

TEMPO 氧化法制备纳米几丁质晶须粒子的优化及其产品特性表征

李雪云^{1,2}, 王合中^{1,2}

(1 河南农业大学农业纳米研究中心, 郑州 450002; 2 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002)

摘要 以虾壳几丁质为原料, 利用 TEMPO-NaBr-NaClO 选择性氧化体系制备羧基化纳米几丁质晶须粒子。测定了反应体系中 pH 值与 NaClO(13%有效氯)含量的变化对几丁质羧基化的影响, 研究了生产高羧基含量和小颗粒粒度纳米几丁质晶须的最佳反应条件。利用傅里叶变换红外光谱、透射电子显微镜、动态光散射对制备的负电荷纳米几丁质晶须粒子进行结构表征, 测定产品水悬浮液的有效粒径和有效电位; 采用电导率法测定负电荷纳米几丁质的羧基含量。实验结果表明: 在反应体系 B1(pH=10.5, V(NaClO)=15 mL)中, 制备的负电荷纳米几丁质羧基含量最大, 达(3.16±0.23) mmol/g, 纳米晶须粒子流体动力学粒径(Z-average)为(113.97±2.29) nm, Zeta 电位为(-38.73±4.49) mV; 在反应体系 B0(pH=10.5, V(NaClO)=18 mL)中, 制备的 NC⁻ 晶须的羧基含量、粒子 Z-average 和 Zeta 电位分别为(3.00±0.41) mmol/g、(106.13±0.38) nm 和(-41.41±6.83) mV。上述两种条件制备的纳米几丁质晶须粒子羧基含量和 Zeta 电位没有显著差异, 但 B0 晶须粒子有效粒径最小。由于纳米材料的小尺寸效应是影响纳米材料生物活性的关键因素, 因此制备高生物活性的纳米几丁质晶须的最佳条件是 B0, 即制备条件为 pH=10.5, V(NaClO)=18 mL(13%)。

关键词 TEMPO 氧化 反应体系 纳米几丁质晶须 优化

中图分类号: TB381; TB383 **文献标识码:** A **DOI:** 10.11896/j.issn.1005-023X.2018.10.005

Optimization and Characterization of TEMPO-Mediated Oxidization of Nanochitin Whiskers

LI Xueyun^{1,2}, WANG Hezhong^{1,2}

(1 NanoAgro Center, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002; 2 College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002)

Abstract Carboxylate nanochitin (NC⁻) whiskers were prepared from shrimp chitin by TEMPO-NaBr-NaClO selective oxidation system. The optimal condition for production of small particles size with high carboxyl content of NC⁻ were investigated by adjusting the pH value and dosage of NaClO (13% available chlorine) in the TEMPO-mediated oxidization system. The resulted NC⁻ whiskers were qualified by Fourier transform infrared spectrometry; the morphology, effective size and size distribution, zeta potential, and carboxyl content of NC⁻ whiskers were examined by transmission electron microscopy, dynamic light scattering method, and conductometry, respectively. The results showed that NC⁻ whiskers synthesized in reaction system B1 (pH=10.5, V(NaClO)=15 mL in the system) had a highest carboxyl group of (3.16±0.23) mmol/g with hydrodynamic diameter (Z-average) of (113.97±2.29) nm and (-38.73±4.49) mV for zeta potential, while the carboxyl content, particle size and zeta potential of the resulted NC⁻ whiskers synthesized in reaction system B0 (pH=10.5, V(NaClO)=18 mL) were (3.00±0.41) mmol/g, (106.13±0.38) nm and (-41.41±6.83) mV respectively. The particle size was significantly decreased with an increase of NaClO in the reaction system at pH 10.5 but there was no significant difference in carboxyl content and zeta potential. Therefore, the optimal condition to produce NC⁻ whisker with a high biological activity is the treatment B0 due to small-size effect of nanomaterials, which was corresponding to the pH=10.5 and V(NaClO)=18 mL in the reaction system.

