

# 不同方法提取罗勒籽胶的理化性质及其结构特性

刘树萍<sup>1</sup>, 张佳美<sup>1</sup>, 彭秀文<sup>1</sup>, 李沛钊<sup>1</sup>, 邢珂<sup>2</sup>

(1. 哈尔滨商业大学 旅游烹饪学院, 黑龙江 哈尔滨 150028; 2. 哈尔滨商业大学 食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150028)

**摘要:** 采用酶法提取罗勒籽胶, 通过单因素实验及响应面实验确定了最佳工艺, 比较不同提取方法(常规法、微波法、超声法和酶法)对罗勒籽胶的得率、理化性质(凝胶强度、持水力、溶胀性能、颜色)、微观结构、流变特性、活性成分(总黄酮、总酚)及抗氧化性的影响。结果表明, 酶法提取罗勒籽胶的最佳工艺为: 以果胶酶为提取酶制剂、酶添加量 4.1% (以预处理后罗勒籽质量为基准)、酶解时间 30 min、酶解温度 40 °C、pH=5.1。在上述优化条件下, 罗勒籽胶得率为 12.96%; 与其他 3 种方法相比, 酶法提取罗勒籽胶得率最高、持水力最佳; 微观结构表明, 酶法提取的罗勒籽胶具有网络结构; 动态流变温度扫描模式说明, 罗勒籽胶是稳定的水胶体, 其中, 酶法提取的罗勒籽胶最稳定; 酶法提取的罗勒籽胶能够最大程度地保留活性成分, 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除率达到 20.60%±1.44%, 2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐自由基清除率达到 8.70%±0.37%。

**关键词:** 罗勒籽胶; 酶法提取; 工艺优化; 理化性质; 结构特性; 中药现代化技术

**中图分类号:** TS201.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 08-1765-09

## Physicochemical properties and structural characteristics of basil seed gum extracted by different methods

LIU Shuping<sup>1</sup>, ZHANG Jiamei<sup>1</sup>, PENG Xiuwen<sup>1</sup>, LI Peizhao<sup>1</sup>, XING Ke<sup>2</sup>

(1. College of Tourism and Cuisine, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, Heilongjiang China; 2. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, Heilongjiang China)

**Abstract:** Basil seed gum was obtained by enzymatic extraction, with the optimal extraction process determined by single factor experiments and response surface experiments. The influences of extraction methods including conventional method, microwave method, ultrasonic method and enzymatic method on the yield, physio-chemical properties (gel strength, water retention, swelling property, color), microstructure, rheological properties, active components and antioxidant properties (total flavonoids, total phenols) of basil seed gum were further investigated. The results showed that the basil seed gum, enzymatically extracted under the optimal process of pectinase used as extraction enzyme with amount of 4.1% (based on the mass of basil seed after pretreatment), enzymolysis time 30 min, enzymolysis temperature 40 °C, pH=5.1, exhibited a yield of 12.96%. Compared with those from the other three methods, basil seed gum from enzymatic extraction displayed the highest yield and the best water retention. Meanwhile, the microstructure indicated that the basil seed gum extracted by enzymatic method had a network structure. The dynamic rheological temperature scanning model showed that basil seed gum was quite stable hydrocolloid, and the basil seed gum extracted by enzymatic method was the most stable. The basil seed gum extracted by enzymatic method could retain the active ingredients to the greatest extent, and the scavenging rate of 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl (DPPH) free radical reached 20.60%±1.44%, while that of diammonium 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) reached 8.70%±0.37%.

**Key words:** basil seed gum; enzyme extraction; process optimization; physicochemical properties; structural characteristics; modern technology of Chinese medicine

收稿日期: 2023-07-19; 定用日期: 2023-10-09; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230592

基金项目: 国家级职业教育教师教学创新团队课题项目 (ZH2021080101); 黑龙江省自然科学基金项目 (LH2021B015); 2021 年哈尔滨商业大学教师“创新”项目支持计划 (LH2021B015)

作者简介: 刘树萍 (1982—), 女, 博士, 教授, E-mail: liusp201@163.com。

罗勒是唇形科草本植物, 具有独特的香气和风味, 罗勒叶可以用于烹饪, 为食物增添风味<sup>[1-2]</sup>。罗勒籽胶是罗勒重要的副产物之一, 当罗勒籽浸泡在水中时, 会很快吸水膨胀成团状的凝胶<sup>[3-4]</sup>。从农产品中提取的天然植物凝胶常具有胶凝性、抗氧化等特性, 且无毒、无刺激性, 可用作食品添加剂来改善食品品质, 或用作可降解的食品包装材料, 因此开展罗勒籽胶的研究具有重要意义<sup>[5-7]</sup>。

目前, 提取罗勒籽胶的主要方法局限于常规方法提取, 如热水浸提法<sup>[8]</sup>, 提取过程时间长、效率低, 并且杂质较多, 凝胶颜色浑浊。KEISANDOKHT 等<sup>[9]</sup>采取微波辅助提取法, 发现该法不仅能缩短提取时间, 提高平均得率, 还能防止凝胶因长时间加热导致的官能团降解。相较于常规方法提取的罗勒籽胶, 超声方法提取的罗勒籽胶则更加清澈<sup>[10]</sup>, 缺点是能耗较高。姚玥等<sup>[11]</sup>通过酶法辅助提取亚麻籽胶, 此法条件温和并且效率更高, 然而采用酶法提取罗勒籽胶的研究鲜有报道。

本研究拟通过单因素实验和响应面实验探讨酶法提取罗勒籽胶的最佳工艺条件, 然后分别通过常规法、微波辅助、超声辅助及酶法 4 种不同的提取方法对罗勒籽胶进行提取, 考察不同提取方法对罗勒籽胶得率及理化性质的影响, 测定罗勒籽胶的色差、质构、持水力、溶胀性能、流变特性、微观结构以评价罗勒籽胶的基本性质, 通过测定总酚及黄酮含量来评价罗勒籽胶的活性成分, 利用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 及 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (ABTS<sup>+</sup>) 自由基清除实验测定罗勒籽胶的抗氧化性, 以期为天然植物来源的罗勒籽胶的进一步利用提供一定理论参考。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

罗勒籽, 安徽省上枝商贸有限公司; 果胶酶 (500 U/mg)、纤维素酶 (50 U/mg)、木聚糖酶 (6000 U/mg)、木瓜蛋白酶 (800 U/mg)、DPPH (质量分数 98%)、ABTS<sup>+</sup> (质量分数 98%), 上海源叶生物科技有限公司; 氢氧化钠、盐酸、亚硝酸钠、氯化铝、碳酸钠、无水乙醇、硫酸钾, 分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司; 没食子酸、芦丁, 分析纯, 天津市风天力化学试剂科技有限公司。

TA-XTPlus 质构仪, 英国 SMS 公司; CM-700D 色差仪, 柯尼卡美能达办公系统 (中国) 有限公司; PHS-3C pH 计, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; UV-8000 紫外-可见分光光度计, 上海元析仪器有限公司; KQ3200B 超声波清洗器, 昆山市超声仪

