

随机质心映射优化法研究核桃青皮中蒽醌类色素的提取工艺

丁芸, 刘玉梅* (新疆大学化学化工学院, 新疆乌鲁木齐 830046)

摘要 [目的]采用随机质心优化设计研究核桃青皮中的蒽醌类色素的超声波辅助提取工艺。[方法]试验以新疆当地核桃青皮为原料,考察提取温度、提取时间、超声时间、料液比、粉碎粒度和乙醇浓度6个影响因素对蒽醌提取率的影响。[结果]优化的提取工艺为:萃取温度64℃,萃取时间114 min,超声时间24 min,料液比0.09 g/ml,粉碎粒度20目,乙醇浓度为60% (V/V),在此条件下,核桃青皮中的蒽醌类色素提取率可达(4.84±0.14)mg/g。[结论]随机质心优化法在进行多因素优化时可以不进行单因素试验,具有试验次数少、受人为因素影响小、适应性广等特点。

关键词 核桃青皮色素;随机质心映射优化;蒽醌类

中图分类号 S609.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)25-301-04

Study on Extraction Technology of Anthraquinones Pigments from Walnut Green Husks by Random-Centroid Optimization

DING Yun, LIU Yu-mei* (College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046)

Abstract [Objective] Random-Centroid Optimization(RCO) methodology was employed to optimize the extraction of anthraquinones pigments in Walnut Green Husks combining with ultrasonic-assisted. [Method] Six conditions were used to study, namely extraction temperature, extraction time, ultrasonic time, solid-liquid ratio, particle size and ethanol concentration. [Result] The optimal extraction conditions were as follows: extraction temperature 64℃, heating time 114 min, ultrasonic time 24 min, solid-liquid ratio 0.09 g/ml, particle size 20 mesh, and ethanol concentration 60% (V/V). In this condition, the yield of anthraquinones pigments was (4.84±0.14)mg/g in walnut green husk. [Conclusion] Parameter optimization could be carried out directly without single test by using Random-Centroid Optimization methodology, which had the advantages of fewer experiments, less anthropogenic and wide adaptability.

Key words Walnut green husk pigment; Random-Centroid Optimization; Anthraquinones

核桃青皮又名青龙衣,为胡桃科植物核桃楸(*Jugland mandshurica* Maxim)和核桃(*Juglans regia*)的未成熟果皮,主要分布在东北的南部、华北、西北、华中及华东地区^[1]。我国每年核桃采收季节均有大量的核桃青皮产生,除少量药用或作为燃料使用外基本被废弃,若能对其加以利用,不仅可使核桃青皮变废为宝,还能减少环境污染^[2]。已有研究表明,核桃青皮中主要有效成分是醌类、多酚类、多糖、二芳基庚烷类^[3],此外还含有甾体、萜类、脂肪酸、多种矿物质元素、维生素等成分^[4]。蒽醌类化合物广泛存在于多种植物中,自古以来就是一类重要的天然染料,也是核桃青皮中的主要色素成分^[5-6]。

随机质心映射优化程序(randomcentroid optimization, RCO)是一种全局性的优化程序,是由加拿大英属哥伦比亚大学食品科学系教授Dr. Nkai于1981年设计的^[7]。该方法与常用的正交设计法(orthogonal experimental design, OED)和响应面法(response surface methodology, RSM)相比,能以最少的试验次数,得到良好的试验结果,尤其适用于影响因素较多的情况^[8-9]。该程序每次循环包括3个步骤:随机搜索(random search)、质心选择(centroid search),及映射优化(mapping optimization)。笔者采用随机质心映射优化法研究核桃青皮中蒽醌类色素提取工艺,考察了提取温度、提取时间、超声时间、料液比、粉碎粒度和乙醇浓度6个影响因素,旨在为核桃青皮进一步利用提供理论参考。

