

TỔNG HỢP VẬT LIỆU $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ CẤU TRÚC LÕI VỎ CÓ HOẠT TÍNH TƯƠNG TỰ ENZYME PEROXIDASE VÀ ỨNG DỤNG CHẾ TẠO CẢM BIẾN SO MÀU PHÂN TÍCH CHOLESTEROL

Đến tòa soạn: 21-05-2025

Trần Vinh Hoàng^{1,*}, Lưu Đức Phương², Trần Thị Luyến¹, Nguyễn Thị Lan¹, Trần Thị Thu Huyền¹, Nguyễn Ngọc Thịnh¹, Đặng Thị Minh Huệ¹, Nguyễn Lê Huy¹, Nguyễn Công Tú³

¹Khoa Hóa học, Trường Hóa và Khoa học Sự sống, Đại học Bách Khoa Hà Nội

²Trường Trung học cơ sở Đống Đa, Đống Đa, Hà Nội

³Khoa Vật lý Kỹ thuật, Đại học Bách Khoa Hà Nội

*E-mail: hoang.tranvinh@hust.edu.vn

SUMMARY

SYNTHESIS OF NANOSTRUCTURED $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ CORE-SHELL WITH PEROXIDASE-LIKE ACTIVITY AND ITS APPLICATION FOR FABRICATION OF COLORIMETRIC CHOLESTEROL BIOSENSOR

In this study, we presented the results of the research on the fabrication of Fe_3O_4 nanoparticles coated with carbon layer (nanostructured $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ material) via a simple route. The peroxidase-like catalytic activity of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ was evaluated using Michaelis – Menten and Lineweaver-Burk model. Results indicated that $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ had strong peroxidase activity than that of horseradish peroxidase (HRP) – a natural enzyme. Therefore, the synthesized $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ nanozyme was applied to replace of HRP for combining with cholesterol oxidase enzyme (ChOx) to fabricate of a colorimetric biosensor for cholesterol detection. Obtained results showed that the developed biosensor had high selectivity, and it could detect cholesterol in a linear range of 0.05 to 1.5 mM and with the limit of detection (LOD) was 0.01 mM. The developed biosensor could also detect cholesterol in real samples (human serum sample), which implied that the cholesterol sensor performed well in complex environments, demonstrating its high application potential to replace of HRP in developing of biosensor for cholesterol concentrations in real samples.

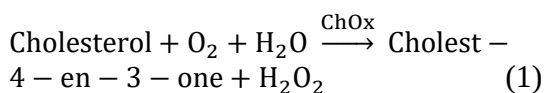
Keywords: nanozyme, peroxidase, enzymatic biosensor, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ nanostructured material, colorimetric detection.

1. MỞ ĐẦU

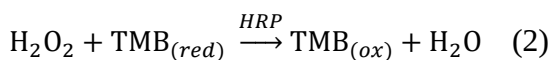
Cholesterol có danh pháp theo IUPAC là (3 β)-cholest-5-en-3-ol, công thức phân tử là $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$, là một steroid có màu vàng nhạt, có ở màng tế bào của các mô trong cơ thể, và được vận chuyển trong huyết tương. Trong gan, cholesterol kết hợp với protein tạo ra hai dạng lipoprotein là LDL (lipoprotein có trọng lượng phân tử thấp) và HDL (lipoprotein có trọng lượng phân tử cao) và được vận chuyển vào dòng máu. HDL mang ít cholesterol nên có thể

kết hợp với cholesterol tự do trong máu và vận chuyển về gan xử lý, vì vậy nếu hàm lượng HDL trong máu càng cao thì càng giảm nguy cơ mắc bệnh mạch vành. Ngược lại, LDL chứa nhiều cholesterol và là nguyên nhân hình thành các mảng xơ vữa trên thành các động mạch nói chung và các động mạch vành tim nói riêng (gọi là xơ vữa động mạch) làm hẹp hay tắc lòng mạch máu nuôi dưỡng cơ tim gây ra các cơn đau tim [1-2]. Vì vậy xét nghiệm cholesterol trong máu là chỉ số quan trọng

trong kiểm tra sức khỏe. Hiện nay, xét nghiệm cholesterol hiện đang áp dụng là theo phương pháp so màu bằng việc sử dụng enzyme cholesterol oxidase (ChOx) để oxy hóa cholesterol tạo ra H_2O_2 và cholest-4-en-3-one theo phản ứng:



