

文章编号 1672-6634(2024)02-0062-07

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2023060002

Fe-N-C 单原子纳米酶用于比色-电化学法检测 H_2O_2

胡丽君, 李佳慧, 翟艳玲

(青岛大学 化学化工学院, 山东 青岛 266071)

摘要 具有类酶活性的纳米材料,即纳米酶,已经引起生物催化领域的广泛关注。以原子分散的 Fe-N-C 单原子催化剂,定义为 Fe-N-C 单原子纳米酶,具有与某些血红素酶相似的结构,因此具有模拟酶活性。采用二氧化硅模板法制备了 Fe-N-C 单原子纳米酶,分层多孔纳米结构加速了电子转移,进一步提高了反应动力学。由于其固有的理化性质,表现出高的过氧化物酶性能。此外,Fe-N-C 纳米酶在较高温度和强酸强碱条件下仍保持较高活性,表明其具有良好的稳定性。以该 Fe-N-C 纳米酶构建了过氧化氢(H_2O_2)比色传感器,其线性范围为 0.05~100 mmol/L、检测限为 0.039 mmol/L。此外,该 Fe-N-C 纳米酶还可应用于电化学检测 H_2O_2 。该基于 Fe-N-C 的 H_2O_2 比色体系在临床医学和食品环境分析中具有广阔的应用前景。

关键词 Fe-N-C; 单原子纳米酶; 过氧化氢; 比色检测; 电化学检测

中图分类号 O643.36

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Fe-N-C Single-Atom Nanozymes for Colorimetric and Electrochemical Detection of H_2O_2

HU Lijun, LI Jiahui, ZHAI Yanling

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

Abstract Nanomaterials with enzyme-like activity, namely nanozymes, have attracted extensive attention in the field of biocatalysis. Atomically dispersed Fe-N-C monoatomic catalysts, defined as Fe-N-C single-atom nanozymes, have a similar structure to some heme enzymes and can therefore mimic enzymatic activity. Herein, Fe-N-C single-atom nanozymes were prepared by the silica template method, and the layered porous nanostructure accelerated the electron transfer and further improved the reaction kinetics. Due to its inherent physicochemical properties and chemical properties, Fe-N-C shows high activity of peroxidase mimics. In addition, Fe-N-C nanozyme still maintains high activity under high temperature and strong acid and base conditions, indicating that it has good stability. The hydrogen peroxide (H_2O_2) colorimetric sensor with a linear range of 0.05~100 mmol/L and detection limit of 0.039 mmol/L was prepared by using Fe-N-C nanozyme. In addition, the Fe-N-C nanozyme can also be applied to the electrochemical detection

收稿日期: 2023-06-06

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(21804074)资助

通信作者: 翟艳玲, 女, 汉族, 博士, 教授, 研究方向: 光谱电化学分析、纳米仿生催化与传感, E-mail: zhaiyanling@qdu.edu.cn.

of H₂O₂. Therefore, the H₂O₂ colorimetric system based on Fe-N-C developed in this work has broad application prospects in clinical medicine and food environment analysis.

Key words Fe-N-C; single-atom nanozyme; hydrogen peroxide; colorimetric detection; electrochemical detection

0 引言

过氧化氢(H₂O₂)是一种常见的氧化剂,可参与许多化学、生物、制药、临床和环境过程^[1-3]。H₂O₂是氧的一种不完全还原代谢物,在活细胞内具有多种生理和病理作用^[4]。因此,为了更好地了解H₂O₂的生物学效应,开展生物环境中H₂O₂的快速、灵敏、准确的测定至关重要。目前对生化分析中H₂O₂的浓度的几种测定方法有液相色谱^[5]、化学发光^[6]、荧光^[7-9]、电化学技术^[10]和比色法^[11-13]等。这些分析技术中,比色法以其简单、成本低、实用性强等优势而备受关注。此外,比色法检测分析物可通过肉眼观察,无需任何仪器即可实现目视检测^[14]。大多数情况下,H₂O₂的比色检测是基于酶促反应中辣根过氧化物酶的催化活性^[15]。过氧化物酶是最先进的生物催化剂,它通过2H⁺/2e⁻转化过程催化H₂O₂还原为H₂O^[16]。它们的活性位点是五配位血红素系统,包括一个组氨酸残基作为轴向配体和一个卟啉辅助因子^[17]。过氧化物酶独特的几何/电子结构在调节催化活性和选择性方面起着关键作用^[18]。然而,天然酶成本高、难回收、易失活等缺点限制了其实际应用^[19]。

