

9-11-2024

Optimization of ultrasound assisted acid extraction of pectin from walnut green husk and analysis of its in vitro lipid-lowering and antioxidant activities

LU Jing

School of Food Science and Engineering, Xinyang College of Agriculture and Forestry, Xinyang, Henan 464000, China; Henan Province Dabie Mountain Characteristic Food Resources Comprehensive Utilization Engineering Technology Research Center, Xinyang, Henan 464000, China

YANG Jieru

School of Food Science and Engineering, Xinyang College of Agriculture and Forestry, Xinyang, Henan 464000, China; Henan Province Dabie Mountain Characteristic Food Resources Comprehensive Utilization Engineering Technology Research Center, Xinyang, Henan 464000, China

ZHU Jing

School of Food Science and Engineering, Xinyang College of Agriculture and Forestry, Xinyang, Henan 464000, China; Henan Province Dabie Mountain Characteristic Food Resources Comprehensive Utilization Engineering Technology Research Center, Xinyang, Henan 464000, China, zhujingcy@163.com

See next page for additional authors

Follow this and additional works at: <https://www.ifoodmm.cn/journal>

Recommended Citation

Jing, LU; Jieru, YANG; Jing, ZHU; Qian, LI; and Lingbo, WEI (2024) "Optimization of ultrasound assisted acid extraction of pectin from walnut green husk and analysis of its in vitro lipid-lowering and antioxidant activities," *Food and Machinery*: Vol. 40: Iss. 7, Article 23.

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80069

Available at: <https://www.ifoodmm.cn/journal/vol40/iss7/23>

This Nutrition & Activity is brought to you for free and open access by Food and Machinery. It has been accepted for inclusion in Food and Machinery by an authorized editor of Food and Machinery.

Optimization of ultrasound assisted acid extraction of pectin from walnut green husk and analysis of its in vitro lipid-lowering and antioxidant activities

Authors

LU Jing, YANG Jieru, ZHU Jing, LI Qian, and WEI Lingbo

核桃青皮果胶提取工艺优化及其体外 降脂、抗氧化活性分析

Optimization of ultrasound assisted acid extraction of pectin from walnut green husk and analysis of its in vitro lipid-lowering and antioxidant activities

吕 静^{1,2} 杨洁茹^{1,2} 朱 静^{1,2} 李 迁^{1,2} 魏凌波^{1,2}
LU Jing^{1,2} YANG Jieru^{1,2} ZHU Jing^{1,2} LI Qian^{1,2} WEI Lingbo^{1,2}

(1. 信阳农林学院食品科学与工程学院,河南 信阳 464000;

2. 河南省大别山特色食物资源综合利用工程技术研究中心,河南 信阳 464000)

(1. School of Food Science and Engineering, Xinyang College of Agriculture and Forestry, Xinyang, Henan 464000, China; 2. Henan Province Dabie Mountain Characteristic Food Resources Comprehensive Utilization Engineering Technology Research Center, Xinyang, Henan 464000, China)

摘要:[目的]实现核桃生产废弃物的高附加值资源化利用。[方法]采用超声波辅助酒石酸提取核桃青皮中的果胶,通过响应面试验优化提取工艺,并分析其降脂能力和抗氧化活性。[结果]在超声功率 300 W,超声温度 95 °C,超声时间 27 min,液料比 19 : 1 (mL/g),pH 值 2 的条件下,核桃青皮果胶得率最高,达 25.92 mg/g。核桃青皮果胶对胆固醇的吸附能力、胆酸盐的结合能力和胰脂肪酶的抑制效果均较佳。核桃青皮果胶的抗氧化能力也较强,当样品质量浓度为 2 mg/mL 时,其对羟自由基、DPPH 自由基、ABTS 自由基的清除率分别可达(78.74 ± 0.58)%,(91.56 ± 1.27)%,(97.89 ± 0.72)%。[结论]通过优化后的超声波辅助酒石酸提取工艺可获得高质量的核桃青皮果胶,该果胶具有较好的降脂功能和抗氧化活性,可作为天然果胶资源深入研究开发。

关键词:核桃青皮;果胶;超声波辅助提取;抗氧化活性;降脂能力

Abstract: [Objective] This study aimed to realize the high value-added resource utilization of walnut production waste. [Methods] Ultrasonic assisted tartaric acid was used to extract pectin from walnut peel. The extraction process was optimized by response

surface test, and its lipid-lowering ability and antioxidant activity were analyzed. [Results] Under the control of the conditions of ultrasonic power of 300 W, ultrasonic temperature of 95 °C, ultrasonic time of 27 minutes, liquid to material ratio of 19 : 1 (mL/g), and pH of 2, the yield of walnut green peel pectin was the highest, reaching 25.92 mg/g. Walnut green peel pectin had good adsorption capacity for cholesterol, binding capacity for bile salts, and inhibitory effect on pancreatic lipase. Walnut green peel pectin also had strong antioxidant effects. When the concentration was 2 mg/mL, the clearance rates of hydroxyl radicals, DPPH radicals, and ABTS radicals reached (78.74 ± 0.58)%, (91.56 ± 1.27)%, and (97.89 ± 0.72)%, respectively. [Conclusion] High-quality walnut green peel pectin could be obtained by optimizing the ultrasonic assisted tartaric acid extraction process. This pectin had good lipid-lowering function and antioxidant activity, and can be used as natural pectin resources for further research and development.

Keywords: walnut green husk; pectin; ultrasonic assisted extraction; antioxidant activity; lipid-lowering capacity

基金项目:河南省科技攻关项目(编号:242102110090);信阳农林学院青年教师科研基金资助项目(编号:QN2023033);信阳农林学院科技创新团队(编号:XNKJTD-001)

作者简介:吕静,女,信阳农林学院讲师,硕士。

通信作者:朱静(1983—),女,信阳农林学院副教授,博士。

E-mail: zhujingey@163.com

收稿日期:2024-01-19 **改回日期:**2024-06-27

核桃青皮是核桃未成熟果实的绿色外果皮,又名“青龙衣”,在不同核桃品种中约占果实重量的 45% ~ 60%^[1]。核桃青皮中含有多种活性物质,现有研究主要集中在从核桃青皮中提取胡桃醌、多酚类、色素等物质,以及评估核桃青皮提取物的抑菌、抗氧化、抗癌、抗肿瘤活性^[2]。核桃青皮干样中果胶含量为 126.14 mg/g^[3]。果胶在食品中可作为增稠剂、稳定剂、乳化剂,果胶基薄

