

板枣发酵酒的生产工艺优化及体外消化

汪江波, 薛超越, 朱嘉璐, 何超, 沈艳, 蔡凤娇, 张瑞景, 徐健

Optimization of Fermentation Technology and *in Vitro* Digestion of Jujube Wine

WANG Jiangbo, XUE Chaoyue, ZHU Jialu, HE Chao, SHEN Yan, CAI Fengjiao, ZHANG Ruijing, and XU Jian

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040115>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

玫瑰酒发酵工艺

Fermentation process of rose wine

食品工业科技. 2017(22): 114-118 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.22.023>

响应面法优化板枣热风-真空分段联合干燥工艺

Optimization of Hot Air-vacuum Segment-combined Drying Process of Jishan Jujube by Response Surface Method

食品工业科技. 2020, 41(3): 131-138 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.03.024>

响应面优化猕猴桃酒混合发酵工艺

Optimization of Mixed Fermentation Technology of Kiwi Wine by Response Surface Methodology

食品工业科技. 2019, 40(18): 65-71,77 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.18.011>

花蜜酒发酵工艺优化及成分分析

Fermentation Process Optimization and Component Analysis of Nectar Wine

食品工业科技. 2021, 42(21): 25-32 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010001>

黄参酒生产工艺优化及香气成分研究

Study on the technology optimization and aroma compounds of Sphallerocarpus gracilis wine

食品工业科技. 2017(09): 191-195 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.09.028>

基于遗传算法-神经网络的豆渣酶解工艺优化及其动力学研究

Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Soybean Dregs Based on Genetic Algorithm-Neural Network and Its Kinetics

食品工业科技. 2021, 42(16): 213-220 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020120261>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

汪江波, 薛超越, 朱嘉璐, 等. 板枣发酵酒的生产工艺优化及体外消化 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(8): 143–150. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040115

WANG Jiangbo, XUE Chaoyue, ZHU Jialu, et al. Optimization of Fermentation Technology and *in Vitro* Digestion of Jujube Wine[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(8): 143–150. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040115

· 生物工程 ·

板枣发酵酒的生产工艺优化及体外消化

汪江波¹, 薛超越¹, 朱嘉璐¹, 何超², 沈艳³, 蔡凤娇¹, 张瑞景¹, 徐健^{1,*}

(1.湖北工业大学生物工程与食品学院, 工业发酵省部共建协同创新中心, 发酵工程教育部重点实验室, 工业微生物湖北省重点实验室, 湖北武汉 430068;
2.湖北毕圣泉酒业有限公司, 湖北黄冈 438700;
3.浙江兴业集团有限公司, 浙江舟山 316100)

摘要:为改善枣酒的品质, 丰富枣酒香气, 生产出酒体绵软适口, 醇厚香浓的板枣果酒。本文采用单因素实验、神经网络和遗传算法优化发酵工艺, 并通过体外消化实验对其发酵前后在胃肠道中的消化特性和抗氧化活性进行研究。结果表明, 板枣酒的最佳辅料为山楂, 最优发酵条件为: 山楂与板枣的比例为 1:2.96 (w/w), 发酵温度 29 ℃, 浸提温度 45 ℃, 感官评分为 81.66 分。体外消化结果表明: 板枣发酵酒总酚含量、DPPH 自由基清除率和 ABTS⁺ 自由基清除率在胃消化结束后分别提升了 16.19%、22.15% 和 13.09%, 在肠消化结束后提升了 42.06%、22.31% 和 85.80%。本研究为板枣发酵酒产品的开发和工业化生产提供了参考。

关键词:板枣酒, 理化性质, 抗氧化能力, 发酵工艺, 体外消化

中图分类号: TS261.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)08-0143-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040115



本文网刊:

Optimization of Fermentation Technology and *in Vitro* Digestion of Jujube Wine

WANG Jiangbo¹, XUE Chaoyue¹, ZHU Jialu¹, HE Chao², SHEN Yan³, CAI Fengjiao¹,
ZHANG Ruijing¹, XU Jian^{1,*}

(1.School of Food and Biological Engineering, Hubei University of Technology, Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation (Ministry of Education & Hubei Province), Key Laboratory of Fermentation Engineering (Ministry of Education), Hubei Provincial Key Laboratory of Industrial Microbiology, Wuhan 430068, China;

2.Hubei Bishengquan Liquor Industry Co., Ltd., Huanggang 438700, China;

3.Zhejiang Xingye Group Co., Ltd., Zhoushan 316100, China)

Abstract: To improve the quality of jujube wine, enrich the aroma of jujube wine, and produce a soft and palatable, mellow and fragrant jujube fruit wine, the single factor experiments, neural networks, and genetic algorithms were used to optimize the fermentation process, and *in vitro* digestion experiments were conducted to study the digestive characteristics and antioxidant activity of banzao jujube juice and banzao fermented wine in the gastrointestinal tract. The results showed that the best ingredient was hawthorn for jujube wine production. The optimal fermentation conditions of jujube wine were the ratio of hawthorn to jujube was 1:2.96, fermentation temperature 29 ℃, extraction temperature 45 ℃. Under the optimal conditions, the sensory score of the jujube wine was 81.66. The results of *in vitro* digestion showed that the total phenol content, DPPH free radical scavenging rate, and ABTS⁺ free radical scavenging rate of jujube wine increased by 16.19%, 22.15%, and 13.09% after the end of gastric digestion, respectively, and increased by 42.06%, 22.31%, and 85.80% after the end of intestinal digestion. The study would provide a reference for the development and industrial production of jujube wine products.

收稿日期: 2023-04-17

基金项目: 湖北省重点研发计划项目 (2021BGD016); 传统浓香型白酒酿造模式创新与产业升级 (ZXKY2022498)。

作者简介: 汪江波 (1962-), 男, 学士, 教授, 研究方向: 酿酒新技术及装备, E-mail: 675166193@qq.com。

* 通信作者: 徐健 (1991-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 酿酒新工艺、新产品的研发及发酵废弃物的综合利用, E-mail: xujian0218@126.com。

Key words: jujube wine; physical and chemical properties; antioxidant activity; fermentation process; *in vitro* digestion.

