

温州蜜柑皮中氨基酸 及脂肪酸的组成分析研究

苏东林^{1,2},李高阳²,何建新¹,刘伟¹,单杨^{1,*}

(1.湖南省农业科学院,湖南省农产品加工研究所,湖南长沙 410125;

2.湖南省食品测试分析中心,湖南长沙 410125)

摘要:柑橘是我国大宗水果,皮中富含精油、果胶和类黄酮等生物活性成分,是一种具有较高开发价值的资源。应用氨基酸全自动技术分析温州蜜柑皮中的蛋白质,结果表明蛋白质含量为 3.446% (干物质),其中必需氨基酸含量 1.239%,比重 35.956%,略小于大豆分离蛋白的 39.4%;蛋氨酸、胱氨酸为限制性氨基酸。采用索氏法对果皮进行萃取,以 GC-MS 技术对萃取物中的脂肪酸进行分析鉴定,确定含有 11 种脂肪酸:6 种饱和脂肪酸,占总量的 26.06%,主要是十六烷酸 19.75%;5 种不饱和脂肪酸,占总量的 66.20%,主要是 9,12-十八碳二烯酸(亚油酸)37.14% 和亚麻酸 19.06%。

关键词:温州蜜柑皮,氨基酸,脂肪酸,组成分析

Study on composing component of amino acids and essential oil fatty acids in satsuma orange peel

SU Dong-lin^{1,2}, LI Gao-yang², HE Jian-xin¹, LIU Wei¹, SHAN Yang^{1,*}

(1.Hunan Agricultural Product Processing Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China;

2.Hunan Food Test and Analysis Center, Changsha 410125, China)

Abstract: Citrus is a major kind of fruit in China, its peel is a high valuable source because of abundant essential oils, pectins, flavonoids, etc. Amino acids of protein in satsuma orange peel were analysed by automatic technology. The test result indicated that protein content was 3.446% (dry substance, m/m) and essential amino acids content was 1.239%. The essential amino acids content of protein was 35.956%, less than which of soybean protein, Met and Cys were limited amino acid in peel. Fatty acids in satsuma orange peel were extracted by Soxhlet extraction apparatus, at the same time, separated and identified by GC-MS. 11 fatty acids identified in peel oil consist of 6 saturated fatty acids (26.06%) and 5 unsaturated fatty acids (66.20%). The saturated fatty acids was mainly composed of hexadecanoic acid (19.75%), but the unsaturated fatty acids were mainly composed of linoleic acid (37.14%) and linolenic acid (19.06%).

Key words: satsuma orange peel; amino acid; fatty acid; composing component analysis

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)02-0100-03

据联合国粮农组织 (FAO) 统计, 2007 年全球柑橘种植面积 764 万 hm^2 、产量 1.21 亿 t, 是世界第一大水果^[1]; 2008 年, 中国柑橘种植面积 203.1 万 hm^2 、产量 2331 万 t, 均居世界首位^[2]。世界柑橘种植中, 甜橙、宽皮柑橘、柠檬和葡萄柚的比例大致为 71:12:10:7; 而在我国, 宽皮柑橘占 73.1% (其中柑类 36.0%、橘类

37.1%)、橙占 13.5%、柚占 12.2%、其它柑橘类占 1.2%^[3]。柑橘无论是鲜食还是加工, 皮是主要副产物, 约占果实质量的 10%~30%; 柑橘皮富含多种活性成分, 如胶质可控制血糖、预防癌症、控制矿物质平衡等, 萜烯可预防癌症, 类胡萝卜素具有维生素活性、抗氧化性能及某些抑癌性质等, 具有多重生理功效^[4-7]。近年来, 出于节约资源、保护环境以及提升柑橘产业整体效能的需要, 柑橘皮(渣)的应用成为了研究热点^[8-10]。深入研究原料的主要化学组成和功效成分的基本特性, 将对下一步选择更好的利用途径给予某些有价值的参考。本文利用氨基酸全自动分析仪, 同时采用 GC-MS 技术和相关的分析软件^[11-12], 对湖南产温州蜜柑皮中蛋白氨基酸和脂肪酸化学组成进行分析和鉴定, 以期对柑橘皮的深加工