H_2O_2 sinh ra được định lượng dựa trên phản ứng giữa H_2O_2 và 3,3',5,5'-tertramethylbenzidine (TMB) tiến hành dưới sự xúc tác của enzyme horseradish peroxidase (HRP) làm TMB từ dạng khử (TMB_{red}) không màu sang dạng oxy hóa (TMB_{ox}) có màu xanh đặc trưng theo phản ứng:



Cường độ của màu xanh tỷ lệ với nồng độ H_2O_2 , tức cũng tương ứng với nồng độ của cholesterol. Tuy nhiên enzyme HRP dễ bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ, ánh sáng hay pH,... dẫn đến việc mất hoạt tính. Do đó việc nghiên cứu sử dụng các hạt nano vô cơ có hoạt tính như HRP (nanozyme peroxidase), chúng hoạt động ổn định hơn, bền hơn, dễ bảo quản hơn và có hoạt tính xúc tác cao hơn để thay thế cho enzyme HRP tự nhiên là hướng quan trọng cho các ứng dụng sinh học và cảm biến sinh học[3-10].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu chế tạo và ứng dụng hạt nano Fe_3O_4 bọc bởi lớp carbon ($Fe_3O_4@C$) có hoạt tính xúc tác như HRP, để kết hợp chúng cùng với enzyme ChOx tạo ra cảm biến sinh học so màu phân tích cholesterol. Việc bọc các hạt Fe_3O_4 bằng lớp carbon vô định hình nhằm hạn chế việc hoà tan của Fe_3O_4 trong môi trường acid, ngoài ra việc bọc carbon cũng làm giảm số tâm xúc tác Fe^{III} giúp cho hoạt tính xúc tác ổn định hơn và có tính chọn lọc hơn.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, dụng cụ

$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot H_2O$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$; glucose ($C_6H_{12}O_6$), NaOH; natri acetat (CH_3COONa); acid acetic (CH_3COOH , 99%); dung dịch amoniac (NH_3 , 30%); ethanol (C_2H_5OH); dung dịch hydrogen peroxide (H_2O_2 , 30%); saccarozo; acid ascorbic; ure là các hóa chất tinh khiết (AR) của Trung Quốc. 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB), cholesterol ($C_{27}H_{46}O$, $\geq 99\%$), enzyme cholesterol oxidase (ChOx, hoạt độ ≥ 20 units/mg protein, chiết từ *Streptomyces sp.*) được cung cấp bởi Sigma Adrich (Đức). Dung dịch đệm acetat (pH4) được pha từ muối natri acetat và dung dịch acid axetic. Dung dịch TMB nồng độ 20 mg.mL^{-1} được chuẩn bị bằng cách hòa tan 20 mg TMB dạng bột trong 1 mL ethanol.

2.2. Tổng hợp vật liệu $Fe_3O_4@C$ cấu trúc lõi vỏ

Vật liệu $Fe_3O_4@C$ cấu trúc lõi vỏ được tổng hợp qua quy trình hai bước. Bước 1, cân 11,89 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ và 8,63g $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ và cho vào cốc, bổ sung thêm 100 mL nước cất để hòa tan hai muối tạo thành dung dịch trong suốt. Dung dịch được gia nhiệt đến $80^\circ C$ rồi cho từ từ dung dịch NH_3 10% vào hỗn hợp đến pH = 8 thì dừng lại. Kết tủa Fe_3O_4 màu đen được hình thành. Để nguội hỗn hợp, dùng nam châm tách kết tủa, rửa bằng nước cất và ethanol thu được hạt Fe_3O_4 màu đen. Bước 2, cân 10 g glucose đem hòa tan trong 30 mL nước cất, cho dung dịch vào cốc đựng kết tủa Fe_3O_4 thu được ở bước 1. Hỗn hợp được khuấy trộn, siêu âm và sau đó cho vào autoclave, đem thủy nhiệt ở $160^\circ C$ trong 8h. Để nguội autoclave, dùng nam châm tách lấy kết tủa đen, đem rửa bằng nước cất và ethanol, sấy khô và nghiền mịn thu

được hạt nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ cấu trúc lõi vỏ để làm xúc tác. Xúc tác này sau đó được phân tán vào nước cất với hàm lượng 2 mg.mL^{-1} để sử dụng.

