

双层类脂膜成膜过程的电化学方法研究

赵 艳, 方 炎*

(北京市纳米光电子学重点实验室, 首都师范大学, 北京 100037)

摘要: 应用循环伏安法(CV), 计时电流法($I-T$)和开路电压法($V-T$)研究了导电玻璃支撑的双层类脂膜(ITO/ s -BLM)的成膜动力学过程. 实验表明, 导电玻璃(ITO)是一种理想的成膜支撑基底, ITO/ s -BLM 膜具有成膜快稳定时间长的特点. 与循环伏安法相比, 计时电路法和开路电路法能更为详细地给出膜系统组装的瞬时信息. ITO/ s -BLM 体系的膜电压实验值约为 0.1 V.

关键词: 双层类脂膜; 循环伏安; 计时电流; 开路电压

中图分类号: O 646

文献标识码: A

由于双分子层膜(Bilayer Lipid Membrane—BLM)系统在力学和光电等方面具有生物细胞膜的生物特性, 是固定生物活性物质的理想材料. 因此, 其在物理, 生物, 化学, 生物医学以及生物传感器的研制领域受到了极大关注^[1~4].

早期传统平面类脂双层膜是在肥皂膜的基础上, 根据光学原理, 利用观察反射光颜色和条纹的变化来判断其形成过程. 但传统平面双层类脂膜寿命较短(通常只有几小时), 这大大限制了其在各领域的应用^[5,6]. 直到近年来出现了具有较长寿命, 固体支撑的双层类脂膜(Supported-Bilayer-Lipid-Membrane), 才使进一步深入研究成为可能. 然而, 单凭光学的方法来监测和判断 s -BLM 的动力学过程和成膜质量遇到了很大的困难. 而新近的研究表明, 循环伏安法在研究膜的电性能方面(以膜电阻, 膜电容, 膜电压和膜电流为主要参数)乃系一种强有力的手段, 因而获得广泛应用^[7~9].

本文以导电玻璃支撑的双层类脂膜(ITO/ s -BLM)为实验体系, 在应用循环伏安技术研究 s -BLM 成膜过程的基础上, 以系统电流和膜电压为基本参数将计时电流法($I-T$), 开路电压法($V-T$)技术引入 s -BLM 膜研究体系, 即时监测固体支撑类脂双层膜在成膜过程中电性能参数的变化, 从而更利于对成膜过程的动力学研究.

1 实 验

1.1 实验材料

成膜液: 将卵磷脂溶于正癸烷中(浓度为 2%), 再加入 C_{60} 直到饱和, 即得到含有 C_{60} 的卵

收稿日期: 2003-05-12, 修订日期: 2003-09-11

通讯联系人, Tel: (86-10) 68902965 E-mail: zh_cnu@163.com

国家自然科学基金(20275024), 北京市基金(2982010)资助

磷脂成膜液;电解液为 0.1 mol/L 的 KCl 溶液.无水甲醇、乙醇皆为分析纯.

成膜基底:将导电玻璃切割成适合实验需要的尺寸.经清洁剂反复清洗后,然后,再依次用乙醇,丙酮和去离子水清洗.为了确保导电玻璃的表面具有亲水性,再将其浸泡于甲醇溶液中 2~3 d,然后用去离子水冲洗干净,最后超声清洗.待导电玻璃晾干后,工作电极以外的面积部分用绝缘硅胶涂封,通过电位扫描,即得 ITO/S-BIM 膜.

1.2 实验仪器

采用三电极系统,ITO/S-BIM 为工作电极(WE),铂电极作为对电极(CE),金片为参比电极(RE).电化学测量使用 CHI660A 电化学工作站,文中所指电位均相对于参比电极.实验装置如图 1 所示.

