

基于部分碳化 NH₂-MIL-101(Fe)的水中四环素类 抗生素比色检测方法研究*

杨翔昊, 郭威, 孙翠竹, 李媛媛, 徐功娣, 李锋民**

(中国海洋大学海洋环境与生态教育部重点实验室, 山东 青岛 266100)

摘要: 四环素类抗生素(Tetracyclines, TCs)在生产中的滥用会导致其在环境中的残留,极大提高了人体感染疾病的风险,并且目前仍缺乏快速、有效的检测手段。基于 TCs 在水中易与 Fe²⁺、Fe³⁺ 产生强烈络合的特性,本文制备了一种部分碳化 NH₂-MIL-101(Fe)用于水中 TCs 快速检测的比色检测方法。经惰性气氛煅烧法对 NH₂-MIL-101(Fe)进行改性,制备了两种改性材料,并对两种改性材料和前体的表面形貌及化学结构进行了表征。对比了 NH₂-MIL-101(Fe)和 350、450 °C 下煅烧的改性材料与土霉素间的络合效果,实验结果表明,3 种材料均可与土霉素络合,350 °C 煅烧得到的部分碳化材料具有最佳催化效果,并显示出良好的稳定性和分散性。在优化的检测条件下(催化剂投加量 12 μg · mL⁻¹、H₂O₂ 浓度 6 mmol · L⁻¹、TMB 浓度 5 mmol · L⁻¹、pH=5.5、反应时间 40 min),oxTMB 在 652 nm 处的吸光度值与土霉素浓度之间呈现线性关系,线性范围为 0.08~50 μmol · L⁻¹ (R²=0.982 2)。本文设计的比色方法可实现实际水体中 TCs 含量的灵敏、特异性检测,为完善水体安全监管体系提供了一定的理论与技术支持。

关键词: NH₂-MIL-101(Fe); 部分碳化材料; 四环素类抗生素; 水环境; 比色检测方法

中图分类号: X832

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2023)02-116-09

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20220081

引用格式: 杨翔昊, 郭威, 孙翠竹, 等. 基于部分碳化 NH₂-MIL-101(Fe)的水中四环素类抗生素比色检测方法研究[J].

中国海洋大学学报(自然科学版), 2023, 53(2): 116-124.

Yang Xianghao, Guo Wei, Sun Cuizhu, et al. A colorimetric method based on porous carbon from NH₂-MIL-101(Fe) for detection of tetracyclines in water[J]. Periodical of Ocean University of China, 2023, 53(2): 116-124.

抗生素作为一种广谱类药物,成本低、副作用小且具有高效抗菌性能,已广泛应用于医疗领域^[1]。其中,四环素类抗生素(Tetracyclines, TCs)具有价格低、见效快等特点,是动物制药和饲料生产中的首选抗菌剂,在全世界抗生素生产使用总量中排名第二,且在中国的抗生素使用中是最为频繁的一类^[2-3]。然而,由于在动物体内代谢吸收不完全,70%~90%的 TCs 会以排泄物的形式进入到土壤以及水环境中^[4]。残留在环境中的四环素具有持续性强、不易降解等特性,可能导致细菌基因突变,产生耐药菌,从而影响细菌感染的治疗效果,经食物链传递进入人体后会引发人体肠道菌群紊乱,危害人体健康^[5-6]。

现有的 TCs 检测方法主要包括液相色谱-质谱法、酶联免疫吸附法^[7]、分子印迹法^[8]、适体抗体检测法^[9-10]、光电化学检测法^[11]、荧光检测法^[12]、表面增强拉曼散射法^[13]等。然而,这些检测方法大多需要庞大、

昂贵的仪器、繁琐的检测过程且对操作人员的技术要求较高,应用范围十分受限。因此,建立一种简单,灵敏,准确度高的水中 TCs 检测方法具有重要的意义。

近年来,比色法因具有测定快速、成本低、不需要精密仪器、可通过肉眼直接观察等优点,在检测领域受到广泛的关注^[14-15]。基于天然酶建立的比色传感器过程简单、效率高^[16-17],但天然酶的操作稳定性低(变性和消化)、制备和纯化成本高且回收利用困难。此外,酶活性容易受到 pH 值、温度和抑制剂等环境因素的干扰,应用于比色分析时存在缺陷^[18-19]。

纳米材料作为天然酶的新兴替代品,能够耐受苛刻的反应条件,展现出良好的应用前景^[20-21]。其中,金属有机骨架(Metal Organic Framework, MOF)是一类由有机配体交联的金属离子所组成的多孔纳米材料^[22]。陈红霞等人使用 Cu-MOF 作为框架,制作出一

* 基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFC0406304);山东省重大科技创新工程项目(2019JZZY020302)资助

Supported by the National Key Research and Development Project(2018YFC0406304); the Major Scientific and Technological Innovation Projects in Shandong Province(2019JZZY020302)

收稿日期:2022-02-10; 修订日期:2022-03-13

作者简介:杨翔昊(1996—),男,硕士生。E-mail:yxh19961215@163.com

** 通讯作者:E-mail:lifengmin@ouc.edu.cn

种能够模拟血红蛋白和 Fe-N₅ 双活性位点的高效、稳定的人工酶催化剂^[22];李凤亭等人发现 Fe-MOF 对 H₂O₂ 的分解具有高效催化效果,并利用适体与靶分子结合会强烈抑制 Fe-MOF 的催化活性这一原理,设计出一种无标记的生物分子比色传感器^[22-23]。尽管 MOFs 在检测应用中表现出巨大的潜力,但是在水中稳定性较差。实现 MOFs 的信号转导放大并增强稳定性,是应用 MOFs 构建选择性好和灵敏度佳的检测平台的关键^[24]。

刘玉堂等人研究发现,在惰性气氛中对 Fe-MOFs 进行热活化可以去除其孔隙中的预配位分子及杂质(H₂O, F⁻, O),产生更多可作为路易斯酸位点和活性中心的协调不饱和金属位点(Coordinated unsaturated metal sites, CUS)^[25-26]。Fe-MOFs 在惰性气氛中的热解规律主要分为以下四个部分:(1)10~300 °C 时孔隙中分子的脱附;(2)300~350 °C 时有机配体开始分解;(3)350~600 °C 时进一步发生碳化;(4)600 °C 后碳化完全^[27-28]。过高的热解温度会导致 MOF 表面产生疏水碳层,不利于其在水中的分散^[29]。因此,确定适合的煅烧温度,在保证亲水性的同时达到活化效果,对提高材料在非均相体系中与 TCs 的络合能力十分重要。