2.3. Khảo sát hoạt tính nanozyme peroxidase của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$

Lấy các ống Eppendorf, cho vào đó lần lượt 1 mL đệm acetat, 50 μL hỗn hợp xúc tác $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$, 50 μL dung dịch TMB và 50 μL dung dịch H_2O_2 . Để khảo sát động học và các hằng số nanozyme, nồng độ H_2O_2 và TMB sẽ thay đổi. Lắc đều các hỗn hợp bằng máy Vortex và để yên để phản ứng xảy ra trong 45 phút. Sau đó hỗn hợp được ly tâm, bỏ chất rắn, lấy dung dịch đi đo UV- Vis, lấy giá trị độ hấp thụ quang tại bước sóng $\lambda = 652\text{nm}$ (ký hiệu là A_{652}) để làm tín hiệu.

2.4. Chế tạo cảm biến sinh học cholesterol

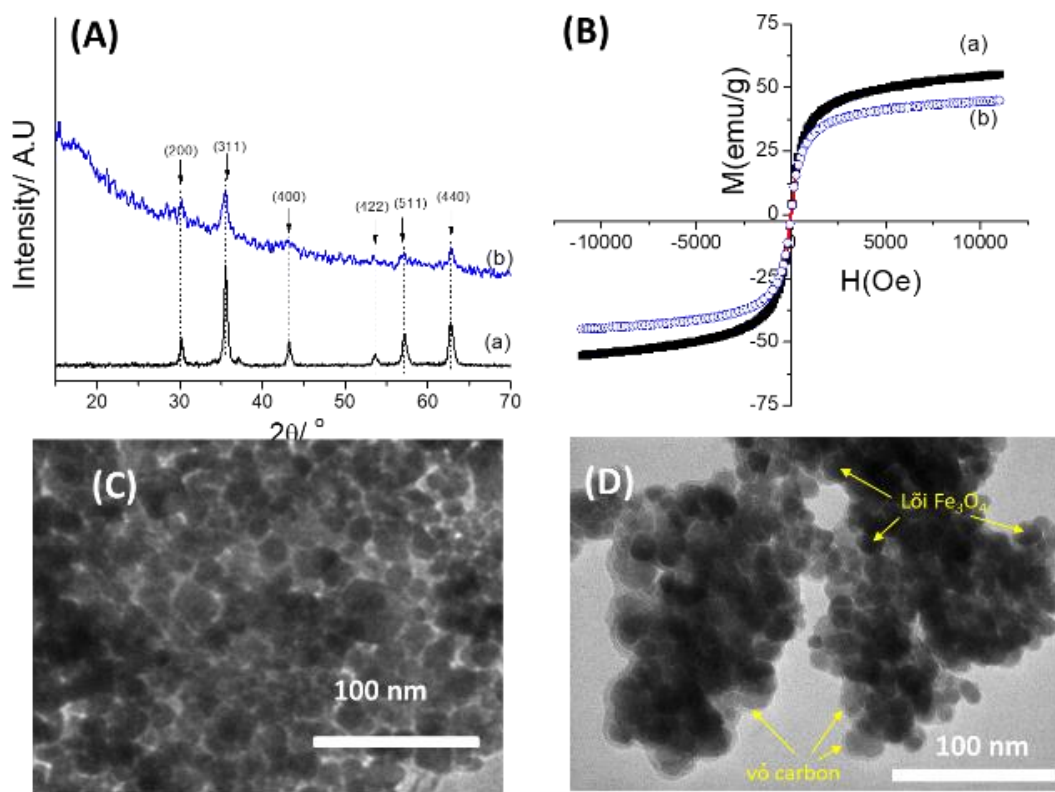
Chuẩn bị 6 ống ependorff, cho vào mỗi ống 100 μL dung dịch lần lượt các chất glucose, saccaroso, acid ascorbic, galactose, nước cất, cholesterol nồng độ 0,5 mM. Tiếp đó thêm vào mỗi ống 10 μL ChOx (2 mg mL^{-1}), 90 μL đệm PBS, lắc đều bằng máy Vortex và để phản ứng trong 30 phút ở nhiệt độ 37 °C. Sau đó, cho tiếp vào mỗi ống Eppendorf trên 1mL đệm acetat (pH4), 25 μL $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ và 50 μL dung dịch TMB. Lắc đều bằng máy Vortex và để phản ứng thực hiện tại nhiệt độ 40°C bằng bể ổn nhiệt trong 25 phút. Sau đó đem các mẫu ly tâm bỏ chất rắn, lấy dung dịch đi đo UV – Vis và lấy các giá trị A_{652} để đánh giá độ chọn lọc của cảm biến. Để xây dựng đường chuẩn phân tích cholesterol, quy trình tiến hành tương tự trên, nhưng các ống Eppendorf được thêm vào 100 μL dung dịch cholesterol với các nồng độ khác nhau: 0; 0,01; 0,1;

