

鸡内金炮制品对大豆分离蛋白体外消化特性的影响

余典武¹, 刘小涛¹, 王宇航¹, 应天昊¹, 胡杨^{1,2*}, 荣建华^{1*}

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉 430070) (2. 华中农业大学深圳营养与健康研究院, 中国农业科学院深圳农业基因组研究所, 南岭现代农业科学与技术广东省实验室深圳分中心, 广东深圳 518000)

摘要: 该研究以鸡内金炮制品为原料, 通过对消化率、酶活性、粒径大小以及相对分子质量分布的分析, 比较不同方法制备的鸡内金炮制品对大豆分离蛋白体外消化特性的影响。结果表明: 在不加外源酶时, 鸡内金炮制品中的蛋白酶可能是引起蛋白质降解的主要原因。在加入外源蛋白酶时, 添加鸡内金能提高大豆分离蛋白消化率, 炮制品对蛋白质消化率的影响效果依次为: 麸炒>醋炒>生品>砂炒>清炒, 炮制品对蛋白质消化率的影响效果与其对酶活性的促进效果一致。麸炒和醋炒鸡内金在消化 1 h 时对蛋白质消化率的促进消化最显著, 使大豆分离蛋白消化率由 36.78% 提高到 41.33% 和 40.99%。体外消化表征结果也表明, 添加鸡内金也会使蛋白质消化产物粒径减小、粒径分布的最大峰值左移、蛋白质相对分子质量分布向小分子范围偏移。鸡内金对消化产物的影响主要发生在消化前 1 h 内。该研究为鸡内金的深入研究提供新思路。

关键词: 鸡内金; 炮制; 体外消化

文章编号: 1673-9078(2023)07-82-90

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.7.0912

Effect of Processed Chickens Gizzard-membrane on *in vitro* Digestion Characteristics of Soybean Protein Isolate

YU Dianwu¹, LIU Xiaotao¹, WANG Yuhang¹, YING Tianhao¹, HU Yang^{1,2*}, RONG Jianhua^{1*}

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China) (2. Shenzhen Institute of Nutrition and Health, Huazhong Agricultural University; Shenzhen Branch, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Genome Analysis Laboratory of the Ministry of Agriculture, Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518000, China)

Abstract: In this study, chickens gizzard-membrane processed products were used as the raw materials. The effects of chickens gizzard-membrane processed products prepared by different methods on the *in vitro* digestion characteristics of soybean protein isolate were compared through analyzing the digestibility, enzyme activity, particle size and relative molecular mass weight distribution. The results showed that the protease in chickens gizzard-membrane processed products might be the main cause of protein degradation in the absence of exogenous enzymes. In the presence of an exogenous protease, digestibility of soybean protein isolate increased upon the addition of chickens gizzard-membrane, and the effects of the processed products on protein digestibility followed this order: wheat bran stir-frying > vinegar stir-frying > raw product > sand stir-frying > plain stir-frying. The effect of a chickens gizzard-membrane processed product on protein digestibility was consistent with its promotion effect on enzyme activity. The wheat bran stir-frying and vinegar stir-frying chickens gizzard-membrane promoted protein digestibility the most after 1 h digestion, enabling the increase of the digestibility of soybean protein isolate from 36.78% to 41.33% and 40.99%, respectively. The results of *in vitro* digestion characterization also showed that the addition of chickens

引文格式:

余典武, 刘小涛, 王宇航, 等. 鸡内金炮制品对大豆分离蛋白体外消化特性的影响[J]. 现代食品科技, 2023, 39(7): 82-90.

YU Dianwu, LIU Xiaotao, WANG Yuhang, et al. Effect of processed chickens gizzard-membrane on *in vitro* digestion characteristics of soybean protein isolate [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(7): 82-90.

收稿日期: 2022-07-19

基金项目: 湖北省重点研发计划项目(2021BBA089); 教育部中央高校基本科研业务费项目(SZYJY2022013)

作者简介: 余典武(1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: 1908206172@qq.com

通讯作者: 胡杨(1987-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 水产品加工及副产物综合利用, E-mail: huyang@mail.hzau.edu.cn; 共同通讯作者: 荣建华(1972-),

女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品工程, E-mail: rong@mail.hzau.edu.cn

gizzard-membrane decreased the particle size of protein digestion products, and shifted the maximum peak of particle size distribution to the left, and the relative molecular mass weight distribution of protein towards the smaller molecular range. The influence of chickens gizzard-membrane on digestive products occurred mainly within the first one hour of digestion. This study provides a new idea for the in-depth study of chickens gizzard-membrane.

Key words: chickens gizzard-membrane; processing; *in vitro* digestion

鸡内金为雉科动物家鸡的干燥沙囊内壁^[1]。鸡内金作为药食同源的传统中药,因其价格低廉且疗效显著而备受青睐。然而,由于新鲜鸡内金水分质量分数高,不利于保存,并且有较重的腥味,不利于患者直接服用。因此,会选择将其加工(炮制)后入药。然而经过炮制后,鸡内金中的成分会发生较大的变化,其功效也会发生相应的变化。有研究表明,鸡内金主要含有蛋白质、氨基酸、多糖以及微量元素等成分^[2]。在鸡内金的药理作用研究中,目前仅发现鸡内金多糖具有明确的降糖降脂作用^[3],其促消化的有效成分和作用机制仍有待进一步研究。鸡内金药效亲和,临床应用广泛,排在内科用药频率的第35位^[4]。现如今随着生活品质的改善,消化不良现象时有发生,在儿童中表现尤为突出。儿童胃肠道发育不够成熟,酶活性较低,体内代谢调节功能较差,但儿童对营养的需求却较多,较多食物的摄入加重了胃肠道的负担^[5],从而导致儿童消化不良。确定有效治疗方式对消化不良患儿展开治疗,对其生活品质改善,意义显著^[6]。日常饮食中,蛋白质是主要成分之一。蛋白质先在胃液消化酶的作用下,初步水解,然后在小肠中完成整个消化吸收过程。鸡内金具有促消化作用,其针对蛋白质消化的研究报道很少。本研究以植物蛋白为消化材料,初步了解鸡内金不同炮制品是否具有促消化效果,以及鸡内金促消化形式。通过对不同样品成分及促消化特性的研究,以便为更好地利用鸡内金提供理论和现实意义,也为科研工作者深入的研究提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

