

响应面法优化猕猴桃类胡萝卜素提取工艺

李 灵¹, 熊 芸¹, 张钰瑶¹, 杜 奎², 李明章², 高 平¹, 谢 玥²

(1. 四川大学生命科学学院 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065;

2. 四川省自然资源科学研究院 猕猴桃育种及利用四川省重点实验室
中国-新西兰猕猴桃“一带一路”联合实验室, 成都 610015)

摘 要: 为建立与优化猕猴桃类胡萝卜素的提取方法, 本文以黄肉猕猴桃‘金什 1 号’果肉为试验材料, 利用超声辅助法提取猕猴桃果肉中的类胡萝卜素, 结合单因素试验, 将 OD₄₅₀ 值作为检测波长, 通过响应面法优化猕猴桃果肉中类胡萝卜素的提取条件. 结果显示其最佳提取工艺参数为: 提取溶剂乙醇-丙酮混合溶剂(体积分数=2 : 1), 提取时间 33 min, 提取温度 55 ℃, 液料比 16 : 1 (mL : g). 根据优化条件进行试验后, 猕猴桃中类胡萝卜素的提取含量为 70.04 ± 0.66 (μg/g). 该工艺简便快捷、稳定可靠, 可用于猕猴桃中类胡萝卜素的提取.

关键词: 猕猴桃; 类胡萝卜素; 响应面; 提取

中图分类号: S663.9 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2022.056002

Optimization of carotenoid extraction process of Kiwifruit
by response surface methodology

LI Ling¹, XIONG Yun¹, ZHANG Yu-Yao¹, DU Kui², LI Ming-Zhang², GAO Ping¹, XIE Yue²

(1. Key Laboratory of Bio- Resource and Eco- Environment of Ministry of Education,
college of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China;

2. China-New Zealand Belt and Road Joint Laboratory on Kiwifruit, Kiwifruit Breeding and Utilization Key Laboratory of
Sichuan Province, Sichuan Provincial Academy of Natural Resources, Chengdu 610015, China)

Abstract: To establish and optimize the extraction method of carotenoids from Kiwifruit, carotenoids were extracted from the flesh of yellow kiwifruit Jinshi 1' by ultrasound-assisted extraction method. Combined with a single factor test, the OD₄₅₀ value was used as the detection wavelength to optimize the extraction conditionsof carotenoids in kiwifruit flesh by response surface methodology. The results showed that the optimal extraction process parameters of carotenoid from kiwifruit were as follows: ex- traction solvent ethanol-acetone mixed solvent (volume fraction: 2 : 1), extraction time: 33 min, ex- traction temperature: 55 ℃, liquid/solid ratio: 16 : 1 (mL : g). Under these conditions, the extraction content of carotenoids from kiwifruit was 70.04 ±0.66 (μg/g). The process is simple, fast, stable and reliable, and can be used for the extraction of carotenoids from kiwifruit.

Keywords: Kiwifruit; Carotenoids; The response surface; Extract

收稿日期: 2022-03-07
基金项目: 四川省科技计划重点研发项目(2021YFYZ0010); 四川省科技计划应用基础研究(2020YJ0248)
作者简介: 李灵(1996—), 女, 四川成都人, 硕士研究生, 主要研究领域为植物生理生化与分子生物学.
E-mail: 1091908395@qq.com
通讯作者: 谢玥. E-mail: 379291608@qq.com

1 引言

猕猴桃(*Actinidial chinensis* Planch.)常被人们称为奇异果、阳桃等,是猕猴桃科猕猴桃属的一种多年生落叶、半落叶藤本植物^[1].我国猕猴桃野生种质资源十分丰富,猕猴桃属有 54 个种,中国就占 52 个种,其余两个种分别为尼泊尔猕猴桃(*A. strigosa*)和日本白背叶猕猴桃(*A. hypoleuca*)^[2].猕猴桃果实酸甜可口,气味清香,果肉鲜嫩多汁,含有氨基酸、膳食纤维和多种矿质元素,其果肉中的维生素 C 含量极高,在全球范围内都十分畅销,深受大家的喜爱,常被称为“水果之王”^[3].猕猴桃果肉颜色是评价猕猴桃品质的一个重要性状,常见的果肉颜色主要有绿色、黄色、红色等,而类胡萝卜素是猕猴桃果肉呈色的重要色素之一^[4],特别是在黄肉猕猴桃中,其含量更为丰富^[5].类胡萝卜素不仅是人体内维生素 A 的主要来源,它还具有抗氧化,抗衰老,抗癌、免疫调节等作用^[6].如今,随着人们生活质量的提升,果实中的的营养价值越来越得到大家的关注和重视.

