

不同发育阶段谷蠹侵害对储藏小麦蛋白结构的影响

张玉荣, 左祥莉, 暴洁, 周显青^{*}

(河南工业大学粮油食品学院, 粮食储藏与安全教育部工程研究中心, 粮食储运国家工程实验室, 郑州 450001)

摘要: 为探索谷蠹在不同生长发育阶段对储藏小麦蛋白结构的影响, 该文以谷蠹种虫感染后的小麦为研究对象, 对谷蠹不同发育阶段(卵期、幼虫期、蛹期、成虫期)侵害后小麦中麦谷蛋白大聚合物(glutenin macropolymer, GMP)、沉降值、面筋蛋白持水力、蛋白二级结构、巯基(-SH)、二硫键(-S-S-)及面筋显微结构进行测定与分析。结果表明: 在谷蠹发育的4个阶段, GMP、沉降值、 β 转角总体呈增加趋势, -SH、 β 折叠比例变化与之相反; 面筋蛋白持水力、-S-S-和 α 螺旋比例总体呈先降后升趋势, 无规卷曲比例变化则与之相反。卵期谷蠹危害较小, 只有 β 转角和面筋蛋白持水力有显著变化($P<0.05$); 幼虫期和蛹期谷蠹危害严重, 与相同试验条件下相应时期的无虫小麦对照样相比, GMP、无规卷曲和 β 转角比例及沉降值均显著增加($P<0.05$), 面筋蛋白持水力、-SH、-S-S-、 α 螺旋和 β 折叠显著减少($P<0.05$)。面筋蛋白显微结构显示: 随着谷蠹在小麦籽粒内部发育, 面筋表面粗糙程度加重, 微纤维状丝增多, 结构疏松散乱, 断裂严重, 至成虫期时, 面筋结构已无法识别, 因此在实际储藏过程中不仅要关注成虫的数量, 还应注意及时控制谷蠹的生长发育。

关键词: 储藏; 蛋白; 品质控制; 谷蠹; 发育阶段; 小麦

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.12.041

中图分类号: TS210.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2016)-12-0287-08

张玉荣, 左祥莉, 暴洁, 周显青. 不同发育阶段谷蠹侵害对储藏小麦蛋白结构的影响[J]. 农业工程学报, 2016, 32(12): 287-294. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.12.041 http://www.tcsae.org

Zhang Yurong, Zuo Xiangli, Bao Jie, Zhou Xianqing. Effects of infestation by *Rhyzopertha dominica* in different development stages on wheat storage protein structure[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2016, 32(12): 287-294. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.12.041 http://www.tcsae.org

0 引言

在全世界范围内的粮食储藏中, 谷蠹是最具破坏性的储粮害虫之一^[1], 属于粮粒内部蛀蚀的隐蔽性害虫, 在粮库中用一般方法很难简单、快速、准确地将其检测出来^[2]。谷蠹在整个生长发育过程中(卵期、幼虫期、蛹期和成虫期)都在粮粒内部危害(直至成虫时才钻出粮粒进行繁殖), 严重时受害粮粒会被蛀成空壳, 其排泄物也残存于粮粒内, 同时在加工过程中虫体和排泄物无法清除, 直接进入小麦粉中进而影响面粉品质。因此, 研究谷蠹侵害后的小麦品质变化可为小麦的安全储藏及确定谷蠹感染状况和及时防治提供一定的依据。

已有研究表明, 谷蠹侵害后的小麦, 其淀粉、脂类、蛋白质等多方面指标均会发生变化^[3]。谷蠹虽喜食麦胚, 但由于胚部较小, 若虫口密度较大或危害时间延长时, 小麦胚乳也会被大量蛀蚀, 甚至形成空壳, 导致淀粉含量大大减少, 质量变差, 进而影响小麦糊化等特性^[4-6]。

脂肪酸值是评价小麦品质优劣的一个重要指标, 脂肪酸值越高, 小麦品质越差, 受谷蠹侵害后小麦的脂肪酸值有明显增加趋势, 且随谷蠹密度增大和侵害时间延长而加剧^[7]。蛋白质品质是决定小麦最终用途和食用品质的主要因素之一, 受谷蠹侵害后的小麦籽粒蛋白含量和面筋含量下降, 且谷蠹危害越严重, 下降越迅速^[8]。在小麦被谷蠹侵害过程中除小麦蛋白质结构自身发生变化外, 谷蠹的取食、虫体和代谢产物也会对小麦蛋白质结构产生影响, 致使其面筋蛋白不能有效聚集, 从而影响小麦粉的品质。目前关于小麦在储藏过程受害虫危害引起各品质变化均是在一定虫口密度和一定感染时间下进行的, 为探索不同发育阶段的谷蠹对小麦蛋白质结构的影响, 本研究以谷蠹种虫感染后的小麦为研究对象, 分别对谷蠹发育到不同阶段时(卵期、幼虫期、蛹期和成虫期)侵害的小麦中麦谷蛋白大聚合物(glutenin macropolymer, GMP)含量、Zeleny 沉降值、面筋蛋白持水力、蛋白二级结构、巯基(-SH)、二硫键(-S-S-)及面筋显微结构进行测定, 探讨谷蠹不同生长阶段各指标的变化, 期为小麦的安全储藏和品质鉴定等提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小麦: 普通矮抗 58 (中筋小麦), 含水率为 12.8%, 容重 780 g/L。前处理: 清除杂质、虫蚀粒等不完善粒, 用分样器充分混匀后, 置于-18℃下冷冻 72 h 以杀死其

收稿日期: 2016-01-14 修订日期: 2016-04-23

基金项目: 国家自然科学基金(31371852)

作者简介: 张玉荣, 女, 新疆阜康县人, 教授, 主要从事农产品储藏与品质分析。郑州 河南工业大学粮油食品学院, 粮食储藏与安全教育部工程研究中心, 粮食储运国家工程实验室, 450001。Email: Zyrong@haut.edu.cn

