

蚕蛹蛋白挥发性成分分析及体外消化特性研究

梅新¹, 蔡沙¹, 吴恢², 范锦², 施建斌¹, 关健¹, 陈学玲¹, 何建军¹

(1. 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北武汉 430064)

(2. 湖北省农业科学院经济作物研究所, 湖北武汉 430064)

摘要: 本文以碱溶酸沉提取的蚕蛹蛋白为原材料, 采用 GC-MS 比较了烘干与冻干两种蚕蛹蛋白挥发性成分, 同时研究了热处理温度及时间, 不同处理方式对蚕蛹蛋白体外消化率的影响。试验结果表明: 从烘干蚕蛹蛋白和冻干蚕蛹蛋白中分别鉴定出 26 种和 35 种挥发性化合物, 蚕蛹蛋白中挥发性物质主要为醛类化合物, 而其臭味主要来源于醇类化合物和硫化物, 且含量较少, 亦与部分醛类化合物有关; 热处理可显著提高蚕蛹蛋白体外消化率 ($p < 0.05$), 不同处理方式下蚕蛹蛋白体外消化率高低依次为辐照 (10 kGy) > 蒸煮 (100 °C, 1 h) > 微波 (700 W, 3 min) > 蒸煮 (100 °C, 20 min) > 干热 (130 °C, 1 h) > 未处理, 热处理 60 min 后, 蚕蛹蛋白胰蛋白酶抑制因子活性值 (TIA) 仅为 14.52%, 胰蛋白酶被抑制百分比下降到 38.37%。

关键词: 蚕蛹蛋白; 挥发性成分; 体外消化率; 胰蛋白酶抑制因子活性

文章编号: 1673-9078(2015)10-275-281

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.10.045

Volatile Components and *in Vitro* Digestibility of Silkworm Pupae Protein

MEI Xin¹, CAI Sha¹, WU Hui², FAN Jin², SHI Jian-bin¹, GUAN Jian¹, CHEN Xue-ling¹, HE Jian-jun¹

(1. Institute of Processing of Agricultural Produce and Nuclear Agricultural Research, Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan 430064, China) (2. Institute of Economic Crop, Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan 430064, China)

Abstract: Silkworm pupae proteins were obtained by alkali extraction and acid precipitation procedure. Subsequently, the obtained protein dispersions were either oven-dried or freeze-dried to yield protein powders, and the volatile components of them were compared by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Additionally, effects of heat-treatment temperatures and/or durations as well as processing conditions on *in vitro* digestibility of silkworm pupae proteins were studied as well. The results showed that 26 and 35 volatile compounds were identified from oven-dried and freeze-dried silkworm pupae proteins, respectively. The main volatile compounds in silkworm pupae proteins were identified as aldehydes, while the foul smell was caused by low concentrations of alcohols and sulfides and in part by aldehydes. Heat treatment significantly improved the *in vitro* digestibility of silkworm pupae protein ($p < 0.05$), in the following order: irradiation (10 kGy) > boiling (100 °C, 1 h) > microwave (700 w, 3 min) > boiling (100 °C, 20 min) > dry heat (130 °C, 1 h) > untreated. After heating for 60 min, trypsin inhibitor activity of silkworm pupae proteins was 14.52%, and the trypsin inhibition rate was decreased to 38.37%.

Key words: silkworm pupae protein; volatile components; *in vitro* digestibility; trypsin inhibitor activity

蚕蛹是蚕茧抽丝后剩余的副产品, 我国每年干蚕蛹产量超过 20 万 t, 干蚕蛹中粗蛋白含量高达 60.00%~71.90%^[1]。蚕蛹蛋白是一种营养价值很高的动物源蛋白, 日本用蚕蛹制取优质蛋白、生产氨基酸系列产品已获多项专利; 韩国以蚕蛹为原料生产了近 20 种食品。近年来, 国内以脱脂蛹为原料, 制备医药及保健用的复合氨基酸, 已有工业化的批量生产^[2]。

蚕蛹及蚕蛹蛋白制品具有难闻的刺激性气味, 这极大影响了蚕蛹鲜食以及蚕蛹蛋白作为原料在食品工

收稿日期: 2015-01-14

基金项目: 省级现代农业粮棉油生产发展专项资金 (鄂财农发[2012]138 号)

