

酸枣酶解液热反应制备食用香料工艺优化

许春平¹, 杨雯静¹, 刘远上², 李立鹏¹, 邢雨晴¹, 芦昶彤^{3*}

(1. 郑州轻工业大学烟草科学与工程学院, 河南郑州 450000) (2. 河北中烟工业有限责任公司, 河北石家庄 050000) (3. 河南中烟工业有限责任公司, 河南郑州 450016)

摘要: 该文采用酸枣酶解液与葡萄糖焦糖化料液热反应的方法制备香料, 首先通过单因素实验对酶解条件进行优化, 然后将浓缩后的酸枣酶解液与葡萄糖焦糖化料液混合进行热反应, 利用单因素实验和响应面实验以感官评分指标探索反应时间、温度、初始 pH 值、料液比(浓缩液: 焦糖化料液)对香料样品品质的影响, 并测定了产物的褐变值、挥发性成分以及抑菌性和抗氧化性。研究表明, 酸枣最佳酶解条件为: 复合酶质量分数 0.28%, 酶解时间 4.0 h, 酶解温度 45 ℃。样品的褐变值随反应时间、温度、初始 pH 值的升高而升高, 随料液比升高, 先降低后稍有上升, 且褐变值与感官评价结果无直接关系。酸枣香料最优制备工艺为料液比 3.1:1, 反应时间 58 min, 反应温度 139 ℃, 初始 pH 值 6.0。酸枣香料的挥发性成分有 54 种, 总量为 1 122.54 μg/mL, 其中糠醛、糠醇、5-甲基呋喃醛等物质具有焦香、甜香等香味。质量浓度为 10 mg/mL 的酸枣香料 DPPH 值清除率为 74.70%。酸枣香料对绿脓杆菌有抑菌作用, 弱于链霉素。该研究可为酸枣香料的开发和应用及酸枣高值化利用提供理论支持。

关键词: 食用香料; 酸枣; 酶解; 热反应

文章编号: 1673-9078(2025)02-71-82

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.2.1459

Thermal Reaction Optimization for Production of Edible Spice from Enzymatic Hydrolysate of *Ziziphus jujuba*

XU Chunping¹, YANG Wenjing¹, LIU Yuanshang², LI Lipeng¹, XING Yuqing¹, LU Changtong^{3*}

(1. College of Tobacco Science and Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450000, China)
(2. Hebei Tobacco Industry Co. Ltd., Shijiazhuang 050000, China)
(3. Henan Tobacco Industry Co. Ltd., Zhengzhou 450016, China)

Abstract: The thermal reaction between the enzymatic hydrolysate of *Ziziphus jujuba* and caramelized glucose liquid was used for spice production. The enzymatic hydrolysis conditions for *Z. jujuba* were optimized through single-factor experiments. The concentrated enzymatic hydrolysate of *Z. jujuba* was then mixed with caramelized glucose liquid for thermal reactions. The optimal process was determined through single-factor experiments and response surface experiments, using sensory evaluation scores as indicators. The effects of factors including reaction time, temperature, initial pH, and solid-to-liquid ratio (concentrated hydrolysate to caramelized glucose) on the quality of the spice were evaluated. The product's browning index, volatile composition, and antibacterial and antioxidant properties were measured. The optimal enzymatic

引文格式:

许春平, 杨雯静, 刘远上, 等. 酸枣酶解液热反应制备食用香料工艺优化[J]. 现代食品科技, 2025, 41(2): 71-82.

XU Chunping, YANG Wenjing, LIU Yuanshang, et al. Thermal reaction optimization for production of edible spice from enzymatic hydrolysate of *Ziziphus jujuba* [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(2): 71-82.

收稿日期: 2023-12-08

基金项目: 河南省重大科技专项 (231100310200); 中国烟草总公司重大科技项目 [110202201005(JY-05)]

作者简介: 许春平 (1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 香精香料和烟草工程, E-mail: xuchunping05@163.com

通讯作者: 芦昶彤 (1983-), 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 烟草化学与卷烟调香研究, E-mail: luchangtongfly@163.com

hydrolysis conditions for *Z. jujuba* were as follows: mass fraction of enzyme mixture 0.28%, hydrolysis time 4.0 h, and temperature 45 °C. The browning index increased as the reaction time, temperature, and initial pH value increased. However, the browning index first decreased and then slightly rose with increasing solid-to-liquid ratio. Notably, the browning index did not directly correlate with the sensory evaluation results. The optimal preparation process for *Z. jujuba* spice was: solid-to-liquid ratio 3.1:1, reaction time 58 min, reaction temperature 139 °C, and initial pH 6.0. The *Z. jujuba* spice contained 54 volatile components with a total content of 1 122.54 µg/mL. In particular, furfural, furfuryl alcohol, and 5-methylfuranal contributed to caramel, sweet, and other aromas. The DPPH radical scavenging rate of *Z. jujuba* spice at a concentration of 10 mg/mL was 74.70%. Moreover, the *Z. jujuba* spice exhibited antibacterial effects against *Pseudomonas aeruginosa*; however, these were weaker than those of streptomycin. These results provide scientific evidence to support the development, application, and high-value utilization of *Z. jujuba* spice.

Key words: edible spice; *Ziziphus jujuba*; enzymatic hydrolysis; thermal reaction

酸枣是一种鼠李科枣属植物,在中国广泛分布。酸枣的香气丰富,苗志伟等^[1]把酸枣的香气香韵分为酸香、甜香、果香、青香、焦糖香等。它的果肉和果核都具有巨大的开发价值,酸枣果肉可以被制成果汁,酸枣仁中含有多种活性成分,能够镇静催眠、抗抑郁、抗心律失常和抗心肌缺血等^[2-4],是一种营养丰富、食疗价值高的果实,深受消费者的喜爱,具有较大的开发价值。

天然植物以及果实的细胞壁主要是由纤维素和果胶质组成,在制备提取物的过程中会阻碍其中的香味物质向细胞外扩散,如果使用相应的酶将其水解,能够提高提取物的得率,并且酶具有专一性也不会破坏其中的成分^[5-7]。酶解还可促进醛类和酮类等挥发性物质的分解和释放,丰富产品的风味,改善口感。目前有关酸枣酶解制备香料的研究较少,具有一定研究价值。焦糖化反应和美拉德反应都属于热反应,二者可被用来制备热反应型香料。美拉德反应是通过苯氧基自由基和芳香基自由基的相互作用来进行芳香族化合物合成的方法,其产物具有多种致香成分,在新型食用香精和调味品制备等方面备受关注^[8,9],也是目前制备香精的主要工艺。焦糖化反应是指醛糖或酮糖在没有氨基化合物存在的条件下,在150~200 °C加热过程中经降解、脱水等一系列反应后,形成的可赋予食品色泽与风味的褐色产物^[10-13],广泛应用于糖果、饼干、饮料、调味品等食品领域,可以起到改变食品的色调和色泽的作用。

目前,已有一些酶解法和热反应在香料制备的研究^[14-16],而酶解产物与焦糖化料液混合进行热反应制备香料的研究较少,本研究采用复合酶酶解法结合热反应技术的方法制备酸枣香料,通过单因素实验优化复合酶酶解方法,再将最优酶解条件下经

过浓缩的酸枣果肉浸提液与葡萄糖焦糖化料液混合,利用响应面实验优化热反应的反应条件,并检测产物的化学特性和生物活性,旨在开发出一款能够满足消费者口感的食用香料。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

