

超氧化物歧化酶的循环伏安行为*

吴霞琴 许兵 刘倩 孟晓云 章宗穰

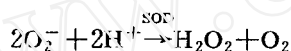
提 要 采用循环伏安方法研究了超氧化物歧化酶在不同材料电极上的电化学反应行为,重点报道了在金微盘电极上的电子迁移过程,并计算了电化学反应的参数.

关键词 循环伏安法;超氧化物歧化酶;电化学反应参数

中图法分类号 O647.2

0 引 言

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,简称SOD)能催化生物氧化产物超氧阴离子(O_2^-),转化为过氧化氢(H_2O_2)和氧分子(O_2),从而起到保护细胞免受氧自由基毒害的作用^[1].



SOD的这种重要的生理功能,使其在临床医学上的药用酶、化妆品、食物营养添加剂和生物传感器的开发等方面均有重大的应用前景.目前亟待开展相关的基础理论方面的研究,以拓宽其更广泛的应用性研究领域.

作者期望通过电化学方面的研究工作,以便获得一些有用的参考信息.然而,SOD与其它生物活性物质一样,是电化学研究体系中的一个特殊对象.如Borsari和Azab借鉴了细胞色素C的研究工作经验,仅在几种电子传递促进剂的存在下,得到了SOD在金电极上的反应为近似于准可逆的电极过程^[2].南京大学陈洪渊先生的研究室则在汞电极上比较负的电位处测得了SOD的两对氧化还原峰,而在其它固体电极上均未观察到SOD的电流响应^[3].

作者通过应用循环伏安法分别探索了SOD在玻碳、铂、金和银作电极材料时的电化学反应.初步的实验结果表明,唯有薄层电池金微网栅电极和金微盘电极可望用作SOD电化学反应的深入研究中的工作电极.

1 实验部分

电化学测量在M276电化学测试系统(EG&G PARC)上进行,循环伏安曲线用MRE 0089 X-Y记录仪(EG&G PARC)记录.

研究电极分别为玻碳电极($\varnothing 3\text{mm}$)、铂丝电极($\varnothing 1 \times 1\text{mm}$)、银丝电极($\varnothing 1 \times 1\text{mm}$)、金丝

收稿日期:1997-03-08

* 上海市教委科学技术发展基金和上海市科委自然科学基金资助项目
第一作者吴霞琴,女,副教授,上海师范大学化学系,200234

电极($\varnothing 1 \times 1 \text{mm}$)以及薄层电池(液层厚度为 0.2mm)的金微网栅电极(750 line per inch, *lpi*)和金微盘电极($\varnothing 50 \mu\text{m}$)、使用前均经过超声清洗及电化学处理. 参比电极是饱和甘汞电极和自制的 Ag/AgCl 电极. 铂丝和铂片作对电极.

牛红细胞铜, 锌-超氧化物歧化酶(华东理工大学)的比活力为 $6000 \text{U}/\text{mg}$; 其它试剂均为分析纯. 研究溶液均用二次蒸馏水配制.

2 结果与讨论

2.1 SOD 在不同材料电极上的循环伏安曲线(CV 曲线)

首先在玻碳盘电极上研究了 SOD 的电化学行为. 在 $-0.2 \sim 0.5 \text{V}$ 的电位范围内进行扫描, CV 曲线上未见有明显的电流响应(见图 1). 以铂金电极为研究电极时, 在 $-0.2 \sim 0.5 \text{V}$ 的电位范围内进行扫描, CV 曲线上呈现一明显的还原电流峰, 峰电位在 0.03V (vs. Ag/AgCl), 但未见氧化电流峰(见图 2).

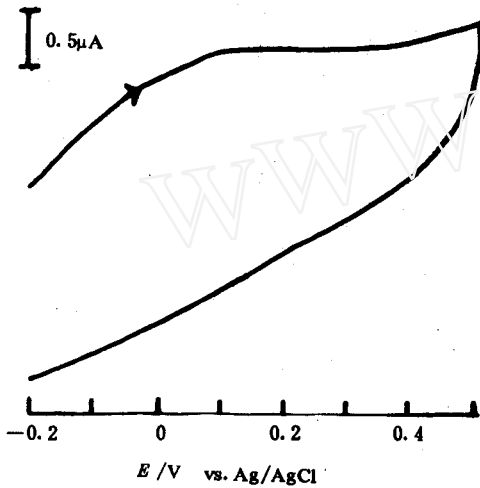


图 1 SOD 在玻碳盘电极上的循环伏安曲线
溶液组成: $0.26 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SOD(磷酸盐介质, 溶液 $\text{pH}=3.8$); 扫描速度: $5 \text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$