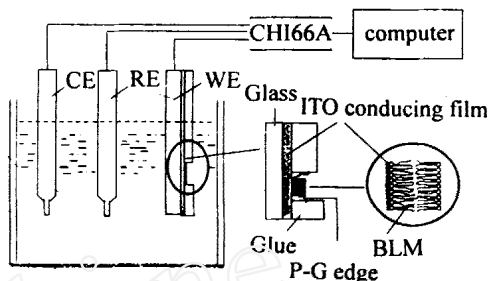


图 1 导电玻璃支撑的 BLM 成膜实验装置

Fig. 1 The experimental instrument for the ITO supported BLM formation. The ITO, Pt, Au served as working electrode, counter electrode, and reference electrode, respectively

2 结果与讨论

2.1 循环伏安法(CV)

根据文献^[4],对金属支撑的 s-BLM 膜电流和膜电压的关系可表示为:

$$i = \frac{A R_m C_m}{R_m + R_n} \left[\frac{V}{A R_m C_m} + \frac{R_m}{R_m + R_n} - \frac{2 R_m}{R_m + R_n} \exp \left(- \frac{(R_m + R_n)(V + V_0)}{A R_n R_m C_m} \right) \right] + C_s A$$

式中, A 为扫描速率; R_m 为膜电阻; C_m 为膜电容; C_s 为分布电容; R_n 为非膜电阻(即界面电荷传递电阻和其他因素引起的电阻); $V_{t=0} = -V_0 + At = -V_0$.

实验表明,在 s-BLM 膜自组装的过程的不同阶段,将具有不同的膜电阻和膜电容.当扫描电压从 $-V_0 + V_0$ 持续循环变化时,可从伏安曲线的变化形状来了解 s-BLM 膜的自组装机理过程.其典型的循环伏安曲线如图 2 所示.据此,可推测 s-BLM 成膜的动力学过程为:

1) 成膜初始阶段,相应的伏安曲线 a 任意波动起伏,表明此时附着在导电玻璃表面的卵磷脂分子取向是随机排列的,研究体系处于无序状态;

2) 随着扫描过程的持续,伏安曲线的形状趋向稳定(如曲线 b, c).表明此阶段无序状态的卵磷脂分子在极性溶液和电场的作用下,于亲水的导电玻璃表面重新排列,逐渐形成有序的类脂膜;

3) 反复扫描之后,伏安曲线形状不再变化(如曲线 d, e),表明此时具有稳定膜电容和稳定膜电阻的有序双层类脂膜完全形成.

值得一提,从图 2 曲线 a 至 e,扫描过程约经 10 min,成膜面积为 30 mm²,但膜的稳定性却可持续数日.由此可见,与由金、银等金属支撑的 BLM 相比,以导电玻璃为基底的 ITO/s-BLM 具有成膜面积大,速率快,稳定持续时间长的特点,这便于对相关修饰膜的光电特性和生物特性作进一步研究.

2.2 计时电流法 ($I-T$)

计时电流法是研究薄膜修饰电极的有利工具,而修饰后的 BLM 膜可具有双电极的功能,且在成膜稳定后,膜内电活性物质的扩散层厚度与膜厚度相当,图 3 为应用计时电流法测得的 s -BLM 成膜过程 $I-T$ 曲线。诚如上述,在 s -BLM 膜形成过程中,膜的电参数均在不断地变化(见图 2);仅当 BLM 膜形成之后,系统才最终达到稳定状态,此时,即如图 3 所示,随着监测时间的延长,电流逐渐稳定在一定值。

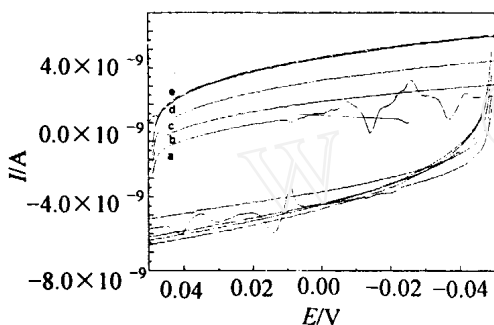


图 2 导电玻璃支撑地双层类脂膜成膜过程中典型的循环伏安曲线

Fig. 2 Cyclic voltammetric curves showed the dynamic process of ITO/ s -BLM formation. The lipid solution and electrolyte were described in section 1.1, and the electrodes were as same as Fig. 1 mentioned. The scan rate was 50mv/s and the experiment was performed at room temperature