作者简介: 梅新 (1978-), 男, 博士研究生, 副研究员, 研究方向: 农产品加工与副产物综合利用

通讯作者: 何建军 (1963-), 男, 研究员, 研究方向: 农产品加工

业中应用。在前人研究中, 贾俊强等^[3]对缂丝蚕蛹和鲜蚕蛹中挥发性成分进行分析, 分别鉴定出 54 种和 16 种挥发性化合物, 而对于蚕蛹蛋白中挥发性成分的研究鲜有报道。蚕蛹蛋白是一种全价蛋白, 含有人体生长发育所需 18 种氨基酸, 其中 8 种人体必需氨基酸含量达 42.20%, 高于 FAO/WHO 提出的食品中氨基酸最佳组合模式^[4]。陈佳捷^[5]等在研究蚕蛹蛋白氨基酸组成及评分基础上, 模拟胃肠道环境对蚕蛹蛋白及蚕蛹短肽消化过程中氮释放曲线进行研究, 发现胃蛋白酶酶解过程中, 氮释放量上升较快, 而胰蛋白酶酶解过程中, 氮释放量上升幅度较小。在甘薯^[6]、大豆蛋白^[7]中由于胰蛋白酶抑制因子存在部分抑制了胰蛋白酶活性, 从而负面影响了蛋白的消化利用率。明确蚕蛹蛋白的消化特性是蚕蛹蛋白深加工综合利用以及

产品开发的基础和前提,目前,对于蚕蛹蛋白体外消化特性研究较少,尤其是蚕蛹蛋白中胰蛋白酶抑制因子活性及其对蚕蛹蛋白体外消化特性影响的研究尚未开展,因此,研究蚕蛹蛋白体外消化特性非常重要。本研究以碱溶酸沉制备蚕蛹蛋白为原料,比较了烘干及冻干蚕蛹蛋白挥发性成分,对蚕蛹蛋白体外消化率以及蚕蛹蛋白中胰蛋白酶抑制剂活性进行探讨,旨在明晰蚕蛹蛋白臭味物质成分,综合评定蚕蛹蛋白营养价值,为蚕蛹以及蚕蛹蛋白作为食品原料及辅料开发高附加值产品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蚕蛹由湖北省农业科学院经济作物研究所提供。

C₅-C₂₀ 正构烷烃标品、胃蛋白酶(1:10000)、胰蛋白酶(1:250)购自 Sigma 公司;牛血清白蛋白、Na-苯甲酰-DL-精氨酸-对硝基酰胺盐酸盐、三羟甲基氨基甲烷、二甲基亚砜、正己烷、无水乙醚等为分析纯,购自上海伊奥生物科技有限公司。

1.2 主要仪器

DVB/CAR/PDMS50/30 μm 涂层纤维(二乙烯基苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷):美国 Supelco 公司;Agilent 6890N 气相色谱仪、Agilent 5973MSD 质谱仪:美国 Agilent 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 蚕蛹基本成分测定

蚕蛹脱脂后冷冻干燥粉碎,蛋白质、脂肪、灰分、水分含量分别按照国标 GB/T 5009.5-2010、GB/T 5009.6-2010、GB/T 5009.4-2010、GB/T 5009.3-2010 进行测定。

1.3.2 蚕蛹蛋白的提取及基本成分测定

以脱脂蚕蛹为原料,采用碱溶酸沉法提取蚕蛹蛋白,备用。碱溶酸沉法工艺参数为:料液比 1:10 g/mL,碱溶 pH 值 12,提取温度 60 °C,提取时间 2.5 h,酸沉 pH 4.5,酸沉温度 70 °C,4500 r/min 离心 30 min 后收集沉淀,干燥后所得重量占脱脂蚕蛹粉百分比即为蚕蛹蛋白得率。测定蚕蛹蛋白中蛋白质、脂肪、灰分、水分等基本成分含量。

1.3.3 蚕蛹蛋白中挥发性成分的测定

称取 10 g 粉末放于 20 mL 螺口样品瓶中,加入 3.6 g NaCl,用聚四氟乙烯隔垫密封,于 40 °C 磁力搅拌器上加热平衡 15 min。用 DVB/CAR/PDMS50/30 μm

(二乙烯基苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷)萃取头顶空吸附 40 min 后,将萃取头插入 GC-MS 进样,解析 5 min。

色谱条件:Agilent DB-5 (60 m×250 μm×0.25 μm) 非极性毛细管柱,程序升温至 40 °C,保持 4 min,后以 3 °C/min 升温至 50 °C,再以 5 °C/min 升温至 160 °C,接着以 8 °C/min 升温至 230 °C,保持 5 min,载气为氦气,体积流量为 1.0 mL/min;进样口温度 250 °C,不分流。

质谱条件:电子轰击离子源(EI),电子能量 70 eV,电压 350 V,扫描质量 35~395 u,经 NIST08 数据库检索定性,按峰面积归一化法计算化合物的相对质量分数。

