/溶液界面上分别进行氧化还原反应的结果是电子的跨膜转移。

另外, 由于 BLM 的厚度很小, 在膜电位大于 10mV 时, 通过膜的电势梯度为  $10^5\text{V/cm}$  数量级。在这样高的电势梯度下, 电子通过 BLM 可能的机理是隧道效应<sup>[171]</sup>。电子必须通过隧道效应贯穿嵌在膜中的媒介体分子所产生的势垒, 贯穿的难易决定于势垒的高度和宽度。势垒的高度与媒介体分子的电子态有关, 势垒的宽度决定于媒介体分子在膜内的扩散, 但 Tien 无法确定媒介体分子在膜内是否有扩散行为。

Cheng 等<sup>[172]</sup>以苯醌为媒介体研究了电子转移的动力学过程。他们认为决定电子转移速率的步骤是苯醌自由基在膜的疏水区移动的速率, 而不是在膜/液界面的电子转移反应的速率, 并对 Tien 得出的结论提出质疑。Hurst 等<sup>[173,174]</sup>合成了一系列紫晶化合物, 并以之为媒介体研究了电子的跨膜转移机理, 结果发现以短链紫晶为媒介体时电子是因在膜中的移动而传递的, 以长链紫晶为媒介体时电子是通过隧道效应而转移的。电子跨膜转移的机理至今仍不十分清楚。

### (3) 平板双层膜中的离子传输

离子传输也是人们非常关心的一个问题, 很早就开始研究。离子传输包括离子载体推动的离子传输和非离子传输载体推动的离子传输。离子载体包括天然存在的大环抗菌素和一些合成的载体。非离子载体推动的离子传输只有几种特殊的亲脂离子。早期用稳态电导测量法不能获得机理方面的信息, 后来利用恒电位测量、电荷脉冲法、交流阻抗等技术克服了这一缺点, 并提出两种模型。Ketter<sup>[175]</sup>在 1971 年提出的模型很简单, 大约分成三步, 第一步是离子在膜的一侧吸附, 第二步是跨过膜到另一侧, 第三步是从膜表面脱附。后来的模型比较复杂一些, 考虑了离子在膜内的结合过程<sup>[176]</sup>。尽管这些模型能通过实验获得许多动力学参数, 但模型仍十分简单。

近几年, Tien 小组<sup>[177]</sup>利用循环伏安法研究发现 BLM 对一些染料如甲基紫晶、乙基紫晶、TPB 等有一定选择穿透作用。有趣的是经 I<sub>2</sub> 修饰的 BLM 对 I<sup>-</sup> 有非常好的选择透过性, 而对 F<sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、却没有响应, 对其它卤素如 Br<sub>2</sub> 有相同的规律<sup>[178]</sup>。丁林等<sup>[179]</sup>研究了 BLM 对亲脂离子 TPB<sup>-</sup> 的传输过程, 并考察了 pH 值和胆固醇对这一过程的影响。当然, 用循环伏安法研究 BLM 对离子传输作用的工作进行得很少, 还很不成熟, 关于离子传输的机理仍有许多工作要做。

### (4) 支撑膜上的电化学研究

支撑膜上的电化学实际上是在电极上修饰磷脂的单层或双层膜,其最主要的优点是它比分隔两水相的 BLM 稳定得多,有实用价值,另外它也很适合于电化学原位谱学研究。

硫醇/磷脂在金电极上自组形成的支撑膜体系,由于硫醇的阻断,使电活性物质无法与电极之间进行电子传递,因此没有循环伏安响应,不能进行电流检测,这既是缺点也是优点,人们恰恰可以利用硫醇/磷脂双层的高阻抗低电容进行电位及电容的研究。

自 1989 年 Tien<sup>[180]</sup>在新生的金属表面上成功地制备出支撑双层膜(s-BLM)以来,利用磷脂良好的生物相容性,已实现了蛋白质<sup>[181]</sup>的直接电子传递。Salamon 等<sup>[182]</sup>详细研究了阴离子、磷脂的浓度对蛋白质电子转移的影响,并且对蛋白质在膜表面或膜中取向、活性中心位置等也进行了分析。

值得一提的是在电极上浇铸的多层磷脂膜。近几年有不少人从事这方面的工作,比较出色的是 Rusling 小组<sup>[183,184]</sup>。他们发现在热解石墨(Pyrolytic graphite, PG)电极上的浇铸膜对血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素 P<sub>450</sub> 以及光合作用反应中心的直接电子传递有促进作用。

Shim 等<sup>[185,186]</sup>利用磷脂覆盖的玻碳电极研究了水溶液中苯醌的氧化还原行为,并观察到在水溶液中极不稳定中间产物苯醌阴离子自由基 BQ<sup>-</sup>可以嵌在 PC 膜里,而且比较稳定。经 FTIR 和 NMR 证明,这主要是因为是在磷脂膜中 BQ<sup>-</sup>可与氢键化的磷酸集团相互作用形成氢键,因此可以稳定存在。

#### § 1-5-4 基于生物膜的传感器的研究

电化学生物传感器的研究和开发从 80 年代起得到了快速地发展,在生物模拟方面,主要采用了脂双层模型。其中 BLM 体系最具有生物膜相似性,即类似天然膜的流动性和与配体-接受体的可相互作用性等。生物膜的功能往往要以特殊的修饰物为媒体或功能基团来发挥。从特异性、选择性和可行性等方面来看,对于镶嵌有关主体物质用于生物传感器的开发研究,固体支撑的 BLM 稳定性比平板 BLM 有很大提高。以各种物质修饰的 BLM 固定于金属电极表面,可用于测定各种底物、抗原、离子、电子供体或受体等。

基于模拟生物膜体系的生物传感器,没有生物活细胞的复杂性而且可以提供

具有高灵敏度、高选择性和快速响应的分析信号。Tien<sup>[187]</sup>对固体支撑 BLM 生物传感器的存在时间、稳定性、离子选择性以及被修饰的 BLM 作为免疫学、pH、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、铁、尿素、碘化物、离子、分子等生物传感器和作为离子及分子探针作了评述。

活细胞内分子的生物识别往往通过知觉、鉴别、化学信号的放大等作用控制。实际上这种分子识别一般伴随这镶嵌“接受体”（蛋白质）的膜的结构变化，从而导致离子通道的迅速打开和膜电势的去极化，或者能够激活一个酶体系<sup>[188]</sup>。从模拟天然传感行为和生物传感器的结构考虑，当前的关键在于人工脂膜离子通道的打开与使用<sup>[189,190]</sup>。修饰后的固体支撑 BLM 为此提供了可能性，可用于检测许多物质，酞菁及其金属配合物修饰的 BLM，与各类电极组合，形成一个固体支撑的双层类脂膜研究体系，既能保持双层类脂膜的超薄、自组装及易于成膜等特点，又能大大提高膜稳定性，可作为一种特殊的电极广泛地应用于电化学研究<sup>[191]</sup>。

BLM 生物传感器可识别和测定许多生物活性物质，如葡萄糖<sup>[192]</sup>、谷氨酸<sup>[193]</sup>、细胞色素 c<sup>[194]</sup>等。在农药及代谢物检测方面，BLM 生物传感器已用于测定有机磷酸酯杀虫剂中的久效磷和氨基甲酸酯杀虫剂中的羧基呋喃，较好地解决了液相色谱法的不足<sup>[195]</sup>。

生物传感器在快速测定方面也有一定的优异性能。通过固定活性蛋白可以缩短酶电极的响应时间，响应时间最快达 10 秒左右<sup>[196]</sup>，这为进行活体内生化分析时捕捉瞬间生化反应信号提供了极大的可能性。BLM 传感器还可用于识别、检测有气味的物质，例如血红素修饰的 s-BLM 对 CO<sub>2</sub> 的响应时间仅为 10 秒，可快速测定 CO<sub>2</sub>，检测限达  $3.75 \times 10^{-7}$  mol/L，而且至少可稳定 48 小时<sup>[197]</sup>。

当然，目前还不是所有的 BLM 生物传感器都有如此快的响应时间，不少传感器只能检测  $10^{-3}$  mol/L 级分析物，这些都有待于进一步改善。

此外，溶液中 Ca<sup>2+</sup>离子的存在可导致铂支撑的 s-BLM 上膜通道的打开。以 Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-/4-</sup>为探针，研究不同浓度的 Ca<sup>2+</sup>对膜通道的作用，表明当 Ca<sup>2+</sup>浓度大于  $2.0 \times 10^{-3}$  mol/L 时，峰电流与 Ca<sup>2+</sup>浓度呈线性关系<sup>[198]</sup>。利用 C<sub>60</sub>、C<sub>70</sub> 的良好电子导体特征，将其嵌入 s-BLM 中，可以很好地改善 I 传感器的性能，提高 I 检测灵敏度 100 倍，检测限达  $10^{-8}$  mol/L<sup>[199]</sup>。一些兼具脂溶性和水溶性的染料分子可由



水相镶嵌到 s-BLM 上, 其循环伏安行为也有报道<sup>[200]</sup>。

### § 1-5-5 生物膜研究中膜片钳技术的应用

细胞膜两侧离子的跨膜运动是改变诸多细胞功能的重要过程, 因此研究细胞膜离子通透性变化是现代细胞生理学和细胞生物物理学的重要课题。1982 年德国生理学家 Neher 和 Sakmann 领导的研究小组<sup>[201]</sup>, 建立起细胞膜离子单通道电活动的记录方法—膜片钳(Patch clamp), 证明了细胞膜离子单通道的存在, 开创了离子单通道活动的实验研究。

离子通道是贯穿于细胞膜和细胞器膜的大分子蛋白质, 其中央形成能通过离子的亲水性孔道(pores), 通道的启闭使离子顺膜内外的电化学梯度移动是维持细胞功能正常的保证, 每个通道可以被看作对相应刺激产生反应的可兴奋的蛋白分子。通常离子通道是相对静止的, 只在膜电位变化、神经递质或其它化学刺激以及机械变形等特殊刺激作用下发生反应, 即通道的孔道开放或关闭。通道的反应称作门控(gating), 门控的基础是通道蛋白的构型在特殊的作用下发生变化。开放的通道对离子具有选择通透性, 但常允许一种以上离子通过。小的离子顺膜内外的电化学梯度穿过通道的速率可大于  $10^6$  到  $10^9$  离子/秒。这样高的离子交换速率使离子通道机制明显地不同于细胞膜上的  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  泵、 $\text{Ca}^{2+}$  泵等其它交换机制。

膜片钳方法为动态记录细胞膜离子通道启闭活动提供了直观有效的手段。该方法可以记录在一个通道蛋白分子的门控过程中, 离子通过孔道时形成的微弱电流(通常称为通道电流)。Neher 和 Sakmann 创建的膜片钳技术, 时间分辨率为 10 微妙, 空间分辨率达到  $1\mu\text{m}^2$ , 电流分辨率达到  $10^{-12}\text{A}$ , 如此高精度技术把电生理学方法从细胞水平提高到分子水平。由于能动态地记录通道蛋白激活与失活过程, 该方法有力地推动了细胞膜离子通道的研究工作。

### § 1-6 本文的研究工作设想

本论文选用的主要试验体系为: 通过湿化学法制备具有 SPR 响应的纳米金膜; 研究碱性介质中赖氨酸在金电极上的电化学反应, 重点研究了在纳米金膜电极上的解离吸附和氧化机理; 研究了对苯二酚在一种浇铸形成的 DMPC 仿生膜的电化学反应。以上三个方面主要基于以下思考:

一、前面已经概述了目前国际上EC-SPR研究的工作进展，但我国仍属起步阶段。对于SPR实验来说，SPR基片的金膜厚度、形貌以及表面粗糙度对获得一个灵敏的、重现性好的SPR响应是至关重要的。目前使用的SPR响应基片多用真空镀膜法或溅射法，价格昂贵并耗时。中科院长春应化所金永东博士成功运用湿化学法制备了SPR响应基片，它是一种基于溶液操作的制备方法，不仅成本低，操作简单，而且所得到的基片SPR响应良好，重现性好。在本论文中，我们参考了复旦大学蔡文斌小组关于表面红外增强效应纳米金膜的制备方法，采用在有水环境下操作，改进了金永东博士用甲醇为溶剂的湿化学方法，改为使用超纯水，这样在过程中减少了干燥过程中的污染，操作更为方便。

二、氨基酸含有-COOH、-NH<sub>2</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>OH和-SH等多种基团，是构成蛋白质和多肽的基本结构单元。作为模型分子可为深入研究生物分子在固体表面上的吸附行为以及与金属表面复杂相互作用提供基础信息。赖氨酸分子含有两个氨基和一个羧基，是一种碱性氨基酸。有关氨基酸在金电极表面的电化学反应，尤其是氧化反应机理却少见报道。

三、生物膜被认为是生命活动中许多重要反应发生的场所。分子仿生研究是模拟在微观的分子层面上的生物分子的功能。通过浇铸形成磷脂膜的方法简单易操作对这种浇铸膜的研究引起了许多科学家们的关注，它具有类似于生物膜的性质，可看作一种生物膜的模型。相关研究主要有对嵌入浇铸膜的电活性小分子的生物电化学研究，发现浇铸膜在实验中显示出良好的传递电荷的能力；浇铸膜中的一些蛋白质以及细胞色素等在这种浇铸膜中的电化学反应。

本论文选用对苯二酚这种电活性物质，由于它是化学和生物过程中的重要物质，与生理、医学和环境保护密切相关。目前在水体系中对苯二酚的电化学反应机理也是一大主要研究方向。使用中性的磷酸缓冲溶液来模拟仿生环境，通过浇铸法制备了双肉豆蔻酰胆碱(DMPC)的磷脂仿生膜，研究了对苯二酚在这种仿生膜中的电化学反应。

针对上述研究目标，本论文主要从以下几个方面开展研究工作：

一、提出了一种新颖的，完全基于溶液中操作的SPR响应金纳米薄膜的制备方法。对其制备过程的各种条件进行了研究与优化。实验表明，这种方法制备的金纳米薄膜可以有效地控制厚度，以适用于电化学及SPR响应，为SPR的进

一步研究奠定了基础。

二、运用电化学原位FTIR、CV研究了碱性介质中L-赖氨酸在纳米金膜电极表面上的电解除离吸附和氧化特征，提出了相关的反应机理。通过EQCM方法以及电化学SPR联用技术从表面质量变化角度分析了赖氨酸的反应过程。

三、运用电化学、EQCM、椭圆偏振光谱以及现场红外光谱的方法等，探讨了DMPC浇铸形成的仿生膜的模型构造，并从微观角度考察了对苯二酚在DMPC仿生物膜上的电氧化过程及其反应机理。该反应在仿生的环境中进行,也为我们研究生物小分子在真正的生物体内的反应提供了有益的帮助。

## 参考文献

- [1] 博克里斯等著, 夏熙译, 电化学科学 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1981.
- [2] 查全性等著, 电极过程动力学导论-3 版 [M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [3] 林仲华, 21 世纪电化学的若干发展趋势 [J]. 电化学, 2002, 8(1): 1-4.
- [4] A Wieckowshki, Interfacial electrochemistry [M]. New york: VCH, 1999.
- [5] 林仲华, 叶思宇, 黄明东等, 电化学中的光学方法 [M], 北京科学出版社, 1990.
- [6] 田中群, 孙世刚, 罗瑾, 杨勇, 现场光谱电化学研究的新进展 [M], 物理化学学报, 1994, 10(9): 860-866.
- [7] K Itaya, In situ scanning tunneling microscopy in electrolyte solutions [J]. Prog. Surf. Sci., 1998, 58: 121-247.
- [8] S Bruckenstein, M Shay, An in situ weighing study of the mechanism for the formation of the adsorbed oxygen monolayer at a gold electrode [J]. J Electroanal. Chem., 1985, 188: 131-136.
- [9] H A Kozlouska, B E Conway, A Hamevin, L Stoicovicin, Electrochim. Acta., 1986, 31: 1051.
- [10] Z J Cao, Q J Xie, M Li, S Z Yao, Simultaneous EQCM and fluorescence detection of adsorption/desorption and oxidation for pyridoxol in aqueous KOH on a gold electrode [J]. J Electroanal. Chem., 2004, 568: 343-351.
- [11] H W Lei, H Uchida, M Watanabe, Electrochemical Quartz Crystal Microbalance Study of Halide Adsorption and Concomitant Change of Surface Excess of Water on Highly Ordered Au(111) [J]. Langmuir, 1997, 13: 3523-3528.
- [12] H W Lei, H Uchida, M Watanabe, Electrochemical quartz crystal microbalance study of adsorption of iodide on highly ordered Au(111) [J]. J. Electroanal. Chem., 1996, 413: 131-136.
- [13] H Hoffmannova, M Hof, P Krtil, Potential controlled adsorption and lateral mobility of DOPC on polycrystalline gold - an EQCM and in situ fluorescence microscopy study [J]. J Electroanal. Chem. 2006, 588 (2): 296-302.
- [14] E Bahena, R Mendez, Y Meas, R Ortega, L Salgado, G Trejo, An EQCM study of polyethyleneglycol 8000 adsorption and its coadsorption with Cl<sup>-</sup> ions on Pt in perchloric acid solutions [J]. Electrochimica Acta, 2004, 9(6): 989-997.
- [15] Q H Wu, S G Sun, X Y Xiao, Y Y Yang, Z Y Zhou, An EQCM study of Sb adsorption and coadsorption with CO on Pt electrode in perchloric acid solutions [J]. Electrochimica Acta, 2000, 45 (22-23): 3683-3690.

- [16] I Jureviciute, S Bruckenstein, A R Hillman, A Jackson, Kinetics of redox switching of electroactive polymers using the electrochemical quartz crystal microbalance. Part I. Identifying the rate limiting step in the presence of coupled electron/ion and solvent transfer [J]. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2000, 2 (18): 4193- 4198.
- [17] H P Dai, Q H Wu, S G Sun, K K Shiu, Electrochemical quartz crystal microbalance studies on the electropolymerization processes of ortho - phenylenediamine in sulfuric acid solutions [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1998, 456: 47-59.
- [18] *Interfacial electrochemistry—Theory, experiment, and applications* [M]. Eds. A Wieckowski, Marcel Dekker, Inc., 1999, 599-627. (Electrode-solution interface studied with electrochemical Quartz crystal nanobalance)
- [19] 姚守拙, 从压电传感的发展看学科交叉创新 [J]. *大学化学*, 2001, 16(1): 21-25.
- [20] 陈令新, 关亚凤, 杨丙成, 申大忠, 压电晶体传感器的研究进展 [J]. *化学进展*, 2002, 14(1): 68-76.
- [21] Z Jusys, H Massong, H Baltruschat, A New Approach for Simultaneous DEMS and EQCM: Electro - oxidation of Adsorbed CO on Pt and Pt-Ru [J]. 1999, 146: 1093-1098.
- [22] 涂新满, 谢青季, 王美玲, 张友玉, 姚守拙, 压电反射光谱电化学研究聚邻苯二胺中梯形与线型链结构间的相互转化 [J]. *科学通报*, 2005, 50(8): 760-765.
- [23] 曹志军, 荧光 (反射) 光谱电化学和电化学石英晶体微天平新方法及其初步应用 [M]. 湖南师范大学, 2004.
- [24] D Aurbach, M Moshkovich, Y Cohen, A Schechter, The study of surface film formation on noble-metal electrodes in alkyl carbonates/Li salt solutions, using simultaneous in situ AFM, EQCM, FTIR, and EIS [J]. *Langmuir*, 1999, 8: 2947-2960.
- [25] X. Zeng, S Bruckenstein, Polycrystalline gold electrode redox behavior in an ammoniacal electrolyte: Part I. A parallel RRDE, EQCM, BPS and TOF-SIMS study of supporting electrolyte phenomena [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1999, 461(1-2): 131-142.
- [26] 向娟, 吴秉亮, 陈胜利, 甲酸在铂电极上吸附氧化机理研究 [J]. 2000, 16(10): 906-911.
- [27] F Galliano, C O A Olsson, D Landolt, Flow cell for EQCM adsorption studies [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 2003, 150(11): B504-B511.
- [28] C Garcia, G Courbin, F Ropital, C Fiaud, Study of the scale inhibition by HEDP in a channel flow cell using a quartz crystal microbalance [J]. *Electrochimica Acta.*, 2001, 46 (7): 973-985.
- [29] A L Briseno, F Song, A J Baca, F M Zhou, Studies of potential-dependent metallothionein

- adsorptions using a low-volume electrochemical quartz crystal microbalance flow cell [J]. *J Electroanal. Chem.*, 2001, 513: 16-24.
- [30] L. Tonks, *Langmuir, Phys. Rev.*, 1929, 33: 195.
- [31] Z. Salamon, H. A. Macleod, G. Tollin, *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1997, 1331, 117.
- [32] R. W. Wood, *phil. Magm.*, 1902, 4: 396.
- [33] R. W. Wood, *phil. Magm.*, 1912, 23: 310.
- [34] U. Fano, The theory of anomalous diffraction gratings and of quasi-stationary waves on metallic surfaces(Sommerfeld's waves). *J. Opt. Soc.A m.*, 1941, 31:213-222.
- [35] 华中一, 罗维昂, 表面分析, 上海: 复旦大学出版社, 1989: 3.
- [36] R. H. Ritchie, *Phys. Rev.*, 1957, 106: 874.
- [37] C J Powell, J B Swan, *Phys. Rev.*, 1959, 115: 869.
- [38] E A Stern, R A Farrell, *Phys. Rev.*, 1960, 120: 13034.
- [39] B Kretschmann, H Raether, Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light [J]. *Z. Naturforsch*, 1968, 23A: 2135-2136.
- [40] A Otto, *Z physik*, 1968, 216: 398.
- [41] I Pockrand, J D Swalen, J G Gordon, M R Philpot, Surface plasmon spectroscopy of organic monolayer assemblies [J]. *Surf. Sci.* 1978,74: 237-244.
- [42] J G Gordon, S Ernst, Surface plasmons as a probe of the electrochemical interface [J]. *Surf. Sci.* 1980, 101: 499-506.
- [43] C Nylander, B Liedberg, T Lind, *Sensors and Actuators*, 1982, 3: 79.
- [44] B Liedberg, C Nylander, I. Lundstrom, *Sensors and Actuators*, 1983, 4: 299.
- [45] J Homola, S S Yee, G Gauglitz, Surface plasmon resonance sensors: review [J]. *Sens. Actuators B* 1999,54. 3 -15.
- [46] L S Jung, J S Shumaker-Parry, C T Campbell, S S Yee, M H Gelb, Quantification of tight binding to surface-immobilized phospholipid vesicles using surface plasmon resonance: Binding constant of phospholipase A (2) [J]. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122: 4177-4184.
- [47] D R Mernagh, P Janscak, K Firman, G G Kneale, Protein-protein and protein-DNA interactions in the type I restriction endonuclease R. EcoR124I [J]. *Biol. Chem.* 1998, 379: 497-503.
- [48] A B recht, G Gauglitz, Label free optical immunoprobes for pesticide detection [J]. *Anal. Chim. Acta* 1997, 347: 219-233.
- [49] A H Severs, R B M. Schasfoort, M H L Salden, An immunosensor for syphilis screening

- based on surface-plasmon resonance [J]. *Biosens. Bioelectron.* 1993,8: 185-189.
- [50] B P Nelson, T E Grimsrud, M R Liles, R M Goodman, R M Corn, Surface plasmon resonance imaging measurements of DNA and RNA hybridization adsorption onto DNA microarrays [J]. *Anal. Chem.*, 2001,73: 1-7.
- [51] M Malmqvist, Biospecific interaction analysis using biosensor technology [J]. *Nature*, 1993, 361: 186-187.
- [52] R Georgiadis, K P Peterlinz, A W Peterson, Quantitative measurements and modeling of kinetics in nucleic acid monolayer films using SPR spectroscopy [J]. *J. Am. Chem. Soc.* 2000,122: 3166-3173.
- [53] P Guedon, T Livache, F Martin, F Lesbre, A Roget, G Bidan, Y Levy, Characterization and optimization of a real-time, parallel, label-free, polypyrrole-based DNA sensor by surface plasmon-resonance imaging. *Anal. Chem.* 2000, 72: 6003-6009.
- [54] J Mack, D Leipert, A Badia, W Knoll, G Jung, Anodic polymerization of phenol-modified biotin: Patterned deposition and layer characterization [J]. *Advanced Materials*,1999,11: 809-813.
- [55] M A Cooper, A C Try, J Carroll, D J Ellar, D H Williams, Surface plasmon resonance analysis at a supported lipid monolayer [J]. *Biochim. Biophys. Acta*1998 1373: 101 — 111.
- [56] A Badia, S Arnold, V Scheumann, M Zizlsperger, J Mack, G Jung, W Knoll, Probing the electrochemical deposition and/or desorption of self-assembled and electropolymerizable organic thin films by surface plasmon-spectroscopy and atomic force microscopy [J]. *Sens. Actuators B- Chem.* 1999, 54: 145-165.
- [57] S D Evans, T M Flynn, A Ulman, Self-assembled multilayer formation on predefined templates [J]. *Langmuir*, 1995, 11: 3811-3814.
- [58] C E Jordan, A G Frutos, A J Thiel, R M Corn, Surface plasmon resonance imaging measurements of DNA hybridization adsorption and streptavidin/DNA multilayer formation at chemically modified gold surfaces [J]. *Anal. Chem.* 1997, 69: 4939- 4947.
- [59] D G Kurth, R Osterhout, In situ analysis of metallosupramolecular coordination polyelectrolyte-films by surface plasmon resonance spectroscopy [J]. *Langmuir*, 1999,15: 4842-4846.
- [60] S Boussaad, J Pean, N J Tao, High-resolution multiwave length surface plasmon resonance spectroscopy for probing conformational and electronic changes in redox proteins [J]. *Anal-Chem.* 2000, 72: 222-226.

- [61] H Sota, Y Hasegawa, M Iwakura, Detection of conformational changes in an immobilized protein using surface plasmon resonance [J]. *Anal. Chem.* 1998,70: 2019-2024.
- [62] D D Schlereth, Characterization of protein monolayers by surface plasmon resonance combined with cyclic voltammetry 'in situ' [J]. *J. Electroanal. Chem.* 1999, 464: 198-207.
- [63] Z Salamon, Y Wang, M F Brown, H A Macleod, G Tollin, Conformational-changes in rhodopsin probed by surface-plasmon resonance spectroscopy [J]. *Biochem.* 1994, 33: 13706-13711.
- [64] 金永东, 中国科学院长春应用化学研究所博士学位论文 [D], 2003.
- [65] J G Gordon, S Ernst, Surface plasmons as a probe of the electrochemical interface [J]. *Surf. Sci.* 1980, 101: 499-506.
- [66] Y Iwasaki, T Horiuchi, M Morita, O Niwa, Time differential surface plasmon resonance measurements applied for electrochemical analysis [J]. *Electroanalysis*, 1997, 9: 1239-1241.
- [67] P Mulvaney, Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles [J]. *Langmuir*, 1996, 12: 788-800.
- [68] C B Brennan, L Sun, S G Weber, Investigations of prussian blue films using surface plasmon resonance [J]. *Sens. Actuat. B.*, 2001, 72: 1-10.
- [69] D G Hanken, R R Naujok, J M Gray, R M Corn, Synthesis, Spectroscopic Characterization, and Electro-Optical Properties of Noncentrosymmetric Azobenzene/Zirconium Phosphonate Multilayer Films [J]. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 240-248.
- [70] D G Hanken, R M Corn, Electric Fields and Interference Effects inside Noncentrosymmetric Multilayer Films at Electrode Surfaces from Electrochemically Modulated Surface Plasmon Resonance Experiments [J]. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 3665-3673.
- [71] A G Frutos, R M Corn, Near-Infrared Surface Plasmon Resonance Measurements of Ultrathin Films. 2. Fourier Transform SPR Spectroscopy [J]. *Anal. Chem.* 1999, 71(18): 3935-3940.
- [72] A J Bard, *Electroanal. Chem.*, Marcel Dekker Inc., 1998, 20: 142.
- [73] R Georgiadis, K A Peterlinz, J R Rahn, A W Peterson, J H Grassi, Surface Plasmon Resonance Spectroscopy as a Probe of In-Plane Polymerization in Monolayer Organic Conducting Films [J]. *Langmuir*, 2000, 16: 6759-6762.
- [74] X Huang, M T Zhao, L Janiszewska, P N Prasad, Surface plasmon study of electrochemically prepared polymers: Polyazulene [J]. *Synth. Met.*, 1988, 24: 245-253.
- [75] V Chegel, O Raitman, E Katz, R Gabai, I Willner, Photonic transduction of electrochemically-triggered redox-functions of polyaniline films using surface plasmon



- resonance spectroscopy [J]. Chem. Commun., 2001, 883-884.
- [76] A Baba, R C Advincula, W Knoll, In Situ Investigations on the Electrochemical Polymerization and Properties of Polyaniline Thin Films by Surface Plasmon Optical Techniques [J]. J. Phys. Chem B, 2002, 106, 1581–1587.
- [77] X F Kang, Y D Jin, G J Chang, S J Dong, In Situ Analysis of Electropolymerization of Aniline by Combined Electrochemistry and Surface Plasmon Resonance [J]. Langmuir, 2002, 18, 1713-1718.
- [78] X F Kang, Y D Jin, G J Cheng, S J Dong, Surface Plasmon Resonance Studies on the Electrochemical Doping/Dedoping Processes of Anions on Polyaniline-Modified Electrode [J]. Langmuir, 2002, 18, 10305-10310.
- [79] R Gabai, N Sallacan, V Chegel, T Bourenko, E Katz, I Willner, Characterization of the Swelling of Acrylamidophenylboronic Acid-Acrylamide Hydrogels upon Interaction with Glucose by Faradaic Impedance Spectroscopy, Chronopotentiometry, Quartz-Crystal Microbalance (QCM), and Surface Plasmon Resonance (SPR) Experiments [J]. J. Phys. Chem. B, 2001, 105: 8196-8202.
- [80] S Kienle, S Lingler, W Kraas, A Ofenhausser, W Knoll, G Jung., Electropolymerization of a phenol-modified peptide for use in receptor-ligand interactions studied by surface plasmon resonance [J]. Biosens. Bioelectron., 1997, 12: 779-786.
- [81] Y F Miura, G E M Tovar, S Ohnishi, M Hara, H Sasabe, W Knoll, A successive dry-wet process for fabricating conductive thin film of bis(ethylenedithio)tetrathiafulvalene salt [J]. Thin Solid Films, 2001, 393: 225-230.
- [82] A Baba, W Knoll, Properties of Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Ultrathin Films Detected by in Situ Electrochemical-Surface Plasmon Field-Enhanced Photoluminescence Spectroscopy [J]. J. Phys. Chem. B, 2003, 107, 7733-7738.
- [83] F Mirkhalaf, D J Schifrin, Metal-ion sensing by surface plasmon resonance on film electrodes [J]. J. Electroanal. Chem., 2000, 484: 182-188.
- [84] T M Chinowsky, S B Saban, S S Yee, Experimental data from a trace metal sensor combining surface plasmon resonance with anodic stripping voltammetry [J]. Sens. Actual. B, 1996, 35: 37-43.
- [85] C C Jung, S B Saban, S S Yee, R B Darling, Chemical electrode surface plasmon resonance sensor [J]. Sens. Actuat. B, 1996, 32: 143-147.
- [86] R Kotz, D M Kolb, J K Sass, Electron density effects in surface plasmon excitation on silver

