

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.60052

光酶级联催化降解有机污染物

Degradation of organic pollutants using a photo-enzymatic cascade process

俞晓敏 潘戴清 龙青云 陈晓阳

YU Xiao-min PAN Dai-qing LONG Qing-yun CHEN Xiao-yang

(嘉兴学院生物与化学工程学院, 浙江 嘉兴 314001)

(College of Biological, Chemical Science and Engineering, Jiaxing University,
Jiaxing, Zhejiang 314001, China)

摘要:目的:解决过氧化物酶催化降解过程中需要添加过氧化氢导致的系列问题。方法:采用光催化原位生成过氧化氢级联过氧化物酶催化策略,通过筛选催化剂晶型、反应体系 pH 值和温度,实现酚类化合物和偶氮染料的高效降解。结果:8 种不同结构的有机污染物在 40 min 内达到了良好的降解率。结论:与传统的有机污染物降解方法相比,试验建立的光酶级联策略具有绿色高效的特点,在环境安全和食品安全领域具有较好的应用潜力。

关键词:有机污染物;光酶催化;过氧化物酶;降解

Abstract: Objective: A strategy of degrading organic pollutants using a photo-enzymatic cascade process was established, to avoid the problem caused by the use of H_2O_2 as oxidant in peroxidase-catalyzed reaction. **Methods:** After screening of photosensitizer, reaction pH and temperature, phenols and azo dyes can be degraded efficiently herein, by a combination of photo-catalytic H_2O_2 generation in situ and peroxidase-catalyzed oxidation. **Results:** 8 organic pollutions in different structure can be degraded with good to excellent degradation rate within 40 minutes. Moreover, the mechanism of this degradation process was proposed. **Conclusion:** Compared with classic methods of degrading organic pollutants, this photo-enzymatic cascade process has an advantage of safety and efficiency, and has application potential in environmental and food safety.

Keywords: organic pollutions; photoenzymatic reaction; peroxidase; degradation

目前,大量人工合成有机化合物的使用、工业三废的违规排放严重污染了环境,威胁食品安全。其中酚类^[1]、

有机染料^[2]等有机污染物具有毒性大、难降解的特点,在水产动物中富集^[3],严重威胁着水生生物和人类的健康^[4]。以食品加工行业为例,部分人工合成的偶氮染料被允许作为食品的着色剂使用,如日落黄、酸性红、胭脂红等^[5],而 4-己基间苯二酚、特丁基对苯二酚(TBHQ)、二丁基羟基甲苯(BHT)等酚类化合物是常用的抗氧化剂^[5],可以提升食品的外观和延长存储期,但同时也会对环境造成危害^[6]。目前,针对有机污染物的处理技术包括吸附^[7]、光催化氧化降解^[8]、超声辅助降解^[9]、生物降解^[10]等。其中辣根过氧化物酶(HRP)廉价易得,处理过程安全环保,且对该类污染物的降解具有良好的效果,是最常用的催化剂之一^[11-14]。

过氧化物酶催化有机分子的氧化降解需要添加过量的过氧化氢作为氧化剂,这带来了一系列问题。首先,高浓度的过氧化氢会快速降低酶的活性,限制了过氧化物酶在有机污染物降解中的应用,特别是在针对一些浓度较大的废水时;其次,过氧化氢作为一种不稳定的强氧化性物质,其贮藏和运输需要耗费大量的人力物力,甚至存在安全隐患;此外,过氧化氢被世界卫生组织列为三类致癌物质,可能会危害操作工人的健康。如果能在体系中原位生成过氧化氢,无需额外添加,则可以避免上述问题。

在水相体系通过光催化原位生成过氧化氢,作为过氧化物酶催化反应的氧化剂,是近年来在过氧化物酶催化反应中发展出的新策略。研究发现,以金掺杂二氧化钛($Au-TiO_2$)^[15-16]、 $g-C_3N_4$ ^[17]、黄素(FMN)^[18]和蒽醌磺酸(SAS)^[19]作为光催化剂,在氧气存在下将水或甲醇氧化成过氧化氢,再利用多种过氧化物酶催化羟基化、卤化、环氧化等反应,具有较好的催化效率和底物谱。Kim 等^[20]以木质素作为光敏剂,结合过氧化物酶催化实现了碳氢键的氧化官能化,总转化数(TTN)达 81 000。这种级联的光酶催化体系具有良好的应用前景,可将其引入污水处理领域。考虑到催化效率、操作难度、成本等因素,研究拟构建 $Au-TiO_2$ 和辣根过氧化物酶的光酶级联

