

摘 要

大麻纤维具有纤维细度细,穿着无刺痒感、可抑制细菌、吸湿透气性高、无静电、防霉、保健、能屏蔽紫外线等优良性能,同时因为种植无需施肥、喷撒药物等优点,大麻被认为是21世纪的功能性绿色环保材料。大麻纤维的脱胶是目前比较热门的研究问题,传统的沤麻方法不仅浪费有限的淡水资源,还污染环境。因此本课题研究了海水对大麻纤维浸渍效果,探讨了浸渍的机理及有效菌种,得到具有较强果胶分解能力的菌种,有利于拓展生物技术在纺织领域的应用与发展。

本文的主要工作内容和结论如下:

1. 用海水浸渍处理大麻、苧麻和亚麻纤维,比较分析得到大麻纤维的抗海水腐蚀性能要比苧麻纤维和亚麻纤维好;用海水浸渍处理大麻原麻与高温高压脱胶后大麻纤维,确定大麻纤维中抗海水的成分主要为纤维素部分。

2. 比较海水和清水浸渍处理的效果得到,经海水、清水浸渍处理后的大麻纤维表面明显变的光滑白洁,纤维束清晰,大麻纤维中果胶、脂蜡质、水溶物等含量都大大降低,木质素的含量也降低较多,但半纤维素的含量下降不明显。大麻纤维用海水浸渍处理的效果虽然不如用清水浸渍的,但其去除木质素效果较好,从环保、经济和节省淡水资源考虑,可以用海水来代替清水对大麻纤维进行浸渍处理来达到脱胶效果。

3. 用不同浓度的食盐溶液来浸渍处理大麻原麻纤维,对处理后的大麻纤维进行比较分析表明,高盐度会抑制大麻纤维表面胶质的分解,同时大麻纤维上的微生物在浸渍过程中对纤维表面的胶质有影响,而对纤维素无影响。

4. 用灭菌海水或海水浸渍处理大麻纤维或用电离辐射灭菌过的大麻纤维,经实验得到大麻自身带的微生物在海水浸渍过程中起主要作用,同时用0.5mol/L食盐溶液、清水和海水浸渍处理大麻,发现海水中的盐成分会抑制大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍大麻过程中的作用。

5. 大麻纤维用0.5mol/L食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍,对浸渍液中的细菌进行分析,得到具有较强果胶分解能力的细菌分别为1416、2309、3508和4448;经鉴定系统分析:1416为寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),革兰氏阴性、氧化酶阴性、无芽孢杆菌,约为 $0.4\mu\text{m} \times 1.5\mu\text{m}$,以单极毛运动;2309为假单胞菌属(*Pseudomonas spp.*),革兰氏阴性、氧化酶阳性、直杆菌,约为 $0.5\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$,以数根极

毛运动；3508为寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)，革兰氏阴性、氧化酶阴性、无芽孢杆菌，约为 $0.3\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$ ，以单极毛运动；4448为苍白杆菌属的人苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropi*)，革兰氏阴性、氧化酶阳性、短杆菌，约为 $0.6\mu\text{m} \times 0.9\mu\text{m}$ ，以周生鞭毛运动。寡养单胞菌属、假单胞菌属和苍白杆菌属的细菌具有较强的分解果胶能力，适合用于今后大麻微生物脱胶的研究。

6. 用 0.5mol/L 的盐水和海水浸渍处理大麻纤维，浸渍液中具有较强果胶分解能力的细菌 1416 和 3508 都为嗜麦芽寡养单胞菌，该菌为嗜盐菌。而且嗜麦芽寡养单胞菌是能引起感染的条件致病菌，用灭菌海水处理大麻纤维的浸渍液中具有较强果胶分解能力的细菌 4448 为人苍白杆菌，它也是一种条件致病菌，但用清水处理大麻纤维的浸渍液中具有较强果胶分解能力的细菌 2309（假单胞菌属）却没有致病性。因此，我们可以得到海水中的盐成分在一定程度上会影响大麻纤维的抗菌性能。

总之，本工作有助于了解海水对大麻纤维浸渍处理的效果，确定一些对大麻纤维上具有较强果胶分解能力的细菌及它们的特性，为今后大麻的微生物脱胶工艺研究打基础。

关键词：大麻纤维；海水；浸渍；盐分；果胶酶；果胶分解菌

Study on the Effect of seawater Retting of Hemp Fiber and Effective Microbes of Pectin Discomposing

Abstract

The hemp is considered as the environmental protection material for its functionality in the 21st century. The hemp fiber is provided with many advantages, such as tenuous fiber, nice feeling of wearing, anti-bacterium, good permeability, no static, sanitarian, anti-ultraviolet and so on. Most of all, hemp can grow without fertilizer and agricultural chemicals.

At present studies, the hemp degumming is the most popular question, the tradition retting method wastes the limited fresh water resources as well as pollutes the environment. Therefore this task studied the effect of seawater retting of hemp fiber, discussed the mechanism and the effective microbes in retting, and isolated the microbes with strong pectin retting capability. It would spread the application and development of biological technology in the textile domain.

The main work and results as follows:

1. The comparison of the effect of the sea water retting treatment among the hemp, ramie and flax fiber, and it was confirmed that the ability of hemp against corrosion of sea-water is the best. At the same time, comparing the effect of the sea water retting treatment between the hemp fiber and the degummed hemp with the high temperature high pressure degumming method, it's found that the cellulose of the hemp is the effective component against sea water.

2. Compared the effect of sea water and clear water retting treatment, the surface of sea water treated hemp became obviously smooth, white and clear. The content of the pectin, the fat wax nature, water-soluble reduces greatly in the hemp. The component of lignin is also reduced much, but the hemicellulose did not drop obviously. Although the effect of sea water retting treatment was inferior to the clear water, but it removes lignin more. And sea water retting method can save the fresh water resource. So we can use the sea water rather than the clear water to retting the hemp.

3. Compared the effect of hemp fiber retted with salt solution of different concentration, It's found that the high salinity can suppress the decomposition of hemp's surface glue. And microorganism on the hemp is influential to the surface glue but not the cellulose in the retting

process.

4. Hemp or the antiseptic hemp are retted with antiseptic sea water or sea water, it's confirmed that the microorganisms on the hemp do the main function in the process of retting, and the salt in the sea water suppresses the function of the microorganisms on the hemp.

5. The strains named 1416, 2309, 3508 and 4448 are the fungi with strong pectin decomposing capability separately from the hemp treated with 0.5mol/L salt solution, clear water, sea water and antiseptic sea water retting liquid; According to the identification analysis: 1416 is *Stenotrophomonas maltophilia*, Gram-Negative, Oxydase-Negative, budless bacillus, about $0.4\mu\text{m} \times 1.5\mu\text{m}$, single-pole flagellum movement; 2309 is *Pseudomonas spp.*, Gram-Negative, Oxydase-Positive, straight bacillus, about $0.5\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$, number extremely flagellum movement; 3508 is *Stenotrophomonas maltophilia*, Gram-Negative, Oxydase-Negative, budless bacillus, about $0.3\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$, single-pole flagellum movement; 4448 is *Ochrobactrum anthropi*, Gram-Negative, Oxydase-Positive, bacillus brevis, about $0.6\mu\text{m} \times 0.9\mu\text{m}$, surrounding flagellum movement. *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas spp.* and *Ochrobactrum anthropi* have the strong ability of pectin decomposition, and can be used in hemp's microorganism degumming.

6. The strains named 1416 and 3506, which are *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from the retting liquid of the 0.5mol/L salt solution and the sea water, is a pathogenic bacteria. *Ochrobactrum anthropi*, isolated from the retting liquid of antiseptic sea water, also is one kind of pathogenic bacteria. But *Pseudomonas spp.*, from the retting liquid of clear water treat, has no pathogenicity. Therefore, we may know that the salinity of sea water has an influence on the antibacterial performance of the hemp.

In brief, this study is to understand the treating effect of the hemp retting with sea water, and to ascertain microbes which have the strong pectin resolution capability to the hemp and confirm their characteristic. It will lay the foundation for hemp's microorganism degumming craft study in future and is good to the application and development of biotechnology in the field of textile.

Qian Weijun (Textile Engineering)

Directed by Professor Chen Jianyong

Key word: hemp; sea water; retting; salinity; pectinase; microorganism of pectin decomposing

目 录

└─┬─文摘

└─┬─英文文摘

└─┬─论文说明：资助

└─┬─浙江理工大学学位论文原创性声明及版权使用授权书

└─┬─第一章前言

└─┬─┬─1.1 大麻简介

└─┬─┬─┬─1.1.1 大麻的优点

└─┬─┬─┬─1.1.2 大麻纤维的结构特点

└─┬─┬─1.2 大麻纤维的物理机械性能和优良特性

└─┬─┬─┬─1.2.1 大麻纤维的性能指标

└─┬─┬─┬─1.2.2 大麻纤维的机械物理性能

└─┬─┬─1.3 大麻的脱胶方法概述

└─┬─┬─1.4 大麻的综合利用

└─┬─┬─1.5 工业用大麻纤维主导产品

└─┬─第二章课题的研究意义和主要的工作内容

└─┬─第三章实验材料和方法

└─┬─┬─3.1 大麻纤维高温高压脱胶工艺确定

└─┬─┬─┬─3.1.1 材料与仪器

└─┬─┬─┬─3.1.2 实验方法

└─┬─┬─3.2 大麻纤维灭菌方法确定

└─┬─┬─┬─3.2.1 材料与仪器

└─┬─┬─┬─3.2.2 实验方法

└─┬─┬─3.3 海水对大麻纤维浸渍效果的研究

└─┬─┬─┬─3.3.1 材料与仪器

└─┬─┬─┬─3.3.2 实验方法

└─┬─┬─3.4 果胶酶活度的测定

└─┬─┬─┬─3.4.1 分光光度法测定果胶酶的原理

└─┬─┬─┬─3.4.2 材料与仪器

└─┬─┬─┬─3.4.3 实验方法

└─┬─┬─3.5 有效菌种的分离与选定

└─┬─┬─┬─3.5.1 材料与仪器

└─┬─┬─┬─3.5.2 实验方法

└─┬─┬─3.6 有效菌种的鉴定

└─┬─┬─┬─3.6.1 材料与仪器

└─┬─┬─┬─3.6.2 实验方法

└─┬─第四章大麻纤维最佳高温高压脱胶工艺确定

└─┬─┬─4.1 最佳工艺条件确定

└─┬─┬─4.2 表面形态和红外图谱分析

└─┬─┬─┬─4.2.1 表面形态观察

└─┬─┬─┬─4.2.2 红外图谱分析

└─┬─┬─4.3 本章小结

第五章大麻纤维灭菌方法确定

5.1 灭菌方法概述

5.2 灭菌方法确定

5.2.1 不同灭菌方法对大麻纤维强力的影响

5.2.2 不同灭菌方法处理后的大麻纤维红外谱图

5.3 本章小结

第六章海水对大麻纤维浸渍效果的研究

6.1 不同麻纤维的耐海水腐蚀性能的比较

6.1.1 海水对不同麻纤维化学成分的影响

6.1.2 纤维强力变化测定

6.1.3 纤维表面形貌观察

6.1.4 傅立叶红外光谱分析

6.2 海水对大麻原麻和脱胶大麻的影响

6.2.1 化学成分的变化

6.2.2 纤维强力变化测定

6.2.3 傅立叶红外光谱分析

6.3 盐的浓度对大麻纤维的影响

6.3.1 盐的浓度对大麻纤维化学成分的影响

6.3.2 纤维强力变化测定

6.3.3 扫描电镜观测

6.3.4 红外光谱分析

6.4 不同水质对大麻纤维的影响

6.4.1 水质对大麻纤维化学成分的影响

6.4.2 纤维强力变化测定

6.4.3 扫描电镜观测

6.4.4 红外光谱分析

6.5 本章小结

第七章有效菌种的研究

7.1 果胶酶活性测定

7.1.1 盐分对果胶酶活性的影响

7.1.2 不同水质对果胶酶活性的影响

7.2 有效菌种的分离与选定

7.2.1 菌株的纯化及记数

7.2.2 单菌落活性测定及有效菌种的选定

7.3 有效菌种的鉴定

7.3.1 ERIC-PCR 指纹图谱分析

7.3.2 革兰氏染色

7.3.3 菌落特征

7.3.4 菌体形态

7.3.5 Biolog 分析

7.3.6 鉴定结果分析

7.4 本章小结

第八章总结

参考文献

□ 硕士阶段发表论文情况

□ 致谢

本课题研究受浙江省科技厅重大科研工业项目（2005C21077）和中国人民解放军总后勤部军需装备研究所专项资金资助

浙江理工大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：钱微君

日期：2006年3月10日

浙江理工大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权浙江理工大学可以将本学位论文的全部内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

本学位论文属于

保密□，在———年解密后适用本版权书。

不保密□。

学位论文作者签名: 钱微君

指导教师签名: 陈建忠

日期: 2006 年 3 月 10 日

日期: 2006 年 3 月 10 日

第一章 前言

1.1 大麻简介

大麻是大麻科大麻属一年生草本植物，大麻学名为 *Cannabis sativa* L，俗名汉麻、寒麻、线麻、花麻等，英文名 **Hemp** 或 **True Hemp** 或 **Common Hemp**，品种多达 150 个左右。根据用途，一般分为纤维用、油用与药用纤维三类；根据收获期，又可分为早熟与晚熟品种。

大麻是世界栽培史上最古老的纤维经济作物之一，其地域分布广泛，用途多样。主要分布在亚洲、欧洲，最早在中国种植，大约在公元前 1500 年左右传入欧洲^[1]。

我国是亚洲大麻生产中心，栽培面积和产量占世界首位^[2]。产地遍布全国，但主要为黄河流域。山东的泰安、甘肃的华亭都是有名的大麻产区，是该地区的主要经济作物^[3]。我国是种植大麻历史上最为悠久的国家，其历史可追溯到公元前 2700 年皇帝神农氏时代。但到了近代，由于大麻中含有的四氢大麻醇（THC）被用来制造兴奋剂和毒品，严重地危害了人类的生存与健康，从而危及整个人类的生命和安全，甚至一度使得世界上许多国家谈“大麻”变色，大麻几乎成为毒品的代名词。因此多数西方国家明令禁止种植大麻，大麻的应用研究也因而趋于停滞状态^[4]。自 20 世纪 30 年代开始，大麻的产量逐年下降。全世界大麻产量，1955 年最高，年产大麻纤维 114 万吨，1983 年最低，年产 18 万吨^[1]，一般年产 20~29 万吨之间；我国大麻产量 1958 年高达 71 万吨，1977 年最低为 2.3 万吨，一般年产 4~14 万吨之间。

进入 20 世纪 90 年代以后，由于全球环境污染问题的日益突出，人类资源的未来可利用量不断缩小，生命与健康逐渐成为人们日益关注的课题，整个世界的目光开始转向寻找具有无环境污染、卫生抗菌，并可被循环使用的“绿色资源”。大麻作为一种生态纺织原料，再次引起人们的关注。特别是 1992 年，低 THC 含量（低于 0.3%）的大麻品种在英国培育成功，使西方国家纷纷解除种植大麻的禁令，开始注重大麻在纺织上的应用研究^[5-6]。于是，自化学纤维工业开始发展之后，屈居其下相当长一段时间之后的天然纤维重新崛起，再度风靡全球，棉、麻、毛、丝在纺织工业领域的利用几近高潮。在此情势之下，作为最古老的纤维作物之一，麻类韧皮纤维的重要门类之一——大麻的研究也重新为世人所关注。目前，我国是世界上最大的大麻纤维生产国，其作为我国极为重要的民族出口创汇产品，近年来出口创汇额呈逐年递增趋势。

1.1.1 大麻的优点

人们通过对大麻纤维及其纺织品的分析研究,发现大麻具有纤维细度细,穿着无刺痒感,可抑菌,吸湿、透气性高、无静电,能屏蔽紫外线等许多优良性能^[7~10],受到广大消费者的青睐^[11~12]。同时大麻种植无需施肥、喷撒药物等优点,因而被认为是21世纪的功能性绿色环保用品^[13]。大麻的优良性能主要包括:

(1) 有益健康

由于大麻纤维中空,富含氧气,使厌氧细菌无法生存,所以大麻纤维独具抗霉杀菌的功效。经高频等离子发射光谱仪分析测定,大麻纤维中还含有十多种对人体十分有益的微量元素。从日常生活实践看,大麻作物在种植和生长过程中不施用任何化学农药即可免遭病虫害的侵扰;用大麻布包肉可使保鲜期增加一倍;穿着大麻布做的鞋垫可防止长脚气,并可有效的避免脚臭;大麻纤维是纸巾和卷烟纸的首选用料;大麻绳还是最好的香肠绳等。大麻纤维的强度是各种天然纤维中最高的,特别坚固耐用和易于保存。

(2) 无污染种植

虽然棉花产量达到纺织纤维产量的一半左右,种植棉花也一直被认为是无害的,但棉花种植期间要喷洒较多的杀虫剂,同时棉花的生长也要施肥,因此棉花的种植也引起了严重的环境和人类健康问题。而大麻在种植期间无需使用杀虫剂和肥料,不会造成土地污染,环境生态良好,且种植收获期较短,大麻播种后大约经过150~200多天就可以收割,一亩田可收获的大麻纤维往往是棉花的2~3倍,而且大麻收获后的残渣有利于其后种植小麦的收成^[14]。

(3) 穿着无刺痒感

普通麻类织物如苧麻、亚麻织物等由于其自身特性及加工的原因,贴肤穿着对皮肤有不同程度的刺痒感,而大麻纤维比重轻于亚麻和苧麻,细度仅为苧麻的三分之一,与棉纤维相当,且纤维端部呈钝角,因此用大麻纤维制成的纺织品手感滑爽,无需特别处理就可避免其他麻纺制品的刺痒感和粗糙感。

(4) 透气性能好

大麻纤维中心有一个细长的空腔,其与分布在纤维表面的许多裂纹和小孔相连,产生优异的毛细效应使大麻纤维吸湿排汗性能格外好,贴身穿着不仅舒适,而且特别的爽身。据测算,穿着大麻服装与棉织物相比,可使人体感觉温度低5℃左右,与化纤织物比就更觉凉爽了。炎炎夏日,即使气温高达38℃以上,穿着大麻服装也不会觉得热不可耐。

(5) 抗静电

干燥的大麻纤维是电的不良导体，其抗电击穿能力比棉纤维高30%左右，是良好的绝缘材料。大麻纤维分子结构稳定，分子排列的取向度高，产生静电能力极低。通常情况下，由于大麻纤维吸湿性能特别好，暴露在空气中的大麻纺织品一般含水达12%左右。在空气湿度达95%时，含水达30%，手感却不觉得潮湿，故大麻纺织品又能避免静电积聚，不会因摩擦起球和吸附灰尘。据检验，大麻与棉、丝、化纤等纤维相比，在空气中摩擦产生的静电是最低的。因此，大麻服装能够避免静电给人体造成的危害，比如皮肤过敏、皮疹、针刺感等。

（6）耐晒、耐腐蚀性能

大麻纤维耐热性能也使其他纤维望尘莫及，其在370℃时不改变颜色。另外，大麻纤维的耐腐蚀性能耐日晒牢度好，耐海水腐蚀性能好，坚牢耐用。因此，大麻纺织品特别适宜做防晒服装及各种特殊需要的工作服。也可做太阳伞、露营帐篷、渔网、绳索、汽车座垫、内衬材料等。

（7）防紫外线辐射、消散光波、音波功能

大麻纤维的横截面表现为不规则的三角形、多边形等，其分子结构多棱状，较松散，有螺旋线纹，故其制品对音波、光波具有良好的消散作用。经中国科学院物理所检测，普通衣着仅能阻隔30~90%的紫外线，但一般大麻织物，无需特别整理即可屏蔽95%以上的紫外线，大麻帆布等甚至能100%阻挡紫外线^[15]。在北半球臭氧层变薄，南极上空臭氧空洞日渐变大的今天，大麻纺织面料的问世对广大消费者无疑是个福音。

（8）天然抑菌、卫生健康

大麻纺织品具有天然的保健功能，具有抗霉抑菌、防霉防臭防腐的作用。大麻纤维具有细长中空，内富含氧气，使得在无氧条件下才能生存的厌氧菌无法生存。因此，大麻的这种抗霉抑菌作用是一种天然属性。按美国 AATCC90-1982 定性抑菌法测试的结果显示，未经药物处理且经水洗的大麻帆布，对分别代表化脓菌、肠道菌和真菌的4种微生物的抑菌圈直径（mm）分别为：金黄色葡萄球菌 9.1；绿脓杆菌 7.6；大肠杆菌 10；白色念珠菌 6.3。抑菌圈直径大于 6mm，即被认为有抑菌作用^[16]。

（9）吸音、耐热^[17]

大麻纺织品有较高的空隙率，它有很好的吸音性和透气性，并且有很好的耐热性，能经受370℃高温的考验。因此，大麻纺织品除用于服装外，还可用于室内装饰。大麻纺织品装饰的房间，不仅可以降低噪音，给人们工作生活提供一个安静的空间，还因其吸湿放湿性好，可以调节室内的温度和湿度，是一个天然的绿色空调。

(10) 混纺

大麻既可与棉、毛及化纤混纺，也可纯纺，所得织物挺括，风格别致，悬垂性能、消散音波、坚牢耐用等其他纺织品不可比拟的优点。大麻与其它纺织纤维混纺性能良好，大麻纺织产品具有天然保健功能，大麻/毛混纺织物可防虫蛀，大麻鞋袜能防治脚气，大麻内衣不出汗斑、异味，大麻床上用品润肤护发、舒适爽身。

另外，大麻是利用价值很高的经济作物：大麻籽含油量高，即可食用，可制成各种食品，可提取油脂、植物蛋白、染料、维生素、氨基酸等，又可制造干性油、油漆和染料；榨油后的大麻油饼是营养丰富的精饲料和有机肥料；麻杆可作层压板；大麻可用于造纸、绳索；大麻的茎、叶、花可提取重要医药原料，在医学上还可用作催眠剂和镇静剂^[18]。

1.1.2 大麻纤维的结构特点

大麻纤维最初是由葡萄糖基被氧桥连接成的链状大分子平行排列、聚合成分子团系统，进而组成一种有空隙的纤维素骨架——纤丝系统。在分子团系统和纤丝的空隙之中，充满着胶质。随着大麻的生长，它们分层淀积，组成纤维的细胞壁；在纤维与纤维之间，还平行分布着胶质。在显微镜下，可以看到含有棕色树脂的胶质存在。由此可知，大麻纤维束的含胶具有三个层次：纤维与纤维之间的胶质系统、纤丝系统之间的胶质系统和链状分子系统之间的胶质系统。

大麻单纤维呈圆管形，表面有节，无天然扭曲，尖端有分叉，纤维端部呈钝角，表面很粗糙，不同程度地有纵向缝隙和孔洞，横截面略呈圆形或椭圆形，中心有细长的空腔，并与纤维表面的缝隙和孔洞相连，在胞间层物质的粘结下交织成网状，而苧麻纤维细胞则呈排列整齐、紧密靠近的平行的聚集体。而且大麻纤维细胞还与半纤维素等呈化学键合，这也增加了脱胶的难度。

更为关键的是，大麻单纤维过短，长度在 7~55mm 之间，大部分在 15~25mm 之间，且纤维整齐度差，刚性大，几乎无卷曲。若将胞间层物质全部脱去（即全脱胶）势必造成短绒，失去可纺性，因此必须由残胶将单纤维粘连成纤维束（工艺纤维）进行纺纱，这就是所谓的适度脱胶工艺^[19]。利用大麻的这一特点，国内科研生产人员提出了用“工艺纤维”进行纺纱，即采用“半脱胶”的方法，利用胶质将单纤维粘连成一定长度和细度的可纺性纤维^[20]。

大麻纤维的化学成分主要为纤维素，次为木质素等。虽然大麻纤维的化学成分与品种、生长地区、收获时间、存放期、剥制方法、沤麻方法等诸多因素有关，但大麻纤维的木质

素、半纤维素、甚至果胶含量较高是其区别于其他麻纤维的主要特征之一^[21]。这可以由大麻纤维与苧麻纤维的化学成分比较(见表 1.1)看出。相对地,则其纤维素含量较低,这些特点都增加了大麻脱胶的难度,导致脱胶后精干麻的制成率低。

表 1.1 大麻和苧麻的化学成分^[17]

(%)

品种 / 成分	半纤维素	纤维素	木质素	脂蜡质	水溶物	果胶质
大麻(河北山东平均值)	16.70	57.66	6.55	3.06	8.99	7.04
苧麻	18.41	56.69	7.69	1.41	10.63	5.18
大麻含量为苧麻含量的百分比	16.64	57.29	7.56	1.58	9.51	7.43

注:表中数据按 GB889-86 苧麻化学成分分析方法测定。

从文献[22]获得不同产地大麻的化学成分如表 1.2 所示。

表 1.2 不同产地大麻成分分析的比较

(%)

品种 / 成分	半纤维素	纤维素	木质素	脂蜡质	水溶物	果胶质
河北大麻	16.70	57.66	6.55	3.06	8.99	7.04
山东大麻	18.41	56.69	7.69	1.41	10.63	5.18
宁夏大麻	16.64	57.29	7.56	1.58	9.51	7.43
云南大麻	18.26	51.13	7.12	1.24	11.10	11.10

注:表中数据按GB889-86苧麻化学成分分析方法测定。

(1) 木质素

木质素是一种芳香族高分子化合物。大部分韧皮植物纤维中均含有木质素。随着生长日期的增多,过期收割的大麻纤维木质素含量就会偏高。而木质素少的纤维弹性会较好。

木质素是沉积于植物细胞壁上的无定型芳香族并具有三维空间结构的高分子化合物,是代表某些具有共同性质的一类物质。木质素在植物中的作用主要是给植物以一定的机械强度。麻纤维中木质素的含量直接影响着纤维的品质,木质素含量少的纤维光泽好、柔软并富有弹性,可纺性能及染色着色性能好。反之,则纤维的光泽、弹性、可纺性及着色性差,且不耐日晒。王德骥^[23]等经反复试验、分析后发现,大麻精干麻中的木质素含量低于0.8%时,纤维呈白色,且较松散、丰满,能满足纺织印染后加工的要求;当木质素含量在1.5%以上时,纤维呈黄色,且会给后面工序的纺织特别是印染加工带来较大困难。因此在脱胶、粗纱煮练及坯布漂染等工艺过程中要优化工艺配方,加强对木质素的去除,以提高成品质量。从纺织工艺的角度出发,希望麻纤维中木质素含量越低越好,即要求在脱胶过程中尽量将木质素去除。但是,木质素较难从大麻纤维中去除,主要是木质素分子与纤维

