

# 蔗渣木质纤维成分的系统分析法研究

徐文玉 王玉万

(华侨大学) (本溪师专)

## 摘 要

本文探讨了多数研究报告中常用的木质纤维素单一组分的分离和测定方法,经综合后,拟定了测定甘蔗渣中木质素、纤维素、半纤维素组分的系统分析方法。本法操作简便、快速,可一次完成多个试样的对比分析。

## 引 言

甘蔗渣是用之不竭的三大纤维废物之一,世界年产量达  $2.1 \times 10^6$  吨,国内年产量约405万吨。长期以来甘蔗渣大都被作为燃料烧掉,这是一种能量利用率很低的作法。因此,近些年人们就它的有效利用问题进行了广泛的研究。认为有希望的有效利用方法是用来栽培食用菌,或者经物理的、化学的及生物学的方法预处理后,用来生产葡萄糖<sup>[1]</sup>、燃料乙醇<sup>[2]</sup>、挥发性脂肪酸<sup>[3]</sup>、菌体蛋白和反皱动物饲料<sup>[4, 5]</sup>。这就需要一种可靠、方便而又快速的系统分析方法,来测定甘蔗渣中纤维素、半纤维素、木质素组分。本文对多数研究报告中常用的稀酸水解法测定半纤维<sup>[6, 7]</sup>、硝酸乙醇法测定纤维素<sup>[8]</sup>和 Klason 法测定木质素<sup>[9]</sup>,以及 Van Soest 提出的木质素、纤维素快速分析法<sup>[10, 11]</sup>进行了对比性研究,从而拟定出了能测定蔗渣木质纤维素的系统分析方法。本法简便、快速、样品用量少,重复性和准确性均较理想,并且可以同时多个试样的对比测定。

## 材 料 和 方 法

- (一) 材料:用的甘蔗渣由仙游糖厂提供(1984年),风干、粉碎,过40—120目筛。
- (二) 仪器:国产72型分光光度计,手提式高压蒸汽消毒器。
- (三) 试剂:以下试剂均用A.R.级药品配制。

1. 中性洗涤剂溶液(以下简称“试剂1”)和酸性洗涤剂溶液(以下简称“试剂2”):按

本文1985年12月13日收到。

Van Soest 方法配制<sup>[10, 11]</sup>.

2. 地衣酚试剂<sup>[7]</sup>: 0.1 克  $\text{FeCl}_3$  溶于 100ml 浓盐酸中, 然后加入 0.2 克地衣酚 (3,5-二羟基甲苯), 现用现配。

3. 蒽酮试剂<sup>[12]</sup>: 0.2 克蒽酮溶于 100ml 浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  中, 现用现配。

