酸解均质制备纳米豆渣纤维素工艺

刘玲玲，田云波，唐楚楚，钟 诚，刘 雄*
(西南大学食品科学学院，食品科学与工程实验教学中心，重庆 400715)

摘 要：以富含纤维素的豆渣为原料，采用酸水解辅以均质法制备纳米纤维素，研究HCl浓度、水解时间、水解温度、液料比4个因素对豆渣水解率和纤维素粒度的影响，通过正交试验确定制备豆渣纳米纤维素的最佳工艺条件。结果表明：最佳工艺条件为HCl溶液浓度3mol/L、水解温度100℃、水解时间120min、液料比45:1(mL/g)、均质压力30MPa；通过激光粒度分析和扫描电镜分析，纳米豆渣纤维素呈微球状，粒度为50～100nm。盐酸水解辅以高压均质工艺处理能有效制得纳米大豆纤维素。

关键词：豆渣纤维素；盐酸；水解；高压均质；纳米纤维素

Preparation of Nanocrystalline Cellulose from Soybean Dregs by Acid Hydrolysis Followed by High-Pressure Homogenization

LIU Ling-ling，TIAN Yun-bo，TANG Chu-chu，ZHONG Cheng，LIU Xiong*
(Experiment and Teaching Center of Food Science and Engineering, College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Nanocrystalline cellulose was prepared from soybean dregs, rich in cellulose, using acid hydrolysis followed by high-pressure homogenization. The effects of HCl concentration, hydrolysis time, temperature and liquid-to-solid ratio on degree of hydrolysis of soybean dregs were studied using one-factor-at-a-time combined with orthogonal array design method. The optimal preparation process involved hydrolysis with 3 mol/L HCl at 100 ℃ and a liquid-to-solid ratio of 45:1 for 120 min and subsequent homogenization at 30 MPa. The results of laser particle size analysis and scanning electron microscopic (SEM) observation showed that the obtained nanocrystalline cellulose was microspheres with a particle size range of 50－100 nm. In conclusion, HCl hydrolysis followed by high-pressure homogenization allows the preparation of soybean-derived nanocrystalline cellulose

Key words: soybean dregs-derived cellulose; hydrochloric acid; hydrolysis; high pressure homogenization; nano-crystalline cellulose

中图分类号：TS214.2 文献标识码：A 文章编号：1002-6630(2011)22-0006-05

纤维素是天然高分子化合物，其化学结构是由很多*D*-吡喃葡萄糖酐彼此以$\beta(1\rightarrow4)$糖苷键连结而成的线性巨分子。天然纤维素经过超微粉碎[1]、酸碱处理[2-3]、酶水解[4]等处理可得到微晶纤维素、纳米纤维等一系列微细化纤维。与粉体纤维素以及微晶纤维素相比，纳米纤维素有许多优良性能，如高纯度、高聚合度、高结晶度、高亲水性、高杨氏模量、高强度、超精细结构和高透明性等[5-8]。因此，纳米纤维素可以用于食品添加剂(成型剂、增稠剂、分散剂、抗溶化剂)、药物赋形剂[9]，也可以用于制备防伪标签和高级变色油墨[10]；也可以与其他材料复合制备可降解的纳米材料[10]；纳米纤维素具有乳化和增稠作用，能耐高温和低温，且外观酷似奶油，可以代替奶油以降低奶制品的热量，作为理想的减肥食物[11]；食用级的纳米微纤维素可广泛用于固体饮料、液体饮料、面食糕点和冷冻食品的生产中和作为牛奶、饮料等的添加剂[12]。

从制备来源来说，纳米纤维素可以分为植物纤维素、动物纤维素以及细菌纤维素。植物纤维素在自然界中资源丰富、价格低廉，因此，是制备纳米纤维素的重要来源。国内外学者先后研究了以棉纤维[13]、竹

收稿日期：2011-01-23
基金项目：国家大学生创新性实验项目(091063524)
作者简介：刘玲玲(1989—)，女，本科生，研究方向为食品加工技术。E-mail：543939956@qq.com
*通信作者：刘雄(1970—)，男，教授，博士，研究方向为碳水化合物资源开发与利用。E-mail：liuxiong848@hotmail.com

