

豆腐柴果冻的制作工艺优化及其理化特性

汪文伦, 虞朝航, 黄燕, 李文彬, 袁庆, 熊贤龙, 周楠青, 林陈文毅, 喻仕瑞*

(茅台学院食品科学与工程系, 贵州仁怀 564507)

摘要: 为获得豆腐柴果冻制作工艺并对其总蛋白、总黄酮、果胶、抗氧化性、酶活抑制性进行评价。该研究以新鲜豆腐柴液为原料, 以硬度、咀嚼性、弹性及感官为响应值, 采用单因素及响应面优化得到豆腐柴果冻制作的工艺; 随后, 对豆腐柴果冻的 DPPH·清除率、ABTS⁺清除率、总蛋白、总黄酮及果胶进行测定, 同时以 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶为对象构建体外酶活抑制体系, 测定其对 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用。结果表明: 当豆腐柴果冻的最佳工艺条件为复配胶添加质量分数为 0.77%、白砂糖添加质量分数为 9.22%、柠檬酸添加体积分数为 0.09% 时, 其硬度、咀嚼性、弹性及感官评分分别为 325.71 gf、85.00 gf、0.82 和 85.66; 总蛋白质、总黄酮及果胶的含量分别为 5.96 mg/mL、1.42 mg/g、4.36 μ mol/g, DPPH·清除率、ABTS⁺清除率、总抗氧化能力的 IC₅₀ 分别为 924.6、1 013.0、614.9 mg/mL; 且对 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶活性有一定的抑制作用。该研究优化豆腐柴果冻制作工艺并初步分析其生理特性, 可为豆腐柴果冻制作工艺及其生物学功能的研究提供一定的参考。

关键词: 豆腐柴果冻; 硬度; 咀嚼性; 弹性; 感官分析; 响应面

文章编号: 1673-9078(2025)05-243-255

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.5.0436

Optimization of Production Process for *Premna microphylla* Turcz Jelly and Analysis of Its Physicochemical Properties

WANG Wenlun, YU Chaohang, HUANG Yan, LI Wenbin, YUAN Qing, XIONG Xianlong,

ZHOU Nanqing, LIN Chenwenyi, YU Shirui*

(Department of Food Science and Engineering, Moutai Institute, Renhuai 564507, China)

Abstract: The optimal conditions for producing *Premna microphylla* Turcz jelly from a fresh liquid extract of the plant were determined using single-factor experiments and response surface methodology, with the hardness, chewiness, elasticity, and sensory properties of the product used as response values. The physicochemical properties of the produced jelly, including its antioxidant capacity (free radical-scavenging ability) and total protein, total flavonoid, and pectin contents were also determined. Additionally, its inhibitory activities against α -amylase and α -glucosidase were established using *in vitro* enzyme activity inhibition assays. The results indicated the following as the optimal production conditions: 0.77% (*m/m*) of composite glue, 9.22% (*m/m*) of white sugar, and 0.09% (*V/V*) of citric acid. Under these conditions, the jelly hardness, chewiness, elasticity,

引文格式:

汪文伦, 虞朝航, 黄燕, 等. 豆腐柴果冻的制作工艺优化及其理化特性[J]. 现代食品科技, 2025, 41(5): 243-255.

WANG Wenlun, YU Chaohang, HUANG Yan, et al. Optimization of production process for *Premna microphylla* Turcz jelly and analysis of its physicochemical properties [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(5): 243-255.

收稿日期: 2024-04-06

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2024]一般659; 黔科合支撑[2019]2370); 中央引导地方科技发展专项资金项目(黔科中引地[2019]4006); 贵州省高等学校工程研究中心(黔教合KY字[2020]022); 茅台学院高层次人才科研启动经费项目(mygccrc[2022]087); 茅台学院高层次人才科研启动经费项目(mygccrc[2023]011)

作者简介: 汪文伦(1988-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品资源开发及综合化利用, E-mail: 1019159335@qq.com

通讯作者: 喻仕瑞(1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品资源开发及综合化利用, E-mail: 251171365@qq.com

and sensory score were 325.71 gf, 85.00 gf, 0.82, and 85.66, respectively. Moreover, its total protein, total flavonoid, and pectin contents were 5.96 mg/mL, 1.42 mg/g, and 4.36 $\mu\text{mol/g}$, respectively. The IC_{50} values for its DPPH and ABTS^+ free radical-scavenging activities and total antioxidant capacity were 924.6, 1 013.0, and 614.9 mg/mL, respectively. Furthermore, the jelly significantly inhibited α -amylase and α -glucosidase activities. In summary, the successful optimization of the production process for *P. microphylla* jelly and preliminary analysis of its physiological properties offer valuable insights into the manufacturing techniques for producing this plant product as well as its potential biological functions.

Key words: *Premna microphylla* Turcz jelly; hardness; chewiness; elasticity; sensory properties; response surface methodology

豆腐柴 (*Premna microphylla* Turcz., PMTs)^[1-3]又名观音草、腐婢, 是马鞭草科多年生落叶灌木, 主要生长在我国广西桂林、湖北郧西、陕西佛坪河南、湖南、贵州、重庆、安徽六安等地, 是一种食药兼备的药用植物, 其叶含果胶质 20%~30%、蛋白质 13.48%、粗纤维 9.87%、粗脂肪 3.79%, 并且矿质元素含量也极为丰富^[4]。豆腐柴具有清热解毒、消肿止血、主治毒蛇咬伤、创伤出血及抗炎等^[5,6]。豆腐柴因被制作成各种特色食品而被广泛关注, 如民间特色小吃“神仙豆腐”也成为夏季餐桌上的一道凉菜。而其在食品行业中的应用报道主要在酸奶^[7]、奶茶^[8]、豆腐^[9]、挂面^[10]、果冻^[11]、保健品^[12]及功能性饮料^[13]等产品方面, 产品种类丰富多样。然而, 豆腐柴榨汁液制作的食品在抗氧化性、酶活抑制等功能方面很少引起各领域的重视, 这对于充分利用好豆腐柴榨汁液对于豆腐柴资源的开发利用意义重大。

研究表明, 豆腐柴多数功能活性与其含有的黄酮和果胶等物质相关, 如豆腐柴豆腐可作为糖尿病人的代餐食品^[14]等, 其可能的原因是豆腐柴叶中富含的黄酮类化合物及天然果胶可直接或间接参与生物体多种代谢活动, 从而表现出具有抗氧化、降血脂、消炎、抗菌、抗肿瘤、降血糖、清洗消化道增加肠道益生菌及减轻阿尔兹海默症等作用^[15-17]。而如何充分利用豆腐柴叶, 在充分保证其营养价值的前提下进行特色食品的工艺优化研究还较少。然而, 有关豆腐柴叶的相关研究还集中在特色食品的开发上, 却忽略了豆腐柴果冻在其抗氧化性、酶活抑制性等功能的探索, 从而疏忽其作为保健食品开发的利用价值。

综上, 基于民间传统“神仙豆腐”制作工艺及类似的工艺研究^[18,19], 该文将以豆腐柴新鲜榨汁液为原料, 采用单因素、响应面法优化其果冻的制作工艺, 并探索其 DPPH、ABTS 自由基清除率、总抗氧化能力, 及体外抑制 α -淀粉酶及 α 葡萄糖苷酶

活性等生物学功能。研究结果可为豆腐柴榨汁液工业化应用、生物学功能探索及代餐食品的研究提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

豆腐柴榨汁液 (由本实验室制作完成, 叶: 水=1:2); 食品级白砂糖, 太古糖业有限公司上海分公司; 食品级柠檬酸, 河南高宝实业有限公司; 食品级魔芋胶, 湖北强森魔芋科技有限公司; 食品级卡拉胶, 河南中辰生物科技有限公司; 食品级抗坏血酸, 上海麦克林生化科技有限公司; 植物 RIPA 裂解液 (强)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒, 碧云天生物技术有限公司; DPPH 自由基清除能力检测试剂盒、总抗氧化能力检测试剂盒、 ABTS^+ 自由基清除能力检测试剂盒、总果胶含量检测试剂盒、总黄酮含量测定试剂盒, 北京盒子生工科技有限公司; 4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG)、3,5-二硝基水杨酸 (DNS)、阿卡波糖、玉米淀粉、 α -淀粉酶 (2 000 U/mg) 和 α -葡萄糖苷酶 (2 000 U/mg), 北京索莱宝科技有限公司。

1.2 主要仪器与设备

BGG-9140A 鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; FA2204N 电子天平, 上海菁海仪器有限公司; TDZ5-WS 离心机, 长沙湘仪离心仪器有限公司; 1530 酶标仪, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; KQ2200DE 数控超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司; 质构仪: SMS TA.XT plus, 配套软件为 Texture Exponent 32。

