

doi:10.11937/bfyy.20182882

响应面法优化黄秋葵酸奶发酵工艺

麻泽宇, 吴峰华, 何志平, 朱志玉, 黎天天, 刘兴泉

(浙江农林大学 农业与食品科学学院, 浙江 杭州 311300)

摘要:以冷冻干燥的黄秋葵粉和鲜牛奶为主要原料,经乳酸菌发酵生产黄秋葵酸奶。以酸奶的持水率和感官评价为考察指标,在单因素试验基础上,利用响应曲面分析法,对黄秋葵酸奶生产工艺进行优化。结果表明:确定黄秋葵酸奶生产的最优工艺参数为黄秋葵粉添加量 0.37%、接种量 4.1%、发酵时间 5.3 h 和发酵温度 41.8 ℃。在此条件下黄秋葵酸奶的综合评分为 0.989 5,理论值 0.999 1 与试验值的相对偏差为 0.97%。所制得的黄秋葵酸奶口感细腻、香气淡雅、风味独特,且基本理化指标符合国家标准。

关键词:响应面法;黄秋葵酸奶;工艺;优化

中图分类号:TS 255.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2019)06-0129-07

黄秋葵(*Abelmoschus esculentus*)属锦葵科(Mallow)秋葵属(*Okra*)一年生草本植物,别名羊角豆、咖啡黄葵^[1]。黄秋葵不仅含有丰富的蛋白质、维生素、游离氨基酸和矿质元素,而且多糖、多酚和黄酮类等功能性成分含量相对较高,是一种营养丰富并且具有保健功能的蔬菜^[2]。研究表明,黄秋葵中的类黄酮提取物具有较高的自由基清除能力和很强的铁还原力^[3];黄秋葵的水提物还具有一定的抗疲劳作用^[4]。近年来,随着保健蔬菜中人体所需的各类营养成分的基础性研究逐渐完善,其深加工工艺的研究已经成为国内外的热点。目前已开发出的黄秋葵制品有黄秋葵泡菜^[5]、保健袋泡茶^[6]、真空油炸黄秋葵^[7]等产品,深受广大消费者的青睐。酸奶是一种通过益生菌发酵的饮品,且具备营养丰富,调节肠道菌群平衡,促进人体消化等优点。将富含琼胶和寡糖的黄秋葵添加到酸奶中,不仅可以发挥黄秋葵的生

理功能,改善酸奶质构,还可以促进益生菌生长^[8]。

该试验将黄秋葵冻干粉与鲜牛奶混合发酵,制成集果蔬营养与动物营养于一体的保健型酸奶,以持水率和感官评价为考察指标,对黄秋葵冻干粉添加量、接种量、发酵时间、发酵温度进行优化,旨在为黄秋葵的综合利用提供参考依据和技术指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试新鲜黄秋葵(市售),洗净、去蒂,于 95 ℃ 的清水中烫漂 90 s 后冰水冷却,然后浸泡在混合护色剂(0.3% CaCl_2 、3% NaCl 和 3% 蔗糖) 30 min,捞出淋洗沥干^[9],最后冷冻干燥 72 h,得到冷冻干燥的黄秋葵。干果粉碎后,过 80 目筛,密封保存于冰箱备用;鲜牛奶,伊利乳业有限公司;安琪酸奶发酵剂(嗜热链球菌:保加利亚乳杆菌=1:1),购于安琪酵母股份有限公司。

主要仪器与设备:恒温培养箱(PAX-3500,宁波海曙赛福试验仪器厂);恒温水浴锅(XMTD-6000,上海虞龙仪器设备有限公司);食品用破壁机(L18-YJ08,九阳股份有限公司);高剪切均质乳

第一作者简介:麻泽宇(1994-),男,硕士研究生,研究方向为食品加工。E-mail:874986797@qq.com.

责任作者:刘兴泉(1973-),男,博士,教授,研究方向为食品加工与检测。E-mail:709455381@qq.com.

