

## 油茶籽壳的化学成分分析与扫描电镜观察

杨俊换, 周建平\*, 胡尧超

(湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

**摘 要:** 用化学分析法测定油茶籽壳的主要成分, 并用不同方法处理油茶籽壳后测定其主要成分, 同时利用扫描电镜对处理后油茶籽壳的细胞微观结构进行观察。结果表明, 油茶籽壳中水分占 11.07%, 灰分占 1.02%, 粗脂肪占 2.53%, 粗蛋白占 2.70%, 还原糖占 1.59%, 茶皂素占 10.68%, 半纤维素占 22.00%, 纤维素占 17.32%, 木质素占 31.35%, 油茶籽壳的成分处理前、后有所变化; 油茶籽壳的细胞壁主要由半纤维素、纤维素、木质素组成, 且每部分都呈层状结构, 半纤维素分布于细胞壁的内层, 纤维素分布于细胞壁的中层, 木质素分布于纤维素和半纤维素的层状结构之间和细胞壁的外层。

**关 键 词:** 油茶籽壳; 成分分析; 微观结构; 纤维素; 木质素

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2013)05-0554-05

## Analysis of chemical composition and observation of scanning electron microscopy on camellia testa

YANG Jun-huan, ZHOU Jian-ping\*, HU Yao-chao

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** The main components of camellia testa were determined by chemical analysis after processed with different methods. The microstructure was observed using scanning electron microscopy (SEM). The results indicated that moisture, ash, fat protein, reducing sugar, camellia saponin, hemicellulose, cellulose and content were 11.07%, 1.02%, 2.53%, 2.70%, 1.59%, 10.68%, 22.00%, 17.32% and 31.35% in camellia testa, respectively. The main components of tested camellia testa were changed to some extent. SEM result showed that the cell-wall of camellia testa was mainly composed of hemicellulose, cellulose, lignin. The structure of cell-wall showed layers' structure, with hemicellulose in the inner layer, cellulose in the middle and lignin in the outer layer.

**Key words:** *Camellia* testa; composition analysis; microstructure; cellulose; lignin

油茶(*Camellia oleifera* Abel.)是山茶科山茶属植物, 起源于中国, 主要分布在湖南、江西、广西、安徽、湖北等 17 个省的丘陵地区, 其中以湖南栽培最多<sup>[1]</sup>。据国家粮油信息中心统计, 2012 年, 中国油茶籽产量由 1990 年的 52.3 万 t 上升至 109.2 万 t, 增长了 108.8%, 年平均增长 5.4%<sup>[2]</sup>。油茶籽是中国特有的油料作物, 全籽含油 30%左右, 仁含油达 40%~60%, 壳基本不含油, 壳仁质量比为 0.5~1.5<sup>[3]</sup>。在榨油过程中, 油茶籽壳不仅会增大设备磨损, 还会降低油的得率, 影响油品的质量, 而且油

茶籽壳被丢弃将造成环境污染与资源浪费<sup>[4]</sup>。目前, 国内外对油茶籽壳的研究尚不多见, 虽有利用油茶籽壳制取糠醛、活性炭等方面的报道, 但研究仍处于试验阶段。笔者对油茶籽壳中的水分、灰分、粗脂肪、总糖、蛋白质、油茶皂素、纤维素、半纤维素、木质素等主要化学成分进行测定, 并采用不同方法对油茶籽壳进行处理, 然后测定处理后油茶籽壳的主要成分, 并利用扫描电镜对处理后的油茶籽壳进行观察, 以检验各种处理方法对油茶籽壳结构的影响, 旨在通过油茶籽壳主要成分与细胞壁微结

收稿日期: 2013-07-22

基金项目: 国家“863”计划项目(2013AA102107)

作者简介: 杨俊换(1987—), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事油脂资源与加工研究; \*通信作者, zhou1923@sina.com

构的分析,为寻求油茶籽壳利用的工艺路线与研究条件提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、仪器设备及试剂