- and gold electrodes [J]. *Surf. Sci.*, 1977, 69: 359-364.
- [87] A Tadjeddine, A Rahmani, M Costa, Optical behavior of liquid mercury-electrolyte interface studied by surface plasmon excitation [J]. *Chem. Phys.*, 1990, 141: 15-19.
- [88] A Tadjeddine, Influence of the electrical polarization on the surface plasmon dispersion at metal-electrolyte interfaces [J]. *Electrochim. Acta*, 1989, 34: 29-33.
- [89] G Flatgen, K Krischer, B Petinger, K Doblhofer, H Junkes, Local effects in the interaction of potassium with Rh(111) [J]. *Science*, 1995, 269: 668-671.
- [90] G Flatgen, K Krischer, G Ertl, Spatio-temporal pattern formation during the reduction of peroxodisulfate in the bistable and oscillatory regime: a surface plasmon microscopy study [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1996, 409: 183-194.
- [91] Y J Li, J Oslonovitch, N Mazouz, F Plenge, K Krischer, G Ertl, Turing-Type Patterns on Electrode Surfaces [J]. *Science*, 2001, 291: 2395-2398.
- [92] K M Balss, B D Coleman, C H Lansford, R T Haasch, P W Bohn, Active Spatiotemporal Control of Electrochemical Reactions by Coupling to In-Plane Potential Gradients [J]. *J. Phys. Chem. B*, 2001, 105: 8970-8978.
- [93] A Badia, S Arnold, V Scheumann, M Zizisperger, J Mack, G Jung, W Knoll, Probing the electrochemical deposition and/or desorption of self-assembled and electropolymerizable organic thin films by surface plasmon spectroscopy and atomic force microscopy [J]. *Sens. Actuat. B*, 1999, 54: 145-165.
- [94] Y Iwasaki, T Horiuchi, M Morita, O Niwa, Analysis of electrochemical processes using surface plasmon resonance [J]. *Sens. Actuat B*, 1998, 50: 145-148.
- [95] Y Iwasaki, T. Horiuchi, M. Morita, O. Niwa, Electrochemical reaction of  $\text{Fe}(\text{CN})_3^-/4^-/6^-$  on gold electrodes analyzed by surface plasmon resonance [J]. *Surf. Sci.*, 1999, 427-428: 195-198.
- [96] D D Schlereth, Characterization of protein monolayers by surface plasmon resonance combined with cyclic voltammetry 'in situ' [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1999, 464: 198-207.
- [97] S Boussaad, J Pean, N J Tao, High-Resolution Multiwavelength Surface Plasmon Resonance Spectroscopy for Probing Conformational and Electronic Changes in Redox Proteins [J]. *Anal. Chem.*, 2000, 72, 222-226.
- [98] S Wang, S Boussaad, S Wang, N J Tao, High-Sensitivity Stark Spectroscopy Obtained by Surface Plasmon Resonance Measurement [J]. *Anal. Chem.*, 2000, 72, 4003-4008.
- [99] T T Ehler, J W Walker, J Jurchen, Y Shen, K Morris, B P Sullivan, L J Noe, In situ surface

- plasmon study of the electropolymerization of  $\text{Fe}(\text{vbpy})_3^{2+}$  onto a gold surface [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2000, 480: 94-100.
- [100] S Koide, Y Iwasaki, T Horiuchi, O Niwa, E Tamiya, K Yokoyama, A novel biosensor using electrochemical surface plasmon resonance measurements [J]. *Chem. Commun.*, 2000, 741-742.
- [101] Y. Iwasaki, T. Horiuchi, O. Niwa, Detection of Electrochemical Enzymatic Reactions by Surface Plasmon Resonance Measurement [J]. *Anal. Chem.*, 2001, 73, 1595-1598.
- [102] X F Kang, G J Cheng, S J Dong, A novel electrochemical SPR biosensor [J]. *Electrochem. Commun.*, 2001, 3: 489-493.
- [103] O. A. Raitman, F. Patolsky, E. Katz, I. Willner, Electrical contacting of glucose dehydrogenase by the reconstitution of a pyrroloquinoline quinone-functionalized polyaniline film associated with an Au-electrode: an in situ electrochemical SPR study [J]. *Chem. Commun.*, 2002, 1936-1937.
- [104] O A Raitman, E Katz, A F Buckmann, I Willner, Integration of Polyaniline/Poly(acrylic acid) Films and Redox Enzymes on Electrode Supports: An in Situ Electrochemical/Surface Plasmon Resonance Study of the Bioelectrocatalyzed Oxidation of Glucose or Lactate in the Integrated Bioelectrocatalytic Systems [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 6487-6496.
- [105] O A Raitman, E Katz, I Willner, V I Chegel, G V Popova, Photonic Transduction of a Three-State Electronic Memory and of Electrochemical Sensing of NADH by Using Surface Plasmon Resonance Spectroscopy [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40: 3649-3652.
- [106] D D Schlereth, R P H Kooyman, Self-assembled monolayers with biospecific affinity for NAD(H)-dependent dehydrogenases: Characterization by surface plasmon resonance combined with electrochemistry 'in situ' [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1998, 444: 231-240.
- [107] D D Schlereth, R P H Kooyman. Ger Ofen. DE 19824629 (CI.G01N 331545), 16 Dec 1999, Appl.19824629, 2 Jun 1998, 8 pp.
- [108] C D Hodneland, M Mrksich, Biomolecular Surfaces that Release Ligands under Electrochemical Control [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 122, 4235-4236.
- [109] M N Yousaf, M Mrksich, Diels-Alder Reaction for the Selective Immobilization of Protein to Electroactive Self-Assembled Monolayers [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, 121, 4286-4287.
- [110] J Mack, D Leipert, A Badia, W Knoll, G Jung, Anodic Polymerization of Phenol-Modified Biotin: Patterned Deposition and Layer Characterization [J]. *Adv. Mater.*,

- 1999, 11: 809-814.
- [111] O Pierrat, N Lechat, C Bourdillon, J M Laval, Electrochemical and Surface Plasmon Resonance Characterization of the Step-by-Step Self-Assembly of a Biomimetic Structure onto an Electrode Surface [J]. *Langmuir*, 1997, 13, 4112-4118.
- [112] S Lingler, I Rubinstein, W Knoll, A Ofenhausser, Fusion of Small Unilamellar Lipid Vesicles to Alkanethiol and Thiolipid Self-Assembled Monolayers on Gold [J]. *Langmuir*, 1997, 13, 7085-7091.
- [113] L Zhang, R Vidu, A J Waring, R I Lehrer, M L Longo, P Stroeve., Electrochemical and Surface Properties of Solid-Supported, Mobile Phospholipid Bilayers on a Polyion/Alkylthiol Layer Pair Used for Detection of Antimicrobial Peptide Insertion [J]. *Langmuir*, 2002, 18, 1318-1331.
- [114] S Terrettaz, T Stora, C Duschl, H Vogel, Protein binding to supported lipid membranes: investigation of the cholera toxin-ganglioside interaction by simultaneous impedance spectroscopy and surface plasmon resonance [J]. *Langmuir*, 1993, 9, 1361-1369.
- [115] R Naumann, E K Schmidt, A Jonczyk, K Fendler, B Kadenbach, T Liebermann, A Ofenhausser, W Knoll, The peptide-tethered lipid membrane as a biomimetic system to incorporate cytochrome c oxidase in a functionally active form [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 1999, 14: 651-662.
- [116] B A Boukamp, H Wieder, A Ofenhausser, W Knoll, F C J M Van Veggel, D N Reinhoudt, Host-Guest Interactions at Self-Assembled Monolayers of Cyclodextrins on Gold [J]. *Chem. Eur. J.*, 2000, 6: 1176-1183.
- [117] A Friggeri, F C J M Van Veggel, D N Reinhoudt, Recognition of Steroids by Self-Assembled Monolayers of Calix[4]arene-Resorcin[4]arene Receptors [J]. *Chem. Eur. J.*, 1999, 5: 3595-3602.
- [118] T. Cassagneau, J. H. Fendler, T. E. Mallouk, Optical and Electrical Characterizations of Ultrathin Films Self-Assembled from 11-Aminoundecanoic Acid Capped TiO<sub>2</sub> Nanoparticles and Polyallylamine Hydrochloride [J]. *Langmuir*, 2000, 16: 241-246.
- [119] D. A. Schultz, Plasmon resonant particles for biological detection [J]. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2003, 14: 13-22.
- [120] L A Lyon, M D Musick, M J Natan, Colloidal Au-Enhanced Surface Plasmon Resonance Immunosensing [J]. *Anal. Chem.*, 1998, 70: 5177-5183.
- [121] L He, M D Musick, S R Nicewarner, F G Salinas, S J Benkovic, M J Natan, C D

- Keating, Colloidal Au-Enhanced Surface Plasmon Resonance for Ultrasensitive Detection of DNA Hybridization [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 122: 9071-9077.
- [122] O Lioubashevski, V I Chegel, F Patolsky, E Katz, I Willner, Enzyme-Catalyzed Bio-Pumping of Electrons into Au-Nanoparticles: A Surface Plasmon Resonance and Electrochemical Study [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126: 7133-7143.
- [123] 张辉, 钟博, 邓玉福, 生命单元表面行为的物理表征 [M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [124] D Aurbach, M Moshkovich, Y Cohen, A Schechter, The study of surface film formation on noble-metal electrodes in alkyl carbonates/Li salt solutions, using simultaneous in situ AFM, EQCM, FTIR, and EIS [J]. *Langmuir.*, 1999, 8: 2947-2960.
- [125] X. Zeng, S Bruckenstein, Polycrystalline gold electrode redox behavior in an ammoniacal electrolyte: Part I. A parallel RRDE, EQCM, BPS and TOF-SIMS study of supporting electrolyte phenomena [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1999, 461(1-2): 131-142.
- [126] 向娟, 吴秉亮, 陈胜利, 甲酸在铂电极上吸附氧化机理研究 [J]. 2000,16(10): 906-911.
- [127] F Galliano, C O A Olsson, D Landolt, Flow cell for EQCM adsorption studies [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 2003, 150(11): B504-B511.
- [128] C Garcia, G Courbin, F Ropital, C Fiaud, Study of the scale inhibition by HEDP in a channel flow cell using a quartz crystal microbalance [J]. *Electrochimica Acta.*, 2001, 46 (7): 973-985.
- [129] A L Briseno, F Song, A J Baca, F M Zhou, Studies of potential-dependent metallothionein adsorptions using a low-volume electrochemical quartz crystal microbalance flow cell [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2001, 513: 16-24.
- [130] G Horanyi, E M Rizimayer, The influence of amino acids on electrocatalytic reactions occurring at a platinum electrode in alkaline medium [J]. *J Electroanal Chem*, 1986, 198: 393-400.
- [131] G Horanyi, A direct and indirect radiotracer study of the adsorption of serine at a platinized platinum electrode [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1991, 304: 211-217.
- [132] X Y Xiao S G Sun J L Yao Q H Wu Z Q Tian, Surface enhanced Raman spectroscopic studies of dissociative adsorption of amino acids on Pt and Au Electrodes in Alkaline Solutions [J]. *Langmuir*, 2002, 18: 6274-627.
- [133] S Martusevicius, G Niaura, Z Talaikyte, V Razumas, Adsorption of L-Histidine on copper surfaces as evidenced by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy [J]. *Vib.*

- Spect., 1996, 10: 271-280.
- [134] D Zhang, A Demetriou, A C Welinder, T Albrecht, R J Nichols, J Ulstrup, Potential-induced structural transitions of DL-Homocysteine monolayers on Au(111) electrode surfaces [J]. Chem. Phys., 2005, 319: 210-221.
- [135] H Q Li, A C Chen, S G Roscoe, J Lipkowski, Electrochemical and FTIR studies of L-phenylalanine adsorption at the Au(111) electrode [J]. J Electroanal. Chem., 2000, 500: 299-310.
- [136] C L Brosseau, S G Roscoe, Electrochemical quartz crystal nanobalance and chronocoulometry studies of phenylalanine adsorption on Au [J]. Electrochimica Acta, 2006, 51 (11): 2145-2152.
- [137] Ogura K, Kobayashi M, Nakayama M, Miho Y, In-situ FTIR studies on the electrochemical oxidation of histidine and tyrosine[J]. J. Electroanal. Chem., 1999, 463 (2): 218-223.
- [138] J E I Wright, K Fatih, C L Brosseau, S Omanovic, S G Roscoe, L-Phenylalanine adsorption on Pt: electrochemical impedance spectroscopy and quartz crystal nanobalance studies [J]. J. Electroanal. Chem., 2003, 550: 41-51.
- [139] S M MacDonald, S G Roscoe, Electrochemical oxidation reactions of tyrosine, tryptophan and related dipeptides [J]. Electrochimica Acta., 1997, 42(8): 1189-1200.
- [140] 王浩, 赵学应, 杨威生, 天冬氨酸在 Cu(001)表面吸附的扫描隧道显微镜研究 [J]. 物理学报, 2000, 49(7): 1316-1320.
- [141] R Slojkowska, M J Herbich, Adsorption study of amino acids on a polycrystalline gold electrode [J]. Colloids Surf A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2001, 178: 325-336.
- [142] F Huerta, E Morallon, C Quijada, Potential modulated reflectance spectroscopy of Pt(111) in acidic and alkaline media: cyanide adsorption [J]. J. Electroanal. Chem., 1999, 463 (1): 109-115.
- [143] F Huerta, E Morallon, F Cases, A Rodes, J L Vazquez, A Aldaz, Electrochemical behaviour of amino acids on Pt(h,k,l): A voltammetric and in situ FTIR study .1. Glycine on Pt(111) [J]. J. Electroanal. Chem., 1997, 421: 179-185.
- [144] F Huerta, E Morallon, F Cases, A Rodes, J L Vazquez, A Aldaz. Electrochemical behaviour of amino acids on Pt(h,k,l). A voltammetric and in situ FTIR study .2. Serine and alanine on Pt(111) [J]. J. Electroanal. Chem., 1997, 431: 269-275.

- [145] F Huerta, E Morallon, J L Vazquez, J M Perez, A Aldaz, Electrochemical behaviour of amino acids on Pt(hkl). A voltammetric and in situ FTIR study. Part III. Glycine on Pt(100) and Pt(110) [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1998, 445: 155-164.
- [146] F Huerta, E Morallon, J L Vazquez, A Aldaz, Electrochemical behaviour of amino acids on Pt(hkl). A voltammetric and in situ FTIR study Part IV. Serine and alanine on Pt(100) and Pt(110) [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1999, 475: 38-45.
- [147] F Huerta, E Morallon, C Quijada, Potential modulated reflectance study of the electrooxidation of simple amino acids on Pt(111) in acidic media [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2000, 489 (1-2): 92-95.
- [148] K Ogura, M Nakayama, K Nakaoka, Y Nishihata, Spectroelectrochemical and EQCM studies on the oxidation of glycil-peptides in alkaline medium [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2000, 482 (1): 32-39.
- [149] Ogura K, Kobayashi M, Nakayama M, Miho, Y. Electrochemical and in situ FTIR studies on the adsorption and oxidation of glycine and lysine in alkaline medium [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1998, 449: 101-109.
- [150] Y J Gu, S G Sun, S P Chen, C H Zhen, Z Y, Zhou Oxidation dissociative adsorption of serine on Pt single crystal electrodes in sulfuric acid solutions [J]. *Langmuir*, 2003, 19: 9823-9830
- [151] 谷艳娟, 周志有, 陈声培, 甄春花, 孙世刚, 酸性和碱性介质中甘氨酸解离吸附和氧化的 EQCM 研究 [J]. *高等学校化学学报*, 2003, 24(3): 501-505.
- [152] 肖晓银, 孙世刚, 吴启辉, 周志有, 碱性介质中甘氨酸在 Pt 电极上解离吸附和氧化反应的原位红外反射光谱研究 [J]. *高等学校化学学报*, 2000, 21(8): 1288-1292.
- [153] H Yang, T H Lu, K H Xue, S G Sun, G Q Lu, S P Chen, Electrocatalytic mechanism for formaldehyde oxidation on the highly dispersed gold microparticles and the surface characteristics of the electrode [J]. *J. Molecular Catalysis A*, 1999, 144: 315-321.
- [154] B B Blizanac, C A Lucas, M E Gallagher, M Arenz, P N Ross, N M Markovic, Anion adsorption, CO oxidation, and Oxygen reduction reaction on a Au(100) surface: the pH effect, [J]. *J. Phys. Chem.*, 2004, 108: 625-634.
- [155] H Möller, P C Pistorius, The electrochemistry of gold-platinum alloys [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2004, 570: 243-255.
- [156] M Beltowska-Brzezinska, T Luczak, R Holze, Electrocatalytic oxidation of mono- and polyhydric alcohols on gold and platinum [J]. *J. Appl. Electrochem.*, 1997, 27: 999-1011.

- [157] A Ueda, M Haruta, Nitric oxide reduction with hydrogen, carbon monoxide, and hydrocarbons over gold catalysts [J]. *Gold Bulletin*, 1999, 32: 3-11.
- [158] 阮德水, 李卫萍. 高等函授学报, 金的化学 [J], 2000, 13(1): 25-29.
- [159] 张晓梅, 熊家聪, 雷敏昆, 金诺芬薄层色谱分析 [J], 贵金属, 1999, 20 (4): 31-14.
- [160] 董守安, 纳米技术中的金元素, 2003, 24(1): 54-61.
- [161] 肖晓银, 厦门大学博士学位论文 [D], 2000.
- [162] K Ogura, K Nakaoka, M Nakayama, S Tanaka, A new type of electrochemical formation of copper oxide during redox processes of the copper(II)-glycine complex at high pH [J], *J. Electroanal. Chem.*, 2001, 511: 122-127.
- [163] J A Lori, T Hanawa, Characterization of adsorption of glycine on gold and titanium electrodes using electrochemical quartz crystal microbalance [J], *Corrosion Sci*, 2001, 43(1): 2111-2120.
- [164] R LeParc, C I Smith, M C Cuquerella, R L Williams, D G Fernig, C Edwards, D S Martin, P Weightman, Reflection anisotropy spectroscopy study of the adsorption of sulfur-containing amino acids at the Au(110)/electrolyte interface [J], *Langmuir*, 2006, 22 (7): 3413-3420.
- [165] H T Tien, Cyclic voltammetry of bilayer lipid membranes [J]. *J. Phys. Chem.*, 1984, 88: 3172-3174.
- [166] H T Tien, 715-Cyclic voltammetry of electron-conducting bilayer lipid membranes [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1984, 13: 299-316.
- [167] J W Chen, H T Tien, A comparative study between a two-compartment cell and the standard electron system [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1988, 19: 491-497.
- [168] H T Tien, 708-Redox reactions in bilayer lipid membranes as determined cyclic voltammetry [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1984, 12: 529-533.
- [169] J Kotowski, H T Tien, Sucrose influence on lecthin and polypyrrole lecthin bilayer membranes [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1989, 22: 69-74.
- [170] P Butko, Z Salamon, H T Tien, Adsorption of gentamicin onto a bilayer lipid membranes [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1989, 22: 69-74.
- [171] Z Salamon, L B Vitello, J E Erman, P Butko, H T Tien, Electron transfer from cytochrome c to cytochrome c peroxidase across the bilayer lipid membrane(BLM) [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1989, 21: 213-221.
- [172] Y Cheng, V J Cunnane, A K Kontturi, K Kontturi, D J Schiffrin, Potential dependence of



- transmembrane electron transfer across phospholipid bilayers mediated by ubiquinone 10 [J]. *J. Phys. Chem.* 1996,100: 15470-15477.
- [173] S V Lymar, J K Hurst, Mechanisms of viologen-mediated charge separation across bilayer membranes deduced from mediator permeabilities [J]. *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114: 9498-9503.
- [174] S V Lymar, J K Hurst, Electrogenic and electroneutral pathways for methyl viologen-mediated transmembrane oxidation-reduction across dihexadecyl-phosphate vesicular membranes [J]. *J. Phys. Chem.* 1994, 98: 989-996.
- [175] B Ketter, B Neumke, P Laeuger, Transport mechanism of hydrophobic ions through lipid bilayer membranes [J]. *J. Membr. Biol.*, 1971, 5: 225-245.
- [176] R Benz, S McLaughlin, The molecular mechanism of action of the proton ionophore FCCP (carbonylcyanide p-trifluoromethoxyphenylhydrazine) [J]. *Biophys. J.* 1983, 41: 381-189.
- [177] C J Bender, H T Tien, Dynamic polarization of lipid bilayers as a special case in the electrochemistry of liquid/liquid interfaces [J]. *Anal. Chim. Acta.* 1987, 198: 259-269.
- [178] C J Bender, H T Tien, Electroical properties of bilayer lipid membranes containing iodine and iodide, investigated by cyclic voltammetry [J]. *Anal. Chim. Acta.* 1987, 201: 51-58.
- [179] L Ding, E Wang, Electrochemical studies of lipophilic ion transport through BLM, the influence of sterols on its transport [J]. *Electroanalysis.* 1996, 8: 922-926.
- [180] H T Tien, Z Salamon, Formation of self-assembled lipid bilayers on solid substrates [J]. *Bioelectrochem. And Bioenerg.* 1989, 22: 211-218.
- [181] Z Salamon, G Tollin, Cyclic voltammetric behavior of [2Fe-2S] ferredoxins at a lipid bilayer [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1992, 27: 381-391.
- [182] Z Salamon, G Tollin, Interfacial electrochemistry of cytochrome c at a lipid bilayer electrode: Effect of incorporation of negative charges into the bilayer on cyclic voltammetric parameters [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1991, 26: 321-327.
- [183] J F Rusling, Catalytically active, ordered films of proteins, surfactants and polyelectrolytes on electrodes [J]. *Progr. Colloid Polym. Sci.* 1997, 103: 170-180.
- [184] J L Kong, Z Q Lu, Y M Lvov, J F Rusling, Direct electrochemistry of cofactor redox sites in a bacterial photosynthetic reaction center protein [J]. *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120: 7371-7372.

- [185] H Park, J S Park, Y B Shim, Redox reaction of benzoquinone on a lipid coated glassy carbon electrode [J]. *J. Electroanal. Chem.* 1997,438: 113-119.
- [186] H Park, M Oyama, Y B Shim, S Okazaki, Reduction of p-benzoquinone on lipid-modified electrodes: Effect of the alkyl chain length of lipids on the electron transfer reactions [J]. *J. Electroanal. Chem.* 2000, 484: 131-136.
- [187] H T Tien, R H Barish, L Q Gu, A L Ottova, Supported bilayer lipid membranes as ion and molecular probes [J]. *Anal. Soc.* 1998, 14: 3-17.
- [188] D P Nikolelis, C G Siontorou, Bilayer lipid membranes for flow injection monitoring of acetylcholine, urea, and penicillin [J]. *Anal. Chem.* 1995, 67: 936-944.
- [189] D P Nikolelis, U J Krull, Bilayer lipid membranes for electrochemical sensing, [J]. *Electroanalysis.*, 1993, 5: 539-545.
- [190] N Sugao, M Sugawara, H Minami, M Uto, Y Umezawa, Na<sup>+</sup>/D-Glucose cotransporter based bilayer lipid membrane sensor for D-Glucose [J]. *Anal. Chem.* 1993, 65: 363-369.
- [191] 邵子厚, 杨昌正, 铂支撑的碘-聚吡咯修饰双层脂膜的 I-V 特性 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 1992, 19: 306-309.
- [192] M Snejdarkova, M Rehak, M Otta, Design of a glucose mimisensor based on streptavidin-glucose oxidase complex coupling with self-assembled biotinylated phospholipid membrane on solid support [J]. *Anal. Chem.* 1993,65: 665-668.
- [193] H Minami, M Sugawara, K Odashima, Y Umezawa, Ion channel sensors for glutamic acid [J]. *Anal. Chem.* 1991, 63: 2787-2795.
- [194] P Bianco, J Haladjian, Control of the electron transfer reactions between c-type cytochromes and lipid-modified electrode [J]. *Electrochim. Acta.* 1994, 39: 911-916.
- [195] D P Nikolelis, U J Krull, Direct electrochemical sensing of insecticides by bilayer lipid membranes [J]. *Anal. Chim. Acta.* 1994, 288, 187-192.
- [196] S Kumaran, H Meier, A M Danna, C Tran-Mihn, Immobilization of thin enzyme membranes to construct glass enzyme electrodes [J]. *Anal. Chem.* 1991, 63: 1914-1918.
- [197] D P Nikolelis, C G Siontorou, Stabilized filter-supported bilayer lipid membranes(BLMs) for automated flow monitoring of compounds of clinical, pharmaceutical, environmental and industrial interest [J]. *Bilelectrochem. Bioenerg.* 1997, 42: 71-75.
- [198] D L Jiang, P Diao, R T Tong, Ca<sup>2+</sup> induced Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-/4-</sup> electron transfer at Pt supported BLM electrode [J]. *Bilelectrochem. Bioenerg.* 1998, 44: 285-288.
- [199] H T Tien, S H Wurster, A Ottova, Electrochemistry of supported bilayer lipid

- membranes: Background and techniques for biosensors development [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1997, 42: 77-94.
- [200] L Ding, E Wang, Cyclic voltammetry of dye-modified supported bilayer lipid membranes (s-BLMs) [J]. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1997, 43: 173-176.
- [201] E Sakmann, E Neher, B Scakmann, E Nehered, Geometric parameters of pipettes and membrane patches. In: *Single channel recording*, New York: Plenum press, 1983, 37-51.

## 第二章 实 验

### § 2-1 试剂

**气体:** 高纯氮气( $N_2$ ) (林德气体(厦门)有限公司)

**试剂:** 重铬酸钾( $K_2CrO_7$ ), 分析纯硫酸( $H_2SO_4$ ), 过氧化氢( $H_2O_2$ ), 四氯化金三水合物( $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ ), 硼氰化钠( $NaBH_4$ ), 柠檬酸钠( $C_6H_5Na_3O_7$ ), 盐酸羟胺( $NH_2OH \cdot HCl$ ), 分析纯乙醇( $C_2H_5OH$ ), 生化试剂 L-赖氨酸(L-Lysine), 铁氰化钾( $K_3Fe(CN)_6$ ), 亚铁氰化钾( $K_4Fe(CN)_6$ ), 氯仿( $CHCl_3$ ), 磷酸二氢钾( $KH_2PO_4$ ), 磷酸氢二钾( $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ ), 对苯二酚( $C_6H_6O_2$ ), 氯化钾(KCl), 抗坏血酸(AA), 以上试剂购自国药集团化学试剂有限公司;

优级纯硫酸( $H_2SO_4$ ) (上海振兴化工二厂), 优级纯氢氧化钠(NaOH) (上海山海工学团实验二厂), 二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(Phospholipid-DMPC,  $C_{36}H_{72}NO_7P$ ) (Sigma 公司), 3-氨基丙基三甲氧基硅烷(APTMS) (Aldrich 公司)。

所有溶液均用 Mili-Q 超纯水( $18M\Omega\text{ cm}$ )配制。

**材料:** BK7 玻璃片( $1.8 \times 1.8\text{ cm}$ )购自 Fisher Scientific, Carlsbad, CA。

### § 2-2 电化学体系

#### § 2-2-1 电极

**工作电极:** 分别采用本体多晶金电极(bulk-Au), 通过电化学循环伏安法在玻碳(GC)基底上沉积制备所得的纳米薄膜金电极(nm-Au/GC); EQCM 金电极(EQCM-Au); 通过湿化学法自组装的纳米金膜电极(nm-Au film)以及在本体多晶金电极上通过浇铸法制备得到的 DMPC/Au 电极。

**辅助电极:** 铂黑电极( $1.2\text{ cm} \times 1.2\text{ cm}$ ) ; 铂丝电极。

**参比电极:** 饱和甘汞电极(SCE); Ag/AgCl 电极。

本论文中的所有电极电位均相对于该电极标度。

#### § 2-2-2 电解池

电化学实验在三电极玻璃电解池中进行, 参比电极室通过液桥(双通活塞)与电解池主体连接, 从而避免杂质离子(如饱和甘汞电极中的  $K^+$ 、 $Cl^-$ )扩散到

电解池主体干扰电化学测量。电解池设有两个气体通道，底部通道用于通入高纯  $N_2$  除去溶液中的溶解氧，顶部通道则在测量过程中通入高纯  $N_2$  吹扫液面上的池体空间，防止大气中的杂质由电解池外部扩散进入。使测量在  $N_2$  气氛保护下进行。

### § 2-2-3 电化学仪器

电化学仪器为 CHI660A 型电化学工作站（上海辰华公司）。

电化学测量系统由兼容微机经 SC-11020 接口卡（北京方圆计算机公司）连接 XHD-II 型恒电位仪（厦门大学化学系）实现，经 AD 转换并记录。

测量过程中将电解池、参比电极等电化学系统置于不锈钢屏蔽箱中，以有效屏蔽电磁信号的干扰。

## § 2-3 电化学原位 FTIR 反射光谱实验

### § 2-3-1 红外电解池

原位 FTIR 反射光谱使用红外薄层电解池，结构如图 2-1 所示。其设计与电化学实验电解池相似，不同之处是电解池池体底部设计一块可透过红外光的  $CaF_2$  单晶圆片作为红外窗片，该窗片通过不锈钢底座与玻璃池体紧密结合，可以方便地拆卸、清洗。

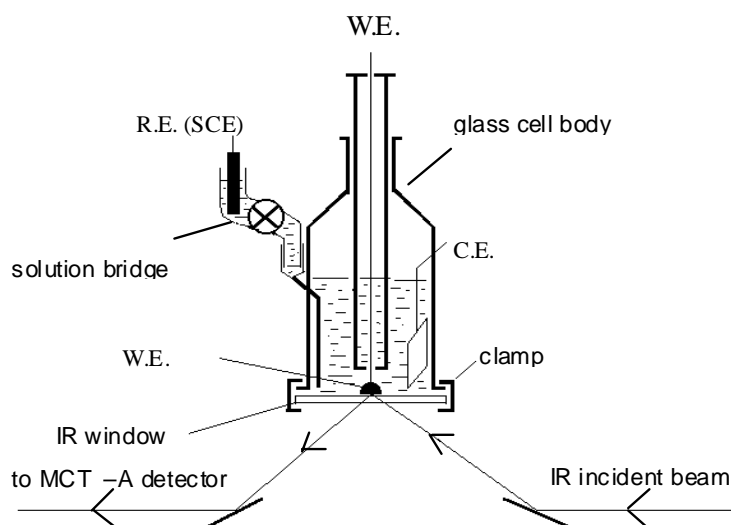


Fig. 2-1 *In situ* FTIR cell design.