纤维[14]、桑枝纤维[15]、香蕉茎纤维[16-17]、剑麻纤维[18]等长纤维为原料制备纳米纤维素，取得较好效果。但是，用豆渣、薯渣等食品纤维制备纳米纤维的研究报道鲜有报道，而以短纤维素为主体的食物纤维素的结构和性质与长纤维素有较大的差别，因此，在制备工艺条件和纳米纤维素性质方面可能存在差异。

我国是大豆食用大国，豆制品产量呈现迅速增长的趋势，2009 年，全国豆制品正规生产企业约在1500 家以上，按每加工一吨大豆产生 2 吨湿豆渣计算，目前国内大豆食品行业每年约生产 2000 万吨湿豆渣[19]。但我国对豆渣利用率仅为 4.96%～16.60%，其余绝大部分用做饲料，豆渣利用率低，附加值低，造成豆渣资源的极大浪费。豆渣中纤维素含量高达 60% 以上。因此，对豆渣纤维深度开发和加工利用，对推动我国大豆产业的发展具有重要意义。本研究以豆渣纤维素为原料，采用酸水解与高压均质相结合的方法，通过考察 HCl 溶液浓度、反应温度、水解时间和料液比对纤维素水解率的影响，进而得到制备豆渣纳米纤维素的最优反应条件。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

豆渣 重庆奇爽食品有限公司。

盐酸、氢氧化钠、无水乙醚、无水乙醇均为分析纯。

YSC-701 超微粉碎机 北京燕山正德机械设备有限公司；GYB60-6S 高压均质机 上海东华高压均质机厂；RE-52 旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂；Master Sizer 2000 激光粒度分析仪 英国马尔文仪器有限公司；S-4800 扫描电子显微镜 日本日立公司；TDZ5-WS 多管架自动平衡离心机 湖南湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 纳米纤维素制备

将豆渣用清水多次洗涤直至洗涤水澄清透明为止，将水洗后的豆渣于 60℃烘箱烘干，用普通粉碎机将豆渣粉碎，再用无水乙醚将豆渣脱脂，于 60℃烘干后，测得其水分含量为 3.33%，再将此时的豆渣进行超微粉碎，经检测，粉碎后的豆渣原料平均粒度为 45.045μm。

称取 1g 超微粉碎后的豆渣倒入具塞磨口 250mL 锥形瓶中，分别加入一定浓度和液料比的盐酸，将锥形瓶放入恒温水浴锅中在设定温度条件下水解，达到设定水解时间后，调节水解液 pH7.0，4000r/min 离心 15min，倒出上清液后残渣再用蒸馏水洗涤、30MPa 均质，离心一次，洗后残渣用定量的蒸馏水洗入培养皿中，于 60℃烘箱烘至质量恒定，称量，计算水解率。选取不同水解度的豆渣纤维残渣进行激光粒度分析和扫描电镜检测，验证水解率与纤维粒度相关性。

$$水解率/\% = \frac{m_0 \times (1-W) - m_1}{m_0 \times (1-W)} \times 100$$

式中：m_0 为原料质量/g；m_1 为残渣质量/g；W 为原料水分含量/%。

为了确定制备工艺条件，分别就 HCl 溶液浓度(0.5、1.5、2.5、3.5mol/L)、水解温度(30、50、70、90℃)、水解时间(40、70、100、130min)、液料比(20:1、30:1、40:1、50:1，mL/g)对水解率的影响进行单因素试验，在单因素试验基础上采用 $L_9(4^5)$正交表(表1)开展 4 因素 4 水平正交试验，并对最佳条件下水解的纤维素残渣进行高压均质处理，均质压力 30MPa。

表 1 制备工艺条件确定正交试验因素与水平表

Table 1 Coded values and corresponding actual values of optimization parameters involved in orthogonal array design

水平	A HCl 溶液浓度/(mol/L)	B 水解时间/min	C 水解温度/℃	D 液料比(mL/g)
1	2.0	80	70	35
2	2.5	100	80	40
3	3.0	120	90	45
4	3.5	140	100	50

1.2.2 豆渣化学成分分析

蛋白质：参照 GB/T 5009.5—85《食品中蛋白质的测定方法》；淀粉含量：费林试剂热滴定定糖法[20]；纤维素含量：参照 GB 12394—90《食物中不溶性膳食纤维的测定方法》；灰分：参照 GB 5009.4—2010《食品中灰分的测定》。