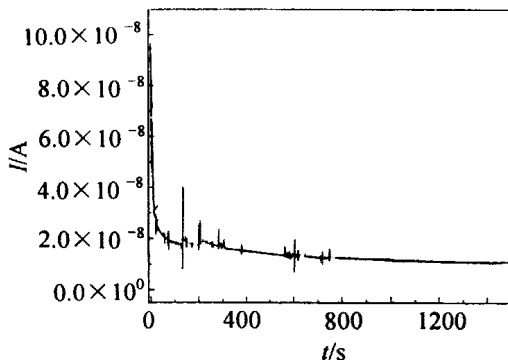


图 3 ITO/ s -BLM 膜成膜过程中的 $I-T$ 曲线

Fig. 3 $I-T$ curve of the ITO/ s -BLM formation process experimental conditions were same as in fig. 2

由图 3 可知,在 0~300 s 时间段内,电流变化比较复杂,这意味着类脂分子运动剧烈,分子处于杂乱无章的运动状态;300~700 s 时,电流变化幅值逐渐减小,分子排列逐步趋于双层有序状态;800 s 以后,电流趋于稳定,其间,虽稍有微弱变化,但双层有序类脂膜已基本形成。1 000 s 以后电流曲线很平坦,表明该 s -BLM 膜具有很好的稳定性。

比较图 2 与图 3 可知,应用循环伏安法与计时电流法监测 s -BLM 成膜过程的动力学行为,两者的结论基本是一致的。

2.3 开路电压法 ($V-T$)

BLM 膜的跨膜电压 E_m 与溶液中离子的浓度及活性密切相关^[10]。在膜形成的过程中,随着膜的自组装,膜附近离子浓度发生变化,从而使膜内外离子出现浓度差,造成跨膜电压的波动;而当膜稳定后,由于 BLM 具有选择吸收的功能,此时,膜内外离子的浓度差别也不再变化,从而跨膜电压趋于稳定。

将工作电极与参比电极分别放置在类脂膜的两侧,测出的开路电压应为两电极间溶液电

压与跨膜电压的和. 为准确测量膜电压, 应尽量减小工作电极与参比电极之间的距离. 如此便可近似认为系统的开路电压即为膜电压, 并可利用开路电压法来监测 BLM 的成膜过程.

图 4 给出应用开路电压法监测成膜过程的实验结果. 由图可知, 以导电玻璃支撑的 ITO/ s-BLM 系统的跨膜电压大约在 0.1V 左右, 而且其膜电压随时间的变化趋势与图 3 成膜动力学过程的进展是一致的: 即处于无序状态的类脂分子经过自组装 (约 800s), 逐渐形成有序排列的双层膜, 并长时间地保持稳定.

虽然循环伏安法, 计时电流法和开路电压法皆可用于监测 ITO/ s-BLM 系统膜组装的微观动力学过程, 而且所得结果也大体一致. 但循环伏安法并不能给出成膜过程的瞬态信息. 进一步研究表明, CV 曲线的形状较多受到基底形态, 成膜液成分, 缓冲液浓度等多种因素的影响, 这对膜稳定性的研究难免存在一些困难. 而计时电流法和开路电压法则可弥补此方面的缺陷.

3 结 论

1) 导电玻璃(ITO)是一种理想的成膜支撑基底, ITO 工作电极具有成膜速率快, 稳定时间长的优点.

2) 循环伏安法(CV), 计时电流法($I-T$)和开路电压法($V-T$)都能够比较一致地反映双层类脂膜的组装过程, ITO/ s-BLM 体系的膜电压约为 0.1 V.

