

王紫琳, 刘俐彤, 杨会, 等. 高山黑蜜酸奶的制备工艺优化及品质分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(7): 215–225. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070259

WANG Zilin, LIU Litong, YANG Hui, et al. Preparation Process Optimization and Quality Analysis of *Leucosceptrum canum* Honey Yogurt[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(7): 215–225. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070259

· 工艺技术 ·

高山黑蜜酸奶的制备工艺优化及品质分析

王紫琳¹, 刘俐彤¹, 杨会^{1,2}, 陶亮^{1,2,3,*}, 杨敏¹, 田洋^{1,2,3}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201;

2. 食药同源资源开发与利用教育部工程研究中心, 云南昆明 650201;

3. 云南省药食同源功能食品工程研究中心, 云南昆明 650201)

摘要:为促进高山黑蜜在食品加工中的应用, 提高其潜在开发利用价值, 本研究以高山黑蜜、牛乳为原料制备高山黑蜜酸奶, 基于单因素实验结合响应面法优化高山黑蜜酸奶制备工艺, 并采用气相色谱-质谱联用系统 (GC-MS) 和顶空-气相色谱-离子迁移谱 (HS-GC-IMS) 对高山黑蜜酸奶的游离脂肪酸及挥发性风味成分进行分析。结果表明: 高山黑蜜酸奶最佳配方为高山黑蜜添加量 1.2%、蔗糖添加量 7%、发酵时间 9 h, 其感官评分为 (87.5±1.3) 分, 产品相关理化卫生指标均符合标准要求。同时, 与不添加高山黑蜜的酸奶相比, 高山黑蜜酸奶不饱和脂肪酸含量增加; 高山黑蜜酸奶中共 74 种挥发性风味成分, 其中烃类和酯类含量较高, 且酚类、酯类、酮类较不添加高山黑蜜的酸奶相对含量分别增加了 4.06%、1.35%、1.35%, 整体风味品质提高。利用高山黑蜜、牛乳制备的酸奶组织细腻, 稳定性好, 风味较佳, 是一款具有一定特色的健康酸奶产品。

关键词:高山黑蜜, 酸奶, 气相色谱-质谱联用 (GC-MS), 顶空-气相色谱-离子迁移谱 (HS-GC-IMS), 风味物质

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2023)07-0215-11

本文网刊:

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070259



Preparation Process Optimization and Quality Analysis of *Leucosceptrum canum* Honey Yogurt

WANG Zilin¹, LIU Litong¹, YANG Hui^{1,2}, TAO Liang^{1,2,3,*}, YANG Min¹, TIAN Yang^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Engineering Research Center for the Development and Utilization of Food and Medicine Homologous Resources, Kunming 650201, China;

3. Yunnan Province Medicine and Food Homologous Functional Food Engineering Research Center, Kunming 650201, China)

Abstract: To promote the application of *Leucosceptrum canum* honey in food processing and improve its potential development and utilization value, in this study, *Leucosceptrum canum* honey yogurt was prepared with *Leucosceptrum canum* honey and cow milk as raw materials. The preparation process of *Leucosceptrum canum* honey yogurt was optimized based on a single-factor experiment and response surface test. Gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) and headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) were used to analyze the free fatty acids and volatile flavor components of *Leucosceptrum canum* honey yogurt. The results showed that the best formula for *Leucosceptrum canum* honey yogurt was 1.2% *Leucosceptrum canum* honey, 7% sucrose, and 9 h fermentation time. The sensory score was 87.5±1.3, and the related physical and chemical health indicators of the product met the standard

收稿日期: 2022-07-21

基金项目: 个性化营养定制健康食品生物制造技术开发及应用 (202102AE090027-2); 重要药食兼用资源生物制造技术开发与应用 (202002AA100005); 云南省万人计划产业技术领军人才项目 (YNWR-CYJS-2020-010)。

作者简介: 王紫琳 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学, E-mail: 1415677259@qq.com。

* 通信作者: 陶亮 (1987-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品科学, E-mail: 875316158@qq.com。

requirements. At the same time, compared with the yogurt without *Leucosceptrum canum* honey, the content of unsaturated fatty acids in *Leucosceptrum canum* honey yogurt increased. There were 74 volatile flavor components in *Leucosceptrum canum* honey yogurt, among which the contents of hydrocarbons and esters were higher. And the relative contents of phenols, esters, and ketones were increased by 4.06%, 1.35%, and 1.35%, respectively, compared with the blank yogurt. The overall flavor quality was improved. The yogurt prepared with *Leucosceptrum canum* honey and cow milk, had delicate tissue, good stability, and good flavor. The yogurt product was health with certain characteristics.

Key words: *Leucosceptrum canum* honey; yogurt; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS); flavor substances

蜂蜜是由工蜂采集的花蜜及其自身分泌物混合而成的一种天然甜味物质。我国是蜂蜜生产大国,云南西南部山区地处高原,环境污染少,光照、温湿度适宜鲜花生长,且为蜜蜂提供了适宜的生长环境,蜜源丰富^[1]。高山黑蜜(*Leucosceptrum canum* honey)是云南西南部山区的一种稀有蜂蜜,其主要蜜源为米团花。米团花中含有的花青素使高山黑蜜色泽呈黑且泛棕红,蜂蜜口感润滑,口味类似焦糖^[2]。蜂蜜作为一种天然无公害食品深受大众的喜爱,其含有丰富的营养物质,例如糖类、氨基酸、有机酸、蛋白质、维生素、矿物质、酚类化合物等,不仅可以作为甜味剂和膳食补充剂,也对伤口愈合、提高免疫力、减轻胃肠道疾病、润肺止咳等其他疾病具有一定的功效^[3]。随着人们的保健意识逐渐增强,蜂蜜类食品的开发逐渐成为热点,但目前针对高山黑蜜的研究及其产品的开发还十分有限。

酸奶是以鲜牛乳为原料,经乳酸菌发酵而成的乳制品^[4]。酸奶发酵过程中发生的糖酵解、脂肪分解和蛋白水解使酸奶产生特殊的酸香味,增加了酸奶的营养价值,对人体有一定的健康作用^[5]。近年来酸奶深受消费者青睐,年销量逐渐上升,品类也逐渐增加,口味逐渐丰富^[6]。Bielska 等^[7]研究发现,添加了蜜露蜂蜜的发酵乳中果味、蜡味等风味物质增加,与不添加蜂蜜的发酵乳相比更香甜。随着人们收入和生活水平不断提高,消费者更加注重酸奶的品质。因此,通过添加高品质物质来增加酸奶独特风味及营养物质可能成为未来酸奶产品的发展趋势。目前,已有苹果蜂蜜红枣酸奶^[8]、蜂蜜银耳酸奶^[9]等多种蜂蜜酸奶的研制,但以高山黑蜜为主要添加物的纯高山黑蜜酸奶鲜见报道,经过初步研究发现添加高山黑蜜的酸奶风味更佳,游离脂肪酸对酸奶风味有积极作用^[10],因此进一步探索高山黑蜜酸奶中的游离脂肪酸和挥发性风味物质。

挥发性成分是构成食品风味的重要物质,一定程度上决定了消费者的喜好程度。气相色谱-质谱联用系统(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)和顶空-气相色谱-离子迁移谱(headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry, HS-GC-IMS)是 2 种常见用于分析挥发性风味成分的技术,具有较好的选择性和灵敏度^[11]。本研究通过将高山黑蜜添加至鲜牛乳中发酵,通过响应面试验优化高山

黑蜜酸奶工艺,研究了高山黑蜜酸奶的理化指标、微生物指标、游离脂肪酸及挥发性风味物质,旨在为开发具有一定营养和功能特性的蜂蜜发酵乳制品提供一定的理论依据。

1 材料与方法

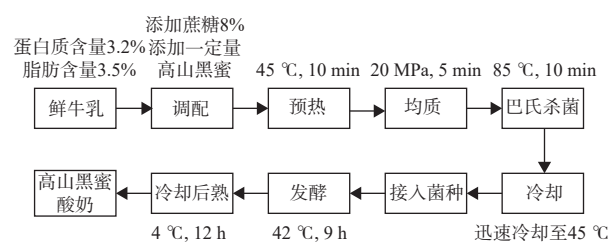
1.1 材料与仪器

高山黑蜜 市售;鲜牛乳 云南欧亚乳业有限公司;蔗糖 广西南宁市庄家铺子食品有限公司;酸奶发酵剂(含保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌) 安琪酵母股份有限公司;MRS 培养基 北京索莱宝公司。

BSA124S-CW 分析天平 德国 Sartorius 公司;DNP-9162 恒温培养箱 上海精宏试验设备有限公司;JJ0.3/25 均质机 廊坊市汇通机械厂;SW-CJ-2F 超净工作台 苏州安泰空气技术有限公司;GI80TW 高压蒸汽灭菌锅 致微仪器有限公司;HH-4 型数显恒温水浴锅 国华电器有限公司;梅特勒 PE28 pH 计 上海右一仪器有限公司;7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司;Flavour Spec®顶空气相色谱-离子迁移谱(HS-GC-IMS) 德国 G.A.S.公司。