目前从果蔬中提取类胡萝卜素的方法不少,其中主要通过有机溶剂进行提取,而提取方式主要包括研磨法^[7]、超声辅助法^[8]、微波辅助法等^[9],研磨法是常用的方法,其安全性好、成本低,但该方法耗时费力、提取效率低;超声辅助法,其操作简捷、萃取结果好、成本低且安全^[10];微波辅助法,易于操作、热穿透能力强、选择性强^[11].但对于不同果蔬种类来说,提取方法均会有一些的差异,所以针对某一类研究选择合适的方法是极为必要的,因此需要进一步的探讨与研究.

响应面法^[12-14](Response Surface Methodology, RSM),作为一种优化方法,它利用将试验设计和数学算法模型相互联系起来,可以对不同变量进行连续性的分析,并通过图形的方式直观判断在最优条件下不同变量产生的交互作用.此方法已被普遍用于色素提取的工艺优化中. Muhammad 等人^[15]选择了提取时间、温度和乙醇浓度这三个变量,利用响应面法对胡萝卜渣中的类胡萝卜素进行提取工艺优化. Li 等人^[16]也利用了响应面法对辣椒叶中的三类胡萝卜素(玉米黄质、环氧叶黄质和紫黄质)进行了工艺优化,在优化条件下三者的含量分别为 0.8118、3.9497 和 16.1590 $\mu\text{g/g}$.但利用响应面法优化黄肉猕猴桃中类胡萝卜素的提取工艺研究甚少.高洁等人^[17]曾利用正交试验法优化猕猴桃中类胡萝卜素的提取工艺,该方法通过选择几种影响因素进行试验设计,找到最佳因素水

平组合;与该方法相比较,响应面法可建立因素水平与响应值之间的函数关系,不仅减少了试验次数,还可在相应区域内得出最优值所对应的最佳提取条件.本研究以黄肉猕猴桃‘金什 1 号’为试验材料,通过超声辅助法进行提取,选择不同溶剂、混合溶剂体积分数、超声时间、超声温度、液料比等影响因素,探究上述相关因素对类胡萝卜素提取效果的影响,并通过响应面法对提取工艺的作进一步的研究与优化,旨在找出提取猕猴桃中类胡萝卜素的最佳工艺,为后续相关生产与研究提供理论参考.

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 试验材料 试验材料为四川省自然资源科学研究院从野生中华猕猴桃实生后代选育出来的黄肉新品种‘金什 1 号’,种植于四川省德阳市广济镇猕猴桃科研基地.在 11 月初(成熟期)随机选取大小一致,无病虫害且无物理损坏的果实进行采样.对照品 β -胡萝卜素(成都植标化纯有限公司).

2.1.2 主要试剂 石油醚、无水乙醇、丙酮、乙酸乙酯(成都科隆化学品有限公司),以上所用到的有机试剂均为分析级.

2.1.3 主要仪器 电子天平(BSA124S,北京赛多利仪器有限公司);超声波清洗机(北京科玺世纪有限公司);紫外分光光度计(721,上海舜宇恒平科学仪器有限公司);紫外-可见分光光度计(UV2100,尤尼柯上海仪器有限公司);电热鼓风式干燥箱(101-O,上海阳光实验仪器有限公司);多功能粉碎机(2500Y,铂欧五金厂).

2.2 试验方法

2.2.1 工艺流程 成熟猕猴桃果实→去皮后切片→65 $^{\circ}\text{C}$ 烘干→粉碎过筛→粉末称量→超声提取→离心→减压浓缩→定容→类胡萝卜素提取液→测定.

具体操作:将成熟猕猴桃果实除去果皮、内果肉后切 0.2 mm 左右薄片,在 65 $^{\circ}\text{C}$ 鼓风式干燥箱中干燥 24 h,粉碎,过 6 号筛,孔径为 0.15 mm.利用电子天平精确称取 0.5 g 粉末,加入有机溶剂,通过超声波清洗机进行提取,提取完后将提取液离心,将转速设定为 5000 r/min,离心时间为 5 min,再进行减压浓缩至 5 mL 左右,水浴温度为 37 $^{\circ}\text{C}$,之后加入提取溶剂定容到 10 mL,再利用紫外分光光度计进行检测^[18].由于类胡萝卜素的光学性质,试验过程中需避光处理.

2.2.2 猕猴桃中 β -胡萝卜素最大吸收波长测定 按照 2.2.1 节的方法制成样品,选择波长范围 300~800 nm,利用紫外-可见分光光度计进行全波长扫

描,确定对照品和样品提取液的最适检测波长^[17].

