

半导体 TiO_2 光催化杀灭微生物的机理和应用

邓慧华 陆祖宏

(东南大学分子和生物分子电子学开放研究实验室 南京 210096)

自从 Fujishima^[1] 用半导体电极光分解水制氢以及 Bard^[2] 将光电化学理论扩展到半导体微粒光催化后, 半导体光催化有了很大的发展。二氧化钛光催化活性最好, 化学性能和光电化学性能均十分稳定, 耐强酸强碱, 耐光腐蚀。并且具有较深的价带能级, 可使一些吸热反应在光照射的 TiO_2 微粒表面得以实现和加速, 加之 TiO_2 本身对人体无毒性, 因而选择 TiO_2 为半导体光催化杀灭微生物细胞的催化剂。这里, 首先阐述半导体光催化的工作原理和活性氧类的形成, 特别对半导体 TiO_2 光催化杀灭微生物的机理及应用前景进行讨论。

1 半导体光催化工作原理

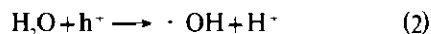
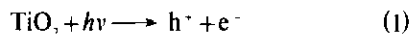
在悬浮液体系中, 可以把分散于溶液中的半导体微粒近似地看作为一个微小的短路光化学电池 (micro photoelectrochemical cell)^[2]。当用能量大于能隙的光 ($h\nu \geq E_g$) 照射时, 半导体微粒吸收光, 产生电子-空穴对。在半导体与溶液界面之间的空间电荷层的电场作用下, 光生电子和光生空穴迁移到半导体颗粒表面。由于电子的迁移率比空穴快得多 (光生电子迁移到粒子表面而被氧化组分捕获的时间小于 30 ps, 光生空穴被捕获较慢, 需要 250 ns), 导带的自由电子迅速迁移到半导体微粒表面而转移给液相的氧化组份, 使正负电荷得到有效的分离, 从而避免了光生电子和光生空穴的简单复合而所造成的损失 (在水溶液中, 由于界面杂质能级的存在, 表面复合常常是主要的, 半导体体相的复合则次之), 使之与吸附于半导体颗粒表面 (或溶液中) 相应的组份高效进行氧化和还原反应。

物质能否在半导体界面进行光催化反应, 是由该物质的氧化还原电位和半导体的能带位置所决定。半导体的价带能级代表半导体空穴的氧化电位的下限, 任何氧化电位在半导体价带边缘 E_v 上方的物质, 原则上都可以被光生空穴氧化; 同理, 任何还原电位在半导体导带边缘 E_c 下方的物质, 原则上都可以被光生

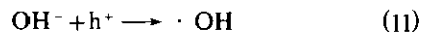
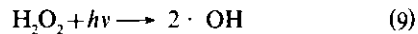
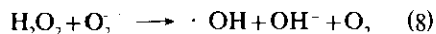
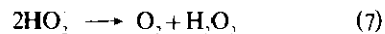
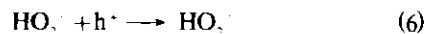
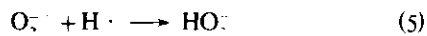
电子还原。但是, 实际反应的活化能太高; 载流子被本征表面态俘获; 竞争反应占绝对优势等原因均可能使期望的反应不能发生。

2 活性氧类的形成机理

当紫外光 ($h\nu \geq 3.2 \text{ eV}$, 波长小于 390 nm 的紫外光, 半导体 TiO_2 的禁带宽度为 3.2 eV) 照射到半导体 TiO_2 微粒上, 形成光生电子-空穴对。在电场的作用下, 电子与空穴有效的分离并迁移到 TiO_2 颗粒表面的不同位置。光生空穴有很强的得电子能力, 可夺取吸附于半导体颗粒表面的有机物或溶剂中的电子, 使原本不吸收入射光的物质活化而被氧化。而电子受体则可以通过接受 TiO_2 颗粒表面的电子而被还原, 水溶液中的光催化氧化还原反应就在 TiO_2 颗粒表面进行。吸附于 TiO_2 颗粒表面的水分子被光生空穴氧化后, 生成氧化能力和反应活性极强的氢氧自由基 ($\cdot\text{OH}$)^[3], 上述机理表示如下:



另外, 光生电子还原水中的溶解氧, 通过反应 (3) ~ (7) 生成过氧化氢自由基 ($\text{HO}_2\cdot$) 和过氧化氢 (H_2O_2)^[3]。过氧化氢借助反应 (8) ~ (11), 依次生成氢氧自由基^[4]。



