

文章编号:1673-1689(2009)04-0487-05

## 响应面法优化微波辅助提取 $\beta$ -胡萝卜素工艺

李亚萍<sup>1</sup>, 程卫东<sup>\*2</sup>, 詹萍<sup>1</sup>, 田洪磊<sup>1</sup>, 翟金兰<sup>1</sup>

(1. 石河子大学 食品学院, 石河子 832003; 2. 石河子大学 神内食品研究开发中心, 石河子 832000)

**摘要:** 利用响应面分析法对微波辅助提取胡萝卜中  $\beta$ -胡萝卜素工艺进行优化, 在单因素试验基础上, 选取微波萃取功率、提取时间、料液体积质量比为考察因素, 采用响应面试验设计, 利用 SAS (9.0) 软件进行优化组合, 从而确定微波提取  $\beta$ -胡萝卜素的最佳工艺参数: 微波功率 394 W, 时间 6 min, 液料体积质量比为 43 mL/g, 在此条件下,  $\beta$ -胡萝卜素的提取率为 0.399 mg/g。

**关键词:** 胡萝卜; 微波提取;  $\beta$ -胡萝卜素; 响应面分析

**中图分类号:** S 631.2

**文献标识码:** A

## Optimization for Microwave-Assisted Extraction of $\beta$ -carotene by Response Surface Method

LI Ya-ping<sup>1</sup>, CHENG Wei-dong<sup>\*2</sup>, ZHAN Ping<sup>1</sup>, TIAN Hong-lei<sup>1</sup>, ZHAI Jin-lan<sup>1</sup>

(1. Food college, Shihezi University, Shihezi 832003, China; 2. Shihezi Development Zone Jinai Food Co., Ltd, Shihezi 832003, China)

**Abstract:** Response Surface Method (RSM) was applied to optimize the extraction condition of  $\beta$ -carotene by microwave-assisted extracting method from carrot. Based on the results of the single factor experiments, the microwave power, extraction time and ratio of solution to material were studied with three-factor quadric universal rotational combination design. The predictive quadratic equations model was developed by SAS (9.0) software. The optimal conditions of microwave extraction of  $\beta$ -carotene from carrot were achieved and listed as follows: microwave power 394 W, extraction time 6 min 4 s, the ratio of solvent to material 43.4 mL/g, salad oil as the solvent. With this optimal conditions, the yield of the  $\beta$ -carotene is achieved at 0.399 mg/g, the extraction rate of  $\beta$ -carotene is 86%, extraction time shortened 20 times compared with that of the traditional method, respectively.

**Key words:** carrot, microwave extraction,  $\beta$ -carotene, response surface analysis

天然  $\beta$ -胡萝卜素在防癌、抗癌方面有着独特的功效,  $\beta$ -胡萝卜素能抑制脂质过氧化、猝灭自由基、抗衰老等<sup>[1-2]</sup>, 同时也能提高机体的免疫功能<sup>[3-4]</sup>。以植物油为溶剂提取天然  $\beta$ -胡萝卜素所得产品具

有增进食欲、改善睡眠、增强记忆等作用<sup>[5]</sup>。

目前从胡萝卜中提取天然  $\beta$ -胡萝卜素研究较多, 但主要采用有机溶剂提取, 大量的有机溶剂的使用会带来不同程度的污染, 且分离工艺复杂, 不

收稿日期: 2008-04-02

基金项目: 兵团科技型中小企业技术创新基金项目(2008YD02)。

\* 通讯作者: 程卫东(1968-), 男, 新疆石河子人, 副研究员, 主要从事食品与饮料研究。Email: cxymw522@163.com

适合作功能性食品的原料。微波提取法具有快速、节能、溶剂使用量少、污染小且有利于萃取热不稳定物质的特点,已成功用于多种植物有效成分的提取<sup>[6]</sup>,但使用微波技术从胡萝卜中提取天然 $\beta$ -胡萝卜素的报道较少。作者运用响应面分析(response surface analysis, RSA)法对微波提取胡萝卜中 $\beta$ -胡萝卜素的工艺条件进行了优化<sup>[7]</sup>。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料与试剂

