DOI:10.13652/j.issn.1003－5788.2017.03.014

有机改性蒙脱土吸附黄曲霉毒素 B_1 能力的研究

Research on adsorption capacity of organically modified Na-montmotillonite for Aflatoxin B_1

孙思远[1]　刁恩杰[2]　李向阳[1]

SUN Si-yuan[1]　*DIAO En-jie*[2]　*LI Xiang-yang*[1]

楚　璇[1]　王家升[1]　董海洲[1]

CHU Xuan[1]　*WANG Jia-sheng*[1]　*DONG Hai-zhou*[1]

(1. 山东农业大学食品科学与工程学院,山东 泰安　271018;2. 淮阴师范学院生命科学学院,江苏 淮安　223300)

(1. *College of Food Science & Engineering, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong* 271018, *China*;
2. *College of Life Science, Huaiyin Normal University, Huaian, Jiangsu* 223300, *China*)

摘要:利用十八烷基三甲基溴化铵(OTMAB)作为有机改性剂对钠基蒙脱土(Na-MMT)进行改性,以提高对黄曲霉毒素 B_1(AFB_1)的吸附能力。改性后的钠基蒙脱土利用 X-射线衍射(XRD)、傅立叶变换红外光谱(FTIR)、扫描电镜(SEM)及热失重分析(TGA)等方法对其结构特性进行研究。结果表明,改性剂 OTMAB 插入到钠基蒙脱土的夹层内并扩大了其夹层间距($d_{0.01}$),增大了其比表面积。改性蒙脱土对 AFB_1 的吸附等温线符合 Langmuir 数学模型。有机改性Na-MMT 对 AFB_1 的最大吸附量(q_{max})为 34.25 mg/g,Langmuir 吸附常数(k)为 3.65 L/mg,均高于未改性的 Na-MMT(q_{max} = 28.74 mg/g 和 k = 2.37 L/mg),说明有机改性能够有效提高 Na-MMT 对 AFB_1 的吸附能力。

关键词:黄曲霉毒素 B_1;钠基蒙脱土;有机改性;吸附能力;十八烷基三甲基溴化铵

Abstract: Na-montmotillonite (Na-MMT) was organically modified using Octadecy Trimethyl Ammonium Bromide (OTMAB) as a modifier to improve its adsorption capacity of aflatoxin B_1 (AFB_1). The modified Na-MMT is characterized by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, Scanning electron microscopy (SEM), and Thermogravimetric analysis (TGA). The results showed that the OTMAB was intercalated into the Na-MMT, expanded its interlayer spacing ($d_{0.01}$), and increased its specific surface area. The adsorption isotherm of AFB_1 on the modified Na-MMT is followed the Langmuir equation. The maximum adsorption capacity (q_{max}) and the Langmuir adsorption coefficient (k) of modified Na-MMT for AFB_1 were 34.25 mg/g and 3.65 L/mg, respectively, which were both larger than those of Na-MMT (i.e. q_{max} = 28.74 mg/g, k = 2.37 L/mg), indicated that the organic modification could increase the adsorption capacity of Na-MMT for AFB_1.

Keywords: Aflatoxin B_1; Na-montmotillonite; Organic modification; Adsorption capacity; Octadecy trimethyl ammonium bromide

黄曲霉毒素 B_1(Aflatoxin B_1,AFB_1)是由黄曲霉和寄生曲霉产生的次生代谢产物,在很多植物油如花生油、玉米油、米糠油中经常被检测到[1-2]。AFB_1 具有强烈的致癌、致畸和致突变性,被国际癌症组织定为Ⅰ类致癌物[3-4]。很多国家经常利用钠基蒙脱土(Na-MMT)、酸性白土等吸附食用油中污染的 AFB_1。Na-MMT具有较强的离子交换性、吸附性和较大的比表面积。然而,Na-MMT 是亲水性的硅酸盐,易聚团而很难均匀分散于植物油中,限制了其对植物油中 AFB_1 的吸附能力。国内外研究发现用长链季铵盐对层状硅酸盐进行化学改性可增加其表面疏水性[5],并用于去除刚果红、甲基橙和 2-萘酚等有机污染物[6-8]。当前,利用长链季铵盐十八烷基三甲基溴化铵(OTMAB)改性 Na-MMT 以改善其吸附 AFB_1 能力的研究未见报道。因此,本研究拟利用 OTMAB 对 Na-MMT 进行有机改性,并在模式系统下(AFB_1 乙腈溶液)研究有机改性 Na-MMT 对 AFB_1 吸附能力的影响;同时利用 X-射线衍射(XRD)、傅立叶变换红外光谱(FTIR)、扫描电镜(SEM)及热失重分析(TGA)探讨改性 Na-MMT 对 AFB_1 吸附能力产生影响的因素,为新型黄曲霉毒素高效吸附剂的开发及商业化应用提供理论指导。

