

## 氮掺杂中空碳球氧化物模拟酶性能研究

郑燕宁<sup>1,2</sup>, 季军荣<sup>3</sup>, 梁雪玲<sup>1</sup>, 赖正杰<sup>1</sup>, 陈启帆<sup>1</sup>, 廖丹葵<sup>1,2</sup>

(1. 广西大学 化学化工学院, 南宁 530004; 2. 广西大学 广西碳酸钙产业化工程院, 广西钙基材料创新协同中心, 南宁 530004; 3. 崇左南方水泥有限公司 广西钙基材料创新协同中心, 崇左 532201)

**摘要:** 纳米酶由于其独特、高效、稳定的催化性质而在生化反应中备受关注。本研究以碳酸钙微球为绿色模板剂, 多巴胺为氮源与碳源, 合成了氮掺杂中空碳球(N-HCSs)。以 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)为底物, 采用紫外分光光度法探究了 N-HCSs 的类氧化物酶的催化活性, 并研究其催化机理。结果表明, N-HCSs 具有氧化物模拟酶催化活性, KOH 活化后氮掺杂中空碳球的催化活性提高了 3 倍; N-HCSs 氧化物模拟酶催化反应符合 Michaelis-Menten 方程, 活化前后的米氏常数  $K_m$  分别为 0.105 和 0.083, 对底物具有良好的亲和能力; N-HCSs 氧化物模拟酶催化反应中起主要作用的活性氧基团是超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )。本研究为高活性无机非金属类氧化物模拟酶的设计和制备提供了理论依据。

**关键词:** 氮掺杂中空碳球; 氧化物模拟酶; 反应机理

**中图分类号:** TQ174 **文献标志码:** A

## Performance of Nitrogen-doped Hollow Carbon Spheres as Oxidase Mimic

ZHENG Yanning<sup>1,2</sup>, JI Junrong<sup>3</sup>, LIANG Xueling<sup>1</sup>, LAI Zhengjie<sup>1</sup>, CHENG Qifan<sup>1</sup>, LIAO Dankui<sup>1,2</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2. Guangxi Cooperative Innovation Centre for Calcium-based Materials (GCICCM), Guangxi Engineering Academy for Calcium Carbonate Industry, Guangxi University, Nanning 530004, China; 3. Guangxi Cooperative Innovation Centre for Calcium-based Materials (GCICCM), Chongzuo South Cement Co. LTD, Chongzuo 532201, China)

**Abstract:** Due to efficient performance and stability, nanozymes have recently attracted much attention in bioreaction. In this work, a facile approach for preparing N-doped hollow carbon spheres (N-HCSs) by using  $CaCO_3$  spheres as green template and polydoamine as nitrogen and carbon sources was reported. Morphologies and structures of the samples were characterized. Using TMB (3,3,5,5' tetramethylbenzidine) as a substrate, UV spectra photometry was used to investigate its oxidase-like activity and catalytic mechanism. The results showed that N-HCSs displayed oxidase-like activity. The oxidase-like activity of N-HCSs increased by three times after activation by KOH. These enzymes conform to the Michaelis-Menten kinetic equation, and the  $K_m$  constant before and after activation were 0.105 and 0.083, respectively, indicating good affinity for substrates. The data demonstrate that it is superoxide anion

收稿日期: 2020-07-04; 收到修改稿日期: 2020-08-20; 网络出版日期: 2020-10-19

基金项目: 国家自然科学基金(51372043); 广西自然科学基金(2017GXNSFDA198052); 广西大学钙基材料协同创新研究项目(20190962)

National Natural Science Foundation of China (51372043); Foundation of Guangxi Natural Science (2017GXNSFDA198052); Research Project on Collaborative Innovation of Calcium-based Materials in Guangxi University (20190962)

作者简介: 郑燕宁(1995-), 女, 硕士研究生. E-mail: ningningzy@sina.cn

ZHENG Yanning(1995-), female, Master candidate. E-mail: ningningzy@sina.cn

通信作者: 廖丹葵, 教授. E-mail: liaodk@gxu.edu.cn

LIAO Dankui, professor. E-mail: liaodk@gxu.edu.cn

( $O_2^{\bullet-}$ ) that plays a major role in catalytic reaction. This work data provides a theoretical basis for the design and preparation of high activity oxidase-mimicking enzymes.

**Key words:** N-doped hollow carbon sheres; oxidase-like enzyme; reaction mechanism

无机纳米材料具有高稳定性、可规模化制备、成本较低等特点<sup>[1]</sup>。自 2007 年首次报道纳米酶以来,无机纳米材料不再被认为是生物惰性物质,已经被证实具有类氧化物酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等催化活性<sup>[2-5]</sup>。纳米酶虽然克服了天然酶不稳定和昂贵的缺点,但是部分纳米酶的催化效率仍然较低,针对提高纳米酶催化效率的研究不断涌现<sup>[6]</sup>。大量研究发现,纳米酶的活性可以通过控制纳米材料的尺寸、形貌和表面性质进行调控<sup>[7-9]</sup>。密度泛函理论(DFT)计算已证实纳米酶的催化活性依赖于晶体的尺寸和所暴露的晶面<sup>[10]</sup>,而通过一些元素(N、Co、Zn 等)掺杂,可有效提高碳基纳米酶的催化活性<sup>[11-13]</sup>。这些研究为提高纳米材料模拟酶的催化活性提供了理论依据。

