

响应面法优化番茄红素提取工艺研究

郑辉杰^{1,2}, 李志强², 刘伟², 邸进申²

(1. 天津大学 化工学院, 天津 300072; 2. 河北工业大学 生物工程系 天津 300130)

摘要: 采用响应面方法对番茄红素提取过程中的温度、时间等工艺条件进行了优化。采用 Plackett-Burman (PB) 设计法, 对不同的温度、时间、溶剂量、pH 值、压力、番茄粉碎目数、摇床转速 7 个因素对番茄红素提取率的影响进行评价。结果表明: 温度、时间、pH 值为番茄红素提取过程中的主要影响因素, 用旋转中心组合设计及响应面分析法确定主要因素的最优条件, 为 pH 5.95、温度 49.6 °C、3 h, 得到番茄红素提取液的吸光度值为 0.588, 比单因素试验的最高吸光度值 (0.537) 提高了 9.5%。

关键词: 番茄红素; 提取; Plackett-Burman 设计; 旋转中心组合设计; 响应面法

中图分类号: TS 264.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)02-0005-04

番茄红素 (Lycopene) 是类胡萝卜素的一种, 具有独特的长链分子结构, 具有强有力的消除自由基能力和较高的抗氧化能力^[1], 并对皮肤癌^[2]、前列腺癌^[3] 有一定的防治的作用, 是一种很好的天然食品添加剂^[4], 番茄红素已被欧洲经济共同体 (ECC) 准许进入色素市场^[5]。番茄红素主要存在于茄科植物西红柿的成熟果实中, 在西瓜、葡萄和其他一些水果蔬菜中也存在, 成熟番茄果实中番茄红素含量可达 90 ~ 190 $\mu\text{g}/\text{g}$ ^[6]。番茄红素不溶于水, 难溶于甲醇、乙醇, 可溶于乙烷、乙醚、石油醚、丙酮, 易溶于氯仿、二硫化碳、苯等有机溶剂。

目前, 世界上番茄红素的开发生产主要是从植物番茄中提取, 提取过程中主要考察温度、时间、溶剂量等影响因素, 试验设计的经典方法是固定其他参数, 一次只研究一个变量, 这种研究方法极其低效。响应面法 (Response Surface Methodology) 是利用合理的试验设计, 采用多元二次回归方程拟合因素与响应值之间的函数关系, 通过对回归方程的分析来寻求最优工艺参数, 解决多变量问题的一种统计方法。响应面法使得参数间的交互作用通过有限次试验来评估成为可能。响应面法目前已成为降低成本、优化加工条件的一种有效方法, 广泛地应用于农业、生物、食品等领域^[7]。

现采用响应面法 (Response surface methodology, RSM) 对番茄红素的提取工艺进行了初步研究, 初步确

定了较优的溶剂及最佳工艺条件, 为下一步扩大生产奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

番茄 (市售)。

1.2 试验方法

1.2.1 提取方法 试验对番茄红素提取过程中, 对温度、pH 值、时间、溶剂量等影响因素进行了单一测试后采用了 3 种溶剂, 采用正交试验, 确定了提取番茄红素的最佳工艺条件及较优溶剂。提取工艺流程: 番茄 → 捣碎成泥 → 烘干 → 粉碎 → 有机溶剂浸提 → 提取液 → 过滤 → 滤液 → 浓缩 → 粗品 → 精制 → 成品色素。

1.2.2 分析检测方法 提取过程完成后, 将番茄红素提取液稀释, 用 UV9100 分光光度计测其吸光度值^[8], 响应面分析法根据吸光度值的大小确定溶剂的最佳工艺条件。

1.3 试验设计

首先用单因素试验确定主要影响因素, 接着采用 Plackett-Burman (PB) 设计法对不同的温度、时间、溶剂量、pH 值、压力、番茄粉碎目数、摇床转速 7 个因素对番茄红素提取率的影响进行评价。筛选出在番茄红素提取过程中的主要影响因素, 通过最陡爬坡试验快速接近最大响应区域, 然后在最优区域内采用 22 中心组合设计进行进一步优化, 试验结果用二次多项式回归拟合, 用微分计算预测最佳点。由统计软件 SASS 对试验数据作回归拟合, 并对拟合方程作显著性检验及方差分析, 用 *t* 检验测试回归系数的显著性。

2 结果与讨论

2.1 番茄红素提取过程中影响因素的确定

首先对番茄红素的吸收光谱进行扫描, 然后对不同的温度、时间、溶剂量、pH 值、压力、番茄粉碎目数、摇床

第一作者简介: 郑辉杰 (1972), 男, 河北宁晋人, 在读博士, 讲师, 主要从事食品发酵及代谢工程等研究工作。E-mail: zhenghuijie@hebut.edu.cn.

