

金属有机骨架材料作为纳米酶在食品安全快速检测中的应用

刘俊桃¹, 陈晓培¹, 王川川¹, 吴金松¹, 王华芬^{2*}

(1. 河南牧业经济学院理学部, 郑州 450000; 2. 河南省科学院高新技术研究中心, 郑州 450000)

摘要: 酶因其催化效率高、与底物特异性强等优势在保障食品安全中起着不可替代的作用, 但天然酶也面临着对环境敏感、提纯难度大、价格相对高昂等问题。基于此, 模拟酶应运而生。模拟酶在保持天然酶的生物活性的同时, 又能克服其稳定性不高等不足。将纳米技术和模拟酶结合发展的纳米酶融合两者优势, 在食品安全快速检测中展现出较强的潜在应用价值, 在大规模样品筛查和半定量检测方面发挥着重要作用。金属有机骨架材料(metal-organic framework, MOFs)作为纳米酶常用材料之一, 近年来逐渐成为研究热点, 并在农兽药残留、重金属离子、食源性病原菌真菌毒素等食品的快速检测方面得到应用。本文简要介绍纳米酶和金属有机骨架材料的组成并简要介绍其在快速检测中的原理, 重点综述金属有机骨架材料作为纳米酶在食品安全检测中的应用并对其进行展望, 以期对相关工作者提供借鉴。

关键词: 纳米酶; 金属有机骨架; 食品安全; 快速检测

Review on the application of metal-organic framework materials as nano-enzymes for rapid food safety detection

LIU Jun-Tao¹, CHEN Xiao-Pei¹, WANG Chuan-Chuan¹, WU Jin-Song¹, WANG Hua-Fen^{2*}

(1. Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450000, China; 2. High & New Technology Research Center of Henna Academy of Sciences, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT: Enzymes play an irreplaceable role in food safety due to their advantages of high catalytic efficiency and strong substrate specificity. However, enzymes are also faced with problems such as sensitivity to environment, difficulty in purification and relatively high price. Facing these problems, the artificial enzyme has been born. Artificial enzyme can keep the biological activity of natural enzyme, overcome the deficiency of stability. With the combination of nanotechnology and artificial enzyme, nanoenzyme show great potential application value and play an important role in large-scale sample screening and semi-quantitative detection. Metal-organic framework materials (MOFs), as one of the commonly used materials for nanoenzymes, have gradually become a hot research in recent years and have been applied in the rapid detection of drug residues, heavy metal ions, foodborne pathogen, mycotoxins and other. This paper briefly introduced nanoenzyme, MOFs, the principle and application in food safety detection, the application of MOFs as nanoenzyme in food safety detection was reviewed and prospected, so as to

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目(22B150005、22B550003)、河南省科学院高新技术研究中心基本科研业务费(220602043)

Fund: Supported by the Henan Provincial Education Department Science Research Project (22B150005, 22B550003), and the Henan Province Education Department Science Research Project (220602043)

***通信作者:** 王华芬, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为先进材料合成及食品质量安全研究。E-mail: wanghuafen_2013@163.com

***Corresponding author:** WANG Hua-Fen, Ph.D, Assistant Professor, High & New Technology Research Center of Henna Academy of Sciences, Zhengzhou 450000, China. E-mail: wanghuafen_2013@163.com

provide some references for relevant workers.

KEY WORDS: nanozyme; metal-organic framework; food safety; rapid detection

0 引 言

食品安全是国之大事。食品安全危害因子主要包括农药残留、重金属离子、食源性病原菌、真菌毒素和非法添加物等^[1-3]。食品安全关乎食品行业健康发展和国民身体健康。因此建立对食品危害因子的检测方法具有重要的研究意义和应用价值^[4-6]。目前对这类物质的检测主要采用色谱法、色谱质谱联用技术^[7-10], 存在仪器昂贵、分析成本高、需要专业技术人员等问题, 限制该技术在更大范围内的应用^[11]。为了克服上述问题, 比色法^[12]、荧光法^[13]、电化学生物传感器^[14]等快速检测方法不断涌现。其中, 比色法借助肉眼或只用手机即可实现对物质的定性或半定量分析, 近年来发展迅速。在比色法中, 采用类酶材料的纳米酶因既有纳米材料制取简便、环境稳定性好、成本低廉等优势, 又具有酶的底物特异性好、催化效率高等特点, 在食品安全快速检测技术的研发及推广中受到广泛关注^[15]。

自 2007 年, 阎锡蕴院士发现 Fe_3O_4 具有过氧化物酶性质以来^[16], 越来越多的金属^[17]、金属氧化物^[18]、碳基材料^[19]、金属有机骨架材料(metal organic frameworks, MOFs)^[20]等被发现具有纳米酶性质。通过改变 MOFs 形貌、尺寸、化学修饰等途径能够使其催化性能得到提高^[21-23]。将 MOFs 作为纳米酶, 应用于食品安全分析已有工作开展^[24-25], 本文将从纳米酶的简介、MOFs 纳米酶和检测原理及 MOFs 纳米酶在食品安全检测中的应用这 3 方面展开论述, 并对存在的问题及应用前景进行展望, 以期对具有更高活性纳米酶的设计及其在食品安全快速检测中的应用提供借鉴意义。

