

分析测试

基于 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子类氧化酶活性特异性检测酚类物质

袁丙朕, 张 烟, 汪珍珍, 彭铭沛, 卢丹青*

(中南林业科技大学材料科学与工程学院, 湖南 长沙 410004)

摘要: 制备了具有高效类氧化酶活性的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子, 该粒子具有性质稳定、类氧化酶活性强、制备简单等优势, 结合酚类物质的酶抑制作用, 构建了一种简单、快捷、现象明显的温度检测方法, 弥补了传统检测方法的不足。 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子能够快速催化溶解氧产生活性氧自由基, 从而催化无色底物 TMB 发生显色反应, 再经过 808 nm 激光照射后, 会产生明显的温度变化。通过进一步研究发现, 再加入酚类物质后, 颜色变化明显减弱, 并伴随着温度变化降低, 可以实现对酚类物质的特异性检测。在最优条件下, 温度变化与酚类物质的浓度在 0~100 $\mu\text{mol/L}$ 范围内有着良好的线性关系, 检测限为 2.67 $\mu\text{mol/L}$ 。此外该方法有着良好的抗干扰能力, 不受其他结构类似有机物的影响。该方法具有操作方便、仪器设备简单易得、灵敏度好、抗干扰能力强等优点, 在酚类物质的检测方面有着相当不错的应用前景。

关键词: 类氧化酶; $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子; 温度检测; 酚类物质

中图分类号: O614

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2024)12-0235-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2024.12.043

Specific detection of phenolics based on oxidase-like activity of $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ nanoparticles

YUAN Bing-zhen, ZHANG Yin, WANG Zhen-zhen, PENG Ming-pei, LU Dan-qing*

(College of Material Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

Abstract: $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ nanoparticles with strong oxidase-like activity and high efficiency are synthesized. These nanoparticles have a number of benefits, including stability and easily manufacturing. Combined with the enzyme inhibition of phenolics, a straightforward, quick, and obvious temperature detection approach is constructed for phenolics, making up for the drawbacks of the conventional detection methods. $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ nanoparticles may quickly catalyze the dissolved oxygen to produce reactive oxygen free radicals, therefore catalyzes the chromogenic reaction of TMB, a colorless substrate. This reaction will result in noticeable temperature increase when it is exposed to an 808 nm laser. It is shown through further study that the addition of phenolics leads to a significant weakening in color change, as well as a decrease in temperature change, allowing for the precise identification of phenolics. Under the optimal conditions, there is a linear relationship between temperature change and phenolic concentration within the range of 0–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, along with a detection limit of 2.67 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. This approach is resistant to other organic compounds with comparable structure. It has the advantages such as good sensitivity, strong anti-interference ability, easily operating, simple instrumentation, and so on, and it has a promising prospect in phenolics detection.

Key words: oxidase-like; $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ NS nanoparticles; temperature detection; phenolics

酚类化合物是一类属极性、可离子化、弱酸性的有机化合物, 毒性大、难降解^[1]。酚类污染物存在于各种行业的废水中, 如石油炼制、煤炭转化、塑料、纺织、钢铁制造以及纸浆和造纸等^[2]。作为一种原型质毒物, 当其与细胞原浆接触时, 易使细胞失去活力^[3]; 酚类化合物也会引起人体贫血、头晕及各种神经系统病症, 对人类免疫、内分泌和泌尿等系统均

有一定毒害作用^[4], 同时, 残留在环境中的酚类污染物会经由淋洗和渗透途径进入地表水或地下水, 造成水体污染。在食品安全方面, 酚类物质通过食物链的传递与富集, 使其逐渐在动植物体内积聚, 直接或间接地危害动、植物和人类的身体健康^[5]。

因此, 对酚类物质的检测具有重要意义, 目前有许多方法被用于检测酚类物质, 例如高效液相色谱

收稿日期: 2024-02-16; 修回日期: 2024-10-31

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(22004132); 湖南自然科学基金项目(2020JJ5963); 湖南省教育厅科学研究项目(19C1892); 湖南省大学生创新创业训练计划项目(湘教通[2019]100号第1624项)

作者简介: 袁丙朕(1998-)男, 硕士生; 卢丹青(1989-)女, 博士, 副教授, 研究方向为有机框架金属材料 MOFs、化学与生物传感器、小分子生物传感器, 通讯联系人, danqinglu@csuft.edu.cn。

