

分析测试

基于金磁微粒模拟酶催化法 检测过氧化氢的研究

关桦楠*, 彭勃, 龚德状, 薛悦, 张娜, 刘晓飞

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:采用自组方法构建金磁微粒($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$)复合纳米粒子,并表征其理化性能。评估 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 模拟酶的催化动力学过程,并基于其过氧化物模拟酶活性,优化出具有高灵敏度和选择性的检测过氧化氢体系。研究表明, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 相比于天然过氧化物酶具有更小的 K_m 数值; H_2O_2 最佳检测条件为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 浓度 0.075 mg/mL 、催化时间 60 min 和催化温度 70°C ;在最适检测体系下, H_2O_2 浓度在 $0.005\sim 0.08 \text{ mol/L}$ 时,吸光度数值与其具有良好线性关系,工作曲线方程为 $y = 22.966x + 0.689$,检出限为 $4.9 \mu\text{mol/L}$ 。

关键词: $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$;过氧化氢;过氧化物模拟酶;催化体系;催化动力学

中图分类号:TS201.6

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2020)07-0230-05

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2020.07.049

Detection of hydrogen peroxide through $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ mimic enzyme catalysis

GUAN Hua-nan*, PENG Bo, GONG De-zhuang, XUE Yue, ZHANG Na, LIU Xiao-fei

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ nanomaterials are prepared by self-assembly method, and their physical and chemical properties are characterized. The catalytic kinetic process of $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ mimetic enzyme is evaluated. Based on its peroxidase mimetic enzyme activity, a highly sensitive and selective detection system for hydrogen peroxide is optimized. The results show that the prepared $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ has smaller K_m compared with natural peroxidase. The optimum conditions for detection of hydrogen peroxide are as follows: $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ concentration is $0.075 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, catalytic time is 60 min and catalytic temperature is kept at 70°C . Under the optimal detection system, the working curve equation of hydrogen peroxide is $y = 22.966x + 0.689$ when H_2O_2 concentration is in the range of $0.005\sim 0.08 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, and the detection limit is $4.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$; hydrogen peroxide; peroxidase mimetic enzyme; catalytic system; catalytic kinetic

过氧化氢(H_2O_2)是一种强氧化剂,具有良好的漂白、防腐、氧化和消毒等功效,食品工业中常被使用在加工助剂和奶制品、食品纤维和食品包装材料等的消毒杀菌^[1]。毒理学研究得出, H_2O_2 浓度达到 0.5 mmol/L 时,会自然产生羟基自由基,氧化生物体细胞,以致加速衰老甚至发生疾病,对生物体具有一定的毒害作用^[2]。鉴于此,研发对食品中痕量 H_2O_2 的高效快速检测技术具有重要意义和经济价值^[2]。目前,检测 H_2O_2 主要是在酶催化作用下,利用电化学法^[3-4]、分光光度法^[5-6]、色谱法^[7]、荧光法^[8-9]和化学发光法^[10]等方法。但是天然酶试剂昂贵、易受温度等外界因素影响、不易储存且实验操作烦琐等诸多缺陷的存在,难以推广应用^[11]。2007年,科研工作者首次提出 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MMs}$ 这种磁性纳米

材料能取代辣根过氧化物酶(HRP)催化 H_2O_2 产生 $\cdot\text{OH}$,拥有HRP的催化性能,氧化底物产生某种可用分光光度计检测的物质,进而构建出磁性模拟酶检测 H_2O_2 体系^[12]。经过多年发展,目前磁性纳米模拟酶按照纳米材料的差别可划分为氧化铁纳米粒^[13]、铁锰氧化物纳米粒^[14]、铁锌氧化物纳米粒^[15]、硫化铁纳米粒^[16]和铁复合物纳米粒^[17]等。和天然酶相比,纳米模拟酶具备较好的稳定性、催化活性和低成本等多项优势^[18]。以纳米金为催化剂创建的催化增强技术,极大地提升了检测方法的灵敏度^[19-20]。本研究采用自组法制备金磁微粒($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$),对所合成的金磁微粒进行性能表征,评估 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 的过氧化物酶模拟酶活性,研究其催化动力学特征,并选择单因素试验及正交设计优

