酿酒葡萄渣微晶纤维素制备工艺优化及表征

李睿娇¹, 邱继尧², 王伟^{1*}, 张磊^{2*}

(1.新疆农业大学食品科学与药学学院,新疆乌鲁木齐 830052)(2.新疆农业大学林学与风景园林学院,新疆乌鲁木齐 830052)

摘要:为开发利用酿酒葡萄渣(Grape Pomace, GP)资源,创造经济价值,提升生态效益,该文以 GP 为原料, 通过酸、碱、漂白处理纯化纤维素,基于单因素和 Box-Behnken 响应面试验,建立并优化葡萄渣微晶纤维素(Grape Pomace Microcrystalline Cellulose, GPMCC)制备工艺并对其进行表征。结果表明:制备 GPMCC 的最佳工艺为酸 解时间 74 min、酸解温度 64 ℃、盐酸浓度 3 mol/L、料液比 1:20 (g/mL),此优化工艺下得率为 81.52%,结晶度为 75.07%,粒径分析表明,与 GP 相比,颗粒尺寸最高减小了 50.19%,并且分布均匀;停立叶变换红外光谱分析表明, 纯化和酸解过程,有效去除了杂质;X 射线衍射表明,通过逐步处理,GPMCC 晶型结构仍为纤维素 1型,结晶度为 75.07%;热重分析结果表明,GPMCC 的热降解温度为 235 ℃,明显高于 GP,具有较好的热稳定性;GPMCC 与市 售微晶纤维素具有相似的结构性质。该研究成功的从 GP 中制备出 GPMCC,为 GP 的增值利用提供了重要理论依据。

关键词: 葡萄渣; 微晶纤维素; 响应面法; 制备; 结构表征 文章编号: 1673-9078(2025)03-290-299

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.3.0215

Preparation Process Optimization and Characterization of Microcrystalline

Cellulose from Grape Pomace

LI Ruijiao¹, QIU Jiyao², WANG Wei^{1*}, ZHANG Lei^{2*}

(1.College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China) (2.College of Forestry and Landscape Architecture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: Microcrystalline cellulose was prepared from grape pomace (GP), aiming to develop and utilize GP resources, create economic value, and improve ecological benefits. The prepared grape pomace microcrystalline cellulose (GPMCC) was purified by acid, alkaline, and bleach treatments. The GPMCC preparation process was established based on single-factor experimental design and Box-Behnken response surface design, and the prepared GPMCC was characterized. The results indicate that the optimal preparation process for GPMCC involves acid hydrolysis at 64 °C for 74 min using a 3 mol/L hydrochloric acid solution and a solid-liquid ratio of 1:20 g/mL. The yield and crystallinity of GPMCC for this process were 81.52% and 75.07%, respectively. Particle size analysis revealed that the particle size of GPMCC was 50.19% smaller than that of GP, with a uniform distribution. Fourier-transform infrared spectroscopy confirmed the effective removal of impurities

引文格式:

李睿娇,邱继尧,王伟,等.酿酒葡萄渣微晶纤维素制备工艺优化及表征[J].现代食品科技,2025,41(3):290-299.

LI Ruijiao, QIU Jiyao, WANG Wei, et al. Preparation process optimization and characterization of microcrystalline cellulose from grape pomace [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(3): 290-299.

收稿日期: 2024-02-24

基金项目:新疆乡村振兴产业发展科技行动项目(2022NC030)

作者简介:李睿娇(1997-),女,硕士研究生,研究方向:农产品加工废弃物资源化利用, E-mail: 985701379@qq.com

通讯作者:王伟(1978-),男,博士,副教授,研究方向:农产品贮藏加工及营养学评价,E-mail:ww2shz@163.com;共同通讯作者:张磊(1983-),男,博士,副研究员,研究方向:天然产物精准营养与废弃物资源利用,E-mail:zlei_xj@sina.com

Modern Food Science and Technology

2025, Vol.41, No.3

through purification and acid hydrolysis. X-ray diffraction revealed that GPMCC retained the cellulose type I crystal structure, with a crystallinity of 75.07%. Thermogravimetric analysis showed that GPMCC is more thermally stable than GP, as evidenced by its considerably higher thermal degradation temperature (235 $^{\circ}$ C). Additionally, GPMCC exhibits similar structural properties to commercial microcrystalline cellulose. The successful preparation of GPMCC from GP provides an important theoretical basis for the value-added utilization of GP.