1.3.4 蚕蛹蛋白体外消化过程及消化率的测定

蚕蛹蛋白体外消化及消化率测定参照 Vilela^[8]等人的方法进行。

称取一定量蚕蛹蛋白与蒸馏水混合,充分搅拌,定容至最终蚕蛹蛋白浓度为 3 mg/mL,调节 pH 至 1.5,得蚕蛹蛋白溶液。取 10 mL 上述蚕蛹蛋白溶液于 37 °C 下水浴 10 min 后,按酶与底物浓度比 1:100 (m/m) 加入胃蛋白酶溶液(用 0.01 mol/L 的 HCl 溶液配制,浓度为 5 mg/mL),在 37 °C 条件下消化 30 min。调节胃蛋白酶消化液 pH 至 7.8,40 °C 下水浴 10 min 后,按照酶与底物浓度比 1:30 (m/m) 加入胰蛋白酶溶液(用 pH 7.0 磷酸缓冲液配制,浓度为 5 mg/mL),于 40 °C 下消化 120 min 后,添加 100 μL 150 mM 的 Na₂CO₃ 溶液终止反应。上述消化液用截留分子量 10 ku 透析袋,透析过夜后于 3500 r/min 离心 50 min,截留物用蒸馏水定容,采用 Lowry^[7-8]法测定其蛋白质含量,以牛血清白蛋白为标准样品制作标准曲线,牛血清白蛋白线性范围为 10~100 μg/mL,蚕蛹蛋白消化率(%)计算公式如下:

$$\text{消化率}(\%) = \frac{\text{总蛋白质含量} - \text{未消化蛋白质含量}}{\text{总蛋白质含量}} \times 100$$

1.3.5 蚕蛹蛋白胰蛋白酶抑制剂活性测定

称取 1 g 蚕蛹蛋白置于三角瓶中,加入 50 mL 0.01 mol/L NaOH 溶液,调节 pH 至 9.4~9.6,室温下振荡 3 h 后 4000 r/min 离心 10 min,收集上清液用蒸馏水稀释至其胰蛋白酶抑制力于 40%~60%之间。取四支试管,分别标号为 a、b、c、d。a 试管加入 2 mL 蒸馏水;b 试管加入 2 mL 胰蛋白酶溶液(110 mg 胰蛋白酶溶于 20 mL 1 mM HCl 中,定容至 500 mL)和 2 mL 蒸馏水;c 试管加入 1 mL 稀释样和 1 mL 蒸馏水;d 试管加入 1 mL 稀释液、1 mL 蒸馏水和 2 mL 标准胰蛋白酶溶液。将上述四只试管置于水浴锅中于 37 °C 下

预热 10 min, 加 5 mL Na-苯甲酰-DL-精氨酸-对硝基酰胺盐酸盐溶液, 混匀, 37 °C 下反应 10 min 后, 加入 1 mL 30% 醋酸终止反应。将 2 mL 胰蛋白酶溶液加入到 a 管和 c 管中, 3000 r/min 离心 20 min 后, 410 nm 处测吸光值, 胰蛋白酶标准溶液的吸光值应介于 0.39-0.42 之间, 样品溶液中胰蛋白酶抑制百分比计算公式如下:

$$A_I = (A_b - A_a) - (A_d - A_c)$$

$$\text{抑制百分比 (\%)} = \frac{A_I \times 100}{A_b - A_a}$$

胰蛋白酶抑制因子活性 (TIA) = (mg 胰蛋白酶/g 样品) = 2.632 × D × A_I/5

式中: D-代表稀释倍数。

1.3.6 不同的加工条件对蚕蛹蛋白体外消化率的影响

1.3.6.1 热处理温度

蚕蛹蛋白溶液分别在 40、60、80 和 100 °C 下热处理 20 min 后测定其中蚕蛹蛋白的体外消化率。

1.3.6.2 热处理时间

蚕蛹蛋白溶液在 100 °C 下分别热处理 10、20、30、40、50 和 60 min 后测定其中蚕蛹蛋白体外消化率。

1.3.6.3 处理方式

参照孙敏杰^[9]对甘薯蛋白消化特性研究中甘薯蛋白的处理方式, 分别比较干热处理 (130 °C 下热干燥 1 h)、100 °C 蒸煮 20 min、100 °C 蒸煮 1 h、微波蒸煮 3 min (700 W)、10 kGy 辐照 (蚕蛹蛋白量 100 g; 辐照剂量 10 kGy; 时间 14 h; 离辐射源距离 6 cm) 处理下蚕蛹蛋白体外消化率。

1.3.7 热处理时间对蚕蛹蛋白胰蛋白酶抑制活性的影响

分别比较 100 °C 下热处理 0、5、10、20、30、40、50、60 min 后, 蚕蛹蛋白胰蛋白酶抑制因子活性以及蚕蛹蛋白消化过程中胰蛋白酶被抑制百分比变化情况。

1.3.8 数据分析

利用 DPS7.05 软件进行数据统计分析, 数据均以均值 ± 标准差 (mean ± SD) 表示, 显著水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 脱脂蚕蛹及蚕蛹蛋白基本成分分析

脱脂蚕蛹及冻干蚕蛹蛋白基本成分如表 1 所示, 从表中可以看出, 脱脂蚕蛹中蛋白质、脂肪、灰分含量分别为 68.06%、8.35% 和 5.67%, 以脱脂蚕蛹提取蚕蛹蛋白冻干后, 其蛋白质含量高达 85.95%, 脂肪和

