文章编号: 1007 - 4252(2022)04 - 0004 - 301 DOI: 10.20027/j.gncq.2022.0043

N 掺杂碳基单原子催化剂在电化学生物传感领域的研究与应用

左国防[1,2,*],王 鹏[1,2],廖天录[1,2]

(1.甘肃省高校新型分子材料设计与功能省级重点实验室,天水 741000; 2. 天水师范学院化学工程与技术学院,天水 741000)

摘要: 基于单原子催化剂(SACs)最大的原子利用率、可调控的电子结构、高活性位点、特殊的催化反应性能以及高度稳定性等特性,研究者以 N 掺杂碳基材料为载体,配体单元材料为模型,将单原子催化的研究拓展到电化学生物传感材料改性领域,研究了载体、金属配位单元对 SACs 催化活性的影响,总结了 N 掺杂碳基 SACs 在电化学生物传感领域中的最新研究进展,提出并探讨了该多相催化剂在电化学生物传感领域的应用前景以及面临的挑战。

关键词: 单原子催化剂; N 掺杂碳基材料; 电化学生物传感

中图分类号: O643.36 **文献标志码:** A

Research and application of single-atom catalysis in electrochemical biosensors based on N doped carbon-based materials

ZUO Guo-fang[1,2,*], WANG Peng[1,2], LIAO Tian-lu[1,2]

(1. Key Laboratary for New Molecule Material Design and Function of Gansu Universities, Tianshui 741000, China; 2. College of Chemical Engineering and Technology, Tianshui Normal University, Tianshui 741000, China)

Abstract: Based on single-atom catalysis the greatest atom utilization, the regulation of electronic structure, regulation of highly active sites, special performance of catalytic reaction, and the characteristics of high stability, which will be expanded in the field of electrochemical biosensor materials modification. Researchers further explore single-atom catalyst application in the field of electrochemical biosensing. In this paper, N doped carbon-based materials as a carrier, metal coordination unit as a model, researchers studied the carrier metal coordination unit of single atomic catalytic activity of the catalyst, the influence of metal coordination-N doped carbon-based materials and the latest research progress in the field of electrochemical biosensing applications, summarized the heterogeneous catalyst application prospect and challenges in the field of electrochemical biosensing applications.

Key words: Single-atom catalysis; N doped carbon-based materials; Electrochemical biosensors

收稿日期: 2022-03-22; **修订日期:** 2022-07-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(21465021).

通信作者: 左国防(1970-),男,天水师范学院教授,博士,主要从事电分析化学及电化学生物传感研究(E-mail: zogofn@126.com).

0 引言

催化剂的比表面积和尺寸大小，直接影响其催化活性和选择性。与大尺寸催化材料相比，原子级催化材料具有特殊的表面结构、缺陷和丰富的催化活性位点，并显著改善了异相催化过程，由此产生了一个新领域被称为“单原子催化剂(Single-Atom Catalysts，SACs)”[1]。SACs 兼具均相催化剂均匀单一的活性中心和多相催化剂的结构稳定、易分离等特点，被认为是沟通多相催化与均相催化的桥梁。

作为负载型催化剂的一种特殊形态，SACs 中的金属是以单原子或以准单原子的形式高度分散在载体上，当金属粒子减小到单原子程度后将会产生许多新的特性，例如：急剧增大的比表面积和表面自由能、特殊的量子尺寸效应、均一化的活性位点、较低的配位和加强的金属-载体相互作用等。因此与纳米或亚纳米团簇催化剂相比，SACs 具有最大的原子利用率、可调控的电子结构、高活性位点、特殊的催化反应性能以及高度稳定性等[2-3]。

