

荷梗纤维素纳米晶须的制备及其表征分析

黄楠, 李亚洁, 钟雨杰, 谢怡婧, 易阳, 江雪玉*
(武汉轻工大学食品与工程学院, 湖北武汉 430000)

摘要: 采用单因素与 Box-Behnken 响应面实验相结合的方法, 以荷梗纤维素纳米晶须的得率为指标, 优化晶须的制备工艺, 并对其形貌结构和理化特性进行表征。最佳制备工艺条件为料液比 5:100 (g/mL)、水解时间 3.50 h、水解温度 49 ℃, 此条件下晶须的得率为 65.61%。扫描和透射电镜结果表明硫酸水解将纤维素转化为短棒状的均匀纳米结构; X 射线衍射和红外数据显示成功制备了荷梗纤维素纳米晶须, 并保持了纤维素基本的化学结构, 属于纤维素 I 型; 粒径分析和 PDI 值显示随水解程度的增加, 制备的晶须的粒径越小。经 Zeta 电位分析, 制备的晶须悬浮液中纳米颗粒的表面状态和稳定性较好, 因其 Zeta 电位绝对值 > 35 mV; 热分析表明晶须最佳热分解温度为 243 ℃, 热稳定性较好。综上, 该文成功利用农业废弃物荷梗制备了纤维素纳米晶须, 其具备良好的理化性质, 相较于其他来源的晶须粒径更小, 稳定性更佳。该制备工艺常用且高效, 且证明可用于稳定 Pickering 乳液, 从而提高莲藕副产物资源利用, 促进行业减损增值及可持续发展。

关键词: 荷梗; 晶须; 响应面; 酸水解; 表征

文章编号: 1673-9078(2025)09-220-232

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.0950

Preparation and Characterization of Nanocrystalline Whiskers of Lotus-stem Cellulose

HUANG Nan, LI Yajie, ZHONG Yujie, XIE Yijing, YI Yang, JIANG Xueyu*

(College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430000, China)

Abstract: Using the yield as an indicator, the preparation of nanowhiskers of lotus-stem cellulose was optimized by single-factor experiments combined with Box-Behnken response surface design. Moreover, the morphology, structure, and physical and chemical characteristics of the whiskers were comprehensively characterized. The optimal preparation conditions were as follows: solid-to-liquid ratio of 5:100 (g/mL), hydrolysis time of 3.50 h, and hydrolysis temperature of 49 ℃. Under these conditions, the yield of the cellulose nanowhiskers was 65.61%. Scanning and transmission electron microscopy observations revealed that cellulose was hydrolyzed by sulfuric acid and converted into a uniform, short, rod-like nanostructure. X-ray diffraction and infrared analysis indicated that lotus-stem cellulose nanowhiskers were successfully prepared and the product still maintained the basic chemical structure of cellulose, with the cellulose I structure. The particle size and polydispersity index (PDI) suggest that as the degree of hydrolysis increases, the particle size of the whiskers decreases. The absolute zeta

引文格式:

黄楠, 李亚洁, 钟雨杰, 等. 荷梗纤维素纳米晶须的制备及其表征分析[J]. 现代食品科技, 2025, 41(9): 220-232.

HUANG Nan, LI Yajie, ZHONG Yujie, et al. Preparation and characterization of nanocrystalline whiskers of lotus-stem cellulose [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(9): 220-232.

收稿日期: 2024-07-04; 修回日期: 2024-08-20; 接受日期: 2024-08-21

基金项目: 湖北省重点研发计划项目 (2022BBA00023; 2021BED006); 湖北省农产品加工与转化重点实验室开放课题 (2023HBSQGDKFB03); 湖北省青年拔尖人才培养计划 (2022020801010389)

作者简介: 黄楠 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工副产物的高值化利用, E-mail: hyysgxnn@163.com

通讯作者: 江雪玉 (1994-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 农产品加工副产物的高值化利用, E-mail: jiangxueyu77@163.com

potential of the whisker suspension was greater than 35 mV, which indicates a good surface structure and stability of the nanoparticles in the suspension. Thermal analysis demonstrated that the optimal thermal decomposition temperature of the whiskers is 243 °C, indicating good thermal stability. In conclusion, cellulose nanowhiskers were successfully prepared from lotus stem, an agricultural waste, and the products exhibited good physical and chemical properties. Compared with nanowhiskers produced from other sources, nanowhiskers of lotus-stem cellulose have a smaller particle size and better stability. The process for preparing lotus -stem-cellulose nanowhiskers is simple and efficient, and it has been proven that the product can be used to stabilize Pickering emulsions. The technique enables enhanced utilization of by-products from lotus-root production and facilitates loss reduction, value addition, and sustainable development of the industry.

Key words: lotus stem; whisker; response surface; acid hydrolysis; characterization

在全球工业生产活动中伴随着大量农业废弃物,导致了资源利用率低,造成经济赤字,同时对环境产生负面影响,包括杂草和昆虫入侵以及温室气体排放等问题。因此,农产品加工副产物高值化利用以促进经济、环境和社会的多重效益成为国内外研究热点^[1,2]。莲藕作为一种水生蔬菜,在我国栽培面积最大,占据超过 25.29 万 hm² 的种植面积,产量超过 749.90 万 t^[3],较多研究者关注莲藕加工副产物中藕节藕皮等。但每年伴生大量的荷梗无法处理,留塘腐烂造成的环境污染和人工种植成本增加等问题,阻碍发展,因此,对荷梗的再利用研究成为研究者和水生蔬菜行业关注的焦点。荷梗的主要成分为纤维素和少量的木质素和半纤维素,且纤维素含量为 37.33% 左右,相较于荔枝皮 12.83%^[4]、玉米苞叶 19.16%^[5]、木薯渣 20.21%^[6]等农业废弃物含量更高,因此荷梗是纤维素生产的理想原料^[7]。莲藕等水生蔬菜货架期短,荷梗中丰富的天然高分子产物可用于莲藕等农产品的保鲜包装材料的制备、Pickering 乳液的稳定剂,促进废弃物的高值化利用,实现循环经济,为水生蔬菜行业减损增值,因此,荷梗资源化利用的意义重大。

纤维素作为蕴藏量最为丰富的天然聚多糖,大量存在于植物、藻类和细菌中,聚合度高。它是由葡萄糖单体通过 β -(1,4)-糖苷键连接形成的长链线性多糖,约占自然生物质资源的 50%,全球年产量约 $7.50 \times 10^6 \sim 10.00 \times 10^6$ 万 t^[8]。纳米纤维素是纳米级 (≤ 100 nm) 的新型纤维素材料,具有低密度、无毒、可持续性和高生物降解性、比表面积、结晶度等特点,在复合薄膜、生物传感器、阻燃剂等领域都有普遍的应用。制备方法有物理、化学及生物法,工业上的常用方法为酸水解法,经济且高效,其中水合氢离子穿透纤维素链的无定形区域并水解裂解糖苷键,从而产生分散性好的纤维素纳米晶须^[9]。在

酸水解方法中,高浓度的硫酸水解制备的纳米纤维素表面会产生大量负电荷,它们之间的静电斥力赋予其稳定性^[10,11],同时具有高水解效率和良好分散性。目前多数研究制备的纤维素纳米晶须多以棉花为原料,成本较高。其他原料则因自身纤维素含量较低导致晶须产率较低,不适合工业大规模应用。但关于荷梗纳米纤维素的研究鲜有报道,因此对荷梗纤维素纳米晶须 (Cellulose Nanocrystal, CNCs) 的制备与表征分析具有重大意义。

本研究拟用硫酸水解法,以荷梗为原料制备 CNCs。通过单因素实验结合 Box-Behnken 响应面分析优化晶须的制备工艺,对其形貌、结晶结构、化学结构、Zeta 电位以及热稳定性进行全面的研究,并探究其在 Pickering 乳液中的应用,为莲藕副产物资源利用提供新思路,促进行业减损增值及可持续发展。

1 材料与方法

1.1 原料

荷梗原料,购自武汉市金水祺良农副产品有限公司;大豆油,购于当地(湖北)超市;硫酸、氢氧化钠、亚硫酸钠、过氧化氢、溴化钾均为分析级,购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市予华仪器有限责任公司;SCIENTZ-12N/A 真空冷冻干燥仪,宁波新芝生物科技股份有限公司;JY98-III DN 细胞破碎仪机,宁波新芝生物科技股份有限公司;TD6M 离心机,长沙平凡仪器仪表有限公司;YRE-2000B 旋转蒸发仪,巩义市予华仪器有限责任公司;Hitachi SU8600 扫描电子显微镜,

