

核桃粕粗多酚的微波-超声共辅助提取鉴定与抗氧化活性评价

朱建宇¹, 段章群², 魏征², 刘妍妍¹, 王宪青^{1*}, 杨凯舟^{2*}

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319)

(2. 国家粮食和物资储备局科学研究院粮油加工研究所, 北京 102209)

摘要: 为了提高核桃提油残粕的利用率, 以液压核桃粕为原料, 通过单因素试验和响应面设计优化核桃粕中粗多酚微波-超声分步共辅助提取工艺, 采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间-质谱联用仪分析鉴定多酚化合物, 通过 DPPH、ABTS、羟自由基清除实验评估抗氧化活性, 并反添加到核桃油中验证对油脂氧化稳定性的影响。结果表明料液比与乙醇体积分数对核桃粕中多酚提取量具有显著性影响 ($P<0.05$), 最佳提取工艺为: 料液比 1:57.33 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 乙醇体积分数 69.13%, 超声功率 100 W, 微波功率 109.92 W, 核桃粕中粗多酚提取量为 40.59 mg GAE (没食子酸当量) g 样品⁻¹。鉴定出核桃粕多酚化合物 24 种, 其中含量较高的多酚质量浓度为 3,4-二羟基苯乙酸 ($8\,233.93\, \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)、山奈酚-3-O 芸香糖苷 ($4\,504.20\, \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)、鞣花酸 ($1\,882.50\, \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) 等。核桃粕粗多酚在质量浓度为 $0.80\, \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时具有较好的 DPPH 和 ABTS 自由基清除效果 (95% 以上), 羟自由基清除率维持在 60%~70%; 核桃粕粗多酚添加质量浓度在 $0.08\, \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 可以将核桃油的氧化稳定性提高 30% 以上。核桃粕多酚作为天然抗氧化剂, 进一步分离纯化后在食品行业具有很高的应用价值。

关键词: 核桃粕; 多酚; 微波-超声波; 响应面; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2026)02-160-171

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.2.1827

Microwave-ultrasound Co-assisted Extraction and Identification and Antioxidant Activity Evaluation of Crude Polyphenols in Walnut Meal

ZHU Jianyu¹, DUAN Zhangqun², WEI Zheng², LIU Yanyan¹, WANG Xianqing^{1*}, YANG Kaizhou^{2*}

(1.College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)(2.Institute of Cereal & Oil Science and Technology, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 102209, China)

Abstract: Walnut oil extraction residues are currently under-utilized; thus, hydraulically pressed walnut meal was used as raw material for the extraction of crude polyphenols using a microwave-ultrasound co-assisted extraction process optimized by single-factor experiments and response surface design, and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry-time of flight mass spectrometry (UPLC Q-TOF/MS) employed to analyze and identify polyphenolic compounds. The antioxidant activity was evaluated through DPPH, ABTS, and hydroxyl radical scavenging assays, and the extracts were added back into the walnut

引文格式:

朱建宇,段章群,魏征,等.核桃粕粗多酚的微波-超声共辅助提取鉴定与抗氧化活性评价[J].现代食品科技,2026,42(2): 160-171.

ZHU Jianyu, DUAN Zhangqun, WEI Zheng, et al. Microwave-ultrasound co-assisted extraction and identification and antioxidant activity evaluation of crude polyphenols in walnut meal [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(2): 160-171.

收稿日期: 2024-12-09; 修回日期: 2025-02-09; 接受日期: 2025-02-14

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFD2100405); 粮食公益性行业科研专项结余资金 (JY2313)

作者简介: 朱建宇 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工及贮藏, E-mail: 2718596488@qq.com

通讯作者: 王宪青 (1977-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 农产品加工, E-mail: xqwang1977@126.com; 共同通讯作者: 杨凯舟 (1986-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 油脂化学, E-mail: ykz@ags.ac.cn

oil to verify their impact on the oxidative stability. The results indicated that the solid-liquid ratio and volume fraction of ethanol significantly affected the extraction of polyphenols from walnut meal ($P < 0.05$). The optimal extraction conditions of a solid-liquid ratio of $1:57.33 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, an ethanol volume fraction of 69.13%, ultrasonic power of 100 W, and microwave power of 109.92 W resulted in a crude polyphenol extraction yield of $40.59 \text{ mg GAE (gallic acid equivalents)} \cdot \text{g sample}^{-1}$. A total of 24 polyphenolic compounds were identified, with higher contents of 3,4-dihydroxybenzoic acid ($8\,233.93 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), kaempferol-3-O-rutinoside ($4\,504.20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), and ellagic acid ($1\,882.50 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) observed. Walnut meal crude polyphenols exhibited good DPPH and ABTS radical scavenging effects (over 95%) at a mass concentration of $0.80 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and maintained a hydroxyl radical scavenging rate of 60%~70%. The addition of walnut meal crude polyphenols at a mass concentration of $0.08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ increased the oxidative stability of walnut oil by more than 30%. As natural antioxidants, walnut meal polyphenols are expected to have high application value in the food industry after further separation and purification.

Key words: walnut meal; polyphenol; microwave-ultrasonic; response surface methodology; antioxidant activity

中国是核桃生产大国, 据中国统计年鉴 2023 年数据显示, 我国核桃产量达到 586.59 万 $\text{t}^{[1]}$, 核桃油产量达到 7 万 $\text{t}^{[2]}$, 可预计核桃粕的产量约为 23 万 t 。目前核桃粕大部分用来做饲料, 少部分用来提取核桃蛋白和核桃多肽等精深加工^[3]。核桃粕是指核桃仁经提取油脂后所形成的副产物, 内种皮多酚质量占核桃仁多酚质量分数达 94.80%^[4], 内种皮压榨时保留在核桃粕中, 除了含有大量蛋白质、维生素、膳食纤维等物质外^[5], 核桃粕内多酚含量约 $35.12 \text{ mg GAE (没食子酸当量)} \cdot \text{g}^{-1}$ 样品^[6], 是核桃油中多酚含量的几十倍。核桃粕多酚在抗菌、抗炎、抗衰老等方面具有积极的作用^[7], 而这部分物质在加工中未被充分高效利用, 同时核桃多酚也会与蛋白结合^[4], 造成核桃粕利用率的降低。

目前核桃粕多酚提取工艺主要是溶剂提取法, 辅以超声波^[8]、微波^[9]、真空^[10]、微波/超声波辅助提取^[6]等提升提取效率, 近年来有研究采用新型低共熔溶剂^[11]和酶法辅助^[12]等提取工艺应用于核桃青皮和核桃分心木多酚的提取。Garcia 等^[9]采用 60% 体积分数乙醇溶剂连续和半连续浸提压榨饼粕, 同时辅以超声对脱脂饼粕多酚提取进行研究, 半连续工艺下提取量为 $\text{mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$, 连续工艺下为 $19.80 \text{ mg} \cdot \text{GAE} \cdot \text{g}^{-1}$, 超声辅助下为 $10.40 \sim 13.30 \text{ mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$, 脱脂后多酚有一定损失。苏晨等^[10]采用真空和非真空条件下辅以超声波提取液压榨核桃粕多酚, 真空条件下提取的总多酚含量为 $26.96 \text{ mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$, 比非真空条件下含量高出 14.50%。Lou 等^[6]采用超声波和微波一体联用工艺在体积分数 60% 乙醇溶剂体系下对脱脂核桃粉中的总多酚进行提取并进行鉴定, 在超声功率 93.50 W, 微波功率 294.38 W, 萃取温度 $43.38 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 萃取时间 4.33 min 下, 总多酚提取量为 $35.12 \text{ mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$, LC-MS 共鉴定出没食子酸、鞣花酸等 9 种多酚类化合物, 一体联用技术展现出较高的提取效率。目前采用超声-微波分步共辅助工艺对于核桃粕多酚的提取工艺还未见报道,