$\text{HO}\cdot$ 是水中存在的氧化剂中反应活性最强的, 而且对作用物无选择性。其对细胞的作用表现为对其

DNA复制和细胞膜的代谢带来有害的影响。例如,类脂化化合物的过氧化失活等^[5]。H₂O₂的杀菌性能也是众所周知^[6]。

3 TiO₂光催化杀菌机理

TiO₂微粒本身对微生物细胞无毒性^[7],只有其形成较大的聚集体时才对微生物构成危害^[11]。例如,0.03~10 μm的TiO₂聚集体对海拉细胞(*Hela cell* 50 μm)无毒,而20 μm的TiO₂聚集体由于沉积和包覆在这些微生物细胞表面,而将其杀死。

TiO₂光催化杀灭微生物细胞有直接和间接反应两种不同的机理。光激发TiO₂和细胞间的直接反应是光生电子和光生空穴直接和细胞壁(表1)、细胞膜或细胞的组成成分反应,导致功能单元失活而致细胞死亡。

表1 TiO₂光催化所杀灭的微生物的细胞壁厚和结构

微生物细胞	细胞壁厚	细胞壁组成
酵母菌(<i>S. cerevisiae</i>)	50~200 nm	壳聚糖 聚糖 甘露糖蛋白络合物
乳酸杆菌(<i>L. fermentum</i>)	25 nm	缩胺酸聚糖 胞壁酸
大肠杆菌(<i>E. coli</i>)	11 nm	缩胺酸聚糖壁 蛋白脂 类和脂多糖的镶嵌结构

在电化学氧化和半导体TiO₂光催化杀灭微生物实验中,细胞的辅酶A被氧化而失活,使细胞呼吸作用衰退而引起细胞的死亡。Matsunaga^[8]等在石墨电极电化学氧化酵母菌细胞实验中,施加0.74V(vs. SCE)的恒电势时,电化学氧化作用降低了酵母菌的呼吸作用而导致细胞死亡。在半导体TiO₂粉末悬浮液杀灭酵母菌细胞实验中,由于酵母菌内的辅酶A被光激发TiO₂粉末氧化而被杀死^[9]。其时,被杀死的细胞与石墨电极或半导体间的电子转移,通过细胞内的辅酶A来传递。在大肠杆菌被光激发TiO₂粉末完全杀死

时,细胞内的辅酶A含量急剧下降^[10]。随着光照时间的增长,大肠杆菌中辅酶A的含量下降而二聚体辅酶A的含量上升。这是因为光激发TiO₂产生了电子-空穴对,导带中的光生电子转移给O₂等电子受体,价带中的光生空穴则接受辅酶A的电子,从而使辅酶A通过双硫键键合形成二聚体而导致辅酶A失活。

表2列出了几种微生物细胞和部分细胞组成成分的氧化还原电位(vs. SCE pH=7)。而半导体TiO₂价带能级为+2.6V(vs. SCE pH=7)。因此,TiO₂的光生空穴具有非常强的氧化能力,光激发TiO₂可直接氧化细胞壁、细胞膜或细胞内的组成成分,从而杀死细胞。例如,在紫外光照射和阳极极化(+0.5~1.0V)下,培养于TiO₂电极表面的海拉细胞^[12]和T24恶性细胞^[13]都可被杀灭。

另一机理则是光激发TiO₂与细胞间的间接反应,即光生电子或光生空穴与水或水中的溶解氧反应,形成氢氧自由基·OH和过氧化氢自由基HO₂等活性氧类,这些活性自由基的反应活性和氧化能力最强。它们与细胞壁、细胞膜或细胞内的组成成分发生生化反应^[5,6,11]。如在海拉细胞内形成三磷酸腺苷(ATP)所必需的重要的氧化还原性物质如还原性烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(还原型辅酶I)、还原型谷胱甘肽(GSH)以及辅酶A、黄素腺嘌呤二核苷酸(FADH₂)等与上述的活性自由基反应,而耗尽或失活,导致海拉细胞的死亡^[11]。恶性细胞T24的细胞膜被光激发TiO₂氧化破坏而泄漏,结果外部物质如阳离子Ca²⁺进入细胞内,使细胞功能单元如蛋白酶或磷酸化酶失活而致细胞T24死亡^[14]。

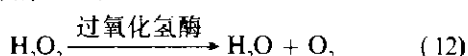
在光激发TiO₂颗粒处理过的细胞溶液,分别加入甘露糖醇、半胱氨酸、色氨酸和过氧化氢酶,细胞

表2 微生物细胞及其部份组成成分的氧化还原势(vs. SCE pH=7)^[8]

