

基于密勒胺的电化学发光检测过氧化氢



左桂福*, 周佳豪, 张玉倩, 陈文杰, 张倩, 岳玉琛

华北理工大学材料科学与工程学院, 河北唐山 063210

摘要: 过氧化氢 (H_2O_2) 是最重要的活性氧 (ROS) 之一, 与各种病理和生理过程有关。此外, 由于癌细胞比正常细胞产生过量的 H_2O_2 , H_2O_2 可以用作评估不同细胞中氧化应激能力差异和检测癌细胞的生物标志物。因此, 有效和准确地检测 H_2O_2 对于生物学研究至关重要。电化学发光检测具有灵敏度高, 操作简单的优点。melem 作为一种生物环保材料的同时, 还具有一定的发光性能, 在电化学发光检测领域具有一定的应用价值。本文采用热聚合结合硝酸氧化技术制备了具有良好发光性能的氧化型密勒胺 (melem-AT)。以 melem-AT 为发光体, 过硫酸钾为共反应剂, 基于 H_2O_2 对 melem-AT 的电化学发光 (ECL) 协同增强作用, 构建了 H_2O_2 传感器。在最佳的实验条件下, melem-AT 发光强度差值与 H_2O_2 浓度呈现良好的线性关系, 检测范围为 $0.125 \sim 35 \mu\text{mol/L}$, 检测限为 100 nmol/L 。人体血清中 H_2O_2 的检测结果表明, ECL 传感器在临床检测中具有潜在的应用价值。与其他方法相比, 该传感器具有操作简单、成本低、检测速度快等优点, 为 H_2O_2 的检测提供了一种有前途的方法。

关键词: 电化学发光; 密勒胺; 过氧化氢

DOI: [10.57237/j.mater.2024.05.002](https://doi.org/10.57237/j.mater.2024.05.002)

Electrochemical Luminescence Detection of Hydrogen Peroxide Based on Melem

Zuo Guifu*, Zhou Jiahao, Zhang Yuqian, Cehn Wenjie, Zhang Qian, Yue Yuchen

College of Materials Science and Engineering, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China

Abstract: Hydrogen peroxide (H_2O_2) is one of the most important reactive oxygen species (ROS), involved in various pathological and physiological processes. Additionally, since cancer cells produce an excess of H_2O_2 compared to normal cells, H_2O_2 can serve as a biomarker for assessing differences in oxidative stress capabilities among different cells and for detecting cancer cells. Therefore, effective and accurate detection of H_2O_2 is crucial for biological research. Electrochemiluminescence detection offers the advantages of high sensitivity and simple operation. Melem, as an eco-friendly biological material, also possesses certain luminescent properties, making it valuable for application in the field of electrochemiluminescence detection. In this paper, oxidized melamine (melem-AT) with good luminescent property was prepared by thermal polymerization combined with nitric acid oxidation. Based on the synergistic effect of H_2O_2 on electrochemiluminescence (ECL) of melem-AT, a H_2O_2 sensor was constructed using melem-AT as luminescent substance and potassium persulfate as co-reaction agent. Under the best experimental conditions, there is a good linear relationship between the luminous intensity of melem-AT and H_2O_2 concentration. The detection range is $0.125 \sim 35 \mu\text{mol/L}$ with detection limit of 100 nmol/L . The detection results of H_2O_2 in human serum show that ECL sensor has

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (E2022209039).

*通信作者: 左桂福, zuoguifu@163.com

收稿日期: 2024-08-17; 接受日期: 2024-09-24; 在线出版日期: 2024-10-26

<http://www.materialsrd.com>

potential application value in clinical detection. Compared to other methods, this sensor offers advantages such as simple operation, low cost, and fast detection speed, providing a promising approach for the detection of H_2O_2 .

