



微生物耦合 CdS 光催化降解磺胺甲噁唑的机理研究

陈泉林¹, 梁競文¹, 曾翠平², 刘广立¹, 张仁铎¹, 骆海萍¹

(1. 中山大学环境科学与工程学院, 广东省环境污染控制与修复技术重点实验室, 广东广州

510006; 2. 中国科学院深圳先进技术研究院, 深圳合成生物学创新研究院,

中国科学院定量工程生物学重点实验室, 广东深圳 518055)

[摘要] 通过在产乙酸混菌表面合成 CdS, 构建了微生物耦合 CdS 光催化系统, 并考察了该系统对磺胺甲噁唑 (Sulfamethoxazole, SMX) 的降解性能以及降解机理。结果表明, 当 CdS 浓度为 2 mmol/L、光照强度为 50 mW 时, 耦合系统能够在 24 h 内实现对 2 mg/L SMX 的 100% 去除; 相比之下, 单一微生物体系和 CdS 光催化体系的 SMX 去除率分别为 31% 和 27%。在 CdS 浓度为 0.5~4.0 mmol/L 条件下, 耦合系统对 SMX 的去除率与 CdS 浓度呈现正相关关系。产物分析结果表明, 与单一光催化或生物降解过程相比, 微生物耦合光催化降解可促使 SMX 转化为结构简单的降解产物——3-氨基异噁唑。

[关键词] 微生物; 硫化镉; 耦合光催化系统; 磺胺甲噁唑

[中图分类号] X703.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-829X(2022)06-0067-07

Mechanism of microbial coupling CdS photocatalytic degradation of sulfamethoxazole

CHEN Quanlin¹, LIANG Jingwen¹, ZENG Cuiping², LIU Guangli¹, ZHANG Renduo¹, LUO Haiping¹

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Environmental Pollution Control and Remediation Technology, School

of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China; 2. CAS Key

Laboratory of Quantitative Engineering Biology, Shenzhen Institute of Synthetic Biology, Shenzhen

Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

Abstract: A microbe-coupled CdS photocatalytic system was constructed by synthesizing CdS on the cell surface of acetogenic mixed culture, and its degradation performance and mechanism on sulfamethoxazole (SMX) were investigated. The results showed that the coupling system could achieve 100% removal of 2 mg/L SMX within 24 h, with the initial CdS concentration of 2 mmol/L and the light intensity of 50 mW. In comparison, SMX removal efficiency in the single acetogens or CdS photocatalysis were 31% and 27%, respectively. With the CdS concentration ranged in 0.5–4.0 mmol/L, the removal rate of SMX in the coupled system was positively correlated with the CdS concentration. The product analysis results showed that compared with a single photocatalytic or biodegradation process, the microbial coupling photocatalytic degradation could promote the conversion of SMX into a simple structure degradation product: 3-aminoisoxazole.

Key words: microorganism; CdS; coupled photocatalytic system; sulfamethoxazole

磺胺甲噁唑 (Sulfamethoxazole, SMX) 是一种典型的磺胺类抗生素 (Sulfonamides, SAs), 被广泛应用于畜牧、水产养殖和人类医学等领域^[1]。SMX 在环境中的稳定性强, 难以被微生物降解, 且其在水中的

迁移能力强, 对地下水和饮用水安全构成一定的威胁, 因此研究磺胺甲噁唑的降解具有重要意义^[2-3]。目前常规污水处理工艺对 SMX 的去除效果有限^[4], 物理去除技术、高级氧化技术、生物处理技术等都有

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (4207286); 中央高校基本科研业务费重点培育项目 (19lgzd27)

在一定的技术制约和条件限制。

产乙酸混菌中细菌种类丰富,并且存在天然的相互作用,其在代谢过程中的氧化还原反应也使其具备降解污染物的巨大潜能。同型产乙酸菌是一类能够利用乙酰辅酶A途径固定CO₂的微生物类群,在Cd²⁺胁迫下,同型产乙酸菌能够利用自身代谢过程在温和条件下形成具有特定形态和结构的CdS纳米颗粒,CdS在光激发下产生的电子能够为同型产乙酸菌提供电子供体,在无其他电子供体存在的情况下实现高效产酸和光能向化学能的转化^[5-6],该系统已在能源生产、生物制造等领域展现出巨大的潜力。然而,目前关于SMX降解的研究多以纯菌为主,关于混合菌群-CdS耦合系统降解SMX的研究甚少。