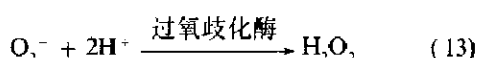
微生物细胞	浓度(m ⁻¹)	氧化还原势(V)	细胞组分	浓度(m mol/L)	氧化还原势(V)
酵母菌	1×10 ⁸	0.74	渗出液 ^b	—	0.65
酵母菌 ^a	1×10 ⁸	0.74	辅酶A	3.7	0.65
大肠杆菌	1×10 ⁸	0.72	还原型辅酶I	5.0	0.40
乳酸杆菌	5×10 ⁸	0.68	半胱氨酸	2.5	0.45
芽孢杆菌	2×10 ⁸	0.68	原生质	—	0.67
鼠伤寒沙门氏菌	6×10 ⁸	0.70	海拉细胞	—	0.65 ^[11]

注: a 细胞经超声处理; b 细胞经超声处理,其中含3.6 m mol/L的辅酶A

的生存率大为提高。甘露糖醇、半胱氨酸和色氨酸是氢氧自由基 $\cdot\text{OH}$ 的猝灭体。过氧化氢酶为过氧化氢 H_2O_2 的清除剂^[12]。即



当加入过氧化歧化酶(SOD)时,光激发 TiO_2 颗粒杀灭人体癌细胞T24的能力显著提高。SOD作为生物酶催化剂使超氧负离子(O_2^-)有效地转化为过氧化氢^[13]。即



这些实验证明了光激发 TiO_2 颗粒产生的 $\cdot\text{OH}$ 和 H_2O_2 参与了杀灭细胞的过程。另外,这些活性氧类 $\cdot\text{OH}$ 或 H_2O_2 打开鸟嘌呤中的糖-磷主键,引起DNA分子双螺旋结构单股或双股破裂,从而破坏细胞的DNA复制以及细胞膜的代谢如类脂化合物的代谢^[15,6]。

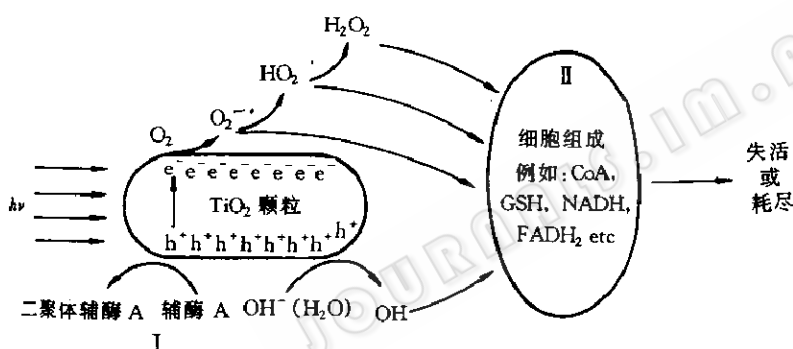


图1 光激发 TiO_2 颗粒杀菌机理

I 光生空穴的氧化机理 II 活性氧类的生化反应机理

因而,光生电子和光生空穴及形成于水中的 $\cdot\text{OH}$ 、 O_2^- 、 $\text{HO}_2^\cdot$ 、 H_2O_2 与细胞壁、细胞膜或细胞内的组成成分反应,而杀死细胞。这些机理总结如图1。

在悬浮液体系中, TiO_2 颗粒或吸附于微生物细胞的表面,或被微生物细胞吞噬而在细胞内聚集^[11,19]。被细胞吞噬的 TiO_2 颗粒,其产生的光生空穴和活性氧类($\cdot\text{OH}$ 、 O_2^- 、 $\text{HO}_2^\cdot$ 、 H_2O_2)直接与细胞内的组成成分发生生化反应,因而更加有效。由于紫外光激发 TiO_2 颗粒产生的空穴具有非常强的氧化能力,而且生成的活性氧类具有非常强的反应活性。因而,无论悬浮液体系还是在光阳极表面,光激发 TiO_2 颗粒均能有效且彻底地杀灭乳酸杆菌^[9]、面包酵母菌^[9]、大肠杆菌^[9,10,16,17]以及海拉细胞^[11,12]、T24细胞^[14]等人

体恶性肿瘤细胞,此外,它显著地抑制恶性肿瘤细胞所引起的肿瘤的生长^[12,14,15],甚至能够杀死绿藻^[18]。光激发 TiO_2 颗粒具有强的杀菌性能和显著的抗瘤(癌)性,可望应用于室内消毒杀菌,水处理和水污染综合治理以及光动力学疗法(Photodynamic therapy)。

4 应用

4.1 应用于光动力学疗法(PDT):单纯的 TiO_2 微粒,无论喂食还是注射,均没有发现对实验动物有毒性。光激发 TiO_2 微粒能杀死恶性细胞,且紫外光激发 TiO_2 微粒有效地抑制海拉细胞和T24细胞等人体恶性肿瘤细胞的繁殖。

