

深度学习辅助铜单原子纳米酶传感器的制备及在汗液检测中的应用

沙姝媛¹ 单桂晔^{1*}

¹ (东北师范大学物理学院, 长春 130024)

摘要: 以 Cu-ZIF-8 为前驱体, 通过高温热解策略成功制备了铜单原子纳米酶 Cu SAzymes。采用 AC-HAADF-STEM 表征证实了铜元素以原子级尺寸分散于材料中。酶促动力学研究表明, 催化 H₂O₂ 的米氏常数 K_m 为 0.31 mM, 催化 TMB 的 K_m 为 0.49 mM, 体现了 Cu SAzymes 高效的 POD 酶活性。在此基础上, 将 Cu SAzymes 与 GOx 耦合, 构建了用于汗液葡萄糖检测的级联催化比色方法。该方法的检测限低至 0.06 mM, 具有灵敏度高和选择性良好的优势。为实现智能化检测, 引入 LSTM 神经网络深度学习, 通过对反应体系颜色图像与葡萄糖浓度之间关系的训练, 实现了汗液中葡萄糖的高灵敏度检测。

关键词 Cu SAzymes 比色检测 葡萄糖 深度学习

A deep learning-based Cu SAzymes sensor : Preparation and their application in sweat monitoring

Sha shuyuan¹ Shan guiye^{1*}

(¹School of physics, Northeast Normal University, Changchun 130024 China)

Abstract Using Cu-ZIF-8 as a precursor, copper single-atom nanozymes (Cu SAzymes) were successfully prepared through a high-temperature pyrolysis strategy. AC-HAADF-STEM characterization confirmed that copper elements were dispersed at the atomic level within the material. Enzyme-catalyzed kinetic studies showed that the Michaelis constant K_m for catalyzing H₂O₂ was 0.31 mM, and the K_m for catalyzing TMB was 0.49 mM, demonstrating the high POD enzyme activity of Cu SAzymes. On this basis, Cu SAzymes were coupled with GOx to construct a cascade catalytic colorimetric method for sweat glucose detection. The detection limit of this method was as low as 0.06 mM, offering advantages of high sensitivity and good selectivity. To achieve intelligent detection, an LSTM neural network deep learning approach was introduced, where the relationship between the color images of the reaction system and glucose concentration was trained to achieve high-sensitivity detection of glucose in sweat.

Keywords Cu SAzymes Colorimetry Glucose Deep learning

在传统健康检测中, 血液一直被认为是黄金标准体液。然而, 血液检测通常伴随着有创采样过程, 会给受试者带来难以接受的疼痛感, 这极大地限制了其在长期运动检测中的应用。随着检测技术的不断迭代发展, 汗液作为一种易获取、无创的体液, 能够实时反映人体的生理代谢状态^[1], 已在健康检测领域受到广泛关注, 成为替代血液检测的理想选择之一。其中, 基于比色检测技术的汗液分析设备^[2], 因其结构简单、信号直观且易于读取的特点, 无需复杂操作即可快速反馈检测结

* 通讯作者: 单桂晔, shangy229@nenu.edu.cn

果。纳米酶作为兼具酶促催化特性与优异稳定性的纳米材料，其在灵敏度、经济性、稳定性及耐久性等方面展现出显著优势，因此被广泛开发作为比色传感器的识别元件^{[3][4]}。在各类纳米酶中，单原子纳米酶（SAzymes）是一类具有类酶催化活性的新型纳米材料，其金属活性位点以孤立的单原子形式均匀分散在载体表面。这种原子级别的分散结构使其相比传统纳米酶具有更优越的催化效率，能够高效催化比色反应的发生。同时 SAzymes 就有优异的稳定性，能在复杂环境（如温度变化、汗液组分干扰）下保持催化性能稳定，不易失活。因此 SAzymes 在生物传感器领域，尤其是比色生物传感器的构建中展现出巨大应用潜力，可实现对目标物质的高灵敏度、高选择性检测，为汗液中微量 Glucose 的精准检测提供了可靠的技术支撑。随着软件的持续开发和使用，传统的数据分析方法开始被机器学习技术所取代^[5]。机器学习方法的改进，使数据量不断增加，主要通过高通量计算和独特的数据分析方法可以实现更高的准确性。将机器学习与比色传感器^[8]结合，可以发现比色信号与检测物浓度的复杂关联，降低体液复杂的环境干扰。

本文以 Cu-ZIF-8 为前驱体，通过高温热解策略制备铜单原子纳米酶 Cu SAzymes，该材料具有优异的过氧化物酶活性，能高效催化过氧化氢（H₂O₂）分解。该反应产生的活性氧自由基（如·OH）可将无色的显色底物 3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺（TMB）氧化为蓝色的氧化产物（oxTMB）。将所制备的 Cu SAzymes 与 GOx 联用，构建级联反应体系，建立了葡萄糖（Glucose）的比色检测方法。为实现便携化、智能化检测，引入 LSTM 深度学习模型，通过对颜色信号与葡萄糖浓度之间关系的训练，建立了高精度的 Cu SAzymes 比色生物传感器，实现了对汗液中葡萄糖的灵敏检测。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

二甲基咪唑（2-Melm），分析纯，罗恩试剂（上海）有限公司；三水合硝酸（Cu(NO₃)₂·3H₂O）和六水合硝酸（Zn(NO₃)₂·6H₂O），分析纯，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺（TMB）、5, 5'-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物（DMPO）和葡萄糖氧化酶（GOx），分析纯，罗恩试剂（上海）有限公司；无水甲醇（MeOH），分析纯，上海国药集团化学试剂有限公司；过氧化氢（H₂O₂），质量分数30%，上海国药集团化学试剂有限公司；葡萄糖（Glucose），分析纯，广西西陇化工有限公司。

