

# 九香虫的营养评价及酶解多肽制备工艺优化

## Nutritional evaluation and enzymatic hydrolysis peptide preparation process optimization of *Aspongopus*

李家旭 杨扬 王璧莹 黎攀 杜冰

LI Jiaxu YANG Yang WANG Biying LI Pan DU Bing

(华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

(College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

**摘要:**目的:探究九香虫营养成分组成与九香虫多肽的最佳酶解工艺条件。方法:按照国标法测定脂肪、蛋白质、总糖含量和脂肪酸组成,采用标准曲线法测定总黄酮和多酚含量;以九香虫多肽得率为指标,采用响应面法优化九香虫的酶解工艺条件;采用氨基酸分析仪、高效凝胶渗透色谱法测定九香虫酶解物的氨基酸组成和相对分子质量分布;考察九香虫酶解物对 DPPH 自由基和 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除能力及总还原能力。结果:九香虫粗脂肪含量为 43.40%,蛋白质含量为 37.08%,总糖含量为 7.64%,总黄酮含量为 1.67%,总酚含量为 1.90%;九香虫最佳酶解工艺为蒸煮时间 5 h,酶解 pH 10,酶解时间 6 h,酶解温度 55 ℃,该条件下多肽得率为 35.74%;九香虫酶解物必需氨基酸和非必需氨基酸的比值为 70.46%,九香虫酶解物相对分子质量 < 1 000 所占比例为 88.1%;九香虫酶解物质量浓度为 1.0 mg/mL 时 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率达到 88.44%。结论:在最佳酶解工艺下,九香虫多肽得率为 35.74%,具有较高的营养价值和较好的抗氧化活性。

**关键词:**九香虫;酶解;氨基酸组成;相对分子质量;抗氧化;多肽

**Abstract: Objective:** This study aimed to investigate the nutrient composition and the optimal enzymatic conditions for the peptides of *Aspongopus* and lay the groundwork for the creation of *Aspongopus* protein resources. **Methods:** The fat, protein, crude polysaccharide content, and fatty acid composition were determined according to the national standard method, and the total flavonoid and polyphenol content was determined by the standard curve method. Response surface methodology was used

**基金项目:**广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项资金(编号:2023KJ125)

**作者简介:**李家旭,男,华南农业大学在读硕士研究生。

**通信作者:**杜冰(1973—),男,华南农业大学教授,博士。

E-mail:gzdubing@163.com

**收稿日期:**2023-06-03 **改回日期:**2023-12-09

to optimize the enzymatic process conditions of *Aspongopus* based on the peptide yield; Amino acid analyzer and high-performance gel permeation chromatography was used to determine the amino acid composition and the relative molecular mass distribution of *Aspongopus* digest; The scavenging ability of *Aspongopus* digest of DPPH radicals and ABTS<sup>+</sup> radicals as well as the total reducing ability were investigated. **Results:** *Aspongopus* crude fat content was 43.40%, and protein content was 37.08%; The contents of total sugar, total flavonoids and total phenols were 7.64%, 1.67%, 1.90% respectively; The optimum enzymatic digestion process of *Aspongopus* was stewing for 5 h and then digesting for was 6 h at pH 10 and 55 ℃, and the peptide yield was 35.74% under these conditions. The ratio of essential amino acids to non-essential amino acids of *Aspongopus* digest was 70.46%, the percentage of *Aspongopus* digest relative molecular mass < 1 000 was 88.1%; The ABTS<sup>+</sup> clearance rate was 88.44% at the concentration of 1.0 mg/mL of the enzymatic digest of *Aspongopus*. **Conclusion:** Under the control of the optimal procession conditions, the peptide yield of *Aspongopus* was 35.74%, with high nutritional value and good antioxidant activity.

**Keywords:** *Aspongopus*; enzymatic digestion; amino acid composition; molecular weight; antioxidant; peptide

九香虫为蝽科九香虫 *Aspongopus chinensis* Dallas 的干燥体,始载于《本草纲目》,常用于胃寒胀痛、肝胃气痛、肾虚阳痿、腰膝酸痛等症状<sup>[1]</sup>。现代研究表明,九香虫对生殖损伤具有一定的保护作用,包括对睾丸组织的修复<sup>[2]</sup>、生殖功能的修复<sup>[3]</sup>以及肾脏保护作用<sup>[4]</sup>等。此外,九香虫还具有一定的抗肿瘤<sup>[5-6]</sup>、抑菌<sup>[7]</sup>、护肝<sup>[8]</sup>、抗疲劳<sup>[9-10]</sup>等作用。

九香虫是中国传统的中药昆虫和保健食品,目前对其的研究主要集中在其水提液改善生殖能力<sup>[11]</sup>和虫油抗

肿瘤<sup>[12]</sup>方面,而对九香虫蛋白质及多肽的研究报道甚少。研究拟对九香虫的营养成分以及酶解物的氨基酸组成和抗氧化活性等进行分析评价,并对九香虫的蛋白酶解工艺条件进行优化,以期对九香虫蛋白的酶解技术及后续应用提供理论支持和技术指导。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与amp;仪器

#### 1.1.1 材料与amp;试剂

九香虫:广州清平中药材市场;

氢氧化钠、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼、硫酸亚铁、过氧化氢、水杨酸、邻苯三酚、盐酸、氯化亚铁、菲罗嗪、三氯乙酸:分析纯,大茂化学试剂厂;

