

粗糙化银电极上氰基钴胺素的电化学行为

翟锦 杨频

(山西大学分子所,太原 030006)

郑东红 郑军伟 陆天虹*

(中国科学院长春应用化学研究所电分析化学开放实验室,长春 130022)

摘要 比较研究氰基钴胺素在光滑和粗糙化银电极上的电化学行为,发现在光滑银电极上氰基钴胺素的还原为一个二电子过程,而在粗糙化银电极上则为两个一电子过程.其原因是由于粗糙化银电极对氰根的强吸附作用.

关键词 氰基钴胺素,银电极,粗糙化银电极

维生素 B₁₂ (VB₁₂), 又称为氰基钴胺素,它是从生物器官中提取出的钴胺素的主要存在形式,医学上可以用作治疗恶性贫血病药品,同时,它是生物体合成 B₁₂ 辅酶的前体.目前的生物研究表明从 VB₁₂ 到 B₁₂ 辅酶的合成过程中,VB₁₂ 经历了两步的一电子还原过程,因此 VB₁₂ 的电化学研究对理解其生物过程和机理具有重要的意义.虽然它的电化学性质已有较多研究^[1~3],但某些结果却十分不同,例如,有的研究组发现^[8]VB₁₂ 的还原是一个二电子过程,即由 Co³⁺ 直接还原到 Co¹⁺,并将其归结为轴向配体 CN⁻ 的强给电子性的影响.而另一些研究组^[2~5,7]却认为 VB₁₂ 能经历两个一电子的还原步骤,对应于 Co³⁺/Co²⁺ 和 Co²⁺/Co¹⁺ 的氧化还原反应.由于这些研究的条件各不相同,如有些研究使用汞电极^[1~4],有的用玻碳电极^[5],因此很难对不同研究得到的不同结果作确切分析,其中一个可能的原因乃在不同电极上 VB₁₂ 的吸附性能不同所引起^[6].考虑到粗糙化银表面的吸附能力要远强于光滑的银表面^[9],因此本研究在其它条件都相同的情况下,比较了 VB₁₂ 在光滑和粗糙化银电极上的电化学行为,以确证 VB₁₂ 在电极表面的吸附对其电化学性能的影响.

1 实验

VB₁₂ 和水合钴胺素 (H₂O-B_{12a}) 均为 Sigma 公司(美)产品,纯度 > 99%,其它试剂均为分析纯.实验所用溶液组分为 1.0 mmol L⁻¹ VB₁₂ + 0.1 mol L⁻¹ NaClO₄ 或 1.0 mmol L⁻¹ H₂O - B_{12a} + 0.1 mol L⁻¹ NaClO₄. 溶液用三次蒸馏水配制,实验前均先通过氮气除氧.

电化学测量系统由美国 PAR 公司生产的 173 型恒电位仪、179 型信号发生器、ECO INSTRUMENT 100 型记录仪和传统的三电极体系的电解池组成.参比电极为饱和甘汞电极,辅助电极为铂丝,工作电极为光滑银电极或粗糙化银电极,制备方法如下:将银丝用环氧树脂密封在玻璃管内,其暴露的表面用 0.3 μ 和 0.05 μ 抛光铝粉抛光,超声波清洗,最后用三次蒸馏

水淋洗干净,得到光滑银电极,表观电极面积为 0.031 cm^2 . 粗糙化银电极是将光滑银电极装到盛有 0.1 mol L^{-1} 氯化钾溶液的电化学池中,加上一个双电位阶跃 ($-0.2 \sim +0.3 \sim -0.2 \text{ V}$),使银电极表面经历一个氧化还原循环而使电极表面粗糙化,制备好的电极表面呈灰黑色^[9].

将银电极在 VB_{12} 溶液中进行连续循环伏安扫描 4 h 后取出,用于 X-光电子能谱(XPS)测量. XPS 测试在 ESCALAB-MKII(英国)能谱仪上进行,以高纯铝为激发源, $K_{\alpha} = 1486.6 \text{ eV}$,样品室压力低于 $5.0 \times 10^{-6} \text{ Pa}$,测量以 C(1S) 为内标, $E_b = 284.6 \text{ eV}$,系统误差在 $\pm 0.2 \text{ eV}$ 内.

