

纳米酶修饰植入式微电极对电化学传感性能的提升作用与应用研究*

阳瀚祺¹, 黄爽², 刘静³, 刘爽杰⁴, 刘铮杰¹, 陈家宜¹, 高路康¹,
黄新烁¹, 姚传捷¹, 徐兴元¹, 张晓东⁴, 陈惠瑁¹, 谢曦¹

1. 中山大学电子与信息工程学院, 广东 广州 510006
2. 中山大学生物医学工程学院, 广东 深圳 518107
3. 中山大学附属第一医院, 广东 广州 510080
4. 天津大学医学院, 天津 300072

摘要: 探究了三种纳米酶($\text{Au}_{24}\text{Cd}_1$, $\text{Au}_{24}\text{Er}_1$, Au_{25})对银丝微电极(AgME)、金丝微电极(AuME)以及大脑皮层电图微电极(EcoGME)的修饰及检测方法。首先, 本文成功将三种不同的纳米金属团簇材料修饰到三种电极的表面。电化学阻抗谱实验表明, 纳米酶修饰后的电极在低频区域的交流阻抗显著降低。同时, 研究了纳米酶修饰对不同电化学记录的影响。采用循环伏安法、差分脉冲伏安法、方波脉冲伏安法、常规脉冲伏安法和线性扫描伏安法对纳米酶修饰的电极进行测试, 探讨不同纳米酶材料、电极基材以及检测方法在神经信号采集中的应用效果。研究成果能为神经科学研究等提供了更加精准、高效的传感选择方案。

关键词: 纳米酶; 植入式微电极; 电化学检测

中图分类号: O657.1; TB383 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-0137(2025)02-0094-09

Nanoenzymes modified implantable microelectrodes for enhanced electrochemical sensing performance

YANG Hanqi¹, HUANG Shuang², LIU Jing³, LIU Shuangjie⁴, LIU Zhengjie¹,
CHEN Jiayi¹, GAO Lukang¹, HUANG Xinshuo¹, YAO Chuanjie¹,
XU Xingyuan¹, ZHANG Xiaodong⁴, Chen Huixuan¹, XIE Xi¹

1. School of Electronics and Information Technology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China
2. School of Biomedical Engineering, Sun Yat-sen University, Shenzhen 518107, China
3. The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China
4. Medical School of Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract: We investigated the modification of three types of nanoenzymes ($\text{Au}_{24}\text{Cd}_1$, $\text{Au}_{24}\text{Er}_1$, and Au_{25}) on Ag microelectrodes (AgME), Au microelectrodes (AuME), and electrocorticography

* 收稿日期: 2024-08-09

录用日期: 2024-09-03

网络首发日期: 2024-10-21

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFF1200700); 国家自然科学基金(T2225010, 32171399, 32171456);

中国博士后科学基金(2023TQ0386); 广东省基础与应用基础研究基金(2023A1515011267, 2023A1515111139)

作者简介: 阳瀚祺(2000年生), 男; 研究方向: 生物医学电子学; E-mail: yanghq53@mail2.sysu.edu.cn;

黄爽(1995年生), 女; 研究方向: 生物医学电子学; E-mail: huangsh239@mail.sysu.edu.cn;

刘静(1989年生), 女; 研究方向: 生物医学电子学;

E-mail: liuj753@mail.sysu.edu.cn

(阳瀚祺、黄爽、刘静并列第一作者)

通信作者: 谢曦(1986年生), 男; 研究方向: 生物医学电子学;

E-mail: xiexi27@mail.sysu.edu.cn

增强出版



ZR20240251

全文阅读



ZR20240251

microelectrode (EcoGME). In this study, three distinct nanoenzymes were successfully immobilized onto the surfaces of three different electrodes. The electrodes modified with nanoenzymes mitigated the inherently high impedance characteristic of conventional neuroelectrodes. Meanwhile, we investigated the effect of nanoenzymatic modifications on different electrochemical recording methods, including electrochemical impedance spectroscopy, cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry, square wave pulse voltammetry, normal pulse voltammetry and linear scanning voltammetry. By investigating the effects of various nanoenzyme materials, electrode substrates, and detection methods in neural signal acquisition applications, the findings provide more precise and efficient sensing options for neuroscience research and clinical practice.

Key words: nanoenzyme; implantable microelectrodes; electrochemical detection

植入式神经微电极是监测脑部疾病的重要工具(Zou et al., 2021; Dimov et al., 2022; Zhao et al., 2023; Zhang et al., 2023)。根据采集信号深度的不同, 植入式神经微电极可以分为用于记录大脑皮层信号的微电极(EcoGME, electrocorticography microelectrodes)和用于深脑记录的丝状电极。EcoGME通常由多个电极记录点位组成(Musk, 2019)。这些电极记录点按照特定的阵列形式排列, 能够覆盖较大范围的大脑皮层区域。因此EcoGME具有高空间分辨率的优势(Viventi et al., 2011), 常被用于癫痫患者手术前的脑功能定位和脑机接口研究中(Liu et al., 2024)。用于深脑记录的丝状电极通常由Au, Ag, Pt/Ir等金属材料制成。这类金属材料具有高导电性、高稳定性等优势。同时, 丝状电极外形具有微小尺寸和柔性的特点, 能够在植入过程中实现微创的效果。然而, 传统金属丝状电极由于其固有高阻抗和潜在的慢性神经炎症反应(Simon et al., 2017)限制了其临床应用(Khodagholy et al., 2015; Hong et al., 2019)。因此, 发展新型植入式神经微电极, 提升其传感性能和生物相容性至关重要。

