



* 文章编号:1000-5811(2016)03-0016-06

酶预处理结合高压均质机制备 纤维素微纤丝的初步研究

王志杰¹, 康艳¹, 王转¹, 李新平¹, 陈立红²

(1. 陕西科技大学 轻工科学与工程学院 陕西省造纸技术及特种纸品开发重点实验室, 陕西 西安 710021;
2. 陕西科技大学 化学与化工学院, 陕西 西安 710021)

摘要:采用三种纤维素酶(复合纤维素酶、外切纤维素酶、内切纤维素酶)分别预处理漂白马尾松纤维,处理后的纤维通过高压均质机来制备纤维素微纤丝(CMF).对CMF的形态、直径、晶型结构、结晶度、热性能等进行了研究.结果表明,制备出的CMF悬浮液呈半透明的凝胶状,具有良好的稳定性,阳离子需求量大约为对照样的10倍;CMF直径分布在20~60 nm间;CMF薄膜具有良好的透光性;CMF中纤维素的分子结构和晶型结构都未发生变化,与天然纤维素基本相同;CMF的热稳定性没有发生明显的变化.

关键词:酶预处理;纤维素微纤丝;高压均质机

中图分类号:TQ353 文献标志码:A

A preliminary study on cellulose microfibril preparation by high pressure homogenizer with enzymatic pretreatment

WANG Zhi-jie¹, KANG Yan¹, WANG Zhuan¹, LI Xin-ping¹, CHEN Li-hong²

(1. College of Light Industry Science and Engineering, Shaanxi Province Key Laboratory of Papermaking Technology and Specialty Paper, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Bleached masson pine fibers were respectively pretreated by three kinds of cellulase (complex cellulase, exo-cellulase, endo-cellulase) and then cellulose microfibril (CMF) was prepared using high pressure homogenizer. Morphology, diameter, crystal structure, crystallinity and thermal properties etc. of CMF was investigated. The results showed that CMF suspension is translucent, like gel, has good stability, and has about 10 times of cationic demand to the control sample; the diameter distribution of CMF is 20 nm to 60 nm; CMF film has good transparency; molecular structure and crystal structure of cellulose in CMF has not changed, basically the same with natural cellulose; and the thermal stability did not changed significantly.

Key words: enzymatic pretreatment; CMF; high pressure homogenizer

* 收稿日期:2016-03-20

基金项目:国家自然科学基金项目(31370578);陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划项目(2014JZ013)

作者简介:王志杰(1959—),男,陕西榆林人,教授,硕士,研究方向:纤维科学及造纸技术

0 引言

纤维素微纤丝 (cellulose microfibril, 简称 CMF), 是一种在高速高压剪切与冲击力作用下将植物纤维剥离成直径小于 100 nm, 长度为几百个纳米甚至达到微米级别的微细纤维, 是一种新型的纳米纤维素材料。由于其具有许多优异的性能, 被广泛应用于食品、医药、包装、造纸和复合材料等领域, 市场前景十分广阔^[1]。

CMF 的制备可分为机械法和预处理结合机械法。机械解离制备 CMF, 即不对纤维做任何化学处理, 主要借助摩擦力和剪切力使纤维解离成微纤丝。1983 年, Herrick 等^[2]和 Turbak 等^[3]以亚硫酸盐铁杉浆为原料, 通过高压均质化制备出了 CMF。但机械法制备 CMF 最突出的缺点就是能耗极高, 为 20~40 kWh/kg^[4]。所以, 一般在机械处理前对纤维进行预处理来减小纤维尺寸, 降低解离能耗。常用的预处理方法有酸碱预处理、有机溶剂预处理、氧化剂预处理和酶预处理。酸、碱和有机溶剂处理会产生大量的杂质, 而且要分离得到纯的 CMF 需消耗大量的水资源及动力资源, 不利于环保^[1]。TEMPO 氧化预处理容易引起纤维素的剥皮反应, 导致纤维素的降解不均匀和过度降解等问题^[1]。而采用生物酶预处理相对来说更加环保。Henriksson 和 Pääkkö 等采用内切葡聚糖酶预处理, 酶预处理后的纤维结构更加疏松, 成功制备出 CMF, 且发现用酶预处理得到的 CMF 比用酸预处理得到的 CMF 具有更有利的结构^[5,6]。有研究发现, 酶预处理制得的纳米纤维素比其他化学预处理方法制得的纳米纤维素在物理强度方面效果更好^[7-9]。