大豆色拉油:新疆天海粮油工业有限公司产品;石油醚(沸程 30-60 °C),氯仿:均为分析纯试剂; $\beta$ -胡萝卜素标准品:美国 AccuStandard 公司产品。新鲜胡萝卜:新疆沙湾出产,先经 45 °C 烘干干燥,粉碎过 60 目筛,真空包装备用。

### 1.2 仪器

UV-1240 紫外可见分光光度计:日本岛津公司产品, NJL07-3 型微波实验专用仪器:南通杰全微波设备有限公司产品, SHB-B<sub>9</sub> 型循环水式多用真空泵:郑州长城科工贸公司产品,鼓风式干燥箱:佛山市南海光强电炉厂产品;粉碎机:广州华凯机电设备有限公司产品。

### 1.3 方法

**1.3.1 标准溶液的配制及检测波长的选择** 准确称取 10 mg  $\beta$ -胡萝卜素标准品于小烧杯中,加入少量氯仿使其溶解,然后用石油醚定容于 100 mL 棕色容量瓶,摇匀,得到质量浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准溶液,逐级稀释配制不同质量浓度的标准品溶液。

取上述标准溶液配制质量浓度为 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,在 350~600 nm 范围内扫描,得  $\beta$ -胡萝卜素标样的吸收光谱图(见图 1)。

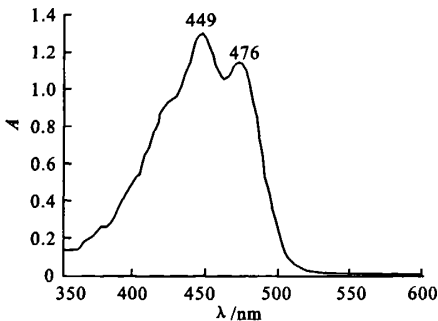


图 1  $\beta$ -胡萝卜素标样的吸收光谱图

Fig. 1 Absorption spectrum of  $\beta$ -carotene standard specimen

由图 1 可以看出  $\beta$ -胡萝卜素标样在 449 nm 和 476 nm 处有两个吸收峰,其中 449 nm 处吸光值最

万方数据

大,因此选择 449 nm 为检测波长。

**1.3.2 标准曲线的绘制** 移取上述  $\beta$ -胡萝卜素标准溶液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )0.04、0.08、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL 分别于 10 mL 容量瓶中,用石油醚稀释至刻度。以石油醚为空白对照,在 449 nm 处测吸光度值,绘制标准曲线(见图 3)。