这对于优化超声和微波联用工艺具有重要的理论意义; 核桃粕多酚研究大多集中在多酚提取量和产品评价上, 对提取的核桃粕多酚中多酚组成、含量、抗氧化活性和实际应用等研究相对不足, 这对于核桃粕多酚的应用至关重要^[13]。在前期研究中我们采用超高效液相色谱-串联四级杆-飞行时间质谱 (UPLC Q-TOF/MS) 对油茶籽油中多酚的形态、组成和绝对含量做了丰富的研究工作, 鉴定出 200 多种多酚类物质^[14]。

本文选用冷榨液压提油后的核桃粕为原料, 采用响应面法优化微波-超声联用对核桃粕中多酚提取工艺进行研究, 并以超高效液相色谱-串联四级杆-飞行时间质谱 (UPLC Q-TOF/MS) 对核桃多酚粗提取物中多酚的分布形态、组成及绝对含量进行分析测定, 同时对冻干后的多酚粗提物进行抗氧化活性和油脂氧化稳定性评价, 以期为提升核桃粕多酚的利用水平和核桃产业高质量发展提供重要的科技支撑。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

材料: 带壳核桃, 品种漾濞泡核桃, 2023 年秋季采购于云南省临沧市凤庆县; 全家鲜物理压榨一级有机核桃油, 云南东方红生物科技有限公司。

没食子酸、反式-阿魏酸、反式-肉桂酸、香豆酸、绿原酸、(+)-儿茶素、咖啡酸、对羟基肉桂酸、香草酸、原儿茶酸、对羟基乙酸、3,4-二羟基苯乙酸、槲皮素、(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、山柰酚、杨梅素、白藜芦醇、鞣花酸、酪醇均为色谱纯, 购于 Sigma-Aldrich 公司; 原花色素 (A1、A2、B1、B2、C1、C2) 为色谱纯, 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、2,2'-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (ABTS) 为分析纯, 购于北京索莱宝科技有限公司; 丁香酸、(-)-表儿茶素没食子酸-酯、(-)-表

没食子儿茶素、(一)-表儿茶素、芦丁、对羟基苯甲酸、芥子酸、菜籽多酚、芥子碱、羟基酪醇、丁香醛、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、异香草醛、水杨酸、山茶甙均为色谱纯, 购于上海源叶生物科技有限公司; 山柰酚-3-O-B-D-芸香糖苷为色谱纯, 购于北京百灵威科技有限公司; 甲酸、乙腈均为色谱纯, 购于 Thermo Fisher 公司; 过硫酸钾, 分析纯, 购于福晨化学试剂有限公司; 硫酸亚铁为分析纯, 购于天津市大茂化学试剂厂; 水杨酸、过氧化氢均为分析纯, 购于国家化学试剂中心; 无水乙醇为分析纯, 购于天津市富宇精细化工有限公司。

1.2 仪器与设备

YZL-230 型液压榨油机, 洛阳兆格环保科技有限公司; FW-135 型中草药粉碎机, 天津市泰斯特仪器有限公司; TU-1810 DS 型紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; AB204-S 电子天平, 上海佑科仪器仪表有限公司; GZX-450 ASB 电热鼓风干燥箱, 北京科伟永兴仪器有限公司; XH-2 KW 变频微波设备, 济南鑫弘微波设备有限公司; KQ-5200 DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; RJ-LDL-50 G 低速大容量多管离心机, 无锡市瑞江分析仪器有限公司; BUCHIR-215 型旋转蒸发器, 步琦实验室设备贸易(上海)有限公司; Alpha2-41. Dplus 真空冷冻干燥机, Christ (德国); Q-TOF 6545 型超高效液相色谱-四级杆-飞行时间-质谱联用仪, Agilent Technologies Inc. (美国); OSI-24 油脂氧化稳定性测定仪, Omnion (美国)。

1.3 试验方法

1.3.1 样品前处理

核桃去壳取仁后粉碎, 采用液压榨油机在 40 MPa, 80 ℃条件下压榨 40 min。通过石油醚将压榨后饼粕进行脱脂处理, 随后将脱脂后的饼粕置于电热鼓风干燥

箱内, 在 30 ℃的条件下烘干 2 h。烘干后粉碎, 并通过 60 目的筛子筛取制备成脱脂核桃粕, 样品密封 -20 ℃冷冻保存备用。

1.3.2 微波-超声联用对核桃粕中多酚的提取

精确约称取 1.00 g 脱脂核桃粕, 加入一定量的乙醇溶液混合均匀, 首先在微波场中进行处理, 处理后的样品在超声下进行辅助提取, 处理后的样品在 4 000 r·min⁻¹ 条件下离心 10 min, 取上清液过滤, 通过 Folin 酚比色法测定粗提液中总多酚含量。核桃粕多酚组成液质鉴定的待测样品根据响应面优化后工艺条件按照上述步骤称取约 30 g 脱脂核桃粕制备提取液, 经真空浓缩和冷冻干燥得到粗多酚于 -20 ℃冷冻保存供后续使用。

1.3.3 微波-超声联用对核桃粕中多酚的提取单因素试验

考察料液比、乙醇浓度、超声功率、超声时间、微波功率、微波时间对核桃粕中多酚的提取量的影响, 具体单因素设计见表 1。

1.3.4 提取液中多酚含量测定

参照 Larez 等^[15] 的方法并略作修改。精确称取 0.100±0.001 g 没食子酸标准品, 加入少量甲醇溶液溶解后蒸馏水定容至 100 mL 制成 1 mg·mL⁻¹ 质量浓度标准储备液。采用移液管准确移取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 储备液于 10 mL 定容瓶中定容制成工作液。分别移取 1 mL 工作液加入 5 mL 10% 体积分数的福林酚溶液, 反应 5 min 后加入 4 mL 的 7.5% 质量分数的 Na₂CO₃ 溶液暗反应 1 h, 用紫外分光光度计在 765 nm 测量吸光度。以吸光度为纵坐标, 工作液中没食子酸浓度为横坐标, 绘制标准曲线。用最小二乘法进行线性拟合, 得线性回归方程 $Y=0.010\ 2x-0.002\ 9$, $R^2=0.999\ 2$ 。

根据标准曲线求得提取液中多酚质量浓度, 参照式(1)计算核桃粕中多酚提取量。

表 1 单因素试验条件
Table 1 Single-factor test conditions

因素	水平	提取条件
料液比 (g·mL ⁻¹)	1:40、1:50、1:60、1:70、1:80	体积分数 60% 乙醇, 微波功率 200 W, 90 s, 超声功率 140 W, 超声时间 90 s
乙醇体积分数/%	20、40、60、80、100	料液比 1:60(g·mL ⁻¹), 微波功率 200 W, 90 s, 超声功率 140 W, 超声时间 90 s
超声功率/W	80、100、120、140、160	料液比 1:60(g·mL ⁻¹), 体积分数 60% 乙醇, 微波功率 200 W, 90 s, 超声时间 90 s
超声时间/s	30、60、90、120、150	料液比 1:60(g·mL ⁻¹), 体积分数 60% 乙醇, 微波功率 200 W, 90 s, 超声功率 140 W
微波功率/W	100、150、200、250、300	料液比 1:60(g·mL ⁻¹), 体积分数 60% 乙醇, 微波时间 90 s, 超声功率 140 W, 超声时间 90 s
微波时间/s	30、60、90、120、150	料液比 1:60(g·mL ⁻¹), 体积分数 60% 乙醇, 微波功率 200 W, 超声功率 140 W, 超声时间 90 s

$$w = \frac{cnv}{m} \times 10^{-3} \quad (1)$$

式中:

w ——核桃粕多酚提取量, mg GAE·g⁻¹;

c ——核桃提取液中多酚质量浓度, μg·mL⁻¹;

n ——稀释倍数;

v ——待测液总体积, mL;

m ——核桃粕粉质量, g。

1.3.5 样品纯度测定及纯化

取 20.00 mg 样品用 50% 甲醇-水溶液复溶, 参照 1.3.4 提取液中多酚含量测定方法测定并计算冻干品中多酚的纯度。

纯化方法参照 LS/T 6119-2017^[16] 和靳明凯等^[17] 方法基础上进行修改, 二醇基固相萃取柱 (6 mL, 500 mg) 依次用 5 mL 甲醇和 5 mL 正己烷活化, 流速为 1.0 mL·min⁻¹。称取 100 mg 试样溶于 6 mL 正己烷中, 将该溶液以 1.0 mL·min⁻¹ 流量通过二醇基固相萃取柱, 然后用 10 mL 正己烷淋洗萃取柱, 用 10 mL 甲醇洗脱, 洗脱液在弱氮气流下吹干, 残渣溶于 5 mL 体积分数 50% 甲醇-水溶液中, 涡旋混匀, 待测液经 0.22 μm 有机膜过滤, -20 °C 下冷冻待测。