Key words: grape pomace; microcrystalline cellulose; response surface methodology; preparation; structural characterization

葡萄酒因其口感醇厚,营养价值丰富,深受人 们的喜爱,但规模化的葡萄酒加工会产生大量的葡 萄渣副产物,即酿酒葡萄渣(Grape Pomace, GP)。 GP 主要由果皮、果梗、种子组成,其含有丰富的 营养物质如纤维素、脂肪、蛋白质、多酚等^[1]。目 前大多数 GP 都被用作堆肥、焚烧、动物饲料等, 这不但未将其营养价值有效利用,反而对环境造成 污染^[2]。因此,有必要开发环保的增值方法,实现 GP 资源全利用,使其变废为宝,从而创造更多的 经济利益和社会效益。

微晶纤维素 (Microcrystalline Cellulose, MCC) 是从纯化和部分解聚的纤维素中获得的天然物 质^[3]。它通常由无机酸水解α纤维素来制备。它的 无毒、可再生性、生物相容性、可生物降解性、高 机械性能、高表面积和高经济价值等特性使其广 应用于各个行业领域[4],例如,在制药和化妆品行 业,MCC 被用作吸附剂、粘合剂和增塑剂。在食 品和饮料行业,它们还可用作添加剂、乳化剂、稳 定剂、增稠剂、胶凝剂、脂肪替代品、悬浮剂和 抗结剂。在复合材料生产领域,它们还能用作增 强剂。目前为止, MCC 已经从各种纤维素来源制 备,如茶渣^[5]、椰子皮^[6]、石榴皮^[7]、柚皮^[8]等。然 而 GP 作为一种丰富的天然纤维素资源,目前鲜见 关于从中分离出纤维素并用于制备 MCC 的报道。 虽然,秦婷等97利用酸碱法分离出了山葡萄皮纤维 素,邵信儒等^[10]利用乙醇-硝酸法从山葡萄梗中制 备出了 MCC, 但都未能实现葡萄渣副产物的全利 用,并且不同的原料制备工艺也不同。因此,本研 究将 GP 通过酸、碱、漂白处理纯化得到葡萄渣纤 维素 (Grape Pomace Cellulose, GPC), 并对 MCC 的制备工艺及表征做了系统研究,从而获得高产、 高纤维素含量的葡萄渣微晶纤维素(Grape Pomace Microcrystalline Cellulose, GPMCC)。最后以市售微 晶纤维素 (Commercially Available Microcrystalline Cellulose, CMCC)作为标准样品,通过粒径分析仪、

X 射线衍射仪、傅立叶变换红外光谱、热分析仪等 检测方法评估和表征所得到的 GPMCC,为 GP 资 源的高效利用提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

酿酒葡萄渣,新疆天默酒业有限责任公司提供; 盐酸(质量分数37%)、硫酸(质量分数98%),华 成达化工有限公司;氢氧化钠(质量分数96%),上 海麦克林生化科技股份有限公司;过氧化氢(质量 分数30%),河南慧泽生物工程有限公司;乙醇(质 量分数96%),安徽安特食品股份有限公司。

HA220-40-20-C 超临界二氧化碳萃取装置,海 安县石油科研仪器有限公司; FA2204N 精密电子天 平(万分之一),常州市幸运电子设备有限公司; PB-30 酸度计,北京赛多利斯科学仪器有限公司; KN620 自动凯氏定氮仪,济南阿瓦尔仪器有限公司; SHJ-6 数显恒温磁力搅拌水浴锅,杭州研和实验仪 器有限公司;DHG-9140A 电热鼓风干燥箱,常州迈 科诺仪器有限公司;FS-800A 多功能粉碎机,永康 市红太阳机电有限公司;Mastersizer 2000 激光粒度 仪,英国马尔文仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 葡萄渣的制备

选用酿酒后的赤霞珠葡萄渣为原料,经过除杂 干燥、粉碎、过筛 40 目后放至干燥器中储存。

1.2.2 葡萄渣纤维素的制备

参考相关文献^[11-13]并做修改,葡萄渣粉通过以 下四个连续步骤纯化:

(1)取2kg样品装于萃取釜中,加入300mL
 乙醇于夹带剂泵中,设置压力39MPa,温度41℃,CO2流量3L/min,萃取2.5h,脱除脂、蜡、酚类、

色素;(2)用质量分数 2% H₂SO₄ 溶液[料液比 1:20(g/mL)]在 90℃处理 5 h,水解多糖;(3)用 质量分数 5% NaOH 溶液[料液比 1:20(g/mL)]在 90℃处理 5 h,溶解剩余的半纤维素、木质素、多 酚及其他多糖;(4)用质量分数 7.5% H₂O₂ 溶液漂 白[料液比 1:50(g/mL)],质量分数 5% NaOH 调 整 pH 值为 11.5,在 80℃下连续处理两个阶段 16 h。 在所有步骤之间,滤渣用蒸馏水洗至 pH 值为 6~7, 再将其置于 55℃干燥箱中烘干,最后粉碎并过 100 目筛,得到 GPC。

1.2.3 基本成分检测

(1)水分含量的检测:依据 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》直接干燥法进行检测;

(2) 灰分含量的检测:依据 GB 5009.4-2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》食品中总灰分的测定;

(3) 脂肪含量的检测:依据 GB 5009.6-2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》索氏抽提法进行检测;

(4)蛋白质含量的检测:依据 GB 5009.5-2016 《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》凯氏定 氮法进行检测;