收稿日期: 2010-11-01 * 通讯联系人

作者简介: 苏东林 (1979-), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 食品生物技术与农产品精深加工。

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (2007AA10Z307); 湖南省“十一五”重大科技专项 (2006NK1002); 湖南省产学研结合专项 (2009XK6001)。

和综合开发利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

柑橘皮(粉) 温州蜜柑,购自湖南省农业科学院农贸市场,除杂后40℃恒温鼓风干燥,经粉碎过60目筛后得粉末;乙腈 GR级;盐酸、醋酸钠、无水乙醚、甲醇、正己烷、氢氧化钾、三氟化硼、氯化钠等均为AR级;自制双蒸水。

全自动氨基酸分析仪 日本 Hitachi;气相色谱-质谱联用仪 美国 Finnigan;索氏抽提器 丹麦 FOSS;FA1104 上皿电子天平 上海精科天平制造;摩尔超纯水机 上海摩勒生物科技有限公司;高速万能粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司;电热恒温鼓风干燥箱 上海精宏实验设备有限公司;旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 氨基酸分析 精确称取柑橘皮固体样品535mg于特制水解管中,加入8mL 6mol/L的HCl,在真空状态下维持10min,用酒精喷灯进行封口。然后放置110℃的烘箱中水解24h,取出冷却后水解产物全部转移至25mL容量瓶中,取少量双蒸水冲洗水解管三遍并将冲洗液转至容量瓶,定容至刻度摇匀,用双层滤纸过滤,取滤液1mL置于25mL小烧杯中,放置于真空干燥器中在40℃条件下进行干燥后,将小烧杯取出加入2mL 0.02mol/L HCl,在空气中放置30min,搅拌均匀,上机测定备用。

氨基酸分析仪色谱条件: C₁₈ 色谱柱 4.0mm × 125mm;柱温 40℃;流速 1.0mL/min;波长 338nm, 262nm(Pro);流动相 A 为 20mmol 醋酸钠液,流动相 B 为 20mmol 醋酸钠液:甲醇:乙腈 = 1:2:2(v/v)。

1.2.2 脂肪酸萃取与组成分析

1.2.2.1 脂肪酸萃取 称取40g柑橘皮粉置于索氏抽提器中,用200mL无水乙醚回流提取6h,冷却过滤,于真空旋转蒸发器上回收溶剂至干得萃取物(收率为4.2%)。

1.2.2.2 样品甲酯化 取0.2g萃取物置于20mL试管中,加入0.5mol/L的KOH甲醇溶液2mL,60℃水浴中加热至油珠完全溶解(约30min)。冷却后加入25% BF₃ 甲醇液2mL,60℃水浴酯化20min,冷却后加入2mL正己烷,振摇,加入2mL饱和NaCl溶液摇匀,静置,取上层(正己烷层)溶液进行色谱分析。

1.2.2.3 GC-MS 分析条件 GC 条件:PEG-20M 弹性石英毛细管柱,30m × 0.25mm × 0.25μm;载气为高纯氮气,恒定流量为0.8mL/min;程序升温:从180℃开始(保持2min),以3℃/min升温到230℃,保持10min;进样口温度250℃,出样口温度200℃;检测电压350V。

MS 条件:EI 离子源,发射电流200μA,电子能量70eV,扫描范围20~550amu。

2 结果与分析

2.1 氨基酸组成分析

温州蜜柑皮中氨基酸组成见表1。由表1可知,温州蜜柑皮中蛋白质含量为3.446%,其中必需氨基

酸含量1.239%,蛋白质中必需氨基酸占35.956%,略小于大豆分离蛋白中必需氨基酸39.4%的含量;蛋氨酸、胱氨酸为限制性氨基酸。本分析结果将为下一步柑橘皮质量的评估和蛋白的开发利用提供理论依据。

表1 温州蜜柑皮中氨基酸组成(%)
Table 1 Amino acids composition in satsuma orange peel (%)

