

铁掺杂蒙脱石纳米酶的制备与应用

田路远^{1,2,3}, 汪 浩^{1,2,3}, 唐爱东^{1,2,3,4}, 杨华明^{1,2,3,5,6}

(1. 中国地质大学(武汉)纳米矿物材料及应用教育部工程研究中心; 2. 中国地质大学(武汉)材料与化学学院;
3. 中国非金属矿行业矿物功能材料重点实验室, 中国地质大学(武汉), 武汉 430074; 4. 中南大学化学化工学院, 长沙 410083;
5. 中南大学资源加工与生物工程学院, 长沙 410083; 6. 中南大学矿物材料及其应用湖南省重点实验室, 长沙 410083)

摘 要: 纳米酶可以快速灵敏地检测生物标记物, 有效防止疾病的爆发, 但是纳米酶的催化活性低、对底物亲和力差, 严重地制约了其检测性能。蒙脱石是一种具有典型的 2:1 型层状结构的硅酸盐黏土矿物, 利用其良好的吸附能力和阳离子交换能力, 将 Fe^{3+} 锚定在蒙脱石的表面与层间, 制备具有类过氧化物酶性质的 Fe 掺杂蒙脱石纳米酶, 可增强对 H_2O_2 的亲和力, 通过比色法可实现对 H_2O_2 的检测。结果表明: 在中性条件下, H_2O_2 的检测线性范围和检测限分别为 20~500 $\mu\text{mol/L}$ 和 5.8 $\mu\text{mol/L}$ 。这种蒙脱石纳米酶在分析检测和疾病诊断领域具有良好的应用前景。

关键词: 纳米酶; 蒙脱石; 类过氧化物酶; 铁掺杂; 比色法; 分析检测

中图分类号: TB332 文献标志码: A 文章编号: 0454-5648(2022)10-2762-08

网络出版时间: 2022-08-03



Preparation and Application of Colorimetric Sensor Based on Ferric Doping-Montmorillonite Nanozyme

TIAN Luyuan^{1,2,3}, WANG Hao^{1,2,3}, TANG Aidong^{1,2,3,4}, YANG Huaming^{1,2,3,5,6}

(1. Engineering Research Center of Nano-Geomaterials of Ministry of Education, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China; 2. Faculty of Materials Science and Chemistry, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China;
3. Key Laboratory of Functional Geomaterials in China Nonmetallic Minerals Industry, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China; 4. School of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China; 5. School of Minerals Processing and Bioengineering, Central South University, Changsha 410083, China; 6. Hunan Key Lab of Mineral Materials and Application, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: Nanozyme can quickly and sensitively detect biomarkers to prevent the outbreak of diseases. However, the low catalytic activity and poor affinity for substrates restrict the detection performance. Montmorillonite, as a typical 2:1 layered silicate clay mineral, has a good adsorption and cation exchange ability. Thus, Fe^{3+} can be anchored into the layers to prepare Fe doping montmorillonite nanozyme with a peroxidase-like property, enhancing the affinity for H_2O_2 and realizing the colorimetric detection of H_2O_2 . The results show that the linear range and detection limit of H_2O_2 are 20~500 $\mu\text{mol/L}$ and 5.8 $\mu\text{mol/L}$ under neutral conditions, respectively. The colorimetric method for silicate clay mineral nanozyme has a good application prospect in the fields of analytical detection and disease diagnosis.

Keywords: nanozyme; montmorillonite; peroxidase-like property; iron doping; colorimetric method; analytical detection

纳米酶是一种具有类酶活性的纳米材料, 因其稳定性好、成本低、易于制备等独特优点, 受到人

们的广泛关注^[1]。自 2007 年发现并报道了本身具有过氧化物酶活性的 Fe_3O_4 纳米颗粒^[2], 新型纳米酶

收稿日期: 2022-01-14。 修订日期: 2022-01-30。

基金项目: 中国博士后科学基金(2020M682518); 湖北省博士后创新研究计划(265053)。

第一作者: 田路远(1995—), 男, 博士研究生。

通信作者: 唐爱东(1968—), 女, 博士, 教授;

杨华明(1968—), 男, 博士, 教授。

Received date: 2022-01-14. Revised date: 2022-01-30.

First author: TIAN Luyuan (1995—), male, Doctoral candidate.

E-mail: tianluyuan@cug.edu.cn

Correspondent author: TANG Aidong (1968—), female, Ph.D., Professor;
YANG Huaming (1968—), male, Ph.D., Professor.

E-mail: tangaidong@cug.edu.cn; hm.yang@cug.edu.cn

就不断涌现。目前, 纳米酶的主要类型包括: 类氧化酶、类过氧化物酶、类过氧化氢酶和类超氧化物歧化酶^[3]。类过氧化物酶材料主要包括纳米金属材料、纳米金属氧化物材料和碳纳米材料^[4]。它们在过氧化氢(H_2O_2)存在的条件下, 可以将无色的 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)氧化为蓝色产物, 利用底物颜色的变化, 可以构建比色法检测生物活性小分子, 如被视为反映帕金森病和阿尔茨海默病生物标志物的 H_2O_2 ^[5]和与糖尿病血糖浓度相关联的葡萄糖分子^[6], 可以反应患者所处的状态, 有效防止疾病的爆发, 在疾病检测与诊断中发挥着重要作用^[7-8]。与电化学检测法和荧光法检测 H_2O_2 ^[9-10]相比, 比色法不仅可实现快速可视化检测, 而且无需任何精密仪器或专业技能, 在即时检测中备受关注^[11]。然而, 类过氧化物酶活性相对较低, 将会影响检测的灵敏度。