(5)半纤维素、纤维素、木质素含量的检测: 参考 Holilah 等^[14]通过测定中性洗涤纤维、酸性洗 涤纤维、酸性洗涤木质素计算木质纤维素含量。

1.2.4 葡萄渣微晶纤维素的制备

1.2.4.1 单因素试验设计

按照单因素实验设计酸解 GPC,分别考察酸解时间,酸解温度、盐酸浓度、料液比对 GPMCC 得率、结晶度的影响。具体参数如表1所示。

表 1 单因素试验设计 Table 1 Single factor experimental design

因素						
水平	酸解时间/ min	酸解温度/ ℃	盐酸浓度/ (mol/L)	料液比 (g/mL)		
1	30	40	2.0	1:10		
2	50	55	2.5	1:15		
3	70	70	3.0	1:20		
4	90	85	3.5	1:25		
5	110	100	4.0	1:30		

1.2.4.2 响应面试验设计

根据单因素试验结果和 Box-Behnken 的中心组 合试验设计原理,以酸解时间(A)、酸解温度(B)、 盐酸浓度(C)为自变量,以 GPMCC 得率(Y1)、 结晶度(Y2)为响应值,进行响应面试验设计,各 因素变化值见表 2。

表 2 响应面试验因素水平表 Table 2 Response surface test factor level table

水正	因素							
小十	A 酸解时间/min	B酸解温度/℃	C 盐酸浓度/(m	ol/L)				
-1	50	55	2.5					
0	70	70	3.0					
1	90	85	3.5					
1.2.5	GPMCC得率 GPMCC得率的	计算公式如下	:					
	$Y = \frac{M_1}{M_2} \times 100\%$ $\vec{x}, \psi:$			(1)				
	Y——GPMCC 的彳	导率,%(质量分	数);					
	M ₁ ——GPMCC 的	质量,g;						
ζ.	M2GPC 的质量	Ē, g。						

1.2.6 X射线衍射分析

采用 X 射线衍射(X-ray Diffraction, XRD)对 样品的晶型结构和结晶度(Crystallinity Index, Crl) 进行分析,检测参数: 靶材为铜靶,角度范围 5°~50°, 扫描速度 8 ℃/min,记录衍射图谱。样品的 Crl 根 据 Segal 法计算^[15]:

$$C = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\%$$
式中:
C——结晶度 (Crl), %;
 I_{002} ——(002) 晶面的最大衍射强度;
 I_{002} ——无定形区的最小衍射强度.

1.2.7 粒径分析

采用 Master Sizer 2000 分析样品的粒度分布。分 散剂为去离子水,超声 10 min,测定温度为 25 ℃。 记录 D[4,3]、D[3,2]、d(10)、d(50)、d(90),其中 D[4,3]为体积加权直径,D[3,2]为表面加权直径, d(10)、d(50)和d(90)分别代表小于该粒径的颗粒占 10%、50%和90%。

1.2.8 傅立叶变换红外光谱

采用傅立叶变化红外光谱仪(Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR)对样品的化学官能团进行分析。待测样品与 KBr 粉末以 1:100 比例进行 混合研磨再压片。测试内容参照文献^[16]并略作修改:波长范围 4 000~400 cm⁻¹,扫描次数 32,分辨 率 4 cm⁻¹,记录红外光谱图。

1.2.9 热重分析

采用热重分析仪 (Thermogravimetric Analysis, TGA) 研究样品热降解性能。测试内容参照文 献^[17]并略作修改:温度范围 25~600 ℃,升温速 率 10 ℃/min,氮气流量 40 mL/min,得到的热 重曲线再进行微分即导数热重分析 (Differential Thermogravimetry, DTG)。

1.3 数据统计

以上实验数据均测量 3 次,以平均值 ± 标准偏 差表示。采用 IBM SPSS Statistics 23、Design Expert.V 8.0.6.1 进行数据处理及分析,Origin 2021Pro 软件进 行绘图。

2 结果与分析

2.1 基本成分分析

表 3 试样的基本成分(%) Table 3 General composition of tested smaples

项目	GP	GPC
水分	8.04 ± 0.21	11.47 ± 0.47
灰分	4.80 ± 0.41	5.06 ± 0.51
脂肪	10.28 ± 0.25	0.63 ± 0.09
蛋白质	17.50 ± 0.98	1.10 ± 0.32
半纤维素	8.05 ± 0.81	1.50 ± 0.24
纤维素	21.37 ± 0.21	65.02 ± 0.45
木质素	16.80 ± 0.67	2.00 ± 0.25

注:%表示质量分数。

GP 经过酸、碱、漂白处理得到了 GPC,提取 率为13.25%,这个结果略高于赵彤^[5]报道的茶渣 纤维素的提取率(10%~12%)。测定 GP 及纯化后 GPC 的基本成分,结果如表 3 所示,GP 中纤维素 含量约为21.37% 左右,占基本成分百分比最高, 说明 GP 是一种制备 GPMCC 的良好来源。经过纯 化处理后 GPC 中非纤维素成分,如半纤维素、木质 素、蛋白质和脂肪等均得到有效去除,纤维素含量提升了 67.13%,至于水分含量的增高可能是由于纤维素含量的增大,导致其吸水性变强。总之,纯化后的 GP 更有利于 GPMCC 的制备。

