(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 104759633 A
(43)申请公布日 2015.07.08

(21)申请号 201510094477.5

(22)申请日 2015.03.03

(71)申请人 国家纳米科学中心
地址 100190 北京市海淀区中关村北一条11号

(72)发明人 乞萃 蔡双飞 杨蓉 王琛 王新环

(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司 11332
代理人 巩克栋 杨晞

(51)Int.Cl.
B22F 9/24(2006.01)
B01J 27/051(2006.01)
G01N 21/78(2006.01)
G01N 21/31(2006.01)
G01N 21/25(2006.01)
G01N 33/53(2006.01)

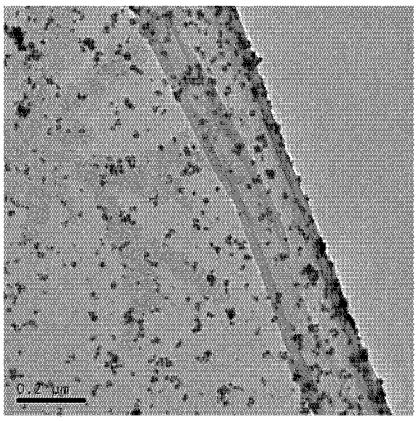
权利要求书2页 说明书7页 附图4页

(54)发明名称

一种模拟酶、其制备方法、使用方法和用途

(57)摘要

本发明涉及一种模拟酶，所述模拟酶为表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层；其制备方法为将分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液进行还原反应，获得基于表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层的模拟酶。本发明提供的模拟酶同时具有氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性的多重特征，可以通过利用不同的模拟酶活性构建不同的方法或应用于未知的领域；制备方法简单易行，条件温和，可在水相体系中利用一锅法一步还原制备生成。



CN 104759633 A

1. 一种模拟酶，其特征在于，所述模拟酶为表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层。

2. 如权利要求 1 所述的模拟酶，其特征在于，所述模拟酶同时具有氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶的活性；

优选地，所述二硫化钼片层的原子层数为 1 ～ 3 层，优选 1 层；

优选地，所述二硫化钼片层修饰有壳聚糖分子。

3. 一种如权利要求 1 或 2 所述的模拟酶的制备方法，其特征在于，所述方法为：将分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液进行还原反应，获得基于表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层的模拟酶。

4. 如权利要求 3 所述的方法，其特征在于，所述二硫化钼片层通过超声处理分散在水溶液中的粉状二硫化钼获得；

优选地，所述超声功率为 250 ～ 300W，超声时间为 0.5 ～ 1.5h；进一步优选地，所述超声功率为 275W，超声时间为 1h；

优选地，在所述超声过程中加入壳聚糖，获得壳聚糖修饰的二硫化钼片层分散水溶液。

5. 如权利要求 3 或 4 所述的方法，其特征在于，所述分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，二硫化钼的浓度为 0.24 ～ 24mg/L；

优选地，所述铂盐为氯铂酸和 / 或乙酰丙酮铂；

优选地，以铂元素计，所述分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，铂盐的浓度为 0.02 ～ 0.5mmol/L；

优选地，所述铜盐为氯化铜、硝酸铜、醋酸铜或乙酰丙酮铜中的任意 1 种或至少 2 种的组合；

优选地，以铜元素计，所述分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，铜盐的浓度为 0.02 ～ 0.5mmol/L。

6. 如权利要求 3 ～ 5 之一所述的方法，其特征在于，所述还原反应的还原剂为硼氢化钠；所述硼氢化钠以硼氢化钠水溶液的形式加入；所述硼氢化钠水溶液的浓度优选 3 ～ 15mmol/L；

优选地，所述分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，硼氢化钠水溶液的添加量为 1mL；

优选地，所述硼氢化钠水溶液的加入方式为逐滴加入，所述逐滴加入的滴加速度为 30 ～ 60μL/min；

优选地，所述还原反应的温度为 0℃；时间为 1 ～ 3h。

7. 如权利要求 3 ～ 6 之一所述的方法，其特征在于，所述方法包括如下步骤：

(1) 将二硫化钼片层、铂盐和铜盐分散于水中，搅拌均匀，置于冰浴中冷却，获得分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液；

(2) 向步骤 (1) 获得的分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中逐滴加入浓度为 3 ～ 15mmol/L 的硼氢化钠溶液，搅拌并继续置于冰浴中进行还原反应；

(3) 反应结束后，洗涤，离心得到纳米复合材料；

优选地，所述洗涤的洗涤溶剂为水和 / 或乙醇。

8. 一种如权利要求 1 或 2 所述模拟酶的使用方法，其特征在于，所述模拟酶用作模拟氧

化酶、模拟过氧化物酶或模拟过氧化氢酶中的任意 1 种；

优选地，当用作模拟氧化酶时，能够催化氧化 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺、2,2'- 联氮基 - 双 -(3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸）二氨盐或邻苯二胺，使显色底物显色；

优选地，当用作模拟过氧化物酶时，能够催化过氧化氢氧化 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺、2,2'- 联氮基 - 双 -(3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸）二氨盐或邻苯二胺，使显色底物显色；

优选地，当用作过氧化氢酶时，能够使过氧化氢分解生成水和氧气。

9. 如权利要求 8 所述的使用方法，其特征在于，所述方法包括如下步骤：

将权利要求 1 或 2 所述的模拟酶加入含有显色底物的缓冲溶液中，进行显色底物的氧化反应，或者催化过氧化氢进行催化底物的氧化反应，或者催化过氧化氢进行分解反应；

优选地，所述缓冲溶液的 pH 值为 2.5 ～ 5.5；

优选地，所述显色底物的氧化反应，或者催化过氧化氢进行催化底物的氧化反应，或者催化过氧化氢进行分解反应过程中的反应温度为 30 ～ 60℃。

10. 一种如权利要求 1 或 2 所述模拟酶的用途，其特征在于，所述模拟酶用于催化氧化、化学分析、免疫分析、生物检测和临床诊断领域。

一种模拟酶、其制备方法、使用方法和用途

技术领域

[0001] 本发明属于纳米技术和酶催化领域，涉及一种模拟酶、其制备方法、使用方法和用途，具体涉及一种同时具有三种模拟酶活性（氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶）的模拟酶、其制备方法、使用方法和用途；所述模拟酶为一种单层二硫化钼负载铂铜合金纳米结构的复合材料。