近年来, 纳米技术在神经电极领域的应用取得了显著进展(Wang et al., 2019; Ai et al., 2022)。人工纳米酶具有催化炎症因子等增强生物相容性的独特优势, 在生物传感领域显示出巨大潜力。其中, 金纳米颗粒具有多种类型的酶活性(Lin et al., 2014), 如核酸酶、葡萄糖氧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶(Tao et al., 2015)。金纳米颗粒在过氧化物酶的酶促反应中对过氧化氢底物的米氏常数小于1 mmol/L, 但催化活性较弱(Xu et al., 2006)。随着研究的深入, 基于金簇的人工纳米酶因其固有的高催化活性和选择性而备受关注(Liu et al., 2021)。在前期研究中,

已经研究了纳米酶修饰电极, 降低电极的阻抗。同时纳米酶可以抑制胶质细胞生长, 减小电极植入过程中引发炎症的风险。但是, 之前的研究主要选用银丝电极和优选的Au₂₄Cd₁纳米酶作为代表进行展示(Liu et al., 2024)。对于其他类似的植入电极和纳米酶还需进一步探索。

在针对脑部疾病的研究中, 电化学信号的监测与电生理动作电位的监测同样重要。特别是针对神经递质的监测, 如多巴胺(DA, dopamine)、抗坏血酸(AA, ascorbic acid)等(Njus et al., 2020; Costa et al., 2022)。差分脉冲伏安法(DPV)、方波伏安法(SWV)、线性扫描伏安法(LSV)和常规脉冲伏安法(NPV)等电化学方法被广泛应用于监测DA和AA(Jo et al., 2017; Rajamania et al., 2018; Mahalakshmi et al., 2021)。通过电化学方法监测DA和AA的原理是通过工作电极检测两者在特定电位下的氧化还原反应产生的电流信号, 以确定其存在和浓度。其优势包括高灵敏度、快速响应、高选择性、操作简便、低成本以及可实现小型化和便携化(Ashraf et al., 2022)。

本研究探究了三种不同的纳米酶材料(Au₂₄Cd₁、Au₂₄Er₁、Au₂₅)在不同微电极(AgME、AuME、EcoGME)上进行修饰的方法, 并采用一系列电化学方法对修饰纳米酶前后的电极进行表征。研究结果显示, 不同纳米酶的修饰能在不同程度上降低电极的低频阻抗并提升电子转移速率。并且, 修饰纳米酶后, AuME和EcoGME对于DA、AA这两种物质进行电化学检测的性能均有所提高, 表现为电化学反应时电流响应强度以及检测灵敏度的提升。因此, 经过纳米酶修饰过后的植入式神经电极有望成为临床上对DA、AA监测的有效工具, 这对研究脑部疾病具有重大意义。

1 实验方法

1.1 纳米酶的制备

本工作选用两种电荷相反的硫醇盐作为纳米酶的配体, 并且反应全程在室温、避光条件下进行。以 $\text{Au}_{24}\text{Cd}_1$ 纳米酶制备为例: 在超纯水 (2.35 mL) 中加入 HAuCl_4 水溶液 (20 mmol/L, 0.25 mL)、 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 水溶液 (20 mmol/L, 10 μL) 和 MPA 水溶液 (5 mmol/L, 2 mL) 并不断搅拌 5 min, 此时溶液呈黄绿色。在搅拌过程中, HAuCl_4 中的 Au 原子被 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 中的 Cd^{2+} 以 24:1 摩尔比取代并合成 $\text{Au}_{24}\text{Cd}_1$ 纳米酶簇。继续滴加 NaOH 水溶液 (1 mol/L, 0.3 mL) 至反应溶液 pH=12, 然后加入 0.1 mL 的 NaBH 溶液。此时, NaOH 溶液 (10 mL, 0.2 mol/L) 与 43 mg 的 NaBH 粉末反应融合, 因此溶液变澄清透明。接下来, 通入饱和 CO 密闭 2 min。搅拌 3 h 后, 将棕色溶液进行冻干处理, 获得纯净的 $\text{Au}_{24}\text{Cd}_1$ 纳米酶产物, 置于 -20°C 环境保存。类似地, 针对 $\text{Au}_{24}\text{Er}_1$ 纳米酶簇和 Au_{25} 纳米酶簇的合成, 只需将 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 水溶液换成对应元素的硝酸盐水溶液, 并重复后续操作。

1.2 纳米酶微电极的制备

对于以银丝为基材的 AgME, 将直径为 0.15 mm 的银丝进行砂纸打磨后, 置于蒸馏水中超声 10 min 以去除表面杂质。然后, 取 0.5 g 纳米酶 ($\text{Au}_{24}\text{Cd}_1$ 、 $\text{Au}_{24}\text{Er}_1$ 、 Au_{25}) 固态粉末与 10 mL 去离子水充分混合, 得到 5 mg/mL 的纳米酶溶液。并采用三电极电化学系统, 将商用 Ag/AgCl 电极作为参比电极, 铂片电极作为对电极, 银丝作为工作电极, 在 CHI760E 电化学工作站中进行纳米酶沉积。首先设置电沉积参数, 在电压从 0.2~2 V 之间设置 12 个电位, 电位之间的阶跃幅度为 0.1~0.2 V, 每个电位持续时间为 2 s。为保证沉积在 AgME 表面的纳米酶的均匀性, 将沉积电流控制在 0.4 mA 左右, 开始电沉积。最后, 对沉积完成的纳米酶电极使用聚酰亚胺 (PI) 绝缘, 并将顶端 1 mm 部分暴露以作为电极传感区域。

对于以金丝为基材的 AuME, 将直径为 0.1 mm 的金丝进行砂纸打磨。接下来的制备过程与 AgME 的类似, 设置电沉积参数时, 在电压从 1.7~3.4 V 之间设置 12 个电位, 电位之间的阶跃幅度为 0.1~0.2 V, 每个电位持续时间为 2 s。最后, 对沉积完成的纳米酶电极使用 PI 绝缘, 并将顶端 1 mm 部分暴露以作为电极传感区域。

