

## 五节芒纤维素纳米晶体制备工艺的正交分析

陈宇飞, 吴 强, 徐光密, 王静芳, 傅深渊, 钱 俊

(浙江农林大学 工程学院, 浙江 临安 311300)

**摘要:** 为高效利用五节芒 *Miscanthus floridulus*, 通过硫酸酸解五节芒纤维素制备了纤维素纳米晶体(CNC), 并采用正交分析法考察了硫酸质量分数、酸解时间和反应温度对五节芒 CNC 产率、悬浮液稳定性和 CNC 尺寸的影响。透射电镜(TEM)研究表明: 用酸解法可成功制备五节芒 CNC, CNC 为刚性棒状结构, 长度为 100~200 nm, 直径为 5~15 nm, 产率为 25%~50%。动态光散射(DLS)和 Zeta 电位测试发现, 五节芒 CNC 悬浮液的稳定性很好, DLS 得到的 CNC 流体直径略小于由 TEM 观察到的 CNC 长度。正交分析表明, 3 个工艺参数对 CNC 产率的影响依次为: 硫酸质量分数( $P=0.03$ ), 酸解时间( $P=0.06$ ), 反应温度( $P=0.35$ ); 对 CNC 流体直径的影响依次为: 硫酸质量分数( $P=0.03$ ), 反应温度( $P=0.22$ ), 酸解时间( $P=0.38$ )。制备五节芒 CNC 的最优工艺条件为: 硫酸质量分数(62%), 酸解时间(45 min), 反应温度(45 °C)。图 1 表 3 参 15

**关键词:** 木材科学与技术; 五节芒; 酸解; 纤维素纳米晶体; 产率; Zeta 电位

**中图分类号:** TQ351.01; S781.4      **文献标志码:** A      **文章编号:** 2095-0756(2014)03-0399-05

## Orthogonal experiments and analysis on cellulose nano-crystals extracted from *Miscanthus floridulus*

CHEN Yufei, WU Qiang, XU Guangmi, WANG Jingfang, FU Shenyuan, QIAN Jun

(School of Engineering, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

**Abstract:** To make better use of the *Miscanthus floridulus* stalk, sulfuric acid hydrolysis was used to prepare an *M. floridulus* cellulose nano-crystal (CNC). The influence of sulfuric acid mass fraction, acid hydrolysis time, and temperature on CNC yield, suspension stability, and particle size were analyzed through orthogonal experiments to determine the optimal reaction condition. CNC morphology and its suspension stability were studied using transmission electron microscopy (TEM) and dynamic light scattering (DLS). Results showed *M. floridulus* CNC had a rod-like structure 100–200 nm in length and 5–15 nm in diameter with yield ranging from 25%–50%. Zeta potential results revealed that *M. floridulus* CNC suspensions were stable, and the hydrodynamic diameter of CNC measured with DLS was slightly shorter than that measured by TEM images. The orthogonal analysis for CNC yield showed that the order of the effect from the three factors was sulfuric acid mass fraction ( $P=0.03$ ) > acid hydrolysis time ( $P=0.06$ ) > temperature ( $P=0.35$ ); for CNC particle size, the order of the effect from the three factors was sulfuric acid mass fraction ( $P=0.03$ ) > acid hydrolysis temperature ( $P=0.22$ ) > time ( $P=0.38$ ). In summary, the optimal reaction condition for preparing *M. floridulus* CNC was sulfuric acid mass fraction (62%), hydrolysis time (45 min) and temperature (45 °C). [Ch, 1 fig. 3 tab. 15 ref.]