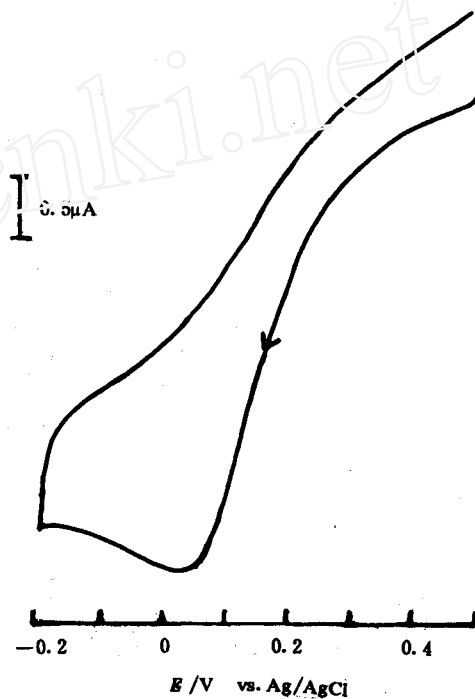


图 2 SOD 在铂丝电极上的循环伏安曲线
溶液组成: $0.26 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SOD(磷酸盐介质, 溶液 $\text{pH}=3.8$); 扫描速度: $5 \text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$

银丝电极上, 在 0.1V 和 -0.6V (vs. SCE) 处分别出现一对氧化还原电流峰, 随着扫描速度的增加, 峰电流也增大, 但峰电位分离趋势 (ΔE_p) 更大(比较图 3a, 3b). 也就是说, 扫描速度增大, SOD 在银电极上的电子迁移反应更趋于不可逆. 当扫描速度增加到 $50 \text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 得到严重歪曲了的循环伏安曲线(图 3c).

当以金丝为研究电极时, 从 0.5V 起扫, 在 $-0.1 \sim 0.5 \text{V}$ 电位范围内无电流响应. 而在 -0.1V 电位处稍作停留, 即阴极极化 10min 后, 再作正向电位扫描时, 与铂金电极不同的是, 在 0.22V (vs. Ag/AgCl) 处可以观察到一明显的氧化电流峰, 但未见还原峰(图 4).

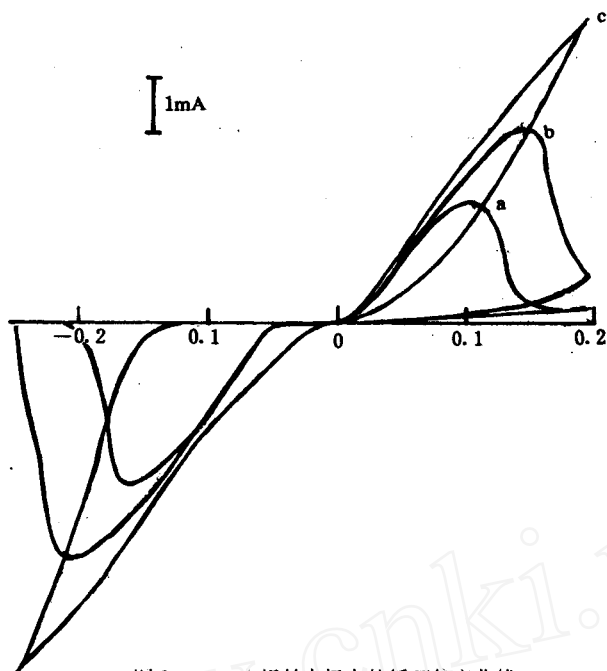


图3 SOD在银丝电极上的循环伏安曲线

溶液组成: $0.26\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SOD + 醋酸-醋酸钠缓冲溶液 ($\text{pH}=6.0$); 扫描速度/ $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$: a) 10; b) 20; c) 50