砂炒、清炒、醋炒、生品鸡内金,购于安徽亳州怀仁堂中药材店,经华中农业大学动物医学院鉴定为雉科动物家鸡的干燥沙囊内壁;麸炒鸡内金,由武汉立华合创生物科技有限公司提供,经华中农业大学动物医学院鉴定为雉科动物家鸡的干燥沙囊内壁;新鲜鸡内金(水分含量:53.62%),购于华中农业大学菜市场;大豆分离蛋白(蛋白质质量分数:96.2%)购于上海源叶生物科技有限公司。胃蛋白酶(300 U/mg)、胰蛋白酶(200 U/mg),购于美国Sigma Aldrich公司。

牛血红蛋白、乙醇、磷酸、乙酸钠、盐酸、氢氧化钠、福林酚、三氟乙酸、三氯醋酸、玉米淀粉、麦芽糖、3,5-二硝基水杨酸、考马斯亮蓝 G-250、福林酚、酒石酸钾钠、葡萄糖等均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

BS210Z 分析天平,岛津企业管理有限公司;TX2202L 电子天平,岛津企业管理有限公司;E-201F pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司;UV2600A 紫外可见分光光度计,龙尼柯仪器有限公司;HTXHTX 多功能酶标仪,广州东和仪器科技有限公司;TDL80-28 型台式离心机,湖南星科科学仪器有限公司;DF-101S 恒温加热磁力搅拌器,巩义市予华仪器有限公司;JY92-11N 超声波细胞破碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司;SHZ-D(111)循环水式真空泵,郑州科达机械仪器设备有限公司;DAWM 18 角度激光光散射仪,美国怀雅特技术公司;Mastersizer 2000 激光颗粒度分布仪,英国马尔文公司。

1.2 鸡内金炮制品基本成分的测定

参考 GB 5009.3-2016 直接干燥法测定水分含量。参考陈磊等^[7]的方法处理样品,并采用 3,5-二硝基水杨酸法测量总糖和还原糖含量,葡萄糖标准曲线方程: $Y=1.0318X-0.1441$, $R^2=0.9983$ 。参考 GB 5009.6-2016 索氏抽提法测定脂肪含量。参考 GB 5009.5-2016 凯氏定氮法测定总蛋白含量。参考金伶佳等^[8]的方法,采用马斯亮蓝染色法测定可溶性蛋白含量,蛋白标准曲线方程为: $Y=0.0048X+0.0848$, $R^2=0.9936$ 。参考 GB 5009.4-2016 灼烧残渣法测灰分含量。参考 GB 5009.88-2014 酶重量法测定膳食纤维含量。

1.3 鸡内金炮制品淀粉酶活性测定

参考陆维承等^[9]的方法,取底物溶液 1 mL(质量分数为 2%玉米支链淀粉溶液)加入鸡内金溶液 1 mL(0.5 g 以 pH 值 8.1 磷酸缓冲液定容至 10 mL)。保温一段时间后加入 1 mL 显色剂(1.6 g NaOH 溶于 70 mL 水中,然后加入 1 g 3,5-二硝基水杨酸和 3 g 酒石酸钾钠,用水稀释至 100 mL),立即在沸水中煮 5 min 灭酶,在冰浴中冷却 10 min,加入 5 mL 蒸馏水,在 540 nm 测吸光值。标准溶液为麦芽糖溶液(36 mg 麦

芽糖加水至 100 mL)。淀粉酶活力计算公式如式(1)。

$$Q = \frac{(A_{\text{样}} - A_{\text{空}}) \times n}{(A_{\text{标}} - A_{\text{标空}}) \times t \times m} \quad (1)$$

式中:

Q ——比活力, 每克药材所具有的淀粉酶活力单位;

A ——540 nm 处吸光值;

n ——麦芽糖的 μmol 数;

t ——反应时间, 5 min;

m ——样品质量, g。

在 25 °C 时每分钟能催化分解底物产生 1 μmol 麦芽糖的酶量规定为 1 个酶活力单位。

1.4 鸡内金炮制品蛋白酶活性测定

参考陈志娟等^[10]的方法并稍作修改, 采用福林酚法测定蛋白酶活力。取鸡内金溶液 1 mL 于 37 °C 下活化 10 min, 活化后的酶液加入 1 mL 牛血红蛋白溶液 (0.002 g/mL), 37 °C 下反应 10 min, 加入质量分数 5% 三氯乙酸溶液 2 mL 终止反应。取上层清液 1 mL, 加 1 mL 超纯水, 加入 5 mL NaOH 溶液 (0.4 mol/L), 混合均匀后加入 1 mL 福林酚试剂 (福林酚与水体积比 1:2 配制)。在 660 nm 处测定吸光值。胃蛋白酶酶活力计算公式如式(2)。

$$X = m \times \frac{4}{t \times 181.19} \times \frac{N}{0.5} \quad (2)$$

式中:

X ——胃蛋白酶酶活力, U/g;

m ——查标准曲线得相当的酪氨酸微克数;

N ——胃蛋白酶稀释倍数 (0.05 g/mL, 稀释倍数为 20);

4 ——胃蛋白酶酶活力测定总量 (1 mL 胃蛋白酶液, 1 mL 底物溶液, 2 mL 三氯乙酸溶液);

t ——反应时间, min;

0.5 ——样品干重, g。

37 °C 每分钟水解络蛋白产生 1 μmol 络氨酸, 定义为一个酶活力单位。

1.5 体外模拟胃肠消化

参考 Brodtkorb 等^[11,12]的方法并稍作修改, 按照表 1 配方配制模拟胃液 (Simulated Gastric Fluid, SGF) 及模拟肠液 (Simulated Intestinal Fluid, SIF)。取 1 g 干重蛋白样品, 加入约 5 mL 电解质溶液, 37 °C 搅拌均匀; 然后加入 10 mL SGF 溶液和 0.5 mL 鸡内金混合液 (0.8 g 样品溶于 10 mL 电解质溶液, 对照组加 0.5 mL 电解质溶液), 用 1 mol/L HCl 调节消化液 pH 值至 3.0, 胃蛋白酶浓度为 2 000 U/mL, 搅拌均匀, 于 37 °C 反应 2 h。不同时间段的消化液于沸水中加热