背景技术

[0002] 酶催化作为绿色化学的一个重要组成部分，成为现代生物学和化学交叉领域里最活跃的研究领域之一。模拟酶是一类非蛋白结构但与天然酶有相似催化活性的人工合成催化剂，其克服了天然酶稳定性差、易变性失活、贮存困难、制备工艺复杂和价格昂贵等缺点。纳米材料具有独特的尺寸、形貌、结构等物理化学性质，纳米颗粒模拟酶因制备简单、催化效率高、稳定、经济、性质稳定等诸多优势，在模拟酶方面显示出极其诱人的应用前景。

[0003] 近些年来，纳米四氧化三铁、纳米四氧化三钴、纳米氧化铈、纳米氧化铜、多壁碳纳米管、氧化石墨烯、硫化铁纳米片、纳米金、铂纳米晶等材料均被发现具有过氧化物模拟酶或氧化模拟酶活性，极大地扩展了相关催化反应在天然酶不适条件下的应用。但上述纳米模拟酶多为单一组分，复合材料的纳米模拟酶鲜有报道。纳米颗粒因尺寸小，具有高的表面能，而容易发生团聚。表面包覆虽然能够减弱纳米颗粒的团聚趋势，但同时也可能减少颗粒表面活性位，从而降低纳米颗粒的催化活性。多功能复合材料纳米模拟酶不仅可使纳米材料大小可控、形貌统一以及呈现单分散状态，同时又可使其保持高催化活性。这对纳米模拟酶的深入发展具有重要的理论与实际意义。

[0004] 作为一类重要的二维层状纳米材料，二硫化钼以其独特的“三明治夹心”层状结构在润滑剂、催化、能量存储、复合材料等领域被广泛应用。二硫化钼的 Mo-S 棱面多，比表面积大，反应活性高；硫元素对金属具有很强的粘附力，使得二硫化钼能很好的附着在金属表面。因此，如何开发一种颗粒大小可控，不易团聚，活性位多，催化活性高，且酶性能表现多样的模拟酶是本领域的一个需求。

发明内容

[0005] 针对现有技术模拟酶酶性能表现单一，纳米颗粒易于团聚，而为了防止团聚对纳米颗粒包覆后活性位减少，催化活性不高的不足，模拟酶合成步骤繁琐、条件苛刻等问题，本发明的目的之一在于提供一种模拟酶，所述模拟酶同时具有氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶的活性，有望替代相关蛋白质酶应用于免疫分析、生物检测和临床诊断等领域。

[0006] 所述模拟酶为表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层。

[0007] 二硫化钼比表面积大，吸附性强，很容易与修饰分子发生反应，从而可以避免因表面修饰引起的纳米颗粒表面活性位的减少和催化活性的降低。另外，二硫化钼本身也具有弱的过氧化物酶活性，因此，在纳米颗粒复合材料的模拟酶中，其不仅能够作为载体还能发挥协同催化作用。

[0008] 本发明所述模拟酶中，二硫化钼片层的原子层数为 1 ～ 3 层，优选 1 层。

[0009] 优选地，所述二硫化钼片层修饰有壳聚糖分子。

[0010] 壳聚糖分子修饰二硫化钼片层后，获得的纳米颗粒复合材料，具有更加优异的水溶性、分散性和生物相容性。

[0011] 本发明的目的之二是提供一种如目的之一所述的模拟酶的制备方法，所述方法为：将分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液进行还原反应，获得基于表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层的模拟酶。

[0012] 本发明所述模拟酶是通过在水相体系中一锅法在单层二硫化钼表面原位负载铂铜合金纳米颗粒获得的。本发明提供的模拟酶的制备方法工艺简单，制备得到的复合材料（基于负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层）易修饰，且催化活性高。

[0013] 优选地，所述二硫化钼片层通过超声处理分散在水溶液中的粉状二硫化钼获得。

[0014] 所述粉状二硫化钼可以通过市售获得。

[0015] 优选地，所述超声功率为 250 ～ 300W，超声时间为 0.5 ～ 1.5h；进一步优选地，所述超声功率为 275W，超声时间为 1h

[0016] 优选地，在所述超声过程中加入壳聚糖，获得壳聚糖修饰的二硫化钼片层分散水溶液。

[0017] 优选的，所述壳聚糖的加入浓度为 0.01 ～ 0.1wt％，优选 0.05wt％。

[0018] 壳聚糖分子对二硫化钼片层的修饰能够提高二硫化钼片层的水溶性、分散性和生物相容性。

[0019] 本发明所述模拟酶的制备方法中，所述分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，二硫化钼的浓度为 0.24 ～ 24mg/L，例如 0.3mg/L、0.5mg/L、0.9mg/L、3mg/L、7mg/L、16mg/L、18mg/L、21mg/L、23mg/L 等。

[0020] 优选地，所述铂盐为氯铂酸和 / 或乙酰丙酮铂。

[0021] 优选地，以铂元素计，所述分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，铂盐的浓度为 0.02 ～ 0.5mmol/L，例如 0.03mg/L、0.05mg/L、0.09mg/L、0.12mg/L、0.18mg/L、0.22mg/L、0.28mg/L、0.33mg/L、0.35mg/L、0.42mg/L、0.47mg/L 等。

[0022] 优选地，所述铜盐为氯化铜、硝酸铜、或乙酰丙酮铜中的任意 1 种或至少 2 种的组合；所述组合典型但非限定的包括醋酸铜和乙酰丙酮铜的组合，硝酸铜和氯化铜的组合，氯化铜、硝酸铜和醋酸铜的组合等。