芦丁等标准品:上海源叶生物科技有限公司;

中性蛋白酶: $1 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5$  U/g,杰能科生物工程有限公司;

碱性蛋白酶: $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$  U/g,杰能科生物工程有限公司。

#### 1.1.2 主要仪器设备

快速定氮分析仪:Rapid N exceed 型,德国艾力蒙塔贸易(上海)有限公司;

全自动氨基酸分析仪:L-8900 型,日立高新技术(上海)国际贸易有限公司;

万分之一天平:FA2204 型,上海舍岩仪器有限公司;

离心机:ANKE TDL-5-A 型,上海安亭分析仪器有限公司;

酶标仪:Labserv K3 型,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;

笔式酸度计:PHB-3 型,上海悦丰仪器仪表有限公司;

磁力搅拌器:85-2WS 型,上海沪析实业有限公司;

数显恒温循环水箱:HH-420 型,上海力辰邦西仪器科技有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 营养成分测定

(1) 粗脂肪:按 GB 5009.6—2016 执行。

(2) 脂肪酸:按 GB 5009.168—2016 第三法执行。

(3) 蛋白质:按 GB 5009.5—2016 执行。

(4) 总糖:按 SN/T 4260—2015 执行。

1.2.2 总黄酮测定 根据刘伦沛<sup>[13]</sup>的方法,修改如下:准确吸取 0.1 mg/mL 的芦丁标准溶液 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL 于 25 mL 容量瓶中,用 95% 的乙醇补足至 10 mL,芦丁浓度分别为 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24  $\mu\text{g/mL}$ ,加入 5% 的  $\text{NaNO}_2$  溶液 1.0 mL,摇匀,静置 6 min;再加入 10% 的  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 1.0 mL,摇匀,静置 6 min;继续加入 4% 的  $\text{NaOH}$  溶液 10 mL,混合后用 95% 乙醇定容至 25 mL,

摇匀并室温放置 15 min,以试剂空白作为对照,测定 510 nm 处吸光度,以芦丁浓度为横坐标,吸光度值 A 为纵坐标绘制标准曲线 ( $y = 11.527x - 0.0099$ ,  $R^2 = 0.9932$ )。按同样的方法,取 1 mL 样品测定总黄酮含量。

1.2.3 总酚测定 采用福林酚法。配制 1 mg/mL 的没食子酸标准溶液、10% 的福林酚试剂和 7.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 。准确吸取没食子酸标准溶液 0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.20 mL,依次加一级水 2.00, 1.96, 1.92, 1.88, 1.84, 1.80 mL,稀释至 2 mL,此为工作液。取 0.5 mL 不同梯度的没食子酸工作液于 10 mL 比色管中,加入 2.5 mL 福林酚试剂,摇匀,静置 5 min,加入 2 mL 7.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,摇匀,暗处放置 60 min,在 765 nm 处测定其吸光度值,以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线 ( $y = 11.426x + 0.0312$ ,  $R^2 = 0.9972$ )。按同样的方法,取 0.5 mL 样品测定总酚含量。

1.2.4 单因素试验 将干燥九香虫粉碎过 60 目筛,称取一定量的九香虫粉末,以中性蛋白酶添加量为 0.5 g/100 g 九香虫干粉和碱性蛋白酶添加量为 1.5 g/100 g 九香虫干粉作为单因素试验的基础条件,分别对酶解 pH、酶解温度、酶解时间和蒸煮时间进行单因素试验分析,以九香虫多肽得率为衡量指标。

(1) 蒸煮时间对多肽得率的影响:蒸煮时间分别设定为 2, 3, 4, 5, 6 h,在酶解 pH 8,酶解温度 55  $^\circ\text{C}$  的条件下酶解 5 h,酶解结束后在沸水浴中灭酶 10 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液测定多肽得率。

(2) 酶解 pH 对多肽得率的影响:酶解 pH 分别设定为 7, 8, 9, 10, 11,在蒸煮时间为 4 h,酶解温度为 55  $^\circ\text{C}$  的条件下酶解 5 h,酶解结束后在沸水浴中灭酶 10 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液测定多肽得率。

(3) 酶解时间对多肽得率的影响:酶解时间分别设定为 4, 5, 6, 7, 8 h,在蒸煮时间 4 h,酶解 pH 8,酶解温度 55  $^\circ\text{C}$  的条件下酶解,酶解结束后在沸水浴中灭酶 10 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液测定多肽得率。

(4) 酶解温度对多肽得率的影响:酶解温度分别设定为 45, 50, 55, 60, 65  $^\circ\text{C}$ ,在蒸煮时间 4 h,酶解 pH 8 的条件下酶解 5 h,酶解结束后在沸水浴中灭酶 10 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液测定多肽得率。

1.2.5 响应面优化 根据单因素试验结果,以多肽得率为衡量指标,选取酶解温度、酶解时间、酶解 pH 值和蒸煮时间为影响因素,进行响应面试验优化。

1.2.6 多肽得率测定 参考张慧莹等<sup>[14]</sup>的方法。

1.2.7 氨基酸组成分析 参考张慧莹等<sup>[14]</sup>的方法。

1.2.8 多肽相对分子质量测定 参考张慧莹等<sup>[14]</sup>的方法。

1.2.9 多肽抗氧化性测定 按 GB/T 39100—2020 执行。

1.2.10 数据处理 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析, $P < 0.05$  认为具有显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 九香虫营养成分

