

Comprehensive Experimental Design for Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide with Ferroferric Oxide Nanozyme

Yunfan Zhou Jun Chen Xu Chen*

School of Chemistry, Beijing University of Chemical Technology, Beijing, 100029, China

Abstract

Interdisciplinary integration is one of the effective ways of scientific innovation. In the senior year of university, setting up interdisciplinary comprehensive experimental courses is of great significance for cultivating students' interdisciplinary cogitation and original innovation ability. In this paper, Fe_3O_4 magnetic nanoparticles (Fe_3O_4 MNPs) with peroxidase like activity were designed and synthesized based on the emerging field of nanotechnology and enzyme catalysis, which were applied to the colorimetric detection of hydrogen peroxide (H_2O_2). This comprehensive chemistry experiment is a typical interdisciplinary experiment. It not only involves the preparation, characterization and application of inorganic nanomaterials in the field of analysis and detection, but also covers the catalytic mechanism and activity characterization of nanomaterials mimic enzymes. Through the presentation of the basic knowledge of the experiment, as well as the training of experimental operation and data processing, students' comprehensive practical ability can be improved and their innovative thinking of interdisciplinary integration can be cultivated.

Keywords

comprehensive experiment; nanozyme; ferroferric oxide; colorimetric detection; hydrogen peroxide

四氧化三铁纳米酶比色检测过氧化氢的综合实验设计

周贇璠 陈俊 陈旭*

北京化工大学化学学院, 中国·北京 100029

摘要

学科间交叉融合是科学创新的有效途径之一, 在大学高年级开设交叉学科的综合实验课程对培养学生跨学科思维和原始创新能力具有重要的意义。论文基于纳米技术与生物酶催化两个学科交叉衍生的新兴领域——纳米酶, 设计并合成了具有类过氧化物酶活性的 Fe_3O_4 磁性纳米粒子(Fe_3O_4 MNPs), 应用于过氧化氢(H_2O_2)的比色检测。该综合化学实验不仅涉及了无机纳米材料的制备、表征及在分析检测领域的应用, 同时涵盖了纳米材料模拟酶的催化机制和活性表征, 是典型的多学科交叉实验。通过该实验基础知识的讲述, 以及实验操作与数据处理的训练, 可以提高学生的综合实践能力和培养学科交叉融合的创新思维。

关键词

综合实验; 纳米酶; 四氧化三铁; 比色检测; 过氧化氢

1 引言

创新是社会进步的灵魂, 大学生作为新时代创新的生力军, 如何培养学生的创新思维 and 创新能力已成为高等教育的重要任务之一。学科间交叉融合是科学创新的有效途径。在大学高年级开设交叉学科的综合实践活动课程, 通过融合不

同学科的交叉内容和思维方式, 开展有效解决真实问题的教学活 动, 来引导学生多视角认识事物本质, 逐步构建系统的知识网络, 对提升学生的跨学科思维 and 创新能力具有重要的意义^[1,2]。

近年来, 纳米技术与生物学的交叉是世界各国科技界关注的焦点之一。纳米模拟酶, 简称为纳米酶(nanozyme), 既无机纳米材料的性质, 又有类似于生物酶的催化活性^[3]。2007年, 中国科学家阎锡蕴院士在国际上报道了首例纳米酶的实验证据^[4], 从此改变了人们对纳米材料生物惰性的传统认知。对比天然酶, 纳米酶具有价格便宜、制备工艺简单、稳定性好、循环利用率高等优势。纳米酶融合了生物、化学、材料和生物医学等多学科, 是中国科学家在交叉学科领域原创的典范, 已引起了国际上科学家们的广泛兴趣与高度重视

【基金项目】国家自然科学基金项目(项目编号: 201874005)。

【作者简介】周贇璠(1997-), 女, 中国河北定州人, 在读博士, 从事生物分析研究。

【通讯作者】陈旭(1975-), 女, 中国吉林辽源人, 博士, 教授, 从事纳米材料制备及其在生物分析应用研究。

[5]。至今,已有40多种不同纳米材料作为纳米酶被相继报道,其应用已经拓展到了生物^[6]、医学^[7,8]、农业^[9]、环境治理^[10]、国防安全^[11,12]等多个研究领域。