4. 2N 盐酸溶液<sup>[13]</sup>: 167ml 浓盐酸(比重 1.19)用蒸馏水定容至 1000ml。

本文所用其它试剂按常规方法配制即可。

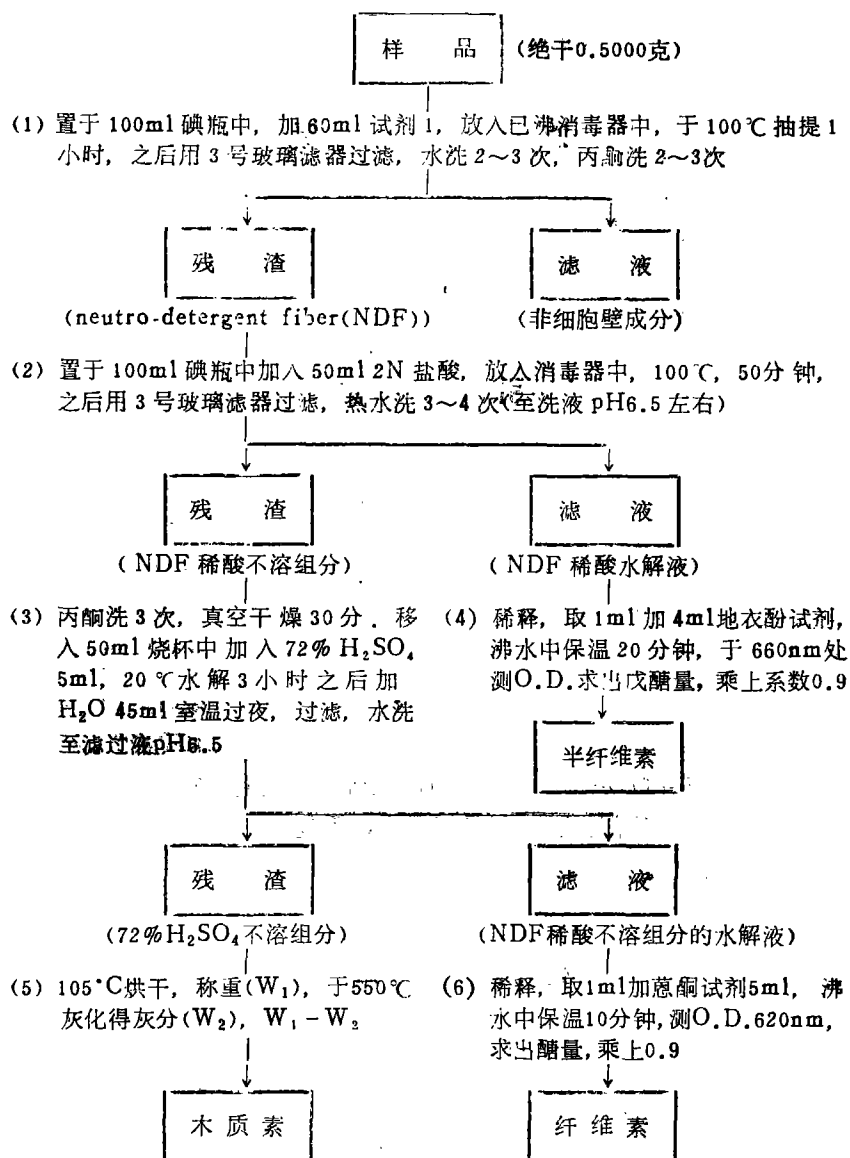


图1 木质纤维素系统分析方法 1 的操作程序

(四) 方法：本文提出了三种系统分析方法。

方法1：用试剂1来除去蔗渣的非细胞壁成份<sup>[11]</sup>，然后用2N盐酸水解半纤维素<sup>[7]</sup>，用地衣酚试剂比色测定其戊糖含量，以木糖作糖量-光密度标准曲线；用72% $\text{H}_2\text{SO}_4$ 水解纤维素<sup>[13]</sup>，用蒽酮试剂测定其己糖含量<sup>[12]</sup>，以葡萄糖作为标准曲线；将72% $\text{H}_2\text{SO}_4$ 不溶组分于550℃灰化，减去灰分量，即得本质素有机质的含量<sup>[13]</sup>，分离与测定程序见图1。

方法2：用试剂1除去非细胞壁成分，用试剂2水解半纤维素<sup>[10]</sup>，水解条件是在121℃保温15分钟<sup>[14]</sup>。其它操作程序和方法1（见图1）相同。

