

采后处理对普通油茶‘闽43’果实含油率影响的响应面优化

宋倩倩, 白玮玮, 陈辉*, 郑国华, 李煜, 郑钰钢

(福建农林大学经济林研究所, 福州 350002)

摘要: 以普通油茶闽43为材料, 研究温度、GA浓度和时间等单因素对油茶果实采后处理的影响, 并在单因素试验的基础上, 以响应面分析法对油茶果实采后处理过程中种仁含油率提升的条件进行优化, 采用Design-Expert 8.0软件获得最优采后处理组合并进行验证试验。结果表明, 最优采后处理组合为温度25.10℃, GA浓度403.64 mg·L⁻¹, 时间6.81 d, 油茶种仁含油率最大预测值为48.26%, 比对照提升了5.69%; 在此处理条件下, 种仁含油率的验证试验实测值为48.66%, 与最大预测值基本符合。

关键词: 普通油茶‘闽43’; 采后处理; 含油率; 响应面分析法

中图分类号: S794.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2017)01-0065-06

Optimization of response surface for postharvest treatment on oil content in *Camellia oleifera* ‘Min43’ fruits

SONG Qianqian, BAI Weiwei, CHEN Hui, ZHENG Guohua, LI Yu, ZHENG Yuyin

(Non-timber Product Forest Institute, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

Abstract: In this paper, we studied the response of *Camellia oleifera* ‘Min43’ fruits to temperature, GA concentration and time during the postharvest handling period. In a single factor experiment, we optimized the oil extraction conditions from oil-tea *Camellia* fruits during postharvest handling using the response surface methodology and obtained the optimal combination using the Design-Expert 8.0 software. Finally, a verification test was implemented according to the optimal combination. The results showed that the optimal combination was: temperature, 25.10℃; GA concentration, 403.64 mg·L⁻¹; time, 6.81 d. The maximum predicted oil content in seeds of *C. oleifera* ‘Min43’ was 48.26%, which was increased by 5.69% compared with the control group. Under these conditions, the oil content of seeds of *C. oleifera* ‘Min43’ fruits was 48.66%, which is consistent with the maximum predicted value.

Key words: *Camellia oleifera* ‘Min43’; postharvest treatment; oil content; response surface methodology

油茶为山茶科(*Theaceae*)山茶属(*Camellia*)植物, 与油橄榄、油棕和椰子并称为世界四大木本油料树种^[1]。油茶籽经加工提取所获得的茶油富含不饱和脂肪酸, 是国际粮农组织认证的健康型食用油之一, 被誉为“东方橄榄油”^[2]。此外, 油茶在工业、医药和化妆业等领域都有广泛的运用, 具有重要的经济利用价值和社会资源价值^[3-4]。随着油茶产业的兴起, 科学合理的果实采后处理方法是确保茶油产量的关键。传统的油茶果采摘后要堆沤1周左右, 认为这样可以让油茶籽后熟, 增加含油量, 然后再

进行晒干捡籽^[5-7]。也有学者研究油茶果采收后喷施不同的生长调节剂对油茶果实含油率的影响^[8]。但前人的研究多是基于单因素探讨采后处理对油茶果实含油率的影响, 鲜有通过多因素调控来优化采后处理对油茶果实含油率的提升条件。本研究采用响应面分析法优化采后处理对油茶果实含油率的提升条件, 以为油茶果实采后处理方法应用提供一定的参考。

收稿日期: 2016-06-16

基金项目: 福建省科技重大专项(2013NZ0001-1), 福建省科技厅平台建设项目(2010N2001)和高等学校博士学科点专项科研基金(20123515110010)共同资助。

作者简介: 宋倩倩, 硕士研究生。E-mail: fjqqsong@126.com

* 通信作者: 陈辉, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: zjchchenh@163.com

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为普通油茶闽 43 所产的油茶果, 油茶树的树龄均为 12 a, 达到成熟稳产的状态, 树体长势中等, 开花结果正常, 无病虫害现象。

1.2 试验地概况

试验地位于福建省闽侯桐口国有林场华南油茶良种工区, 地处 26°05'N, 119°17'E, 海拔高度约 150 m, 气候温和, 雨量充沛。年平均气温 19.8℃, 年平均降水量 1 346.5 mm, 相对湿度 78%, 年平均日照时数为 1 923 h, 无霜期 326 d。试验地种植的油茶种质资源采用完全随机区组设计, 10 株小区, 3 次重复。