对于 EcoGME, 使用定制的掩模版在 PI 基板

上进行图案化的磁控溅射, 依次沉积 10 nm 的 Cr 和 100 nm Au, 由此得到纯净的 EcoGME。同理, 接下来制备过程与 AuME 的类似。最后, 对沉积完成的纳米酶电极使用 PI 绝缘, 并将顶部圆盘状的电极位点与底部金手指接口处暴露。

1.3 DA、AA 溶液准备

DA、AA 溶液均采用磷酸盐缓冲溶液 (PBS, phosphate buffered saline) 作为溶剂, PBS 的 pH 值为 7.4。本实验中, DA、AA 粉末从 Aladdin 公司购买, PBS 试剂从 Biosharp 公司购买。对于 DA 溶液, 取 0.984 g 的 DA 粉末充分溶于 10 mL 的 PBS 溶液中, 得到 50 mmol/L 的 DA 溶液; 取 2 mL、50 mmol/L 的 DA 溶液于 8 mL 的 PBS 溶液中, 充分混合后得到 10 mmol/L 的 DA 溶液; 同样地, 将 1 mL、10 mmol/L 的 DA 溶液置于 9 mL 的 PBS 溶液中, 得到 1 mmol/L 的 DA 溶液; 最后, 将 1 mL、1 mmol/L 的 DA 溶液溶于 9 mL 的 PBS 溶液中, 得到 100 nmol/L 的 DA。对于 AA 溶液, 称取 0.1761 g 的 AA 粉末充分溶于 10 mL 的 PBS 溶液中, 得到 10 mmol/L 的 AA 溶液, 该溶液用于后续滴加测试。考虑到上述溶液化学性质不稳定, 以上所有溶液都需现配现用并常温避光保存。

1.4 电极的电化学表征

电化学测试利用 CHI760E 电化学 workstation 在室温下完成。该实验采用三电极系统进行电化学表征, 用 Ag/AgCl 作为参比电极, 铂电极作为对电极, 测试电极作为工作电极。在测试过程中, 通过更换测试溶液以改变溶液浓度, 更换溶液时暂停测试, 并在继续测试之前将其放置 30 s 以稳定溶液。

使用 CV、EIS、DPV、SWV、NPV、LSV 六种测试方法。对于 CV 测试, 电压范围为 $-0.4\sim 0.6$ V, 扫描速率为 0.1 V/s; 对于 EIS 测试, 初始电压为 0 V, 频率范围为 $1\sim 10^5$ Hz; 对于 DPV 测试, 电压范围为 $-0.3\sim 0.6$ V, 脉冲宽度为 0.05 s, 采样宽度为 0.02 s, 脉冲周期为 0.5 s; 对于 SWV 测试, 测试电压范围为 $-0.3\sim 0.6$ V, 频率为 10 Hz; 对于 LSV 测试, 扫描速率为 0.1 V/s, 采样间隔设置为 0.001 V; 对于 NPV 测试, 脉冲宽度为 0.05 s, 采样宽度为 0.02 s, 脉冲周期为 0.5 s。

利用 CV、EIS 法对电极进行测试时, 使用 PBS 溶液作为工作溶液, 将测试环境搭建好并将测试参数调节好后直接进行测试。利用 DPV、SWV、NPV、LSV 法测试不同浓度的 DA、AA 溶液时,

DA溶液的浓度范围为1~200 $\mu\text{mol/L}$, AA溶液的浓度范围为200~1 200 $\mu\text{mol/L}$ 。

2 结果与讨论

本研究采用AgME、AuME和EcoGME作为载体电极。通过多电位阶跃法进行电沉积,将纳米酶材料修饰到电极表面。对于AgME,在0.2~1.3 V电位下扫描4圈获得修饰过纳米酶的AgME。对于AuME,在1.7~3.4 V电位下扫描10圈获得修饰过纳米酶的AuME。对于EcoGME,使用转接电路板同时对8个通道进行电沉积,在0.7~4.4 V电位下

扫描8圈获得纳米酶修饰的EcoGME。

如图1所示,(a)为EcoGME、AuME和AgME的表面形貌特征。其中,EcoGME是在PI基底(橙色部分)上进行图案化沉金工艺(黄色部分)。(b)是纳米酶材料 $\text{Au}_{24}\text{Cd}_1$ 、 $\text{Au}_{24}\text{Er}_1$ 和 Au_{25} 的分子结构示意图。使用多电位阶跃法在电极传感位点进行电沉积,使得纳米酶材料附着在电极传感位点表面。其中,化学式中的 $X(\text{NO}_3)_n$ 表示不同纳米金属元素(分别为Cd、Er、Au)所对应的硝酸盐。(c)是采用DPV、SWV、LSV和NPV法在植入式微电极上检测到的电流信号。