纳米酶近来发展迅速而且具有广泛的应用前景,但目前大学课程和实验教学鲜有涉及该领域的内容,因此设计了具有类过氧化物酶性质的 Fe_3O_4 MNPs 比色检测 H_2O_2 的综合实验。采用共沉淀法制备了具有类过氧化物酶活性的 Fe_3O_4 MNPs,该纳米酶在 H_2O_2 存在下可催化过氧化物酶的变色底物3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)氧化生成蓝色产物,产物的吸光度与 H_2O_2 浓度成正比,因此通过反应后产物的吸光度可以间接测出 H_2O_2 的浓度。通过该综合实验的开展,使学生学习纳米酶的相关概念,了解纳米酶的应用领域以及比色检测法的原理,锻炼学生的数据处理与动手操作能力,促进学生不同学科之间的交叉融合能力。

2 实验目的

- ①了解纳米酶的概念及应用领域。
- ②熟悉 Fe_3O_4 MNPs的制备方法及表征手段。
- ③掌握 Fe_3O_4 MNPs比色检测 H_2O_2 的原理及具体操作方法。

3 实验原理

比色检测法是利用反应体系中信号分子颜色的改变,通过紫外可见分光光度计检测体系吸光度,从而确定目标物浓度的方法^[13]。比色传感法检测 H_2O_2 通常采用能够分解 H_2O_2 的材料作为催化剂,如HRP或具有类过氧化物酶活性的纳米酶,促进 $\cdot\text{OH}$ 的生成,氧化TMB、邻苯二胺(OPD)或2,2'-叠氨基双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)等显色底物,通过反应体系颜色的改变来检测 H_2O_2 ^[14]。

在本次实验中,利用 Fe_3O_4 MNPs的类过氧化物酶活性,该纳米酶在 H_2O_2 存在下,将无色底物TMB氧化为蓝色的氧化产物oxTMB,该氧化产物在652nm处具有强烈的吸收峰,由于底物 H_2O_2 浓度与产物oxTMB吸光度成正比关系,因此可以利用紫外可见分光光度计对产物吸光度进行检测,从而达到检测 H_2O_2 的目的^[15-17]。

Fe_3O_4 MNPs比色检测 H_2O_2 见图1。

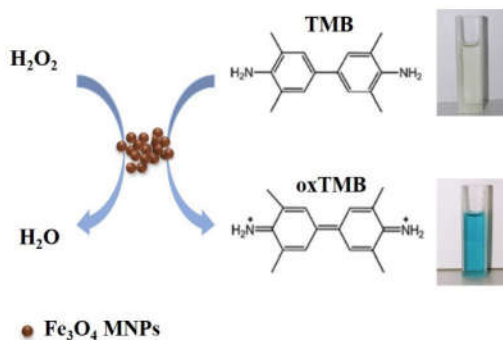


图1 Fe_3O_4 MNPs比色检测 H_2O_2

4 试剂与仪器

4.1 试剂

3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、氯化铁($\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、氯化亚铁($\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、10mol/L H_2O_2 (质量分数30%)、浓氨水(质量分数25%)、无水乙醇、柠檬酸、磷酸氢二钠、柠檬酸三钠。

4.2 主要仪器

紫外可见分光光度计、容量瓶、三口烧瓶、冷凝管、磁力搅拌器、分析天平、磁体、移液枪。

5 实验步骤

5.1 Fe_3O_4 MNPs的制备

本实验通过共沉淀法制备 Fe_3O_4 MNPs。准确称取2.70g $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.01 mol), 0.99g $\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.005mol) 溶解于去离子水中,将混合液转移至三口烧瓶,并加去离子水稀释至100mL,放入恒温水浴锅内并加热到80°C,在 N_2 的保护和机械搅拌下,逐滴加入10mL浓氨水(质量分数25%),滴加完毕后继续向混合溶液中滴加40mL、0.1mol/L的柠檬酸三钠作为表面活性剂,恒温搅拌1.0h。反应完成后利用外部磁体收集反应所得磁性纳米颗粒,去离子水洗涤2次,无水乙醇洗涤3次后室温自然晾干,保存备用。