Keywords: Electrochemiluminescence; Melem; Hydrogen Peroxide

1 引言

过氧化氢 (H_2O_2) 作为活性氧分子之一, 通常具有很强的氧化性[1-3]。在真核生物中, H_2O_2 通常作为细胞内氧化反应过程的一种中间产物, 与生命体的新陈代谢和能量转换密切相关。正常生理浓度的 H_2O_2 维持着体内的氧化还原平衡, 控制着细胞的生长、增殖、分化和迁移, 还可以协助清除体内病原体。但是当 H_2O_2 浓度异常升高时往往会引起氧化应激反应, 造成生物分子如 DNA、蛋白质、脂质体的氧化损伤, 进而导致生物体的多种功能障碍, 引发多种疾病的发生, 如癌症、炎症和心血管疾病等[4], 对体内 H_2O_2 的监测是非常重要的。目前检测 H_2O_2 的常用方法是高效液相色谱法 (HPLC)、分光光度法和荧光光度法[5]。尽管使用 HPLC 检测 H_2O_2 具有灵敏度高的优点, 但是仪器设备昂贵, 需要专业人员操作, 样品的前期处理比较麻烦[6]。分光光度法操作简单, 成本低, 但灵敏度欠佳, 测试结果不够稳定[7]。荧光光度法检测灵敏度高, 选择性好, 但通常荧光转换效率比较低, 受散射光的影响, 稳定性不够好[8-10]。因此, 建立一种操作简单、灵敏度高、选择性和稳定性好的方法对于 H_2O_2 的临床检测至关重要。

电化学发光 (Electrochemiluminescence, ECL) 检测是电化学和化学发光相结合的检测技术[11]。在电位驱动下, 电极表面的发光体与溶液中的共反应剂发生氧化还原反应, 形成的高能激发态返回基态时产生发光现象。发光信号的高低与体系中参与反应的活性物质的含量有关。ECL 检测通常具有灵敏度高、选择性好、操作简单、快速的优点, 被广泛应用于各种生物活性物质的分析。常规的 ECL 检测 H_2O_2 采用的是鲁米诺 (luminol) 体系, H_2O_2 以共反应剂形式激发鲁米诺发光。Shan [12]等以金属有机凝胶为基础, 构建了 luminol- H_2O_2 的 ECL 传感器, 实现了对 Hela 细胞中 H_2O_2 的检测, 检测范围为 $0.1 \sim 40 \mu\text{mol/L}$, 检测限为 2.2 nmol/L 。考虑到材料成本, 以及阳极 ECL 信号不够稳定, 因此需要寻找一种更为廉价的材料构建阴极电化学发光体系。相比于鲁米诺等发光材料, 密勒胺

(melem) 具有价格低廉、制备简单和生物相容性好的特点, 同时还具有优良的发光性能, 在发光和检测领域有一定的应用价值。基于此, 本文以不同种类的 melem 为发光体, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 为共反应剂, 研究了不同 melem 的阴极电化学发光情况, 对其 H_2O_2 的检测性能进行了分析, 对检测机理进行了探讨。

2 实验内容

2.1 原料及仪器

实验所用试剂: 三聚氰胺、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾 (天津市光复精细化工研究所); 硝酸、氯化钠、氯化钾、铁氰化钾、双氧水、无水乙醇 (天津市永大化学试剂有限公司); 过硫酸钾 (天津市申泰化学试剂有限公司)。所用化学试剂均为分析纯级, 实验室去离子水为自制。

实验室所用仪器: 超微弱发光测量 (BPCL-1, 广州微光科技有限公司); 电化学工作站 (CHI660E, 上海辰华仪器有限公司); 酸度计 (PHS-3C, 上海佑科仪器仪表有限公司); 电化学三电极体系: 以铂片为对电极, Ag/AgCl (3M KCl) 作参比电极, 玻碳电极作为工作电极。

2.2 密勒胺 (Melem) 和氧化型密勒胺 (Melem AT) 的制备

称取一定量三聚氰胺放到坩埚中, 在马弗炉中, 以 $3^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率从室温升至 400°C , 保温 2 h, 降至室温后得到米白色粉末 Melem, 研磨待用; 将 4 g Melem 分散在 200 mL 质量分数 40% 硝酸溶液中, 并在 90°C 下加热搅拌 20 min; 待悬浮液冷却至室温后, 以 11000 rpm、5 min 离心水洗 5 次, 在 50°C 的烘箱中干燥获得 melem AT 粉末。