基金项目:山东省高等学校科技发展计划(编号:J14LE15);山东省自主创新专项(编号:2014ZZCX07204)

作者简介:孙思远,男,山东农业大学在读硕士研究生。

通信作者:刁恩杰(1977—),男,淮阴师范学院副教授,博士。
E-mail: dej110@163.com

收稿日期:2016—12—26

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

黄曲霉毒素 B_1 标准品(AFB_1,$C_{17}H_{12}O_6$):纯度>98%,上海生物工程有限公司;

钠基蒙脱土(Na-MMT):纯度>95%,CEC 110 mol/kg,浙江丰虹新材料股份有限公司;

十八烷基三甲基溴化铵(OTMAB,$C_{21}H_{46}BrN$):纯度>99%,上海华蓝化学科技有限公司;

无水乙醇、正己烷:分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司;

乙腈:色谱纯,山东禹王实业有限公司化工分公司;

三氟乙酸:分析纯,成都格雷西亚化学技术有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电子分析天平:AY 220 型,日本岛津公司;

电热鼓风干燥箱:101 A-1 型,黄骅市卸甲综合电器厂;

智能生化反应装置:ZN-3000 型,郑州长城科工有限公司;

恒温磁力搅拌器:HJ-6A 型,金坛市华伟仪器厂;

离心机:LXJ-ⅡB 型,上海安亭科学仪器厂;

高效液相色谱:岛津 LC-20AT 型,岛津公司;

傅立叶变换红外光谱仪:Nicolet iS5 型,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

高级 X 射线衍射仪:AXS-D8 型,德国 Bruker 公司;

热重分析仪:TA-60 型,日本岛津公司;

扫描电镜:JSM-6610LV 型,日本 JEOL 电子公司。

1.2 方法

1.2.1 改性蒙脱土的制备 将 Na-MMT 置于烘箱中,50 ℃烘至完全干燥。将去离子水倒入反应釜中,升温至 60 ℃并保持恒温,按照 Na-MMT∶H_2O=1∶5(g/mL)比例将 Na-MMT缓慢加入到去离子水中,于 300 r/min 搅拌 2 h,形成均一的 Na-MMT 悬浮液。将 Na-MMT 重量比为 2.5%的 OTMAB改性剂用少量无水乙醇溶解,再缓慢加入到 Na-MMT悬浮液中恒温(60 ℃)反应 2 h,再将混合液于 3 000 r/min离心 10 min,弃去上清液,沉淀用去离子水清洗数次直至用 $AgNO_3$溶液(0.1 mol/L)检测不出溴离子(清洗水中无淡黄色絮状沉淀),获得 OTMAB 改性蒙脱土。将获得的 OTMAB 改性蒙脱土在 60 ℃烘干至颜色由灰色变成纯白色,粉碎后过 200 目筛,得到的有机改性蒙脱土(OTMAB-MMT)用于试验研究。

1.2.2 模式系统下的吸附试验 称取一定量的 AFB_1标准品溶于乙腈溶液中,配制成浓度为 1 000 μg/L 的 AFB_1储备溶液,按比例用乙腈溶液稀释成 50～1 000 μg/L 的 AFB_1模式溶液用于吸附试验。将 0.6 g 的 OTMAB-MMT 加入至 30 mL不同浓度的 AFB_1溶液中,室温下于 300 r/min 连续搅拌 10 min 进行吸附。吸附过后,OTMAB-MMT 以 5 000 r/min离心 10 min。上清溶液(乙腈溶液)中残留的 AFB_1用高效液相色谱法进行检测[9]。沉淀于 60 ℃的烘箱中加热烘干除去乙腈,进一步做 XRD、FTIR、SEM 及 TGA 分析,用于探讨改性前后 Na-MMT 结构及吸附 AFB_1能力的变化。未改性的 Na-MMT 做对照。