JEOL-JEM 2100型场发射投射电子显微镜（TEM），日本理学公司；UV-2600i型紫外-可见分光光度计，日本岛津仪器有限公司；Escalab 250 Xi型X射线光电子能谱仪（XPS），美国赛默飞仪器公司；Bruker A300型电子顺磁共振波谱仪（EPR）、D8 Discover型X射线衍射仪（XRD）和Tensor II 型傅里叶变换红外光谱仪（FTIR），德国Bruker公司。

1.2 实验过程

(1) Cu SAzymes的制备

Cu SAzymes是根据已报道文献中的合成方法，经过修改后制备而成的。具体步骤如下：首先，将0.595 g的六水合硝酸锌（Zn(NO₃)₂·6H₂O），24 mg的三水合硝酸铜（Cu(NO₃)₂·3H₂O）溶解于60 mL甲醇，超声使其完全溶解形成溶液A。随后将0.616 g的2-甲基咪唑（2-Melm）溶于60 mL甲醇中，搅拌均匀形成溶液B。将A溶液缓慢倒入B溶液，保持反应体系在室温下继续搅拌 4 小时，以确保混合

均匀。停止搅拌，将所得混合液于室温下静置过夜。离心，甲醇洗涤三次后收集沉淀物。随后在70 °C烘箱中干燥获得Cu-ZIF-8前驱体粉末，将Cu-ZIF-8粉末放在石英坩埚中，将坩埚平稳推入高温管式炉中央恒温区。在900 °C下进行热解，升温速率为5 °C/min，全程通入氮气作为保护气氛。最终得到Cu SAzymes。此外，通过改良方法合成了作为对照组的N-C粉末，其前驱体溶液A为只含有 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 的甲醇溶液。其余步骤与Cu SAzymes的制备方法完全一致。

(2) Cu SAzymes 的 POD 酶活性

实验中采用 3, 3, 5, 5-四甲基联苯胺 (TMB) 作为 POD 酶显色底物。具体的操作流程为：在室温下，将 Cu SAzymes 溶液 (1 mg/mL, 40 μL)、TMB 溶液 (5 mM, 300 μL)、 H_2O_2 溶液 (1 mM, 50 μL) 与醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH=4, 1700 μL) 充分混合，反应 12 分钟。最后，利用 UV-2600 紫外可见光谱仪记录溶液在 652nm 处的吸光度变化。通过电子自旋共振 (EPR) 进一步验证 Cu SAzymes 的 POD 酶活性。实验中选择 5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物 (DMPO) 作为 $\cdot\text{OH}$ 捕获剂。

实验通过控制变量法，对 Cu SAzymes 进行催化动力学分析，首先，将 200 μL 浓度为 5 mM 的 TMB 加入到含有 HAc-NaAc 缓冲液和 TMB 溶液中，加入不同浓度的 H_2O_2 ，记录溶液在 652 nm 的吸光度。其次，保持体系中的 H_2O_2 (50 μL , 1 mM) 浓度不变，改变 TMB 浓度，同样记录 652 nm 的吸光度。将所测得的吸光度值换算为反应速率 S，并代入 Lineweaver-Burk 双倒数方程进行线性拟合，计算稳态动力学参数 K_m 和 V_{\max} 。其中 K_m 代表对底物的亲和力， V_{\max} 代表反应速率。

(3) 机器学习辅助 Cu SAzymes 比色传感器检测 Glucose

配置了不同浓度 (0.02、0.04、0.06、0.08、0.1、0.12、0.14、0.16、0.2、0.22、0.24、0.26、0.28、0.3 mM) 的葡萄糖 (Glucose) 溶液。将 1 mg 的 Cu SAzymes 超声分散在 10 mL 醋酸-醋酸钠缓冲溶液 (0.1 M, pH=4.0) 中，并加入 5 mg 葡萄糖纳米酶 (GOx)。将溶液混合均匀并在 37°C 的水浴锅中孵育 1 小时，随后，取 200 μL 上述混合溶液加到含有 H_2O_2 (1 mM)、TMB (0.5 mM) 和不同浓度的葡萄糖体系中，反应 12 min。实验中为确保比色反应的一致性与实验数据的可靠性，所有实验均在同一光照条件下进行，避免光照波动对 TMB 显色效果产生干扰。利用相机捕捉各样本的显色图像，将照片上传至 LSTM 深度学习预测模型进行对比分析。

为了评估 LSTM 深度学习辅助 Cu SAzymes 检测葡萄糖方法的可行性，使用标准加入法测量了人工汗液中的葡萄糖含量。首先根据已报道的文献，配置含有不同浓度葡萄糖的人工汗液标准液。具体操作如下：将 0.51 g 氯化钠，0.51 g 的氯化铵，0.158 g 的尿素，0.102 g 的乳酸溶解于 100 mL 去离子水溶液。滴入 0.1 M 的醋酸-醋酸钠溶液，调节至整个体系的 pH 值为 5.5。最后加入不同含量的 Glucose 溶液。取 200 mL 上述溶液加入到含有 Cu SAzymes、GOx、 H_2O_2 和 TMB 的检测体系中，孵育 15 min。使用相机拍摄体系照片，上传至编写的 MATLAB 软件，分析图像的颜色参数，实现对葡萄糖浓度的检测。

2 结果与讨论

2.1 Cu SAzymes的基础表征

本实验采用高温热解金属有机框架 (MOF) 前驱体的策略，制备了铜单原子纳米酶 (Cu SAzymes)。实验中选择 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 作为金属来源，ZIF-8作为

