

# 沙棘渣制备微晶纤维素的酶解条件优化

盛文军, 毕 阳, 冯丽丹, 李霁昕, 韩舜愈, 李 敏  
(甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘 要:** 沙棘浆加工过程中产生酚酸含量高的果渣, 因其苦涩无法被饲料工业大量转化, 利用其进行微晶纤维素制备是潜在可行的解决途径。以粗提沙棘渣纤维素为处理对象, 使用S10041纤维素酶水解, 选取液料比、酶添加量、酶解时间、酶解温度、缓冲液pH值、离心转速、烘干温度及纤维素粉碎度8个因素, 通过单因素试验和Plackett-Burman因素筛选, 并经过最陡爬坡试验和Box-Behnken试验优化了酶解条件, 随后对制得的微晶纤维进行结构分析。结果表明: 在液料比49:1 (mL/g)、酶添加量68 U/mL、酶解时间1.3 h、离心转速3 640 r/min时制得的沙棘微晶纤维素聚合度为 $355 \pm 1.02$ , 与棉微晶纤维素聚合度最为接近。方差分析表明4个选定因素对指标均产生独立影响, 因素交互作用对指标影响不显著 ( $P=0.10$ )。微观结构显示沙棘微晶纤维表面结构更疏松, 红外图谱对比沙棘和棉花两种微晶纤维官能团结构相似。

**关键词:** 沙棘渣; 微晶纤维素; 纤维素酶

## Optimization of Enzymatic Hydrolysis Conditions for Preparation of Microcrystalline Cellulose from Seabuckthorn Pomace

SHENG Wenjun, BI Yang, FENG Lidan, LI Jixin, HAN Shunyu, LI Min  
(College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** Seabuckthorn pomace is rich in phenolic acid and is a byproduct produced during the processing of seabuckthorn pulp. However, the astringency and bitterness of seabuckthorn pomace hinder its utilization in the feed industry. The preparation of microcrystalline cellulose from seabuckthorn pomace is a potential solution to this problem. Therefore, in this study, the crude cellulose extracted from seabuckthorn pomace was hydrolyzed with commercial cellulase S10041 to obtain microcrystalline cellulose. Eight processing parameters were investigated, namely solid-to-solvent ratio, enzyme dosage, hydrolysis time, temperature, buffer pH, centrifugal rotational speed, drying temperature, and comminution degree of cellulose. The significant factors were selected and optimized using one-factor-at-a-time method, Plackett-Burman design, steepest ascent path design and Box-Behnken design combined with response surface methodology. The prepared microcrystalline cellulose was structurally elucidated. The results showed that the degree of polymerization of seabuckthorn microcrystalline cellulose was  $355 \pm 1.02$  under the optimal follows: ratio of buffer solution to cellulose, 49:1 (mL/g); enzyme dosage, 68 U/mL; hydrolysis time, 1.3 h; and centrifugal rotational speed, 3 640 r/min, which was close to that of cotton microcrystalline cellulose. The analysis of variance showed that the four selected factors had independent influences on the degree of polymerization but their interactions had no significant effect on the response ( $P = 0.10$ ). The scanning electron micrograph revealed that the surface structure of seabuckthorn microcrystalline cellulose was more porous as compared to cotton microcrystalline cellulose. The infrared spectra of two microcrystalline celluloses revealed that similar functional groups existed.

**Key words:** seabuckthorn pomace; microcrystalline cellulose; cellulase

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720022

中图分类号: TS255

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 20-0154-07

引文格式:

盛文军, 毕阳, 冯丽丹, 等. 沙棘渣制备微晶纤维素的酶解条件优化[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 154-160. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720022. <http://www.spkx.net.cn>

SHENG Wenjun, BI Yang, FENG Lidan, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for preparation of microcrystalline cellulose from seabuckthorn pomace[J]. Food Science, 2017, 38(20): 154-160. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720022. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2016-12-01

基金项目: 国际科技合作重点计划项目 (2014DFR31230)

作者简介: 盛文军 (1975—), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为果蔬加工。E-mail: shengwj@126.com