基金项目: 河北省科学技术研究与发展指导计划资助项目 (07215502)。

收稿日期: 2008-08-10

转速 7 个因素进行了单因素试验,发现压力、番茄粉碎目数、摇床转速对番茄红素提取率的影响不大,故略去了此 3 个因素的图、表及分析。

2.1.1 番茄红素的紫外光谱 分别用丙酮、氯仿作溶剂进行提取试验,对 3 种滤液用 756 分光光度计进行扫描测定番茄红素吸收光谱,扫描结果为: $\lambda_{1\text{氯仿max}} = 472 \text{ nm}$; $\lambda_{2\text{丙酮max}} = 472 \text{ nm}$; $\lambda_{3\text{正己烷max}} = 470 \text{ nm}$,故番茄红素在 472 nm 附近有明显的吸收峰,与文献^{9,10}相符。故番茄红素的性能测试均以 472 nm 下的吸光度值为相对标准。

2.1.2 温度对番茄红素提取率的影响 准确称取 1 g 已烘干的番茄粉末,溶于 20 mL 丙酮中,在不同温度下恒温 2 h 后,过滤,各取滤液 1 mL 定容到一定体积,用 UV9100 分光光度计测其吸光度值。由图 1 可知,不同温度对番茄红素提取率的影响明显,当温度低于 45℃ 时,随着温度升高,吸光度增大,但高于 45℃ 时,由于番茄红素受热不稳定,而吸光度逐渐降低。

2.1.3 时间对番茄红素提取率的影响 准确称取 1 g 已烘干的番茄粉末,溶于 20 mL 丙酮中,在不同时间下恒温提取后,过滤,各取滤液 1 mL 定容到一定体积,用 UV9100 分光光度计测其吸光度值。由图 2 可知,不同时间对番茄红素提取率的影响明显,当时间低于 3 h 时,随着时间延长,吸光度逐渐增大,但高于 3 h 后,由于番茄红素的提取基本达到平衡,而对提取率影响不大。

2.1.4 溶剂量对番茄红素提取率的影响 准确称取 1 g 已烘干的番茄粉末,分别溶于 5、10、15、20、25、30 mL 丙酮中,在室温下恒温 2 h 后,过滤,各取滤液 1 mL 定容到相对应体积,用 UV9100 分光光度计测其吸光度值。由图 3 可知,溶剂量对番茄红素提取率有一定的影响,主要由于溶剂量增大可使番茄粉末在溶剂中分布更均匀,但当溶剂量大于 20 mL 后,对提取率影响不大。