素及其他多糖类物质相互以化学键紧密结合，相互贯穿包围，以及相互形成配位化合物的缘故。

（2）半纤维素

半纤维素是植物生物物质中一个重要组成部分，半纤维素不是纤维素，而是与纤维素共存于植物细胞壁中的一种高分子多糖类化合物。半纤维素与纤维素的区别主要在于：半纤维素由不同的糖单元聚合而成，分子链短且带有支链，主链可以由一种糖单元构成，称为均聚糖，如聚木糖类半纤维素；也可以由两种或两种以上的糖单元构成，称为非均聚糖，如聚葡萄糖-甘露糖类半纤维素^[24]。

工业上把与纤维素结构相似而又能溶于稀碱溶液的糖类物质统称为半纤维素。在麻纤维化学成分系统分析中把能溶于 2% 的 NaOH 溶液中，与纤维素结构相似的糖类物质叫做半纤维素。

半纤维素是纤维素的伴生物之一，半纤维素也是一种与纤维素，尤其与木质素有着紧密联系的一类非纤维素多糖物质，聚合度在 200 左右。半纤维素也能够被某种特定酶所分解，在高温高压碱煮时也容易除去。半纤维素主要成分为多缩戊糖、多缩己糖及多缩糖等。半纤维素分子量较低，化学性质不稳定，容易被无机酸水解，也溶解与稀热碱液中，有易被氧化剂氧化。因此，确定脱胶工艺时应注意加强对半纤维素的去除。

（3）脂蜡质

在原麻中可被有机溶剂所提取的部分称为脂蜡质，其中尤以蜡质为主。它以薄膜状态存在于植物的外围，能够防止水分剧烈蒸发及外部水分侵入，同时能使纤维柔软且有光泽。

蜡质的主要成分为高级饱和酸和高级一元醇所组成的酯，此外尚有部分游离的高级脂肪酸、高级醇或烃类物质。脂蜡质能赋予纤维外表以光泽，使纤维柔软、松散，可提高其可纺性。

（4）果胶质和水溶物

果胶质是由半乳糖醛酸与它的甲酯为主体缩合而成的一类高分子化合物。是一种含有酸性、高聚合度、胶状碳水化合物的复合体。化学成分较为复杂，是一种由共聚所构成的多糖类物质。果胶还是植物生成纤维素和木质素的营养物质。

果胶存在于细胞壁、细胞内以及细胞间，一般来说存在于纤维素之间的果胶容易去除，在单纤维之间的果胶与纤维结合比较坚固，不易去除。

果胶分为生果胶、熟果胶两种。熟果胶可溶于沸水，生果胶难溶于水，只能溶于 1% 的热 NaOH 溶液。生果胶能被水解，亦能溶于草酸铵或柠檬酸溶液中，还能被专门果胶酶

分解。大麻生长初期熟果胶含量较多,以后,大部分熟果胶就变成了生果胶。

(5) 纤维素

纤维素是植物细胞壁的主要成分,是一种由 D-葡萄糖单元以 1,4- β -苷键连接而成的直链式的高分子化合物,其结构如图 1.1 所示。纤维素分子中的葡萄糖单元的值大约是 800~1300,分子量相当于 300000~500000。分子结构如图 1.1 所示。

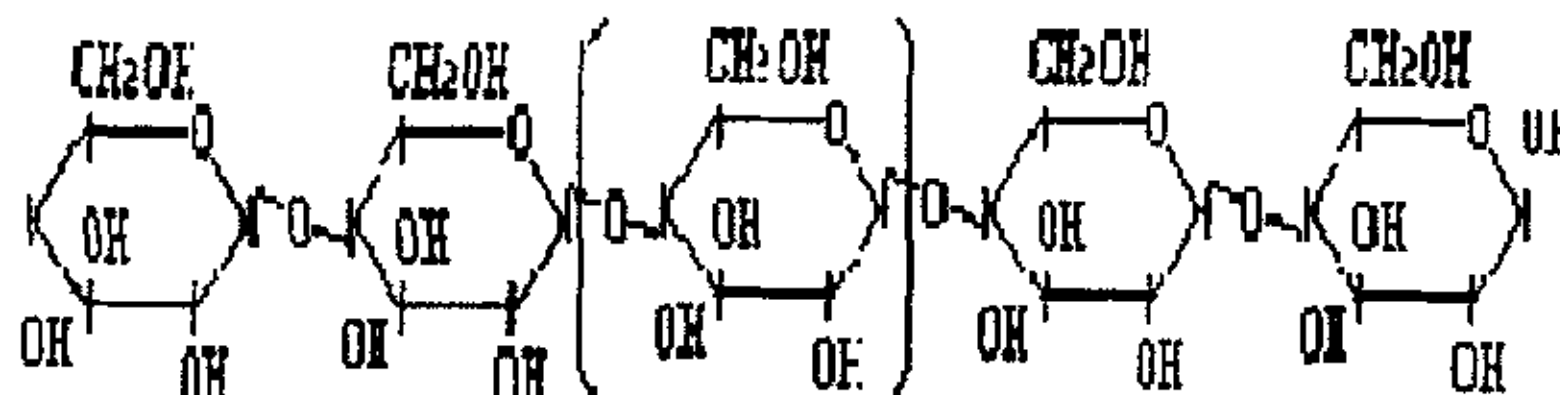


图 1.1 纤维素分子结构

(6) 其它

一般为水溶物和灰分等物质。水溶物多为熟果胶等物质,较易溶于水。

将原麻放置于空气中燃烧,残留的白色或灰色的粉末状物质称为灰分。原麻中所含灰分大多为金属(如钾、钠、钙、镁)或非金属的氧化物及无机盐类物质。

1.2 大麻纤维的物理机械性能和优良特性

1.2.1 大麻纤维的性能指标

大麻纤维的一些性能指标^[20]如表 1.3 所示。

表1.3 大麻纤维的性能指标

性能指标	大麻
单纤维长度/mm	12~25
单纤维中段线密度/tex	0.26~0.35
单纤维强度/(N.tex ⁻¹)	0.40~0.56
单纤维断裂伸长率/%	2.0~3.0
单纤维初始模量 (N.tex ⁻¹)	14.4~20.8
原始纤维聚合度	1530

1.2.2 大麻纤维的机械物理性能

姜繁昌等曾研究过大麻的机械物理性能^[25],详见表1.4。

表1.4 大麻、亚麻、胡麻、苧麻纤维机械性能比较

麻 类	纤维细度 (tex)	断裂强度 (cN/dtex)	断裂伸长率 (%)	弹性模量 (cN/dtex)
山东大麻精干麻	1.55	3.86	2.25	171.52
胃林亚麻精干麻	3.05	2.47	2.39	94.99
河北胡麻精干麻	4.10	1.78	2.13	78.47
苧麻单纤维	0.63	6.72	3.76	172.70
大麻单纤维	0.29	4.84	5.00	

由表1.4可以看出, 大麻纤维细度细、强度高、单纤断裂强度优于亚麻, 低于苧麻。如果按亚麻工艺路线纺纱, 理论上大麻纤维可纺特数比亚麻、胡麻要细。因此, 如果大麻纤维的纺纱细度进一步提高, 大麻纺织品将会成为亚麻纺织品的有力竞争者。

1.3 大麻的脱胶方法概述

大麻要制成纺织品, 首先必须具有可纺性, 且要经过纺纱加工。与纤维可纺性相关的纤维(束)的长度、线密度、强度等因素, 也与晶体结构和纤维束中残余胶质的成分有关。因此, 大麻的脱胶工艺一直在目前的大麻研究领域具有举足轻重的地位^[26~27]。

现在, 麻的脱胶方法基本包括五种: 即天然沤麻法、化学脱胶法、新型微生物脱胶法、大麻的酶法和蒸汽爆破法脱胶。现分述如下:

(1) 天然沤麻法

关于麻料生物脱胶, 古已有之, 在《诗经·陈风》中就有记载“东门之池, 可以沤麻”^[28]。直到现在, 从大麻茎秆上分离的纤维基本还在沿用原始的微生物脱胶技术, 主要是天然沤制法。它是利用大麻茎秆上的自有微生物的生长繁殖而脱胶。在我国对大麻进行化学脱胶取得成功之前, 人们大多采用露水浸渍、池塘浸渍、堆积发酵、青茎晒制等方法对大麻进行脱胶, 甚至目前欧洲不少大麻生产国家仍多采用上述方法。大麻收获后, 必须经过沤洗、剥制等初步加工过程, 成为精麻或原麻, 才能供工业上用。大麻沤制方法很多, 有冷水浸、热水浸、露浸、雪浸、堆积发酵、青茎晒制法等。我国各地区盛行冷水浸渍法, 少数采用堆积发酵法或青茎晒制法。苏联、美国、法国盛行露浸法, 意大利盛行冷水浸渍法, 日本盛行热水浸渍法^[29~30]。但这种大麻初加工常采用的天然水沤麻法也存在着很大的缺点: 脱胶效果依赖于自然气候条件很不稳定, 脱胶效果较差, 后加工难度大, 且劳动强度大, 耗用时间长, 成本高, 而且容易造成环境污染^[31]。

(2) 化学脱胶法

我国目前多数大麻纺织企业采用的化学脱胶工艺, 主要是参照工艺较为成熟的苧麻化

学脱胶来进行的。经过许多科研人员的不懈努力,已取得不少进展,如在脱胶工艺上、对原料性能分析上、合理选择脱胶助剂以及生物技术的应用等方向面。设备一般是利用苧麻脱胶设备,基本上采用一浸二煮一漂的工艺路线,是用化学部分脱胶和机械相分离的方法,采用“浸煮结合,煮打交替,轻煮重打,轻漂重洗”的工艺路线,提取长纤维、毛型纤维和棉型纤维,用于纯纺、混纺和服装。

大麻胶质中非纤维素成分约占40%左右,其中半纤维素含量最大,是大麻脱胶的主要对象之一。半纤维素是无定形的多糖物质,其聚合度比纤维素低的多,吸湿性和润胀度较纤维素高,易被酸碱裂解,变成单糖而溶解。故大麻经浸酸和碱煮后半纤维素的去除效果较好,另外,大麻胶质中的果胶、脂蜡质、水溶物等在此过程中也同时易被降解而脱除,所以生产上一般采用酸碱法来进行大麻脱胶^[32]。目前我国大麻纺织企业大多采用由苧麻化学脱胶方法借鉴而来的化学脱胶工艺,其基本工艺路线是:原麻扎把→装笼→浸酸→水洗→煮练→水洗→敲麻→漂白→水洗→酸洗→水洗→脱水→开松→装笼→给油→脱油水→抖散→烘干→精麻^[4]。

我国目前的大麻纺织企业大多采用化学脱胶工艺,视原麻品质和纺纱工艺的不同要求,分别在高温高压或常温常压下进行。但是,化学脱胶方法在实际生产中尚存在一些问题:首先,因为木质素对无机酸作用的稳定性相当高,因此脱胶中的浸酸工序对木质素的去除效果不是很好。木质素大量存留于大麻中,留待煮练工序进行进一步去除,将会增加煮练的负担,且去除效果也并不好:大麻经浓度为 2g/L 的预酸处理及二级煮练后,木质素的含量仍在1.5%以上,即使经后工序中的漂白作用(有效氯浓度 1g/L)加强,仍难以达到质量指标要求,纤维呈棕黄色,后工序加工较为困难。然而木质素的存在对纺织品质量有很大影响,大麻精干麻中木质素含量低于0.8%时,纤维呈白色,且较松散、丰满,才能满足纺织印染后加工的要求^[22]。

化学脱胶要耗用大量的化工原料和能量,生产成本低,处理后的污水中含有有害的化学成分,回收不易,极易造成环境污染,且化学脱胶处理时间过长。

针对化学脱胶处理时间过长问题,参考了苧麻快速化学脱胶的一些科研成果,主要对应用预氧处理、预尿处理以及预尿氧处理分别与一煮法和二煮法结合的大麻脱胶工艺的效果作了初步探索,提出了预尿氧处理与一煮结合的大麻快速化学脱胶方法在降低残胶率和残余木质素方面非常有效果。

总之,目前的化学脱胶方法尽管在工业化应用上取得了突破性进展,但还不够完善,主要是得到的精干麻的质量及其稳定性方面还有待进一步提高,而且方法本身也存在着很

大的缺点，如这种方法需在强酸、强碱，甚至高温高压等激烈条件下才能进行，因而能耗高，酸碱对环境污染严重，且对麻纤维的质量有较大的影响，另外耗水量大，脱胶时间长也是一个重要问题。

（3）新型微生物脱胶法

现在环境污染问题为全球所关注，生物技术在麻纺织上的应用已显出强大的生命力。二十世纪20年代在国外最先开始，国内则是在50年代才始有研究，进入二十世纪八十年代以来由于化学脱胶的严重污染和高成本引起了人们对微生物脱胶的较为深入研究。但大量的研究集中于苧麻、亚麻等麻类作物^[33~34]，关于大麻的微生物脱胶研究报道较少，尚处实验室研究阶段。

关于大麻的微生物脱胶，所作的研究工作还很有限，还有大量工作有待进行。主要的问题是经微生物脱胶后的大麻还含有较多的胶质，整个工艺离工业化生产还有很大距离，就目前的研究状况看，现有的在实际生产中得到应用的微生物脱胶法均尚需化学脱胶法的联合作用。主要原因是菌种的酶活力还不够高，菌株适应性差，抗菌能力弱，另外有关原麻预处理、化学法辅助处理、脱胶过程条件控制，以及反应器性能等研究都是有待开展和加强的薄弱环节。但是作为微生物脱胶其广阔开发前景是无庸置疑的，可以解决现有化学脱胶法存在的问题，提高精干麻的产率和纤维品质，节水节能，降低成本，减少环境污染，产生较大的经济、社会和生态效益。

（4）大麻的酶法脱胶^[3]

目前，麻类作物的脱胶研究已经深入到分子水平，即酶法脱胶。酶法脱胶就是将脱胶菌培养到菌生长的衰老期后进行过滤或离心等处理，再用得到的粗酶液浸渍原麻，或者将粗酶液提纯、浓缩为液剂，也可将该浓缩液干燥成为粉剂，使用时将液剂稀释或将粉剂溶于水，把原麻浸渍在酶稀释液中进行酶法脱胶。酶法脱胶研究起步较晚，迄今约有 40 余年历史，而且主要面向苧麻、亚麻、红麻、黄麻等，关于大麻的酶法脱胶，只是近两年来，才偶见报道。

根据大麻的化学成分和物理性质，利用生物技术进行果胶酶适度脱胶，再利用机械分离的方法，分级提取不同长度的纤维，使大麻纤维能适应现有纺纱设备。

利用生物酶对原麻进行脱胶，可降低脱胶成本，工艺简单易行，无需专用设备，快速高效，减少环境污染，提高精干麻的制成率与精梳梳成率，且酶脱胶后纤维蓬松卷曲，平均长度增加，短纤维含量明显降低，麻粒、毛羽明显减少，细纱品质指标显著得到了提高。从与大麻相似的亚麻的研究结果来看，通过生物酶的作用，纤维素与木质素、半纤维素的

分离效果相当好，用生物脱胶方法因为无需使用有害的化学助剂并且对环境污染较少。在密闭环境下，用二氧化硫加上催化酶剂可在几小时内达到传统方法5~10天的脱胶处理效果，处理时间也可大大缩短。

目前国内生物技术在麻纺织行业上的开发应用已经起步，虽然生物酶制剂国内已有几家研制，但在麻纺织领域的应用尚未形成规模，酶制剂功能尚不完整，例如：脱胶酶活性不够高，脱胶率仅在40~50%，不能完全代替化学脱胶。

(5) 蒸汽爆破法

蒸汽爆破技术应用于大麻脱胶是近两年的事，这一全新的脱胶方法简便快捷，低成本、无污染，所有这些优点是其它脱胶方法所无法比拟的，此方法在国内已经申请发明专利。但用蒸汽爆破法对大麻纤维进行脱胶处理，可能会存在生产操作的安全性问题。

1.4 大麻的综合利用

(1) 纺织

大麻的纺织应用前景广阔，目前已能纺出 27.78tex 的纯大麻纱。另外，大麻麻骨可制成高质量的压缩板或打浆后作为造纸原料，大麻纤维可用于造高档的纸、作造船或管道的填缝品、制绳和麻袋、纺织麻布，可与棉、毛、化纤混纺得纺织品，现在人们正在研究以大麻和聚胺酯为原料的合成材料，这种材料除具有金属和玻璃纤维的优点外，而且价格更便宜、质量更轻、韧度更强、还可生物降解。

(2) 籽可作油料

大麻是雌雄异株作物，雌株除生产纤维外，还可生产大麻籽，大麻籽含油 30~35%，蛋白质 23~25%，碳水化合物 21.3%，并富含维生素 B。大麻籽压榨或浸取可得到大麻油。在工业上，大麻油可作为肥皂、油漆、假漆等原料，精练后也可食用。

(3) 制药

大麻的根、茎、叶、花、籽均可作为药用，有滋养、润燥、利尿、滑肠、镇静、镇痛、麻醉、催眠等作用，《美国药典》(U、S、P) 和《中华人民共和国药典》均列大麻条目。大麻毒品主要成分有 3 种：四氢大麻酚 (THC)、大麻二酚 (CBD)、大麻酚 (CBN) 及它们的相应酸。

(4) 做饲料

大麻的叶和嫩茎可作猪饲料，大麻籽榨油后的油饼也可做饲料，有很高的营养价值。据《The condensed chemical Dictionary》记载，大麻油饼标准样品含蛋白质 21.5%、脂肪

8.3%、纤维 48.0%、灰分 12.2%、水 10.0%，是营养价值很高的饲料。

(5) 副食品

大麻籽可以象瓜子一样磕，据说可生津止渴，同时大麻籽磨浆也可食用。用大麻子磨浆掺白菜等煮吃，俗称麻籽豆腐，其味鲜美；或用麻仁捣泥作点心馅，味道清香。

(6) 肥料

大麻整个植物可做肥料，除麻叶和麻子壳可肥田外，云南大理地区有专门种大麻作绿肥的，即在水稻秧田泡水整地前撒播大麻，待嫩苗高 30~60 厘米，灌水翻犁，不仅肥田，还有一定的杀虫作用

(7) 建筑材料

大麻麻杆可用于建筑的防热材料，以出产三七闻名的云南文山地区，用麻杆搭三七的遮荫棚，经济、耐用。

(8) 复合材料

大麻的麻杆可以用来做为复合材料的纤维增强材料。研究发现，用大麻增强的复合材料比短切玻纤增强复合材料表现出明显的低韧性。

(9) 其它用途

如大麻秆和根炭化后是作鞭炮用炭粉的极好材料。

1.5 工业用大麻纤维主导产品

1. 家用纺织品： 服装、鞋帽、饰品、沙发套、坐椅套、床上用品、坐垫、电器覆盖物等；

2. 军用纺织品： 军装、被服、降落伞、帐篷、炮衣、装备隐蔽覆盖物、卫生急救用品、防爆服、排雷服、辐射防护服等；

3. 非织造业： 食品外包装、手袋、妇女卫生用品、工业用材料、农业用材料、环保用材料、医疗卫生用品、装饰用材料、服装材料、汽车用材料、保暖材料、电气绝缘材料、环保材料、饮食用过滤材料、建设用土工材料等；

4. 汽车工业： 汽车外用材料、汽车坐椅套、汽车内装饰、刹车片、耐高温填充材料、防磨损材料、防静电材料、绝缘材料、除尘材料等；

5. 功能性纺织品： 静电防护服、抗紫外线服装、阻燃服装、吸湿材料、耐高温材料、绝缘材料、过滤网、耐磨材料、实验人员、医护人员服装、消毒材料等；

6. 动物窝垫： 牛圈、马圈、羊圈、猪圈、狗窝、猫窝等动物窝棚、动物窝棚、棚圈

顶遮蔽物等。

在此背景下，本项目旨在采用新技术、新工艺、新方法，针对大麻纤维脱胶、耐海水腐蚀性能、海水对大麻纤维的浸渍效果及其相关的微生物分析鉴定等应用的技术瓶颈，来对海水对大麻纤维浸渍效果及有效菌种进行研究，同时分析鉴定了具有降解果胶能力的相关微生物，为大麻纤维应用于海军服装提供了应用基础研究，同时为大麻纤维的生物脱胶提供了初步的理论依据。

第二章 课题的研究意义和主要的工作内容

近年来,环境污染问题已引起世界各国的重视,人们开始将目光转向无环境污染,卫生抗菌,可被循环使用的绿色资源。国际服装市场掀起了“回归大自然”的浪潮,天然纤维再度风靡整个地球,大麻也因其天然的优异性能重新为世人所关注,特别是我国及英国等国培育出低毒大麻($\text{THC} < 0.03\%$)新品种,世界许多国家纷纷解出大麻种植的禁令,重新开始在纺织领域对大麻纤维进行研究。人们通过对大麻纤维及织物的研究发现,大麻在种植期间无需使用杀虫剂和肥料,不会造成土地污染。且种植收获期较短,播种后大约经过150~200天就可收割。在较冷的气候也可以种植,除了可以清除土壤里的重金属,收割之后养分还会回到土壤里,是目前最环保的天然纤维^[35]。麻类织物同时以其优良的吸湿性、散热性及良好的服饰特点已逐渐被人们所认识,而且越来越受到青睐^[36]。目前,在市场上出现了“麻热”,麻纺织品也因此变得十分畅销。

我国是世界上最大的大麻纤维生产国,其作为我国极为重要的民族出口创汇产品,近年来出口创汇额呈逐年递增趋势。为了有效地利用这一经济资源,为人类提供优质的纺织原料,各国对于大麻纺织用纤维的研究也逐渐增多。而用于军需的材料需要有良好的性能,特别是用在海军装备上的材料,更需要有良好的耐海水腐蚀性能,这样才能保证军需材料的经久耐用。大麻纤维因其优越的性能,特别是耐腐蚀性能、抗菌性能等,它日益受到军方的重视,被认为是潜在的军需材料。例如:现在的海军服装一般都是用涤纶或棉纤维纺制而成的,但涤纶服装透气性不好,棉纤维制成的服装透气性虽然比涤纶的好,但其汗渍牢度和耐海水盐性不佳,若用大麻纤维纺制成海军服装就可以弥补涤纶或棉的缺点。当然,搞清大麻纤维耐海水腐蚀性能是实现其海军服装等用的必要条件。本课题研究受浙江省科技厅重大科研工业项目(2005C21077)和中国人民解放军总后勤部军需装备研究所专项资金资助。

其次,大麻纤维与其它纤维混纺后的织物同样具有挺括、质地细薄、手感滑爽、穿着风凉、吸湿透气性好、保形性好的优点。加之纤维还具有抗菌和抗静电能力强,对染料的吸附性能好,无需特别整理即可屏蔽95%以上的紫外线等特点,深受国内外消费者的欢迎,其原料是制作夏季服装的主要原料之一^[37]。但大麻的脱胶仍是现在研究领域的热点问题,传统的天然沤麻方法是将原麻浸渍于河水等淡水中,让其自然发酵产生微生物将胶质去除。此方法不仅浪费有限的淡水资源,还污染环境。要是能用海水代替淡水来进行浸渍

脱胶，那不仅有效的利用了大量的海水资源，还保护了有限的淡水资源。因此，本课题的研究，无疑具有很大的理论创新性和实际应用价值。

本课题主要是通过比较不同麻的原麻纤维耐海水腐蚀性进一步确定大麻纤维优良的性能，再用大麻原麻与高温高压脱胶后大麻纤维耐海水性能的比较，并分析盐的浓度、水质及微生物对大麻原麻的影响，从而得出海水对大麻原麻纤维浸渍处理的效果。同时，本课题还对用不同水质浸渍过程中所产生的具有较强果胶分解能力的菌种进行简单地纯化鉴定，分析具有较强果胶分解能力的细菌的特性，了解哪个属的细菌具有较强的分解果胶的能力，为今后大麻的微生物脱胶工艺研究打基础。

本课题的工作内容包括：

1. 设计一个三水平三因素（温度、氢氧化钠用量及硫化钠用量）的大麻脱胶正交实验，探讨这三个因素对大麻脱胶效果的影响，确定最佳的大麻纤维高温高压脱胶工艺。并用此最佳工艺对大麻纤维脱胶，并分析脱胶的效果。

2. 通过简单分析紫外线、高压蒸汽、电离辐射三种灭菌方法对大麻纤维理化性能的影响，选定一种对大麻纤维理化性能影响最小的灭菌方法。并用此方法制备灭菌过的大麻纤维用于下面的微生物分析实验。

3. 分析比较大麻、苧麻和亚麻纤维的耐海水腐蚀性。

4. 分析比较大麻原麻与脱胶大麻纤维的耐海水腐蚀性，确定海水对大麻纤维中的哪种成分产生作用，并进一步确认大麻纤维中纤维素部分良好的耐海水腐蚀性能。

5. 分析不同浓度的盐溶液和不同水质浸渍处理的大麻原麻纤维，测定其化学成分、强力变化的趋势、纤维的表面形貌变化、红外光谱吸收峰形的变化及浸渍液中果胶酶的活性，从而搞清盐的浓度对大麻原麻纤维及果胶酶活性的影响。

6. 分析用不同水质对大麻原麻纤维进行浸渍处理过程中所产生的具有分解果胶能力的细菌，测定果胶酶活性。分离纯化这些细菌后再测定比较果胶酶活性，选出果胶酶活性高的细菌，并采用菌落形态观察、菌体形态及鞭毛观测、革兰氏染色和Biolog细菌自鉴定系统进行分析鉴定这些对大麻纤维上具有较强果胶分解能力的细菌。

本课题有助于搞清海水对大麻纤维浸渍处理的效果问题，确定大麻纤维中纤维素成分良好的耐海水腐蚀性能，了解不同水质对大麻纤维理化性能的影响，及分析鉴定一些对大麻纤维上具有较强果胶分解能力的细菌，确定它们的属性及特征，为今后大麻的微生物脱胶工艺研究打基础，同时也有利于拓展生物技术在纺织领域的应用与发展。

第三章 实验材料和方法

3.1 大麻纤维高温高压脱胶工艺确定

3.1.1 材料与仪器

材料：大麻原料（从云南大麻种植有限公司购得）；氢氧化钠、硫化钠、平平加 O；二次去离子水（电导率小于 1.5 us/cm），氢氧化钠、硫酸、草酸铵、苯、无水乙醇（均为国产分析纯），浓硫酸，二胺四乙酸二钠(EDTA)、氯化钡。

仪器：ZQS1 型电热蒸煮锅；脂肪提取器（250ml 球型），球型冷凝管，抽滤瓶，平底烧瓶，有塞烧瓶，量筒，砂芯漏斗，铁架台，H·H·S11-2 型（乙孔）电炉，120 目分样筛，干燥器，SHZ-3(III)型循环水多用真空泵，BS110S 电子天平，SPX-150B 型生化培养箱，电热鼓风恒温干燥箱，扫描电镜 JSM-5610LV，SPECTRUM ONE 红外光谱分析仪（Perkin Elmer Instrument）。

