



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20240240

网络首发日期: 2025-10-27; 网络首发地址: <http://link.cnki.net/urlid/12.1355.N.20251027.1356.007>

漆酶与木聚糖酶作用下木质素-碳水化合物复合体的降解及其生物活性

王茜¹, 刘盛¹, 廖小元², 刘海棠^{1,3}

(1. 中国轻工业造纸与生物质精炼重点实验室, 天津市制浆造纸重点实验室, 天津科技大学轻工科学与工程学院, 天津 300457; 2. 天津科技大学化工与材料学院, 天津 300457;
3. 江苏省生物质能源与材料重点实验室, 南京 210042)

摘要: 以从桉木预水解液中提取的木质素-碳水化合物复合体(LCC)、富含 LCC 片段的木素样品(LCC-AcOH)为原料,分别使用不同用量的漆酶以及不同用量的木聚糖酶进行处理,探究处理后其组分含量变化,并对其进行一系列表征以及酶处理后生物活性的探究。结果表明:经 3.2 U/mL 漆酶处理的 LCC 以及 LCC-AcOH 降解液的木质素质量浓度减少最多,分别减少了 12.70%、12.94%,分别经 1.6、2.4 U/mL 漆酶处理的 LCC 以及 LCC-AcOH 降解液总糖质量浓度降低最多,分别降低 5.98%、33.98%;经 1 200 U/mL 木聚糖酶处理的 LCC 以及 LCC-AcOH 降解液木质素质量浓度增加最多,分别增加了 30.95%、10.45%,经 800 U/mL 木聚糖酶处理的 LCC 以及 LCC-AcOH 降解液总糖质量浓度增加最多,分别增加了 69.80%、73.44%;酶处理后降解液中分别经 1.6、0.8 U/mL 漆酶处理的 LCC、LCC-AcOH 以及分别经 1 200、300 U/mL 木聚糖酶处理的 LCC、LCC-AcOH 的抗氧化能力与抗菌能力最强。这些结果表明,酶解 LCC 在 LCC 的相关应用中展现出广阔前景。

关键词: 木质素-碳水化合物复合体(LCC); 漆酶; 木聚糖酶; 降解

中图分类号: TQ351.0

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2026)04-0040-09

Degradation and Biological Activity of Lignin-Carbohydrate Complex by Laccase and Xylanase

WANG Qian¹, LIU Sheng¹, LIAO Xiaoyuan², LIU Haitang^{1,3}

(1. Key Laboratory of Paper and Biomass Refining of China Light Industry, Tianjin Key Laboratory of Pulp and Paper, College of Light Industry Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;
2. College of Chemical Engineering and Materials Science, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 3. Jiangsu Key Laboratory of Biomass Energy and Materials, Nanjing 210042, China)

Abstract: Using lignin carbohydrate complex (LCC) extracted from eucalyptus pre-hydrolysis solution and lignin samples rich in LCC fragments (LCC-AcOH) as raw materials, the changes in component content were investigated after treatment with different amounts of laccase and xylanase, and a series of characterizations and biological activities were explored after enzyme treatment. The results showed that the lignin mass concentration of the degradation solutions of LCC and LCC-AcOH treated with a laccase dosage of 3.2 U/mL decreased the most, by 12.70% and 12.94% respectively. The total sugar mass concentration of the degradation solutions of LCC and LCC-AcOH treated with laccase dosages of 1.6 U/mL and 2.4 U/mL decreased the most, by 5.98% and 33.98% respectively. When treated with a xylanase dosage of 1 200 U/mL, the lignin mass concentration of the degradation solutions of LCC and LCC-AcOH increased the most, by 30.95% and 10.45% respectively. When treated with a xylanase dosage of 800 U/mL, the total sugar mass concentration of the degradation solu-

收稿日期: 2024-11-20; 修回日期: 2025-06-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31700516)

作者简介: 王茜(1999—),女,河北省任丘人,硕士研究生;通信作者: 刘海棠,副教授, liuhaitang@tust.edu.cn

tions of LCC and LCC-AcOH increased the most, by 69.80% and 73.44% respectively. After enzymatic treatment, LCC and LCC-AcOH treated with laccase dosages of 1.6 U/mL and 0.8 U/mL, as well as LCC and LCC-AcOH treated with xylanase dosages of 1 200 U/mL and 300 U/mL respectively, had the strongest antioxidant and antibacterial abilities. These results indicate that the enzymatic hydrolysis of LCC shows great promise in the application of LCC.

Key words: lignin carbohydrate complex (LCC); laccase; xylanase; degradation

引文格式:

王茜,刘盛,廖小元,等. 漆酶与木聚糖酶作用下木质素-碳水化合物复合体的降解及其生物活性[J]. 天津科技大学学报, 2026, 41 (4): 40-48.

Wang Qian, Liu Sheng, Liao Xiaoyuan, et al. Degradation and biological activity of lignin-carbohydrate complex by laccase and xylanase[J]. Journal of Tianjin University of Science and Technology, 2026, 41 (4): 40-48.