2.2 单因素试验

2.2.1 酸解时间对GPMCC结晶度和得率的影响

如1图所示,当酸解时间长达30min时,得 率最高即为84.89%,随着酸解时间延长至110min 时,GPMCC得率逐渐降低至76.43%。这是因为纤 维素长时间浸没在HCl中导致纤维素过度水解为葡 萄糖,降低了GPMCC的产量^[18]。对于GPMCC结 晶度的变化趋势是先增高后降低,在70min时,结 晶度显著提高到74.74%,这是因为无定形纤维素主 要由易受酸水解影响的无序结构组成,所以酸水解 导致纤维素纤维的最外表面的β-1,4-糖苷键的解离, 然后进一步渗透到纤维结构中,从而有效去除了纤 维素的无定形成分。所以选择酸解时间70min为最 佳反应时间。



图 1 酸解时间对 GPMCC 结晶度和得率的影响 Fig.1 Effect of acid digestion time on crystallinity and yield of GPMCC

注:图中不同字母表示差异显著 (P<0.05)。图 2~4 同。

2.2.2 酸解温度对GPMCC结晶度和得率的影响

如图 2 所示,当温度从 40 ℃升高到 70 ℃时, 得率降幅较小,而温度从 70 ℃到 100 ℃得率迅速 下降,GPMCC 的颜色也受温度影响变为深棕色。 结晶度随着温度上升呈现先上升后下降的趋势,当 反应温度提高到 70 ℃时,GPMCC 的结晶度提升至 71.39%,但超过 70 ℃后结晶度快速下降。这是因 为在高温下,纤维素的水解反应增强,结晶成分也 受到攻击,纤维素越来越多地转化为葡萄糖^[19]。所 以选择酸解温度 70 ℃为最佳反应温度。







如图 3 所示,随着盐酸浓度的增加,GPMCC 得率有降低的趋势,这是由于纤维素进一步水解成更小的片段,使得 GPMCC 得率随着酸浓度的增加而降低。结晶度的酸解过程则为先增大后降低,当盐酸浓度增加到 3 mol/L 时,结晶度指数提高至 70.31% 为最大值,随着盐酸浓度进一步增加到 4 mol/L 时,GPMCC 结晶度显著降低 (P<0.05)。这是因为盐酸低浓度时,主要降解纤维素的无定形区,而随着浓度升高,会进一步酸解结晶碎片,导致 MCC 结晶度的降低^[14]。所以选择酸解浓度 3 mol/L 为最佳反应浓度。



2.2.4 料液比对GPMCC结晶度和得率的影响

如图 4 所示,随着料液比的增大 GPMCC 得率 下降较为平缓,在料液比为 1:10 (g/mL)时得率达 到最大值 82.17%,而结晶度随料液比增大呈现先 增大后减小,在料液比为 1:20 (g/mL)时达到最高 值 72.42%,继续增至 1:30 (g/mL)时结晶度趋于稳 定。这是因为料液比的增加,促进了 GPC 颗粒与盐 酸充分接触,非结晶区达到充分水解的状态,因而 GPMCC 的结晶度增加;而继续增加料液比,GPMCC 结晶区的糖苷键会水解为葡萄糖,使其结晶度和得率 降低。所以选择料液比1:20(g/mL)为最佳反应条件。



Fig.4 Effect of material-liquid ratio on crystallinity and yield of GPMCC

表 4 响应面实验设计及实验结果

Table 4	Resp	onse sur	face ex	perimenta	al design	and resul

			·	0	
编号	A 水解时 间/min	B水解温 度/℃	C 盐酸浓 度/(mol/L)	Y1 得 率/%	Y2 结晶 度/%
1	1	1	0	74.76	69.44
2	0	0	0	81.21	74.39
3	-1	0	-1	82.90	65.36
4	0	0	0	80.59	75.89
5	0	0	0	81.02	75.11
6	-1	1	0	76.77	68.66
7	0	-1	1	82.86	65.90
8	-1	-1	0	84.26	64.79
9	1	0	1	80.69	68.45
10	0	1	-1	78.33	65.33
11	0	0	0	80.57	74.73
12	1	0	-1	82.17	67.68
13	1	-1	0	83.30	69.62
14	0	-1	-1	84.24	66.05
15	0	1	1	74.25	68.96
16	-1	0	1	81.64	67.94
17	0	0	0	80.52	74.86

2.3 响应面优化GPMCC制备工艺结果

2.3.1 响应面模型建立及显著性分析

结合单因素试验的结果,用 Design Expert 软件 将表 4 数据进行回归拟合,得到回归方程如下:

 $Y1=80.78-0.58A-3.82B-1.03C-0.26AB-0.055AC-0.68BC+0.46A^2-1.47B^2+0.61C^2$

 $Y2=75.00+1.05A+0.75B+0.85C-1.01AB- 0.45AC+0.94BC-3.04A^2-3.83B^2-4.60C^2$

得率回归模型的方差分析和显著性结果如表 5 所示,回归模型 P < 0.000 1,表明模型差异极显 著;失拟项 P=0.080 8>0.05,表明失拟项不显著。 R²=0.987 3, R²_{adj}=0.971 0表明模型回归方程对实验 数据拟合良好,拟合方程 Y1 是对 GPMCC 得率进 行分析和预测的合适数学模型,可以用来分析和预 测 GPMCC 的酸解时间 (A)、酸解温度 (B)和盐 酸浓度 (C)的变化对于得率 (Y1)的影响。并且 回归方程中各项方差分析表明,B、C、B² 对得率 的影响均极显著 (P < 0.01)。一次项影响大小顺序 依次为 B>C>A,即对 GPMCC 得率的影响最大 的是酸解温度,其次是酸解时间,最后是盐酸浓度。