*通信作者: 周显青, 男, 江西吉安人, 教授, 主要从事谷物科学及产后加工与利用。郑州 河南工业大学粮油食品学院, 粮食储藏与安全教育部工程研究中心, 粮食储运国家工程实验室, 450001。Email: xianqingzh@163.com

中可能存在的害虫,最后参照 NY/T 1094.1-2006 标准调节其含水率至 $13.0\%\pm 0.1\%$ 。

试虫:成都谷蠹置于 $(30\pm 1)^{\circ}\text{C}$, $75\%\pm 5\%$ 相对湿度的恒温恒湿培养箱中,于河南工业大学粮油食品学院储藏物害虫培养室中培养。

1.2 主要仪器与试剂

仪器:LRHS-300-III 恒温恒湿培养箱(上海跃进医疗器械有限公司); $\Phi 2.5\text{ mm}$ 、 $\Phi 1.5\text{ mm}$ 谷物选筛(台州市新恩精密粮仪有限公司);JXFM110 锤式旋风磨(上海嘉定粮油仪器有限公司);DT-1000A 分析天平(常熟市金羊天平仪器厂);HY-4 调速多用振荡器(江苏省金坛市医疗仪器厂);IR Prestige-21 傅里叶红外光谱仪(日本岛津公司);ALPHA1-4 真空冷冻干燥机(德国 CHRIST 公司);JH-752N 紫外可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);S-4800 扫描电镜(日立公司)等。

试剂:十二烷基硫酸钠(天津市科密欧化学试剂开发中心);溴化钾(天津市科密欧化学试剂有限公司);异丙醇(天津市科密欧化学试剂有限公司);溴酚蓝(北京化工厂);乳酸(天津市科密欧化学试剂开发中心);5,5-二硫双-2-硝基苯甲酸(天津市科密欧化学试剂有限公司);甘氨酸(天津市科密欧化学试剂有限公司);盐酸(洛阳化学试剂厂);盐酸胍(天津市科密欧化学试剂有限公司);氯化钠(安徽宿州化学试剂厂)。以上试剂均为分析纯。

1.3 试验方法

谷蠹培养:参考文献[9]中谷蠹培养方法。取前处理后的小麦作为培养谷蠹的饲料,准备洗净烘干的培养瓶(直径 6 mm ,高 11 mm),加入 300 g 上述小麦,挑选 500 头左右谷蠹成虫作为种虫,置于培养瓶中,于恒温恒湿培养箱中 $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $75\%\pm 5\%$ 培养。3 d 后筛出种虫,将过筛小麦返回原培养瓶,培养 30 d 左右后取成虫,连续扩大培养,直至获得足够数量且虫龄基本一致的谷蠹试虫。

样品制备:参考文献[10]中谷蠹侵害小麦样品制备方法。将冷冻后的样品取出升至室温(25°C)备用,取 10 个洁净干燥的培养瓶(直径 6 cm ,高 11 cm),每瓶加上上述小麦 500 g ,平均分成 5 组,编号 1~5,称取 7.2 g (5000 头 $\approx 7.2\text{ g}$) 两周龄左右的谷蠹成虫,接种到 1~4 号培养瓶中摇匀,并以纱布封口,5 号组未接种小麦做对照。全部置于恒温恒湿培养箱中($30\pm 1^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $75\%\pm 5\%$) 进行侵害。侵害 3~5 d 时,将种虫全部筛出,过筛小麦重新放回培养瓶中继续培养。4 d 后,每天抽取 1 号组部分样品进行染色处理,在电子显微镜下观察籽粒内部谷蠹是否为卵,若样品中 95% 以上样品判为卵时则为卵期,取出冷冻保存备用。20 d 后每天抽取 2 号组部分样品进行剖粒观察,当 95% 以上谷蠹为幼虫时则判为幼虫期,取出冷冻保存备用;同样 35 d 时取 3 号组部分样品,重复幼虫期判断方法,确定是否有 95% 以上谷蠹处于蛹期;45 d 后,取 4 号组样品进行观察,然后筛出成虫期谷蠹,直至无法再筛出成虫,则为成虫期。5 号组样品按 1~4

号组取样时间分别取出适量做对照样。

GMP 含量测定:参考文献[11],以 Osborne 法依次提取出清球蛋白、醇溶蛋白和麦谷蛋白后,再以十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)等提取,测 GMP 含量。

Zeleny 沉降值测定:执行 GB/T 21119-2007,小麦沉降指数测定法—Zeleny 试验。

面筋蛋白持水力测定:执行 AACC 56-30 方法。

蛋白质二级结构测定:采用傅立叶红外光谱法测定,首先分别准确称取对照样和不同虫态谷蠹侵害后的小麦粉样品各 2 mg ,以 1:10 的质量比准确加入溴化钾,用研钵研磨成均匀的混合粉末,并压制成均匀透明的薄片,将薄片放置在傅里叶红外光谱仪上,在 $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 处做全波段扫描。

-SH、-S-S-含量的测定:参照 Beveridge 等^[12]Ellman's 试剂比色法测 -SH、-S-S-。

面筋蛋白显微结构观察:将谷蠹各个发育阶段侵害后的小麦样品制成全麦粉,取样品 100 g ,和成面团,采用手洗法洗出湿面筋,将湿面筋进行冷冻干燥后得到面筋蛋白,将面筋蛋白切成同样大小,固定并喷金,采用扫描电镜放大不同倍数后拍照观察不同发育阶段谷蠹对小麦面筋蛋白结构的影响。

1.4 数据统计与分析

采用 Excel、PeakFit 及 Origin 软件对傅里叶红外光谱数据进行处理。采用 SPSS19.0 统计分析软件对试验数据进行描述性分析和相关性分析及差异显著性分析,并用 Excel 制图表。

