DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2017.03.002

# 肉桂醛/壳聚糖功能化碳纳米管的制备及其固定脂肪酶的研究

# Preparation of carbon nanotube composite functionalized by cinnamaldehyde/chitosan and application for lipase immobilization

刘　威　　贾承胜　　张晓鸣　　夏书芹

*LIU Wei　JIA Cheng-sheng　ZHANG Xiao-ming　XIA Shu-qin*

(江南大学食品学院,江苏 无锡　214122)

(*School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu* 214122, *China*)

**摘要**:肉桂醛改性处理的壳聚糖对碳纳米管表面进行修饰,制得一种新型的肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管复合材料。用傅立叶红外光谱(FT-IR)、X 射线衍射仪(XRD)、热分析系统(TGA)、透射电镜(TEM)对该肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管复合材料及相应中间产物进行表征与分析。以猪胰脂肪酶为模型,探究该肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管复合材料固定化酶的性质。结果表明:在肉桂醛与壳聚糖中游离氨基的物质的量之比为 4∶1、pH 7.0 及脂肪酶浓度为 5 mg/mL 时,该复合材料最大负载量为 248 mg/g,酶活性为 8 064 U/g,重复利用 7 次后,酶活性仍然保持 69%。

**关键词**:碳纳米管;肉桂醛;壳聚糖;非共价修饰;固定化酶

**Abstract**: Using chitosan modified by cinnamaldehyde to decorate carbon nanotubes, a novel cinnamaldehyde/ chitosan/ carbon nanotubes composites were synthesized. The modified composites and its corresponding intermediates were characterized by FT-IR, XRD, high-resolution SEM and TGA. Taking porcine pancreatic lipase as a model, explored the properties of cinnamaldehyde/ chitosan/ carbon nanotubes composite materials. The results indicated that when the conditions were: molar ratio of cinnamaldehyde to chitosan of 4∶1, pH =7.0 and the enzyme concentration of 5 mg/mL, and the maximum load of 248 mg/g and the enzyme activity of 8 064 U/g were obtained. The enzyme activity was still above 69% after seven recycles.

**Keywords**: carbon nanotubes; cinnamaldehyde; chitosan; non covalent modification; immobilization of enzyme

自被发现以来,碳纳米管一直受到科学家们的关注[1-2]。由于碳纳米管管束具有非常大的比表面积,体系内碳原子形成高度离域的 π 电子体系,故其易于与含有 π 电子体系的化合物(如苯系化合物)发生非共价结合[3-5],具备优异的吸附性能,因此一直是相关学者研究的热点[6]。但是,由于碳纳米管之间具有非常强的范德华力,碳纳米管非常容易团聚[7-8],这种团聚行为严重限制了碳纳米管的应用,所以对碳纳米管进行表面修饰以改善其分散性显得非常重要[9-11]。目前,对碳纳米管表面修饰方法主要分为共价修饰和非共价修饰。共价修饰是指通过化学反应破坏碳纳米管结构,在碳纳米管表面引入新的基团。非共价修饰即为通过物理吸附作用,在碳纳米管表面引入有机高分子。共价修饰一般需要浓硫酸或浓硝酸作为氧化剂,反应条件苛刻,且破坏碳纳米管刚性结构[12-13]。目前,已有文献[14-16]报道利用有机高分子对其表面进行非共价修饰以改善其分散性,其工艺简单,操作方便,且碳纳米管结构未被破坏。Xu 等[17]将少根根霉(RAL)共价固定在羧基化碳纳米管上,FT-IR 表征表明其保留了游离酶 63%的 α 螺旋结构。Feng 等[18]在碳纳米管上引入氨基环糊精,将耶氏酵母脂肪酶 YLL 物理吸附在碳纳米管上,负载量可达 750 mg/g。

壳聚糖是甲壳素脱乙酰作用后的产物,作为一种天然的有机高分子,其分子链中存在着大量的氨基和羟基,这种结构特性使其具有良好的生物相容性、成纤成膜性和吸附性[19-20],也为壳聚糖改性提供了条件[21],因而在众多领域应用广泛。Long 等[22]采用羧甲基壳聚糖对碳纳米管非共价修饰,以用于细胞载体运输领域,证明羧甲基壳聚糖能够改善碳纳米管的分散性和生物兼容性。目前尚未见壳聚糖衍生物功能化碳纳米管在固定化酶中的应用。同时,Sara 等[23]通过分子动力学模型研究 20 种氨基酸吸附碳纳米管的影响因素和机理,在氨基酸吸附模型中,苯环基团的影响最大,根本原因是苯环基团与碳纳米管管束形成了较强的

**基金项目**:江苏省自然科学基金(编号:BK20161133)
**作者简介**:刘威,男,江南大学在读硕士研究生。
**通信作者**:贾承胜 (1968—),男,江南大学副教授,博士。
E-mail:840646207@qq.com
**收稿日期**:2017-02-20