氨基酸种类	温州蜜柑皮		大豆中氨基酸 与蛋白质的 相对含量 ^[13]
	含量	与蛋白质的 相对含量	
天门冬氨酸 Asp	0.434	12.594	11.9
谷氨酸 Glu	0.383	11.114	20.5
丝氨酸 Ser	0.255	7.399	5.5
组氨酸 His	0.092	2.669	2.5
甘氨酸 Gly	0.207	6.007	4.0
脯氨酸 Pro	0.307	8.909	5.3
丙氨酸 Ala	0.175	5.078	5.4
精氨酸 Arg	0.228	6.616	7.8
酪氨酸 Tyr	0.122	3.540	3.7
胱氨酸 Cys	0.004	0.116	1.0
* 苏氨酸 Thr	0.151	4.382	3.7
* 缬氨酸 Val	0.320	9.286	4.8
* 蛋氨酸 Met	0.00002	0.0006	1.1
* 苯丙氨酸 Phe	0.185	5.369	3.9
* 异亮氨酸 Ile	0.156	4.527	4.9
* 亮氨酸 Leu	0.220	6.384	7.7
* 赖氨酸 Lys	0.207	6.007	6.1
必需氨基酸总量	1.239	35.956	39.4

注:*表示必需氨基酸。

2.2 脂肪酸萃取结果和分析

由图1可知分离效果较好。采用不做校正的峰面积归一化法得出各组分的相对含量,各色谱峰相应的质谱图检索采用NIST标准谱库进行检索,并逐个解析各峰相应的质谱图,定性定量结果见表2。

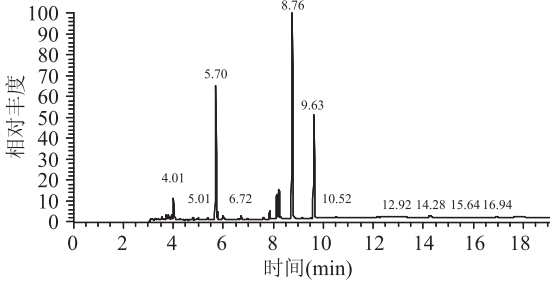


图1 温州蜜柑皮中脂肪酸组成的总离子图
Fig.1 Total ion current chromatograph of fatty acid compounds in satsuma orange peel by GC-MS

由表2可知,从温州蜜柑皮乙醚萃取物中鉴定出11种脂肪酸,占萃取物总量的92.26%。其中饱和脂肪酸6种,占挥发物总量的26.06%,主要是十六烷酸19.75%、十四烷酸3.06%、十八烷酸1.35%。不饱和脂肪酸5种,占挥发物总量的66.20%,主要是9,12-十八碳二烯酸(亚油酸)37.14%、亚麻酸19.06%、10-十八烷烯酸5.08%、(Z)-9-十八烷烯酸4.29%。

亚油酸和亚麻酸在体内不能合成,并且在体内通过失饱和和加长能转变为花生四烯酸(AA,20:4 ω-6)、二十碳五烯酸(EPA,20:5 ω-3)和二十二碳六

表2 柑橘皮油的脂肪酸组成和相对含量

Table 2 The composition and relative content of fatty acid in satsuma orange peel essential oil

实验号	保留时间 (min)	化合物名称	英文名称	分子式	分子量	相对含量 (%)
1	4.01	十四烷酸	Tetradecane acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	3.06
2	4.79	甲基十五烷酸	Methyl pentadecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.69
3	5.70	十六烷酸	Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	19.75
4	5.99	9-十六烯酸	9-Hexadecenoic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	0.63
5	6.72	十七烷酸	Heptadecanoic acid	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.58
6	7.86	十八烷酸	Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	1.35
7	8.15	(Z)-9-十八烷烯酸	(Z)-9-Octadecenoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	4.29
8	8.24	10-十八烷烯酸	10-Octadecenoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	5.08
9	8.76	9,12-十八碳二烯酸(亚油酸)	9,12-octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	37.14
10	9.63	亚麻酸	Linolenic acid	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	19.06
11	14.28	二十二烷酸	Docosanoic acid	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	0.63

烯酸(DHA,22:6 ω -3),同时亚油酸也是生物活性物质二十酸 Eicosanoids 的前体^[14]。Burr 实验发现必需脂肪酸(ω -6 和 ω -3 脂肪酸)的缺失将引起生长趋缓、皮炎^[15],而补充亚油酸和亚麻酸则可预防及改变上述症状^[16]。另外,亚油酸和亚麻酸在防治心血管疾病、高血压、风湿性关节炎、哮喘、过敏症和抑制肿瘤生长等方面也具有一定的功效^[17-18]。因此,可以说温州蜜柑精油具有一定的开发补充 ω -3 脂肪酸产品的应用前景。