1.3.6 多酚化合物鉴定

采用 UPLC Q-TOF/MS 技术对纯化后核桃多酚进行组成成分测定^[18,19]。色谱条件: 采用 Agilent UPLC1290 液相系统, 配备 Poroshell 120 EC-C18 色谱柱 (2.1 mm×100 mm×2.7 μm); 流动相 A 为酸化水 (1% 甲酸, V/V), 流动相 B 为体积分数 0.1% 甲酸-乙腈。程序设置: 在前 2 min 内使用体积分数 5% 流动相 B 洗脱; 在 3~20 min 内使用体积分数 5%~45% 流动相 B 梯度洗脱; 随后使用体积分数 45%~95% 流动相 B 洗脱 2 min; 最后 11 min, 柱子冲洗平衡。整个洗脱过程中流速设定 300 μL·min⁻¹, 柱温设定为 35 °C, 进样量: 5 μL。

质谱条件: Agilent QTOF 6545 质谱系统, 以 ESI 负离子全扫描模式进行分析。离子源干燥气温度 350 °C, 干燥气流速 10 L·min⁻¹, 雾化气压力 40 psi, 气温度 400 °C, 鞘气流速 12 L·min⁻¹, 毛细管裂解电压 -3.5 kV, 毛细管出口电压 135 V, 碰撞能量 (30±5) eV, 扫描范围 100~1 000 u。

1.3.7 粗多酚化合物的抗氧化能力

1.3.7.1 DPPH 自由基清除能力

参照 Zhai 等^[20] 方法进行改进, 将粗多酚冻干品用 50% 体积分数乙醇水溶液配置成 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg·mL⁻¹ 质量浓度多酚待测溶液, 配置 0.2 mmol·mL⁻¹

的 DPPH-乙醇溶剂, 取 2 mL DPPH-乙醇混合液分别加入 200 μL 多酚待测溶液, 混匀后室温暗反应 1 h, 在波长为 517 nm 的酶标仪中测定吸光度, 以乙醇为空白对照进行吸光度测定。

根据式 (2) 计算不同浓度下粗多酚待测液 DPPH 的清除率:

$$D_1 = (1 - \frac{A_2 - A_3}{A_1}) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

D_1 ——粗多酚待测液 DPPH· 清除率, %;

A_1 ——2 mL DPPH-乙醇溶液+200 μL 体积分数 50% 乙醇溶液;

A_2 ——2 mL DPPH-乙酸乙酯+200 μL 粗多酚待测液;

A_3 ——200 μL 粗多酚待测液+2 mL 乙醇溶液。

1.3.7.2 ABTS⁺ 自由基清除能力

在 Shen 等^[21] 实验方法基础上进行修改, 分别配置 7.07 mmol·L⁻¹ ABTS⁺ 储备液和 2.66 mmol·L⁻¹ 的过硫酸钾储备液, 将上述两种储备液 1:1 (V/V) 混合, 室温暗反应 12~16 h 后, 使用异丙醇调节吸光度, 使其在 734 nm 处吸光度为 0.70±0.05, 制成 ABTS 工作液。

将粗多酚冻干品用 50% 体积分数乙醇水溶液配置成质量浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg·mL⁻¹ 多酚待测溶液, 准确移取 50 μL 混合液, 加入 4.0 mL ABTS 工作液混合均匀, 室温下阴暗处反应 20 min, 随后立即在 724 nm 处测定其吸光度, 同时以乙醇为空白对照进行吸光度测定。

根据式 (3) 计算不同浓度下粗多酚待测液 ABTS⁺ 的清除率:

$$D_2 = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

D_2 ——粗多酚待测液 ABTS⁺ 清除率, %;

A_0 ——ABTS 工作液的吸光度;

A_1 ——粗多酚待测液与 ABTS 工作液反应后的吸光度。

1.3.7.3 羟自由基清除能力

参照 Nasiru 等^[22] 的方法, 将粗多酚冻干品用 50% 体积分数乙醇水溶液配置成 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg·mL⁻¹ 质量浓度粗多酚待测溶液, 准确移取 50 μL 混合液, 将 50 μL 浓度为 9 mmol·L⁻¹ 的氯化亚铁溶液、50 μL 浓度为 9 mmol·L⁻¹ 的水杨酸溶液、250 μL 蒸馏水、0.5 mL 体积分数为 3% 的 H₂O₂ 溶液加入试管, 37 °C 水浴保温 30 min, 在 536 nm 处测吸光值, 以乙醇为空白对照进行吸光度测定。

根据式 (4) 计算不同浓度下粗多酚待测液羟自由基的清除率:

$$D_3 = \frac{A_3 - A_1}{A_2 - A_1} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

D_3 —羟自由基清除率, %;

A_1 —以乙醇代替 H_2O_2 吸光度;

A_2 —以乙醇代替样品吸光度;

A_3 —样品吸光度。

1.3.8 油脂氧化稳定性测定

参考国标 GB/T 21121-2007 动植物油脂 氧化稳定性的测定 (加速氧化测试)。经测定, 核桃粗多酚冻干品中多酚纯度为 61.06%。参考茶多酚在油脂中添加标准 ($\leq 0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 将核桃粗多酚按照质量浓度为 0.00、0.02、0.04、0.06、0.08 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 添加到核桃油中温度 110°C , 空气流量 $10 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$, 测量池中去离子水 50 mL 。

1.4 数据分析

所有试验数据均进行三次平行试验, 结果以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。采用 Design Expert 13.0.1.0 软件进行响应面设计和分析。采用 Origin 2021 软件作图, 用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比

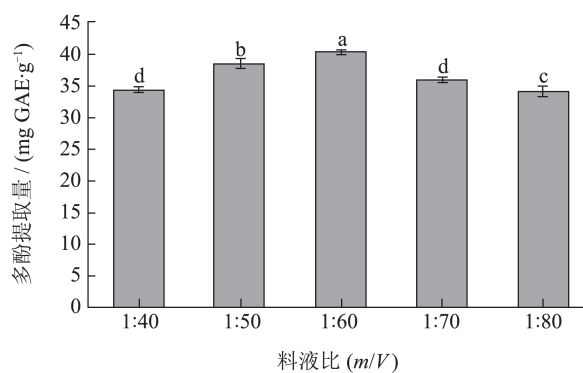


图 1 料液比对核桃粕多酚提取的影响

Fig.1 Effect of the liquid material ratio on the extraction of walnut meal polyphenols

注: 不同字母表示不同料液比下核桃粕多酚提取量差异显著性 ($P < 0.05$)。下同。

从图 1 可以看出, 随着料液比的增加, 溶剂含量的增加, 核桃粕多酚提取量出现了先增加后下降的趋势, 在料液比 1:60 (m/V) 时提取量达到最大值 $40.28 \text{ mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ 。田永涛等^[23]与许飞利等^[24]研究发