π—π键。因此,本试验将以肉桂醛/壳聚糖接枝物作为有机高分子对碳纳米管表面进行修饰,制得肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管复合材料。先通过肉桂醛对壳聚糖进行接枝化改性,生成肉桂醛/壳聚糖接枝物。肉桂醛的引入使得改性壳聚糖分子链中存在苯环结构,有助于在 π—π 共轭作用以及高分子疏水作用下接枝化的壳聚糖分子缠绕在碳纳米管的表面,同时,壳聚糖分子中存在的羟基和氨基增加了复合材料对蛋白分子的固载能力,且有助于稳定蛋白酶分子构象,减少蛋白酶分子失活。并为其工业化应用提供条件。最后,以猪胰脂肪酶为模型,探究该肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管复合材料固定化脂肪酶的性质及其应用。

# 1 材料与方法

## 1.1 材料与试剂

碳纳米管(CNT):95%,C Nano Technology Ltd(Santa Clara, CA);

甲醇、乙醇、氢氧化钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

壳聚糖(CS)、牛血清白蛋白(BSA):生化试剂,国药集团化学试剂有限公司;

肉桂醛(CA):95%,国药集团化学试剂有限公司;

猪胰脂肪酶:酶活力≥3 000 U/g,国药集团化学试剂有限公司。

## 1.2 仪器设备

电子天平:EL104 型,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;

离心机:DL-5-B 型,上海安亭科学仪器厂;

超声波清洗器:SK5210HP 型,上海科导超声仪器有限公司;

真空干燥箱:DZG-6020 型,上海森信实验仪器有限公司;

磁力搅拌器:C-MAG-HS7 型,德国 IKA。

## 1.3 分析方法

傅立叶红外光谱仪(FT-IR),扫描光谱范围:4 000～400 $cm^{-1}$,分辨率 2.0 $cm^{-1}$。X 射线衍射仪(XRD),Cu 靶,光管功率 2.2 kW,输出功率 300 W,扫描范围:5～60°。热分析系统(TGA),温度扫描范围 30～600 ℃,升温速率 10 ℃/min。透射电镜(TEM),点分辨率:0.23 nm,线分辨率:0.14 nm。

## 1.4 肉桂醛/壳聚糖接枝物的合成

取一定量壳聚糖粉末置于 50 mL 甲醇中,超声(200 W)1 h,室温下磁力搅拌(500 r/min)溶胀 12 h,再量取与壳聚糖中游离氨基等物质的量的肉桂醛乙醇溶液(肉桂醛与乙醇体积比为 1∶1),混合均匀后逐滴滴加到上述壳聚糖的甲醇溶液中,45 ℃恒温水浴条件下反应 8 h,抽滤,无水乙醇洗涤 3 次,真空干燥 24 h,即得不同接枝度的肉桂醛/壳聚糖接枝物。

## 1.5 肉桂醛/壳聚糖功能化碳纳米管的制备

取 50 mg 上述肉桂醛接枝化壳聚糖分散于 100 mL、1% 的乙酸溶液中,室温下磁力搅拌(500 r/min)15 min,加入 50 mg 碳纳米管于上述混合液中,超声(200 W)1.5 h,室温下磁力搅拌(500 r/min)2 h,溶液呈黑色均一相,2 000 r/min 离心 3 min,去除底部未参与反应的沉淀,滴加氨水溶液于上清液调节溶液 pH 至弱碱性,静置 10 min,溶液分层,离心(2 000 r/min,3 min),弃上清液,去离子水洗涤 3 次,50 ℃真空干燥,即为肉桂醛/壳聚糖非共价修饰碳纳米管。

## 1.6 功能化碳纳米管固定化脂肪酶

取一定量脂肪酶粉溶解于 PBS 缓冲液(pH=7)中,配置一定浓度的酶溶液,5 000 r/min 离心 3 min,取上清液留存,称取适量功能化碳纳米管加入上述酶溶液中,30 ℃振荡固定 4 h,蒸馏水洗涤 3 次,于 4 ℃下留存备用。

1.6.1 不同取代度壳聚糖修饰碳纳米管对固定化脂肪酶的影响 以肉桂醛与壳聚糖中游离氨基的物质的量之比分别为 0∶1,0.5∶1,1∶1,2∶1,4∶1,8∶1 制取不同取代度的改性壳聚糖,将改性壳聚糖按照前述方法修饰碳纳米管,探究壳聚糖取代度对固定化酶负载量的影响。

1.6.2 pH 对功能化碳纳米管固定化酶的影响 以肉桂醛与壳聚糖中游离氨基的物质的量之比为 4∶1 制取改性壳聚糖功能化碳纳米管,利用该功能化碳纳米管在不同 pH 缓冲液中对脂肪酶的负载率,探究 pH 对固定化酶的影响。

