

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2019.03.012

# 基于 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 过氧化物模拟酶 特性测定葡萄糖<sup>①</sup>

万 路, 黄玉明, 奉 萍

西南大学 化学化工学院, 重庆 400715

**摘要:** 研究发现  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  金属有机框架材料可催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  氧化 3,3,5,5-四甲基联苯胺(TMB)显蓝色, 表现出过氧化物模拟酶特性, 而且在较宽的温度(4~80 °C)及 pH 值范围(2~10)内保持其模拟酶活性, 结合葡萄糖氧化酶, 建立了测定葡萄糖的方法. 在优化条件下, 吸光度与葡萄糖浓度在 0.75~50  $\mu\text{mol/L}$  范围内呈现良好的线性关系, 对葡萄糖的检出限为 0.75  $\mu\text{mol/L}$ . 将本法用于血清中葡萄糖的测定, 获得满意结果.

**关键词:**  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ ; 光度法; 模拟酶; 葡萄糖

**中图分类号:** X703

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2019)03-0084-05

天然酶是一类生物催化剂, 可高效、专一催化生化反应, 而且反应条件温和. 然而, 天然酶易变性失活, 提纯困难, 价格昂贵, 储藏和使用不便, 成本高, 所以模拟酶的研究应运而生. 目前已有大量利用卟啉、主体试剂、印迹高分子、膜体系及配合物等作为模拟酶的报道<sup>[1]</sup>. 近年来, 纳米材料模拟酶的研究引起广泛关注, 各种各样的纳米材料, 如金属氧化物、金属硫化物、金属纳米微粒及碳材料等均具有模拟酶特性<sup>[2]</sup>.

金属有机框架(MOFs)材料具有良好的孔结构、较大的比表面积等特性, 在气体储存、化学催化以及药物传输等方面显示出良好的应用前景<sup>[3-4]</sup>. 本研究利用  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  作为催化剂, 发现它能显著催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  氧化 TMB, 产生蓝色反应, 使体系的吸光度显著增加, 表现出过氧化物模拟酶特性, 而且在较宽的温度(4~80 °C)及 pH 值(2~10)范围内保持其模拟酶活性, 据此, 结合葡萄糖氧化酶, 建立了测定血清中葡萄糖的新方法.

## 1 实验方法与材料

### 1.1 仪器及试剂

UV-2450 型紫外-可见分光光度计(岛津, 苏州). 3,3,5,5-四甲基联苯胺(TMB)和葡萄糖氧化酶( $\text{GO}_x$ )均购买于 Sigma-Aldrich 上海有限公司.  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、盐酸、氢氧化钠、NaAc、HA、无水乙醇、葡萄糖、果糖、乳糖和麦芽糖均购自重庆泰兴化学试剂公司. 2-氨基对

① 收稿日期: 2018-07-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(51678485).

作者简介: 万 路(1990-), 男, 硕士, 工程师, 主要从事发光分析的研究.

通信作者: 黄玉明, 教授, 博士研究生导师; 奉 萍, 教授, 硕士研究生导师.

苯二甲酸( $\text{NH}_2\text{-H}_2\text{BDC}$ )购自 TCI 化成工业发展有限公司(上海). 玻璃仪器用体积分数为 10% 的硝酸溶液浸泡 24 h, 使用前用超纯水清洗干净.

### 1.2 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 的合成

根据文献方法制备  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  [5], 将 0.225 g  $\text{NH}_2\text{-H}_2\text{BDC}$  与 0.675 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  分别溶于一定量的 DMF 中, 搅拌至完全溶解后, 放入反应釜中加热至 110  $^\circ\text{C}$ , 反应 24 h, 然后冷却至室温, 并用 DMF、乙醇交替洗涤, 最后在 60  $^\circ\text{C}$  下真空干燥, 即得  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ .

