

## 癸二酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺酯的合成及应用 ——应用化学综合实验教学改革的探究

沈里瑞<sup>1,\*</sup>, 刘坤<sup>1</sup>, 杨颖<sup>1</sup>, 李冬婉<sup>2</sup>, 常文贵<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>皖西学院材料与化工学院, 安徽六安 237012

<sup>2</sup>中共安徽省委党校, 合肥 230022

**摘要:** 介绍了一个关于活性酯基交联剂的合成及应用的应用化学综合实验。内容包括: 癸二酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺酯 (NHS-DA) 的制备, 产物的结构的鉴定, 以及在胶原热稳定性改善方面的应用。首先, 以癸二酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺作为原料, 碳化二亚胺作为脱水剂, 制得癸二酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺酯, 产率约为85%。通过核磁共振波谱和红外光谱分析对合成产物的结构进行了鉴定, 结果表明为目标产物——NHS-DA。其次, 将NHS-DA应用于胶原海绵的改性, 差式扫描量热分析表明NHS-DA可以改善胶原的热稳定性, 促进实验产物的应用。整体实验反应条件温和、速率快、产率高, 废弃物丙酮可回收利用, 涉及多种先进实验仪器的使用, 能够紧密结合理论所学知识、科学前沿和应用需求, 有助于培养学生理论结合实际应用的能力, 激发学生的创新性思维且拓展学生的科学视野。

**关键词:** 癸二酸; *N*-羟基琥珀酰亚胺; 胶原改性; 应用化学综合实验

**中图分类号:** G64; O6

## Synthesis and Application of Decanedioic Acid-*N*-Hydroxysuccinimide Ester: Exploration of Teaching Reform in Comprehensive Applied Chemistry Experiment

Lirui Shen<sup>1,\*</sup>, Kun Liu<sup>1</sup>, Ying Yang<sup>1</sup>, Dongwan Li<sup>2</sup>, Wengui Chang<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Materials and Chemical Engineering College, West Anhui University, Lu' An 237012, Anhui Province, China.

<sup>2</sup> Party School of Anhui Provincial Committee of C.P.C, Hefei 230022, China.

**Abstract:** This paper introduces a comprehensive applied chemistry experiment on the synthesis and application of an active ester cross-linking agent. The experiment involves the preparation of decanedioic acid-*N*-hydroxysuccinimide ester (NHS-DA), identification of its structure, and its application in improving collagen thermal stability. Initially, NHS-DA is synthesized from decanedioic acid, and *N*-hydroxysuccinimide using 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride as a condensing agent, achieving a yield of approximately 85%. The product's structure is confirmed through nuclear magnetic resonance and Fourier-transform infrared spectroscopy, indicating the successful synthesis of high-purity NHS-DA. Subsequently, NHS-DA is applied to cross-link collagen sponge, with differential scanning calorimetry demonstrating enhanced thermal stability, thus promoting its application potential. The experiment is characterized by mild conditions, rapid reaction rates, high yields, and the recyclability of waste acetone, incorporating the use of various advanced instruments. It effectively integrates theoretical knowledge with practical application, fostering students' innovative thinking and expanding their scientific perspectives.

收稿: 2023-12-10; 录用: 2024-02-07; 网络发表: 2024-02-29

\*通讯作者, Emails: 22000030@wxc.edu.cn (沈里瑞); 398867279@qq.com (常文贵)

基金资助: 安徽省高校自然科学重点项目(2023AH052644); 皖西学院线上课程建设项目(wxy2022045); 皖西学院高层次人才启动资金项目(WGKQ2021040); 安徽省高等学校省级质量工程项目(2021zygzts067, 2022zygzts123)

**Key Words:** Decanedioic acid; *N*-hydroxysuccinimide; Collagen modification; Comprehensive applied chemistry experiment

应用化学综合实验课程是我院面向应用化学专业的学生开设的专业实验课程。其教学目的是训练学生掌握综合性应用化学实验的基本操作技能,加深并巩固学生对所学专业基础理论知识的理解,学会表面活性剂、胶黏剂、日化品和合成树脂等精细化学品及高分子材料的制备、分离、提纯和鉴定方法,以期提高学生在实验过程中综合分析问题和解决问题的能力,提高科学素养<sup>[1,2]</sup>。