方法3：将试剂1、试剂2、硝酸乙醇试剂<sup>[6]</sup>、地衣酚试剂综合运用，来系统分析木质纤维素三组分含量，操作程序如图2所示。

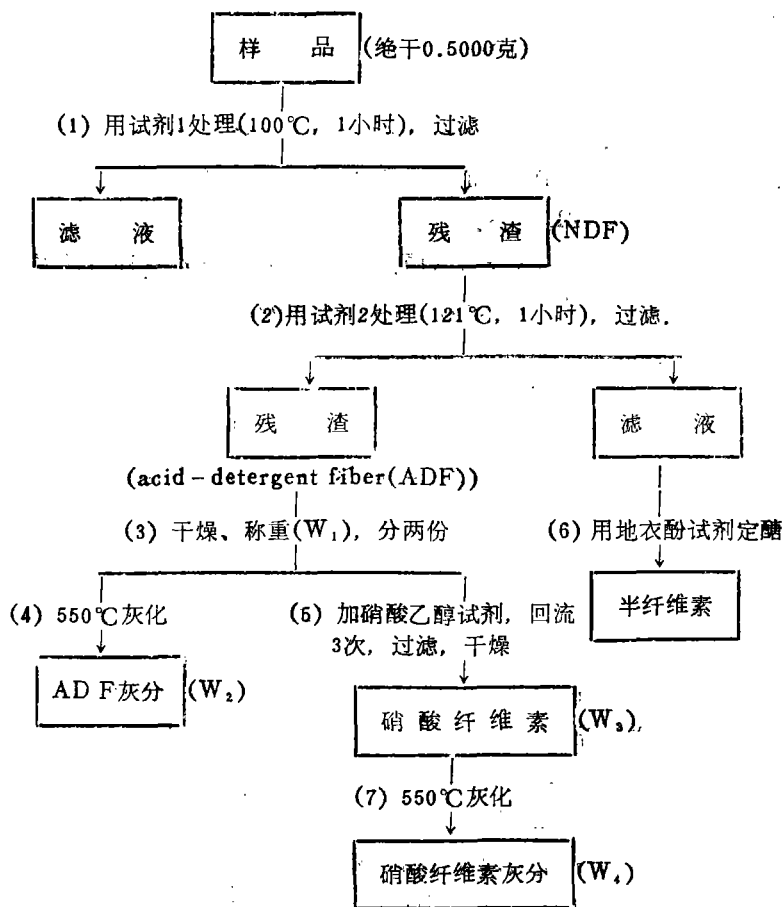


图2 木质纤维素系统分析方法3的操作程序

计算： $W_1 - W_2 = \text{ADF OM}$ （“OM”即Organic Matter）； $W_3 - W_4 = \text{硝酸纤维素 OM}$ ， $\text{ADF OM} - \text{硝酸纤维素 OM} = \text{本质素 OM}$ 。

为了衡量上述三种系统分析方法的可靠性，采用了以下几种经典的单组分分析方法和

Van Soest 的新方法对同批蔗渣进行了半纤维素、纤维素、木质素的测定,以作比较。

1. 半纤维素测定:样品用苯-醇试剂、水各抽提8小时,然后用三种不同水解条件进行半纤维素水解。(1)用2%盐酸水解3小时<sup>[6]</sup>; (2)用2N盐酸水解45分钟<sup>[7]</sup>; (3)用2N盐酸水解50分钟。水解液均用地衣酚法定糖,以木糖为标准,求得糖量乘上系数0.9,即为半纤维素含量。

2. 纤维素测定:用硝酸乙醇法。

3. 木质素测定:用Klason法<sup>[9]</sup>。

4. Van Soest 的新方法<sup>[10, 11]</sup>:绝干蔗渣(0.5000克),用试剂1回流抽提1小时,得NDS (Neutral Detergent Solubles,也即非细胞壁成分)和NDF; NDF于550℃灰化,得NDF灰分。另取一份同批样品(0.5000克),于550℃灰化,得样品中总灰分(W)。再另取一份同批样品(0.5000克),于100℃用试剂2抽提,水解1小时,得残渣ADF,将ADF分成两份,其一在550℃灰化,得ADF灰分;其二用Klason法进行处理,得残渣ADL(Acid-Detergent Lignin),将ADL灰化,得ADL灰分。

计算<sup>[3]</sup>:  $NDS\ OM = 0.500 - W - NDF\ OM$ ;  $NDF\ OM = NDF - NDF\ 灰分$ ;  $ADF\ OM = ADF - ADF\ 灰分$ ;  $半纤维素\ OM = NDF\ OM - ADF\ OM$ ;  $纤维素\ OM = ADF\ OM - ADL\ OM$ ;  $ADL\ OM (木质素\ OM) = ADL - ADL\ 灰分$ 。

为了更本质的反映出系统分析方法的测定误差,本文还对三种方法及单组分分析法中所得的稀酸水解液(2N盐酸、2%盐酸和试剂2水解液)及浓酸(72% $H_2SO_4$ )水解液作了糖组分的定量纸色谱分析。实验用新华1号滤纸,上行层析,展开剂用正丁醇:醋酸:水=4:1:5(V/V);显色用邻苯二甲酸-苯胺试剂<sup>[10]</sup>(用丙酮作溶剂)。定量分析系将显色斑点分别剪下,用醋酸:水(4:1)溶液洗脱,570 nm处测O.D.值,同时进行标准葡萄糖、木糖的定量纸层析,以求得糖量—O.D.值换算系数(F);  $O.D. \times F = \text{某糖量}$ ,  $\text{某糖量} \times 100 / \text{层析谱上总糖量} = \text{某糖量占水解液总糖量}(\%)$ 。

