

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241004002

引用格式: 付廷锐, 冯月月, 耿响, 等. 双酶活性金-铂双金属复合纳米酶的合成及其在有机磷农药检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(1): 294–301.

FU TR, FENG YY, GENG X, *et al.* Synthesis of Au-Pt bimetallic nanozymes with dual-enzyme activity and its application in organophosphorus pesticides detection [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(1): 294–301. (in Chinese with English abstract).

双酶活性金-铂双金属复合纳米酶的合成及其在有机磷农药检测中的应用

付廷锐, 冯月月, 耿响, 杜娟*

(江西农业大学食品科学与工程学院, 南昌 330045)

摘要: **目的** 合成具有氧化酶及过氧化酶双酶活性的金-铂双金属复合纳米酶(Au-Pt bimetallic nanozymes, Au-PtNFs), 并将其应用于有机磷农药检测中。**方法** 采用种子介导法, 通过调整氯铂酸用量成功制备了 3 种 Au-PtNFs, 并以 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)为底物测定其酶活性。选择酶活性最强的一种纳米酶, 结合乙酰胆碱酯酶的催化作用, 建立有机磷农药检测方法。**结果** 合成的 3 种纳米酶均具有花状结构, 且粒径随氯铂酸用量增大而增大; 稳态动力学实验表明其均具有双酶活性且氯铂酸浓度为 5 mmol/L 时合成的纳米酶的酶活性最好; 以毒死蜱为目标物, 在 40~90 nmol/L 范围内, 620 nm 处的吸光值与毒死蜱浓度对数呈良好的线性关系, 检出限为 1.00 nmol/L, 同时方法具有良好的特异性和抗干扰能力, 在实际样品检测中回收率较好。利用色值分析软件实现了基于智能手机的毒死蜱检测, 线性范围为 30~100 nmol/L, 检出限为 1.06 nmol/L。**结论** 本研究成功将具有双酶活性的 Au-PtNFs 应用于有机磷农药检测, 为果蔬中有机磷农药可视化检测提供了一种新思路。

关键词: 双金属复合纳米酶; 比色法; 乙酰胆碱酯酶; 有机磷农药; 智能手机

Synthesis of Au-Pt bimetallic nanozymes with dual-enzyme activity and its application in organophosphorus pesticides detection

FU Ting-Rui, FENG Yue-Yue, GENG Xiang, DU Juan*

(College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

ABSTRACT: Objective To synthesize a Au-Pt bimetallic nanozymes (Au-PtNFs) with oxidase and peroxidase dual-enzyme activity, and apply them in detection of organophosphorus pesticide. **Methods** The 3 kinds of Au-PtNFs were prepared through seed-mediated method by adjusting the amount of chloroplatinic acid, and their enzyme activities were determined using 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) as the substrate. The nanozyme

收稿日期: 2024-10-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(31901774)

第一作者: 付廷锐(1997—), 女, 硕士, 主要研究方向为食品农兽药残留快速检测。E-mail: 1915043102@qq.com

*通信作者: 杜娟(1986—), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品污染物快速检测。E-mail: dujuanjulia@163.com

exhibiting the highest enzyme activity was selected and combined with the catalytic effect of acetylcholinesterase to establish a detection method for organophosphorus pesticide. **Results** The 3 kinds of prepared nanozymes all had flower-like structures, and the particle size enhanced with the increasement of chloroplatinic acid concentration. Steady-state dynamic experiments showed that all bimetallic nanozymes had dual-enzyme activity, and the best enzyme activity was obtained when the concentration of chloroplatinic acid was 5 mmol/L. Absorption at 620 nm exhibited a good linear correlation with the logarithm of chlorpyrifos concentration in the range of 40–90 nmol/L, and the limit of detection was 1.00 nmol/L. The method demonstrated excellent specificity and anti-interference ability, and achieved great recovery rate in real samples. Color value analysis software was used for the detection of chlorpyrifos based on smartphone. The linear range was 30–100 nmol/L and the limit of detection was 1.06 nmol/L. **Conclusion** The prepared Au-PtNFs exhibiting dual-enzyme activity are effectively utilized for detection of organophosphorus pesticides, which offers a novel perspective for visual detection of organophosphorus pesticides in fruits and vegetables.

KEY WORDS: bimetallic nanozymes; colorimetric method; acetylcholinesterase; organophosphorus pesticides; smartphone

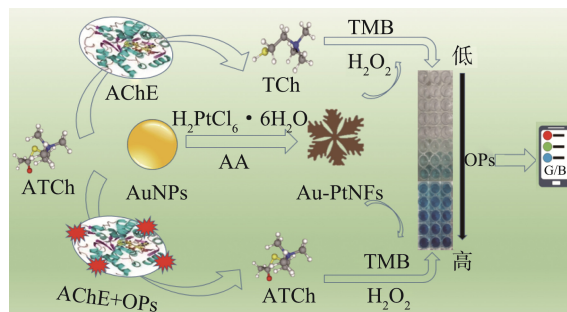
0 引言

近年来,兼具纳米特性和模拟酶活性的纳米酶因其相较于天然酶具有合成简单,稳定性好,储存方便,成本低廉等优势引起了研究人员的广泛关注^[1-4]。金基纳米酶是研究最多的几种纳米酶之一^[5-6],目前已报道其具有多种模拟酶活性,如氧化酶、过氧化酶、葡萄糖氧化酶、超氧化物歧化酶等^[7-9],但裸露的金纳米颗粒容易聚集成纳米团簇,使其酶活性降低,在实际应用过程中仍然受到限制^[10]。因此,选择合适的方法来提高金基纳米酶的活性仍具有很大的挑战。金属合金纳米酶是一类由两种或两种以上贵金属经过混合而得到的合金化合物,与单金属纳米酶相比,其更加稳定,且由于多种组分的协同效应和电子效应表现出更加优越的酶活性^[11-13]。目前已有设计合成金基双金属复合纳米酶来提高金基纳米酶的催化活性的报道。SINGH 等^[14]采用种子介导法成功合成了钯-金双金属纳米棒,表现出优异的过氧化物酶活性,其活性与辣根过氧化物酶相当。XU 等^[15]采用种子介导法以及一锅法成功合成了金-钨、金-铂、金-钨 3 种双金属核壳纳米酶,与其单金属纳米酶(钨、铂和钨)相比,其过氧化物酶活性分别增大了 5.46、1.78、4.26 倍。

