

高活性 Cu-MnO₂ 类氧化物 纳米酶降解罗丹明 B

谢碧梅¹, 郑燕宁¹, 王迎波¹, 孙建华¹, 杨崎峰², 廖丹葵^{1*}

(1. 广西大学 化学化工学院 广西石化资源加工及工程强化技术重点实验室, 广西 南宁 530004; 2. 广西博世科环保科技股份有限公司, 广西 南宁 530007)

摘要: 采用一步水热法制备了高活性铜掺杂二氧化锰 (Cu-MnO₂) 类氧化物纳米酶 (简称为类氧化物酶), 采用 XRD、SEM、EDS、N₂ 吸附-脱附、XPS 对其进行了表征, 探究了 Cu-MnO₂ 催化降解罗丹明 B (RhB) 的效果。结果表明, 铜掺杂后 Cu-MnO₂ 产生了协同效应, 增强了 Cu-MnO₂ 的类氧化物酶催化活性, 当溶液 pH=3.0、RhB 初始质量浓度为 50 mg/L、Cu-MnO₂-10% (10%为 CuCl₂·2H₂O 物质的量占 KMnO₄ 物质的量的百分数) 用量为 0.01 g 时, 30 °C 下, 30 min 内可完全降解 RhB, 并且催化剂使用 5 次后 RhB 降解率仍达 75%。此外, 对环丙沙星、氧氟沙星、四环素和对苯二酚难降解的污染物的降解率分别为 88.86%、90.47%、92.62% 和 90.99%。Cu-MnO₂ 类氧化物酶催化降解 RhB 的机理研究表明, 富含氧空位的 Cu-MnO₂ 中存在丰富的空穴, 有利于吸附和催化溶解氧生成大量的单线态氧 (¹O₂) 和少量的超氧自由基 (O₂⁻) 等活性氧物种, 可用于快速降解有机污染物。

关键词: 类氧化物酶; 铜掺杂; MnO₂; 降解; 罗丹明 B; 水处理技术

中图分类号: X7034; TQ426.97 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2023) 12-2752-10

Rhodamine B degradation by highly active Cu-MnO₂ oxidase-like nanoenzyme

XIE Bimei¹, ZHENG Yanning¹, WANG Yingbo¹, SUN Jianhua¹, YANG Qifeng², LIAO Dankui^{1*}

(1. Guangxi Key Laboratory of Petrochemical Resource Processing and Process Intensification Technology, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, Guangxi, China; 2. Guangxi Bossco Environmental Protection Technology Co., Ltd., Nanning 530007, Guangxi, China)

Abstract: Highly active copper-doped manganese dioxide (Cu-MnO₂) oxidase-like nanozyme (abbreviated as oxidase-like enzyme) was prepared by one-step hydrothermal method and characterized by XRD, SEM, EDS, N₂ adsorption-desorption and XPS. And its catalytic performance on Rhodamine B (RhB) degradation was further investigated. The results showed that the improved catalytic activity of Cu-MnO₂ was attributed to the synergistic effect of MnO₂ and doped copper. RhB could be fully degraded within 30 min at 30 °C under the conditions of solution pH 3.0, initial RhB mass concentration 50 mg/L, and Cu-MnO₂-10% (10% is the percentage of amount of substance of CuCl₂·2H₂O and KMnO₄) dosage 0.01 g, while the degradation rate of RhB was still maintained 75% even when the catalyst was recycled 5 times. In addition, the degradation rates of ciprofloxacin, ofloxacin, tetracycline, and hydroquinone were 88.86%, 90.47%, 92.62% and 90.99%, respectively. The mechanism study of RhB degradation catalyzed by Cu-MnO₂ oxidase-like enzyme revealed that there were abundant holes in oxygen vacancy rich Cu-MnO₂, which was beneficial for adsorbing and catalyzing dissolved oxygen to produce a large amount of singlet oxygen (¹O₂) and a small number of superoxide radicals (O₂⁻) and other reactive oxygen species for the rapid degradation of organic pollutants.

收稿日期: 2023-02-15; 定用日期: 2023-05-18; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230103

基金项目: 国家自然科学基金项目 (52162004); 广西石化资源加工及过程强化技术重点实验室主任项目 (2020Z003); 广西博世科环保科技股份有限公司国家企业技术中心开放基金 (GXU-BFY-2020-007)

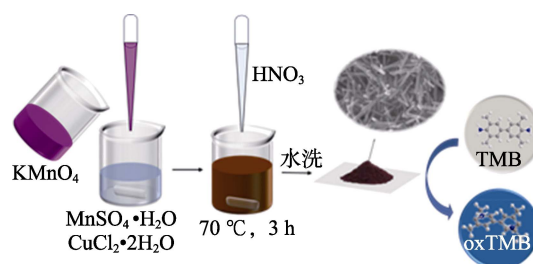
作者简介: 谢碧梅 (1996—), 女, 硕士生, E-mail: 2453616310@qq.com. 联系人: 廖丹葵 (1967—), 女, 教授, E-mail: liaodk@gxu.edu.cn.

Key words: oxidase-like enzyme; copper doping; MnO₂; degradation; Rhodamine B; water treatment technology

近年来, 持久性污染物(染料、抗生素、酚类、农药等)的滥用和随意排放正在对人类健康和生态环境构成潜在威胁^[1]。染料污染物具有较高的遗传毒性、致癌性和难生物降解性, 因此, 染料污染物的有效去除已成为亟待解决的问题之一^[2-4]。物理法、化学法、生物法是当前处理染料污染物的主要方法^[5-7]。高级氧化(AOP)是处理废水的重要技术, 具有反应速度快、降解彻底、适用范围广等优点, 传统芬顿(Fenton)技术依赖于铁基催化剂催化活化外源过氧化氢(H₂O₂)生成羟基自由基(•OH), 但残留的 H₂O₂ 和铁物种容易造成二次污染, 在实际应用中受到限制^[8-9]。生物酶催化具有高催化效率, 生成的副产物或有毒中间体少, 但是天然酶在使用过程中容易失活, 稳定性差^[10-11]。因此, 研发高催化活性和稳定性的酶催化降解污染物体系具有重要意义。

纳米酶是一种具有酶催化活性的新型功能纳米材料, 与天然酶相比, 纳米酶具有制备简单、成本低廉、稳定性高和活性可调节性等优点, 在环境修复、生物医药和工业等领域备受关注^[12-14]。在过去的十几年里, 贵金属(Au、Pt、Pd、Ag)^[15]、金属氧化物(Co₃O₄、MnO₂、Fe₃O₄、CeO₂)^[16]、碳纳米材料^[17]和石墨烯^[18]等, 已经被证实具有类过氧化物酶、氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的催化活性, 其中类氧化物酶可催化 O₂ 分子产生超氧自由基(O₂⁻)、羟自由基(•OH)和单线态氧(¹O₂)等活性氧物质(ROS)^[19-20]。MnO₂ 是一种窄带隙(~1.7 eV)的过渡金属氧化物, 成本低廉、储量丰富、价态可调且晶体结构可控, 其中, Mn⁴⁺、Mn³⁺、Mn²⁺之间的转化有利于氧空位的形成, 基于 MnO₂ 的纳米酶已有文献报道^[21-22]。由于过渡金属(Fe、Co、Ni、Cu)元素掺杂不但能与 Mn 产生协同作用, 还可使材料产生晶格缺陷, 进一步促进氧空位的形成, 提升材料的催化活性。Cu 元素作为一种有效的掺杂离子, 被认为是改善 MnO₂ 性能的合适掺杂元素^[23-24], 而 Cu 元素掺杂 MnO₂ 类氧化物酶用于催化降解罗丹明 B(RhB)的研究鲜少报道。

本文采用一步水热法制备 Cu-MnO₂ 类氧化物酶(图 1), 研究 Cu-MnO₂ 类氧化物模拟酶及酶促动力学, 以 RhB 作为模拟污染物探究 Cu-MnO₂ 的类酶催化性能及对抗生素和酚类的降解性能。最后探究其相关作用机理。本研究能够为类氧化物纳米酶应用于处理污水提供依据。



其中, TMB 为 3,3',5,5'-四甲基联苯胺; ox-TMB 为 3,3',5,5'-四甲基联苯基二胺氧化物, 下同

图 1 Cu-MnO₂ 氧化酶模拟酶的制备及活性示意图
Fig. 1 Schematic diagram of presentation and activity of Cu-MnO₂ oxidase-like enzyme

