大 学 化 学
Univ. Chem. **2025,** *40* (8), 233

•化学实验• doi: 10.12461/PKU.DXHX202410016 www.dxhx.pku.edu.cn

二硫化钼纳米片的制备及其纳米酶性能探究
——介绍一个大学化学综合实验

李阳，李嘉辰*，范代娣*
西北大学化工学院，西安 710127

摘要：在科研工作基础上设计了一个综合性化学实验：通过水热法制备二硫化钼(MoS_2)纳米片；考察pH和温度对其类过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶活性的影响；探究MoS_2纳米酶的抗菌作用。本实验有助于拓展学生科学视野，启发科研兴趣，培养科学创新意识。

关键词：二硫化钼；纳米酶；抗菌；化学综合实验
中图分类号：G64；O6

Preparation of Molybdenum Disulfide Nanosheets and Investigation of Their Nanozyme Properties: A Comprehensive Undergraduate Chemistry Experiment

Yang Li, Jiachen Li *, Daidi Fan *
School of Chemical Engineering, Northwest University, Xi' an 710127, China.

Abstract: A comprehensive chemistry experiment was designed based on scientific research principles. Molybdenum disulfide (MoS_2) nanosheets were synthesized *via* a hydrothermal method. The effects of pH and temperature on the peroxidase-, catalase-, and superoxide dismutase-like activities of MoS_2 were evaluated. Additionally, the antibacterial activity of MoS_2 nanozyme was assessed. This experiment provides students with opportunities to broaden their scientific perspectives, stimulates their interest in research, and fosters a sense of scientific innovation.

Key Words: Molybdenum disulfide; Nanozyme; Antibacterial activity; Comprehensive chemistry experiment

天然酶具有较高的催化活性和底物特异性，在医疗、生物等领域得到了广泛应用。然而，由于其生产存储成本高、稳定性低、对物理化学条件敏感、回收困难等缺点[1]，研究人员致力于人工酶的探索。纳米酶是一类具有酶催化性能的纳米材料，与天然酶相比，具有成本低、稳定性强、催化活性高等优点，可替代天然酶应用于各领域[2]。迄今为止，已经发现许多具有类酶活性的纳米材料，例如氧化铁[3]、氧化铈[4]、氧化锰[5]、纳米金[6]等。

二硫化钼(MoS_2)，作为一种具有优异生物相容性的二维纳米片材料，被发现能够模拟过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶等天然酶催化反应过程，因而被广泛应用于化学/生物传感、生物成像、纳米医学、食品检测等领域[7,8]。

近年来，本课题组致力于二维纳米材料的制备及其在抗菌、抗肿瘤等方面的应用[9,10]，并且将科

收稿：2024-10-08；录用：2024-11-14；网络发表：2025-02-19
*通讯作者，Emails: lijiachen@nwu.edu.cn (李嘉辰); fandaidi@nwu.edu.cn (范代娣)

研成果中操作性强的研究内容纳入本科教学实验。本综合实验制备了二维片状纳米材料MoS_2，探究了温度和pH对其类过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶的影响，检测了MoS_2纳米酶的抗菌性能。学生不仅掌握了基本的实验操作，初步了解了MoS_2纳米酶的原理及其抗菌应用，更重要的是，培养了学生对于科学研究的兴趣。

1 实验目的

(1) 了解MoS_2纳米酶的研究现状及应用前景。
(2) 掌握MoS_2纳米片的高温水热制备方法。
(3) 了解pH和温度对MoS_2不同类酶活性的影响。
(4) 掌握MoS_2纳米酶活性和抗菌性能的测定方法以及原理。

2 实验原理

水热法是一种重要的化学合成方法，利用水在超临界状态下的独特性质，促进反应物在高温高压环境中的溶解、化学反应和晶体生长。本实验中，为了制备MoS_2纳米片，以钼酸钠为钼源，硫脲为硫源，高温高压的水热条件下在水介质中反应生成目标产物，简单快速，环保高效。MoS_2中钼离子不同价态(Mo^{4+}和Mo^{6+})之间通过得失电子相互转化，使其能够模拟天然酶，且其本身在催化反应前后并不发生变化。MoS_2纳米片能够模拟过氧化物酶催化过氧化氢(H_2O_2)分解为羟基自由基(·OH)，模拟过氧化氢酶催化H_2O_2分解为氧气(O_2)，以及模拟超氧化物歧化酶催化超氧阴离子转化为H_2O_2和O_2。特别地，MoS_2类过氧化物酶催化H_2O_2产生的高毒性·OH可导致氧化应激并破坏细菌的细胞壁和细胞膜结构，从而实现高效抗菌。