酸枣,河北省石家庄市赞皇县丰良达农副产品有限公司;盐酸(HCl),上海国药集团化学试剂有限公司;苯酚,上海国药集团化学试剂有限公司;茚三酮,天津市科密欧化学试剂有限公司;pH值8.0磷酸盐缓冲液,平根科技检测技术服务中心;二水合氯化亚锡,天津市科密欧化学试剂有限公司;氢氧化钠,烟台市双双化工有限公司;无水亚硫酸钠,天津市风船化学试剂科技有限公司;葡萄糖,天津市光复科技发展有限公司;果胶酶30 000 U/g,上海麦克林生化科技股份有限公司;木瓜蛋白酶 ≥ 3 UNITS/mg,上海麦克林生化科技股份有限公司;纤维素酶50 U/mg,上海源叶生物科技有限公司;酒石酸钾钠,上海国药集团化学试剂有限公司;3,5-二硝基水杨酸,上海国药集团化学试剂有限公司;无水葡萄糖,天津市科密欧化学试剂有限公司;无水碳酸钠,天津市永大化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

PL203型电子天平,上海佑科仪器仪表有限公司;HH-8恒温水浴锅,金坛市华峰仪器有限公司;九阳S5-LF960-A搅拌机,杭州九阳生活电器有限公司;DF-101S超集热式恒温加热磁力搅拌器,河南省子华仪器有限公司;Agilent GC6890-MS5973N型气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 酶解条件优化

按照 1:25 (m/m) 的配比将 10 g 酸枣 (去核) 加入 250 g 离子水中, 用搅拌机将酸枣果肉粉碎, 参考林杉等^[17]文献并根据酶活特征加入复合酶 (果胶酶: 纤维素酶: 木瓜蛋白酶为 1:1:2, $m/m/m$) 进行水浴酶解浸提。分别探究复合酶质量分数 (0.04%、0.12%、0.2%、0.28%、0.36%)、复合酶酶解温度 (35、40、45、50、55 °C)、复合酶酶解时间 (2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 h) 对水提液中还原糖与氨基酸含量的影响。

在改变一个因素的情况下, 其余因素保持不变。酶解完成后, 将浸提液在沸水浴中灭活 5 min, 然后将酶解灭活后的浸提液在 4 000 r/min 下离心 10 min, 获取上清液, 再将其稀释一定倍数, 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[18]测定水提液中还原糖, 茚三酮比色法^[19]测定游离氨基酸总量。

1.3.2 热反应条件单因素优化

准确称取 20 g 无水葡萄糖, 添加 4 g 无水碳酸钠, 加入 50 mL 去离子水, 待其溶解, 在 160 °C 的油浴锅内加热 30 min, 即可得到葡萄糖焦糖化料液。

将最优酶解条件下得到的酸枣水提液进行旋蒸浓缩, 得到浓缩液 (400 g 浓缩至 50 g), 将其与焦糖化料液混合加热进行反应, 以感官评分为主结合褐变值、嗅香评价, 设置单因素实验, 分别研究反应时间 (20、40、60、80、100、120 min)、反应温度 (80、100、120、140、160 °C)、初始 pH 值 (5.0、6.0、7.0、8.0、9.0)、料液比 (浓缩液质量: 焦糖化料液质量 = 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1) 四个因素对酸枣香料品质的影响。在改变其中一个因素的时候, 其余因素不变。

1.3.3 热反应条件响应面优化方法

表 1 酸枣香料响应面法设计试验因素和水平

Table 1 Experimental factors and levels of response surface methodology design for sour jujube spice

因素	编码	水平		
		-1	0	1
反应时间 /min	A	50	60	70
反应温度 /°C	B	130	140	150
初始 pH 值	C	5.0	6.0	7.0
料液比	D	2:1	3:1	4:1

根据单因素实验结果, 以反应时间 (A), 反应温度 (B), 初始 pH 值 (C) 和料液比 (D) 4 个因

素为考察对象, 以感官评分 (Y) 为响应值, 利用 Box-Behnken 方法进行设计试验, 建立响应面回归模型, 实验设计如表 1。

1.3.4 感官评价

感官评价小组由 7 位受过专业训练的人员组成, 按照表 2 所示标准从 4 个方面对酸枣香料进行整体感官评价。对美拉德反应制备的酸枣香料 (用体积分数 70% 乙醇将香料样品稀释 5 倍^[20]), 从果香、酸香、甜香、焦香、药草香 5 个方面进行嗅香评估, 0~5 分表示香气强弱程度, 最高分 5 分、最低分 0 分, 最终的评估结果将以雷达图的形式呈现。

表 2 酸枣香料感官评分标准

Table 2 Sensory evaluation criteria for sour jujube spice

评价指标	评价标准	分值
外观 (20分)	澄清透亮, 无沉淀	15~20
	较混浊, 无沉淀	5~15
	较混浊, 有较多沉淀	0~5
色泽 (20分)	均匀, 颜色褐色	15~20
	均匀, 颜色深褐色	5~15
	不均匀, 颜色深褐色	0~5
气味 (30分)	香味浓郁, 焦甜香突出, 具有酸枣特征香味	20~30
	香味较淡, 焦甜香和酸枣特征香味较淡	10~20
	香味不足, 无焦甜香和酸枣特征香味	0~10
整体 风味 (30分)	香料整体协调性好, 风味饱满突出	20~30
	香料整体协调性一般, 风格较好	10~20
	香料整体协调性差, 风味寡淡	0~10

1.3.5 褐变值测定

将每个单因素优化实验得到的 5 个样品稀释同样的倍数, 以去离子水进行对照, 使用紫外可见分光光度计来检测其在 420 nm 波长处的吸光值^[21,22], 以此来反映美拉德反应产物的褐变程度, 吸光值用 A_{420} 表示。

1.3.6 酸枣香料挥发性成分分析

取 5 mL 最优条件下制得的香料样品、以及在同样条件下热反应的酸枣浓缩液 (对照组) 于顶空萃取瓶中, 用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头在 80 °C 中水浴萃取 60 min, 在进样口 250 °C 解吸 4 min。

色谱条件: DB-5 色谱柱; 载气 (He) 流量 1.0 mL/min; 进样口温度 250 °C, 手动进样且不分流; 升温程序: 初始温度 40 °C, 保持 4 min, 以 4 °C/min 升至 120 °C, 保持 10 min, 再以 4 °C/min

升至 220 ℃, 在 220 ℃ 保持 5 min。

质谱条件: 离子源 EI, EI 源能量 70 eV, 离子源温度 230 ℃, 接口温度 230 ℃, 四极杆温度 150 ℃, 采集模式为全扫描, 质量扫描范围: 35~550 u。

定性定量分析: 根据总离子流图中各色谱峰的质谱信息, 经 NIST17 标准质谱库进行串联检索, 选取匹配度 80 以上的物质, 并进行图谱解析、已知化合物进行对比, 对各挥发性组分进行定性^[23]。选取乙酸苯乙酯作为内标物 (加入 1 μL 质量浓度 0.871 mg/mL 的乙酸苯乙酯), 对各挥发性成分进行半定量。

1.3.7 酸枣香料抑菌性分析

将金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌活化后, 用无菌水稀释至菌液浓度达到 10⁶ CFU/mL, 将 100 μL 菌悬液分别均匀涂布在平板上, 用镊子将 3 个无菌的牛津杯放入培养皿中, 轻轻按压牛津杯, 使其与培养基表面接触严密。向牛津杯中加入 200 μL 样品、200 μL 无菌水作为阴性对照, 200 μL 0.2 mg/mL 的青霉素溶液、链霉素溶液分别作为革兰氏阴性菌和阳性菌的阳性对照组, 每组设 3 个平行, 平板于相 37 ℃ 恒温培养 24 h, 电子游标卡尺测量抑菌圈直径, 记录数据^[24]。> 牛津杯直径 (8 mm) 1 mm 的抑菌圈直径视为具有抑菌性, ≤ 1 mm 的抑菌圈直径为无抑菌性^[25]。

