

何士成,彭太兵,孙曼钰,等. 碱处理中温度对不同底物特性木质纤维素结构及酶解的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(21):292-296.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.21.082

碱处理中温度对不同底物特性木质纤维素结构及酶解的影响

何士成, 彭太兵, 孙曼钰, 贾士儒, 钟 成

(天津科技大学生物工程学院/工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津 300457)

摘要:为研究碱法预处理中温度对不同底物特性的木质纤维素结构及酶解效率的影响,选用柠条锦鸡儿(*Caragana korshinskii* Kom, 简称 CKK, 以下简称柠条)、水稻秸秆、小麦秸秆为原料,用 NaOH 溶液分别在常温和高温条件下进行预处理;通过扫描电镜(简称 SEM)分析、傅立叶转换红外光谱(简称 FTIR)分析、X-射线衍射(简称 XRD)分析等分析预处理后木质纤维素的表面形态、化学成分及结晶度的变化,并用纤维素酶对预处理后的木质纤维素原料进行酶解糖化试验。SEM 和成分分析结果表明,NaOH 溶液碱处理能有效去除木质纤维素的木质素成分,破坏致密的物理结构;FTIR 图谱表明,经 NaOH 溶液处理后,柠条、水稻秸秆和小麦秸秆的木质素结构受到一定程度的破坏,羟基、亚甲基、甲基基和酯键等部分官能团发生断裂;XRD 分析和酶解结果显示,碱处理能破坏木质纤维素原料中的结晶区,增大原料的孔隙率和内表面积,从而增加纤维素酶的可及性和酶解转化率,经过 24 h 酶解后,高温下碱处理能使水稻秸秆葡萄糖的转化率高达 94.87%;其中,温度又作为一个重要的因素影响 NaOH 溶液碱处理的效果,当温度升高时,NaOH 溶液碱处理对木质素的去除效果更好,对底物的物理结构破坏更严重,因此升高温度会促进 NaOH 溶液碱处理的作用效果。

关键词:碱法预处理;温度;木质纤维素;柠条;水稻秸秆;小麦秸秆;成分分析;酶解糖化

中图分类号: TQ351.3;TQ91 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)21-0292-05

能源危机与环境压力一直迫使人们寻求一种可代替现有化石能源的新能源,木质纤维素是地球上大量存在的一种极具开发潜力的可再生能源。中国木质纤维素资源丰富,仅农

作物秸秆年产生量就有约 7 亿 t,林木枝叶和林业废弃物约 9 亿 t^[1]。木质纤维素是一种具有高度结晶区、结构非常稳定的超分子,主要由 40%~50% 纤维素、15%~30% 半纤维素以及 15%~30% 木质素 3 种化学物质组成^[2-3]。在植物细胞壁中,木质素填充于纤维素和半纤维素之间,通过氢键和共价键与糖类聚合物连接在一起。这种结构严重阻碍了纤维素酶对它的降解,合适的预处理是打破这种抗性的有效手段。常用的预处理方法有物理法、化学法和物理化学法等,其中碱法预处理是一种备受关注的化学预处理方法,碱法预处理可去除

收稿日期:2016-06-15

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201503135-15)。

作者简介:何士成(1991—),男,山东枣庄人,硕士,主要从事木质纤维素生物质降解研究。E-mail:hsctust@163.com。

通信作者:钟 成,博士,教授,主要从事纤维素的生物合成代谢与降解机制研究。E-mail:czhong@tust.edu.cn。

[7] Yang H S, Zhou Y, Zhang T, et al. Metabolic characteristics of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) during aestivation[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2006, 330(2): 505-510.

[8] 张晓凌. 柄海鞘摄食、呼吸和排泄的研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2004.

[9] 张志南. 水层-底栖耦合生态动力学研究的某些进展[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2000, 30(1): 115-122.

[10] 许忠能, 林小涛, 林继辉, 等. 营养盐因子对细基江蓠藻枝变种氮、磷吸收速率的影响[J]. 生态学报, 2002, 22(3): 366-374.

[11] 王 岩, 齐振雄. 不同单养和混养海水实验围隔的氮磷收支[J]. 汕头大学学报(自然科学版), 1998, 13(2): 71-75.