1.2 实验方法

1.2.1 高山黑蜜酸奶制备工艺流程



1.2.2 单因素实验 通过单因素实验考察高山黑蜜添加量、蔗糖添加量、菌种添加量、发酵时间、发酵温度对高山黑蜜酸奶感官评分及 pH 的影响。

分别考察当蔗糖添加量为 6%, 菌种添加量为 0.4%, 发酵时间为 9 h, 发酵温度为 40 °C 时, 比较不同高山黑蜜添加量(0%、0.4%、0.8%、1.2%、1.6%)对高山黑蜜酸奶感官评分及 pH 的影响; 当高山黑蜜添加量为 0.8%, 菌种添加量为 0.4%, 发酵时间为 9 h, 发酵温度为 40 °C 时, 比较不同蔗糖添加量(2%、4%、6%、8%、10%)对高山黑蜜酸奶感官评分及 pH 的影响; 当高山黑蜜添加量为 0.8%, 蔗糖添加量为 6%, 发酵时间为 9 h, 发酵温度为 40 °C 时, 比较

不同菌种添加量(0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%)对高山黑蜜酸奶感官评分及 pH 的影响;当高山黑蜜添加量为 0.8%,蔗糖添加量为 6%,菌种添加量为 0.4%,发酵温度为 40 ℃ 时,比较不同发酵时间(5、7、9、11、13 h)对高山黑蜜酸奶感官评分及 pH 的影响;当高山黑蜜添加量为 0.8%,蔗糖添加量为 6%,菌种添加量为 0.4%,发酵时间为 9 h 时,比较不同发酵温度(36、38、40、42、44 ℃)对高山黑蜜酸奶品质的影响。

1.2.3 响应面优化 在单因素实验的基础上,选取高山黑蜜添加量(X_1)、蔗糖添加量(X_2)、发酵时间(X_3)作为响应面试验的影响因子,固定菌种添加量为 0.4%,发酵温度为 42 ℃,以感官评分(Y)作为响应值,通过 Box-Behnken 设计进行 3 因素 3 水平试验,优化高山黑蜜酸奶工艺,因素水平如表 1 所示。

表 1 响应面试验的因素水平编码
Table 1 Factors and levels coding of response surface experiment

水平	因素		
	X_1 高山黑蜜添加量(%)	X_2 蔗糖添加量(%)	X_3 发酵时间(h)
-1	0.4	6	7
0	0.8	8	9
1	1.2	10	11

1.2.4 感官评价 参考王富云等^[12]的方法,稍作修改。对高山黑蜜酸奶的气味、色泽、组织状态和滋味进行感官分析,感官评价由 10 名经过培训的酸奶品评员组成(男女各半),结果取平均值作为最终得分,满分为 100 分。高山黑蜜酸奶感官评价标准见表 2。

表 2 高山黑蜜酸奶感官评价标准
Table 2 Sensory evaluation standard of *Leucosceptrum canum* honey yogurt

项目	评定标准	分值(分)
色泽(25分)	色泽均匀一致,呈令人喜爱的乳白色	18~25
	色泽较为均匀,呈灰白色,较能接受	10~17
	色泽不均匀,呈灰黑色或有其他杂色,不能接受	0~9
气味(25分)	具有酸奶特殊风味及蜂蜜清甜味,无异味	18~25
	酸奶风味或蜂蜜味香较淡,无异味	10~17
	无酸奶风味或蜂蜜香味,有异味	0~9
滋味(25分)	酸甜适中,口感细腻顺滑	18~25
	较酸或较甜,口感较顺滑	10~17
	过酸或过甜,有明显颗粒感	0~9
组织状态(25分)	凝乳组织稳定,表面细腻光滑,无乳清析出	18~25
	凝乳组织较稳定,表面较细腻,轻微乳清析出	10~17
	凝乳表面粗糙,有明显乳清析出	0~9

1.2.5 理化指标及微生物指标的测定 pH 测定使用 pH 计;酸度测定:参照 GB 5009.239-2016《食品安全国家标准 食品酸度的测定》中酸碱滴定法测定酸奶酸度;蛋白质测定:参照国家标准 GB 5009.5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中的凯氏定氮法;脂肪测定:参照 GB 5009.6-2016《食品

安全国家标准 食品中脂肪的测定》中的索氏抽提法;乳酸菌活菌数、大肠菌群、菌落总数、霉菌分别按照 GB 4789.35-2016《食品微生物学检验 乳酸菌检验》、GB 4789.3-2016《食品微生物学检验 大肠菌群计数》、GB 4789.2-2016《食品微生物学检验 菌落总数测定》、GB 4789.15-2016《食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》进行测定。

1.2.6 GC-MS 测定游离脂肪酸 参考巨玉佳^[13]的方法稍作修改,采用气相色谱-质谱联用系统(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)对脂肪酸进行绝对定性定量检测分析。提取酸奶样品中的总脂肪酸并进行甲酯化,留取上清液供 GC-MSD 分析。

GC-MSD 分析条件:采用 GC-MS 系统(7890A GC-5975C MSD, Agilent)进行分析。分析条件为:进样口温度 250 ℃;升温程序,初始温度 55 ℃,保持 1 min,以 30 ℃/min 升至 205 ℃,保持 1 min,然后以 5 ℃/min 升至 230 ℃,保持 1 min;恒流速模式 0.2 mL/min;进样量 1 μ L;分流比 60:1;载气为氦气(99.9999%,武汉纽瑞德特种气体有限公司)。电子轰击离子源;四级杆温度 150 ℃;离子源温度 230 ℃;保压时间 25 ms;四级杆质量扫描范围 m/z 30~400 Da。

脂肪酸定性及定量:所有质谱数据通过 MSD Chem Station(G1701EA.02.00.493)和 ACD/Spectrus Processor 2015(S30S41)软件处理,采用标准质谱谱库 NIST 进行匹配定性。根据 38 种混合脂肪酸甲酯标准物质(Sigma 公司)所拟合的标准曲线和如下公式获得每种脂肪酸的绝对含量。

$$X = [(C \times V \times N) / (1000 \times m)] \times k$$

式中: X: 待测样品中各脂肪酸的含量, mg/g; C: 待测样品中根据标准曲线计算的脂肪酸甲酯浓度, μ g/mL; V: 定容体积, mL; k: 各脂肪酸甲酯转化为脂肪酸的换算系数(GB 5009.168-2016 附录); N: 稀释倍数; m: 试样的称样质量, mg。

1.2.7 HS-GC-IMS 测定挥发性风味物质 参考杨冰月等^[14]的方法稍作修改,采用 HS-GC-IMS 测定高山黑蜜对酸奶挥发性有机物的影响,分析时间 21 min。称取 3 g 样品于 20 mL 顶空样品瓶中,于 40 ℃ 孵育 8 min,采用自动顶空进样,进样量 250 μ L。色谱柱型号: FS-SE-54-CB-1(15 m $\times$ 0.53 mm $\times$ 0.5 μ m),柱温 60 ℃,载气/漂移气为 N₂(纯度 $\geq$ 99.999%),进样口温度 40 ℃,色谱柱流量 50 mL/min,孵化器转速 500 r/min,漂移器流量 250 mL/min。

根据化合物保留时间,使用 HS-GC-IMS 仪器配套的分析软件 LAV 以及软件内置的 NIST 数据库和 IMS 数据库对特征风味物质进行定性分析。利用数据处理软件,扣除非嗅感物质杂峰后计算挥发性风味物质的总峰面积,采用面积归一化法计算各化合物的相对含量。

1.3 数据处理

实验结果用平均值 $\pm$ 标准差表示,采用 Graphpad

9.3.1 绘图,采用 Excel 2013、SPSS 20.0 软件统计分析数据的相关性和差异显著性。风味描述在专为香精、香料、食品和化妆品行业提供信息的 Good Scents 公司信息系统 (<http://www.thegoodscentscompany.com/>) 查询得出。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 蜂蜜添加量对高山黑蜜酸奶的影响 蜂蜜作为高山蜂蜜酸奶的主成分之一,蜂蜜添加量对高山黑蜜酸奶品质及 pH 结果如图 1 所示。随高山黑蜜添加量的增加,酸奶 pH 逐渐降低,蜂蜜添加量在 0.8% 前 pH 下降较快,0.8% 后 pH 变化平缓,与未添加高山黑蜜、添加 0.4% 高山黑蜜的酸奶相比具有显著性,可能是由于蜂蜜中的主要成分为蔗糖和果糖,在发酵时能被乳酸菌发酵所利用,使乳酸菌产酸,pH 下降;感官评分随高山黑蜜添加量的增加呈先增大后减小的趋势,当蜂蜜添加量为 0.8% 时感官评分最高,为(84.7±1.5)分。较低或较高的蜂蜜添加量均影响酸奶的品质及口味,蜂蜜添加量低,蜜香味过淡;蜂蜜添加量过高,酸奶过甜,特有的酸香风味减弱,且蜂蜜具有高渗透压,适当的渗透压使酸奶中形成酪蛋白胶束,减少水分向周围环境释放,蜂蜜添加量过高使三维蛋白质网络更密集时,蛋白质胶束逐渐失去吸引乳清的能力,导致乳清被排出,组织状态变差,影响酸奶品质^[15]。因此,选择蜂蜜添加量 0.4%、0.8%、1.2% 作为响应面优化水平。