板枣生产于山西省运城市稷山县,是当地一种特色的支柱产业,属于山西的四大名枣之一,果实呈紫红色,果肉呈白绿色,口感甘甜,有天然的芬芳香味,含糖丰富,烘烤过后可以拉出金黄的细丝,维生素和矿物质是所有枣类中含量最高的,被称为“中华枣中之王”^[1]。板枣的主要生物活性成分是维生素 C、酚类、类黄酮、三萜酸和多糖^[2]。枣果有抗癌、抗炎、抗肥胖、免疫刺激、抗氧化、保肝、胃肠保护活性以及抑制巨噬细胞中泡沫细胞的形成等作用,为高级补品,药用价值极高^[3-4]。

作为当地农民增收的主要来源,稷山板枣容易受天气影响,生产出裂果、小果,缺乏产品商业价值,且目前市场上红枣发酵酒匮乏,人工配制红枣酒基本垄断了红枣酒的市场。人工配制酒香气不足、口感欠佳且北方许多枣酒厂的生产工艺不能反映枣酒本身的特性,缺乏典型性,将板枣进行深加工,同时目前板枣发酵酒多以单原料进行发酵,通过添加辅料例如:青苹果,山楂,橘子等,不仅可以提高板枣酒的酸度,又可以生产出香气丰富的板枣酿造酒,提高板枣商业价值^[5-6]。板枣酒在发酵过程中总酚含量,抗氧化活性均有所提高,但对于其进入人体后在胃和肠道消化过程中的变化情况却少有研究。本实验通过体外消化模拟人体消化时的生理条件,对板枣酒进入人体后进行胃消化模拟和肠消化模拟,研究摄入物质的变化、相互作用以及营养物质生物可及性。

本研究采用板枣发酵制作果酒。以酸度和感官评价为指标,对辅料的选择进行单因素实验,以感官评价为指标,选择对影响酿酒生产的 3 个因素(物料比,发酵温度,浸提温度)进行 Box-Behnkn 试验设计,随后进行神经网络模拟与遗传算法优化板枣酒的发酵工艺参数,并对其进行体外消化分析,以期为后续的板枣发酵酒提供借鉴和理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

板枣(干枣)、青苹果、山楂、橘子 市购;果胶酶(500 U/mg) 安琪酵母股份有限公司;SO₂ 分析纯,上海国药集团有限公司;安琪果酒专用酿酒酵母 安琪酵母股份有限公司;胃蛋白酶(1:3000)、胰蛋白酶(1:250)、猪胆盐 美国 Sigma 公司。

VWR UV-1600PC 紫外可见分光光度计 美国 VWR 公司;MJP-250 恒温培养箱 上海精宏设备有限公司;JJ-2B 组织捣碎机 方科仪器(常州)有限公司;TGL-16M 立式冷冻离心机 常州市金坛高科仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 板枣酒发酵工艺 板枣→筛选→清洗→浸提→加辅料→打浆→板枣枣浆→酶解→冷却待用→添加二氧化硫→添加酵母→发酵→过滤→澄清→枣酒

参照杨智刚^[7]的方法,将板枣洗净破碎,放入 50 ℃、500 mL 锥形瓶用纯水水浴浸提 2 h,山楂洗净与板枣混合打浆,加入 40 mg/L 果胶酶酶解 1 h,添加 50 mg/L 二氧化硫灭菌 10 h,添加 200 mg/L 已活化酿酒酵母(酵母活化:将 10 g 酵母、90 mL 纯水、1 g 葡萄糖混合加入 250 mL 锥形瓶中 30 ℃ 水浴加热 30 min),发酵结束后放入 500 mL 蓝盖瓶中 80 ℃ 密闭加热 1 h 进行灭菌(灭菌方式的选择进行预实验:采用 75 ℃、2 h 和 80 ℃、1 h,进行感官验证后发现后者香味损失最小,且灭菌时间小于 1 h 会造成杂菌污染,灭菌时间过长会造成香味损失),过滤离心得到枣酒。

1.2.2 辅料的选择 将板枣与辅料(青苹果、山楂、橘子)以 3:1(w/w)的比例分别混合并制成相应的枣浆,然后按照 1.2.1 工艺流程进行发酵,测定其酸度,并进行感官评价。

1.2.3 板枣果酒发酵工艺优化单因素实验设计 通过预实验选择了对实验结果影响最大的 3 个因素:浸提温度、物料比、发酵温度。理化指标的检测有 6 项:酒精度、总酸、发酵时间、DPPH 自由基清除率、总酚、总黄酮。不同的单因素对理化指标的影响程度不同,选择对其影响程度最大的几个理化指标作为最终指标。

1.2.3.1 浸提温度的确定 板枣清洗筛选后放入 25、50、75、97 ℃ 温水中浸提 2 h,其他按 1.2.1 操作,以 DPPH 自由基清除率和总黄酮作为指标,确定浸提温度。

1.2.3.2 物料比的确定 在板枣浸提过后,按板枣与山楂比例为 1:1、2:1、3:1、4:1(w/w)添加辅料,使板枣与辅料的总量保持在 130 g,加入 325 g 水混匀打浆,接下来按 1.2.1 到发酵结束(发酵结束指标:发酵过程中连续 2 d 重量差不超过 0.5 g),以总酸、酒精度和感官评分作为指标,确定辅料添加量。

1.2.3.3 发酵温度的确定 添加酵母后将枣浆放入 20、25、30、35 ℃ 恒温培养箱,其他按 1.2.1 操作,以发酵时间和抗氧化活性作为指标,确定发酵温度。

1.2.4 发酵优化 Box-Behnkn 试验设计 通过单因素实验,在其分析结果的基础上选择辅料添加量,发酵温度,浸提温度为自变量,感官评价为响应值,优化

表 1 发酵条件优化 Box-Behnkn 试验设计因素与水平
Table 1 Factors and levels of Box-Behnkn test design for optimization of fermentation conditions