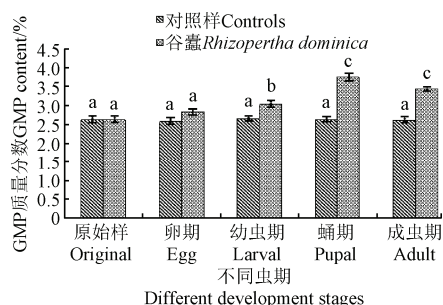
2 结果与分析

2.1 不同发育阶段谷蠹侵害对小麦中 GMP 含量的影响

谷蛋白聚合物(glutenin polymer)在非解离状态下,是由一系列分子量大小不同的聚合物组成的,根据其在 SDS 缓冲液中的溶解性可将谷蛋白聚合物分成两类:可溶和不可溶谷蛋白聚合物。其中,SDS 不溶的谷蛋白聚合体的分子较大,称为麦谷蛋白大聚合物,由高分子量谷蛋白亚基和低分子量谷蛋白亚基以链间二硫键组成,其含量高低与小麦粉的面筋强度和面团特性密切相关^[13],也与小麦制品(如水饺面皮)的弹性有关^[14]。图 1 显示了小麦样品接种谷蠹种虫后从卵期发育到成虫期的 4 个不同阶段对小麦中 GMP 含量的影响。由图分析可知,对照样中的 GMP 含量总体没有明显的变化($P>0.05$),随着谷蠹在小麦颗粒内从卵发育到成虫的过程中,GMP 含量呈现逐渐增加趋势,且卵期与对照样相差不大($P>0.05$),而在蛹期增加幅度达到最大为 18.6% (与幼虫期相比),成虫期由于害虫被筛除,GMP 含量开始减少,下降幅度为 8.3% (与蛹期相比),但相比于对照样和卵期、幼虫期的样品来说,其 GMP 含量还是较高的($P<0.05$)。由此说明在谷蠹生长发育的 40 多天里,害虫的生长发育是对小麦中 GMP 含量影响的主要原因。

GMP 是小麦蛋白质的重要组成部分,虽然它在总蛋

白质中的比例并不大^[15],但是它与小麦中蛋白质的含量和品质的相关性显著^[16]。张玉荣等^[9]对谷蠹不同虫态蛀蚀后的小麦进行了粗蛋白的测定,发现小麦粗蛋白的含量也呈先上升后下降的趋势,且与对照样相比粗蛋白的含量均是偏高,这与本研究所测结果呈现一致性。究其原因,卵期、幼虫期和蛹期 GMP 含量增加,主要是由于随着虫体的增大,虫体蛋白的增加^[17]而导致的,进而也促进了粗蛋白含量的增加;而成虫期 GMP 含量降低,部分是因为成虫期时谷蠹虫体被筛除,不溶性的虫体蛋白流失,使所测的 GMP 含量下降。成虫期所测 GMP 含量仍高于对照样,可能是因为谷蠹在生长过程中代谢产物尿酸、磷酸盐、硫酸盐等^[18]仍累积在小麦籽粒内部,而高浓度的盐可对蛋白质的稳定性产生不利影响,促使蛋白质发生变性^[19],从而在 SDS 缓冲溶液中沉降,产生了 GMP 含量偏高的现象。因此,被谷蠹侵害后的小麦,其 GMP 含量的高低不能完全反映出小麦品质的好坏。



注: 相同处理不同上标字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Note: Different superscript letters of the same treatment indicate significant difference ($P < 0.05$), the same below.

图 1 谷蠹侵害对小麦 GMP 质量分数的影响

Fig.1 Effect of GMP content of wheat against *Rhizopertha dominica*

2.2 不同发育阶段谷蠹侵害对小麦粉 Zeleny 沉降值的影响

谷蠹从卵期发育到成虫期的 4 个不同阶段对小麦粉 Zeleny 沉降值的影响见图 2。由图 2 可知小麦沉降值的变化规律: 与对照样相比, 小麦被谷蠹侵害后, 随着谷蠹在小麦籽粒内生长发育, 从卵到成虫被筛除, 小麦沉降值均呈逐渐增大的趋势, 且幼虫期和蛹期增加趋势明显 ($P < 0.05$), 并高于对照样; 在谷蠹卵期时, 小麦沉降值与原始样相比增加缓慢; 在幼虫期时, 沉降值迅速增加, 增幅升为 15.8% (与卵期相比); 到蛹期和成虫期时, Zeleny 值持续增加, 直至成虫期时沉降值达到最大值, 为 28.1 mL。对照样中小麦沉降值无明显变化 ($P > 0.05$)。

小麦粉的沉降值是反映小麦面筋蛋白数量及质量的一个综合性指标, 沉降值越大, 表明小麦面筋强度越大, 沉降值低则表明小麦面筋强度低。沉降试验是以乳酸处理小麦粉后面筋的膨胀效应为基础的, 在一定条件下, 以乳酸处理时, 面筋蛋白质会吸水膨胀而沉降到悬浮液的底部, 在一定的时间内沉降量的多少反映出小麦粉面筋强度。小麦胚乳由内向外, 总蛋白质含量及球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白含量呈现递增的分布趋势^[20], 而谷蠹

对小麦胚乳的严重蛀蚀与代谢产物的累积, 可导致面筋含量减少, 结构散乱, 强度降低。但由所测沉降值数据可知, 不同发育阶段的谷蠹侵害后, 小麦的沉降值较原始样都有所增加。出现此现象的主要原因推断为随着谷蠹的生长发育, 其排泄产生的大量物质累积 (如尿酸) 导致酸性物质增加, 使面筋和试剂结合物膨胀变大, 絮状沉淀增多, 造成沉降物体积变大, 从而使测得的沉降值偏大^[21]。其中从幼虫到蛹期的变化幅度最大, 谷蠹从卵期到蛹期发育程度也最快, 虫体不断增大, 代谢物质累积迅速, 从而影响面筋网络的形成, 致使沉降值增大。