[12] Funge-Smith S J, Briggs M R P. Nutrient budgets in intensive shrimp ponds: implication for sustainability[J]. Aquaculture, 1998, 164(1/2/3/4): 117-133.

[13] 樊绘曾. 海参:海中人参——关于海参及其成分保健医疗功能的研究与开发[J]. 中国海洋药物, 2001(4): 37-44.

[14] Boyd C E. Aquaculture pond fertilization: impacts of nutrient input on production[M]. New York: Wiley-Blackwell, 2012: 219.

[15] 江红霞, 郑 怡. 8 种微藻抗菌活性研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2002, 18(2): 117-120.

[16] Neori A, Krom M D, Ellner S P, et al. Seaweed biofilters as regulators of water quality in integrated fish-seaweed culture units[J]. Aquac, 1996, 141(3/4): 183-199.

[17] Jiang A L, Lin J, Wang C H, et al. Physiological energetics of the ascidian *Styela clava* in relation to body size and temperature[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2008, 149(2): 129-136.

[18] Ribes M, Coma R, Atkinson M J, et al. Sponges and ascidians control removal of particulate organic nitrogen from coral reef water[J]. Limnology and Oceanography, 2005, 50(5): 1480-1489.

[19] 秦传新, 张立勇, 方 涛, 等. 复合式循环养殖系统——“藻塘”与“食藻动物塘”研究进展[J]. 宁波大学学报(理工版), 2007, 20(1): 31-37.

原料中的部分木质素,提高剩余多聚糖的酶可及性。但由于不同原料间底物分子结构存在差异,同一种预处理方法在相同预处理条件下对不同底物产生的预处理效果具有一定的差异。

本研究选用柠条锦鸡儿 (*Caragana korshinskii* Kom, 简称 CKK, 以下简称柠条, 木本植物)、水稻秸秆、小麦秸秆 (草本植物) 作底物, 采用 NaOH 溶液分别在常温 and 高温条件下对这 3 种原料进行预处理, 研究碱在同一预处理条件下对不同底物的预处理效果及预处理后木质纤维素底物酶解规律的差异, 为生物质能源开发利用过程中木质纤维素原料预处理参数的选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 生物质材料

柠条锦鸡儿采自内蒙古自治区乌兰察布市凉城县, 水稻秸秆采自湖南省永州市新田县, 小麦秸秆采自山东省枣庄市, 以上原料自然风干, 剪成 2~3 cm 小段, 用 FZ102 微型植物试验粉碎机 (河北省黄骅市齐家务科学仪器厂) 粉碎, 过 20 目筛。

1.2 预处理

柠条、水稻秸秆和小麦秸秆分别与 0.1 mol/L NaOH 溶液按料液比 1 g : 20 mL 混合, 分别在室温条件下, 于高压蒸汽灭菌锅中 121 °C 预处理 1 h, 4 000 r/min 离心 15 min, 弃去上清液, 固体残渣水洗至中性。

1.3 木质纤维素的特征分析

1.3.1 扫描电镜 (简称 SEM) 分析 用扫描电镜观察预处理前后木质纤维素的表面结构。样品观察前先喷金处理, 电压 5~15 kV。

1.3.2 傅立叶转换红外光谱 (简称 FTIR) 分析 用傅立叶红外光谱测定碱法预处理前后木质纤维素化学成分的变化, 仪器分辨率为 4 cm⁻¹, 波数范围为 400~4 000 cm⁻¹, 扫描次数为 16 次, 样品处理采用 KBr 压片法, 2 mg 样品与 300 mg KBr 混合, 压片, 使样品粒径降低, 分散均匀。

1.3.3 X-射线衍射 (简称 XRD) 分析 用 X-射线衍射方法分析 NaOH 溶液预处理前后柠条、水稻秸秆和小麦秸秆纤维素结晶度的变化, 在 2θ = 10°~40° 范围内扫描, 变化速率为 2°/min。结晶度计算公式为

$$\text{结晶度 (简称 CrI)} = (I_{002} - I_{18.0^\circ}) / I_{002} \times 100\%$$

式中: I_{002} 为 002 衍射晶面 2θ = 22.8° 的强度, $I_{18.0^\circ}$ 为 2θ = 18.0° 散射峰的强度。

1.3.4 预处理前后木质纤维素的成分分析 预处理前后柠条、水稻秸秆和小麦秸秆的葡聚糖、木聚糖和酸不溶性木质素的含量参照美国可再生能源实验室 (简称 NREL) 的试验方法进行测定^[4]。

