

文章编号:1005-0523(2013)02-0028-05

响应面法优化皖南山核桃壳棕色素的提取工艺

刘建平,王淑怡,吴丽丽

(华东交通大学基础科学学院,江西 南昌 330013)

摘要:研究皖南地区山核桃壳中棕色素的最佳提取工艺。在单因素试验的基础上,以提取率为评价指标,运用Box-Behnken试验设计和响应面分析法确定了主要影响因素液料比、提取时间和提取温度的最佳条件。结果表明,棕色素的最佳提取工艺条件为:液料比 $16\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$,提取时间40 min,提取温度 $63\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。此条件下,棕色素提取率为4.2%,与理论预测值4.4%非常接近。因此,利用响应面分析方法对核桃壳棕色素提取工艺进行优化,可获得最优的工艺参数。

关键词:山核桃壳;棕色素;响应面法

中图分类号:TS202

文献标志码:A

天然色素对人类安全无毒害,可作为医药、化妆品、食品等行业中的理想添加剂^[1-3]。目前,天然色素的主要来源是从植物中提取分离得到,其中天然棕色素主要来自核桃壳^[4]、板栗壳^[5]、油茶果壳^[6]、榛子壳^[7]、竹笋壳^[8]等植物中。山核桃壳是山核桃的外果皮,碱性较强,既不能作饲料也不能直接作肥料,被丢弃后既浪费资源又污染环境^[9-10]。目前,产自我国新疆^[11]、东北^[12]、云南^[13]等地区的核桃壳色素的研究工作已经见诸报道。位于皖南山区的宁国市,素有“中国山核桃之乡”的美誉,此地所产的山核桃,不同于我国其它地区的大核桃,属于稀特产品。据统计,2012年此地区的山核桃产量约有9 000 t,按每吨果实含三分之一果壳估算,将会产生约3 000 t废弃的果壳,如果不加以综合利用,将会给该地区带来严重的环境污染。凌庆枝等^[14]研究了宁国山核桃外果皮色素的各种性质,其提取方法为普通的水溶液浸提,也没有探讨并优化提取工艺。试验采用超声波辅助浸提技术,根据响应面分析法中的Box-Behnken^[15]试验原理建立数学模型,分析指标和因素间的非线性关系,从而优化山核桃壳中棕色素的提取工艺,为宁国山核桃壳棕色素的提取和应用提供更进一步的理论基础和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

核桃壳:产自安徽宁国山区,冷冻8个月后取出自然风干。干燥至恒重,粉碎至60目。

实验所用试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

DHG-9101电热恒温鼓风干燥箱,上海光都仪器设备有限公司;KQ-100KDB数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;AB204-N电子分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 试验流程

提取工艺流程:山核桃壳→风干→粉碎→干燥至恒重→超声辅助提取→过滤→滤液→醇沉→离心→取胶状沉淀→真空干燥→产品。按下式计算提取率 Y

收稿日期:2013-01-06

基金项目:江西省教育厅基金项目(GJJ11680);华东交通大学研究生创新基金项目(YC2012-X019)

作者简介:刘建平(1976—),男,副教授,博士,主要研究方向为精细与专用化学品。

$$Y = \frac{m}{M} \times 100\%$$

式中: M 为核桃壳质量, g; m 为核桃壳棕色素产物质量, g。

1.3.2 单因素试验

以液料比、提取时间和提取温度作为影响棕色素提取率的单因素条件。

1.3.3 棕色素提取工艺的响应面优化

在单因素实验的基础上,采用 Box-Behnken 模型,以棕色素提取率为响应值,以液料比、提取温度和提取时间为自变量,通过响应面法优化山核桃壳中棕色素的提取工艺,试验因素水平设计如表1所示。

表1 响应面优化试验因素与水平
Tab.1 Factors and levels of the RSM experiments

水平编码 X_i	因素		
	液料比 $x_1/(\text{mL} \cdot \text{g}^{-1})$	提取温度 $x_2/^\circ\text{C}$	提取时间 x_3/min
-1	10	50	25
0	15	60	35
1	20	70	45

表1按方程 $X_i = (x_i - x_0)/\Delta x$ 对自变量进行编码。其中: X_i 为自变量的编码值, x_i 为试验因素, $i=1, 2, 3$; x_0 为实验中心点处自变量的真实值; Δx 为自变量的步长。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 液料比

从图1可以看出,棕色素提取率随液料比的增加而增加,这是因为液料比的增加,棕色素越容易溶出。尤其是在液料比为 $15 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 之前,提取率增加较为明显。超过此值后,随液料比的增加,棕色素提取率增加趋缓,这可能是因为能溶出的棕色素量基本都已溶出,因此,再增加液料比对增加棕色素提取率影响不大。当液料比为 $25 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 时,提取率出现翘尾的原因可能是溶剂量的增加导致的低极性杂质和水溶性杂质的溶出。因此,最终确定 $15 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 为优化实验中液料比的中心值。