金属原子和载体的相互作用对于 SACs 稳定精细分布至关重要，并对 SACs 的催化性能产生了显著的影响[4-5]。在 SACs 的制备过程中，可以通过寻找与金属原子存在强相互作用的载体或者对载体改性手段，制备稳定性强、负载量高的 SACs[6-7]。常用的载体材料包括金属氧化物、金属单质、石墨烯等碳材料和金属有机骨架网状结构材料[8]。其中，金属元素分布在 N 掺杂石墨烯等碳材料中，可将系统转化为含有 M-N 或 M-C 催化位点的 SACs[9-10]。石墨烯等碳结构材料具有较大的表面积或空位，是理想的容纳充足单原子活性位点的支撑材料。通过选择理想的支撑材料精确调节 SACs 中金属中心的配位环境是非常必要的。研究已经证实 M-N 配位有利于催化反应，$M-N_4$和 $M-N_2$构型的 SACs 在催化反应中占主导地位。因此，基于金属有机配体-N 掺杂碳材料基的单原子催化作用在电化学生物传感领域中的研究与应用已成为最具创新性的研究领域[3,11]。

1 N 掺杂碳材料基单原子催化剂的制备

1.1 SACs 的制备

SACs 的制备分为“自下而上”和“自上而下”两种策略。

“自下而上”策略通常先将单核或多核金属前驱体吸附到载体上，利用载体和金属的相互作用，实现单位点金属原子(或离子)的锚定，然后通过不同的方法还原，限域到载体的空位或缺陷上(图 1)[12]。然而，由于制备和应用过程中活性原子迁移和聚集的强烈趋势，这种制备策略存在两大缺点：一是难以得到高负载量的 SACs(金属质量分数低于 1%)；二是催化剂活性位点的均一性取决于载体中缺陷结构的均一性，这使得制备结构均一的 SACs 较为困难。目前，已经报道的“自下而上”策略有利用空间限制效应、配位效应、化学键合或缺陷限制效应等获得孤立的金属位点。该策略主要包括湿化学法、原子层沉积法、球磨法、电化学沉积法以及光化学合成法等。

由于“自下而上”的合成策略普遍存在金属负载量低和结构均一差的缺点。近年来，SACs 的制备更多采用“自上而下”的合成策略。“自上而下”的 SACs 合成方法是将块状或微纳米结构金属在支持体上转化为稳定的单个原子，具体来说，“自上而下”的制备策略可以解释为外力场诱导金属原子化过程，可能包括三个步骤：1) 表面金属原子的能量驱动分离；2) 离键原子的驱离(例如，迁移或发射)；3) 原子通过强相互作用固定在金属支持体的表面缺陷或尾端功能基团上，包括金属支持体相互作用、电子金属载体相互作用、共价金属支持体相互作用、静电吸附等。前两个步骤通常发生在负载金属催化剂的烧结过程中，而最后一步是解决热力学因素从而有利于原子尺度分散的关键。“自上而下”策略主要包括原位热解法和高温迁移法等。Zhang 等人[13]将 NaCl(盐模板剂)、葡萄糖(碳源)和氯化铁混合冻干后，在 NH_3(NH_3能够提高 N 含量)气氛下先后在 500 ℃和 850 ℃下焙烧，产物除去 NaCl 模板后可得到 Fe_1-NC SACs。Gu 等人[14]通过热解氧化石墨烯(GO)和金属前驱制备了 $Co-N_4$/TiN-RGO SACs。该催化剂的制备主要是利用两种金属(M)在 GO 上的竞争负载实现的。M_1(TiN)占据了较多的 GO 位点，在 M_1占据的间隙中，少量 M_2(Co^{2+})与 GO 结合，保证了 Co 单原子的形成。此外，TiN 还可以起到隔离作用，阻止 Co 单原子的聚集(图 2)。