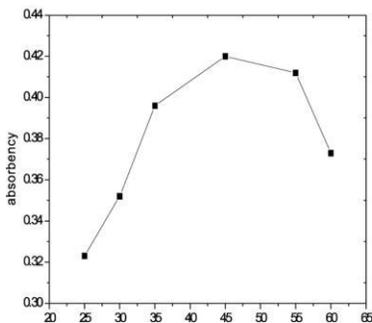


图 1 温度对番茄红素提取率的影响

Fig. 1 The effects of temperature on the extraction rate

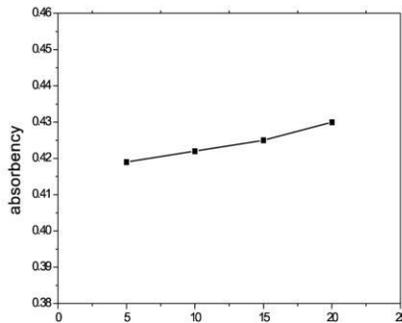


图 2 时间对番茄红素提取率的影响

Fig. 2 The effects of time on the extraction rate

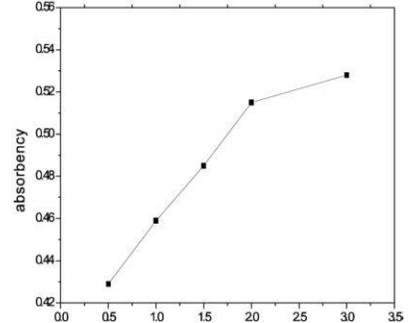


图 3 溶剂量对番茄红素提取率的影响

Fig. 3 The effects of solvent amount on the extraction rate

2.2 利用响应面法优化番茄红素的提取条件

2.2.1 Plackett-Burman 试验设计法筛选重要因素 根据单因素试验对番茄红素提取率的影响试验结果,以番茄红素吸光度作为响应值,选择温度、时间、溶剂量、pH 值、压力、番茄粉碎目数、摇床转速 7 个因素作为研究对

2.1.5 pH 值对番茄红素提取率的影响 准确称取 1 g 已烘干的番茄粉末,溶于 20 mL 丙酮中,分别在不同 pH 值下恒温 2 h 后,过滤,各取滤液 1 mL 定容到一定体积,用 UV9100 分光光度计测其吸光度值。由图 4 可知,用丙酮作溶剂时,不同 pH 值对番茄红素提取率的影响明显,酸性条件或碱性条件均不理想。

2.1.6 最佳溶剂的确定 试验采用丙酮、正己烷、氯仿 3 种溶剂作为提取剂,试验基本过程如下,将番茄切片,然后捣成碎泥状,在 50~60℃ 下烘干,再用万能粉碎机粉碎,各试验瓶装入 1 g 番茄粉末,根据上述试验确定各因素不同的水平值,在相应条件下做提取试验,然后过滤 2 次,取滤液 1 mL,定容到相应体积,用 UV9100 分光光度计测其吸光度值(见图 5)。综合以上 3 种溶剂提取番茄红素的结果可知,氯仿为提取溶剂时,提取效果相对最优,但是由于氯仿毒性较大,且见光生成剧毒的光气,而丙酮是毒性最低的有机溶剂之一,沸点为 56℃,比氯仿的沸点(61.3℃)要低,易于提取液蒸发浓缩,并且丙酮能与水互溶,易于过滤,其番茄红素提取液最大吸光度为 0.537,所以试验选用丙酮作提取溶剂。

表 1 Plackett-Burman 试验因素水平

Table 1 Levels of independent variable in Plackett-Burman design

Symbols	Factor	Code level	
		-1	1
X_1	pH	6	7.5
X_2	温度/℃	50	62.5
X_3	时间/h	3	3.75
X_4	转速/ $r \cdot \text{min}^{-1}$	100	125
X_5	压力/mPa	0.1	0.125
X_6	粉碎目数	30	37.5
X_7	溶剂量/ $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$	10	12.5
X_8	虚拟项	—	—
X_9	虚拟项	—	—
X_{10}	虚拟项	—	—

象,另外选择 3 个虚拟项,共 10 个因素,Plackett-Burman 试验设计表格选用 10 因素, N=12 次的试验表格(因素水平见表 1)。按照表 1 的试验因素水平,列出 N=12 的 Plackett-Burman 试验设计表格,并进行 12 次试验,得到响应值 Y_1 —吸光度。Plackett-Burman 试验设计表格以

及试验结果见表2。

表2 Plackett-Burman 试验设计表以及试验结果

Table 2 Design matrix and experimental results of Plackett-Burman design

No.	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	Y ₁ (吸光度)
1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0.432
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	0.425
3	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	0.413
4	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	0.426
5	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0.419
6	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	0.402
7	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	0.425
8	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	0.488
9	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	0.497
10	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	0.467
11	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	0.472
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0.522

