

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0972.2010.02.028

血红蛋白在琼脂糖/离子液体/萘酚修饰 玻碳电极上的直接电化学研究

孙俊永, 吴志伟, 黄克靖*, 张永笑, 常大伟

(信阳师范学院 化学化工学院, 河南 信阳 464000)

摘要:以室温离子液体 (RTL) 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐 ([bmim]PF₆) 与琼脂糖、Nafion 相结合, 制备一种新型的琼脂糖/离子液体/Nafion 复合膜修饰玻碳电极. 利用紫外可见光谱、红外光谱和电化学方法等手段对包埋于膜内的血红蛋白 (Hb) 的性质进行了表征. 实验表明, Hb 在该修饰电极上具有良好的电化学行为, 在 $8.0 \times 10^{-7} \sim 4.8 \times 10^{-5}$ mol/L 浓度范围内过氧化氢的浓度在该电极上与电化学响应信号成良好的线性关系. 信噪比为 3 时, 检测限为 1.0×10^{-7} mol/L.

关键词:直接电化学; 萘酚; 室温离子液体; 琼脂糖; 血红蛋白

中图分类号: O657.15 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-0972(2010)02-0270-05

Direct Electrochemistry of Hemoglobin in Agarose/Ionic Liquid/Nafion Composite Film Modified Glassy Carbon Electrode

SUN Jun-yong, WU Zhi-wei, HUANG Ke-jing*, ZHANG Yong-xiao, CHANG Da-wei

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China)

Abstract: A novel agarose/ionic liquid/Nafion composite film modified glassy carbon electrode was fabricated based on the room temperature ionic liquids (RTL) 1-Butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate ([bmim]PF₆), agarose and Nafion. Ultraviolet-visible spectroscopy (UV-vis), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and Cyclic voltammetry (CV) were used to characterize the composite film. Under the chosen condition, the concentration of H₂O₂ showed excellent linear relationships with the reduction peak current in the range of $8.0 \times 10^{-7} \sim 4.8 \times 10^{-5}$ mol/L, with a low detection limit of 1.0×10^{-7} mol/L ($S/N = 3$).

Key words: direct electrochemistry; nafion; room temperature ionic liquids; agarose; hemoglobin

0 引言

血红蛋白 (Hb) 是脊椎动物红细胞内的呼吸蛋白, 其分子由 4 条肽链 (亚基) 以非共价方式连接聚集而成, 每一条肽链与一个亚铁血红素结合. 血红素位于肽链折叠所形成的介电常数较低的疏水环境中. 在生物体内, Hb 主要参与传输氧气、分解 H₂O₂、传递电子等与氧和能量代谢有关的重要活动, 在生命活动中起着重要作用^[1].

用电化学方法研究氧化还原蛋白质的电子传递机理及催化底物的反应过程, 一方面可以模拟生物体系电子传递机理和代谢过程; 另一方面, 结合生物反应的特异性和电分析方法的灵敏性及及时检测性, 制备生物电化学传感器, 为生物物质的检测提供强有力的手段^[2]. 因此, 生物电化学

是目前研究的热点之一.

尽管蛋白质有电活性中心, 但由于其分子结构庞大, 电活性中心不易暴露; 另一方面因它在电极表面强烈吸附造成电极的钝化, 因此它在电极上的电子转移速率很慢, 得不到有效的电流效率^[3]. 所以人们常借助于电子媒介体来提高血红蛋白的电子传递速率. 近年来, 生物模拟体系被广泛应用于蛋白质的电化学研究. 许多研究者都致力于电子传递媒介体、促进剂和特殊电极材料^[4]的研究以加速 Hb 的电子传递速率. 1996 年, Rusling 等^[5]首次将 Hb 嵌入热解石墨 (PG) 电极表面的多层表面活性剂薄膜中, 使 Hb 与 PG 电极之间的电子传递速率大大增加. 为了改善这种薄膜的稳定性, 胡乃非等^[6-7]在多双层表面活性剂薄膜中引入离

收稿日期: 2009-10-15; 修订日期: 2010-02-26; * 通讯联系人, E-mail: kejinghuang@163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20805040)

作者简介: 孙俊永 (1980-), 男, 河南漯河人, 讲师, 硕士; 黄克靖 (1978-), 男, 广西武宣人, 副教授, 博士, 从事生物电化学传感器研究.