### 1.3 测定方法

取 0.5 mL 质量浓度为 20 mg/L 的  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 、0.25 mL 浓度为 1 mmol/L 的 TMB 溶液及 0.25 mL 不同浓度的  $\text{H}_2\text{O}_2$  加入浓度为 0.2 mol/L 的 NaAc 缓冲溶液(pH=4)中, 定容至 5 mL 后, 在 30  $^\circ\text{C}$  水浴中孵育 20 min, 冷却至室温后, 用紫外-可见分光光度计进行测定, 记录 652 nm 处的吸光度. 以吸光度变化值  $\Delta A = A - A_0$  进行定量( $A_0$  和  $A$  分别为未加入和加入  $\text{H}_2\text{O}_2$  时的吸光度).

葡萄糖测定: 在系列比色管中依次加入 0.1 mL 质量浓度为 1 g/L 的  $\text{GO}_x$ 、0.5 mL 醋酸钠缓冲液(pH=7)及 0.1 mL 不同浓度的葡萄糖溶液, 在 37  $^\circ\text{C}$  水浴条件下孵育 30 min 后, 按照前面检测  $\text{H}_2\text{O}_2$  的过程进行比色测定.

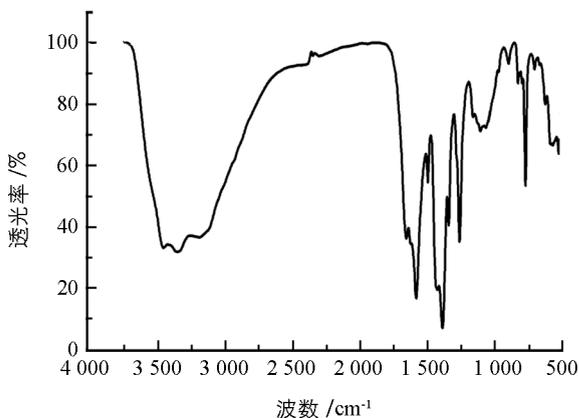
### 1.4 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 的耐受性

将  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  在不同温度(4, 8, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80  $^\circ\text{C}$ )和 pH 值(2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) 条件下孵育 2 h 后, 按照 1.3 节的条件进行测定, 考察  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  作为模拟酶的耐受性.

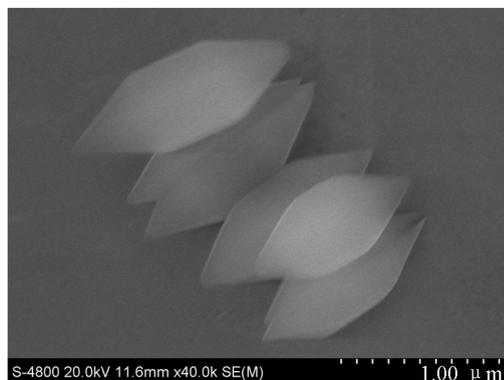
## 2 结果与分析

### 2.1 材料表征

利用水热法合成了  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ , 图 1(a)是其红外光谱图, 其中 3458  $\text{cm}^{-1}$  及 3352  $\text{cm}^{-1}$  是  $\text{-NH}_2$  的对称和不对称的伸缩振动峰[6], 1384  $\text{cm}^{-1}$  处是 C—N 的振动峰, 这主要是芳香基团引起的, 与文献[6]结果相符. 从扫描电镜图(图 1(b))可以看出, 合成的  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  呈现灯笼状, 且尺寸大小均匀.



(a)  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  的红外光谱图



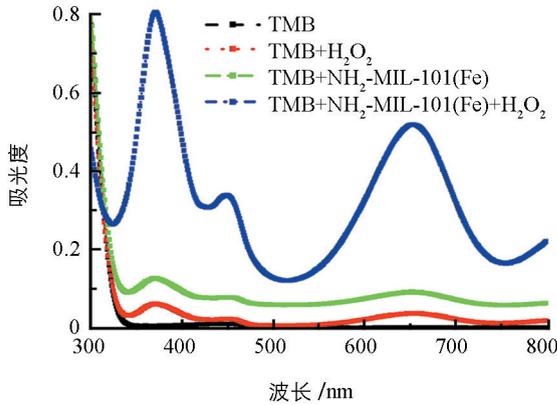
(b)  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  的扫描电镜图