黏土矿物表面具有丰富的电荷和羟基基团, 可以与活性组分发生吸附和键合作用, 协同增强材料的催化活性^[12]。蒙脱石是一种具有典型的 2:1 型层状结构的硅酸盐黏土矿物, 由外面 2 层硅氧四面体层和中间 1 层铝氧八面体层组成。蒙脱石具有良好的阳离子交换能力、丰富的表面电荷与羟基基团、良好的吸附性和亲水性^[13], 使之成为纳米酶的优良载体。例如, 坡缕石负载 Co_3O_4 纳米颗粒^[14]以及蒙脱石负载 Co_3O_4 ^[15]、 Fe_3O_4 ^[16]、 V_2O_5 ^[17]和 CeO_2 ^[18]等不同金属氧化物颗粒, 坡缕石和蒙脱石有效地阻止负载纳米颗粒的聚集, 提高了其类过氧化物酶活性, 并完成了 H_2O_2 、抗坏血酸和谷胱甘肽等活性生物小分子的灵敏检测。上述被报道的矿物纳米酶是在酸性条件下检测, 这需要进行实际样品外环境的 pH 值调节, 如果能够实现中性条件下检测, 则会更为方便。

Fe^{3+} 在 pH 值大于 3.5 的条件下就会快速水解生成沉淀(溶度积的负对数 $-\lg K_{\text{sp}}=37.4$)。本研究采用铁掺杂方法, 通过静电吸附和阳离子交换能力将 Fe^{3+} 锚定在蒙脱石表面与层间, 制备铁掺杂蒙脱石(Fe^{3+} -MK10)纳米酶。将 Fe^{3+} 锚定在蒙脱石上, 阻止 Fe^{3+} 在中性条件下的水解, 有望提高材料的催化活性, 实现中性条件下快速检测 H_2O_2 。采用 X 射线衍射(XRD)、扫描电子显微镜(SEM)、X 射线光电子能谱(XPS)对材料的结构、形貌与元素价态进行表征, 研究 Fe^{3+} -MK10 纳米酶的酶促反应动力学, 为矿物基纳米酶检测生物小分子提供参考。

1 实验

1.1 材料制备

以 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、钙基蒙脱土 K10(MK10, CAS: 1318-93-0, 沃凯国药集团化学试剂有限公司)为原料, 采用常温搅拌法制备 Fe^{3+} -MK10 纳米酶。所有试剂直接使用, 不需经过处理。

首先, 在装有磁子的 100 mL 的烧杯中加入 50 mL 去离子水, 然后加入 1.0 g MK10 和不同摩尔量的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.5、1.0、2.0 mmol 和 4.0 mmol), 并将其放在磁力搅拌器上搅拌 8 h, 搅拌完成后, 使用高速离心机离心, 并用去离子水洗涤 3 次, 然后再将其放入冷冻干燥机上过夜冷冻干燥, 最后将其封装保存在自封袋中。

1.2 表征

使用德国 Bruke D8 Advance 型 X-射线衍射仪(XRD)分析物相的构成[以 $2(^{\circ})/\text{min}$ 的扫描速率, 在 $3^{\circ}\sim 80^{\circ}$ 的角度范围内进行扫描]。采用 ZEISS Gemini 300 型扫描电子显微镜(SEM)观测材料的表面形貌和微区表征。采用 Agilent 5110 型电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)分析铁元素的溶出量。使用美国 Thermo Scientific K-Alpha 型 X 射线光电子能谱仪(XPS)分析样品的表面铁元素的化学价态(结合能为 284.8 eV 的 C 1s 峰作为参考峰, 使用 XPS Advantage 软件进行拟合)。使用帝肯 Infinite 200 PRO 型多功能酶标仪进行酶促动力学测试(波长选取 652 nm)。

1.3 类过氧化物酶活性的测定

Fe^{3+} -MK10 类过氧化物酶活性的测定: 在 96 微孔板中依次滴加 10 μL 2 mg/mL Fe^{3+} -MK10, 100 μL 3 mmol/L TMB, 100 μL 生理盐水和 100 μL 900 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 , 反应 3 min 后, 将 96 微孔板拿到酶标仪上检测溶液在 652 nm 处的吸光度值。测定 pH 值影响时, 只需要把生理盐水换成 pH=4.0 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液。测定温度对 Fe^{3+} -MK10 活性的影响: 先将 Fe^{3+} -MK10 在不同温度(25、35、45、55 $^{\circ}\text{C}$ 和 65 $^{\circ}\text{C}$)下放置 1 h, 然后再按上述滴加步骤进行检测。

1.4 稳态动力学参数的测定

Fe^{3+} -MK10 纳米酶对底物 H_2O_2 的稳态动力学检测: 10 μL 2 mg/mL Fe^{3+} -MK10 溶液、100 μL 生理盐水溶液、100 μL 3 mmol/L TMB 溶液依次加入 96 微孔板中, 最后加入 100 μL 不同浓度 H_2O_2 溶液, 在 652 nm 处测定吸光度值; 同理, 保证 H_2O_2 浓度

不变, 改变 TMB 的浓度, 即可计算 TMB 的稳态动力学参数。

动力学参数通过使用 Michaelis-Menten 方程计算:
$$v = \frac{V_{\max} \times [S]}{K_m + [S]} \quad (1)$$

其中: v 为初始速率, mol/(L·s); $V_{\max}$ 为最大反应速率, mol/(L·s); $[S]$ 是底物浓度, mmol/L; K_m 为米氏常数, 反映与底物的亲和能力, mmol/L。

1.5 羟基自由基的检测

使用对苯二甲酸(TA)作为荧光探针检测羟基自由基($\cdot OH$)。第 1 组加入 TA(50 $\mu g/mL$); 第 2 组加入 H_2O_2 (10 mmol/L)和 TA(50 $\mu g/mL$); 第 3 组加入 Fe^{3+} -MK10(200 $\mu g/mL$)、 H_2O_2 (10 mmol/L)和 TA(50 $\mu g/mL$)。上述溶液在室温下反应 2 h。然后, 离心提取上清液, 并各取 200 μL 上清液放入酶标仪, 使用 312 nm 作为激发波长, 检测荧光发射波长在 430 nm 时的荧光信号。

1.6 过氧化氢的检测

首先, 在 96 微孔板中加入 10 μL 2 mg/mL 的 Fe^{3+} -MK10 溶液, 然后加入 100 μL 3 mmol/L TMB 溶液和 100 μL 生理盐水, 最后加入 100 μL 不同浓度的 H_2O_2 溶液(最终浓度: 20~1 500 $\mu mol/L$), 在室温下培养 3 min 后, 将混合溶液放进酶标仪, 检测在 652 nm 处的吸光度值。