子型聚合物或离子交换型黏土作为骨架材料,制作了 Hb 多双层复合薄膜电极,进而研究 Hb 的电化学和电化学催化性质。Pang 等^[8]用琼脂糖水凝胶将亚铁血红蛋白修饰在玻碳电极上,在离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐 ([bmim]PF₆)中研究了它的电化学行为。本文对血红蛋白在琼脂糖/离子液体/Nafion 修饰玻碳电极上的直接电化学行为进行了初步探讨。

室温离子液体 (RTL)作为新型的绿色溶剂,有很多适用于电化学和电分析化学研究的优点,对无机物和有机物具有良好的溶解能力以及对酶和蛋白质良好的生物相容性^[9]。因此离子液体既可以作为溶剂又可以作为支持电解质,是电化学研究中的一种优良介质功能材料^[10-11]。琼脂糖是 D-半乳糖和 3,6-脱水的 L-半乳糖连接构成的多链糖^[12]。在热水溶液中,琼脂糖是黏稠无序的水溶液,冷却时聚糖呈螺旋状且聚集成空腔,空腔里含有大量的水,为蛋白质提供适宜的微水环境。琼脂糖水凝胶具有较强的弹性、高稳定性和良好的生物亲和性,是固定蛋白质的理想生物聚合物,常用于生物大分子的分离。琼脂糖水凝胶具有一定的孔径,生物大分子能自由扩散至琼脂糖凝胶中,与固定化的蛋白质作用,从而加快血红蛋白与电极间的电子传递^[3,13]。

我们将室温离子液体与琼脂糖、Nafion 相结合,制备了一种新的基于离子液体修饰的玻碳电极,并基于该电极对血红蛋白的电化学行为进行了初步探索。通过电化学方法研究发现,这种复合材料对蛋白质有很好的生物相容性,血红蛋白在复合膜中能够保持良好的生物活性和催化性质,并对血红蛋白具有很好的电化学响应。

1 实验部分

1.1 实验仪器

CH 660A 电化学工作站,上海辰华仪器公司;Tensor 27 型红外光谱仪,德国 BRUKER 光谱仪器公司;超越系列至尊型 X 型精密电子天平,梅特勒托利多仪器上海有限公司;pHS-3C 精密 pH 计,上海雷磁仪器厂;UC-300 超声波清洗器,宁波科生仪器厂;三电极体系:琼脂糖/离子液体/Nafion 修饰玻碳电极为工作电极 ($d = 3 \text{ mm}$),饱和甘汞电极 (SCE)为参比电极,铂丝电极为对电极。

1.2 实验试剂

血红蛋白, Tokyo Kasei Kogyo Co. Ltd;离子液体,上海镁铈钨实业有限公司化学事业部;琼脂糖,国药集团化学试剂有限公司;DMF,信阳市化学试剂厂;H₂O₂, 30% (w),天津市科密欧化学试剂开发中心;磷酸二氢钠,天津市永大化学试剂开发中心;磷酸氢二钠,天津市博迪化工有限公司。所有试剂均为分析纯,所有溶液均用去离子水制备,并且每次操作前用高纯氮气脱气,所有化学实验均在室温下进行。

1.3 实验准备

琼脂糖溶液的配制:在室温下,将 600 μL 乙醇、50 μg 琼脂糖、10 μL 5 mmol/L NaOH 与 60 μL H₂O 混合,然后置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 的环境下保存备用^[13]。将配制好的琼脂糖溶液和

DMF 按体积比 4:1 的比例在室温下充分混匀后立即在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下冷却,即得到 agarose-DMF 凝胶溶液。

1.4 琼脂糖/离子液体/Nafion 修饰玻碳电极的制备方法

将 10 μL 1% 的 Nafion 溶液滴到处理好的玻碳电极上,室温下晾干,将 15 μL [bmim]PF₆ 溶液滴到用 Nafion 修饰的电极上,干燥后,将 10 μL agarose-DMF 溶液滴到 [bmim]PF₆/Nafion 修饰的电极,室温下干燥 1 h,最后将 10 μL Hb (1 g/L) 滴到所修饰的电极上,制成 Hb/agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion 修饰电极。

Hb/agarose-DMF/[bmim]PF₆ 电极, Hb/agarose-DMF/Nafion 电极, Hb/[bmim]PF₆/Nafion 按上述步骤制得;电化学测量前至少通氮气 10 min,并且维持氮气氛,所有实验均在室温下进行。

