

# Fe-N共掺杂碳量子点作为高活性类过氧化物酶用于绿原酸比色检测

张敏<sup>1</sup>, 张文皓<sup>2</sup>, 李光英<sup>1</sup>, 王丽敏<sup>3</sup>, 单桂晔<sup>3</sup>

(1. 长春中医药大学附属医院, 长春 130021;

2. 青岛海关技术中心, 青岛 266112;

3. 东北师范大学物理学院, 长春 130024)

**摘要** 以L-组氨酸和七水合硫酸亚铁为前驱体, 通过一步水热法合成了具有类过氧化物酶活性的铁、氮共掺杂碳量子点(Fe-N-CDs). Fe的掺杂为CDs引入了丰富的活性位点, 增强了CDs的电子转移能力与催化效率. Fe-N-CDs能有效催化过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)分解产生羟基自由基( $\cdot$ OH), 进而氧化3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)生成在652 nm处有特征吸收的蓝色产物(oxTMB). 绿原酸(CGA)作为一种天然多酚类化合物, 广泛存在于植物中, 具有良好的抗氧化性能及抗抑郁作用. 本文利用CGA可还原oxTMB使其褪色的性质, 建立了吸光度变化值与CGA含量间的定量关系, 从而构建了一种用于检测CGA的比色传感平台. 实验结果表明, 该方法具有良好的选择性、抗干扰能力与快速响应特性, 可用于药物及食品中抗氧化成分的比色分析, 为相关产品的质量评估与抗抑郁药物开发提供了新的分析手段.

**关键词** 碳点; 纳米酶; 绿原酸; 比色检测

中图分类号 O657

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20250289

## Fe-N co-Doped Carbon Quantum Dots as Highly Active Peroxidase Mimics for Colorimetric Detection of Chlorogenic Acid

ZHANG Min<sup>1</sup>, ZHANG Wenhao<sup>2</sup>, LI Guangying<sup>1\*</sup>, WANG Limin<sup>3</sup>, SHAN Guiye<sup>3\*</sup>

(1. The Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, China;

2. Technology Center of Qingdao Customs, Qingdao 266112, China;

3. School of Physics, Northeast Normal University, Changchun 130024, China)

**Abstract** Fe-N-CDs nanoparticles were successfully prepared by one-step hydrothermal method using L-histidine and Fersulfate heptahydrate(FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) as precursors. The introduction of Fe atoms produced more active sites on the surface of carbon dots, promoted the electron transfer in the catalytic process, and thus improved the catalytic efficiency of the material. The Fe-N-CDs nanoparticles effectively catalyzed the decomposition of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) to generate hydroxyl radicals( $\cdot$ OH), which subsequently oxidized 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB) to form a blue oxidation product(oxTMB) with a characteristic absorption peak at 652 nm. Curcumin, a natural polyphenolic compound widely found in plants, exhibits excellent antioxidant properties and antidepressant effects. Leveraging the ability of curcumin to reduce oxTMB and cause its color to fade, a quantitative relationship between the change in absorbance and the curcumin content was established. This enabled the development of a colorimetric

收稿日期: 2025-10-10. 网络首发日期: 2025-11-13.

联系人简介: 李光英, 女, 博士, 教授, 主要从事中医药应用方面的研究. E-mail: 978399297@qq.com

单桂晔, 女, 博士, 教授, 主要从事功能性纳米催化材料合成方面的研究. E-mail: shangy229@nenu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 1257041767)和吉林省自然科学基金(批准号: 20200201582JC)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.1257041767) and the Natural Science Foundation of Jilin Province, China (No.20200201582JC).

sensing method for the detection of curcumin. The experimental results demonstrated that this method possesses good selectivity, anti-interference capability and rapid response characteristics. It can be applied for the colorimetric analysis of antioxidant components in pharmaceuticals and food products, offering a new analytical approach for quality assessment of related products and the development of antidepressant drugs.

**Keywords** Carbon dots; Nanoenzymes; Chlorogenic acid; Colorimetric detection

绿原酸(Chlorogenic acid, CGA)是金银花、菊花、杜仲、茵陈和蒲公英等多种中药材的主要有效成分或标志性成分之一<sup>[1]</sup>。作为一种强效的天然抗氧化剂,CGA的含量检测是评价植物提取物、食品、药品及生物样品整体抗氧化性能的关键指标<sup>[2]</sup>。从结构上看,CGA是由咖啡酸与奎宁酸通过酯化反应形成的酯类化合物,具有清除自由基、抑制脂质过氧化以及保护细胞免于氧化损伤的功能<sup>[3-6]</sup>。研究表明,CGA还具有良好的抗抑郁活性,被认为是一种安全、具有潜力的抗抑郁候选药物<sup>[7]</sup>。因此,建立准确、可靠的CGA浓度检测方法,对于其在药品与食品中的应用具有重要意义,同时也为抗抑郁药物的研发提供了方法与思路。

目前,高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法和毛细管电泳法是CGA检测的主要研究手段<sup>[8-11]</sup>。然而,这些方法普遍存在仪器设备昂贵、实验步骤复杂、检测周期长以及对操作人员技术要求高等局限性。因此,开发快速、准确且操作简便的CGA检测新方法至关重要。比色检测是一种简便的分子检测技术,其基本原理为依赖酶催化分解生物活性物质,生成可检测的特征产物<sup>[12,13]</sup>。然而,天然酶的实际应用常受限于诸多挑战,例如稳定性差、制备与储存成本高、对极端反应条件敏感以及难以回收再利用等问题<sup>[14,15]</sup>。具有类酶催化活性的纳米材料(纳米酶)因具有制备与纯化成本低、易于修饰且催化稳定性高等优势而备受关注<sup>[16-18]</sup>。其中,生物质碳点(Carbon dots, CDs)由于无毒、生物安全及环境友好等特性已成为纳米酶应用的研究热点。碳点展现出可调的酶模拟活性、强大的微生物粘附亲和力及优异的生物相容性<sup>[19,20]</sup>。其表面易于功能化修饰,可通过杂原子掺杂(如N、S和Fe)或表面基团修饰等方法来设计其催化活性<sup>[21,22]</sup>。至关重要的是,杂原子掺杂能有效调控碳点的电子结构和表面活性位点,从而显著增强其催化活性,同时提升检测的灵敏度和特异性。