目前,纳米酶的研究主要集中在过氧化物模拟酶方向,而氧化物模拟酶能够在没有  $H_2O_2$  的存在下催化底物 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)发生显色反应,应用前景广阔。目前报道的氧化物模拟酶主要集中在贵金属(Au<sup>[14]</sup>、Ag<sup>[15]</sup>、Pt<sup>[16]</sup>和 Pd<sup>[17]</sup>等)纳米材料上,但是由于其稀缺性而成本较高,限制了进一步应用。而过渡金属氧化物(如  $CeO_2$ <sup>[18]</sup>、 $MnO_2$ <sup>[19]</sup>和  $Co_3O_4$ <sup>[20]</sup>等)也具有类氧化物酶活性,但其在纳米尺度上易团聚、不稳定,导致其类氧化物酶催化活性较低。中空碳球具有低密度、大孔容、大比表面积,在催化、吸附和生物传感等众多领域广泛应用<sup>[21-22]</sup>。氮元素被掺入到碳纳米材料石墨化晶格时产生晶格缺陷,可为催化反应提供更多反应活性位点,从而使氮掺杂碳材料成为一种优良的氧还原反应(ORR)催化剂<sup>[23-24]</sup>。氧化物模拟酶催化反应是基于氧还原反应(ORR)原理<sup>[4]</sup>,因此氮掺杂中空碳球有望成为高效氧化物模拟酶。硬模板法是制备中空碳球最简便有效的方法,二氧化硅( $SiO_2$ )是报道较多的硬模板剂,但是其在去除模板时需使用强腐蚀性的 HF。因此,采用更加绿色的途径制备氮掺杂中空多孔碳球氧化物模拟酶值得进一步探索。

本研究以价格低廉且易去除的碳酸钙微球作为模板剂,多巴胺作为氮源与碳源, KOH 为活化剂,通过稀盐酸(HCl)去模板,制备了氮掺杂中空碳球(N-HCSs)氧化物模拟酶。以 TMB 为底物,研究其催化活性及机制。

## 1 实验方法

### 1.1 实验试剂

碳酸钙微球( $CaCO_3$ ), 广西碳酸钙产业化工程院有限公司自制;多巴胺(PDA),分析纯,购自美国 Sigma 试剂公司; 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB),生物专用,购自上海润捷化学试剂有限公司;氢氧化钾(KOH)、盐酸(HCl)、乙酸(HAC)、乙酸钠(NaAC),均为分析纯,购自广东光华科技股份有限公司。

### 1.2 氮掺杂中空碳球(N-HCSs)的制备

取 0.1 g 碳酸钙微球和 1.0 g 盐酸多巴胺盐分别溶于 500 mL 去离子水中,低转速搅拌 10 min,将两者混合加入 1 mL 氨水与 10 mL 乙醇,在室温下低速搅拌 5 h,获得  $CaCO_3@PDA$  微球,将其置于管式炉内在氮气氛围中,以 5 °C/min 的速度从室温升至 750 °C,恒温 1 h,自然冷却后用稀盐酸去除模板,制备氮掺杂中空多孔碳球(N-HCS)。为了提高 N-HCS 的比表面积和孔容,将适量的氢氧化钾(KOH)与  $CaCO_3@PDA$  微球混匀后置于管式炉中进行碳化,用稀盐酸去除模板后得到氮掺杂中空多孔碳球(N-HCS-1)。N-HCS 和 N-HCS-1 两种材料统称为 N-HCSs。

### 1.3 N-HCSs 过氧化物模拟酶活性的研究

将 1 mL 的 HAC-NaAC 缓冲溶液(pH=4, 0.01 mol/L), 20  $\mu$ L TMB 乙醇溶液(0.042 mmol/L),一定量的 N-HCSs,依次加入到 2 mL 的小试管中,在 30 °C 反应 10 min,过滤,用 UV-Vis 分光光度计,在波长 652 nm 下测定滤液的吸光值。分别考察溶液浓度(0.1~1 mg/mL)、pH(2~6)、温度(20~70 °C)对 N-HCS 过氧化物模拟酶催化活性的影响。

### 1.4 稳态动力学及其机理研究

在最佳条件下,对 N-HCSs 氧化物模拟酶分别进行动力学研究<sup>[25]</sup>,采用 Lineweaver-Burk 作图分别求得 N-HCSs 过氧化物模拟酶的米氏常数( $K_m$ )和最大反应速度( $V_{max}$ )。

在体系中通入氮气,加入异丙醇(IPA)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)分别作为 $\cdot OH$ 、 $H_2O_2$ 和 $O_2^{\bullet-}$ 的清除剂,探究 N-HCSs 氧化物模拟酶催化反应机理<sup>[26]</sup>。

## 1.5 分析表征

采用日立 5-3400 型的扫描电子显微镜(SEM)和 FEITECNAL-G2-F30 的场发射透射电子显微镜(TEM)观察形貌。使用 Brunauer-Emmett-Teller (BET) 方法, 在 77 K 下通过 Micromeritics-ASA2420 氮气吸附脱附仪测定  $N_2$  吸附-脱附曲线后, 计算 N-HCSs 比表面积。采用 ESCALAB 250XI+X 射线光电子能谱仪进行元素组成及化学态分析, X 射线源为单色化 Al K $\alpha$  线源, 测试真空度为  $10^{-8}$  Pa。采用 Burker A300 电子顺磁共振波谱仪 (ESR), 以 BMPO(5-tert-Butoxycarbonyl-5-methyl-1-pyrroline-N-oxide,  $C_{10}H_{17}NO_3$ ) 为自由基捕获剂, 测定氧化物模拟酶催化反应中生成的自由基。

## 2 结果与讨论

### 2.1 N-HCSs 的形貌和结构分析

图 1(a)为 N-HCSs 氧化物模拟酶的制备及其催化反应的示意图。如图 1(b)所示, N-HCS 具有良好的球形结构, 粒径均一, 约为 510 nm。从 N-HCS 的 EDX 元素映射图可以看出, C、N、O 三种元素在整个空间内分布均匀(图 1(c~e))。