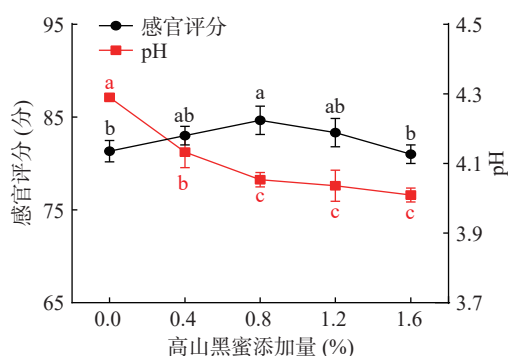


图1 高山黑蜜添加量对酸奶发酵过程中的感官评分和 pH 的影响

Fig.1 The effect of *Leucosceptrum canum* honey addition on sensory score and pH value during fermentation of yogurt

注:图中不同小写字母表示同一指标下不同组差异显著($P<0.05$);相同字母表示无显著差异($P>0.05$);图2~图5同。

2.1.2 蔗糖添加量对高山黑蜜酸奶的影响 蔗糖添加量是影响酸奶品质及发酵的重要因素之一,合适的蔗糖添加量不仅可以改善酸奶风味,还能为乳酸菌发酵提供充足的碳源^[16]。图2可知,酸奶 pH 在蔗糖添加量为 4% 之前下降较快,4% 以后变化平缓,这可能是由于酸奶中的糖含量过高导致物料的渗透压过强,一定程度上抑制了乳酸菌发酵,pH 下降减缓^[17];随着蔗糖添加量的增加,高山蜂蜜酸奶的感官评分呈先增大后减小的趋势。当蔗糖添量为 8% 时,感官评

分达到最高,为(86.3±1.5)分,较低的蔗糖添加量不利于乳酸菌发酵,但蔗糖添加量过高使酸奶酸甜比例失调,大众喜好度降低。因此,选择 6%、8%、10% 作为响应面优化水平。

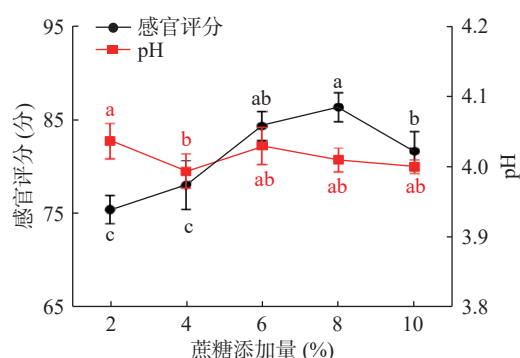


图2 蔗糖添加量对酸奶发酵过程中的感官评分和 pH 的影响

Fig.2 The effect of sugar addition on sensory score and pH value during fermentation of yogurt

2.1.3 菌种添加量对高山黑蜜酸奶的影响 适当的菌种添加量有利于酸奶发酵,形成良好的组织状态及风味。结果如图3所示,菌种添加量增加,酸奶 pH 先降低后升高,但无显著性差异。菌种添加量过低,酸奶 pH 较高,组织状态不稳定,风味较差,但过多的菌种添加量会导致酸奶呈现豆腐状,乳清析出,酸味过重,风味不佳^[18]。随着菌种添加量的增多,高山黑蜜酸奶的感官评分呈先增大后减小的趋势。当菌种添加量为 0.4% 时,感官评分最高,为(85.0±1.0)分,此时酸奶风味浓郁,口感顺滑,组织状态良好。菌种添加量在工业生产中相对固定,考虑成本因素,选择 0.4% 为最佳菌种接种量。

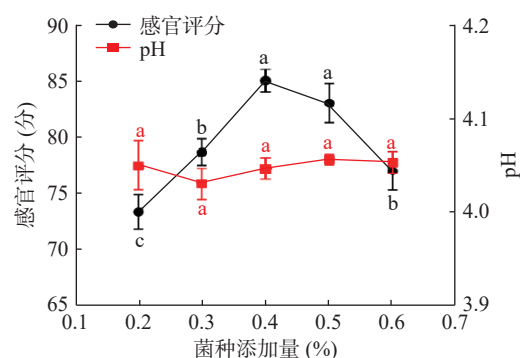


图3 菌种添加量对酸奶发酵过程中的感官评分和 pH 的影响

Fig.3 The effect of the amount of bacteria added on sensory score and pH value during fermentation of yogurt

2.1.4 发酵时间对高山黑蜜酸奶的影响 发酵时间直接影响酸奶的品质及营养。结果如图4所示,高山黑蜜酸奶 pH 随发酵时间的延长而降低,感官评分随发酵时间的延长呈现先增加后降低的趋势,在发酵时间为 9 h 时,酸奶 pH 为 4.10,感官评分最高,为(84.3±2.3)分。合适的发酵时间对酸奶风味、组织状态具有一定的影响。发酵时间过短导致酸奶发酵不

完全, 风味及口感未完全体现; 发酵时间过长, 乳清析出过多, 酸奶过酸而影响品质及口感。这是由于随着发酵时间的延长, 产酸量上升, 酪蛋白过度收缩, 乳清析出较多, 破坏了酸奶的组织状态^[19]。因此, 选择 7、9、11 h 为响应面优化水平。

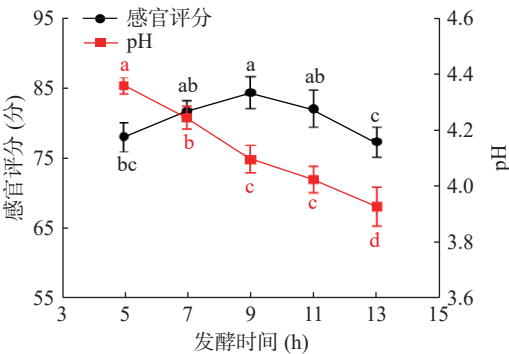


图 4 发酵时间对酸奶发酵过程中的感官评分和 pH 的影响
Fig.4 The effect of fermentation time on sensory score and pH value during fermentation of yogurt

2.1.5 发酵温度对高山黑蜜酸奶的影响 发酵温度通过影响乳酸菌的生长代谢而影响酸奶品质, 适宜的发酵温度可缩短酸奶凝乳时间, 提高生产效率, 赋予酸奶细腻顺滑的口感及良好风味^[20]。发酵温度对高山黑蜜酸奶的影响如图 5 所示, pH 随发酵温度升高逐渐降低, 感官评分随发酵温度的升高呈先增大后降低的趋势, 当发酵温度为 42 ℃ 时, 感官评分达最大值, 为(86.0±1.0)分, 此时酸奶凝乳均匀, 香味浓郁。发酵温度和发酵时间联合作用影响整个发酵过程, 结合 pH 与感官评分结果确定发酵温度 42 ℃ 为固定值, 选择发酵时间为响应面水平因素优化产品品质。

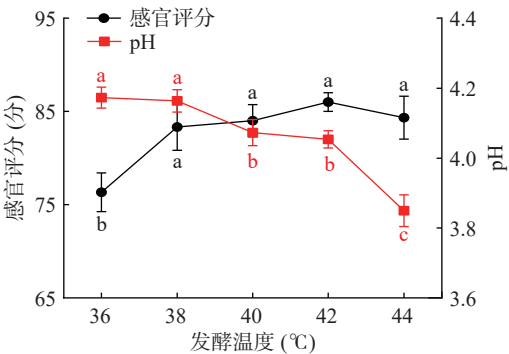


图 5 发酵温度对酸奶发酵过程中的感官评分和 pH 的影响
Fig.5 The effect of fermentation temperature on sensory score and pH value during fermentation of yogurt

2.2 响应面试验设计与结果

2.2.1 响应面试验设计 基于 Box-Behnken 试验设计, 在单因素实验基础上, 利用 Design Expert 软件进行响应面优化试验, 选取高山黑蜜添加量(X_1)、蔗糖添加量(X_2)、发酵时间(X_3)3 个因素, 固定菌种添加量为 0.4%, 发酵温度为 42 ℃, 以感官评分(Y)为响应值, 完成高山黑蜜酸奶加工工艺优化。试验设计及结果见表 3。

表 3 高山黑蜜酸奶响应面试验设计与结果

Table 3 Design and results of response surface experiments for *Leucosceptrum canum* honey yogurt

