

氯掺杂增强四氧化三钴类过氧化物酶活性机制研究及应用

任亚丽^{1,2}, 梁书丰^{2,3}, 张云慧², 代燕^{2*}

(1. 山西大学 分子科学研究所, 山西 太原 030006;

2. 山西大学 环境科学研究所, 山西 太原 030006;

3. 山西省肿瘤医院分子生物室, 山西 太原 030006)

摘要: 纳米酶作为一类具有类生物酶活性的纳米材料是目前化学研究的新前沿。然而, 纳米酶的应用受到其低催化活性的限制。因此, 研制具有高催化活性的纳米酶成为目前该研究领域的热点。本研究通过固相研磨法成功制备出Cl⁻掺杂Co₃O₄纳米晶, 其类过氧化物酶(Peroxidase, POD)初始反应速率较掺杂前增强了1.3倍。对反应机理的研究表明, Cl⁻掺杂使得Co₃O₄纳米晶催化H₂O₂分解产生超氧阴离子自由基(O₂⁻)的能力增强, 同时还使得H₂O₂分解产生羟基自由基(•OH)的路径成为可能, 而•OH的氧化性强于O₂⁻, 因而Cl⁻掺杂后材料的类POD活性显著提高。电子顺磁共振谱(Electron Paramagnetic Resonance, EPR)及X射线光电子能谱(X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS)的表征结果表明, Cl⁻掺杂后Co₃O₄纳米晶表面氧空位含量的增多及材料的电子结构的改变可能是其类POD活性增强的主要原因。同时, 本研究成功地将基于固相研磨的卤素掺杂法应用到其他金属氧化物纳米晶的改性中, 亦得到增强其类POD性能的有益效果。本研究开发出的金属氧化物纳米晶的改性方法有望为具有高效类POD性能的金属氧化物纳米酶的研制提供新途径。

关键词: 固相研磨法; Cl⁻掺杂; Co₃O₄纳米晶; 类过氧化物酶

中图分类号: O436 文献标志码: A 文章编号: 0253-2395(2024)03-0624-13

Mechanism of Chloride Doping to Enhance Peroxidase Activity of Co₃O₄ Nanocrystals and Its Application

REN Yali^{1,2}, LIANG Shufeng^{2,3}, ZHANG Yunhui², DAI Yan^{2*}

(1. Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. Institute of Environmental Sciences, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

3. Department of Molecular Biology, Shanxi Cancer Hospital, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Nanozymes as nanomaterials with enzyme-like activity are a new frontier of chemical research. However, the low catalytic activity of nanozymes limits their application. Therefore, designing nanozymes with high catalytic activity has become a hot spot in this field. Herein, Cl⁻ doped Co₃O₄ nanocrystals (NCs) were successfully prepared by the solid-phase grinding method. After doping, their peroxidase-like (POD-like) initial reaction rate was increased about 1.3 times. Cl⁻ doping enhanced the H₂O₂ decomposition to superoxide anion radical (O₂⁻), making the production of hydroxyl radical (•OH) possible. As the •OH is more oxidizing than O₂⁻, the POD-like activity of Cl⁻ doped Co₃O₄ NCs is significantly enhanced. The electron paramagnetic resonance (EPR) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) investigations implied that the increase of oxygen vacancy and the change of electronic structure of Co₃O₄ NCs after doping were the primary reasons for the enhanced POD-like activity. At the same time, the

收稿日期: 2023-04-20; 接受日期: 2023-07-24

基金项目: 山西省自然科学基金(202103021224014)

作者简介: 任亚丽(1996-), 女, 山西运城人, 硕士研究生, 研究方向为纳米催化。E-mail: ry1101206023@163.com

* 通信作者: 代燕(DAI Yan), E-mail: ydai@sxu.edu.cn

引文格式: 任亚丽, 梁书丰, 张云慧, 等. 氯掺杂增强四氧化三钴类过氧化物酶活性机制研究及应用[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2024, 47(3): 624-636. DOI: 10.13451/j.sxu.ns.2023128

solid-phase grinding-assisted halogen doping method was successfully applied to other metal oxide NCs, and the beneficial effect of enhancing their POD-like activities was also obtained. In this study, we developed a simple modification method for metal oxide NCs based on halogen doping. This method may provide a new way for the rational design of nanozyme with highly efficient POD-like activity.

Key words: solid-phase grinding method; Cl^- doping; Co_3O_4 nanocrystals; peroxidase-like

0 引言

酶是一类广泛参与各种细胞活动的生物分子,能够有效地控制机体的代谢、营养和能量转换过程。天然酶在临床医学、生物技术等领域具有重要的现实意义。然而,天然酶的来源有限、纯化困难、易变性等问题严重制约了其实际应用。近年来,纳米酶作为一类具有类生物酶活性的纳米材料,因其催化活性好、环境稳定性好、合成工艺简单、价格低廉等优点而受到研究者广泛关注^[1],在传感检测、水处理^[2-3]、肿瘤诊疗和抗菌^[4-6]等领域具有广阔的应用前景。自四氧化三铁的纳米酶性能在2007年被首次报道以来^[7],包括贵金属纳米材料、金属氧化物纳米材料和碳基纳米材料等在内的各类纳米材料被发现具有类酶催化活性^[8]。然而,这些纳米酶的催化效率相对于天然酶仍然较低,这限制了它们的实际应用。

为了提高纳米酶的催化性能,研究者们设计了不同的策略,例如调控纳米材料的尺寸^[9]、形貌^[10-12]、利用有机分子对材料表面进行修饰^[13]、缺陷位调变^[14]等。其中,缺陷位调变涉及元素掺杂,氧空位,晶格应力等多种形式的调变手段。如元素掺杂法可有效调变材料的电子结构,进而实现对其催化性能的调控。在Fe掺杂 CeO_2 纳米棒^[15],Mo掺杂 CeO_2 纳米晶^[16],Fe掺杂的 Ag_2S 纳米团簇^[17]等体系中,研究者都发现掺杂能有效调变催化剂的结构,显著增强其类过氧化物酶(POD)活性。

另一方面,具有类POD性能的 Co_3O_4 纳米酶由于化学稳定性高,可利用其磁性进行分离回收等优点,被广泛应用于比色生物传感^[18-20]、致病菌检测^[21]、癌症诊断^[22]、环境监测^[23]和水处理^[24]等领域。然而,如何有效提高 Co_3O_4 纳米酶类POD活性,以提高其应用效果,仍然是一个很大的挑战。其中,元素掺杂有望成为解决该问题的有效手段。如研究者在N,S共掺杂 Co_3O_4 核壳结构的纳米球^[25]、Mn掺

杂 Co_3O_4 纳米片^[26]、 Mo^{6+} 掺杂 Co_3O_4 纳米管^[27]等体系中都发现,掺杂能有效增强 Co_3O_4 纳米酶类POD活性。但相关研究存在掺杂制备方法较复杂,涉及的水热法、高温煅烧等合成法需要高温环境,危险性较大等问题。因此寻找更高效、简易并适合实际生产应用的元素掺杂 Co_3O_4 纳米酶的制备方法有着重要的研究意义和良好的市场应用前景。

近年来,卤族元素掺杂成为改善金属氧化物纳米晶催化性能的有效手段。如谢兆雄等发现液相一步法制备的氯掺杂氧化亚铜菱形十二面体纳米晶对丙烯直接环氧化制环氧丙烷反应有更高的催化转化率和选择性^[28];李海涛等发现经氯掺杂后的氧化亚铜在甲醛乙炔化反应中将1,4-丁炔二醇的产率从73%提高到94%^[29]。那么卤素掺杂是否是调变 Co_3O_4 纳米晶类POD性能的有效手段呢?

为了回答这个科学问题,本研究通过室温下的固相研磨法成功制备出 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶。对其类POD性能的研究表明, Cl^- 掺杂增强了 Co_3O_4 纳米晶活化 H_2O_2 分解产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力,同时促进了 $\cdot\text{OH}$ 的产生,使得 Co_3O_4 纳米晶类POD初始反应速率增大了1.3倍。电子顺磁共振谱(EPR)及X射线光电子能谱(XPS)的表征结果表明, Cl^- 掺杂后 Co_3O_4 纳米晶表面氧空位含量的增多及材料的电子结构的改变可能是其类POD活性增强的主要原因。同时,该合成方法能应用到其他卤素离子掺杂 Co_3O_4 纳米晶及卤素掺杂的其他金属氧化物纳米晶的制备中,有效增强相应材料的类POD活性。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

氟化钠(NaF , AR, 99%),氯化钠(NaCl , AR, 99.5%),溴化钠(NaBr , AR, 99%),碘化钠(NaI , AR, 99.5%),四氧化三钴(Co_3O_4 , metal basis, 99.99%),二氧化钛(P25, 99.8%),罗丹明

B ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$, AR), 甲基橙 ($C_{14}H_{14}N_3SO_3Na$, 96%) 均采购于 Aladdin; 氧化铜 (CuO , 98%) 采购于 Innochem; 过氧化氢 (H_2O_2 , 30%), 3, 3, 5, 5-四甲基联苯胺 (TMB, 98%) 均采购于 Sigma-Aldrich; 氧化锌 (ZnO , 99.9%), 对苯二甲酸 (TA, AR, 99%) 均采购于 Energy Chemistry (China); 甲醇 (CH_3OH , AR, 99%), 无水乙醇 (C_2H_5OH , AR, 99%), 醋酸 (HAc, AR, 99%) 均采购于天津市大茂化学试剂厂; 5, 5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物 (DMPO, GC, >99%) 采购于同仁化学; 醋酸钠 (NaAc, AR, 99%) 采购于天津市恒兴化学制药有限公司。以上所有化学品均未进一步纯化而直接使用, 试剂百分含量为质量百分数。实验室用水均为超纯水。

X 射线粉末衍射 (XRD) 是使用日本 Rigaku Miniflex 600 衍射仪进行测试, 使用 $Cu K\alpha$ 辐射, 测试是在 40 kV 的电压和 40 mA 的电流下进行的, 以 $5^\circ/\text{min}$ 的扫描速度进行数据采集。高分辨透射电子显微镜 (HRTEM) 分析使用美国 FEI Tecnai F20 进行拍摄。X 射线光电子能谱 (XPS) 是使用美国 Thermo Scientific K-Alpha 进行测试。并将 C 1s 谱中 284.8 eV 处的污染碳峰作为样品荷电校正的标准。紫外可见光谱 (UV-Vis) 使用 PerkinElmer 进行测试。利用电子顺磁共振谱 (EPR, 德国 Bruker EMXplus-6/1) 分析 Cl^- 掺杂前后 Co_3O_4 纳米晶表面氧空位含量的变化。利用 EPR 和荧光光谱 (PL, 爱丁堡) 分析 Cl^- 掺杂前后催化反应体系中活性氧物种 (ROS) 的种类与含量的变化。

1.2 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的合成及材料的晶面间距的计算

采用固相研磨法制备 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶。将 18 mg 氯化钠与 100 mg 商用 Co_3O_4 纳米晶加入研钵中, 氯化钠的质量占氯化钠与商用 Co_3O_4 纳米晶的总质量的百分比为 15%。在 $25^\circ C$ 下搅拌均匀, 对混合物手动研磨 15 min, 所得产物用去离子水洗涤三次, $50^\circ C$ 真空干燥 6 h, 即得到 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶。

利用材料的 XRD 数据, 使用布拉格公式计算晶面间距。布拉格公式的定义如下:

$$2d\sin\theta = n\lambda, \quad (1)$$

其中, d 为晶面间距, θ 为入射 X 射线与相应晶

面的夹角, λ 为 X 射线的波长 (0.1540 nm), n 为衍射级数。

1.3 Co_3O_4 纳米晶和 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的类 POD 活性研究

以 TMB 为显色底物, 在 H_2O_2 存在下通过测量 TMB 的单电子氧化产物 (ox-TMB) 在 652 nm 处的吸光度随时间的变化情况以评价 Co_3O_4 纳米晶和 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的类 POD 活性。实验过程如下: 室温下, 将 $10\ \mu\text{L}$ $0.4\ \text{mg/mL}$ 催化剂、 $20\ \mu\text{L}$ $50\ \text{mmol/L}$ TMB 和 $50\ \mu\text{L}$ $10\ \text{mol/L}$ H_2O_2 加入 $920\ \mu\text{L}$ 的 HAc-NaAc 缓冲液 ($\text{pH}=3.6$) 中, 反应 1 min, 而后对反应溶液进行时间跟踪的单点 (652 nm) UV-Vis 光谱测试。此外, 为了探索最优的催化条件, 分别对催化剂的浓度、反应温度 ($25^\circ C\sim 65^\circ C$) 以及溶液的 pH 值 ($2.6\sim 9$) 进行条件优化。

使用公式 2 计算初始反应速率:

$$v = \Delta A / \Delta t / (\epsilon \times l), \quad (2)$$

其中, $\Delta A / \Delta t$ 是 ox-TMB 在 652 nm 处的吸光度随时间变化的初始速率 (s^{-1}); ϵ 是 ox-TMB 的摩尔吸光系数, $\epsilon = 39\ 000\ \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; l 是光在比色皿中传播的路径长度, $l = 1\ \text{cm}$ 。

使用公式 3 计算比活度 (SA):

$$a_{\text{nanozyme}} = b_{\text{nanozyme}} / m, \quad (3)$$

其中 b_{nanozyme} 为纳米酶的酶活性单位 (U), 1 U 的定义为单位时间 (1 min), 催化产生 $1\ \mu\text{mol}$ 的产物所需要的纳米酶的量; m 为反应时加入的纳米酶的质量 (mg)。

使用公式 4 计算纳米酶的酶活性单位:

$$b_{\text{nanozyme}} = V / (\epsilon \times l) \times (\Delta A / \Delta t) \quad (4)$$

其中 V 是反应溶液总体积 (μL), 此处是 $1\ 000\ \mu\text{L}$; $\Delta A / \Delta t$ 是 ox-TMB 在 652 nm 处吸光度随时间变化的初始速率 (min^{-1}); ϵ 与 l 的含义与公式 2 中相同。

1.4 利用 TA 检测催化反应体系中产生的 $\cdot\text{OH}$

利用 TA 作为荧光探针对催化反应体系中可能存在的 $\cdot\text{OH}$ 进行检测。实验条件如下: 向 $1.84\ \text{mL}$ $\text{pH}=3.6$ 的 HAc-NaAc 缓冲液中加入 $100\ \mu\text{L}$ $2\ \text{mg/mL}$ 催化剂、 $40\ \mu\text{L}$ $5\ \text{mmol/L}$ TA 和 $20\ \mu\text{L}$ $10\ \text{mol/L}$ H_2O_2 , 该混合溶液在室温下避光搅拌 2 h。而后, 将混合溶液离心, 取上层清液, 在 $315\ \text{nm}$ 的激发波长下, 记录其在

350 nm~600 nm 波长范围内的发射光谱,最后得到不同体系产生的荧光光谱。

1.5 利用自由基捕获实验检测反应体系中产生的 ROS

所有样品均在现场制备,然后进行 EPR 测试。 $\cdot\text{OH}$ 的检测条件:将 10 μL 1 mol/L DMPO 溶液、1 μL 5 mol/L H_2O_2 溶液和 5 μL 2 mg/mL 催化剂分散液加入 84 μL 的 HAc-NaAc 缓冲液 (pH=3.6) 中,样品混匀后静置 2 min,而后进行 EPR 测试。对照组未加入催化剂,其他条件与实验组一致。

$\text{O}_2^{\cdot-}$ 的检测条件:将 10 μL 1 mol/L DMPO 溶液、4 μL 5 mol/L H_2O_2 溶液和 5 μL 2 mg/mL 催化剂分散液加入 81 μL CH_3OH 中,样品混匀后静置 2 min,而后进行 EPR 测试。对照组未加入催化剂,其他条件与实验组一致。

1.6 DMPO 对材料的类 POD 活性的抑制实验

将 10 μL 0.4 mg/mL 催化剂、20 μL 50 mmol/L TMB、50 μL 10 mol/L H_2O_2 和 5 μL 1 mol/L DMPO 加入 915 μL 的 HAc-NaAc 缓冲液 (pH=3.6) 中,反应 1 min,而后对反应溶液进行时间跟踪的单点 (652 nm) UV-Vis 光谱测试。

1.7 其他卤素离子掺杂 Co_3O_4 纳米晶的制备与其类 POD 活性研究

采用固相研磨法分别制备 F^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶、 Br^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶、 I^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶。将 18 mg 氟化钠、18 mg 溴化钠、18 mg 碘化钠分别与 100 mg 商用 Co_3O_4 纳米晶加入研钵中,即卤化钠的质量占卤化钠与商用 Co_3O_4 纳米晶的总质量的百分比为 15%。在 25 $^\circ\text{C}$ 下混合均匀,对混合物手动研磨 15 min,所得产物用去离子水洗涤三次,50 $^\circ\text{C}$ 真空干燥 6 h,即分别得到 F^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶、 Br^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶、 I^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶。材料的类 POD 性能测试条件与 1.3 中的反应条件相同。

1.8 Cl^- 掺杂其他金属氧化物纳米晶的制备与其类 POD 活性研究

Cl^- 掺杂其他金属氧化物纳米晶的制备采用固相研磨法制备 Cl^- 掺杂 CuO 纳米晶、 Cl^- 掺杂 P25、 Cl^- 掺杂 ZnO 纳米晶。将 18 mg 氯化钠分别与 100 mg CuO 纳米晶、100 mg P25、100 mg ZnO 纳米晶加入研钵中,在 25 $^\circ\text{C}$ 下混合

均匀,对混合物手动研磨 15 min,所得产物用去离子水洗涤三次,50 $^\circ\text{C}$ 真空干燥 6 h,即得到 Cl^- 掺杂 CuO 纳米晶、 Cl^- 掺杂 P25、 Cl^- 掺杂 ZnO 纳米晶。材料的类 POD 性能的测试条件与 1.3 中的反应条件相同。