法^[6]、荧光光度法^[7]、分光光度法^[8-9]、化学发光法^[10]和电化学法^[11]等。它们都不可避免地采用了大型仪器,复杂的检测步骤,故限制了它们在资源有限区域的利用,迫切需要一种简单方便的检测方法。

纳米酶是一类具有生物催化活性的纳米材料^[12]。与天然酶相比,纳米酶具有稳定性好、活性可调、成本低、易于批量制备和储存等优势,近年来已在生物传感、食品安全、环境保护、疾病诊断与治疗等领域得到广泛应用^[13-18]。基于此制备了一种具有强类氧化酶活性的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米酶,能将无色底物 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)快速氧化为澄清的蓝色,在激光的照射下会产生明显的温度变化。而酚类物质可以抑制 TMB 的催化氧化,使其不再产生明显的颜色和温度变化。基于该原理,设计了温度检测法,与传统检测方法相比,具有现象明显、仪器简单易得、操作方便以及耗时短的优势,为酚类化合物的检测提供了一种全新的思路。

1 材料与仪器

高锰酸钾(KMnO_4)、30%过氧化氢(H_2O_2)、四水氯化亚铁($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、六水氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、氨水($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、二甲基亚砜(DMSO)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB),上海阿拉丁化学有限公司;无水乙醇、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、2-(*N*-吗啉代)乙磺酸(MES)、氢氧化钠(NaOH)、对苯二酚、邻苯二酚、苯酚,上海易恩化学技术有限公司;试验试剂均为分析纯,试验用水为超纯水。

无油隔膜真空泵(济南奥鑫精仪器有限公司)、DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(析牛科技)、VCL-CLT-04 808 nm 激光器(北京蓝图光电有限公司);ZG-8051 便携式温度计(广东志高空调有限公司)。

2 实验部分

2.1 Fe_3O_4 纳米粒子的制备

参考文献^[19]制备 Fe_3O_4 纳米粒子,在 N_2 条件下,取 40 mL $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.05 mol/L) 和 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1 mol/L) 的混合溶液加热至 80℃,匀速搅拌。逐滴加入 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$,直到溶液的 pH 达到 10,在该条件下反应 45 min。然后通过磁分离的方法将获得的纳米颗粒依次用乙醇和去离子水洗涤,将获

得的纳米粒子在 60℃ 的真空干燥箱下干燥 6 h,得到 Fe_3O_4 纳米粒子,在室温下储存。

2.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米酶的制备

合成 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子的方法,是在先前报道的 MnO_2 纳米粒子合成方法的基础上^[20],进行了一定的优化^[21]。具体操作如下:将 50 mg KMnO_4 和 20 mg Fe_3O_4 纳米粒子分别加入 40 mL 超纯水中,轻轻搅拌 30 min。缓慢加入 10 mg CTAB(稳定剂),引导形成稳定的乳液溶液。随后将 2.5 mL MES 缓冲液(0.2 mol/L, pH 6.0)加入上述溶液中,并在室温下搅拌过夜。将合成的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子用超纯水反复洗涤(磁分离)来纯化,得到棕黄色沉淀物。最后,将棕色沉淀物在真空烘箱中于 60℃ 的条件下干燥 6 h,将所得 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子在室温下储存以备日后使用。

2.3 测定方法

取一定浓度的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子,加入 TMB,可以观察到溶液颜色迅速由无色变为澄清的蓝色,用便携式温度计记录此时温度,随后再将该溶液转移至样品架台,用 808 nm 的激光器(3.15 W)垂直照射样品溶液一段时间后,再用便携式温度计测定该溶液激光照射后的温度变化。可以明显看到照射前后温度计温度上升。在其他反应条件不变的情况下,再加入酚类物质,可以观察到溶液颜色又由蓝色变为无色,此时再用便携式温度计记录激光照射前后温度的变化情况,可以看到温度变化不再明显。因此可以用该方法快速方便可靠地检测酚类物质。