日立科学仪器北京有限公司；aJEM-2010 透射电子显微镜，日本电子株式会社；X 射线衍射仪，北京欧倍尔科学仪器有限公司；Hoffen-10 傅里叶红外光谱分析仪，山东赛曼仪器设备有限公司；ZEN3600 马尔文纳米粒度仪，上海林理仪器有限公司；热重分析仪 HKG 热重分析仪，北京恒久实验设备有限公司；XHF-DY 高速分散器，宁波新芝生物科技股份有限公司；GL-20G- II 高速冷冻离心机，上海安亭科学仪器厂；AXIS SUPRA X 射线光电子能谱仪，日本岛津有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 原料预处理

参考李亚洁等^[12]的方法略微改动，首先将荷梗原料按料液比 1:15 (g/mL) 浸泡于 5 wt.% NaOH，2 wt.% Na₂SO₃，80 ℃ 搅拌 3 h，反复处理三次除去木质素和半纤维素；然后分散到 4 wt.% H₂O₂ 溶液中，80 ℃ 搅拌 40 min 进行氧化脱色。用去离子水在每个步骤结束后洗至中性，最后冷冻干燥得到纯化后的荷梗纤维素。

配制 55 wt.% 和 64 wt.% 硫酸溶液并倒入三口烧瓶中，按设定温度恒温水浴，待温度恒定后，将荷梗纤维素样品分散到硫酸溶液中，搅拌水解后加入去离子水稀释至 10 倍，5 000 r/min 离心 15 min，收集沉淀。将沉淀分散到去离子水中，装入透析袋 (M_w 8~14 kDa)，将沉淀透析至中性后用细胞破碎仪以 600 W 的超声功率超声 30 min，离心，收集上清液，旋蒸浓缩得到 CNCs 悬浮液，4 ℃ 保存。

1.3.2 单因素实验设计

在 55 wt.% H₂SO₄、水解时间 2.00 h、水解温度 50 ℃ 的条件下，考察不同料液比 1:100、2:100、4:100、6:100 和 8:100 (g/mL) 对 CNCs 得率的影响。

在 55 wt.% H₂SO₄、6:100 (g/mL)、水解温度 50 ℃ 的条件下，考察不同水解时间 (0.50、1.00、2.00、4.00 和 8.00 h) 对 CNCs 得率的影响。

在 55 wt.% H₂SO₄、6:100 (g/mL)、50 ℃ 的条件下，考察不同水解温度 (30、40、50、60、70 ℃) 对 CNCs 得率的影响。

1.3.3 响应面实验设计

通过统计软件 Design-Expert 中 Box-behnken 建立模式进行试验，并对数据进行分析。料液比、水

解时间及温度为自变量，分别用 X₁、X₂、X₃ 表示，通过前期试验确定了各因素合适的条件范围，分别为 4~8:100 (g/mL)、1.00~4 .00 h、40~60 ℃，响应值 B 用 CNCs 得率的得率来表示。试验自变量因素编码及水平见表 1。

表 1 试验自变量因素编码及水平
Table 1 Encoding and level table of experimental independent variable factors

自变量因素 (Factor) ^a	编码及水平 (Symbols & level ^b)		
	-1	0	+1
料液比 (g/mL)	4:100	6:100	8:100
水解时间/h	1	2	4
水解温度/℃	40	50	60

1.3.4 CNCs得率的计算

吸取 4 mL CNCs 悬浮液于离心管中，冻干至质量恒定，称重。

$$y = \frac{(m_1 - m_2)V_1}{m_3V_2} \times 100\%$$
 (1)

式中：
y——得率，%；
m₁——烘干后样品与称量瓶的质量，g；
m₂——称量瓶的质量，g；
m₃——原料的质量，g；
V₁——CNCs 悬浮液的总体积，mL；
V₂——移取 CNCs 悬浮液的体积，mL。

1.3.5 荷梗纤维素及其纳米纤维素晶须的表征

采用扫描电镜 (Scanning Electron Microscopy, SEM)、透射电镜 (Transmission Electron Microscope, TEM) 对荷梗纤维素及纳米晶须进行形貌表征；采用 X 射线衍射仪进行结晶结构分析，扫描范围为 5°~80°，扫描速度为 2°/min；采用傅里叶红外分析 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR) 测定试样的红外光谱，红外波长范围为 400~4 000 cm⁻¹；采用 X 射线光电子能谱 (X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS) 对荷梗纤维素及纳米晶须进行全谱和精细谱扫描观察 C、O、N、S 含量变化，所有结合能数据通过 C1s = 284.8 eV 进行校准；采用马尔文纳米粒度仪进行平均粒径、多分散指数 (Polymer Dispersity Index, PDI) 和 Zeta 电位分析；采用热重 (Thermogravimetric Analysis, TGA) 在氮气中进行热解温度分析，升温范围为 80~800 ℃，升温速率为 10 ℃ /min。

1.3.6 CNCs稳定Pickering乳液的制备及其离心稳定性

将前述得到的 CNCs 悬浮液与大豆油以 5:5 的体积比混合,使用高速分散器在 15 000 r/min 的速度下,乳化 2 min,即可得到 Pickering 乳液。将所得乳液 10 000 r/min, 4 ℃,离心 30 min,观察其离心稳定性。

1.3.7 数据处理分析

所有数据以均值加减标准差 (mean±SD) 进行统计学分析。采用单因素方差分析评估各试验组间的统计学差异,当 $P<0.05$ 时被认为有统计学意义,采用 Duncan 法多重比较结果,且所有测试均进行三次独立重复实验。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验结果与分析

CNCs 是通过纤维素进行处理,破除其无定形区及低结晶区后得到的纤维素纳米晶体。荷梗 CNCs 制备工艺中料液比、水解时间和水解温度对 CNCs 的得率有较大影响。由图 1a 可知,当料液比过低时,浓硫酸过量,纤维素无定形区外及不稳定的低结晶区完全水解,导致 CNCs 得率较低 (41.24%);但当料液比达到 6:100 (g/mL) 时, CNCs 得率最大 (54.42%),随着料液比增大,荷梗纤维素固含量增加,酸量不足以完全破除纤维素中的无定形区,导致 CNCs 的得率降低。由图 1b 可知,当反应时间达到 2 h 时, CNCs 得率最大 (54.36%),归因于当反应时间低于 2 h 时,水解时间过短,纤维素中的无定形区不能完全被破除;但水解时间过长,不稳定的低结晶区又随之水解,致使 CNCs 得率下降。由图 1c 可知,水解温度为 50 ℃ 时, CNCs 得率最大,这是由于温度过低时,水解反应不充分,纤维素无定形区脱除率低,尤其是 30 ℃ 时, CNCs 得率不足 5%;但温度高达 60~70 ℃ 时,浓硫酸中水合氢离子穿透纤维素链的无定形区域,水解裂解糖苷键^[9], CNCs 发生部分降解,出现得率下降的情况。

2.2 响应面实验结果与分析

2.2.1 响应面实验结果

结合单因素实验结果,进行了三因素三水平的响应面实验,响应面实验设计及结果如表 2 所示,数据的回归方程方差分析如表 3 所示,各因素间两两交互作用如图 2 所示。

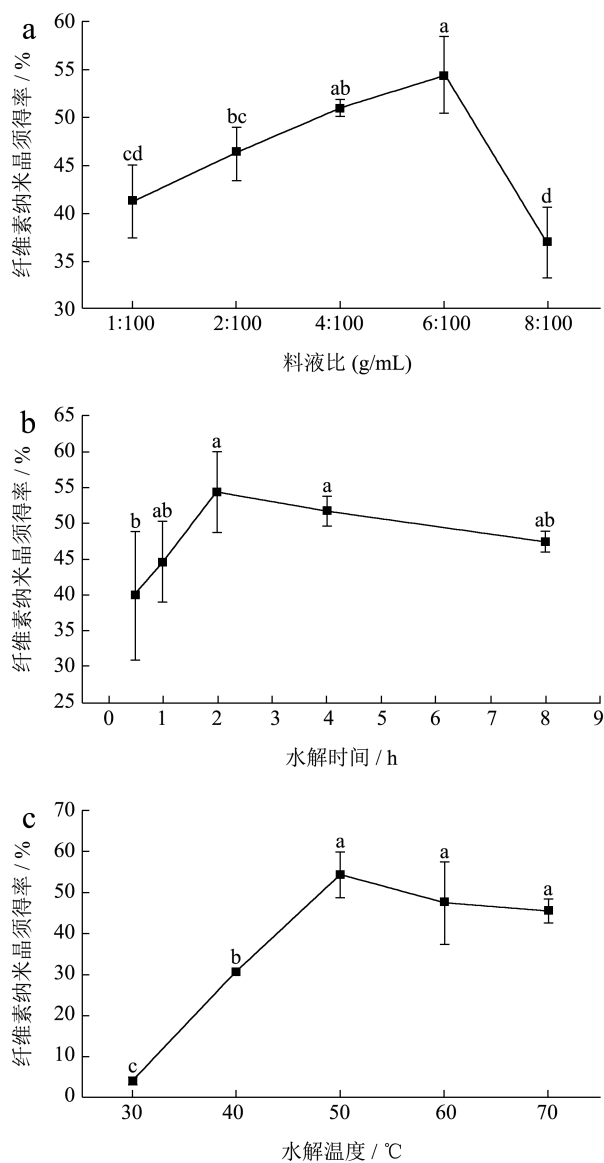


图 1 荷梗 CNCs 制备单因素实验

Fig.1 Single factor experiment on preparation of nanocrystalline whisker from pedunculi cellulose