1.3 试验方法

1.3.1 总蛋白浓度检测

按照碧云天生物技术有限公司植物 RIPA 裂解液 (强) 的说明书提取果冻的总蛋白后, 根据 BCA

蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白浓度 (mg/mL)。

1.3.2 总果胶及总黄酮含量的检测

按照北京盒子生工科技有限公司生产的总果胶含量检测及总黄酮含量测定试剂盒说明书, 首先进行果冻的总果胶及黄酮含量的提取, 随后根据相关的说明书进行总果胶含量 ($\mu\text{mol/g}$) 及总黄酮含量 (mg/g) 的检测。

1.3.3 自由基清除能力及抗氧化能力检测

按照北京盒子生工科技有限公司生产的 DPPH 自由基清除能力检测试剂盒 (DPPH Free Radical Scavenging Ability Assay Kit)、总抗氧化能力检测试剂盒 (Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit)、ABTS⁺ 自由基清除能力检测试剂盒 (ABTS Free Radical Scavenging Ability Assay Kit) 的说明书进行自由基清除能力及抗氧化能力的检测。

1.3.4 α -淀粉酶活性抑制作用的检测

参照 3,5-二硝基水杨酸比色法^[20], 稍作修改。取 100 mg/mL 的豆腐柴果冻 (0.2 mL) 与 6 U/mL α -淀粉酶 (0.2 mL) 混合摇匀, 于 37 °C 水浴 5 min 后, 加入 0.15 mL 1% 淀粉溶液反应 5 min, 最后加入 0.2 mL DNS 溶液终止反应, 沸水浴 5 min, 取出避光冷去后, 用纯水定容至 1 mL, 并取 0.1 mL 在 540 nm 波长处测定吸光值 $A_{\text{样品}}$; 同样的处理条件下, 获得样品组空白对照组 (不含淀粉酶) 的吸光值为 $A_{\text{空白}}$ 。同样品组处理条件, 以阿卡波糖 (100 mg/mL, 0.2 mL) 作为阳性对照, 将样品组中的榨汁液换成阿卡波糖, 重复其操作, 获得吸光值 $B_{\text{阳性}}$; 而空白组 (不含淀粉酶) 吸光值为 $B_{\text{空白}}$ 。随后根据以下公式计算 α -淀粉酶抑制率:

$$D_1 = \frac{1 - (A_{\text{YP}} - A_{\text{Con}})}{B_{\text{Pos}} - B_{\text{Con}}} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

D_1 —— α -淀粉酶抑制率, %;

A_{YP} ——样品实验组的吸光值;

A_{Con} ——实验组空白对照组的吸光值;

B_{Pos} ——阳性对照组的吸光值;

B_{Con} ——阳性对照组空白对照组的吸光值。

1.3.5 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用的检测

参照潘玥等^[20]的研究方法稍作修改。取 100 mg/mL 的豆腐柴果冻 (0.2 mL) 与 3 U/mL α -葡萄糖苷酶 (0.2 mL) 混合摇匀, 于 37 °C 水浴 10 min 后, 加入 0.2 mL 6 mmol/L PNPG 混合均

匀, 于 37 °C 水浴 30 min 后, 加入 0.4 mL 1 mol/L Na_2CO_3 溶液终止反应, 400 nm 处测定吸光值 $A_{\text{样品}}$ 。同样的条件下, 获取样品组空白对照组 (不含葡萄糖苷酶) 的吸光值为 $A_{\text{空白}}$ 。另外, 以阿卡波糖 (100 mg/mL, 0.2 mL) 作为阳性对照, 既将样品组中的榨汁液换成阿卡波糖, 重复样品组的操作 (与样品处理条件相同), 获得吸光值 $B_{\text{阳性}}$; 空白组 (不含葡萄糖苷酶) 吸光值为 $B_{\text{空白}}$ 。随后根据以下公式计算 α -葡萄糖苷酶抑制率:

$$D_2 = \frac{1 - (A_{\text{YP}} - A_{\text{Con}})}{B_{\text{Pos}} - B_{\text{Con}}} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

D_2 —— α -葡萄糖苷酶抑制率, %;

A_{YP} ——样品实验组的吸光值;

A_{Con} ——实验组空白对照组的吸光值;

B_{Pos} ——阳性对照组的吸光值;

B_{Con} ——阳性对照组空白对照组的吸光值;

1.3.6 豆腐柴浆液及豆腐柴果冻制作的基础条件

根据参考文献^[14,18,21], 结合实验室所获得豆腐柴榨汁液 (实验室鲜榨保存), 添加抗坏血酸调节 pH 值 6.0 时, 用于后续的豆腐柴果冻制作工艺条件的优化研究。在此条件下得到的浆液, 色泽浅黄透明, 豆腐柴的清香味突出是制作豆腐柴果冻的优先选择。豆腐柴果冻制作的基础条件参照刘焕举^[14]、孙莹莹等^[22]研究结果, 稍作修改为复配胶添加质量分数为 0.7%、白砂糖添加质量分数为 8%、柠檬酸添加体积分数为 0.1% 为其后续工艺优化的基础条件。

1.3.7 感官评价

根据 GB19299-2015《食品安全国家标准 果冻》设计感官评分标准, 及参考文献^[14,18,21,23]稍作修改后, 用于本实验所作豆腐柴果冻的感官评价。豆腐柴果冻的感官评价指标包括组织状态、口感、气味和色泽等 4 个方面, 由 10 名有品评经验的人员组成的评定小组, 采用百分制, 对豆腐柴果冻做出严格评价, 豆腐柴果冻感官评价标准见表 1。

1.3.8 豆腐柴果冻质构的测定

根据参考文献^[24]稍作修改, 将豆腐柴果冻放置于质构仪的载物台上, 使用果冻配套模具, 调整至质构仪的探头下方, 对其进行 TPA (Texture Profile Analysis) 单项测试。样品大小为 2 cm×2 cm×2 cm 的正方体, 在测试前速度为 1.0 mm/s、测试中速度为 1.0 mm/s、测试后速度为 1.0 mm/s、压缩形变量为 50%、距离为 5 mm、触发力为 8 g、时间间隔为

3 s 及其他条件为默认值,对果冻进行质构测试,记录果冻的硬度、弹性、咀嚼性等质构指标。每个样品做 3 次测试后取平均值。

表 1 豆腐柴果冻感官评价标准		
Table 1 The criteria sensory evaluation of <i>Premna microphylla</i> Turcz Jelly		
评价项目	单项总分	评价标准
组织状态	30 分	外形完整光滑, 韧性透明度好, 内部无气泡 (21~30 分)
		外形完整光滑, 韧性好透明度一般, 内部有少许气泡 (11~20 分)
		外形完整光滑, 韧性差透明度差, 内部有气泡 (0~10 分)
口感	30 分	口感细腻富有弹性, 咀嚼性好无异味 (21~30 分)
		弹性较好, 咀嚼一般略有异味 (11~20 分)
		弹性差咀嚼有异味, 有颗粒感 (0~10 分)
气味	20 分	具有豆腐柴的清香味浓, 酸甜可口无异味 (14~20 分)
		豆腐柴的清香味较淡, 酸甜略有异味 (7~13 分)
		没有豆腐柴的清香味, 酸涩有异味 (0~6 分)
色泽	20 分	翠绿如玉无分层, 色泽均匀, 透光性好 (14~20 分)
		色泽碧绿, 色泽较均匀, 略有分层, 透光性较好 (7~13 分)
		呈现黄褐色有分层, 透光性差 (0~6 分)

1.3.9 微生物检测

大肠菌群的检测: 参照 GB/T 4789.3-2016《食品安全国家标准 食品微生物检验 大肠菌群计数》中的大肠菌群 MPN 计数法进行测定。

菌落总数的检测: 参照 GB/T 4789.2-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行测定。

霉菌总数的检测: 参照 GB 4789.15-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》进行测定。

1.3.10 复配胶最适比例的筛选

根据参考文献^[18]稍微修改,在豆腐柴果冻制作的基础条件下,以卡拉胶:魔芋胶进行复配比例的筛选。并以硬度、弹性和咀嚼性为指标,探索不同比例的食用胶对豆腐柴果冻硬度、弹性和咀嚼性的影响。设计比例如下:1:1、1:1.5、1:2、1:2.5、1:3、2:1、2:1.5、2:2、2:2.5、2:3、3:1、3:1.5、3:2、3:2.5、3:3。

1.3.11 单因素试验

以豆腐柴果冻硬度、弹性和咀嚼性为指标,设置不同梯度的复配胶添加量(质量分数)、白砂糖

添加量(质量分数)、柠檬酸添加量(体积分数),以探索其对豆腐柴果冻硬度、弹性和咀嚼性的影响。各个单因素设计的梯度如表 2 所示。

表 2 单因素实验设计水平					
Table 2 Levels in single factor experiment design					
因素	梯度				
A 复配胶添加量 (质量分数, %)	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
B 白砂糖添加量 (质量分数, %)	1.00	3.00	6.00	9.00	12.00
C 柠檬酸添加量 (体积分数, %)	0.08	0.10	0.12	0.14	0.16