2 结果和讨论

2.1 VB_{12} 在光滑银电极上的反应

图 1 为 VB_{12} 在光滑银电极上的循环伏安(CV)图. 由图可观察到一对氧化还原峰,还原峰和氧化峰的峰电位分别为 -1.18 V 和 -0.83 V ,峰电位差 E_p 为 350 mV . 峰电流与电位扫描速度的平方根成正比,说明电极反应过程是由扩散控制的. 多次循环后,循环伏安曲线基本上不发生变化. 由峰电流及扩散系数 $D_0(4.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1})$ 计算得电子转移数 n 为 2,因此这一还原过程为一个直接的二电子过程. 此反应的机理与 Lexa 等报道的反应机理相吻合^[8].

2.2 VB_{12} 在粗糙化银电极上的反应

图 2 为 VB_{12} 在粗糙化银电极上的(CV)图. 第一次扫描时只出现 -0.99 V 处的还原峰,比光滑银电极上的 -1.18 V 正移 0.19 V ,有两个氧化峰分别在 -0.86 V 和 $+0.03 \text{ V}$ 处. 第二圈扫描时,可观察到两对氧化还原峰,两对峰的电位差分别为 130 mV 和 180 mV ,两对峰的氧化峰与还原峰的峰电流大约相等,并与电位扫描速度的平方根成正比,表明该电极过程是扩散控制的.

据图 2, -0.99 V 处的还原峰峰电流,引用 Lexa 等人^[8]测出的 VB_{12} 扩散系数 D_0 ,求出此过程的电子转移数为 1. 另由计时电流法的测定 $I \sim t^{1/2}$ 线性关系(图 3),计算出的电子数 n 也为 1. 以上两种结果表明: VB_{12} 在粗糙

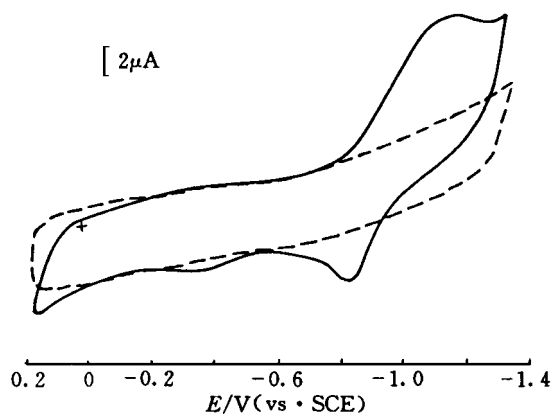


图 1 VB_{12} 在光滑银电极上的循环伏安图

Fig. 1 Cyclic voltammogram of VB_{12} on smooth silver electrode

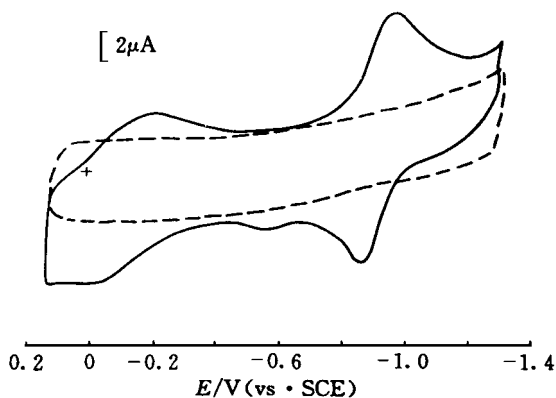


图 2 VB_{12} 在粗糙化银电极上循环伏安图

Fig. 2 Cyclic voltammogram of VB_{12} on roughed silver electrode

化电极上进行的是两个一电子的电化学反应,与热解石墨或玻碳电极上的相吻合^[5,7]

再者,从图 3 可发现, I 与 $t^{-1/2}$ 直线不通过原点,其在纵坐标上有个正的截距.这是由于粗糙化处理使银电极表面形成一层具有一定厚度的高分散银细粒,这些零价态的银并不进入银的晶格,而是在电极表面以所谓的吸附态形式存在^[9].由于粗糙化的银电极吸附能力很强,VB₁₂强烈地吸附在其表面,故 Y 轴上的这一截距当表示吸附作用的影响.

