

一种制备铂支撑自组装双层类脂膜新方法

刁 鹏 蒋殿录 崔晓丽 顾登平 童汝亭*

(河北师范大学化学系, 石家庄 050016)

钟 炳

(中国科学院山西煤炭化学研究所, 太原 030001)

摘要 利用高功率超声对铂电极表面进行清洗,并在超声清洗后的铂电极表面上形成铂支撑自组装双层类脂膜(Pt-BLM).该方法简便快速,可以制备较大面积的双层类脂膜,并克服切割法消耗铂丝较多的缺点.研究表明用该方法制备的 Pt-BLM 不仅与切割法制备的 Pt-BLM 具有吻合的电容值和循环伏安特性,而且还有良好的稳定性.

关键词 双层类脂膜,超声,交流阻抗谱,循环伏安法

生命过程的许多重要反应发生在生物膜上.研究表明,虽然生物膜的组成、结构和功能各异,但是构成它们的两类主要化合物是脂质和蛋白质,并且两者均具有以类脂双分子层为骨架的基本结构.60年代 P. Mueller 等成功地在水溶液间形成人工自组装的平板双层类脂膜(Planner Bilayer Lipid Membrane, BLM)^[1],从此 BLM 就成为模拟和研究生物膜的重要模型之一.

生物电化学家一直采用 BLM 来研究生物膜的电学和电化学性质^[2~5],但是作为电化学研究体系,BLM 也有其自身的弱点:(1)分隔两个水相的 BLM 处于亚稳定状态,即使在合适的环境下它的寿命也不过数小时;(2)研究 BLM 的电化学性质时,一般都将其作为双电极使用,即在 BLM 一侧的溶液中发生还原反应,而另一侧则发生氧化反应,电子通过嵌在 BLM 中的电活性物质如 TCNQ(7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane),TTF(tetrathiafulvalene)等的电子得失进行传递,由于电子从 BLM 一侧传递到另一侧同时包含了三个过程,使研究不易进行.

1989年 Tien 等用切割包封聚四氟乙烯铂丝的方法,制备出了铂支撑自组装双层类脂膜(Pt-BLM)^[6],这一技术大大提高了 BLM 的稳定性,其寿命可达 36 h 以上,同时还可将 BLM 作为单电极使用,从而使研究跨膜电子传递过程更为方便.在这之后,固体支撑 BLM 的电化学研究便迅速开展起来^[7,8],但由于 BLM 的电阻很大,而且包封聚四氟乙烯的铂丝或用涂丝电极方法制备的包封聚氯乙炔的铂丝通常直径很小^[6,8],使流过 BLM 的电流通常极小,这就要求实验使用的恒电位仪应具备极高的灵敏度.同时每次切割下来的铂粒也很难加以利用,弃之又十分可惜,切割铂丝法对于制备较大面积的 Pt-BLM 也无能为力.

本文 1999-01-19 收到; 河北省自然科学基金资助项目

* 通讯联系人

为克服切割法的不足,我们采用高功率超声法获得了较大面积的清洁铂表面,并研究在超声清洗后的铂表面上形成的BLM与 Ca^{2+} 的相互作用及其引发的电化学反应^[9,10].本文详细报导了用高功率超声清洗Pt电极制备Pt-BLM的方法,并用交流阻抗谱、循环伏安法对所得到的Pt-BLM进行了研究,发现这种面积较大的Pt-BLM的电容、电阻及伏安性质与Tien等^[6]的报导相符,且具有良好的稳定性.

1 实验

1.1 成膜溶液及水溶液的配制

用正庚烷作为溶剂,配制含3%卵磷脂(北京市海淀区微生物培养基制品厂)的饱和胆固醇(Merck, Darmstadt)溶液.用分析纯的KCL, $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 和 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 分别配制0.1 mol/L KCL溶液 1 mmol/L $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ + 1 mmol/L $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ + 0.1 mol/L KCL溶液.所有水溶液均用石英亚沸蒸馏器重蒸的二次水配制.