在过去的几年中,得益于纳米技术、生物技术、催化科学和计算设计的快速发展,在用高性能纳米材料模拟新的酶活性、调节纳米酶活性、阐明催化机制和扩大潜在应用方面取得了重大进展^[16]。与传统的类似酶相比,纳米酶具有催化效率高、耐热、耐酸碱稳定性好、制备规模大、价格低等优点。这些特点不仅弥补了天然酶昂贵、不稳定的缺点,也克服了以往类似酶催化效率低的问题^[20],其中具有原子分散金属位点的单原子纳米酶可以模拟酶的活性中心。基于最大的原子利用效率和强的金属负载相互作用,单原子纳米酶的催化活性和选择性显著高于传统的纳米材料。此外,明确定义的活性金属位点有利于深入理解构效关系,这在原子尺度上合理设计先进的类酶催化剂提供了潜在的指导。因此,纳米酶具有广泛应用的潜力,相关的应用研究也在不断引起关注^[21]。此外,纳米级材料具有独特的纳米级尺寸^[22]、大的比表面积,可与其他物种结合用于生物识别。因此,基于比色法开发有效的模拟酶对于生物传感和制药过程具有重要意义。

本研究采用硬模板法合成了具有分级多孔结构的Fe-N-C单原子纳米酶,与不含Fe的NC纳米酶相比^[23],Fe-N-C纳米酶具有高效的过氧化物酶活性。所制备的Fe-N-C单原子纳米酶具有良好的分散性和稳定性。以Fe-N-C单原子纳米酶作为过氧化物酶模拟物,开发了H₂O₂的比色检测方法。基于简单Fe-N-C单原子纳米酶的比色平台实现了对H₂O₂的高灵敏检测,表明本工作所发展的Fe-N-C单原子纳米酶在生物催化和生物分析方面具有很大的潜力。

1 实验部分

1.1 试剂及材料

3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)和葡萄糖氧化酶(GOX)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;氯化锌(ZnCl₂)、醋酸(HAc)、乙酸钠(NaAc)、H₂O₂、四水氯化亚铁(FeCl₂·4H₂O)、氢氟酸(HF)、乙醇、氢氧化钠(NaOH)均购自国药化学试剂有限公司;胶体二氧化硅悬浊液购自默克公司。

1.2 实验过程

通过冷冻干燥和煅烧进行样品的制备,将含有氨基葡萄糖盐酸盐(2 g)、ZnCl₂(334 g)、FeCl₂·4H₂O(150 mg)、胶体二氧化硅悬浮液(5 mL, 2 g SiO₂)充分混合搅拌至均匀。然后,将溶液冷冻干燥得到Fe@SiO₂粉末。在N₂条件下加热到900℃并保温2 h。最后,用质量分数为10%的HF水溶液以及去离子水洗涤所得样品,经离心干燥得到Fe-N-C纳米酶。为了对比,在同样条件下不添加FeCl₂·4H₂O合成了N掺杂碳基纳米酶,即NC纳米酶^[23]。

1.3 Fe-N-C纳米酶的过氧化物酶活性和动力学测定

使用SparkTM(帝肯)酶标仪进行过氧化物酶活性和动力学测试,TMB的颜色变化证明纳米酶催化

H_2O_2 产生活性氧将 TMB 氧化为蓝色的 oxTMB,即说明 Fe-N-C 纳米酶具有过氧化物酶作用。动力学数据由紫外分光光度计(UV-2700i,岛津)测定在 652 nm 处的吸光度。通过改变 TMB 或者 H_2O_2 的浓度,可获得典型的 Michaelis-Menten 曲线,计算对应的稳态动力学数据。底物是 TMB 时的动力学测试,加入 10 μL Fe-N-C 纳米酶(1 mg/mL)、100 μL H_2O_2 (100 mmol/L)、100 μL HAc-NaAc(0.1 mol/L, pH 3.0),以及 100 μL 不同浓度的 TMB 溶液。对于底物是 H_2O_2 的动力学测试,将 10 μL Fe 纳米酶(1 mg/mL)添加到包含 100 μL TMB(1 mmol/L)、100 μL HAc-NaAc(0.1 mol/L, pH 3.0)和 100 μL 不同浓度 H_2O_2 溶液的混合溶液中。通过典型的 Michaelis-Menten 曲线得到方程 $v = V_{\max}S/(K_m + S)$,用其计算动力学数据;其中 v 是初始速度, S 是底物浓度, K_m 是 Michaelis-Menten 常数, $V_{\max}$ 是最大反应速度。 K_m 值是评价纳米酶与底物亲和程度的公认指标, K_m 值越低,亲和力越高。

1.4 材料表征和测试

用 X 射线衍射仪(XRD,D8 DISCOVER,德国布鲁克)表征材料的物相组成。用日本电子株式会社的扫描电子显微镜(SEM,JSM-6010plus/LA)和透射电子显微镜(TEM,JEM-1400)表征材料微观形貌;用 X 射线光电子能谱仪(XPS,Thermo ESCALAB 250XI,美国赛默飞世尔科技公司)表征材料的无毒组成和价态。