1.6.3 功能化碳纳米管固定化过程的吸附动力学 以肉桂醛与壳聚糖中游离氨基的物质的量之比为 4∶1,磷酸盐缓冲液 pH=7.0 的条件下,探究在不同酶浓度时改性壳聚糖功能化碳纳米管负载脂肪酶的动力学过程。

1.6.4 3 种碳纳米管材料固定化酶性质的比较 固定化酶在重复利用的过程中,都会不可避免地出现损耗和失活,考察 3 种碳纳米管材料固定化脂肪酶的活性随使用次数的变化。

## 1.7 固定化脂肪酶酶浓度以及酶活力的测定

酶浓度测定方法采用 Bradford 法[24] 测定。可依据式(1)计算在不同酶浓度下固定化酶的负载量:

$$W=\frac{(C_1-C_2)\times V}{M}, \quad (1)$$

式中:

$W$——单位功能化碳纳米管载体负载酶的质量,mg/mg·载体;

$C_1$——反应前的酶浓度,mg/mL;

$C_2$——反应后的酶浓度,mg/mL;

$V$——反应体系的体积,mL;

$M$——功能化碳纳米管载体的质量,mg。

酶活力测定方法采取中国药典[25] 中提供的方法,酶活力单位为指定条件下每分钟催化水解橄榄油生成 1 μmol 脂肪酸所需的酶量。

# 2 结果与分析

## 2.1 肉桂醛/壳聚糖接枝物的表征

2.1.1 傅里叶红外光谱(FT-IR) 由图 1 可知,曲线 CS 显示了壳聚糖红外光谱图,3 200～3 600 $cm^{-1}$ 的宽峰是 O—H 键伸缩振动峰与—N—H 键伸缩振动峰的重合峰;1 642 $cm^{-1}$ 属于残留乙酰中 C═O 键的伸缩振动,是酰胺 I

谱带;1 600 $cm^{-1}$属于 N—H 键的弯曲振动;1 153 $cm^{-1}$和 1 068 $cm^{-1}$ 处为 C—O—C 的伸缩振动;896 $cm^{-1}$处为壳聚糖的结构摇摆峰。

曲线 CA 显示了肉桂醛的红外图谱,1 681 $cm^{-1}$属于醛基中 C═O 键的伸缩振动,1 625 $cm^{-1}$处弱峰为 C═C 键的伸缩振动峰,1 495 $cm^{-1}$和 1 449 $cm^{-1}$处为苯环的特征吸收峰。

曲线 CA/CS 显示了肉桂醛/壳聚糖的红外图谱,1 600 $cm^{-1}$处峰基本消失,这是由于—$NH_2$与肉桂醛中—CHO反应导致 N—H 减少产生的,1 633 $cm^{-1}$为反应新生成的 C═N 键的伸缩振动峰,750 $cm^{-1}$和 689 $cm^{-1}$处为苯环取代基上 C—C 的伸缩振动峰,表明肉桂醛已成功接枝在壳聚糖上。

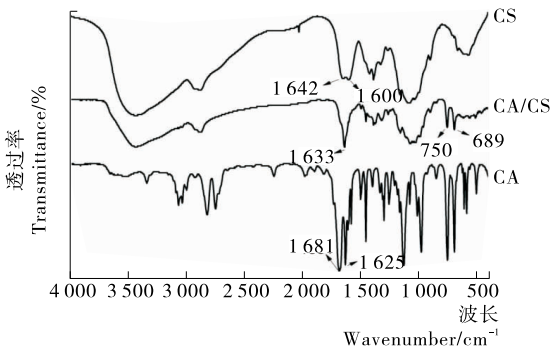



图 1　CS、CA、CA/CS 的红外光谱图

Figure 1　FT-IR spectra of CS, CA, CA/CS

2.1.2　X 射线衍射谱(XRD)　由于壳聚糖分子中存在—OH、—$NH_2$等基团,分子内以及分子间存在很强的氢键作用,使得壳聚糖分子排列有序,容易形成结晶体,结晶峰主要在 $2\theta=20.0°$,峰强并且尖锐,从肉桂醛/壳聚糖的 X 射线衍射图中(图 2),可以看到 $2\theta=20.0°$的峰强明显减弱,变得较为平缓,且在 $2\theta=5.0°$和 $2\theta=12.0°$出现新的结晶峰,说明肉桂醛的接枝化导致壳聚糖分子内以及分子间的氢键作用力被破坏,结晶性能改变。