1.3 试验设计

1.3.1 普通油茶闽 43 果实采后处理单因素试验 本试验于 2013 年 10 月 11 日, 在油茶林选择立地条件、树体特征、生长条件及花期均基本一致的无病虫害的普通油茶闽 43, 每个小区各选取 5 株作为采样株, 共计 15 株, 并在每株树上做好标记。根据当年气候条件和果实形态变化, 结合林场工人多年采摘经验, 确定当年 2 种油茶果实形态成熟时间, 于 2013 年 11 月 7 日进行集中采摘。采样时从油茶树东南西北 4 个方向选取无病虫害果实进行采摘, 采摘后油茶果实及时带回试验室, 并立即将各处理所需的油茶果实分装至直径 20 cm、高度 25 cm 的圆形木桶中, 再移入不同温度的恒温箱中进行堆沤, 待到时间满足试验要求后立即取出, 一部分进行各项指标的测定, 另一部保存于 -20℃ 冰柜中备用。各单因素试验设计如下:

(1) 时间: 喷施清水, 控制处理温度为 25℃, 设置放置时间分别为 1、3、5、7、9、11 和 13 d, 测定不同放置时间作用下的油茶种仁含油率。

(2) 温度: 喷施清水, 控制放置时间为 7 d, 设置处理温度分别为 15、20、25、30 和 35℃, 测定不同处理温度作用下的油茶种仁含油率。

(3) GA 浓度: 控制处理温度和放置时间分别为 25℃ 和 7 d, 设置喷施 GA 的浓度分别为 0 (以清水为对照)、100、300、500 和 700 mg·L⁻¹, 测定不同 GA 浓度作用下的油茶种仁含油率。

1.3.2 普通油茶闽 43 果实采后处理响应面模型试验 于 2014 年 11 月 9 日对普通油茶闽 43 进行集中采摘, 当天即测定油茶果实的种仁含油率作为对照组。在单因素试验的基础上, 针对温度、GA 浓度和时间 3 个因素各自的最适条件分别设置 3 个水平,

以油茶果实种仁含油率为指标, 运用 Box-Behnken 设计响应面模型试验^[9-10], 因素与水平见表 1。

表 1 响应面因素与水平
Table 1 Experimental factors and levels of response surface

因素 Factor	水平 Level		
	-1	0	1
X ₁ (温度 Temperature) /°C	15	25	35
X ₂ (GA 浓度 concentration of GA) /mol·L ⁻¹	100	400	700
X ₃ (时间 Time) /d	1	7	13

1.3.3 普通油茶闽 43 果实采后处理响应面模型最优组合的验证试验 采用与单因素试验相同的方法, 于 2015 年 11 月 9 日对普通油茶闽 43 果实进行集中采摘, 根据响应面模型拟合出的油茶果实采后处理的最优组合进行验证性试验, 完成 3 次重复, 并与模型拟合的理论预测值进行对比。

1.3.4 果实种仁含油率的测定方法 本试验中果实种仁含油率测定在传统的索氏抽提法基础上, 参考陈永忠等^[11]的方法进行改进。首先从油茶果实剥取种仁, 用刀片将种仁切成薄片后, 放在 105℃ 烘箱中烘干 2 h, 再以粉碎机粉碎 1.5 min 左右成为小颗粒, 用药匙将其从粉碎机中取出, 称取 2 g 样品用脱脂滤纸和线包裹起来, 做好标记, 每个样品做 3 次重复, 放进抽提器内, 再将抽提器放入已称质量的抽提瓶内 (将抽提瓶洗净, 放入 105℃ 烘箱中烘干至恒重, 并分别记下质量), 加入约 80 mL 沸程 30~60℃ 的石油醚, 用粗脂肪测定仪提取 6 h 左右, 接着回收石油醚, 将抽提瓶于 75℃ 烘至恒重, 并分别记下其质量, 根据抽提瓶在抽提前后的质量差即可计算出种仁含油率。

$$\text{种仁含油率} = (M_2 - M_1) / M_3 \times 100\%$$

式中: M_1 为抽提瓶抽提前的质量, M_2 为抽提瓶抽提后的质量, M_3 为样品质量。

1.3.5 数据处理 运用 Design-Expert 8.0 软件进行响应面模型设计及分析^[12], 辅助 Excel、SPSS 软件进行其他数据处理和图表制作。