目前应用化学综合实验课程教学手段比较传统,普遍采用课前学生预习,课中老师讲解和指导、学生操作的模式。同时,在课时的压力下,实验项目数目较多,学生通常是课前花费1–2 h书写预习报告,实验过程中跟随小组同学随大流、动手操作少,课后的报告抄袭现象严重,容易产生惰性和依赖性<sup>[3]</sup>。此外,现有的实验教学存在内容陈旧,表征手段单一,现代科学仪器的使用较少,不能和科学前沿形成良性接轨等问题,导致学生停留在书本理论的学习中,缺乏理论结合实践的训练,难以适应“新工科”专业建设的要求<sup>[4]</sup>。在这种教学模式下,学生很少能理解实验原理及目的,疲于应付报告的压力,难以塑造和培养学生的创新性和研究性思维,产生良好的教学效果<sup>[5]</sup>。基于传统应用化学综合实验内容单一、理论和实际结合不够密切等问题,亟需开发适合本科生的研究型和应用型综合教学实验。

胶原是哺乳动物体内含量最多的一类蛋白质,主要存在于动物的皮肤、骨骼、肌腱、韧带中,胶原蛋白的特征三股螺旋结构赋予其良好的生物相容性、生物可降解性、低免疫原性等特征,被广泛应用于食品、化妆品、生物医学领域。然而未经改性的胶原存在热稳定性低、在体内易被酶分解、机械性能差等缺点,需要改性从而促进其应用。

胶原改性有物理和化学两种方法,物理改性包括紫外线照射、伽马射线照射和热交联等方法,但是物理改性交联度低并且容易使胶原变性;化学交联是指交联剂与胶原蛋白中的活性基团反应生成共价键,相比物理改性,化学改性交联度高、反应效率高。常用的化学改性试剂有戊二醛、环氧化合物、金属离子、碳化二亚胺等<sup>[6,7]</sup>。碳化二亚胺(EDC)/*N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS)作为一种“零长度”的交联剂,具有良好的生物相容性,已经被广泛应用于胶原基质的改性<sup>[8–10]</sup>。其作用机理是在EDC催化下,NHS与胶原上的羧基生成活性酯,活性酯再与胶原的氨基生成酰胺键,从而在胶原分子间产生交联。然而,目前的EDC/NHS交联体系存在反应效率低下的问题。近年来,科学家们通过利用多元羧酸(如柠檬酸、苹果酸、丙二酸、己二酸和癸二酸等)与NHS在EDC的催化下制备多元羧酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺活性酯,并将其应用至胶原及其衍生物的改性<sup>[11–16]</sup>。相比EDC/NHS交联体系,多元羧酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺活性酯可以与胶原分子的两个氨基反应形成长链的共价交联键,具备良好的反应效率。

本实验基于低毒、高效胶原改性剂的制备需求,以癸二酸(DA)、NHS、EDC为原料合成长链癸二酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-DA),利用核磁共振波谱、红外光谱验证合成产物的结构,并将其应用于胶原改性,探究改性后胶原的热稳定性。整个实验内容涉及酯化反应、酰胺化反应的基本原理,减压抽滤、旋转蒸发分离提纯实验方法,核磁共振波谱分析、红外光谱分析和差式扫描量热分析结构表征方法,并且涉及多种先进实验仪器的使用,能够紧密结合理论所学知识、科学前沿和应用需求,具有较强的综合性、理论性、操作性和研究意义。该综合实验有助于培养学生理论结合实际应用的能力,激发学生的创新性思维,可以在一定程度上改善当前应用化学综合实验教学的缺陷。

## 1 实验部分

### 1.1 实验目的

(1) 理解酯化反应、酰胺化反应的基本原理,掌握多元羧酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺酯的设计及合成

的原理和方法:

(2) 学习减压抽滤装置、真空干燥箱和旋转蒸发仪的工作原理及其使用方法, 培养学生具备基于减压原理快速分离、干燥和纯化的能力;

(3) 学习核磁共振波谱仪和红外光谱仪的工作原理及其使用方法, 培养学生基于核磁共振原理和红外吸收原理解析化合物结构的基本能力;

(4) 培养学生正确、安全操作差式扫描量热仪的能力, 具备基于物质发生物理化学变化时吸收热量与温度的关系研究其热稳定性的能力;