基金项目:浙江省自然科学基金(编号:LQ22B020006);嘉兴市公益项目(编号:2021AY10047)

作者简介:俞晓敏,女,嘉兴学院在读本科生。

通信作者:陈晓阳(1988—),男,嘉兴学院讲师,博士。

E-mail: chenxychem@163.com

收稿日期:2022-03-21

催化体系,考察其在酚类化合物和有机染料等有机污染物降解中的催化效果,旨在为污水处理领域提供一种安全环保的方法。

1 材料与与方法

1.1 材料与仪器

紫外—可见分光光度计:UV 2550 型,日本岛津公司;
灯泡:7748 型,电压 24 V,功率 250 W,色温 3 400 K,光通量 5 000 LM,荷兰皇家飞利浦公司;
场发射扫描电子显微镜:S-4800 型,日本高新技术公司;
辣根过氧化物酶(HRP): ≥ 250 U/mg,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;
染料:山东优索化工科技有限公司;
 AuCl_3 、 TiO_2 、苯酚、间苯二酚等:分析纯,萨恩化学技术(上海)有限公司。

1.2 催化剂制备

按文献[16]的方法制备光催化剂 Au-TiO_2 。

1.3 降解率测定

在紫外—可见光波长范围内对酚类化合物和染料溶液进行扫描,根据吸收曲线确定其最大吸收波长,并测定此波长下不同浓度样品的吸光度,270 nm 下吸光度与苯酚浓度之间的线性方程为 $y=1.226\ 95x+0.076\ 58$, $R^2=0.999\ 7$;270 nm 下吸光度与间苯二酚浓度之间的线性方程为 $y=1.0264\ 3x-0.071\ 33$, $R^2=0.999\ 8$;508 nm 下吸光度与酸性红 1 浓度之间的线性方程为 $y=0.850\ 1x-0.004\ 08$, $R^2=0.999\ 5$ 。

测定降解反应前后样品的吸光度值,并按式(1)计算降解率。

$$\eta=(C_0-C_t)/C_0 \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

η ——酚类化合物或有机染料的降解率,%;

C_0 ——样品初始浓度,mmol/L;

C_t —— t 时刻降解后的浓度,mmol/L。

1.4 光酶催化有机污染物降解

向敞口的 5 mL 离心管中加入缓冲溶液,不同浓度的

酚类化合物或有机染料,一定量的光催化剂 Au-TiO_2 和 HRP,在管口上方 10 cm 处设置光源,恒温下以 1 500 r/min 振荡 5~40 min,离心除去粉末固体,上清液以缓冲液稀释 1~10 倍后用紫外—可见分光光度计测定吸光度。

1.5 过氧化氢浓度测定

参照文献[21]的方法,400 nm 下吸光度与过氧化氢浓度之间的线性方程为 $y=0.686\ 86x+0.003\ 36$, $R^2=0.999\ 6$ 。

2 结果与分析

2.1 光酶催化反应条件对酚类化合物降解效果的影响

在 pH 值为 4.0 的磷酸缓冲溶液中加入 1 mmol/L 苯酚,0.5 g/L 不同晶型[锐钛矿型(A)和金红石型(R)]的 Au-TiO_2 、30 mg/L HRP 酶,光照下反应 10 min 后发现,以锐钛矿型为原料的 Au-TiO_2 中苯酚降解率达到 68.3%,而金红石型的为 59.7%,说明该光酶级联的催化体系在催化降解苯酚中是可行的,其中锐钛矿型 Au-TiO_2 具有较好的催化效果。

由图 1 可知,当 pH 为 4.5 时,降解率达最高 72.2%,是由于 HRP 适合在弱酸性环境中催化,而过低或过高的温度都会影响酶的活性,同时过氧化氢在高温下容易分解,影响最终的降解率,故最佳温度为 30 $^{\circ}\text{C}$,此时苯酚降解率为 82.0%。当反应时间为 10 min 时,降解率达到峰值,继续延长反应时间,降解率有所降低,说明该反应是一个高效的催化过程,具有良好的应用潜力。

间苯二酚具有二元酚结构,是一种常用的酚类精细化工原料,排放的间苯二酚会在生物体和自然环境中累积,生物降解较为困难。由图 2 可知,相较于苯酚,间苯二酚更难降解,当反应时间为 10 min 时,降解率为 63.5%;当反应时间为 20 min 时,降解率达最高 74.1%。由于两者反应条件相似,降解速率和降解率的下降归因于 HRP 对间苯二酚的反应活性比苯酚低。