1 纳米酶的简介

纳米酶这一概念最早在 2004 年由 Paolo Scrimin 等提出^[26]。随后, 阎锡蕴院士课题组于 2007 年发现 Fe_3O_4 具有类过氧化物酶活性^[16]。此后, 纳米酶的概念得以扩展, 现在定义其为一类具有类酶活性的纳米材料物总称^[27]。截至目前, 已经有多种材料发现具有纳米酶性质。从材料构成来看, 纳米酶主要有金属氧化物(Fe_3O_4 、 CeO_2 、 MnO_2 等)^[17]、贵金属金属(Pt、Au 等)、碳基材料^[19]及金属有机骨架材料[铜基金属有机骨架(Cu-MOFs)、铜基金属有机骨架(Fe-MOFs)、铈基金属有机骨架(Ce-MOFs)、钴基金属有机骨架(Co-MOFs)等]^[20]等。纳米酶活性会受到纳米粒子尺寸^[28]及材料种类^[29]等因素的影响, PENG 等^[28]发现, 纳米酶的活性随着纳米尺寸的减小, 催化性能逐渐增强, 这主要归因于尺寸小的材料具有更高的比表面积。WANG 等^[29]发现, 即使均为 Cu-MOFs, 由于配体取代基种类不同, 表

现出不同的催化活性, 其中硝基作为配体的 Cu-MOF, 具有最佳的类酶性能。从功能上来分, 纳米酶的模拟对象主要有过氧化物酶(oxidase, POD)、氧化酶、还原酶[如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)]、水解酶[如碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)]等。其中以过氧化物纳米酶的研究最为广泛。大多数过氧化物酶材料同时也具有氧化酶活性。因此纳米酶在应用时, 面临着选择性需要进一步提高的问题。将纳米酶与其他生物识别技术(酶、适配体、抗体等)相结合, 可以在一定程度上提高其选择性。

2 MOFs 纳米酶及其检测原理简介

近年来, 越来越多的 MOFs 被发现具有类酶性质^[30]。MOFs 是一类由金属离子作为中心节点, 有机物作为配体, 两者以配位键相连的一类多孔晶体材料^[31]。

由于其比表面积大, 利于对目标物的吸附和富集; 具有较高的孔隙率, 便于底物/产物传输; 活性位点更易充分暴露, 具有更好的催化性能; 含有丰富的配体, 便于修饰从而改善类酶活性; 能够作为负载模板, 和其他材料形成包覆或包埋结构的复合结构, 发挥协同催化性能; 或作为牺牲模板与其他材料联用, 构建具有特殊结构的材料, 因此 MOFs 作为新型纳米酶被广泛应用于催化、生化分析、环境保护以及食品安全等领域^[32-34]。

从材料构成的维度来分类, MOFs 主要有 2D MOFs、3D MOFs。2D MOFs 具有超薄厚度, 大比表面积和高度有序的网络结构。MOFs 纳米酶制备方法主要包括直接合成法(如 Fe-MOFs、Cu-MOFs、Co-MOFs、Ce-MOF 等, 将金属离子的硝酸盐与特定的配体混合, 在高压反应釜中加热合成 MOFs)、合成后修饰(使本身不具备纳米酶活性或活性较弱的 MOFs 引入新的金属离子或配体, 从而具有纳米酶活性)、利用 MOFs 作为客体负载其他纳米酶制备复合材料等^[35]。但目前不同实验室不同批次的材料间具有不同的形貌、尺寸、催化性能, 质量控制和产品稳定性面临挑战, 且检测多基于还原性物质和显色剂竞争纳米酶在一定程度上限制其在更多场景(现场检测和即时检测)中复杂基质中的应用。

当 MOFs 纳米酶应用于食品安全分析时, 目前常用的检测原理主要有两类, 一类是光学分析法(以比色法应用为主), 一类为电化学检测法。以研究最为广泛的类过氧化物酶为例, 其比色法检测的原理是: 在酸性条件下, 具有纳米酶活性的 MOFs, 由于有大的比表面积, 可以将 H_2O_2 吸附到 MOF 材料表面, 从而引起 MOFs 中心节点粒子的价态变化, H_2O_2 中的 O-O 键断裂, 产生羟基自由基

(•OH), 在显色底物 [如 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)] 存在时, •OH 可将无色的 TMB 氧化为成蓝色的氧化 TMB (oxidation of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB_{ox}), 引起溶液颜色的变化, 具有还原性质的目标物可以抑制 MOF 的活性, 从而影响生成 •OH 的量, 最终对溶液的颜色产生影响, 借助肉眼观察或者分光光度计完成定量检测^[36-38]。