1.9 利用 XPS 数据计算材料表面不同物种的相对含量的方法

以晶格氧与钴原子的比例 ($\text{O}_\text{L}/\text{Co}$) 的计算为例,利用 Avantage 软件,首先对 O 1s 的 XPS 精细谱进行分峰拟合,得到晶格氧 (O_L)、表面吸附羟基 (OH_A) 以及氧空位周围吸附的氧 ($\text{O}_{\text{A-ov}}$) 三个峰。而后,使用软件中的定量功能进行元素比例的定量计算。分别选中 O_L 峰与 Co 2p 的 XPS 精细谱 (在 Co 2p 的 XPS 精细谱中选取合适的定量范围,定量范围的起点与终点应选在本底较平滑的位置),软件即自动算出相应的 $\text{O}_\text{L}/\text{Co}$ 比值。

2 结果与讨论

2.1 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的合成及其结构表征

利用固相研磨法制备元素掺杂金属氧化物具有反应条件温和,节约溶剂,易于放大等优势。近期,研究者利用该合成方法成功实现 Sm^{3+} 掺杂 WO_3 纳米粉体及 N 掺杂 TiO_2 的制备^[30-31]。本研究基于 Cl^- 与 O^{2-} 的半径相似的特点,利用固相研磨法促进 Cl^- 与 Co_3O_4 纳米晶表面的氧物种的离子交换反应,实现 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的制备。样品掺杂前后的 XRD 图谱 (图 1(a)) 表明, Cl^- 掺杂后, Co_3O_4 的晶相结构保持不变,但衍射峰整体向低衍射角方向发生轻微移动,这可能是由于 Cl^- 掺杂导致的材料的晶格膨胀所致。研究者在氯掺杂氧化亚铜纳米晶体系中也发现了氯掺杂导致的晶格膨胀现象^[28]。由于氯离子的半径 (1.81 \AA) 大于氧离子 (1.4 \AA),掺杂使得部分氯离子取代了晶格中的氧原子,导致材料的晶面间距增大,晶格膨胀。以图 1(b) 所示的 Co_3O_4 纳米晶的 (311) 晶面为例,利用布拉格公式 (实验部分中的公式 1) 计算可得^[29], Cl^- 掺杂前后 Co_3O_4 纳米晶的晶面间距分别为 0.241 5 nm 与 0.243 7 nm,即 Cl^- 掺杂后 Co_3O_4 纳米晶的 (311) 晶面的晶面间距增大,膨胀率为 0.9%。同时, Cl^- 掺杂前后

Co_3O_4 纳米晶的高分辨透射电镜(HRTEM)分析结果也为掺杂导致的晶格膨胀提供了支持。如图1(c—d)所示。 Cl^- 掺杂后 Co_3O_4 纳米晶的(111)面的晶面间距由0.462 nm增大到0.466 nm, 膨胀率为0.87%。

同时, Cl的XPS表征结果进一步证明了 Cl^- 成功掺入到 Co_3O_4 纳米晶的晶格中。图1(e)中Cl的2p XPS精细谱表明, 掺杂后材料表面有Cl元素存在。其中197.9 eV与199.5 eV处的特征峰分别归属于Cl $2p_{3/2}$ 峰和Cl $2p_{1/2}$ 峰, 两峰之间的间距为1.6 eV, 峰面积比约为2:1。根据Cl的2p峰的结合能位置和2p峰的峰间距, 可指出 Co_3O_4 纳米晶表面的Cl的存在形式是 Cl^- 。同时, 对掺杂前后 Co_3O_4 纳米晶中各个元素的XPS窄扫谱图的定量分析结果表明, 掺杂前 $\text{Co}:\text{O}=1:2.93$, 掺杂后 $\text{Co}:\text{O}:\text{Cl}=1:1.88:0.85$ (表1)。即掺杂导致表面氧原子的相对含量下降, 这可能是 Cl^- 对氧的部分取代所致。进一步地, 材料表面的晶格氧与钴原子的比例($\text{O}_\text{I}/\text{Co}$)在 Cl^- 掺杂后由1.499降低到1.220, 材

料表面吸附的羟基氧与钴原子的比例($\text{OH}_\text{A}/\text{Co}$)在 Cl^- 掺杂后由1.073降低到0.426(表1), 即材料表面的晶格氧及吸附的羟基氧在 Cl^- 掺杂后减少。基于该结果推测材料合成中的 Cl^- 掺杂过程可能主要涉及 Cl^- 与 Co_3O_4 纳米晶表面的晶格氧与吸附羟基的离子交换反应。综上所述, 利用固相研磨法在常温下成功制备出 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶。

表1 Co_3O_4 纳米晶和 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶 Co 2p, O1s 和 Cl 2p XPS 光谱拟合结果

Table 1 XPS fitting results of Co 2p, O1s and Cl 2p spectra for Co_3O_4 NCs and Cl^- doped Co_3O_4 NCs

	Co_3O_4 NCs	Cl^- doped Co_3O_4 NCs
Co:O:Cl	1:2.93	1:1.88:0.85
$\text{O}_\text{I}/\text{Co}$	1.499	1.220
$\text{OH}_\text{A}/\text{Co}$	1.073	0.426

2.2 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的类POD催化性能研究

2.2.1 Cl^- 掺杂增强 Co_3O_4 纳米晶的类POD催化活性

首先, 以TMB为显色底物, 在 H_2O_2 存在下

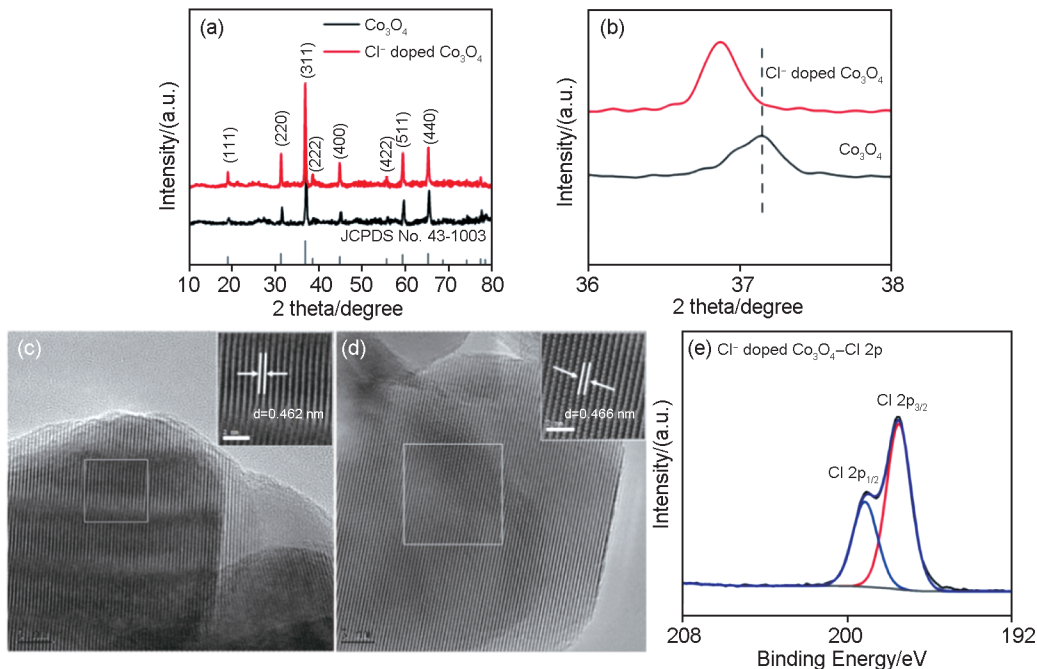


图1 材料的结构表征数据

(a) Co_3O_4 纳米晶和 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶 XRD 谱图, 最下方为 Co_3O_4 的 XRD 标准卡片(JCPDS 号:43-1003); (b) (311) 衍射峰放大图; (c) Co_3O_4 纳米晶和 (d) Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的 HRTEM 图; (e) Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶中 Cl 的 2p XPS 精细谱

Fig. 1 Structural characterization of materials

(a) XRD patterns of Co_3O_4 NCs and Cl^- doped Co_3O_4 NCs, alongside the standard XRD pattern of Co_3O_4 (JCPDS card no. 43-1003); (b) zoom-in XRD patterns of (311) diffraction peak; HRTEM images of (c) Co_3O_4 NCs and (d) Cl^- doped Co_3O_4 NCs; (e) High-resolution XPS spectrum in the Cl 2p region of Cl^- doped Co_3O_4 NCs

通过测量 ox-TMB 在 652 nm 处的特征吸收峰的吸光度随反应时间的变化情况来研究 Cl^- 掺杂前后 Co_3O_4 纳米晶的类 POD 活性。产物 ox-TMB 的吸收峰强度越高,表明材料的类 POD 活性越好。图 2(a) 为使用不同催化剂(Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶与 Co_3O_4 纳米晶)时,反应体系分别在 652 nm 处的吸光度随时间的变化情况。如图所示,产物的吸光度随反应时间线性增加。其中 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶具有更高的类 POD 活性。内插图是不同催化剂氧化 TMB 的显色照片。根据图 2(a) 中的数据,由公式(2)计算得出使用不同催化剂时的类 POD 初始反应速率(图 2(b))。由图 2(b) 中数据可知, Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的初始反应速率为 $3.6 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。相较于 Co_3O_4 纳米晶($v = 2.8 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)其初始反应速率提高了 1.3 倍,即 Cl^- 掺杂显著增强了 Co_3O_4 纳米晶的类 POD 催化活性。