(5) 理解胶原改性的目的、意义及原理, 拓展学生的科学视野, 培养学生理论结合实践的能力。

## 1.2 实验原理

基于NHS的高反应活性, 在EDC的催化下可以和多元羧酸(如DA等)发生酯化反应, 制备NHS-DA, 反应方程式如图1所示。

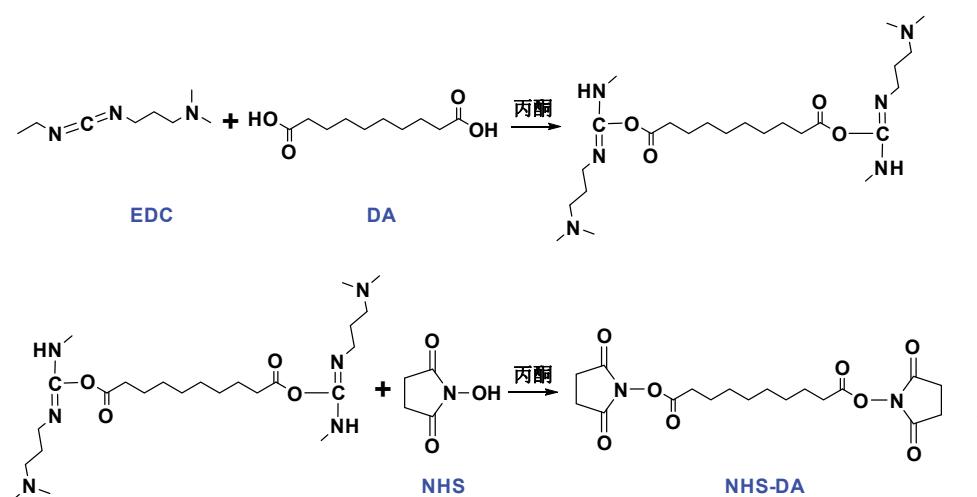


图1 NHS-DA的合成反应方程式

天然胶原是生物体内含量最高的蛋白质之一, 其多肽链的R基上含有活性的氨基, 可以与多种官能团发生共价交联反应。上述合成的NHS-DA含有两个活性酯基, 它能与胶原分子上的活性氨基发生酰胺化反应, 将两个及以上的胶原分子连接起来, 从而构建交联网络结构, 提升胶原的稳定性。NHS-DA与胶原分子的交联反应示意图如图2所示。

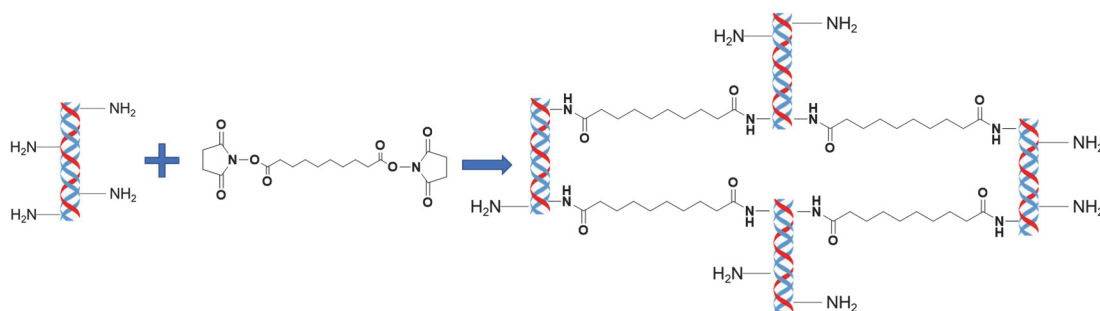


图2 NHS-DA与胶原分子交联反应示意图

## 1.3 实验药品

癸二酸(分析纯)、*N*-羟基琥珀酰亚胺(分析纯)、碳化二亚胺(分析纯)、丙酮(分析纯)、二甲亚砜

(分析纯), 均购置于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。去离子水和牛皮胶原海绵均自制。

#### 1.4 实验仪器和表征方法

磁力搅拌器(RCT基本型, 德国IKA公司), 傅里叶变换红外光谱仪(Nicolet IS5, 美国Thermo Fisher Scientific公司), 核磁共振波谱仪(AvanceCores, 德国Bruker公司), 差示扫描量热仪(DSC8500, 美国Perkin Elmer公司), 真空干燥箱(DHG-9070, 上海三发科学仪器有限公司)。

核磁共振波谱分析(NMR): 将所合成的NHS-DA溶解在氘代氯仿中, 使其浓度达到 $8 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 四甲基硅氧烷(TMS)为内标, 采用核磁共振波谱仪在400 MHz的条件下测量其 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 波谱图。

傅里叶变换红外光谱分析(FTIR): 在室温 $18\text{--}20\text{ }^\circ\text{C}$ , 相对湿度 $\leq 65\%$ 的条件下实验, 取干燥溴化钾和交联剂在玛瑙研钵中研磨成粉末, 压成透明均匀的薄片, 以空气为背景, 检测范围从 $4000$ 到 $500 \text{ cm}^{-1}$ , 对NHS-DA进行红外光谱分析。

差示扫描量热分析(DSC): 分别称取 $4 \text{ mg}$ 左右的天然胶原海绵和NHS-DA改性胶原海绵, 封装于标准铝制样品皿中, 以空坩埚为参比, 在氮气保护下, 在氮气保护下, 以 $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的加热速率将温度从 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 升高到 $150\text{ }^\circ\text{C}$ 。