1 材料与方

1.1 材料 原料:新疆当地核桃青皮,烘干后备用。主要试

剂:1,8-二羟基蒽醌标准品(质量分数96%~98%),Sigma-Aldrich公司;乙醇、甲醇、醋酸镁,均为分析纯。主要仪器:电子天平,德国赛多利斯,型号:BS210S,精度0.1 mg,称重范围0~210 g;超声波清洗器,型号KQ5200B,昆山市超声仪器有限公司;离心机,型号Anke.TGL-16G,上海安亭科学仪器厂;UV-5300PC型紫外/可见分光光度计,上海元析仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线的绘制。精确称取1,8-二羟基蒽醌标准品10 mg,加入几滴乙醚,振荡使其溶解,用甲醇定容至50 ml,取5 ml稀释至25 ml容量瓶,配成0.04 mg/ml蒽醌标准溶液。分别移取1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 ml标液置于10 ml容量瓶中,加0.5%醋酸镁-甲醇溶液至刻度,以0.5%醋酸镁-甲醇溶液为空白对照,在200~800 nm波长范围内进行全波长扫描,确定最大吸收波长。以蒽醌质量浓度c(mg/ml)为横坐标,吸光度值A为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.2 待测液的制备。称取适量粉碎后的核桃青皮,选择提取温度、提取时间、超声时间、料液比、粉碎粒度和乙醇浓度6个影响因素,按表1中给出的各因素的上下限范围,输入随机质心映射优化程序进行随机设计,分别在给出的对应参数条件下进行提取。提取完成后,抽滤,将提取液定容至50 ml,测定各自的含量,试验结果以提取液中蒽醌含量来评价。

1.2.3 蒽醌含量的测定。吸取1 ml待测样品液测吸光度,由标准曲线得出待测样品液中的蒽醌浓度,再按以下公式计算出提取液中蒽醌的含量。

$$X = cVN/m$$

式中,X为含量(mg/g),c为质量浓度(mg/ml),V为总体积(ml),N为稀释倍数,m为称取核桃青皮的质量。

作者简介 丁芸(1989-),女,河南信阳人,硕士研究生,研究方向:分析化学。*通讯作者,教授级高级工程师,博士,从事食品功能因子研究。

收稿日期 2015-07-02

表 1 待优化因子的上下限范围

循环次数	因子上下限	待优化因子名称					
		提取温度 ℃	提取时间 min	超声时间 min	料液比 g/ml	粉碎粒度 目	乙醇浓度 %
第 1 轮	因子上限	20	30	5	0.03	20	0
	因子下限	80	120	30	0.10	80	95
第 2 轮	因子上限	40	60	15	0.07	20	20
	因子下限	80	120	25	0.09	80	65
第 3 轮	因子上限	45	85	15	0.08	40	40
	因子下限	70	115	25	0.09	60	60

1.3 数据处理 每组试验的测定次数均为 3 次, 试验数据采用 Microsoft Excel 来处理, 结果以平均值 \pm 标准偏差 (means \pm standard deviation) 来表示。

2 结果与分析

2.1 最大吸收波长的选择及标准曲线的制备 由图 1a 可

知, 标准溶液在波长 510 nm 处有一特定吸收峰, 因此选择 510 nm 波长作为测定波长。以样品的吸光值为纵坐标、蒽醌浓度为横坐标, 制备标准曲线见图 1b, 标准曲线的回归方程为 $A = 45.5929c + 0.0209$, $R^2 = 0.9996$, 表明浓度在 4 ~ 24 $\mu\text{g/ml}$ 范围内, 有良好的线性关系。

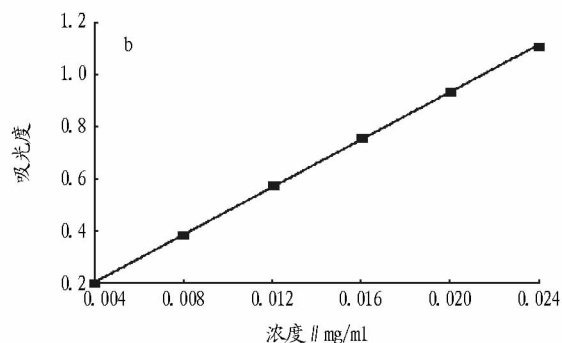
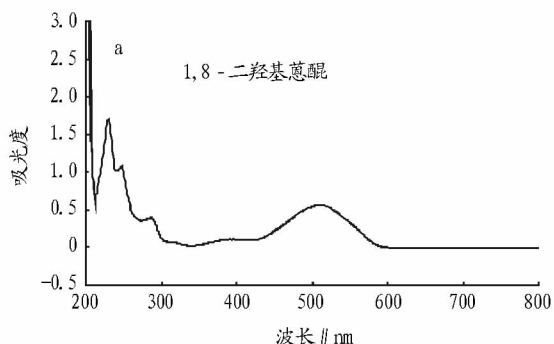


