

# 高压脉冲电场和传统热水法提取 海带多糖的比较研究

刘航<sup>1\*</sup>, 冯立强<sup>2</sup>, 刘兴江<sup>3</sup>

(1. 辽宁工业大学化学与环境工程学院, 辽宁锦州 121001; 2. 辽宁工业大学理学院, 辽宁锦州 121001; 3. 辽宁工业大学材料科学与工程学院, 辽宁锦州 121001)

**摘要:**利用正交试验确定了高压电脉冲电场和传统热水法提取海带多糖的最佳工艺,并对2种工艺进行了比较,初步探讨高压脉冲的作用机理。结果表明,传统热水法提取海带多糖的最佳工艺为:海带粉与去离子水的料液比为1:50,提取温度为60℃,提取时间为40 min。高压脉冲电场的最佳工艺为:海带粉与去离子水的料液比为1:30,脉冲时间为20 min,脉冲电压为10 kV,脉冲频率为50 Hz。提取时间仅为传统热水法时间的1/2,海带多糖提取率比传统热水法提高45%。

**关键词:**高压脉冲电场;热水法;海带多糖;提取工艺

**中图分类号:**TS245.9;Q539

**文献标志码:**A

**文章编号:**0253-4320(2016)07-0075-04

**DOI:**10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2016.07.019

## Comparative studies on extraction of laminarin by high voltage pulsed electric fields and traditional method

LIU Hang<sup>1\*</sup>, FENG Li-qiang<sup>2</sup>, LIU Xing-jiang<sup>3</sup>

(1. School of Chemical and Environmental Engineering, Liaoning University of Technology, Jinzhou 121001, China;

2. School of Science, Liaoning University of Technology, Jinzhou 121001, China;

3. School of Materials Science and Engineering, Liaoning University of Technology, Jinzhou 121001, China)

**Abstract:** Orthogonal tests are carried out to determine optimal laminarin extraction technologies by the high voltage pulsed electric fields and the traditional hot water method. The mechanism of the high voltage pulsed electric fields is preliminarily discussed. The optimal conditions of traditional method are: 1:50 of material-liquid ratio, 60℃ of extraction temperature and 40 minutes of extraction time. The optimal conditions of high voltage pulsed electric fields are: 1:30 of material-liquid ratio, 20 minutes of pulse time, 10 kV of electric field intensity and 50 Hz of pulse frequency. Compared with traditional hot water extraction method, the extraction time is shortened by 50% and the extraction ratio is increased by 45% for high voltage pulsed electric field method.

**Key words:** high voltage pulsed electric fields; hot water method; laminarin; extraction technology

海带多糖(polysaccharides)是一种来源于海带的海洋多糖,存在于海带细胞间和细胞内的一类天然生物大分子物质。目前从海带中已发现3种多糖:褐藻胶、褐藻糖胶、褐藻淀粉<sup>[1]</sup>。海带多糖可广泛应用在食品、医药、生物、发酵、农业及化妆品等领域,因此具有巨大的应用和开发价值<sup>[2-3]</sup>。

传统的海带多糖提取方法主要有热水法、碱提法、酶水解法<sup>[4-6]</sup>。而天然产物的传统提取方法具有提取时间长,提取过程繁琐,能耗高,有效成分收率较低等缺点<sup>[7-9]</sup>。高压脉冲电场法(high voltage pulsed electric fields)是近年发展起来的一种新技术,具有连续可操作性和非热无需化学参与的处理方式,利用细胞膜电穿孔原理可瞬间使细胞破壁,造成细胞膜电位混乱,细胞壁和细胞膜受到破坏,改变

其通透性,细胞组分流,成为将生物活性物质从植物细胞中回收的理想途径<sup>[10-14]</sup>。与目前普遍采用的热水提取法相比,具有处理时间短,能耗低,不易引起目的产物变性等优点<sup>[15-16]</sup>。目前,有关高压脉冲电场提取海带多糖方面的研究国内外未见报道。