### § 2-3-2 红外光谱仪器

电化学原位红外反射光谱实验在配备液氮冷却的 MCT-A<sup>TM</sup> 型检测器和 Globar 红外光源的 Nexus 870 (Nicolet) 傅立叶变换红外光谱仪上进行, 实验过程中光学台内部水汽和 CO<sub>2</sub> 通过空气发生器 (Whatman, 74-5041 型) 进行吹扫。原位红外实验中的电极电位由 PARC-263-I 型恒电位仪 (美国 Perkin-Elmer 公司) 控制, 并通过自行设计的接口及软件使之与红外数据的采集同步。

### § 2-3-3 原位 FTIR 反射光谱

要实现固|液界面电化学过程原位红外光谱检测必须克服如下困难: (a) 溶剂分子 (通常为水分子) 对红外能量的大量吸收; (b) 固体电极表面反射红外光导致部分能量损失; (c) 电极表面吸附物种量少 (满单层吸附仅为 10<sup>-8</sup> mol cm<sup>-2</sup> 左右)。这三个因素导致固|液界面的红外反射信号十分微弱, 以致于难以检测, 因此采用薄层电解池、调节红外光的入射角 (一般为 55 ~ 60° 左右)、电位差谱和各种微弱信号检测技术来获得具有足够高信噪比的电化学原位红外反射光谱。

本论文采用电位调制方法, 即在两个电位 (研究电位  $E_S$  和参考电位  $E_R$ ) 分别采集单光束光谱  $R(E_S)$  和  $R(E_R)$ , 结果谱图表示为电极反射率的相对变化:

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{R(E_S) - R(E_R)}{R(E_R)} \quad (2-1)$$

$R(E_S)$  及  $R(E_R)$  实际上还包含红外光在窗片上直接反射的贡献  $R_w$ , 因此更精确应表示为

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{(R(E_S) - R_w) - (R(E_R) - R_w)}{R(E_R) - R_w} = \frac{R(E_S) - R(E_R)}{R(E_R) - R_w} \quad (2-2)$$

对于 CaF<sub>2</sub> 窗片,  $R_w$  通常可以忽略, 图谱以式 2-1 表示, 而对于反射率比较高的红外窗片如 ZnSe、Si 等,  $R_w$  通常不可忽略。

根据 Fourier 变换红外光谱仪的工作原理, MCT-A 检测器记录的是干涉图, 经累加平均并进行 Fourier 变换成为单光束光谱。谱图的信噪比与累加平均的干涉图数目之平方根成正比, 即  $S/N \propto \sqrt{n}$ , 为了得到较高的信噪比, 可以通过累加足够多的干涉图来实现。

电化学原位红外反射光谱主要采用以下几种检测方式:

## 1、单次电位改变 FTIRS(SPAFTIRS)<sup>[1]</sup>和差减归一化界面 FTIRS(SNIFTIRS)<sup>[2,3]</sup>

这是最常用的电化学原位 FTIR 光谱方法。SPAFTIRS 方法如图 2-2 所示，在参考电位  $E_R$  和研究电位  $E_S$  分别采集单光束光谱  $R(E_R)$  和  $R(E_S)$ ，再按(2-1)式差减归一化即得到结果谱图，这种方式常用于研究不可逆反应体系。

类似地，SNIFTIRS 方法如图 2-3 所示，即把 SPAFTIRS 的采集过程重复  $m$  次，得到的最后谱图为

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{\sum R(E_S) - \sum R(E_R)}{\sum R(E_R)} \quad (2-3)$$

SNIFTIRS 方法可以减少由于系统不够稳定，例如体系（薄层组分、电极状态）变化和背景漂移（水气、 $\text{CO}_2$  等）引起的误差，因而比起 SPAFTIRS，累加相同数目干涉图得到的谱图有更好的信噪比。SNIFTIRS 方式特别适用于研究表面吸附物在  $E_R$  和  $E_S$  均稳定存在的体系。

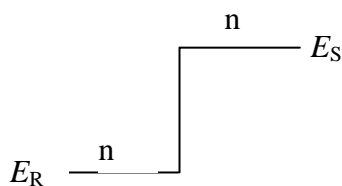


Fig. 2-2 SPAFTIRS procedure.

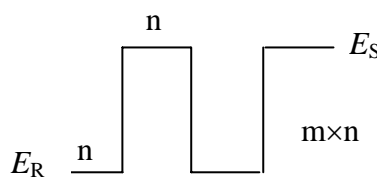
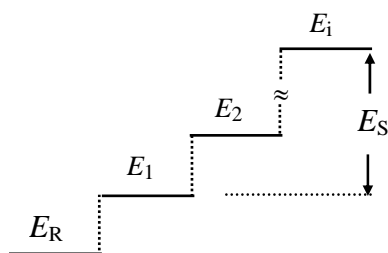


Fig. 2-3 SNIFTIRS procedure.

## 2、多步阶跃 FTIRS (MSFTIRS)<sup>[4]</sup>

MSFTIRS 光谱方法如图 2-4 所示，逐步改变研究电位  $E_S^i$ ，并采集相应的单光束反射光谱  $R(E_S^i)$ ，最后将电位设定在参考电位  $E_R$ ，并采集参考单光束光谱  $R(E_R)$ ；或者先采集  $R(E_R)$ ，然后采集一组  $R(E_S^i)$ ，经差减归一化得到一系列研究电位下的谱图，

$$\frac{\Delta R}{R}(E_S^i) = \frac{R(E_S^i) - R(E_R)}{R(E_R)} \quad (2-4)$$

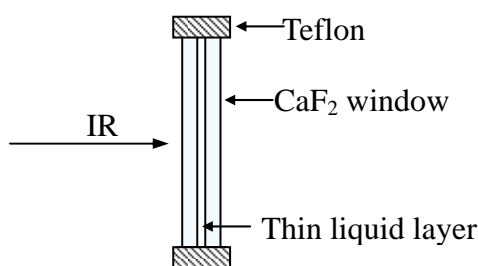


**Fig. 2-4 MSFTIRS experimental procedure.**

利用 MSFTIRS 方法单次实验即可得到较多的数据。特别是对于研究待测物种在某一区间内随电位改变的变化。MSFTIRS 方法比起 SPAFTIRS 和 SNIFTIRS 方法的优越性在于，通过选择合适的  $E_R$  和  $E_S^i$ ，MSFTIRS 所得谱峰一般是单极峰，可以较准确地确定峰位和峰面积，从而有利于定量分析。因为利用 SPAFTIR 和 SNIFTIR 要得到等效的数据，需进行多次实验，而且往往必须进行薄层的更新和电极的调整，这通常都引起电极表面状态和光路或多或少的差异。此外，SPAFTIRS 和 SNIFTIRS 方法得到的一般是双极峰，这对于确定峰位和峰面积带来了诸多不便。

**§ 2-3-4 红外透射池**

红外透射池如图 2-5 所示。由两片  $\text{CaF}_2$  红外窗片形成溶液薄层，光源发出的红外光可以垂直通过样品，然后进入检测器，透射光谱可以检测电解液中有有机小分子的信息。



**Fig. 2-5 Scheme of transmission IR cell.**

**§ 2-4 电化学石英晶体微天平**

**(Electrochemical Quartz Crystal Microbalance, EQCM)**



## § 2-4-1 基本原理

电化学石英晶体微天平基于石英晶振频率随表面质量线性变化来进行测量。根据 Sauerbrey 方程<sup>[5]</sup>，单位面积上电极表面质量变化与晶振频率变化之间的关系由下式给出，

$$\Delta m = -S \Delta f = -S (f - f_0) \quad (2-5)$$

其中  $S$  为质量灵敏度因子，在本实验中根据<sup>[6]</sup>标定  $S = 5.29 \text{ ng cm}^{-2} \text{ Hz}^{-1}$ ，其物理意义是单位面积上每改变  $1 \text{ Hz}$  所引起的表面质量变化为  $5.29 \text{ ng}$ ； $\Delta f$  为石英晶振频率变化， $f_0$  是石英晶振的基频。电极表面质量变化通常由表面氧化还原或吸脱附等过程引起，而电化学氧化还原反应的两个基本参数是电量  $Q$  ( $\text{C cm}^{-2}$ ) 和电流  $j$  ( $\text{A cm}^{-2}$ )。根据 Faraday 定律：

$$\Delta m = \Delta Q M / (nF), \quad (2-6)$$

得到电量与频率变化之间的关系，

$$-\Delta f = M \Delta Q / (nFS) \quad (2-7)$$

$$\text{即 } M/n = (-\Delta f / \Delta Q) S F \quad (2-8)$$

式中  $M$  为吸附物种的平均摩尔质量， $n$  为电荷转移数， $M/n$  表示每转移一个电子对应的电极表面所有吸附物种的平均摩尔质量。 $F$  是法拉第常数， $\Delta f / \Delta Q$  是对应单位电量的频率改变量。由  $\Delta f$  对  $\Delta Q$  作图，从其斜率可得到  $(M/n)$ ，而由  $(M/n)$  的值可以确定一定电位范围内电极表面由于氧化还原、吸脱附等过程引起的平均摩尔质量的变化，从而为认识电极反应机理提供丰富的信息。

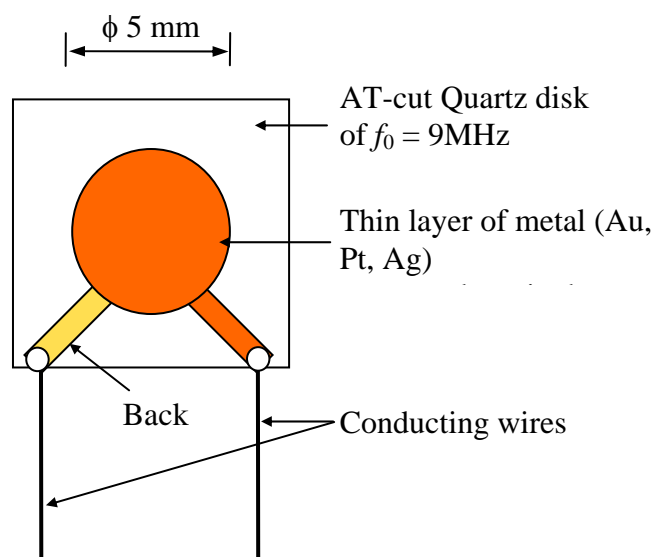


Fig. 2-6 View of EQCM electrode.

### § 2-4-2 电极及电解池构造

本实验采用的工作电极（图 2-6）为基频  $f_0 = 9\text{MHz}$  的 AT-cut 型石英晶体 Au 电极。QCA917 型电化学石英晶体微天平（SEIKO EG&G 公司）仪器与计算机、XHD-II 型恒电位仪的连接如图 2-7 所示，通过自行开发的软件和 SC-11020 接口卡（北京方圆公司），完成电流、电位和频率数据的同步采集。

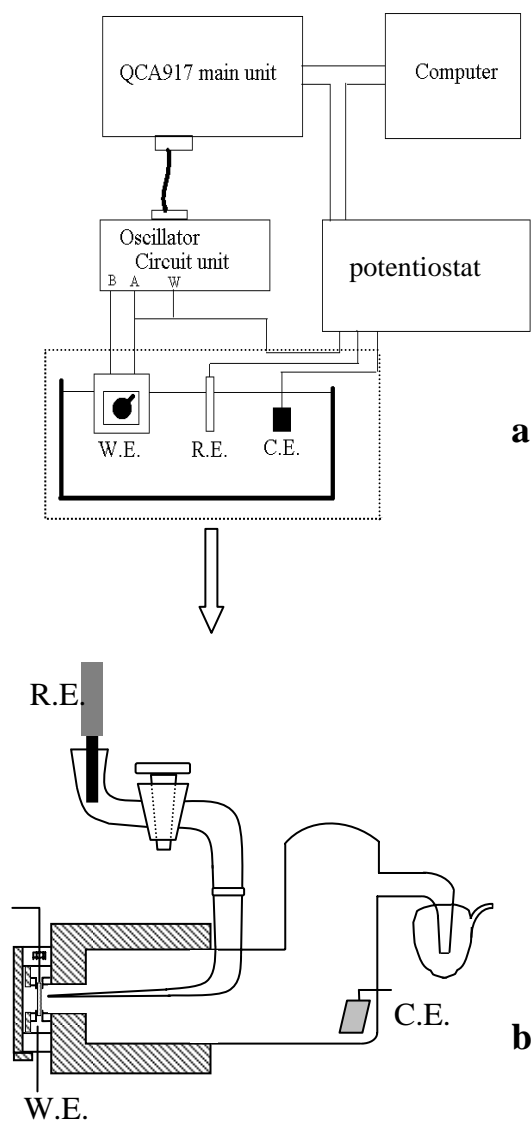


Fig. 2-7 EQCM experimental setup (a) and cell (b).

## § 2-5 表面等离子共振

### (Surface Plasmon Resonance , SPR)

#### § 2-5-1 基本原理

当光线自光密介质进入光疏介质发生全反射时,光波的电场强度在界面处并不立即减小,而是渗入光疏介质中,形成一个随渗入深度变化且其电场强度呈指数衰减的光波,这就是所谓的隐失波。

当消失波与金属薄膜中的自由电子产生的光波发生共振时,此时反射光的强度最低,这时的入射光的角度是我们通常所说的SPR角,这就是我们用SPR技术来进行分析研究的基础原理。

当发生SPR现象时,光提供的能量导致金属膜表面电子发生共振电子吸收该能量使被反射光的能量最小,这种最小化发生时的入射角度称为SPR角如图1所示。SPR角与入射角、金属膜的厚度、玻璃与金的介电常数、金表面及邻近介质的折射率有关,金属表面结合生物分子将导致其折射率发生变化,从而引起SPR角的变化,这一变化又和金属表面结合的生物分子质量成正比,因此可通过测量SPR角的变化监测生物分子间相互作用。

SPR 的实验方法一般为首先在传感片表面固定一个反应物,使其形成分子敏感膜,然后,当待测样品在传感片上流过或发生反应时,传感片上就会发生分子间相互作用或吸附的情况由 SPR 信号的改变反映出来,并通过计算机将整个反应过程显示和记录下来。如图 2-8 所示。

从SPR曲线中,我们可以获得如下信息:哪些分子发生了相互作用;相互作用的强度;结合和解离的速度;样品中分析物的浓度;是否存在异构效应;结合位点分析;复合物中不同成分对结合的影响等。

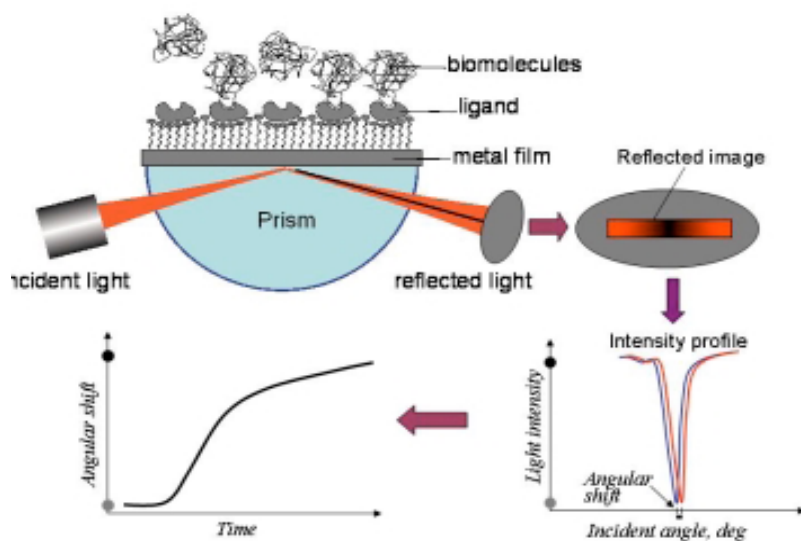


Fig. 2-8 Principle of SPR sensing.

### § 2-5-2 电化学与表面等离子体共振联合(EC-SPR)

电化学反应是两相界面过程，用于产生 SPR 的金膜是电化学研究中一种常用的工作电极，因此 SPR 技术能够有效地和电化学技术结合起来 (EC-SPR)，用于电化学界面有关过程的研究。通过 EC-SPR 可以获得两种检测结果，即(1)获得电化学激励后界面光学性质的变化；(2)界面组成变化后分子电学性质的转变。它不仅具有电化学灵敏检测的优点，而且扩展了 SPR 研究的范围，如可用于实时表征化学修饰电极的界面或电极的电子转移性质以及自组装及层层组装生长体系的电学和光学性质。

### § 2-5-3 电极及电解池构造

电化学仪器 CHI660A 型电化学工作站 (上海辰华公司) 与 BI SPR1000 表面离子体共振仪 (Biosensing Instrument Inc., USA) 联合使用，用于进行电化学表面等离子共振实验。BI SPR1000 表面离子体共振仪采用 Kretschmann 模式。其光源是波长为 670nm 的激光二极管。棱镜为 BK7 半球形的棱镜。SPR 响应基质为覆盖 50nm 厚金纳米薄膜的 BK7 玻片。

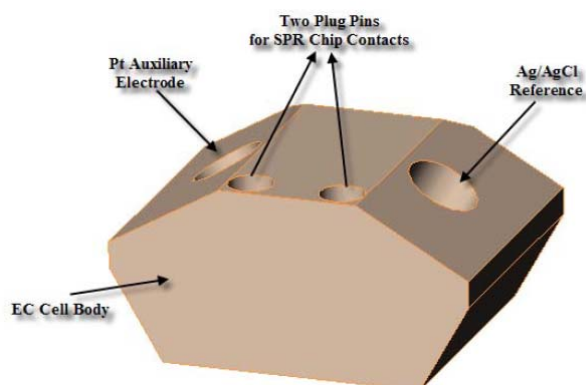
图 2-9 为 SPR 仪自带的电解池示意图。其工作电极通过匹配液固定在棱镜上，

其电极表面通过一个圆形橡皮圈与电解质溶液相联。辅助电极是铂丝，参比电极为 Ag/AgCl 电极。电解池由 100%PEEK 聚醚醚酮制成，池体尺度为  $2.8 \times 2.0 \times 1.4$  cm，池体容量约为 1.2 mL。

图 2-10 和 2-11 分别给出电解池构造的顶部和底部示意图。电解池两侧的较大洞口（直径为 6.35mm）分别用来放置参比和辅助电极。实验前电解液可以通过这两个洞口注入到电解池中去的。在洞口图中未显示处还有两个小洞，用来通气除氧。顶部有两个插头针，用以和 SPR 工作电极基片相接触。O 圈（直径为 7.6mm）压在基片上，所以实际上 SPR 工作电极是一个直径为 7.6mm 的圆形膜电极。



**Figure. 2-9 View of SPR Electrochemical Cell**  
**Pt Auxiliary electrode (Left) Ag/AgCl reference electrode (Right)**



**Figure. 2-10 PEEK Electrochemical Cell for EC-SPR**

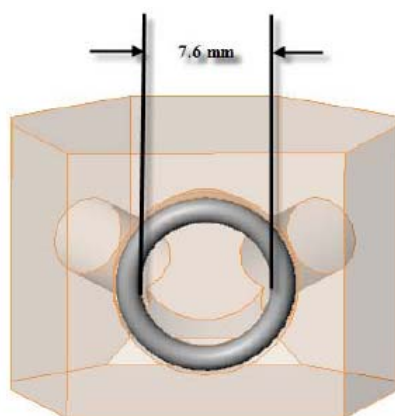


Figure. 2-11 Bottom view of the PEEK Electrochemical Cell

### § 2-6 透射电子显微镜(TEM)

本论文使用 JEM-100CX II 型（日本电子）透射电镜，用于观察产物形貌，其加速电压为 100kV。

### § 2-7 扫描电子显微镜(SEM)

本论文 SEM 研究结果在 LEO 1530 型扫描电子显微镜(LEO Electron Microscopy Ltd, England)上取得。

### § 2-8 台阶测厚仪

SPR 自组装金膜厚度采用 Dektak3 Series 膜厚测量仪测量。

### § 2-9 紫外可见光谱实验

紫外可见光谱在日本 Shimadzu UV-240 紫外可见光谱仪上获得。

### § 2-10 椭圆偏振仪

DMPC 仿生膜厚度采用法国 Jobin Yvon 的 Uvisel FUV 椭圆偏振仪测量。

## 参考文献

- [1] D S Corrigan, L W H Legung, M J Weaver, Single potential-alteration surface infrared spectroscopy: examination of adsorbed species involved in irreversible electrode reactions [J]. *Anal. Chem.*, 1987, 59: 2252-2256.
- [2] S Pons, T Davion, A Bewick, Vibrational spectroscopy of the electrode-electrolyte interface Part IV. Fourier transform infrared spectroscopy experimental considerations [J]. *J Electroanal. Chem.*, 1984, 160: 63-71.
- [3] S Pons, The use of Fourier transform infrared spectroscopy for in situ recording of species in the electrode-electrolyte solution interphase [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1983, 150: 495-504.
- [4] W F Lin, S G Sun, In situ FTIRS investigation of surface processes of Ru electrode-novel observation of twin adsorbates of carbon monoxide on Rhodium electrode in acid solution [J]. *Electrochimica. Acta.*, 1996, 41(6): 803-809.
- [5] G Sauerbrey, *Z. Phys.*, 1959, 155: 206-222.
- [6] N Y Gu, L Niu, S J Dong, Simultaneous determination of both the calibration constant in an electrochemical quartz microbalance and the active surface area of a polycrystalline gold electrode [J]. *Electrochem. Comm.*, 2000, 2: 48-50.

### 第三章 湿化学法制备 SPR 响应的纳米金膜

表面等离子共振(SPR, Surface Plasmon Resonance)可用于表征固液相界面的光学分析技术。由于 SPR 在几百纳米范围内对其界面物质的折射率及其厚度非常敏感,近年来有着长足的发展。SPR 应用领域包括:薄膜、自组装单分子层的形成及性质,蛋白质、核苷、医药品、表面活性剂等分子间的交互作用。SPR 可以实时观测到分子结合、薄膜形成等表面现象,灵敏度高、选择性好。SPR 在研究 L-B 膜<sup>[1-3]</sup>, 自组装过程<sup>[4-5]</sup>, 特性和非异性的吸附<sup>[6-13]</sup>, 非线性光学吸收薄膜分析<sup>[14]</sup>以及电化学界面上有机薄膜的表征<sup>[15-16]</sup>等方面得到了较广泛应用。

基底金层的存在可以引起入射光共振,共振只会在入射角小于临界角时才会发生。临界角与折射系数及金层上物质的质量相关,随着金层表面物质质量的增加,共振角度随之改变。SPR 基片的金膜厚度、形貌以及表面粗糙度对获得一个灵敏的、重现性好的 SPR 响应至关重要。

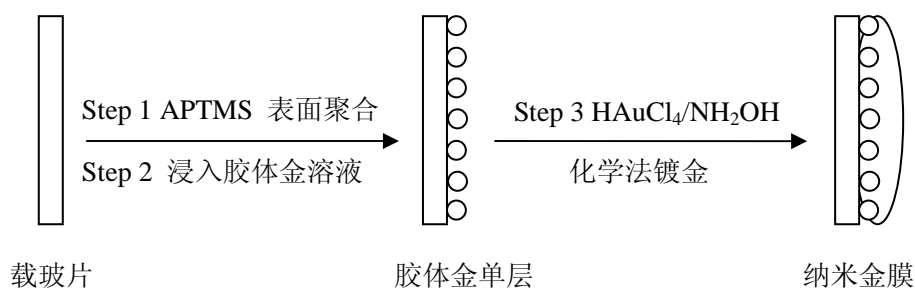
目前使用的 SPR 响应基片多采用物理方法(如真空镀膜法或溅射法)制备。这些方法需要昂贵的仪器和较长的操作时间,并且贵金属如金和银等在玻璃表面粘附力较差,为此通常在金属沉积之前,需要对玻璃表面在真空体系中采用等离子体法进行清洗。即使这样,制备的金膜与水接触时也容易脱落,限制了其实际应用。为了提高金与基底玻璃间的粘合力,常常采用铬(或者其它金属)薄层打底,但是由于铬(钛、钨等)金属存在表面晶粒的扩散等问题<sup>[17-20]</sup>,导致金表面性质改变,并且可能影响电子的转移以及吸附等过程<sup>[17, 21]</sup>。因此,这种金膜不太适合于电化学研究。尽管目前已经提出了一些方法来改善沉积金膜与玻璃(或者硅基底)间的粘接力<sup>[22-23]</sup>,但这些方法对膜厚以及形貌较难控制,且使用的真空沉积体系比较昂贵。

中科院长春应化所董绍俊小组的金永东博士<sup>[24]</sup>首次提出了一种比较简单的,在实验室容易操作的湿化学新方法。首先,在3-氨基丙基-三甲氧基硅烷(APTMS)修饰的薄玻璃片表面组装一层金胶粒子,再以此为模板采用化学湿法镀金。这种方法是一种完全基于溶液操作的SPR响应基片的制备方法,实验路线如图3-1所示。这种方法以甲醇为溶剂,强调干净和无水条件。

在本论文的研究中我们在其基础上做了改进。结合复旦大学蔡文斌小组提出



的一种制备表面红外增强效应纳米金膜的新方法<sup>[25]</sup>,采用超纯水取代原来湿化学法使用的甲醇溶液,即采用一种在有水环境下进行的制备的方法,同样也得到了适合于SPR检测的响应基片。这种方法不需用氮气吹干表面的操作,能很好地避免污染,操作更为方便。实验证明,用这种湿化学法制备的纳米金膜可以代替真空溅射法制得的金膜用于电化学和SPR研究。



**Fig. 3-1 Assembly strategy for SPR substrates by electroless Au plating on surface-confined colloidal Au monolayer**

### § 3-1 纳米金膜自组装过程

#### § 3-1-1 基底制备

纳米金膜的自组装过程要求所用的玻璃器皿事先在铬酸洗液浸泡后(部分器皿需使用王水处理),用超纯水冲洗干净备用。18mm×18mmBK7玻璃(厚度为190μm)基底的清洗在实验中更为重要。我们先将玻璃片放入培养皿在铬酸洗液中浸泡过夜,用去离子水冲洗干净。第二步将玻璃片置于新制备的Piranha溶液(硫酸:30%过氧化氢=3:1)中,在70—90℃水浴20min,以除去表面的杂质。取出玻璃片,用超纯水充分淋洗。随后浸入到5%APTMS的水溶液(取APTMS1.25ml至25ml容量瓶)中进行表面硅烷化修饰。注意在使用前APTMS的水溶液要充分超声,放入玻璃片后再超声大约1min。放置于室温下12小时后取出玻璃片,用超纯水冲洗干净。随后立即浸入到配置好的2.5nm的金纳米胶体溶液中进行金纳米粒子的组装,在冰箱里放置12-18小时。

#### § 3-1-2 胶体金的制备

金永东等<sup>[24]</sup>提出, 使用柠檬酸钠还原法制备粒径为 2.5nm 的金纳米粒子最适合于组装得到致密且均匀连续的金纳米薄膜。粒径为 12nm, 18nm 的纳米粒子不能得到很好覆盖度的纳米薄膜, 这可能是因为在溶液状态下的纳米粒子由于表面被柠檬酸根阴离子所覆盖, 在胶体微粒之间总是存在相互静电斥力。因此, 在玻璃片表面上只能形成彼此分开的亚单层纳米粒子自组装膜。文献<sup>[26]</sup>中已经证明, 这种表面是一种相对无序的, 彼此间隔为 10-50nm 的亚单层纳米粒子自组装膜。在这种条件下, 用  $\text{NH}_2\text{OH}/\text{Au}^{3+}$  混合液无法制备一个适当粗糙度的均匀金纳米薄膜。而粒径为 2.5nm 的金纳米粒子具有较大的表面覆盖度, 并且能够增加金与 APTMS 分子间的键合力。

因此, 我们沿用这一方法。所有玻璃器皿在使用前先用王水清洗, 再用超纯水冲洗干净。平均直径为 2.5 nm 的胶体金溶液制备如下: 取 1%  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  溶液 1ml 加入到 100ml 水中, 剧烈搅拌 1 min 后, 再加入 1ml 1% 柠檬酸钠溶液, 混匀等待 1 min 后, 加入 1 ml 含 0.075 %  $\text{NaBH}_4$  的 1% 柠檬酸钠溶液, 剧烈搅拌 5min, 然后在 4°C 环境下贮存备用<sup>[27]</sup>。这种单分散的胶体金溶液在 512nm 处有一强的紫外可见吸收峰, 如图 3-2 所示。

图3-3是金胶溶液的TEM表征图, 胶体金在常温下很容易发生团聚(如左图), 因此应贮存在4°C环境下, 这样才能保证胶体金呈均匀分散(如右图), 此单分散的胶体金溶液的平均直径为2.5 nm。