1.7 使用稳定性的评定

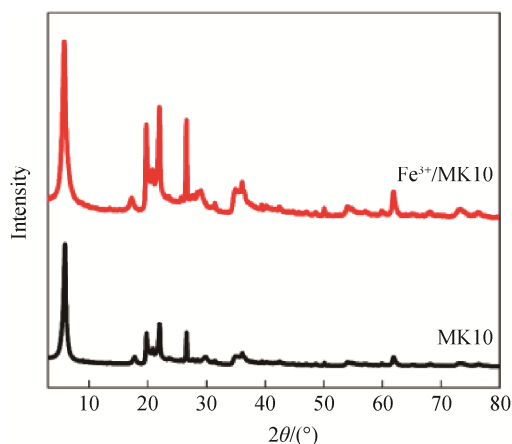
首先, 配制 2 mg/mL Fe^{3+} -MK10 溶液, 保存 5 min 后在转速 8 000 r/min 下离心 3 min, 重分散于 1 mL 去离子水中。然后, 在 96 孔板中依次滴加 10 μL 重新分散后的 Fe^{3+} -MK10 溶液、100 μL 3 mmol/L TMB、100 μL 生理盐水溶液和 100 μL 900 $\mu mol/L$ H_2O_2 , 等待 3 min, 检测溶液在 652 nm 处的吸光度值。上述反应步骤连续 5 次重复检测, 测量了 Fe^{3+} -MK10 纳米酶的使用稳定性能。

2 结果与讨论

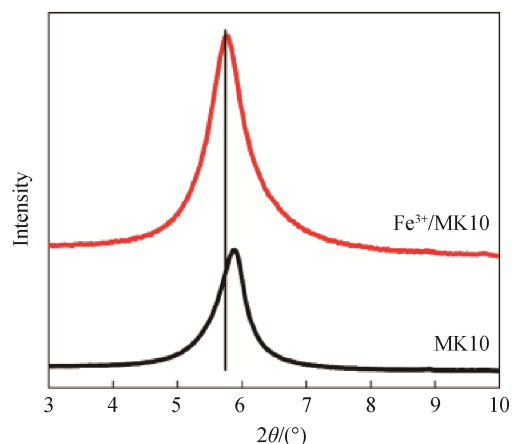
2.1 Fe^{3+} -MK10 的结构与形貌

铁离子在水溶液中易水解生成铁氧化物或者铁氢氧化物, 但从 MK10 和 Fe^{3+} -MK10 的 XRD 谱(图 1a)中, 并没有发现新峰的生成或者原峰的消失, 说明 Fe^{3+} 的加入没有改变 MK10 的物相。与 MK10 相比, Fe^{3+} -MK10 主峰从 $2\theta=5.88^\circ$ 往小角度方向偏移至 $2\theta=5.76^\circ$, 通过 Prague 方程可以算出晶面间距增加至 $d=1.53$ nm, 表明 Fe 可以插入 MK10 的层间(图 1b)。图 1c 为 Fe^{3+} -MK10 的 Fe 2p XPS 谱, 713.09 eV

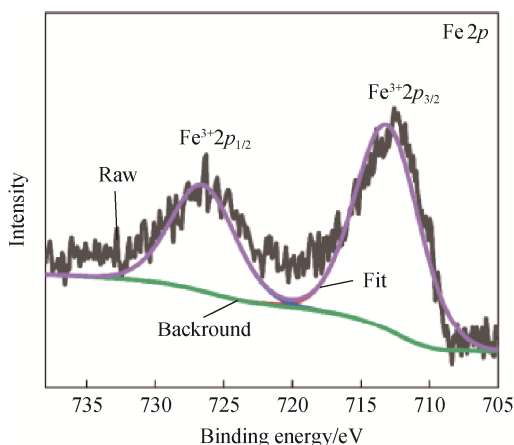
对应于 $Fe\ 2p_{3/2}$ 的 Fe^{3+} , 726.53 eV 对应于 $Fe\ 2p_{1/2}$ 的 Fe^{3+} ^[19], $Fe\ 2p_{3/2}$ 与 $Fe\ 2p_{1/2}$ 表明的轨道分裂间距为 13.44 eV, 表明掺杂进入 MK10 表面与层间的 Fe 主要是以 Fe^{3+} 形式存在。



(a) XRD patterns of MK10 and Fe^{3+} -MK10



(b) Small angle-XRD patterns of Fe^{3+} -MK10



(c) Fe 2p XPS spectra of Fe^{3+} -MK10

MK is montmorillonite.

图 1 MK10 和 Fe^{3+} -MK10 的 XRD 谱和 Fe^{3+} -MK10 的 Fe 2p XPS 谱

Fig. 1 XRD patterns of MK10 and Fe^{3+} -MK10 and Fe 2p XPS spectra of Fe^{3+} -MK10

图 2 为 MK10 和 Fe^{3+} -MK10 的 SEM 照片。从图 2a 中, 可以观察到 MK10 是堆叠的片状结构, 表面较为光滑; Fe^{3+} -MK10 的表面粗糙(图 2b), 会提

供更大的比表面积和活性暴露位点。从 EDS 图中发现 Fe、Al、Si、Ca 和 O 元素的存在(图 2c), 并且 Fe^{3+} 均匀分布在 MK10 纳米片的表面。