沙棘作为胡颓子科沙棘属落叶灌木的子实, 富含多种天然抗氧化成分如VC、VE、类胡萝卜素、花青素和多酚类化合物<sup>[1-2]</sup>。国外报道利用泡沫干燥法制作沙棘果棒<sup>[3]</sup>, 也有利用喷雾干燥制作复合果粉<sup>[4]</sup>或是制作沙棘酸奶<sup>[5]</sup>等。目前中国沙棘种植面积已近3 000万亩, 但主要加工产品仍为沙棘油和沙棘原浆<sup>[6-7]</sup>。2种加工方法都产生大量沙棘果渣, 而沙棘果渣因含有大量酚酸物质, 口感酸而苦涩, 限制了其再利用途径。近年有沙棘渣用于特种饲料如赛马的日粮添加报道<sup>[8]</sup>, 但沙棘果渣转化用量极有限。另外, 有较多报道从沙棘各组织中提取黄酮等抗氧化成分<sup>[9-10]</sup>, 但提取成本、提取率等因素仍制约其技术应用<sup>[11-12]</sup>。微晶纤维素是天然纤维素水解到极限聚合度15~375  $\mu\text{m}$ 的微粒, 该微粒呈细微的短束状或粉末状并呈现多孔状<sup>[13-15]</sup>。在中性和弱酸性条件下不溶解, 也不溶于有机溶剂和油脂, 在弱碱性条件下部分溶解、溶胀, 易于羧甲基化、乙酰化、酯化。粉末状微晶纤维素可用作黏合剂, 可作为医用外伤保护剂、药物缓释剂、汽车玻璃涂膜剂; 颗粒状微晶纤维素可作为香料油脂包埋剂、在果汁饮料生产中作为悬浮剂和稳定剂等<sup>[16-20]</sup>。因沙棘果渣含有大量纤维素成分, 实验利用其制备微晶纤维素, 通过对酶解条件优化以及对制得的微晶纤维素进行结构分析, 为沙棘果渣高效转化利用提供研究数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

沙棘果渣(平均含水量64%, 80℃热风烘干至含水量11%用于实验) 甘肃高原圣果有限公司。

S10041纤维素酶(酶活力50 000 U/g) 上海源叶科技生物有限公司; 微晶纤维素(棉短纤维来源, 聚合度300~400) 武汉远成科技有限公司; 柠檬酸、柠檬酸钠、乙二胺、氢氧化铜、硫酸、氢氧化钠、无水乙醇(均为分析纯) 山东浩中化工科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

1833品氏黏度计(内径0.8 mm) 上海耶茂仪器仪表有限公司; 运动秒表 深圳市金拓佳电子科技有限公司; JJ-2型组织捣碎机 常州华奥仪器制造有限公司; LVDV-1型数字旋转黏度计 上海方瑞仪器有限公司; HZQ-B恒温培养摇床 苏州威尔实验用品有限公司; SP-723型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; SHB-III型循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司; GZX-GF101-II型电热恒温鼓风干燥箱 上海沪粤明科学仪器有限公司; TG16-WS高速离心机 金坛市高科仪器厂; FTIR-650傅里叶变换红外光谱仪 天津港东科技发展有限公司; JSM-IT300扫描电镜仪 深圳市倍纳德科技有限公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 沙棘渣中纤维素提取

参考相关文献<sup>[21-24]</sup>, 从沙棘渣提取纤维素工艺如下:

沙棘干渣→粉碎→稀硫酸水解→固液分离→滤渣水洗→碱液浸提→固液分离→浓缩滤液→乙醇沉淀→固液分离→滤渣干燥、粉碎→粗提纤维素。

所得纤维素参照GB 29946—2013《食品添加剂 纤维素》<sup>[25]</sup>进行理化指标检测, 合格后待用。

### 1.3.2 沙棘纤维素酶解单因素试验

将粗提纤维素粉碎, 用柠檬酸和柠檬酸钠配制不同pH值缓冲液, 按设计液料比加入粉碎纤维素, 振荡1 min使其溶胀分散。然后添加纤维素酶, 于恒温培养摇床振荡酶解。酶解完成后于沸水浴处理5 min终止反应, 离心15 min, 沉淀物50℃烘干, 粉碎过100目筛, 得到微晶纤维素样品, 测定该样品聚合度, 选取最接近棉花微晶纤维素平均聚合度(350)的水平作为最优水平。单因素试验水平见表1。在进行每个因素试验时, 其他因素固定在水平3。

表1 沙棘纤维素酶解单因素试验因素与水平  
Table 1 Coded levels of independent variables used for one-factor-at-a-time design

因素	水平				
	1	2	3	4	5
液料比 (mL/g)	20:1	30:1	40:1	50:1	60:1
酶添加量/ (U/mL)	15	20	25	30	35
酶解时间/h	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
酶解温度/℃	40	45	50	55	60
缓冲液pH*	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5
离心转速/ (r/min)	1 000	1 500	2 000	2 500	3 000
烘干温度/℃	30	40	50	60	70
纤维素粉碎度/目	20	40	80	100	150

注: \*. 参照酶的商品说明书温度范围(40~60℃)及pH值范围(3.5~5.5)。

### 1.3.3 沙棘纤维素酶解Plackett-Burman因素筛选试验

根据单因素试验结果, 各因素最优水平定为“基础限值”, 基础限值向“次优水平”(第2个接近350聚合度的水平)方向进行扩值, 以基础限值的1.5倍计算(按次优水平方向乘以或除以1.5)得到另一限值, 该限值和基础限值按照数值大小形成Plackett-Burman试验里的“+1”和“-1”水平, 采用11因素、12次试验的Plackett-Burman设计表, 实际考察8个因素的影响显著性, 试验设计见表2。根据试验结果表达的因素显著性排序选取显著因素进行后续试验。