3 结果与分析

3.1 检测原理

MnO_2 纳米粒子具有氧化酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性。根据之前的文献, MnO_2 纳米粒子的氧化酶催化机制是由于氧空位的形成,而不是活性氧(ROS)的产生^[22-23]。原理如图 1 所示, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子通过将 $\text{O}_2(\text{fr})$ (游离 O_2) 转化为 $\text{O}_2(\text{ads})$ (吸附的 O_2),催化无色底物 TMB 产生蓝色氧化 TMB,从而发挥固有的氧化酶活性。在酚类物质存在的情况下, MnO_2 纳米粒子会分解为 Mn^{2+} ,导致氧化 TMB 的颜色明显变浅^[19];另一方面, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米粒子催化无色氧化酶底物 TMB 产生蓝色氧化 TMB 后,在 808 nm 紫外光的照射下会产生明显的温度变化,而当再加入酚类物质后温度变化情况明显减弱。因此,酚类物质的水平

可以通过肉眼和便携式温度计来判断。根据颜色变化以及温度计温度变化情况的不同就可以检测出酚类物质的含量。

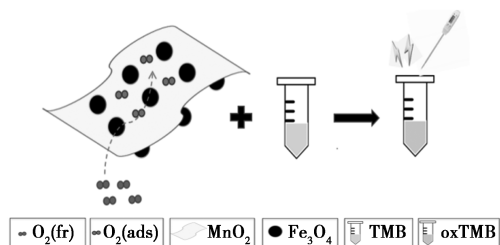


图1 检测原理图

3.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 表征

$\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 通过化学氧化还原反应合成了具有仿生氧化酶活性的纳米材料。如图2所示, Fe_3O_4 为直径约为 20 nm 的球状, 二氧化锰纳米片呈现二维平面形态, 表面具有明显的褶皱形状, 这样可以有效地增加比表面积, 与文献的基本一致。SEM 结果表明, Fe_3O_4 纳米粒子在 MnO_2 纳米片表面分布, 表现出相当不错的吸附性, 证明该制备方法的可行性。

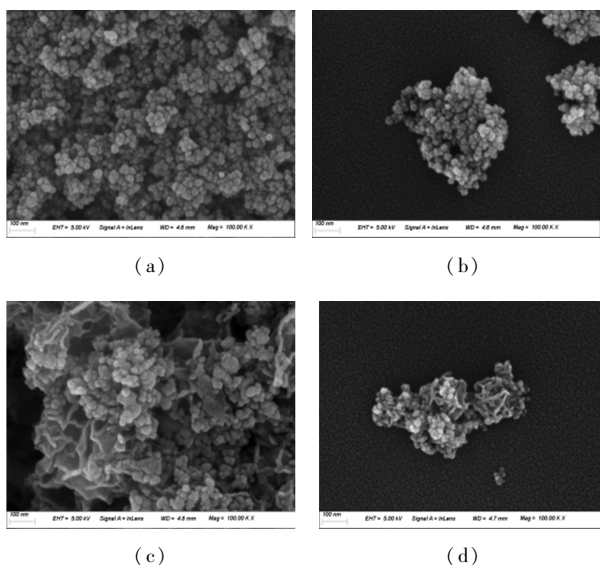


图2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ 纳米酶的扫描电镜图 (SEM)

3.3 方法可行性验证

如图3所示, 当向 TMB 溶液中加入不同浓度的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ NS 时, 有明显的颜色变化, 可见其蓝色由浅慢慢变深。酚类物质的抗氧化性可以将蓝色 oxTMB 还原为无色 TMB, 此时反应溶液体系中几乎没有 oxTMB 生成。可以根据溶液的温度变化情况来检测酚类物质的含量多少, 温度差异明显, 可以用于构建温度监测体系。

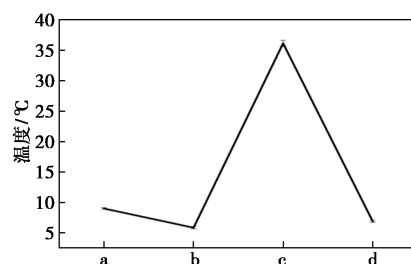


图3 不同组分对应的温度响应情况

3.4 反应条件的优化

3.4.1 光照时间对温度变化的影响

对反应体系的光照时间进行优化, 由图4可知, 反应时间小于 120 s, 体系的温度变化情况随着光照时间的增加而快速增加; 当反应超过 120 s, 温升趋于平缓, 说明此时体系中反应物基本上已经反应完毕, 故 120 s 为最佳的光照时间。