Key words TEMPO-mediate oxidation, reaction system, nanochitin whisker, optimization

0 引言

几丁质(Chitin)是自然界中除纤维素以外最丰富的生物聚合物^[1-2], 广泛存在于甲壳纲动物、昆虫的外壳和一些真菌的细胞壁中。与纤维素(Cellulose)一样, 几丁质在自然界中以几丁质纤维(Chitin fibril)形式存在, 通过分子间和分子内

的氢键将 N-乙酰葡萄糖分子紧密结合在一起, 形成晶体和非晶体两种结构^[3]。几丁质的化学结构为 β-(1,4)糖苷键连接的直链氨基多糖, 含丰富的碳水化合物和氮。在几丁质的化学结构中, C2 为乙酰基, C6 为羟基, 几丁质结构的位阻小, 化学性质较活泼, 易于化学改性^[4]。

纳米几丁质(Nanochitin)是几丁质纤维经过水解去除非

基金项目: 河南省科技厅国际科技合作(144300510016); 河南省教育厅重点项目(14B210037)

李雪云: 女, 1992 年生, 硕士研究生, 主要研究方向为生物纳米材料的制备及其在农业上的应用 E-mail: XueyunL007@163.com
王合中: 通信作者, 男, 1963 年生, 博士, 副教授, 主要研究方向为生物纳米材料的制备及其在农业上的应用 E-mail: hezhongw@126.com

结晶结构后的晶体结构产物。纳米几丁质的制备方法有电纺法、超声波处理法、酸水解“低尺度化”法和四甲基哌啶氮氧化物(Tetramethylpiperidine nitrogen oxides, TEMPO)氧化法^[5]。前两种方法主要用于几丁质纤维的制备,酸水解法是制备聚阳离子纳米几丁质的常用方法,TEMPO 氧化法可制备表面阴离子化的纳米几丁质。近年来,对几丁质晶体表面修饰制备几丁质纤维的研究很多,主要集中在 C6 位选择性氧化,包括 N₂O₄、NO₂、CrO₃、TEMPO/NaClO/NaBr 体系和 NaClO₂/KBr/KBr/4,4'-二(2,2,5,5-四甲基咪唑-3-氧化-1-氧基自由基)苯基醚体系等^[4,6-7]。近年来有很多报道了有机小分子选择氧化醇的催化机理、反应条件^[6,8-14]。Sammelhack 等^[15]首次用 TEMPO 选择性催化氧化法进行几丁质表面改性,Nooy 等^[16]在水溶液中用硝酰自由基介导伯醇进行选择性氧化,结果表明,在液相氧化体系中,以 TEMPO 为媒介能高度选择性催化多糖 C6 位的羟基,使其氧化成为羧基或羧酸盐。在 TEMPO/NaClO/NaBr 体系中,NaClO 是初始氧化剂,NaBr 和 TEMPO 为催化剂^[5]。但在氧化过程中,反应体系缓冲液的 pH 值是影响 TEMPO/NaClO/NaBr 选择性氧化的关键因素,需持续保持。在碱性条件下,选择性氧化反应体系中的 pH 值一般需要控制在 10.0 左右^[17]。

纳米粒子的粒度及其分散度、综合电荷密度等是纳米材料低剂量效应的决定性因素^[18],纳米几丁质的生物活性也与这些因素密切相关。纳米材料具有颗粒小、比表面积大、电荷密度高的优点,将几丁质纳米化可以增强对几丁质生物膜的穿透性,提高其生物活性。本研究对 TEMPO-NaBr-NaClO 氧化体系进行优化组合,在常温条件下制备携带负电荷的纳米几丁质晶须(Negatively charged nanochitin whisker, 以下简称 NC⁻)水悬浮液。通过改变 pH 值和 NaClO 的加入量,制备出不同粒度和综合电荷密度的纳米几丁质晶须粒子,并对其表征和检测,以期探索出制备纳米粒度小、羧基转化率高的最优制备条件,为 NC⁻在农业上的应用拓宽道路。