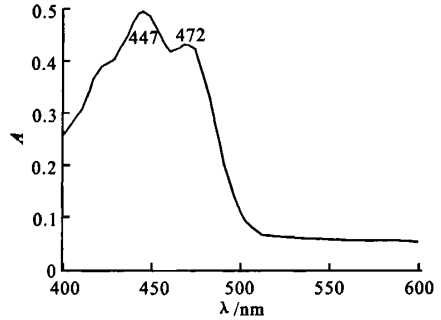


图 2  $\beta$ -胡萝卜素的吸收光谱图

Fig. 2 Absorption spectrum of  $\beta$ -carotene specimen

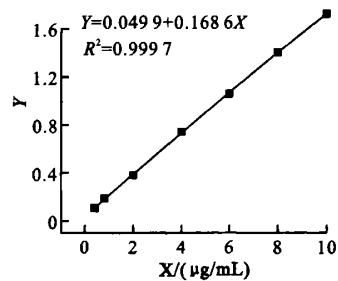


图 3  $\beta$ -胡萝卜素的标准曲线

Fig. 3 Standard curve of  $\beta$ -carotene

### 1.3.3 胡萝卜中 $\beta$ -胡萝卜素的提取

1) 工艺流程:胡萝卜粉(过 60 目筛)→植物油提取(微波辅助)→真空抽滤→滤液定容→取 1 mL 滤液用石油醚稀释→定容→测定吸光值

#### 2) $\beta$ -胡萝卜素的鉴定及计算

将取 1 mL  $\beta$ -胡萝卜素油溶液用石油醚定容于棕色容量瓶中,在 400~600 nm 范围内扫描得样品的吸收光谱图(见图 2)。由图 2 可以看出样品在 447 nm 和 472 nm 处有两个吸收峰,其中 447 nm 的吸光值最大,与标品两个吸收峰相似且其吸收光谱形状基本吻合。特征吸收峰位移的偏差可能与  $\beta$ -胡萝卜素的异构体及样品的纯度有关,在一定范围下是允许的,因此可以判断提取物含有  $\beta$ -胡萝卜素。在 447 nm 处测得样品的吸光度值,由回归方程计算。 $\beta$ -胡萝卜素质量浓度  $C$ ,进而求得胡萝卜粉中  $\beta$ -胡萝卜素的提取量。

## 1.4 试验设计

**1.4.1 单因素试验** 试验对微波功率、提取时间、

液料比进行单因素探索,分别考察 3 个因素对 β-胡萝卜素提取量的影响。

**1.4.2 响应面法试验设计** 在单因素试验结果的基础上,以微波功率、提取时间和液料比对应三个独立变量  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ ,以 β-胡萝卜素提取量  $Y$  为响应值,采用二次曲面通用旋转组合设计方案,利用 SAS(9.0)软件对实验数据进行回归分析,以获取最优工艺参数,并做出响应面图,试验水平因素安排见表 1。

表 1 响应面设计因素水平及其编码表

Tab.1 Factors, levels and codes in response surface method design

编码值	功率 $X_1$ /W	时间 $X_2$ /min	液料体积 质量比 $X_3$ /(mL/g)
-1.682	316	4.32	32
-1	350	5	35
0	400	6	40
1	450	7	45
1.682	484	7.68	48

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验及分析

**2.1.1 微波功率对 β-胡萝卜素提取率的影响** 固定料液体积质量比为 30 mL : 1 g,微波提取时间为 3 min,考察不同微波功率对 β-胡萝卜素提取率的影响,结果由图 4 可知,微波功率对 β-胡萝卜素提取量有着较为显著的影响,两者呈正相关关系,微波功率达到 400 W 时提取量达到最大值,之后提取率有所下降,这可能是功率过高导致 β-胡萝卜素热降解。

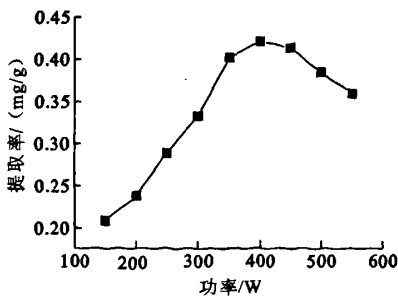


图 4 微波功率对 β-胡萝卜素提取率的影响

Fig.4 Effects of microwave power on β-carotene extraction quantity

**2.1.2 微波提取时间对 β-胡萝卜素提取率的影响** 固定料液体积质量比为 30 mL : 1 g,微波功率为

350 W,考察时间对 β-胡萝卜素提取率的影响,结果由图 5 可见,在时间低于 6 min 时,提取率提高比较显著,之后有下降趋势。这说明,提取时间对 β-胡萝卜素提取量有着比较明显的影响,时间过短,β-胡萝卜素溶解不充分,时间过长,可能使 β-胡萝卜素热降解或异构化,从而导致提取率下降。

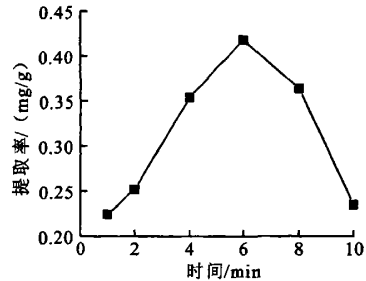


图 5 微波提取时间对 β-胡萝卜素提取率的影响

Fig.5 Effects of microwave extraction time on β-carotene extraction quantity

**2.1.3 液料体积质量比对 β-胡萝卜素提取率的影响** 固定微波功率为 350 W,微波提取时间为 3 min,考察不同液料体积质量比对 β-胡萝卜素提取率的影响,结果见图 6,可知液料比越大,提取率越高,但是当达到 40 mL/g 后,提取率增高不明显。