[0023] 优选地，以铜元素计，所述分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，铜盐的浓度为 0.02 ～ 0.5mmol/L，例如 0.03mg/L、0.05mg/L、0.09mg/L、0.12mg/L、0.18mg/L、0.22mg/L、0.28mg/L、0.33mg/L、0.35mg/L、0.42mg/L、0.47mg/L 等。

[0024] 本发明所述还原反应的还原剂为硼氢化钠；所述硼氢化钠以硼氢化钠水溶液的形式加入；所述硼氢化钠水溶液的浓度优选 3 ～ 15mmol/L，例如 4mg/L、6mg/L、9mg/L、11mg/L、13mg/L、14mg/L 等。

[0025] 优选地，所述分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，硼氢化钠水溶液的添加量为 1mL。

[0026] 优选地，所述硼氢化钠水溶液的加入方式为逐滴加入，所述逐滴加入的滴加速度为 30 ～ 60 μL/min，例如 35 μL/min、38 μL/min、42 μL/min、44 μL/min、47 μL/min、53 μL/

min、55μL/min、59μL/min 等。

[0027] 优选地，所述还原反应的温度为 0℃；时间为 1 ～ 3h，例如 1.2h、1.7h、2h、2.2h、2.7h、2.9h 等。

[0028] 优选地，本发明所述模拟酶的制备方法包括如下步骤：

[0029] (1) 将二硫化钼片层、铂盐和铜盐分散于水中，搅拌均匀，置于冰浴中冷却，获得分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液；

[0030] (2) 向步骤 (1) 获得的分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中逐滴加入浓度为 3 ～ 15mmol/L 的硼氢化钠溶液，搅拌并继续置于冰浴中进行还原反应；

[0031] (3) 反应结束后，分离、洗涤沉淀，即得到表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料。

[0032] 优选地，所述洗涤的洗涤溶剂为水和 / 或乙醇。

[0033] 本发明的目的之三是提供一种如目的之一所述模拟酶的使用方法，所述模拟酶用作模拟氧化酶、模拟过氧化物酶或模拟过氧化氢酶中的任意 1 种。

[0034] 优选地，当用作模拟氧化酶时，能够催化氧化 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺、2,2'- 联氮基 - 双 -(3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸) 二氨盐或邻苯二胺，使显色底物显色；

[0035] 优选地，当用作模拟过氧化物酶时，能够催化过氧化氢氧化 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺、2,2'- 联氮基 - 双 -(3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸) 二氨盐或邻苯二胺，使显色底物显色；

[0036] 优选地，当用作过氧化氢酶时，能够使过氧化氢分解生成水和氧气。

[0037] 作为优选，所述模拟酶的使用方法包括如下步骤：

[0038] 将目的之一所述的模拟酶加入含有显色底物的缓冲溶液中，进行显色底物的氧化反应，或者催化过氧化氢进行催化底物的氧化反应，或者催化过氧化氢进行分解反应；

[0039] 优选地，所述缓冲溶液的 pH 值为 2.5 ～ 5.5；

[0040] 优选地，所述显色底物的氧化反应，或者催化过氧化氢进行催化底物的氧化反应，或者催化过氧化氢进行分解反应过程中的反应温度为 30 ～ 60℃。

[0041] 本发明的目的之四是提供一种目的之一所述模拟酶的用途，所述模拟酶用于催化氧化、化学分析、免疫分析、生物检测和临床诊断领域。

[0042] 与现有技术相比，本发明具有如下有益效果：

[0043] (1) 本发明提供的模拟酶同时具有氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性的多重特征，可以通过利用不同的模拟酶活性构建不同的方法或应用于未知的领域；

[0044] (2) 本发明提供的模拟酶为在二硫化钼片层表面上负载铂铜合金纳米颗粒得到的纳米复合材料，在所述纳米复合材料中，二硫化钼比表面积大，吸附性强，很容易与修饰分子发生反应，从而可以避免因表面修饰引起的纳米颗粒表面活性位的减少和催化活性的降低，有利于纳米复合材料保持高的催化活性；在所述纳米复合材料中，二硫化钼不仅能够作为载体，还能够发挥协同催化作用；所述纳米复合材料具有规则的纳米结构，有利于增加与底物的接触面积，提高模拟酶的反应活性；

[0045] (3) 本发明提供的模拟酶的制备方法简单易行，条件温和，可在水相体系中利用一锅法一步还原制备生成。

[0046] (4) 所述纳米复合材料稳定性好，具有宽泛的 pH 值和温度适用范围，为一种新颖

的多功能纳米复合材料模拟酶在免疫分析、生物检测和临床诊断等领域显示出极其诱人的应用前景。

附图说明

[0047] 图 1 是本发明实施例 1 所制备的纳米复合材料的透射电子显微镜图。

[0048] 图 2 是本发明实施例 1 所制备的纳米复合材料的 x- 射线衍射图。

[0049] 图 3 是测试例 1-1 和测试例 1-2 的紫外 - 可见光谱图；

[0050] 图 3 表明，无论过氧化氢是否存在，实施例 1 提供的模拟酶对 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺的氧化都具有很高的催化活性；

[0051] 图 4 是测试例 1-3 加入模拟酶之后过氧化氢在 240nm 处的吸收值随时间的变化关系；

[0052] 图 4 表明，实施例 1 提供的模拟酶能够分解过氧化氢，体现过氧化氢酶的性能；

[0053] 图 5 是测试例 1-4 模拟酶催化温度对反应活性的响应曲线；

[0054] 图 6 是测试例 1-5 模拟酶催化时缓冲溶液 pH 值对反应活性的响应曲线。

[0055] 图 7 为测试例 1-1、测试例 1-6、测试例 1-7 提供的模拟酶对 TMB、ABTS、OPO 反应前后的体系颜色变化对比图。

具体实施方式

[0056] 为便于理解本发明，本发明列举实施例如下。本领域技术人员应该明了，所述实施例仅仅是帮助理解本发明，不应视为对本发明的具体限制。

[0057] 实施例 1

[0058] 一种基于单层二硫化钼负载铂铜合金纳米复合材料的模拟酶，通过如下方法获得：

[0059] (1) 将粉末状二硫化钼分散在水溶液中，并加入 0.05wt％的壳聚糖，超声剥离，得到壳聚糖修饰的单层二硫化钼水溶液；将上述单层二硫化钼、氯铂酸和醋酸铜分散于 10mL 水中，使其浓度分别为 2.4mg/L、0.1mmol/L 和 0.03mmol/L，搅拌均匀，置于冰浴中冷却 20min，获得分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液；

