

铜离子配位甲烷氧化菌素功能化纳米金模拟过氧化物酶的研究

李春雨¹, 辛嘉英^{1,2*}, 林惠颖¹, 张悦¹, 夏春谷²

(1. 哈尔滨商业大学 食品科学与工程重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150076;

2. 中国科学院兰州化学物理研究所 羰基合成与选择氧化国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 合成了纳米金-甲烷氧化菌素(Mb)-铜配合物, 该配合物可以作为模拟过氧化物酶用于催化过氧化氢氧化对苯二酚的反应. 通过紫外光谱、荧光光谱、红外光谱对纳米金-甲烷氧化菌素(Mb)-铜进行了表征. 利用紫外-可见分光光度法研究了配合物催化过氧化氢氧化对苯二酚的动力学. 考察了体系 pH、体系温度及过氧化氢/催化剂摩尔比对催化反应速率的影响. 结果表明纳米金-甲烷氧化菌素(Mb)-铜配合物符合生物催化剂条件影响的一般规律, 但比生物酶具有更高的热稳定性.

关键词: 甲烷氧化菌素; 纳米金; 模拟过氧化物酶

中图分类号: O643.32

文献标志码: A

过氧化物酶(POD)可催化过氧化氢氧化有机化合物. 天然 POD 可用于工业废水处理、医学临床分析、食品中微量酚的分析和酚类聚合物合成等诸多领域. 目前广泛应用的是辣根过氧化物酶, 大多数是从植物中分离提取得到的. 天然辣根过氧化物酶价格昂贵, 并且容易失活, 由于其分子较大, 因此在酶联免疫分析的过程中, 使得抗原和抗体很难结合, 很难被标记. 寻找一种模拟酶和催化体系来代替辣根过氧化物酶, 并探寻一种氧供体底物来提高模拟酶催化反应灵敏度是酶催化反应的研究热点. 近年来, 金属配合物已成为化学模拟 POD 领域的研究热点. 人工合成的 POD 模拟物通常以卟啉^[1]、酞菁^[2]或 Schiff 碱配合物^[3-4]作为配体, 但由于天然酶复杂的结构性和 POD 催化氧化酚类物质反应机理的复杂性, 根据酶活性中心相似结构设计合成的模拟酶化合物通常存在活性低、专一性差、配合物溶解性差及污染环境等问题, 而 H₂O₂ 由于具有价廉、易得、清洁、环保等优点, 因此发

展以 H₂O₂ 作氧化剂的过氧化物酶模型物的研究具有重要的理论价值和广阔的应用前景.

甲烷氧化菌是自然界中以甲烷为唯一碳源和能源生长的微生物, 通常含有活性中心为双核铁的可溶性甲烷单加氧酶(sMMO)和活性中心含有铜的颗粒性甲烷单加氧(pMMO)^[5]. 铜在甲烷氧化菌中扮演着重要角色, 它不仅对甲烷氧化菌表达何种类型的甲烷单加氧酶(MMO)起到调控作用, 还参与了 pMMO 活性中心和内膜系统的构建^[5-6]. 甲烷氧化菌素(Mb)是甲烷氧化菌向周围环境中释放的一种铜捕获小肽, 结合铜的 Mb 会被甲烷氧化菌重新识别吸收并将铜富集在细胞内供 pMMO 表达需要^[7]. 2004 年, Kim 等^[8]报道了 Mb 的结构数据, 分子量约为 1 200 的 Mb 由 7 个氨基酸和包含硫酰脲咪唑生色团的特殊部分组成, 通过 2 个咪唑 N 和 2 个硫酰 S 与铜配位. 2008 年, Behling 等^[9]对 Mb 结构进行了修正, 将羟咪唑改为唑酮、异丙酯改为甲基丁酰基. Choi 等^[10]发现, Mb 结合铜返回细胞后参与

收稿日期: 2017-07-03; **修回日期:** 2017-08-10.