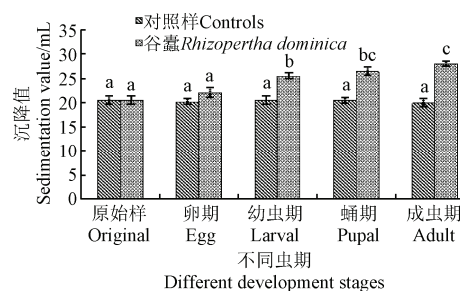


图 2 谷蠹侵害对小麦沉降值的影响

Fig.2 Effect of Zeleny sedimentation of wheat against *Rhizopertha dominica*

2.3 不同发育阶段谷蠹侵害对小麦面筋蛋白持水力的影响

不同生长发育阶段的谷蠹侵害对小麦面筋蛋白持水力的影响如图 3 所示。由图可知, 对照样中小麦的面筋蛋白持水力变化不明显 ($P > 0.05$), 而被谷蠹侵害后的小麦样品, 随着谷蠹在小麦籽粒内生长发育, 从卵到成虫被筛除, 面筋蛋白持水力呈现先降低后升高的趋势。在谷蠹发育的卵期至幼虫期, 面筋蛋白持水力降低幅度达 14.86%, 且到幼虫期时面筋蛋白持水力达到最小值 1.26%; 而由幼虫期到蛹期和成虫期时面筋蛋白持水力又逐渐升高, 且蛹期增加幅度较大为 13.50% (与幼虫期相比), 到成虫期时持水能力达到 1.44%。此外, 从图中可以看出, 4 种虫期侵害的小麦样品的面筋蛋白持水力均低于对照样 ($P < 0.05$), 说明谷蠹的侵害对面筋蛋白持水力有一定的影响。

面筋蛋白持水力 (持水性) 是小麦蛋白功能性质的一种, 取决于水与蛋白质的相互作用, 在中低等水分食品中, 蛋白质结合水的能力是决定食品可接受性的关键因素^[19,22]。蛋白质分子的构象、带电基团, 环境 pH 值、盐的种类、离子强度等均会影响蛋白质结合水的能力, 如 pH 值 9~10 时, 蛋白质结合水的能力比其他 pH 值时大, 但 pH 值超过 10 时, 蛋白质结合水的能力下降^[19]。谷蠹在小麦籽粒内部蛀蚀, 其产生的代谢物质 (如尿酸、磷酸盐等) 在小麦籽粒中不断积累, 且制粉时虫体也被碾碎释放出体液, 均对样品中的面筋蛋白持水力产生了影响。小麦被接种谷蠹卵后, 随着虫子的生长发育, 小麦蛋白部分被逐渐消耗, 含量也下降, 面筋蛋白结构变得疏松, 试验显示样品已不能很好的形成面筋网络结构,

这也是造成谷蠹侵害的 4 个阶段小麦面筋蛋白持水力低于对照样的原因。在卵期和幼虫期面筋蛋白持水力降低,而蛹期和成虫期面筋蛋白持水力有所回升,其原因是小麦在被谷蠹侵害过程中面筋蛋白结构变的疏松,甚至遭到严重破坏,造成面筋蛋白持水力下降,而在蛹期和成虫期小麦籽粒中含有大量虫体和代谢产物,改变了面筋蛋白等生物大分子的静电斥力,网络结构在静电力和渗透压的作用下会发生扩张,致使在发育后期面筋蛋白持水力增强。此外,4 个虫期相比,卵期谷蠹的破坏能力最小,幼虫期破坏力最大,蛹期与成虫期感染的小麦面筋蛋白持水力又升高的原因是幼虫期谷蠹本身含水率在 4 个虫期中最高,且取食能力最强,侵害时间也长,而蛹期谷蠹基本不取食,本身含水率相比于幼虫期低,成虫期谷蠹摄取食能力虽强,但试验过程中成虫被筛除。另测定面筋蛋白持水力时,全麦粉取样量是一定的,且卵期、幼虫期、蛹期谷蠹的全麦粉是含虫体的,由于虫体质量和含水量的影响,造成取样时纯小麦粉的量不同,也是使面筋蛋白持水力呈现先降后升现象的原因之一。

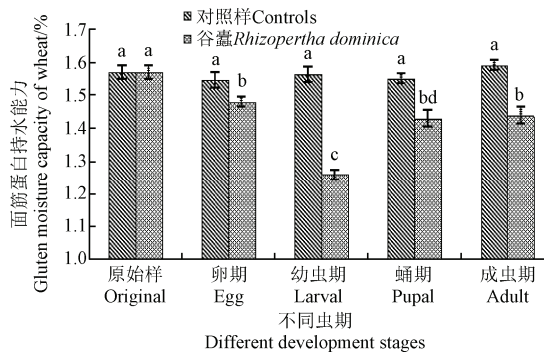


图3 谷蠹侵害对小麦面筋蛋白持水力的影响

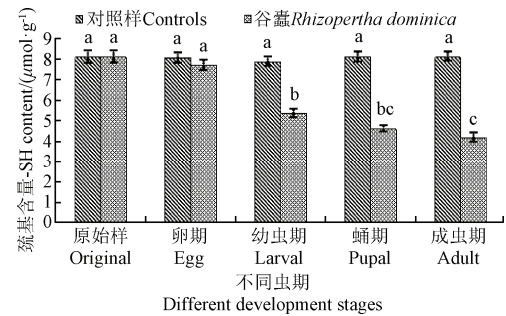
Fig.3 Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on gluten moisture capacity of wheat

2.4 不同发育阶段谷蠹侵害对小麦蛋白质中-SH、-S-S-的影响

谷蠹从卵期发育到成虫期的 4 个不同阶段对小麦中蛋白质-SH、-S-S-含量的影响如图 4 所示。由图可知,对照样中的-SH、-S-S-含量虽有微量变动,但是变化不明显 ($P>0.05$),被侵害后的小麦样品中-SH、-S-S-含量均比原始样和对照样中的含量低,且-SH 含量最高、最低分别为 8.14 和 4.21 $\mu\text{mol/g}$, -S-S-含量最高、最低分别为 17.50 和 15.60 $\mu\text{mol/g}$ 。随着谷蠹不断生长发育,谷蠹侵害后小麦面筋蛋白中的巯基呈逐渐降低趋势,卵期时-SH 小幅度降低,而卵期发育到幼虫期时降低幅度达 30.50%;蛹期和成虫期-SH 缓慢减少,成虫期时降到最低。-S-S-含量呈波动下降趋势,在幼虫期到蛹期期间下降趋势最为明显 ($P<0.05$),但蛹期到成虫期有微量增长。