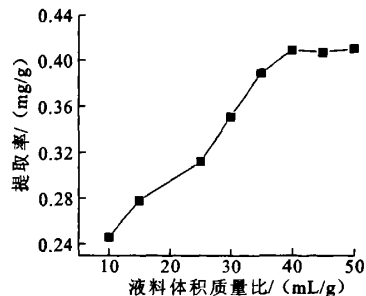


图 6 液料体积质量比对 β-胡萝卜素提取率的影响

Fig.6 Effects of ratio of material to solvent on β-carotene extraction quantity

### 2.2 响应面试验结果与分析

**2.2.1 试验结果** 在单因素试验的基础上,选取试验因素和水平见表 1,采用二次曲面通用旋转组合设计,进行响应面分析,设计方案与试验结果见表 2。

**2.2.2 方差分析及拟合数学模型的建立** 通过 SAS 的 RSREG(响应面回归)过程进行数据分析,建立二次响应面回归模型,经整理,所得的分析结果如 3、4,由表 3 方差分析可以看出: $F_{失拟} = 2.82 < F_{0.05}(5, 10) = 3.33$ ,说明该模型拟合效果很好。 $F_{回归} = 87.25 > F_{0.01}(9, 10) = 4.94$ ,所以回归模型是高度显著的,模型的调整确定系数  $R^2 = 0.9874$ ,

表2 响应面分析方案与试验结果

试验号	功率 $X_1$ /W	时间 $X_2$ /min	料液体积质量比 $X_3$ / (mL/g)	$\beta$ -胡萝卜素提取率 $Y$ / (mg/g)
1	350	5	35	0.275
2	350	5	45	0.316
3	350	7	35	0.295
4	350	7	45	0.338
5	450	5	35	0.284
6	450	5	45	0.324
7	450	7	35	0.26
8	450	7	45	0.30
9	316	6	40	0.292
10	484	6	40	0.246
11	400	4.32	40	0.286
12	400	7.68	40	0.315
13	400	6	32	0.328
14	400	6	48	0.394
15	400	6	40	0.391
16	400	6	40	0.389
17	400	6	40	0.398
18	400	6	40	0.404
19	400	6	40	0.395
20	400	6	40	0.402

而该模型能解释 98.74% 响应值的变化,回归方程各项的方差分析结果还表明,方程一次项、二次项、交互项的影响都是显著的,因此各个具体试验因子与响应值都不是简单的线性关系。

对试验结果(表2)通过 SAS 软件程序进行二次回归响应面分析,经分析整理,得到以  $\beta$ -胡萝卜素提取量为目标函数二次响应面回归模型:

$$Y = -5.435993 + 0.015988 * X_1 + 0.510438 * X_2 + 0.052568 * X_3 - 0.000018441 * X_1^2 - 0.000225 * X_2 * X_1 - 0.034942 * X_2^2 - 0.000002 * X_1 * X_3 + 0.00005 * X_2 * X_3 - 0.000599 * X_3^2$$

表3 回归方程的各项方差分析

方差来源	自由度	平方和	均方和	F 值	P 值
一次项	3	0.006976	0.0023253	34.32	<.0001
二次项	3	0.045215	0.01507166	222.43	<.0001
交互项	3	0.001015	0.00033833	4.99	0.0227
总回归	9	0.053205	0.00590066	87.25	<.0001
失拟项	5	0.000500	0.000100	2.82	0.1401
纯误差	5	0.000178	0.0000355		
总误差	10	0.000678	0.000067759		