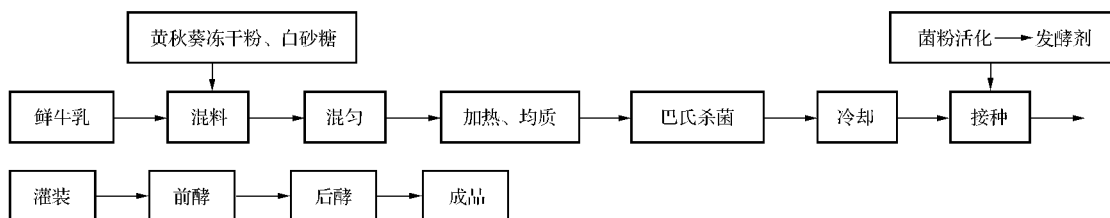
基金项目:浙江省重点研发资助项目(2017C02021)。

收稿日期:2018-10-25

化机(FA-25,上海弗鲁克流体机械制造有限公司);
真空冷冻干燥机(GAMMA 1-16 LSC,CHRIST)。

1.2 试验方法

1.2.1 黄秋葵酸奶的制备工艺流程



1.2.2 发酵剂的制备

选择发酵性能良好的保加利亚乳杆菌和嗜热乳链球菌混合菌粉(质量比1:1)接入灭菌鲜乳中,42~45℃条件下恒温培养4~5h,凝乳酸度为70~75°T,冷却后置于4℃冰箱中保存。隔天传代一次,共传代3次,菌种可达正常活力,制得母发酵剂。

1.2.3 感官评定

以黄秋葵酸奶的组织状态、口感、风味、酸甜比、凝乳状况为因素集,采用五分标度法对黄秋葵酸奶的感官值进行分析,选定20位身体健康且经过严格培训的评定人员(10女10男,年龄分段为22~26岁),评分在干燥无异味、光线充足、安静的室内进行评定。评定人员所参照标准见表1,进行最终评分^[10]。

表1 黄秋葵酸奶的感官评定标准

Table 1 Sensory evaluation criteria for okra yogurt

类别 Category	评分标准 Grading standard	评分 Score
组织状态 Organization state	无气泡,无乳清,无龟裂,无分层	15~20
	有少许气泡,不分层,无乳清,少龟裂	5~15
	气泡多,分层龟裂明显,有乳清	0~5
口感 Texture	细腻无颗粒粗糙感	15~20
	有些许颗粒感	5~15
	口感较粗糙,有明显颗粒物	0~5
风味 Flavor	具有浓郁的奶香味及秋葵味	15~20
	奶味或者秋葵味过足	5~15
	有明显异味,难闻	0~5
酸甜比 Acid and sweet ratio	酸甜比恰好	15~20
	酸甜比稍有失调	5~15
	过酸,过甜	0~5
凝乳状况 Curd condition	均匀紧密无乳清	15~20
	较稀疏,无乳清	5~15
	奶液松散,有乳清	0~5
总分 Total score	取5项感官总和	100

1.2.4 酸奶持水率测定

空离心管称质量,质量计为 M_1 ,20 mL黄秋葵酸奶置于离心管中,称质量,质量计为 M_2 ,4000 r·min⁻¹离心15 min,弃上清液,继续将离心管倒置10 min后,立即称质量,质量计为 M_3 。按照公式计算持水性:持水率(%)=(M_3-M_1)/(M_2-M_1)×100。

1.2.5 加权评分法

以上述的持水力以及感官评分为基础指标,在消除各个指标的量纲使其处于同一数量级的基础上,再做统一综合评分处理。各个指标的量纲值的计算公式如下。

$$Y_i = \frac{y_{ij} - y_{j\min}}{y_{j\max} - y_{j\min}}$$

式中: Y_i 为消除量纲值; y_{ij} 为实测值; $y_{j\max}$ 为各指标实测值中的最大值; $y_{j\min}$ 为各指标实测值中的最小值。

然后将通过计算得出的各指标的量纲值进行加权综合评分处理^[11],其中, Y_1 为黄秋葵酸奶持水率的量纲值,设其权重为0.5; Y_2 为黄秋葵酸奶感官评分的量纲值,设其权重为0.5。综合评分= $Y_1 \times 0.5 + Y_2 \times 0.5$ 。