通过对比图 2(a, b)可知, 经过 KOH 活化后的少部分氮掺杂中空碳球虽然发生轻微的破损, 但仍

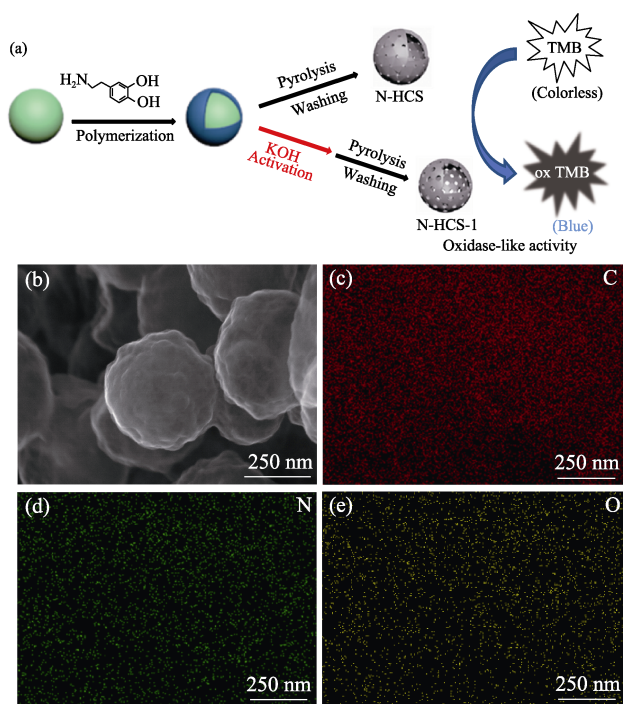


图 1 N-HCSs 的形貌和元素分析

Fig. 1 Morphologies and element mappings of N-HCSs

(a) Schematic presentation for the oxide enzyme mimetic activity of N-HCSs; (b) SEM image of N-HCS; (c) C, (d) N and (e) O EDX mappings of N-HCS

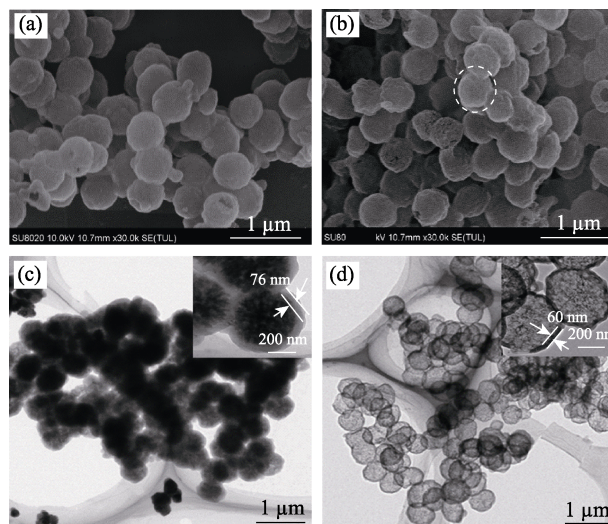


图 2 (a)N-HCS 和(b)N-HCS-1 的 SEM 照片; (c)CaCO<sub>3</sub>@PDA 和(d)N-HCS 的 TEM 照片

Fig. 2 SEM images of (a) N-HCS and (b) N-HCS-1, and TEM images of (c) CaCO<sub>3</sub>@PDA and (d) N-HCS

然维持球形结构。在碱性条件下, 盐酸多巴胺氧化自聚, 形成包覆层, 得到具有壳核结构的 CaCO<sub>3</sub>@PDA 复合微球, 壳层厚度约为 76 nm(图 2(c))。在对 CaCO<sub>3</sub>@PDA 复合微球高温煅烧过程中 CaCO<sub>3</sub> 分解生成 CaO 和大量 CO<sub>2</sub>, 故碳酸钙微球具有模板与扩孔双重功能<sup>[27]</sup>, 煅烧产物经过稀酸和水洗涤去除残余的 CaO, 得到的中空多孔氮掺杂碳球(N-HCSs), 碳化去模板后壳层发生收缩, 壳层厚度约为 60 nm, 同时, 也可以观察到 N-HCS 的内部具有丰富的孔状结构(图 2(d))。

N-HCSs 的 XPS 表征结果如图 3 所示, N-HCSs 主要含有 C、N、O 三种元素。与 N-HCS 相比, N-HCS-1 的 C、N 含量增加, O 含量下降(图 3(a)), 说明 KOH 活化扩孔的同时加快了材料表面含氧官能团的脱除<sup>[28]</sup>。从图 3(b, c)可知, 位于 N1s 光谱 398.5、400.1 和 401.1 eV 的三个峰, 分别对应于吡啶氮、吡咯氮和石墨氮。KOH 活化使得吡啶氮和吡咯氮含量分别由原来的 18.73%和 56.54%增加到 20.21%和 61.23%, 而石墨氮含量则由 24.73%下降至 18.56%(图 3(d))。在氮掺杂碳材料中, 氧还原反应(ORR)的活性位点是与吡啶氮和吡咯氮相邻的具有路易斯碱度的碳原子, 则吡啶氮和吡咯氮的含量相应增加, 可为 ORR 反应提供更多活性位点<sup>[29]</sup>, 从而促进 O<sub>2</sub> 分子的吸附, 加速活性氧(ROS)的生成, 提高其催化氧化能力。

图 4(a, b)是 N-HCSs 的  $N_2$  吸附脱附等温曲线和 HK 模型孔径分布图。由图 4(a)可知, N-HCS 和 N-HCS-1 表现出 IV 型等温线的特征, 表明两者都具有分级多孔结构。根据图 4(b)样品的 HK 模型孔径分布图可知, 经 KOH 活化后的 N-HCS-1 微孔含量