膜和涂层可用于食品防腐保鲜,果胶还具有加快胆固醇代谢、抗肿瘤、抗氧化、降血糖、增强肠道健康等多种生理功能^[4]。市场上的果胶大多来源于苹果渣、柑橘皮及石榴皮等^[5],不同来源的果胶的理化性质和功能活性也有所差异,为满足果胶市场多种需求,有必要寻找其他廉价的新来源,如核桃青皮。

目前,提取果胶的方法主要有超声波法、微波法、酸法和酶法^[6]。酸提取法提取的果胶品质好,但是工艺复杂、耗时长^[7]。目前的酸法萃取大多是以盐酸等无机酸为主要提取溶剂,容易对环境造成不良影响,且得到的果胶酯化度较低。超声波提取法可以利用其空化效应对组织细胞壁进行破坏,加速物质扩散,促进果胶迅速溶解,提高果胶得率^[8]。超声波辅助酸法提取果胶具有操作简单、成本低、耗时短、提取率高等优点^[9]。

研究拟以大别山核桃青皮为原料,采用超声波辅助有机酸提取法提取果胶,通过单因素试验和 Box-Behnken 试验确定最佳提取工艺,并对其降脂能力和抗氧化活性进行检测,旨在获得一种廉价来源的果胶,为核桃青皮的综合利用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与试剂

核桃青皮:市售;

草酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸:分析纯,郑州派尼化学试剂厂;

D-半乳糖醛酸、牛磺胆酸钠、甘氨酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、考来烯胺、猪胰脂肪酶:分析纯,上海源叶生物科技有限公司;

抗坏血酸、二苯基-1-苦味胍基自由基、2,2-联氮-(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐、过硫酸钾:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 主要仪器与设备

超声波细胞破碎仪:scientz-IIID 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

鼓风干燥箱:FD-1A-80 型,北京科伟永兴仪器有限公司;

电热恒温水浴锅:DZKW-0-2 型,北京市永光明医疗仪器有限公司;

低温超速离心机:Optima XPN-100 型,美国 BECKMAN 公司;

紫外分光光度计:A390 型,翱艺仪器(上海)有限公司;

数显气浴恒温振荡器:THZ-92B 型,常州普天仪器制造有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 核桃青皮预处理 参照洪晶阳^[10]的方法略作修改。核桃青皮于 60 ℃ 烘干 24 h,粉碎,过 120 目筛备用。

1.3.2 果胶得率测定 根据 NY 82.11—1988。样品液以 4 000 r/min 离心 20 min,过滤后进行测定,得到半乳糖醛酸标准曲线方程为 $y=0.008 1x+0.004 8$, $R^2=0.999 4$ 。按式(1)计算样品中果胶得率。

$$R = \frac{CV}{1\ 000M}, \quad (1)$$

式中:

R ——果胶得率,mg/g;

C ——按标准曲线获取的果胶质量浓度, $\mu\text{g/L}$;

V ——提取液总体积,mL;

M ——样品质量,g。

1.3.3 有机酸提取单因素试验 在 pH 值 2.0,超声温度 85 ℃,超声功率 300 W,超声时间 25 min,液料比 20 : 1 (mL/g)的条件下,分别采用柠檬酸、酒石酸、草酸、苹果酸处理核桃青皮,分析 4 种有机酸对核桃青皮果胶得率的影响。

1.3.4 超声波辅助提取单因素试验 参照祝方清等^[9]的方法略作修改。预设 pH 值 2,液料比 20 : 1 (mL/g),温度 85 ℃,时间 25 min,超声功率 300 W,采用超声辅助有机酸提取核桃青皮果胶。将提取液进行浓缩,加入 2 份 95%乙醇混合,沉淀 1.5 h,用 95%乙醇清洗 2~3 次,以去除色素和其他杂质,50 ℃干燥,即得核桃青皮果胶。分别考察液料比 [10 : 1, 15 : 1, 20 : 1, 25 : 1, 30 : 1 (mL/g)],超声功率 (200, 250, 300, 350, 400 W)、超声时间 (15, 20, 25, 30, 35 min) 和超声温度 (75, 80, 85, 90, 95 ℃) 对核桃青皮果胶得率的影响。

1.3.5 响应面试验设计 通过单因素试验,以果胶得率为评价指标,选择超声时间、超声温度和液料比为自变量,以果胶得率为响应值,根据 Box-Behnken 试验确定最佳工艺条件。

1.3.6 果胶理化指标测定

(1) 感官评定和酸不溶灰分:按 GB 25533—2010 执行。

(2) 二氧化硫含量:按 GB 5009.34—2016 执行。

(3) 水分:按 GB 5009.3—2016 执行。

(4) 酯化度:参照辛明等^[7]的方法。

1.3.7 核桃青皮果胶降脂能力测定

(1) 胆固醇的吸附能力:参照钟希琼等^[11]的方法稍作修改。将鸡蛋黄与蒸馏水按 $m_{\text{鸡蛋黄}} : m_{\text{蒸馏水}}$ 为 1 : 9 混匀,反应体系乳浊液体积为 20 mL;样品质量浓度分别为 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/mL。取 0.4 mL 上清液,采用邻苯二甲醛法^[12]测定胆固醇含量,胆固醇标准曲线为 $y=1.309 2x+0.094 6$, $R^2=0.993 4$ 。按式(2)计算胆固醇吸附量。

$$A = \frac{m_0 - m_1}{M}, \quad (2)$$

式中:

A ——胆固醇吸附量,mg/g;

m_0 ——空白试验中胆固醇质量,mg;

m_1 ——试验组中胆固醇质量,mg;

M ——果胶质量,g。

(2) 胆酸盐结合能力:参照 Nagaoka 等^[12-13]的方法稍作修改。样品质量浓度分别为 0,1,2,3,4,5 mg/mL,以考来烯胺为阳性对照,绘制牛磺胆酸钠标准曲线为 $y = 2.8015x - 0.01663$, $R^2 = 0.9913$; 甘氨酸胆酸钠标准曲线为 $y = 2.5535x + 0.0246$, $R^2 = 0.9912$ 。按式(3)计算胆酸盐结合量。

$$W = \frac{(c_1 - c_2) \times V}{m}, \quad (3)$$

式中:

W ——胆酸盐结合量, $\mu\text{mol}/100\text{mg}$;

c_1 ——空白组上清液中胆酸盐浓度, $\mu\text{mol}/\text{mL}$;

c_2 ——试验组上清液胆酸盐浓度, $\mu\text{mol}/\text{mL}$;

V ——溶液体积,mL;

m ——样品质量,mg。

(3) 胰脂肪酶抑制率:根据文献^[14-15]稍作修改。按表 1 分别测定质量浓度为 0,4,8,12,16,20 mg/mL 的核桃青皮果胶对胰脂肪酶的抑制率。