1.2.6 微生物、理化指标检测

依据国标GB19302-2010《发酵乳标准》:酸度采用酚酞指示剂滴定法测定;脂肪含量采用碱水解法测定;总固形物含量(风味发酵乳)按GB5413.39标准进行测定;蛋白质含量采用凯氏定氮法进行测定;微生物指标中乳酸菌含量按GB4789.35-2016标准进行测定。

1.2.7 单因素试验

通过单因素试验,分别考察了黄秋葵添加量($m_1/M, \%$)、接种量($m_2/M, \%$)、发酵时间(t, h)、发酵温度($T, ^\circ C$)在不同因素水平上对黄秋葵

酸奶的持水率以及感官品质的影响,通过分析以确定其每项因素的最优值。黄秋葵添加量单因素分析,将接种量设定为4%(发酵剂与鲜奶的质量比),发酵时间6 h,发酵温度42℃,黄秋葵冻干处理后的粉末添加量水平为0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%(秋葵粉与鲜奶的质量比)。接种量单因素分析,在确立上述试验得出的黄秋葵最优添加量的基础上,设定发酵温度42℃,发酵时间6 h,发酵剂经过活化后添加量水平为2.4%、3.2%、4.0%、4.8%、5.6%、6.4%。发酵时间单因素分析,在上述试验得出的黄秋葵最优添加量,接种量的基础上,设定发酵温度为42℃,将黄秋葵酸奶发酵时间水平设定为4、5、6、7、8、9 h。发酵温度单因素分析,以上述试验得出的最优黄秋葵添加量,接种量,发酵时间为定量,将黄秋葵酸奶发酵温度水平设定为36、38、40、42、44、46℃。

1.2.8 响应面优化黄秋葵酸奶发酵工艺

以单因素试验结果确定4因素3水平的最佳参数,根据加权评分获得的综合评分为指标进行响应面分析。

1.3 数据分析

所有试验重复3次,采用分析软件Excel 2013进行数据统计,Design Expert 10对数据进行响应面分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果分析

由图1a可以看出,添加不同量的秋葵粉对黄秋葵酸奶的持水率以及感官均有影响,当秋葵粉添加量占鲜乳质量0.4%时,综合评分最高,而秋葵粉添加量过少则会失去黄秋葵酸奶特有的秋葵风味,过多则会产生异味,且影响酸奶的发酵,出现龟裂现象以及产生大量的气泡,致使持水率下降。不同的发酵时间对酸奶的持水率以及感官皆有影响。从图1b可知,发酵剂添加量对酸奶的持水率以及感官皆有影响,发酵剂添加量占原料乳质量比为4%时,黄秋葵酸奶的综合评分达到最高,而发酵剂添加量过少则发酵不完全,过多则出现发酵过度的现象。由图1c可知,当发酵时间为