本文采用三种纤维素酶 (复合纤维素酶、外切纤维素酶、内切纤维素酶) 对漂白马尾松纤维进行预处理, 处理后的纤维通过高压均质机制备 CMF, 并对 CMF 的形态、直径、结晶结构、热性能等进行了初步研究。

1 实验部分

1.1 原料

浆料: 漂白马尾松纤维 (未干燥过的纸浆), 取自国内某造纸企业; 复合纤维素酶 (Celluclast 1.5 L, 购自 sigma 公司); 滤纸酶活 90.67 FPU/mL; 内切纤维素酶 (LPK-RZ011-SX, 购自绿维康生物工程有限公司); CMC 酶活 2.65 CMCU/mL; 外切纤维素酶 (LPK-RZ012-SX, 购自绿维康生物工程有限公司); 滤纸酶活 0.965 FPU/mL; 柠檬酸

($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$), 固体 NaOH, 3,5-二硝基水杨酸, 酒石酸钾钠 ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$), 苯酚 (C_6H_5OH), 无水亚硫酸钠 (Na_2SO_3), 试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

高压均质机 (型号: NanoGenizer, 苏州微流纳米生物技术有限公司); 扫描电子显微镜 (日本日立公司); 胶体电荷测定仪 (型号: PCD, 德国 Mutek 公司); 傅里叶变换红外光谱仪 (型号: VECTOR-22, 德国 Bruker 公司); X 射线衍射仪 (型号: D/max 2200DC, 日本理学株式会社); 同步热分析仪 (型号: STA449 F3, 德国耐驰)。

1.3 实验方法

1.3.1 酶预处理

将称好的浆料置于锥形瓶中, 加入一定量经稀释的酶液和 pH 为 4.8 的柠檬酸钠缓冲液, 调节浆液浓度为 3%, 然后置于恒温水浴振荡器中, 设定温度为 50 °C, 反应 2 h。反应结束后立即用沸水浴灭活 10 min, 用蒸馏水反复洗涤, 布氏漏斗抽滤, 收集酶预处理后的纤维, 平衡水分, 备用。三种纤维素酶预处理, 纤维得率为 80% 时, 复合纤维素酶、内切纤维素酶和外切纤维素酶的酶用量分别为 10 FPU/g、50 CMCU/g 和 8 FPU/g。

1.3.2 CMF 的制备

称取少量酶预处理过的纤维 (纤维得率 80%), 稀释至 1.5% 的浓度。只有内切纤维素酶预处理过的纤维能通过均质机, 所以, 对复合纤维素酶和外切纤维素酶预处理过的纤维用美的搅拌机在 18 000 r/min 的转速下搅拌 60 s, 使纤维长度减小以减缓均质机的堵塞, 搅拌结束后, 用高压均质机对纤维悬浮液进行均质处理, 循环次数 30 次, 压力 < 150 MPa。

1.3.3 CMF 薄膜的制备

取一定量的 CMF 悬浮液, 将微孔纤维素滤膜置于砂芯漏斗中, 抽滤, 得到湿的 CMF 薄膜。上下各放置一张微孔纤维素滤膜和 2 张滤纸, 在 200 kPa 压力下挤压 3 min, 更换滤纸, 将 CMF 薄膜及滤纸一同夹于表面平滑的玻璃板之间, 在真空干燥箱中干燥 24 h, 干燥条件: 60 °C, -760 mmHg。

1.4 分析检测

1.4.1 形态及悬浮液稳定性分析

将对照样 (未经处理的漂白马尾松纤维)、酶预处理后纤维及 CMF 悬浮液静置一定时间, 观察沉降程度。

将制备好的 CMF 稀释 100 倍,取少量经冷冻干燥机干燥后,用日立 S4800 扫描电镜进行拍照观察,电压 3.0 kV.