1.2 铂电极表面的超声清洁

将直径为4 mm周围封有聚四氟乙烯的铂盘电极先用1200目的金相砂纸打磨,然后把需要引出导线的一端用自制的橡胶套垫封死,放入二次蒸馏水中,按图1所示,调节超声头与电极之间的距离为2~3 mm,用高功率超声波(50 W cm^{-2})清洗铂盘电极5 min.从外观观察,超声清洗后的铂盘电极表面具有很高的亲水性,可以吸附悬挂大滴水珠.为了除去在二次水中清洗时吸附在铂电极表面的水分子,将铂电极放入极性较小的丙酮中再次按图1方式用超声波清洗5 min.所用高功率超声枪为中国科学院声学所研制.

1.3 Pt-BLM的形成

将铂盘电极从丙酮中取出,待丙酮刚挥发完时,滴加15 μL 成膜液,然后迅速垂直放入0.1 mol/L KCL溶液中,让脂膜逐渐变薄,最终形成自组装的Pt-BLM^[6].

1.4 实验方法与仪器

所有实验均在室温下(20 ± 1)完成. Pt-BLM作工作电极,大面积铂黑电极和饱和甘汞电极(EG&G, PARC),包括Modle 273恒电位/恒电流仪, Model 5208锁相放大器, PS/2微机. 所用测试软件为M388交流阻抗测试软件, M270电化学测试软件, 交流阻抗数据分析及等效电路参数拟合采用Equivert软件. 本文所有电势均相对于饱和甘汞电极(SCE).

2 结果与讨论

2.1 交流阻抗法测定Pt-BLM电容

与Tien等^[6]切割后形成的新生铂表面具有高亲水性相类似,经超声分别在二次水、丙酮中处理后的铂电

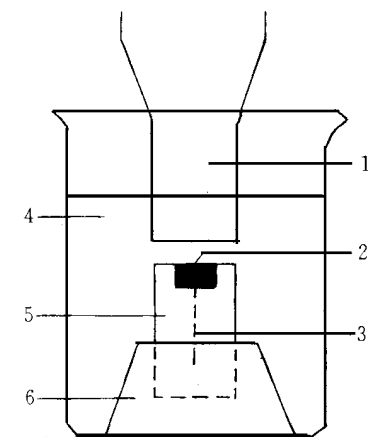


图1 超声头清洗铂盘电极示意图

Fig. 1 The schematic representation of devices for cleaning Pt electrode by ultrasonic horn. 1) ultrasonic horn, 2) Pt electrode, 3) conductor, 4) redistilled water or acetone, 5) Teflon coating, 6) rubber sleeve

极表面也具有很高的亲水性. 当滴加成膜液后, 金属铂可以首先吸附类脂分子的亲水性基团并构成吸附脂质的单分子层, 浸入 0.1 mol/L KCl 溶液后, 聚四氟乙烯的包封保证在聚四氟乙烯和金属铂之间形成 P-G (Plateau- Gibbs) 边界, 未吸附的类脂分子的亲水基团与极性水分子相互作用, 而疏水的碳氢链则与已吸附的类脂分子的碳氢链相互作用, 最终自组装成 Pt-BLM.

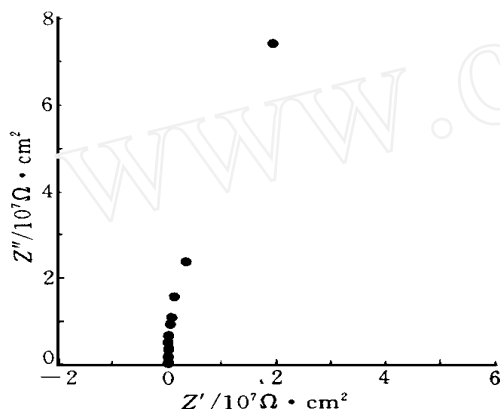


图 2 Pt-BLM 在 0.1 mol/L KCl 溶液中的交流阻抗谱

Fig. 2 Nyquist plot of Pt-BLM in 0.1 mol/L KCl solution, frequency range: 0.1 Hz-100 kHz