电化学测试使用传统的三电极体系,电化学工作站的型号为 CHI 660E(上海辰华)。电解液为 0.1 mol/L N_2 饱和 PBS(pH=7.4)溶液,参比电极为 Ag/AgCl 电极(饱和 KCl 溶液),对电极为碳棒,工作电极为制备的 Fe-N-C 纳米酶^[24]。

2 结果与讨论

2.1 形貌与结构表征

使用日本电子株式会社 JEM-1400 透射电子显微镜对制备的 Fe-N-C 纳米片进行 TEM 和 HRTEM 表征。如图 1(a, b)所示,在 TEM 图像中观察到制备好的 Fe-N-C 样品具有良好的多孔纳米结构以及丰富的褶皱形貌。图 1(c)是在像差校正的高角度环形暗场扫描 TEM (AC-HAADF-STEM)图像,可以识别出明亮和孤立的金属原子,证实了单个铁原子在 Fe-N-C 纳米酶上的原子分散^[23]。

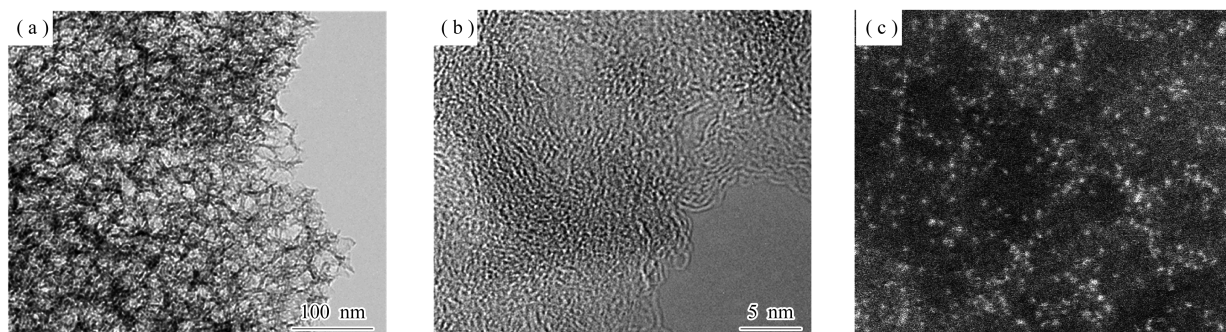


图 1 Fe-N-C 的(a)TEM 图像、(b)高分辨 TEM 图像和(c)球差校正高分辨透射电子显微镜图

Fig. 1 (a) TEM and (b) high-resolution TEM images of Fe-N-C; (c) AC-HAADF-STEM image of Fe-N-C nanozyme

通过 XPS 谱研究 Fe-N-C 的元素组成以及价态。如图 2(a)所示,Fe-N-C 具有明显的 Fe 特征峰,但是该 Fe 特征峰未在 NC 中出现。如图 2(b)所示,从 Fe 2p 的高分辨 XPS 谱图分析可以得知,在 711.3 eV 和 724.5 eV 处的两个峰,分别对应 Fe 2p_{3/2} 和 Fe 2p_{1/2}。此外,Fe 2P 的 XPS 谱图中还存在 Fe²⁺ 2p_{3/2}(710.8 eV),Fe³⁺ 2p_{3/2}(714.2 eV),Fe²⁺ 2p_{1/2}(723.2 eV)和 Fe³⁺ 2p_{1/2}(725.9 eV),这说明 Fe-N-C 材料中的同时存在 Fe²⁺ 和 Fe³⁺^[25]。通过高分辨率 N 1s 谱来识别 Fe-N-C 中 N 的掺杂类型,如图 2(c)所示,397.9、398.5、399.1、400.1、403.3 处的峰分别对应于吡啶-N、FeN_x、吡咯-N、石墨-N、氧化-N。从 XPS 谱图可以看出 Fe-N-C 具有明显的 FeN_x 部分^[26-28],说明 Fe 可以通过与芳香 N 络合从而以单原子形式分散,原子利用率高、活性位点明确。从图 2(d)所示的 C 1s 谱中可明显看出,纳米酶 Fe-N-C 含有较多的 sp³-C 成分,这说明 Fe-N-C 的结构中存在较多缺陷^[29],反应接触面积大。