随着科技的进步和抑菌、催化、传感等领域对材料需求的增长,传统材料在性能、环保等方面逐渐显露出局限性。为满足航空航天、材料科学、生物医疗等领域的高要求,开发性能更优越的材料是目前生物领域的研究热点^[1-2]。木质纤维素生物质是地球上最丰富且未充分利用的可再生生物材料,能够可持续生产各种高值化产品^[3]。植物纤维原料中部分木质素与部分碳水化合物间有化学键的连接并形成木质素-碳水化合物复合体(LCC),原料种类不同、提取方法不同,LCC 结构特性也不同^[4-5]。

预水解液是对木质材料进行预水解处理过程中所产生的液体,富含半纤维素、木质素、醋酸、甲酸和糠醛等多种成分^[6]。已有研究证明,通过 Balakshin 提取法能从预水解液中提取出富含碳水化合物的 LCC 以及富含 LCC 片段的木质素样品即 LCC-AcOH^[7]。酶具有选择性及温和性,可以使用酶对 LCC 进行分子修饰,以期更有效地调节 LCC 的生物活性。

木质素与碳水化合物紧密结合,漆酶处理能够使木质素降解并改变其结构,减弱木质素与碳水化合物之间的结合力,从而实现更好的分离效果^[8]。在木聚糖被木聚糖酶降解后,木质素与碳水化合物之间的连接键可能被破坏,从而改变 LCC 的结构^[9]。这对研究 LCC 的应用具有重要意义,比如在生物医药领域^[10],经过适当修饰的 LCC 可以调节材料的生物活性、降解性和细胞相容性等,可用于制备生物相容性好的组织工程支架、伤口敷料等生物医学材料,满足不同生物医学应用的需求。在材料科学领域^[11],LCC 经过分子修饰后,可进一步调控其降解速率和性能,用于生产可降解的塑料、包装材料等,有助于减少塑料造成的环境污染。本研究分别使用漆酶、木聚糖酶对 LCC、LCC-AcOH 进行分子修饰,通过两步酸水解法对酶解后 LCC 的降解液进行组分分析,探究酶解后 LCC、LCC-AcOH 降解液的生物活性,旨在促进木质

生物质资源的高值化利用,为 LCC 的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 原料与仪器

桉木预水解液(PHL),山东太阳纸业股份有限公司;苯、无水乙醇、1,4-二氧六环、二氯乙烷、无水乙醚、石油醚、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、丙酮、乙酸钠、乙酸、浓硫酸,分析纯,天津市江天化工技术有限公司;漆酶(活性为 800 U/mL),美国诺维信公司;木聚糖酶(活性为 50 000 U/g),山东隆科特酶制剂有限公司;葡萄糖、木糖、阿拉伯糖,色谱纯,Sigma 公司。

T6 型紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;N-1100 型旋转蒸发仪,上海爱朗仪器有限公司;FTIR-650 型傅里叶变换红外光谱仪,天津港东科技发展股份有限公司;H3021D 型高速离心机,上海知信实验仪器技术有限公司;SCIENTZ-10 N 型冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;DSX-24L-I 型手提式高压蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;DH161108-1T 型振荡培养箱,上海岛韩实业有限公司。

1.2 桉木预水解液中 LCC、LCC-AcOH 的提取

采用改良的 Balakshin 方法提取富含碳水化合物的 LCC 以及富含 LCC 片段的木质素样品 LCC-AcOH^[12]。

1.3 漆酶处理 LCC、LCC-AcOH

分别称取 0.3 g LCC 和 LCC-AcOH,依次添加到 50 mL 的锥形瓶中,在每个锥形瓶中加入 30 mL 乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH = 4.5),对应的锥形瓶中分别加入 0.8、1.6、2.4、3.2 U/mL(以 30 mL 乙酸-乙酸钠缓冲溶液为计量基准)的漆酶,将锥形瓶放置在恒温

摇床中并加以固定, 150 r/min 反应 3 h, 反应温度为 40 ℃, 反应结束后终止酶反应(高温灭活)。所得降解液分别命名为 LL1、LL2、LL3、LL4 以及 LAL1、LAL2、LAL3、LAL4。

1.4 木聚糖酶处理 LCC、LCC-AcOH

分别称取 0.3 g LCC 和 LCC-AcOH, 依次添加到 50 mL 的锥形瓶中。在每个锥形瓶中加入 30 mL 乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH = 5.0), 对应的锥形瓶中分别加入 100、300、800、1 200 U/mL(以 30 mL 乙酸-乙酸钠缓冲溶液为计量基准)的木聚糖酶, 将锥形瓶放置在恒温摇床中并加以固定, 150 r/min 反应 4 h, 反应温度 50 ℃, 反应结束后终止酶反应(高温灭活)。所得降解液分别命名为 LX1、LX2、LX3、LX4 以及 LAX1、LAX2、LAX3、LAX4。

1.5 酶解 LCC 化学组分检测

根据降解液 pH 加入质量分数 72% 的浓硫酸, 直到与质量分数 4% 的硫酸溶液的酸度一致, 密封后高压灭菌处理, 121 ℃保温 1 h。酸溶木质素和酸不溶木质素分别按照 GB/T 10337—2008《造纸原料和纸浆中酸溶木素的测定》和 GB/T 747—2003《纸浆 酸不溶木素的测定》进行测定。采用 NREL/TP-510-42623 的方法测定降解液中糖组分含量^[13]。

1.6 酶解后 LCC 的表征

1.6.1 红外光谱检测

将冷冻干燥后的降解液与溴化钾按照 1 : 100 的质量比混合并研磨, 经压片后, 在 400 ~ 4 000 cm⁻¹ 范围内进行扫描。

1.6.2 紫外-可见光谱分析

用紫外-可见分光光度计测定降解液在 260 ~ 580 nm 范围内的吸光度。

1.7 抗氧化性能分析

1.7.1 酚羟基含量的测定

以香草醛为标准品, 采用 Folin-Ciocalteu 试剂法测定降解液中酚羟基的含量^[14]。

$$n = \frac{S}{m} \times 25 \tag{1}$$

式中: n 为降解液中酚羟基的含量, mmol/g; S 为香草醛标准品的物质的量, μmol ; m 为样品的质量, mg; 25 为样品的体积, mL。

1.7.2 ABTS 自由基清除率的测定

制备 ABTS 工作液, 取 3 mL ABTS 工作液与 1 mL 降解液混合, 常温避光反应 6 min, 在 734 nm 处测定吸光度。通过式(2)^[15]计算 ABTS 自由基的清除率。

$$\varphi = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100\% \tag{2}$$

式中: φ 为 ABTS 自由基的清除率; A_0 为不加降解液时, ABTS 工作液的吸光度; A_i 为样品和 ABTS 工作液的吸光度。

1.8 抑菌性能分析

实验用菌株为金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*E. coli*), 均由实验室自主培养。采用牛津杯法测定降解液的抑菌性能^[16]。