收稿日期:2019-10-15;修回日期:2020-04-27

基金项目:国家自然科学基金项目(31201376、31370649);黑龙江省自然科学基金项目(C2016034);黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划(UNPYSCT-2016060);中国博士后基金资助项目(2014T70304、2013M531009);黑龙江省博士后资助项目(LBH-Z13002);哈尔滨商业大学科研项目(17XN026)

作者简介:关桦楠(1983-),男,博士,副教授,研究方向为食品安全检测分析,通讯联系人,0451-84844281,hsdghn@163.com。

催化体系,探讨 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 浓度、催化温度和催化时间对试验的影响,最终构建出 H_2O_2 检测工作曲线。研究中以 ABTS 作为显色剂, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 催化 H_2O_2 产生 $\cdot\text{OH}$, 从而氧化 ABTS 发生显色反应, 溶液呈现绿色。通过分光光度计检测吸光度, 根据构建出的 H_2O_2 检测工作曲线逆向得出 H_2O_2 浓度。

1 材料与试剂

氨基丙基三甲基硅烷 (APTES)、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS), 上海恒斐生物科技有限公司; $\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、冰醋酸、 H_2O_2 、PEG-4000、氯金酸和溴化钾, 无锡市展望化工试剂有限公司。透射电子显微镜, 日本电子株式会社; 针筒式滤膜过滤器, 福州八方联众科学仪器有限公司; 水热反应釜, 北京霍桐实验仪器有限公司; 激光粒度分布仪, 美国麦克仪器公司; 超声波清洗器, 上海樱科自动化清洗设备有限公司; 振动磁强计, 北京中西远大科技有限公司; 电子天平, 厦门雄发仪器仪表有限公司; pH 计, 厦门精川自动化科技有限公司; 分光光度计, 深圳市科力易翔设备有限公司; 电热恒温水浴锅, 上海赫田科学仪器有限公司。

2 实验方法

2.1 纳米 Fe_3O_4 的制备

将 1.35 g 的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶于 40 mL 乙二醇中, 依次加入 3.6 g 的 $\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 与 1.0 g 聚乙二醇-4000 (PEG-4000), 形成均一溶液后再搅拌 30 min。随后将体系加入至 50 mL 水热反应釜里, 在 200°C 下反应 8 h, 待反应结束后冷却至室温。将得到的黑色产物用乙醇和水各洗涤 3 次, 烘干后备用, 此粉末为 Fe_3O_4 纳米粒子。

2.2 金纳米粒子的制备

称量 10 g 新鲜橘子皮浸泡在 100 mL 的去离子水中, 再将浸泡液在 4000 r/min 下离心 3 min, 取上清液作为橘皮浸泡工作液, 冰箱 4°C 保存。室温下, 把 20 mL 提前预冷到 4°C 的氯金酸溶液 (1%, W/V) 倒入反应皿中, 用磁力搅拌器缓和搅动; 2 min 后, 快速加入 5 mL 橘皮浸泡工作液, 观察颜色的变化, 即由黄色变为紫色再变为酒红色, 随即加快搅动速度, 搅拌 10 min, 结束反应, 得到金纳米粒子, 保存于 4°C 冰箱中。

2.3 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 纳米粒子的制备

将 2 g Fe_3O_4 纳米微粒置于 50 mL 含有 20% 乙

醇的水溶液中, 慢慢滴入 1 mL 的 APTES, 室温下搅动 7 h, 得到浅棕色带细微颗粒的悬浊液, 离心去上清, 用 0.1 mol/L 的 HCl-乙醇溶液磁分离洗涤 3 次产物, 烘干后备用, 即为氨基化修饰后的 Fe_3O_4 纳米微粒。

向 20 mL 金纳米粒子体系中快速加入 Fe_3O_4 纳米微粒 2 g, 在室温下高速搅拌 (150 r/min), 待溶液由棕色开始变淡时, 低速搅动 (50 r/min) 反应 12 h, 离心去上清, 沉淀物即为金磁微粒 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 。采用 BT-9300H 型激光粒度分布仪测验粒径的大小和分布状况。在透射电子显微镜 (TEM, JEM2100, 日本) 下观察材料的外观和粒径分布。采用振动磁强计 (VSMLDJ 9600) 在室温下测得吸附材料的磁学性能。

