

类普鲁士蓝纳米酶材料的制备及其酶催化反应动力学探究 ——推荐一个分析化学综合实验

刘梦婷, 杨树芬, 薛雨, 臧嘉妍, 苏权燕, 郑兴烨, 曹秋娥, 周川华*

云南大学化学科学与工程学院, 化学化工国家级实验教学示范中心(云南大学), 昆明 650091

摘要: 将类普鲁士蓝纳米酶引入本科实验教学, 设计了一个探究性的分析化学综合实验, 实验内容包括三类普鲁士蓝纳米酶材料的制备、表征和酶催化反应速率常数的测定, 并将这些纳米酶材料应用于过氧化氢(H_2O_2)的分析检测。本实验所用试剂价廉易得、反应条件温和、实验现象直观、时间分配合理, 适合本科实验教学, 用于提升学生的实验技能和科研创新能力。

关键词: 类普鲁士蓝纳米材料; 酶催化反应动力学; 米氏常数; H_2O_2 检测; 紫外-可见分光光度法

中图分类号: G64; O6

Preparation of Prussian Blue Analogs Derived Nanoenzymes and Their Enzymatic Catalytic Reaction Kinetics: A Comprehensive Analytical Chemical Experiment

Mengting Liu, Shufen Yang, Yu Xue, Jiayan Zang, Quanyan Su, Xingye Zheng, Qiue Cao, Chuanhua Zhou *

National Demonstration Center for Experimental Chemistry and Chemical Engineering Education (Yunnan University), School of Chemical and Technology, Yunnan University, Kunming 650091, China.

Abstract: An exploratory analytical chemistry comprehensive experiment was designed based on Prussian blue analog-derived nanoenzymes. The experiment includes the preparation and characterization of three kinds of Prussian blue analog-derived nanoenzyme materials and the determination of their enzyme catalytic reaction rate constants. These nanomaterials were further applied to hydrogen peroxide detection. As this experiment features inexpensive reagents, mild reaction conditions, obvious experimental phenomena, and reasonable time allocation, it is suitable for undergraduate laboratory teaching to improve students' experimental skills and cultivate their scientific research and innovation ability.

Key Words: Prussian blue nanomaterials; Enzyme catalytic reaction kinetics; Michaelis constant; H_2O_2 detection; UV-Vis spectrophotometry

1 引言

生物酶广泛存在于生物体活细胞中, 并在生化反应中起重要作用^[1]。由于酶催化反应具有灵敏度高和选择性好等优点, 被广泛应用于化工生产、生物医学检测、环境保护等各个领域。但是由于生物酶价格高、易失活、存储困难, 很难应用于实验教学。纳米酶是一种具有酶催化性能的纳米材

料。与生物酶相比,纳米酶由于其成本低廉、对反应环境的耐受度高以及易于制备、催化性能优异等优点,引起了科研工作者的广泛关注^[2]。目前,研究人员已经发现了许多具有模拟酶活性的纳米材料,如金属纳米材料、金属氧化物纳米材料、碳纳米材料、金属有机框架材料等等。

普鲁士蓝(PB, $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$), 又称中国蓝, 早在18世纪初作为染料被发现, 随后在生物医学中多有应用, 它是一种典型的六氰合铁配位化合物。随着对普鲁士蓝的不断深入研究, 研究人员发现普鲁士蓝中的 Fe^{III} 或者 $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ 可以用其他过渡金属代替, 从而得到一类它的衍生物——普鲁士蓝类配合物或者类普鲁士蓝(PBA)。它们具有和普鲁士蓝类似的结构^[3], 具有低成本、易于合成等优点, 被广泛应用于电解水、储能材料、传感器、磁性材料等领域。

由于普鲁士蓝易于制备、成本低廉, 而且有特殊的颜色, 在实验教学中通常可以应用于设计科普实验^[4]或趣味实验^[5]。如吕喜凤等将普鲁士蓝用于设计物理化学趣味实验, 探究棉秆对废水中普鲁士蓝的吸附性能和吸附效果^[5]。也可以将普鲁士蓝的合成与性质引入到本科实验教学项目中, 如李娟等基于纳米普鲁士蓝设计了一个胶体化学综合实验^[6]; 张彦卓等结合普鲁士蓝纳米材料设计了一个用于制备复合凝胶的药物制剂实验^[7], 这些教学设计有利于培养学生的创新思维。由于酶催化反应是一类非常重要的生物化学反应, 在本科实验教学中引入纳米酶材料及酶催化反应动力学实验具有非常重要的意义^[8]。尽管类普鲁士蓝纳米材料具有非常好的模拟酶催化性质, 但是到目前为止, 本科实验教学项目中还没有利用类普鲁士蓝纳米材料作为模拟酶, 探究其酶催化性能的综合实验。

