

3 讨论

3.1 伯氏嗜木螨属世界性分布类型,主要分布在德国、英国等地^[3]。目前有关伯氏嗜木螨的研究报道甚少。伯氏嗜木螨对中华真地鳖的主要寄生部位为产卵器,显然与该螨喜湿性有关。就中华真地鳖身体而言,产卵器部位的湿度较高,为伯氏嗜木螨提供了良好的栖息环境,因而而是其最佳寄生场所。

3.2 不同饲养池、同一饲养池不同土层带螨量不同;不同饲养池由于饲养土含水量、腐殖质不同,其螨的繁殖能力也不同,造成了不同饲养池中带螨量的差异。同一饲养池中不同土层带螨量不同,可能与该螨趋湿性有关,因为饲养时每次喷水都是喷在饲养土的表面,同时中华真地鳖的饲料也撒于土表,因此距土表愈近寄生螨愈多。

3.3 在实际饲养中,该寄生螨发生较严重,可造成地鳖虫成批死亡,带来巨大损失。有效防除该螨已是成功养殖中华真地鳖的关键之一。根据该螨的生物学特性,防除该螨的方法如下:

(1) 伯氏嗜木螨适应性强,耐低温,8~10只能减缓其繁殖速率,0 停止活动,30~21尚能生存 24 h;但该螨对高温的抵抗力较弱,42 即迅速死亡^[5]。因此,可通过阳光下暴晒饲养土和饲料的方法来防除该寄生螨。

(2) 寄生螨之来源可能是饲料携带,也可能是饲养土本身就有该螨生存。所以事先对饲料和饲养土进行高温烘烤和暴晒,可有效地减轻寄生螨的危害。

(3) 地鳖虫在不同的饲养土层中的分布不同,上部较多。因此,在大规模的饲养中,定时更换饲养土对减轻螨害是很必要的。

(4) 作者在饲养中发现中华真地鳖仅是伯氏嗜木螨的寄生场所,其主要取食对象是地鳖虫的饲料,饲养土中的腐殖质也占有一定的比例。因此在添加饲料时,尽量避免直接将饲料撒于饲养土表面,而应该采用饲料板的形式喂养,即将饲料撒于一块木板或塑料板上喂养,并少量供应,多次更换,可达到诱集寄生螨的目的。

致谢 中华真地鳖由安徽农业大学植保系昆虫教研室吴振廷教授鉴定。

参 考 文 献

- 1 李长福,唐庆峰,张瑞昌,吴振建,吴尚澧. 昆虫知识,2003,40(3):258~261.
- 2 王林瑶. 药用地鳖虫养殖. 北京:金盾出版社,1993. 34~35.
- 3 休斯 A. M. (著),忻介六,沈兆鹏,杨天爽(译). 贮藏食物与房舍的螨类. 北京:农业出版社,1983.
- 4 江西大学. 中国农业螨类. 上海:上海科学技术出版社,1984.
- 5 四川粮食学校. 仓贮螨类. 成都:四川人民出版社,1980.

黄粉虫有效物质的综合提取及提取方法的比较*

刘怀如^{1,2} 杨兆芬^{3**} 谭东飞³ 吴政声¹

- (1. 泉州师范学院生物系 福建泉州 362000; 2. 厦门大学海洋与环境学院 福建厦门 361005;
3. 福建师范大学生物工程学院 福州 350007)

The comprehensive extraction of useful substances from *Tenebrio molitor* and comparison of extraction methods. LIU Huai-Ru^{1,2}, YANG Zhao-Fen^{3**}, TAN Dong-Fei³, WU Zheng-Sheng¹ (1. Department of Biology, Quanzhou Normal College, Quanzhou, Fujian Province 362000, China; 2. Oceanography and Environment College

*福建省教育厅资助项目(编号:J1238)和泉州市科委资助项目(编号:Z2001013)。

**通讯作者,E-mail: zhaofenyang7101@sina.com

收稿日期:2002-09-02,修回日期:2003-02-11

in Xiamen University, Xiamen, Fujian Province 361005, China; 3. Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract The fat extraction rates of the solvents light petroleum and cyclohexane, and the protein extraction rates of the alkaline and enzyme extraction methods, were compared. Chitosan was extracted from two kinds of fat and protein obtained from larval residues and from the larval moult respectively. The optimum combination of extraction was cyclohexane and enzyme extraction; 50.5% of the constituent substances of dried larvae were obtained in this way. The reasons for the different extraction rates of the alkaline and enzyme extraction methods are discussed.

