

Box - Behnken 响应面法 优化鱿鱼复水工艺的研究

王 珊¹,李洪军^{1,2},贺稚非^{1,2,*},徐明悦¹,耿铁柱¹,员 璐¹,夏建军¹

(1.西南大学食品科学学院,重庆 400716;2.重庆市特色食品工程技术研究中心,重庆 400716)

摘要:在单因素实验基础上,选取碱添加量、碱处理时间、碱处理温度为自变量,感官评分、复水比、可溶性蛋白损失量为响应值,采用 Box-Behnken 中心组合设计优化得到干鱿鱼复水的最佳工艺条件为:碱添加量 0.33%、碱处理时间 8 h、碱处理温度 25 ℃。在此条件下,复水鱿鱼感官评分 83.41、复水比 2.96、可溶性蛋白损失量 9.835 mg/g,与理论感官评分 82.10、复水比 2.89、可溶性蛋白损失量 10.094 mg/g 相比,其相对误差分别约为 1.57%、2.36%、2.63%。说明通过响应面优化得出的回归方程具有一定的实践指导意义。

关键词:鱿鱼,复水,Box-Behnken 设计,响应面优化

Box-Behnken design response surface methodology to optimize process of squid rehydration

WANG Shan¹, LI Hong-jun¹, HE Zhi-fei^{1,2,*}, XU Ming-yue¹, GENG Tie-zhu¹, YUN Lu¹, XIA Jun-jun¹

(1.College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2.Chongqing Special Food Engineering and Technology Research Center, Chongqing 400716, China)

Abstract: Three extraction parameters including the addition amount of alkali, treatment time of alkali and treatment temperature of alkali were optimized using the Box-Behnken central composite design optimization for achieving maximum sensory scores, rehydration ratio and minimum the amount of soluble protein loss. The rehydrated squid optimum conditions were the amount of 0.33% alkali, alkaline reaction time of 8h, alkali effect temperature 25 ℃. Under these conditions, sensory score of the rehydration squid was 83.41, rehydration ratio was 2.96, the amount of soluble protein loss was 9.835 mg/g. Compared to the theoretical value that sensory score of the rehydration squid was 82.10, rehydration ratio was 2.89, the amount of soluble protein loss was 10.094 mg/g, the relative error were 1.57%, 2.36% and 2.63%, respectively. Regression equation optimized by response surface derived some practical significance.

Key words: squid; rehydration; Box-Behnken design; response surface method

中图分类号: TS254.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)21-0254-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.21.044

鱿鱼,头足类,是目前世界上最具有开发潜力的海产品之一^[1]。鱿鱼经济价值高,其可食部分达 80%,比一般鱼类高出近 20%,蛋白含量 15%~20%,脂肪含量 1%~2%^[2],是一种高蛋白低脂肪的食品。鱿鱼富含人体必需氨基酸外还含有大量牛磺酸,具有缓解疲劳、恢复视力、改善肝脏功能;含有丰富的钙、磷、铁、硒等微量元素,具有滋阴养胃、补虚润肤的功能^[3]。鱿鱼不仅肉质细嫩、营养丰富,还富含游离氨基酸、呈味核苷酸、无机离子等,味道鲜美,备受消费者青睐^[4-5]。干燥法具有操作简单、保藏时间长的特点,因此常作为保藏海产品的方法,新鲜鱿

鱼不易保藏,多需经过脱水干燥,成为市场销售制品^[6-7]。

复水是利用物理、化学手段使干制品的化学组成和质地尽可能恢复到原有状态的过程^[8]。碱法复水是鱿鱼、鲍鱼、蹄筋、毛肚、鱼皮等干制品常用的复水方式^[9-11],碱液不仅能增加蛋白质的水化能力,增强干物质的吸收能力,而且具有缓冲、螯合、乳化的作用,提高肉的持水性^[12]。响应面分析法(RSM)是通过回归方程和响应曲面分析得到最佳工艺条件的方法,现已广泛应用于食品的工艺优化中^[13-14]。目前,现售复水鱿鱼存在复水时间长、碱味重、品质不