1 实验

1.1 实验材料

实验原料为来源于虾壳的几丁质粉末(Sigma, C₂₄H₄₀O₅ M_w = 408.57),TEMPO (Alfa Aesar, 2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧化物, 自由基不低于 98%), NaBr (Sigma, 不低于 99.5%), NaClO(13%有效氯, Alfa Aesar), NaOH、HCl 均为 0.1 mol/L 标准溶液(Panreac, 鹏威集团),氯化钠、无水乙醇均为 AR 级、分析纯, Spectra/Por 透析膜(MWCO: 12~4 kD, Spectrum Labs, USA)。

1.2 实验方法

1.2.1 负电荷纳米几丁质的制备

实验设置 pH 值分别为 10、10.5、10.8, NaClO(13%有效氯)的加入量分别为 8 mL、10 mL、13 mL、15 mL 和 18 mL。交叉共 15 种处理(表 1), 每种重复三次。具体实验方法为:将 0.020 g TEMPO 和 0.15 g NaBr 加入到 100 mL 去离子水中, 常温条件下置于磁力搅拌器上搅拌至溶解, 加入 1 g 几

丁质后, 立即将相应量的 NaClO 缓慢滴加到反应液中, 并用 1 mol/L 的 NaOH 控制反应液的 pH 值为相应值并保持不变, 待体系 pH 值稳定后, 持续反应 2~3 h, 并加入 5 mL 无水乙醇终止反应。用 1 mol/L HCl 标准液调节 pH 值至 7 左右, 在 10 000 r/min 下离心 8 min, 弃去反应剩余物。将离心上清液导入透析膜, 于去离子水中透析, 每天测量膜外 pH 值并更换透析缸内的去离子水, 直至 pH 值稳定不变后取出。将膜内透析液用超声细胞破碎仪在冰浴条件下超声破碎 20 min, 超声条件设置为 30% 输出功率, 工作 3 s, 间歇 3 s。超声完成后再次离心取上清液留存, 检测备用。

表 1 实验设计及反应条件

Table 1 Experimental design of reaction conditions

Number	pH value	NaClO(13%)/mL	NaClO-chitin* / (mmol/g)
A0	10	18	31.4
A1	10	15	26.3
A2	10	13	22.7
A3	10	10	17.5
A4	10	8	14.0
B0	10.5	18	31.4
B1	10.5	15	26.3
B2	10.5	13	22.7
B3	10.5	10	17.5
B4	10.5	8	14.0
C0	10.8	18	31.4
C1	10.8	15	26.3
C2	10.8	13	22.7
C3	10.8	10	17.5
C4	10.8	8	14.0

Note: * —mol of NaClO to 1 g of chitin

1.2.2 负电荷纳米几丁质羧基含量的测定

采用电导滴定法测定反应产物中的羧基含量。方法如下:取 20 mL 浓度已知的 NC⁻置于小烧杯中, 测量初始 pH 值和电导率值, 加入 5 mL 0.01 mol/L NaCl, 用 0.1 mol/L HCl 将水悬液 pH 值调到 2 左右, 随后加入 0.05 mol/L NaOH, 每次加入 100 μL, 加入后记录 pH 值和电导率值的变化, 待 pH 值变化至 11 后停止, 将数据导入 Microsoft Office 处理, 按式(1)计算羧基的含量。

$$\text{羧基含量}(\text{mmol/g}) = \frac{c \times \Delta V}{c_1 \times V_1} \quad (1)$$

式中: c 为 NaOH 的浓度(mol/L), V 为等当量点前后消耗 NaOH 的体积(mL), V₁ 为检测用负电荷纳米几丁质的体积(mL), c₁ 为检测用负电荷纳米几丁质的浓度(g/mL)。