1.2.3 Langmuir 吸附模型建立 Langmuir 吸附方程常用于描述吸附等温线,其图形形状为吸附机理的分析提供了一定的依据,方程的特征参数也为吸附能力的预测提供了重要的参数。Langmuir 假设:吸附剂表面均匀,各处的吸附能力相同;吸附具有单分子层特性,当吸附剂表面的吸附质达到饱和时,其吸附量达到最大值;在吸附剂表面上的各个吸附点没有吸附质转移运动;达到动态平衡时,吸附和解吸速度相等。其方程式表示为:

$$\frac{C_e}{q_e}=\frac{1}{kq_{\max}}+\frac{C_e}{q_{\max}}, \tag{1}$$

式中:

C_e——吸附平衡时溶液中剩余 AFB_1浓度,mg/L;

q_e——吸附平衡时吸附剂上 AFB_1的吸附量,mg/g;

$q_{\max}$——对 AFB_1最大吸附量,mg/g;

k——Langmuir 吸附常数,L/mg。

1.2.4 Na-MMT 改性前后结构及吸附 AFB_1能力变化

(1) XRD 分析:利用 X 射线衍射仪对 Na-MMT 或 OTMAB-MMT进行分析,测定温度为室温、相对湿度为 60%,样品测试衍射角 2θ 范围为 2～10°,测试速率为 0.02 °/s,步幅 1 °/min。

(2) FTIR 分析:利用傅立叶变换红外光谱对 Na-MMT 或 OTMAB-MMT 进行分析,波长范围为 500～4 500 cm^{-1},分辨率为 4 cm^{-1},累计扫描数为 32。

(3) SEM 分析:将 Na-MMT 或 OTMAB-MMT 样品粉末放入 IB-5 离子溅射仪中进行喷金,取出放入扫描电子显微镜进行扫描观察并拍照;加速电压为 20 kV,工作距离为 10～11 mm。

(4) TGA 分析:Na-MMT 与 OTMAB-MMT 的热失重用热重分析仪进行分析。测试温度范围为 25～600 ℃,升温速率为 25 ℃/min,气体环境为 N_2,气流速度为 50 mL/min。

1.3 数据处理与分析

每组试验均进行 3 次重复,并采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 OTMAB-MMT 吸附 AFB_1试验

Na-MMT 与 OTMAB-MMT 吸附等温线见图 1。由图 1 可知,在 AFB_1处于较低的平衡浓度下(0.0～0.3 mg/L),Na-MMT与 OTMAB-MMT 吸附 AFB_1的能力快速上升;当 AFB_1平衡浓度超过 0.3 mg/L 时,趋于平缓。一些研究[6-7]人员也在试验中得到了类似的结果。

另外,Na-MMT 与 OTMAB-MMT 吸附等温线都遵循 Langmuir 吸附等温线模型(L 形)。Na-MMT 与 OTMAB-MMT 吸附 AFB_1的 Langmuir 参数见表 1。很多文献[10-11]建议当 R^2 大于 0.89 时吸附作用遵循 Langmuir 模型。由表 1 可知,Na-MMT 与 OTMAB-MMT 的 R^2 均大于 0.89,

进一步说明它们的吸附等温线遵循 Langmuir 模型。另外，OTMAB-MMT 的 q_{max} 与 k 值也都大于 Na-MMT，表明有机改性能够提高 Na-MMT 吸附 AFB_1 的能力。引起这种变化的原因可能是：① Na-MMT 有机改性增大了其亲油性能，进而增加其表面亲和力；② OTMAB-MMT 的表面带正电荷，而 AFB_1 分子带负电荷，通过离子偶极相互作用促进了其对 AFB_1 分子的吸附[7]。另外，L-型的吸附等温线表明 AFB_1 分子是以单层吸附形式吸附在 Na-MMT 或 OTMAB-MMT 上，且 Langmuir 方程适用于均相吸附[6-7,12-13]。从几何学看 AFB_1 分子接近一个平面，约占 1.38 nm^2 的表面积[13]，基于 Na-MMT 的最大吸附量为 28.57 mg/g 和 OTMAB-MMT 的最大吸附量为 34.48 mg/g，需要吸附剂的比表面积分别为 76.56，91.24 m^2/g。需求如此大的比表面积表明 AFB_1 分子已插入到 Na-MMT 或 OTMAB-MMT 层间。