基于此, 本文将普鲁士蓝及其类似物引入本科教学实验, 通过分组实验制备和表征三种类普鲁士蓝纳米酶材料, 并比较其模拟酶性质, 讨论合成过程中配体及组成对其过氧化物模拟酶性质的影响, 并将这些纳米酶材料应用于过氧化氢(H_2O_2)的分析检测。本实验试剂廉价易得, 实验操作简单, 实验现象直观, 可以激发学生对于科学研究的热情与兴趣, 培养学生的科研创新能力。

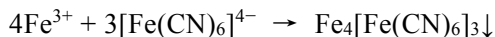
2 实验部分

2.1 实验目的

- (1) 了解类普鲁士蓝纳米酶的性质, 掌握其制备及表征方法;
- (2) 掌握紫外-可见光谱仪的基本操作和原理;
- (3) 了解Lineweaver-Burk双倒数方程, 掌握米氏常数的计算方法;
- (4) 掌握利用紫外-可见吸收光谱法检测 H_2O_2 , 以及绘制标准曲线的方法。

2.2 实验原理

本实验采用共沉淀法制备普鲁士蓝及类普鲁士蓝纳米材料。普鲁士蓝由亚铁氰化钾与 FeCl_3 通过共沉淀反应所得, 产物为蓝色胶体溶液。其反应方程式如下:



铜铁类普鲁士蓝(CuFe PBA)由铁氰化钾与 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 通过共沉淀反应所得, 产物为浅黄色胶体溶液。

普鲁士蓝及类普鲁士蓝具有过氧化物模拟酶性质, 它们可以催化 H_2O_2 分解产生羟基自由基, 而羟基自由基可以将无色的3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)氧化为蓝色的 TMB^+ , 后者在652 nm附近有最大吸收, 因此可以利用 TMB^+ 的紫外-可见吸收来实现 H_2O_2 的含量测定。

酶的催化反应动力学实验可以帮助学生理解酶催化反应的基础理论知识, 酶催化反应遵循Michaelis-Menten动力学模型。其反应方程如下式所示:

$$v = v_{\max}[\text{S}]/(K_m + [\text{S}])$$

其中, v 是反应速度, $v_{\max}$ 是最大反应速度, $[\text{S}]$ 是底物的浓度, K_m 是米氏常数, K_m 越小, 说明对底物的亲和能力越强。利用Lineweaver-Burk双倒数方程可求出 K_m 和 $v_{\max}$ 。

Lineweaver-Burk双倒数方程如下式所示:

$$1/v = (K_m/v_{\max}) \cdot (1/[\text{S}]) + 1/v_{\max}$$

2.3 试剂或材料

本实验所需实验试剂如表1所示。

表1 本实验所用实验试剂

试剂名称	纯度	制造商
铁氰化钾($K_3[Fe(CN)_6]$)	AR	天津市风船化学试剂科技有限公司
亚铁氰化钾($K_4[Fe(CN)_6]$)	AR	天津市风船化学试剂科技有限公司
氯化铁($FeCl_3$)	AR	上海泰坦科技股份有限公司
硝酸铜($Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$)	AR	上海泰坦科技股份有限公司
一水合柠檬酸	AR	天津市风船化学试剂科技有限公司
冰醋酸(HAc)	AR	天津市风船化学试剂科技有限公司
醋酸钠(NaAc)	AR	天津市光复科技发展有限公司
过氧化氢(H_2O_2)	30%	天津市风船化学试剂科技有限公司
过氧化氢消毒液	—	江西草珊瑚消毒用品有限公司
无水乙醇(C_2H_5OH)	AR	天津市风船化学试剂科技有限公司
TMB (3,3',5,5'-四甲基联苯胺)	AR	上海泰坦科技股份有限公司
实验用水	超纯水	—

2.4 实验仪器

本实验所用仪器如表2所示。

表2 本实验所用仪器

仪器名称	品牌	型号
紫外-可见光谱仪	日本岛津	UV-2600
DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器	巩义市予华仪器有限责任公司	PCG-E6000
超声波清洗机	深圳洁盟技术股份有限公司	JP-010T

2.5 实验步骤

本实验6人为一个大组，2人为一小组，每小组制备一种普鲁士蓝或者类普鲁士蓝纳米材料，制备方法如下。

2.5.1 溶液配制

(1) 柠檬酸母液的配制：准确称取柠檬酸0.2630 g，于250 mL容量瓶中加蒸馏水定容、摇匀，得到5 mmol·L⁻¹柠檬酸溶液。

(2) A组溶液配制：准确称取 $K_3[Fe(CN)_6]$ 0.0660 g，于100 mL容量瓶中用柠檬酸溶液定容、摇匀，得到含2 mmol·L⁻¹ $K_3[Fe(CN)_6]$ 的柠檬酸溶液。准确称取 $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ 0.0380 g，于100 mL容量瓶中用柠檬酸溶液定容、摇匀，得到2 mmol·L⁻¹ $Cu(NO_3)_2$ 的柠檬酸溶液。