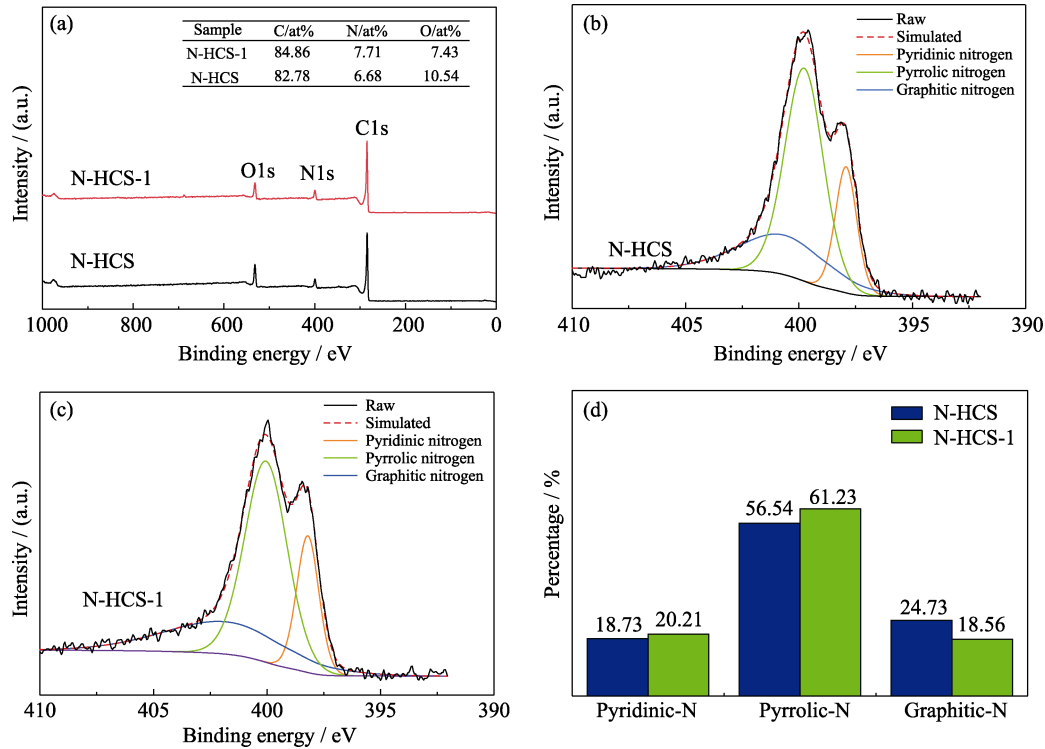


图 3 (a)N-HCS 和 N-HCS-1 的 XPS 全谱, (b)N-HCS 和 (c)N-HCS-1 的 N1s 谱, (d)N-HCS 和 N-HCS-1 的 N 元素组成  
Fig. 3 (a) XPS full spectra of N-HCS and N-HCS-1; N1s spectra of (b) N-HCS and (c) N-HCS-1;  
(d) N species contents of N-HCS and N-HCS-1

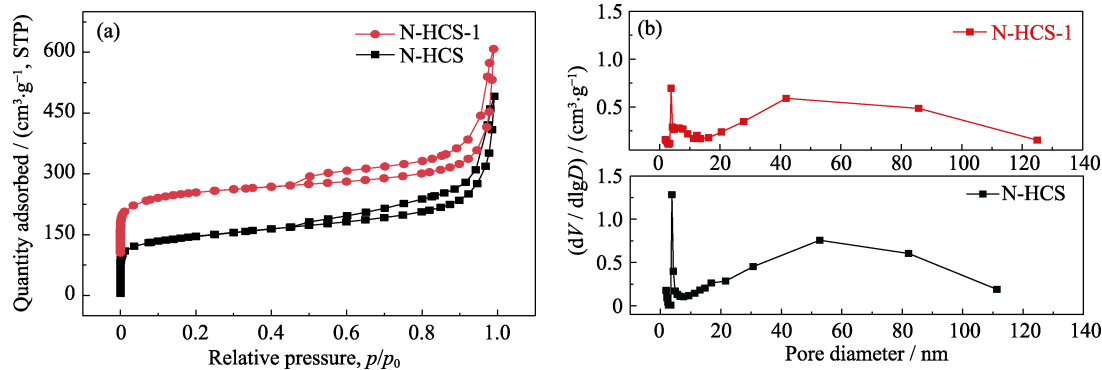


图 4 (a)N-HCS 和 N-HCS-1 的 N<sub>2</sub> 吸附-脱附等温曲线及 (b)HK 模型孔径分布图  
Fig. 4 (a) Nitrogen absorption-desorption isotherm curves of N-HCS and N-HCS-1, (b) HK model  
corresponding pore size distribution curves of N-HCS and N-HCS-1

下降, 介孔含量增加, 可减小底物与催化剂之间的传质阻力。由表 1 数据可知, N-HCS-1 的比表面积和孔容均高于 N-HCS, 故 N-HCS-1 能提供更多的催化反应活性位点。

表 1 N-HCS 和 N-HCS-1 材料的孔结构参数  
Table 1 Pore structure parameters of N-HCS and N-HCS-1

| Sample  | Specific surface/(m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> ) |       | V <sub>t</sub> /(cm <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> ) | V <sub>m</sub> /(cm <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> ) | S <sub>m</sub> /(m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> ) | (S <sub>m</sub> /S <sub>t</sub> )/% |
|---------|---|-------|---|---|--|-------------------------------------|
|         | Langmuir  | BET   |   |   |  |                                     |
| N-HCS   | 685.6   | 490.1 | 0.651   | 0.109   | 230.51   | 45.49                               |
| N-HCS-1 | 730.0   | 518.4 | 0.732   | 0.111   | 228.16   | 44.01                               |

2.2 N-HCSs 氧化物模拟酶活性的探究

选择 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)作为显色底物, N-HCSs 作为催化剂, 探究其氧化物模拟酶的催化特性。如图 5(a)所示, TMB 单独在 NaAC-HAC 缓冲溶液中, 不能发生显色反应, 而 N-HCSs 能够催化 TMB 氧化成蓝色的产物 oxTMB, 在 652 nm 处有一个特征吸收峰, 说明 N-HCSs 具有氧化物模拟酶活性, 且通过 KOH 活化扩孔有效提高了氮掺杂中空碳球氧化物模拟酶的催化活性。