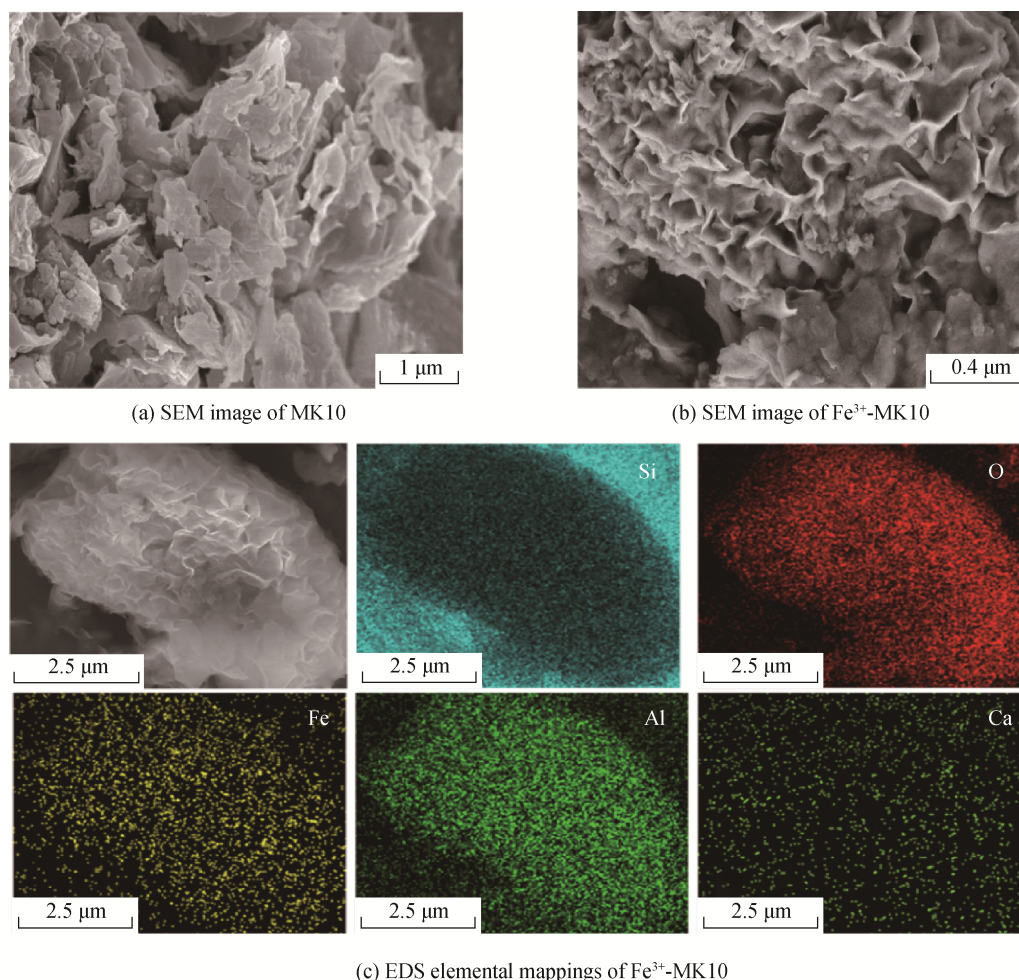


图 2 MK10 和 Fe^{3+} -MK10 的 SEM 照片和 Fe^{3+} -MK10 的 EDS 元素分布
Fig. 2 SEM images of MK10 and Fe^{3+} -MK10 and EDS elemental mappings of Fe^{3+} -MK10

2.2 类过氧化物酶性能

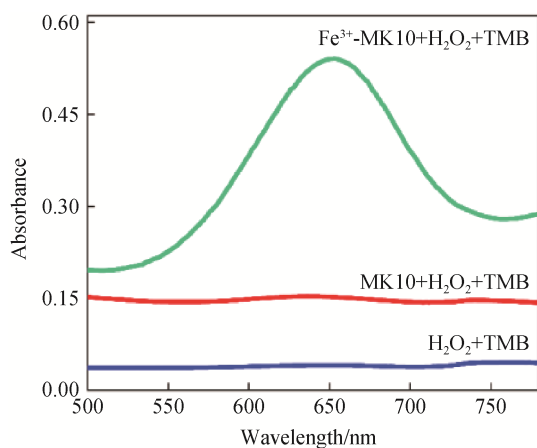
在过氧化氢存在的情况下, 具有过氧化物酶活性的 Fe^{3+} -MK10 可以将无色的 TMB 氧化成蓝色的氧化产物, 在 652 nm 处出现明显的吸收峰。如图 3a 所示, Fe^{3+} -MK10+ H_2O_2 +TMB 体系在 652 nm 处出现明显的吸收峰, 且吸光度值远大于 MK10+ H_2O_2 +TMB 和 H_2O_2 +TMB, 说明 Fe^{3+} -MK10 具有优异的类过氧化物酶活性。 Fe^{3+} 的掺杂量将影响合成材料的催化活性。首先制备了蒙脱石负载不同摩尔 Fe^{3+} 的 Fe^{3+} -MK10 (投入量: 0.5、1.0、2.0 mmol 和 4.0 mmol), 将上述材料加入 H_2O_2 +TMB 体系中, 发现随着 Fe^{3+} 投入量的增加, 其催化活性也随之增强(图 3b)。在投入量为 2.0 mmol 时, 活性达到最高。所以, 选择原始 Fe^{3+} 投入量为 2.0 mmol 时制备的 Fe^{3+} -MK10 为最优催化材料, 进行后续的实验检测。

外部环境条件如温度和 pH 值对 Fe^{3+} -MK10 类过氧化物酶活性的影响大。图 3c 为 pH 值对 Fe^{3+} -MK10 的类酶催化活性的影响, 发现 Fe^{3+} -MK10 类过氧化物酶活性在酸性条件下活性最高, 但在中性条件下仍能保持近 70% 的催化活性, 这不同于其他类过氧化物酶材料在中性条件下几乎丧失活性, 有利于生理条件下生物分子的检测。图 3d 为温度对 Fe^{3+} -MK10 的类酶催化活性的影响, 其活性随着温度的上升先升高再降低, 在 65 °C 时也具有 50% 的催化活性, 具有一定的温度耐受性。