在纳米酶和 H₂O₂ 存在时, 除了引起体系颜色改变外, 还能引起具有电化学性质体系的性质变化。当底物为邻苯二胺(o-phenylenediamine, OPD)时, 纳米酶能够将其氧化为邻苯二胺聚合物(polyo-o-phenylenediamine, POPD), 两者具有不同的电化学性质, 从而引起电化学信号的变化。具有还原性质的目标物能够抑制 MOFs 的活性, 从而影响生成的 POPD 的量, 基于此, 借助于循环伏安法(cyclic voltammetry, CV)或差分脉冲伏安法(differential pulse voltammetry, DPV)等电化学技术完成对目标物的定性或定量测定。

除了上述两种主要的检测方法外, 也有采用荧光分析法的文章报道^[39]。在荧光分析中, 底物主要为对苯二甲酸(purified terephthalic acid, PTA)。检测机理类似于上述两者方法, 只是输出信号为荧光。

3 MOFs 作为纳米酶在食品安全检测中的应用

3.1 在农兽药残留检测中的应用

金属纳米粒子具有纳米酶活性, 但其容易团聚, 纳米粒子的团聚将降低其催化活性, 为了解决这一问题, 许石芬^[40]使用锌基金属有机骨架(ZIF-8)作为载体包裹 Fe₃O₄ 纳米粒子, 制备 Fe₃O₄@ZIF-8 核壳结构复合材料, 相对于 Fe₃O₄ 纳米粒子, 其具有更佳的类酶活性, 由于甲基对硫磷(methyl parathion, MP)对乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)的活性具有抑制作用, 从而影响 AChE 和胆碱氧化酶(choline oxidase, CHOX)级联体系在底物存在时生成 H₂O₂ 的量, 从而对 Fe₃O₄@ZIF-8-TMB 体系的颜色产生影响, 实现对 MP 的定量检测。酶的催化活性的保持对传感器的应用环境提出更高要求。

为了提高分析方法的选择性, LIU 等^[37]引入生物识别单元(适配体), 基于目标物和互补链间的竞争原理, 检测毒死蜱残留, 该工作在功能化的 Fe₃O₄ 磁珠表面固定毒死蜱适配体序列, 随后将互补序列(cDNA)标记 Cu-MOF, 构建信号探针(cDNA-Cu-MOF)。cDNA-Cu-MOF 通过碱基互补作用, 固定在磁珠表面。当有毒死蜱时, 将造成 cDNA-Cu-MOF 脱离磁珠, 移除磁珠后, 毒死蜱能抑制 Cu-MOF 活性, 从而影响 Cu-MOF-TMB 体系的显色, 据此实现对毒死蜱定量检测, 其检出限低至 4.4 ng/mL。该方法引入适配体作为识别单元, 拓宽了比色法的范围, 提高方法

的特异性, 在其他农药存在时, 仍表现出良好的选择性。该方法具有需更换适配体及其互补序列, 就可以实现其他目标物的检测的优势, 但目前仍有较多的有机磷的适配体并未被成功筛选, 因此限制其对更多分析对象的应用。

相对于单一金属元素构成的纳米酶, 双金属能够进一步提高 MOFs 的催化活性, LUO 等^[38]通过一步水热法将 Mn²⁺引入铁基 MOF [Fe-MIL(53)] 中, 合成双金属 Mn/Fe-MIL(53) MOF。由于掺杂 Mn²⁺, Mn/Fe-MIL(53) MOF 的酶活性(得益于 Fe³⁺和 Mn²⁺之间的氧化还原反应, 提高电子转移速率, 从而产生更多的 O₂^{•-})得到明显提高, 同时 Mn²⁺的引入使 Mn/Fe-MIL(53) MOF 具有被胆碱特异性破坏的特性。当有机磷存在时, 基于酶抑制机制, 采用比色法(TMB 为显色底物)完成对有机磷的高灵敏度和高特异性定量分析。该方法在目前报道的检测有机磷比色法中具有最高的灵敏度, 检出限可低至 0.95 nmol/L。

上述检测方法均需要额外添加底物, 构建无需添加底物的比色法将会简化分析步骤, 从而提高分析方法的准确度。基于此, ZHANG 等^[41]构建了一种无需额外添加底物的甲硝唑(metronidazole, MNZ)荧光传感器。该传感器是以铁作为中心节点, PTA 作为配体合成三维铁基 MOF [MIL-53(Fe)], 结合分子印迹技术构建荧光传感器。当样品中含有 MNZ 时, MNZ 将会阻塞孔道, 造成 H₂O₂ 难以进入传感器表面, 进而难以氧化 MIL-53(Fe)的配体 PTA, 导致荧光信号的减弱。该传感器的检出限低至 53.4 nmol/L, 成功应用于牛奶样品中 MNZ 的检测。该方法结合分子印迹技术, 提高了分析方法的选择性。采用类似的原理, 只需替换模板分子, 即可检测其他抗生素。