研究表明,NH₂-MIL-101(Fe)具有丰富的铁活性位点,可以在 4~80 °C 的温度范围及 2~10 的 pH 范围内表现出较强的类过氧化氢酶活性^[30]。本文选取 350 与 450 °C 两种热解温度,通过惰性气氛煅烧法对 NH₂-MIL-101(Fe)进行改性,制备兼具水稳定性和催化能力的衍生材料。基于材料与 TCs 间的络合倾向,设计了一种可视化比色检测方法,检测机制是在室温、弱酸性条件下,TCs 与材料的络合物能够催化 H₂O₂ 生成活性氧自由基(Reactive oxygen species, ROS),从而氧化 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, TMB)生成 oxTMB,溶液显蓝色。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

土霉素(Oxytetracycline, OTC)购自北京索莱宝科技有限公司,四环素(tetracycline, TC)、购自德国钻石试剂有限公司,磺胺甲恶唑、阿莫西林、氨苄青霉素、头孢拉定购自美国 Sigma-Aldrich,诺氟沙星购自上海生工生物技术有限公司,2-氨基对苯二甲酸、TMB 购自罗恩试剂有限公司,FeCl₃·6H₂O、N,N-二甲基甲酰胺(N,N-Dimethylformamide, DMF)、30% H₂O₂、醋酸钠、冰醋酸、二甲亚砜、购自国药集团试剂有限公司,所有试剂均为试剂纯,无需纯化即可使用。

利用扫描电子显微镜(SEM, Hitachi S-3600, 日本)与透射电子显微镜(TEM, JEOL JEM-2100F, 日

本)对比材料热解后的表面形貌及内部结构,在 X-射线衍射仪(XRD, PANalytical X'pert3 Powder, 荷兰)上使用 Cu K α 辐射进行 X 射线衍射实验,比较 3 种材料的晶体结构,2 θ 范围为 5°~80°,扫描时间为 10 min。材料的表面化学态通过 Al K α 源的 X 射线光电子能谱仪(XPS, Thermo Fisher Escalab250Xi, 美国)测定。使用紫外-可见分光光度计(UV-9000S, 元析, 上海)测定吸光度值,验证材料对 H₂O₂-TMB 混合液的催化效果。使用高效液相色谱仪(HPLC, Thermo Fisher Ultimate 3000, 美国)同步测定实际水样中的 OTC 含量,验证比色检测方法的准确性。

1.2 实验方法

1.2.1 材料的制备 NH₂-MIL-101(Fe)是通过改进前人的方法制备得到的^[31]。将 0.540 6 g(2 mmol) FeCl₃·6H₂O 和 0.181 1 g(1 mmol) 2-氨基对苯二甲酸混合在 30 mL 的 DMF 中,超声 10 min 使固体完全溶解。将获得的橙色溶液转移至聚四氟乙烯内衬的不锈钢高压反应釜中,在 110 °C 真空烘箱中加热 20 h 后,8 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,获得红棕色沉淀物。用 DMF 与乙醇洗涤 3 次,65 °C 真空干燥 12 h,得到 NH₂-MIL-101(Fe)。

干燥的 NH₂-MIL-101(Fe)置于陶瓷舟中,分别在 350 和 450 °C 下的 N₂ 气氛中,以 3 °C·min⁻¹ 的升温速率煅烧 3 h 制备获得部分碳化材料。所制备的材料命名为 101-T,其中 T 为煅烧温度。

1.2.2 3 种材料催化活性的比较与检测方法的优化

制备好的 NH₂-MIL-101(Fe)、101-350、101-450 分别在去离子水中超声分散 10 min,获得催化剂储备液。将 280 μ L OTC 标准溶液、30 μ L H₂O₂ 溶液、30 μ L 催化剂储备液依次添加到 140 μ L 醋酸钠缓冲液中(pH=5.5),立刻添加 20 μ L 二甲亚砜溶液(TMB)。混合液(500 μ L)在室温下反应 30 min 后,分别测定 652 nm 处吸光度值,比较 3 种材料的催化性能。

材料的催化性能可能会受到 H₂O₂ 溶液浓度、TMB 溶液浓度、催化剂投加量、混合液的 pH 值、反应时间的影响,因此采用单因素法对这些影响因素进行优化:(1)H₂O₂ 溶液浓度设置为 1.2、1.8、3.4、2.6、7.8 mmol·L⁻¹,(2)TMB 浓度设置为 0.5、1.5、3.5、7、10、12 mmol·L⁻¹,(3)催化剂浓度设置为 4、8、12、16、20 μ g·mL⁻¹,(4)缓冲液的 pH 值设置为 4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、8,(5)反应时间设置为 5~52 min,OTC 实验浓度始终采用 1 μ mol·L⁻¹。

1.2.3 比色检测方法对 OTC 的检测能力分析 将适量的 OTC 溶解到去离子水中,制备 0.1、0.25、0.5、0.75、1、2.5、5、7.5、10、25、50 μ mol·L⁻¹ 标准样品。将 280 μ L 不同浓度的 OTC 溶液分别添加至 140 μ L

醋酸钠缓冲液(pH=5.5)中,再依次添加 30 μL H_2O_2 溶液(6 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、30 μL 101-350 储备液(12 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、20 μL TMB 溶液(5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。将混合液在室温下放置 40 min 后,测定 652 nm 处的吸光度值以评估检测方法的性能。阿莫西林、磺胺甲恶唑、诺氟沙星、氨苄青霉素、头孢拉定(5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和四环素(1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)也在相同的条件下检测以揭示该检测方法的选择性。

1.2.4 比色检测方法对实际水体中 OTC 的检测性能验证 3 种试验用水分别为采自李村河的景观回用水、三文鱼养殖场排水口水样、流清河入海口水样,分别配制成 0.25、0.5、1、2.5、5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ OTC 加标溶液,以模拟含 TCs 的再生水、养殖废水以及入海口地表水。在优化的实验条件下,通过上述检测方法测定加标水样中的 OTC 含量,探究该方法检测实际水体中 TCs 的性能。采用 HPLC 法对上述水样进行同步测定,验证比色检测方法的准确性。

1.3 数据分析

所有实验均进行 3 次重复测定,实验结果表达为 3 次测定的平均值 \pm 标准差(SD)。从检测仪器和智能手机中导出数据及图片,采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,使用 Origin 2018 软件进行绘图,采用单因素 ANOVA 检验进行差异性分析,显著性水平为 $p < 0.05$ 。利用公式(1)计算检测方法的检出限,利用公式(2)计算方法检测实际水样的相对标准偏差。

$$MDL = t_{(n-1, 0.99)} \times S \quad (1)$$

$$RSD = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\% \quad (2)$$

式中:MDL 为方法检出限; n 为样品的平行测定次数; t 为自由度为 $n-1$,置信度为 99%时的 t 分布值; S 为 n 次平行测定的标准偏差; RSD 为相对标准偏差; S 为某一浓度水平样品测试的标准偏差; \bar{x} 为某一浓度水平样品测试的平均值。