葡聚糖、木聚糖含量的测定方法: 原料用 72% 硫酸在 30 °C 下水解 1 h, 再加入 84 mL 去离子水, 在 121 °C 下水解 1 h。水解液用 0.22 μm 水相滤膜过滤, 用高效液相色谱 (简称 HPLC) 测定水解液中的糖分含量。D-(+)-葡萄糖、D-(+)-木糖和 L-(+)-阿拉伯糖作为混合标品, 采用外标法进行定量分析。葡聚糖、木聚糖含量的计算公式为

$$\text{葡聚糖含量} = \frac{C_g \times 86.73 \times 0.9}{\text{生物质干质量} \times 1\,000} \times 100\%;$$

$$\text{木聚糖含量} = \frac{C_x \times 86.73 \times 0.88}{\text{生物质干质量} \times 1\,000} \times 100\%。$$

式中: C_g 、 C_x 分别表示水解液中葡萄糖、木糖的浓度, g/L; 生物质干质量的单位为 g。

酸不溶性木质素和灰分含量的测定方法: 取滤纸于 105 °C 烘箱烘干至恒质量, 精确称量并记录滤纸质量。水解液残渣真空抽滤, 抽滤后的残渣于 105 °C 烘箱中烘干至恒质量, 用马弗炉测定样品灰分。酸不溶性木质素含量的计算方法为

$$AIL = \frac{m_1 \times m_2 \times m_3}{m_4} \times 100\%。$$

式中: AIL 表示酸不溶性木质素的含量; m_1 、 m_2 、 m_3 、 m_4 分别表示滤纸和固体的质量 (g)、滤纸的质量 (g)、灰分质量 (g)、生物质干质量 (g)。

1.3.5 酶解试验方法 酶解反应的总体积为 20 mL, 在 100 mL 的三角瓶中进行。葡聚糖负荷为 1%, 其中葡聚糖负荷定义为葡聚糖的质量占酶解混合物总体积的百分比 (木质纤维素材料的密度近似为 1 g/mL)。酶解反应所用的酶为纤维素酶 Celluclast 1.5 L 和 β-葡萄糖苷酶, 其中纤维素酶 Celluclast 1.5 L 按 15 FPU/g 葡聚糖的负荷添加 (Celluclast 1.5 L 的滤纸酶活性为 37.76 FPU/mL), β-葡萄糖苷酶的添加体积和纤维素酶的相同。酶解温度为 50 °C, 转速为 180 r/min。分别在酶解反应进行 3、6、24、48、72 h 时取样, 所取样品 12 000 r/min 离心 10 min 后取上清, 用 0.22 μm 水相注射器滤膜过滤, 用 HPLC 测定酶解液中的糖浓度, 计算葡聚糖和木聚糖的转化率。

$$\text{葡聚糖转化率} = \frac{c_g \times V \times 0.9}{m_g} \times 100\%;$$

$$\text{木聚糖转化率} = \frac{c_x \times V \times 0.88}{m_x} \times 100\%。$$

式中: V 为酶解液体积, mL; m_g 、 m_x 分别为酶解初始条件下葡聚糖和木聚糖的质量, g。

2 结果与分析

2.1 NaOH 溶液预处理对柠条、水稻秸秆和小麦秸秆表观形态的影响

从图 1 可以看出, 和未处理水稻秸秆相比, 常温碱处理的水稻秸秆表面出现了一些孔洞, 可能是秸秆中木质素溶出的结果, 升高预处理温度后, 碱液对水稻秸秆表观结构的破坏程度更为明显, 秸秆表面杂乱无序, 部分纤维断裂, 纤维的排列也变得疏松。同水稻秸秆一样, 小麦秸秆也来源于草本植物, 常温碱处理后小麦秸秆致密有序的结构受到了一定程度的破坏, 导管结构出现了一定程度的皱缩, 升高处理温度后, 小麦秸秆的纤维束变得松软, 部分表面坍塌。和小麦秸秆、水稻秸秆不同的是, 柠条属于木本植物, 从各自未处理的 SEM 照片上也可明显看出, 柠条的整体结构更为致密, 但是经过常温和高温碱处理后样品表观结构同样变化很大, 升高碱处理温度后, 对样品的破坏程度更加突出。