[0060] (2) 向步骤 (1) 获得的分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中逐滴加入 9mmol/L 硼氢化钠溶液 1mL，滴加速度为 60μL/min，搅拌并继续置于冰浴中进行还原反应 2h；

[0061] (3) 反应结束后，离心除去上清液，用水洗涤沉淀，离心后将沉淀分散于 10mL 水中，得到分散有模拟酶（表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）的水溶液。

[0062] 形貌表征：

[0063] 对实施例 1 得到的模拟酶（即表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）进行透射电子显微镜扫描，扫描结果如图 1（图 1 为实施例 1 得到的模拟酶的透射电子显微镜图）所示，从图 1 可以看出，实施例 1 制备得到的模拟酶上，二硫化钼片层表面分布有铂铜合金纳米颗粒；

[0064] 对实施例 1 得到的模拟酶（即表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米

复合材料）进行 x- 射线衍射，结果如图 2（图 2 为实施例 1 得到的模拟酶的 x- 射线衍射图）所示，从图 2 可以看出，实施例 1 制备得到的模拟酶上，二硫化钼片层表面分布的纳米颗粒为铂铜合金纳米颗粒。

[0065] 测试例 1-1

[0066] 向 1mL 磷酸缓冲溶液（pH = 3.5）中加入 50μL 实施例 1 制备得到的分散有模拟酶（表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）的水溶液，摇匀，置于恒温水槽中 30℃温浴 15min，再向溶液中加入 10μL 50mmol/L 的显色底物 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺盐酸盐（TMB）溶液，摇匀，30℃温浴 15min；之后观察体系颜色变化，并扫描 400 ～ 800nm 紫外 - 可见光谱；

[0067] 实验结果显示，未加入模拟酶水溶液时体系为无色，加入模拟酶水溶液后，体系变为蓝色；紫外 - 可见光谱结果如图 3（图 3 为测试例 1-1 和测试例 1-2 的紫外 - 可见光谱图）所示，652nm 吸收值显著升高；说明纳米复合材料可以模拟氧化酶催化氧气氧化 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺，具有氧化酶活性。

[0068] 测试例 1-2

[0069] 向 1mL 磷酸缓冲溶液（pH = 3.5）中加入 50μL 实施例 1 制备得到的分散有模拟酶（表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）的水溶液，摇匀，充入氮气除氧，并置于恒温水槽中 30℃温浴 30min，再向溶液中加入 10μL 100mmol/L 的过氧化氢溶液和 10μL 50mmol/L 的显色底物 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺盐酸盐溶液，摇匀，30℃温浴 15min；之后观察体系颜色变化，并扫描 400 ～ 800nm 紫外 - 可见光谱；

[0070] 实验结果显示，未加入模拟酶水溶液时体系为无色，加入模拟酶水溶液后，体系变为蓝色；紫外 - 可见光谱结果如图 3（图 3 为测试例 1-1 和测试例 1-2 的紫外 - 可见光谱图）所示，652nm 吸收值显著升高；说明纳米复合材料可以模拟过氧化物酶催化过氧化氢氧化 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺，具有过氧化物酶活性。

[0071] 测试例 1-3

[0072] 配制 1mL 10mmol/L 的过氧化氢磷酸缓冲溶液（pH = 3.5），置于比色皿中，记录 240nm 处的吸光值并观察比色皿壁气泡生成情况；之后向其中加入 50μL 实施例 1 制备得到的分散有模拟酶（表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）的水溶液，记录 240nm 处的吸光值，并观察比色皿壁气泡生成情况；

[0073] 实验结果如图 4（图 4 是测试例 1-3 加入模拟酶之后过氧化氢在 240nm 处的吸收值随时间的变化关系），结果表明，过氧化氢在 240nm 处的吸光值在没有纳米复合材料存在时基本保持不变，并且比色皿壁无肉眼可见气泡生成；过氧化氢在 240nm 处的吸光值随纳米复合材料存在时间的延长而逐渐减小，并且比色皿壁可见明显的气泡生成；以上结果说明模拟酶可以模拟过氧化氢酶催化过氧化氢生成水和氧气，具有过氧化氢酶的活性；

[0074] 测试例 1-4

[0075] 向 1mL 磷酸缓冲溶液（pH = 3.5）中加入 50μL 实施例 1 制备得到的分散有模拟酶（表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）的水溶液，摇匀；制备同样的溶液 9 份，分别将其置于不同温度的恒温水槽中温浴 15min（温度分别为 0℃、10℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃、50℃、60℃），再向各溶液中加入 10μL 50mmol/L 显色底物 3,3',5,5'- 四甲基联苯胺盐酸盐溶液，摇匀，继续温浴 15min；测定体系在 652nm 处的吸光

度。

[0076] 测试结果如图 5（图 5 是测试例 1-4 模拟酶催化温度对反应活性的响应曲线），从图 5 可以看出，当反应温度高于 30℃时，有利于模拟酶的催化活性；当温度高达 60℃时，纳米复合材料的催化活性仍能保持最高催化活性的 97％以上；与辣根过氧化物酶相比，本发明所述纳米复合材料具有更广泛的温度适用范围。

[0077] 测试例 1-5

[0078] 向 1mL 具有不同 pH 值的磷酸缓冲溶液（pH 值分别为 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0）中分别加入 50μL 制备得到的分散有模拟酶（表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）的水溶液，摇匀；置于恒温水槽中 30℃温浴 15min，再分别向溶液中加入 10μL50mmol/L 显色底物 3,3’,5,5’- 四甲基联苯胺盐酸盐溶液，摇匀，30℃温浴 15min；测定体系在 652nm 处的吸光度。