2 结果与讨论

2.1 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 、101-350、101-450 的制备表征

材料的晶相结构会影响其稳定性和化学组成,因此,为探究高温煅烧对材料的晶相结构的影响,对 3 种材料的物相和结晶度进行了表征(见图 1)。所合成的 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 衍射峰与之前文献报道的图谱一致^[31-32],表明 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 前体的成功合成。与前体相比,高温煅烧材料 101-350 的衍射峰表现出明显减弱,是因为 350 $^\circ\text{C}$ 的煅烧在晶体表面形成薄碳层,使材料结晶度下降。随着煅烧温度的升高,101-450 具有归属于 Fe_3O_4 (JCPDS No.72-2303)的一系列 XRD 特征峰^[33]。表明经过 450 $^\circ\text{C}$ 的煅烧, $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$

已经完全转变为 Fe_3O_4 的单一纯晶相。

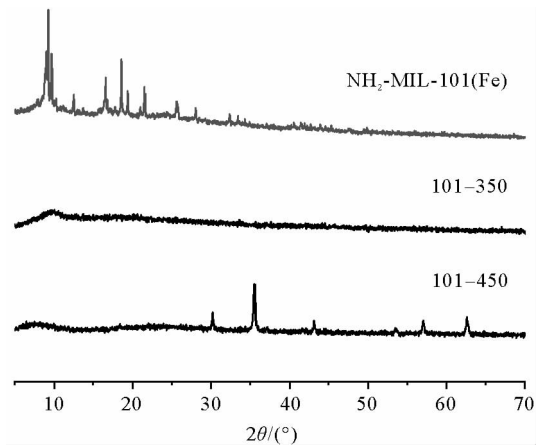


图 1 不同煅烧温度下获得的 3 种材料的 XRD 图谱
Fig.1 XRD patterns of three materials obtained under different calcination temperatures

为了探究煅烧温度对材料晶体形貌的影响,通过 SEM、TEM 对 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 以及 101-350、101-450 的表面形貌和结构进行了表征,结果如图 2 所示。从图 2((a), (d))可以看出,合成的 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 前体呈现出典型的八面体结构,表面光滑,粒径范围为 300~500 nm。从图 2(b)与图 2(e)中发现,经过 350 $^\circ\text{C}$ 煅烧后的 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 虽然保持着前体的八面体

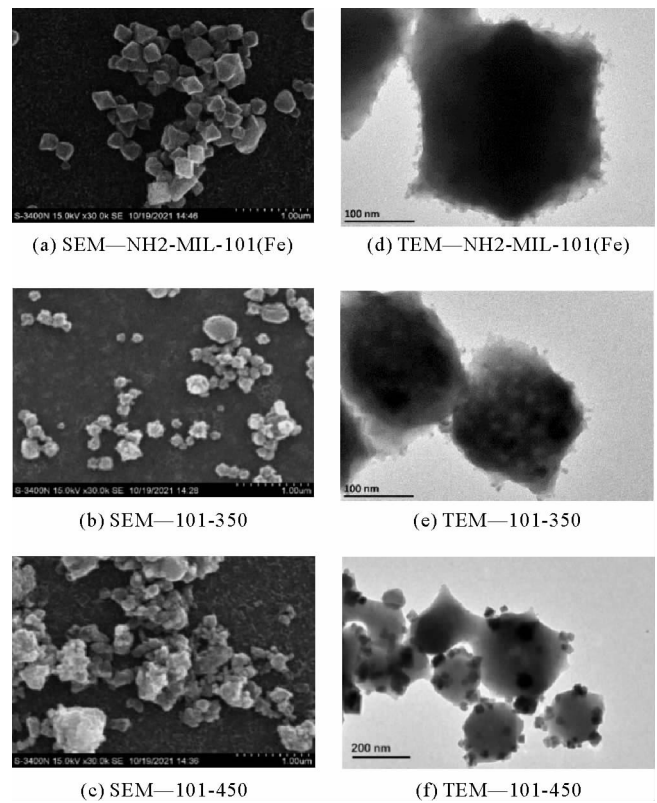


图 2 3 种材料的 SEM、TEM 图像
Fig.2 SEM and TEM images of three materials

结构,但表面变粗糙,内部产生细小的纳米晶体以及纳米孔,尺寸减小,表明高温热解使 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 发生了碳化,晶体受热分解并收缩,杂质被去除,内部生成 $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 小颗粒^[32]。450 °C 下高温煅烧的 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ (见图 2((c), (f)))晶体结构被破坏,内部产生较大粒径的 Fe_3O_4 颗粒,这与 2.1 的表征结果一致。

为进一步探究不同煅烧温度对 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 表面官能团的影响,对三种材料的化学键和化学基团进行了表征。如图 3(a)所示, $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 前体以及煅烧后的材料都是由 Fe、C、O 三种主要元素组成的, N 元素来源于 2-氨基对苯二甲酸作为连接配体合成 MOF 时所携带的氨基。350 °C 煅烧后, 101-350 的 O/Fe 值明显低于 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$, 归因于煅烧去除了前体中残留的 H_2O 和 O 从而将更多的 Fe-CUS 暴露出来。101-450 中 O/Fe 值的进一步减少和 C 1s 峰的增加则与碳化加剧相关。与已有的研究一致, 王建龙、李传浩研究发现, $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 的 Fe 2p 谱

图(见图 3(b))显示出两个拟合峰, Fe^{3+} 的对应峰是在 $2p_{1/2}$ 和 $2p_{3/2}$ 处结合能分别为 726.3、712.8 eV(对应于 Fe^{3+} 的 $\mu_3\text{-OFe}$ 键)和 724.9、711.4 eV(对应于 Fe^{3+} 的 Fe-O-C 键)的强峰,同时还观察到结合能为 710 eV(对应于 Fe^{2+})的弱峰^[33-34], 在经过惰性气氛煅烧后, 101-350 与 101-450 在 723.5 eV(对应于 Fe^{2+})处出现特征峰, 710 eV 处的峰也观察到明显的增加, 表明高温煅烧会还原 Fe^{3+} 生成 Fe^{2+} ^[33], 在 717.1 eV 处 Fe^{3+} 卫星峰的减少则说明煅烧后材料稳定性的提高。图 3(c) 的 C 1s 谱图在 284.8(对应于 C—C)、286.1(对应于 C—O—C)和 288.7 eV(对应于 O—C=O)处的三个特征峰, 与苯环和羧基有关。对于图 3(d)中 O 1s 的 XPS 谱图在 530、531.7、532.8 eV 处出现的三个峰分别与有机连接体中的 Fe-O 、 Fe-O-C 和 C=O 有关^[35-36]。随着煅烧温度的升高, 101-350 与 101-450 的 Fe-O 峰显著增加, 并向高结合能的方向移动, 可能是由于材料的部分碳化所导致。