2.2 NaOH 预处理后柠条、水稻秸秆和小麦秸秆的 FTIR 光谱

柠条、水稻秸秆和小麦秸秆经 NaOH 溶液在不同温度条

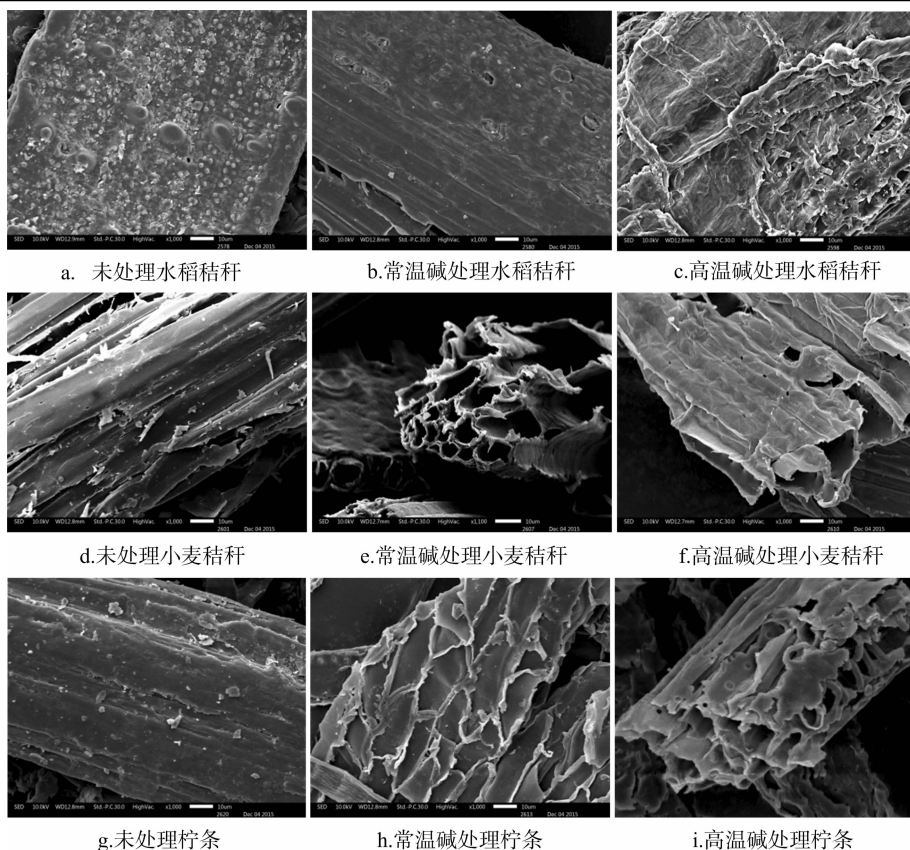


图1 不同温度下 NaOH 溶液预处理后各种底物的 SEM 照片

件下预处理后的 FTIR 光谱如图 2 所示。经 NaOH 溶液预处理后, 柠条、水稻秸秆和小麦秸秆的特征峰变化较明显, 特征峰透光率强度整体呈现减弱趋势, 其中, 表征羟基伸缩振动的峰在波数 $3\,425\text{ cm}^{-1}$ 处强度明显减弱, 表明 NaOH 溶液预处理破坏了木质纤维素中的部分氢键, 而且随着预处理温度的提高, 对氢键的破坏程度增强, 从而对纤维素结晶区的破坏程度也增大^[5]。波数 $2\,918\text{ cm}^{-1}$ 处表征纤维素中 $-\text{CH}_2-$ 伸缩振动的特征峰强度明显减弱, 表明 NaOH 溶液预处理使纤维素大分子中甲基、亚甲基发生了部分断裂, 进一步表明纤维素的含量增加^[6]。波数 $1\,166\text{ cm}^{-1}$ 处表征酯键中 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 键伸缩振动的吸收峰强度明显减弱, 表明碱处理打破了糖聚合物和木质素间的重要酯键^[7]。波数 $1\,045\text{ cm}^{-1}$ 峰强度的减弱表征愈创木基的羟基被破坏^[8]。波数 $1\,245\text{ cm}^{-1}$ 表征乙酰基中 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动, NaOH 溶液处理后该吸收峰强度明显降