3 仪器和试剂

本实验所用仪器和实验试剂如表1、表2所示。

4 实验内容

4.1 MoS_2纳米片的制备及形貌结构表征

如图1所示，将0.6450 g的钼酸钠和0.8130 g的硫脲粉末完全溶解于40.0 mL去离子水中，置于50 mL不锈钢高压釜中后在220 °C电烤箱中反应24 h。反应结束后待水热釜冷却至室温，并将产物转移至50 mL离心管中，8000 r·min^{-1}离心洗涤三次，获得的沉淀物在60 °C下干燥得MoS_2纳米片。将干燥得到的MoS_2纳米片置于硅片上喷金，通过扫描电子显微镜观察其微观形貌特征，通过X射线衍射分析其晶体结构。

表1 本实验所用仪器

仪器名称	型号	厂家
电子分析天平	AL204-IC	日本HIRAYAMA公司
电烤箱	GZX-GFC-101-1-BS	上海博泰实验设备有限公司
离心机	H-1850R	长沙湘仪离心机仪器有限公司
便携式溶氧仪	JPBJ608	上海仪电科学仪器股份有限公司
酶标仪	ELX808	美国BioTek公司
X射线粉末衍射仪	Rigaku D/Max III	日本rigaku公司
扫描电子显微镜	Zeiss Ultra 55	德国卡尔蔡司公司
测温仪	K6	深圳航天紫金医疗器械有限公司
808 nm近红外激光照射仪	VCL-808 nm M0-2W	北京宏蓝光电科技有限公司

表2　本实验所用实验试剂

试剂名称	纯度	厂商
钼酸钠	AR	上海阿拉丁试剂有限公司
硫脲	AR	上海阿拉丁试剂有限公司
3,3,5,5-四甲基联苯胺	AR	美国*Sigma-Aldrich*公司
核黄素	AR	北京索莱宝科技有限公司
L-甲硫氨酸	AR	北京索莱宝科技有限公司
氯化硝基四氮唑蓝	AR	北京索莱宝科技有限公司
过氧化氢	30%	天津欧博凯化工有限公司

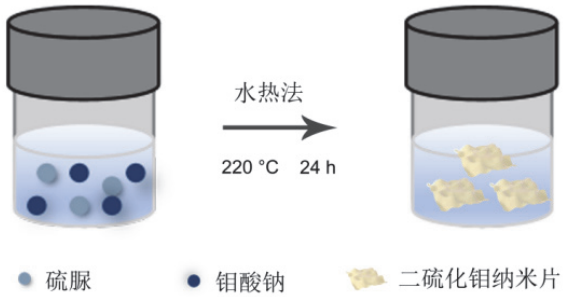

图1　MoS_2纳米片制备示意图

4.2　MoS_2类过氧化物酶性质表征

MoS_2纳米片的类过氧化物酶性质可通过3,3,5,5-四甲基联苯胺(TMB)氧化来检测。在过氧化氢(H_2O_2)存在的条件下，TMB可通过类过氧化物酶的催化作用氧化为蓝色的氧化TMB，同时在紫外吸收峰652 nm处出现特征吸收峰。本实验探讨了pH和温度对MoS_2纳米片类过氧化物酶活性的影响。pH设置为2.50、3.00、4.00、5.00、6.00、7.00，温度为15、25、37、50、60 °C。

① 将24.0 mg的TMB粉末溶解于1.00 mL的DMSO试剂中配制TMB溶液。

② 将40 μL的100 μmol·L^{-1}的H_2O_2、5.0 mg的MoS_2纳米片、80 μL的TMB依次加入到5.00 mL不同pH的磷酸盐缓冲液中室温反应20 min。或将40 μL的100 μmol·L^{-1}的H_2O_2、5.0 mg的MoS_2纳米片、80 μL的TMB依次加入到5.00 mL pH为4.00的磷酸盐缓冲液中，不同温度下反应20 min。