0,3; 0,5; 1,0; 1.5 và 2 mM; tương tự với các mẫu thực.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc trưng vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$

Phổ XRD của Fe_3O_4 (hình 1A, đường a) cho thấy các hạt sắt từ Fe_3O_4 đơn pha với 6 đỉnh nhiễu xạ ở $30,1^\circ$, $35,4^\circ$, $43,1^\circ$, $53,4^\circ$, $57,0^\circ$ và $62,5^\circ$ ứng với các mặt nhiễu xạ (220), (311), (400), (422), (511) và (440) đặc trưng của Fe_3O_4 . Các peak này vẫn quan sát được rõ ràng trên phổ XRD của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ (hình 1A, đường b); từ đó khẳng định đã hình thành của pha tinh thể spinel từ của nano Fe_3O_4 trong cả hai vật liệu. Tuy nhiên, cường độ các peak tương ứng ở mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ thấp hơn và độ sắc nét kém hơn so với mẫu không bọc carbon chứng tỏ trong vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$, tinh thể Fe_3O_4 vẫn giữ nguyên cấu trúc, còn carbon hình thành ở dạng vô định hình. Đường cong từ hóa (VSM) của Fe_3O_4 và $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ (hình 1B) cho thấy chúng đều là vật liệu siêu thuận từ với độ từ hóa bão hòa (M_s) lần lượt là 55,198 emu g^{-1} và 44,968 emu g^{-1} . Vỏ carbon vô định hình bọc bên ngoài của vật liệu là không có từ tính vì vậy tính chất từ của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ là do Fe_3O_4 thể hiện, việc bọc lên lớp phủ đã làm giảm độ từ hóa của $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ so với không bọc. Với tính chất từ mạnh, vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ sẽ dễ dàng tách ra khỏi dung dịch sau khi phản ứng nhờ từ trường ngoài và tái sử dụng. Ảnh TEM của mẫu Fe_3O_4 không bọc carbon (hình 1C) cho thấy các hạt kết tụ khá mạnh trong khi đó với mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ (hình 1D) cho thấy vật liệu có cấu trúc lõi vỏ rõ ràng, trong đó lõi là các hạt Fe_3O_4 có kích thước khoảng $30 \div 40 \text{ nm}$ được bọc bên ngoài bởi lớp vỏ cacbon dày cỡ $1,2 \div 1,5 \text{ nm}$.



Hình 1. (A) Phổ XRD và (B) đường cong VSM của (a) Fe_3O_4 và (b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$; (C, D) TEM của Fe_3O_4 (C) và $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ (D).

3.2. Hoạt tính nanozyme của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$

Phổ UV-Vis của hệ phản ứng TMB + H_2O_2 dưới sự xúc tác của $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ với nồng độ H_2O_2 thay đổi (hình 2A). Để xác định các thông số động học của nanozyme chúng tôi sử dụng phương trình Michaelis