2.2.3 标准曲线绘制 取适量β胡萝卜素标准品于 100 mL 棕色容量瓶中,用丙酮、乙醇混合溶剂溶解并稀释后定容,上下颠倒数十次,摇匀后得母液.分别吸取配置好的对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,共 5 组,分别置于 10 mL 棕色容量瓶中,各加入上述的混合溶剂后定容,上下颠倒数十次,摇匀.利用混合溶剂作为空白对照,利用分光光度计进行检测,将 2.2.2 得到的最适波长作为测定波长,将配置好的对照品溶液的质量分数作为横轴,对应测出的吸光度作为纵轴,利用 Excel 2016 软件绘制 β-胡萝卜素的标准曲线.

2.2.4 类胡萝卜素的提取含量测定 按照 2.2.1 的方法得到猕猴桃提取液后,利用紫外分光光度计进行检测,带入标准曲线计算质量浓度,根据以下公式进行猕猴桃类胡萝卜提取含量.

$$W = \left(\frac{CV}{M} \right) \times 100\%$$

式中:W 为猕猴桃类胡萝卜素提取含量(μg/g);C 为样品溶液类胡萝卜素质量浓度(μg/mL);V 为样品定容体积(mL);M 为原料的质量(g).

2.2.5 单因素试验 选择的单因素主要有:提取溶剂^[19,20](石油醚、乙酸乙酯、丙酮、乙醇、乙醇-丙酮混合溶剂);温度(20、30、40、50、60 ℃);时间(5、10、20、30、40、50、60 min);乙醇-丙酮体积分数(4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4);液料比(3:1、6:1、9:1、12:1、15:1、18:1、21:1 mL/g).为了保证试验的准确与可靠性,该试验中的每组数据重复 3 次.

2.2.6 Box-Behnken 法优化试验设计 根据单因素的试验结果选择时间、乙醇-丙酮体积分数、液料比作为自变量,分别对应的提取含量作为因变量,利用 Design expert 12.0 软件,根据 Box-Behnken 法^[21,22]设计三因素三水平的响应面设计试验.根据单因素结果,选择相关参数作为最小、最好和最大水平(-1、0、1),并对每个变量进行编码,如表 1 所示.

表 1 响应面试验设计水平

Tab. 1 Response surface experiment design level

因素	水平		
	-1	0	1
X ₁ 时间/min	40	50	60
X ₂ 液料比/mL:g	12:1	15:1	18:1
X ₃ 乙-丙酮	1:1	2:1	3:1

3 结果与分析

3.1 检测波长的测定

利用紫外-可见分光光度计对猕猴桃提取液样品和β胡萝卜素标准样品进行波长扫描,结果如图 1 所示,根据文献^[23],β胡萝卜素在 450 nm 处有吸收峰,且结合对照品峰图,初步得出峰图中的第 3 个峰即是猕猴桃中β胡萝卜素的最大吸收峰.此外猕猴桃的第 3 峰值出现在 449 nm 处,而β胡萝卜素标准样品出现了两个峰,峰值分别在 453.5 nm 和 481.5 nm.综上所述,选择 450 nm 作为猕猴桃提取液的直接测定波长.

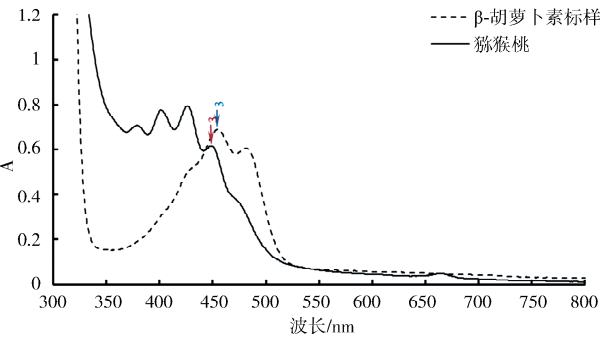


图 1 猕猴桃提取物、β-胡萝卜素全波长扫描图
Fig. 1 Full wavelength scanning of kiwifruit extract and β-carotene

3.2 标准曲线绘制

由图 2 所示,标准曲线为:Y = 0.1485x - 0.0014(R²=0.9991).结果表明,在有效浓度范围内该曲线存在良好的线性关系.