注:折线上小写字母表示 0.05 水平的显著性差异。

表 2 响应面实验设计及结果				
Table 2 Response surface test design and results				
实验号	料液比 X_1 (g/mL)	水解时 间 X_2 /h	水解温度 X_3 /℃	得率/%
1	6:100	4	60	41.51 ± 1.53
2	6:100	4	40	47.15 ± 1.01
3	8:100	1	50	30.82 ± 1.09
4	8:100	4	50	51.88 ± 0.43
5	8:100	2	40	28.08 ± 0.36
6	6:100	2	50	50.09 ± 0.09
7	6:100	1	40	20.75 ± 0.40
8	4:100	1	50	41.89 ± 0.51
9	6:100	2	50	52.80 ± 0.80
10	4:100	2	40	46.80 ± 0.31
11	4:100	4	50	54.30 ± 0.15
12	8:100	2	60	30.25 ± 0.38
13	6:100	2	50	58.38 ± 1.42
14	4:100	2	60	41.14 ± 0.54
15	6:100	1	60	47.30 ± 1.06
16	6:100	2	50	54.02 ± 1.88
17	6:100	2	50	51.91 ± 0.92

表 3 回归方程方差分析						
Table 3 Analysis of variance for regression equations						
方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值 /10 ⁻²	显著性
模型	1 629.90	9	181.10	5.60	1.67	*
A-料液比	185.40	1	185.40	5.73	4.78	*
B-水解 时间	365.37	1	365.37	11.30	1.21	*
C-水解 温度	8.66	1	8.66	0.27	62.08	
AB	30.40	1	30.40	0.94	36.46	
AC	15.33	1	15.33	0.47	51.32	
BC	187.28	1	187.28	5.79	4.70	*
A ²	135.09	1	135.09	4.18	8.02	
B ²	112.01	1	112.01	3.46	10.50	
C ²	528.86	1	528.86	16.36	0.49	**
残差	226.35	7	32.34			
失拟项	187.63	3	62.54	6.46	5.16	
纯误差	38.72	4	9.68			
总和	1856.24	16				

注: ** 表示极显著 ($P<0.01$); * 表示显著 ($P<0.05$)。

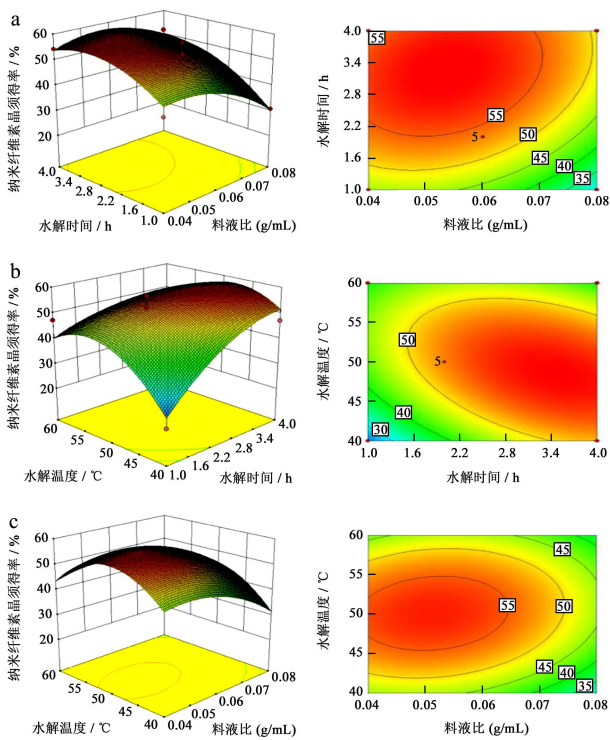


图 2 响应面交互作用实验结果、交互作用等高线图

Fig.2 Response surface interaction experiment results, interaction contour plot

2.2.2 响应面模型建立及方差分析

利用 Design-Expert 软件的响应面分析计算, 拟合出 CNCs 得率 (Y) 对 (A) 料液比、(B) 水解时间和 (C) 水解温度的二次回归方程:

$Y=56.35-4.94A+6.76B+1.07C+2.68AB+1.96AC-6.66BC-5.66A^2-5.97B^2-11.21C^2$ 系数的显著性可通过 P 进行检查, P 越小, 相应系数的显著性越高。如表 3 所示, 由 F 值可知各因素影响 CNCs 得率的顺序为: $B>A>C$ 。CNCs 得率模型的 P 值小于 0.05, 这表明回归模型显著, 失拟项 P 值 $5.16\times10^{-2}>0.05$, 表明模型失拟项不显著; 该模型的相关校正系数 $R^2=0.88$, 绝对校正系数 $R=0.72$, 表明该回归方程的可靠性与拟合度是合理的, 实验存在的误差小, 可以作为预测 CNCs 得率最优提取工艺参数的模型。其中 C^2 的 P 值小于 0.01, 这表示其对 CNCs 得率有极显著的影响。

2.2.3 响应面各因素交互作用分析

各因素间的两两交互作用如图 2 所示, 通过图 2a 可知, 在水解温度一定时, 料液比和水解时间交互作用等高线呈现椭圆形, 并且 3D 图存

在倾斜度,交互作用显著,当水解时间为2 h时,随着料液比增大,CNCs得率先上升后下降。由图2b可知,在料液比一定时,水解时间和水解温度交互作用等高线呈现椭圆形,并且3D图中图形倾斜明显,交互作用显著,当水解温度为50℃时,随着水解时间增加,CNCs得率先上升后下降。由图2c可知,在水解时间一定时,料液比和水解温度交互作用等高线呈现椭圆形,3D图存在倾斜度,表示交互作用显著,当料液比为6:100(g/mL)时,随着水解温度增加,CNCs得率先上升后下降。由图2可知,水解时间与水解温度的交互作用对得率影响最大,而水解温度与料液比的影响最小。

2.3 响应面最优条件及结果

通过运用 Design-Expert 13 软件进行分析计算,得到三种最优水解法制备 CNCs 的工艺参数:(1)料液比 5:100(g/mL)、水解时间 3.37 h 和水解温度 48.29℃;(2)料液比为 5:100、水解时间 3.42 h、水解温度 48.90℃;(3)料液比 5:100(g/mL)、水解时间 3.49 h、水解温度 48.55℃。为验证实验结果的可靠性,并考虑到实验操作的可行性和可操作性将工艺参数取整,在此条件下进行3次独立的平行实验,实际水解法制备 CNCs 得率为 58.48%、60.78% 和 65.61% ($P < 0.05$),与模型预测理论值非常接近,证明制备工艺可行。对比已完成的第13组响应面实验方案,优化条件后得率提高7.23%,因此,确定实验的最终方案为料液比 5:100(g/mL)、水解时间 3.50 h 和水解温度 49℃。

2.4 形貌表征

2.4.1 扫描电镜(SEM)结果分析

如图3a和3b所示,荷梗原料的表面粗糙,结构较为完整且含有杂质。由图3c和3d发现,碱处理的荷梗纤维素表面开始出现碎裂,这可能是碱液和氧化试剂刺激纤维素表面,引起部分表皮结构脱落,导致荷梗纤维素表面结构变得松散。其中,部分纤维素的表面呈现卷曲状,可能是碱处理后荷梗的细胞壁结构受到破坏,与纤维素紧密结合的半纤维素及木质素被脱除使得荷梗纤维素裸露出来并发生聚集,进而形成褶皱结构。由图3e和3f发现硫酸水解将纤维素转化为具有短棒状形态的均匀纳米结构。除此外,扫描图中分布着部分球形颗粒,归