5 min 终止反应, 后于 4 000 r/min 下离心 10 min, 分离后的上清液和沉淀物于 -20 °C 储存。

表 1 模拟消化液配方

Table 1 Formula of simulated digestive fluid

组分	电解质溶液 (pH 值 7) (mmol/L)	SGF (pH 值 2) (mmol/L)	SIF (pH 值 7) (mmol/L)
KCl	15.1	6.9	6.8
KH ₂ PO ₄	3.7	0.9	0.8
NaHCO ₃	13.6	25	85
NaCl	-	47.2	38.4
MgCl(H ₂ O) ₆	0.15	0.1	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃	0.06	0.5	-
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	1.5	0.15	0.6
Pepsin	-	2 000 U/mL	-
Trypsin	-	-	250 U/mL

胃消化完成后, 分别于各实验组中加入 15 mL SIF 溶液, pH 值调至 7.0, 胰蛋白酶浓度为 250 U/mL, 搅拌均匀, 于 37 °C 反应 2 h。不同时间段的消化液于沸水中加热 5 min 终止反应, 后于 4 000 r/min 下离心 10 min, 分离后的上清液和沉淀物于 -20 °C 储存。

1.6 蛋白质消化率的测定

参考李莹等^[13]的方法并稍作修改, 消化后产物在 4 000 r/min 下离心 10 min, 得到沉淀物在 50 °C 下烘干至恒重, 记录烘干样品数据, 用二喹啉甲酸 (Bicinchoninic Acid, BCA) 法测定未消化样品和烘干残留物中的蛋白质含量, 消化率计算公式如式(3)。

$$DT = \frac{p - p_i}{p} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

DT ——蛋白质体外消化率, %;

p_i ——不同阶段消化时间下沉淀物干燥后蛋白质量 ($i=0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4$ h), g;

p ——1 g 干重样品蛋白质含量, g。

1.7 鸡内金溶液对蛋白质消化率影响的测定

模拟体外胃肠消化的方法同 1.5, 不加胃蛋白酶和胰蛋白酶只加入与 SIF 等量的鸡内金溶液 (0.8 g 鸡内金溶于 10 mL 电解质溶液), 对照组加入 15 mL 电解质溶液。分别在消化 0、0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4 h 取样, 蛋白消化率的测定同 1.6。

1.8 胃蛋白酶活性的测定

分别在消化 0、20、40、60、90、120 min 后取上

清液,胃蛋白酶活性的测定同 1.4。酶活性促进率计算公式如式(4)。

$$Y = \frac{A_b - A_a}{A_a} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

Y —蛋白酶促进率, %;

A_b —加入样品后消化液吸光值;

A_a —对照组消化液吸光值。

1.9 粒径测定

参考 Li 等^[14]方法并稍作修改,采用激光颗粒度分布仪测量蛋白质消化液的粒径,计为 $D_{x(10)}$ 、 $D_{x(50)}$ 、 $D_{x(90)}$ 、 $D_{x[3,2]}$ 、 $D_{x[4,3]}$ 。其中, $D_{x(10)}$ 、 $D_{x(50)}$ 、 $D_{x(90)}$ 分别表示一个样品的累计粒度分布数达到 10%、50%、90% 对应的粒径, $D_{x[3,2]}$ 、 $D_{x[4,3]}$ 表示样品的表面积平均粒径和体积平均粒径。

1.10 相对分子质量分布测定

参考 GB 31645-2018《胶原蛋白肽》的测定方法,并稍作修改。蛋白消化液过 10 ku 滤膜,测量参数:柱温 25 °C,流速 0.3 mL/min,进样量 1 mL。溶液过 0.45 μm 滤膜后上机测试,采用 ASTRA 6.1 软件中的 Distribution Analysis 对数据进行处理。

1.11 数据处理与分析

每组实验至少重复 3 次,采用 SPSS 25 和 Excel 软件进行数据的统计、处理与分析,采用 Origin 2018 作图。

2 结果分析

2.1 鸡内金炮制品基本成分分析

表 2 鸡内金基本成分 (g/100 g)

Table 2 Basic components of chickens gizzard-membrane

成分	清炒	砂炒	醋炒	麸炒	生品
水分	6.36±0.11 ^b	5.82±0.07 ^b	6.02±0.13 ^b	4.64±0.24 ^c	7.74±0.09 ^a
总糖	3.27±0.07 ^d	4.05±0.16 ^c	7.54±0.08 ^b	45.06±0.33 ^a	2.97±0.07 ^d
还原糖	0.32±0.01 ^b	0.30±0.01 ^b	0.63±0.04 ^b	10.71±0.22 ^a	0.30±0.01 ^b
脂肪	2.05±0.13 ^c	3.35±0.06 ^b	3.21±0.06 ^b	0.58±0.04 ^d	3.58±0.09 ^a
总蛋白	88.06±0.51 ^a	81.30±1.53 ^c	78.90±1.41 ^d	14.46±0.10 ^e	85.09±0.63 ^b
可溶性蛋白	0.23±0.01 ^e	0.34±0.01 ^d	0.52±0.01 ^c	1.03±0.01 ^a	0.72±0.01 ^b
灰分	0.48±0.09 ^d	6.62±0.26 ^a	2.56±0.13 ^b	0.68±0.04 ^{cd}	0.78±0.02 ^c
膳食纤维	-	-	-	0.79±0.01	-

注:同行小写字母不同表示具有显著性 ($P < 0.05$)。下表同。

由表 2 可知,炮制后鸡内金水分质量分数在 4%~8% 之间,新鲜鸡内金的水分质量分数为 53.62%,水分质量分数显著降低。因此,炮制后的产品能够长期保存^[15]。在炮制过程中,添加的介质不同,筛分过后介质是否完全分离,直接影响着鸡内金基本成分的组成。鸡内金麸炒炮制后,其总蛋白质、可溶性蛋白质、总糖、还原糖和膳食纤维质量分数与其它炮制方式差异显著 ($P < 0.05$)。麸炒炮制后的总蛋白质质量分数显著低于其它炮制品,而可溶性蛋白质、还原糖和总糖质量分数显著高于其它炮制品。这可能是由于麸炒筛分后,部分麦麸还存在于鸡内金中,故麸炒炮制方式中,实际鸡内金的质量分数偏低,蛋白质质量分数偏低,总糖、还原糖和膳食纤维来源于麦麸,远高于其它炮制品。膳食纤维也仅仅只有麸炒炮制品中有,证实了麸炒鸡内金制品含有麦麸;同时在麸炒过程中,鸡内金中的蛋白质和麦麸中的还原糖,在高温炒制过程中,发生美拉德反应,而且麸炒鸡内金的颜色呈现棕褐色,

