

## 综合利用

## 微波辅助提取核桃壳多糖及其抗氧化活性研究

汤慧民, 李茂兴

(文山学院 化学与工程学院, 云南 文山 663099)

**摘要:**采用单因素试验和正交试验对核桃壳多糖的微波辅助提取工艺进行优化, 并对其抗氧化活性进行研究。结果表明, 微波辅助提取核桃壳多糖的最优工艺条件为: 料液比 1:40, 微波提取温度 70 °C, 微波提取时间 6 min。在最优工艺条件下, 核桃壳多糖提取率为 2.24%。核桃壳多糖对羟基自由基和超氧阴离子自由基均表现出较好的清除能力, 且在一定范围内对二者的清除作用呈现良好的量效关系。

**关键词:**核桃壳; 多糖; 微波辅助提取; 抗氧化活性

中图分类号: TS229; Q53

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2018)05-0123-04

## Microwave – assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharide from walnut shell

TANG Huimin, LI Maoxing

(College of Chemistry and Engineering, Wenshan University, Wenshan 663099, Yunnan, China)

**Abstract:** The microwave – assisted extraction process and antioxidant activity of walnut shell polysaccharide were investigated. The results showed that the optimal microwave – assisted extraction conditions were obtained as follows: solid – liquid ratio 1:40, extraction temperature 70 °C and extraction time 6 min. Under these conditions, the extraction rate of walnut shell polysaccharide was 2.24%. The walnut shell polysaccharide had better scavenging activity on  $\cdot\text{OH}$  and  $\text{O}_2^- \cdot$ , and the scavenging rates showed dose – effect relationship to a certain extent.

**Key words:** walnut shell; polysaccharide; microwave – assisted extraction; antioxidant activity

核桃是世界四大干果之一。目前, 云南省核桃种植面积、产量和产值均居全国首位。《云南省木本油料产业发展规划》(2008—2020年)确定核桃产业发展目标, 到2020年全省核桃产业综合产值达1 000亿元以上<sup>[1]</sup>。核桃壳是核桃取仁后的坚硬外壳, 民间可用于治疗口腔溃疡、胃溃疡, 目前主要用作燃料或被丢弃, 不仅造成资源的极大浪费, 而且污染环境。现代研究发现核桃壳含有酚酸类、黄酮类、苷类等多种活性物质, 具有抗氧化、抗菌、降脂、抗肿瘤等作用<sup>[2]</sup>。本研究采用微波辅助法从核桃壳中提取多糖, 并优化其提取条件; 对所提取的核桃壳多

糖进行含量和抗氧化活性的测定, 为进一步实现工业化生产提供理论参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

##### 1.1.1 原料与试剂

核桃, 云南省文山州广南县薄壳核桃; 葡萄糖、无水乙醇、石油醚、浓硫酸、苯酚、95%乙醇、邻苯三酚、水杨酸、硫酸亚铁、过氧化氢、芦丁, 均为分析纯。

##### 1.1.2 仪器与设备

MDS-6型温压双控微波消解/萃取仪; FW135型高速万能粉碎机; 5000离心机; XS225A电子天平; Precisa仪器有限公司; W201D恒温水浴锅; V-1100D可见分光光度计; RE-2000A旋转蒸发器; DHG-9076A电热恒温鼓风干燥箱。

#### 1.2 试验方法

##### 1.2.1 核桃壳多糖的提取

收稿日期: 2017-07-26; 修回日期: 2017-08-10

基金项目: 2016年度文山学院科学研究基金项目(16W SY05)

作者简介: 汤慧民(1980), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为保健食品及功能食品(E-mail) tanghuimin2000@163.com。

将核桃去仁取壳后清洗,自然晾干,粉碎后过20目筛。将所得的核桃壳粉用滤纸包好,置于索氏提取器中,加入适量石油醚冷浸24 h,然后将其置于水浴中索氏提取,直到充分除去样品中脂类和脂溶性色素后,取出样品滤纸包风干至石油醚全部挥发,再将滤纸包置于60℃烘箱中烘干,得到去除色素和油脂的核桃壳干粉。称取上述核桃壳粉1 g,放入微波提取罐中,并加入一定量的蒸馏水后,进行微波辅助提取。对提取液进行离心(4℃,4 000 r/min离心5 min),取上清液加95%乙醇(1:2)沉淀多糖浓缩至1/10体积,冷冻干燥得核桃壳粗多糖<sup>[3]</sup>。

