

西瓜皮中 L-瓜氨酸含量测定及提取技术研究

蓝晶晶¹, 吴伟杰², 王建中²

(1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001; 2. 北京林业大学 生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要:为提取西瓜皮中的有效成分, 更好的利用西瓜资源, 采用 HD-8 型阳离子交换树脂从西瓜皮中分离 L-瓜氨酸, 用 HZ-820 型树脂对洗脱液进行脱色, 探索了 L-瓜氨酸的有效提取方法和提取工艺参数以及工艺条件的控制。结果表明: HD-8 型阳离子交换树脂对 L-瓜氨酸有良好的吸附效果, 最大交换容量为 $23.125 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 树脂; 以 $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NH}_4\text{OH}$ 作为洗脱液, 洗脱载荷 L-瓜氨酸的 HD-8 树脂 20 min, 洗脱率达到了 89.6%, 洗脱效果约为同浓度下 NaOH 的 3.5 倍; HZ-803、HZ-820、D303 三种吸附树脂脱色效果中, HZ-820 为最优。

关键词:西瓜皮; L-瓜氨酸; 阳离子交换树脂

中图分类号: S651 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2016)03-0102-04 DOI: 10.11942/j.issn1002-2767.2016.03.0102

西瓜 (*Citrullus vulgaris* Schrad.) 又称寒瓜、水瓜、夏瓜, 原产南非。其果实含糖量高, 营养丰富, 风味极佳, 是广大人民喜爱的夏令佳品。大多数人在吃完瓜瓤后, 都会随手把西瓜皮当垃圾扔掉。其实, 新鲜的西瓜皮除含有丰富的维生素和烟酸之外, 还含有多种有机酸、粗蛋白质、粗纤维及钾、磷、钙、镁、铁、钠等矿物质^[1]。用西瓜皮晒制的“西瓜翠衣”对水肿、烫伤等热性病症有特殊疗效^[2]。目前, 西瓜皮的深加工技术还不成熟, 没能形成产业化, 产品单一, 综合利用能力不强, 处理剩余的瓜皮已经成为企业和农民的一大负担。研究表明西瓜皮中含有大量的游离 L-瓜氨酸^[3], L-瓜氨酸是参与人体尿素循环的一个重要生化物质, 但是它并不能由蛋白质食物中吸收获得。瓜氨酸在进入人体后与精氨酸作用产生的氮氧化合物能够缓和血管压力, 增强男性性功能, 可同 L-鸟氨酸, L-精氨酸等合用于治疗高氨血症^[4]、特发性高泌乳素血症等^[5], 还可以作为抗衰老、提高免疫力的保健品和女性护肤去斑的美容品。

为了更好地利用西瓜资源, 提取其中的有效成分, 本文对 L-瓜氨酸的有效提取方法和提取工艺参数以及工艺条件的控制进行了探索。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为普通西瓜 (购于南宁市普通市

场), 取瓜皮备用; 试验所用试剂有 L-瓜氨酸 (上海康达氨基酸厂), 二乙酰一肟、磷酸、氨水、氢氧化钠 (分析纯, 天津市津科精细化工研究所); HD-8 型阳离子交换树脂, HZ-803、HZ-820、D303 型吸附树脂 (上海华震公司)。试验所用仪器有 752Spectrophotometer 紫外分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司)、SHB-3 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司)、RE-5203 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 L-瓜氨酸的提取、分离 西瓜除去瓜瓤和外表皮, 瓜皮用组织破碎机粉碎, 超声波提取 30 min, 真空抽滤取清液备用。

取一定量的清液用 HD-8 型阳离子交换树脂进行动态交换 (搅拌), 交换完毕后用 $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氨水进行洗脱, 将洗脱液进行真空浓缩脱氨。采用 HZ-820 型吸附树脂对提取浓缩液进行脱色, 并对脱色液 L-瓜氨酸含量进行测定。

操作要点: 树脂在使用前需用双蒸水浸泡, 漂至上液澄清, 用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液和 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液反复浸泡 3 次, 用蒸馏水洗至洗液无氯离子为止。抽滤至干, 在干燥箱中烘干后备用。

①交换树脂的选择: L-瓜氨酸为水溶性氨基酸, 其等电点为 pH5.97。提取液 pH 越接近等电点, L-瓜氨酸的提取率越低。若在碱性条件下加热提取瓜皮中的 L-瓜氨酸, 易使瓜皮中的果胶、淀粉等多糖类物质发生糊化^[7], 增加提取液过滤阻力。为避免糊化现象, 并防止氨基酸在碱性条件下发生 Malillard 反应生成有色物质, 宜在酸性条件下提取 L-瓜氨酸。L-瓜氨酸为弱有机酸, 在