2 结果与讨论

2.1 酶解后降解液的化学组分分析

2.1.1 降解液中木质素质量浓度分析

酶解样品中酸溶木质素和 Klason 木质素质量浓度见表 1、表 2。

表 1 漆酶处理后降解液中木质素质量浓度
Tab.1 Mass concentration of lignin in the degradation solution after laccase treatment

样品	漆酶用量/ (U/mL)	木质素质量浓度/(g/L)		
		酸溶 木质素	Klason 木质素	总量
LCC	0	0.20	1.06	1.26
LL1	0.8	0.15	1.06	1.21
LL2	1.6	0.20	0.95	1.15
LL3	2.4	0.18	0.93	1.11
LL4	3.2	0.18	0.92	1.10
LCC-AcOH	0	0.22	1.79	2.01
LAL1	0.8	0.28	1.68	1.96
LAL2	1.6	0.33	1.56	1.89
LAL3	2.4	0.34	1.49	1.83
LAL4	3.2	0.38	1.37	1.75

表 2 木聚糖酶处理后降解液中木质素质量浓度
Tab.2 Mass concentration of lignin in the degradation solution after xylanase treatment

样品	木聚糖酶用量/ (U/mL)	木质素质量浓度/(g/L)		
		酸溶 木质素	Klason 木质素	总量
LCC	0	0.20	1.06	1.26
LX1	100	0.21	1.08	1.29
LX2	300	0.30	1.13	1.43
LX3	800	0.19	1.42	1.61
LX4	1 200	0.20	1.45	1.65
LCC-AcOH	0	0.22	1.79	2.01
LAX1	100	0.22	1.80	2.02
LAX2	300	0.24	1.80	2.04
LAX3	800	0.30	1.84	2.14
LAX4	1 200	0.36	1.86	2.22

由表 1、表 2 可知, LCC 降解液中的木质素质量

浓度(1.10 ~ 1.65 g/L)低于 LCC-AcOH 降解液中的木质素质量浓度(1.75 ~ 2.22 g/L)。这与 Wang 等^[17]发现的 LCC 比 LCC-AcOH 具有更低的木质素含量及更高的碳水化合物含量的结果一致。

Dong 等^[18]使用漆酶处理黄麻纤维,处理前期木质素含量降低,后期部分溶解的木质素片段偶联到黄麻纤维的木质素大分子上,表明木质素发生了解聚后聚合。LCC、LCC-AcOH 降解液中的 Klason 木质素质量浓度(0.92 ~ 1.86 g/L)比酸溶木质素(0.15 ~ 0.38 g/L)的质量浓度高,随着 Klason 木质素和酸溶木质素质量浓度的变化,木质素发生了解聚与聚合。

经不同用量漆酶处理后的 LL1、LL2、LL3、LL4 较未处理的 LCC 木质素质量浓度分别降低 3.97%、8.73%、11.90%、12.70%; LAL1、LAL2、LAL3、LAL4 较未处理的 LCC-AcOH 木质素质量浓度分别降低 2.49%、5.97%、8.96%、12.94%。王娟等^[19]利用漆酶处理三倍体毛白杨碱性过氧化氢机械浆,发现木质素含量降低,这说明木质素发生了降解。

Li 等^[10]采用木聚糖酶对麦草浆进行处理,结果表明,经木聚糖酶处理后麦草浆表面木质素含量提高;随着木聚糖酶用量的增加,处理后的麦草浆表面木质素的含量也随之增加。LX1、LX2、LX3、LX4 较未处理的 LCC 木质素质量浓度分别增加 2.38%、13.49%、27.78%、30.95%; LAX1、LAX2、LAX3、LAX4 较未处理的 LCC-AcOH 木质素质量浓度分别增加 0.50%、1.49%、6.47%、10.45%。这可能是由于木聚糖酶切断了半纤维素主链,致使 LCC 的网状结构被破坏,从而释放了木质素片段,同时因半纤维素的移除使木质素更易被检测到,从而表现出总木质素质量浓度升高^[20-21]。LAL1—LAL4 木质素质量浓度增加率较 LL1—LL4 更低,这说明 LCC 被碳水化合物覆盖住的木质素更多。酸溶木质素和 Klason 木质素质量浓度呈现动态复杂变化,可能与木聚糖酶破坏木质素-碳水化合物复合体、木质素分子链的断裂和重组等有关^[22]。

2.1.2 降解液中糖组分质量浓度分析

漆酶和木聚糖酶处理后的 LCC、LCC-AcOH 降解液中各糖种类及质量浓度见表 3、表 4。

由表 3 可知:经不同用量漆酶处理后的 LL1、LL2、LL3、LL4 较未处理的 LCC 总糖质量浓度分别降低 2.56%、5.98%、1.99%、4.56%; LAL1、LAL2、LAL3、LAL4 较未处理的 LCC-AcOH 总糖质量浓度分别降低 20.70%、23.44%、33.98%、32.03%。与未处