图 1  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  的材料表征

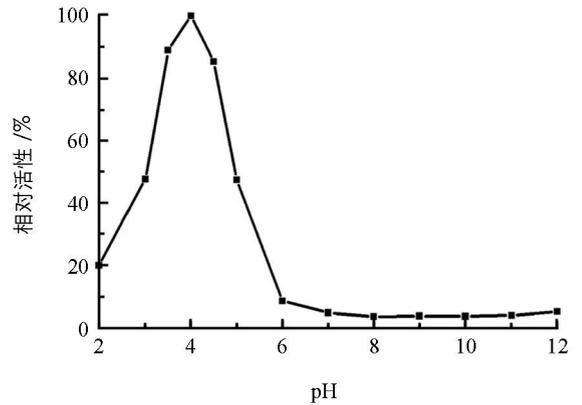
### 2.2 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 的模拟酶活性及 $\text{H}_2\text{O}_2$ 浓度对显色反应的影响

研究了  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  氧化 TMB 的反应, 结果见图 2(a). 由图 2(a)可见, 与 TMB +  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  体系比较, TMB +  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  体系在 652 nm 处的吸收峰明显增加, 表明  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  具有过氧化物模拟酶活性.

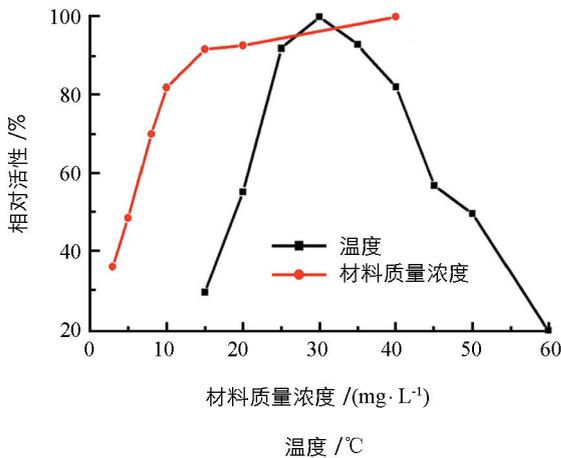
探讨了 pH 值、温度、材料质量浓度等条件对其活性的影响(图 2(b)及图 2(c)). 可以看出,当 pH 值为 4 时其模拟酶活性达到最大值(图 2(b)). 当反应温度从 15 °C 增加到 30 °C 时,酶活性迅速增加至最大值;当反应温度高于 30 °C 后,酶活性降低(图 2(c)). 故,选择 30 °C 作为后续实验的最佳温度. 实验了材料质量浓度的影响,当材料质量浓度达到 20 mg/L 时,模拟酶的活性增加趋势缓慢(图 2(c)). 故,选择 20 mg/L 进行后续实验. 在上述优化条件下,考察了过氧化氢浓度对显色反应的影响,发现 652 nm 处的吸光度随着过氧化氢浓度增加逐渐增大(图 2(d)).



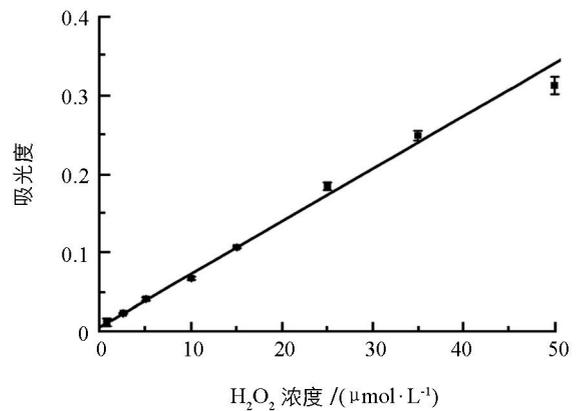
(a) 不同反应体系的吸收光谱



(b) pH 值的影响



(c) 材料质量浓度及反应温度的影响



(d) 过氧化氢浓度与 652 nm 处吸光度的关系

图 2 NH<sub>2</sub>-MIL-101(Fe)催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化 TMB 反应的条件优化

