

# 千金子油水酶法提取工艺优化 及千金子采收期研究

陶阿丽,冯学花,陈自豪,谢伟,吴甜甜

(安徽新华学院药学院,合肥230088)

**摘要:**以传统中药材千金子为原料,在单因素实验基础上,采取响应面法优化千金子油水酶法提取工艺,考察酶解时间、加酶量和酶解温度对千金子油得率的影响,并研究千金子油得率在千金子不同采收期动态变化规律。结果表明,水酶法提取千金子油的最佳工艺条件为:酶解时间2.9 h,加酶量19 mg/g,酶解温度50℃。在最佳工艺条件下,千金子油得率为33.078%;千金子最佳采收时间为9月中下旬。

**关键词:**千金子油;水酶法;响应面法;采收期

中图分类号:R284;S567

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)02-0019-04

## Optimization of aqueous enzymatic extraction process of oil from *Euphorbia lathyris* L. seed and its harvest time

TAO Ali, FENG Xuehua, CHEN Zihao, XIE Wei, WU Tiantian

(College of Pharmacy, Anhui Xinhua University, Hefei 230088, China)

**Abstract:** With the traditional Chinese herbal medicine *Euphorbia lathyris* L. seed as raw material, based on the single factor experiment, the aqueous enzymatic extraction process of oil from *Euphorbia lathyris* L. seed was optimized by response surface methodology, and the effects of enzymolysis time, dosage of enzyme and enzymolysis temperature on the yield of *Euphorbia lathyris* L. seed oil were investigated. The dynamic change law of oil from *Euphorbia lathyris* L. seed in different harvest time was studied. The results showed that the optimal extraction process conditions of *Euphorbia lathyris* L. seed oil were obtained as follows: enzymolysis time 2.9 h, dosage of cellulase 19 mg/g and enzymolysis temperature 50℃. Under the optimal conditions, the yield of *Euphorbia lathyris* L. seed oil was 33.078%. The best harvest time of *Euphorbia lathyris* L. seed was the mid-late of September.

**Key words:** *Euphorbia lathyris* L. seed oil; aqueous enzymatic extraction; response surface methodology; harvest time

千金子,大戟科大戟属植物续随子(*Euphorbia lathyris* L.)的种子,又名联步、菩萨豆、千两斤,广泛分布于我国安徽、浙江、江西、河南等地。千金子外形呈椭圆形,长约5 mm,直径约4 mm。作为传统中

药材,千金子气微、味辛、性温,具祛湿、泻下、活血等功用<sup>[1]</sup>。研究显示,千金子具有治疗白血病、食管癌、皮肤癌、疣赘、抗肿瘤及美白作用<sup>[2-4]</sup>。

千金子中油脂含量丰富,其含油量达39.41%<sup>[5-7]</sup>。从理化性质来看<sup>[8]</sup>,千金子油酸值(NaOH)为15.37 mg/g、碘值(I)为35.02 g/100 g、羟值(NaOH)为161.23 mg/g、皂化值(KOH)为145.13 mg/g。千金子油的脂肪酸主要包括油酸、棕榈酸、亚油酸等<sup>[9]</sup>。此外,千金子油中还含有 $\beta$ -甾醇、千金子甾醇、巨大戟萜醇-20-棕榈酸酯、7-羟基-千金藤醇-二乙酸-二苯甲酸酯、巨大戟萜

收稿日期:2017-04-27;修回日期:2017-11-20

基金项目:安徽省教育厅高校优秀青年人才支持计划重点项目(gxyqZD2016395);国家级大学生创新训练项目(201512216023,201612216094);安徽新华学院校级科研团队项目(2016td016)

作者简介:陶阿丽(1983),女,副教授,硕士,研究方向为基础化学与天然产物开发(E-mail)taoali84@163.com。

醇-1-H-3,4,5,8,9,13,14-七去氢-3-十四酸酯、千金藤醇-3,15-二乙酸-5-苯甲酸酯等成分<sup>[10]</sup>。千金子甾醇具有抑制黑色素生成、祛斑、除色素等功效。从其药用价值和能源价值<sup>[11]</sup>来看,千金子油是一种非常具有研究价值和深度开发意义的植物油脂。目前,我国对千金子的利用主要是直接炮制入药,而对千金子油的生物利用度较低。

植物油脂的提取方法很多,包括索氏提取法、超声波辅助提取法、超临界萃取法、压榨法、水酶法等<sup>[12-13]</sup>。水酶法利用酶的降解作用提高出油率,具有工艺简单、成本低、提取率高、产品纯度高等优点<sup>[14]</sup>。