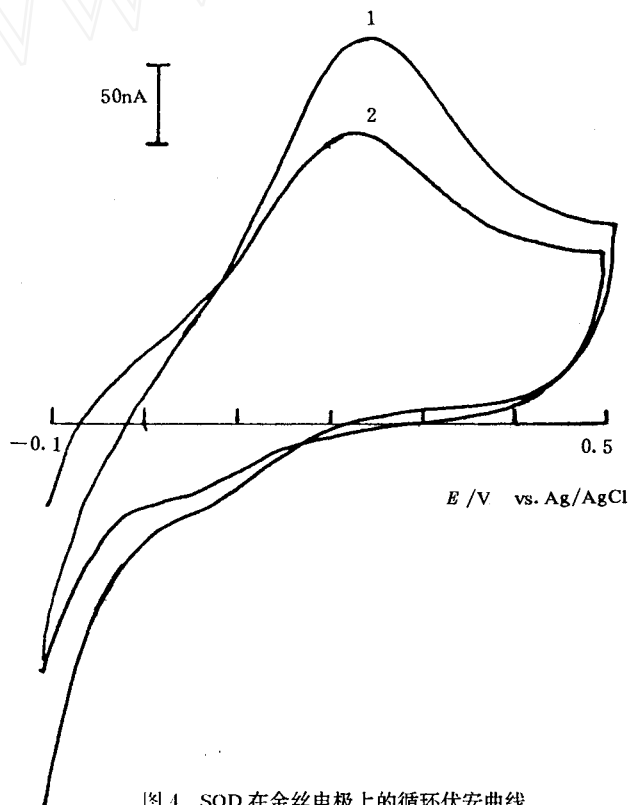


图4 SOD在金丝电极上的循环伏安曲线

溶液组成: $0.26\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SOD + 磷酸盐缓冲溶液: 1) $\text{pH}=4.9$; 2) $\text{pH}=7.0$; 扫描速度: $5\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$

另外,当在还原电位下阴极极化时间延长后,氧化峰电流会随之大幅度增加.以氧化峰电流对阴极极化时间作图,得到如图5所示的曲线.即在开始的一段范围(大约40min内),氧化峰电流随还原时间的变化呈直线关系.此后,峰电流与阴极极化时间无关.总之,即使延长阴极极化时间,也不会改变CV曲线的形状,即仍未见还原电流峰出现.

2.2 SOD在金微盘电极上的伏安行为

以上的实验结果进一步表明,SOD和细胞色素C等生物活性物质一样,在常规的固体电极上的电子迁移反应速度缓慢.为此,作者尝试了在SOD的研究溶液中加入4,4-二巯基联吡啶用作电子传递促进剂,但未见显著改变.当以750 μm 的薄层电池的金微网栅电极作研究电极,测试SOD的循环伏安曲线时,却可观察到良好的循环伏安行为.这是由于该研究电极既具有微电极时间常数小的特性,又有薄层电池的短时间内耗竭性反应的特点,从而促进了SOD的还原过程的加速进行^[4].

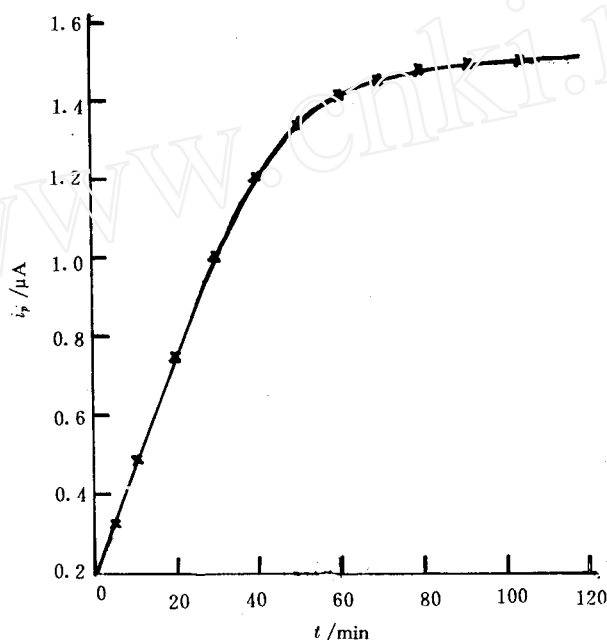


图5 SOD在金丝电极上的氧化电流与预还原时间的关系

溶液组成:0.26mmol·L⁻¹SOD(磷酸盐介质溶液 pH=3.8);扫描速度:5mV·s⁻¹.d)50; e)100

为了进一步证明SOD在微电极上的电子迁移过程可以得到改善,我们又在金微盘电极上测量了SOD的循环伏安曲线,结果如图6所示.氧化还原峰电位分离(ΔE_p)约为100mV, E^0 为0.175V(vs. SCE).氧化峰电流与还原峰电流之比接近1,且峰电流与扫描速度的平方根成一直线关系.这些都表明SOD在金微盘电极上的反应也是一准可逆过程.经对不同扫描速度下测量得到的CV曲线,按文献5的数据处理方法计算得到SOD在金微盘电极上的扩散系数 D 为 $2.88 \times 10^{-7} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 速度常数 k^0 为 $2.35 \times 10^{-5} \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$. 由此,我们认为同样是生物活性分子,在常规的电极上难以观察到的电极反应可以通过两种方式来促进.一是如细胞色素