表2 沙棘纤维素酶解Plackett-Burman因素筛选试验  
Table 2 Coded levels of independent variables used for Plackett-Burman

水平	因素						
	A液料比 (mL/g)	B酶添加量/ (U/mL)	C酶解时间/min	D酶解温度/℃	E缓冲液pH	F离心转速/ (r/min)	G烘干温度/℃
-1	40:1	23	100	37	4.50	1 000	33
+1	60:1	35	150	55	6.75	1 500	50

## 1.3.4 沙棘纤维素酶解显著因素爬坡试验

经Plackett-Burman试验筛选的显著因素,按其指标相关性,属于正相关的因素以其单因素试验结果中的最优水平值逐渐增大取值,而属于负相关的因素则以其单因素试验中的最优水平值逐渐减小取值,从而组成最陡爬坡试验表。各取值之间的间距即水平变化的“步长”,按照Plackett-Burman试验筛选出因素的显著性大小设定。完成爬坡试验并取得结果后,选取微晶纤维素聚合度最接近350的试验处理,该处理对应的各因素值,作为进行Box-Behnken优化试验时的“0水平”。

## 1.3.5 沙棘纤维素酶解条件优化试验

按照爬坡试验确定的Box-Behnken试验各因素的“0水平”,再选择涵盖次优水平的步长,从零水平数值计算得到“-1”和“1”水平。试验设计因素与水平见表3。

表3 响应面优化试验因素与水平

Table 3 Coded levels of independent variables used for Box-Behnken design

因素	水平		
	-1	0	1
$X_1$ 液料比 (mL/g)	30:1	36:1	42:1
$X_2$ 酶添加量/ (U/mL)	35	56	77
$X_3$ 酶解时间/h	1.0	1.2	1.4
$X_4$ 离心转速/ (r/min)	1 500	2 100	2 700

## 1.3.6 沙棘微晶纤维素聚合度的测定

参照第38版《美国药典》<sup>[26]</sup>微晶纤维素标准并借鉴相关文献<sup>[27]</sup>前处理方法,配制1 mol/L铜乙二醇碱溶液(乙二醇与铜的物质的量比为2.00:0.04)。取1.300 g供试品于125 mL锥形瓶中,加入25.0 mL水和25.0 mL铜乙二醇碱溶液,通氮气使溶液净化后,加塞振摇使完全溶解。取7.0 mL溶液用品氏黏度计测定,保温5 min内使其在(25±0.1)℃平衡。记录样品溶液在黏度计两个刻度之间的流动时间 $t_1$ /s,按公式(1)计算动力黏度 $\eta_1$ :

$$\eta_1/(\text{Pa} \cdot \text{s}) = t_1 \times k_1 \quad (1)$$

式中: $k_1$ 为黏度计常数; $t_1$ 为样品溶液在黏度计两个刻度之间的流动时间/s。

取相同质量的1 mol/L铜乙二醇碱溶液,用相同处理稀释和测定后,按式(2)计算其动力黏度 $\eta_2$ :

$$\eta_2/(\text{Pa} \cdot \text{s}) = t_2 \times k_2 \quad (2)$$

式中: $k_2$ 为黏度计常数; $t_2$ 为铜乙二醇碱溶液在黏度计两个刻度之间的流动时间/s。

样品相对黏度计算如式(3)所示:

$$\eta_{\text{rel}} = \frac{\eta_1}{\eta_2} \quad (3)$$

根据样品的相对黏度在第38版《美国药典》中微晶纤维素的固有黏度表中查找其固有黏度 $\eta_c$ ,按公式(4)计算聚合度:

$$\text{聚合度} = \frac{95 \times \eta_c}{m \times [(100-b)/100]} \quad (4)$$

式中: $m$ 为供试品质量/g; $b$ 为干燥质量损失率/%; $\eta_c$ 为固有黏度/(Pa·s)。

## 1.3.7 沙棘微晶纤维素结构分析

## 1.3.7.1 微晶纤维素微观结构的分析

通过扫描电镜观察沙棘微晶纤维结构,与棉微晶纤维比较,判断沙棘微晶纤维素结构特征。扫描电镜条件:样品用乙醇固定,采用溅射镀膜法对样品表面镀金,放大5 000和10 000倍观察。