MOF衍生碳源，在900 °C的氮气气氛中进行高温煅烧。首先利用投射电子显微镜（TEM）表征Cu SAzymes的形貌与结构。如图1（b），高温煅烧后Cu SAzymes变为六面体结构，平均尺寸约120 nm。对应的能量色散X射线光谱（EDS）元素分布图（图1（c））进一步揭示，Cu、N、C、O四种元素在整个六面体骨架上均匀分布。为了验证Cu以原子级尺寸分散在整个材料中，进一步利用高角环形暗场扫描透射电子显微镜（AC-HAADF-STEM）对单个Cu SAzymes颗粒进行表征。由于质量大的原子对电子的散射能力更强，原子亮度更高。图1（d）中观察到的大量孤立亮点（已用圆圈标出）即为Cu单原子。球差电镜图为Cu的单原子分散提供了最直接的形貌证据。图1（e）为Cu SAzymes和制备过程中各阶段材料的XRD表征结果。由于Cu²⁺的半径（0.73Å）与Zn²⁺的半径（0.74Å）几乎相等，Cu²⁺嵌入ZIF-8骨架结构中未产生晶格畸变，因此Cu-ZIF-8的前驱体XRD图谱与ZIF-8完全重合。Cu SAzymes的XRD图中显示2θ≈23.92°处存在一宽峰，对应无定形碳的（002）晶面。值得注意的是，在Cu SAzymes的XRD光谱中未观察到归属于金属Cu或其化合物的特征衍射峰，这表明其中的Cu元素以高度分散的单原子形式存在。图1.f为Cu SAzymes的红外谱图，高温煅烧后的Cu SAzymes在700–1700cm⁻¹区间内所有咪唑特征峰完全消失，说明在热解过程中咪唑环结构被破坏。在1590 cm⁻¹附近出现了一个更宽、更强的红外吸收带。该吸收带主要来源于碳骨架中C=C振动与残留C=N振动峰的叠加。进一步利用拉曼光谱对Cu SAzymes和高温煅烧ZIF-8得到的氮掺杂碳载体（N-C）进行了表征。结构如图1（g）所示，Cu SAzymes与不含金属的N-C样品均在1349 cm⁻¹（D带）和1596 m⁻¹（G带）附近出现两个显著的特征峰。其中Cu SAzymes的I_D/I_G值高于N-C，可能是因为Cu以单原子形式高度分散在氮掺杂碳载体中，引入了更多结构性缺陷。这些缺陷不仅有助于稳定单原子位点，也可能为催化反应提供更多活性位点。

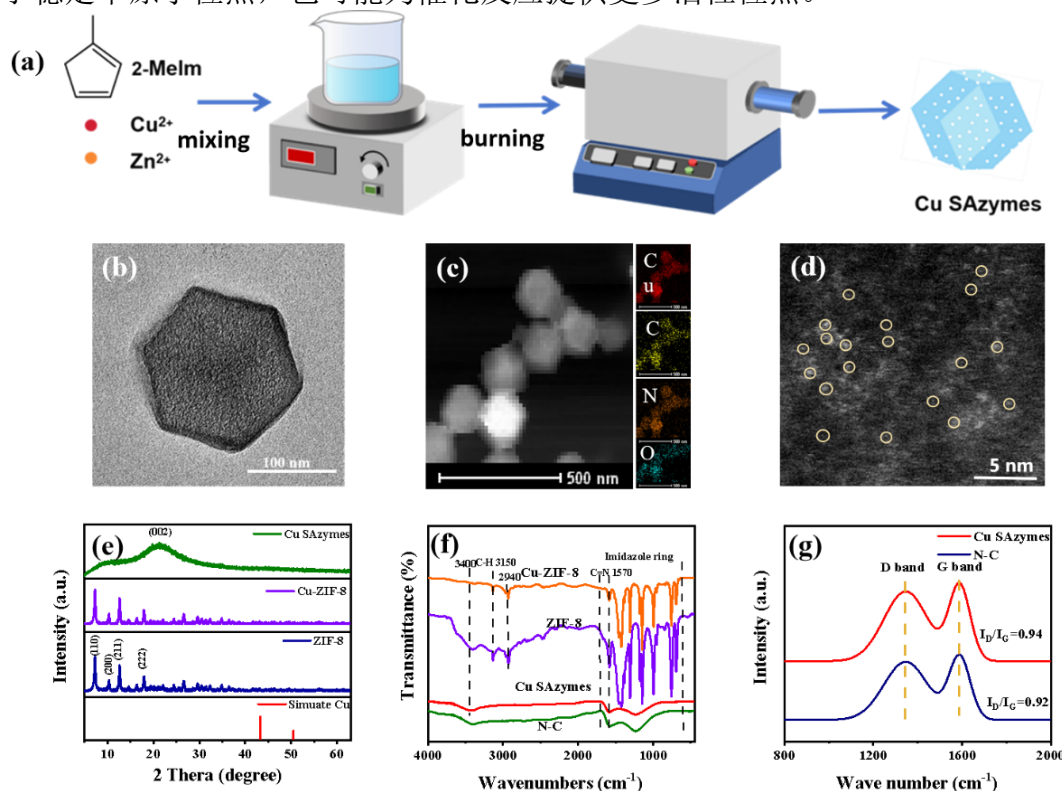


Fig.1 Schematic diagram of synthesis for Cu SAzymes (A) TEM image of Cu SAzymes (B) EDS images (C) AC-HAADF-STEM images (D) XRD patterns of Cu SAzymes, Cu-ZIF-8, ZIF-8 and Simulate Cu (E) FTIR spectras (F) Raman spectras