1.4.2 阳离子需求量的测定

采用胶体滴定法测定对照样及 CMF 悬浮液的阳离子需求量.取 10 mL 稀释至 0.01% 浓度的对照样或 CMF 悬浮液,用阳离子标准液进行反滴,用胶体电荷测定仪测定其阳离子需求量的大小,计算公式见式(1),重复 3 次取平均值.

$$q = V \cdot c / W_t \quad (1)$$

式(1)中: q —阳离子需求量($\mu\text{mol/g}$); V —消耗的标准液的体积(mL); c —标准液的电荷密度(mol/L),本实验中为 0.001 mol/L; W_t —被测样品的质量(g).

1.4.3 CMF 薄膜光学性能分析

将制备好的 CMF 薄膜平铺在彩色纸板上,观察其透光性,并用相机拍照.

1.4.4 红外光谱分析

称取 3.5~4.0 mg 经冷冻干燥后的对照样及 CMF 和 350 mg 过 200 目筛的光谱纯 KBr,在玛瑙钵中研磨混合.将 300 mg 混合均匀的样品在真空干燥箱中干燥,干燥条件为:60 °C, -760 mmHg, 4 h.干燥结束后直接将样品倒入红外压片模中,在 10 MPa 压力下压 3 min,将得到的透明片基用于 FTIR 分析测试.检测条件:波数分辨率 1 cm^{-1} ,波数 500~4 000 cm^{-1} .

1.4.5 X-射线衍射分析

取少量冷冻干燥后的对照样及 CMF 样品,倒入红外压片模中,在 10 MPa 压力下压 5 min,用制成的片剂在 D/max2200PC X-射线衍射仪上作结晶衍射图.检测条件:Cu 靶 Ka 射线,管压 40 kV,管流 40 mA,扫描速度 4 °/min.

1.4.6 热重分析

将对照样及 CMF 样品风干后,取少量置于铂坩埚中,用同步热分析仪进行测定,选择氮气氛围,温度范围 35 °C~500 °C,升温速度为 10 °C/min.

2 结果与讨论

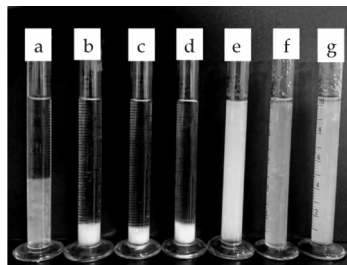
2.1 悬浮液外观形貌及沉降稳定性观察

将水解得率为 80% 的 3 种酶预处理后纤维直接配置成 1.5% 的纤维悬浮液,未经过任何处理的漂白马尾松纤维作为对照样,各纤维悬浮液的外观形貌如图 1 所示.

由图 1 可知,未经过任何处理的漂白马尾松纤维悬浮液静置 72 h 后,产生了一定的沉降(a),经 3

种纤维素酶预处理和搅拌后的纤维均沉积在量筒底部,其沉降程度比对照样的大,产生明显的分层(b,c,d).因为对照样纤维较长,表面含有细小纤维,纤维之间容易缠绕在一起.而纤维经 3 种纤维素酶预处理后,长度都有所减小,加上机械处理,搅拌机刀头较锋利,转速较大,刀头高速旋转对纤维产生的剪切力较大,对纤维有一定的切断作用,使纤维的长度进一步减小.纤维长度减小后,纤维卷曲率和扭结纤维含量均减小,纤维间不易形成缠绕.所以,经酶预处理和机械处理后的纤维悬浮液沉降增强.