2.2 光酶催化对偶氮染料的降解

由图 3 可知,当反应时间为 40 min 时,染料去除率达

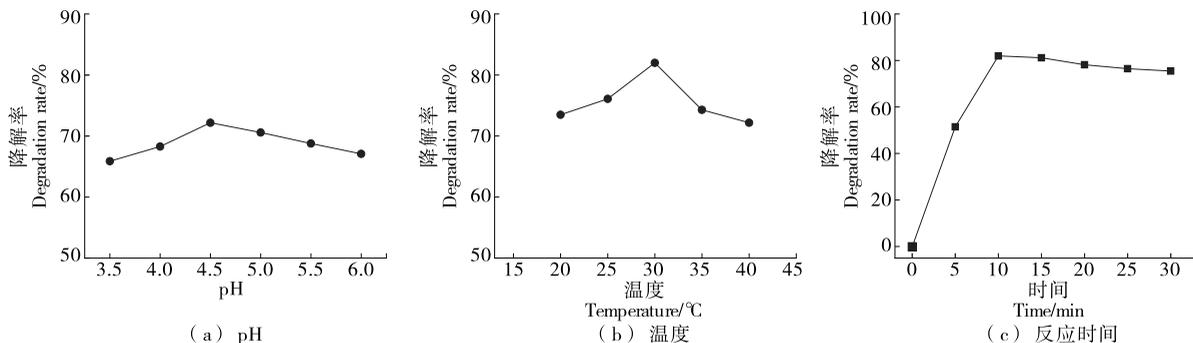


图 1 光酶催化苯酚降解
Figure 1 Photobiocatalytic degradation of phenol

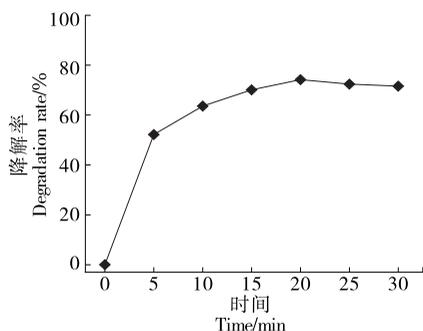
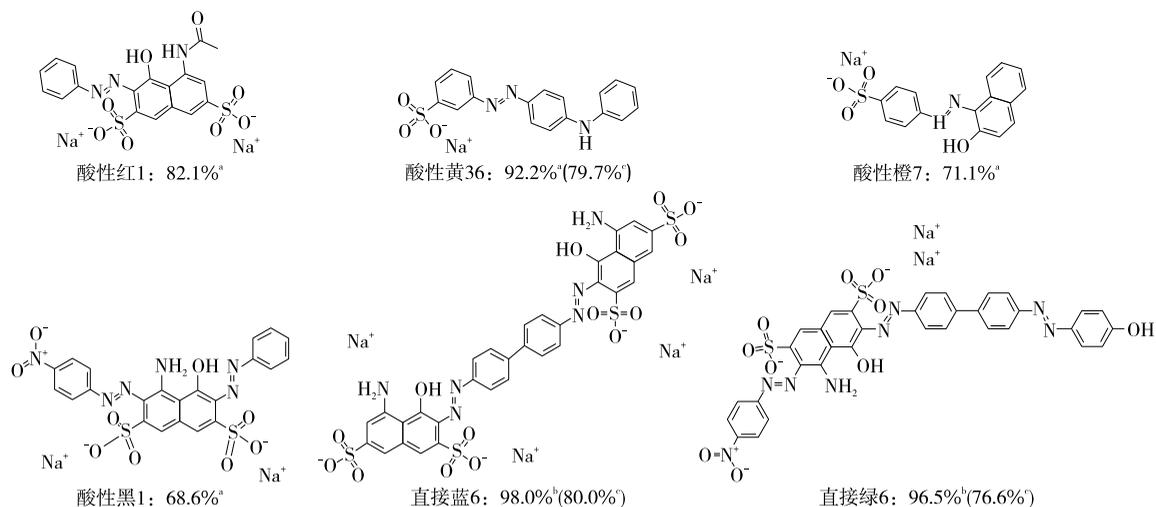


图2 光酶催化间苯二酚降解

Figure 2 Photobiocatalytic degradation of resorcinol



a 为染料浓度 0.1 mmol/L, 反应时间 40 min; b 为染料浓度 0.1 mmol/L, 反应时间 20 min; c 为染料浓度 1 mmol/L, 反应时间 40 min