由表 1、表 2 可知,脂肪是九香虫含量最高的营养成分,可达 43.4%,与李俐等<sup>[15]</sup>所报道的 43.26%基本一致;九香虫脂肪酸主要由油酸、棕榈酸等组成,其中油酸相对含量最高为 48.2%,其次是棕榈酸,为 29.7%。蛋白质是九香虫中含量第二的营养成分,占九香虫干基的 37.08%。多糖等其他成分含量较低,但与已有研究<sup>[16]</sup>基本一致。基于经济效益和时间考虑,酶解前需要进行脱脂处理。

### 2.2 单因素试验

2.2.1 蒸煮时间对多肽得率的影响 由图 1(a)可知,多肽得率随蒸煮时间的延长而出现先增大后减小的趋势,在蒸煮 5 h 时多肽得率最高。这可能是因为高温下九香虫蛋白被破坏,暴露出更多的酶解位点,促进蛋白质肽链的断裂和酶解反应的进行。因此,选用蒸煮时间 4,5,6 h 作为响应面的 3 个水平。

表 1 九香虫营养成分

Table 1 Nutritional composition of the *Aspongopus* %

| 营养成分 | 含量    | 营养成分 | 含量    |
|------|-------|------|-------|
| 蛋白质  | 37.04 | 总酚   | 1.90  |
| 总糖   | 7.64  | 水分   | 4.56  |
| 总黄酮  | 1.67  | 脂肪   | 43.40 |

2.2.2 酶解 pH 对多肽得率的影响 由图 1(b)可知,九香虫多肽得率随 pH 增大出现先增大后减小的趋势。当 pH 为 10 时,多肽得率最高。多肽得率降低的原因可能是在酶的非最适 pH 环境下酶活性减弱。因此,选用酶解 pH 9,10,11 作为响应面的 3 个水平。

2.2.3 酶解时间对多肽得率的影响 由图 1(c)可知,多肽得率先增加后下降,在 6 h 达到最大,可能是由于酶解底物量的限制以及酶活的自我损失或是多肽过度水解<sup>[17]</sup>。因此,选用酶解时间 5,6,7 h 作为响应面的 3 个水平。

2.2.4 酶解温度对多肽得率的影响 由图 1(d)可知,随温度升高,多肽得率先升高,可能是由于温度升高提高了酶活力;当温度达到 55℃ 时多肽得率最高,随后多肽得

表 2 九香虫脂肪酸组成

Table 2 Fatty acid composition of the *Aspongopus* %

| 脂肪酸                       | 相对含量  | 脂肪酸                        | 相对含量  |
|---------------------------|-------|----------------------------|-------|
| 丁酸(C <sub>4:0</sub> )     | 0.02  | 油酸(C <sub>18:1</sub> )     | 48.20 |
| 月桂酸(C <sub>12:0</sub> )   | 0.02  | 亚油酸(C <sub>18:2</sub> )    | 4.94  |
| 十三烷酸(C <sub>13:0</sub> )  | 0.05  | 花生酸(C <sub>20:0</sub> )    | 0.19  |
| 豆蔻酸(C <sub>14:0</sub> )   | 0.26  | 二十碳一烯酸(C <sub>20:1</sub> ) | 0.22  |
| 豆蔻一烯酸(C <sub>14:1</sub> ) | 0.08  | 二十碳二烯酸(C <sub>20:2</sub> ) | 0.07  |
| 棕榈酸(C <sub>16:0</sub> )   | 29.70 | 二十碳三烯酸(C <sub>20:3</sub> ) | 0.02  |
| 棕榈一烯酸(C <sub>16:1</sub> ) | 13.30 | 芥酸(C <sub>22:1</sub> )     | 0.01  |
| 硬脂酸(C <sub>18:0</sub> )   | 3.03  |                            |       |