笔者利用正交实验法将高压电脉冲电场应用于海带多糖的提取,并与传统的热水提取工艺进行对比研究。考察高压脉冲电场强度、脉冲时间、脉冲频率,以及热水提取法中料液比、提取时间、提取温度对海带多糖得率的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

海带粉、葡萄糖,分析纯,天津恒兴化学试剂制

收稿日期:2015-12-05

基金项目:辽宁工业大学教师科研启动基金项目(X201312和X201319)

作者简介:刘航(1985-),女,博士,讲师,主要从事废弃物资源转化、外场作用下的污水处理以及天然产物提取的研究,通讯联系人,liuhang20@126.com。

造有限公司生产;硫酸,分析纯,北京化学试剂厂生产;盐酸,分析纯,北京化学试剂厂生产;苯酚,分析纯,天津红岩化学试剂厂生产;乙醇,分析纯,天津大茂化学试剂厂生产。

## 1.2 实验仪器

高压电脉冲发生装置,自制;722型分光光度计,上海第三分析仪器厂生产。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 高压脉冲电场提取法

称取1g海带粉,加入一定体积的去离子水作为提取溶剂,在烧杯中混合均匀,然后将样品溶液经高压脉冲电场发生装置进行处理,如图1所示。阳极和阴极均为石墨棒,开启高压电脉冲发生器,处理一定时间后,关闭脉冲发生器。处理后提取液经高速离心机以3000 r/min离心10 min后,上清液即为粗多糖的提取液。根据葡萄糖标准曲线和得率公式计算海带多糖得率。

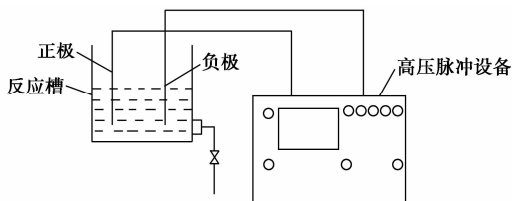


图1 高压脉冲电场发生装置

### 1.3.2 热水提取法<sup>[17-18]</sup>

将1g海带粉加入烧杯中,并加入一定体积的去离子水,在不同时间和温度下加热,使反应完全。经过3000 r/min离心10 min后得到上清液。根据

葡萄糖标准曲线和得率公式计算海带多糖得率。

### 1.3.3 苯酚-硫酸法测定多糖含量<sup>[19]</sup>

配制1 mg/mL葡萄糖对照品:准确称取干燥至恒重的葡萄糖对照品100 mg,置于50 mL烧杯中加水完全溶解后移入100 mL容量瓶内,加水定容至刻度,摇匀,备用。

最大吸收波长的确定:取葡萄糖标准溶液和多糖溶液各2 mL,加入5%苯酚1 mL和浓硫酸6 mL,混合均匀后,置沸水浴中加热15 min。取出充分冷却至室温,以水代替空白对照,在400~600 nm波长范围内扫描,选取最大吸收波长480 nm为测定波长。每一试验点做3次平行试验,取平均值。

葡萄糖标准曲线的制备:准确吸取葡萄糖对照品溶液0.3、0.6、0.9、1.2 mL和1.5 mL置于25 mL具塞刻度试管中,分别加水至体积为2 mL,加入1 mL 5%苯酚和6 mL浓硫酸,混合均匀后,置沸水浴中加热15 min,在最大吸收波长处测定吸光度,以糖浓度(X)为横坐标,吸光度(Y)为纵坐标,制作标准曲线。每一试验点做3次平行试验,取平均值。计算多糖得率:

$$\text{多糖得率} = (\text{提取液中多糖质量} / \text{海带粉质量}) \times 100\%$$

### 1.3.4 海带多糖正交试验

#### (1) 高压脉冲电场提取

以料液比(A)、脉冲时间(B)、脉冲电压(C)、脉冲频率(D)4因素进行正交试验。建立4因素4水平 $L_{16}(4^4)$ 正交试验,每一组试验做3次平行试验,取平均值。按照高压脉冲法提取海带多糖的水平和因素表,结果如表1所示。

(1/2/3):581-583.