2.4 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 模拟酶检测过氧化氢催化动力学的测定

分别测定不同浓度的 H_2O_2 [0 (对照)、0.1、0.25、0.5、0.75、1.0 mol/L] 和 ABTS (5、10、15、20、25、30 mmol/L) 条件下, 先固定底物 H_2O_2 的浓度为 0.05 mol/L, 构建 100 μL 纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 粉末混悬液 (0.05 mg/mL) 和不同浓度 ABTS 溶液的催化动力学曲线。然后再固定 ABTS 底物的浓度为 25 mmol/L, 测定 100 μL 纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 粉末混悬液 (0.05 mg/mL) 和不同浓度 H_2O_2 溶液的催化动力学曲线。采用紫外-可见分光光度计进行时间驱动扫描, 在 420 nm 处每隔 30 s 测定反应初始 15 min 内的吸光度数值。采用米氏方程 $V = V_{\text{max}} \times [S] / (K_m + [S])$ 计算反应动力学参数, 进而评估模拟过氧化物酶的性能。转化常数 (K_{cat}) = $V_{\text{max}} / [E]$, $[E]$ 表示酶的总浓度。

2.5 单因素优化模拟酶催化检测 H_2O_2 体系

将 100 μL 不同浓度的纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 粉末混悬液 (0.01、0.025、0.05、0.075、0.1 mg/mL) 加入到盛有 3 mL HAc-NaAc 缓冲液 (pH = 4.4) 的离心管中, 再依次加入 200 μL ABTS 的溶液 (ABTS, 25 mmol/L) 和 500 μL H_2O_2 溶液 (0.05 mol/L), 缓和晃动均匀后, 把反应体系放入不同温度 (30、40、50、60、 70°C) 的水浴锅里, 分别水浴 (20、30、40、50、60 min) 后 (水浴进程中每隔 1 min 平和倒转 1 次) 取出, 利用磁铁将纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 吸附在离心管底部, 静置 1 min, 吸取上清液 3 mL, 采用微孔滤膜过滤上清液, 蒸馏水看作空白, 利用分光光度计测量 420 nm 处吸光度, 指标越大愈好, 重复试验 3 次。

2.6 正交设计优化 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 模拟酶催化检测 H_2O_2 体系

为分别考察 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 浓度 (A 因素)、催化温度 (B 因素) 和催化时间 (C 因素) 对整个实验体系的影响, 每个因素选取 3 个水平 (按照单因素试验优化得到), 采纳 $L_9(3^4)$ 正交表优化试验方案。误差来源为第三列, 采用极差分析法确定因素对体系的影响程度及其影响的主次顺序和优选案。

2.7 构建模拟酶检测 H_2O_2 工作曲线

在盛有 3 mL 的 $\text{HAc}-\text{NaAc}$ 缓冲液 ($\text{pH}=4.4$) 的离心管中, 依次加入 100 μL 的纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 粉末混悬液 (0.075 mg/mL)、200 μL ABTS 的溶液 (ABTS, 25 mmol/L) 和 500 μL 不同浓度的 (0.005、0.007 5、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08 mol/L) H_2O_2 标准液, 摇晃均匀后, 把反应体系置于 70 $^\circ\text{C}$ 水浴锅中, 水浴 60 min 后 (水浴过程中每隔 1 min 缓和倒转 1 次) 取出, 静置 1 min 后, 蒸馏水作空白, 利用分光光度计测定 420 nm 处的吸光度, 以吸光度为纵坐标, H_2O_2 浓度为横坐标绘制工作曲线。

3 结果与分析

3.1 金磁微粒的表征

从图 1 可以看出, Fe_3O_4 粒子多为球形, 平均粒径约为 130 nm, 粒子密集在一起, 有团聚现象, 这是鉴于磁性纳米粒子尺寸较小, 比表面积大, 比表面能高, 粒子之间偶极距作用使粒子轻易产生聚积, 继而削减其比表面能。