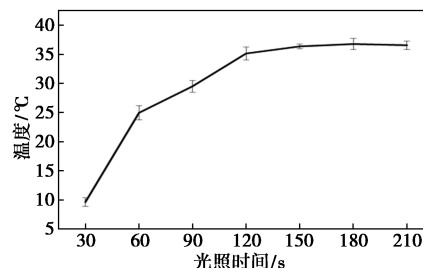


图4 光照时间对温度变化的影响

3.4.2 反应时间对温度变化的影响

如图5所示, 随着反应时间的增加, 该体系的温升情况基本不发生改变, 证明该体系具有良好的稳定性, 在室温条件下稳定性十分出色, 因此可以在复杂的环境下保证检测的可行性, 而不需要提供特定的检测环境。而且在充分震荡后, 溶液颜色立刻由无色变为澄清的蓝色, 在 808 nm 的激光照射下, 溶液温度变化迅速, 可见其反应时间很短, 证明该检测方法有十分优越的反应速率。

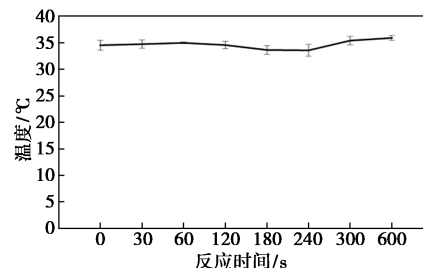


图5 反应时间对温度变化的影响

3.4.3 TMB 浓度对温度变化的影响

TMB 浓度对该体系温升情况的影响如图6所

示,可以看到当 TMB 浓度达到 0.6 mmol/L 时,温升已经趋于平缓,在 0.8 mmol/L 时温升达到最大值,再增大 TMB 浓度,温升基本不变,因此选用 0.8 mmol/L 作为 TMB 的最优浓度。

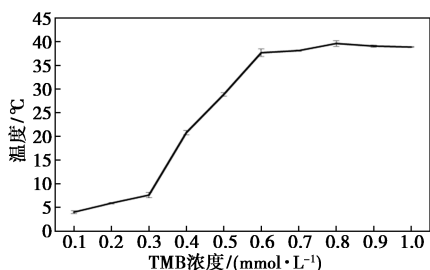


图 6 TMB 浓度对温度变化的影响

3.4.4 Fe₃O₄@MnO₂ 浓度对温度变化的影响

Fe₃O₄@MnO₂ 浓度对该体系温升的影响如图 7 所示,在所有条件均用上述最佳条件的情况下,可以看到温升随着 Fe₃O₄@MnO₂ 浓度的增加而增加,并在 0.2 mg/mL 时达到最大值,故 Fe₃O₄@MnO₂ 的最佳浓度为 0.2 mg/mL。

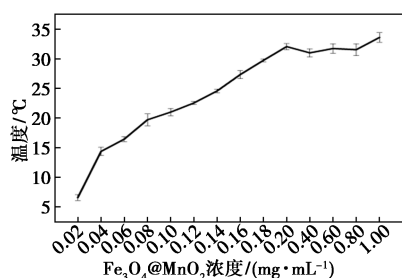


图 7 Fe₃O₄@MnO₂ 浓度对温度变化的影响

3.5 对酚类化合物检测时间

为了探究加入酚类化合物后,需要反应多少时间才能对温度变化产生明显抑制作用,由上文可知 Fe₃O₄@MnO₂ 与 TMB 反应体系具有优秀的反应速率,而由图 8 可见,当再加入酚类物质后,也有着相当优秀的反应速度,在加入酚类物质后其颜色立刻由蓝色变为无色,再进行温度检测可见其立刻

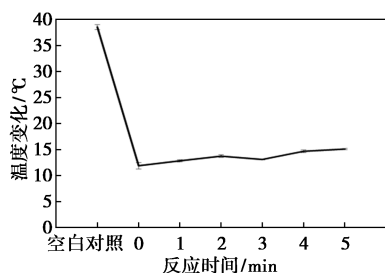


图 8 加入酚类物质后反应不同时间对温度变化的影响

产生明显的温度下降,故可知该温度法具有检测时间短的优点。

3.6 温度法检测酚类物质

在 Fe₃O₄@MnO₂ 与 TMB 的混合溶液里,逐次滴加不同浓度的酚类物质,可以明显观察到颜色又从澄清的蓝色转为无色。迅速转至样品架台,用 808 激光以为 3.12 W/cm² 的功率垂直照射 2 min,再用便携式温度计插入溶液中检测光照后温度变化,记录前后变化数值,如图 9 所示,可以看出随着酚类物质浓度的增加,温度变化逐渐减小。在 0~100 μmol/L 范围内有着良好的线性关系,算出最低检测限为 2.67 μmol/L。

