

扫描电化学显微镜用于研究生物膜微环境的电子传递

田晓春^{1,2}, 吴雪娥^{1,*}, 詹东平¹, 赵峰², 姜艳霞^{1,*}, 孙世刚¹

¹ 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005

² 中国科学院城市环境研究所, 中国科学院城市污染物转化重点实验室, 福建 厦门 361021

Research on Electron Transfer in the Microenvironment of the Biofilm by Scanning Electrochemical Microscopy

TIAN Xiaochun^{1,2}, WU Xuee^{1,*}, ZHAN Dongping¹, ZHAO Feng², JIANG Yanxia^{1,*}, SUN Shigang¹

¹ College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, P. R. China.

² CAS Key Laboratory of Urban Pollutant Conversion, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, Fujian Province, P. R. China

*Corresponding authors. Email: yxijiang@xmu.edu.cn (J.Y.); xewu@xmu.edu.cn (W.X.). Tel.: +-86-0592-2180181.

1 微电极的制备

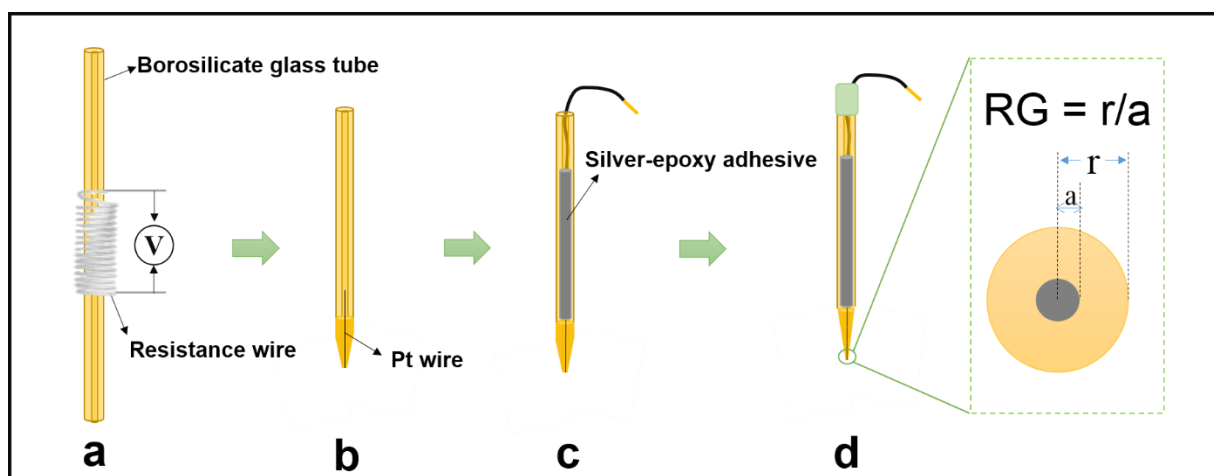


图 S1 微电极的制备过程及其 RG 比的定义

Fig. S1 Preparation of microelectrode and the definition of RG.

本论文中使用的直径为 25 μm 的 Pt 微电极作为探针，制备步骤如下：

a. 玻璃管尖端拉制：将清洗干净的硼硅酸盐玻璃管放入电阻丝的中心位置，接通直流电源加热电阻丝，玻璃管局部受热融化后受重力作用会拉断，从而得到具有尖端的玻璃管。

b. 铂丝与玻璃管尖端熔合：将长为 2–3 cm 的直径为 25 μm 的铂丝在乙醇中捋直并清洗干净后装入拉细的玻璃管尖端。玻璃管另一端连接水泵，然后用电阻丝加热，使玻璃管尖端与铂丝部分熔合且无气泡。

c. 连接导线：向熔合的玻璃管内注射银导电胶，然后以 5000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心，使铂丝末端与银导电胶充分接触。将直径小于玻璃管内径的铜丝插入玻璃管并与银导电胶充分接触，随后 60 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥过夜。

d. 密封及打磨：在玻璃管末端与铜导线接触处涂环氧树脂密封，然后自然风干。制备好的电极用不同目的砂纸逐渐打磨电极尖端。

2 微电极的表征

图 S2 为 Pt 微电极在 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FcMeOH 和 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 溶液中的循环伏安曲线，呈稳态伏安特征即 S 型曲线，稳态电流平台稳定且充电电流较小，说明超微电极性能优良。微电极的稳态实验，占主导的传质是通过 90 $^{\circ}$ 角的方向流向圆盘边缘，微电极表面形成一个稳态的半球形扩散场，极限电流可表示为：

$$i_{T,\infty} = 4nFDca$$

其中， n 为电子转移数，FcMeOH 氧化为 FcMeOH $^{+}$ 时， $n = 1$ ； F 为法拉第常数 96485 $\text{C}\cdot\text{mol}^{-1}$ ； D 为电化学活性物质的扩散系数，FcMeOH 的扩散系数为 $7.8 \times 10^{-6} \text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ； c 为电化学活性物质的本体浓度，FcMeOH 的浓度为 0.001 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ； a 为微电极的金属半径。图 S2 中稳态扩散电流 $i_{T,\infty}$ 为 3.34 nA；因此计算得到微电极的实际金属半径为 10.76 μm ，即直径为 21.51 μm 。