图 2 (a) 所示为 Cu SAzymes 的 XPS 扫描全谱图, 全谱扫描确认材料中主要含有 C、N、O 及 Cu 四种元素, 证明 Cu SAzymes 纳米酶的成功合成。在 Cu 2p 高分辨 XPS 谱图 (图 2 (c)) 中, 可以观察到两对清晰的双峰结构。结合能约为 932.0 eV 和 952.0 eV 的主峰分别对应 Cu 2p_{3/2} 和 Cu 2p_{1/2}。Cu SAzymes 的 Cu 2p_{3/2} 峰被分解为位于 932.4 eV 的 Cu⁺和 934.4 的 Cu²⁺价态。而 Cu 2p_{1/2} 两个峰被分解为 952.4 eV 处的 Cu⁺和 954.4 eV 的 Cu²⁺价态。证实了 Cu 以混合价态存在 Cu SAzymes 中。图 2 (b) 为 N 1s 的精细分峰拟合图, 位于 398.6 eV 的峰归属于吡啶氮, 位于 400.6 eV 的峰为吡咯氮, 位于 403.4 eV 的较高结合能峰则对应于石墨氮。其中, 吡啶氮的相对含量与分布对稳定原子级分散的铜中心具有决定性作用。此外, C1s 高分辨谱图 (图 2 (d)) 进一步揭示了碳骨架的化学状态。位于 284.5 eV 的主峰对应于石墨型 C-C/C=C 键, 构成材料的主体网络。285.5 eV 处的峰可归因于 C-O、C-N。而 287.5 eV 处的峰则来源于 C=O 键。综上所述, 通过 XPS 分析 Cu 的混合价态、N 的多样存在形式以及碳载体的化学环境。这些结果共同证明, 在高温热解过程中, 成功制备了 Cu SAzymes。

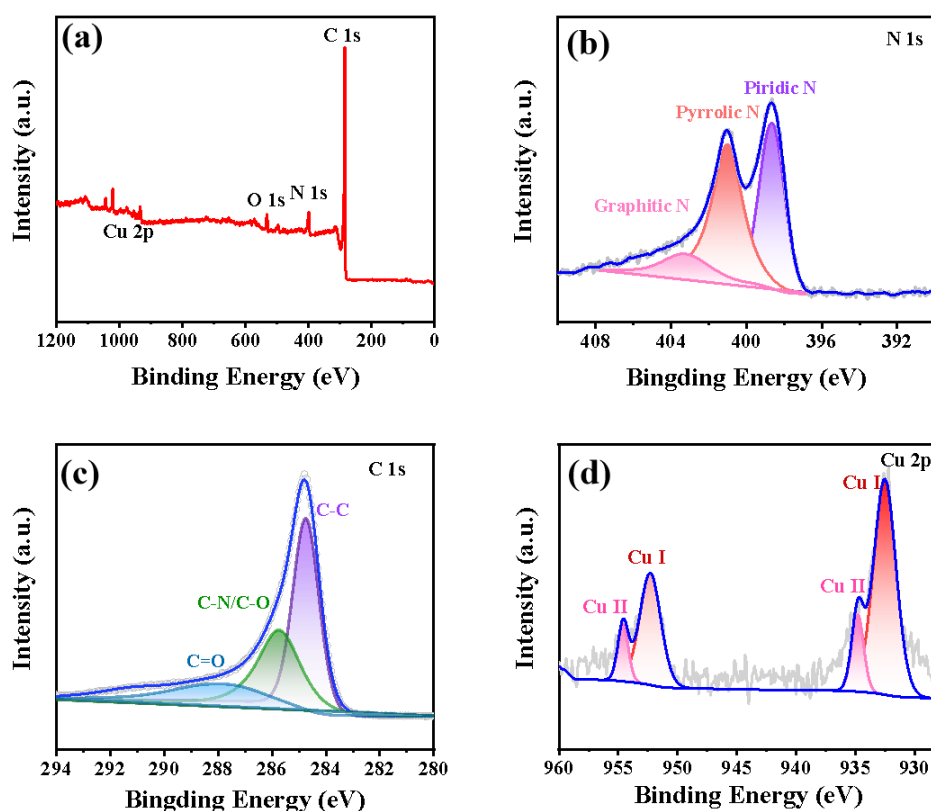


Fig.2 XPS survey spectrum(a) and high-resolution XPS spectra of N1s (b), C1s (c) and Cu2p (d) of Cu SAzymes

2.2 Cu SAzymes 的POD酶活性

为了证明Cu SAzymes具有过氧化物酶活性。实验中选择3, 3, 5, 5-四甲基联苯胺 (TMB) 为显色底物。如图3 (b) 所示, 仅含TMB与H₂O₂的混合体系和TMB的单独体系, 在652 nm处均未出现的特征吸收峰, 溶液也为无色。说明在没有Cu SAzymes存在的情况下, TMB与H₂O₂之间难以发生有效反应。而在Cu SAzymes、TMB和H₂O₂三者共存的体系下, 观察到紫外-可见光谱652 nm处呈现出显著的特征吸收峰, 并且溶液颜色由无色变为蓝色。明确证实了Cu SAzymes

具有优异的类过氧化物酶（POD）活性。此外，选择高温煅烧ZIF-8得到的N-C作为对比样品，在相同的实验条件下，进行TMB显色实验。结果显示，N-C+TMB+H₂O₂实验组溶液也变为蓝色，652 nm处同样出现了吸收峰。但N-C组的吸光度强度低于Cu SAzymes组，说明N-C也具有POD酶活性，N-C的POD酶活性明显低于Cu SAzymes。

此外，为明确Cu SAzymes纳米酶在催化H₂O₂分解过程中的主要活性中间体。向Cu SAzymes+TMB+H₂O₂反应体系中引入了异丙醇（IPA），作为·OH的选择性淬灭剂。实验结果图3（c）所示。与未加入淬灭剂的对照组相比，当体系中加入不同浓度的IPA后，652 nm处对应的oxTMB特征吸收峰强度出现明显下降。当加入浓度为1 mM的IPA时，652nm处的特征吸收峰基本上完全消失。说明IPA的引入有效淬灭了体系中的生成的·OH，进而抑制了TMB的氧化进程。随后，利用电子顺磁共振（EPR）对催化机制进行探究。实验中采用5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物（DMPO）作为自旋捕获剂，对催化过程中可能生成的羟基自由基（·OH）进行原位捕获。如图3（d）所示，在Cu SAzymes+H₂O₂中加入DMPO后，EPR谱图中出现了一组清晰且规则的四重特征信号峰，其峰强度比为1:2:2:1。该谱图特征与·OH-DMPO加合物的标准谱完全吻合。加入IPA后，·OH的epr特征信号峰出现了下降。这一现象明确的证明了在Cu SAzymes催化H₂O₂分解的过程中有·OH自由基生成。