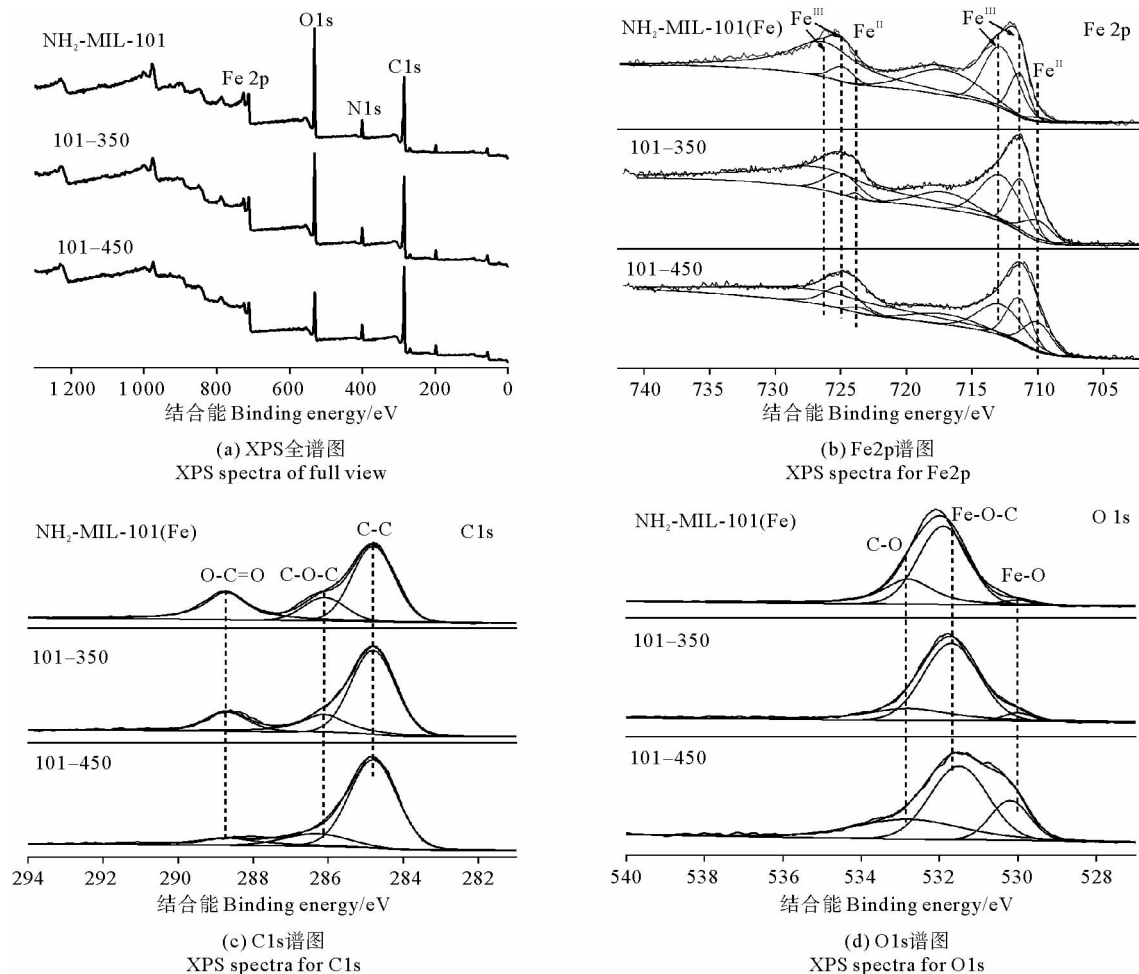
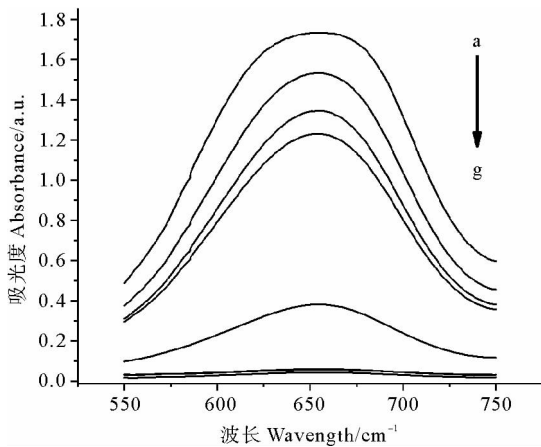


图3 3种材料的XPS谱图

Fig.3 XPS spectra of three samples

2.2 101-350 的催化能力验证及 3 种材料的催化性能对比

$\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 在 H_2O_2 存在时能催化 TMB 产生蓝色的 oxTMB ^[16,23], 因此对本研究中制备的 101-350 的催化能力进行了验证。如图 4, 在 TMB 溶液中单独加入 H_2O_2 溶液或 101-350 时(见图 4(f), (g)), 混合液在 652 nm 处无吸收峰。 H_2O_2 与 101-350 同时存在于 TMB 溶液中时, 吸光度升高至 1.229 2(见图 4(d)), 证明 101-350 在 H_2O_2 存在时具有催化 TMB 氧化的能力。由于 OTC 分子中具有较多的含氧官能团, 能够促进其与 101-350 中铁离子的络合, 因此选取 OTC 作为 TCs 的代表, 将 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 OTC 溶液添加至含有催化剂的混合液中后, 混合液的吸光度升高至 1.732 2, OTC 含量越高, 吸光度越强, 颜色越深(见图 4(a)—(c))。以上结果均表明, 以 101-350 作为催化剂建立 TCs 检测方法具有可行性。



((a) 101-350— H_2O_2 —TMB—OTC ($1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), (b) 101-350— H_2O_2 —TMB—OTC ($500 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), (c) 101-350— H_2O_2 —TMB—OTC ($100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), (d) 101-350— H_2O_2 —TMB, (e) 101-350—TMB—OTC ($1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), (f) 101-350—TMB, (g) H_2O_2 —TMB.)