1.3.8 酸枣香料抗氧化性分析

利用无菌水在 517 nm 标零, 取 1 mL 的待测溶液、3 mL 的 0.1 mmol/L 的 DPPH 值溶液, 在室温下避光反应 30 min, 在 517 nm 下测定其吸光值为 A, 为消除样品本身颜色的影响, 以无菌水代替 0.1 mmol/L DPPH 值溶液测定吸光值为 A₁, 以无菌水代替待测液, 测得的吸光值为 A₀, 以维生素 C 作为阳性对照^[26,27], DPPH 清除率 (R) 的计算公式如下:

$$R = \left(1 - \frac{A - A_1}{A_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R—DPPH 清除率, %;

A—样品组吸光值;

A₁—空白组吸光值;

A₀—对照组吸光值。

1.3.9 数据分析

响应面实验设计及图形绘制采用 Design Expert 13 进行, 其余数据采用 SPSS 26 统计分析软件分析,

Origin 2021 绘图。

2 结果与分析

2.1 酶解条件单因素优化结果

2.1.1 复合酶对游离氨基酸总量的影响

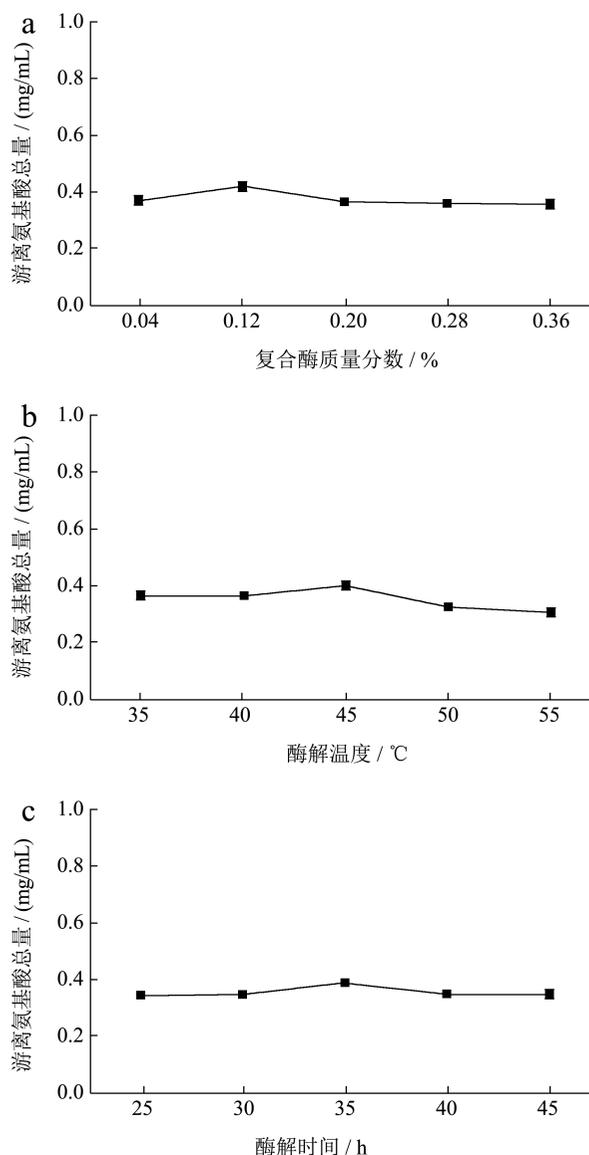


图 1 复合酶质量分数 (a)、酶解温度 (b)、酶解时间 (c) 对游离氨基酸总量的影响

Fig.1 The influence of composite enzyme mass fraction (a), hydrolysis temperature (b), and hydrolysis time (c) on the total amount of free amino acids

以加酶后水提液中氨基酸含量为纵坐标, 复合酶质量分数、复合酶酶解温度, 复合酶酶解时间为横坐标作图, 得到图 1。由图 1 可知, 改变复合酶质量分数、复合酶酶解温度、复合酶酶解时间, 水提液中的游离氨基酸总量保持在 0.31~0.42 mg/mL

内, 含量差异较小。因此, 复合酶酶解条件的单因素优化实验选择还原糖含量变化值作为指标。

2.1.2 复合酶对还原糖含量的影响

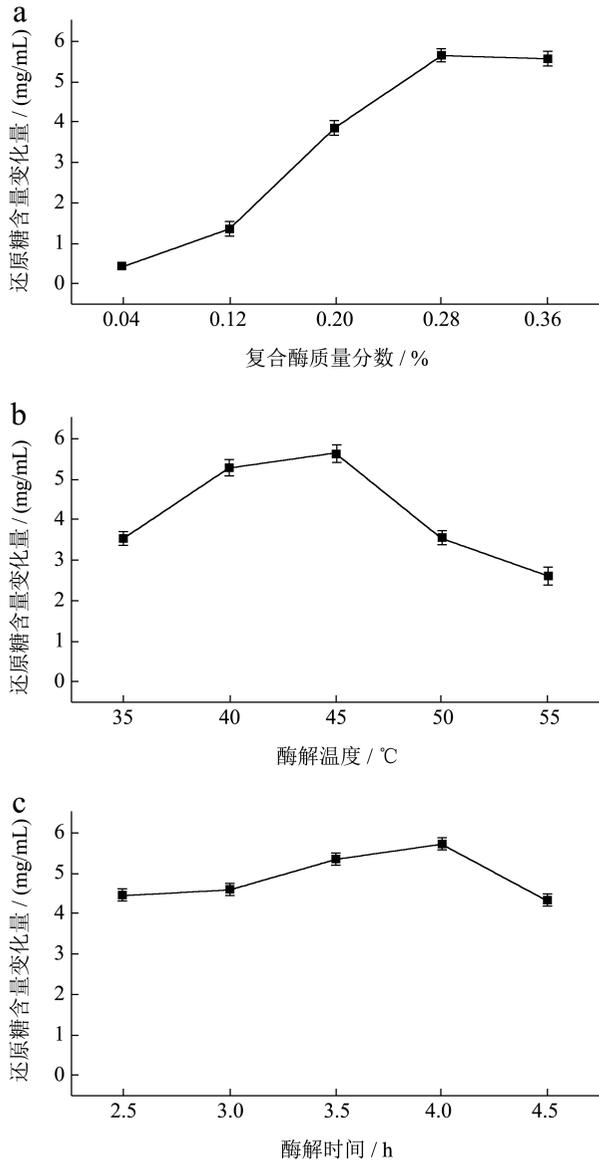


图2 复合酶质量分数 (a)、酶解温度 (b)、酶解时间 (c) 对还原糖含量的影响

Fig.2 Effects of composite enzyme concentration (a), enzymatic hydrolysis temperature (b), and enzymatic hydrolysis time (c) on reducing sugar content

以加酶前后水提液中还原糖含量的变化量为纵坐标, 复合酶质量分数、复合酶酶解温度, 复合酶酶解时间为横坐标作图, 得到图2。

由图2a可知, 当复合酶质量分数增至0.28%, 还原糖含量变化值最高, 为5.63 mg/mL, 随后达到稳定。这是因为随着复合酶浓度的增加, 酶解位点增多, 酶解速率增大, 水提液中还原糖含量上升,

当结合位点饱和时, 还原糖含量稳定^[28]。

由图2b可知, 随着复合酶酶解温度的升高, 酸枣的还原糖含量变化值先升高后降低, 这可能是由于温度升高导致复合酶逐渐钝化, 酶的活性受到抑制^[29]。当温度为45℃时, 还原糖含量的变化值达到最大, 为5.63 mg/mL。

由图2c可知, 随着复合酶酶解时间的增加, 酸枣的还原糖含量变化值呈现先增加后减少的趋势。酶解时间为4 h时, 还原糖含量变化值最高, 为5.69 mg/mL。推测是因为在酶解过程中, 果胶以及纤维素类物质会被分解生成还原糖, 而酶解时间过久此类物质被分解后的一部分产物与氧气发生反应被降解了, 还原糖含量下降, 从而导致还原糖含量变化值下降^[30]。