5.2 材料表征

通过共沉淀法制备 Fe_3O_4 MNPs后,利用透射电子显微镜(TEM)或扫描电子显微镜(SEM)观察样品的形貌和尺寸。

5.3 磷酸盐缓冲溶液(PBS)、TMB、 H_2O_2 与 Fe_3O_4 MNPs溶液配置

①室温下,不同PBS缓冲溶液由0.02mol/L Na_2HPO_4 和0.01mol/L柠檬酸按表1中比例混合而成(实验时按表1中所给比例配置实际需要总量,现配现用)。

表1 不同pH磷酸盐缓冲液配制方法(单位:mL)

pH	Na_2HPO_4 体积	柠檬酸体积	总体积
2.2	0.40	10.60	11.00
3.0	4.11	15.89	20.00
4.0	7.71	12.29	20.00
5.0	10.30	9.70	20.00
6.0	12.63	7.37	20.00

②2.5mg/mL TMB溶液:2.5mg TMB加入到1mL无水乙醇中充分溶解得到2.5 mg/mL TMB溶液,实验中所需其他浓度按比例配置即可(实验时按上述比例配置实际需要总量,现用现配)。

③ H_2O_2 溶液:取30 μL 10mol/L的 H_2O_2 (即质量分数30%的 H_2O_2)加入到1470 μL 去离子水中稀释,得到浓度为0.2mol/L的 H_2O_2 溶液。后续所需其他梯度浓度 H_2O_2 溶液逐步稀释即可(实验时按上述比例配置实际需要总量,现用现配)。

④ 0.25mg/mL Fe_3O_4 MNPs 溶液: 2.5mg Fe_3O_4 MNPs 加入到 1mL 去离子水中充分溶解得到 2.5mg/mL Fe_3O_4 MNPs 溶液, 再稀释 10 倍得到 0.25mg/mL 的 Fe_3O_4 MNPs 溶液(实验时按上述比例配置实际需要总量, 现用现配)。

5.4 Fe_3O_4 MNPs 的类过氧化物酶活性研究

对照实验: 体系一 PBS+TMB+ Fe_3O_4 MNPs+ H_2O_2 ; 体系二 PBS+TMB+ Fe_3O_4 MNPs; 体系三 PBS+TMB+ H_2O_2 ; 体系四 PBS+TMB。

体系一: 取 2.4mL pH3.0 的 PBS 缓冲溶液于比色皿中, 依次加入 120 μL 2.5mg/mL TMB、120 μL 0.25mg/mL Fe_3O_4 MNPs 和 360 μL 0.2mol/L H_2O_2 , 室温下反应 10min, 利用紫外可见分光光度计检测该混合溶液在 652nm 处吸光度大小。

体系二、三、四作为对照组, 试剂滴加顺序与实验组体系一保持一致。作为对照组, 与实验组相比不需要添加的试剂以等量的 pH3.0 PBS 代替。

为保证单一变量原则, 四个体系均使用 pH3.0 PBS, 0.2mol/L H_2O_2 和 2.5mg/mL TMB, 且混合溶液总量为 3mL。

5.5 溶液 pH 对 Fe_3O_4 MNPs 类过氧化物酶活的研究

分别在 pH 为 2.2、3.0、4.0、5.0、6.0 的 PBS 缓冲溶液中, 全部采用与上述 5.4 中“体系一”完全相同的条件与步骤, 室温下反应 10min 后, 利用紫外可见分光光度计检测混合溶液在 652nm 处吸光度大小。

5.6 Fe_3O_4 MNPs 的稳态动力学分析

在室温及 Fe_3O_4 MNPs 的最适 pH3.0 条件下, 分别改变底物 TMB 浓度 (50~400 $\mu\text{mol/L}$) 和 H_2O_2 浓度 (0.1~1.5mmol/L), 测定反应体系在 652nm 处吸光度。