表 5	得率回归模	型方差分析	
Table 5 ANC)VA of the yie	eld regression	model

方差源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性	
模型	140.88	9	15.6	60.60	< 0.000 1	**	
A-酸解时间	2.70	1	2.70	10.46	0.014 4	*	
B-酸解温度	116.66	1	116.66	451.66	< 0.000 1	**	
C-盐酸浓度	8.41	1	8.41	32.54	0.000 7	**	
AB	0.28	1	0.28	1.07	0.336 0		
AC	0.01	1	0.01	0.05	0.834 8		
BC	1.82	1	1.82	7.06	0.032 6	*	
A^2	0.89	1	0.89	3.45	0.105 5		
B^2	9.10	1	9.10	35.21	0.000 6	**	
C^2	1.56	1	1.56	6.02	0.043 9	*	
残差	1.81	7	0.26				
失拟项	1.42	3	0.47	4.84	0.080 8		
误差项	0.39	4	0.10				
总和	142.69	16					
$R^2 = 0.9873$, $R^2_{adj} = 0.9710$							

注: ** 表示 P<0.01, 差异极显著; * 表示 P<0.05, 差 异显著。

表 6 为结晶度回归模型的方差分析和显著性 结果。实验结果表明:回归模型 P<0.000 1,表明 模型差异极显著;失拟项 P=0.401 0>0.05,表明 失拟项不显著。R²=0.989 8, R²_{adj}=0.976 7 表明模型 回归方程对实验数据拟合良好,拟合方程 Y2 是对 GPMCC 结晶度进行分析和预测的合适数学模型, 可以用来分析和预测 GPMCC 的酸解时间(A)、酸 解温度(B)和盐酸浓度(C)的变化对于结晶度 (Y2)的影响。并且回归方程中各项方差分析表明, A、B、C、A²、B²、C²均达到极显著水平(P<0.01)。 由F值可知一次项影响大小顺序依次为A>C>B, 即对 GPMCC 结晶度的影响最大的是盐酸浓度,其 次是酸解时间,最后是酸解温度。

表 6 结晶度回归模型方差分析 Table 6 Analysis of variance of crystallinity regression model

Tuble of that	19515 01 1		01 01 35	canney	105105510	ii iiiouci	
方差源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性	
模型	239.11	9	26.57	75.46	<0.000 1	**	
A-酸解时间	8.90	1	8.90	25.29	0.001 5	**	
B-酸解温度	4.55	1	4.55	12.91	0.008 8	**	
C-盐酸浓度	5.83	1	5.83	16.56	0.004 8	**	
AB	4.10	1	4.10	11.65	0.011 2	*	
AC	0.82	1	0.82	2.33	0.171 0		
BC	3.57	1	3.57	10.15	0.015 4	*	
A^2	38.80	1	38.80	110.19	< 0.000 1	**	
B^2	61.86	1	61.86	175.69	<0.000 1	**	
C^2	89.21	1	89.21	253.37	< 0.000 1	**	
残差	2.46	7	0.35				
失拟项	1.20	3	0.40	1.26	0.401 0		
误差项	1.27	4	0.32				
总和	241.58	16					
$R^2=0.989$ 8, $R^2_{adi}=0.976$ 7							

注: ** 表示 P<0.01, 差异极显著; * 表示 P<0.05, 差 异显著。

2.3.2 响应面交互作用分析



Modern Food Science and Technology



on crystallinity

通过 Design Expert 软件绘制的三维响应面图 可反映各响应值对因素变化的敏感程度;二维等高 线图则可反映各个因素对响应值的影响。由图 5 及 图 6 可分析出 GPMCC 酸解条件对得率及结晶度 的影响。在得率的三维模型中,响应面三维图越 陡,说明响应值受因素的改变越敏感。由图 5 可 看出,酸解温度对得率变化最为敏感,这与单因 素结果相一致;结晶度的模型中,响应面图形呈现 先升高后下降的抛物线趋势,等高线的图形可反 应各因素间交互作用、从图 6 中三维图的陡峭程 度及等高线的椭圆度可以看出,各因素之间两两 交互作用对 GPMCC 的结晶度影响的程度大小为: AB>BC>AC,即相互作用影响最大的是酸解时间 与酸解温度,其次是酸解温度与盐酸浓度,最后是 酸解温度与盐酸浓度。

2.3.3 验证实验结果

根据产品性能需求,得率和结晶度的响应值取 最大值,通过软件模拟得出模型预测的最优结果为: 酸解时间 73.56 min,酸解温度 64.43 ℃,盐酸浓度 2.97 mol/L。此时 GPMCC 得率为 81.98%,结晶度 为 74.29%,考虑实际应用操作的方便及可行性,调 整酸解时间、酸解温度、盐酸浓度分别为 74 min、 64 ℃、3 mol/L,并以此条件进行验证实验,得到最 终 GPMCC 的得率 81.52%,结晶度为 75.07%,与 响应面模型的预测值无显著性差异 (P>0.05),说 明该响应面预测模型具有可靠性。