#### 1.5 实验步骤

##### 1.5.1 交联剂的合成及丙酮回收

癸二酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-DA)的合成如下: 分别取 $10 \text{ mmol}$ 癸二酸和 $21 \text{ mmol}$ 的NHS于三颈烧瓶中, 再加入 $20 \text{ mL}$ 丙酮混合均匀, 搅拌十分钟, 在搅拌过程中加入 $23 \text{ mmol}$ 的EDC, 观察至样品全部溶解, 持续搅拌, 约 $1 \text{ h}$ 后溶液开始浑浊, 出现了白色析出物, 再置于室温下反应 $2 \text{ h}$ , 减压抽滤除去丙酮, 将沉淀用去离子水洗涤, 除去丙酮和水溶残留物, 再对实验产物进行抽滤。沉淀置于真空干燥箱中, 在 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥 $4 \text{ h}$ , 即获得产物NHS-DA, 用电子天平精确称重。将第一步减压抽滤所得丙酮, 转移至旋蒸瓶中, 采用旋转蒸发器, 在 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴加热和减压条件下回收丙酮。NHS-DA的得率通过公式 $Y_1 = m/(n \times M) \times 100\%$ 计算, 其中,  $Y_1$ 为得率, 单位%;  $m$ 为NHS-DA的干重, 单位g;  $n$ 为NHS-DA的理论物质的量, 单位为mol;  $M$ 为NHS-DA的摩尔质量, 单位为 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。丙酮的回收率通过公式 $Y_2 = V/20 \times 100\%$ , 其中 $Y_2$ 为回收率, 单位为%;  $V$ 为回收的丙酮体积, 单位为mL。

##### 1.5.2 交联剂的应用

称取一定量NHS-DA, 溶解于二甲亚砜中, 定容至 $25 \text{ mL}$ , 使其浓度达到 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分别称取牛皮I型胶原海绵各 $100 \text{ mg}$ , 置于 $100 \text{ mL}$ 烧杯中, 分别加入水 $50 \text{ mL}$ 、交联剂各 $100 \text{ }\mu\text{L}$ , 在室温下浸泡反应 $2 \text{ h}$ 后, 取出胶原海绵, 用去离子水清洗2次, 转移至培养皿中, 在真空干燥箱中于 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 下干燥 $4 \text{ h}$ 即可获得NHS-DA改性胶原海绵。

## 2 结果与讨论

### 2.1 NHS-DA的得率和丙酮回收率分析

在NHS-DA合成过程的现象为: 加入EDC后溶液变澄清, 过一段时间后又变浑浊。这主要是由于在EDC首先与癸二酸反应生成不稳定的中间产物, 然后NHS迅速进攻中间产物酯基上的C—O键, 形成可溶于丙酮的脲类中间体, 从而使得溶液变澄清。脲类中间体转化为活性酯NHS-DA后不溶于丙酮, 沉淀出来导致溶液再次浑浊。此外, 由于所得NHS-DA在水中的溶解度较低, 因此本实验可采用减压抽滤和多次水洗的方式分离和纯化。实验所得NHS-DA的干重约为 $3.37 \text{ g}$ , 按照图1所示反应方程式以及所用反应物用量计算, NHS-DA的理论产量为 $3.964 \text{ g}$ , 其得率约为 $85\%$ 。较高的得率表明此种合成方法具有简单和高效的特点。

丙酮的回收率约为 $26.75\%$ , 回收率不高。这主要是因为, 在减压抽滤和转移过程中, 一部分丙酮会挥发, 而且在旋转蒸发时冷凝水的温度不够低, 部分丙酮蒸汽会被抽走。

## 2.2 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 分析

图3所示为NHS-DA的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图。NHS-DA是左右高度对称的结构，其结构中共有5种类型的H原子，H原子数目理论比值为8 : 4 : 4 : 4 : 4。由图可知， $^1\text{H-NMR}$ 谱图上出现了NHS-DA的5种特征吸收峰，分别位于2.84、2.60、1.75、1.41和1.35 ppm附近。在2.84 ppm附近的吸收峰归属于a处8个氢原子( $\text{H}_a$ )的特征峰；在2.60 ppm附近的吸收峰归属于b处4个氢原子( $\text{H}_b$ )的特征峰，由于相邻2个氢原子的耦合作用，裂分为3个吸收峰；在1.75 ppm附近的多重峰归属于c处4个氢原子( $\text{H}_c$ )的特征峰；在1.41和1.35 ppm附近的吸收峰归属于d处和e处H原子( $\text{H}_d$ 和 $\text{H}_e$ )的特征峰，由于其化学位移较为接近，吸收峰有重叠，邻近H原子的多重耦合作用使其裂分情况较差，对吸收峰进行积分时需将 $\text{H}_d$ 和 $\text{H}_e$ 综合一起分析。对吸收峰面积进行统计，积分结果为8.00 : 4.07 : 4.10 : 8.64，与理论值8 : 4 : 4 : 8接近。此外，在2.17 ppm处出现了吸收峰，归属于样品中残留的少量丙酮溶剂峰。Zhuang等人<sup>[16]</sup>以己二酸和N-羟基琥珀酰亚胺采用类似方法合成化合物NHS-C6(己二酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯)并分析其 $^1\text{H-NMR}$ 谱图，结果发现在2.18 ppm附近也出现了丙酮的残留峰。这可能是由于极少量的丙酮被包覆在NHS-DA中，难以在抽滤、水洗和真空干燥过程中去除。