现多酚提取量随着料液比的升高, 多酚含量亦出现先增大后减小的趋势一致。在料液比较小时, 多酚未能充分溶解至提取溶剂中, 当料液比达到一定值时, 多酚的扩散与溶解达到一个稳定的饱和状态。随着溶剂与物料比例的持续增加, 色素类物质及醇溶性杂质的析出现象愈发显著, 同时, 在大量溶剂浓缩过程中多酚类物质的氧化反应亦加剧, 这些因素共同作用导致多酚提取效率的下降^[25]。综合考虑, 选择料液比为 1:60 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 进行后续实验。

2.1.2 乙醇体积分数

从图 2 中可知, 乙醇体积分数变化会显著影响核桃粕提取液中多酚的含量。随着乙醇体积分数的增大, 核桃粕提取液中多酚含量逐渐增加, 在乙醇体积分数 80% 时提取量达到最大, 为 $40.09 \text{ mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在合适的乙醇体积分数范围内, 乙醇能够削弱多酚与多糖、蛋白质等分子间的氢键和疏水键的相互作用力, 使多酚物质快速溶出, 当乙醇体积分数达到最佳点后, 乙醇体积分数的增加会导致多酚与溶剂分布的不均匀性差异加剧, 使多酚无法充分溶出导致提取量下降。综合考虑, 选择乙醇体积分数为 80% 作为后续试验条件。

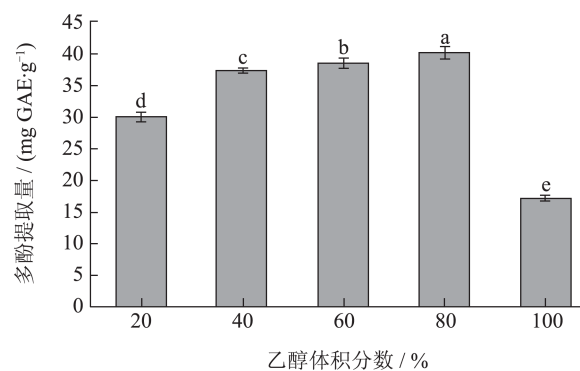


图 2 乙醇体积分数对核桃粕多酚提取的影响

Fig.2 Effect of ethanol volume fraction on the extraction of walnut meal polyphenols

2.1.3 超声功率

超声波的空化作用、机械效应和热效应等加快了物质分子的释放、扩散和溶解, 从而促使有效成分组分快速溶出^[6]。从图 3 中可知, 随着超声功率从 80 W 增加到 160 W, 核桃粕多酚的提取量逐渐降低, 整体下降约 7%。赵强等^[26]研究超声功率对藜麦糠中多酚提取的影响时也发现超声功率过大时, 多酚的结构被破坏, 多酚的提取量降低; 其次核桃细胞内的杂质与多酚竞争溶解空间, 导致多酚提取量下降^[27]。考虑成本和提取量, 选择超声功率 100 W 为后续试验条件。

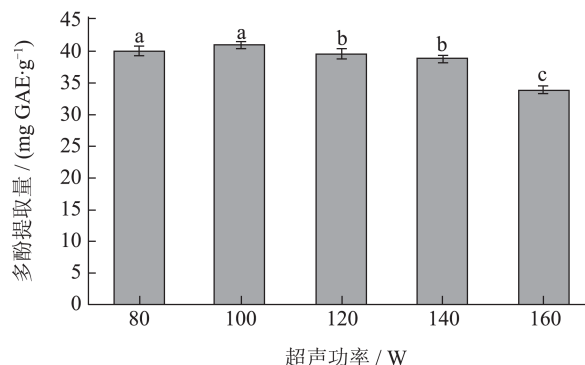


图3 超声功率对核桃粕多酚提取的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic power on the extraction of walnut meal polyphenols

2.1.4 超声时间

图4展示的是超声时间对核桃粕多酚提取量的影响,在超声时间30~150 s范围内,核桃粕多酚提取量为40.19~42.56 mg GAE·g⁻¹,提取量并无显著性差异。综合考虑选择60 s超声时间为后续的试验条件。

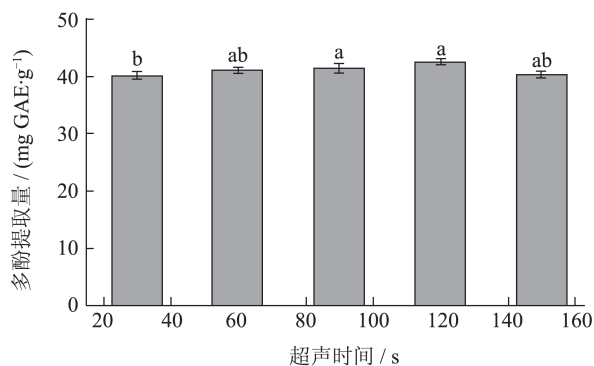


图4 超声时间对核桃粕多酚提取的影响

Fig.4 Effect of ultrasound time on the extraction of walnut meal polyphenols

2.1.5 微波功率

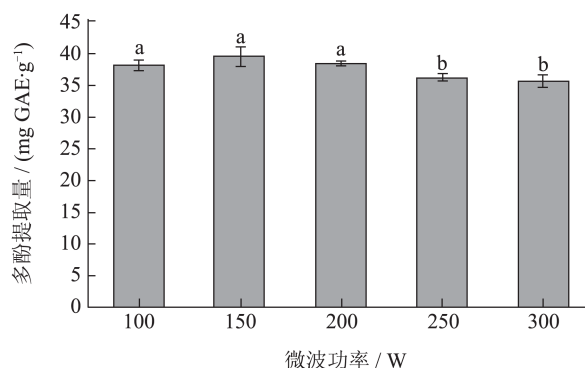


图5 微波功率对核桃粕多酚提取的影响

Fig.5 Effect of microwave power on the extraction of walnut meal polyphenols

从图5中可以看出,随着微波功率的增加,核桃粕多酚的提取量逐渐增加,在150 W时核桃粕多酚提取量达到最高39.44 mg GAE·g⁻¹,微波功率超过150 W后,多酚提取量开始出现下降。Chy等^[28]研究微波对番木瓜果皮多酚提取量影响时也发现,微波功率对番木瓜果皮中多酚提取存在一定的阈值,当超出阈值后多酚提取量开始下降,可能原因是微波功率过大产生的热效应会引起多酚加速氧化,从而致使提取量下降。因此综合考虑,选择微波功率150 W为后续试验条件。

2.1.6 微波时间

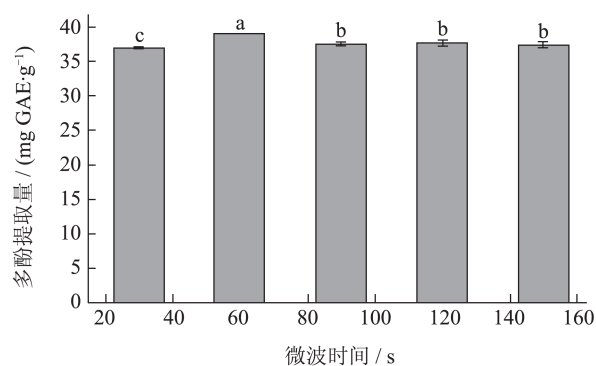


图6 微波时间对核桃粕多酚提取的影响

Fig.6 Effect of microwave time on the extraction of walnut meal polyphenols

图6展示的是微波时间对核桃粕中多酚提取量的影响。从图6中可以看出,在一定范围内,微波处理时间的增加并不能显著带来核桃粕中多酚提取量的增加,相对而言在60 s时提取量达到最大38.99 mg GAE·g⁻¹,过长的时间也会带来多酚提取量的下降。综合考虑选择微波时间60 s为后续时间条件。