Key words *Tenebrio molitor* L., effective substances, comprehensive extraction, extraction method

摘要 比较了用石油醚和用环己烷抽提黄粉虫 *Tenebrio molitor* L. 虫粉中脂肪的提取率, 以及用碱法和用酶法提取去脂虫渣中蛋白质的提取率。并从 2 种去脂、去蛋白质虫渣中和虫蜕中提取壳聚糖。用环己烷和酶法提取为最佳组合, 可综合提取出占幼虫干重 50.5% 的有效物质。同时, 讨论了碱法和酶法提取率出现差异的原因。

关键词 黄粉虫, 有效物质, 综合提取, 提取方法

黄粉虫 *Tenebrio molitor* L. 用做鱼、蛙、鸡、鸭、蜈蚣和蝎子等食虫动物的活饵料, 其干粉替代鱼粉用作家禽、家畜的蛋白质添加剂已有多年的历史。作者过去的研究揭示, 黄粉虫的营养价值高, 对实验动物无急性毒性作用, 具有抗疲劳、抗衰老、抗突变、调节血脂和调节免疫功能等保健作用, 可用作人类的保健食品^[1]。考虑到成品的耐储藏性、易吸收性和综合利用性, 作者认为, 采用将黄粉虫体内的脂肪酸、氨基酸和壳聚糖等有效物质逐级提取的方法, 既可充分利用虫体资源, 又可提高有效物质的提取率。本研究用不同的方法对黄粉虫体内的有效物质进行综合提取, 以期找出最佳组合方法, 为工业化生产提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

黄粉虫幼虫购于福州市花鸟市场, 以麦麸为饲料饲养。

药品: 环己烷(沸点 80.8 °C), 石油醚(沸点 60~90 °C), 红色石蕊试纸, 蒸馏水, 胰蛋白酶(进口分装, 比活 1 250), 浓硫酸, 0.25 mol/L NaOH, 10 mol/L NaOH, 0.33 mol/L HCl, 1.67 mol/L HCl, 0.1 mol/L NaOH, 0.1 mol/L HCl, K₂SO₄, 0.4 mol/L CuSO₄。

仪器: 烘箱、天平、水浴锅、冰箱、量筒、凯氏

烧瓶、三角瓶、消化炉、布袋、碱式滴定管、酒精灯、漏斗、真空泵、冷凝装置, 岛津 GC-16A 气相色谱仪、日立 853-50 型氨基酸自动分析仪。

1.2 方法

1.2.1 制备虫粉。称取活幼虫 1 100 g, 80 °C 下烘干至恒重后研成粉。

1.2.2 虫粉中的脂肪提取和数据测定 (1) 脂肪溶剂的筛选。取虫粉各 50 g, 每份各加 3 倍量的石油醚和环己烷, 各在 80 °C 水浴下浸提 24 h 并不时搅拌; 将滤渣用同法再浸提、过滤 1 次。各自合并 2 次滤液, 分别在 80 °C 下回收滤液中的溶剂。分别将浓缩的滤液在 80 °C 下烘至衡重, 称各自所得脂肪量。筛选脂肪提取率较高的溶剂用作下一步实验。(2) 用筛选出的溶剂大量提取虫粉中的脂肪。用筛选出的溶剂浸提相当于 1 000 g 活虫重的虫粉中的脂肪。(3) 脂肪中脂肪酸成分和碘值的测定。用气相色谱仪测脂肪中的脂肪酸含量, 脂肪酸和碘值的测定方法分别参考鲍士坦^[2]和朱俭等^[3]。

1.2.3 蛋白质提取和数据测定。(1) 碱法提取蛋白质。取一半脱脂后的滤渣粉浸于 5 倍量 0.25 mol/L 的 NaOH 溶液中, 45 °C 下水解 1 h 后过滤, 滤渣重复水解、过滤 1 次。合并滤液加 0.33 mol/L 的 HCl 调至 pH 4.5 (蛋白质等电点), 静置分层后过滤, 将沉淀的蛋白质收集在双层布袋中水洗至 pH 5.8 (自来水的 pH 值),

在 80 ℃ 下烘干得碱法蛋白粉。(2)酶法提取蛋白质。取另一半脱脂后的滤渣粉,加入 3.5 倍量的蒸馏水和占 0.4% 滤渣粉重的胰蛋白酶,用 0.25 mol/L 的 NaOH 调至 pH 7.0,在 45 ℃ 下酶解 5 h 后升温至 70 ℃ 杀酶 0.5 h^[4],置冰箱中冷藏过夜。过滤后将滤液于 80 ℃ 下烘干,得酶法蛋白粉。(3)2 种蛋白粉中的蛋白质和氨基酸含量的测定。用常量克氏定氮法测定 2 种蛋白粉中的蛋白质含量^[3];用氨基酸自动分析仪测定 2 种蛋白粉中的氨基酸含量。