2.4 GPMCC结构表征

2.4.1 粒度分析

GP、GPC、GPMCC 的粒径分布如图 7a 所示, 可以看出从 GP 到 GPMCC 的过程,粒径分布曲线 由双峰变为单峰,并且变窄变高,表明纤维素颗粒 经过纯化和酸水解处理后颗粒大小变均匀,是比较 稳定的一种形态,这使其在实际应用中不容易产生 颗粒聚集、粒径增加吸附能力弱等问题^[20]。如图 7b 所示,GPMCC 的 D[4,3]为 140.95 µm 显著低于 GP 的 D[4,3](207.504 µm),并且 GPMCC 的 d(0.9)也 显著低于 GPC 及 GP 的颗粒尺寸,这表明纯化和酸 水解减小了颗粒尺寸,其中纯化过程对粒径的减小 更为明显,颗粒尺寸最高减小了 50.19%,D[3,2]、 d(0.1)和 d(0.5) 的数据也有着相似的结论。





2.4.2 傅里叶红外光谱 (FT-IR) 分析

通过 FT-IR 光谱测定每个样品中存在的官能团,以表征样品的化学结构。GP、GPC、GPMCC、CMCC 的 FT-IR 光谱图如图 8 所示。在 GP 光谱图

中位于1730 cm⁻¹ 处是由 GP 中存在的半纤维素的酯、 羰基、乙羰基中 C=O 拉伸振动引起的, 该峰也属于 果胶的光谱区域^[21]。在约1510 cm⁻¹ 左右的特征峰值 归因于木质素芳香环中 C=C 延伸、在1265 cm⁻¹ 是由 木质素和半纤维素芳香基的 C-O 键的拉伸诱导^[22]。 而对于 GPC、GPMCC 的红外光谱图表现出上述所 有与木质素,半纤维素相关峰值都消失了,这表明 碱和漂白处理已经成功的将大部分的木质素和半纤 维素都去除^[23]。位于3400、2900、1428、1370、 1 060、894 cm⁻¹ 附近均表现出与纤维素 I 型特性相 关的相似吸收峰。其中3400 cm⁻¹ 处的吸收峰可归 因于吸附水和 O-H 拉伸振动^[24]。2 900 cm⁻¹ 处的吸 收峰则是饱和脂肪碳链 C-H 的伸缩振动, 1370、 1 060 cm⁻¹ 分别被指定为 C-O-H 弯曲和 C-O 基团 的弯曲。最后对比 CMCC 的红外光谱图可以看出, CMCC 的化学结构与 GPMCC 的化学结构基本一致, 说明酸水解过程中纤维素只发生降解反应而无其他 化学反应发生,并且位于1428 cm⁻¹处吸收峰可以 归属于多糖 CH。的对称弯曲振动^[25],称为"结晶度 带",位于894 cm⁻¹ 处的吸收带可以归因于纤维素 中的β-1,4-糖苷键^[26],这两处吸收峰很明显经过工 艺优化后的 GPMCC 具有更高的结晶度及纯度。以上 结果表明,利用 GP 成功地制备出了 MCC.



Fig.8 FT-IR profiles of different samples

此外在1650 cm⁻¹ 吸收峰是由于水分子的O-H 弯曲震动,这说明所得的GPMCC中仍保留一定水 分。在付瑞敏等^[27]研究中,也出现了此吸收峰,这 是由于纤维素分子吸水性非常强,经长时间的干 燥过程,也很难将吸附于其上的水分子全部去除。 GPMCC的这种强吸水特性,有望在食品加工领域 中作为稳定剂、乳浊剂得到应用。

2.4.3 X射线衍射(XRD)分析



XRD 是测定纤维素结晶度及表征晶形的最 常见的技术。图9显示了GP、GPC、GPMCC、 CMCC的 XRD 图谱,如前文所述一致,所有的 纤维素均在 20 为 15.5°、22.5° 和 34.5° 处呈现出 典型的纤维素 [多晶型衍射峰,分别对应于纤维 素(110)、(002)和(040)晶面^[28],这表明纤维 素的结构不会因为酸解而改变。经过纯化和酸水解 处理后,由于木质素和部分无定形区纤维素的去 除,22.5°的衍射峰明显更窄更强,表明结晶度的 增加, 根据 Segal 法计算可得 GP、GPC、GPMCC 的结晶度分别为14.63%、48.32%、75.07%,明显 GPMCC比GP提高了 80.51%, 符合 MCC 的范围 (50%~80%)^[29],这是因为酸解处理去除了大量纤 维素的无定形区域,导致 β-1.4-葡萄糖苷键裂解并 释放出单个微晶^[30]。GPMCC 与 CMCC 的晶形与结 晶度相似,表明所制得的 GPMCC 性能良好。