2.2.2 催化剂用量,反应的 pH 值及温度对 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的类 POD 催化活性的影响

纳米酶的类 POD 催化活性受催化剂用量、溶液的 pH 和温度等因素影响较大。因此,为了得到最佳的类酶催化条件,对催化反应体系的相关参数进行了优化。如图 3(a) 所示,在 500 mmol/L H_2O_2 和 2 mmol/L TMB 存在的酸性条件下(pH=3.6), Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的类

POD 活性随着催化剂质量浓度的增大而增大,使用公式 3 计算可得比活度(SA)为 0.84 U/mg(图 3(b))。

同时,分别在 pH 为 2.6~9.0、温度为 25 °C~65 °C 的条件下测试了 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的类 POD 活性。如图 3(c) 所示,当 pH=3.6 时, Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶具有最高的类 POD 活性。随后,当 pH 值从 3.6 增加到 9.0 时,材料的相对活性由 100% 下降到 33%。这主要是由于随着 pH 值的升高, H_2O_2 容易发生分解产生 O_2 和 H_2O 的副反应^[19],因而其分解产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot\text{OH}$ 的类 POD 反应活性降低。因此,该催化反应体系的最佳 pH 值为 3.6。如图 3(d) 所示,当反应温度从 25 °C 增加到 50 °C 时, Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的类 POD 活性逐渐增大。而后,随着反应温度从 50 °C 增加到 68 °C,材料的类 POD 相对活性降低到 78%。文献报道的大部分金属氧化物纳米酶的类 POD 活性和本结果相似^[7],都表现出火山形的温度依赖相关性。温度升高,加速分子的热运动,提高分子间碰撞的频率,降低催化反应的活化能,使得反应速率增加。但过高的反应温度,可能会加速反应体系中 H_2O_2 分解产生的 ROS 的猝灭,进而影响 ROS 与底物 TMB 的反应,降低类 POD 活性。因此,该催化反应体系的最佳反应温度为 50 °C。综上所述, Cl^-

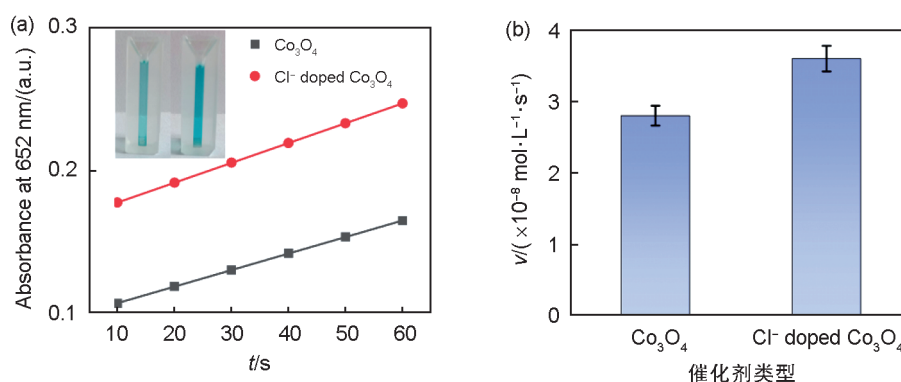


图2 Cl^- 掺杂对 Co_3O_4 的类 POD 性能的影响

(a) 使用不同催化剂的反应体系在 652 nm 处吸光度随时间的变化,内插图是不同催化剂氧化 TMB 的显色照片;反应条件是:在含有 TMB (1 mmol/L) 和 H_2O_2 (500 mmol/L) 的 pH=3.6 的 HAc-NaAc 缓冲溶液中,加入不同催化剂(4 mg/L);(b) 不同催化剂的类 POD 初始反应速率

Fig. 2 Effects of Cl^- doping on the POD-like activity of Co_3O_4

(a) Reaction-time curves of TMB oxidation reaction in the presence of different catalysts; The inset is the chromogenic reaction of the oxidation of TMB by different catalysts. Time-dependent absorbance at 652 nm was measured from solutions containing TMB (1 mmol/L), H_2O_2 (500 mmol/L), and different catalysts (4 mg/L), respectively. (b) The POD-like initial reaction rates of different catalysts

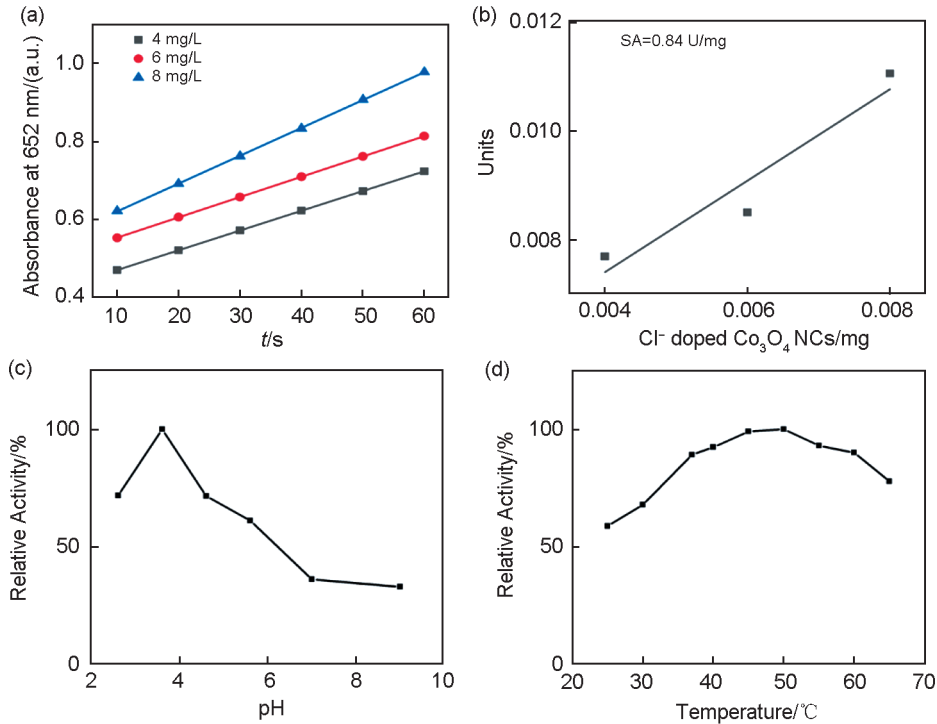


图3 不同催化反应条件对材料的催化性能的影响

(a)在含有TMB (2 mmol/L)和H₂O₂ (500 mmol/L)的pH=3.6的HAc-NaAc缓冲溶液中,加入不同浓度的Cl⁻掺杂Co₃O₄纳米晶后,反应液在652 nm处吸光度随时间的变化,反应温度30 °C;(b)Cl⁻掺杂Co₃O₄纳米晶的比活性;Cl⁻掺杂Co₃O₄纳米晶在不同(c)pH和(d)温度下的类POD催化性能

Fig. 3 The influence of different catalytic reaction conditions on the catalytic performance of the materials

(a) Time-dependent absorbance at 652 nm measured from the reaction solutions containing TMB (2 mmol/L), H₂O₂ (500 mmol/L), and different concentrations of Cl⁻ doped Co₃O₄ NPs (mg/L) in HAc-NaAc buffer solution (pH=3.6), at 30 °C; (b) The SA of Cl⁻ doped Co₃O₄ NPs; Dependence of the POD-like activity of Cl⁻ doped Co₃O₄ NPs on (c) pH and (d) temperature

掺杂Co₃O₄纳米晶在pH=3.6,反应温度为50 °C时具有最佳的类POD活性。由于50 °C的反应温度不易控制,如无特别说明,本研究中的大部分类POD催化活性测试是在25 °C下进行的。

2.3 Cl⁻掺杂增强Co₃O₄纳米晶的类POD催化活性的反应机制研究

2.3.1 对催化反应体系中存在的活性氧物种(ROS)的研究

通过以上研究,我们发现Cl⁻掺杂可显著增强Co₃O₄纳米晶的类POD催化活性,并对其最佳的催化条件进行了优化。那么,Cl⁻掺杂增强Co₃O₄纳米晶的类POD催化活性的反应机制是什么呢?为了回答该问题,我们对Cl⁻掺杂前后催化反应体系中存在的ROS的种类及相对含量进行了研究。首先,使用对苯二甲酸(TA)作为荧光探针捕捉催化反应体系中产生的·OH。TA易与·OH反应生成2-羟基对苯二甲酸(TAOH)。TAOH在315 nm的激发光下,