C 这一类生物活性分子体系,可以通过加入合适的电子迁移促进剂,从而改变电极界面状况的方法来加速电极反应;而对于诸如 SOD 这一类生物体系,则可以通过采用微电极技术来达到促进界面电子转移的目的。但是,从测量得到的电子迁移过程的速度常数来看,在未经促进剂修饰的微电极上的 k^0 (10^{-5} 数量级)显然要比使用电子迁移促进剂的 k^0 (10^{-4})小^[6]。因此,适合于生物活性分子研究的最佳实验条件仍然是值得探索的课题。

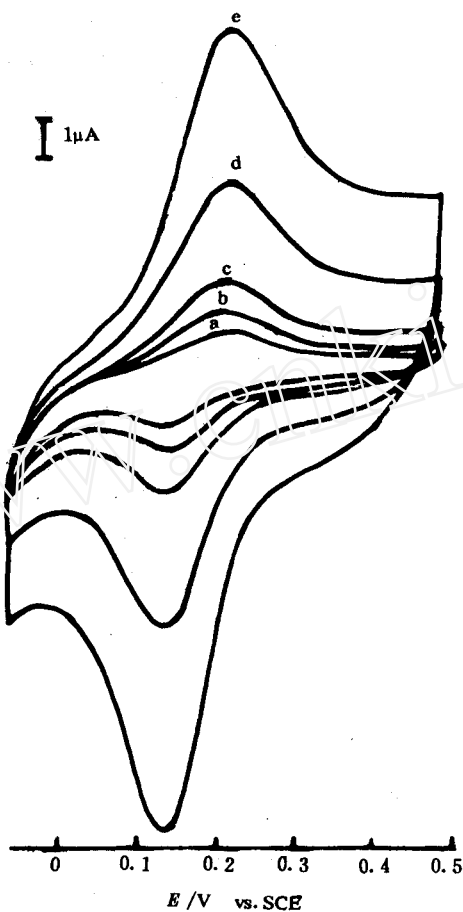


图6 SOD在金微盘电极上的循环伏安曲线

溶液组成: $0.26 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SOD + 磷酸盐缓冲溶液 ($\text{pH}=7.4$); 扫描速度/ $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$: a) 5; b) 10; c) 20

利用微阵列电极作研究电极探索 SOD 电化学行为的工作正在进之中,可望在理论探索方面有新的收获。

参 考 文 献

- 1 袁勤生. SOD 的研究进展. 中国药学杂志, 1995, 24(7): 387
- 2 Borsari M, Azab H A. Voltammetric behaviour of bovine erythrocyte superoxide dismutase. Bioelectrochem.

Bioenerg, 1992, 27; 229

- 3 韩吉林, 陈洪渊, 钱雯, 金生浩. 天然铜-锌超氧化物歧化酶的电化学行为的研究. 高等学校化学学报, 1994, 15(12): 1778
- 4 吴霞琴, 刘倩, 许兵等. SOD 在金微网栅电极上的电化学行为. 电化学, 1997, 3(2): 136
- 5 Nicholson R S. Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics. Anal Chem. 1965, 37(11): 1351
- 6 汤国新, 吴霞琴. 几种促进剂存在下细胞色素 C 电子迁移过程的研究. 电化学, 1995, 1(2): 181

The Cyclic Voltammetric Behavior of Superoxide Dismutase

Wu Xiqin Xu Bin Liu Qian Men Xiaoyun Zhang Zongrang

(Department of Chemistry)

Abstract The cyclic voltammograms of superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) were investigated on various type working electrodes made of different materials, such as glassy carbon, platinum, silver and gold. A quasi-reversible wave has observed only on gold minigrad thin-layer electrode or gold micro-disk electrode. The electrochemical reaction parameters, such as the formal potential $E^{0'}$, diffusion coefficient D and standard rate constant k^0 were estimated.

Key words cyclic voltammetry; superoxide dismutase; electrochemical reaction parameters