低, 表明木质纤维素物质经 NaOH 溶液处理后, 大部分乙酰基被去除, 这与朱圆圆等得出的结论^[8]一致。波数 $1\,730\text{ cm}^{-1}$ 处表征羧基 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动的吸收峰消失, 波数 $1\,636\text{ cm}^{-1}$ 表征吸附水 $\text{H}-\text{O}-\text{H}$ 弯曲振动的吸收峰, $1\,034\text{ cm}^{-1}$ 表征 $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ 的变形, $1\,112$ 、 $1\,051\text{ cm}^{-1}$ 峰强度的变化与纤维素和半纤维素相关基团的变化有关。综上所述, 柠条、水稻秸秆和小麦秸秆经 NaOH 溶液处理后, 木质素结构受到一定程度的破坏, 部分官能团, 如羟基、亚甲基、甲氧基和酯键等发生断裂。

由图 2 可以看出, 对于草本植物水稻秸秆和小麦秸秆, 相较于常温碱处理, 高温碱处理后样品中木质素特征峰减弱程度更大, 表明升高温度对水稻秸秆和小麦秸秆中木质素的破坏作用较大, 这与成分分析得出的结果一致。而对于木本植物柠条, 从柠条预处理前后的红外图谱中可看出, 升高预处理

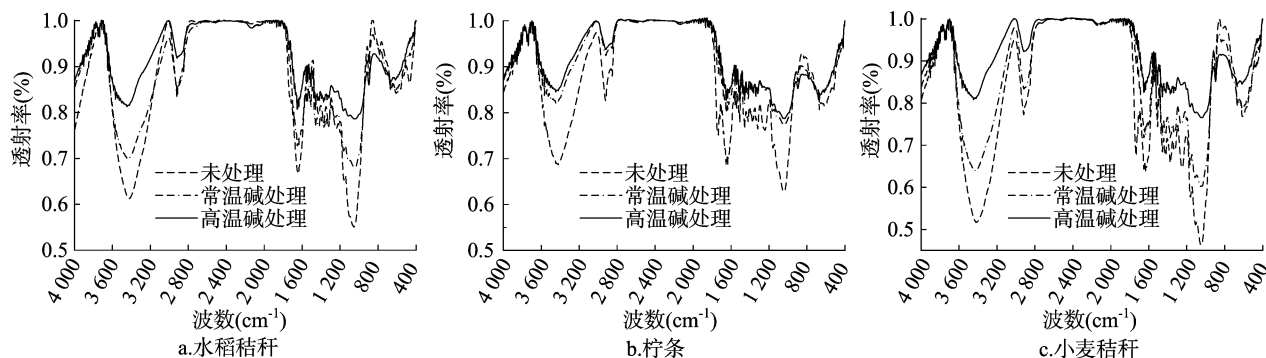


图2 未处理原料与不同温度条件下 NaOH 溶液预处理后原料的 FTIR 光谱

温度对柠条木质素相关基团的特征峰影响程度并不大,可能是由于相较于草本植物,木本植物细胞壁中木质素、半纤维素和纤维素的交联程度更为致密,从而使木质素更难去除。这也表明在同一预处理条件下,NaOH 溶液对木本植物和草本植物的处理效果有较大的差异。

2.3 NaOH 溶液预处理对柠条、水稻秸秆和小麦秸秆纤维素结晶度的影响

由表 1 可以得出,经 NaOH 溶液预处理后,水稻秸秆、小麦秸秆和柠条的结晶度都有所降低,这是因为 OH⁻能皂化半纤维素和木质素之间的酯键以及削弱纤维素和半纤维素之间的氢键,破坏木质纤维素原料中的结晶区,使木质纤维素发生润胀,增大原料的孔隙率和比表面积,从而增加酶对木质纤维素的可及度。由结晶度结果可以看出,升高碱处理温度,3 种底物结晶度都明显降低,其中,水稻秸秆的结晶度变化最大,结晶度降低至 56.0%,小麦秸秆和柠条经高温碱处理后结晶度大致相当,分别为 56.9% 和 54.1%。