表 1 胰脂肪酶活性抑制体系

Table 1 Pancreatic lipase activity inhibition system

| 组别 | PBS 缓冲液 | 玉米油 | 抑制剂 | 酶液 |
|-------|---------|-----|-----|-----|
| 空白管 | 5.0 | 4.0 | 0.0 | 1.0 |
| 空白对照管 | 5.0 | 4.0 | 0.0 | 0.0 |
| 抑制剂管 | 5.0 | 4.0 | 1.0 | 1.0 |
| 背景对照管 | 5.0 | 4.0 | 1.0 | 0.0 |

以考来烯胺为阳性对照,按式(4)计算胰脂肪酶抑制率。

$$F = 100 \times \frac{A - B - (C - D)}{A - B}, \quad (4)$$

式中:

F ——胰脂肪酶抑制率,%;

A ——样品管消耗 NaOH 溶液的量,mL;

B ——背景对照管消耗 NaOH 溶液的量,mL;

C ——空白管消耗 NaOH 溶液的量,mL;

D ——空白对照管消耗 NaOH 溶液的量,mL。

1.3.8 核桃青皮抗氧化能力测定 采用去离子水将核桃青皮果胶配制成不同质量浓度(0.4,0.8,1.2,1.6,2.0 mg/mL)的样品溶液,以抗坏血酸溶液为阳性对照,去离子水为空白对照。

(1) 羟自由基清除能力:参照杨红等^[16]的方法。

(2) DPPH 自由基清除能力:参照孟凡磊等^[17]的方法。

(3) ABTS 自由基清除能力:参照邱梦瑜等^[18]的方法。

1.4 数据统计与分析

所有数据均重复 3 次,采用 Excel 2016、SPSS 21.0 软件进行数据分析,Origin Pro 9.6 作图,采用 LSD 检验和 Duncan's 检验法进行数据显著性分析。

2 结果与分析

2.1 有机酸单因素试验

由图 1 可知,相同条件下,酒石酸的果胶得率显著高于草酸、柠檬酸和苹果酸($P < 0.01$),可达 (15.56 ± 0.29) mg/g。李晓娇等^[19]采用酒石酸提取咖啡中的果胶提取率达 20.17%。相同 pH 值下,草酸的酸性大于酒石酸的, H^+ 浓度过高可以使果胶裂解并脱除酯基^[20]。因此,果胶在 pH 值过小的环境中,得率也较低,且草酸提取的果胶成品颜色要深于酒石酸提取的,可能是原果胶水解过度,致使果胶脱去酯基和裂解,产品颜色加深,不能满足要求。

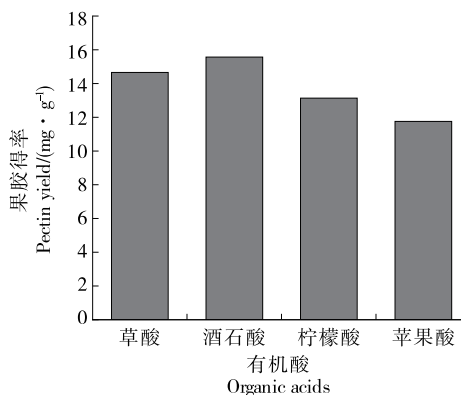


图 1 有机酸对果胶得率的影响

Figure 1 Effects of organic acids on pectin yield

2.2 超声波辅助提取单因素试验

由图 2(a)可知,果胶得率随物料添加量的增加先上升,此时由于细胞外渗透压力变小,果胶更容易溶出。当液料比 $< 15:1$ (mL/g) 时,果胶得率较低,这是因为此时料液变得黏稠,分离困难,果胶滞留在渣体中,同时醇沉会降低分离的果胶中半乳糖醛酸含量,使果胶转化效率下降^[21]。因此,优选的液料比为 $15:1 \sim 20:1$ (mL/g)。由图 2(b)可知,果胶得率随超声功率的增加先上升后下降,但不显著。由图 2(c)可知,随着超声时间的增加,果胶得率先增加后降低趋势。持续超声过长时间,在温度和超声波的双重作用下,部分果胶会发生降解,果胶得率降低^[22]。为了节省时间和费用,最佳超声时间为 25~35 min。由图 2(d)可知,当超声温度为 75~85 °C 时,果胶得率随超声温度的升高而升高;当超声温度为 85~90 °C 时,果胶得率增长缓慢。这是由于温度越高,水溶性