油茶籽壳由湖南农业大学康奕达油茶产品研究中心提供。对油茶籽壳进行挑选、除杂后,用高速万能粉碎机粉碎,过孔径 0.85 mm 筛,置于干燥、洁净的试剂瓶中室温保存,备用。

主要仪器设备:索氏抽提器;微量凯氏定氮装置;数显恒温水浴锅(HH-8,上海浦东物理光学仪器厂);多管架自动平衡离心机(TDZ5-WS,长沙鼎城科学仪器有限公司);可调功率微波化学反应器(LWMC-205,南京陵江科技开发有限责任公司);电热鼓风干燥箱(101A-3ET,上海实验仪器厂有限公司);循环水式多用真空泵(SHB-III,郑州长城科工贸有限公司);扫描电镜(SEM-6380IV,日本电子株式会社)。

主要试剂有乙醚、葡萄糖、浓硫酸、氢氧化钾、醋酸、磷酸氢二钠、十氢钠、月桂基硫酸钠、乙二醇独乙醚、 $\alpha$ -淀粉酶、十六烷基三甲基溴化铵、香草醛、油茶皂素等。以上试剂均为分析纯。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 油茶籽壳成分分析

含水量用常压烘箱干燥法按 GB5009.3—2010 进行测定;灰分含量用灼烧法按 GB5009.4—2010 进行测定;粗脂肪含量用索氏提取法按 GB/T 14772—2008 进行测定;粗蛋白质含量用凯氏定氮法按 GB5009.5—2010 进行测定;还原糖含量用直接滴定法,按 GB/T5513—2008 进行测定;中性洗涤纤维(DNF)按 GB/T20806—2006 进行测定;酸性洗涤纤维(ADF)按照 NY/T1459—2007 进行测定;油茶皂素含量用香草醛-浓硫酸比色法<sup>[5]</sup>进行测定。

木质素的测定:参考 Southgate 改良法<sup>[6]</sup>,准确称取 1.000 0 g 已预处理的油茶籽壳,经 58%的甲醇回流提取 2 h,离心弃去上清液,向残渣中加入 50 mL 蒸馏水,水浴 2 h 后离心分离,弃上清液,将残渣干燥 12 h。向上述干燥的残渣中缓缓加入 50 mL 72%的浓硫酸,于 4 °C 冰箱中反应 24 h,缓慢加入蒸馏水停止反应。将上述液体缓慢移入已恒重的玻

璃砂芯坩埚中过滤,并用蒸馏水洗涤滤渣至中性,残渣用无水乙醇洗涤后风干,于 70 °C 烘箱中干燥至恒重,计算木质素含量。

半纤维素含量=中性洗涤纤维含量-酸性洗涤纤维含量。

纤维素含量=酸性洗涤纤维含量-木质素含量。

#### 1.2.2 油茶籽壳结构的扫描电镜观察

##### 1.2.2.1 样品处理

1) 乙醇处理。用乙醇处理油茶籽壳的目的是为了了解壳中的油茶皂素与醇溶性物质能否轻易地溶于乙醇中。参照高凯翔等<sup>[7]</sup>的处理方法进行处理。称取 10.00 g 油茶籽壳样品于离心杯中,加入 80%的乙醇 50 mL,于 45 °C 水浴锅中放置 1 h,离心,弃上清液,再在残渣中放入 80%的乙醇 50 mL,于 45 °C 水浴锅中放置 0.5 h,再次离心,弃上清液。用 50 mL 蒸馏水清洗残渣,重复清洗 3 次,置于 70 °C 烘箱中干燥 72 h,得样品(样品 1)。

2) KOH 处理。用 KOH 处理的目的是为了去除油茶籽壳中的木质素,与未处理样品对照,在电镜下观察油茶籽壳中的木质素在细胞壁中存在的位置。参照崔晓芳等<sup>[8]</sup>的方法进行处理。称取 5.00 g 油茶籽壳样品放入 250 mL 的圆底烧瓶中,加入 0.7 mol/L KOH 100 mL,微波处理 1 h,待冷却后离心,弃上清液,用 50 mL 蒸馏水清洗残渣,重复清洗 3 次,置于 70 °C 烘箱中干燥 72 h,得样品(样品 2)。