1.2.4 从 2 种脱脂、脱蛋白虫渣和虫蜕中提取壳聚糖 (1)壳聚糖的提取。将 2 种虫渣和虫蜕分别在 16.7 mol/L 的 HCl 中处理 12 h 脱钙,在 10 mol/L 的 NaOH 中煮沸 3 h 脱乙酰基。冷却后将溶液倒入布袋中水冲洗至中性,烘干后得壳聚糖。(2)壳聚糖脱乙酰度的测定。各取 0.5 g 壳聚糖,加入 0.1 mol/L 的 HCl 30 mL,于 25 ℃ 下搅拌溶解后加入 2 滴甲基橙,用 0.1 mol/L 的 NaOH 滴定过剩的 HCl,代入公式计算脱乙酰度值^[5]。

2 结果与讨论

2.1 虫粉含水量 虫粉含水量为 57.7%。

2.2 虫粉中脂肪的提取和数据测定

2.2.1 脂肪溶剂的筛选 用石油醚和环己烷提取出的脂肪分别占虫粉重的 23.9% 和 28.0%,石油醚和环己烷的回收率分别为 43.6% 和 45.3%,故选用环己烷用于下一步实验。提取脂肪常用的有机溶剂为丙酮、石油醚和环己烷,丙酮的沸点较低为 56 ℃,在工业上应用易燃故本实验未予采用;石油醚和环己烷的沸点分别为 60~90 ℃ 和 80.8 ℃,沸点较高并较接近,两者均在 80 ℃ 下浸提,用环己烷比用石油醚多提取 4.1% 脂肪,这可能和石油醚是多种低级烷烃的混合物成分较复杂,沸点范围广不易达到合适的抽提温度有关。

2.2.2 脂肪中的脂肪酸成分和碘值的测定

作者曾用标准的脂肪提取法(即以丙酮为有机溶剂用索氏提取法)从虫粉中提取脂肪酸^[1],表 1 显示与之相比较用环己烷提取出的脂肪酸含

量高,所提取出的脂肪酸含量是用标准法所提取脂肪酸含量的 94%,其碘值的含量也接近用标准法提取出脂肪酸的碘值含量。

2.3 蛋白质、氨基酸的提取和数据测定

作者曾直接从虫粉中用酶解法提取蛋白质和氨基酸^[5],现将用碱法和酶法从去脂虫渣中提取的蛋白质和氨基酸与之做一比较。

从表 2 可见,不论是从虫粉还是从去脂虫,鞘翅目粉虫属 *Tenebrio* 成虫的甲壳素含量占虫体干重的 4.9%,其幼虫的表皮较薄,并且所提取出的壳聚糖已脱去大部分乙酰基^[5],故本实验从 2 种虫渣中所得的壳聚糖提取率分别为 4.4% 和 4.2%,十分接近于已有的报道。关于从昆虫的虫体中提取甲壳素的研究,周丛昭

表 1 用环己烷大量提取和用标准方法提取出的脂肪酸含量比较(%)

脂肪酸	标准法提取脂肪酸含量*(%)	环己烷法提取脂肪酸含量(%)
Cl2 0	2.84	0.20
Cl4 0	0.02	3.30
Cl5 0	0.12	0.00
Cl5 1	0.05	0.00
Cl6 0	19.58	17.00
Cl6 1	7.41	3.10
Cl7 0	0.20	0.00
Cl7 1	0.36	0.00
Cl8 0	0.03	2.60
Cl8 1	25.21	38.60
Cl8 2	41.70	33.30
Cl8 3	1.59	1.40
Cl9 0	0.02	0.00
Cl9 1	0.48	0.00
C20 3	0.01	0.00
C20 5	0.06	0.00
C22 1	0.12	0.00
C22 6	0.05	0.00
其他		0.05**
MUFA	33.63	41.70
PUFA	43.42	34.70
UFA	77.05	76.40
SFA	22.95	23.10
P/S	1.93	1.50
碘值	104.80	96.10

*标准提取法一栏所用的数据引用了作者以前的研究结果,因所测虫体来源不同故在个别数据上有所出入。

**因用环己烷浸提不如用标准的提取法精确,故提取出的脂肪酸含有 0.5% 的其他成分。

表2 用不同方法从虫蛋白粉中提取蛋白质和氨基酸的得率(%)

