

Study on fiber tubes structure and chemicals in sweet corn cob

Quan Xiaoqin¹ Jin Bangquan^{1*} Zhou Xin¹ Hu Jue¹ Zhou Bei¹

Liu Chunquan² Li Dajing² Liu Shen¹

(1. Department of Food Science and Nutrition, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China;

2. Institute of Farm Product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Objective: Corn cob is a kind of recyclable biological resources and dietary fiber supplements. It is concerned about healthy food for people recently. For this reason corn cob as a suitable raw materials was studied. **Method:** The change of fiber tubes structure and chemicals in corn cob was researched by chemical and histological methods, especially scanning electron microscopy (SEM). **Results:** Fiber tubes and cell wall in corn cob were broken down significantly because of 2% NaOH action. And the more transparent was cell wall, the more lost pectin and so on. Analyzing fiber in corn cob, the ratio of dietary fiber was 25.30% up to 31.05% due to 2% NaOH digestion. It was showed that hemicellulose was decreased and lignin was increased. **Conclusion:** Dilute NaOH could digest all broke cellulose and hemicellulose to smaller molecular materials, while not lignin. For all of these, corn cob was a good raw material for making dietary fiber supplements.

Keywords: Dietary fiber; fiber tube; NaOH; SEM; sweet corn cob

我国是玉米生产和消费大国，播种面积、总产量和消费量仅次于美国，均居世界第二位^[1]。玉米是公认的饲料之王，籽粒和茎叶都是优质饲料^[2]，加工后所产生大量的玉米芯，多为燃烧废弃。玉米芯与秸秆还可制浆造纸，但环境负担沉重^[3]。因此近年有人试图从中分离提取木聚糖等^[4-5]，以期提高附加值，然而剩余产物的处理也是重要的环境问题之一。由于我们对玉米芯的功效组分和其纤维微结构所知甚少，提取木聚糖后往往废弃，造成了部分资源浪费和环境污染。

为了充分利用玉米芯中的膳食纤维，有

必要对我省种植的部分玉米品种，甜玉米或甜糯玉米的膳食纤维显微形态结构特征和主要成分进行深入剖析和研究，为研发新型膳食纤维营养补充剂^[6-7]，提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 玉米芯及预处理

新鲜乳熟期晶甜3号玉米脱粒后，收集玉米芯并破碎至10~20目；24h风干后经高速万能粉碎机进一步粉碎并过100M筛；收集的筛下物80~105℃/2h烘干，制成样品装瓶密封待用（图1）。



图1 玉米芯及预处理

Fig. 1 corncob and crushed

1.2 仪器设备

5610LV-JEOL JSM 扫描电镜、160016JFC 离子溅射仪、OLYMPUS 生物显微镜、HMIAS-200 病理图像分析系统、RM2135-LEICA 切片机、9FX-50 WGR-1 微电脑热量计、DHG-9140 电热恒温鼓风干燥箱、SX-5-12 箱式电阻炉控制箱、1000W 电子调温万用电炉、9FX-50 型农作物秸秆粉碎机、FW177 高速万能粉碎机、T-5000 电子天平和 AU220 电子天平。

1.3 化学试剂

正辛醇、丙酮、无水乙醇、硫酸、盐酸、氢氧化钠、蛋白酶 (4.21 IU)、0.561mol 淀粉葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶 (100 kU/g)、MES-TRIS 缓冲液、0.2mol 7.4 pH 磷酸氢二钠和磷酸二氢钠、酸性硅藻土和 2.5%戊二醛，均为分析纯 (AR)。

中性纤维洗涤剂 (3% 十二烷基硫酸钠溶液)，6.9~7.1pH，乙二胺四乙酸二钠、四硼酸钠、十二烷基硫酸钠、乙二醇乙醚和无水磷酸氢二钠等，蒸馏水 (dH₂O) 加热溶解，1000mL 容量瓶定容。

酸性纤维洗涤剂 (2% 十六烷基三甲基溴化铵，C₁₉H₄₂NBr，CTAB)：CTAB 定容于 1000mL 的 1.00mol 硫酸中。

1.4 方法

1.4.1 玉米芯显微观察

玉米芯新鲜样品分三段取材，且厚度为 10 μ m，放大 10 \times 4、10 \times 10 和 10 \times 40 倍，分别选择 3-5 视野/片，镜下观察其显微镜结构^[8-9]。