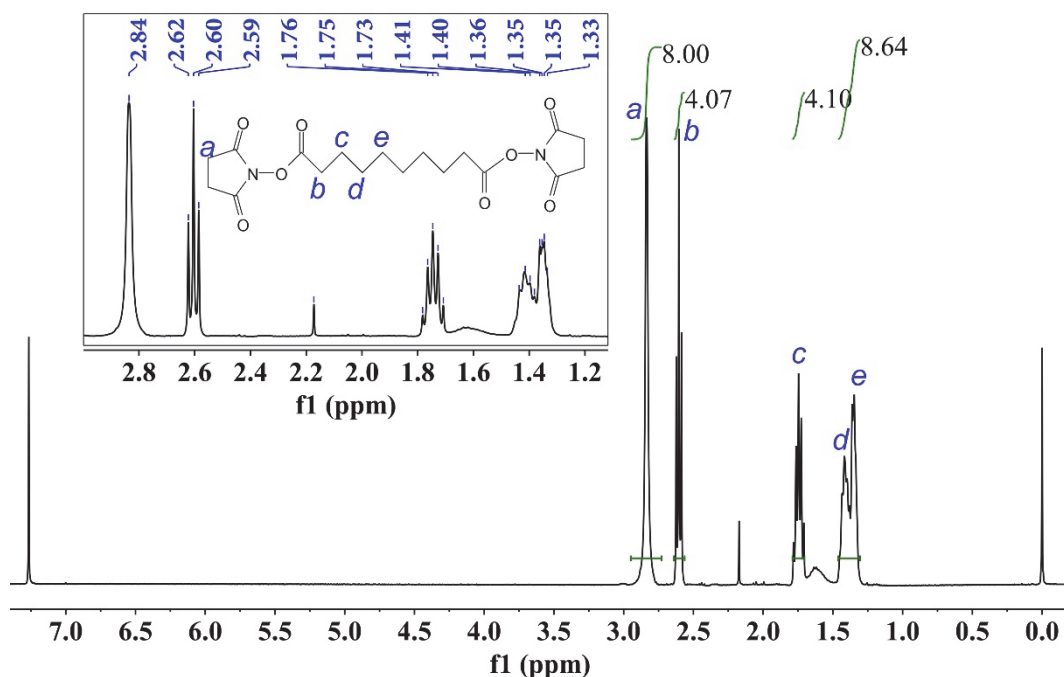


图3 NHS-DA的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图

NHS-DA的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图如图4所示。由图可知， $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图在169.27、168.69、77.06、30.91、28.71、28.55、25.6和24.49 ppm附近出现了特征吸收峰。其中，77.06 ppm附近有三重分裂峰，归属于氘代氯仿中C原子的特征吸收峰，是因为电子云密度较低的氘原子会对碳原子产生一定的电子吸引作用。在169.27和168.69 ppm处的吸收峰分别归属于b和c处羰基C原子( $\text{C}_b$ 和 $\text{C}_c$ )的特征峰；在30.91、28.71、28.55和24.49 ppm处的吸收峰分别归属于d、f、g和e处亚甲基C原子的( $\text{C}_d$ 、 $\text{C}_f$ 、 $\text{C}_g$ 和 $\text{C}_e$ )特征峰，而在25.6 ppm处的吸收峰归属于a处亚甲基C原子( $\text{C}_a$ )的特征峰。此外，在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图中并未观察到丙酮的特征峰，说明其含量很低。综上，通过癸二酸和NHS的酯化反应可以合成较高纯度的NHS-DA。