## 1.3.7.2 微晶纤维素化学结构分析

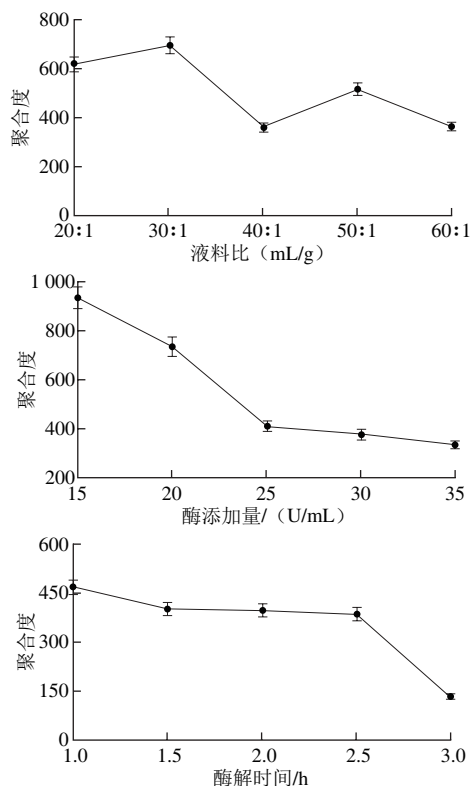
利用红外光谱对比沙棘微晶纤维与棉微晶纤维官能团结构,检测样品是否具备微晶纤维素的基本化学结构。取2 mg样品放入玛瑙研钵中,加入100 mg干燥的溴化钾粉末,在红外灯下研磨,直至完全研细混匀,将研细后的粉末均匀加入压模器内,制成一定直径和厚度的透明片,迅速放入仪器光路中进行扫描,扫描次数32次,分辨率 $4 \text{ cm}^{-1}$ 。

## 1.4 数据分析

实验结果相关性及其显著性分析借助软件Design-Expert 7.1.3完成。

## 2 结果与分析

## 2.1 单因素试验结果



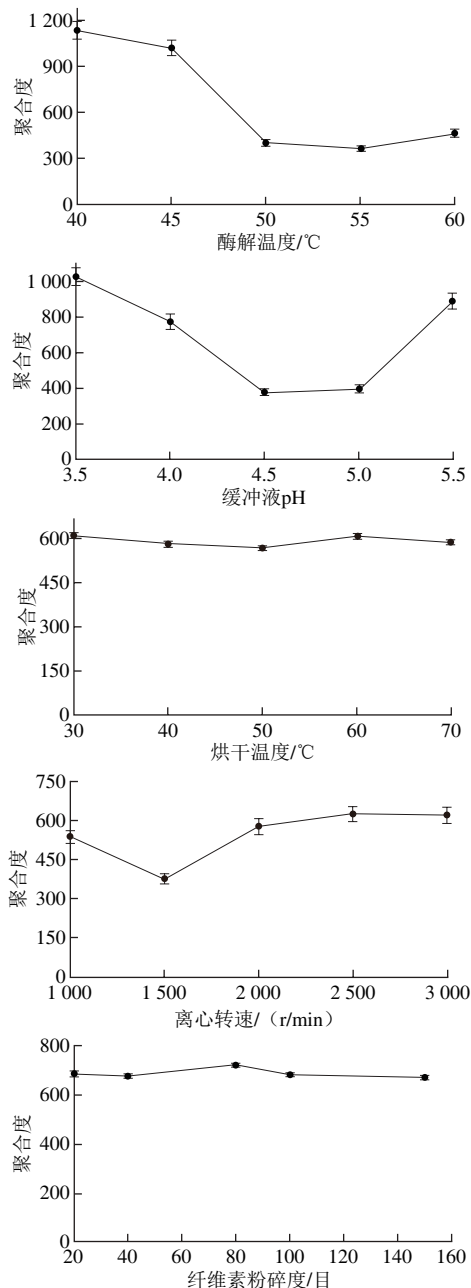


图1 单因素试验结果

Fig. 1 Results of one-factor-at-a-time experiments

由图1可知,按照最接近棉花微晶纤维聚合度(350)的标准,各因素最优水平确定为液料比40:1 (mL/g)、酶添加量35 U/mL、酶解时间2.5 h、酶解温度55 °C、缓冲液pH 4.5、烘干温度50 °C、离心转速1 500 r/min以及纤维素粉粒度150 目。

8 个因素按照最优水平向次优水平方向,以各自最优水平扩大或缩小1.5 倍确定另一限值<sup>[28-29]</sup>。对应得到的另一限值为液料比60:1 (mL/g)、酶添加量23 U/mL、酶解时间1.67 h (取整换算100 min)、酶解温度36.7 °C (取整37 °C)、缓冲液pH 6.75、烘干温度33 °C、离心转速1 000 r/min以及纤维素粉粒度100 目。各