试验号	X_1 高山黑蜜添加量 (%)	X_2 蔗糖添加量 (%)	X_3 发酵时间 (h)	感官评分 (分)
1	1	-1	0	82.3±0.4
2	0	0	0	87.7±0.8
3	0	0	0	88.2±1.1
4	0	-1	-1	73.5±0.2
5	0	-1	1	82.4±0.5
6	-1	-1	0	78.3±0.2
7	0	0	0	89.1±0.4
8	1	0	1	85.7±0.9
9	-1	1	0	79.5±0.7
10	0	1	1	77.3±0.5
11	-1	0	1	84.9±0.3
12	0	0	0	86.8±0.8
13	0	1	-1	78.1±0.5
14	1	1	0	81.9±0.4
15	0	0	0	88.2±0.9
16	-1	0	-1	74.2±1.2
17	1	0	-1	84.4±0.5

2.2.2 模型的建立及显著性分析 根据表 3 的结果, 利用 Design-Expert 软件进行二元回归方程拟合和方差分析。回归方程为: $Y=+88.00+2.17X_1+0.037X_2+2.51X_3-0.40X_1X_2-2.35X_1X_3-2.43X_2X_3-1.51X_1^2-5.99X_2^2-4.19X_3^2$ 。响应面模型方差分析见表 4。

表 4 回归方程的方差分析

Table 4 Analysis of variance (ANOVA) for regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	389.44	9	43.27	39.97	<0.0001	**
X_1 高山黑蜜添加量	37.85	1	37.85	34.96	0.0006	**
X_2 蔗糖添加量	0.011	1	0.011	0.010	0.9217	
X_3 发酵时间	50.50	1	50.50	46.65	0.0002	**
X_1X_2	0.64	1	0.64	0.59	0.4671	
X_1X_3	22.09	1	22.09	20.41	0.0027	**
X_2X_3	23.52	1	23.52	21.73	0.0023	**
X_1^2	9.63	1	9.63	8.90	0.0204	*
X_2^2	150.95	1	150.95	139.44	<0.0001	**
X_3^2	73.83	1	73.83	68.21	<0.0001	**
残差	7.58	7	1.08			
失拟项	4.76	3	1.59	2.25	0.2248	
纯误差	2.82	4	0.70			
总方差	397.02	16				

$R^2=0.9809$ $R_{Adj}^2=0.9564$ C.V=1.26%

注: “**”表示差异极显著($P<0.01$); “*”表示差异显著($P<0.05$)。

由表 4 可知, 该回归模型的 $P<0.0001$, 说明回归模型的影响达到极显著水平($P<0.01$); 感官评分回归模型失拟性检验 $P=0.2248>0.05$, 表明二次回归模型与实际试验拟合性充分, 模型失拟不显著, 表明此模型可用于试验拟合。模型的总决定系数 $R^2=0.9809$, 表明该模型能解析 98.09% 的响应变化, 存在 1.91% 的总变异, 说明该模型拟合程度相对较好, 试验误差较小。校正决定系数 $R_{Adj}^2=0.9564$, 说明该模型响应值的变化有 95.64% 来源于所选变量。响应值 Y 的

变异系数(C.V)与试验精确度和重复性成反比,其变异系数 $C.V=1.26\%<5\%$,说明试验的精确度和重复性较高,且可信度较高。由回归系数显著性表明,在所取因素水平范围内,各因素对感官评分的影响顺序为: X_3 (发酵时间) $>X_1$ (高山黑蜜添加量) $>X_2$ (蔗糖添加量)。

2.2.3 各因素交互作用的响应面分析 如图 6 所示,响应面的变化情况和等高线的稀疏程度可直观地反映高山黑蜜添加量(X_1)、蔗糖添加量(X_2)、发酵时间(X_3)之间的交互作用对高山黑蜜酸奶感官评分的影响。曲面图弧度变化越陡峭,等高线越密集且呈椭圆形或马鞍形时,表示两因素之间交互作用越显著。由图 6 可知,随着蔗糖添加量和发酵时间的增加,感官评分呈现先上升后下降的趋势,同单因素实验结果一

致,交互项 X_2X_3 、 X_1X_3 的曲面倾斜度较大,坡度较陡,且等高线呈椭圆形,较密集,说明其影响极显著($P<0.01$),反之, X_1X_2 影响不显著,各因素间交互作用对高山黑蜜酸奶的感官评分的影响大小依次为 $X_2X_3>X_1X_3>X_1X_2$ 。

2.2.4 验证实验 通过 Design Expert 软件分析得到高山黑蜜酸奶的最佳工艺条件为高山黑蜜添加量:1.20%,蔗糖添加量:7.03%,发酵时间:9.06 h,在此优化条件下,高山黑蜜酸奶感官评分达到了 88.67 分,为了验证模型的精准性,考虑到实际操作的可性,加工工艺参数调整为高山黑蜜添加量:1.20%,蔗糖添加量:7%,发酵时间:9 h,在上述最佳条件下进行验证实验,得到高山黑蜜酸奶感官评分为(87.5 $\pm$ 1.3)分,与理论值接近,具有一定的实际应用价值。

2.3 高山黑蜜酸奶理化及微生物指标检测结果

在最优加工工艺参数下制备的高山黑蜜酸奶的理化指标与微生物指标如表 5 所示。

表 5 理化指标及微生物指标结果
Table 5 Results of physical and chemical indicators and microbial indicators

项目	检测结果	标准要求
pH	4.2 $\pm$ 0.3	-
酸度($^{\circ}$ T)	88.0 $\pm$ 1.6	≥ 70
蛋白质(g/100 g)	3.1 $\pm$ 0.6	≥ 2.9
脂肪(g/100 g)	3.3 $\pm$ 0.2	≥ 3.1
乳酸菌活菌数(CFU/mL)	1.8 $\times 10^7$	$\geq 1 \times 10^6$
大肠菌群(CFU/mL)	未检出	≤ 5
致病菌(CFU/mL)	未检出	≤ 5
霉菌(CFU/mL)	未检出	≤ 30

高山黑蜜酸奶的 pH 为(4.2 $\pm$ 0.3)、酸度为(88.0 $\pm$ 1.6) $^{\circ}$ T,乳酸菌活菌数为(1.8 $\times 10^7$)CFU/mL,蛋白质含量为(3.1 $\pm$ 0.6)g/100 g,脂肪含量为(3.3 $\pm$ 0.2)g/100 g,未检测出大肠杆菌、致病菌及霉菌,符合国家标准 GB 19302-2010《食品安全国家标准 发酵乳》要求,该工艺条件下得到的酸奶产品色泽均匀、组织状态好,酸甜适中,具有蜂蜜的蜜香及酸奶特殊风味。

2.4 高山黑蜜酸奶游离脂肪酸分析

游离脂肪酸作为酸奶挥发性风味成分重要的前体物质,在酸奶风味形成中具有重要的作用。图 7 为普通酸奶(未加高山黑蜜,制作工艺流程与高山黑蜜酸奶相同)和高山黑蜜酸奶的游离脂肪酸 GC-MS 图谱,表 6 为普通酸奶与高山黑蜜酸奶脂肪酸含量(%)变化情况。

由表 6 可知,从普通酸奶和高山黑蜜酸奶中共检测出 19 种游离脂肪酸。棕榈酸、油酸、硬脂酸、肉豆蔻酸为两种酸奶中占比较大的游离脂肪酸,此结果与李升升等^[22]对牦牛酸奶游离脂肪酸检测的结果一致。短链脂肪酸(丁酸、己酸)会使酸奶产生尖锐且强烈的酸味,长链脂肪酸则会产生诱人的花果香^[23]。与普通酸奶比较,高山黑蜜酸奶中棕榈油酸、油酸、