基于光激发 TiO_2 微粒的杀菌作用和抗瘤(癌)作用, TiO_2 微粒或表面经过化学修饰血卟啉(Hp, hematoporphyrin)的 TiO_2 微粒^[19]可以替代传统PDT临床所用的光敏剂HpD(血卟啉的衍生物)。通过有选择地局部注射微粒到瘤内,随后用光纤传导紫外光集中照射瘤组织体。光激发 TiO_2 颗粒表面生成的强活性的反应氧类(如 $\cdot\text{OH}$ 和 H_2O_2)直接渗透进入瘤组织体,而杀死恶性细胞。较之HpD系统,由于瘤(癌)细胞吞噬注射进入的 TiO_2 微粒,光生空穴和光生强活性氧类可直接与瘤(癌)细胞发生生化反应, TiO_2 微粒利用相当弱的光能达到同样的疗效,能更彻底地杀灭癌细胞,

且无诸如对阳光过敏的副作用。运用 TiO_2 微粒的强的光杀菌作用可治疗皮肤表层的瘤或形成于组织体如膀胱、胃、肺、口腔等表面的瘤。因此, TiO_2 微粒和紫外光相结合可望获得广泛的应用。

4.2 应用于水处理:光激发 TiO_2 产生的活性氧类($\cdot\text{OH}$ 、 O_2^- 、 $\text{HO}_2^\cdot$ 、 H_2O_2)反应活性强,而且对作用物无选择性,不仅能杀死大多数种类的微生物细胞,而且同时能在短时间内矿化绝大多数有机污染物(包括三氯甲烷、四氯化碳、六氯取代苯、六六六等难以降解的污染物在内)^[20]。再者,不消耗昂贵的氧化剂,只需要空气中的氧作为氧化剂,不存在二次污染。激活 TiO_2 所需的光为长波紫外,可直接利用太阳光的紫外波段,而不消耗能源。(下转第109页)

(上接第 115 页)

综上所述, TiO_2 光催化杀菌可望在饮用水的深度处理、提供高质量的饮用水方面有着潜在的应用前景, 同时利用太阳能综合治理受疾病污染的水源^[16,17]以及藻类等微生物泛滥引起的水质恶臭的治理, 如蓝藻水华引起的水质恶臭。我们实验室正在进行后者的研究工作, 蓝藻无细胞壁, 外层为果胶化合物的衣鞘, 较之其它藻类, 易被半导体光催化杀死。

参 考 文 献

- [1] Fujishima A, Honda K. *Nature*, 1977, **238**: 37.
- [2] Bard A J. *J Photochem*, 1979, **10**: 59.
- [3] Hong A P, Bahnemann D W, Hoffmann M. *J Phys Chem*, 1987, **91**: 2109.
- [4] Fujihira M, Satoh Y, Osa T. *Nature*, 1981, **293**: 206.
- [5] Ilmay J A, Fridovich I. *J Bacteriol*, 1992, **174**: 953.
- [6] Shimada K, Shimahara K. *Agric Biol Chem*, 1982, **46**: 1329.
- [7] Bernard B K, Osheroff M R. *J Toxicol Environ Health*, 1989, **28**: 415.
- [8] Matsunaga T, Namba Y. *Anal Chim Acta*, 1984, **159**: 87.
- [9] Matsunaga T, Tomoda R, Nakajima T, *et al.* *FEMS Microbiol Lett*, 1985, **29**: 211.
- [10] Matsunaga T, Tomoda R. *Appl Environ Microbiol*, 1988, **42**: 1330.
- [11] Cai R X, Hashimoto K, Itoh K, *et al.* *Bull Chem Soc Jpn*, 1991, **64**: 1268.
- [12] Cai R X, Kubota Y, Shuin T, *et al.* *Cancer Res*, 1992, **52**: 2346.
- [13] Cai R X, Sakai H, Hashimoto K, *et al.* *Chem Lett*, 1992, **3**: 427.
- [14] Sakai H, Ito E, Cai R X, *et al.* *Biochim Biophys Acta*, 1994, **120**: 259.
- [15] Kubota Y, Shuin T, Kawasaki C, *et al.* *Br J Cancer*, 1994, **70**: 1107.
- [16] Ireland J C, Klostermann P. *Appl Environ Microbiol*, 1993, **59**: 1668.
- [17] Wei C, Lin W Y, Zainal Z, *et al.* *Environ Sci Technol*, 1994, **28**: 934.
- [18] Sakata T, Kawai T. *Nouv J Chim*, 1981, **5**: 279.
- [19] Cai R X, Sakai H, Hashimoto K, *et al.* *Denki Kagaku*, 1992, **60**: 314.
- [20] Mills A, Davis R H, Worsely D. *Chem Soc Review*, 1993, **23**: 417.