3.1.2 实验方法

3.1.2.1 脱胶工艺流程

20g 大麻 → 加入试剂（浴比 1:20）→ 预处理（氢氧化钠、硫化钠、平平加 O、400mL 水）→ 煮练（电热蒸煮锅、高温高压，最高温度保持 20min）→ 水洗（热水）→ 干燥。

3.1.2.2 实验设计

设计一个三水平三因素（温度、氢氧化钠用量及硫化钠用量）的大麻脱胶正交实验。

3.1.2.3 试剂的配制

- ① 0.5%乙二胺四乙酸二钠（EDTA）溶液：称取 EDTA 5g，溶于 1000ml 蒸馏水；
- ② 72%硫酸溶液：量取浓硫酸（20℃,98%）200ml，徐徐加入到 72ml 蒸馏水中。

3.1.2.4 试样整理

将原麻和经处理的大麻做成每个约重 5 克的试样。

3.1.2.5 大麻纤维化学成分的定量分析方法

参照国家标准 GB5889—86《苧麻成分分析方法》

3.1.2.6 脱胶效果分析

对大麻原麻及用最佳脱胶工艺脱胶后的大麻纤维用扫描电镜 JSM-5610LV 进行表面形貌观测，用 SPECTRUM ONE 红外吸收光谱图比较分析脱胶的效果。

3.2 大麻纤维灭菌方法确定

3.2.1 材料与仪器

材料：大麻麻皮原料（来自云南工业用大麻实业有限公司），脱胶过的大麻纤维（用第二章得出的最佳脱胶方法脱胶）。

仪器：ML-S-3750 高压灭菌锅、电离辐射（ γ 射线及电子束）灭菌器、MCV-131BNS(T2) 紫外无菌操作台、电热鼓风恒温干燥箱、BS110S 电子天平、DCS-500 万能材料电子强力仪、SPECTRUM ONE 红外光谱分析仪（Perkin Elmer Instrument）。

3.2.2 实验方法

3.2.2.1 灭菌

取一定量的大麻纤维分别进行高压蒸汽灭菌（121℃，20 分钟）、紫外线灭菌（30W，30 分钟）、电离辐射（ γ 射线及电子束）灭菌（7kGy，2 小时）。

3.2.2.2 纤维强力测定

用 DCS-500 万能材料电子强力仪测定并比较灭菌前后的大麻纤维强力。将大麻纤维定长（10cm）恒温恒湿后定重（0.003g 左右），每个样取 30 根用 DCS-500 万能材料电子强力仪测纤维的强力，然后求得的平均值就近似为每个样的麻纤维强力。

3.2.2.3 红外光谱分析

红外光谱检验是微量物证检验中的一种技术,它运用红外光谱法对有机物质进行检测,我们可根据光谱图上不同的吸收峰,找到电脑内存中相对应的化学基数据库,从而进行对比判断,推测得出此物质归属的大概范畴^[38]。在本课题里我们主要是将处理前后麻纤维的红外光谱图进行比对分析,然后确定处理前后麻纤维的化学成分的变化。

将大麻纤维用纤维切片器切成粉末,称量样品 3mg, KBr100mg, 压片制样,采用 SPECTRUM ONE 傅立叶变换红外分析仪(美国 PERKIN ELMER 制造)测定。光谱范围:4000~450 cm^{-1} , 分辨率 $\leq 0.05\text{cm}^{-1}$ 。

3.3 海水对大麻纤维浸渍效果的研究

3.3.1 材料与仪器

材料:大麻麻皮原料(来自云南工业用大麻实业有限公司); 二次去离子水(电导率小于 1.5 $\mu\text{S}/\text{cm}$), 氢氧化钠、硫酸、草酸铵、苯、无水乙醇(均为国产分析纯), 浓硫酸, 二胺四乙酸二钠(EDTA); 海水(取于宁波北仑港)。

仪器:脂肪提取器(250ml 球型), 球型冷凝管, 120 目分样筛, 干燥器, SHZ-3(III)型循环水多用真空泵, BS110S 电子天平, SPX-150B 型生化培养箱, 电热鼓风恒温干燥箱; 扫描电镜 JSM-5610LV, SPECTRUM ONE 红外光谱分析仪(Perkin Elmer Instrument), DCS-500 万能材料电子强力仪。

3.3.2 实验方法

3.3.2.1 制样

将 30g 大麻原麻两份分别浸渍到 750ml 清水和海水中,用封口膜将容器口封好,并恒温 28℃放于 SPX-150B 型生化培养箱中,间隔一定时间取一定量的大麻纤维测定。

3.3.2.2 化学成分测定

按照国家标准 GB5889—86 《苧麻成分分析方法》测试大麻纤维化学成分。

3.3.2.3 纤维强力测试

将大麻纤维定长(10cm)恒温恒湿后定重(0.003g左右),每个样取30根用DCS-500万能材料电子强力仪测纤维的强力,然后求得的平均值就为每个麻纤维样的平均强力。

3.3.2.4 扫描电镜观察

将样品用乙醇清洗后,取少量纤维拉直平行粘在样品台上。然后在DM200型表面处理机上用Au靶(或Pt)作离子溅射法镀金处理,镀金时要先抽真空,接着用10mA的电压镀金90s^[39]。

将镀金好的样品放入SEM做二次电子扫描,电压5kV。放大倍数根据信号的强弱确定,一般取10K,15K,30K三个倍数,可以比较清晰地反映胶前后大麻纤维的表面形貌,以及脱胶后大麻的纤维化情况和表面形貌。

3.3.2.5 红外光谱分析

方法同3.2.2.3。

3.4 果胶酶活度的测定

为了快速简便的测定果胶酶的活性,并能比较直观的比较各种果胶酶之间的活性。本课题采用分光光度法来对果胶酶的活性进行测定。

3.4.1 分光光度法测定果胶酶的原理

果胶酶是指分解果胶质的多种酶的总称,它可分为两大类:解聚酶和果胶酯酶。果胶酶广泛存在于植物果实和微生物中。果胶质主要是由D-半乳糖醛酸以 α -1,4糖甙键连接形成的直链状的聚合物。其中,部分D-半乳糖醛酸上的羟基可为甲醇所酯化形成甲酯。果胶酶作用 α -1,4糖甙键,水解得到D-半乳糖醛酸。其分子结构如图3.1所示。

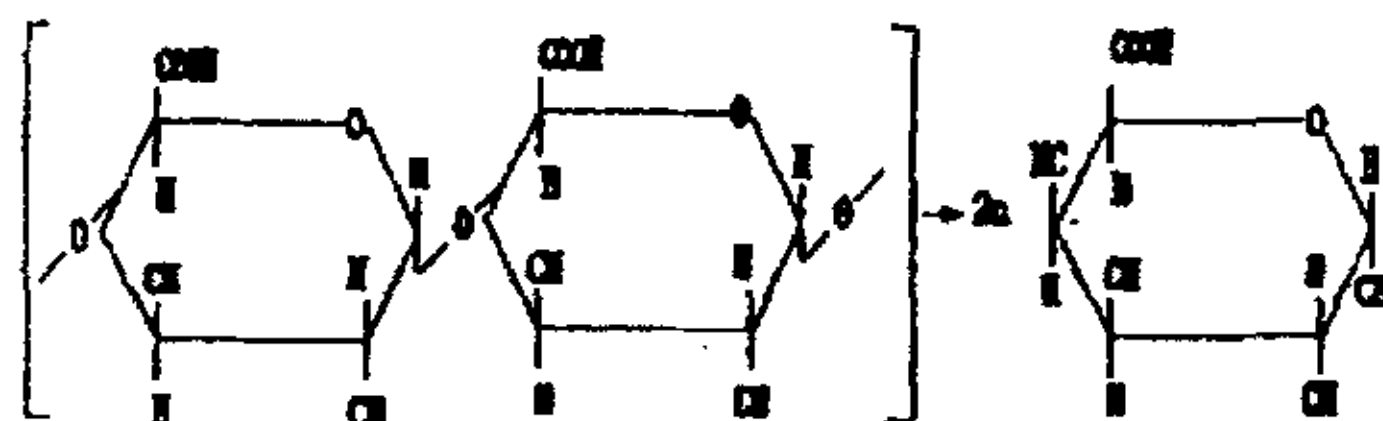


图 3.1 果胶质分子结构

D-半乳糖醛酸是一种还原糖，与 3,5-二硝基水杨酸共热后被还原成棕红色的氨基化合物，在一定的范围内，还原糖的量和反应液的颜色强度呈比例关系，可利用比色法进行测定^[40]。

果胶酶活性国际单位定义为：在 pH = 4.4，45℃条件下，每分钟水解果胶质产生 1 μmol 半乳糖醛酸所需的酶量为一个酶单位。

3.4.2 材料与仪器

材料：大麻麻皮原料（来自云南工业用大麻实业有限公司）；3,5-二硝基水杨酸（又称 DNS 试剂），D-半乳糖醛酸，果胶（购自 Sigma 公司），pH=4.4 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液，二次去离子水（电导率小于 1.5 us/cm）。

仪器：电热恒温循环水浴锅、25ml 容量瓶、1.5ml Eppendorf 管、1000 μl 微量加样器、吸管、SPX-150B 型生化培养箱、MN03447（USA）连续波长生物测读仪、5417R 冷冻离心机。

3.4.3 实验方法

3.4.3.1 3,5-二硝基水杨酸（DNS）试剂的配制

按照文献[41]配制。

溶液一：称取苯酚 6.9g，溶于 15.2ml 10%氢氧化钠溶液中，用蒸馏水稀释至 69ml，在此溶液中加入 6.9g 亚硫酸氢钠；

溶液二：1.3.2 称取 3,5-二硝基水杨酸 8.8g，溶于 880ml 蒸馏水中；

溶液三：称取酒石酸钾钠 255g，加到 300ml 10%氢氧化钠溶液中，再加到溶液二中；将溶液一和溶液三混合，即为黄色 DNS 试剂，贮于棕色瓶中，在室温下放置 7~10 天后使用（可存放一年）。

3.4.3.2 制样取样方法

将 30g 大麻原麻两份分别浸渍到 750ml 水中，用封口膜将容器口封好，并恒温 28℃放于 SPX-150B 型生化培养箱中。（方法同 4.1.2）间隔一定时间取一定量的浸渍液测定果胶酶的活度。

由文献[42]得到用分光光度法测定果胶酶的最佳波长为 520nm。

3.4.3.3 果胶酶活性测定

取大麻浸渍液过滤，做为所需测定的酶液，吸 2ml 与 2ml 0.4%果胶溶液混合，在 45℃恒温水浴中反应 30min，然后加入 1.5ml DNS 试剂，在沸水中加热 5min，冷却后定容至 25ml。最后用 MN03447 (USA) 连续波长生物测读仪在 520nm、28℃下测定果胶酶的活性。

3.5 有效菌种的分离与选定

对具有较强果胶分解能力的细菌进行分离选定，并测定其活性，将分离后的单菌株的活性与上面浸渍液的果胶酶活性相比较，搞清细菌与细菌之间是否具有协同作用。

3.5.1 材料与仪器

材料：果胶(购自 Sigma 公司)、无菌水、 K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 、 $(NH_4)_2SO_4$ 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $CaCl_2$ 、琼脂、70%酒精。

仪器：无菌培养皿、接种环、接种针、玻璃涂布器、酒精灯、三角烧瓶、量筒、试管、ML-S-3750 高温灭菌锅、MIR-253 冷冻生化培养器、SPX-150B 型生化培养箱、AB204-S 电子天平、Heidolph MR3001 磁力变温搅拌器、1.5ml Eppendorf 管、微量加样器 (1000 μ l、200 μ l)、Thermo ELECTRON CORPORATION 恒温摇床、MN03447 (USA) 连续波长生物测读仪、MCV-131BNS (T2) 无菌操作台。

3.5.2 实验方法

3.5.2.1 菌种的纯化及其培养基

(1) 配制果胶选择性培养基^[43]

K_2HPO_4 , 16.266g/L; KH_2PO_4 , 0.899g/L ; $(NH_4)_2SO_4$, 1.2g/L ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.883g/L; $CaCl_2$, 0.075g/L (pH=7.2); 琼脂, 2.0g/L; 果胶 (或木质素), 4.0g/L。配好后用高压蒸汽灭菌，然后放置待用。

(2) 连续稀释分离法^[44]

取 100 μ l 的大麻浸渍液，在火焰旁加到有 900 μ l 无菌水的 1.5ml Eppendorf 管内，浸渍液的稀释度为 10^{-1} 。在火焰处打开无菌塑料吸嘴，用无菌塑料吸嘴吸取浸渍液 100 μ l，加到一个盛有 900 μ l 无菌水的 1.5ml Eppendorf 管内，制成稀释度为 10^{-2} 的浸渍液，轻轻摇动试管，使液体均匀。然后再用无菌塑料吸嘴吸取浸渍液 100 μ l，加到另一个盛有 900

μ l 无菌水的 1.5ml Eppendorf 管内, 制成稀释度为 10^{-3} 的浸渍液, 用混匀器使液体均匀。同法按每级稀释 10 倍的次序得到 10^{-4} 、 10^{-5} 的浸渍稀释液。接着用无菌塑料吸嘴依次将稀释液分别吸 0.2ml 加到编号相对应的培养皿内。

(3) 平板的制作及培养

将已熔化的培养基到入无菌培养皿, 制成无菌平板, 冷却凝固后, 将一定量的某一稀释度的样品液滴加在平板表面, 再用无菌玻璃涂棒将菌液均匀分散至整个平板表面, 经培养后挑取单个菌落。

(4) 平板划线分离:

用接种环以无菌操作蘸取少许待分离的浸渍液, 在无菌平板表面进行平行划线, 一般方法是先在平板培养基的一边做第一次平行划线 2~3 条, 转动培养皿约 70° 角, 用烧过冷却的接种环, 通过第一次划线部分做第二次平行划线, 用同样的方法通过第二次平行划线做第三次平行划线。

(5) 将平板划线分离出来的细菌再进行连续稀释分离, 方法同 (2)。

(6) 斜面培养 (固体):

将配制好的培养基分装试管, 每管装液量为管高的五分之一, 高压灭菌后, 经自然冷却, 待气压降至零时, 将高压锅的锅盖打开, 当棉塞水分充分蒸发后取出, 不用拆捆, 直接摆成斜面。

(7) 液体培养

在液体培养基上 (K_2HPO_4 , 16.266g/L; KH_2PO_4 , 0.899g/L; $(NH_4)_2SO_4$, 1.2g/L; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.883g/L; $CaCl_2$, 0.075g/L (pH=7.2); 果胶 (或木质素), 4.0g/L, 用新鲜的种子菌接种, 放入 Thermo ELECTRON CORPORATION 恒温摇床 ($30^{\circ}C$, 150rpm) 培养。在培养过程中每 24h 测一次果胶酶的活性, 方法同 3.4.3.3。

3.5.2.2 有效菌种的选定

从斜面培养得到的单菌落中挑取少量菌苔, 用液体培养基 (配制方法比固体培养基少了琼脂) 在恒温摇床中培养, 每隔 24 小时按照 3.4.3.3 方法测定每种细菌的果胶酶活性, 然后比较同种水质中产生的细菌的果胶酶活性, 挑选出每种水质浸渍过程中所产生的具有较强分解果胶能力的细菌进行进一步鉴定分析^[45]。

3.6 有效菌种的鉴定

进一步鉴定在用不同水质浸渍过程中产生的具有较强果胶分解能力的细菌,是为了分析得到哪种属类的细菌有较强的分解果胶能力,可以用于今后的大麻微生物脱胶研究。

3.6.1 材料与仪器

材料:果胶(购自 Sigma 公司)、无菌水、 K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 、 $(NH_4)_2SO_4$ 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $CaCl_2$ 、琼脂、70%酒精、结晶紫、95%乙醇、草酸铵、碘、碘化钾、沙黄、dNTP、Buffer、氯化镁、Taq 酶、牛肉膏、蛋白胨、NaCl、无菌生理盐水(0.85%, pH=5.5~7.0)、火棉胶。

仪器:无菌培养皿、接种环、接种针、玻璃涂布器、酒精灯、三角烧瓶、量筒、试管、ML-S-3750 高温灭菌锅、MIR-253 冷冻生化培养器、GR-B2071GVC 电冰箱、AB204-S 电子天平、U.S.PATENT G-560E 混匀器、Heidolph MR3001 磁力变温搅拌器、1.5ml Eppendorf 管、微量加样器(1000 μ l、200 μ l)、Thermo ELECTRON CORPORATION 恒温摇床、连续波长生物测读仪、MCV-131BNS (T2) 无菌操作台、Olympus CH 型光学显微镜、凝胶电泳仪 PowerOAC 及电泳槽、无菌棉签、Biolog 公司的革兰氏阴性细菌鉴定系统 GN-2 Microplate、JEM-1230 型透射电镜、载体铜网膜。

3.6.2 实验方法

3.6.2.1 ERIC 指纹图谱分析

ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) 是最初在部分革兰氏阴性菌基因组中发现的一个长度为126bp的,以多拷贝形式存在的反向重复序列^[46]。以该序列的中心保守区域(44bp)设计反向引物,无论进行纯菌还是混和细菌菌群的基因组DNA扩增,均能得到对模板遗传组成有足够敏感性和重复性好的指纹图谱。ERIC-PCR指纹图谱技术是一种简便快速、重复性好、灵敏度适中的能较好反映复杂微生物群落主要种群组成特性的分子监测手段^[47~48]。

DNA提取方法请参见文献[49~51],ERIC-PCR引物由上海生工公司合成,序列如下:ERIC1 (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3'),ERIC2-(5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3')。对各DNA样品进行ERIC-PCR 扩增,25 μ l的反应体系中含有2 μ ldNTP (2.5mmol/L), 2.5 μ l10 $\times$ Buffer, 2 μ lMgCl₂ (25mmol/L) 和0.5 μ l Taq 酶 (5U/l)。引物

量为12.5pmol, DNA 模板量70ng。ERIC-PCR 扩增反应程序: 反应循环为95℃预变性7min, 94℃ 1min, 52℃ 1 min, 65℃ 8min, 共30循环, 最后65℃终延伸16min。

3.6.2.2 革兰氏染色

按照文献[52]对选出来的具有较强果胶分解能力的细菌进行革兰氏染色。

(1) 染剂 (Hucker 修改法)

① 结晶紫的混合液

甲液: 结晶紫	2.0g,	乙醇 (95%)	20ml
乙液: 草酸铵	0.8g,	蒸馏水	80ml

将甲、乙两液相混, 静置 48h 后过滤使用。此染液较稳定, 在密闭的棕色瓶中可储存数月。

② 碘液

碘	1.0g
碘化钾	2.0g
蒸馏水	300ml

先用少量(3~5ml)蒸馏水溶解碘化钾, 再投入碘片, 待碘全溶解后, 加水稀释至 300ml。

③ 脱色液

95%乙醇

丙酮乙醇溶液: 乙醇 (95%)	70ml
丙酮	30ml

④ 复染液

0.5%的番红 (Safranin O) 水溶液

番红 2.5%的乙醇溶液	20ml
蒸馏水	80ml

(可将 0.5%的番红 O 乙醇溶液作为母液, 使用时再稀释)

(2) 染色步骤

- ① 用接种针挑取少许菌苔, 涂布在干净玻片上的一滴无菌水或蒸馏水中, 风干固定。
- ② 结晶紫的混合液染 1min 后, 用水洗。
- ③ 碘液作用 1min, 水洗, 风干。
- ④ 用 95%乙醇或丙酮乙醇溶液脱色, 流滴至洗脱液至无色 (约 30s)。

⑤ 用番红液染 2~3min, 水洗, 风干。

(3) 结果观察

深紫色为革兰氏染色阳性细菌; 红色为革兰氏染色阴性细菌。

(4) 注意事项

① 所观察的细胞一般为 24h 的培养物;

② 染色结果可疑时, 以金黄色葡萄球菌为阳性对照菌, 以大肠埃希氏菌为阴性对照菌。

3.6.2.3 形态观察

(1) 菌落形态观察

复筛得到的菌株, 在 NBRIP 平板上划线, 30℃ 培养, 24h 后观察菌落的形态。

(2) 菌体形态观察

① 火棉胶准备:

2g 火棉胶溶于 100 ml 醋酸异戊酯中;

② 载样膜的制备:

先把铜网膜用浓硫酸浸漂 2min, 再用水洗数次, 最后将洗净的铜网膜铺在有滤纸的培养皿中。轻轻注入无菌水, 取配置好的火棉胶液滴一滴在水面上, 由于火棉胶在水面上的表面张力形成一薄膜, 将第一、二次的膜除掉, 薄膜形成后迅速用吸管在培养皿的边缘处吸去水分, 直至吸干, 使膜紧紧贴在铜网上为止, 室温干燥备用。

③ 点样:

将生长丰茂的菌株制成菌悬液, 用毛细管吸取菌液并滴在铜网上。也可以用贴印法, 即用制好的铜网在有气生菌丝体的菌块上轻轻印一下, 然后, 在光学显微镜下先检查一下网是否完整, 及菌是否贴上或分布均匀。然后喷碳或投影 (通常用于细菌鞭毛观察), 便可在透射电子显微镜下观察或投影。

3.6.2.4 Biolog 细菌自动鉴定系统分析

近年来, 随着临床微生物学的发展, 微生物鉴定自动化的研究越来越得到重视与发展。目前应用较多的商品自动鉴定系统主要有: VITEK 系统、MIDI 系统、BIOLOG 系统、SENSITITRE 系统、AUTOSCEPTOR 系统及 MICROSCAN 系统等^[53]。

本课题所采用的 Biolog Microstation 自动鉴定系统是 Biolog 公司根据细菌代谢的氧化-

还原过程与 1989 年推出的适合于环境和临床细菌鉴定的系统。该系统依据每种细菌形成各自特有的“代谢指纹”图谱为鉴定依据^[54-55]，具有数据库广、鉴定范围大、自动化程度高、操作简便、快速鉴定菌种的特点，受到人们的广泛重视^[56-58]。

(1) 培养基

牛肉膏蛋白胨琼脂培养基：牛肉膏 0.3~0.5g，琼脂 2.0g，蛋白胨 1.0g，NaCl 0.5g，蒸馏水 100ml，pH 为 7.2~7.4。

将果胶选择性培养、分离纯化后的四种细菌（1416、2309、3508 和 4448）接种到牛肉膏蛋白胨琼脂培养基上培养 24h。

(2) 菌悬液准备

用无菌棉签擦下几个单菌落于生理盐水（85%，NaCl，pH =5.5~7.0）中；制成菌悬液，用紫外分光光度仪在波长 402nm 下，调透过率为 0.2~0.5A。

(3) 培养及细菌生理特征^[59]

利用 Biolog 公司的革兰氏阴性细菌鉴定系统确定碳源。菌株活化培养后，用平板密集划线的方法培养 24h，用接种环取菌到稀释液中，比色，使稀释液达到合适浓度。然后接种菌液 150 μ l 到 96 孔板^[60]，平版型号为 GN2，30℃培养 24h，观察结果，确定菌株对碳源的利用。

将观察到的结果输入计算机，利用 Biolog Microlog1 4.0IB 软件程序分析。将所得菌株对碳源利用情况菌株数据库，利用 SMUPGMA 分析软件，与数据库进行比较，确定菌株名称和分类地位。

第四章 大麻纤维最佳高温高压脱胶工艺确定

为了搞清大麻纤维的耐海水腐蚀性是哪种化学成分在起作用，是纤维素本身还是其纤维表面的胶杂质，那要比较大麻原麻纤维与脱胶大麻纤维的耐海水腐蚀性能，我们首先必须对大麻纤维进行脱胶处理。

相关的研究已经探讨了沤麻、化学、生物酶和蒸汽爆破等大麻纤维的脱胶方法，从经济、环保、效果和时间等方面而言蒸汽爆破的工业应用价值较高，但此方法不够安全，因为它的操作温度和压力太大。本课题主要研究采用了较安全、易操作高温脱胶的技术处理大麻纤维，对大麻纤维脱胶和纤维快速分离进行研究。以改善大麻纤维的品质，增强其可纺性；能尽可能降低处理成本；缩短脱胶的时间；减少水资源和能源的损耗；降低劳动强度、改善工作环境、提高人身安全保障系数。

4.1 最佳工艺条件确定

根据文献[61~63]设计的三水平三因素（温度、氢氧化钠用量及硫化钠用量）的大麻脱胶正交实验，如表 4.1 所示。

表 4.1 正交实验设计

因素	温度 /℃	氢氧化钠 %	硫化钠 %	平平加 0 %
实验一	150	6	0.7	1
实验二	150	7	0.78	1
实验三	150	8	0.86	1
实验四	160	6	0.78	1
实验五	160	7	0.86	1
实验六	160	8	0.7	1
实验七	170	6	0.86	1
实验八	170	7	0.7	1
实验九	170	8	0.78	1

为了确定合适的脱胶工艺，我们各种不同方法对大麻进行了脱胶试验，条件见表4.1。脱胶前后的大麻纤维化学成分参照国家标准 GB5889—86《苧麻化学成分分析方法》进行测试，结果如表4.2所示。

表4.2 脱胶前后的大麻纤维化学成分

(%)

品种 \ 成分	半纤维素	纤维素	木质素	脂蜡质	水溶物	果胶质	金属物质
原麻	18.65	54.69	6.21	2.67	8.24	7.72	1.82
试样一	7.282	86.87	2.548	0.096	0.841	0.956	0.54
试样二	4.521	91.17	1.214	1.033	1.007	0.398	0.653
试样三	3.091	93.49	0.974	1.105	0.688	0.074	0.578
试样四	7.224	87.62	1.291	1.957	0.51	0.10	1.294
试样五	4.545	90.19	2.006	1.757	0.299	0.224	0.975
试样六	4.395	91.09	0.799	1.526	0.69	0.141	1.358
试样七	5.003	88.45	2.599	1.799	0.746	0.144	1.256
试样八	4.336	91.4	1.02	1.535	0.681	0.023	0.991
试样九	3.435	92.8	0.15	1.756	0.573	0.021	1.288

从表 4.2 可以看出, 大麻原麻纤维的胶质含量较高, 占到 46%左右, 其中半纤维素和木质素含量都较高, 而纤维素含量较低; 大麻原麻化学成分中, 半纤维素和木质素的含量对纤维的可纺性和染色性有很大影响。因此, 在高温脱胶过程中应优化工艺配方, 加强对半纤维素和木质素的去除。脂蜡质成分有助于提高纤维的可纺性, 对于脂蜡质含量少的大麻纤维, 在梳麻前的给油加湿过程中, 应适当增加给油率, 并重视乳化油成分, 以提高起可纺性。果胶和水溶物的含量较高, 但在碱煮过程中容易去除。

比较表 4.2 中脱胶前后大麻纤维的化学成分, 明显看到经过高温脱胶后半纤维素、木质素、脂蜡质含量大大减少, 果胶和水溶物在纤维中含量的明显减少, 说明在高温脱胶的过程中很容易去除。从表中还可以看出纤维素含量大大增加, 高温脱胶的效果明显。三号试样的纤维素含量最高, 脱胶效果最好。