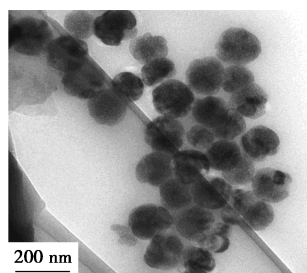


图 1 Fe_3O_4 纳米粒子的透射电子显微镜图片

由图 2 可知, 金纳米粒子形状均一, 呈现圆球型, 分散度很好, 没有聚集现象。金磁微粒作为复合纳米微粒, 表面包覆层含有金纳米粒, 内核为磁性材料。本研究选用 APTES 对 Fe_3O_4 纳米粒子进行表面氨基化, APTES 末端含有氨基, 以电荷自组装的方式为基础, 吸附结合金纳米粒子, 形成稳固的金磁微粒, 结果见图 3。从图 3 可知, Fe_3O_4 纳米粒子的

表面吸附有密集的金纳米粒子, 表明氨基化的磁性材料可以固载金纳米粒子。利用振动样品磁强计分别测量金磁微粒的磁滞回线组装型金磁微粒饱和磁化强度为 43 emu/g。

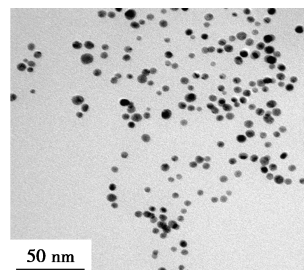


图 2 金纳米粒子的透射电子显微镜图片

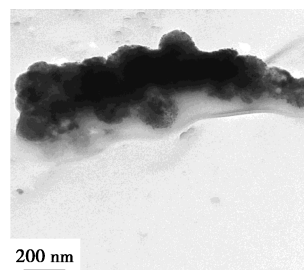


图 3 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 透射电子显微镜图片

3.2 模拟酶检测过氧化氢催化动力学研究

利用过氧化物酶动力学原理研究 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 的模拟酶特性, 模拟过程是双底物反应, 由于 2 种底物浓度一个不变, 一个可控变化, 可得出单个底物下的动力学数值。

从图 4(a) 和 (c) 可以看出, 随着底物浓度的增

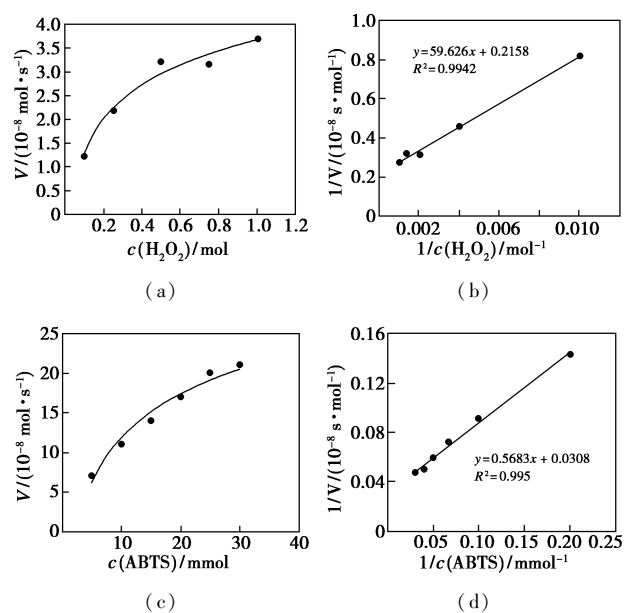


图 4 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ 纳米粒子模拟过氧化氢酶的稳态动力学研究

加,催化初速度逐渐提高,并在高浓度渐渐趋于饱和,该现象契合 Michaelis-Menten 方程^[15-16]。由图 4(b)可知,双倒数曲线图中,催化初速度和 H_2O_2 浓度呈现出良好的线性关系,两者双倒数曲线线性拟合的线性方程为 $y=59.626x+0.2158$, R^2 为 0.9942; 由图 4(d)可知,催化初速度和 ABTS 浓度的双倒数曲线线性拟合的线性方程为 $y=0.5683x+0.0308$, R^2 为 0.9950。根据双倒数曲线图,计算 $Fe_3O_4@Au$ 纳米粒子的催化动力学常数(见表 1)。结果如表 1 所示, $Fe_3O_4@Au$ 与底物 ABTS 的结合能力比与底物 H_2O_2 的结合能力更强,催化效率更高。