收稿日期:2015-02-09

作者简介:王珊(1990-),女,硕士,研究方向:微生物发酵学,E-mail:957386482@qq.com。

*通讯作者:贺稚非(1960-),女,博士,研究方向:微生物,E-mail:2628576386@qq.com。

基金项目:国家公益性行业(农业)项目(200903012);三峡库区优质肉牛安全生产关键技术集成与示范项目(2011BAD36B01)。

表1 复水鱿鱼感官评价标准表
Table 1 Criteria of sensory evaluation of rehydration squid

评分项目及权重(%)	分数区系			
	76~100分	51~75分	26~50分	0~25分
色泽(15)	均匀,呈黄色或淡黄褐色	较均匀,黄褐色偏深	较不均匀,中心颜色较深	不均匀,整体颜色深
组织(25)	切面无软烂现象,触摸不发粘,弹性好	切面有轻微软烂现象,触摸轻微发粘,弹性较好	切面软烂现象明显,触摸发粘现象明显,弹性较差	切面软烂现象严重,触摸发粘现象严重,弹性差
风味和滋味(30)	鱿鱼特征滋味明显,无碱味	鱿鱼特征滋味明显,有微弱碱味	鱿鱼特征滋味较强,碱味明显	鱿鱼特征滋味较弱,碱味强
口感(30)	咀嚼性好	咀嚼性较好	咀嚼性较差	咀嚼性差

一等问题,因此本实验以干鱿鱼为研究对象,通过响应面法优化复水工艺,旨在缩短复水时间、降低碱液浓度,保证复水鱿鱼品质从而达到较好的复水效果。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

北太平洋白鱿鱼干 鱿鱼体长(35.38 ± 2.31) cm,宽(20.45 ± 2.28) cm,重(333.3 ± 47.70) g,含水量27.81% ± 1.73%,重庆永辉超市;氢氧化钠 食品级,质量符合标准号 GB5175-2000;考马斯亮蓝 G250 成都市科龙化工试剂厂。

722 型可见分光光度计 上海元析仪器有限公司;电子分析天平 赛多利斯科学仪器有限公司;HH-2 数显恒温水浴锅 常州澳华仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 鱿鱼复水工艺流程 鱿鱼干→分割→回软→碱液浸泡→漂洗脱碱。鱿鱼干去尾,取鱼身中下部,切成长5 cm、宽3 cm的块状,个体质量(6.5 ± 0.5) g;复水固液比为1:20(g/mL),预实验得到最佳回软温度25℃、时间1 h,漂洗脱碱温度25℃、时间4 h,碱添加量、碱处理时间及碱处理温度是影响鱿鱼复水效果的主要因素,为确定最佳的复水工艺,对以上三个因素进行优化实验。

$$\text{复水比} = \frac{m_t}{m_0}$$

式中: m_t 表示t时刻鱿鱼的质量(g); m_0 表示起始时鱿鱼的质量(g)。

1.2.2 感官评定标准 对10名(5男5女)食品专业学生进行感官评定培训组成感官评定小组,评价人员从色泽、组织、口感、风味和滋味四个方面对样品复水鱿鱼进行综合评分^[15]。评定每个样品后,评价人员都需要用清水漱口3次,休息30 s左右再进行下一次评定。评分标准参照表1(总分 = \sum (项目得分 × 权重),满分100分,最终取平均值)。

1.2.3 可溶性蛋白损失量测定 采用考马斯亮蓝 G-250法测定复水液中可溶性蛋白质含量,计算每克干鱿鱼所损失的可溶性蛋白质,3次重复,结果取平均值。考马斯亮蓝法标准曲线线性方程: $y = 0.0084x + 0.0107, R^2 = 0.9980$ 。

1.2.4 单因素实验 研究不同碱添加量(0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%)、碱处理时间(2、4、6、8、10、12h)、碱处理温度(15、20、25、30、35、40℃)对复水鱿鱼感官评分、复水比、可溶性蛋白损失量的

影响。

1.2.5 响应面优化 根据单因素实验结果,选取最佳碱添加量、碱处理时间、碱处理温度及其周围两个点为实验因素,以感官评分值、复水比、可溶性蛋白损失量为响应值,应用 Box-Behnken 设计模型优化以获得鱿鱼复水最佳工艺,实验设计如表2所示。