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

一水合硫酸锰(MnSO₄·H₂O)、草酸铵(AO)、乙酸钠(NaAc), AR, 国药集团化学试剂有限公司; 高锰酸钾(KMnO₄)、RhB(C₂₈H₃₁ClN₂O₃, λ_{max}=554 nm), AR, 成都市科龙化工试剂厂; 环丙沙星(CIP)、氧氟沙星(OFL)、四环素(TC)、对苯二酚(HQ), AR, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 硝酸(HNO₃)、盐酸(HCl), AR, 成都市科隆化学制品有限公司; 氢氧化钠(NaOH)、乙酸(HAc), AR, 广东光华科技有限公司; 二水合氯化铜(CuCl₂·2H₂O)、对苯醌(PBQ)、异丙醇(IPA), AR, 天津市大茂化学试剂厂; L-色氨酸(L-Trp), AR, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; TMB, 生物级, 上海润捷化学试剂有限公司; 去离子水, 自制。

UV2250 紫外-可见(UV-Vis)分光光度计, 日本 Shimadzu 公司; MIRA LMS 扫描电子显微镜(SEM), 捷克 TESCAN 公司; Smart Lab X 射线双晶粉末衍射仪, 日本 Rigaku Corporation 公司; ASAP 2420-4 全自动比表面及孔隙度分析仪, 美国 Merck 仪器公司; K-Alpha X 射线光电子能谱(XPS), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Zetasizer Nano S 型纳米粒度电位仪, 英国 Malvern 仪器有限公司。

1.2 Cu-MnO₂ 类氧化物酶的制备

分别称取 1.58 g (0.01 mol) KMnO₄ 和 2.53 g (0.015 mol) MnSO₄·H₂O 加入到烧杯中, 并依次分别加入 30、40 mL 去离子水使其溶解; 然后, 将 0.170 g (0.001 mol) CuCl₂·2H₂O 加入到装有 MnSO₄·H₂O 溶液的烧杯中并充分搅拌, 再将 KMnO₄ 溶液逐滴加入到 MnSO₄ 溶液中充分搅拌 10 min; 加热至 70 °C 后, 缓慢滴加 10 mL 质量分数为 10% 的硝酸水溶液并开始计时, 持续搅拌 3 h 后, 加入浓度为 0.25 mol/L 的 NaOH 水溶液 5 mL 继续

搅拌 10 min, 冷却至室温, 离心分离并用去离子水洗涤后于 50 °C 下烘干 24 h, 获得棕色粉末, 标记为 Cu-MnO₂-10% (其中百分数为 Cu 掺杂量, 即 CuCl₂ · 2H₂O 物质的量占 KMnO₄ 物质的量的百分数, 下同)。不加入 CuCl₂ · 2H₂O, 以同样的条件制备 MnO₂。

1.3 Cu-MnO₂ 类氧化物酶活性的测定

以 TMB 为底物测定了 Cu-MnO₂ 类氧化物酶的催化活性。分别将 1.5 mL NaAc-HAc 缓冲液 (浓度为 0.1 mol/L, pH=4.0)、50 μL 浓度为 4.16 mmol/L 的 TMB 乙醇溶液和 10 μL 质量浓度为 1.0 g/L 的 Cu-MnO₂ 类氧化物酶水溶液或 MnO₂ 类氧化物酶水溶液依次加入到 2 mL 试管中, 在 30 °C 下反应 5 min 后, 将反应液经针筒式滤膜过滤器 [聚醚砜树脂 (PES) 水系] 过滤, 用 UV-Vis 分光光度计在波长 652 nm 下测定溶液的吸光度^[17]。由于 TMB 在 Cu-MnO₂ 或 MnO₂ 类氧化物酶水溶液中会被氧化为蓝色的 ox-TMB, ox-TMB 在 652 nm 处具有特征吸收峰, 因此, 以 652 nm 处吸光度高低说明类酶活性的强弱。

1.4 Cu-MnO₂ 类氧化物酶催化降解 RhB 实验

在 150 mL 烧杯中加入 100 mL 质量浓度为 30.0 mg/L 的 RhB 水溶液, 用浓度为 0.1 mol/L 的盐酸调节溶液 pH (2.0~7.0), 投加 (2~12 mg) Cu-MnO₂ 类氧化物酶, 以 300 r/min 搅拌, 分别在反应 1、2、4、6、8、10、15、20、25、30 min 时取样, 用有机滤膜过滤后测定其在 554 nm 处的吸光度 (A_{554}), 按式 (1) 计算 RhB 降解率。此外, 将质量浓度为 30 mg/L RhB 替换成质量浓度为 10 mg/L 的 CIP、OFL、TC 和 HQ 水溶液。按上述步骤进行降解实验, 同样按式 (1) 计算降解率:

$$D/\% = \frac{(\rho_0 - \rho_t)}{\rho_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: D 为污染物的降解率, %; ρ_0 为污染物初始质量浓度, mg/L; ρ_t 为反应在 t (min) 时污染物的质量浓度, mg/L。

1.5 Cu-MnO₂ 类氧化物酶催化降解 RhB 循环实验

将使用后催化剂经抽滤从反应液中分离出来, 并用无水乙醇、去离子水各洗涤 3 次后于 50 °C 干燥 12 h, 称重计算 Cu-MnO₂ 的损失量, 补加至起始投加量, 按 1.4 节进行降解实验并计算降解率。

1.6 Cu-MnO₂ 类酶催化降解 RhB 机理研究

为了研究 Cu-MnO₂ 催化降解 RhB 的主要活性物质种类, 在 pH=3.0、温度为 30 °C、RhB 质量浓度为 30 mg/L、投加 10 mg Cu-MnO₂-10% 的条件下分别加入 1 mL 浓度为 0.1 mol/L PBQ、IPA、AO 和 L-Trp 作为 O₂⁻、·OH、h⁺ 和 ¹O₂ 的捕获剂, 反应 30 min, 探究其对 RhB 降解率的影响, 分析 Cu-MnO₂ 类氧化物酶催化 RhB 的降解机理。

2 结果与讨论

2.1 Cu-MnO₂ 的结构与形貌分析

MnO₂、Cu-MnO₂-10% 的 XRD、SEM 和 EDS 表征结果见图 2。

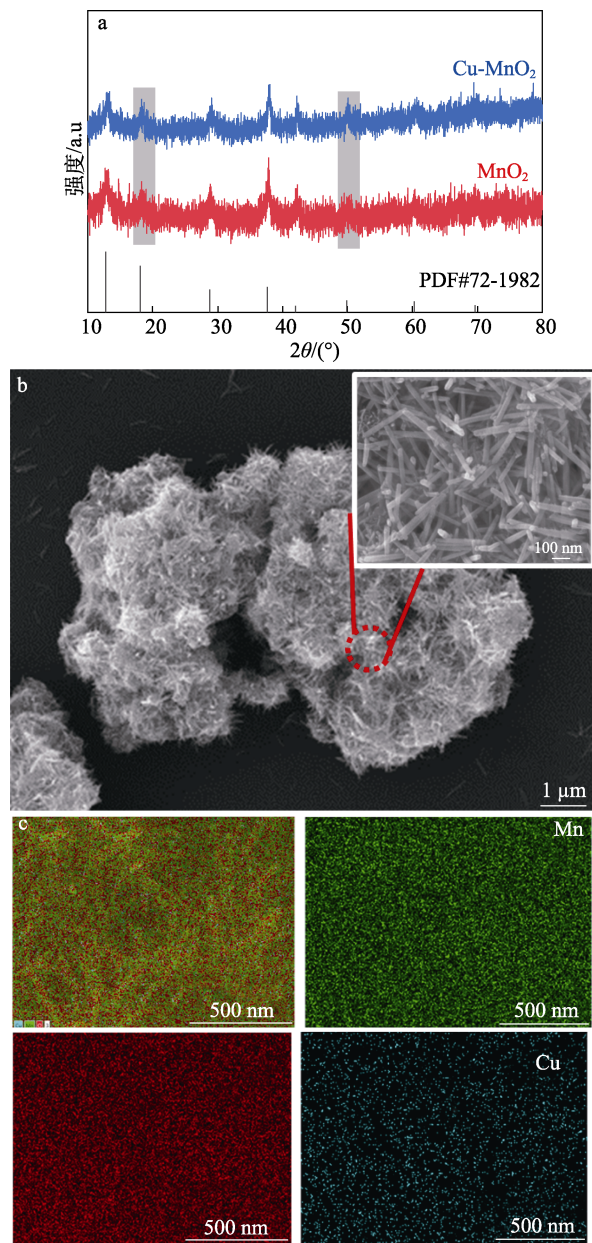


图 2 MnO₂、Cu-MnO₂-10% 的 XRD 谱图 (a), Cu-MnO₂-10% 的 SEM 图 (b) 和 EDS 谱图 (c)
Fig. 2 XRD patterns of MnO₂ and Cu-MnO₂-10% (a), SEM image (b) and EDS spectra (c) of Cu-MnO₂-10%