微生物耦合半导体光催化系统能够结合微生物的生物催化性能和半导体材料的光催化降解性能,在含多环芳烃、偶氮染料等废水的处理中展现出优异的降解性能,但关于这一系统降解药品和个人护理用品(PPCPs)类污染物的效果及机制研究仍较为欠缺。在产乙酸混菌-CdS耦合系统中,CdS具有良好的导电性、较大的比表面积、优异的可见光催化性能以及良好的生物相容性,能够促进微生物的光电化学过程^[6]。CdS在可见光激发下产生的电子和空穴能够驱动氧化还原反应,将复杂污染物转化为结构简单的中间产物,光催化和生物催化的协同作用有望实现SMX的高效降解。

本研究采用产乙酸混菌构建产乙酸混菌-CdS耦合系统,通过SEM、EDS、XRD表征证实CdS在细菌表面成功合成,考察了该系统对SMX的降解性能和CdS浓度对降解效果的影响,利用LC-MS分别探究了SMX的生物降解路径、光催化降解路径以及在微生物耦合光催化系统中的降解路径。

1 实验部分

1.1 试剂及仪器

试剂:磺胺甲噁唑(质量分数98%,阿拉丁)、L-半胱氨酸盐酸盐无水物(质量分数98%,麦克林)和Cd(NO₃)₂·4H₂O(质量分数99%,麦克林),均为分析纯。

自养培养基A成分:0.5 g/L NH₄Cl、0.1 g/L KCl、0.412 4 g/L MgCl₂·6H₂O、0.05 g/L CaCl₂、0.458 4 g/L K₂HPO₄·3H₂O、0.23 g/L KH₂PO₄、2.1 g/L 2-溴乙基磺酸

钠、10 mL微量元素溶液[1.5 g/L 氨三乙酸、3 g/L MgSO₄·H₂O、0.5 g/L MnSO₄·H₂O、1 g/L NaCl、0.1 g/L FeSO₄·7H₂O、0.1 g/L CaCl₂·2H₂O、0.1 g/L CoCl₂·6H₂O、0.13 g/L ZnCl₂、0.01 g/L CuSO₄·5H₂O、0.01 g/L AlK(SO₄)₂·12H₂O、0.01 g/L H₃BO₃、0.025 g/L Na₂MoO₄、0.024 g/L NiCl₂·6H₂O、0.025 g/L Na₂WO₄·2H₂O]、10 mL维生素溶液(2 mg/L维生素H、5 mg/L维生素B₁、10 mg/L维生素B₆、5 mg/L维生素B₂、2 mg/L叶酸、5 mg/L烟酸、5 mg/L泛酸、0.1 mg/L维生素B₁₂、5 mg/L对氨基苯甲酸、5 mg/L维生素B₁₄)。

富集培养基B成分:0.4 g/L NaCl、0.4 g/L NH₄Cl、0.272 2 g/L MgCl₂·6H₂O、0.05 g/L CaCl₂、0.25 g/L KCl、0.8 g/L β-甘油磷酸钠、2.5 g/L NaHCO₃、0.5 g/L酵母粉、0.5 g/L蛋白胨、10 mL微量元素溶液(成分同上)、10 mL维生素溶液(成分同上)。

仪器:HZQ-F100恒温振荡培养箱,苏州培英实验设备有限公司;NB-1M磁力搅拌器,苏州九联科技有限公司;P230 II高效液相色谱仪,大连依利特分析仪器公司;Orbitrap Fusion Lumos三合一高分辨质谱系统(LC-MS),美国ThermoFisher;Sigma 500场发射扫描电镜,德国Carl Zeiss;Sigma 500能谱仪,德国Bruker;Ultima IV X射线衍射仪,日本理学。

