

偶氮染料循环伏安行为和生物厌氧脱色相关性研究

郭建博^{1,2}, 周集体^{1*}, 王栋¹, 田存萍¹, 葛君¹, 王平¹, 喻晖¹

(1. 大连理工大学环境与生命学院, 大连 116024; 2. 河北科技大学环境科学与工程学院, 石家庄 050018)

摘要:对4种结构相似偶氮染料的循环伏安特性研究及其生物厌氧脱色速率实验, 结果表明, 所选结构相似染料的生物脱色速率最快的是酸性黄-Bis ($E_r = -616.75$ mV), 速率为 $0.012\ 09\ \text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 依次是酸性黄-11 [$E_r = -593.25$ mV, $0.010\ 40\ \text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$], 酸性黄-4 [$E_r = -513$ mV, $0.007\ 575\ \text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$], 且脱色速率与其循环伏安图中的还原峰电位间存在线性关系. 研究还表明, 电化学方法在一定程度上可对生物体系发生生化反应进行部分模拟和预测.

关键词:偶氮染料; 循环伏安; 脱色; 还原电势

中图分类号: X788 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2006)10-2067-04

Predicting Biodegradability from the Electrochemical Characteristic of Azo Dyes

GUO Jian-bo^{1,2}, ZHOU Ji-ti¹, WANG Dong¹, TIAN Cun-ping¹, GE Jun¹, WANG Ping¹, YU Hui¹

(1. School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

2. School of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: Experiments were conducted to study some electrochemical factors affecting the bacterial reduction (cleavage) of four azo dyes. And a common mixed culture was used as test organism and the reduction of azo dyes Acid Yellow 4, 11, 17 and Acid Yellow Bis was studied. It was found that the azo dyes were reduced at different rates, which could be correlated with the reduction potential of the azo compounds in cyclic voltammetric experiments. Acid Yellow Bis ($E_r = -616.75$ mV) was reduced at the highest rate of $0.012\ 09\ \text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, Acid Yellow 11 ($E_r = -593.25$ mV) at $0.010\ 40\ \text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ and Acid Yellow 4 ($E_r = -513$ mV) at $0.007\ 575\ \text{mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$. It is showed that the reduction potential is a preliminary tool to predict the decolorization capacity of oxidative and reductive biocatalysts.

Key words: azo dyes; cyclic voltammetric; decolorization; reduction potential

人工合成的染料因其结构复杂、品种繁多、化学稳定性高而生物可降解性低, 且多数还具有“三致”作用, 从而成为重要的环境污染物质^[1], 染料的生物可降解性与染料的结构有关, 从分子结构角度探讨生物降解机制与效率是近年来广泛研究的领域^[2], 偶氮染料的生物降解性主要与苯环上的取代基的性质、数目、位置及染料的分子量有关^[3]. 但从电化学特性角度来剖析偶氮染料生物降解特性很少. 生物对偶氮染料的厌氧降解(脱色)是氧化还原反应和电子、氢质子耦合传递过程^[4]. 因此用电化学方法可对生物体系发生反应部分进行模拟和预测研究. 本研究目的在于探讨染料循环伏安特性和染料厌氧条件下降解速率的关系, 进行初步定性、定量分析偶氮染料分子结构, 电化学特性与生物降解特性三者间的关系, 从而根据其电化学特性预测生物降解特性.

1 材料与方法

1.1 菌种的来源

菌种采用本实验室已驯化的耐盐菌 DSAS^[5].

1.2 培养基

活性污泥生长培养基: 蛋白胨 $10\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NaCl $5\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, K_2HPO_4 $1\ 400\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $600\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, MgSO_4 $100\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, CaCl_2 $100\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0.005\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $0.000\ 5\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, H_3BO_3 $1\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0.000\ 5\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.001\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NiSO_4 $0.000\ 8\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.0, 温度 30°C , 摇床转速 $150\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$.

模拟染料废水: 生长培养基加目标偶氮染料浓度 $100\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 4种染料结构如图1所示, pH 7.2~7.5.