由图 2a 可见, MnO₂ 和 Cu-MnO₂-10% 在 $2\theta=12^\circ$ 、 18° 、 28° 、 37° 、 42° 、 49° 、 60° 、 69° 具有特征吸收峰, 分别对应 α -MnO₂ 的 (110)、(200)、(310)、(121)、(301)、(411)、(521)、(451) 晶面, 与标准卡片 PDF#72-1982 匹配良好。Cu 掺入后 Cu-MnO₂ 未出现其他物相峰位, 说明 Cu 掺入没改变材料的晶型,

但 $2\theta=18^\circ$ 、 49° 处特征峰强度增大, 这可能是 Cu 掺杂引起的 MnO₂ 晶格畸变^[25]。由图 2b、c 可见, Cu-MnO₂-10% 呈现纳米棒状结构, 直径为 20~25 nm, 长径比约为 10, 表面粗糙, 并通过自组装形成较大的类海胆结构; EDS 谱图显示, Mn、O、Cu 3 种元素分布均匀。

图 3 为 MnO₂ 和 Cu-MnO₂-10% 的 N₂ 吸附/脱附等温线和孔径分布图, 其结构参数列于表 1。由图 3a 可见, 根据 IUPAC 分类, MnO₂ 和 Cu-MnO₂-10% 均为 II 型等温线, 具有 H3 型滞后环, 说明两者具有平板狭缝、裂缝和楔形的孔结构。由表 1 可见, Cu-MnO₂ 的比表面积为 301.49 m²/g, 明显高于 MnO₂, 说明 Cu 掺杂有效地增加了材料的比表面积, 从而暴露出更多的活性位点, 可提升其催化活性^[24]。由图 3b 可见, Cu 掺杂使 Cu-MnO₂ 的孔径变小, 平均孔径由 9.159 nm 降至 6.501 nm (表 1)。

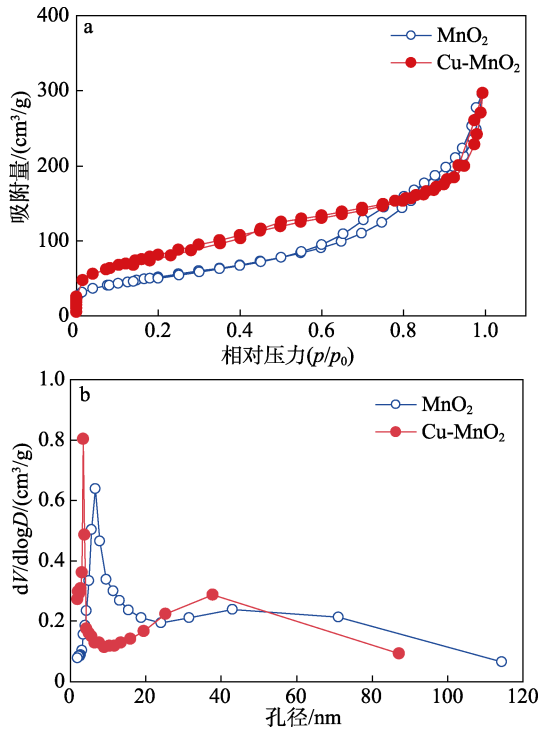


图 3 MnO₂ 和 Cu-MnO₂-10% 的 N₂ 吸附-脱附曲线 (a) 和孔径分布 (b)

Fig. 3 N₂ adsorption-desorption curves (a) and pore size distribution (b) of MnO₂ and Cu-MnO₂-10%

表 1 MnO₂ 和 Cu-MnO₂ 的结构参数

Table 1 Structural parameters of MnO₂ and Cu-MnO₂

材料	比表面积/(m ² /g)		孔结构	
	Langmuir 模型	BET 法	孔容/(cm ³ /g)	孔径/nm
MnO ₂	269.69	190.17	0.00726	9.159
Cu-MnO ₂ -10%	428.60	301.49	0.0176	6.501

采用 XPS 分析了 MnO₂ 和 Cu-MnO₂-10% 表面的价态, 结果见图 4。

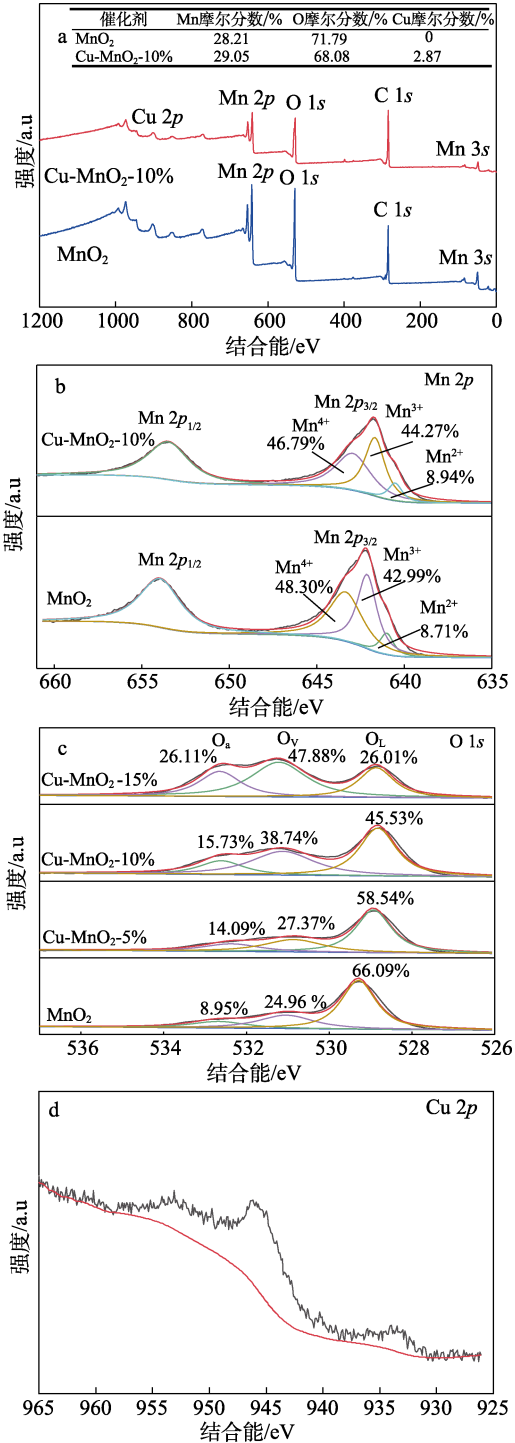


图 4 Cu-MnO₂-10% 的 XPS 全谱 (a) 及 Mn 2p (b)、O 1s (c)、Cu 2p (d) 谱图

Fig. 4 XPS full spectra of Cu-MnO₂-10% (a) and spectra of Mn 2p (b), O 1s (c) and Cu 2p (d)