2.2 热反应条件的优化

2.2.1 热反应条件单因素优化结果

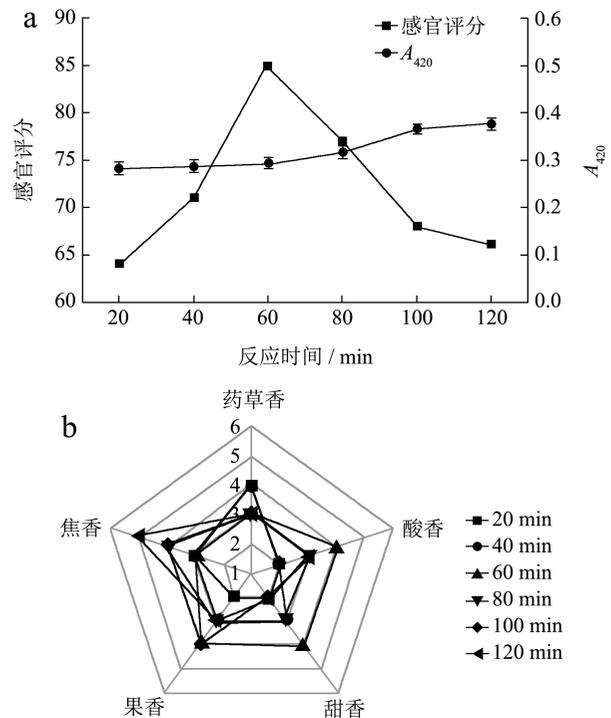


图3 不同反应时间对感官评分和 A₄₂₀ 的影响 (a) 及嗅香评价雷达图 (b)

Fig.3 The effect of different reaction times on sensory scores and A₄₂₀ (a) and olfactory evaluation radar (b)

由图3可知, 随着反应时间的延长, A₄₂₀ 值增加, 感官评分先升高后降低, 60 min时感官评分最高。在热反应过程中, 会发生美拉德反应。反应时间短, 发生的美拉德反应少, 产生的风味物质少, 感官评分低, 焦香、甜香强度弱。反应时间过长, 发生的

美拉德反应多, 生成的具有焦香的物质多^[31], 焦香过重会导致感官评分下降。李凤华^[32]优化了鸡肉香精的制备条件, 研究表明, 反应时间在 20~180 min 时, 随着反应时间的延长, 最终出现焦糊香, 影响了主体风味, 这与本实验结果相似。

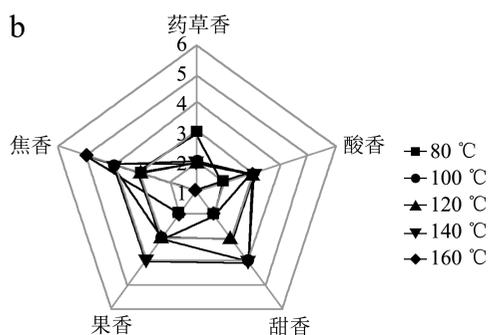
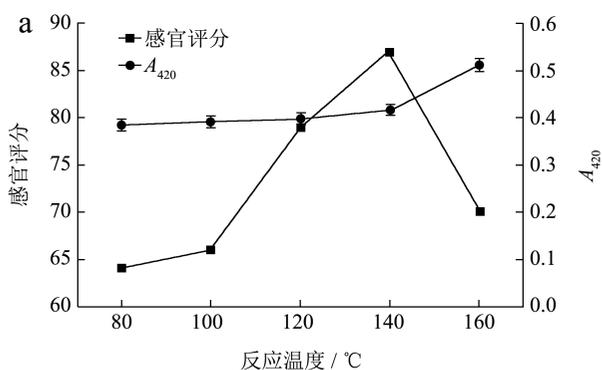


图 4 不同反应温度对感官评分和 A_{420} 的影响 (a) 及嗅香评价雷达图 (b)

Fig.4 Effects of different reaction temperatures on sensory score and A_{420} (a) and odor evaluation radar (b)

由图 4 可知, 随着反应温度的升高, A_{420} 值增加, 感官评分先升高后降低, 140 °C 时感官评分最高。随着温度的升高, 糖和氨基酸的相互作用变强, 美拉德反应的速率加快, 产生的香味物质增加, 感官评分变高。但反应产生的具有焦香的物质也会越多, 会具有焦糊味, 反应生成的类黑精也越多^[33], 类黑精环化后会产生一些不良的风味物质^[34], 这都会使得感官评分下降。

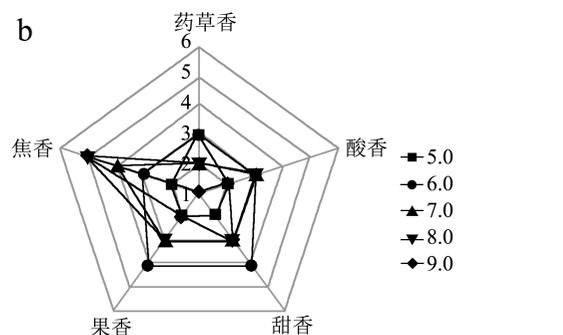
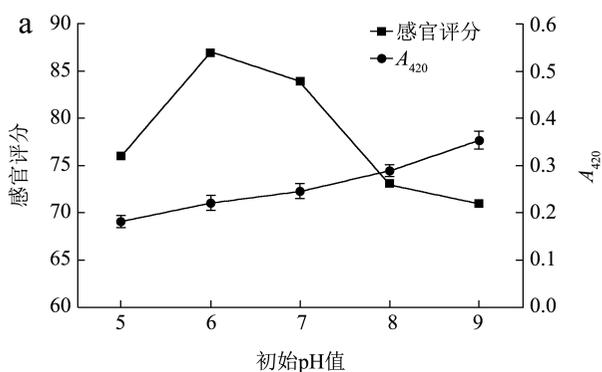


图 5 不同初始 pH 值对感官评分和 A_{420} 的影响 (a) 及嗅香评价雷达图 (b)

Fig.5 Effects of different initial pH values on sensory scores and A_{420} (a) and odor evaluation radar (b)

由图 5 可知, 随着初始 pH 值的增加, A_{420} 值增加, 感官评分先升高后降低, 6.0 时感官评分最高。pH 值是影响美拉德反应速率的重要因素之一, 随着 pH 值上升, 美拉德反应速度变快。反应速率快产生的类黑精越多, pH 值过高会对风味产生不良的影响, 焦香变重^[35,36], 感官评分下降。

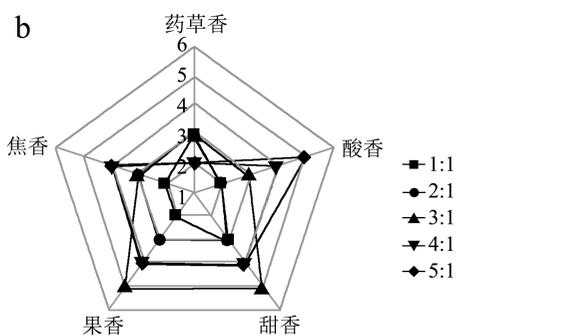
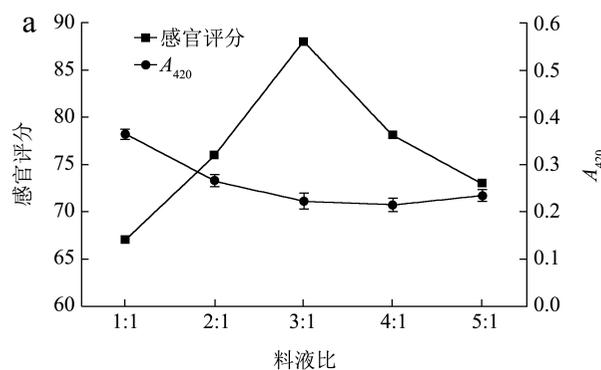