基金项目: 国家自然科学基金项目(21073050, 21573055); 北京化工大学资源有效利用国家重点实验室开放课题(CRE-2015-C-104)和哈尔滨商业大学创新团队项目资助(2016TD006) (The National Natural Science Foundation of China(21073050, 21573055)); The Open Project Program of the State Key Laboratory of Chemical Resource(CRE-2015-C-104) and The Support Project for Research Team of Harbin University of Commerce (2016TD006)).

作者简介: 李春雨(1993-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为发酵工程. E-mail: lichunyuln@126.com (Li Chun-yu (1993-), Female, Graduate student, Research field: Fermentation Engineering. E-mail: lichunyuln@126.com).

* 通讯联系人, E-mail: xinjiayingvip@163.com.

了 pMMO 催化甲烷氧化,同时增加了流向 pMMO 中心 Cu(II)的电子量,并且具有催化 O_2 为 H_2O_2 的超氧化物歧化酶(SOD)活性、烟酰胺嘌呤二核苷酸(NADH)依赖的过氧化氢还原酶活性和氧化酶活性,表明 Mb 在 pMMO 催化甲烷氧化中起到催化电子由 NADH 等电子供体向 pMMO 传递的作用,同时具有清除氧化反应中产生的氧自由基的细胞保护作用.

纳米金由于具有大的比表面积、高的表面自由能及具有吸附浓缩效应,可增强酶在载体表面上的固定化.特别是以柠檬酸钠还原法制备的金溶胶,因为吸附过量的柠檬酸根阴离子而带负电荷,所以可通过静电吸附作用来固定酶分子.而且,Grabar 等^[11-12]研究发现纳米金与有机物分子中的硫原子和氮原子可以形成作用力较强的共价键,这也为酶分子以纳米金为载体用 Mb 对其修饰提供了有效的途径,采用铜离子配位甲烷氧化菌素功能化纳米金模拟 POD 可能从非天然酶角度获得新型高效模拟 POD 金属配合物结构信息,设计合成出高效的 POD 模拟酶.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲基弯菌 IMV 3011 (*Methylosinus trichosporium* IMV 3011)由俄罗斯科学院催化研究所提供;NMS 培养基参考文献[13]方法配制;Diaion HP-20 大孔树脂购于日本三菱化工公司;甲醇,氯金酸,柠檬酸钠,硫酸铜, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 等均为分析纯.

日本岛津 UV-2550 型紫外-可见分光光度计;日本日立 F-7000FL220-240V 型荧光光谱仪;美国 PerkinElmer 100 傅立叶变换红外光谱仪;美国 Sigma 公司 Z-16K 型高速冷冻离心机.

1.2 实验方法

1.2.1 Mb 的制备 参考文献[13]方法培养甲烷氧化菌.参考文献[9-10]方法,将发酵液于 4℃ 下以 9 000 r/min 转速离心,取上清液,采用动态吸附法使用活化的 Diaion HP-20 大孔径树脂(1.1 cm × 80 cm 层析柱)进行吸附,再用 60% 甲醇洗脱吸附的 Mb,得到的 Mb 于 60℃ 旋转蒸发后,经真空冷冻干燥得白色粉末状 Mb.

1.2.2 纳米金-Mb-Cu 的制备 参考文献[14]方法制备纳米金,取 2 mL Mb 溶液,依次向其中加入

适量纳米金和 $CuSO_4$ 溶液混合均匀,即得到 Mb、 Cu^{2+} 修饰的金纳米粒子,用紫外-可见吸收光谱监测金纳米粒子溶液的变化.