当电位扫描速度为 $10 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,负电位区的氧化还原电位差 $E_p = 69 \text{ mV}$,此时进行的是准可逆的一电子反应,随着扫速的增加, -0.95 V 处的还原峰向更负的电位方向移动,峰电位差也逐渐增大,比较 $10 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 两个扫速,相应的还原峰电位移动为 35 mV ,基本上符合 EC 机理判据.可见,在粗糙化银电极上,VB₁₂的氧化还原遵循 EC 机理.根据 Nicholson 提出的理论,利用氧化还原峰的电位差和扫描速度变化便可求出电子传递的标准速率常数 K_o ,结果如下:

$v (\text{mV/s})$	10	20	50	100	150
$E_p (\text{mV})$	69	85	100	104	125
$K_o (\text{cm/s})$	3	1	0.6	0.5	0.35
$\times 10^{-3}$	4.05	1.91	1.81	1.70	1.50

如上,随着扫速的增加, K_o 逐渐减小,表明了电化学反应伴随有一个后续的化学反应发生,且存在下列的平衡关系:



慢扫速时,式(1)反应生成的 R 可再充分进行式(2)反应,随着 R 的消耗,式(1)平衡向右移动,从而加快了反应速度.扫速增加,式(2)反应不能充分进行,式(1)中 R 的浓度相对较大,反应速率减缓, K_o 值也相应地逐渐变小.

2.3 水合钴胺素($\text{H}_2\text{O-B}_{12a}$) 在粗糙化银电极上的反应

按照上述实验方法,测得 $\text{H}_2\text{O-B}_{12a}$ 在粗糙化银电极上的循环伏安图,发现 $\text{H}_2\text{O-B}_{12a}$ 在 $-0.$

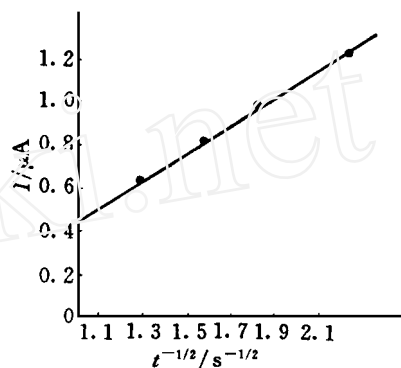


图 3 $I \sim t^{-1/2}$ 的线性关系图

Fig. 3 Linear dependence of I versus $t^{-1/2}$

15 V 和 0.02 V 处出现 $\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{2+}$ 氧化还原峰,在 -0.96 V 和 -0.84 V 处出现 $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{1+}$ 氧化还原峰.比较 VB_{12} 和 $\text{H}_2\text{O}-\text{B}_{12a}$ 的 CV 图,我们认为在 VB_{12} 的电化学反应过程中首先是进行一电子的还原反应,接着进行一个后续的化学反应,即形成了水合钴胺素,从而在 0V 附近出现了这一对新的峰.另外,值得注意的是水合钴胺素的 $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{1+}$ 氧化还原峰与氰基钴胺素的单电子氧化还原峰电位极其相近.

2.4 机理

综合以上实验结果,氰基钴胺素在光滑银电极上表现的是一个直接的二电子还原步骤,而在粗糙的银电极上表现出两个一电子还原步骤,说明有 $\text{Co}(\text{I})$ 中间态的存在,其原因可能在于电极的吸附作用,由文献可知^[8],氰基钴胺素直接二电子还原的出现是由于 CN^- 的强给电子能力,使其 $\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{2+}$ 的还原电位负于 $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{1+}$ 还原电位.但由于粗糙化银电极表面有很多银原子簇,其吸附活性较好,而 VB_{12} 的第六位配体 CN^- ,则很容易被吸附在电极表面,因而氰基钴胺素可通过 CN^- 有序地排列在电极的表面.其吸附作用使 CN^- 的给电子能力降低,从而使氰基钴胺素 Co^{3+} 到 Co^{2+} 的还原电位由 -1.18 V 正移到 -0.95 V,与水合钴胺素的 $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{1+}$ 氧化还原峰相近.由此我们提出如下的反应机理(见图4):在 VB_{12} 的第一圈扫描中,电位负扫时,首先是氰基钴胺素(Co^{3+})经过 e1 路径单电子还原(-0.99 V),形成一个过渡状态 I(Co^{2+}),然后 Co-CN 之间的化学键断裂(C2),氰基脱去,生成 $\text{B}_{12r}(\text{Co}^{2+})$.脱去的氰根仍吸附在电极表面. B_{12r} 可以有两种反应途径,一部分 B_{12r} 与溶剂水分子相互作用(c1),形成二价水合钴胺素($\text{H}_2\text{O}-\text{B}_{12r}$).二价水合钴胺素与三价水合钴胺素($\text{H}_2\text{O}-\text{B}_{12a}$)之间可逆的氧化还原(路径 e2)出现 0 V 左右的一对氧化还原峰.另一部分 B_{12r} 再沿路径 c2 + e1 被氧化成为氰基钴胺素,相应的氧化电位为 -0.86 V.此过程中,Co-CN 键再次形成,由于 CN^- 与中心钴原子的距离很近,有利于钴原子的电子传递,所以 CN^- 在此成为 VB_{12} 氧化还原的电子转移通道.