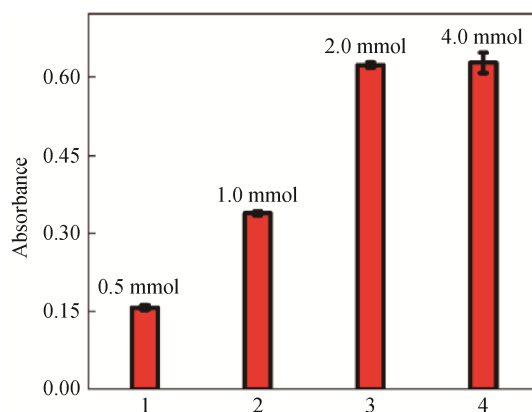
图 4 为类过氧化物酶 Fe^{3+} -MK10 在 H_2O_2 存在条件下催化对苯二甲酸(TA)的荧光曲线。 Fe^{3+} -MK10、TA 和 H_2O_2 同时存在的情况下, 才会在 430 nm 处出现强烈的荧光信号, 在 TA+ H_2O_2 或单独的 TA 体系中则无荧光信号。这些结果表明 Fe^{3+} -MK10 能够催

化 H_2O_2 产生氧化能力更强的羟基自由基。 Fe^{3+} 溶出量如表 1 所示, Fe^{3+} 溶出量几乎可以忽略不计, 排

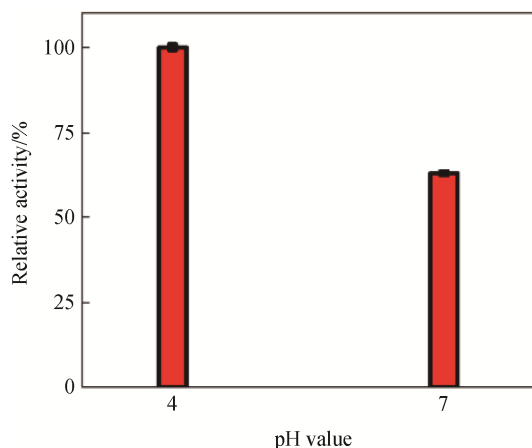
除了溶出 Fe^{3+} 的催化作用, 而是 Fe^{3+} -MK10 上的铁离子发挥催化作用。



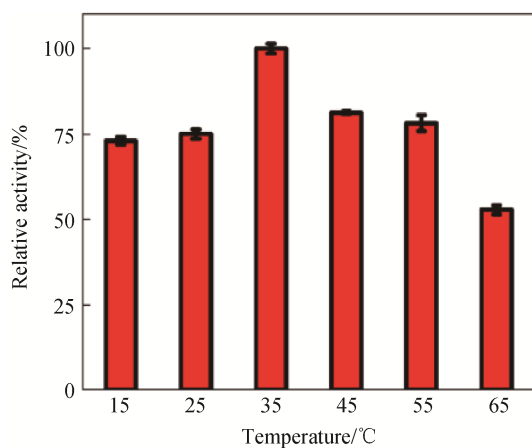
(a) UV-Vis spectra



(b) Effect of addition molar amount of Fe^{3+}



(c) Effect of pH value



(d) Effect of temperature

图 3 (a)不同体系的紫外吸收光谱; (b) Fe^{3+} 添加量对 Fe^{3+} -MK10 的催化活性的影响; (c)pH 值和(d)温度对 Fe^{3+} -MK10 的催化活性的影响

Fig. 3 (a) UV-Vis spectra of different systems; (b) Effect of Fe^{3+} doping on the catalytic activity of Fe^{3+} -MK10; (c) Effects of pH value and (d) temperature on the catalytic activity of Fe^{3+} -MK10

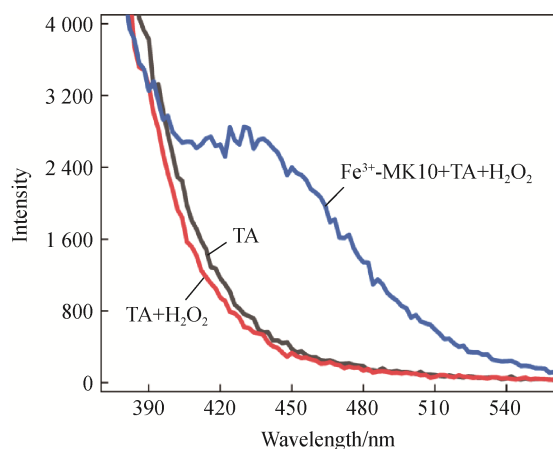


图 4 Fe^{3+} -MK10+ H_2O_2 +TA、 H_2O_2 +TA 和 TA 的荧光曲线
Fig. 4 Fluorescent curves of Fe^{3+} -MK10+ H_2O_2 +TA, H_2O_2 +TA and TA (terephthalic acid)

米氏常数(K_m)数值的大小体现了纳米酶与相应底物的亲和力关系。 K_m 越小说明纳米酶对底物的亲和力越强。所以, 进一步计算了 Fe^{3+} -MK10 的稳态动力学参数(图 5a~图 5d), 所得数据如表 2 所示。相比于天然辣根过氧化物酶(HRP)和其他蒙脱石纳米酶, Fe^{3+} -MK10 对底物 H_2O_2 的米氏常数最小为 0.77 mmol/L, 而且 Fe^{3+} -MK10 对 H_2O_2 的最大反应速率($V_{\max}$)最大为 $14.16 \times 10^{-8} \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ 。这不仅体现了 Fe^{3+} -MK10 对 H_2O_2 良好的亲和能力, 而且具有快速催化分解 H_2O_2 的能力, 有利于对 H_2O_2 的检测。

表1 Fe^{3+} 溶出实验

Table 1 Fe^{3+} dissolution test

Detection Samples	Test Element	Sample Content/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
Fe^{3+} -MK10	Fe	3.33×10^7
Dissolution Fe^{3+}	Fe	1.88×10^2