1.2.3 动力学检测 在 100 mL 容量瓶中依次加入催化剂纳米金-Mb-Cu、过氧化氢和一定浓度的底物对苯二酚,并用 pH=7.0 的缓冲溶液定容,使溶液中纳米金-Mb-Cu 的浓度为 3×10^{-5} mol/L,过氧化氢的初始浓度为 5×10^{-3} mol/L,对苯二酚的初始浓度为 6×10^{-4} mol/L.密闭反应装置,在恒温下搅拌,每隔一定时间取出反应液,用紫外-可见分光光度计监测反应物对苯二酚在 $\lambda = 288$ nm 处的吸光度随时间变化的过程.参考文献[15]方法,将反应按准一级处理.采用与反应物和产物浓度成正比的吸光度(A)代替浓度 c,测定吸光度 A 的变化来监测反应进程,由一级反应的速率方程 $\ln(A_1 - A_\infty) - \ln(A_0 - A_\infty) = -K_{obs}t$ 按最小二乘法拟合得到表观速率常数 K_{obs} .

2 结果与讨论

2.1 催化过氧化氢氧化对苯二酚的 UV 光谱分析

采用 UV 光谱对纳米金-Mb-Cu 催化过氧化氢氧化对苯二酚的反应进行分析,结果如图1所示,

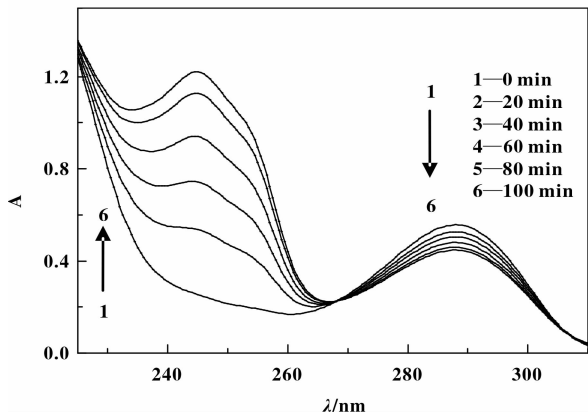


图 1 Au-Mb-Cu 催化过氧化氢氧化对苯二酚的 UV 光谱分析
Fig. 1 UV-Vis spectrophotometry of hydroquinone oxidation catalyzed by Au-Mb-Cu

随反应时间的增加,对苯二酚在 288 nm 处的特征峰的吸光度逐渐下降,而在 246 nm 处产生新的吸收峰,并且其吸光度随时间的增加而增加,据文献报道^[1],新物质为二氧化醌.因此,可利用 288 nm 的吸光度变化来研究纳米金-Mb-Cu 催化过氧化氢氧化对苯二酚的动力学.

2.2 甲烷氧化菌素(Mb)结合纳米金前后的光谱分析

如图2所示,紫外可见光谱表明,向Mb中加入纳米金后,随着纳米金含量的增加,394、340和282 nm处的吸光度值逐渐下降,直至稳定;再向组

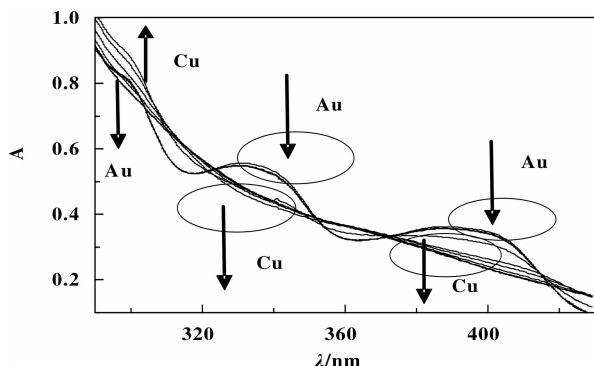


图2 Mb结合纳米金的紫外光谱分析

Fig. 2 UV Spectra of Mb combined with gold nanoparticles

装体系中加入铜后,随着铜含量的不断增加,394、340 nm处的吸光度值继续下降,而282 nm处的吸光度值逐渐上升,最后分别趋于稳定,说明Mb已经与纳米金和Cu进行组装。