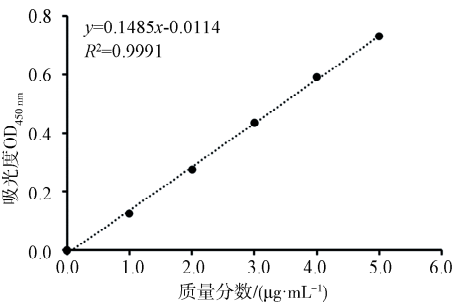


图 2 β-胡萝卜素对照品标准曲线
Fig. 2 Reference standard curve of β-carotene

3.3 单因素试验

3.3.1 提取溶剂对猕猴桃类胡萝卜素的影响 由图 3 可知,选择了乙酸乙酯、石油醚、丙酮、无水乙醇和乙醇-丙酮混合溶剂(体积分数=2:1)作为提取溶剂,分别对猕猴桃类胡萝卜素的含量进行提取,探究不同提取溶剂对提取效果的影响.结果表

明:乙醇-丙酮混合溶剂(体积分数=2 : 1)对猕猴桃类胡萝卜素的提取效果最好,其含量为 68. 38 $\mu\text{g/g}$;丙酮对猕猴桃类胡萝卜素的提取效果次之;之后分别是无水乙醇、乙酸乙酯;而石油醚对猕猴桃类胡萝卜素的提取效果最差,其含量为 47. 41 $\mu\text{g/g}$. 此外,根据方差分析,乙醇-丙酮混合溶剂(体积分数=2 : 1)混合溶剂的提取效果显著高于其他提取溶剂,综上所述,选择乙醇-丙酮混合溶剂(体积分数=2 : 1)为最佳提取溶剂.

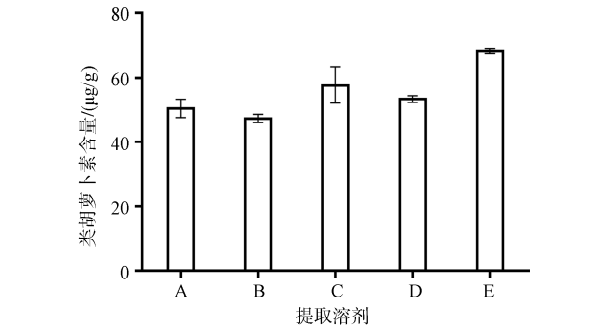


图 3 不同提取溶剂对猕猴桃果肉中类胡萝卜素的提取效果
A:乙酸乙酯; B:石油醚; C:丙酮; D:无水乙醇; E:无水乙醇/丙酮(2 : 1)
Fig. 3 Effects of different extraction solvents on carotenoids in Kiwifruit flesh

3. 3. 2 提取溶剂体积分数对猕猴桃类胡萝卜素的提取效果的影响 由图 4 可知,选择乙醇-丙酮不同体积分数的混合溶剂对猕猴桃类胡萝卜素进行提取,结果表明:随着混合溶剂中乙醇占比的减少到乙醇-丙酮体积分数=2 : 1 时,猕猴桃类胡萝卜素的提取效果达到最佳,其含量为 67. 03 $\mu\text{g/g}$,但随着丙酮占比的增加,猕猴桃类胡萝卜素的提取效果也随之降低,当乙醇-丙酮体积分数=1 : 4 时,提取效果最差,其含量为 55. 64 $\mu\text{g/g}$. 此外,根据方差分析,乙醇-丙酮体积分数=2 : 1 的提取效果显著高于其他情况,综上所述,选择乙醇-丙酮体积分数=2 : 1 为最佳混合溶剂体积分数.

3. 3. 3 超声提取时间对猕猴桃类胡萝卜素的提取效果的影响 由图 5 可知,分别选择了不同时间对猕猴桃类胡萝卜素进行提取,结果表明:随着提取时间的增加,猕猴桃类胡萝卜素的提取效果也随之增加,当提取时间为 30 min 时,提取效果达到最好,其含量为 68. 39 $\mu\text{g/g}$. 随着时间的增加,当提取时间为 40 min 时,提取含量有所下降,但当时间继续增加后,其提取含量又继续上升. 此外根据方差分析,提取时间为 30 min 的提取效果显著高于 5、10、40 和 50 min,但与 60 min 的提取效果相比差异不显著,综

上所述,从时间成本和提取效果方面考虑,选择 30 min 为最佳提取时间.

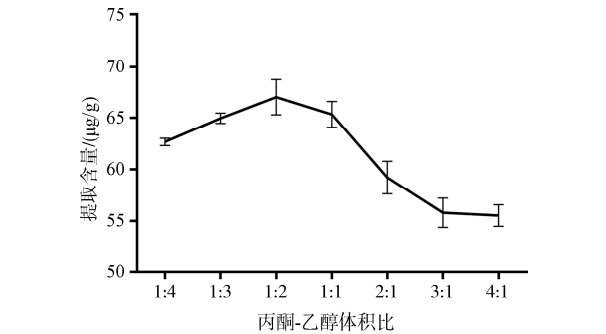


图 4 不同提取溶剂比例对猕猴桃果肉中类胡萝卜素的提取效果
Fig. 4 Effects of different extraction solvent ratio on carotenoids in Kiwifruit flesh