[0079] 测试结果如图 6（图 6 是测试例 1-5 模拟酶催化时缓冲溶液 pH 值对反应活性的响应曲线），从图 6 可以看出，在 pH 值偏酸性的溶液中，纳米复合材料具有较高的催化活性；其模拟酶催化活性在 pH 值 3.5 时达到最大。

[0080] 测试例 1-6

[0081] 与测试例 1-1 的区别在于：以 2,2- 联氮基 - 双 -(3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸）二氨盐（ABTS）替代 TMB；测试结果与测试例 1-1 相同：未加入模拟酶水溶液时体系为无色，加入模拟酶水溶液后，体系变为深绿色；说明纳米复合材料可以模拟氧化酶催化氧气氧化 2,2- 联氮基 - 双 -(3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸），具有氧化酶活性。

[0082] 测试例 1-7

[0083] 与测试例 1-1 的区别在于：以邻苯二胺（OPD）替代 TMB；测试结果与测试例 1-1 相同：未加入模拟酶水溶液时体系为无色，加入模拟酶水溶液后，体系变为橙黄色；说明纳米复合材料可以模拟氧化酶催化氧气氧化邻苯二胺，具有氧化酶活性。

[0084] 图 7 为测试例 1-1、测试例 1-6、测试例 1-7 提供的模拟酶对 TMB、ABTS、OPO 反应前后的体系颜色变化对比图；从图 7 可以看出，本发明提供的模拟酶的底物具有多样性。

[0085] 实施例 2

[0086] 一种基于单层二硫化钼负载铂铜合金纳米复合材料的模拟酶，通过如下方法获得：

[0087] (1) 将粉末状二硫化钼分散在水溶液中，超声剥离，得到单层二硫化钼水溶液；将单层二硫化钼、氯铂酸和氯化铜分散于 10mL 水中，使其浓度分别为 5mg/L、0.1mmol/L 和 0.1mmol/L，搅拌均匀，置于冰浴中冷却 20min，获得分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液；

[0088] (2) 向步骤 (1) 获得的分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中逐滴加入 12mmol/L 硼氢化钠溶液 1mL，滴加速度为 30μL/min，搅拌并继续置于冰浴中进行还原反应 1h；

[0089] (3) 反应结束后，离心除去上清液，用水洗涤沉淀，离心后将沉淀分散于 10mL 水中，得到分散有模拟酶（表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）的水溶液。

[0090] 实施例 3

[0091] 一种基于单层二硫化钼负载铂铜合金纳米复合材料的模拟酶，通过如下方法获得：

[0092] (1) 将粉末状二硫化钼分散在水溶液中，超声剥离，得到单层二硫化钼水溶液；将单层二硫化钼、氯铂酸和醋酸铜分散于10mL水中，使其浓度分别为4.5mg/L、0.05mmol/L和0.15mmol/L，搅拌均匀，置于冰浴中冷却15min，获得分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液；

[0093] (2) 向步骤(1)获得的分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中逐滴加入10mmol/L硼氢化钠溶液1mL，滴加速度为50μL/min，搅拌并继续置于冰浴中进行还原反应1h；

[0094] (3) 反应结束后，离心除去上清液，用水洗涤沉淀，离心后将沉淀分散于10mL水中，得到分散有模拟酶（表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层纳米复合材料）的水溶液。

[0095] 实施例4

[0096] 与实施例1的区别为：在分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，二硫化钼、铂盐和铜盐的浓度分别为：24mg/L、0.5mmol/L和0.15mmol/L；

[0097] 硼氢化钠溶液的浓度为15mmol/L。

[0098] 实施例5

[0099] 与实施例1的区别为：在分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液中，二硫化钼、铂盐和铜盐的浓度分别为：0.24mg/L、0.02mmol/L和0.02mmol/L；

[0100] 硼氢化钠溶液的浓度为15mmol/L。

[0101] 申请人声明，本发明通过上述实施例来说明本发明的详细工艺设备和工艺流程，但本发明并不局限于上述详细工艺设备和工艺流程，即不意味着本发明必须依赖上述详细工艺设备和工艺流程才能实施。所属技术领域的技术人员应该明了，对本发明的任何改进，对本发明产品各原料的等效替换及辅助成分的添加、具体方式的选择等，均落在本发明的保护范围和公开范围之内。