Mb是一种具有荧光活性的小分子肽,据文献报道^[16],Mb分子在282 nm激发波长下在310 nm处有特征发射峰;在340 nm激发波长下在450 nm附近有特征发射峰;在394 nm激发波长下在461、610和675 nm处有特征发射峰。如图3所示,添加Au(0)后,Mb在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 282/310$ nm处发射峰明显下降,在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 340/440$ nm处发射峰几乎被淬灭,在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 394/610$ nm处发射峰也明显下降,表明Mb与Au(0)结合。

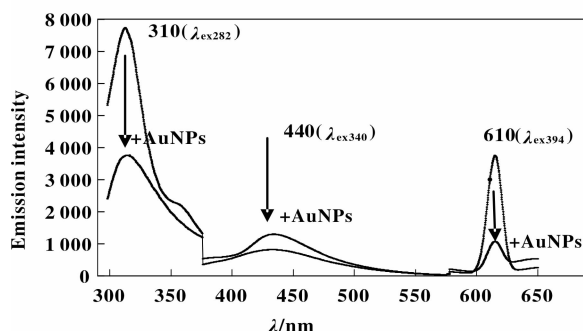


图3 Mb结合纳米金的荧光光谱分析

Fig. 3 Fluorescence spectra of Mb combined with gold nanoparticles

图4所示,结果如下:对比Mb与偶联产物的红外

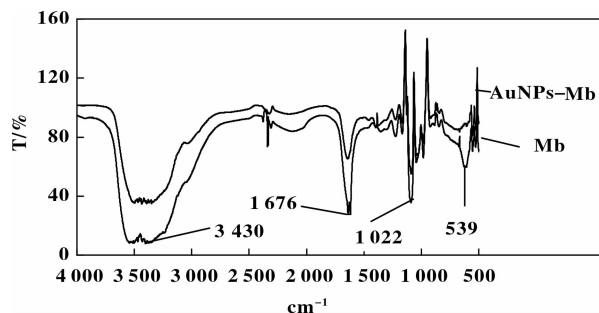


图4 Mb结合纳米金的红外光谱分析

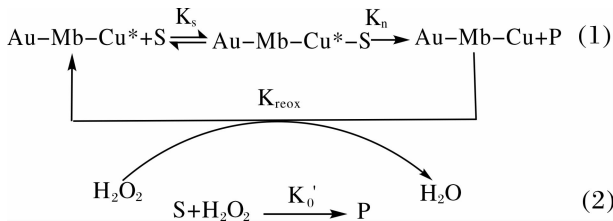
Fig. 4 Infrared spectroscopy of Mb combined with gold nanoparticles

光谱,Mb的谱图中可见 3430 cm^{-1} 处为O—H的伸缩振动。 1676 cm^{-1} 为酰胺I带。 539 cm^{-1} 处为—S—S—的伸缩振动。 1022 cm^{-1} 处为C—S键的伸缩振动吸收峰,加入纳米金后, 539 cm^{-1} 处的—S—S—的伸缩振动明显减弱,酰胺I带 1676 cm^{-1} 峰也明显减弱。表明Mb是通过二硫键与金纳米粒子偶联,形成了硫与金的配位键。

2.3 动力学模型的建立

Au-Mb-Cu中的结构类似于卟啉环的作用。添加 H_2O_2 会引起水溶液中Au-Mb-Cu的UV光谱发生变化,这种变化可能是由于配合物的金属离子与 H_2O_2 分子结合形成超共轭体系所致,表明有新物种Au-Mb-Cu*产生。因此可认为此反应体系是一种类似酶催化的反应体系。首先,Au-Mb-Cu在氧化剂 H_2O_2 作用下,变成高氧化态的活性中间体Au-Mb-Cu*,该中间体与底物S可逆结合形成四元中间复合物Au-Mb-Cu*-S,并快速达到预平衡;然后,四元中间复合物分解生成产物P,Au-Mb-Cu*被还原为初始态Au-Mb-Cu,这一步为催化反应的决速步骤。在此过程中,由于中间体复合物Au-Mb-Cu*的形成,使 H_2O_2 氧化对苯二酚的反应转化为分子内的电子转移反应,从而降低了反应的活化能,提高了反应速率。在 H_2O_2 的存在下,Au-Mb-Cu又继续生成活性的Au-Mb-Cu*催化反应。该动力学主要的特征是具有氧化性的活性催化剂与底物首先通过可逆反应形成中间体复合物Au-Mb-Cu*-S,该中间体再通过决速步骤形成产物,同时催化剂被还原成Au-Mb-Cu。底物S在水溶液中自发反应生成产物P。反应过程可用式(1)来表示:

Mb修饰金纳米粒子和Mb的红外光谱检测如



式中， K_s 为四元复合物的结合常数， K_n 为决速步骤中由四元复合物生成产物的一级速率常数， K_0' 为底物在水溶液中自发反应的一级速率常数. 根据文献[15]，反应的速率方程为：

$$K_{\text{obs}}[S]_t = K_n[\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S}] + K_0'[S] \quad (3)$$

$$K_s = [\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S}] / [\text{Au-Mb-Cu}^*][S] \quad (4)$$

根据物料平衡可得：

$$[S]_t = [S] + [\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S}] \quad (5)$$

$$[\text{Au-Mb-Cu}^*] = [\text{Au-Mb-Cu}^*]_t - [\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S}] \quad (6)$$

$$[\text{Au-Mb-Cu}^*]_t = [\text{Au-Mb-Cu}]_t \quad (7)$$

式中， K_{obs} 为反应的表观一级速率常数， $[S]_t$ 和 $[\text{Au-Mb-Cu}]_t$ 分别为底物和 Au-Mb-Cu 的总浓度. 联立(3)–(7)，可得：

$$1/(K_{\text{obs}} - K_0') = 1/(K_n - K_0') + 1/(K_n - K_0')K_s[S]_t \quad (8)$$

当 K_{obs} 和 K_n 远远大于 K_0' 时，式(8)可以简化为：

$$1/K_{\text{obs}} = 1/K_n + 1/K_n K_s [S]_t \quad (9)$$

以 $1/K_{\text{obs}}$ 对 $1/[S]_t$ 作图，可得一条直线，由直线的斜率和截距即可分别求出 K_s 和 K_n .

2.4 pH 对反应速率的影响

图5表明不同 pH 值对 Au-Mb-Cu 催化活性的影响. 由此可以看出，在 pH=6~8 范围内， K_{obs} 随 pH 增加先上升，在 pH=7 时达到最大值，然后开

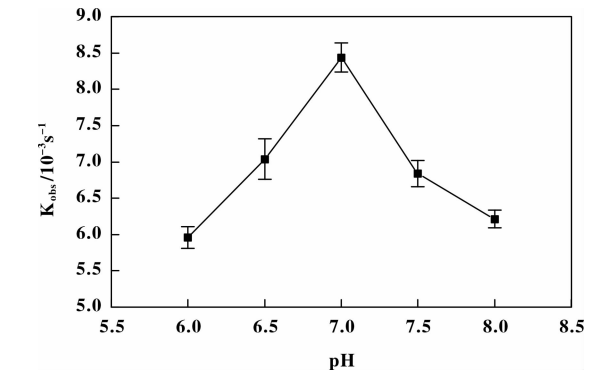


图5 pH 对催化反应速率的影响

Fig. 5 Effect of pH on catalytic reaction rate

酶活性的影响. 因此，Au-Mb-Cu 模拟酶催化反应体系的最适 pH 在 7.0 左右.