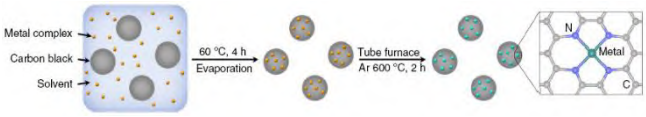
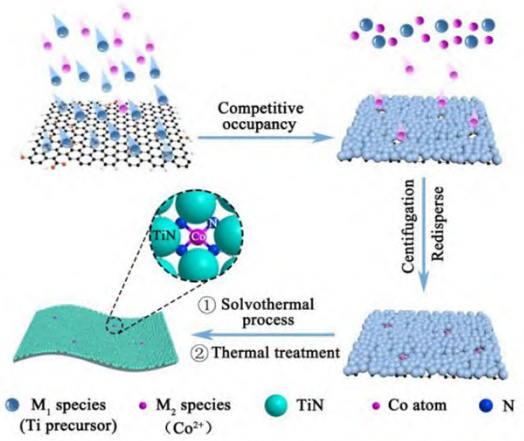


图 1　采用两步法制备金属单原子催化剂（M-SACs）示意图[13]

Fig. 1 Metal single-atom catalysts (M-SACs) are prepared in two steps synthesis procedure [13]



Scheme 1. Schematic process of "competitive occupancy" for the synthesis of Co-N_4/TiN-rGO.

图 2　Co-N_4/TiN-RGO SACs 制备过程示意图[14]

Fig. 2 Schematic process of "competitive occupancy" for the synthesis of Co-N_4/TiN-RGO SACs [14]

1.2　N 掺杂碳材料基 SACs 的制备

制备碳基 SACs，需要对碳基材料进行处理，得到一定数量且合适的锚定位点，通过锚定位点处的碳原子或杂原子与金属原子之间的相互作用，构建非平面的配位构型来降低金属中心的 d 未占据轨道的能量，增强单原子金属位点对反应物的吸附作用，以此来克服金属卟啉等平面配位型分子催化剂的不足，使金属单原子固定在碳基材料表面，抑制金属原子迁移引起的团聚[15]。例如，Zhang 等人[16]将 Fe 原子分散在氮掺杂石墨烯（Fe/NG）表面，发展了一种高效的单原子电催化剂。N 锚定原子 Fe 在 N 掺杂石墨烯上，Fe 原子被四个 N 原子（Fe-N_4）包围，通过密度泛函理论（DFT）计算进一步揭示了嵌入 N 掺杂对石墨烯可能的促进作用（图 3）。

石墨烯为载体的过渡金属（TM）SACs 的稳定性通常是在其缺陷位置引入吡啶类 N 原子，并将石墨烯转化为类似卟啉的大环配体结构，TM 的 d 轨道

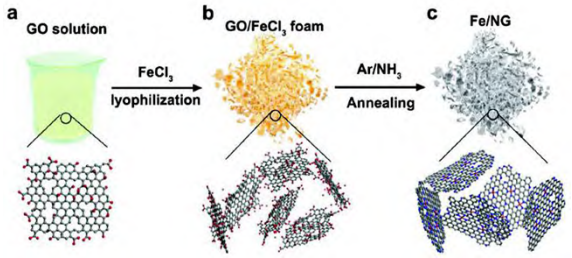


图 3　Fe/NG 的制备过程示意图：（a）GO 悬浮液；（b）通过冻干过程从 GO 获取 Fe/NG 泡沫前驱体；（c）650～800 ℃ Ar/NH_3 退火工艺得到 Fe/NG[16]

Fig. 3 Schematic of the synthesis process of the Fe/NG catalyst. (a) GO suspension; (b) Fe/NG precursor foam obtained from GO through a lyophilization process and (c) the final Fe/NG product obtained through the Ar/NH_3 annealing process at 650～800 ℃ [16]

对于设计整个催化系统费米能级具有重要的意义[17]。例如，研究者[18]通过单原子 Fe 锚定 B 和 N 掺杂石墨烯，结合密度泛函理论，对催化剂的几何形状、电子性质和催化活性进行了比较研究。结果表明，Fe 原子的 1B、1N、2B-1N 配位可以更加有效地控制石墨烯上 SACs-Fe 配位结构的稳定性，该研究为通过改变配位环境调控 SACs 的电子性质提供了依据（图 4）。