2 结果与讨论

2.1 紫外可见吸收光谱

在紫外可见吸收光谱中,三价铁的 Soret 吸收带可以提供血红素蛋白质的结构信息,如果蛋白质结构发生变化或变性其吸收带就会迁移或消失。用紫外可见吸收光谱考察了 Hb 在 agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion 修饰电极上的吸收曲线,结果如图 1 所示。Hb 在缓冲溶液中的 Soret 吸收带在 409.4 nm (图 1 曲线 a),而 Hb 在 agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion 修饰电极上的 Soret 吸收带在 410.6 nm (图 1 曲线 b),这与缓冲溶液中 Soret 吸收带几乎相当,表明 Hb 在 agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion 修饰的电极上几乎保持其天然结构,没有发生变性。

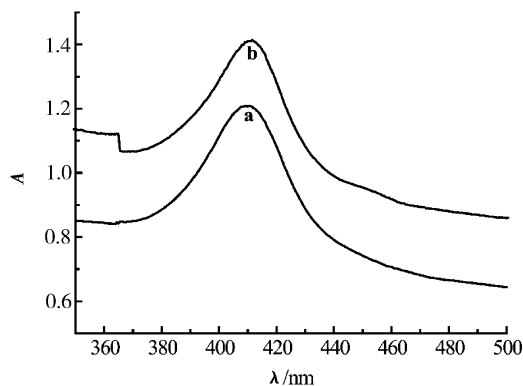


图 1 Hb 和 Hb 修饰玻璃电极紫外可见吸收光谱图

Fig 1 UV-vis absorption spectra of (a) Hb, (b) Hb/agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion film on optical plates

2.2 红外光谱

蛋白质的酰胺 I 和酰胺 II 基团的红外吸收带提供了多肽链二级结构的信息,酰胺 I (1 700 ~ 1 600 cm^{-1})是由蛋白质肽链骨架中的肽段连接处 C=O 的伸缩振动引起的,酰胺 II (1 620 ~ 1 500 cm^{-1})则产生于 N-H 弯曲和 C-N 伸缩。如果 Hb 变性,酰胺 I 和酰胺 II 两个吸收带会显著改变甚至消失。图 2 为在 1 200 ~ 2 000 cm^{-1} 范围内观察的 Hb 在 agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion 修饰电极上的红外光谱图, Hb 在该修饰电极上的酰胺 I 和酰胺 II 红外吸收带分别

在 1651.44 cm^{-1} 和 1546.92 cm^{-1} (图 2 曲线 b), 与天然 Hb 的吸收带 1655.26 cm^{-1} 和 1540.67 cm^{-1} (图 2 曲线 a) 很接近, 从吸收带的相似性可以认为 Hb 在 agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion 修饰电极上基本保持了其天然构象。

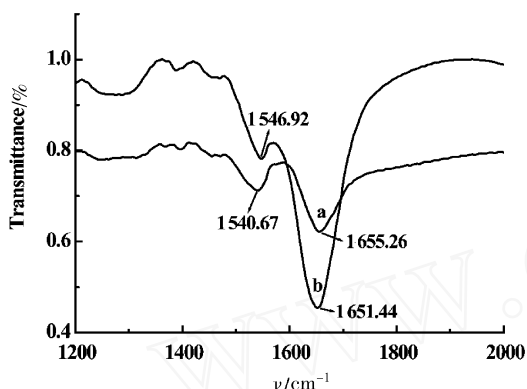


图 2 Hb 和 Hb 红外光谱图

Fig 2 FT-IR spectroscopy for (a) Hb, (b) Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion film

2.3 Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion 修饰玻碳电极的直接电化学行为

不同修饰电极在 0.1 mol/L 的 PBS 缓冲溶液 ($\text{pH}7$) 中的直接电化学行为不同 (图 3), Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion 修饰电极在 -300 mV 附近有一个稳定且尖锐的还原峰, 这说明电子传递速率较快, 然而, 无 [bm in]PF₆ 修饰的 Hb/agarose-DMF/Nafion 电极, 峰电流非常小, 说明室温离子液体的存在, 可以有效地提高基底电极的导电率, 加快了血红蛋白与电极之间电子的传递速率, 对蛋白质的电极反应的动力学方面有重要的影响, 至于这种影响的本质有待进一步的研究, 有可能是离子液体与蛋白质之间存在静电吸附作用^[8, 14]。