2.3 电极的修饰和 ECL 测试

- (1) 材料的修饰: 首先, 将 melem、melem AT 超声分散在无水乙醇中, 配成 1 mg/mL 的悬浮液; 采用微量注射器吸取 5 μL melem、melem AT 悬浮液, 将其滴在干净的玻碳电极表面, 使其均匀分布, 干燥后待用。
- (2) ECL 电化学发光测试: 将修饰好的电极浸入到 4 mL PBS ($\text{pH}=7.2$) 和 1 mL $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (0.1 M) 的混合液中检测发光强度。参数设置: 循环伏安扫描电位为 -1.5-0 V, 扫速为 20 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$, 光电倍增管电压为 1000 V。
- (3) H_2O_2 的检测: 配置不同浓度的 H_2O_2 , 然后取 3 mL PBS、1 mL $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 、1 mL 不同浓度 H_2O_2 作为反应液体, 将修饰有 melem AT 的电极浸入其中进行电化学发光检测。
- (4) 抗干扰性能测试: 分别配置浓度为 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 溶液; 100 $\mu\text{mol/L}$ 的不同金属离子溶

液 (K^+ 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 NH_4^+ 、 Li^+ 、 Na^+ 、 Co^{3+} 、 Ni^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Fe^{2+}); 10 $\mu\text{mol/L}$ 的不同生物分子 (丝氨酸、赖氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、缬氨酸、天门冬氨酸、精氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、半胱氨酸、抗坏血酸、还原性谷胱甘肽和酪氨酸)。

3 结果与讨论

3.1 SEM 分析

如图 1 所示, (a-c) 为 melem 在不同放大倍数下的 SEM 图像, 直接高温煅烧得到的 melem 整体呈现一种不规则块状堆积的结构。在经硝酸处理后, melem AT 表面变得更加蓬松, 呈现一种片层堆叠形貌, 整体尺寸变小 (图 1 d-f), 这与 XRD 中的 melem AT 衍射峰结晶度提高相对应。小粒径且尺寸均匀的 melem 有助于测定稳定性和准确性的提升。

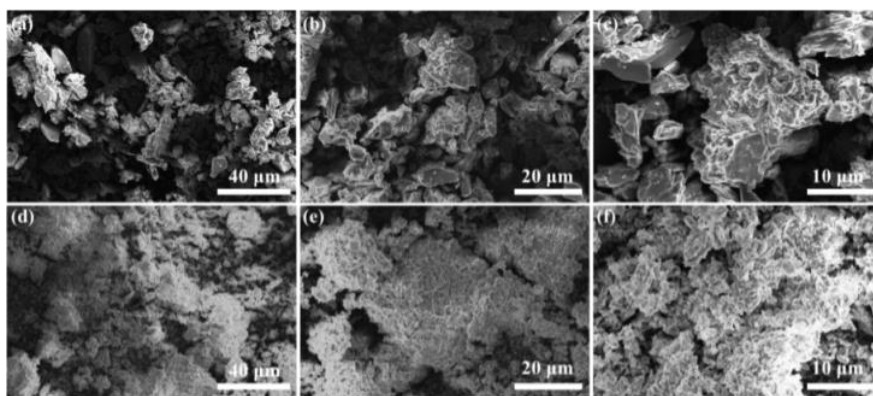


图 1 melem (a-c) 和 melem AT (d-f) 的 SEM 图

Figure 1 SEM images of Melem (a-c) and Melem AT (d-f)

3.2 XRD 分析

图 2 为 melem 和 melem AT 的 XRD 谱图。可以看出, 由图 2a 可知, melem 的谱图和文献报道一致[13]。这意味着 melem 已成功制备。与 melem 相比, 采用硝酸处理后, melem AT (图 2b) 的衍射峰发生了明显变化, 在 28° 左右有一个强衍射峰。其与 (002) 晶面对应, 主要是由于共轭芳环的堆积形成的[14]。图谱(b)中的峰值更尖锐且强度更高, 表明 melem AT 具有较高的结晶度。

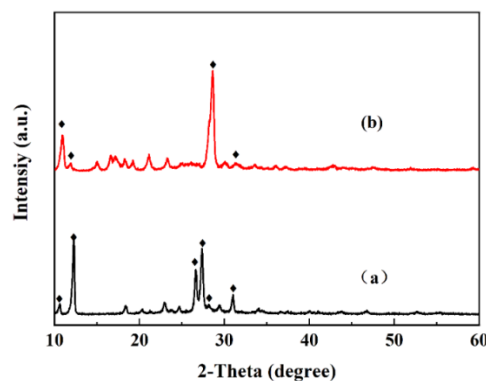


图 2 melem (a) 和 melem AT (b) 的 XRD 衍射峰谱图

Figure 2 XRD diffraction peak spectra of Melem (a) and Melem AT (b)

