

评述与进展

二氧化铈基纳米酶的类过氧化物酶催化机理及其在比色传感领域的应用

李佳敏 罗莉君* 毕晓雅 刘晓红 李丽波 由天艳*
(江苏大学农业工程学院, 现代农业装备与技术教育部重点实验室, 镇江 212013)

摘要 纳米酶稳定性好, 并且可解决传统人工酶活性不足等难题, 因此引起了研究者的广泛关注。其中, 二氧化铈(CeO_2)作为催化领域最重要的稀土氧化物之一, 具有 $\text{Ce}^{4+} \leftrightarrow \text{Ce}^{3+}$ 快速氧化还原转化和存在氧化空位的特点, 表现出优异的类过氧化物酶活性。将 CeO_2 与其它材料结合形成 CeO_2 基纳米酶, 更有利于提高其催化性能。本文首先介绍了多种 CeO_2 基纳米酶, 讨论了其类过氧化物酶的催化机理、动力学和比色传感应用, 最后总结了 CeO_2 基纳米酶研究面临的挑战和未来的发展方向。

关键词 纳米酶; 二氧化铈基纳米复合材料; 类过氧化物酶活性; 比色传感; 评述

大多数天然酶是由氨基酸组成的蛋白质大分子。作为生物催化剂, 天然酶具有极高的底物特异性和催化效率, 可参与生物体内几乎所有的生物过程^[1]。天然酶在温和条件下具有优良的催化活性, 已被广泛研究并应用于生物技术、食品工业、农业、医药和能源生产等领域^[2-4]。然而, 由于天然酶在极端 pH 值或高温下容易失活, 并且制备和纯化成本高, 在很大程度上限制了其在工业生产和科学研究中的应用^[5]。

为了克服天然酶的限制性, 自 20 世纪 50 年代起, 研究者开始探索和开发具有更优性能的人工酶(图 1)。人工酶是利用受体(如环糊精、冠醚和杯芳烃)结合底物得到的具有与天然酶功能相似的催化物质。近年来, 纳米酶因其具有类酶特性, 被认为是新一代的人工酶^[6], 为人工酶的研究提供了新思路。与传统人工酶相比, 新型纳米酶不仅化学性质稳定、催化活性高、成本低, 还具有一些独特的性能, 如容易大规模制备、比表面积高、催化活性可调控等。研究表明, 纳米材料具有多种类酶活性^[7-8], 例如, 类氧化酶、类超氧化物歧化酶、类过氧化氢酶、类过氧化物酶以及类磷酸酶活性等, 已在食品分析、生物医

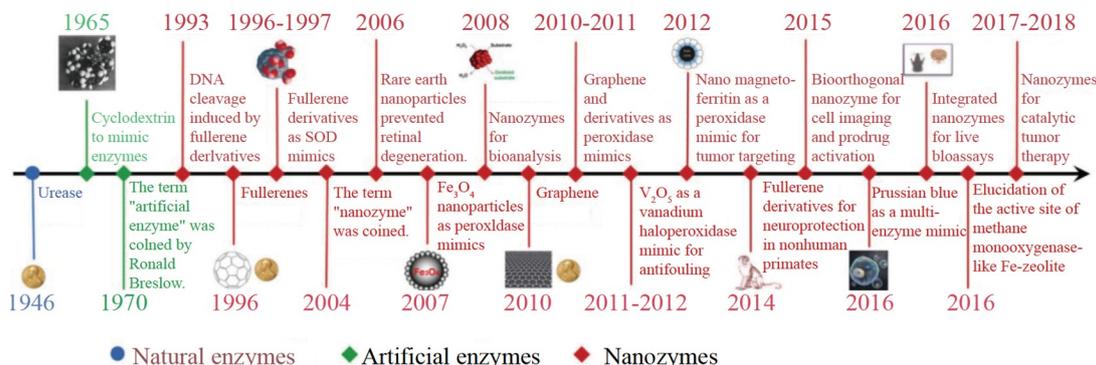


图1 纳米酶发展的简要时间图(列出天然酶和人工酶进行比较)^[8]

Fig.1 A brief timeline for the development of nanozymes (natural enzymes and artificial enzymes are listed for comparison)^[8]

2023-01-20 收稿; 2023-03-16 接受

国家自然科学基金项目(No. 22074055)、江苏省创新创业计划和江苏省高等学校重点学术项目发展项目(No. PAPD-2018-87)和江苏省与教育部共建协同创新中心项目(No. XTCX2008)资助。

* E-mail: ljliao@ujs.edu.cn; youty@ujs.edu.cn

学和环境工程等领域得到应用^[9-10]。其中,具有类过氧化物酶活性的纳米酶受到了广泛关注。2007年, Gao 等^[11]首次报道了 Fe₃O₄ 纳米粒子表现出类过氧化物酶的性能,自此具有类过氧化物酶活性的纳米材料受到了广泛关注,包括 CeO₂^[12-14]、Fe₃O₄^[11]、Co₃O₄^[15-17]、Pt^[18]和 Au^[19-20]等。

CeO₂ 作为催化领域最重要的稀土氧化物之一,具有合适的氧化空位以及在 Ce⁴⁺ ↔ Ce³⁺ 之间快速转换的能力^[21-23],因此表现出良好的类过氧化物酶活性。为了进一步提高 CeO₂ 的催化能力,研究者主要通过调节尺寸、改变形态和调整成分等策略进行改进^[24]。近期, Farnoosh 等^[4]对多种具有类过氧化物酶活性的无机纳米材料进行了详细介绍,但未对 CeO₂ 基纳米酶材料进行系统综述。与 CeO₂ 纳米酶相比, CeO₂ 基纳米复合材料具有更强的类过氧化物酶活性和稳定性^[3, 25]。本文总结了 CeO₂ 与 Co₃O₄^[26]、Fe₃O₄^[27]、TiO₂^[28]、贵金属^[29]和碳^[30]等材料结合形成的具有类过氧化物酶活性的 CeO₂ 基纳米酶,讨论了其类过氧化物酶催化机理和动力学特性,简要介绍了 CeO₂ 基纳米复合材料作为类过氧化物酶检测过氧化氢(H₂O₂)和葡萄糖等目标物的相关工作。最后,分析了目前 CeO₂ 基纳米酶研究面临的挑战,并对其发展前景进行了展望。

1 CeO₂基纳米酶的催化机理和动力学研究

1.1 催化机理

CeO₂ 基纳米酶具有良好的类过氧化物酶活性^[12-14],在 H₂O₂ 存在下,可以催化不同的过氧化物酶底物,如 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、邻苯二胺(OPD)和 2,2'-偶氮双(3-乙基苯硫唑啉)-6-磺酸(ABTS)等,氧化生成相应的有色产物^[12]。研究表明, CeO₂ 基纳米酶类过氧化物酶活性是通过 Ce³⁺和 Ce⁴⁺之间的可逆转换实现的^[31]。目前已报道的催化机理包括:(1)催化 H₂O₂ 产生羟基自由基(·OH);(2)底物和 H₂O₂ 发生电子转移^[32-33]。此外,一些典型的 CeO₂ 基纳米酶类过氧化物酶活性的催化机理如表 1 所示。