2.2 响应面实验

2.2.1 响应面设计及结果

在上述单因素试验结果的基础上,采用Design-Expert 13软件进行响应面设计,根据Box-Behnken(BBD)中心组合设计原理,选取料液比(A)、乙醇体积分数(B)、超声功率(C)、微波功率(D)四个因素对核桃粕多酚提取量影响显著的因素作为自变量,以多酚提取量(Y)为响应值,设计4因素3水平的响应面试验,研究料液比、乙醇体积分数、超声功率和微波功率对核桃粕中多酚提取量的影响。响应面试验设计因素水平表与试验结果如表2、3所示。

表 2 响应面试验设计因素水平表				
Table 2 Level table of the design factors for the response surface test				
因素				
水平	A: 料液比 (g·mL ⁻¹)	B: 乙醇体 积分数/%	C: 超声 功率/W	D: 微波 功率/W
-1	1:50	60	80	100
0	1:60	80	100	150
1	1:70	100	120	200

表 3 响应面试验设计及试验结果					
Table 3 Response surface test design and test results					
试验号	A	B	C	D	Y/(mg GAE·g ⁻¹)
1	0	0	0	0	38.32
2	0	-1	1	0	37.53
3	1	-1	0	0	33.82
4	0	0	0	0	38.32
5	-1	0	0	1	36.73
6	0	0	0	0	38.32
7	-1	1	0	0	20.65
8	0	0	0	0	38.32
9	0	1	0	-1	14.53
10	1	0	0	-1	34.28
11	0	0	0	0	38.32
12	1	0	0	1	33.09
13	-1	-1	0	0	34.45
14	0	0	1	-1	36.93
15	0	-1	-1	0	38.29
16	0	-1	0	1	38.31
17	-1	0	1	0	36.64
18	1	1	0	0	14.39
19	-1	0	-1	0	35.57
20	0	1	1	0	16.09
21	1	0	-1	0	32.53
22	0	1	0	1	13.94
23	-1	0	0	-1	38.33
24	0	-1	0	-1	41.23
25	0	1	-1	0	12.37
26	0	0	1	1	34.70
27	1	0	1	0	34.67
28	0	0	-1	1	37.68
29	0	0	-1	-1	36.61

采用 Design-Expert 13 软件对表 3 中核桃粕多酚提取量的试验数据进行多元回归拟合,得到多酚提取量对自变量 A、B、C、D 的二次多项式回归方程:

$$Y=-1.42A-10.99B+0.294\ 8C-0.417\ 7D-1.36AB+0.258\ 5AC-0.509AD+1.12BC+0.584BD-0.823\ 5CD-2.20A^2-10.60B^2-1.32C^2-0.787D^2$$

回归方程方差分析和回归方程系数显著性检验见表 4。由表 4 可知,核桃粕多酚提取量模型的判定系数 $R^2=0.977\ 5$, $P<0.000\ 1$,这一结果表示该模型具有高度显著性,绝对平均偏差=5.97% 相对较低,说明该模型预测结果具有良好的重复性;此外,调整判定系数(0.955 0)也表明模型受不确定因素干扰较小,整体拟合程度良好,此模型能很好展示核桃粕多酚提取量响应值的变化,可以用于预测核桃粕中多酚提取过程中实际情况。

在模型回归方程系数的显著性检验中,一次项系数 A(料液比)和 B(乙醇体积分数)均对核桃粕中多酚的提取量产生了显著影响;二次项 A^2 和 B^2 也表现出对核桃粕中多酚提取量的显著性影响,这进一步证明了模型在解释和预测核桃粕多酚提取过程中的准确性和可靠性。

表 4 核桃粕多酚提取量回归方程方差分析表						
Table 4 Variance analysis table for regression equation of walnut residue polyphenol extraction amount						
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Prob>F	显著性
模型	2 254.93	14	161.07	43.45	<0.000 1	**
A	31.98	1	31.98	8.63	0.010 8	*
B	1 444.60	1	1 444.60	389.70	<0.000 1	**
C	1.02	1	1.02	0.27	0.608 7	
D	4.64	1	4.64	1.25	0.282 1	
AB	7.90	1	7.90	2.13	0.166 3	
AC	0.29	1	0.29	0.08	0.783 4	
AD	0.04	1	0.04	0.01	0.915 9	
BC	5.03	1	5.03	1.36	0.263 5	
BD	1.36	1	1.36	0.37	0.553 8	
CD	2.71	1	2.71	0.73	0.406 7	
A ²	25.66	1	25.66	6.92	0.019 7	*
B ²	740.22	1	740.22	199.68	<0.000 1	**
C ²	13.28	1	13.28	3.58	0.079 3	
D ²	2.25	1	2.25	0.61	0.449 3	
残差	51.90	14	3.71			
失拟项	51.90	10	5.19			
纯差	0.00	4	0.00			
总变异	2 306.83	28				

注:核桃粕多酚提取量回归方程 $R^2=0.977\ 5$, $R^2_{\text{adj}}=0.955\ 0$,绝对平均偏差=5.97%。**表示差异极显著($P<0.001$);*表示差异显著($P<0.05$)。

2.2.2 响应面分析

图 7 表示的是在超声功率（100 W）与微波功率（150 W）条件下，料液比与乙醇体积分数及其交互作用对核桃粕多酚提取量的影响。最大多酚提取量的料液比在 1:50~1:60 g·mL⁻¹ 和乙醇体积分数 60%~80% 范围内，随着料液比与乙醇体积分数的增加，多酚的提取量出现先升高后下降的趋势。Li 等^[29]响应面优化设计板栗壳多酚提取时也发现料液比与乙醇体积分数两者的交互作用显著，料液比在 1:40~1:45 g·mL⁻¹ 之间，乙醇体积分数 60%~65% 之间，多酚提取量最大。

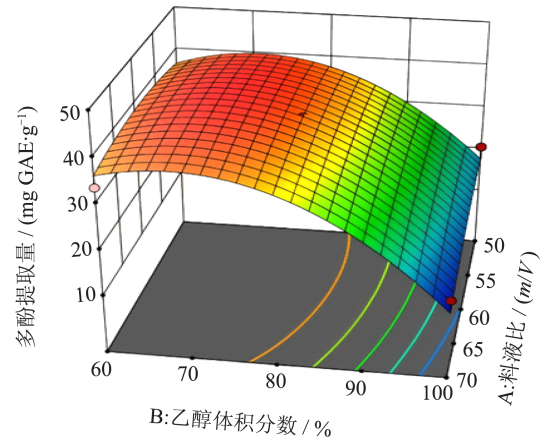


图 7 料液比与乙醇体积分数及其交互作用对核桃粕多酚提取量的影响

Fig.7 Effect of material liquid ratio and ethanol volume fraction and its interaction on the extracted amount of walnut meal polyphenols

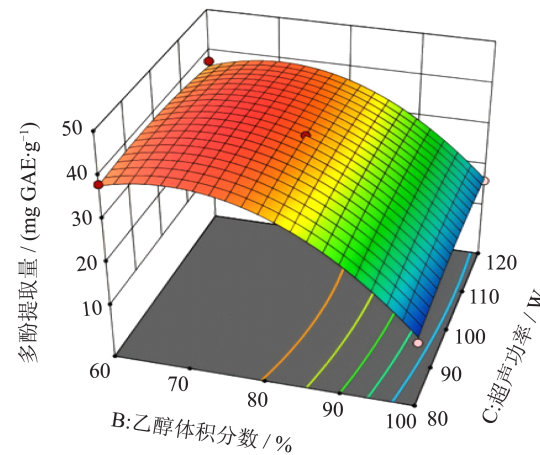


图 8 乙醇体积分数与超声功率及其交互作用对核桃粕多酚提取量的影响

Fig.8 Effect of ethanol volume fraction and ultrasound power and their interaction on the extracted amount of walnut meal polyphenols