水平	因素		
	A物料比(w/w)	B发酵温度(℃)	C浸提温度(℃)
-1	4:1	25	25
0	3:1	30	50
1	2:1	35	75

枣酒发酵条件。试验因素水平如表 1 所示。

1.2.5 神经网络实验设计 参考 Wang 等^[8]的方法, 利用 Matlab 2016a 软件对 Box-Behnken 试验结果进行 BP 神经网络分析。将 BB 实验结果分为 12 个训练组和 5 个验证组, 训练过程进行 1000 次, 直到预测值与实际输出结果之间的均方误差(MSE)小于 10^{-3} , 最后运用遗传算法对 BP 神经网络分析得到的模型进行最优值求解。

1.2.6 理化指标测定 酸度和总糖采用 GB/T 15038-2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》中的直接滴定法和指示剂法; 酒精度采用 GB 5009.225-2016《食品安全国家标准 酒中乙醇浓度的测定》中的酒精计法; 总酚采用 Folin-Ciocalteu 酚法^[9], 测定总多酚含量; 总黄酮参照靳玉红等^[10]的方法, 测定总黄酮含量。

DPPH 自由基清除能力参照唐兰芳等^[11]的方法: 配制 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 DPPH 甲醇溶液, 准确吸取稀释 50 倍后的 0.5 mL 样品溶液与 3.0 mL DPPH 溶液混合, 摇匀, 室温避光反应 30 min, 采用分光光度计在波长 517 nm 处测其吸光度值 $\text{OD}_{\text{样品}}$ 。对照组以 0.5 mL 甲醇溶液代替样品, 测其吸光度值 $\text{OD}_{\text{空白}}$, 计算 DPPH 自由基清除率按式(1)计算:

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}(\%) = \frac{\text{OD}_{\text{空白}} - \text{OD}_{\text{样品}}}{\text{OD}_{\text{空白}}} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中, $\text{OD}_{\text{空白}}$: 甲醇溶液与 DPPH 溶液混合液的吸光度; $\text{OD}_{\text{样品}}$: 样品溶液与 DPPH 溶液混合液的吸光度。

ABTS⁺自由基清除率测定: ABTS 母液的配制: 将 245 μL (100 mmol/L) 过硫酸钾溶液和 9.5 mL 7 mmol/L ABTS 溶液混合于 10 mL 容量瓶中, 然后用纯水定容并混合均匀, 置于黑色瓶子中并用牛皮纸包裹于黑暗中静置 15 h。使用时用无水乙醇对母液进行稀释, 使其在 734 nm 波长处的吸光度为 0.7 ± 0.02 , 即得 ABTS 工作液。取 1 mL 板枣酒消化液加入 5 mL ABTS 溶液, 室温避光反应 7 min 后在 734 nm 波长处测吸光度; 以 1 mL 蒸馏水代替消化液测其吸光度作为空白对照。每组样品平行 3 次, 按式(2)计算 ABTS⁺自由基清除率:

$$\text{ABTS}^+\text{自由基清除率}(\%) = \frac{\text{OD}_{\text{空白}} - \text{OD}_{\text{样品}}}{\text{OD}_{\text{空白}}} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中, $\text{OD}_{\text{空白}}$ 为空白对照的吸光度; $\text{OD}_{\text{样品}}$ 为样品的吸光度。

1.2.7 感官指标评价方法 依据 GB/T 15038-2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》和相关研究确定板枣发酵酒的感官评价标准, 满分 100 分(见表 2)。选择 5 名专业品酒师进行感官评价^[12-13]。

1.2.8 体外消化实验设计 体外模拟消化模型参考 Brodtkorb 等^[9]的方法进行。

表 2 板枣发酵酒感官评分标准

Table 2 Sensory scoring standard of chinese jujube fermented wine

项目	评价要点	分数
外观 (15分)	澄清、透明、有光泽、色泽诱人	12~15
	澄清、无夹杂物、色泽较好	8~11
	浑浊、有杂物、色泽不自然	<8
滋味 (40分)	酒味醇厚、柔和、让人余味无穷	35~40
	酒质柔和、不涩不苦、酸甜度适中	30~34
	调和适当、纯正无杂	25~29
	略苦、涩、酸、酒质较淡	19~24
	苦、涩、酸明显, 带有异味	<19
香气 (35分)	果酒香醇厚, 悦人身心	30~35
	果酒香协调, 较悦人	25~29
	香气不足或有异香	16~24
	香气不良, 使人厌恶	<15
典型性(10分)	有着明显的果香、酒香典型明确	9~10
	风格良好, 有浓郁的蜜香、板枣香	7~8
	有典型性, 蜜香、板枣香不够明确	5~6
	失去本品典型性	<4

胃消化模拟液(SGF): 0.69 mL KCl、0.09 mL KH_2PO_4 、1.25 mL NaHCO_3 、1.18 mL NaCl、0.04 mL MgCl_2 、0.05 mL $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 、36.7 mL 水。

肠消化模拟液(SIF): 0.68 mL KCl、0.08 mL KH_2PO_4 、4.25 mL NaHCO_3 、0.96 mL NaCl、0.11 mL MgCl_2 、33.92 mL 水。

胃消化模拟: 将 11.25 mL 的 SGF 溶液与 15 mL 样品混合, 加入 0.75 mg 胃蛋白酶(1:3000)和 0.5 mL HCL 溶液并将 pH 调整为 2, 并在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下预热 15 min。后在 37 $^{\circ}\text{C}$ 厌氧避光环境下振荡孵育 2 h, 消化过程中每隔 20 min 取样。

肠消化模拟: 在胃消化液的混合物中取 15 mL 样品加入 8.25mg SIF、3.75 mL 胰蛋白酶(20 mg/L)和 1.875 mg 猪胆盐(0.15 mg/L)混合溶液, 并使用 NaHCO_3 (1 mol/L)将混合后消化物 pH 调节至 7.5, 后在 37 $^{\circ}\text{C}$ 厌氧避光环境下振荡孵育 2 h, 消化过程中每隔 20 min 取样。