1.2.3 傅里叶变换红外色谱分析

将不同条件下制备的纳米几丁质水悬液提前置于 -80 °C 环境中冷冻成冰, 随后冷冻干燥, 得到雪花状纳米几丁固体颗粒; 利用 KBr 压片法, 通过傅里叶变换红外光谱仪 NICOLET IS10 进行测试, 光谱扫描范围为 4 000 ~ 400 cm⁻¹, 分析各基团性状。

1.2.4 纳米几丁质晶须粒子的表征

对纳米几丁质晶须粒子粒度、粒子分散度和表面特征进

行表征,分别用动态光散射激光粒度仪(英国马尔文 Nanosizer ZS90)测量 NC^- 有效粒径和有效电位,用高分辨投射电子显微镜(TEM, JEOLJEM-2 100)观察 NC^- 的表面结构。

1.2.5 数据统计分析

羧基含量、粒度及 Zeta 电位的测定值为三次测试的平均值。用 SPSS 软件处理数据,进行单因子方差分析和比较,检测不同制备条件下实验产品的羧基含量、粒度及 Zeta 电位差异的显著情况,设置差异显著性水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 负电荷纳米几丁质的表征

2.1.1 负电荷纳米几丁质羧基含量的测定

纳米几丁质羧基含量由电导滴定法测定,其电荷密度由两个等效点之间的滴定剂体积差值计算(图 1),根据羧基含量计算公式计算出纳米几丁质的羧基含量。在反应条件为 $\text{pH}=10.8$ 、 $V(\text{NaClO})=15 \text{ mL}(13\%)$ 时,产物的羧基含量为 2.15 mmol/g 。

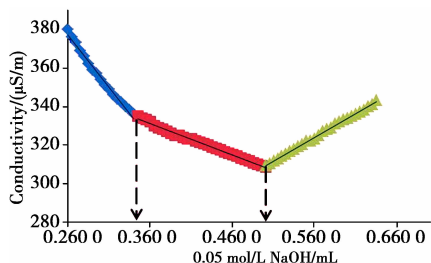


图 1 负电荷纳米几丁质羧基含量的测定

Fig. 1 Determination of carboxyl group of NC^-

2.1.2 纳米几丁质晶须粒子粒径和电位分析

图 2 和图 3 分别为 $\text{pH}=10.8$ 、 $V(\text{NaClO})=15 \text{ mL}$ (13%) (即 C1) 条件下制备的负电荷纳米几丁质 Zeta 电位和粒度分布图。检测样品为超声后离心的上清液,浓度约为 0.3%, pH 值为 6.4, 粒子多分散系数(PDI)为 0.159。根据检测,在此反应条件下合成的 NC^- 有效粒径和有效电位都呈正态分布,产物的 Zeta 电位为 -50.54 mV (图 2),有效粒径约为 111 nm (图 3)。

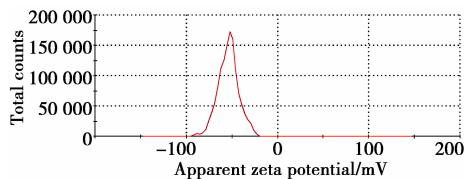


图 2 NC^- (C1) Zeta 电位图

Fig. 2 Zeta potential of NC^- (C1)

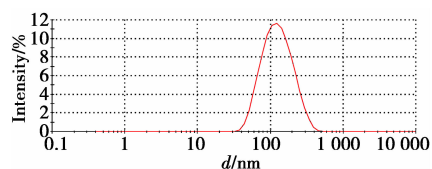


图 3 NC^- (C1) 纳米粒度分布图

Fig. 3 Size and size distribution of NC^- (C1)