灰分含量下降, 分别仅为 1.88%、2.42%。

表 1 脱脂蚕蛹及蚕蛹蛋白主要基本成分 (%)

Table 1 Basic components of silkworm pupae and silkworm pupae protein

成分	蛋白质	脂肪	灰分	水分
脱脂蚕蛹	68.06 ± 0.61	8.35 ± 0.26	5.67 ± 0.31	11.12 ± 0.24
蚕蛹蛋白	85.95 ± 0.75	1.88 ± 0.11	2.42 ± 0.15	8.23 ± 0.31

2.2 蚕蛹蛋白挥发性成分分析

分析比较了冻干蚕蛹蛋白和烘干蚕蛹蛋白挥发性成分, 结果如表 2 所示, 从表中可以看出, 冻干蚕蛹蛋白中的挥发性成分组成复杂, 共有 9 大类 35 种, 远远多于烘干蚕蛹蛋白的 26 种。烘干蚕蛹蛋白和冻干蚕蛹蛋白挥发性成分中醛类化合物的含量最高分别为 23.54% 和 22.83%, 其中烘干蚕蛹蛋白中有 7 种醛类化合物, 而冻干蚕蛹蛋白中只有 6 种, 可能是蚕蛹蛋白在烘干过程中产生了具有酱香、洋葱香味的 3-甲硫基丙醛, 此外, 直链醛如庚醛、壬醛、癸醛等通常带有油或蜡的令人不愉快的气味, 己醛为类似青草清香气味, 能产生一种原生、鲜香的特征香味, 在多种鱼体内均有发现^[10]。

烷烃和烯烃是蚕蛹蛋白中含量较多的挥发性物质, 尤其是冻干蚕蛹蛋白中烃类化合物共计 18 种, 总含量 25.58%, 其中烷烃 12 种, 含量 18.57%; 烯烃 6 种, 含量 7.01%, 烃类中含量较大成分为异十二烷、十四烷、十二烷和双戊烯, 含量分别为 4.92%、4.51%、2.55%、2.49%; 相比之下, 烘干蚕蛹蛋白中烃类化合物较少, 仅有 8 种, 总含量 9.56%, 其中烷烃 5 种, 含量 4.69%, 烯烃 3 种, 含量 4.87%, 烃类中含量较大成分为双戊烯与十四烷, 含量分别为 3.18% 和 2.23%。烃类化合物包括烷烃和烯烃, 主要来源于脂肪酸烷氧自由基的裂解, 虽然烃类化合物的阈值通常较高, 但对气味形成的整体作用不大^[11]。

醇类化合物是一类挥发性化合物, 通常具有刺激性气味^[12]。冻干蚕蛹蛋白中仅含有 1-辛烯-3-醇这种醇类化合物, 且含量仅有 0.66%; 相比之下, 烘干蚕蛹蛋白中除 1-辛烯-3-醇外, 还存在 2-乙基己醇, 总含量达到 2.20%, 这可能是导致烘干蚕蛹蛋白的臭味要浓于冻干蚕蛹蛋白的原因之一。

两种干燥方式获得蚕蛹蛋白均含有邻苯二甲酸二异丁酯这种具有刺激性臭味的酯类物质, 且含量相同均为 0.55%。贾俊强^[3]等以鲜蚕蛹为原料, 还检测到磷酸三丁酯和邻苯二甲酸丁基-2-戊基酯, 其中磷酸三丁酯对人体有生理毒性, 接触后可引起中枢神经系统的刺激症状^[13-14]。从蚕蛹中提取蚕蛹蛋白, 有效去

除了磷酸三丁酯,提高了蚕蛹蛋白的食用价值。

冻干蚕蛹蛋白和烘干蚕蛹蛋白中均仅有二甲基三硫这种硫化物,含量分别为 2.17%和 2.12%,这种物质具有蒜臭味和腥臭味,是蚕蛹蛋白臭味的主要来源。

冻干蚕蛹蛋白中含有 5 种芳香类化合物,其中除 1,3-二甲苯(含量 0.53%)具有毒性外,其他几种芳香类化合物均是食品中常见调味料,其中萘环烃更具有抑菌消炎功效;相比之下,烘干蚕蛹蛋白中除 1,3-二甲苯之外,还含有苯酚这种有毒物质,含量分别为 0.86%和 2.75%,其具有特殊香气物质仅有 2 种,且比冻干蚕蛹蛋白粉中相应物质含量少。