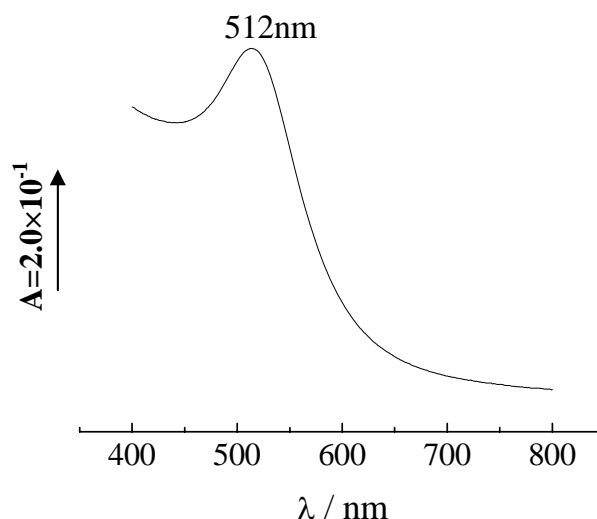


Fig. 3-2 UV-vis spectrum of gold colloidal solution

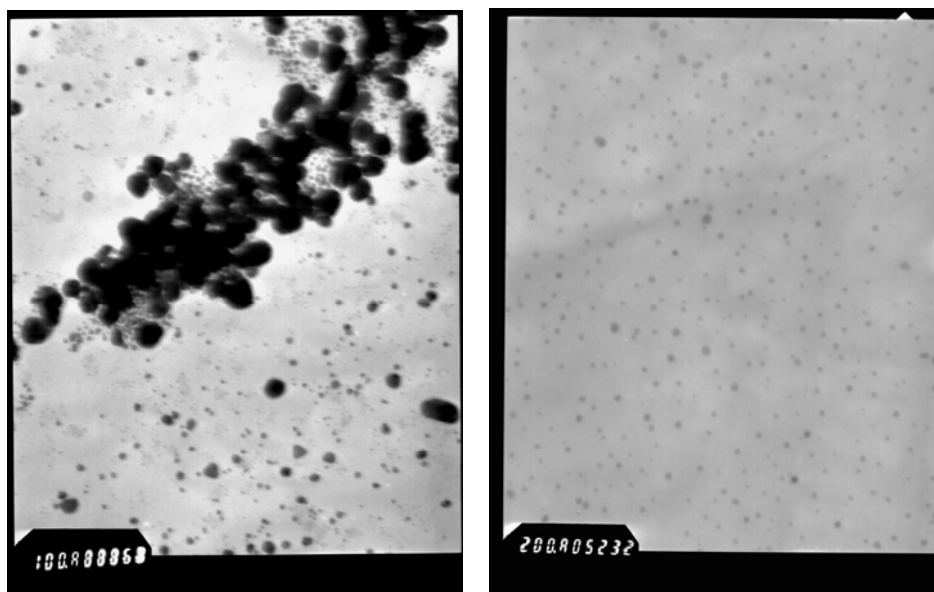


Fig. 3-3 TEM image of gold colloidal solution

### § 3-1-3 金纳米薄膜的厚度对SPR信号的影响

SPR 响应基片的厚度及表面结构特征对获得 SPR 信号非常重要。对于 Kretschmann 装置来说, 金属薄膜的厚度在几纳米至一百纳米之间都会发生表面等离子体共振。但其厚度对测定结果会产生重要的影响, 因为它直接影响在界面隐失波电场强度的大小, 若厚度超过隐失波的有效厚度, 则消失波在金属膜内将衰减至很小, 不能达到界面, 若金属薄膜过薄, 共振效果不能达到最佳。

化学镀金法很容易将金属沉积在表面上, 并不需要施加外部电位<sup>[28]</sup>。这种方法是基于金属离子的化学还原, 非常容易在湿法化学实验室中完成。从动力学角度上讲,  $\text{NH}_2\text{OH}$  能够将  $\text{Au}^{3+}$  还原成  $\text{Au}$ 。在镀金过程中, 该反应速度在金表面上可以被极大地加快, 且溶液中没有新的成核点出现, 在胶体金纳米粒子存在下, 所有的  $\text{Au}^{3+}$  离子都可在纳米粒子模板上催化还原, 形成更大的  $\text{Au}$  微粒<sup>[29]</sup>。通过进一步生长, 粒子间相互凝聚形成连续金膜。

作为核位点的  $\text{Au}$  纳米粒子通过其表面的催化还原可形成更大的粒子膜, 这个过程与胶体金粒子的粒径和加入的  $\text{Au}^{3+}$  的量有关。然而, 沉积速度与此呈非线性关系。该行为可用 Gibbs-Thomson 方程 ( $\Delta E = 2\sigma V_m / rF$ ) 来说明, 式中  $\Delta E$  是金属微粒 (粒子大小为  $r$ ) 的自由能变化,  $V_m$  是金属的摩尔体积,  $\sigma$  是电解质界面的表面自由能,  $F$  是法拉第常数。根据这个方程, 表面自由能随着微粒粒径

的增加而降低，这意味着沉积速率会越来越慢。

尽管沉积速率是非线性的，但仍可通过改变加入的  $\text{Au}^{3+}$  的量和镀膜的时间来控制膜的生长厚度。

#### § 3-1-4 化学法镀金

化学镀金液为  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  和  $\text{HAuCl}_4$  的混合溶液。将上述修饰有纳米 Au 单层膜的玻璃片浸入到镀金液中。在摇动的状态下进行湿法镀金（注意：摇动和干净的玻璃容器是重要的操作条件）。随着镀金时间的增长，可以观察到玻璃片表面的颜色逐渐从粉红到紫色、深蓝，最终是金色的变化。具有良好 SPR 响应的镀金时间约为 5-8min。化学镀膜结束后，玻璃片表面用超纯水清洗好，放在干燥环境中备用。实验前用氢火焰短暂退火，以消除金膜表面污染。

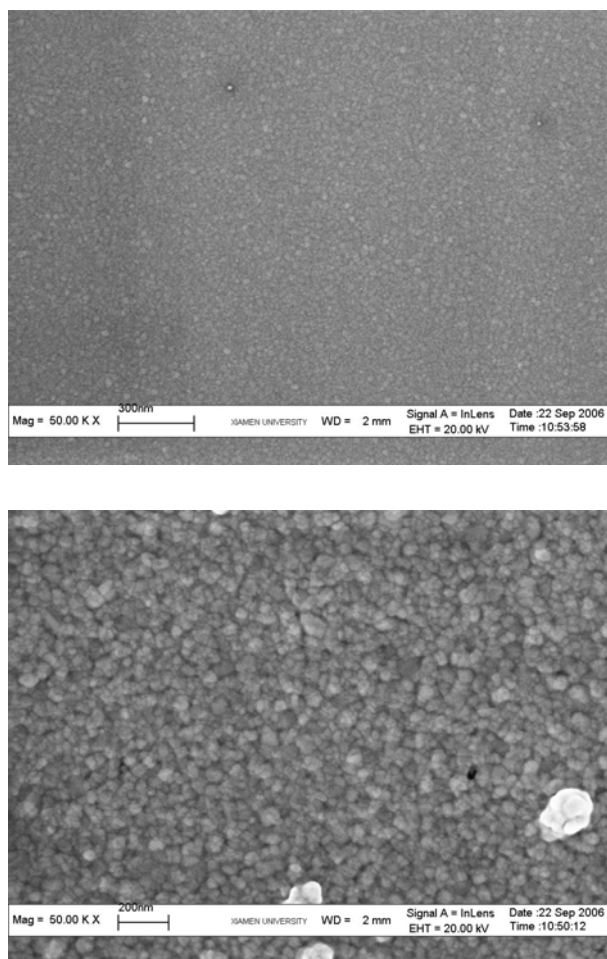
通过反复实验对比，单个玻片所用的镀金液为 5ml，即取超纯水 3.7ml，1%  $\text{HAuCl}_4$  0.3ml 和  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  溶液（0.00278g 于 10ml 容量瓶，在冰箱中保存）1ml。通过台阶测厚仪测得这种方法制得的纳米金膜的厚度大约是 50nm，这样所制得的金膜可以获得良好的 SPR 响应。

在镀金过程中，摇动与否对于金纳米薄膜的生长是很重要的。在实验中，我们比较两者（摇动和未摇动）的均匀性。未摇动所制得的金膜，肉眼即可观察到金膜的颜色深浅不一，这说明金膜厚度不均一。而摇动所制的金膜表面很均匀。此外，还比较了它们在溶液中的稳定性。即将制备的金膜放在水或硫酸中，可观察到未摇动的金膜很容易从玻片上剥落下来，而摇动的则很牢固。

#### § 3-2 纳米金膜的 SEM 表征

SPR 传感基片的表面粗糙度对 SPR 的产生是至关重要的，我们对真空溅射法制的金纳米薄膜与用上述湿法制的金纳米薄膜做了比较。图 3-4 是两种方法制得的金纳米薄膜的 SEM 图（A 为真空溅射方法制备，B 为湿化学法制备）。从图中可以看到，两种方法制得的金纳米薄膜的表面都是很平整，纳米粒子均匀地覆盖在玻璃片的表面上，形成了致密的，高覆盖度的金纳米薄膜。其中，用真空溅射方法得到的金纳米薄膜的纳米粒子的平均尺度在 20nm 左右，而用湿化学法制得的金纳米薄膜的纳米粒子的平均尺度在 30 nm 至 60nm 左右，每个大的粒子是

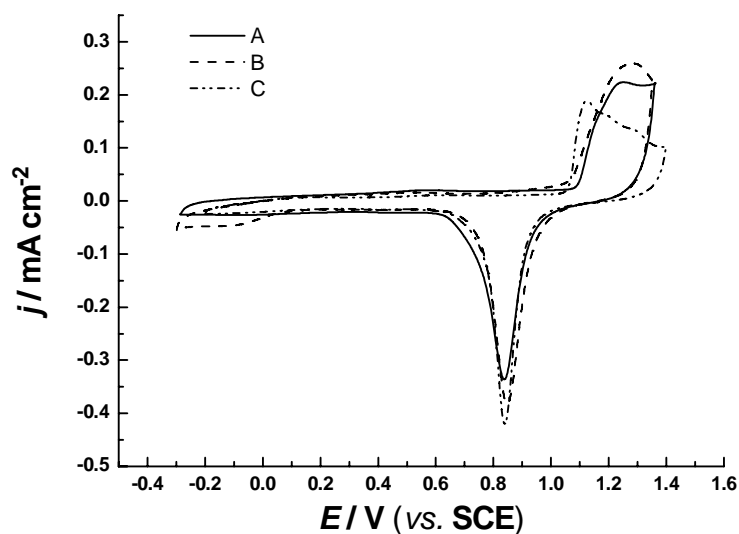
由许多个小的纳米粒子聚集而成，连续均匀，具有高覆盖度。



**Fig. 3-4 SEM image of the Au film by wet chemical plating (A) and vacuum sputtering(B)**

### § 3-3 纳米金膜电化学应用的可行性

在电化学和自组装过程中，金膜的表面状态是比较重要的。实验证实，用真空蒸镀法沉积的金膜（Cr 作底层）适合于作为电化学的工作电极和自组装的平台<sup>[22,23]</sup>。化学镀金制备的金膜在自组装过程中也已有应用<sup>[30]</sup>。我们将两种方法制得的金纳米薄膜以及本体多晶金电极作为工作电极，分别在 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 中进行扫描，试验了本文所制金膜的电化学性质及其稳定性。在 -0.25~1.4V 范围内电位扫描所获得的稳定后的循环伏安曲线如图 3-5 所示。从图中可以看到两种膜和本体金电极类似，在电化学中均表现出相同的化学性质。上述结果表明，使用本方法制备的金膜适于电化学研究。



**Fig. 3-5 Cyclic Voltammetry of Au film by wet chemical plating(A) and vacuum sputtering(B) bulk Au electrode(C) in 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Scan rate:100mV/s**

## 本章小结

本章中我们发展了一种新的制备 SPR 响应基片的湿化学方法。先将玻璃片硅烷化，然后使用 2.5 nm 粒径的 Au 纳米粒子作为成核微粒，自组装成 Au 的单层，它具有较大的表面覆盖度，并且能够增加金与 APTMS 分子间的键合力。其次，在室温下采用化学镀金法使 2.5nm 粒径的金胶单层膜均匀增长，膜的厚度可通过设置镀金时间，在纳米尺度范围内有效控制。在镀金过程中摇动操作至关重要，摇动下镀金可以获得表面粗糙度在纳米和亚纳米范围内的均匀金膜。较之传统的物理法（蒸镀法和溅射法），我们提出的这种方法具有简单、价廉、重现性好的特点。并且湿化学镀法是完全以溶液操作为基础，不受基底尺寸和形状的限制，操作更为方便。此外，该法制备的 Au 膜比较牢固，适合于用作电化学实验的工作电极和自组装研究的基底，也为 SPR 的进一步研究奠定了基础。

## 参考文献

- [1] S Lbfas, M Malmqvist, L Rbnnberg, E Stenberg, B Liedberg, I Lundstrbm, Bioanalysis with surface-plasmon resonance [J]. *Sens. Actuators, B-Chem.*, 1991, 5: 79-84.
- [2] C R L awrence, A S M artin, J R Sambles, Surface-plasmon polariton studies of highly absorbing langmuir-blodget-films [J]. *Thin Solid Films.*, 1992, 208: 269-273.
- [3] W M Wijekoon, Electrooptic effect in langmuir-blodget-films of 2- (docosylamino)-5-nitropyridine probed by surface-plasmon waves [J]. *Langmuir.*, 1992, 8: 135-139.
- [4] K A Peterlinz, R Georgiadis, In situ kinetics of self-assembly by surface plasmon resonance spectroscopy [J]. *Langmuir.*, 1996,12: 4731-4740.
- [5] H Lang, C Duschl, M Gratzel, H Vogel, Self-assembly of thiolipid molecular layers on gold surfaces — optical and electrochemical characterization [J]. *Thin Solid Films.*, 1992, 210: 818-821.
- [6] C E Jordan, R M Corn, Surface plasmon resonance imaging measurements of electrostatic biopolymer adsorption onto chemically modified gold surfaces [J]. *Anal Chem.*, 1997, 69: 1449-1456.
- [7] C E Jordan, A G Frutos, A J Thiel, R M Corn, Surface plasmon resonance imaging measurements of DNA hybridization adsorption and streptavidin/DNA multilayer formation at chemically modified gold surfaces [J]. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 4939-4947.
- [8] C E Jordan, B L Frey, S Kornguth, R M Corn, Characterization of poly- L-lysine adsorption onto alkanethiol-modified gold surfaces with polarization-modulation fourier-transform infrared-spectroscopy and surface-plasmon resonance measurements [J]. *Langmuir.*, 1994, 10 : 3642-3648.
- [9] M Mrksich, G B Sigal, G M Whitesides., Surface-plasmon resonance permits in-situ measurement of protein adsorption on self-assembled monolayers of alkanethiolates on gold [J]. *Langmuir.*, 1995, 11: 4383-4385.
- [10] K A Peterlinz, R Georgiadis, T M Herne, M J Tarlov, Observation of hybridization and dehybridization of thiol-tethered DNA using two-color surface plasmon resonance spectroscopy [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, 119: 3401-3402.
- [11] J Spinke, M Liley, H J Guder, L Argermaier, W Knoll, Molecular recognition at self-assembled monolayers — the construction of multicomponent multilayers [J]. *L angmuir.*,1

- 993, 9: 1821-1825.
- [12] A J Thief, A G Frutos, C E Jordan, R M Corn, L M Smith, In situ surface plasmon resonance imaging detection of DNA hybridization tooligonucleotide arrays on gold surfaces [J]. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 4948-4956.
- [13] S Terretaz, T Stora, C Duschl, H Vogel, Protein-binding to supported lipid-membranes — investigation of the cholera-toxing anglioside interaction by simultaneous impedance spectroscopy and surface-plasmon resonance [J]. *Langmuir*. 1993, 9: 1361-1369.
- [14] H G Hanken, R M Corn, Variable index of refraction ultrathin films formed from self-assembled zirconium phosphonate multilayers — characterization by surface-plasmon resonance measurements and polarization/modulation FT-IR spectroscopy [J]. *Anal. Chem.* 1995, 67: 3767-3774.
- [15] D G Hanken, R R Naujok, J M Gray, R M Corn, Synthesis, spectroscopic characterization, and electro-optical properties of noncentrosymmetric azobenzene/zirconium phosphonate multilayer films [J]. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 240-248.
- [16] D G Hanken, R M Com, Electric fields and interference effects inside noncentrosymmetric multilayer films at electrode surfaces from electrochemically modulated surface plasmon resonance [J]. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 3665-3673
- [17] M Josowicz, J Janata, M Levy, Electrochemical pretreatment of thin film platinum electrodes [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 1988, 135: 112-115.
- [18] T C Tisone, J Drovek, *J. Vac. Sci. Technol.*, 1972, 9: 271-275.
- [19] G W B Ashwell, R Heckingbotom, interdiffusion of titanium and gold: a comparison of thin films deposited in technical vacuum and ultrahigh vacuum [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 1981, 128: 649-654.
- [20] P H Holloway, *Gold Bull.*, 1978, 12: 99-106.
- [21] R M Cohen, J Janata, Measurement of excess charge at polarized electrodes with field effect transistors. Part1. Direct determination of the Esin-Markovco efficient [J]. *J. Electroanal. Chem. nterfacia. Electrochem.*, 1983, 151: 33-39.
- [22] C A Goss, D H Charych, M Majda, Application of (3- mercaptopropyl)trimethoxysilane as a molecular adhesive in the fabrication of vapor-deposited gold electrodes on glass substrates [J]. *Anal. Chem.*, 1991, 63: 85-88.



- [23] L A Baker, F P Zamborini, Li Sun, R M Crooks, Dendrimer-mediated adhesion between vapor-deposited Au and glass or Si wafers [J]. *Anal. Chem.*, 1999, 71: 4403-4406.
- [24] 金永东, 中国科学院长春应用化学研究所博士学位论文 [D], 2003.
- [25] 霍胜娟, 复旦大学博士学位论文 [D], 2007.
- [26] T Sato, D B rown, B F Johnson, Nucleation and growth of nano-gold colloidallatices [J]. *Chem. Commun.*, 1997, 1007-1008.
- [27] K C Grabar, K J Allison, B E Baker, R M Bright, K R Brown, R G Freeman, A R Fox, C D Keating, M D Musick, M J Natan, Two-dimensional arrays of colloidal gold particles: A flexible approach to macroscopic metal surfaces [J]. *Langmuir*, 1996, 12: 2353-2361.
- [28] J B Hajdu, Electrolee plating: the past is prologue [J]. *Plating Surf. Finish.*, 1996, 83: 29 -33.
- [29] P M ulvaney, M Giersig, Imaging nanosized gold colloids by atomic force microscopy: A directc omparison with transmission electron microscopy [J]. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 1996, 92: 3137-3143.
- [30] H Menzel, M D Mowery, M Cai, C E Evans, Surface-confined nanoparticles as substrates for photopolymerizable self-assembled monolayers [J]. *Adv. Mater.*, 1999, 11: 131-134.

## 第四章 碱性介质中 L-赖氨酸在纳米金膜电极上的吸附和氧化过程研究

有机小分子在电极|电解质溶液界面吸附是电化学、电催化以及生物电化等领域的重要基础研究课题。氨基酸作为多官能团分子,同时含有-COOH、-NH<sub>2</sub>、-CH<sub>x</sub>、-OH等多种基团,可作为理想的模型分子用于研究有机小分子在过渡金属电催化剂表面上的吸附和反应性能。同时,氨基酸作为构成蛋白质和多肽的基本单元,也为深入研究蛋白质与金属表面复杂的相互作用提供重要信息<sup>[1]</sup>。

金以其良好的生物相容性和无毒副作用,近几十年来一直是生物化学和生物医学研究的热点。研究氨基酸在金表面上的解离吸附和氧化过程不仅具有基础研究意义,而且在电催化和药物化学及生物化学等方面都具有应用价值<sup>[2]</sup>。如 Ogura 小组<sup>[3]</sup>研究了在含 Cu<sup>2+</sup>和甘氨酸的强碱性溶液中 CuO 薄膜在金电极上形成的机理。Lori 小组<sup>[4]</sup>用 EQCM 方法研究了 pH=7.4 的溶液中甘氨酸在金上的吸附。Sun 小组<sup>[5-8]</sup>研究了碱性介质中甘氨酸、丝氨酸在不同表面结构的金电极上的吸附和氧化,以及小分子氨基酸在铂单晶电极上吸附和氧化的表面过程和反应机理。此外,其他小组还报道了有关半胱氨酸<sup>[9]</sup>、组氨酸<sup>[10]</sup>以及苯丙氨酸<sup>[11]</sup>在金电极表面的氧化脱羧生成 CO<sub>2</sub> 或 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>的反应。

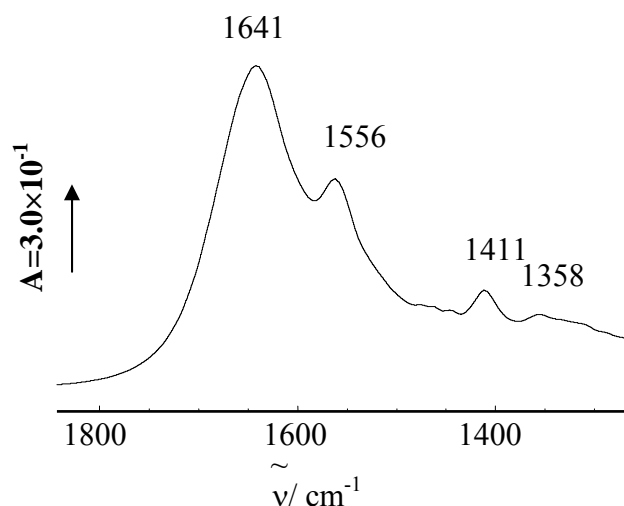
赖氨酸分子含有两个氨基和一个羧基,是一种碱性氨基酸。Ogura 小组<sup>[12]</sup>基于氨基酸氧化抑制 Pt 电极表面的析氧过程,研究了碱性溶液中 L-赖氨酸在 Pt 电极上高电位区间的氧化过程。Pradier 小组<sup>[13]</sup>运用红外研究了 L-赖氨酸在超高真空和液相状态在 Cu(110)上的吸附。然而,有关氨基酸在金电极表面的电化学吸附,尤其是氧化反应机理却少见报道。本文运用电化学原位红外反射光谱、循环伏安、电化学石英晶体微天平,电化学与表面等离子体共振联用等方法研究了碱性介质中 L-赖氨酸在纳米金膜电极表面上的解离吸附和氧化特征,提出了相关的反应机理。

### § 4-1 碱性介质中 L-赖氨酸的透射红外光谱研究

图 4-1 为含 0.1mol·L<sup>-1</sup>NaOH+50mmol·L<sup>-1</sup> 赖氨酸溶液的透射红外光谱。1556cm<sup>-1</sup>附近的吸收峰指认为 NH<sub>2</sub> 的弯曲振动( $\delta_{\text{NH}_2}$ ), 1411cm<sup>-1</sup> 处的谱峰对应

COO<sup>-</sup>的对称伸缩振动红外吸收,  $1641\text{cm}^{-1}$  为水的弯曲振动峰, 它还包含了在  $1597\text{cm}^{-1}$  处对应于 COO<sup>-</sup>反对称伸缩振动的红外吸收。此外, 还可以观察到  $1358\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰, 它对应 CH<sub>2</sub> 变形振动红外吸收( $\omega_{\text{CH}_2}$ )<sup>[13]</sup>。

L-赖氨酸有三个电离常数, 对应 pK 值分别为 2.2、9.2 和 10.8。因此在不同的 pH 值范围内, 赖氨酸分别以双阳离子  $\text{LysH}_2^{2+}$  ( $\text{HOOC-CH-NH}_3^+-\text{(CH}_2\text{)}_4\text{-NH}_3^+$ ), 阳离子  $\text{LysH}^+$  ( $\text{OOC-CH-NH}_3^+-\text{(CH}_2\text{)}_4\text{-NH}_3^+$ ), 两性离子  $\text{LysH}$  ( $\text{OOC-CH-NH}_3^+-\text{(CH}_2\text{)}_4\text{-NH}_2$ )以及阴离子  $\text{Lys}^-$  ( $\text{OOC-CH-NH}_2-\text{(CH}_2\text{)}_4\text{-NH}_2$ )四种形式存在。用 pH 计测得  $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaOH}$  溶液 pH 值为 13.55, 随着加入呈碱性的赖氨酸, 溶液的 pH 值会略微下降, 测得含有  $50\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  赖氨酸时 pH 值为 13.22。从透射光谱中证实在 pH 值大于 10.8 的条件下, 赖氨酸以阴离子形式存在。



**Fig. 4-1 Transmission FTIR spectra of L-Lysine solution**

## § 4-2 碱性介质中 L-赖氨酸在 本体 Au 电极上的循环伏安研究

图 4-2 为本体 Au 电极在含不同浓度赖氨酸的 NaOH 溶液中的 CV 图。在纯 NaOH 溶液中, Au 电极的起始氧化电位  $E_i$  在 0.1V, 在 CV 中观察到 0.30V 的氧化电流峰和 0.08V 的还原电流峰, 分别对应于金表面氧物种的吸附和脱附 (图 4-2 实线)。在碱性溶液中 Au 表面氧吸附物种  $AuO_{ad}$  的形成来自于溶液中的 OH<sup>-</sup> 或 H<sub>2</sub>O 在金表面的吸附和逐步放电氧化<sup>[14,15]</sup>。含有 Lysine 时, 起始氧化电位负移到 0.0V, 且当电位正于 0.1V 后, 峰电流迅速增大, 不仅对应氢氧根和氧物种在金表面的吸附, 还包含赖氨酸的氧化电流。

从 CV 图还可观察到氧化峰电位随着 Lysine 浓度增加而正移, 氧化峰电流也随之增大。在本体金电极上, 当溶液中有 Lysine 存在时, 能够抑制电极表面在 0.6V 以正的析氧, 直到 0.8V 以后析氧才发生。且浓度越高, 抑制效果越好。这可能是因为负离子形式的赖氨酸 (Lys<sup>-</sup>) 吸附在本体金电极表面, 能够抑制氧电流。此外在 -0.8V 附近还观察到一对小峰, 其峰位随赖氨酸浓度增加负移, 与电极表面发生的弱吸附过程相关。

## § 4-3 碱性介质中 L-赖氨酸在 nm-Au/GC 电极上的循环伏安研究

### § 4-3-1 nm-Au/GC 电极的制备

玻碳电极先经 5、1、0.3 和 0.05  $\mu\text{m}$  的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  研磨粉依次抛光和超声清洗, 然后在 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液中于 -0.25 ~ 1.4 V 区间内以 0.05  $\text{V s}^{-1}$  速率进行电位扫描, 除去电极表面可能的杂质。纳米级厚度的金膜电极<sup>[7]</sup> (记为 nm-Au/GC) 通过电化学循环伏安扫描在 GC 基底上沉积制备。在 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4 + 2 \text{ mM H AuCl}_4$  镀液中, 于 -0.2 ~ 0.5 V 区间以 50  $\text{mV s}^{-1}$  电位扫描速率沉积 30 周, 由此得到的电极标记为 nm-Au/GC。所制备的 nm-Au/GC 电极的是由分布较为均匀的 Au 岛状颗粒组成, 其平均尺度约为 200 nm。<sup>[8]</sup>

### § 4-3-2 nm-Au/GC 电极上 L-赖氨酸吸附氧化的循环伏安研究

图 4-3 为纳米金膜电极(nm-Au/GC)在含不同浓度赖氨酸的 NaOH 溶液中的 CV 图。其与本体金电极上得到的氧化还原电流峰特征基本一致。同样可以观察到在含有 Lysine 时, 起始氧化电位  $E_i$  从空白溶液中的 0.1V 负移到 0.0V。且当电

位正于 0.1V 后，峰电流迅速增加，对应着氢氧根和氧物种在金表面的吸附以及赖氨酸的氧化电流。氧化峰电位随着 Lysine 浓度增加而正移，氧化峰电流也随之增大。但是与本体金电极不同的是，lysine 的存在并不能抑制 nm-Au/GC 电极在 0.6V 以后的析氧。这与两种不同的金电极表面结构性质有关。在-0.8V 附近同样观察到与电极表面发生的弱吸附过程相关的一对小峰。

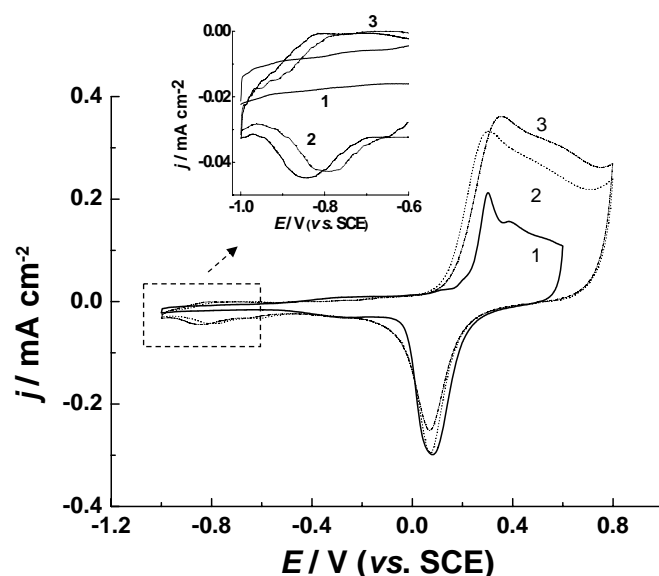


Fig. 4-2 Cyclic voltammograms of bulk-Au in 0.1M NaOH solutions containing various concentrations of lysine 0(1),10(2), 50mM(3),scan rate  $0.05\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$