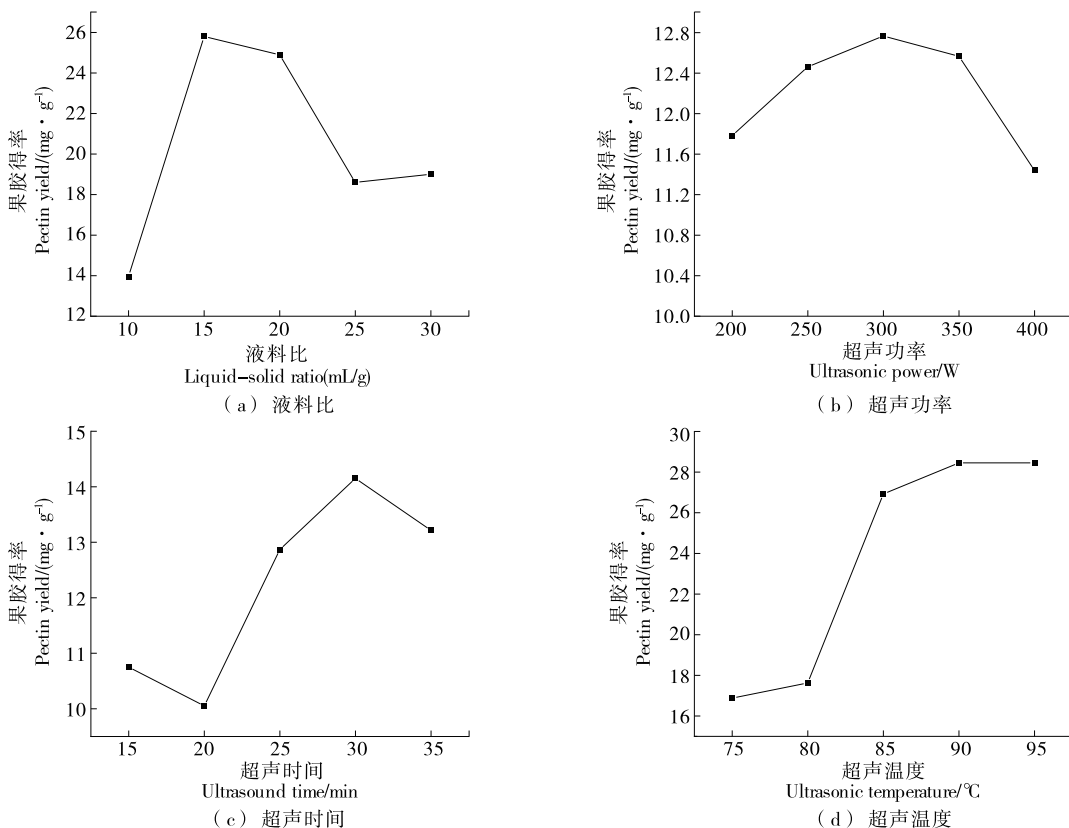


图 2 各因素对果胶得率的影响

Figure 2 The influence of different factors on the yield of pectin

越强,分子移动越快,果胶得率越大。超声温度过高,果胶分子结构容易被破坏,导致得率降低^[10]。故选用 85~95 °C 为最佳超声温度。

2.3 超声波辅助提取响应面试验

根据单因素试验结果,在 pH 值为 2.0,超声功率为 300 W 条件下,选择超声时间、超声温度和液料比 3 个因素,以果胶得率为响应值,利用 Design-Expert.V8.0.6.1 进行三因素三水平响应面试验设计。试验因素水平见表 2,试验设计及结果见表 3。

通过回归分析,得到果胶得率的三元二次回归方程为:

$$Y = 23.75 - 1.02A + 1.65B + 1.06C - 0.79AB - 1.11AC + 0.38BC - 2.34A^2 - 0.35B^2 - 0.71C^2 \quad (5)$$

由表 4 可知,模型 F 值为 28.35 (P < 0.01), 极显著;

表 2 响应面试验因素水平设计

Table 2 Response surface test factors and horizontal design

| 水平 | A 超声时间/min | B 超声温度/°C | C 液料比(mL/g) |
|----|------------|-----------|-------------|
| -1 | 25 | 85 | 10 : 1 |
| 0 | 30 | 90 | 15 : 1 |
| 1 | 35 | 95 | 20 : 1 |

表 3 响应面试验设计结果

Table 3 Response surface test design results

| 试验号 | A | B | C | 果胶得率/(mg · g ⁻¹) |
|-----|----|----|----|------------------------------|
| 1 | 0 | -1 | -1 | 20.499 6 |
| 2 | 1 | -1 | 0 | 19.095 1 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 22.842 0 |
| 4 | -1 | 1 | 0 | 24.619 8 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 23.800 8 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 24.311 1 |
| 7 | 1 | 0 | 1 | 19.482 0 |
| 8 | 0 | -1 | 1 | 21.982 5 |
| 9 | -1 | -1 | 0 | 19.375 9 |
| 10 | 1 | 1 | 0 | 21.191 8 |
| 11 | -1 | 0 | 1 | 23.916 9 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 23.434 6 |
| 13 | 1 | 0 | -1 | 19.724 6 |
| 14 | -1 | 0 | -1 | 19.705 3 |
| 15 | 0 | 1 | 1 | 25.660 4 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 24.385 2 |
| 17 | 0 | 1 | -1 | 22.646 4 |

复相关系数 $R^2 = 0.9733$, 校正系数 $R^2_{Adj} = 0.9906$, 模型失拟项 $P = 0.8172 > 0.05$ 不显著, 说明回归方程与检验的结果是一致的。其中, 一次项 A、B、C, 交互项 AC 和二次项 A^2 为极显著, 交互项 AB 和二次项 C^2 为显著。影响果胶得率的顺序为超声时间 > 超声温度 > 液料比。

通过响应面曲面的陡缓变化情况和等高线的形状及稀疏程度可反映各因素对总得率的影响以及交互作用, 响应面越陡峭、等高线越密集, 对总得率的影响越显著^[23]。由图 3(a)和图 3(b)可知, 同一超声时间下, 随着超声温度的升高, 果胶得率增大; 同一超声温度下, 随着超声波作用时间的延长, 果胶得率呈先升高后下降趋势, 等高线曲线呈明显椭圆曲线, 说明超声时间和超声温度对果胶得率的影响具有明显的交互效应, 与回归模型方差分析结果相吻合。由图 3(c)和图 3(d)可知, 果胶得率随超声时间和液料比的变化而发生明显改变, 响应面较陡峭。超声时间不变, 果胶得率随液料比的升高而增大; 液料比不变时, 果胶得率随超声时间的延长呈先升后降的趋势, 等高线曲线呈明显椭圆曲线, 超声时间和液体比对果胶产量的影响有明显的交互效应, 且与方差分析相吻合。由图 3(e)和图 3(f)可知, 响应面较平滑, 等高线曲线近似于圆形, 二者交互作用并不明显, 与方差分析结果一致。

采用 Design-Expert V8.0.6.1 对所选因素范围进行分析, 结果显示: 超声辅助酒石酸法提取果胶的最优工艺参数为超声温度 94.83 °C, 超声时间 27.28 min, 液料比

表 4 响应面二次模型的方差分析[†]

Table 4 Analysis of variance of response surface quadratic model

| 来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | P 值 | 显著性 |
|-------|-------|-----|-------|-------|----------|-----|
| 模型 | 73.96 | 9 | 8.22 | 28.35 | 0.000 1 | ** |
| A | 8.25 | 1 | 8.25 | 28.46 | 0.001 1 | ** |
| B | 21.67 | 1 | 21.67 | 74.74 | <0.000 1 | ** |
| C | 8.96 | 1 | 8.96 | 30.90 | 0.000 9 | ** |
| AB | 2.48 | 1 | 2.48 | 8.54 | 0.022 3 | * |
| AC | 4.96 | 1 | 4.96 | 17.11 | 0.004 4 | ** |
| BC | 0.59 | 1 | 0.59 | 2.02 | 0.198 1 | |
| A^2 | 23.00 | 1 | 23.00 | 79.33 | <0.000 1 | ** |
| B^2 | 0.51 | 1 | 0.51 | 1.75 | 0.227 5 | |
| C^2 | 2.13 | 1 | 2.13 | 7.33 | 0.030 3 | * |
| 残差 | 2.03 | 7 | 0.29 | | | |
| 失拟项 | 0.38 | 3 | 0.13 | 0.31 | 0.817 2 | |
| 纯误差 | 1.64 | 4 | 0.41 | | | |
| 总和 | 75.99 | 16 | | | | |

[†] ** 为极显著 ($P < 0.01$); * 为显著 ($P < 0.05$); $R^2 = 0.9733$, $R^2_{Adj} = 0.9906$; $CV = 0.89\%$ 。