图 1 标准溶液的全波长扫描和标准曲线

2.2 随机质心条件的设计 表 2 为依据 RCO 程序设计出的随机试验点, 进行第 1 轮循环的试验条件及测定结果。

表 2 第 1 轮随机试验方案及试验结果

试验	试验编号	因素						蒽醌含量 mg/g
		提取温度 ℃	提取时间 min	超声时间 min	料液比 g/ml	粉碎粒度 目	乙醇浓度 %	
随机搜索设计	1	50.52(50)	92.43(92)	9.96(10)	0.08	57.53(60)	5.01(5)	2.21 \pm 0.06
	2	76.11(76)	87.25(87)	14.70(15)	0.08	26.37(20)	53.09(53)	3.05 \pm 0.32
	3	30.61(31)	36.67(37)	12.19(12)	0.09	43.91(40)	73.63(74)	1.57 \pm 0.13
	4	47.12(47)	74.52(75)	26.35(26)	0.07	35.34(40)	62.46(62)	2.99 \pm 0.11
	5	25.73(26)	117.06(117)	8.89(9)	0.06	77.00(80)	0.95(1)	2.33 \pm 0.12
	6	45.84(46)	37.27(37)	17.90(18)	0.07	56.09(60)	90.49(90)	0.68 \pm 0.02
	7	29.57(30)	30.54(31)	27.58(28)	0.04	58.81(60)	37.10(37)	2.42 \pm 0.02
	8	34.30(34)	50.72(51)	11.82(12)	0.06	22.52(20)	77.06(77)	1.01 \pm 0.03
	9	64.18(64)	56.26(56)	9.09(9)	0.05	55.45(60)	26.95(27)	2.31 \pm 0.04
	10	50.48(50)	81.85(82)	29.02(29)	0.08	60.73(60)	12.50(13)	2.44 \pm 0.05
	11	47.52(47)	118.98(119)	19.24(19)	0.08	76.76(80)	5.39(5)	2.78 \pm 0.02
	12	40.47(40)	31.50(32)	23.57(24)	0.08	28.69(20)	26.70(27)	2.83 \pm 0.07
质心搜索	13	54.85(55)	78.05(78)	17.60(18)	0.07	50.92(60)	21.61(22)	2.66 \pm 0.03
	14	48.44(48)	88.18(88)	17.56(18)	0.08	54.51(60)	17.27(17)	2.59 \pm 0.05
	15	50.75(51)	82.15(82)	17.42(17)	0.07	54.17(60)	20.93(21)	2.70 \pm 0.07
	16	50.72(51)	83.91(84)	14.24(14)	0.07	53.63(60)	19.68(20)	2.65 \pm 0.04

对第 1 轮的试验结果采用 RCO 软件进行优化条件映射, 图 2 中箭头所指为每个因素的最佳映射条件值, 由图 2 可以看出, 蒽醌类色素第 1 轮的较好条件为: 萃取温度为 76 $^{\circ}\text{C}$, 萃取时间为 87 min, 超声时间为 15 min, 料液比为 0.08

g/ml, 粉碎粒度为 20 目, 乙醇浓度为 53%。

由图 2 可以看出, 箭头所指方向并不是很明确, 映射结果较分散, 需要进一步验证。因此, 又在第 1 轮试验的基础上, 在 RCO 程序中输入第 2 轮试验中各个因子的上下限范