有机磷农药(organophosphorus pesticide, OPs)是一类高效、广谱、毒性强的农药,在防治病虫害和杂草,显著提高作物产量等方面发挥着重要的作用^[16-17]。但是,农药的滥用、误用以及处置不当会导致大量农药残留不可避免地积累并通过食物链进入人体,会对人类身体健康造成影响^[18-20]。OPs 的毒性在很大程度上依赖于其对中枢和周围神经系统的乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)的不可逆抑制作用。以此建立的酶活性抑制法测定 OPs 含量,因具有操作简单、稳定性好、灵敏度高等优点,受到了研究人员的关注。其机制是乙酰胆碱(acetylcholine, ATCh)会被

AChE 催化水解产生胆碱(choline, TCh),而在 AChE 抑制剂 OPs 的存在下,AChE 的活性被不可逆的抑制,使 TCh 生成量减少,所以 OPs 含量的高低可以根据 TCh 的生成量来判定^[20]。近年来,基于金基纳米酶的酶活性及 OPs 对 AChE 的抑制作用来实现 OPs 的定量检测已有相当多的研究^[21-24]。这些研究将 TCh 对纳米酶酶活性的抑制作用以及 OPs 对 AChE 的抑制作用相结合实现 OPs 的定量检测。目前,大多数用于检测的金基纳米酶材料以单金属金纳米酶为主,而金基双金属复合纳米酶在相关检测方面的研究较少。

本研究利用种子介导法,基于植物生物质还原法制备的金种子(gold nanoparticles, AuNPs),通过改变氯铂酸用量,成功制备了 3 种金-铂双金属复合纳米酶(Au-Pt bimetallic nanozymes, Au-PtNFs)并考察了其模拟酶活性,筛选出酶活性最好的一种纳米酶,结合纳米酶的酶活性及 OPs 对 AChE 的抑制作用,建立 OPs 毒死蜱检测方法,具体机制如图 1 所示。本研究将 Au-PtNFs 用于 OPs 检测,为果蔬中 OPs 可视化检测提供了一种新思路。



注: 六水合氯铂酸($\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$); L-抗坏血酸(L-ascorbic acid, AA); 过氧化氢(H_2O_2); 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)。

图 1 基于 Au-PtNFs 双酶活性的 OPs 检测机制

Fig.1 Mechanism of OPs detection based on dual-enzyme activity of Au-PtNFs

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

百合花、黄瓜、番茄、苹果(南昌市售)。

四水合氯金酸(分析纯,北京国药集团化学试剂有限公司);六水合氯铂酸、AA、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)、氢氧化钠(NaOH)、乙酸、无水乙酸钠(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司); H_2O_2 (分析纯,四川西陇科学股份有限公司);TMB(分析纯)、磷酸盐缓冲液(pH=7.4, 10 mmol/L)(北京索莱宝科技有限公司);毒死蜱标准品(99.99%,常州坛墨质检科技有限公司);AChE、ATCh(分析纯,上海源叶生物有限公司)。

1.2 仪器与设备

SPECORD2W 紫外可见分光光度计(德国耶拿分析仪器股份公司);JEM-2800 透射电子显微镜(日本电子株式会社);Nanobrook Omni 纳米激光粒度仪(德国布鲁克海文仪器公司);D8 X-射线衍射仪(德国斯派克光谱仪有限公司);HC-2518R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);ESCALAB-350 能谱仪(上海铂悦仪器有限公司);Multiskan FC 型酶标仪[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 纳米酶的制备

AuNPs 的制备^[25]:将预先处理好的 15 mg 百合花瓣粉末置于装有 20 mL 超纯水的锥形瓶中,随后加入 5 mL 5 mmol/L 氯金酸溶液及 20 mL 超纯水,混匀,用 NaOH 溶液调 pH 至 10,恒温磁力搅拌器上以 80 °C, 600 r/min 的条件搅拌 0.5 h,反应完成后,真空过滤,将获得的溶液定容至 25 mL, -4 °C 保存备用。

双金属复合纳米酶的制备:在锥形瓶中加入 2 mL 预先制备好的 AuNPs,随后加入 1 mL 1% PVP、3 mL 抗坏血酸(0.1 mol/L)和 5 mL 不同浓度氯铂酸(1、2、5 mmol/L),用超纯水补至总体积为 25 mL,在恒温磁力搅拌器上以 35 °C, 600 r/min 搅拌 0.5 h,得到 3 种 Au-PtNFs (Au-Pt₁NFs、Au-Pt₂NFs、Au-Pt₃NFs), -4 °C 保存备用。

1.3.2 纳米酶活性的测定

将 20 μ L 制备好的 Au-PtNFs 加入酶标板的孔洞中,依次加入 40 μ L (3 mmol/L) TMB 和 115 μ L 乙酸缓冲液(20 mmol/L, pH=4),在氧气氛围下室温培养 30 min,用酶标仪测定 620 nm 的吸光值(OD₆₂₀),以此表征其氧化酶活性;在上述混合溶液的基础上往里面加入 25 μ L(终浓度 1 mmol/L) H_2O_2 ,分别在氮气和氧气氛围下室温培养 30 min,测定 OD₆₂₀,以此来表征其过氧化物酶活性以及双酶活性。

稳态动力学实验:在室温下,分别研究恒定 H_2O_2 水平(1 mmol/L)下,不同的 TMB 浓度(0.08~0.67 mmol/L);以及恒定 TMB 浓度(0.5 mmol/L)下,不同 H_2O_2 浓度(0.1~1.0 mmol/L)