在表示机理的式(1)中， $\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S} \longrightarrow \text{Au-Mb-Cu} + \text{P}$ 这步可能包含两个中间反应： $\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S} \longrightarrow \text{Au-Mb-Cu} - \text{S}^- + \text{H}^+$ (中间体复合物 $\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S}$ 的酸式电离) 和 $\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S} + \text{OH}^- \longrightarrow \text{Au-Mb-Cu} - \text{OH}^- + \text{S}$ (中间体复合物 $\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S}$ 中的对苯二酚被 OH^- 取代)， $\text{Au-Mb-Cu} - \text{S}^-$ 进一步反应形成产物 P. 在此过程中，反应体系中 H^+ 和 OH^- 浓度过大都不利于 $\text{Au-Mb-Cu}^* - \text{S}^-$ 的形成，因此反应产物也难于形成.

2.5 温度对反应速率的影响

天然酶的催化活性受反应温度的影响，不同结构的酶的最适温度不同. 图6表示 Au-Mb-Cu 催化

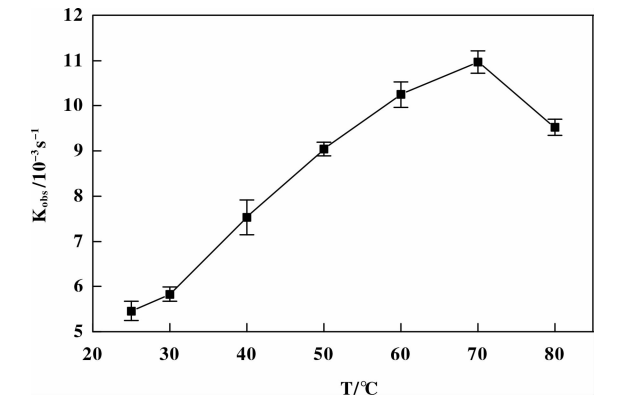


图6 温度对催化反应速率的影响

Fig. 6 Effect of temperature on catalytic reaction rate

过氧化氢化对苯二酚的表观一级速率常数随温度的变化情况. 温度对催化反应的影响符合生物催化剂的一般规律. 在 25~70 °C 范围内，催化反应的 K_{obs} 随着反应体系温度的升高而升高，在 70 °C 达到最大值，在此之后，催化反应的 K_{obs} 随着反应体系温度的升高而降低. 这是由于在达到催化反应的最适温度前，升高温度可加速活性配合物和中间复合物形成，从而提高反应速率，但温度过高则活性配合物和中间复合物的结构可能发生变化，因而降低催化速率. 该反应体系的最适催化温度大约为 70 °C. 文献报道天然过氧化物酶在水溶液中的最适温度一般为 30~40 °C 左右，这表明 Au-Mb-Cu 比天然酶更稳定，在较高温度下活性配合物仍能保持较高的催化活性，不会失活和变性.