在452 nm附近有强的荧光发射峰。如图4(a)所示,Co₃O₄+H₂O₂+TA体系在452 nm处的荧光发射峰的强度远低于对照组(H₂O₂+TA)。说明Co₃O₄催化H₂O₂分解产生了其他产物,而非·OH。而Cl⁻掺杂Co₃O₄+H₂O₂+TA体系的荧光发射峰强度相较于对照组增强了约5倍。这说明Cl⁻掺杂Co₃O₄纳米晶能有效地活化H₂O₂分解产生·OH。

进一步地,利用5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(DMPO)作为·OH猝灭剂,研究了DMPO对Cl⁻掺杂前后Co₃O₄纳米晶的类POD活性的抑制情况。如图4(b)所示,Co₃O₄纳米晶体系在加入DMPO后,初始反应速率仅由 $2.8 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 降为 $2.6 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$,DMPO对Co₃O₄纳米晶的类POD活性无明显抑制。而Cl⁻掺杂Co₃O₄纳米晶体系的初始反应速率在加入DMPO后显著下降,由 $3.6 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 降为 $1.3 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$,即

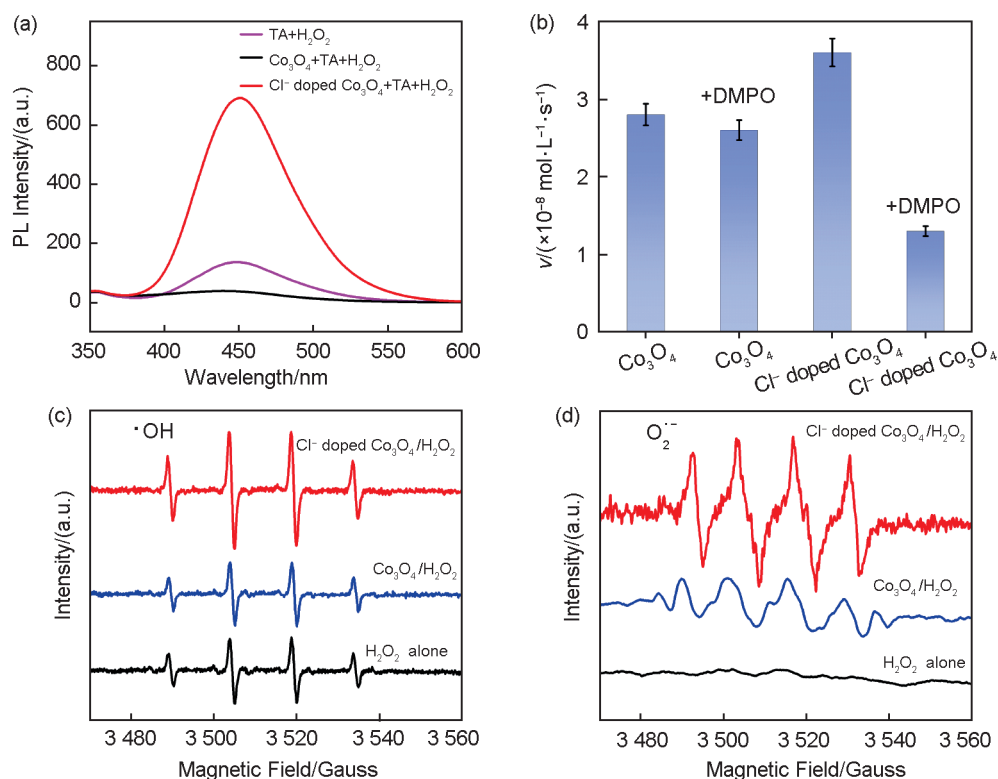


图4 材料的催化反应机理研究

(a)利用TA捕捉不同催化反应体系中的 $\cdot\text{OH}$ 的荧光光谱,产物TAOH最大发射波长是452 nm;(b)利用DMPO猝灭不同催化反应体系中的 $\cdot\text{OH}$ 前后,相应催化剂的类POD初始反应速率。反应条件是:催化剂(4 mg/L),TMB(1 mmol/L), H_2O_2 (500 mmol/L),DMPO(5 mmol/L),HAc/NaAc 缓冲溶液 (pH=3.6);不同催化体系中(c) $\cdot\text{OH}$ 和(d) $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的EPR谱图。其中对照组中仅加入DMPO(自由基捕获剂)和 H_2O_2

Fig. 4 Catalytic reaction mechanism of materials

(a) TA as a fluorescent probe for the detection of $\cdot\text{OH}$ in the Co_3O_4 NCs and Cl^- doped Co_3O_4 NCs systems, the product TAOH presents a maximum emission wavelength of 452 nm; (b) The effect of ROS quencher (DMPO) on the POD-like reaction rate catalyzed by Co_3O_4 NCs or Cl^- doped Co_3O_4 NCs in HAc/NaAc buffer (pH=3.6), General conditions: catalyst 4 mg/L, TMB 1 mmol/L, H_2O_2 500 mmol/L, ROS quencher: DMPO 5 mmol/L; EPR spectra of (c) DMPO/ $\cdot\text{OH}$ adducts and (d) DMPO/ $\text{O}_2^{\cdot-}$ adducts in the Co_3O_4 NCs and Cl^- doped Co_3O_4 NCs systems. In the control group, only DMPO and H_2O_2 were added

DMPO对 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的类POD活性的抑制率为63.9%。该结果进一步说明了 Co_3O_4 纳米晶不能催化 H_2O_2 分解产生 $\cdot\text{OH}$,而 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶能高效地催化 H_2O_2 分解产生 $\cdot\text{OH}$,该结论与TA的实验结果一致。

在以上对 Cl^- 掺杂前后催化体系中存在的ROS的研究基础上,进一步地,我们以DMPO为自由基捕获剂,利用EPR谱对 Cl^- 掺杂前后催化反应体系中存在的ROS的种类及相对含量进行了研究。首先,以HAc-NaAc缓冲液为溶剂时,利用DMPO捕捉反应体系中的 $\cdot\text{OH}$ 。如图4(c)所示,EPR谱中出现的一组强度比为1:2:2:1的峰为DMPO- $\cdot\text{OH}$ 的特征峰。 Co_3O_4 纳米晶体系中该组特征峰的强度与对照组

(DMPO+ H_2O_2)相比变化不大,说明 Co_3O_4 纳米晶不能催化 H_2O_2 分解产生 $\cdot\text{OH}$ 。 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶体系中DMPO- $\cdot\text{OH}$ 的特征峰的强度明显强于对照组,说明其能有效地催化 H_2O_2 分解产生 $\cdot\text{OH}$ 。而后,以甲醇为溶剂,利用DMPO捕捉反应体系中的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 。

如图4(d)所示,对照组无 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的特征信号,而 Co_3O_4 纳米晶与 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的EPR谱都显示了一组四个强峰,很好地吻合了DMPO- $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的特征峰,证明这两种催化剂都能催化 H_2O_2 分解产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 。其中, Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶体系的特征峰的强度高于 Co_3O_4 纳米晶体系,说明 Cl^- 掺杂后 Co_3O_4 纳米晶催化 H_2O_2 分解产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力增强了。综上所述,EPR的

表征结果表明, Co_3O_4 纳米晶催化 H_2O_2 分解主要产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 。 Cl^- 掺杂后, Co_3O_4 纳米晶催化 H_2O_2 分解产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力增强, 同时还催化 H_2O_2 分解产生了 $\cdot\text{OH}$ 。 由于 Co_3O_4 纳米晶在掺杂 Cl^- 后活化 H_2O_2 分解产生了更多的 $\text{O}_2^{\cdot-}$, 同时新产生的 $\cdot\text{OH}$ 相较于 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 有更强的氧化性, 因而其类 POD 活性在掺杂后大幅增强。

2.3.2 Cl^- 掺杂对 Co_3O_4 纳米晶表面的氧空位含量的影响

为了进一步研究 Cl^- 掺杂对 Co_3O_4 纳米晶催化 H_2O_2 分解产生的 ROS 的调变与催化剂的结构变化的相关性, 利用 EPR 谱对 Cl^- 掺杂前后材料表面的氧空位的变化情况进行了分析。 如图 5 所示, Co_3O_4 纳米晶与 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶在 $g=2.005$ 处表现出独特的对称 EPR 信号, 说明材料表面存在氧空位。 其中 Cl^- 掺杂后, Co_3O_4 纳米晶的 EPR 信号强度增强, 表明掺杂导致 Co_3O_4 纳米晶表面的氧空位含量增多。 张跃兴等人已报道 Co_3O_4 纳米晶表面存在氧空位时, 将促进 H_2O_2 的吸附并有利于 H_2O_2 分解产生 $\cdot\text{OH}$ [32]。 因而, Cl^- 掺杂后, Co_3O_4 纳米晶表面的氧空位含量增多, 这可能是其能催化 H_2O_2 分解产生 $\cdot\text{OH}$, 相

较于掺杂前类 POD 活性增强的原因之一。

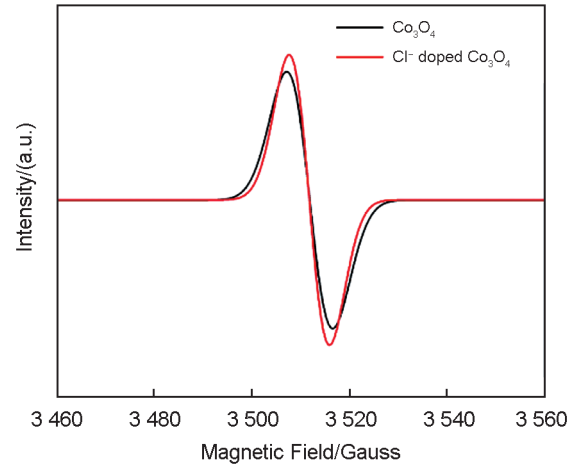


图5 Co_3O_4 纳米晶与 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的 EPR 谱
Fig. 5 EPR spectra of Co_3O_4 NCs and Cl^- doped Co_3O_4 NCs.