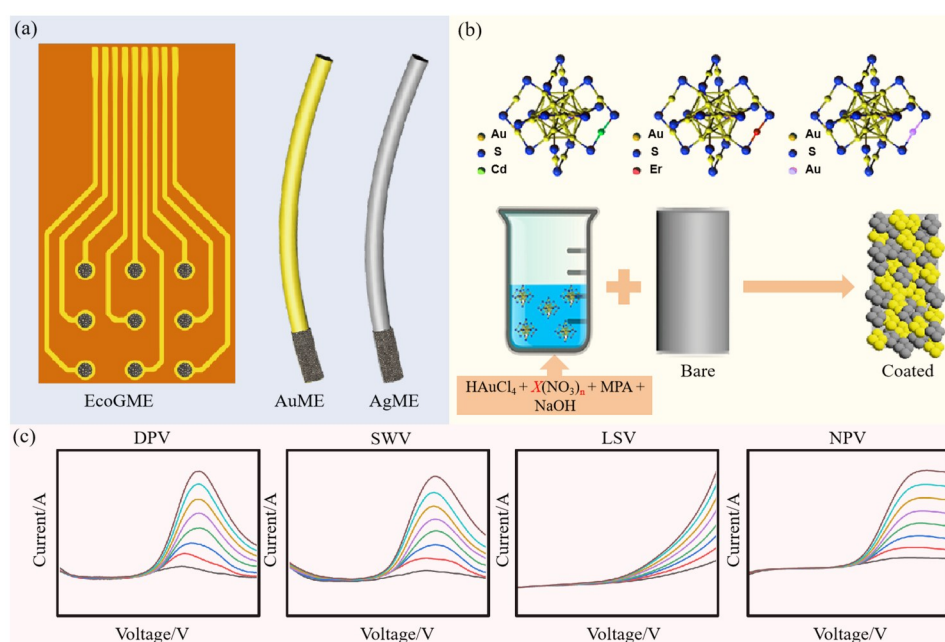


图1 纳米酶修饰的植入式微电极的制备及其电化学检测

Fig. 1 Preparation of nanozyme-modified implantable microelectrodes and their electrochemical detection

通过扫描电子显微镜(SEM, Thermo Fisher Scientific Apreo 2S+)对修饰纳米酶前后的AuME、AgME以及EcoGME的表面形貌进行观察。如图2所示,未修饰的裸电极表面均较为光滑,而修饰后的纳米酶电极表面分布着原子簇层。这表明在修饰人工纳米酶材料后,电极表面的粗糙度增加。以往的研究证实,电极表面粗糙度的提高有利于增加电极表面反应位点,进而加快其界面电子转移速率(Chung et al., 2015; Zhao et al., 2020)。

为了探究纳米酶修饰植入式微电极对电化学传感性能的提升作用,首先通过EIS和CV法分别对三种纳米酶材料修饰前后的AgME、AuME和EcoGME进行了基础的电化学表征。EIS测试的阻抗检测频率设置为1~ 10^6 Hz(图3 a~c)。结果显示,在1~ 10^3 Hz范围内使用纳米酶修饰过的电极阻抗

明显降低。其中,AgME最高降低了18倍、AuME最高降低了9倍、EcoGME最高降低了13倍。

接着,在PBS溶液中对各电极进行CV测试(图3 d~e)。对于AgME,在-0.8~0.1 V的电压下进行CV测试。结果显示,修饰后的Ag纳米酶电极相比纯净的AgME具有更高的氧化电流以及更大的响应电流面积。其阴极电荷存储容量计算结果表明,纳米酶修饰的AgME的阴极电荷存储容量对比未修饰的AgME,最高提升了21倍。对于AuME,在-0.4~0.6 V的电压下进行CV测试。结果显示,修饰后的Au纳米酶电极相比纯净的AuME具有更高的氧化电流以及更大的响应电流面积。类似的,纳米酶修饰后的AuME的阴极电荷存储容量对比未修饰的AgME,最高提升了16倍。对于EcoGME,在-0.4~0.6 V的电压下进行