### 2.3 NH<sub>2</sub>-MIL-101(Fe)的耐受性

为了探讨 NH<sub>2</sub>-MIL-101(Fe)的耐受性,将 NH<sub>2</sub>-MIL-101(Fe)分别在不同温度(4~80 °C)及 pH 值(2~10)条件下孵育 2 h,再进行活性测定. 从图 3 可以看出,当温度在 4~30 °C 范围内时,模拟酶活性基本保持不变,当孵育温度超过 30 °C 时,模拟酶活性开始下降,但即使孵育温度达到 80 °C,材料的模拟酶活性仍然可以保持 80% 左右,表明 NH<sub>2</sub>-MIL-101(Fe)耐热性较好. NH<sub>2</sub>-MIL-101(Fe)也表现出良好的耐受 pH 值的能力,如用 pH=10 的溶液处理后,其活性也可保持 70% 左右. 研究结果表明 NH<sub>2</sub>-MIL-101(Fe)具有良好的温度及 pH 值耐受性.

### 2.4 基于 NH<sub>2</sub>-MIL-101(Fe)测定葡萄糖的方法的分析性能

基于 TMB 的显色反应与过氧化氢浓度相关的现象,结合葡萄糖氧化酶,建立了测定葡萄糖的方法. 在上述优化条件下,葡萄糖浓度在 0.75~50 μmol/L 范围内与吸光度 ΔA 呈良好的线性关系,线性方程

为  $\Delta A = 0.006c + 0.005$  ( $r^2 = 0.9940$ ,  $n = 9$ ), 对葡萄糖的检测限为  $0.75 \mu\text{mol/L}$ . 考察了葡萄糖类似物, 如果糖、麦芽糖、乳糖对测定  $0.1 \text{ mmol/L}$  葡萄糖的干扰, 结果表明, 在 5% 的误差允许范围内, 相同浓度的果糖、麦芽糖、乳糖均不干扰葡萄糖的测定, 表明基于  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  测定葡萄糖的方法有良好的选择性(图 4).