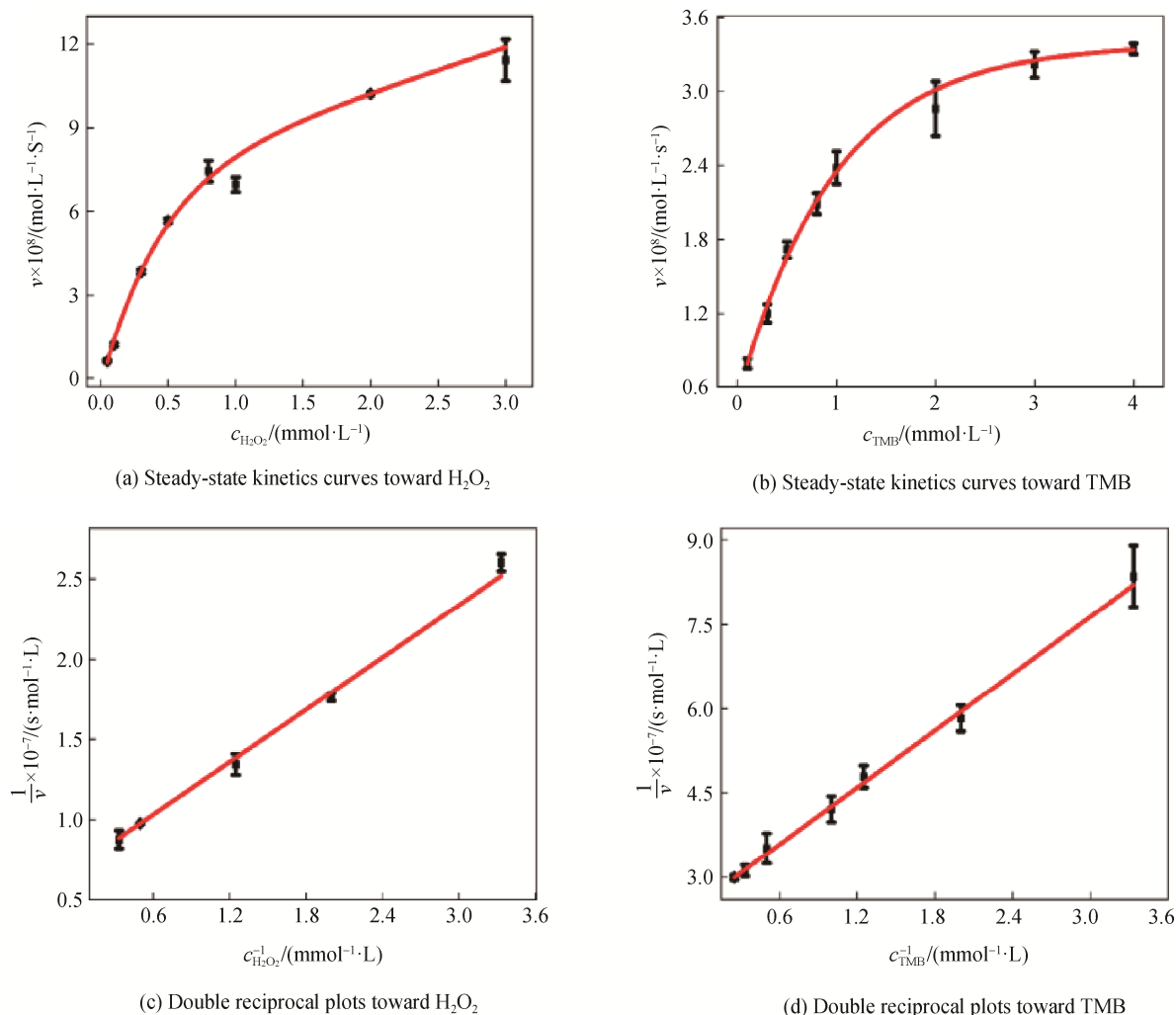
图 5 Fe^{3+} -MK10 的稳态动力学实验Fig. 5 Steady-state kinetic analysis of Fe^{3+} -MK10 nanosheets

表2 不同矿物纳米酶稳态动力学参数的比较

Table 2 Comparison of steady-state kinetic parameters of different mineral nanozymes

Materials	H_2O_2		TMB		Ref.
	$K_m/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	$V_{\max}\times 10^8/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_m/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	$V_{\max}\times 10^8/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	
HRP	3.70	8.71	0.43	10.00	[2]
Fe_3O_4 -MMT	0.81	5.14	0.03	9.41	[16]
CeO_2 -MMT	3.40	1.03	0.01	1.10	[18]
V_2O_5 -MMT	1.19	1.81	0.02	1.61	[17]
Fe^{3+} -MK10	0.77	14.16	0.66	3.90	This work

2.3 检测原理与性能

图 6 为 Fe^{3+} -MK10 纳米酶检测 H_2O_2 的原理示意图。类过氧化物酶 Fe^{3+} -MK10 催化分解 H_2O_2 产生羟基自由基($\cdot\text{OH}$), 进而氧化 TMB 成为蓝色产物 oxTMB, 颜色与吸光度值的改变对应于 H_2O_2 浓度的变化, 就能实现对 H_2O_2 的可视化比色检测。

利用上述检测原理, 成功实现了对 H_2O_2 的比色

检测。如图 7a 和图 7b 所示, 颜色的吸光度随着 H_2O_2 浓度(20~1 500 $\mu\text{mol/L}$)的升高而逐渐增加。而且, 吸光度值与 H_2O_2 (20~500 $\mu\text{mol/L}$)呈现线性关系, 所得线性方程: $Y=1.70\times 10^{-3}X+0.16(R^2=0.99)$ 。该比色法的检测限为 5.8 $\mu\text{mol/L}$ 。与其他蒙脱石纳米酶相比(表 3), 此方法的线性范围较宽。

图 7c 为该方法检测 H_2O_2 的选择性。在各种干

扰底物 Cu^{2+} 、谷胱甘肽(GSH)、L-半胱氨酸(L-Cys)和葡萄糖(Glu)的存在下, Fe^{3+} -MK10 检测 H_2O_2 的吸光度值远大于对应干扰底物值, 表明 Fe^{3+} -MK10 检测 H_2O_2 选择性强。图 7d 为 Fe^{3+} -MK10 的使用稳定性。在 5 次循环处理后, Fe^{3+} -MK10 仍可以较好地检测 H_2O_2 , 表明了 Fe^{3+} -MK10 检测 H_2O_2 的良好稳定性。