### 1.2.2 核桃壳多糖含量的测定<sup>[4]</sup>

#### 1.2.2.1 标准曲线的绘制

准确称取已干燥至恒重的葡萄糖标准品0.1 g于100 mL容量瓶中,配成1 mg/mL的葡萄糖标准液。用蒸馏水分别配成2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 μg/mL标准液。1 mL标准液分别加入5%苯酚溶液1.0 mL,并迅速加入98%浓硫酸5 mL,摇匀,静置10 min,待冷却后,置70℃水浴中加热20 min,取出冷却至室温,同时精确吸取纯化水2.0 mL,作空白对照,于490 nm测定吸光度,以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制得到葡萄糖标准曲线,求得曲线回归方程为 $y = 0.0051x + 0.0055$ ,  $r = 0.9996$ 。结果表明葡萄糖在0~10 μg/mL范围内其质量浓度与吸光度有良好的线性关系。

#### 1.2.2.2 多糖提取率的测定

准确吸取待测溶液1.0 mL,置于试管中,加入5%苯酚溶液1.0 mL,加入98%浓硫酸5 mL,摇匀,静置10 min,待试管自然冷却后,置于70℃水浴加热20 min,取出冷却至室温同时精确吸取纯化水2.0 mL,作空白对照,用分光光度计在490 nm处测定吸光度,并代入标准曲线计算样品的总糖含量。多糖提取率按下式计算:

$$\text{多糖提取率} = \frac{C \times N \times V \times 10^{-3}}{M} \times 100\%$$

式中: $C$ 为多糖的质量浓度,mg/mL; $N$ 为稀释倍数; $V$ 为提取液的定容体积,mL; $M$ 为核桃壳粉末的质量,g。

### 1.2.3 核桃壳多糖对羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )的清除能力测定

采用水杨酸法<sup>[5]</sup>测定羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )的清除率,有所改动。在5支试管中,分别加入1.0 mL质量浓度为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg/mL的核桃壳多糖溶液,然后各加入9 mmol/L的硫酸亚铁溶液

和9 mmol/L的水杨酸-乙醇溶液2.0 mL,再加入8.8 mmol/L的过氧化氢溶液2.0 mL,最后用蒸馏水定容至10 mL,在37℃水浴中反应35 min后,在510 nm处分别测定吸光度,用蒸馏水作空白对照。同时,以芦丁作阳性对照,根据测定结果按下式计算核桃壳多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率。

$$\cdot\text{OH} \text{ 的清除率} = (A_0 - A_x) / A_0 \times 100\%$$

式中: $A_0$ 为空白对照的吸光度; $A_x$ 为加入抗氧化剂体系的吸光度。

### 1.2.4 核桃壳多糖对超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )的清除能力测定

采用邻苯三酚自氧化法<sup>[6]</sup>,有所改动。在试管中依次加入50 mmol/L Tris-HCl溶液(pH 8.2)4.5 mL,在25℃水浴中预热20 min后,加入2.5 mmol/L邻苯三酚0.4 mL,混匀后,在4 min内于325 nm波长下每隔30 s测1次溶液吸光度,用蒸馏水作空白对照。计算邻苯三酚的吸光度随时间的变化率( $F_0$ )。

依照上述方法,在5支试管中分别加入质量浓度为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg/mL的核桃壳多糖溶液1.0 mL,再依次加入4.50 mL Tris-HCl溶液(pH 8.2)、3.5 mL的蒸馏水,混匀后,在25℃水浴中恒温预热25 min后,加入2.5 mmol/L邻苯三酚溶液0.4 mL,混匀后,在4 min内于325 nm波长下每隔30 s测1次溶液吸光度。计算溶液的吸光度随时间的变化率( $F_x$ )。同时,以芦丁作阳性对照,根据测定结果按下式计算多糖提取液对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除率。

$$\text{O}_2^{\cdot-} \text{ 的清除率} = (F_0 - F_x) / F_x \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 核桃壳多糖提取的单因素试验

#### 2.1.1 微波提取温度对核桃壳多糖提取率的影响

在料液比1:40、微波提取时间6 min条件下,考察微波提取温度对多糖提取率的影响。结果见图1。

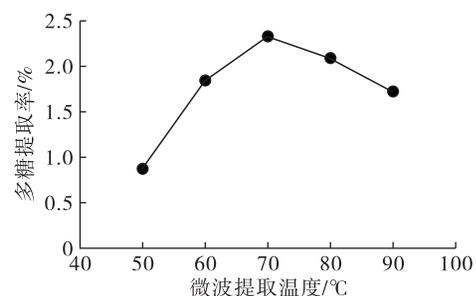


图1 微波提取温度对核桃壳多糖提取率的影响

由图1可以看出,随着提取温度的升高,核桃壳多糖的提取率增加,超过70℃后开始呈下降趋势。

出现这种现象的原因可能是在微波提取时间不变的情况下,随着微波提取温度的升高,物料吸收的热能随之增加,并且有效促进核桃壳细胞的破碎,核桃壳多糖溶出增加;但是当微波提取温度升高到一定水平后,会使多糖降解,导致多糖提取率下降<sup>[7]</sup>。所以70℃为适宜的微波提取温度。