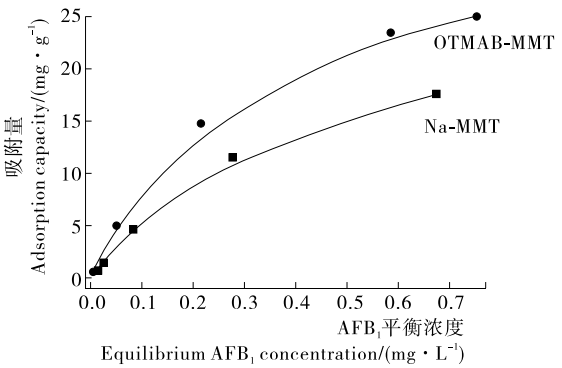

图 1　Na-MMT 与 OTMAB-MMT 吸附等温线

Figure 1　Adsorption isotherms of AFB_1 on Na-MMT and OTMAB-MMT

表 1　Na-MMT 与 OTMAB-MMT 的 Langmuir 吸附等温式常数

Table 1　Langmuir isotherm constants for the adsorption of AFB_1 onto Na-MMT and OTMAB-MMT

吸附剂	Langmuir 方程	q_{max}/(mg·g⁻¹)	k/(L·mg⁻¹)	R^2
Na-MMT	$y=0.035x+0.015$	28.57	2.33	0.997 4
OTMAB-MMT	$y=0.029x+0.008$	34.48	3.63	0.989 2

2.2　Na-MMT 与 OTMAB-MMT 特性

由图 2 可知，Na-MMT 与 OTMAB-MMT 在 3 624，798 cm^{-1} 处是 Al—OH 的吸收峰，1 039 cm^{-1} 处是 Si—O 的吸收峰，916，840 cm^{-1} 处是 Si—O—Si 的吸收峰。在 3 449 cm^{-1} 处的吸收峰是 Na-MMT 上水分子的—OH 伸缩振动峰，经 OTMAB 改性后呈减弱趋势。这表明 OTMAB 上的水合阳离子替换了原来的水分子使其减少，并导致了 Na-MMT 的表面性能发生改变，由亲水性转换成疏水性[7]。另外，OTMAB-MMT分别在 2 924，2 850，1 470 cm^{-1} 处呈现对称和不对称的—CH_2 和—CH_3 的伸缩振动吸收峰，表明 OTMAB 已经插入到 Na-MMT 的夹层空间[14]。