本研究采用一步水热法获得具有类过氧化物酶活性的铁氮共掺杂碳点(Fe-N-CDs)材料,该材料结合了铁元素的类酶催化活性与氮掺杂带来的高量子产率的优势,能高效催化过氧化氢( $H_2O_2$ )分解。该反应产生的活性氧自由基(如 $\cdot OH$ )可将无色的显色底物3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)氧化为蓝色的氧化产物(oxTMB)。CGA作为一种强还原性多酚类化合物,能够竞争性地消耗反应体系中的自由基,从而抑制oxTMB的生成,导致显色体系吸光度下降。基于上述原理,建立了CGA的比色检测方法。本文制备的Fe-N-CDs具有更高的催化效率和更低的检测限,并具备良好的选择性与抗干扰能力,适用于多种复杂样品基质中CGA的检测,也可为CGA的基础研究以及抗抑郁药物的开发提供帮助。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

L-组氨酸(His)和七水合硫酸亚铁( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ),纯度99%,罗恩试剂(上海)有限公司;TMB,分析纯,上海谱振生物科技有限公司;过氧化氢( $H_2O_2$ ),质量分数30%,上海国药集团化学试剂有限公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris)、醋酸钠、冰乙酸和盐酸,分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;CGA,纯度99%,上海谱振生物科技有限公司。

Tensor II型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR),德国Bruker公司;D8 Discover型X射线衍射仪(XRD),德国Bruker公司;UV-2600i型紫外-可见分光光度计,日本岛津仪器有限公司;Escalab 250Xi型X射线光电子能谱仪(XPS),美国赛默飞仪器公司;Fei Tecnai G2 TF20型场发射透射电子显微镜(FETEM),美国FEI公司;Bruker A300型电子顺磁共振波谱仪(EPR),德国Bruker公司。

### 1.2 实验过程

1.2.1 Fe-N-CDs和N-CDs的制备 将1.0 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 和0.2 g L-组氨酸加入20 mL去离子水中,搅拌

10 min后,将混合溶液转移至50 mL内衬聚四氟乙烯的高压反应釜中,于180 °C下加热8 h,得到褐色溶液.反应结束后,过滤除去不溶性杂质,将澄清的滤液置于透析袋(500 Da)中纯化溶液约5 h.最后,经冷冻干燥后得到红褐色N-CDs. N-CDs粉末的制备与纯化方法与Fe-N-CDs相同,只是在反应体系中不加入 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

1.2.2 Fe-N-CDs的类过氧化物酶活性和动力学分析 TMB是表征类过氧化物酶活性的常用显色底物.为评估Fe-N-CDs的催化活性,向2 mL pH值为4的乙酸-乙酸钠(HAc-NaAc)缓冲液中加入40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Fe-N-CDs, 1 mmol/L TMB和0.1 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ .将反应混合物于20 °C避光孵育15 min后,立即使用紫外-可见分光光度计记录其在350~800 nm波长范围内的吸收光谱. Fe-N-CDs的催化活性通过其催化生成的oxTMB在652 nm处的特征吸收峰强度进行表征.由于纳米酶的催化活性易受反应环境影响,在保持组分浓度及反应时间(15 min)不变的条件下,在0~70 °C范围内,每隔10 °C进行一次测试.在pH值2.0~7.0范围内,pH值每增大1.0进行一次测试.

在确定的最佳反应条件(温度、pH值及Fe-N-CDs浓度)下,进行稳态动力学测试.固定 $\text{H}_2\text{O}_2$ 浓度(0.1 mmol/L),在较宽范围内改变TMB浓度(0.05~1.00 mmol/L);固定TMB浓度(1 mmol/L),在较宽范围内改变 $\text{H}_2\text{O}_2$ 浓度(0.01~0.50 mmol/L).用Michaelis-Menten方程进行非线性回归拟合.

1.2.3 Fe-N-CDs的类过氧化物酶催化机制 使用5,5'-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(DMPO)作为羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )的特异性捕获剂.将含有30  $\mu\text{L}$  5 mmol/L DMPO、30  $\mu\text{L}$  5 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ 和30  $\mu\text{L}$  1 mg/mL Fe-N-CDs的溶液充分混合,立即转移至玻璃毛细管中密封.反应混合物在室温下孵育2 min后进行EPR检测.作为对照,同时检测仅含30  $\mu\text{L}$  5 mmol/L DMPO的溶液.

1.2.4 CGA的比色检测 在总体积为2 mL的反应体系中,依次加入80  $\mu\text{L}$ 浓度为1 mg/mL的Fe-N-CDs溶液、200  $\mu\text{L}$ 浓度为10 mmol/L的TMB溶液、20  $\mu\text{L}$ 浓度为0.01 mol/L的 $\text{H}_2\text{O}_2$ 溶液及1.7 mL pH值为3的HAc-NaAc缓冲液,再加入不同浓度的CGA标准溶液.所有反应均在室温下进行.反应混合液在室温下避光孵育15 min后,使用紫外-可见分光光度计于最大吸收波长处( $\lambda_{\text{max}}=652$  nm)检测蓝色氧化产物oxTMB的吸光度(A).CGA的浓度通过其抑制oxTMB生成的程度进行定量.