### 2.1.2 微波提取时间对核桃壳多糖提取率的影响

在微波提取温度70℃、料液比1:40条件下,考察微波提取时间对多糖提取率的影响。结果见图2。

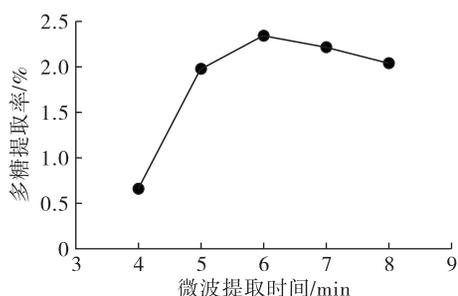


图2 微波提取时间对核桃壳多糖提取率的影响

由图2可以看出,多糖提取率随着微波提取时间的延长而逐渐增大,6 min时,多糖提取率最大,之后再延长微波提取时间,多糖提取率反而缓慢下降。原因可能是由于随着微波提取时间的延长,微波对植物细胞壁及细胞膜的破坏作用加大,从而导致细胞内物质大量溶出,多糖提取率提高;但微波提取时间过长,微波能对细胞破碎程度越来越大,细胞中其他杂质也会溶出,多糖提取率就会受到影响反而下降<sup>[8]</sup>。因此,适宜的微波提取时间为6 min。

### 2.1.3 料液比对核桃壳多糖提取率的影响

在微波提取温度70℃、微波提取时间6 min条件下,考察料液比对多糖提取率的影响。结果见图3。

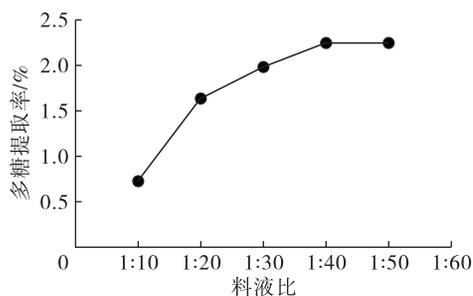


图3 料液比对核桃壳多糖提取率的影响

由图3可知,随着料液比的增大,多糖提取率逐渐增大,当料液比增加到1:40后,随着料液比的增加,多糖提取率几乎不变。出现这种情况的原因可能是对于一定量的核桃壳粉末,溶剂用量的增加可以增加固液接触面积和质量浓度差,有利于扩散速度的提高。但随着料液比的继续增大,核桃壳多糖

基本被全部提出,多糖提取率趋于平缓,且过多使用溶剂会造成浪费<sup>[9]</sup>。所以,适宜的料液比为1:40。

## 2.2 正交试验

通过单因素试验确定以料液比、微波提取温度、微波提取时间作为影响核桃壳多糖提取率的主要因素,以多糖提取率为指标,设计正交试验优化提取条件,正交试验的因素和水平见表1,正交试验设计及结果见表2。

表1 正交试验因素和水平

水平	A 料液比	B 微波提取时间/min	C 微波提取温度/℃
1	1:30	5	60
2	1:40	6	70
3	1:50	7	80

表2 正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	多糖提取率/%
1	1	1	1	1.69
2	1	2	2	1.94
3	1	3	3	1.75
4	2	1	2	2.21
5	2	2	3	2.22
6	2	3	1	2.13
7	3	1	3	1.58
8	3	2	1	2.11
9	3	3	2	1.87
$k_1$	1.79	1.82	1.98	
$k_2$	2.19	2.09	2.01	
$k_3$	1.85	1.92	1.85	
R	0.40	0.27	0.16	

由表2可知,影响核桃壳多糖提取率的主次顺序为A(料液比) > B(微波提取时间) > C(微波提取温度)。最优微波提取工艺组合为 $A_2B_2C_2$ ,即料液比1:40,微波提取时间6 min,微波提取温度70℃。在最优工艺条件下进行验证性试验,平行测定4次,测得核桃壳多糖提取率分别为2.20%、2.28%、2.23%、2.26%,平均值为2.24%,RSD为1.56%。