为提高千金子油的药用价值和生物利用度,本文采用水酶法提取千金子油,利用 Box - Behnken 中心组合原理设计并优化提取工艺条件。考察不同采收期千金子油得率的动态变化规律,以期对千金子的综合利用与开发提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

千金子,采摘于安徽亿民农林生态有限公司试验田,经安徽中医药大学张国升教授鉴定为中药续随子种子,自2016年7月5日续随子花谢结果开始采摘,每15 d 采摘1次,至全部种子变黑褐色共采摘8次。采摘后洗净,阴干后粉碎过50目筛,密封保存;纤维素酶(酶活45 000 U/g),购自上海海拓试剂有限公司;其他试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

RE-1002型旋转蒸发器;FY130型中药粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;TDL-40B高速离心机,上海安亭科学仪器厂;DZF-6020型恒温鼓风干燥箱;CNWB-3C型微波反应器,广州万程微波设备有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 千金子油的提取

精密称取5.000 0 g干燥的千金子粉末置于烧瓶中,按料液比1:10加入蒸馏水,用柠檬酸缓冲溶液调节pH至5.0。加入一定量纤维素酶,充分搅拌后,水浴恒温酶解浸提。酶解结束后,在90℃水浴灭酶15 min。灭酶后加入石油醚,萃取后6 000 r/min离心10 min,收集上层清油及乳状液。将乳状液在微波功率500 W、微波时间7 min条件下进行破乳,然后在6 000 r/min条件下离心10 min,收集上层清油,合并两次清油后旋转蒸发。随后在

110℃烘干得千金子油,称重,计算千金子油得率<sup>[13]</sup>。

#### 1.2.2 千金子采收期的选择

取不同采收期的千金子进行千金子油提取,计算并比较千金子油得率,考察整个果实生长阶段千金子油得率的动态变化规律,以指导千金子的最佳采收期。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验

#### 2.1.1 酶解时间对千金子油得率的影响

在加酶量20 mg/g,酶解温度50℃,酶解时间分别为2、2.5、3、3.5、4 h条件下提取千金子油,计算千金子油得率。不同酶解时间对千金子油得率的影响如图1所示。

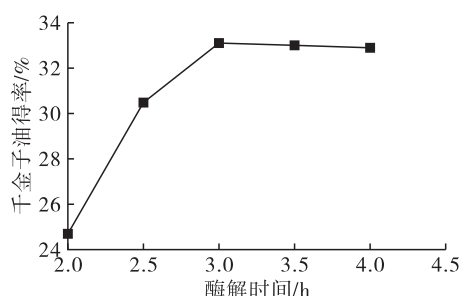


图1 酶解时间对千金子油得率的影响

由图1可知,在提取的前3 h,千金子油得率随着酶解时间的延长呈现迅速增加的趋势,而在酶解时间超过3 h后,千金子油得率的变化趋于平缓。可能是由于随着酶解的不断发生,原料的量逐渐减少,造成出油速率降低。考虑到成本因素,选择适宜的酶解时间为3 h。

#### 2.1.2 加酶量对千金子油得率的影响

在酶解时间3 h,酶解温度50℃,加酶量分别为10、15、20、25、30 mg/g条件下提取千金子油,计算千金子油得率。不同加酶量对千金子油得率的影响如图2所示。

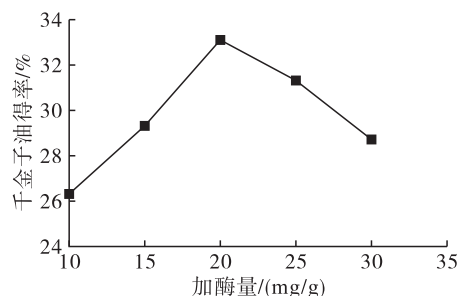


图2 加酶量对千金子油得率的影响

由图2可知,当加酶量在10~20 mg/g范围内,千金子油得率随着加酶量的增加而增加,继续增大加酶量,千金子油得率反而呈现明显下降趋势。纤

纤维素酶可促进组成植物细胞壁的纤维素骨架有效降解<sup>[15]</sup>,使油脂溶出。但纤维素酶加入量过多时,可能会发生酶自溶反应,导致千金子油得率的降低。因此,合适的加酶量为 20 mg/g。

### 2.1.3 酶解温度对千金子油得率的影响

在加酶量 20 mg/g,酶解时间 3 h,酶解温度分别为 30、40、50、60、70 °C 条件下提取千金子油,计算千金子油得率。不同酶解温度对千金子油得率的影响如图 3 所示。