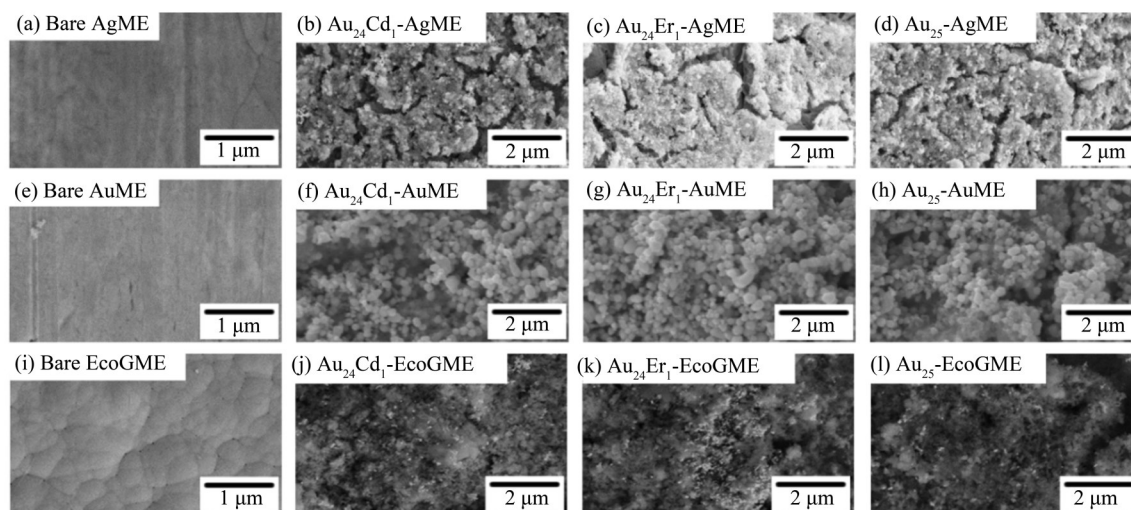


图2 不同电极的SEM表征

Fig. 2 SEM characterization of different electrodes

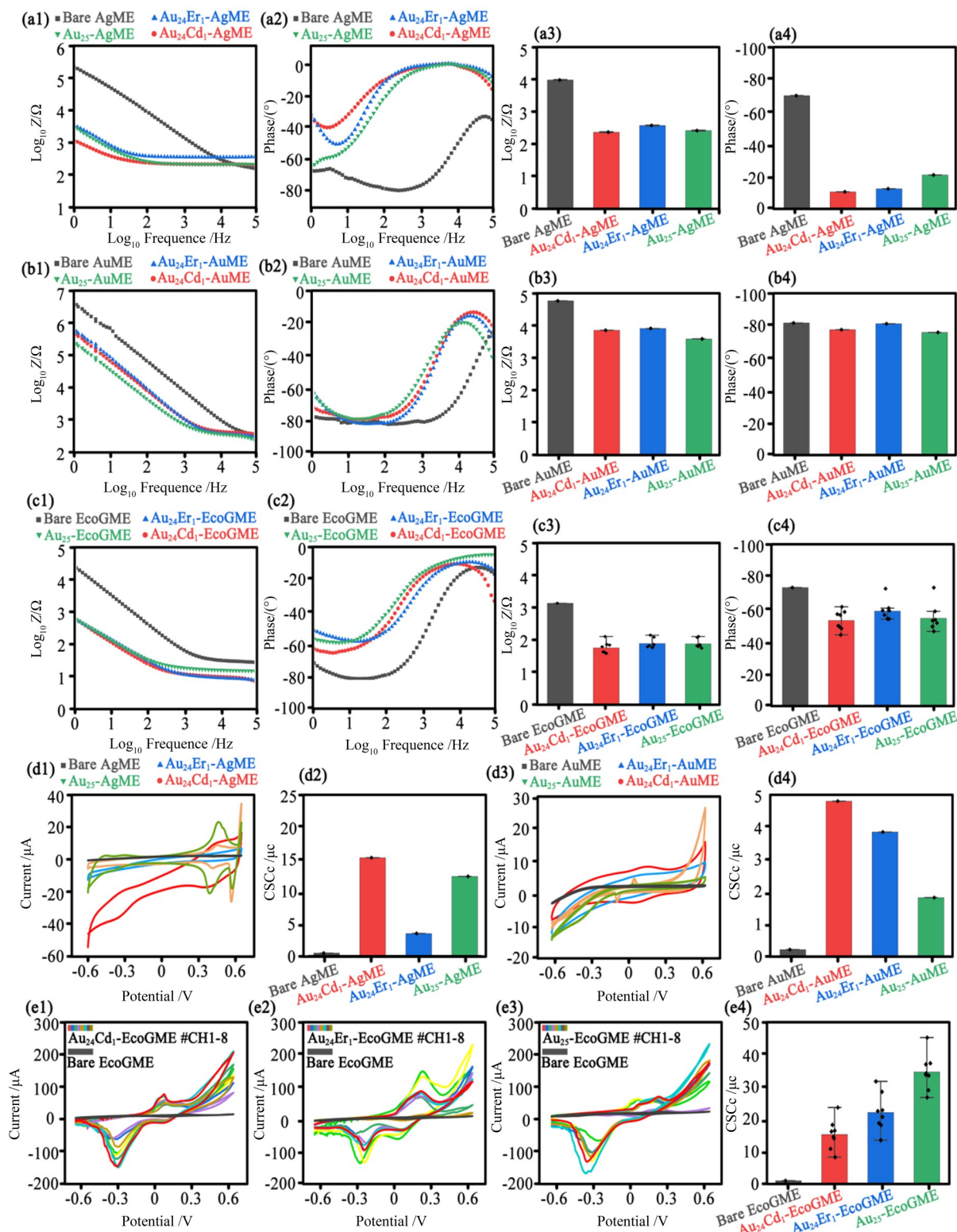
CV测试。结果显示,修饰纳米酶后的EcoGME相比纯净的EcoGME具有更高的氧化电流以及更大的响应电流面积;纳米酶修饰的EcoGME的阴极电荷存储容量对比未修饰的EcoGME,最高提升了23倍。

为了探究纳米酶修饰植入式微电极在电化学信号检测上的性能,针对AuME与EcoGME两种植入式微电极配置了DA溶液与AA溶液作为工作溶液。并且,采用DPV、SWV、NPV、LSV四种方法进行电化学检测。使用三种纳米酶修饰的AuME作为实验组,并且将未经修饰的AuME作为对照组。首先,利用DPV法对不同浓度的AA溶液(200~1 600 $\mu\text{mol/L}$)进行检测和分析。可以看出,在0~0.4 V的范围内,四组电极均展现出了明显的氧化峰波形(增强出版:附图1 a)。对比四组电极的DPV波形发现,经过纳米酶修饰过后的AuME的峰值响应电流更高,在1 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的AA溶液中,检测峰值电流能达到1.9 μA 。与之相比,纯净的AuME在1 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的AA溶液中,检测峰值电流能达到1.1 μA 。进一步地,为了更直接地反映纳米酶的修饰对于植入式微电极检测AA灵敏度的提升效应,对不同浓度AA溶液下DPV曲线的峰值电流进行线性拟合。该结果表明,使用DPV法对AA溶液进行检测时,纳米酶的修饰让金丝微电极的检测灵敏度最高提升了1.4倍。同样的,利用DPV法对不同浓度DA溶液(1~200 $\mu\text{mol/L}$)进行电化学实验。对DA溶液检测时,AuME展现了更为稳定的过电位(增强出版:附图2 a)。同时,修饰纳米酶后的AuME在反应电流

强度上有2.3倍的提升,检测灵敏度最高提升了1.7倍。

相比于DPV法,SWV法更常用于快速、高灵敏度的电化学分析场景。进一步采用SWV法对AA溶液进行检测和分析。增强出版:附图1 b展示了AuME在不同浓度AA溶液下的SWV曲线。在0~0.4 V的范围内,四组电极均展现出了明显的氧化峰波形。对比四组电极的SWV波形发现,经过纳米酶修饰过的AuME的峰值响应电流得到提高,在1 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的AA溶液中,峰值电流能达到3.9 μA 。与之相比,纯净的AuME在1 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的AA溶液中峰值电流能达到2.3 μA 。对不同浓度AA溶液下SWV曲线的峰值电流进行拟合,可以发现:修饰纳米酶后的AuME在反应电流强度上有1.6倍的提升,但是在检测灵敏度上没有明显提升。如增强出版:附图2 b所示,修饰纳米酶后的AuME在反应电流强度上提升了1.5倍,而检测灵敏度最高提升了2倍。