3) 与循环伏安法相比, 计时电流法($I-T$)和开路电压法($V-T$)可更加详细地给出膜系统组装的瞬态信息.

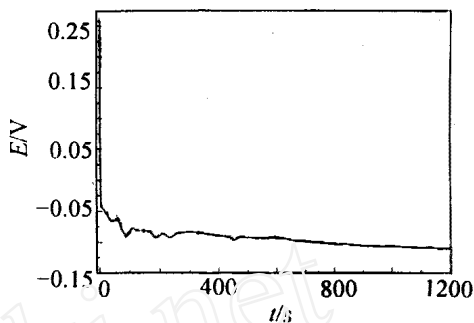


图 4 ITO/ s-BLM 成膜过程中 $V-T$ 曲线

Fig. 4 $V-T$ curve of the ITO/ s-BLM formation process, experimental conditions were same as in fig. 2

Electrochemical Investigation of the Dynamic Process for the Solid Supported Bilayer Lipid Membrane

ZHAO Yan, FANG Yan*

(Beijing Key Lab for Nano-Photonics and Nano-structure,
Capital Normal University, Beijing 100037, China)

Abstract: Three electrochemical methods, cyclic voltammetry, chronoamperometry and open-circuit potential had been used to study the dynamic process of the ITO (indium-tin oxide) conducting glass supported BLM (ITO/ s-BLM) system. The results showed that the self-organization

process of the membrane could be simply, visually and feasibly reflected by the three methods. Furthermore, the membrane voltage of the ITO/ s-BLM system was about 0.1V when measured by open-circuit potential.

Key words: Bilayer lipid membrane(BLM), Cyclic voltammetry(CV), Current-time(I - T), Potential-time(V - T)

References:

- [1] Gao H, Luo Guo-an. Electrochemical properties of bilayer lipid membranes and their applications in biosensor[J]. Journal of Analytical Science, 2002, 18(1): 70 ~ 73.
- [2] Liu Sheng-ping, Wei Yun-long, Cheng Xi-yun. Characteristics of bilayer lipid membrane and its application[J]. Journal of Transducer Technology, 2001, 20(7): 1 ~ 10.
- [3] Luo Li-qiang, Yang Xiu-rong. Bilayer lipid membrane and their application in electrochemical biosensor[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2000, 28(9): 165 ~ 171.
- [4] Tien H T, Ottova A L. Supported planar lipid bilayer(s-BLMs) as electrochemical biosensor[J]. Electchimica Acta, 1998, 43(23): 587 ~ 610.
- [5] Gao Hong, Luo Guo-an, Fengjun, et al. Photoelectric conversion properties of bilayer lipid membranes self-assembled on an ITO substrate[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2001, 496: 158 ~ 161.
- [6] Trojanowicz M. Miniaturized biochemical sensing devices based on planar bilayer lipid membranes[J]. J Anal Chem., 2001, 371: 246 ~ 260.
- [7] Gu Li-qun, Wang Lei-guang, Xun Jun, et al. A new method for the determination of electrical properties of supported bilayer lipid membranes by cyclic voltammetry[J]. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 1996, 39: 275 ~ 283.
- [8] Cui Xiao-li, Jiang Dian-lu, Li Jun-xin, et al. Assessing the apparent effective thickness of the supported hybrid bilayer membranes by electrochemical methods[J]. Journal of Sichuan University, 1999, 36(2): 302 ~ 306.
- [9] Kinji Asaka, Tien H T. Voltammetric study of charge transfer across supported bilayer lipid membrane (s-BLMs)[J]. J. Biochem. Biophys. Methods, 1999, 40: 27 ~ 37.
- [10] Tien H T. Artificial Bilayer Lipid Membrane[M]. Beijing: Higher Education Publishing Company, 1987. 50 ~ 58.