1.2 实验所用菌种来源

本研究使用的产乙酸混菌来自实验室成功驯化与富集的高效产乙酸菌群微生物混合培养物。

1.3 微生物-CdS耦合系统的构建

将产乙酸混菌接种至自养培养基A中活化培养至OD₆₀₀达到0.2后,接种5%(体积分数)菌液至富集培养基B中,通合成气[V(H₂)/V(CO₂)=80/20]5~10 min后,放置于恒温振荡培养箱中培养2 d(180 r/min,30 ℃)。微生物富集后,在通合成气的同时加入1 g/L的L-半胱氨酸盐酸盐和1 mmol/L Cd(NO₃)₂溶液,混合均匀后继续培养3 d。当菌液由乳白色变为黄色,即表明微生物-CdS耦合系统成功构建。

1.4 光催化降解实验

产乙酸混菌-CdS耦合系统离心弃去上清液后重新分散于装有自养培养基A的厌氧瓶(18 mL)中,补充1 g/L的L-半胱氨酸盐酸盐,SMX质量浓度为2 mg/L,反应液体积为10 mL,在模拟光照(白光灯,波长范围为442~447 nm,光照强度为50 mW)条件下,将厌氧瓶放置于磁力搅拌器中启动微生物耦合CdS光催化降解SMX实验。用锡箔纸将厌氧瓶包裹

3层以模拟无光照下微生物降解SMX的实验,将微生物灭菌处理以模拟光催化降解SMX实验。在反应时间为0、3、6、9、12、24 h时分别取样0.5 mL,经0.22 μm 微孔滤膜过滤后,采用高效液相色谱仪测定SMX的浓度,采用液相色谱-质谱联用仪在正负离子模式下检测SMX的降解产物。

2 结果与讨论

2.1 产乙酸混菌-CdS耦合系统的合成

产乙酸混菌-CdS耦合系统的扫描电镜表征结果如图1所示。

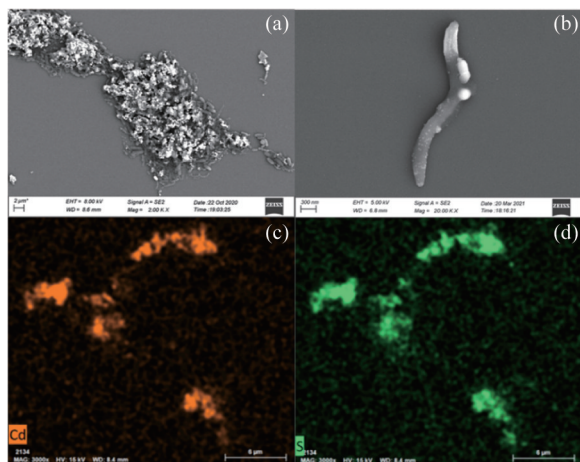


图1 产乙酸混菌-CdS耦合系统的SEM(a)、(b)和EDS(c)、(d)

Fig. 1 SEM(a),(b) and EDS(c),(d) of the system coupling homoacetogenic bacteria and CdS

由图1(a)可见,产乙酸混菌-CdS耦合系统中存在球形、弧形以及杆状等形态的细菌,这些细菌表面均匀分布着大量球状颗粒。由图1(b)可见,球形颗粒紧密地覆盖在细菌表面。对这些球形颗粒进行EDS表征,结果如图1(c)、1(d)所示,球状颗粒的主要组成元素为Cd和S,且比例接近1:1,初步证实CdS在产乙酸混菌表面成功合成。

产乙酸混菌-CdS耦合系统的XRD分析结果如图2所示。

图2中 26.58° 、 43.94° 和 52.08° 处出现3个峰,分别对应于立方体CdS的(111)、(220)和(311)面,这与标准卡片PDF#42-1411一致,再次证实CdS在产乙酸混菌表面成功合成。X射线衍射峰宽,说明合成的CdS晶粒尺寸小^[7-8]。此外,降解SMX前后产乙酸混菌-CdS系统的峰形和峰的位置未发生明显偏移,说明该耦合系统不仅能够有效降解污染物,而且