收稿日期: 2016-01-07

第一作者简介: 蓝晶晶 (1986-), 女, 广西壮族自治区南宁市人, 硕士, 助教, 从事生物资源利用研究。E-mail: lanjingjing24@126.com。

通讯作者: 王建中 (1952-), 男, 河北省曲阳县人, 教授, 从事林产品加工工程及功能食品与生物制剂等研究。

低于其等电点的条件下,L-瓜氨酸带正电荷,因此分离L-瓜氨酸宜用强酸性阳离子交换树脂。本试验中采用的HD-8阳离子交换树脂属于强酸性离子交换树脂。

②交换时间的确定:分别取4g处理好的树脂于6个烧杯中,加入50mL瓜皮汁清液进行动态交换(搅拌),记录交换时间为10、20、30、40、50、60min时,交换时间与交换液中L-瓜氨酸的含量变化(见表1),以此确定最佳的交换时间。

③洗脱液的选择:分别取4g荷载L-瓜氨酸的HD-8型树脂于8个烧杯中,分别用100mL浓度为0.25、0.5、0.75、1.0mol·L⁻¹氨水和NaOH浸泡1h,测定瓜氨酸洗脱量。

④洗脱时间的确定:分别取4g荷载L-瓜氨酸的树脂于6个烧杯中,加入100mL0.25mol·L⁻¹氨水溶液进行动态洗脱(搅拌),记录洗脱时间为5、10、15、20、25、30min时,清液中L-瓜氨酸的含量变化情况,确定最佳交换时间(见表3)。

⑤脱色剂的选择:洗脱液经脱氨后,于室温下分别加入等量的HZ-803、HZ-820、D303吸附树脂进行脱色15min,对脱色效果进行比较,并测定吸附脱色瓜汁中L-瓜氨酸的含量。

表1 交换时间与吸附量的关系
Table 1 Relationship on exchange time with adsorption capacity

交换时/min Exchange time	溶液中L-瓜氨酸浓度/(mg·L ⁻¹) L-citrulline concentration	吸附量/mg Adsorption capacity	树脂最大交换容量 The largest exchange capacity
10	1.372	65.350	23.125 mg·g ⁻¹ 树脂
20	1.034	82.250	
30	0.847	91.600	
40	0.831	92.400	
50	0.829	92.500	
60	0.831	92.400	

1.2.2 L-瓜氨酸的含量测定方法 L-瓜氨酸的测定采用二乙酰-肼法^[6]。L-瓜氨酸与二乙酰-肼在酸性条件下反应生成红色化合物,在一定的含量范围内其分光光度值呈线性关系。取1mL含有L-瓜氨酸的溶液于试管中,依次加入4mL蒸馏水,2mL硫酸和磷酸的混合液(v:v,1:3),0.25mL30mg·L⁻¹的二乙酰-肼,摇匀,沸水浴反应30min后取出冰水浴迅速冷却至室温,于

490nm处测定分光光度值。

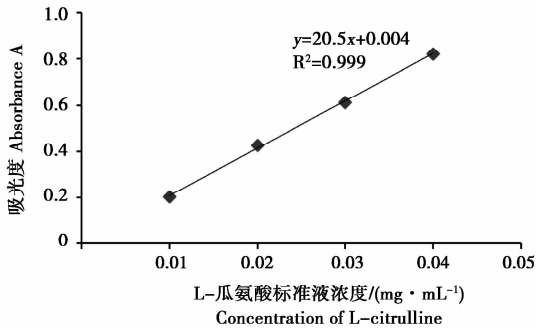


图1 二乙酰-肼测定L-瓜氨酸标准曲线
Fig.1 Standard curve of L-citrulline concentration detected by diacetyl oxime

1.2.3 标准曲线的制作 准确称量1.0000mgL-瓜氨酸标准品于10mL容量瓶中,蒸馏水定容。在5支试管中分别加入0、0.1、0.2、0.3、0.4mL的L-瓜氨酸标准溶液,用蒸馏水补足到1mL,采用二乙酰-肼法测定分光光度值。用未加L-瓜氨酸标准溶液的第一支试管作为空白对照液。重复3次,取平均值,以L-瓜氨酸溶液浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线(见图1)。