1.3.12 Central Composite Design (CCD) 实验设计

根据参考文献^[25-27]及最陡爬坡实验分析结果,以豆腐柴果冻硬度、弹性和咀嚼性作为响应值,对复配胶添加量(质量分数)、白砂糖添加量(质量分数)、柠檬酸添加量(体积分数)3 个因素进行研究,采用 Design Expert 13 软件中的 Central Composite Design (CCD) 方法进行响应面设计,对豆腐柴果冻制作工艺条件进行优化。因素水平详见表 3。

表 3 Central Composite Design (CCD) 实验因素水平					
Table 3 Factors and levels in Central Composite Design					
因素	水平				
	-1.681 79	-1	0	1	1.681 79
A 复配胶添加量 (质量分数, %)	0.63	0.70	0.80	0.90	0.99
B 白砂糖添加量 (质量分数, %)	7.32	8.00	9.00	10.00	10.68
C 柠檬酸添加量 (体积分数, %)	0.07	0.08	0.10	0.12	0.13

1.4 数据处理与统计分析

所有数据均采用 Design Expert 13、GraphPad Prism 9 和 Excel 软件进行数据处理和图形的可视化,实验结果以均数±平均值的标准误差(mean±SD)表示。单因素实验样本进行标准误差分析;显著性分析采用 Design Expert 13 内部功能, $P<0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 复配胶最佳配比的分析

由图 1 可知,在豆腐柴果冻制作的基础条件下,添加不同比例的食用胶对豆腐柴果冻的咀嚼性、

硬度、弹性、感官评分的最大值分别为 141.44 gf (图 1a)、344.17 gf (图 1b)、0.873 (图 1c)、71.33 (图 1d)。图 1a 和图 1b 显示, 当卡拉胶/魔芋胶的比例在 2/3~3/3 之间时, 豆腐柴果冻的咀嚼性和硬度先增大后减少, 并在卡拉胶:魔芋胶=3:1 时出现最大值。而豆腐柴果冻的弹性和感官的值没有变化规律(图 1c 和图 1d), 这可能的原因是食用胶比例的变化, 引起胶体结构变化、果冻脆性变化等引起。有研究表明^[24]当果冻咀嚼性、硬度、弹性分别在 80~150 gf、200~600 gf、0.70~0.95 之间时, 果冻质构与感官评分之间存在一定的相关性, 并与常见市售果汁果冻的咀嚼性、硬度、弹性等类似。基于研究数据和前人的研究报道^[24], 该研究选择卡拉胶:魔芋胶=3:1 时, 作为后续豆腐柴果冻优化试验。

2.2 复配胶添加量对豆腐柴果冻质构和感官的影响

由图 1 分析确定卡拉胶:魔芋胶=3:1 后, 将他们按比例混合, 用于复配胶添加量的单因素实验及后续实验研究。由图 2 可知, 除豆腐柴果冻的硬度随着复配胶添加量的上升而上升之外, 而咀嚼性、

弹性及感官都随复配胶添加量的增加呈先上升后下降趋势, 这可能的原因是复配胶添加量的提高会导致果冻结构、溶解性、吸水性等的改变^[18,22], 进而导致果冻硬度在浓度范围逐渐上升; 咀嚼性、弹性和口感达到峰值后, 因硬度过硬而逐渐下降。当复配胶添加比例为 0.6% 时, 咀嚼性、弹性及感官最好, 分别为 86.75 gf、0.89、87.67。因此, 为进一步优化豆腐柴果冻制作工艺, 选择 0.8% 用于 PB 实验设计。

2.3 白砂糖添加量对豆腐柴果冻质构和感官的影响

由图 3 可知, 豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性及感官随着白砂糖添加量上升而呈现先上升后下降趋势。在白砂糖添加比例为 9% 时, 咀嚼性、硬度、弹性及感官达到峰值, 分别为 63.69 gf、215.81 gf、0.833 及 91.00。白砂糖添加量的增加, 会适当的增加果冻的口感, 但也可能使果冻的结构、黏度等发生变化来影响其咀嚼性、硬度、弹性等^[28]。因此, 为进一步优化豆腐柴果冻制作工艺, 选择 9% 用于 PB 实验设计。

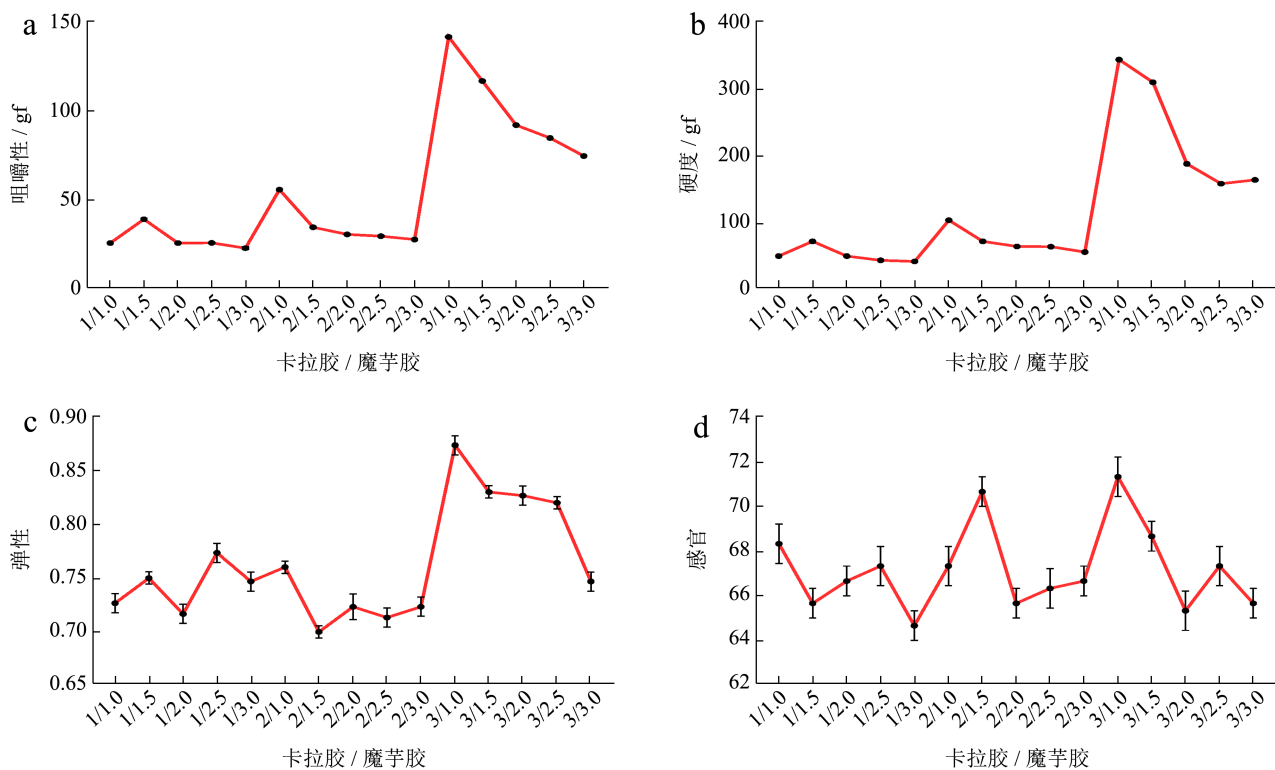


图 1 卡拉胶/魔芋胶不同比例下的质构和感官分析

Fig.1 Textural and sensory analysis at different ratios of Carrageenan/konjac gum