器有限公司; MM1722NG1-PW 微波炉, 广东美的厨房电器制造有限公司; S-4800 扫描电子显微镜 (SEM), 日本 Hitachi 公司; MCR102 流变仪, 奥地利 Anton Paar 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 罗勒籽预处理

将适量的罗勒籽用 3 倍体积无水乙醇清洗 3 次去除灰尘杂质等, 平铺于托盘中, 挑除坏籽, 放入精密鼓风干燥箱中, 于 40 °C 下烘 2 h 直至种子为干爽状态, 置于密封袋中, 室温下保存待用。

#### 1.2.2 4 种不同方法提取罗勒籽胶

常规法: 将 2 g 预处理后罗勒籽加入到 60 mL 去离子水中, 在水温为 (68±1) °C、pH=7 的条件下, 缓慢混合 40 min, 此过程持续磁力搅拌, 然后在 8000×g 的相对离心力下离心 20 min, 通过 60 目金属筛, 取筛下物, 将罗勒籽胶从种子中分离, 获得粗胶<sup>[12]</sup>。

微波法: 将 2 g 预处理后罗勒籽加入到 60 mL 去离子水中, 在水温为 (68±1) °C、pH=7.0 的条件下, 对其进行微波处理 (时间 16 min、温度为 80 °C、功率 700 W)。后续离心、分离操作同常规法。

超声法: 将 2 g 预处理后罗勒籽加入到 60 mL 去离子水中, 在水温为 (68±1) °C、pH=7.0 的条件下, 缓慢混合 40 min, 此过程持续磁力搅拌; 对制备的膨胀种子进行超声处理, 条件为温度 60 °C、功率 150 W、时间 15 min。后续离心、分离操作同常规法。

酶法: 取 2 g 预处理罗勒籽加入到 60 mL 去离子水中, 在水温为 40 °C、调节 pH=5.0 的条件下, 加入 0.08 g (预处理后罗勒籽质量的 4%) 果胶酶并酶解 30 min, 然后 100 °C 高温使酶失活。后续离心、分离操作同常规法。

纯化: 分别将 4 种不同方法分离出的粗胶加入 3 倍体积的无水乙醇, 在 4 °C 下沉淀 48 h, 此时凝胶呈块状, 取出并重新溶于蒸馏水, 最后于 40 °C 下干燥 16 h, 获得罗勒籽干胶, 备用。

### 1.3 酶法提取罗勒籽胶的工艺优化

#### 1.3.1 筛选不同酶

选取 4 种不同酶 (果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶、木瓜蛋白酶) 提取罗勒籽胶, 以常规法提取的罗勒籽胶为对照组, 测定罗勒籽胶得率, 筛选出最适酶进行后续实验。

#### 1.3.2 单因素实验设计

考察酶添加量、pH、酶解温度、酶解时间对罗勒籽胶得率的影响, 改变酶添加量 (2%、3%、4%、5%、6%, 以预处理后罗勒籽质量为基准, 下同)、pH (3、4、5、6、7)、酶解温度 (20、30、40、50、60 °C) 和酶解时间 (10、20、30、40、50 min) 中

的单一因素时, 其他因素以酶添加量 4%、pH=5、酶解温度 40 °C 和酶解时间 30 min 为准。

### 1.3.3 响应面实验设计

在单因素基础上, 选取酶添加量 ( $A$ )、酶解温度 ( $B$ )、pH ( $C$ ) 为考察因素, 以得率为响应值设计响应面实验。响应面实验因素与水平见表 1。

表 1 响应面实验因素与水平

因素	编码	水平		
		-1	0	1
酶添加量/%	$A$	3	4	5
酶解温度/°C	$B$	30	40	50
pH	$C$	4	5	6

## 1.4 罗勒籽胶的理化性质、结构表征与性能测试

### 1.4.1 得率

根据式 (1) 计算罗勒籽胶得率 (%) :

$$\text{得率}/\% = m_2/m_1 \times 100 \quad (1)$$

式中:  $m_1$  为预处理后罗勒籽质量, g;  $m_2$  为罗勒籽干胶质量, g。

### 1.4.2 凝胶强度

称取 0.3 g 罗勒籽干胶, 分散于 10 mL 去离子水中, 将混合液磁力搅拌 4 h 使干胶充分溶解, 置于阴凉处 12 h 以完成水合作用。采用质构仪测定凝胶强度, 使用直径为 6 mm 的圆柱形探头, 速率为 100 mm/min, 深度为 15 mm。实验在室温 (20 °C) 下进行。

### 1.4.3 持水力

使用离心法测定罗勒籽胶的持水力。取罗勒籽胶于离心管中并准确称重, 室温下 3000×g 离心 10 min, 用滤纸吸去水分, 再称其质量。根据式 (2) 计算罗勒籽胶持水力 (%) :

$$\text{罗勒籽胶持水力}/\% = (m_4 - m_0)/(m_3 - m_0) \times 100 \quad (2)$$

式中:  $m_3$  为离心前罗勒籽胶与离心管总质量, g;  $m_4$  为离心并用滤纸吸去水分后罗勒籽胶与离心管总质量, g;  $m_0$  为离心管质量, g。

### 1.4.4 溶胀率

室温下, 称取罗勒籽干胶浸渍到去离子水中, 1 h 后取出, 用滤纸吸干表面残余水分后称重。罗勒籽胶溶胀率 (%) 根据式 (3) 计算:

$$\text{罗勒籽胶溶胀率}/\% = (m_6 - m_5)/m_5 \times 100 \quad (3)$$

式中:  $m_5$  为罗勒籽干胶质量, g;  $m_6$  为罗勒籽干胶吸水溶胀平衡后质量, g。

### 1.4.5 微观形貌

将罗勒籽干胶样品放置于导电胶样品处理片中, 对样品表面进行喷金处理, 使用 SEM 观察干胶表面形貌, 测试时设定加速电压为 3 kV。

### 1.4.6 罗勒籽胶色差

称取 0.02 g 罗勒籽干胶, 分散于 10 mL 去离子水中, 将混合液磁力搅拌 4 h 使干胶充分溶解, 置于阴凉处 12 h 以完成水合作用, 使用色差仪测量 3 次, 记录颜色的色度值  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 。

### 1.4.7 流变特性

采用流变仪对质量分数为 2% 罗勒籽胶水溶液进行剪切扫描、温度扫描测定。将样品搅拌均匀, 放置于流变仪的底板, 修整样品并在边缘涂抹硅油。采用温度扫描法测定罗勒籽胶的流变特性, 首先以增加模式 (20~80 °C), 在 80 °C 下调节 5 min, 然后采用频率为 1 Hz 的降低模式 (80~20 °C)。比较了不同方法提取的罗勒籽胶复合黏度, 得到储能模量随温度的变化曲线。