表 1 $Fe_3O_4@Au$ 纳米粒子模拟过氧化物酶催化动力学常数

催化剂	[E]/mol	底物	$K_m/$ (mmol·L ⁻¹)	$V_{max}/$ (mol·s ⁻¹)	$K_{cat}/$ s ⁻¹
$Fe_3O_4@Au$	1.32×10^{-10}	ABTS	0.0540	2.16×10^{-9}	16.36
$Fe_3O_4@Au$	1.32×10^{-10}	H_2O_2	0.0036	3.08×10^{-10}	2.33

3.3 单因素试验优化检测体系

从图 5(a)看出, $Fe_3O_4@Au$ 浓度在 0.01~0.075 mg/mL, 随 $Fe_3O_4@Au$ 浓度的增加吸光度逐渐增加。添加量在 0.075~0.1 mg/mL, 随 $Fe_3O_4@Au$ 浓度的增加吸光度出现下降趋势。在正交设计优化试验中, $Fe_3O_4@Au$ 浓度取 0.05、0.075、0.1 mg/mL。

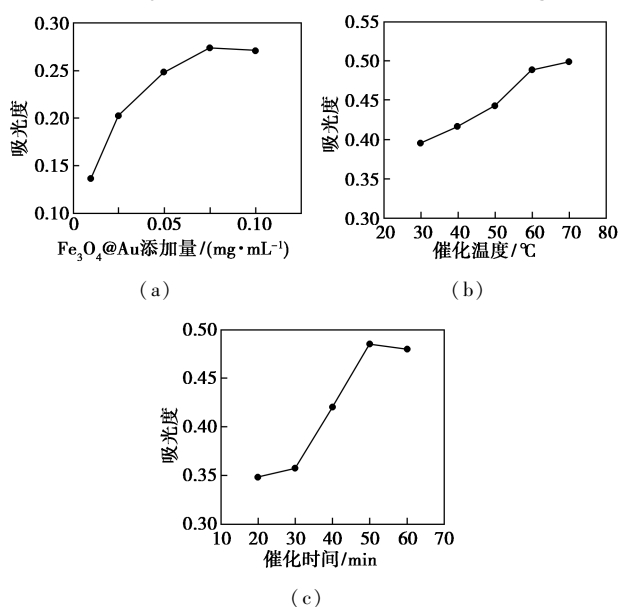


图 5 不同因素对催化体系的影响结果

利用上一步优化后的结果,选择 $Fe_3O_4@Au$ 浓度为 0.05 mg/mL 在 30 min 进行试验,考察温度对 $Fe_3O_4@Au$ 模拟酶催化体系的影响,结果如图 5(b)所示。当温度在 30~60 °C 时,催化温度可以影响吸

光度,随着催化温度不断升高,吸光度数值呈现出明显的上升趋势。在催化温度 60~70 °C 以后,吸光度数值变化缓慢平稳上升,表明温度过高会使活性减弱。因此选择 50、60、70 °C 参与之后的优化实验。

最后,根据上一步优化后的结果,选择 $Fe_3O_4@Au$ 浓度为 0.05 mg/mL,温度 40 °C 再进行试验,考察时间对催化体系的影响。结果如图 5(c)所示,在 20~50 min,随着催化时间的不断增加,吸光度则逐步上升;50~60 min 时,吸光度渐渐下降。结果表明,在一定的时间内, $Fe_3O_4@Au$ 浓度和催化温度相同时,催化时间在 50 min 内,随时间的增加吸光度逐渐上升,所以在正交优化设计试验时选择的催化时间是 40、50、60 min。