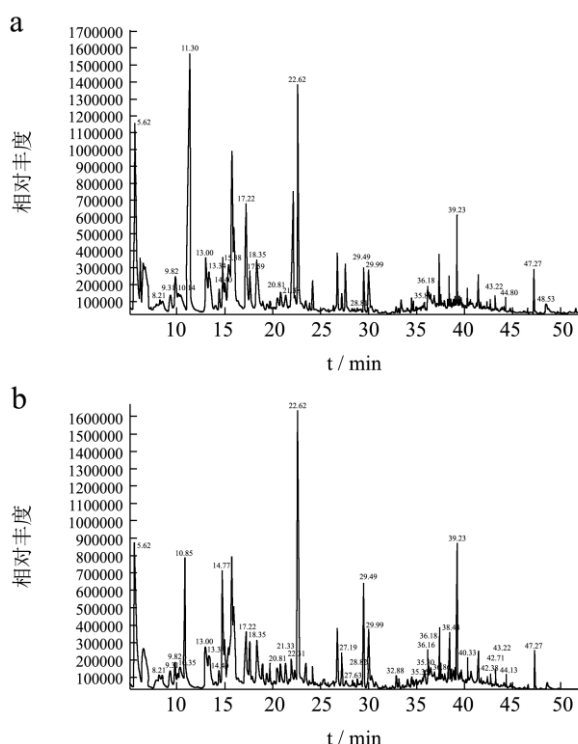


图 1 烘干蚕蛹蛋白(a)和冻干蚕蛹蛋白(b)中挥发性成分的气相色谱-质谱联用总离子图谱

Fig.1 Total ion chromatogram of GC-MS of volatile components of silk worm pupae from oven-dried (a) and freeze-dried (b) silk worm pupae proteins

烘干蚕蛹蛋白中检测到羧酸类物质有 2-氨基-5-甲基苯甲酸(含量 11.41%)和十六酸(含量 0.74%)两种,而冻干蚕蛹蛋白中则仅有 2-氨基-6-甲基苯甲酸(含量 3.75%)一种,2-氨基-5-甲基苯甲酸和 2-氨基-6-甲基苯甲酸均为医药化工行业中间体。烘干蚕蛹蛋白中仅含有邻氨基苯乙酮(含量 1.70%)一种酮类物质,其是一种限量使用的食品香料,而冻干蚕蛹蛋白中除邻氨基苯乙酮(含量 0.80%)外,还含有 4-氨基苯乙酮(含量 0.83%)这种具有愉快香味的有毒性酮类化合物。

表 2 蚕蛹蛋白挥发性成分的气相色谱-质谱联用分析

		proteins		
化合物种类	化合物名称	保留时间/min	相对百分含量/%	
			烘干蚕蛹	冻干蚕蛹
醛	己醛	5.62	8.07	7.92
	庚醛	9.82	1.47	1.07
	3-甲硫基丙醛	10.14	1.90	-
	苯甲醛	13.00	2.32	1.89
	苯乙醛	18.35	2.75	2.69
	壬醛	22.62	5.49	6.97
酮	癸醛	29.99	1.54	2.29
	邻氨基苯乙酮	36.18	1.70	0.80
烷烃	4-氨基苯乙酮	36.86	-	0.83
	2,2,4,6,6-五甲基庚烷	14.77	-	4.92
	十一烷	22.31	-	0.73
	3-甲基十一烷	27.19	-	0.86
	环癸烷	28.81	0.36	-
	环十二烷	28.82	-	0.40
	十二烷	29.49	1.01	2.55
	戊基环戊烷	32.88	-	0.30
	正十三烷	36.16	-	1.19
	二十七烷	38.44	-	1.58
	十四烷	39.23	2.23	4.51
	乙酰基环己烷	42.38	-	0.42
	四十四烷	42.71	-	0.35
	十六烷	43.22	0.67	0.76
十七烷	44.80	0.42	-	
醇	1-辛烯-3-醇	14.40	0.66	0.66
	2-乙基己醇	17.59	1.54	-
烯烃	苯乙烯	9.31	0.78	0.92
	双戊烯	17.22	3.18	2.49
	7-十四碳烯	35.35	-	0.47
	1-十三烯	35.80	0.91	0.95
	2-十四(碳)烯	40.33	-	1.80
	1-十四烯	44.13	-	0.38
羧酸	2-氨基-6-甲基苯甲酸	10.85	-	3.75
	2-氨基-5-甲基苯甲酸	11.30	11.41	-
酯	十六酸	48.53	0.74	-
	邻苯二甲酸二异丁酯	47.27	0.55	0.55
硫化物	二甲基三硫	13.34	2.17	2.12
	1,3-二甲苯	8.21	0.86	0.53
芳香	2,6-二甲基吡嗪	10.35	-	1.85
	苯酚	15.38	2.75	-