19.13 : 1 (mL/g), 该工艺参数下的果胶得率为 26.49 mg/g。根据实际情况进行调整: 最佳超声辅助酒石酸法提取果胶的工艺条件为超声温度 95 °C, 超声时间 27 min, 液料比 19 : 1 (mL/g), 此时果胶得率为 25.92 mg/g, 与预测值的偏差为 2.17%, 说明所建立的模型符合实际,

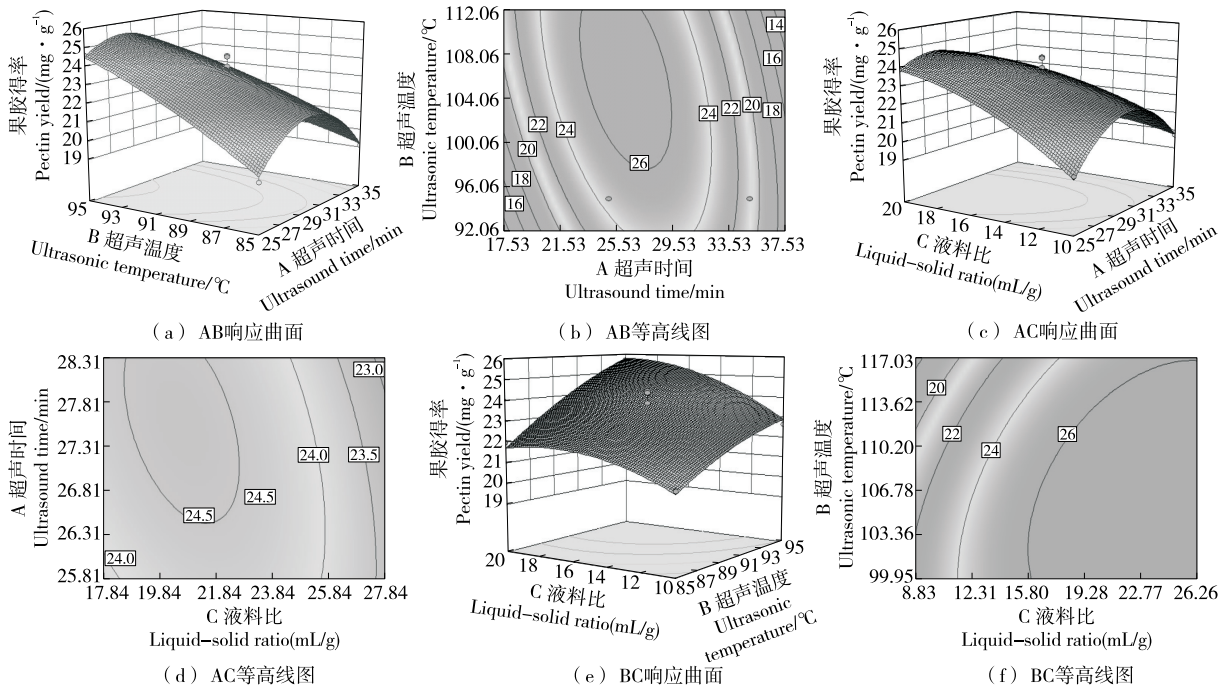


图 3 两因素交互作用的响应曲面及等高线图

Figure 3 Response surface and contour lines of the interaction between two factors

具有实际意义。

2.4 核桃青皮果胶的理化性质

根据 GB 25533—2010 的要求对工艺优化后提取的核桃青皮果胶理化指标进行检测,结果显示均符合国标要求。由表 5 可知,采用超声联合有机酸法制得的果胶产品的酯化度为(83.98±1.94)%,辛明等^[7]采用超声辅助柠檬酸法提取的百香果果胶酯化度为 72.32%,二者均属于高酯化度果胶。

2.5 核桃青皮果胶的降脂能力

2.5.1 胆酸盐结合能力 牛磺胆酸钠和甘氨酸钠是人体重要的胆盐,参与脂肪吸收与消化^[24]。由图 4(a)和图 4(b)可知,核桃青皮果胶对牛磺胆酸钠和甘氨酸钠的吸附量均随质量浓度的增加呈上升趋势。当质量浓度

为 100 mg/mL 时,对牛磺胆酸钠的吸附能力达到考来烯胺的(80.37±0.50)%,对甘氨酸钠的吸附量相当于考来烯胺的(79.97±0.50)%。表明核桃青皮果胶对牛磺胆酸钠有较强的吸附效果,对甘氨酸钠有一定的吸附效果。

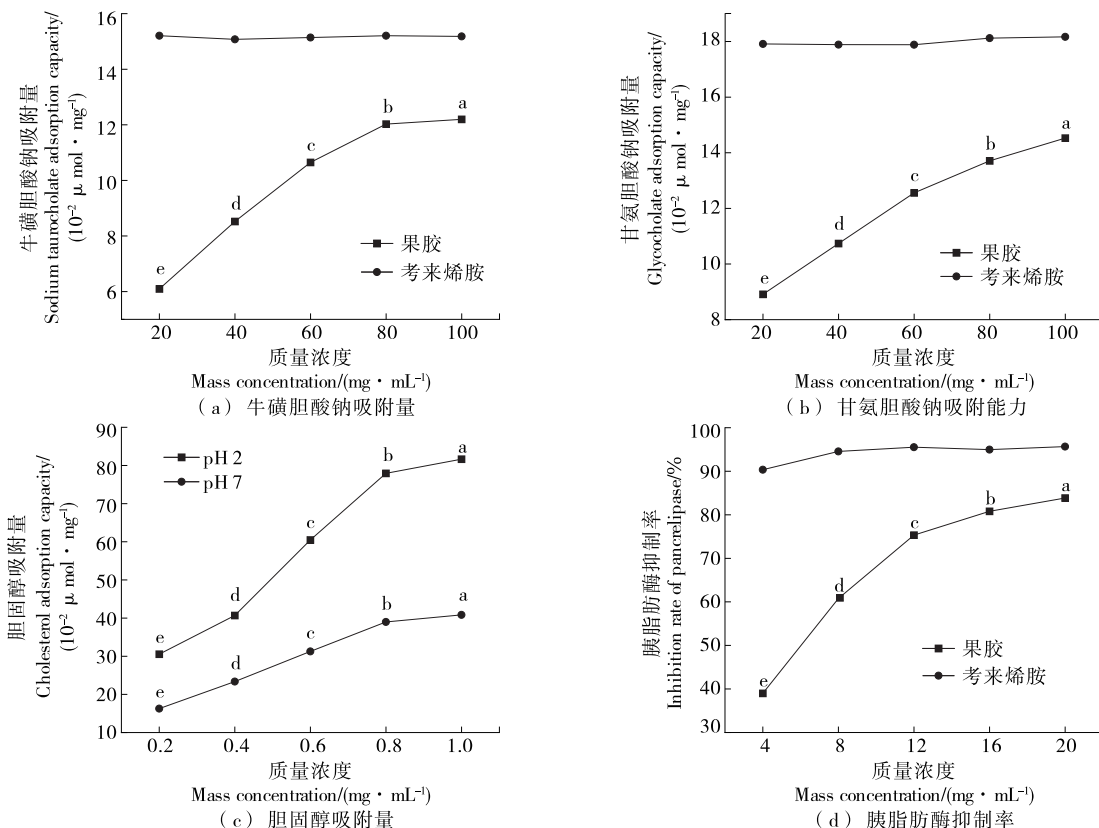
2.5.2 胆固醇吸附能力 由图 4(c)可知,核桃青皮果胶对胆固醇的吸附量呈剂量依赖。酸性条件下,核桃青皮果胶对胆固醇的吸附量最高,达(81.60±0.07) mg/g,在中性条件下最高只达(40.81±0.04) mg/g。这可能是由于氢离子增加了果胶的吸附位点,酸法提取的果胶溶解之后呈酸性,而中性条件下的果胶由于被碱中和减少了吸附位点。