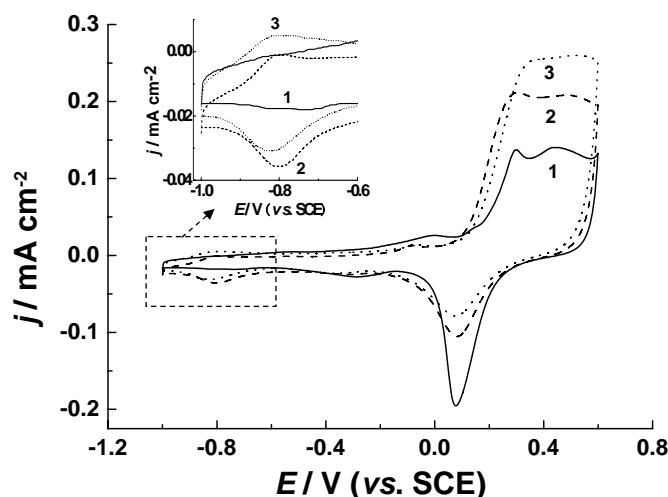
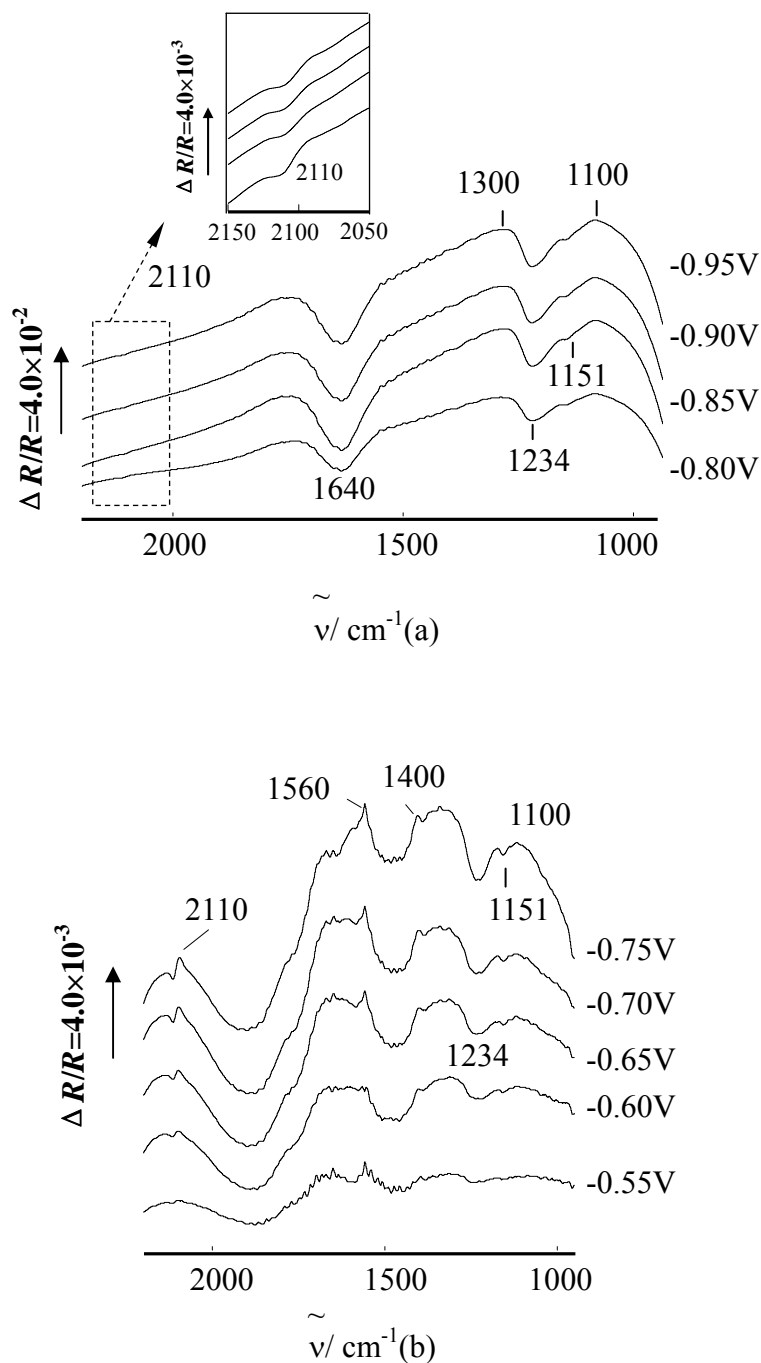


Fig. 4-3 Cyclic voltammograms of nm-Au/GC in 0.1M NaOH solutions containing various concentration of lysine 0(1),10(2), 50mM(3),scan rate  $0.05\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$



**Fig.4-4 MS-FTIR spectra of nm-Au/GC, in 1M NaOH+50mM Lysine solution  $E_R=-0.50\text{V}(\text{SCE})$ ,  $E_S$  varies from -0.55 to -0.95V with interval of 0.05V, (a) -0.80 ~ -0.95V (b) -0.55 ~ -0.75V**

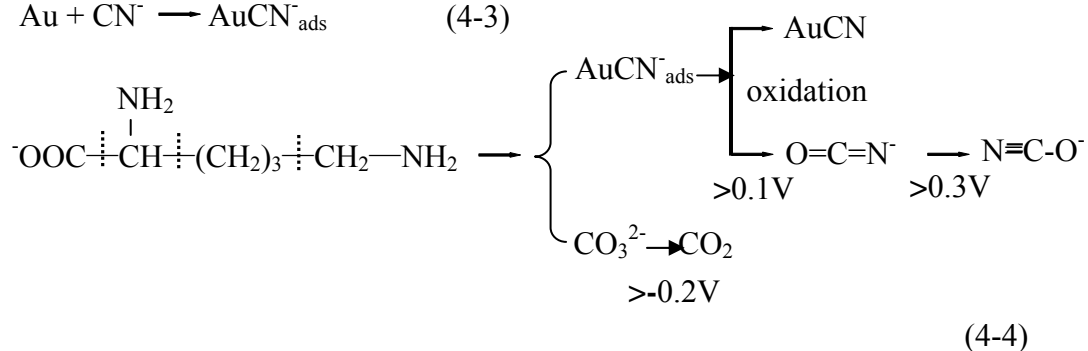
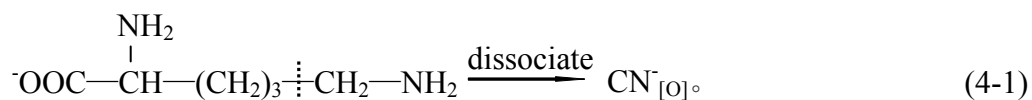
#### § 4-4 碱性介质中 L-赖氨酸在 nm-Au/GC 电极上的原位 FTIR 研究

为进一步探索循环伏安曲线中出现在-0.80V 吸脱附峰的成因,我们运用电化学原位多步电位阶跃 FTIRS(MS-FTIRS) 获得 nm-Au/GC 电极上一系列电位光谱,如图 4-4 所示。图 4-4(a)为电位从-0.80V 到-0.95V 的红外分谱图,可以观察到赖氨酸在很负的电位下就能解离生成  $\text{CN}^-$ , 给出  $2110\text{cm}^{-1}$  处的谱峰。当电位从-0.80V 负移到-0.95V 时, 还出现  $1640$ 、 $1234$  和  $1151\text{cm}^{-1}$  的负向峰。图 4-4(b)为电位从-0.75V 升高到-0.55V 的红外谱图。当升高电位到-0.75V 以正,  $1640\text{cm}^{-1}$  附近的负向谱峰消失, 出现  $1560\text{cm}^{-1}$  和  $1400\text{cm}^{-1}$  的正向峰, 这两个谱峰可分别指认为溶液相中赖氨酸分子羧基反对称和对称伸缩振动<sup>[5,6]</sup>。 $1234$  和  $1151\text{cm}^{-1}$  的负向峰对应酰基  $\text{C}=\text{O}$  伸缩振动, 指示低电位下羧基一侧吸附在金表面。因此可以推断在低电位范围(-0.95V~-0.80V), 赖氨酸除了发生部分解离生成  $\text{CN}^-$  吸附在电极表面外, 赖氨酸阴离子的羧基侧还可通过两个氧原子与金电极表面相互作用, 发生弱吸附。相应的结果与循环伏安曲线中在-0.80V 附近出现的一对微弱电流峰相当吻合。

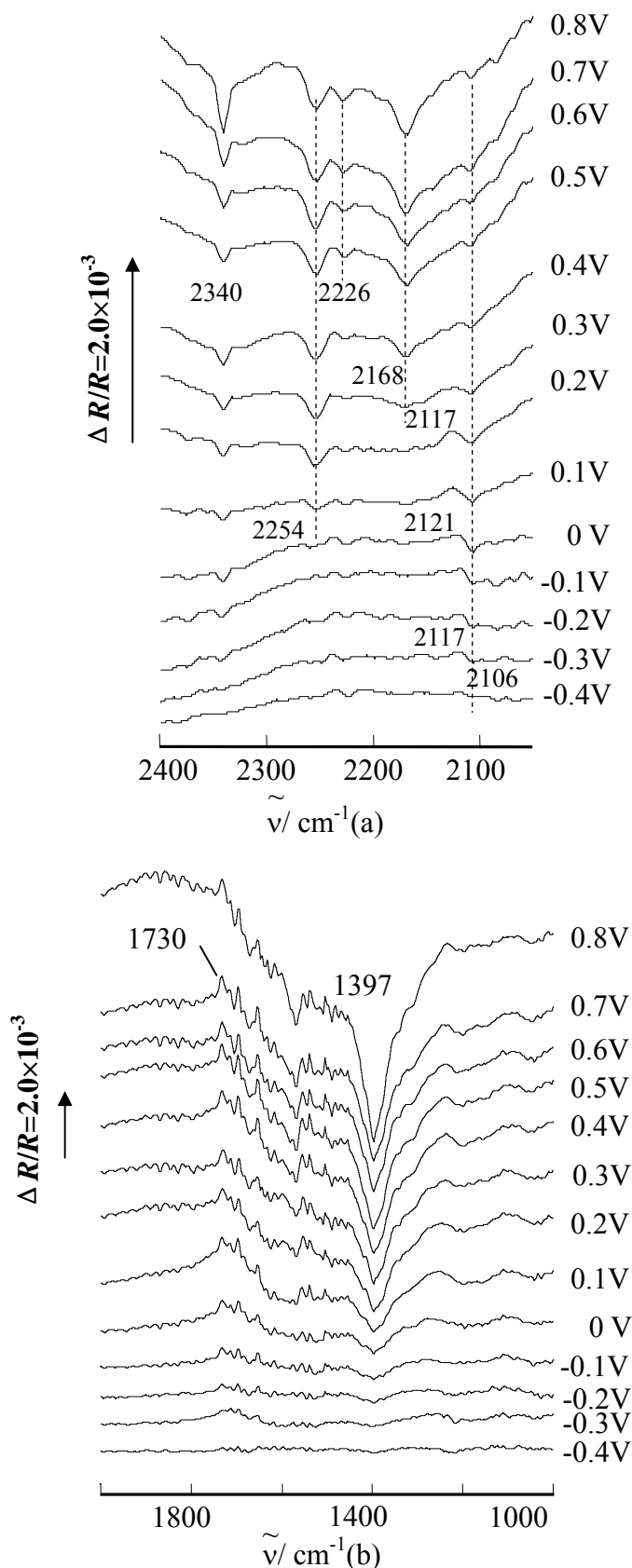
图 4-5 给出  $E_R=-0.50\text{V}$ ,  $E_S$  从-0.40V 逐步升高到 0.80V 的 MS-FTIRS 谱图。图 4-5(a)为  $2400\text{cm}^{-1}$  至  $2000\text{cm}^{-1}$  范围内的红外谱图, 当  $E_S$  为-0.4V, 在  $2100\text{cm}^{-1}$  附近出现双极谱峰( $2117$  和  $2106\text{cm}^{-1}$ ), 归属于赖氨酸解离产生吸附态  $\text{CN}^-$  在  $E_S$  和  $E_R$  的红外吸收<sup>[16]</sup>。从 0.1V 至 0.3V, 可观察到该谱峰从  $2117\text{cm}^{-1}$  正移到  $2121\text{cm}^{-1}$ , 之后又回到  $2117\text{cm}^{-1}$  的现象。即当电位高于 0.1V, 在  $2254\text{cm}^{-1}$  开始出现负向红外谱峰, 对应于吸附态  $\text{CN}^-$  的氧化产物  $\text{NCO}^-$ 。而当电位继续升高至 0.3V, 在  $2168\text{cm}^{-1}$  处出现的负向红外谱峰对应于新的氧化产物  $\text{OCN}^-$  的红外吸收<sup>[12,16]</sup>。一旦电位高于 0.5V,  $2226\text{cm}^{-1}$  附近则出现的负向红外谱峰对应  $\text{AuCN}$  物种的生成。此外从图中还可以观察到  $\text{NCO}^-$ 、 $\text{OCN}^-$  和  $\text{AuCN}$  等红外谱峰强度随电位升高逐渐增大并达到稳定, 但其峰位却不随电位改变而变化, 说明  $\text{NCO}^-$ 、 $\text{OCN}^-$  和  $\text{AuCN}$  均为溶液物种<sup>[8]</sup>。同时, 在  $2340\text{cm}^{-1}$  处出现一个逐渐增长的负向峰, 它归属于溶液相  $\text{CO}_2$  的反对称伸缩振动, 证明赖氨酸氧化过程中形成了  $\text{CO}_2$ <sup>[3]</sup>。

图 4-5(b)为  $2000\text{cm}^{-1}$  至  $1000\text{cm}^{-1}$  范围的谱图, 随着电位逐渐升高可以观察到位于  $1730\text{cm}^{-1}$  的正向谱峰, 归属于赖氨酸分子结构中的羧基  $\text{C}=\text{O}$  伸缩振动<sup>[16]</sup>, 峰强度随着电位增加逐渐增大。说明赖氨酸随着电位升高不断消耗。0.0V 以正,

在  $1400\text{cm}^{-1}$  出现负向谱峰，归属于吸附态的对称羧基振动<sup>[16]</sup>。 $1390\text{cm}^{-1}$  的负向峰则指认为碳酸根离子的产生<sup>[17]</sup>。说明赖氨酸氧化过程中形成了碳酸根离子。根据以上研究结果，赖氨酸在纳米金膜电极上的机理建议如下：







**Fig. 4-5 MS-FTIR spectra of nm-Au/GC electrode, in  $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaOH}+50\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Lysine}$ .  $E_R=-0.50\text{V}(\text{SCE})$ ,  $E_S:-0.40\sim 0.80\text{V}$ , delay:10s, Estep:0.05V, (a) $2400\text{cm}^{-1}\sim 2000\text{cm}^{-1}$ (b) $2000\text{cm}^{-1}\sim 1200\text{cm}^{-1}$**

#### § 4-5 L-赖氨酸在碱性介质中的 EQCM 研究

图4-6给出EQCM-Au电极分别在 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaOH}$ 空白溶液(1)和含 $10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 赖氨酸溶液(2)中的循环伏安和相应的质量变化曲线。在空白溶液中(图4-6 b-1),当电位从 $-1.0\text{V}$ 正扫到 $-0.8\text{V}$ (A-B)的过程中,主要为阳离子 $\text{Na}^+$ 和 $\text{H}_2\text{O}$ 分子在电极表面的吸附。随着电位升高,溶液中的 $\text{OH}^-$ 逐渐取代 $\text{H}_2\text{O}$ 分子,在这一电位范围内,相应的电极表面质量减少了 $9.8\text{ng cm}^{-2}$ ;在含有赖氨酸的溶液中(图4-6 b-2),质量减少了 $2.7\text{ng cm}^{-2}$ 。相比之下,在赖氨酸溶液中质量减少较小,这是因为赖氨酸在很负的区间就能解离生成 $\text{CN}^-$ ,并在一定程度上抑制了 $\text{OH}^-$ 的吸附。 $\text{CN}^-$ 的质量大于 $\text{OH}^-$ ,因此随着电位升高,取代 $\text{H}_2\text{O}$ 分子所引起的表面质量减少量就较小。

在 $-0.8\text{V}$ 到 $-0.6\text{V}$ 的电位区间(B-C),可以观察到空白溶液中电极表面质量继续减小,而在含有赖氨酸的溶液中,电极表面质量却明显增加,这与在金电极上观察到的吸脱附峰相对应,说明该电位区间有分子量更大的物种吸附在表面。赖氨酸作为有机小分子,可在Au的零电荷电位( $E_{\text{PZC,Au}}$ )附近的一定电位范围内吸附,从而在表面部分取代 $\text{H}_2\text{O}$ 的吸附。红外结果亦进一步指出,在该条件下除了 $\text{CN}^-$ , $\text{OH}^-$ 占据表面外,还发生了赖氨酸阴离子的羧基侧( $\text{RCH}(\text{NH}_2)\text{COO}^-$ )在金表面的吸附。

从图4-6(b)中可知,当电位从 $-0.6\text{V}$ 正向扫描至 $-0.4\text{V}$ (C-D),在空白溶液中,此时电位高于 $E_{\text{PZC,Au}}$ ,电极表面带正电荷,溶液中分子量更小的 $\text{OH}^-$ 阴离子与电极表面产生更强的相互作用,部分取代了分子量较大的阳离子 $\text{Na}^+$ 和 $\text{H}_2\text{O}$ 分子,从而引起电极表面质量减少;而在赖氨酸溶液中,表面质量基本不变,这是由于存在 $\text{CN}^-$ 以及赖氨酸本身的吸附,说明此时三者能够较稳定地占据表面。

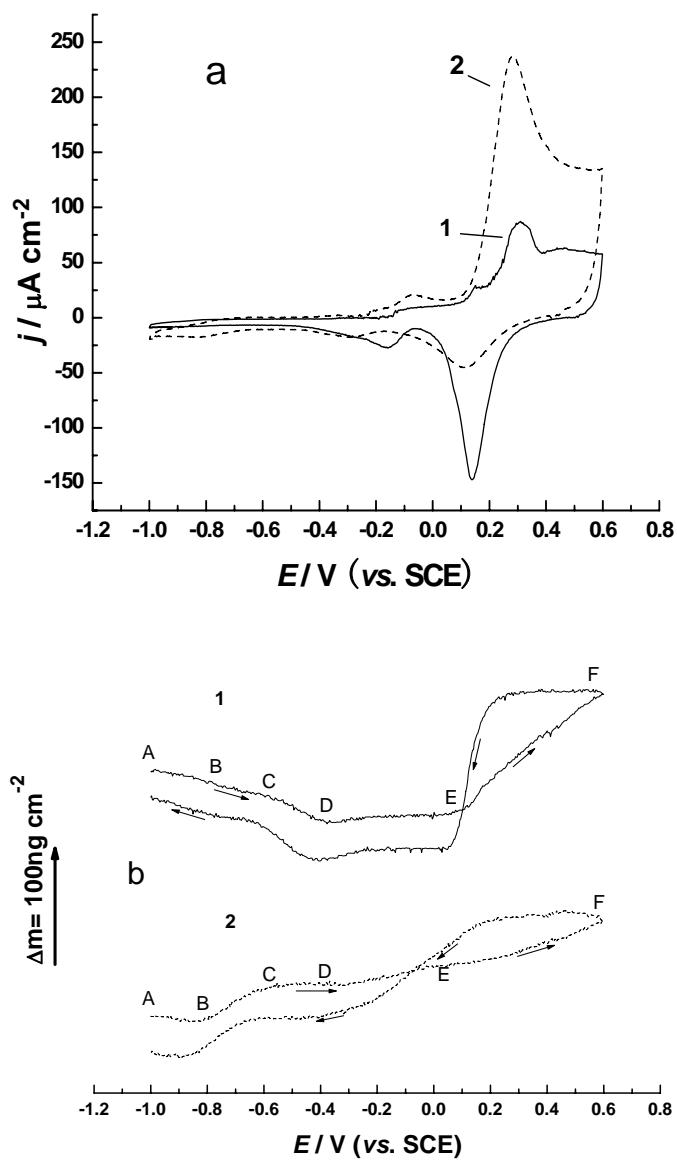
电位从 $-0.4\text{V}$ 正扫到 $0.0\text{V}$ (D-E),空白溶液中电极表面质量基本不变,说明水分子和 $\text{OH}^-$ 在该区间可以较稳定共存;而在赖氨酸溶液中,表面质量却增加了 $14.7\text{ng cm}^{-2}$ 。它可归因于氨基酸开始解离出更多的 $\text{CN}^-$ 占据表面取代 $\text{OH}^-$ ,尤其是电位升高后赖氨酸中离羧基较近的氨基开始更容易解离出 $\text{CN}^-$ ,从而引起表面质量的增加。

在空白溶液中的CV曲线中,位于 $0.14\text{V}$ 和 $0.30\text{V}$ 两个氧化电流峰分别对应金表面上 $\text{OH}^-$ 的吸附( $\text{Au-OH}_{\text{ad}}$ )<sup>[14]</sup>和表面氧物种的吸附( $\text{AuO}_{\text{ad}}$ )<sup>[18]</sup>。在含赖氨酸溶液

中, 0.28V附近归属为Au表面氧物种的吸附( $\text{AuO}_{\text{ad}}$ )的电流峰以及赖氨酸的氧化电流峰。在相应的质量变化曲线中, 电位从0.0V升高到0.6V (E-F), 由于空白溶液中电极表面相继生成 $\text{Au-OH}_{\text{ad}}$ 和 $\text{AuO}_{\text{ad}}$ , 电极表面质量增加了 $101.1 \text{ ng cm}^{-2}$ ; 在含赖氨酸溶液中, 电极表面质量仅增加了 $40.5 \text{ ng cm}^{-2}$ , 比在空白溶液中因Au氧化引起的表面质量的增加量减少了 $60.6 \text{ ng cm}^{-2}$ 。对此可解释为以下三个因素的共同作用: (1)低电位区间赖氨酸及其解离产物 $\text{CN}^-$ 在电极上的吸附, 占据了金的表面位, 从而抑制了水分子和 $\text{OH}^-$ 在金表面的吸附, 而在碱性溶液中单层 $\text{AuO}_{\text{ad}}$ 的形成来自溶液中水或 $\text{OH}^-$ 在金表面的吸附和氧化<sup>[14, 19]</sup>, 因此在高电位区间氧化生成的 $\text{AuO}_{\text{ad}}$ 量减少; (2)吸附态 $\text{CN}^-$ 氧化脱附生成 $\text{NCO}^-$ (0.1V)以及 $\text{OCN}^-$ (0.3V)进入溶液以及金以 $\text{AuCN}$ 形式溶解; (3)表面吸附物种氧化从表面脱附后, 溶液中赖氨酸的再吸附和氧化。

当电位从0.6负向扫描至0.2V, 两种溶液下的电极表面 $\Delta m$ 均保持恒定, 这与在CV曲线中基本观察不到还原电流的结果相吻合。但当进一步扫描到0.0V时, 空白溶液中Au表面氧化物种发生还原, 导致表面质量减少 $131.8 \text{ ng cm}^{-2}$ ; 在赖氨酸的溶液中, 由于还原峰更宽, 进一步扫描到-0.20V左右, Au表面氧化物种才发生还原, 导致表面质量仅减少了 $66.1 \text{ ng cm}^{-2}$ 。与空白溶液相比, 质量变化较小。这与在正向扫描中含赖氨酸溶液中 $\text{AuO}_{\text{ad}}$ 的生成量相对减少的结论相对应。

经过一周电位扫描之后, 空白溶液中电极表面质量共减少了 $21.7 \text{ ng cm}^{-2}$ , 它主要归因于在碱性溶液中电极表面少量活性Au原子的溶解; 而在赖氨酸溶液中电极表面质量共减少 $32.6 \text{ ng cm}^{-2}$ , 可归结于赖氨酸物种的吸附影响了界面薄层的粘度和密度, 同时还与表面金的少量溶解有关。



**Fig. 4-6 (a)CVs of EQCM-Au in 0.1M NaOH solution (1) and 0.1M NaOH solution containing 10 mM lysine (2). (b) simultaneous surface mass changes. scan rate,  $0.05\text{V s}^{-1}$**

#### § 4-6 L-赖氨酸在碱性介质中的 EC-SPR 研究

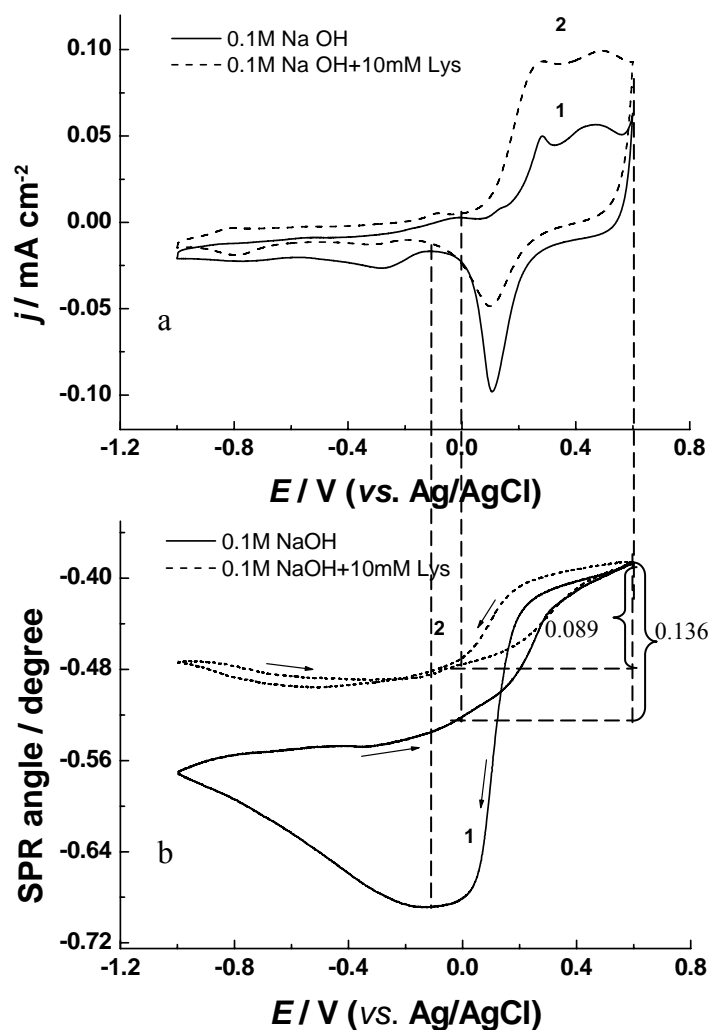
本实验还运用 EC-SPR 来考察赖氨酸吸附氧化对纳米金膜表面变化的影响。图 4-7 是以化学湿镀法制备的金膜作为电化学和表面等离子体共振联用实验 (EC-SPR) 的工作电极, 分别在空白的  $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH 溶液以及  $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH+ $10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  赖氨酸溶液中的电化学循环伏安曲线(a), 以及实时记录的 SPR 角度变化随着循环伏安实验电位的变化(b)。其 CV 曲线与前述中在纳米金膜电极 (nm-Au/GC) 上得到的 CV 图类似。

通过 I-E 和 SPR-E 图可以观察到在正向电位扫描过程中, 在开始出现氧化电流峰的电位以正, SPR 角度明显增加。对于空白溶液 (实线),  $0.10\text{V}$  附近的电流峰对应 Au(111) 表面位上 OH 放电形成  $\text{Au-OH}_{\text{ad}}$  的过程,  $0.28\text{V}$  附近的电流峰可归属为 Au 表面氧物种的吸附 ( $\text{AuO}_{\text{ad}}$ )<sup>[18]</sup>。对赖氨酸 (虚线), 氧化过程中发生 Au 表面氧物种的吸附 ( $\text{AuO}_{\text{ad}}$ ),  $\text{AuCN}_{\text{ad}}^{-}$  的氧化产物 AuCN、 $\text{OCN}^{-}$  的生成, 以及溶液中赖氨酸再吸附和氧化。从  $0.0\text{V}$  到  $0.6\text{V}$  正向电位扫描过程中, 空白溶液对应 SPR 角度变化为  $\Delta\theta_{\text{SPR}} = 0.136\text{ degree}$ , 而含有赖氨酸溶液中为  $0.089\text{ degree}$ , 相比之下溶液含有赖氨酸时 SPR 角度变化比较小。与 EQCM 实验结果相似, 这是由于赖氨酸解离的  $\text{CN}^{-}$  吸附占据金的表面位, 抑制了水和 OH 在金电极表面的吸附, 而在碱性溶液中单层  $\text{AuO}_{\text{ad}}$  的形成来自于溶液中的水或  $\text{OH}^{-}$  在金表面的吸附和氧化, 因此在高电位区间氧化生成的  $\text{AuO}_{\text{ad}}$  的量减少; 此外还可能因为吸附态的  $\text{CN}^{-}$  的氧化产物  $\text{OCN}^{-}$  进入溶液。

从  $0.6$  到  $0.3\text{V}$  的负向电位扫描中, 可以观察到 SPR 基本保持恒定, 这与 CV 曲线中基本观察不到还原电流的结果相对应, 也和 EQCM 在这个电位范围内没有质量变化相一致。

在电位进一步负向扫描至  $-0.1\text{V}$  左右的过程中, Au 表面氧化物种发生还原, 导致表面质量减少。对应空白溶液中  $\Delta\theta_{\text{SPR}} = -0.302\text{ degree}$ , 而赖氨酸中为  $-0.094\text{ degree}$ 。可以看到赖氨酸溶液中的 SPR 角度变化较小, 这也与电位正向扫描时在含赖氨酸溶液中  $\text{AuO}_{\text{ad}}$  的生成量相对减少的结论相对应。

以上的 EC-SPR 实验结果和 EQCM 实验结果很相似, 同样可以为研究在纳米金膜电极上氨基酸氧化吸附提供相关信息。



**Fig. 4-7 (a)CVs of nm-Au film in 0.1M NaOH solution(1) and 0.1M NaOH solution containing 10 mMlysine (2).scan rate, $0.02\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$ (b)The SPR angle shift recorded simultaneously to the CVs**

## 本章小结

本章运用电化学循环伏安、原位 FTIR 光谱、EQCM 和 EC-SPR 研究了碱性介质中 L-赖氨酸在纳米金膜电极表面上的电化学解离吸附和氧化。获得以下的主要结论:

1. 在碱性介质中 pH 值大于 10.8 的条件下, 赖氨酸以阴离子形式  $\text{Lys}^-$  ( $^-\text{OOC}-\text{CH}-\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$ ) 存在。
2. 从 CV 图中可以观察到, nm-Au/GC 电极与本体金电极不同, lysine 的存在不能抑制当电位高于 0.6V 以后的析氧。这与两种不同的金电极表面结构性质有关。在 -0.8V 附近同样观察到与电极表面发生的弱吸附过程相关的一对小峰。
3. 碱性溶液中赖氨酸在很负的电位区间(-0.80V 到-0.95V)就能发生解离, 产生的氰基(CN $^-$ )与电极表面发生较强的化学吸附, 形成 AuCN $^-$ 物种, 同时赖氨酸结构中的羧基一侧能和电极表面发生微弱吸附。赖氨酸及其解离产物 CN $^-$ 在电极上的吸附, 导致在高电位区间氧化生成的 AuO $_{\text{ad}}$  量减少。当电位升高至 0.1V 和 0.3V 以上时, 吸附态 CN $^-$ 发生氧化脱附依次生成 NCO $^-$ 和 OCN $^-$ 进入溶液。一旦电位高于 0.5V, 金还能以 AuCN 形式溶解。电化学红外光谱研究表明赖氨酸氧化过程中 CO $_2$  和 CO $_3^{2-}$ 的生成。
4. EQCM 与 EC-SPR 实验表明, 由于赖氨酸解离的 CN $^-$ 吸附占据金的表面位, 抑制了水和 OH $^-$ 在金电极表面的吸附, 而在碱性溶液中单层 AuO $_{\text{ad}}$  的形成来自于溶液中的水或 OH $^-$ 在金表面的吸附和氧化, 因此在高电位区间氧化生成的 AuO $_{\text{ad}}$  的量减少。

## 参考文献

- [1] F Huerta, E Morallon, J L Vazquez, A Aldaz, Electrochemical behaviour of amino acids on Pt(hkl). A voltammetric and in situ FTIR study Part IV. Serine and alanine on Pt(100) and Pt(110) [J]. *J. Electroanal.Chem.*, 1999, 475: 38-45.
- [2] 甄春花, 范纯洁, 谷艳娟, 陈声培, 孙世刚, 碱性介质中甘氨酸在纳米金膜电极上的吸附和氧化 [J]. *物理化学学报* 2003, 19(1): 60-64.
- [3] K Ogura, K Nakaoka, M Nakayama, S Tanaka, A new type of electrochemical formation of copper oxide during redox processes of the copper(II)-glycine complex at high pH [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2001, 511: 122-127.
- [4] J A Lori, T Hanawa, Characterization of adsorption of glycine on gold and titanium electrodes using electrochemical quartz crystal microbalance [J]. *Corrosion Sci*, 2001, 43(1): 2111-2120.
- [5] C H Zhen, S G Sun, C J Fan, S P Chen, B W Mao, Y J Fan, In situ FTIRS and EQCM Studies of Glycine Adsorption and Oxidation on Au(111) Electrode in Alkaline Solutions [J]. *Electrochem. Acta* 2004, 49(8): 1249-1255.
- [6] 肖晓银, 厦门大学博士学位论文 [D], 2000.
- [7] 甄春花, 厦门大学硕士学位论文 [D], 2007.
- [8] Y J Gu, S G Sun, S P Chen, C H Zhen, Z Y, Zhou Oxidation dissociative adsorption of serine on Pt single crystal electrodes in sulfuric acid solutions [J]. *Langmuir*, 2003, 19: 9823-9830
- [9] R LeParc, C I Smith, M C Cuquerella, R L Williams, D G Fernig, C Edwards, D S Martin, P Weightman, Reflection anisotropy spectroscopy study of the adsorption of sulfur-containing amino acids at the Au(110)/electrolyte interface [J]. *Langmuir*, 2006, 22 (7): 3413-3420.
- [10] R V Khudyakova, S V Soloshko, A Y Safronov, Electrochemical behavior of histidine on gold [J]. *Russian J Electrochem*, 1997, 33 (10): 1081-1086.
- [11] H Q Li, A C Chen, S G Roscoe, J Lipkowski, Electrochemical and FTIR studies of L-phenylalanine adsorption at the Au(111) electrode [J]. *J Electroanal. Chem.*, 2000, 500: 299-310.
- [12] Ogura K, M Kobayashi, M Nakayama, Y Miho, Electrochemical and in situ FTIR studies on the adsorption and oxidation of glycine and lysine in alkaline medium [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1998, 449: 101-109.
- [13] V Humblot, C Methivier, C M Pradier, Adsorption of L-Lysine on Cu(110): A RAIRS Study from UHV to the lipid phase [J]. *Langmuir.*, 2006, 22: 3089-3096.