1.2.3 纤维素外观检测

选取超微粉碎豆渣、中等水解度、最高水解度豆渣纤维为原料，进行激光粒度分析和扫描电镜检测。

物料粒度分析：采用激光粒度分析仪测定，将待测样品置于粒度仪容器内，使用蒸馏水作为分散剂，用超声波对粉体进行分散，测定其粒径及其粒径分布。

扫描电镜检测：采用扫描电子显微镜对试样的表面形貌及尺寸进行表征，由于纤维素样品在干燥脱水时颗粒间容易缠绕粘结，不能正确反映纤维素粒度，因此，本研究采用均匀分散的纤维素浆液加入检测盒中，然后吹干固定样品，再对样品表面进行喷金处理使其导电，最后进行电镜观察。

2 结果与分析

2.1 豆渣的干基成分分析

通过对酸解处理前后脱脂豆渣纤维样品化学成分分析检测，结果(表 2)发现，通过酸水解处理，样品中蛋白质含量由 25.4% 降到 3.1%，纤维素含量由 64.5% 提高

到88.3%。由此可知，酸解处理可提高制品中纤维素含量。

表2 脱脂豆渣主要营养成分

Table 2 Major nutritional composition in defatted soybean dregs

豆渣样品	含量/%(以干基计)			
	蛋白质	淀粉	灰分	纤维素
酸解前豆渣	25.4	4.3	5.6	64.5
酸解后豆渣	3.1	4.0	4.6	88.3

2.2 豆渣酸水解工艺条件的确定

2.2.1 HCl溶液浓度对豆渣水解率的影响

在水解温度50℃、液料比20:1时，将豆渣在HCl溶液浓度分别为0.5、1.5、2.5、3.5mol/L条件下水解70min，测定豆渣的水解率。

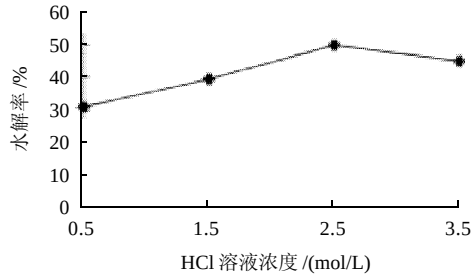


图1 HCl溶液浓度对水解率的影响

Fig.1 Effect of HCl concentration on degree of hydrolysis

由图1可知，豆渣水解率随HCl溶液浓度的升高呈先上升、后下降的趋势，在2.5mol/L附近水解率达到最大值。随着HCl溶液浓度的升高，豆渣水解程度增加，但是豆渣中的蛋白质随着HCl溶液浓度的升高会变性，其变性作用常导致蛋白质的聚集作用，同时随着温度的升高炭化程度增加，都会使豆渣水解率又下降。考虑到HCl溶液浓度与水解温度可能会相互促进蛋白变性，因此，在后续单因素研究中仍采用1.5mol/L的浓度水平。

2.2.2 水解时间对豆渣水解率的影响

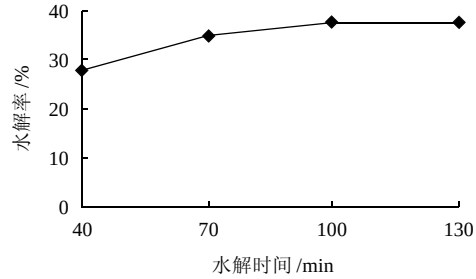


图2 水解时间对水解率的影响

Fig.2 Effect of reaction time on degree of hydrolysis

在水解温度50℃、液料比20:1、HCl溶液浓度为1.5mol/L时，将豆渣分别水解40、70、100、130min，测定豆渣的水解率。

从图2可以看出，豆渣水解率随水解时间的延长呈上升的趋势但当水解时间在100～130min时，水解率增幅变缓，说明豆渣纤维素水解接近极限。因此，选定100～130min作为正交试验的因素水平。