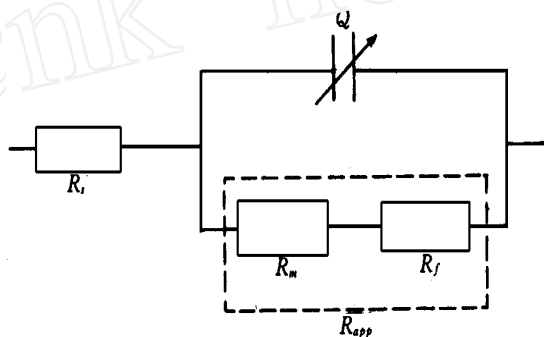


图 3 Pt-BLM 在 0.1 mol/L KCl 溶液中的等效电路图

Fig. 3 Equivalent circuit of Pt-BLM in 0.1 mol/L KCl solution

为验证在铂电极表面确实形成 Pt-BLM, 将上述制成的 Pt-BLM 在 0.1 mol/L KCl 溶液中进行交流阻抗实验. 图 2 是滴加成膜液 1 h 后所得到的交流阻抗谱. 可以用图 3 所示的等效电路对 Pt-BLM 阻抗谱进行分析. 其中 R_s 是溶液电阻; R_m 是离子透过 BLM 的电阻; R_f 是背景法拉第电阻; R_{app} 是实验测出的 R_m 和 R_f 的综合反映; Q 是恒相位角元件, 其抗为^[11]:

$$Z_Q = (j)^{-\alpha} \quad (10)$$

其中 α 为一常数, $j = (-1)^{1/2}$, α 为一实数, 其取值范围为 0 ~ 1. 当 $\alpha = 1$ 时, Q 是纯电容; $\alpha = 0.5$ 时, Q 是扩散控制的 Warburg 阻抗; $\alpha = 0$ 时, Q 是纯电阻. 将图 2 中的数据用 Equevrcy 软件进行参数拟合, 可得 $R_{app} = 3.09 \times 10^8$, $Q = 23 \text{ nF}$, $\alpha = 0.99$. 拟合结果中, $\alpha (= 0.99)$ 非常接近 1, 完全有理由认为 Q 即是 BLM 的膜电容 C_m . 经过归一化后的 R_{app} 和 C_m 分别是 $3.9 \times 10^7 \text{ cm}^2$ 和 $0.20 \mu\text{Fcm}^{-2}$.

图 4 是 Pt-BLM 膜厚 (d) 随时间的变化关系. 其中 d 是由交流阻抗实验测定的膜电容 C_m 按下式计算得出的:

$$d = (\epsilon_r / \epsilon_0) / C_m \quad (2)$$

为真空电容率 ($8.85 \times 10^{-14} \text{ Fcm}^{-1}$), ϵ_r 为 BLM 中碳链区的相对介电常数, 在我们的实验条件下, $\epsilon_r = 2.05$ ^[12]. 从图 4 中可以看出 d 值随时间增加而减小, 并最终趋于稳定值 4.0 nm, 该值在双层膜的膜厚范围内^[12], 此时 $C_m = 0.45 \mu\text{Fcm}^{-2}$, 与 Tien 等报导的 Pt-BLM 的 C_m 值相吻合^[6]. 这说明在清洁的铂电极表面滴加成膜液后发生了 BLM 的自组装过程, 随着类脂

膜不断变薄, C_m 值不断增加, 当形成 Pt-BLM 后, 膜的厚薄不再变化, C_m 稳定在 BLM 的电容范围内. 从图 4 还可以看出, 在很长的时间范围内, d 值没有明显变化, 这表明由本文所采用的方法制备出的 Pt-BLM 有着良好的稳定性.