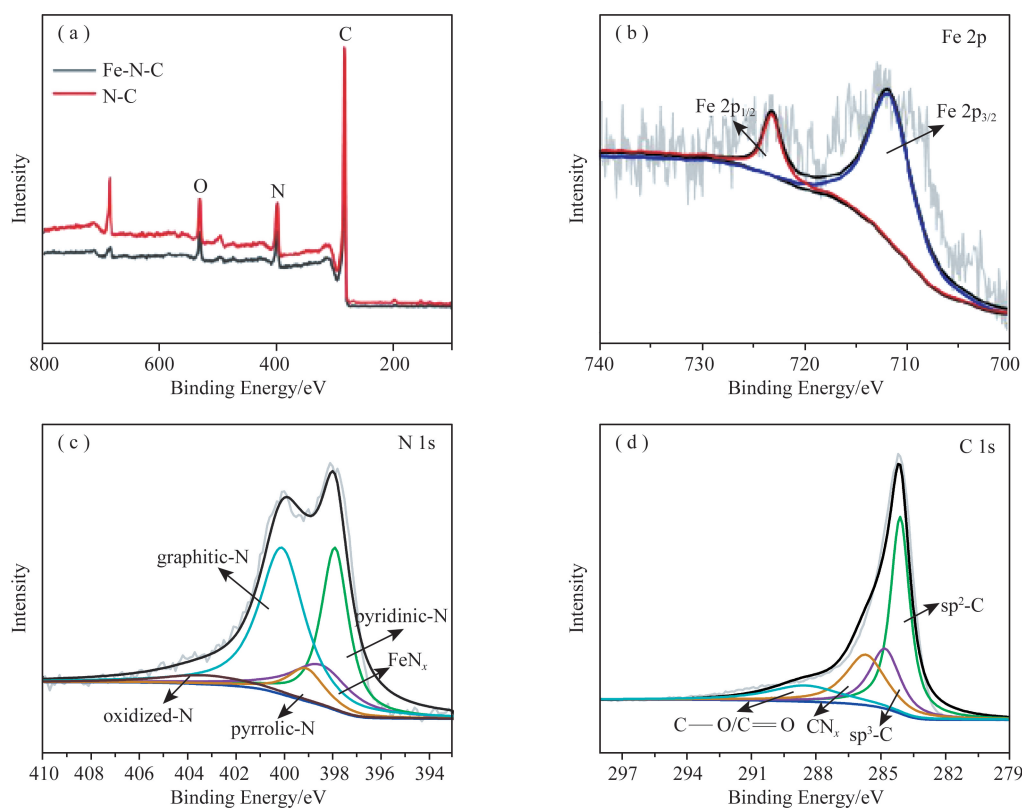


图2 (a) Fe-N-C 的 XPS 谱图和 Fe-N-C 中 (b) Fe 2p、(c) N 1s 和 (d) C 1s 的谱图

Fig. 2 XPS spectra of (a) Fe-N-C, (b) Fe 2p, (c) N 1s and (d) C 1s in Fe-N-C

图3为 Fe-N-C 和 N-C 的 XRD 谱图。通过对比碳的 XRD 衍射卡片(JCPDS No. 26-1076),可以得到 Fe-N-C 的 XRD 图谱中 25° 的衍射峰归属于石墨碳的(002)晶面。未观察到铁基纳米颗粒相关的衍射峰,进一步验证了 Fe-N-C 纳米酶结构中的 Fe 以单原子形式存在^[30]。

2.2 比色法检测 H_2O_2

H_2O_2 是生命活动不可缺少的角色,人体内 H_2O_2 的含量与一些特殊疾病的潜在生物标志物的浓度有关^[31]。研究了 Fe-N-C 在不同条件下的类过氧化物酶活性,并以 TMB 为显色剂,通过显色反应,考察 Fe-N-C 对 H_2O_2 的催化和检测能力。如图4(a, b)所示,随着 H_2O_2 浓度的增加,oxTMB 的吸光度也随之增加,当 H_2O_2 的浓度在 $0.05 \sim 100 \text{ mmol/L}$ 之间时,吸光度与 H_2O_2 具有良好的线性关系,表示为 $y = 0.073x - 0.277$ 。由信噪比规则($S/N = 3$),通过计算可以得出检测限为 0.039 mmol/L 。如图4(c)所示,在不同温度下,Fe-N-C 的过氧化物酶活性比较稳定,没有发生明显的衰减,但是纳米酶的活性在高温下有所降低,这是因为纳米酶在高温下会发生聚集。从图中可知,天然辣根过氧化物酶(HRP)在 37°C 时具有最高的催化活性,随着温度的升高,HRP 的过氧化物酶活性逐渐下降,这说明与 HRP 相比,Fe-N-C 纳米酶具备较宽的工作温度区间。如图4(d)所示,在极端酸碱环境下,Fe-N-C 的类过氧化物酶活性基本不变,而 HRP 则失活而几乎没有催化活性。若检测人体内 H_2O_2 时干扰物比较多,故选取了几种常见的干扰物,考察检测体系的选择性。如图4(e)所示,对 Fe-N-C 纳米酶检测 H_2O_2 的选择性和重现性进行了测试。通过选择多种干扰底物来证明 Fe-N-C 纳米酶能够特异性检测 H_2O_2 。在 H_2O_2 浓度远远低于干扰物质($100 \mu\text{mol/L}$ H_2O_2 、 $500 \mu\text{mol/L}$ K^+ 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ca^{2+} 、葡萄糖、牛血清白蛋白、谷胱甘肽、多巴胺、L-半胱氨酸、抗坏血酸)时,吸光度并没有因为干扰物质而发生明显变化,表明 Fe-N-C 纳米酶对 H_2O_2 的检测具有