表1 CeO₂基纳米酶类过氧化物酶活性的催化机理

Table 1 Catalytic mechanism of peroxidase-like activity of CeO₂-based nanozymes

纳米酶 Nanozymes	催化机理 Catalytic mechanism	参考文献 Ref.
Co ₃ O ₄ @CeO ₂	产生羟基自由基(·OH)	[1]
γ-Fe ₂ O ₃ /CeO ₂ -PDI	产生羟基自由基(·OH)	[9]
Au/CeO ₂	产生羟基自由基(·OH)	[19]
Por-CeO ₂	产生羟基自由基(·OH)	[25]
Fe ₃ O ₄ @CeO ₂	产生羟基自由基(·OH)	[27]
CePO ₄ -CeO ₂	产生羟基自由基(·OH)	[31]
Ag ₂ S@CeO ₂	产生羟基自由基(·OH)	[34]
CeO ₂ -MMT	产生羟基自由基(·OH)	[35]
CeO ₂ @ZIF-8	产生羟基自由基(·OH)	[36]
Pt/rod-CeO ₂	发生电子转移(e ⁻)	[18]
CoFe-LDH/CeO ₂	发生电子转移(e ⁻)	[21]
CeO ₂ /NiO	发生电子转移(e ⁻)	[23]

注: PDI, 茈二酰亚胺; Por, 卟啉; MMT, 蒙脱石; LDH, 层状双氢氧化物。

Note: PDI, perylene diimide; Por, porphyrin; MMT, montmorillonite; LDH: layered double hydroxides.

一方面,有研究者认为 CeO₂ 基纳米酶的催化作用是通过·OH 的产生实现的,其催化机理如下:首先, Ce³⁺与 H₂O₂ 反应生成·OH 和 Ce⁴⁺(式 1),·OH 通过式 2 和式 3 的反应将 Ce⁴⁺还原为 Ce³⁺。通过重复上述反应,可以产生更多的·OH 与底物反应产生氧化态底物,如 TMB 生成 ox TMB(图 2)^[31]。



另一方面,也有研究者认为 CeO₂ 基纳米酶类过氧化物酶活性可能源自底物和 H₂O₂ 之间的电子转

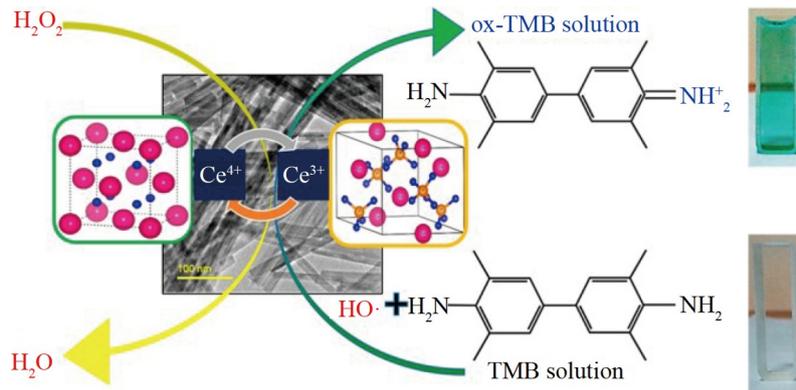


图2 CePO₄-CeO₂ 纳米酶的类过氧化物酶活性示意图^[31]

Fig.2 Schematic representation of the peroxidase-like activity of CePO₄-CeO₂ composite nanozymes^[31]

移。如图 3 所示, TMB 分子将孤对电子转移给 CeO₂ 纳米管表面的 CoFe-层状双氢氧化物(CoFe-LDH), 导致 CoFe-LDH 的电子密度和移动性增加。由于该复合材料耦合界面上的强相互作用, 这些电子可以将 Ce⁴⁺还原为 Ce³⁺。然后, Ce³⁺将电子转移给 H₂O₂, 并被氧化为 Ce⁴⁺, 进一步加速了电子转移, 使无色 TMB 被氧化生成蓝色 oxTMB^[21]。

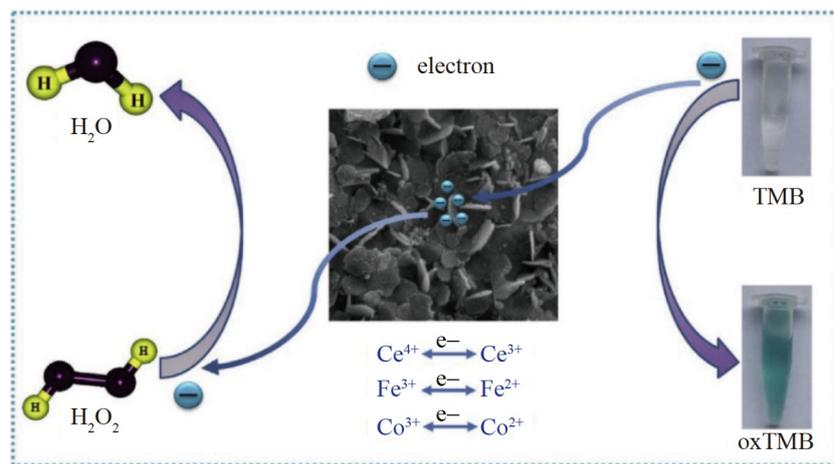


图3 CoFe-LDH/CeO₂ 催化下 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)与 H₂O₂ 的氧化示意图^[21]

Fig.3 Schematic illustration of the oxidation of 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine (TMB) with H₂O₂ under the catalysis of CoFe-LDH/CeO₂^[21]

1.2 Michaelis-Menten动力学

为了更好地了解 CeO₂ 的催化性能, 通常采用稳态动力学方法探究 CeO₂ 基纳米复合材料类过氧化物酶的催化性能^[3]。使用 TMB 和 H₂O₂ 作为各自的底物, 根据 Michaelis-Menten 函数计算催化反应的动力学参数^[3, 11]:

$$v = \frac{V_{\max} \times [S]}{K_m + [S]} \quad (4)$$

其中, v 是初始速度; V_{\max} 代表在底物(TMB 和 H₂O₂)饱和时的类酶材料的催化反应速度(最大反应速度); $[S]$ 为底物的浓度; K_m 是 Michaelis 常数, K_m 值越小, 酶和底物之间的亲和力越强。如表 2 所示, 与辣根过氧化物酶(HRP)的 K_m 和 V_{\max} 相比, 大多数 CeO₂ 基纳米酶的 K_m 和 V_{\max} 与其基本一致, 甚至更小, 表明其与底物 TMB 的亲和力更强, 并具有更高的催化活性。

2 基于CeO₂基纳米酶的比色传感研究

纳米材料的形态决定其性质, CeO₂ 的不同形态对其类过氧化物酶活性具有不同的影响。通过比较

表2 具有类过氧化物酶活性的CeO₂基纳米酶的Michaelis-Menten动力学典型参数Table 2 Typical parameters for Michaelis-Menten kinetics of some typical CeO₂-based nanozymes with peroxidase-like activity