生理条件下人体内过氧化氢浓度 (50~100 $\mu\text{mol/L}$)^[22], 利用优化后检测范围 20~500 $\mu\text{mol/L}$ 的线性工作曲线, 采用标准加入法测定人体血清中 H_2O_2 的回收率, 并将其用作检测模型, 以探索实际样品中 H_2O_2 检测的可行性。将上述样品的溶液稀释至检测范围内的适当浓度后, 使用所提出的方法直接分析。表 4 为通过标准加入法获得的结果。 H_2O_2 的回收率在 98.0%~103.2%之间, 相对标准偏差

(RSD)在 0.17%~1.27%之间。这些结果表明, 该比色检测法具有令人满意的回收率。

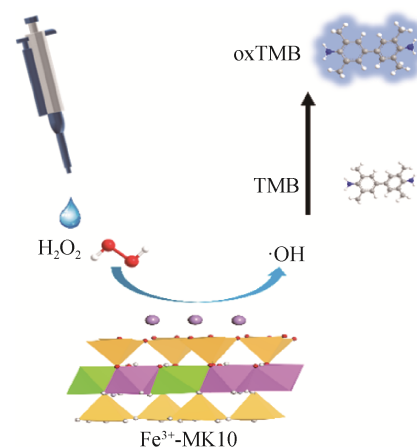
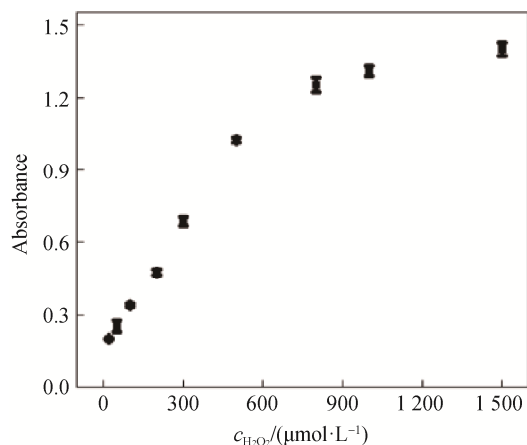
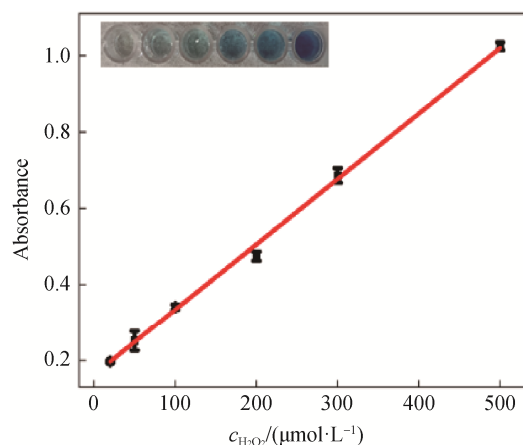


图 6 Fe^{3+} -MK10 检测 H_2O_2 的示意图

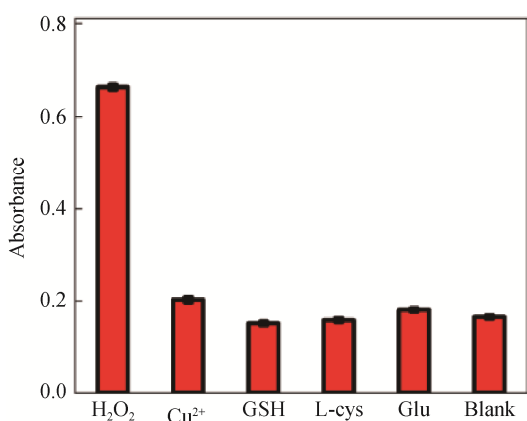
Fig. 6 Schematic diagram of Fe^{3+} -MK10 for detecting H_2O_2



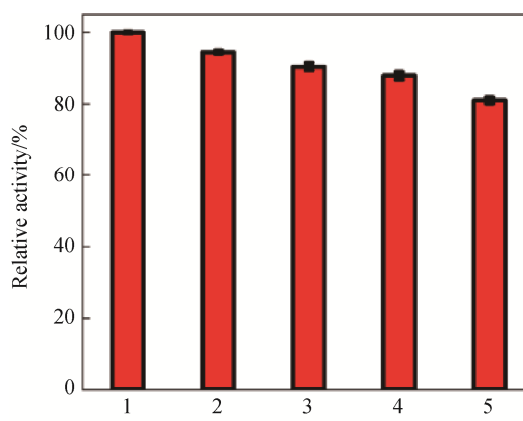
(a) UV absorption spectra value at 652 nm



(b) Detection curves



(c) Selectivity



(d) Stability

图 7 Fe^{3+} -MK10 检测不同浓度 H_2O_2 (20~1 500 $\mu\text{mol/L}$) 在 652 nm 的紫外吸收光值图、检测工作曲线、选择性和稳定性
Fig. 7 UV absorption spectra of H_2O_2 with different concentrations (20–1 500 $\mu\text{mol/L}$) of Fe^{3+} -MK10 at 652 nm and detection curves, selectivity and stability of Fe^{3+} -MK10

表3 不同类过氧化物酶检测H₂O₂的对比Table 3 Comparison of different peroxidases for H₂O₂ detection

Materials	Linear range/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Detection limit/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Ref.
Co ₃ O ₄ -MMT	10–100	8.7	[20]
V ₂ O ₅ -MMT	30–400	4.0	[17]
Fe ₃ O ₄ -MMT	50–200	5.1	[16]
CuS-MMT	30–200	0.2	[21]
Fe ³⁺ -MK10	20–500	5.8	This work

表4 Fe³⁺-MK10测定人血清样品中的H₂O₂Table 4 Determination of H₂O₂ in human serum samples in the presence of Fe³⁺-MK10

Sample	$c_{\text{H}_2\text{O}_2}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$			Recovery/%	RSD/%
	Detect	Added	Found		
1	ND	50	51.6	103.2	0.53
2	ND	100	98.0	98.0	1.27
3	ND	300	297.4	99.1	0.17

