

生物电催化方法处理三氯乙酸的研究

李玉平^{1,2}, 曹宏斌^{1*}, 张懿¹

(1. 中国科学院过程工程研究所, 北京 100080; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 利用吸附法将血红蛋白(Hb)固定在碳纳米管修饰电极表面, 研究了 Hb 在碳纳米管修饰电极的直接电化学行为. 固载 Hb 碳纳米管修饰电极在 pH = 7.0 的 PBS 缓冲溶液中于 - 0.300 V(vs SCE) 处有一对相当可逆的循环伏安还原氧化峰, 为 Hb 血红素辅基 Fe(III)/Fe(II) 电对的特征峰. 利用循环伏安法和恒电位电解法研究了固载 Hb 的碳纳米管修饰电极对有机氯模型污染物三氯乙酸的电催化还原脱氯, 并通过鉴定中间产物探讨了其催化还原机理. 结果表明, 固载 Hb 的碳纳米管修饰电极对三氯乙酸的还原具有很高的催化活性, 三氯乙酸是按照三氯乙酸 → 二氯乙酸 → 一氯乙酸 → 乙酸的途径分布还原脱氯. 将固载 Hb 的碳纳米管修饰电极组装成三维填充床电解反应器, 进行了三氯乙酸连续流动电解还原的初步研究. - 0.6 V(vs. SCE) 电解 180 min, 三氯乙酸去除率为 40.13%.

关键词: 生物电催化; 三氯乙酸; 脱氯; 血红蛋白; 碳纳米管

中图分类号: X505 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)04-0055-04

Reductive Dechlorination of Trichloroacetic Acid by Bioelectrochemically Catalytic Method

LI Yu-ping^{1,2}, CAO Hong-bin¹, ZHANG Yi¹

(1. Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: Direct electrochemical behaviors of hemoglobin (Hb) immobilized on carbon nanotube (CNT) modified carbon paste electrode with adsorption were investigated. Cyclic voltammetry of Hb-CNT modified electrode showed a pair of well-defined and nearly reversible peaks for Hb heme Fe(III)/Fe(II) redox couple in pH = 7 PBS buffers. The electrocatalytic behaviors of Hb-CNT modified electrode for the reductive dechlorination of trichloroacetic acid (TCA) were studied by cyclic voltammetry and fixed-potential electrolysis technique, and the reductive mechanism of TCA was discussed by analysis of reduction products. The results showed that Hb-CNT modified electrode possessed good electrocatalytic activity for reduction of TCA and the dechlorination of TCA was stepwise, following the pathway of trichloroacetic → dichloroacetic → monochloroacetic → acetic. The dechlorination of TCA in waste water was investigated using a two compartment flow reactor with working electrode compartment packed with Hb-CNT modified graphite electrode. The conversion of TCA was 40.13% with electrolysis for 180 min at - 0.60 V (vs. SCE).

Key words: bioelectrochemically catalytic method; trichloroacetic acid; dechlorination; hemoglobin; carbon nanotubes

有机氯化合物大部分属于持久性有机物 (POPs), 具有较高的毒性和较强的三致作用, 相当一部分被各国列为优先控制污染物. 它们通常作为 Lewis 酸存在难以失去电子, 而且氧化不完全容易产生毒性更大、稳定性更强的产物(如四氯化碳燃烧产生六氯苯^[1]), 氧化处理常难以奏效, 所以还原脱氯处理逐渐受到关注. 还原脱氯的方法主要有生物厌氧还原、零价铁还原、催化加氢还原和电解还原. 生物厌氧还原主要是通过筛选或构建高效菌株, 通过添加供电子体(通常是易降解化合物)进行还原^[2]. 零价铁还原虽然简单廉价, 但是零价铁还原活性不高(Fe/Fe²⁺ 标准电势 - 0.45 V), 使得有机氯还原需要在酸性甚至强酸性环境下进行, 且对相当部分有机氯不具有还原能力, 同时易形成表面惰性层(氢氧化物)使活性不断降低, 并产生大量铁泥等

二次污染. 电解还原不需添加化学试剂, 不会产生二次污染, 尤其适合饮用水处理. 与其它有机物相比, 有机氯的还原电位很负, 为提高电催化性能, 需要使用 Pd 等贵金属电极, 但仍然析氢副反应严重, 电流效率低^[3].