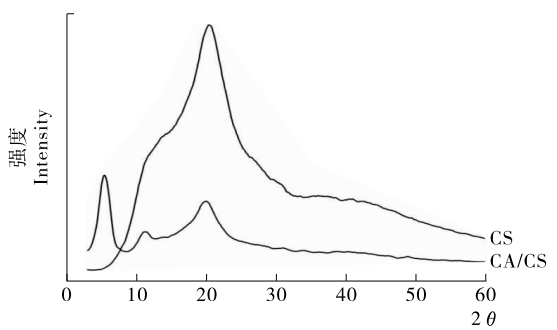



图 2　CS、CA/CS 的 XRD 谱图

Figure 2　XRD profiles of CS, CA/CS

## 2.2　肉桂醛/壳聚糖功能化碳纳米管的表征

2.2.1　傅里叶红外光谱(FT-IR)　由图 3 可知,在碳纳米管(CNT)的红外图谱中,1 632 $cm^{-1}$处是其重要特征峰,为碳纳米管中共轭双键 C═C 键的振动吸收峰[26]。在肉桂醛/壳聚糖功能化碳纳米管(CA/CS/CNT)的红外图谱中,1 567 $cm^{-1}$ 处为肉桂醛/壳聚糖中 C═N 键在碳纳米管共轭作用下的特征峰,1 151 $cm^{-1}$和 1 067 $cm^{-1}$为缠绕在碳纳米管表面的肉桂醛/壳聚糖(CS/CA)中 C—O—C 键的伸缩振动,由此可以推断肉桂醛/壳聚糖与碳纳米管发生了非共价结合。

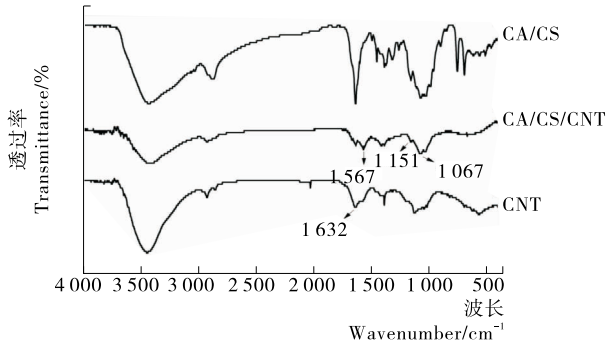



图 3　CA/CS、CA/CS/CNT、CNT 的红外光谱图

Figure 3　FT-IR spectra of CA/CS, CA/CS/CNT, CNT

2.2.2　热分析系统　为进一步分析肉桂醛/壳聚糖在碳纳米管上负载量,以碳纳米管作为平行对照,对肉桂醛/壳聚糖碳纳米管进行热重分析。由图 4 可知,随着温度增加,碳纳米管质量曲线未出现断崖形态,说明碳纳米管结构体系性质稳定,高温状态下也不会分解,曲线中的缓慢下降趋势可能是样品中存在少量杂质碳引起的;肉桂醛/壳聚糖碳纳米管在 220 ℃附近出现明显的失重现象,300 ℃附近曲线形态走势变缓,基本与碳纳米管形态曲线平行,说明在此区间内肉桂醛/壳聚糖完全分解,由试验数据可知,在 220～300 ℃时样品失重占比为 23%,所以肉桂醛/壳聚糖在碳纳米管上负载量大约为 23%。

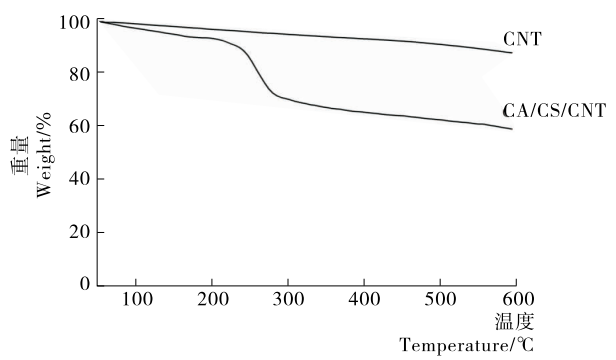
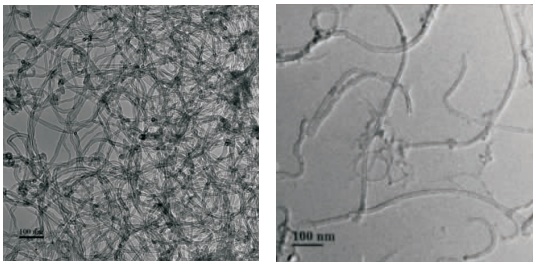