在相同的温度下, 脱胶温度 150℃的一、二、三号试样以及 170℃的七、八、九号试样, 纤维素含量递增, 而半纤维素、木质素、果胶含量递减; 160℃的四、五、六号试样, 纤维素含量递增, 半纤维素含量递减, 这与实验中碱含量的多少有关。氢氧化钠含量的多少直接影响到半纤维素和木质素的去除。碱含量越大, 去除胶质的能力越强。

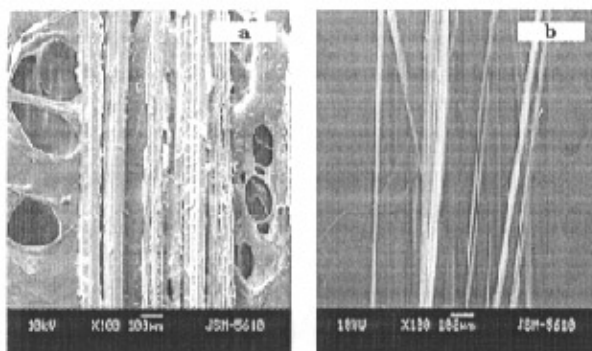
实验在相同的碱含量情况下, 对比一、四、七号试样和二、五、八号试样, 得到温度越高, 脱胶效果越好。可知当氢氧化钠的含量较低时, 温度越高, 脱胶的效果越好。

因此, 最佳的脱胶工艺为: 氢氧化钠 8%, 硫化钠 0.86%, 平平加 O 1%, 160℃, 浴比 1:20。

4.2 表面形态和红外图谱分析

4.2.1 表面形态观察

用扫描电镜对最佳脱胶工艺处理的大麻纤维和大麻原麻的表面形态进行观察，其结果如图 4.1 所示。

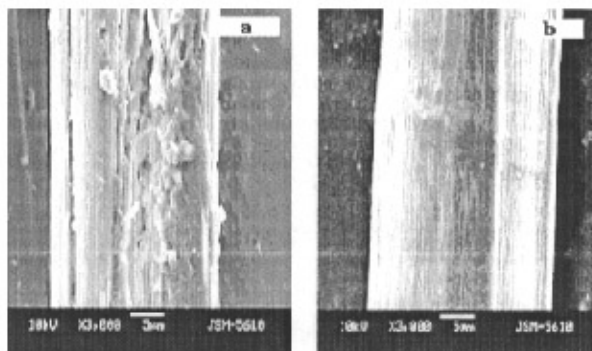


a—大麻原麻； b—脱胶大麻

图 4.1 大麻纤维脱胶前后 100 倍扫描电镜图

从图 4.1 可以看出，原麻表面有木质素等非纤维素物质，比较粗糙，不平整。用高温高压脱胶后的大麻纤维束清晰、表面光滑、纤维分离度好。证明大麻纤维的高温高压脱胶对大麻纤维结构无不良影响，适合用于大麻纤维的脱胶。

大麻纤维脱胶前后的单纤维扫描电镜照片如图 4.2 所示。



a—大麻原麻； b—脱胶大麻

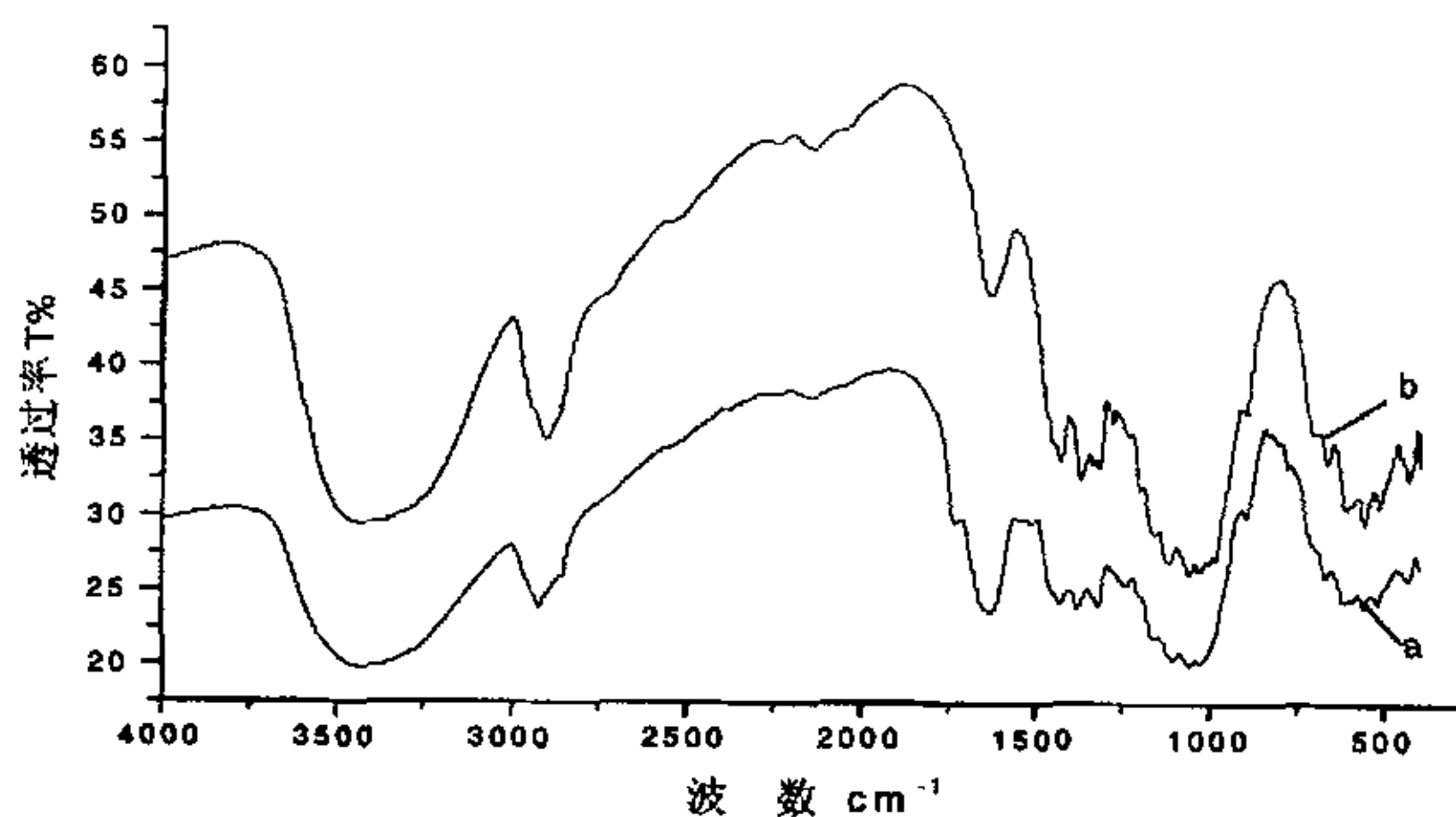
图 4.2 大麻纤维脱胶前后单纤 3000 倍扫描电镜图

从图 4.2 可以看出，高温高压脱胶后的大麻纤维束清晰、表面光滑、不遭破坏，证明大麻纤维的高温高压脱胶是半脱胶，对大麻纤维结构无不良影响^[48]。为了提高大麻纤维的

可纺性和染色性能,其脱胶的主要对象是木质素及部分半纤维素,因此可说明木质素和半纤维素大部分分布在大麻纤维的表面。

4.2.2 红外图谱分析

对脱胶前后大麻纤维进行了傅立叶红外透过测定分析,结果如图 4.3 所示。



a—大麻原麻; b—脱胶大麻

图 4.3 脱胶前后大麻纤维的红外光谱图

从图 4.3 可以看出,大麻中 β -D 葡萄糖苷键特征峰在 895.10cm^{-1} 处^[42]的吸收值变化很小,说明纤维素在高温高压处理过程中结构变化不大。 1734.26cm^{-1} 吸收峰是半纤维素的特征峰,该峰高温高压处理后几乎消失,表明大量的半纤维素已去除。 1631.03cm^{-1} 和 1507.69cm^{-1} 为木质素的特征吸收峰,在 1631.03cm^{-1} 处变化不是很明显,但在 1507.69cm^{-1} 处吸收峰趋于消失,说明高温高压脱胶处理有利于部分木质素的去除。

4.3 本章小结

- (1) 高温高压脱胶是一种快速高效的脱胶方法,适合于大麻纤维的脱胶;
- (2) 最佳的脱胶工艺为:氢氧化钠 8%,硫化钠 0.86%,平平加 0.1%, 160°C ,浴比 1:20;
- (3) 经高温高压脱胶处理后的大麻纤维表面明显变光滑,纤维束清晰,纤维素的比例明显增加,大麻中的半纤维素、果胶、脂蜡质、水溶物均得以大量去处,木质素的含量与结构也都发生了变化。

第五章 大麻纤维灭菌方法确定

为了更好的比较并了解微生物在海水对大麻纤维浸渍处理过程中的影响作用,以及较准确的得到是哪部分的微生物在起主要作用,我们必须对脱胶前后的大麻纤维及其浸渍液进行有效的灭菌处理。

灭菌是指用高温或其他物理和化学的方法将所有的微生物完全破坏或除去。目前,灭菌方法有很多种。但是不同的灭菌方法对大麻纤维的理化性能有着不同程度的影响,为了尽量使灭菌前后大麻纤维的理化性能保持稳定,所以选择一种相对较理想的灭菌方法是非常重要的。

5.1 灭菌方法概述

(1) 高压蒸汽灭菌法

高压蒸汽灭菌是利用蒸汽释放的热能使微生物细胞中的蛋白质、酶和核酸分子内部的化学键,特别是氢键受到破坏,引起不可逆的变性,从而使微生物死亡。在有水分存在的情况下,蛋白质更易受到破坏^[64]。适用于一般培养基、玻璃器皿、无菌水、金属用具。一般培养基在 121.3℃ 灭菌 20min 即可。

(2) 紫外线(UV)灭菌法

紫外线灭菌法是利用紫外线使 DNA 分子中相邻的嘧啶形成嘧啶二聚体,抑制 DNA 复制与转录等功能,杀死微生物。紫外线波长在 2000~3000Å 之间都有杀菌作用,尤其以 2500~2700Å 的杀菌作用最强^[65]。但不同种微生物对不同波长紫外线的敏感度不一样,致死剂量大小也有差异。紫外线的穿透力弱,只能用于表面灭菌,对固体物料灭菌不彻底,也不能用于液体物料的灭菌。

(3) 电离辐射(γ射线及电子束)灭菌法

电离辐射灭菌法使用的辐射源主要是放射性同位素钴-60 产生的 γ 射线及加速器产生的高能电子束。这种方法是一种环保型灭菌方法:它的灭菌工艺容易控制(只需要控制辐照剂量);灭菌彻底、不存在热对流和气体扩散问题;因为它是在常温下进行的,方法实用于各种对热敏感的材料制品;可连续大规模生产;产品不会产生感生放射性且无任何污染。

5.2 灭菌方法确定

5.2.1 不同灭菌方法对大麻纤维强力的影响

不同的灭菌方法对大麻纤维的理化性能有着不同程度的影响, 为了尽量使灭菌前后大麻纤维的理化性能不变化, 所以选择一种较理想的灭菌方法是很重要的。在这里我们选用三种灭菌方法, 分别是高压蒸汽灭菌法、紫外线灭菌法和电离辐射灭菌法对脱胶前后的大麻纤维进行灭菌处理。经不同灭菌方法处理后的大麻纤维强力如表5.1所示。

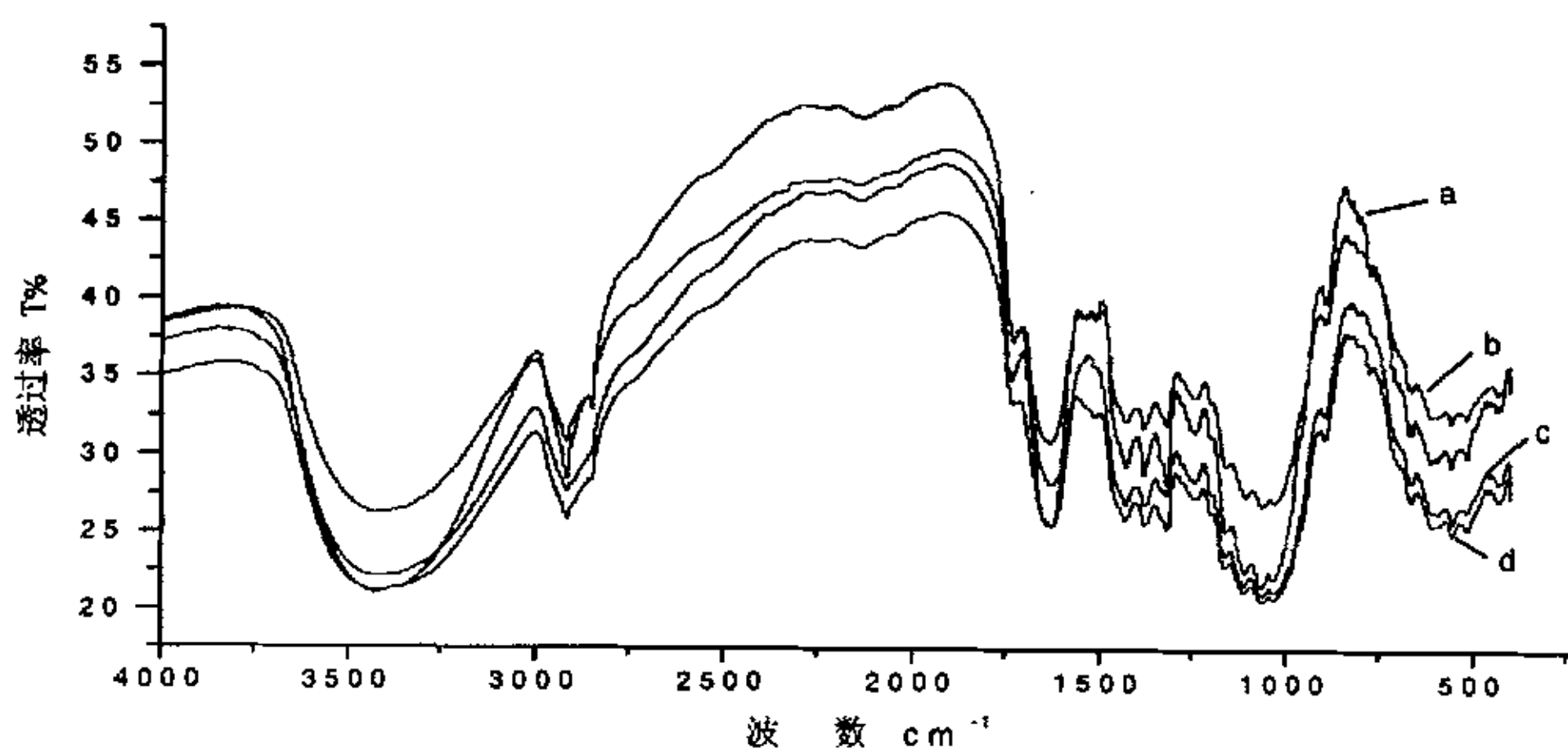
表5.1 不同灭菌方法处理后的大麻纤维强力 (N/tex)

	未灭菌	高压蒸汽灭菌	紫外线灭菌	电离辐射灭菌
原麻纤维强力	11.7646	11.2803	10.9395	11.4836
脱胶麻纤维强力	10.7952	10.2438	9.1532	10.7773

从表5.1可以看出, 经紫外线灭菌处理后的原麻纤维和脱胶麻纤维的强力下降较明显, 经高压蒸汽灭菌处理后的原麻纤维和脱胶麻纤维的强力也有所下降。若在排除实验误差的情况下, 只有经电离辐射灭菌处理后的原麻纤维和脱胶麻纤维的强力与原麻纤维和脱胶麻纤维强力相当。所以从强力测试来看, 电离辐射灭菌法对大麻纤维的强力影响最小, 可以视为最佳灭菌方法。

5.2.2 不同灭菌方法处理后的大麻纤维红外谱图

对不同灭菌方法处理后的原麻纤维进行傅立叶红外透过测定分析, 其结果如图5.1所示。

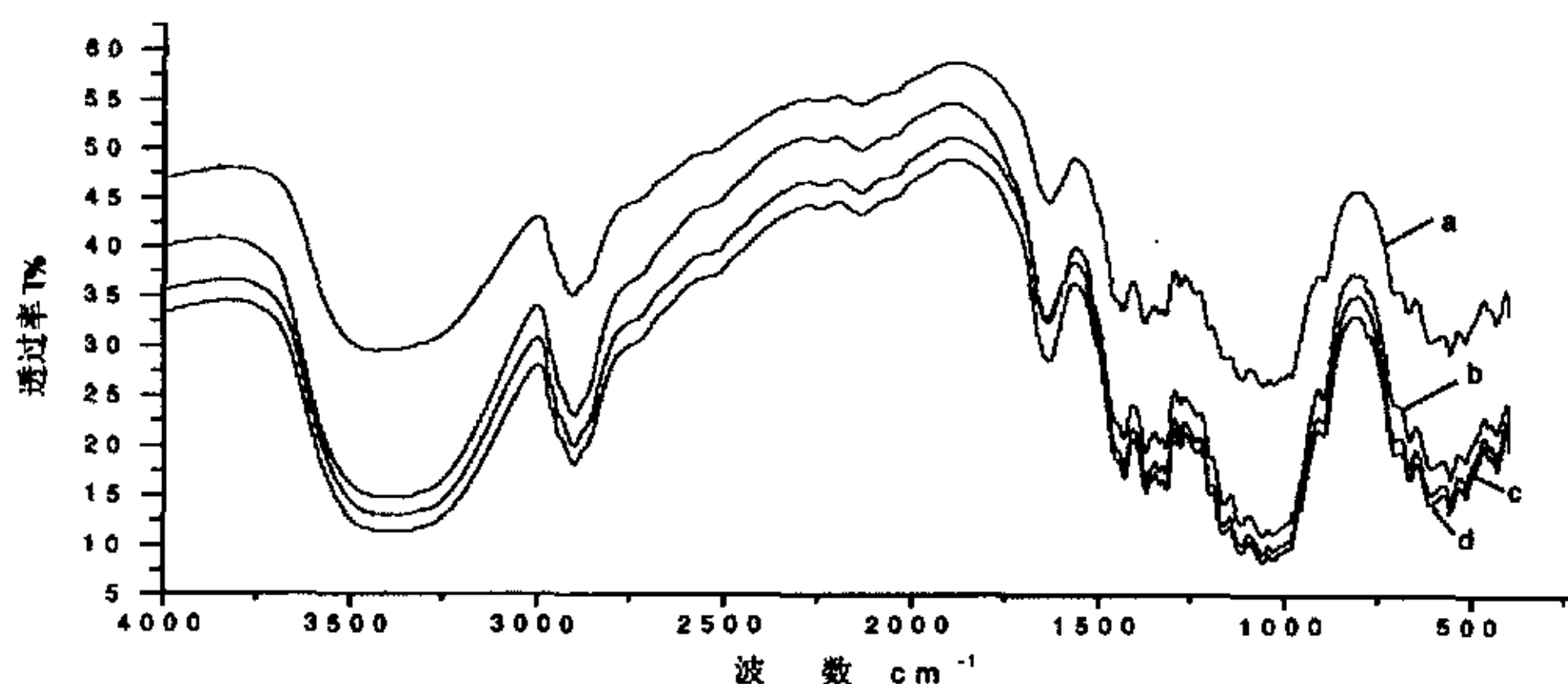


a—原麻: b—电离辐射: c—紫外线: d—高压蒸汽

图5.1 不同方法灭菌前后的原麻红外光谱图

根据相关的参考文献[66~67]得到, 图 5.1 中大麻纤维红外吸收峰的归属为: $3600\sim 3200\text{cm}^{-1}$ 为 OH 的伸缩振动, 2860cm^{-1} 是 C-H 和 CH_2 的伸缩振动, 1431cm^{-1} 代表 CH_2 的弯曲振动, 896cm^{-1} 是 C-H 的弯曲振动, 以上是纤维素的特征吸收峰, 他们在经不同方法灭菌后的变化不大, 说明纤维素在灭菌前后变化较小; 1732cm^{-1} 是半纤维素的特征吸收峰, 灭菌处理前后该峰几乎没有变化, 表明大量的半纤维素没有减少或增加; 1637cm^{-1} 和 1546cm^{-1} 是木质素的特征吸收峰, 在 1637cm^{-1} 处变化不是很明显, 但用紫外线和高压蒸汽方法灭菌的大麻纤维红外光谱图在 1546cm^{-1} 处的吸收峰有变化, 只有用电离辐射灭菌方法与大麻原麻纤维的红外光谱图几乎是一致的, 说明用紫外线和高压蒸汽方法灭菌对大麻原麻纤维上的部分木质素有影响, 我们选择用电离辐射方法灭菌才能保证灭菌前后大麻纤维上化学成分不变化。

对不同灭菌方法处理后的脱胶麻纤维进行傅立叶红外透过测定分析, 其结果如图 5.2 所示。



a—脱胶大麻; b—紫外线; c—高压蒸汽; d—电离辐射

图 5.2 不同方法灭菌前后的脱胶大麻红外光谱图

从图 5.2 可以看出, 在 895.1cm^{-1} 处大麻纤维中的 β -D 葡萄糖苷键特征峰吸收值变化很小, 表明纤维素在灭菌过程中结构变化不大。 1735.79cm^{-1} 吸收峰是半纤维素的特征峰, 该峰经不同方法灭菌后几乎没有变化, 表明大量的半纤维素没有减少或增加。 1637.87cm^{-1} 和 1507.72cm^{-1} 为木质素的特征吸收峰, 其变化也不是很明显, 说明经不同方法灭菌处理后对脱胶大麻纤维上的木质素几乎没有影响。因此, 对于脱胶大麻纤维来说无论用紫外线、高压蒸汽或电离辐射方法灭菌对其化学成分几乎没有影响。

5.3 本章小结

采用电离辐射的方法来对大麻纤维进行灭菌, 对纤维的理化性能影响最小。

第六章 海水对大麻纤维浸渍效果的研究

大麻的脱胶是目前的大麻研究领域的热点问题，传统的天然沤麻方法是将原麻浸渍于河水等淡水中，让其自然发酵产生微生物将胶质去除。此方法不仅浪费有限的淡水资源，还污染环境。要是能用海水代替淡水来进行浸渍脱胶，那不仅可以有效的利用了大量的海水资源，还可保护有限的淡水资源。因此，本课题的研究，无疑具有很大的理论创新性和实际应用价值。

本课题首先比较了不同麻纤维的海水浸渍效果，筛选出优质麻纤维作为实验材料；接着比较大麻原麻与脱胶大麻纤维的耐海水腐蚀性，进一步确定大麻纤维中纤维素成分良好的耐腐蚀性能；然后再研究大麻纤维用海水浸渍处理效果。

6.1 不同麻纤维的耐海水腐蚀性能的比较

大麻纤维耐海水腐蚀性能好，坚牢耐用，这是世界所公认的，但为了更好的证实这个观点，在此本课题将对大麻、苧麻和亚麻这三种麻纤维进行海水浸渍处理，并比较它们的浸渍效果。

6.1.1 海水对不同麻纤维化学成分的影响

海水浸渍前后的麻纤维化学成分参照国家标准 GB5889—86《苧麻化学成分分析方法》进行测试，结果如表6.1所示。

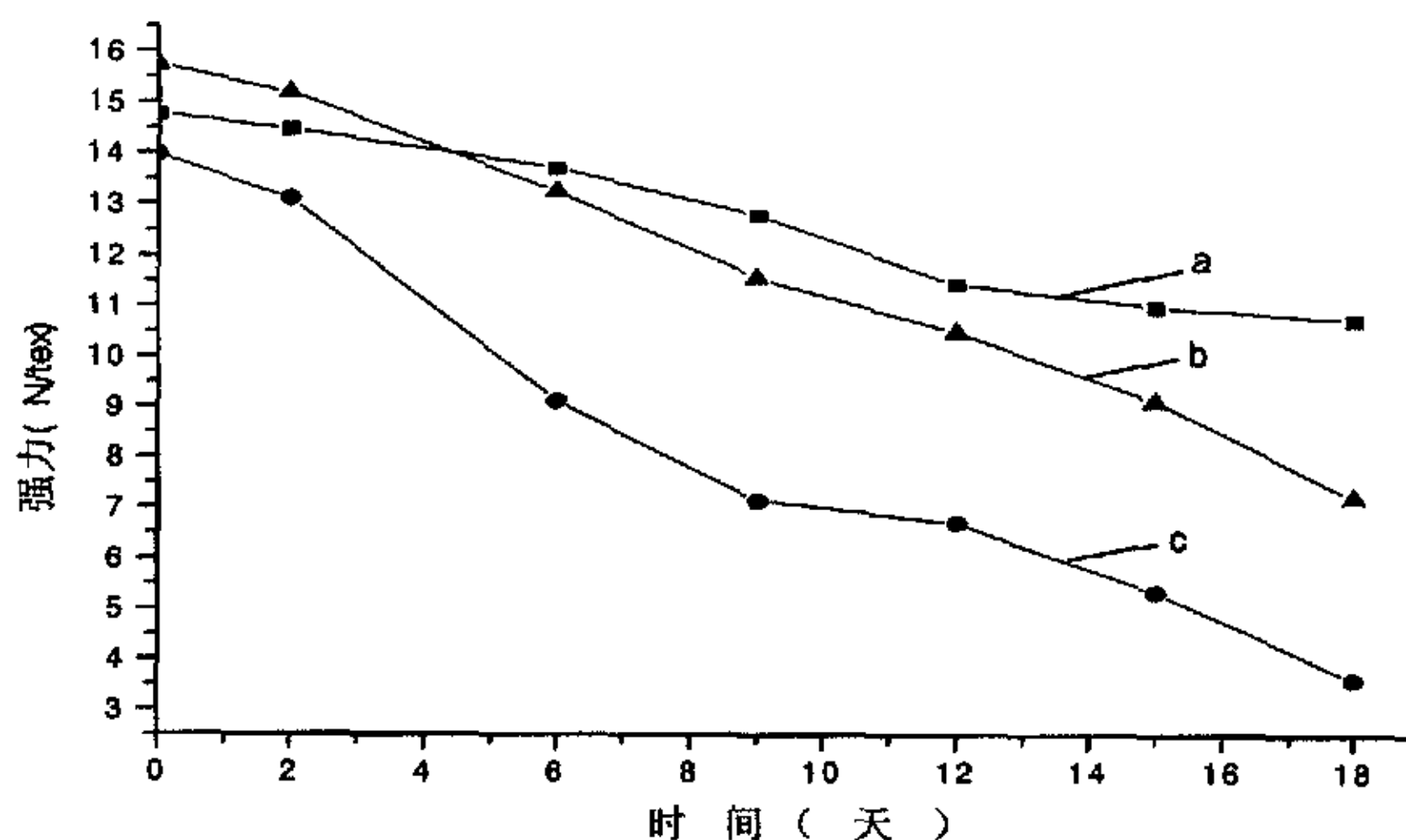
样品 \ 成分	半纤维素	纤维素	木质素	脂蜡质	水溶物	果胶质
大麻原麻	18.16	58.17	6.21	2.67	8.24	6.55
用海水浸渍过的大麻	15.80	76.70	3.00	1.47	1.68	0.35
苧麻原麻	14.58	72.61	2.03	2.20	2.81	5.77
用海水浸渍过的苧麻	10.91	82.96	1.54	1.07	2.34	1.18
亚麻原麻	16.76	69.97	3.83	2.22	4.27	2.95
用海水浸渍过的亚麻	14.72	76.99	2.96	1.65	1.45	2.23