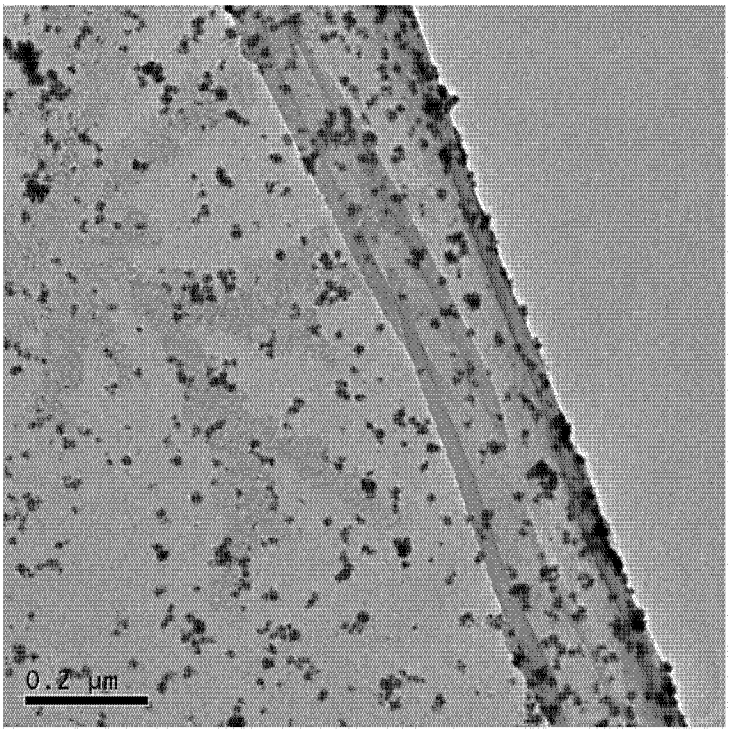

0.2 μm

图 1

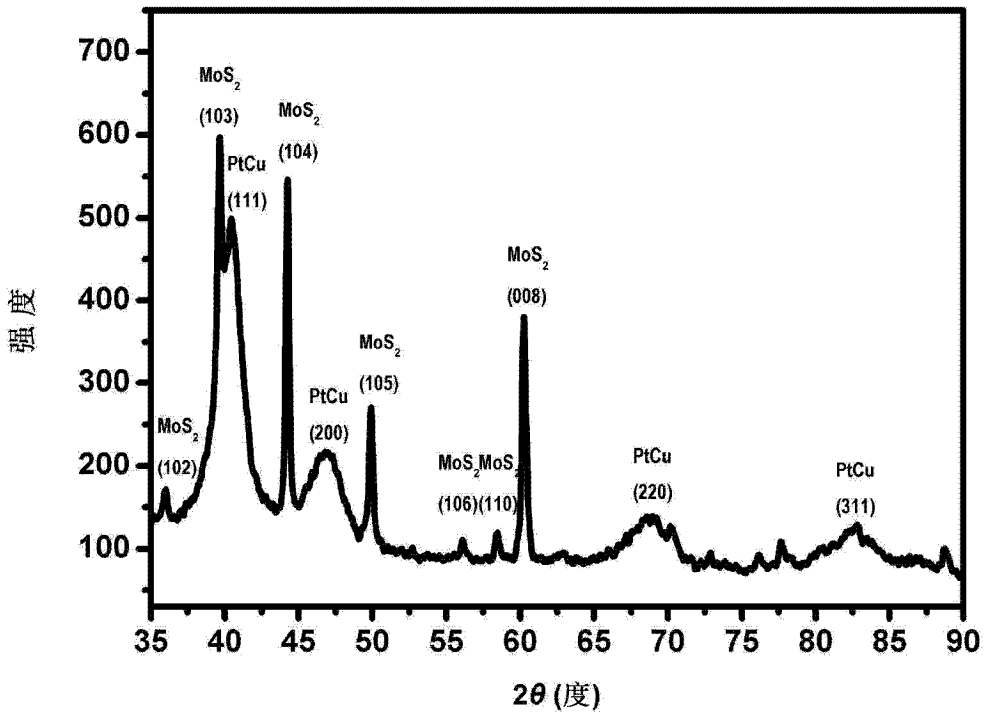

强度
2θ (度)
MoS2 (102)
MoS2 (103)
PtCu (111)
MoS2 (104)
PtCu (200)
MoS2 (105)
MoS2 (106)(110)
MoS2 (008)
PtCu (220)
PtCu (311)

图 2

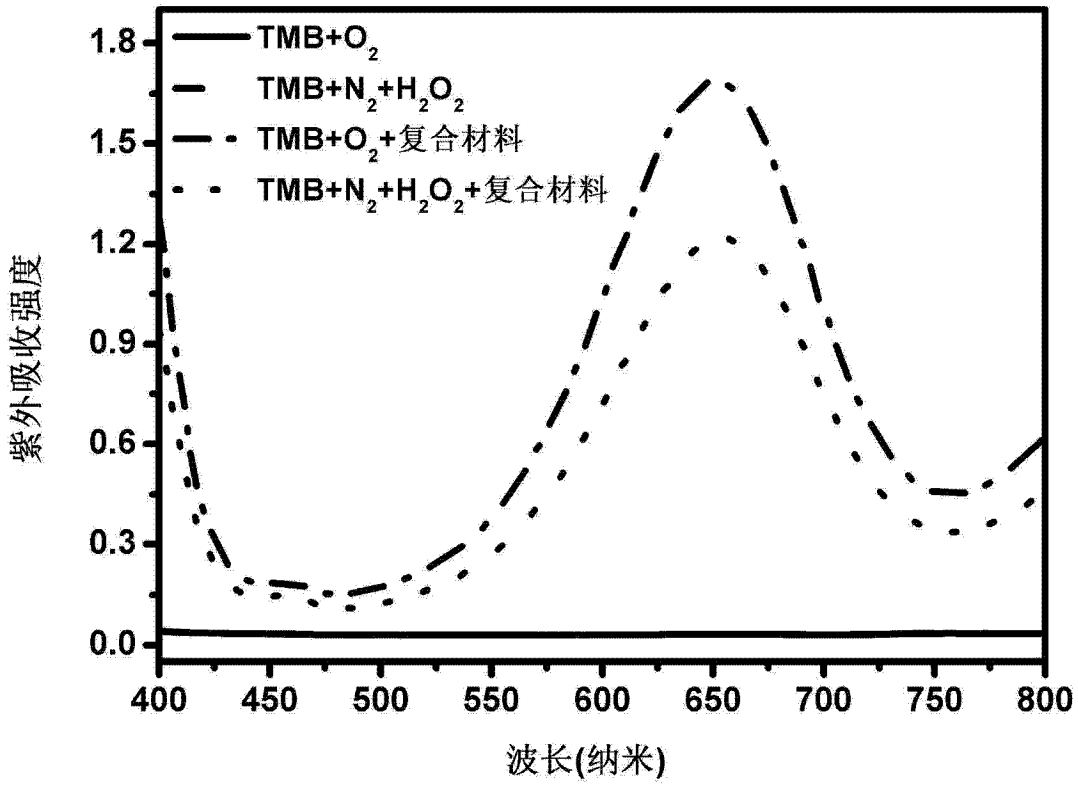

TMB+O2
TMB+N2+H2O2
TMB+O2+复合材料
TMB+N2+H2O2+复合材料
紫外吸收强度
波长(纳米)
1.8
1.5
1.2
0.9
0.6
0.3
0.0
400
450
500
550
600
650
700
750
800