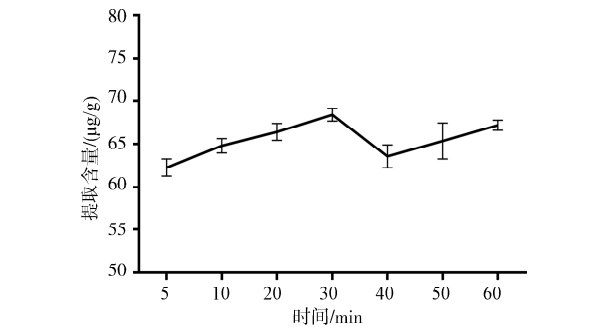


图 5 不同提取时间对猕猴桃果肉中类胡萝卜素的提取效果
Fig. 5 Effects of different extraction time on carotenoids in Kiwifruit flesh

3. 3. 4 超声提取温度对猕猴桃类胡萝卜素的提取效果的影响 由图 6 可知,分别选择了不同提取温度对猕猴桃类胡萝卜素进行提取,结果表明:随着提取温度的增加,提取含量也随着增加,温度为 80 $^{\circ}\text{C}$ 时达到了最高,但根据 3. 3. 1 中选择的最佳提取溶剂(乙醇-丙酮混合溶剂)进行分析,丙酮的沸点为 56. 5 $^{\circ}\text{C}$,乙醇的沸点为 78. 3 $^{\circ}\text{C}$,从有机溶剂的物理性质考虑,当温度达到 56. 5 $^{\circ}\text{C}$ 以后,提取溶剂的成分比例已经发生了变化,从单因素控制变量的角度考虑,应严格控制其他因素保持不变,提取温度应控制在 56. 5 $^{\circ}\text{C}$ 以内. 因此针对该情况,本试验又设置了温度为 55 $^{\circ}\text{C}$ 进行探究,结果表明:当温度为 55 $^{\circ}\text{C}$ 时,与 50 $^{\circ}\text{C}$ 时的提取效果相差不大,综上所述,从温度的控制情况、提取溶剂的物理性质和提取效果等方面考虑,选择提取温度为 50 $^{\circ}\text{C}$ 为最佳提取温度范围.

3. 3. 5 提取液料比对猕猴桃类胡萝卜素的提取效果的影响 由图 7 可知,分别选择了不同的液料比对猕猴桃类胡萝卜素进行提取,结果表明,随着液料比的增加,

猕猴桃类胡萝卜素的提取含量也随之增加,当液料比达到 15 : 1 时,提取效果达到最好,其含量为 70.31 $\mu\text{g/g}$,之后随着液料比的增加呈下降又上升的趋势.此外,根据方差分析,液料比为 15 : 1 的提取效果显著高于 3 : 1、6 : 1、9 : 1、18 : 1 和 21 : 1,但与料液比为 12 : 1 时的提取效果相比差异不显著,综上所述,从节能和提取效果方面考虑,选择液料比 15 : 1 为最宜.

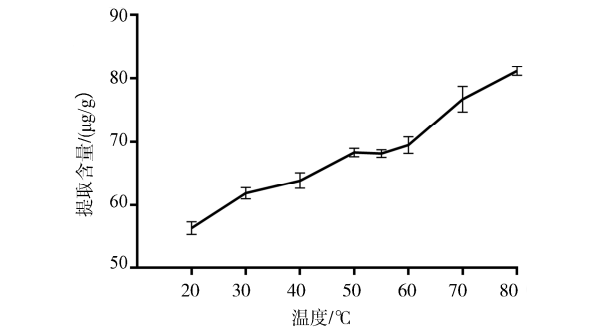


图 6 不同提取温度对猕猴桃果肉中类胡萝卜素的影响
Fig. 6 Effects of different extraction temperatures on carotenoids in Kiwifruit flesh

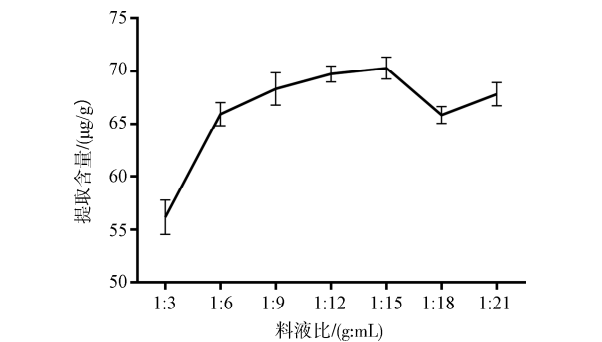


图 7 不同提取液料比对猕猴桃类果肉中胡萝卜素的提取效果的影响
Fig. 7 Effects of different extraction Liquid than on carotenoids in Kiwifruit flesh

3.4 响应面优化猕猴桃类胡萝卜素提取工艺试验设计与结果

3.4.1 提取工艺试验设计方案与结果 本试验选择了时间(X_1)、液料比(X_2)、乙醇-丙酮体积分数(X_3)进行三因素三水平试验,总计 17 组,结果见表 2.