生物电催化是生物电化学领域中的重要方法, 广泛应用于生物燃料电池和生物传感器的研究. 自 20 世纪 90 年代起, 研究者将生物电催化方法应用于环境工程领域, 发展成为新型的生物技术, 在染料废水处理^[4]、TNT 废水处理^[5]、脱硝^[6]和土壤修

收稿日期: 2004-07-02; 修订日期: 2004-11-17

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2004 AA649340); 国家自然科学基金资助项目(30400011).

作者简介: 李玉平(1975~), 男, 博士研究生, 主要从事持久性有机物生物电催化处理的研究.

* 通讯联系人

复^[7]中得到了应用.许多氧化还原酶的活性中心是含铁或钴辅基,由于血红蛋白(Hb)结构认识清晰,因此成为铁氧化还原蛋白的理想模型物.本文选用应用广泛的三氯乙酸作为有机氯化物模型污染物,利用廉价的血红蛋白作为生物活性分子,在碳纳米管修饰电极上实现了三氯乙酸电催化脱氯.

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

血红蛋白(Sigma),光谱纯石墨棒,石墨粉(光谱纯),其他试剂为国产分析纯试剂,碳纳米管(清华大学化工系提供)使用前用硝酸羧基化处理.

电化学测量在IM6e电化学工作站(德国Zahner公司)上进行.采用三电极系统H型电解池,饱和甘汞电极为参比电极,铂电极为辅助电极.实验缓冲溶液为0.1 mol/L PBS缓冲溶液,pH值用盐酸和氢氧化钠溶液调整.实验前使用高纯氮除氧30 min.实验温度为25℃±1℃.

1.2 碳纳米管修饰碳糊电极的制备和血红蛋白的固定

(1)碳纳米管修饰碳糊的制备 将1.5 mg处理后的碳纳米管加入1 mL分散剂中,超声2 min,对碳糊电极表面(12.56 mm²)进行修饰.

(2)血红蛋白的固定 将碳纳米管修饰碳糊电极浸入2 mg/mL Hb的0.05 mol/L磷酸盐缓冲溶液(pH=7.0)中,吸附固定Hb.取出后用去离子水冲洗表面吸附松散的Hb.即制成固定Hb的CNT修饰碳糊电极.

1.3 分析方法

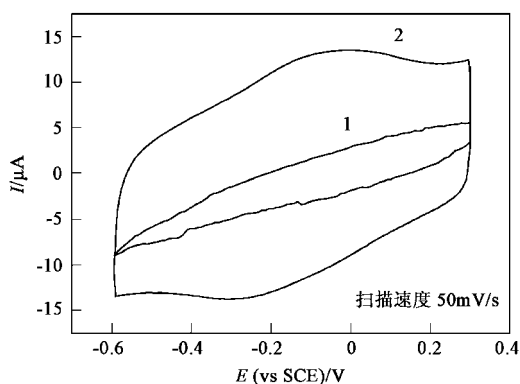
三氯乙酸、二氯乙酸、一氯乙酸和乙酸的测定采用DX500离子色谱仪(美国DIONEX公司).色谱条件参照文献[8].

2 结果与讨论

2.1 血红蛋白(Hb)在多壁碳纳米管修饰电极上的直接电化学行为

将固定Hb的CNT修饰碳糊电极放入不含Hb的pH7.0的空白PBS缓冲溶液中,经过几次循环伏安扫描后,可观察到稳定而可逆的还原氧化峰(图1曲线2).与之对比,直接用CNT修饰碳糊电极在空白PBS缓冲溶液中做循环伏安测试,观测不到峰电流的产生(图1曲线1).再将CNT修饰碳糊电极浸泡在Hb缓冲溶液中一段时间,也能观测到如图1曲线2所示的电化学响应,而且随着浸泡时间延长,

电化学响应趋于增强直至稳定如图1曲线2.说明图1曲线2的氧化还原峰正是Hb在多壁碳纳米管修饰电极发生了直接电子转移.氧化峰和还原峰电位分别为-0.02 V和-0.300 V,这正是血红素Fe(III)/Fe(II)氧化还原电对的特征峰^[9].



1. CNT 修饰碳糊电极; 2. Hb-CNT 修饰碳糊电极
1. CNT-modified carbon paste electrode;
2. Hb-CNT-modified carbon paste electrode

图1 不同电极在 pH=7.0 PBS 缓冲溶液中的循环伏安曲线
Fig.1 Cyclic voltammograms of different electrodes
in pH=7.0 PBS buffer

由伏安图(图1曲线2)可得到血红素Fe(III)/Fe(II)氧化还原电对的式量电位为-0.160 V(vs SCE).Hb-CNT修饰碳糊电极的循环伏安图具有对称和几乎等高的氧化还原峰,并且扫描速度在0.005~0.100 V/s范围内,还原峰电流与扫描速度呈线性关系(图2),说明在此范围内电极过程是表面过程控制的.