2 结果与分析

2.1 标准曲线呈线性关系

L-瓜氨酸标准溶液浓度在0~0.04mg·mL⁻¹呈良好的线性关系,相关系数达到0.999。瓜皮清液中L-瓜氨酸的含量为2.679mg·mL⁻¹。

2.2 L-瓜氨酸的提取

2.2.1 HD-8型阳离子交换树脂交换时间对吸附量的影响 随着交换时间的增加,瓜皮清液中的L-瓜氨酸含量逐渐减少,表明HD-8型阳离子交换树脂对L-瓜氨酸有一定的吸附能力。当动态交换时间达到30min后,瓜皮清液中的L-瓜氨酸含量变化不大,树脂对L-瓜氨酸的吸附达到最大吸附容量,此容量为23.125mg·g⁻¹树脂。从节省时间提高效率方面考虑,可以认为30min为动态交换的最佳交换时间。

2.2.2 不同洗脱液的洗脱效果 由表2可知,相同浓度下NH₄OH洗脱效果优于NaOH,前者约为后者的3.5倍。因此,可选用NH₄OH作为洗脱剂。纵向比较洗脱液浓度对于洗脱效果的影响时发现,0.25mol·L⁻¹的NH₄OH和1.0mol·L⁻¹的氨水洗脱结果并无太大差异,洗脱率维持在89.5%左右,从节约成本和NH₄OH回收方便的角度考虑,建议使用低浓度的氨水进行洗脱。

表 2 不同洗脱液的洗脱效果

Table 2 Eluting effect on L-citrulline by different elution

洗脱液 Eluent	浓度/(mol·L ⁻¹) Concentration	洗脱液体积/mL Eluent volume	L-瓜氨酸洗脱量/mg L- citrulline elution volume	洗脱率/% Elution rate
NH ₄ OH	0.25	100	82.796	89.5
NaOH	0.25	100	22.662	24.4
NH ₄ OH	0.50	100	83.011	89.7
NaOH	0.50	100	22.793	24.6
NH ₄ OH	0.75	100	82.832	89.5
NaOH	0.75	100	23.146	25.0
NH ₄ OH	1.0	100	83.004	89.7
NaOH	1.0	100	23.385	25.3

2.2.3 最佳洗脱时间的确定 由表 3 可知,洗脱时间在 5~30 min 内,L-瓜氨酸的洗脱量随时间的推移略有增高,但是变化并不明显。在洗脱 5 min 时,瓜氨酸的洗脱率就达到了 87.2%,洗脱 20 min 时,洗脱率达到了 89.6%。因此在工业生产中为了节省时间提高效率,可以选择 20 min 为优选洗脱时间。

表 3 洗脱时间对洗脱量的影响

Table 3 Effect of different eluting time on eluting capacity

洗脱时间/min Eluting time	L-瓜氨酸洗脱量/mg L- citrulline eluting capacity	洗脱率/% Eluting rate
5	80.691	87.2
10	81.580	88.2
15	82.203	88.7
20	82.737	89.6
25	82.915	89.6
30	83.004	89.7

2.2.4 脱色树脂的确定 室温下动态吸附脱色 15 min 后,溶液中 L-瓜氨酸含量为 HZ-820 脱色液>HZ-803 脱色液>D303 脱色液。HZ-803 树脂在脱色 15 min 后,上清液仍然带有少许黄绿色,造成了 L-瓜氨酸含量测定过程中数值偏大,综上所述,确定最佳吸附脱色树脂为 HZ-820(见表 4)。

表 4 脱色剂与脱色效果

Table 4 Decolorizing effect of eluting solution by different decolorizing agent

树脂型号 Resin type	浓缩液中的 L-瓜氨酸含量/mg L- citrulline content	脱色效果 Decolouring effect
HZ-803	77.629	最差
HZ-820	82.203	高
D303	76.472	中等

3 结论与讨论

HD-8 型阳离子交换树脂对 L-瓜氨酸有良好的吸附效果,室温下动态交换 30 min,吸附量达 91.600 mg,最大交换容量为 23.125 mg·g⁻¹树脂;以 0.25 mol·L⁻¹ NH₄OH 作为洗脱液,洗脱载荷 L-瓜氨酸的 HD-8 树脂 20 min,洗脱率达到了 89.6%,洗脱效果约为同浓度下 NaOH 的 3.5 倍;以 HZ-803、HZ-820、D303 三种吸附树脂对洗脱液进行脱色,其中 HZ-820 的脱色效果最优。