图 4 不同条件下得到的紫外-可见光光谱

Fig.4 UV-vis spectra

为了比较以 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 、101-350、101-450 作为催化剂的检测方法的灵敏度, 通过线性拟合 3 种材料作为催化剂的 OTC 浓度-吸光度曲线, 以斜率作为增长速率比较了 3 种材料对 OTC 的响应能力。如图 5 所示, 以 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 为例, 与 H_2O_2 -TMB 混合后, 随 OTC 浓度的升高, 吸光度显著增加, 吸光度随 OTC 浓度的增长速率为 0.062 8。101-350、101-450 也表现出类似的趋势, 增长速率分别是 0.091 5 和 0.052 1。综上, 3 种材料对 OTC 的响应能力为 101-350 > $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ > 101-450。据陈代荣等人研究发现, 经过 $350 \text{ }^\circ\text{C}$ 高温煅烧后, $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 的多孔通道中所吸收的 DMF、乙醇和水蒸气被蒸发, 产生 Fe-CUS, 可以为反应提供更多的活性位点^[27]。

101-450 催化效果的下降可能是由于过高的温度导致材料的晶相、结构过度破坏, 使其分散性和催化性能降低^[37]。因此, 在 $350 \text{ }^\circ\text{C}$ 下煅烧的材料 101-350 具有最佳催化效果, 之后的实验均采用基于 101-350 建立的比色检测方法。

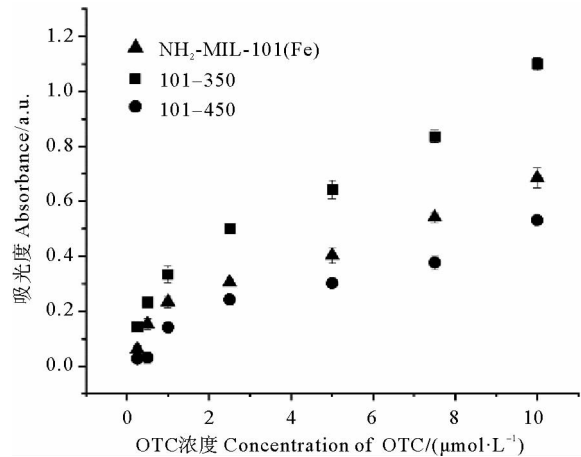


图 5 3 种材料与 OTC 的响应能力

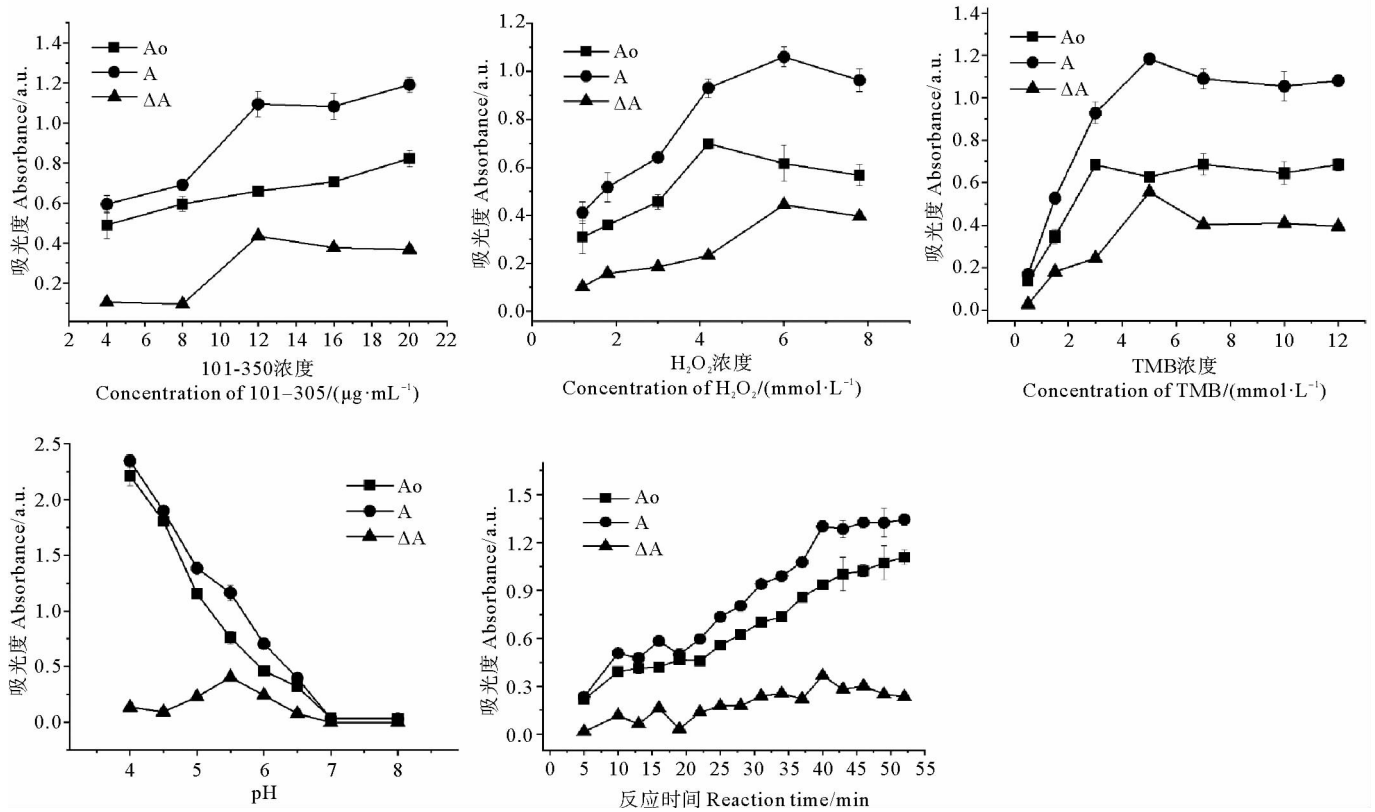
Fig.5 Responses of different samples to OTC