3) 酸性洗涤处理。利用酸性洗涤剂中的稀  $H_2SO_4$  来水解油茶籽壳中的半纤维素,以判断半纤维素在油茶籽壳中存在的位置。洗涤方法按照 NY/T1459—2007 执行,得样品(酸性洗涤纤维,样品 3)。

4) 中性洗涤处理。利用中性洗涤剂将细胞壁内原生质体与水溶性物质去除,以观察细胞壁的厚度。按 GB/T 20806—2006 执行,得样品(中性洗涤纤维,样品 4)。

以过孔径 0.85 mm 筛的油茶籽壳粉末为对照。

##### 1.2.2.2 处理后油茶籽壳的主要成分测定

根据 1.2.1 中的方法,测定经不同方法处理后油茶籽壳中的纤维素、半纤维素与木质素的含量,通过观察各成分的变化来比较处理的效果。

### 1.2.2.3 油茶籽壳的扫描电镜观察

将经过上述处理后的油茶籽壳样品依次粘贴于扫描电子显微镜样品台的双面胶纸上。真空喷镀金膜,然后移入 SEM-6380IV 型扫描电子显微镜样品室,在 10 kV 加速电压下观察并照相。根据照相结果,在同一放大倍数下随机测量油茶籽壳的细胞壁厚度 5 次,结果取平均值。通过比较细胞壁厚度与扫描电镜结果,分析各处理方法对油茶籽壳结构的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 油茶籽壳的主要成分

经测定,油茶籽壳原样中含水分 11.07%,灰分 1.02% 粗脂肪 2.53% 粗蛋白 2.70% 还原糖 1.59%,油茶皂素 10.68%,半纤维素 22.00%,纤维素

17.32%,木质素 31.35%,其中,灰分、粗脂肪、粗蛋白、还原糖含量相对较低,利用价值不高,但油茶皂素、半纤维素、纤维素、木质素的含量相对较高,具有潜在的利用价值。

### 2.2 各处理样品的主要成分

由表 1 可知,半纤维素、纤维素、木质素为油茶籽壳的主要成分,与 CK 比较,样品 1 中的纤维素、半纤维素、木质素含量及半纤维素、木质素含量与纤维素含量的比值变化不明显,表明乙醇对这 3 种成分的去作用不明显。用同样的方法进行分析,对样品 2 的分析结果表明,碱处理对去除半纤维素与木质素有明显作用;对样品 3 的分析结果表明,酸性洗涤可去掉油茶籽壳中的半纤维素;对样品 4 的分析结果表明,中性洗涤对去除 3 种成分均无明显作用。

表1 不同方法处理油茶籽壳主要成分的含量

Table 1 Main components of camellia testa at different treatments

样品	纤维素含量(A)/%	半纤维素含量(B)/%	木质素含量(C)/%	B/A	C/A
CK	17.32±0.21	22.00±0.18	31.35±0.21	1.27	1.81
样品 1	19.68±0.29	24.50±0.23	34.62±0.18	1.24	1.76
样品 2	41.48±0.17	18.71±0.11	31.51±0.32	0.45	0.76
样品 3	31.18±0.12	—	57.05±0.38	—	1.83
样品 4	21.71±0.06	26.43±0.34	41.06±0.26	1.22	1.89

### 2.3 各处理样品的电镜观察结果

在放大 1 000 倍下测量各处理油茶籽壳的细胞壁厚度,CK、样品 1、样品 2、样品 3、样品 4 的细胞壁厚度分别为 11.15、9.56、8.38、3.77、7.15  $\mu\text{m}$ 。由图 1 中 300 倍镜的观察结果可知,油茶籽壳细胞排列紧密,呈细长结构,表层细胞垂直排布于油茶籽壳外表层,内层细胞垂直于外层细胞。由图 1 中

