

# 柞蚕蛹皮的化学组分及其形态结构

倪 红      梁 惠<sup>#</sup>

(湖北大学生命科学学院 武汉 430062 <sup>#</sup>武汉大学湖北医学院电镜室 武汉 430071)

**摘 要** 采用化学分析方法对柞蚕蛹皮的化学组分进行了分析, 并采用扫描电镜对其中的主要组分的形态结构进行了显微表征。研究表明, 柞蚕蛹皮的主要成分为油脂、蛋白质、几丁质和无机盐。它们分别占蛹皮干重的 12.81%、32.60%、27.30% 和 6.86%。柞蚕蛹皮外表面呈规整“毛刺”状结构, “毛刺”主要由几丁质/蛋白质复合物组成, 颗粒状无机盐均匀分布在该复合物的表面上。其内表面为光滑的“丘陵”形貌。蛹皮中的蛋白质和蚕丝状几丁质相结合, 呈层状分布。这为制定提取柞蚕蛹几丁质的工艺路线提供了理论依据。

**关键词** 柞蚕蛹皮 几丁质 形态结构 扫描电子显微镜

## Study on the Chemical Components of *Antheraea Pernyi* Crust and Its Morphologic Structures

Ni Hong, Liang Hui<sup>#</sup>

(School of Life Science, Hubei University, Wuhan 430062)

(<sup>#</sup>Laboratory of Electron Microscope of Hubei Medicine College, Wuhan University, Wuhan 430071)

**Abstract** The chemical composition of pupa crust of *Antheraea pernyi* has been determined, and the microstructures of pupa crust have been studied by scanning electron microscope. The results show that the major portion of pupa crust is composed of fat, protein, chitin and inorganic salts. Their corresponding contents are 12.81%, 32.60%, 27.30% and 6.86%, respectively. There is regular burry-shape structure on the outer surface of pupa crust. The burries are composed of chitin-protein complex which is filled with granules of inorganic salts. The inner surface of pupa crust shows a craggy hill shape. The proteins in pupa crust connect with silk-like chitin and they are assembled layer by layer. It provides the theory basis for isolating chitin from pupa crust of *Antheraea pernyi*.

**Key words** *Antheraea pernyi* crust, Chitin, Morphologic structure, Scanning electron microscope

我国是蚕丝生产大国, 每年生产蚕丝的同时可获得大量的副产品蚕蛹。人们对蚕蛹的综合利用已做了大量的研究和开发, 但对蚕蛹利用中蛹皮的研究较少<sup>[1~3]</sup>。据文献<sup>[4]</sup>报道, 蛹皮成分包括蛋白质、几丁质、脂类化合物、色素、无机盐(主要为碳酸钙)等。几丁质在生物体内的天然合成及它与蛋白质的化学关系、几丁质天然存在的多晶型, 如 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 等晶型以及这些同质多晶型中的分子构象和超分子结构都已进行了大量研究<sup>[5,6]</sup>。人们在用蚕蛹皮提取几丁质和研

倪 红 女, 38 岁, 硕士, 讲师, 主要从事生物物质的分离工艺和开发研究工作。

湖北省科技厅重点科技项目(971P1807)

2002-04-01 收稿, 2002-05-09 修回

制 *D*-氨基葡萄糖等方面也做了初步研究工作<sup>[7,8]</sup>, 但对柞蚕蛹皮的组分和表面显微结构分析报道甚少<sup>[9]</sup>。本文对柞蚕蛹体和蛹皮的化学成分进行了分析, 并采用扫描电子显微镜对柞蚕蛹皮中几丁质的形态以及几丁质和蛋白质、无机盐三者之间的存在方式进行了观察研究, 拟为研究几丁质的生物合成和制定提取几丁质的工艺路线提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

柞蚕蛹(*Antheraea pernyi*)是由牡丹江提供的野生柞蚕;

1<sup>#</sup>样品: 脱脂柞蚕蛹皮(将原蛹皮用索氏抽提法脱脂 48h);

2<sup>#</sup>样品: 在 1<sup>#</sup>样品的基础上, 用 1.0 mol/L 盐酸溶液在室温下浸泡 36h, 至全部脱去蛹皮内的无机盐;

3<sup>#</sup>样品: 将 2<sup>#</sup>样品经 2.5 mol/L 氢氧化钠溶液煮沸 2h, 水洗至中性, 反复操作至完全除去蛋白质得白色片状的几丁质。