图 3

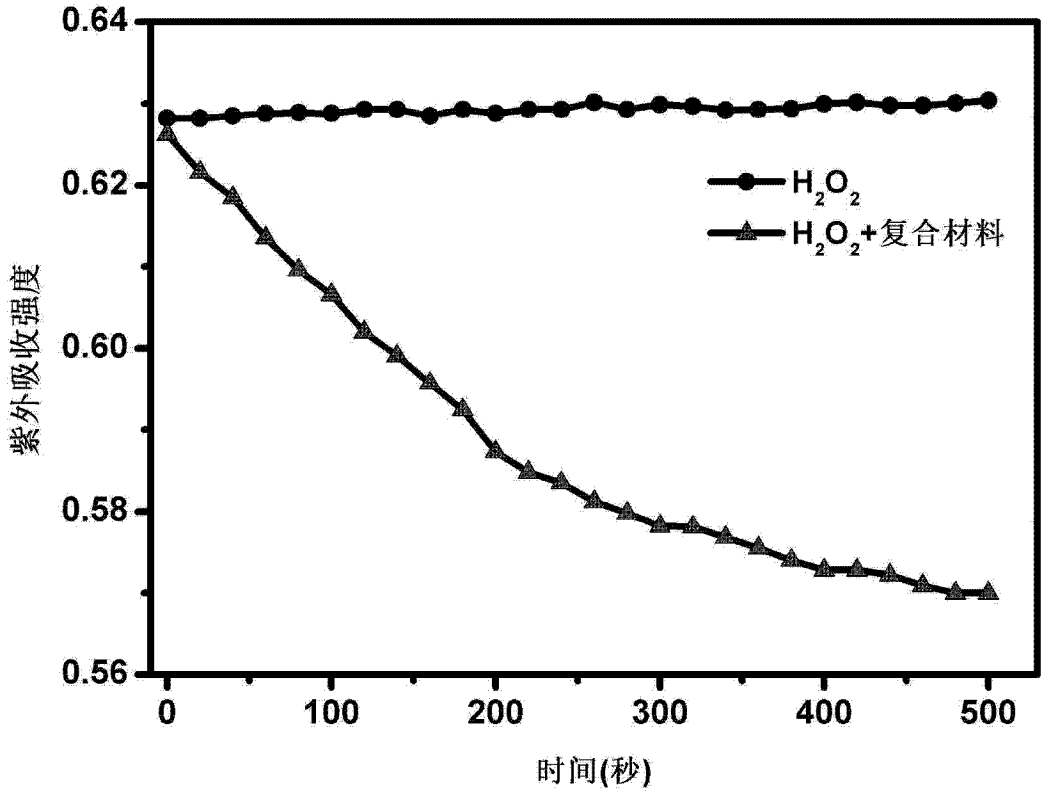

H2O2
H2O2+复合材料
紫外吸收强度
时间(秒)
0.64
0.62
0.60
0.58
0.56
0
100
200
300
400
500

图 4

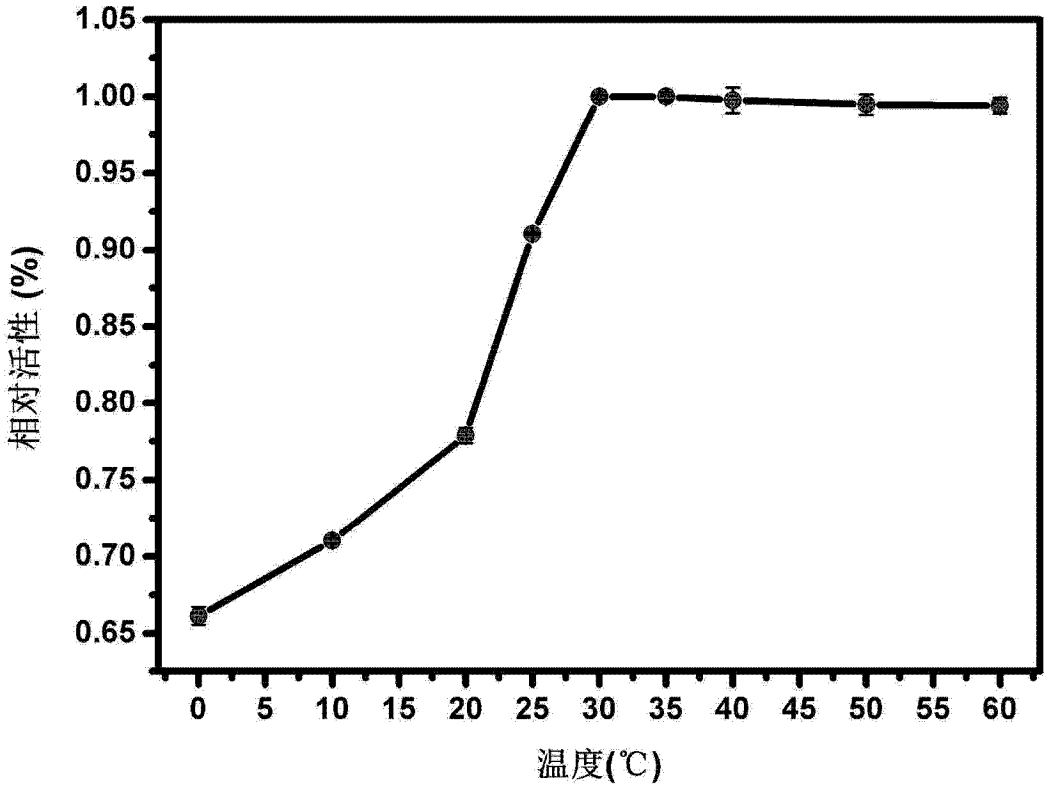

1.05
1.00
0.95
0.90
0.85
0.80
0.75
0.70
0.65
相对活性 (%)
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60
温度(℃)