相较于DPV和SWV检测方法,NPV法和LSV法对于信号处理方式较简单,适合单一的电化学定量分析。利用NPV法和LSV法来研究纳米酶修饰对于AuME的影响。在AA溶液中进行检测时,LSV和NPV波形均没有明显的氧化电流峰(增强出版:附图1 c~d)。在0.6 V的电位下,提取各个浓度对应的电流值进行拟合。结果表示,修饰纳米酶后的AuME在反应电流强度上最高提升了2.2倍,检测灵敏度最高提升了2.7倍。与之对应的,在DA溶液中进行检测时,NPV波形依旧没有明显的氧化电流峰,但修饰纳米酶后的AuME的LSV波



(a 1~2 为纯净 AgME 与纳米酶修饰后的 AgME 的交流阻抗图与波特图; a 3~4 为纯净 AgME 与纳米酶修饰后的 AgME 在 100 Hz 的阻抗值和相位裕度; b 1~2 为纯净 AuME 与纳米酶修饰后的 AuME 的交流阻抗图与波特图; b 3~4 为纯净 AuME 与纳米酶修饰后的 AuME 在 100 Hz 的阻抗值和相位裕度; c 1~2 为纯净 EcoGME 与纳米酶修饰后的 EcoGME 的交流阻抗图与波特图; c 3~4 为纯净 EcoGME 与纳米酶修饰后的 EcoGME 在 100 Hz 的阻抗值和相位裕度; d 1~2 为纯净 AgME 与纳米酶修饰后的 AgME 的 CV 和阴极电荷存储容量; d 3~4 为纯净 AuME 与纳米酶修饰后的 AuME 的 CV 和阴极电荷存储容量; e 1~3 为纯净 EcoGME 与纳米酶修饰后的 EcoGME 的 CV; e 4 为纯净 EcoGME 与纳米酶修饰后的 EcoGME 的阴极电荷存储容量)

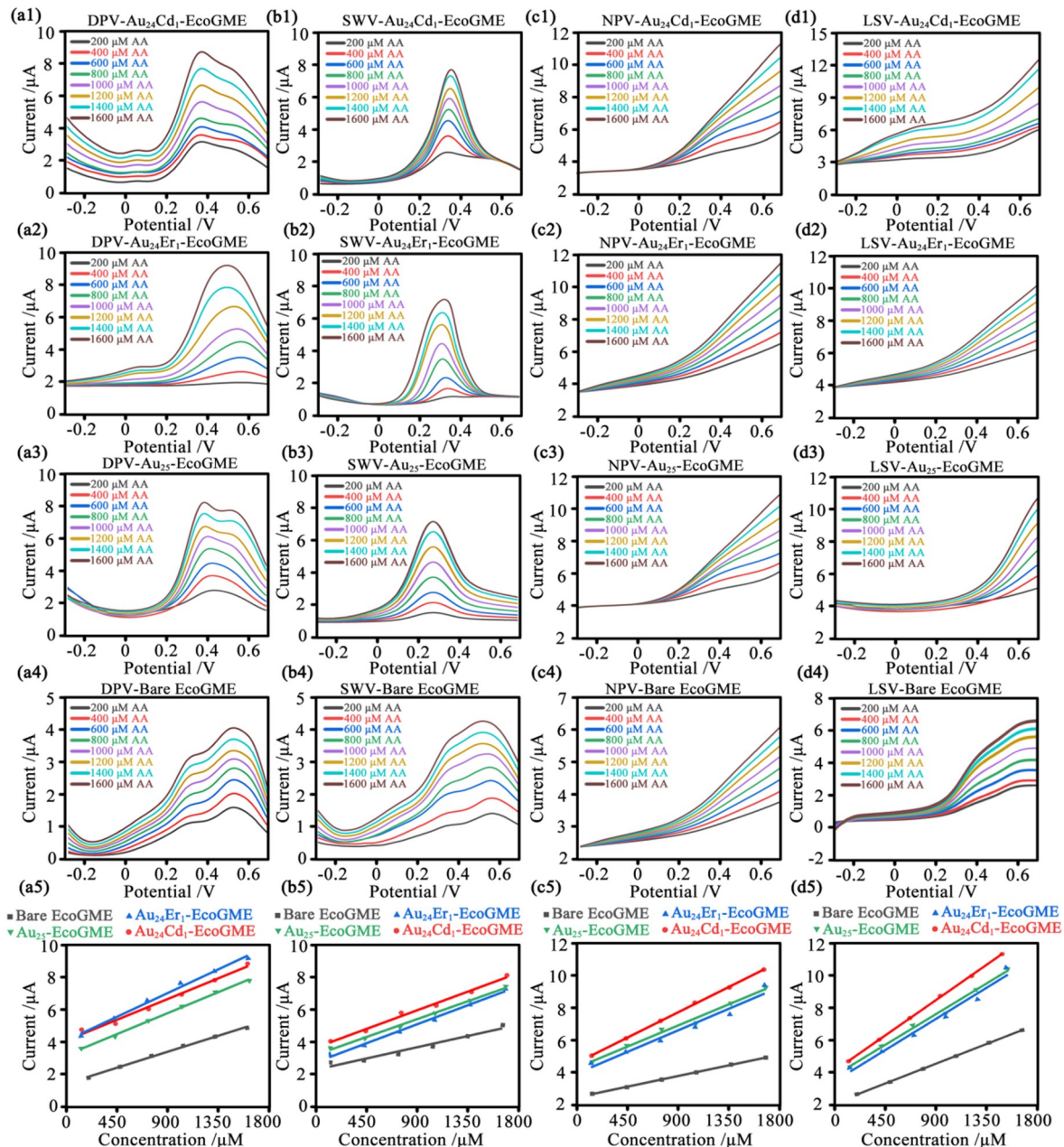
图 3 各类电极的基础电化学表征测试

Fig. 3 Basic electrochemical characterization tests for various types of electrodes