图 4　CNT、CA/CS/CNT 的热重分析

Figure 4　TGA curves of CNT, CA/CS/CNT

2.2.3　透射电镜　为了探究肉桂醛/壳聚糖修饰作用对碳纳米管团聚现象的改善,对碳纳米管以及肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管进行透射电子显微镜试验。由图 5 可知,碳纳米管相互缠绕,扭曲聚集;相比于碳纳米管,功能化碳纳米管呈直立分散形态,管束之间缠绕现象不明显,团聚现象明显改善。由此可以得出肉桂醛/壳聚糖对碳纳米管表面修饰后减弱了管束之间的疏水作用结合力,团聚现象改善,为后续的应用试验提供了可行性基础。




(a) CNT (b) CA/CS/CNT

图 5 CNT、CA/CS/CNT 的透射电镜图

Figure 5 TEM image of CNT, CA/CS/CNT

### 2.3 功能化碳纳米管固定化脂肪酶

2.3.1 不同取代度壳聚糖修饰碳纳米管对固定化脂肪酶的影响 负载率是指成功负载的脂肪酶量占溶液中总酶量的比率。由图 6 可知,与未取代壳聚糖(物质的量之比 0∶1)相比,当取代度较低(物质的量之比 0.5∶1)时,酶的负载量反而降低,当取代度逐渐增加时,酶的负载量先增加后减小,物质的量之比为 4∶1 时,酶的负载量最大。这可能是肉桂醛与壳聚糖取代反应减少了壳聚糖分子链中裸露的游离氨基,使得与脂肪酶结合力减弱,所以在取代度较低时,负载量先呈降低趋势,当取代度逐渐增加时,改性壳聚糖分子与碳纳米管间作用力增加,壳聚糖分子构型改变,疏水性苯环支链吸附在碳纳米管管束表面,亲水性羟基和氨基完全裸露在该复合材料外侧,增加了该复合材料与酶蛋白的结合力,使得酶的负载量增加,然而当取代度过高时,游离氨基绝对数量骤减,使得其与脂肪酶结合力减弱,故酶的负载量又呈降低趋势。

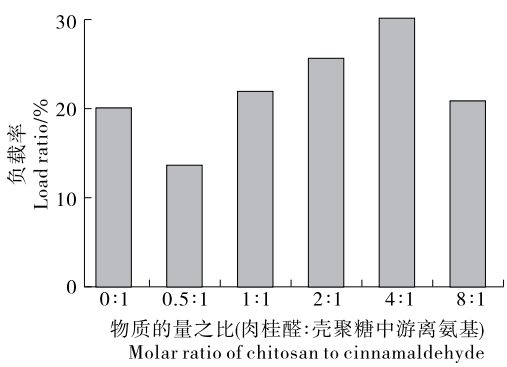



图 6 肉桂醛与壳聚糖中游离氨基的物质的量之比对固定化酶负载量的影响

Figure 6 The influence of molar ratio of chitosan to cinnamaldehyde on immobilization of enzyme

2.3.2 pH 对功能化碳纳米管固定化酶的影响 由图 7 可知,在 pH=7.0 时,负载脂肪酶的效率最大,偏酸或偏碱都会影响脂肪酶的负载量,可能是溶液酸碱性影响了脂肪酶与复合材料间氢键的形成而导致的。

2.3.3 功能化碳纳米管固定化过程的吸附动力学 由图 8 可知,在酶浓度较低(1 mg/mL)时,4 h 后吸附效率几乎可以达到 100%,随着酶浓度的增加,吸附效率逐渐降低,吸附平衡的时间缩短,这是由于酶浓度增加,增大了碳纳米管与蛋白酶分子的接触频率。通过计算吸附平衡时固定化酶的最

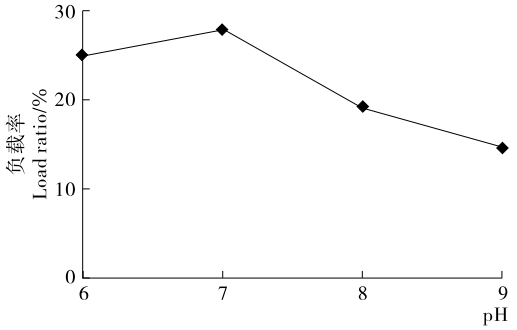



图 7 PBS 缓冲液 pH 对固定化酶负载量的影响

Figure 7 The influence of pH of PBS buffer on immobilization of enzyme

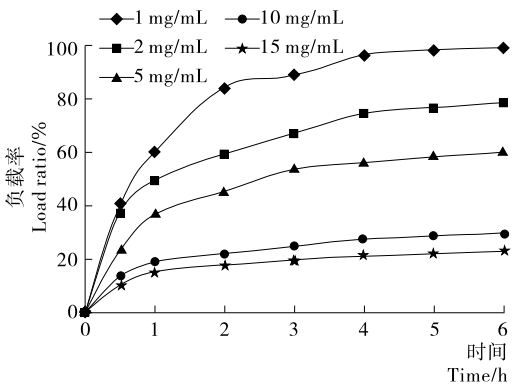



图 8 在不同酶浓度下负载脂肪酶的动力学过程

Figure 8 The kinetic process of loading lipase under the different enzyme concentration