表2 Box-Behnken 设计因素水平表

Table 2 Variables and levels in Box-Behnken central composite design

水平	因素		
	A 碱添加量 (%)	B 碱处理时间 (h)	C 碱处理温度 (℃)
-1	0.2	7	20
0	0.3	8	25
1	0.4	9	30

1.3 数据统计与分析

所有实验均设定平行3次,重复3次。运用 SPSS 19.0 对实验数据进行单因素方差 (analysis of variance, ANOVA) 分析,用 origin 8.1 作图。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 碱添加量对鱿鱼复水效果的影响 干鱿鱼表面有一层脂质膜,水很难通过这层膜渗透到内部,碱可通过水解、皂化等作用破坏脂质膜且使细胞间的脂蛋白分解,增大细胞间空隙;升高复水液 pH,暴露出蛋白质中氨基、羧基、羟基等亲水集团,使蛋白质表面负电荷增多,从而与水分子结合形成水化层,增强干鱿鱼的吸水能力^[16]。控制碱处理温度为25℃、碱处理时间为8 h,设定不同的碱添加量,碱添加量对鱿鱼复水效果的影响见图1。0.1%~0.3%范围内,随着碱添加量的增大,碱对干鱿鱼的作用速率增快,复水比增大,感官评分越高;0.3%~0.6%范围内,随着碱添加量的增大,碱液破坏了鱿鱼肌肉的组织结构,使其结构发生变化^[12],可溶性蛋白损失量越大,干鱿鱼营养损失显著增加($p < 0.05$);复水鱿鱼出现软烂现象,咀嚼性变差,且脱碱后碱味增大,从而使感官评分显著降低($p < 0.05$)。因此选择碱添加量0.2%、0.3%、0.4%作为响应面实验的较优水平。

2.1.2 碱处理时间对鱿鱼复水效果的影响 控制碱添加量为0.3%、碱处理温度为25℃,设定不同的碱处理时间,碱处理时间对鱿鱼复水效果的影响见图

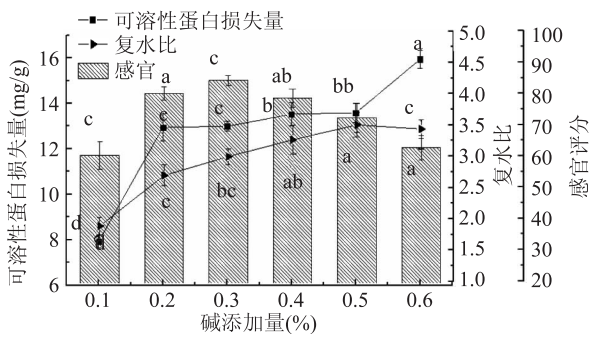


图1 碱添加量对感官评分、复水比、可溶性蛋白损失量的影响

Fig.1 Effect of alkali addition on sensory evaluation, rehydration ratio, soluble protein loss

注:不同的小写字母代表差异显著($p < 0.05$);图2、图3同。

2. 在碱处理时间为2~8 h范围内,感官评分和复水比都显著增大($p < 0.05$),在8~12 h范围内,感官评分显著减小($p < 0.05$),复水比趋于平缓;随碱处理时间的延长,可溶性蛋白损失量显著增大($p < 0.05$)。碱的作用使得干鱿鱼组织疏松,随时间的延长,碱和干鱿鱼作用更充分,从而复水比逐渐增大,感官评分也增加;8 h后,随碱处理时间的延长,干鱿鱼细胞空隙减小,蛋白质分子的水化能力减弱,鱿鱼内外渗透压减小,水分扩散速率变慢,从而复水比趋于平缓^[17];碱处理时间过长则脱碱困难,使复水鱿鱼碱味增重,同时营养损失增加,碱过度作用使复水鱿鱼口感软烂咀嚼性差,感官评分显著下降。因此选择碱处理时间7、8、9 h作为响应面实验的较优水平。

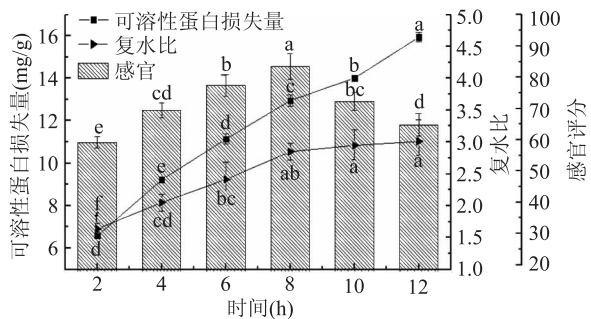


图2 碱处理时间对感官评分、复水比、可溶性蛋白损失量的影响

Fig.2 Effect of alkali treatment time on sensory evaluation, rehydration ratio, soluble protein loss