2.4.4 热重分析

热重测试曲线如图 10 所示。从 TGA 曲线发现 GP、GPC、GPMCC 与 CMCC 的热分解趋势相似, 进一步分析可以发现,其受热后的质量损失主要分 为三个阶段。第一个阶段在 50~180 ℃范围内这主 要是由于样品中水分的蒸发。在 200~400 ℃发生了 第二次分解,这是归因于纤维素的降解过程包括糖 苷键的脱水、分解和解聚。GPMCC 的热降解温度 为 235 ℃,明显高于 GP (219 ℃)、GPC (225 ℃), 这意味着 GPMCC 有效去除了半纤维素和木质素, 从而提高其热稳定性。在 Morán 等^[31]研究中,也显 示出半纤维素和木质素的分解温度低于纤维素。最

后在 400~600 ℃开始第三个阶段的分解,这一阶段的热重损失是由于高温导致纤维素的炭化渣氧化分解^[32]。在 600 ℃时降解结束,发现 GPMCC 和 CMCC 的热解产生的残留率分别为 25%、23%,低于 GP 的残留率 33%。在 DTG 曲线中发现 GP 经过纯化及盐酸水解的过程,其降解速率最快的温度在 逐渐增大,并且热分解的温度区间也在变窄,这也 再次证明了 GPMCC 纯度较高^[8]。综合以上结果表明, GPMCC 的热稳定性良好,具有很好的开发潜力。



2.5 结果与讨论

大量研究表明,由于原料、方法、试剂的选择 等不同因素的影响,制备出的 MCC 差异明显。因此,对于探究 GPMCC 的工艺研究及表征非常重 要。本研究基于单因素和 Box-Behnken 响应面试验, 建立并优化 GPMCC 制备最佳工艺为:酸解时间 74 min、酸解温度 64 ℃、盐酸浓度 3 mol/L、料液 比 1:20 (g/mL)。此优化工艺下得率为 81.52%,结 晶度为 75.07%,这个结果显著高于黄华等^[33]利用茶 渣制备的 MCC 的得率与结晶度,分别为 54.34%、 67.77%,有研究报道,结晶指数的增加也同样代 表着 MCC 纯度的提升^[28]。此外,在单因素试验 中,随着酸解温度、酸解时间、盐酸浓度的升高, GPMCC 的得率呈现下降的趋势,而结晶度呈现 先上升后下降的趋势,这与 Holilah 等^[14]探究胡椒 MCC 制备工艺有着相同的趋势。

在 FT-IR 测试中,GPMCC 在 3 400、2 900、 1 428、1 370、1 060、894 cm⁻¹ 处均表现出与纤维 素 I 型特性相关的相似吸收峰,这与 Kian 等^[34]制 备的橄榄 MCC 具有相似的结果;在 XRD 测试中, GPMCC 的吸收峰主要分布在 2*θ* 为 15.5°、22.5°、 34.5° 处,显示出结晶 I 型的晶体结构,这一结果与 刘爱璐^[8]的研究相一致;在 TGA 测试中,GPMCC 显示的热降解温度为 235 ℃,这一结果略高于郭 誉嵘等^[29]报道的利用酶法制备的 224 ℃紫苏饼粕 MCC,这可能是由于原料以及工艺的不同所造成的。

3 结论

本研究成功的从 GP 中制备出 MCC,综合结晶 度和得率对 GPMCC 影响将最优工艺确定为:酸解时 间 74 min、酸解温度 64 °C、盐酸浓度 3 mol/L、料液 比 1:20 (g/mL),此优化工艺条件下得率为 81.52%、 结晶度为 75.07%。最后通过粒径、FT-IR、XRD、 TGA 方法证实了 GPMCC 与 CMCC 有着相似的特 性,GP 到 GPMCC 制备过程中并未破坏纤维素化 学结构,且有效去除了杂质,颗粒尺寸最高减小了 50.19%,结晶度从 14.63% 提高至 75.07%,具有纤 维素 I 晶型结构,热稳定性也得到显著提升。总之, 本研究为 GP 的合理利用提供了另一种途径,同时 又为 MCC 的制备提供了新的来源,GPMCC 的应 用将在未来进行探索。

参考文献

- CAPONIO G R, MINERVINI F, TAMMA G, et al. Promising application of grape pomace and its agri-food valorization: source of bioactive molecules with beneficial effects [J]. Sustainability, 2023, 15(11): 9075.
- [2] CRESPO L L, MARTÍNEZ R A, SEBASTIÁN E, et al. Pomace from the wine industry as an additive in the production of traditional sustainable lightweight eco-bricks [J]. Applied Clay Science, 2023, 243: 107084.
- [3] 陈嘉川,颜家强,张凯,等.微晶纤维素的制备及其在功能 材料领域中的应用进展[J].中国造纸,2021,40(3):63-70.
- [4] WANG J, ZHANG R, QUAN C, et al. Green preparation of porous corncob microcrystalline cellulose, and its properties and applications [J]. Cellulose, 2022, 29(13): 7125-7138.
- [5] 赵彤.茶渣微晶纤维素Pickering乳液的构建、表征及应

用[D].广州:华南农业大学,2018.