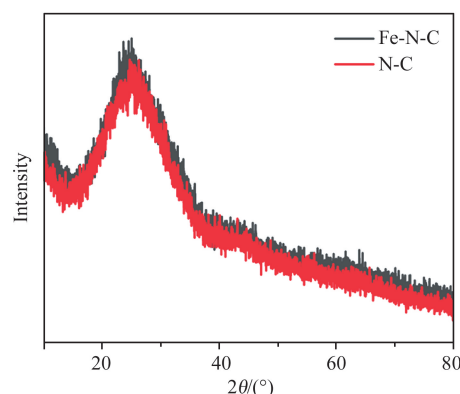


图3 Fe-N-C 和 N-C 的 XRD 谱图

Fig. 3 XRD spectra of Fe-N-C and N-C

良好的选择性和重现性。此外,如图 4(f)所示,使用 Fe-N-C 纳米酶循环回收使用 5 次检测 H_2O_2 之后,oxTMB 的吸光度值与原始值近似,证明 Fe-N-C 纳米酶具有较好的重复性。如表 1 所示,由 Fe-N-C 纳米酶和 NC 纳米酶的动力学数据可知,Fe-N-C 纳米酶的最大反应速度远远大于 NC 纳米酶的反应速度,说明其类过氧化物酶性能显著提高。