(3) B组溶液配制：以柠檬酸溶液为溶解介质，准确称取 $K_4[Fe(CN)_6]$ 0.0850 g，于100 mL容量瓶中用柠檬酸溶液定容、摇匀，得到2 mmol·L⁻¹ $K_4[Fe(CN)_6]$ 的柠檬酸溶液。准确称取 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.0110 g，于100 mL容量瓶中用柠檬酸溶液定容、摇匀，得到2 mmol·L⁻¹ $FeCl_3$ 的柠檬酸溶液。

(4) C组溶液配制：以水为溶解介质，准确称取 $K_4[Fe(CN)_6]$ 0.0850 g，于100 mL容量瓶中加蒸馏水定容、摇匀，得到2 mmol·L⁻¹ $K_4[Fe(CN)_6]$ 的水溶液。准确称取 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.0110 g，于100 mL容量瓶中加蒸馏水定容、摇匀，得到2 mmol·L⁻¹ $FeCl_3$ 的水溶液。

(5) 其他溶液：配制0.20 mol·L⁻¹ HAc-NaAc缓冲溶液(pH 4.6)、5.00 mmol·L⁻¹ TMB储备液、1.25 mol·L⁻¹的NaCl溶液备用。

2.5.2 类普鲁士蓝纳米酶材料的制备

(1) CuFe PBA的制备(以柠檬酸为溶解介质)。

取A组 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 的柠檬酸溶液20 mL, 在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴磁力搅拌下缓慢滴加20 mL $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的柠檬酸溶液(约30 min滴加完成), 所得溶液继续在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴搅拌5 min, 待冷却至室温后, 得到A组CuFe PBA备用。

(2) PB的制备(以柠檬酸为溶解介质)。

取B组 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FeCl_3 的柠檬酸溶液20 mL, 在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴磁力搅拌下缓慢滴加20 mL $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的柠檬酸溶液(约30 min滴加完成), 所得溶液继续在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴搅拌5 min, 待冷却至室温后, 得到B组以柠檬酸为溶解介质PB (PB-柠檬酸)备用。

(3) PB的制备(以水为溶解介质)。

取C组 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FeCl_3 的水溶液20 mL, 在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴磁力搅拌下缓慢滴加 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的水溶液20 mL (约30 min滴加完成), 所得溶液继续在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴搅拌5 min, 待冷却至室温后, 得到C组以水为溶解介质的PB (PB-水)备用。

2.5.3 纳米酶材料的表征

(1) 丁达尔效应: 将三种纳米酶材料稀释10倍后, 用激光笔照射, 从与光束相垂直的方向观察丁达尔效应。

(2) 透射电子显微镜(TEM)表征: 将制备好的纳米酶材料离心分离后重悬在蒸馏水中, 取 $5\text{ }\mu\text{L}$ 稀释液滴于铜网上, 利用TEM观察三种纳米酶的形貌。

(3) X射线粉末衍射(XRD)及X射线光电子能谱(XPS)表征: 将离心纯化后的纳米酶真空干燥后进行XRD、XPS表征。

2.5.4 稳态动力学测定

取适量A组CuFe PBA用水稀释20倍, 取适量B组PB-柠檬酸和C组PB-水, 分别用水稀释10倍。每组准备6个50 mL比色管, 按照表3分别加入TMB、PB(A)、HAc-NaAc缓冲溶液、蒸馏水, 最后加入 H_2O_2 后迅速摇匀, 快速利用紫外-可见光谱仪测定混合溶液652 nm处的吸光度($A_{652\text{ nm}}$)随时间的变化。A组测定CuFe PBA的稳态动力学时先在6个比色管中依次加入2 mL $1.25\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaCl溶液, 再按照上述步骤进行操作。

表3 稳态动力学测定各溶液加入量

序号	V_{TMB}/mL	$V_{\text{HAc-NaAc}}/\text{mL}$	$V_{\text{PB(A)}}/\text{mL}$	$\text{H}_2\text{O}/\text{mL}$	$V_{\text{H}_2\text{O}_2}/\text{mL}$
0	10.00	5.00	5.00	5.00	0.00
1	10.00	5.00	5.00	4.50	0.50
2	10.00	5.00	5.00	4.00	1.00
3	10.00	5.00	5.00	3.50	1.50
4	10.00	5.00	5.00	3.00	2.00
5	10.00	5.00	5.00	2.50	2.50