因于纳米纤维素浓度较大时,单根纤维聚集形成纤维束^[13]。根据图3e~3h中的变化,表明高浓度的硫酸水解纤维素会导致 CNCs 结构更为破碎,分布散乱,形状更趋于须状。Li 等^[14]制备的 CNCs 则呈现针状和椭圆形颗粒的形貌,这可能与纤维素来源、水解条件等有关。

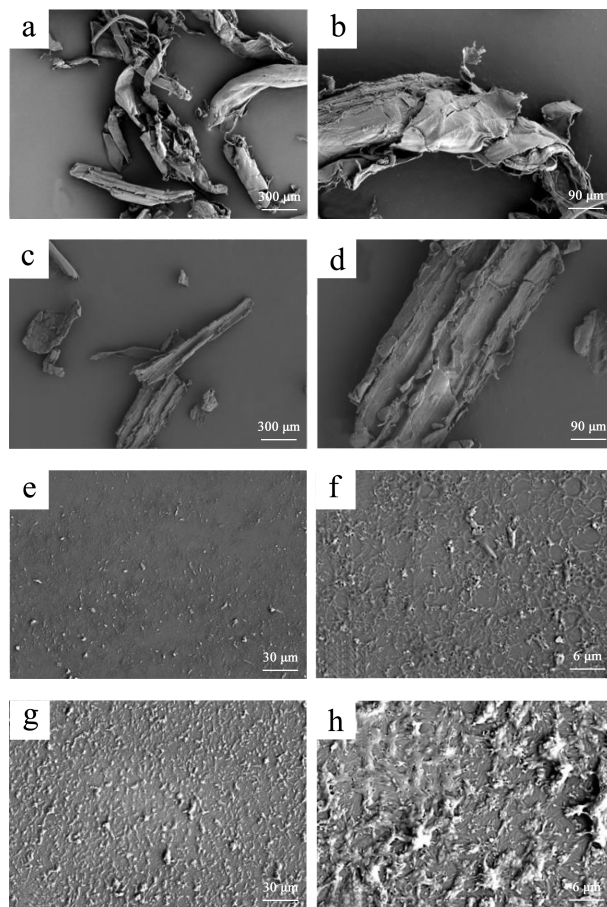


图3 荷梗(a)、(b); 荷梗纤维素(c)、(d); 55 wt.% 硫酸水解 CNCs (e)、(f) 和 64 wt.% 硫酸水解 CNCs (g)、(h) 的扫描电镜图

Fig.3 SEM diagram of (a), (b) lotel, (c), (d) lotel cellulose, (e), (f) 55 wt.% sulfuric acid hydrolysis of CNCs, and (g), (h) 64 wt.% sulfuric acid hydrolysis of CNCs

2.4.2 透射电镜(TEM)结果分析

采用 TEM 对荷梗纤维素纳米晶须的微观形态进行分析,结果如图4所示。CNCs 呈纳米级针状或棒状结构,具有相对较高长径比,分布较为均匀,以上结果表明 CNCs 的成功制备。涂晓丽等^[15]利用柚子皮制备的纳米纤维素也呈棒状结构。根据图4c~4f中的变化,表明随着硫酸浓度的升高,CNCs 尺寸更短,是由于硫酸溶液浓度高,造成水解程度高,破除的非结晶区和低结晶区越多。

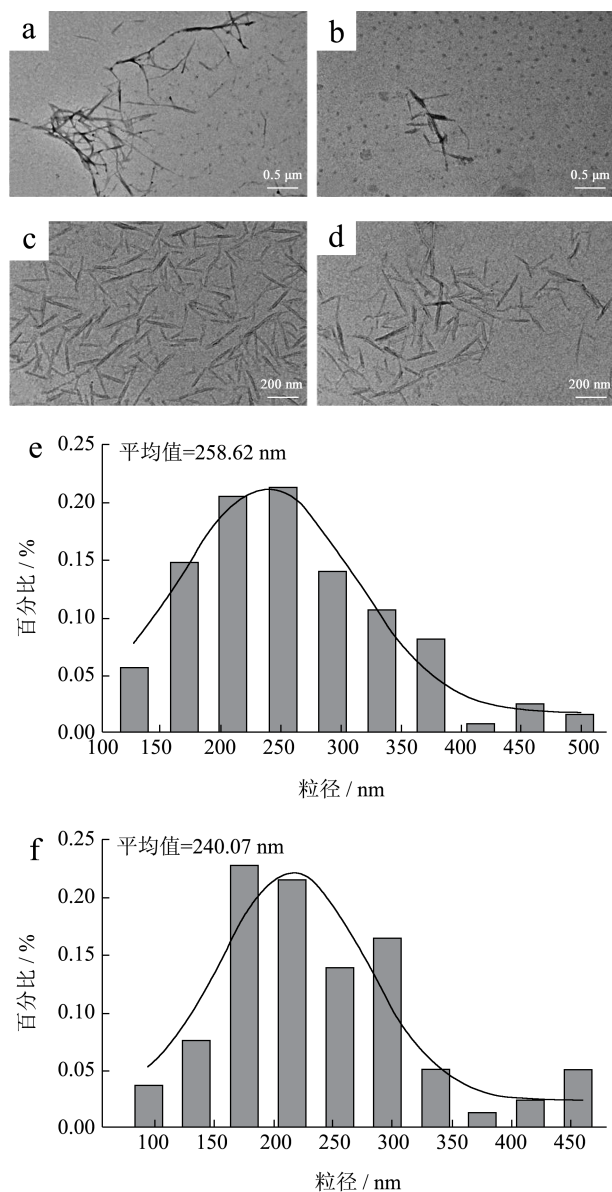


图4 55 wt.% (a)、(c); 64 wt.% (b)、(d) 硫酸水解 CNCs 的透射电镜图和 (e)、(f) 粒径分布图

Fig.4 TEM diagram of CNCs hydrolysed by (a), (c) 55 wt.% sulfuric acid, (b), (d) 64 wt.% sulfuric acid, (e), (f) particle size distribution of CNCs

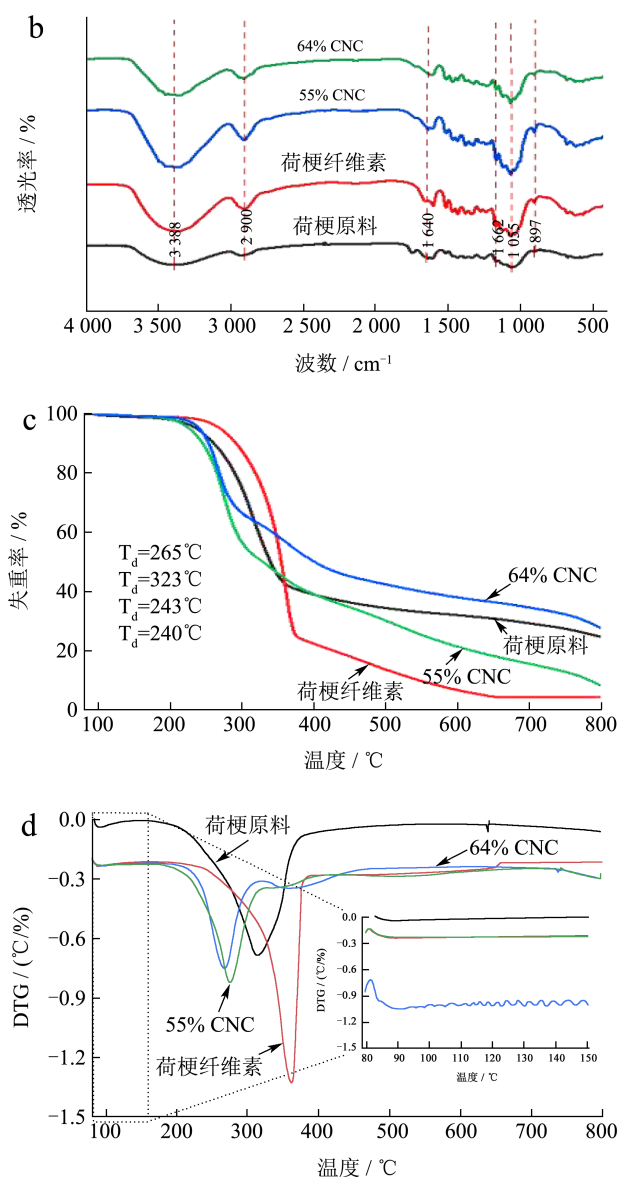
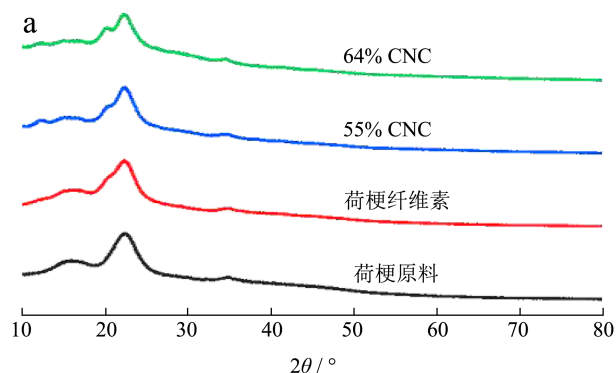