2.2.3 水解温度对豆渣水解率的影响

在液料比为20:1、HCl溶液浓度为1.5mol/L时，将豆渣分别在30、50、70、90℃条件下水解100min，测定豆渣的水解率。

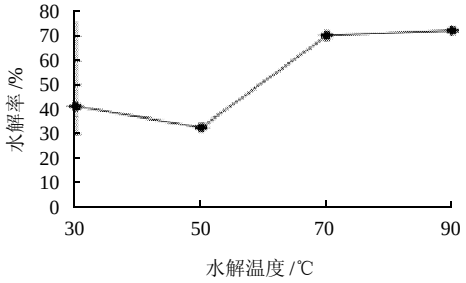


图3 水解温度对水解率的影响

Fig.3 Effect of temperature on degree of hydrolysis

由图3可以看出，豆渣水解率随水解温度的升高呈先下降后又上升的趋势。50℃条件下纤维素水解率低于30℃条件下的水解率，可能是由于温度逐渐升高，纤维素表面结合蛋白变性形成蛋白膜，阻碍盐酸对纤维素水解。随着温度进一步升高，盐酸渗透增加，作用强度增强,因而纤维素水解度提高。但温度超过70℃后，豆渣水解率增幅减缓。考虑到温度过高，豆渣中的蛋白质会变性,同时炭化程度也会增加。因此，选定70～100℃作为正交试验的因素水平。

2.2.4 液料比对豆渣水解率的影响

在HCl溶液浓度为1.5mol/L、70℃时，将豆渣分别在液料比为20:1、30:1、40:1、50:1(mL/g)条件下水解100min，测定豆渣的水解率。

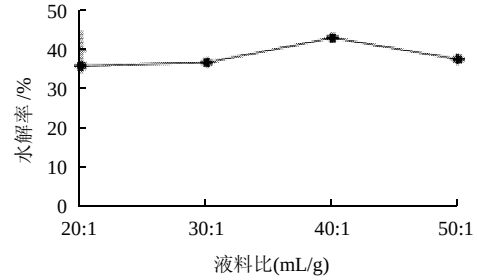


图4 液料比对水解率的影响

Fig.4 Effect of liquid-to-solid ratio on degree of hydrolysis

由图4可以看出，豆渣水解率随HCl溶液添加量与原料比值的增加呈显著上升，在40:1(mL/g)左右水解率达到最大值。当HCl溶液添加量与原料比值在50:1(mL/g)时，水解残渣出现部分炭化而沉淀，使豆渣水解率出现下降。

2.3 正交试验

在单因素试验基础上采用$L_9(4^5)$正交表进行4因素4水平正交试验，结果见表3。

表3 制备工艺条件确定正交试验设计及结果

Table 3 Orthogonal array design and corresponding experimental results

试验号	*A* HCl溶液浓度/(mol/L)	*B* 水解时间/min	*C* 水解温度/℃	*D* 液料比(mL/g)	*E* 空列	水解率/%
1	1	2	3	3	2	60.10
2	2	4	1	2	2	63.95
3	3	4	3	4	3	72.40
4	4	2	1	1	3	42.98
5	1	3	1	4	4	67.16
6	2	1	3	1	4	65.66
7	3	1	1	3	1	59.35
8	4	3	3	2	1	71.44
9	1	1	4	2	3	68.87
10	2	3	2	3	3	68.44
11	3	3	4	1	2	81.17
12	4	1	2	4	2	63.84
13	1	4	2	1	1	67.91
14	2	2	4	4	1	74.43
15	3	2	2	2	4	59.67
16	4	4	4	3	4	81.92
K_1	2.6404	2.5772	2.3344	2.5772	2.7313	
K_2	2.7248	2.3718	2.5986	2.6393	2.6906	
K_3	2.7259	2.8821	2.6960	2.7783	2.5269	
K_4	2.6018	2.8618	3.0639	2.6981	2.7441	
k_1	0.6601	0.6443	0.5836	0.6443	0.7000	
k_2	0.6812	0.5930	0.6497	0.6598	0.6727	
k_3	0.6815	0.7205	0.6740	0.6946	0.6317	
k_4	0.6505	0.7155	0.7660	0.6745	0.6860	
R	0.0310	0.1276	0.1824	0.0503	0.0683	

由表3可知，$R_C > R_B > R_D > R_A$，即影响豆渣纤维水解率的各因素的排列顺序为：水解温度＞水解时间＞液料比＞HCl溶液浓度。豆渣酸水解的最佳水解工艺条件为$A_3B_3C_4D_3$，即水解温度100℃、水解时间120min、液料比45:1(mL/g)、HCl溶液浓度3mol/L。通过验证实验可知，在此条件下，豆渣水解率为83.31%，高于正交试验中各组水解率。