1.3 模拟染料废水脱色

取好氧条件下长到对数生长期的耐盐菌分别加入模拟染料废水中, 接种量控制初值 OD 为 0.28~0.30, 厌氧培养温度 30°C , 静止无光照. 无菌和高温

收稿日期: 2005-09-14; 修订日期: 2005-10-28

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(20032122)

作者简介: 郭建博(1971~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境微生物技术及工业和生活废水处理.

* 通讯联系人

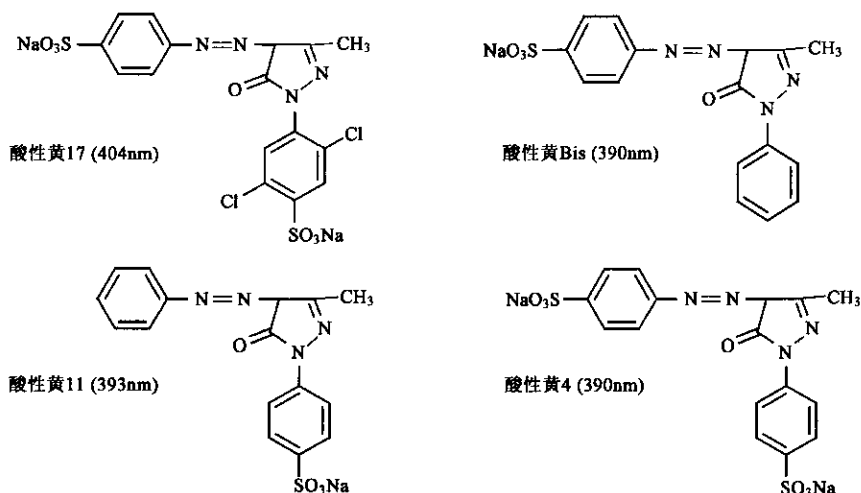


图 1 偶氮染料的化学结构分子式

Fig. 1 Chemical structure of azo dyes used in this study

杀菌含盐模拟染料废水作空白实验。

1.4 测定方法

菌体浓度测定:测 660nm 处的吸光度(OD)值。

染料浓度测定:测染料最大特征吸收峰处的吸光度(JASCO, V-560, UV/VS 分光光度计)。染料浓度在 $0 \sim 75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内与最大吸光度线性相关性较好,且线性关系在 pH6~9 和盐浓度为 0.5%~15% 范围内不受影响。高浓度染料废水通过稀释测定。

1.5 循环伏安研究

电化学分析采用三电极体系,以玻碳电极($d = 3\text{mm}$)为工作电极,铂丝为辅助电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 染料 + $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ 的溶液, pH6)。实验中用 263A 型电化学分析仪测试并做循环伏安曲线。实验前经高纯氮气除氧 30min。扫描速率为 20 mV/s ,在 $-1000 \sim 1500 \text{ mV}$ 范围循环扫描 3 次。

CV 曲线由 Potentiostat/Galvanostat 263A 型电化学分析仪测定。循环伏安测量在三电极电解池中进行。工作电极为玻碳电极($d = 3\text{mm}$),辅助电极为铂丝, Ag^+/Ag 以饱和甘汞电极(SCE)为参比电极, ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 染料 + $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ 的溶液, pH6)。实验前经高纯氮气除氧 30min。扫描速率为 20 mV/s ,在 $-1000 \sim 1500 \text{ mV}$ 范围循环扫描 3 次。

2 结果与讨论

2.1 4 种偶氮染料的循环伏安特性

如图 2~图 5 所示,4 种偶氮染料的循环伏安特性相似,都有一个明显的还原峰(E_r)和氧化峰(E_o),不可逆还原峰位于 -1094 mV 至 -740 mV 间,不可逆氧化峰位于 $+696 \text{ mV}$ 至 $+857 \text{ mV}$ 间。还原峰由小到大的顺序为:酸性黄-17 < 酸性黄-Bis < 酸性黄-11 < 酸性黄-4,这是由吸电子基团磺酸基和供电子基团氯取代基相对于偶氮键的位置共同作用于偶氮染料的结果。2 个磺酸基造成酸性黄-4 的还原电位最高,氯取代基与磺酸基协同作用造成酸性黄-17 的还原峰最负。同时,实验数据表明磺酸基的诱导效应和空间效应对染料的还原电位影响较大。