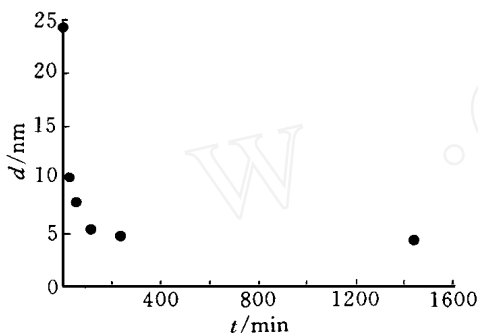


图 4 膜厚 (d) 与成膜时间 (t) 的关系图

Fig. 4 The dependence of the thickness of BLM on time

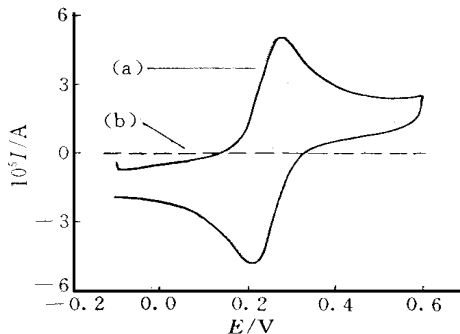


图 5 铂电极 (a) 和 Pt-BLM (b) 在 10^{-3} mol/L $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ + 0.1 mol/L KCl 溶液中的循环伏安图

Fig. 5 Cyclic voltammograms of (a) bare Pt and (b) Pt-BLM (b) in 10^{-3} mol/L $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ + 0.1 mol/L KCl solution

2.2 Pt-BLM 的循环伏安性质

当 Pt-BLM 浸入含有氧化还原对的溶液中时, 如果膜不存在缺陷或缺陷极少, 氧化还原对与铂电极之间的电子传递将可能通过下面两个过程实现, (1) 氧化还原对跨膜扩散到铂电极表面, 然后在电极表面发生电子传递; (2) 电子通过隧道效应传递. 当氧化还原对是离子时, 由于 BLM 有着极高的离子渗透电阻^[13]从而使上述第一过程难以实现.

对第二过程, 根据 Marcus 理论, 当电极覆盖绝缘膜后, 隧道电流 i_t 随膜厚度的增加呈指数衰减^[14]:

$$i_t = i_0 e^{(-d/\lambda)} \quad (3)$$

其中 i_0 是不存在绝缘膜的氧化(还原)电流, d 是膜厚, λ 是电子隧穿常数. 当 d 以 $-\text{CH}_2-$ 的尺寸 (1.25 \AA) 为单位长度时, $\lambda = 0.9$ ^[15], 由式(3)可以推出:

$$k_t = k_0 e^{(-d/\lambda)} \quad (4)$$

其中 k_t 和 k_0 分别是电子隧穿速率常数和无绝缘膜时氧化(还原)的电子传递速率常数. 式(3)、式(4)中的 d 值可以从图 4 得到. 对于 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 电对, $k_0 = 5.2 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ ^[16], 根据式(4)可得在 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 溶液中 $k_t = 1.62 \times 10^{-14} \text{ cm s}^{-1}$. 电子隧穿电阻可以由 k_t 根据下式计算:

$$R_t = RT / (n^2 F^2 k_t c) \quad (5)$$

其中 c 为 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 的浓度. 当 $c = 10^{-3} \text{ mol/L}$ 时, $R_t = 6.0 \times 10^{14} \text{ cm}^2$; 当 $c = 1 \text{ mol/L}$ 时, $R_t = 6.0 \times 10^{11} \text{ cm}^2$. 由此可见电子隧穿电阻也很大, 如果 BLM 中没有修饰有机电子导

体,遂穿过程将难以实现.因此,当 BLM 完全覆盖铂电极后,即使将它浸入有 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 离子对的溶液中进行电位扫描,也不会出现氧化还原电流.

图 5 中(a)、(b)分别是铂电极和 Pt-BLM 电极在 $10^{-3} \text{ mol/L } \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-} + 0.1 \text{ mol/L KCl}$ 溶液中的循环伏安图.从图 5 中可以看出,形成 BLM 后电流响应大大减小,原来在铂光电极上可逆的氧化还原峰消失,可观察到的只有 Pt-BLM 电极的充放电曲线.这说明 BLM 已完全覆盖了铂电极表面,使原来发生在铂电极表面的 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 间的氧化还原反应因 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 无法接近铂电极表面而被阻隔.

3 结 论

应用高功率超声枪头清洁铂表面制备 Pt-BLM,与传统的切割法相比,具有消耗铂丝少、能够制备较大面积的 Pt-BLM 等优点.此外由该方法制备的 Pt-BLM 还具有与切割法相一致的电容值、稳定性和伏安特性.