2.1.3 碱处理温度对鱿鱼复水效果的影响 控制碱添加量为0.3%、碱处理时间为8 h,设定不同的碱处理温度,碱处理温度对鱿鱼复水效果的影响见图3。在碱处理温度为15~25 °C范围内,感官评分显著增大($p < 0.05$),25~40 °C范围内,感官评分显著减小($p < 0.05$);随着碱处理温度的升高,复水比呈现先增大后趋于平缓;可溶性蛋白损失量呈现显著增大的趋势($p < 0.05$)。在15~25 °C范围内,温度的升高加速物质扩散,利于碱液对干鱿鱼作用,较高温度能断开胶原分子三股螺旋的次级键,加快鱿鱼复水速率,从而增大感官评分;随着温度升高,蛋白质分子的立体结构伸展,促进蛋白质分子的溶解,使得可溶性蛋

白损失量增加,同时加速了碱对干鱿鱼蛋白质的变性作用^[18-19],使复水鱿鱼表面软烂发粘,感官评分降低。因此选择碱处理温度20、25、30 °C作为响应面实验的较优水平。

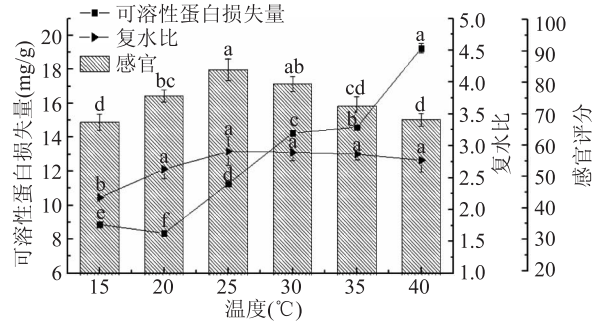


图3 碱处理温度对感官评分、复水比、可溶性蛋白损失量的影响

Fig.3 Effect of alkali treatment temperature on sensory evaluation, rehydration ratio, soluble protein loss

2.2 响应面法优化鱿鱼复水工艺

2.2.1 回归方程的建立与方差分析 以感官评分、复水比、可溶性蛋白损失量为响应值,用 Design Expert 软件中的 Box-Behnken 模型设计优化方案,实验结果如表3所示。

表3 Box-Behnken 实验设计表及结果

Table 3 The design and result of Box-Behnken experiments

实验号	A	B	C	Y ₁ 感官评分	Y ₂ 复水比	Y ₃ 可溶性蛋白损失量(mg/g)
1	-1	-1	0	63.54	2.006	5.907
2	1	-1	0	66.15	3.012	12.676
3	-1	1	0	66.92	2.178	9.825
4	1	1	0	60.45	3.296	10.718
5	-1	0	-1	64.5	2.052	8.121
6	1	0	-1	67.52	2.889	7.901
7	-1	0	1	68.66	2.258	11.934
8	1	0	1	62.84	3.435	18.281
9	0	-1	-1	70.26	2.405	9.133
10	0	1	-1	72.30	2.655	8.547
11	0	-1	1	75.31	3.087	14.901
12	0	1	1	71.77	3.022	17.738
13	0	0	0	84.68	2.804	10.228
14	0	0	0	83.72	2.758	11.536
15	0	0	0	85.52	2.912	10.832
16	0	0	0	83.57	2.733	10.742
17	0	0	0	84.42	2.804	10.777

利用 Design-Expert 8.0.6 软件中的多元线性回归分析程序,建立响应值对自变量编码值的二次回归模型方程。式中,**代表极显著($p < 0.01$);*代表显著($p < 0.05$)。

$$Y_1 = 84.38 - 0.83A^* - 0.48B + 0.5C - 2.27AB^{**} - 2.21AC^{**} - 1.39BC^* - 13.32A^{2**} - 6.79B^{2**} - 5.18C^{2**}$$

$$Y_2 = 2.8 + 0.52A^{**} + 0.08B^* + 0.23C^{**} + 0.028AB$$

$$+0.085AC-0.079BC-0.16A^{2**}-0.023B^2+0.013C^2$$

$$Y_3 = 10.82 + 1.72A^{**} + 0.53B^{**} + 3.64C^{**} - 1.47AB^{**} + 1.64AC^{**} + 0.86BC^{**} - 1.03A^{2**} - 0.01B^2 + 1.77C^{2**}$$