所取消化混合物样品以 $8000 \times g$ 离心 15 min, 取上清液并立即置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中, 后续测定胃肠道消化过程中板枣枣浆的多酚含量, DPPH 自由基清除率和 ABTS⁺自由基清除率。

1.3 数据处理

本研究中所有实验和检测均重复进行三次, 数值以平均值 $\pm$ SD 表示。采用 IBM SPSS 25.0 版统计软件对数据进行显著性分析, $P<0.05$ 认为数值间存在显著性。使用 Origin 2021b(OriginLab, USA) 进行数据绘图。

2 结果与分析

2.1 辅料的筛选

添加辅料的目的是增加枣酒的酸度, 酸含量显著影响果酒的口感, 使其具有清爽的特性, 减少可感知的甜度, 适当的低 pH 对于果酒的颜色稳定性至关

重要,它还可以防止酚类化合物的氧化,果酒的高酸度也有抑菌作用^[14]。从表 3 可知,添加山楂的枣酒酸度为 4.92 g/L,是发酵果酒比较适口的酸度水平,同时感官评分最高为 74.52 分。而添加青苹果的板枣发酵酒的酸度为 3.51 g/L,酸度太低,水味较重,感官评分也比较低为 65.13 分,添加橘子的板枣发酵酒的酸度为 7.32 g/L,酸度太高,入口不适,感官评分为 68.21 分。综上所述,选择山楂作为板枣发酵酒的辅料添加。

表 3 辅料对枣酒酸度和感官评分的影响

Table 3 Effects of ingredients on acidity and sensory score of jujube wine

指标	青苹果	山楂	橘子
酸度(g/L)	3.51±0.13 ^c	4.92±0.09 ^b	7.32±0.21 ^a
感官评分(分)	65.13±1.08 ^a	74.52±2.25 ^b	68.21±1.26 ^a

注:同一行数据不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);表 4 同。

2.2 板枣酒发酵工艺优化单因素实验

2.2.1 浸提温度对板枣酒发酵的影响 由图 1 可知,随着浸提温度的上升,DPPH 自由基清除率呈现先上升后下降的趋势,浸提温度为 75 °C 时,DPPH 自由基清除率出现显著下降;由图 2 可知,随着浸提温度的上升,总黄酮含量出现先上升后下降的趋势,当浸提温度为 50 °C 时,DPPH 自由基清除率最高,总黄酮含量最高。这是由于温度升高可以加速分子间的运动,提高扩散系数,从而降低了溶剂的粘度,最终加速总黄酮的溶出^[15];温度升高的同时也加速了细胞壁的软化和破坏,增加了细胞膜的通透性,导致总黄酮的溶出增加^[16]。但是在高温下,黄酮受热不稳定而分解,或者由于黄酮类物质在高温条件下易被氧化,部分黄酮类物质结构发生改变,从而使黄酮得率下降^[17],黄酮类化合物具有共轭双键结构,其在高温下容易失去活性,对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除能力降低,导致 DPPH 自由基清除率下降,抗氧化活性降低^[17]。因此最终选择浸提温度为 50 °C 为最佳萃取条件。

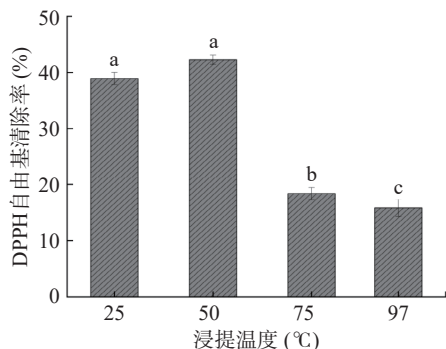


图 1 浸提温度对板枣酒 DPPH 自由基清除率的影响

Fig.1 Effects of extraction temperature on DPPH free radical scavenging rate of jujube wine

注:不同小写英文字母表示数据差异显著, $P<0.05$; 图 2~图 4、图 6。

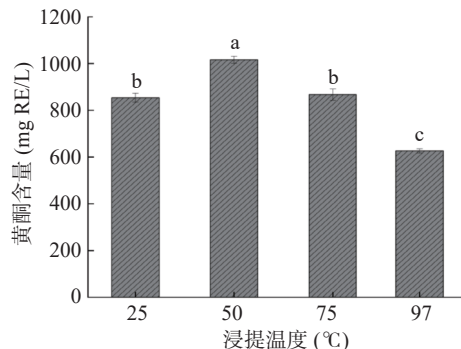


图 2 浸提温度对板枣酒总黄酮的影响

Fig.2 Effects of extraction temperature on total flavonoids of jujube wine

2.2.2 物料比对板枣酒发酵的影响 板枣与山楂的比例会对板枣酒的酒精度和酸度有一定影响,山楂果总糖含量是 96.45 g/kg,总酸含量是 35.13 g/kg,而板枣的总糖含量是 223.65 g/kg,因此随着山楂添加比例的增加,板枣发酵酒的酒精度就会升高。由图 3 可知,随着山楂添加比例的减少,酒精度由 4.7%vol 提升到 10.2%vol,而过低的酒精度会造成酒体香气不足,口感寡淡^[18]。由图 4 可知,随着山楂添加量的减少,枣酒总酸也在不断减少,但是过高的酸度也会降低枣酒的口感^[9],因此采用感官评价为指标探究山楂添加量对枣酒的影响,由表 4 可知当板枣与山楂的比在 3:1 的时候感官评分最高,此时枣酒的酒体达到更好的平衡。