形有明显的氧化电流峰(增强出版:附图 2 c~d)。LSV 波形拟合结果表明,修饰纳米酶后的 AuME 在反应电流强度上最高提升了 3.3 倍,检测灵敏度最高提升了 3.5 倍。

EcoGME 是以 PI 膜为基底,通过定制掩模版图案化溅射上厚度比为 1:10 的镍和金。由于 EcoGME 主要导电介质为金,依照 AuME 电化学检

测性能的研究方法进行重复实验。首先,利用 DPV 法对 AA 溶液(200~1 600 $\mu\text{mol/L}$)进行检测。如图 4a 所示,经过纳米酶修饰后的 EcoGME 的峰值响应电流更高。在 1 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 AA 溶液中,检测峰值电流能达到 8.5 μA 。与之相比,纯净的 EcoGME 在 1 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 AA 溶液中,检测峰值电流仅有 4 μA 。对不同浓度 AA 溶液下的



(a 1~4 为纯净 EcoG 与纳米酶修饰后的 EcoG 在不同浓度 AA 溶液的 DPV 响应;a 5 为 DPV 峰值电流的拟合曲线;b 1~4 为纯净 EcoG 与纳米酶修饰后的 EcoG 在不同浓度 AA 溶液的 SWV 响应;b 5 为 SWV 峰值电流的拟合曲线;c 1~4 为纯净 EcoG 与纳米酶修饰后的 EcoG 在不同浓度 AA 溶液的 NPV 响应;c 5 为 NPV 峰值电流的拟合曲线;d 1~4 为纯净 EcoG 与纳米酶修饰后的 EcoG 在不同浓度 AA 溶液的 LSV 响应;d 5 为 LSV 峰值电流的拟合曲线)

图 4 EcoGME 针对抗坏血酸 (AA) 进行检测的电化学性能表征

Fig. 4 Electrochemical characterization of EcoGME for the detection of AA

DPV 曲线的峰值电流进行线性拟合。该结果表明修饰纳米酶后的 EcoGME 在反应电流强度上最高有 2.2 倍的提升。同样, 利用 DPV 法对 DA 溶液 (1~200 $\mu\text{mol/L}$) 进行检测。如增强出版:附图 3 a 所示, 修饰纳米酶后的 EcoGME 在反应电流强度上最高有 1.7 倍的提升, 检测灵敏度最高提升了 2.3 倍。

进一步, 利用 SWV 法对 AA 溶液进行电化学实验 (图 4 b)。对比四组电极的 SWV 波形可以看出, 经过纳米酶修饰过后的 EcoGME 的峰值响应电流得到提高。在 1 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 AA 溶液中, 检测峰值电流能达到 6.8 μA 。与之相比, 纯净的 EcoGME 在 1 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 AA 溶液中, 检测峰值电流只能达到 4.3 μA 。修饰纳米酶后的 EcoGME 在反应电流强度上有 1.6 倍的提升。同样, 在不同浓度的 DA 溶液中 EcoGME 展现了更为稳定的过电位。如增强出版:附图 3 b 所示, 修饰纳米酶后的 EcoGME 在反应电流强度上最高有 1.9 倍的提升, 检测灵敏度最高提升了 2.4 倍。

最后, 利用 NPV 和 LSV 来研究纳米酶修饰对于 EcoGME 的影响。在 AA 溶液中, LSV 和 NPV 波形均没有展现出明显的氧化电流峰。在 0.6 V 的电位下, 对各个浓度对应的电流值进行拟合分析。结果表示, 修饰纳米酶后的 EcoGME 在反应电流强度上最高提升了 1.8 倍, 检测灵敏度提升了 2.7 倍。与之对应的, 在 DA 溶液中进行检测时, NPV 波形依旧没有明显的氧化电流峰, 但是修饰纳米酶后的 EcoGME 的 LSV 波形有明显的氧化电流峰。且修饰纳米酶后的 EcoGME 在反应电流强度上最高提升了 1.9 倍, 检测灵敏度最高提升了 3 倍。

3 结 论

本文探究了不同纳米酶材料 ($\text{Au}_{24}\text{Cd}_1$ 、 $\text{Au}_{24}\text{Er}_1$ 、

Au_{25}) 在不同电极 (AgME、AuME、EcoGME) 上进行修饰的方法。通过原子层沉积技术将三种纳米酶材料修饰于 Ag、Au 丝微电极以及 EcoGME 的表面, 采用电子显微镜成功观察到纳米酶材料附着于电极表面。

进一步, 研究纳米酶材料的修饰对于电极固有阻抗与电极表面电子转移速率的影响, EIS 和 CV 测试验证了纳米酶材料的修饰能够降低电极的低频阻抗并提升其阴极电荷存储容量。其中, Ag 微电极的提升效果最佳, 而 Au 微电极和 EcoGME 的稳定性相对较好。

最后, 研究修饰纳米酶对 Au 微电极和 EcoGME 电化学检测性能的影响。采用了 DPV、SWV、NPV、LSV 四种电化学检测方法, 在 DA 溶液和 AA 溶液中进行了测试。结果显示: (1) 使用 DPV 进行测试时, 修饰过纳米酶材料的电极在 DA 和 AA 溶液中均展现出更高的灵敏度。其中, AuME 最高提升了 1.7 倍, EcoGME 最高提升了 2.3 倍。(2) SWV 具有与 DPV 类似的反应波形, 同样纳米酶电极检测灵敏度也具有类似的提高效应。其中, AuME 最高提升了 2 倍, EcoGME 最高提升了 2.4 倍。(3) 在使用 NPV 和 LSV 进行测试时, 在 AA 溶液中均没有产生明显的氧化电流峰; 但在 DA 溶液中使用 LSV 测试时, 电流波形出现了明显的氧化电流峰, 并且纳米酶电极的检测灵敏度也得到了提升。其中, AuME 最高提升了 3.5 倍, EcoGME 最高提升了 3 倍。以上结果表明, 本文成功探索出了在不同电极上修饰不同纳米酶材料的有效策略, 并采用多种电化学方法表征了各类纳米酶电极的电化学检测性能。为进一步优化纳米酶电极在生物医学领域的应用提供了新的思路和潜力。