大负载量可知,1,2,5,10,15 mg/mL 酶溶液所对应负载量分别为 75,137,248,250,254 mg/g,当酶浓度为 5 mg/mL 以上时,酶浓度增加,负载量几乎不变,因此当酶浓度为5 mg/mL时,负载量已达到最大,考虑到酶的利用效率以及负载量的最大化,后续酶活性探究试验中,酶浓度均为 5 mg/mL。

2.3.4 3 种碳纳米管材料固定化酶性质的比较 由表 1 可知,在 3 种碳纳米管材料中,碳纳米管负载脂肪酶量最小以及酶的相对活性最低,肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管对脂肪酶的负载量以及酶的相对活性均最高,可能是壳聚糖和改性壳聚糖分子改善了碳纳米管的分散性,故增加了碳纳米管对酶的负载量,同时,壳聚糖和改性壳聚糖分子中的羟基以及氨基有利于稳定酶的构象,所以酶的活性相对较高,另外,肉桂醛改性促使壳聚糖构型改变,减少了负载酶的空间位阻,有利于酶活性中心与底物接触,提高了酶的相对活性。

2.3.5 重复使用率对固定化酶活性的影响 由图 9 可知,碳

**表 1 3 种碳纳米管材料固定化酶性质的比较**

Table 1 The comparison of three kinds of carbon nanotubes material's properties on immobilization of enzyme

| 材料 | 载体质量/mg | 酶的负载量/mg | 酶活力/U | 酶相对活力/(U·g$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|
| CNT | 20 | 3.21 | 18 | 5 607 |
| CS/CNT | 20 | 3.56 | 23 | 6 554 |
| CA/CS/CNT | 20 | 4.96 | 40 | 8 064 |

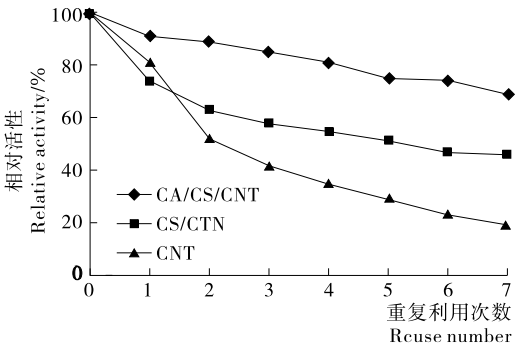



图 9　重复利用次数对酶活性的影响

Figure 9　The influence of reusability of immobilized lipase on enzyme activity

纳米管固定化酶的相对活性随着重复利用次数的增加失活速率较快,而肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管固定化酶的相对活性相对稳定,重复使用 7 次后,肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管固定化酶的相对活性保持在 69%,可能是改性壳聚糖有利于酶活性中心稳定,在一定程度上避免了酶的失活。

## 3　结论

本试验采用肉桂醛接枝化的壳聚糖对碳纳米管表面成功进行了修饰并制备了一种新型的复合载体材料。通过傅立叶红外光谱(FT-IR)、X 射线衍射(XRD)、热分析系统(TGA)、透射电镜(TEM)对该肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管复合材料及相应中间产物进行比较分析,表征了其结构特征,结果表明:① 肉桂醛成功接枝在壳聚糖分子链中;② 肉桂醛/壳聚糖对碳纳米管表面成功地进行了修饰,改善了碳纳米管的团聚现象,并得到肉桂醛/壳聚糖在碳纳米管上负载量大约为 23%。肉桂醛/壳聚糖改性碳纳米管的方法,为碳纳米管充当活性分子的载体提供了新的解决途径。

通过对肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管复合材料的固定化脂肪酶性质进行分析得出,当肉桂醛与壳聚糖中游离氨基的物质的量之比为 4 ∶ 1,PBS 缓冲液 pH = 7.0,酶浓度为 5 mg/mL 时,肉桂醛/壳聚糖/碳纳米管负载酶量最大,达到 248 mg/g,酶活性为 8 064 U/g,且重复利用 7 次后,酶相对活性依然保持在 69%左右。

本试验中仍需进一步研究探索的部分:① 肉桂醛/壳聚糖在碳纳米管表面的空间构象,可以通过分子对接模拟试验来研究;② 肉桂醛/壳聚糖对酶蛋白活性位点影响的机理。

### 参考文献

[1] AL-SALEH M H, ABDUL-JAWAD S, EL-GHANEM H M. Electrical and dielectric behaviors of dry-mixed CNT/UHMWPE nanocomposites[J]. High Performance Polymers, 2014, 26(2): 205-211.