注: 图中所有结果都使用均值 ± 标准误差, 结果经过三次重复实验验证。下同。

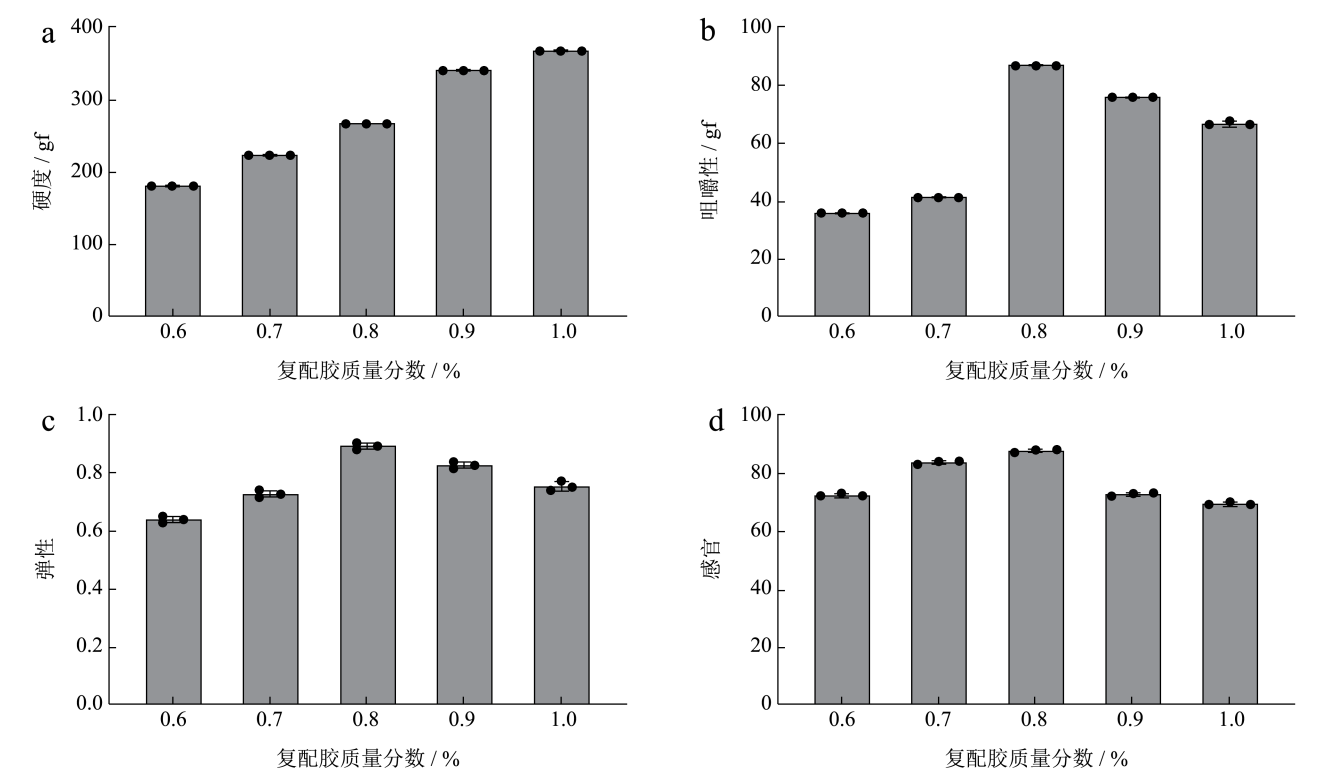


图 2 不同复配胶添加量对豆腐柴果冻质构和感官分析

Fig.2 Textural and sensory analysis at different addition ratios of compound glue

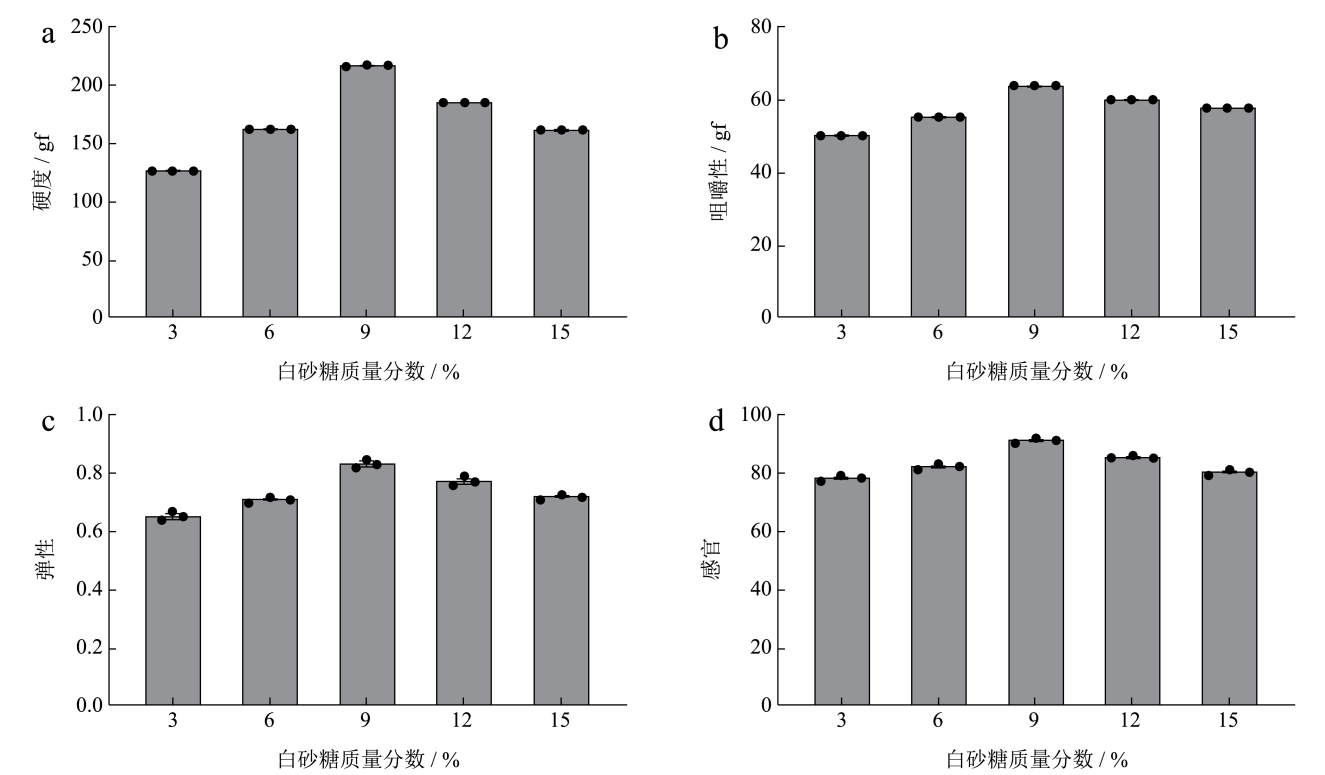


图 3 不同白砂糖添加量对豆腐柴果冻质构和感官分析

Fig.3 Textural and sensory analysis at different addition ratios of white sugar

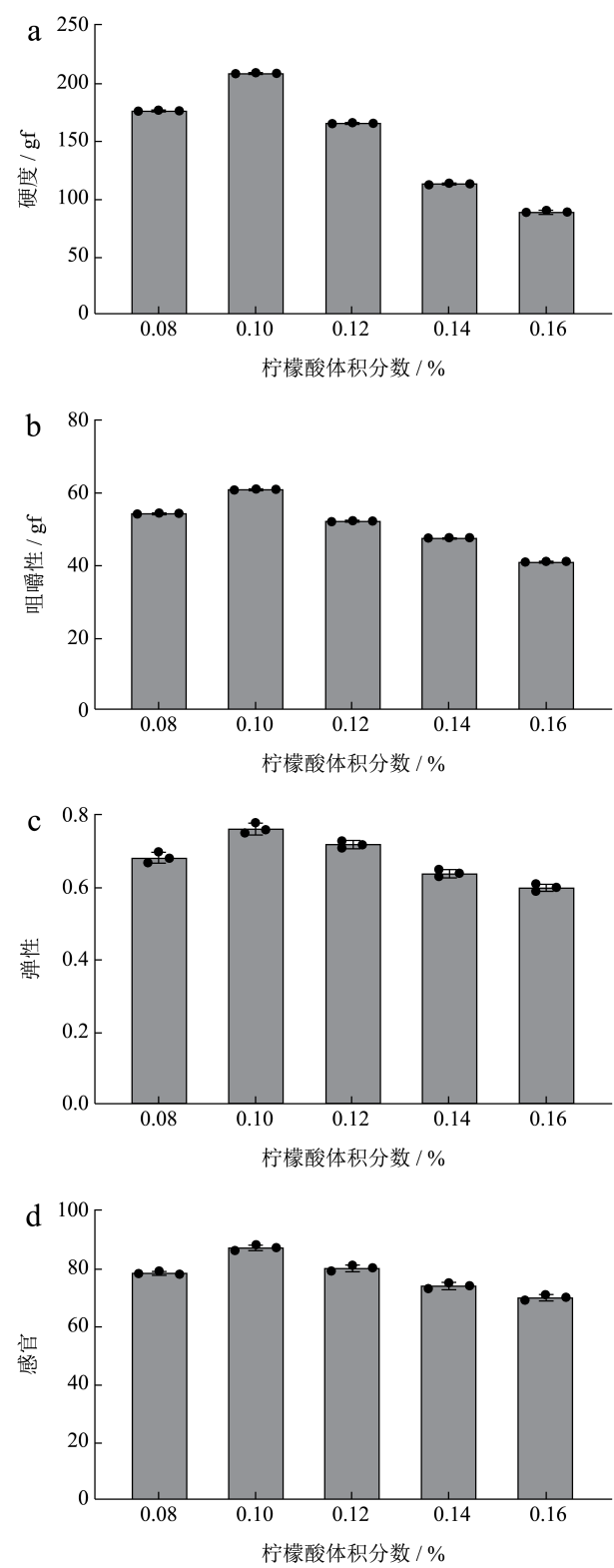


图 4 不同柠檬酸添加量对豆腐柴果冻质构和感官分析
Fig.4 Textural and sensory analysis at different addition ratios of citric acid