理的 LCC 相比,经不同用量的漆酶处理后的 LL1、LL2、LL3、LL4 葡萄糖质量浓度分别增加 39.13%、43.48%、100.00%、56.52%,木糖质量浓度分别降低 5.50%、9.17%、9.17%、8.56%,阿拉伯糖质量浓度变化不明显;与未处理的 LCC-AcOH 相比, LAL1、LAL2、LAL3、LAL4 的葡萄糖质量浓度分别增加 71.43%、85.71%、85.71%、57.14%,木糖质量浓度分别降低 26.58%、31.65%、42.62%、39.66%,阿拉伯糖质量浓度分别增加 41.67%、75.00%、66.67%、66.67%。Rico 等^[23]研究漆酶-介质体系对桉木原料的预处理后发现,葡萄糖和木糖含量有所增加,总糖含量变化不明显,降解液的糖质量浓度有所降低,可能是糖类被进一步氧化的结果。

表 3 漆酶处理后降解液中糖质量浓度分析

Tab. 3 Analysis of the mass concentration of sugars in the degradation solution after treatment with laccase

样品	漆酶用量/ (U/mL)	质量浓度/(g/L)			
		葡萄糖	木糖	阿拉伯糖	总糖
LCC	0	0.23	3.27	0.01	3.51
LL1	0.8	0.32	3.09	0.01	3.42
LL2	1.6	0.33	2.97	*	3.30
LL3	2.4	0.46	2.97	0.01	3.44
LL4	3.2	0.36	2.99	*	3.35
LCC-AcOH	0	0.07	2.37	0.12	2.56
LAL1	0.8	0.12	1.74	0.17	2.03
LAL2	1.6	0.13	1.62	0.21	1.96
LAL3	2.4	0.13	1.36	0.20	1.69
LAL4	3.2	0.11	1.43	0.20	1.74

注: *表示痕量,含量极低,难以准确确定。

表 4 木聚糖酶处理后降解液中糖质量浓度分析

Tab. 4 Analysis of the mass concentration of sugars in the degradation solution after treatment with xylanase

样品	木聚糖酶用 量/(U/mL)	质量浓度/(g/L)			
		葡萄糖	木糖	阿拉伯糖	总糖
LCC	0	0.23	3.27	0.01	3.51
LX1	100	0.77	3.76	0.01	4.54
LX2	300	0.99	4.51	0.03	5.53
LX3	800	1.14	4.75	0.07	5.96
LX4	1 200	1.15	4.48	0.10	5.73
LCC-AcOH	0	0.07	2.37	0.12	2.56
LAX1	100	0.14	2.36	0.20	2.70
LAX2	300	0.19	3.53	0.22	3.94
LAX3	800	0.22	3.99	0.23	4.44
LAX4	1 200	0.21	2.54	0.24	2.99

由表 4 可知: LX1、LX2、LX3、LX4 较未处理的 LCC 总糖质量浓度分别增加 29.34%、57.55%、69.80%、63.25%; LAX1、LAX2、LAX3、LAX4 较未处理的 LCC-AcOH 总糖质量浓度分别增加 5.47%、53.91%、73.44%、16.80%。木聚糖酶处理后降解液总

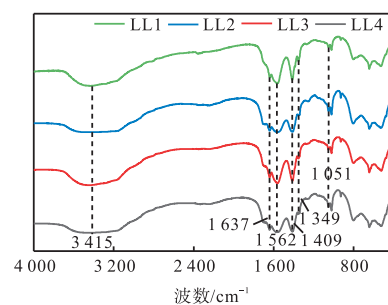
糖质量浓度增加,猜测是木聚糖酶降解 LCC 及 LCC-AcOH 中的木聚糖后产生了可溶性低聚糖或单糖,破坏半纤维素网络并释放被包裹的其他碳水化合物,同时间接断裂木质素与碳水化合物间的共价键,使原本通过共价键连接的糖类游离出来,致使所检测的总糖浓度增加^[24-25]。木聚糖酶处理后降解液中的木糖以及葡萄糖质量浓度先增加后降低,阿拉伯糖质量浓度增加,这是由于木聚糖酶主要作用于木聚糖^[26-27],通过水解木聚糖中的 β -1,4-糖苷键,将聚 4-O-甲基葡萄糖醛酸木糖降解,木糖主链被解聚为低聚木糖和木糖,阿拉伯糖和葡萄糖支链被分离出来,所以体系中的木糖含量会随着酶解反应的进行而不断上升,直至达到酶解反应的平衡点。与未处理的 LCC 相比,经不同用量木聚糖酶处理后的 LX1、LX2、LX3、LX4 的葡萄糖质量浓度都有较多增加,木糖质量浓度分别增加 14.98%、37.92%、45.26%、37.00%,阿拉伯糖呈上升趋势。与未处理的 LCC-AcOH 相比, LAX2、LAX3、LAX4 的木糖质量浓度分别增加 48.95%、68.35%、7.17%, LAX1、LAX2、LAX3、LAX4 的葡萄糖质量浓度有一定增加,阿拉伯糖质量浓度逐渐增加。

酶处理促进了多糖基质的破坏,对含有大量羟基的纤维素、半纤维素等多糖,漆酶能够使其结构中的部分羟基被氧化,对多糖主链或侧链上的化学键进行攻击,导致多糖分子链的断裂,从而改变 LCC 的化学性质和反应活性^[28-30]。木聚糖酶可以选择性水解含有木聚糖单元的主链或支链结构,水解作用会在多糖分子上产生新的末端,从而改变 LCC 的生物活性^[31-32]。