图 8 展示的是在料液比 1:60 (g·mL⁻¹)，微波功率 150 W 条件下，乙醇体积分数与超声功率及其交互作用对核桃粕多酚提取量的影响。由图中可以看出，在乙醇体积分数 60%~80% 和超声功率 80~120 W 范围内，出现核桃粕多酚的提取量最高值，而随着乙醇体积分与超声功率的增加，多酚的提取量出现先升高后下降的变化趋势。Luo 等^[6]采用响应面优化超声波和微波一体联用工艺对脱脂核桃粉中的总多酚进行提取，超声功率在 40~100 W 区间内，核桃粕多酚提取量逐渐增加，100~120 W 逐渐下降。当超声功率与乙醇体积分数过大时，其他醇溶性杂质溶出，提取溶剂趋于饱和，多酚溶解不充分导致多酚提取量下降。

2.2.3 反应条件优化及模型验证

通过响应面软件对核桃粕多酚提取最优化条件进行预测，由于超声功率对多酚提取量不具有显著性影响，同时考虑节能下将超声功率固定在 100 W，表 5 是通过响应面预测得到的最佳核桃多酚提取条件，在料液比 1:57.33 (m/V)，乙醇体积分数 69.13%，超声功率 100 W，微波功率 109.92 W 最优条件下，能够预测出最大多酚提取量为 41.61 mg GAE·g⁻¹。采用上述优化条件进行 3 次平行验证试验，核桃粕多酚提取量分别为 40.71、40.65 和 40.41 mg GAE·g⁻¹，平均提取量 40.59 mg GAE·g⁻¹。试验值与预测值之间展现出良好的相关性，表明该响应面模型及其最优化条件的有效性得到了验证。最优化条件下得到的核桃粕多酚提取量高于已有研究报道 6.5%~205%，Luo 等^[6]采用超声波和微波一体联用工艺得到的最佳条件下的多酚提取量 34.91 mg GAE·g⁻¹，Garcia 等^[8]采用体积分数 60% 乙醇溶剂辅以超声对核桃压榨后脱脂饼粕总多酚提取得到的 10.40~13.30 mg GAE·g⁻¹，黄子林^[4]采用超声辅助溶剂提取未脱衣脱脂核桃仁多酚提取得到的 38.12 mg GAE·g⁻¹，苏晨等^[10]采用真空条件下辅以超声波工艺得到的提取量 26.96 mg GAE·g⁻¹，可能的原因主要是核桃品种、制油工艺以及提取工艺参数的不同。韩永翔^[30]对中国 29 个主栽核桃品种的总多酚分析发现，不同地域和不同品种核桃的总多酚含量差异性较大，范围为 13.34~49.36 mg·g⁻¹；此外不同制油工艺差异性也较大，比如液压榨油工艺制备的核桃粕多酚残留量高于溶剂浸出法制备的核桃粕^[4,6]，最后提取方法手段的多样性以及参数选择也会影响多酚提取效果。因此可见分步骤超声 - 微波联用工艺具有很好的优势。

2.3 多酚组成鉴定

采用液质联用技术对核桃粕多酚提取物的组成进行研究,通过查阅文献^[31,32]对核桃中已知多酚建立核桃多酚物质液质数据库,构建核桃多酚标准曲线,通过标准品比对和文献参考确定多酚物质,从而计算核桃粕多酚中多酚组成和含量,核桃粕多酚总离子流图见图9,具体组成含量结果见表6。从图9和表6中可知,核桃粕多酚中共鉴定24种多酚类物质,其中质量浓度较高的多酚为3,4-二羟基苯乙酸(8 233.93 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、山奈酚-3-O 芸香糖苷(4 504.20 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、鞣花酸(1 882.50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、异香草醛(514.12 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、对羟基苯乙酸(229.48 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、(+)-儿茶素(197.16 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、没食子酸(166.71 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、绿原酸(133.40 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)。Luo等^[6]采用超声波和微波一体联用工艺得到的最佳条件下的提取液共鉴定出9种多酚类物质,相对含量(面积)较高为Glansreginin A、鞣花酸、没食子酸、Glansreginin B等。Wu等^[31]从未脱皮核桃仁乙醇提取物中共鉴定出37种多酚类物资,其中质量浓度较高的为鞣花酸(112.71 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、没食子酸(5.41 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、阿魏酸(4.30 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、芥子酸(2.63 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、(+)-儿茶素(C)(1.65 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、原儿茶酸(1.30 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、咖啡酸(1.17 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ,可能是提取工艺的差异,后者仅采用溶剂法提取多酚并进行鉴定,并未对提取

条件优化,因此后者检测到的多酚物质含量较低。Glansreginin A和Glansreginin B两种物质我们和Wu均未检测到,可能是进行非靶向筛查时得到的,除了文献比对还需要进一步进行定性定量。

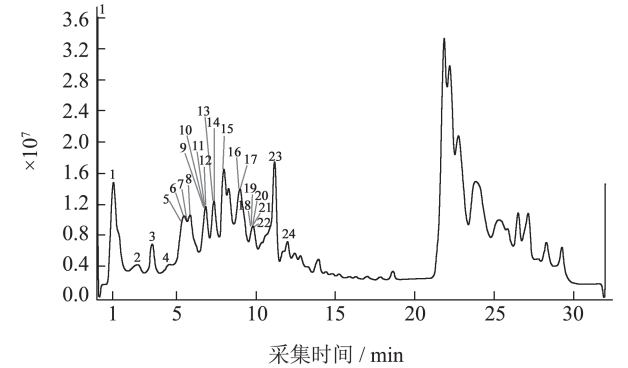


图9 核桃粕多酚液质分析总离子流图
Fig.9 Total ion flow diagram for liquid mass analysis of walnut meal polyphenols

注: 1. 没食子酸; 2. 羟基酪醇; 3.3,4-二羟基苯乙酸; 4. 对羟基苯甲酸; 5. (-)-表没食子儿茶素; 6. 原花色素 B₁; 7. 对羟基苯乙酸; 8. (+)-儿茶素; 9. 绿原酸; 10. 香草酸; 11. 丁香酸; 12. 原花色素 B₂; 13. (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯; 14 异香草醛; 15. 原花色素 C₁; 16. 原花青素 A₁; 17. 芥子酸; 18 山茶苷 B; 19. 芦丁; 20. 鞣花酸; 21. (-)-表儿茶素没食子酸酯; 22. 槲皮素-3-O-葡萄糖苷; 23. 山奈酚-3-O 芸香糖苷; 24. 白藜芦醇。

表 5 响应面软件生成的最优化条件解决方案

Table 5 Optimization condition solutions generated by the response surface software						
试验号	料液比(m/V)	乙醇体积分数/%	超声功率/W	微波功率/W	预测提取量/(mg GAE·g ⁻¹)	实际提取量/(mg GAE·g ⁻¹)
1	1:57.33	69.13	100.00	109.92	41.61	40.59 ± 0.16