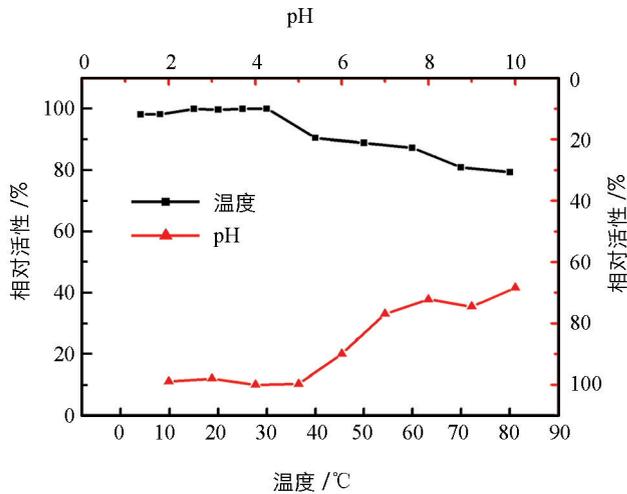


图 3  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  模拟酶的温度及 pH 值耐受性

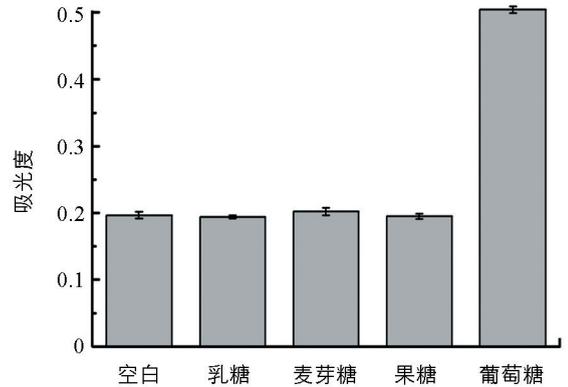


图 4 方法检测葡萄糖的选择性

## 2.5 人血清中葡萄糖的测定

将本法用于人血清中葡萄糖的检测, 3 份血清样品来自重庆市第九人民医院. 测定前, 血清样品用  $30 \text{ kDa}$  Amicon Cell 在  $3000 \text{ r/min}$  的转速下离心  $30 \text{ min}$ , 将滤液稀释 20 倍后, 按照 1.3 节的方法测定葡萄糖, 结果见表 1. 由表 1 可见, 用本文的方法测得的人血清葡萄糖的结果与 GOD-PAP 法测定值相吻合, 说明本法的准确度高, 可用于实际样品分析.

表 1 血样中葡萄糖含量的测定结果

样品	本法测得值( $n=2$ )/( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	GOD-PAP 法测得值/( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )
1	$7.83 \pm 0.16$	7.8
2	$4.58 \pm 0.08$	4.3
3	$5.33 \pm 0.17$	5.1

## 参考文献:

- [1] 刘有芹, 颜 芸, 沈含熙. 模拟酶的研究与发展 [J]. 化学进展, 2005, 17(6): 1067-1073.
- [2] XIE J, ZHANG X, WANG H, et al. Analytical and Environmental Applications of Nanoparticles as Enzyme Mimetics [J]. TrAC: Trends in Analytical Chemistry, 2012, 39: 114-129.
- [3] LI J R, MA Y G, McCARTHY M C, et al. Carbon Dioxide Capture-Related Gas Adsorption and Separation in Metal-Organic Frameworks [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2011, 255(15-16): 1791-1823.
- [4] BRADSHAW D, GARAI A, HUO J. Metal-Organic Framework Growth at Functional Interfaces: Thin Films and Composites for Diverse Applications [J]. Chemical Society Reviews, 2012, 43(24): 2344-2381.
- [5] BAUER S, SERRE C, DEVIC T, et al. High-Throughput Assisted Rationalization of the Formation of Metal Organic Frameworks in the Iron(III) Aminoterephthalate Solvothermal System [J]. Inorganic Chemistry, 2008, 47(17): 7568-7576.
- [6] HARTMANN M, FISCHER M. Amino-Functionalized Basic Catalysts with MIL-101 Structure [J]. Microporous and

Mesoporous Materials [J]. 2012, 164: 38-43.

- [7] TAYLOR-PASHOW K M L, ROCCA J D, XIE Z G, et al. Postsynthetic Modifications of Iron-Carboxylate Nanoscale Metal-Organic Frameworks for Imaging and Drug Delivery [J]. Journal of American Chemical Society, 2009, 131(40): 14261-14263.

## $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ Mimetic Peroxidase-Based Determination of Glucose

WAN Lu, HUANG Yu-ming, FENG Ping

*School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China*

**Abstract:** The material of  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  metal-organic framework was found to be able to catalyze the oxidization of 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (TMB) by  $\text{H}_2\text{O}_2$  to produce a blue product, showing intrinsic peroxidase-like activity. Furthermore, the  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$  was found to exhibit good robustness in a wide temperature range from 4 to 80 °C and in a wide pH range from 2 to 10. In a study reported herein, a new method for the detection of glucose was developed when combined with glucose oxidase. Under optimal conditions, the absorbance at 652 nm showed linear response with glucose concentrations in the range from 0.75  $\mu\text{mol/L}$  to 50  $\mu\text{mol/L}$  with a detection limit of 0.75  $\mu\text{mol/L}$ . The proposed method was applied to determine the content of glucose in human serum samples and satisfactory results were obtained.

**Key words:**  $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ ; spectrophotometry; mimetic enzyme; glucose

责任编辑 潘春燕