下反应体系的吸光度随时间变化情况,每 1 min 记录一次。

1.3.3 OPs 检测

将 20 μ L 不同浓度的 OPs、20 μ L ATCh (20 mmol/L)、20 μ L AChE (60 mU/mL)在 30 μ L 磷酸盐缓冲液(pH=7.4, 10 mmol/L)中混合,37 °C 孵育 30 min,随后依次往里面加入 20 μ L Au-Pt₃NPs、30 μ L 超纯水、25 μ L H_2O_2 、40 μ L TMB (3 mmol/L)、95 μ L 乙酸缓冲液(0.2 mol/L, pH=4),氧气氛围室温下反应 20 min 后用酶标仪记录 OD₆₂₀ 的吸光值,考察毒死蜱浓度与吸光度之间的变化情况;利用智能手机对显示结果进行拍照,取色软件(一个木函)测定其 G 值与 B 值,考察 G/B 值与毒死蜱浓度之间的关系。

1.3.4 实际样品检测

样品处理参照文献[23]的方法并稍作调整。黄瓜、番茄、苹果榨成汁,分别取 5 mL 所制备的汁液或水样,加入适量毒死蜱(终浓度为 40、50、60、70 nmol/L),漩涡摇匀,超声 0.5 h 后,在室温下离心(10000 r/min, 20 min) 3 次,以除去沉淀物,取上清液用乙酸缓冲液(0.2 mol/L, pH=4)将 pH 调至 4.0,然后按 1.3.3 的检测程序进行检测。

1.4 数据处理

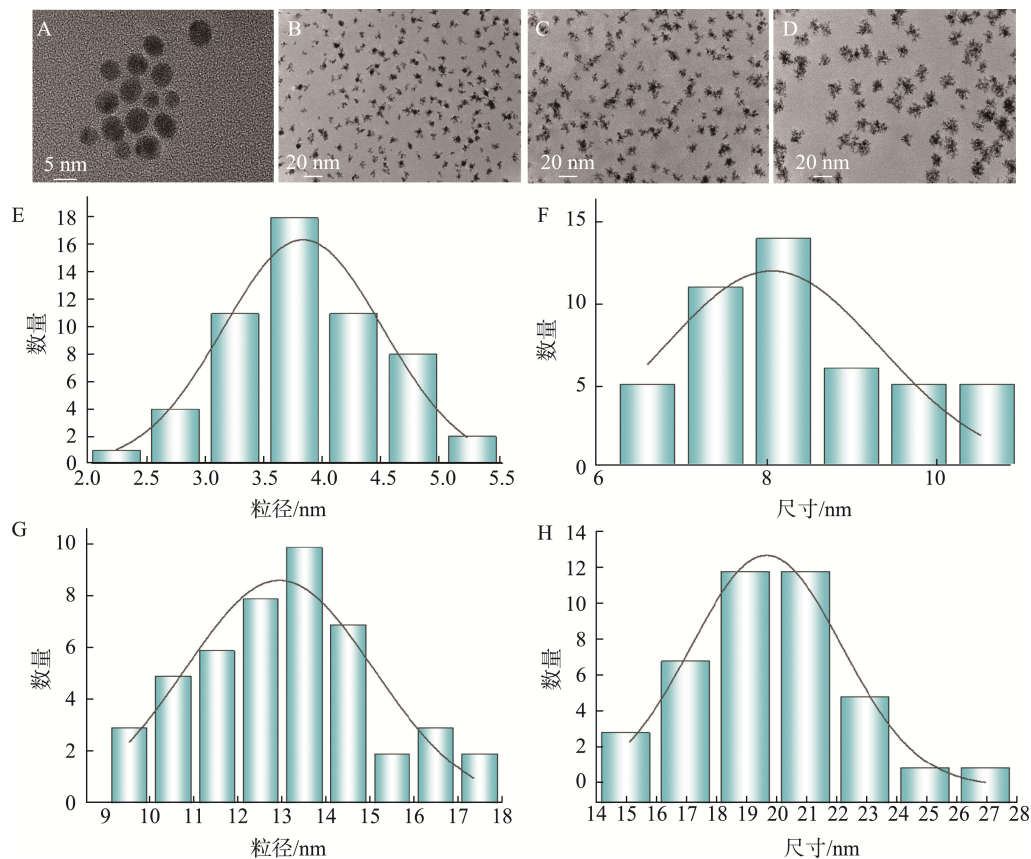
对每个样品进行 3 次平行实验,采用 Microsoft Excel 2016 和 Origin 2018 对所得数据进行统计并作图分析。

2 结果与分析

2.1 纳米酶的合成及表征

利用透射电镜分别测定制备的 AuNPs 及 3 种不同氯铂酸浓度下双金属复合纳米酶 (Au-Pt₁NFs, Au-Pt₂NFs, Au-Pt₃NFs)的粒径,高分辨透射电子显微镜(high resolution transmission electron microscope, HRTEM)的表征结果如图 2 所示。AuNPs 分布均匀、呈规则球形,平均粒径为 3.84 nm (图 2A);向 AuNPs 溶液中分别加入 1、2、5 mmol/L 的氯铂酸溶液时,生成的纳米材料均具有明显的花状结构,平均粒径分别为 8.38、13.00、19.74 nm(图 2B、C、D),合成的双金属复合纳米酶在溶液中分布均匀,无团聚现象。3 种 Au-PtNFs 的能谱(energy dispersive spectroscopy, EDS)元素映射表征结果如图 3 所示,可以清楚看到 Au 和 Pt 元素在复合纳米酶中均匀分布,且随着氯铂酸浓度的增加,合成的双金属复合纳米酶的粒径越来越大,与 HRTEM 的表征结果一致。