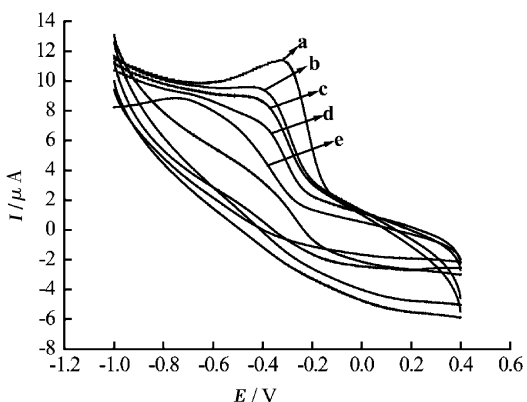


图 3 不同修饰电极的循环伏安图

Fig 3 CVs of (a) Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion, (b) Hb/[bm in]PF₆/Nafion, (c) Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆, and (d) Hb/agarose-DMF/Nafion modified GC electrode, (e) bare GC electrode in 0.1 mol/L PBS ($\text{pH}7.0$) with a scan rate of 100 mV/s

此外, Hb/[bm in]PF₆/Nafion 修饰电极和 Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆ 修饰电极的峰电流相对于 Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion 修饰电极同样小很多。若 [bm in]PF₆ 直接滴到到裸电极表面, 则所修饰电极的膜的稳定性非常差, 易脱落, 与之相比, 当 Nafion 滴涂在裸玻碳电极的表面作为第一层膜时, 修饰电极的稳定性则得到明显提高, 可能是离子液体通过离子交换过程渗入到 Nafion 膜中^[15], Nafion 的存在能够提高膜的稳定性, 即增强电极固定 [bm in]PF₆ 的数量和质量。此外, 琼脂糖的存在为蛋白质提供适宜的微水环境, 琼脂糖表面带有大量的氨基, 能够有效地将血红蛋白固定到电极表面, 且琼脂糖的滴加增加了膜厚度并在一定程度上限制了电子转移的方向, 提高离子液体在电极表面的修饰, 有利于电子的快速交换。

2.4 实验条件选择

2.4.1 [bm in]PF₆ 的量的影响

图 4 显示了用不同量的离子液体在制备 Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion 修饰电极中对峰电流的影响。由图 4 可以看出, 当 [bm in]PF₆ 的量由 $0\text{ }\mu\text{L}$ 增加到 $15\text{ }\mu\text{L}$ 时, 峰电流值显著增加。然而, 随着 [bm in]PF₆ 的量的进一步增加到 $30\text{ }\mu\text{L}$ 时, 峰电流值并无明显增加, 因此在后边的实验中均选择滴加 $15\text{ }\mu\text{L}$ 的 [bm in]PF₆。

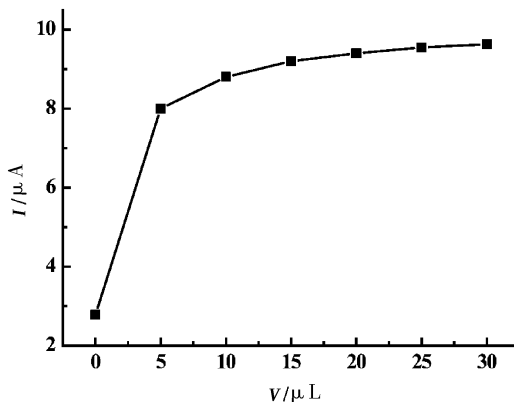


图 4 不同离子液体量的影响

Fig 4 Influence of the volume of [bm in]PF₆ coated at the Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion composite film modified GCE

2.4.2 扫描速度的影响

图 5 为 Hb/agarose-DMF/[bm in]PF₆/Nafion 修饰电极在不同扫描速度的循环伏安图, 考察了扫速与峰电流之间的关系。结果表明, 随着扫速的增加, 峰电流也在不断地增加, 当扫描速度在 $20\sim300\text{ mV/s}$ 范围内峰电流与扫速一次方呈线性关系, 同时, 在该范围内, 随着扫描速度的变化, 还原峰电位负移, 且与扫描速度之间呈线性关系, 其线性回归方程分别为 $i_{pc} = 0.5785 + 0.02360v$ ($R = 0.9906$, i_{pc} in μA , v in mV/s)。这些说明在该扫描速率范围内电极反应为吸附控制过程, 即典型的薄层控制的电化学行为特征^[16-17]。