**Key words:** wood science and technology; *Miscanthus floridulus*; acid hydrolysis; cellulose nano-crystal; yield; Zeta potential

收稿日期: 2013-07-10; 修回日期: 2013-12-01

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(LQ12C16003); 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划项目(2013R412013); 浙江农林大学创新创业训练计划资助项目(201204004)

作者简介: 陈宇飞, 从事纳米纤维素制备研究。E-mail: zjsycyf@foxmail.com。通信作者: 吴强, 博士, 从事生物质材料的制备与表征、聚物流变学等研究。E-mail: wuqiang@zafu.edu.cn

通过对纤维素酸解的研究,研究者得到了一种棒状晶体,其直径为5~20 nm,长度范围100 nm到几个微米,称为纤维素纳米晶体(cellulose nanocrystal, CNC)<sup>[1-2]</sup>。由于CNC具有高强度、高模量、低热膨胀系数、高长径比、低密度、可再生、能生物分解等优点,被认为是继玻璃纤维、碳纤维、碳纳米管之后,又一高效增强填料,引起了研究者的广泛关注<sup>[1-4]</sup>。近年来,已有研究人员从棉花 *Gossypium* spp.<sup>[5]</sup>, 木材<sup>[6]</sup>, 稻 *Oryza Sativa* 秆<sup>[7]</sup>, 麦 *Triticum aestivum* 秆<sup>[8]</sup>, 醋酸菌 *Cusuanjun*<sup>[9]</sup>等原料中提取纤维素并制备了CNC,由于原材料和酸解环境(酸种类、浓度、温度、时间等)的不同,CNC的形态尺寸也不相同。例如,由醋酸菌制备得到的CNC,直径为15 nm,长度可达几微米<sup>[9]</sup>;而由棉花制备得到的CNC,直径为5~10 nm,长度为100~200 nm<sup>[5]</sup>。五节芒 *Miscanthus floridulus* 分布广,生长速度快(生长季节为4 cm·d<sup>-1</sup>),生物量大(45 t·hm<sup>-2</sup>),再生能力非常强<sup>[12]</sup>。然而,随着人民生活水平的日益提高,五节芒的利用数量减少,导致造林难度增加,生物多样性被破坏。五节芒茎的纤维素质量分数高达47.9%<sup>[13]</sup>,可作为制备CNC的一种优质原料。如果能利用五节芒制备出高附加值的CNC,将为五节芒的高效利用提供很好的方向。因此,本研究采用正交分析法考察了硫酸质量分数、酸解温度和反应时间对CNC产率、悬浮液稳定性与形态尺寸的影响,以期在五节芒CNC的制备工艺提供理论基础。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与设备

五节芒(来自浙江省开化县)晒干后粉碎;冰乙酸(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司);亚氯酸钠(80%,阿拉丁试剂公司);硫酸(分析纯,杭州大方化学试剂厂);无水乙醇(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司);氢氧化钾(分析纯,西陇化工股份有限公司)。

恒温磁力搅拌油浴锅 DF-II(中国金坛市杰瑞尔电器有限公司);循环水多用真空泵 SHZ-D(III)(中国海子英仪器有限公司);TG16G离心机(中国湖南凯达科学仪器有限公司);超声波细胞粉碎机 JY98-III DN(中国宁波新芝生物科技股份有限公司);ZetaPALS(美国 Brookhaven 公司);透析袋 MD44,截留分子8 000~14 000 g·mol<sup>-1</sup>,Solarbio。

### 1.2 纤维素的提取

按文献[5,7]实验步骤,从五节芒中提取纤维素。主要步骤如下:称取30.0 g五节芒粉末置于1 000 mL烧杯中,倒入蒸馏水直至浸没,磁力搅拌下在70℃恒温水浴浸泡至蒸馏水明显发黄变色,用蒸馏水洗涤抽滤,以除去水溶性杂质。将所得固体与600 mL的氢氧化钾溶液(0.90 mol·L<sup>-1</sup>)充分混合,在水浴中加热至90℃并搅拌反应4 h,以降解半纤维素,抽滤,并用大量去离子水洗涤至滤液为中性,得到黄色絮状产物。将黄色絮状产物放入烧杯,用无水乙醇浸没,磁力搅拌4 h,除去蜡层,使更易抽滤。抽滤后将得到的产物浸入1 000 mL亚氯酸钠溶液(0.15 mol·L<sup>-1</sup>),用醋酸调节到pH 3~4,在70℃下水浴搅拌5 h,抽滤,并用大量去离子水淋洗至滤液呈中性,得到白色固体,此步骤目的为除去五节芒中的木质素。将上述白色固体在60℃烘箱中烘干后得到纤维素,称量并计算出五节芒的纤维素比率为44.7%。