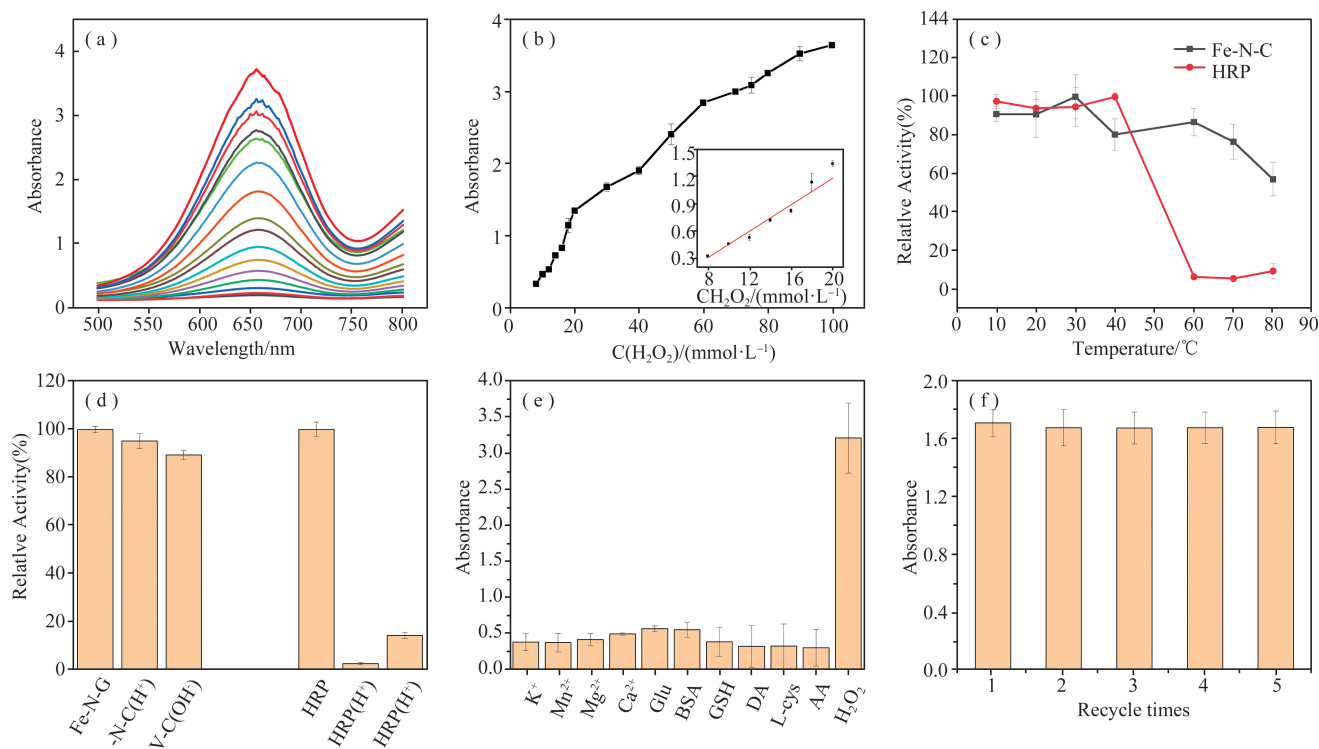


图 4 (a)Fe-N-C 纳米酶在不同浓度的 H_2O_2 中对 TMB 进行氧化得到的紫外-可见吸收光谱以及(b)相应校准曲线;
(c) Fe-N-C 纳米酶和 HRP 的耐温性能;(d)Fe-N-C 纳米酶和 HRP 在 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 孵育 1 h 后的
过氧化物酶活性比较;(e)Fe-N-C 纳米酶对不同底物的响应,五次实验平均值;
(f)Fe-N-C 纳米酶的循环使用稳定性

Fig. 4 (a) UV-Vis absorption spectra obtained by oxidation of TMB by Fe-N-C nanozymes at different concentrations of H_2O_2 and (b) corresponding calibration curves; (c) Temperature tolerance of Fe-N-C nanozymes and HRP; (d) Comparison of peroxidase activity of Fe-N-C nanozymes and HRP after 1 h incubation at 1 mol/L HCl and 1 mol/L NaOH; (e) Response of Fe-N-C nanozymes to different substrates; (f) Cyclic stability of Fe-N-C nanozymes

表 1 Fe-N-C 纳米酶和 NC 纳米酶对 H_2O_2 、TMB 的稳态动力学结果

Table 1 Steady-state kinetic results of H_2O_2 and TMB by Fe-N-C nanozyme and NC nanozyme

Nanozyme	Substrate	$V_{\max}/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_m/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$
Fe-N-C	H_2O_2	3.9×10^{-7}	35.447 0
	TMB	6.16×10^{-7}	0.716 9
N-C	H_2O_2	2.99×10^{-8}	20.370 0
	TMB	6.94×10^{-8}	0.540 5

2.3 电化学检测 H_2O_2

由于 Fe-N-C 具备优异的类过氧化物酶活性,所以对于作为检测 H_2O_2 敏感材料的良好电极材料有一定的可能性。所以在 0.1 mol/L 的 N_2 饱和缓冲溶液($\text{pH}=7.4$)条件下,使用所制备的催化剂对 H_2O_2 的电催化活性进行测试。如图 5(a)所示,在 $-0.1\sim 0$ V 处,Fe-N-C 具有明显的还原峰电流,表明 Fe-N-C 对 H_2O_2 有电催化还原作用,证明 Fe-N-C 具有良好的 H_2O_2 还原活性。随着 H_2O_2 浓度的增大,Fe-N-C 纳米酶的还原峰电流逐渐增加,证明增大的电流来源于增加的 H_2O_2 [32]。如图 5(b)所示,随着 H_2O_2 浓度的增

加,Fe-N-C在 -0.15 V 下比NC具有更加明显的电流信号变化,这表明Fe-N-C拥有比NC更高的 H_2O_2 催化能力。为了评价Fe-N-C纳米酶对 H_2O_2 的检测灵敏度,在还原电位为 -0.15 V 时向体系中连续加入 H_2O_2 ,测量电流随时间变化的曲线。如图5(c)所示, H_2O_2 的还原电流随着 H_2O_2 浓度的增加而出现明显下降。此外,在相同条件下,当体系中 H_2O_2 的浓度为 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时,Fe-N-C即产生了明显的安培响应[图5(c)插图],这证明Fe-N-C纳米酶具有优异的电催化 H_2O_2 还原活性^[33]。

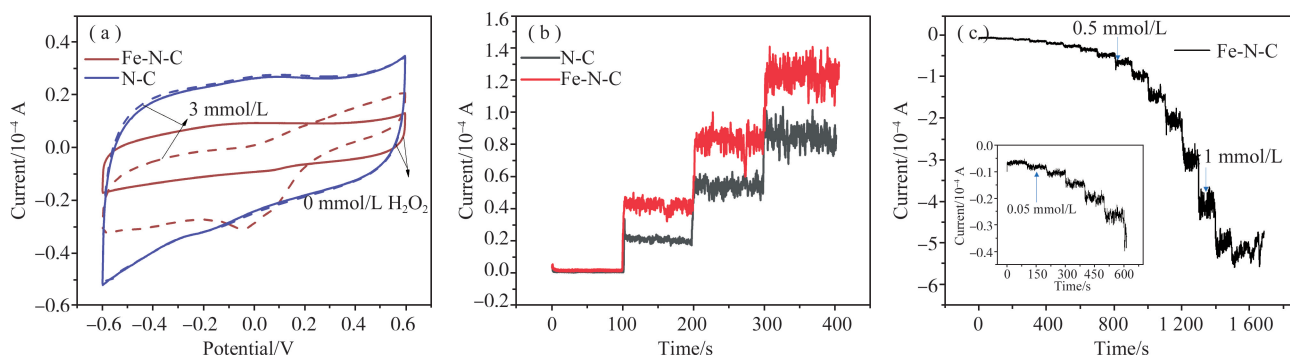


图5 (a)不同浓度 H_2O_2 存在时Fe-N-C和N-C纳米酶的循环伏安曲线;(b)在 -0.15 V 下, $i-t$ 曲线;