③ 酶标仪测定上清液在652 nm处的吸光度。

④ 以pH或温度为横坐标，吸光度为纵坐标作图。

4.3　MoS_2类过氧化氢酶性质表征

MoS_2纳米片的类过氧化氢酶活性可将过氧化氢转化为氧气，因此，可通过监测MoS_2在H_2O_2溶液中产生氧气的浓度来评估其类过氧化氢酶活性。本实验进一步探讨了pH和温度对MoS_2纳米片类过氧化氢酶活性的影响。pH设置为5.00、6.00、7.40、8.50，温度设置为25、37、50、60 °C。

① 取1.00 mL的H_2O_2 (1.00 mol·L^{-1})，并和5.0 mg的MoS_2纳米片分别加入到20.0 mL不同pH的PBS溶液中，室温下搅拌。或取1.00 mL的H_2O_2 (1.00 mol·L^{-1})，并和5.0 mg的MoS_2纳米片分别加入到20.0 mL pH为7.00的PBS溶液中，不同温度下搅拌。

② 溶解氧测定仪记录溶液中氧气浓度变化。

③ 以时间横坐标，氧浓度为纵坐标作图。

4.4　MoS_2类超氧化物歧化酶性质表征

MoS_2纳米片的类超氧化物歧化酶可催化超氧阴离子转化为过氧化氢和氧气。本实验通过计算氯化硝基四氮唑蓝的光还原抑制能力来确定MoS_2的类超氧化物歧化酶活性，探讨了温度和pH对类超氧

化物歧化酶活性的影响。pH设置为5.00、6.00、7.40、8.50，温度设置为25、37、50、60 °C。

① 将75.2 mg核黄素、61.3 mg氯化硝基四氮唑蓝、187.5 mg L-甲硫氨酸分别溶解于100.0、10.0、98.0 mL不同pH的PBS溶液中。

② 取核黄素和氯化硝基四氮唑蓝溶液各1.00 mL，并与98.0 mL的L-甲硫氨酸溶液混合。

③ 称取5.0 mg的MoS_2纳米片，将其均匀分散在10.0 mL混合后的溶液中，室温下施以恒定的光强照射15 min。

④ 测定上清液在560 nm处的吸光度，并依照式(1)计算超氧阴离子清除率。

$$超氧阴离子清除率(\%) = (A_o - A_n)/(A_p - A_n) \times 100\% \quad (1)$$

A_o，A_n和A_p分别代表样品组(添加MoS_2纳米片，且施以恒定光强照射15 min)、阴性对照组(不添加MoS_2纳米片，且至于黑暗处避光)、阳性对照组(不添加MoS_2纳米片，且施以恒定光强照射15 min)的吸光度。

⑤ 以pH为横坐标，超氧阴离子清除率为纵坐标作图，探究pH对MoS_2类超氧化物歧化酶活性的影响。

探究温度对MoS_2类超氧化物歧化酶活性的影响时，步骤①中，将75.2 mg核黄素、61.3 mg氯化硝基四氮唑蓝、187.5 mg L-甲硫氨酸分别溶解于100.0、10.0、98.0 mL pH为7.00的PBS溶液中。步骤③中，在不同温度下施以恒定的光强照射15 min。步骤⑤中，以温度为横坐标，超氧阴离子清除率为纵坐标作图。

4.5 MoS_2的抗菌性能表征

通过平板计数法确定水凝胶对细菌的生长抑制作用。将活化好的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌细菌悬浮液分成2组(空白对照组、MoS_2 + H_2O_2组)，每组1.00 mL。细菌在不同处理下孵育30 min后，将100.0 μL稀释的细菌涂布在固体培养基上，37 °C下培养24 h后观察菌落数。MoS_2 + H_2O_2组中，MoS_2添加量为5.0 mg，H_2O_2为100 μmol·L^{-1}。

5 结果与讨论

5.1 MoS_2形貌结构表征

如图2中的扫描电镜图所示，本实验通过高温水热法制备的MoS_2是一种二维片层状纳米材料。X射线衍射图谱可看出，MoS_2的晶体衍射图对应编号为37-1492的标准卡片[11]，证明其成功合成。