图 6 不同料液比对感官评分和 A_{420} 的影响 (a) 及嗅香评价雷达图 (b)

Fig.6 Effect of different material liquid ratios on sensory score and A_{420} (a) and odor evaluation radar (b)

由图 6 可知, 随着料液比的增大, 感官评分先增加后降低, 这是因为随着料液比的升高焦香变重, 所以感官评分降低。 A_{420} 值先下降后趋于稳定, 这可能是因为焦糖化料液中含有类黑精^[37], 随着料液

比的升高, 整个体系中浓缩液的占比变大, 焦糖化料液的占比缩小, A_{420} 值下降, 当焦糖化料液的占比缩小至一定值, A_{420} 值保持稳定。

2.2.2 热反应条件的响应面优化结果

采用 Design Expert 13 软件对该实验进行设计, 和 5 组零点试验 (表 3), 共 29 组试验点方案, 对 Box-behnken 试验结果进行多元回归拟合分析 (表 3) 得到的回归方程如下。

表 3 Box-behnken 试验设计方案与试验结果

Table 3 Box-behnken experimental design scheme and experimental results

序号	A 反应时间	B 反应温度	C 初始 pH 值	D 料液比	感官评分
1	60	150	6.0	2:1	68.12
2	60	140	6.0	3:1	88.81
3	60	140	6.0	3:1	89.12
4	60	130	6.0	4:1	74.88
5	60	140	7.0	4:1	86.92
6	50	150	6.0	3:1	70.82
7	60	130	5.0	3:1	77.58
8	50	140	6.0	2:1	83.51
9	60	130	7.0	3:1	77.92
10	60	130	6.0	2:1	77.27
11	50	140	6.0	4:1	83.32
12	70	140	7.0	3:1	81.49
13	60	140	7.0	2:1	84.28
14	60	140	5.0	4:1	85.58
15	50	130	6.0	3:1	75.38
16	60	140	6.0	3:1	91.55
17	60	150	6.0	4:1	73.12
18	60	140	6.0	3:1	89.50
19	60	150	5.0	3:1	71.81
20	70	140	6.0	2:1	77.18
21	50	140	7.0	3:1	86.22
22	50	140	5.0	3:1	85.02
23	70	150	6.0	3:1	67.17
24	60	140	5.0	2:1	87.13
25	60	140	6.0	3:1	89.78
26	60	150	7.0	3:1	72.45
27	70	140	5.0	3:1	82.42
28	70	140	6.0	4:1	82.52
29	70	130	6.0	3:1	74.48

$$Y=89.75-1.58*A-2.84*B-0.0217*C+0.7375*D-0.6875*AB-0.5325*AC+1.38*AD+0.075*BC+1.85*BD+1.05*CD-4.79*A^2-13.36*B^2-1.13*C^2-3.01*D^2$$

方差分析该模型具有较高的可靠性, 回归模型高度显著 ($P<0.0001$), 模型的失拟差不显著 ($P=0.8071>0.05$)。回归模型的拟合度 $R^2=0.9923$, 表明试验所得测定值可有效反映实际的实验值; 调整系数 $R^2_{Adj}=0.9845$, 说明该拟合模型可合理解释 98.45% 的响应值变化情况, 试验误差系数较小, 拟合程度较高。一次项 A、B, 二次项 A^2 、 B^2 、 D^2 , 交互项 A*D、B*D 对结果的影响均达到极显著水平 ($P<0.01$), 回归模型的一次项 D, 二次项 C^2 , 交互项 C*D 对结果的影响显著 ($P<0.05$), 根据 F 值大小可知, 各因素对 Y 感官评分的影响排为 $B>A>D>C$, 即反应温度>反应时间>料液比>初始 pH 值 (表 4)。

表 4 回归模型各项系数方差分析和显著性检验结果

Table 4 Analysis of variance and significance test results of regression model coefficients

来源	自由度	Adj SS	Adj MS	F 值	P 值	显著性
模型	14	1376.13	98.29	128.36	<0.0001	**
A	1	30.12	30.12	39.33	<0.0001	**
B	1	96.54	96.45	125.94	<0.0001	**
C	1	0.0056	0.0056	0.0074	0.9329	
D	1	6.53	6.53	8.52	0.0112	*
A^2	1	148.99	148.99	48.48	<0.0001	**
B^2	1	1157.58	1157.58	0.42	<0.0001	**
C^2	1	8.30	8.30	0.83	0.0053	*
D^2	1	58.58	58.58	56.87	<0.0001	**
A*B	1	1.89	1.89	8.5	0.1384	
A*C	1	1.13	1.13	0.01	0.2437	
A*D	1	7.65	7.65	1.2	0.0070	**
B*C	1	0.0225	0.0225	0.41	0.8664	
B*D	1	13.65	13.65	5.61	0.0009	**
C*D	1	4.39	4.39	0.03	0.0312	*
误差	14	10.72	0.7658			
失拟	10	6.14	0.6137	0.5355	0.8071	
纯误差	4	4.58	1.15			
合计	28	1386.85				
		$R^2=99.23\%$	R^2_{Adj} (调整) =98.45%			

注: * 表示影响显著 ($P<0.05$), ** 表示影响极显著 ($P<0.01$)。

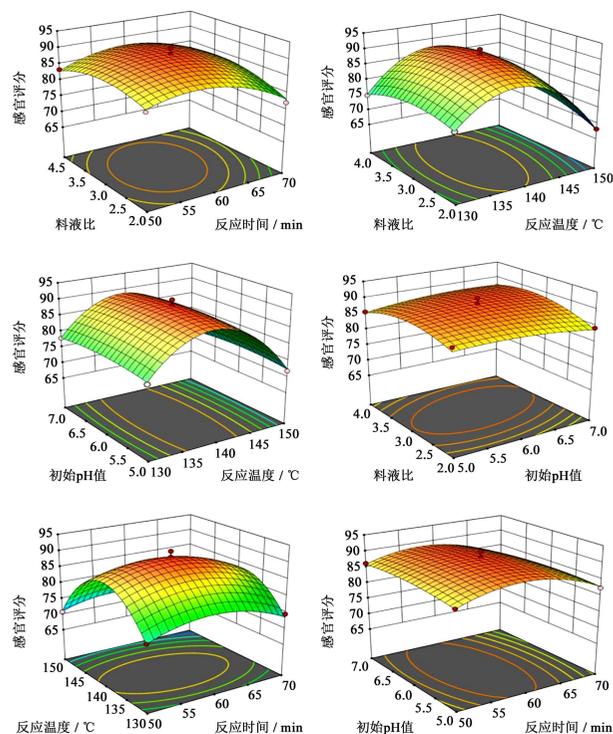


图7 不同因素对酸枣热反应型香料的感官评分交互关系

Fig.7 Sensory score interaction relationship between different factors and sour jujube heat responsive spices

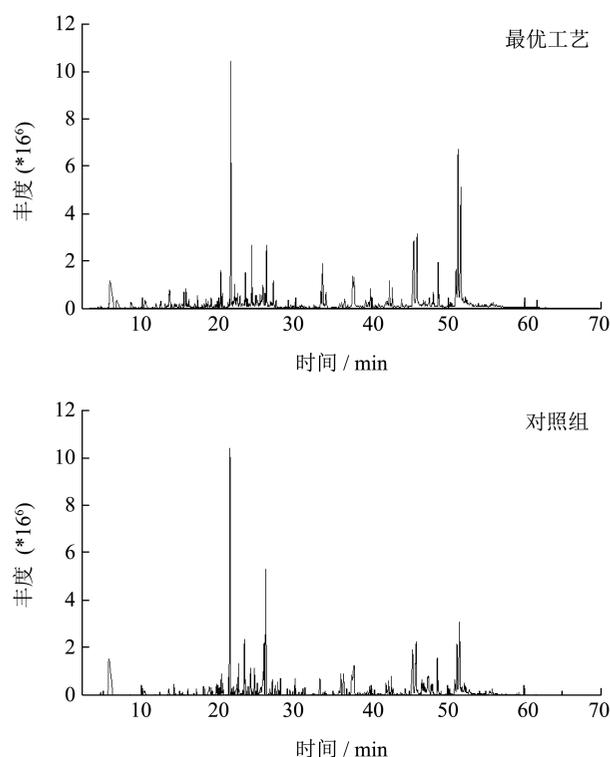


图8 两种酸枣香料的总离子流图

Fig.8 Total ion flow diagrams of two sour jujube spices

注: 最优工艺指在最优工艺下酸枣与焦糖化料液混合加热得到的样品, 对照组为在同样条件下 (139 °C、初始 pH 值 6.0、加热反应 58 min) 加热的酸枣浓缩液。