氧化物模拟酶的催化活性与其浓度、pH、温度均有关。由图 5(b)可知, 随着 N-HCSs 的浓度增加,



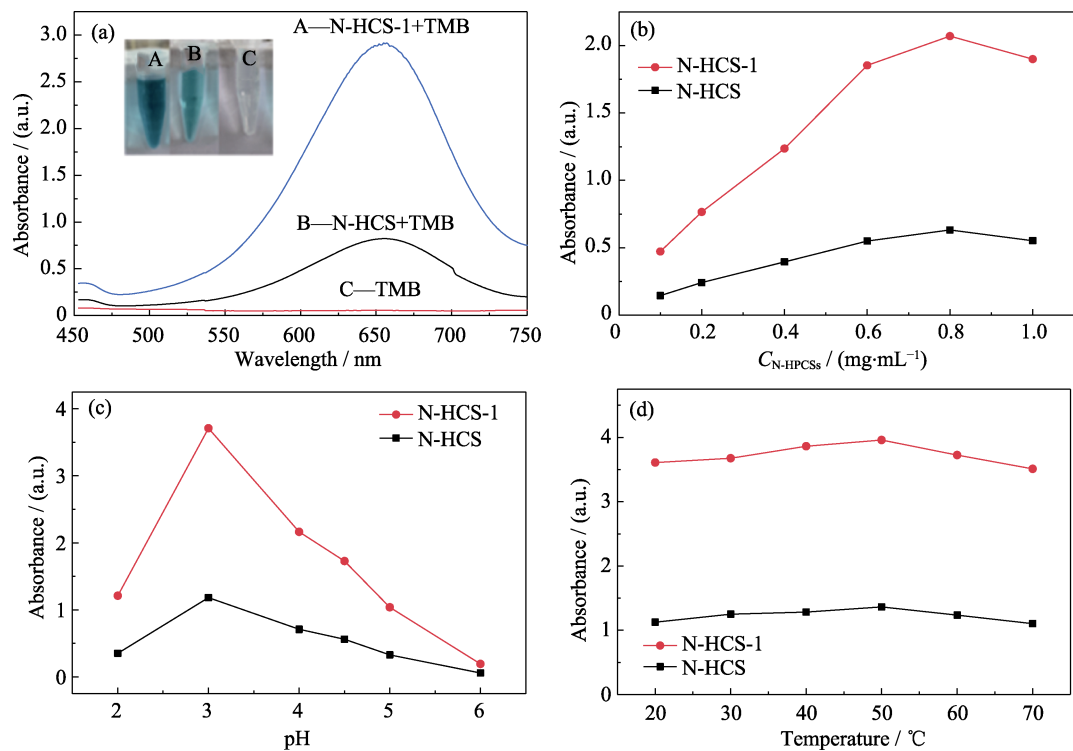


图 5 (a)不同体系的紫外-可见吸收光谱,(b)催化剂浓度、(c)pH 和(d)温度对 N-HCSs 氧化物模拟酶活性的影响  
Fig. 5 (a) UV-Vis absorption spectra of different systems, and effects of (b) catalyst concentration, (c) pH and (d) temperature on the oxidase-like activity of N-HCSs

其类氧化物酶催化活性不断增强,当 N-HCSs 大于 0.8 mg/mL 时,催化活性呈下降趋势,这可能是由于催化剂浓度过高时,容易团聚,导致底物与催化剂之间的传质阻力增加,不利于催化反应进行<sup>[30]</sup>。pH 为 3 时 N-HCSs 氧化物模拟酶的催化活性最高(图 5(c)),相比贵金属基氧化物模拟酶(最适 pH 为 4.5),其催化反应的最适 pH 更偏酸性。在反应温度为 20~70 °C 较大的温度范围内, N-HCSs 氧化物模拟酶仍然可以保留 90% 的催化活性(图 5(d)),说明 N-HCSs 氧化物模拟酶对温度的适应性明显优于天然氧化物酶。此外, N-HCSs 氧化物模拟酶具有良好的稳定性,可多次循环使用(图 6),故其在实际应用中具有较大的潜力。

2.3 稳态动力学和催化机理研究

通过改变体系中 TMB 浓度对其稳态动力学进行研究,由图 6 可知, N-HCSs 氧化物模拟酶催化反应遵循典型的 Michaelis-Menten 动力学方程,通过 Lineweaver-Burk 作图后分别计算出 N-HPCS 和 N-HPCS-1 的米氏常数( $K_m$ )和最大反应速率( $V_{max}$ ),结果列于表 2。N-HCS-1 的米氏常数小于 N-HCS,表明 KOH 活化可增强材料对底物 TMB 的亲和能力。相比文献所报道的氮掺杂碳球<sup>[4]</sup>,中空多孔氮掺杂碳球对底物 TMB 的亲和能力显著增强,这可归因于其中空的多级多孔结构。

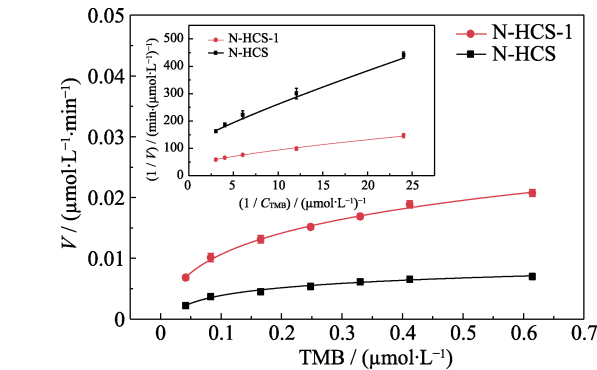


图 6 N-HCS 和 N-HCS-1 稳态动力学分析  
Fig. 6 Steady-state kinetic assay of N-HCS and N-HCS-1