具体操作: 取 2.4mL pH 3.0 PBS 缓冲溶液于比色皿中, 依次加入 120 μL 2.5mg/mL TMB、120 μL 0.25mg/mL Fe_3O_4 MNPs 和 360 μL H_2O_2 。保持 TMB 浓度为 2.5mg/mL 不变, 依次改变 H_2O_2 的浓度为 0.1、0.2、0.4、1.0、1.5mmol/L。充分混合后, 在紫外可见分光光度计 652nm 的时间扫描模式下监测反应。

类似地, 在相同条件下保持 H_2O_2 浓度为 0.2mol/L 不变, 依次改变 TMB 浓度为 50、100、200、300、400 $\mu\text{mol/L}$, 充分混合后, 在紫外可见分光光度计 652nm 的时间扫描模式下监测反应。

首先, 根据反应 60s 时在 652nm 处的吸光度, 利用朗格比尔定律 $A=abc$ 计算产物的浓度。其中, A 为吸光度, c 为产物浓度 (mol/L), e 为 TMB 的摩尔吸光系数 39000/(M·cm), b 为光程长度 (cm)。然后, 由 $V=c/t$ 计算反应速率。最后, 由米氏方程 $V=(V_{\max}[S])/(K_m+[S])$ 计算相关酶促反应动力学参数 K_m 和 V_{\max} , 其中 V 为反应初始速度, V_{\max} 为反应最大速度, $[S]$ 为底物浓度; K_m 为米氏常数; K_m 值的物理意义为反应速度达到一半的 V_{\max} 时的底物浓度 (即此时 $K_m=[S]$), 单位一般为 mol/L, 只由酶的性质决定, 而与酶的浓度无关^[15-17]。

5.7 比色检测 H_2O_2

取 2.4mL pH 3.0 PBS 缓冲溶液于比色皿中, 依次加入 120 μL 2.5mg/mL TMB、120 μL 0.25mg/mL Fe_3O_4 MNPs 和 360 μL 不同浓度的 H_2O_2 (0.1、0.2、0.4、1.0、1.5mmol/L), 充分混合后反应 10min, 利用紫外可见分光光度计检测样品在 652nm 处吸光度。将 H_2O_2 浓度与对应吸光度值绘制成标准曲线, 可以得到相关系数 R^2 , 并根据方程 $\text{LOD}=3\delta/S$ 计算得到 H_2O_2 检测限。其中, δ 为空白对照组的的标准偏差; S 为标准曲线斜率 (空白对照组为 PBS + TMB + H_2O_2 , 操作同 5.4)。

6 结果讨论

6.1 Fe_3O_4 MNPs 形貌表征

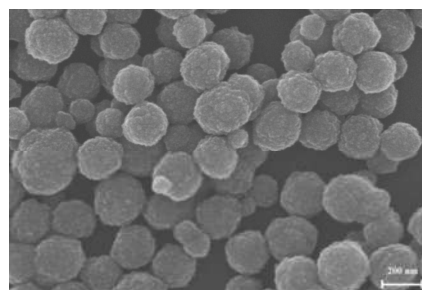


图 2 Fe_3O_4 MNPs 的 SEM 图

利用扫描电子显微镜 (SEM) 观察制备的 Fe_3O_4 MNPs 形貌和尺寸。由图 2 可以看出, Fe_3O_4 MNPs 呈现出球状形态, 平均粒径在 200nm 左右。

6.2 Fe_3O_4 MNPs 的类过氧化物酶活性研究

通过对照实验研究了 Fe_3O_4 MNPs 的类过氧化物酶活性, 如图 3 所示。单独的 TMB (体系四) 本身不会发生氧化反应, 在 652nm 处没有吸收峰, 当在 TMB 中加入 H_2O_2 (体系三) 或 Fe_3O_4 MNPs (体系二) 时对 TMB 有轻微的氧化能力, 在 652nm 处有弱的吸收峰, 只有在 Fe_3O_4 MNPs、TMB、 H_2O_2 同时加入时出现明显的吸收峰, 由此证明 Fe_3O_4 MNPs 具有类过氧化物酶活性。