纳米酶 Nanozyme	米氏常数 $K_m /$ (mmol/L)		最大反应速度 $V_{max} /$ (10^{-8} mol/(L·s))		参考文献 Ref.
	H ₂ O ₂	TMB	H ₂ O ₂	TMB	
HRP	3.70	0.430	8.71	10.0	[23]
CeO ₂ nanoparticles	64.6	0.046	5.07	0.94	[13]
CoO/CeO ₂	0.0210	1.81	2.80	2.70	[3]
Pt/cubed-CeO ₂	0.210	0.260	8.50	14.7	[7]
γ -Fe ₂ O ₃ /CeO ₂ -PDI	0.310	0.0970	1.68	5.13	[9]
Au/CeO ₂ CSNPs	44.7	0.290	2.23	3.90	[19]
CeO ₂ /NiO	56.2	0.0832	17.2	18.4	[23]
Por-CeO ₂	0.254	0.0854	1.31	435	[25]
TiO ₂ @CeO ₃	1.39	0.300	55.0	12.0	[28]
CeO ₂ /C nanowire	3.61	0.120	3.31	2.08	[30]
CeO ₂ /Zeolite Y	0.150	1.52	—	—	[32]
PDI-CeO ₂	0.0290	0.119	2.29	3.32	[33]
CeO ₂ -MMT	0.0105	3.40	1.03	1.01	[35]
CeO ₂ @ZIF-8	0.195	0.063	1.84	8.33	[36]
Co ₂ (OH) ₂ CO ₃ -CeO ₂	10.0	0.140	10.2	20.1	[37]
Cu ₂ (OH) ₃ Cl-CeO ₂	11.6	12.4	8.15	10.6	[38]

注: Au/CeO₂ CSNPs, Au/CeO₂核壳纳米颗粒; HRP: 辣根过氧化物酶。

Note: Au/CeO₂ CSNPs, gold (core)-CeO₂ (shell) nanoparticles (Au/CeO₂ CSNPs); HRP, horseradish peroxidase.

竹节状、八面体、球形和六面体形状的 CeO₂, Zhang 等^[12]发现,竹节状 CeO₂ 表现出最佳的类过氧化物酶活性,这可能是由于其比表面积大且表面功能基团氧含量高。Tian 等^[39]通过两步水热法合成了新型多孔 CeO₂ 纳米棒,与无孔 CeO₂ 纳米棒、CeO₂ 立方体、CeO₂ 八面体和 CeO₂ 纳米颗粒相比,多孔 CeO₂ 纳米棒比表面积大且 Ce³⁺ 含量较高,因此表现出更强的类过氧化物酶活性。该传感体系可用于乳腺癌细胞的检测,具有较好的分析性能。

除了调整 CeO₂ 的尺寸和形态外,与其它材料(如 Co₃O₄、Fe₃O₄、TiO₂、Au 和 Pt 等)复合制备 CeO₂ 基纳米酶是目前提高 CeO₂ 催化活性最常见且最有效的策略之一。在此基础上,通过调节纳米复合材料中各组分的比例,可获得具有优良类过氧化物酶活性的 CeO₂ 基纳米复合材料。下面将根据 CeO₂ 基纳米酶的成分分类进行具体论述。

2.1 含Co的CeO₂基复合纳米材料

具有正尖晶石结构的 Co₃O₄ 纳米颗粒的晶场稳定性高,在空气中 800℃ 以下非常稳定,是一种优良的催化剂材料。在 H₂O₂ 和 HRP 底物存在下,Co₃O₄ 纳米颗粒表现出类过氧化物酶性质。Wang 等^[16]研究了剑麻状 Co₃O₄ 纳米颗粒的类过氧化物酶活性。在此基础上,Alizadeh 等^[26]通过简单的化学沉积法制备了具有二维皱纹状结构的 Co₃O₄-CeO₂ 纳米片,球形 CeO₂ 纳米颗粒均匀分布在 Co₃O₄ 纳米片的表面。研究表明,与 Co₃O₄ 纳米片或 CeO₂ 纳米颗粒相比,Co₃O₄-CeO₂ 纳米酶的类过氧化物酶催化活性明显增强,在葡萄糖氧化生成的 H₂O₂ 参与下,可催化无色 TMB 转化为蓝色 oxTMB,基于此构建的纸基分析装置被成功用于葡萄糖的比色检测(图 4)。

Jampaiah 等^[40]研究了 Co₃O₄@CeO₂ 混合花状微球(Co₃O₄@CeO₂ HFM)的类过氧化物酶活性以及 Co₃O₄ 修饰量对催化性能的影响。10%(m/m) Co₃O₄@CeO₂ HFM(10Co₃O₄@CeO₂ HFM)表现出最高的催化活性,以 H₂O₂ 为底物,10Co₃O₄@CeO₂ HFM 的 $K_m = 7.09$ mmol/L。基于此构建的比色传感器用于检测葡萄糖时具有宽的线性范围(1.0×10^{-6} ~ 7.5×10^{-5} mol/L),检出限为 1.9×10^{-6} mol/L。此外,Zhu 等^[1]通过电纺

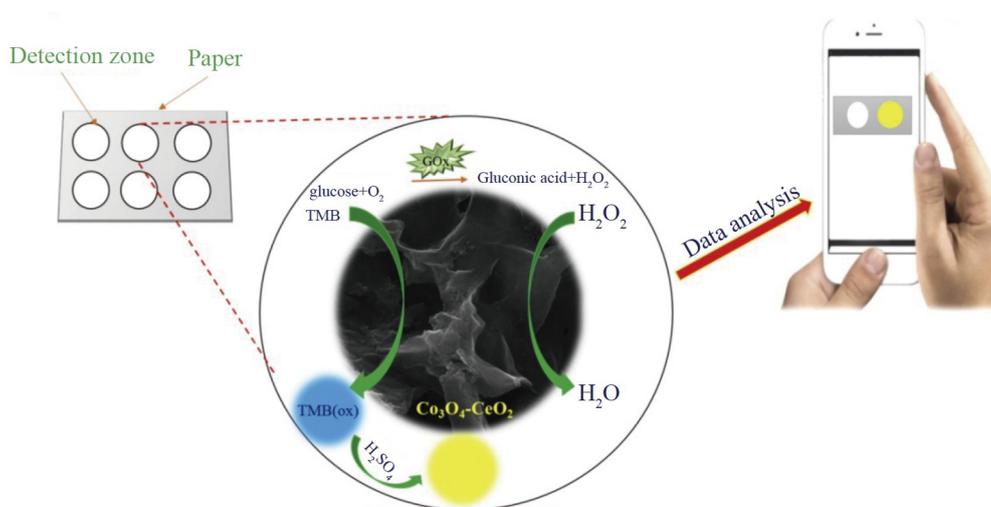


图4 基于 $\text{Co}_3\text{O}_4\text{-CeO}_2$ 纳米酶的纸基分析装置检测葡萄糖的示意图^[26]

Fig.4 Illustration and assay procedure of glucose detection on the paper-based chip based on $\text{Co}_3\text{O}_4\text{-CeO}_2$ nanozymes^[26]