从表 6.1 中可以看出，经海水浸渍后的三种麻纤维的化学成分都有不同程度的变化。原麻中纤维素含量低，而果胶质、木质素的含量较高。经海水浸渍后的大麻纤维中纤维素的含量明显提高，果胶、脂蜡质、水溶物等含量都大大降低，木质素的含量也明显降低，

但半纤维素的含量下降不明显。

6.1.2 纤维强力变化测定

用海水浸渍过程中三种麻纤维的强力变化如图 6.1 所示。



a—大麻; b—亚麻; c—苧麻

图 6.1 用海水浸渍过程中三种麻纤维的强力变化

从图 6.1 中可以看出,大麻纤维在经海水浸渍过程中其强力变化要比苧麻纤维和亚麻纤维来得小。在前两天三种纤维的强力变化不太明显,大麻纤维在第 6~12 天中纤维的强力有下降的趋势但幅度比苧麻和亚麻小,而且在浸渍到第 12 天以后大麻纤维的强力几乎没有什么变化。苧麻和亚麻在用海水浸渍的全过程中其强力一直呈下降趋势,特别是苧麻,到最后的纤维强力几乎趋于零。因此,从强力变化来看大麻纤维的耐海水性要比苧麻和亚麻好,但大麻纤维的耐海水性到底是纤维中的哪种成分在起主要作用,还有待于下面实验来进一步分析说明。

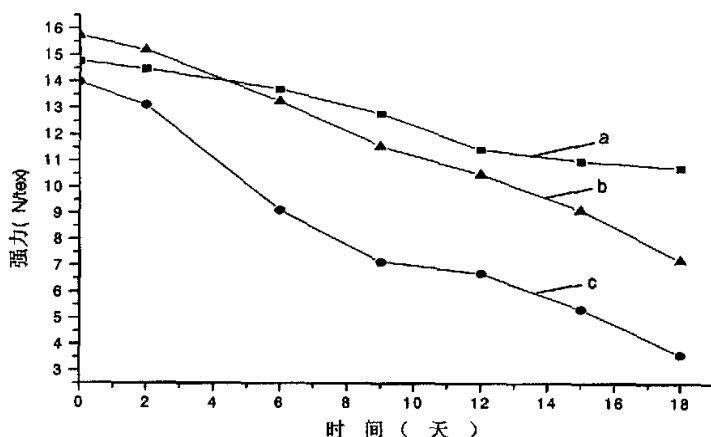
6.1.3 纤维表面形貌观察

用扫描电镜观测海水浸渍处理前后三种麻纤维的表面形貌图,见图 6.2 和图 6.3。

但半纤维素的含量下降不明显。

6.1.2 纤维强力变化测定

用海水浸渍过程中三种麻纤维的强力变化如图 6.1 所示。



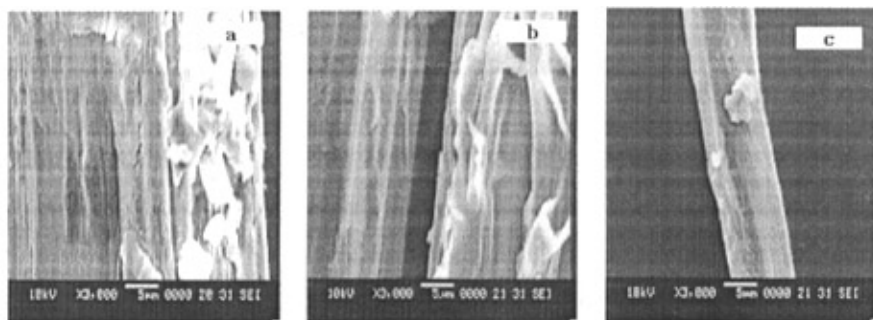
a—大麻； b—亚麻； c—苎麻

图 6.1 用海水浸渍过程中三种麻纤维的强力变化

从图 6.1 中可以看出，大麻纤维在经海水浸渍过程中其强力变化要比苎麻纤维和亚麻纤维来得小。在前两天三种纤维的强力变化不太明显，大麻纤维在第 6~12 天中纤维的强力有下降的趋势但幅度比苎麻和亚麻小，而且在浸渍到第 12 天以后大麻纤维的强力几乎没有什么变化。苎麻和亚麻在用海水浸渍的全过程中其强力一直呈下降趋势，特别是苎麻，到最后的纤维强力几乎趋于零。因此，从强力变化来看大麻纤维的耐海水性要比苎麻和亚麻好，但大麻纤维的耐海水性到底是纤维中的哪种成分在起主要作用，还有待于下面实验来进一步分析说明。

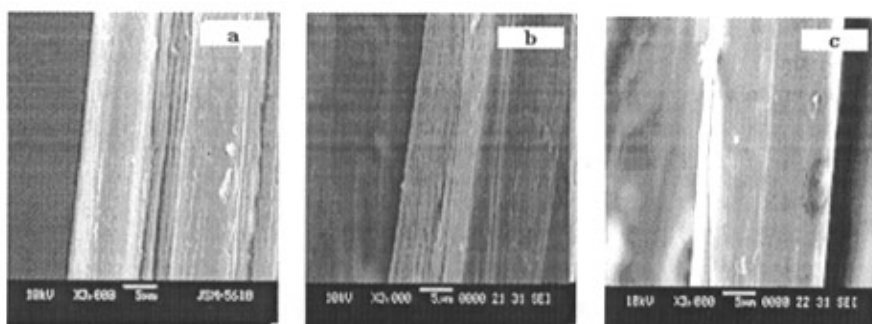
6.1.3 纤维表面形貌观察

用扫描电镜观测海水浸渍处理前后三种麻纤维的表面形貌图，见图 6.2 和图 6.3。



a—大麻； b—亚麻； c—苧麻

图 6.2 原麻纤维 3000 倍扫描电镜图



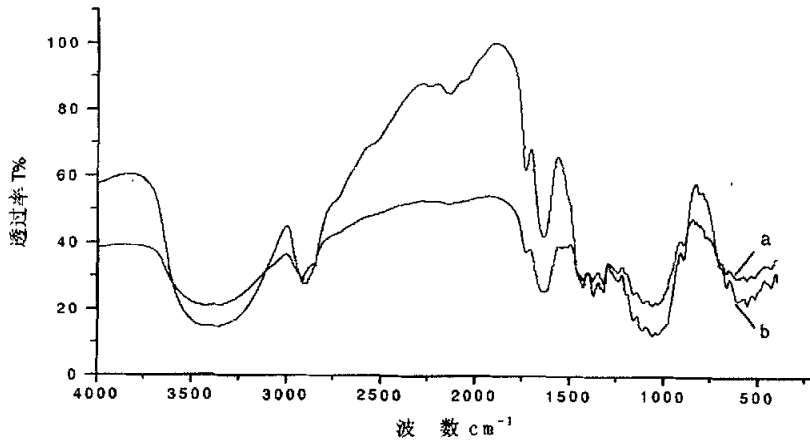
a—大麻； b—亚麻； c—苧麻

图 6.3 麻纤维经海水浸渍后的 3000 倍扫描电镜

从图 6.2、6.3 可以看出，原麻表面有木质素等非纤维素物质，比较粗糙，不平整。大麻和苧麻的原麻纤维表面的胶质要比亚麻原麻的胶质多。用海水浸渍处理后的三种麻纤维束清晰、表面光滑、纤维分离度好。证明麻纤维的海水浸渍对大麻纤维结构无不良影响。大麻纤维用海水浸渍 18 天后，纤维表面还残留一些杂质，可能是残留的半纤维素，若浸渍时间再长一点，大麻纤维表面的光滑度可能还会有所提高。

6.1.4 傅立叶红外光谱分析

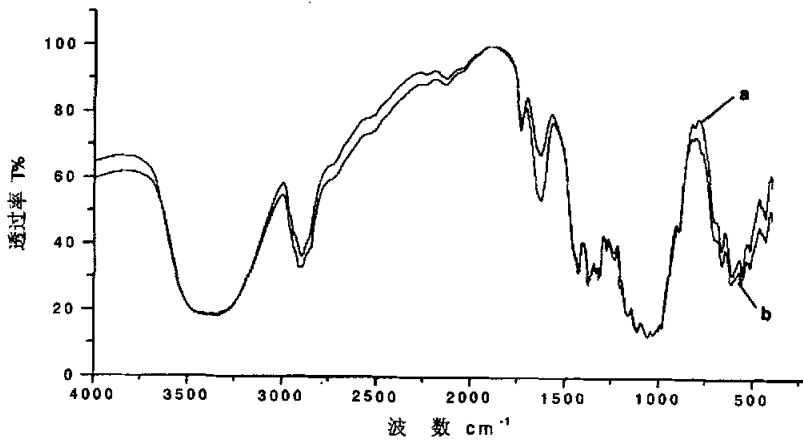
对用海水浸渍处理后大麻纤维及大麻原麻纤维进行了傅立叶红外透过测定，结果如图 6.4 所示。



a—大麻原麻； b—海水浸渍过大麻

图 6.4 海水浸渍前后大麻的红外光谱图

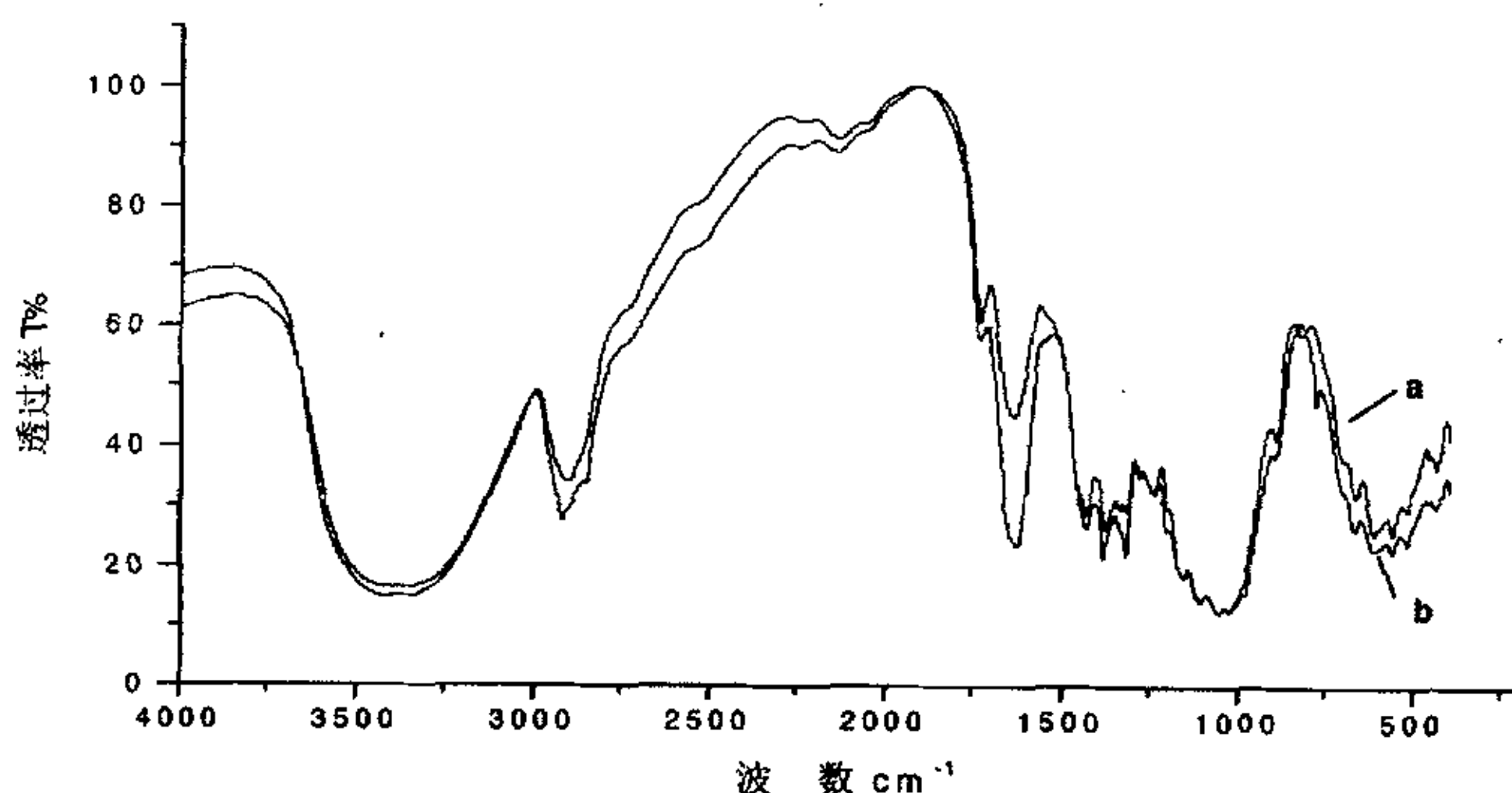
对用海水浸渍处理后苧麻纤维和苧麻原麻纤维进行了傅立叶红外透过测定，结果如图 6.5 所示。



a—苧麻原麻； b—海水浸渍过苧麻

图 6.5 海水浸渍前后苧麻的红外光谱图

对用海水浸渍处理后的亚麻纤维和亚麻原麻纤维进行了傅立叶红外透过测定，结果如图 6.6 所示。



a—亚麻原麻； b—海水浸渍过亚麻

图 6.6 海水浸渍前后亚麻的红外光谱图

根据相关的参考文献[66~67]得到, 图 6.4、6.5、6.6 中麻纤维红外吸收峰的归属为: $3600\sim3200\text{cm}^{-1}$ 为 OH 的伸缩振动, 2860cm^{-1} 是 C-H 和 CH_2 的伸缩振动, 1431cm^{-1} 代表 CH_2 的弯曲振动, 896cm^{-1} 是 C-H 的弯曲振动, 以上是纤维素的特征吸收峰, 他们在浸渍前后的变化不大, 说明纤维素在处理前后变化较小; 1732cm^{-1} 是半纤维素特征吸收峰, 浸渍处理前后该峰几乎没有变化, 表明大量的半纤维素没有减少, 这个结果与 2.1 大麻纤维化学成分分析的结果相符; 1637cm^{-1} 和 1546cm^{-1} 是木质素的特征吸收峰, 在 1637cm^{-1} 处变化不是很明显, 但在 1546cm^{-1} 处吸收峰趋于消失, 说明海水浸渍处理可以去除部分木质素, 这些与我们成分分析的结果相一致。

6.2 海水对大麻原麻和脱胶大麻的影响

一般用来纺纱织布的主要是利用天然纤维中的纤维素成分, 要是大麻纤维中的纤维素具有很好的耐海水性能, 那么用它来做成的织物也将具有良好的耐海水腐蚀性能。为了更好地了解大麻纤维的耐海水腐蚀性能主要是作用在纤维表面的胶质上还是在纤维素上, 本课题通过对大麻原麻和脱胶大麻进行海水浸渍处理, 再测试它们的理化性能来说明。

6.2.1 化学成分的变化

对脱胶前后的大麻纤维经海水浸渍后的化学成分参照国家标准 GB5889—86《苧麻化学成分分析方法》进行测试, 结果如表 6.2 所示。

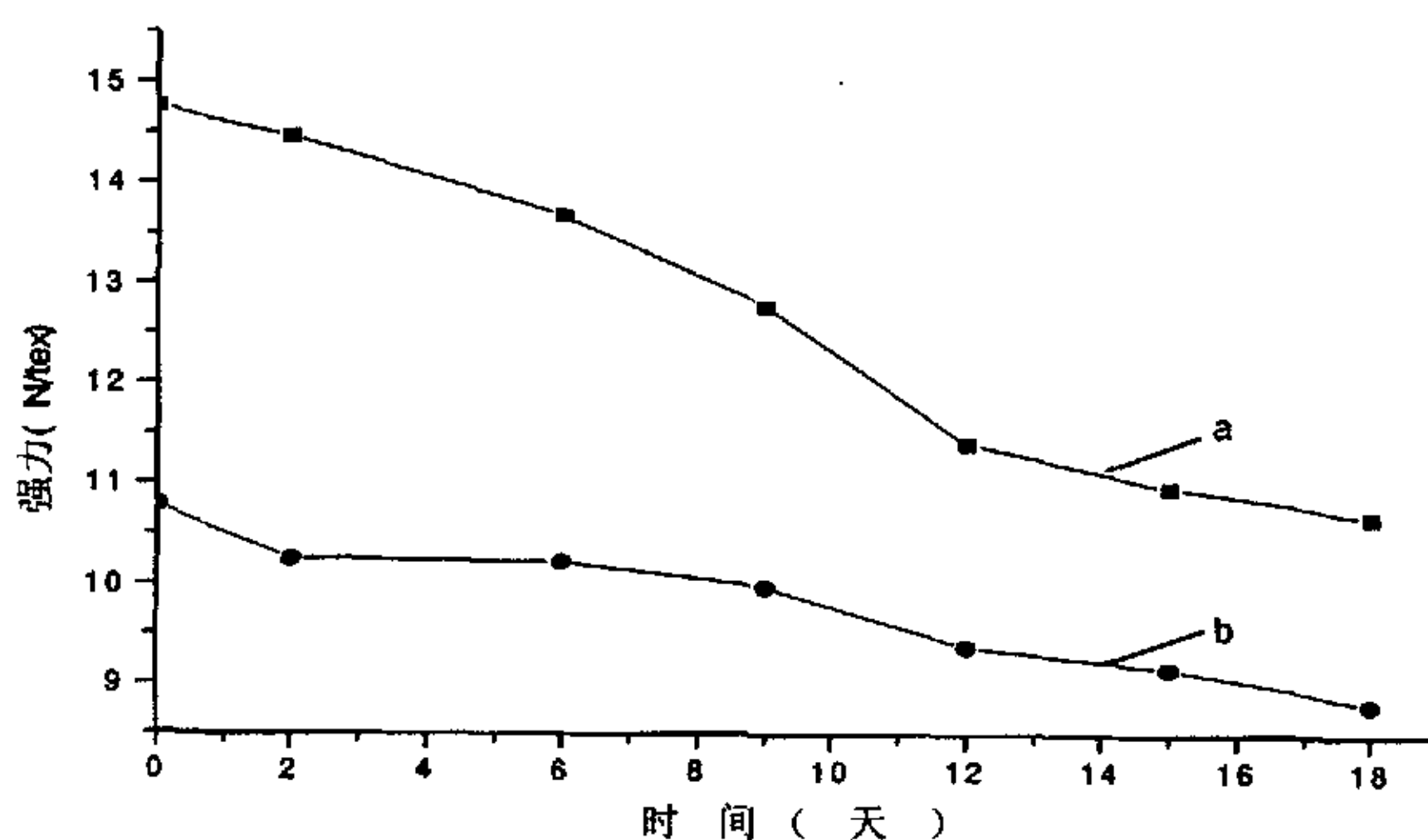
表6.2 脱胶前后的大麻纤维经海水浸渍后的化学成分 (%)

样品 / 成分	半纤维素	纤维素	木质素	脂蜡质	水溶物	果胶质
原麻	18.16	58.17	6.21	2.67	8.24	6.55
海水浸渍大麻	15.80	76.70	3.00	1.47	1.68	0.35
脱胶大麻	4.40	92.30	0.81	1.53	0.71	0.25
海水浸渍的脱胶大麻	3.45	98.49	0.77	0.69	0.38	0.22

从表 6.2 中我们可以发现, 大麻原麻经海水浸渍后果胶、脂蜡质、水溶物等含量都大大降低, 木质素的含量也明显降低, 但半纤维素的含量下降不明显。而脱胶大麻纤维的化学成分变化较小。从这里我们可以得到海水对大麻纤维上的纤维素影响较小, 而对原麻表面的胶质有影响, 其原因可能是在浸渍过程中产生一些分解胶质的微生物, 具体将会在下面第七章进行分析证实。

6.2.2 纤维强力变化测定

大麻原麻和脱胶大麻纤维在海水浸渍过程中的强力变化如图 6.7 所示。



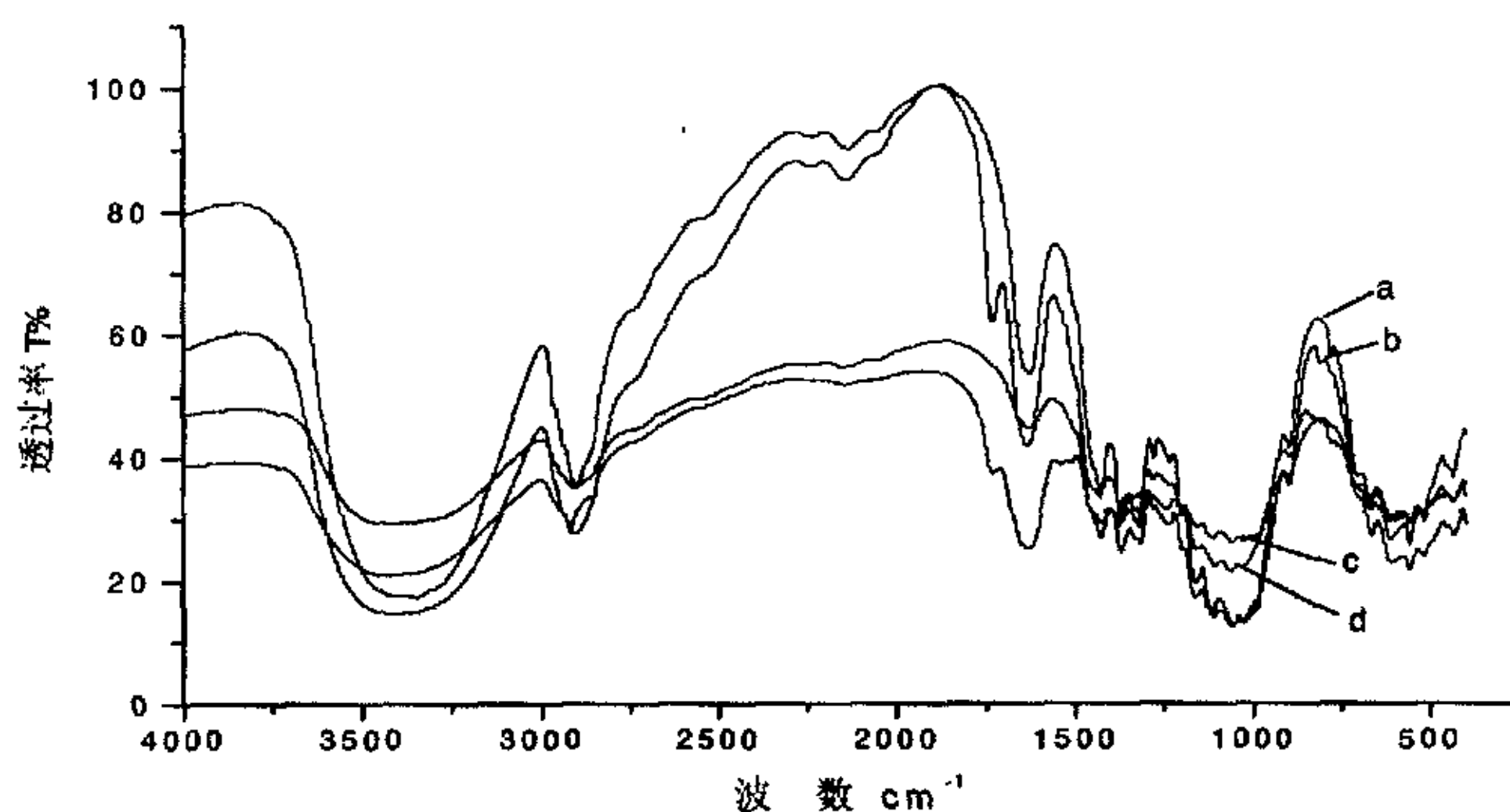
a—大麻; b—脱胶大麻

图 6.7 用海水浸渍过程中大麻和脱胶大麻纤维的强力变化

从图 6.7 中可以看出, 在用海水浸渍过程中大麻原麻纤维的强力在开始阶段下降较明显, 到第 12 天以后趋于稳定; 而脱胶大麻纤维的强力在整个浸渍过程中随时间波动较小。因此, 从这里再结合上面的化学成分分析我们可以初步断定大麻纤维的耐海水腐蚀性能主要是发生在纤维素部分。

6.2.3 傅立叶红外光谱分析

脱胶前后的大麻纤维经海水浸渍前后的红外光谱图如图 6.8 所示。



a—海水浸渍的脱胶大麻； b—海水浸渍大麻； c—脱胶大麻； d—原麻

图 6.8 脱胶前后的大麻纤维经海水浸渍前后的红外光谱图

根据相关的参考文献[68~69]得到，大麻纤维红外吸收峰的归属，结果如表 6.3 所示。

表 6.3 麻纤维红外谱图分析结果

波数 /cm ⁻¹	光谱归属和基团解释	波数 /cm ⁻¹	光谱归属和基团解释
3390	C-O 伸缩振动	1320	C=O 伸缩振动 (木质素)
2920	C-O 伸缩振动 (甲基和亚甲基)	1205	O-H 平面弯曲振动 (纤维素和半纤维素)
1735	C=O 伸缩振动 (聚木糖)	1160	C-O-C 伸缩振动 (纤维素和半纤维素)
1630	C=O 伸缩振动 (木质素)	1110	O-H 缔合光带 (纤维素和半纤维素)
1510	苯环的伸缩振动	1050	C=O 伸缩振动 (纤维素和半纤维素)
1426	CH ₂ 弯曲振动 (纤维素和木质素)	1030	C=O 伸缩振动(纤维素、半纤维素和木质素)
1380	CH弯曲振动 (纤维素和半纤维素)	896	β-糖苷键振动(碳水化合物特征峰)
1335	OH平面内形变 (纤维素)		