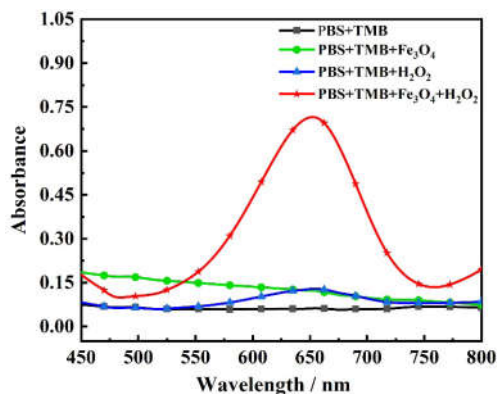


图 3 不同反应体系溶液的紫外可见吸收图谱

6.3 溶液 pH 对 Fe₃O₄ MNPs 酶活的影响

与天然酶相似，反应条件如溶液 pH 值的变化也会影响纳米酶的催化活性。因此，在缓冲溶液 pH2.2~6.0 范围内研究了溶液 pH 对 Fe₃O₄ MNPs 纳米酶活性的影响。如图 4 所示，随着 pH 的逐渐增大，纳米酶的催化活性表现出先增大后减小的趋势，在 pH3.0 时出现最大的相对催化活性。反应体系的吸光度表现出先增大后减小的趋势，在 pH3.0 时出现最大的吸光度值。由此可知，Fe₃O₄ MNPs 的催化活性受 pH 的影响，并在 pH3.0 时表现出最高的类过氧化物酶活性。因此，选择 pH3.0 的缓冲溶液作为接下来实验中的最优 pH 值。

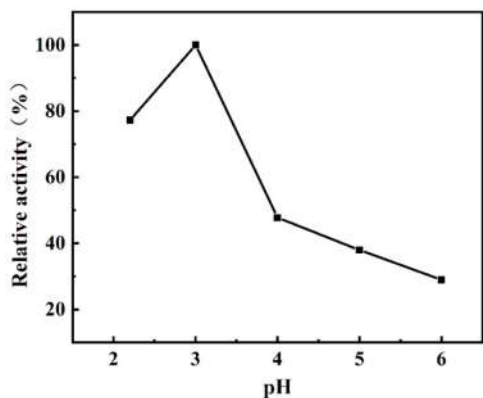


图 4 溶液 pH 对 Fe₃O₄ MNPs 纳米酶催化性能的影响

6.4 Fe₃O₄ MNPs 的稳态动力学分析

为了研究 Fe₃O₄ MNPs 作为类过氧化物酶的动力学机制，通过保持一个底物浓度不变，改变另一个底物浓度进行稳态动力学分析。在最适 pH3.0 溶液条件下，分别对底物 TMB 和 H₂O₂ 的稳态动力学曲线进行研究。通过绘制初始反应速率与浓度的关系获得 TMB 和 H₂O₂ 的 Michaelis-Menten 曲线。根据双倒数曲线可以计算 Michaelis-Menten 常数 (K_m) 和最大反应速度 (V_{max})。

反应速率 V 与底物浓度与对应曲线如图 5A 和图 5C 所示，随底物浓度增加，反应速率 V 逐渐增加，在达到一定程度时趋于饱和，这种特征符合典型的米氏方程。先计算底物浓度和催化初始速率的倒数，然后对它们作图后进行线性拟合得到图 5B 和 5D 对应的双倒数 Lineweaver-Burk 图。根据双倒数曲线拟合出的线性方程 $1/V = (K_m/V_{max}) \cdot (1/[S] + 1/V_{max})$ ，计算得到相应的稳态动力学数据 V_{max} 和 K_m 。 K_m 的值只由酶的性质决定，而与酶的浓度无关，因此通常被认为是酶与特定底物亲和力的指标， K_m 值越小，说明酶与底物的亲和力越强，所研究催化剂的效率越高。由表 2 可以看出，在以 Fe₃O₄ MNPs 作为纳米酶催化时，底物 TMB 和 H₂O₂ 所对应的 K_m 值均比天然 HRP 作为酶催化时的 K_m 值小，说明 Fe₃O₄ MNPs 与底物 TMB 和 H₂O₂ 的亲和力比 HRP 高，但以 Fe₃O₄ MNPs 作为纳米酶催化时，底物 TMB 和 H₂O₂ 所对应的 V_{max} 值均比 HRP 作为酶催化时的 V_{max} 值小，说明合成的