表 2 N-HCSs 与其它氧化物模拟酶动力学参数的比较

Table 2 Comparison of the  $K_m$  and  $V_{max}$  between N-HCSs and other oxidase-like

| Catalyst              | Substrate | $K_m/(mmol·L^{-1})$ | $V_{max}/(\times 10^{-8}, mol·L^{-1}·s^{-1})$ | Ref.      |
|-----------------------|-----------|---------------------|---|-----------|
| N-PCS                 | TMB       | 0.095               | 5.20  | [4]       |
| His@AuNCs             | TMB       | 0.041               | 6.21  | [31]      |
| Pt Au DNPs            | TMB       | 0.22                | 2.82  | [32]      |
| Acr <sup>+</sup> -Mes | TMB       | 0.129               | 2.68  | [33]      |
| N-HCS                 | TMB       | 0.1049              | 4.69  | This work |
| N-HCS-1               | TMB       | 0.0825              | 5.98  | This work |

N-HCSs 氧化物模拟酶的催化特性从本质上应该与体系中的  $O_2$  及生成的活性氧(ROS)有关<sup>[34]</sup>。在体系中通入  $N_2$ ,如图 7(a)所示,当 N-HCSs 处于  $N_2$

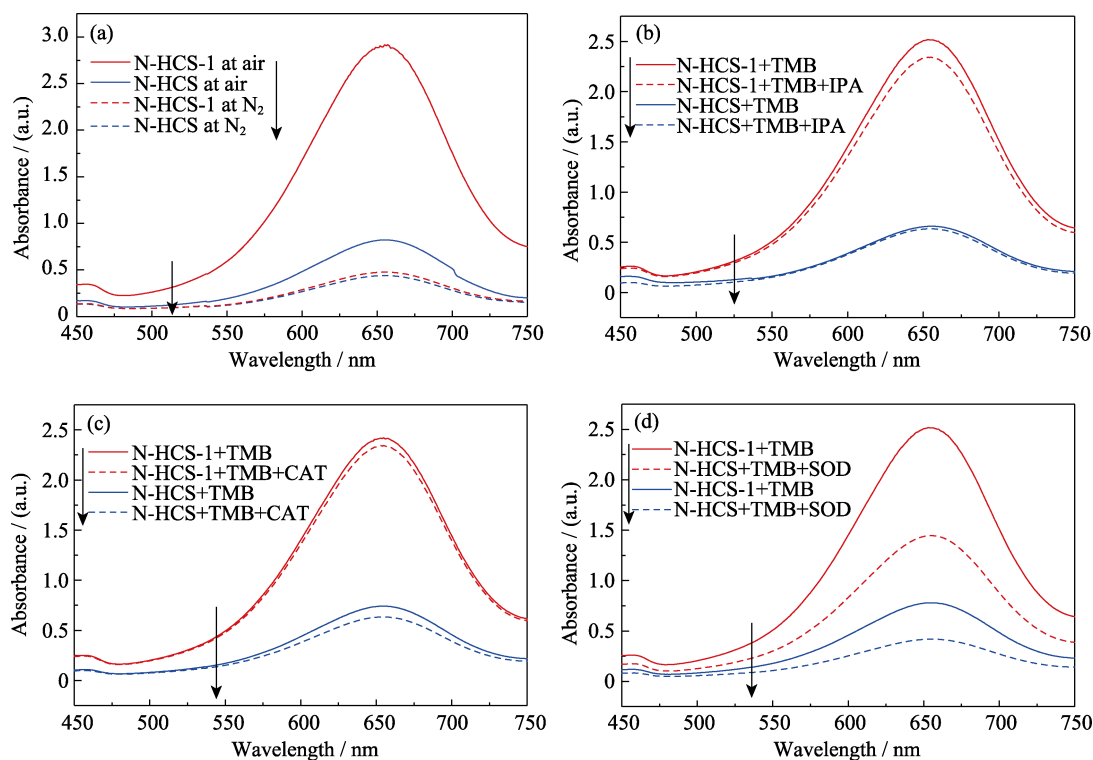


图 7 在体系中(a)通入氮气后的吸收光谱, 及加入不同活性氧清除剂(b)异丙醇(IPA)、(c)过氧化氢酶(CAT)、(d)超氧化物歧化酶(SOD)对 N-HCS 和 N-HCS-1 类氧化物酶活性的影响

Fig. 7 (a) Absorption spectra of the solution containing TMB and N-HCS and N-HCS-1 under  $N_2$ -saturated conditions, and effect of scavengers (b) IPA, (c) CAT and (d) SOD on the catalytic oxidation of TMB by the N-HCS and N-HCS-1

环境中时, 类氧化物酶活性因缺氧而被抑制, 这说明  $O_2$  在 N-HCSs 氧化物模拟酶催化反应中起重要作用, 且对 N-HCS-1 的催化活性抑制效果更明显, 这验证了 N-HCS-1 能为  $O_2$  吸附提供更多的吸附位点的推测。在体系引入异丙醇和过氧化氢酶(CAT)后对催化反应的影响不大(图 7(b~c)), 而在加入超氧化物歧化酶(SOD)后, N-HCSs 氧化物模拟酶活性明显降低(图 7(d)), 表明  $O_2^{\cdot-}$  是 N-HCSs 氧化物模拟酶催化反应中主要活性氧基团, 与已报道的贵金属基、金属氧化物基氧化物模拟酶的催化机理相一致<sup>[35-36]</sup>。

为了进一步鉴定 N-HCSs 氧化物模拟酶的催化活性是否与生成  $O_2^{\cdot-}$  相关, 采用 ESR, 以 BMPO(5-tert-Butoxycarbonyl-5-methyl-1-pyrroline-N-oxide,  $C_{10}H_{17}NO_3$ )作为自旋阱来探测  $O_2^{\cdot-}$  的生成。如图 8(a)所示, N-HCS 和 N-HCS-1 在 pH 为 3 的 HAC-NaAC 缓冲溶液中放置 10 min 后的 ESR 图谱均显示 BMPO- $O_2^{\cdot-}$  加合物的六重特征峰, 说明两者体系中生成了  $O_2^{\cdot-}$ 。可以观察到 N-HCS-1 的特征峰明显强于 N-HCS, 这说明 N-HCS-1 催化生成  $O_2^{\cdot-}$  的能力较强。