表 1 NaOH 溶液预处理后各底物的结晶度

样品	CrI(%)
未处理水稻秸秆	71.8
常温碱处理水稻秸秆	63.7
高温碱处理水稻秸秆	56.0
未处理小麦秸秆	66.0
常温碱处理小麦秸秆	62.2
高温碱处理小麦秸秆	56.9
未处理柠条	63.5
常温碱处理柠条	61.7
高温碱处理柠条	54.1

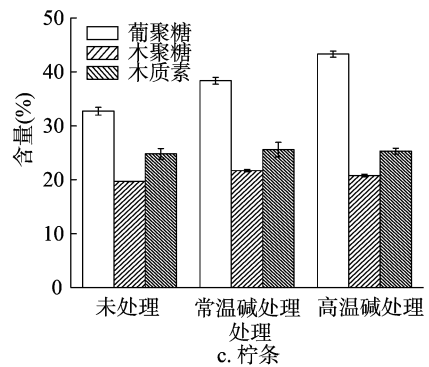
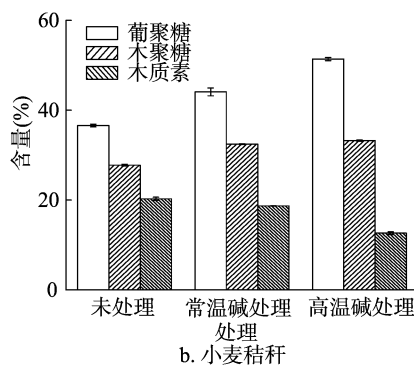
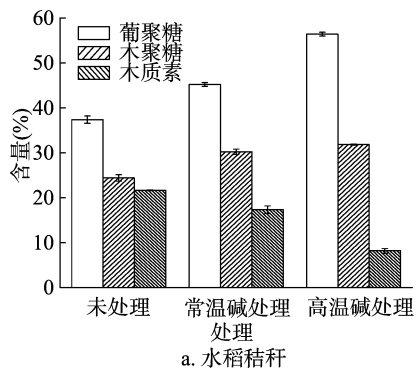


图3 不同温度条件下NaOH溶液预处理对不同底物成分含量的影响

2.5 碱处理对柠条、水稻和小麦秸秆酶解的影响

对经过 NaOH 溶液在不同温度条件下预处理后的水稻秸秆、小麦秸秆和柠条进行酶解糖化。由图 4 可知,碱处理可以有效提高底物中葡聚糖的转化率,升高碱处理温度后这种作用变得更为明显。其中,经 24 h 酶解后,高温碱处理水稻秸秆的葡聚糖绝大部分已被酶解转化,转化率高达 94.87%,是未处理水稻秸秆葡聚糖转化率(34.30%)的 2.77 倍,对应木聚糖转化率是未处理的 5.66 倍(图 5)。因为经高温碱处理后大部分的木质素溶解并转移到溶液中,而木质素含量又是影响酶解转化的关键因素,木质素含量降低,酶解体系中酶的有效吸附减少,从而使酶的利用率增加。高温碱处理小麦秸