2.5.3 胰脂肪酶抑制能力 胰脂肪酶在消化道中催化甘油三酯水解,抑制甘油三酯的吸收可以预防肥胖及相关疾病,抑制胰脂肪酶的活性是降脂的主要路径^[25]。由图 4(d)可知,核桃青皮果胶对胰脂肪酶的抑制率随质量浓度的增加呈上升趋势,当质量浓度为 20 mg/mL 时,核桃青皮果胶对胰脂肪酶抑制率可达(83.81±0.07)%,效果极显著($P < 0.01$)。核桃青皮果胶对胰脂肪酶的抑制率与考来烯胺非常相近,说明核桃青皮果胶具有很好的

表 5 核桃青皮理化指标检测结果

Table 5 Physical and chemical index testing results of walnut green peel

| 颜色 | 酯化度/ % | 干燥减量/ (10 ⁻² g · g ⁻¹) | 酸不溶灰 分/% | SO ₂ 含量/ (mg · kg ⁻¹) |
|-----|------------|--|-------------|---|
| 浅灰色 | 83.98±1.94 | 3.06±0.07 | 0.32±0.04 | 17.07±0.51 |



字母不同表示组间差异显著($P < 0.05$)

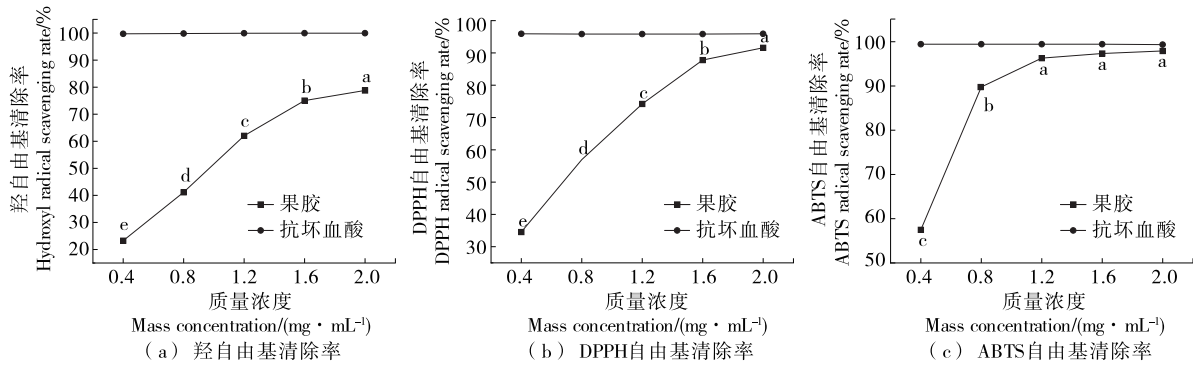
图 4 核桃青皮果胶的降脂能力

Figure 4 Lipid-lowering ability of walnut green peel pectin

胰脂肪酶活性抑制能力。

2.6 核桃青皮果胶的抗氧化能力

由图 5(a)可知,随着质量浓度的增大,核桃青皮果胶清除羟自由基的能力也随之提高,当质量浓度为 2.0 mg/mL 时,清除率可达(78.74±0.58)%,但弱于抗坏血酸的。由图 5(c)可知,随着质量浓度的增大,核桃青皮果胶清除 ABTS 自由基的能力也随之提高,当质量浓度 > 1.2 mg/mL 时,清除率与抗坏血酸的相当,当质量浓度为 2.0 mg/mL 时,清除率达到(97.89±0.72)%。



字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)

图 5 核桃青皮果胶的抗氧化活性

Figure 5 Antioxidant activity of walnut green peel pectin

研究^[26-27]表明,多糖的抗氧化活性与其相对分子量、纯度、糖醛酸含量、单糖组成、结构构象及提取方法密切相关。Hernandez-Marin 等^[28]发现,多糖清除自由基的机制主要为氢原子的转移,终止自由基链反应,试验利用超声波辅助酒石酸提取法得到的核桃青皮果胶具有很好的抗氧化性,可以作为一种天然的抗氧化剂。

3 结论

通过超声波辅助酒石酸提取核桃青皮果胶,采用响应面优化得到最佳工艺,并对核桃青皮果胶的降脂活性及抗氧化能力进行对比分析。结果表明,超声辅助酒石酸提取果胶的最佳工艺参数为超声功率 300 W,超声温度 95 °C, pH 值 2,超声时间 27 min,液料比 19 : 1 (mL/g),此条件下果胶得率为 25.92 mg/g,果胶酯化度为(83.98±1.94)%,属于高酯化度果胶,其理化指标均达到国标要求。体外试验中,核桃青皮果胶的降脂能力呈剂量依赖性,在酸性条件下有更好的胆固醇吸附效果,对胆酸盐的吸附量及胰脂肪酶的抑制率略低于考来烯胺,抗氧化作用同样具有一定的剂量依赖性,且在质量浓度 > 1.6 mg/mL 时,十分接近抗坏血酸。后续可以通过进一步的分离纯化及结构分析,判断该法所提果胶实现抗氧化的具体结构单元。