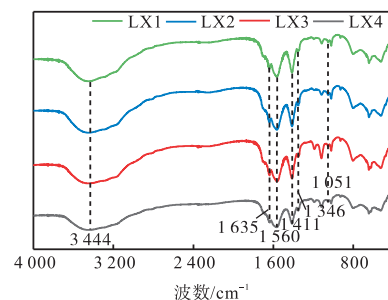
2.2 酶解后 LCC 表征结果

2.2.1 红外光谱检测

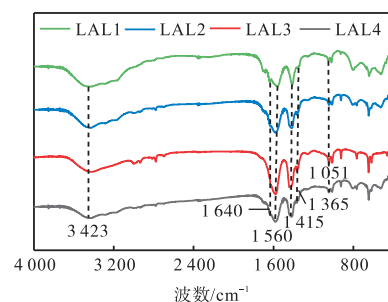
采用傅里叶变换红外光谱对降解液进行分析,结果如图 1 所示。漆酶以及木聚糖酶作用下桉木预水解液中 LCC、LCC-AcOH 降解产物在 $3415 \sim 3446 \text{ cm}^{-1}$ 处有羟基伸缩振动的吸收峰,在 $1409 \sim 1415 \text{ cm}^{-1}$ 处有纤维素亚甲基弯曲振动的吸收峰,在 $1340 \sim 1365 \text{ cm}^{-1}$ 处有纤维素羟基平面振动的吸收峰,在 $1051 \sim 1052 \text{ cm}^{-1}$ 处有纤维素和半纤维素羰基伸展振动的吸收峰。由此可知,漆酶与木聚糖酶作用下桉木预水解液 LCC 降解产物中都有糖结构单元的存在。在 $1635 \sim 1640 \text{ cm}^{-1}$ 处有木质素羰基振动的吸收峰,在 $1560 \sim 1562 \text{ cm}^{-1}$ 处有木质素共轭羰基振动的吸收峰,可知漆酶与木聚糖酶作用下桉木预水解液 LCC 降解产物中都有木质素结构单元的存在^[33]。



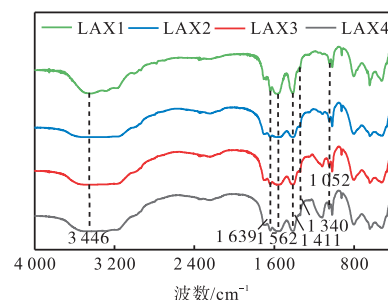
(a) 漆酶处理 LCC 后的降解液



(b) 木聚糖酶处理 LCC 后的降解液



(c) 漆酶处理 LCC-AcOH 后的降解液



(d) 木聚糖酶处理 LCC-AcOH 后的降解液

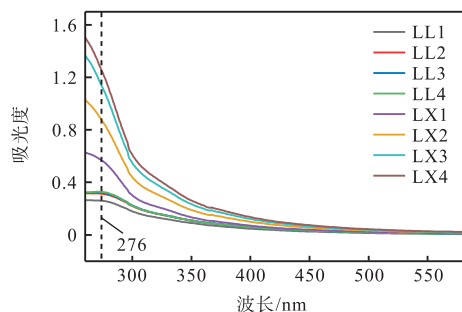
图 1 不同降解液的傅里叶变换红外光谱图

Fig. 1 FTIR spectra of different degradation solutions

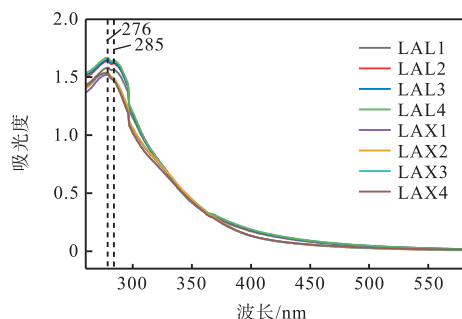
2.2.2 紫外-可见光谱分析

降解液的紫外-可见光谱如图 2 所示。由图 2 可知:降解液中的 LCC-AcOH 在 276、285 nm 处都有非共轭酚基团的特征吸收,这是苯环的特征吸收峰,说明所测样品的木质素苯环结构比较稳定,且木质素大多由愈创木基木质素和含对称性较多的紫丁香基木

质素组成。漆酶处理的 LCC 降解液在 276 nm 处存在特征峰, 说明所测的组分木质素基本由紫丁香基组成。经木聚糖酶处理的 LCC 降解液在 274 ~ 276 nm、281 ~ 285 nm 处的峰基本不可见。



(a) 酶处理 LCC 后的降解液



(b) 酶处理 LCC-AcOH 后的降解液

图 2 不同降解液的紫外-可见光谱图

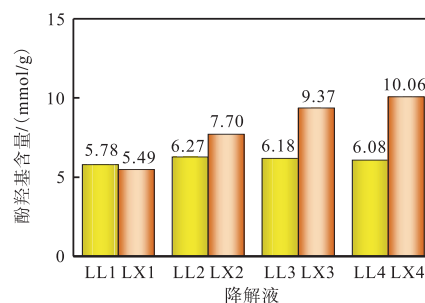
Fig. 2 UV-Vis spectra of different degradation solutions

2.3 酶解后 LCC 生物活性分析结果

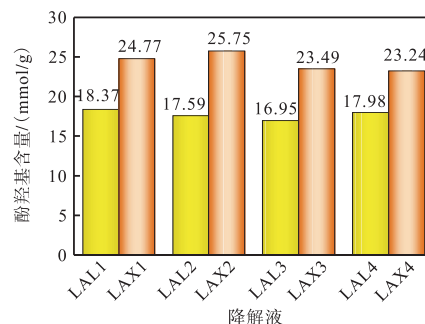
2.3.1 抗氧化性能

不同降解液中酚羟基含量如图 3 所示。分别经不同用量的漆酶、木聚糖酶处理后的 LCC、LCC-AcOH 降解液中, LL2、LX4、LAL1、LAX2 的酚羟基含量最高, 分别为 6.27、10.06、18.37、25.75 mmol/g, 其中经木聚糖酶处理的样品降解液较经漆酶处理的样品降解液的酚羟基含量相对更高。这说明样品经木聚糖酶处理后, 酚羟基暴露程度更大^[34-37]。