1.4.2 玉米芯立体超微结构观察

另取玉米芯新鲜样品分三段取材，横向分别取 2 \times 4 \times 0.1mm，于 2.5%戊二醛 4 $^{\circ}$ C 下固定 24h，0.2mol 7.4pH 磷酸缓冲液漂洗，40%-100%乙醇梯度脱水，-20 $^{\circ}$ C 真空干燥，真空金镀膜后，选 3-5 视野/片于扫描电镜 100、200、500 和 1000 倍观察碎片立体结构^[10-14]。

1.4.3 常规组分分析：能量测定参照

GB/T213-2003，采用氧弹式热量计直接测热法测得^[15]；吸附水测定：参照 GB 5497-1985，采用粮食、油料检验水分测定法^[16]；灰分测定：参照 GB/T 5505-2008 采用粮油检验灰分测定法^[17]；干物质测定：参照 GB 5497-1985 粮食、油料检验水分测定法^[18]。

1.4.4 总膳食纤维：参照 GB22224-2008，测定玉米芯风干物中膳食纤维含量，TDF (%) = (m₁-m₂)/m₃ \times 100%^[19]；

1.4.5 中性洗涤纤维测定：参照 GB/T 20806-2006，将玉米芯风干样品放入中洗液中消煮 1h，蒸馏水洗涤三次，抽滤后放入 105 $^{\circ}$ C 烘箱中进行烘干，冷却后称量，NDF (%) = (m₁-m₂)/m₃ \times 100%^[20]；

1.4.5 酸性洗涤纤维测定：参照 NYT/1459-2007，步骤同中性洗涤纤维测定程序，仅换用酸洗液，ADF (%) = (m₁-m₂)/m₃ \times 100%^[21]；

1.4.7 木质素测定：参照 GBT20805-2006，将酸洗纤维放入石棉和硫酸中，每隔 1h 加酸搅拌，3h 后过滤，之后 600 $^{\circ}$ C 马弗炉灰化，105 $^{\circ}$ C 至恒重；与空白对照减差法计算出其含量，ADL (%) = (残渣-灰分-空白损失量)/m \times 100%^[22]；

1.4.8 纤维素及半纤维素计算：运用减差法将酸洗纤维减去木质素得出纤维素含量，C (%) = ADF-ADL；将中洗纤维减去酸洗纤维得出半纤维素含量，HC (%) = NDF - ADF^[23]。

1.5 数据处理与统计学分析

本文所有数据采用 Excle2013 整理，均以平均值 \pm 标准差 ($\bar{X}\pm$ SD) 表示。SPSS13.0 (ISBN7-980009-06-1) 进行统计学分析，二组间比较采用 T 检验方法，二组以上的比较采用 F 检验方法，即 (One-way Analysis of variance, ANOVA)。若组间差异显著，采用 LSD 进行组间差异显著性比较，组间差异显著时用 $p<0.05$ (*) 表示，组间差异极显著则用 $p<0.01$ (**) 表示^[24-25]。

2 结果与分析

2.1 鲜玉米芯水分、灰分和能量

乳熟期晶甜3号玉米芯水分含量丰富,初水份达到72.7%,干物质(Dry materials, DM)约占27.3%±0.08%;风干样品105℃/2h烘干后,含3.8%±0.28%吸附水、3.3%±0.03%/DM灰分和4.4±0.01 kcal/g/DM总能量。

2.2 玉米芯纤维组分

经纤维素组分分析,有意思的是乳熟期甜玉米芯不仅水分含量高,而且纤维中半纤维素含量最多,其次为木质素和纤维素,分别占DM的7.2%、6.28%和5.08%。由于乳熟期玉米尚未完全成熟,其芯中纤维木质化程度较低,保留了更多的半纤维素(表1)。营养学和生理学的动物模型研究认为,

单胃杂食类动物的大肠可在外来纤维素分解菌的帮助下,主要降解半纤维素而产生低分子挥发性脂肪酸,补充部分能量需要并可有效促进肠蠕动^[26];但无论如何,即使纤维素分解菌的作用,人的消化道依然不能消化利用木质素和大部分纤维素^[27]。因此本研究注意到,乳熟期甜玉米芯的高半纤维素组分,能够为我们提供膳食纤维补充剂的理想新资源。

当2%NaOH处理玉米芯后,随着细胞壁纤维的降解和可溶性膳食纤维-果胶的提取,其组分发生很大改变。膳食纤维总含量显著性增加至31%($P<0.05$),且木质素比例极显著提高一倍以上($P<0.01$),而半纤维素含量减少。推测由于碱消化处理,玉米芯中纤维素和半纤维素可被碱分解,并逐渐转化成了果胶所致(表1)^[28]。