2.3 基于 101-350 的 TCs 比色法及条件优化

为了对基于 101-350 的比色检测方法进行优化, 应用单因素实验比较了不同 H_2O_2 浓度、TMB 浓度、催化剂投加量、缓冲液 pH 值和反应时间下比色检测方法对 OTC 的检测性能, 结果如图 6 所示。随催化剂添加量的增加, 吸光度差呈现先升高后趋于稳定的趋势, 表明过量的催化剂投加量不会进一步改善检测效果, 因此, 最佳催化剂投加量选择 $12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (见图 6(a))。同样的, 当 H_2O_2 浓度与 TMB 浓度分别从 1.2 升至 $7.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、0.5 增加至 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 吸光度也呈现出相同的变化趋势(见图 6(b), (c)), 因此 H_2O_2 和 TMB 的最佳浓度分别选择 7.8 和 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。然而, 在 pH 值的变化上呈现出不同的趋势(见图 6(d))。pH < 5 时, 有无添加 OTC 的溶液均显示出强催化活性, pH = 5.5 时吸光度差达到最大, 这可能是因为 101-350 中的 Fe^{2+} 在弱酸性条件下会发生自氧化, 从而促进其与 OTC 间的络合^[38]。此外, 反应时间达到 40 min 后, 溶液的吸光度差值趋于稳定(见图 6(e))。综上, 基于 101-350 的比色检测方法的最佳反应条件设定为: 催化剂投加量 $12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 H_2O_2 浓度 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、TMB 浓度 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH = 5.5、反应时间 40 min。

2.4 基于 101-350 的比色检测方法在实际水体 TCs 检测中的应用

为检验基于 101-350 的比色检测方法的实用性, 在优化的实验条件下, 以景观再生水、养殖废水及入海口地表水作为代表, 通过检测 $0.25 \sim 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 加标样



(A₀: 无 OTC 时的吸光度值, A: 含 OTC 时的吸光度值, ΔA=A-A₀. A₀: Absorption intensity without OTC. A: Absorption intensity with OTC. ΔA=A-A₀.)

图 6 催化剂投加量、H₂O₂ 浓度、TMB 浓度、pH 值、反应时间对检测方法的影响

Fig.6 Effect of Catalyst dosage, H₂O₂ concentration, TMB concentration, pH value, reaction time on detection method

品中 OTC 的回收率,验证该方法检测实际水体中 OTC 含量的可行性。首先,设置了一组具有浓度梯度的 OTC 标准溶液,随着 OTC 浓度由 50 降至 0.1 μmol·L⁻¹,溶液颜色自深蓝梯度变化至浅蓝(见图 7(a))。在 0.1~50 μmol·L⁻¹ 的浓度范围内,吸光度差值与 OTC 浓度之间显著相关($R^2=0.9822$),检出限估计为 71.42 nmol·L⁻¹(见图 7(b))。经测定,在 3 种实际水体的检测中,本方法的回收率在 92.1%~111.5%, $RSD<10\%$ ($n=3$),且与 HPLC 法对相同 OTC 浓度水平的检测结果间无显著性差异($p>0.05$)(见表 1),表明该方法具有良好的稳定性和可靠性。因此,基于

101-350 的比色检测方法可应用于再生水、养殖废水及地表水中 TCs 的检测,且前处理简单、易操作、耗时短。

2.5 基于 101-350 的比色检测方法的选择性分析

为评估基于 101-350 的比色检测方法的选择性,对比了该方法对 OTC、TC(1 μmol·L⁻¹)、磺胺甲恶唑、诺氟沙星、阿莫西林、氨苄青霉素、头孢拉定(5 μmol·L⁻¹) 的检测效果。如图 8 所示,检测方法对 OTC 与 TC 两种 TCs 表现出明显的吸光度值变化,分别达到 0.4953 和 0.3101,且溶液变蓝,而对其他 5 种抗生素无显著响应。上述结果表明,以 101-350 作为催化剂的比色检测方法对水环境中存在的 TCs 具有良好的选择性。

表 1 检测方法对实际水体中的 OTC 含量测定分析结果

Table 1 Analytical results for determination of OTC in real samples

采样点 Sample sites	加标量 Spiked /(μmol·L ⁻¹)	HPLC 检测浓度 HPLC measured /(μmol·L ⁻¹)	回收率 Recovery /%	RSD /%, $n=3$	比色法检测浓度 Colorimetric method measured/(μmol·L ⁻¹)	回收率 Recovery /%	RSD /%, $n=3$
再生水 Reuse water	0.25	0.231	92.4	2.4	0.233	93.2	2.4
	0.5	0.486	97.2	1.1	0.513	102.6	1.2
	1	0.949	94.9	2.7	0.944	94.4	2.7
	2.5	2.511	100.5	1.5	2.271	90.8	1.4
	5	5.056	101.1	0.6	4.821	96.4	4.9

续表 1

采样点 Sample sites	加标量 Spiked /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	HPLC 检测浓度 HPLC measured /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率 Recovery /%	RSD /%, $n=3$	比色法检测浓度 Colorimetric method measured/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率 Recovery /%	RSD /%, $n=3$
养殖废水 Aquaculture waste water	0.25	0.264	105.7	2.9	0.230	92.1	6.4
	0.5	0.532	106.4	3.6	0.487	97.4	7.0
	1	0.964	96.4	3.1	0.954	95.4	9.2
	2.5	2.452	98.1	1.2	2.419	96.8	6.2
	5	5.130	102.6	0.3	5.246	104.9	6.2
地表水 Surface water	0.25	0.249	99.7	2.1	0.226	90.3	9.7
	0.5	0.517	103.4	1.4	0.537	107.3	8.2
	1	0.934	93.4	2.0	1.115	111.5	8.4
	2.5	2.337	95.1	0.7	2.301	92.1	5.4
	5	4.937	98.7	1.2	5.078	101.6	6.1