表 6 核桃粕多酚组成成分表

Table 6 Composition list of walnut meal polyphenol								
序号	物质名称	保留时间	面积	母离子(m/z)	分子式	标准曲线	R ²	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	没食子酸	1.663	2 204 261.77	169.01	C ₇ H ₆ O ₅	Y=1 330 599.95X-13 953.10	0.999	166.71 ± 18.92
2	羟基酪醇	2.993	110 642.25	153.06	C ₈ H ₁₀ O ₃	Y=1 297 495.01X-43 966.02	0.999	11.92 ± 0.75
3	3,4-二羟基苯乙酸	3.758	3 736 161.44	167.04	C ₈ H ₈ O ₄	Y=45 584.43X-17 229.36	0.991	8 233.93 ± 1 728.40
4	对羟基苯甲酸	4.886	596 801.97	137.02	C ₇ H ₆ O ₃	Y=756 418.88X-77 039.07	0.996	89.08 ± 8.91
5	(-)-表没食子儿茶素	5.370	1 034 252.09	305.07	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	Y=1 242 867.48X-9 681.27	0.999	83.99 ± 45.30
6	原花色素 B ₁	5.475	46 155.68	577.14	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	Y=1 932 511.02X-236 667.54	0.998	14.64 ± 2.11
7	对羟基苯乙酸	5.554	451 884.44	151.04	C ₈ H ₈ O ₃	Y=204 349.10X-17 046.63	0.999	229.48 ± 93.89
8	(+)-儿茶素	5.853	6 035 185.97	289.07	C ₅ H ₁₄ O ₆	Y=1 432 844.14X+2 072 657.26	0.999	197.16 ± 50.50
9	绿原酸	6.014	845 798.10	353.09	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Y=542 260.98X+122 407.11	0.998	133.40 ± 8.67
10	香草酸	6.014	197 950.81	167.04	C ₈ H ₈ O ₄	Y=317 115.05X+79 023.33	0.999	37.50 ± 10.40
11	丁香酸	6.820	9 456.34	197.05	C ₉ H ₁₀ O ₅	Y=1 475 107.65X-196 757.443 024	0.999	13.98 ± 0.01
12	原花青素 B ₂	6.980	44 370.19	577.14	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	Y=2 040 792.246 948X-2 806 17.38	0.999	15.92 ± 0.52
13	(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯	7.465	92 044.75	457.08	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	Y=1 804 000.49X-145 755.35	0.999	13.18 ± 2.57

续表6

序号	物质名称	保留时间	面积	母离子(m/z)	分子式	标准曲线	R ²	质量浓度/(μg·g ⁻¹)
14	异香草醛	7.707	14 256.84	151.04	C ₈ H ₈ O ₃	Y=2 771.94X+5.00	0.998	514.12 ± 183.64
15	原花色素 C ₁	8.104	60 557.71	865.20	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	Y=1 948 541.31X-288 514.12	0.999	17.91 ± 0.18
16	原花色素 A ₁	9.194	86 209.97	575.12	C ₃₀ H ₂₄ O ₁₂	Y=1 528 387.11X-133 452.76	0.999	14.37 ± 3.65
17	芥子酸	9.399	108 698.59	223.06	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	Y=1 067 575.11X-35 911.06	0.999	13.55 ± 0.44
18	山茶苦 B	9.525	85 815.84	725.19	C ₃₂ H ₃₈ O ₁₉	Y=2 202 928.08X+107 960.97	0.999	2.50 ± 0.93
19	芦丁	9.560	86 842.55	609.15	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Y=1 545 687.99X-180 549.80	0.999	17.32 ± 1.04
20	鞣花酸	9.560	38 301 928.73	301.00	C ₁₄ H ₆ O ₈	Y=2 032 768.18X+48 946.13	0.999	1 882.50 ± 894.10
21	(-)-表儿茶素没食子酸酯	9.560	403 424.54	441.08	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	Y=1 008 148.41X+450 616.19	0.998	88.15 ± 0.30
22	槲皮素-3-O-葡萄糖苷	9.971	1 735 484.69	463.09	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Y=3 535 280.67X-366 381.94	0.999	59.45 ± 16.99
23	山奈酚-3-O 芸香糖苷	10.599	57 893 071.69	593.15	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Y=1 148 218.06X+6 176 173.02	0.999	4 504.20 ± 2 125.11
24	白藜芦醇	12.139	7 064.858	227.07	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	Y=2 713 546.08X-198 969.34	0.999	63.49 ± 2.23

2.4 核桃粕粗多酚抗氧化能力

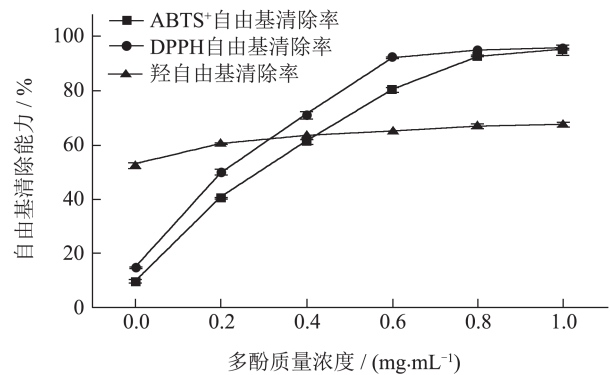


图 10 不同质量浓度核桃粕粗多酚对自由基清除率效果

Fig.10 Effect of walnut meal crude polyphenols mass concentration on the free radical scavenging rate

核桃粕粗多酚提取物对 DPPH 自由基清除能力、ABTS⁺ 自由基清除能力和羟基自由基清除能力如图 10 所示。当核桃粕粗多酚提取物质量浓度低于 0.60 mg·mL⁻¹ 时，粗多酚提取物对 DPPH 自由基清除率随着粗多酚提取物含量的增加而增加，超过 0.60 mg·mL⁻¹ 时，清除率逐渐趋于平稳，达到 90% 以上，IC₅₀=0.20 mg·mL⁻¹；粗多酚提取物对 ABTS⁺ 自由基清除率具有相同的趋势，清除率趋于平衡时质量分数为 0.80%，清除率达到 90% 以上，IC₅₀=0.27 mg·mL⁻¹；而羟基自由基的清除率随着浓度增加变化不大，维持在 60%~70% 之间。白玉英等^[12] 采用 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基清除能力评价了核桃分心木多酚乙醇提取物的抗氧化能力，分心木多酚质量浓度达到 0.60 mg·mL⁻¹ 时，DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基清除率达到平衡（90%~95%）。王纪辉等^[33] 采用羟自由基清除能力对核桃分心木多酚的抗氧化能力评价时发

现，多酚质量浓度在 0.10~0.60 mg·mL⁻¹ 区间内，羟自由基清除率缓慢增加，维持在 11%~14%，与我们的研究趋势一致，但相同浓度下清除率是后者的 5 倍左右。

2.5 核桃粕粗多酚对核桃油氧化稳定性影响

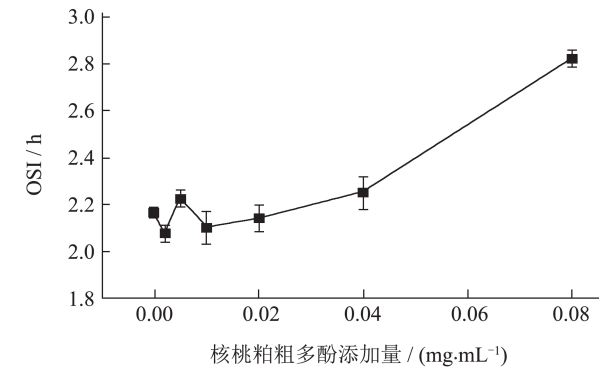


图 11 不同粗多酚添加量核桃油加速氧化过程中 OSI 值变化

Fig.11 Effect of crude polyphenols mass concentration on the changes of OSI values during the accelerated oxidation process of walnut oil

OSI 值越大，油脂氧化稳定性越好，反之，氧化稳定性越差。从图 11 中可以看出，空白核桃油的 OSI 为 2.17 h 左右，在添加质量分数 0.001%~0.02% 区间内，核桃油的 OSI 值在 2.18 h 和 2.23 h 区间内波动，可能添加量差距较小，抗氧化能力变化不大；在添加质量分数高于 0.04% 时，OSI 值出现直线上升，在添加质量浓度为 0.08 mg·g⁻¹ 时达到最大，OSI 值为 2.83 h，氧化稳定性较好，比空白核桃油 OSI 值提高了 30%。张献忠等^[34] 添加 BHT 和迷迭香提取物对水酶法核桃油的氧化稳定性进行研究发现，添加抗氧化剂 BHT（质量分数 0.02%）和迷迭香提取物（质量分数 0.07%）的核桃油氧化稳定性约提升了 2.27 倍和 3.18 倍。由于