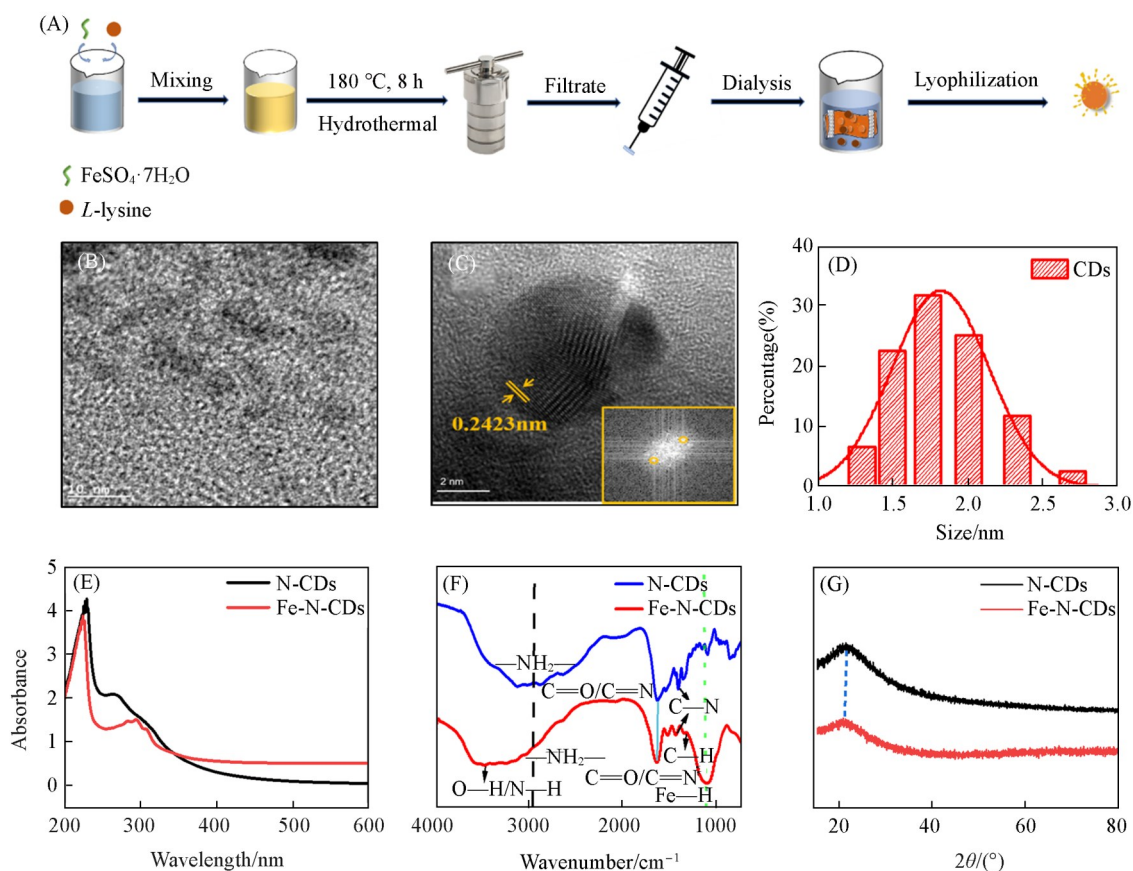
1.2.5 CGA检测的选择性及抗干扰性评价 分别选取L-甘氨酸(Gly)、L-甲硫氨酸(Met)、L-精氨酸(Arg)、L-赖氨酸(Lys)、L-脯氨酸(Pro)、L-组氨酸(His)、 $\alpha$ -乳糖( $\alpha$ -Lactose)及 $\text{Ca}^{2+}$ (以 $\text{CaCl}_2$ 形式)、 $\text{K}^+$ (以KCl形式)、 $\text{Na}^+$ (以NaCl形式)和 $\text{Zn}^{2+}$ (以 $\text{ZnCl}_2$ 形式)作为潜在的干扰物质.配制与待测CGA浓度相当(6 mmol/L)的各干扰物溶液.在与1.2.4节中CGA定量检测完全相同的条件下,分别将每种干扰物单独加入反应体系替代CGA,检测其引起的吸光度变化.通过比较CGA与各干扰物在相同浓度下引起的吸光度信号变化差异,评估方法对CGA检测的选择性.

将含有干扰物和CGA的混合样品与不含干扰物、仅含相同浓度CGA的样品在652 nm处的吸光度进行比较,计算回收率以评估共存干扰物对CGA定量检测结果的影响.

## 2 结果与讨论

### 2.1 Fe-N-CDs纳米酶的结构表征

以L-组氨酸和 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 为前驱体,通过一步水热法成功合成了Fe-N-CDs[图1(A)].透射电子显微镜(TEM)照片[图1(B)]显示,所合成的Fe-N-CDs呈均匀分散的准球形结构,粒径分布较窄[图1(D)];由高分辨透射电子显微镜(HRTEM)照片[图1(C)]可观测到清晰的晶格条纹,晶面间距为0.242 nm. Fe-N-CDs的紫外-可见(UV-Vis)吸收光谱[图1(E)]在约224 nm和294 nm处存在特征吸收峰.其中,224 nm处的吸收峰归属于芳香族 $\text{C}=\text{C}$ 结构的 $\pi-\pi^*$ 电子跃迁,而294 nm处的吸收峰则归属于 $\text{C}=\text{O}$ 和 $\text{C}=\text{N}$ 等含氧/氮基团的 $n-\pi^*$ 电子跃迁.与未掺杂铁的N-CDs相比,Fe-N-CDs在224 nm处的吸收峰发生了红移.这表明铁元素的掺杂可能引入了新的电子态或扩展了碳点的共轭体系.在Fe-N-CDs FTIR光谱[图1(F)]中,3467  $\text{cm}^{-1}$ 处的宽峰对应于O—H和/或N—H键的伸缩振动,2958  $\text{cm}^{-1}$ 处的峰归属于— $\text{CH}_2$ —的C—H伸缩振动,1633  $\text{cm}^{-1}$ 处的强吸收峰归属于 $\text{C}=\text{O}$ (羰基)和 $\text{C}=\text{N}$ (亚胺/腈



**Fig. 1** Schematic illustration of the hydrothermal synthesis for Fe and N co-doped carbon dots(Fe-N-CDs) (A), TEM image(B), HRTEM image(C) and size distribution histogram(D) of Fe-N-CDs, UV-Vis absorption spectra(E), FTIR spectra(F) and XRD patterns(G) of N-CDs and Fe-N-CDs

基)的伸缩振动,  $1432\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收带与C—N键的伸缩振动相关,  $1378$ 和 $1091\text{ cm}^{-1}$ 处的峰可分别指认为C—H变形振动和可能的Fe—N键特征吸收<sup>[23,24]</sup>. FTIR谱图表明Fe-N-CDs表面富含含氧(—OH, C=O)和含氮(—NH, C=N, C—N)官能团, 这有助于其在水中保持良好的分散稳定性. 与未掺杂样品相比, Fe-N-CDs中C—N键的特征峰位置可能因Fe—N配位作用而发生蓝移. Fe-N-CDs和N-CDs的XRD谱图[图1(G)]均在约 $2\theta=21.8^\circ$ 处出现了宽衍射峰, 归属于石墨碳的(002)晶面<sup>[25]</sup>. 这表明Fe的掺杂并未引起碳基质主体晶格的显著膨胀, 意味着铁并非以嵌入碳层间的方式存在.