3.4.2 回归模型的建立 本试验利用 Design Expert 12.0 软件,采用二阶多项式模型对数据进行拟合分析,得到的二次多项回归函数方程为:

$$Y=70.58+1.26\times X_1+0.9163\times X_2+1.57\times X_3+0.3975\times X_1X_2-0.3225\times X_1X_3+0.0300\times X_2X_3-2.10\times X_1^2-1.32\times X_2^2-2.55\times X_3^2.$$

3.4.3 响应面方差分析结果 由表 3 可知,该回归模型中的 F 值为 12.73, P 值为 0.0015 ($P<0.01$,极显著),表明该模型之间存在极显著的差

异,可以用于预测响应值;失拟项中的 P 值为 0.1840 ($P>0.05$,不显著),说明该回归模型拟合程度较好,能够更好的反映出试验结果的可靠性. $R^2=0.9424$,调整之后的相关系数 $R^2_{\text{adj}}=0.8684$,相差不大.因此,该模型可用于分析猕猴桃类胡萝卜素提取工艺条件.结果表明:一次项中的 X_1 、 X_3 对提取含量的影响是极显著的,而 X_2 对提取含量的影响则为显著;二次项 X_1^2 、 X_3^2 对于提取含量的影响为极显著,二次项 X_2^2 对提取含量的影响为显著.因此,根据方差结果分析,在该试验中,影响猕猴桃果肉中类胡萝卜素的提取含量结果为: $X_3>X_1>X_2$,即乙醇-丙酮比>时间>液料比.

表 2 Box-Behnken 中心组合试验设计及结果
Tab. 2 Design and results of Box-Behnken centre combinatorial experiment

试验号	时间/min	液料比/(mL : g)	乙醇-丙酮比	含量/ $(\mu\text{g/g})$
1	1	0	-1	66.95
2	0	1	-1	65.53
3	0	0	0	70.49
4	0	0	0	69.95
5	0	-1	1	67.82
6	0	-1	-1	63.77
7	0	0	0	70.17
8	1	-1	0	66.59
9	0	0	0	71.78
10	-1	1	0	66.94
11	0	1	1	69.70
12	-1	0	-1	62.75
13	-1	-1	0	65.89
14	-1	0	1	65.55
15	0	0	0	70.49
16	1	0	1	68.46
17	1	1	0	69.23

3.4.4 各因素交互作用分析结果 根据响应面法中得到的 3D 曲面图和等高线图,其中曲面陡峭程度越大,对目标影响越大;在等高线中等高线越密集且呈现椭圆形,对目标影响越大.由图 8 可知,图 8a 的响应面图中,根据陡峭程度判断, $X_1>X_2$,即,时间对于类胡萝卜素提取含量的影响大于液料比;图 8b 的响应面中,曲面的陡峭程度 $X_3>X_1$,即,利用乙醇-丙酮比对类胡萝卜素的提取效果比时间大;图 8c 的响应面中,曲面的陡峭程度 $X_3>X_2$,即,乙醇-丙酮比对于类胡萝卜素提取效果的影响比时间大,因此,乙醇-丙酮比在该三因素试验中起主导作用.图 8a、8b、8c 等高线图中, X_3 的等

高线相对密集, X_1 次之, X_2 相对稀疏,即,乙醇-丙酮比对类胡萝卜素提取效果的影响最大,而时间对类胡萝卜素提取含量的影响大于液料比.综上所述,该结果与方差分析结果相同,即, $X_3 > X_1 > X_2$.