核桃粕粗多酚粗提取物并未进行分离纯化, 因此同等浓度下的抗氧化活性较低, 后续需进一步纯化研究。

3 结论

该研究以液压提油后的核桃粕为试验原料, 采用微波-超声共辅助乙醇提取核桃粕中粗多酚。响应面设计优化得到的最佳反应条件为: 料液比 1:57.33 ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 乙醇体积分数 69.13%, 超声功率 100 W, 微波功率 109.92 W; 最佳条件下平均多酚提取量为 41.61 mg GAE $\cdot\text{g}^{-1}$ 。纯化后的多酚提取液采用 UPLC Q-TOF/MS 共鉴定出 24 种多酚类物质, 其中质量浓度较高 ($>100.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 的多酚为 3,4-二羟基苯乙酸 ($8\,233.93\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、山奈酚-3-O 芸香糖苷 ($4\,504.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、鞣花酸 ($1\,882.50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 等。核桃粕粗多酚在浓度为 $0.80\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 具有较好的 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除效果 (95% 以上), 羟自由基清除率维持在 60%~70%; 核桃粕粗多酚在添加质量浓度为 $0.08\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 时, 可以将核桃油的氧化稳定性提高 30% 以上。核桃粕多酚作为天然抗氧化剂, 进一步分离纯化后在食品行业具有很高的应用价值, 可以大大提升核桃粕的综合利用水平。

参考文献

- [1] 刘爱华,叶礼奇.中国统计年鉴2024[M].北京:中国统计出版社,2024.
- [2] 黄崇博,黄颖,马旋,等.核桃制油及其饼粕蛋白利用技术研究进展[J/OL].中国油料作物学报,1-13[2024-11-18].
- [3] 刘晓莉,姜少娟.核桃饼粕微生物发酵饲料的初步研究[J].广州化工,2014,42(18):130-132.
- [4] 黄子林.核桃多酚对核桃蛋白结构和性质的影响[D].无锡:江南大学,2022.
- [5] GAO F, ZHANG Z, XUE N, et al. Identification of a novel oligopeptide from defatted walnut meal hydrolysate as a potential neuroprotective agent [J]. Food & Function, 2024. 15(10): 5566-5578.
- [6] LUO Y, WU W X, CHEN D, et al. Optimization of simultaneous microwave/ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from walnut flour using response surface methodology [J]. Pharmaceutical Biology, 2017, 55(1): 1999-2004.
- [7] ZHU K Y, MA J, CONG J Z, et al. The road to reuse of walnut by-products: a comprehensive review of bioactive compounds, extraction and identification methods, biomedical and industrial applications [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 143: 104264.
- [8] GARCIA M D P, ESPINOSA P F A, SAVOIRE R, et al. Recovery and antioxidant activity of phenolic compounds extracted from walnut press-cake using various methods and conditions [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 167: 113546.
- [9] MISHRA S, AERI V. Optimization of microwave-assisted extraction conditions for preparing lignan-rich extract from saraca asoca bark using Box-Behnken design [J]. Pharmaceutical Biology, 2016, 54(7): 1255-1262.
- [10] 苏晨,忠梦,吉洋洋,等.真空提取核桃粕多酚的抗氧化活性研究[J].食品安全质量检测学报,2023,14(10):145-153.
- [11] QI H T, FU W J, LIU Y J, et al. Electron beam irradiation coupled ultrasound-assisted natural deep eutectic solvents extraction: a green and efficient extraction strategy for proanthocyanidin from walnut green husk [J]. Food Chemistry, 2024, 463(Pt 3): 141279.
- [12] 白玉英,解静,张丽,等.超声辅助酶法优化提取核桃分心木多酚及其抗氧化活性研究[J].云南农业大学学报(自然科学),2024, 39(3):107-115.
- [13] 吴书天.核桃仁中多酚形态分布及其抗氧化关联分析[D].北京:中国林业科学研究院,2021.
- [14] WEI Z, YANG K Z, GUO M M, et al. The effect of thermal pretreatment processing on the distribution of free and bound phenolics in virgin camellia oleifera seed oil [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 161: 113349.
- [15] LAREZ G L F, ESQUER J, GUZMÁN H, et al. Effect of Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) parameters on the recovery of polyphenols from pecan nutshell waste biomass and its antioxidant activity [J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2024, (prepublish):1-19.
- [16] 国家粮食局科学研究院.粮油检验植物油中多酚的测定分光光度法:LS/T 6119-2017[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [17] 靳明凯,杨文平,郝教敏,等.黑麦籽粒多酚提取工艺优化及其成分鉴定[J].中国粮油学报,2020,35(10):161-168.
- [18] WEI Z, LUO J, HUANG Y, et al. Profile of polyphenol compounds of five muscadine grapes cultivated in the United States and in newly adapted locations in China [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(3): 631.
- [19] HE G Y, HUO X, HAN M, et al. Discrimination and polyphenol compositions of green teas with seasonal variations based on UPLC-QTOF/MS combined with chemometrics [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 105: 104267.
- [20] ZHAI F H, LIU H Y, HAN J R. Protein nutritional value, polyphenols and antioxidant properties of corn fermented with *Agaricus brasiliensis* and *Agaricus bisporus* [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2018, 34(3): 36.
- [21] SHEN H Y, HOU Y J, XI M H, et al. Electron beam irradiation enhanced extraction and antioxidant activity of active compounds in green walnut husk [J]. Food Chemistry, 2021, 373(PB): 131520.
- [22] NASIRU M M, SUN E Y, ZHAO L, et al. Isolation, purification, and antioxidant activity of polyphenols from cynanchum auriculatum royle ex wight [J]. Separations, 2024, 11(11): 316.
- [23] 田永涛,陈均,辛宇阳,等.超声辅助天然低共熔溶剂提取苹果皮多酚工艺优化及机理分析[J].现代食品科技,2024,40(12):289-300.
- [24] 许飞利,任嘉瑜,王丹凤,等.红仁核桃内种皮多酚提取工艺研究[J].陕西农业科学,2024,70(8):30-36.
- [25] BOCHI V C, BARCIA M T, RODRIGUES D, et al. Polyphenol

- extraction optimisation from Ceylon gooseberry (*Dovyalis hebecarpa*) pulp [J]. Food Chemistry, 2014, 164(12): 347-354
- [26] 赵强,刘乐,杨洁,等.响应面法优化藜麦糠中多酚超声提取工艺及其抗氧化活性[J].中国粮油学报,2020,35(7):143-149.
- [27] 马艳,姜亦超,董格格,等.超声辅助提取玄米茶多酚工艺的优化及其抗氧化活性研究[J].食品工业,2023,44(8):22-27.
- [28] CHY R W M, AHMED T, IFTEKHAR J, et al. Optimization of microwave-assisted polyphenol extraction and antioxidant activity from papaya peel using response surface methodology and artificial neural network [J]. Applied Food Research, 2024, 4(2): 100591.
- [29] LI Y, FANG S J, HU F X, et al. Optimization of extraction of polyphenols from chestnut shell by response surface methodology [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 791(1): IOP Publishin.
- [30] 韩永翔.核桃不同品种营养品质差异与产地溯源[D].北京:中国林业科学研究院,2019.
- [31] WU S T, SHEN D Y, WANG R H, et al. Phenolic profiles and antioxidant activities of free, esterified and bound phenolic compounds in walnut kernel [J]. Food Chemistry, 2021, 35(11): 129217.
- [32] CUI M, MO R, LI Q, et al. Maturation-induced changes in phenolic forms and their antioxidant activities of walnuts: a dual view from kernel and pellicle [J]. Food Chemistry, 2024, 23: 101792.
- [33] 王纪辉,耿阳阳,胡伯凯,等.核桃分心木多酚物质响应及组成与抗氧化能力探究[J].西南大学学报(自然科学版),2023,45(8):83-94.
- [34] 张献忠,李阳,李丹,等.不同抗氧化剂对水酶法核桃油氧化稳定性及脂肪酸组成影响[J/OL].中国油脂,1-11[2025-08-01].