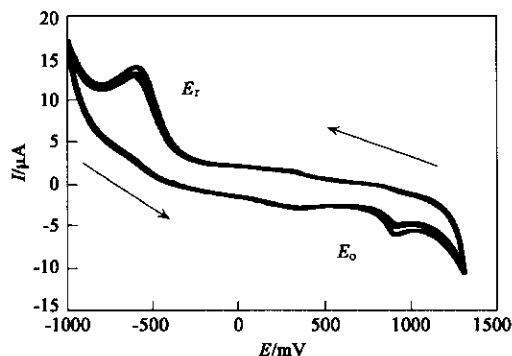
图 2 酸性黄-17 的循环伏安图 (20 mV/s)

Fig. 2 Cyclic voltammogram of dye AY-17

(3 cycles at 20 mV/s scan rate)

2.2 偶氮染料生物脱色

4 种偶氮染料在厌氧条件下以不同的速率脱色,而无菌和高温灭菌的空白试验无脱色发生。

如图 6 所示,4 种染料的脱色速率与各自的循

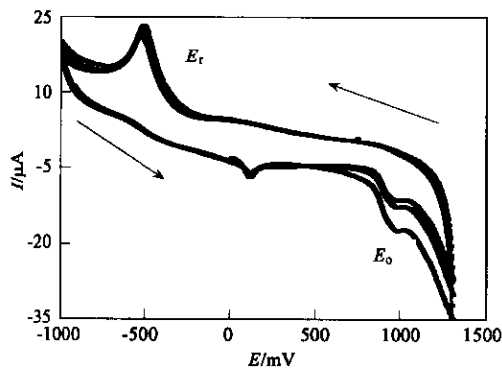


图 3 酸性黄-4 的循环伏安图 (20 mV/s)
Fig.3 Cyclic voltammogram of dye AY-4
(3 cycles at 20 mV/s scan rate)

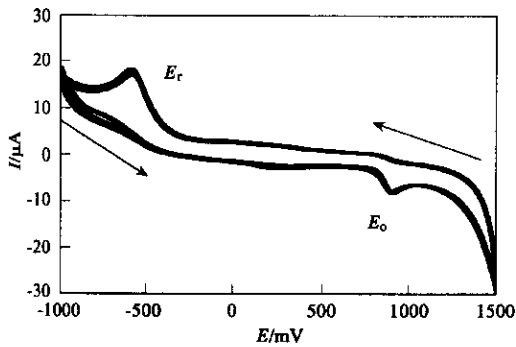


图 4 酸性黄-11 的循环伏安图 (20 mV/s)
Fig.4 Cyclic voltammogram of dye AY-11
(3 cycles at 20 mV/s scan rate)

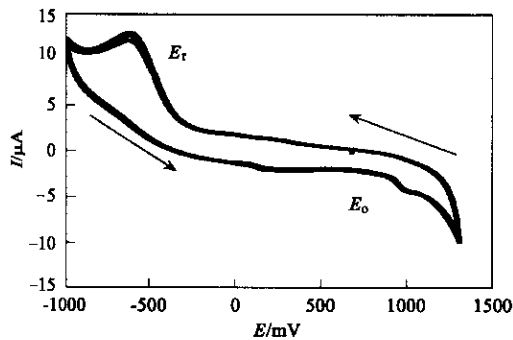


图 5 酸性黄-Bis 的循环伏安图 (20 mV/s)
Fig.5 Cyclic voltammogram of dye AY-Bis
(3 cycles at 20 mV/s scan rate)

环伏安行为中的还原峰电位值有很大相关性,酸性黄-Bis [$E_r = -616.75 \text{ mV}$] 脱色速率最快,速率为 $0.01209 \text{ mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$. 依次是酸性黄-11 [$E_r = -593.25 \text{ mV}$, $0.01040 \text{ mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$], 酸性黄-4 [$E_r = -513 \text{ mV}$, $0.007575 \text{ mol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$]. 这可根据 Nernst 方程来解释,任何还原反应都和氧化还原

物质的电极电势及浓度有关. 电极电势越高,物质越易被还原. 本实验中脱色速率随还原电势增加而降低,此结论与文献报道不一致^[6],这可能与所选微生物及脱色机理不同有关.