转下页

接上页

2-乙烷基-3,5-二甲基吡嗪	20.81	0.86	0.98
2,3,5,6-四甲基吡嗪	21.33	0.96	1.15
苜蓿环烃	27.63	-	0.56

2.3 蚕蛹蛋白体外消化特性研究

2.3.1 热处理温度对蚕蛹蛋白体外消化率的影响

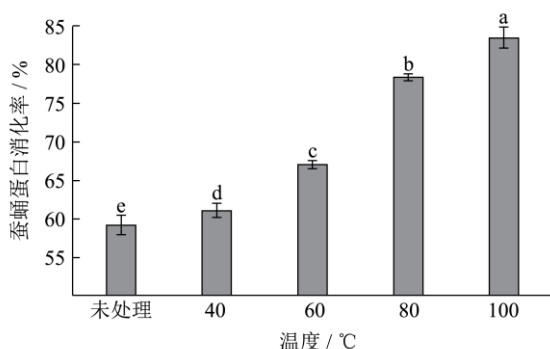


图2 不同热处理温度下蚕蛹蛋白体外消化率变化情况

Fig.2 Effect of different temperatures on the *in vitro* digestibility of silkworm pupae proteins

不同热处理温度下蚕蛹蛋白体外消化率变化情况如图2所示,结果表明,相同加热时间(20 min),不同温度下蚕蛹蛋白体外消化率有显著差异($p < 0.05$)。相比未加热处理蚕蛹蛋白,加热处理后蚕蛹蛋白体外消化率均显著高于未加热处理蚕蛹蛋白体外消化率,且随着处理温度升高,蚕蛹蛋白体外消化率呈显著上升趋势,100 °C下处理20 min后,蚕蛹蛋白体外消化率可达到82.04%,未处理蚕蛹蛋白体外消化率仅为62.00%。

2.3.2 热处理时间对蚕蛹蛋白体外消化率的影响

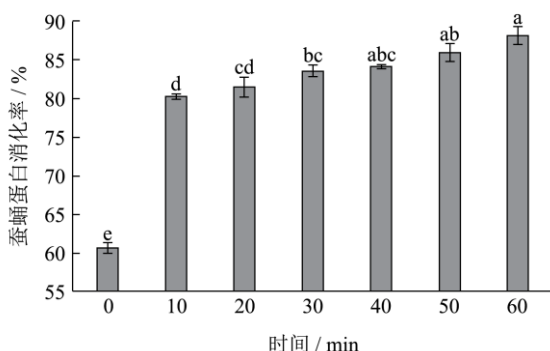


图3 不同热处理时间下蚕蛹蛋白体外消化率变化情况

Fig.3 Effect of different heating duration on the *in vitro* digestibility of silkworm pupae proteins

不同热处理时间下蚕蛹蛋白体外消化率变化情

况如图3所示,随着热处理时间延长,蚕蛹蛋白体外消化率呈明显上升趋势,热处理与未经热处理蚕蛹蛋白体外消化率存在显著差异($p < 0.05$),当热处理时间超过30 min,蚕蛹蛋白体外消化率无显著变化。蚕蛹蛋白于100 °C下热处理30 min和60 min后,其体外消化率分别为83.18%和85.92%。

2.3.3 处理方式对蚕蛹蛋白体外消化率的影响

表3 不同处理方式下蚕蛹蛋白体外消化率比较

Table 3 Comparison of different processing methods on the *in vitro* digestibility of silkworm pupae proteins

处理工艺	蚕蛹蛋白体外消化率 / %
未处理	62.00 ± 0.89 ^e
煮沸 100 °C, 20 min	82.04 ± 1.03 ^b
煮沸 100 °C, 1 h	85.92 ± 1.46 ^a
干热 130 °C, 1 h	77.62 ± 0.31 ^c
微波 700 W, 3 min	74.21 ± 2.19 ^d
10 kGy 辐照	87.78 ± 2.29 ^a

不同处理方式下蚕蛹蛋白体外消化率如表3所示,结果表明,经10 kGy辐照及100 °C蒸煮1 h处理的蚕蛹蛋白与其他处理蚕蛹蛋白体外消化率存在显著差异($p < 0.05$)。蛋白质经高能射线辐照处理后发生化学和电离反应,蛋白质构象改变、二硫键断裂,蛋白质中原子及分子的化学反应活性升高,更易被酶水解,体外消化率随之上升;此外,长时间热处理导致了胰蛋白酶抑制因子活性下降,间接提高了蚕蛹蛋白体外消化率^[15-16]。不同处理下蚕蛹蛋白体外消化率高低依次为辐照(10 kGy) > 煮沸(100 °C, 1 h) > 微波(700 w, 3 min) > 煮沸(100 °C, 20 min) > 干热(130 °C, 1 h) > 未处理,其中辐照10 kGy处理下蚕蛹蛋白体外消化率达到87.78%,远远高于未经任何处理蚕蛹蛋白的62.00%。

2.4 不同热处理时间对蚕蛹蛋白胰蛋白酶抑制活性的影响

制剂活性的影响

不同热处理时间下蚕蛹蛋白胰蛋白酶抑制活性变化情况如图4所示,从图中可以看出,随着热处理时间延长,蚕蛹蛋白中TIA呈明显下降趋势,热处理时间在0~10 min、30~50 min之间,各处理间TIA存在显著差异($p < 0.05$),热处理60 min后,胰蛋白酶抑制因子活性从最初31.70%下降到10.81%。胰蛋白酶被抑制百分比亦随着热处理时间延长呈明显下降趋势,热处理时间在0~20 min、30~60 min之间,各处理间胰蛋白酶被抑制百分比存在显著差异($p < 0.05$),热处理60 min后,蚕蛹蛋白中胰蛋白酶被抑制百分比