注意事项:

(1) 取模拟酶前, 可以先将其进行超声处理, 以提高材料的分散性。

(2) 注意加入试剂的先后顺序, 最后加入 H_2O_2 后应迅速混匀, 并快速加入比色皿中测定动力学曲线。

2.5.5 过氧化氢的检测

取几个50 mL比色管, 依次加入5 mL HAc-NaAc缓冲溶液、5 mL模拟酶稀释液、10 mL TMB,

不同体积的蒸馏水, 样品组加入1 mL稀释200倍后的消毒水溶液, 加标组额外加入不同体积的 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ 标准溶液。每组溶液最后加入 H_2O_2 后迅速计时, 5 min后立即测定溶液652 nm处的吸光度。

3 结果与讨论

3.1 类普鲁士蓝纳米材料的制备与表征

如图1a–c所示, 所制备CuFe PBA为黄色溶液, PB-柠檬酸和PB-水为深蓝色溶液。当一束激光通过稀释后的PB及PBA溶液时, 在垂直于入射光的方向可以观察到明显的光路, 表明制备好的这三种材料均为胶体溶液, 具有丁达尔效应。通过TEM图(图1d–f)发现这三种材料直径均在100 nm左右, 都具有PB典型的方形块状结构。PB-水(图1f)比PB-柠檬酸(图1e)及CuFe PBA (图1d)尺寸稍小且棱角更加分明, 证明配体对于纳米材料的合成具有一定的影响。我们也以CuFe PBA为例对所合成的纳米酶进行XRD表征, 如图1g所示, 其衍射峰与 $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ 的标准图谱一致, 证明制备出的材料为铜铁类普鲁士蓝。进一步通过XPS表征(图1h), 证明材料中存在Cu、Fe、O、C、N等元素, 以上结果表明成功制备了CuFe PBA。