3.3 FT-IR 分析

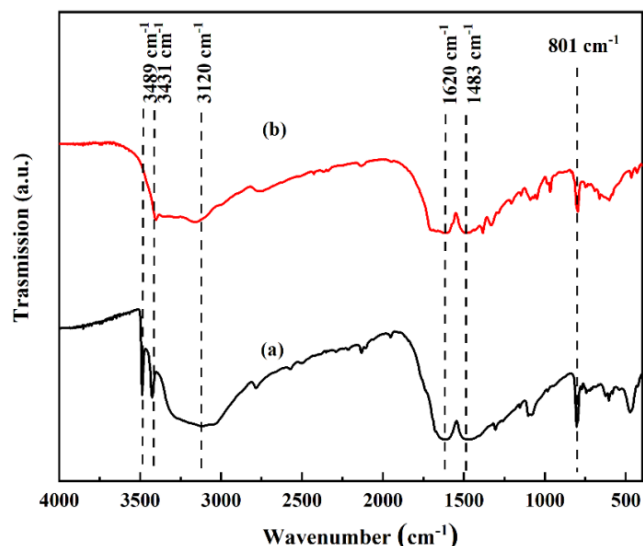


图 3 melem (a)和 melem AT (b)的 FTIR 谱图

Figure 3 FTIR spectra of Melem (a) and Melem AT (b)

图 3 为 melem 和 melem AT 的 FT-IR 光谱图。从图中可以看出, melem 和 melem AT 的 FT-IR 光谱均在 800、1500 和 3000 cm^{-1} 处左右出现特征峰。801 cm^{-1} 附近的尖吸收峰对应三嗪单元的吸收谱带。在 1483 cm^{-1} 和 1620 cm^{-1} 左右的吸收峰为芳香族 CN 杂环的特征谱带 [15]。3120 cm^{-1} 宽吸收带和 3431 cm^{-1} 、3489 cm^{-1} 左右的吸收

峰的形成主要是由于 -NH 和 -NH₂ 基团的拉伸振动或它们的分子间氢键相互作用引起的。melem AT 在 3431 cm^{-1} 和 3489 cm^{-1} 附近的峰减弱甚至消失, 这是因为硝酸处理后, melem 中的部分 -NH₂ 被硝基和羧基取代造成的。

3.4 不同 melem 材料的电化学发光性能

图 4 为不同 melem-K₂S₂O₈ 电化学发光体系的 ECL 测定曲线和材料的阻抗 (EIS) 曲线。如图 4a 所示, 当给予一定的电压后, 针对 melem-K₂S₂O₈ 电化学发光体系可以捕获到一定的 ECL 信号, 这是由于 K₂S₂O₈ 和 melem 在电极上参与氧化还原过程形成激发态 melem*。其中, melem-K₂S₂O₈ 电化学发光体系, melem AT-K₂S₂O₈ 电化学发光体系的 ECL 强度分别为 2470, 9630。melem AT-K₂S₂O₈ 电化学发光体系具有最高的电化学发光强度, 大约是改性前 melem 的 4 倍。

针对不同材料的 ECL 变化规律, 进行了 EIS 测试。实验结果如图 4b 所示, 这两种材料的 EIS 半圆直径大小和 ECL 曲线同样存在相似的变化规律。相比于 melem, melem AT 的 EIS 半圆明显减小。EIS 半圆直径越小代表材料的电导率越大, 电子转移电阻越小, 说明其表现了最有效的电子转移, 具有最高的电化学活性。这是因为经过硝酸改性后, melem AT 粒径变小, 比表面积变大, 在电化学反应过程中, 具有较高的活性表面积和更多的活性位点 [16]。