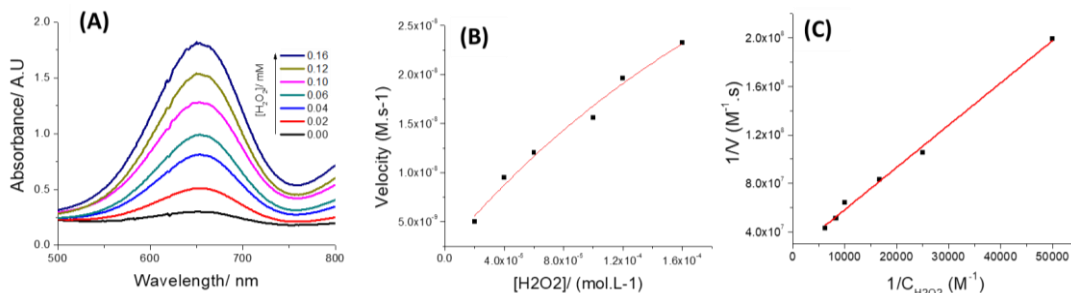
$$- \text{Menten: } v = \frac{V_{\max} \times [C]}{K_m + [C]} \quad (3)$$

và Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[C]} \quad (4)$$

với v là vận tốc của phản ứng (được xác định từ nồng độ TMB đã bị oxy hóa và thời gian phản ứng), $V_{\max}$ là vận tốc lớn nhất của phản ứng, $[C]$ là nồng độ cơ chất và K_m là hằng số Michaelis. Hằng số K_m càng có giá trị nhỏ dẫn đến ái lực của xúc tác với cơ chất càng cao [1-9]. Kết quả tính toán được với cơ chất H_2O_2 theo phương trình Michaelis – Menten (hình

2B) và theo phương trình Lineweaver-Burk (hình 2C) cho thấy $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ có hoạt tính nanozyme peroxidase đối với cơ chất H_2O_2 có $V_{\max} = 4,29 \times 10^{-8} \text{ (M s}^{-1}\text{)}$ và $K_m = 0,15 \text{ mM}$. So sánh với các xúc tác khác có hoạt tính giống peroxidase như GO-COOH ($K_m = 3,99 \text{ mM}$) [8], $\text{Fe}_3\text{H}_9(\text{PO}_4)_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($K_m = 0,41 \text{ mM}$) [8] hay FeWO_4 ($K_m = 0,59 \text{ mM}$) [10] có thể thấy K_m của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ đối với H_2O_2 bé hơn và bé hơn cả K_m của enzyme HRP ($K_m = 0,214 \text{ mM}$) [6-10] chứng tỏ xúc tác nanozyme $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ có hoạt tính mạnh. Song song với K_m bé thì $V_{\max}$ khi dùng $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ nanozyme cũng cao hơn so với GO-COOH ($V_{\max} = 3,85 \times 10^{-8} \text{ M.s}^{-1}$) [8], FeWO_4 ($V_{\max} = 2,18 \times 10^{-8} \text{ M.s}^{-1}$) [10] hay so với enzyme HRP ($V_{\max} = 2,46 \times 10^{-8} \text{ M.s}^{-1}$) [8]. Các kết quả này cho thấy hoạt tính xúc tác peroxidase rất tốt của nanozyme $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$.