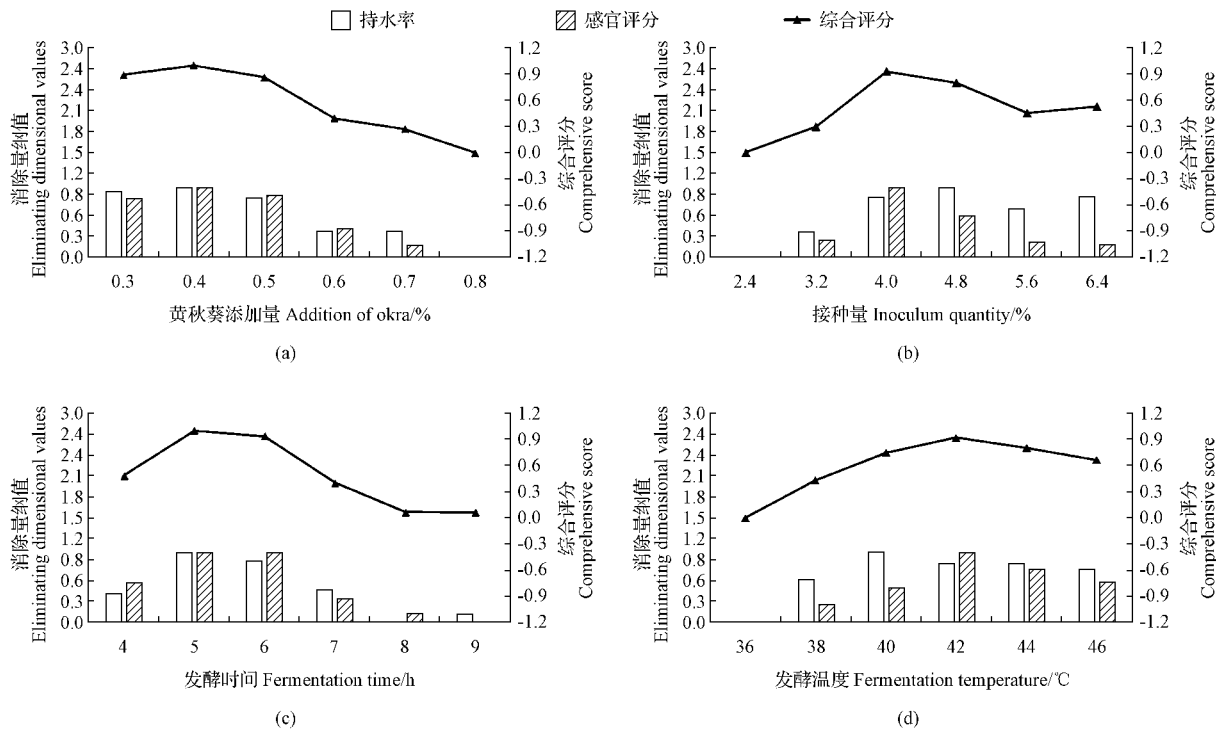


图1 不同单因素对黄秋葵酸奶品质的影响

Fig. 1 Effects of different single factors on the quality of okra yogurt

5 h时,黄秋葵酸奶的综合评分达到最高,而发酵时间过少会使酸奶出现乳酸菌产酸不足的情况,口感偏甜,由于酸较少也会间接地导致牛乳中蛋白的变性程度降低,凝乳不够完全,发酵时间过长则会导致酸感过于强烈,酸甜比失调,同时酸奶的持水率也出现下降的现象。不同的发酵温度对酸奶的持水率以及感官皆有影响,从图 1d 可知,当黄秋葵酸奶的发酵温度为 42℃时,其综合评分最高,而温度过低时,由于乳酸菌没有在最适温度下生存,活性不够,造成了凝乳不够完全,产酸产香严重不足的情况,随着温度逐渐上升,感官评分以及持水率也逐渐升高,当温度超过 42℃,持水率基本保持不变,而感官品质方面,却出现乳清析出,组织状态被破坏的现象。

2.2 响应面试验结果分析

2.2.1 响应面优化结果

以单因素试验为基础,建立响应面试验因素水平表,如表 2 所示,其中 A 为黄秋葵添加量,B 为接种量,C 为发酵时间,D 为发酵温度,该试验以感官评分与持水率的综合评分的去量纲值为最终响应值 Y,响应面试验结果见表 3,ANOVA 分析结果见表 4。

表 2 响应面试验因素水平表

Table 2 Response surface test factor and level table

因素 Factor	水平 Level		
	-1	0	1
A 黄秋葵添加量 Addition of okra/%	0.3	0.4	0.5
B 接种量 Inoculum quantity/%	3.2	4.0	4.8
C 发酵时间 Fermentation time/h	4	5	6
D 发酵温度 Fermentation temperature/℃	40	42	44

2.2.2 回归方程的建立

利用 Design-Expert 软件对所得数据进行多元回归拟合,得到黄秋葵酸奶的综合评分 Y 值与各个因素之间的回归方程式如下: $Y=0.970-0.066A+0.052B+0.070C-0.110D-0.072AB-0.017AC+0.091AD+0.240BC+0.056BD+0.230CD-0.140A^2-0.450B^2-0.140C^2-0.270D^2$ 。

从回归方程中可以看出二次项的系数 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 均为负值,抛物面的开口均朝下,模型存在极大值,可得出最优工艺条件。通过软件 ANOVA 对表 3 数据进行二次回归分析后,得出结果见表 4,模型中 F 值为 25.78, P 值小于 0.000 1,可知模型显著。由各因素的 F 值可知,4 个因素对黄秋葵酸奶的综合评分影响次序为 $D>C>A>B$,即是发酵温度>发酵时间>黄秋葵添加量>接种量。其中,失拟项值为 $0.077\ 1>0.05$,失拟项不显著,该模型中 $R^2=0.962\ 7$,可见方程能够很好的预测黄秋葵酸奶各个工艺因素对其最终品质的影响。根据 Design-Expert 分析得出黄秋葵酸奶的最佳发酵条件为:黄秋葵添加量 0.37%,接种量 4.1%,发酵时间 5.3 h,发酵温度 41.8℃。