[2] Wei C C, Li K. Yttria-stabilized Zirconia (YSZ)-based hollow fiber solid oxide fuel cells[J]. Chem Eng, 2008, 47(5): 1506-1512.

[3] Weber R, Chmiel H, Mavrov V. Characteristics and application of new ceramic nanofiltration membranes[J]. Desalination, 2003, 157(1/2/3): 113-125.

[4] Neomagus H, Saracco G, Wessel H, et al. The catalytic combustion of natural gas in a membrane reactor with separate feed of reactants[J]. Chem Eng, 2000, 77(3): 165-177.

[5] Keuler J N, Lorenzen L. The dehydrogenation of 2-butanol in a Pd-Ag membrane reactor[J]. Membr Sci, 2002, 202(1/2): 17-26.

[6] Zhang Xiaozhen, Lin Bin, Ling Yihan, et al. Highly permeable porous YSZ hollow fiber membrane prepared using ethanol as external coagulant[J]. Journal of Alloys and Compounds, 2010, 494(1/2): 366-371.

[7] 白丽, 谭小耀. 氧化铝中空纤维陶瓷膜的制备与表征[J]. 山东理工大学学报:自然科学版, 2010, 24(6): 19-22.

[8] 韩灵凤. 中空纤维陶瓷膜制备过程与性能表征的研究[D]. 上海: 华东理工大学化工学院, 2012. ■

(上接第74页)

加涂膜次数来提高膜质量的方法是可行的。

## 3 结论

(1)随着PVP质量的增加,膜的抗弯强度逐渐增加,孔隙率与水通量逐渐减小。

(2)随着芯液中NMP质量分数的减小,膜的抗弯强度逐渐增强,水通量和透气率逐渐减小,膜的管壁逐渐变厚。

(3)随着涂膜次数的增加,膜的抗弯强度逐渐增大,透气率逐渐减小,修饰层逐渐变厚,膜外表面的孔径和孔数目逐渐减少,膜外表面变得越来越致密。

## 参考文献

[1] Koonaphapdeert S, Li K. The development of ceramic hollow fiber membranes for a membrane contactor[J]. Desalination, 2006, 200

表1 高压脉冲电场提取海带多糖的水平和因素表

水平	A 料液比/ (g·mL <sup>-1</sup> )	B 脉冲时间/ min	C 脉冲电压/ kV	D 脉冲频率/ Hz
1	1:20	5	5	30
2	1:30	10	10	50
3	1:40	15	15	70
4	1:50	20	20	90

## (2) 热水提取

以料液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)为因素进行正交试验。建立3因素4水平L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验,每1组试验做3次平行试验,取平均值。按照热水提取法提取海带多糖的水平和因素表,结果如表2所示。

表2 热水提取海带多糖的水平和因素表

水平	A 料液比/(g·mL <sup>-1</sup> )	B 提取温度/℃	C 提取时间/min
1	1:20	40	30
2	1:30	50	40
3	1:40	60	50
4	1:50	70	60

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准曲线

葡萄糖标准曲线一元线性回归方程为  $Y = 0.1768x - 0.0537$ ,  $R = 0.999$ ,表明对照品葡萄糖与对应吸光度值有良好的线性关系。

### 2.2 高压脉冲电场提取法正交试验结果

选取料液比(A)、脉冲时间(B)、脉冲电压(C)、脉冲频率(D)4因素进行4因素4水平L<sub>16</sub>(4<sup>4</sup>)正交试验,优化高压脉冲电场提取海带多糖的最优工艺,正交试验结果如表3所示。

表3 高压脉冲电场提取海带多糖正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	海带多糖 得率/%	SD(±)
1	1	1	1	1	13.208	0.029445
2	1	2	2	2	17.624	0.057134
3	1	3	3	3	13.882	0.056128
4	1	4	4	4	13.698	0.043509
5	2	1	2	3	16.617	0.082815
6	2	2	1	4	13.764	0.035162