参考文献

- [1] ASGARI K, LABBAFI M, KHODAIYAN F, et al. High-methylated pectin from walnut processing wastes as a potential resource: ultrasound assisted extraction and physicochemical, structural and functional analysis [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 152: 1 274-1 282.
- [2] 李文菁. 核桃青皮提取物抑菌活性及抑菌机理研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2021: 1.
- [3] WU W Q. Study on antibacterial activity and antibacterial mechanisms of walnut green husk extract [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2021: 1.
- [3] 洪品阳, 李焕荣, 许建, 等. 响应面法优化核桃青皮果胶提取工艺的研究[J]. 食品工业, 2017, 38(1): 68-71.
- [4] HONG J Y, LI H R, XU J, et al. Optimization of walnut green husk pectin extraction by response surface method [J]. Food Industry, 2017, 38(1): 68-71.
- [4] 费丛璇, 付美玲, 张迪, 等. 果胶的提取、生理功能及应用研究进展[J]. 食品与机械, 2024, 40(3): 233-240.
- [5] FEI C X, FU M L, ZHANG D, et al. Research progress on extraction, physiological function and application of pectin [J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 233-240.
- [5] BARBIERI S F, AMARAL S C, RUTHES A C, et al. Pectins from the pulp of gabioba (Campomanesia xanthocarpa Berg): structural characterization and rheological behavior [J]. Carbohydr Polym, 2019, 214: 250-258.
- [6] 周宏炫, 谭书明, 陈萍, 等. 炮制法对三叶木通果皮果胶提取及理化性质的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(3): 75-82.
- [7] ZHOU H X, TAN S M, CHEN P, et al. Effects of processing methods on extraction and physicochemical properties of pectin from akebia trifoliata peel [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(3): 75-82.
- [7] 辛明, 李昌宝, 李杰民, 等. 超声辅助柠檬酸提取百香果果皮高酯果胶及其理化性质分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(4):

- 115-120.
- XIN M, LI C B, LI J M, et al. Optimization of extraction technology of highmethoxyl pectin from passion fruit peel by ultrasound assisted with citric acid extraction and its physicochemical properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(4): 115-120.
- [8] 岳贤田. 超声波辅助提取南瓜皮中果胶的研究[J]. 山西化工, 2010, 30(5): 5-7.
- YUE X T. Extraction of pectin with supersonic wave from pumpkin peel[J]. Shanxi Chemical Industry, 2010, 30(5): 5-7.
- [9] 祝方清, 孟迎平, 刘娜, 等. 超声波辅助酸法提取橙皮果胶的工艺研究[J]. 中国调味品, 2023, 48(9): 138-142.
- ZHU F Q, MENG Y P, LIU N, et al. Study on extraction process of pectin from orange peel by ultrasonic-assisted acid method[J]. China Condiment, 2023, 48(9): 138-142.
- [10] 洪晶阳. 核桃青皮果胶的提取工艺及其性质研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2017: 16.
- HONG J Y. Study on the extraction technology of pectin from walnut green husk and properties [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2017: 16.
- [11] 钟希琼, 胡文娥, 林丽超. 膳食纤维对油脂、胆固醇、胆酸钠和亚硝酸根离子吸附作用的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(5): 134-136.
- ZHONG X Q, HU W E, LIN L C. Study on the adsorption of dietary fiber for oil and fat cholesterol sodium cholate and NO_2^- [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(5): 134-136.
- [12] NAGAOKA S, AWANO T, NAGATA N, et al. Serum cholesterol reduction and cholesterol absorption inhibition in CaCo-2 cells by a soyprotein peptic hydrolyzate [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1997, 61(2): 354-356.
- [13] 吕冰冰, 谢笔钧, 孙智达. 红肉番石榴果胶的理化特性及其体外降脂作用[J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 51-60.
- LU B B, XIE B J, SUN Z D. Physical and chemical properties of red-flesh guava pectin and its lipid-lowering effect in vitro [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(20): 51-60.
- [14] 段振. 石榴皮不溶性膳食纤维的提取、体外降血脂活性研究及咀嚼片制备[D]. 西安: 陕西师范大学, 2018: 29.
- DUAN Z. Extraction of insoluble dietary fiber from pomegranate peel, study on its in vitro lipid-lowering activity, and preparation of chewable tablets [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2018: 29.
- [15] 苏建辉. 牡丹籽油及其复方降血糖、降血脂活性及机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 17.
- SU J H. The antidiabetic and hypolipidemic activity of peony seed oil with its formula and mechanism research[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016: 17.
- [16] 杨红, 唐莉, 李毅, 等. 8 种食品水提液的抗氧化和抗炎活性比较[J]. 食品与机械, 2023, 39(11): 192-197.
- YAGN H, TANG L, LI Y, et al. Comparative studies on the antioxidant and anti-inflammatory activities of water extracts from eight kinds of foods[J]. Food & Machinery, 2023, 39(11): 192-197.
- [17] 孟凡磊, 褚智慧, 宋凤玲, 等. 改性石榴皮果胶性质及抗氧化活性[J]. 食品科技, 2020, 45(1): 326-329, 337.
- MENG F L, CHU Z H, SONG F L, et al. Comparison of flavonoids content, polyphenols content and antioxidant activity of different parts of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels and *C. anisum-olens* (Blanco) Merr [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(1): 326-329, 337.
- [18] 邱梦瑜, 何子靖, 张衍馨, 等. 黄皮与山黄皮不同部位黄酮、多酚含量及抗氧化活性比较[J]. 南方农业报, 2022, 53(9): 2 603-2 611.
- QIU M Y, HE Z Q, ZHANG Y X, et al. Comparison of flavonoids content, polyphenols content and antioxidant activity of different parts of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels and *C. anisum-olens* (Blanco) Merr.[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(9): 2 603-2 611.
- [19] 李晓娇, 付文相, 陈建瑞, 等. 酒石酸法提取咖啡果胶工艺研究[J]. 广州化工, 2019, 47(14): 98-100, 114.
- LI X J, F W X, CHEN J R, et al. Study on extraction of coffee pectin by tartaric acid[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2019, 47(14): 98-100, 114.
- [20] 李志洲, 代红玲. 从脐橙皮渣中提取果胶的工艺条件研究[J]. 安康师专学报, 2004, 18(4): 71-74.
- LI Z Z, DAI H L. Study on the optimal technology of extracting pectin from umbilica-like orange residue [J]. Journal of Ankang Teachers College, 2004, 18(4): 71-74.
- [21] 李靓, 朱涵彬, 李长滨, 等. 正交法优化超声波提取橘皮果胶的工艺研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(2): 173-176.
- LI L, ZHU H B, LI C B, et al. Optimization of ultrasonic extraction technology of orange peel pectin by orthogonal test[J]. China Condiment, 2022, 47(2): 173-176.
- [22] 白小东, 程超, 牛黎莉, 等. 响应面法优化超声波辅助提取南瓜皮中果胶的工艺[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(4): 50-56.
- BAI X D, CHENG C, NIU L L, et al. Response surface method to optimize the ultrasonic-assisted extraction process of pectin from pumpkin peel[J]. China Food Additives, 2021, 32(4): 50-56.
- [23] 马雄, 陶亮亮, 刘柯彤, 等. 响应面法优化超声提取枇杷叶中熊果酸的工艺研究[J]. 饮料工业, 2012, 15(6): 30-35.
- MA X, TAO L L, LIU K T, et al. Research on extraction of ursolic acid from loquat leaf by ultrasonic technology optimized by response surface analysis[J]. The Beverage Industry, 2012, 15(6): 30-35.
- [24] 陈金焯, 闻正顺, 刘佳欣, 等. 负载岩藻黄质的果胶@ β -环糊精的制备及其体外降脂活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(22): 1-8.
- CHEN J Y, WEN Z S, LIU J X, et al. Study on the preparation of pectin crosslinked β -cyclodextrin loaded fucoxanthin and its hypolipidemic activity in vitro [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2023, 14(22): 1-8.