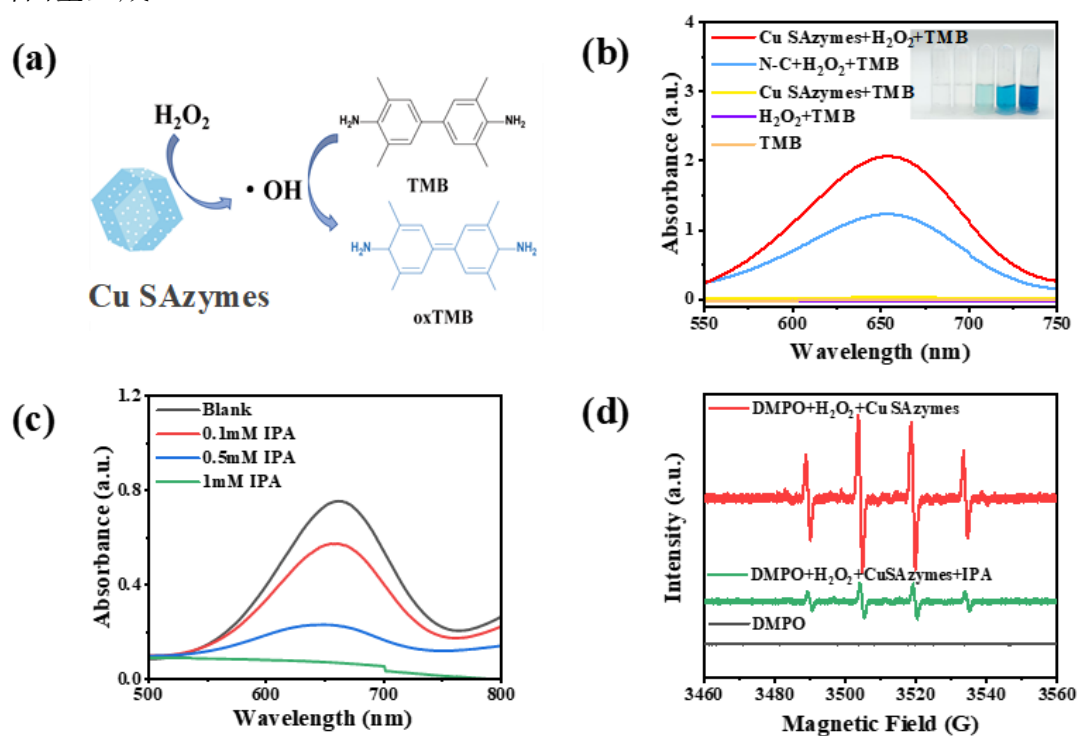


Fig.3 (a) Schematic diagram of the peroxidase colorimetric reaction of Cu SAzymes; (b) UV-Vis absorption spectra of different systems; (c) Effect of IPA on the POD activity of Cu SAzymes; (d) ESR spectra of DMPO, DMPO+H₂O₂, and Cu SAzymes+DMPO+H₂O₂ systems;

在室温，pH=4的条件下，以TMB与H₂O₂分别作为底物，进行酶促动力学实验。具体方法为固定其中一种底物的浓度、梯度改变另一种底物浓度，利用紫外-可见吸收光谱实时检测体系吸光度变化。依据Lambert-Beer定律将652 nm处吸光度转换为oxTMB浓度，进而求出单位时间内的oxTMB生成速率（V）。将底物浓度（S）与对应的反应速率（V）进行拟合，得到典型的Michaelis-Menten曲线。

进一步，对两者取倒数（ $1/V$ ， $1/S$ ）做线性拟合，即可得到Lineweaver-Burk曲线。依据Lineweaver-Burk双倒数曲线的纵轴截距与斜率，可计算获得催化动力学的米氏常数（ K_m ）与最大反应速率（ V_{max} ）。其中， V_{max} 代表底物饱和状态下纳米酶的最大催化速率，该数值越高，表明纳米酶对底物催化氧化活性越强。与之相反， K_m 值越低，则代表纳米酶对相应底物的亲和力越强。

从图4中可知底物为TMB时，Cu SAzymes的 V_{max} 为 10.5×10^{-8} M/s， H_2O_2 为底物时，Cu SAzymes的 V_{max} 为 12.2×10^{-8} M/s，优于天然辣根过氧化物酶（HRP）的最大反应速率。充分体现了Cu SAzymes高效的催化能力。底物为TMB时， K_m 为0.31 mM；底物为 H_2O_2 时， K_m 为0.49 mM。酶促动力学数据进一步证实了，Cu SAzymes具备卓越的类过氧化物酶活性。此外，Cu SAzymes对 H_2O_2 具有高亲和力，为后续汗液中葡萄糖检测的提供了基础。

表 1 Cu SAzymes 与天然 HRP 和其他纳米材料催化性能的比较

纳米酶	底物	K_m (mM)	V_{max} (10^{-8} M/s)	参考文献
HRP	TMB	0.43	10	[9]
	H_2O_2	3.70	8.7	
Cu SAzymes	TMB	0.31	10.5	This Work
	H_2O_2	0.49	12.2	
Cu-MOF	TMB	1.59	3.1	This Work
	H_2O_2	7.26	6.1	
N-C	TMB	0.48	8.9	This Work
	H_2O_2	5.68	6.8	