2.4 碱处理前后各底物的成分分析

不同温度条件下 NaOH 溶液预处理对柠条、水稻秸秆、小麦秸秆各成分含量的影响如图 3 所示。NaOH 溶液可以破坏木质素聚合体间的醚键,使木质素解聚为小片段的聚合体,从而溶解在 NaOH 溶液中。经过 NaOH 溶液预处理后,水稻秸秆和小麦秸秆中纤维素(葡聚糖)、半纤维素(木聚糖)含量明显升高,木质素含量明显降低,表明 NaOH 溶液预处理已经去除了秸秆中的大量木质素,从而使得纤维素和半纤维素比例相对升高。然而,经过 NaOH 溶液预处理后,柠条中半纤维素和木质素含量变化不大,纤维素含量却有一定程度的升高。根据赵伟等的研究,柠条枝茎富含蛋白质和脂肪,在利用 NaOH 溶液对柠条预处理的过程中,一部分蛋白质和脂肪成分被提取出来^[9-11]。因此,预处理后柠条中纤维素的含量增加。另外,虽然 NaOH 溶液预处理对柠条中的木质素有一定程度地去除,但其与纤维素、半纤维素的紧密交联结构使得柠条的木质素去除效果不如水稻秸秆和小麦秸秆明显。从图 3 中还可以明显看出,温度对碱处理后木质纤维素各成分含量的影响较大,与常温碱处理相比,升高温度使各木质纤维素底物的葡聚糖含量分别增加 19.04%(水稻秸秆)、14.80%(小麦秸秆)、10.59%(柠条),水稻秸秆和小麦秸秆木质素含量分别降低 13.46%、7.65%,说明温度能有效地促进碱溶液对木质纤维素中木质素的破坏。同时,在同一预处理条件下,升高温度对柠条、水稻秸秆和小麦秸秆的纤维素含量影响程度并不一致,升高预处理的温度,纤维素含量变化由大到小为水稻秸秆>小麦秸秆>柠条。这说明由于不同底物的分子结构有一定差异,同一种预处理方法对不同底物的影响也呈现出一定差异。

秆最终的葡聚糖转化率为 82.68%,是未处理小麦秸秆葡聚糖转化率(19.81%)的 4.17 倍,对应木聚糖转化率是未处理的 5.75 倍。同为草本植物,碱处理的小麦秸秆酶解时表现出和水稻秸秆相类似的结果。

不同的预处理底物因结构之间的差异,在酶解糖化中表现出的结果也不相同。小麦秸秆和水稻秸秆酶解糖化的结果类似,但是和柠条样品的酶解结果相差较大,高温碱处理的柠条样品葡聚糖和木聚糖的最终转化率都并不高,主要受致密的物理结构和较高木质素含量的影响,从成分分析和 SEM 的结果也可以证明这一点。总的来说,同一预处理和酶解条件下,草本植物比木本植物更易酶解。