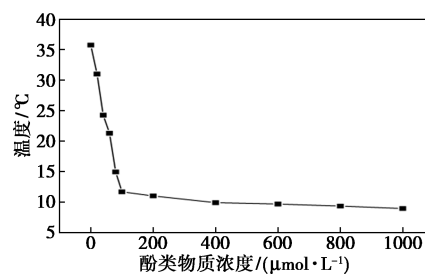


图 9 不同浓度酚类物质的温度变化曲线

3.7 干扰实验

为了探究当其他干扰物存在是否会对 Fe₃O₄@MnO₂ 纳米酶检测酚类物质产生影响,进行了干扰实验。结果如图 10 所示,可以看到当加入甲苯、苯甲酸、苯氧基乙酸、对苯醌、甲醛和新戊二醇时,对温度的影响都十分微弱,只有当加入酚类物质时有十分明显的温度影响,可见 Fe₃O₄@MnO₂ 可以特异性检测酚类物质。

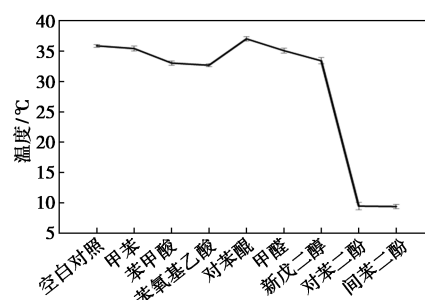


图 10 干扰实验

4 结论

基于 Fe₃O₄@MnO₂ 纳米粒子的优势,可通过催化 TMB 的氧化产生明显的光热信号,设计了利用温度法检测酚类物质的方法,与传统方法相比具有仪器简单、使用方便、现象明显的优势。它不需要大