蛋白质发生分解和降解,导致总蛋白质质量分数降低和水溶性蛋白质量分数增加。此外麸炒后样品基本成分会降低,可能是反应中生成了还原酮类、醛、呋喃及吡喃化合物等^[16,17]。砂炒和醋炒的灰分含量较高,分别为 6.62% 和 2.56%,砂粒未完全分离,醋炒过程中水和挥发性成分蒸发,醋中的矿物质元素 (Na、K、Ca、Mg、Fe、Zn 等) 以氧化物的形式残留^[18],导致其灰分含量增加。由此可见,鸡内金经过传统的炮制方式处理后,添加的介质仍然会残留在鸡内金产品中。

2.2 鸡内金炮制品中酶活性分析

由图 1 可知,鸡内金炮制品中淀粉酶活性大小依次为:生品 > 醋炒 > 麸炒 > 砂炒 > 清炒。其中生品淀粉酶活性最强为 5.93 U/g,麸炒和醋炒淀粉酶活性次之分别为 5.32 U/g 和 5.09 U/g,清炒最弱为 3.35 U/g。鸡内金炮制后淀粉酶活性有所降低。在蔡真真^[19]的研究中也有类似的现象,这是由于淀粉酶对温度相对敏

感, 炮制后活性有所下降所致。鸡内金炮制品蛋白酶活性大小依次为: 麸炒>醋炒>生品>清炒>砂炒, 炮制品蛋白酶活力为 3.00~9.50 U/g, 其中醋炒和麸炒品蛋白酶活性显著高于生品, 与楚胜等^[20]的研究一致, 这是由于麸炒和醋炒提高了鸡内金总浸出物含量^[21], 同时蛋白酶活性对温度不敏感, 因此麸炒和醋炒品蛋白酶活性高于生品。

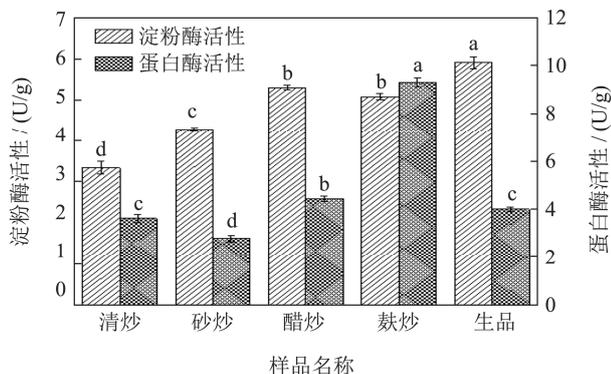


图1 鸡内金炮制品中蛋白酶、淀粉酶活性分析

Fig.1 Analysis of protease and amylase activities in processed products of chickens gizzard-membrane

注: 小写字母不同表示鸡内金炮制品之间酶活性具有显著性差异 ($P<0.05$)。

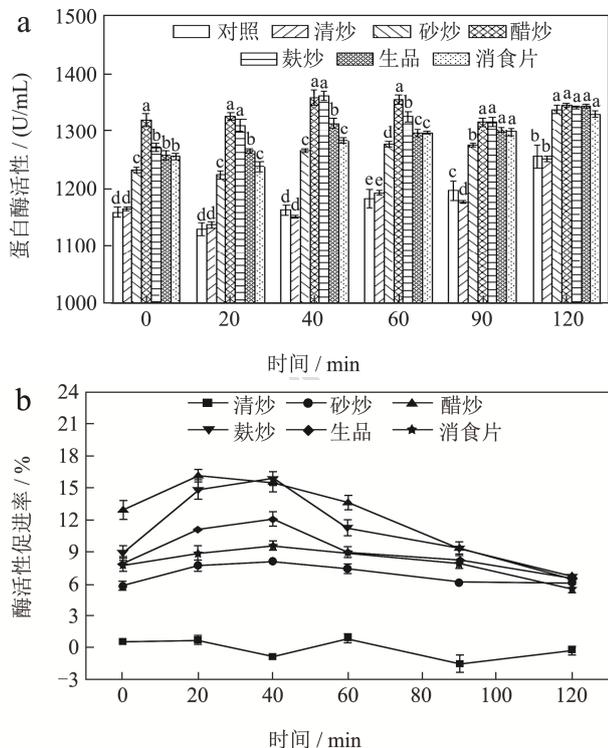


图2 鸡内金炮制品对胃蛋白酶活性的影响

Fig.2 Effect of chickens gizzard-membrane processed products on pepsin activity

注: a、b 分别表示不同处理组大豆分离蛋白在不同消化时间内蛋白酶活性大小和酶活性促进率, 相同时间内小写字母不同表示酶活性具有显著性差异 ($P<0.05$)。

2.3 鸡内金炮制品对大豆分离蛋白体外消化特性的影响

2.3.1 鸡内金炮制品对胃蛋白酶活性的影响

由图 2a 可知, 在相同消化时间内, 添加鸡内金组的胃蛋白酶活性显著高于对照组酶活性, 说明鸡内金具有促进胃蛋白酶活性的作用。图 2b 可知, 炮制品对胃蛋白酶活性的促进作用在 20~40 min 最强, 总体呈先增加后下降的趋势。这可能是由于在消化的初期阶段有更多的底物, 随着消化过程的进行, 蛋白水解变得更加松散, 与酶的接触变得更容易, 在消化后期, 随着底物的减少, 水解速度逐渐减慢, 酶活性促进效果也随之变缓^[22,23]。不同炮制品对胃蛋白酶活性的促进作用也存在显著性差异 ($P<0.05$), 其中麸炒和醋炒品对胃蛋白酶活性的促进效果最显著, 最高可达 15.86%和 16.13%, 且高于消食片组。生品组对胃蛋白酶活性的促进效果次之, 最高可达 12.09%, 而清炒组与对照组无明显变化。