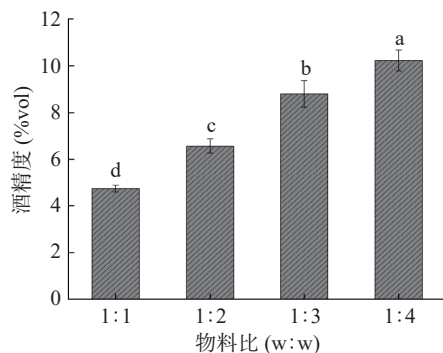


图 3 物料比(板枣:山楂)对板枣酒酒精度的影响

Fig.3 Effects of material ratio (red date:hawthorn) on alcohol of jujube wine

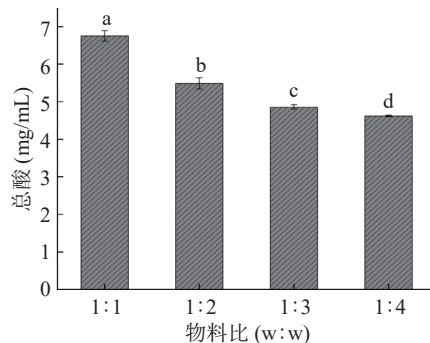


图 4 物料比(板枣:山楂)对板枣酒总酸的影响

Fig.4 Effects of material ratio (red date:hawthorn) on total acid of jujube wine

表 4 山楂添加量对感官评分的影响
Table 4 Effects of hawthorn addition on sensory score

物料比(w:w)	1:1	2:1	3:1	4:1
感官评分(分)	65.75±2.22 ^c	71.75±1.26 ^b	77.86±1.31 ^a	73.25±0.96 ^b

2.2.3 发酵温度对板枣酒发酵的影响 发酵温度对板枣酒的发酵时间有一定影响,适当提高发酵温度可以减少发酵时间,且温度对酒体感官评价影响较小。由图 5 可知,随着发酵温度的增加,发酵时间由 11 d 缩短到 5 d,且发酵温度达到 30 ℃ 时发酵结束时间最短,随着温度的继续增高,发酵过程中的失重总量减少,得到的酒体酒精度降低,酒体香气不足。这是由于当发酵温度较低时,酿酒酵母活性同时降低,其生长繁殖速度较慢,进而使发酵周期延长;随着温度的升高,微生物生长繁殖速度加快,但是过高的发酵温度会使发酵反应剧烈,酵母衰老速度加快,酒体的风味挥发加快,且高温条件下可能使腐败微生物加快发育,最终导致板枣酒品质下降,发酵不充分,果酒香味不足,酒精度降低^[20]。由图 6 可知发酵温度为 30 ℃ 时 DPPH 自由基清除率最高,这是由于温度是影响微生物生长发育的重要环境因素,在温度升高的过程中,微生物的细胞体内会逐渐产生大量的活性氧自由基,为了抵抗高温胁迫微生物会启动自己体内的抗氧化系统来消耗自由基;但是过高的温度会抑制抗氧化酶的分泌^[21-22],因此枣酒的 DPPH 自由

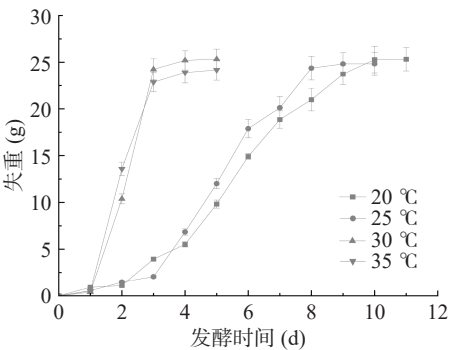


图 5 发酵温度对板枣酒发酵时间的影响
Fig.5 Effect of fermentation temperature on fermentation time of jujube wine

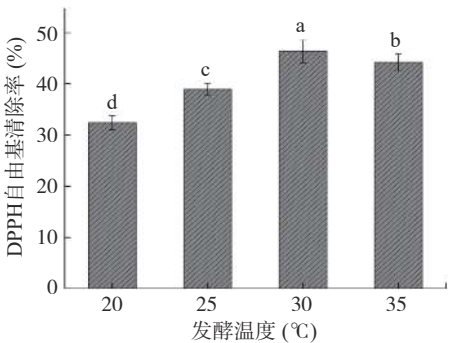


图 6 发酵温度对板枣酒 DPPH 自由基清除率的影响
Fig.6 Effect of fermentation temperature on DPPH radical scavenging rate of jujube wine

基清除率在 30 ℃ 时达到最高。综上所述选择发酵温度为 30 ℃。

2.3 枣酒发酵工艺优化试验

2.3.1 神经网络模拟与遗传算法优化发酵工艺 通过单因素实验,选择物料比、发酵温度、浸提温度为自变量,感官评价为响应值,优化枣酒发酵条件。试验结果见表 1 和表 5 所示。

表 5 Box-Behnkn 优化发酵工艺试验结果
Table 5 Experimental results of Box-Behnkn optimized fermentation

实验号	A物料比	B发酵温度	C浸提温度	感官评分(分)
1	1	-1	0	71
2	-1	0	1	75
3	0	1	-1	73
4	1	0	1	71
5	-1	-1	0	74
6	0	0	0	77
7	0	1	1	72
8	-1	0	-1	76
9	0	-1	1	74
10	0	0	0	78
11	0	-1	-1	75
12	0	0	0	77
13	0	0	0	76
14	-1	1	0	74
15	1	1	0	68
16	0	0	0	77
17	1	0	-1	70

采用 Box-Behnkn 试验来研究不同发酵条件与枣酒感官评价之间的相互作用,共 17 组试验如表 5 所示。Box-Behnkn 试验的前 12 组数据作为训练组,后 5 组数据作为测试组,隐藏层采用“3-11-1”的拓扑结构进行神经网络训练^[23],进行 1000 次实验,训练过程进行 101 次后预测值与实际输出结果之间的均方误差(MSE)小于 10⁻³。此时样本点集中分布在 y=x 直线附近,R=0.99686,说明训练值与预测值接近,且具有较好的线性关系,神经网络训练结果良好,可用于预测。将训练好的神经网络模型导入遗传算法,得到一个更优的板枣发酵的工艺参数:板枣添加量:山楂添加量为 2.96:1,发酵温度 29.07 ℃,浸提温度 45.34 ℃,该发酵条件下获得的枣酒感官评价为 82.52 分。为验证预测结果的可靠性,需进行发酵实验来验证。