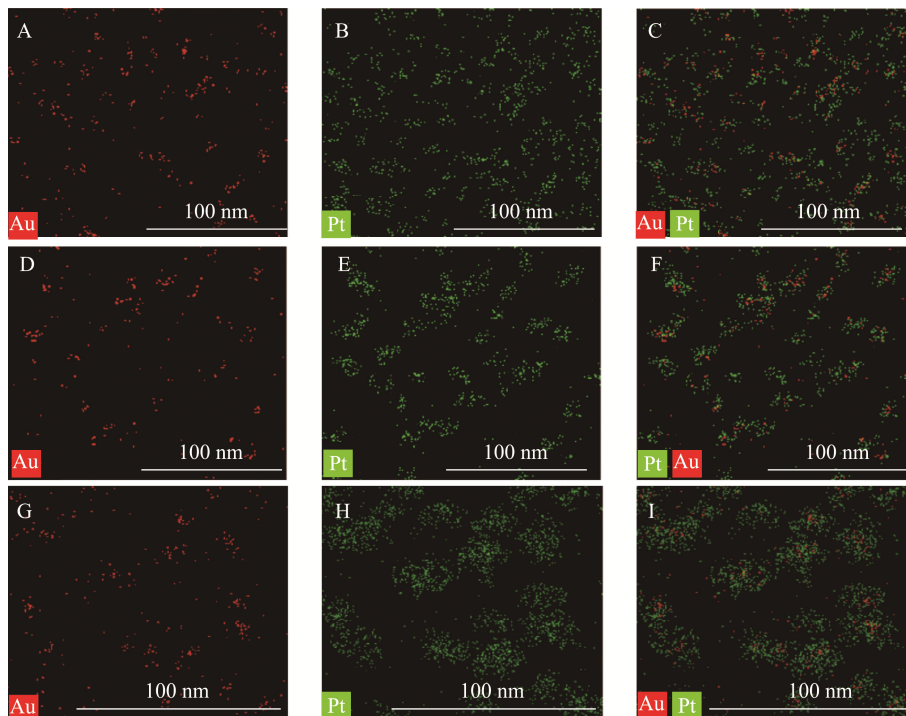
分别测定了实验中合成的双金属复合纳米酶的水合粒径和 Zeta 电位,结果如图 4 所示。与 AuNPs 相比,随氯铂酸浓度逐渐增大,各纳米酶的水合粒径逐渐增大,分别为 45.44、48.96、52.94 nm(图 4A),与 HRTEM 实验结果一致。随着氯铂酸浓度的增加,Zeta 电位逐渐升高,分别从 AuNPs 的 -11.37 mV 升至 -10.50、-6.84、-2.33 mV(图 4B)。电荷发生变化的原因可能是随着氯铂酸浓度的增加,铂离子的量增加所导致的^[4,26-28]。水合粒径和 Zeta 电位的变化进一步证实成功合成了 Au-PtNFs。



注: A、E 为 AuNPs; B、F 为 Au-Pt₁NFs; C、G 为 Au-Pt₂NFs; D、H 为 Au-Pt₃NFs。

图 2 纳米酶的 HRTEM (A~D)及粒径分布(E~F)图

Fig.2 HRTEM (A-D) and particle size distribution (E-F) figures of nanozymes



注: A~C 为 Au-Pt₁NFs; D~F 为 Au-Pt₂NFs; G~I 为 Au-Pt₃NFs。

图 3 纳米酶的 EDS 元素映射图

Fig.3 EDS element figures of nanozymes

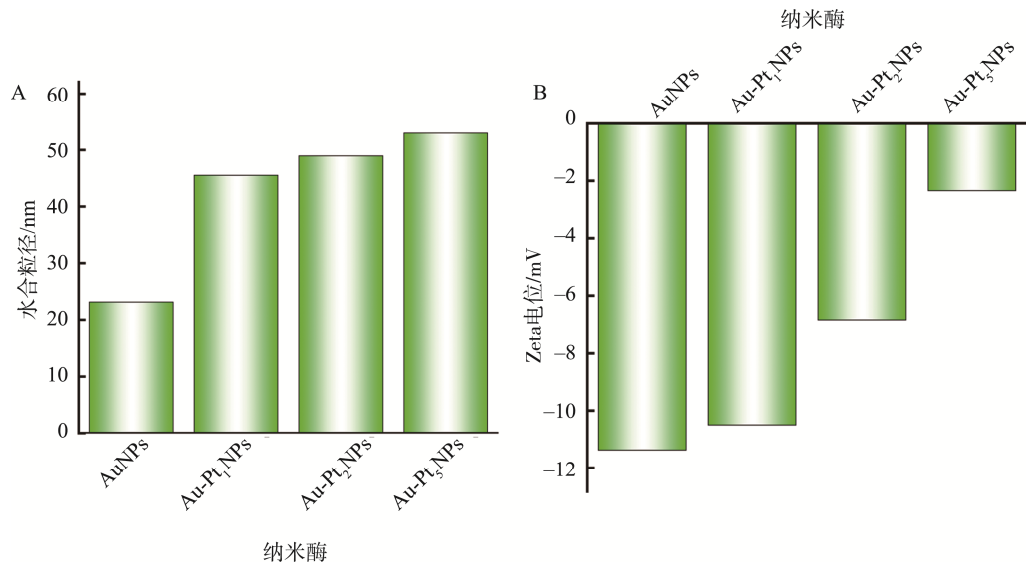


图 4 纳米酶的动态光散射(A)和 Zeta 电位(B)图

Fig.4 Dynamic light scattering (A) and Zeta potentials (B) figures of nanozymes

用 X-射线衍射(X-ray diffraction, XRD)来进一步研究了合成的 Au-PtNFs 的组成和晶体结构, 结果如图 5 所示。与 Au (JCPDS No.04-0784)和 Pt (JCPDS No.04-0802)标准卡片对比, 采用种子介导法合成的 Au-PtNFs 的衍射峰都介于纯 Au 和 Pt 标准特征峰位之间, 表明了 Au 和 Pt 双金属合金化^[29], 进一步证实了 Au-PtNFs 的成功合成。

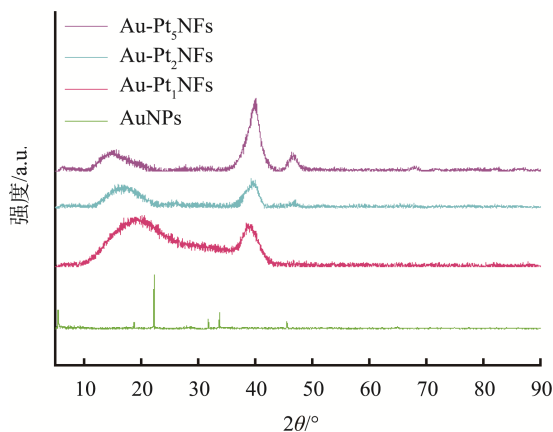


图 5 纳米酶的 XRD 图

Fig.5 XRD patterns of nanozymes

2.2 纳米酶的酶活性分析

以 TMB 为底物考察合成的 Au-PtNFs 的酶活性, 结果如图 6 所示。单独的 AuNPs 和 PtNPs 单金属纳米酶的 3 种酶活性都很低, Au-PtNFs 的 3 种酶活性都随着氯铂酸用量的增加而增加, 氧化酶活性强于过氧化物酶活性, 且其双酶活性比过氧化物酶活性和氧化酶活性的总和更强, 这表明 Au-PtNFs 的双酶活性不是其过氧化物酶活性和氧化酶活性的简单叠加, 可能是因为 Au 和 Pt 之间的协同作用