### 1.4.8 活性成分 (总酚、总黄酮) 含量测定

罗勒籽干胶总酚含量根据福林酚法测定<sup>[13]</sup>, 结果以单位质量罗勒籽干胶中没食子酸 (GA) 质量的平均值 [mg(GA)/g] 表示。采用吸光度 ( $y$ )-GA 质量浓度 ( $x$ ) 标准曲线方程 [ $y=13.077x+0.0551$  ( $R^2=0.9903$ )] 计算没食子酸的质量, 罗勒籽干胶总酚含量按式 (4) 计算:

$$W = \rho \times V \times N / m \times 1000 \quad (4)$$

式中:  $W$  为罗勒籽干胶总酚含量, mg(GA)/g;  $\rho$  为罗勒籽干胶中含有的对应没食子酸质量浓度, g/L;  $V$  为罗勒籽干胶溶液的体积, mL;  $m$  为取样罗勒籽干胶质量, mg;  $N$  为罗勒籽干胶溶液稀释的倍数。

罗勒籽干胶总黄酮含量通过  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$  法测定<sup>[14]</sup>, 结果以单位质量罗勒籽干胶中芦丁 (rutin) 质量的平均值 [mg(rutin)/g] 表示。采用吸光度 ( $y$ )-芦丁质量浓度 ( $x$ ) 标准曲线方程 [ $y=0.1411x+0.0007$  ( $R^2=0.9913$ )] 计算芦丁的质量, 罗勒籽干胶中芦丁质量按式 (5) 计算:

$$L = \rho \times V \times N / m \times 1000 \quad (5)$$

式中:  $L$  为罗勒籽干胶总黄酮含量, mg(rutin)/g;  $\rho$  为罗勒籽干胶中含有的对应芦丁质量浓度, g/L;  $V$  为罗勒籽干胶溶液的体积, mL;  $m$  为取样罗勒籽干胶质量, mg;  $N$  为罗勒籽干胶溶液稀释的倍数。

### 1.4.9 抗氧化性测定

DPPH 自由基清除率 (%) 测定参考刘树萍等<sup>[15]</sup>的方法, 按式 (6) 计算:

$$Q/\% = [1 - (A_1 - A_0)/A] \times 100 \quad (6)$$

式中:  $Q$  为 DPPH 自由基清除率, %;  $A_0$  为 1 mL 样品溶液+3 mL 无水乙醇在 517 nm 的吸光度;  $A$  为 1 mL 蒸馏水+3 mL DPPH-乙醇溶液在 517 nm 的吸光度;  $A_1$  为 1 mL 样品溶液+3 mL DPPH-乙醇溶液在 517 nm 的吸光度。

ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率 (%) 测定参考

AZARASHKAN 等<sup>[16]</sup>的方法,按式(7)计算:

$$P/\%=[1-(B_1-B_0)/B]\times 100 \quad (7)$$

式中:  $P$  为  $ABTS^+$  自由基清除率, %;  $B_0$  为 0.1 mL 样品+3.9 mL 无水乙醇在 734 nm 的吸光度;  $B$  为 0.1 mL 无水乙醇+3.9 mL 稀释后的  $ABTS^+$  工作液在 734 nm 的吸光度;  $B_1$  为 0.1 mL 样品+3.9 mL 稀释后的  $ABTS^+$  工作液在 734 nm 的吸光度。

### 1.5 数据分析

所有实验组均重复 3 次取平均值,结果以平均值±标准差表示。采用 SPSS 23.0 软件进行方差分析显著性检验,  $P<0.05$  表示具有显著性差异。采用 Design-Expert 13.0 进行 Box- Behnken 实验设计,并用 Origin 8.0 绘图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 酶法提取罗勒籽胶的工艺优化

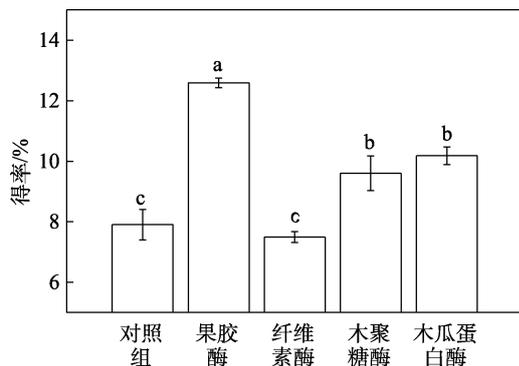
#### 2.1.1 最佳酶制剂的筛选

选用果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶和木瓜蛋白酶提取罗勒籽胶,料液比 1 : 30 (g : mL),在各自最适 pH 及温度条件下酶解 30 min(4 种酶的最适条件见表 2)<sup>[17]</sup>。以罗勒籽胶得率为指标,筛选出最佳酶制剂,不同酶制剂对罗勒籽胶得率的影响见图 1。

表 2 不同酶制剂的最适反应条件

Table 2 The optimum reaction conditions of different enzyme preparations

反应条件	酶制剂			
	果胶酶	纤维素酶	木聚糖酶	木瓜蛋白酶
酶添加量/%	4	4	4	4
pH	3.5	4.5	5.0	6.0
酶解温度/°C	40	55	50	60
酶解时间/min	30	30	30	30



不同字母之间表示有显著性差异,  $P<0.05$ , 下同

图 1 不同酶提取罗勒籽胶的得率

Fig. 1 Yield of basil seed gum extracted by different enzymes

由图 1 可知,罗勒籽胶得率从高到低依次为果胶酶 (12.85%) > 木瓜蛋白酶 (10.18%) > 木聚糖酶 (9.60%) > 对照组 (7.90%) > 纤维素酶 (7.49%)。罗勒籽胶主要由葡甘聚糖和木聚糖组成<sup>[12]</sup>,酸性多糖分子体积小,类似于果胶物质<sup>[18]</sup>,果胶酶处理可