图5 荷梗、荷梗纤维素和荷梗纤维素纳米晶须的 (a) XRD 图、(b) 红外图谱、(c) TGA 及 (d) DTG 图

Fig.5 (a) XRD plots, (b) FT-IR patterns, (c) TGA and (d) DTG plots of loblis, loblis cellulose and loblis cellulose nanowhiskers

2.5 结晶度分析

通过 XRD 考察了荷梗原料、纤维素以及 55 wt.% 和 64 wt.% 硫酸水解制备的 CNCs 晶体结构特征, 相应曲线如图 5a 所示。由该图可知, 荷梗和荷梗纤维素及其酸水解制备的 CNCs 衍射曲线差别较大。其中, $15^{\circ}\sim 16^{\circ}$ 、 $22^{\circ}\sim 23^{\circ}$ 和 $34^{\circ}\sim 35^{\circ}$ 分别对应晶格面 110、200 和 004, 是 I 型纤维素特征晶体平面。相较于荷梗原料特征峰, 荷梗纤维素中 $22^{\circ}\sim 23^{\circ}$ 特征衍射峰更加突出, 说明在碱处理的过程中半纤

纤维素和木质素被有效去除。在 CNCs 中, $22^{\circ}\sim 23^{\circ}$ 处的峰表示氢键结合的纤维素链之间的分离, 而 $15^{\circ}\sim 16^{\circ}$ 和 $34^{\circ}\sim 35^{\circ}$ 处的峰表示纤维素链沿着纤维长度排列^[16]。这些结果表明, 化学处理过程对纤维素的晶型结构不产生破坏作用, CNCs 仍为纤维素 I 型。随着硫酸水解浓度的降低, 衍射峰在 $22^{\circ}\sim 23^{\circ}$ 时的结晶峰更加突出, 可能是 64 wt.% 浓度较高, 水解程度过高, 不仅破坏了非结晶区域还水解部分结晶区域, 导致制备的 CNCs 结晶度降低, 这与郭锐林等^[17]推测一致。 $15^{\circ}\sim 16^{\circ}$ 处的峰表示非结晶部分^[18], 随着硫酸加入逐渐消失, 证明硫酸水解纤维素的非晶体部分, 在 $2\theta=23.0^{\circ}$ 附近没有出现双峰, 说明保留了纤维素的晶型结构^[19], $22^{\circ}\sim 23^{\circ}$ 处的峰由单峰分裂成双峰, 说明 64 wt.% 硫酸水解部分破坏了纤维素的晶型结构。Ji 等^[20]先是从枫叶中分离出纤维素 I 和 II, 再利用硫酸水解去制备纤维素纳米晶。通过 XRD 分析, CNC I 在 22.8° 、 14.9° 及 16.4° 处呈现纤维素 I 的典型衍射峰, CNC II 在 12° 、 20° 及 21.8° 处呈现纤维素 II 的典型衍射峰, 证实了 CNC I 和 II 的不同晶体同素异形体。

2.6 热重分析 (TGA)

图 5c 和 5d 显示了样品的 TGA 和 DTG 图, 结果表明所有样品的热行为可分为三个阶段: 脱水、热解和碳化^[21]。如图 5d 所示, 在所有样品中都观察到两个主峰, 这两个主峰归因于水的蒸发和纤维素的分解。在第一阶段, 所有样品在 $80\sim 150^{\circ}\text{C}$ 的温度范围内都表现出轻微的重量减少, 这与吸收水分的蒸发相对应。在第二阶段, 温度范围在 $150\sim 400^{\circ}\text{C}$ 之间, 样品中都观察到明显的重量损失, 这主要归因于纤维素解聚和糖苷单元的分解^[22]。最后, 温度范围在 $400\sim 800^{\circ}\text{C}$ 之间, 重量损失主要是由于糖苷键的进一步断裂、碳主链的降解、低分子量化合物的生成以及残碳的形成而发生的^[23]。与荷梗相比, 荷梗纤维素热降解的初始温度高 (323°C), 说明提取过程中藕渣粗纤维中的杂质被去除后, 纤维素纯度提高, 热稳定性也因此得到有效的提升。可以发现, CNCs 的热稳定性相对较差, 并且硫酸浓度越高, 热稳定性越差, 这可能与 CNCs 表面的硫酸基团有关。硫酸水解时引入的硫酸盐半酯基团, 会导致催化热降解。除了表面酸基团之外, CNCs 的大表面积还加速了不可逆的热化学改性^[24]。杨楠等^[25]研究发现,

硫酸水解制备的苧苧纳米纤维素的降解温度低于苧苧纤维素, 说明硫酸水解过程对该材料的热稳定性产生了不利影响。

2.7 化学结构分析

红外光谱是检测高分子物质组成和结构的重要方法之一^[26]。荷梗原料和纤维素以及 55 wt.% 和 64 wt.% 硫酸水解制备的 CNCs 的 FT-IR 如图 5b 所示, 均呈现典型的纤维素纤维谱图特征, 表明从荷梗中提取的纤维素和 CNCs 仍保持着纤维素基本的化学结构。它们在 $3\ 200\sim 3\ 400\text{ cm}^{-1}$ (O-H 伸缩振动)、 $2\ 900\text{ cm}^{-1}$ (不对称 C-H 伸缩振动)、 $1\ 640\text{ cm}^{-1}$ (C-O 伸缩振动) 处显示出特征吸收峰, $1\ 055\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\ 162\text{ cm}^{-1}$ (C-O-C 弯曲) 和 897 cm^{-1} (C-O-C 不对称伸缩振动), 对应于 I 型纤维素的特征峰。对比四个样品的图谱发现, 碱处理后的荷梗纤维素和 CNCs 在 $1\ 055\text{ cm}^{-1}$ 处的波峰增强, 说明纤维素含量升高; 在 $1\ 640\text{ cm}^{-1}$ 处的峰值减小, 说明木质素含量下降。综上所述, 经过提纯处理后的 CNCs 的纤维素含量升高。

2.8 XPS 分析

采用 XPS 技术进一步分析样品表面元素组成及样品表面元素的化学态和分子结构。根据高分辨 XPS 谱计算样品的元素组成显示, 纤维素中 C、O、S、N 的含量分别为 69.20%、30.30%、0.30%、0.20%, 55 wt.% CNCs 中 C、O、S、N 的含量分别为 59.00%、39.70%、1.00%、0.30%。64 wt.% CNCs 中 C、O、S、N 的含量分别为 63.80%、33.30%、2.30%、0.60%。纤维素中微量的 N 元素可能是蛋白质等杂质未除干净造成的。酸水解之后 C 元素的含量降低, O、S 元素的含量增加, 进一步证明晶须表面存在磺酸基团。纤维素主要以 β -(1,4)-糖苷键连接形成, 酸水解后 O 糖苷发生了部分断裂也会导致 O 元素含量的增加。CNCs 中微量的 N 元素, 这可能是由于在用于 XPS 测试的样品制备期间的研磨过程中空气中的氮的吸附^[27]。图 6a 显示了荷梗纤维素及 CNCs 全谱图。在这三个光谱中, 有两个分别位于 532 和 285 eV 的强峰, 分别涉及 O 1s 和 C 1s^[28]。图 6b~6d 显示了各元素的精细扫描结果。在图 6b 中, 荷梗纤维素和 CNCs 都中有两个突出的峰和一个小峰, 分别来自于 C-C、C-OH、C-O-C 中的 C 元素。在图 6c 中则显示一个显著峰, 可归因于 -OH。如

图 6d 所示，CNCs 的 S 2p 谱图可以拟合出一个强峰和一个小峰，而纤维素在 166 eV（S 2p）处不存在峰，说明纤维素本身的化学结构中没有 S 元素的存在，酸水解后在其表面引入少量磺酸基团。因此，该 XPS 分析表明通过酸水解在纳米纤维素表面上成功引入了磺酸基团。