2.4 粒度分析

使用激光粒度分析仪对超微粉碎原料、酸解中等水解率(50%)残渣、酸解最佳条件(水解率83%)残渣样进行粒度分析，表4和图5显示，超微粉碎原料50%的粒径小于41.205μm，酸解中等水解率残渣50%的粒径小于34.483μm，酸解最佳条件残渣50%的粒径小于12.668μm。由结果可知，随着酸水解率增加，豆渣纤维素粒径相应减小，采用水解率指标反映酸水解细化纤维素是可行的。

表4 不同水解度豆渣粒径分布表

Table 4 Particle size distribution of superfine powder of soybean dregs and hydrolysates thereof resulting from different degrees of hydrolysis

豆渣样品	粒径/μm		
	$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$
超微粉碎豆渣	6.802	41.205	148.632
水解率50%豆渣	5.727	34.483	102.375
水解率83%豆渣	3.474	12.668	37.447

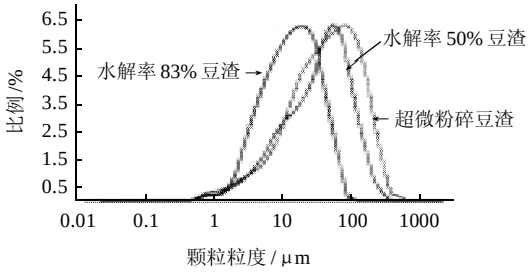


图5 不同水解度豆渣纤维粒度分布图

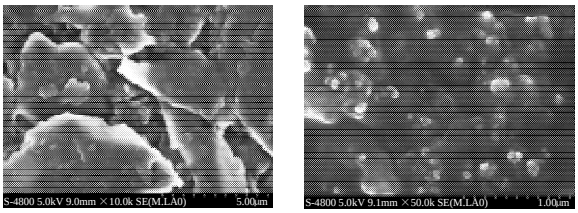
Fig.5 Particle size distribution curves of superfine powder of soybean dregs and hydrolysates thereof resulting from different degrees of hydrolysis

但本研究采用的激光粒度分析发现处理的纤维素粒度均较大，与相关文献研究结果相差太大[3,13]。分析可能的原因为：本研究对粒度检测采用蒸馏水作为分散剂，而纤维素具有极强的持水力、膨胀力，尤其对微细粒度的纤维素吸水膨胀性更强[6]，导致酸解处理后的残渣在粒度分析仪的检测下粒径增大很多，所以为了能准确地反应酸解处理对豆渣膳食纤维粒径的影响，本研究又通过扫描电子显微镜对处理的纤维素样品进行观察，结果见图6。

通过扫描电镜结果可知，相对于酸水解原料(图6a)，酸解之后豆渣纤维的粒径变小，酸解水解率越高，粒径越细。在水解率83%的纤维素残渣中，有许多细小颗粒粘结呈串珠状或黏稠物状(图6c)，由于水解得到的纤维素晶核粒度很细，具有很强的吸水膨胀性和相互黏结性，在纤维素浆体脱水过程中发生黏结[21-22]。

为提高制备的纤维素晶体的分散性，采用30MPa的高压均质处理酸水解率83%的豆渣纤维素残渣，然后采用无水乙醇脱水2次。乙醇脱水的纤维素分散在扫描电镜样品盒中，吹干乙醇后检测，结果见图6d。酸解均

质后所制得的纳米纤维素晶体为球状且粒径在50～100nm之间。由电镜结果可知，所制备的纳米纤维素晶体容易聚集在一起，而均质处理后能使其相对较稳定地均匀分布。



a.超微粉碎豆渣(× 10000) b.水解率 50% 豆渣(× 50000)

c.水解率 83% 豆渣(× 100000) d.水解率 83%、30MPa 均质豆渣(× 100000)

图 6 不同处理豆渣的纤维素扫描电镜图

Fig.6 SEM images of superfine powder of soybean dregs and hydrolysates thereof resulting from different degrees of hydrolysis

3 结 论

酸水解辅助高压均质可制得纳米豆渣纤维素，本实验通过正交试验确定了制备豆渣纳米纤维素的最佳工艺条件为 HCl 溶液浓度 3mol/L、水解温度 100℃、水解时间 120min、液料比 45:1(mL/g)、均质压力 30MPa。

酸水解辅助高压均质制得纳米豆渣纤维素呈微球状，粒度为 50～100nm。纳米纤维素粒子特殊的表面性质使得豆渣纳米纤维素晶体团聚现象严重，如何获得分散度高的粉体豆渣纳米纤维素粒子，值得在以后进行深入研究。

参考文献：

[1] 黄晟, 朱科学, 钱海峰, 等. 超微及冷冻粉碎对麦麸膳食纤维理化性质的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(15): 40-44.