上述报道多是基于单一目标物的检测, XU 等^[25]通过在阳极氧化的 TiO₂ 薄膜纳米通道(TiO₂NM)内, 以纳米通道壁作为金属节点的前驱物, 以 2,2-联吡啶-5,5'-二羧酸为配体前驱物, 在原位生长具有 POD 活性的金属有机骨架(MOFs/TiO₂NM), 由于配体上有联吡啶钉, 此纳米通道中的 MOFs/TiO₂NM 提供了大量的 Fe³⁺的锚定位点, 从而使制备的 Fe³⁺:MOFs/TiO₂NM 具有类酶活性, 该纳米酶可以通过催化氧化 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid ammonium salt, ABTS)]生成 ABTS^{•+}, 对此过程中的电流电位特性进行原位表征。由于巯基化合物对 Fe³⁺具有很强的配位作用, 从而影响纳米酶的活性, 据此能够建立对巯基化合物的定量分析。AChE(活性能被有机磷农药抑制)能够水解硫代胆碱, 产生具有巯基的产物。应用此原理, 该课题组使用 Fe³⁺:MOFs/TiO₂NM 建立了评价多种目标物(有机磷农药、乙酰胆碱酯酶、半胱氨酸等)的电化学传感平台。

针对农兽药残留检测, 目前建立的比色法或电化学检测法多集中于对单一目标物的检测, 但实际样品中, 多

种残留可能同时共存, 如何在一次采样中, 建立多种目标物的同时检测的新方法是未来需要着力解决的问题, 将方法与微流控芯片技术结合, 构建阵列检测技术也许能取得一定的突破。

3.2 在金属和非金属检测中的应用

TMB-H₂O₂ 体系不仅可以应用于比色分析, 也可以应用于电化学分析。为了扩宽纳米酶的应用范围, CUI 等^[42]合成一种金属有机骨架材料[(Fe-P)n-MOF], 构建检测 Pb²⁺ 的电化学传感器。该工作是在丝网印刷的碳电极表面固定具有茎环结构的 DNA 探针, 并对(Fe-P)n-MOF 进行修饰连接上一段碱基序列(GR-5), 构建 DNA 功能化的(Fe-P)n-MOF [GR-5/(Fe-P)n-MOF], 在 Pb²⁺ 存在时, Pb²⁺ 可以特异性地识别 GR-5 上的 rA 位点, 将其截短, 从而打开电极表面的茎环结构, 将 GR-5/(Fe-P)n-MOF 固定在电极表面。采用计时电流法, 在 TMB 和 H₂O₂ 存在时, 于 0.1 V 处检测 TMB 的电化学信号, 从而完成对 Pb²⁺ 的定量检测。该传感器具有很强的特异性和灵敏度, 检测范围为 0.05~200 nmol/L, 检出限低至 0.034 nmol/L。该方法虽然具有高的灵敏度, 但需要设计复杂的核酸序列。采用类似的原理, ZHANG 等^[43]报道检测蔬菜中 Pb²⁺ 的电化学生物传感器, 该电化学传感器的线性范围为 1 pmol/L~100 nmol/L, 检出限低至 0.36 pmol/L。该方法虽有极高的灵敏度, 但传感器的制备过程略显复杂。

为了使不具有酶活性的 MOFs 具有纳米酶活性, HU 等^[44]通过两步法合成 Fe-Ni-MOF(使用简单的溶剂热法合成 Ni-MOF, 随后采用模板刻蚀法制备 Fe-Ni-MOF), Fe 的引入使 Ni-MOF 具有纳米酶性质, 将其应用于饮用水中 Sn²⁺ 的定量检测。该检测机理是基于 Sn²⁺ 具有还原性, 可以与 Fe-Ni-MOF 中的 Fe³⁺ 发生氧化反应, 从而使 Fe-Ni-MOF 的活性改变。该比色法的线性范围分别为 0.01~1.0 mmol/L 和 1.0~4.0 mmol/L, 检出限为 0.36 μmol/L。该方法简单、便捷, 合成的新型的 Fe-Ni-MOF 可以推广至其他领域, 但高浓度的分析对象将会导致材料的坍塌, 影响其催化活性。

MOFs 不仅具有类酶活性, 而且具有大的比表面积, 开展既能检测又能富集污染物将其除去的工作, 具有重要的应用价值。LI 等^[45]使用合成后修饰的方法将聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)稳定的铂纳米颗粒, 封装在锆基金属有机骨架(UiO-66-NH₂)中, 合成 PtNPs@UiO-66-NH₂, 当水样中含有 Hg²⁺ 时, Hg²⁺ 氧化单质铂, 造成 PtNPs@UiO-66-NH₂ 活性的降低, 使用 TMB-H₂O₂ 体系建立对 Hg²⁺ 的定量分析。该比色法的线性范围为 0~10 nmol/L, 检出限为 0.35 nmol/L, 对 Hg²⁺ 去除率高达 99%。