表1 玉米芯纤维组分
Table 1 Composition of dietary fiber in corncob

处理 Treatment	膳食纤维 DF (%)	中洗纤维 NDF (%)	酸洗纤维 ADF (%)	木质素 ADL (%)	纤维素 C (%)	半纤维素 HC (%)
未处理 Non-T	25.30±0.002	14.02±0.010	6.86±0.001	6.28±0.010	5.08	7.22
处理后 After-T	31.05±0.003*	20.40±0.004**	15.07±0.016**	14.03±0.010**	9.06	5.33

注:2%NaOH/4h/1;25,3重复/处理;若 $p<0.05$,则组间差异显著,用*表示;若 $p<0.01$,则组间差异极显著,用**表示。

2.3 玉米芯显微形态结构

鲜玉米芯组织在10×4倍下观察其显微结构,其横截面可见(纤)维管束、厚皮细胞和薄壁细胞,其中维管束位于髓质部中,并且维管束主要由木质部和韧皮部组成^[29](图2)。

将3-5视野组织切片放大至10×10倍,观测玉米芯上、中和尾段显微形态结构,(纤)维管数分别为64±5.7个/视野、48±9.0个/视野和70±9.5个/视野,且维管横径分别为22.2±0.87μm、35.3±3.20μm和35.3±1.35μm。结果表明,玉米芯顶段维管横径较小且个数多,而中和尾段的维管横径

均较大,其平均横径较顶段宽13μm($P<0.01$);但尾段单位面积维管个数显著较中段多22个/视野($P<0.05$),究其原因可能与维管壁厚度有关(图2)。

将该三段玉米芯组织切片进一步放大至10×40倍,注意到上、中和尾段维管壁的厚度差异很大,分别为3.7±0.54μm、5.0±1.34μm和4.5±1.01μm;其中中段最厚,其次尾段,顶段最薄,从而导致单位面积中所见顶段维管最多,中段最少,但是总体差异不显著^[30](图2)。

若用2%NaOH处理玉米芯,在1:25料液比/4h常温下,稀碱溶液消化玉米芯,其维管壁显微结构发生明显改变。10×40倍视野

下，能清晰观察到玉米芯维管壁透光性明显增加。提示碱处理后，玉米芯维管壁的组成

成分被部分消化和洗脱，推测可能主要是纤维素和半纤维素的降解和果胶的分离（图2）。

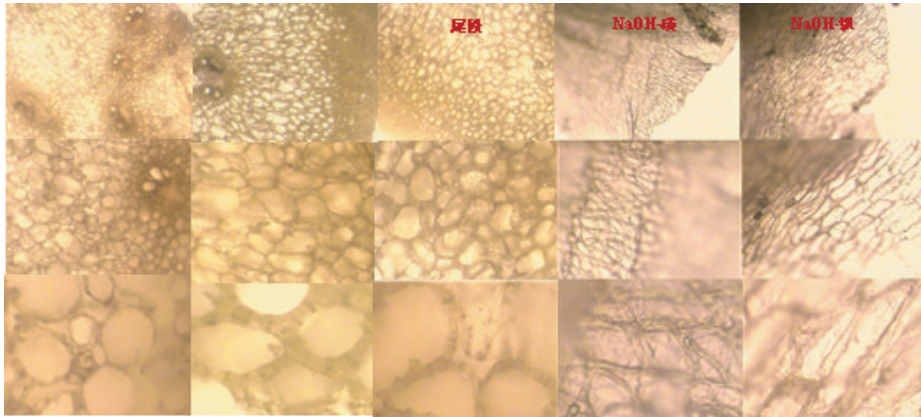


图2 玉米芯显微结构

Fig. 2 Corn-cob microstructures by microscope

2.4 玉米芯超微立体结构

将材料分别于扫描电镜下放大100、200、500和1000倍，分别观察三部位玉米芯立体结构特征。注意到放大100和200倍后，很难清晰观察头段和中段的扫描结构特征。为此进一步于500和1000倍数下，观察玉米芯组织的外观形态。观察后注意到，维管集聚，

横径由顶段至尾段，逐渐由细增粗，形成锥形管道。视野中主要呈现的是维管，其横截面呈不规则圆形，纵向深入的管径壁形成多条环状结构，壁上分布大量微孔。这些维管的结构特征，有利于植物对空气、水分和养分的吸收及交换利用（图3）^[31]。