X射线光电子能谱(XPS)全谱[图2(A)]分析表明, Fe-N-CDs由C, N, O和Fe元素组成, 其中O元素质量分数为59.54%, Fe, C和N的质量分数分别为16.91%, 15.26%和8.26%. 在 $C_{1s}$ 的精细XPS光谱[图2(B)]中, 在284.8, 286.1和288.4 eV处存在3个特征峰, 分别归属于C—C, C—O及C=O/C=N键.  $N_{1s}$  XPS谱图[图2(C)]可解卷积为两个子峰, 其中399.4 eV处的峰对应于吡咯型氮(C—N), 400.9 eV处的峰归属于石墨型氮(N嵌入 $sp^2$ 碳骨架).  $O_{1s}$  XPS谱图[图2(D)]被分解成两个峰, 在531.5和532.3 eV处的双峰分别归属于C=O和C—OH. 在 $Fe_{2p}$ 的精细XPS光谱[图2(E)]中, 710.75和724.125 eV处的特征峰分别对应于 $Fe_{2p_{3/2}}$ 和 $Fe_{2p_{1/2}}$ 状态, 表明 $Fe^{2+}$ 存在于Fe-N-CDs中. 此外, 714.35和728.1 eV处的强峰来自 $Fe^{3+}$ <sup>[26-28]</sup>. XPS谱图证实Fe已掺杂至碳点骨架中, 与FTIR谱图中 $1091\text{ cm}^{-1}$ 处Fe—N键的特征峰相互印证. 同时, 材料表面丰富的含氧/氮官能团(—COOH, —OH, C—N—H)赋予了材料亲水性, 能够在生物介质条件下具有良好的分散性.

## 2.2 Fe-N-CDs的类过氧化物酶活性

为了评估Fe-N-CDs的类过氧化物酶活性, 以TMB作为显色剂, 通过检测其在Fe-N-CDs/ $H_2O_2$ 体系

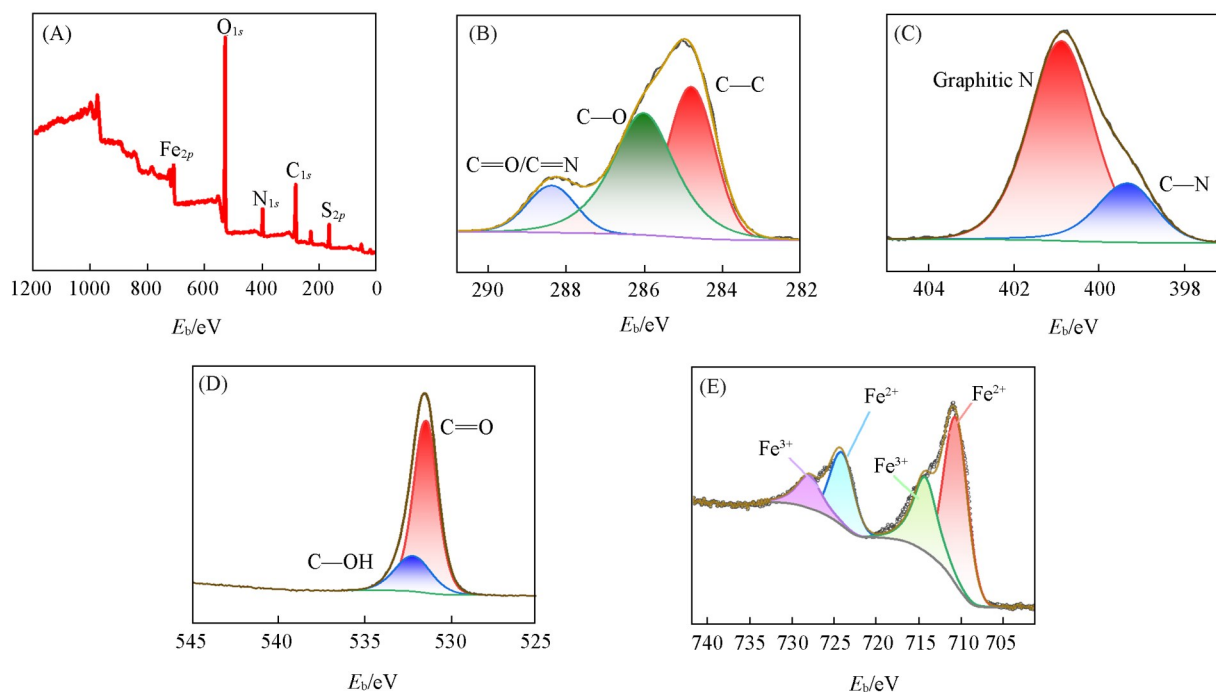
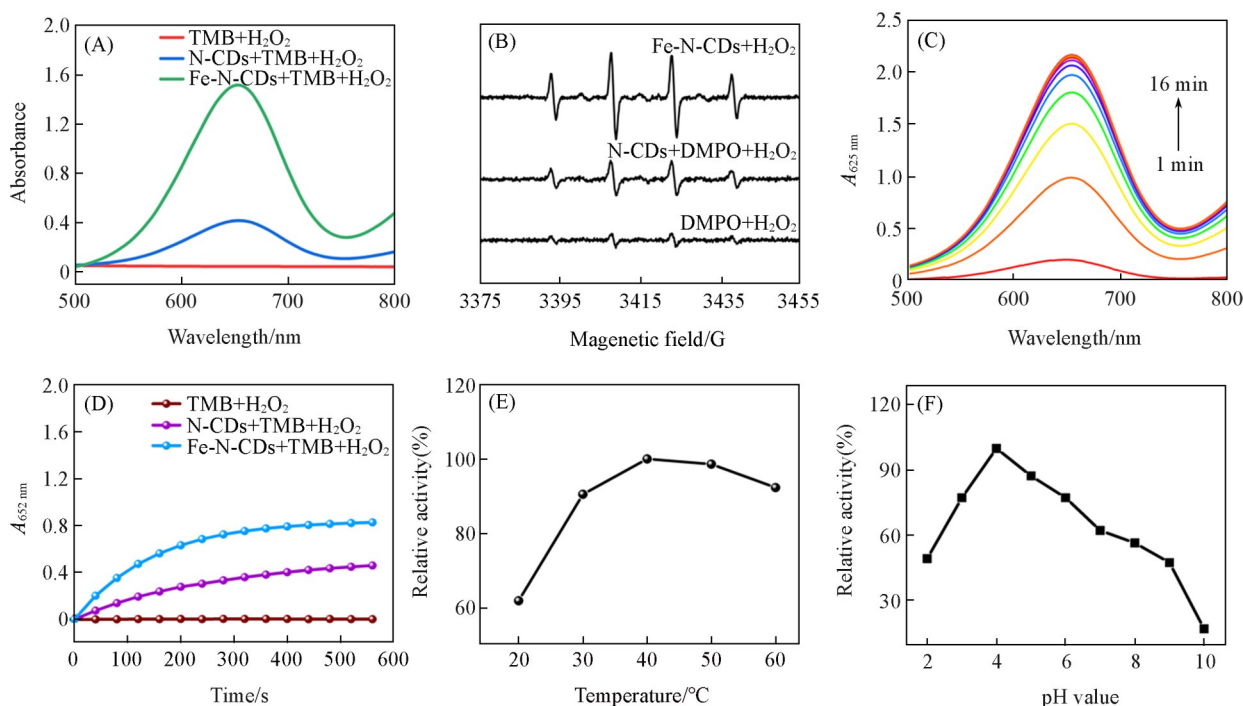