### 1.3 纤维素纳米晶体(CNC)制备

称取烘干的五节芒纤维素2.0 g,置于20 mL硫酸溶液中,用正交分析法考察硫酸质量分数、酸解时间、酸解温度对CNC产率、形态和悬浮液稳定性的影响,正交因子见表1。酸解后,将样品用10倍质量的去离子水稀释,并在5 000 r·min<sup>-1</sup>下离心10 min,除去大量的酸;然后将得到的离心胶体置于透析膜中透析至中性;最后,用超声波细胞粉碎机超声15 min,得五节芒CNC悬浮液。

### 1.4 透射电镜(TEM)观察

用日本JEOL公司JEM-1200EX透射电子显微镜(TEM)观察CNC形貌。用滴管吸取1滴待测CNC悬浮液(0.5 g·L<sup>-1</sup>),滴在电镜铜网上,用20.0 g·L<sup>-1</sup>醋酸双氧铀染色,干燥2 min,随后用TEM进行观察。

### 1.5 产率计算

称取 $m_1$  g五节芒CNC悬浮液,置于60℃烘箱中干燥至恒量,称量为 $m_2$  g,由式(1)得CNC悬浮液的浓度 $c$ ,再由式(2)算得CNC产率( $x$ )。

$$c = m_2 / m_1 \quad (1)$$

$$x = cm_3 / m_4 \quad (2)$$

式(1)和式(2)中,  $m_3$  为酸解得到的 CNC 悬浮液总质量;  $m_4$  为酸解所用纤维素的质量。

### 1.6 Zeta 电位测试

采用 ZetaPALS 的 Zeta 电位测试模式表征 CNC 悬浮液的 Zeta 电位, 测试条件为 25 °C, 测试 5 个循环, 取平均值。

### 1.7 纤维素纳米晶体(CNC)悬浮液动态光散射表征

采用 ZetaPALS 的粒径测试模式表征 CNC 悬浮液的颗粒尺寸, 测试条件: 25 °C, 持续时间 6 min, 测试 3 次, 取平均值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 纤维素纳米晶体(CNC)形貌观察

图 1 为不同酸解工艺条件下制备的 CNC 的 TEM 照片, 其中, 图 1a 的工艺条件为硫酸质量分数 62%, 45 °C, 45 min, CNC 长度约 180 nm, 直径为 5~15 nm; 图 1b 的工艺条件为硫酸质量分数 62%, 50 °C, 60 min, CNC 长度约 160 nm, 直径为 5~15 nm; 图 1c 为硫酸质量分数 65%, 45 °C, 60 min, CNC 长度约 90 nm, 直径为 5~10 nm。由图 1 可知: 用硫酸酸解法可从五节芒中成功制得 CNC, 制得的 CNC 为刚性棒状结构, 而其形貌尺寸强烈依赖于工艺条件(硫酸质量分数、酸解温度和时间)。