由图 3 可知，6.03°处的衍射峰是Na-MMT的特征衍射

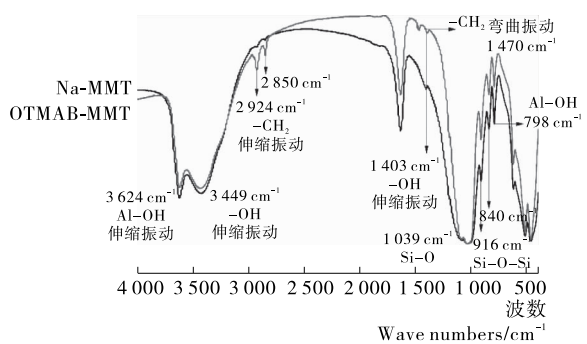

图 2　Na-MMT 与 OTMAB-MMT 红外光谱

Figure 2　FTIR spectra of Na-MMT and OTMAB-MMT

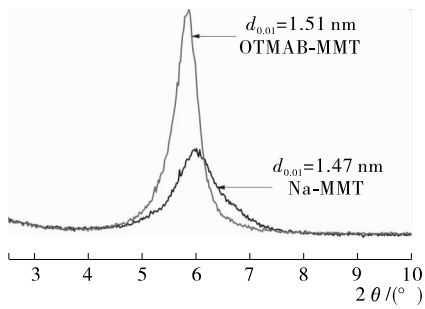

图 3　Na-MMT 与 OTMAB-MMT X-射线衍射

Figure 3　X-ray diffraction patterns of Na-MMT and OTMAB-MMT

峰，所对映的层面间距($d_{0.01}$)是 1.47 nm。经 OTMAB 改性后的 Na-MMT 特征衍射峰向低角度移动，由 6.03° 移动到 5.85°，所对映的层面间距($d_{0.01}$)为 1.51 nm。这表明 OTMAB 改性剂通过与钠离子和其他无机离子进行离子交换插入到 Na-MMT 的层间，OTMAB 的长烷基链增大了 Na-MMT的层间距[15]。

由图 4 可知，在 33～600 ℃热失重曲线中出现了 3 个阶段的质量损失，不同阶段的质量损失见表 2。在 33～130 ℃的热失重曲线中，Na-MMT 与 OTMAB-MMT 的质量损失是由表面吸附水和蒙脱土中可交换阳离子表面水分子的损失导致的[7,16]。由表 2 可知，Na-MMT 在这一阶段的质量损失大于 OTMAB-MMT，表明有机改性可以改变蒙脱土的表面性能。这是因为 OTMAB 替换了水合的钠离子，使其由亲水性变成了疏水性[7]。在第二个阶段 130～250 ℃的热失重曲线中，Na-MMT 与 OTMAB-MMT 失重率都下降缓慢，OTMAB-MMT 的质量损失率要小于 Na-MMT。这是因为与水分子相比，OTMAB 热分解需要更高的温度。在这个阶段的质量损失是化学吸附水的减少。在第三个阶段 250～600 ℃的热失重曲线中，OTMAB-MMT 的质量损失要远大于 Na-MMT。这是由于 OTMAB-MMT 在此温度范围内夹层内的 OTMAB 的蒸发或分解(OTMAB 熔点～250 ℃)引起的。另外，具有羟基结构的 Na-MMT 与 OTMAB-MMT 在这一阶段也会发生脱羟基作用造成质量损失。Ni 等[17-18]在试验中也得到了相似的结果。

由图 5 可知，Na-MMT 是致密的片层晶体颗粒，片层较大，结构清晰，层次感明显，表面结构平坦规整。而OTMAB-MMT

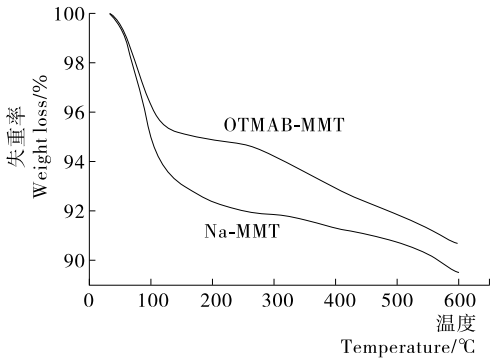

图 4 Na-MMT 与 OTMAB-MMT 热失重

Figure 4 Thermogravimetric curves of Na-MMT and OTMAB-MMT

表 2 热失重曲线中 Na-MMT 和 OTMAB-MMT 的质量损失

Table 2 Mass losses in the thermogravimetric curves of Na-MMT and OTMAB-MMT

质量损失阶段	质量损失/%	
	Na-MMT	OTMAB-MMT
33～130 ℃	6.52	4.66
130～250 ℃	1.49	0.65
250～600 ℃	2.48	4.04
总计	10.49	9.35

片层较小且多孔，表面结构卷曲松散，片层周边变圆滑，比表面积增大。这种形态有利于 AFB_1 分子进入到 OTMAB-MMT 层间，导致 AFB_1 吸附量增大。

2.3 吸附 AFB_1 前后 OTMAB-MMT 特性

由图 6 可知，OTMAB-MMT 在 5.85° 出现特征衍射峰，对应的层间距($d_{0.01}$)是 1.51 nm。在吸附 AFB_1 后，OTMAB-MMT 的特征衍射峰向低角度移动，由 5.85° 移动到 5.76°，对应的层间距($d_{0.01}$)变为 1.53 nm。这表明 OTMAB-MMT 对 AFB_1 的化学吸附作用发生在其夹层空间[18]。