Fe-N-C和NC对不同浓度 H_2O_2 的安培响应;(c) -0.15 V 时,对Fe-N-C纳米酶连续加入 H_2O_2 的安培响应

Fig. 5 (a) Cyclic voltammetry curves of Fe-N-C and N-C nanozymes in the presence of different concentrations of H_2O_2 ;

(b) At -0.15 V , $i-t$ curves of Fe-N-C and NC to different concentrations of H_2O_2 ;

(c) Amperometric response to continuous addition of H_2O_2 to Fe-N-C nanozymes at -0.15 V

3 结论

采用二氧化硅模板法合成了具有多孔结构的Fe-N-C单原子纳米酶,并且与对样品NC纳米酶各自对 H_2O_2 进行比色检测。在检测 H_2O_2 中,Fe-N-C纳米酶催化 H_2O_2 氧化TMB的产生的吸光度与 H_2O_2 浓度之间存在较好的线性相关性。除此之外,作为一种概念应用,将基于Fe-N-C的传感器用于对 H_2O_2 的灵敏电化学检测,在生物传感器应用中具有较好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] BILAL M, RIZWAN K, ADEEL M, et al. Hydrogen-based catalyst-assisted advanced oxidation processes to mitigate emerging pharmaceutical contaminants[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2022, 47(45): 19555-19569.
- [2] RIVERA-SANCHEZ S P, ROJAS-ABADIA J M, RIOS-ACEVEDO J J, et al. Efficacy of vaporized hydrogen peroxide combined with silver ions against multidrug-resistant gram-negative and gram-positive clinical isolates[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(24): 15826.
- [3] LUO Y, WU D, LI Z, et al. Plasma functionalized MoSe_2 for efficient nonenzymatic sensing of hydrogen peroxide in ultra-wide pH range[J]. SmartMat, 2022, 3(3): 491-502.
- [4] LÜ L, LUO W, DIAO Q. A mitochondria-targeted rhodol fluorescent probe for imaging of hydrogen peroxide in living cells[J]. Analytical Methods, 2022, 14(21): 2117-2122.
- [5] IVANOVA AS, MERKULEVA AD, ANDREEV SV, et al. Method for determination of hydrogen peroxide in adulterated milk using high performance liquid chromatography[J]. Food Chemistry, 2019, 283: 431-436.
- [6] KUMAR PS, BHAND S, DAS AK, et al. Microfluidic paper device with on-site heating to produce reactive peroxide species for enhanced smartphone enabled chemiluminescence signal[J]. Talanta, 2022, 236: 122858.
- [7] TANG J, LI F, LIU C, et al. Attractive benzothiazole-based fluorescence probe for the highly efficient detection of hydrogen peroxide[J]. Analytica Chimica Acta, 2022, 1214: 339939.
- [8] CHUNPO G, YAN Y, PENGFEI T, et al. A NIR fluorescent probe for the in vitro and in vivo selective detection of hydrogen peroxide[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2022, 350: 130831.
- [9] WANG S, ZHANG Y, WANG T-R, et al. A near-infrared fluorescent probe based on the hemicyanine skeleton for the detection of hydrogen peroxide in vivo[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2022, 266: 120435.