2.1.2 提取温度

从图2可知,棕色素提取率随提取温度的升高先升高后下降。30~40 $^\circ\text{C}$ 之间提取率上升趋势较为平缓,40~50 $^\circ\text{C}$ 时提取率上升明显,这是因为温度升高有利于色素的溶出。但50~60 $^\circ\text{C}$ 时提取率变化趋缓,超过60 $^\circ\text{C}$ 时,棕色素的提取率随提取温度的升高而下降,这可能是因为温度过高导致部分溶剂挥发和部分色素分解。因此,可以初步确定60 $^\circ\text{C}$ 为提取温度优化实验的中心值。

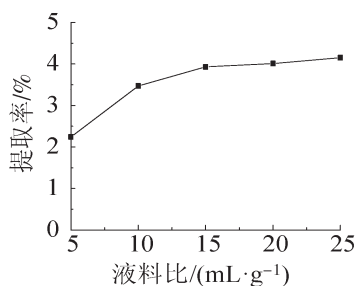


图1 液料比对棕色素提取率的影响
Fig.1 Effects of liquid-solid ratio on extraction yield of brown pigments

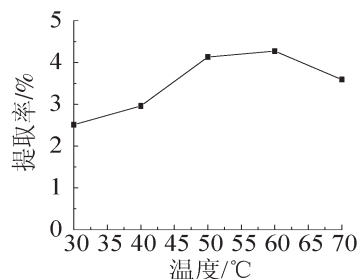


图2 提取温度对棕色素提取率的影响
Fig.2 Effects of extraction temperature on extraction yield of brown pigments

2.1.3 提取时间

如图3所示,在35 min的浸提时间以内,棕色素提取率随提取时间的延长而明显增加,这是因为,浸提时间的延长,超声波破坏山核桃外果皮中细胞壁的可能性越大,溶出的色素量越多。随着浸提液中棕色素达到一定浓度后,再延长提取时间,棕色素的溶出量不会大幅增加,同时却使能耗增加。因此,选择35 min为优化工艺中提取时间的中心值。

2.2 响应面法优化提取工艺

2.2.1 试验设计及结果

响应面试验设计结果见表2,用Design Expert软件对试验进行回归拟合分析,得到棕色素提取率与各因素变量的二次方程模型:

$$Y=0.043 + 1.312 \times 10^{-3} X_1 + 2.863 \times 10^{-3} X_2 + 1.975 \times 10^{-3} X_3 - 8.5 \times 10^{-4} X_1 X_2 + 2.25 \times 10^{-4} X_1 X_3 - 2.25 \times 10^{-4} X_2 X_3 - 2.5 \times 10^{-3} X_1^2 - 4.750 \times 10^{-3} X_2^2 - 2.275 \times 10^{-3} X_3^2$$

用软件对模型进行方差分析,结果如表3所示。一次项液料比、一次项提取温度、一次项提取时间对棕色素提取率的影响显著;液料比与提取温度的交互项、二次项液料比、二次项提取温度和二次项提取时间对棕色素提取率的影响显著,表明该方程并非简单的线性关系,方程二次项对响应值影响也很大,部分交互影响显著,这与模型分析的结果是相吻合的。

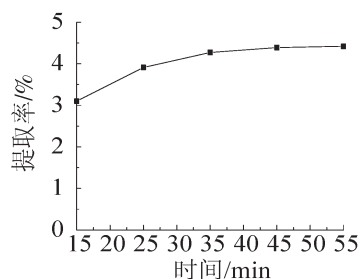


图3 提取时间对棕色素提取率的影响

Fig.3 Effects of extraction time on extraction yield of brown pigments

表2 响应面试验设计与结果

Tab.2 Experiment design and results of response surface methodology

试验序号	X_1	X_2	X_3	提取率 $Y/\%$
1	-1	-1	0	3.08
2	1	-1	0	3.55
3	-1	1	0	3.85
4	1	1	0	3.98
5	-1	0	-1	3.57
6	1	0	-1	3.75
7	-1	0	1	3.93
8	1	0	1	4.20
9	0	-1	-1	3.15
10	0	1	-1	3.74
11	0	-1	1	3.58
12	0	1	1	4.08
13	0	0	0	4.36
14	0	0	0	4.35