### 1.2 扫描电镜样品的制备及观察

1.2.1 仪器 离子溅射仪, Hitachi 的 S-570 扫描电子显微镜。

1.2.2 样品制备及观察 样品均经液氮冷却, 再用冷刀切断, 得新鲜正断面和斜断面, 并将样品在真空器内抽气至室温, 粘台, 分别露出柞蚕蛹皮的外表面、内表面的正断面和斜断面, 用离子溅射仪喷金, 再在扫描电镜下观察。

### 1.3 实验方法

1.3.1 水分的测定<sup>[10]</sup> 称取若干克新鲜蛹皮置恒重的烧杯中, 并于 105°C 烘箱中烘 2~3h 至恒重, 计算出水分占蛹皮重量的百分比。

1.3.2 灰分的测定<sup>[10]</sup> 将若干克新鲜蛹皮置恒重的坩埚中, 并于 800°C 马福炉中灼烧 1h 至恒重, 计算出灰分占蛹皮重量的百分比。

1.3.3 粗脂肪的含量<sup>[11]</sup> 将若干克的干蛹皮用脱脂滤纸包好, 置于索氏提取器中, 用石油醚(沸程 30~60°C)抽提约 24h, 再蒸干石油醚, 并于 105°C 烘箱中干燥至恒重, 计算出粗脂肪占新鲜蛹皮重量的百分比。

1.3.4 蛋白质的含量<sup>[12]</sup> 将干燥蛹皮在稀碱溶液下煮沸, 用硫酸铜验证到无双缩脲反应为止, Folin 酚法测定出蛋白质的含量, 以牛血清白蛋白为基准物, 绘制标准曲线, 与此同时, 将剩余物滤出干燥。

1.3.5 几丁质的含量<sup>[13]</sup> 将上述干燥的剩余物精确称取 20~30mg 于螺口试管中, 再加 10 mL、6.0 mol/L HCl 于 114°C 烘箱中水解 8h, 过滤, 将滤液稀释 30 倍, 作为供试液。其余按文献<sup>[13]</sup>进行, 将氨基葡萄糖的定量反应红色溶液和空白试验对照, 于 530nm 波长测定, 再按下式计算:

$$\text{几丁质的含量}/\% = \frac{0.020 \times 1.026 \times \text{试样浓度的吸光度} \times \text{试样溶液量}/\text{mL}}{\text{标准溶液的吸光度} \times \text{取样量}/\text{mg}} \times 100$$

其中 0.020 是氨基葡萄糖标准溶液的质量浓度(g · L<sup>-1</sup>), 1.026 是氨基葡萄糖盐酸盐与乙酰氨基葡萄糖的换算系数。

1.3.6 X 射线衍射分析 应用日本理学公司生产的 Rigaku-D/max III C X-ray 衍射仪测量 1<sup>#</sup>样品

X-ray 衍射谱。测量时, 使用 Ni 过滤器, Cu-K $\alpha$ 辐射, 角度范围 5~40°, 扫描步长 0.050°。

2 结果与讨论

2.1 柞蚕蛹皮的化学组成分析

柞蚕蛹皮的主要组成成分如表 1 所示。从表 1 可知, 柞蚕蛹皮主要含有蛋白质、油脂、几丁质、无机盐等<sup>[4]</sup>。几丁质占蛹皮重量的 27.3%。蛹皮中含有几丁质的数量是比较高的, 占蛹皮成分的 1/4 以上, 可见柞蚕蛹进行综合利用(提取蛹油和蛹蛋白质)后, 剩余的废渣(主要含有蛹皮及少量蛹蛋白质和蛹油)可用来高效率地提取蛹几丁质。

表 1 柞蚕蛹皮的主要组分分析  
Tab.1 The Chemical Contents of *Antheraea Pernyi* Crust

组分	水分	蛋白质	粗脂肪	几丁质	灰分	其它
含量/(wt)%	14.78	32.60	12.81	27.30	6.86	5.65

2.2 柞蚕蛹皮的显微结构分析

柞蚕蛹皮同其它的昆虫体壁一样, 含有蛋白质、油脂、几丁质、无机盐、色素、灰分和其它成分(如少量糖等)。几丁质/蛋白质构成复合物为蛹体提供骨架和保护作用<sup>[4]</sup>。