和化学沉积法将 Co_3O_4 纳米颗粒封装在 CeO_2 纳米管内,制备了 $\text{Co}_3\text{O}_4\text{@CeO}_2$ 纳米管。动力学研究表明, $\text{Co}_3\text{O}_4\text{@CeO}_2$ 纳米管对 H_2O_2 的 $K_m = 0.350 \text{ mmol/L}$, 对 H_2O_2 的亲合力较高。该研究利用抗坏血酸(AA)和 H_2O_2 之间发生的氧化还原反应抑制 TMB 氧化,随着 AA 浓度增加,反应体系的颜色逐渐从蓝色变为无色。将此体系应用于比色检测 AA, 检出限为 $7.3 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ 。

为了进一步提高催化活性,研究者将多种纳米材料与 $\text{Co}_3\text{O}_4\text{-CeO}_2$ 复合制备得到了多种 CeO_2 基纳米酶。Liu 等^[15]制备了 $\text{Au/Co}_3\text{O}_4\text{-CeO}_x$ 纳米酶,基于此构建的传感器可灵敏检测 H_2O_2 。Chi 等^[41]构建了一种基于核壳结构 $\text{CeO}_2/\text{Co}_3\text{O}_4$ /聚(3, 4-亚乙基二氧噻吩)纳米纤维($\text{CeO}_2/\text{Co}_3\text{O}_4/\text{PEDOT}$)的比色传感器,由于 CeO_2 、 Co_3O_4 和 PEDOT 的协同作用,制备的纳米酶的催化活性高于 Co_3O_4 或 $\text{CeO}_2/\text{Co}_3\text{O}_4$ 。当 H_2O_2 作为底物时, $\text{CeO}_2/\text{Co}_3\text{O}_4/\text{PEDOT}$ 的 K_m 值(0.120 mmol/L)低于 $\text{Co}_3\text{O}_4\text{@CeO}_2$ (0.350 mmol/L)^[1]和 $\text{Au/Co}_3\text{O}_4\text{-CeO}_x$ (0.270 mmol/L)^[15]。

除 Co_3O_4 外,其它形式的 Co 也可与 CeO_2 结合形成具有优异类过氧化物酶活性的纳米材料。例如, Yang 等^[21]以木棉纤维为模板,通过简易的浸渍和煅烧等操作,采用水热法制备了一种 CoFe-层状双氢氧化物/ CeO_2 复合材料(CoFe-LDH/CeO_2)。由于 CoFe-LDH/CeO_2 具有独特的分层多孔网络结构,因此催化活性优异。此外, Ge 等^[3]通过一锅式溶剂蒸发法诱导聚环氧乙烷-块状聚苯乙烯的共组装策略合成了有序的介孔 CoO/CeO_2 异质结构(CoO/CeO_2)。制备的 CoO/CeO_2 具有较高的比表面积、双峰孔径、可调节的框架组成和高度结晶壁,类过氧化物酶活性良好,催化活性遵循 Michaelis-Menten 动力学。Alizadeh 等^[37]发现 $\text{Co}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3\text{-CeO}_2$ 也具有类过氧化物酶活性,基于此发展的纸基微流控免疫分析装置成功应用于肿瘤标志物癌胚抗原的比色检测,并可利用手机采集图像和软件输出相应的颜色数据,线性检测范围为 $0.002\sim 75.0 \text{ ng/mL}$, 检出限为 0.51 pg/mL 。

2.2 含Fe的 CeO_2 基复合纳米材料

由于含 Fe 的纳米材料也具有较好的类过氧化物酶活性^[42],因此在 CeO_2 中掺杂 Fe 也是提高催化性能的有效方法。Jampaiah 等^[22]采用水热法合成了不同 Fe 含量(3%、6%、9%和 12%, m/m)掺杂的 CeO_2 纳米棒(Fe/CeO_2),其中, 6% Fe/CeO_2 纳米棒的类过氧化物酶活性最高。更重要的是, 6% Fe/CeO_2 在苛刻的条件下仍能保持良好的类过氧化物酶活性,稳定性好。将 6% Fe/CeO_2 用于比色传感,实现了对葡萄糖的灵敏快速分析,线性范围为 $1.0 \times 10^{-6}\sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 检出限为 $3.4 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 。

另外,通过在磁性 Fe_3O_4 中空纳米颗粒表面生长 CeO_2 ,可制备核壳型纳米复合材料($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@CeO}_2$),该材料表现出良好的过氧化物酶活性,以 H_2O_2 为底物的 K_m (1.13 mmol/L)低于 HRP(3.70 mmol/L)^[23]和 6% Fe/CeO_2 (47.6 mmol/L)^[22]。此外,基于该复合材料的磁性,该纳米酶具有可去除性和可重复使用性,大

大拓宽了其实际应用范围。

Lian 等^[9]采用花二酰亚胺(PDI)修饰的磁性 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$ 纳米颗粒($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO-PDI}$)作为类过氧化物酶,用于维生素 C 的特异性比色分析。动力学分析发现, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO-PDI}$ 对 H_2O_2 ($K_m = 0.310 \text{ mmol/L}$) 和 TMB ($K_m = 0.097 \text{ mmol/L}$) 的亲合力比 HRP ($K_{m(\text{H}_2\text{O}_2)} = 4.70 \text{ mmol/L}$, $K_{m(\text{TMB})} = 0.430 \text{ mmol/L}$) 高^[23]。构建的传感器检测维生素 C 的线性范围为 $5.0 \times 10^{-7} \sim 5.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, 检出限为 $4.5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 。

2.3 含 TiO_2 的 CeO_2 基复合纳米材料

研究发现,含有 TiO_2 的 CeO_2 纳米复合材料的类过氧化物酶活性与 $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ 之间存在正相关的关系。Artiglia 等^[24]制备了一种厚度可控的核壳纳米颗粒($\text{TiO}_2@\text{CeO}_x$)。通过增加壳的厚度可有效调节 $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ 的比例,显著提高复合材料的类过氧化物酶活性。另外, TiO_2 纳米管具有独特的结构和物理化学特性,是一种很好的载体。Zhao 等^[28]成功制备了一种具有优异分散性的 $\text{CeO}_2/\text{TiO}_2$ 纳米管复合材料。研究表明, $\text{CeO}_2/\text{TiO}_2$ 纳米管复合材料比 $\text{CeO}_2/\text{TiO}_2$ 纳米线、 $\text{CeO}_2/\text{TiO}_2$ 纳米棒或 $\text{CeO}_2/\text{TiO}_2$ 纳米颗粒具有更高的类过氧化物酶活性。与 HRP 相比,该纳米酶($\text{CeO}_2/\text{TiO}_2$ 纳米管)的 K_m 值(0.04 mmol/L)更低,表明其对 H_2O_2 有很高的亲和力。该传感器检测 H_2O_2 的线性范围为 $5.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 检出限为 $3.2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ (图 5)。

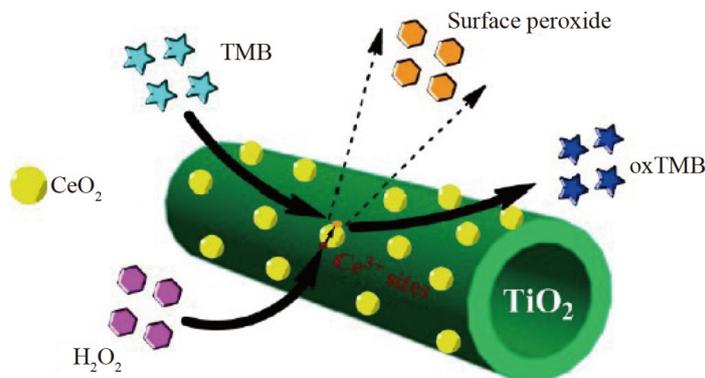


图5 H_2O_2 存在时 TMB 在 $\text{CeO}_2/\text{NT-TiO}_2@0.1$ 纳米材料上的氧化过程示意图^[28]