结合表 6.3 和图 6.8 可以看出，在 895.1cm^{-1} 处^[70]大麻纤维中的 B-D 葡萄糖苷键特征峰吸收值变化很小，表明纤维素在浸渍过程中结构变化不大。 1735.79cm^{-1} 吸收峰是半纤维素的特征峰，大麻在经海水浸渍处理后该峰几乎没有变化，表明大量的半纤维素没有减少，这个结果与表 6.2 大麻纤维化学成分分析的结果相符。 1637.87cm^{-1} 和 1507.72cm^{-1} 为木质素的特征吸收峰，在 1631.03cm^{-1} 处吸收峰变化不是很明显，但在 1507.69cm^{-1} 处吸收峰趋

于消失,说明海水浸渍处理大麻可以去除木质素。而脱胶大麻纤维在海水浸渍前后的红外图谱峰几乎没有变化,说明大麻纤维中的纤维素成分有很好的耐海水腐蚀能力。

6.3 盐的浓度对大麻纤维的影响

经实验测得,取于北仑港的海水中盐的浓度为 3%左右,因此我们用 0.5mol/L 食盐水溶液来模拟海水中盐的浓度。本实验用 0.5mol/L、1mol/L、2mol/L 和饱和食盐水溶液来浸渍处理大麻的原麻纤维,比较分析浸渍效果,用以更好的说明盐的浓度对大麻纤维在浸渍处理过程中的作用

6.3.1 盐的浓度对大麻纤维化学成分的影响

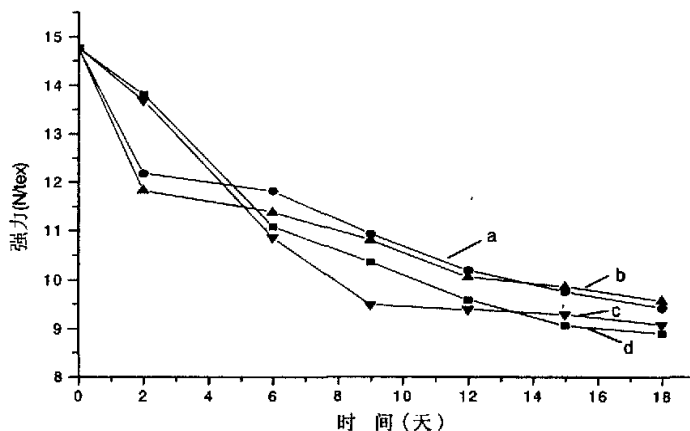
用不同浓度的盐溶液浸渍前后的大麻纤维化学成分参照国家标准 GB5889—86《苧麻化学成分分析方法》进行测试,结果如表6.4所示。

样品 / 成分	半纤维素	纤维素	木质素	脂蜡质	水溶物	果胶质
原麻	18.16	58.17	6.21	2.67	8.24	6.55
0.5mol/L盐水浸渍大麻	17.79	72.74	2.94	2.60	2.60	1.33
1mol/L盐水浸渍大麻	17.98	67.81	4.02	3.21	2.64	4.34
2mol/L盐水浸渍大麻	17.19	64.59	4.65	4.19	3.64	5.74
饱和盐水浸渍大麻	18.20	63.27	6.13	1.47	5.01	5.92

从图 6.4 中可以看出,经 0.5mol/L 食盐水溶液浸渍后的大麻纤维中果胶、脂蜡质、水溶物等含量都大大降低,木质素的含量也明显降低,但半纤维素的含量下降不明显。用 1mol/L、2mol/L 和饱和的食盐溶液来浸渍处理后的大麻纤维的化学成分与原麻相比较,没有太大的变化。而且随着食盐浓度的增大,大麻纤维中果胶、脂蜡质、水溶物、半纤维素和木质素等含量降低就越少。

6.3.2 纤维强力变化测定

对用 0.5mol/L、1mol/L、2mol/L 和饱和食盐水溶液来浸渍处理过程中的大麻纤维强力用 DCS-500 万能材料电子强力仪进行测定,其结果如下面图 6.9 所示。



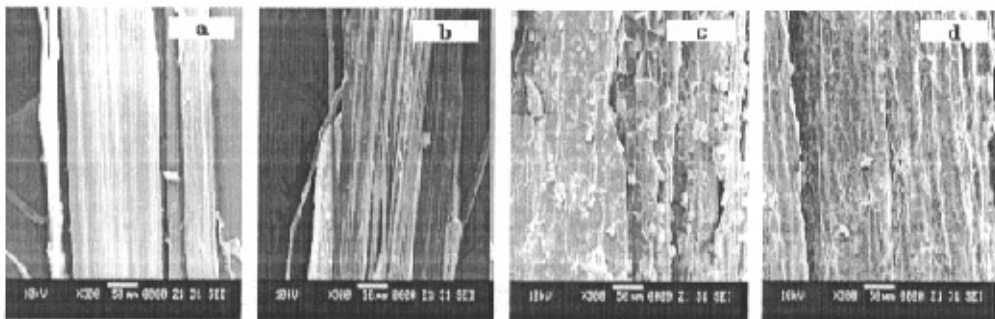
a—1mol/L 盐水； b—2mol/L 盐水； c—饱和盐水； d—0.5mol/L 盐水

图 6.9 用不同浓度盐水浸渍过程中大麻纤维的强力变化

从图 6.9 中可以看出，用 1mol/L 和 2mol/L 的食盐溶液来浸渍处理大麻纤维的过程中，前两天纤维强力随时间下降较快，接下来几天强力下降就不太明显。而用 0.5mol/L 和饱和的食盐溶液浸渍处理大麻纤维的过程中，强力下降要比用 1mol/L 和 2mol/L 的食盐溶液浸渍处理的明显，不过到最后几天纤维的强力几乎都是呈稳定值。结合 6.3.1 的化学成分分析得到，盐的浓度越高对大麻纤维的强力就下降越大。

6.3.3 扫描电镜观测

用扫描电镜观测 0.5mol/L、1mol/L、2mol/L 和饱和食盐溶液来浸渍处理后的大麻纤维的表面形貌，见图 6.10 和图 6.11。

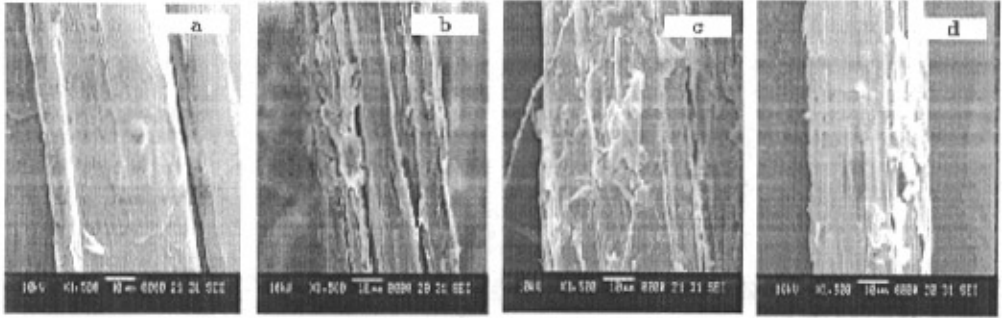


a—0.5mol/L 盐水； b—1mol/L 盐水； c—2mol/L 盐水； d—饱和盐水

图 6.10 用不同浓度盐水浸渍后大麻纤维的 300 倍的扫描电镜图

从图 6.10 可以看出，用 0.5mol/L 的食盐溶液来浸渍处理后的大麻纤维束清晰、表面

较光滑、纤维分离度较好。而随着食盐溶液浓度的提高，纤维束的分离度也就随之变差，表面也变得越来越粗糙。由此证明盐的浓度过大，对大麻纤维表面胶质的分解有一定的抑制作用。

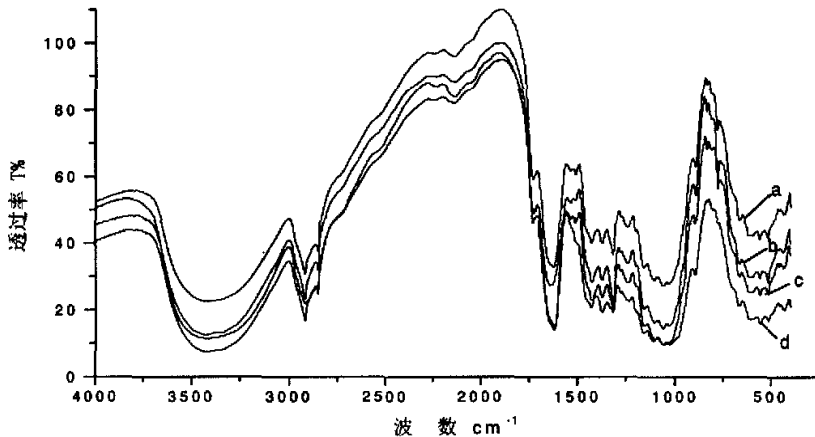


a—0.5mol/L 盐水；b—1mol/L 盐水；c—2mol/L 盐水；d—饱和盐水

图 6.11 用不同浓度盐水浸渍后大麻纤维的 1500 倍的扫描电镜图

从图 6.11 可以看出，用 0.5mol/L 的食盐溶液来浸渍处理后大麻纤维表面较光滑白洁，而用 1mol/L、2mol/L 和饱和的食盐溶液来浸渍处理后大麻纤维表面明显有大量的胶质，而且是随着盐的浓度的增大，纤维表面就变得越粗糙，胶质也越多。

6.3.4 红外光谱分析



a—1mol/L 盐水；b—饱和盐水；c—2mol/L 盐水；d—0.5mol/L 盐水

图 6.12 用不同浓度盐水浸渍后大麻纤维的红外光谱图

从图 6.12 可以看出，在 895.1cm^{-1} 处^[70]大麻纤维中的 B-D 葡萄糖苷键特征峰吸收值变化很小，表明纤维素在浸渍处理过程中结构变化不大。 1735.79cm^{-1} 吸收峰是半纤维素的特

征峰,该峰经浸渍处理后也几乎没有变化,表明大量的半纤维素没有减少,这个结果与 6.3.1 大麻纤维化学成分分析的结果相符。 1637.87cm^{-1} 和 1507.72cm^{-1} 为木质素的特征吸收峰,在 1631.03cm^{-1} 处变化不是很明显,但用 0.5mol/L 的食盐溶液来浸渍处理的大麻纤维在 1507.69cm^{-1} 处吸收峰趋于消失,说明用 0.5mol/L 的食盐溶液来浸渍处理可以去除大麻纤维中的木质素。而用 1mol/L 、 2mol/L 和饱和的食盐溶液来浸渍处理大麻纤维,在 1507.69cm^{-1} 处吸收峰仍存在,说明用高浓度的盐溶液来浸渍处理大麻纤维,不利于木质素的去除。

6.4 不同水质对大麻纤维的影响

为了更好的说明盐分、微生物对大麻纤维用海水浸渍处理过程中的影响作用,本实验采用 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水、灭菌海水浸渍处理大麻纤维,海水浸渍处理灭菌大麻纤维及灭菌海水浸渍处理灭菌大麻纤维,并比较分析它们的效果。

6.4.1 水质对大麻纤维化学成分的影响

不同水质浸渍前后的大麻纤维化学成分参照国家标准 GB5889—86《苧麻化学成分分析方法》进行测试,结果如表5.4所示。

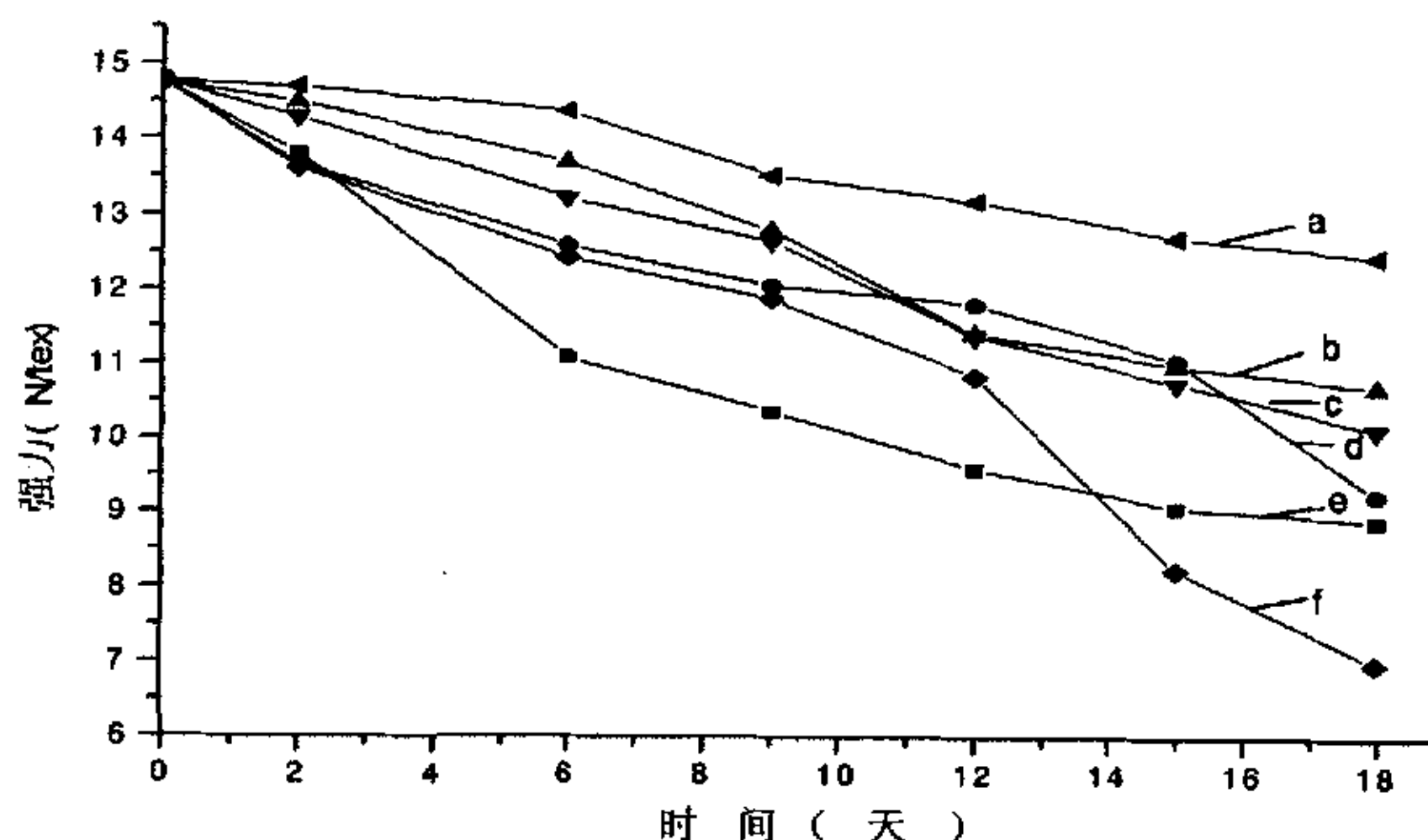
表6.5 浸渍前后的大麻纤维化学成分 (%)

样品 / 成分	半纤维素	纤维素	木质素	脂蜡质	水溶物	果胶质
原麻	18.16	58.17	6.21	2.67	8.24	6.55
用 0.5mol/L 盐水浸渍大麻	17.79	72.74	2.94	2.60	2.60	1.33
用灭菌海水浸渍大麻	16.96	73.68	3.79	1.76	2.62	1.19
灭菌大麻用海水浸渍	17.38	68.82	6.15	2.70	2.53	2.42
用海水浸渍大麻	15.80	76.70	3.00	1.47	1.68	0.35
用清水浸渍大麻	17.08	74.79	3.84	1.78	1.48	0.03
用灭菌海水浸渍灭菌大麻	17.97	69.43	6.20	1.41	2.61	2.38

从表 6.5 中可以看出,原麻中纤维素含量低,而果胶质、木质素的含量较高。经 0.5mol/L 盐水、清水和海水浸渍处理后的大麻纤维中果胶、脂蜡质、水溶物等含量都大大降低,木质素的含量也明显降低,但半纤维素的含量下降不明显。灭菌大麻用海水浸渍处理及用灭菌海水浸渍处理灭菌大麻后,大麻纤维中果胶、脂蜡质、水溶物等含量都有所降低,但果胶含量降低没有用 0.5mol/L 盐水、清水和海水浸渍处理的大,木质素和半纤维素的含量也下降不明显。同时,我们可以发现灭菌大麻经浸渍处理后木质素的含量没有什么下降,而且果胶含量也相对下降较少,表明大麻纤维上的微生物在浸渍过程中起了一定的作用。

6.4.2 纤维强力变化测定

对用 0.5mol/L 食盐水溶液、清水和海水浸渍处理大麻，用海水浸渍处理灭菌大麻来浸渍处理及用灭菌海水浸渍处理灭菌大麻过程中的大麻纤维用 DCS-500 万能材料电子强力仪进行强力测定，其结果如下面图 6.13 所示。



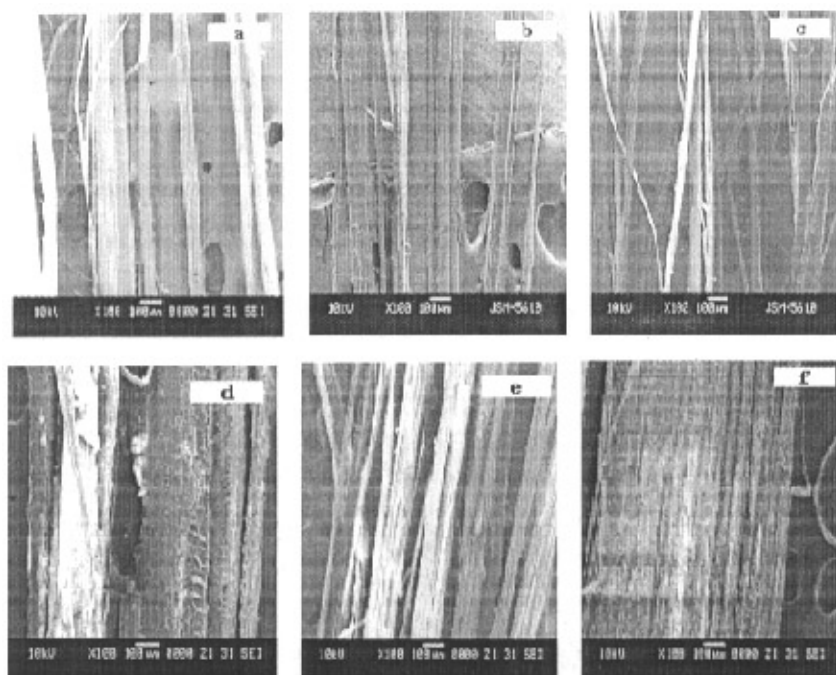
a— 灭菌海水（灭菌大麻）； b—海水； c—海水（灭菌大麻）；
d—清水； e—0.5mol/L 盐水； f—灭菌海水

图 6.13 用不同水质浸渍过程中大麻纤维的强力变化

从图 6.13 中可以看出，灭菌大麻用灭菌海水浸渍的过程中大麻纤维的强力几乎没有下降，说明海水中的盐成分或微量元素对大麻纤维的强力没有什么影响。大麻用灭菌海水浸渍过程中强力下降幅度最大。用 0.5mol/L 盐水、清水和海水浸渍及用海水浸渍灭菌大麻处理过程中大麻纤维的强力随时间也有所下降，但幅度不大，且强力从大到小顺序依次为海水、海水（灭菌大麻）、清水和 0.5mol/L 盐水。从图中还可以发现，除了用灭菌海水浸渍大麻外，其它的浸渍处理方法到最后强力几乎都趋于一个稳定值。结合 6.4.1 的化学成分分析得到，大麻纤维上的微生物对纤维素成分几乎没有影响，而对大麻纤维表面的胶质的影响较大。

6.4.3 扫描电镜观测

大麻纤维经不同水质浸渍处理后用扫描电镜对其表面观察，结果如图 6.14 所示。



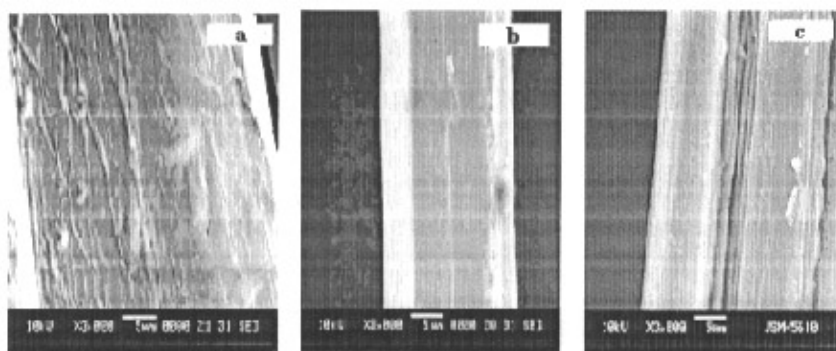
a—0.5mol/L 盐水； b—清水； c—海水；

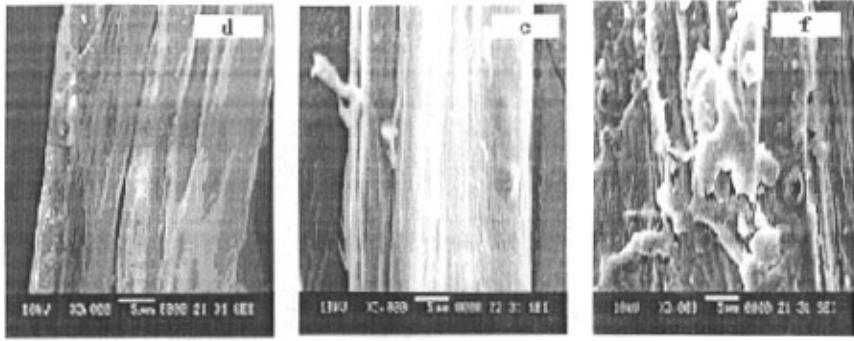
d—海水（灭菌大麻）； e—灭菌海水； f—灭菌海水（灭菌大麻）

图 6.14 用不同水质浸渍后大麻纤维的 100 倍的扫描电镜图

从图 6.14 可以看出，经 0.5mol/L 盐水、清水和海水浸渍及用海水浸渍处理灭菌大麻后的大麻纤维束清晰、表面光滑、纤维分离度好。证明大麻纤维的海水浸渍处理对大麻纤维中的纤维素结构无不良影响^[70]。而灭菌大麻用灭菌海水浸渍及用灭菌海水浸渍处理大麻后纤维表面仍存在大量的胶质，纤维几乎没有分离，仍以纤维束形式存在。

用不同水质浸渍处理后的大麻纤维单纤维扫描电镜照片如图 6.15 所示。





a—0.5mol/L 盐水； b—清水； c—海水；

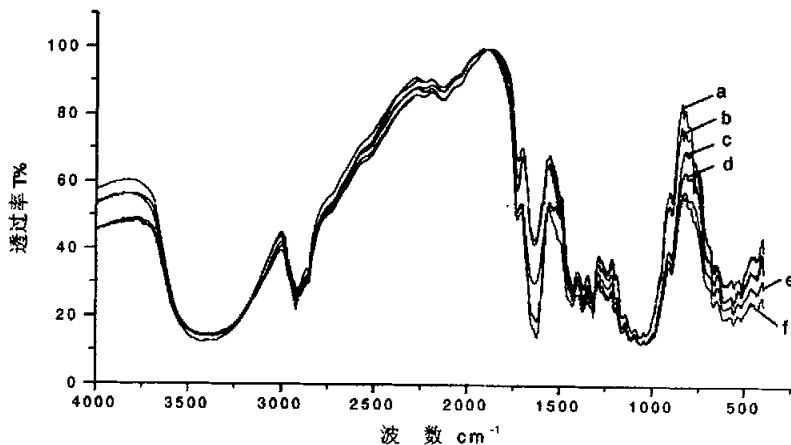
d—海水（灭菌大麻）； e—灭菌海水； f—灭菌海水（灭菌大麻）

图 6.15 用不同水质浸渍后大麻纤维的 3000 倍的扫描电镜图

从图 6.15 中可以看出，经 0.5mol/L 盐水、清水和海水浸渍处理及用海水浸渍处理灭菌大麻纤维后的大麻表面光滑洁白。从纤维表面上看，还残留一些杂质，可能是残留的半纤维素，若浸渍处理的时间再长一些，大麻纤维表面的光滑度可能还会提高。而灭菌大麻用灭菌海水浸渍处理及用灭菌海水浸渍处理大麻纤维后纤维表面仍存在大量的胶质，说明这两种处理方法不利于大麻纤维表面胶质的去除。

6.4.4 红外光谱分析

用不同水质浸渍处理过程中大麻纤维的红外光谱图，如图 6.16 所示。



a— 灭菌海水（灭菌大麻）； b—灭菌海水； c—清水；

d—海水（灭菌大麻）； e—海水； f—0.5mol/L 盐水

图 6.16 用不同水质浸渍后大麻纤维的红外光谱图

根据相关的参考文献[66~67], 图 6.16 红外吸收峰归属为: $3600\sim 3200\text{cm}^{-1}$ 为 OH 的伸缩振动, 2902cm^{-1} 是 CH 和 CH_2 的伸缩振动, 1429cm^{-1} 代表 CH_2 的弯曲振动, 879cm^{-1} 是 C-H 的弯曲振动, 以上是纤维素的特征吸收峰, 他们在处理前后的变化不大, 说明纤维素在浸渍处理前后变化较小; 1736cm^{-1} 是半纤维素的特征吸收峰, 从图中可以看出处理后该峰没有什么变化, 表明这些浸渍处理对半纤维素几乎没有影响; 1510cm^{-1} 是木质素的特征吸收峰, 用 0.5mol/L 盐水、清水和海水浸渍及用海水浸渍灭菌大麻处理后 1510cm^{-1} 处的峰变弱, 表明处理后木质素也得到部分脱出; 而灭菌大麻用灭菌海水浸渍处理及用灭菌海水浸渍处理后 1510cm^{-1} 处的峰没有什么变化, 表明处理后木质素仍大量存在, 这些都与 6.4.1 成分分析的结果相一致。

6.5 本章小结

- (1) 大麻纤维比苧麻及亚麻纤维的耐海水腐蚀性能要好;
- (2) 大麻纤维中耐海水腐蚀的成分主要为纤维素部分;
- (3) 海水、清水浸渍处理后的大麻纤维表面明显变光滑白洁, 纤维束清晰, 大麻纤维中果胶、脂蜡质、水溶物等含量都大大降低, 木质素的含量也降低较多, 但半纤维素的含量下降不明显;
- (4) 大麻纤维用海水浸渍处理的效果虽然不如用清水浸渍处理的, 但其去除木质素效果也较好, 从经济、环保和节省淡水资源考虑, 可以用海水来代替清水对大麻纤维进行浸渍处理来达到脱胶效果;
- (5) 高浓度的盐溶液对大麻纤维表面胶质的分解会产生抑制作用;
- (6) 大麻纤维上的微生物在浸渍处理过程中对纤维表面的胶质有影响, 而对纤维素成分几乎不产生作用。