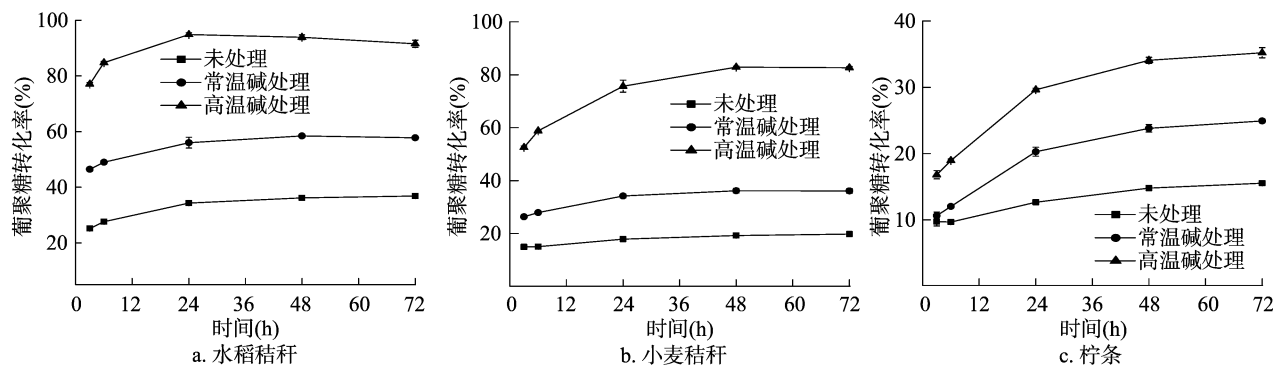


图4 NaOH 溶液预处理后各底物葡萄糖的转化率

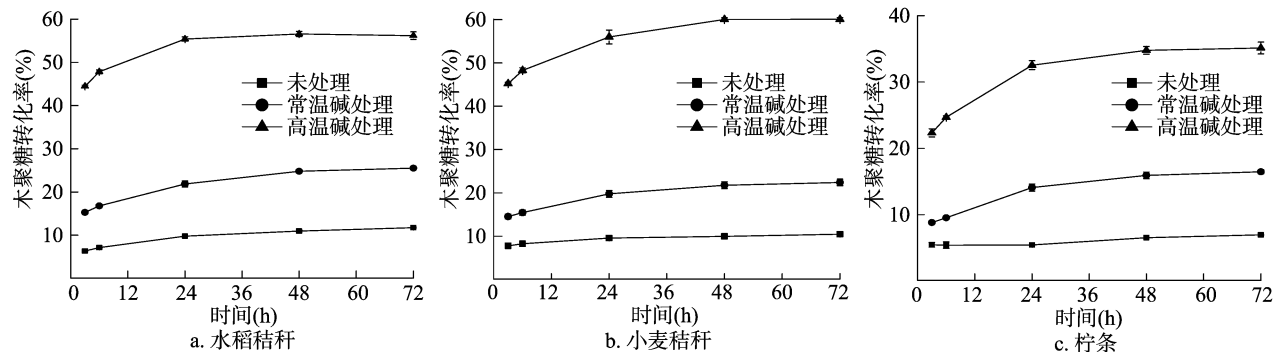


图5 NaOH 溶液预处理后各底物木聚糖的转化率

3 结论与讨论

NaOH 溶液碱处理作为一种有效的预处理方式,能有效去除木质纤维素的木质素成分,破坏致密的物理结构,这一点在 SEM 照片中可以直观地看出。FTIR 图谱、XRD 分析和成分分析可以得到相同的结果,即预处理后木质纤维素的木质素结构受到一定程度的破坏,结晶度降低,酶解转化率提高。其中温度作为一个重要的因素影响 NaOH 溶液碱处理的效果,温度升高时,NaOH 溶液碱处理对木质素的去除效果更好,对底物的物理结构破坏更严重,因此升高温度是促进 NaOH 溶液碱处理效果的一种有效方式。

本研究依托 NaOH 溶液预处理方法,选取小麦秸秆、水稻秸秆作为草本类木质纤维素的代表,选取柠条作为木本类木质纤维素的代表,研究表明同一预处理条件对不同底物预处理效果有一定影响。木本类木质纤维素由于致密的物理结构和更高的木质化程度,使得其对预处理和酶解糖化的阻抗作用更大。为了更好地利用木本类木质纤维素,须根据木本植物特殊的物理化学结构,寻找更有效的预处理方法。

参考文献:

[1] Zhong C, Cao Y X, Li B Z, et al. Biofuels in China: past, present and future[J]. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 2010, 4(3): 326 – 342.

[2] Kapoor M, Raj T, Vijayaraj M, et al. Structural features of dilute acid, steam exploded, and alkali pretreated mustard stalk and their impact on enzymatic hydrolysis[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 124: 265 – 273.

[3] Christensen C H, Rass – Hansen J, Marsden C C, et al. The renewable chemicals industry[J]. Chem Sus Chem, 2008, 1(4): 283 – 289.

[4] 郑明霞, 李来庆, 郑明月, 等. 碱处理对玉米秸秆纤维素结构的影响[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(6): 27 – 31.

[5] Sun J X, Sun X F, Zhao H, et al. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse[J]. Polymer Degradation and Stability, 2004, 84(2): 331 – 339.

[6] Gastaldi G, Capretti G, Focher B, et al. Characterization and proprieties of cellulose isolated from the *Crambe abyssinica* Hull[J]. Industrial Crops and Products, 1998, 8(3): 205 – 218.

[7] 马海元, 林 燕, 张 伟, 等. NaOH 预处理小麦秸秆对纤维素酶水解的影响[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(18): 4355 – 4358.

[8] 朱圆圆, 顾夕梅, 朱均均, 等. 两步碱法预处理对玉米秸秆组分及结构的影响[J]. 中国科技论文, 2015, 10(12): 1376 – 1381.

[9] 赵 伟, 杨桂芹. 几种木本植物饲料的营养价值及在畜禽生产上的应用现状[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2011(3): 93 – 96.

[10] 罗惠娣, 牛西午, 毛杨毅, 等. 柠条的营养特点与利用方法研究[J]. 中国草食动物, 2005, 25(5): 35 – 38.

[11] 刘 颖, 冯金朝, 吴亚丽, 等. 内蒙古和林格尔地区柠条锦鸡儿生化成分分析[J]. 干旱区资源与环境, 2008, 22(9): 159 – 162.