2.6 过氧化氢/催化剂摩尔比对反应速率的影响

图7反映了过氧化氢/催化剂摩尔比对表观一

始逐渐下降. 这一结果类似于 pH 对天然过氧化物

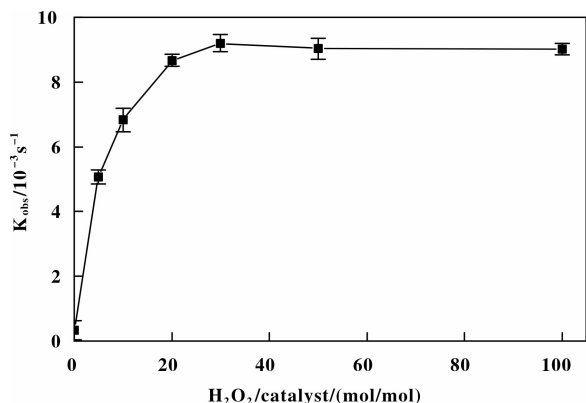


图7 过氧化氢/催化剂摩尔比对催化反应速率的影响

Fig. 7 Effect of hydrogen peroxide/catalyst ratio on catalytic reaction rate

级速率常数 K_{obs} 的影响. 从图中可以看出, 当过氧化氢/催化剂摩尔比从低于 30 时, 随着过氧化氢/催化剂摩尔比的量增加, 催化反应的表现一级速率常数 K_{obs} 大幅度增加, 到 30 左右时, K_{obs} 达到最大. 当摩尔比大于 30 后, K_{obs} 基本不再随过氧化氢/催化剂摩尔比的增加而变化. 这在一定程度上表明了 Au-Mb-Cu 催化过氧化氢氧化对苯二酚是按照前述的四元复合物模型: 即 Au-Mb-Cu 在氧化剂过氧化氢作用下变成高氧化态活性中间体 Au-Mb-Cu^{*} 为快速步骤, 但过氧化氢浓度过高可能阻碍中间体复合物的产生, 因此过氧化氢可能起抑制剂的作用^[17].

3 结论

我们以甲烷氧化菌素参与甲烷单加氧酶催化反应中电子传递过程为依据, 通过 Au-Mb-Cu 催化过氧化氢氧化对苯二酚的反应, 表明其具有良好的过氧化物酶活性. 纳米金-甲烷氧化菌素(Mb)-铜配合物催化氧化对苯二酚符合酶催化的动力学规律. 反应体系温度、pH 值、过氧化氢/催化剂摩尔比对配合物催化活性的影响符合生物催化剂条件影响的一般规律.

参考文献:

[1] a. Lu Y, Xie B, Huang C, *et al.* Kinetics studies on oxidation of hydroquinone catalyzed by water-soluble metalloporphyrin with hydrogen peroxide[J]. *J Mol Catal(China)* (分子催化), 2011, **25**(6): 534-540.
b. Feng Ze(冯泽), Xie Yu-jia(颀雨佳), Hao Fang(郝

芳), *et al.* The catalytic performance of cobalt tetra(4-nitrophenyl) metalloporphyrin supported on zinc oxide in cyclohexane oxidation(氧化锌负载四(4-硝基苯基)钴卟啉催化氧化环己烷性能)[J]. *J Mol Catal(China)* (分子催化), 2016, **30**(1): 20-28.

- [2] Chen X L, Li D H, Yang H H, *et al.* Studies on tetra-substituted amino aluminum phthalocyanine as a new red-region substrate for mimetic peroxidase[J]. *Chem J Chin Univer*, 2001, **22**(7): 1120-1121.
- [3] a. Li H M, Gao N, Liu L, *et al.* Novel trifunctional salicylaldehyde schiff Base derivative with GPX, SOD and CAT activities[J]. *Chem J Chin Univer*, 2009, **30**(7): 1353-1356.
b. Shi Xiu-feng(史秀锋), Hu Xiao-hong(胡晓虹), Fan Bin-bin(范彬彬), *et al.* Preparation and cyclohexane oxidation click catalysis of periodic mesoporous organosilicas functionalized with V-schiff-base(钒席夫碱官能化 PMOs 的制备及在环己烷氧化中的点击催化作用)[J]. *J Mol Catal(China)* (分子催化), 2015, **29**(2): 126-134.
- [4] Xie J Q, Li J Z, Meng X G, *et al.* A kinetic study of phenolic oxidation by H₂O₂ using the schiff base complexes as mimetic peroxidases[J]. *Trans Met Chem*, 2004, **29**(4): 388-393.
- [5] Liang Zhan-bei(梁战备), Shi Yi(史奕), Yue Jin(岳进). Research progress of methanotrophic bacteria(甲烷氧化菌研究进展)[J]. *J Ecolo*(生态学杂志), 2004, **23**(5): 198-205.
- [6] Hakemian A S, Rosenzweig A C. The biochemistry of methane oxidation[J]. *Annu Rev Biochem*, 2007, **76**(1): 223-241.
- [7] Balasubramanian R, Rosenzweig A C. Structural and mechanistic insights into methane oxidation by particulate methane monooxygenase[J]. *Acco Chem Res*, 2007, **40**(7): 573-580.
- [8] Kim H J, Graham D W, DiSpirito A A, *et al.* Methanobactin, a copper-acquisition compound from methane-oxidizing bacteria[J]. *Science*, 2004, **305**(5690): 1612-1615.
- [9] Behling L A, Hartsel S C, Lewis D E, *et al.* NMR, mass spectrometry and chemical evidence reveal a different chemical structure for methanobactin that contains oxazolone rings[J]. *J Ameri Chem Soc*, 2008, **130**(38): 12604-12605.
- [10] Choi D W, Semrau J D, Antholine W E, *et al.* Oxidase, superoxide dismutase, and hydrogen peroxide reductase activities of methanobactin from types I and II metha-