## 结 果 与 分 析

本文提出的三种系统分析方法,在样品进行半纤维素水解前均采用试剂1抽提,以除去非细胞壁成分<sup>[11]</sup>(对系统分析法来说,主要是除去干扰半纤维素测定的糖类,如果胶、淀粉及单糖、双糖、寡糖等水可溶性糖类)。从表1可以看出,用试剂1抽提样品1小时与苯-乙醇试剂和水结合抽提样品16小时的抽出物含量几乎一致;从表2半纤维素的测定结果几乎一致更明显反映出,用试剂1完全可以除净样品中干扰半纤维素测定的糖类,半纤维素水解液的纸色谱鉴定(表3)也证明了这一点。因此用试剂1作为半纤维素水解前的预处理是可行的,突出优点在于大大地缩短了系统分析的前处理时间,并使操作简单化。

表 1 非细胞壁成分去除方法比较

成 分	苯 醇 抽 出 物	热 水 抽 出 物	NDS OM
含 量(%)	4	11—12*	12.1

\* 2%灰分。

表 2 几种系统分析和单组分分析测定结果比较\*

方 法		含量(%)	半 纤 维 素	纤 维 素	木 质 素
系统分析	方 法 1		24.00	35.10	15.50
	方 法 2		23.94	35.03	15.31
	方 法 3		23.88	37.10	15.74
单组分分析	Van Soest 方法		30.1	37.40	15.40
	2N 盐酸	45分钟	22.82		
	水解法	50分钟	23.91		
	2% 盐酸水解法		22.62		
	硝 酸 乙 醇 法			41.85	2**
	Klason 方法				16.63

\* 以绝干蔗渣为样品, 取3次实验平均值;

\*\* 用 Klason 法测得硝酸纤维素中残留的木质素量。

表 3 稀酸与浓酸水解液中糖组分的纸色谱定量分析

含量(%)*		组 分	NDF 稀酸水解液		NDF 稀酸不溶物水解液	
方 法			木 醣	葡萄糖	木 醣	葡 萄 糖
方 法 1			97.0	0.5~1	6.1	92.5
方 法 2			96.3	~1	6.4	92.0
			硝酸乙醇可溶组分**		硝酸纤维素水解液***	
			木 醣	葡萄糖	木 醣	葡 萄 糖
方 法 3			微 量	—	4.5	92.1
含量(%)		组 分	稀 酸 水 解 液		硝酸纤维素水解液	
单组分			木 醣	葡萄糖	木 醣	葡 萄 糖
2% 盐酸水解法			98.0	微 量		
2N 盐酸水解法****			98.0	微 量		
硝酸乙醇法					11.7	85

\* 占水解液中总糖%, 取3次实验平均值;

\*\* ADF 用硝酸乙醇处理所得的可溶组分(滤液);

\*\*\* 硝酸纤维素用 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 法水解所得;

\*\*\*\* 用 2N 盐酸水解 45 分钟。

三种系统分析所测得半纤维素含量十分接近, 约 24%(表 2)。纸色谱分析表明, NDF 稀酸水解液中含有微量的葡萄糖(表 3), 而在 NDF 稀酸不溶组分的浓酸(72% $\text{H}_2\text{SO}_4$ )水解液(方法 1. 2)中和硝酸纤维素水解液(方法 3)中含有 4—6.5% 的木糖〔相当于 1.7—2.2% 半纤维素量(占样品%)〕。如果把这部分残留在纤维素组分中的半纤维素量计算在内, 则该蔗渣的半纤维素含量应该是 26% 左右。这就说明, 三种方法测定蔗渣半纤维素含量的误差达 2%。如果用 Van Soest 的称重方法测定<sup>[3]</sup>, 该蔗渣的半纤维素含量为 30%(表 2), 比实际含量偏高 4%, 这说明一部分能被试剂 2 除去的非半纤维素有机质并不能被试剂 1 完全除净<sup>[17]</sup>, 因而使称重法测定半纤维素误差增大。所以, 用试剂 1 进行前处理时, 后续的半纤维素测定以比色定糖法为更准确些。由于甘蔗渣等许多农业纤维废物中的半纤维素大都是以戊聚糖为主要组成<sup>[18]</sup>, 因此以地衣酚比色法测定戊糖量来求得半纤维素量是不成问题的。但应当指出, 方法 2 和方法 3 在水解半纤维素时所采用的试剂 2 含有十六烷基三甲基溴化铵(CTAB), 它对地衣酚法测定戊糖有一定干扰。但当溶液中 CTAB 的浓度被稀释到 0.01% 以下时, 用木糖作标准进行对比研究, 已检不出有干扰存在。所以用地衣酚法定糖时, 应对试剂 2 的水解液进行适当稀释。如果溶液中 CTAB 浓度被稀释至 0.01% 以下时, 戊糖的浓度便低于了地衣酚试剂的测定范围(下限值约  $5\mu\text{g}$  戊糖/ml), 则可采用方法 1 进行半纤维素分析, 此法是用 2N 盐酸来水解半纤维素, 对后续的地衣酚测定没有干扰。