- [14] S Strbac, R R Adzic, The influence of OH<sup>-</sup> chemisorption on the catalytic properties of gold single crystal surfaces for oxygen reduction in alkaline solutions [J]. *J. Electroanal. Chem.* 1996, 403: 169-181.
- [15] D A Dobberpuhl, D C Johnson, A study of ethylamine at a gold rotating ring-disk electrode using pulsed electrochemical detection at the ring [J]. *Electroanalysis.*, 1996, 8(8-9): 726-731.
- [16] F Huerta, E Morallon, F Cases, A Rodes, J L Vazquez, A Aldaz, Electrochemical behaviour of amino acids on Pt(h,k,l): A voltammetric and in situ FTIR study .1. Glycine on Pt(111) [J], *J Electroanal Chem.*, 1997, 421: 179-185.
- [17] R C Gore, R B Barnes, E Petersen, [J]. *Anal. Chem.*, 1949, 21: 382-388.
- [18] S L Chen, M Schell, A comparison of multistability in the electrocatalyzed oxidations of methanol and ethanol in acid and alkaline solutions [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 1999, 478: 108-117.
- [19] 陈胜利, 武汉大学博士学位论文 [D], 1996.

## 第五章 对苯二酚在 DMPC 仿生膜上的电化学行为研究

分子仿生研究是在微观的分子层面上模拟生物分子的功能。生物膜特有的双层脂膜结构是属于生命的一种基本结构，它维持细胞各部位的结构有序性，具有物质输送、能量转换、代谢调控、信息传递以及分子或细胞识别功能。生物膜被认为是生命活动中许多重要反应发生的场所<sup>[1]</sup>。

Kunitake 等人<sup>[2]</sup>发现，将不溶于水的表面活性剂从有机溶剂中浇铸到固体表面上，待有机溶剂挥发以后，固体表面上可自发形成一种有序膜，这种有序膜可以看作双层膜的堆积体。如果在固体表面上浇铸的表面活性剂为磷脂，由于双层磷脂膜是生物膜的一个基本结构单元，那么这种磷脂浇铸膜应具有类似于生物膜的性质，可看作一种生物膜的模型<sup>[2-4]</sup>。

在 20 世纪 90 年代初，Rusling<sup>[5-7]</sup>以及 Nakashima<sup>[8,9]</sup>等就开始研究嵌入浇铸膜中的小分子的电化学行为，结果发现浇铸膜具有良好的电荷传输功能。随后，Rusling 等又研究了多种蛋白质，如肌红蛋白<sup>[10]</sup>、细胞色素 P450cam<sup>[11]</sup>等在浇铸膜内的电化学行为，均取得了良好的实验结果。汪尔康小组在玻碳(GC)电极表面制备了磷脂浇铸膜，研究了仿生膜内固定的多巴胺对抗坏血酸的氧化作用，以及多巴胺对 NADH 的催化氧化<sup>[12,13]</sup>；又研究了磷脂浇铸膜内固定的二茂铁对抗坏血酸的催化氧化行为，以及膜内固定的二茂铁对多巴胺的催化氧化行为等<sup>[14]</sup>。目前，关于浇铸膜的研究已引起人们越来越多的关注。

对苯二酚是电活性物质，容易被氧化，是化学和生物过程中的重要物质。它可用作照相显影剂、阻聚剂、橡胶防老化剂和食品抗氧化剂等，会对环境造成一定污染。它与生理、医学和环境保护密切相关，因此已被广泛研究。其中，在水体系中对苯二酚的电化学反应机理，以及制备修饰电极研究对苯二酚的催化氧化及反应机理是主要的研究课题。

本章我们将双肉豆蔻磷脂酰胆碱(DMPC)浇铸到金电极表面上，构筑了一种磷脂浇铸膜，以此作为一种模拟生物膜，对它的模型结构以及电化学性质进行了研究。同时，在仿生的环境内研究对苯二酚在这种仿生膜上的电化学行为以及反应机理。

## § 5-1 DMPC 仿生膜制备和表征

### § 5-1-1 DMPC 仿生膜的制备

我们采用在金电极上浇铸DMPC仿生膜。金电极先用1、0.3、0.05 $\mu\text{m}$   $\text{Al}_2\text{O}_3$ 粉抛光，超声清洗，最后用超纯水冲洗干净，放入0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸溶液中进行循环伏安扫描清洗电极，取出后用超纯水冲洗，再用氮气吹干。将DMPC溶于氯仿中，使其浓度为1 $\text{mg}/\text{mL}$ ，用微量进样器抽取20 $\mu\text{L}$ 该溶液，浇铸到金电极表面上，然后用一个小烧杯罩住电极，放置约30 min使氯仿挥发，从而在电极表面上获得稳定的DMPC浇铸膜<sup>[13]</sup>。

### § 5-1-2 DMPC 的红外透射光谱

双肉豆蔻磷脂酰胆碱(DMPC)分子包含一个极性头基（一个带负电的磷酸盐和一个带正电的胺基），一个丙三醇支柱，两个疏水的碳氢链通过酯的酰基和这个支柱连接。以下是 DMPC 分子结构式：

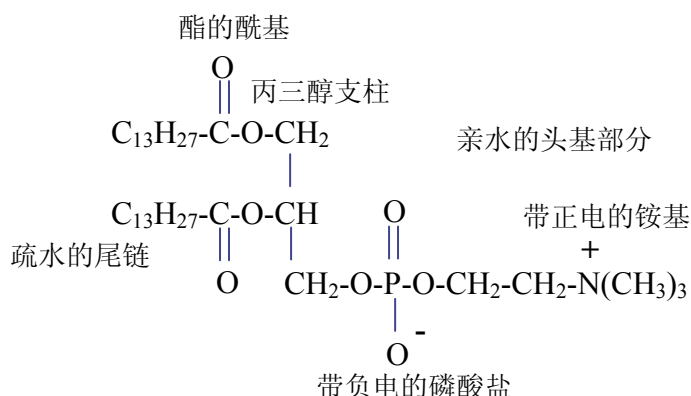
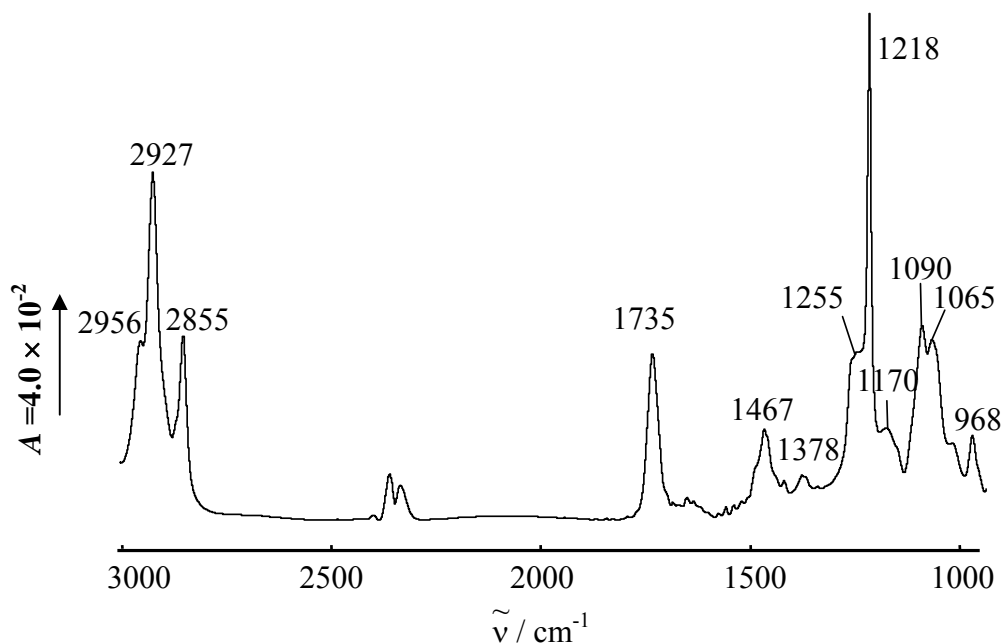


图 5-1 为含有 DMPC 的氯仿溶液的透射红外光谱。其中对于磷酸盐基团的红外吸收有：1255、1090 $\text{cm}^{-1}$ 附近的吸收峰分别指认为  $\text{PO}_2^-$  的反对称和对称伸缩振动；1065  $\text{cm}^{-1}$  处对应于 C-O[P]反对称伸缩振动的红外吸收。而带正电的胺基基团所对应谱峰为：1467  $\text{cm}^{-1}$  处对应于  $\text{NH}_2$  剪式振动的红外吸收( $\delta_{\text{NH}_2}$ )；1218 $\text{cm}^{-1}$  处的谱峰分别对应 C-N 伸缩振动红外吸收；以及 968 $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰，它对应 $^+\text{N}(\text{CH}_3)_3$  反对称伸缩振动模式。与丙三醇支柱相连的酯的酰基对应的红外吸收有：在 1735 $\text{cm}^{-1}$  出现的 C=O 的伸缩振动峰，以及 1170 $\text{cm}^{-1}$  C-O-C 的反对称伸缩振动峰。此外还可以观察到碳氢振动的相关信息：2956 $\text{cm}^{-1}$ 附近的吸收峰指认

为 CH<sub>3</sub> 的反对称伸缩振动; 1378cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰对应 CH<sub>3</sub> 弯曲振动模式; 2927、2855cm<sup>-1</sup> 处的谱峰, 分别对应 CH<sub>2</sub> 反对称和对称伸缩振动红外吸收<sup>[15]</sup>。



**Fig.5-1 The transmission infrared spectrum of 1,2-Dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DMPC). A = -log(B/A). Single-Spectrum A, CHCl<sub>3</sub>; Single-Spectrum B, CHCl<sub>3</sub> + DMPC**

Frequencies / cm <sup>-1</sup>	Assignments
2956	CH <sub>3</sub> asym. str.
2927	CH <sub>2</sub> asym. str.
2855	CH <sub>2</sub> sym. str.
1735	C=O str.
1467	δ CH <sub>2</sub> scissoring
1378	CH <sub>3</sub> sym. bending
1255	PO <sub>2</sub> <sup>-</sup> asym. str.
1218	C-N str.
1170	C-O str.
1090	PO <sub>2</sub> <sup>-</sup> sym. str.
1065	C-O[P]asym. str.
968	<sup>+</sup> N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> asym. str.

**Table. 5-1 Vibrational frequencies and assignments of DMPC molecule for transmission IR measurements**

### § 5-1-3 椭圆偏振仪测量DMPC仿生膜厚度

本实验采用椭圆偏振仪对所制备的不同浇铸量的DMPC膜的厚度进行了测量。我们用微量进样器抽取不同体积量(2.75~40 $\mu$ L) 浓度为1mg/mL的DMPC氯仿溶液, 浇铸到金膜表面上(由于椭圆偏振仪的测试限制, 我们采用方便测量的金膜做基底, 即第三章所述的以湿化学法制备的纳米金膜, 用O圈来固定金膜的浇铸面积, 使之与金电极表面一致), 用一个表面皿罩住金膜, 放置约30 min使氯仿挥发, 随后对其厚度进行测量(每次同一个膜测两个点), 得到浇铸量对应厚度数据见表5-2, 图5-2为厚度对不同浇铸量的关系图。

浇铸量 V/ $\mu$ L	厚度 d/nm			
	2.75	3.359	2.674	
5	3.665	3.245		
7.5	3.811	2.542	2.488	2.452
10	5.145	5.038	2.863	3.496
15	13.366	7.726	4.935	4.561
20	13.685	12.766	12.728	3.488
30	25.534	15.029		
40	30.534	25.641		

Table 5-2 The thickness of DMPC film measured by Ellipsometer.

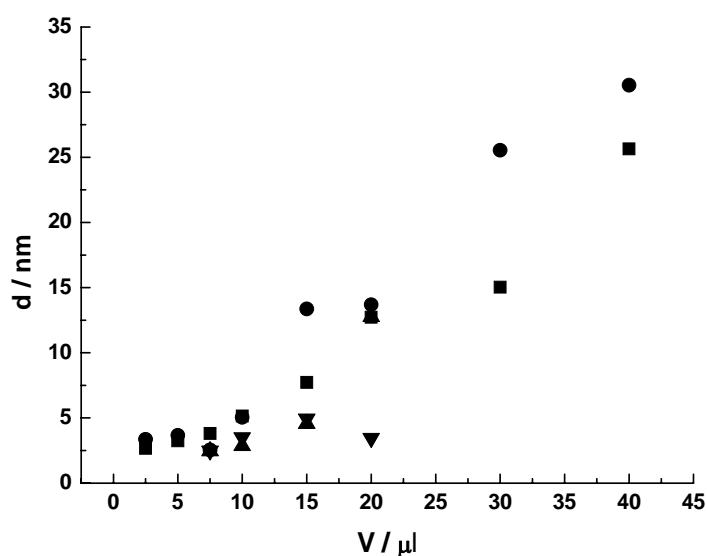
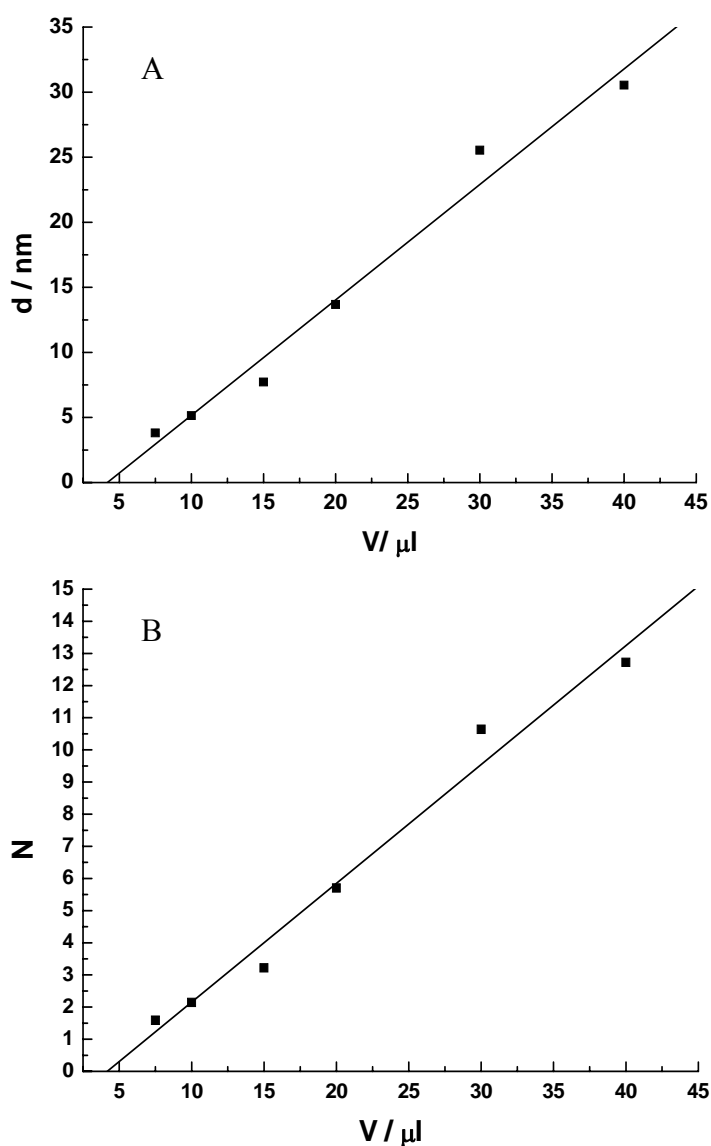


Fig. 5-2 Relationship between the thickness and cast quantity.

从测量数据中可以看到这种浇铸膜的厚度并不均匀，但总体上 DMPC 膜厚度随浇铸量的增大而增加。我们取最大厚度做图，发现浇筑量与膜所形成厚度能够形成一定的线型关系（图 5-3 A 所示）。文献报道的 DMPC 单层膜的厚度约为 2.4nm<sup>[16,17]</sup>。图 5-3 B 是转换的浇铸量对应近似层数的线性关系图。根据比较数据，我们以下结论：从 2.75 到 10 微升之间所浇铸的膜是由单层逐渐铺成双层的过  
程；而 10 微升时达到双层的厚度，也存在部分单层厚度；15 微升时，有双层厚度和三层甚至 5 到 6 层的厚度；20 微升时，达到 5 到 6 层的厚度；30 微升达 10 层厚度；40 微升达大约 12 层。

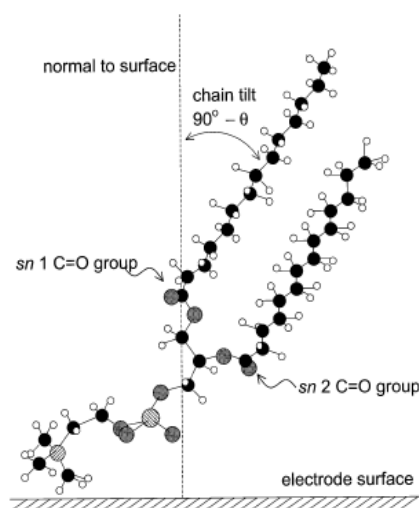


**Fig. 5-3 Relationship between the maximum thickness and cast quantity(A). Relationship between the number of layers and cast quantity(B).**

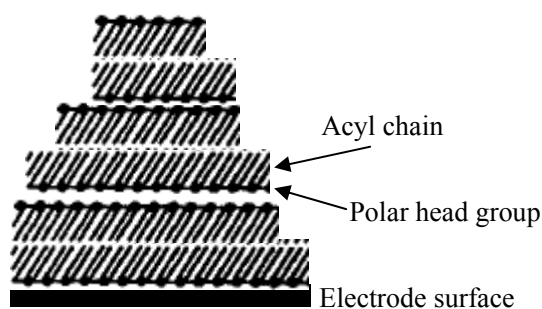
### § 5-1-4 DMPC仿生膜的可能构型

生物膜的模型从层数上可分为单层膜（L-B 膜）、双层膜（平板双层膜和脂质体）和多层膜（浇铸膜），浇铸膜被认为是可自发形成的有序的双层膜的堆积体，其基本结构单元是磷脂双层膜。在相变温度下，脂肪酰链排列紧密。图 5-4 是文献报道的 DMPC 单分子吸附在电极表面的示意图<sup>[18,19]</sup>，极性头基（一个带负电的磷酸盐和一个带正电的胺基）的一端吸附在电极表面上，疏水的酰基链以一定的角度向外倾斜。

本实验所使用量是 20 微升浓度为 1mg/ml 的 DMPC 氯仿溶液，多次重复浇铸，测量到的最大厚度在 13nm 左右，约为 5 到 6 个单层。但膜本身是不均匀的，表面存在不同厚度。图 5-5 为本文提出的多层 DMPC 仿生膜构型示意图。



**Fig. 5-4 Schematic illustration of DMPC molecule adsorbed on electrode surface. The angle  $\gamma$  is the angle between the transition dipole of  $\text{CH}_2$  band and the surface normal. (ref. 18,19)**



**Fig. 5-5 Schematic presentation of proposed model diagram of DMPC casting film adsorbed on electrode surface.**

## § 5-2 DMPC 仿生膜组装前后电化学性质的比较

图 5-6 是裸金电极与修饰 DMPC 膜的电极在 2 mM  $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$  溶液中的循环伏安图(CV)对比。从图中可以看到,在裸金电极的循环伏安图中出现一对可逆的氧化还原峰,而在修饰后的电极上无论是峰电位还是峰强度都发生了明显的变化,铁氰化钾的一对特征峰电流明显下降,这说明 DMPC 已经修饰到金电极上。

电化学交流阻抗法是研究电极过程动力学以及电极表面现象的重要手段,同时对于探测电极表面修饰层的特点十分有效。图 5-7 中为裸金电极(A)和 DMPC 修饰的金电极(B)的阻抗图。从图中我们可以看到,裸金电极在  $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$  溶液中的阻抗谱(A)由三个部分组成,高频区域的半圆,中频的圆弧和低频的一段直线,高频区域的半圆为金电极和溶液的界面阻抗,中频区域的圆弧为金电极的电荷传递阻抗,低频为表示扩散过程的直线。高频半圆和中频圆弧都很小,说明在此情况下,  $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$  非常容易到达电极表面发生氧化还原反应,反应是受扩散控制的过程。而曲线 B 是组装上 DMPC 修饰膜后的阻抗谱,高频半圆有明显变大,而中频区域变大为一个半径很大的半圆,甚至抑制了高频半圆和低频的扩散直线,说明电极上出现阻碍电子转移的物质,界面阻抗增大,电荷传递电阻急剧增大,其电子传输能力明显下降,进而证明电极上已经充分组装上一层致密的 DMPC 膜。

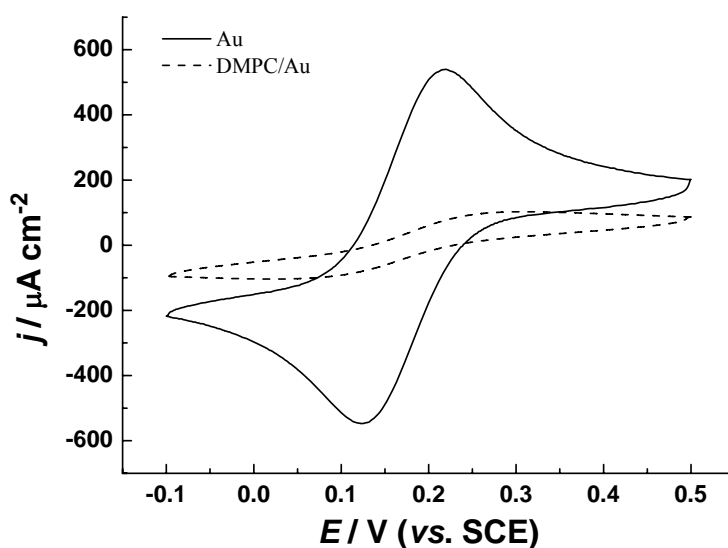


Fig. 5-6 CV of bare Au electrode (—) and DMPC/Au modified electrode (---) in Ferricyanide solutions.



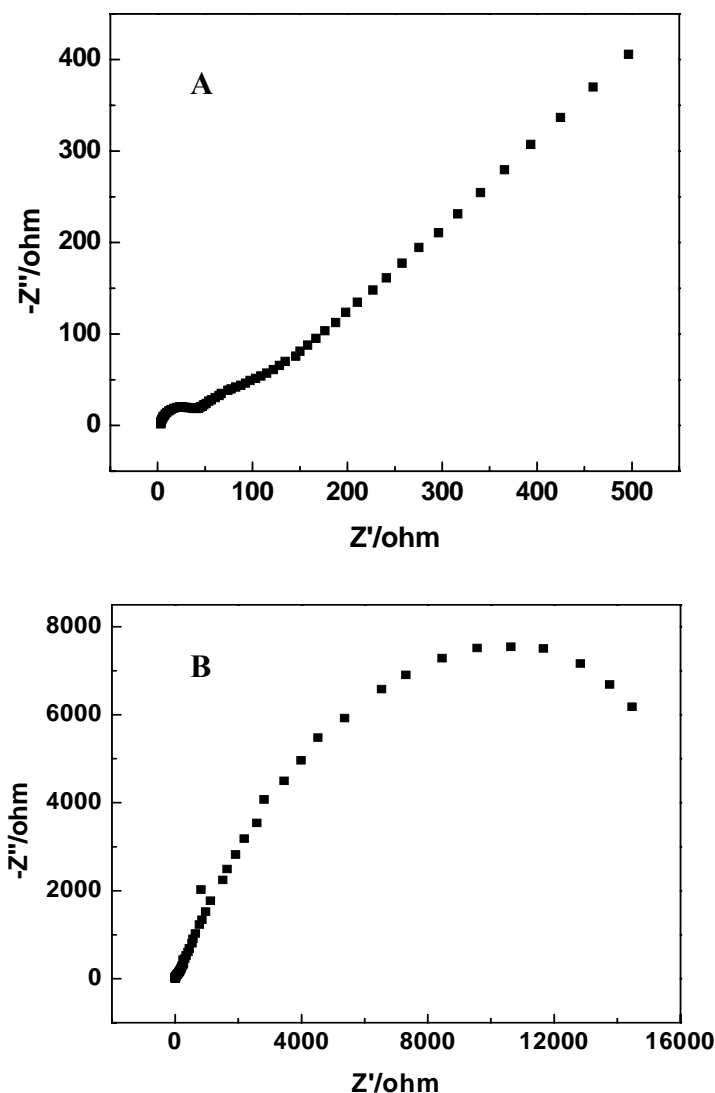


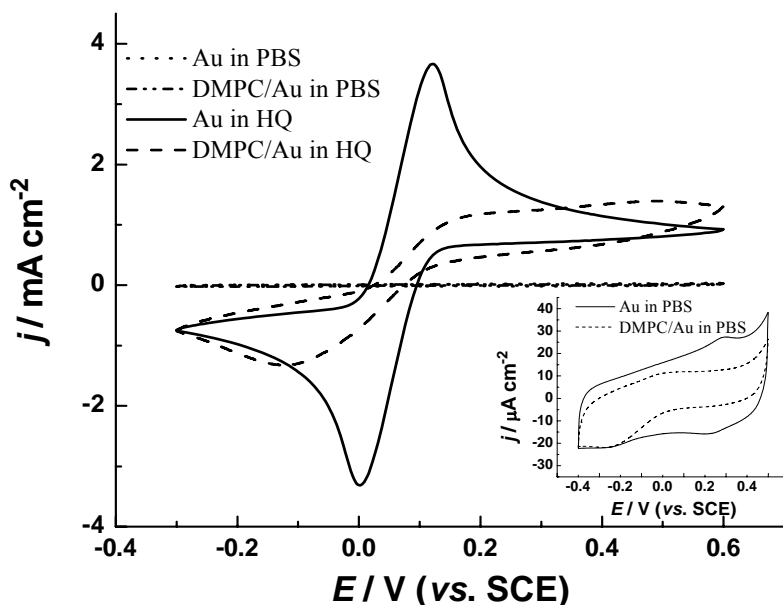
Fig. 5-7 EIS of bare Au electrode (A) and DMPC/Au modified electrode (B) in Ferricyanide solutions.