第七章 有效菌种的研究

通过第六章的研究分析发现,微生物对大麻纤维用海水浸渍处理过程中的影响相当大,所以为了更进一步探讨和研究海水对大麻纤维浸渍处理的效果,我们首先测定了微生物生长量,在此基础上通过微生物的果胶选择性纯化培养和果胶酶活性测定,由此确定了具有较强果胶分解能力的细菌,然后采用 ERIC-PCR 指纹图谱分析,革兰氏染色,细菌形态和菌落特征分析和 Biolog 分析鉴定了这些细菌的属性。

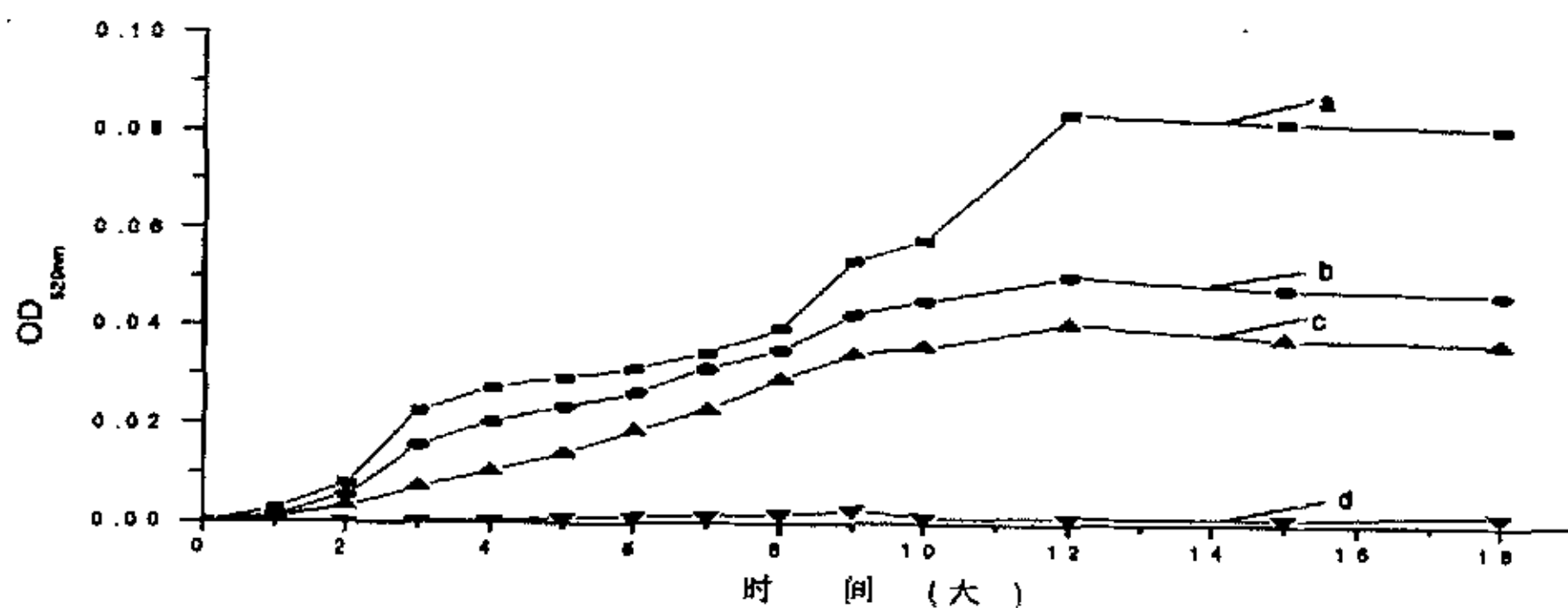
7.1 果胶酶活性测定

酶活性的测定也就是微生物生长量的测定,其方法有很多种,如:平板菌落计数法、涂片染色计数法、薄膜过滤计数法、DNA 测定法、比浊法等。

其中比浊法就是测定菌悬液中细胞数量的快速方法。其原理是菌悬液中的单细胞微生物,其细胞浓度与混浊度成正比,与透光度成反比。细胞越多,浊度越大,透光量越少。因此,测定菌悬液的光密度(或透光度)或浊度可以反映细胞的浓度。将未知细胞数的菌悬液浓度与已知细胞数的菌悬液相比,求出未知菌悬液中所含的细胞数。浊度计、分光光度仪是测定菌悬液细胞浓度的常用仪器。此法比较简便、直观。

7.1.1 盐分对果胶酶活性的影响

为了更好的说明盐分在海水浸渍处理大麻纤维过程中的作用,本实验用 0.5mol/L、1mol/L、2mol/L 和饱和食盐水溶液来浸渍处理大麻的原麻纤维,并测定浸渍液中的果胶酶活性,结果如下面图 7.1 所示。



a—0.5mol/L 盐水; b—1mol/L 盐水; c—2mol/L 盐水; d—饱和盐水

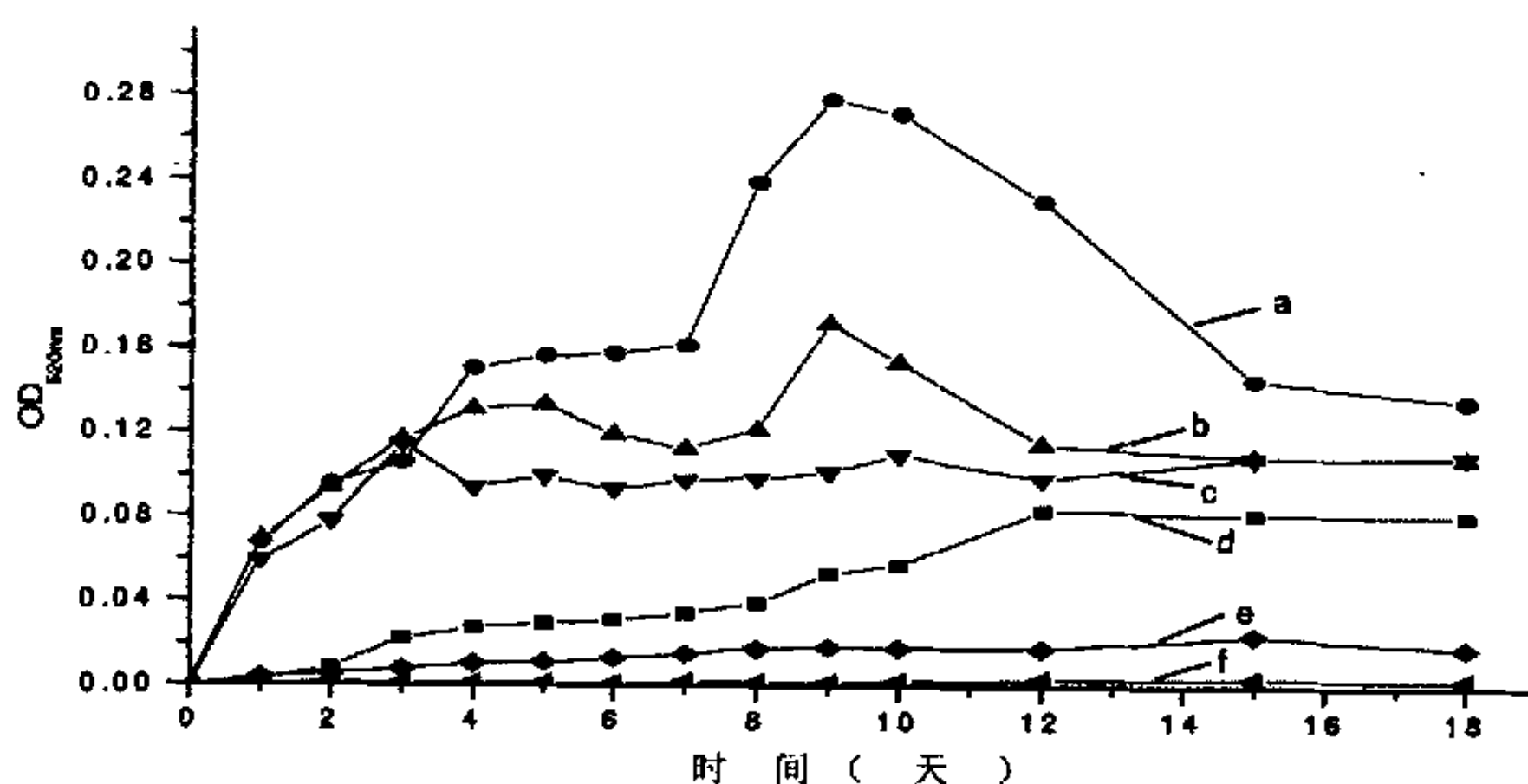
图 7.1 波长 520nm 处不同浓度盐水浸渍液中的果胶酶活性 (OD)

从图 7.1 中可以明显看出,用饱和食盐水溶液浸渍处理大麻纤维,浸渍液中果胶酶的活性几乎没有,也就是说在此浸渍液中没有产生具有分解果胶能力的细菌。而用 0.5mol/L、1mol/L、2mol/L 食盐水溶液浸渍过程中都有产生了具有分解果胶能力的细菌。用四种浓度的食盐溶液浸渍处理大麻纤维,所产生的果胶酶的活性从大到小的顺序依次为:0.5mol/L、1mol/L、2mol/L 和饱和食盐水溶液。因此,我们可以得到盐的浓度越高,果胶酶的活性就越弱,即盐的成分对果胶酶的活性有一定的影响。

7.1.2 不同水质对果胶酶活性的影响

为了更好的说明海水对大麻纤维浸渍处理的效果,本实验用 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍处理大麻纤维或灭菌大麻纤维,并测定浸渍液中果胶酶的活性,并比较分析果胶酶在浸渍过程中的作用。

用 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍处理大麻纤维或灭菌大麻纤维,根据文献[34]采用分光光度法对浸渍液中果胶酶的活性进行测定,其结果如图 7.2 所示。



a—清水; b—海水; c—灭菌海水;

d—0.5mol/L 盐水; e—海水 (灭菌大麻); f—灭菌海水 (灭菌大麻)

图 7.2 波长 520nm 处用不同水质浸渍液中果胶酶的活性 (OD)

从图 7.2 可以看出,大麻纤维用灭菌海水、海水和清水浸渍的开始阶段,浸渍液中果胶酶的活性大小和增长速度相当。从第 3 天以后三种浸渍处理方法所产生的果胶酶活性大小就开始产生差异,但用海水浸渍处理所产生的果胶酶活性要比用清水浸渍处理所产生的果胶酶活性低,而用灭菌海水浸渍处理所产生的果胶酶活性要比用海水浸渍处理所产生的果胶酶活性低。第 7 天开始用海水和清水浸渍处理所产生的果胶酶活性都开始快速增长,到第 9 天都达到最大值,之后就呈下降趋势,到第 12 天以后用海水浸渍处理所产生的果

胶酶活性趋于一个稳定值，第 15 天后用清水浸渍处理产生的果胶酶活性也出现一个稳定值，而用灭菌海水浸渍处理产生的果胶酶活性从第 3 天以后就没有发生变化。用 0.5mol/L 盐水浸渍处理过程中所产生的果胶酶活性要比用灭菌海水、海水和清水浸渍处理的低，在开始阶段也呈增长趋势，从第 12 天后也趋于一个稳定值。灭菌大麻用灭菌海水浸渍处理及用灭菌海水浸渍处理过程中果胶酶的活性几乎没有。因此，可以得到大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍处理大麻纤维的过程中起了主要作用，且盐的成分会抑制大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍处理过程中的作用。

7.2 有效菌种的分离与选定

由于从 7.1 的果胶酶活性测定的结果来看，我们可以发现大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍处理过程中起了主要作用，而且海水中的盐成分会抑制大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍处理过程中的作用。因此，下面我们对不同水质浸渍处理大麻纤维过程中所产生的具有果胶分解能力的细菌进行果胶选择性培养基分离纯化，测定它们的果胶酶活性并与前面浸渍液的果胶酶活性相比较，搞清细菌与细菌之间的是否具有协同作用。然后选出分解果胶能力较强的细菌以待下面鉴定分析。

7.2.1 菌株的纯化及记数

用 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍处理大麻纤维 7 天，然后将浸渍液中的细菌用果胶选择性培养基进行分离培养，四种浸渍液的顺序依次为 1、2、3 和 4。

1 号样经分离后得到的菌株有：1102（第一个 1 代表 1 号样，第二个 1 代表 1 号菌株，第 02 代表这种菌种的个数），1201，1303，1416，1504；

2 号样经分离后得到的菌株有：2102，2205，2309，2405；

3 号样经分离后得到的菌株有：3104，3201，3302，3403，3508；

4 号样经分离后得到的菌株有：4118，4212，4302，4448。

将这些菌株挑出来，在新的果胶选择性培养基上纯种培养。

7.2.2 单菌株活性测定及有效菌种的选定

将 7.2.1 中果胶选择性培养基分离纯化后的菌株用 3.4.3.3 的方法进行果胶酶活性测定，其结果如下表 7.1 所示。

表 7.1 在波长 520nm 处果胶酶活性 (OD)

菌株	24h	48h	72h
1102	0.160	0.276	0.320
1201	0.109	0.212	0.239
1303	0.081	0.185	0.214
1416	0.165	0.278	0.337
1504	0.177	0.254	0.320
2102	0.208	0.216	0.229
2205	0.187	0.233	0.275
2309	0.211	0.264	0.326
2405	0.205	0.215	0.245
3104	0.190	0.211	0.263
3201	0.202	0.256	0.344
3302	0.188	0.245	0.301
3403	0.207	0.306	0.333
3508	0.219	0.350	0.356
4118	0.169	0.295	0.324
4212	0.145	0.284	0.305
4302	0.146	0.320	0.357
4448	0.158	0.333	0.358

根据 OD 值（果胶酶在波长 520nm 处的活性）越大，果胶酶的活性就越大的原理。通过比较表 7.1 中果胶酶活性的数据，可以从 1、2、3、4 这四组细菌中选出每组 OD 值较大的细菌，分别是 1416、2309、3508 和 4448。也就是说这四种细菌为 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍处理液中生长的具有较强果胶分解能力的细菌。此外，我们将表 7.1 中单菌株的果胶酶活性数据与图 7.2 中浸渍液的果胶酶活性数据相比较，可以发现单一菌株的果胶酶活性要比浸渍液中多菌株组成的分解菌群低，说明在浸渍液中细菌与细菌之间存在着协同作用。

7.3 果胶分解菌的鉴定

从 7.2 已得到 1416、2309、3508 和 4448 分别为用 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍处理过程中所产生的具有较强果胶分解能力的细菌。下面对这四个细菌进行初步鉴定，并分析这些具有较强果胶分解能力的细菌所具有的属性。

7.3.1 ERIC-PCR 指纹图谱分析

对 1416、2309、3508 和 4448 进行 ERIC-PCR 指纹图谱分析, 结果见图 7.3。从图中可以发现 1416、2309、3508 和 4448 这四种细菌的指纹图谱明显不同, 由此可以初步确定, 这四种细菌都互不相同。

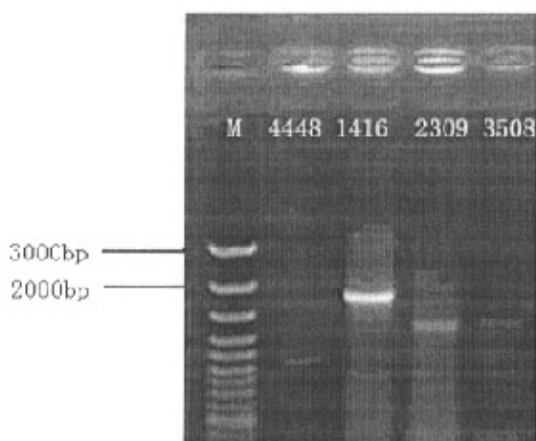


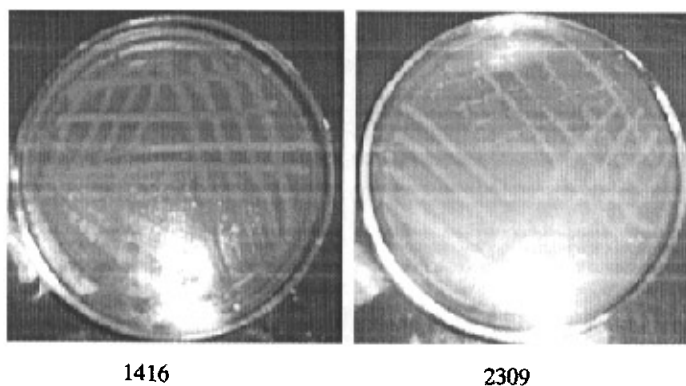
图7.3 细菌的ERIC-PCR指纹图谱

7.3.2 革兰氏染色

对 1416、2309、3508 和 4448 进行革兰氏染色, 结果显示这四种细菌都为红色, 即都属于革兰氏阴性细菌。

7.3.3 菌落特征

将分离纯化后的菌株转接到牛肉膏蛋白胨琼脂培养基培养 24h 后, 菌落特征如图 7.4 所示。



1416

2309

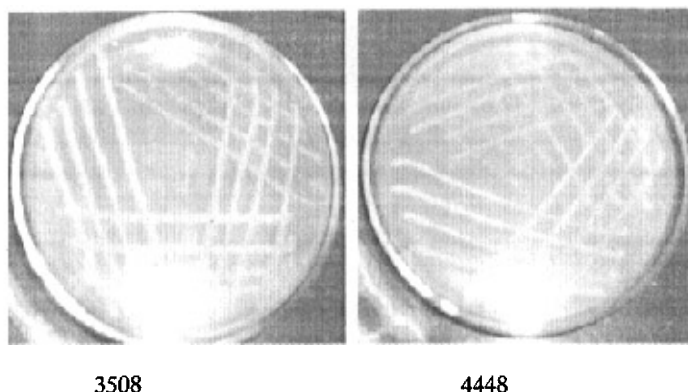


图 7.4 菌落特征

从图 7.4 我们可以看出, 1416、2309、3508 和 4448 的菌落特征如下:

(1) 1416 菌落表面光滑, 有光泽, 边缘整齐, 隆起, 不透明, 难挑起, 不粘稠, 白色; 培养较长时间后, 菌落会出现浅黄色。

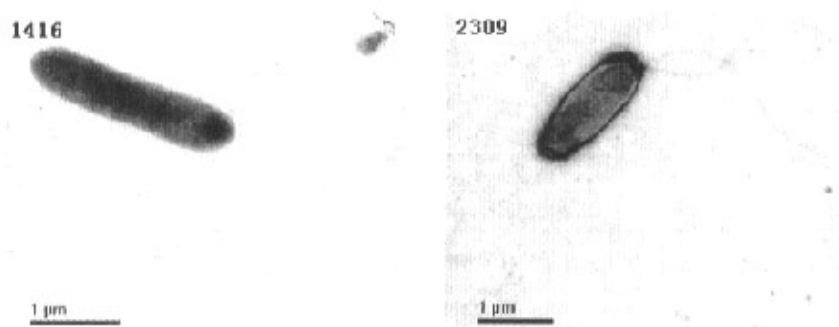
(2) 2309 菌落表面不光滑, 边缘整齐, 不隆起, 不透明, 易挑起, 粘稠, 菌落呈白色。

(3) 3508 菌落表面光滑, 有光泽, 边缘整齐, 隆起, 不透明, 较易挑起, 不粘稠, 白色; 培养较长时间后, 菌落会出现浅黄色。

(4) 4448 菌落表面光滑, 有光泽, 边缘整齐, 隆起, 透明, 较难挑起, 不粘稠。

7.3.4 菌体形态

对细菌 1416、2309、3508 和 4448 用透射电子显微镜进行单个细胞形态及鞭毛观测, 结果如图 7.5 所示。



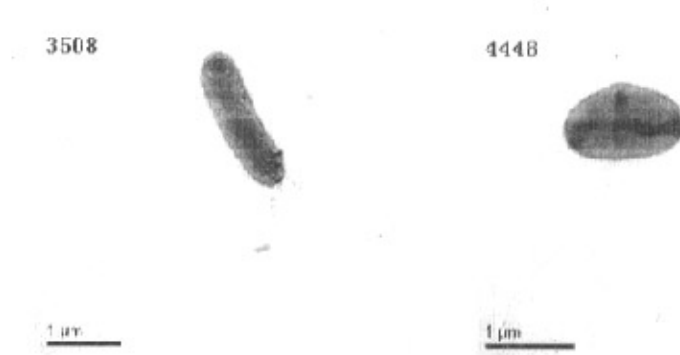


图 7.5 菌体特征

从图 7.5 可以看出, 1416 为直的杆菌, 不呈螺旋状, 菌体大小约为 $0.4\mu\text{m} \times 1.5\mu\text{m}$, 以单极毛运动。2309 为直的杆菌, 菌体大小约为 $0.5\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$, 以数根极毛运动。3508 为端圆的直杆菌, 不呈螺旋状, 菌体大小约为 $0.3\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$, 以单极毛运动。4448 为圆端的短杆菌, 菌体大小约为 $0.6\mu\text{m} \times 0.9\mu\text{m}$, 以周生鞭毛运动。

7.3.5 Biolog 分析

利用 Biolog 公司的革兰氏阴性细菌鉴定系统 GN-2Microplate 对 1416、2309、3508 和 4448 进行全面的碳源利用特性检测, 结果见表 7.2。其中“+”为阳性; “-”为阴性。

表 7.2 对碳源的利用

Carbonate		Utilization of carbonate			
		1416	2309	3508	4448
α -cyclodextrin	α -环化糊精	-	-	-	-
Dextrin	糊精	+	-	+	+
Glycogen	糖原	+	-	+	-
Tween 40	吐温 40	+	-	+	-
Tween 80	吐温 80	+	+	+	+
N-acetyl-D-galactosamine	N-乙酰-D-半乳糖胺	+	-	+	-
N-acetyl-D-glucosamine	N-乙酰-D-葡萄糖胺	+	+	+	+
Adonitol	侧金盞糖醇; 阿东糖醇	-	+	-	+
L-arabinose	L-树胶醛糖	-	+	-	+
D-arabitol	D-阿拉伯糖醇	-	+	-	+
Cellobiose	D-纤维二糖	+	-	+	-
i-erythritol	赤藓糖醇	-	-	-	+

D-fructose	D-果糖	+	-	+	+
L-fucose	L-岩藻糖; L-墨角藻糖	-	+	-	+
D-galactose	D-半乳糖	-	+	+	+
Gentiobiose	龙胆二糖; β (1 $\rightarrow$ 6) 葡二糖	+	-	+	+
α -D-glucose	α -D-葡萄糖	+	+	+	+
m-inositol	m-纤维糖	-	-	-	+
α -D-lactose	α -D-乳糖	+	-	+	-
Lactulose	乳果糖; 二蔗糖	+	-	+	-
Maltose	麦芽糖	+	-	+	+
D-mannitol	D-甘露醇	-	+	-	-
D-mannose	D-甘露糖	+	-	+	+
D-melibiose	D-蜜二糖	+	-	+	-
β -methyl-D-glucoside	β -甲基-D-葡萄糖苷	+	-	+	-
D-psicose	D-阿洛酮糖	+	-	+	+
D-raffinose	D-蜜三糖; D-棉子糖	-	-	+	-
L-rhamnose	L-鼠李糖	-	-	-	-
D-sorbitol	D-山梨糖醇	-	+	-	-
Sucrose	蔗糖	+	-	+	+
D-trehalose	D-海藻糖	+	-	+	-
Turanose	松二糖	+	-	+	+
Xylitol	木糖醇	-	+	-	-
Methyl pyruvate	丙酮酸甲酯	+	+	+	+
Mono-methyl-succinate	单甲基琥珀酸	+	+	+	+
Acetic acid	乙酸	+	+	+	+
Cis-aconitic acid	顺乌头酸	+	+	+	-
Citric acid	柠檬酸	+	+	+	+
Formic acid	甲酸	-	+	+	-
D-galactonnic acid lactone	D-乳酸内酯	-	+	-	+
D-galacturonic acid	D-半乳糖醛酸	-	+	-	-
D-gluconic acid	D-葡萄糖酸	-	+	+	+
D-glucosaminic acid	D-葡萄糖胺	-	-	+	+

D-glucuronic acid	D-葡萄糖醛酸	-	-	-	-
α -hydroxy butyric acid	α -羟基丁酸	+	+	+	+
β -hydroxy butyric acid	β -羟基丁酸	-	+	-	+
γ -hydroxy butyric acid	γ -羟基丁酸	+	-	-	+
P-hydroxy phenylacetic acid	P-羟基苯乙酸	-	+	-	-
Itaconic acid	衣康酸; 甲叉丁二酸	-	+	+	-
	酸				
α -keto butyric acid	α -丁酮酸	+	+	+	+
α -keto glutaric acid	α -酮戊二酸	+	+	+	+
α -keto valeric acid	α -酮戊酸	+	-	+	-
D,L-lactic acid	D,L-乳酸	+	+	+	+
Malonic acid	丙二酸	-	-	+	-
Propionic acid	丙酸	+	+	+	+
Quinic acid	奎尼酸	-	+	-	-
D-saccharic acid	D-糖二酸	-	+	-	-
Sebacic acid	癸二酸	-	-	-	-
Succinic acid	琥珀酸	+	+	+	+
Bromo succinic acid	溴代琥珀酸	+	+	+	+
Succinamic acid	琥珀酰胺酸	+	+	+	+
Glucuronamide	葡萄糖醛酰胺	-	-	-	-
L-alaminamide	L-叔胺	+	-	+	-
D-alanine	D-丙氨酸	+	-	+	+
L-alanine	L-丙氨酸	+	-	+	+
L-alanyl-glycine	L-丙氨酰甘氨酸	+	-	+	+
L-asparagine	L-天冬酰胺	+	+	+	+
L-aspartic acid	L-天冬氨酸	+	+	+	+
L-glutamic acid	L-谷氨酸	-	+	+	+
Glycyl-L-aspartic acid	甘氨酸-L-天冬氨酸	+	-	+	+
Glycyl-L-glutamic acid	甘氨酸-L-谷氨酸	+	-	+	+
L-histidine	L-组氨酸	-	-	-	+
Hydroxy-L-proline	L-羟脯氨酸	-	-	+	+
L-leucine	L-亮氨酸	+	-	+	+
L-ornithine	L-鸟氨酸	-	-	+	+
L-phenylalanine	L-苯丙氨酸	-	-	-	-

L-proline	L-脯氨酸	+	+	+	+
L-pyroglutamic acid	L-焦谷氨酸	—	+	—	—
D-serine	D-丝氨酸	—	—	—	—
L-serine	L-丝氨酸	+	—	+	+
L-threonine	L-苏氨酸	+	—	+	+
D,L-carnitine	D,L-肉碱	—	—	—	—
γ -amino butyric acid	γ -氨基丁酸	—	+	—	+
Urocanic acid	鸟苷酸	—	—	—	+
Inosine	肌苷	+	—	+	—
Uridine	尿苷	+	—	+	—
Thymidine	胸苷	—	—	—	—
Phenyl ethylamine	苯乙胺	—	—	—	—
Putrescine	1,4-丁二酸; 腐胺	—	—	—	—
2-aminoethanol	2-氨基乙醇	—	+	—	—
2,3-butanediol	2,3-丁二醇	+	—	—	—
Glycerol	甘油	—	+	+	—
D,L-a-glycerol phosphate	D,L-a-磷酸甘油	—	+	—	—
Glucose-1-phosphate	1-硫酸葡萄糖	—	—	—	—
Glucose-6-phosphate	6-磷酸葡萄糖	—	+	—	—