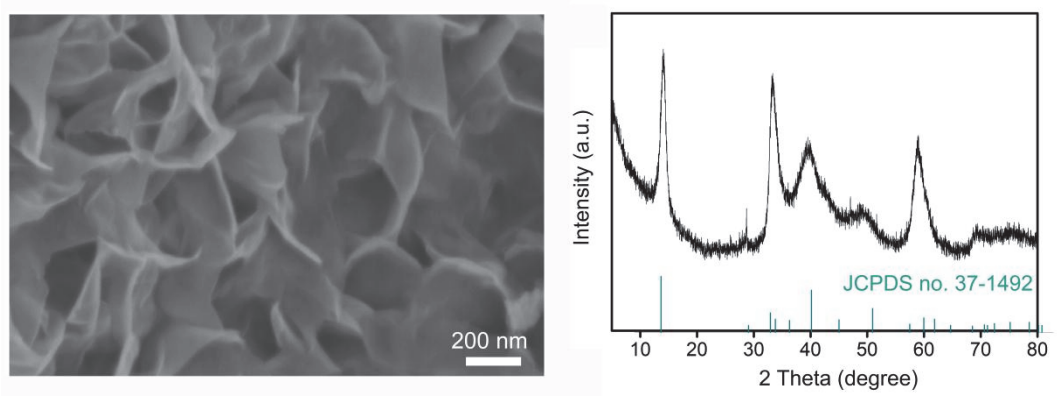

图2 MoS_2纳米片的扫描电镜(左)及X射线衍射图谱(右)

5.2 MoS_2类过氧化物酶性质

我们探讨了pH和温度对MoS_2纳米片类过氧化物酶活性的影响。如图3所示，类过氧化物酶活性随着pH的增大呈先增后减趋势，且当pH为3.00时，吸光度最大，类酶活性最高。此外，类过氧化物

酶活性随着温度的升高也呈先增后减趋势，当温度为25 °C或37 °C时，产生·OH的能力较高。因此，与天然酶一样，纳米酶也具有其最佳pH和温度工作范围。

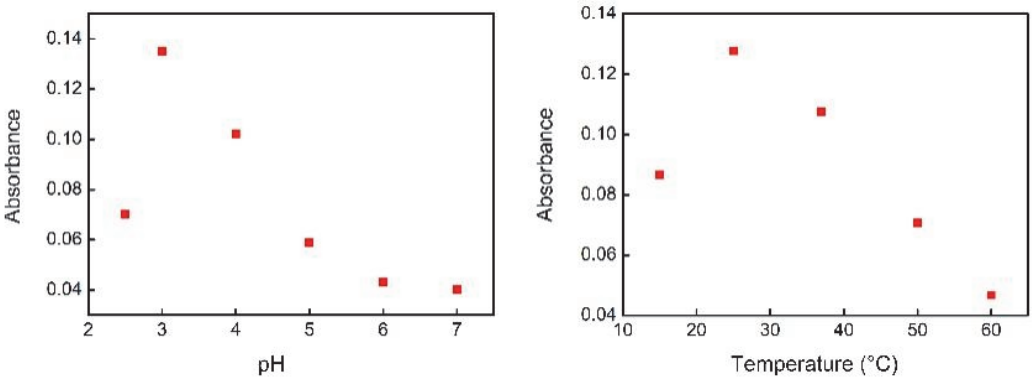

图3　pH (左)及温度(右)对MoS_2纳米片类过氧化物酶活性的影响

pH：2.50、3.00、4.00、5.00、6.00、7.00；温度：15 °C、25 °C、37 °C、50 °C、60 °C

5.3　MoS_2类过氧化氢酶性质

我们进一步探讨了pH及温度对MoS_2纳米片类过氧化氢酶活性的影响(图4)。可以看出，在pH为6.00–8.50之间，MoS_2均展现出较高的类过氧化氢酶活性，可催化过氧化氢分解为大量氧气。且当pH为7.40时，氧浓度最高，可达到25.0 mg·L^{-1}。此外，当温度处于25–50 °C范围内时，温度越高，MoS_2模拟过氧化氢酶催化过氧化氢分解为氧气的能力越强。