2.4 柠檬酸添加量对豆腐柴果冻质构和感官的影响分析

由图 4 可知，豆腐柴果冻的咀嚼性、硬度、弹

性及感官随着柠檬酸添加量上升而呈现先上升后下降趋势。研究表明^[29]柠檬酸添加量的逐渐增加，可能使果冻的凝固性、pH 等会发生改变^[30]，从而影响果冻的咀嚼性、硬度、弹性及感官。在柠檬酸添加比例为 0.10% 时，咀嚼性、硬度、弹性及感官达到峰值，分别为 60.82 gf、208.64 gf、0.72 及 87.00。因此，为进一步优化豆腐柴果冻制作工艺，选择 0.10% 用于 PB 实验设计。

2.5 响应面实验结果与分析

以咀嚼性、硬度、弹性及感官为响应值，通过 Plackett-Burman (PB) 实验设计，对 PB 实验结果进行回归方程求解及方差分析。采用 Design-Expert13 软件对中豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性及感官结果进行方差分析。结果显示实验模型达到显著水平 ($P < 0.0001$)，响应值硬度的变异性可以用编码因子表示的最终方程来解释，对该模型进行回归分析可得以下回归方程：

$$Y_{\text{che/gf}}=55.32+4.79X_1-8.05X_2-4.23X_3, R^2=0.9569$$

$$Y_{\text{Har/gf}}=221.04+25.87X_1-4.21X_2-5.16X_3, R^2=0.9740$$

$$Y_{\text{Ela}}=0.69+0.06X_1-0.03X_2-0.09X_3, R^2=0.9766$$

$$Y_{\text{Sen}}=80.42+1.75X_1-2.75X_2-2.92X_3, R^2=0.9609$$

进一步分析结果显示：设计的水平范围内 X_1 （复配胶添加量， $P < 0.001$ ）、 X_2 （白砂糖添加量， $P < 0.05$ ）和 X_3 （柠檬酸添加量， $P < 0.05$ ）对豆腐柴果冻硬度、咀嚼性、弹性及感官的影响显著。为了获得豆腐柴果冻制作的最优工艺，通过 Design Expert 13.0 软件对回归方程进行求解，获得 X_1 （复配胶添加量）、 X_2 （白砂糖添加量）和 X_3 （柠檬酸添加量）最佳值，并结合实际操作的需要，选择 X_1 为 0.8%、 X_2 为 9%、 X_3 为 0.1% 为中心点，进行最陡爬坡实验设计。

其次，结合回归方程可知， X_1 （复配胶添加量，A）对豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性、感官产生正效应作用，而 X_2 （白砂糖添加量，B）和 X_3 （柠檬酸添加量，C）产生负效应作用，并结合 Design Expert 13.0 软件分析结果，完成最陡爬坡实验设计。由结果可知，豆腐柴果冻的硬度随着复配胶添加量的增加而增加，而豆腐柴果冻的咀嚼性、弹性、感官在 $X_1=0.8\%$ 、 $X_2=9\%$ 、 $X_3=0.1\%$ 时出现最大值，分别为 52.54 gf、0.63、86.00。综合试验数据并结合实际的操作，选择 $X_1=0.8\%$ 、 $X_2=9\%$ 、 $X_3=0.1\%$ 作为 CCD 响应面试验设计的中心点，进行豆腐柴果冻制

作工艺的响应面优化试验。

在单因素、PB 及最陡爬坡实验基础上，采用响应面法对豆腐柴果冻制作工艺条件进行优化，以复配胶添加量、白砂糖添加量、柠檬酸添加量为自变量，以豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性、感官作为因变量 Y ，响应面设计与结果见表 4。

使用 Design Expert 13.0 软件对表 4 中的数据分别以响应值硬度、咀嚼性、弹性、感官进行多元回归拟合分析。所得多元回归方程如下：

$$Y_{\text{Che/gf}}=323.36-5.39A+2.43B-6.22C-7.03AB+6.28AC-5.13BC+13.07A^2-14.96B^2-13.21C^2, R^2=0.988\ 7$$

$$Y_{\text{Har/gf}}=84.11-2.53A+1.08B-2.32C-1.95AB+1.62AC-2.30BC-5.12A^2-5.46B^2-4.96C^2, R^2=0.987\ 5$$

$$Y_{\text{Ela}}=0.82-0.02A+0.01B+0.01C+0.02AB-0.02AC+0.01BC-0.03A^2-0.04B^2-0.04C^2, R^2=0.988\ 4$$

$$Y_{\text{Sen}}=85.01-0.02A+0.91B-1.84C-1.37AB+1.13AC-1.37BC-3.38A^2-3.91B^2-3.56C^2, R^2=0.989\ 9$$

回归模型方程方差分析和显著性检验结果。

回归方程中一次项 A、B、C，交互项 AB、AC、BC，二次项 A2、B2、C2 分别对豆腐柴果冻硬度、咀嚼性、弹性、感官的影响极显著 ($P<0.05$)。且硬度、咀嚼性、弹性、感官模型的 F 值分别为 67.86 ($P<0.000\ 1$)、61.35 ($P<0.000\ 1$)、66.09 ($P<0.000\ 1$)、75.92 ($P<0.000\ 1$)，说明响应值对模型的影响极显著。失拟项的 F 值分别为 0.531 3 ($P=0.754\ 2>0.05$)、0.117 8 ($P=0.975\ 3>0.05$)、2.63 ($P=0.298\ 3>0.05$)、0.430 5 ($P=0.806\ 5>0.05$)，表明失拟项差异不显著，结合模型的相关系数 R^2 分别达到 0.988 7、0.987 5、0.988 4、0.989 9，说明结果与模型预测有着良好的一致性，建立的回归模型与实验拟合程度较好，可用于豆腐柴果冻硬度、咀嚼性、弹性、感官的分析和预测。综合分析各因素的 P 值和 F 值可知，各因素对于豆腐柴果冻硬度、感官影响大小由主到次为：柠檬酸添加量、复配胶添加量、白砂糖添加量，而对于咀嚼性、弹性影响大小由主到次则为：复配胶添加量、柠檬酸添加量、白砂糖添加量。

表 4 Central Composite Design实验结果
Table 4 The designs and results of Central Composite Design

实验号	X_1	X_2	X_3	$Y_{\text{(硬度/gf)}}$	$Y_{\text{(咀嚼性/gf)}}$	$Y_{\text{(弹性)}}$	$Y_{\text{(感官)}}$
1	-1	1	-1	311.60	79.20	0.78	82
2	1	-1	-1	273.60	66.20	0.68	72
3	0	0	0	326.80	86.40	0.82	86
4	-1	-1	-1	285.30	70.10	0.71	75
5	1	1	1	266.50	63.60	0.67	70
6	0	-1.682	0	277.40	67.50	0.70	73
7	0	0	0	323.90	83.10	0.81	85
8	0	0	1.682	273.60	66.20	0.68	72
9	-1	1	1	281.20	68.80	0.72	74
10	0	0	-1.682	299.40	74.20	0.74	78
11	0	0	0	319.20	82.80	0.82	84
12	-1.682	0	0	296.40	74.60	0.74	78
13	-1	-1	1	269.80	64.90	0.67	71
14	1	1	-1	277.40	67.50	0.69	75
15	1	-1	1	288.80	67.50	0.73	74
16	1.682	0	0	277.40	64.90	0.69	73
17	0	1.682	0	285.70	70.10	0.72	75

硬度和感官是果冻物理特性中的重要指标。响应面和等高线图显示,随着柠檬酸和复配胶添加百分比的增加,硬度(图5)和感官(图6)均呈现先上升后下降的趋势,这表明适量的柠檬酸和复配胶能够改善果冻的结构,增强其硬度和口感。相比较于复配胶、白砂糖而言,而柠檬酸的响应面曲线陡峭、等高线相对密集,其添加量变化对果冻硬度和感官的影响要大于复配胶与白砂糖,这可能与柠檬酸调节果胶的溶解度、影响复配胶的结构有关^[18,31]。图5、6中等高线均趋于椭圆形且较陡,表明各因素之间交互显著,该研究中柠檬酸是最为重要的影响因素,且各因素之间的交互作用不是简单的线性关系,在优化豆腐柴果冻制作工艺的过程中需要考虑各因素之间的交互作用,以获得更好的果冻硬度和口感。