图3 光酶催化染料降解

Figure 3 Photobiocatalytic degradation of dyes

的苯酚几乎不能被降解,说明酶在反应中起着关键作用,以原位生成的过氧化氢为氧化剂催化降解苯酚。在无光照的条件下,无论是哪种晶型的 Au-TiO₂,都不能产生过氧化氢供酶使用(反应 1、3)。在不加光催化体系中,向反应中添加 3 当量的过氧化氢,得到类似的催化效果(反应 4),证明光酶催化体系可以避免过氧化氢的使用,解决了过氧化氢使用过程中的一系列问题。

表 1 苯酚催化降解的对照试验[†]

Table 1 Control experiments of phenol degradation

反应	光催化剂	降解率/%
1	A-Au-TiO ₂	68.3(1.8 ^a)
2 ^b	A-Au-TiO ₂	3.7
3	R-Au-TiO ₂	59.7(1.9 ^a)
4 ^c	—	66.0

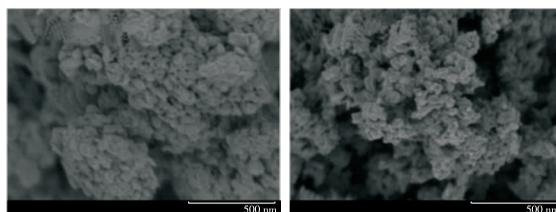
[†] [phenol] = 1 mmol/L, [Au-TiO₂] = 0.5 g/L, [HRP] = 30 mg/L, pH = 4.0, T = 40 °C, 光照反应 10 min; a 为无光照; b 为不添加酶; c 为 [H₂O₂] = 3 mmol/L, 无光照。

82.1%。当反应时间为 20 min 时,酸性黄 36、直接蓝 6、直接绿 6 3 种染料的降解率为 90% 以上,当将染料浓度提高到 1 mmol/L 时,3 种染料在反应时间为 40 min 时,其降解率也能维持在 80% 左右,说明光酶催化体系在催化染料降解中具有良好的性能。反应体系中,染料种类对于催化效率的影响是多方面的,一方面染料的颜色会对光催化剂吸收光的波长和能量产生影响,另一方面,染料是在酶的活性空腔内进行催化降解的,所以各取代基结构也会影响染料与酶的结合作用,进而影响催化速率。

2.3 光酶催化机理

由表 1 可知,在不加酶的条件下(反应 1、2),体系中

该光酶催化体系中,与金红石型的 Au-TiO₂ 光催化剂相比,锐钛矿型的 Au-TiO₂ 光催化剂具有较好的催化效果。由图 4 可知,锐钛矿型和金红石型两种 Au-TiO₂ 催化剂都具有比较窄的粒径分布,基本集中在 50 nm 左右。但从长宽比来看,锐钛型的 Au-TiO₂ 比较小,而金红石型呈类似棒状的趋势。从堆积方式看,锐钛型的比较紧密,而金红石型的比较松散,可能是微观形貌的不同引起了催化活性的差别。光照条件下,反应 10 min 后,锐钛



(a) A-Au-TiO₂ (b) R-Au-TiO₂

图 4 两种晶型 Au-TiO₂ 的 SEM 表征图

Figure 4 SEM image of Au-TiO₂ with different crystal forms

矿型的反应中产生 1.43 mmol/L 过氧化氢,而金红石型的反应中产生 0.85 mmol/L 过氧化氢,说明锐钛矿型 Au-TiO₂ 催化生成过氧化氢的反应更快,对整体的级联降解反应更有利。

综上,提出该光酶催化降解有机污染物的机理:两种催化是以级联的方式进行反应的,第一步光催化生成的过氧化氢刚好被后一步酶催化反应所利用,共同达到降解有机污染物的目的(图 5)。

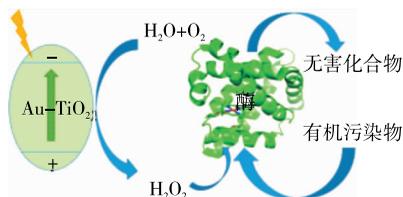


图 5 光酶催化有机污染物降解机理图

Figure 5 The mechanism of photobiocatalytic degradation of organic pollutants

3 结论

制备了两种晶型的金掺杂二氧化钛光催化剂,并与辣根过氧化物酶级联催化实现了 2 种酚类化合物和 6 种偶氮染料的降解。结果表明,在 30~40 °C 以及弱酸性环境下,有机污染物的降解率达 68%~98%,证实了反应过程是由光催化生成过氧化氢和辣根过氧化物酶利用过氧化氢氧化降解有机污染物两步组成,其催化降解效率与添加过氧化氢相当。该方法避免了使用大量过氧化氢可能产生的问题,是一种具有潜力的污水处理手段。随着有机污染物浓度的升高,研究构建的催化降解方法效率下降明显,可能是由于酶的部分失活,在后续研究中希望通过固定化或定向进化等手段提高酶的稳定性,进一步拓展该体系的应用范围。

参考文献

[1] 武建强, 赵中敬, 洪霞, 等. QuEChERS-GC-MS 法快速同时测定水质中 12 种硝基酚类化合物[J]. 食品与机械, 2021, 37(8): 70-76.
WU Jian-qiang, ZHAO Zhong-jing, HONG Xia, et al. Rapid determination simultaneously of twelve kinds of nitrophenolic compounds in water by modified QuEChERS-GC-MS[J]. Food & Machinery, 2021, 37(8): 70-76.