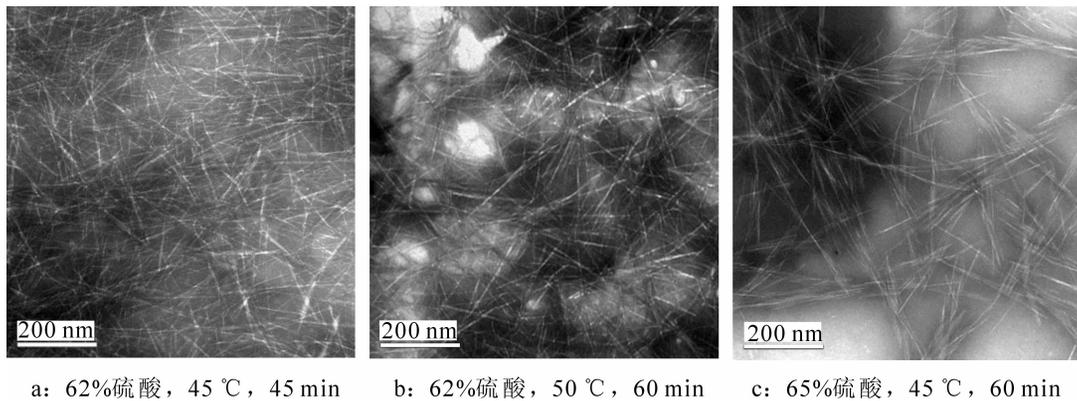


图 1 五节芒纤维素纳米晶体(CNC)的透射电镜照片

Figure 1 TEM photographs of *Miscanthus floridulus* CNC

### 2.2 纤维素纳米晶体(CNC)产率

表 1 是硫酸质量分数、酸解时间及温度对 CNC 产率的正交分析结果。由表 1 可知: CNC 产率为 25%~50%。根据极差( $R$ )的大小顺序, 硫酸酸解法制备五节芒 CNC 的 3 个工艺参数对产率的影响依次为硫酸质量分数、酸解时间、酸解温度。根据方差分析, 硫酸质量分数、酸解时间、酸解温度的  $P$  值分别为 0.03, 0.06 和 0.35, 表明: 硫酸质量分数、酸解时间和酸解温度对 CNC 产率的影响分别为显著、不显著和不显著。因素平均值( $k$ )分析表明, 随着硫酸质量分数增加, CNC 产率先升高后降低, 在 62% 时出现最大值, 主要是由于硫酸质量分数较低时纤维素不完全酸解和硫酸质量分数过高时纤维素的过度酸解引起的。另外, 实验结果表明: 当硫酸质量分数超过 70%, 五节芒纤维素将发生炭化, 无法制得 CNC。延长酸解时间, 产率也出现先升高后降低, 最佳时间为 45 min。主要原因是硫酸酸解通过破坏纤维素无定型部分获得 CNC, 因此, 酸解存在最佳时间。当反应时间小于最佳时间, 酸解不完全, 产率不高; 反应时间超过最佳时间, 则酸解过度, 纤维素晶体部分也参与反应, CNC 产率降低。酸解温度升高与酸解时间延长等效, 也存在最佳反应温度, 但温度对产率的影响较小。因此, CNC 产率最高的生产工艺为: 硫酸质量分数 62%, 酸解时间 45 min, 酸解温度 45 °C, CNC 的得率为 51.17%。此正交试验结果与唐丽荣等<sup>[14]</sup>用微晶纤维素制备 CNC 和刘志明等<sup>[15]</sup>芦苇浆制备 CNC 的结果基本吻合, 都是硫酸质量分数对 CNC 得率的影响最大, 其最佳条件和产率的细微差异可能是由于纤维素原料的不同而造成的。

### 2.3 纤维素纳米晶体(CNC)悬浮液的稳定性

Zeta 电位可用于评价悬浮液的稳定性, Zeta 电位绝对值大于 30.00 mV, 表明体系比较稳定, Zeta 电位绝对值越大, 体系越稳定。本研究通过硫酸酸解法制备五节芒 CNC, 在酸解过程中, 纤维素表面会与硫酸反应带有磺酸根负离子, CNC 表面带有负电荷, 所测定的 Zeta 电位为负值。不同工艺条件得到 CNC 悬浮液的 Zeta 电位列于表 2。由表 2 可知: 五节芒 CNC 的 Zeta 电位基本都在-30.00 mV 以下, 最低可达-54.55 mV, 表明酸解得到的 CNC 悬浮液非常稳定。*P* 值分析表明 3 个工艺条件对悬浮液稳定性的影响均不显著。*R* 值分析可知: 3 个工艺参数对其稳定性的影响依次为硫酸质量分数、酸解时间和反应温度。其中, CNC 的稳定性随着硫酸质量分数升高、酸解时间延长和反应温度升高而提高, 这主要是硫酸质量分数越高, 酸解时间越长, 温度越高, 反应程度越高, CNC 表面生成的磺酸基团含量越高引起的。CNC 悬浮液稳定性最高的实验条件为硫酸质量分数 65%, 酸解时间 60 min, 反应温度 50 ℃。