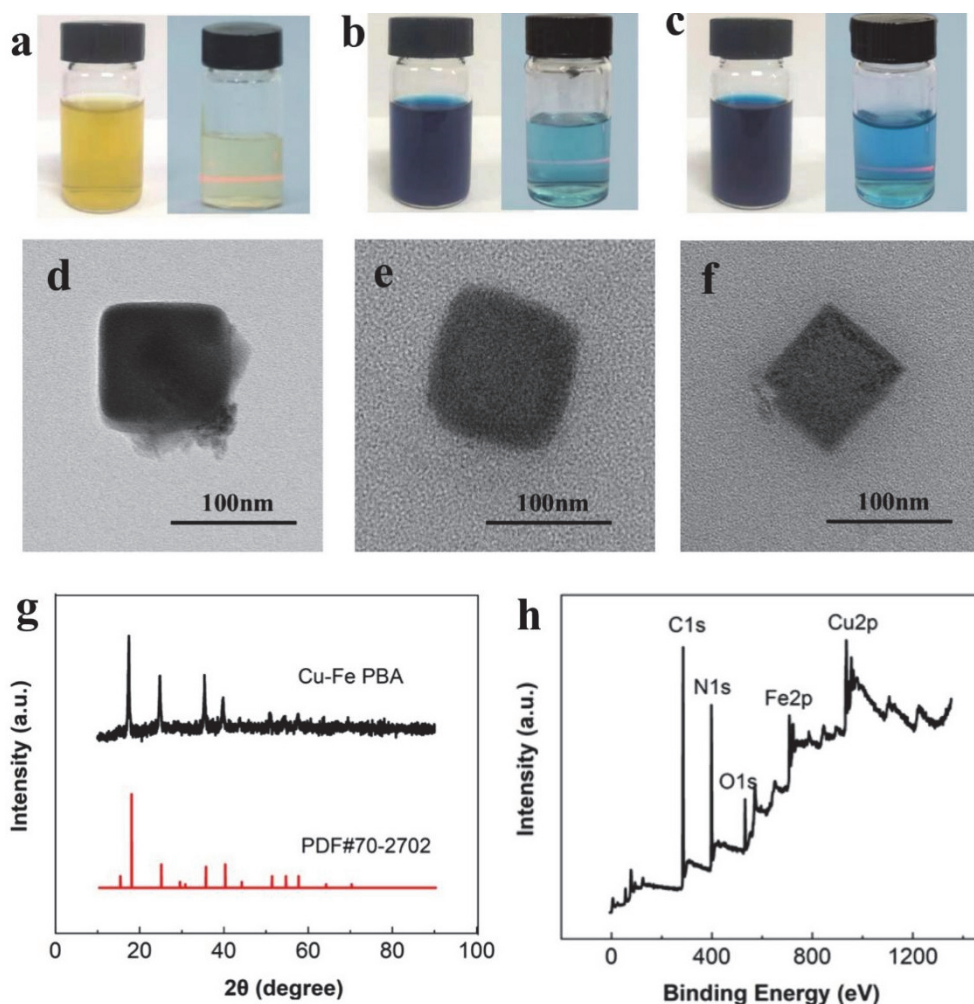


图1 CuFe PBA及PB的表征图

(a, b, c) 照片; (d, e, f) TEM图片; (g) CuFe PBA的XRD表征图; (h) CuFe PBA的XPS全谱图

照片及TEM图中: (a, d) CuFe PBA; (b, e) PB-柠檬酸; (c, f) PB-水

电子版为彩图

为了探究三种材料催化 H_2O_2 氧化TMB的可行性,我们分别采用(A组)CuFe PBA、(B组)PB-柠檬酸、(C组)PB-水作为催化剂,在不同体系中孵育5 min后,测定混合溶液的吸收曲线,检测结果如图2所示,三种材料都能够催化 H_2O_2 氧化TMB(图2a–c红色曲线),CuFe PBA本身催化 H_2O_2 氧化TMB的信号较小(图2a红色曲线),但是在溶液中加入 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 后,可以使催化反应大大加速(图2a绿色曲线),这主要是源于 Cl^- 可以加速铜基芬顿反应^[9](CuFe PBA中具有 Cu^{II})。而对于其他两种PB, Cl^- 的存在并不能使催化反应加速。此外,从图2b、c中蓝色曲线可以看出PB-水和PB-柠檬酸都具有一定的氧化酶活性(在没有 H_2O_2 的存在下,PB也能氧化TMB产生 $A_{652\text{ nm}}$ 信号),而CuFe PBA氧化TMB所产生的信号较小(图2a蓝色曲线)。以上数据证明三种材料都具有模拟酶性质,而由于合成材料时加入的配体及前体不同,所以三种酶的模拟酶性质也有所不同。