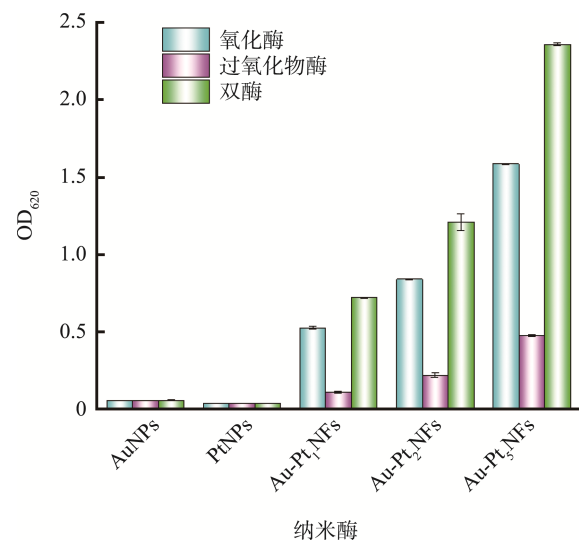


图 6 纳米酶的酶活性

Fig.6 Enzyme activity of nanozymes

使得 Au-PtNFs 的双酶活性更强^[30]。后续实验使用的酶活性均为其双酶活性。

通过稳态动力学分析进一步探讨了 Au-PtNFs 的催化性能, 测定了不同 TMB 和 H₂O₂ 浓度下的酶动力学参数。根据 Michaelis-Menten 方程^[31-32]可得到 Au-PtNFs 催化 TMB 氧化的最大反应速率 V_{max} 和米氏常数 K_m 这两个重要的酶动力学数据。一般来说, 较低的 K_m 和较高的 V_{max} 表明酶对底物的亲和力较好, 即酶的催化活性较好。表 1 是本研究制备的纳米酶与辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)在酶动力学参数上的比较结果。结果表明, 以 TMB 为底物时, 3 种 Au-PtNFs 的 K_m 随氯铂酸含量的

表 1 纳米酶的动力学参数
Table 1 Dynamic parameters of nanozymes

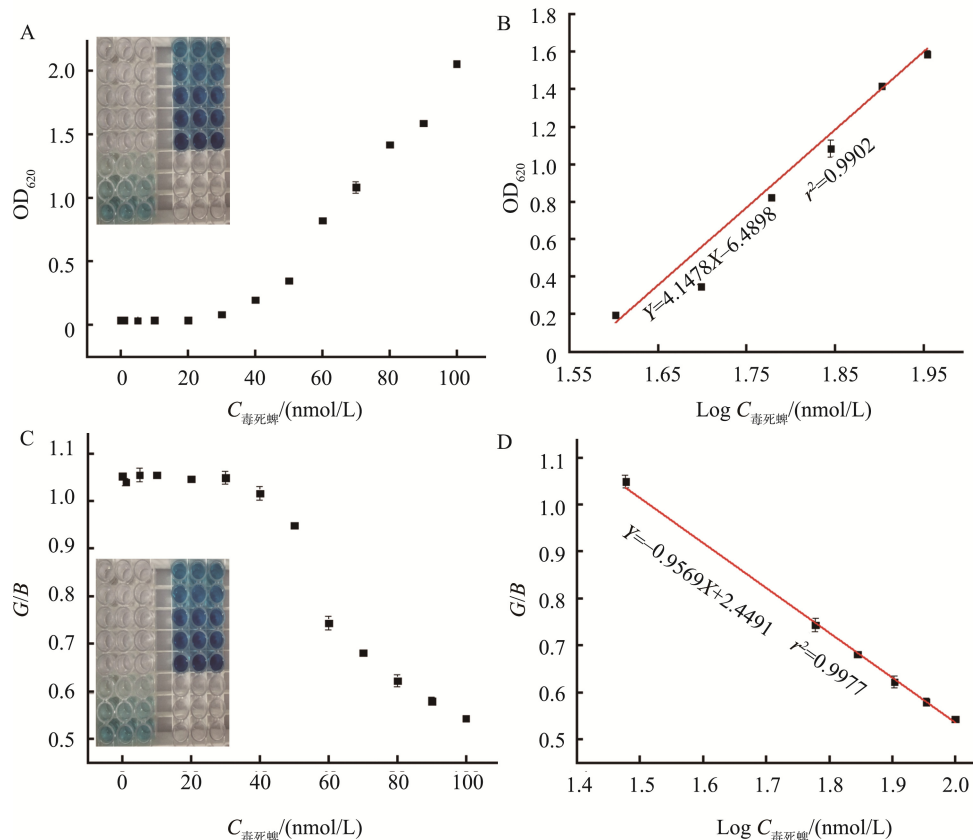
纳米酶	物质	K_m /(mmol/L)	V_{max} /[10^{-8} mol/(L·s)]	参考文献
Au-Pt ₁ NFs	H ₂ O ₂	4.30	1.85	本研究
	TMB	1.20	2.23	
Au-Pt ₂ NFs	H ₂ O ₂	7.66	3.95	本研究
	TMB	0.51	2.47	
Au-Pt ₅ NFs	H ₂ O ₂	13.71	14.29	本研究
	TMB	0.15	10.00	
HRP	H ₂ O ₂	3.70	8.71	[34]
	TMB	0.43	10.00	