2.3.2 鸡内金溶液在不加外源酶时对蛋白质体外消化率的影响

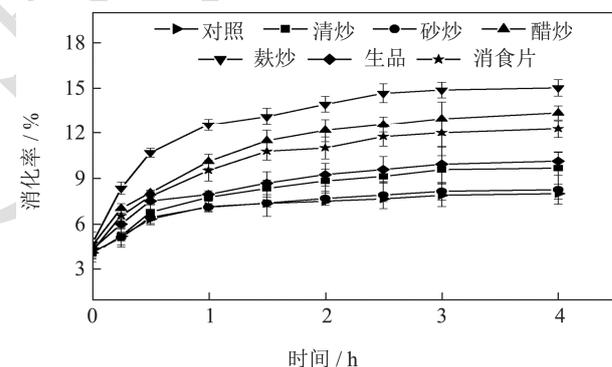


图3 鸡内金溶液在不加消化酶时对蛋白消化率的影响

Fig.3 Effect of chickens gizzard-membrane solution on protein digestibility without digestive enzyme

由图 3 可知, 在最初的 1 h, 大豆分离蛋白的体外消化率随着消化时间的延长迅速增加, 1 h 后缓慢增加至平衡。这是由于在体系开始反应的前 2 h, 是模拟胃液环境, pH 值为 3, 强酸环境下蛋白质会发生酸水解^[24]; 后 2 h, 是模拟肠道环境, pH 值为 7, 为中性环境, 故消化率趋于平衡^[25]。当消化 1 h 后, 麸炒、醋炒、消食片、生品、清炒、砂炒、对照组蛋白质消化率分别为 12.55%、10.11%、9.52%、7.95%、7.75%、7.11%、7.15%。消化 4 h 后蛋白质消化率的变化趋势与消化 1 h 后的变化趋势一致。麸炒和醋炒组对蛋白质消化率的影响效果最显著, 生品次之, 清炒和砂炒较弱, 对照组消化率最低。从图 1 和图 3 的变化趋势可以看出, 炮制品蛋白酶活性越强其对蛋白质消化率

的影响越大。说明在不加外源蛋白酶的条件下，鸡内金炮制品中的蛋白酶可能是引起蛋白质降解的主要原因。

2.3.3 鸡内金炮制品在添加外源酶时对蛋白质体外消化率的影响

由表3可知，蛋白质在胃和肠中的消化程度不同，这主要是因为胃蛋白酶和胰酶的专一性程度不同所致^[26]。蛋白质在胃消化阶段的消化率约占消化总量的72%，而胃消化前1h的消化率约占消化总量的56%，说明蛋白质的消化主要在胃消化前1h。消化1h后对

照组蛋白质消化率为36.78%，麸炒和醋炒鸡内金对蛋白质消化率影响最显著，消化率分别为41.33%和40.99%，高于消食片组，生品组对蛋白质消化率影响次之为39.48%，清炒组与对照组无显著性差异。当消化2h和4h后，各处理组蛋白消化率的变化趋势与消化1h的变化趋势一致，这说明鸡内金促消化作用主要在胃消化的前1h内。同时在加入外源酶时所加的鸡内金量很少，其自身的酶活性可以忽略不计，因此鸡内金对蛋白质的促消化作用主要依赖其对酶活性的促进。

表3 鸡内金炮制品在有消化酶时对大豆分离蛋白消化率的影响

Table 3 Effect of chickens gizzard-membrane processed products on the digestibility of soybean protein isolate with digestive enzyme

时间/h	对照	清炒	砂炒	醋炒	麸炒	生品	消食片
0	4.22±0.20 ^b	3.89±0.17 ^b	4.12±0.19 ^b	4.13±0.25 ^b	4.65±0.06 ^a	4.21±0.12 ^b	3.87±0.25 ^b
0.25	13.47±0.55 ^c	13.10±0.49 ^c	14.98±0.69 ^d	17.96±0.42 ^a	17.59±0.40 ^{ab}	16.45±0.21 ^c	16.61±0.47 ^{bc}
0.5	22.89±0.71 ^d	23.65±0.79 ^{cd}	23.99±0.44 ^{cd}	26.46±0.25 ^a	26.98±0.57 ^a	25.65±0.47 ^{ab}	24.73±0.55 ^{bc}
1	36.78±0.51 ^{cd}	36.11±0.78 ^d	37.57±0.49 ^c	40.99±0.55 ^a	41.33±0.62 ^a	39.48±0.41 ^b	39.32±0.76 ^b
1.5	45.89±0.49 ^{cd}	45.43±0.60 ^d	46.80±0.82 ^{bc}	48.67±0.33 ^a	48.47±0.30 ^a	47.90±0.34 ^{ab}	47.99±0.42 ^a
2	47.95±0.71 ^{de}	47.16±0.61 ^c	48.66±0.30 ^{cd}	51.78±0.33 ^a	50.98±0.83 ^{ab}	49.96±0.54 ^b	49.78±0.46 ^{bc}
2.5	56.15±0.37 ^{cd}	56.01±0.74 ^d	57.03±0.48 ^c	61.46±0.54 ^a	58.98±0.39 ^b	58.15±0.25 ^b	58.28±0.25 ^b
3	65.02±0.40 ^c	64.75±0.89 ^c	66.42±0.51 ^b	69.45±0.66 ^a	69.76±0.52 ^a	68.93±0.42 ^a	69.02±0.21 ^a
4	65.58±0.24 ^d	65.48±0.16 ^d	66.98±1.37 ^c	70.13±0.44 ^{ab}	71.09±0.28 ^a	69.11±0.33 ^b	69.42±0.47 ^b

表4 大豆分离蛋白不同消化时间段消化液粒径变化

Table 4 Particle size changes of digested soy protein isolates at different digestion time