Fe₃O₄ MNPs 类过氧化物酶活性，天然酶 HRP 的催化活性更高。

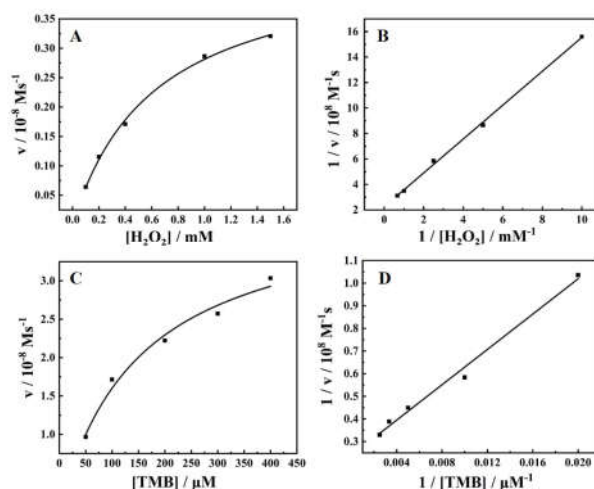


图 5 Fe₃O₄ MNPs 的稳态动力学测定

表 2 Fe₃O₄ MNPs 与 HRP 的 K_m 和 V_{max} 参数的比较

催化剂种类	V_{max} (10^{-8} mol/ (L*s))		K_m (mmol/L)		参考文献
	TMB	H ₂ O ₂	TMB	H ₂ O ₂	
Fe ₃ O ₄ MNPs	4.19	0.44	0.163	0.591	本研究
HRP	10.00	8.71	0.434	3.70	[3]

6.5 比色检测 H₂O₂

基于上述研究结果，在 pH3.0 缓冲液、TMB 浓度 2.5mg/mL 及反应时间为 10min 时，构建 Fe₃O₄ MNPs 纳米酶用于比色检测 H₂O₂ 的实验平台，于 652nm 波长处测量不同浓度 H₂O₂ 的紫外可见吸光度值。如图 6 所示，随 H₂O₂ 浓度增大，混合体系在 652nm 处吸光度逐渐增大，并在 0.1~1.5mmol/L 内呈现较好的线性关系，线性方程为 $y = 0.2134 + 0.16625x$ ，其中 y 为吸光度值， x 为 H₂O₂ 的浓度，相关系数 $R^2 = 0.993$ ，检测限 (LOD) 为 0.094mmol/L。

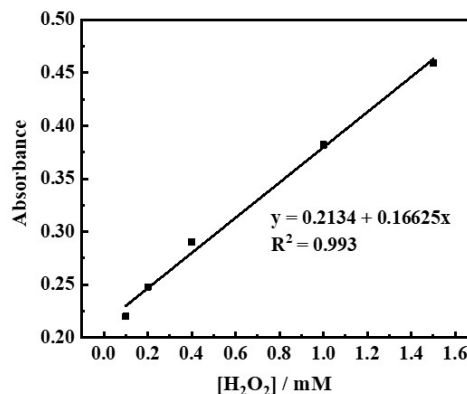


图 6 H₂O₂ 浓度与吸光度的线性关系图

6.6 教学建议

该实验共计 10 学时，实验所需时间较长，可在班内分

组实验, 每组 3~5 人。

①预习(课外): 提前 2 周给出实验内容, 让学生查阅相关文献, 撰写规范的实验预习报告, 提前了解紫外可见分光光度计操作方法、纳米酶概念、 H_2O_2 的比色检测等相关内容。