能促进了罗勒籽胶的膨胀与释放<sup>[19]</sup>,使其得率增加。因此,选择果胶酶作为最佳的提取酶制剂。

#### 2.1.2 单因素实验结果与分析

以罗勒籽胶得率为指标,通过单因素实验分别优化酶添加量、pH、酶解温度、酶解时间,结果如图 2 所示。

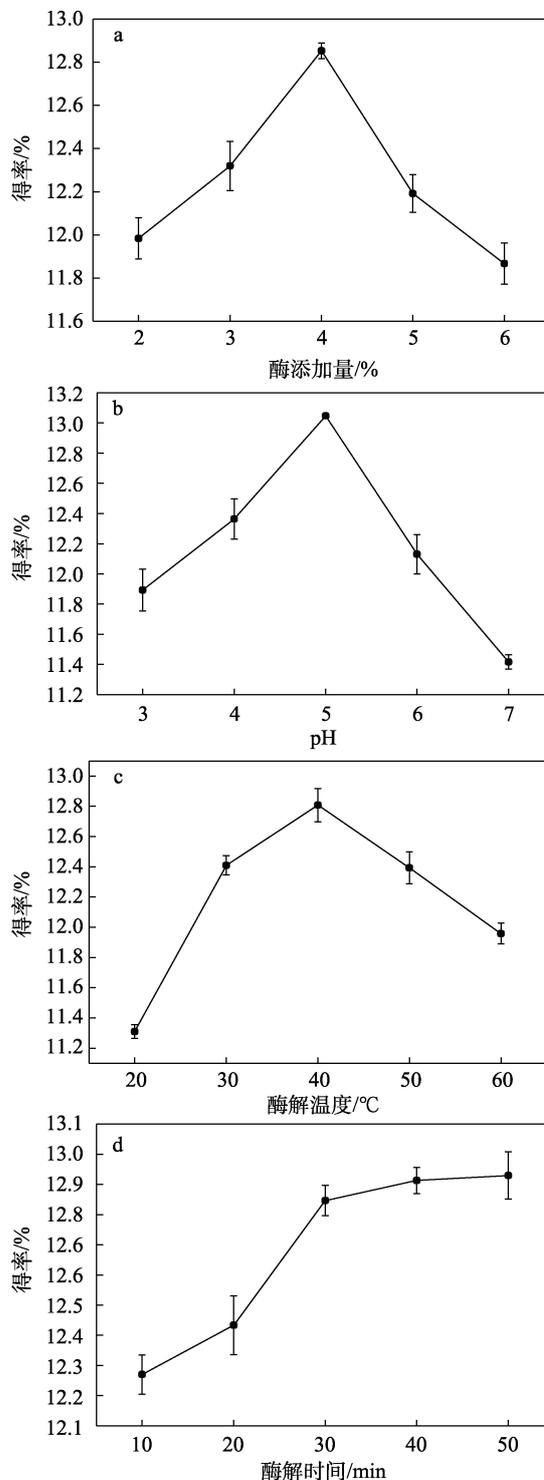


图 2 酶添加量 (a)、pH (b)、酶解温度 (c) 及酶解时间 (d) 对罗勒籽胶得率的影响

Fig. 2 Effects of enzyme dosage (a), pH (b), enzymatic hydrolysis temperature (c) and enzymatic hydrolysis time (d) on yield of basil seed gum

由图 2a~c 可知, 随着酶添加量、pH 及酶解温度的增加, 得率均呈先上升后下降的趋势。由图 2d 可知, 随着酶解时间的延长, 得率会持续变高, 当酶解时间>30 min 时, 趋势减缓。因此, 为了提高效率, 综合来看, 确定最适的酶添加量为 4%、pH 为 5、酶解温度 40 °C、酶解时间 30 min。

2.1.3 响应面法优化酶法提取工艺

实验设计及结果见表 3, 对表 3 中的数据进行拟合, 得到多元回归拟合方程为  $Y = -28.29375+9.25850A+0.055475B+8.368750C+0.04375AB-0.58250AC+0.02150BC-0.98950A^2-0.00417B^2-0.67700C^2$  ( $R^2=0.9767$ )。

表 3 提取罗勒籽胶的响应面实验设计与结果

Table 3 Experimental design and results of response surface for extracting basil seed gum

序号	酶添加量 (A) /%	酶解温度 (B) /°C	pH (C)	得率/%
1	1	0	1	10.98
2	0	0	0	12.81
3	0	1	1	12.35
4	-1	0	1	11.89
5	1	-1	0	11.35
6	0	-1	-1	11.94
7	-1	1	0	11.01
8	0	0	0	12.88
9	0	-1	1	11.87
10	-1	0	-1	10.57
11	-1	-1	0	11.76
12	1	0	-1	11.99
13	1	1	0	12.35
14	0	1	-1	11.56
15	0	0	0	13.15
16	0	0	0	12.93
17	0	0	0	13.35

方差分析结果如表 4 所示。

表 4 方差分析结果

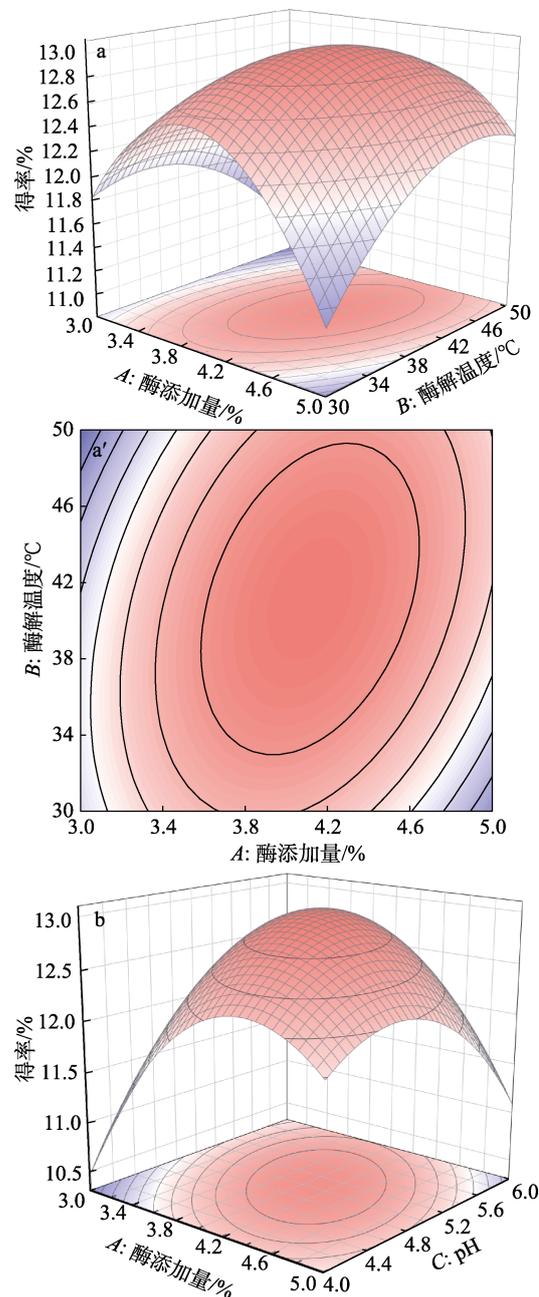
Table 4 Results of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方值	F 值	P 值	显著性
模型	10.18	9	1.13	32.54	<0.0001	**
A	0.26	1	0.26	7.45	0.0293	*
B	0.02	1	0.02	0.44	0.5282	○
C	0.13	1	0.13	3.81	0.0918	○
AB	0.77	1	0.77	22.02	0.0022	**
AC	1.36	1	1.36	39.03	0.0004	**
BC	0.18	1	0.18	5.32	0.0545	○
A <sup>2</sup>	4.12	1	4.12	118.56	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	0.73	1	0.73	21.06	0.0025	**
C <sup>2</sup>	1.93	1	1.93	55.50	0.0001	**
残差	0.24	7	0.03			
失拟项	0.05	3	0.02	0.31	0.82	
纯误差	0.20	4	0.05			
总和	10.42	16				

注: “\*\*” 代表差异极显著 ( $P<0.01$ ); “\*” 代表差异显著 ( $P<0.05$ ); “○” 代表差异不显著 ( $P>0.05$ )。

由表 4 可知, 回归模型极显著 ( $P<0.0001$ ), 失拟项不显著 ( $P>0.05$ ), 即各因素对罗勒籽胶得率的影响显著程度较高, 回归方程拟合良好。回归模型一次项 A 为模型显著因素, AB、AC、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup> 为模型极显著因素, 其余各项对罗勒籽胶得率影响均不显著。各因素对罗勒籽胶得率影响由大到小依次为  $A>C>B$ , 即酶添加量>pH>酶解温度。