就细胞调控还原反应而言, NADH 被认为是主要的电子供体,其还原电势是 -320 mV ^[7,8]. NAD(P)H 推动还原反应的动力是和电子供体与受体的电位差成正比关系,偶氮染料的还原电位越高,越有利于还原反应的发生. 这点在本研究中得到证实.

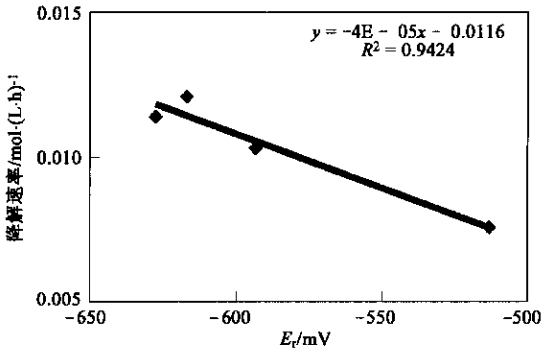


图 6 染料脱色速率和还原电势的关系
Fig.6 Correlation between reduction potentials (E_r)
and the rate of dye decolorization

2.3 氯取代基对脱色速率的抑制作用

对比 4 种染料循环伏安行为的还原电位与脱色速率之间的关系,除可得出上述结论外,还可看到氯取代基对染料生物脱色有很大的抑制作用,例如酸性黄-17 的还原峰电位最负,但其脱色速率并不最快,这主要是由于氯原子的引入引起本身结构改变所致,它的具体抑制机制有待深入研究.

3 结论

- (1) 本研究中结构相似染料的生物脱色速率与其循环伏安行为的还原峰电位间存在线性关系: $y = -4E - 0.05x - 0.0116$ ($R^2 = 0.9424$).
- (2) 染料生物脱色除和其循环伏安行为的还原峰电位有关外,还和其化学结构有很大关系,特别是与取代基的特性有关. 因此,本研究对染料的生物脱色速率与其循环伏安行为相关性的探讨,其重要性是提供了一种探讨染料生物脱色过程的方法和研究角度,而对其线性关系的普遍性有待进一步研究.
- (3) 电化学方法在一定程度上可进行生物体系发生反应部分模拟和预测研究. 通过以上比较电化

学循环伏安法获得的还原峰电位值与厌氧生物降解脱色速率之间呈现了较强的关联性. 从可能的反应机理来考察,还原峰的电位反映了发色基团发生电子转移时的难易程度,即脱色所需的能量变化.而厌氧生物降解虽然经历较复杂的生物化学途径,但是,目标的脱色过程需要的能量差应该与其它过程是相同的.利用循环伏安法来快速、定性乃至定量地研究生物脱色难易程度的方法是值得关注的.

参考文献:

- [1] 徐文东,文湘华.微生物在含染料废水处理中的应用[J].环境污染治理技术与设备.2000,1(2):9~16.
- [2] 王连生,杨翎,张爱茜,等.定量结构-活性相关研究进展[J].环境科学进展,1994,2(4):15~22.
- [3] 戴树桂,宋文华,李彤,等.偶氮染料结构与其生物降解性关系研究进展[J].环境科学进展,1996,16(4):1~9.
- [4] Mandić Z, Nigović B, Simunić B, *et al.* The mechanism and kinetics of the electrochemical cleavage of azo bond of 2-hydroxy-5-sulphophenyl-azo-benzoic acids [J]. *Electrochem. Acta*, 2003, **49**:607~615.
- [5] Guo J B, Zhou J T, Wang D, *et al.* Decolorization of dye wastewater with high salt concentration by the acclimatized salt-tolerant cultures[J]. *J. Environ. Sci.*, 2005, **17**(6):984~988.
- [6] Bragger J L, Lloyd A W, Soozandehfar S H, *et al.* Investigation into the azo reducing activity of a common colonic microorganism[J]. *Int. J. Pharm.*, 1997, **157**: 61~71.
- [7] Bourbonnais R, Leech D, Paice M G. Electrochemical analysis of the interaction of laccase with lignin model compounds[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 1998, **1379**: 381~390.
- [8] Semde R, Pierre D, Geuskens G, *et al.* Study of some important factors involved in azo derivative reduction by *Clostridium perfringens* [J]. *Int. J. Pharm.*, 1998, **161**: 45~54.