②第一次实验(3 学时): 讲解实验内容, 合成 Fe_3O_4 MNPs、表征、干燥, 收集保存备用。

③第二次实验(3 学时): Fe_3O_4 MNPs 类过氧化物酶活性的测试及其酶活最适 pH 的筛选。

④第三次实验(4 学时): Fe_3O_4 MNPs 稳态动力学相关参数的测定, 及比色检测 H_2O_2 。

⑤总结(课外): 要求学生在 2 周内整理该实验的实验步骤、分析处理相关数据, 以小组的形式对实验结果进行归纳总结, 整理成完整的实验报告。

7 结语

该实验中 Fe_3O_4 MNPs 的合成方法安全可行, 可用于本科生实验教学, 该综合实验通过课前的文献调研, 可以让学生更多地了解交叉学科前沿, 认识纳米酶的应用领域; 通过课上学生自己动手合成纳米材料, 可以有效掌握 Fe_3O_4 MNPs 的制备方法、表征手段和 H_2O_2 的比色检测原理, 及 Fe_3O_4 MNPs 类过氧化物酶的活性测定。因此, 该综合实验既可以锻炼学生的动手操作能力, 巩固紫外可见分光光度计等相关理论知识, 又可以通过融合不同学科的交叉内容和思维方式, 培养学生的跨学科课程意识和能力, 为开展交叉学科教学奠定基础。

参考文献

[1] 郭宇, 吴红梅, 周立岱, 等. 基于应用型人才培养的应用化学专业实践课程体系改革研究[J]. 化学教育, 2017, 38(18): 6-9.

[2] 苑壮东, 孔亚杰, 王静霞. 基于应用型人才培养的实验课程体系改革[J]. 化学教育, 2016, 37(2): 33-35.

[3] Huang Y, Ren J, Qu X. Nanozymes: Classification, catalytic mechanisms, activity regulation, and applications[J]. Chemical Reviews, 2019, 119(6): 4357-4412.

[4] Gao L, Zhuang J, Nie L, et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles[J]. Nature Nanotechnology, 2007, 2(9): 577-583.

[5] Wu J, Wang X, Wang Q, et al. Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes (II) [J]. Chemical Society Reviews, 2019, 48(4): 1004-1076.

[6] 高利增, 魏辉, 曲晓刚. 纳米生物催化的研究现状和发展态势[J]. 中

国科学: 生命科学, 2020, 50(7): 682-697.

[7] 黄燕燕, 林友辉, 蒲芳, 等. 纳米酶在疾病治疗中的最新进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2018, 45(2): 256-267.

[8] 尉枫, 韩晓军. 纳米酶及其在生物医学检测领域的研究进展[J]. 分析化学, 2021, 49(4): 581-592.

[9] Feng Y B, Hong L, Liu A L, et al. High-efficiency catalytic degradation of phenol based on the peroxidase-like activity of cupric oxide nanoparticles[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2015, 12(2): 653-660.

[10] Zeb A, Sahar S, Qazi U Y, et al. Intrinsic peroxidase-like activity and enhanced photo-fenton reactivity of iron-substituted polyoxometallate nanostructures[J]. Dalton Transactions, 2018, 47(21): 7344-7352.

[11] Atilgan A, Islamoglu T, Howarth A J, et al. Detoxification of a sulfur mustard simulant using a bodipy-functionalized zirconium-based metal-organic framework[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(29): 24555-24560.

[12] Li H, Ma L, Zhou L, et al. An integrated nanocatalyst combining enzymatic and metal-organic framework catalysts for cascade degradation of organophosphate nerve agents[J]. Chemical Communications, 2018, 54(76): 10754-10757.

[13] 李海鹏. 过氧化氢的检测新方法研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2010.

[14] Zhao Z, Pang J, Liu W, et al. A bifunctional metal organic framework of type Fe (III)-BTC for cascade (enzymatic and enzyme-mimicking) colorimetric determination of glucose[J]. Microchimica Acta, 2019, 186(5): 1-8.

[15] Jiang B, Duan D, Gao L, et al. Standardized assays for determining the catalytic activity and kinetics of peroxidase-like nanozymes[J]. Nature Protocols, 2018, 13(7): 1506-1520.

[16] Zhang W, Li X, Cui T, et al. PtS_2 nanosheets as a peroxidase-mimicking nanozyme for colorimetric determination of hydrogen peroxide and glucose[J]. Microchimica Acta, 2021, 188(5): 1-9.

[17] Hang D R, Pan Y Q, Sharma K H, et al. 2D CTAB- $MoSe_2$ nanosheets and 0D $MoSe_2$ quantum dots: facile top-down preparations and their peroxidase-like catalytic activity for colorimetric detection of hydrogen peroxide[J]. Nanomaterials, 2020, 10(10): 2045.