不同降解液中的 ABTS 自由基清除率如图 4 所示。通常来说, 酚羟基含量与 ABTS 自由基清除率呈正相关。由图 4 可知, LCC-AcOH 降解液的 ABTS 自由基清除率较 LCC 降解液的低, 可能是由于 LCC-AcOH 相对分子质量较大, 空间位阻阻碍酚羟基与 ABTS 自由基接触, 即使酚羟基含量处于较高水平, ABTS 自由基清除率仍不如预期^[38-40]。分别经不同用量的漆酶、木聚糖酶处理后的 LCC、LCC-AcOH 降解液中, LL2、LX4、LAL1、LAX2 的 ABTS 自由基清除率最高, 分别为 89.85%、89.47%、84.74%、88.38%。



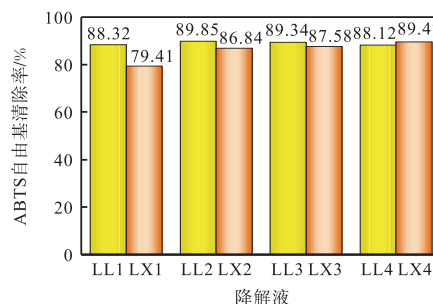
(a) LCC 酶处理后的降解液



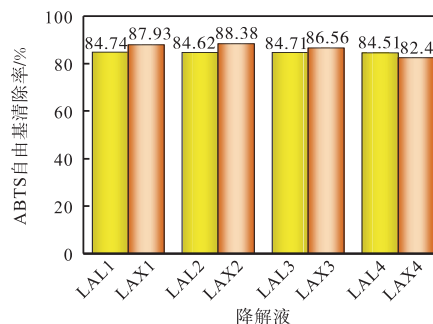
(b) LCC-AcOH 酶处理后的降解液

图 3 不同降解液中的酚羟基含量

Fig. 3 Content of phenolic hydroxyl groups in different degradation solutions



(a) LCC 酶处理后的降解液



(b) LCC-AcOH 酶处理后的降解液

图 4 不同降解液中的 ABTS 自由基清除率

Fig. 4 ABTS radical scavenging rate of different degradation solutions

2.3.2 抑菌性能

降解液的抑菌圈大小如图 5、图 6 所示。

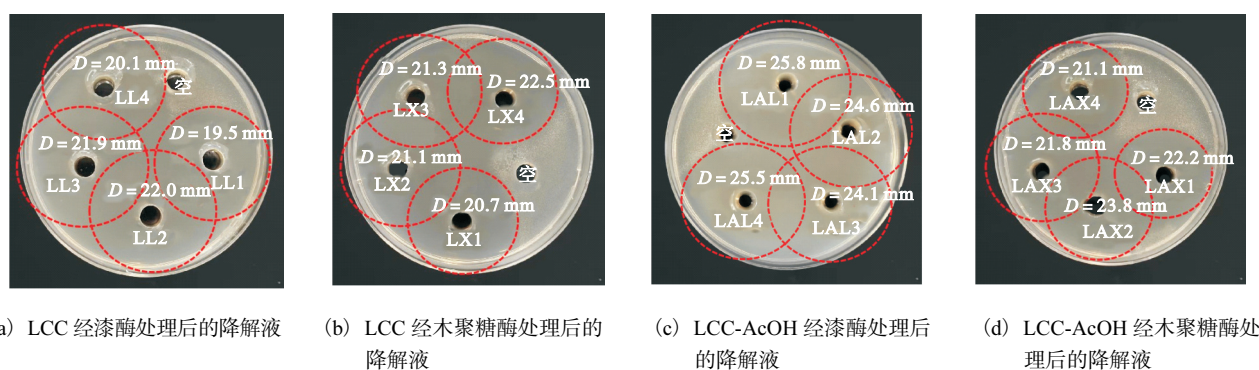


图5 不同降解液对大肠杆菌的抑菌性对比

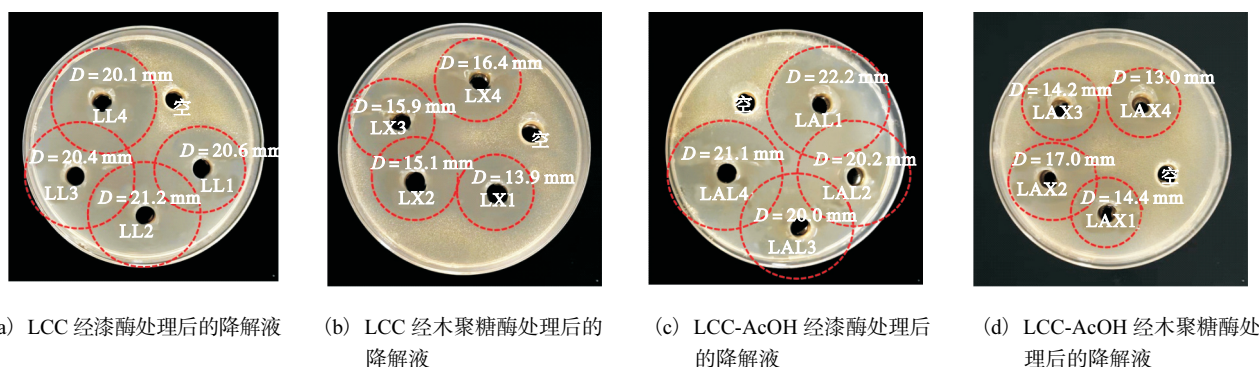
Fig. 5 Comparison of the antibacterial activities of different degradation solutions against *Escherichia coli*

图6 不同降解液对金黄色葡萄球菌的抑菌性对比

Fig. 6 Comparison of the antibacterial activities of different degradation solutions against *Staphylococcus aureus*