图 3 为酶添加量、酶解温度、pH 交互作用对罗勒籽胶得率的影响。从响应曲面图可以反映不同因素之间相互作用的强弱。从图 3 可以确定, 最佳酶添加量为 4.1%、酶解温度 40 °C、pH=5.1, 得率的理论预测值为 13.04%。采用上述优化酶解条件测得实际罗勒籽胶得率为 12.96%。实验值与理论预测值接近, 验证了此模型的有效性。



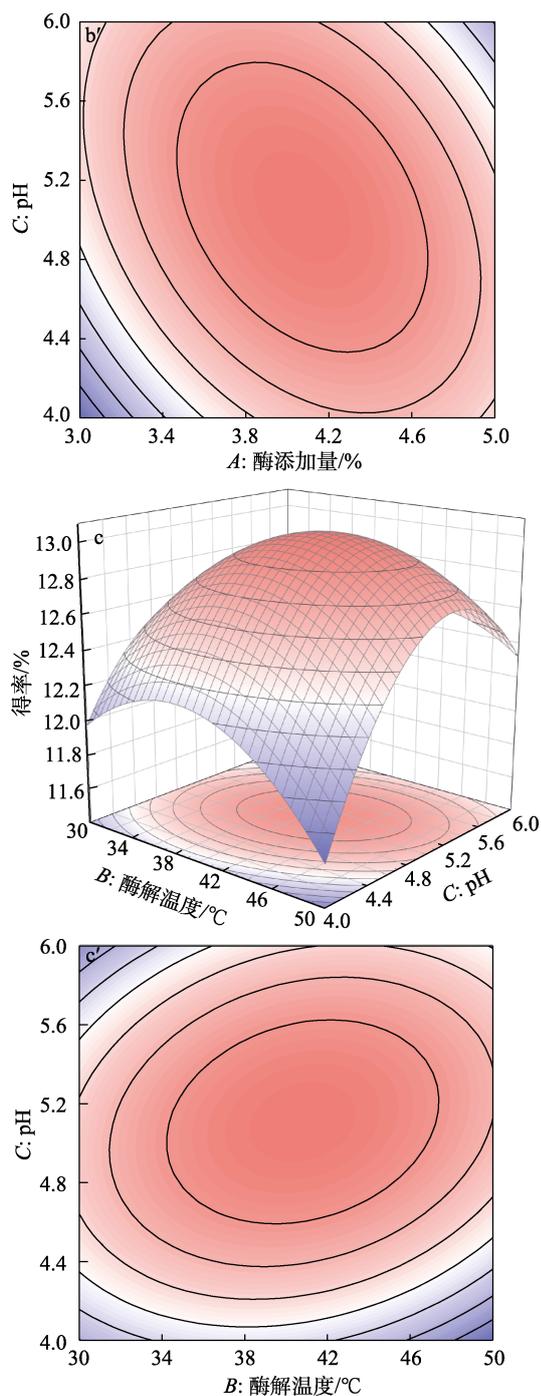


图 3 酶添加量与酶解温度 (a、a')、酶添加量与 pH (b、b')、酶解温度与 pH (c、c') 对罗勒籽胶得率的响应曲面及等高线

Fig. 3 Response surfaces and contours of enzyme addition amount and enzymatic hydrolysis temperature (a, a'), enzyme addition amount and pH (b, b'), enzymatic hydrolysis temperature and pH (c, c') to yield of basil seed gum

### 2.2 不同提取方法对罗勒籽胶得率和理化性质的影响

表 5 为 4 种不同提取方法对罗勒籽胶的得率、凝胶强度、水溶性及溶胀性能的影响结果。

从表 5 可以看出, 不同提取方法对得率的影响显著 ( $P < 0.05$ ), 与常规法相比, 微波法提取、超声

法提取及酶法提取均能显著提高凝胶得率, 其中, 酶法提取的得率最高, 为 13.05%, 比常规法提高 5.22%。微波法是利用“内加热”的方式<sup>[20]</sup>, 促进了凝胶的膨胀, 更有利于种子与罗勒籽胶的分离, 因此得率较高; 超声法是通过超声波的机械作用促进多糖的溶解<sup>[21]</sup>; 酶法提取是利用酶破坏细胞壁结构<sup>[22]</sup>, 从而有利于罗勒籽胶的提取。

表 5 不同提取方法对罗勒籽胶得率、凝胶强度、水溶性及溶胀性能的影响

Table 5 Effects of different extraction methods on yield, gel strength, water solubility and swelling property

指标	提取方法			
	常规法	微波法	超声法	酶法
得率/%	7.83±0.10 <sup>d</sup>	12.10±0.08 <sup>b</sup>	11.56±0.11 <sup>c</sup>	13.05±0.07 <sup>a</sup>
凝胶强度/N	52.65±3.13 <sup>c</sup>	81.94±4.78 <sup>b</sup>	95.24±7.18 <sup>b</sup>	160.03±13.95 <sup>a</sup>
持水力/%	71.95±1.60 <sup>d</sup>	78.36±1.08 <sup>c</sup>	82.74±0.38 <sup>b</sup>	90.36±1.05 <sup>a</sup>
溶胀率/%	3164.33±1.41 <sup>c</sup>	2647.33±2.2 <sup>d</sup>	5787.33±1.47 <sup>b</sup>	7592.67±1.61 <sup>a</sup>

从表 5 还可以看出, 不同提取方法对凝胶强度的影响显著 ( $P < 0.05$ ), 其中酶法提取对凝胶强度影响最大, 超声提取次之。可能是因为超声法提取不会破坏罗勒籽胶的内部结构, 在超声处理的过程中, 罗勒籽胶中的多糖可能发生聚集<sup>[23]</sup>, 从而使凝胶强度相对较高。酶法提取的凝胶强度最高, 可能是因为改善了凝胶系统中多糖与蛋白质以及蛋白质间的相互作用, 从而形成了更稳固的三维网络结构<sup>[24]</sup>。

从表 5 可以看出, 酶法提取的罗勒籽胶持水力最好, 持水力的增强可能是由于酶法提取的过程中改善了罗勒籽胶中分子间的作用力, 形成了更稳定的凝胶网络结构<sup>[25]</sup>, 使其保持水分的能力增强。超声法提取的罗勒籽胶持水力也较好。整体来看, 相较于常规法提取的罗勒籽胶, 持水力都有显著提升 ( $P < 0.05$ )。

溶胀是聚合物在溶剂中体积膨胀的现象, 是衡量凝胶吸水性的指标<sup>[26]</sup>。从表 5 还可见, 酶法提取的罗勒籽胶溶胀率最高, 可能是酶法提取的罗勒籽胶由于具有更规则的三维网状结构, 有助于罗勒籽胶吸收更多的水分子, 从而提高了溶胀率<sup>[27-28]</sup>。