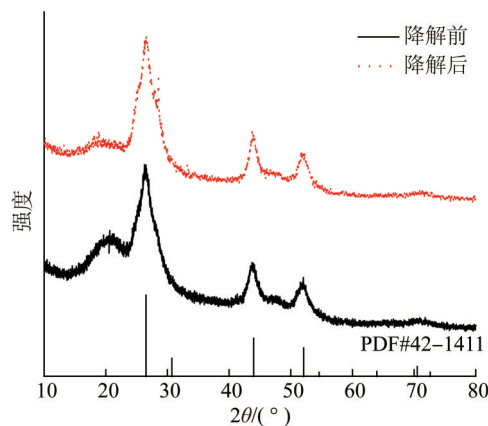


图2 产乙酸混菌-CdS耦合系统降解SMX前后的XRD

Fig. 2 XRD of the system coupling homoacetogenic bacteria and CdS before and after the degradation of SMX

稳定性高。

2.2 产乙酸混菌-CdS耦合系统对SMX的去除效果

本研究分别在5个条件下探究了产乙酸混菌-CdS耦合系统对SMX的降解效果:①微生物+CdS;②灭活微生物+CdS;③微生物;④光解;⑤吸附。其中,①、②、④在光照条件下,③、⑤在避光条件下展开研究;④为将SMX溶解在自养培养基A中后在光照下的降解。反应时间为24 h。结果见图3。

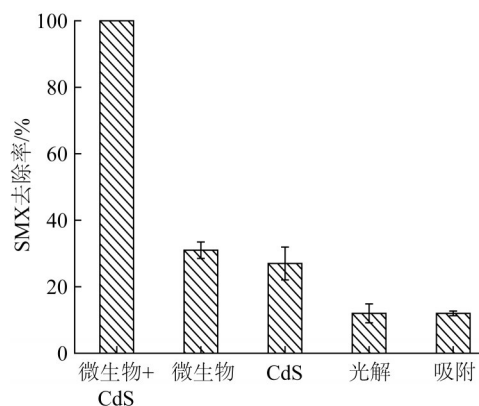


图3 产乙酸混菌-CdS耦合系统在不同条件下对SMX的降解效率

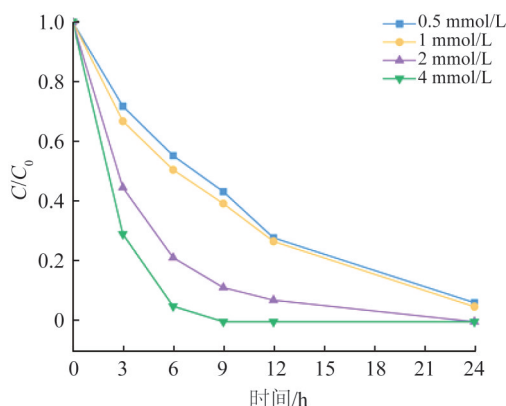
Fig. 3 Degradation efficiency of SMX in the system coupling homoacetogenic bacteria and CdS under different conditions

如图3所示,24 h内产乙酸混菌-CdS耦合系统(微生物+CdS)能够完全降解SMX,而微生物单独作用下SMX的去除率为31%,细菌失活后CdS光催化剂对SMX的去除率仅为27%,这初步说明产乙酸混菌在光催化剂降解SMX过程中发挥了重要作用,产乙酸混菌-CdS耦合系统显示出优于单独CdS光催

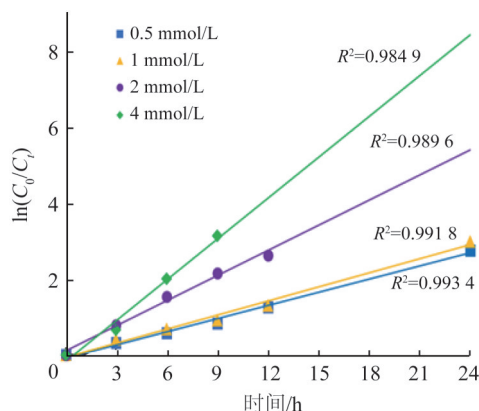
化降解或单独生物降解对SMX的去除效率。

2.3 CdS 浓度对SMX降解效果的影响

产乙酸混菌-CdS耦合系统中CdS的浓度对SMX的降解效果和反应速率有显著的影响,结果如图4所示。



(a) CdS 浓度对 SMX 降解的影响



(b) 不同 CdS 浓度下 SMX 降解的一级反应动力学拟合曲线

图4 CdS 浓度对SMX降解效果和反应速率的影响

Fig. 4 The influence of CdS concentration on the degradation efficiency and reaction rate of SMX