反应时间 (A), 反应温度 (B), 初始 pH 值 (C) 和料液比 (D) 4 个因素的两两交互作用对感官评分 (Y) 的影响如图 7。响应面越弯曲、坡度越陡, 二者之间交互作用越显著^[38]。结合表 4 以及响应面和等高线图可以看出, 反应时间与料液比、反应温度与料液比、初始 pH 值与料液比之间的交互作用是显著的。

将感官评分 (Y) 最大化为优化目标, 运用 Design Expert 13 对试验结果进行多元回归拟合分析, 确定最佳的反应条件: A=58.486, B=139.027, C=6.054 07, D=3.068 27, 此时响应值 Y=90.034 4, 因考虑到实际操作的方便性, 将试验最佳工艺参数修正: 反应时间 (A) 为 58 min, 反应温度 (B) 为 139 °C, 初始 pH 值 (C) 为 6.0, 酸枣与焦糖化料液比值 (D) 为 3.1:1。在此条件下, 进行 3 次重复性试验, 测得实际感官评分平均为 89.25 分, 与预测值较接近, 表明该回归模型预测性较好。

2.3 酸枣香料的挥发性成分分析结果

两种酸枣香料挥发性成分总离子流图见图 8、分析结果见表 5, 由表 5 可知, 对照组和最优工艺一共检测出 78 种挥发性成分, 包括酸类、醛类、酮类、烃类、酚类、杂环类、酯类、醇类。最优工艺所检测到的挥发性成分种类和总量均高于对照组, 最优工艺为 54 种, 1 122.54 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对照组为 53 种, 物质总量为 998.41 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。酯类、烃类、酚类和醛类物质总量最优工艺低于对照组, 酸类、醇类、酮类、杂环类物质总量, 最优工艺多于对照组。与对照组相比, 最优工艺杂环类物质个数从 9 增至 16, 总量从 236.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增至 29.94 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 推测是因为最优工艺组所发生的美拉德反应更多, 美拉德反应会生成杂环类物质^[39]。最优工艺所检测到的挥发性成分中糠醛、糠醇、5-甲基呋喃醛、5-甲基-2-呋喃甲醇等物质具有焦香、甜香等香味, 给酸枣香料带来更好的风味。根据本课题组预实验发现顶空-固相微萃取法检测到的酸枣香料的挥发性成分多于同时蒸馏萃取法和振荡萃取法, 因此本实验选择 HS-SPME 结合 GC-MS 检测酸枣香料的挥发性成分, 对酸枣香料的挥发性成分进行了质谱定性和半定量测定, 之后将采用其他提取方法结合 GC, 通过标准品和保留指数对酸枣香料的挥发性成分进行准确定量分析。

表 5 两种酸枣香料的GC-MS结果 ($\mu\text{g/mL}$)Table 5 GC-MS results of two sour jujube spices ($\mu\text{g/mL}$)

分类	保留时间/min	物质名称	CAS 号	对照组	最优工艺	气味特征描述
酸类	42.03	十三酸	000638-53-9	5.29	3.13	—
	45.42	Z-7-十四碳烯酸	1000130-98-4	77.08	117.18	—
	45.86	肉豆蔻酸	000544-63-8	94.15	115.01	香脂味
	48.71	正十五酸	001002-84-2	12.39	10.91	—
	50.95	棕榈油酸	000373-49-9	18.74	62.04	—
	51.58	棕榈酸	000057-10-3	96.82	171.53	蜡味
	55.50	亚油酸	000060-33-3	10.93	—	—
	19.09	辛酸	000124-07-2	9.23	—	甜香味、烟熏味
	25.69	癸酸	000334-48-5	53.68	34.69	烟熏味、香脂味
	37.64	月桂酸	000143-07-7	70.64	51.52	—
	22.35	正壬酸	000112-05-0	15.44	15.62	甜香味、香脂味
	30.53	十一酸	000112-37-8	6.4	—	—
	15.06	山梨酸	000110-44-1	12	6.08	—
	56.21	硬脂酸	000057-11-4	1.6	—	—
	18.84	苯甲酸	000065-85-0	19.07	—	辛辣味、焦苦味
	54.69	油酸	000112-80-1	—	1.77	油味
	55.51	共轭 (9E,11E)-亚油酸	000544-71-8	—	2.3	—
	46.54	十八烷酸	000506-17-2	1.12	1.22	—
	醛类	19.75	癸醛	000112-31-2	10.35	—
10.26		苯甲醛	000100-52-7	8.68	13.57	果香、苦杏仁味
14.43		3-甲基苯甲醛	000620-23-5	3.21	4.07	甜果味、樱桃味
19.42		2,3-二氢-2,2,6-三甲基苯甲醛	000116-26-7	2.39	—	—
14.20		反-2-辛烯醛	002548-87-0	13.69	—	脂肪、坚果香味
54.35		2-十七烯醛	1000143-48-6	—	1.74	—
55.64		(Z)-9,17-十八二烯醛	056554-35-9	—	2.63	—
13.52		苯乙醛	000122-78-1	10.01	—	蜂蜜香
47.83		金合欢基乙醛	066408-55-7	8.28	—	—
烃类	43.38	十七烷	000629-78-7	1.57	1.85	花果香
	30.73	环十二烷	000294-62-2	—	2.73	—
	42.41	环十四烷	000295-17-0	—	3.93	—
	46.79	正十三烷	000629-50-5	—	2.58	—
	52.78	1,19-二十碳二烯	014811-95-1	2.92	—	—
	30.73	壬基环丙烷	074663-85-7	1.93	—	—
	47.19	9-十八炔	035365-59-4	4.65	—	—
	47.37	1,E-11,Z-13-十八碳三烯	080625-36-1	6.15	—	—
	21.80	1,2,3,4-四氢-1,1,6-三甲基萜	000475-03-6	24.36	6.63	—
	23.77	1,2,3,4-四氢-1,5,7-三甲基萜	021693-55-0	—	4.22	—
41.93	卡达萜	000483-78-3	—	8.73	—	