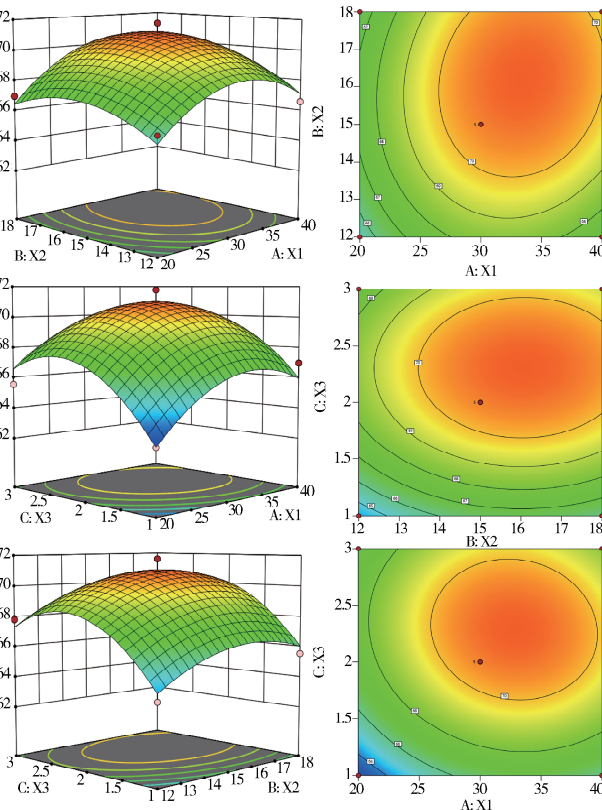


图 8 各因素交互作用对类胡萝卜素提取含量影响的响应面图及等高线图

Fig. 8 Response surface map and contour map of the effect of the interaction of various factors on the extraction content of carotenoids

表 3 响应面数据分析表						
Tab. 3 Response surface data analysis table						
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	99.10	9	11.01	12.73	0.0015	**
X_1	12.75	1	12.75	14.74	0.0064	**
X_2	6.72	1	6.72	7.77	0.0270	*
X_3	19.63	1	19.63	22.69	0.0021	**
X_1X_2	0.6320	1	0.6320	0.7308	0.4209	
X_1X_3	0.4160	1	0.4160	0.4810	0.5103	
X_2X_3	0.0036	1	0.0036	0.0042	0.9504	
X_1^2	18.49	1	18.49	21.38	0.0024	**
X_2^2	7.31	1	7.31	8.46	0.0227	*
X_3^2	27.44	1	27.44	31.73	0.0008	**
残差	6.05	7	0.8649			
失拟项	4.03	3	1.34	2.66	0.1840	
净误差	2.02	4	0.5053			
总离差	105.16	16				

注:**表示 $P<0.01$, *表示 $P<0.05$

3.4.5 响应面优化试验及验证 根据 Design expert12.0 软件设计,系统显示的最优提取工艺参数为超声时间 33.166 min,液料比 16.199 : 1(mL : g),乙醇-丙酮体积比为 2.289 : 1,从可操作性的角度考量,将试验参数修正为:超声时间 33 min,液料比 16 : 1(mL : g),乙醇-丙酮体积比为 2 : 1;在该参数的基础上,进行三次反复验证试验,结果显示:该试验中猕猴桃中类胡萝卜素的提取含量为 $(70.04 \pm 0.66) \mu\text{g/g}$,与预测值为 $71.185 \mu\text{g/g}$ 相比,其误差小于 5%.

4 讨 论

该试验探究了不同溶剂、乙醇-丙酮体积分数比、提取温度、提取时间和液料比等单因素对猕猴桃类胡萝卜素提取含量的影响,根据试验结果选择了乙醇-丙酮混合溶剂作为最佳提取溶剂,此外为保证混合溶剂的成分比不变,选择了 55℃ 作为最佳提取温度,在此基础上,选择提取时间、液料比和乙醇-丙酮体积比做进一步分析,利用 Box-Behnken 法进行工艺提取优化,该优化参数修正后为:超声时间 33 min,液料比 16 : 1(mL : g),乙醇-丙酮体积比为 2 : 1,进行三次试验验证,结果显示:猕猴桃中类胡萝卜素的提取含量为 $(70.04 \pm 0.66) \mu\text{g/g}$,与预测值为 $71.185 \mu\text{g/g}$ 相比,其误差小于 5%,说明与预测结果相差不大,因此该模型已达到可信度,具有相应的利用价值.高洁等^[17]利用微波法对猕猴桃果实中的类胡萝卜素进行提取工艺研究,通过单因素和正交试验法选择了最佳的提取条件;并将吸光度和色价作为目标对象,并未计算出类胡萝卜素在猕猴桃中的含量.本研究前期对猕猴桃进行烘干处理,避免了猕猴桃中大量水分对提取结果的影响;选择超声辅助法进行提取,相比较微波法更容易控制温度,并且可以灵活的设置温度梯度;利用响应面法进行提取工艺优化,与正交试验法相比较,响应面法可连续性的对影响因素进行分析,且用 3D 图和等高线图表示也更为直观,其结果与预测值之间的误差小于 5%,说明该试验已具有相应的可行性,可为猕猴桃中类胡萝卜素的提取方法提供参考依据,对黄肉猕猴桃的深度研究和利用有一定的价值.