3.4 正交试验设计优化

设计正交实验,各因素取 3 个合适的水平,分别以 $Fe_3O_4@Au$ 浓度为 A 因素,催化温度为 B 因素,催化时间为 C 因素,考察它们对过氧化氢检测体系的影响。进行正交试验,将波长 420 nm 处的吸光度设为参考指标,选择 $L_9(3^4)$ 正交试验表,利用极差分析,确定最佳工艺。详见表 2。

表 2 正交实验结果分析

试验号	因素 A	因素 B	因素 C		吸光度
	$Fe_3O_4@Au$ 浓度/ (mg·mL ⁻¹)	温度/ °C	空列	时间/ min	
1	1(0.05)	1(50)	1	1(40)	0.706
2	1	2(60)	2	2(50)	0.761
3	1	3(70)	3	3(60)	1.525
4	2(0.075)	1	2	3	1.084
5	2	2	3	1	0.759
6	2	3	1	2	1.436
7	3(0.1)	1	3	2	0.568
8	3	2	1	3	0.773
9	3	3	2	1	0.788
K_1	2.992	2.358			2.253
K_2	3.279	2.293			2.765
K_3	2.129	3.749			3.382
k_1	0.997	0.786			0.751
k_2	1.093	0.764			0.922
k_3	0.710	1.250			1.127
极差 R	1.150	1.456			1.129
主次顺序	B>A>C				
优选案	$A_2C_3B_3$				

由表 2 得出,利用 DPS 软件进行极差分析,影响因素主次依次为 B>A>C,即催化时间> $Fe_3O_4@Au$ 浓度>催化温度,最优组合是 $A_2C_3B_3$,即 $Fe_3O_4@Au$

Au 浓度 0.075 mg/mL, 催化时间 60 min, 催化温度 70℃。

3.5 Fe₃O₄@Au 模拟酶检测过氧化物工作曲线的构建

基于 Fe₃O₄@Au 纳米粒子催化不同浓度的 H₂O₂ 氧化有机底物, 产生不同程度的颜色变化, 可以逆向对 H₂O₂ 进行定量测定。测出不同浓度 H₂O₂ 下的吸光度, 利用吸光度与 H₂O₂ 浓度的关系, 构建 H₂O₂ 测定的工作曲线, 如图 6。

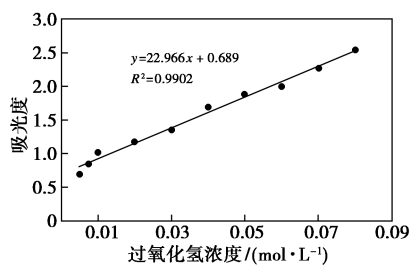


图 6 模拟酶检测 H₂O₂ 的工作曲线

由图 6 得知, 检测 H₂O₂ 的线性范围是 0.005 ~ 0.08 mol/L, 根据公式 $3s/b$, 得出检测限为 4.9 μmol/L。以催化时间、催化温度最优工艺条件, 选择 H₂O₂ 浓度 0.005、0.01、0.05 mol/L 进行回收率试验, 得出回收率分别为 91.06%、93.07%、94.65%, 反映出所创建的检测方法对 H₂O₂ 具有较高的准确度。

4 结论

采用氨基化法自组装制备的 Fe₃O₄@Au 纳米粒子, 饱和磁化强度为 43 emu/g。根据 Fe₃O₄@Au 模拟过氧化物酶测定 H₂O₂ 体系研究结果, 在 Fe₃O₄@Au 浓度为 0.075 mg/mL、催化时间为 60 min、催化温度为 70℃时, Fe₃O₄@Au 纳米粒子模拟酶催化 H₂O₂ 成效最佳。酶催化动力学结果显示, Fe₃O₄@Au 与底物 ABTS 的结合能力比与底物 H₂O₂ 的结合能力强, 催化效率高。回收率试验结果显示所建立的检测方法对检测过氧化氢具有较高的准确度, 具有很好的应用前景。