### § 5-3 对苯二酚在金电极和 DMPC 修饰电极上的电化学反应

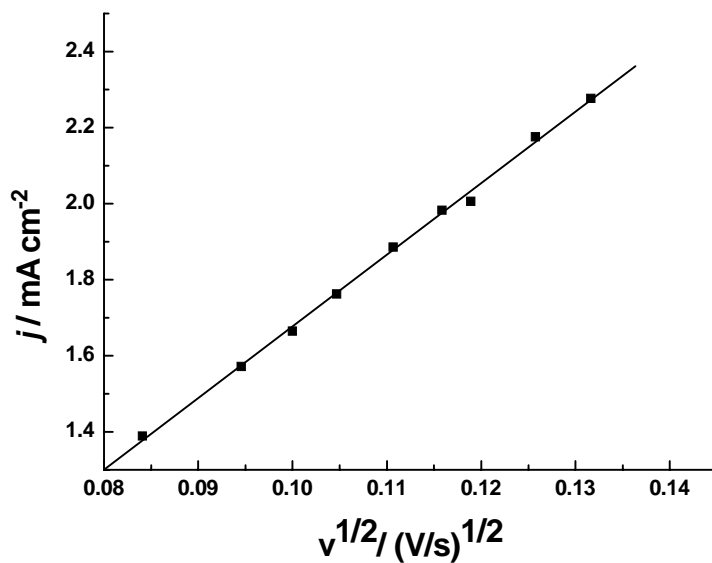
图 5-8 是 DMPC 修饰电极与裸电极在含有  $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  对苯二酚的 PBS 缓冲溶液(pH6.7)的循环伏安图, 其中的插图是放大的 DMPC 修饰电极与裸 Au 电极在 PBS 缓冲溶液中的 CV 图。从图中可以观察到, DMPC 修饰后, 对苯二酚的起始氧化电位推迟, 并且氧化峰电流较裸金电极上的峰电流小很多。而修饰电极上的还原峰电位比裸金电极更负。可见修饰电极对对苯二酚在金电极上的响应是有影响的。Rusling 和 Nassar<sup>[10]</sup>认为, 只要在一个微弱电场的作用下, 浇铸膜便

会在每个双层单元结构中产生微小的缺陷，这样的缺陷可使小分子穿过膜。因此 CV 的结果也可以说明，对苯二酚分子可以穿过 DMPC 浇铸膜到达电极表面。

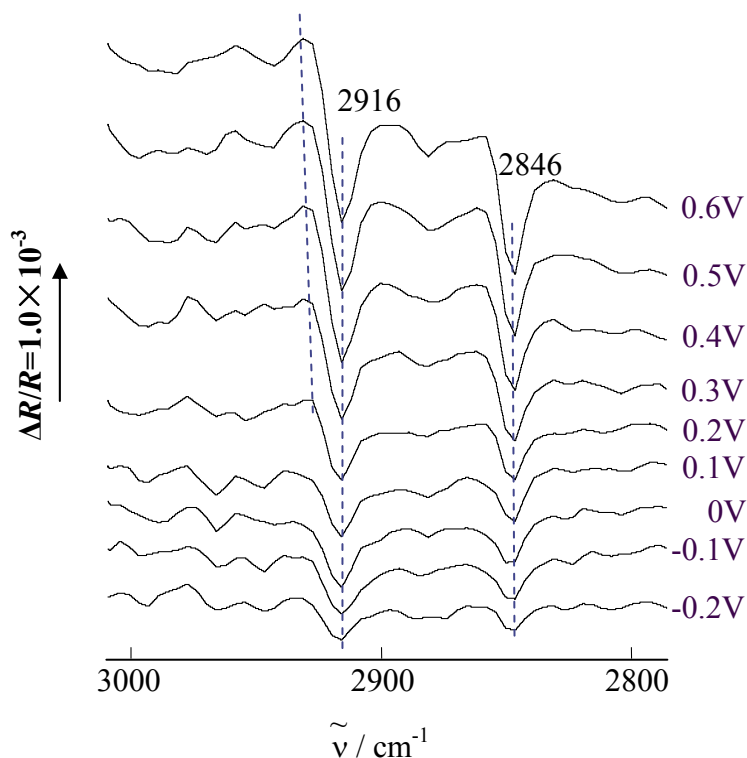
我们对修饰电极在对苯二酚溶液中的循环伏安氧化峰电流与扫速的关系也进行了研究，如图 5-9 所示。从图中我们可以看出，在 50~300mVs<sup>-1</sup> 扫速范围内，其峰电流与扫速的平方根成正比，即对苯二酚在 DMPC 膜中的电子传输过程是受扩散控制的。根据 Randles-Sevick 公式，在 25°C 时的简化扩散方程  $j_p = -2.69 \times 10^5 n^{3/2} c_0^0 D^{1/2} v^{1/2}$ 。峰电流密度  $j_p$  单位为 A/cm<sup>2</sup>，D 的单位为 cm<sup>2</sup>/s<sup>1</sup>， $c_0^0$  的单位为 mol/cm<sup>3</sup>， $v$  为 V/s。其中，根据循环伏安氧化峰电流与扫速的关系图得到  $j_p/v^{1/2} = 0.0188361$ ，对苯二酚初始浓度  $c_0^0 = 1 \times 10^{-5}$  mol/cm<sup>3</sup>，反应的电子传递数  $n=2$ ，从而计算出扩散系数 D 为  $6.13 \times 10^{-6}$  cm<sup>2</sup>/s。



**Fig. 5-8 CVs of Bare Au Electrode and DMPC/Au Modified Electrode in PBS (pH = 6.7) and PBS (pH = 6.7) +10mM HQ.**



**Fig. 5-9 Relationship between peak current measured in the CV recorded in PBS (pH = 6.7) +10mM HQ on DMPC/Au Modified Electrode and the square root of scan rate.**



**Fig. 5-10 MS-FTIR spectra of DMPC/Au electrode in 0.1M PBS(pH=6.7)  $E_R = -0.30V(SCE)$ ,  $E_S$  varies from  $-0.20$  to  $0.60V$  with interval of  $0.10V$ .**

### § 5-4 DMPC 膜随电位变化的原位红外研究

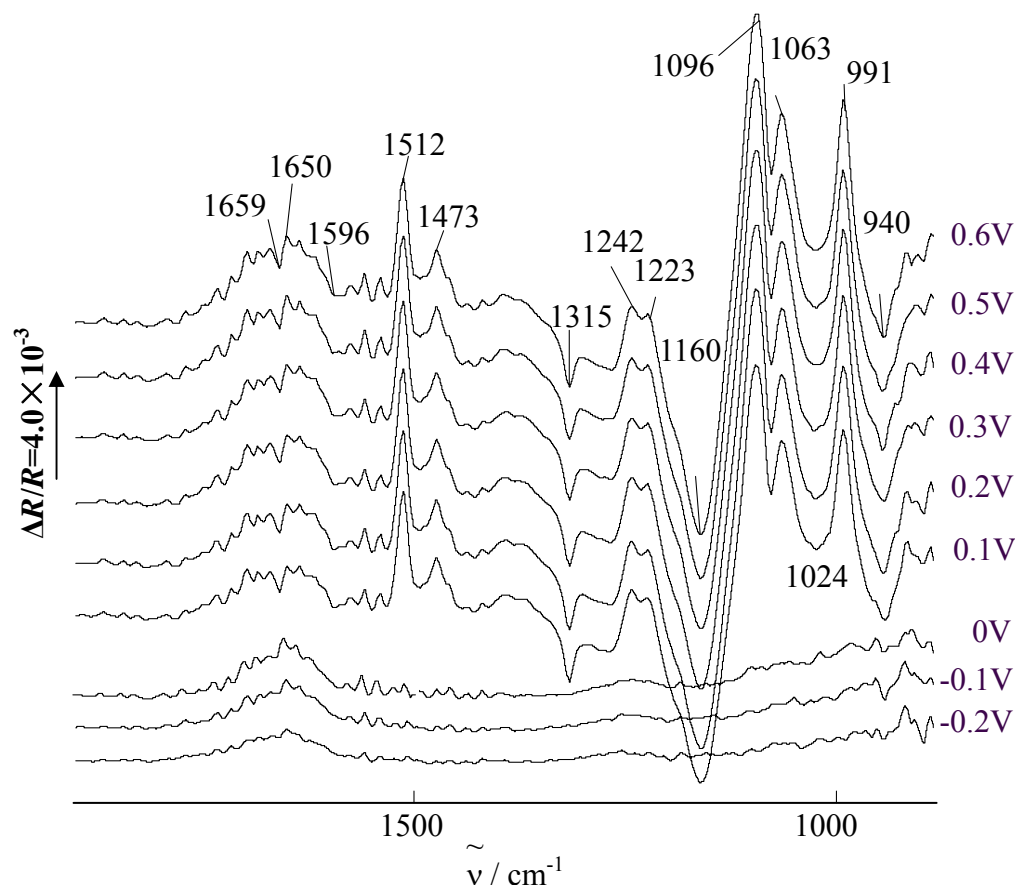
为了研究 DMPC 膜随电位变化特征, 我们采用电化学原位多步电位阶跃 FTIRS(MS-FTIRS), 将制备好的 DMPC/Au 修饰电极放入空白的 PBS 缓冲溶液 (pH=6.7) 中, 先设定 -0.3V 作为参考电位, 采集单光束光谱  $R(E_R)$ , 然后改变研究电位  $E_S$ , 从 -0.2V 逐步升高到 0.6V, 每次阶越 0.1V, 采集一组反射单光束光谱  $R(E_S)$ , 经差减归一化得到一系列研究电位下的谱图。图 5-10 主要给出 2800~3000 $\text{cm}^{-1}$  范围的谱峰。

可以很明显地观察到两个向下谱峰, 其中 2916  $\text{cm}^{-1}$  对应  $\text{CH}_2$  的反对称伸缩振动, 在 2846 $\text{cm}^{-1}$  处的谱峰则对应  $\text{CH}_2$  的对称伸缩振动。它们均和 DMPC 分子酰基链上亚甲基有关。文献报道当  $V_{\text{as}}(\text{CH}_2)$  低于 2920 $\text{cm}^{-1}$ ,  $V_{\text{s}}(\text{CH}_2)$  低于 2850 $\text{cm}^{-1}$ , DMPC 膜层处于凝胶状态, 酰基链是完全伸展的, 并呈全反式构造<sup>[20-22]</sup>。从图中还可以看到, 随着电位升高, 这两个向下峰的强度逐渐增大。我们认为 DMPC 分子取向会随着电位升高而发生改变, 并且在高电位下 DMPC 构型有序度下降。从 DMPC 在电极表面上吸附的模型图 (图 5-4) 可知, DMPC 分子的酰基链和电极表面保持有一定的方向。当电位升高时, 可能是因为酰基链与垂直电极方向的角度增大, 而  $\text{CH}_2$  跃迁偶极矩与垂直电极方向的角度减小<sup>[23]</sup>, 致使红外检测出逐渐增强的  $V_{\text{as}}(\text{CH}_2)$  和  $V_{\text{s}}(\text{CH}_2)$  的信号。此外, 还可能是由于有部分酰基链出现偏转构型以及链的溶解<sup>[24]</sup>。

### § 5-5 对苯二酚在本体金电极上电氧化的原位红外研究

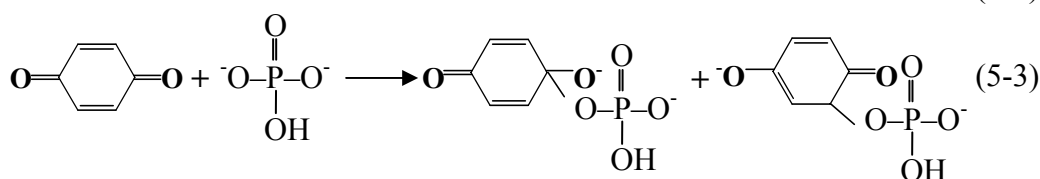
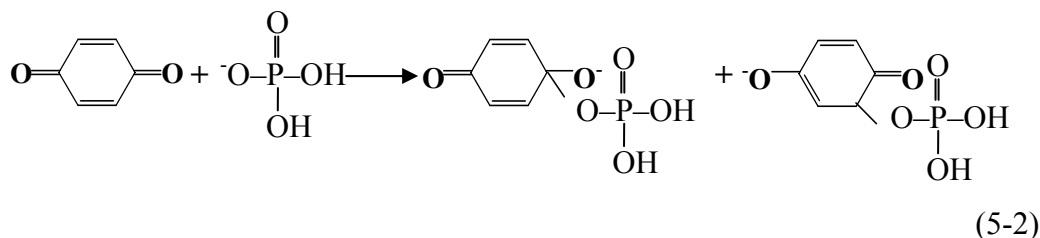
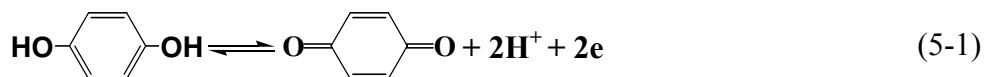
我们首先研究本体金电极上对苯二酚的电氧化机理。图 5-11 是 10mM 对苯二酚的 PBS 溶液在本体金电极上氧化过程的电化学原位红外光谱, 以 -0.3V 为参比电位。当电位增加到 0.0V 时, 1659 $\text{cm}^{-1}$  处出现向下的强吸收峰, 它位于醌的羰基吸收区域, 可归属为对苯二酚的氧化产物 1,4-苯醌的  $\text{C}=\text{O}$  的振动吸收峰。这是由于对苯二酚于 0.0V 左右开始氧化生成 1,4-苯醌。1596 $\text{cm}^{-1}$  处负向吸收峰是苯醌中  $\text{C}=\text{C}$  的伸缩振动峰, 由于苯醌分子的共轭效应使得双键的峰位向低波数移动。1315 $\text{cm}^{-1}$  的负向吸收峰是苯醌的  $\text{C}=\text{C}$  双键上  $\text{C}-\text{H}$  平面变角振动峰。1650 $\text{cm}^{-1}$ 、1512  $\text{cm}^{-1}$  和 1473 $\text{cm}^{-1}$  三个正向吸收峰指认为  $\text{C}=\text{C}$  伸缩振动, 对应于苯环的骨架振动; 1242  $\text{cm}^{-1}$  和 1223  $\text{cm}^{-1}$  这一对向上的双峰对应于对苯二酚  $\text{O}-\text{H}$

平面变角振动。 $991\text{cm}^{-1}$  处的正向峰对应苯二酚 C=C 上 H 的面外摇摆式振动。所有这些向下的吸收峰都指示 1,4-苯醌的生成，向上的吸收峰都对应苯二酚的减少<sup>[24]</sup>。



**Fig. 5-11 MS-FTIR spectra of Au electrode, 0.1M PBS+10mM HQ**  
 $E_R = -0.30\text{V(SCE)}$ ,  $E_S$  varies from  $-0.20$  to  $0.60\text{V}$  with interval of  $0.10\text{V}$

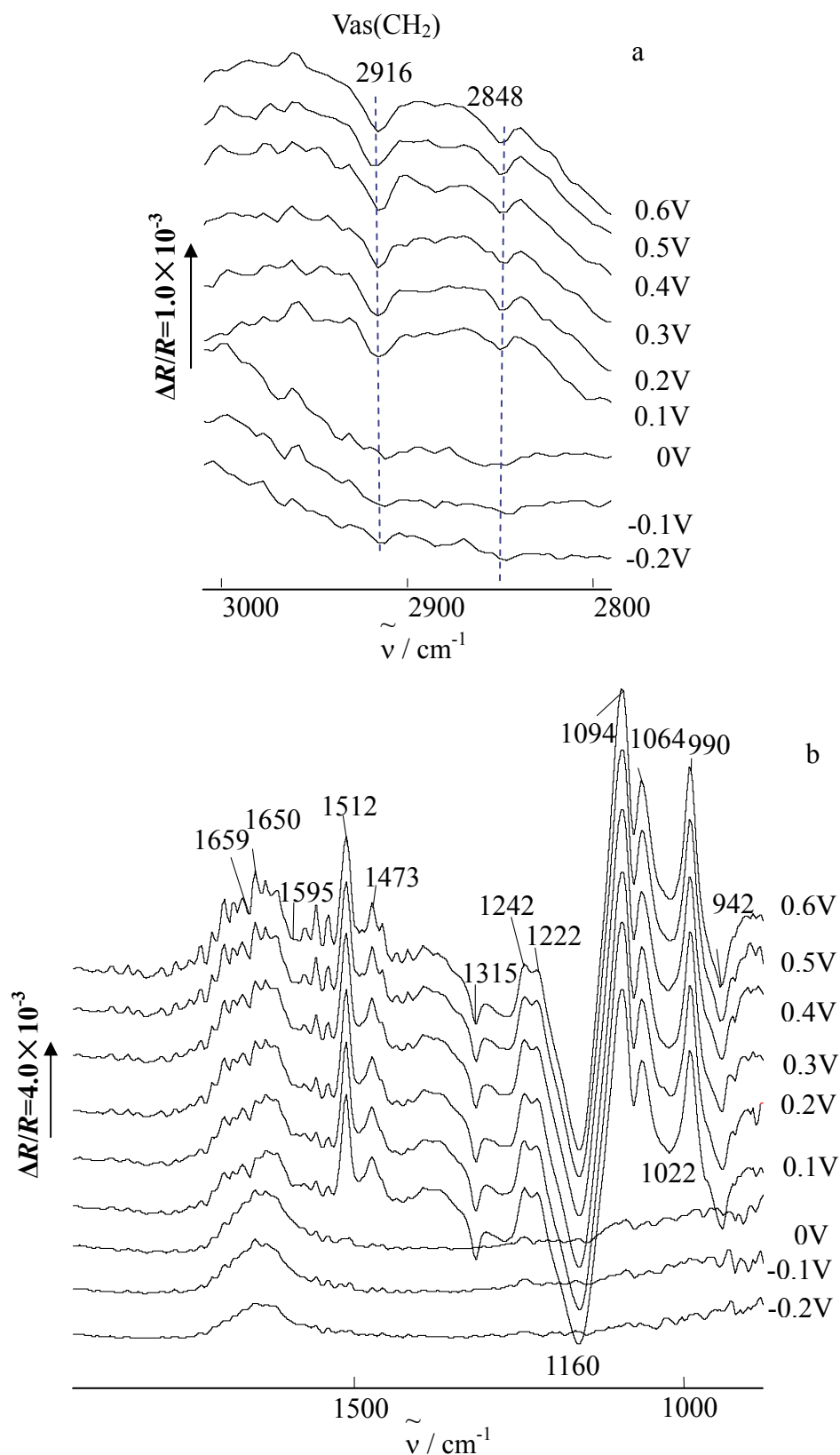
由于选取磷酸缓冲溶液作为支持电解质，对苯醌是一个缺电子体，容易和 PBS 溶液中磷酸氢根以及磷酸二氢根发生相互作用。红外光谱中还可以看到  $1096\text{cm}^{-1}$  和  $1063\text{cm}^{-1}$  之间的正向吸收峰，对应于  $\text{PO}_2^-$  的对称伸缩振动。 $1160\text{cm}^{-1}$  的负向吸收峰对应  $\text{PO}_2^-$  的反对称伸缩振动。 $1024\text{cm}^{-1}$  附近的负向吸收峰指认为  $\text{PO}_4^{2-}$  的对称伸缩振动。 $1200\text{cm}^{-1}$  和  $940\text{cm}^{-1}$  处的负向峰分别对应 P-O-C 的伸缩和弯曲振动。根据上述结果，我们推测在磷酸缓冲溶液中对苯二酚的氧化机理如下：



### § 5-6 对苯二酚在 DMPC 膜电极上电氧化的原位红外研究

为探索对苯二酚在 DMPC 膜上电氧化的机理，我们运用电化学原位多步电位阶跃 FTIRS(MS-FTIRS)，同样设定  $E_R = -0.30\text{V}$ ， $E_S$  从  $-0.20\text{V}$  逐步升高到  $0.60\text{V}$ ，获得在 DMPC/Au 电极上一系列电位的红外光谱，如图 5-12 所示。图 5-12(a) 为波数范围  $2800\sim 3000\text{cm}^{-1}$  的红外谱图，从  $2900\text{cm}^{-1}$  附近亚甲基的谱峰可以观察到酰基链的变化和 DMPC 在空白 PBS 溶液中基本一致。DMPC 膜层是凝胶状态，酰基链是完全伸展的，呈全反式构造。高电位下 DMPC 构型有序度降低，DMPC 分子取向发生变化。同时还有部分酰基链出现偏转构型以及链溶解。

图 5-12(b) 给出  $1800\sim 900\text{cm}^{-1}$  之间的红外谱图，其在本体金电极上获得的信息基本一致。这说明对苯二酚能够透过 DMPC 膜到达金电极发生氧化反应，且反应机理与在裸金上一致。



**Fig. 5-12 MS-FTIR spectra of DMPC/Au electrode in 0.1M PBS+10mM HQ**  
 $E_R = -0.30V(SCE)$ ,  $E_S$  varies from -0.20 to 0.60V with interval of 0.10V,  
 (a) 3000 ~ 2800 $cm^{-1}$  (b) 2000 ~ 1000 $cm^{-1}$

## § 5-7 对苯二酚在 DMPC 膜电极上电氧化的 EQCM 研究

### § 5-7-1 对苯二酚在 EQCM-Au 电极上电氧化的 EQCM 研究

图 5-13 给出 EQCM-Au 电极在  $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{PBS}(\text{pH}=6.7)$  空白溶液中的循环伏安和相应的质量变化曲线，扫宽电位范围在  $-0.6\text{V}\sim 1.8\text{V}$  之间（实线），本实验所选电位范围在  $0.34\text{V}\sim 1.24\text{V}$  之间（虚线）。在 EQCM 试验中，我们将电位统一转换为以可逆氢电极作为参考电位，在当前条件下  $0.34\text{V}(\text{vs RHE})$  相当于以饱和甘汞电极做参比电极下时的  $0.0\text{V}(\text{vs SCE})$ 。

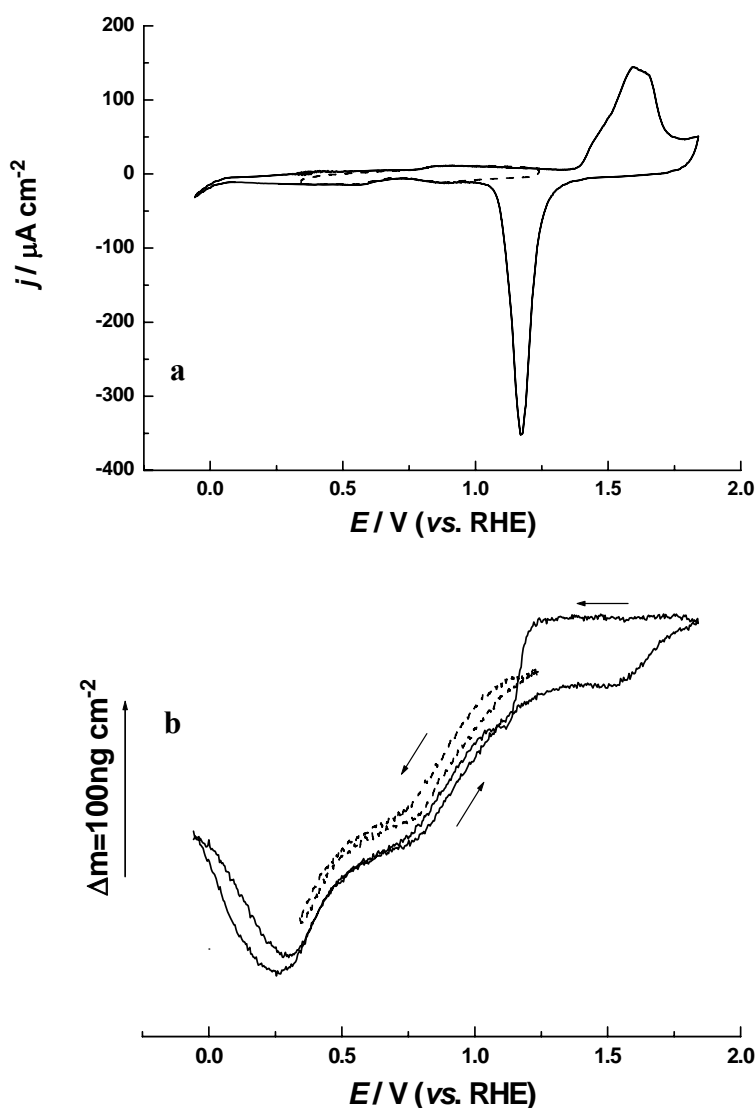


Fig. 5-13 (a) CVs of EQCM-Au electrode in 0.1M PBS solution.  
(b) simultaneous surface mass changes. scan rate,  $0.05\text{V s}^{-1}$



图 5-14 给出 EQCM-Au 电极分别在  $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{PBS}(\text{pH}=6.7)$  空白溶液(1)和含  $10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  对苯二酚溶液(2)中的循环伏安和相应的质量变化曲线。在图 5-14a 中的附图是放大的 EQCM-Au 电极在 PBS 空白溶液中的循环伏安曲线, 可以看到位于  $0.85\text{V}$  处的一个微弱氧化峰, 以及在  $0.55$  和  $0.88\text{V}$  处的微弱还原峰。它们对应于  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  和  $\text{HPO}_4^{2-}$  两个磷酸根阴离子在金表面的吸附, 其氧离子发生电子传输所引起的微弱电流峰。在对应的质量变化曲线(图 5-14 b-1)中, 当电位从  $0.34\text{V}$  正扫到  $1.24\text{V}$  的过程, 金表面上主要发生水溶液中磷酸根阴离子和  $\text{H}_2\text{O}$  的吸附, 随着电位升高表面质量增加, 对应磷酸根阴离子吸附的增强。正扫过程中, 质量增加了  $141.16\text{ng cm}^{-2}$ 。

从图 4-6(b)中得到, 当电位从  $-0.6\text{V}$  正向扫描至  $-0.4\text{V}$  (C-D), 在空白溶液中, 此时电位高于  $E_{\text{PZC,Au}}$ , 电极表面带正电荷, 溶液中分子量更小的  $\text{OH}^-$  阴离子与电极表面产生更强的相互作用, 部分取代了分子量较大的阳离子  $\text{Na}^+$  和  $\text{H}_2\text{O}$  分子, 从而引起电极表面质量减少; 而在赖氨酸溶液中, 表面质量基本不变, 归因于存在  $\text{CN}^-$  以及赖氨酸本身的吸附, 说明此时三者能够较稳定地占据表面

从图 5-14(b-2)中可知, 当电位从  $0.34\text{V}$  正向扫描至  $0.71\text{V}$  (A-B), 表面质量略有下降, 减少了  $11.7\text{ng cm}^{-2}$ 。这说明溶液中存在苯酚时, 影响了磷酸根阴离子在金表面上的吸附, 此时表面吸附状态较稳定。当电位从  $0.71\text{V}$  进一步扫描至  $0.92\text{V}$  (B-C), 随着苯酚开始发生氧化生成苯醌, 电极表面质量相对减小了  $31.0\text{ng cm}^{-2}$ 。在此电位区间, 苯酚产物苯醌其苯环上的 C 容易和磷酸根阴离子发生键合 (红外图在  $0.7\text{V}$  以上出现 P-O-C 的对称伸缩和弯曲振动峰), 增加磷酸根的空间位阻, 同时影响吸附在表面上的磷酸根相对减少。在  $0.92\text{V}$  到  $1.24\text{V}$  的电位区间里 (C-D), 表面质量由下降过渡到平衡, 之后又有所增加, 此段质量增加为  $28.1\text{ng cm}^{-2}$ 。此时随着电位增加, 磷酸根阴离子的吸附发生继续增强, 并占主导地位。

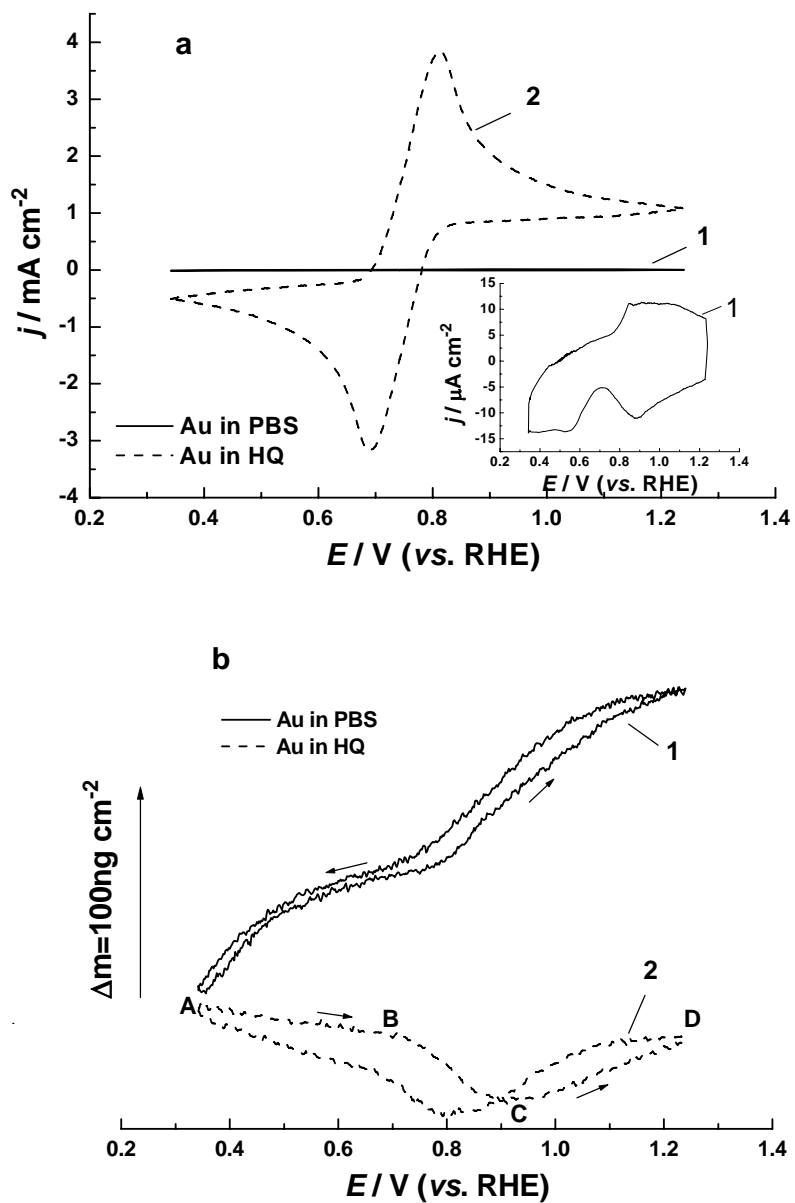


Fig. 5-14 (a)CVs of EQCM-Au electrode in 0.1M PBS solution (1) and 0.1M PBS solution containing 10 mM HQ (2). (b) simultaneous surface mass changes. scan rate, $0.05V\ s^{-1}$

### § 5-7-2 离子通道分析

离子通道本是生物学上的一个概念。通道是一种较大的膜蛋白，它的两头露在膜的两侧，整个分子贯穿膜形成一条通路，这样溶质不必与脂双层疏水部分直接接触就能穿过膜。通道是带电荷的离子透过膜的重要途径。生物体细胞膜中的离子通道可通过通道开关有选择性地识别底物随后放大其信息，底物和受体有选择性地键合从而触发离子特性通道的开启，使得大量离子按电位梯度穿过膜。

磷脂膜的离子通道的打开和关闭与以下过程密切相关<sup>[25]</sup>(1) 刺激物不存在时，通道是关闭的，因此分子不能穿透膜；(2) 刺激物存在时，通道开启，允许分子穿透膜，立即在基底电极上被电化学检测。其原因在于溶液中没有通道激发物存在时，膜内通道均处于关闭状态，分子无法穿过膜到达电极表面。当通道激发物存在时，可与季铵盐磷脂分子发生作用，从而改变磷脂分子的有序排列状态，使电极表面的磷脂膜结构发生变化，产生离子通道并处于开放状态，此时，分子便可通过离子通道到达电极表面产生电化学响应。图 5-15 给出离子通道的示意图。

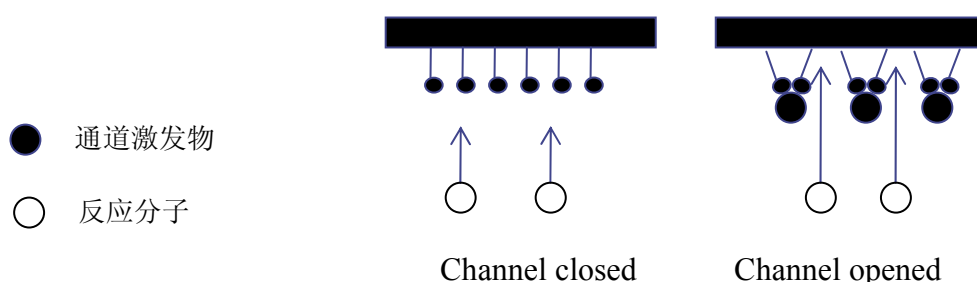


Fig. 5-15 Schematic diagram of Ion-Channel.