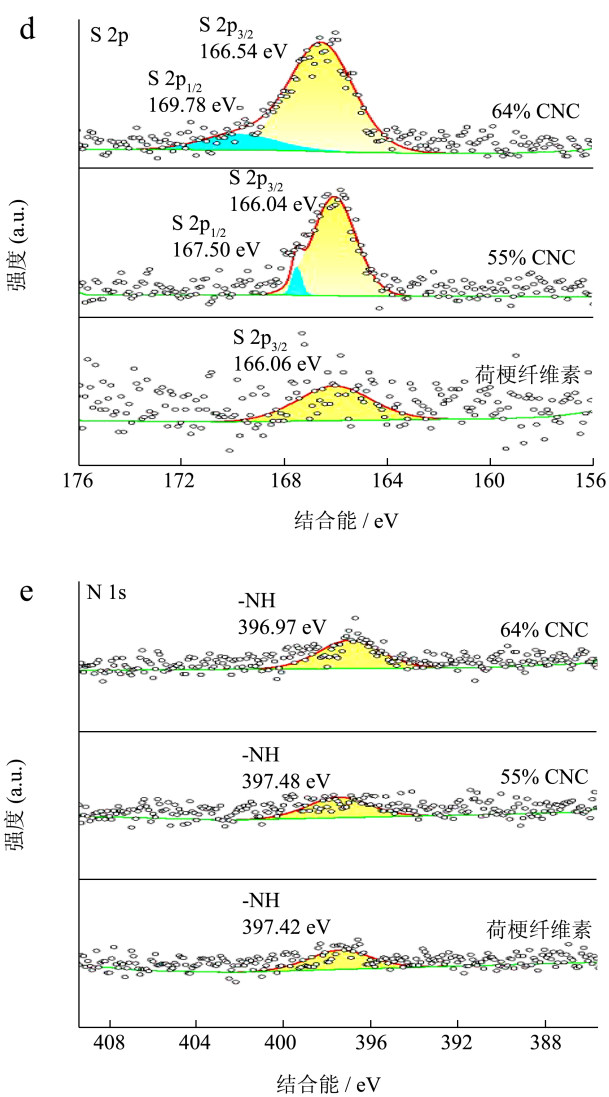
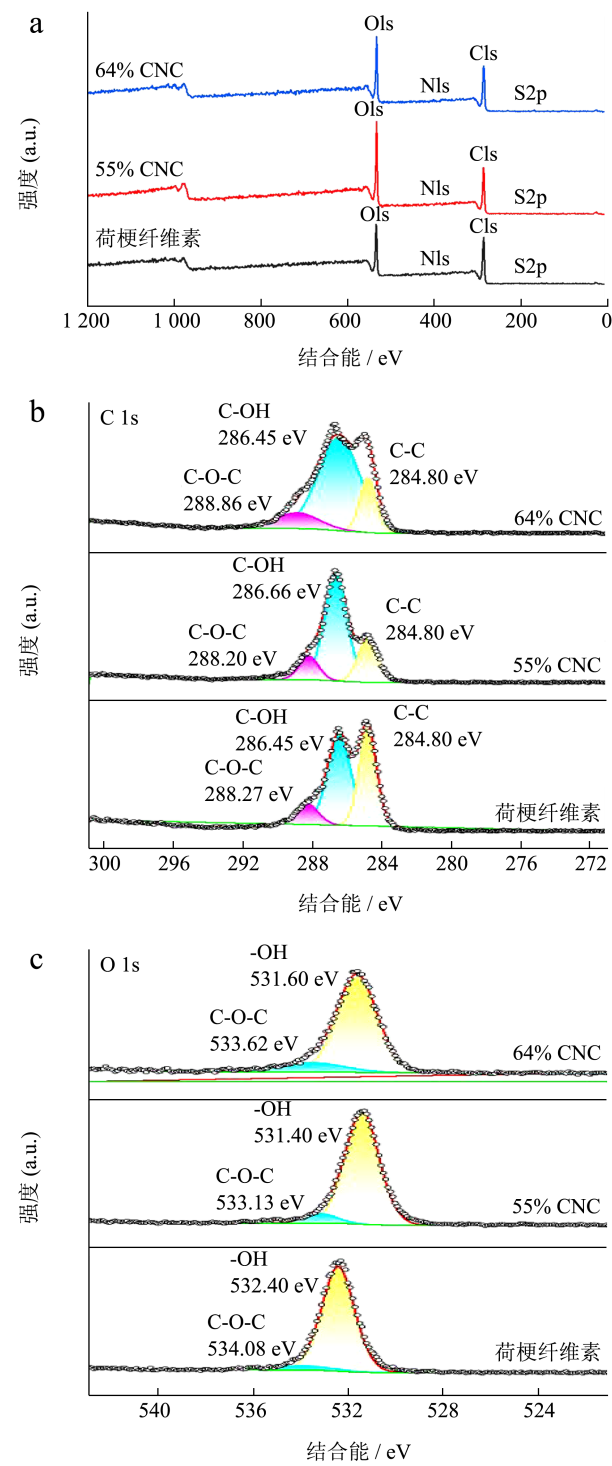
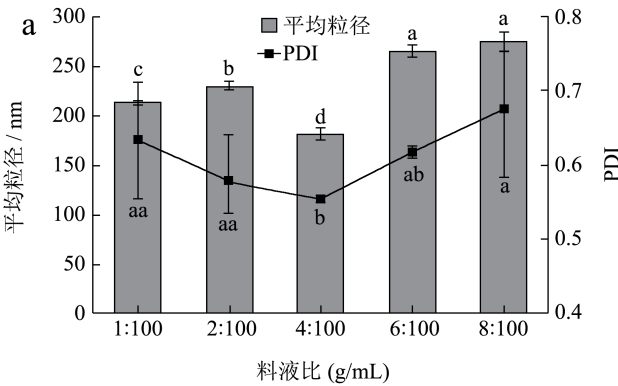


图 6 荷梗纤维素和荷梗纤维素纳米晶须的 XPS 图

Fig.6 XPS images of lobel cellulose and lobel cellulose nanowhiskers

注：(a) 全谱图；(b) 高分辨 C 1s；(c) O 1s；(d) S 2p；(e) N 1s 谱图。



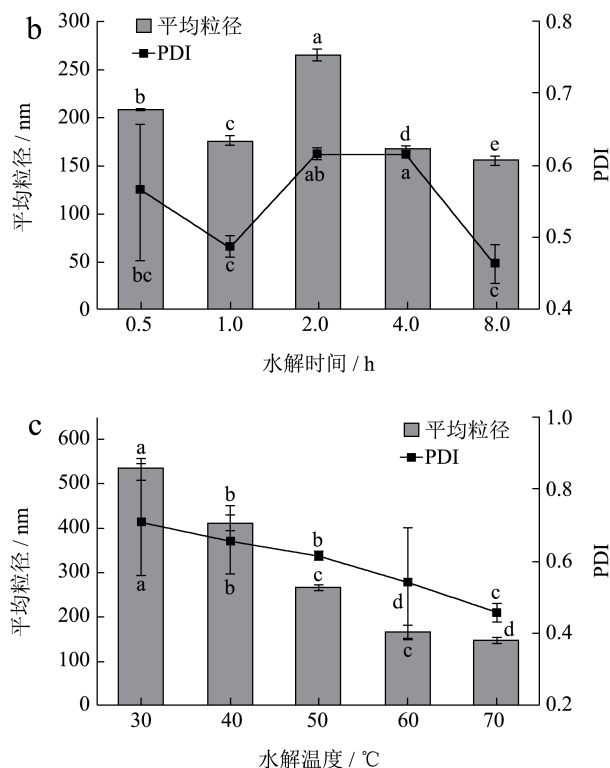


图7 (a) 料液比、(b) 水解时间和 (c) 水解温度对 CNCs 的平均粒径和 PDI 值的影响

Fig.7 Effects of (a) material-liquid ratio, (b) hydrolysis time and (c) hydrolysis temperature on average particle size and PDI value of CNCs

注：不同小写英文字母表示 0.05 水平上有统计学意义。

图 8 同。

2.9 粒径分析和PDI值

如图 7a 所示，料液比为 4:100 (g/mL) 时，CNCs 的粒径最小 (181.29 nm)。而当料液比增大，浓硫酸的量不足，水解效率下降，非结晶区和部分不稳定的低结晶区没有完全去除，导致粒径增大。由图 7b 发现 CNCs 的粒径呈现先下降再上升后下降的趋势。这有可能是因为纤维素在水解反应初期，逐渐发生断裂反应，形成的晶体颗粒变小所致；然后比表面积较大的颗粒，随着反应时间的增加，容易发生团聚，从而形成更大粒径的颗粒；而纤维素晶体部分会在水解反应后期完全水解产生糖类及其他可溶于水的物质，又导致晶须粒径变小^[29]。根据图 7c 可知，随着水解温度的升高，晶须的平均粒径减小。这可能是因为随着温度的升高，水解反应越剧烈，水解程度越高，晶须粒径减小。根据图 7 的整体变化，可以发现平均粒径和 PDI 值相关，