2.3.3 Cl^- 掺杂对 Co_3O_4 纳米晶的电子结构的影响

进一步地, 利用 XPS 对 Cl^- 掺杂前后 Co_3O_4 纳米晶的电子结构的变化情况进行了分析。 如图 6(a) 所示, 在 Co_3O_4 纳米晶的 Co 2p 的高分辨 XPS 谱中, 780.96 eV 和 795.86 eV 处的一对自旋轨道分裂峰归属为 Co^{2+} 的 $2p_{3/2}$ 和 $2p_{1/2}$ 峰; 779.45 eV 和 794.35 eV 处的一对自旋轨道分裂峰归属为 Co^{3+} 的 $2p_{3/2}$ 和 $2p_{1/2}$ 峰 [33]。 如图 6(b)

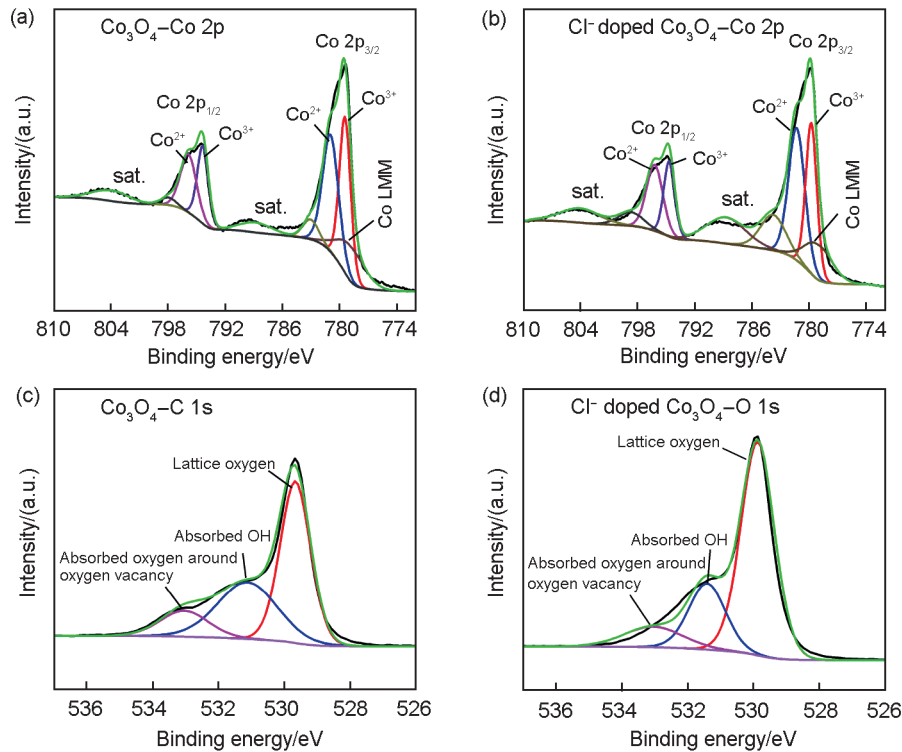


图6 Co_3O_4 纳米晶的 (a) Co 2p 与 (c) O 1s XPS 谱图; Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的 (b) Co 2p 与 (d) O 1s XPS 谱图

Fig. 6 XPS spectra of Co 2p and O 1s for Co_3O_4 NCs (a, c) and Cl^- doped Co_3O_4 NCs (b, d)

所示,在 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的Co 2p的高分辨XPS谱中,781.31 eV和796.21 eV处的一对自旋轨道分裂峰归属为 Co^{2+} 的 $2p_{3/2}$ 和 $2p_{1/2}$ 峰;779.78 eV和794.68 eV处的一对自旋轨道分裂峰归属为 Co^{3+} 的 $2p_{3/2}$ 和 $2p_{1/2}$ 峰。同时,对两个样品中相应的卫星峰及俄歇峰的位置也做了指认。此外,图6(c)的 Co_3O_4 纳米晶的O 1s高分辨XPS谱可分峰拟合成位于529.65 eV、531.21 eV和533.25 eV处的3个峰,分别归属于晶格氧(O_L)、表面吸附羟基(OH_A)以及氧空位周围吸附的氧(O_{A-OV})^[34]。 Cl^- 掺杂后, Co_3O_4 纳米晶的O1s高分辨XPS谱中相应氧物种的结合能发生移动,分别为529.91 eV、531.41 eV和532.66 eV(图6(d))。综上所述, Cl^- 掺杂后, Co_3O_4 纳米晶中Co 2p与O 1s的XPS精细谱中相应特征峰的结合能大都向高结合能方向移动(表2),结合能变大表明 Cl^- 掺杂后材料表面的Co和O原子处于缺电子状态,即 Cl^- 掺杂后 Co_3O_4 纳米晶的电子结构发生了改变,这可能是其催化活性增强的原因之一。

2.4 其他卤素离子掺杂对 Co_3O_4 纳米晶的类POD活性的影响

在成功合成 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶,并对其类POD性能及催化活性增强机制研究的基础上,我们进一步研究了现有合成方法的可拓展性。首先,利用固相研磨法将 F^- 、 Br^- 、 I^- 分别掺入 Co_3O_4 纳米晶中,并研究了掺杂对 Co_3O_4 纳米晶的类POD催化性能的影响。合成时,卤化钠的质

表2 Co_3O_4 纳米晶和 Cl^- 掺杂 Co_3O_4 纳米晶的Co 2p和O1s XPS光谱拟合结果

Table 2 XPS fitting results of Co 2p and O1s spectra for Co_3O_4 NCs and Cl^- doped Co_3O_4 NCs

	Co_3O_4 NCs	Cl^- doped Co_3O_4 NCs
Co 2p _{3/2} (Co^{3+})	779.45	779.78
Co 2p _{1/2} (Co^{3+})	794.35	794.68
Co 2p _{3/2} (Co^{2+})	780.96	781.31
Co 2p _{1/2} (Co^{2+})	795.86	796.21
O_L	529.65	529.91
OH_A	531.21	531.41
O_{A-OV}	533.25	532.66

量占卤化钠与商用 Co_3O_4 纳米晶的总质量的百分比为15%。如图7(a)所示, F^- 、 Br^- 、 I^- 的掺入显著提高了 Co_3O_4 纳米晶的类POD活性。不同催化剂的类POD初始反应速率见图7(b)。

F^- 、 Br^- 、 I^- 的掺入使得 Co_3O_4 纳米晶的类POD初始反应速率分别提高了1.22倍、1.21倍、1.20倍。同时,以TA为荧光探针的 $\cdot\text{OH}$ 的捕获实验表明, F^- 、 Br^- 、 I^- 掺杂的 Co_3O_4 纳米晶能有效催化 H_2O_2 分解产生 $\cdot\text{OH}$ (图7(c))。以上研究结果表明,卤素掺杂是提高 Co_3O_4 纳米晶的类POD活性的有效途径。

2.5 将基于固相研磨的卤素掺杂法应用于其他金属氧化物纳米晶及其类POD活性的影响

进一步地,为了研究卤素掺杂对金属氧化物纳米晶的类POD活性的调变作用是否具有普适性,我们利用固相研磨法将 Cl^- 分别掺入 CuO 、 P25 、 ZnO 中,并研究了掺杂对相应材料的

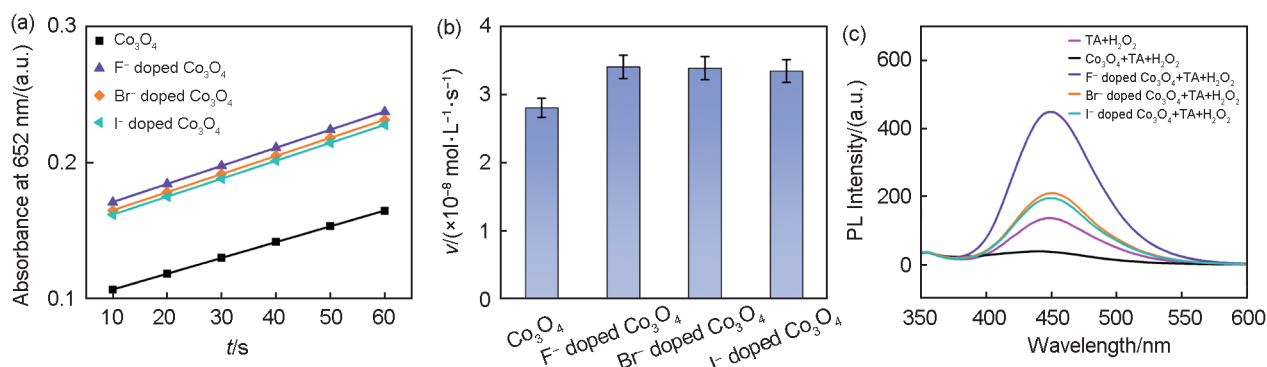


图7 其他卤素离子掺杂的 Co_3O_4 纳米晶的催化性能及反应机理研究

(a) 使用不同催化剂的反应体系在652 nm处吸光度随时间的变化; (b) 不同催化剂在HAc/NaAc缓冲溶液中的类POD初始反应速率; (c) TA捕捉不同催化反应体系中的 $\cdot\text{OH}$ 的荧光谱图