由图5、图6可知,在经不同用量的漆酶、木聚糖酶处理后的LCC、LCC-AcOH降解液中,LL2、LX4、LAL1、LAX2的抑菌活性最高,大肠杆菌抑菌圈直径分别为22.0、22.5、25.8、23.8 mm,金黄色葡萄球菌抑菌圈直径分别为21.2、16.4、22.2、17.0 mm。

漆酶处理后降解液的抑菌性能强于木聚糖酶处理后降解液的抑菌性能。经漆酶处理后降解液中木质素的质量浓度较经木聚糖酶处理后降解液中的低,这可能是由于经木聚糖酶处理后的样品降解液中的木质素活性位点数量少,与细菌等微生物的接触和相互作用受限,从而影响了其抑菌性能的发挥^[41]。

3 结 语

本研究以从桉木预水解液中提取的LCC、LCC-AcOH为研究对象,系统探究了分别通过不同用量的漆酶以及木聚糖酶处理后的降解液的组分与生物活性变化。研究发现,漆酶处理后的样品降解液中木质素及总糖质量浓度相对降低,而木聚糖酶处理后的样品降解液中木质素及总糖质量浓度相对增加。红外光谱进一步证实了降解液中糖和木质素结构单元的存在。紫外光谱表明LCC降解液中的木质素主要由

紫丁香基木质素构成,LCC-AcOH降解液中的木质素主要由紫丁香基木质素和愈创木基木质素构成。LCC-AcOH降解液酚羟基含量相对较高,而经漆酶处理的LCC降解液的ABTS自由基清除率相对更高。漆酶处理后降解液的抑菌性能强于木聚糖酶处理后降解液的抑菌性能。本研究通过酶对LCC进行分子修饰,从而调控LCC的功能活性,不仅对推动木质生物质资源的高值化利用有着积极意义,还为LCC在生物基抑菌材料、功能化医用敷料等领域的应用提供了理论基础。

参考文献:

- [1] Li Tian, Chen Chaoji, Brozena A H, et al. Developing fibrillated cellulose as a sustainable technological material[J]. *Nature*, 2021, 590(7844): 47-56.
- [2] Zhang Yuanwen, Mei Jun, Yan Cheng, et al. Bioinspired 2D nanomaterials for sustainable applications[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(18): 1902806.
- [3] Chaudhary G, Chaudhary N, Saini S, et al. Assessment of pretreatment strategies for valorization of lignocellulosic biomass: path forwarding towards lignocellulosic biorefinery[J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2024,

- 15(1): 1–36.
- [4] Si Xiaoqin, Lu Fang, Chen Jiazhi, et al. A strategy for generating high-quality cellulose and lignin simultaneously from woody biomass[J]. *Green Chemistry*, 2017, 19(20): 4849–4857.
- [5] Schutyser W, Renders T, Van Den Bosch S, et al. Chemicals from lignin: an interplay of lignocellulose fractionation, depolymerisation, and upgrading[J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(3): 852–908.
- [6] Tarasov D, Leitch M, Fatehi P. Flow through autohydrolysis of spruce wood chips and lignin carbohydrate complex formation[J]. *Cellulose*, 2018, 25: 1377–1393.
- [7] Capanema E, Balakshin M, Katahira R, et al. How well do MWL and CEL preparations represent the whole hardwood lignin?[J]. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 2015, 35(1): 17–26.
- [8] 李琦, 赵东霞, 刘世萍, 等. 不同来源重组漆酶的酶学特性[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2014, 38(3): 93–97.
- [9] Zhou Xuefei. Oxidation of lignin-carbohydrate complex by laccase/Co(salen) one-pot catalysis[J]. *Sains Malaysiana*, 2022, 51(3): 723–732.
- [10] Li Fei, Zhang Jialong, Ma Fuying, et al. Lytic polysaccharide monooxygenases promote oxidative cleavage of lignin and lignin-carbohydrate complexes during fungal degradation of lignocellulose[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(8): 4547–4560.
- [11] Zhao Yong, Shakeel U, Rehman M S U, et al. Lignin-carbohydrate complexes (LCCs) and its role in biorefinery[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 253: 120076.
- [12] Lawoko M, Henriksson G, Gellerstedt G. Structural differences between the lignin-carbohydrate complexes present in wood and in chemical pulps[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(6): 3467–3473.
- [13] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, et al. Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples[J]. *Golden: National Renewable Energy Laboratory*, 2006, 11: 65–71.
- [14] Chen Lin, Liu Haitang, Jin Xin, et al. The extraction, structural characterization and bioactivity of LCC from eucalyptus chips and its pre-hydrolysis solution[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 204: 117256.
- [15] Kowsalya M, Velmurugan T, Mythili R, et al. Extraction and characterization of exopolysaccharides from *Lacti-plantibacillus plantarum* strain PRK7 and PRK 11, and evaluation of their antioxidant, emulsion, and antibiofilm activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 242: 124842.
- [16] Alsamhary K I. Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus subtilis* and their antibacterial activity[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, 27(8): 2185–2191.
- [17] Wang Wenyue, Gao Jinghao, Qin Zhao, et al. Structural variation of lignin-carbohydrate complexes (LCC) in Chinese quince (*Chaenomeles sinensis*) fruit as it ripens[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 223: 26–35.
- [18] Dong Aixue, Fan Xuerong, Wang Qiang, et al. Changes on content, structure and surface distribution of lignin in jute fibers after laccase treatment[J]. *Journal of Natural Fibers*, 2018, 15(3): 384–395.
- [19] 王娟, 宗学刚. 漆酶处理三倍体毛白杨 APMP 及对其残余木素作用的研究[J]. *造纸化学品*, 2010, 22(1): 15–20.
- [20] 朱宇童, 李海潮, 胡愈诚, 等. 木质纤维 LCC 化学键在不同处理过程中的断裂机理研究进展[J]. *林业工程学报*, 2025, 10(1): 1–11.
- [21] Vasudhevan P, Kalaimurugan D, Ganesan S, et al. Enhanced biocatalytic laccase production using agricultural waste in solid-state fermentation by *Aspergillus oryzae* for p-chlorophenol degradation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 281: 136460.
- [22] 郝丞艺, 张凯强, 宋伟, 等. 木聚糖酶改性对竹粉/聚乳酸复合材料性能的影响[J]. *林业工程学报*, 2020, 5(3): 36–40.
- [23] Rico A, Rencoret J, Del Río J C, et al. Pretreatment with laccase and a phenolic mediator degrades lignin and enhances saccharification of *Eucalyptus* feedstock[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2014, 7: 1–14.
- [24] 周学飞. 木聚糖酶处理中碳水化合物的降解及对木素溶出性能的影响[J]. *中国造纸学报*, 2006, 21(3): 16–19.
- [25] Hou Minjie, Wang Leiming, Yang Chenfeng, et al. Xylanase-assisted adsorption process for high purity sugar stream development from hydrolysis liquor of kraft-based dissolving pulp production process[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 200: 116806.
- [26] Sun R C, Fang J M, Tomkinson J, et al. Fractional isolation, physico-chemical characterization and homoge-