显然，碳基材料的化学掺杂是增强其催化活性和电子传输性能的重要途径。研究者[19]考察了石墨烯和 N 掺杂石墨烯与四苯基卟啉分子自组装结构的电子相互作用，揭示了吸附于石墨烯表面卟啉分子的电子解耦效应。在 N 掺杂石墨烯上，局部 N 原子周围的电荷转移是通过分子电子态能级的降低来实现的，石墨烯结构中 N 的存在改变了有机分子与石墨烯的电子相互作用。基于此，研究者[20]探讨了石墨烯载体 SACs 设计的新视角，提出了基于 SACs 的"掺杂催化剂"和"掺杂辅助催化剂"的分类方案，强调了通过掺杂设计高性能 SACs 催化活性的关键因素。

2　N 掺杂碳材料基单原子结构材料的电化学生物传感

为了进一步探索 SACs 在电化学生物传感领域中的应用，研究者以石墨烯等碳基材料为载体，配体单元材料为模型，研究载体、金属配位单元等对

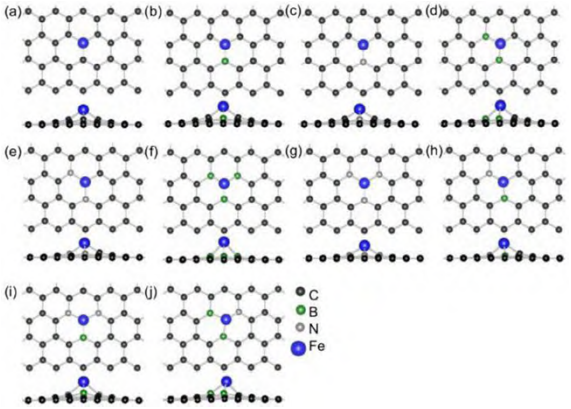


图 4 单原子 Fe 锚定 xB-yN-石墨烯基底的稳定构型[18]

Fig. 4 Stable configurations for single-atom Fe anchored xB-yN-graphenesubstrates[18]

SACs 催化活性的影响。在此基础上，研究者们系统地研究了单原子金属位点的配位对其活性与稳定性的影响，尝试减少原子配位数提高其电催化活性，并努力平衡电催化活性与稳定性的关系，实现 SACs 的合理设计与可控合成，探索 SACs 的催化机理与反应路径[21]。

2.1 N 掺杂石墨烯基单原子结构材料的电化学生物传感

尿酸(UA)的检测对关节炎、心血管等疾病的诊断至关重要。研究者[22]提出了由 Co(II)与 N 掺杂石墨烯基体配位的 SACs(A-Co-NG)，Co(II)平均有 3.4 个 N 原子配位，从而建立一种 UA 宽检测范围和低检测限的电化学生物传感器。该传感器对 UA 的检测范围为 0.4~41 950 μM，检测限达到33.3 ±0.024 nM，远优于以往报道的基于各种纳米结构材料的传感器。此外，A-Co-NG 传感器也证明了准确诊断血清 UA 的实际应用。研究者同时结合理论计算，探讨了 SACs 的催化机理。DFT 研究表明，A-Co-NG 在水溶液中与阴离子 OH^- 结合形成 $Co^{3+}-OH^*$ 结构，伴随 Co^{2+} 氧化为 Co^{3+}，$Co^{3+}-OH^*$ 氧化 UA 生成 $Co^{3+}-OH-UA^*$ 态，电子从 UA 转移到 $Co^{3+}-OH$，N-H 键解离，Co 原子从+3 价还原到+2 价，得到 $Co^{2+}-H_2O^*$ 态，最后，H_2O 解吸返回到初始状态。

随着 SACs 的发展，研究者发现卟啉类 SACs 在许多生物酶的催化系统中与卟啉非常相似[23-24]。最近，研究者[25]首次采用石墨烯载体上的 Fe-N_5/SACs同时电化学检测人体中的多巴胺(DA)和 UA。基于 SACs 独特的电子结构和丰富的活性位点，在最佳实验条件下，类酶 Fe-N_5/SACs 所构筑的电化学生物传感器对 DA 和 UA 的检测限分别为 0.007 nM 和 0.027 nM，线性检测范围分别为0.005~500 μM 和 0.01~480 μM。该传感器已成功用于人血清样本中 DA 和 UA 的同时高灵敏检测。