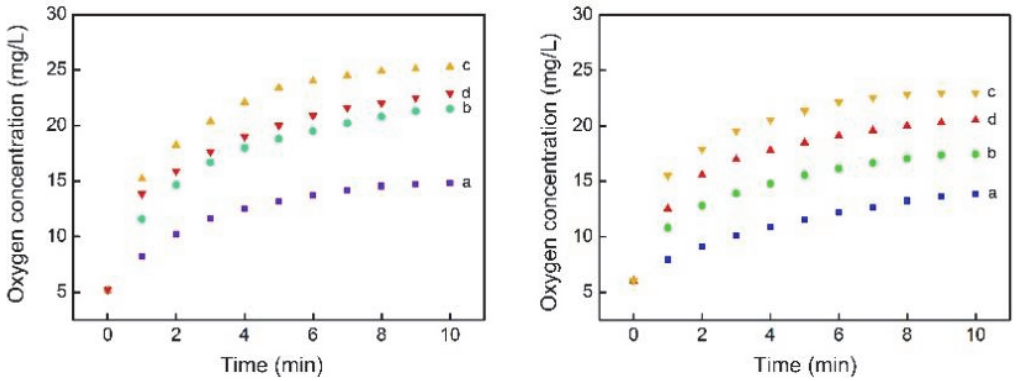

图4　pH (左)及温度(右)对MoS_2纳米片类过氧化氢酶活性的影响

pH：(a) 5.00、(b) 6.00、(c) 7.40、(d) 8.50；温度：(a) 25 °C、(b) 37 °C、(c) 50 °C、(d) 60 °C

5.4　MoS_2类超氧化物歧化酶性质

我们进一步探讨了pH和温度对MoS_2纳米片类超氧化物歧化酶活性的影响(图5)。可以看出，MoS_2类超氧化物歧化酶活性随着pH的增大呈先增后减趋势，在中性及弱碱性条件下展示出较高活性。当pH为7.40时，超氧阴离子清除率可达近90%，类超氧化物歧化酶活性最强。此外，随着温度的升高，超氧阴离子清除率逐渐增大，类超氧化物歧化酶活性得到提升，可能是由于温度升高导致分子运动加快，从而促进反应进行。

5.5　MoS_2抗菌性能

MoS_2纳米片基于其优异的类过氧化物酶活性，可通过活性氧(ROS)有效抑制革兰氏阴性菌大肠杆菌和革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌的生长。如图6所示，相较于空白对照组，MoS_2 + H_2O_2组中菌

落数大量减少，只有小部分细菌存活。这是因为，在H_2O_2存在时，MoS_2纳米片可以借助其类过氧化物酶活性产生大量ROS，并杀死大肠杆菌和金黄色葡萄球菌，实现高效抗菌。