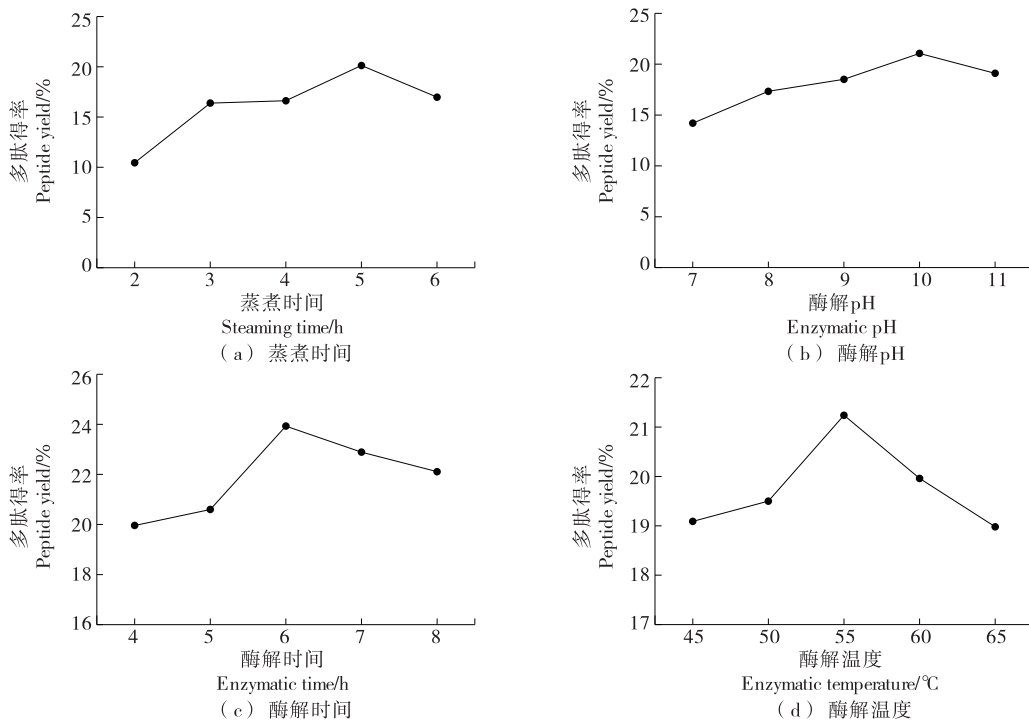


图 1 酶解工艺优化单因素试验

Figure 1 Single factor test for enzymatic process optimisation

率随温度降低,可能是因为酶的最适反应温度在 55 °C 左右<sup>[18-19]</sup>。因此,选用酶解温度 50,55,60 °C 作为响应面的 3 个水平。

2.3 响应面试验

2.3.1 响应面试验设计与结果 根据 Design-Expert 12 软件设计,试验方案和结果见表 3、表 4。

2.3.2 回归方程分析 利用 Design-Expert 12 软件对

表 3 响应面试验设计因素和水平表

Table 3 Response surface test design factors and levels table

| 试验水平 | A 蒸煮时间/h | B 酶解 pH | C 酶解时间/h | D 酶解温度/°C |
|------|----------|---------|----------|-----------|
| -1   | 4        | 9       | 5        | 50        |
| 0    | 5        | 10      | 6        | 55        |
| 1    | 6        | 11      | 7        | 60        |

表 4 响应面试验设计与结果

Table 4 Response surface design and results

| 试验号 | A  | B  | C  | D  | 多肽得率/% |
|-----|----|----|----|----|--------|
| 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 33.26  |
| 2   | 1  | 0  | -1 | 0  | 28.19  |
| 3   | -1 | 0  | 0  | -1 | 29.13  |
| 4   | 0  | -1 | 0  | 1  | 27.82  |
| 5   | 1  | -1 | 0  | 0  | 28.83  |
| 6   | -1 | 0  | 0  | 1  | 29.32  |
| 7   | 0  | -1 | 1  | 0  | 27.05  |
| 8   | 0  | 0  | 0  | 0  | 32.16  |
| 9   | 0  | 1  | -1 | 0  | 26.47  |
| 10  | 0  | 0  | 1  | -1 | 29.11  |
| 11  | 0  | 0  | 0  | 0  | 32.70  |
| 12  | -1 | 0  | 1  | 0  | 28.89  |
| 13  | 0  | -1 | 0  | -1 | 27.66  |
| 14  | 0  | 0  | 0  | 0  | 32.79  |
| 15  | -1 | 1  | 0  | 0  | 27.35  |
| 16  | 0  | 1  | 1  | 0  | 26.67  |
| 17  | 1  | 0  | 0  | 1  | 29.79  |
| 18  | 0  | 0  | -1 | 1  | 28.33  |
| 19  | 1  | 1  | 0  | 0  | 28.60  |
| 20  | 0  | -1 | -1 | 0  | 26.72  |
| 21  | 0  | 1  | 0  | -1 | 27.39  |
| 22  | -1 | 0  | -1 | 0  | 28.15  |
| 23  | 0  | 0  | 1  | 1  | 29.14  |
| 24  | 0  | 1  | 0  | 1  | 27.44  |
| 25  | 1  | 0  | 1  | 0  | 29.92  |
| 26  | 0  | 0  | -1 | -1 | 27.86  |
| 27  | 0  | 0  | 0  | 0  | 32.99  |
| 28  | -1 | -1 | 0  | 0  | 28.16  |
| 29  | 1  | 0  | 0  | -1 | 30.14  |

试验数据进行分析,得到多肽得率的二元拟合回归方程:

$$R = 32.78 + 0.372 5A - 0.193 3B + 0.421 7C + 0.045 8D + 0.145AB + 0.247 5AC - 0.135AD - 0.032 5BC - 0.027 5BD - 0.11CD - 1.34A^2 - 3.38B^2 - 2.58C^2 - 1.75D^2 \quad (1)$$

方差分析结果见表 5。从  $R^2=0.98$ ,校正  $R^2=0.97$ ,预测  $R^2=0.94$ ,信噪比 26.12(远大于 4)可见,回归方程拟合度和可信度均较高,能够很好地对多肽得率进行预测。

同时,模型的  $F$  值为 64.30,极显著( $P<0.01$ );一次项 A、C 和二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 、 $D^2$  对多肽得率影响极显著( $P<0.01$ ),其余交互项对多肽得率影响不显著( $P>0.05$ )。由  $F$  值可知,各因素对九香虫多肽得率的影响顺序为酶解时间>蒸煮时间>酶解 pH>酶解温度。

以多肽得率最高为指标,酶解最优工艺为蒸煮时间 5.14 h,酶解 pH 9.9,酶解时间 6 h,酶解温度 55 °C,多肽得率预测值为 32.83%。为操作方便采用蒸煮时间 5 h,酶解 pH 10,酶解时间 6 h,酶解温度 55 °C 进行实验验证,其多肽得率为 35.74%。与预测值接近并略高于预测值,验证了预测模型稳定性与准确性。