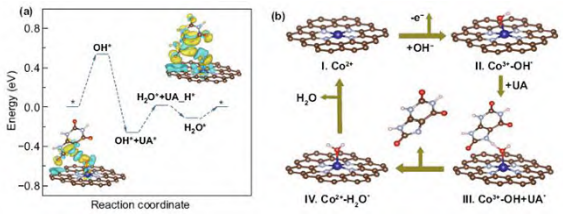


图 5 (a) UA 在 A-Co-NG 上氧化的吉布斯自由能曲线；(b) UA 在 A-Co-NG 上氧化过程的机理[23]

Fig. 5(a) Gibbs free energy profile for the UA oxidation pathways on A-Co-NG; (b) Proposed mechanism of the oxidation process of UA on A-Co-NG[23]

M-N-C SACs 的活性位点 M-N_x 类似于 N-配位大环的金属配合物，与天然酶具有类似的结构，因此研究者认为 SACs 可以作为仿生酶参与生命体中的反应[26]。2019 年，Ma 等人[27]首次提出了单原子酶(SAzyme)的概念，具有 FeN_4 活性中心的单原子 Fe 具有过氧化氢酶和超氧化歧化酶活性，能够有效地清除细胞内的活性氧(ROS)。随后一系列的 SAzyme 被合成，且它们的催化活性被一一探究[28-29]。相比于纳米酶，单原子酶具有明确的原子尺度活性位点，有利于研究者们研究其构效关系。

Kim 等人[30]在石墨烯中嵌入 Fe-N_4 位点，合成了具有仿天然视黄醇(HPR)中血红素辅因子的单原子体系(Fe-N-RGO)，其类过氧化物酶(POD)催化速率是未嵌入 Fe-N_4 位点石墨烯的约 700 倍，且 Fe-N_4 位点可选择性地提高类 POD 的活性，而不增强其他类酶活性。基于 Fe-N-RGO 对 H_2O_2 出色的选择性和敏感性，研究者将其应用于乙酰胆碱(Ach)和癌细胞定量测试。其对 Ach 检测的线性范围为 50~1 000 nmol/L，检出限(LOD)低至 20 nmol/L。在测定人血清中 Ach 含量时结果与 Ach 的添加量一致，变异系数范围为 2.4%~4.0%，回收率为 98.8%~108.9%。对于 H_2O_2 的检测，以能在 N-甲酰甲基-亮氨酸-苯丙氨酸(fMLP)刺激下产生 H_2O_2 的 3 个细胞株为模型，通过吸收强度计算在一定量 fMLP 刺激下每个细胞产生的 H_2O_2 的含量，最终定量检测

同样含量 fMLP 刺激下的细胞数以完成对细胞数的检测。

2.2　其他 N 掺杂碳基单原子结构材料的电化学生物传感

最近，研究者[31]通过 N 掺杂碳气凝胶（NCA）嵌入 CoN_x，制备了葡萄糖高灵敏检测的无酶电化学传感器。NCA 的三维多孔骨架有助于 Co 单原子位点分散，促进电化学反应过程中的传质。理论计算表明，单个金属位点（CoN_3和 CoN_4）在纳米孔的边缘显示出对葡萄糖的最佳吸附。基于 NCA-Co 的无酶葡萄糖传感器的电化学检测限为 0.1 μM，线性检测范围从 0.5 μM 到 6 mM，且稳定性、选择性和重现性均较好。该传感系统在检测人工唾液和人血清样本中的葡萄糖含量时表现出优异的性能。研究者[32]也设计了 Ni(OH)$_2$纳米板负载 Pt/N 掺杂石墨烯（Pt_1/Ni(OH)$_2$/NG）SACs 构建的非酶葡萄糖传感器，检测葡萄糖的灵敏度高达 220.75 $\mu A \cdot mM^{-1} \cdot cm^{-2}$，且选择性好、响应快、稳定性高。