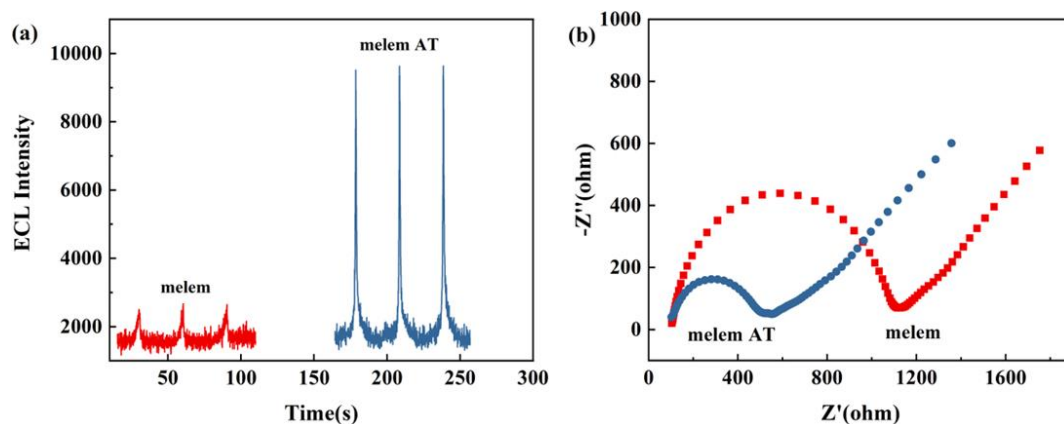


图 4 melem 和 melem AT 的 ECL (a)和 EIS (b)曲线

Figure 4 ECL (a) and EIS (b) curves of Melem and Melem AT

图 5 为 melem AT-K₂S₂O₈ 电化学发光体系 ECL 稳定性测试图。对 melem AT 的样品进行了 12 圈电化学发光强度重复测定, 测定强度分别为 9516、9630、9638、9835、9682、9848、9633、9472、9369、9413、9541

和 9676。结果表明, melem AT-K₂S₂O₈ 体系电化学发光强度均稳定在 9600 左右, 经计算相对误差在 0.27% ~ 2.54% 之间, 这说明 melem AT-K₂S₂O₈ 电化学发光体系 ECL 具有较好的稳定性。

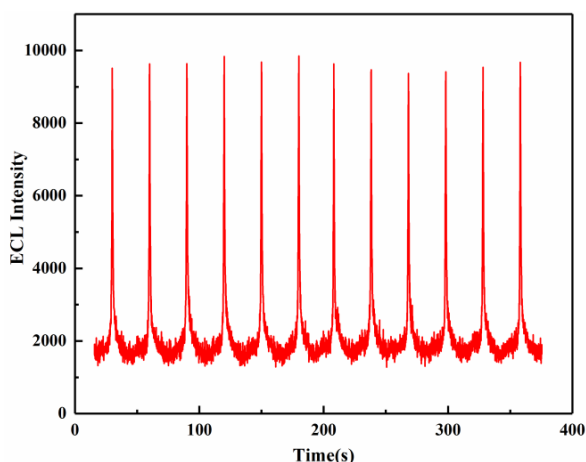


图 5 melem AT 电化学发光稳定性测试结果

Figure 5 ECL stability test results of Melem AT

3.5 传感器的 H_2O_2 检测性能

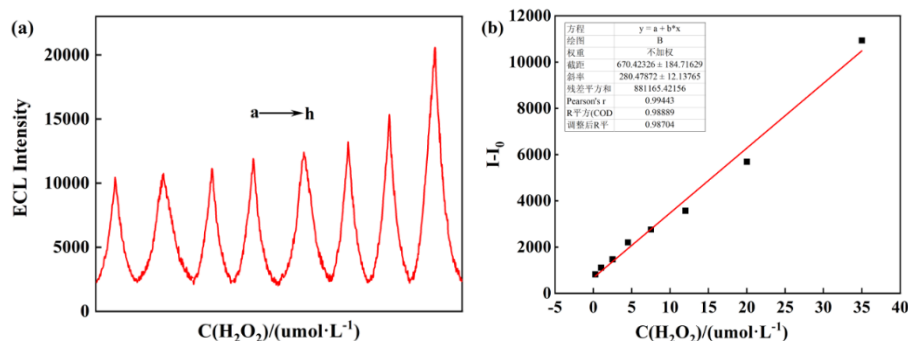
图 6(a)展示了不同 H_2O_2 浓度下 (从 a-h 的浓度分别为 0.25、1、2.5、4.5、7.5、12、20 和 35 $\mu\text{mol/L}$) melem AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 体系的 ECL 强度。可以看出,随着 H_2O_2 浓度的提升,体系的 ECL 强度呈现逐步上升的趋势。以不同 H_2O_2 浓度下测得的 ECL 强度差 ($I-I_0$) 为纵坐标, H_2O_2 浓度 (C_H) 为横坐标作图,进行线性拟合,如图 7(b)所示。拟合方程为:

$$I-I_0=280.4787C_H+670.4233 \quad (0.25\sim35 \mu\text{mol/L})$$

式中:

$I-I_0$ —加入不同浓度的 H_2O_2 后电化学发光强度的变化量;