由图 2 可知,不同因素交互对多肽得率均有影响。其中 AB、AC、BC 和 CD 响应面坡度陡峭,显著影响多肽

表 5 多肽得率响应面二次回归模型方差分析结果<sup>†</sup>

Table 5 Peptide yield response surface quadratic regression model ANOVA results

| 方差来源  | 平方和       | 自由度 | 均方       | F 值       | P 值      |
|-------|-----------|-----|----------|-----------|----------|
| 模型    | 109.090 0 | 14  | 7.792 6  | 64.298 5  | <0.000 1 |
| A     | 1.660 0   | 1   | 1.665 1  | 13.739 0  | 0.002 3  |
| B     | 0.450 0   | 1   | 0.448 5  | 3.701 0   | 0.074 9  |
| C     | 2.133 6   | 1   | 2.133 6  | 17.605 2  | 0.000 8  |
| D     | 0.025 2   | 1   | 0.025 2  | 0.208 0   | 0.655 3  |
| AB    | 0.084 1   | 1   | 0.084 1  | 0.693 9   | 0.418 8  |
| AC    | 0.245 0   | 1   | 0.245 0  | 2.021 8   | 0.176 9  |
| AD    | 0.072 9   | 1   | 0.072 9  | 0.601 5   | 0.450 9  |
| BC    | 0.004 2   | 1   | 0.004 2  | 0.034 9   | 0.854 5  |
| BD    | 0.003 0   | 1   | 0.003 0  | 0.025 0   | 0.876 7  |
| CD    | 0.048 4   | 1   | 0.048 4  | 0.399 4   | 0.537 6  |
| $A^2$ | 11.589 3  | 1   | 11.589 3 | 95.626 1  | <0.000 1 |
| $B^2$ | 73.903 4  | 1   | 73.903 4 | 609.796 8 | <0.000 1 |
| $C^2$ | 43.274 3  | 1   | 43.274 3 | 357.068 2 | <0.000 1 |
| $D^2$ | 19.959 6  | 1   | 19.959 6 | 164.691 8 | <0.000 1 |
| 残差    | 1.696 7   | 14  | 0.121 2  |           |          |
| 失拟方差  | 1.031 3   | 10  | 0.103 1  | 0.620 0   | 0.754 3  |
| 误差    | 0.665 4   | 4   | 0.166 4  |           |          |
| 总和    | 110.792 5 | 28  |          |           |          |

<sup>†</sup>  $R^2=0.98$ ;校正  $R^2=0.97$ ;预测  $R^2=0.94$ ;信噪比 26.12。



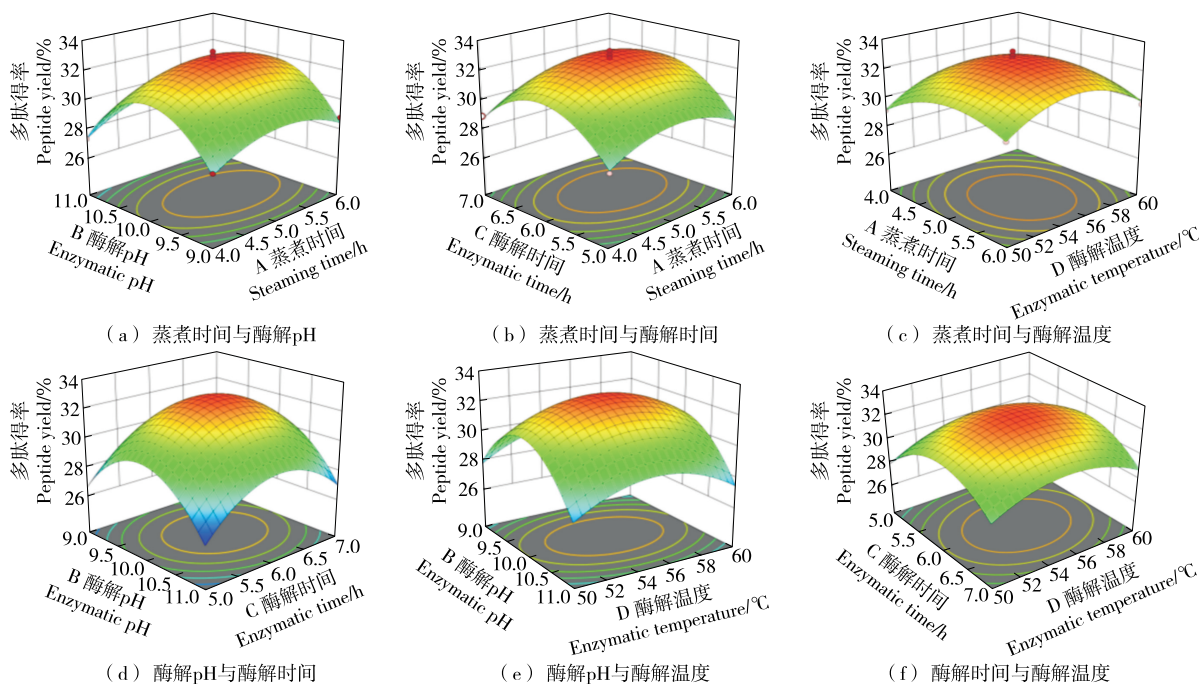


图 2 不同条件对九香虫多肽得率影响的响应面图

Figure 2 Response surface plots of the effects of different conditions on the peptide yields of *Aspongopus*