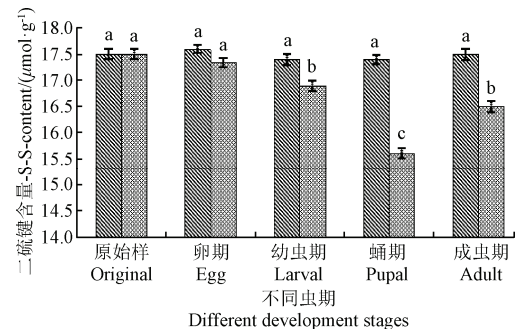
在蛋白质中,由于多肽链的折叠使得 2 个半胱氨酸残基中的-SH 处在相互接近的位置并形成-S-S-,它们在稳定小麦蛋白结构的完整性和稳定性方面起着重要作用。小麦面筋主要由麦醇溶蛋白和麦谷蛋白构成,麦醇溶蛋白分子较小,是一种单体蛋白,只含分子内-S-S-,

水化后有很大黏性,无弹性和韧性,决定面团的延展性,而麦谷蛋白则是一种大分子复合体,含有大量分子间-S-S-,有良好弹性和韧性,起着面筋骨架的作用,决定面团的黏弹性和网络架构,它们以一定比例结合,两者相互作用,使得面团有筋力^[23]。而谷蠹侵害后的小麦粉形成的面团很软且弹性较差,这可能是因为谷蠹危害达到一定程度后,大量的酸性物质和酶残留在样品中,使得分子间作用力减弱,从而使-S-S-含量下降,小麦面筋骨架坍塌,面筋散碎。同时,害虫蛀蚀使小麦蛋白含量减少^[8],也可能是造成巯基和二硫键含量减少的原因之一。另一方面,巯基和二硫键可在一定条件下发生相互转化,当谷蠹生长发育所分泌的代谢物和制粉时虫体被碾碎后体内酶类被释放时,代谢物、酶类与巯基相互作用,使小麦中巯基被破坏或转化成二硫键,从而造成二者含量和比例都发生一定程度的改变。此外,试验研究结果中二硫键含量在成虫期时有所回升,主要是因为谷蠹成虫被筛除,试验中全麦粉的取样量一定,使得小麦粉所占比例增加,造成测定结果偏高。



a. 谷蠹侵害对小麦巯基含量的影响

a. Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on -SH content of wheat



b. 谷蠹侵害对小麦二硫键含量的影响

b. Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on -S-S- content of wheat

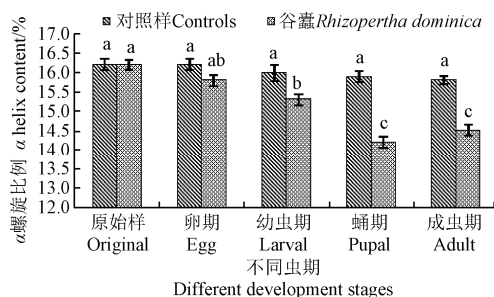
图4 谷蠹侵害对小麦巯基、二硫键含量的影响

Fig.4 Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on -SH, -S-S- content of wheat

2.5 不同发育阶段谷蠹侵害对小麦蛋白质二级结构的影响

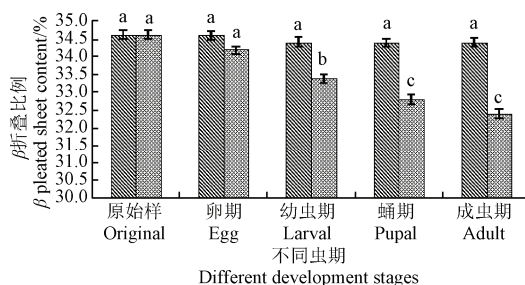
不同发育阶段谷蠹对小麦蛋白质二级结构的影响如图 5 所示。由图可以看出,对照样中的 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角和无规卷曲的比例有微量波动 ($P>0.05$),而谷蠹侵害后的小麦的 4 种二级结构的比例却有明显变化趋势 ($P<0.05$),且随着害虫在小麦籽粒内部生长发育,从卵到成虫被筛除,小麦蛋白的 α 螺旋、 β 折叠比例与原始样

相比, 整体呈现降低趋势, α 螺旋在成虫筛出后有所升高; β 转角比例与原始样相比逐渐增加, 无规则卷曲呈先增加而后下降的趋势, 但仍高于对照样。



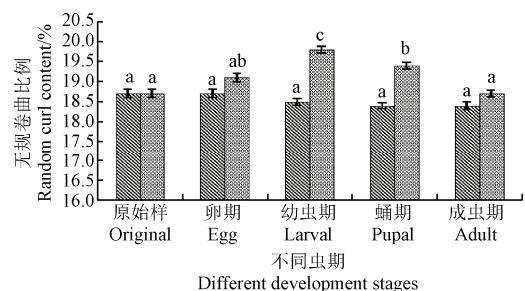
a. 谷蠹侵害对小麦蛋白 α 螺旋的影响

a. Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on α helix of wheat protein



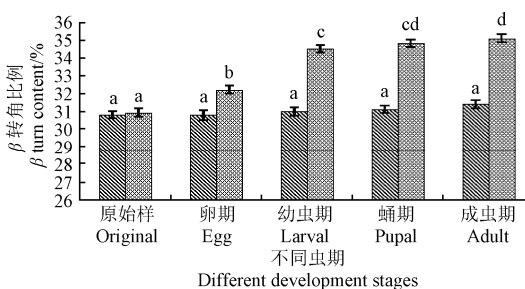
b. 谷蠹侵害对小麦蛋白 β 折叠的影响

b. Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on β pleated sheet of wheat protein



c. 谷蠹侵害对小麦蛋白无规卷曲的影响

c. Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on random curl of wheat protein



d. 谷蠹侵害对小麦蛋白 β 转角的影响

d. Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on β turn of wheat protein