为检验这三个模型的有效性,对其进行方差分析和显著性检验,结果见表4。由表4可知,感官评分(Y_1)模型的 $p < 0.0001$,复水比(Y_2)模型的 $p < 0.0001$,可溶性蛋白损失量(Y_3)模型的 $p < 0.0001$,说明这三个模型高度显著;感官评分失拟项 $p = 0.2825 > 0.05$,复水比失拟项 $p = 0.3345 > 0.05$,可溶性蛋白损失量 $p = 0.659 > 0.05$,都不显著说明这三个模型都不失拟,方程可靠,实验无其他因素的影响,误差小;对感官评分、复水比、可溶性蛋白损失量回归方程检验,三个模型的相关系数分别为 $R^2 = 0.9952 > 0.9$ 、 $R^2 = 0.9855 > 0.9$ 和 $R^2 = 0.9928 > 0.9$,说明模型拟合程度良好;因此可用这三个模型对鱿鱼复水效果进行分析预测。

分析这三个模型方程各个系数 p 值,因素AB、AC、 A^2 、 B^2 、 C^2 对感官评分影响极显著($p < 0.01$),因素A、BC对感官评分影响显著($p < 0.05$),说明各因素对感官评分的影响不是简单的线性关系;因素A、C、 A^2 对复水比影响极显著($p < 0.01$),B对复水比影响显著($p < 0.05$);A、B、C、AB、AC、BC、 A^2 、 C^2 对可溶性蛋白损失量影响极显著($p < 0.01$);3个因素对感官评分、复水比的影响顺序都为:碱添加量(A) > 碱处理温度(C) > 碱处理时间(B);对可溶性蛋白损失量的影响顺序为:碱处理温度(C) > 碱添加量(A) > 碱处理时间(B)。

表4 碱添加量、碱处理时间、碱处理温度
对于鱿鱼复水效果影响的最佳拟合方程表

Table 4 Best-fit equations of squid rehydration as function of alkali addition, alkali treatment time and alkali treatment temperature

拟合方程	F值	p值	失拟项	标准偏差	R^2
Y_1	159.96	<0.0001**	0.2825	0.92	0.9952
Y_2	53	<0.0001**	0.3345	0.076	0.9855
Y_3	106.7	<0.0001**	0.659	0.42	0.9928

注:**代表极显著($p < 0.01$)。

2.2.2 响应面结果分析 实验因素之间交互作用的响应面曲面图,如图4、图5所示。由图4可知,在一个因素固定的条件下,感官评分随另两个因素的增加,都呈现先升高后下降的趋势;由于图4a、图4b响应曲面坡度较陡,图4c坡面较平,说明碱添加量和碱处理时间、碱添加量和碱处理温度的交互作用对感官评分影响比碱处理温度和碱处理时间的交互作用更显著。由图5a可知,可溶性蛋白损失量随碱添加量和碱处理时间的增加而显著增加;由图5b可知,在较低碱处理温度(20℃)时,碱添加量对可溶性蛋白损失量无明显影响;可溶性蛋白损失量在较高碱处理温度(30℃)下是随碱添加量的增加而显著增加;碱添加量一定时,可溶性蛋白损失量随碱处理温度的增大而显著增加;由图5c可知,在碱处理