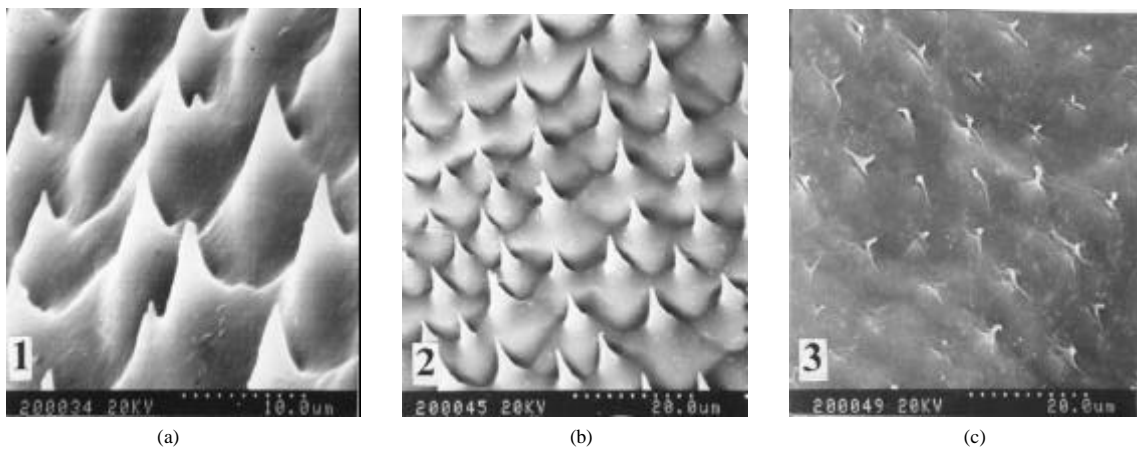


图 1 1<sup>#</sup>~3<sup>#</sup>样品的外表形貌  
Fig.1 The outer surface morphology of samples 1 to 3

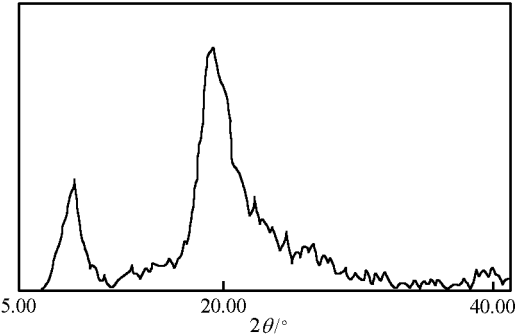


图 2 1<sup>#</sup>样品的 X 射线衍射图  
Fig.2 XRD pattern of sample 1

图 1 是 1<sup>#</sup>~3<sup>#</sup>样品的外表面形貌。从图 1(a)和 1(b)可知, 蛹皮的外表面长有向一个方向生长的“毛刺”的结构, 而且脱盐以后, 这种“毛刺”的形状结构变化不大, 说明无机盐含量很少。从 1<sup>#</sup>样品的 X 射线衍射图(见图 2)可知, 无机盐(主要是  $\text{CaCO}_3$ )<sup>[4]</sup>无结晶峰。从图 1(c)可看到脱盐和去蛋白质之后, “毛刺”的规则结构已不存在, 仅留细丝状几丁质的表面结构, 这表明“毛刺”主要由几丁质和蛋白质相结合而形成的。可见在提取柞蚕蛹几丁质时, 可先用低浓度的碱去蛋白质, 再用低浓度盐酸在室温下脱盐, 这样既可缩短浸酸脱盐的时间, 又可减少酸对几丁质主链的降解, 维持几丁质的天然结构。这与文献[14]报道相符合。