一氧化氮（NO）参与多种生理和病理过程，对其检测需要足够的灵敏度以及瞬时记录能力和生物相容性。研究者[33]报道了一种 SACs 电化学传感器用于活细胞环境中 NO 的检测。研究者采用 Ni 单原子锚定在 N 掺杂的空心碳球上（Ni-SACs/N-C），制备了细胞内 NO 水平监测的电化学传感器。Ni-SACs/N-C 具有优异的电催化性能，可以实现药物和牵张刺激下细胞 NO 释放的实时监测。

Cheng 等人[34]开发了一种基于 Fe 原子锚定在 N 掺杂碳纳米管上的单原子纳米酶体系（CNT/FeNC）。该体系充分暴露的 $Fe-N_x-C$ 位点以及原子分散产生的尺寸效应为其提供了显著的类 POD 活性，可实现 5 min 内以 135 次循环的周转数催化 H_2O_2生成·OH，比传统的 Fe_3O_4纳米酶高出约4 500 倍。

Zhu 等人[35]通过盐模板策略，在 N 掺杂碳纳米片上嵌入高浓度 Cu 单原子位点，合成了具有 POD 活性的 Cu-NC-SAzymes，然后将 Cu-NC-SAzymes 与 AChE 和胆碱氧化酶（CHOx）结合，构建了基于三酶的级联反应体系，通过显色法可以检测痕量的乙酰胆碱，线性检测范围为 10～8 000 μmol/L，检出限为 1.24 μmol/L。

Lu 等人[36]报道了具有 CuN_4活性位点的 Cu 基中空 N 掺杂碳球（Cu-HNCS），该单原子材料具有高效的催化活性，可直接催化 H_2O_2和 O_2分别生成·OH和 O_2^-，并且 Cu-HNCS 的 Fenton 反应催化活性是 Fe_3O_4纳米颗粒的 5 000 倍。在动物实验中，尽管小鼠的用药剂量低至 0.36 μg Cu，Cu-HNCS 在 4T1 荷瘤小鼠中显示，第 28 天的肿瘤抑制率为 93%，到第 49 天小鼠的存活率达到 100%，而所有未经治疗的小鼠在 34 天内死亡。

3　问题与挑战

自 2011 年“单原子催化”的概念提出以来，研究者已经制备了大量不同类型的 SACs，并取得了诸多优异的成果，但是，SACs 的发展总体还停留在起步阶段，很难做到针对某一反应去设计具有高效催化效率的 SACs。其次，SACs 还存在着制备方法不成熟、负载量较低、热稳定较差以及可催化反应的局限性等缺陷。

N 掺杂碳基 SACs 是 SACs 家族重要的发展领域，在析氢、CO_2还原、CO 氧化、加氢、O_2还原等多种反应中均显示出良好的催化效果，但其在许多方面仍有待进一步深入研究：第一，合成方法仍较为匮乏，需开发更多高效的方法。第二，虽然其对多种反应具有极高的催化活性，但对某些环境下的催化反应效果仍然较差，需推进多环境条件下催化剂的研究。第三，考虑到不同金属原子与 C、N 原子的成键对催化活性的重要作用，可针对不同反应设计 SACs，有效提升其催化性能。第四，催化反应的理论研究仍不够透彻，对制备机理和碳基材料-金属原子结构的研究仍然需要深入挖掘，并指导 N 掺杂碳基 SACs 的合成。第五，其在化学传感领域的研究仍然较少，需进一步拓展其在电化学生物传感领域中的研究与应用。

当前，SACs 的催化应用以及机理研究已成为国际催化学界的研究热点和前沿，研究者将单原子催化的概念扩展到电化学生物传感材料改性领域，并努力从原子分子层面深入研究其反应机理，凝练出控制传感性能的关键因素。相信随着科技的进步、新的合成方法和先进表征手段的出现、深入的机制研究以及精确的理论计算等，一定会促进单原子催化科学在电化学生物传感领域的发展。

参考文献:

[1] Qiao B T, Wang A Q, Yang X F, et al. Single-atom catalysis of CO oxidation using Pt_1/FeO_x [J]. Nature Chemistry, 2011, 3(8): 634-641.