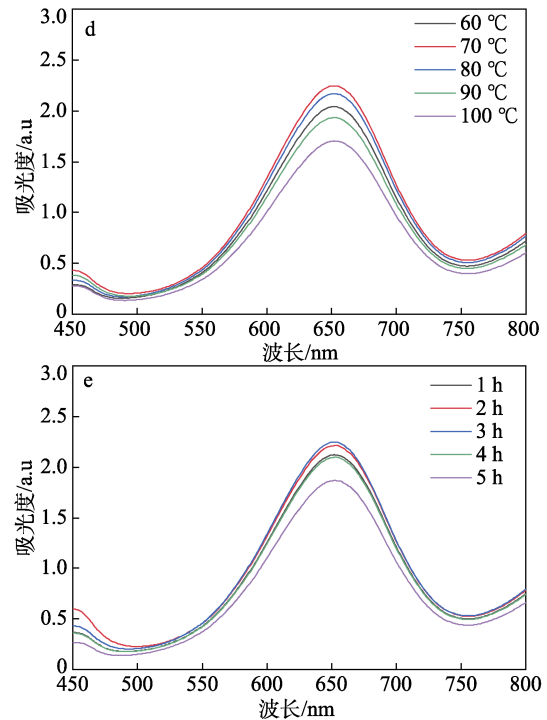
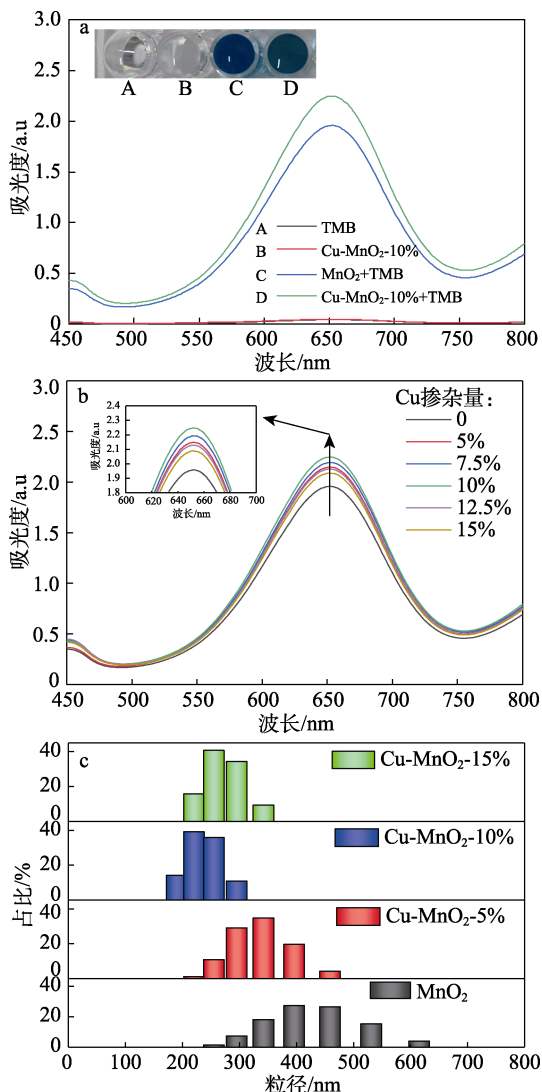
由 MnO₂ 和 Cu-MnO₂-10% 的 XPS 全谱图 (图 4a) 可见, Cu 元素成功掺杂到 MnO₂ 中。内插表为 Cu-MnO₂-10% 掺杂前后元素摩尔分数的变化, 可知 O 摩尔分数下降, 可能是由于 Cu 掺杂生成了大量氧空位所致。由 Cu-MnO₂-10% 的 Mn 2p 的窄谱图 (图 4b) 可见, 在结合能 642.26、653.96 eV 处峰分别对应 Mn 2p_{3/2} 和 Mn 2p_{1/2} 的自旋双轨道, 而在结合能

641.00、642.13 和 643.36 eV 处峰分别对应 Mn^{2+} 、 Mn^{3+} 和 Mn^{4+} ，与 MnO_2 相比， $Cu-MnO_2-10\%$ 中 Mn^{3+} 的占比增加，导致材料的平衡氧化态 (AOS) 降低，有利于电子转移^[1,2,26]。

由 MnO_2 和不同 Cu 掺杂量的 $Cu-MnO_2$ 的 O 1s 谱 (图 4c) 可见，在结合能 529.68、531.18、532.88 eV 处分别为表面晶格氧 (O_L)、氧空位氧 (O_V) 和表面羟基氧 (O_a) 的特征峰，随着 Cu 掺杂量的增加， $Cu-MnO_2$ 中 O_L 占比下降， O_V 和 O_a 占比增加，说明 Cu 掺杂后产生缺陷，提高了氧空位含量，可提高材料的催化性能^[1,25,27]。由 $Cu-MnO_2-10\%$ 的 Cu 2p 窄谱图 (图 4d) 可知，在结合能 932.30~934.10 和 953.90 eV 处有两个明显的峰对应于 $Cu 2p_{3/2}$ 和 $Cu 2p_{1/2}$ ，945.00 eV 处表示 Cu^{2+} 的存在，XPS 证实了 Cu 元素成功掺杂到 MnO_2 中^[6,23]。

2.2 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶性能分析

按 1.3 节方法，在 pH=4.0、温度为 30 °C、10 μL $Cu-MnO_2-10\%$ (质量浓度为 1.0 g/L) 的条件下，以 TMB 为底物测定了 MnO_2 和 $Cu-MnO_2-10\%$ 类氧化物酶的 UV-Vis 吸收谱图，结果见图 5a。



b、d、e—不同 Cu 掺杂量、反应温度和反应时间下制备的 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶的 UV-Vis 吸收谱图；c—不同 Cu 掺杂量下制备的 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶的粒径分布

图 5 MnO_2 和 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶的 UV-Vis 吸收谱图 (a) 及 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶合成条件考察 (b~e)
Fig. 5 UV-Vis adsorption spectra of MnO_2 and $Cu-MnO_2$ oxidase-like (a) and investigation of synthesis conditions of $Cu-MnO_2$ oxidase-like (b~e)

由反应前后溶液的照片 (图 5a 插图) 可见，分别加入 TMB 和 $Cu-MnO_2-10\%$ 时，溶液不显色，而 MnO_2 和 $Cu-MnO_2-10\%$ 两者均能催化 TMB 氧化成蓝色的产物 ox-TMB，说明两者都具有类氧化物酶活性，并且 Cu 掺杂有效提升了氧化物酶活性 (图 5a)。按 1.2 节步骤，在温度为 70 °C、反应时间为 3 h 条件下，制备不同 Cu 掺杂量的 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶，并按 1.3 节测定其活性，结果见图 5b，随着 Cu 掺杂量的增加 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶的活性呈先增加后减小的趋势，这是由于少量 Cu 掺杂可增加 MnO_2 的晶格缺陷和氧空位，有利于溶解氧的吸附，并且 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶的粒径减小 (图 5c)，使其比表面积和有效活性位点数量增加，从而具有较高的催化活性^[25-27]，由此可见， $Cu-MnO_2-10\%$ 的酶活性最佳。过量 Cu 掺杂会引起晶格畸变，当 Cu 掺杂量为 15% 时，类氧化物酶的粒径增大 (图 5c)，同时催化性能下降^[25-27]。由此可见， $Cu-MnO_2-10\%$ 类酶活性最佳。按 1.2 节步骤，在 Cu 掺杂量为 10%、反应时间为 3 h 条件下，考察反应温度对制备 $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶活性的影响，结果见图 5d，随着反应温度的升高， $Cu-MnO_2$ 类氧化物酶活性呈先增加后减小的趋势，在高温下 $Cu-MnO_2$ 晶粒的生长速率大于成核速率，晶粒过度生长，粒径变大，导致活性位点减

少^[21], 制备温度为 70 °C 的类酶活性最佳。按 1.2 节步骤, 在 Cu 掺杂量为 10%、温度为 70 °C 条件下, 考察制备时间对 Cu-MnO₂ 类氧化物酶活性的影响, 结果见图 5e, 随着反应时间的延长, 类酶活性呈先升高后降低的趋势, 但反应时间过长导致 Cu-MnO₂ 的晶粒尺寸增大, 其类酶活性减小 (图 5e)^[3,28]。简而言之, 当 Cu 掺杂量为 10%, 70 °C 下反应 3 h 制备的 Cu-MnO₂ 类酶活性最佳, 后期对类酶活性条件的优化和催化降解 RhB 均使用最佳条件制备的 Cu-MnO₂。

同样, 按 1.3 节方法, 研究体系中 Cu-MnO₂ 质量浓度 (0.1~1.2 g/L)、pH (2.0~7.0)、孵育温度 (20~60 °C) 对 Cu-MnO₂ 类氧化物酶活性的影响, 结果见图 6a~c。