因素高低水平组成Plackett-Burman的“+1”和“-1”值,进行因素显著性排序和筛选。

## 2.2 Plackett-Burman因素筛选试验结果

表4 Plackett-Burman因素筛选试验设计与结果

Table 4 Plackett-Burman design with experimental results

试验号	A液料比 (mL/g)	B酶添加量/ (U/mL)	C酶解 时间/min	D酶解 温度/°C	E缓冲 液pH	F离心转速/ (r/min)	G烘干 温度/°C	H纤维素 粉粒度/目	空列	空列	空列	聚合度
1	40:1	35	100	55	6.75	1 000	50	150	+1	-1	-1	412.44
2	60:1	35	100	55	6.75	1 500	33	100	-1	+1	-1	117.31
3	60:1	23	150	55	6.75	1 000	33	100	+1	-1	+1	626.66
4	60:1	35	150	37	4.50	1 000	50	100	+1	+1	-1	271.11
5	40:1	23	100	37	4.50	1 000	33	100	-1	-1	-1	656.31
6	40:1	23	100	55	4.50	1 500	50	100	+1	+1	+1	621.34
7	40:1	35	150	37	6.75	1 500	50	100	-1	-1	+1	154.38
8	60:1	23	150	55	4.50	1 500	50	150	-1	-1	-1	107.94
9	60:1	35	100	37	4.50	1 500	33	150	+1	-1	+1	160.34
10	40:1	23	150	37	6.75	1 500	33	150	+1	+1	-1	553.22
11	40:1	35	150	55	4.50	1 000	33	150	-1	+1	+1	307.54
12	60:1	23	100	37	6.75	1 000	50	150	-1	+1	+1	754.12

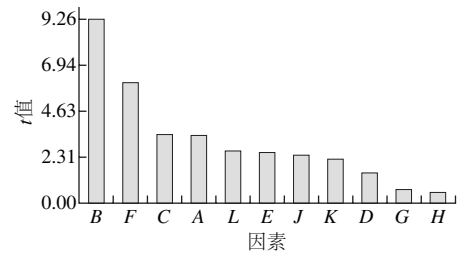


图2 Plackett-Burman试验的因素显著性排序

Fig. 2 Significance ranking of factors tested in Plackett-Burman design

Plackett-Burman因素筛选试验结果见表4, Plackett-Burman试验中各因素显著性的柏拉图排序(图2)可以看出,酶添加量、离心转速、酶解时间以及液料比为显著性最前的4 位,而t值分析在0.85的置信水平上,前4 个因素具有显著性,并且对于指标都表现出正相关性,在最陡爬坡试验中均以其基础水平依次增大试验水平值。其中因素C和A显著性水平相同,显著效应值3.3,从单因素试验结果中最优水平开始,采用了0.1 倍步长增大试验处理水平;因素F显著效应值6.2,与因素A和C相比,计算应采用0.188 倍步长,实际采用了0.2 倍步长增大水平值;因素B显著效应值9.2,计算应采用0.279 倍步长,实际采用0.3 倍步长增大试验处理水平。从而得到显著因素最陡爬坡试验方案。

## 2.3 显著因素的最陡爬坡试验结果

表5 显著因素最陡爬坡试验设计与结果

Table 5 Steepest ascent path design with experimental results

试验号	A液料比 (mL/g)	B酶添加量/ (U/mL)	C酶解 时间/h	F离心转速/ (r/min)	聚合度
1	30:1	35.0	1.0	1 500	607.1
2	33:1	45.5	1.1	1 800	536.5
3	36:1	56.0	1.2	2 100	372.4
4	39:1	66.5	1.3	2 400	437.4
5	42:1	77.0	1.4	2 700	301.2
6	45:1	87.5	1.5	3 000	162.1



由表5可知,第3组处理得到微晶纤维素的聚合度最接近350。因些Box-Behnken试验各因素的“0水平”选择第3组试验处理即酶添加量56.0 U/mL、离心转速2 100 r/min、酶解时间1.2 h、液料比36:1 (mL/g),在此基础选择涵盖次优水平即第5组试验处理的步长,从零水平数值计算“-1”和“+1”水平。构成Box-Behnken优化试验设计水平。

2.4 Box-Behnken试验结果

表6 Box-Behnken试验设计及结果  
Table 6 Box-Behnken design with experimental results

试验号	$X_1$ 液料比 (mL/g)	$X_2$ 酶添加量/ (U/mL)	$X_3$ 酶解 时间/h	$X_4$ 离心转速/ (r/min)	聚合度
1	30:1	35	1.2	2 100	431
2	30:1	77	1.2	2 100	329
3	42:1	56	1.2	1 500	351
4	42:1	56	1.0	2 100	396
5	36:1	56	1.2	2 100	355
6	36:1	77	1.0	2 100	341
7	36:1	56	1.4	1 500	357
8	30:1	56	1.2	1 500	378
9	36:1	35	1.0	2 100	443
10	42:1	56	1.4	2 100	354
11	36:1	56	1.2	2 100	349
12	30:1	56	1.4	2 100	387
13	36:1	77	1.2	1 500	301
14	42:1	35	1.2	2 100	406
15	36:1	35	1.2	2 700	401
16	36:1	35	1.4	2 100	399
17	36:1	77	1.4	2 100	299
18	36:1	56	1.2	2 100	354
19	36:1	35	1.2	1 500	408
20	30:1	56	1.2	2 700	381
21	42:1	56	1.2	2 700	354
22	30:1	56	1.0	2 100	423
23	36:1	77	1.2	2 700	297
24	36:1	56	1.2	2 100	351
25	36:1	56	1.0	2 700	391
26	36:1	56	1.0	1 500	388
27	42:1	77	1.2	2 100	304
28	36:1	56	1.4	2 700	352
29	36:1	56	1.2	2 100	355