图 5 谷蠹侵害对小麦二级结构的影响

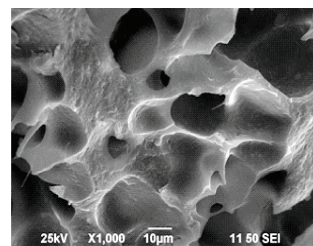
Fig.5 Effect of *Rhizopertha dominica* infringement on secondary structure of wheat protein

α 螺旋、 β 折叠、 β 转角、无规卷曲同为蛋白质二级结构形式, 其中 α 螺旋和 β 折叠属于周期性结构, 而 β 转角和无规卷曲不呈现周期性结构, 是单独存在的, 4 种结构形式均以氢键维持自身的稳定性^[24]。但是氢键易受环境酸碱性和温度、溶质、盐等多方面的影响, 而谷蠹

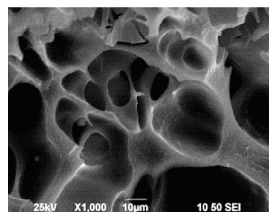
在生长发育过程中产生的热及各种代谢物如尿酸、磷酸盐、硫酸盐等均会影响这些作用力, 进而影响小麦蛋白质原有二级结构的稳定性, 造成上述 4 种二级结构形式的变化。此外, 有些二级结构除了能被破坏掉之外, 还可以相互转化, 如 β 折叠结构中的多肽链反转 180°就形成了 β 转角^[21], 因此试验结果中 β 折叠和 β 转角比例一个降低一个升高, 或许是在谷蠹代谢物或虫体体液的影响下产生了相互转化。

2.6 不同发育阶段谷蠹侵害对小麦面筋蛋白结构的影响

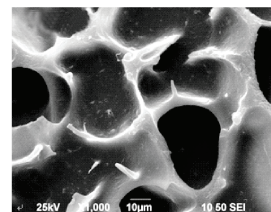
谷蠹侵害后, 随其在小麦籽粒内部生长发育, 从卵到成虫被筛除, 小麦面筋蛋白显微结构变化如图 6 (放大 1 000 倍) 所示, 从图中可以清晰的看出: 对照样的面筋蛋白结构紧密、表面光滑、细致, 排列比较规律, 害虫产卵后面筋结构表面略变粗糙, 但还相对光滑, 断裂面和毛刺较少; 到了幼虫期, 由于害虫大量取食, 蛋白结构遭到破坏, 面筋结构断裂, 结构表面断裂面和毛刺增多; 蛹期由于害虫停止取食, 蛋白结构与幼虫期相差不大。随着谷蠹继续发育至成虫期, 取食加剧了蛋白质结构的恶化, 出现了一些微纤维状丝, 结构散乱且疏松, 破碎和毛刺大大增多, 部分面筋结构断裂严重无法识别。



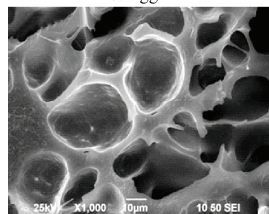
a. 对照样
a. Controls



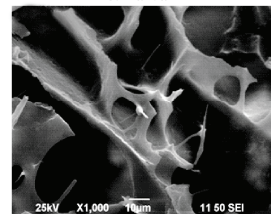
b. 卵期
b. Egg



c. 幼虫期
c. Larval



d. 蛹期
d. Pupal



e. 成虫期
e. Adult

图 6 不同虫期面筋蛋白显微结构 (×1 000 倍)

Fig.6 Microstructure photos of wheat gluten damaged by *Rhizopertha dominica* in different development stages (×1 000 times)

徐萍等^[25]研究指出, 被储粮害虫感染后的小麦存在强活性的蛋白质分解酶, 会引起蛋白质降解或变性, 使储藏蛋白松散、解体, 无法有效聚集, 降低面筋洗出率。同时, 齐军茹等^[26]也发现, 经蛋白酶处理的小麦面筋蛋白中-S-S-遭到破坏后, 谷朊粉网络结构会受到一定程度

的破坏、筋力下降,肽链断裂形成多肽和小分子短链物质。试验中谷蠹在小麦籽粒内部从卵发育至成虫期时,其侵害的小麦制成的面团既软又黏,易塌陷且无法成型,而此时的谷蠹分泌物和虫体增多,酸性物质和酶类物质急剧增加,削弱了蛋白质分子之间的相互作用,使麦谷蛋白分子不能很好地聚集,破坏了面筋的网络结构,导致面筋蛋白结构疏松。这也就解释了在手洗面筋时,成虫期谷蠹侵害后的小麦面筋几乎不能成团,且形成的面团网络结构松散。因此,谷蠹侵害后面筋网络结构的破碎应与谷蠹虫体及其代谢产物关系密切。

3 结 论

1) 谷蠹生长发育阶段的卵期对小麦麦谷蛋白大聚合体、沉降值、巯基、二硫键、 α 螺旋、 β 折叠、无规卷曲的影响不显著($P>0.05$),但对 β 转角和面筋蛋白持水力有一定的影响($P<0.05$)。

2) 幼虫期和蛹期的谷蠹对小麦蛋白方面的影响较大,小麦的面筋蛋白持水力、麦谷蛋白大聚合体、沉降值、巯基、二硫键、 α 螺旋、 β 折叠、无规卷曲、 β 转角等指标与对照样和卵期相比均出现了显著性差异($P>0.05$)。

3) 随着谷蠹在小麦籽粒内部发育,小麦面筋蛋白显微结构表面粗糙程度加重,微纤维状丝增多,结构疏松,排列无规律。到蛹期和成虫期时,微纤维状丝增多且凌乱,结构疏松且散乱,面筋结构断裂严重,甚至无法识别,说明谷蠹侵害对小麦蛋白质结构影响严重。