消化时间	名称	D _{x(10)} /μm	D _{x(50)} /μm	D _{x(90)} /μm	D _{x[3,2]} /μm	D _{x[4,3]} /μm
0 min	A0	99.22±1.07	342.08±3.70	595.30±6.73	181.11±2.53	358.92±8.12
	A1	91.38±3.45 ^a	329.28±3.76 ^a	573.60±16.52 ^a	166.69±5.71 ^a	336.34±5.83 ^a
	A2	85.16±2.71 ^a	290.29±4.49 ^c	515.12±17.58 ^b	136.30±3.58 ^c	291.06±6.46 ^b
	A3	85.80±6.75 ^a	298.19±6.01 ^c	526.80±15.91 ^b	146.72±1.55 ^b	294.63±9.10 ^b
	A4	90.77±2.40 ^a	313.98±0.08 ^b	545.21±5.51 ^{ab}	145.08±3.18 ^b	326.41±14.03 ^a
1 h	A1	75.48±2.33 ^a	201.96±3.62 ^a	414.29±18.65 ^a	129.24±1.17 ^a	225.76±6.49 ^a
	A2	61.26±3.87 ^{bc}	168.74±1.17 ^c	358.56±10.14 ^b	105.48±3.66 ^c	191.73±1.17 ^c
	A3	55.82±2.21 ^c	169.68±1.27 ^c	372.75±5.20 ^b	102.61±5.07 ^c	194.86±0.95 ^{bc}
	A4	66.58±3.29 ^b	180.37±4.30 ^b	375.30±11.62 ^b	114.12±2.22 ^b	203.05±6.86 ^b
	A1	46.14±4.12 ^a	158.99±3.18 ^a	303.76±3.49 ^a	89.64±5.79 ^a	166.56±1.94 ^a
2 h	A2	38.45±0.34 ^b	120.29±3.83 ^c	239.36±9.92 ^c	67.12±1.10 ^b	131.36±4.61 ^c
	A3	37.46±1.95 ^b	137.88±5.40 ^b	272.25±11.44 ^b	74.17±2.86 ^b	149.22±7.48 ^b
	A4	42.34±2.34 ^a	150.08±4.69 ^a	298.00±16.01 ^a	85.47±6.46 ^a	157.62±3.15 ^a
	A1	28.99±2.96 ^{ab}	74.61±8.61 ^a	148.64±15.98 ^a	53.40±5.81 ^a	75.73±9.14 ^a
	A2	23.49±0.67 ^c	49.16±2.94 ^b	90.21±6.70 ^b	41.34±1.79 ^b	53.54±3.30 ^b
3 h	A3	24.37±2.48 ^{bc}	53.71±6.35 ^b	101.49±10.69 ^b	43.98±4.36 ^b	58.93±6.50 ^b
	A4	29.77±2.59 ^a	67.43±7.34 ^a	130.52±19.59 ^a	48.74±5.42 ^a	66.98±12.22 ^a
	A1	6.92±0.13 ^a	47.27±4.67 ^a	89.31±2.27 ^a	17.01±0.82 ^a	49.32±0.86 ^a
	A2	4.61±1.47 ^b	21.48±1.98 ^c	83.50±1.28 ^{bc}	13.36±0.31 ^b	34.66±1.00 ^c
	A3	5.90±0.24 ^{ab}	31.29±2.21 ^b	82.75±2.23 ^c	14.20±0.87 ^b	37.40±2.32 ^c
4 h	A4	5.40±0.24 ^{ab}	27.60±4.50 ^{bc}	87.12±2.12 ^{ab}	16.95±0.48 ^a	45.29±2.45 ^b

注：A0表示未消化时粒径大小，A1、A2、A3、A4分别表示对照组、加入醋炒鸡内金组、麸炒鸡内金组、消食片组。

表5 大豆分离蛋白粒径减小百分比 (%)

Table 5 Soybean protein isolate particle size reduction percentage (%)

消化时间	名称	$D_{x(10)}/\mu\text{m}$	$D_{x(50)}/\mu\text{m}$	$D_{x(90)}/\mu\text{m}$	$D_{x[3,2]}/\mu\text{m}$	$D_{x[4,3]}/\mu\text{m}$
5 min	A1	7.90	3.74	3.65	7.96	6.29
	A2	14.17	15.14	13.47	24.74	18.91
	A3	13.53	12.83	11.51	18.99	17.91
	A4	8.52	8.21	8.41	19.89	9.06
1 h	A1	23.93	40.96	30.41	28.64	37.10
	A2	38.26	50.67	39.77	41.76	46.58
	A3	43.74	50.40	37.38	43.34	45.71
	A4	32.90	47.27	36.96	36.99	43.43
2 h	A1	53.50	53.52	48.97	50.51	53.59
	A2	61.25	64.84	59.79	62.94	63.40
	A3	62.25	59.69	55.95	59.05	58.43
	A4	57.31	56.13	49.94	52.81	56.08
3 h	A1	70.78	78.19	75.03	70.52	78.90
	A2	76.33	85.63	84.85	77.17	85.08
	A3	75.44	84.30	82.95	75.72	83.58
	A4	70.00	80.29	78.07	73.09	81.34
4 h	A1	93.03	86.18	85.00	90.61	86.26
	A2	95.35	93.72	85.97	92.62	90.34
	A3	94.05	90.85	86.10	92.16	89.58
	A4	94.56	91.93	85.37	90.64	87.38

注: A1、A2、A3、A4 分别表示对照组、加入醋炒鸡内金组、麸炒鸡内金组、消食片组。

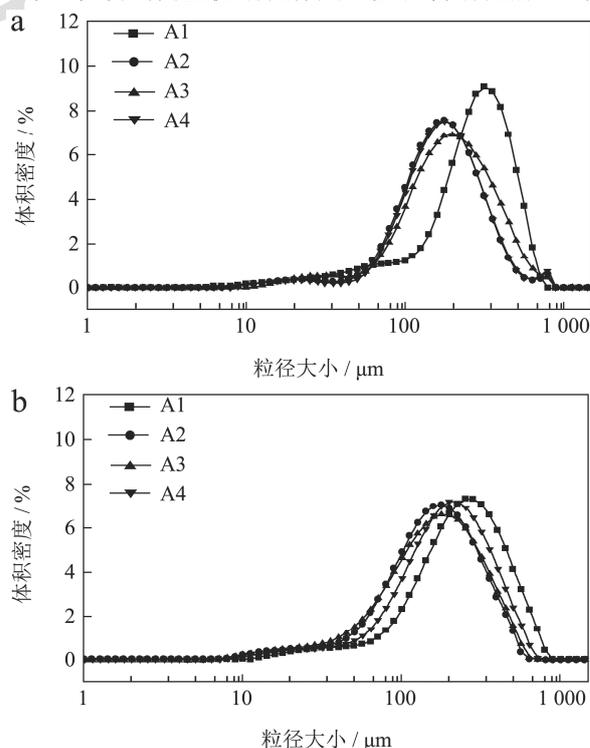
2.4 蛋白体外消化特性表征

2.4.1 鸡内金炮制品对蛋白消化产物粒径的影响

食物在消化过程中的粒径大小及分布可以反应食物被消化分解的程度^[27,28]。由图 4 可知,在胃肠消化阶段大豆分离蛋白消化液的粒径呈单峰分布,与阳倩等^[29]的研究结果一致。此外,在相同时间段内,与对照组相比,添加鸡内金组的最大峰值也发生了左移。