2 结果与分析

2.1 普通油茶闽 43 果实采后处理单因素试验分析

2.1.1 采后处理温度对种仁含油率的影响 由图 1 可知, 在 25℃ 以内, 随着处理温度的升高, 普通油茶闽 43 的种仁含油率逐渐上升。当温度达到 25℃ 时, 普通油茶闽 43 的种仁含油率最高值为 44.78%。

但当温度高于 25℃ 后, 普通油茶闽 43 的种仁含油率呈现显著下降的趋势。因此, 可以合理推测适宜的采后处理温度为 25℃。沙拉波夫研究油料植物油脂积累变化规律表明适宜的湿度和温度能够促进植物体内碳水化合物的形成与转化, 从而加快油脂的转化积累^[13]。采后处理温度过低会抑制油茶果实关于油脂形成的化学反应, 而过高的温度则会破坏油茶果实内环境的稳态, 影响果实油脂的积累和品质。

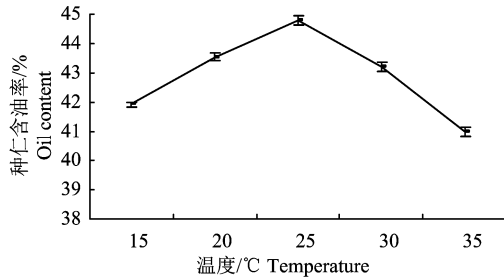


图 1 采后处理温度对种仁含油率的影响

Figure 1 Effect of postharvest treatment temperature on oil content of seed kernel

2.1.2 采后处理 GA 浓度对种仁含油率的影响 由图 2 可以看出, 当 GA 浓度在 300 mg·L⁻¹ 以内时, 普通油茶闽 43 的种仁含油率随着 GA 浓度的增加呈现缓慢上升的趋势。当 GA 浓度在 300 mg·L⁻¹ 时, 普通油茶闽 43 的种仁含油率达到了最高值为 46.69%, 比对照增加了 1.91%。但当 GA 浓度高于 500 mg·L⁻¹ 后, 普通油茶闽 43 的种仁含油呈现显著下降的趋势。另外, 当 GA 浓度在 300~500 mg·L⁻¹ 时, 普通油茶闽 43 的种仁含油无明显变化趋势, 从而可以合理推测在此之间可能存在一个更为适合的 GA 浓度, 使之对种仁含油率的提升作用达到最高。因此, 考虑后期试验设计, 选取 400 mg·L⁻¹ 为适宜的采后处理 GA 浓度。赤霉素作为调节植物生长发育的激素之一, 不仅具有促进植物细胞分裂, 茎叶伸长, 提高座果率, 增加产量等生理功能, 赤霉素还能影响植物脂肪酸代谢途径, 进而影响植物脂肪酸组成^[14]。蒋驰宇等研究表明外源赤霉素能够通过上调 *FAD3* 基因的表达量来促进拟南芥种子亚油酸去饱和形成亚麻酸^[15]。SCP-2 是一类小分子碱性蛋白, 参与脂肪酸代谢, 赤霉素通过诱导 SCP-2 的表达影响脂肪酸代谢^[16]。温玥等研究发现赤霉素能够促进油茶花芽分化形成和提高果实品质^[17]。陈永忠等采用不同生长调节剂对油茶果实进行采后处理, 结果表明喷施赤霉素 (GA) 的处理出油率比对照提升 20.9%^[8]。本试验采后处理 GA 浓度为 300 mg·L⁻¹ 时, 油茶种仁含油率最高, 推测由于 GA 能够通过

诱导油脂合成相关基因的表达量变化进而影响油脂含量。

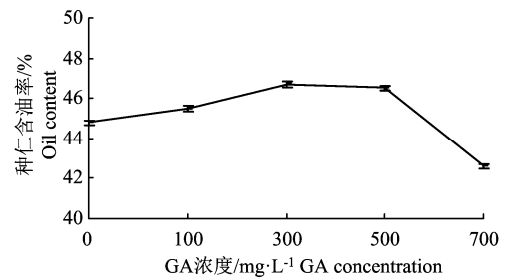


图 2 采后处理 GA 浓度对种仁含油率的影响

Figure 2 Effect of postharvest treatment GA concentration on oil content of seed kernel