C_H — H_2O_2 的浓度, $\mu\text{mol/L}$

图 6 不同浓度 H_2O_2 下的 ECL 强度(a)和 ECL 强度与浓度的线性曲线(b)Figure 6 ECL intensity at different concentrations of H_2O_2 (a) and the linear curve of ECL intensity versus concentration (b)

通过计算可知,此方法的检测限为 100 nmol/L,检测范围为 0.125~35 $\mu\text{mol/L}$,线性相关度 $R \approx 0.987$,通过与表 1 列举的其他检测 H_2O_2 的方法相比,该传感器在灵敏度和检测范围方面均表现出了优势。

表 1 电化学体系检测 H_2O_2 性能对比Table 1 Performance comparison of electrochemical systems for H_2O_2 detection

材料	方法	检测限/($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	检测范围/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	参考文献
$\text{CF}_{\text{disk}}-\text{Au}_{\text{ring}}$	Electrochemical	400	1~29	[17]
AuNPs-PB-GO	Electrochemical	1300	3.8~5400	[18]
Cu-S/FeOOH	Electrochemical	600	0.002~9	[19]
$\text{CeO}_2 \text{ NP/rGO}$	Electrochemical	1670	0.5~7500	[20]
melem AT	ECL	100	0.125~35	本工作

3.6 传感器的抗干扰性能

图 7 为 melem AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 电化学发光体系在 H_2O_2 检测过程中的抗干扰性能测试结果。可以看出,加入一定浓度的 H_2O_2 后,melem AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 电化学发光体系发光强度明显升高。 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 等离子和丝氨酸、

赖氨酸、苏氨酸、丙氨酸等生物分子,并没有对 melem AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 电化学发光体系和 melem AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{H}_2\text{O}_2$ 电化学发光体系的发光强度产生明显影响,说明该检测体系对各种离子和生物分子具有优良的抗干扰性能,对于 H_2O_2 的检测具有很好的选择性。

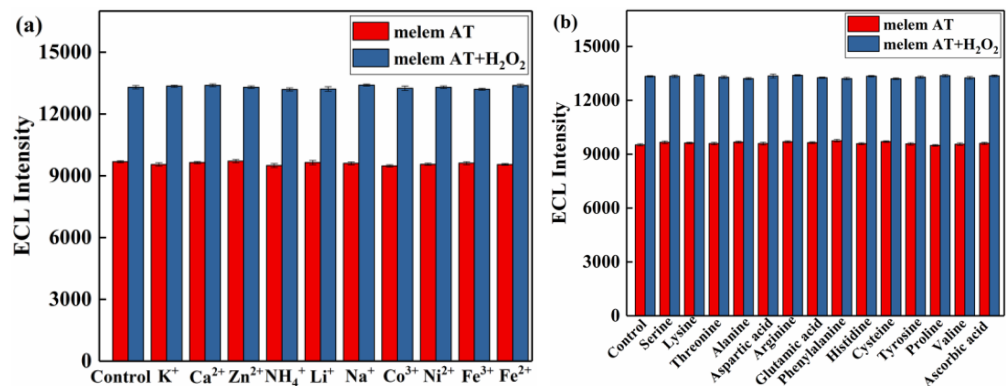


图 7 金属离子(a)和生物分子(b)对传感器的干扰分析
Figure 7 Interference analysis of the sensor by metal ions (a) and biomolecules (b)

3.7 真实样品检测性能

为了评价该传感器的临床实用价值，将不同浓度的 H_2O_2 加入人体血清中进行了加标回收实验。表 2 为 melem AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 电化学发光体系对实际样本中 H_2O_2 的定量检测结果。由表 2 可以看出，实际检测含量与加入量基本接近，回收率为 96.0% ~ 101.0%，表明 melem AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 电化学发光传感器可以实现人体血清中 H_2O_2 的定量检测。

表 2 melem AT 对人血液中 H_2O_2 的检测
Table 2 Detection of H_2O_2 in human blood by Melem AT

样品	加标量/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	回收量/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	回收率/%
血清 1			
1	1.00	0.96 ± 0.06	96.0 ± 6.0
2	4.00	4.04 ± 0.08	101.0 ± 2.0
3	7.00	6.95 ± 0.11	99.3 ± 1.6
血清 2			
4	1.00	0.94 ± 0.03	94.0 ± 3.0
5	4.00	3.97 ± 0.06	99.3 ± 1.5
6	7.00	6.92 ± 0.14	98.9 ± 2.0