围,所得第 2 轮的试验的因子水平及结果见表 3 和图 3。图 3 显示,蒽醌类色素第 2 轮的优化条件为:萃取温度 50 ℃,萃

取时间 103 min,超声时间 23 min,料液比 0.09 g/ml,粉碎粒度 80 目,乙醇浓度为 51%。

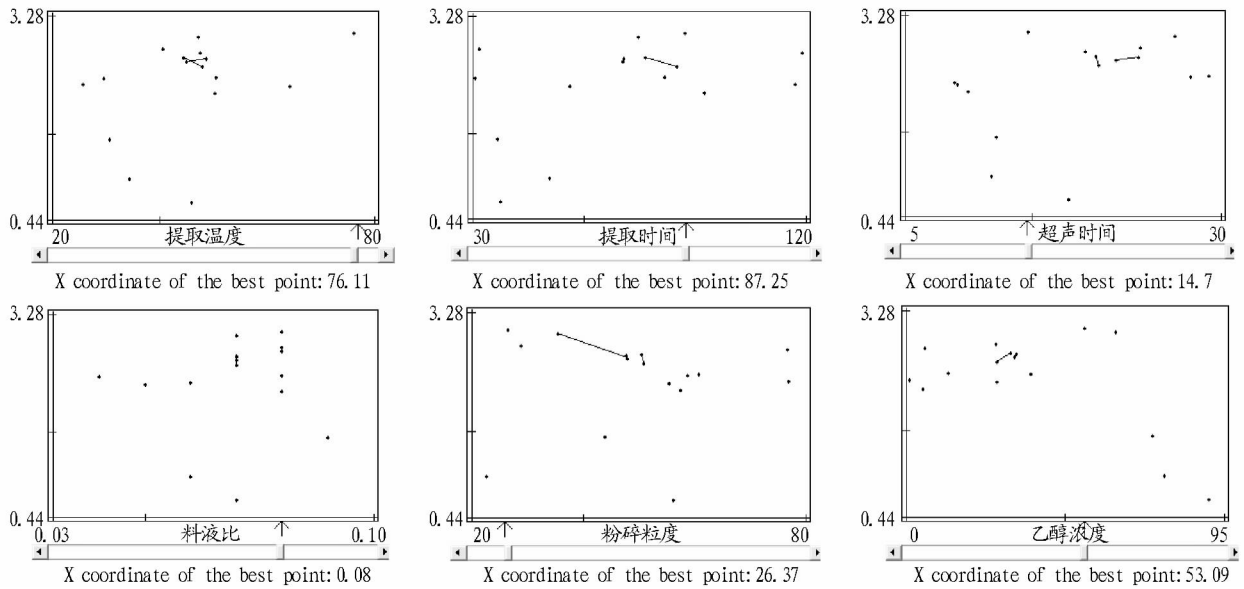


图 2 第 1 轮优化条件映射

表 3 第 2 轮随机试验方案及试验结果

试验	试验编号	因素						蒽醌含量 mg/g
		提取温度//℃	提取时间 min	超声时间 min	料液比 g/ml	粉碎粒 度//目	乙醇浓 度//%	
随机搜索设计	17	75.48(75)	78.36(78)	22.76(23)	0.07	53.75(60)	41.54(42)	3.33 ± 0.02
	18	66.34(66)	100.00	17.57(18)	0.08	73.86(80)	60.47(61)	4.10 ± 0.58
	19	64.37(64)	63.23(63)	20.49(20)	0.08	57.59(60)	36.74(37)	3.36 ± 0.10
	20	59.67(60)	85.41(85)	19.06(19)	0.09	62.32(60)	29.89(30)	3.00 ± 0.15
	21	73.77(74)	78.85(79)	16.01(16)	0.08	32.22(40)	26.53(27)	2.82 ± 0.05
	22	48.99(49)	103.20(103)	22.97(23)	0.09	75.54(80)	51.34(51)	4.53 ± 0.11
	23	44.71(45)	114.25(114)	22.41(22)	0.08	29.63(20)	37.70(38)	4.24 ± 0.12
	24	49.25(49)	112.33(112)	23.29(23)	0.09	26.19(20)	27.01(27)	3.79 ± 0.14
质心搜索	25	58.19(58)	95.23(95)	21.58(22)	0.08	52.76(60)	42.47(42)	3.37 ± 0.08
	26	58.29(58)	96.71(97)	20.24(20)	0.08	48.20(40)	44.39(44)	3.89 ± 0.06
	27	60.15(60)	99.23(99)	20.62(21)	0.08	47.56(40)	45.19(45)	3.67 ± 0.09
	28	62.67(63)	91.05(91)	20.15(20)	0.08	52.79(60)	46.81(49)	3.83 ± 0.03