升高呈现下降趋势; 而 V_{max} 则随氯铂酸含量的增加呈现上升趋势, 这表明 Au-PtNFs 对 TMB 的亲合力随着氯铂酸含量的增加而提高; 以 H₂O₂ 为底物时, 3 种 Au-PtNFs 的 K_m 和 V_{max} 均随氯铂酸含量的增加呈现上升趋势, 这表明 Au-PtNFs 对 H₂O₂ 的亲合力随着氯铂酸含量的增加而有所减弱; 综上所述, Au-PtNFs 对 TMB 的亲合力表现出较为优越的特性, 但就 Au-PtNFs 的双酶活性而言, 其随着氯铂酸含量的增加而增强, 可能的原因在于其独特的花状结构降低了空间位阻, 进而促进了催化位点的暴露, 同时随着氯铂酸含量的增加, 这些催化位点的数量也相应增多^[17,33-34]。此

外, 本研究合成的 3 种 Au-PtNFs 的酶动力学参数与之前报道的 HRP 及其他纳米酶相比^[32,35-36], 表现出更低的 K_m 和更高的 V_{max} , 说明其酶活优于 HRP。

2.3 毒死蜱检测结果分析

以毒死蜱为模型, 结果如图 7 所示。Au-Pt₅NFs 的双酶活性被 AChE 催化 ATCh 水解产生的 TCh 所抑制, 溶液颜色变为无色, 随着一系列浓度梯度的毒死蜱的加入, AChE 的活性被抑制, TCh 生成量减少, oxTMB 含量恢复, 反应体系吸光度恢复, 溶液颜色从无色变为蓝色。在 620 nm 处的吸光度随着毒死蜱浓度的增加而增加, 在 40~90 nmol/L 的动态范围内, OD₆₂₀ 与毒死蜱浓度的对数可以建立良好的线性关系。线性回归方程 $Y=4.1478X-6.4898$ (相关系数: $r^2=0.9902$), 检出限(limit of detection, LOD)为 1.00 nmol/L(图 7A~B)。此外, 利用智能手机对溶液进行拍照, 利用色值分析软件(一个木函)记录各溶液的红(R)、绿(G)、蓝(B)的值, 考察绿色(G)和蓝色(B)的比值(G/B)随毒死蜱浓度对数的变化关系, 在 30~100 nmol/L 的动态范围内 G/B 值与毒死蜱浓度对数呈良好的线性关系, 线性回归方程为 $Y=-0.9569X+2.4491$ ($r^2=0.9977$), LOD 为 1.06 nmol/L(图 7C~D)。与其他现有 OPs 检测分析方法相比^[16-17,37-41], 本研究建立的 OPs 检测方法具有更低的 LOD。



注: A. OD₆₂₀ 与毒死蜱浓度关系; B. OD₆₂₀ 与毒死蜱浓度对数的线性关系; C. G/B 比值与毒死蜱浓度关系; D. G/B 比值与不同浓度毒死蜱对数的线性关系图。A、C 小图. 不同浓度毒死蜱加入量反应体系颜色手机拍摄照片。

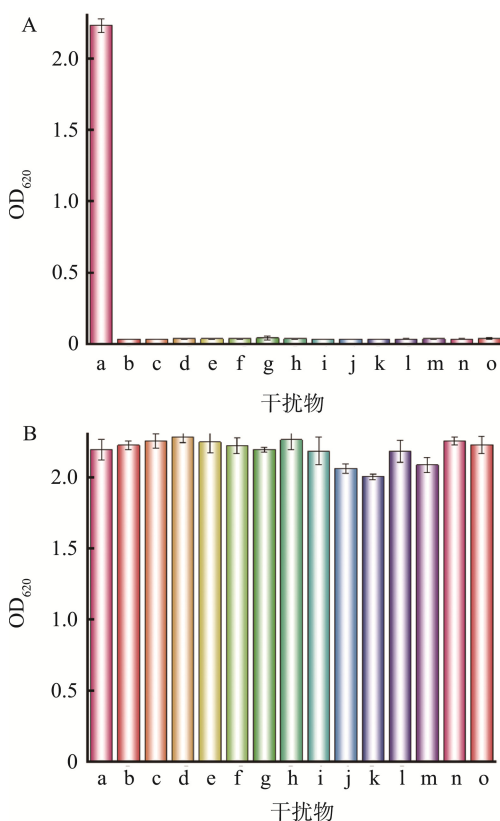
图 7 OD₆₂₀ 和 G/B 比值与毒死蜱关系图

Fig.7 Plots of OD₆₂₀ and G/B ratio versus chlorpyrifos

选用另外两种农药(双甲基脒和溴氰菊酯)、水体中常见的离子(Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 K^+ 、 Na^+ 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Cr^{3+})、生物大分子(牛血清蛋白、葡萄糖)以及抗坏血酸、没食子酸、柠檬酸等一系列常见干扰物质,探究了该方法的特异性和抗干扰能力。实验结果如图 8A 所示,在无毒死蜃存在时,当干扰物质浓度为毒死蜃的 10 倍(即 1000 nmol/L,牛血清蛋白质量浓度为 1000 ng/mL),该比色检测体系几乎没有观察到任何干扰物质的响应,表明该方法具有良好的特异性能。在毒死蜃的存在下,这些干扰物质不影响 Au-Pt₅NFs 纳米酶对毒死蜃的响应(图 8B),表明本研究提出的基于 Au-Pt₅NFs 的双酶活性比色检测毒死蜃的方法具有良好的抗干扰性能。

2.4 实际样品检测结果分析

采用标准添加法,对毒死蜃的实际检测可行性进行了评价,实验结果如表 2 所示。该比色检测方法对自来水、苹果、黄瓜、番茄中毒死蜃的回收率分别为 94.13%~106.54%、97.61%~110.31%、93.45%~107.40%和 97.66%~106.80%,回收率良好,说明该方法可用于实际样品检测中。



注: a. 毒死蜃; b. 双甲基脒; c. 溴氰菊酯; d. Fe^{3+} ; e. Al^{3+} ; f. K^+ ; g. Na^+ ; h. Cu^{2+} ; i. Mg^{2+} ; j. Cr^{3+} ; k. 抗坏血酸; l. 没食子酸; m. 柠檬酸; n. 牛血清蛋白; o. 葡萄糖。

图 8 反应体系特异性检测(A)与抗干扰能力检测(B)

Fig.8 Reaction system specificity test (A) and anti-interference ability test (B)

表 2 实际样品中毒死蜃检测结果($n=3$)