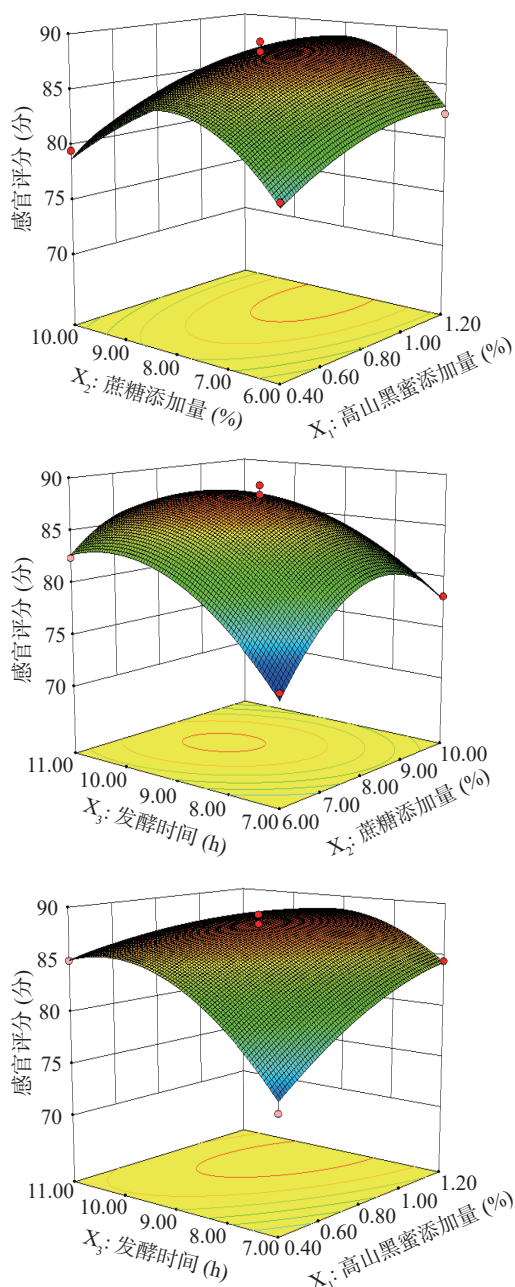


图 6 交互作用响应面和等高线图

Fig.6 Response surface and contour plot of interaction

表 6 普通酸奶与高山黑蜜酸奶脂肪酸含量变化

Table 6 Changes in fatty acid relative content of blank yogurt and <i>Leucosceptrum canum</i> honey yogurt								
游离脂肪酸种类	脂肪酸饱和度	脂肪酸简称	保留时间(min)	普通酸奶含量(%)	保留时间(min)	高山黑蜜酸奶含量(%)	气味描述 ^[21]	
丁酸	饱和	C _{4:0}	3.419	1.679±0.029 ^a	3.420	1.576±0.025 ^b	尖锐的酸味、黄油味、水果味	
己酸	饱和	C _{6:0}	6.878	1.638±0.032 ^a	6.880	1.61±0.024 ^a	酸奶酪味	
辛酸	饱和	C _{8:0}	10.094	1.032±0.025 ^a	10.097	1.007±0.022 ^a	酸败植物奶酪味	
癸酸	饱和	C _{10:0}	12.885	2.374±0.018 ^a	12.886	2.316±0.024 ^b	令人不愉快的酸败味	
月桂酸	饱和	C _{12:0}	15.352	2.920±0.015 ^a	15.353	2.794±0.036 ^b	柔和的油脂味、椰子味	
肉豆蔻酸	饱和	C _{14:0}	17.633	10.924±0.033 ^a	17.635	10.685±0.032 ^b	-	
肉豆蔻烯酸	不饱和	C _{14:1}	18.059	0.866±0.020 ^a	18.060	0.862±0.014 ^a	-	
十五烷酸	饱和	C _{15:0}	18.973	1.037±0.007 ^a	18.974	1.032±0.015 ^a	蜡味	
棕榈酸	饱和	C _{16:0}	20.618	33.355±0.044 ^a	20.625	32.792±0.045 ^b	轻微蜡味、油脂味	
棕榈油酸	单不饱和	C _{16:1}	20.998	1.707±0.006 ^b	21.002	1.748±0.017 ^a	-	
十七烷酸	饱和	C _{17:0}	22.462	0.632±0.020 ^a	22.471	0.611±0.021 ^a	-	
银杏酸	不饱和	C _{17:1}	22.872	0.287±0.0020 ^a	22.872	0.276±0.026 ^a	-	
硬脂酸	饱和	C _{18:0}	24.704	11.669±0.008 ^a	24.705	11.649±0.045 ^a	无味, 柔和的油脂味	
油酸	单不饱和	C _{18:1}	25.102	26.938±0.053 ^b	25.114	27.472±0.006 ^a	柔和的油脂味	
亚油酸	多不饱和	C _{18:2}	26.114	2.046±0.026 ^b	26.108	2.673±0.021 ^a	柔和的油脂味	
亚麻酸	多不饱和	C _{18:3}	27.661	0.577±0.021 ^b	27.662	0.603±0.012 ^a	柔和的油脂味	
花生酸	饱和	C _{20:0}	29.468	0.043±0.010 ^a	29.464	0.013±0.001 ^b	-	
花生烯酸	多不饱和	C _{20:1}	29.832	0.230±0.007 ^a	29.841	0.243±0.016 ^a	-	
山嵛酸	饱和	C _{22:0}	35.768	0.068±0.010 ^a	35.796	0.039±0.009 ^b	-	

注: 同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 相同字母表示无显著差异($P>0.05$); 表7同。

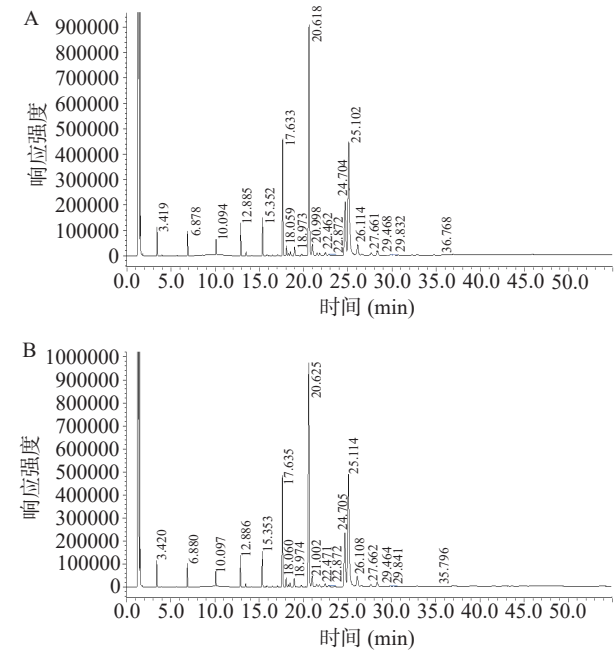


图 7 普通酸奶与高山黑蜜酸奶游离脂肪酸 GC-MS 图谱
Fig.7 GC-MS spectrum of free fatty acids of blank yogurt and *Leucosceptrum canum* honey yogurt

注: A: 普通酸奶; B: 高山黑蜜酸奶。

亚油酸和亚麻酸等游离脂肪酸出现增加的趋势, 且与普通酸奶相比有显著性差异($P<0.01$); 丁酸、己酸、辛酸和花生酸等游离脂肪酸出现降低的趋势, 高山黑蜜酸奶中丁酸含量与普通酸奶相比具有显著性差异($P<0.01$), 说明高山黑蜜酸奶的风味更加柔和。普通酸奶中棕榈酸含量为 33.355%, 高山黑蜜酸奶棕榈酸含量降低, 为 32.792%, 且与普通酸奶相比有显著性差异($P<0.01$), 说明高山黑蜜酸奶蜡味减弱。

此外, 高山黑蜜酸奶中的饱和脂肪酸含量为

66.122%, 相较于普通酸奶(67.371%)减少; 不饱和脂肪酸含量为 33.877%, 相较于普通酸奶(32.625%)增多, 可能是由于添加了高山黑蜜后, 更有利于微生物生长繁殖, 微生物生长代谢过程中产生了少量的不饱和脂肪酸^[24]。不饱和脂肪酸增多可能对高山黑蜜酸奶肠道消化吸收率的提升以及心血管疾病的改善具有一定的功效^[25-26]。

2.5 高山黑蜜酸奶挥发性物质分析

普通酸奶和高山黑蜜酸奶挥发性风味物质及其相对含量如表 7 和图 8 所示。从表 7 和图 8 中可知, 高山黑蜜酸奶与普通酸奶的挥发性风味物质种类存在差异。高山黑蜜酸奶中检测到醇类化合物 8 种, 醛类化合物 3 种, 酸类化合物 7 种, 酚类化合物 6 种, 酮类化合物 6 种, 烃类化合物 24 种, 酯类化合物 15 种, 其他类化合物 5 种, 共 74 种; 普通酸奶中检测到醇类化合物 11 种, 醛类化合物 7 种, 酸类化合物 6 种, 酚类化合物 3 种, 酮类化合物 5 种, 烃类化合物 23 种, 酯类化合物 13 种, 其他类化合物 4 种, 共 72 种。

高山黑蜜酸奶与普通酸奶的挥发性风味物质各类化合物相对含量存在差异, 高山黑蜜酸奶中的酚类和酸类物质含量较高, 分别为 8.11%、9.46%; 与普通酸奶相比, 高山黑蜜酸奶酚类、酸类相对含量增加了 4.06%、1.35%。酚类相对含量提升可能是由于高山黑蜜中含有较丰富的酚类物质; 酸类相对含量的提升可能是由于高山黑蜜中含有丰富的果糖和葡萄糖, 为微生物生长提供充足的碳源, 促进微生物发酵产酸能力, 酸类化合物主要在乳酸代谢、蛋白质分解及脂肪分解等反应过程中产生, 主要表现在滋味上, 气味表现不明显^[27]。此外, 与普通酸奶相比, 高山黑蜜酸奶