[2] Zhang L, Wang A, Wang W, et al. Co-N-C catalyst for C-C coupling reactions: on the catalytic performance and active sites [J]. ACS Catalysis, 2015, 5(11): 6563-6572.

[3] Hudson H H, Wang H C, Liu J J, et al. Research progress and application of single-atom catalysts: a review [J]. Molecules, 2021, 26(21): 6501.

[4] Pelletier J D A, Basset J M. Catalysis by design: well-defined single-site heterogeneous catalysts [J]. Accounts Chemical Research, 2016, 49(4): 664-677.

[5] Gao C, Low J X, Long R, et al. Heterogeneous single-atom photocatalysts: fundamentals and applications [J]. Chemical Reviews, 2020, 120(21): 12175-12216.

[6] Zhang L, Zhao X F, Zhou H, et al. Stabilization of single atom catalysts [J]. Science Bulletin, 2021, 66(23): 2337-2339.

[7] Zhang J, Huang Q A, Wang J, et al. Supported dual-atom catalysts: Preparation, characterization, and potential applications [J]. Chinese Journal of Catalysis, 2020, 41(5): 783-798.

[8] Ren S, Yu Q, Yu X H, et al. Graphene-supported metal single-atom catalysts: a concise review [J]. Science China-Materials, 2020, 63(6): 903-920.

[9] Qu Y T, Li Z J, Chen W X, et al. Direct transformation of bulk copper into copper single sites via emitting and trapping of atoms [J]. Nature Catalysis, 2018, 1(10): 781-786.

[10] Fei H L, Dong J C, Feng Y X, et al. General synthesis and definitive structural identification of MN_4C_4 single-atom catalysts with tunable electrocatalytic activities [J]. Nature Catalysis, 2018, 1(1): 63-72.

[11] Zhang Q Q, Guan J Q. Single-atom catalysts for electrocatalytic applications [J]. Advanced Functioanl Materials, 2020, 30(31): 2000768.

[12] Yang H Z, Shang L, Zhang Q H, et al. A universal ligand mediated method for large scale synthesis of transition metal single atom catalysts [J]. Nature Communications, 2019, 10: 4585.

[13] Zhang X Y, Zhang S, Yang Y, et al. A general method for transition metal single atoms anchored on honeycomb-like nitrogen-doped carbon nanosheets [J]. Advanced Materials, 2020, 32: 1906905.

[14] Gu Y, Wu A P, Wang L, et al. A "competitive occupancy" strategy toward Co-N_4 single-atom catalysts embedded in 2D TiN/RGO sheets for high-efficient and stable aromatic nitroreduction [J]. Journal of Mate Chem A, 2020, 8: 4807-4815.

[15] **祁建磊, 徐琴琴, 孙剑飞, 等. 石墨烯基单原子催化剂的合成、表征及分析** [J]. **化学进展**, 2020, 32(5): 505-518.

[16] Zhang C H, Yang S Z, Wu J J, et al. Electrochemical CO_2 rreduction with atomic iron-dispersed on nitrogen-doped graphene [J]. Advanced Energy Materials, 2018, 8(9): 1703487.

[17] Baby A, Trovato L, Valentin C D. Single atom catalysts (SAC) trapped in defective and nitrogen-doped graphene supported on metal substrates [J]. Carbon, 2020, 174: 772-778.

[18] Chen W G, Tang Y N, Zhang H W, et al. Modulating the stability, electronic and reactivity properties of single-atom catalyst anchored graphene by coordination environments [J]. Physica E, 2022, 135: 114975.

[19] Pham V D, Lagoute J, Mouhoub O, et al. Electronic interaction between nitrogen-doped graphene and porphyrin molecules [J]. ACS Nano, 2014, 8(9): 9403-9409.