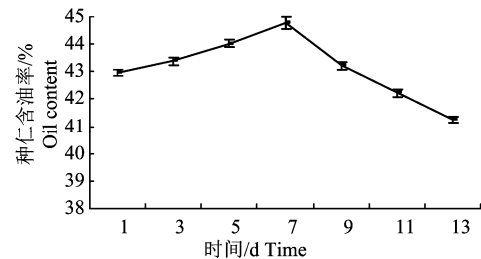


图 3 采后放置时间对种仁含油率的影响

Figure 3 Effect of postharvest treatment time on oil content of seed kernel

表 2 普通油茶闽 43 采后处理响应面试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results of response surface for postharvest treatment of fruits in *Camellia oleifera* ‘Min43’

试验号 Number	因素 Factor			Y 种仁含油率/% Oil content of seed kernel
	X ₁	X ₂	X ₃	
1	-1	-1	0	41.72
2	1	-1	0	42.56
3	-1	1	0	43.18
4	1	1	0	42.71
5	-1	0	-1	43.18
6	1	0	-1	41.64
7	-1	0	1	40.86
8	1	0	1	42.76
9	0	-1	-1	43.21
10	0	1	-1	42.17
11	0	-1	1	42.45
12	0	1	1	42.46
13	0	0	0	48.23
14	0	0	0	47.98
15	0	0	0	48.66
16	0	0	0	48.79
17	0	0	0	47.63

2.1.3 采后放置时间对种仁含油率的影响 由图 3 可以看出,随着放置时间延长,普通油茶闽 43 的种仁含油率在 7 d 以内均显著提升,并在第 7 天达到最高值为 44.78%。但是当放置时间在超过 7 d 后,普通油茶闽 43 的种仁含油率呈现显著的下降趋势。因此,可以合理的推测适宜的采后放置时间为 7 d。

2.2 普通油茶闽 43 果实采后处理响应面模型试验分析

2.2.1 普通油茶闽 43 果实采后处理响应面模型试验设计及结果 通过对当天采摘的普通油茶闽 43 果实及时进行种仁含油率的测定,得出对照组的种仁含油率平均为 42.61%。

在单因素试验的基础上,确定提取温度、GA 浓度和时间 3 个主要因素的最佳水平点,以普通油茶闽 43 的种仁含油率为指标,采用 Box-Behnken 设计 3 因素 3 水平的响应面模型试验,试验设计及结果见表 2。

运用 Design Expert 软件对表 2 中普通油茶闽 43 种仁含油率的 17 组试验数据进行回归统计分析得出响应面模型方差分析表,见表 3。得到二次多项

式拟合回归方程为:

$$Y=48.26+0.091X_1+0.073X_2-0.21X_3-0.33X_1X_2+0.86X_1X_3+0.26X_2X_3-3.09X_1^2-2.63X_2^2-3.06X_3^2$$

式中: X_1 为温度($^{\circ}\text{C}$), X_2 为 GA 浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), X_3 为时间(d)

由表 3 可以看出,回归模型 $P<0.01$ ($P=0.0001$),达到了极显著水平,证明该模型是有意义的。回归模型的 $R^2=0.9709$, $R^2_{\text{Adj}}=0.9334$, 变异系数为 1.2, 拟合程度比较好。该模型的失拟项 $P=0.315$, 表明其影响不显著,即失拟项与纯误差没有显著差异,说明试验操作可信,试验的理论预测可以使用。针对回归方程系数的显著性检验,温度二次项 X_1^2 , GA 浓度二次项 X_2^2 以及时间二次项 X_3^2 对普通油茶闽 43 种仁含油率有着极其显著 ($P<0.01$) 的影响; 温度和时间的交互项对普通油茶闽 43 种仁含油率有着显著 ($P<0.05$) 的影响,其他变量对普通油茶闽 43 种仁含油率的影响均不显著 ($P>0.05$)。另外,对 3 个单因素的 F 值进行比较可以得出对普通油茶闽 43 种仁含油率的影响顺序为 X_3 (时间) $>X_1$ (温度) $>X_2$ (GA 浓度)。