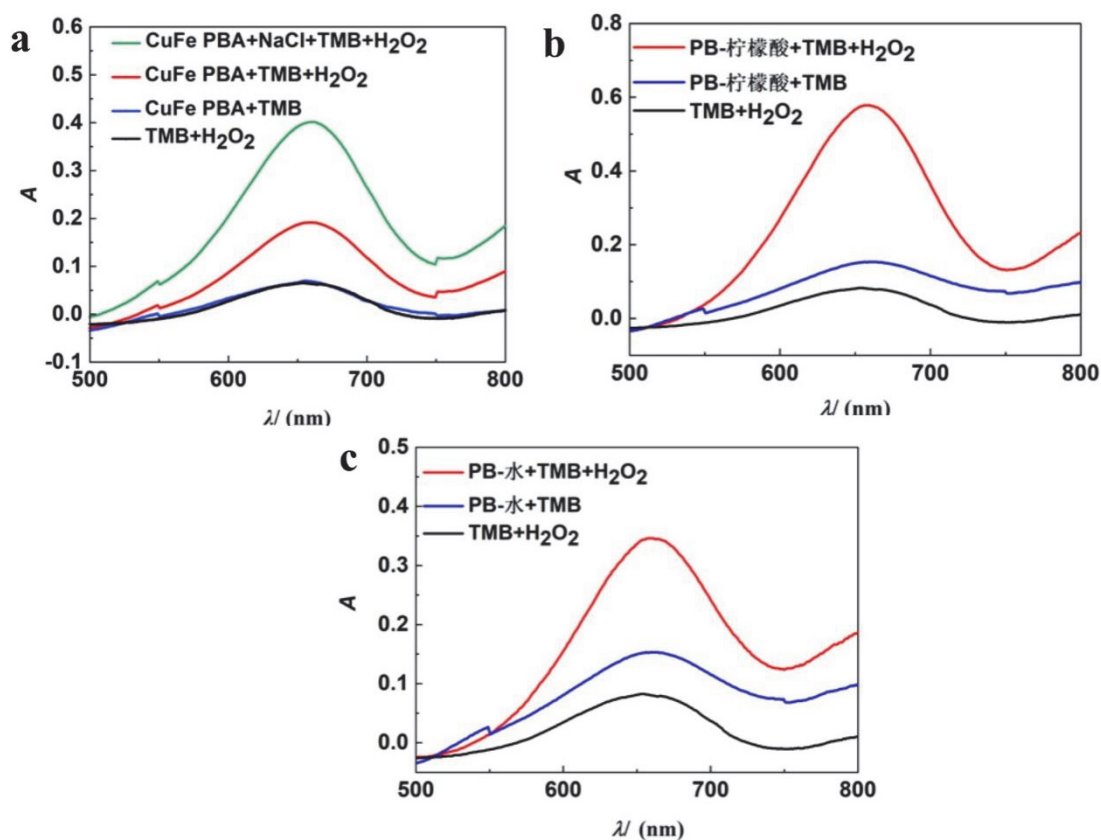


图2 三种材料催化 H_2O_2 氧化TMB的可行性分析

(a) CuFe PBA; (b) PB-柠檬酸; (c) PB-水

电子版为彩图

3.2 酶催化反应动力学性质

为了探究配体及组成对纳米酶催化性质的影响,我们测定了这三种材料催化 H_2O_2 的动力学曲线。如图3所示,向三种材料中加入TMB及不同浓度 H_2O_2 以后,混合液 $A_{652\text{ nm}}$ 都会随着反应时间的延长而增大。由于PB-柠檬酸及PB-水具有一定的氧化酶性质,所以没有 H_2O_2 的空白组其 $A_{652\text{ nm}}$ 也会随时间延长而加大,但是 H_2O_2 的存在可以加速TMB的氧化反应,而且 H_2O_2 的浓度越大,模拟酶催化反应速度越快。因此可以利用检测液 $A_{652\text{ nm}}$ 来实现对 H_2O_2 的检测。比较三种材料的催化反应动力学曲线(图3a、c、e),由于PB-柠檬酸及PB-水的氧化酶性质,导致背景信号较大,所以不利于低浓度 H_2O_2 的检测。

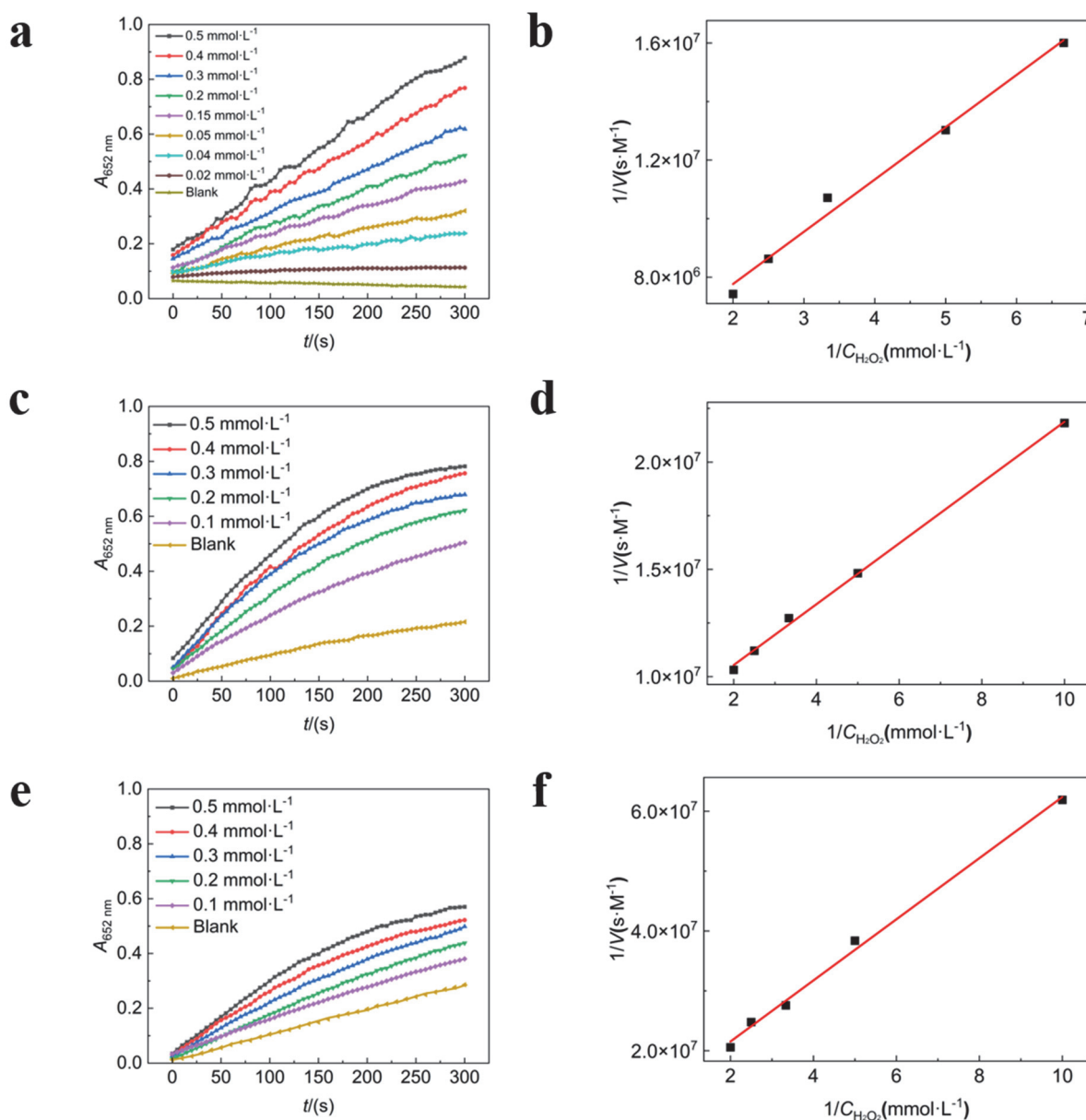


图3 三种材料催化 H_2O_2 氧化的动力学曲线(a、c、e)与双倒数曲线图(b、d、f)