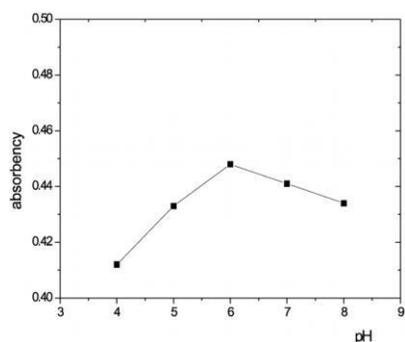


图4 pH 值对番茄红素提取率的影响

Fig. 4 The effects on pH on the extraction rate

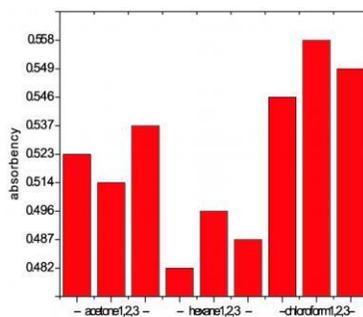


图5 不同萃取溶剂对番茄红素提取率的影响

Fig. 5 The effects of different solvent on the extraction rate

2.2.2 最陡爬坡试验 根据 P-B 试验, 可以确定 pH、温度、时间为 3 个主要因素, 设计最陡爬坡试验表, 并根据各个阶段进行试验, 检测番茄红素的吸光度, 最陡爬坡试验设计和结果见表 3。

表3 最陡爬坡试验设计及试验结果

Table 3 Experimental design and results on steepest ascent

步骤	pH	T	t	Y1
-2	7.5	65	4.5	0.497
-1	7.0	60	4	0.503
0	6.5	55	3.5	0.512
1	6.0	50	3	0.534
2	5.5	45	2.5	0.508

2.2.3 响应面分析法(RSM)优化番茄红素的提取条件

试验采用中心组合试验设计法(CCD)对上述试验结果所得到的 3 个主要因素进行优化。设定 3 个主要因素的试验编码为: pH (X₁)、温度 (X₂) 和时间 (X₃), 以番茄红素的吸光度为响应值 Y₁, 按照 CCD 法设计试验表格, 并分别对不同组合进行试验测定番茄红素的吸光度。试验主要因素水平编码表见表 4。根据以上水平编码设计试验表格并检测响应值, 结果见表 5。根据试验结果, 并利用数学分析软件进行回归分析, 得到关于编码值以及真实值的回归方程。编码方程(Code): Y₁ = 0.529 +

$$0.006x_1 + 0.009x_2 - 0.007x_3 - 0.015x_1^2 - 0.011x_1x_2 + 0.004x_1x_3 - 0.013x_2^2 + 0.001x_2x_3 - 0.013x_3^2$$

表4 试验因素水平及编码

Table 4 Level and code on experiment variables

Variables	符号		编码水平				
	未编码	编码	-1.682	-1	0	1	1.682
pH	N	X ₁	6.84	6.5	6.0	5.5	5.16
温度	T	X ₂	58.4	55	50	45	41.6
时间	t	X ₃	3.84	3.5	3	2.5	2.16

从表 5 可知, 回归方程的一次项、二次项的均方差和系数都比较大, 而交互项比较小, 所以, 响应面分析所选的 3 个因素(pH、温度、时间)之间的交互效应比较小, 这种结论也可以从响应面图以及对应等高线图中得到(见图 6)。根据拟合方程, 可以得到最佳因素编码: X₁ = -0.113, X₂ = -0.049, X₃ = 0.009, 各个编码所对应的真实值近似为: pH 5.95, 温度 49.6 °C 和时间 3 h。根据以上优化试验所得的各因素优化值, 进行番茄红素提取试验, 得到番茄红素提取液的吸光度值为 0.588, 比单因素试验的最高吸光度值(0.537)提高了 9.5%, 比 P-B 设计的最高吸光度值(0.522)提高了 12.6%。

表 5 中心组合试验设计及试验结果

Table 5 Central composite design and its experiment results

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Y_1	0.439	0.423	0.495	0.468	0.496	0.472	0.495	0.485	0.523	0.499
No.	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Y_1	0.513	0.519	0.521	0.514	0.527	0.534	0.542	0.526	0.516	0.521