样品	添加量 /(nmol/L)	检出量 /(nmol/L)	加标 回收率/%	相对标准 偏差/%
自来水	0	—	—	—
	40	42.62	106.54	4.59
	50	47.06	94.13	3.17
	70	66.61	95.16	4.22
苹果	0	—	—	—
	40	44.12	110.31	2.18
	60	58.86	106.68	0.61
	70	68.33	97.61	0.70
黄瓜	0	—	—	—
	40	42.15	105.37	4.46
	50	53.70	107.40	4.61
	70	65.42	93.45	0.67
番茄	0	—	—	—
	40	42.72	106.80	2.86
	50	52.73	105.47	1.71
	70	68.36	97.66	2.43

注: —表示未检出。

3 结论

本研究采用种子介导法成功合成了 3 种花状 Au-PtNFs, 粒径在 8.38~19.74 nm 之间。稳态动力学实验表明其均具有较好的双酶(氧化酶及过氧化物酶)活性,且 Au-Pt₅NFs 的双酶活性最好。基于 Au-Pt₅NFs 的双酶活性结合 ATCh 在 AChE 的催化下生成的 TCh 对纳米材料酶活性的抑制作用以及 OPs 对 AChE 的抑制作用,实现了毒死蜃的检测。该方法在 40~90 nmol/L, OD₆₂₀ 与毒死蜃浓度的对数呈良好的线性关系,检出限为 1.00 nmol/L;利用色值分析软件实现了基于智能手机的毒死蜃检测,线性范围为 30~100 nmol/L,检出限为 1.06 nmol/L。该方法与其他现有 OPs 检测分析方法相比,具有更低的检测限,且在自来水、蔬菜和水果等实际样品检测中具有良好的回收率。本研究成功将 Au-PtNFs 用于 OPs 检测,为果蔬中 OPs 可视化检测提供了一种新思路。

参考文献

- [1] SHAHRAKI SM, VAZIRI EM, SABOURY AA, *et al.* Biomedical potential of nanozymes: Harnessing redox enzyme mimicry for theranostic applications [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2024, 517: 215937.
- [2] HUANG YY, REN JR, QU XG. Nanozymes: Classification, catalytic mechanisms, activity regulation, and applications [J]. *Chemical Reviews*, 2019, 119(6): 4357-4412.
- [3] YANG LY, XU XY, SONG Y, *et al.* Research progress of nanozymes in colorimetric biosensing: Classification, activity and application [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 487: 150612.
- [4] 邵卓麒, 刘彦泓, 朱金艳, 等. 基于贵金属纳米酶的比色传感技术在食品安全检测中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(12): 135-142.
- SHAO ZQ, LIU YH, ZHU JY, *et al.* Application of colorimetric sensing technology based on precious metal nanoenzymes in food hazard factor detection [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(12): 135-142.