7	2	3	4	1	13.656	0.068739
8	2	4	3	2	17.523	0.064268
9	3	1	3	4	14.308	0.052421
10	3	2	4	3	13.184	0.036074
11	3	3	1	2	14.896	0.068252
12	3	4	2	1	13.112	0.059408
13	4	1	4	2	15.805	0.058526
14	4	2	3	1	13.050	0.149216
15	4	3	2	4	13.530	0.070868
16	4	4	1	3	15.615	0.059011
K <sub>1</sub>	58.412	59.938	57.483	53.026		
K <sub>2</sub>	61.560	57.622	60.883	65.848		
K <sub>3</sub>	55.500	55.964	58.763	59.298		
K <sub>4</sub>	58.000	59.948	56.343	55.300		
R	6.060	3.984	4.540	12.822		

由表3可以看出,各因素对高压脉冲电场法提取海带糖的影响大小顺序为:D>A>C>B,最优提取工艺为:A<sub>2</sub>B<sub>4</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即料液比为1:30,脉冲时间为20min,脉冲电压为10kV,脉冲频率为50Hz。

### 2.3 热水提取法正交试验结果

选取料液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)3因素进行3因素4水平L<sub>16</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验,优化传统热水法提取海带多糖的最优工艺,正交试验结果如表4所示。

表4 传统热水法提取海带多糖正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	空白	海带多糖 得率/%	SD(±)
1	1	1	1	1	6.36	0.057026
2	1	2	2	2	7.94	0.092774
3	1	3	3	3	7.72	0.067099
4	1	4	4	4	7.64	0.095845
5	2	1	2	3	10.68	0.048003
6	2	2	1	4	10.53	0.072293
7	2	3	4	1	10.35	0.040104
8	2	4	3	2	9.93	0.067545
9	3	1	3	4	11.20	0.156904
10	3	2	4	3	9.64	0.116899
11	3	3	1	2	10.40	0.054903
12	3	4	2	1	9.92	0.090738
13	4	1	4	2	9.70	0.053329
14	4	2	3	1	10.05	0.038031
15	4	3	2	4	12.15	0.044792
16	4	4	1	3	10.40	0.041053

续表

试验号	A	B	C	空白	海带多糖 得率/%	SD(±)
K <sub>1</sub>	29.66	37.94	37.69			
K <sub>2</sub>	41.49	38.16	40.69			
K <sub>3</sub>	41.16	40.62	38.90			
K <sub>4</sub>	42.30	37.89	37.33			
R	12.64	2.73	3.36			

由表4可以看出,各因素对传统热水法提取海带糖的影响大小顺序为:A>C>B,最优提取工艺为:A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即料液比为1:50,提取温度为60℃,提取时间为40 min。

## 2.4 2种提取工艺的比较

2种提取工艺的比较结果如表5所示。

表5 2种提取方法结果比较

提取方法	提取温度/ ℃	提取时间/ min	多糖提取 得率/%
高压脉冲电场提取法	室温	20	17.624
水提法	60	40	12.150

高压脉冲提取技术是在反应器内,利用外加电场注入能量到水中或水面之上的空间,通过产生的非平衡等离子体引发一系列复杂的物理、化学过程。两电极间的高强电场使电子瞬间获得能量成为高能电子,穿透细胞膜、细胞壁,达到有效提取细胞成分的目的。放电过程中由于分子的电离、跃迁会产生一些物理效应,如紫外光、超声、冲击波、局部高温等,进一步加速了细胞膜、细胞壁的破碎。因而使高效率、低能耗的海带多糖提取过程成为可能。由表5中多糖得率可以看出,传统热水提取得率最高为12.15%,高压脉冲电场提取得率最高为17.624%,比传统热水法提高了45%。从提取温度上看,高压脉冲电场提取法不需要加热,节约了能源。从提取时间上看,高压脉冲电场提取法比传统热水提取法缩短了1/2。综合考虑认为,高压脉冲电场提取法是一种简单、快速、高效的提取方法。