表 7 普通酸奶与高山黑蜜酸奶挥发性风味物质

Table 7 Volatile flavor compounds of blank yogurt and *Leucosceptrum canum* honey yogurt

类别	中文名	分子式	普通酸奶	保留时间 (min)	相对含量 (%)	高山黑蜜 酸奶	保留时间 (min)	相对含量 (%)	气味描述 ^[21]
醇类	乙醇	C ₂ H ₆ O	+	3.604	0.529±0.026 ^b	+	3.601	0.615±0.010 ^a	刺鼻酒精
	环己醇	C ₆ H ₁₂ O	+	5.961	0.649±0.006 ^a	—			
	薄荷醇	C ₁₀ H ₂₀ O	+	6.370	0.437±0.008 ^a	—			胡椒、薄荷、木质
	环庚醇	C ₇ H ₁₄ O	+	7.662	0.496±0.002 ^a	+	7.655	0.749±0.029 ^a	
	2-十四烷醇	C ₁₄ H ₃₀ O	—			+	8.65065	1.317±0.015 ^a	
	环辛醇	C ₈ H ₁₆ O	+	9.372	0.676±0.003 ^a	—			
	烯丙基乙二醇	C ₅ H ₁₀ O ₂	+	10.406	0.190±0.002 ^a	—			
	4-甲基二苯甲醇	C ₁₄ H ₁₄ O	+	10.5383	0.029±0.001 ^a	—			
	癸醇	C ₁₀ H ₂₂ O	—			+	11.1557	1.076±0.017 ^a	
	1-辛醇	C ₈ H ₁₈ O	+	12.208	0.161±0.001 ^a	—			
	乙炔环己醇	C ₈ H ₁₂ O	+	12.617	0.738±0.003 ^a	+	12.615	0.258±0.023 ^b	水果、青草
	环十二醇	C ₁₂ H ₂₄ O	+	13.563	0.211±0.002 ^a	—			
	六甘醇	C ₁₂ H ₂₆ O ₇	—			+	14.756	0.959±0.030 ^a	
	苯甲醇	C ₇ H ₈ O	+	16.790	0.084±0.001 ^a	—			花瓣玫瑰
	对苯二甲醇	C ₈ H ₁₀ O ₂	—			+	17.584	0.346±0.017 ^a	水果、蜡、椰子
酚类	环十五烷基醇	C ₁₅ H ₃₀ O	—			+	18.2715	0.268±0.018 ^a	
	六氢化酚	C ₆ H ₁₂ O	—			+	5.907	0.329±0.015 ^a	
	对乙基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	—			+	17.202	0.332±0.024 ^a	
	苯酚	C ₆ H ₆ O	+	18.049	0.111±0.001 ^b	+	18.047	0.16±0.002 ^a	酚醛、塑料、橡胶
	乙基麦芽酚	C ₇ H ₈ O ₃	—			+	18.204	0.304±0.010 ^a	焦糖、果酱、草莓、 棉花糖
	2,4-二叔丁基苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O	+	20.833	0.231±0.013 ^a	+	20.835	0.067±0.007 ^b	酚醛
	邻苯三酚	C ₆ H ₆ O ₃	+	22.625	0.287±0.004 ^a	+	22.623	0.311±0.029 ^a	
	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	+	10.829	1.036±0.005 ^a	—			蜡、玫瑰、新鲜鸢尾花、 橙皮
	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	+	12.741	0.695±0.010 ^b	+	12.7363	1.977±0.031 ^a	尖锐的、甜、苦、杏仁、 樱桃
	琥珀醛	C ₄ H ₆ O ₂	+	14.084	0.313±0.002 ^a	+	14.084	0.128±0.013 ^b	
醛类	肉桂醛	C ₉ H ₈ O	+	16.374	0.318±0.007 ^a	—			甜、辣、肉桂
	桔萜醛	C ₁₀ H ₁₂ O	+	16.378	0.101±0.002 ^b	+	16.299	0.133±0.011 ^a	辣、小茴香、草本
	2-苯亚甲基己醛	C ₁₃ H ₁₆ O	+	17.638	0.044±0.011 ^a	—			苦味可可、坚果皮、甜味巧 克力 果味、丁香味
	邻苯二甲醛	C ₈ H ₆ O ₂	+	19.231	0.085±0.002 ^a	—			
	丁酸	C ₄ H ₈ O ₂	+	9.317	13.858±0.040 ^a	+	9.313	12.422±0.003 ^b	尖锐的酸味、黄油味、 水果味
	乙酸	C ₂ H ₄ O ₂	+	11.631	17.944±0.032 ^a	+	11.644	6.149±0.023 ^b	尖锐酸醋
	丙酸	C ₃ H ₆ O ₂	+	12.778	0.181±0.009 ^b	+	12.774	0.233±0.011 ^a	刺鼻的、酸奶、奶酪、醋
酸类	邻甲苯甲酸	C ₈ H ₈ O ₂	+	13.943	0.126±0.010 ^b	+	13.940	0.219±0.012 ^a	
	4-戊炔酸	C ₅ H ₆ O ₂	—			+	15.585	0.236±0.008 ^a	
	辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	+	18.511	0.676±0.002 ^b	+	18.514	0.784±0.015 ^a	
	苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₂	+	22.050	0.831±0.006 ^b	+	22.023	2.274±0.012 ^a	淡脂肪香
	壬烷	C ₉ H ₂₀	+	2.390	7.774±0.017 ^a	+	2.406	1.318±0.006 ^b	
	癸烷	C ₁₀ H ₂₂	+	4.575	15.068±0.026 ^a	+	4.5743	14.268±0.019 ^b	
	十一烷	C ₁₁ H ₂₄	+	4.756	7.543±0.038 ^a	+	4.747	5.039±0.012 ^b	
	十三烷	C ₁₃ H ₂₈	+	6.097	2.117±0.023 ^b	+	6.092	6.918±0.03 ^a	
	辛烷	C ₈ H ₁₈	+	6.588	0.097±0.017 ^b	+	6.575	0.173±0.018 ^a	汽油
	对二甲苯	C ₈ H ₁₀	+	6.964	0.343±0.012 ^b	+	6.955	1.128±0.014 ^a	
	十五烷	C ₁₅ H ₃₂	+	7.284	2.859±0.030 ^b	+	7.279	5.604±0.007 ^a	蜡
	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	+	7.603	0.304±0.045 ^b	+	7.596	0.452±0.033 ^a	
	α-环氧蒎烷	C ₁₀ H ₁₆ O	—			+	7.778	0.370±0.015 ^a	绿植
	十二烷	C ₁₂ H ₂₆	+	7.994	4.249±0.040 ^b	+	7.995	6.830±0.031 ^a	
	香芹烯	C ₁₀ H ₁₆	—			+	7.891	0.169±0.013 ^a	木质、柠檬
	十四烷	C ₁₄ H ₃₀	+	8.536	0.218±0.018 ^b	+	8.533	0.463±0.005 ^a	柔和的、蜡
	单环芳烃	C ₉ H ₁₂	+	8.683	0.039±0.009 ^b	+	8.644	0.830±0.005 ^a	