对纤维进行酶预处理和机械搅拌后,均质化 30 次,纤维已经解离出 CMF,在水中均匀分散,形成了均一的凝胶状悬浮液,稳定性良好,未产生明显的固液两相分层现象(e,f,g).这是因为纤维被解离成 CMF 后,比表面积较大,与水的接触面积增加,CMF 表面含有丰富的游离羟基,亲水性较强,与水分子产生氢键作用能稳定的分散在水中,形成均匀的悬浮液,外观呈凝胶状.这与 Chen 等^[10]采用化学预处理后再用超声波处理制备出的 CMF 具有相似的性质,均表现出一定的胶体性质.



a:对照样;b,c,d:分别为复合、内切、外切纤维素酶处理+(搅拌 60s);e,f,g:分别为复合、内切、外切纤维素酶处理+(搅拌 60s)+均质化 30 次,浓度均为 1.5%

图 1 不同纤维素酶预处理后的纤维及 CMF 悬浮液的外观形貌(静置 72 h)

2.2 CMF 的阳离子需求量

胶体滴定法是用反电荷的标准液去滴定,测得的是浆料中溶解电荷的总量^[11,12].表 1 是纤维解离成 CMF 后的阳离子需求量,对照样为未经纤维素酶预处理和均质化的漂白马尾松纤维.

由表 1 可知,纤维在解离成 CMF 后,阳离子需求量迅速增加,约为对照样纤维的 10 倍,经不同纤维素酶预处理后得到的 CMF,其阳离子需求量差别不大.因为纤维被解离成具有纳米尺寸的 CMF 后,比表面积增大,微纤丝之间的氢键断裂,表面所含的游离羟基大量的暴露出来.所以,CMF 的阳离子需求量明显高于未解离的漂白马尾松纤维.

维.

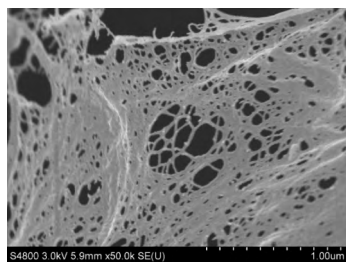
表1 CMF的阳离子需求量

样品	阳离子需求量/($\mu\text{mol/g}$)
对照样	6.7
CMF-A	65.3
CMF-B	63.3
CMF-C	64.3

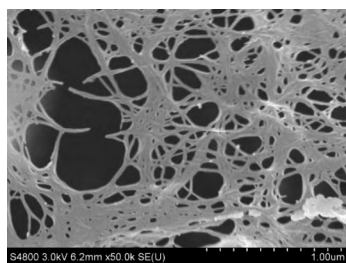
注:A-复合纤维素酶处理;B-内切纤维素酶处理;C-外切纤维素酶处理.

2.3 CMF 微观形貌观察

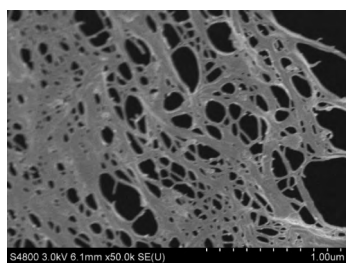
采用不同纤维素酶预处理得到 CMF 的 SEM 图如图 2 所示. 由图 2 可以看出, CMF 表面光滑, 三种纤维素酶预处理制备的 CMF 直径差异不大, 基本分布在 20~60 nm 间, 长度在图片视野中至少达几个微米. 由于其直径较小, 长度较长, 在扫描电镜下较难确定其长度分布. 因为纤维已经被解离成具有纳米尺寸的 CMF, 微纤丝从纤维中分离出来后, 微纤丝之间的氢键断裂, 在干燥过程中, 微纤丝表面暴露出的羟基互相吸引, 使微纤丝和微纤丝之间重新连接成网状结构.