### 2.3 不同提取方法对罗勒籽胶微观结构的影响

图 4 为 4 种不同提取方法提取的罗勒籽胶的 SEM 图。

从图 4 可以看出, 常规法提取的罗勒籽胶表面聚集着不规则球状颗粒 (图 4a、b), 微波法提取的罗勒籽胶表面不规则球状结构减少 (图 4c、d), 超声法提取的罗勒籽胶球状结构基本消失, 表面相对平整但发生了断裂 (图 4e、f), 而酶法提取的样品表面既保留了球状结构, 且平整并没有断裂 (图 4g、

h), 这可能也是超声法提取的凝胶强度低于酶法提取的凝胶的原因<sup>[29]</sup>。从酶法提取的罗勒籽胶 SEM 图还可以看出, 凝胶具有三维网状结构, 比其他方法提取的凝胶结构都更加致密且均匀, 孔径更小, 孔隙边缘更平整。结构断裂越少则持水力越好, 同时致密的网络结构也可提高罗勒籽胶的强度<sup>[30]</sup>, 这与持水力和凝胶强度的测试结果均一致。除酶法外, 其他方法提取的罗勒籽胶可能是由于提取的不均匀导致孔隙大小的不均一。

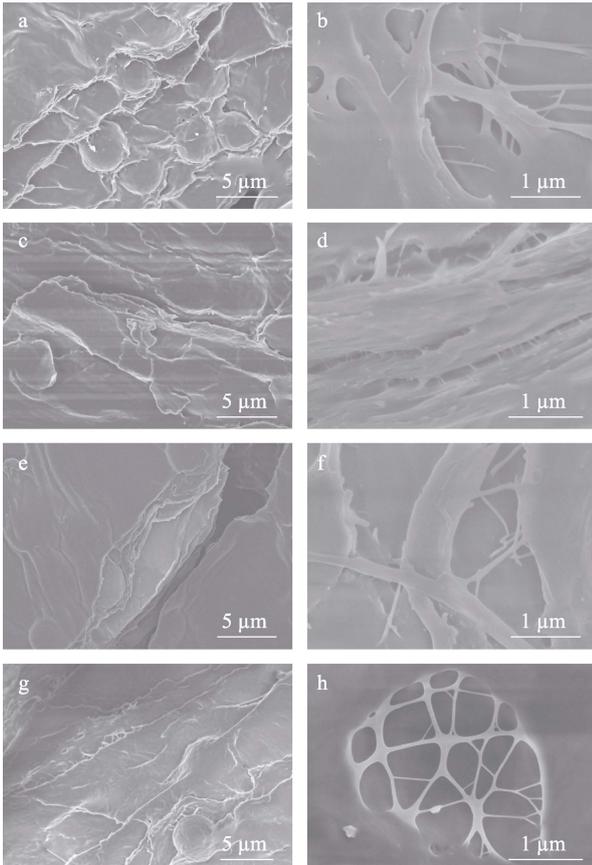


图 4 常规法 (a、b)、微波法 (c、d)、超声法 (e、f)、酶法 (g、h) 提取的罗勒籽胶在不同放大倍数下的 SEM 图

Fig. 4 SEM images of basil seed gum extracted by traditional methods (a, b), microwave method (c, d), ultrasonic method (e, f) and enzymatic method (g, h) at different magnifications

#### 2.4 不同提取方法对罗勒籽胶颜色的影响

表 6 为 4 种不同提取方法提取罗勒籽胶的颜色结果。

从表 6 可以看出, 不同方法提取的罗勒籽胶颜色有差异, 微波法提取的罗勒籽胶  $L^*$  最低,  $b^*$  最高, 表明微波法提取的罗勒籽胶颜色偏暗黄, 这可能是由于微波加热的高温会导致色素的沉积<sup>[31]</sup>; 酶法提取的罗勒籽胶  $L^*$  最高,  $a^*$  及  $b^*$  最低, 表明酶法提取的罗勒籽胶颜色最白, 可能是因为酶法提取的作用条件温和, 不需要高温加热和搅拌。

表 6 不同提取方法对罗勒籽胶颜色的影响

Table 6 Effects of different extraction methods on color

	提取方法			
	常规法	微波法	超声法	酶法
$L^*$	22.37±1.05 <sup>b</sup>	15.54±1.16 <sup>c</sup>	21.48±1.05 <sup>b</sup>	29.83±2.05 <sup>a</sup>
$a^*$	0.24±0.02 <sup>b</sup>	0.49±0.02 <sup>a</sup>	0.28±0.01 <sup>b</sup>	0.14±0.04 <sup>c</sup>
$b^*$	4.15±0.12 <sup>c</sup>	5.95±0.08 <sup>a</sup>	5.42±0.28 <sup>b</sup>	2.98±0.11 <sup>d</sup>

#### 2.5 不同提取方法对罗勒籽胶流变特性的影响

图 5 为不同提取方法提取的罗勒籽胶表观黏度随剪切速率的变化曲线。

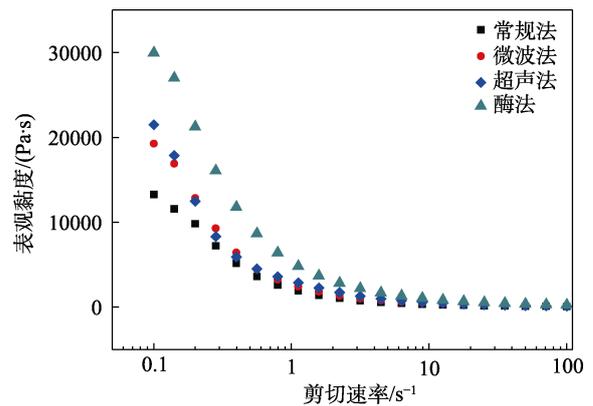


图 5 不同提取方法提取的罗勒籽胶表观黏度随剪切速率的变化

Fig. 5 Changes of apparent viscosity of basil seed gum extracted by different methods with shear rate

从图 5 可以看出, 微波法、超声法及酶法提取的罗勒籽胶表观黏度高于常规法提取的表观黏度, 其中酶法提取的罗勒籽胶表观黏度最高。不同方法提取的罗勒籽胶都表现出相似的剪切变薄行为。随着剪切速率从 0.1 s<sup>-1</sup> 增加到 100 s<sup>-1</sup>, 提取的罗勒籽胶表观黏度呈下降趋势, 这与 RAZI 等<sup>[32]</sup>的实验结果类似。

图 6 为对提取的罗勒籽胶进行温度扫描测试结果。

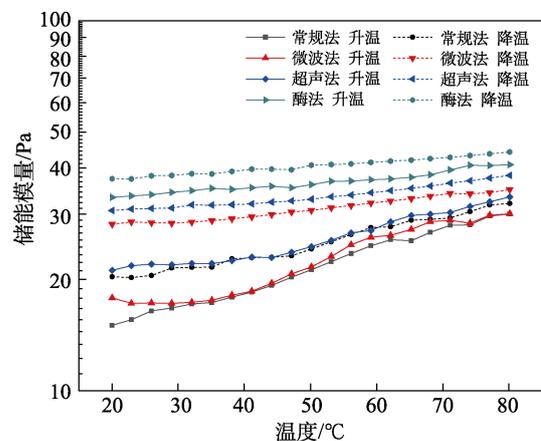


图 6 不同方法提取的罗勒籽胶储能模量随温度的变化  
Fig. 6 Changes of energy storage modulus of basil seed gum extracted by different methods with temperature