(下转第 182 页)

- 174-180.
- [24] 吴玉娟, 陈壹刘, 张靖松, 等. 超高压辅助酶解豌豆蛋白工艺优化研究[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(11): 90-94.
WU Y J, CHEN Y L, ZAHNG J S, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of pea protein assisted by ultra-high pressure [J]. Cereals & Oils, 2023, 36(11): 90-94.
- [25] 魏龙, 郭楠楠, 段秋虹. 大豆发芽富硒工艺条件研究[J]. 粮食与油脂, 2018, 31(10): 21-23.
WEI L, GUO N N, DAUN Q H. Study on the technological conditions of soybean germination and selenium enrichment[J]. Cereals & Oils, 2018, 31(10): 21-23.
- [26] 王红, 叶英, 韦唯, 等. 不同萌发条件及加工方法对藜麦品质的影响[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(9): 72-79.
WANG H, YE Y, WEI W, et al. Effects of different germination conditions and processing methods on the quality of quinoa [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2023, 38(9): 72-79.
- [27] 宋妍, 李粟晋, 陶阳, 等. 青稞籽粒富硒发芽条件优化及其抗氧化能力分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(14): 188-195, 202.
SONG Y, LI S J, TAO Y, et al. Optimization of selenium enriched germination conditions and its antioxidant abilities in highland barley seeds[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(14): 188-195, 202.
- [28] 韩雅盟, 池建伟, 马永轩, 等. 藜麦发芽过程中蛋白质与皂苷及淀粉消化特性的变化规律[J]. 现代食品科技, 2019, 35(6): 17-23.
HAN Y M, CHI J W, MA Y X, et al. Changes in protein, saponin content and starch profiles of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) seeds during germination [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(6): 17-23.
- [29] 郭思倩, 杨肇兴, 姚洋, 等. 萌发对藜麦蛋白质结构与功能特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(8): 156-162.
GUO S Q, YANG Z X, YAO Y, et al. Influence of germination on qualitative properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) protein [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2023, 38(8): 156-162.
- [30] 李楠, 孟航婷, 孙琳琳, 等. 黑豆不同发芽期多酚、黄酮及抗氧化活性分析[J]. 食品工业, 2023, 44(8): 139-143.
LI N, MENG H T, SUN Y L, et al. Analysis of polyphenols, flavonoids and antioxidant activity of black bean at different germination stages [J]. The Food Industry, 2023, 44(8): 139-143.
- [31] 华正莹. 发芽富硒糙小米抗氧化活性研究及其速食粉的研制 [D]. 锦州: 渤海大学, 2021: 10.
HUA Z Y. Study on antioxidant and instant powder development of germinated selenium-enriched rough millet [D]. Jinzhou: Bohai University, 2021: 10.
- [32] SANTESMASSES D, GLADYSHEV V N. Pathogenic variants in selenoproteins and selenocysteine biosynthesis machinery [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(21): 11593.
- [33] GUARDADO-FÉLIX D, SERNA-SALDIVAR S O, GUTIÉRREZ-URIBE J A, et al. Selenium in germinated chickpea (*Cicer arietinum* L.) increases the stability of its oil fraction [J]. Plants, 2019, 8(5): 113.

(上接第 125 页)

- [25] XIAO J W, LU J F, LI X Y. Davies bouldin index based hierarchical initialization K-means [J]. Intelligent Data Analysis, 2017, 21(6): 1 327-1 338.
- [26] 谭章禄, 陈孝慈. 改进的分类器分类性能评价指标研究[J]. 统计与信息论坛, 2020, 35(9): 3-8.
TAN Z L, CHEN X C. Study on improved classifier's performance evaluation indicators [J]. Statistic & Information Forum, 2020, 35(9): 3-8.
- [27] CHANG H, YIN J F, TIAN H, et al. Evaluation of the optical layout and sample size on online detection of apple watercore and SSC using Vis/NIR spectroscopy [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 123: 105528.
- [28] LI J B, ZHANG Y F, ZHANG Q, et al. Establishment of a multi-position general model for evaluation of watercore and soluble solid content in 'Fuji' apples using on-line full-transmittance visible and near infrared spectroscopy [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 117: 105150.
- [29] ZHANG Y F, WANG Z, TIAN X, et al. Online analysis of watercore apples by considering different speeds and orientations based on Vis/NIR full-transmittance spectroscopy [J]. Infrared Physics & Technology, 2022, 122: 104090.

(上接第 162 页)

- [25] ZARRAS P, VOGL O. Polycationic salts as bile acid sequestering agents [J]. Progress in Polymer Science, 1999, 24(4): 485-516.
- [26] ZENG C, CHEN X, JIANG W, et al. Isolation, purification and antioxidant activity of the polysaccharides from Chinese truffle tuber *sinense* [J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2020, 19(1): 436-447.
- [27] 杭书扬, 杨留枝, 史苗苗, 等. 山药皮残渣多糖结构表征及抗氧化活性测定 [J]. 食品与机械, 2023, 39(2): 153-158, 206.
HANG S Y, YANG L Z, SHI M M, et al. Characterization and antioxidant activity determination of polysaccharide from yam peel residue [J]. Food & Machinery, 2023, 39(2): 153-158, 206.
- [28] HERNANDEZ-MARIN E, MARTÍNEZ A. Carbohydrates and their free radical scavenging capability: a theoretical study [J]. Journal of Physical Chemistry B, 2012, 116(32): 9 668-9 675.