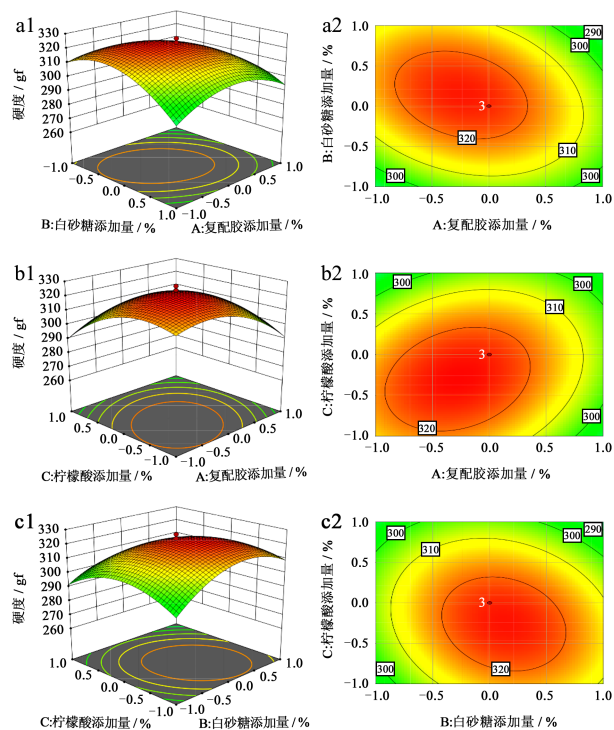


图5 不同条件下豆腐柴果冻硬度的响应面和等高线图

Fig.5 Response surfaces and contour maps of Hardness value under different conditions of production process of *Premna microphylla* Turcz Jelly

另外,相比较于白砂糖而言,果冻咀嚼性(图7)、弹性(图8)随着复配胶和柠檬酸添加量的增加而呈先上升后下降的趋势,且他们的响应面曲线陡峭、等高线相对密集,表明其对果冻咀嚼性和弹性影响更为显著;进一步分析发现,复配胶具有增加果冻

的硬度、调节结构变化等功能^[18,28],相比较于柠檬酸而言,其响应面曲线较陡峭及等高线密集,对果冻咀嚼性、弹性的影响更为显著。图7、8中等高线均趋于椭圆形且较陡,表明各因素之间交互显著,该研究中复配胶是最为重要的影响因素,且各因素之间的交互作用不是简单的线性关系,在优化豆腐柴果冻制作工艺的过程中需要考虑各因素之间的交互作用,以获得更好的果冻咀嚼性和弹性。

综合响应面实验结果与分析,为了获得豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性及感官的最优工艺,利用 Design Expert 13.0 软件对以上回归方程进行最值求解,得到模型极值点。预测结果显示:即当复配胶为 0.77%、白砂糖为 9.22%、柠檬酸为 0.09% 时,豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性及感官评分分别为 325.71、85.00 gf、0.82 和 85.66。

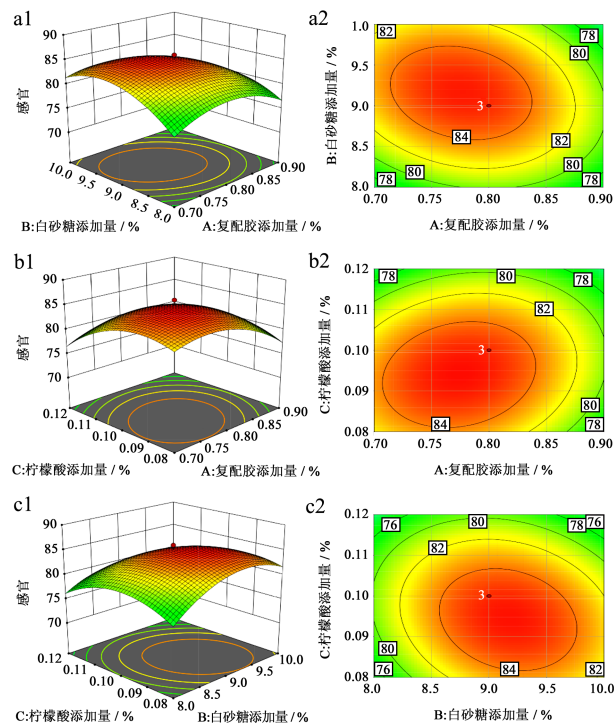
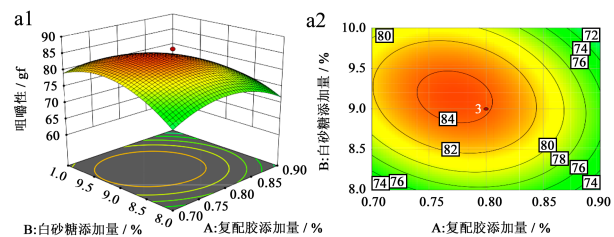


图6 不同条件下豆腐柴果冻感官的响应面和等高线图

Fig.6 Response surfaces and contour maps of sensory analysis under different conditions of production process of *Premna microphylla* Turcz Jelly



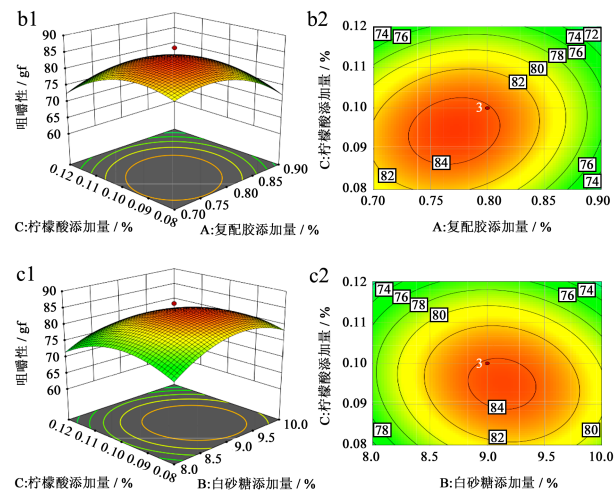


图 7 不同条件下豆腐柴果冻咀嚼性的响应面和等高线图

Fig.7 Response surfaces and contour maps of chewiness value under different conditions of production process of *Premna microphylla* Turcz Jelly

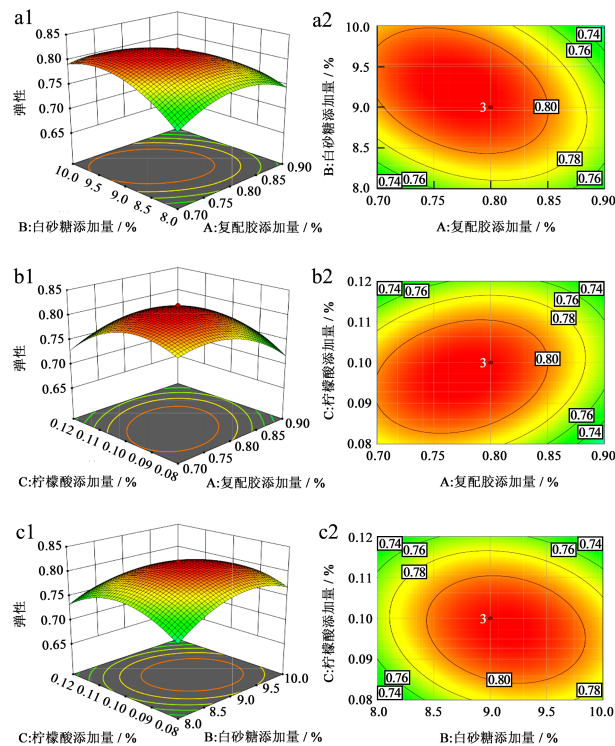


图 8 不同条件下豆腐柴果冻弹性的响应面和等高线图

Fig.8 Response surfaces and contour maps of elasticity value under different conditions of production process of *Premna microphylla* Turcz Jelly

2.6 最优条件预测及验证

利用 Design Expert 13.0 软件对所有因子进行组合预测，在模型的拟合范围内进行模拟预测推演，得到的提取最优方案及预测结果见表 5。对响应面实验的可靠性进行验证，考虑到理论数值与实际操

作的差异性，对工艺条件取整改良（表 5）进行验证。实验验证的果冻硬度、咀嚼性、弹性及感官分别为 306.61 gf、82.84 gf、0.768、83.67。验证值与预测值接近，说明回归方程能有效反应各因素对豆腐柴果冻中硬度、咀嚼性、弹性及感官的影响，可以用于预测豆腐柴果冻中硬度、咀嚼性、弹性及感官变化。通过工艺的优化，相比较于前人单独使用豆腐柴液制作的豆腐而言^[13,14,21-23]，其硬度提升 1.5~3.0 倍左右，气味、颜色、质地及口感等方面都较好，但在向市场推广之前还需要进一步的通过消费者感官检验、产品概念检验。