[2] YANG S B, KONG B S, JUNG D H, et al. Recent advances in hybrids of carbon nanotube network films and nanomaterials for their potential applications as transparent conducting films[J]. Nanoscale, 2011, 3(4): 1 361-1 373.

[3] CHEN R J, ZHANG Yue-gang, WANG Dun-wei, et al. Noncovalent sidewall functionalization of single-walled carbon nanotubes for protein immobilization [J]. Journal of the American Chemical Society, 2001, 123(16): 3 838-3 839.

[4] ZHANG Jian, LEE J K, WU Yue, et al. Photoluminescence and electronic interaction of anthracene derivatives adsorbed on sidewalls of single-walled carbon nanotubes[J]. Nano Letters, 2003, 3(3): 403-407.

[5] MURAKAMI H, NOMURA T, NAKASHIMA N. Noncovalent porphyrin-functionalized single-walled carbon nanotubes in solution and the formation of porphyrin-nanotube nanocomposites [J]. Chemical Physics Letters, 2003, 378(5/6): 481-485.

[6] MURAKAMI T, AJIMA K, MIYAWAKI J, et al. Drug-loaded carbon nanohorns: adsorption and release of dexamethasone in vitro[J]. Molecular pharmaceutics, 2004, 1(6): 399-405.

[7] KAROUSIS N, TAGMATARCHIS N, TASIS D. Current Progress on the Chemical Modification of Carbon Nanotubes[J]. Chemical Reviews, 2010, 110(9): 5 366-5 397.

[8] TANG Q Y, SHAFIQ I, CHANL Y C, et al. Study of the dispersion and electrical properties of carbon nanotubes treated by surfactants in dimethylacetamide[J]. Journal of Nanoscience & Nanotechnology, 2010, 10(8): 4 967-4 974.

[9] BYRNE M T, GUN'KO Y K. Recent Advances in Research on Carbon Nanotube-Polymer Composites[J]. Advanced Materials, 2010, 22(15): 1 672-1 688.

[10] YESIL S, BAYRAM G. Poly(ethylene terephthalate)/carbon nanotube composites prepared with chemically treated carbon nanotubes[J]. Polymer Engineering & Science, 2011, 51(7): 1 286-1 300.

[11] 王坤, 李忠海. 碳纳米管改性及其在食品检测中的应用进展[J]. 食品与机械, 2016, 32(3): 217-221.

[12] LIU Zhuang, SUN Xiao-ming, NAKAYAMA-RATCHFORD N, et al. Supramolecular chemistry on water-soluble carbon nanotubes for drug loading and delivery[J]. ACS Nano, 2007, 1(1): 50-56.

[13] ZHU Gang-bing, YI Yin-hui, HAN Zhi-xiang, et al. 3,4,9,10-Perylene Tetracarboxylic Acid Noncovalently Modified Multiwalled Carbon Nanotubes: Synthesis, Characterization, and Application for Electrochemical Determination of 2-Aminonaphthalene[J]. Analytical Letters, 2014, 47(14):2 370-2 383.

[14] NUMATA M, SUGIKAWA K, KANEKO K, et al. Creation of Hierarchical Carbon Nanotube Assemblies through Alternative Packing of Complementary Semi-Artificial β-1,3-Glucan/Carbon Nanotube Composites [J]. Chemistry-A European Journal, 2008, 14(8): 2 398-2 404.

[15] MARTIN W, ZHU Wu-sheng, KRILOV G. Simulation study of noncovalent hybridization of carbon nanotubes by single-stranded DNA in water[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2008, 112(112): 16 076-16 089.

[16] LI L, NICOLAS R J, CHEN Chi-yen, et al. Comparative study of photoluminescence of single-walled carbon nanotubes wrapped with sodium dodecyl sulfate, surfactin and polyvinylpyrrolidone[J]. Nanotechnology, 2005, 16: S202-S205.

(下转第 70 页)

## 参考文献


[1] IDRIS Y M A, MARIOD A A, ELNOURI A, et al. Determination of aflatoxin levels in Sudanese edible oils[J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(8): 2 539-2 541.

[2] 曹铭, 樊明涛. 黄曲霉毒素脱除技术研究进展[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 260-264.

[3] REN Yi-ping, ZHANG Yu, SHAO Shuang-liang, et al. Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1 143(1): 48-64.

[4] WAGACHA J M, MUTHOMI J W. Mycotoxin problem in Africa: current status, implications to food safety and health and possible management strategies[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 124(1): 1-12.

[5] DAKOVIC A, KRAGOVIC M, ROTTINGHAUS G E, et al. Influence of natural zeolitic tuff and organozeolites surface charge on sorption of ionizable fumonisin $B_1$[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010, 76(1): 272-278.