图 5

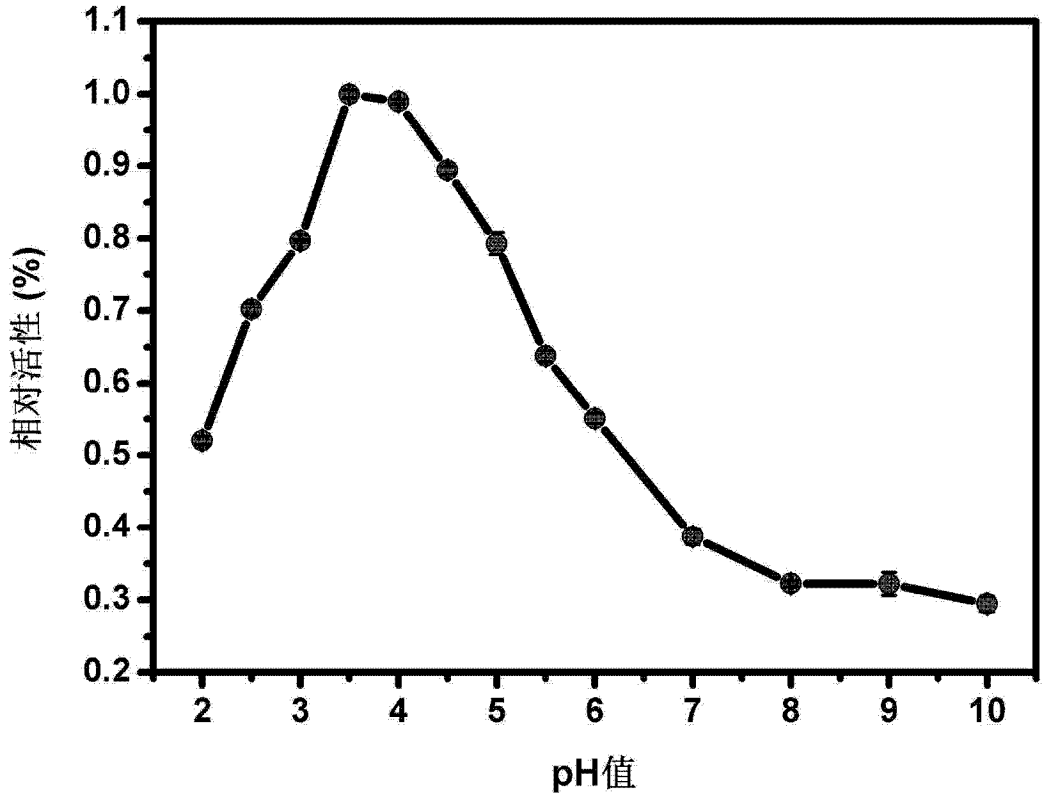

1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
相对活性 (%)
2 3 4 5 6 7 8 9 10
pH值

图 6

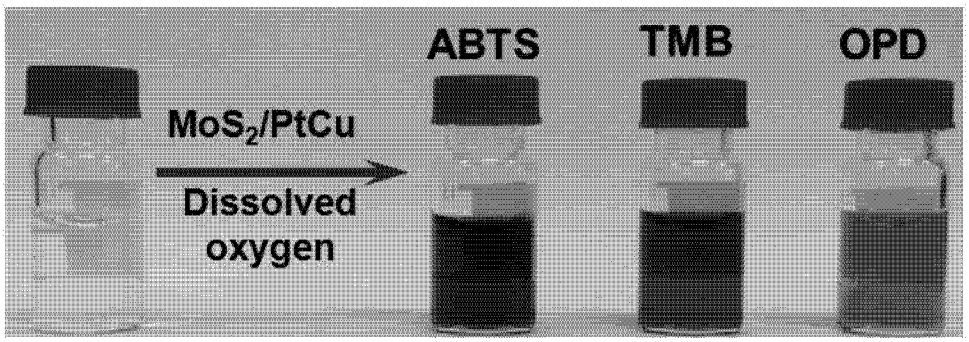
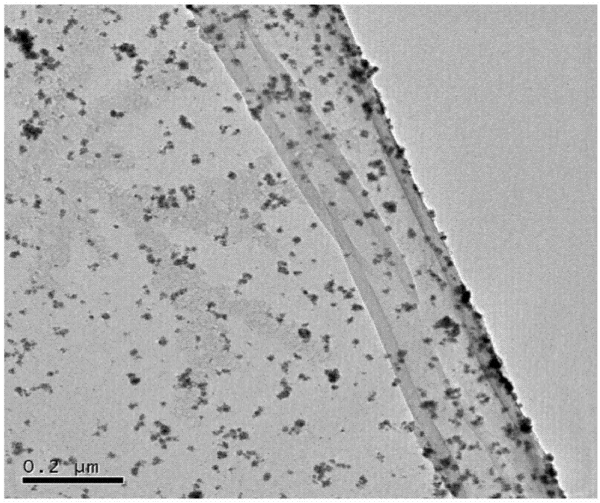


图 7

专利名称(译)	一种模拟酶、其制备方法、使用方法和用途		
公开(公告)号	CN104759633A	公开(公告)日	2015-07-08
申请号	CN201510094477.5	申请日	2015-03-03
[标]申请(专利权)人(译)	国家纳米科学中心		
申请(专利权)人(译)	国家纳米科学中心		
当前申请(专利权)人(译)	国家纳米科学中心		
[标]发明人	乞萃 蔡双飞 杨蓉 王琛 王新环		
发明人	乞萃 蔡双飞 杨蓉 王琛 王新环		
IPC分类号	B22F9/24 B01J27/051 G01N21/78 G01N21/31 G01N21/25 G01N33/53		
代理人(译)	杨晞		
其他公开文献	CN104759633B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种模拟酶，所述模拟酶为表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层；其制备方法为将分散有二硫化钼片层、铂盐和铜盐的水溶液进行还原反应，获得基于表面负载有铂铜合金纳米颗粒的二硫化钼片层的模拟酶。本发明提供的模拟酶同时具有氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性的多重特征，可以通过利用不同的模拟酶活性构建不同的方法或应用于未知的领域；制备方法简单易行，条件温和，可在水相体系中利用一锅法一步还原制备生成。