表 3 普通油茶闽 43 果实采后处理响应面模型方差分析

Table 3 ANOVA for response surface model with postharvest treatment of fruits in *Camellia oleifera* 'Min43'

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
模型 Model	125.430	9	13.940	52.590	<0.0001**
X_1	0.067	1	0.067	0.250	0.6315
X_2	0.042	1	0.042	0.160	0.7022
X_3	0.350	1	0.350	1.320	0.2891
$X_1 X_2$	0.430	1	0.430	1.620	0.2439
$X_1 X_3$	2.960	1	2.960	11.160	0.0124*
$X_2 X_3$	0.280	1	0.280	1.040	0.3417
X_1^2	40.180	1	40.180	151.620	<0.0001**
X_2^2	29.050	1	29.050	109.610	<0.0001**
X_3^2	39.400	1	39.400	148.690	<0.0001**
残差 δ	1.850	7	0.260		
失拟项 Lack of fit	0.940	3	0.310	1.360	0.3739
纯误差 Pure error	0.920	4	0.230		
总值 Gross value	127.280	16			

注: $R^2=0.9854$, $R^2_{\text{Adj}}=0.9667$, $CV=1.17\%$, “*”表示 $P\leq 0.05$, “**”表示 $P\leq 0.01$ 。

Note: “*” and “**” refer to significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

2.2.2 普通油茶闽 43 果实采后处理响应面交互作用分析 在响应面分析法中,通常用响应曲面的陡峭程度和等高线图的形状来直观地反映各因素对响应值的影响以及二因素交互作用的大小。如果响应曲面非常陡峭,表明响应值对处理条件的作用非常

敏感,反之则作用不显著;若等高线呈圆形表示 2 因素交互作用不显著,而椭圆形与之相反^[18-19]。图 4、图 5 和图 6 分别为在普通油茶闽 43 采后处理过程中温度、GA 浓度和时间 3 个因素间交互作用的响应面和等高线图。