表 7.2 是 1416、2309、3508 和 4448 菌株对碳源的利用情况, 结果表明:

(1) 1416 菌株可利用其中的 51 种碳源, 对其它 44 种碳源不能利用或利用能力较弱。1416 菌株可利用的碳源包括糊精、糖原、吐温、N-乙酰-D-半乳糖胺、侧金盏糖醇、L-树胶醛糖、D-阿拉伯糖醇、L-岩藻糖等, 而不能利用 L-树胶醛糖、D-阿拉伯糖醇等碳源。对 Biolog 测定的结果进行分析, 系统给出 24h 的鉴定结果为该菌是寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*), 革兰氏阴性, 氧化酶阴性。

(2) 2309 菌株可利用其中的 43 种碳源, 对其它 52 种碳源不能利用或利用能力较弱。1416 菌株可利用的碳源包括吐温 80、N-乙酰-D-葡萄糖胺、侧金盏糖醇、L-树胶醛糖、L-岩藻糖、D-半乳糖、 α -D-葡萄糖、D-甘露醇、D-山梨糖醇、2-氨基乙醇、甘油、D,L-a-磷酸甘油、6-磷酸葡萄糖等碳源, 而不能利用 α -环化糊精、糊精、糖原等碳源。对 Biolog 测定的结果进行分析, 系统给出 24h 的鉴定结果为该菌是假单胞菌属 (*Pseudomonas spp.*), 革兰氏阴性, 氧化酶阳性。

(3) 3508 菌株可利用其中的 59 种碳源, 对其它 36 种碳源不能利用或利用能力较弱。

3508 菌株可利用的碳源包括糊精、糖原、吐温、N-乙酰-D-半乳糖胺、N-乙酰-D-葡萄糖胺、D-纤维二糖、D-果糖、D-半乳糖、龙胆二糖、 α -D-葡萄糖等碳源，而不能利用 α -环化糊精、L-树胶醛糖、D-阿拉伯糖醇等碳源。对 Biolog 测定的结果进行分析，系统给出 24h 的鉴定结果为该菌是寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)，革兰氏阴性，氧化酶阴性。

(4) 4448 菌株可利用其中的 52 种碳源，对其它 43 种碳源不能利用或利用能力较弱。4448 菌株可利用的碳源包括糊精、吐温 80、N-乙酰-D-葡萄糖胺、侧金盏糖醇、L-树胶醛糖、D-阿拉伯糖醇、赤藓糖醇、D-果糖、L-岩藻糖、D-半乳糖等碳源，而不能利用 α -环化糊精、糖原、吐温 40、N-乙酰-D-半乳糖胺等碳源。对 Biolog 测定的结果进行分析，系统给出 24h 的鉴定结果为该菌是苍白杆菌属的人苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropi*)，革兰氏阴性，氧化酶阳性。

7.3.6 鉴定结果分析

1416、2309、3508 和 4448 分别为 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍处理液中生长的具有较强果胶分解能力的细菌。参照文献[46, 74~75]，并与上面实验测定结果相结合得到：

1416 为寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)；2309 为假单胞菌属 (*Pseudomonas spp.*)；3508 为寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)；4448 为苍白杆菌属的人苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropi*)。目前，用微生物发酵生产弹性蛋白酶，已经分离筛选到 1 株产胞外弹性蛋白酶菌，经鉴定为假单胞菌^[76]。而弹性蛋白酶(elastase)是一种活力极强的肽链内切酶，并具有广谱蛋白水解酶特性^[77]。它可以降解普通蛋白酶难以降解的不溶性弹性蛋白(Elastin)、胶原蛋白、人类免疫球蛋白^[78~79]，钝化蛋白酶抑制剂以及补充体系统成分。根据文献[80]得到，根瘤菌科的苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*) 的菌株细胞内确实存在能够降解串珠镰刀菌素 (简称 MON，是由腐生于玉米、小麦等作物上的镰刀菌产生的一种真菌毒素) 的酶系。因此，寡养单胞菌属、假单胞菌属和苍白杆菌属的细菌具有较强的分解果胶能力，适合用于大麻的微生物脱胶，但具体的脱胶工艺和对大麻纤维上果胶的分解能力还有待于今后具体研究。

从上面的鉴定结果可以发现用 0.5mol/L 的盐水和海水浸渍处理大麻纤维过程所产生的具有较强果胶分解能力的细菌 1416 和 3508 都为嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)，说明该菌为嗜盐菌。而且嗜麦芽寡养单胞菌是能引起感染的条件致病菌^{[81~}

^{82]}，用灭菌海水浸渍处理大麻纤维过程中所产生的具有较强果胶分解能力的细菌4448为人苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropi*)，它也是一种条件致病菌^[83-86]，但用清水浸渍处理大麻纤维过程中所产生的具有较强果胶分解能力的细菌2309假单胞菌属 (*Pseudomonas spp.*) 却没有致病性。因此，我们可以得到海水中的盐分在一定程度上影响大麻纤维的抗菌性能。

7.4 本章小结

(1) 大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍处理大麻的过程中起主要作用；海水中盐的成分会抑制大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍过程中的作用。

(2) 分离纯化后的单一菌株的果胶酶活性要比浸渍液中多菌株组成的分解菌群低，说明浸渍液中细菌与细菌之间还存在着相互的协同作用。

(3) 大麻纤维用 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍，浸渍液中产生的具有较强果胶分解能力的细菌分别为 1416、2309、3508 和 4448。

(4) 1416 为寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)，革兰氏阴性、氧化酶阴性、无芽孢杆菌，约为 $0.4\mu\text{m} \times 1.5\mu\text{m}$ ，以单极毛运动。菌落表面光滑，有光泽，边缘整齐，隆起，不透明，难挑起，不粘稠，白色；培养较长时间后，菌落会出现浅黄色。

(5) 2309 为假单胞菌属 (*Pseudomonas sp.*)，革兰氏阴性、氧化酶阳性、直杆菌，约为 $0.5\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$ ，以数根极毛运动。菌落表面不光滑，边缘整齐，不隆起，不透明，易挑起，粘稠，菌落呈白色。

(6) 3508 为寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)，革兰氏阴性氧化酶阴性、无芽孢杆菌，约为 $0.3\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$ ，以单极毛运动。菌落表面光滑，有光泽，边缘整齐，隆起，不透明，难挑起，不粘稠，白色；培养较长时间后，菌落会出现浅黄色。

(7) 4448 为苍白杆菌属的人苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropi*)，革兰氏阴性、氧化酶阳性、短杆菌，约为 $0.6\mu\text{m} \times 0.9\mu\text{m}$ ，以周生鞭毛运动。菌落表面光滑，有光泽，边缘整齐，隆起，透明，较难挑起，不粘稠。

(8) 寡养单胞菌属、假单胞菌属和苍白杆菌属的菌具有较强的果胶分解能力，适合用于大麻的微生物脱胶。

(9) 海水中盐的成分在一定程度上会影响大麻纤维的抗菌性能。

第八章 总结

1. 高温高压脱胶是一种快速高效的脱胶方法, 适合于大麻纤维的脱胶, 最佳的脱胶工艺为: 氢氧化钠 8%, 硫化钠 0.86%, 平平加 O 1%, 160℃, 浴比 1:20。
2. 经高温高压脱胶处理后的大麻纤维表面明显变光滑, 纤维束清晰, 纤维素的比例明显增加, 大麻中的半纤维素、果胶、脂蜡质、水溶物均得以大量去处, 木质素的含量与结构也都发生了变化; 且木质素和半纤维素大部分分布在大麻纤维的表面。
3. 采用电离辐射的方法来对大麻纤维进行灭菌, 对纤维的理化性能影响最小。
4. 大麻纤维的耐海水腐蚀性能要比苧麻纤维和亚麻纤维好, 且大麻纤维中耐海水的主要成分为纤维素。
5. 经海水、清水浸渍处理后的大麻纤维表面明显变光滑白洁, 纤维束清晰, 大麻纤维中果胶、脂蜡质、水溶物等含量都大大降低, 木质素的含量也降低较多, 但半纤维素的含量下降不明显。
6. 大麻纤维用海水浸渍处理的效果虽然不如用清水浸渍处理的, 但其去除木质素效果也较好, 从经济、环保和节省淡水资源考虑, 可以用海水来代替清水对大麻纤维进行浸渍处理来达到脱胶效果。
7. 高浓度的盐水能够抑制大麻纤维表面胶质的分解; 大麻纤维上的微生物在用海水浸渍处理过程中对纤维表面的胶质有影响, 而对纤维素不产生作用。
8. 大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍处理大麻的过程中起主要作用, 同时海水中的盐成分对大麻纤维自身带的微生物在海水浸渍处理过程中的作用有影响。
9. 分离纯化后的单一菌株的果胶酶活性要比浸渍液中多菌株组成的分解菌群低, 说明浸渍液中细菌与细菌之间还存在着相互的协同作用。
10. 用 0.5mol/L 食盐溶液、清水、海水和灭菌海水浸渍处理大麻纤维, 浸渍液中具有较强果胶分解能力的细菌分别为 1416、2309、3508 和 4448, 经分析鉴定得: 1416 为寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*), 革兰氏阴性、氧化酶阴性、无芽孢杆菌, 约为 $0.4\mu\text{m} \times 1.5\mu\text{m}$, 以单极毛运动; 2309 为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.), 革兰氏阴性、氧化酶阳性、直杆菌, 约为 $0.5\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$, 以数根极毛运动; 3508 为寡养单胞菌属的嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*), 革兰氏阴性氧化酶阴性、无芽孢杆菌, 约为 $0.3\mu\text{m} \times 1.4\mu\text{m}$, 以单极毛运动; 4448 为苍白杆菌属的人苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropi*), 革兰氏阴性、氧化酶阳性、短杆菌, 约为 $0.6\mu\text{m} \times 0.9\mu\text{m}$,

以周生鞭毛运动。

11.寡养单胞菌属、假单胞菌属和苍白杆菌属的细菌具有较强的分解果胶能力，适合用于大麻的微生物脱胶。

12.海水中的盐成分对大麻纤维的抗菌性能会有一定的影响。

参考文献

- [1] 肖亮生. 大麻[J]. 山东纺织科技, 1989,3:61-64.
- [2] 张道臣. 大麻纤维的开发利用[J]. 《天津大学学报》, 1988,2:105-108.
- [3] 路等学, 刘海森, 李成一等. 大麻酶法脱胶工艺研究[J]. 甘肃省科学院生物研究所, 1992,6:27-30.
- [4] 杨红穗, 张元亮. 大麻纺织应用前景及研究现状[J]. 纺织学报, 1999,4:62-63.
- [5] Mussig J, Martens R, Haring H. Hemp fiber as textile resource[J]. Textile Asia, 1998,5:39-50.
- [6] Naucy Kery, Stanford F, Blade. Characteristics of hemp fiber from low THC hemp varieties [J]. Canadian Textile Journal, 2000,5:24-26.
- [7] Andreas Keller. Compounding and mechanical properties of biodegradable hemp/bre composites[J]. Composites Science and Technology, 2003,63:1307-1316.
- [8] Dirk W. Lachenmeier, Lars Kroener, Frank Musshoff. Determination of cannabinoids in hemp food products by use of headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2004,1:183-189.
- [9] Bhuwan M, Prasad T, Mohini M, et al. Mechanical properties of thermally treated hemp fibers in inert atmosphere for potential composite reinforcement[J]. Materials Research Innovations, 2003,8:231-238.
- [10] J. Dorado, J. Field, G. Almendros, et al. Nitrogen-removal with protease as a method to improve the selective delignification of hemp stemwood by the white-rot fungus Bjerkandera sp. strain BOS55[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001,10:205-211.
- [11] 蒋国华. 大麻/棉转杯纺工艺探讨[J]. 纺织学报, 2002,1:47-48.
- [12] 蒋国华. 大麻脱胶预氯处理工艺参数探讨[J]. 上海纺织科技, 2002,2:14-17.
- [13] A. K. Mohanty, Misra M, Drzal L. T. Sustainable Bio-Composites from Renewable Resources: Opportunities and Challenges in the Green Materials World[J]. Journal of Polymers and the Environment 2002,4:19-26.
- [14] 殷样刚, 滑钧凯, 朱若英. 大麻加工技术现状及发展[J]. 天津工业大学学报, 2003,22(1):13-17.
- [15] 来红林. 大麻纤维性能初探[J]. 上海纺织科技——纤维, 2004,32(3):10.
- [16] 周明惊, 李学亮. 大麻帆布的设计与生产[J]. 国际纺织品动态, 1997,5:30-32.
- [17] 姜繁昌, 周岩. 麻类纤维理化性能研究[J]. 苧麻纺织科技, 1995,18(3):6-8, 32; 1995,18(4):7-12.
- [18] 龚三龙. 开发利用我国大麻纤维资源前景探讨[J]. 黑龙江纺织, 1995,6:34-36.
- [19] 张道臣, 李启苹. 大麻纤维的开发利用[J]. 中国麻作, 1988,2:39-40.

- [20] 王立群、关凤芝等. 亚麻微生物脱胶技术的研究[J]. 中国麻作, 1995,1:34-36.
- [21] 杨红穗, 张元明. 大麻纺织应用前景及研究现状[J]. 纺织学报, 1999,20(4):62-64.
- [22] 殷祥刚, 滑钧凯, 朱若英. 大麻加工技术现状及发展[J]. 天津工业大学学报, 2003,2:13-17.
- [23] 王德骥. 尿氧浸泡苧麻的新型脱胶工艺[J]. 纺织学报, 1997,18(3):34-37.
- [24] 朱清时, 阎立峰, 郭庆祥. 生物质洁净能源[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [25] 高志强, 马会英. 大麻纤维的性能及其应用研究[J]. 北京纺织, 2004,12:30-38.
- [26] 蒋国华. 大麻脱胶预氯处理工艺参数探讨[J]. 上海纺织科技, 2002,2:14-17.
- [27] 杨红穗, 张元明. 大麻快速化学脱胶工艺初探[J]. 中国纺织大学学报, 1999,25(5):83-86.
- [28] 尚书十三经注疏本, 北京: 中华书局.
- [29] C.Garcia-Jaidon, D.Dupeyre, M.R.Vignon. Fibres from Semi-retted Hemp Bundles by Steam Explosion[J]. Biomass and Bioenergy, 1998,4(3):251-260.
- [30] 李宗道. 麻类生物工程进展[M]. 中国农业出版社, 1999:269-269.
- [31] 何绍江. 红麻沤制对水质污染的研究[J]. 农业环境保护, 1990,3:311-314.
- [32] 陶涛. 苧麻生物脱胶[J]. 工业微生物, 1992(1):35-36.
- [33] 王立群、关凤芝等. 亚麻微生物脱胶技术的研究[J]. 中国麻作, 1995,1:34-36.
- [34] 刘正初, 彭源德, 冯湘沅等. 苧麻生物脱胶新技术工业化生产应用研究[J]. 纺织学报, 2001,2:27-29.
- [35] 金燕. “天然品”未必环保. 大科技. 科学之谜, 2003,1:26-26.
- [36] 吴红玲, 蒋少军, 李志忠, 等. 亚麻纤维的酶处理[J]. 西安工程科技学院学报, 2004,18(1):17-20.
- [37] BOCHMANN R, HUBNER R. 大麻休闲服和工作服的整理[J]. 国际纺织导报, 2001,2:81-84.
- [38] 白春礼, 余翔林, 杨乐等. 现代仪器分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003:446-463.
- [39] 何金兰, 杨克让, 李小戈. 仪器分析原理[M]. 北京: 科学出版社, 2002:152-154.
- [40] 李忠福, 徐建国. 分光光度法测定果胶酶活性方法的研究[J]. 黑龙江医药, 2002,15(6):428-430.
- [41] 北京大学生物化学教研室编. 生物化学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版, 1988,22-24.
- [42] Himmelsbach DS, Khalili S, Akin DE. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002, 82(6): 85-95.
- [43] Bruno Smadja, Xavier Latour, Samsh Trigul, et al. Thermodependence of growth and enzymatic activities implicated in pathogenicity of two *Erwinia carotovora* subspecies (*Pectobacterium* spp.) [J]. Can.J.Microbiol, 2004,50:19-27.
- [44] 杨文博, 李明春, 牛淑敏, 等. 微生物学实验[M]. 北京化学工业出版社, 2004:45-48.
- [45] 傅筱冲, 廖延雄, 吴小琴, 等. 苧麻天然浸渍液中主要细菌的鉴定[J]. 江西科学, 1999,17(1):18-22.

- [46] Rersalovic J, K yeuth T, Lupski JR. Distribution of repetitive DNA sequences in eubaeteria and application oto fing erprinting of bacterial genomes[J]. NucleicAcidsRes, 1991,19:6823-6831.
- [47] 温亚丽, 曹晖, 潘迎捷.ERIC技术在紫木耳亲缘关系鉴定上的应用研究[J].菌物学报, 2005,24(1):53-60.
- [48] 高平平, 王健, 席玉英, 等. 代表活性污泥中苯酚降解菌群的ERIC-PCR产物片段的多态性[J]. 生态学报, 2003,23:1105-1100.
- [49] Wanderley Dias da Silveira, Alessandra Ferreim, Marcela Lancelotti, et al.Clonal relationships among avian *Escherichia coli* isolates determined by enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR [J].eterinaryMicrobiology , 2002,89:323-328.
- [50] Di Giovanni G D, Watrud L S, Seidler R J, etal. Fingerprinting of mixed bacterial strains and BIOLOG Gram-Negative (GN) substrate communities by enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence-PCR (ERIC-PCR) [J]. Curr Microbiol, 1999,38(4):217-223.
- [51] Versalovic J, Koeuth T, Lupski J R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application fingerprinting of bacterial genomes[J]. Nucl Acids Res, 1991,19(24):6823-6831.
- [52] 东秀珠, 蔡妙英等.常见细菌系统鉴定手册[M].北京: 科学出版社, 2001.
- [53] Stager C.E,Davis J.R.Clinical Microbiology Reviews, 1992,5:302.
- [54] Bochner B,Asm News,1989,55:536-539.
- [55] Miller J M,Rhoden D L.Journal of Clinical Microbiology, 1991,29:1143-1147.
- [56] Jones J B , et al. Evaluation of the Biolog GN Microplate system for identification of some plant pathogenic bacteria[J]. Plant Dis, 1993,77: 553-558.
- [57] 张朝华.BIOLOG细菌自动鉴定系统的应用[J].中国进出境动植物检.1994,3:30-32.
- [58] 冯瑞华, 李力, 葛诚, 等.BIOLOG细菌自动鉴定系统应用初探[J].微生物学杂志, 2000,20 (2) :36-38.
- [59] 胡秀芳.浙江大学博士后研究报告.有机磷降解菌的构建与微生物肥料的研究.2003.7.
- [60] 谢家仪, 王永力.BIOLOG细菌自动鉴定系统的应用与研究[J].微生物学通报, 1996,25(3):265-267.
- [61] 陈嘉翔, 李元禄, 张志芬等.制浆原理与工程[M].中国轻工业出版社, 1990:46-150.
- [62] 正交试验设计法[M].上海科学技术出版社, 1979:1-23.
- [63] Mukesh Kapoor, Qasim Khalil Beg, Bharat Bhushan, Kamaljit Singh,K.S.Dadhich, G.S. Hoondal . Application of an alkaline and thermostable polygalacturonase from *Bacillus* sp. MG-cp-2 in degumming of ramie (*Boehmerianivea*) and sunn hemp (*Crotalaria juncea*) bast fibres. Process Biochemistry. 2001,36: 803-807.

- [64] 刘佳佳, 曹福祥. 生物技术原理与方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004:59-60
- [65] 诸葛健, 王正祥, 唐是雯等. 工业微生物实验技术手册[M]. 中国轻工业出版社, 1994:98-98..
- [66] J.Mussig, R.Martens, H.Harig. Hemp fibre as a textile resource[J]. Textile Asia, 1998,5:39-51.
- [67] 殷祥刚, 滑钧凯, 于伟东. “闪爆”处理对大麻脱胶及纤维性能的影响[J]. 中国麻业, 2003,25(5):243-248.
- [68] S. Ouajai, R.A. Shanks. Composition, structure and thermal degradation of hemp cellulose after chemical treatments[J]. Polymer Degradation and Stability, 2005,89: 327-335.
- [69] Bociek SM, Welti D. Carbohydrate Research ,1975, 42:217-26.
- [70] Synytsya A, Copikova J, Matejka P, Machovic V. Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins[J]. Carbohydrate Polymers, 2003,54:97-106.
- [71] Fogarty, W.M., Kelly, C.T.. Pectic enzymes. In: Fogarty, W.M.(Ed.) , Microbial Enzymes and biotechnology[J]. Elsevier, London, 1983:131-182.
- [72] 贺行锐. 盐对混凝土的侵蚀机制与防护措施[J]. 建材标准化与质量管理, 2005,3:38-41.
- [73] 潘家华, 刘淑琴, 刘学清. 西太平洋海山磷酸盐的常量、微量和稀土元素地球化学研究[J]. 地质论评, 2002,48(5):534-541.
- [74] Holt JG, Krieg NR, Sneath, PHA, Staley iT, Williams ST, et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology[M]. 9th Edition, Baltimore: Williams and Wilkins Publishers, 1994.
- [75] Sneathpha, Mairns, Sharpeme, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [M]. Baltimore: Williams and Wilkins Publishers, Williams and Wilkins, 1986.
- [76] 贺稚非, 周泽扬, 李洪军, 高兆建, 宫春波. 假单胞菌胞外弹性蛋白酶的纯化研究[J]. 中国食品学报, 2005,5(2):22-27.
- [77] A. Dubin et al. Structural and functional characterization of elastases from horse neutrophils[J]. Biochem. J, 1994,300:401-406.
- [78] Fukushima, et al. Structural gen and complete amino acid sequence of pseudomonas aeruginosa IFO 3455 elastase[J]. Journal of Bacteriology, 1989,171(3):1698-1704.
- [79] V. Guyonnet et al. Purification and partial characterization of the pancreatic proteolytic enzymes trypsin, Chymotrypsin and elastase from the chicken[J]. J. of Chromatography A. , 1999,852:217-225.
- [80] 陈卫琴, 章红. 串珠镰刀菌素降解菌的筛选及特性分析[J]. 微生物学报, 2000,40(5):513-517.
- [81] Adelman RC. The Biomarker Aging[J]. Expt Gerontol, 1987,22:227-229.
- [82] 林黎明, 赵乃昕. 嗜麦芽寡养单胞菌的简易鉴定方法研究[J]. 卫生研究, 2000,29(2):126-128.

- [83] Appelbaum PC, Campbell DB. Pancreatic abscess associated with *Achromobacter* group Vd biovar 1 [J]. *J Clin Microbiol*, 1980, 12 (2): 282-283.
- [84] 凌丽燕, 杜晓依, 杨青. 人苍白杆菌的分离及耐药性分析[J]. *中国药业*, 2004, 13(10): 65-66.
- [85] Nadjar D, Labia R, Cerceau C, et al. Molecular characterization of chromosomal class C beta-lactamase and its regulatory gene in *Ochrobactrum anthropi* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45 (8): 2324-2330.
- [86] Piddock LJ, Traynor EA. 3-Lactamase expression and outer membrane protein changes in cefpirome resistant and ceftazidime-resistant gram-negative bacteria [J]. *J Antimicrob Chemother*, 1991, 28 (2): 209-219.

硕士阶段发表论文情况

1. 钱微君, 冯新星, 许丹, 陈建勇. 酶 BioPrep 对大麻脱胶的研究. 浙江理工大学学报, 2005, 22(1): 1-4.
2. 钱微君, 冯新星, 陈建勇. 水质对大麻纤维浸泡脱胶效果的比较分析. 纺织学报, 已录用.
3. 钱微君, 陈建勇, 冯新星, 吴君南. 大麻纤维的耐海水腐蚀性能. 浙江理工大学学报, 已录用.
4. 冯新星, 陈建勇, 钱微君. 好氧菌脱胶大麻的研究, 纺织学报, 已录用.
5. Xin-xing FENG, Jian-yong CHEN, Jian-chun ZHANG, Dan XU, Wei-jun QIAN. Anti-UV Ability of The Dyed Silk With Natural Dye 相应的中文为《天然染料染色丝绸的紫外防护性能及其机理的研究》. The 5th China Internatal Silk conference, 2004, 9: 542-546.
6. XU Dan, CHEN JianYong, FENG XinXing, QIAN WeiJun. Preparation of Silk Fibroin /nano-TiO₂ Composite Films via a Sol-Gel Route 相应的中文为《溶胶凝胶法制备丝素/纳米 TiO₂ 复合膜》. The 5th China International Silk conference, 2004, 9: 476-481.

致 谢

岁月匆匆,转眼两年半的硕士生涯即告结束。在此之际,谨向这段时间曾给过我无私帮助的老师 and 同学表示最诚挚的感谢。

首先,感谢导师陈建勇教授的指导和栽培。本论文的工作是在导师的热情关注和精心指导下完成的。从选题,实验设计,结果讨论的撰写及最后定稿,无不倾注着导师的心血。陈建勇老师渊博的知识、严谨的治学态度、精益求精的工作作风和诲人不倦的育人精神给作者留下了深刻的印象,并让作者终生受益。在此,作者向导师表示由衷的敬意和诚挚的谢意。

其次,毕业设计中还得到了其他许多老师的指点和帮助。他们是冯新星老师、陈海敏老师、竺锡武老师、胡秀芳老师在实验及论文工作中给予作者的指导与帮助。特别感谢材料与纺织实验室和分析测试中心的吴子婴老师、张国庆老师、汪丽娜老师、胡玉群老师在红外光谱、强力测试和电镜等分析技术方面给予作者很大的帮助。非常感谢他们给予我的支持,在此一并表感谢。

再次,感谢实验室的许丹、陈子豪、俞春华、贾长兰、张云、吴君南、张加忠以及应飞祥、金银兵、黄宝福等同学在实验中给予的鼎力帮助。

研究生阶段和许多同学建立了良好的关系,很多同学在学习和生活上给予作者许多帮助,作者在此表示感谢。

衷心感谢父母的养育之恩,他们所寄予的期望是我工作和学习的永恒动力,感谢我的姐姐钱亚味为支持我的学业所付出的努力。

对以上所有帮助和关心过我的老师、同学和家人表示深切的感谢!

钱微君

2005.11.28