由图4(a)可见,当CdS浓度分别为0.5、1、2、4 mmol/L时,虽然SMX的去除率均随着时间的延长而增加,但是相同时间内CdS浓度越高,SMX去除率越大。CdS浓度为2 mmol/L时,反应12 h后SMX的去除率便达到95%;而当CdS浓度提高为4 mmol/L时,仅9 h便能够完全去除SMX。这可能是由于耦合系统中CdS浓度增加时,水中分散的CdS光催化剂数量随之增加,微生物自合成的CdS在光激发下产生的空穴和活性氧等自由基的数量也相应增加^[9],耦合系统中微生物的活性得到加强,因此CdS浓度的增加显著提高了产乙酸混菌-CdS耦合系统对SMX

的降解效果。

此外,由图4(b)可见,SMX的降解过程均符合一级反应动力学。随着CdS浓度的增加,反应速率逐渐增加。CdS浓度从0.5 mmol/L提高到1 mmol/L时反应速率的增幅较小,这可能是因为CdS浓度变化较小;当CdS浓度从1 mmol/L提高至2 mmol/L和4 mmol/L时,反应速率常数从0.123 5 h⁻¹分别提高至0.221 2 h⁻¹和0.359 h⁻¹,说明耦合系统中CdS浓度的增加显著提高了SMX降解的反应速率。

2.4 微生物耦合CdS体系降解SMX机制研究

为了明确微生物耦合CdS体系降解SMX的机制,通过液相色谱-质谱联用(LC-MS)正负离子模式分别对微生物降解、CdS光催化降解以及微生物耦合CdS光催化降解SMX过程中的产物进行检测及对比,从而推导出SMX可能的微生物降解路径、光催化降解路径以及微生物耦合光催化系统降解途径。

2.4.1 微生物降解路径

微生物降解过程中,在正离子模式下保留时间为4.47 min处检测到SMX($m/z=254$)。依次将正离子模式和负离子模式下检测出的中间产物命名为B-SMX1~B-SMX9,根据代谢产物的结构特点,提出了微生物降解过程中可能的2种代谢路径,如图5所示。

有研究表明,细菌体内的2种Flavin依赖性单加氧酶(Sad A、Sad B)和FMN还原酶(Sad C)的基因参与了SMX的降解过程^[10]。如图5所示,在降解途径1中,SMX首先被还原为产物B-SMX1(4-苯醌-亚胺)和B-SMX3(3-氨基-5-甲基异噻唑),之后B-SMX1再被还原为产物B-SMX2(对氨基苯酚),而B-SMX3逐渐失去甲基和氨基,生成产物B-SMX5(异噻唑)。在降解途径2中,SMX结构中的异噻唑环被破坏,N—O键断开,生成产物B-SMX6,接着B-SMX6的S—N键断开生成B-SMX7,B-SMX7侧链羟基被取代、断裂,最终生成产物B-SMX9(苯胺)。这些产物最终经过微生物的作用可能被完全矿化为SO₄²⁻、NH₄⁺、NO₃⁻、CO₂、H₂O等。

2.4.2 光催化降解路径

光催化降解过程中,在正离子模式下共检测到9种产物,依次命名为P-SMX1~P-SMX9。根据降解产物的结构特点,提出了光催化降解SMX的4种可能代谢路径,如图6所示。