它们变化的趋势大致相同。PDI 表示粒径分布的离散程度，值越大，分布越不均匀，可能存在聚集情况，导致粒径变大。Parmita 等^[30]通过 64 wt.% 硫酸水解和高强度超声处理从食物垃圾（香蕉皮）中分离出纤维素纳米颗粒，生成的纤维素纳米颗粒尺寸为 53.11 nm，PDI 值为 0.21，相较于本研究 55 wt.% 硫酸水解制备的荷梗 CNCs 尺寸更小，分布更均匀，这可能与硫酸的浓度有关，更高的硫酸浓度会导致 CNCs 粒径更小，与上述形貌表征结果一致。

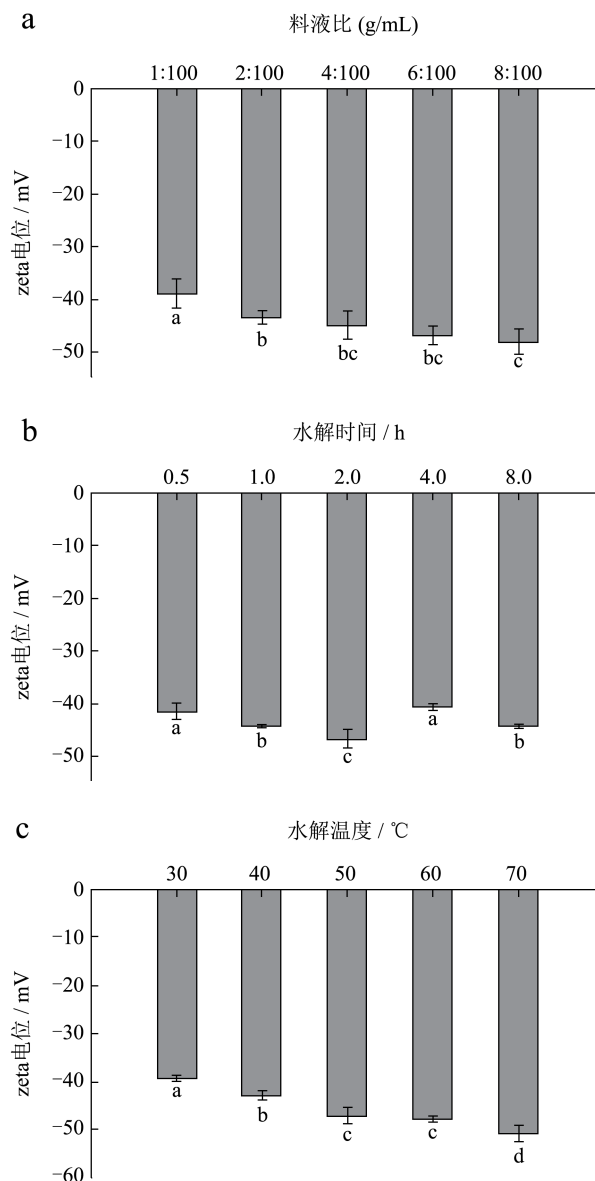


图8 (a) 料液比、(b) 水解时间和 (c) 水解温度对 CNCs Zeta 电位的影响

Fig.8 Effects of (a) material-liquid ratio, (b) hydrolysis time and (c) hydrolysis temperature on the Zeta potential of CNCs

2.10 Zeta 电位

Zeta 电位是附着在分散颗粒上的稳定流体层与连续相之间的电位差,由电泳迁移率决定,表明纳米颗粒的表面状态和稳定性。在硫酸水解的过程中,赋予 CNCs 表面阴离子磺酸基^[31,32],因此测定的 Zeta 电位值为负值。Zeta 电位绝对值的增大,表示颗粒表面携带更多电荷,从而使颗粒更加稳定。如图 8a 所示,随着料液比的增加,Zeta 电位的绝对值增大,这可能是纤维素中表面大量的负电荷 $-\text{COO}^-$ 基团^[33]暴露出来,增加了纳米颗粒表面的负电荷。如图 8b 发现,2.00 h 水解 CNCs 的 Zeta 电位绝对值最大,为 47.13 mV,与前面单因素实验的结果一致,2.00 h 水解 CNCs 得率最高,纳米颗粒越多,体系内具有的负电荷越多。根据图 8c 可知,随着水解温度的增加,Zeta 电位从 -39.11 mV 降低至 -51.00 mV,水解温度越高,水解反应越剧烈,CNCs 表面将暴露出磺酸基,从而增加了 Zeta 电位值。Lee 等^[34]通过高压均质,以棕榈压榨纤维合成了纳米纤维素。通过增加高压处理的循环次数,纤维素纤维进一步纤化,在 70 MPa 下处理两轮后,Zeta 电位值从 -57.70 mV 显著增加到 -72.50 mV。因此,改变纳米纤维素的制备条件会导致其 Zeta 电位值的变化。相较于本研究制备的纳米纤维素,利用棕榈压榨纤维合成的纳米纤维素绝对 Zeta 电位值更高,纳米颗粒更稳定。

2.11 Pickering 乳液的应用

以常见的大豆油为油相,不同浓度的 CNCs 分散体为水相,水油体积比为 5:5,研究了 CNCs 的 Pickering 乳化能力及其离心稳定性。图 9b 显示了用不同浓度的 CNCs 稳定的新鲜制备的 Pickering 乳液的图像。即使浓度低至 0.01 wt.%,大豆油也存在部分被乳化的现象,表明 CNCs 具有出色的 Pickering 乳化能力。随着 CNCs 浓度的增加,底层的连续水相越来越少,表明乳化效果增加,其中底层的连续水相不透明,表明均质处理过程中并非所有纳米颗粒都固定在水油界面上。图 9c 显示了 Pickering 乳液离心后的图像。由于乳液尺寸分布不均匀, Pickering 乳液呈现出三层。当 CNCs 的浓度低至 0.01 wt.% 时,离心后仍存在少量的乳化层,进一步表明 CNCs 具有出色的乳化和稳定能力。随着 CNCs 浓度的增加,上层的油相越来越少,表明稳定效果越好。较高的 CNCs 浓度下,乳状液中

过量的纳米颗粒形成网状结构,包裹液滴,防止聚集,提高了 Pickering 乳液的稳定性。以上结果表明,荷梗纤维素纳米晶具有乳化和稳定 Pickering 乳液的作用,有望拓宽纳米纤维素在食品领域中的应用。Ding 等^[35]通过简单的过滤和离心分离方法,从牛粪中提取了木质纤维素纳米颗粒,Zeta 电位为 -36.2 mV,得率约为 4.9%,表现出良好的 Pickering 乳化性能。与它相比,本文制备的荷梗 CNCs,得率较高,Zeta 电位较高,对 Pickering 乳液的稳定效果更佳,并且牛粪木质纤维素纳米颗粒悬浮液呈现黑褐色,会影响 Pickering 乳液的外观。

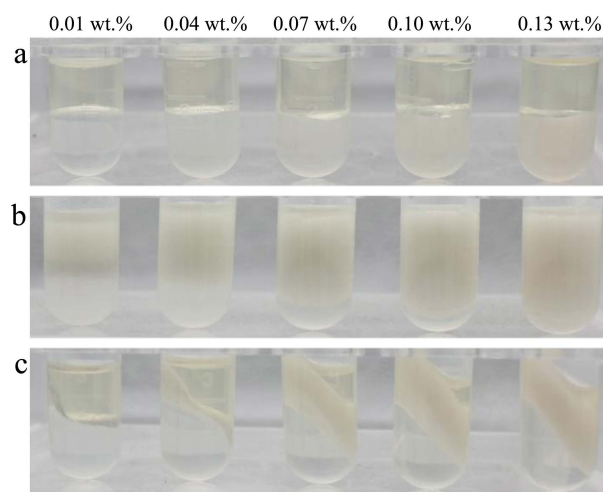


图 9 不同 CNCs 浓度的 Pickering 乳液制备过程及其离心后的数字图像

Fig.9 Digital image of Pickering emulsion preparation process and centrifugation with different CNCs concentration