5 000 倍镜的观察结果可知,细胞壁由致密的层状结构组成,表面有许多小孔,形成微管束结构,原生质分布于微管束中心。因图 1 为未经处理的油茶籽壳,其表面沾染碎片对观察结果存在一定的影响。细胞壁表面可见少量孔洞,且孔洞上面覆盖较厚的组织,质地紧密。

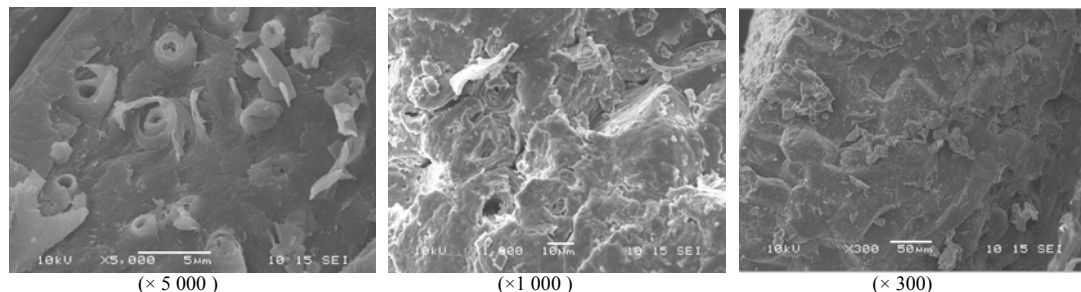


图1 机械粉碎后的油茶籽壳的电镜观察结果

Fig.1 SEM pictures of crushed camellia testas

由图 2 可知,经过 80%乙醇处理的油茶籽壳已经去掉大部分油茶皂素和醇溶物质,油茶籽壳表面沾染较少的碎片,能够清晰地看到排列的细胞及细

胞壁的纹路,细胞之间排列较紧密,细胞壁之间相互黏连,可以清晰地分辨出细胞壁的层状结构,但细胞壁层状结构之间黏连紧密,不易分开。

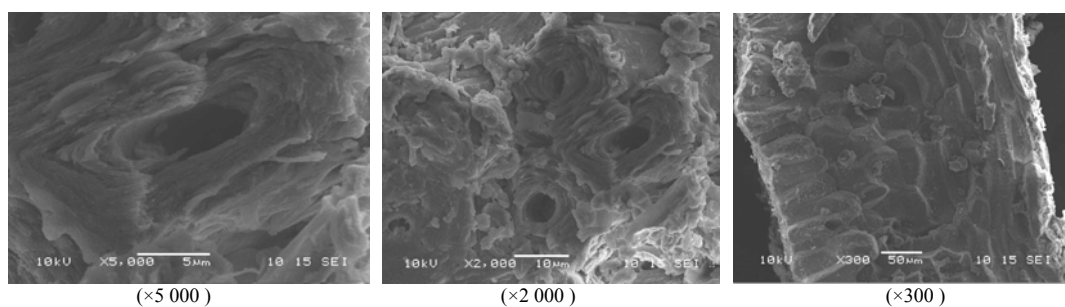


图2 乙醇处理的油茶籽壳的电镜观察结果

Fig.2 SEM pictures of camellia testa with ethanol treatments

由图 3 可知, 经过 KOH 处理油茶籽壳的细胞壁层状结构分离比较明显, 层状结构表面密布着光滑的孔洞, 且孔洞表面无覆盖组织。因为用 KOH 处理的目的是去掉油茶籽壳中的木质素, 所以, 将图 3 与图 1 进行比较, 可以得知木质素在油茶籽壳中的位置: 油茶籽壳中部分木质素存在于细胞壁的

纤维素与半纤维素的层状结构之间, 部分木质素包裹在细胞壁的外表层, 起到支撑细胞的作用。由图 4 可知, 酸性洗涤可以去除油茶籽壳细胞的原生质体与半纤维素成分。由图 5 可知, 中性洗涤可以将油茶籽壳细胞的原生质体与水溶性物质去除, 留下细胞壁。