Fig.5 Schematic presentation for TMB oxidation in the presence of H_2O_2 over $\text{CeO}_2/\text{NT-TiO}_2@0.1$ ^[28]

2.4 含贵金属的 CeO_2 基复合纳米材料

与天然酶相比,单独贵金属纳米颗粒表现出较低的底物亲和力,但是贵金属掺杂的 CeO_2 基纳米酶表现出更强的催化活性。Bhagat 等^[19]通过异相成核过程制备了 Au 核和 CeO_2 壳纳米颗粒(Au/CeO_2 CSNPs),在相同浓度下, Au/CeO_2 CSNPs 的类过氧化物酶活性是金纳米颗粒的 2 倍。为了进一步提高催化活性, Zhang 等^[43]通过简单快速的自组装方法成功制备了一种核壳结构的 Ag-Au 纳米笼@ CeO_2 纳米酶($\text{Ag-Au NC}@/\text{CeO}_2$)(图 6A)。当 $\text{Ag-Au NC}@/\text{CeO}_2$ 中 Au 含量为 37.41% 时,具有最佳的类过氧化物酶活性。以 H_2O_2 为底物, $\text{Ag-Au NC}@/\text{CeO}_2$ 的 K_m 值(8.50 mmol/L)低于 Au/CeO_2 CSNPs(44.7 mmol/L)^[19],对 H_2O_2 底物显示出更高的亲和力。利用 $\text{Ag-Au NC}@/\text{CeO}_2$ 发展的比色法检测葡萄糖时具有宽的线性范围($2.0 \times 10^{-5} \sim 2.4 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$), 检出限低至 $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ (图 6B)。

尽管 Pt 纳米颗粒具有优异的性能,但由于容易发生聚集,影响了其催化活性。为了解决该难题, Liu 等^[18]制备了 Pt 纳米颗粒/ CeO_2 纳米棒复合材料($\text{Pt}/\text{rod-CeO}_2$), Pt 纳米颗粒均匀地修饰在 CeO_2 纳米棒的表面。该复合材料表现出优良的类过氧化物酶活性,基于此构建的比色传感器可用于 AA 的灵敏、高稳定性和选择性分析。Li 等^[7]设计制备了一种 Pt/CeO_2 立方体纳米酶($\text{Pt}/\text{cubed-CeO}_2$),具有优异的过氧化物酶活性且稳定性好。与 $\text{Pt}/\text{rod-CeO}_2$ ($K_{m(\text{H}_2\text{O}_2)} = 16.2 \text{ mmol/L}$, $K_{m(\text{TMB})} = 0.408 \text{ mmol/L}$)^[18]和 HRP 相比, $\text{Pt}/\text{cubed-CeO}_2$ 对 H_2O_2 和 TMB 均有较高的亲和力($K_{m(\text{H}_2\text{O}_2)} = 0.210 \text{ mmol/L}$, $K_{m(\text{TMB})} = 0.260 \text{ mmol/L}$)。构建的比色传感器可灵敏且选择性分析葡萄糖,检出限为 $4.1 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 。

2.5 含碳的 CeO_2 基纳米材料

碳基纳米材料由于稳定性高和结构可控性好,成为纳米酶的合适载体材料之一。最近, Dong 等^[30]

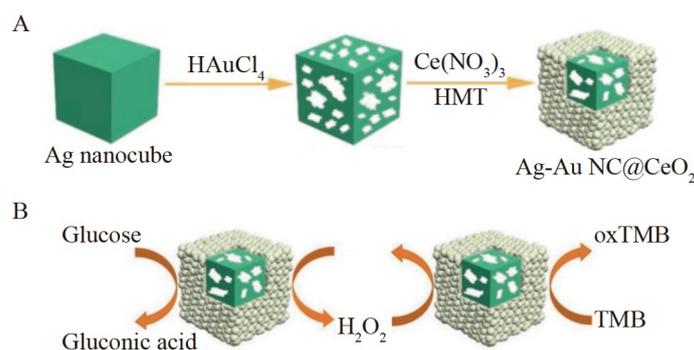


图6 (A) Ag-Au NC@CeO₂ 核壳纳米结构的形成示意图; (B) 基于 Ag-Au NC@CeO₂ 核壳纳米结构的葡萄糖氧化级联反应的示意图^[43]

Fig.6 (A) Schematic illustration of the formation of Ag-Au NC@CeO₂ core-shell nanostructures; (B) Schematic of the glucose oxidation cascade reactions by Ag-Au NC@CeO₂ core-shell nanostructures^[43]

利用金属有机框架热解技术制备了 CeO₂/C 纳米线、CeO₂/C 纳米棒和 CeO₂ 纳米颗粒。其中, CeO₂/C 纳米线具有良好的分散性,表现出最优的类过氧化物酶活性,设计的比色传感器可用于检测 H₂O₂。具有大比表面积和高负载能力的空心纳米结构在催化领域也引起了研究者的广泛关注。Wang 等^[44]制备了一种独特的具有类过氧化物酶活性的三维 C/CeO₂ 中空结构的纳米酶(3D C/CeO₂ HNFs),其 K_m 值(K_{m(H₂O₂)} = 0.921 mmol/L, K_{m(TMB)} = 0.0255 mmol/L)较小,与 CeO₂/C 纳米线(K_{m(H₂O₂)} = 3.61 mmol/L, K_{m(TMB)} = 0.120 mmol/L)相比,3D C/CeO₂ HNFs 对 H₂O₂ 和 TMB 具有更高的亲和力^[30]。基于此发展的比色生物传感方法用于检测 H₂O₂, 检出限低至 5.2 × 10⁻⁹ mol/L。

2.6 含铝硅酸盐的 CeO₂ 基复合纳米材料

以铝硅酸盐材料为载体(如蒙脱石(MMT)、沸石等)修饰的 CeO₂ 基纳米酶可有效防止复合材料聚集,进而增强其类过氧化物酶活性。MMT 具有大的比表面积、良好的化学和机械稳定性以及层状结构,是一种性能优异的载体。Sun 等^[35]通过简单的一步法合成了 CeO₂-MMT 纳米酶,该复合材料表现出比 CeO₂ 纳米颗粒或 MMT 更高的催化活性,基于此构建的检测体系可用于检测牛奶样品中的 H₂O₂。沸石 Y 是一种典型的结晶型微孔铝硅酸盐材料,具有较高的结构稳定性和可控的表面酸度,在大规模工业应用中被广泛用作催化剂载体。Cheng 等^[32]通过简单的浸渍法合成了 CeO₂/沸石 Y 纳米酶(CeO₂/Zeolite Y),该材料具有良好的类过氧化物酶活性。以 H₂O₂ 为底物, CeO₂/Zeolite Y 的 K_m(0.150 mmol/L)比 HRP 小,构建的比色传感器成功用于精准检测葡萄糖。Lian 等^[45]选择了 4 种纳米级矿物,包括卤钨矿(Hal)纳米管、坡缕石(Pal)纳米棒、蒙脱石(Mon)和水青石(LDH)纳米片,利用简单的一锅水热法原位合成了 CeO₂ 基纳米酶。通过对比发现, CeO₂/Pal 纳米酶表现出最优的过氧化物酶活性。基于此建立的比色传感策略成功应用于 L-青霉胺(LPA)和 Cu²⁺ 的检测,检出限分别为 8.37 和 9.80 μmol/L(图 7)。