从图 6 可以看出, 在温度扫描测试的加热和冷却阶段, 温度升高时, 储能模量略有增加, 温度降低时, 储能模量略有下降。其中, 酶法提取的罗勒籽胶增加趋势最为平缓, 说明在加热/冷却的操作过程中, 酶法提取的罗勒籽胶是一种相当稳定的水胶

体<sup>[9]</sup>, 可以应用于食品工业。

## 2.6 不同提取方法对罗勒籽胶活性成分和抗氧化性能的影响

表 7 为不同方法提取的罗勒籽胶中总黄酮和总酚以及对 DPPH、ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率的测定结果。

表 7 不同提取方法对活性成分及抗氧化性的影响

Table 7 Effects of different extraction methods on active ingredients and antioxidant activity

	提取方法			
	常规法	微波法	超声法	酶法
总黄酮含量/[mg(rutin)/g]	0.95±0.06 <sup>d</sup>	1.70±0.16 <sup>c</sup>	2.21±0.06 <sup>b</sup>	3.47±0.06 <sup>a</sup>
总酚含量/[mg(GA)/g]	0.003±0 <sup>d</sup>	0.008±0 <sup>c</sup>	0.011±0 <sup>b</sup>	0.033±0 <sup>a</sup>
DPPH 自由基清除率/%	8.52±1.08 <sup>d</sup>	13.17±0.47 <sup>c</sup>	15.43±0.43 <sup>b</sup>	20.60±1.44 <sup>a</sup>
ABTS <sup>+</sup> 自由基清除率/%	3.87±0.31 <sup>c</sup>	6.03±0.05 <sup>b</sup>	6.34±0.32 <sup>b</sup>	8.70±0.37 <sup>a</sup>

从表 7 可以看出, 常规法提取的罗勒籽胶活性成分最少, 酶法提取的罗勒籽胶能较大幅度地保留活性成分<sup>[33]</sup>, 总黄酮含量为(3.47±0.06) mg(rutin)/g, 总酚含量为 0.033 mg(GA)/g。从表 7 还可以看出, 酶法提取的罗勒籽胶对 DPPH 自由基和 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除率最大, 分别为 20.60%±1.44% 和 8.70%±0.37%, 超声法和微波法提取的罗勒籽胶 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率差异不显著。DPPH 自由基是一种稳定的质子自由基, 广泛用于各类天然产物自由基清除能力的测定<sup>[13]</sup>, DPPH 自由基的清除率越高, 说明罗勒籽胶的抗氧化性能越强。在表 7 中, 罗勒籽胶的抗氧化性能由高到低依次为酶法>超声法>微波法>常规法, 酶法提取的罗勒籽胶抗氧化能力最强, 是常规法提取的罗勒籽胶抗氧化能力的 2~3 倍。

## 3 结论

(1) 通过单因素及响应面实验优化了酶法提取罗勒籽胶的最佳工艺为: 以果胶酶为提取酶制剂、酶解时间 30 min、酶添加量 4.1%、酶解温度 40 °C、pH=5.1。在上述优化条件下, 罗勒籽胶得率为 12.96%, 与预测值接近, 说明实验结果可靠。

(2) 常规法、微波法、超声法和酶法提取的罗勒籽胶得率、理化性质、微观结构、抗氧化性等均表现不同, 其中酶法提取的得率最高, 可达 13.05%, 比常规法提高 5.22%。

(3) 酶法提取的罗勒籽胶微观结构表现出网络结构, 流变特性的温度扫描结果表现出比其他方法提取的罗勒籽胶更稳定的特性; 另外, 活性成分也能较大幅度地保留, DPPH 自由基清除率达到 20.60%±1.44%, ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率达到 8.70%±0.37%。

(4) 不同方法提取的罗勒籽胶的其他性质还有待进一步探索, 本文中酶法提取的罗勒籽胶性质最

佳, 可为开发天然凝胶及其在食品或医药领域的应用提供新的思路。

## 参考文献:

- [1] PADALIA R C, VERMA R S, UPADHYAY R K, *et al.* Productivity and essential oil quality assessment of promising accessions of *Ocimum basilicum* L. from north India[J]. *Industrial Crops and Products*, 2017, 97: 79-86.
- [2] RAYEGAN A, ALLAFCHIAN A, SARSARI I A, *et al.* Synthesis and characterization of basil seed mucilage coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles as a drug carrier for the controlled delivery of cephalixin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 113: 317-328.
- [3] HOSSEINI M S, NABID M R. Synthesis of chemically cross-linked hydrogel films based on basil seed (*Ocimum basilicum* L.) mucilage for wound dressing drug delivery applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 163: 336-347.
- [4] MIRABOLHASSANI S E, RAFAE A, RAZAVI S. The influence of temperature, sucrose and lactose on dilute solution properties of basil (*Ocimum basilicum*) seed gum[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93: 623-629.
- [5] GOVINDARAJAN M, SIVAKUMAR R, RAJESWARAY M, *et al.* Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae)[J]. *Experimental Parasitology*, 2013, 134(1): 7-11.
- [6] HOSSEINI-PARVAR S H, MATIA-MERINO L, GOLDING M. Effect of basil seed gum (BSG) on textural, rheological and microstructural properties of model processed cheese[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 43: 557-567.
- [7] HEDAYATI S, ANSARI S, JAVAHERI Z, *et al.* Multi-objective optimization of cakes formulated with fig or date syrup and different hydrocolloids based on topsis[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 171: 114088.
- [8] HUANG D T (黄冬婷), HUANG J S (黄俊生), TANG J J (汤静洁), *et al.* Ultrasonic assisted ionic liquid extraction of ginseng polysaccharide and its antioxidant activity[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(9): 1851-1857, 1871.
- [9] KEISANDOKHT S, HADDAD N, GARIEPY Y, *et al.* Screening the microwave-assisted extraction of hydrocolloids from *Ocimum basilicum* L. seeds as a novel extraction technique compared with conventional heating-stirring extraction[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 74: 11-22.
- [10] HEDAYATI S, NIAKOUSARI M, BABAJAFARI S, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of mucilaginous seed hydrocolloids: Physicochemical properties and food applications[J]. *Trends in Food*