续表 7

类别	中文名	分子式	普通酸奶	保留时间 (min)	相对含量 (%)	高山黑蜜 酸奶	保留时间 (min)	相对含量 (%)	气味描述 ^[21]
烃类	苯乙烯	C ₈ H ₈	+	8.908	0.124±0.003 ^b	+	8.903	1.536±0.018 ^a	汽油
	十九烷	C ₁₉ H ₄₀	+	8.966	0.165±0.012 ^b	+	8.964	0.267±0.027 ^a	
	三十烷	C ₃₀ H ₆₂	+	9.130	0.279±0.015 ^a	—			
	1,2-环氧基-5-己烯	C ₆ H ₁₀ O	—			+	9.402	0.852±0.004 ^a	
	氧化环己烯	C ₆ H ₁₀ O	+	9.405	0.64±0.002 ^a	—			
	四甲苯	C ₁₀ H ₁₄	—			+	9.629	0.138±0.017 ^a	甜味
	1,4-二叔丁基苯	C ₁₄ H ₂₂	+	11.365	3.304±0.018 ^a	+	11.362	3.365±0.035 ^a	
	二聚环戊二烯	C ₁₀ H ₁₂	+	11.542	1.874±0.014 ^a	—			
	三十五烷	C ₃₅ H ₇₂	—			+	11.598	0.351±0.003 ^a	
	二十四烷	C ₂₄ H ₅₀	+	11.600	0.178±0.012 ^a	—			
	1,2,3,4-四氢萘	C ₁₀ H ₁₂	+	11.689	2.777±0.013 ^a	—			
	聚二乙烯基苯	C ₁₀ H ₁₀	+	13.243	0.036±0.001 ^a	+	13.469	0.030±0.011 ^a	
	萘	C ₁₀ H ₈	+	15.3795	0.077±0.001 ^a	+	15.378	0.040±0.012 ^b	刺鼻的、干焦油
	丁基环戊烷	C ₉ H ₁₈	+	15.804	0.145±0.005 ^a	—			
	1-甲基萘	C ₁₁ H ₁₀	—			+	16.615	0.062±0.023 ^a	樟脑
	1,1-二乙氧基环己烷	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	—			+	20.493	0.991±0.007 ^a	果味、酒精、朗姆酒、烟草、木香
	1,1-二乙氧基环己烷	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	+	20.495	1.870±0.011 ^a	—			果味、酒精、朗姆酒、烟草、木香
	1,2-二乙基苯	C ₁₀ H ₁₄	—			+	22.136	0.157±0.018 ^a	
	环己基甲基酮	C ₈ H ₁₄ O	—			+	16.034	0.134±0.020 ^a	
	氧杂环十三烷-2-酮	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	+	5.300	1.005±0.003 ^a	—			
	2,4-戊二酮	C ₅ H ₈ O ₂	+	5.615	0.212±0.003 ^a	—			
	佛尔酮	C ₉ H ₁₄ O	—			+	8.460	0.114±0.021 ^a	
酮类	异佛尔酮	C ₉ H ₁₄ O	+	8.467	0.047±0.001 ^a	—			清凉木香、樟脑、果香、雪松木、烟草、皮革
	茉莉酮	C ₁₅ H ₂₆ O ₃	—			+	9.835	0.138±0.018 ^a	
	2-十一酮	C ₁₁ H ₂₂ O	—			+	13.562	0.969±0.006 ^a	蜡质、果味、带有奶油奶酪般的香味
	2,5-己二酮	C ₆ H ₁₀ O ₂	—			+	15.958	0.052±0.006 ^a	
	2-十三烷酮	C ₁₃ H ₂₆ O	+	18.184	0.145±0.017 ^a	—			脂肪、蜡质、乳汁、椰子、坚果、草本、土壤
	环戊基乙酮	C ₇ H ₁₂ O	—			+	19.802	0.089±0.014 ^a	
	4-三苯甲基环己烷-1,2-二酮	C ₂₅ H ₂₂ O ₂	+	23.005	0.13±0.002 ^a	—			
	乙酸苣酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	+	7.898	0.03±0.015 ^a	—			
	对羟基苯甲酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₃	+	9.689	0.031±0.009 ^a	—			柔和酸味
	11-氧杂十六烷酸-16-内酯	C ₁₅ H ₂₈ O ₃	—			+	9.932	0.523±0.012 ^a	油脂、麝香
酯类	丙酸丙酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	—			+	10.437	2.850±0.016 ^a	
	甲基丙烯酸酯	C ₄ H ₄ O ₂	+	15.550	0.116±0.006 ^a	—			
	水杨酸甲酯	C ₈ H ₈ O ₃	+	15.758	0.374±0.001 ^a	+	15.757	0.235±0.006 ^b	冬青、薄荷
	格蓬酯	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	—			+	15.895	0.341±0.014 ^a	果味、菠萝、酥饼
	甲基丙烯酸乙酯	C ₆ H ₁₀ O ₂	+	15.958	0.425±0.004 ^a	—			
	丙酸丙酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	+	17.446	0.036±0.008 ^b	+	17.321	0.388±0.020 ^a	刺激性气味, 甜味, 菠萝、酒味
	己酸烯丙酯	C ₉ H ₁₆ O ₂	—			+	17.793	0.746±0.005 ^a	甜味、菠萝、朗姆酒、白兰地
	2-甲基戊酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	—			+	18.514	0.993±0.010 ^a	甜瓜、苹果、菠萝、蜡
	丙二酸二甲酯	C ₅ H ₈ O ₄	—			+	19.016	2.053±0.018 ^a	
	丁二酸单甲酯	C ₅ H ₈ O ₄	+	19.025	0.518±0.015 ^a	—			
	辛酸甲酯	C ₉ H ₁₈ O ₂	+	19.524	0.216±0.040 ^a	—			蜡、绿植、甜橙、草药
	异戊酸丁酯	C ₉ H ₁₈ O ₂	—			+	19.527	0.338±0.017 ^a	苹果、梨、菠萝、桃子
	苯甲酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₂	+	19.930	0.065±0.004 ^b	+	19.928	0.230±0.032 ^a	果味、甜味、霉味、冬青
	辛酸异丁酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	—			+	19.974	0.689±0.014 ^a	果味、绿植、花香
	庚酸烯丙酯	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	+	19.975	0.388±0.032 ^a	—			甜味、菠萝、果味、蜡质、香蕉 酥皮、白兰地

续表 7

类别	中文名	分子式	普通酸奶	保留时间 (min)	相对含量 (%)	高山黑蜜 酸奶	保留时间 (min)	相对含量 (%)	气味描述 ^[21]
酯类	二氢欧山芹醇当归酸酯	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	+	20.549	0.132±0.047 ^a	+		0.113±0.011 ^a	
	乙酰丙酮甲酯	C ₆ H ₈ O ₄	-			+	21.741	0.290±0.013 ^a	
	丙烯酸异戊酯	C ₈ H ₁₄ O ₂	+	21.998	0.139±0.006 ^b	+	22.007	0.186±0.018 ^a	
	癸酸乙酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	+	22.323	0.386±0.019 ^a	-			甜味、蜡、苹果、葡萄、白兰地
	乳酸苄酯	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	-			+	23.311	0.212±0.009 ^a	花香, 脂肪, 黄油, 果味
	(R)-(+)-2-乙酰氧基丁二酸酐	C ₆ H ₆ O ₅	+	4.264	1.968±0.022 ^a	-			
	乙二醇二甲醚	C ₄ H ₁₀ O ₂	-			+	6.672	4.438±0.036 ^a	
其他	3,3',5,5'-四甲基联苯双酚二缩水甘油醚	C ₂₆ H ₂₆ O ₄	+	6.702	0.040±0.011 ^a	-			
	庚基-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₁₃ H ₂₆ O ₆	-			+	12.341	0.911±0.024 ^a	
	2,3-二氢-2-甲氧苯并呋喃	C ₉ H ₁₀ O	+	14.973	0.474±0.041 ^a	+		0.027±0.017 ^b	
	戊二酸酐	C ₅ H ₆ O ₃	+	16.717	0.084±0.012 ^a	-			
	苯甲醚	C ₇ H ₈ O	-			+	16.793	0.019±0.015 ^a	硫磺、橡胶、熟蔬菜、坚果、咖啡、肉
	苯并噻唑	C ₇ H ₅ NS	-			+	17.693	0.077±0.041 ^a	

注: +表示检出, -表示未检出。

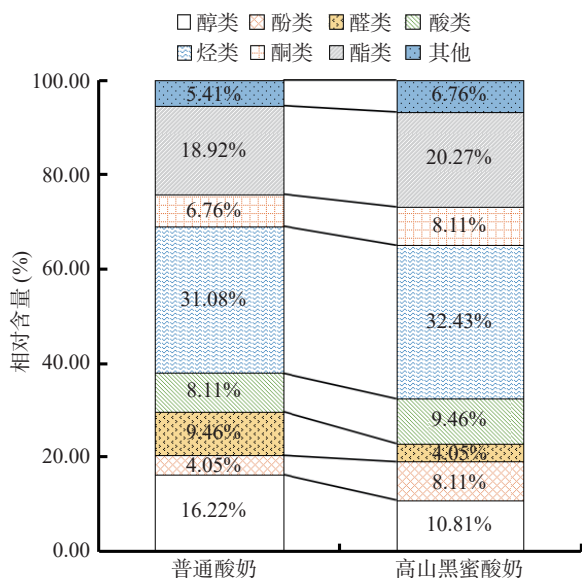


图 8 普通酸奶与高山黑蜜酸奶挥发性风味物质相对含量

Fig.8 Relative content of volatile flavor compounds in blank yogurt and *Leucosceptrum canum* honey yogurt

中酮类和酯类的相对含量均增加了 1.35%, 酮类物质来源于脂肪酸的氧化降解, 具有独特的花香及水果香等令人愉悦的气味, 是形成酸奶独特风味的重要挥发性有机物^[28]; 酯类物质具有果香味或坚果仁味, 对酸奶整体风味有促进作用^[29], 高山黑蜜酸奶中酯类物质含量增加, 且酯类物质相对含量占比较大, 为 20.27%, 与普通酸奶相比高山黑蜜酸奶风味更佳。醛类物质不稳定, 易转化为醇类或酸类化合物^[20], 高山黑蜜酸奶与普通酸奶相比醛类物质略有减少, 可能是由于一部分醛类物质转化成了酸类化合物。醇类物质及烃类物质通常对酸奶整体风味影响不大, 不作为主要的挥发性风味物质^[30]。香芹烯是高山黑蜜酸奶特有的物质, 赋予了高山黑蜜酸奶柠檬香气^[31]。综上所述,