A New Method for Preparing Self-assembled Lipid Bilayers on Pt Electrode

Diao Peng Jiang Dianlu Cui Xiaoli Gu Dengping Tong Ruting *

(Dept. of Chem., Hebei Tebei Teacher's Univ., Shijiazhuang 050016)

Zhong Bing

(Inst. of Coal Chem., Chinese Academy of Sciences, Taiyuan 030001)

Abstract A new method for preparing Pt-supported bilayer lipid membrane(Pt-BLM) on Pt electrode cleaned by high power ultrasound was reported. The reported method was convenient, costing less platinum and could be used to form large-area Pt-BLM as compared with the traditional Pt-wire-cutting method. The electrical properties of Pt-BLM were studied using electrochemical impedance spectroscopy and cyclic voltammetry. Experimental results showed that the values of membrane capacitance and the voltammetric characteristics were consistent with those of Pt-BLM prepared by traditional method.

Key words Bilayer lipid membrane, Ultrasound, AC impedance spectroscopy, Cyclic voltammetry

References

- 1 Mueller P, Rudin D O, Tien H T et al. Reconstitution of cell membrane structure in vitro and its transformation into an excitable system. *Nature*, 1962, 194: 979

- 2 Robinson R L ,Strickholm A. Oxidized cholesterol bilayers :dependence of electrical properties on degree of oxidation and aging. Biochim. Biophys. Acta ,1978 ,509 :9
- 3 Tiej H T. 715-cyclic voltammetry of electron-conducting bilayer lipid membranes. Bioelectrochem. Bioenerg , 1984 ,13 :299
- 4 Tien H T. 826-redox reactions in lipid bilayers and membrane bioenergetics. Bioelectrochem. Bioenerg ,1986 ,15 : 19 ~ 38
- 5 Yamada H,Shiku H,Matsue T,et al. Electron Transfer at a planner bilayer lipid membrane incorporated with 7,7',8,8-tetracyanoquinodimethane studied by A. C. impedance spectroscopy. J. Phys. Chcm ,1993 ,97 :9 547
- 6 Tien H T,Salamon Z. Formation of self-assembled lipid bilayers in solid substrates. Bioelectrochem. Bioenerg , 1989 ,22 :211
- 7 Salamon Z, Tollin G. Interfacial electrochemistry of cytochrome c at a lipid bilayer modified electrode :effect of incorporation of negative charges into the bilayer on cyclic voltammetric parameters. Bioelectrochem. Bioenerg , 1991 ,26 :321
- 8 邵子厚,杨正昌. 铂支撑的碘-聚吡咯修饰双层脂膜的 I-V 特性. 生物化学与生物物理进展 ,1992 ,19 :306
- 9 Jiang D L , Diao P T ,et al. Ca^{2+} induced $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ electron transter at Pt supported BLM electrode. Bioelectrochem. Bioenerg ,1998 ,44 :285
- 10 Diao P , Jiang D L , Gu D P ,et al. Cyclic voltammetry and A. C. impedance studies of Ca^{2+} induced ion channels on Pt-BLM. Bioelectrochem. Bioenerg ,1998 ,45 :173
- 11 Boukamp B A. Epuivalent Circuit ,Users Manual ,2nd edn. University of Twente , The Netherlands ,1993
- 12 Fettiplace R ,Andrews D M ,Haydon D A. The thickness ,composition and structure of some lipid bilayers and natural membranes. J. Membrane. Biol ,1971 ,5 :277
- 13 田心棣,人造双分子层膜. 北京 :高等教育出版社 ,1987 ,60
- 14 Marcus R A ,Sutin N. Electron transfers in chemistry and biology. Biochim. Biophys. Acta ,1985 ,811 :265
- 15 Miller C,Cuendet P,Cratzel M. Adsorbed -hydroxy thiol monolayers on gold electrodes :evidence for electron tunneling to redox species in solution. J. Phys. Chen. ,1991 ,95 :87
- 16 藤岛昭,相泽益男,井上辙著,陈震,姚建民译. 电化学测定方法. 北京 :北京大学出版社 ,1995 :444