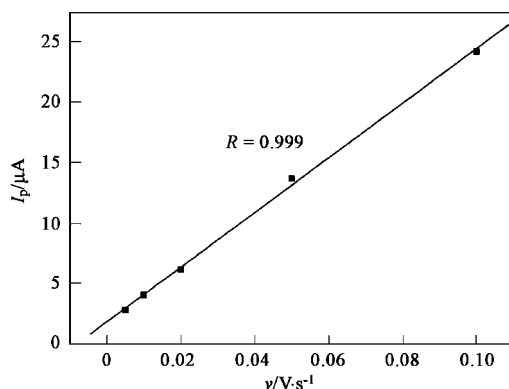


图2 还原峰电流 I_p 与扫描速度 v 的关系

Fig.2 The relationship between scan rate and the cathodic current

随着扫描速度的增加,还原峰电位负移,氧化峰电位正移,但式量电位基本不变.根据准可逆薄层电

化学过程 Laviron 理论^[10]中峰电位 E_{pc} 、 E_{pa} 与 $\lg v$ 的关系,可得到电子转移数 $n = 1.021$,电子传递系数 $\alpha = 0.474$,接近理论值 0.5,说明能垒基本对称,符合准可逆过程特征.根据公式 $(\lg k_s = \alpha \lg(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \lg \alpha - \lg RT/nFv - \alpha(1 - \alpha) nF \Delta E_p/2.3 RT)$ 估算出电极反应速率常数 $k_s = 0.0816 s^{-1}$.

改变 PBS 缓冲溶液 pH 值,考察了 pH 对 Hb-CNT 修饰碳糊电极的 electrochemical 行为的影响.结果发现,随着溶液 pH 增大,Hb-CNT 修饰碳糊电极中血红素 Fe(III)/Fe(II) 氧化还原峰电位均负移.式电位在 pH = 5.0 ~ 9.0 范围内与 pH 之间存在线性关系,斜率为 $-50.92 mV/pH$,这与 25 °C 可逆体系的理论值 $-59 mV/pH$ 接近,表明 Hb 在发生一个电子传递的同时,还伴随着一个质子的转移.由于电子转移数为 1.128,近似为一个血红素辅基发生电子转移,即 $Hbhe me Fe(III) + H^+ + e^- \longrightarrow Hbhe me Fe(II)$.

2.2 纯化后多壁碳纳米管的 FT-IR 谱图和透射电镜图

FT-IR 谱图(图 3)显示,硝酸处理后的碳纳米管在 $1740 cm^{-1}$ ($\nu_{C=O,COOH}$)、 $1056 cm^{-1}$ (ν_{C-OH})、 $2900 cm^{-1}$ (ν_{C-H})、 $3419 cm^{-1}$ ($\nu_{O-H,COH}$)、 $1390 cm^{-1}$ (O-H 面外变形和 C-O 伸缩耦合振动)和 $1650 cm^{-1}$ (羧酸中氢键)有明显的吸收峰,说

使分子量小的部分蛋白进入内腔,有利于牢靠固定而提高稳定性,同时管表面的羧基基团可以通过氢键与蛋白质分子的极性基团或残基相互作用而使活性点结构大量保存^[11].碳纳米管含有丰富的羧基等含氧基团和管壁缺陷等特性,促进了血红蛋白的电子转移^[12].

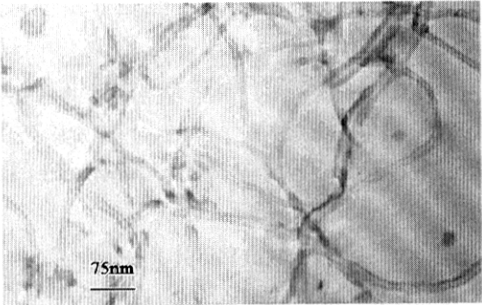


图 4 纯化后多壁碳纳米管的透射电镜图

Fig.4 The transmission electron microscopy of purified multi-wall carbon nanotubes