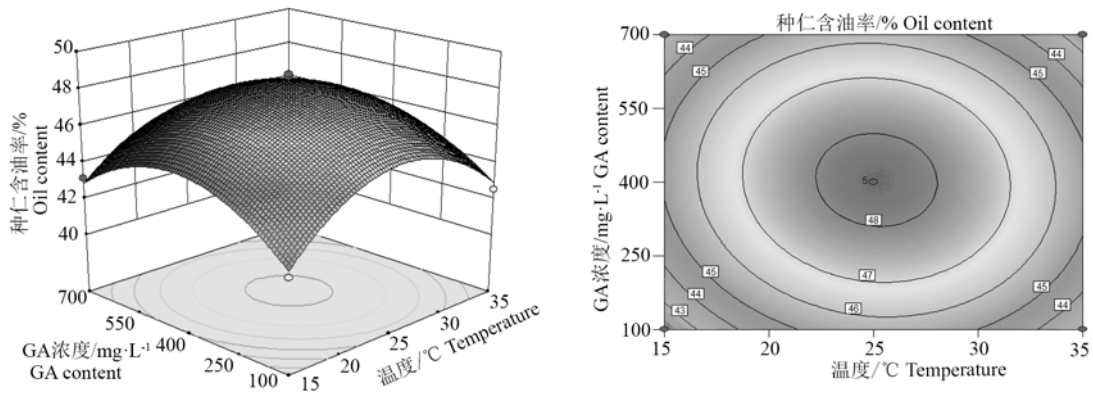


图 4 温度和 GA 浓度交互作用的响应面和等高线

Figure 4 Responsive surfaces and contours of effect of temperature and time

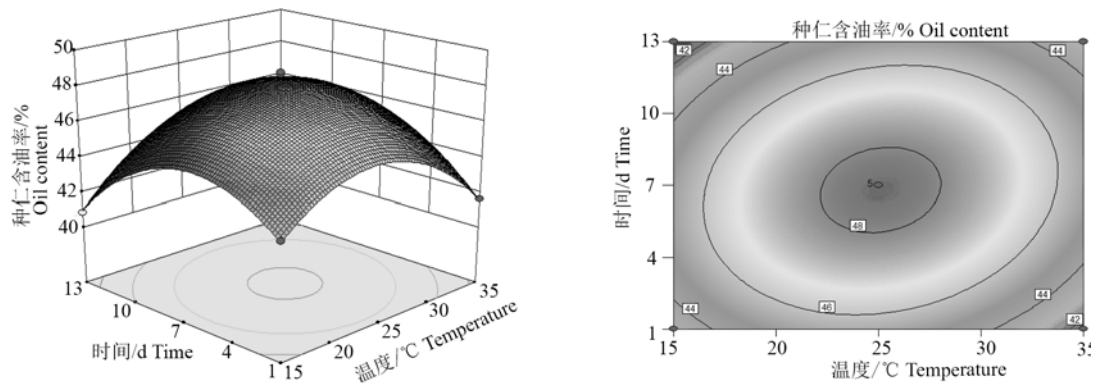


图 5 温度和时间交互作用的响应面和等高线

Figure 5 Responsive surfaces and contours of effect of temperature and time

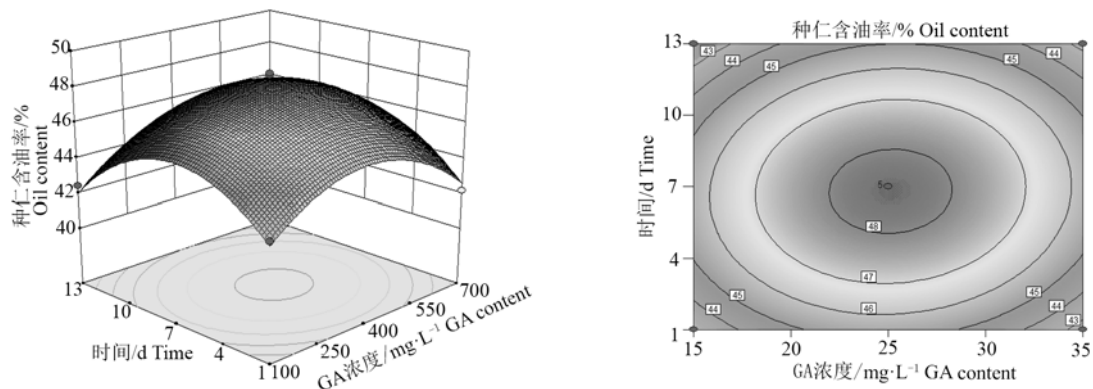


图 6 GA 浓度和时间交互作用的响应面和等高线

Figure 6 Responsive surfaces and contours of effect of GA concentration and time

由图 4~图 6 可知, 在普通油茶闽 43 采后处理过程中, 温度与 GA 浓度交互作用的等高线呈近圆形, 说明两者的交互作用不显著, 但温度轴沿等高线变化较为密集, GA 浓度轴沿等高线变化则相对稀疏, 且温度相比于 GA 浓度对种仁含油率作用的影响曲面较为陡峭, 说明温度较 GA 浓度对种仁含油率的影响更明显; 温度与时间交互作用的等高线均呈椭圆形, 说明两者的交互作用显著, 且时间轴沿等高线变化较为密集, 温度轴向等高线则变化相

对稀疏, 再加上时间相比于温度对种仁含油率作用的影响曲面较为陡峭, 说明时间较温度对种仁含油率的影响更明显; 虽然 GA 浓度与时间的交互作用未达到统计分析上的显著水平, 但其等高线还是呈现较为典型的椭圆形, 达到较显著水平。此外, 时间轴沿等高线变化较为密集, GA 浓度轴沿等高线变化则相对稀疏, 且时间相比于 GA 浓度对种仁含油率作用的影响曲面较为陡峭, 说明时间较 GA 浓度对种仁含油率的影响更明显。

2.2.3 普通油茶闽 43 果实采后处理含油率最优组合的确定 运用 Design Expert 软件进行响应面模型分析, 得到普通油茶闽 43 果实采后处理的最优组合。当温度为 25.10℃, GA 浓度为 403.64 mg·L⁻¹, 时间为 6.81 d 时, 普通油茶闽 43 种仁含油率最大预测值为 48.26%, 比对照提升了 5.69%。

2.3 普通油茶闽 43 采后处理响应面模型最优组合的验证分析

为了检验试验结果的可行性, 根据所获得的最优处理组合, 进行 3 个重复的验证试验, 得到普通油茶闽 43 种仁含油率的平均实测值为 48.66%, 与理论预测值的相对误差为 0.82%, 并且均高于理论预测值, 表明该模型能够较好的反映出油茶果实采后处理过程中种仁含油率提升的优化条件。