高山黑蜜酸奶中挥发性风味化合物与普通酸奶相比存在明显变化, 其中酮类、酯类成分与普通酸奶相比升高, 为高山黑蜜酸奶贡献了良好的风味。

3 结论

本研究以牛乳及高山黑蜜为原料制备高山黑蜜酸奶, 通过单因素及响应面试验优化酸奶配方及制备工艺, 得到最佳制备工艺为: 高山黑蜜添加量 1.20%、白砂糖添加量 7%、发酵时间 9 h, 感官评分为 (87.5±1.3) 分。添加高山黑蜜后制得的酸奶质地细腻, 酸甜适中, 具有良好的风味及组织状态。通过 GC-MS 及 HS-GC-IMS 检测到酸奶的不饱和脂肪酸含量、酯类、酮类相对含量增加, 酸奶风味较佳。高山黑蜜酸奶具有蜂蜜的清甜蜜香及酸奶独特的酸香味, 将高山黑蜜应用于酸奶加工中, 增加了酸奶品类及高山黑蜜在食品工业的应用, 更符合当代人对饮食健康的需求, 具有广阔的市场前景。

参考文献

- [1] 陈廷廷, 胡琼, 唐洁, 等. 基于电子鼻及气相色谱-质谱联用技术对川西高原 4 种蜂蜜挥发性成分分析[J]. *食品科学*, 2018, 39(16): 233-239. [CHEN T T, HU Q, TANG J, et al. Analysis of volatile components of four kinds of honey in western Sichuan plateau based on electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2018, 39(16): 233-239.]
- [2] YAN S, WANG X, WANG W, et al. Identification of pigmented substances in black honey from *Leucosceptrum canum*: Novel quinonoids contribute to honey color[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(11): 3521-3528.
- [3] CIANCIOSI D, FORBES-HERNÁNDEZ T Y, AFRIN S, et al. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review[J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2322.
- [4] YANG M, LI N, TONG L, et al. Comparison of physicochemical properties and volatile flavor compounds of pea protein and mung bean protein-based yogurt[J]. *LWT*, 2021, 152: 112390.

- [5] DAS K, CHOUDHARY R, THOMPSON-WITRICK K A. Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt to increase the overall marketability of yogurt[J]. *LWT*, 2019, 108: 69–80.
- [6] EMANUELE Z, STEPHANIE J, KIERAN M, et al. Development of novel quinoa-based yoghurt fermented with dextran producer *Weissella cibaria* MG1[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, 268(2): 19–26.
- [7] BIELSKA P, CAIS-SOKOLIŃSKA D, TEICHERT J, et al. Effect of honeydew honey addition on the water activity and water holding capacity of kefir in the context of its sensory acceptability[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 1–9.
- [8] 王然, 张春玉, 贾燕妮. 酸浆果蜂蜜酸奶发酵及贮藏过程中抗氧化活性的变化研究[J]. *中国酿造*, 2019, 38(1): 158–163. [WANG R, ZHANG C Y, JIA Y N, et al. Changes of antioxidant activity of *Fructus physalis* honey yoghurt during fermentation and storage period[J]. *China Brewing*, 2019, 38(1): 158–163.]
- [9] 贾丽娜, 吴俏云, 苑宁, 等. 凝固型蜂蜜银耳酸奶的研制[J]. *粮食与油脂*, 2017, 30(7): 48–50. [JIA L N, WU Q Y, YUAN N, et al. Development of solidified honey tremella yogurt[J]. *Cereals & Oils*, 2017, 30(7): 48–50.]
- [10] 袁园. 具有降解乳脂能力乳酸菌的筛选及在酸奶中的应用[D]. 扬州: 扬州大学, 2022. [YUAN Y. Screening of lactic acid bacteria with decomposition ability to milk fat and its application in sour cream[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022.]
- [11] LIEDTKE S, SEIFERT L, AHLMANN N, et al. Coupling laser desorption with gas chromatography and ion mobility spectrometry for improved olive oil characterisation[J]. *Food Chemistry*, 2018, 255: 323–331.
- [12] 王富云, 王成财, 王哲铭, 等. 虾青素微球对酸奶品质与风味的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(8): 172–178. [WANG F Y, WANG C C, WANG Z M, et al. Effect of astaxanthin microspheres on the quality and flavor of yogurt[J]. *Food Science*, 2021, 42(8): 172–178.]
- [13] 巨玉佳. 牦牛乳硬质干酪成熟过程中脂肪酸变化研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014. [JU Y J. Research on yak's milk hard cheese fatty acid in ripening process[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2014.]
- [14] 杨冰月, 罗瑶, 姬海月, 等. 基于 HS-GC-IMS 技术分析款冬花蜜炙前后挥发性有机物的差异性[J]. *中草药*, 2022, 53(6): 1854–1861. [YANG B Y, LUO Y, JI H Y, et al. Analysis of volatile organic compounds of raw and honey baked *Farfarae Flos* based on headspace-gas-chromatography ion-mobility spectrometry[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(6): 1854–1861.]
- [15] MACHADO T A D G, DE OLIVEIRA M E G, CAMPOS M I F, et al. Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*[J]. *LWT*, 2017, 80: 221–229.
- [16] COYLE D H, NDANUKO R, SINGH S, et al. Variations in sugar content of flavored milks and yogurts: A cross-sectional study across 3 countries[J]. *Current Developments in Nutrition*, 2019, 3(6): 60.
- [17] 聂卫东, 陈钢, 简素平. 桑叶多糖发酵酸奶的研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(18): 139–145. [NIE W D, CHEN G, JIAN S P, et al. Research and development on the fermented mulberry leaf polysaccharide yoghurt[J]. *Food Research and Development*, 2018, 39(18): 139–145.]
- [18] WANG L, WANG P, DENG W, et al. Evaluation of aroma characteristics of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) juice using gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 108: 400–406.
- [19] 马荣琨, 李望铭. 奇亚籽希腊式酸奶的工艺优化研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(2): 388–394. [MA R K, LI W M. Study on process optimization of Chia seed Greek-style yogurt[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(2): 388–394.]
- [20] BULDO P, SOKOLOWSKY M, HOEGHOLM T. The role of starter cultures on oral processing properties of different fermented milk products[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 114(1): 1–13.
- [21] 王雨萌, 路昌, 刘文荣, 等. 文冠果饼干的研制及风味物质分析[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(15): 69–77. [WANG Y M, LU C, LIU W R, et al. Development of *Xanthoceras sorbifolia* bunge biscuit and analysis of flavor substances[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(15): 69–77.]
- [22] 李升升, 刘书杰. 冷藏对牦牛酸奶营养成分及挥发性物质的影响[J]. *食品与机械*, 2020, 36(11): 112–117. [LI S S, LIU S J. Effect of refrigerated storage on nutritional composition and volatile substances of yak yogurt[J]. *Food & Machinery*, 2020, 36(11): 112–117.]
- [23] ZHAO L, FENG R, REN F, et al. Addition of buttermilk improves the flavor and volatile compound profiles of low-fat yogurt[J]. *LWT*, 2018, 98: 9–17.
- [24] 张蒙冉, 李淑英, 高雅鑫, 等. 不同真菌发酵豆渣营养品质与功能特性研究[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(8): 334–342. [ZHANG M R, LI S Y, GAO Y X, et al. Studies on nutritional quality and functional characteristic of soybean dregs fermented by different fungus[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(8): 334–342.]
- [25] FAILLA M L, CHITCHUMRONCHOKCHAI C, FERRUZZI M G, et al. Unsaturated fatty acids promote bioaccessibility and basolateral secretion of carotenoids and α -tocopherol by Caco-2 cells[J]. *Food & Function*, 2014, 5(6): 1101–1112.
- [26] HEARON JR C M, DIAS K A, MACNAMARA J P, et al. 1 Year HIIT and omega-3 fatty acids to improve cardiometabolic risk in stage-A heart failure[J]. *JACC:Heart Failure*, 2022, 10(4): 238–249.
- [27] BATISTA A, SILVA R, CAPPATO LP, et al. Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour[J]. *J Funct Foods*, 2017, 38: 242–250.
- [28] 贺红军, 邹慧, 孙宁, 等. 紫薯酸奶和普通酸奶挥发性风味物质差异性研究[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(8): 225–230. [HE H J, ZOU H, SUN N, et al. Volatile flavor compounds in regular and purple sweet potato yogurt[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(8): 225–230.]
- [29] CHENG H. Volatile flavor compounds in yogurt: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2010, 50(10): 938–950.
- [30] 孙宁. 紫甘薯酸奶挥发性风味成分及花青素稳定性研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2014. [SUN N. Study on flavor components of purple sweet potato yogurt and the stability of anthocyanins[D]. Yantai: Yantai University, 2014.]
- [31] 崔斐. 甘蔗酸奶加工工艺及其品质研究[D]. 南宁: 广西大学, 2021. [CUI F. Processing technology and quality analysis of sugarcane yoghurt[D]. Nanning: Guangxi University, 2021.]