表 4 第 3 轮随机试验方案及试验结果

试验	试验编号	因素						蒽醌含量 mg/g	
		提取温度//℃	提取时间 min	超声时间 min	料液比 g/ml	粉碎粒 度//目	乙醇浓 度//%		
随机搜索设计	29	55.52(55)	85.57(86)	21.17(21)	0.08	24.74(20)	53.54(54)	4.72 ± 0.08	
	30	63.90(64)	113.84(114)	24.01(24)	0.09	22.81(20)	59.74(60)	4.84 ± 0.14	
	31	57.12(57)	96.98(97)	18.14(18)	0.08	28.58(20)	41.15(41)	3.76 ± 0.03	
	32	59.09(59)	109.60(110)	18.42(18)	0.09	71.28(80)	42.22(42)	3.56 ± 0.02	
	33	46.54(47)	93.78(94)	20.24(20)	0.08	63.19(60)	59.02(59)	3.67 ± 0.08	
	34	65.83(66)	97.18(97)	22.13(22)	0.08	71.52(80)	48.63(49)	3.70 ± 0.05	
	35	64.6(65)	94.94(95)	21.13(21)	0.09	46.53(40)	54.48(54)	4.43 ± 0.08	
	36	61.66(62)	101.67(102)	16.79(17)	0.08	61.51(60)	51.62(52)	3.52 ± 0.15	
	质心搜索	37	57.34(57)	101.97(102)	21.54(22)	0.09	45.52(40)	52.88(53)	4.62 ± 0.03
		38	56.00	101.42(101)	21.99(22)	0.09	41.24(40)	50.20(50)	4.30 ± 0.03
39		59.61(60)	99.04(99)	21.18(21)	0.09	48.61(40)	53.99(54)	4.53 ± 0.05	
40		56.23(56)	102.26(102)	21.40(21)	0.08	45.80(40)	51.20(51)	4.39 ± 0.02	

经过上述 2 轮试验优化后,各试验因素的参数上下线范围已明显减小,且第 2 轮试验所得提取液的蒽醌含量也已有明显的提高,但各因素的最佳试验点尚不明确,因此,又通

过第 3 轮进行了进一步的优化。试验结果见表 4、图 4。表 4 数据表明,经过此轮优化,影响蒽醌类色素提取率的各因素最优提取工艺条件已基本明确:分别为萃取温度为 64 ℃,萃