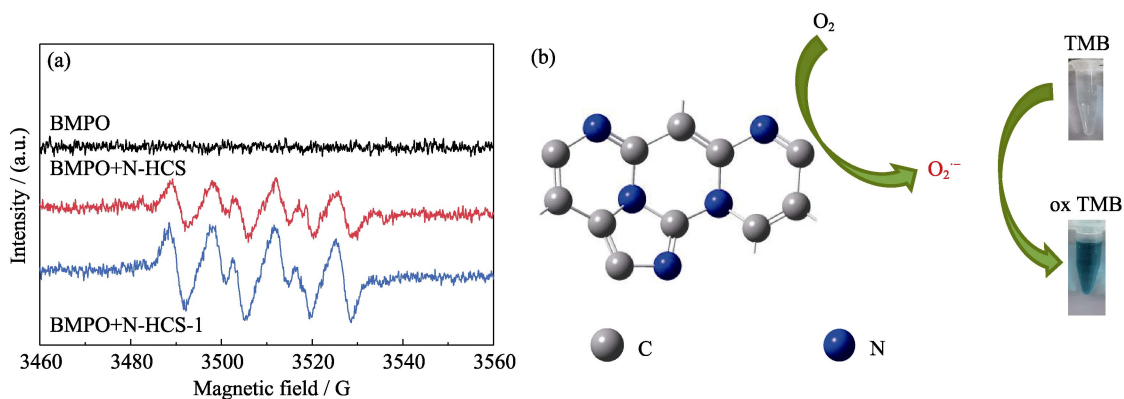


图 8 (a)N-HCSs 氧化物模拟酶的 ESR 图谱及其(b)催化机理图

Fig. 8 (a) ESR spectra and (b) catalytic mechanism diagram for the oxidase-like activity of the N-HCSs

综上, N-HCSs 氧化物模拟酶的催化反应机制可以解释为: N-HCSs 将溶解的  $O_2$  吸附到表面, 催化生成  $O_2^{\cdot-}$ ,  $O_2^{\cdot-}$  氧化底物 TMB, 生成蓝色 oxTMB 的产物(图 8(b))。N-HCS-1 具有更高的类氧化物酶活性可归因于其能提供更多的反应活性位点, 可促进  $O_2$  的吸附, 加速  $O_2^{\cdot-}$  的生成。