4) 试验研究结果可为粮食储藏过程中储粮品质检测和害虫的发生发展提供一定的指标依据,当储存小麦上述蛋白质指标发生不同程度变化时,可考虑不同生长发育阶段谷蠹产生的影响,而在谷蠹发育到幼虫期之前对小麦储藏环境进行及时控制可减轻小麦贮藏蛋白结构变化。

本文仅是对谷蠹不同发育期对小麦侵害后小麦蛋白结构变化产生的影响做了研究,为了更好的解释影响机理下一步应对谷蠹虫体的相关酶和代谢产物的种类以及如何对小麦蛋白质结构产生影响进行深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] Eissa F I, Zidan E H A, Hashem M Y, et al. Insecticidal efficacy of certain bio-insecticides, diatomaceous earth and modified atmospheres against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) on stored wheat [J]. Journal of Stored Products Research, 2014, 57(4): 30—35.
- [2] 胡丽华, 郭敏, 张景虎, 等. 储粮害虫检测新技术及应用现状[J]. 农业工程学报, 2007, 23(11): 286—290.
Hu Lihua, Guo Min, Zhang Jinghu, et al. New detection technology and application status of stored-grain insects[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2007, 23(11): 286—290. (in Chinese with English abstract)

- [3] 张玉荣, 暴洁, 周显青, 等. 谷蠹侵害后小麦品质变化的研究进展[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2015, 36(3): 118—124.
Zhang Yurong, Bao Jie, Zhou Xianqing, et al. Research status and prospect of the influence on quality of wheat against *Rhyzopertha dominica*(F.)[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2015, 36(3): 118—124. (in Chinese with English abstract)
- [4] Khatkar B S, Fido R J, Tatham A S. Functional properties of wheat gliadins. I. Effect on mixing characteristics and bread marking quality[J]. Journal of Cereal Science, 2002, 35(3): 299—306.
- [5] Zhang Bin, Huang Qiang, Luo Faxing, et al. Structural characterizations and digestibility of debranched high-amylase maize starch complexed with lauric acid[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28(1): 174—181.
- [6] Putseys J A, Lamberts I, Delcour J A. Amylase-inclusion complexes: Formation, identity and physicochemical properties[J]. Journal of Cereal Science, 2010, 51(3): 238—247.
- [7] 尹阳阳, 卞科, 魏红艳. 稻谷储藏过程中巯基与质构特性的关系[J]. 农产品加工, 2010(6): 71—73.
Yin Yangyang, Bian Ke, Wei Hongyan. Relationship between thiol group and textural characteristics during rice storage[J]. Processing of Agricultural Products, 2010(6): 71—73. (in Chinese with English abstract)
- [8] Özkaya H, Özkaya B, Colakoglu A S. Technological properties of a variety of soft and hard bread wheat infested by *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium confusum* du Val[J]. Journal of Food Agriculture & Environment, 2009, 7(3): 166—172.
- [9] 张玉荣, 张鸿一, 周显青, 等. 小麦受谷蠹侵害后其水分和容重变化研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2009, 30(2): 16—21.
Zhang Yurong, Zhang Hongyi, Zhou Xianqing, et al. The dynamic changes moisture content and test weight of wheat after lesser grain borer infection[J]. Journal of Henan University of Technology: Natural Science Edition, 2009, 30(2): 16—21. (in Chinese with English abstract)
- [10] 张玉荣, 暴洁, 张乃建, 等. 谷蠹不同虫态蛀蚀对小麦质量品质及蛋白特性的影响研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2015, 36(4): 1—7.
Zhang Yurong, Bao Jie, Zhang Naijian, et al. Effect of different development states of *Rhyzopertha dominica* boring on the quality and protein characteristics of wheat quality[J]. Journal of Henan University of Technology: Natural Science Edition, 2015, 36(4): 1—7. (in Chinese with English abstract)