续表5

分类	保留时间/min	物质名称	CAS号	对照组	最优工艺	气味特征描述
酯类	47.39	(9Z,12e)-9,12-十四二烯-1-乙酸酯	031654-77-0	21.04	—	—
	18.18	乙酸苄酯	000140-11-4	1.15	—	果香
	50.40	棕榈酸甲酯	000112-39-0	1.76	2.95	鸢尾草味、油脂味
	33.67	二氢猕猴桃内酯	017092-92-1	7.49	—	烘烤香味
	61.54	己二酸二(2-乙基己)酯	000103-23-1	1.33	7.44	—
酮类	50.03	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)葵-6,9-二烯-2,8-二酮	082304-66-3	3.62	2.82	—
	39.76	4,7,9-巨豆三烯-3-酮	038818-55-2	9.15	83.23	—
	25.98	大马士酮	023726-93-4	38.68	13.37	花香、蜂蜜香味
	31.05	脱氢-β-紫罗兰酮	001203-08-3	11.94	—	—
	25.32	茄尼酮	054868-48-3	3.33	13.84	—
	16.80	2-壬烯-4-酮	032064-72-5	2.58	—	—
	16.46	乙基环戊烯醇酮	021835-01-8	—	1.43	焦糖香味
	19.74	2-羟基-3-丙基-2-环戊烯-1-酮	025684-04-2	—	5.64	—
	21.15	4-羟基-3-甲基苯乙酮	000876-02-8	—	4.1	果香
	25.48	2,6-二羟基-3-甲基苯乙酮	029183-78-6	—	10.63	—
	23.26	3-丁基-2-羟基-2-环戊烯-1-酮	029798-72-9	—	5.89	—
	29.33	香叶基丙酮	003796-70-1	9.93	—	花香
	46.70	(Z)-氧酰氯戊二烯酮	063958-52-1	7.68	—	—
	23.40	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	007786-61-0	37.91	25.91	辛辣的烟熏味
	醇类	52.77	Z,Z-3,13-辛二烯-1-醇	1000131-10-7	—	1.56
13.25		苯甲醇	000100-51-6	2.04	6.11	花香
杂环类	20.19	3-苯基-咪唑	013679-41-9	6.41	28.47	焦香、烘焙香味
	22.69	吡啶	000120-72-9	4.75	11.02	焦香
	8.43	2-乙酰基咪唑	001192-62-7	5.44	17.94	甜香、坚果香味
	15.62	7-甲基苯并咪唑	017059-52-8	—	21.32	坚果、烘烤香味
	15.79	2-甲基苯并咪唑	004265-25-2	—	7.01	坚果、烘烤香味
	22.24	2,2'-亚甲基双-(5-甲基-咪唑)	013679-43-1	—	9.55	—
	19.47	5,6-二甲基苯并咪唑	000582-60-5	—	4.11	—
	53.87	十二烯基丁二酸酐	019780-11-1	—	2.99	杏仁味
	18.93	4-(2-咪唑基)-3-丁烯-2-酮	000623-15-4	—	9.57	肉桂味、香草味
	12.21	2-丙酰咪唑	003194-15-8	—	2.8	焦糖味
	20.37	2,3-二氢苯并咪唑	000496-16-2	19.61	—	—
	20.51	5-羟甲基糠醛	000067-47-0	3.48	—	坚果、焦糖香味
	14.08	5-乙基-2-糠醛	023074-10-4	—	9.83	—
	13.74	1-乙基-1H-吡咯-2-甲醛	002167-14-8	1.89	—	烟熏味、烘烤香味
	5.70	糠醛	000098-01-1	157.82	120.5	杏仁香味
	21.31	3-氯-2-甲氧基-5-吡啶硼酸	000942-43-8	26.02	7.45	—
	9.87	5-甲基咪唑醛	000620-02-0	10.59	4.34	甜香、辛香味
	6.56	糠醇	000098-00-0	—	33.83	焦糖、烘烤和甜香味
9.76	5-甲基-2-咪唑甲醇	003857-25-8	—	1.21	焦糖味	
总量				998.41	1 122.54	

注：最优工艺指在最优工艺下酸枣与焦糖化料液混合加热得到的样品，对照组为在同样条件下（139℃、初始pH值6.0、加热反应58min）加热的酸枣浓缩液。表中“—”表示未检出或者未从文献中查阅到。

2.4 抑菌性实验结果

表 6 酸枣香料抑菌实验结果

Table 6 Antibacterial experiment results of sour jujube spice

供试菌种	抑菌圈直径/mm		
	酸枣香料	阳性对照	
		青霉素	链霉素
绿脓杆菌	14.58 ± 0.67	—	22.15 ± 0.16
枯草芽孢杆菌	8.15 ± 0.45	18.18 ± 0.50	—

注:表中数据用“平均值 ± 标准偏差”表示,“—”表示未做此阳性对照。

酸枣香料和阳性对照的抑菌效果如表 6 所示,从抑菌圈的直径可以判断酸枣香料的抑菌能力强弱。由表 6 可知,酸枣香料对绿脓杆菌有一定的抑制作用,弱于链霉素,对枯草芽孢杆菌没有抑制作用。这说明本实验所制备酸枣香料对于常见的致病菌有一定的抑菌效果,对革兰氏阳性菌和阴性菌的抑制效果存在差别。

2.5 抗氧化性实验结果

酸枣香料和维生素 C 清除 DPPH 值的结果如图 9 所示,在质量浓度范围为 2~10 mg/mL 的时候,酸枣香料具有清除 DPPH 值的活性的作用,但始终弱于维生素 C。在质量浓度范围为 2~6 mg/mL 时,酸枣香料的 DPPH 值清除率随质量浓度提高而快速增加。质量浓度范围为 6~10 mg/mL 时酸枣香料的 DPPH 值清除率增速减慢,质量浓度为 10 mg/mL 的酸枣香料 DPPH 值清除率可达 74.70%。维生素 C 是一种天然的水溶性抗氧化剂,通过和维生素 C 的 DPPH 值清除测定进行对比,可以得出酸枣香料具有一定的体外抗氧化性,弱于维生素 C,有望被开发为天然食品抗氧化剂,延缓食品的氧化。

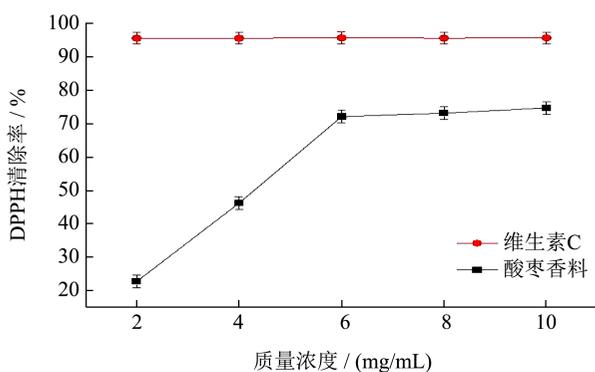


图 9 酸枣香料和维生素 C 质量浓度对 DPPH 值清除率的影响

Fig.9 Effect of sour jujube spice and vitamin C mass concentration on DPPH clearance rate

3 结论

本研究采用单因素实验优化酸枣酶解工艺,将最优工艺下制备的酸枣水提液进行浓缩,再与葡萄糖焦糖化料液混合制备热反应型香料,以感官评分为指标,对热反应条件进行单因素和响应面实验优化,测定了样品的 A_{420} 、挥发性成分、抗氧化性和抑菌性。酸枣果肉最佳酶解参数为,复合酶质量分数 0.28% (果胶酶:纤维素酶:木瓜蛋白酶=1:1:2, m/m/m)、酶解温度 45 °C、酶解时间 4 h,热反应单因素实验结果表明样品的 A_{420} 值随反应时间、反应温度、初始 pH 值的升高而升高,随浓缩液与葡萄糖焦糖化料比值的升高,先降低后稍有上升,且 A_{420} 与感官评分结果无直接关系,响应面实验结果表明香料样品最优制备工艺反应时间 58 min,反应温度 139 °C,初始 pH 值 6.0,料液比为 3.1:1,焦香、甜香、酸香、果香、药草香强度合适,且整体香气协调;最优条件下制备的酸枣香料测得的挥发性成分有 54 种,含量为 1122.54 $\mu\text{g/mL}$,在这些挥发性成分中,有许多物质具有特殊的香味可以给香料样品带来独特的风味,例如:肉豆蔻酸可以给香料提供奶香味,糖醛和糖醇可以带来焦甜香,5-甲基呋喃醛具有焦糖香,5-甲基-2-呋喃甲醇具有焦糖甜味等。抑菌性和抗氧化性实验结果表明,酸枣香料具有一定的抑菌和抗氧化效果,质量浓度为 10 mg/mL 的酸枣香料 DPPH 值清除率为 74.70%。为其在抗氧化领域的应用提供基础。本研究所开发出的食用酸枣香料制备技术,可以为酸枣的高值化利用提供参考和开发思路,具有较好的市场前景与商业价值。