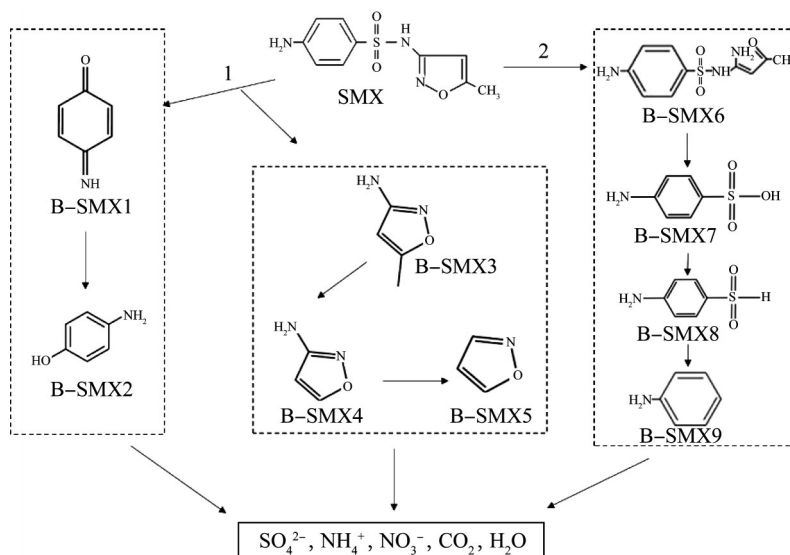


图5 SMX在产乙酸混菌作用下的可能降解路径

Fig. 5 Possible degradation pathways of SMX by the role of homoacetogenic mixed cultures

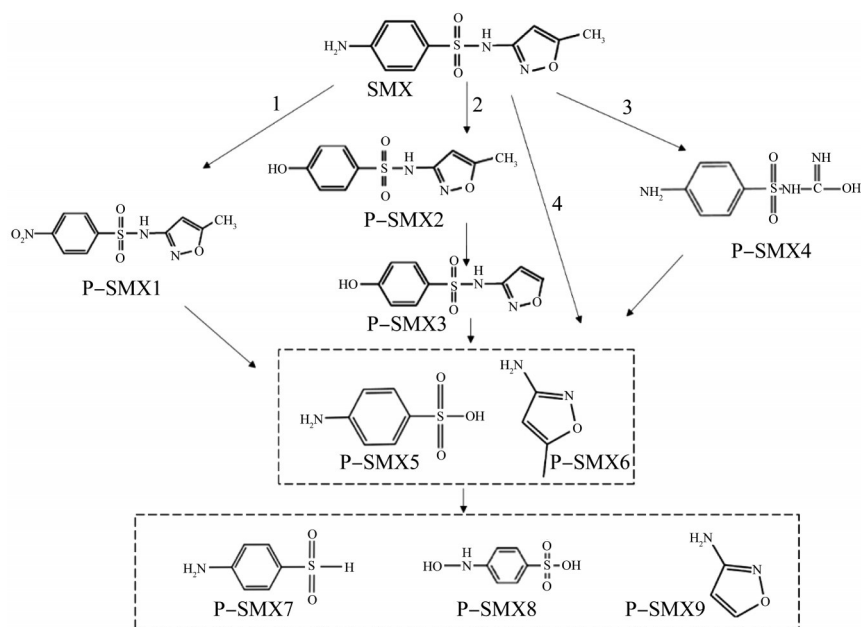


图6 SMX在CdS光催化作用下的可能降解路径

Fig. 6 Possible degradation pathways of SMX by the role of CdS photocatalysis

产物的差异可能是由于光催化材料产生的活性基团攻击了SMX不同的结构位置。在E. IOANNIDOU等^[11]的研究中,苯环氨基的羟基化和氧化是SMX主要的转化途径,有研究推测, O_2^- 能够将磺胺类化合物结构中的氨基氧化为硝基^[12]。如图6所示,在路径1中,SMX苯环上的氨基受到攻击,被氧化后形成硝基衍生物P-SMX1。在路径2中,氨基首先被羟基取代形成

产物P-SMX2,之后其异噁唑环上的甲基受到攻击,形成P-SMX3。而路径3中SMX的异噁唑环直接被强氧化性的羟基自由基等活性基团破坏,形成产物P-SMX4。在路径4中,羟基自由基对磺酰胺键的攻击导致S—N键断裂,直接形成产物P-SMX5和P-SMX6。前3种路径下P-SMX1、P-SMX3、P-SMX4这3种不同的初级产物,在随后的降解过程中S—N键被打开,形

成对氨基苯磺酸的羟基衍生物P-SMX5和P-SMX6(3-氨基-5-甲基异噁唑),这2种产物再经过进一步的氧化还原过程,可能转化为P-SMX7、P-SMX8、P-SMX9这3种产物。

2.4.3 耦合系统降解路径

产乙酸混菌-CdS耦合光催化系统在降解SMX的过程中,不同时间下均检测到光催化降解途径的代谢产物,分别将其命名为H-SMX1~H-SMX9,代谢产物随时间的变化如图7所示。