由表 4 和表 5 可知,当胃消化结束时,消化液的平均粒径 ($D_{x[3,2]}$ 、 $D_{x[4,3]}$) 减少超过 50%,这说明粒径减小主要在胃消化阶段。同时,在胃、肠消化的不同时间段内粒径的变化规律一致,即对照组粒径最大,消食片组次之,添加麸炒和醋炒鸡内金组最小。虽然四种处理组粒径的变化规律一致,但随着消化时间的延长,添加鸡内金组与对照组粒径减小百分比的差值在逐渐变小。即添加醋炒鸡内金组与对照组平均粒径 ($D_{x[3,2]}$ 和 $D_{x[4,3]}$) 的差值,在不同时间内的变化分别为 16.78%、13.12%、12.43%、6.65%、2.01%和 12.63%、9.48%、9.81%、6.18%、4.08%。麸炒组与醋炒组变化

一致,说明鸡内金促消化作用主要在胃消化前 1 h 内。



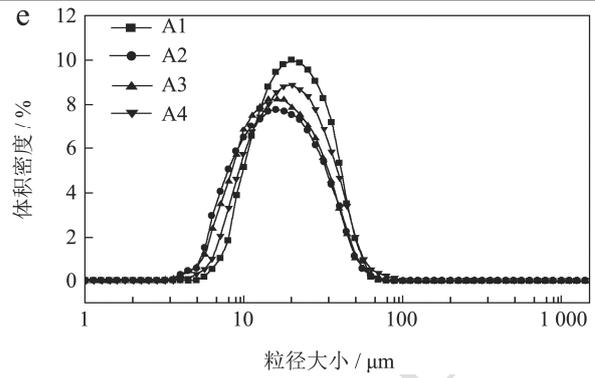
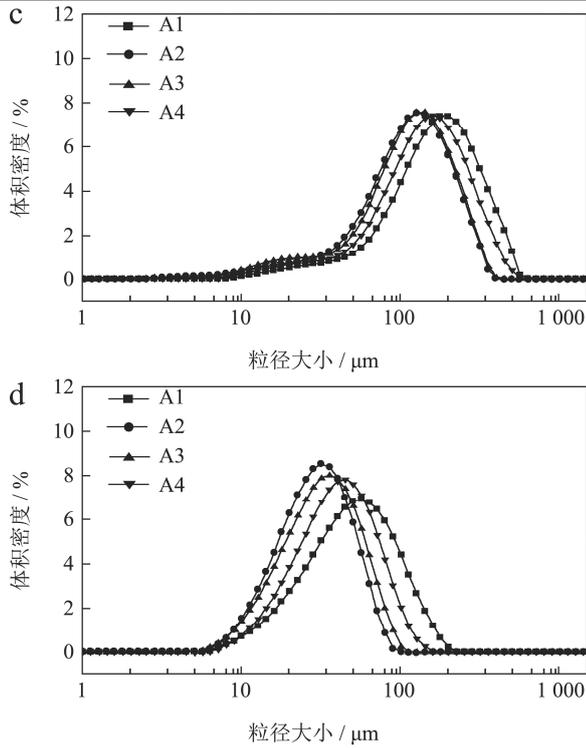


图4 大豆分离蛋白不同消化时间段消化液粒径分布

Fig.4 The particle size distribution of digestive fluid in different digestion periods of soybean protein isolate

注: A1、A2、A3、A4 分别表示对照组、加入醋炒鸡内金组、麸炒鸡内金组、消食片组。a、b、c、d、e 分别表示消化初期 5 min、1、2、3、4 h。

2.4.2 鸡内金炮制品对蛋白消化产物相对分子质量分布的影响

表6 大豆分离蛋白不同消化阶段消化液中相对分子质量分布

Table 6 Distribution of relative molecular mass weight in digestive solution of soybean protein isolates at different digestion stages

消化时间	消化形式	分子量分布范围/%				
		<500 u	500~1 000 u	1 000~2 000 u	2 000~3 000 u	>3 000 ul
5 min	A1	3.52	19.24	60.59	8.39	8.26
	A2	4.01	17.39	65.96	6.42	6.22
	A3	3.80	17.01	64.25	7.12	7.82
	A4	3.75	18.25	61.88	8.48	7.64
1 h	A1	8.95	35.27	43.98	7.25	4.55
	A2	12.55	40.02	38.27	6.02	3.14
	A3	12.61	39.92	38.34	5.88	3.25
	A4	10.25	37.88	40.55	7.33	3.99
2 h	A1	10.12	44.30	35.02	7.54	3.02
	A2	15.21	47.92	30.75	4.17	1.95
	A3	14.52	47.58	31.81	4.01	2.08
	A4	12.30	45.46	34.01	5.24	2.99
4 h	A1	16.15	57.16	19.21	6.24	1.24
	A2	20.11	60.73	15.50	3.14	0.52
	A3	19.12	61.24	16.78	2.16	0.7
	A4	19.03	58.85	17.20	3.89	1.03

注: A1、A2、A3、A4 分别表示对照组、醋炒组、麸炒组、消食片组。

由表6可知,经过胃、肠消化后,大豆分离蛋白的相对分子质量分布逐渐由 1 000~2 000 u,向小于 1 000 u 范围转移。分子质量小于 1 000 u 范围的蛋白更容易被吸收^[30]。消化 4 h 后蛋白相对分子质量分布小于 1 000 u 范围的占比超过 70%。在消化初期,四种处理组相对分子质量分布小于 1 000 u 范围内的含