2.1.3 负电荷纳米几丁质 FT-IR 分析

图 4 和图 5 为在不同 TEMPO-NaBr-NaClO 氧化体系中制备的 NC^- 的 FT-IR 谱。原料几丁质中,乙酰氨基的酰胺谱带在 1376 cm^{-1} 和 1326 cm^{-1} 处形成双重峰^[19]。 $2925 \sim 2930 \text{ cm}^{-1}$ 处为 C-H 伸缩振动产生的吸收峰, $2000 \sim 2500 \text{ cm}^{-1}$ 之间的宽峰较强,为与 $-\text{CH}_2-$ 结合的 $-\text{OH}$ 。其中 2400 cm^{-1} 处的强倒置峰与 Madhumathi^[20]、Salaberria^[21] 以及 Tan^[22] 等的研究结果一致,可能与纳米晶体结构中分子内氢键有关。根据 Ifuku 等^[23] 的报道,几丁质经过氧化反应后,羰基伸缩振动产生的吸收峰大约在 1730 cm^{-1} 。产物酰胺带发生偏移,分别在 A0 的 1419 cm^{-1} 和 1307 cm^{-1} 处、B0 的 1427 cm^{-1} 和 1317 cm^{-1} 处、C0 的 1429 cm^{-1} 和 1317 cm^{-1} 处形成双重峰。图 4 为在不同 pH 值、相同 NaClO 含量的反应体系下制得的 NC^- 的 FT-IR 谱(A 组)。图 4 中箭头所指处为主要吸收谱带的波数和吸收峰。图 4 中显示, A0、B0、C0 组的 NC^- 分别在 1633 cm^{-1} 、 1643 cm^{-1} 、 1623 cm^{-1} 处形成 COO^- 不对称伸缩振动峰,说明 TEMPO 的氧化位点专一。由图 5 可见,在相同 pH 值的反应条件下,虽然 NaClO 的含量不同,但产物的红外谱相似,吸收峰的强度不同,说明产物的主体结构一致,基团含量不同,产物之间性质有些许差异。

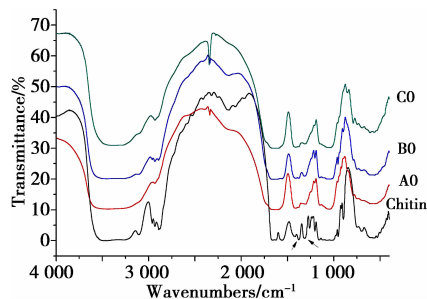


图 4 不同 pH 值条件下制备的 NC^- 的 FT-IR 光谱

Fig. 4 FT-IR spectrum of NC^- synthesized in different pH value

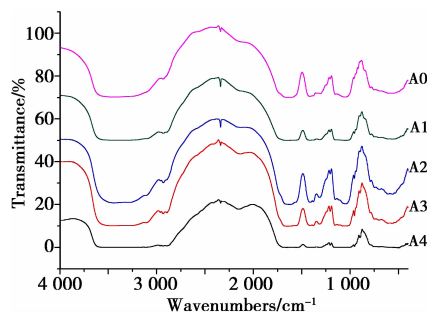


图 5 A 组中 NC^- 的 FT-IR 光谱

Fig. 5 FT-IR spectrum of NC^- in group A

2.1.4 TEM 图像分析

采用高分辨投射电子显微镜观察负电荷纳米几丁质的表面结构(图 6, C1 样品,制备条件为: $\text{pH}=10.8$ 、 $V(\text{NaClO})=15 \text{ mL}$)。测定时,将 NC^- 滴加到普通碳支持膜上,用钨光灯炙烤,待 NC^- 均匀铺满碳支持膜后,可供观察。从图 6 中可以看出, NC^- 为细长棒状结构,多个纳米晶须容易团聚,形成梭状结构。经超声处理,团聚粒子可进一步分散。