在用试剂 1 抽提与半纤维素水解时所用设备方面, 做了适当改变, 将回流抽提、水解装置<sup>[10, 11]</sup>全部改用碘瓶装样品, 在高压消毒器中进行抽提、水解。这样可在相同条件下, 同时进行十几个试样的对比分析, 使操作大为简化, 提高了工作效率。

在蔗渣半纤维素水解条件方面, 也做了适当调整, 将用 2N 盐酸水解 45 分钟<sup>[7]</sup>, 定于消毒器中  $100^\circ\text{C}$  水解 50 分钟; 将用试剂 2 回流水解 1 小时( $100^\circ\text{C}$ )<sup>[10]</sup>, 改用于消毒器中  $121^\circ\text{C}$  水解 15 分钟<sup>[14]</sup>, 结果表明是可以的, 半纤维素水解率提高了约 1%(表 2), 而纤维素没有明显变化(表 3)。

在纤维素测定方面, 方法 1 和方法 2 是用 72% $\text{H}_2\text{SO}_4$  水解 NDF 稀酸不溶组分, 而后用蒽酮法测定其水解液中糖量, 以此求得样品中纤维素量, 和方法 3 与 Van Soest 的称重法比较所测得的纤维素量偏低约 2%(表 2)。纸色谱展示出三种方法和 Van Soest 方法所得的纤维素组分中均残留有 2% 左右的半纤维素。那么, 采用称重方法(方法 3 和 Van Soest 法)测得的纤维素量值(37%, 表 2)中无疑有 2% 是半纤维素的量值(占样品%)。而方 1 和方法 2 是用蒽酮法测定, 蒽酮试剂在本文所采用的条件下对已糖显色很专一, 戊糖的显色程度仅为等量葡萄糖的 10%, 并很快退色<sup>[15]</sup>。所以, 少量木糖的存在对于测定水解液中葡萄糖几乎没有干扰。这就可以解释为什么用称重法测定纤维素含量与蒽酮法测定结果不同, 也说明了用蒽酮法测定纤维素含量更可靠些。由于样品经试剂 1. 2N 盐酸(方法 1)或试剂 2(方法 2)处理后, 非纤维素和非木质素组分几乎被除净(如干扰蒽酮定糖的蛋白质等), 所以用 72% $\text{H}_2\text{SO}_4$  水解所得的水解液不用进行任何处理即可进行蒽酮比色定糖, 这是其它定糖法所不及的。并且蒽酮试剂定糖灵敏度高, 重复性好, 配制简单, 所选用蒽酮法测定纤维素水解液中的糖量来求得纤维素量是理想的。

用硝酸乙醇法测得蔗渣中纤维素量为 41.8%(表 2), 纸色谱分析表明, 硝酸纤维素水解液中含有 11.71% 的木糖(表 3), 这意味着 41.85% 这一纤维素量值中其实有 5% 左右是半纤

纤维素(把11.71%的木醋换算为半纤维素,占样品%),用 Klason 法分析,还从硝酸纤维素中检测出约2%的木质素。这与有关资料介绍的几乎一致<sup>[8]</sup>。所以如果从测定纯纤维素量的角度来要求,用硝酸乙醇法是难以测准样品中纤维素含量的,这和某些资料介绍的似乎相矛盾<sup>[19, 21]</sup>,为了修正硝酸乙醇法测定纤维素偏高的缺点,本文提出了将试剂2与硝酸乙醇试剂综合使用(图2),从测定结果看,所得木质素、纤维素含量与 Van Soest 采用试剂2和 Klason 方法结合<sup>[10]</sup>所获得的结果相符(表2)。纸色谱分析,经试剂2处理后,再用硝酸乙醇处理所得的硝酸纤维素中只残留约1.7%的半纤维素(表3,将4.5%换算为半纤维素,占样品%),比单纯用硝酸乙醇处理所得的纤维素中半纤维素残留量减少了约3%(表3)。木质素残留量也由2%(表2)减少到0.3%(将硝酸纤维素用 Klason 法水解求得)。这一结果表明方法3测定纤维素的误差远小于硝酸乙醇法。从实验所用时间考虑,方法3与硝酸乙醇法是等同的。就蔗渣而言,单纯用硝酸乙醇去水解、硝化,至少要反复处理4次(每次1小时),如果用试剂2于121℃先处理蔗渣15分钟,所得ADF再用硝酸乙醇处理3次,就完全可以得到满意的结果了。并且还能同时得到木质素含量。本法能否广泛用于纤维素,木质素的快速分析,还有待于用不同植物材料进一步研究和改进。