## 2.3 核桃壳多糖抗氧化活性分析

### 2.3.1 清除·OH的能力(见图4)

由图4可见,核桃壳多糖对·OH具有清除作用,且随核桃壳多糖质量浓度的增加,其·OH清除能力逐步增强,在核桃壳多糖质量浓度为0.5 mg/mL时,清除·OH的效果大于芦丁,当核桃壳多糖质量浓度达到2.5 mg/mL时,核桃壳多糖的·OH清除率达到63.47%,表明核桃壳多糖具有较强的清除·OH的能力。

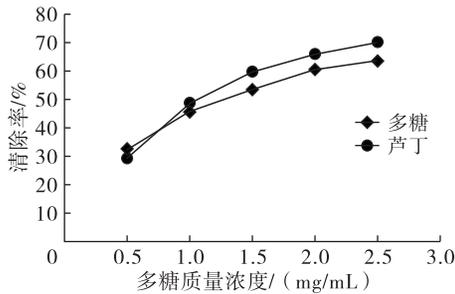


图4 核桃壳多糖对·OH的清除能力

### 2.3.2 清除 $O_2^- \cdot$ 的能力(见图5)

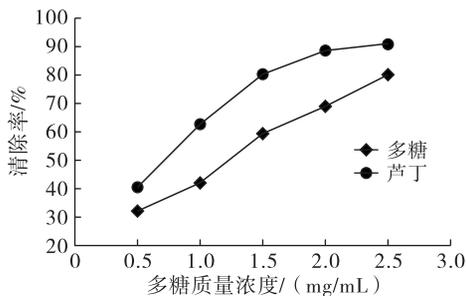


图5 核桃壳多糖对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力

由图5可见,核桃壳多糖对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力低于芦丁,但随质量浓度的增加其 $O_2^- \cdot$ 清除能力逐渐增强。当质量浓度为2.5 mg/mL时,核桃壳多糖的 $O_2^- \cdot$ 清除率高达79.74%,说明核桃壳多糖对 $O_2^- \cdot$ 有较强的清除能力。

### 3 结论

采用单因素试验和正交试验得到微波辅助提取核桃壳多糖的最优工艺条件为料液比1:40、微波提

取时间6 min、微波提取温度70℃,在此工艺条件下,核桃壳多糖提取率为2.24%。核桃壳多糖对·OH和 $O_2^- \cdot$ 均具有较强的清除作用,在质量浓度为2.5 mg/mL时,对两者的清除率分别达到63.47%、79.74%,表明核桃壳多糖具有良好的抗氧化活性。

### 参考文献:

- [1] 杨劼. 大力推进云南核桃产业转型升级[J]. 云南林业, 2014(4):26-27.
- [2] 张旭,梁杏,陈朝银,等. 核桃壳的化学成分及其功能活性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(14): 143-147.
- [3] 王章姐. 榴莲壳多糖微波提取及脱蛋白方法[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(12):7417-7419.
- [4] 周萍,罗延梦,马媛,等. 核桃壳多糖的含量测定[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(25):12654-12655.
- [5] 张伟丰,王亮. 苦瓜多糖微波辅助提取工艺及其抗氧化活性[J]. 常熟理工学院学报(自然科学版), 2015, 29(4):25-29.
- [6] 陈义勇,冯燕红. 微波辅助提取银杏叶多糖工艺及其体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(6):24-28.
- [7] 杨恒拓,余凡,葛亚龙,等. 苜蓿多糖的微波提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业, 2013, 34(2):120-122.
- [8] 王娅玲,李维峰,郭芬,等. 微波辅助提取菱红菇多糖及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(9): 251-254.
- [9] 杨申明,范树国,文美琼,等. 微波辅助提取澳洲坚果壳多糖的工艺优化及抗氧化性评价[J]. 食品科学, 2016, 37(10):17-22.

·广告·

## 上海久星导热油股份有限公司

上海股权托管交易中心挂牌 简称:久星股份 代码:E100341



久星导热油 导热永长久

二苄基甲苯化学合成导热油(沸点392℃)	Y-QQL第二代强力型清洗剂
单苄基化学合成导热油(纯度99%)	Y-XNJ导热油修复剂(黏度)
L-QC320合成导热油	LYM-225合成高温链条油
L-QC310导热油	LHM32、LHM46、LHM68抗磨液液压油
Y-QZX导热油在线清洗剂	C101合成电力电容器油

地址:上海茂兴路86号22D  
 总机:021-58708588  
 热线:4008-810-018  
 13331833379  
 网址:www.9xchem.com  
 邮编:200127



久星官方微信 久星官方网站