表3 回归模型方差分析

Tab.3 Analysis of variances for the created regression model

方差来源	自由度	平方和	均方	F值	P值
X_1	1	1.378×10^{-5}	1.378×10^{-5}	116.30	0.000 1
X_2	1	6.555×10^{-5}	6.555×10^{-5}	553.18	<0.000 1
X_3	1	3.120×10^{-5}	3.121×10^{-5}	263.33	<0.000 1
$X_1 X_2$	1	2.890×10^{-6}	2.890×10^{-6}	24.39	0.004 3
$X_1 X_3$	1	2.025×10^{-7}	2.025×10^{-7}	1.71	0.248 0
$X_2 X_3$	1	2.025×10^{-7}	2.025×10^{-7}	1.71	0.248 0
X_1^2	1	2.308×10^{-5}	2.308×10^{-5}	194.74	<0.000 1
X_2^2	1	8.331×10^{-5}	8.331×10^{-5}	703.02	<0.000 1
X_3^2	1	1.911×10^{-5}	1.911×10^{-5}	161.27	<0.000 1
模型	9	2.256×10^{-4}	2.507×10^{-5}	211.53	<0.000 1
失拟项	3	4.525×10^{-7}	1.508×10^{-7}	2.15	0.332 6

模型相关系数的平方即 $R^2 = 0.9666$, 经拟合检验 $P < 0.01$ 差异极显著, 说明该方程能够正确反映棕色素提取率与液料比、提取时间和提取温度之间的关系。失拟检验 $P = 0.3326 > 0.05$, 说明本试验无其他因素的显著影响。响应值的变异系数 CV 为 0.90% , 较低, 说明试验操作可信。

2.2.2 响应面分析

由 F 值检验得到的因子贡献率为: $X_2 > X_3 > X_1$ 。结合回归方程做响应面图, 就可以很直观看优化区域及各因素对提取率的显著程度。结果如图4所示。提取温度对棕色素提取率的影响最为显著, 随其数值的增加或减少, 响应值变化较大, 表现为曲面较陡; 液料比对棕色素提取率的影响较小, 随其数值的增加或减少, 响应值变化较小, 表现为曲面比较平滑。故各因素对提取率的影响顺序: 提取温度 > 提取时间 > 液料比。

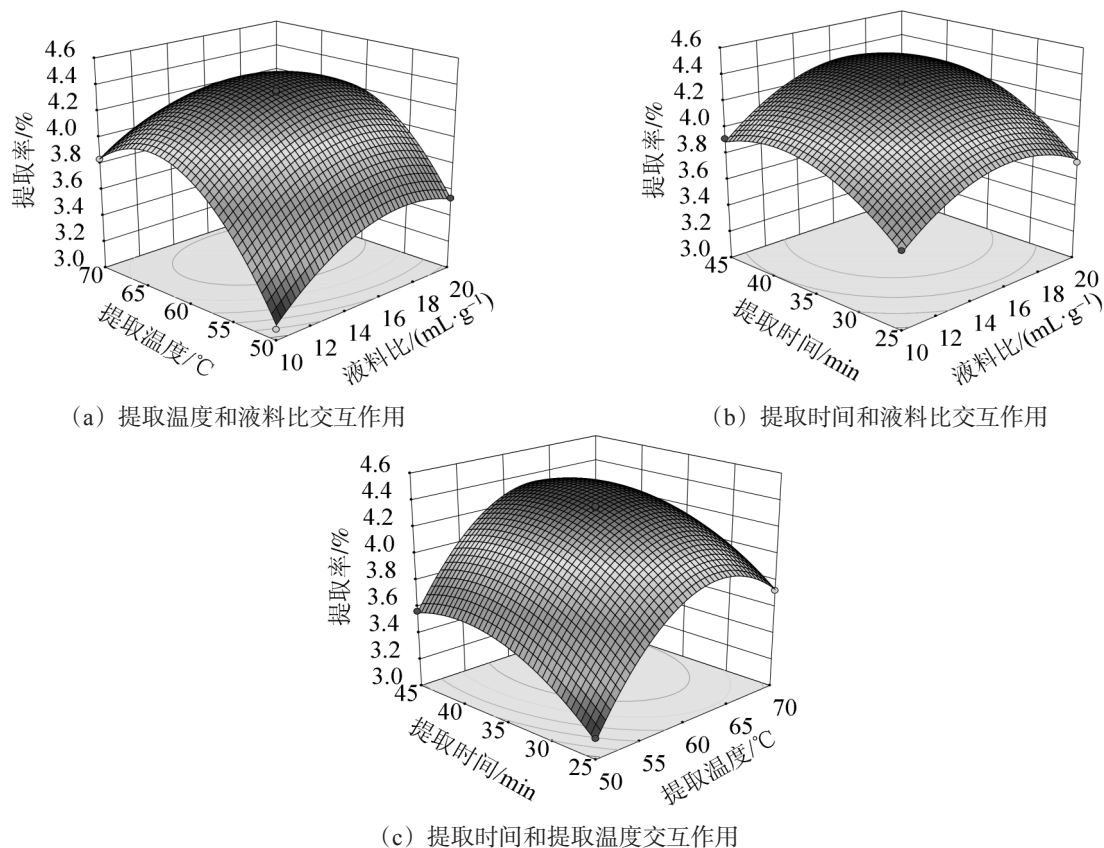


图4 各因素交互作用对棕色素提取率影响的响应面图

Fig.4 Response surface plots of the pairwise interactive effects on brown pigment yield