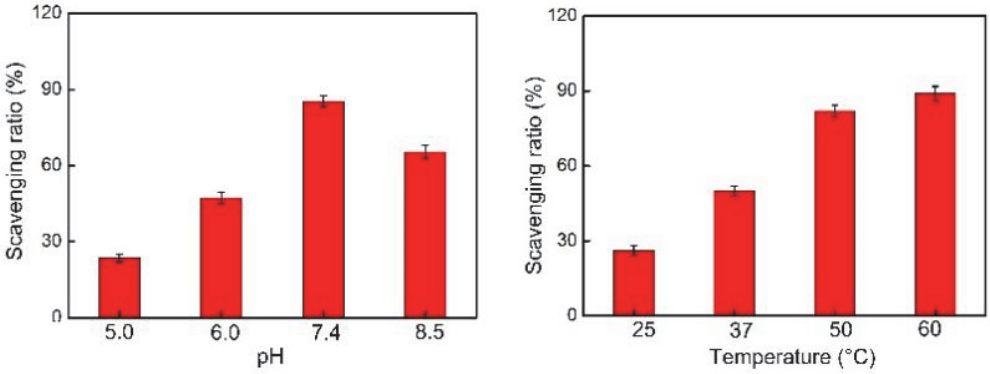

图5　pH (左)及温度(右)对MoS_2纳米片类超氧化物歧化酶活性的影响

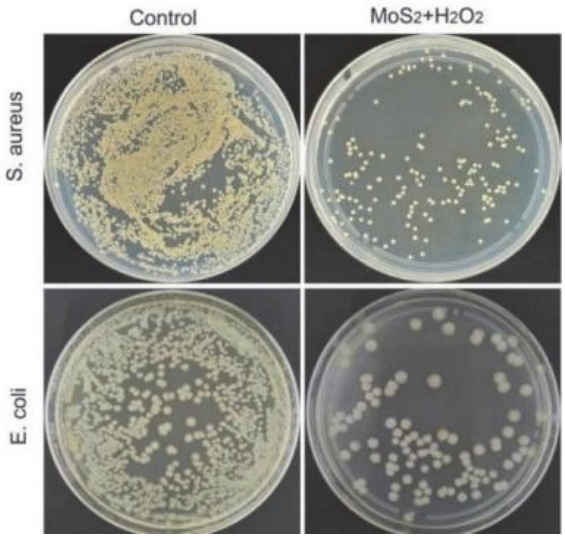

图6　MoS_2纳米片抗菌性能

6　实验教学组织形式

本综合实验开设之初即被纳入面向我校化工学院大二学生开设的化学创新实验中，目前已经运行2轮。建议本实验以30人以下的小班教学为宜，小组形式开展，每组3人。整个综合实验分为3个阶段完成：

(1) 理论课，介绍MoS_2纳米片的高温水热制备方法及其纳米酶原理，2学时；

(2) 实验课，MoS_2纳米片的制备及其形貌结构表征，约10学时；

(3) 实验课，MoS_2纳米片类酶活性及抗菌性能检测，约12学时。

实验结束后，学生以小组为单位对实验数据进行处理，查阅资料分析实验结果，共同完成实验报告。此外，本实验要求学生课前进行文献调研，并根据实验目的和实验内容做好预习。

7　拓展实验

近些年，光热抗菌已经成为研究热点。具有光热转化效应的纳米材料能够将光能转化为热能，使局部温度升高，破坏细菌细胞膜并导致蛋白质变性，从而实现高效抗菌。MoS_2纳米片不仅具有高

表面积和易于修饰的特点，且由于量子限制效应，其近红外吸光度显著增加，具有高效的光热转化效应。因此，在后续的教学中，我们会将MoS_2纳米片的光热转化性能引进本科实验教学中，并进一步探讨纳米酶联合光热抗菌作用，激发学生的科研兴趣。

7.1 MoS_2纳米片光热转化性质表征方法

称取5.0 mg的MoS_2纳米片，并将其分散于1.00 mL的水溶液中。不同功率(1.0、1.5、2.0 W·cm^{-2})的808 nm近红外激光照射10 min，并通过测温仪每1 min记录一次溶液温度。以激光照射时间为横坐标，温度为纵坐标作图。

7.2 MoS_2纳米片的光热转化性能检测

如图7所示，在808 nm近红外激光照射下，溶液温度逐渐上升，且随着激光照射功率的增大，溶液所能达到的温度亦随之增大。激光照射10 min后，温度最高可达50.3 °C。此外，我们还探究了MoS_2纳米片的循环光热转化行为，当近红外激光照射开启时，溶液温度逐渐上升，而当激光照射关闭时，温度随之下降。且3次循环过程中，光热转化呈稳定性。