量无明显变化。而消化 1 h 后,四种处理相对分子质量分布小于 1 000 u 范围内的含量有较大差异,对照组在该范围内占比为 44.22%,醋炒和麸炒鸡内金在该范围内占比为 52.57%和 52.53%,消食片占比为 48.13%。相较于对照组,添加醋炒和麸炒鸡内金后蛋白相对分子质量分布在小于 1 000 u 范围内分别增加了 8.35%和

8.31%。消化 2 h 和 4 h 后,虽然四种处理组在小于 1 000 u 含量有也较大差异,但是鸡内金组和对照组相对分子质量分布在该范围内含量的差值无明显增大,这说明鸡内金促进蛋白向小分子范围转移主要发生在消化前 1 h 内,与粒径研究结果一致。

3 结论

本实验探究了鸡内金炮制品对大豆分离蛋白体外消化特性的影响。结果表明,添加鸡内金对体外消化反应中蛋白酶活性具有促进作用,不同炮制品对酶活性的促进效果存在较大差异,其中麸炒和醋炒鸡内金对酶活性的促进效果最显著,最高可达 15.86%和 16.13%。在不加外源酶时,鸡内金炮制品中的蛋白酶可能是引起蛋白质降解的主要原因。在加入外源酶时,蛋白质消化主要发生在胃消化的前 1 h 内,麸炒和醋炒对消化率的影响最大,使大豆分离蛋白消化率由 36.78%提高到 41.33%和 40.99%。通过对消化产物的表征发现,添加鸡内金会使蛋白消化液粒径分布左移、粒径减小、蛋白相对分子质量分布向小分子范围偏移。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [2] 王楠, 顾笑妍, 吴怡, 等. 鸡内金的临床应用及药理作用研究概况[J]. 江苏中医药, 2021, 53(1): 77-81.
- [3] 蒋长兴, 蒋顶云, 熊清平, 等. 鸡内金多糖对高脂血症大鼠血脂、血液流变学及氧化应激指标的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(5): 75-78.
- [4] 袁铭君, 张恬, 叶杨玉, 等. 中药鸡内金质量评价研究概述[J]. 中国食品药品监管, 2022, 2: 122-128.
- [5] Alwhaibi A, Alghadeer S, Bablghaith S, et al. Prevalence and severity of dyspepsia in Saudi Arabia: a survey-based study [J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2020, 28(9): 1062-1067.
- [6] 李琦玲. 中医保健治疗小儿消化不良的效果及可行性分析[J]. 医学食疗与健康, 2021, 19(6): 35-36.
- [7] 陈磊, 黄强, 赵瞳. 不同配方饼干中慢消化淀粉含量的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 91-93, 97.
- [8] 金伶佳. 鸡内金炮制工艺及质量标准规范化研究[D]. 辽宁: 辽宁中医药大学, 2011.
- [9] 陆维承, 陆维宏, 罗瑞雪. 不同炮制工艺对鸡内金中淀粉酶活力的影响[J]. 海峡药学, 2010, 22(4): 35-36.
- [10] 陈志娟, 谷贝, 张亚楠, 等. 两性离子化合物对胃蛋白酶活性的影响[J]. 化学通报, 2018, 81(5): 472-475.
- [11] Brodtkorb A, Egger L, Alminger M, et al. Infogest static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion [J]. Nature Protocols, 2019, 14: 991-1014.
- [12] Mulet-Cabero, Ana-Isabel. Impact of caseins and whey proteins ratio and lipid content on *in vitro* digestion and *ex vivo* absorption [J]. Food Chemistry, 2020, 319: 126514.
- [13] 李莹. 我国三大干腌火腿的蛋白质体外消化特性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
- [14] Li L, Liu Y, Zou X, et al. *In vitro* protein digestibility of pork products is affected by the method of processing [J]. Food Research International, 2017, 92: 88-94.
- [15] Ni C H, Lee C S, Chuan F Y, et al. Investigation of the chemical composition and functional proteins of chicken gizzard inner lining [J]. Food Science and Technology Research, 2018, 24(5): 893-901.
- [16] 韩易, 赵燕, 徐明生, 等. 美拉德反应产物类黑精的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(9): 339-345.
- [17] Sigrid Glösl. Genotoxicity and mutagenicity of melanoidins isolated from a roasted glucose-glycine model in human lymphocyte cultures, intestinal Caco-2 cells and in the Salmonella typhimurium strains TA98 and TA102 applying the AMES test [J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42(9): 1487-1495.
- [18] 王香爱. 火焰原子吸收光谱法测定提子醋中的微量元素[J]. 中国调味品, 2015, 40(11): 93-95.
- [19] 蔡真真, 程再兴, 林丽虹, 等. 白羽鸡与家养鸡鸡内金不同炮制品中化学成分测定[J]. 海峡药学, 2015, 27(5): 50-52.
- [20] 李传俊, 楚胜. 鸡内金不同辅料炮制品的酶活性和氨基酸的含量测定[J]. 中国现代医生, 2009, 47(15): 74-75.
- [21] 李传勤, 卞秀云. 鸡内金不同炮制法药效分析[J]. 菏泽医学学报, 1994, 4: 22-23.
- [22] 李星. 热处理和贮藏期间乳蛋白的消化吸收机制研究[D]. 黑龙江: 哈尔滨工业大学, 2021.
- [23] 金海梅. 反相各向异性乳液的构筑及乳液微反应器中酶催化水解反应研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- [24] 蒋孔霖. 蛋白质酸水解终点的决定[J]. 氨基酸和生物资源, 1985, 4: 30-32.
- [25] Xian C Z, Xu H B. Effects of hydrolysis on amino acid composition analysis of proteins [J]. Journal of Analytical Science, 2002, 18(1): 80-85.
- [26] 韦婕妤. 热加工方式对羊肉制品蛋白质氧化及体外模拟消化性的影响研究[D]. 成都: 西南民族大学, 2019.
- [27] 林全全, 刘璐飒, 吴丽芳, 等. 人造鸡肉的蛋白质消化特性研究[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(10): 63-69.
- [28] 李黎. 不同加工猪肉制品的蛋白质体外消化比较研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [29] 阳倩, 冯广鑫, 冯炜婷, 等. 常见大豆制品中蛋白质的体外消化特性[J]. 食品科学, 2022, 43(9): 39-47.
- [30] JIANG Hui, XING Zheng, HE Ronghai. The *in vitro* simulated digestion characteristics of conjugates between allicin and whey protein isolate [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(12): 14-24.