上述构建的方法多引入 DNA 作为识别元件, 提高方法的选择性, 但是并非所有的重金属离子的适配体均能成功筛选, 筛选更多特异性强的适配体才能扩宽该方法的应用

范围, 进一步提升其应用价值; 在构建的检测方法中, 集多种目的(检测与去除)于一体, 以及集多种检测模式(光学、电学双模式)于一体或构建比率传感器将提高在食品复杂基质中的准确性。

3.3 在食源性致病菌检测中的应用

不同于农兽残等化学小分子, 致病菌和适配体有多个结合位点, 除了竞争法可应用于检测外, 夹心法也可应用于致病菌。基于此, WANG 等^[46]构建 Cu-MOFs 作为 POD 类似物, 基于纳米酶-H₂O₂-TMB 体系用于 SA 的检测。他们在 Fe₃O₄ 和 Cu-MOF 表面分别修饰 SA 的适配体, 当有金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA)存在时, 将会形成“Fe₃O₄-SA-Cu-MOF”的三明治结构, 在外加磁场的作用下, Fe₃O₄-SA-Cu-MOF 被移除, 使溶液中 Fe₃O₄-SA-Cu-MOF 地减少, H₂O₂-TMB 体系的吸光度值降低。该方法具有较高的选择性, 线性范围为 50~10000 CFU/mL, 检出限为 20 CFU/mL。由于借助磁分离技术, 可以实现在复杂基质中的应用。

采用类似的思路, DUAN 等^[47]利用水热法合成球形的 Cu-MOF 作为信号标签应用于 *Escherichia coli* 的分析。该方法的线性范围为 16~1.6×10⁶ CFU/mL, 定量限为 16 CFU/mL, 检出限为 2 CFU/mL。由于该方法在孔板上即可完成, 因此能够借助酶标仪完成对 *E. coli* 的大批量分析。

为了提高催化性能, HU 等^[48]采用 2D MOF 作为 POD 类似物, 在 H₂O₂ 存在时, 引起底物 OPD 在电极表面电信号的变化。基于此原理, 该课题组报道了使用电化学传感器检测 SA 的方法。具体内容为: 一方面, 在玻碳电极表面完成万古霉素在电极上的固定。另一方面, 在合成的 2D MOF 上原位合成纳米金粒子(AuNPs), AuNPs 结合 SA 的抗体(Ab₂), 完成 Ab₂/AuNPs/MOF 的合成。当 SA 存在时, 能被万古霉素和 Ab₂ 特异性地识别, 将 Ab₂/AuNPs/MOFs 固定在电极表面。在该方法中, 通过万古霉素和 Ab₂ 双重识别策略来特异性锚定 SA, 显示更强的选择性。在最优条件下, 检出限为 6 CFU/mL, 优于多数文献报道, 为 SA 的灵敏、选择性检测提供新途径。

致病菌和识别单元结合时, 存在多个识别位点, 能够结合抗体或适配体构建夹心型传感器, 无疑在提高方法的特异性方面发挥着重要的作用, 同时构建的方法灵敏度也高。但在应用于大规模现场检测时, 仍面临着制备较为复杂, 孵育时间久的不足, 同时使用抗体作为识别单元, 分析成本也较高。其经济性是限制其走出实验室的一个制约因素。

3.4 在真菌毒素检测中的应用

由于实际样品中黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁) 含量较低, 传统的酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)易出现假阳性或假阴性的结果。为了解决该问题, XU 等^[49]采用 Fe-MOFs(MIL-88)作为

POD 类似物,利用间接免疫法检测 AFB₁。在该方法中,当样品中含有 AFB₁时,AFB₁将和酶标板上的抗原竞争孔板中的抗体(一抗),随后在体系中加入 Fe-MOFs(MIL-88)(Fe-MOFs 上偶联有二抗),Fe-MOFs(MIL-88)将和一抗结合,经清洗后,孔板中的 Fe-MOFs(MIL-88)和 AFB₁的量呈负相关,使 H₂O₂-TMB 的颜色发生变化。该方法的线性范围为 0.01~20 ng/mL,检出限为 0.009 ng/mL。Fe-MOFs(MIL-88)的催化活性优于辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase, HRP),从而使检测的灵敏度得到提高。因此,在检测微量 AFB₁时,能够提供更高的准确度。

为了提高分析方法的选择性,BAGHERI 等^[50]基于纳米酶与分子印迹技术相结合的荧光分析方法检测食品中残留的展青霉毒素(Pat),该课题组首先采用两步法合成 AgNPs@Zn-MOF,在 H₂O₂ 和 PTA 存在时,AgNPs@Zn-MOF 增强体系的荧光。而 Pat 基于电子捕获效应,能够降低 AgNPs@Zn-MOF 活性,从而导致荧光信号的降低,结合分子印迹技术完成对 Pat 的定量分析。该传感器的制备较复杂、步骤较多,稳定性的提高是其实际应用时考虑的问题。