3 讨论与结论

本研究在单因素试验基础上, 采用响应面分析法探讨了温度、GA 浓度和时间等采后处理因素对普通油茶闽 43 种仁含油率的影响, 建立了以种仁含油率为目标值的响应面模型, 方差分析表明该模型拟合程度比较好, 并通过回归方程优化计算可知, 最优采后处理组合为后熟温度 25.10℃、GA 浓度 403.64 mg·L⁻¹ 及后熟时间 6.81 d, 种仁含油率预测值为 48.26%。通过验证试验, 实测种仁含油率为 48.66%, 与理论预测值基本符合。因此, 响应面分析法在油茶果实采后处理方法的选择优化方面可以发挥重要指导作用, 在相关领域的优化研究也将具有广阔的应用前景。但需要指出的是, 研究中还存在一些不足, 关于喷施 GA 是否影响茶油食用安全的问题还未进行深入的研究和评价; 如何合理保存最优采后处理条件下的油茶果实, 以使果实含油率维持在较高水平还需要进一步研究。

参考文献:

[1] 庄瑞林. 中国油茶[M]. 2 版. 北京: 中国林业出版社, 2008: 2-9.
[2] 林国锋, 陈世品, 刘玉宝, 等. 油茶良种选育研究进展[J]. 亚热带农业研究, 2010, 6(2): 81-85.

[3] 朱彬, 钟海雁, 曹清明, 等. 油茶活性成分研究进展与展望[J]. 经济林研究, 2010, 28(3): 140-145.
[4] 陈辉, 刘国敏, 刘玉宝. 油茶丰产林培育[M]. 福州: 福建科技出版社, 2010: 3-11.
[5] 季志平. 沤置后油茶果实内物质的转化和积累[J]. 经济林研究, 1991, 9(2): 53-56.
[6] 胡春水, 王金元, 熊芳芳, 等. 提高采后油茶果出油率的研究[J]. 浙江林学院学报, 1999, 16(4): 392-396.
[7] 刘建昌, 赵晓青, 胡小康, 等. "GLS 赣州油"系列油茶良种丰产栽培技术[J]. 经济林研究, 2011, 29(1): 166-170.
[8] 陈永忠, 王湘南, 彭邵锋, 等. 植物生长调节剂对油茶果实含油率的影响[J]. 中南林业科技大学学报(自然科学版), 2007, 27(1): 25-29.
[9] KHURI A I, MUKHOPADHYAY S. Response surface methodology[J]. WIREs Computation Stat, 2010, 2(2): 128-149.
[10] 黄新仁. 响应面法在生物过程优化中的应用[D]. 长沙: 湖南大学, 2011: 28-36.
[11] 陈永忠, 肖志红, 彭邵锋, 等. 油茶果实生长特性和油脂含量变化的研究[J]. 林业科学研究, 2006, 19(1): 9-14.
[12] 徐向宏, 何明珠. 试验设计与 Design-Expert、SPSS 应用[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 146-160.
[13] 沙拉波夫. 油料植物及油的形成过程[M]. 黄观程, 译. 北京: 科学出版社, 1965: 73-102.
[14] 李保珠, 赵翔, 安国勇. 赤霉素的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(1): 1-5.
[15] 蒋驰宇, 金永生. 外源赤霉素对拟南芥种子含油量和脂肪酸组分的影响及分子机制初探[J]. 绿色科技, 2010 (7): 177-178.
[16] 楚璞, 翟丽娜, 管荣展. 甘蓝型油菜固醇载体蛋白 2 基因 BnSCP-2 的克隆与表达[J]. 中国油料作物学报, 2015, 37(1): 9-14.
[17] 温玥, 苏淑钗, 马履一, 等. 赤霉素处理对油茶花芽形成和果实品质的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2015, 32(6): 861-867.
[18] KUMAR A, PRASAD B, MISHRA I M. Optimization of process parameters for acrylonitrile removal by a low-cost adsorbent using Box-Behnken design[J]. J Hazard Mater, 2008, 150(1): 174-182.
[19] 胡文杰, 高捍东, 江香梅, 等. 响应面法优化樟树叶精油水蒸汽蒸馏提取工艺[J]. 江西农业大学学报, 2013, 35(1): 144-151.