得率;而 AD 响应面图坡度平滑且等高线近似圆形,交互作用小,与方差分析结果一致。

### 2.4 九香虫多肽的氨基酸组成分析

由表 6 可知,大部分氨基酸在酶解后出现了减少,可能是因为碱性条件下酶解使得酸性氨基酸受到了破坏。九香虫多肽中含量最丰富的氨基酸为谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、亮氨酸、赖氨酸等,与李俐等<sup>[15]</sup>的结果较为相似,九香虫在酶解后氨基酸多样性被较为完整地保留。九香虫与九香虫多肽的必需氨基酸与非必需氨基酸的比值分别为 87.85%与 70.46%,均高于 FAO/WHO 的比值 60%<sup>[20]</sup>。说明九香虫及九香虫多肽都具有较高的营养

价值。

由表 7 可知,比值系数(RC)值最小表明该氨基酸为限制性氨基酸,九香虫苯丙氨酸的 RC 值最低,为限制性氨基酸。此外比值系数分(SRC)值越接近 100,食物蛋白质的营养价值越高,九香虫多肽 SRC 值高于脱脂虫粉,营养价值较好<sup>[21]</sup>。

### 2.5 九香虫多肽的相对分子质量分布

由图 3 可知,九香虫酶解物相对分子质量<1 000 的酶解物所占的比例为 88.1%,相对分子质量为 1 000~2 000 的酶解物所占的比例为 6.4%,相对分子质量为 2 000~5 000 的酶解物所占的比例为 4.6%,相对分子质量>5 000 的酶解物所占的比例为 0.9%,说明九香虫大部分被酶解成小分子多肽。

表 6 氨基酸组成分析

Table 6 Analysis of amino acid composition %

| 氨基酸  | 脱脂九香虫粉 | 九香虫多肽 | 氨基酸  | 脱脂九香虫粉 | 九香虫多肽 |
|------|--------|-------|------|--------|-------|
| 谷氨酸  | 9.49   | 15.19 | 组氨酸  | 17.98  | 3.26  |
| 丙氨酸  | 9.44   | 7.27  | 亮氨酸  | 6.33   | 7.62  |
| 天冬氨酸 | 7.09   | 10.15 | 缬氨酸  | 6.13   | 6.06  |
| 脯氨酸  | 5.45   | 4.30  | 赖氨酸  | 4.30   | 7.30  |
| 甘氨酸  | 5.65   | 4.89  | 异亮氨酸 | 3.70   | 5.26  |
| 酪氨酸  | 5.45   | 4.23  | 苏氨酸  | 3.59   | 5.01  |
| 丝氨酸  | 4.77   | 4.94  | 蛋氨酸  | 2.64   | 3.59  |
| 精氨酸  | 3.94   | 5.57  | 苯丙氨酸 | 2.31   | 3.22  |
| 胱氨酸  | 2.26   | 2.10  |      |        |       |

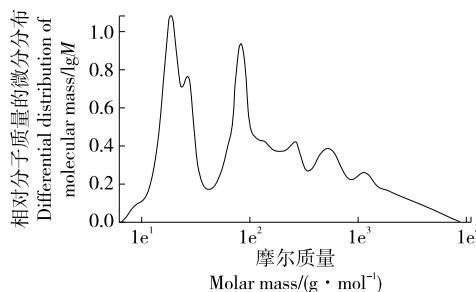


图 3 九香虫多肽相对分子质量分布

Figure 3 Relative molecular mass distribution of the peptides of *Aspongopus*

表 7 各种必需氨基酸的氨基酸比值、比值系数、比值系数分

Table 7 Ratio value of amino acids, ratio coefficients, score of ratio coefficient of various essential amino acids

| 氨基酸  | FAO/WHO 模式/<br>(10 <sup>-2</sup> g · g <sup>-1</sup> ) | 脱脂九香虫粉 |      |      | 九香虫多肽 |      |      |      |       |
|------|--|--------|------|------|-------|------|------|------|-------|
|      |  | 含量/%   | RAA  | RC   | SRC   | 含量/% | RAA  | RC   | SRC   |
| 组氨酸  | —  | 17.98  | —    | —    | 69.93 | 3.26 | —    | —    | 75.07 |
| 亮氨酸  | 7.0  | 6.33   | 0.90 | 1.08 | —     | 7.62 | 1.09 | 0.98 | —     |
| 缬氨酸  | 5.0  | 6.13   | 1.23 | 1.46 | —     | 6.06 | 1.21 | 1.09 | —     |
| 赖氨酸  | 5.5  | 4.30   | 0.78 | 0.93 | —     | 7.30 | 1.33 | 1.20 | —     |
| 异亮氨酸 | 4.0  | 3.70   | 0.93 | 1.10 | —     | 5.26 | 1.32 | 1.19 | —     |
| 苏氨酸  | 4.0  | 3.59   | 0.90 | 1.07 | —     | 5.01 | 1.25 | 1.13 | —     |
| 蛋氨酸  | 3.5  | 2.64   | 0.76 | 0.90 | —     | 3.59 | 1.02 | 0.92 | —     |
| 苯丙氨酸 | 6.0  | 2.31   | 0.38 | 0.46 | —     | 3.22 | 0.54 | 0.48 | —     |