由于瓜皮中含有叶绿素等色素,超声波提取的瓜皮清液呈黄绿色,经过 HD-8 树脂分离的 L-瓜氨酸洗脱液仍呈黄绿色,为了不影响含量测定,测定前必须将所含色素除去。脱色的方法有 H₂O₂ 氧化法、活性炭法及吸附树脂法等。H₂O₂ 的强氧化性虽然能使呈色物质快速脱色,但是易引起氨基酸的氧化^[8],因此在试验中不宜用此法脱色。活性炭脱色效果虽好,但由于活性炭吸附没有选择性,需要加热而且不能反复使用,导致 L-瓜氨酸损失量大^[9]。本试验采用对 L-瓜氨酸几乎不吸附的 HZ-820 型树脂进行脱色,效果优于氧化脱色和活性炭脱色。

树脂吸附分离纯化 L-瓜氨酸工艺有待进一步完善,今后的试验可从洗脱液用量、洗脱时间、以及脱色剂的使用量、脱色时间来进行探讨。

参考文献:

[1] 韩明,薛福玲,蔺志铎,等.西瓜皮营养成分分析[J].食品研究与开发,2010,31(1):119-121.
[2] 张彦民,韩文凤,邱波,等.西瓜皮营养成分分析[J].加工工艺,2009(4):49-51.
[3] Agnes M R,Perkins P M. Determination of citrulline in water melon rind[J]. Journal of Chromatography A, 2005,

- 1078;196-200.
- [4] 欧阳平凯,张赣道,祁嘉义,等. 生物化工产品[M]. 北京:化学工业出版社,1999:45-46.
- [5] 卢刚,吴越,黄礼明,等. 鸟氨酸-瓜氨酸药用组合物对血清泌乳素水平的影响[J]. 中国医药科学,2011,1(11):90-91.
- [6] 郑锋,詹园凤,党选民,等. 不同倍性小型西瓜果实中番茄红素、瓜氨酸含量比较分析[J]. 热带农业科学,2012,32(2):7-10.
- [7] 俞骏棠,唐孝宣. 生物工艺学[M]. 上海:华东理工大学出版社,1991:253,258.
- [8] Marshak D R,Kadonaga. J R,Burgess R R,et al. Strategies for Protein PIR~ cation and Characteriation [M]. Beijing: Sel Pub House,1999:263-264.
- [9] 周小华,李端华,李韶利. HD-8 树脂分离天花粉中的 L-瓜氨酸[J]. 天然产物研究与开发,2005, 17(6): 784-789.

Research of L-citrulline Content Determination and Extractive Technique in Watermelon Rind

LAN Jing-jing¹, WU Wei-jie², WANG Jian-zhong²

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, NanNing, Guangxi 530001; 2. College of Biological Science and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

Abstract: In order to better use of watermelon resource and extracte the effective components in watermelon rind, the extraction method of L-citrulline was explored by controlling the process parameters and conditions. The type HD-8 cation exchange resin was used to isolate L-citrulline from watermelon rind and then the eluent was decolorized by the type HZ-820 resin. The results showed that the type HD-8 cation exchange resin was high-efficiency with the largest exchange capacity of 23. 125 mg L-citrulline per gram resin. The elution rate reached 89. 6% when the type HD-8 resin loading L-citrulline was eluted by 0. 25 mol·L⁻¹ NH₄OH for 20 min which was 3. 5 times higher than using NaOH at the same concentration as eluent. Type HZ-820 adsorbent resin had optimal decolorizing efficiency compared with type HZ-803 and type D303.

Keywords: watermelon rind; L-citrulline; cation exchange resin

(上接第 83 页)

Observation on the Characteristics of *Lonicera caerulea* Leaf by Segregation Method of Peroxyacetic Acid

XU Qing-hua¹, WU Xu-fei¹, БРЫКСИН Д. М. ², ZHANG Xue-xia¹, LI Fu-heng¹

(1. College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. The I. V. Michurin All-Russia Research Institute of Horticulture, Michurinsk, Tambov 393774)

Abstract: Segregation method of Peroxyacetic acid was used to observe the epidermis of plant leaves and used for observing leaf nervation, it was a simple and practica method. Taking *Lonicera caerulea* L. var. edulis Turcz. ex Herd. f. edulis as material, single factor experiment and orthogonal experiment were designed for the treatment conditions of Peracetic acid concentration, water-bath temperature and water-bath time. Observing leaf nervation was used in order to obtain the optimal reaction condition. The results of orthogonal test showed that the best condition of observation effect was 12% peroxyacetic acid treatment by 3. 5 h water bath(70℃) or 14% peroxyacetic acid treatment by 3. 5 h water bath(60℃) for fresh leaves.

Keywords: *Lonicera caerulea*; leaves; segregation method of peroxyacetic acid; venation; orthogonal design