(a) 复合纤维素酶处理



(b) 内切纤维素酶处理

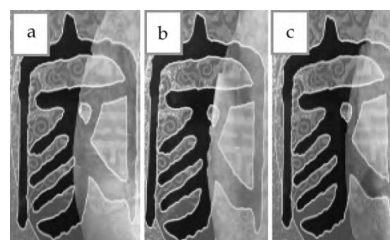


(c) 外切纤维素酶处理

图2 不同纤维素酶预处理制备的 CMF 的 SEM 图($\times 50\ 000$)

2.4 CMF 薄膜光学性能分析

漂白马尾松纤维经过不同的纤维素酶处理和机械搅拌, 均质化 30 次制备出的 CMF 薄膜如图 3 所示. 由图 3 可知, CMF 薄膜呈半透明状, 具有较好的透光性, 且表面平整, 没有明显的褶皱. 纳米纤维素的直径小于可见光波长的十分之一时光的散射非常小, 因此, 纳米纤维素的透光度较高^[13]. CMF 的尺寸与薄膜的透光性密切相关, 有研究发现增加机械处理程度会使制备的纳米纤维素膜的不透明度下降^[13,14].

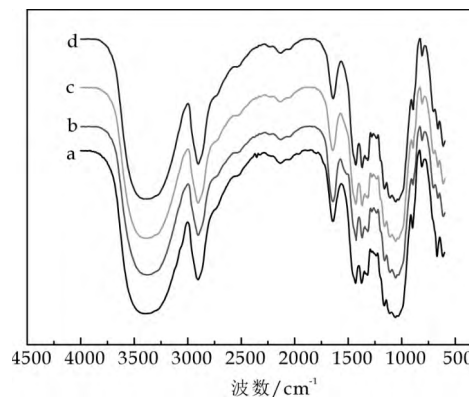


(a) 复合纤维素酶处理 (b) 内切纤维素酶处理
(c) 外切纤维素酶处理

图3 CMF 薄膜的透光性能

2.5 红外光谱分析

采用 3 种酶预处理纤维, 制备的 CMF 的红外光谱分析结果如图 4 所示. 由图 4 可知, CMF 和对照样纤维的红外光谱图曲线趋势大致相同, 出峰位置基本一致, 化学官能团未发生明显的改变. 这说明纤维经酶预处理后, 再对其进行均质化的机械处理过程中没有新的官能团产生, CMF 仍然保持天然纤维素的分子结构, 并未发生变化.



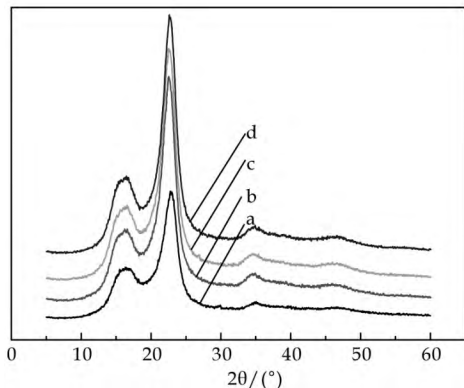
a: 对照样; b, c, d: 分别为复合、内切、外切纤维素酶预处理得到的 CMF

图4 CMF 的 FTIR 图

2.6 XRD 分析

分别采用 3 种纤维素酶对漂白马尾松纤维进行预处理, 制备的 CMF 的 X-射线衍射分析结果如图 5 所示. 由图 5 可知, CMF 的衍射峰的强度虽有

改变,但衍射角都在 16.0°和 22.5°附近出现特征吸收峰,仍属于纤维素 I 的晶态结构,这说明 CMF 仍然保持纤维素 I 的晶型结构,纤维经过纤维素酶预处理后,均质化只是将纤维解离成 CMF,并不会引起纤维素晶型结构的改变。



a:对对照; b、c、d:分别为复合、内切、外切纤维素酶预处理得到的 CMF

图 5 CMF 的 XRD 图

2.7 CMF 的结晶度分析

分别采用 3 种纤维素酶对漂白马尾松纤维进行预处理,制备的 CMF 的结晶度变化情况见表 2 所示.按照公式(2)计算 CMF 的结晶度^[15].

$$CrI = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: I_{002} —(002)衍射角的极大强度,代表结晶区的衍射强度; I_{am} — $2\theta = 18^\circ$ 时的衍射强度,即非结晶背景的衍射强度。