由表6得到4个因素对指标的二次回归方程如下:

$$Y=352.80-13.67X_1-51.42X_2-19.50X_3-0.58X_4-1.50X_1X_3+0.50X_2X_3+0.75X_2X_4-2.00X_3X_4+15.73X_1^2-1.15X_2^2+20.22X_3^2-1.15X_4^2$$

以聚合度为350作为目标值,由方程推导出的最优条件中,第1位最优参数组合为液料比48.93:1 (mL/g)、酶添加量68.35 U/mL、酶解时间1.28 h、离心转速3 641.48 r/min,该条件的预期聚合度为350。

根据实际试验仪器对各参数的计量精度,调整试验参数为液料比49:1 (mL/g)、酶添加量68 U/mL、酶解时间1.3 h、离心转速3 640 r/min,进行3次验证平行实验,所得样品平均聚合度为345±1.02,与预测值较为一致。

表7 响应面二次回归结果方差分析  
Table 7 Analysis of variance (ANOVA) for response surface quadratic model

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	42 739.24	14	3 052.80	287.71	<0.000 1**
$X_1$ 液料比	2 241.33	1	2 241.33	211.23	<0.000 1**
$X_2$ 酶添加量	31 724.08	1	31 724.08	2 989.82	<0.000 1**
$X_3$ 酶解时间	4 563.00	1	4 563.00	430.04	<0.000 1**
$X_4$ 离心转速	4.08	1	4.08	0.38	0.545 0
$X_1X_2$	0.000	1	0.000	0.000	1.000 0
$X_1X_3$	9.00	1	9.00	0.85	0.372 7
$X_1X_4$	0.000	1	0.000	0.000	1.000 0
$X_2X_3$	1.00	1	1.00	0.094	0.763 4
$X_2X_4$	2.25	1	2.25	0.21	0.652 2
$X_3X_4$	16.00	1	16.00	1.51	0.239 7
$X_1^2$	1 603.95	1	1 603.95	151.16	<0.000 1**
$X_2^2$	8.58	1	8.58	0.81	0.383 8
$X_3^2$	2 653.30	1	2 653.30	250.06	<0.000 1**
$X_4^2$	8.58	1	8.58	0.81	0.383 8
残差	148.55	14	10.61		
失拟项	119.75	10	11.97	1.66	0.329 6
纯误差	28.80	4	7.20		
总回归	42 887.79	28			
$R^2=0.898 4$		$R^2_{Adj}=0.881 5$		$R^2_{Pred}=0.852 4$	

注: \*\*.  $P<0.05$ , 差异极显著; \*.  $P<0.10$ , 差异显著。

通过回归方程拟合分析,该模型P值远小于0.05,具有极显著性。同时,失拟项P值为0.329 6,大于0.10,失拟项不显著;拟合度为0.898 4,校正拟合度( $R^2_{Adj}$ )0.881 5与预测校正拟合度( $R^2_{Pred}$ )0.852 4匹配,说明方程可接受。另外,显著性分析表明: $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 和 $X_1^2$ 、 $X_3^2$ 对指标有极显著影响,而因素交互作用对指标影响均不显著,说明4个因素对指标产生独立影响。

2.5 沙棘渣微晶纤维的结构分析

2.5.1 扫描电镜分析结果

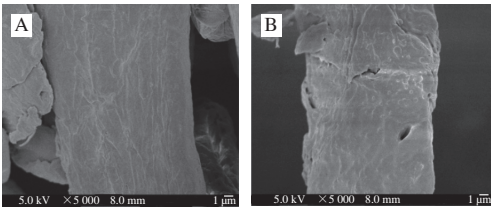


图3 棉微晶纤维素(A)及沙棘微晶纤维素(B)扫描电镜图比较 (×5 000)

Fig. 3 Microscopic surface structure of microcrystalline cellulose from cotton (A) and seabuck-thorn (B) under scanning electron microscope (×5 000)

由图3可知,在5 000倍扫描电镜下,棉微晶纤维和沙棘微晶纤维都呈现不光滑的长棒状结构,棉微晶纤维的棒状直径较均匀,而沙棘微晶纤维的棒状直径有明显的粗细变化;沙棘微晶纤维表面比棉微晶纤维表面具有更多的孔洞,整体上两者的基本结构一致。

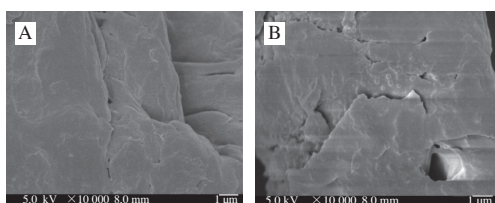


图4 棉微晶纤维素(A)及沙棘微晶纤维素(B)扫描电镜图比较(×10 000)