温度和碱处理时间交互作用中,可溶性蛋白损失量随碱处理温度的增大而显著增加。

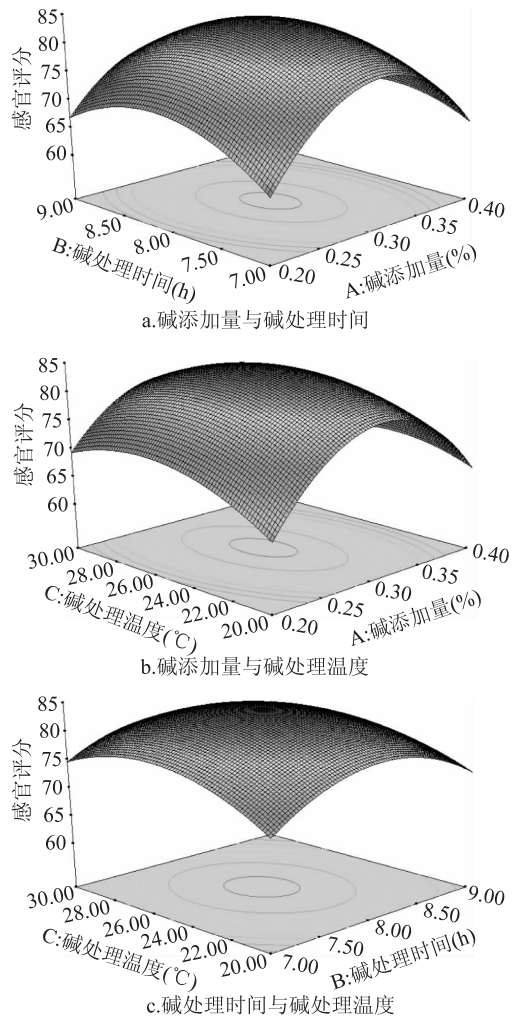


图4 两因素交互作用

对复水鱿鱼感官评分影响的响应曲面图

Fig.4 Response surface for the effects of cross-interactions among factors on sensory evaluation of rehydration squid

2.2.3 鱿鱼最佳复水工艺的验证 以感官评分最高为主要指标,复水比最大及可溶性蛋白损失量最小为辅助指标,通过 Design Expert 8.0.6 数据分析软件优化,得到最佳的鱿鱼复水工艺参数为:碱添加量0.33%、碱处理时间8.17 h、碱处理温度23.43℃。在此条件下,得到复水鱿鱼的感官评分82.10、复水比2.89、可溶性蛋白损失量10.094 mg/g。考虑到实际操作的便利,将最佳复水工艺修正为:碱添加量0.33%、碱处理时间8h、碱处理温度25℃。在此条件下验证,得到复水鱿鱼的感官评分83.41、复水比2.96、可溶性蛋白损失量9.835 mg/g,与响应面理论预测值接近,其相对误差分别约为1.57%、2.36%、2.63%,说明该模型优化后的方程具有一定的实践指导意义。

3 结论

通过单因素实验分别考察了碱添加量、碱作用时间、碱作用温度3个因素对复水鱿鱼感官评分、复

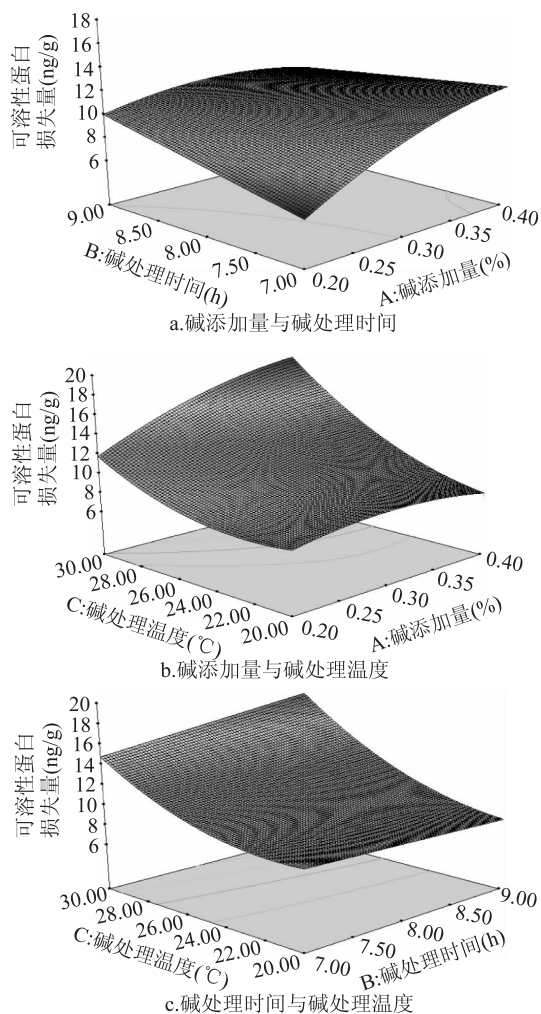


图5 两因素交互作用对复水鱿鱼可溶性蛋白损失量影响的响应曲面图

Fig.5 Response surface for the effects of cross-interactions among factors on soluble protein loss of rehydration squid

水比、可溶性蛋白损失量的影响,在此基础上用 Design-Expert 软件 Box-Behnken 设计法设计响应面实验,建立了数学模型,得到最佳的鱿鱼复水工艺:碱添加量 0.33%、碱处理时间 8 h、碱处理温度 25 ℃。验证实验得到复水鱿鱼的感官评分 83.41、复水比 2.96、可溶性蛋白损失量 9.835 mg/g,其相对误差分别约为 1.57%、2.36%、2.63%,表明该模型设计合理,对鱿鱼的复水工艺有现实指导作用。

参考文献

[1] 杨究时,王丽丽,李学英,等.秘鲁鱿鱼和日本海鱿鱼营养成分分析与评价[J].现代食品科技,2013,29(9):2247-2251.