由表 2 可见,CMF 的结晶度要高于漂白马尾松纤维的结晶度,是因为纤维素酶预处理纤维时,由于纤维是一种多孔的天然高分子材料^[16],无定形区分子呈无序排列,结构疏松,酶首先作用于纤维素的无定形区^[17],使无定形区发生降解,导致 CMF 的结晶度增大^[18]。

表 2 CMF 的结晶度

样品	CrI/%
对对照	70.33
CMF-A	74.19
CMF-B	75.96
CMF-C	74.84

注: A-复合纤维素酶处理; B-内切纤维素酶处理; C-外切纤维素酶处理。

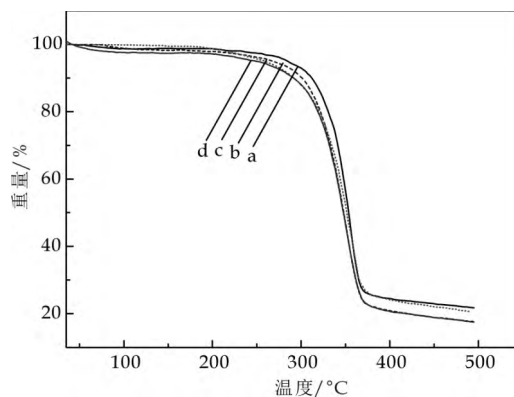
2.8 热性能分析

图 6 和图 7 分别是采用 3 种纤维素酶预处理结合机械处理,制备的 CMF 的 TGA 和 DTG 图,对对照为未经过任何处理的漂白马尾松纤维。

由图 6 可知,经纤维素酶预处理和机械处理

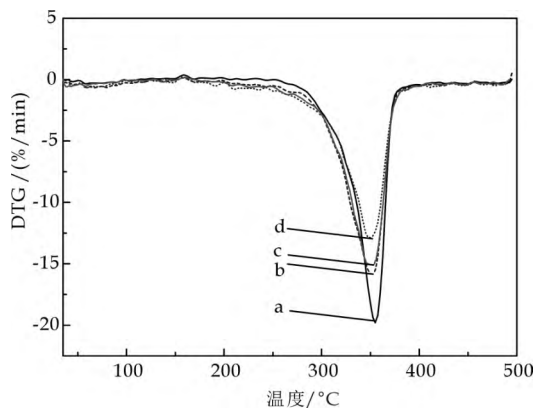
后,CMF 的热重曲线与对对照纤维的热重曲线趋势大致相同,降解温度也没有明显的改变.所以,纤维素酶预处理和机械处理对 CMF 的热性能没有明显的影响.第一次质量损失为纤维中游离水分的蒸发,发生在温度为 35℃~180℃的范围内,但质量下降幅度较小.第二次质量损失是 CMF 的热降解,发生在 200℃~370℃,CMF 的开始降解温度在 220℃左右,在 300℃~370℃时,CMF 快速降解,在 355℃左右降解速率达到最大,与天然纤维素的降解温度基本相同.第三次质量损失是 CMF 的热降解产物,碳的热分解,在 370℃~500℃范围内,有少量的质量损失.最后 CMF 的残留率在 20%左右。

CMF 的 DTG 曲线显示只有一个失重峰,说明 CMF 的热裂解也是一步完成的. CMF 的热裂解速率略低于对对照,这可能是由于 CMF 的结晶度较高。



a:对对照; b、c、d:分别为复合、内切、外切纤维素酶预处理得到的 CMF

图 6 CMF 的 TGA 曲线



a:对对照; b、c、d:分别为复合、内切、外切纤维素酶预处理得到的 CMF

图 7 CMF 的 DTG 曲线

3 结论

(1)用三种纤维素酶(复合纤维素酶、外切纤维素酶、内切纤维素酶)预处理过的漂白马尾松纤维以1.5%的浓度通过高压均质机循环30次,可以制备出CMF。制备出的CMF悬浮液呈半透明的凝胶状,具有良好的稳定性,阳离子需求量约为对照样纤维的10倍。CMF直径分布在20~60 nm之间,长度较长。CMF薄膜具有良好的透光性。