2.3 Hb-CNT 修饰碳糊电极对三氯乙酸(TCA)的催化还原

三氯乙酸作为一种有机卤化物,稳定性强,难以在一般电极上被直接还原去卤化.从图 5 曲线 3 可以看出,在扫描的电位范围内,TCA 在 CNT 修饰电极上没有任何氧化还原峰,TCA 未能被还原.Hb-CNT 修饰电极对 TCA 表现了较强的电催化活性,与不加 TCA 的空白底液相比,HbFe(III)还原峰增大,HbFe(II)氧化峰消失(图 5 曲线 1),说明

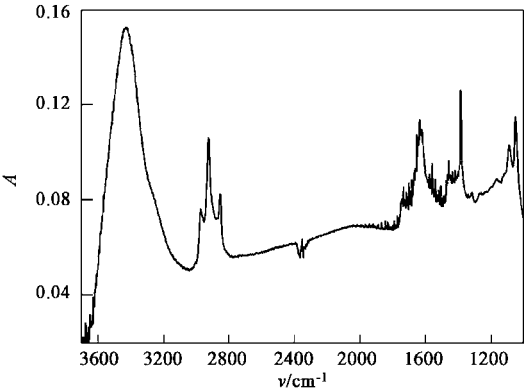
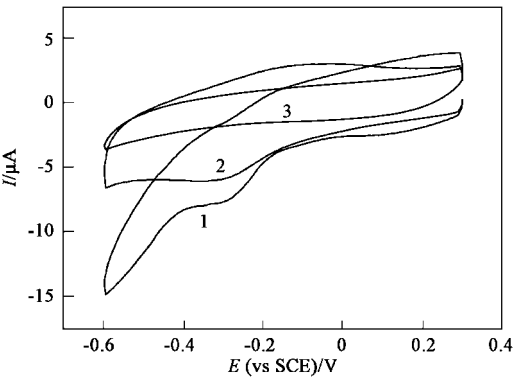


图 3 纯化后的多壁碳纳米管 FTIR 光谱图

Fig.3 The FT-IR spectra of purified multi-wall carbon nanotubes

明硝酸处理后的多壁碳纳米管并携带了丰富的羧基等含氧基团.由透射电镜图(图 4)可看出,碳纳米管分散均匀,外径在 20 ~ 30nm 之间,管端已开口,部分管壁出现缺陷.管端开口且羧基化的碳管使血红蛋白得以固定并保持其活性,这是因为开口碳管能



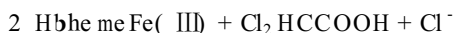
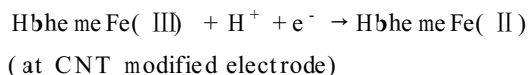
1. Hb-CNT 修饰电极, 30 mmol/L TCA; 2. Hb-CNT 修饰电极,无 TCA; 3. CNT 修饰电极, 10 mmol/L TCA
1. at Hb-CNT modified electrode containing 30 mmol/L TCA;
2. at CNT modified electrode without TCA;
3. at CNT modified electrode containing 10 mmol/L TCA

图 5 pH=7 PBS 缓冲溶液中循环伏安图

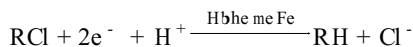
Fig.5 Cyclic voltammograms in pH=7.0 PBS buffer

Hb-CNT 修饰电极中 Hb 能使稳定性高的三氯乙酸在较正的电位范围内电催化还原.实验表明,催化效

率 i_c/i_d 随着扫速增加而减小,扫速越慢有利于 TCA 的充分还原.在中性条件下,析出分子氢的电位负于 -0.900 V (vs Ag/AgCl)^[5],所以在三氯乙酸催化还原的电位范围内难以发生析氢副反应.在 -0.45 V 恒电位电解 2 h,电解液中检出了 Cl^- 、二氯乙酸、一氯乙酸和乙酸,说明发生了三氯乙酸的还原去卤化,三氯乙酸的还原脱氯可能是分步进行的.由于三氯乙酸的 $pK_a = 0.89$,故三氯乙酸在 $pH 7.0$ 溶液中主要以电离的阴离子形式存在.所以 TCA 的电催化还原途径可能是:



所以总脱氯反应可能为:



2.4 电催化反应器的组装和初步电催化实验

将石墨棒切成 $\phi 20\text{ mm} \times 20\text{ mm}$ 的圆柱体,置于 500°C 氧化 8 h.用碳纳米管进行修饰,并吸附固定血红蛋白 Hb.将固定 Hb 的石墨电极 (Hb-CNT/C) 填入阴极室组成三维填充床电极 (如图 6),阴阳极室