- [11] 王金水, 司学芝, 陈万义, 等. 面团搅拌过程中麦谷蛋白大聚体的变 I. 麦谷蛋白大聚体中亚基组分的变化[J]. 郑州工程学院学报, 2004, 24(3): 9—15.
Wang Jinshui, Si xuezhi, Chen Wanyi, et al. Changes in glutenin macropolymer during dough mixing I. Changes in subunit fractions of glutenin macropolymer[J]. Journal of Zhengzhou Institute of Technology, 2004, 24(3): 9—15. (in Chinese with English abstract)
- [12] Beveridge T, Toma S J, Nakai S. Determination of -SH and S-S groups in some food proteins using Ellman's reagent[J]. Journal of Food Science, 2006, 39(1): 49—51.
- [13] 刘锐, 唐娜, 武亮, 等. 真空和面对面条面团谷蛋白大聚合体含量及粒度分布的影响[J]. 农业工程学报, 2015, 31(10): 289—295.
Liu Rui, Tang Na, Wu Liang, et al. Effects of vacuum mixing on glutenin macropolymer content and size distribution in noodle dough[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2015, 31(10): 289—295. (in Chinese with English abstract)
- [14] 潘治利, 罗元奇, 艾志录, 等. 不同小麦品种醇溶蛋白的组成与速冻水饺面皮质构特性的关系[J]. 农业工程学报, 2016, 32(4): 242—248.
Pan Zhili, Luo Yuanqi, Ai Zhilu, et al. Relationship between composition of gliadin and texture properties of quick-frozen dumpling skins based on different wheat varieties[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2016, 32(4): 242—248. (in Chinese with English abstract)
- [15] 毛善锋, 梁荣奇, 尤明山, 等. 17 个小麦 F₂ 群体中单株籽粒 GMP 含量的分布[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(4): 745—748.
Mao Shanfeng, Liang Rongqi, You Mingshan, et al. Distribution of GMP contents in grains of 17 wheat F₂ populations[J]. Journal of Triticeae Crops, 2010, 30(4): 745—748. (in Chinese with English abstract)
- [16] 毛善锋. 普通小麦谷蛋白大聚合体(GMP)的遗传规律[D]. 北京: 中国农业大学, 2002.
Mao Shanfeng. The Genetic Law of Glutenin Macropolymer (GMP) in Common Wheat[D]. Beijing: China Agricultural University, 2002. (in Chinese with English abstract)
- [17] 张玉荣, 周显青, 张鸿一. 小麦被蛀食害虫侵害后其面条质构参数的动态变化[J]. 农业工程学报, 2010, 26(6): 344—351.
Zhang Yurong, Zhou Xianqing, Zhang Hongyi. Dynamic changes of texture profiles of noodle from wheat infected by main boring pests[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(6): 344—351. (in Chinese with English abstract)
- [18] 白旭光. 储藏物害虫与防治[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [19] 王璋, 许时婴, 汤坚. 食品化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2012.
- [20] 王修法, 付苗苗, 王晓曦. 小麦胚乳中蛋白质、淀粉组分分布及各性状关系的研究[J]. 粮油加工, 2007(11): 101—104.
Wang Xiufa, Fu Miaomiao, Wang Xiaoxi. Study on the distribution and of protein and starch components and their relationships in wheat endosperm. Journal of Grain and Oil Processing, 2007(11): 101—104. (in Chinese with English abstract)
- [21] 张鸿一. 蛀食性害虫侵害后对小麦品质的影响研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2009.
Zhang Hongyi. Study on the effect of wheat quality after boring pest in grain infection[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2009. (in Chinese with English abstract)
- [22] 张波, 魏益民, 康立宁, 等. 挤压参数对组织化大豆蛋白持水性的影响[J]. 农业工程学报, 2007, 23(11): 260—263.
Zhang Bo, Wei Yimin, Kang Lining, et al. Effect of extrusion parameters on the capability of water holding and water absorption of texturized soy protein[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2007, 23(11): 260—263. (in Chinese with English abstract)
- [23] 赵贝贝, 耿曼璐, 戚浩戡, 等. 小麦贮藏蛋白的液相色谱分析研究[J]. 粮食与饲料工业, 2015(10): 65—68.
Zhao Beibei, Geng Manlu, Qi haoyu, et al. Analysis of wheat gluten protein by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Cereal & Feed Industry, 2015(10): 65—68. (in Chinese with English abstract)
- [24] 刘国琴, 张曼夫. 生物化学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2011.
- [25] 徐萍, 王宏明. 浅谈影响小麦面筋及其检测准确性的因素[J]. 粮油仓储科技通讯, 2003(4): 52—53.
Xu Ping, Wang Hongming. Discussion on the factors affecting wheat gluten and the accuracy of detection[J]. Journal of Grain and oil storage science and technology communication, 2003(4): 52—53. (in Chinese with English abstract)
- [26] 齐军茹, 杨晓泉, 彭志英, 等. 控制酶解小麦面筋蛋白的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24(9): 43—46.
Qi Junru, Yang Xiaoquan, Peng Zhiying, et al. Study on the control enzyme hydrolysis of wheat gluten protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2003, 24(9): 43—46. (in Chinese with English abstract)

Effects of infestation by *Rhyzopertha dominica* in different development stages on wheat storage protein structure

Zhang Yurong, Zuo Xiangli, Bao Jie, Zhou Xianqing^{*}

(School of Food Science and Technology, Engineering Research Center of Grain Storage and Security of Ministry of Education, National Engineering Laboratory for Grain Storage and Transportation, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: As a kind of the stored grain insect pests bored inside grains, the damages caused by *Rhyzopertha dominica* are very serious in the process of wheat storage, and it has severe impacts to wheat quality in many aspects, such as starch, lipid, protein, and so on. In order to explore the effects of infestation by *Rhyzopertha dominica* in different growth and development stages on wheat storage protein structure, and provide some references for the detection of wheat quality and the growth and development of stored grain insect pests in the process of wheat storage, the wheat infected by *Rhyzopertha dominica* was taken as the research material. The glutenin macropolymer content, Zeleny sedimentation value, gluten moisture capacity and protein secondary structure were inspected and analyzed, as well as the content of thiol (-SH) and disulfide bond (-S-S-) and gluten microstructures of wheat infected by *Rhyzopertha dominica* in different growth and development stages i.e. egg stage, larval stage, pupa stage and adult stage. The results showed that in the 4 growth and development stages of lesser grain borer, the Zeleny sedimentation value, glutenin macropolymer content and β -turn had an increasing trend in general, while the content of -SH and β -pleated sheet showed a completely opposite change trend. The gluten water absorption capacity, and the content of -S-S- and α -helix showed a downward trend first and then an upward trend, and the change of random curl content showed an opposite trend. The lesser grain borer in the egg stage did less harm to wheat storage protein structure, and just the gluten water absorption capacity and β -turn content had a great change ($P < 0.05$), while the lesser grain borer in larval stage and pupa stage had a serious damage to wheat storage protein structure. Compared to the control samples of the insect-free wheat with the relevant infection stages under the same experimental conditions, the Zeleny sedimentation value, content of glutenin macropolymer, β -turn and random curl of wheat infected by lesser grain borer in the larval and pupa stages increased significantly ($P < 0.05$), but the gluten water absorption capacity, content of -SH and -S-S-, α -helix and β -pleated sheet decreased ($P < 0.05$). In addition, the microstructure analysis results showed that the micro fiber filament increased and the surface of gluten got rough, the structure got loose and scattered, and the structure fracture became more and more severe with the growth and development of lesser grain borer. Until the stage of adult, some microstructure of gluten could not even be identified. All the experiment results show that the damages on wheat protein structure are severe with the growth and development of lesser grain borer inside wheat granules. Accordingly, timely control on lesser grain borer is necessary and it will reduce the damage to wheat storage protein structure before infestation by *Rhyzopertha dominica* in the larval and pupa stages. The research results provide the reference for the control of the lesser grain borer for the wheat during the storage.

Keywords: storage; protein; quality control; *Rhyzopertha dominica*; development stage; wheat