- notrophs[J]. *J Inorg Biochem*, 2008, **102**(8): 1571–1580.
- [11] Grabar K C, Freeman R G, Hommer M B, *et al.* Preparation and characterization of Au colloid monolayers[J]. *Analy Chem*, 1995, **67**(4): 735–743.
- [12] Grabar K C, Smith P C, Musick M D, *et al.* Kinetic control of interparticle spacing in Au colloid-based surfaces: rational nanometer-scale architecture[J]. *J Ameri Chem Soc*, 1996, **118**(5): 1148–1153.
- [13] Xin Jia-ying(辛嘉英), Dong Jing(董静), Yan Chao-ze(闫超泽), *et al.* Production and copper acquisition ability of methanobactin(甲烷氧化菌素的产生和铜捕获作用)[J]. *Chin Biotechnol*(中国生物工程杂志), 2011, **31**(8): 40–46.
- [14] Zeng Qi-fei(曾琦斐). Preparation and application of gold nanoparticles(纳米金的制备及其应用研究)[J]. *J Jiaying Univer (Nat Sci)*(嘉应学院学报(自然科学)), 2011, **29**(5): 54–59.
- [15] Jiang Wei-dong(蒋维东), Feng Fa-mei(冯发美), Xie Jia-qing(谢家庆), *et al.* The kinetic study on the oxidative reaction between HQ and H_2O_2 catalyzed by the copper(II) complexes and the metallomicelle(金属铜配合物及其金属胶束催化过氧化氢氧化对苯二酚的动力学研究)[J]. *J Sichuan Univer (Nat Sci Ed)*(四川大学学报(自然科学版)), 2003, **40**(5): 26–930.
- [16] Choi D W, Zea C J, Do Y S, *et al.* Spectral, kinetic, and thermodynamic properties of Cu(I) and Cu(II) binding by methanobactin from *Methylosinus trichosporium* OB3b[J]. *Biochem*, 2006, **45**(5): 1442–1453.
- [17] Zhang T, Zhao Q X, Huang H, *et al.* Kinetic study on the removal of toxic phenol and chlorophenol from waste water by horseradish peroxidase[J]. *Chin J Envirom*, 1998, **37**(8): 1571–1577.

Study on Functionalized Gold Nanoparticles of Methanobactin by Copper Ion Coordination Used as Simulated Peroxidase

LI Chun-yu¹, XIN Jia-ying^{1, 2*}, LIN Hui-ying¹, ZHANG Yue¹, XIA Chun-gu²

(1. Key Laboratory for Food Science and Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

2. State Key Laboratory for Oxo Synthesis and Selective Oxidation, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: In this paper, AuNPs-methanobactin(Mb)-copper complexes have been synthesized, which can be used as a simulated peroxidase in the catalytic oxidation of hydroquinone by H_2O_2 . AuNPs-methanobactin(Mb)-copper was characterized by UV spectroscopy, fluorescence spectroscopy and infrared spectroscopy. The kinetics of hydroquinone oxidation catalyzed by complexes were studied by UV-Vis spectrophotometry. The effects of system pH, system temperature and hydroquinone/complex molar ratio on the catalytic reaction rate were investigated. The results showed that the AuNPs-methanobactin(Mb)-copper complex conformed to the general rule of the influence of the biocatalyst condition, but having higher thermal stability than the biological enzyme.

Key words: methanobactin; gold nanoparticles; simulated peroxidase