表 5 Design Expert 13.0预测最优工艺条件及验证

工艺条件统计表

Table 5 Statistical tables of the optimal process conditions from Design Expert 13.0 and verify process conditions

	序 号	复配 胶/%	白砂 糖/%	柠檬 酸/%	硬度/ gf	咀嚼 性/gf	弹 性	感 官
软件 预测	1	0.767	9.217	0.093	325.71	85.00	0.82	85.66
实验 验证	1	0.77	9.22	0.09	306.61	82.84	0.77	83.67

2.7 豆腐柴果冻的理化性质

2.7.1 豆腐柴果冻自由基清除率及总抗氧化能力的测定

如图 9 所示，随着豆腐柴果汁添加量增加对 DPPH、ABTS⁺ 自由基清除率及总抗氧化能力均逐渐上升，对于 DPPH、ABTS⁺ 自由基清除 IC₅₀ 分别为 924.6、1 013.0 mg/mL，以及总抗氧化能力的 IC₅₀ 为 614.9 mg/mL。豆腐柴果冻与石榴、茶叶、草莓、沙棘等制作的饮品中所含的多酚类化合物的抗氧化能力^[32-38]类似，说明其具有较好的抗氧化能力。

2.7.2 豆腐柴果冻对α-淀粉酶及α-葡萄糖苷酶活性的抑制

食物中淀粉可经过 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶消化成为人类可吸收的葡萄糖。然而，维持血糖稳定、适当抑制或降低碳水化合物的吸收，对于糖尿病人而言是具有重要作用^[39,40]。因此，寻找能够抑制 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的活性的物质，具有重要的意义。由图 10a 可知，豆腐柴果冻中含有丰富蛋白质、黄酮及果胶等物质，其中每 100 mg/mL 的豆腐柴果冻中，总蛋白、总黄酮及果胶的含量分别为 5.96 mg/mL、1.42 mg/g、4.36 μmol/g。图 10b、10c

可知豆腐柴果冻对 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶活性具有一定的抑制。相比较于阿卡波糖而言，豆腐柴果冻对 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶活性抑制率分别为 28.61%、17.40%。该研究结果与刘焕举等^[14]在豆腐柴果冻的结果类似。豆腐柴果冻具有抑制 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶活性，这可能与其含有果胶、黄酮、多酚类化合物等相关^[41,42]。

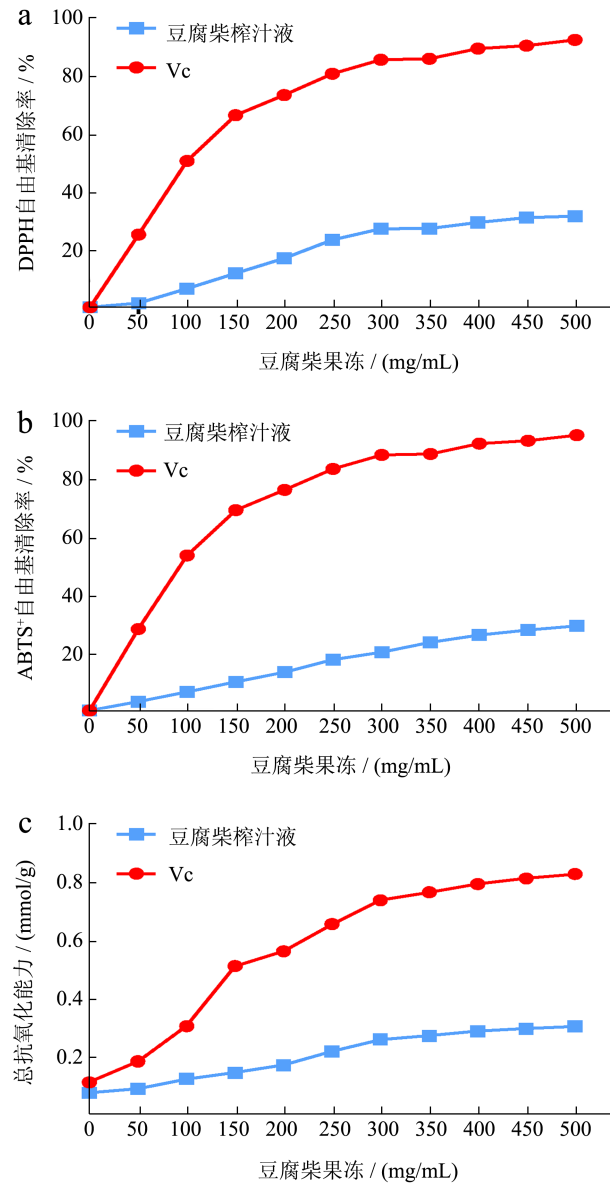


图 9 豆腐柴果冻抗氧化能力分析
Fig.9 Analysis of antioxidant capacity of *Premna microphylla* Turcz Jelly

注：(a) DPPH 自由基的清除作用；(b) ABTS⁺ 自由基的清除作用；(c) T-AOC 总抗氧化能力。

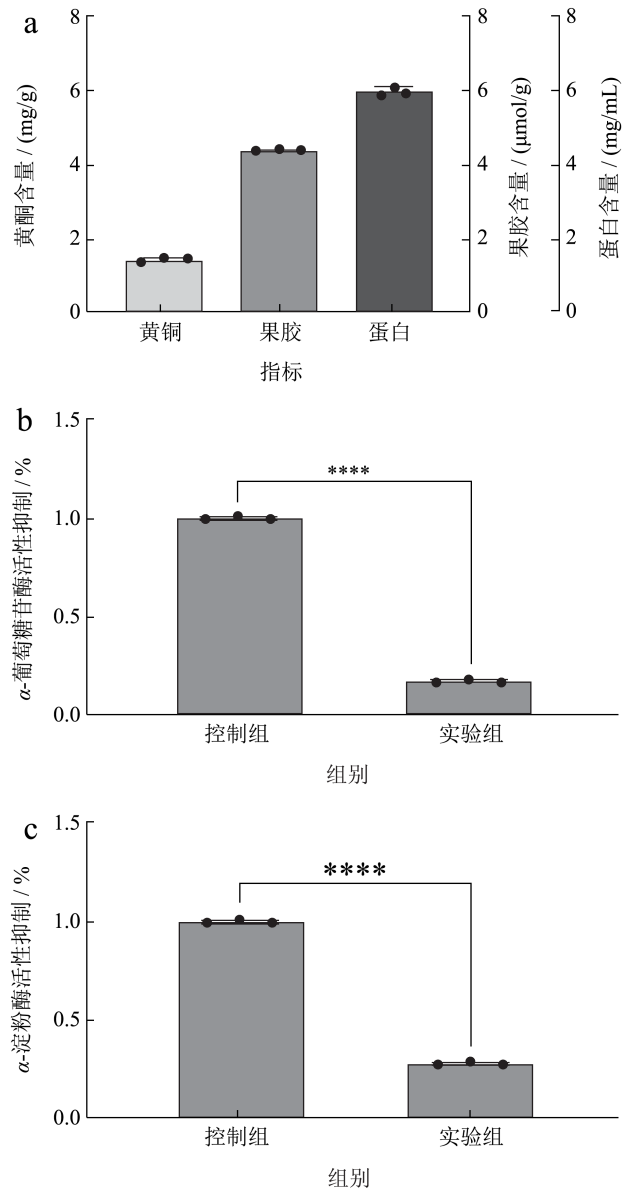


图 10 豆腐柴果冻的成分分析及酶活抑制作用
Fig.10 Component analysis and enzyme activity inhibitory effect of *Premna microphylla* Turcz Jelly

注：**** $P < 0.0001$ 。

2.7.3 豆腐柴果冻的微生物指标

根据国家标准 GB/T 19883-2018 测定果冻中可溶性固形物 and 国家标准 GB 19299-2015 测定果冻中菌落总数、大肠菌数、霉菌的含量。通过菌落计数法和图 11 统计可知，豆腐柴果冻中菌落总数、大肠杆菌数、霉菌含量分别为 12、0、0 CFU/g，可溶性固形物为 15%。符合国家标准 GB 19299-2015 规定的相关要求。