## 2.3 FTIR分析

图5为NHS-DA的红外光谱图。由图中可知，NHS-DA在1820、1790和1730  $\text{cm}^{-1}$ 处展现出羰基的

特征吸收峰，与之前文献<sup>[16]</sup>报道的NHS-DA红外光谱图类似。其中，在1820和1790  $\text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰分别归属于酰亚胺C=O的反对称伸缩振动和对称伸缩振动，而1732  $\text{cm}^{-1}$ 处的强吸收峰归属于酯基上C=O的伸缩振动<sup>[16-18]</sup>。此外，在1367、2855和2923  $\text{cm}^{-1}$ 处也展现了特征吸收峰，分别归属于N—O伸缩振动、 $\text{CH}_3$ 对称伸缩振动、 $\text{CH}_3$ 反对称伸缩振动。

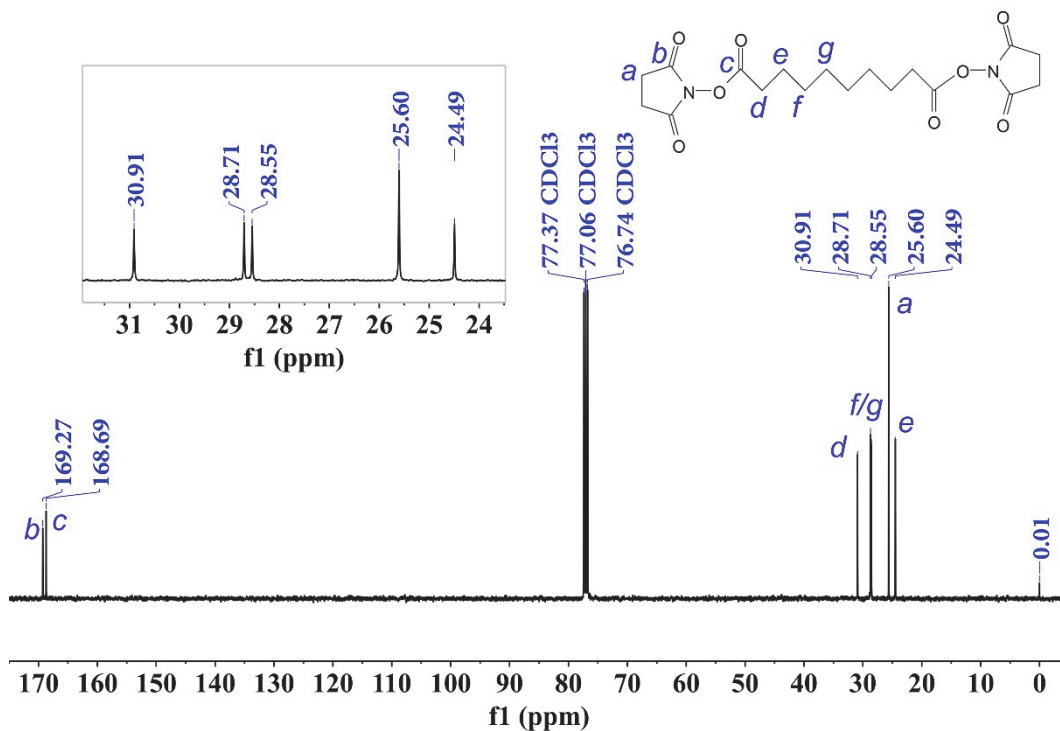


图4 NHS-DA的 $^{13}\text{C}$ -NMR谱图

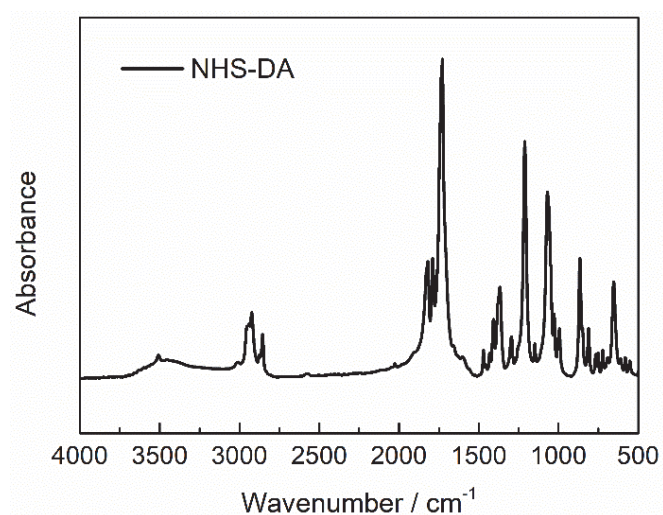


图5 NHS-DA的FTIR光谱图

图6为反应物的红外光谱图，由图可知，EDC在1156和1270  $\text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰，归属于C—N伸缩振动。NHS在1780、1710、1651、1307、1280和1080  $\text{cm}^{-1}$ 处展现吸收峰。其中，在1780和1710  $\text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰分别归属于NHS上C=O的反对称伸缩振动和对称伸缩振动<sup>[17]</sup>；在1651  $\text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰

与酰胺基团的C=O伸缩振动和C-N的伸缩振动有关；在1307  $\text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰归属于N-O伸缩振动；在1280和1080  $\text{cm}^{-1}$ 的吸收峰归属于NHS中酰亚胺的C-N伸缩振动；在3469  $\text{cm}^{-1}$ 附近的宽峰归属于NHS结构中的O-H伸缩振动。DA在1220、1710和3440  $\text{cm}^{-1}$ 处展现特征吸收峰，分别归属于C-O伸缩振动、C=O伸缩振动和羟基伸缩振动。由图5和图6的信息可知，所合成的NHS-DA为酯类化合物，并且产物中几乎没有反应物的存在。

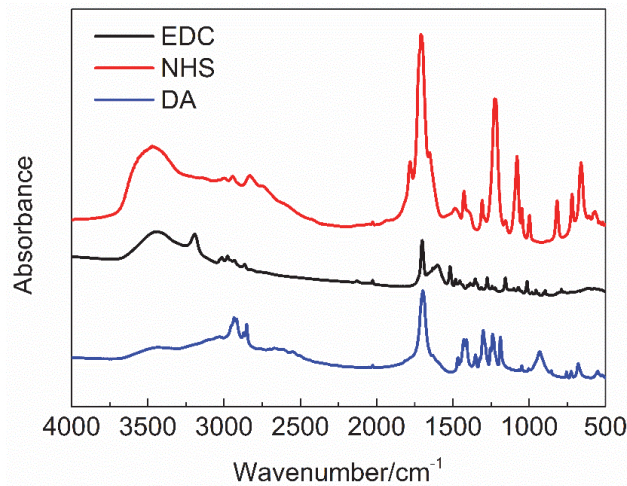


图6 反应物的FTIR光谱图

#### 2.4 改性胶原的DSC分析

在胶原材料的研究中，DSC被广泛应用于分析胶原材料的热变性温度。天然胶原分子是由3条 $\alpha$ 链构成的，它们相互错位形成右手复合螺旋(三股螺旋)。当胶原分子受热变性后，维持其三股螺旋结构稳定性的非共价作用力(分子内氢键和疏水键等)被破坏，导致胶原分子的解螺旋，分子结构从有序折叠态变为无规卷曲态，天然结构被破坏，从而在DSC上展现出吸热峰<sup>[8,15]</sup>。如图7所示为未改性和改性胶原的DSC图谱。由图可知，天然胶原在64.7  $^{\circ}\text{C}$ 就发生热变性，而经过NHS-DA改性的胶原变性温度更高，为75.3  $^{\circ}\text{C}$ ，这是由于NHS-DA在胶原分子之间构建了共价交联键，加强了三螺旋结构的稳定性，在较高的温度下才能发生解旋<sup>[15]</sup>，可以作为胶原基质的交联剂进行应用。

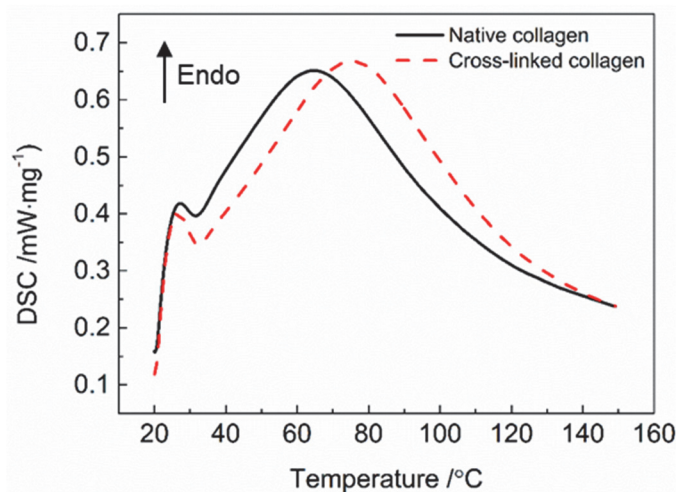


图7 未改性和改性胶原的DSC图

### 3 实验教学建议

本教学实验过程包含NHS-DA的合成及纯化部分，NHS-DA结构的鉴定部分，NHS-DA改性胶原海绵实验部分，总计15学时，建议2–3人一组合作完成。实验内容和学时分配安排如表1所示，建议第一天完成2–3实验部分，第二天完成4–6实验部分，实验预习和报告在课后完成。具体实施过程：课前要求学生查阅文献了解癸二酸、*N*-羟基琥珀酰亚胺、碳化二亚胺以及胶原分子的结构、性质和应用，了解实验原理、目的和意义，小组内讨论完成实验预习；实验过程中小组内讨论实验方案的执行和安排，按照步骤完成实验步骤和整理实验数据；课后学生独立结合文献和数据结果按照科研论文的形式完成实验报告。