- [10] RAJENDRAN S, MANOJ D, SURESH R, et al. Electrochemical detection of hydrogen peroxide using micro and nanoporous CeO_2 catalysts[J]. *Environmental Research*, 2022, 214: 113961.
- [11] ZHOU J, ZHANG Y, DU Y, et al. C-CdTe quantum dots as dual-wavelength fluorescence and colorimetric probes to detect hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and Iron(II) in Serum[J]. *ACS Applied Nano Materials*, 2022, 5(10): 15875-15884.
- [12] WU L, ZHOU X, WANG G, et al. NiFe_2O_4 /CNTs fabricated by atomic layer deposition as highly stable peroxidase mimics for sensitive colorimetric detection of hydrogen peroxide and glucose[J]. *Materials Research Bulletin*, 2022, 147: 111637.
- [13] WANG Y, ZHOU B, WU S, et al. Colorimetric detection of hydrogen peroxide and glucose using the magnetic mesoporous silica nanoparticles[J]. *Talanta*, 2015, 134: 712-717.
- [14] LU D, LI J, WU Z, et al. High-activity daisy-like zeolitic imidazolate framework-67/reduced graphene oxide-based colorimetric biosensor for sensitive detection of hydrogen peroxide[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2022, 608: 3069-3078.
- [15] BEHROUZIFAR F, SHAHIDI S-A, CHEKIN F, et al. Colorimetric assay based on horseradish peroxidase/reduced graphene oxide hybrid for sensitive detection of hydrogen peroxide in beverages[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 257: 119761.
- [16] LI G, LIU H, HU T, et al. Dimensionality engineering of single-atom nanozyme for efficient peroxidase-mimicking[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2023, 145(30): 16835-16842.
- [17] JIAO L, KANG Y, CHEN Y, et al. Unsymmetrically coordinated single $\text{Fe-N}_3\text{S}_1$ sites mimic the function of peroxidase[J]. *Nano Today*, 2021, 40: 101261.
- [18] XU W, SONG W, KANG Y, et al. Axial ligand-engineered single-atom catalysts with boosted enzyme-like activity for sensitive immunoassay[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(37): 12758-12766.
- [19] XU W, ZHONG H, WU Y, et al. Photoexcited Ru single-atomic sites for efficient biomimetic redox catalysis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2023, 120(21): e2220315120.
- [20] TANG Y, CHEN Y, WU Y, et al. High-indexed intermetallic Pt_3Sn nanozymes with high activity and specificity for sensitive immunoassay[J]. *Nano Letters*, 2023, 23(1): 267-275.
- [21] ZANDIEH M, LIU J. Nanozyme catalytic turnover and self-limited reactions[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(10): 15645-15655.
- [22] LEE G, KIM C, KIM D, et al. Multibranched Au-Ag-Pt nanoparticle as a nanozyme for the colorimetric assay of hydrogen peroxide and glucose[J]. *ACS Omega*, 2022, 7(45): 40973-40982.
- [23] JIAO L, XU W, ZHANG Y, et al. Boron-doped Fe-N-C single-atom nanozymes specifically boost peroxidase-like activity[J]. *Nano Today*, 2020, 35: 100971.
- [24] SUN D, YANG D, WEI P, et al. One-step electrodeposition of silver nanostructures on 2D/3D metal-organic framework ZIF-67: Comparison and application in electrochemical detection of hydrogen peroxide[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(37): 41960-41968.
- [25] LAN H, LI J, SUN M, et al. Efficient conversion of dimethylarsinate into arsenic and its simultaneous adsorption removal over FeCx /N-doped carbon fiber composite in an electro-Fenton process[J]. *Water Research*, 2016, 100: 57-64.
- [26] YE Z, LEI X, ZHAO N, et al. $(\text{Fe}_{1-x}\text{Dy}_x)_3\text{C/C}$ composites: structure, magnetism and electrocatalytic properties for hydrogen evolution reaction[J]. *Ceramics International*, 2018, 44(13): 15256-15261.
- [27] GUO D, HAN S, WANG J, et al. MIL-100-Fe derived N-doped $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{C}@C$ electrocatalysts for efficient oxygen reduction reaction[J]. *Applied Surface Science*, 2018, 434: 1266-1273.
- [28] LI M, ZHU Y, SONG N, et al. Fabrication of Pt nanoparticles on nitrogen-doped carbon/Ni nanofibers for improved hydrogen evolution activity[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2018, 514: 199-207.
- [29] DONG G J, RU X L, HAN H B, et al. Reaction characteristic of Fe-Ni nano-alloy with organic chloride[J]. *Materials Research Bulletin*, 2008, 43(8-9): 2327-2333.
- [30] DARABDHARA G, BORDOLOI J, MANNA P, et al. Biocompatible bimetallic Au-Ni doped graphitic carbon nitride sheets: a novel peroxidase-mimicking artificial enzyme for rapid and highly sensitive colorimetric detection of glucose[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 285: 277-290.
- [31] ABARGHOEI S, FAKHRI N, BORGHEI YS, et al. A colorimetric paper sensor for citrate as biomarker for early stage detection of prostate cancer based on peroxidase-like activity of cysteine-capped gold nanoclusters[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 210: 251-259.
- [32] SHERINO B, MOHAMAD S, ABDUL HALIM S, et al. Electrochemical detection of hydrogen peroxide on a new microporous Ni-metal organic framework material-carbon paste electrode[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 254: 1148-1156.
- [33] JU J, CHEN W. In situ growth of surfactant-free gold nanoparticles on nitrogen-doped graphene quantum dots for electrochemical detection of hydrogen peroxide in biological environments[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(3): 1903-1910.

(责任编辑:蒲锡鹏)