参考文献

- [1] 任东, 陈芳, 杨艳, 等. 微浓度过氧化氢的快速分光光度法检测[J]. 现代化工, 2018, 38(12): 231-233.
- [2] 常青, 江国栋, 唐和清. 测定痕量过氧化氢的实验研究[J]. 实验室科学, 2014, 17(2): 27-29.
- [3] 卓书航, 唐俊彦, 白戎彪, 等. 二硫化钼/氧化亚铜复合电极的构建及其对过氧化氢的电化学检测[J]. 广东化工, 2019, 46(3): 91-93.
- [4] Zhang J, Tu L, Zhao S, *et al.* Fluorescent gold nanoclusters based photoelectrochemical sensors for detection of H₂O₂ and glucose[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2015, 67: 296-302.
- [5] Wang J N, Yang X, Wei T X, *et al.* Fe-porphyrin-based covalent organic framework as a novel peroxidase mimic for a one-pot glucose colorimetric assay[J]. ACS Applied Bio Materials, 2018, 1(2): 382-388.
- [6] Zhu Y, Yang Z, Chi M, *et al.* Synthesis of hierarchical Co₃O₄@NiO core-shell nanotubes with a synergistic catalytic activity for peroxidase mimicking and colorimetric detection of dopamine[J]. Talanta, 2018, 181: 431-439.
- [7] 张倩, 付时雨, 李海龙, 等. 一种快速测定过氧化氢浓度的方法[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(3): 767-770.
- [8] Takeda K, Nojima H, Kuwahara K, *et al.* Nanomolar determination of hydrogen peroxide in coastal seawater based on the fenton reaction with terephthalate[J]. Analytical Sciences, 2018, 34(4): 459-464.
- [9] Wang L, Huang Z, Liu Y, *et al.* Fluorescent DNA probing nanoscale MnO₂ adsorption, dissolution by thiol, and nanozyme activity[J]. Langmuir, 2018, 34(9): 3094-3101.
- [10] Yu H, He Y. Seed-assisted synthesis of dendritic Au-Ag bimetallic nanoparticles with chemiluminescence activity and their application in glucose detection[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2015, 209: 877-882.
- [11] Li J, Xu Q, Wei X, *et al.* Electrogenated chemiluminescence immunosensor for Bacillus thuringiensis CryIAc based on Fe₃O₄@Au nanoparticles[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61: 1435-1440.
- [12] 刘竟文, 关桦楠, 韩博林. 金纳米粒子模拟过氧化物酶的初步研讨[J]. 农产品加工, 2018, (11): 6-9, 12.
- [13] 龚安华, 乔赞, 毛鑫雨, 等. 纳米四氧化三铁的制备及其催化过氧化氢降解罗丹明 B 废水的研究[J]. 染整技术, 2018, 40(9): 29-32.
- [14] 雷禄, 谢宇奇, 凌绍明, 等. 溶剂热法可控合成纳米四氧化三锰[J]. 无机盐工业, 2018, 50(6): 63-66.
- [15] Yu H, He Y. Seed-assisted synthesis of dendritic Au-Ag bimetallic nanoparticles with chemiluminescence activity and their application in glucose detection[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2015, 209: 877-882.
- [16] He W, Liu Y, Yuan J, *et al.* Au@Pt nanostructures as oxidase and peroxidase mimetics for use in immunoassays[J]. Biomaterials, 2011, 32: 1139-1147.
- [17] 苏紫珊, 刘小慧, 刘盛杰, 等. 四氧化三铁材料制备与表征——一个微型材料化学实验设计[J]. 广东化工, 2019, 46(3): 218-220.
- [18] Wang Q, Wei H, Zhang Z, *et al.* Nanozyme: An emerging alternative to natural enzyme for biosensing and immunoassay[J]. Trac Trends in Analytical Chemistry, 2018, 105: 218-224.
- [19] Huang L, Zhu W, Zhang W, *et al.* Layered vanadium(IV) disulfide nanosheets as a peroxidase-like nanozyme for colorimetric detection of glucose[J]. Microchimica Acta, 2018, 185(1): 7-13.
- [20] Fang T, Xie X X, Xu A Q, *et al.* Fabricating and regulating peroxidase-like activity of eggshell membrane-templated gold nanoclusters for colorimetric detection of staphylococcal enterotoxin B[J]. Talanta, 2019, 194: 634-642. ■