表1 实验教学安排

序号	实验过程	实验内容	完成形式	实验学时分配
1	实验预习	文献调研和实验预习	独立完成、组内讨论	
2	教师检查预习情况及讲解	提问形式了解学生预习情况，讲解实验原理、目的和意义，实验的测试方法等	课堂教学	1
3	NHS-DA的合成及纯化实验	合成NHS-DA并纯化干燥，同时回收丙酮	分组进行	7
4	NHS-DA改性胶原制备和NHS-DA的结构鉴定实验	进行胶原改性的样品制备；样品干燥期间制备核磁共振波谱分析的样品，送至分析测试中心；并完成红外光谱测试表征实验	分组进行	4
5	胶原样品热稳定性分析实验	利用DSC完成胶原样品的热稳定性测定实验	分组进行	2
6	数据检查和处理	检查学生的数据测定情况，讲解小论文撰写要求	分组进行	1
7	实验报告	以科技论文形式完成实验报告撰写	独立完成	

### 4 结语

以癸二酸、NHS为反应原料，在EDC的催化作用下可以发生酯化反应，可以合成NHS-DA，整个反应速率快、操作便捷、产物得率和纯度高。NHS-DA可用于胶原基材料的交联改性，显著提升胶原基质的热稳定性，热变性温度提升了近10 °C，对拓展胶原基材料的储存、运输和应用提供了重要的手段和理论参考。

本实验以NHS-DA的合成及应用为主题，紧密结合理论所学知识、科学前沿和应用需求，属于综合型、研究型和应用型实验。整个实验过程涉及多种先进实验仪器的使用，文献知识的查阅、理解和运用，具备较强的操作性和探究性，并且产生的丙酮废液可部分回收利用，符合绿色化学理念，有利于培养学生的创新性和研究性思维，提升学生理论结合实际应用的能力。此外，实验过程几乎没有危险性的操作，具备较强的安全性，可作为本科生教学实验推广。

### 参 考 文 献

- [1] 李璟明, 吴梅, 鄧轲轲, 宋琪. *广东化工*, 2021, 48 (454), 301.
- [2] 白蓝, 李蕾, 刘媛. *实验技术与管理*, 2019, 36 (10), 247.
- [3] 宰建陶, 陈虹锦, 魏霄, 张利, 马荔, 钱雪峰. *大学化学*, 2024, 39 (4), 40.
- [4] 阮文红, 姜久兴, 章明秋, 李厚金, 朱芳. *大学化学*, 2023, 38 (11), 69.
- [5] 徐鑫明, 李家柱. *山东化工*, 2021, 50 (1), 231.
- [6] Zhang, M.; Wu, K., Li, G. *Int. J. Biol. Macromol.* 2011, 49, 847.
- [7] Li, B.; Wang, J.; Ji, L.; Bai, T.; Zhang, Y.; Liu, D. *Roy. Soc. Open Sci.* 2021, 8, 201892.

- [8] 王迎军, 杨春蓉, 汪凌云. 华南理工大学学报(自然科学版), **2007**, 12 (35), 66.
- [9] Rung, S.; Zhao, X.; Chu, C.; Yang, R.; Qu, Y.; Man, Y. *Materials* **2021**, 14, 4660.
- [10] Grabska-Zielinska, S.; Sionkowska, A.; Cravalho, A.; Monteiro, F. *Materials* **2021**, 14, 1105.
- [11] Kajiyama, T.; Kobayashi, H.; Taguchi, T.; Saito, H.; Tanaka, J. *Mat. Sci. Eng. C-Mater.* **2004**, 24, 815.
- [12] Taguchi, T.; Saito, H.; Aoki, H.; Uchida, Y.; Sakane, M.; Kobayashi, H.; Tanaka, J. *Mat. Sci. Eng. C-Mater.* **2006**, 26, 9.
- [13] Zhang, M.; Li, G. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* **2014**, 23, 44.
- [14] Duan, L.; Liu, W.; Tian, Z.; Li, C.; Li, G. *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, 69, 482.
- [15] Shen, L.; Tian, Z.; Liu, W.; Li, G. *Connect. Tissue Res.* **2015**, 56, 244.
- [16] Zhuang, C.; Tao, F.; Cui, Y. *Chem. Pap.* **2016**, 70 (4), 505.
- [17] Warner, W. S.; Tenge, B. J.; Hungerford, J. M.; Honigs, D. E. *Anal. Biochem.* **1989**, 176, 137.
- [18] 李启麟, 冯文化. 化学试剂, **2012**, 34 (11), 1038.