### § 5-7-3 对苯二酚在 DMPC 膜电极上电氧化的 EQCM 研究

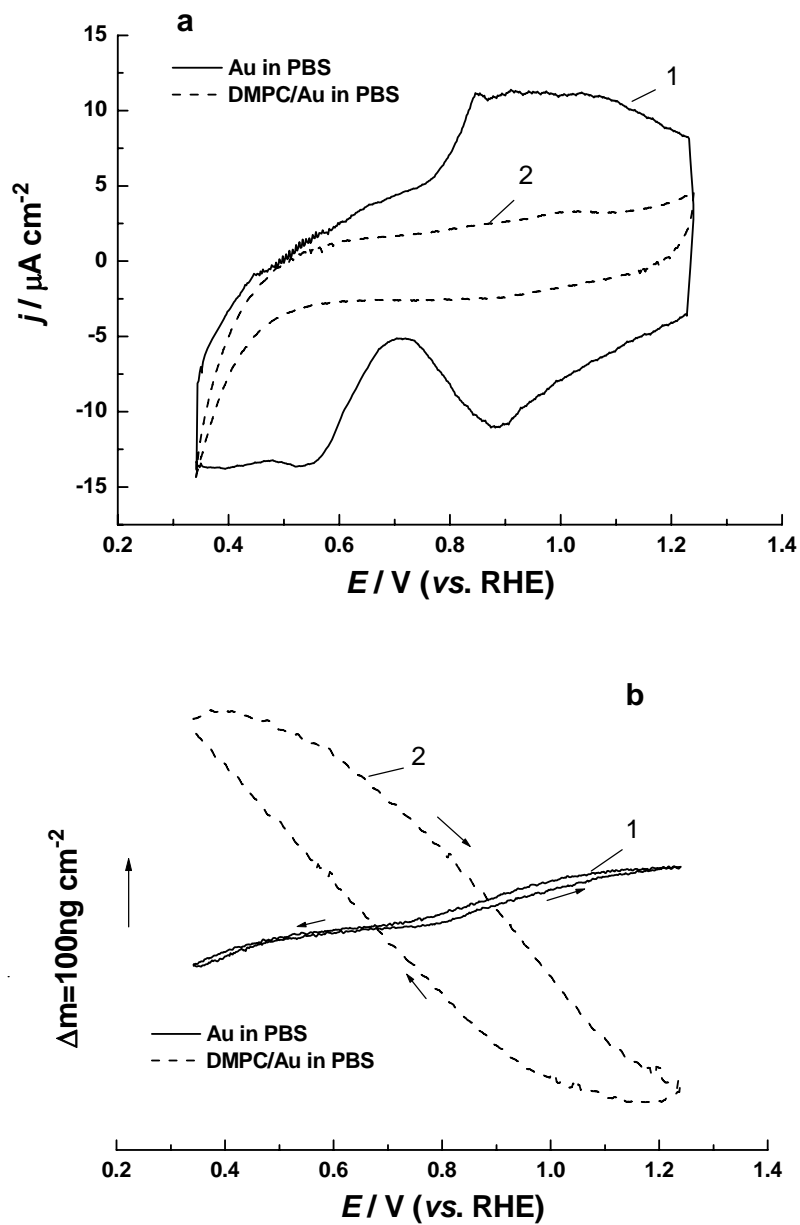
上述已经讨论了对苯二酚在 EQCM-Au 电极上发生的电氧化行为。我们将 DMPC 浇铸在 EQCM-Au 电极上，得到了在  $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{PBS}(\text{pH}=6.7)$  空白溶液和含  $10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  对苯二酚溶液中的循环伏安和相应的质量变化曲线。

图 5-16 是 EQCM-Au 电极(1)和 DMPC/Au 电极(2)分别在 PBS 空白溶液中的比较。从质量变化曲线上看，在整个正扫过程中，EQCM-Au 电极表面质量增加了  $141.16\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}$ ；而 DMPC 膜电极表面质量反而减少了  $524.29\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。对裸金

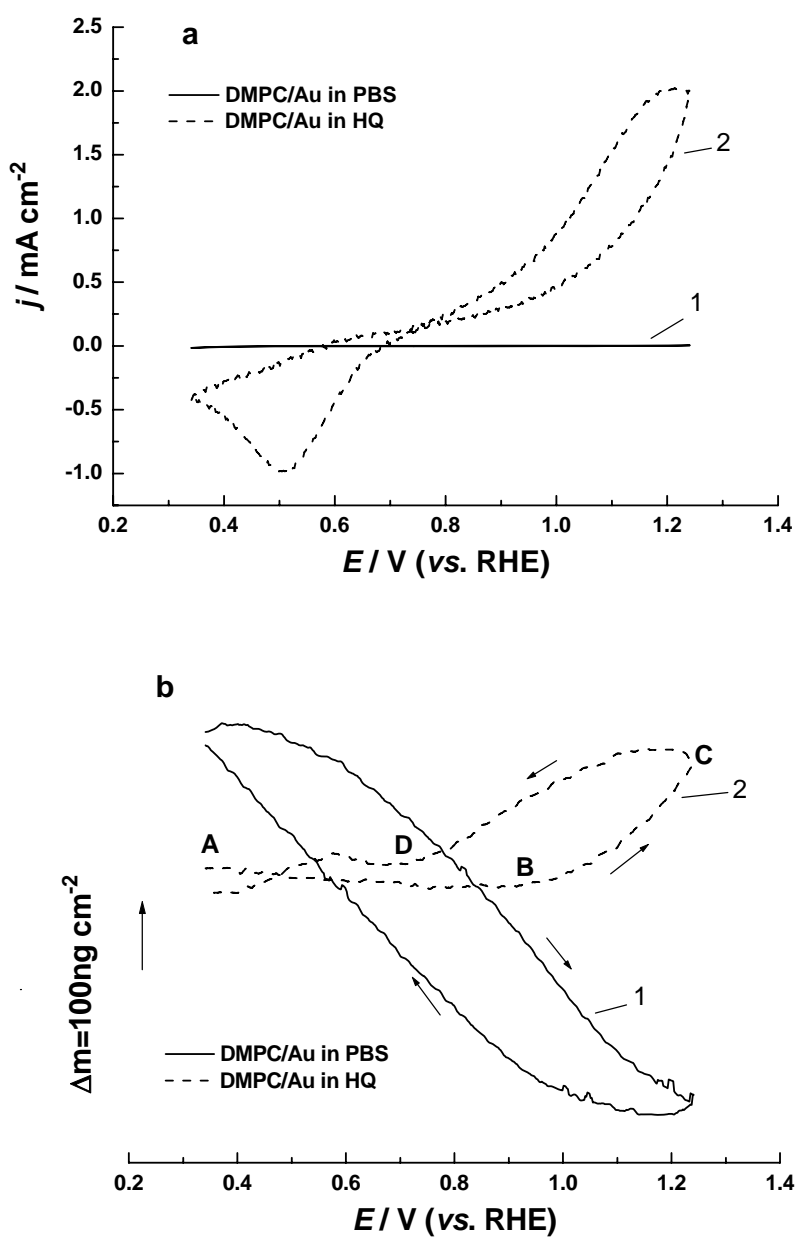
电极表面来说, 电位升高电荷表面所带正电荷增多, 磷酸根离子会部分取代水分子逐渐吸附在电极表面, 因此质量增加。而对于 DMPC 膜电极表面, PBS 溶液中的磷酸根阴离子能与季铵盐磷脂分子头基部分发生作用, 使电极表面的磷脂膜结构发生变化, 脂肪酰链会发生弯曲, 歪扭和侧移现象, 加剧了磷脂分子的有序向无序排列状态的变化, 使双层膜的通透性增加, 并影响表面吸附物的变化。在此, 磷酸根离子可作为一种离子通道激发物, 起到开关作用, 使分子可以通过离子通道到达电极表面产生电化学响应。EQCM 曲线显示在电位正扫时表面吸附物质量显著减少, 当电位负扫时膜表面吸附量又增大。这可能是因为膜的单位面积正电荷会因无序趋势而减少, 对水和磷酸根的吸附产生抑制作用。在扫描一周以后, 裸金电极表面质量几乎没有变化。DMPC 膜电极表面质量则减少了  $19.2 \text{ ng cm}^{-2}$ 。说明膜在电位变化时产生缺陷造成少部分质量损失。

图 5-17 是 EQCM-Au 电极(1)和 DMPC/Au 电极(2)分别在含  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  对苯二酚溶液中的循环伏安和相应的质量变化曲线。CV 曲线中, 对苯二酚大约在  $0.95 \text{ V}$  以后电流峰迅速增加。所对应的质量变化曲线, 在从  $0.34 \text{ V}$  正扫到  $0.95 \text{ V}$  的过程(A-B), 表面质量减少了  $22.79 \text{ ng cm}^{-2}$ , 电位进一步从  $0.95 \text{ V}$  正扫至  $1.24 \text{ V}$  (B-C)的过程中, 随着电流峰迅速增加, 对苯二酚逐渐通过离子通道嵌入 DMPC 膜到达电极表面并发生氧化生成苯醌, 质量增加了  $170.68 \text{ ng cm}^{-2}$ 。当电位负扫到  $0.7 \text{ V}$  以后(C-D), 苯醌发生还原生成苯酚。文献报道<sup>[26,27]</sup>BQ 的还原过程在 DMPC 膜上可以产生一种中间还原产物 BQ<sup>-</sup>, 它与 DMPC 膜会有一些的融合作用, 可能是因为这个原因致使在回扫到  $0.7 \text{ V}$  以后质量又略有增加, 质量变化为  $18.54 \text{ ng cm}^{-2}$ 。由于 DMPC 膜在电场作用下对苯二酚氧化过程中会产生许多微小缺陷, 致使回到起始电位以后质量有所下降, 减少了  $34.82 \text{ ng cm}^{-2}$ 。

图 5-18 给出 EQCM-Au 电极和 DMPC/Au 电极分别在 PBS 空白溶液中和含  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  对苯二酚溶液中的循环伏安和相应的质量变化曲线。



**Fig. 5-16 (a)CVs of EQCM-Au Electrode(1) and DMPC/Au Modified Electrode(2) in PBS (pH = 6.7) (b) simultaneous surface mass changes. scan rate,  $0.05 \text{ V s}^{-1}$**



**Fig. 5-17 (a)CVs of EQCM-Au Electrode(1) and DMPC/Au Modified Electrode(2) in PBS (pH = 6.7) +10mM HQ (b) simultaneous surface mass changes. scan rate,0.05V s<sup>-1</sup>**

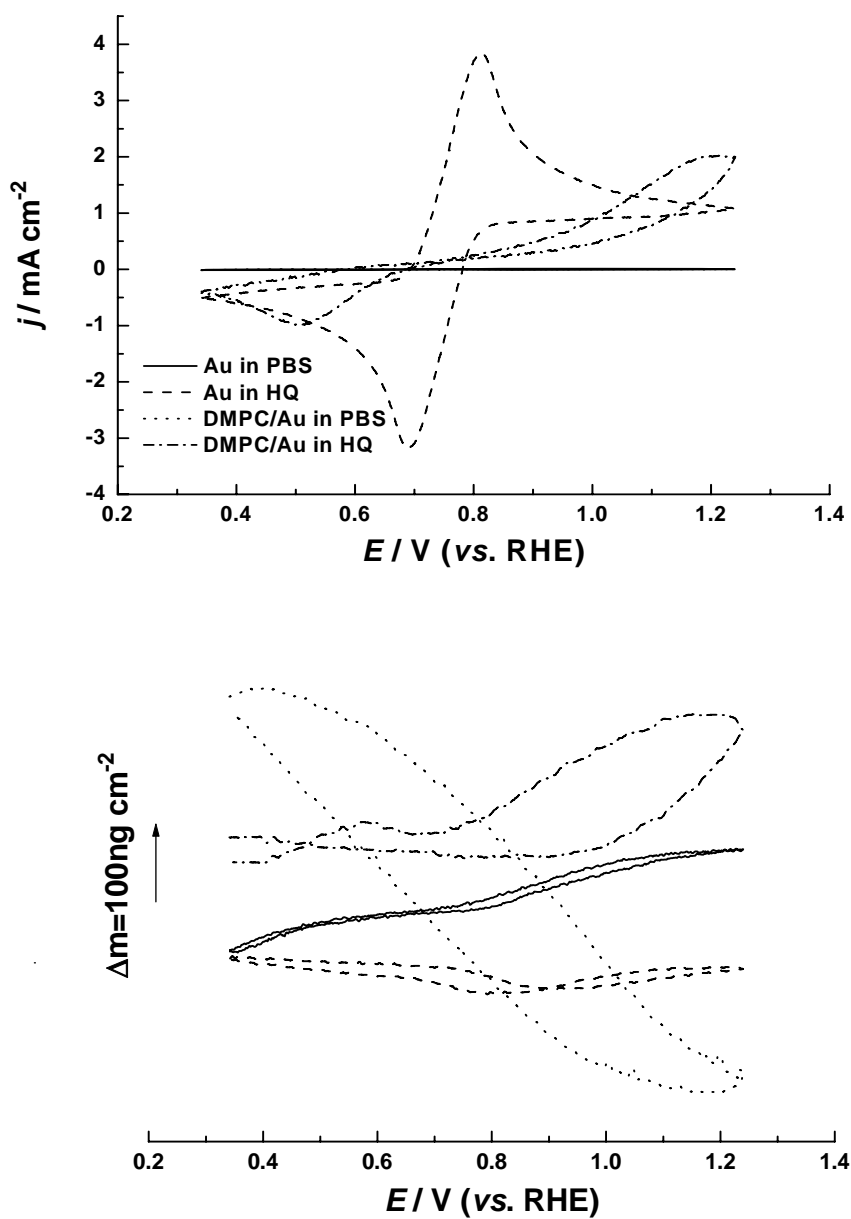


Fig. 5-18 (a) CVs of EQCM-Au Electrode and DMPC/Au Modified Electrode in PBS (pH = 6.7) and PBS (pH = 6.7) +10mM HQ (b) simultaneous surface mass changes. scan rate,  $0.05 \text{ V s}^{-1}$

## 本章小结

本章运用椭圆偏振光谱、电化学循环伏安、原位 FTIR 光谱和 EQCM 研究了 DMPC 仿生膜上对苯二酚电化学行为，以及膜的性质。得到以下主要结论：

1. 通过椭圆偏振光谱测得 DMPC 膜在 13nm 左右，大约为 5 到 6 个单层。但膜的厚度不均匀。膜厚随着浇铸量增加基本成线性关系。
2. 对苯二酚分子可以穿过 DMPC 浇铸膜到达电极表面发生电氧化生成苯醌。与在裸金电极上的氧化相比，对苯二酚的起始氧化电位出现较迟，并且氧化峰电流较裸金电极上的峰电流显著减小。对苯二酚在 DMPC 膜中的电子传输过程受扩散控制。
3. MS-FTIRS 研究结果指出，DMPC 膜上对苯二酚的氧化机理与裸金上基本一致。随着电位的升高，DMPC 膜分子取向会发生改变，在高电位下构型有序度下降。酰基链与垂直电极方向的角度随着电位升高而增大，还可能存在部分酰基链出现偏转构型以及链的溶解。
4. 通过 EQCM 实验结果，得知在对苯二酚体系中，DMPC 膜在磷酸缓冲溶液里可以在电位变化下可以使 DMPC 膜的离子通道打开，膜结构发生有序到无序的变化过程，致使表面吸附物质量发生变化。在含有对苯二酚时，对苯二酚能够通过离子通道达到电极表面发生氧化还原。



## 参考文献

- [1] 汪尔康,黄卫民, 分子仿生—仿生膜体系的电化学研究 [J]. 科学中国人, 2004, 04: 32.
- [2] N Nakashima, R Ando, T Kunitake, Casting of synthetic bilayer membranes on glass and spectral variation of membrane-bound cyanine and merocyanine dyes [J]. Chem. Lett., 1983, 1577-1580.
- [3] T Kunitake, M Shimomura, T Kajiyama, A Harada, K Okuyama, M Takayanagi, Ordered cast films of an azobenzene-containing molecular membrane [J]. Thin Solid Films., 1984, 121: L89-L91.
- [4] T Kunitake, A Tsuge, N Nakashima, Immobilization of ammonium bilayer membranes by complexation with anionic polymers [J]. Chem. Lett., 1984, 1783-1786.
- [5] J F Rusling, H Zhang, Multilayer films of cationic surfactants on electrodes. Control of charge transport by phase [J]. Langmuir., 1991, 7: 1791-1796.
- [6] N Hu, J F Rusling, Surfactant-intercalated clay films for electrochemical catalysis. Reduction of trichloroacetic acid [J]. Anal. Chem., 1991, 63: 2163-2168.
- [7] H Zhang, J F Rusling, Preconcentration and catalysis in reduction of aliphatic organohalides using surfactant-casted electrodes [J]. Talanta., 1993, 40: 741-747.
- [8] N Nakashima, M Masuyama, M Mochida, M Kunitake, O Manabe, Regulation of electron transfer reaction of a flavin incorporated into synthetic lipid films on electrodes based on phase transition of molecular bilayers [J]. J. Electroanal. Chem., 1991, 319: 355-359.
- [9] N Nakashima, S Wake, T Nishino, M Kunitake, O Manabe, Phase-transition dependent electron transfer of electrodes coated with multi-bilayer films of a ferrocene-carrying synthetic lipid characterized by cyclic voltammetry and chronocoulometry [J]. J. Electroanal. Chem., 1992, 333: 345-351.
- [10] J F Rusling, A E F Nassar, Enhanced electron transfer for myoglobin in surfactant films on electrodes [J]. J. Am. Chem. Soc., 1993, 115: 11891-11897.
- [11] Z Zhang, A E F Nassar, Z Lu, J B Schenkman, J F Rusling, Direct electron injection from electrodes to cytochrome P450cam in biomembrane-like films [J]. J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1997, 93(9): 1769-1774.
- [12] 吴正岩, 中国科学院长春应用化学所博士学位论文 [D], 2000.
- [13] 吴正岩 唐纪琳 汪尔康, 仿生膜内固定的多巴胺对抗坏血酸的氧化作用分析化学 [J].

- 研究报告, 2001, 29(8): 881-884.
- [14] 王建国, 中国科学院近代物理研究所博士学位论文 [D], 2001.
- [15] X M Bin, J Lipkowski, Electrochemical and PM-IRRAS studies of the effect of cholesterol on the properties of the headgroup region of a DMPC Bilayer Supported at Au(111) electrode [J]. *J. Phys. Chem. B*, 2006, 110: 26430-26441.
- [16] A Watt, K Harlos, D Marsh, Charge-induced tilt in order-phase phosphatidylglycerol bilayers evidence from X-ray diffraction [J]. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1981, 645: 91-96.
- [17] J K H Horber, C A Lang, T W Hansch, W M Heckl, H Mohwald, Scanning tunneling microscopy of lipid films and embedded biomolecules [J]. *Chem. Phys. Lett.*, 1988, 145: 151-158.
- [18] H Hauser, I Pascher, R H Pearson, S Sundell, Preferred conformation and molecular packing of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine [J]. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1981, 650: 21-51.
- [19] S L Horswell, V Zamlyny, H Q Li, A R Merrill, J Lipkowski, Electrochemical and PM-IRRAS studies of potential controlled transformations of phospholipid layers on Au(111) electrodes [J]. *The Royal Society of Chemistry Faraday Discuss.*, 2002, 121:405 - 422.
- [20] R G Snyder, S L Hsu, S Krimm, Vibrational spectra in the C-H stretching region and the structure of the polymethylene chain [J]. *Spectrochim. Acta.*, 1997, 34: 395-406.
- [21] D G Cameron, H L Casal, H H Mantsch, Characterization of the pretransition in 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine by Fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Biochemistry*, 1980, 19: 3665-3672.
- [22] R G Snyder, H L Strauss, C A Elliger, Carbon-hydrogen stretching modes and the structure of n-alkyl chains. 1. Long, disordered chains [J]. *J. Phys. Chem.*, 1982, 86: 5145-5150.
- [23] X M Bin, I Zawisza, J D Goddard, J Lipkowski, Electrochemical and PM-IRRAS studies of the effect of the static electric field on the structure of the DMPC bilayer supported at a Au(111) electrode surface [J]. *Langmuir.*, 2005, 21: 330-347.
- [24] Y H Tang, Y R Wu, Z H Wang, Spectroelectrochemistry for Electroreduction of *p*-Benzoquinone in Unbuffered Aqueous Solution [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 2001, 148: 133-138.
- [25] M Sugawara, K Kojima, H Sazawa, Y Umezawa, Ion-channel sensor [J]. *Anal. Chem.*, 1987,

59: 2842-2846.

[26] H Park, J S Park, Y B Shim, Redox reaction of benzoquinone on a lipid coated glassy carbon electrode [J]. J Electroanal. Chem., 1997, 438: 113- 119.

[27] H Park, M Oyama, Y B Shim, S Okazaki, Reduction of *p*-benzoquinone on lipid-modified electrodes: effect of the alkyl chain length of lipids on the electron transfer reactions [J]. J Electroanal. Chem., 2000, 484: 131-136.

## 结 论

本论文运用电化学循环伏安、原位红外光谱、电化学石英晶体微天平和表面等离子体共振等技术研究了赖氨酸在纳米金膜电极表面的吸附和氧化,以及对苯二酚在 DMPC 仿生膜上的电化学反应。主要结果如下:

1. 发展了一种新的制备 SPR 响应基片的湿化学方法。先将玻璃片硅烷化,采用 2.5 nm 粒径的 Au 纳米粒子为成核微粒,在其上自组装具有较大表面覆盖度的 Au 单层。在室温下采用化学镀金法使金胶单层膜均匀增长,膜的厚度可通过设置镀金时间,在纳米尺度范围内有效控制以达到 SPR 所需的厚度要求。在镀金过程中需注意摇动操作以获得表面粗糙度在纳米和亚纳米范围内的均匀金膜。湿化学镀法具有简单、价廉、重现性好的特点,并且完全以溶液操作为基础,不受基底尺寸和形状的限制,操作更为方便。适用于电化学实验的工作电极和自组装研究的基底。

2. 研究了赖氨酸分子在纳米金膜电极表面的吸附和氧化机理。在碱性介质中以阴离子形式存在的赖氨酸 $\text{Lys}^-$  ( $-\text{OOC}-\text{CH}-\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$ )能在低电位区间 ( $-0.95\text{V}\sim-0.80\text{V}$ )发生C-C键断裂,  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ 解离生成氰基( $\text{CN}^-$ )与电极表面发生较强的化学吸附,形成 $\text{AuCN}$ 物种。同时赖氨酸阴离子的羧基侧还可通过两个氧原子与金电极表面相互作用。这与在CV中观察到的 $-0.8\text{V}$ 附近的一对弱吸附峰相对应。*In situ* FTIRS研究表明,当电位升高至 $0.1\text{V}$ 和 $0.3\text{V}$ 以上时,吸附态 $\text{CN}^-$ 发生氧化脱附依次生成 $\text{NCO}^-$ 和 $\text{OCN}^-$ 进入溶液。当电位高于 $0.5\text{V}$ ,金还能以 $\text{AuCN}$ 形式溶解。同时赖氨酸氧化过程中还伴随着 $\text{CO}_2$ 和 $\text{CO}_3^{2-}$ 的生成。EQCM与EC-SPR实验指出,在 $-0.8$ 至 $0.0\text{V}$ 区间, $\text{CN}^-_{\text{ad}}$ 可稳定存在于电极表面。由于赖氨酸及其解离产物 $\text{CN}^-$ 在电极上的吸附,占据金的表面位,抑制了水和 $\text{OH}^-$ 在金电极表面的吸附,而在碱性溶液中单层 $\text{AuO}_{\text{ad}}$ 的形成来自于溶液中的水或 $\text{OH}^-$ 在金表面的吸附和氧化,因此在高电位区间氧化生成的 $\text{AuO}_{\text{ad}}$ 的量减少。

3. 在金电极上构筑了双肉豆蔻磷脂酰胆碱(DMPC)的仿生浇铸膜。椭圆偏振光谱测试发现,膜厚随着浇铸量增加基本成线性关系,根据本文采用的浇铸量所形成的膜是一种表面厚度不均匀的多层膜,其最大厚度在 $13\text{nm}$ 左右,大约为5到6个单层。对苯二酚能够通过膜内的离子通道达到电极表面发生氧化还原,其电子传输过程受扩散控制,扩散系数为 $6.13\times 10^{-6}\text{cm}^2/\text{s}$ 。*In situ* FTIRS研究指出,

DMPC仿生膜构型和分子取向会随着电位升高而发生变化,在高电位下构型有序度下降。酰基链与垂直电极方向的角度随着电位升高而增大,还可能存在着部分酰基链出现偏转构型以及链的溶解。EQCM研究表明,磷酸缓冲溶液中磷酸根离子为一种离子通道激发物,它可与季铵盐磷脂分子头基部分发生作用,在电位变化下可使DMPC膜的离子通道打开,膜结构发生有序到无序的变化过程,致使表面吸附物质量发生变化。在含有对苯二酚时,对苯二酚能够通过离子通道达到电极表面发生氧化还原。分子仿生研究是模拟在微观的分子层面上的生物分子的功能。实验为研究生物小分子在真正的生物体内的反应提供了有益的帮助。

## 作者攻读硕士期间发表与交流的论文

### 一 在国内外期刊上正式发表的文章

- 1 **邱瑾**, 陈声培, 田利, 曾冬梅, 甄春花, 孙世刚, 碱性介质中 L-赖氨酸在纳米金膜电极上吸附和氧化过程研究, 高等学校化学学报 [J] (已接收)

## 二 在国际和全国学术会议上发表的论文目录

- 1 **Jin Qiu**, Li Tian, Dong-Mei Zeng, Kai Yang, Sheng-Pei Chen, Shi-Gang Sun, The electrochemical and FTIR Studies of p-dihydroxybenzene in the DMPC biomimetic membrane, 11<sup>th</sup> ISEC (International Symposium on Electroanalytical Chemistry) & 1<sup>st</sup> SJBSEC (Sino-Japan Bilateral Symposium on Electroanalytical Chemistry), Changchun, Aug. 16-19, 2007, P-52.
- 2 **邱瑾**, 陈声培, 田利, 曾冬梅, 甄春花, 孙世刚, 碱性介质中 L-赖氨酸在纳米金电极上的吸附和氧化的原位 FTIR 研究, 第 14 次全国电化学会议, 扬州, 2007 年 11 月 2-5, A-053.
- 3 Li Tian, **Jin Qiu**, Dong-Mei Zeng, Kai Yang, Sheng-Pei Chen, Shi-Gang Sun, The electrochemical behavior of Ascorbic Acid in the DMPC biomimetic membrane, 11<sup>th</sup> ISEC (International Symposium on Electroanalytical Chemistry) & 1<sup>st</sup> SJBSEC (Sino-Japan Bilateral Symposium on Electroanalytical Chemistry), Changchun, Aug. 16-19, 2007, P-51.
- 4 曾冬梅, 甄春花, **邱瑾**, 姜艳霞, 周宥辰, 孙世刚, 门冬氨酸在本体和纳米 Au 薄膜电极上的吸附和氧化, 第 14 次全国电化学会议, 扬州, 2007 年 11 月 2-5, G-078.
- 5 S G Sun, L Tian, C H Zhen, **Jin Qiu**, S P Chen, Surface electrochemistry of amino acids and CO<sub>x</sub> enzymes investigated using in situ FTIRS, EQCM and SPR, 4<sup>th</sup> French Chinese workshop "Surface electrochemistry of molecules of biological interest: biosensor applications", Oct.18-20, 2006, Ceret, France, 40.