(2)FTIR和XRD分析结果显示,CMF中纤维素的分子结构和晶型结构都未发生变化,与天然纤维素基本相同。与未经过任何处理的对照样纤维相比,CMF的结晶度增加。

(3)CMF的热稳定性没有发生明显的变化,开始分解温度为220℃,最大降解温度仍在355℃左右,与天然纤维素的保持相同。

参考文献

- [1] 江泽慧,王汉坤,余雁,等.植物源微纤化纤维素的制备及性能研究进展[J].世界林业研究,2012,25(2):46-50.
- [2] F. W. Herrick, R. L. Casebier, J. K. Hamilton, et al. Microfibrillated cellulose: Morphology and accessibility [J]. Journal of Applied Polymer Science, 1983, 37(2): 797-813.
- [3] A. Turbak, F. W. Snyder, K. R. Sandberg. Microfibrillated cellulose new cellulose product: Properties, uses and commercial potential[J]. Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium, 1983, 37(2): 815-827.
- [4] Spence K L, Venditti R A, Rojas O J, et al. A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods[J]. Cellulose, 2011, 18(4): 1 097-1 111.
- [5] Henriksson M, Henriksson G, Berglund L, et al. An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (CMF) nanofibers[J]. European Polymer Journal, 2007, 43: 3 434-3 441.
- [6] M. Pääkkö, M. Ankerfors, H. Kosonen, et al. Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and

- strong gels[J]. Biomacromolecules, 2007, 8(6): 1 934-1 941.
- [7] Hassan M L, Mathew A P, Hassan E A, et al. Effect of pretreatment of bagasse pulp on properties of isolated nanofibers and nanopaper sheet[J]. Wood and Fiber Science, 2010, 42(3): 362-376.
- [8] Janardhnan S, Sain M. Bio-treatment of natural fibers in isolation of cellulose nanofibres: Impact of pre-refining of fibers on bio-treatment efficiency and nanofiber yield[J]. Journal of Polymers and the Environment, 2011, 19(3): 615-621.
- [9] Janardhnan S, Sain M M. Targeted disruption of hydroxyl chemistry and crystallinity in natural fibers for the isolation of cellulose nano-fibers via enzymatic treatment[J]. BioResources, 2011, 6(2): 1 242-1 250.
- [10] Chen W S, Yu H P, Liu Y X, et al. Individualization of cellulose nanofibers from wood using high-intensity ultrasonication combined with chemical pretreatments[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(4): 1 804-1 811.
- [11] 房孝涛. 纸浆纤维表面电荷检测方法的研究[D]. 济南: 山东轻工业学院, 2007.
- [12] 魏海峰, 常易康, 张志秀. 造纸湿部电荷检测技术与设备[J]. 湖南造纸, 2004(2): 31-33.
- [13] 王钱钱. 木质纤维素底物对纤维素酶吸附脱附规律及预处理同步制备纳米纤维素的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [14] Siro' I, Plackett D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review[J]. Cellulose, 2010(17): 459-494.
- [15] Segal L, Creely L, Martin A E. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer[J]. Textiles Research Journal, 1959, 29(10): 786-794.
- [16] Berthold J, Salmen L. Inverse size exclusion chromatography (ISEC) for determining the relative pore size distribution of wood pulps[J]. Holzforshun, 1997, 51(4): 361-368.
- [17] 肖领平, 唐勇, 邓立红. 废瓦楞纸纤维素酶解条件及酶解时纤维结构的变化[J]. 林产化学与工业, 2010, 30(2): 83-88.
- [18] 鲁杰, 石淑兰, 杨汝男, 等. 纤维素酶解苇浆纤维微观结构和结晶结构的变化[J]. 中国造纸学报, 2005, 20(2): 85-90.

【责任编辑:蒋亚儒】