型、昂贵、操作复杂的仪器,使用便携式温度计就可以得到可靠稳定的结果,因此在酚类化合物的检测方面具有较为广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 张帆,刘媛,贺盛福,等.处理含酚废水的研究进展[J].现代化工,2015,35(1):67-62.
- [2] 刘明媛.重点行业特征有机污染物筛查及指纹图谱构建[D].北京:中国环境科学研究院,2022.
- [3] 武媛媛,晋日亚,乔怡娜,等.微球状 Co_3O_4 修饰电极检测邻苯二酚[J].现代化工,2017,37(10):134-137.
- [4] 何秋香,陈祖亮.柚子皮制备生物炭吸附苯酚的特性和动力学[J].环境工程学报,2014,8(9):3853-3859.
- [5] 张宁.有机改性膨润土和介孔碳的制备及其对废水中酚类物质吸附性能和吸附机理的研究[D].太原:太原理工大学,2018.
- [6] Larcher R, Nicolini G, Puecher C, *et al.* Determination of volatile phenols in wine using high-performance liquid chromatography with a coulometric array detector[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 582(1):55-60.
- [7] Kong Y, Chen X, Yao C, *et al.* A voltammetric sensor based on electrochemically activated glassy carbon electrode for simultaneous determination of hydroquinone and catechol[J]. *Analytical Methods*, 2011, 3(9):2121-2126.
- [8] 苏玉顺,李艳君,赵方振,等.紫外-可见分光光度法在植物多糖含量测定中的应用[J].光谱实验室,2011,28(3):1101-1107.
- [9] Chenll, Jinih, Wang H M. Environmental analysis for nature [J]. *Journal of Analytical Science*, 2004, 20(1):57.
- [10] Wang C, Chen Xl, Tan X M. Inorganic arsenic speciation in ground-water samples using electrothermal atomic spectrometry following selective separation and cloud point extraction[J]. *Journal of Analytical Science*, 2011, 27(4):439-445.
- [11] Ludovit Ziak, Sádeck J, Májek P, *et al.* Simultaneous determination of phenolic acids and scopoletin in brandies using synchronous fluorescence spectrometry coupled with partial least squares[J]. *Food Analytical Methods*, 2014, 7(3):563-570.
- [12] 孟冬玲,王维刚,温佳琦,等.基于 Au 增强的 $\text{Mn}_3\text{O}_4/\text{Au}$ 复合纳米酶的高选择性检测特丁基对苯二酚[J].分析科学报,2021,37(6):741-746.
- [13] Wu J, Wang X, Wang Q, *et al.* Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): Next-generation artificial enzymes (II) [J]. *Chem Soc Rev*, 2019, 48:1004-1076.
- [14] Jiang Z W, Zhao T T, Li Y F, *et al.* Reversible regulation of enzyme-like activity of molybdenum disulfide quantum dots for colorimetric pharmaceutical analysis[J]. *Nanoscale Horiz*, 2020, 5:119-123.
- [15] Tan J, Wu S, Cai Q, *et al.* Reversible regulation of enzyme-like activity of molybdenum disulfide quantum dots for colorimetric pharmaceutical analysis[J]. *J Pharm Anal*, 2022, 12:113-121.
- [16] Gao Z, Lv S, Xu M, *et al.* High-index {hk0} faceted platinum concave nanocubes with enhanced peroxidase-like activity for an ultrasensitive colorimetric immunoassay of the human prostate-specific antigen[J]. *Analyst*, 2017, 142:911-917.
- [17] 焦健,范克龙,胡志刚,等.纳米酶的发展态势与优先领域分析[J].中国科学:化学,2019,49(12):1442-1453.
- [18] 武江洁星,魏辉.浅谈纳米酶的高效设计策略[J].化学进展,2021,33(1):42-51.
- [19] Han Q, Shen X, Zhu W, *et al.* Magnetic sensing film based on $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ -GSH molecularly imprinted polymers for the electrochemical detection of estradiol[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 79:180-186.
- [20] Wang H, Li Y, Bai H, *et al.* DNA-templated Au nanoclusters and MnO_2 sheets: A label-free and universal fluorescence biosensing platform, *Sens*[J]. *Actuators B Chem*, 2018, 259:204-210.
- [21] Wang Y, Wu J, Wang G, *et al.* Oxygen vacancy engineering in Fe doped akhtenskite-type MnO_2 for low-temperature toluene oxidation[J]. *Appl Catal B Environ*, 2021, 285:119873.
- [22] Cui P, Zhang Y, Cao Z, *et al.* Plasma-assisted lattice oxygen vacancies engineering recipe for high-performing supercapacitors in a model of birnessite- MnO_2 [J]. *Chem Eng J*, 2021, 412:128676.
- [23] Yang Wei, Fei Jianwen, Xu Wei, *et al.* A biosensor based on the biomimetic oxidase $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{MnO}_2$ for colorimetric determination of uric acid [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2022, 212:112347. ■

赢创特种胺扩产项目在南京全面开工

赢创特种胺工厂扩建项目于11月8日在南京正式全面开工。此次扩建项目投资额达数千万欧元,将助力赢创获取具有成本效益的原材料,增强其胺类产品组合。

赢创特种添加剂业务部门负责人 Claudine Mollenkopf 博士表示:“亚洲是我们业务拓展的战略重心,我们对该地区的未来潜力充满了信心,而特种胺新工厂的扩建印证了这一点。该投资项目既能巩固我们在聚氨酯和环氧市场的地位,同时彰显了我们在可持续增长和创新方面的决心。”

赢创南京基地使用绿色电力生产胺基添加剂,这些添加剂在聚氨酯发泡反应中作为催化剂发挥着重要作用。创

新型的催化剂还能减少气味和 VOC 排放。2023年11月,赢创就基地扩建与南京市政府签署意向书,扩建工程预计于2026年竣工。

赢创大中华区总裁夏赋良表示:“中国是一个充满活力和潜力的市场,聚氨酯产品在建筑、汽车和家居等领域的应用前景非常广阔。通过扩大我们的特种胺产品生产能力,我们能够更加灵活地响应市场需求,为客户提供更具竞争力、更可持续的解决方案。我们将继续坚定对中国可持续发展目标的承诺,并与本地伙伴一起,推动行业的绿色高质量发展。” (方圆)