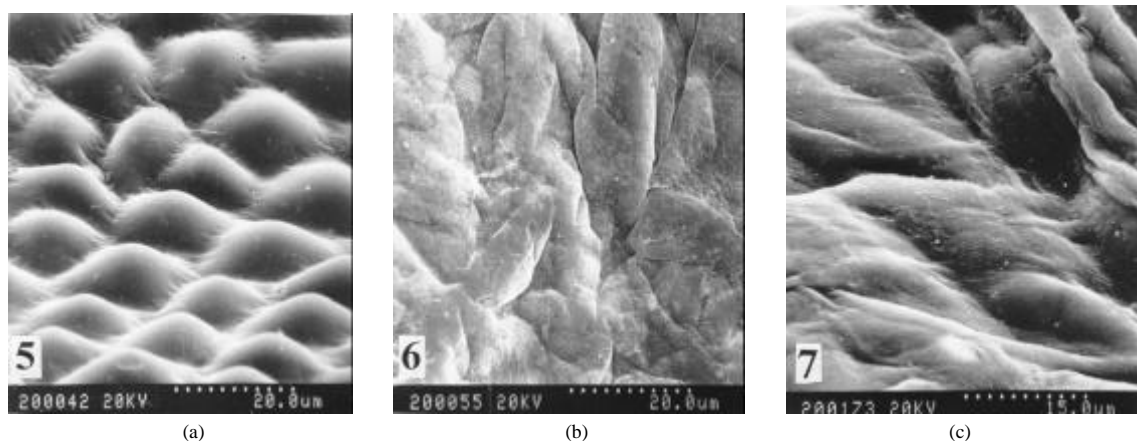


图 3 1<sup>#</sup>~3<sup>#</sup>样品的内表面形貌;

Fig.3 The inner surface morphology of samples 1 to 3

图 3 是 1<sup>#</sup>~3<sup>#</sup>样品的内表面形貌。从图 3(a)可知, 脱脂蛹皮的内表面呈光滑规整的“丘陵”形貌, 随着无机盐的去掉, 这种“丘陵”形貌被破坏(图 3(b)), 而代之以表面呈多孔的疏松的无规表面, 这充分说明无机盐是均匀分布在“丘陵”形貌的内表面。而图 3(c)即为几丁质的内表面结构, 随着无机盐和蛋白质的去掉, 多孔性表面变得更加疏松, 就像蚕丝覆盖在其上。这种紧密而又似疏松的内表面结构与其生理功能是一致的。因为这种结构可以限制水分的外渗, 从而保证了蛹体变态发育对水的需要。图 3(a)中所看到的“丘陵”形貌结构, 应是连接在几丁质骨架(糖基)上的多肽链所连接起来的带糖基的蛋白质。柞蚕蛹的表面形貌与桑蚕蛹的表面形貌<sup>[15]</sup>不尽相同, 这可能是由于它们为适应不同的生活环境所致。

图 4 是 1<sup>#</sup>~3<sup>#</sup>样品的断面形貌。从图清晰可见, 脱脂蛹皮、脱盐、去蛋白质后的蛹皮均呈明显的层状结构, 这些层状结构平行于蛹皮表面。从图 4(b)、4(c)还可见, 层状的几丁质在蛹皮面展开形成网络结构, 这种网络结构的重叠组成了蛹皮的壳骨架, 而无机盐的颗粒均匀分布在层状几丁质之中, 蛋白质在每一层几丁质中与其形成复合物并在层内生长。可见蛹皮的每一层结构都是由几丁质 / 蛋白质复合物和无机盐等成分构成, 这与昆虫体壁结构相符<sup>[4]</sup>。

几丁质是 *N*-乙酰基-*D*-氨基葡萄糖缩聚体, 在壳体中它是由许多 *N*-乙酰基-*D*-氨基葡萄糖通过 $\beta$ -1,4-糖苷键连接起来的直链高分子生物多糖。几丁质与蛋白质之间共价结合以糖蛋白的形式存在, 这一点已被许多研究工作者所证实<sup>[16]</sup>。几丁质和 *N*-乙酰氨基葡萄糖(几丁质的残基)能与 $\alpha$ -氨基酸(特别是络氨酸)、肽和角蛋白反应, 得到稳定的共价化合物, 但这种结合物在某种 pH 条件下会解离。几丁质不管以 $\alpha$ -体或以 $\beta$ -体与蛋白质键合, 都是与蛋白质分子链中的天门冬氨