[20] Kim I H, Lim J, Kim S O. Discovery of Single-atom catalyst: customized heteroelement dopants on graphene [J]. Accounts of Materials Research, 2021, 2(6): 394-406.

[21] Gopalakrishnan V N, Becerra J, Pena E F, et al. Porphyrin and single atom featured reticular materials: recent advances and future perspective of solar-driven CO_2 reduction [J]. Green Chemistry, 2021, 23(21): 8332-8360.

[22] Hu F X, Hu T, Chen S H, et al. Single-atom cobalt-based electrochemical biomimetic uric acid sensor with wide linear range and ultralow detection limit [J]. Nano-Micro Letters, 2021, 13(1): 7.

[23] Yang H Z, Shi R, Shang L, et al. Recent advancements of porphyrin-like single-atom catalysts: synthesis and applications [J]. Small Structures, 2021, 2(6): 2100007.

[24] Jiao L, Ye W, Kang Y K, et al. Atomically dispersed N-coordinated Fe-Fe dual-sites with enhanced enzyme-like activities [J]. Nano Research, 2022, 15(2): 959-964.

[25] Bushira F A, Kitte S A, Li H J, et al. Enzyme-like Fe-N_5 single atom catalyst for simultaneous electrochemical detection of dopamine and uric acid [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2022, 904: 115956.

[26] Song N, Zhong M X, Xu J Q, et al. Single-atom iron confined within polypyrrole-derived carbon nanotubes with exceptional peroxidase-like activity for total antioxidant capacity [J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2022,

351：130969.

[27] Ma W，Mao J，Yang X，et al. A Single-atom $Fe-N_4$ catalytic site mimicking bifunctional mitioxidative enzymes for oxidative stress cytoprotection [J]. Chemical Communications，2019，55(2)：159-162.

[28] Wang S，Cazalles R，Liao W C，et al. Mimicking horseradish peroxidase and NADH peroxidase by heterogeneous Cu^{2+}-modified graphene oxide nanoparticles [J]. Nana Letters，2017：17(3)：2043-2048.

[29] Lin Y，Kan N N，Zeng Y，et al. Enzyme-free multicolor biosensor based on Cu^{2+}-Modified carbon nitride nanosheets and gold nanoparmides for saisitive detection of neuron specific enolase [J]. Sensors and Actuators B-Chemical，2019，283：138-145.

[30] Kim M S，Lee J，Kim H S，et al. Heme cofactor-resembling Fe-N single site embedded graphene as nanozymes to selectively detect H_2O_2 with high sensitivity [J]. Advanced Functional Materials，2020，30(1)：1905410.

[31] Song Y Y，He T，Zhang Y L，et al. Cobalt single atom sites in carbon aerogels for ultrasensitive enzyme-free electrochemical detection of glucose [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry，2022，906：116024.

[32] Long B J，Zhao Y M，Cao P Y，et al. Single-atom Pt boosting electrochemical nonenzymatic glucose sensing on $Ni(OH)_2$/N-doped graphene [J]. Analytical Chemistry，2022，94(4)：1919-1924.

[33] Zhou M，Jiang Y，Wang G，et al. Single-atom $Ni-N_4$ provides a robust cellular NO sensor [J]. Nature communications，2021，11(1)：3188.

[34] Cheng N，Li J C，Liu D，et al. Single-atom nanozyme based on nanoengineered Fe-N-C catalyst with superior peroxidase-like activity for ultrasensitive bioassays [J]. Small，2019，15(48)：e1901485.

[35] Wu Y，Wu J B，Jiao L，et al. Cascade reaction system integrating single-atom nanozymes with abundant Cu sites for enhanced biosensing [J]. Analytical Chemistry，2020，92(4)：3373-3379.

[36] Lu X，Gao S，Lin H，et al. Bioinspired copper single-atom catalysts for tumor parallel catalytic therapy [J]. Advanced Materials，2020，32(36)：e2002246.