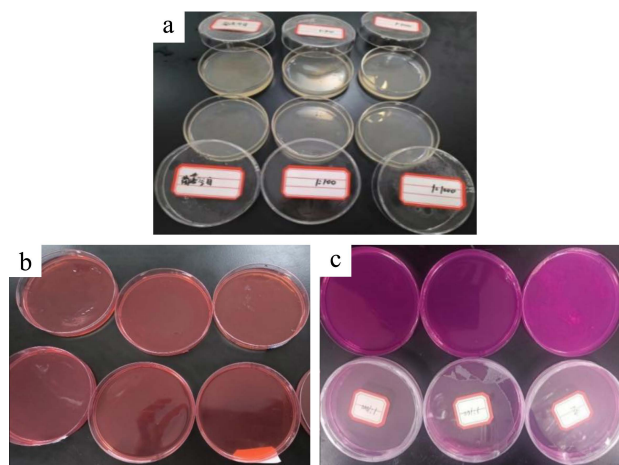


图 11 豆腐柴果冻微生物指标检测

Fig.11 Microbial indicator detection of *Premna microphylla* Turcz Jelly

注：(a) 豆腐柴果冻菌落总数检测；(b) 豆腐柴果冻中大肠杆菌菌落总数检测；(c) 豆腐柴果冻中霉菌检测。

3 结论

该研究选豆腐柴新鲜汁液为原料，以豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性及感官为指标，采用单因素、PB 实验、最陡爬坡实验及响应面优化得到豆腐柴果冻制作的工艺条件为：即当复配胶添加量为 0.77%、白砂糖添加量为 9.22%、柠檬酸添加量为 0.09% 时，豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性及感官评分分别为 325.71、85.00 gf、0.82 和 85.66。各因素对于豆腐柴果冻的硬度、咀嚼性、弹性及感官的影响大小由主到次分别为：复配胶添加量、柠檬酸添加量、白砂糖添加量。所得豆腐柴果冻的总蛋白质、总黄酮及果胶的含量分别为 5.96 mg/mL、1.42 mg/g、4.36 $\mu\text{mol/g}$ ，且对具有一定的自由基清除能力和抗氧化能力， IC_{50} 分别为 924.6、1 013.0、614.90 mg/mL；且对 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶活性有一定的抑制作用。说明在该文所优化的工艺条件下获得的豆腐柴果冻可为后续的特色食品的开发提供研究基础。

参考文献

[1] 赵若寒,刘佳奇,张艺,等.豆腐柴果胶凝胶特性及其凝胶食品应用[J].浙江农业学报,2022,34(9):2013-2019.
[2] HUANG Z, XING G, TU C, et al. Effect of *Premna microphylla* Turcz leaves' extract addition on physicochemical and antioxidant properties of packed tofu by lactic fermentation [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2020,

55(6): 2541-2550.

[3] TANG G, LIN X, LI J, et al. Pharmacognostical studies of *Premna microphylla* [J]. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2018, 28(5): 520-526.
[4] 徐汶,王光辉,王存文,等.咔唑比色法测定豆腐柴叶果胶含量的研究[J].食品与机械,2006,22(3):133-135.
[5] 赵宏伟.豆腐柴叶发酵工艺的研究[J].现代食品,2022, 28(6):86-89.
[6] 徐安书.豆腐柴叶凝胶的影响因素研究[J].安徽农业科学,2022,50(2):172-175.
[7] 李刚凤,严红波,杨丽娟,等.响应面法优化豆腐柴叶液态酸奶的发酵工艺[J].食品工业,2020,41(10):27-32.
[8] 邓诺梅,董帅,付嘉艳,等.豆腐柴奶茶最优工艺[J].食品工业,2022,43(8):75-78.
[9] 杨玉美,汤鹏宇,黄道梅,等.生、熟浆工艺包浆豆腐挥发性风味物质差异分析[J].现代食品科技,2024,40(5):231-239.
[10] 杨子欣,公艳,高蕾.豆腐柴叶烫漂液对马铃薯挂面品质的影响[J].食品工业科技,2018,39(19):70-75.
[11] 张得正,余克志,张彤.基于分形理论的火龙果冻干过程数值模拟[J].食品与机械,2022,38(11):143-148.
[12] 朱玥明,陈朋,刘德川,等.海藻寡糖的生理活性与酶法转化研究进展[J].食品与生物技术学报,2022,41(8):22-34.
[13] 徐安书,刘健.秋季豆腐柴鲜叶豆腐加工工艺条件研究[J].中国野生植物资源,2019,40(23):133-137.
[14] 刘焕举,高月滢,刘飞,等.豆腐柴果冻的制作工艺优化及其降血糖活性研究[J].食品安全质量检测学报,2018, 9(10):2463-2469.
[15] 李宇,孙钟雷,闻凤,等.柚子黄酮、果胶的提取及保健饮料的研制[J].食品工业,2012,33(6):58-61.
[16] 李占明,俞玥,梁奕,等.体外模拟消化过程中果胶对竹叶黄酮生物可及性的影响[J].食品科学,2020,41(11):43-49.
[17] 颜潇娜,王泽,李荣芳.藤茶黄酮对阿尔兹海默症作用机制的研究进展 [J].现代食品科技,2023,39(8):343-351.
[18] 徐安书,王艳领.豆腐柴果味果冻的凝固剂优化[J].安徽农业科学,2023,51(4):178-181.
[19] 万宇榕,郭阳,麦心念,等.榛仁内酯豆腐的制作工艺[J].现代食品科技,2020,36(2):210-217.
[20] 潘玥,刘小莉,王英,等.蓝莓叶多酚对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的体外抑制活性研究[J].天然产物研究与开发,2022, 34(4):579-587.
[21] 张翔,谢文君.豆腐柴叶制作观音豆腐的工艺[J].食品工业,2019,40(9):112-115.
[22] 孙莹莹.“神仙豆腐”加工工艺优化[J].保鲜与加工,2017, 17(2):64-67.
[23] 李刚凤,严红波,康明,等.豆腐柴叶豆腐的加工工艺优化 [J].食品研究与开发,2017,38(4):68-74.
[24] 刘朝龙,王雨生,陈海华,等.果冻质构与感官评定相关性

- 的研究[J].青岛农业大学学报(自然科学版),2012,29(2): 115-120.
- [25] WANG W, WU X, TAN J, et al. Using response surface methodology optimize culture conditions for human lactoferrin production in desert *Chlorella* [J]. *Protein Expression and Purification*, 2019, 155(2019): 130-135.
- [26] 汪文伦,牟云,胡梦薇,等.沙漠小球藻转人乳铁蛋白的电转优化[J].食品与生物技术学报,2018,37(9):915-923.
- [27] 韦云伊,程忠,雷霆德,等.响应面法优化火龙果真空冷冻干燥工艺[J].食品与机械,2021,37(7):200-206.
- [28] LE H, WANG X, WEI Y, et al. Making polyol gummies by 3D printing: Effect of polyols on 3D printing characteristics [J]. *Foods*, 2022, 11(6): 874-889.
- [29] 陈磊,周忠雨,王晓琼,等.豆腐柴中功能性成分提取及产品开发的研究进展[J].食品研究与开发,2021,42(7):209-214.
- [30] 陈佳诗,张利平,王旭峰,等.pH条件对肌原纤维蛋白乳液微凝胶性质的影响[J].食品与生物技术学报,2022, 41(12):58-67.
- [31] 王海蓝,姚芳,祁兴普,等.白果饮料的稳定性分析[J].现代食品科技,2021,37(8):220-225.
- [32] 李东香,关荣发,黄海智,等.3种新疆沙棘黄酮的提取优化及抗氧化活性对比[J].中国食品学报,2023,23(4):157-167.
- [33] MARTIMIANAKI G, ALICANDRO. Tea consumption and gastric cancer: a pooled analysis from the stomach cancer pooling (StoP) project consortium [J]. *British Journal of Cancer*, 2022, 127(4): 726-734.
- [34] YIN J, YANG L, MOU L, et al. A green tea-triggered genetic control system for treating diabetes in mice and monkeys [J]. *Science Translational Medicine*, 2019, 11(515): 8826-8839.
- [35] 赵学旭,武蕊,衣春敏,等.沙棘果渣粉的超微冷冻粉碎制备及其理化性质与结构特性[J].现代食品科技,2022, 38(5):87-95.
- [36] 王秋丹,赵凯迪,林长青.沙棘多糖对胰岛素抵抗HepG2细胞氧化应激的保护作用与机制[J].食品与机械,2022, 38(3):167-172.
- [37] 宁志雪,牛广财,朱立斌,等.沙棘活性成分、生理功能及开发利用研究进展[J].食品与机械,2021,37(11):221-227.
- [38] 李慧,田家瑶,庞姗姗,等.聚乙烯醇/纳米纤维素/石榴皮多酚复合抗菌薄膜性能研究[J].食品与机械,2023, 39(4):103-109.
- [39] WARDMAN J F, BAINS. Carbohydrate-active enzymes (CAZymes) in the gut microbiome [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20(9): 542-556.
- [40] SHI J A K, YEUNG D. Saponins from edible legumes: Chemistry, processing, and health benefits [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2004, 7(1): 67-68.
- [41] 马青,唐民科.线叶金雀花的研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2018, 20(6):998-1003.
- [42] 黄修晴,初众,房一明,等.植物多酚降血糖机制的研究进展[J].食品工业科技,2021,42(18):461-469.