[6] WANG Li, WANG Ai-qin. Adsorption properties of Congo Red from aqueous solution onto surfactant-modified montmorillonite [J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 160(1): 173-180.

[7] CHEN Dai-mei, CHEN Jian, LUAN Xin-long, et al. Characterization of anion-cationic surfactants modified montmorillonite and its application for the removal of methyl orange[J]. Chemical Engineering Journal, 2011, 171(3): 1 150-1 158.

[8] YANG Sen-feng, GAO Mang-lai, LUO Zhong-xin. Adsorption of 2-Naphthol on the organo-montmorillonites modified by Gemini surfactants with different spacers[J]. Chemical Engineering Journal, 2014, 256: 39-50.

[9] GHALI R, BELOUAER I, HDIRI S, et al. Simultaneous HPLC determination of aflatoxins $B_1$, $B_2$, $G_1$ and $G_2$ in Tunisian sorghum and pistachios[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2009, 22(7): 751-755.

[10] DAKOVIC A, MATIJAŠEVIC S, ROTTINGHAUS G E, et al. Aflatoxin $B_1$ adsorption by natural and copper modified montmorillonite[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008, 66(1): 20-25.

[11] GRANT P G, PHILLIPS T D. Isothermal adsorption of aflatoxin $B_1$ on HSCAS clay[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(2): 599-605.

[12] QI De-sheng, LIU Fan, YU Yan-hu, et al. Adsorption of aflatoxin $B_1$ on montmorillonite[J]. Poultry Science, 2005, 84(6): 959-961.

[13] DENG You-jun, VELÁZQUEZ A L B, BILLES F, et al. Bonding mechanisms between aflatoxin $B_1$ and smectite[J]. Applied Clay Science, 2010, 50(1): 92-98.

[14] GAO Yu-ling, DAI Yang-yong, ZHANG Hui, et al. Effects of organic modification of montmorillonite on the performance of starch-based nanocomposite films[J]. Applied Clay Science, 2014, 99: 201-206.

[15] SHAH K J, MISHRA M K, SHUKLA A D, et al. Controlling wettability and hydrophobicity of organoclays modified with quaternary ammonium surfactants[J]. Journal of colloid and interface science, 2013, 407: 493-499.

[16] XIE Wei, XIE Rong-cai, PAN Wei-ping, et al. Thermal stability of quaternary phosphonium modified montmorillonites[J]. Chemistry of Materials, 2002, 14(11): 4 837-4 845.

[17] NI Ren-jie, HUANG Yu, YAO Cheng. Thermogravimetric analysis of organoclays intercalated with the gemini surfactants [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2009, 96 (3): 943-947.

[18] ZARIC S D, STAMENIC L. Preparation and characterization of zinc-exchanged montmorillonite and its effectiveness as aflatoxin $B_1$ adsorbent[J]. Mater. Chem. Phys., 2012, 137: 213-220.


(上接第 12 页)


[17] JI Pei-jun, TAN Hui-shan, XU Xin, et al. Lipase covalently attached to multiwalled carbon nanotubes as an efficient catalyst in organic solvent[J]. Aiche Journal, 2010, 56(11): 3 005-3 011.

[18] LI Li-li, FENG Wei, PAN Ke-hou. Immobilization of lipase on amino-cyclodextrin functionalized carbon nanotubes for enzymatic catalysis at the ionic liquid-organic solvent interface [J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces, 2012, 102C(2): 124-129.

[19] JUANG R S, SHIAU R C. Metal removal from aqueous solutions using chitosan-enhanced membrane filtration[J]. Journal of Membrane Science, 2000, 165(2): 159-167.

[20] NGAH W S W, TEONG L C, HANAFIAH M A K M. Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: A review[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(4): 1 446-1 456.

[21] SUN Sheng-ling, WANG Ai-qin. Adsorption kinetics of Cu(II) ions using N,O-carboxymethyl-chitosan.[J]. Journal of Hazardous Materials, 2006, 131(1/3): 103-111.

[22] LONG De-wu, WU Guo-zhong, ZHU Guang-lai. Noncovalently modified carbon nanotubes with carboxymethylated chitosan: a controllable donor-acceptor nanohybrid[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2008, 9(2): 120-130.

[23] AZHARI S, GHAYEB Y. Effect of chirality, length and diameter of carbon nanotubes on the adsorption of 20 amino acids: a molecular dynamics simulation study[J]. Molecular Simulation, 2014, 40(5): 392-398.

[24] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 2015, 72(s 1/2): 248-254.

[25] 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2005 年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 626-627.

[26] PRLAINOVIC N Ž, BEZBRADICA D I, KNEŽEVIC-JUGOVIC Z D, et al. Adsorption of lipase from Candida rugosa, on multi walled carbon nanotubes[J]. Journal of Industrial & Engineering Chemistry, 2013, 19(1): 279-285.