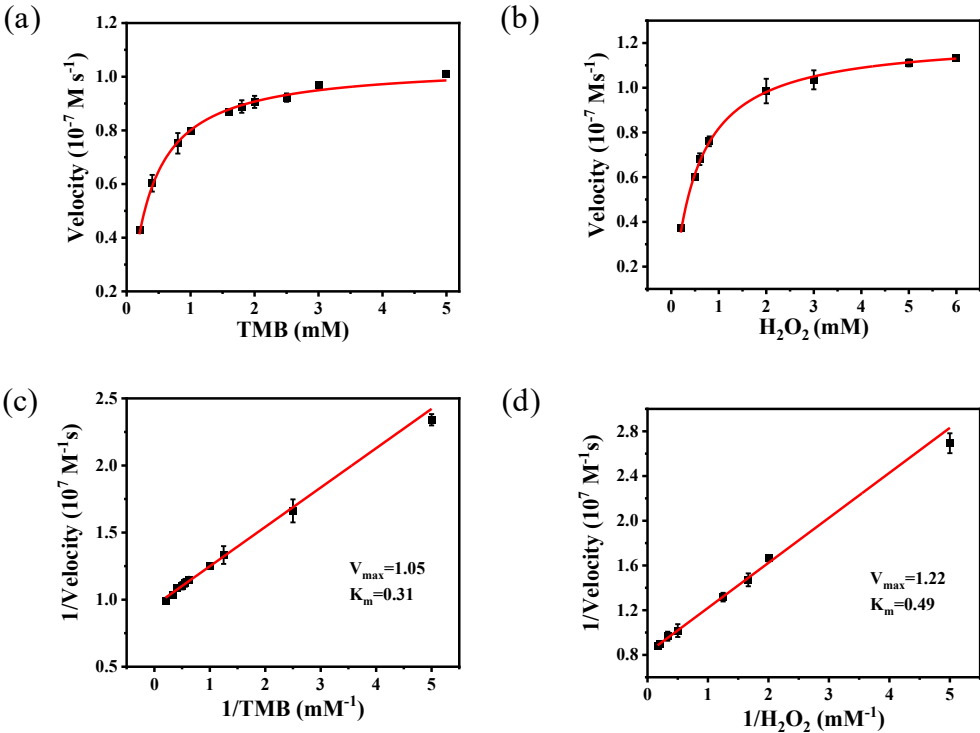


Fig. 4 Initial reaction rates of the Cu SAzymes-catalyzed colorimetric system at varying TMB(a) or H_2O_2 (b) concentrations and corresponding Lineweaver-Burk plot for TMB(c) or H_2O_2 (d) as the substrate

2.3 深度学习辅助Cu SAzymes传感器

葡萄糖是人体最主要的能量来源，其代谢稳态在运动过程中面临显著挑战。实时检测运动过程中的葡萄糖浓度变化，对于运动生理研究^{[10][11]}、健康管理及

疾病防控具有重要意义。

基于Cu SAzymes的良好类过氧化物酶活性。本实验构建了一个基于葡萄糖氧化酶（GOx）与Cu SAzymes的级联催化反应体系（图5（a））。在该体系中，GOx将葡萄糖氧化，生成葡萄糖酸和过氧化氢（ H_2O_2 ）。随后，具有类过氧化物酶活性的Cu SAzymes纳米酶进一步催化分解 H_2O_2 ，产生 $\cdot\text{OH}$ 。TMB与 $\cdot\text{OH}$ 结合生成oxTMB，此时溶液颜色由无色转变为蓝色。通过测量含有GOx、Cu SAzymes、TMB、 H_2O_2 及不同浓度葡萄糖的混合溶液在652 nm下的吸光度变化，建立起葡萄糖浓度、溶液颜色与652 nm处吸光度变化之间的定量关系。如图5（c）所示，随着Glucose的浓度的增加，溶液的蓝色逐渐加深。对浓度与吸光度曲线进行线性拟合（图5（d））发现，在0-0.3 mM的浓度范围内，体系的吸光度与Glucose浓度间具有良好的线性关系（ $R^2=0.99$ ）。基于信噪比（S/N）计算的检测极限（LOD）为0.06 μM ，相比于已经报道过的其他检测方法^[12]，本实验具有更低的检测限，灵敏度更高，可以利用体系颜色变化进行比色检测汗液中的微量葡萄糖。

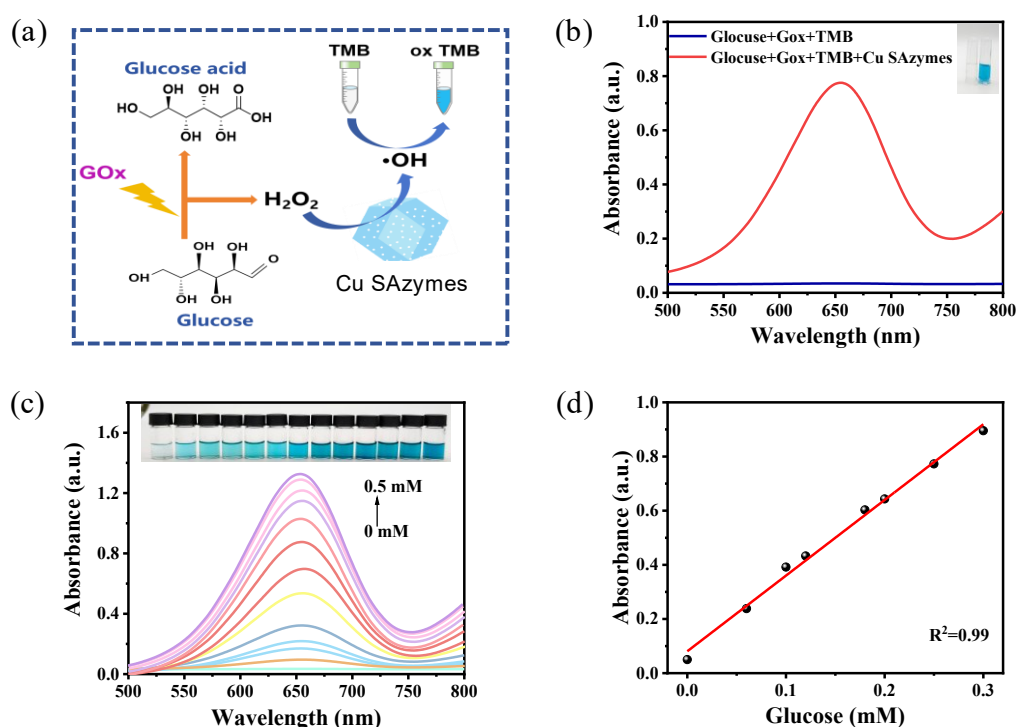


Figure 5 (a) Schematic diagram of the mechanism for glucose detection using the cascade system of Cu SAzymes and GOx; (b) UV-visible absorption spectra before and after adding Cu SAzymes in the TMB, Glucose, and GOx system; (c) UV-visible absorption spectra with different concentrations of glucose added in the TMB, Cu SAzymes, and GOx system; (d) Linear fitting graph of absorbance versus glucose concentration