- [6] 方培蓉,蒋达洪,黄敏.椰子中果皮微晶纤维素的制备工 艺[J].食品工业科技,2015,36(9):220-224.
- [7] 谢大明,张茂栖,涂倩,等.石榴皮中纤维素纳米晶体的提取与表征[J].食品与发酵工业,2023,49(18):119-124.
- [8] 刘爱璐.柚皮微晶纤维素的研制及其在乳化肠中的应用[D].武汉:华中农业大学,2017.
- [9] 秦婷,孙海涛,林余波,等.山葡萄皮渣纤维素的制备及表 征[J].农产品加工,2017,18:11-13,16.
- [10] 邵信儒,王金阳,于雅萱,等.山葡萄梗微晶纤维素的性质 及其表征[J].食品工业,2019,40(9):158-162.
- [11] COELHO C C D S, SILVA R B S, CARVALHO C W P, et al. Cellulose nanocrystals from grape pomace and their use for the development of starch-based nanocomposite films [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 159: 1048-1061.
- [12] LU P, HSIEH Y L. Cellulose isolation and core-shell nanostructures of cellulose nanocrystals from chardonnay grape skins [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(4): 2546-2553.
- [13] 侯召华,王振兴,罗婧,等.响应面法优化超临界CO₂萃取山 葡萄籽油的工艺[J].保鲜与加工,2015,15(3):43-48.
- [14] HOLILAH H, PRASETYOKO D, EDIATI R, et al. Hydrothermal assisted isolation of microcrystalline cellulose from pepper (*Piper nigrum* L.) processing waste for making sustainable bio-composite [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 305: 127229.
- [15] SEGAL L, CREELY J J, MARTIN A E, et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer [J]. Textile Research Journal, 1959, 29(10): 786-794.
- [16] XIANG L Y, P-MOHAMMED M A, SAMSU B A. Characterisation of microcrystalline cellulose from oil palm fibres for food applications [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 148: 11-20.
- [17] 沈佳莉.不同原料制备微晶纤维素的工艺优化及其结构 研究[D].兰州:兰州理工大学,2019.
- [18] 王静.药用微晶纤维素粒径调控及其流动性的研究[D]. 陕西:陕西科技大学,2018.
- [19] KUSUMATTAQIIN F, CHONKAEW W. Preparation and characterization of microcrystalline cellulose (MCC) by acid hydrolysis using microwave assisted method from cotton wool [J]. Macromolecular Symposia, 2015, 354(1): 35-41.
- [20] 薛玉清,张妍,李文强,等.不同型号微晶纤维素性能分析 及在可可奶中的应用[J].中国食品添加剂,2022,33(12): 170-177.

- [21] HE C, LI H, HONG J, et al. Characterization and functionality of cellulose from pomelo fruitlets by different extraction methods [J]. Polymers, 2022, 14(3): 518.
- [22] WANG Z, YAO Z, ZHOU J, et al. Reuse of waste cotton cloth for the extraction of cellulose nanocrystals [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157: 945-952.
- [23] KASIRI N, FATHI M. Production of cellulose nanocrystals from pistachio shells and their application for stabilizing Pickering emulsions [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 106: 1023-1031.
- [24] HARINI K, CHANDRA MOHAN C. Isolation and characterization of micro and nanocrystalline cellulose fibers from the walnut shell, corncob and sugarcane bagasse [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 163: 1375-1383.
- [25] KARGARZADEH H, AHMAD I, ABDULLAH I, et al. Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers [J]. Cellulose, 2012, 19(3): 855-866.
- [26] IBRAHIM M M, EL-ZAWAWY W K, JÜTTKE Y, et al. Cellulose and microcrystalline cellulose from rice straw and banana plant waste: preparation and characterization [J]. Cellulose, 2013, 20(5): 2403-2416.
- [27] 付瑞敏,王丁,于烽,等.沙枣籽中微晶纤维素的分离和特征分析[J].食品科技,2021,46(9):260-265.
- [28] HOU W, LING C, SHI S, et al. Preparation and characterization of microcrystalline cellulose from waste cotton fabrics by using phosphotungstic acid [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 363-368.
- [29] 郭誉嵘,李会珍,张志军,等.紫苏饼粕微晶纤维素酶法制 备及表征[J].现代食品科技,2024,40(5):1-10.
- [30] 周凌.基于棉副产物纳米纤维素的制备及其在生物质复合材料中的研究[D].广州:华南理工大学,2017.
- [31] MORÁN J I, ALVAREZ V A, CYRAS V P, et al. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers [J]. Cellulose, 2008, 15(1): 149-159.
- [32] SIRVIÖ J A, VISANKO M, LIIMATAINEN H. Acidic deep eutectic solvents as hydrolytic media for cellulose nanocrystal production [J]. Biomacromolecules, 2016, 17(9): 3025-3032.
- [33] 黄华,黄惠华.茶渣微晶纤维素的制备及表征[J].食品研 究与开发,2018,39(7):59-65.
- [34] KIAN L K, SABA N, JAWAID M, et al. Characterization of microcrystalline cellulose extracted from olive fiber [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 156: 347-353.