由图 6a 可见, 在 pH 为 4.0、孵育温度为 30 °C 时, 随着 Cu-MnO₂ 质量浓度的增加, 吸光度逐渐增强, 当 Cu-MnO₂ 质量浓度超过 1.0 g/L 时, 吸光度变化幅度不大, 因此, 选择质量浓度为 1.0 g/L 的 Cu-MnO₂ 进行后续实验。在 Cu-MnO₂ 的质量浓度为 1.0 g/L、孵育温度为 30 °C 时, 不同 pH 条件下, 纳米酶表面的电荷状态会发生变化, 进而影响纳米酶与底物之间的相互作用^[29]。由图 6b 可见, 当 pH 为 4.0 时, 溶液在 652 nm 处吸光度最大; 在 pH=3.0~6.0 较宽的范围内 Cu-MnO₂ 仍能保持较好的类酶活性, 这主要是由于 Cu-MnO₂ 类氧化物酶的底物 TMB 是有机物质, 在酸性条件下失去电子生成蓝色的氧化产物 ox-TMB; 当 pH 降至 2.0、3.0 后, TMB 被催化氧化产生黄色的二亚胺物质, 在 450 nm 处有特征峰^[29]。由图 6c 可见, 在 Cu-MnO₂ 质量浓度为 1.0 g/L、pH 为 4.0, Cu-MnO₂ 在 20~45 °C 内类酶活性基本稳定; 当孵育温度为 25 °C 时, Cu-MnO₂ 类酶活性最高; 当孵育温度为 50 °C 时, Cu-MnO₂ 类酶活性略微降低。动力学结果表明 (图 6d、表 2), Cu-MnO₂ 与 TMB 底物的催化反应遵循 Michaelis-Menten 方程, 采用 Lineweaver-Burk 作图法绘制底物 TMB 浓度和反应速率双倒数曲线, 分别求得 Cu-MnO₂ 类氧化物酶对 TMB 的米氏常数 (K_m) 和最大反应速率 (v_{max}), 可以看出, Cu-MnO₂ 的 K_m 低于其他类氧化物酶活性材料, 表明其与底物的亲和力较强。此外, Cu-MnO₂ 具有更高的 v_{max} , 说明其具有更高的催化效率。

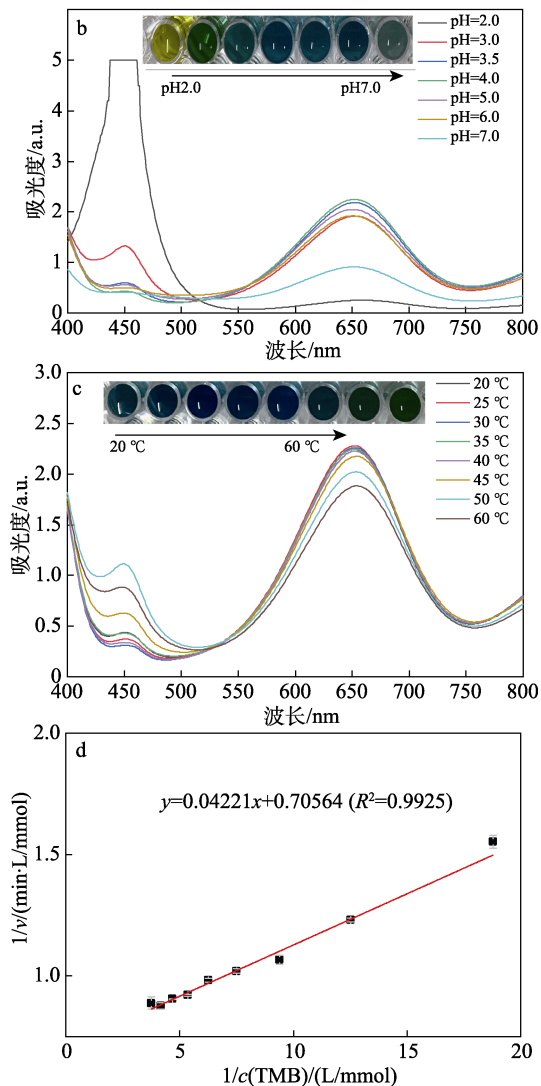
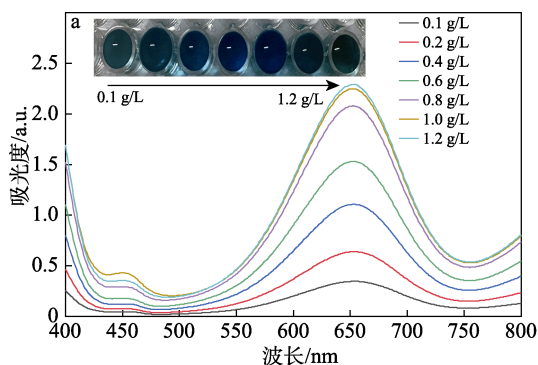


图 6 Cu-MnO₂ 在不同酶活测定条件下的 UV-Vis 吸收谱图 (插图为不同条件下催化氧化 TMB 的颜色变化): Cu-MnO₂ 质量浓度 (a)、pH (b)、温度 (c) 和稳态动力学拟合线 (d)

Fig. 6 UV-Vis adsorption spectra of enzyme activity of Cu-MnO₂ (Inset shows the color change of catalytic oxidation of TMB under different conditions): Cu-MnO₂ mass concentration (a), pH (b), temperature (c) and steady-state kinetic analysis (d)

表 2 Cu-MnO₂ 和其他类酶材料 TMB 稳态动力学拟合参数的比较

Table 2 Comparison of the steady-state kinetic fitting parameters toward TMB of Cu-MnO₂ and other oxidase-like materials

材料	比较			参考文献
	底物	K_m / (mmol/L)	v_{max} / [mmol / (L·min)]	
HRP	TMB	6.60		[30]
MnO ₂	TMB	0.0314~0.378	0.0804~0.441	[19]
MnO ₂	TMB	0.1067	0.0186	[31]
Fe ₃ O ₄ @C@MnO ₂	TMB	0.113	0.0118	[32]
Cu-MnO ₂	TMB	0.0598	1.417	本文

注: HRP 为辣根过氧化物酶。

2.3 Cu-MnO₂类氧化物酶降解 RhB 性能分析

按 1.4 节实验, 在温度为 30 °C、pH=3.0 时, 考察 Cu 掺杂量对 Cu-MnO₂类酶催化降解 RhB 性能的影响, 见图 7a。在 30 min 内 MnO₂对 RhB 的降解率为 88%, 而 Cu-MnO₂-10%能完全降解 RhB, 说明 Cu 掺杂 MnO₂的类酶催化性能得到提升, 能加速降解 RhB, 这与 Cu 掺杂提升类酶活性的结果相一致。图 7b 显示了 Cu-MnO₂类酶催化降解 RhB 进程 (插图为颜色变化), RhB 被降解 2 min 后, RhB 的特征吸收峰发生明显的蓝移, A₅₅₄ 值迅速下降, 并伴随着明显褪色, 这可能是 RhB 去乙基化造成的^[2]。按 1.4 节实验, 考察 Cu-MnO₂类酶加入量 (2~12 mg)、pH (2.0~7.0)、温度 (20~60 °C) 和 RhB 质量浓度 (10~60 mg/L) 对 RhB 降解率的影响, 结果见图 7c~f。

由图 7c 可看出, 当 pH=3.0、温度为 30 °C、RhB 水溶液质量浓度为 30 mg/L 时, 随着 Cu-MnO₂ 投加量的增加, RhB 降解率增大; 当 Cu-MnO₂ 加入量为 10 mg 时, 初始质量浓度为 30 mg/L 的 RhB 在反应 30 min 降解率达到 100%。pH 是影响类酶催化活性的重要条件, 故对 RhB 的降解性能也具有较大的影响。当 Cu-MnO₂ 投加量为 10 mg、温度为 30 °C、RhB 水溶液质量浓度为 30 mg/L 时, 研究 pH 对 RhB 降解率的影响。由图 7d 可见, pH=2.0~4.0 的酸性条件下, RhB 降解效果最佳, 这与 Cu-MnO₂ 在酸性条件下具有高类酶催化活性相一致。当 Cu-MnO₂ 投加量为 10 mg、pH=3.0、RhB 水溶液质量浓度为 30 mg/L 时, 研究不同温度对 RhB 降解率的影响, 结果由图 7e 可见, 不同温度仅对 RhB 的初期降解速率产生一定影响, 反应 30 min 时 RhB 均可完全降解, 因此, RhB 降解实验选择在常温下进行。