从最初的 75.57% 下降到 38.37%，此条件下，蚕蛹蛋白更易于被胰蛋白酶酶解，更利于被消化吸收。大豆蛋白与甘薯蛋白热处理后，其 TIA 值亦明显下降，豆奶 99 °C 下热处理 60~70 min 可使 TIA 活性下降 90%，甘薯蛋白于 80 °C 下热处理 30 min，其 TIA 值从 90% 下降至 55%，但是相比之下，未经任何处理的蚕蛹蛋白 TIA 值明显低于未经任何处理的豆浆和甘薯蛋白的 TIA 值^[8,17]。

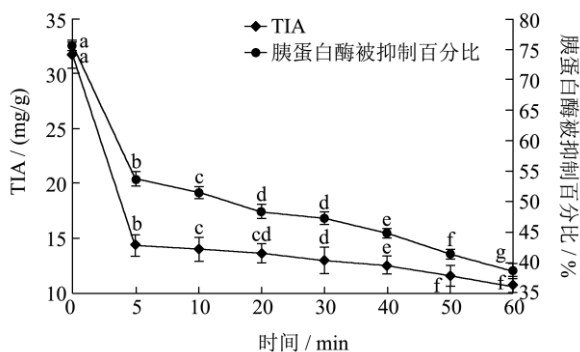


图4 不同热处理时间下蚕蛹蛋白胰蛋白酶抑制活性变化情况

Fig.4 Changes in trypsin inhibitory activity of silkworm pupae proteins with different heat treatments

3 结论

3.1 GC-MS 分析结果表明，从碱溶酸沉制备的烘干蚕蛹蛋白和冻干蚕蛹蛋白中分别鉴定出 26 种和 35 种挥发性化合物，分属醛、烷烃、醇等 9 大类，醛类化合物是蚕蛹蛋白中挥发性物质主要成分，在烘干和冻干蚕蛹蛋白中分别占 23.54% 和 22.83%，烃类（烷烃和烯烃）是冻干蚕蛹蛋白中含量最高的组分，达到 25.58%，蚕蛹蛋白中刺激性气味主要来源于醇类化合物、酯类化合物与硫化物，也与部分醛类化合物有关。此外，烘干蚕蛹蛋白中有毒成分主要有 1,3-二甲苯、苯酚，含量分别为 0.86% 和 2.75%，相比之下，冻干蚕蛹蛋白中有毒成分含量较少，主要有 1,3 二甲苯和 4-氨基苯乙酮，含量分别为 0.53% 和 0.83%。由于烘干蚕蛹蛋白和冻干蚕蛹蛋白中挥发性物质含量差异，导致了两种蚕蛹蛋白各自气味的不同，亦可说明，热处理可导致蚕蛹蛋白中挥发性成分流失、分解或产生新的挥发性物质。

3.2 蚕蛹蛋白易于消化吸收，未经任何处理蚕蛹蛋白体外消化率为 62.00%，而热处理可以显著提高蚕蛹蛋白体外消化率，热处理温度升高（40~100 °C）以及热处理时间延长（10~60 min）均可显著提高蚕蛹蛋白的体外消化率，100 °C 下热处理 1 h，蚕蛹蛋白体外消化率可达 85.92%。不同处理方式对蚕蛹蛋白体外消化率有显著影响，相比，蒸煮、干热、微波处理，10 kGy

辐照处理后蚕蛹蛋白体外消化率最高达 87.78%。

3.3 蚕蛹蛋白具有一定 TIA 值，未经任何处理蚕蛹蛋白 TIA 值为 31.70%，此蛋白在消化过程中有 75.57% 胰蛋白酶被抑制，从而影响蚕蛹蛋白消化吸收。热处理可显著降低蚕蛹蛋白中 TIA 值，降低消化过程中胰蛋白酶被抑制百分比，蚕蛹蛋白热处理 60 min，蚕蛹蛋白 TIA 值下降至 10.81%，消化过程中胰蛋白酶被抑制百分比下降到 38.37%。