近年来，人工智能的持续进步，尤其是机器学习（ML）和深度学习（DL）技术的成熟，在图像识别、医疗诊断方面表现出卓越的能力。深度学习模型可通过构建多层相互连接的网络结构，模拟人脑的学习机制，从庞大的数据集中学习并提取复杂的模式和特征。将深度学习与纳米酶传感信号相结合为葡萄糖的精准检测提供了高效的途径。

实验中将含不同浓度Glucose的人工汗液加入到纳米酶显色溶液中，对反应后的溶液进行拍照和取样，将样本输入到训练好的LSTM模型进行预测。图6（b）展示了LSTM对Glucose的预测值与实际值的对比。结果显示预测值与实际值之间的 R^2 为0.96，RMSE为0.0218。表明LSTM神经网络能够基于传感平台的颜色变化

快速准确地识别人工汗液中的Glucose。考虑到实际检测中样品浓度的随机性，全面评估Cu SAzymes传感器的可行性。在0~0.03 mM的Glucose浓度范围内随机选择浓度加入到人工汗液中，制作了80张图片样本。将80张图片样本输入到LSTM模型。实验结果如图6 (c)，传感平台总体预测正确率可以达到90%。我们通过将高催化活性Cu SAzymes与LSTM深度机器学习结合，构建了用于汗液中葡萄糖检测的比色传感器。该传感器避免了单一比色法的弊端，有效提升了检测的便捷性与可及性，实现对目标分析物葡萄糖的精准识别与定量。

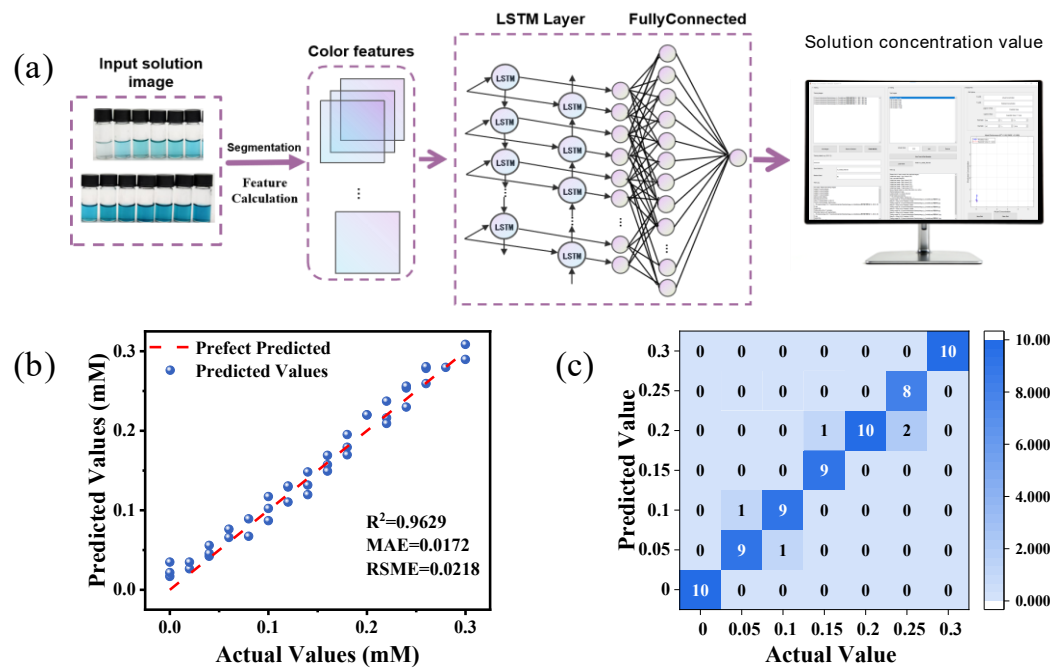


Fig 6. (a) Schematic diagram of concentration prediction using the LSTM model; (b) Comparison of LSTM model predicted values and actual values; (c) Heatmap analysis of predicted values and actual values of artificial sweat.

选择性和抗干扰性是评估Cu SAzymes传感器可行性的重要参数。本文选择了果糖，麦芽糖等5种糖类类似物作为对比物进行吸光度测试。如图7(a)所示，只含有Glucose体系的吸光度表现出明显的反应，而其他糖类类似物的吸光度没有发生变化。实验中还利用同样的方法对汗液中常见的几种氨基酸和离子进行抗干扰测试。测试结果表明（图7 (b)），干扰物的存在对吸光度信号的影响可忽略不计，充分证实了Cu SAzymes在Glucose检测中具备优异的选择性与突出的抗干扰性能。