3.8 检测机理分析

图 8(a)为不同组分电化学发光体系的 ECL 图。从图中可以看出，当 melem AT 和 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 单独存在时，体系均没有 ECL 信号产生。共同存在时，可以观察到明显的 ECL 信号峰。由此可知，melem AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 电化学发光体系的 ECL 信号产生主要是归因于 melem AT 和 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 发生氧化还原反应，产生发光。

该传感器对 H_2O_2 的检测机理如图 8(b)所示。当电化学工作站的扫描电压从 0 V 扫描至 -1.5 V 的过程中，共反应剂 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 得电子还原为 SO_4^{2-} 和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ，同时 melem AT 也得电子被还原为 melem AT $^{\cdot-}$ ，之后 melem AT $^{\cdot-}$ 与强氧化剂 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 发生反应，melem AT $^{\cdot-}$ 被氧化为激发态的 melem*，而激发态的 melem* 是极不稳定的，会很快回到基态同时释放能量，形成 ECL 发射。当体系中加入 H_2O_2 后会在阴极还原生成 OH^- ， OH^- 会促进 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 的还原生成更多的 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ，继而生成更多发光体的高能态，增强 ECL 信号。

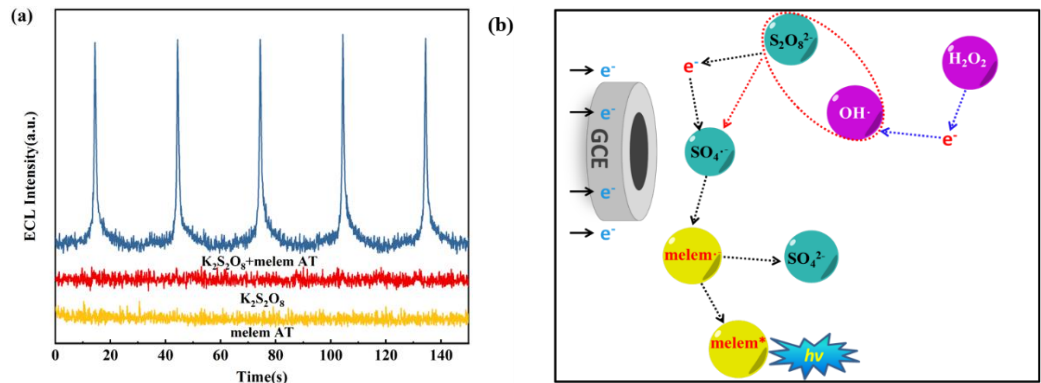


图 8 不同组分电化学发光体系的 ECL 曲线(a)和检测机理图(b)
Figure 8 ECL curves of different components in the ECL system (a) and the detection mechanism diagram (b)

4 结论

采用热聚合结合硝酸氧化技术制备了具有优良 ECL 性能的氧化型 melem-AT，硝酸氧化处理使 melem-AT 暴露出更多的活性位点，电子传输性能得到明显提升，获得了高强度、高稳定性的 ECL 信号。基于 H_2O_2 对 melem-AT- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 电化学发光体系的协同增强作用构建了 H_2O_2 传感器。 H_2O_2 在阴极还原生成的 OH^\cdot 促进了 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 的还原，生成更多的 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ，继而生成更多激发态发光体，产生增强的 ECL 信号。相比于其他传感器，对 H_2O_2 具有更佳的灵敏度和选择性：检测限达到了 100 nmol/L，检测范围达到了 0.125 ~ 35 $\mu\text{mol/L}$ ，对常见金属离子和生物分子表现出了良好的抗干扰性。成功应用于人体血液中 H_2O_2 的定量检测，回收率达到了 96.0% ~ 101.0%，表现出了良好的临床应用前景。