参考文献

- [1] LONGVAH T, MANGTHYA K, RAMULU P. Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae [J]. Food Chemistry, 2011, 128: 400-403
- [2] 方佳茂,刘偲琪,庄楚周,等.复合酶水解蚕蛹蛋白制备功能性寡肽的工艺研究[J].现代食品科技,2012,28(3):324-328
FANG Jia-mao, LIU Si-qi, ZHUANG Chu-zhou, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for preparation of functional oligopeptide from silkworm pupa protein [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(3):324-328
- [3] 贾俊强,桂仲争,吴琼英,等.同时蒸馏萃取与气相色谱-质谱联用分析蚕蛹挥发性成分[J].蚕业科学,2011,37(6): 1111-1116
JIA Jun-qiang, GUI Zhong-zheng, WU Qiong-ying, et al. Analysis of Volatile Components in Silkworm Pupae by Simultaneous Distillation and Extraction Coupled with GC-MS [J]. Science of Sericulture, 2011, 37(6): 1111-1116
- [4] 李高扬,崔堂兵,陈亮.蚕蛹蛋白酶解制备抗氧化肽的初步研究[J].现代食品科技,2011,27(7):810-814
LI Gao-yang, CUI Tang-bing, CHEN Liang. Preliminary study of enzymatic hydrolysis of silkworm pupa protein for production of antioxidant peptide [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(7): 810-814
- [5] 陈佳捷,吴文惠,倪玲,等.蚕蛹蛋白和蚕蛹短肽的模拟胃肠道消化特性研究[J].食品工业科技,2014,35(1):333-337
CHEN Jia-jie, WU Wen-hui, NI Ling, et al. Nutritional characteristics of silkworm pupae protein and peptides after simulated gastric and simulated intestinal digestion in vitro [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(1): 333-337
- [6] 华蕾.豆制品中胰蛋白酶抑制剂活性测定方法的研究[D].吉林,吉林大学,2007
HUA Lei. The study on measurement method for trypsin inhibitor's activity of soya products [D]. Jilin, Jilin University,

- 2007
- [7] 李郁.甘薯可溶性蛋白的提取、纯化及胰蛋白酶抑制剂活性的研究[D].乌鲁木齐,新疆农业大学,2007
LI Yu. Studies on extraction, purification and trypsin inhibition activity of soluble protein from sweet potato [D]. Urumchi, Xinjiang Agricultural University, 2007
- [8] VICLA RM, LANDS LC, CHAN HM, et al. High hydrostatic pressure enhances whey protein digestibility to generate whey peptides that improve glutathione status in CFTR-deficient lung epithelial cells [J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2006, 50(11): 1013-1029
- [9] 孙敏杰.甘薯蛋白的营养特性研究[D].北京,中国农业科学院,2012
SUN Min-jie. Research on the nutritional characteristics of sweet potato protein [D]. Beijing, Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012
- [10] IGLESIAS J, MEDINA I, BIANCHI F, et al. Study of the volatile compounds useful for the characterisation of fresh and frozen-thawed cultured gilthead sea bream fish by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2009, 115(4): 1473-1478
- [11] HERLAND H, ESAIASSEN M, COOPER M, et al. Changes in trimethylamine oxide and trimethylamine in muscle of wild and farmed cod (*Gadus morhua*) during iced storage [J]. *Aquaculture Research*, 2009, 41(1): 95-102
- [12] 谢诚,欧昌荣,曹锦轩,等.全二维气相色谱-飞行时间质谱法分析糟带鱼挥发性风味成分[J].现代食品科技,2014,30(2): 234-243
XIE Cheng, OU Chang-rong, CAO Jin-xuan, et al. Analysis of the volatile compounds of vinasse hairtail through two comprehensive dimensional gas chromatography - time of flight mass spectrometry [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(2): 234-243
- [13] 盛凤仙.冻干人纤维蛋白胶制品中磷酸三丁酯残留量的气相色谱法测定[J].中国医药工业杂志,2002,33(3):137-138
SHENG Feng-Xian. Determination of residual TNBP in freezing human fibrin sealant kit by GC [J]. *Chinese Journal of Pharmaceuticals*, 2002, 33(3): 137-138
- [14] 艾庆岩.蚕蛹中毒 82 例临床观察分析[J].山东医学高等专科学校学报,2008,30(2):136-138
AI Qing-yan. 82 cases of silkworm poisoning [J]. *Journal of Shan Dong Medical college*, 2008, 30(2): 136-138
- [15] 徐志村.豆浆中胰蛋白酶抑制剂加热失活机理及一种短时豆浆工艺的建立[D].无锡,江南大学,2013
XU Zhi-cun. Heat-induced deactivation mechanism of trypsin inhibitor in soybean milk and a short-term soybean milk process [D]. Wuxi, Jiangnan University, 2013
- [16] 刘伯业.辐照改性大豆分离蛋白/淀粉可降解材料的研究[D].郑州:河南工业大学,2012
LIU Bo-ye. Study of irradiation modified soy protein isolate/starch biodegradable material [D]. Zhengzhou: Henan University of technology, 2012
- [17] 郭乾初,梁汉华.商品大豆饮料胰蛋白酶抑制剂活性的研究[J].中国乳品工业,1997,25(6):8-10
GUO Qian-chu, LIANG Han-hua. The research on trypsin inhibitor activity for commercial soy beverage [J]. *China Dairy Industry*, 1997, 25(6): 8-10