## 3 结论

利用正交试验方法分别确定了传统热水提取法和高压脉冲电场提取海带多糖的工艺。其中传统热水法提取的最佳工艺条件为:料液比为1:50,提取温度为60℃,提取时间为40 min。高压脉冲电场提取海带多糖的最佳工艺条件为:料液比为1:30,脉冲时间为20 min,脉冲电压为10 kV,脉冲频率为

50 Hz。高压脉冲电场提取海带多糖的提取时间仅用了传统热水法提法时间的1/2,海带多糖提取率比传统热水法提高了45%,提取过程无需高温,避免了因高温对海带多糖多分子结构的破坏。是海带多糖工业生产较理想的一种提取新工艺。

## 参考文献

- [1] 纪明侯. 海藻化学[M]. 北京:科学出版社,1997:208.
- [2] Torsdotir I, Alpsten M, Holm G. A small dose of soluble alginate-fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes[J]. J Nutr, 1991, 121:795.
- [3] Sherry X Ci, Tanya H Huynh, Leslie W Louie, et al. Molecular mass distribution of sodium alginate by high-liquid size-exclusion chromatography[J]. J Chrom A, 1999, 8(64):199.
- [4] 余华. 海带多糖提取条件的优化和脱蛋白研究[J]. 中国食品添加剂, 2006, (3):39-43.
- [5] 张慧玲. 海带多糖的提取方法综述[J]. 科技创新导报, 2009, (24):8.
- [6] 王海仁, 席振乐. 酶法生产海带多糖[J]. 精细与专用化妆品, 2002, (22):15-19.
- [7] 廖建民, 张瑾, 沈子龙, 等. 超声波法提取海带多糖的研究[J]. 药物生物技术, 2009, 9(3):157-160.
- [8] 王再幸, 赵景辉, 赵伟刚, 等. 高压脉冲电场快速提取黄芪多糖工艺的研究[J]. 特产研究, 2009, 31(2):26-28.
- [9] 蔡光华. 高压脉冲电场提取枸杞多糖工艺[J]. 食品科学, 2012, 33(8):43-48.
- [10] Min S, Jin Z T, Zhang Q H. Commercial scale pulsed electric field processing of tomato juice[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(11):3338-3344.
- [11] Mosqueda-Melgar J, Elez-Martinez P, Martin-Beloso RMRMO. Effects of pulsed electric fields on pathogenic microorganisms of major concern in fluid foods: A review[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2008, 48(8):747-759.
- [12] Ravishankar S, Zhang H, Kempkes M L. Pulsed electric fields[J]. Food Sci Technol Int, 2008, 14(5):429-432.
- [13] Saldaña G, Puértolas E, Condón S, et al. Modeling inactivation kinetics and occurrence of sublethal injury of a pulsed electric field-resistant strain of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium in media of different pH[J]. Innov Food Sci Emerg, 2010, 11(2):290-298.
- [14] Changtian Li, Xinxin Mao, Baojun Xu. Pulsed electric field extraction enhanced anti-coagulant effect of fungal polysaccharide from Jew's Ear (*Auricularia auricula*) [J]. Phytochemical Analysis, 2013, 24(1):36-40.
- [15] 曾新安, 高大维, 于淑娟. 高压电脉冲在食品生化工业中的作用[J]. 食品科学, 1996, (17):3-6.
- [16] 韩玉珠, 殷涌光, 李凤伟. 高压脉冲电场提取中国林蛙多糖的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(9):337-339.
- [17] 浦炳寅, 竺亚斌, 陈东浩. 海带中多糖类化合物的提取和应用[J]. 天然产物研究与开发, 1999, (1):61-64.
- [18] 刘轲, 王琪琳, 吕辉, 等. 海带硫酸多糖的提取、纯化及其理化分析[J]. 中国生化药物杂志, 2002, (3):114-116.
- [19] Dubios M, Gillies K A, Hamilton J K, et al. A colorimetric method for the determination of sugars[J]. Nature, 1951, 168(4265):167. ■