Fig. 2 XPS survey spectrum(A) and high-resolution XPS spectra of C<sub>1s</sub>(B), N<sub>1s</sub>(C), O<sub>1s</sub>(D) and Fe<sub>2p</sub>(E) of Fe-N-CDs

中的氧化显色反应来评估材料的类酶活性. TMB因其氨基上的孤对电子易被氧化, 生成蓝色的氧化产物 oxTMB, 常被用作评估类过氧化物酶活性的显色底物. 在催化反应中, 纳米酶可催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解, 产生活性氧自由基(·OH), 进而将无色的 TMB 氧化为蓝色的 oxTMB, 使溶液在 652 nm 处出现特征吸收峰. 在相同实验条件下, 该吸收峰的强度与纳米酶的活性成正比<sup>[29,30]</sup>. 分别选取 N-CDs 和 Fe-N-CDs 两种材料进行类酶活性研究. 在 pH=4 的条件下, 对比了 Fe-N-CDs 与 N-CDs 在 TMB 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 体系中的显色行为. 由图 3(A) 可以看出, 作为对照组的 TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 体系未在 652 nm 处出现 oxTMB 的特征吸收峰, 相对应地溶液也没发生显色过程, 这说明 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 不能使 TMB 发生显色反应. 在上述体系中分别加入 N-CDs 或 Fe-N-CDs 后, 均在 652 nm 处出现了 oxTMB 的特征吸收峰, 并且对应的溶液颜色变为蓝色. 结果表明, Fe-N-CDs 与 N-CDs 均具备类过氧化物酶活性, 但 Fe 的掺杂进一步提升了 CDs 的催化性能, 这可能归因于 Fe 与氮原子之间的协同作用. 未掺杂 Fe 的 N-CDs 表面的 C 原子或部分 N 位点(如石墨 N)催化活性有限. 而在 Fe-N-CDs 中, Fe 与周围的 N 原子配位, 在碳骨架中形成了高度不饱和的 Fe-N<sub>x</sub> 配位结构, 从而具备了类似酶的催化能力. Fe 的 3d 轨道与 N 的 2p 轨道之间存在强烈的电子相互作用. 这种相互作用可以调控碳量子点费米能级附近的电子态密度, 降低 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解生成羟基自由基(·OH) 的反应能垒, 从而显著加速催化反应.

为了进一步确定 Fe-N-CDs 的类过氧化物酶特性, 以 DMPO 作为捕获剂, 通过电子顺磁共振(EPR) 实验来检测 Fe-N-CDs+TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 体系产生的自由基. 如图 3(B) 所示, 在仅含 DMPO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+DMPO 的对照组中, 未出现自由基的特征信号; 而在实验组(Fe-N-CDs+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+DMPO 和 N-CDs+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+DMPO) 中, 则观察到强度比为 1:2:2:1 的典型四重峰, 但前者的自由基信号峰强度明显高于后者. 上述结果说明反应过程中产生了羟基自由基(·OH) 并且 Fe-N-CDs 产生自由基的活性要高于 N-CDs. EPR 实验结果表明 Fe-N-CDs 具有类过氧化物酶活性. 考察了 3 个体系(TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TMB+H<sub>2</sub>O+Fe-N-CDs 和 TMB+H<sub>2</sub>O+N-CDs) 在 652 nm 处的吸收峰强度随时间的变化趋势[图 3(C)]. 其中 TMB+H<sub>2</sub>O+Fe-N-CDs 体系在 652 nm 处的吸光度在 5 min 内快速上升, 表明 oxTMB 持续生成; 反应 10 min 后吸光度提高速度趋于平缓[图 3(C)和(D)]. 对于其它两个反应体系, TMB+H<sub>2</sub>O 体系一直没有出现明显的特征峰, 而 TMB+H<sub>2</sub>O+N-CDs 体系则显示了 oxTMB 的特征吸收峰, 且随时间延长峰强度也先快速增加, 然后趋于平缓[图 3(D)]. 因



**Fig. 3** UV-Vis absorption spectra of the systems Fe-N-CDs+TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, N-CDs+TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(pH=4.0)(A) and absorption corresponding photographs of the colorimetric solutions(inset), EPR spectra of Fe-N-CDs+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, N-CDs+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, DMPO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with DMPO(B), time-dependent UV-Vis absorption peak absorbance of oxTMB in the Fe-N-CDs+TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system(C), time-dependent absorbance of different systems at 652 nm within 15 min(D) and temperature(E) and pH value(F) dependence of the absorbance intensity at 652 nm of the colorimetric reaction catalyzed by Fe-N-CDs

此, 基于上述结果, 将反应时间确定为 10 min.