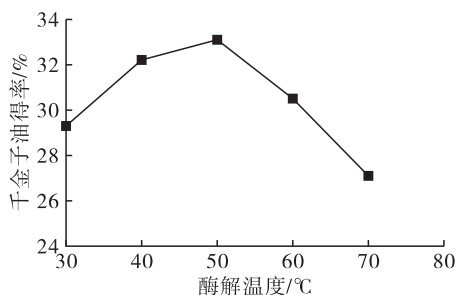


图3 酶解温度对千金子油得率的影响

由图 3 可知,千金子油得率随着酶解温度的升高而增加,在 50 °C 时达到最大,这是因为温度的升高可有效提高分子热运动,促使油脂快速溶出。但是,当酶解温度高于 50 °C 时,千金子油得率迅速降低,可能是因为温度过高导致纤维素酶失活,降低了酶促反应速度。因此,合适的酶解温度为 50 °C。

### 2.2 响应面实验

根据单因素实验结果,以千金子油得率为响应值,选择酶解时间(A)、加酶量(B)和酶解温度(C)为自变量,根据 Box - Behnken 中心组合原理,利用 Design - Expert 8.0.6 软件的设计,响应面实验因素及水平见表 1,响应面实验设计及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 响应面实验因素及水平

水平	A/h	B/(mg/g)	C/°C
-1	2.5	15	40
0	3.0	20	50
1	3.5	25	60

Box - Behnken 模型共设 17 组实验,其中 1、11、14、15、17 组为中心实验,其余 12 组为析因实验。析因实验的作用是构成三维定点,中心实验为区域的中心,重复 5 组中心实验以估计误差。采用 Design - Expert 8.0.6 软件对表 2 结果进行回归拟合,得二次多项回归方程:  $Y = 32.88 - 1.05A - 1.44B - 0.74C + 1.10AB + 0.55AC - 1.38BC - 5.28A^2 - 2.60B^2 - 4.85C^2$ 。

表 2 响应面实验设计及结果

实验号	A	B	C	千金子油得率/%
1	0	0	0	33.1
2	1	1	0	24.1
3	-1	1	0	23.4
4	0	-1	-1	26.5
5	-1	-1	0	28.1
6	-1	0	1	22.9
7	1	0	-1	21.5
8	0	-1	1	27.6
9	1	-1	0	24.4
10	0	1	-1	26.0
11	0	0	0	32.9
12	-1	0	-1	25.3
13	0	1	1	21.6
14	0	0	0	32.5
15	0	0	0	32.7
16	1	0	1	21.3
17	0	0	0	33.2

表 3 方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	314.15	9	34.91	175.72	<0.000 1
A	8.82	1	8.82	44.40	0.000 3
B	16.53	1	16.53	83.22	<0.000 1
C	4.35	1	4.35	21.90	0.002 3
AB	4.84	1	4.84	24.37	0.001 7
AC	1.21	1	1.21	6.09	0.043 0
BC	7.56	1	7.56	38.07	0.000 5
A <sup>2</sup>	117.27	1	117.27	590.36	<0.000 1
B <sup>2</sup>	28.52	1	28.52	143.56	<0.000 1
C <sup>2</sup>	99.14	1	99.14	499.11	<0.000 1
残差	1.39	7	0.20		
失拟项	1.06	3	0.35	4.32	0.095 7
纯误差	0.33	4	0.08		
总计	315.54	16			

注:  $P < 0.05$  为显著,  $P < 0.01$  为极显著。

由表 3 可知,3 个自变量对因变量的因子贡献率为  $B > A > C$ ;模型 F 值为 175.72,  $P < 0.000 1$ ,表明该回归模型因变量与自变量的相关关系极显著;  $R^2 = 0.944 5$ ,  $R^2_{Adj} = 0.989 9$ ,信噪比为 33.255,远大于 4,可知模型可信度很高;失拟项 P 为 0.095 7,大于 0.05,表明失拟不显著,表示模型拟合度较高。结果表明,该模型能够较好地对千金子油得率进行预测。模型的一次项中,A、B、C 均对千金子油得率影响极显著;模型的二次项中,A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup> 和 C<sup>2</sup> 也均对千金子油得率的影响极显著,说明 3 个自变量之间为