参考文献:

[1] 孙雷明,方金豹.我国猕猴桃种质资源的保存与研究利用[J].植物遗传资源学报,2020,21:1483.

- [2] 赵洋,穆雪,春艳,等.猕猴桃属(*Actinidia* Lindl.)植物亲缘关系研究进展[J].果树学报,2019,36:1214.
- [3] 杨聪.15个黄肉猕猴桃品种(系)的生物学特性观测与果实品质分析[D].南昌:江西农业大学,2017.
- [4] 张计育,潘德林,贾展慧,等.中华猕猴桃品种‘Hort16A’果肉颜色形成的分子机制[J].植物资源与环境学报,2018,27:1.
- [5] Xia H, Wang X, Zhou Y, *et al.* Biochemical and molecular factors governing flesh-color development in two yellow-fleshed kiwifruit cultivars [J]. *Sci Hortic*, 2021, 280: 109929.
- [6] Eggersdorfer M, Wyss A. Carotenoids in human nutrition and health [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2018, 652: 18.
- [7] 张兵,雷生姣,张磊,等.响应面法优化猕猴桃叶绿素提取工艺[J].食品工业科技,2019,40:199.
- [8] Lima R D S, Nunes I L, Block J M. Ultrasound-assisted extraction for the recovery of carotenoids from guava's pulp and waste powders [J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2020, 75: 63.
- [9] 郑坚强,司俊玲,宋佳旭,等.微波辅助萃取枸杞中类胡萝卜素技术及其抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2018,39:27.
- [10] 倪玉洁,马文霞,谢倩,等.超声辅助提取福橘果皮类胡萝卜素的工艺优化[J].食品工业科技,2020,41:162.
- [11] 何卿,孙国峰,林秦文,等.植物类胡萝卜素提取与分析技术研究进展[J].植物学报,2018,53:700.
- [12] Mangang K C S, Chakraborty S, Deka S C. Optimized microwave-assisted extraction of bioflavonoids from *Albizia myriophylla* bark using response surface methodology [J]. *J Food Sci Technol*, 2020, 57: 2107.
- [13] 杨朝君,严培,罗禹,等.响应面法优化黄精叶多糖水提工艺[J].四川大学学报:自然科学版,2020,57:791.
- [14] Hadidi M, Ibarz A, J Pagán. Optimisation and kinetic study of the ultrasonic-assisted extraction of total saponins from alfalfa (*Medicago sativa*) and its bioaccessibility using the response surface methodology [J]. *Food Chem*, 2020, 309: 125786.
- [15] Muhammad U, Saqib J, Lu Z X, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from carrot pomace and their optimization through response surface methodology [J]. *Molecules*, 2021, 26: 6763.
- [16] Li N H, Li J, Ding D X, *et al.* Optimum parameters for extracting three kinds of carotenoids from pepper leaves by response surface methodology [J]. *Separations*, 2021, 8: 134.
- [17] 高洁,黄春辉,曲雪艳,等.微波法提取猕猴桃果实中类胡萝卜素的工艺研究[J].北方园艺,2013,1:11.
- [18] 施佳男,许佳玉,薛岩伟,等.柿果皮类胡萝卜素超声提取工艺优化及功能测定[J].扬州大学学报:农业与生命科学版,2021,42:93.
- [19] 于开源,鞠晓峰,郑丽娜,等.响应法优化南瓜中色素的提取工艺研究[J].食品研究与开发,2015,36:24.
- [20] 郑梦嫚,李文韵,刘雨薇.类胡萝卜素肠道吸收及生物利用度研究进展[J].食品工业科技,2021,42:403.
- [21] Feki F, Klisurova D, Masmoudi M A, *et al.* Optimization of microwave assisted extraction of simmondsins and polyphenols from *Jojoba* (*Simmondsia chinensis*) seed cake using Box-Behnken statistical design [J]. *Food Chem*, 2021, 356: 129670.
- [22] Brazil N T, Medeiros N B, Fachel F N S, *et al.* Optimization of coumarins extraction from *pterocaulon balansae* by box-behnken design and *antitrichomonas vaginalis* activity [J]. *Planta Med*, 2021, 87: 480.
- [23] 徐小军,李可,张桂兰.南瓜类胡萝卜素的提取及果实发育中的含量变化[J].中国瓜菜,2018,31:11.

引用本文格式:

中文:李灵,熊芸,张钰瑶,等.响应面法优化猕猴桃类胡萝卜素提取工艺[J].四川大学学报:自然科学版,2022,59:056002.

英文:Li L, Xiong Y, Zhang Y Y, *et al.* Optimization of carotenoid extraction process of Kiwifruit by response surface methodology [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2022, 59: 056002.