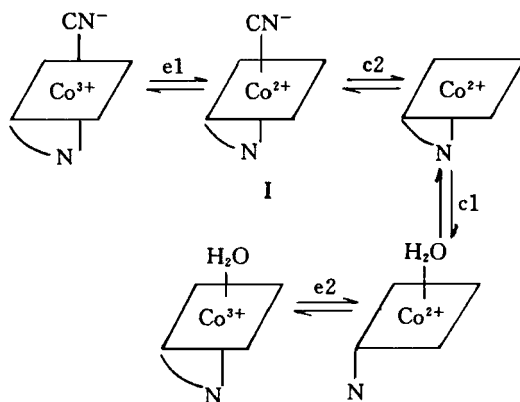


图4 VB_{12} 在粗糙化银电极上反应机理

Fig. 4 Electrochemical reaction mechanism of VB_{12} on roughed silver electrode

为了进一步证实以上假设,再进行电子能谱的实验,结果如下:

元素	C_{1s}	N_{1s}	Na_{1s}	$\text{Ag}_{3d}^{5/2}$	$\text{Co}_{2p}^{3/2}$
结合能 (eV)	284.6	398.8	1071.5	367.6	780.0
状态		存在 CN^-	Na^+	金属 Ag	Co^{2+}
相对含量		大量	少量	大量	少量

这就表明,在粗糙化的银电极上确实吸附较大量的 CN^- ,虽然 Co^{2+} 的含量较少,但却存在的,这不仅表明了氰基钴胺素通过 CN^- 有序地排列在电极的表面,而且证明 CN^- 断裂后仍吸附在电极表面,构成了 B_{12r} 重新氧化的电子通道。

Electrochemical Studies of Cyanocobalamin on Silver Electrode

Zhai Jin Yang Pin

(Shanxi University, Taiyuan 030006)

Zheng Donghong Zheng Junwei Lu Tianhong*

(Laboratory of Electroanalytical Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry,
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)

Abstract The electrochemical characteristics of cyanocobalamin were separately studied on smooth and roughed silver electrode. It was found that the reduction of cyanocobalamin is two one-electron steps on roughed silver but one two-electron step on smooth electrode. The reason is due to the ability of absorption of the surface of electrode.

Key words Cyanocobalamin, Silver electrode, Roughed silver electrode

References

- 1 Diehl H, Haar R V W, Sealock R R. The magnetic susceptibility of vitamin B_{12} . *J. Am. Chem. Soc.*, 1950, 72:5 312
- 2 Boos R N, Carr J E, Conn J B. The reduction of vitamin B_{12} . *Science*, 1953, 117:603
- 3 Abd-El-Nabey B A. Polarography of vitamin B_{12} in aqueous solutions and in water-alcohol mixtures. *J. Electroanal. Chem.*, 1974, 53:317
- 4 Kenyheroz T H, Mark H B. The simple electrochemical preparation of vitamin B_{12} (Aquocobalamin) from vitamin B_{12} (Cyanocobalamin). *Anal. Lett.*, 1974, 7:1
- 5 Qiu Q, Dong S. Rapid determination of Kinetic parameters for the electrocatalytic reduction of dioxygen by vitamin B_{12} adsorbed on glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta*, 1993, 38:2 297
- 6 De Tacconi N R, Lexa D, Saveant J M. Electrochemistry of vitamin B_{12} 4. Kinetics and mechanisms in B_{12a} - B_{12r} oxido-reduction. *J. Electroanal. Chem. Soc.*, 1979, 101:467
- 7 Zagal J H, Paez M, Paez C. The electrocatalytic reduction of dioxygen by vitamin B_{12} adsorbed on OPG electrode. *J. Electroanal. Chem.*, 1987, 237:145
- 8 Lexa D, Saveant J M, Zickler J. Electrochemistry of vitamin B_{12} 5. Cyanocobalamins. *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, 102:2 654
- 9 Lu T, Birke R L, Lombardi J R. Surface Raman spectroscopy of the three redox forms of methylviologen. *Langmuir*, 1986, 2:306