	虫粉		去脂虫渣	
	酶解	碱法	酶法	碱法
蛋白粉重/干虫重(%)	31.5	6.9	18.3	
总氮含量		13.0	15.5	
蛋白质含量		81.4	91.7	
氨基酸含量	98.6	64.8	94.7	
氨基酸/虫体总氨基酸	52.5	7.6	29.3	

等^[7]测得干桑蚕蛹体含甲壳素3%~5%,王建刚等测得柞蚕蛹体含甲壳素2.5%^[8];孟宪昌等从蝉壳中提取出壳聚糖,但没有报道提取率,本实验从黄粉虫幼虫的渣中提取,酶法提取出的蛋白粉中氨基酸的含量均很高;碱法提取之所以蛋白粉得率低,因为在pH4.5时不是所有的氨基酸都达到等电点而沉淀下来,在冲洗时未沉淀的氨基酸可能流失掉,冲洗本身也会造成部分已沉淀的蛋白质的流失,碱法提取的蛋白粉中氨基酸含量低还与用碱处理破坏了部分氨基酸的结构有关。用酶法从虫粉中比从去脂虫渣中得到更多的氨基酸,但是它的蛋白粉中含有部分脂肪,从综合利用的角度来看前者的总提取率不如后者高。

2.4 2种脱脂、脱蛋白虫渣和虫蜕中的壳聚糖含量和脱乙酰度值测定

2种脱脂、脱蛋白虫渣和虫蜕中的壳聚糖含量和脱乙酰度值见表3。

表3 3种脱脂、脱蛋白虫渣和虫蜕中的壳聚糖含量(%)和脱乙酰度值(%)

	碱法虫渣	酶法虫渣	虫蜕
壳聚糖干重/幼虫(虫蜕)干重	4.4	4.2	11.0
脱乙酰度(%)	70.8	66.5	61.0

虫蜕中的提取率为11.0%,表明虫蜕中壳聚糖的含量很高,是不容忽视的壳聚糖来源。关于脱乙酰基条件的研究,孟宪昌等将蝉壳用稀盐酸2次脱钙,用11.25 mol/L的NaOH在135℃下回流5h,脱乙酰度可达94%以上^[9];倪红等对桑蚕蛹用11.25 mol/L的NaOH在100

℃下反应1h,得到脱乙酰度为78.90%可溶于0.6 mol/L HAc的壳聚糖,如果NaOH的浓度为10 mol/L则所得的壳聚糖难溶于0.6 mol/L的HAc^[10]。本实验只对壳聚糖做了初步提取,如果改进提取方法将会提高壳聚糖的提取率和质量。本实验从用碱法虫渣中所得壳聚糖的脱乙酰度高于酶法虫渣,这是由于在用碱法提取蛋白质时促进了甲壳素的分解,从虫蜕中所得壳聚糖的脱乙酰度最低是由于虫蜕中还含有未能除尽的其它杂质,如蜡质等。

2.5 结论

用环己烷提取黄粉虫幼虫虫粉中的脂肪和用酶法提取脱脂虫渣中的蛋白质是最佳的提取组合,经提取壳聚糖后可得占幼虫干重50.5%的有效物质。有效物质的逐级提取可最大限度地利用虫体资源。

致谢 福建师范大学生物工程学院孟丽清、姜文琛、许辉辉和李建华同学参加了本研究工作,特此致谢。

参 考 文 献

- 1 杨兆芬,林跃鑫,陈寅山,吴小楠. 昆虫知识,1999,36(2): 97~100.
- 2 鲍士旦主编. 农畜水产品化学分析. 北京:中国农业出版社,1996.
- 3 朱俭,曹凯鸣,周润琦. 生物化学实验. 上海:上海科学技术出版社,1981. 21~23,53~55.
- 4 周爱梅,彭凯文,张桂珍. 广州食品工业科技,1995,11(2): 4,11~14.
- 5 蒋挺大. 甲壳素. 北京:中国环境科学出版社,1996. 45~46.
- 6 杨兆芬,林跃鑫,张东弛,陈寅山. 昆虫知识,1998,35(5): 290~292.
- 7 周丛昭,杨铁. 生物学通报,1993,28(10):44~47.
- 8 王建刚,洗远芳,张永宁. 吉林工学院学报,2000,21(1): 53~56.
- 9 孟宪昌,许明远. 河北化工,2000,(3):28~29.
- 10 倪红,陈怀新,杨艳燕,陶亮. 湖北大学学报(自然科学版),1998,20(1):94~96.