[2] 李小芳, 丁恩勇, 黎国康. 一种棒状纳米微晶纤维素的物性研究[J]. 纤维素科学与技术, 2001, 9(2): 29-36.

[3] 丁恩勇, 李小芳, 黎国康. 一种具有纤维素Ⅱ晶型的纳米微晶纤维素及制法: 中国, 011075236[P]. 2002-09-18.

[4] HAYASHI N, KONDO T, ISHIHARA M. Enzymatically produced nano-ordered short elements containing cellulose Ⅰβ cryatalline domains[J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 61(1): 25-32.

[5] FAVIER V, DENDIEVEL R, CANOVA G, et al. Simulation and modeling of three-dimensional percolating structures: Case of a latex matrix reinforced by a network of cellulose fibers[J]. Acta Materialia, 1997, 45 (4): 1557-1565.

[6] PANT H S, ZERESHKIAN A, SAIN M. Preparation and characterization of wheat straw fibers for reinforcing application in injection molded thermoplastic composites[J]. Bioresource Technology, 2006, 97(2): 265-272.

[7] CRANSTON E D, GRAY D G. Formation of cellulose-based electrostatic layer-by-layer films in a magnetic field[J]. Science and Technology of Advanced Materials, 2006, 7(4): 319-321.

[8] 甄文娟, 单志华. 纳米纤维素在绿色复合材料中的应用研究[J]. 现代化工, 2008, 28(6): 85-88.

[9] 叶代勇. 纳米纤维素的制备[J]. 化学进展, 2007, 17(10): 1568-1575.

[10] 刘玲玲, 钟丽, 刘雄. 纤维微细化技术研究进展[J]. 包装与食品机械, 2010, 28(5): 39-43.

[11] 蒋玲玲, 陈小泉. 纳米纤维素晶体的研究现状[J]. 纤维素科学与技术, 2008, 16(2): 73-78.

[12] 宋杰, 侯永发. 微晶纤维素的性质与应用[J]. 纤维素科学与技术, 1995, 3(3): 1-10.

[13] 蒋玲玲, 陈小泉. 纤维素酶解天然棉纤维制备纳米纤维素晶体及其表征[J]. 化学工程与装备, 2008, 9(10): 1-9.

[14] ZHANG Junhua, SONG Hainong, LIN Lu, et al. Microfibrillated cellulose from bamboo pulp and its properties[J]. Biomass and Bioenergy, 2010, 34(6): 1-6.

[15] 刘琳, 费建明, 占鹏飞, 等. 用桑枝皮提取果胶及制备的纳米纤维素晶须在丝素复合膜中的应用[J]. 蚕业科学, 2010, 36(1): 20-24.

[16] ELANTHIKKAL S. Cellulose microfibres produced from banana plant wastes: Isolation and characterization[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 66(7): 852-859.

[17] DEEPA B. Structure, morphology and thermal characteristics of banana nanofibers obtained by steam explosion[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(9): 1988-1997.

[18] 桂红星. 纳米纤维素微晶制备新方法及其应用研究[D]. 广州: 中山大学, 2006.

[19] 张振山, 叶素萍, 李泉, 等. 豆渣的处理与加工利用[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 400-405.

[20] 王叔淳. 食品卫生检验技术手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.

[21] 张万忠, 乔学亮, 陈建国, 等. 纳米材料的表面修饰与应用[J]. 化工进展, 2004, 23(10): 1067-1071.

[22] ELAZZOUZI-HARAOUI S, NISHIYAMA Y, PUTAUX J L, et al. The shape and size distribution of crystalline nano-particles prepared by acid hydrolysis of native cellulose[J]. Biomacromolecules, 2008, 9(1): 57-65.