[2] 梁锋, 徐文洪, 赵红清, 等. 食品中红 2G、二甲基黄、二乙基黄工业染料的同时测定[J]. 食品与机械, 2020, 36(8): 62-66, 81.
LIANG Feng, XU Wen-hong, ZHAO Hong-qing, et al. The simultaneous determination of red 2G, methyl yellow and diethyl yellow in food[J]. Food & Machinery, 2020, 36(8): 62-66, 81.

[3] 徐思敏, 王建辉, 刘永乐, 等. 洞庭湖区淡水鱼中有毒有害物残留研究现状[J]. 食品与机械, 2016, 32(5): 220-224.

XU Si-min, WANG Jian-hui, LIU Yong-le, et al. Review on current situation of harmful residual of freshwater fish in Dongting Lake region[J]. Food & Machinery, 2016, 32(5): 220-224.

[4] 李午阳, 徐乐瑾. 废水中有机污染物降解机理的研究方法[J]. 化学学报, 2019, 77(8): 705-716.
LI Wu-yang, XU Le-jin. Research methods for the degradation mechanism of organic pollutants in wastewater [J]. Acta Chim Sinica, 2019, 77(8): 705-716.

[5] 国家卫生和计划生育委员会. 食品添加剂使用标准: GB 2760—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 12-96.
The National Health and Family Planning Commission. The National Food Safety Standard for Food Additives Use: GB 2760—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014: 12-96.

[6] LIU Ya-nan, LIU Na, CHEN Yu-ning, et al. A versatile CeO₂/Co₃O₄ coated mesh for food wastewater treatment: Simultaneous oil removal and UV catalysis of food additives[J]. Water Research, 2018, 137: 144-152.

[7] LIU Zi-yun, WANG Zi-han, CHEN Hong-xu, et al. Hydrochar and pyrochar for sorption of pollutants in wastewater and exhaust gas: A critical review[J]. Environ Pollut, 2021, 268(B): 115910.

[8] 张俊杰, 亚力昆江·吐尔逊, 迪丽努尔·塔力甫, 等. Ru 掺杂 BiOBr 空心微球的原位合成及其光催化 CO₂ 还原和有机污染物降解性能研究[J]. 分子催化, 2020, 34(1): 8-18.
ZHANG Jun-jie, TURSUN Y, TALIFU D, et al. In situ synthesis of Ru doped hollow BiOBr microsphere as an efficient photocatalyst for photocatalytic CO₂ reduction and organic pollutant degradation[J]. J Mol Catal, 2020, 34(1): 8-18.

[9] WANG Jing, WANG Zhen-jun, CAROLINA L Z, et al. Review on the treatment of organic pollutants in water by ultrasonic technology[J]. Ultrason Sonochem, 2019, 55: 273-278.

[10] SHAKERIAN F, ZHAO Jing, LI Shao-ping. Recent development in the application of immobilized oxidative enzymes for bioremediation of hazardous micropollutants: A review[J]. Chemosphere, 2020, 239: 124716.

[11] ZHANG Chuang, CAI Xiu-lan. Immobilization of horseradish peroxidase on Fe₃O₄/nanotubes composites for Biocatalysis-degradation of phenol [J]. Composite Interfaces, 2019, 26(5): 379-396.

[12] BILAL M, BARCELO D, IQBAL H M N. Nanostructured materials for harnessing the power of horseradish peroxidase for tailored environmental applications[J]. Sci Total Environ, 2020, 749: 142360.

[13] 高霞, 潘会宾, 乔成芳, 等. 基于多级孔金属有机骨架构筑 HRP 固定化酶反应器及其染料降解应用[J]. 高等学校化学学报, 2020, 41(7): 1591-1599.
GAO Xia, PAN Hui-bin, QIAO Cheng-fang, et al. Construction of HRP immobilized enzyme reactor based on hierarchically porous metal-organic framework and its dye degradation application[J]. Chem J Chinese U, 2020, 41(7): 1591-1599.

(下转第 155 页)