(a、b) CuFe PBA; (c、d) PB-柠檬酸; (e、f) PB-水

我们以速率的倒数作为纵坐标, H_2O_2 浓度的倒数作为横坐标, 绘制了三种材料的双倒数曲线(图3b、d、f), 利用Lineweaver-Burk双倒数方程求出 K_m 和 v_{max} 。计算结果如表4所示, 与辣根过氧化物酶(HRP)相比, 三种模拟酶对 H_2O_2 的 K_m 更小, 表明这三种材料对 H_2O_2 具有更高的亲和力。其中PB-柠檬酸对 H_2O_2 的亲和力最高; CuFe PBA次之; PB-水对 H_2O_2 的亲和力最差, 而CuFe PBA催化 H_2O_2 的 v_{max} 最大。由于采用柠檬酸作为介质合成PB及CuFe PBA可能会使材料具有独特的无限网络结构, 可以增加材料的比表面积, 使其具有更多的催化活性位点和更多的电子通道^[10], 故PB-柠檬酸和CuFe PBA的 K_m 小于PB-水, 而 v_{max} 大于PB-水。

3.3 检测 H_2O_2

分别以三种纳米材料作为模拟酶对 H_2O_2 进行检测, 以CuFe PBA为例, 其对 H_2O_2 的检测结果如图4a所示, 随着 H_2O_2 浓度的增加, 溶液的颜色逐渐加深, 因此利用溶液的颜色可以实现对 H_2O_2 的半

定量检测。以 $A_{652\text{ nm}}$ 作为纵坐标, H_2O_2 浓度作为横坐标作图, 绘制标准曲线, 结果如图4b所示, 在 $0.01\text{--}0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 $0.1\text{--}0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内, $A_{652\text{ nm}}$ 与 H_2O_2 的浓度呈线性相关, 其工作曲线方程和相关系数分别为 $y = 0.0178 + 5.536x\text{ (mmol}\cdot\text{L}^{-1})$ 、 $R^2 = 0.9912$ 和 $y = 0.2543 + 1.2561x\text{ (mmol}\cdot\text{L}^{-1})$ 、 $R^2 = 0.9953$, 可能由于CuFe PBA对 H_2O_2 具有不同的催化位点, 当 H_2O_2 浓度小于 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, CuFe PBA对其催化速率更快。采用CuFe PBA作为催化剂测定三个平行消毒水样品中 H_2O_2 含量, 检测结果如表5所示, 其相对误差为5.00%, 测定结果较准确, 三次测定结果的相对标准偏差为0.45%, 加标回收率在97.50%–103.2%之间, 满足仪器分析实验基本要求。

表4 HRP与PB-水、PB-柠檬酸、CuFe PBA动力学参数对比

催化剂	底物	$K_m/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	$v_{\max}/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	参考文献
HRP	H_2O_2	3.70	0.87×10^{-7}	[11]
PB-水	H_2O_2	0.45	0.88×10^{-7}	本实验
PB-柠檬酸	H_2O_2	0.18	1.30×10^{-7}	
CuFe PBA	H_2O_2	0.42	2.38×10^{-7}	

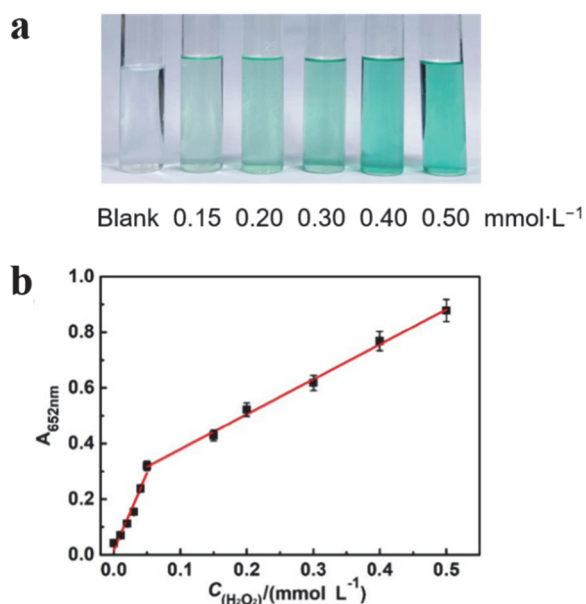


图4 采用CuFe PBA作为催化剂检测不同浓度 H_2O_2 的颜色变化图(a)及工作曲线图(b)