2.7 含有机物质的 CeO₂ 基复合纳米材料

除了由上述无机材料组成的纳米复合材料外,无机-有机纳米复合材料也可作为类过氧化物酶。例如, Liu 等^[25]研究了表面功能化对 CeO₂ 纳米颗粒催化活性的影响,通过一步法合成了卟啉功能化的 CeO₂ 纳米颗粒(Por-CeO₂ NPs)。相对于 CeO₂ 纳米颗粒, Por-CeO₂ NPs 表现出更好的类过氧化物酶催化活性。底物浓度和初始反应速率之间的关系是一个典型的 Michaelis-Menten 曲线,以 H₂O₂ 和 TMB 为底物, Por-CeO₂ NPs 的 K_m(K_{m(H₂O₂)} = 0.254 mmol/L, K_{m(TMB)} = 0.0854 mmol/L)比 HRP 的 K_m 低。Lian 等^[33]证明了茈萘二酰亚胺功能化的 CeO₂ 基纳米酶(PDI-CeO₂ NC)具有明显的类过氧化物酶活性。基于谷胱甘肽可以使蓝色的 oxTMB 发生反应并生成无色的 TMB,开发了可用于谷胱甘肽比色分析的传感方法,在 1.0 × 10⁻⁶~4.0 × 10⁻⁶ mol/L 范围内呈良好的线性关系,检出限为 9.2 × 10⁻⁷ mol/L。Shen 等^[46]利用聚集诱导发光四苯乙烯(TPE)嵌入空心 CeO₂ 纳米球合成了一种具有高过氧化物酶活性的新型 CeO₂@TPE 纳米酶。在乙醇氧化酶(AOX)和邻苯二胺(OPD)存在下,基于酶级联激活的比率荧光-比色双模式体系(AOX/CeO₂@TPE+OPD)可用于检测甲硫醇(图 8)。

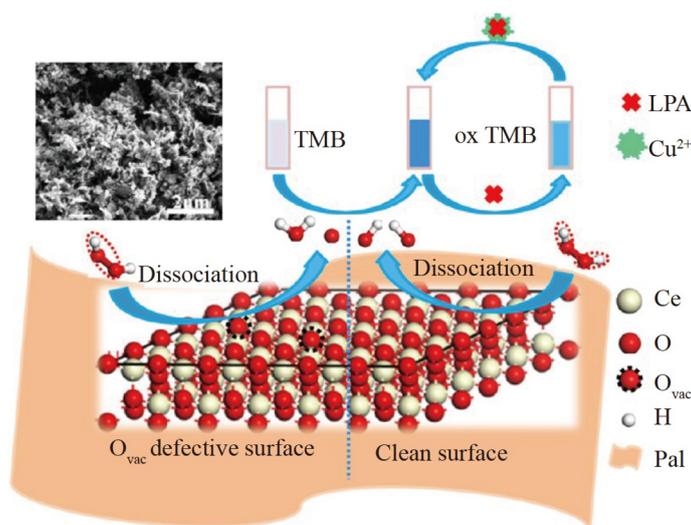


图7 类过氧化物酶 CeO_2 -Pal NC 的可能催化机理^[45]

Fig.7 Possible catalytic mechanism of CeO_2 -Pal NC as peroxidase mimic^[45]

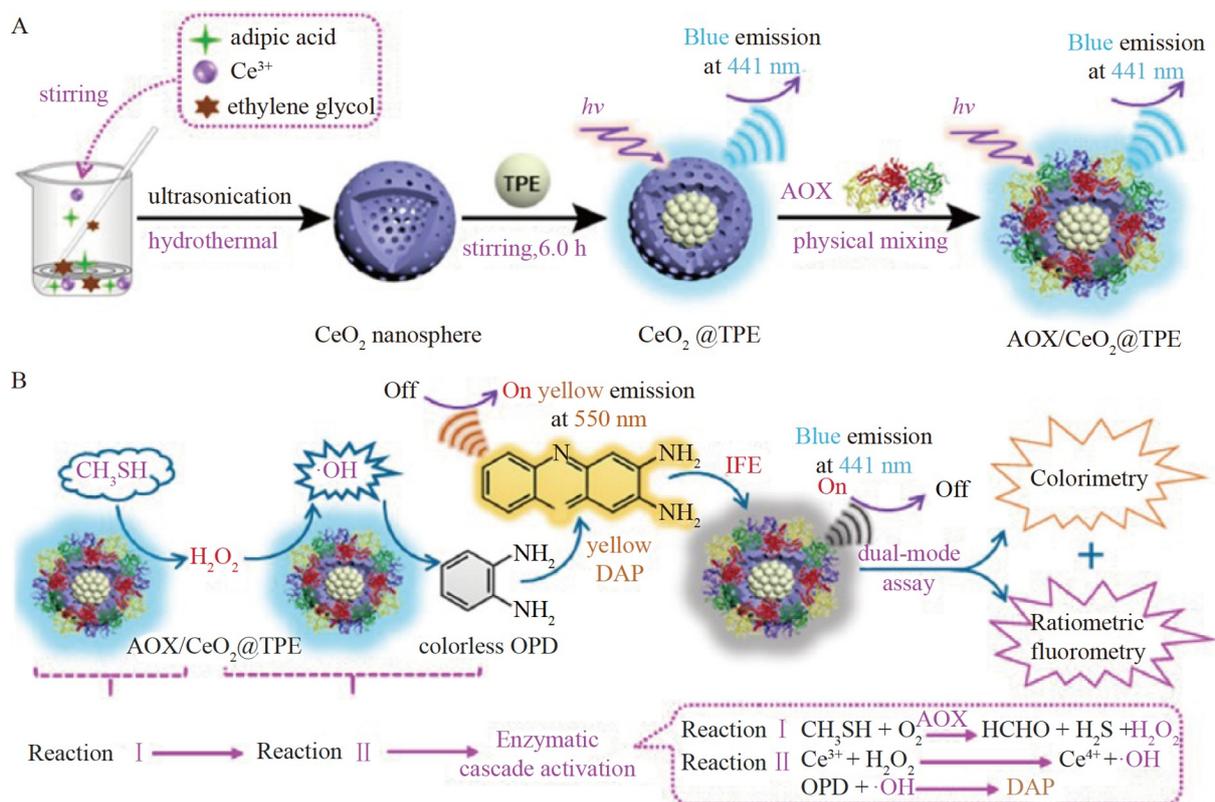


图8 酶级联激活体系 $\text{AOX}/\text{CeO}_2@TPE+OPD$ 对 CH_3SH 响应的比例荧光-比色双模式的总体设计示意图: (A) 双酶活性 AIE 荧光纳米酶 $\text{AOX}/\text{CeO}_2@TPE$ 的制备流程; (B) CH_3SH 触发酶级联激活比例荧光-比色双模检测 CH_3SH 的过程^[46]