参考文献

- [1] Youming Shen, Xiangyang Zhang, Youyu Zhang, et al., A mitochondria-targeted colorimetric and ratiometric fluorescent probe for hydrogen peroxide with a large emission shift and bio-imaging in living cells, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 255: 42-48.
- [2] Shijun Chen, Wenkang Fan, Zhen Sun, et al., Acetyl group assisted rapid intramolecular recognition of hydrogen peroxide: A novel promising approach for efficient hydrogen peroxide probe, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2022, 276: 121162.
- [3] Jialing Zhou, Ruoxi Zhao, Yaqian Du, et al., A Si-CdTe Composite Quantum Dots Probe with Dual-Wavelength Emission for Sensitively Monitoring Intracellular H_2O_2 , *Advanced Functional Materials*, 2022, 32 (20): 2112083.
- [4] Mohamed Achraf Ben Njima, Ludovic Legrand, Ag nanoparticles-oxidized green rust nanohybrids for novel and efficient non-enzymatic H_2O_2 electrochemical sensor, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2022, 906: 116015.
- [5] 向忠, 王宇航, 吴金波, 等. 过氧化氢检测方法研究进展, *纺织学报*, 2020, 41 (10): 197-204.
- [6] C. Liang, B. Gowda SG, D. Gowda, et al., Simple and Sensitive Method for the Quantitative Determination of Lipid Hydroperoxides by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11 (2): 229.
- [7] J. Zou, H. Cai, D. Wang, et al., Spectrophotometric determination of trace hydrogen peroxide via the oxidative coloration of DPD using a Fenton system, *Chemosphere*, 2019, 224: 646-652.
- [8] Kehua Xu, Bo Tang, Hui Huang, et al., Strong red fluorescent probes suitable for detecting hydrogen peroxide generated by mice peritoneal macrophages, *Chemical Communications*, 2005, 48: 5974-5976.
- [9] Xiaodi Rong, Caiyun Liu, Mingzhu Li, et al., An Integrated Fluorescent Probe for Ratiometric Detection of Glutathione in the Golgi Apparatus and Activated Organelle-Targeted Therapy, *Analytical Chemistry*, 2021, 93 (48): 16105-16112.
- [10] Li Fan, Xiaodong Wang, Jinyin Ge, et al., A Golgi-targeted off-on fluorescent probe for real-time monitoring of pH changes in vivo, *Chemical Communications*, 2019, 55 (47): 6685-6688.
- [11] Wujian Miao, Electrogenated Chemiluminescence and Its Biorelated Applications, *Chemical Reviews*, 2008, 108 (7): 2506-2553.
- [12] Li-Ping Zong, Ling-Yu Ruan, Junji Li, et al., Fe-MOGs-based enzyme mimetic and its mediated electrochemiluminescence for in situ detection of H_2O_2 released from Hela cells, *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 184: 113216.
- [13] H. B. Zheng, W. Chen, H. Gao, et al., Melem: an efficient metal-free luminescent material, *J. Mater. Chem. C*, 2017, 5 (41): 10746-10753.
- [14] Jia Ren, Xin Liu, Lu Zhang, et al., Thermal oxidative etching method derived graphitic C_3N_4 : highly efficient metal-free catalyst in the selective epoxidation of styrene, *RSC Advances*, 2017, 7 (9): 5340-5348.
- [15] Zhiping Song, Tianran Lin, Lihua Lin, et al., Invisible Security Ink Based on Water-Soluble Graphitic Carbon Nitride Quantum Dots, *Angewandte Chemie International Edition*, 2016, 55 (8): 2773-2777.
- [16] Lichan Chen, Xiaoting Zeng, Peng Si, et al., Gold Nanoparticle-Graphite-Like C_3N_4 Nanosheet Nanohybrids Used for Electrochemiluminescent Immunosensor, *Analytical Chemistry*, 2014, 86 (9): 4188-4195.
- [17] Shuai Zhang, Tao-Tao Feng, Li Zhang, et al., In Vivo Electrochemical Detection of Hydrogen Peroxide and Dopamine, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2019, 47 (10): 1664-1670.
- [18] Xiaoli Liu, Xinjin Zhang, Jianbin Zheng, One-pot fabrication of AuNPs-Prussian blue-Graphene oxide hybrid nanomaterials for non-enzymatic hydrogen peroxide electrochemical detection, *Microchemical Journal*, 2021, 160: 105595.

[19] Weiguo Zhang, Dawei Yan, Bingqing Liang, et al., Boosting electrochemical fenton process Via Cu, S-doped FeOOH sheet for hydrogen peroxide detection, *Electrochimica Acta*, 2024, 486: 144122.

[20] Sunghyeon Kim, Shin Chan Kang, Sang Mo Lee, et al., A

novel electrochemical strategy to detect hydrogen peroxide by utilizing peroxidase-mimicking activity of cerium oxide/graphene oxide nanocomposites, *Biosensors and Bioelectronics*, 2024, 253: 116161.