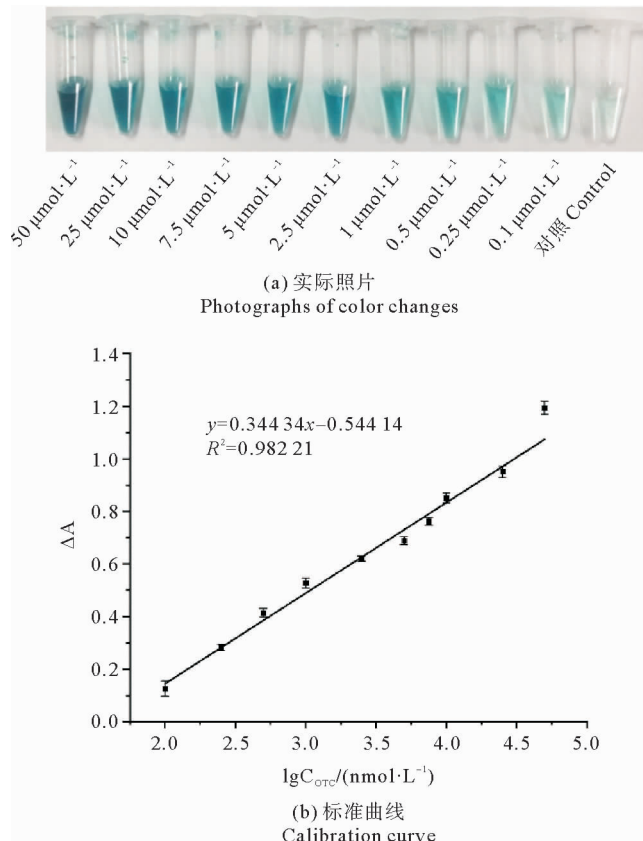
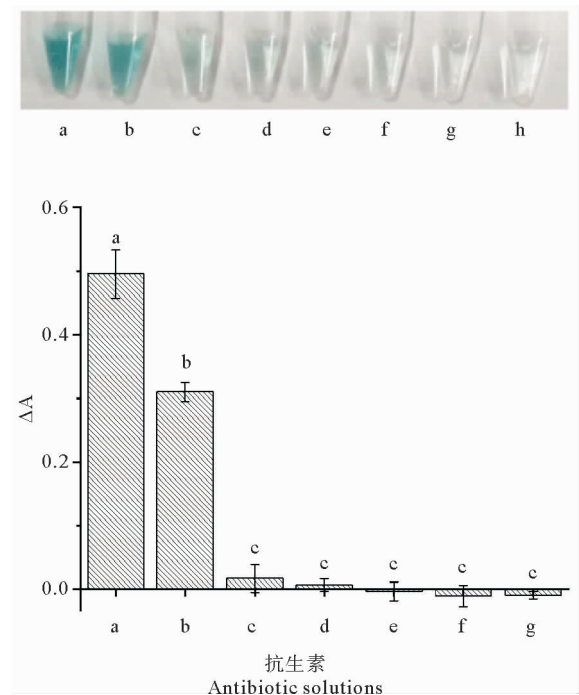


图 7 方法检测不同浓度 OTC 的颜色变化照片和吸光度值校准曲线

Fig.7 Photographs of color changes and calibration curve of sensor for OTC detection in different concentrations from method



(a: 土霉素, b: 四环素, c: 氨苄青霉素, d: 磺胺甲恶唑, e: 诺氟沙星, f: 阿莫西林, g: 头孢拉定, h: 空白。a: Oxytetracycline, b: Tetracycline, c: Ampicillin, d: Sulfamethoxazole, e: Norfloxacin, f: Amoxicillin, g: Cefradine, h: Blank.)

图 8 检测方法对含不同抗生素溶液的实际检测样品照片与检测吸光度差值

Fig.8 The photographs of real samples and absorbance change of different antibiotic solutions detected by method

3 结论

(1)通过对 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 进行惰性气氛煅烧, 成功制备出具有 H_2O_2 催化性能的 101-350。与前体

相比,经 $350\text{ }^\circ\text{C}$ 煅烧后的材料能够提供更多的 Fe-CUS,与 OTC 表现出更强的络合趋势,且在水中表现出良好的稳定性。

(2)基于 101-350 设计的水中 TCs 含量比色检测方

法在优化后的反应条件下,吸光度值与 OTC 浓度呈现良好的线性关系,定量检测区间为 $0.1\sim 50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,检测限为 $78.12\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

(3)使用该比色检测方法在最优条件下,对含有 OTC 的 3 种实际水体加标水样进行了检测,所有样品的回收率均保持在 $92.1\%\sim 111.5\%$ 之间,准确度良好,且不会对非目标抗生素产生比色信号,表明该方法适用于实际水体中 TCs 含量的检测。

参考文献:

- [1] Ben Y, Fu C, Hu M, et al. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review[J]. *Environmental Research*, 2019, 169: 483-493.
- [2] Gao P, Mao D, Luo Y, et al. Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment[J]. *Water Research*, 2012, 46(7): 2355-2364.
- [3] Gopal G, Alex S A, Chandrasekaran N, et al. A review on tetracycline removal from aqueous systems by advanced treatment techniques[J]. *RSC Advances*, 2020, 1(45): 2781-2795.
- [4] He Q, Cui C, Zhang X, et al. Reducing tetracycline antibiotics residues in aqueous environments using Tet(X) degrading enzymes expressed in *Pichia pastoris* [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 799: 149360.
- [5] Gokulan K, Cerniglia C E, Thomas C, et al. Effects of residual levels of tetracycline on the barrier functions of human intestinal epithelial cells[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2017, 109(1): 253-263.
- [6] Wagner R D, Johnson S J, Cerniglia C E. In vitro model of colonization resistance by the enteric microbiota: Effects of antimicrobial agents used in food-producing animals[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008, 52(7): 2697.
- [7] Aga D S, Goldfish R, Kulshrestha P. Application of ELISA in determining the fate of tetracyclines in land-applied livestock wastes [J]. *The Analyst*, 2003, 128(6): 658.
- [8] Jing T, Wang Y, Dai Q, et al. Preparation of mixed-templates molecularly imprinted polymers and investigation of the recognition ability for tetracycline antibiotics[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 25(10): 2218-2224.
- [9] Wang X, Li J, Jian D, et al. Paper-based antibiotic sensor (PAS) relying on colorimetric indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for quantitative tetracycline and chloramphenicol detection[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 329: 129173.
- [10] Wu Y Y, Huang P, Wu F Y. A label-free colorimetric aptasensor based on controllable aggregation of AuNPs for the detection of multiplex antibiotics[J]. *Food Chemistry*, 2020, 304: 125377.
- [11] Wang Y, Yao L, Ning G, et al. An electrochemical strategy for tetracycline detection coupled triple helix aptamer probe with catalyzed hairpin assembly signal amplification[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 143: 111613.
- [12] Wang Y, Ni P, Jiang S, et al. Highly sensitive fluorometric determination of oxytetracycline based on carbon dots and Fe_3O_4 MNPs[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 254: 1118-1124.
- [13] Pinheiro P, Fateixa S, Nogueira H, et al. Magnetite-supported gold nanostars for the uptake and sensitive detection of tetracycline [J]. *Nanomaterials*, 2019, 9(1): 31.
- [14] Yan H, Chen Y, Jiao L, et al. Amorphous RuTe_2 nanorods as efficient peroxidase mimics for colorimetric immunoassay[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 341: 130007.
- [15] Wang S, Deng W, Yang L, et al. Copper-based metal-organic framework nanoparticles with peroxidase-like activity for sensitive colorimetric detection of *Staphylococcus aureus* [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(29): 24440-24445.
- [16] Liu Y L, Zhao X J, Yang X X, et al. A nanosized metal-organic framework of Fe-MIL-88NH_2 as a novel peroxidase mimic used for colorimetric detection of glucose[J]. *The Analyst*, 2013, 138(16): 4526.
- [17] Kou X, Tong L, Shen Y, et al. Smartphone-assisted robust enzymes@MOFs-based paper biosensor for point-of-care detection [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 156: 112095.
- [18] Sharifi M, Sohrabi M J, Hosseinali S H, et al. Enzyme immobilization onto the nanomaterials: Application in enzyme stability and prodrug-activated cancer therapy[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 143: 665-676.
- [19] Nadar S S, Vaidya L, Rathod V K. Enzyme embedded metal organic framework (enzyme-MOF): *De novo* approaches for immobilization[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 149: 861-876.
- [20] Jiang B, Duan D, Gao L, et al. Standardized assays for determining the catalytic activity and kinetics of peroxidase-like nanozymes[J]. *Nature Protocols*, 2018, 13(7): 1506-1520.
- [21] Gao L, Zhuang J, Nie L, et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles[J]. *Nature Nanotechnology*, 2007, 2(9): 577-583.
- [22] Hu X, Huang Y, Chen J, et al. MOFs supported nanonetworks hybrid flower-like catalysts via supramolecular-mediated cascade self-assembly for sensitive sensing of H_2O_2 [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 342: 130076.
- [23] Wang Y, Zhu Y, Binyam A, et al. Discovering the enzyme mimetic activity of metal-organic framework (MOF) for label-free and colorimetric sensing of biomolecules[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 86: 432-438.
- [24] Liu S, Lai C, Liu X, et al. Metal-organic frameworks and their derivatives as signal amplification elements for electrochemical sensing[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2020, 424: 213520.
- [25] Zhang S, Zhuo Y, Ezugwu C I, et al. Synergetic molecular oxygen activation and catalytic oxidation of formaldehyde over defective MIL-88B(Fe) nanorods at room temperature[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(12): 8341-8350.
- [26] Chen H, Liu Y, Cai T, et al. Boosting photocatalytic performance in mixed-valence MIL-53(Fe) by changing FeII/FeIII ratio [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(32): 28791-28800.
- [27] Pang Y, Li Z, Jiao X, et al. Metal-organic framework derived porous $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{C}$ nano-shuttles for enhanced visible-light photo-