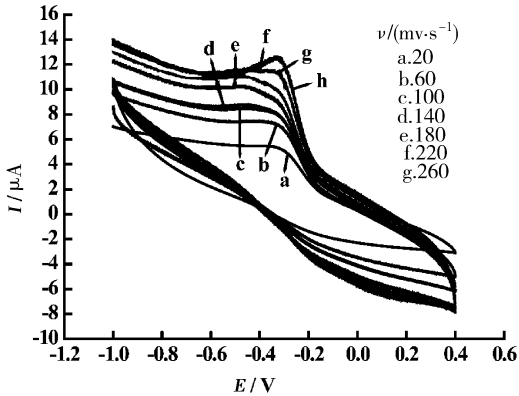


图 5 不同扫描速度的循环伏安图

Fig 5 CVs of Hb at different scan rates in 0.1 mol/L PBS (pH 7.0)

2.4.3 底液 pH 的影响

实验表明,在 pH = 5.0 ~ 9.0 范围内,随着 pH 的增大, Hb 薄膜修饰电极的峰电位负移(如图 6),这与水分子以及血红素周围氨基酸的质子化作用有关^[18],在蛋白质分子中同时存在着氧化还原中心和质子化位点,电子传递伴随质子转移的反应,会改变氧化态或还原态中心离子与质子化过程的静电作用,表现形式为氧化还原峰电势随溶液 pH 值的增加而负移.在 pH = 5.0 ~ 9.0 范围内,阴极峰电位 (E_p)与 pH 成线性关系,线性回归方程为: $E_p = -0.07154 - 0.0411 \text{ pH}$ ($R = -0.9908$),也说明反应过程伴随着质子转移.实验所得线性关系直线斜率比理论值 (59 mV/pH, 一个电子和一个质子的反应)^[19]要小,主要原因可能是质子化不是简单的过程,而是受血红蛋白轴配位基团和水合铁离子的质子化作用的共同影响^[20].

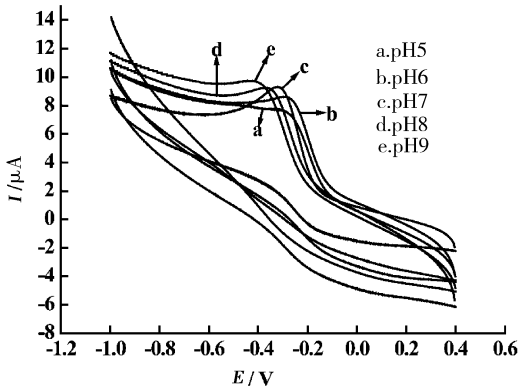


图 6 不同酸度的循环伏安图

Fig 6 CVs of Hb at different pH values

in 0.1 mol/L PBS, with a scan rate of 100 mV/s

2.4.4 DMF 量的影响

DMF 的量对琼脂糖膜中血红蛋白直接电化学行为有较大影响,图 7 显示了 DMF 与琼脂糖不同体积比对血红蛋白直接电化学行为的影响.在修饰电极用的琼脂糖中不加入 DMF 时,膜的稳定性较差,其阴极峰的电流比较小.加入 DMF 后,其电化学行为大有改观,随着 DMF 量的增加,膜变得均一和紧密,峰电流显著增加.实验结果表明, V (琼脂糖):V (DMF) = 4:1 时峰电流最大,且所修饰形成的膜最为

稳定;随着 DMF 的加入,使血红素所处的环境的疏水性增强,增加了琼脂糖的凝胶化,有利于将血红蛋白固定在电极表面.有文献^[3, 13]认为,加入 DMF 后,由于 DMF 与琼脂糖及蛋白质分子通过氢键和分子间力的协同作用,使蛋白质-琼脂糖膜形成均匀稳定的液晶结构,当加入 DMF 时,可能削弱了氢键的作用,从而降低了电子传递反应中的结构重组能,更利于电子的转移.