另外, 纳米酶的催化活性受环境因素影响. 为确定 Fe-N-CDs 的最优催化条件, 系统考察了温度与 pH 值对其类过氧化物酶活性的影响[图 3(E)和(F)]. 结果表明, 在 pH=2.0~7.0 范围内, Fe-N-CDs 的催化活性呈现明显的 pH 值依赖性. 当 pH 值从 2.0 升至 5.0 时, 其催化活性显著增强; 而在 pH>5.0 后, 活性则持续下降. 上述结果说明 Fe-N-CDs 仅在适宜的酸性条件下才能有效催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解并产生自由基. 在较高 pH 值下, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的稳定性下降, 会自发发生非生产性的歧化分解, 消耗了可用于催化反应的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 更重要的是, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在碱性条件下更易以 HOO<sup>-</sup> 形式存在, 可能无法高效地与 Fe-N-CDs 表面的 Fe 活性位点结合, 从而阻碍了催化反应生成 ·OH 的关键步骤. 而在强酸性环境 (pH≤2) 下, 高浓度的 H<sup>+</sup> 会质子化并破坏 Fe-N, 这一关键活性中心的配位结构. 这可能导致 Fe 从碳基质中被“浸出”或“剥离”, 形成游离的铁离子, 从而失去纳米酶的结构完整性, 导致催化活性显著下降. 因此, pH 值 3~5 为该纳米酶催化反应的适宜区间. 另一方面, 反应温度也显著影响催化活性. 在 0~70 °C 范围内, Fe-N-CDs 的催化活性呈先增强后减弱的趋势, 40 °C 时达到最强; 超过 40 °C 后, 活性则逐渐下降. 这表明 40 °C 左右为其催化反应的最适温度. 温度升高有助于提高底物分子的热运动能力, 增加能够克服反应能垒 (吉布斯自由能) 的活化分子比例, 从而促进反应的进行. 但温度过高可能导致材料结构或活性位点稳定性下降, 造成活性降低.

### 2.3 Fe-N-CDs 的酶促动力学分析

为进一步探究 Fe-N-CDs 的类过氧化物酶催化性能, 采用稳态动力学方法对其催化行为进行了分析<sup>[31]</sup>. 图 4(A) 与图 4(C) 分别为在固定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度 (50 μL, 100 mmol/L) 下改变 TMB 浓度, 及在固定 TMB 浓度 (50 μL, 10 mmol/L) 下改变 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度时所测得的初始反应速率 (*v*) 随底物浓度变化的曲线. 利用

Lineweaver-Burk 双倒数作图法对实验数据进行拟合[图4(B)和(D)], 获得了相应的稳态动力学参数, 包括米氏常数( $K_m$ )和最大反应速率( $v_{max}$ ).  $v_{max}$ 反映了催化剂在底物饱和条件下的最大催化能力. 当以 TMB 为底物时, 较高的  $v_{max}$  值表明 Fe-N-CDs 在该条件下具有较高的催化效率.  $K_m$  值则表征了酶(或模拟酶)对底物的亲和力,  $K_m$  值越小, 亲和力越强. 如以  $H_2O_2$  为底物时观察到较低的  $K_m$  值, 说明 Fe-N-CDs 对  $H_2O_2$  具有更强的亲和力. 结果表明, 在固定  $H_2O_2$  浓度、以 TMB 为底物时,  $v_{max}=11.823\times 10^{-8} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $K_m=0.79 \text{ mmol/L}$ ; 而在固定 TMB 浓度、以  $H_2O_2$  为底物时,  $v_{max}=5.61\times 10^{-8} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $K_m=0.51 \text{ mmol/L}$ . 以上结果表明, Fe-N-CDs 对两种底物均表现出良好的催化性能, 对  $H_2O_2$  具有较高的亲和力( $K_m$ 较小), 而对 TMB 则显示出更高的  $v_{max}$ . 这说明 Fe-N-CDs 对 TMB 和  $H_2O_2$  均具备良好的底物亲和力及较高的类过氧化物酶活性.

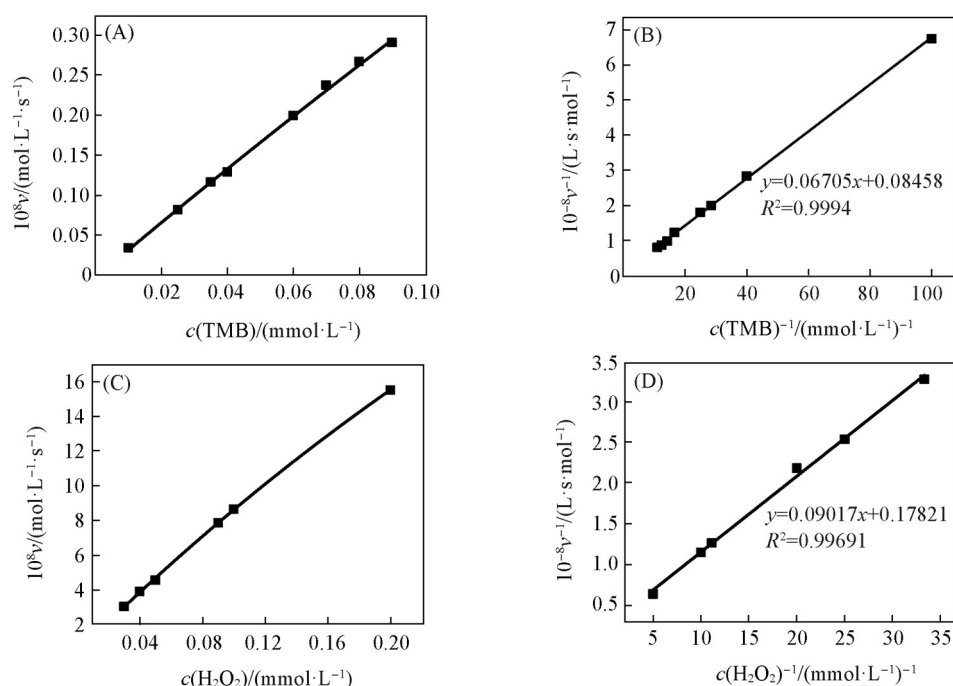
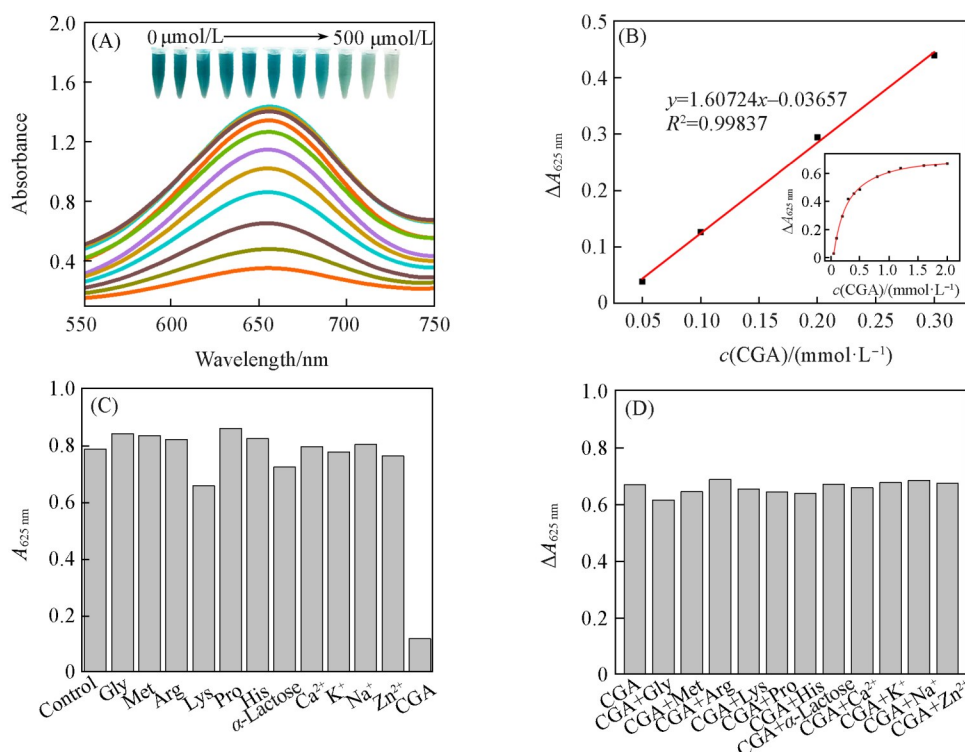