2.3.2 发酵验证 为了验证神经网络模拟与遗传算法优化枣酒发酵工艺的可行性,采用最佳发酵条件进行枣酒发酵的验证实验,结合实际生产情况以板枣与山楂的比例为 2.96:1,发酵温度 29 ℃,浸提温度 45 ℃ 为发酵条件进行 3 次平行实验,得到实验结果如表 6 所示,实际测得的山楂板枣酒的感官平均评分为 81.66,实验符合值为 98.95%。符合 DB65/T 2977-2009 果酒生产标准体系总则。

表 6 发酵验证实验理化指标

Table 6 Physical and chemical indexes of fermentation validation experiment

理化指标	酒精度(%vol)	总酸(g/L)	DPPH自由基清除率(%)	总黄酮(mg/L)	总酚(mg/L)	感官评分(分)
板枣酒	9.52±0.32	4.89±0.04	55.11±1.01	1023.32±2.21	1056.21±3.23	81.66±0.31

2.4 体外消化实验

在模拟人体消化系统中,分析了板枣枣浆和板枣酒中酚类化合物含量、抗氧化活性在消化过程中的变化。多酚对果酒的质量有显著影响,因为这些物质会影响果酒的感官特征,如颜色、涩味和抗氧化性能^[24]。由图 7A 可知,板枣枣浆经发酵后得到的板枣酒可产生更多的酚类物质,且在胃消化过程中板枣酒的多酚含量始终高于板枣枣浆,这可能是由于在浸提过程中板枣果皮和果实上的多酚类物质被释放到酒体中^[24],同时在发酵的过程中,酵母菌会产生有机酸等副产物,这些物质会降低酒体的 pH,从而防止酚类

化合物的氧化,增加多酚类物质的释放^[14]。在模拟胃消化的过程中,板枣枣浆和板枣发酵酒的多酚含量都有所增加,分别增加了 17.62% 和 16.19%,这可能是由于在胃消化过程中高分子多酚向解聚转变,以产生大量的酚酸^[25]。且由于胃蛋白酶和胰蛋白酶的作用,一些蛋白质会被分解释放出与多酚类物质结合的多肽和氨基酸。这些多肽和氨基酸可以与多酚类物质结合,形成新的复合物^[26],这些多酚衍生物将活性官能团释放到与福林-Ciocalteu 试剂配合物中,使总酚值明显增加。DPPH 自由基清除率和 ABTS⁺自由基清除率都是用来评估化合物抗氧化能力的指标,清除率越高,物质的抗氧化能力越强。由图 7B~图 7C 可知,在胃消化过程中板枣枣浆和板枣发酵酒的抗氧化能力都有所增加,板枣枣浆的 DPPH 自由基清除率和 ABTS⁺自由基清除率分别增加了 31.15% 和 17.47%,板枣发酵酒的 DPPH 自由基清除率和 ABTS⁺自由基清除率分别增加了 22.15% 和 13.09%。这是由于物质的抗氧化能力与其酚类物质含量有较高相关性^[27],因此在消化过程中随着酚类物质含量的提高,酒体的抗氧化活性也随之升高。同时在模拟胃消化过程中胃酸有利于多酚物质的释放,从而更好地发挥其抗氧化能力^[28]。

由图 8 可知,在肠消化过程中板枣枣浆的多酚含量, DPPH 自由基清除率和 ABTS⁺自由基清除率分别增加了 35.42%、35.91% 和 111.45%,板枣发酵

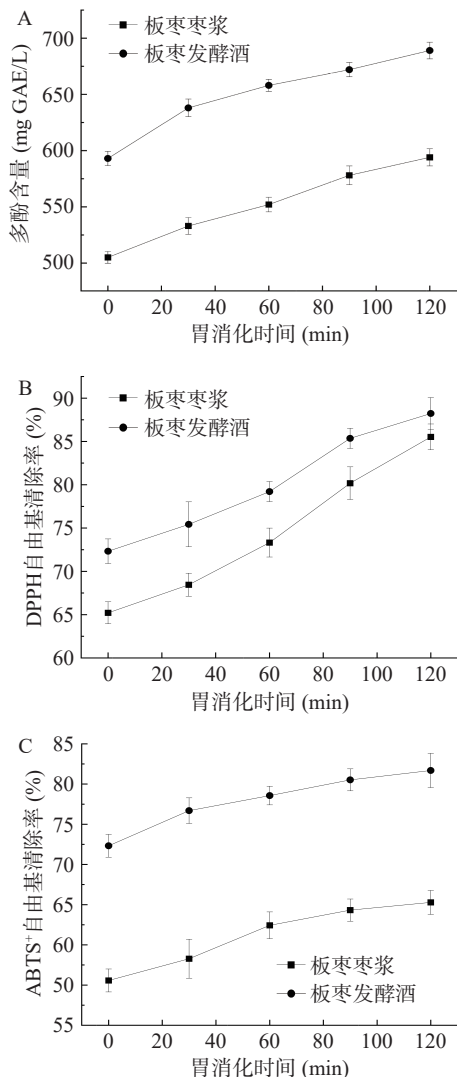
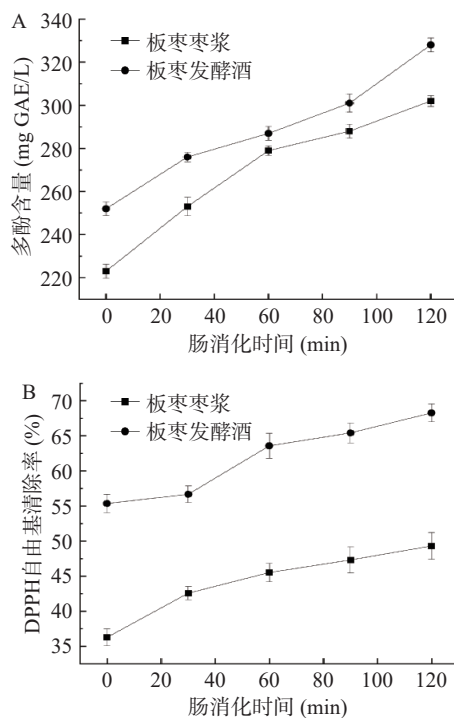