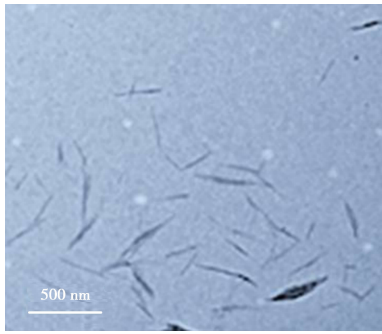


图 6 负电荷纳米几丁质的 TEM 图(加速电压为 200 kV, $\times 30\,000$, C1 样品)

Fig. 6 TEM image of negatively charged nanochitin whisker (acceleration voltage is 200 kV, $\times 30\,000$, sample of C1)

2.2 负电荷纳米几丁质最佳制备条件分析

将测定得到的各组处理 NC⁻ 的羧基含量、有效粒径、有效电位等数据进行统计和差异性分析,得到表 2、表 3、表 4。从表 2 可以看出,同一 pH 值下,在 A、B、C 三组处理中,各组处理 NC⁻ 的羧基含量均随着 NaClO 含量的增加而升高。当 NaClO 量相同时,反应体系 pH 为 10.5 条件下制备的 NC⁻ 羧基含量高于反应体系 pH 值为 10 和 10.8 条件下制备的 NC⁻ 羧基含量。A 组反应体系中, A0 的羧基含量值最大,达到 (3.07 ± 0.14) mmol/g,且与其他各组处理存在显著差异 ($p < 0.05$)。B 组反应体系中, B1 (pH = 10.5, $V(\text{NaClO}) = 15$ mL) 条件下制备的 NC⁻ 羧基含量最大,达 (3.16 ± 0.23) mmol/g。

表 2 各组处理 NC⁻ 的羧基含量与差异性
Table 2 Differences of carboxyl content of NC⁻

Treatment	Contents of carboxyl group/(mmol/g)	Treatment	Contents of carboxyl group/(mmol/g)	Treatment	Contents of carboxyl group/(mmol/g)
A0	3.07 ± 0.14 aA *	B0	3.00 ± 0.41 aA	C0	2.86 ± 0.06 aA
A1	2.03 ± 0.21 bB	B1	3.16 ± 0.23 aA	C1	2.15 ± 0.53 bB
A2	1.85 ± 0.08 bBC	B2	1.66 ± 0.19 bB	C2	1.58 ± 0.08 cBC
A3	1.60 ± 0.07 cC	B3	1.76 ± 0.15 bB	C3	1.30 ± 0.11 cC
A4	1.17 ± 0.03 dD	B4	1.85 ± 0.11 bB	C4	1.36 ± 0.05 cC

Note: values in the table represent the means of triplication, significant differences marked with lowercase/capital letter ($p < 0.05/p < 0.01$), respectively

从表 3 可知,同一 pH 值下, A、B、C 三组样品的有效粒径均随着 NaClO 增加而降低。A、B、C 三组之间差异不显著。当 NaClO 量相同时,反应体系 pH 为 10.8 条件下制备的 NC⁻

有效粒径小于反应体系 pH 值为 10 和 10.5 条件下制备的 NC⁻ 有效粒径。其中, B0 (即反应体系 pH = 10.5, $V(\text{NaClO}) = 18$ mL) 组制备的 NC⁻ 有效粒径最小,为 (106.13 ± 0.38) nm。

表 3 各处理 NC⁻ 的有效粒径与差异性
Table 3 Difference of size distribution of NC⁻

Treatment	Effective size/nm	Treatment	Effective size/nm	Treatment	Effective size/nm
A0	126.50 ± 1.14 dCD *	B0	106.13 ± 0.38 eE	C0	111.67 ± 0.67 bB
A1	119.60 ± 1.41 eD	B1	113.97 ± 2.29 dD	C1	110.97 ± 0.25 bB
A2	133.37 ± 4.92 cC	B2	123.77 ± 1.8 cC	C2	117.00 ± 0.6 bB
A3	178.60 ± 4.78 bB	B3	140.83 ± 3.44 bB	C3	147.57 ± 13.49 bB
A4	201.37 ± 3.1 aA	B4	169.30 ± 1.15 aA	C4	155.63 ± 0.67 bB