由图 7 可知，在 33～600 ℃ 出现 3 个阶段的质量损失，不同阶段的质量损失见表 3。OTMAB-MMT 在吸附 AFB_1 后的前两个阶段质量损失要远大于吸附前。在热失重第二个阶段，OTMAB-MMT 吸附 AFB_1 后的质量损失是吸附前的 2 倍多，这主要是因为在此温度范围内包含了吸附的 AFB_1 的蒸发或分解(AFB_1 熔点～268 ℃)。这一结果进一步证实 AFB_1 分子插入到 OTMAB-MMT 的夹层间。

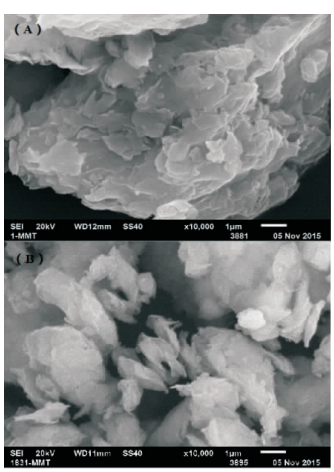

图 5 Na-MMT 与 OTMAB-MMT 扫描电镜

Figure 5 SEM images of Na-MMT (A) and OTMAB-MMT (B)

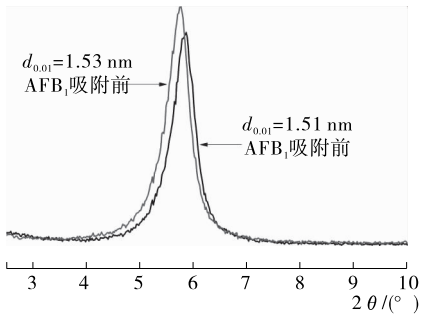

图 6 OTMAB-MMT 吸附 AFB_1 前后 X-射线衍射图

Figure 6 X-ray diffraction patterns of OTMAB-MMT before and after adsorbing AFB_1

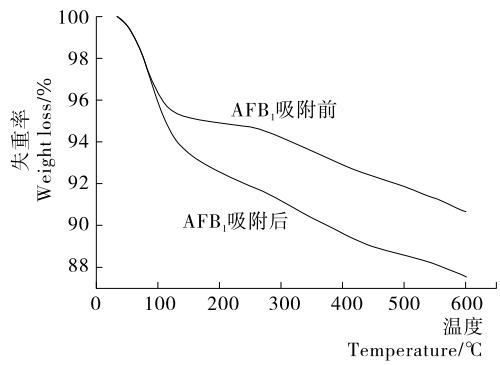

图 7 OTMAB-MMT 吸附 AFB_1 前后热失重曲线

Figure 7 Thermogravimetric curves of OTMAB-MMT before and after adsorbing AFB_1

表 3 热失重曲线中 OTMAB-MMT 吸附 AFB_1 前后的质量损失

Table 3 Mass losses in the thermogravimetric curves of OTMAB-MMT before and after adsorbing AFB_1

质量损失阶段	质量损失/%	
	吸附 AFB_1 前	吸附 AFB_1 后
33～142 ℃	4.79	6.35
142～303 ℃	1.03	2.53
303～600 ℃	3.51	3.58
总计	9.33	12.46

4 结论

试验结果表明 Na-MMT 经 OTMAB 有机改性后可有效提高其对 AFB_1 的吸附能力，且仍遵循 Langmuir 方程。AFB_1 分子主要以单层形式吸附在 OTMAB-MMT 层间内。Na-MMT 通过有机改性提高了其夹层间距，增加了其亲油性能，改善了其在有机溶剂中的分散性。为了减少干扰，提高研究结果的准确性，本研究选择在模式系统下进行，不能全面反映实际生产状况，下一步将对改性 Na-MMT 应用于食用油中黄曲霉毒素脱除研究，为其商业化应用提供理论依据和技术支持。

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.