图 7 胃消化对板枣酒多酚含量(A)、DPPH 自由基清除率(B)、ABTS⁺自由基清除率(C)的影响

Fig.7 Effects of gastric digestion on polyphenol content (A), DPPH free radical clearance rate (B), and ABTS⁺ free radical clearance rate (C) of jujube wine



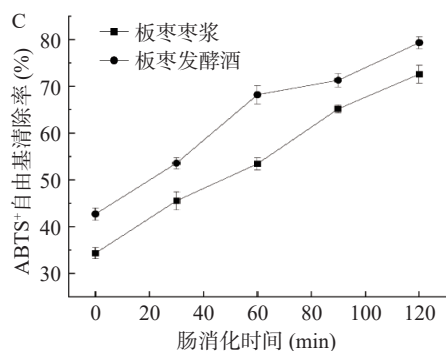


图 8 肠消化对板枣酒多酚含量(A)、DPPH 自由基清除率(B)、ABTS⁺自由基清除率(C)的影响

Fig.8 Effects of intestines digestion on polyphenol content (A), DPPH free radical clearance rate (B), and ABTS⁺ free radical clearance rate (C) of jujube wine

酒的酚含量, DPPH 自由基清除率和 ABTS⁺自由基清除率分别增加了 42.06%、22.31% 和 85.80%。这是由于在肠发酵过程中 pH 改善了多酚在小肠中的降解^[29]。其次, 在小肠中酚类的氧化和聚合产生新的酚类副产物。最后, 由于胰酶和胆汁作用, 使蛋白质与多酚之间的共价键断裂, 释放出更多的自由酚类物质^[30]。由图 8C 可知, 在肠消化过程中板枣枣浆和板枣发酵酒的 ABTS⁺自由基清除率都有显著提升, 分别增加了 111.45% 和 85.80%。这可能是由于多酚类化合物 ABTS⁺自由基清除率呈 pH 依赖性, 随着 pH 的增高, 自由基清除能力变强, 这与多酚化合物芳香环酚性羟基在弱碱性 pH 环境下去质子化有关^[31]。

3 结论

本实验对板枣酒的发酵工艺进行了研究, 以板枣为原料, 添加山楂辅料进行板枣酒的发酵。在单因素实验的基础上, 通过神经网络模拟与遗传算法并结合实际生产条件最终确定了最佳工艺条件: 板枣与山楂的比例为 2.96:1(w/w), 发酵温度 29 ℃, 浸提温度 45 ℃。在此条件下, 得到的枣酒酒精度为 9.52%vol, 总酸为 4.89 g/L, 总黄酮 1023 mg/L, 总酚 1056 mg/L, 稀释 50 倍条件下 DPPH 自由基清除率为 55%, 酒液澄清, 色泽棕黄, 香气协调诱人。进行体外消化研究分析发现板枣枣浆和板枣酒经过消化后总酚含量和抗氧化活性均有所提高。结果表明经体外消化后板枣枣浆和板枣酒在酶和胆汁的作用下总多酚、总黄酮得到充分释放、整体抗氧化能力得到提高。本研究结果为枣酒发酵工艺提供了数据积累, 对板枣资源的综合利用有一定的积极意义, 有利于枣酒产品的进一步研发。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

[1] 刘晶晶. 稷山板枣 枣香[J]. 中国食品, 2014(10): 108-

109. [LIU J J. Jujube of Jishan Township and fragrance of jujube [J]. China Food, 2014(10): 108-109.]

[2] 王利伟, 郭丽丽, 李晓庆. 山西稷山板枣生产系统的保护与发展分析[J]. 农业技术与装备, 2021(4): 44-45, 47. [WANG Liwei, GUO Lili, LI Xiaoqing. Analysis on protection and development of jujube production system in Jishan, Shanxi[J]. Agricultural Technology & Equipment, 2021(4): 44-45, 47.]

[3] WANG B N, LIU L G, HUANG Q Y, et al. Quantitative assessment of phenolic acids, flavonoids and antioxidant activities of sixteen jujube cultivars from china[J]. Plant Foods for Human Nutrition volume, 2020, 75(2): 154-160.

[4] YANG H, HUA J L, WANG C. Ant-oxidation and anti-aging activity of polysaccharide from *Malus micromalus* Makino fruit wine[J] Int J Biol Macromol, 2019, 121: 1203-1212.

[5] 张晓萍, 赵旗峰, 李六林, 等. '板枣'果皮特性与裂果关系探索[J]. 中国果树, 2021(12): 64-68. [ZHANG Xiaoping, ZHAO Qifeng, LI Liulin, et al. Exploration on the relationship between peel characteristics and cracking of banzao fruit[J]. Chinese Fruit Tree, 2021(12): 64-68.]

[6] 杨生. 稷山县板枣产业发展中存在问题及对策研究[J]. 山西农经, 2020(11): 61-62. [YANG Sheng. Research on problems and countermeasures in the development of jujube industry in jishan county[J]. Shanxi Agricultural Economy, 2020(11): 61-62.]

[7] 杨智刚. 发酵型红枣酒的工艺研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019. [YANG Zhigang. Study on the technology of fermented jujube wine[D]. Yangling: Northwest Agricultural and Forestry University, 2019.]

[8] WANG Jiangbo, KONG Bo, WANG Hao, et al. Production of butanol from distillers' grain waste by a new aerotolerant strain of *Clostridium beijerinckii* LY-5[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2021, 44(10): 1-13.

[9] CHO W Y, YEON S J, HONG G E, et al. Antioxidant activity and quality characteristics of yogurt added green olive powder during storage[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2017, 37(6): 865-872.

[10] 靳玉红. 红枣乳酸发酵饮料工艺优化、品质分析及乳酸菌鉴定[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2019. [JIN Yuhong. Process optimization, quality analysis and identification of lactic acid bacteria in jujube lactic acid fermented beverages[D]. Xianyang: Northwest Agricultural and Forestry University, 2019.]