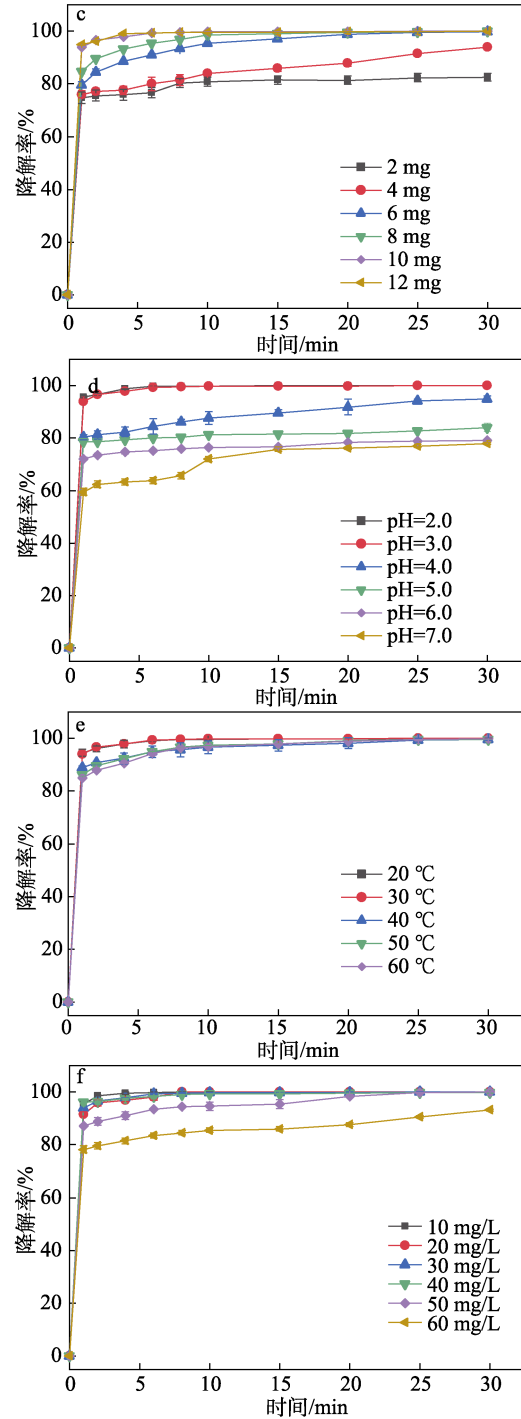
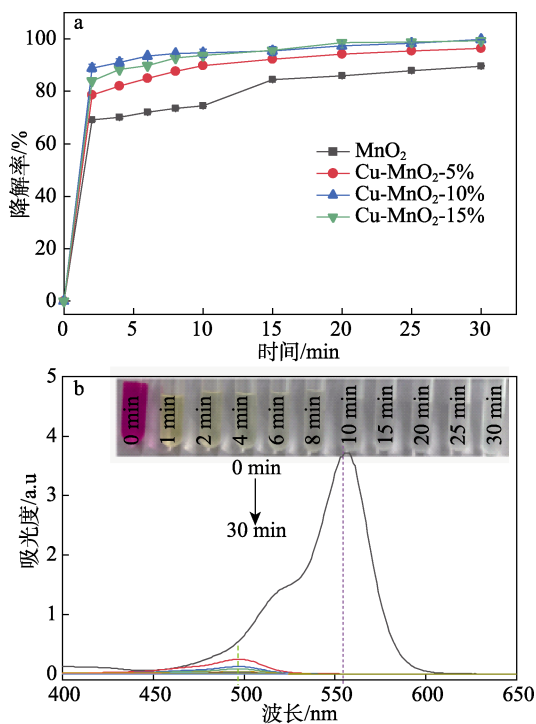


图 7 不同 Cu 掺杂量 Cu-MnO₂ 类氧化物酶催化降解 RhB 曲线 (a), Cu-MnO₂ 催化降解 RhB 进程的 UV-Vis 吸收谱图 (内插图为颜色变化) (b), 不同条件下 Cu-MnO₂ 类酶催化降解 RhB 曲线: 投加量 (c)、pH (d)、温度 (e) 和 RhB 质量浓度 (f)

Fig. 7 Catalytic degradation curves of RhB by different Cu-doped Cu-MnO₂ oxidase-like enzyme (a), UV-Vis adsorption spectra of Cu-MnO₂ catalyzed RhB degradation process (Inset shows the color change) (b), Cu-MnO₂ oxidase-like enzyme catalyzed RhB degradation curves under different conditions: Dosage (c), pH (d), temperature (e) and RhB mass concentration (f)

当 Cu-MnO₂ 投加量为 10 mg、pH=3.0、温度为

30 °C 时, 研究了 Cu-MnO₂ 类氧化物酶对不同初始质量浓度 (10~60 mg/L) RhB 的降解效果, 结果见图 7f。当 RhB 初始质量浓度为 50 mg/L 时, RhB 在 30 min 内完全降解, 而当 RhB 物质质量浓度增至 60 mg/L, RhB 降解率下降, 这可能是由于大量的 RhB

及降解中间产物会占据反应活性位点, 导致降解率下降。与已有文献报道相比 (表 3), Cu-MnO₂ 类氧化物酶能催化溶解氧产生 ROS 用于快速降解 RhB, 无需额外氧化剂的协助, 是一种绿色环保的污染物处理方法。

表 3 不同锰氧化物催化剂降解 RhB 的催化性能比较

Table 3 Comparison of catalytic performance of different manganese oxide catalysts for degradation of RhB

催化剂	锰基氧化物催化降解 RhB 体系参数					参考文献
	催化剂质量浓度/(g/L)	RhB 质量浓度/(mg/L)	条件	降解率/%	时间/min	
α -MnO ₂	0.2	50 mL 5 mg/L	pH=3.0	90	80	[33]
Mn ₂ CuO ₄	0.2	50 mL 5 mg/L	H ₂ O ₂ (6 mmol/L)	96	45	[34]
MnO ₂	0.5	10 mL 5 mg/L	pH=2.5	97.6	10	[6]
CuO _x /OMS	0.1	100 mL 20 mg/L	PMS (0.83 mmol/L)	98	180	[24]
MnO ₂	0.1	250 mL 2.5 mg/L	pH=3.0	99	10	[26]
MnO ₂	0.1	50 mL 20 mg/L	0.25 g/L PMS, pH=3.3	99	12	[9]
Cu-MnO ₂	0.1	100 mL 50 mg/L	pH=3.0	100	30	本文

注: OMS 代表氧化锰八面体分子筛; PMS 代表过一硫酸盐。

此外, 在 pH=3.0、温度为 30 °C、RhB 水溶液质量浓度为 30 mg/L 条件下, 考察了浓度为 1 mmol/L 的共存离子 (NaCl、KCl、CaCl₂、MgCl₂、FeCl₃、NaAc、Na₂CO₃、NaNO₃、Na₂SO₄、Na₂HPO₄) 和质量浓度为 10 mg/L 的腐植酸 (HA) 对 Cu-MnO₂ 的催化降解性能的影响, 结果见图 8a。

由图 8a 可见, 在所有共存离子中, Fe³⁺ 加入后对类酶的催化性能影响最大, RhB 降解率下降了 10%, 这可能是 Fe³⁺ 与 Cu-MnO₂ 发生氧化还原反应, 削弱了 Cu-MnO₂ 的氧化能力, 进而影响其催化降解性能^[29]。由于 HA 会与 RhB 竞争材料表面的活性位点, 甚至阻塞材料的部分介孔通道, 因此, HA 的加入会降低 Cu-MnO₂ 催化降解 RhB 的效能^[35]。循环使用实验 (图 8b) 结果表明, Cu-MnO₂ 使用 5 次后 RhB 降解率降至 75%, 可能是由于 Cu-MnO₂ 催化剂表面浸出了少量金属离子, 以及污染物吸附在材料上覆盖了活性位点, 导致有效催化活性位点减少^[34-35]。因此, 可将 Cu-MnO₂ 负载在惰性载体上以提高循环稳定性。