- neous esterification of hemicelluloses from fast-growing poplar wood[J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 44(1): 29–39.
- [27] 姜立春, 阮期平, 蒲忠慧, 等. 半纤维素降解菌 J-16 的筛选及产酶特性研究[J]. 环境科学与技术, 2014, 37(7): 55–60.
- [28] Wakisaka N, Kobayashi W, Abe T, et al. Solution properties of laccase-treated pectic polysaccharides derived from steam-dried sugar beet pulp[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 150: 109712.
- [29] Wu Tongfeng, Liu Chengmei, Hu Xiuting. Enzymatic synthesis, characterization and properties of the protein-polysaccharide conjugate: a review[J]. Food Chemistry, 2022, 372: 131332.
- [30] Rencoret J, Pereira A, Del Río J C, et al. Delignification and saccharification enhancement of sugarcane byproducts by a laccase-based pretreatment[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2017, 5(8): 7145–7154.
- [31] Parab P, Khandeparker R, Amberkar U, et al. Enzymatic saccharification of seaweeds into fermentable sugars by xylanase from marine *Bacillus* sp. strain BT21[J]. 3 Biotech, 2017, 7: 1–7.
- [32] Moreira L R S, Filho E X F. Insights into the mechanism of enzymatic hydrolysis of xylan[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100: 5205–5214.
- [33] 任颖. 酶与仿酶作用下 LCC 中多糖组分的降解[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2015: 1–15.
- [34] Karkas M D, Bosque I, Matsuura B S, et al. Photocatalytic oxidation of lignin model systems by merging visible-light photoredox and palladium catalysis[J]. Organic Letters, 2016, 18(19): 5166–5169.
- [35] Ou Jinfen, Hu Songnan, Yao Lu, et al. Simultaneous strengthening and toughening lignin/cellulose nanofibril composite films: effects from flexible hydrogen bonds[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 453: 139770.
- [36] Goldschmid O. Determination of phenolic hydroxyl content of lignin preparations by ultraviolet spectrophotometry[J]. Analytical Chemistry, 1954, 26(9): 1421–1423.
- [37] Lee J H, Kim T M, Choi I G, et al. Phenolic hydroxyl groups in the lignin polymer affect the formation of lignin nanoparticles[J]. Nanomaterials, 2021, 11(7): 1790.
- [38] Zuo Airen, Dong Huanhuan, Yu Yanying, et al. The anti-tyrosinase and antioxidant activities of flavonoids dominated by the number and location of phenolic hydroxyl groups[J]. Chinese Medicine, 2018, 13: 1–12.
- [39] Quan Wei, Xu Yang, Xie Yiting, et al. In vitro antioxidant properties and phenolic profile of acid aqueous ethanol extracts from *Torreya grandis* seed coat[J]. Molecules, 2022, 27(17): 5560.
- [40] 杨宗美, 王飞, 李媛, 等. 酚类化合物体外自由基清除能力的研究[J]. 广东化工, 2022, 49(13): 40–43.
- [41] Meng Taotao, Ding Yu, Liu Yu, et al. In situ lignin adhesion for high-performance bamboo composites[J]. Nano Letters, 2023, 23(18): 8411–8418.

责任编辑: 周建军

(上接第 39 页)

- on the direct dissolution of prehydrolysis kraft dissolving pulp[J]. Biomacromolecules, 2021, 22(11): 4805–4813.
- [35] Zhang Huiru, Zhang Huihui, Tong Mingwei, et al. Comparison of the structures and properties of lyocell fibers from high hemicellulose pulp and high α -cellulose pulp[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2008, 107(1): 636–641.
- [36] Kosan B, Thümmel K, Meister F, et al. Suitable dissolving pulps and their impacts on solution spinning of cellulose man-made fibers[J]. Cellulose, 2024, 31(3): 1941–1955.
- [37] Granholm K, Harju L, Ivaska A. Desorption of metal ions from kraft pulps. Part 1. Chelation of hardwood and softwood kraft pulp with EDTA[J]. BioResources, 2010, 5(1): 206–226.
- [38] QB/T 4898—2015 溶解浆[S].
- [39] Guo Yaoxian, Cai Jian, Sun Tianqi, et al. The purification process and side reactions in the N-methylmorpholine-N-oxide (NMMO) recovery system[J]. Cellulose, 2021, 28(12): 7609–7617.

责任编辑: 周建军