[11] 唐兰芳, 王锋, 谭兴和, 等. 两种工艺拐枣酒抗氧化成分及活性比较[J]. 中国酿造, 2021, 40(1): 44-48. [TANG Lanfang, WANG Feng, TAN Xinghe, et al. Comparison of antioxidant components and activity of *Hovenia acerba* alcoholic beverage made by two technologies[J]. China Brewing, 2021, 40(1): 44-48.]

[12] 林静雅, 刘邻渭, 严陇兵, 等. 原料品种和制浆方法对枣酒多酚含量和感官品质的影响[J]. 中国酿造, 2012, 31(1): 196-200. [LIN Jingya, LIU Linwei, YAN Longbing, et al. Effects of jujube varieties and pulping methods on polyphenol contents and sensory qualities of jujube wines[J]. China Brewing, 2012, 31(1): 196-200.]

[13] ZHAO Xinxin, XUE Yuang, TANG Fengxian, et al. Quality improvement of jujube wine through mixed fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis*[J]. LWT, 2022, 164: 113444.

[14] BOBAN N, TONKIC M, BUDIMIR D, et al. Antimicrobial effects of wine: Separating the role of polyphenols, pH, ethanol, and other wine components[J]. Food Sci, 2010, 75: M322-M326.

[15] 旭刚, 徐敏, 麻秀萍, 杨菁. 低共熔溶剂法提取山楂叶总黄酮

- 的研究[J]. 轻工科技, 2021, 37(12): 27-30. [XU Gang, XU Min, MA Xiuping. Study on extraction of total flavonoids from hawthorn leaves by low-extrusion solvent[J]. Light Industry Science and Technology, 2021, 37(12): 27-30.]
- [16] 郭宏焱, 李冬, 雷雄, 等. 花椒多酚提取工艺响应面优化及动力学分析[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 247-253. [GUO Hongyao, LI Dong, LEI Xiong, et al. Optimization by response surface methodology and kinetics of extraction of polyphenols from chinese prickly Ash[J]. Food Sci, 2018, 39(2): 247-253.]
- [17] 许立伟, 王炳宇, 杨馨悦, 等. 5种浆果酒抗氧化活性差异及综合评价[J]. 中国酿造, 2021, 40(9): 200-205. [XU Liwei, WANG Bingyu, YANG Xinyue, et al. Difference and comprehensive evaluation of antioxidant activity of 5 kinds of fruit wine[J]. China Brewing, 2021, 40(9): 200-205.]
- [18] 侯丽娟, 严超, 齐晓茹, 等. 不同品种板栗酿制枣酒的香气差异性研究[J]. 食品工业, 2017, 38(5): 208-212. [HOU Lijuan, YAN Chao, QI Xiaoru, et al. Study on the aroma diversity of the different varieties of jujube brewed jujube[J]. The Food Industry, 2017, 38(5): 208-212.]
- [19] 冯倩, 张燕, 赵轶男. 发酵果酒降酸工艺优化[J]. 酿酒科技, 2021(2): 27-31. [FENG Qian, ZHANG Yan, ZHAO Tienan. Optimization of acid-reducing process of fermented fruit wine[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2021(2): 27-31.]
- [20] 孙天利, 曲思奕, 薛亚宁, 等. 软枣猕猴桃-梨复合果酒发酵工艺优化[J]. 中国酿造, 2022, 41(9): 204-208. [SUN Tianli, QU Siyi, XUE Yaning, et al. Optimization of fermentation technology of kiwiberry-pear compound fruit wine[J]. China Brewing, 2022, 41(9): 204-208.]
- [21] 刘月芹, 高小鹏, 贺晓龙. 提高温度对灵芝抗氧化活性的影响[J]. 延安大学学报(自然科学版), 2020, 39(4): 27-31, 36. [LIU Yueqin, GAO Xiaopeng, HE Xiaolong. Effects of increasing temperature on antioxidant activity of *Ganoderma lucidum*[J]. Journal of Yan'an University (Natural Science Edition), 2020, 39(4): 27-31, 36.]
- [22] 李敏, 岳晓华, 薛慧清, 等. 响应面法优化黄芪蛋白水解工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(14): 5758-5765. [LI Min, YUE Xiaohua, XUE Huiqing, et al. Optimization of *Astragalus membranaceus* protein hydrolysis process by response surface methodology and its antioxidant activity[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(14): 5758-5765.]
- [23] KATOCH S, CHAUHAN S S, KUMAR V. A review on genetic algorithm: Past, present, and future[J]. Multimedia Tools and Applications, 2020; 8091-8126.
- [24] VILLANO D, FERNÁNDEZ-PACHÓN M S, TRONCOSO A M, et al. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines[J]. *Food Chem*, 2006, 95: 394-404.
- [25] SELMA M V, ESPÍN J C, TOMÁS-BARBERÁN F A. Interaction between phenolics and gut microbiota: Role in human health[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57: 6485-6501.
- [26] XU S Y, CHEN X Q, LIU Y, CHEONG K L. Ultrasonic/microwave-assisted extraction, simulated digestion, and fermentation *in vitro* by human intestinal flora of polysaccharides from *Porphyra haitanensis*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 152: 748-756.
- [27] WU X, GU L, PRIOR R L, et al. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and their antioxidant capacity[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 7846-7856.
- [28] BARONI M V, FABANI M P, ADAN F, et al. Effect of geographical location, processing and simulated digestion on antioxidant characteristics of quince (*Cydonia oblonga*) [J]. *Heliyon*, 2022, 8(11): e11435.
- [29] RIBEIRO T, OLIVEIRA A, CAMPOS D, et al. Simulated digestion of an olive pomace water-soluble ingredient: Relationship between the bioaccessibility of compounds and their potential health benefits[J]. *Food Funct*, 2020, 11: 2238-2254.
- [30] BOUAYED J, HOFFMANN L, BOHN T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake[J]. *Food Chem*, 2011, 128(1): 14-21.
- [31] TAGLIAZUCCHI D, VERZELLONI E, BERTOLINI D, et al. *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of grapepolyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(2): 599-606.