Fig.8 General design of an enzymatic cascade activation system $\text{AOX}/\text{CeO}_2@TPE+OPD$ responding to CH_3SH in a ratiometric fluorescence-colorimetric dual-mode way: (A) Assembly process of dual-enzyme activity AIE fluorescent nanozyme $\text{AOX}/\text{CeO}_2@TPE$; (B) Process of CH_3SH -triggered enzymatic cascade activation for ratiometric fluorescence-colorimetric dual-mode detection of CH_3SH ^[46]

2.8 基于其它材料的 CeO_2 基复合纳米材料

近年来,介孔 NiO 纳米材料被证明也具有类过氧化物酶活性,而双金属氧化物纳米酶的协同效应可显

著提升其催化性能。Mu 等^[23]通过水热法将 NiO 与 CeO₂ 复合,制备了一种珊瑚状纳米酶(CeO₂/NiO)。研究表明,由于 NiO 的珊瑚状纳米结构,不同含量的 CeO₂ 都可均匀分散在其表面。与 NiO 或 CeO₂ 相比,当 Ce 含量为 2.5%时, CeO₂/NiO 复合材料的类过氧化物酶活性最强。基于此用于对 H₂O₂ 的比色检测,在 $5.0 \times 10^{-5} \sim 4.0 \times 10^{-2}$ mol/L 范围内具有良好的线性关系,检出限低至 8.8×10^{-7} mol/L。此外, Ce 金属盐-金属氧化物纳米酶也是一种良好的催化材料。Vinothkumar 等^[31]报道了一种利用水热法制备的不同 Ce³⁺/PO₄³⁻ 摩尔比的 CePO₄-CeO₂ 纳米棒。当 Ce³⁺/PO₄³⁻ 摩尔比为 10:1 时,类过氧化物酶活性最高,可用于灵敏检测葡萄糖。

此外,金属有机框架(MOF)材料也可用于增强酶促反应的性能,目前,基于 MOF 的 CeO₂ 纳米酶已成为研究热点。例如, Hassanzadeh 等^[47]制备了一种基于 CeO₂ 纳米颗粒嵌入到氨基功能化 MOF 的纳米酶(CeO₂@NH₂-MIL-88B(Fe))。与 CeO₂、NH₂-MIL-88B(Fe)或两者混合物相比, CeO₂@NH₂-MIL-88B(Fe)表现出优异的类过氧化物酶活性。基于此组装的三维微流控纸基分析装置可用于葡萄糖、果糖、蔗糖和麦芽糖的同时定量分析。

3 机遇与挑战

与天然酶相比, CeO₂ 基纳米酶具有高稳定性、低成本、可大规模制备、催化活性可控和生物相容性良好等优点。尽管 CeO₂ 基纳米酶克服了天然酶的许多缺点,但仍有一些亟需解决的难题。

(1) CeO₂ 基纳米酶的催化机理尚不完善,大多集中在催化过程中产生的羟基自由基或电子转移的研究。因此,未来的研究仍需着重于纳米材料的类过氧化物酶催化机理及催化性能调节机制。

(2) CeO₂ 基纳米酶的合理设计仍然是一个挑战。除了更好地了解催化机理外,还需将实验和计算机模拟相结合,为制备性能优异的 CeO₂ 基纳米酶提供理论指导。

(3) 发展纳米酶活性研究的标准化也很重要。在标准的催化动力学下,可以从 K_m 、 V_{max} 和催化速率常数(K_{cat})等方面对纳米酶进行定量比较。根据动力学参数,制定 CeO₂ 基纳米酶催化性能的统一标尺,以更好地描述纳米酶的催化性能。

(4) CeO₂ 基纳米酶除了具有类过氧化物酶活性外,还可能具有其它类酶活性,如类氧化酶和类磷酸酶等,因此,精准调控合成具有专一类过氧化物酶活性的 CeO₂ 基纳米酶也是另一挑战。

4 结论与展望

与大多数纳米酶类似, CeO₂ 基纳米酶可以大规模生产,并且比天然酶更稳定。Ce³⁺和 Ce⁴⁺之间的快速转化有利于提升 CeO₂ 基纳米酶的类过氧化物酶活性。同时, CeO₂ 基纳米酶良好的生物相容性有利于拓宽其在传感领域的应用范围。本文总结了具有类过氧化物酶活性的 CeO₂ 基纳米酶的最新研究进展、催化机理和动力学性质。基于 CeO₂ 基纳米酶的独特性能,研究者已经发展了多种比色分析方法,用于灵敏、简单、快速检测多种目标物,如 H₂O₂ 和葡萄糖等。CeO₂ 基纳米酶已引起广泛的关注,并将继续成为一个活跃且具有挑战的研究领域。

References

- [1] ZHU Y, YANG Z, SONG L, CHI M, LI M, WANG C, LU X. *Part. Part. Syst. Charact.*, 2018, 35(8): 1800049.
- [2] LI J M, LI L B, BI X Y, LIU X H, LUO L J, YOU T Y. *Sens. Actuators, B*, 2022, 360: 131483.
- [3] GE J, YANG X, LUO J, MA J, ZOU Y, LI J, LUO W, CHENG X, DENG Y. *Appl. Mater. Today*, 2019, 15: 482-493.
- [4] ATTAR F, SHAPHAR M G, RASTI B, SHARIFI M, SABOURY A A, REZAYAT S M, FALAHATI M. *J. Mol. Liq.*, 2018, 278: 130-144.
- [5] WANG X Y, GUO W J, HU Y H, WU J J X, WEI H. *Nanozymes: Next Wave of Artificial Enzymes*, Springer Nature, 2016: 2191-5415.
- [6] WANG X, HU Y, WEI H. *Inorg. Chem. Front.*, 2016, 3(1): 41-60.
- [7] LI Z, YANG X, YANG Y, TAN Y, HE Y, LIU M, LIU X, YUAN Q. *Chem. Eur. J.*, 2018, 24(2): 409-415.
- [8] WU J, WANG X, WANG Q, LOU Z, LI S, ZHU Y, QIN L, WEI H. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, 48(4): 1004-1076.
- [9] LIAN J, LIU P, LI X, GAO L, LUO X, ZHANG X, SHI Z, LIU Q. *Appl. Organometal Chem.*, 2019, 33(5): e4884.