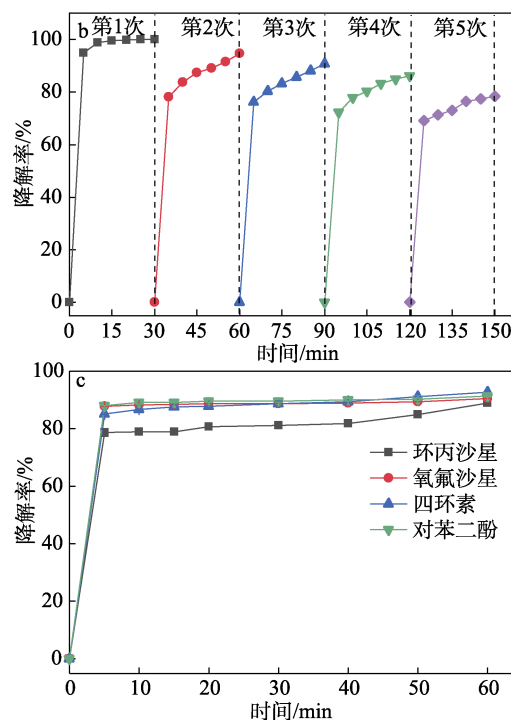
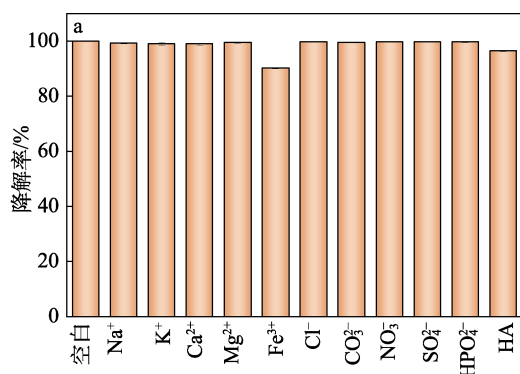


图 8 共存离子和 HA 对 RhB 降解率的影响 (a)、催化剂循环使用性 (b) 和 Cu-MnO₂ 对其他污染物的催化降解曲线 (c)

Fig. 8 Effect of coexisting ions and HA on degradation rate of RhB (a), recycling performance (b) and degradation curves of other pollutants by Cu-MnO₂ (c)

最后, 探究了 Cu-MnO₂ 对抗生素和酚类污染物 (CIP、OFL、TC、HQ) 的降解性能。在 100 mL 初始质量浓度为 10 mg/L 的抗生素和酚类污染物中投加 10 mg Cu-MnO₂ 测定其对污染物的降解性能, 结果如图 8c 所示。可以看出, 在 60 min 内 Cu-MnO₂

对 CIP、OFL、TC 和 HQ 的降解率分别为 88.86%、90.47%、92.62%和 90.99%，说明 Cu-MnO₂ 不仅能有效降解 RhB，也能降解一些难降解的抗生素和酚类污染物，表明 Cu-MnO₂ 类氧化物酶对污染物具有普适性。

2.4 Cu-MnO₂ 类酶催化降解 RhB 的机理分析

选择 PBQ、IPA、AO、L-Trp 分别作为 O₂⁻、•OH、h⁺ 和 ¹O₂ 的捕获剂进行捕获实验，结果见图 9。

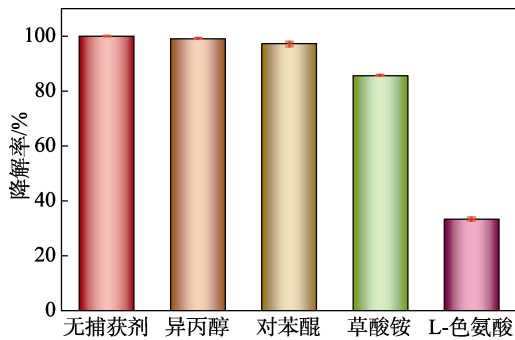


图 9 自由基猝灭实验
Fig. 9 Radical quenching experiments

由图 9 可见，加入 IPA 对 RhB 降解率几乎没有影响，说明•OH 不是降解过程的主要活性氧基团。在反应体系中加入 PBQ 和 AO，RhB 降解率略有下降，说明体系中存在 O₂⁻、h⁺，但不起主导作用。

而加入 L-Trp 后，RhB 降解率明显降低，说明 ¹O₂ 是 Cu-MnO₂ 催化降解污染物反应中最主要的活性物质。这是由于 Cu-MnO₂ 纳米酶丰富的表面氧空位上的吸附态氧能被原位催化生成 ¹O₂ 用于高效催化降解^[9,33]。

Cu-MnO₂ 类酶催化降解 RhB 机理示意图见图 10。Cu-MnO₂ 中 Mn²⁺/Mn³⁺/Mn⁴⁺ 与 Cu⁺/Cu²⁺ 之间存在强金属键和不同的电负性，使得电子离域，有利于促进活性氧的生成；在酸性条件下，Cu-MnO₂ 类氧化物酶晶格中大量氧空位能为溶解氧提供附着位点，生成具有强氧化性的 ¹O₂ 和 O₂⁻，同时在氧空位中形成电子-空穴 (h⁺) [式 (2)~(6)]，从而在没有任何外部辅助的条件下 RhB 发生去 N-乙基化，依次生成 N,N',N''-三乙基罗丹明、N,N'-二乙基罗丹明、N-乙基罗丹明和罗丹明，并最终降解为 CO₂ 和 H₂O 等小分子物质 [式 (7)]^[2,6,25,34]。

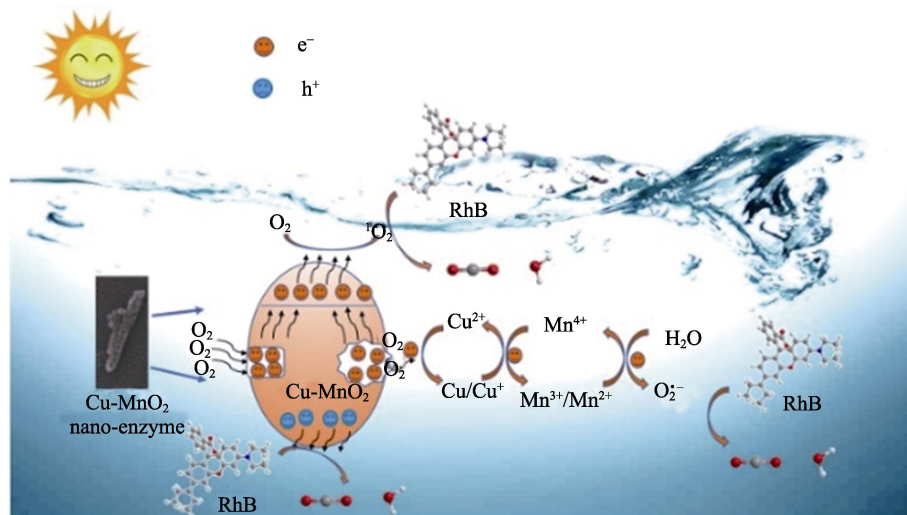
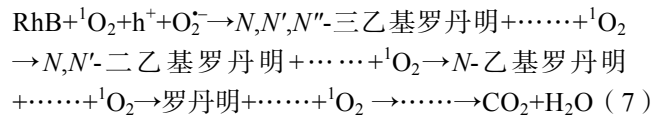
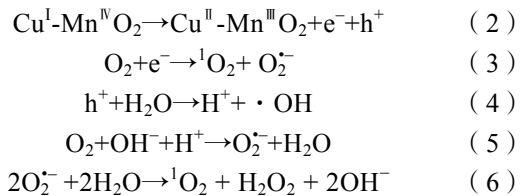


图 10 Cu-MnO₂ 类氧化物酶催化降解 RhB 机理示意图
Fig. 10 Schematic illustration of catalytic mechanism over Cu-MnO₂ oxidase-like enzyme

3 结论

采用水热法制备了类海胆结构团簇 Cu-MnO₂ 类氧化物酶，Cu 的掺入使 Cu-MnO₂ 的晶格中产生大量的氧缺陷位点，有利于氧空位形成，同时铜锰金属之间的协同作用促进电子的转移，进而有效地提高了 Cu-MnO₂ 类氧化物酶活性。室温下，在 30 min

内可彻底降解 RhB，并且对难降解的抗生素和酚类也具有好的降解效果，是一种通用的环境修复催化剂。机理研究表明，富含氧空位的 Cu-MnO₂ 类氧化物酶中含有丰富的空穴，并且能高效催化溶液中的溶解氧生成大量的 ¹O₂ 和少量的 O₂⁻ 等活性物种用于快速降解 RhB，本研究为类氧化物酶等纳米酶催化处理染料等环境污染物提供了一种新的思路。

参考文献:

- [1] XIAO Y, HUO W, YIN S N, *et al.* One-step hydrothermal synthesis of Cu-doped MnO₂ coated diatomite for degradation of methylene blue in Fenton-like system[J]. *Journal Colloid and Interface Science*, 2019, 556: 466-475.
- [2] LIU X H, LU S Y, GUO W, *et al.* MnO₂ aerogels for highly efficient oxidative degradation of Rhodamine B[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(48): 30283-30288.
- [3] XU Y L, REN B, WANG R, *et al.* Facile preparation of rod-like MnO nanomixtures *via* hydrothermal approach and highly efficient removal of methylene blue for wastewater treatment[J]. *Nanomaterials*, 2019, 9(1): 1-16.
- [4] SABNA V, THAMPI S G, CHANDRAKARAN S. Degradation of Rhodamine B with manganese dioxide nanorods[J]. *Journal of Water and Health*, 2018, 16(5/6): 846-856.
- [5] SELLAOUI L, GOMEZ-AVILES A, DHAOUADI, *et al.* Adsorption of emerging pollutants on lignin-based activated carbon: Analysis of adsorption mechanism *via* characterization, kinetics and equilibrium studies[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 452: 139399.
- [6] LIU X, HUANG Y, ZHAO P Q, *et al.* Precise Cu localization-dependent catalytic degradation of organic pollutants in water[J]. *ChemCatChem*, 2019, 12(1): 175-180.
- [7] GAN J S, MUHAMMAD B L, LI X B, *et al.* Peroxidases-based enticing biotechnological platforms for biodegradation and biotransformation of emerging contaminants[J]. *Chemosphere*, 2022, 307: 136035.
- [8] ZHANG Y T, LIU C, XU B B, *et al.* Degradation of benzotriazole by a novel Fenton-like reaction with mesoporous Cu/MnO₂: Combination of adsorption and catalysis oxidation[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2016, 199: 447-457.
- [9] BI X R, HUANG Y, LIU X, *et al.* Oxidative degradation of aqueous organic contaminants over shape-tunable MnO₂ nanomaterials *via* peroxymonosulfate activation[J]. *Separation and Purification Technology*, 2021, 275: 119141.
- [10] RAMAKRISHNA D, RAJKUMAR B, MADHUSUDHAN A, *et al.* Effective fabrication of cellulose nanofibrils supported Pd nanoparticles as a novel nanozyme with peroxidase and oxidase-like activities for efficient dye degradation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 436: 129165.
- [11] LEONTIE A R, RUCAN A, CULI D C, *et al.* Laccase immobilized on chitosan-polyacrylic acid microspheres as highly efficient biocatalyst for naphthol green B and indigo carmine degradation[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 439: 135654.
- [12] ZHANG J C, BAI Q, BI X L, *et al.* Piezoelectric enhanced peroxidase-like activity of metal-free sulfur doped graphdiyne nanosheets for efficient water pollutant degradation and bacterial disinfection[J]. *Nano Today*, 2022, 43: 101429.
- [13] HUANG Y Y, REN J S, QU X G. Nanozymes: Classification, catalytic mechanisms, activity regulation, and applications[J]. *Chemical Reviews*, 2019, 119(6): 4357-4412.
- [14] GUAN H N (关桦楠), XUE Y (薛悦), PENG B (彭勃), *et al.* Rapid removal of organic pollutants from water using Fenton reaction nanometrics[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(9): 1738-1743.
- [15] SHEN X M, LIU W Q, GAO X J, *et al.* Mechanisms of oxidase and superoxide dismutation-like activities of gold, silver, platinum, and palladium, and their alloys: A general way to the activation of molecular oxygen[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(50): 15882-15891.
- [16] LIU Q W, ZHANG A, WANG R H, *et al.* A review on metal- and metal oxide-based nanozymes: Properties, mechanisms, and applications[J]. *Nano-Micro Letters*, 2021, 13(1): 147-199.
- [17] ZHENG Y N (郑燕宁), JI J R (季军荣), LIANG X L (梁雪玲), *et al.* Study on the properties of nitrogen-doped hollow carbon ball oxides[J]. *Journal of Inorganic Materials (无机材料学报)*, 2021, 36(5): 527-534.
- [18] LIU M X, ZHANG H, CHEN S, *et al.* MnO₂-graphene oxide hybrid nano material with oxidase-like activity for ultrasensitive colorimetric detection of cancer cells[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2021, 413: 4451-4458.
- [19] WAN Y, QI P, ZHANG D, *et al.* Manganese oxide nanowire-mediated enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *Biosens Bioelectron*, 2012, 33 (1): 69-74.
- [20] ZHENG Y N, XU D P, SUN L X, *et al.* Construction of a bioinspired Fe₃O₄/N-HCS nanozyme for highly sensitive detection of GSH[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, 648: 129046.
- [21] TANG M L, ZHANG Z C, SUN T D, *et al.* Manganese-based nanozymes: Preparation, catalytic mechanisms, and biomedical applications[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2022, 11(21): 2201733.
- [22] YANG R J, FAN Y Y, YE R Q, *et al.* MnO₂-based materials for environmental applications[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(9): 2004862.
- [23] GAO J J, JIA C M, ZHANG L P, *et al.* Tuning chemical bonding of MnO₂ through transition-metal doping for enhanced CO oxidation[J]. *Journal of Catalysis*, 2016, 341: 82-90.
- [24] YANG Y Y, ZHANG P P, HU K S, *et al.* Sustainable redox processes induced by peroxymonosulfate and metal doping on amorphous manganese dioxide for nonradical degradation of water contaminants[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2021, 286: 119903.
- [25] HUANG Y L, TIAN X K, NIE Y L, *et al.* Enhanced peroxymonosulfate activation for phenol degradation over MnO₂ at pH 3.5-9.0 *via* Cu(II) substitution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 360: 303-310.
- [26] CHIAM S, PUNG S, YEOH F Y, *et al.* Highly efficient oxidative degradation of organic dyes by manganese dioxide nanoflowers[J]. *Materials Chemistry and Physics*, 2022, 280: 125848.
- [27] HASTUTI E, SUBHAN A, AMONPATTARATKIT P, *et al.* Oxidation state, local structure distortion, and defect structure analysis of Cu doped alpha-MnO₂ correlated to conductivity and dielectric properties[J]. *Heliyon*, 2022, 8(11): 11459.
- [28] JIANG G H (蒋光辉), CHEN H Q (陈海清). Preparation of α -MnO₂ nanoparticles by liquid phase co-precipitation[J]. *Hunan Nonferrous Metals (湖南有色金属)*, 2018, 34(4): 49-53.
- [29] SONG H, WANG Y H, WANG G Q, *et al.* Ultrathin two-dimensional MnO₂ nanosheet as a stable coreactant of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine chromogenic substrate for visual and colorimetric detection of iron(II) ion[J]. *Microchimica Acta*, 2017, 184(9): 3399-3404.
- [30] EL-NAGGAR M E, ABDEL-ATY A M, WASSEL A R, *et al.* Immobilization of horseradish peroxidase on cationic microporous starch: Physico-bio-chemical characterization and removal of phenolic compounds[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 181: 734-742.
- [31] MENG Y X, ZHAO K F, ZHANG Z K, *et al.* Effects of crystal structure on the activity of MnO₂ nanorods oxidase mimics[J]. *Nano Research*, 2020, 13(3): 709-718.
- [32] XING Y Y, CHEN M L, ZHAO Y Q, *et al.* Triple-enzyme mimetic activity of Fe₃O₄@C/MnO₂ composites derived from metal-organic frameworks and their application to colorimetric biosensing of dopamine[J]. *Microchimica Acta*, 2022, 189: 12.
- [33] LIU Y, NIU M S, YI X L, *et al.* Boron vacancies of mesoporous MnO₂ with strong acid sites, free Mn³⁺ species and macropore decoration for efficiently decontaminating organic and heavy metal pollutants in black-odorous waterbodies[J]. *Applied Surface Science*, 2021, 561: 150081.
- [34] BHOWMICK S, MOI C T, KALITA N, *et al.* Spontaneous Fenton-like dye degradation in clustered-petal di-manganese copper oxide by virtue of self-cyclic redox couple[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(5): 106094.
- [35] WANG L (王磊), CHENG X X (成先雄), LIAN J F (连军锋), *et al.* Degradation of azo dye by catalyzed persulfate with spinel *c*-CuFe₂O₄[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(10): 2117-2124.