### 3 结论

本研究采用硬模板法制备了氮掺杂中空碳球(N-HCSs)氧化物模拟酶, 研究其类酶催化活性及催化机理。结果表明, 经过 KOH 活化的 N-HCS-1 具有高含氮量、高比表面积和大孔容等特性, 因此其类氧化物酶催化活性较 N-HCS 更强。N-HCSs 氧化物模拟酶的最佳催化条件为催化剂浓度 0.8 mg/L、pH 3.0、50 °C。N-HCSs 类氧化物酶催化氧化反应中, 超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )是主要的活性氧基团。由于 N-HCSs 氧化物模拟酶催化反应需要在强酸条件下才能进行, 故如何拓宽该催化反应的最优酸碱度还有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] LIN Y, REN J, QU X, *et al.* Catalytically active nanomaterials: a promising candidate for artificial enzymes. *Accounts of Chemical Research*, 2014, **47**(4): 1097–1105.
- [2] GAO L, ZHUANG J, NIE L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nature Nanotechnology*, 2007, **2**(9): 577–583.
- [3] WEI X, CHEN J, ALI M C, *et al.* Cadmium cobaltite nanosheets synthesized in basic deep eutectic solvents with oxidase-like, peroxidase-like, and catalase-like activities and application in the colorimetric assay of glucose. *Microchimica Acta*, 2020, **187**(6): 314–325.
- [4] FAN K, XI J, FAN L, *et al.* In vivo guiding nitrogen-doped carbon nanozyme for tumor catalytic therapy. *Nature Communications*, 2018, **9**: 1440.
- [5] CHEN Z, YIN J J, ZHOU Y T, *et al.* Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. *ACS Nano*, 2012, **6**(5): 4001–4012.
- [6] WEI H, WANG E. Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chemical Society Reviews*, 2013, **42**(14): 6060–6093.
- [7] ZHANG X, MAO X, LI S Q, *et al.* Tuning the oxidase mimics activity of manganese oxides via control of their growth conditions for highly sensitive detection of glutathione. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2018, **258**: 80–87.
- [8] WANG Y, ZHANG Z, JIA G, *et al.* Elucidating the mechanism of the structure-dependent enzymatic activity of Fe-N/C oxidase mimic. *Chemical Communications*, 2019, **55**(36): 5271–5274.
- [9] HE W, HAN X, JIA H, *et al.* AuPt alloy nanostructures with tunable composition and enzyme-like activities for colorimetric detection of bisulfide. *Scientific Reports*, 2017, **7**: 40103.
- [10] GE C, FANG G, SHEN X, *et al.* Facet energy versus enzyme-like activities: the unexpected protection of palladium nanocrystals against oxidative damage. *ACS Nano*, 2016, **10**(11): 10436–10445.
- [11] HU Y, GAO X J, ZHU Y, *et al.* Nitrogen-doped carbon nanomaterials as highly active and specific peroxidase mimics. *Chemistry of Materials*, 2018, **30**(18): 6431–6439.
- [12] MU J, LI J, ZHAO X, *et al.* Cobalt-doped graphitic carbon nitride with enhanced peroxidase-like activity for wastewater treatment. *RSC Advances*, 2016, **6**(42): 35568–35576.
- [13] AHMWD A, JOHN P, NAWAZ M H, *et al.* Zinc-doped mesoporous graphitic carbon nitride for the colorimetric detection of hydrogen peroxide. *ACS Nano Materials*, 2019, **2**(8): 5156–5168.
- [14] ZHANG H, LIANG X, HAN L, *et al.* “Non-naked” gold with glucose oxidase-like activity: a nanozyme for tandem catalysis. *Small*, 2018, **14**(44): e1803256.
- [15] LI R, LEI C, ZHAO X E, *et al.* A label-free fluorimetric detection of biothiols based on the oxidase-like activity of  $Ag^+$  ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2018, **188**: 20–25.
- [16] FENG J Y, HUANG P, WU F Y, *et al.* Gold-platinum bimetallic nanocluster with enhanced peroxidase-like activity and its integrated agarose hydrogel-based sensing platform for colorimetric analysis of glucose level in serum. *Analyst*, 2017, **142**(21): 4106–4115.
- [17] SHEN X, LIU W, GAO X, *et al.* Mechanisms of oxidase and superoxide dismutation-like activities of gold, silver, platinum, and palladium, and their alloys: a general way to the activation of molecular oxygen. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, **137**(50): 15882–15891.
- [18] HUANG L, ZHANG W, CHEN K, *et al.* Facet-selective response of trigger molecule to  $CeO_2$  {110} for up-regulating oxidase-like activity. *Chemical Engineering Journal*, 2017, **330**(17): 746–752.
- [19] ZHAO M, TAO Y, HUANG W, *et al.* Reversible pH switchable oxidase-like activities of  $MnO_2$  nanosheets for a visual molecular majority logic gate. *Physical Chemistry Chemical*, 2018, **20**(45): 28644–28648.
- [20] FAN Y, SHI W, ZHANG X, *et al.* Mesoporous material-based manipulation of the enzyme-like activity of  $CoFe_2O_4$  nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry A*, 2014, **2**(8): 2482–2486.
- [21] DU J, LIU L, YU Y, *et al.* Hollow carbon sphere with tunable structure by encapsulation pyrolysis synchronous deposition for cefalexin adsorption. *Journal of Inorganic Materials*, 2020, **35**(5): 608–616.
- [22] WANG N, SONG H, REN H, *et al.* Partly nitrogenized nickel oxide hollow spheres with multiple compositions for remarkable electrochemical performance. *Chemical Engineering Journal*, 2019, **358**: 531–539.
- [23] GONG K, DU F, XIA Z, *et al.* Nitrogen-doped carbon nanotube arrays with high electrocatalytic activity for oxygen reduction. *Science*, 2009, **323**(5915): 760–764.
- [24] ZHANG Y, YANG H, CHI Q, *et al.* Nitrogen-doped carbon supported nickel nanoparticles: a robust catalyst to bridge the hydrogenation of nitriles and the reductive amination of carbonyl compounds for the synthesis of primary amines. *ChemSusChem*, 2019, **12**(6): 1246–1255.
- [25] FAN L, XU X, ZHU C, *et al.* Tumor catalytic-photothermal therapy with yolk-shell Gold@Carbon nanozymes. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, **10**(5): 4502–4511.
- [26] LIANG H W, ZHUANG X, SEBASTIAN B, *et al.* Hierarchically porous carbons with optimized nitrogen doping as highly active electro-catalysts for oxygen reduction. *Nature Communications*, 2014, **5**: 4973.
- [27] HE X, LIU P, LIU J, *et al.* Facile synthesis of hierarchical N-doped hollow porous carbon whiskers with ultrahigh surface area via

- synergistic inner-outer activation for casein hydrolysate adsorption. *Journal of Materials Chemistry B*, 2017, **5**: 9211–9218.
- [28] MISTAR E M, ALFATAH T, SUPARDAN M D. Synthesis and characterization of activated carbon from *Bambusa vulgaris striata* using two-step KOH activation. *Journal of Materials Research and Technology*, 2020, **9**(3): 6278–6286.
- [29] WU T, MA Z, LI P, *et al.* Bifunctional colorimetric biosensors via regulation of the dual nanoenzyme activity of carbonized FeCo-ZIF. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2019, **290**: 357–363.
- [30] WANG H, LI S, SI Y, *et al.* Recyclable enzyme mimic of cubic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles loaded on graphene oxide-dispersed carbon nanotubes with enhanced peroxidase-like catalysis and electrocatalysis. *Journal of Materials Chemistry B*, 2016, **2**: 4442–4448.
- [31] LIU L, DU J, LIU W E, *et al.* Enhanced His@AuNCs oxidase-like activity by reduced graphene oxide and its application for colorimetric and electrochemical detection of nitrite. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2019, **411**(10): 2189–2200.
- [32] CHENG Q, YANG Y, YANG L L, *et al.* Pt-Au dendritic nanoparticles with high oxidase-like activity for detection of ascorbic acid. *Journal of Inorganic Materials*, 2020, **35**(10): 1169–1176.
- [33] DU J, WANG J, HUANG W, *et al.* Visible light-activatable oxidase mimic of 9-mesityl-10-methylacridinium ion for colorimetric detection of biothiols and logic operations. *Analytical Chemistry*, 2018, **90**(16): 9959–9965.
- [34] WANG Y, ZHANG Z, JIA G, *et al.* Elucidating the mechanism of the structure-dependent enzymatic activity of Fe-N/C oxidase mimics. *Chemical Communications*, 2019, **55**: 5271–5274.
- [35] CHEN M, WANG Z, SHU J, *et al.* Mimicking a natural enzyme system: cytochrome c oxidase-like activity of Cu<sub>2</sub>O nanoparticles by receiving electrons from cytochrome. *Inorganic Chemistry*, 2017, **56**(16): 9400–9403.
- [36] LIU J, HU X, HOU S, *et al.* Au@Pt core/shell nanorods with peroxidase and ascorbate oxidase-like activities for improved detection of glucose. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2012, **166/167**: 708–714.