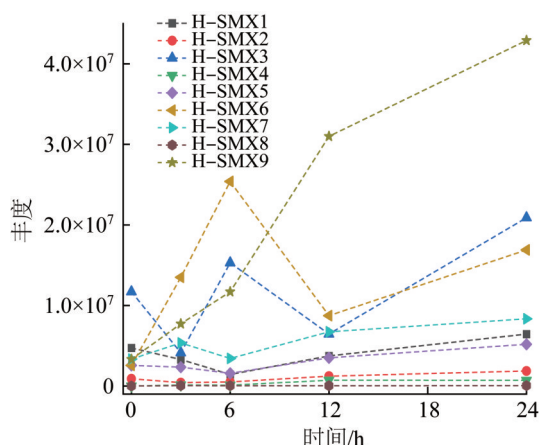


图7 微生物耦合光催化系统降解SMX的降解产物丰度随时间的变化

Fig. 7 Variation of the abundance of degradation products of SMX with time in the microbial coupled photocatalytic system

由图7可知,H-SMX1~H-SMX9的丰度响应值随时间发生变化,其中H-SMX3、H-SMX6、H-SMX9是主要的代谢产物,最终的累积丰度在9种光催化降解产物中占比最高。结合图6的光催化降解途径,SMX苯环上氨基的羟基化、S—N键的直接断裂以及甲基的丢失可能是耦合光催化系统中SMX的主要降解途径,SMX在24 h内大多被转化为结构较为简单的代谢产物H-SMX9。

图8为单一光催化系统和耦合光催化系统降解SMX的中间产物的丰度对比。其中,P代表单一光催化,H代表耦合光催化,数字1~9分别代表代谢产物SMX1~SMX9。

如图8所示,与耦合光催化系统不同的是,单一光催化降解过程的主要降解产物是P-SMX2、P-SMX3、P-SMX6、P-SMX7、P-SMX9。12 h内单一光催化体系内P-SMX2的丰度迅速增加,而耦合光催化系统中

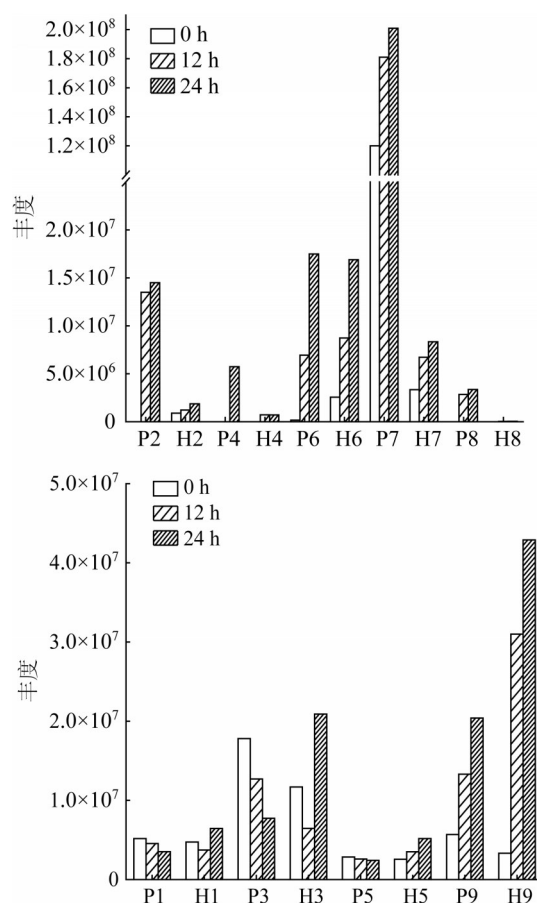


图8 SMX光催化降解产物丰度在不同条件下随时间的变化

Fig. 8 Variation of the abundance of photocatalytic degradation products of SMX with time under different conditions