3.5 其 他

相对于单一的酶反应,酶级联反应具有更强的放大功能,因此能够提高方法的灵敏度。ZHANG 等^[51]基于 D-氨基酸氧化酶(D-amino acid oxidase, DAAO)和 2D MOF 纳米片介导的级联酶反应,建立了检测食品中苯甲酸钠的快速比色法。首先,合成的二维 MOF 纳米片作为高效的纳米酶,催化 H₂O₂-TMB 的颜色反应。其次,苯甲酸钠作为 DAAO 的竞争性抑制剂,影响 DAAO 介导的氧化反应中 H₂O₂ 的产生。结合这两个反应,构建并验证了苯甲酸钠的比色定量方法,该方法线性范围宽(2.0~200.0 μmol/L)、检出限低(2.0 μmol/L)、准确度高(回收率为 95.80%~108.00%)、选择性好。最后,利用该方法对果汁、葡萄酒和醋中的苯甲酸钠浓度进行了比色分析。该方法具有简便快速、灵敏度高的优势,采用酶级联反应较单一酶,具有更佳的放大效果,可以为其他检测对象提供一种新思路。

4 结束语

MOFs 作为纳米酶在食品安全检测中已有应用并吸引越来越多的工作者投入到该领域的研究。但该纳米酶仍有亟待解决的问题才能更好地走出实验室进入到实际应用场景。第一:目前的纳米酶主要基于过氧化物酶和氧化还原酶,检测对象多集中于葡萄糖、H₂O₂ 等小分子,更多纳米酶仍需被研发,检测对象需要扩宽,从而满足需求,第二,底物和纳米酶的亲和能力作用机制仍需进一步深化研究,从而对高活性纳米酶的设计提供方向。第三,灵敏性和选择性的进一步提高才能使该纳米酶在复杂的食品基质中发

挥更加准确的定量分析,但在采用生物识别单元在提高选择性的同时,将使传感器的制备复杂,其稳定性在实际应用时也将面临挑战。第四,不同批次的材料间具有不同的形貌、尺寸、催化性能,质量控制 in 推广应用时也面临挑战总之,随着研究的进一步深化,相信 MOFs 作为纳米酶在食品安全检测领域将发挥更大的作用。

参考文献

- [1] SHARMA AS, ALI S, SABARINATHAN D, *et al.* Recent progress on graphene quantum-based fluorescence sensors for food safety and quality assessment applications [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2021, 20(6): 5765–5801.
- [2] HE S, SHI X. Microbial food safety in China: Past, present, and future [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2021, 18(8): 510–518.
- [3] 曹菁, 王梓莹, 汪官璽, 等. CRISPR/Cas 系统在食品质量安全检测中的应用研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(17): 7052–7058. CAO J, WANG ZY, WANG GZ, *et al.* Research progress on the application of CRISPR/Cas system in food quality and safety detection [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(17): 7052–7058.
- [4] HOU X, XU H, ZHEN T, *et al.* Recent developments in three-dimensional graphene-based electrochemical sensors for food analysis [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2020, 105: 76–92.
- [5] LEI M, XU C, SHA NY, *et al.* Plasmon-coupled microcavity aptasensors for visual and ultra-sensitive simultaneous detection of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(29): 8117–8126.
- [6] 张德德, 刘兴泉, 杨媚婷, 等. 食源性致病菌现场即时检测技术研究进展[J]. *分析化学*, 2021, 49(10): 1631–1639. ZHANG CC, LIU XQ, YANG MT, *et al.* Research progress of on-site real-time detection of food-borne pathogens [J]. *Anal Chem*, 2021, 49(10): 1631–1639.
- [7] ZHANG HX, ZHANG P, FU XF, *et al.* Rapid and sensitive detection of aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂ in vegetable oils using bare Fe₃O₄ as magnetic sorbents coupled with high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Chromatogr Sci*, 2020, 58(7): 678–685.
- [8] MISHRA A, CHHONKER YS, BISEN AC, *et al.* Rapid and simultaneous analysis of multiple classes of antimicrobial drugs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to routine biomedical, food, and soil analyses [J]. *ACS Omega*, 2020, 5(49): 31584–31597.
- [9] FERNANDES VC, LUTS W, DELERUE-MATOS C, *et al.* Improved QuEChERS for analysis of polybrominated diphenyl ethers and novel brominated flame retardants in capsicum cultivars using gas chromatography [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(10): 3260–3266.
- [10] LI J, LIU X, LIANG X, *et al.* Simultaneous detection of five flavoring agents in chewing gum by ultrasound-microwave synergistic extraction coupled with gas chromatography [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12085–12091.
- [11] 李倩, 王甲, 张玉洁, 等. 动物性食品中喹诺酮类药物残留检测方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(8): 3016–3022. LI Q, WANG J, ZHANG YJ, *et al.* Research progress on determination methods of quinolone residues in animal food [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(8): 3016–3022.