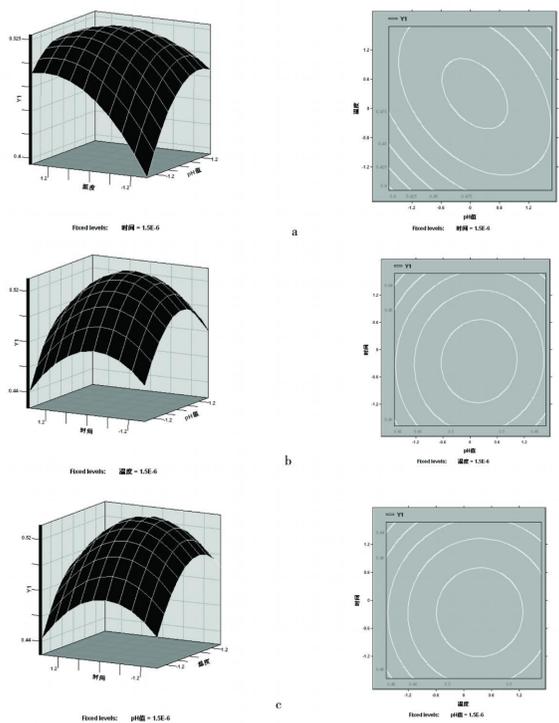


图 6 响应面三维图和对应的等高线

注: a. 温度-pH; b. 时间-pH; c. 时间-温度

Fig.6 The 3D and isorespon contour plot of response surface function

Note: a. T-pH; b. t-pH; c. t-T.

3 结论

提取 pH 值、提取温度、提取时间是影响提取效果的最主要因素。在丙酮、正己烷、氯仿 3 种溶剂中, 综合考虑丙酮作为溶剂时提取效果最好, 经过响应面分析法

优化得到最佳提取条件为: pH 5.95, 温度 49.6 °C, 提取时间 3 h。

根据以上优化试验所得的各因素优化值, 进行番茄红素提取试验, 得到番茄红素提取液的吸光度值为 0.588, 比单因素试验的最高吸光度值(0.537)提高了 9.5%。

参考文献

- [1] 姜庆侯, 单志萍, 孟好. 微生物产生的类胡萝卜素及其工业化[J]. 食品与发酵工业, 1999, 25(3): 46-50.
- [2] Ribayo-Mercado J D, Gamlyn M, Gilcrest B A, et al. Skin lycopene is destroyed preferentially over betacarotene during ultraviolet irradiation in human[J]. Journal of Nutrition, 1995, 125: 1854-1859.
- [3] Steven K, Clinton M D. Lycopene: chemistry, biology and implications for human health and disease[J]. Nutrition Reviews 1998, 56: 35-51.
- [4] 孙庆杰, 丁霄霖. 番茄红素的保健作用与开发[J]. 食品与发酵工业, 1997, 23(4): 72.
- [5] Qsterlie M, Lerfall J. Lycopene from tomato products added minced meat: Effect on storage quality and colour[J]. Food Research International 2005, 38: 925-929.
- [6] Sheetal M, Choudhari, Laxmi Ananthanarayan. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissue[J]. Food Chemistry, 2007, 102: 77-81.
- [7] Kaur D, Wani A A, Oberoi D P S, et al. Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using response surface methodology[J]. Food Chemistry, 2008(2): 711-718.
- [8] 李毅琳, 胡敏予, 瞿树林, 等. 番茄红素简便测定方法的应用与分析[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 268-270.
- [9] 成坚, 曾庆孝. 番茄红素的性质及生理功能研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(2): 75-76.
- [10] Zhao Y P, Qian S P, Yu W L, et al. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl_3O_2 [J]. Food Chemistry, 2002, 77: 209-212.

Optimization of Extraction Lycopene Using Response Surface Methodology

ZHENG Hui-jie^{1,2}, LI Zhi-qiang², LIU Wei², DI Jin-shen²

(1. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Department of Bioengineering Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

Abstract: Response surface methodology was used to optimize the technology for extraction lycopene. The effects of T, t, pH, extracting solvent, press comminution number, rotate speed were evaluated by using a Plackett-Burman design. Results showed that T, t and pH were the main affecting factors while the other factors had no significant effect on the extraction rate. Then, the central composite design and response surface analysis were used to determine the optimal levels of the main factors. The optimized conditions were pH 5.95, T 49.6 °C and 3 h, the optimized absorbency of locopene extraction was increased from 0.537 to 0.588.

Key words: Lycopene; Extraction; Plackett-Burman design; Central composite; Response surface methodology