Fig. 7 Catalytic properties and reaction mechanism of Co_3O_4 nanocrystals doped with other halogen ions

(a) Reaction-time curves of TMB oxidation reaction in the presence of different catalysts; (b) The POD-like reaction rates of different catalysts in HAc/NaAc buffer (pH=3.6); (c) TA as a fluorescent probe for the detection of $\cdot\text{OH}$

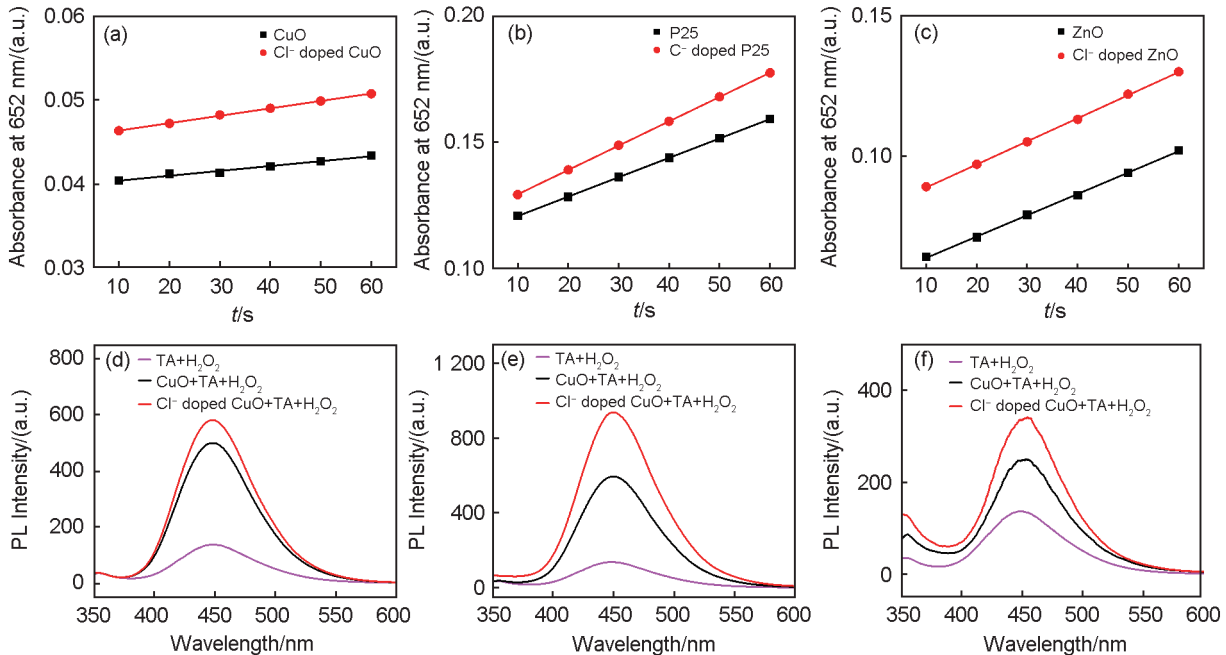


图8 Cl⁻掺杂增强其他金属氧化物的类POD活性和反应机理研究

在含有TMB (1 mmol/L)和H₂O₂ (500 mmol/L)的pH=3.6的NaAc-HAc缓冲溶液中,不同催化剂(4 mg/L)在652 nm处吸光度随时间的变化曲线:(a) CuO和Cl⁻掺杂CuO;(b) P25和Cl⁻掺杂P25;(c) ZnO和Cl⁻掺杂ZnO;利用TA捕捉不同催化剂催化H₂O₂分解产生的•OH的荧光光谱:(d) CuO和Cl⁻掺杂CuO;(e) P25和Cl⁻掺杂P25;(f) ZnO和Cl⁻掺杂ZnO

Fig. 8 Cl⁻ doping enhances the POD-like activity of other metal oxides and the study of reaction mechanisms

(a—c) Reaction-time curves of TMB oxidation reaction in the presence of different catalysts. Time-dependent absorbance at 652 nm was measured from solutions containing TMB (1 mmol/L), H₂O₂ (500 mmol/L), and different catalysts (4 mg/L), respectively; (d—f) TA as a fluorescent probe for the detection of •OH

类POD性能的影响情况。对材料的类POD性能的UV-Vis光谱研究表明,Cl⁻掺杂增强了相应金属氧化物纳米晶的类POD活性(图8(a—c))。同时,由基于TA的荧光光谱分析可知,Cl⁻掺杂增强了相应金属氧化物纳米晶活化H₂O₂产生•OH的能力(图8(d—f)),这可能是其类POD活性增强的主要原因。由表3中Cl⁻掺杂前后催化剂的初始反应速率值可知,Cl⁻掺杂使得CuO、P25与ZnO的类POD初始反应速率分别提高约1.5倍、1.3倍、1.1倍。以上结果表明,基于固相研磨的卤素掺杂法能拓展到除Co₃O₄纳米晶以外的其他金属氧化物纳米晶中,并提高相应材料的类POD活性。即卤素掺杂在一些体系中是提高金属氧化物纳米晶的类POD活性的有效手段。

3 结论

综上所述,本研究通过固相研磨法成功地制备出Cl⁻掺杂Co₃O₄纳米晶,发现Cl⁻掺杂能

表3 不同催化剂在HAc/NaAc缓冲液中的类POD初始反应速率

Table. 3 The POD-like initial reaction rates of different catalysts in HAc/NaAc buffer (pH=3.6)

Catalyst	$v/\times 10^{-9} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
CuO	1.5
Cl ⁻ doped CuO	2.2
P25	20
Cl ⁻ doped P25	25
ZnO	20
Cl ⁻ doped ZnO	21

显著增强材料的类POD活性,并对其增强机制进行了研究。同时,成功地将该合成方法应用到其他材料的改性中,亦得到增强其类POD性能的有益效果。本研究开发出的基于卤素掺杂的金属氧化物纳米晶的改性方法,有望为具有高效类POD性能的纳米酶的研制提供新途径,促进纳米酶在生物传感,污染物检测及水处理等领域的应用。近期,我们将掺杂改性后的材料应用于有机染料的氧化降解反应中,发现其

展现出较优的催化性能,相关后续工作正在进一步完善中。同时,本研究对材料的类POD催化反应机理的认识有限,未来将借助理论计算等方法来进一步阐明催化剂的构效关系。

参考文献:

- [1] MENG X Q, FAN K L, YAN X Y. Nanozymes: an Emerging Field Bridging Nanotechnology and Enzymology[J]. *Sci China Life Sci*, 2019, **62**(11): 1543–1546. DOI: 10.1007/s11427-019-1557-8.
- [2] WU J, WANG X Y, WANG Q, *et al.* Nanomaterials with Enzyme-like Characteristics (Nanozymes): Next-generation Artificial Enzymes (II) [J]. *Chem Soc Rev*, 2019, **48**(4): 1004–1076. DOI: 10.1039/C8CS00457A.
- [3] WEI H, WANG E K. Nanomaterials with Enzyme-like Characteristics (Nanozymes): Next-generation Artificial Enzymes[J]. *Chem Soc Rev*, 2013, **42**(14): 6060–6093. DOI: 10.1039/C3CS35486E.
- [4] ZHOU J, XU D T, TIAN G, *et al.* Coordination-driven Self-assembly Strategy-activated Cu Single-atom Nanozymes for Catalytic Tumor-specific Therapy[J]. *J Am Chem Soc*, 2023: **145**: 4279–4293. DOI: 10.1021/jacs.2c13597.
- [5] FU W H, ZHANG X, MEI L Q, *et al.* Stimuli-responsive Small-on-large Nanoradiosensitizer for Enhanced Tumor Penetration and Radiotherapy Sensitization[J]. *ACS Nano*, 2020, **14**(8): 10001–10017. DOI: 10.1021/acsnano.0c03094.
- [6] MEI L Q, MA D Q, GAO Q, *et al.* Glucose-responsive Cascaded Nanocatalytic Reactor with Self-modulation of the Tumor Microenvironment for Enhanced Chemo-catalytic Therapy[J]. *Mater Horiz*, 2020, **7**(7): 1834–1844. DOI: 10.1039/D0MH00105H.
- [7] GAO L Z, ZHUANG J, NIE L, *et al.* Intrinsic Peroxidase-like Activity of Ferromagnetic Nanoparticles [J]. *Nat Nanotechnol*, 2007, **2**(9): 577–583. DOI: 10.1038/nnano.2007.260.
- [8] HUANG Y Y, REN J S, QU X G. Nanozymes: Classification, Catalytic Mechanisms, Activity Regulation, and Applications[J]. *Chem Rev*, 2019, **119**(6): 4357–4412. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00672.
- [9] ZHANG H J, LIANG X, HAN L, *et al.* "Non-naked" Gold with Glucose Oxidase-like Activity: A Nanozyme for Tandem Catalysis[J]. *Small*, 2018, **14**(44): 1803256. DOI: 10.1002/sml.201803256.
- [10] MU J S, ZHANG L, ZHAO G Y, *et al.* The Crystal Plane Effect on the Peroxidase-like Catalytic Properties of Co₃O₄ Nanomaterials[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2014, **16**(29): 15709–15716. DOI: 10.1039/C4CP01326C.
- [11] FANG G, LI W F, SHEN X M, *et al.* Differential Pd-nanocrystal Facets Demonstrate Distinct Antibacterial Activity Against Gram-positive and Gram-negative Bacteria[J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 129. DOI: 10.1038/s41467-017-02502-3.
- [12] TAN Z C, WANG Y, ZHANG J, *et al.* Shape Regulation of CeO₂ Nanozymes Boosts Reaction Specificity and Activity[J]. *Eur J Inorg Chem*, 2022, **2022**(20): e202200202. DOI: 10.1002/ejic.202200202.
- [13] FAN K L, WANG H, XI J Q, *et al.* Optimization of Fe₃O₄ Nanozyme Activity via Single Amino Acid Modification Mimicking an Enzyme Active Site[J]. *Chem Commun*, 2017, **53**(2): 424–427. DOI: 10.1039/C6CC08542C.
- [14] WU Y, XU W Q, JIAO L, *et al.* Defect Engineering in Nanozymes[J]. *Mater Today*, 2022, **52**: 327–347. DOI: 10.1016/j.mattod.2021.10.032.
- [15] JAMPAIAH D, SRINIVASA REDDY T, KANDJANI A E, *et al.* Fe-doped CeO₂ Nanorods for Enhanced Peroxidase-like Activity and Their Application towards Glucose Detection[J]. *J Mater Chem B*, 2016, **4**(22): 3874–3885. DOI: 10.1039/C6TB00422A.
- [16] JIAO X, LIU W Y, WU D, *et al.* Enhanced Peroxidase-like Activity of Mo-doped Ceria Nanoparticles for Sensitive Colorimetric Detection of Glucose[J]. *Anal Methods*, 2018, **10**(1): 76–83. DOI: 10.1039/C7AY02459B.
- [17] DING Y N, LIU H, GAO L N, *et al.* Fe-doped Ag₂S with Excellent Peroxidase-like Activity for Colorimetric Determination of H₂O₂[J]. *J Alloys Compd*, 2019, **785**: 1189–1197. DOI: 10.1016/j.jallcom.2019.01.225.
- [18] WANG T, SU P, LI H F, *et al.* Triple-enzyme Mimetic Activity of Co₃O₄ Nanotubes and Their Applications in Colorimetric Sensing of Glutathione[J]. *New J Chem*, 2016, **40**(12): 10056–10063. DOI: 10.1039/C6NJ02280D.
- [19] LIU X, YAN L, CAI Y Y, *et al.* Facile Synthesis of Magnetic Hierarchical Flower-like Co₃O₄ Spheres: Mechanism, Excellent Tetra-enzyme Mimics and Their Colorimetric Biosensing Applications[J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, **165**: 112342. DOI: 10.1016/j.bios.2020.112342.
- [20] HUO J Z, HAO J Y, MU J S, *et al.* Surface Modification of Co₃O₄ Nanoplates as Efficient Peroxidase Nanozymes for Biosensing Application[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2021, **4**(4): 3443–3452. DOI: 10.1021/acsbm.1c00017.
- [21] LIU P, WANG Y B, HAN L, *et al.* Colorimetric Assay of Bacterial Pathogens Based on Co₃O₄ Magnetic Nanozymes Conjugated with Specific Fusion Phage Proteins and Magnetophoretic Chromatography[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, **12**(8): 9090–9097. DOI: 10.1021/acsbm.1c00017.
- [22] ZHANG W, DONG J L, WU Y, *et al.* Shape-dependent Enzyme-like Activity of Co₃O₄ Nanoparticles and Their Conjugation with His-tagged EGFR Single-domain Antibody[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, **154**: 55–62. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.02.034.
- [23] LU W H, YUAN M, CHEN J, *et al.* Synergistic Lewis Acid-

- base Sites of Ultrathin Porous Co_3O_4 Nanosheets with Enhanced Peroxidase-like Activity[J]. *Nano Res*, 2021, **14**(10): 3514–3522. DOI: 10.1007/s12274-021-3656-9.
- [24] LIU X J, WU F J, AU C, *et al.* Co_3O_4 -g- C_3N_4 Composites with Enhanced Peroxidase-like Activities for the Degradation of Environmental Rhodamine B[J]. *React Kinet Mech Cat*, 2020, **130**(2): 1109–1121. DOI: 10.1007/s11144-020-01815-7.
- [25] LIU X W, CAO X Y, ZHAO S, *et al.* N, S Co-doped Co_3O_4 Core-shell Nanospheres with High Peroxidase Activity for the Fast Colorimetric Detection of Catechol [J]. *Anal Methods*, 2021, **13**(44): 5377–5382. DOI: 10.1039/D1AY01500A.
- [26] ISHO R D, SHER M N M, OMER K M. Enhancing Enzymatic Activity of $\text{Mn@Co}_3\text{O}_4$ Nanosheets as Mimetic Nanozyme for Colorimetric Assay of Ascorbic Acid[J]. *Anal Biochem*, 2022, **654**: 114818. DOI: 10.1016/j.ab.2022.114818.
- [27] GAO M, LU X F, CHEN S H, *et al.* Enhanced Peroxidase-like Activity of Mo^{6+} -doped Co_3O_4 Nanotubes for Ultrasensitive and Colorimetric L-cysteine Detection[J]. *ACS Appl Nano Mater*, 2018, **1**(9): 4703–4715. DOI: 10.1021/acsanm.8b00945.
- [28] ZHAN C, WANG Q X, ZHOU L Y, *et al.* Critical Roles of Doping Cl on Cu_2O Nanocrystals for Direct Epoxidation of Propylene by Molecular Oxygen[J]. *J Am Chem Soc*, 2020, **142**(33): 14134–14141. DOI: 10.1021/jacs.0c03882.
- [29] GAO J, YANG G F, LI H T, *et al.* High-performance Chlorine-doped Cu_2O Catalysts for the Ethynylation of Formaldehyde[J]. *Processes*, 2019, **7**(4): 198. DOI: 10.3390/pr7040198.
- [30] 牛新书, 孙静霞, 邓伟娜. 掺 Sm^{3+} 的 WO_3 纳米粉体的制备及其 NO_2 气敏性能[J]. 电子元件与材料, 2009, **28**(9): 5–7. DOI: 10.3969/j.issn.1001-2028.2009.09.002.
- NIU X S, SUN J X, DENG W N. Preparation and NO_2 Gas Sensing Property of Sm^{3+} -doped WO_3 Nano Powder [J]. *Electron Compon Mater*, 2009, **28**(9): 5–7. DOI: 10.3969/j.issn.1001-2028.2009.09.002.
- [31] 王金淑, 邢鹏飞, 李莉莉, 等. 机械化学法 N 掺杂纳米 TiO_2 的制备与表征[J]. 北京工业大学学报, 2006, **32**(7): 633–637. DOI: 10.3969/j.issn.0254-0037.2006.07.012.
- WANG J S, XING P F, LI L L, *et al.* Synthesis and Characterization of Nano-sized Nitrogen Doped TiO_2 by Mechanochemical Method[J]. *J Beijing Univ Technol*, 2006, **32**(7): 633–637. DOI: 10.3969/j.issn.0254-0037.2006.07.012.
- [32] LU J T, ZHANG H W, LI S, *et al.* Oxygen-vacancy-enhanced Peroxidase-like Activity of Reduced Co_3O_4 Nanocomposites for the Colorimetric Detection of H_2O_2 and Glucose[J]. *Inorg Chem*, 2020, **59**(5): 3152–3159. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.9b03512.
- [33] COLE K M, KIRK D W, THORPE S J. Co_3O_4 Nanoparticles Characterized by XPS and UPS[J]. *Surf Sci Spectra*, 2021, **28**(1): 014001. DOI: 10.1116/6.0000477.
- [34] ZHANG R R, PAN L, GUO B B, *et al.* Tracking the Role of Defect Types in Co_3O_4 Structural Evolution and Active Motifs During Oxygen Evolution Reaction[J]. *J Am Chem Soc*, 2023, **145**(4): 2271–2281. DOI: 10.1021/jacs.2c10515.