Fig. 4 Microscopic surface structure of microcrystalline cellulose from cotton (A) and seabuckthorn (B) under scanning electron microscope (×10 000)

由图4可知,棉微晶纤维素的片层堆积较紧密,且堆积层次较规律;而沙棘微晶纤维素的片层堆积疏松,而且片层方向和大小变化明显。按照微晶纤维素的性质和加工适应性要求,沙棘微晶纤维素预期比棉微晶纤维素的吸附性要强,而其涂膜延展性可能要弱于棉微晶纤维<sup>[10,15]</sup>。

### 2.5.2 红外光谱分析结果

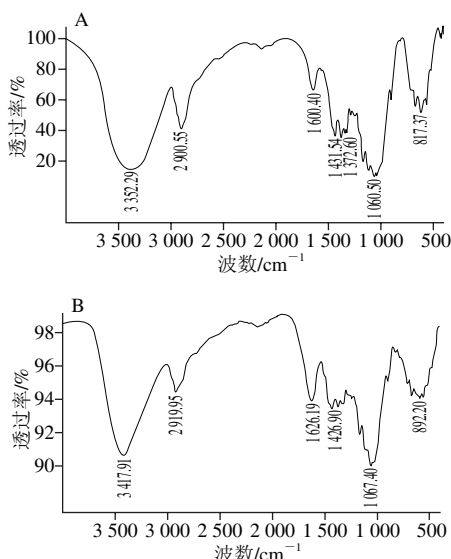


图5 棉微晶纤维素(A)及沙棘微晶纤维素(B)红外光谱图比较

Fig. 5 Infrared spectra of microcrystalline cellulose from cotton (A) and seabuckthorn (B)

红外光谱显示棉微晶纤维素和沙棘微晶纤维素样品均出现2个主要的吸收区段,第1个区段波长分布为700~1 800 cm⁻¹,第2个区段波长分布为2 700~3 500 cm⁻¹。其中3 352~3 419 cm⁻¹为O—H的伸缩振动吸收带,棉微晶纤维素的O—H吸收带出现在3 352 cm⁻¹处,而沙棘微晶纤维素为3 420 cm⁻¹附近,说明沙棘微晶纤维素中O—H伸缩振动比棉微晶纤维强,暗示沙棘微晶纤维素比棉微晶纤维素具有更强的吸附性能<sup>[28]</sup>;1 730 cm⁻¹处的糖醛酸羰基吸收峰是半纤维素的特征峰,棉微晶纤维素此处无吸收峰,证明其不含半纤维素,而沙棘微晶纤维素在1 730 cm⁻¹处有微弱的吸收峰,证明实验制得的沙棘微晶纤维素中含有微量的半纤维素;

1 430 cm⁻¹处是—CH₂振动特征峰,两种微晶纤维素吸收峰较一致;1 060~1 032 cm⁻¹表示的是C—O醚、—OCH₃和β—O—4的伸缩振动,棉微晶纤维素在1 060 cm⁻¹出现最大吸收,而沙棘微晶纤维素在1 032 cm⁻¹附近出现最大吸收,略有不同。

## 3 结论

对影响沙棘渣纤维素酶解的8个因素进行筛选,证实液料比、酶添加量、酶解时间和微晶纤维收集离心转速4个因素对聚合度影响显著;以棉微晶纤维素的聚合度作为对照,初步优化了沙棘渣制备微晶纤维素的单一酶解条件;经过优化试验结果的回归方差分析,液料比、酶添加量、酶解时间对沙棘微晶纤维聚合度影响极显著,而交互作用均不显著,说明因素对指标产生独立影响<sup>[29-30]</sup>;电镜和红外分析证实沙棘微晶纤维素比棉微晶纤维素具有更为疏松的微观结构,而且O—H伸缩振动更强;实验制得的沙棘微晶纤维素含有微量的半纤维素,用以对比的棉微晶纤维则不含半纤维素。

对于纤维素酶商品说明书中给定范围的酶解温度和缓冲液pH值,在其使用范围内对指标影响都不具显著性,说明作为复合酶体系,只要在其综合的作用温度和pH值范围内,对于同一种底物系统,酶解效果趋于一致<sup>[13,24]</sup>。