- [12] CHEN Y, ZHU Y, ZHAO Y, *et al.* Fluorescent and colorimetric dual-response sensor based on copper(II)-decorated graphitic carbon nitride nanosheets for detection of toxic organophosphorus [J]. *Food Chem*, 2021, 345: 128560–128566.
- [13] TAGHDISI SM, DANESH NM, NAMEGHI MA, *et al.* A label-free fluorescent aptasensor for selective and sensitive detection of streptomycin in milk and blood serum [J]. *Food Chem*, 2016, 203: 145–149.
- [14] ZENG Y, CAMARADA MB, LU X, *et al.* Detection and electrocatalytic mechanism of zearalenone using nanohybrid sensor based on copper-based metal-organic framework/magnetic Fe₃O₄-graphene oxide modified electrode [J]. *Food Chem*, 2022, 370: 131024–131033.
- [15] HUANG L, SUN DW, PU H, *et al.* Development of nanozymes for food quality and safety detection: Principles and recent applications [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2019, 18(5): 1496–1513.
- [16] GAO L, ZHUANG J, NIE L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles [J]. *Nat Nanotechnol*, 2007, 2(9): 577–583.
- [17] ALIZADEH N, SALIMI A. Multienzymes activity of metals and metal oxide nanomaterials: Applications from biotechnology to medicine and environmental engineering [J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 26–56.
- [18] LIU Q, ZHANG A, WANG R, *et al.* A review on metal- and metal oxide-based nanozymes: Properties, mechanisms, and applications [J]. *Nanomicro Lett*, 2021, 13(1): 154–184.
- [19] ZHU Y, WU J, HAN L, *et al.* Nanozyme sensor arrays based on heteroatom-doped graphene for detecting pesticides [J]. *Anal Chem*, 2020, 92(11): 7444–7452.
- [20] CHEN WH, VAZQUEZ-GONZALEZ M, KOZELL A, *et al.* 2018. Cu²⁺-modified metal-organic framework nanoparticles: A peroxidase-mimicking nanoenzyme [J]. *Small*, 2018, 14(5): 1703149–1703156.
- [21] LI MH, CHEN JX, WU WW, *et al.* Oxidase-like MOF-818 nanozyme with high specificity for catalysis of catechol oxidation [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 15569–15574.
- [22] XU WQ, KANG YK, LEI J, *et al.* Tuning atomically dispersed Fe sites in metal-organic frameworks boosts peroxidase-like activity for sensitive biosensing [J]. *Nanomicro Lett*, 2020, 12(1): 184–190.
- [23] WANG L, LIU G, REN Y, *et al.* Integrating target-triggered aptamer-capped HRP@Metal-Organic frameworks with a colorimeter readout for on-site sensitive detection of antibiotics [J]. *Anal Chem*, 2020, 92(20): 14259–14266.
- [24] XU W, JIAO L, YAN H, *et al.* Glucose oxidase-integrated metal-organic framework hybrids as biomimetic cascade nanozymes for ultrasensitive glucose biosensing [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2019, 11(25): 22096–22101.
- [25] XU H, GUO J, YANG L, *et al.* Construction of peroxidase-like metal-organic frameworks in TiO₂ nanochannels: Robust free-standing membranes for diverse target sensing [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(27): 9486–9494.
- [26] MANEA F, HOUILLON FB, PASQUATO L, *et al.* 2004. Nanozymes: Gold-nanoparticle-based transphosphorylation catalysts [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43(45): 6165–6169.
- [27] WEI H, GAO LZ, FAN KL, *et al.* Nanozymes: A clear definition with fuzzy edges [J]. *Nanotoday*, 2021, 40: 101269–101274.
- [28] PENG F, ZHANG Y, GU N, *et al.* Size-dependent peroxidase-like catalytic activity of Fe₃O₄ nanoparticles [J]. *Chin Chem Lett*, 2008, 19(6): 730–733.
- [29] WANG J, LI W, ZHENG YQ. Nitro-functionalized metal-organic frameworks with catalase mimic properties for glutathione detection [J]. *Analyst*, 2019, 144: 6041–6047.
- [30] XIA H, LI N, HUANG WQ, *et al.* Enzymatic cascade reactions mediated by highly efficient biomimetic quasi metal-organic frameworks [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2021, 13: 22240–22253.
- [31] XU W, JIAO L, WU Y, *et al.* Metal-organic frameworks enhance biomimetic cascade catalysis for biosensing [J]. *Adv Mater*, 2021, 33(22): e2005172.
- [32] LI X, ZHU H, LIU, P, *et al.* Realizing selective detection with nanozymes: strategies and trends [J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2021, 143: 116379.
- [33] MAO X, XIAO W, WAN Y, *et al.* Dispersive solid-phase extraction using microporous metal-organic framework UiO-66: Improving the matrix compounds removal for assaying pesticide residues in organic and conventional vegetables [J]. *Food Chem*, 2021, 345: 128807–128814.
- [34] SHEN B, ZHANG X, DAI J, *et al.* Lysosome targeting metal-organic framework probe LysFP@ZIF-8 for highly sensitive quantification of carboxylesterase 1 and organophosphates in living cells [J]. *J Hazard Mater*, 2021, 407: 124342.
- [35] JIANG Y, OH I, JOO SH, *et al.* Synthesis of a copper 1,3,5- triamino-2,4,6-benzenetriol metal-organic framework [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(43): 18346–18354.
- [36] WANG XN, ZHAO Y, LI JL, *et al.* Biomimetic catalysts of iron-based metal-organic frameworks with high peroxidase-mimicking activity for colorimetric biosensing [J]. *Dalton Trans*, 2021, 50(11): 3854–3861.
- [37] LIU Q, HE Z, WANG H, *et al.* Magnetically controlled colorimetric aptasensor for chlorpyrifos based on copper-based metal-organic framework nanoparticles with peroxidase mimetic property [J]. *Mikrochim Acta*, 2020, 187(9): 524–532.
- [38] LUO L, OU Y, YANG Y, *et al.* Rational construction of a robust metal-organic framework nanozyme with dual-metal active sites for colorimetric detection of organophosphorus pesticides [J]. *J Hazard Mater*, 2022, 423(Pt B): 127253–127259.
- [39] BAGHERI N, DASTBORHAN M, KHATAEE A, *et al.* Synthesis of g-C₃N₄@CuMOFs nanocomposite with superior peroxidase mimetic activity for the fluorometric measurement of glucose [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2019 213: 28–36.
- [40] 许石芬. 金属有机骨架材料在食品中铅、甲基对硫磷和姜黄素的光化学检测中的应用[D]. 厦门: 集美大学, 2020.
- XU SF. The applications of metal-organic framework materials in photochemical detection of lead, methyl parathion and curcumin in food [D]. Xiamen: Jimei University, 2020.
- [41] ZHANG Z, LIU Y, HUANG P, *et al.* Polydopamine molecularly imprinted polymer coated on a biomimetic iron-based metal-organic framework for highly selective fluorescence detection of metronidazole [J]. *Talanta*, 2021, 232: 122411–122418.
- [42] CUI L, WU J, LI J, *et al.* Electrochemical sensor for lead cation sensitized with a DNA functionalized porphyrinic metal-organic framework [J]. *Anal Chem*, 2015, 87(20): 10635–10641.
- [43] ZHANG X, HUANG X, XU Y, *et al.* Single-step electrochemical sensing of ppt-level lead in leaf vegetables based on peroxidase-mimicking metal-organic framework [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 168: 112544–112550.