- Science & Technology, 2021, 118: 356-361.
- [11] YAO Y (姚玥), SUN K Y (孙凯杨), SUN F M (孙丰梅). Extraction of flaxseed gum by enzymatic method combined with ultrasonic[J]. Chinese Grease (中国油脂), 2022, 47(2): 104-108, 123.
- [12] NAJI-TABASI S, RAZAVI S. Functional properties and applications of basil seed gum: An overview[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 73: 313-325.
- [13] KIM S Y, HYEONBIN O, LEE P, *et al.* The quality characteristics, antioxidant activity, and sensory evaluation of reduced-fat yogurt and nonfat yogurt supplemented with basil seed gum as a fat substitute[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(2): 1324-1336.
- [14] HUANG W R (黄文睿), TANG C F (唐超凡), TAO Y F (陶雨峰), *et al.* Extraction of flavonoids from *Chrysanthemum indicum* L. by green deep eutectic solvents[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2022, 39(3): 569-576.
- [15] LIU S P (刘树萍), SU X W (苏晓文), PENG X W (彭秀文), *et al.* Preparation of *Schisandra chinensis* extract/chitosan composite membrane and its application in meatball storage[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection (食品安全质量检测学报), 2023, 14(1): 296-303.
- [16] AZARASHKAN Z, FARAHANI S, ABEDINIA A, *et al.* Co-encapsulation of broccoli sprout extract nanoliposomes into basil seedgum: Effects on *in vitro* antioxidant, antibacterial and anti-*Listeria* activities in ricotta cheese[J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 376: 109761.
- [17] NGUYEN H C, VUONG D P, NGUYEN N T T, *et al.* Aqueous enzymatic extraction of polyunsaturated fatty acid-rich sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seed oil: An eco-friendly approach[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 133: 109992.
- [18] WU D M, CHEN S G, YE X Q, *et al.* Enzyme-extracted raspberry pectin exhibits a high-branched structure and enhanced anti-inflammatory properties than hot acid-extracted pectin[J]. Food Chemistry, 2022, 383: 132387.
- [19] KARIMI R, AZIZI M H, XU Q. Effect of different enzymatic extractions on molecular weight distribution, rheological and microstructural properties of barley bran  $\beta$ -glucan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 126: 298-309.
- [20] DRANCA F, TALN E, VARGAS M, *et al.* Microwave vs. conventional extraction of pectin from *Malus domestica* 'Flticieni' pomace and its potential use in hydrocolloid-based films[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 121(2): 107026.
- [21] WU J, CHEN R Z, TAN L, *et al.* Ultrasonic disruption effects on the extraction efficiency, characterization, and bioactivities of polysaccharides from *Panax notoginseng* flower[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 291: 119535.
- [22] CHIANG C F, LAI L S. Effect of enzyme-assisted extraction on the physicochemical properties of mucilage from the fronds of *Asplenium australasicum* (J. Sm.) Hook[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 124: 346-353.
- [23] HU X T, XU F R, LI J L, *et al.* Ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Coix* seeds: Optimization, purification, and *in vitro* digestibility[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131636.
- [24] GIRARD A, AWIKA J. Impact of condensed tannin interactions with grain proteins and non-starch polysaccharides on batter system properties[J]. Food Chemistry, 2021, 359: 129969.
- [25] YAVARI N, AZIZIAN S. Mixed diffusion and relaxation kinetics model for hydrogels swelling[J]. Journal of Molecular Liquids, 2022, 363: 119861.
- [26] YANG Q, WANG Y R, LI-SHA Y J, *et al.* Physicochemical, structural and gelation properties of arachin-basil seed gum composite gels: Effects of salt types and concentrations[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106545.
- [27] LIANG Y R, TENG F, HE M Y, *et al.* Effects of ultrasonic treatment on the structure and rehydration peculiarity of freeze-dried soy protein isolate gel[J]. Food Structure, 2021, 28: 100169.
- [28] ZHONG Y J, YANG L, DAI T T, *et al.* Flavonoids enhance gel strength of ovalbumin: Properties, structures, and interactions[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132892.
- [29] YANG Q, WANG Y R, LI-SHA Y J, *et al.* The effects of basil seed gum on the physicochemical and structural properties of arachin gel[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 110: 106189.
- [30] ZHANG L, LIU Y H, CHEN Z, *et al.* Behavior and mechanism of ultralow friction of basil seed gel[J]. Colloids & Surfaces A Physicochemical & Engineering Aspects, 2016, 489: 454-460.
- [31] HASSAN A B, PAWELAZIK E, HOERSTEN D V. Effect of microwave heating on the physicochemical characteristics, colour and pasting properties of corn (*Zea mays* L.) grain[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 138(3): 110703.
- [32] RAZI S M, MOTAMEDZADEGAN A, SHAHIDI A, *et al.* The effect of basil seed gum (BSG) on the rheological and physicochemical properties of heat-induced egg albumin gels[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 268-277.
- [33] BAYAR N, FRIJI M, KAMMOUN R. Optimization of enzymatic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal[J]. Food Chemistry, 2018, 241: 127-134.
- (上接第 1717 页)
- [22] ZHANG X M, ZHANG Z H, ZHANG B H, *et al.* Synergistic effect of Zr-MOF on phosphomolybdic acid promotes efficient oxidative desulfurization[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2019, 256(5): 117804.
- [23] ZHAO W Y, MANNO M, WAHEDI Y A, *et al.* Regenerable sorbent pellets for the removal of dilute H<sub>2</sub>S from claus process tail gas[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2021, 60(50): 18443-18451.
- [24] MAHMOODI N M, ABDI J. Nanoporous metal-organic framework (MOF-199): Synthesis, characterization and photocatalytic degradation of Basic Blue 41[J]. Microchemical Journal, 2019, 144: 436-442.
- [25] FENG D F (冯东方), ZHANG Z H (张智宏), GUO Z Z (郭壮壮). Study on removal performance of H<sub>2</sub>S: Fe-Cu/NFA catalyst supported by coal fly ash-derivative zeolite[J]. New Chemical Materials (化工新型材料), 2022, 50(6): 203-208, 214.
- [26] YU Z H (余早红), ZENG G N (曾淦宁), WU D D (吴冬冬), *et al.* Effect of surface functional groups of activated carbon on MOF complexes[J]. Zhejiang Chemical Industry (浙江化工), 2017, 48(8): 11-15.
- [27] GAO Y (高燕), YAN M (闫苗), ZHAO J S (赵建社). Preparation of MOF-199 supported phosphotungstate peroxide catalyst and its application in diesel desulfurization[J]. Acta Petrolei Sinica: Petroleum Processing Section (石油学报: 石油加工), 2019, 39(2): 349-357.
- [28] YANG Q (杨倩), ZHANG Y (张杨), LAI M Y (赖明阳), *et al.* Adsorption performance of Rhodamine B on magnetic biochar prepared at different pyrolysis temperatures[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry (应用化学), 2023, 40(2): 288-298.
- [29] ZHENG C (郑超), KANG K (康凯), ZHOU S Y (周术元), *et al.* Adsorption behavior of water molecules on porous carbon materials[J]. Chemical Industry and Engineering Progress (化工进展), 2021, 40(7): 3803-3812.
- [30] WANG Y J (王玉杰), LI S H (李申辉), ZHAO Z P (赵之平). Molecular simulation of adsorption separation of H<sub>2</sub>/He mixtures by M-MOF-74[J]. CIESC Journal (化工学报), 2022, 73(10): 4507-4517.
- [31] MENG Y Q (孟筠青), ZHOU Z H (周子涵), PI R N (皮若楠), *et al.* Molecular simulation of adsorption mechanism of hydrogen sulfide gas in metal-organic framework[J/OL]. Journal of Safety and Environment (安全与环境学报), 2023: 1-11[2023-03-21]. <https://doi.org/10.13637/j.issn.1009-6094.2022.2399>. DOI:10.13637/j.issn.1009-6094.2022.2399.
- [32] YAN K (颜康), YANG S (杨颂), LIU S J (刘守军), *et al.* In-situ preparation of ZnO-based activated carbon desulfurizer from low rank coal[J]. CIESC Journal(化工学报), 2021, 72(9): 4921-4930.