- [5] BALA RJ, SHARMA RK, WANGOO NS. Development of gold nanoparticles-based aptasensor for the colorimetric detection of organophosphorus pesticide phorate [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 408(1): 333–338.
- [6] WU S, LI DD, GAO ZM, *et al.* Controlled etching of gold nanorods by the Au (III)-CTAB complex, and its application to semi-quantitative visual determination of organophosphorus pesticides [J]. *Microchimica Acta*, 2017, 184(11): 4383–4391.
- [7] LIU L, JIANG H, WANG X. Functionalized gold nanomaterials as biomimetic nanozymes and biosensing actuators [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 143: 116376.
- [8] LI IH, HSIEH TH, CHEN ZW, *et al.* Understanding gold nanoparticles decorated on silica as oxidase mimics and application of the light-enhanced oxidase-like activity for detection of acetylcholinesterase [J]. *Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry*, 2024, 445: 115078.
- [9] DESHMUKH AR, ALOUI HJ, KIM BS. Novel biogenic gold nanoparticles catalyzing multienzyme cascade reaction: Glucose oxidase and peroxidase mimicking activity [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 421: 127859.
- [10] SKIBA MG, ZAPOROZHETS JL, VOROBYOVA VR. Gold nanoparticles with natural polymer synthesized by plasma-liquid interactions: Size-control, characterization and colorimetric detection of melamine based on the size effect of gold nanoparticles [J]. *Nano-Structures and Nano-Objects*, 2024, 37: 101113.
- [11] CHEN S, LIU FF, CAI TM, *et al.* Dimensionality engineering of flower-like bimetallic nanozyme with high peroxidase-activity for naked-eye and on-site detection of acrylamide in thermally processed foods [J]. *Nano Materials Science*, 2024, 1: 5.
- [12] MOVAHED SK, JAFARI PV, MALLAKPOUR SP. Ruthenium nickel bimetallic nanoparticles embedded in nitrogen-doped carbon mesoporous spheres as a superior catalyst for the hydrogenation of toxic nitroarenes [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2023, 11(5): 110426.
- [13] ZHANG L, XIE ZX, GONG JL. Shape-controlled synthesis of Au–Pd bimetallic nanocrystals for catalytic applications [J]. *Chemical Society Reviews*, 2016, 45(14): 3916–3934.
- [14] SINGH SF, TRIPATHI PN, KUMAR NT, *et al.* Colorimetric sensing of malathion using palladium-gold bimetallic nanozyme [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 92: 280–286.
- [15] XU RF, YANG YD, XU MY, *et al.* Screening and discrimination of phenolic acids using bimetallic nanozymes based colorimetric sensor array [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2024, 429: 136484.
- [16] CHEN DN, MAO YW, QU P, *et al.* Bimetallic AuPt alloy/rod-like CeO₂ nanojunctions with high peroxidase-like activity for colorimetric sensing of organophosphorus pesticides [J]. *Microchimica Acta*, 2023, 190(6): 190–220.
- [17] GANESAN MS, DEVI RK, LIAO AH, *et al.* 3D-flower-like porous neodymium molybdate nanostructure for trace level detection of organophosphorus pesticide in food samples [J]. *Food Chemistry*, 2022, 396: 133722.
- [18] WANG Z, LI H, JIANG C, *et al.* Mn-modified porphyrin metal-organic framework mediated colorimetric and photothermal dual-channel probe for sensitive detection of organophosphorus pesticides [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2024, 662: 1060–1069.
- [19] ZHANG YQ, YANG J, GAO W, *et al.* A smartphone-integrated colorimetric sensor for sensitive detection of organophosphorus pesticides based on large-scale synthesized Fe-N/C single-atom nanozymes [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2024, 403: 135130.
- [20] MAHMOUDI N, FATEMI F, RAHMANDOUST M, *et al.* Development of a carbon quantum dot-based sensor for the detection of acetylcholinesterase and the organophosphate pesticide [J]. *Heliyon*, 2023, 9(9): e19551.
- [21] MA XJ, QU Q, YUAN JJ, *et al.* Multifunctional Fe-doped carbon dots and metal-organic frameworks nanoreactor for cascade degradation and detection of organophosphorus pesticides [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 464: 142480.
- [22] CAI Y, QIUA ZY, LIN XB, *et al.* Self-assembled nanomaterials based on aggregation-induced emission of AuNCs: Fluorescence and colorimetric dual-mode biosensing of organophosphorus pesticides [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 321: 128481.
- [23] ZHAO H, LI RY, ZHANG TT, *et al.* Platinum nanoflowers stabilized with aloe polysaccharides for detection of organophosphorus pesticides in food [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253: 126552.
- [24] CHANG GR, LI SL, WANG YQ, *et al.* Cu-C₃N₄ nanoenzyme-based freezing-dried bioactive capsule integrated with 3D-printed smartphone platform for visual detection of organophosphorus pesticides paraoxon in scallion [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2024, 398: 134584.
- [25] 李海阔, 梁琪, 陈卫平, 等. 牛奶中阿莫西林含量表面增强拉曼光谱检测方法的建立[J]. *食品与机械*, 2019, 35(2): 87–91.
- [26] LI HM, LIANG Q, CHEN WP, *et al.* Establishment of surface enhanced Raman spectroscopy method for determination of amoxicillin content in milk [J]. *Food & Machinery*, 2019, 35(2): 87–91.
- [27] BRUNO LC, SCUDERI MR, PRIOLO FS, *et al.* Enlightening the bimetallic effect of Au@Pd nanoparticles on Ni oxide nanostructures with enhanced catalytic activity [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 3203.
- [28] 彭杰诗, 杜良伟, 蒋田英, 等. 香附子鳞茎水提物合成银纳米颗粒及催化性能[J]. *广西大学学报(自然科学版)*, 2023, 48(3): 703–710.
- [29] PENG JS, DU LW, JIANG TY, *et al.* Synthesis and catalytic performance of AgNPs from water extract of *Radix aconite bulbs* [J]. *Journal of Guangxi University (Natural Science Edition)*, 2023, 48(3): 703–710.
- [30] SINGH V, KUMAR KS, DAS AP, *et al.* Ameliorated microgel for bimetallic Ag/CuO nanoparticles and their expeditious catalytic applications [J]. *Iranian Polymer Journal*, 2023, 32(6): 687–701.
- [31] MVANGO SD, MASHAZI PL. Synthesis, characterization of copper oxide-gold nanoalloys and their peroxidase-like activity towards colorimetric detection of hydrogen peroxide and glucose [J]. *Materials Science & Engineering: C*, 2019, 96: 814–823.
- [32] TAI SG, PAN QL, CHEN XJ, *et al.* Selective inhibition toward the enzyme-like activity of 3D porous cerium-doped graphene oxide nanoribbons for highly sensitive and enzyme-free colorimetric detection of pesticides [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2023, 378: 133130.
- [33] PARK YS, GUPTA PK, TRAN VK, *et al.* PVP-stabilized PtRu nanozymes with peroxidase-like activity and its application for colorimetric and fluorometric glucose detection [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021, 204: 111783.
- [34] TAI ST, CAO H, CUI YK, *et al.* Sensitive colorimetric and fluorescence dual-mode detection of thiophanate-methyl based on spherical Fe₃O₄/GONRs composite nanozyme [J]. *Food Chemistry*, 2024, 450: 139258.
- [35] YANG M, BAI Q. Flower-like hierarchical Ni-Zn MOF microspheres: Efficient adsorbents for dye removal [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019, 582: 123795.
- [36] DAI X, CHENG Y, LIU T, *et al.* Novel construction and synthesis mechanism of b-axis oriented flower-like SAPO-11 molecular sieve in OSC-containing system for efficient hydroisomerization of long-chain n-alkanes [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 475: 146412.
- [37] CAI R, YANG D, PENG SJ, *et al.* Single nanoparticle to 3D supercage: Framing for an artificial enzyme system [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(43): 13957–13963.
- [38] ZHU X, GAO L, TANG L, *et al.* Ultrathin PtNi nanozyme based self-powered photoelectrochemical aptasensor for ultrasensitive chloramphenicol detection [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 146: 111756.
- [39] LIN LY, MA HF, YANG CL, *et al.* A colorimetric sensing platform based on self-assembled 3D porous CeGONR nanozymes for label-free visual detection of organophosphate pesticides [J]. *Materials Advances*, 2020, 1(8): 2789–2796.
- [40] ZAHRA JF, MILAD G. Magnetic carbonized cellulose-MIL 101 (Fe) composite as a sorbent for magnetic solid phase extraction of selected organophosphorus pesticides combined with high performance liquid chromatography-ultraviolet detection [J]. *Talanta Open*, 2023, 7: 100212.
- [41] LUO L, LIU J, LIU Y, *et al.* In situ formation of fluorescence species for the detection of alkaline phosphatase and organophosphorus pesticide via the ascorbate oxidase mimetic activity of AgPd bimetallic nanoflowers [J]. *Food Chemistry*, 2024, 430: 137062.
- [42] ZHANG L, SUN YX, ZHANG ZY, *et al.* Portable and durable sensor based on porous MOFs hybrid sponge for fluorescent-visual detection of organophosphorus pesticide [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 216: 114659.
- [43] LIU SL, ZHOU JT, YUAN X, *et al.* A dual-mode sensing platform based on metal-organic framework for colorimetric and ratiometric fluorescent detection of organophosphorus pesticide [J]. *Food Chemistry*, 2024, 432: 137272.

(责任编辑: 安香玉 韩晓红)