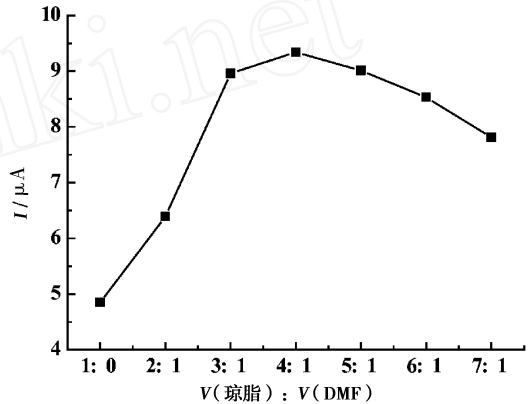


图 7 DMF 与琼脂糖体积比的影响

Fig 7 Influence of the proportion of agarose to DMF (V/V)

2.5 Hb 对 H₂O₂ 的电化学催化

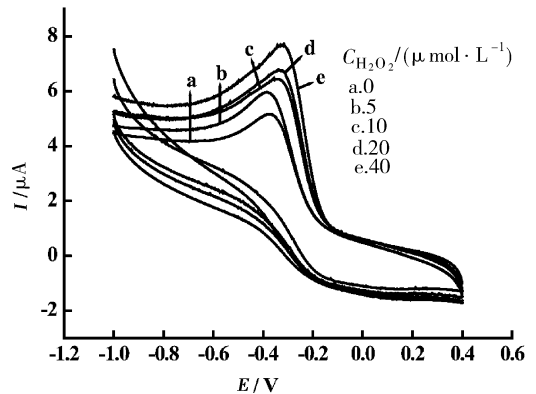


图 8 Hb 在含不同浓度 H₂O₂ 的 PBS 中的循环伏安图

Fig 8 CVs of Hb in 0.1 mol/L PBS (pH 7.0) containing different amounts of H₂O₂ at a scan rate of 100 mV/s

用循环伏安法考察了 Hb/agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion 修饰玻碳电极对 H₂O₂ 的催化还原反应,如图 8 所示.实验发现,向 pH = 7.0 除氧后的 PBS 缓冲溶液中注入 H₂O₂ 时,Hb 的还原峰电流大幅增加,在此条件下,用裸 GC 电极和无 Hb 修饰的 GC 电极循环扫描,均得不到峰电流增大的还原峰.还原峰电流随 H₂O₂ 浓度的增大而增大,说明固定在电极表面的 Hb 能够催化还原 H₂O₂.在 $8.0 \times 10^{-7} \sim 4.8 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 浓度范围内,还原电流与 H₂O₂ 的浓度成线性关系,线性方程为 $i_p = 5.506 + 0.05687 C$ ($R = 0.991$, i_p in μA , C in $\mu\text{mol/L}$).但当 H₂O₂ 的浓度增大到一定时,电流反而下降,这是因为当 H₂O₂ 浓度较高时,会使 Hb 部分失去活性,且 Hb 失活的程度与 H₂O₂ 浓度有关.

2.6 电极重现性和稳定性

考察了 Hb/agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion 修饰电极的稳定性和重现性,实验结果表明该修饰电极在连续扫描 200 次后,其峰电流变化在 7% 以内,同一电极在一次处理、二次处理、三次处理后测定其峰电流相对偏差小于 5%。该修饰电极不用时在 pH 7.0 的 PBS 中 4 条件下存放,两周后电极响应电流下降约 4%,测定 2×10^{-5} mol/L H₂O₂ 时其响应电流的 RSD 为 4.36%,相同方法制备的不同根电极进行平行实验时,其相对偏差在 6% 以内,表明该修饰电极具