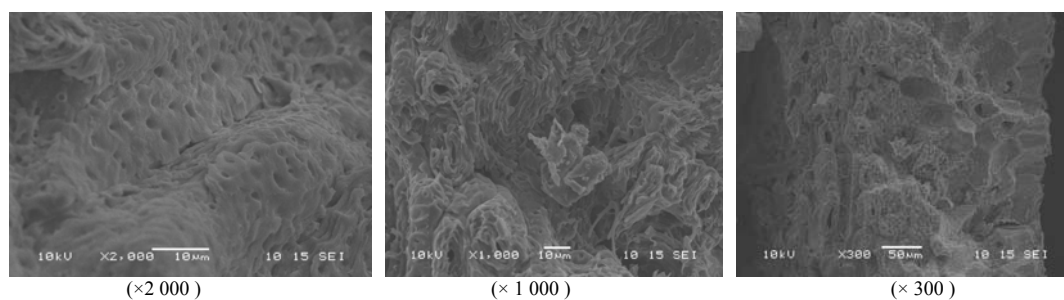


图3 碱法处理的油茶籽壳的电镜观察结果

Fig.3 SEM pictures of camellia testa with alkaline treatments

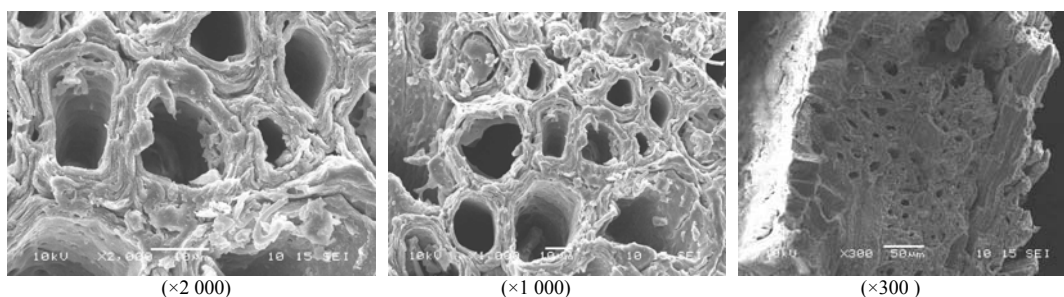


图4 酸性洗涤处理的油茶籽壳的电镜观察结果

Fig.4 SEM pictures of camellia testa with ADF treatments

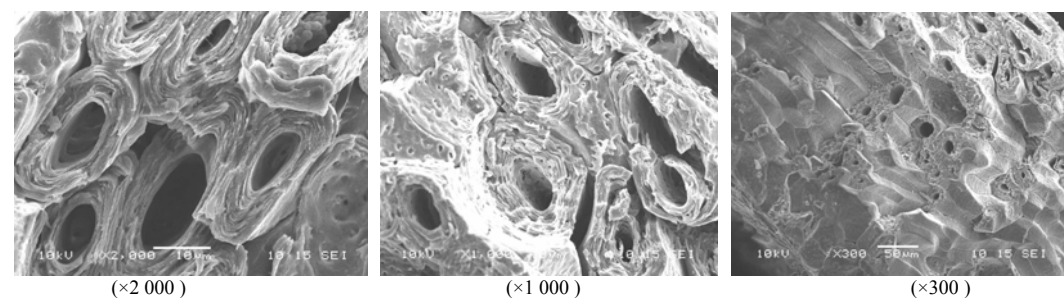


图5 中性洗涤处理的油茶籽壳的电镜观察结果

Fig.5 SEM pictures of camellia testa with DNF treatments

比较图 4 与图 5, 可以看出图 4 中的细胞壁较薄, 层状结构明显减少, 留下的细胞壁层状结构连接紧密, 层与层之间界限不明显。由此可知, 油茶籽壳的半纤维素存在于细胞壁的内层, 其厚度约为细胞壁厚度的一半。

### 3 结论与讨论

本研究结果表明:

1) 油茶籽壳中水分占 11.07%, 灰分占 1.02%, 粗脂肪占 2.53%, 粗蛋白占 2.70%, 还原糖占 1.59%, 油茶皂素占 10.68%, 半纤维素占 22.00%, 纤维素占 17.32%, 木质素占 31.35%。其中油茶皂素、半纤维素、纤维素、木质素含量相对较高, 具有潜在的利用价值。

2) 碱对油茶籽壳中木质素的去除效果明显。用碱处理油茶籽壳可以使半纤维素与纤维素显露出来。这一性质可为油茶籽壳中纤维素的利用提供参考。

3) 油茶籽壳的细胞壁主要由半纤维素、纤维素、木质素组成, 且每部分都呈层状结构。半纤维素分布于细胞壁的内层, 纤维素分布于细胞壁的中层, 木质素分布于纤维素与半纤维素层状结构之间和细胞壁的外侧。

随着对油茶籽油保健作用的日益重视, 油茶产业不断发展, 副产物油茶籽壳的利用成为亟待解决的问题。目前国内对油茶籽壳的研究主要集中在利用油茶籽壳的功能性成分上, 如抗氧化活性成分提取、原花青素提取、多糖与黄酮提取等。这些物质在油茶籽壳中所占的比重小, 综合利用成本相对较高, 并不能解决大部分油茶籽壳被丢弃的问题。通过扫描电镜观察得知油茶籽壳的微观结构, 通过检测得知油茶籽壳的主要成分为油茶皂素、半纤维素、纤维素与木质素, 故可将油茶皂素等常量组分作为综合利用的对象, 提取壳中的油茶皂素来生产表面活性剂和高档洗涤剂; 将壳中的纤维素、半纤

维素通过微生物发酵生产乙醇<sup>[9]</sup>、乳酸<sup>[10]</sup>、生物油脂<sup>[11]</sup>等产品; 通过提纯木质素和对木质素进行改性来生产改性木质素产品; 将油茶籽壳经过一定的处理提取膳食纤维<sup>[12]</sup>, 添加到保健食品中等, 以达到综合利用油茶籽壳的目的。

参考文献:

- [1] 邢朝宏, 李进伟, 金青哲, 等. 我国油茶籽的综合利用[J]. 粮油食品科技, 2011, 19(4): 13-16.
- [2] 王瑞元. 中国食用植物油加工业的现状及今后的发展趋势[R]. 第十四届国际谷物科技与面包大会暨国际油料与油脂科技发展论坛. 北京: 中国粮油学会, 2012: 16-19.
- [3] 郭华, 谭惠元, 罗佳. 红花油茶果的主要成分分析[J]. 中国油脂, 2010, 35(1): 70-73.
- [4] 郭华, 周建平, 廖晓燕. 油茶籽的细胞形态和成分及水酶法提取工艺[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2007, 33(1): 83-86.
- [5] 傅春玲, 洪奇华, 阮辉, 等. 茶皂素定量测定方法的研究[J]. 杭州大学学报, 1997, 24(3): 239-242.
- [6] 大连轻工业学院. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 206-207.
- [7] 高凯翔, 李秋庭, 陆顺忠, 等. 茶皂素的提取工艺研究[J]. 粮油食品科技, 2010, 18(5): 22-25.
- [8] 崔晓芳, 李伟阳, 魏婷婷, 等. 微波辅助提取油茶果壳木质素工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(8): 98-102.
- [9] 阮奇城, 祁建民, 胡开辉, 等. 红麻秸秆发酵转化燃料乙醇[J]. 福建农林大学学报, 2012, 41(1): 78-82.
- [10] 邹水洋, 郭祀远, 肖凯军. 生物转化木质纤维素原料生产乳酸的研究进展[J]. 现代食品科技, 2008, 24(4): 394-400.
- [11] 姜宝娟, 戴传超, 陶杰, 等. 可利用纤维素产油脂的意杨内生真菌的筛选与发酵条件研究[J]. 林产化学与工业, 2008, 29(4): 27-32.
- [12] 魏仲珊, 李华丽, 张旭, 等. 提取玉米皮膳食纤维的条件优化[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2009, 35(1): 100-103.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 王 库