2.6 体外抗氧化测定

体外抗氧化能力如图 4 所示。随着多肽质量浓度的升高,DPPH 自由基清除率也随之提高,九香虫多肽与黄粉虫<sup>[22]</sup>、方格星虫<sup>[23]</sup>多肽类似,说明九香虫酶解物具有一定的抗氧化活性,但总体低于谷胱甘肽。随着多肽质量浓度

的升高,ABTS 自由基清除率也随之提高,在高浓度时清除率接近谷胱甘肽,说明九香虫酶解物可能是多肽类抗氧化剂的良好来源。随着多肽质量浓度的升高,总还原能力也随之提高,九香虫多肽与黄粉虫<sup>[22]</sup>多肽相当。与谷胱甘肽相比,九香虫多肽清除自由基和总还原能力相对较差。

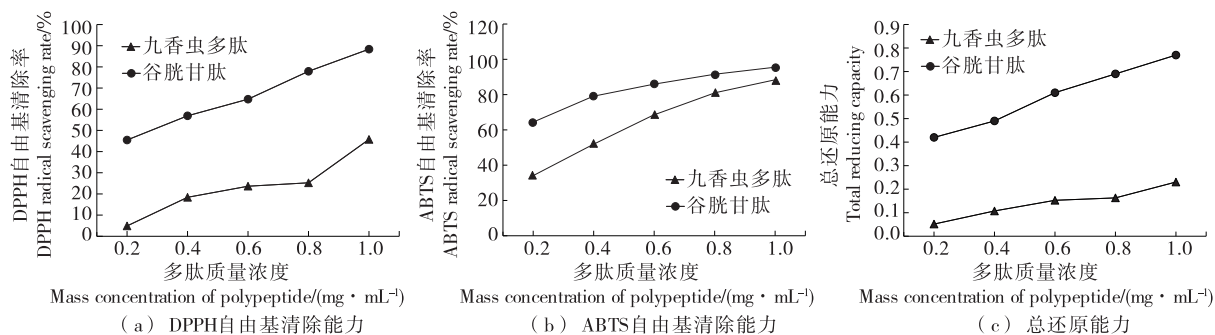


图 4 九香虫多肽的体外抗氧化能力

Figure 4 In vitro antioxidant capacity of peptides of *Aspongopus*

3 结论

研究优化了九香虫多肽的酶解工艺,其最佳酶解工艺为蒸煮时间 5 h,酶解 pH 10,酶解时间 6 h,酶解温度 55 °C,该条件下多肽得率为 35.74%、相对分子质量小于 1 000 所占比例为 88.1%。采用该酶解工艺可以较好地保留九香虫的氨基酸营养价值,同时使蛋白被酶解成小分子,利于人体的消化吸收,并且具有一定的抗氧化活性。但九香虫单一肽段的分离纯化及其功能活性有待进一步研究。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 3 部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 11.  
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the people's republic of China: 3 parts[S]. Beijing: China Medical Science and

Technology Press, 2015: 11.  
[2] 付惠惠, 张莉, 王凤月, 等. 九香虫对染锰大鼠睾丸组织损伤的修复机制[J]. 中成药, 2017, 39(5): 1 071-1 074.  
FU H H, ZHANG L, WANG F Y, et al. Repair mechanism of testicular tissue damage in manganese-infected rats by *Aspongopus* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2017, 39(5): 1 071-1 074.  
[3] 何志全, 张莉, 凌蕾, 等. 九香虫对染锰雄性大鼠生殖损伤的保护[J]. 中成药, 2016, 38(2): 258-261.  
HE Z Q, ZHANG L, LING L, et al. Protection of stink bug on manganese-induced reproductive damage to male rats [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2016, 38(2): 258-261.  
[4] SHI Y, TU Z, WANG X, et al. Bioactive compounds from the insect *Aspongopus chinensis* [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2014, 24(22): 5 164-5 169.  
[5] ZHAO S, TAN J, YU H, et al. In vivo and in vitro antiproliferative and antimetastatic effects of hemolymph of *Aspongopus chinensis*