3 结论

Fe 掺杂蒙脱土 K10 制备的 Fe³⁺-MK10 纳米酶, 增强了对底物 H₂O₂ 的亲合力, 有利于催化 H₂O₂ 产生羟基自由基, 提高了类过氧化物酶活性。Fe³⁺-MK10 纳米酶在中性条件下仍保留相对高的催化活性, 可以实现中性条件下的 H₂O₂ 比色检测。与其他蒙脱石纳米酶相比, 该比色检测法具有较宽的线性范围 20~500 $\mu\text{mol/L}$, 所制备的纳米酶检测快速、简单、价格便宜, 具有良好的应用价值。

参考文献:

- [1] HUANG Y Y, REN J S, QU X G. Nanozymes: Classification, catalytic mechanisms, activity regulation, and applications[J]. Chem Rev, 2019, 119(6): 4357–4412.
- [2] GAO L Z, ZHUANG J, NIE N, et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles[J]. Nat Nanotechnol, 2007, 2(9): 577–583.
- [3] BHASKAR D, JAVIER L F, NATASHA L, et al. Nanozymes in point-of-care diagnosis: An emerging futuristic approach for biosensing[J]. Nano-Micro Lett, 2021, 13: 193.
- [4] WANG Z R, ZHANG R F, YAN X Y, et al. Structure and activity of nanozymes: Inspirations for de novo design of nanozymes[J]. Mater Today, 2020, 41: 81–119.
- [5] WEN Y, LIU K Y, YANG H R, et al. Mitochondria-directed fluorescent probe for the detection of hydrogen peroxide near mitochondrial DNA [J]. Anal Chem, 2015, 87(20): 10579–10584.
- [6] XU W Q, JIAO L, YAN H Y, et al. Glucose oxidase-integrated metal–organic framework hybrids as biomimetic cascade nanozymes for ultrasensitive glucose biosensing[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2019, 11(25): 22096–22101.
- [7] WANG Q Q, ZHANG X P, HUANG L, et al. One-pot synthesis of Fe₃O₄ nanoparticle loaded 3D porous graphene nanocomposites with enhanced nanozyme activity for glucose detection[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9(8): 7465–7471.
- [8] DUAN D M, FAN K L, ZHANG D X, et al. Nanozyme-strip for rapid local diagnosis of Ebola[J]. Biosens Bioelectron, 2015, 74: 134–141.
- [9] CUI Y, CHEN F, YIN X B, et al. A ratio-metric fluorescence platform based on boric-acid-functional Eu-MOF for sensitive detection of H₂O₂ and glucose[J]. Biosens Bioelectron, 2019, 135: 208–215.
- [10] WANG H F, CHEN W X, CHEN Q Y, et al. Metal-organic framework (MOF)-Au@Pt nanoflowers composite material for electrochemical sensing of H₂O₂ in living cells. J Electroanal Chem, 2021, 897: 115603.
- [11] JIAO L, XU Z J, DU W W. Fast preparation of polydopamine nanoparticles catalyzed by Fe²⁺/H₂O₂ for visible sensitive smartphone-enabled cytosensing[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9(34): 28339–28345.
- [12] ZHAO Q H, FU L J, JIANG D H, et al. Nanoclay-modulated oxygen vacancies of metal oxide[J]. Commun Chem, 2019, 2(1): 1–10.
- [13] PENG K, FU L J, OUYANG J, et al. Emerging parallel dual 2D composites: Natural clay mineral hybridizing MoS₂ and interfacial structure[J]. Adv Funct Mater, 2016, 26(16): 2666–2675.
- [14] CHEN P, ZHONG H, LI X R, et al. Palygorskite@Co₃O₄ nanocomposites as efficient peroxidase mimics for colorimetric detection of H₂O₂ and ascorbic acid[J]. Appl Clay Sci, 2021, 209: 106109.
- [15] ZHU X X, CHEN W, WU K L, et al. A colorimetric sensor of H₂O₂ based on Co₃O₄-montmorillonite nanocomposites with peroxidase activity[J]. New J Chem, 2018, 42(2): 1501–1510.
- [16] WU K L, ZHAO X, CHEN M M, et al. Synthesis of well-dispersed Fe₃O₄ nanoparticles loaded on montmorillonite and sensitive colorimetric detection of H₂O₂ based on its peroxidase-like activity[J]. New J Chem, 2018, 42(12): 9578–9587.
- [17] ZHU X X, XUE Y, HAN S A, et al. V₂O₅-montmorillonite nanocomposites of peroxidase-like activity and their application in the detection of H₂O₂ and glutathione[J]. Appl Clay Sci, 2020, 195: 105718–105726.
- [18] SUN L F, DING Y Y, JIANG Y L, et al. Montmorillonite-loaded ceria nanocomposites with superior peroxidase-like activity for rapid colorimetric detection of H₂O₂[J]. Sensor Actuat B Chem, 2017, 239: 848–856.
- [19] VEERASUBRAMANI G K, SUBRAMANIAN Y, PARK M S, et al. Enhanced storage ability by using a porous pyrrhotite@N-doped carbon yolk-shell structure as an advanced anode material for sodium-ion batteries[J]. J Mater Chem A, 2018, 6(41): 20056–20068.
- [20] GAO Y, WU K L, LI H Y, et al. Glutathione detection based on peroxidase-like activity of Co₃O₄-montmorillonite nanocomposites[J]. Sensor Actuat B Chem, 2018, 273: 1635–1639.
- [21] ZHANG L Y, CHEN M X, JIANG Y L, et al. A facile preparation of montmorillonite-supported copper sulfide nanocomposites and their application in the detection of H₂O₂[J]. Sensor Actuat B Chem, 2017, 239: 28–35.
- [22] FAN X, WU X Z, YANG F, et al. A nanohook-equipped bionanocatalyst for localized near-infrared-enhanced catalytic bacterial disinfection[J]. Angew Chem Int Edit, 2022, 134(8): e202113833.