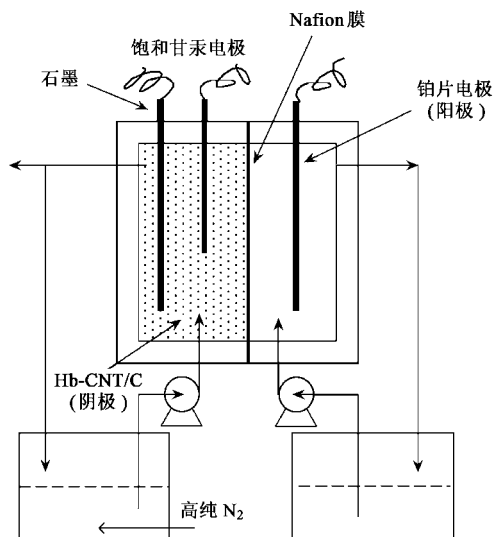


图 6 连续式 2 电极室填充床反应器示意图

Fig. 6 Schematic diagram of the two-compartment packed-bed flow reactor

用质子交换膜 (Aldrich, nafion 膜) 隔开.

配制含 100 mmol/L TCA 的模拟废水,溶液 pH 值为 7.0,用蠕动泵进行循环流动电解.在 -0.6 V (vs SCE) 恒电位电解 180 min, TCA 的降解率为 40.13 %.

3 结论

本文利用碳纳米管固定化血红蛋白,使之在电极上进行了有效的直接电子转移,在较正的电位范围内实现了三氯乙酸的电催化还原脱氯,并且能脱氯完全形成乙酸,而且对应的还原电位难以发生析氢副反应.利用三维填充床生物电催化反应器进行流动电解含三氯乙酸废水,三氯乙酸得到有效的还原脱氯.由于生物电催化方法难以发生析氢副反应而具有较高的电流效率,在有机氯化物等 POPs 处理中具有广阔的应用前景,同时由于未添加化学试剂而不产生二次污染,在饮用水处理中具有优越性.

参考文献:

- [1] 周红艺,汪大翠,周明华,等.金属铁还原脱氯处理有机氯化物的研究进展[J].环境污染治理技术与设备,2001,2(3):14~20.
- [2] Booker R S, Pavlostathis S G. Microbial reductive dechlorination of hexachloro-1,3-butadiene in a methanogenic enrichment culture[J]. Wat. Res., 2000, 34(18): 4437~4445.
- [3] Cheng I F, Fernando Q, Korte N. Electrochemical dechlorination of 4-chlorophenol to phenol[J]. Environ. Sci. Technol., 1997, 31(4): 1074~1078.
- [4] 曹宏斌,李玉平,陈艳丽,等.电解-生物耦合技术处理酸性红 A 染料废水的研究[J].过程工程学报,2003,3(6): 570~575.
- [5] Lee K B, Gu M B, Moon S. Degradation of 2,4,6-trinitrotoluene by immobilized horseradish peroxidase and electrogenerated peroxide[J]. Wat. Res., 2003, 37: 983~992.
- [6] Mellor R B, Ronnenberg J, Campbell W, et al. Reduction of nitrate and nitrite in water by immobilized enzymes[J]. Nature, 1992, 355(20): 717~719.
- [7] Maini G, Sharman A K, Sunderland G, et al. An integrated method incorporating sulfur oxidizing bacteria and electrokinetics to enhance removal of copper from contaminated soil[J]. Environ. Sci. Technol., 2000, 34: 1081~1087.
- [8] 刘勇建,牟世芬,林爱武,等.大体积进样离子色谱法测定饮用水中 9 种卤代乙酸和 6 种阴离子[J].色谱,2003,21(2): 181~183.
- [9] Huang H, He P, Hu N, et al. Electrochemical and electrocatalytic properties of myoglobin and hemoglobin incorporated in carboxy methyl cellulose films[J]. Bioelectrochem., 2003, 61: 29~38.
- [10] Laviron E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems[J]. J. Electroanal. Chem., 1979, 101: 19~28.
- [11] Davis J J, Green M L H, Hill H A O, et al. The immobilisation of protein in carbon nanotubes[J]. Inorganica Chimica Acta, 1998, 272: 261~266.
- [12] Britto P J, Santhanam K S V, Ajayan P M. Carbon nanotube electrode for oxidation of dopamine[J]. Bioelectrochem. Bioenerg., 1996, 41: 121~125.