- catalysis[J]. *Chemistry Select*, 2020, 5(3): 1047-1053.
- [28] Li W, Wu X, Li S, et al. Magnetic porous Fe₃O₄/carbon octahedra derived from iron-based metal-organic framework as heterogeneous Fenton-like catalyst[J]. *Applied Surface Science*, 2018, 436: 252-262.
- [29] Pei Y, Qin J, Wang J, et al. Fe-based metal organic framework derivative with enhanced Lewis-acidity and hierarchical pores for excellent adsorption of oxygenated volatile organic compounds[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 790: 148132.
- [30] Xing Y, Si H, Sun D, et al. Magnetic Fe₃O₄@NH₂-MIL-101(Fe) nanocomposites with peroxidase-like activity for colorimetric detection of glucose [J]. *Microchemical Journal*, 2020, 156: 104929.
- [31] Zhang Y, Zhang Z, Wang Z, et al. Sensitive detection of prostate-specific antigen based on dual signal amplification of Fe@MgAl-LDH and NH₂-MIL-101(Fe)[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 190: 113437.
- [32] Juliao D, Barbosa A D S, Peixoto A F, et al. Improved catalytic performance of porous metal-organic frameworks for the ring opening of styrene oxide [J]. *Crystengcomm*, 2017, 19(29): 4219-4226.
- [33] Ahmad M, Quan X, Chen S, et al. Tuning Lewis acidity of MIL-88B-Fe with mix-valence coordinatively unsaturated iron centers on ultrathin Ti₃C₂ nanosheets for efficient photo-Fenton reaction [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2020, 264: 118534.
- [34] Xu X, Cao R, Jeong S, et al. Spindle-like mesoporous α -Fe₂O₃ anode material prepared from MOF template for high-rate lithium batteries[J]. *Nano Letters*, 2012, 12(9): 4988-4991.
- [35] Tang J, Wang J. Metal organic framework with coordinatively unsaturated sites as efficient fenton-like catalyst for enhanced degradation of sulfamethazine[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(9): 5367-5377.
- [36] Zhang S, Zhuo Y, Ezugwu C I, et al. Synergetic molecular oxygen activation and catalytic oxidation of formaldehyde over defective MIL-88B(Fe) nanorods at room temperature[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(12): 8341-8350.
- [37] Ou Y, Yao L, Li Y, et al. Magnetically separable Fe-MIL-88B-NH₂ carbonaceous nanocomposites for efficient removal of sulfamethoxazole from aqueous solutions[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2020, 570: 163-172.
- [38] Wang H, Yao H, Sun P, et al. Transformation of tetracycline antibiotics and Fe(II) and Fe(III) species induced by their complexation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(1): 145-153.

A Colorimetric Method Based on Porous Carbon from NH₂-MIL-101(Fe) for Detection of Tetracyclines in Water

Yang Xianghao, Guo Wei, Sun Cuizhu, Li Yuanyuan, Xu Gongdi, Li Fengmin

(The Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract: The abuse of tetracyclines (TCs) in production had caused their residues in the environment, which induces undesirable effects on human health by increasing the risk of infection. At present, there is still a lack of rapid and effective detection methods. Because of the strong complexation of TCs with Fe²⁺ and Fe³⁺ in the aquatic environment, herein, a colorimetric detection method based on partially carbonized NH₂-MIL-101(Fe) was developed for detection of TCs in the aquatic environment; Inert atmosphere calcination was used to modify NH₂-MIL-101(Fe). Two modified materials were prepared, the surface morphology and chemical structure of those three materials were characterized. The complexations of NH₂-MIL-101(Fe) and two modified materials calcined at 350 and 450 °C were compared with oxytetracycline. Experimental results showed that materials calcined at 350 °C exhibited the best catalytic effect and showed good stability and dispersity. Under optimized conditions, the absorbance change of oxTMB at 652 nm had a linear relationship with oxytetracycline concentration, the linear range was 0.08~50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($R^2=0.9822$). The designed colorimetric method could be applied to the quantification of TCs in practical water samples with high selectivity and sensitivity. It is of great significance for theoretical and technical support for improving the water safety supervision system.

Key words: NH₂-MIL-101(Fe); partially carbonized material; tetracyclines; aquatic environment; colorimetric detection metho