注:(a) 均质前;(b) 均质后;(c) 离心后,10 000 r/min, 30 min, 4 °C。

3 结论

本研究将单因素试验与响应面分析法相结合,优化了 CNCs 的制备工艺,根据实际情况及实验便利性,确定最终优化的制备条件为:料液比 5:100 (g/mL)、水解时间 3.50 h、水解温度 49 °C。并对制备的纳米纤维素晶须进行形貌、结晶结构、化学结构、Zeta 电位以及热稳定性进行全面的研究。研究表明硫酸水解法制备 CNCs 的形态为短棒装或针状的均匀纳米结构;水解过程并没有对纤维素的晶型结构进行破坏,仍为纤维素 I 型,且具有较好的热稳定性。粒径分析和 PDI 值表明水解程度越高,制备的晶须的粒径越小,且平均粒径和 PDI 值相关,PDI 值越小,晶须分散越均匀,测得的粒径越

小; Zeta 电位分析表明制备的晶须悬浮液的 Zeta 电位绝对值 $> 35 \text{ mV}$, 证明纳米颗粒的表面状态和稳定性较好。因而可将其用于稳定 Pickering 乳液。本研究提出了一种高效的荷梗纤维素纳米晶须的制备方法, 并探究其应用, 证明其具有出色的 Pickering 乳液的乳化和稳定能力。不仅为农产品加工副产物的高值化利用提供理论, 还对莲藕资源的进一步开发应用具有一定的意义。

参考文献

- [1] LEAL C, GOUVINHAS I, SANTOS R A, et al. Potential application of grape (*Vitis vinifera* L.) stem extracts in the cosmetic and pharmaceutical industries: Valorization of a by-product [J]. Industrial Crops and Products, 2020, 154(1): 112675-112686.
- [2] HUANG J, YANG S Y, LI W, et al. Valorization of the industrial waste of two uncommon parts from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.): Insight to phytochemicals and hypolipidemic potential [J]. Industrial Crops and Products, 2022, 188(PA): 1-8.
- [3] 吴茜, 刘智勇, 李国文, 等. 莲藕的功能特性及其产品开发前景分析[J]. 食品与发酵科技, 2020, 56(6): 108-112.
- [4] 马芹. 荔枝皮纤维素纳米晶的制备及其 Pickering 乳液性质研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2023.
- [5] 王晓婷. 玉米苞叶纤维素提取及纳米晶须制备[D]. 上海: 东华大学, 2016.
- [6] 黄丽婕, 张晓晓, 徐铭梓, 等. 木薯渣纳米纤维素的制备与表征[J]. 包装工程, 2019, 40(15): 16-23.
- [7] HO H H D, NGUYEN N H, NGUYEN N B, et al. Development of switching memory devices of cellulose fibers from lotus petioles [J]. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 2024, 35(6): 387-398.
- [8] KOSHANI R, MADADLOU A. A viewpoint on the gastrointestinal fate of cellulose nanocrystals [J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 71: 268-273.
- [9] SETA F T, AN X, LIU L, et al. Preparation and characterization of high yield cellulose nanocrystals (CNC) derived from ball mill pretreatment and maleic acid hydrolysis [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 234: 115942.
- [10] DAI H, OU S, HUANG Y, et al. Utilization of pineapple peel for production of nanocellulose and film application [J]. Cellulose, 2018, 25(3): 1743-1756.
- [11] MERTANIEMI H, ESCOBEDO-LUCEA C, SANZ-GARCIA A, et al. Human stem cell decorated nanocellulose threads for biomedical applications [J]. Biomaterials, 2016, 82: 208-220.
- [12] 李亚洁, 易阳, 孙莹, 等. 藕渣纤维素的提取工艺优化及性能测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(2): 122-130.
- [13] 徐威宇, 付时雨, 彭洋洋, 等. 南方典型植物原料制备纳米纤维素[J]. 大连工业大学学报, 2016, 35(5): 347-352.
- [14] LI X, LI J, GONG J, et al. Cellulose nanocrystals (CNCs) with different crystalline allomorph for oil in water Pickering emulsions [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 183: 303-310.
- [15] 涂晓丽, 何平, 潘思铁, 等. 柚皮纳米微晶纤维素的制备及其用于改进羧甲基淀粉膜性能的研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(10): 148-154, 188.
- [16] SANKAR S, K. V N, PARAMESWARANPILLAI J, et al. Green engineering of cellulose nanofibers and nanopapers from Wodyetia bifurcata fruits: a sustainable approach with emphasis on process optimization and tensile property assessment [J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2024, 18.
- [17] 郭锐林, 郭雨桐, 孟可瑜, 等. 米糠纳米纤维素的制备表征及其细胞毒性[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(4): 41-48.
- [18] 张雯, 张欣, 安明哲, 等. 纤维素纳米晶须提取及其复合膜的制备与表征[J]. 陕西科技大学学报, 2023, 41(3): 53-61, 78.
- [19] 黄惠华, 唐璐, 刘钰珊, 等. 菠萝皮渣纤维素纳米晶的制备及其 Pickering 乳液中的环境稳定性[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2022, 50(8): 1-11.
- [20] JI C, WEI J, WANG Y. Cinnamaldehyde-enriched Pickering emulsions stabilized by modified cellulose I and II nanocrystals recycled from maple leaves for shrimp preservation [J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 326: 121590-121601.
- [21] LI Z, JIANG X, ZHU L, et al. New insights into the thermal degradation behavior of Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complexes containing carvacrol essential oil via thermogravimetric analysis [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2022, 147(20): 11301-11312.
- [22] SONG K, JI Y, WANG L, et al. A green and environmental benign method to extract cellulose nanocrystal by ball mill assisted solid acid hydrolysis [J]. Journal of Cleaner Production, 2018, 196: 1169-1175.
- [23] TIAN C, YI J, WU Y, et al. Preparation of highly charged cellulose nanofibrils using high-pressure homogenization coupled with strong acid hydrolysis pretreatments [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 136: 485-492.
- [24] D'ACIERNO F, MICHAL C A, MACLACHLAN M J. Thermal stability of cellulose nanomaterials [J]. Chemical Reviews, 2023, 123(11): 7295-7325.
- [25] 杨楠, 王雷, 高昕, 等. 不同方法制备苧苔纳米纤维素及其性质表征[J/OL]. 食品工业科技, 1-15[2024-09-26].
- [26] 贺捷群, 辛世华, 刘慧燕, 等. 21种宁夏大米淀粉分子结构及特性的比较分析[J]. 食品与生物技术学报, 2023, 42(10): 100-106.
- [27] ZHANG M, ZHU P, LIU J, et al. Introducing terminal alkyne groups at the reducing end of cellulose nanocrystals by aldimine condensation for further click reaction [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024,

- 269: 131983.
- [28] ALKASSFARITY A N, YASSIN M A, REHIM M H A, et al. Modified cellulose nanocrystals enhanced polycaprolactone multifunctional films with barrier, UV-blocking and antimicrobial properties for food packaging [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 261: 129871.
- [29] 李金玲,周刘佳,叶代勇.硫酸铜助催化制备纳米纤维素晶须[J].精细化工,2009,26(9):844-849.
- [30] GOGOI P, MANHOT N K, GAUTAM G, et al. Banana peel nanocellulose and soy protein hydrolysate complexed colloidal nanoparticles synthesis using ultrasonic interventions: characterization and stable pickering emulsion formation [J]. Food Science and Biotechnology, 2024, 33(8): 1859-1869.
- [31] VANDERFLEET O M, CRANSTON E D. Production routes to tailor the performance of cellulose nanocrystals [J]. Nature Reviews Materials, 2021, 6(2): 124-144.
- [32] CRANSTON E D, MASSICOTTE M. Comparison of techniques for drying cellulose nanocrystal pickering emulsions into oil powders [J]. Acs Sustainable Chemistry & Engineering, 2022, 210 (45): 14914-14925.
- [33] PIAO X, LI J, ZHAO Y, et al. Oxidized cellulose nanofibrils-based surimi gel enhancing additives: Interactions, performance and mechanisms [J]. Food Hydrocolloids, 2022, 133: 107893.
- [34] LEE Z J, TONG S C, TANG T K, et al. Palm-based cellulose nanofiber isolated from mechano-chemical processing as sustainable rheological modifier in reduced fat mayonnaise [J]. Journal of Food Science, 2022, 87(8): 3542-3561.
- [35] DING Y, FENG L, ZHANG Z, et al. Lignocellulose nanoparticles extracted from cattle dung as pickering emulsifiers for microencapsulating phase change materials [J]. Acs Sustainable Chemistry & Engineering, 2023, 11(38): 14255-14266.