电子版为彩图

表5 采用CuFe PBA对消毒水中 H_2O_2 的检测结果

$C_{\text{加标量}}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	$C_{\text{检测量}}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	加标回收率/%	RSD/%
0.00	189.8	—	0.45
100	287.3	97.5	3.36
200	396.2	103.2	2.24

4 实验组织运行方式

本实验适用于已经学习了生物化学和仪器分析理论知识的学生, 实验采用小班教学, 每次面向6–12名同学进行授课, 将每6名学生分为一大组, 每个大组分为3个小组, 2名同学为一小组, 每个小

组同学合成一种普鲁士蓝或者类普鲁士蓝纳米材料,并分别开展材料表征、动力学实验及 H_2O_2 的检测实验,实验结束后三组同学分别处理实验数据后将实验结果进行比较,探究纳米材料的配体及其组成对其模拟酶性质的影响。

本实验采用共沉淀法制备普鲁士蓝及类普鲁士蓝纳米材料,材料易于合成,实验试剂安全无毒,操作简单,反应条件温和,可重复性强。实验用时为8学时,分两个阶段进行。第一阶段为4学时,内容包括:教师引导学生进行文献调研,了解模拟酶、类普鲁士蓝及 H_2O_2 检测的相关知识,教师讲述实验要点后学生开展实验,包括:溶液的配制,普鲁士蓝及类普鲁士蓝纳米材料的制备,模拟酶催化性能探究。材料的表征为可选部分,根据实际情况选择性开展。第二阶段为4学时,内容包括:利用紫外-可见光谱仪测定酶催化反应动力学曲线,绘制检测 H_2O_2 的标准曲线,并进行实际样品的检测。实验结束以后,对实验数据进行处理,三组同学对实验数据进行比较、思考并查阅资料,三个小组的同学共同完成实验报告。

5 结语

本实验将科学研究中常用的纳米酶——普鲁士蓝及类普鲁士蓝引入化学实验教学中,通过比较这三种材料的模拟酶性质,探究纳米材料在合成中组成及配体的不同对其模拟酶催化性质的影响。本实验可以开拓学生视野,帮助学生了解模拟酶和酶催化反应,学习酶催化反应动力学的测定及米氏常数的计算,巩固紫外-可见分光光度法的原理及其应用,同时也感受到科研的魅力,培养学生分析问题、解决问题的能力。本实验材料合成简单、反应条件温和,所用试剂无毒、价廉,实验现象直观,时间分配合理,适合本科生分析化学实验教学。此外本实验还可以根据学生情况进行拓展,进一步应用于电分析化学、电催化、污水处理、生物分析等领域。

参 考 文 献

- [1] Lian, J. J.; He, Y. L.; Li, N.; Liu, Z. X.; Liu, Q. Y.; Liu, P. *Inorg. Chem.* **2021**, *60*, 1893.
- [2] Gao, L.; Zhuang, J.; Nie, L.; Zhang, J.; Zhang, Y.; Gu, N.; Wang, T.; Feng, J.; Yang, D.; Perrett, S.; *et al.* *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 577.
- [3] Li, Y.; Dang, Q.; Chen, W.; Tang, L.; Hu, M. *J. Inorg. Organomet. Polym.* **2021**, *31*, 1877.
- [4] 何绮婷, 张皓帆. *大学化学*, **2021**, *36* (10), 2107107.
- [5] 吕喜凤, 秦少伟, 王芳, 宁梦瑶, 李旭. *化学教育*, **2017**, *38* (4), 43.
- [6] 李娟, 郝义俊, 孙晓毅. *化学教育*, **2019**, *40* (22), 42.
- [7] 张彦卓, 赵子明, 花亚冰. *广东化工*, **2022**, *49* (21), 262.
- [8] 穆绍林. *大学化学*, **1993**, *8* (6), 44.
- [9] Shan, Z.; Lu, M.; Wang, L.; MacDonald, B.; MacInnis, J.; Mkandawire, M.; Zhang, X.; Oakes, K. D. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 2087.
- [10] Niu, Q.; Lu, W.; Bao, C.; Wei, M.; Chen, Z.; Jia, J. *J. Electroanal. Chem.* **2020**, *874*, 114507.
- [11] Qi, X.; Tian, H.; Dang, X.; Fan, Y.; Zhang, Y.; Zhao, H. *Anal. Methods*. **2019**, *11*, 1111.