- [10] GAI P, PU L, WANG C, ZHU D, LI F. *Biosens. Bioelectron.*, 2023, 220: 114841.
- [11] GAO L, ZHUANG J, NIE L, ZHANG J, ZHANG Y, GU N, WANG T, FENG J, YANG D, PERRETT S, YAN X. *Nat. Nanotechnol.*, 2007, 2(9): 577-583.
- [12] ZHANG B L, YU H Y, WANG J Q, WANG W B, ZHANG Q Y, ZHANG H P. *J. Am. Ceram. Soc.*, 2019, 102(4): 2218-2227.
- [13] JIAO X, SONG H, ZHAO H, BAI W, ZHANG L, LV Y. *Anal. Methods*, 2012, 4(10): 3261-3267.
- [14] LI H L, GAO H M, FANG H Y, GAO X B, SHI Y H, ZEB A, LI M L. *Solid State Sci.*, 2019, 97: 10601.
- [15] LIU H, DING Y N, YANG B C, LIU Z X, LIU Q Y, ZHANG X. *Sens. Actuators, B*, 2018, 271: 336-345.
- [16] WANG Q, LIU S, SUN H, LU Q. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2014, 53(19): 7917-7922.
- [17] CAO X, ZHAO S, LIU X, ZHU X, GAO Y, LIU Q. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2022, 414(16): 4767-4775.
- [18] LIU X, WANG X, QI C, HAN Q, XIAO W, CAI S, WANG C, YANG R. *Appl. Surf. Sci.*, 2019, 479: 532-539.
- [19] BHAGAT S, VALLABANI N V S, SHUTTHANANDAN V, BOWDEN M, KARAKOTI A S, SINGH S, J. *Colloid Interf. Sci.*, 2018, 513: 831-842.
- [20] LIU C, ZHANG M, GENG H, ZHANG P, ZHENG Z, ZHOU Y, HE W. *Appl. Catal., B*, 2021, 295: 120317.
- [21] YANG W, LI J, YANG J, LIU Y, XU Z, SUN X, WANG F, NG D H L. *J. Alloys Compd.*, 2020, 815: 152276.
- [22] JAMPAIAH D, REDDY T S, KANDJANI A E, SELVAKANNAN P R, SABRI Y M, COYLE V E, SHUKLA R, BHARGAVA S K. *J. Mater. Chem. B*, 2016, 4(22): 3874-3885.
- [23] MU J, ZHAO X, LI J, YANG E C, ZHAO X J. *Mater. Sci. Eng. C*, 2017, 74: 434-442.
- [24] ARTIGLIA L, AGNOLI S, PAGANINI M C, CATTELAN M, GRANOZZI G. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2014, 6(22): 20130-20136.
- [25] LIU Q Y, YANG Y T, LV X T, DING Y N, ZHANG Y Z, JING J J, XU C X. *Sens. Actuators, B*, 2017, 240: 726-734.
- [26] ALIZADEH N, SALIMI A, HALLAJ R. *Sens. Actuators, B*, 2019, 288: 44-45.
- [27] HUANG F, WANG J, CHEN W, WAN Y, WANG X, CAI N, LIU J, YU F. *J. Taiwan Inst. Chem. E.*, 2018, 83: 40-49.
- [28] ZHAO H, DONG Y, JIANG P, WANG G, ZHANG J. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2015, 7(12): 6451-6461.
- [29] JIANG H, WANG B, TANG R, TAN Y, QI M, ZHANG X. *Microchem. J.*, 2023, 185: 108251.
- [30] DONG W, HUANG Y. *Microchim. Acta*, 2020, 187: 11.
- [31] VINOTHKUMAR G, LALITHA A I, SURESH BABU K. *Inorg. Chem.*, 2019, 58(1): 349-358.
- [32] CHENG X, HUANG L, YANG X, ELZATAHRY A A, ALGHAMDI A, DENG Y. *J. Colloid Interf. Sci.*, 2019, 535: 425-435.
- [33] LIAN J, LIU P, JIN C, SHI Z, LUO X, LIU Q. *Microchim. Acta*, 2019, 186(6): 332.
- [34] LIAN J J, LIU P, LI X C, BIAN B, ZHANG X X, LIU Z X, ZHANG X, FAN G C, GAO L N, LIU Q Y. *Colloids Surf., A*, 2019, 565: 1-7.
- [35] SUN L F, DING Y Y, JIANG Y L, LIU Q Y. *Sens. Actuators, B*, 2017, 239: 848-856.
- [36] YANG T, LIU X, ZENG Z, WANG X, ZHANG P, FENG B, TIAN K, QING T. *Environ. Pollut.*, 2023, 316: 120643.
- [37] ALIZADEH N, SALIMI A, HALLAJ R. *Talanta*, 2018, 189: 100-110.
- [38] WANG N, SUN J, CHEN L, FAN H, AI S. *Microchim. Acta*, 2015, 182: 1733-1738.
- [39] TIAN Z, LI J, ZHANG Z, GAO W, ZHOU X, QU Y. *Biomaterials*, 2015, 59: 116-124.
- [40] JAMPAIAH D, SRINIVASA REDDY T, COYLE V E, NAFADY A, BHARGAVA S K. *J. Mater. Chem. B*, 2017, 5(4): 720-730.
- [41] CHI M, ZHU Y, YANG Z, GAO M, CHEN S, SONG N, WANG C, LU X. *Nanotechnology*, 2017, 28(29): 295704.
- [42] MU Z, WU S, GUO J, ZHAO M, WANG Y. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2022, 10(9): 2984-2993.
- [43] ZHANG L L, PAN J, LONG Y, LI J, LI W, SONG S Y, SHI Z, ZHANG H J. *Small*, 2019, 15(43): 1903182.
- [44] WANG N, DUAN J, SHI W, ZHAI X, GUAN F, YANG L, HOU B. *Microchim. Acta*, 2018, 185(9): 417.
- [45] LIAN J, LIU P, LIU Q. *J. Hazard. Mater.*, 2022, 433: 128766.
- [46] SHEN Y, WEI Y, GAO X, NIE C, WANG J, WU Y. *Environ. Sci. Technol.*, 2023, 57(4): 1680-1691.
- [47] HASSANZADEH J, AL LAWATI H A J, BAGHERI N. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 207: 114184.

Peroxidase-like Catalytic Mechanism of CeO₂-based Nanozymes and Their Colorimetric Sensing Applications

LI Jia-Min, LUO Li-Jun^{*}, BI Xiao-Ya, LIU Xiao-Hong, LI Li-Bo, YOU Tian-Yan^{*}
(*Key Laboratory of Modern Agricultural Equipment and Technology, Ministry of Education, School of Agricultural Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China*)

Abstract Over the past few decades, a multitude of artificial enzymes have been investigated. With the development of nanoscience, nanozymes have attracted widespread attention of researchers because they can solve the issues of insufficient activity of traditional artificial enzymes. As one of the most interesting and important rare earth oxides in catalysis, CeO₂ exhibits excellent peroxidase-like activity due to its fast Ce⁴⁺ ↔ Ce³⁺ redox switch and the existence of related oxygen vacancies. However, the combination of CeO₂ with other materials to form CeO₂-based nanozymes is beneficial to improve the catalytic performance. This review introduced a variety of CeO₂-based nanozymes, discussed their peroxidase-like catalytic mechanisms, kinetics, and colorimetric sensing applications. Finally, the current challenges and potential future directions of CeO₂-based nanozymes were summarized.

Keywords Nanozymes; CeO₂-based nanocomposites; Peroxidase-like activity; Colorimetric sensing; Review

(Received 2023-01-20; accepted 2023-03-16)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 22074055), the Innovation/Entrepreneurship Program of Jiangsu Province and Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (No. PAPD-2018-87) and the Jiangsu Province and Education Ministry Cosponsored Synergistic Innovation Center of Modern Agricultural Equipment (No. XTCX2008).