- [44] HU Y, YUE CC, WANG J, *et al.* Fe-Ni metal-organic frameworks with prominent peroxidase-like activity for the colorimetric detection of Sn^{2+} ions [J]. *Analyst*, 2020, 145(19): 6349–6356.
- [45] LI HP, LIU HF, ZHANG JD, *et al.* Platinum nanoparticles encapsulated metal-organic frameworks for colorimetric measurement and facile removal of mercury(II) [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2017, 9(46): 40716–40725.
- [46] WANG SQ, DENG WF, LU Y, *et al.* Copper-based metal-organic framework nanoparticles with peroxidase-like activity for sensitive colorimetric detection of staphylococcus aureus [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2019, 9(29): 24440–24445.
- [47] DUAN N, YANGW, WU SJ, *et al.* A visual and sensitive detection of *Escherichia coli* based on aptamer and peroxidase-like mimics of copper-metal organic framework nanoparticles [J]. *Food Anal Methods*, 2020, 13: 104–110.
- [48] HU WC, PANG J, BISWAS S, *et al.* Ultrasensitive detection of bacteria using a 2D MOF nanozyme-amplified electrochemical detector [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(24): 8544–8552.
- [49] XU Z, LONG LL, CHEN YQ, *et al.* A nanozyme-linked immunosorbent assay based on metal-organic frameworks (MOFs) for sensitive detection of aflatoxin B₁ [J]. *Food Chem*, 2021, 338: 128039–128045.
- [50] BAGHERI N, KHATAEE A, HABIBI B, *et al.* Mimetic Ag nanoparticle/Zn-based MOF nanocomposite (AgNPs@ZnMOF) capped with molecularly imprinted polymer for the selective detection of patulin [J]. *Talanta*, 2018, 179: 710–718.
- [51] ZHANG H, YANG H, LIU P, *et al.* Colorimetric quantification of sodium benzoate in food by using d-amino acid oxidase and 2D metal organic framework nanosheets mediated cascade enzyme reactions [J]. *Talanta*, 2022, 237: 122906.

(责任编辑: 郑 丽 韩晓红)

作者简介



刘俊桃, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品质量安全研究。
E-mail: 305132544@qq.com



王华芬, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为先进材料合成及食品质量安全研究。
E-mail: wanghuafen_2013@163.com