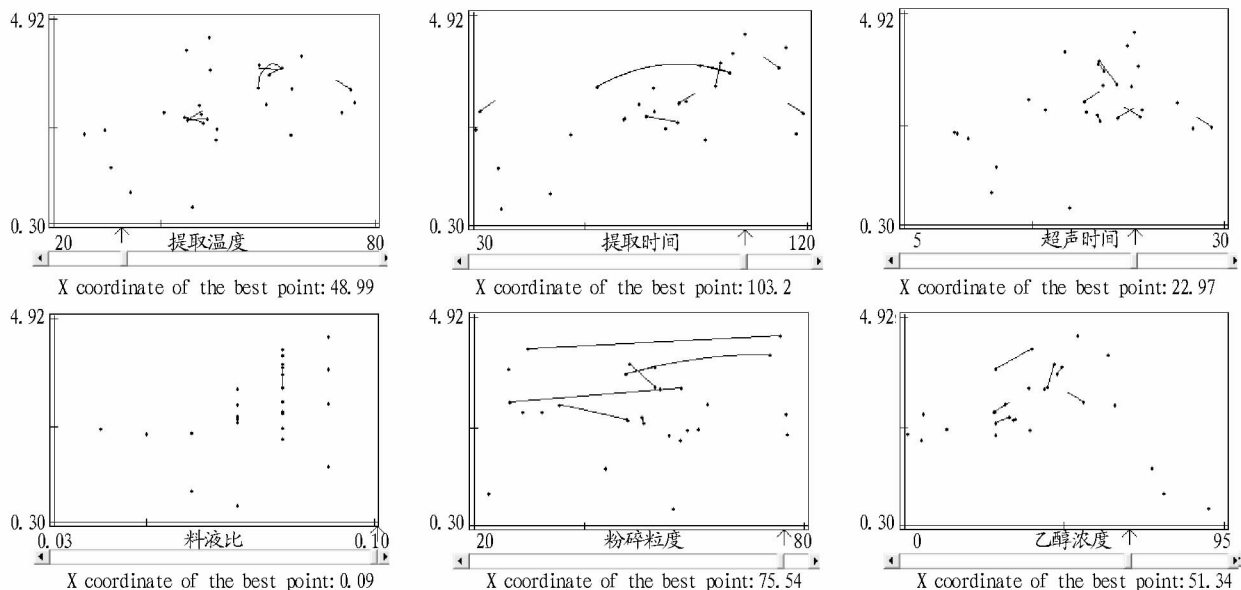


图3 第2轮优化条件映射

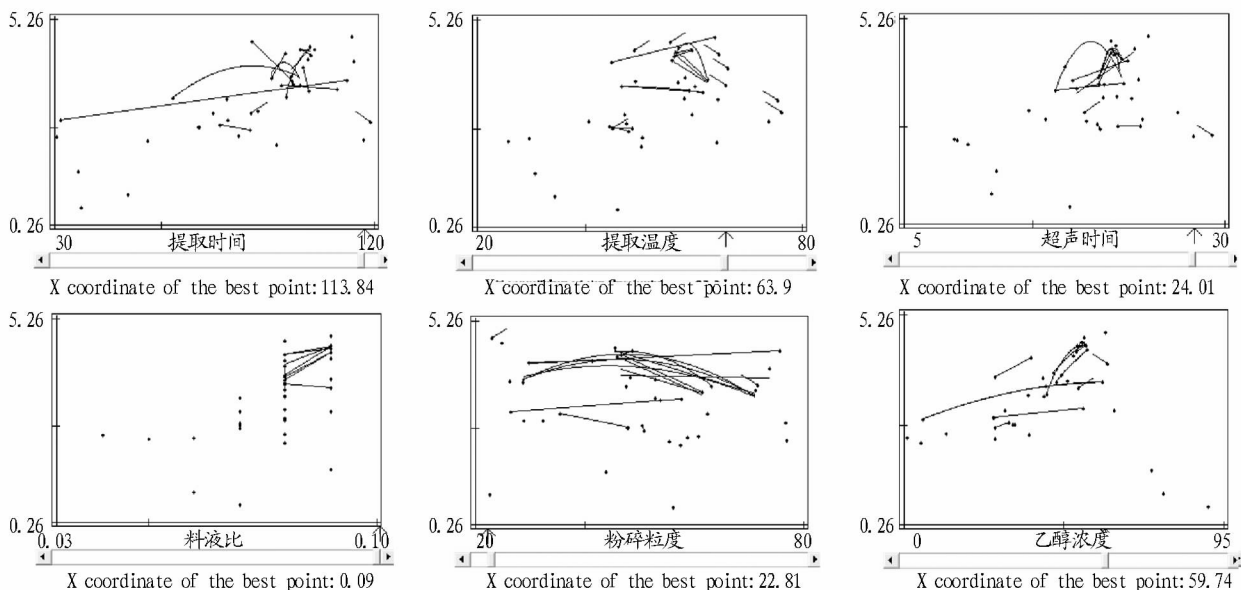


图4 第3轮优化条件映射

取时间为 114 min, 超声时间为 24 min, 料液比为 0.09 g/ml, 粉碎粒度为 20 目, 乙醇浓度为 60%, 此最优组合即为表 4 中的第 30 号试验。从图 4 中也能非常直观地看到优化的试验结果, 此时, 蒽醌类的提取率可达 (4.84 ± 0.14) mg/g。

3 结论

研究通过 3 轮的随机质心映射优化试验对影响核桃青皮中蒽醌类色素提取率的 6 个主要因素进行了优化, 结果表明, 最佳提取条件为提取温度 64 °C, 提取时间 114 min, 超声时间 24 min, 料液比 0.09 g/ml, 粉碎粒度 20 目, 乙醇浓度 60%, 在此工艺条件下, 蒽醌的提取率可达 (4.84 ± 0.14) mg/g。该方法与响应面法和正交设计相比, 在影响因素较多时可以在更少的试验次数内得到最佳的试验方案。

参考文献

[1] 郝荣庭, 张毅萍. 中国果树志: 核桃卷[M]. 北京: 中国林业科学出版社,

1996: 28-83.

[2] 潘富赞, 张培正. 核桃青皮的综合利用及开发前景[J]. 中国食物与营养, 2010(12): 21-24.

[3] 李海洋, 韩军岐, 李志西. 核桃青皮有效化学成分提取分离研究综述[J]. 现代园艺, 2012(15): 9-11.

[4] 王红萍, 尹江艳. 核桃青皮的有效成分及综合利用[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(24): 10129-10131, 10133.

[5] 单国华. 蒽醌类天然染料的研究现状与开发设计[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2007: 4-13.

[6] 仲军梅, 徐健新, 刘玉梅. 核桃青皮中蒽醌类色素提取及稳定性[J]. 精细化工, 2014, 31(4): 458-462.

[7] NAKAI S. Comparison of optimization techniques for application to food product and process development[J]. Journal of food science, 1982, 47(1): 144-176.

[8] NAKAI S, DOU J, LO K V, et al. Optimization of site-directed mutagenesis. 1. New random-centroid optimization program for Windows useful in research and development[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 1998, 46(4): 1642-1654.

[9] 蒋莉, 祁英, 刘玉梅. 随机质心映射优化法对新疆雪菊中黄酮和多酚提取工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(17): 258-261.