## 参考文献:

- [1] 李淑珍,武飞,陈月林,等.沙棘活性成分及功效研究进展[J].中国民族民间医药,2015(1):51-53.
- [2] 吴斯琴毕力格,包勒朝鲁,那生桑.沙棘药理作用研究进展[J].中国药业,2015(1):95-96.
- [3] KAUSHAL M, SHARMA P C, SHARMA R. Formulation and acceptability of foam mat dried seabuckthorn (*Hippophae salicifolia*) leather[J]. Journal of Food Science and Technology, 2013, 50(1): 78-85. DOI:10.1007/s13197-011-0236-0.
- [4] SELVAMUTHUKUMARAN M, KHANUM F. Optimization of spray drying process for developing seabuckthorn fruit juice powder using response surface methodology[J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(12): 3731-3739. DOI:10.1007/s13197-012-0901-y.
- [5] SELVAMUTHUKUMARAN M, KHANUM F. Optimization of seabuckthorn fruit yogurt formulation using response surface methodology[J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(2): 831-839. DOI:10.1007/s13197-013-1070-3.
- [6] 李秀婷,王昌涛.沙棘加工技术及综合应用[M].北京:中国农业科学技术出版社,2011:3-10.
- [7] 康健,顾晶晶,王继国,等.沙棘果油的酶法提取及其脂肪酸的测定[J].食品科学,2011,32(2):260-262.
- [8] 苏本山,苗新生,马骥.沙棘饲料质量评价与开发研究进展[J].畜牧与饲料科学,2013,34(9):43-46. DOI:10.3969/j.issn.1672-5190.2013.09.015.
- [9] KAGLIWAL L D, POL A S, PATIL S C, et al. Antioxidant-rich extract from dehydrated seabuckthorn berries by supercritical carbon dioxide extraction[J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 5(7): 2768-2776. DOI:10.1007/s11947-011-0613-8.

- [10] GORINSTEIN S, ARANCIBIA-AVILA P, TOLEDO F, et al. Application of analytical methods for the determination of bioactive compounds in some berries[J]. Food Analytical Methods, 2013, 6(2): 432-444. DOI:10.1007/s12161-012-9453-z.
- [11] 窦乌云, 杜晓鸣. 沙棘黄酮研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2010, 29(3): 131-134. DOI:10.3969/j.issn.1006-0979.2010.03.110.
- [12] 陈金娥, 赵丽婷, 张海容. 超声辅助萃取沙棘黄酮工艺研究[J]. 化学世界, 2008, 49(10): 611-614. DOI:10.3969/j.issn.0367-6358.2008.10.011.
- [13] 陈洪章. 纤维素生物技术[M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 2015: 12-30.
- [14] BRITTAI H G, LEWEN G, NEWMAN A W, et al. Changes in material properties accompanying the national formulary (NF) identity test for microcrystalline cellulose[J]. Pharmaceutical Research, 1993, 10(1): 61-67. DOI:10.1023/A:1018921012812.
- [15] 何耀良, 廖小新, 黄科林, 等. 微晶纤维素的研究进展[J]. 化工技术与开发, 2010, 39(1): 12-16. DOI:10.3969/j.issn.1671-9905.2010.01.005.
- [16] O'CONNOR R E, SCHWARTZ J B. Drug release mechanism from a microcrystalline cellulose pellet system[J]. Pharmaceutical Research, 1993, 10(3): 356-361. DOI:10.1023/A:1018928003668.
- [17] 陈夫山, 袁珊珊. 纳米纤维素的制备及其应用的研究进展[J]. 造纸科学与技术, 2015, 34(6): 46-49.
- [18] 汪志宪, 房全军, 岳正波. 添加氯化亚铁影响微晶纤维素酶解的作用研究[J]. 广东化工, 2015, 42(21): 73-74. DOI:10.3969/j.issn.1007-1865.2015.21.036.
- [19] 王景芸, 袁玉国, 付霓虹, 等. 酸性阳离子交换树脂催化降解木质纤维素制备可还原糖[J]. 科技导报, 2015, 33(24): 23-27. DOI:10.3981/j.issn.1000-7857.2015.24.004.
- [20] 侯人月, 贺燕, 李成吾, 等. 微晶纤维素对苯酚吸附行为的探究[J]. 化学与黏合, 2015, 37(6): 403-405.
- [21] 程合丽. 玉米秆半纤维素的分离表征及硫酸酯化改性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011: 13-27.
- [22] 李维尊. 咪唑类离子液体对生物质中木质纤维素选择性提取及分离[D]. 天津: 南开大学, 2013: 10-30.
- [23] 张俊英. 玉米秸秆中半纤维素的提取[D]. 大连: 大连工业大学, 2014: 8-26.
- [24] 龚玉雷. 纤维素酶和果胶酶复合体系在茶叶提取加工中的应用研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2013: 12-31.
- [25] 卫生与计划生育委员会. 食品添加剂 纤维素: GB 29946—2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 3-5.
- [26] USP38. Microcrystalline cellulose[S]. United States Pharmacopieial Convention, 2014: 6596-6601.
- [27] 哈丽丹·买买提, 努尔买买提, 吾满江·艾力. 粘度法测定植物纤维素的聚合度[J]. 合成纤维工业, 2006, 29(1): 40-42. DOI:10.3969/j.issn.1001-0041.2006.01.013.
- [28] 朱明华, 胡坪. 仪器分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009: 207-219.
- [29] 刘文卿. 实验设计[M]. 北京: 清华大学出版社, 2007: 41-50.
- [30] 王钦德, 杨坚. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2010: 72-90.