### 2.4 纤维素纳米晶体(CNC)尺寸

动态光散射法(DLS)可测定分散于液体中颗粒的流体力学直径, 虽然不能直接给出 CNC 的真实长度, 但其结果可作为酸解 CNC 尺寸大小的合理参考依据。表 3 给出了由 DLS 测定的各组 CNC 流体力学直径。与 TEM 得到的结果相比较, 可发现用 DLS 得到的 CNC 长度略小于 TEM 的观察结果。另外, 硫酸酸解法制备 CNC 的 3 个工艺参数对其流体力学直径的影响依次为硫酸质量分数、反应温度和酸解时间。*k* 值表明: 硫酸质量分数与反应温度越高, CNC 流体力学直径越小; 酸解时间对 CNC 尺寸的影响

表 2 五节芒 CNC 悬浮液的 Zeta 电位正交试验结果

Table 2 Results of the *Miscanthus floridulus* CNC suspensions Zeta potential through orthogonal experiment

试验号	硫酸质量分数/%	酸解时间/h	反应温度/℃	Zeta 电位/mV
1	62	30	40	-39.22
2	62	45	45	-42.30
3	62	60	50	-35.74
4	60	30	45	-27.84
5	60	45	50	-47.15
6	60	60	40	-38.64
7	65	30	50	-44.87
8	65	45	40	-43.64
9	65	60	45	-54.55
<i>k</i> <sub>1</sub>	-39.09	-37.31	-40.50	
<i>k</i> <sub>2</sub>	-37.88	-43.36	-41.56	
<i>k</i> <sub>3</sub>	-47.69	-42.98	-42.59	
<i>R</i>	9.81	7.05	2.09	
<i>P</i>	0.52	0.69	0.96	

表 1 五节芒纤维素纳米晶体(CNC)产率正交试验结果

Table 1 Results of the *Miscanthus floridulus* CNC yield through orthogonal experiments

试验号	硫酸质量分数/%	酸解时间/min	反应温度/℃	CNC 得率/%
1	62	30	40	39.93
2	62	45	45	51.17
3	62	60	50	39.03
4	60	30	45	39.86
5	60	45	50	41.41
6	60	60	40	35.96
7	65	30	50	26.04
8	65	45	40	34.66
9	65	60	45	25.60
<i>k</i> <sub>1</sub>	43.38	35.28	36.85	
<i>k</i> <sub>2</sub>	39.08	42.41	38.88	
<i>k</i> <sub>3</sub>	28.77	33.53	35.50	
<i>R</i>	14.61	8.89	3.38	
<i>P</i>	0.03	0.06	0.35	

表 3 五节芒 CNC 流体力学直径正交试验结果

Table 3 Results of the *Miscanthus floridulus* CNC hydrodynamic diameter through orthogonal experiment

试验号	硫酸质量分数/%	酸解时间/h	反应温度/℃	流体力学直径/nm
1	62	30	40	162.5
2	62	45	45	163.8
3	62	60	50	159.7
4	60	30	45	229.5
5	60	45	50	330.4
6	60	60	40	234.8
7	65	30	50	128.8
8	65	45	40	87.2
9	65	60	45	72.6
<i>k</i> <sub>1</sub>	162.00	173.60	161.50	
<i>k</i> <sub>2</sub>	264.90	193.80	155.30	
<i>k</i> <sub>3</sub>	96.20	155.70	206.30	
<i>R</i>	168.70	38.10	51.00	
<i>P</i>	0.03	0.38	0.22	

较小。 $P$  值表明：硫酸质量分数对 CNC 尺寸影响显著，反应温度与酸解时间对 CNC 尺寸影响不显著。

### 3 结论

用硫酸酸解法可制得五节芒纤维素纳米晶体(CNC)，其形态为刚性棒状结构，CNC 悬浮液非常稳定，酸解工艺条件会显著影响 CNC 形态尺寸。

正交实验分析表明：3 个工艺参数对 CNC 产率的影响依次为硫酸质量分数 ( $P=0.03$ )，酸解时间 ( $P=0.06$ )，反应温度 ( $P=0.35$ )；对 CNC 流体力学直径的影响依次为硫酸质量分数 ( $P=0.03$ )，反应温度 ( $P=0.22$ ) 和酸解时间 ( $P=0.38$ )；对 CNC 悬浮液稳定性的影响均不显著。