在木质素测定方面,三种系统分析法和 Van Soest 方法的测定值是一样的,该蔗渣中酸不溶木质素含量为15—16%(表2)。而用单组分分析的 Klason法测定值为17%,与三种系统分析法和 Van Soest 法的测定结果略有偏差。原因有待于探讨。一个值得考虑的是,在方法3中,当甘蔗渣中大量的半纤维素被试剂2除去后,木质素便较易被硝酸乙醇从木质纤维素组分中除去。

## 结 论

从上述分析可见,用称重法测得半纤维素量的误差达4%,而采用系统分析法的测定误差仅为2%;用硝酸乙醇法测定纯纤维素含量的误差达5%,而采用系统分析法1和2的测定误差不超过1%,用系统分析方法3和 Van Soest 方法的测定误差为2%。所以,从准确性方面考虑系统分析方法是可行的。在测定所用时间方面也较单一组分分析方法为快速,可使分析提前1—3天完成。即用方法1和2在二天之内就可完成分析任务,用方法3当天即可完成三组分的测定。并且方法1和方法2由于省去了回流装置,因而可同时进行多个样品的对比测定,这是单一组分分析法所不及的。三种系统分析方法中的测定程序除适用于蔗渣木质纤维素分析外,对于其它植物样品的分析同样适用。但应注意的是不同植物样品的半纤维素水解条件(酸浓度、水解时间、温度)可能不同,在这方面应自行摸索,以确定本材料的适宜水解条件。

## 参 考 文 献

- [1] Goel S.C. and Ramachandran, K.B., *Enzyme Microb. Technol.*, 5 (1983), 281—284
- [2] Mala Rao et al., *Enzyme Microb. Technol.*, 5 (1983), 133.
- [3] Playne M.J., *Biotech. Bioeng.*, 26 (1984), 426—433.
- [4] Sarker C. and Prabha, K.A., *J. Ferment. Technol.*, 60 (1982), 297.
- [5] Han Y. W. et al., *Biotech. Bioeng.*, 20 (1978), 1015.

- [6] O. A. 华尔捷尔等, 植物生理学附生物化学原理实验指导, 农业出版社, 1966, 161.
- [7] X. H. 波钦诺克, 植物生物化学分析方法, 科学出版社, 1981, 173—177.
- [8] 北京造纸研究所, 造纸工业化学分析, 轻工业出版社, 1979, 44—52.
- [9] Effland M. J., Tappi, 60(1977), 143.
- [10] Van Soest, P. J., J. A. O. A. C, 46(1963), 829—835.
- [11] Van Soest P.J. and Wine, R.H., J.A.O.A.C., 50(1967), 50.
- [12] Trevelyan W. E. and Harrison, J. S., Biochem. J, 50(1952), 298.
- [13] Rosenberg S. L., Development in Industrial Microb., 20(1979), 133.
- [14] Kaneshiro T., Developments in Industrial Microb., 18(1976), 591.
- [15] Brink R. H., et al., Soil Sci., 88(1930), 157—166.
- [16] Harris G., et al., Chem. Industry, (1954), 249.
- [17] (日)作物分析法委员会编, 栽培植物营养诊断分析测定法, 农业出版社, (1984), 680.
- [18] P. J. Du Toit, Biotech Bioeng., 26(1984), 1071.
- [19] 微生物学通报, 4(1977), 15—17.
- [20] 齐义鹏, 纤维素酶及其应用, 四川人民出版社, (1980), 222.
- [21] 中山大学生物系生化微生物学教研室, 生化技术导论, 人民教育出版社, (1978), 29—30.

## A Systematic Analytical Method for Lignocellulose in Bagasse

Xu wenyu wang Yuwan

### Abstract

A systematic analytical method for determining of lignin, cellulose and hemicellulose in the bagasse has been worked out. By this easy and quick method, a comparative analysis on several samples can be done in a single operation.