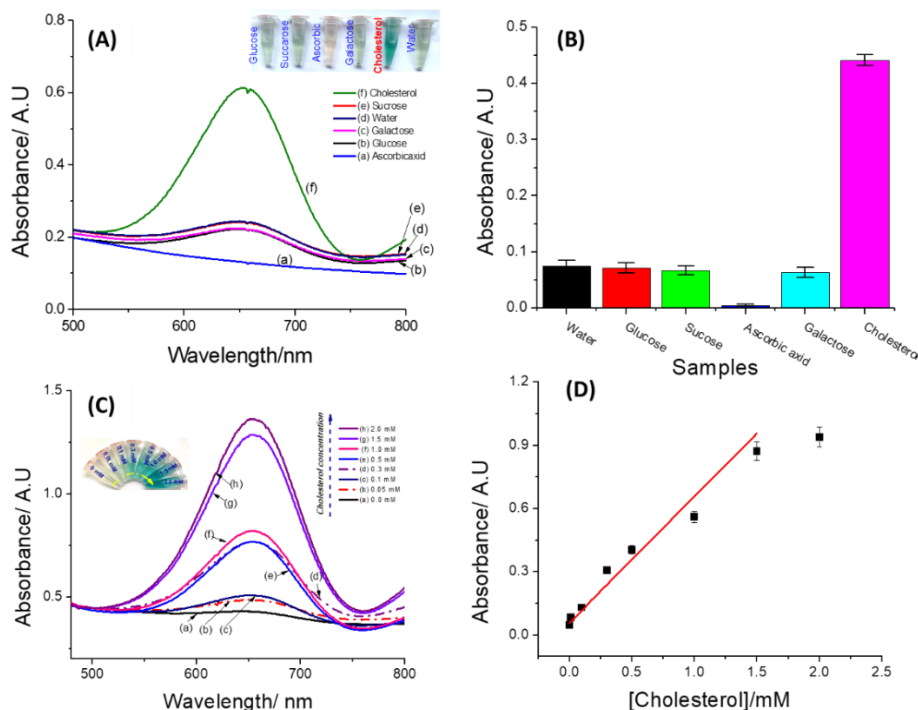


Hình 2. (A) Phổ UV-Vis của hệ với các nồng độ H_2O_2 khác nhau, (B) đường cong Michaelis – Menten và (C) đồ thị Lineweaver-Burk của nanozyme $Fe_3O_4@C$ với cơ chất H_2O_2 .

3.2. Độ chọn lọc của cảm biến sinh học cholesterol

Trong 6 thí nghiệm trên, môi trường phản ứng trong các hệ giống nhau, các cơ chất được chọn vì sự hiện diện của nó trong các mẫu thực thường đi với nhau như trong máu. Vì vậy khảo sát độ đặc hiệu để kiểm tra khả năng chọn lọc cơ chất của cảm biến cũng như đánh giá khả năng nhiễu chéo khi phân tích. Hình 3A trình bày phổ UV-Vis của cảm biến với các cơ

chất khác nhau, cho thấy sự khác biệt giữa cường độ peak hấp thụ tại 652 nm của mẫu "đích" (cholesterol) (đường f) cao vượt trội so với các mẫu "nhiều" (đường (a), (b), (c), (d), (e), tương ứng các cơ chất là acid ascorbic, glucose, galactose, nước cất và sucrose). Cụ thể hoá A_{652} (hình 3B) thì tín hiệu thu được từ các mẫu "nhiều" hay mẫu "trắng" đều nhỏ hơn rất nhiều (khoảng 5,5 lần) so với mẫu (f) thể hiện độ chọn lọc tốt của cảm biến sinh học.



Hình 3. (A) Phổ UV-Vis và (B) A_{652} của cảm biến với các mẫu phân tích: (a) acid ascorbic, (b) glucoso, (c) galactose, (d) nước, (e) saccharose và (f) cholesterol, (C) Phổ UV-Vis và (D) đường chuẩn của cảm biến với nồng độ cholesterol khác nhau.

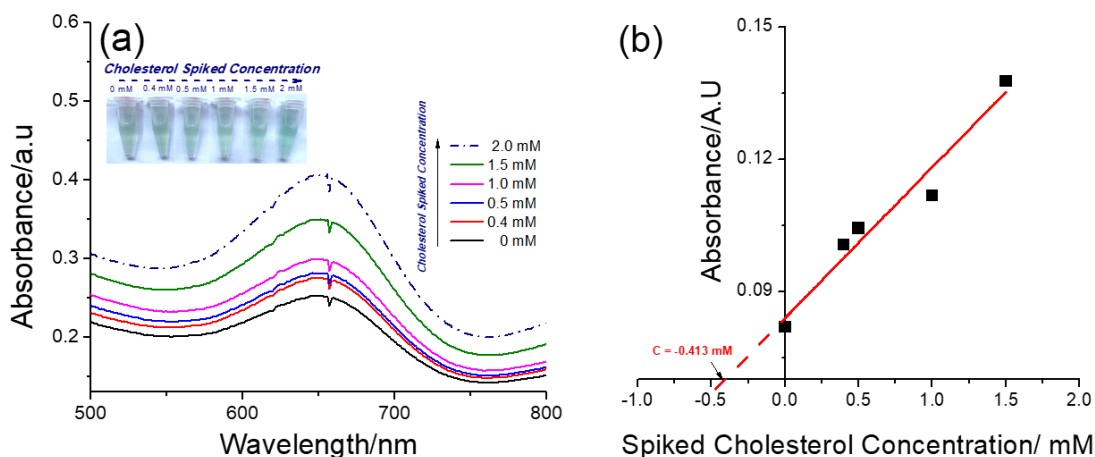
Với cơ chất là cholesterol khi nồng độ tăng, cường độ peak hấp thụ tại bước sóng 652nm của cảm biến tăng tuyến tính (hình 3C), tương ứng là màu dung dịch cũng đậm lên (hình chèn, hình 3C). Xây dựng đường thẳng quan hệ giữa nồng độ cholesterol (từ 0 mM đến 2 mM) và giá trị A_{652} thu được đường chuẩn của cảm biến sinh học cholesterol (hình 3D). Như vậy, cảm biến sinh học chế tạo được có khoảng phân tích tuyến tính từ 0,05 mM đến 1,5mM với phương trình đường chuẩn là:

$$A_{652} = 0,600 \cdot [\text{Cholesterol}] + 0,057; R^2 = 0,926 \quad (5)$$

Trong đó: [Cholesterol] là nồng độ cholesterol trong mẫu, tính theo mM. Giới hạn phát hiện (LOD) là 0,01 mM (tại $S/N > 3$) và giới hạn phân tích (LOQ) cỡ 0,05 mM. Có thể thấy độ nhạy, độ chọn lọc của cảm biến chế tạo được khá tốt với cholesterol, khoảng tuyến tính cũng khá rộng cho phép ứng dụng để phân tích nồng độ cholesterol trong các mẫu thực với độ pha loãng khác nhau để hạn chế ảnh hưởng của các enzyme và protein ức chế hoạt động của ChOx[1-2].

3.3. Thử nghiệm trong mẫu thực

Để khảo sát tính ứng dụng của cảm biến sinh học, chúng tôi sử dụng dung dịch huyết thanh người (human serum) pha loãng 10 lần làm mẫu cholesterol; bên cạnh đó nồng độ cholesterol cũng được thêm vào dung dịch serum để làm các mẫu thêm chuẩn (mẫu spike). Mục đích của việc pha loãng là để giảm thiểu nồng độ các tạp chất trong mẫu thực (do máu là một dung dịch gồm có nhiều chất khác nhau) không ảnh hưởng đến hoạt động của cảm biến; ngoài ra việc pha loãng còn giúp đảm bảo nồng độ cholesterol trong mẫu nằm trong khoảng tuyến tính của đường chuẩn (do máu người có thể chứa nồng độ cholesterol vượt quá khoảng tuyến tính cảm biến). Phổ UV-Vis của cảm biến ứng với các mẫu spike thể hiện trên hình 4A, màu của các dung dịch cũng lên màu (hình 4A, hình chèn,) cho thấy khi tăng nồng độ cholesterol thêm vào thì cường độ peak tăng, màu dung dịch cũng đậm dần. Đồ thị phương pháp thêm chuẩn được trình bày ở hình 4B ta xác định được nồng độ cholesterol trong máu là 0,413 mM sau khi pha loãng 10 lần. Vậy nồng độ cholesterol trong máu thực là 4,13 mM, nằm trong khoảng an toàn[1-2].



Hình 4. (A) Phổ UV-vis của cảm biến của mẫu serum và các mẫu spiked theo phương pháp thêm chuẩn định lượng cholesterol và (B) đường chuẩn từ phương pháp thêm chuẩn.

4. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã thực nghiệm chế tạo được vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ có cấu trúc lõi vỏ, lõi là hạt nano Fe_3O_4 (kích thước $30 \div 40\text{nm}$) và vỏ carbon (dày $1,2 \div 1,5\text{nm}$) với các đặc trưng đã được khảo sát bằng phổ XRD, VSM và ảnh TEM. Vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ cấu trúc lõi vỏ có hoạt tính xúc tác tương tự enzyme HRP đã được khảo sát theo mô hình Michaelis – Menten và Lineweaver-Burk cho hằng số Michaelis(K_m) đối với cơ chất H_2O_2 là $K_m = 0,15 \text{ mM}$ cho thấy nanozyme $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ có hoạt tính peroxidase rất tốt. Chúng tôi cũng đã sử dụng nanozyme $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ thay thế HRP trong chế tạo cảm biến sinh học so màu cholesterol với kết quả cho thấy cảm biến chế tạo được có độ chọn lọc cao, độ nhạy tốt, khoảng tuyến tính phù hợp, có khả năng hoạt động tốt trong môi trường phức tạp như huyết thanh. Như vậy, với vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ nanozyme có hoạt tính xúc tác tốt, có thời gian bảo quản lâu, có khả năng thu hồi sẽ hạn chế chất thải rắn y tế...nên nanozyme này có nhiều triển vọng ứng dụng để thay thế enzyme HRP trong chế tạo cảm biến sinh học nói riêng và các phản ứng sinh hoá nói chung.

Lời cảm ơn: This research is funded by Vietnam National Foundation for Science and Technology Development (NAFOSTED) under grant number 104.03-2021.91.

Cam kết: Tôi xin cam đoan đây là công trình của nhóm tác giả và chưa gửi đăng nội dung này ở bất kỳ tạp chí nào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hayat A, Haider W, Raza Y, Marty JL (2015), *Colorimetric cholesterol sensor based on peroxidase like activity of zinc oxide nanoparticles incorporated carbon nanotubes*, Talanta, **143**, 157-161.

- Hoang VT, Tuan VN, Lan TNN, Hong SH, Chinh DH (2020), *Silver nanoparticles as a bifunctional probe for label-free and reagentless colorimetric hydrogen peroxide chemosensor and cholesterol biosensor*, Journal of Science: Advanced Materials and Devices, **5(3)** 385-391.
- Millan A, Urtizberea A, Silva NJO, Palacio F, Amaral VS, Snoeck E, Serin V, (2007) *Surface effects in maghemite nanoparticles*. Journal of magnetism and magnetic materials, **312(1)**, L5-L9.
- Stoia M, Păcurariu C, Istrate R, Nižňanský D, (2015) *Solvothermal synthesis of magnetic $\text{Fe}_x\text{O}_y/\text{C}$ nanocomposites used as adsorbents for the removal of methylene blue from wastewater*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, **121(3)**, 989-1001.
- Z. Wenlin, et al., *Citrus pectin derived ultrasmall $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ nanoparticles as a high-performance adsorbent toward removal of methylene blue*. Journal of Molecular Liquids, 2016. **222**, 995-1002.
- Bao X, Qiang Z, Chang JH, Ben W, Qu J, (2014) *Synthesis of carbon-coated magnetic nanocomposite ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$) and its application for sulfonamide antibiotics removal from water*. Journal of Environmental Sciences, **26(5)**, 962-969.
- Wang L, Zhu W, Lu W, Qin X, Xu X, (2018) *Surface plasmon aided high sensitive non-enzymatic glucose sensor using Au/NiAu multilayered nanowire arrays*. Biosensors and Bioelectronics, **111**, 41-46.
- Song Y, Qu K, Zhao C, Ren J, Qu X, (2010) *Graphene Oxide: Intrinsic Peroxidase Catalytic Activity and Its Application to Glucose Detection*. Advanced Materials, **22(19)**, 2206-2210.
- Jin L, Meng Z, Zhang Z, Cai S, Zhang Z, Li C, Shang L, Shen Y (2017), *Ultrasmall Pt Nanoclusters as Robust Peroxidase Mimics for Colorimetric Detection of Glucose in Human Serum*. ACS Applied Materials & Interfaces, **9(11)**, 10027-10033.

9. Tongbao Z., Yangcheng L., Guangsheng L., (2014) *Synthesis of Hierarchical Iron Hydrogen Phosphate Crystal as a Robust Peroxidase Mimic for Stable H_2O_2 Detection*. ACS Applied Materials & Interfaces, **6(16)**, 14433-14438.
10. Tian T., Lunhong A., Xiaomin L., Lili L., Jie L., Jing J., (2015) *Synthesis of Hierarchical $FeWO_4$ Architectures with {100}-Faceted Nanosheet Assemblies as a Robust Biomimetic Catalyst*. Industrial & Engineering Chemistry Research, **54(4)**, 1171-1178.