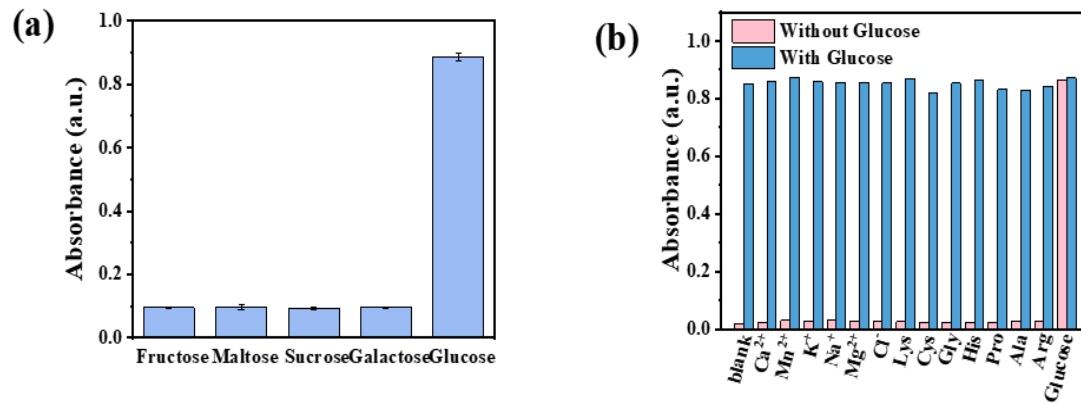


Figure 7 Stability study of Cu SAzymes: (a) Selectivity for sugar analogs; (b) Selectivity and anti-interference ability for common substances in sweat

3 结论

通过高温煅烧Cu-ZIF-8前驱体制备了具有高过氧化物酶活性的Cu SAzymes并对其形貌、催化机制进行了探究。当催化底物为H₂O₂时，Cu SAzymes催化动力学常数K_m为0.31 mM，TMB的K_m为0.49 mM。与天然辣根过氧化物酶（HRP）的K_m相近，充分体现了Cu SAzymes高效的催化能力。为构建高灵敏生物传感器提供了材料。随后将Cu SAzymes与葡萄糖氧化酶（GOx）结合，构建了用于葡萄糖检测的级联催化比色方法。该方法的检测限低至0.06 mM，灵敏度更高。为实现智能化检测，引入LSTM神经网络深度学习模型，通过对反应体系图像与葡萄糖浓度之间关系进行分析训练，实现人工汗液中葡萄糖的灵敏检测。这种LSTM辅助的Cu SAzymes传感器为无创的血糖检测提供了有潜力的技术手段，也为单原子纳米酶在生物传感领域的应用拓展了新的思路

参考文献

- [1] Zhang Z, Li Z, Wei K, et al. Sweat as a source of non-invasive biomarkers for clinical diagnosis: An overview[J]. *Talanta*, 2024, 273: 125865
- [2] Lin X, Vasanth A, Ashok A, et al. Nanoarchitectonics of point-of-care diagnostics for sweat biomarkers analysis[J]. *Nano Materials Science*, 2024, 6(6): 647-671.
- [3] Srivastava M, Srivastava S K, Ojha R P, et al. Smartphone-assisted colorimetric sensor based on nanozyme for on-site glucose monitoring[J]. *Microchemical Journal*, 2022, 182: 107850.
- [4] Yimamumaimaiti T, Halmurat M, Aimaitiniyazi M, et al. A colorimetric glucose sensor based on natural enzyme coupled with highly efficient nanozyme prepared by in situ reduction[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2025, 1369: 344358.
- [5] Janiesch C, Zschech P, Heinrich K. Machine learning and deep learning[J]. *Electronic Markets*, 2021, 31(3): 685-695.
- [6] Li Y, Chen F, Liu Y, et al. Identification of multiple foodborne pathogens using single-atom nanozyme colorimetric sensor arrays and machine learning[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2025, 511: 162115.
- [7] Wang J, Huang Z, Yu X, et al. Smartphone-based bimetallic single-atom nanozyme sensor array integrated with deep learning for rapid biothiol detection[J]. *ACS Applied Nano Materials*, 2025, 8(11): 5481-5493.
- [8] Lin Y, Ma J, Cheng J-H, et al. Visible detection of chilled beef freshness using a paper-based colourimetric sensor array combining with deep learning algorithms[J]. *Food Chemistry*, 2024, 441: 138344.
- [9] Sun Y, Xu H, Wang L, et al. Ultrathin NiMn layered double hydroxide nanosheets with a superior peroxidase mimicking performance to natural HRP for disposable paper-based bioassays[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2021, 9(4): 983-991.
- [10] Gao Y, Huang Y, Ge J, et al. An interrelated CataFlower enzyme system for sensitively monitoring sweat glucose[J]. *Talanta*, 2021, 235: 122799.
- [11] Xin J, Yan M, Wang Z, et al. Bimetallic synergistic regulation of CuFe@TA nanozyme targeted boosting multi-enzymes activities for sensitive colorimetric detection of glucose[J]. *Microchemical Journal*, 2025, 209: 112711.
- [12] Xin J, Shu C, Fu Y, et al. MOF-confined ultrafine nanozymes with enhanced catalysis for sensitive colorimetric detection of glucose[J]. *Talanta*, 2025, 283: 127152.
- [13] Li P, Lee G-H, Kim S Y, et al. From diagnosis to treatment: recent advances in patient-friendly biosensors and implantable devices[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(2): 1960-2004.
- [14] Liu J, Jia M, Yang J, et al. Dual-functional flexible sensor based on CNCs nanocomposite hydrogels for sweat analysis and human motion monitoring[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering*

作者贡献声明*:

沙姝媛: 提出研究思路, 设计研究方案; 进行实验; 采集、清洗和分析数据; 论文起草;
单桂晔: 论文最终版本修订。

* 作者贡献可分为以下内容: 1) 研究命题的提出、设计, 包括某个具体观点或方法的提出; 2) 研究过程的实施, 例如进行试验或调查; 3) 数据的获取、提供与分析; 4) 论文起草或最终版本修订。每个研究论文可以根据自己研究活动的特点进一步详细表述作者贡献。有些研究活动可能还涉及其他研究工作和贡献, 可以进一步具体表述。在有多个作者署名的论文中, 在论文最后必须注明每个作者在上述四个方面中的具体贡献。