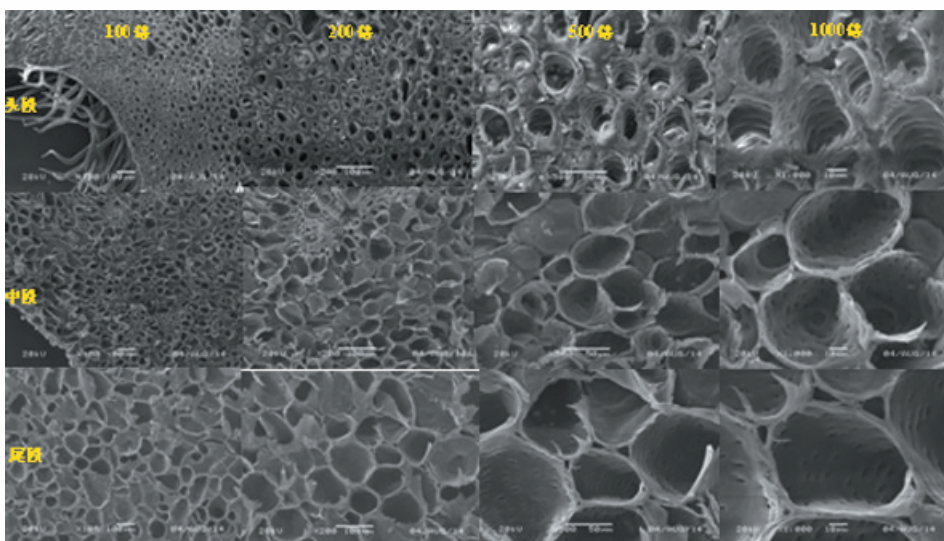


图3 玉米芯的超微扫描结构

Fig. 3 Corn-cob ultra-structures by SEM

将玉米芯材料用 1 : 25 料液比的 2% NaOH/4h 处理, 比较处理前后其组织横切面和纵切面的外观形态变化 (1000 倍)。结果发现, 未处理的玉米芯维管壁呈圆形且结构清晰, 维管内由上至下布满微孔; 纵切面管径较粗且厚实, 纤维表面光滑, 管与管之间相切排列, 界限清晰, 结构紧密^[32] (图 4)。

而 2%NaOH 处理 4h 后, 玉米芯维管遭

到明显腐蚀和破坏, 其横切面的圆形管径已塌陷, 壁上微孔无法辨识, 它的纵切面管径变细, 相互交错且界限模糊, 维管和细胞结构严重受损。表明碱处理后玉米芯的维管壁结构和化学组分大量被消化和丢失, 从而印证本研究第一部分的纤维组分研究结果, NaOH 可将维管壁上的纤维素和半纤维素降解^[33] (图 4)。

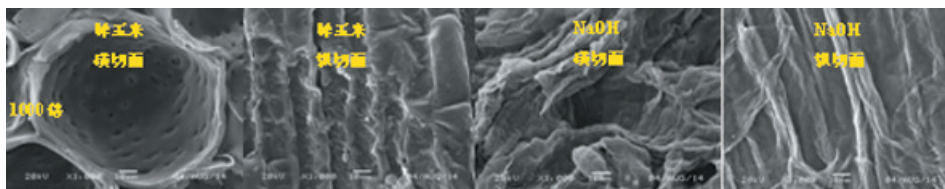


图 4 处理前后玉米芯的超微结构比较

Fig. 4 Compared to ultra-structures between treat or not corn-cob by SEM

3 本文小结

经研究, 乳熟期甜玉米芯富含水分, 膳食纤维中以半纤维素成分为多, 是膳食纤维补充剂的理想原材料。采用组织形态学手段, 尤其是扫描电镜法, 可清晰的观察到玉米芯维管系统主要由木质部和韧皮部组成。经稀碱处理, 维管部分被消化并出现断裂, 维管之间结合松弛且排列紊乱, 细胞壁结构模糊, 部分物质脱落并逐渐透明或消失, 玉米芯骨架结构遭破坏, 形态学研究印证了其化学组分的变化。2%NaOH 消化玉米芯后, 其半纤维素所占比例减少, 纤维素略有增加, 但木质素提高一倍以上。综合分析, 稀 NaOH 主要降解玉米芯 (纤) 维管中的纤维素和半纤维素。

参考文献

[1] 刘蓉蓉. 中国现代玉米种业现状、瓶颈问题与对策建议 [J]. 农业生产展望, 2013, 9 (11): 51-53.