Fig. 4 Initial reaction rates of the Fe-N-CDs-catalyzed colorimetric system at varying TMB(A) or  $H_2O_2$  (C) concentrations(A) and corresponding Lineweaver-Burk plot for TMB(B) or  $H_2O_2$ (D) as the substrate(B)

(A, B)  $c(H_2O_2)=100 \text{ mmol/L}$ ; (C, D)  $c(TMB)=10 \text{ mmol/L}$ .

#### 2.4 CGA 的比色检测分析

CGA 作为一种有效的  $\cdot\text{OH}$  清除剂, 能够将蓝色的 oxTMB 还原为无色的 TMB. 基于这一机制, 构建了一种用于检测 CGA 的比色分析平台. 在 Fe-N-CDs/ $H_2O_2$ /TMB 催化显色体系中, CGA 的加入会竞争性地消耗  $\cdot\text{OH}$ , 并反向还原已生成的 oxTMB 为无色的 TMB, 导致体系在 652 nm 处的吸光度下降. 如图 5(A) 所示, 在 Fe-N-CDs/ $H_2O_2$ /TMB 显色体系中引入不同浓度的 CGA 后, 溶液在 652 nm 处的吸光度随 CGA 浓度的增加而逐渐降低, 同时溶液颜色由蓝色逐渐变为无色. 通过测定 652 nm 处吸光度的变化, 绘制了 CGA 的标准曲线[图 5(B)]. 结果表明, 在 0~300  $\mu\text{mol/L}$  范围内, 吸光度变化值与 CGA 浓度呈良好的线性关系, 线性相关系数( $R^2$ )为 0.99837. 根据  $\text{LOD}=3\delta/S$  (其中,  $\delta$  为空白信号的标准偏差,  $S$  为标准曲线的斜率) 计算得出, 该方法对 CGA 的检出限(LOD)为 6.87  $\mu\text{mol/L}$ . 为评估该方法的选择性, 评估了多种常见离子和小分子等潜在干扰物质的影响. 由图 5(C) 可以看出, 即使干扰物浓度高达 6 mmol/L, 体系的吸光度与溶液颜色均未发生显著变化; 而在仅含 40  $\mu\text{mol/L}$  CGA 的体系中, 反应 10 min 后即可观察到明显的显色反应, 表明该方法对 CGA 具有良好的选择性. 进一步, 在含有 40  $\mu\text{mol/L}$  CGA 的体系中分别加入多种 6 mmol/L 的干扰物质, 以评估其抗干扰能力, 结果见图 5(D). 结果证明了其优异的抗干扰能力和实际应用的潜力.



**Fig. 5** UV-Vis absorption spectra of the oxTMB chromogenic product in the presence of varying concentrations of CGA(A), linear calibration curve showing the relationship between the absorbance at 652 nm and CGA concentration(1—500  $\mu\text{mol/L}$ )(B), specificity evaluation of the Fe-N-CDs-based detection system for CGA against potential interfering substances(C) and anti-interference assessment of the detection system for CGA in the presence of various coexisting substances(D)

$\Delta A$  represents the absorbance difference between the CGA-containing sample and the CGA-free control sample.

### 3 结 论

以L-组氨酸和七水合硫酸亚铁为前驱体,通过一步水热法制备了具有优异类过氧化物酶活性的Fe-N-CDs纳米酶.相较于未掺杂铁的N-CDs,Fe-N-CDs的催化活性显著提升.这种增强效应主要归因于铁掺杂对碳点能带结构和电子能级的调控作用,该调控有效增加了活性位点数量,并促进了催化过程中的电子转移.基于Fe-N-CDs的类酶催化特性,进一步构建了一种用于CGA检测的比色分析方法.与已有方法相比,本文制备的Fe-N-CDs比色传感平台在灵敏度(LOD为6.87  $\mu\text{mol/L}$ )、分析速度(仅需10 min)以及无需复杂昂贵仪器方面展现出综合优势,为CGA的快速、低成本检测提供了一种有竞争力的新方案.同时,该方法对常见共存物质展现出良好的选择性及抗干扰能力.本研究开发的Fe-N-CDs纳米酶及其比色检测技术在药物及食品关键成分分析领域具有较好的应用前景,也可为CGA的基础研究及抗抑郁药物的开发提供思路和参考.