酸残基和组氨酸残基键合成糖蛋白, 其稳定性有大有小<sup>[17]</sup>。

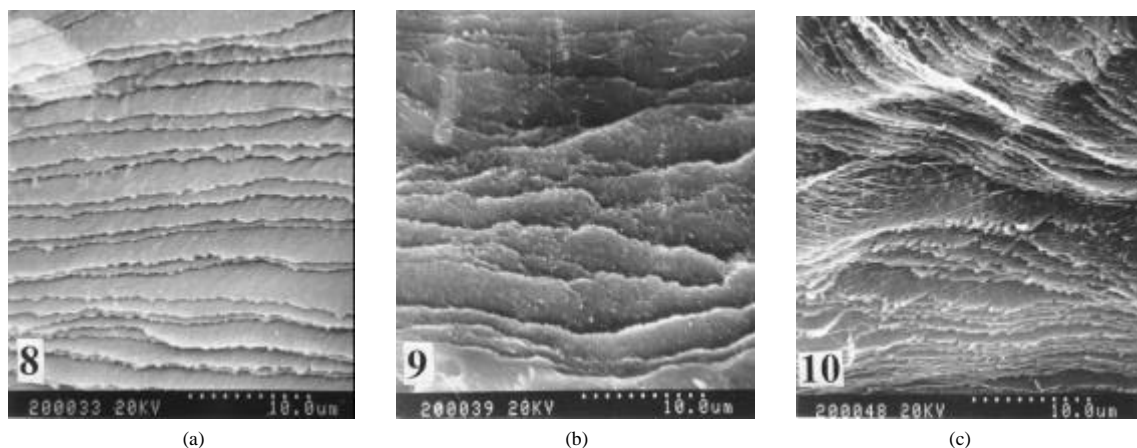


图 4 1<sup>#</sup>~3<sup>#</sup>样品的断面形貌

Fig.4 the cross-section morphology of samples 1 to 3

### 3 结论

柞蚕蛹皮的主要成分为蛋白质、几丁质和无机盐。几丁质占蛹皮成分的 1/4 以上。蛹皮的外表面结构, 呈规整的“毛刺”状结构。“毛刺”主要由几丁质/蛋白质复合物组成。内表面为光滑“丘陵”形貌, 无机盐均匀分布在其上, 几丁质呈多孔性疏松的网络层状结构, 这与其防止体内水分的外渗的生理功能相适应。蛹皮中的蛋白质与蚕丝状的几丁质相结合, 呈平行于蛹皮的层状结构。颗粒状的无机盐填充在几丁质/蛋白质复合物构成的层状结构中并均匀分布。蛹皮的每层由几丁质 / 蛋白质复合物以及无机盐等成分构成, 为蛹体提供骨架和保护作用。脱脂蛹皮的 X 射线衍射图中未发现典型的碳酸钙结晶峰。

### 参考文献

- [1] 钱俊青. 食品工业, 1997, 5: 42~44.
- [2] 薛宏基. CN: 1153213A, 1995.
- [3] 詹永乐, 黄春芳, 陈复生. 化学通报, 2001, (7): 450~454.
- [4] [美] 罗克斯坦 M. 昆虫生物化学. 北京: 科学出版社, 1988: 138~147.
- [5] 陈广西, 刘万顺, 刘晨光. 生物工程进展, 1997, 17(3): 5~9.
- [6] Revol J F, Charzy H. Biopolym., 1986, 25: 1599~1601.
- [7] 苏秀榕, 戴有盛. 蚕业科学, 1991, 17(1): 51~52.
- [8] 李慧喧, 王建刚, 雷 军. 丝绸, 1991, 8: 47~49.
- [9] 李秀艳, 陈国定, 谢德松 等. 蚕桑通报, 1993, 24(4): 30~39.
- [10] 黄伟坤. 食品检验与分析. 北京: 轻工业出版社, 1989: 8~9, 18~19.
- [11] 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 1991: 43~45.
- [12] 李建武, 萧能廉, 余瑞元 等. 生物化学实验原理和方法. 北京: 北京大学出版社, 1994: 168~170.
- [13] 日本食品工业学会《食品分析方法》编译委员会编. 食品分析方法. 成都: 四川科学技术出版社, 1986: 144~148.
- [14] 倪 红, 陈怀新, 杨艳燕 等. 湖北大学学报(自然科学版), 1998, 20(1): 94~96.
- [15] 倪 红, 陈 云, 梁 艳 等. 湖北大学学报(自然科学版), 1999, 21(1): 69~72.
- [16] Muzzarelli R A A. Chitin. Oxford: Pergamon Press, 1977: 210~225.
- [17] 蒋挺大. 甲壳素. 北京: 中国环境科学出版社, 1999: 170~181.