- Dallas on breast cancer cells[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2021, 41(4): 523-529.
- [6] TAN J, TIAN Y, CAI R, et al. Chemical composition and antiproliferative effects of a methanol extract of *Aspongopus chinensis* Dallas[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 2607086.
- [7] 李尚伟, 赵柏松, 杜娟. 九香虫抗菌肽 CcAMP1 的分离纯化和抗菌活性检测[J]. 昆虫学报, 2015, 58(6): 610-616.
- LI S W, ZHAO B S, DU J. Isolation, purification, and detection of the antimicrobial activity of the antimicrobial peptide CcAMP1 from *coridius chinensis* (Hemiptera: Dinidoridae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2015, 58(6): 610-616.
- [8] 王凤月, 刘川燕, 王涌, 等. 九香虫对慢性锰暴露大鼠肝脏损伤的保护作用[J]. 中成药, 2019, 41(12): 3 022-3 025.
- WANG F Y, LIU C Y, WANG Y, et al. Protective effect of *Aspongopus* on liver injury in rats exposed to chronic manganese [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2019, 41(12): 3 022-3 025.
- [9] 高颖晖, 周万红, 窦鹏, 等. 九香虫醇提物对运动大鼠骨骼肌抗氧化酶活性及其基因表达水平的影响[J]. 生物技术通报, 2015, 31(12): 146-149.
- GAO Y H, ZHOU W H, DOU P, et al. The effects of ethanol extract from *Aspongopus chinensis* on the activities of antioxidant enzymes in skeletal muscle of exercised rats and their gene expression levels [J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(12): 146-149.
- [10] 李娟, 张一唱, 崔光红, 等. 九香虫提取物的抗疲劳和补肾壮阳活性评价[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2018, 37(2): 45-48.
- LI J, ZHANG Y C, CUI G H, et al. Evaluation of anti-fatigue and aphrodisiac activity of extract from *Aspongopus chinensis* [J]. Journal of South-central Minzu University (Natural Science Edition), 2018, 37(2): 45-48.
- [11] 王涌. 九香虫水提液对锰暴露大鼠睾丸间质细胞及睾酮合成的影响和机制[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2019: 26-35.
- WANG Y. Effects and mechanisms of aqueous extract of *Aspongopus chinensis* on testicular mesenchymal cells and testosterone synthesis in manganese-exposed rats[D]. Zunyi: Zunyi Medical University, 2019: 26-35.
- [12] 于姮梅, 赵帅, 蔡仁莲, 等. 九香虫油脂提取条件优化及体外抗乳腺癌活性研究[J]. 中国油脂, 2022, 47(2): 34-38.
- YU H M, ZHAO S, CAI R L, et al. Optimization of extraction conditions of *Aspongopus chinensis* Dallas oil and its anti-breast cancer activity in vitro[J]. China Oils and Fats, 2022, 47(2): 34-38.
- [13] 刘伦沛. 超声波辅助提取九香虫黄酮化合物的工艺研究[J]. 食品工业, 2012, 33(5): 43-47.
- LIU L P. Ultrasound-assisted extraction *Aspongopus chinensis* Dallas flavonoids process [J]. The Food Industry, 2012, 33(5): 43-47.
- [14] 张慧莹, 杨为乔, 陈瑶, 等. 鸡内金酶解物制备工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2022, 38(4): 169-174.
- ZHANG H Y, YANG W Q, CHEN Y, et al. Optimization of preparation technology and antioxidant activity of enzymatic hydrolysates from *corneum gigerii galli endothelium* [J]. Food & Machinery, 2022, 38(4): 169-174.
- [15] 李俐, 李晓飞. 贵州九香虫营养成分分析[J]. 昆虫知识, 2010, 47(4): 748-751.
- LI L, LI X F. Analysis of nutritional components of *Aspongopus chinensis* in Guizhou[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2010, 47(4): 748-751.
- [16] 李莎, 宋淑敏, 晏仁义, 等. 九香虫及相似品的多糖组成分析[J]. 中国现代中药, 2019, 21(9): 1 273-1 278.
- LI S, SONG S M, YAN R Y, et al. Analysis of polysaccharide composition of *Aspongopus chinensis* and its adulterants [J]. Modern Chinese Medicine, 2019, 21(9): 1 273-1 278.
- [17] 冯倩, 曾里, 冉旭, 等. 低分子量鲑鱼蛋白肽的酶解工艺优化及氨基酸分析[J]. 中国调味品, 2020, 45(1): 84-89.
- FENG Q, ZENG L, RAN X, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis process and amino acid analysis of catfish peptin peptide with low molecular weight[J]. China Condiment, 2020, 45(1): 84-89.
- [18] 朱翰林, 刘茜, 郑思瑶, 等. 牡蛎多肽的酶解工艺及抗氧化活性与相对分子量分布研究[J]. 食品科技, 2020, 45(6): 142-149.
- ZHU H L, LIU X, ZHENG S Y, et al. Enzymatic hydrolysis, antioxidant activity and relative molecular mass distribution of oyster peptides[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(6): 142-149.
- [19] 徐仰丽, 叶剑, 余海, 等. 南方刺参性腺多肽酶解工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(19): 181-187.
- XU Y L, YE J, YU H, et al. Optimization of the enzymatic hydrolysis process and analysis of the antioxidant activity of polypeptide from *apostichopus japonicus* gonads[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(19): 181-187.
- [20] 龙悦, 黄先智, 丁晓雯, 等. 木薯蚕蛹氨基酸构成分析[J]. 食品科学, 2013, 34(4): 161-164.
- LONG Y, HUANG X Z, DING X W, et al. Analysis of amino acid composition of eri silkworm (*Samia cynthia ricini*) pupa[J]. Food Science, 2013, 34(4): 161-164.
- [21] 朱圣陶, 吴坤. 蛋白质营养价值评价: 氨基酸比值系数法[J]. 营养学报, 1988(2): 187-190.
- ZHU S T, WU K. Protein nutritional value evaluation: Amino acid ratio coefficient method [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 1988(2): 187-190.
- [22] 王瑶, 辛二娜, 李玉婷, 等. 黄粉虫多肽的组成及体外抗氧化活性[J]. 食品科技, 2022, 47(3): 252-258.
- WANG Y, XIN E N, LI Y T, et al. Composition and in-vitro antioxidant activity of polypeptide from *tenebrio molitor*[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(3): 252-258.
- [23] 刘欢, 戚怡, 唐晓宁, 等. 方格星虫多肽的结构分析及体外抗氧化活性[J]. 中国海洋药物, 2022, 41(5): 49-56.
- LIU H, QI Y, TANG X N, et al. Antioxidant activity and structural identification of enzymatic hydrolysis peptides from *Sipunculus nudus* L[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2022, 41(5): 49-56.