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Maheshwari R. K., Singh A. K., Gaddipati J., *Life Sci.*, **2006**, 78(18), 2081—2087
- [ 2 ] Solomakou N., Loukri A., Tsafarakidou P., Michaelidou A. M., Mourtzinou I., Goula A. M., *Sustain., Chem. Pharm.*, **2022**, 25, 100592
- [ 3 ] Raza H., John A., Brown E. M., *Toxicol. Appl. Pharm.*, **2008**, 226(2), 161—168
- [ 4 ] Wang L., Pan X., Jiang L., Chu Y., Gao S., Jiang X., Zhang Y., Chen Y., Luo S., Peng C., *Front. Nutr.*, **2022**, 9, 943911
- [ 5 ] Badr A. N., El-Attar M. M., Ali H. S., Elkhadragey M. F., Yehia H. M., Farouk A., *Toxins*, **2022**, 14, 109
- [ 6 ] Kendir G., Güvenç A., Dinç E., *Planta Med.*, **2011**, 77, PA36
- [ 7 ] Wang L., Pan Q. F., Long W. J., Du J. R., Hu Z. Y., Li X. Y., Chen Y. S., Qin D. D., Lü X. M., *Chinese Pharm. Bull.*, **2025**, 41(9), 1618—1623(王琳, 潘琪霏, 龙文娟, 杜佳蓉, 胡中杨, 李昕瑶, 陈一纾, 秦冬冬, 吕小满. 中国药理学通报, **2025**, 41(9), 1618—1623)

- [ 8 ] Chen Y. K., Liu X. C., Li J. G., Liu G. D., Guo Y., Cheng L., Wang Y. M., *Hepatobiliary Pancreatic Dis. Int.*, **2012**, *11*, 148—153
- [ 9 ] Hu Q., Wang W., Yang Z. Q., Xiao L., Gong X., Liu L., Han J., *Food Chem.*, **2023**, *404*, 134395
- [10] Yang H., Yang L., Yuan Y., Pan S., Yang J., Yan J., Zhang H., Sun Q., Hu X., *Spectrochim. Acta A*, **2018**, *189*, 139
- [11] Magalhaes L. M., Machado S., Segundo M. A., Lopes J. A., Pascoa R. N., *Talanta*, **2016**, *147*, 460—468
- [12] Gao L. Z., Zhuang J., Nie L., Zhang J. B., Zhang Y., Gu N., Wang T. H., Feng J., Yang D. L., Perrett S., Yan X. Y., *Nat. Nanotechnol.*, **2007**, *2*(9), 577—583
- [13] Huang Y. Y., Ren J. S., Qu X. G., *Chem. Rev.*, **2019**, *119*(6), 4357—4412
- [14] Liu Q. W., Zhang A. M., Wang R. H., Zhang Q., Cui D. X., *Nano Micro Lett.*, **2021**, *13*(1), 154—179
- [15] Liu Q., Ren Y. P., Jia H. M., Yuan H., Tong Y. P., Kotha S., Mao X. B., Huang Y. W., Chen C. Y., Zheng Z., Wang L. M., He W. W., *ACS Nano*, **2023**, *17*, 22527—22538
- [16] Xue X. K., Li J., Liang H. Y., Wang Y. Y., Ge J. C., *Chem. J. Chinese Universities*, **2025**, *46*(6), 20250094(薛小矿, 李建, 梁焕仪, 王颖, 葛介超. 高等学校化学学报, **2025**, *46*(6), 20250094)
- [17] Ding H., Hu B., Zhang B., Zhang H., Yan X. Y., Nie G. H., Liang M. M., *Nano Res.*, **2021**, *14*(3), 570—583
- [18] Zhang R. F., Jiang B., Fan K. L., Gao L. Z., Yan X. Y., *Nat. Rev. Bioeng.*, **2024**, *2*, 849—868
- [19] Liu H., Zhong X., Pan Q., Zhang Y., Deng W., Zou G., Hou H., Ji X., *Coord. Chem. Rev.*, **2024**, *498*, 215468
- [20] Bian Z., Wallum A., Mehmood A., Gomez E., Wang Z., Pandit S., Nie S., Link S., Levine B. G., Gruebele M., *ACS Nano*, **2023**, *17*(22), 22788—22799
- [21] Nan F., Xue X., Li J., Liang K., Wang J., Yu W. W., Ge J., Wang P., *Sci. China Mater.*, **2024**, *67*(11), 3742—3752
- [22] Wang X. L., Lu Y. G., Hua K. W., Yang D. Z., Yang Y. L., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2021**, *413*(5), 1373—1382
- [23] Xiao M. J., Li D., Wei Y. Z., He Y. L., Wang Z. M., Yu R. B., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2024**, *40*, 513—520
- [24] Liu Y. Y., Zhu H. L., Liao P. Q., Chen X. M., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2024**, *40*, 664—669
- [25] Liu P., Wu Q. M., Yan K. P., Wang L., Xiao F. S., *Chem. Synth.*, **2024**, *4*, 31—41
- [26] Cai H. X., Ding J. Y., Hou T., Wei T. R., Liu Q., Luo J., Feng L. G., Liu W. X., Liu X. J., *Chem. Synth.*, **2024**, *4*, 54—63
- [27] Zhang Y. J., Liu Y., Gong X. Q., Wang Z. Y., Liu Y. Y., Wang P., Cheng H. F., Huang B. B., Zheng Z. K., *Chem. Synth.*, **2024**, *4*, 45—55
- [28] Cao X. H., Zhao Y., Leng J. Y., Bai X. L., Qu Y. N., Jiang L., Chen D. M., Wang J. Q., *Chem. Synth.*, **2025**, *5*, 5—8
- [29] Shi Y. Y., Ma Y., Bao L. N., Pan M. M., Jiang M., Yu X., Xu L., *Biosens. Bioelectron.*, **2026**, *293*, 118153
- [30] Ma Q. Q., Shen S. Y., Hou X. F., Gong H. L., Zhou Y. Y., Liu T. T., Wang X. D., *Chem. Eng. J.*, **2025**, *509*, 161222
- [31] Wang B., Huang Y. R., Zhang F. X., Wang J. Y., Wang K., Li C., Qiu Z. P., Wang X. Y., Xu Z. Q., *Chem. Eng. J.*, **2025**, *505*, 159496

(Ed.: H, K, M)