非简单的线性关系;交互项中,AB、BC 具极显著性差异,AC 具显著性差异,说明 3 个自变量之间存在较大的相互影响。

求解多元二次回归方程即得模型最大值,即酶解时间 2.93 h、加酶量 18.53 mg/g、酶解温度 49.58 ℃,在此条件下,千金子油得率达到最大值,为 33.175 5%。考虑实际操作性,修正响应面模型回归所得的最佳提取工艺,确定最佳提取工艺条件为酶解时间 2.9 h、加酶量 19 mg/g、酶解温度 50 ℃。为验证响应面法所得结果的可靠性,根据上述修正后优化条件提取千金子油,重复进行 3 次平行实验,得千金子油平均得率为 33.078%,RSD 为 0.97%,与模型所得理论预测值 33.175 5% 非常接近,说明该模型可靠有效。

### 2.3 千金子采收期的选择

在最佳提取工艺条件下,提取 8 批不同采收期千金子中油脂,计算并比较千金子油得率,不同采收期千金子油得率如图 4 所示。

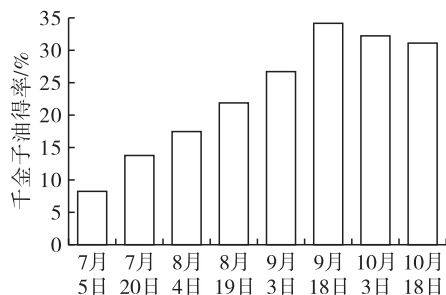


图 4 不同采收期千金子油得率

由图 4 可知,在果实生长期,千金子油得率呈现上升趋势,说明千金子中油脂含量随着果实的成熟而增加。千金子油得率在 9 月 18 日时达到最大,表明此时千金子油含量最高,此时千金子大部分为黑褐色。在 9 月 18 日后,千金子全部变为黑色,其油脂含量也随之降低。因此,千金子最佳采收期为 9 月 18 日左右,即在 9 月中下旬果实生长约 2.5 个月 after 采摘最佳。

### 3 结论

本文采用水酶法提取千金子油,运用 Box - Behnken 筛选实验,通过响应面模型优化获得千金子油最佳提取工艺条件为:酶解时间 2.9 h,加酶量 19 mg/g,酶解温度 50 ℃。在最佳条件下,千金子油

得率为 33.078%,与模型预测值非常接近。通过考察不同采收期千金子油得率,获得千金子中油脂含量的动态变化规律,结果显示千金子的最佳采收期为 9 月中下旬。

### 参考文献:

- [1] 国家中医药管理局. 中华本草:第 4 册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:3582.
- [2] 李英霞,孙兆祥,李岩,等. 毒性中药千金子研究概况[J]. 中华中医药杂志,2008,23(7):614-616.
- [3] 黄晓桃,黄光英,薛存宽,等. 千金子甲醇提取物抗肿瘤作用的实验研究[J]. 肿瘤防治研究,2004,31(9):556-557.
- [4] 杨珺,王世岭,付桂英,等. 千金子提取液对大鼠肺成纤维细胞增殖的影响及细胞毒性作用[J]. 中国临床康复,2005,27(9):101-103.
- [5] 焦威,鲁璐,邓美彩,等. 千金子化学成分的研究[J]. 中草药,2010,41(2):181-187.
- [6] 孙国君,张付玉,占扎君,等. 千金子化学成分和药理活性研究进展[J]. 中药材,2010,33(2):308-312.
- [7] 王亚辉,李招娣,邓红,等. 续随子冷榨油脂脂肪酸及蛋白质氨基酸组成分析[J]. 中国粮油学报,2009,24(11):74-77.
- [8] 祝洪艳,张琪,夏从立,等. 千金子油理化性质及其脂肪酸和挥发油成分分析[J]. 分子科学学报,2009,25(2):90-94.
- [9] 张宏伟,金锋,张振凌. 泛油对千金子主要有效成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(22):124-126.
- [10] 李玉山,王经安. 从千金子中提取高纯度千金子甾醇的工艺研究[J]. 中国粮油学报,2013,28(6):67-77.
- [11] 危文亮,金梦阳,马冲,等. 续随子油脂脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂,2007,32(5):70-71.
- [12] 汪昌国,刘震. 植物油脂的超临界 CO<sub>2</sub> 提取[J]. 中国油脂,1997,22(6):3-6.
- [13] 何仁,黄永春,马月飞,等. 超声波辅助提取百香果果核中植物油的研究[J]. 食品科学,2008,29(10):218-222.
- [14] 王瑛瑶,王璋,许时婴. 水酶法从花生中提取油和水解蛋白[J]. 中国粮油学报,2004,19(5):59-63.
- [15] 胡滨,陈一资,苏赵. 超声波和微波辅助水酶法提取葡萄籽油的工艺研究[J]. 中国油脂,2015,40(12):12-17.