参考文献

- [1] 苗志伟,刘玉平,陈海涛,等.食用酸枣香精的调配[J].中国食品添加剂,2011,5:168-171.
- [2] HOWARD L R, BROWNMILLER C, PRIOR R L, et al. Improved stability of chokeberry juice anthocyanins by β -cyclodextrin addition and refrigeration [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(3): 693-699.
- [3] LIU J R, ZHANG Y Q, ZHANG M, et al. Ultrasonic-assisted extraction of swertisin from sour jujube seed and comprehensive revelation of its antioxidant activity [J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(12): e14433.
- [4] LIU Y, ZHANG Y Q, MEI N J, et al. Three acidic polysaccharides derived from sour jujube seeds protect intestinal epithelial barrier function in LPS induced Caco-2 cell inflammation model [J]. International Journal of

- Biological Macromolecules, 2023, 240: 124435.
- [5] 戴浩,张晓伟,李凤涛,等.酶解组合高速匀浆法提取人参总皂苷和多糖[J].保鲜与加工,2020,20(3):137-145.
- [6] SONG H, ZHANG Z Q, LI Y X, et al. Effects of different enzyme extraction methods on the properties and prebiotic activity of soybean hull polysaccharides [J]. Heliyon, 2022, 8(11): e11053.
- [7] HAN Y, YOU M, WANG S, et al. Enzymatic methods for the preparation of fragrant rapeseed oil: Effect of reducing sugars on flavor production using the Maillard reaction [J]. LWT, 2023, 189: 115497.
- [8] YANG T, HE Z, QIN F, et al. Research progress of the effects of Maillard reaction on flavor and quality of products as well as derivatized harmful substances [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2017, 8(3): 854-861.
- [9] BAI J F, LIANG D Q, WANG X J, et al. Optimization of enzymolysis process and Maillard reaction temperature for the preparation of tobacco bud spices [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2021, 60(22): 143.
- [10] BUERA M D P, CHIRIFE J, RESNIK S L, et al. Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to caramelization of various single sugars [J]. Journal of Food Science, 1987, 52(4): 1059-1062.
- [11] HARTEL R W, HARTEL A, HARTEL R W, et al. Caramel: Controlled scorching of milk [J]. Candy Bites: The Science of Sweets, 2014: 111-114.
- [12] TSAI P J, YU T Y, CHEN S H, et al. Interactive role of color and antioxidant capacity in caramels [J]. Food Research International, 2009, 42(3): 380-386.
- [13] SENGAR G, SHARMA H K. Food caramels: a review [J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(9): 1686-1696.
- [14] CHEN X, ZOU Y, WANG D, et al. Effects of ultrasound pretreatment on the extent of Maillard reaction and the structure, taste and volatile compounds of chicken liver protein [J]. Food Chemistry, 2020, 331(prepublish): 127369.
- [15] GENG C X, YAN J W, HE X M, et al. Study of enzymolysis technology and microwave Maillard preparation of *Litopenaeus vannamei* [J]. CyTA-Journal of Food, 2019, 17(1): 137-141.
- [16] CUI W J, LIU P J, LIU H L, et al. Flavor changes in *Lentinus Edodes* enzymatic hydrolysate maillard reaction products with different sugars by gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. Journal of Future Foods, 2023, 3(1): 43-48.
- [17] 林杉,江洁,谭皎敏,等.基于抗氧化活性的复合酶法提取香菇菌糠多糖的工艺优化[J].饲料工业,2019,40(6):23-27.
- [18] 尹建雄,卢红,谢强,等.3,5-二硝基水杨酸比色法快速测定烟草水溶性总糖、还原糖及淀粉的探讨[J].云南农业大学学报,2007,6:829-833,838.
- [19] GB/T 8314-2013,茶游离氨基酸总量测定[S].
- [20] 李瑞丽,田数,郭春生,等.基于感官导向的香莱兰特征风味物质分析及重构[J].食品科学,2023,44(4):217-223.
- [21] QI L, ZHANG H, GUO Y, et al. Preparation, characterization and antioxidant activity analysis of three Maillard glycosylated bone collagen hydrolysates from chicken, porcine and bovine [J/OL]. Food Science and Human Wellness: 1-20[2023-12-27].
- [22] HOU S, LAI C, SONG Y, et al. A food-grade and senescent cell-targeted fisetin delivery system based on whey protein isolate-galactooligosaccharides Maillard conjugate [J]. Food Science and Human Wellness, 2024, 13(2): 688-697.
- [23] 李孟涛,许德富,敖宗华,等.浓香型基酒中糊味特征物质解析[J].食品科学,2024,45(13):173-180.
- [24] PRIYDARSHI R, MELKANI A B, MOHAN L, et al. Terpenoid composition and antibacterial activity of the essential oil from *Inula cappa* (Buch-Ham.ex.D.Don) DC [J]. Journal of Essential Oil Research, 2016, 28(2): 172-176.
- [25] 马翠柳,蔡熙姮,刘超楠,等.北极狐源唾液杆菌ZJBF005的分离鉴定与体外益生功能的评价[J].动物营养学报,2023,35(5):3372-3381.
- [26] LEE Y L, YEN M T, MAU J L. Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizigus marmoreus* [J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 1-9.
- [27] TSAI S Y, HUANG S J, MAU J L. Antioxidant properties of hot water extracts from *Agroclybe cylindracea* [J]. Food Chemistry, 2006, 98(4): 670-677.
- [28] 刘先红.修饰纤维素酶降解纤维素及壳聚糖的研究[D].青岛:青岛科技大学,2015.
- [29] 张钰漩.麦胚5-甲基四氢叶酸富集技术研究[D].南京:南京农业大学,2020.
- [30] 冉珍艳,侯旭杰,蒲云峰,等.低甲醇红枣发酵酒酿造工艺研究[J].食品科技,2023,48(5):76-83.
- [31] HU M Y, XUE Y, ZHAO L, et al. Comparison of flavor substances in dried shrimp products processed by *Litopenaeus vannamei* from two aquaculture patterns [J]. Journal of Ocean University of China, 2022, 21(6): 1682-1690.
- [32] 李风华.鸡肉香精的制备及其感官评价体系研究[D].上海:上海应用技术学院,2016.
- [33] 杨宁,张沙沙,周镭,等.兰茂牛肝菌酶解产物调味油美拉德反应增香工艺优化及电子鼻分析[J].食品工业科技,2024,45(5):177-186.
- [34] 童彦,雒莎莎,应铁进.鱼蛋白水解液美拉德反应条件优化及反应前后氨基酸组成变化[J].中国食品学报,2011, 11(8):101-106.
- [35] 柯志刚,吴涛,陈慧,等.贻贝蒸煮液美拉德反应制备海鲜调味基料工艺研究及其挥发性风味[J].食品与发酵工业,2024,50(1):232-240.
- [36] K A E W T A T H I P T, W A T T A N A - A M O R N P, B O O N S U P T H I P W, et al. Maillard reaction products-based encapsulant system formed between chitosan and corn syrup solids: Influence of solution pH on formation kinetic and antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133329.
- [37] 罗帅.酱香型大曲中黑曲形成机制及抑菌性能解析[D].无锡:江南大学,2022.
- [38] 吴俊杰,魏帮鸿,郭全友,等.即食烤制鲑鱼工艺优化及风味分析[J].食品与发酵工业,2024,50(9):219-226.
- [39] 任晓璞,王群霞,任少东,等.不同饲养方式对多浪羊肉矿物质、氨基酸含量及风味的影响[J].食品研究与开发,2023,44(18):25-32.