参考文献:

AI Y, HU Z N, LIANG X, et al, 2022. Recent advances in nanozymes: From matters to bioapplications [J]. Adv Funct Materials, 32 (14): 2110432.
ASHRAF G, CHEN W, ASIF M, et al, 2022. Topical advancements in electrochemical and optical signal amplification for biomolecules detection: A comparison [J]. Mater Today Chem, 26: 101119.
CHUNG T, WANG J Q, WANG J, et al, 2015. Electrode modifications to lower electrode impedance and improve

neural signal recording sensitivity [J]. J Neural Eng, 12 (5): 056018.
COSTA K M, SCHOENBAUM G, 2022. Dopamine [J]. Curr Biol, 32(15): R817-R824.
DIMOV I B, MOSER M, MALLIARAS G G, et al, 2022. Semiconducting polymers for neural applications [J]. Chem Rev, 122 (4): 4356-4396.
HONG G, LIEBER C M, 2019. Novel electrode technologies for neural recordings [J]. Nat Rev Neurosci, 20 (6):

- 330–345.
- JO T, YOSHIMI K, TAKAHASHI T, et al, 2017. Dual use of rectangular and triangular waveforms in voltammetry using a carbon fiber microelectrode to differentiate norepinephrine from dopamine [J]. *J Electroanal Chem*, 802:1–7.
- KHODAGHOLY D, GELINAS J N, THESEN T, et al, 2015. NeuroGrid: Recording action potentials from the surface of the brain [J]. *Nat Neurosci*, 18(2):310–315.
- LIN Y, REN J, QU X, 2014. Nano-Gold as artificial enzymes: Hidden talents [J]. *Adv Mater*, 26(25):4200–4217.
- LIU H, LI Y, SUN S, et al, 2021. Catalytically potent and selective clusterzymes for modulation of neuroinflammation through single-atom substitutions [J]. *Nat Commun*, 12(1):114.
- LIU S, WANG Y, ZHAO Y, et al, 2024. A nanozyme-based electrode for high-performance neural recording [J]. *Adv Mater*, 36(6): e2304297.
- LIU Y, WANG Z, JIAO Y, et al, 2024. Flexible, high-density, laminated ECoG electrode array for high spatiotemporal resolution foci diagnostic localization of refractory epilepsy [J]. *Bio Des Manuf*, 7(4):388–398.
- MAHALAKSHMI S, SRIDEVI V, 2021. In situ electrodeposited gold nanoparticles on polyaniline-modified electrode surface for the detection of dopamine in presence of ascorbic acid and uric acid [J]. *Electrocatalysis*, 12(4):415–435.
- MUSK E, 2019. An integrated brain-machine interface platform with thousands of channels [J]. *J Med Internet Res*, 21(10):e16194.
- NJUS D, KELLEY P M, TU Y J, et al, 2020. Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties [J]. *Free Radic Biol Med*, 159:37–43.
- RAJAMANI A R, PETER S C, 2018. Novel nanostructured Pt/CeO₂@Cu₂O carbon-based electrode to magnify the electrochemical detection of the neurotransmitter dopamine and analgesic paracetamol [J]. *ACS Appl Nano Mater*, 1(9):5148–5157.
- SIMON D W, MCGEACHY M J, BAYIR H, et al, 2017. The far-reaching scope of neuroinflammation after traumatic brain injury [J]. *Nat Rev Neurol*, 13(9):572.
- TAO Y, JU E, REN J, et al, 2015. Bifunctionalized mesoporous silica-supported gold nanoparticles: Intrinsic oxidase and peroxidase catalytic activities for antibacterial applications [J]. *Adv Mater*, 27(6):1097–1104.
- VIVENTI J, KIM D H, VIGELAND L, et al, 2011. Flexible, foldable, multiplexed actively, high-density electrode array for mapping brain activity in vivo [J]. *Nat Neurosci*, 14(12):1599–1605.
- WANG H, WAN K, SHI X, 2019. Recent advances in nanozyme research [J]. *Adv Mater*, 31(45):e1805368.
- XU Q, MAO C, LIU N N, et al, 2006. Direct electrochemistry of horseradish peroxidase based on biocompatible carboxymethyl Chitosan-Gold nanoparticle nanocomposite [J]. *Biosens Bioelectron*, 22(5):768–773.
- ZHANG A, MANDEVILLE E T, XU L, et al, 2023. Ultraflexible endovascular probes for brain recording through micrometer-scale vasculature [J]. *Science*, 381(6655):306–312.
- ZHAO Z, ZHU H, LI X, et al, 2023. Ultraflexible electrode arrays for months-long high-density electrophysiological mapping of thousands of neurons in rodents [J]. *Nat Biomed Eng*, 7(4):520–523.
- ZHAO S, LI G, TONG C, et al, 2020. Full activation pattern mapping by simultaneous deep brain stimulation and fMRI with graphene fiber electrodes [J]. *Nat Commun*, 11(1):1788.
- ZOU L, TIAN H, GUAN S, et al, 2021. Self-assembled multifunctional neural probes for precise integration of optogenetics and electrophysiology [J]. *Nat Commun*, 12(1):5871.

(责任编辑 王海蓉)