表4 响应面分析方案与试验结果

Tab. 4 Result of central composite design trial

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	p 值
模型	9	2.0345902	0.2261	16.15194	0.003453
$X_1$	1	0.001302	0.001302	19.21299	0.001370
$X_2$	1	0.000134	0.000134	1.97391	0.190328
$X_3$	1	0.00554	0.00554	81.75946	0.000100
$X_1 * X_1$	1	0.030648	0.030648	452.31030	0.000100
$X_1 * X_2$	1	0.001013	0.001013	14.94263	0.003132
$X_1 * X_2$	1	2E-6	2E-6	0.02952	0.867019
$X_2 * X_2$	1	0.017606	0.017606	259.82490	0.000100
$X_2 * X_3$	1	5E-7	5E-7	0.007379	0.933240
$X_3 * X_3$	1	0.002777	0.002777	40.98685	0.000100

**2.2.3 响应面(RSA)分析** 根据回归分析结果作出相应曲面图及其等高线,直观地反映了各因素对响应值的影响,其中:微波功率和微波提取时间对  $\beta$ -胡萝卜素提取率的影响最为显著,表现为曲线较陡;其次为液料体积质量比,表现为曲线稍平滑,随万方数据

其数值的增加或减少,响应值变化较小。

**2.2.4 模拟寻优及检验** 对方程进行计算机模拟寻优,得到微波辅助提取  $\beta$ -胡萝卜素的最佳条件为微波功率 394.12 W,时间 6.06 min,液料体积质量比 43.4 mL/g。在此条件下, $\beta$ -胡萝卜素提取量理

论值为 0.405 mg/g。

为检验 RSA 法的可靠性,采用上述最优条件进行 β-胡萝卜素提取实验。实际测得的提取率为 0.399 mg/g,与理论值接近。因此,采用 RSA 法优化得到的工艺条件参数准确可靠,具有一定的实用价值。

### 3 结 语

1) 采用微波辅助提取胡萝卜粉中提取 β-胡萝

卜素,比传统的油法提取在时间上缩短 20 倍,用植物油提取 β-胡萝卜素,为简化其软胶囊内容物的制备工艺奠定了基础。

2) 借助于响应面分析得到了与实际拟合程度较高的数学模型以及优化的工艺条件:微波功率 394 W,时间 6 min,液料体积质量比 43 mL/g,β-胡萝卜素提取率达到 0.399 mg/g。

### 参考文献(References):

- [1] 胡兴娟,张连富,王晓岚,等. β-胡萝卜素氧化降解产物及其抑制癌细胞活性的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(5):61-65.  
HU Xing-juan, ZHANG Lian-fu, WANG Xiao-lan, et al. β-Carotene oxidation products and its inhibition on tumorous cells[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2007, 26(5):61-65. (in Chinese)
- [2] Bendich A. Carotenoid and the immune response[J]. *J Nutr*, 1989; 119:112.
- [3] 高建峰. β-胡萝卜素的营养价值及其生物合成[J]. 粮食与饲料工业, 2001, 1: 48-49.  
GAO Jian-feng. The nutritional value and biosynthesis of β-Carotene[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2001, 1: 48-49.
- [4] Julien S, Carbon C. In vivo activity of interferon-γ in combination with Amphotericin B in the treatment of experimental cryptococcosis[J]. *J Infect Dis*, 1994, 170(6):1331-1334.
- [5] 徐积恩. β-胡萝卜素的应用和市场[J]. 天津药学, 1994, 6(2): 1-4.  
XU Jin-en. The application and market of β-carotene[J]. *Tianjin Pharmacy*, 1994, 6(2):1-4.
- [6] 刘覃,陈晓青,蒋新宇,等. 微波辅助提取龙葵中总生物碱的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(1):65-69.  
LIU Tan, CHEN Xian-qing, JIANG Xin-yu, et al. Study on microwave-assisted extraction of total steroidal alkaloids from solasonine[J]. *Nat Prod Res Dev*, 2005, 17(1):65-69.
- [7] 廖春丽,余晓斌,刘海丽. 响应面法优化 β-胡萝卜素液体发酵培养基[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(5):95-99.  
LIAO Chun-li, YU Xiao-bin, LIU Hai-li. Optimize the submerged fermentation media of β-carotene by using response surface methodology[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2007, 26(5): 95-99. (in Chinese)

(责任编辑:朱明)