H-SMX2的丰度保持较低水平且增长缓慢。24 h内H-SMX2丢失甲基的产物H-SMX3在耦合光催化系统中的丰度比单一光催化体系增加近2倍,说明微生物的存在可能促进了异噁唑环上甲基的去除,使H-SMX2向H-SMX3转化。此外,产物P-SMX7在单一光催化体系的降解产物中丰度最高,比耦合光催化系统中H-SMX7的丰度高2个数量级,这可能是由于耦合光催化系统中产乙酸混菌将其转化为更为简单的产物甚至完全矿化为CO₂、NH₃、H₂O等。作为光催化降解过程的末端产物,反应24 h时3-氨基异噁唑(H-SMX9)在耦合光催化系统中的丰度是单一光催化降解产物(P-SMX9)丰度的2倍,这说明耦合系统更利于将SMX降解为结构简单的代谢产物。

3 结论

通过在细菌表面稳定合成CdS,成功构建了产

乙酸混菌-CdS耦合系统。微生物耦合光催化系统在降解SMX上的表现优于单一光催化降解或生物降解。提高CdS浓度能够显著提升SMX的降解效果和反应速率。微生物耦合CdS系统在降解SMX时同时存在光催化降解和生物降解过程,微生物降解和CdS光催化协同促进SMX转化为结构简单的产物——3-氨基异噁唑,发挥了生物降解和光催化降解的双重优势。这一系统有望实现PPCPs污染物的高效降解,探究其对磺胺甲噁唑的降解机制将为该系统的实际环境应用提供可靠的技术支持,亦可加深研究者对自然界中太阳光驱动作用下矿物与微生物之间相互作用的理论认知。

参考文献

- [1] MENKEM Z E, NGANGOM B L, TAMUNJOH S S A, et al. Antibiotic residues in food animals: Public health concern[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(5): 411-415.
- [2] THIELE-BRUHN S, SEIBICKE T, SCHULTEN H R, et al. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2004, 33(4): 1331-1342.
- [3] ZUO Rui, LIU Xin, ZHANG Qianru, et al. Sulfonamide antibiotics in groundwater and their migration in the vadose zone: A case in a drinking water resource[J]. *Ecological Engineering*, 2021, 162: 106175.
- [4] SUÁREZ S, CARBALLA M, OMIL F, et al. How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2008, 7(2): 125-138.
- [5] SAKIMOTO K K, WONG A B, YANG Peidong. Self-photosensitization of nonphotosynthetic bacteria for solar-to-chemical production[J]. *Science*, 2016, 351(6268): 74-77.
- [6] DONG Guowen, WANG Honghui, YAN Zhiying, et al. Cadmium sulfide nanoparticles-assisted intimate coupling of microbial and photoelectrochemical processes: Mechanisms and environmental applications[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 740: 140080.
- [7] BAI Hongjuan, ZHANG Zhaoming, GUO Yu, et al. Biological synthesis of size-controlled cadmium sulfide nanoparticles using immobilized *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Nanoscale Research Letters*, 2009, 4(7): 717-723.
- [8] XIAO Xiang, HAN Xue, WANG Lugang, et al. Anaerobically photoreductive degradation by CdS nanocrystal: Biofabrication process and bioelectron-driven reaction coupled with *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2020, 154: 107466.
- [9] 林媛. 新型铁基材料 MnFe_xO_y 活化过硫酸盐去除水中典型PPCPs的研究[D]. 福州: 福州大学, 2017.
- LIN Ai. Activation of persulfate by novel magnetic MnFe_xO_y for removal of PPCPS in water[D]. Fuzhou: Fuzhou University, 2017.
- [10] RICKEN B, KOLVENBACH B A, BERGESCH C, et al. FMNH₂-dependent monooxygenases initiate catabolism of sulfonamides in *Microbacterium* sp. strain BR1 subsisting on sulfonamide antibiotics[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 15783.
- [11] IOANNIDOU E, FRONTISTIS Z, ANTONOPOULOU M, et al. Solar photocatalytic degradation of sulfamethoxazole over tungsten: Modified TiO₂ [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 318: 143-152.
- [12] SONG Yali, TIAN Jiayu, GAO Shanshan, et al. Photodegradation of sulfonamides by g-C₃N₄ under visible light irradiation: Effectiveness, mechanism and pathways[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2017, 210: 88-96.

[作者简介] 陈泉林(1997—), 硕士。电话: 18860366397, E-mail: chenqlin5@mail2.sysu.edu.cn。通讯作者: 骆海萍, 副教授。E-mail: luohp5@mail.sysu.edu.cn。

[收稿日期] 2022-02-08(修改稿)