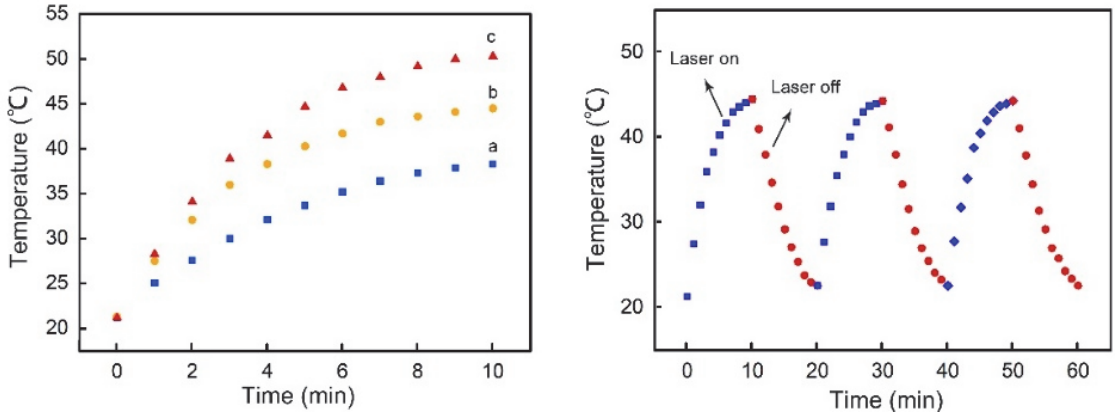

图7 MoS_2纳米片在808 nm近红外激光不同功率下的光热转化性能(左)及MoS_2纳米片的循环光热转化性能(右)

功率：(a) 1.0 W·cm^{-2}、(b) 1.5 W·cm^{-2}、(c) 2.0 W·cm^{-2}

8 结语

本实验利用经典高温水热法制备MoS_2纳米片，表征了其形貌结构、纳米酶活性及抗菌性能，分析了pH和温度对不同类酶活性的影响，探究了纳米酶抗菌性能。该实验不仅能够拓展学生对于纳米材料合成、纳米酶活性表征、抗菌等实验的操作能力，还能够让学生了解MoS_2纳米片的类酶活性原理、pH与不同纳米酶活性之间的关系、MoS_2纳米片的抗菌应用以及原理等，进而激发化学专业本科学生对于二维纳米材料科学前沿的探索热情。此外，本实验内容操作简单、现象明显、实验结果稳定、所用试剂无毒价廉，实验现象直观，时间分配合理，适合本科生化学实验教学。

参 考 文 献

[1] 吴贤波，文梅，厉江华，黄健涵，刘又年，陈万松. 大学化学, **2022,** *37* (3), 2110064.

[2] 刘梦婷，杨树芬，薛雨，臧嘉妍，苏权燕，郑兴烨，曹秋娥，周川华. 大学化学, **2023**, *38* (9), 163.

[3] Dai, W. Y.; Shu, R. Y.; Yang, F.; Li, B.; Johnson, H. M.; Yu, S.; Yang, H.; Chan, Y. K.; Yang, W. Z.; Bai, D.; *et al. Adv. Mater.* **2024,** *36*, 2305277.

[4] Yu, Z. C.; Tang, J.; Gong, H. X.; Gao, Y.; Zeng, Y. Y.; Tang, D. P.; Liu, X. L. *Adv. Funct. Mater.* **2023,** *33*, 2301456.

[5] Guo, N.; Wu, Q. X.; Gan, H. X.; Chen, Y.; Ran, M. N.; Chen, J.; Xie, G. L.; Zhang, Y.; Wang, Q.; Liu, Y. *Chem. Eng. J.* **2024,** *499*, 156172.

[6] Li, Y.; Fu, R. Z.; Duan, Z. G.; Zhu, C. H.; Fan, D. D. *Small* **2022,** *18*, 2200165.

[7] Lu, X. Y.; Li, Y. Y.; Duan, X. M.; Zhu, Y. F.; Xue, T.; Rao, L. M.; Wen, Y. P.; Tian, Q. Y.; Cai, Y.; Xu, Q.; *et al*. *Microchem. J.* **2021,** *168*, 106418.

[8] Wang, G. T.; Wang, T.; Dang, Y.; Lu, Z. W.; Su, G. H.; Feng, B.; Zhuo, Y.; Jiang X. M.; Ye, Q. B.; Wu, C.; *et al*. *Chem. Eng. J.* **2023,** *461*, 141959.

[9] Li, Y.; Fu, R. Z.; Duan, Z. G.; Zhu, C. H.; Fan D. D. *Adv. Healthc. Mater.* **2022,** *11*, 2101849.

[10] Li, Y.; Fu, R. Z.; Duan, Z. G.; Zhu, C. H.; Fan D. D. *Bioact. Mater.* **2022,** *9*, 461.

[11] Wang, X.; Cao, X. H.; Ding, E. J.; Yin, M.; Huang, L. Q.; Zhang L. Y. *Carbon* **2024,** *221*, 118887.