Note: values in the table represent the means of triplication, significant differences marked with lowercase/capital letter ($p < 0.05/p < 0.01$), respectively

从表 4 可以看出, A 组中, A0 样品的有效电位与其他各样品存在显著差异 ($p < 0.05$), A1 存在最大的有效电位,为 (-62.24 ± 5.84) mV; B 组中, B0、B1 与其他各样品差异显

著 ($p < 0.05$); C 组各样品之间的有效电位差异不显。因此,在 pH = 10, $V(\text{NaClO}) = 15$ mL 时,制备的 NC⁻ 有效电位最大,为 (-62.24 ± 5.84) mV。

表 4 各处理 NC⁻ 的有效电位分布与差异性
Table 4 Difference of zeta potential distribution of NC⁻

Treatment	Zeta potential/mV	Treatment	Zeta potential/mV	Treatment	Zeta potential/mV
A0	-35.69 ± 8.26 aA *	B0	-41.41 ± 6.83 abA	C0	-56.64 ± 4.66 aA
A1	-62.24 ± 5.84 bB	B1	-38.73 ± 4.49 aA	C1	-50.54 ± 6.34 aA
A2	-57.02 ± 2.7 bB	B2	-49.72 ± 9.03 bcA	C2	-53.34 ± 3.49 aA
A3	-55.24 ± 7.39 bB	B3	-54.73 ± 2.44 cA	C3	-56.25 ± 1.94 aA
A4	-61.23 ± 9.12 bB	B4	-53.60 ± 1.68 cA	C4	-54.64 ± 1.92 aA

Note: values in the table represent the means of triplication, significant differences marked with lowercase/capital letter ($p < 0.05/p < 0.01$), respectively

3 结论

采用 TEMPO 氧化法制备了纳米几丁质晶须,其 C6 位羟基被氧化为羧基,携带负电荷,由于同性电荷的排斥作用,NC⁻ 颗粒可以在水中均匀分散,形成水悬浮液。在 TEMPO/NaClO/NaBr 反应体系中,pH 值和 NaClO 含量的变化对 NC⁻ 有效粒径、有效电位和羧基含量均有一定的影响。对实验结果的综合分析后认为,当反应体系 pH=10.5、NaClO 对反应底物的有效量(或加入量)为 31.4 mmol/g 时,制备的 NC⁻ 晶须粒子粒度最小,羧基含量和 Zeta 电位适中,为制备具有高生物活性 NC⁻ 的最佳条件。