2.3 最佳工艺条件的验证

软件分析预测棕色素的最高提取率为 4.4% 。与之对应的工艺条件为: 提取时间 39.33 min , 液料比 $16.19 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 提取温度 $62.69 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。为检验响应面法优化核桃壳棕色素提取工艺的可靠性, 采用优化后提取工艺条件进行验证试验, 参考实际操作, 将优化后工艺参数调整为提取时间 40 min , 液料比 $16 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 提取温度 $63 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。在此条件下, 进行3组重复试验, 棕色素的平均提取率为 4.2% , 与预测的理论值相接近, 验证了该模型的有效性。

3 结束语

在单因素试验设计的基础上, 对核桃壳棕色素的提取条件进行了3因素3水平的响应面法设计, 从而建立了响应值和各个因素之间的数学模型, 该模型回归极显著, 对试验拟合较好, 有一定的应用价值。

依据此数学模型并经优化验证得到的最佳工艺参数为:液料比 $16 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 提取时间 40 min, 提取温度 $63 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。在上述最佳提取条件下,山核桃壳棕色素的提取率为 4.2%。

参考文献:

- [1] 李崇瑛,王安,杨涛,等. 食用天然色素的纯化与研究进展[J]. 中国调味品, 2007(9):18-22.
- [2] 杨丽华,陈晓光. 天然色素的资源开发和应用研究进展[J]. 中国食物与营养, 2010(6):13-16.
- [3] 罗杨合,黄皓妍,韦飞梅,等. 超声波辅助提取荸荠皮天然棕色素的工艺研究[J]. 应用化工, 2008, 37(9):999-1001.
- [4] 秦微微,张凌. 国内核桃壳综合利用技术的研究现状[J]. 食品工业, 2012, 33(11):138-140.
- [5] G VÁZQUEZ M. Optimisation of polyphenols extraction from chestnut shell[J]. Waste Biomass Valor, 2010, 1(2):219-225.
- [6] 邱贺媛,陈洁曼,胡静如. 微波辐照提取油茶果壳棕色素及其稳定性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(16):198-202.
- [7] MOURE A, FRANCO D, SINEIRO J, et al. Evaluation of extracts from *gevuina avellana* hulls as antioxidants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(9):3890-3897.
- [8] 杨小敏,刘建平,李倩倩,等. 响应面法优化竹笋壳中棕色素提取工艺[J]. 食品工业, 2011, 32(12):42-45.
- [9] 杨金枝,陈锦屏. 核桃资源的综合开发利用[J]. 食品与药品, 2007, 9(4):71-73.
- [10] 秦微微,张凌. 国内核桃壳综合利用技术的研究现状[J]. 食品工业, 2012, 33(11):138-140.
- [11] 尤鑫. 新疆野生核桃叶和外果皮中色素含量研究[J]. 唐山师范学院学报, 2012, 34(2):41-44.
- [12] 孙海涛,邵信儒. 响应面法优化超声波提取山核桃壳色素工艺[J]. 东北林业大学学报, 2012, 40(2):74-77.
- [13] 周萍,许兴景,王敏,等. 泡核桃壳棕色素的提取和稳定性研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(7):3912-3913.
- [14] 凌庆枝,袁怀波,高明慧,等. 安徽宁国山核桃外果皮色素的性质研究[J]. 食品科学, 2007, 28(10):64-67.
- [15] 孙海涛,邵信儒. 响应面法优化超声波提取山核桃壳色素工艺[J]. 东北林业大学学报, 2012, 40(2):74-77.

Optimization of Brown Pigment Extraction from Hickory Hulls by Response Surface Methodology

Liu Jianping, Wang Shuyi, Wu Lili

(School of Basic Sciences, East China Jiaotong University, Nanchang 330013, China)

Abstract: This paper aims at optimizing the extraction of brown pigments from hickory hulls in south Anhui province. On the basis of single factor experiments, the influence of liquid-solid ratio, extraction time and temperature on brown pigment extraction yield was determined according to Box-Behnken design and response surface methodology. Experiment results showed the optimum extraction conditions were as follows: the liquid-solid ratio of $16 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ for an extraction time of 40 min at $63 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Under these optimal conditions, the experimental value of brown pigment extraction yield was $0.042 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, in good agreement with the predictive value $0.044 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$. Therefore, the parameters of brown pigment extraction process from hickory hulls can be optimized by response surface methodology.

Key words: hickory hulls; brown pigment; response surface methodology