有良好的稳定性和重现性。

3 结论

基于室温离子液体、琼脂糖、Nafion 和 Hb,制备了一种新型的 H₂O₂ 生物传感器。Hb 在 agarose-DMF/[bmim]PF₆/Nafion 的复合膜中能够保持良好的天然构象。该传感器稳定性好、易制备、成本低、重现性好,用于 H₂O₂ 的测定,灵敏度高,线性范围宽,具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] 孙伟,江宏,尤加宇,等. 血红蛋白的电化学和电分析化学研究进展 [J]. 化学世界, 2005, 46 (8): 504-507.
- [2] 金松子,王韬,张春熙,等. 血红蛋白在磷脂-月桂酸修饰的玻碳电极上的电化学行为及其分析应用 [J]. 化学学报, 2002, 60 (7): 1269-1273.
- [3] 李业梅,戴月. 琼脂糖水凝胶固定化血红素蛋白质的电化学研究 [J]. 分析试验室, 2006, 25 (3): 28-31.
- [4] 周颖琳,胡玉娇,曾泳淮. 血红蛋白在双十二烷基二甲基铵-聚乙烯硫酸盐双层复合薄膜电极上的电化学与电催化 [J]. 分析化学, 2002, 30 (3): 262-266.
- [5] Huang O, Lu Z, Rusling J F. Composite films of surfactants, nafion, and proteins with electrochemical and enzyme activity [J]. Langmuir (S0743-7463), 1996, 12: 5472-5480.
- [6] Sun H, Ma H Y, Hu N F. Electroactive hemoglobin-surfactant-polymer biomembrane-like films [J]. Bioelectrochem Bioenerg (S0302-4598), 1999, 49: 1-10.
- [7] Hu Y J, Hu N F, Zeng Y H. Facilitated electron transfer from myoglobin in surfactant-polymer 2C₁₂N⁺PVS⁻ composite films on pyrolytic graphite electrodes [J]. Microchemical Journal (S0026-265X), 2000, 65: 147-157.
- [8] Wang S F, Chen T, Zhang Z L, et al. Direct electrochemistry and electrocatalysis of heme proteins entrapped in agarose hydrogel films in room-temperature ionic liquids [J]. Langmuir (S0743-7463), 2005, 21 (20): 9260-9266.
- [9] 卢宪波. 室温离子液体和纳米材料在酶和蛋白质的直接电化学和生物传感器中的应用研究 [D]. 合肥: 中国科技大学, 2007.
- [10] 孙伟,高瑞芳,王丹丹,等. 血红蛋白在离子液体 [BMM]PF₆ 碳糊电极上的直接电化学 [J]. 物理化学学报, 2007, 23 (8): 1247-1251.
- [11] 孙伟,高瑞芳,毕瑞锋,等. 室温离子液体六氟磷酸正丁基吡啶修饰碳糊电极的制备与表征 [J]. 分析化学, 2007, 35 (4): 567-570.
- [12] 王镜岩,朱圣庚,徐长法. 生物化学 (上册) [M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2002: 49.
- [13] 李业梅,戴月. 血红素蛋白质-琼脂糖膜修饰电极的表征和电催化特性 [J]. 分析试验室, 2007, 26 (11): 10-14.
- [14] Zhao G C, Xu M Q, Ma J, et al. Direct electrochemistry of hemoglobin on a room temperature ionic liquid modified electrode and its electrocatalytic activity for the reduction of oxygen [J]. Electrochem Commun (S1388-2481), 2007, 9 (5): 920-924.
- [15] Zhang Y, Zheng J B. Comparative investigation on electrochemical behavior of hydroquinone at carbon ionic liquid electrode, ionic liquid modified carbon paste electrode and carbon paste electrode [J]. Electrochimica Acta (S0013-4686), 2007, 52 (25): 7210-7216.
- [16] 李业梅,刘传银,丁宗庆. 血红蛋白在海藻酸钠膜中的电化学和电催化行为 [J]. 分析试验室, 2004, 23 (12): 74-77.
- [17] Qrdaz A A, Bedioui F. The electrocatalytic reduction of organohalides by myoglobin and hemoglobin in a biomembrane-like film and its application to the electrochemical detection of pollutants: new trends and discussion [J]. Sensors and Actuators B: Chemical (S0925-4005), 1999, 59 (2-3): 128-133.
- [18] Leitch F A, Moore G R, Pettigrew G W. Structural basis for the variation of pH-dependent redox potentials of Pseudomonas cytochromes c-551 [J]. Biochemistry (S0006-2960), 1984, 23 (8): 1831-1838.
- [19] Yamazaki I, Arais T, Hayashi Y, et al. Analysis of acid-base properties of peroxides and myoglobin [J]. Adv Biophys (S0065-227X), 1978, 11: 249-281.
- [20] Niva K, Furukawa M, Niki K. Ir reflectance studies of electron transfer promoters for cytochrome c on a gold electrode [J]. J Electroanal Chem (S0022-0728), 1988, 245: 275-285.

责任编辑:张建仓