### 参考文献：

- [1] SAMIR A M A S, ALLOIN F, DUFRESNE A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field [J]. *Biomacromolecules*, 2005, **6**(2): 612 – 626.
- [2] HABIBI Y, LUCIA L A, ROJAS O J. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications [J]. *Chem Rev*, 2010, **110**(6): 3479 – 3500.
- [3] EICHHORN S J. Cellulose nanowhiskers: promising materials for advanced applications [J]. *Soft Matter*, 2011, **7** (2): 303 – 315.
- [4] LAM E, MALE K B, CHONG J H, *et al.* Applications of functionalized and nanoparticle-modified nanocrystalline cellulose [J]. *Trends Biotechnol*, 2012, **30**(5): 283 – 290.
- [5] WU Qiang, MENG Yujie, CONCHA K, *et al.* Influence of temperature and humidity on nano-mechanical properties of cellulose nanocrystal films made from switchgrass and cotton [J]. *Ind Crop Prod*, 2013, **48**: 28 – 35.
- [6] RAMANEN P, PENTTILA P A, SVEDSTROM K, *et al.* The effect of drying method on the properties and nanoscale structure of cellulose whiskers [J]. *Cellulose*, 2012, **19**(3): 901 – 912.
- [7] LU Ping, HSIEH Y. Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, **87**(1): 564 – 573.
- [8] RAHIMI M, BEHROOZ R. Effect of cellulose characteristic and hydrolyze conditions on morphology and size of nanocrystal cellulose extracted from wheat straw [J]. *Int J Polym Mater*, 2011, **60**(8): 529 – 541.
- [9] STURCOVA A, DAVIES G R, EICHHORN S J. Elastic modulus and stress-transfer properties of tunicate cellulose whiskers [J]. *Biomacromolecules*, 2005, **6**(2): 1055 – 1061.
- [10] FEDORS R F. A method for estimating both the solubility parameters and molar volumes of liquids. Supplement [J]. *Polym Eng Sci*, 1974, **14**(6): 472 – 472.
- [11] SIMHA R. The influence of brownian movement on the viscosity of solutions [J]. *J Phys Chem*, 1940, **44**(1): 25 – 34.
- [12] 赵佳美, 胡勇庆, 钱少平, 等. 五节芒茎秆微观构造及结晶度研究[J]. 浙江农林大学学报, 2012, **29**(3): 426 – 430.  
ZHAO Jiamei, HU Yongqing, QIAN Shaoping, *et al.* Microstructure and crystallinity of the *Miscanthus floridulus* culm [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2012, **29**(3): 426 – 430.
- [13] 曾汉元, 宋荣, 吴林华. 5 种高大禾草的纤维素和木质素含量的测定[J]. 安徽农业科学, 2011, **39** (19): 11660, 11774.  
ZENG Hanyuan, SONG Rong, WU Linhua. Determination of cellulose and lignin contents in five species of high grass [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2011, **39**(19): 11660, 11774.
- [14] 唐丽荣, 黄彪, 戴达松, 等. 纳米纤维素制备优化及其形貌表征[J]. 福建林学院学报, 2010, **30**(1): 88 – 91.  
TANG Lirong, HUANG Biao, DAI Dasong, *et al.* Optimum process conditions of nanocellulose crystal and morphology characterization [J]. *J Fujian Coll For*, 2010, **30**(1): 88 – 91.
- [15] 刘志明, 谢成, 方桂珍, 等. 芦苇浆纳米纤维素的制备工艺条件优化及形貌分析[J]. 林产化学与工业, 2011, **31** (6): 87 – 90.  
LIU Zhiming, XIE Cheng, FANG Guizhen, *et al.* Preparation optimization and morphology analysis of nanocrystalline cellulose from reed pulp [J]. *Chem Ind For Prod*, 2011, **31**(6): 87 – 90.