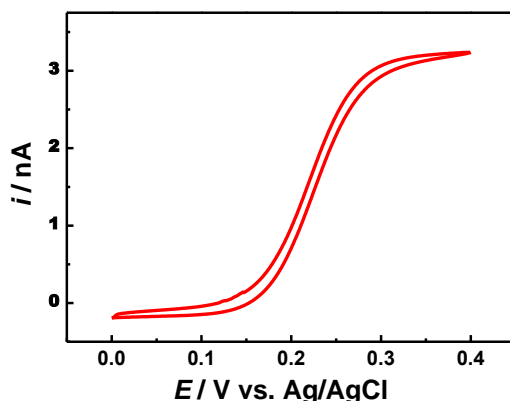


图 S2 Pt 微电极在 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FcMeOH + $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 中的循环伏安曲线，电势扫描速度 $10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$
 Fig. S2 Cyclic voltammogram of $25 \mu\text{m}$ -diameter Pt electrode in $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FcMeOH, the scan rate is $10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

微电极作为SECM探针的另一项重要参数为RG，其主要通过打磨微电极控制，然后利用微电极在导电和绝缘基底表面的渐进曲线拟合确定。另外，通过渐进曲线反馈电流的变化程度，可判断微电极用于SECM实验的合格程度。当在导电基底(如Pt电极)表面，正负反馈电流倍数能达到500%以上时，或在绝缘基底(如玻璃或氮化硅)表面，负反馈电流减小至30%以下，均能说明微电极尖端部分良好，适用于SECM实验。

图S3为制备的微电极在绝缘基底表面的负反馈模式下的渐进曲线，探针上施加的电压为 0.4 V ，设置当探针电流减小至20%时终止。当探针电极距离基底足够远时，在探针电极表面发生将FcMeOH氧化为FcMeOH⁺的反应；当电极逐渐靠近基底并且探针与基底的距离达到足够近时，基底会阻碍FcMeOH扩散到微电极表面，探针收集到的氧化电流会迅速降低。探针在电流减小至20%自动停止，说明此微电极的反馈情况良好，可用于SECM实验。

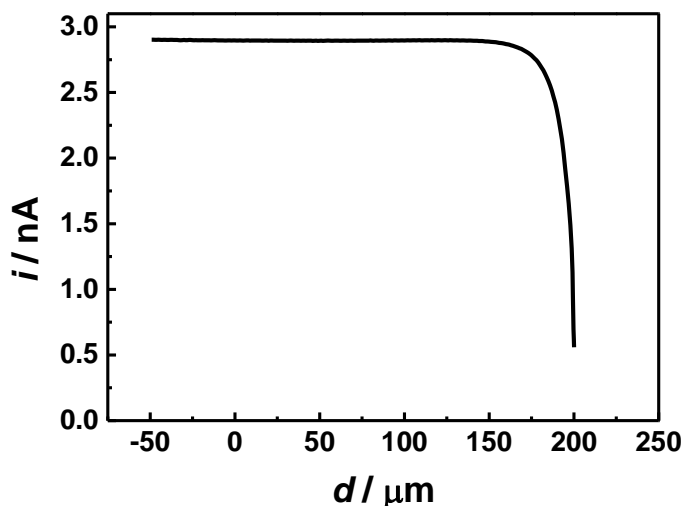


图 S3 Pt 微电极在 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FcMeOH 溶液中的负反馈曲线。
 Fig. S3 Negative feedback curve of Pt microelectrode in $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FcMeOH + $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl. Probe E solution.
 Substrate: SiN; End Current Ratio (%) = 20%; Incr Time: 0.02 s; Max Incr: $1 \mu\text{m}$.

3 *Shewanella oneidensis* MR-1 在 ITO 表面的氧化还原性质

图S4中曲线1和2分别是ITO电极和*S. oneidensis* MR-1/ITO在PBS溶液里的循环伏安图，对比曲线1和2，ITO电极在PBS溶液中没有明显的氧化还原峰，因此可以判断曲线2在-0.15 V的氧化峰和-0.35 V的还原峰分别来自于*S. oneidensis* MR-1的氧化和还原。

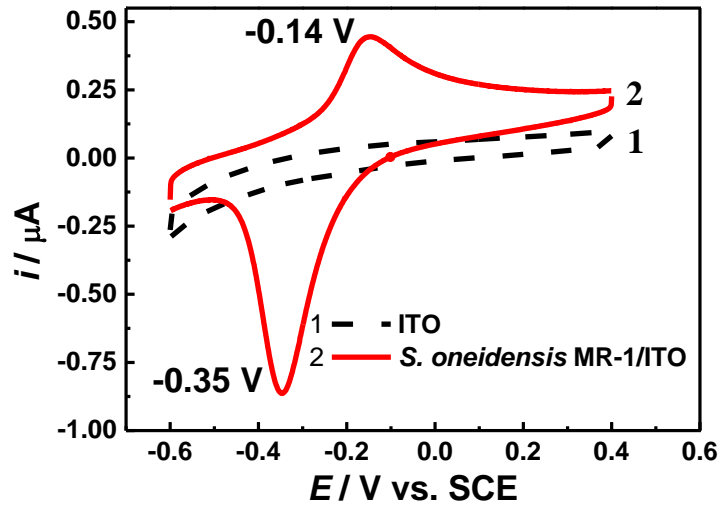


图 S4 *S. oneidensis* MR-1/ITO 和 ITO 在 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 中的循环伏安曲线

Fig. S4 CV curves of ITO and *S. oneidensis* MR-1 on ITO plates in $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS, respectively.

The scan rate was $10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.