3 结论

温州蜜柑皮中蛋白质百分含量为 3.446% (干物质),其中必需氨基酸含量 1.239%,蛋白质中必需氨基酸占 35.956%,略小于大豆分离蛋白中必需氨基酸 39.4% 的含量。蛋氨酸和胱氨酸为柑橘皮中的限制性氨基酸。

从温州蜜柑皮的乙醚萃取物中鉴定出 11 种脂肪酸,占萃取物总量的 92.26%。饱和脂肪酸 6 种,占挥发物总量的 26.06%,主要是十六烷酸 19.75%;不饱和脂肪酸 5 种,占挥发物总量的 66.20%,主要是 9,12-十八碳二烯酸(亚油酸) 37.14% 和亚麻酸 19.06%。

参考文献

- [1] 中国柑橘种植面积和产量均跃居世界第一[M/OL]. <http://www.foodmate.net/news/guonei/2008/10/125703.html>.
- [2] 单杨.中国柑橘工业的现状、发展趋势与对策[J].中国食品学报,2008,8(1):1-8.
- [3] 中华人民共和国国家统计局.中国统计年鉴[M].北京:中国统计出版社,2009.
- [4] ChongDe Sun, KunSong Chen, Yang Chen, et al. Contents and antioxidant capacity of limonin and nomilin in different tissues of citrus fruit of four cultivars during fruit growth and maturation [J]. Food Chemistry, 2005, 93(4): 599-605.
- [5] Miller E G, Porter J L, Binnie W H, et al. Further studies on the anticancer activity of citrus limonoids [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2004, 52(15): 4908-4912.
- [6] Orallo F, Camina M, Alvarez E, et al. Implication of cyclic

nucleotide phosphodiesterase inhibition in the vasorelaxant activity of the citrus-fruits flavonoid (+ or -) naringenin [J]. Planta Medica, 2005, 71(2): 99-107.

[7] Kun Gao, Anlong Xu, Krul C, et al. The major phenolic acids formed during human microbial fermentation of tea, citrus, and soy flavonoid supplements, only 3,4-dihydroxyphenylacetic acid has antiproliferative activity [J]. Journal of Nutrition, 2006, 136(1): 52-57.

[8] 苏东林, 单杨, 李高阳, 等. 酶法辅助提取柑桔皮总黄酮的工艺优化研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(4): 240-245.

[9] 谢志刚, 刘成伦. 柑橘皮的综合利用新进展[J]. 食品与机械, 2005, 21(5): 77-80.

[10] 苏东林, 单杨, 李高阳, 等. RP-HPLC 法同时测定柑桔皮中橙皮苷和柚皮苷的含量[J]. 食品工业科技, 2008, 29(6): 288-290.

[11] 李高阳, 丁霄霖. 亚麻籽挥发油化学成分的 SDE-GC/MS 分析[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(3): 104-106.

[12] Mazida M M, Salleh M M, Osman H. Analysis of volatile aroma compounds of fresh chilli (Capsicum annum) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME) [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2005(18): 427-437.

[13] Dipak K, Dev. Nitrogen extractability and buffer capacity of defatted linseed Flour [J]. Journal of Science of Food and Agriculture, 1986, 37: 199-205.

[14] Kamel B S, Kakuda Y. Technological advances in improved and alternative sources of lipids [J]. Lipids, 1991, 30: 22-44.

[15] 王映强. 亚麻子油中脂肪酸组成分析[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(3): 176-180.

[16] Burr G O, Burr M M. On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition [J]. Journal of Biology Chemistry, 1930, 86: 587-621.

[17] Weaver B J, Holub B J. Health effects and metabolism of dietary eicosapentaenoic acid [J]. Progress Food Nutrition and Science, 1988, 12: 111-150.

[18] Hammerstrom S. Leukotriene. C5: a slow reacting substance derived from eicosapentaenoic acid [J]. Journal of Biology Chemistry, 1980, 255: 7093-7094.