[2] Oduguwa O O, Edema M O, Ayeni A O. Physico-chemical and microbiological an-

alyses of fermented corn cob, rice bran and cowpea husk for use in composite rabbit feed [J]. Bioresource technology, 2008, 99 (6): 1816-1820.

[3] Oladeji J T. Fuel characterization of briquettes produced from corncob and rice husk residues [J]. Pacific Journal of Science and Technology, 2010, 11 (1): 101-106.

[4] Chen M, Xia L, Xue P. Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, 59 (2): 85-89.

[5] 王关斌, 赵光辉, 贺东海等. 玉米芯资源的综合利用 [J]. 林产化工通讯, 2005, 39 (5): 44-47.

[6] 顾晓俊, 刘琛, 金邦荃, 沈丽叶, 吴旻丹. 猕猴桃增进肠蠕动的功效成份破析 [J]. 南京师范大学学报 (工程技术版), 2014, 02: 86-90.

[7] Iain A, Brownlee. The physiological roles of dietary fiber [J]. Food Hydrocolloids. 2011, 25: 238-250.

[8] 王艳杰, 刘林德, 孔冬瑞, 张莉,

王丽娟. 刺五加雌、雄花的花柱引导组织结构观察 [J]. 电子显微学报, 2011, Z1: 460-465.

[9] 郑彦坤. 关于玉米、高粱和小麦的颖果养分运输组织发育的结构观察 [D]. 扬州大学, 2012.

[10] 肖媛, 刘伟, 汪艳, 左艳霞, 胡锐, 李婷婷, 崔宗斌. 生物样品的扫描电镜制样干燥方法 [J]. 实验室研究与探索, 2013, 05: 45-53+172.

[11] 秦利鸿, 曹建波, 易伟松. 绿茶多糖的扫描电镜制样新方法及原子力显微镜观察 [J]. 电子显微学报, 2009, 02: 162-167.

[12] 钱旻. 玻璃态下外源物处理、冻结及冻藏对莲藕片品质的影响 [D]. 南京师范大学, 2014.

[13] Zeng M, Ximenes E, Ladisch M R, et al. Tissue - specific biomass recalcitrance in corn stover pretreated with liquid hot-water: SEM imaging (part 2) [J]. Biotechnology and bioengineering, 2012, 109 (2): 398-404.

[14] Hoover A N, Tumuluru J S, Teymouri F, et al. Effect of pelleting process variables on physical properties and sugar yields of ammonia fiber expansion pretreated corn stover [J]. Bioresource technology, 2014, 164: 128-135.

[15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 213-200. 氧弹式热量计直接测热法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.

[16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB 5497-1985 粮食、油料检验水分测定法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1985.

[17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5505-2008 采用粮油检验灰分测定法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB 5497-1985, 采用粮食、油料检验水分测定法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1985.

[19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 22224-2008 食品中膳食纤维的测定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[20] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 20806-2006 饲料中中性洗涤纤维测定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[21] 中华人民共和国农业行业标准 NY/T 1459-2007 饲料中酸性洗涤纤维测定方法.

[22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 20805-2006 饲料中酸性洗涤木质素测定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[23] 熊素敏, 左秀凤, 朱永义. 稻壳中纤维素, 半纤维素和木质素的测定 [J]. 粮食与饲料工业. 2005 (8): 40-41.

[24] 王周伟, 朱敏. SPSS 统计分析与综合应用 [M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2012.

[25] 徐端正. 生物统计学在实验和临床药理学中的应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2004.

[26] 吴旻丹, 陈瑜, 金邦荃. 猕猴桃提取物促进小鼠离体肠段运动的初探 [J]. 食品工业科技, 2011, 01: 78-80.

[27] 金邦荃, 顾晓俊, 沈丽叶, 刘琛, 吴旻丹. 猕猴桃功效成份体外促进肠蠕动的生理评价 [A]. 中国营养学会 (Chinese Nutrition Society). 中国营养学会第十一次全国营养科学大会暨国际 DRIs 研讨会学术报告及论文摘要汇编 (下册) - DRIs 新进展: 循证营养科学与实践学术 [C]. 中国营养学会 (Chinese Nutrition Society): 2013: 1.

[28] 冯璇, 金邦荃, 梁光鑫, 李渊恒,