参考文献

- Clark George L, Smith Albert F. X-ray diffraction studies of chitin, chitosan, and derivatives[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1936, 40(7): 863.
- Muzzarelli Riccardo A A. Chitin[M]. Oxford: Pergamon Press Ltd, 1977.
- Goodrich Jacob D, Winter William T. α -chitin nanocrystals prepared from shrimp shells and their specific surface area measurement [J]. *Biomacromol*, 2007, 8(1): 252.
- Li Y M, Zhang Y, Cao Y F, et al. Research progress on selective C6 oxidation of chitosan [J]. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2012(2): 76(in Chinese).
李一鸣, 张岩, 曹云峰, 等. 壳聚糖 C6 位选择性氧化的研究进展[J]. *纤维素科学与技术*, 2012(2): 76.
- Zhang Y, Fan Y M, Yu S Y. Research advance of chitin nano-fibers preparation by surface charging[J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2015, 35(3): 125(in Chinese).
张燕, 范一民, 余世袁. 晶体表面修饰制备几丁质纳米纤维的研究进展[J]. *林产化学与工业*, 2015, 35(3): 125.
- Kato Y, Kaminaga J, Matsuo R, et al. TEMPO-mediated oxidation of chitin, regenerated chitin and N-acetylated chitosan[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2004, 58(4): 421.
- Saito T, Yanagisawa M, Isogai A. TEMPO-mediated oxidation of native cellulose: SEC-MALLS analysis of water-soluble and -insoluble fractions in the oxidized products[J]. *Cellulose*, 2005, 12(3): 305.
- Bragd Petter L, Besemer Arie C, Bekkumb Herman van. Bromide-free TEMPO-mediated oxidation of primary alcohol groups in starch and methyl α -D-glucopyranoside [J]. *Carbohydrate Research*, 2000, 328(3): 355.
- Bragd Petter L, Besemer Arie C, Bekkumb Herman van. TEMPO-derivatives as catalysts in the oxidation of primary alcohol groups in carbohydrates[J]. *Journal of Molecular Catalysis A Chemical*, 2001, 170(1-2): 35.
- Yang G Y, Guo Y C, Wu G H, et al. Nitroxyl radical TEMPO: An organocatalyst for highly efficient and selective oxidation of alcohol [J]. *Progress in Chemistry*, 2007, 19(11): 1727(in Chinese).
杨贯羽, 郭彦春, 武光辉, 等. 氮氧自由基 TEMPO: 选择氧化醇的高效有机小分子催化剂[J]. *化学进展*, 2007, 19(11): 1727.
- Xu M, Dai H Q, Sun X, et al. Effects of buffer solution on TEMPO-mediated oxidation [J]. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2012, 20(1): 26(in Chinese).
徐媚, 戴红旗, 孙旋, 等. 缓冲溶液对 TEMPO/NaClO/NaBr 选择性氧化纤维素的影响[J]. *纤维素科学与技术*, 2012, 20(1): 26.
- Muzzarelli Riccardo A A, Muzzarelli C, Cosani A, et al. 6-oxychitins, novel hyaluronan-like regiospecifically carboxylated chitins[J]. *Carbohydrate Polymers*, 1999, 39(4): 361.
- Yoo S H, Lee J S, Park S Y, et al. Effects of selective oxidation of chitosan on physical and biological properties[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2005, 35(1-2): 27.
- Fan Y M, Saito T, Isogai A. TEMPO-mediated oxidation of β -chitin to prepare individual nanofibrils[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 77(4): 832.
- Semmelhack M F, Chou C S, Cortes D A. Nitroxyl-mediated electro-oxidation of alcohols to aldehydes and ketones[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1983, 105(13): 4492.
- Nooy A E J, Besemer A C, van Bekkum H. Selective oxidation of primary alcohols mediated by nitroxyl radical in aqueous solution. Kinetics and mechanism[J]. *Tetrahedron*, 1995, 51(29): 8023.
- Isogai A, Kato Y. Preparation of polyuronic acid from cellulose by TEMPO-mediated oxidation[J]. *Cellulose*, 1998, 5(3): 153.
- Zhou Y, Jiang S, Jiao Y, et al. Synergistic effects of nanochitin on inhibition of tobacco root rot disease[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 99: 205.
- Negrea P, Caunii A, Sarac I, et al. The study of infrared spectrum of chitin and chitosan extract as potential sources of biomass[J]. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures*, 2015, 10(4): 1129.
- Madhumathi K, Sudheesh Kumar P T, Abhilash S, et al. Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications[J]. *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, 2010, 21(2): 807.
- Salaberria A M, Fernandes S C M, et al. Processing of α -chitin nanofibers by dynamic high pressure homogenization: Characterization and antifungal activity against *A. niger*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 116: 286.
- Tan T S, Chin H Y, et al. Structural alterations, pore generation, and deacetylation of α - and β -chitin submitted to steam explosion[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 122: 321.
- Ifuku S, Hori T, Izawa H, et al. Preparation of zwitterionically charged nanocrystals by surface TEMPO-mediated oxidation and partial deacetylation of α -chitin [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 122: 1.

(责任编辑 李敏)