(上接第 253 页)

督检测研究院,中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院,等.GB/T 24690-2009 袋泡茶[S].北京:中国标准出版社,2009.

[20] 朱宇,姚英政,董玲,等.响应面法优化玉米须袋泡茶饮料冲泡工艺[J].食品科学,2014,35(2):328-332.

[21] 张井印,刘素稳,常学东,等.山楂红枣袋泡茶的工艺优化[J].食品研究与开发,2013,34(11):35-38.

[2] 王兆琦.阿根廷鱿鱼介电特性和热处理过程品质变化的研究[D].青岛:中国海洋大学,2013.

[3] Torrinha A, Gomes F, Oliveira M, et al. Commercial squids: Characterization, assessment of potential health benefits/risks and discrimination based on mineral, lipid and vitamin E concentrations[J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 67(5): 44-56.

[4] 赵巧灵,吴佳佳,李春萍,等.3种鱿鱼的特征滋味成分分析与比较[J].中国食品学报,2014(6):244-250.

[5] Carrascon V, Escudero A, Ferreira V, et al. Characterisation of the key odorants in a squid broth (*Illex argentinus*) [J]. LWT - Food Science and Technology, 2014, 57(2): 656-662.

[6] Dong LL, Zhu JL, Li XP, et al. Effect of tea polyphenols on the physical and chemical characteristics of dried-seasoned squid (*Dosidicus gigas*) during storage[J]. Food Control, 2013, 31(2): 586-592.

[7] 任爱清.鱿鱼热泵-热风联合干燥及其干制品贮藏研究[D].无锡:江南大学,2009.

[8] 徐志斌,陈青,励建荣.水发条件对海参(*Acaudina molpadioidea*)质构特性及微观结构的影响研究[J].食品科学,2010(7):37-41.

[9] 李凇,李璟,周世一,等.毛肚水发工艺的响应面法优化[J].湖北农业科学,2012,51(10):2092-2095.

[10] 周婉君,王剑河,吴燕燕,等.水发鱼皮工艺研究[J].食品科学,2007,28(8):233-236.

[11] 熊晓辉,朱俊杰,陆利霞.碱和复配磷酸盐对鱿鱼水发效果的研究[J].食品工业科技,2009(8):117-120.

[12] 苏丹.老龄梅花鹿肉嫩化方法研究[D].长春:吉林大学,2012.

[13] Hu YQ, Yu HX, Dong KC, et al. Analysis of the tenderisation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) meat by ultrasonic treatment using response surface methodology[J]. Food chemistry, 2014, 160(10):219-225.

[14] 项怡,李洪军,倪冬冬,等.甲鱼汤生产工艺优化研究[J].食品工业科技,2014,35(18):272-275.

[15] 姜晴晴,李珊,刘文娟,等.冻融循环对秘鲁鱿鱼蛋白及肌肉品质的影响[J].现代食品科技,2014,30(7):171-178.

[16] 韩莹.牛肚涨发工艺技术及其过程中水分迁移规律与分布状态的研究[D].晋中:山西农业大学,2013.

[17] 严勇强,李汴生,阮征. Peleg 方程在油炸与热风干面条吸水性比较中的应用[J].现代食品科技,2013,29(1):107-111.

[18] 谢笔钧.食品化学[M].北京:科学出版社,2011:238-252.

[19] 费英.基于不同酸碱度的猪肉肌原纤维蛋白结构与其热诱导凝胶特性的关系研究[D].南京:南京农业大学,2009.

[22] 翟梅枝,张凤云,高绍棠,等.核桃叶总黄酮提取方法研究[J].陕西林业科技,2000(1):5-8.

[23] Sin H N, Yusof S, Sheikh Abdul Hamid N, et al. Optimization of hot water extraction for sapodilla juice using response surface methodology [J]. Journal of Food Engineering, 2006, 74(3): 352-358.