2.3 响应面的多因素交互作用

如图 2a~f 的响应面可以看出,不同因素间的交互作用,以及黄秋葵添加量(A,%)、接种量(B,%),发酵时间(C,h)、发酵温度(D,℃)对黄秋葵酸奶综合品质的影响,可见发酵温度在各项因素中起到了极显著的影响,其余单因素为显著,且发酵温度与黄秋葵添加量、发酵时间存在显著的交互作用,接种量与发酵时间也存在着显著的交互作用。

表 3 响应面分析试验结果

Table 3 Experimental results of response surface analysis

序号 Serial number	黄秋葵添加量 Addition of okra	接种量 Inoculum quantity	发酵时间 Fermentation time	发酵温度 Fermentation temperature	感官评分值 Sensory score	持水率 Ratio of Water/%	综合评分去量纲值 To dimensional value of comprehensive index
1	-1	0	0	-1	74.6	64.16	0.899 5
2	0	0	0	0	79.9	68.71	0.992 8
3	0	-1	0	1	51.8	44.55	0.000 0
4	0	0	0	0	80.1	68.89	1.000 0
5	0	1	-1	0	55.2	47.47	0.120 0
6	1	0	1	0	74.3	63.90	0.795 0
7	0	-1	-1	0	67.6	58.14	0.558 3

表 3(续)
Table 3(Continued)

序号 Serial number	黄秋葵添加量 Addition of okra	接种量 Inoculum quantity	发酵时间 Fermentation time	发酵温度 Fermentation temperature	感官评分值 Sensory score	持水率 Ratio of Water/%	综合评分去量纲值 To dimensional value of comprehensive index
8	0	1	0	—1	63.9	54.95	0.427 6
9	1	0	0	1	64.3	55.30	0.441 7
10	0	0	1	—1	63.6	54.70	0.417 0
11	—1	0	0	1	66.0	56.76	0.501 8
12	0	—1	1	0	56.8	48.85	0.176 7
13	1	0	—1	0	67.6	58.26	0.558 8
14	0	0	0	0	77.1	66.31	0.894 0
15	0	0	0	0	79.5	68.37	0.978 8
16	0	1	0	1	61.2	52.63	0.332 2
17	0	0	—1	1	56.4	48.50	0.162 5
18	0	0	0	0	79.2	68.11	0.968 2
19	0	1	1	0	72.0	61.92	0.713 8
20	0	0	—1	—1	75.3	64.76	0.830 4
21	—1	0	1	0	76.9	66.13	0.886 9
22	1	—1	0	0	61.6	52.98	0.346 3
23	0	0	1	1	70.5	60.63	0.660 8
24	—1	—1	0	0	60.3	52.14	0.300 4
25	1	1	0	0	58.7	50.48	0.243 8
26	—1	1	0	0	65.6	56.42	0.487 6
27	0	—1	0	—1	60.8	52.29	0.318 0
28	—1	0	—1	0	68.3	58.74	0.583 0
29	1	0	0	—1	65.3	56.16	0.477 0

表 4 黄秋葵酸奶综合评分的 ANOVA 分析结果
Table 4 ANOVA analysis of the comprehensive score of the okra yogurt

变异源 Variation source	平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	均方 Mean square	F 值 F value	Prob>F	显著性 Significance
模型	2.330	14	0.170	25.78	<0.000 1	极显著
A	0.053	1	0.053	8.19	0.012 6	显著
B	0.033	1	0.033	5.05	0.041 4	显著
C	0.058	1	0.058	9.04	0.009 4	显著
D	0.130	1	0.130	20.83	0.000 4	极显著
AB	0.021	1	0.021	3.25	0.093 0	不显著
AC	1.15×10 ⁻³	1	1.15×10 ⁻³	0.18	0.680 0	不显著
AD	0.033	1	0.033	5.08	0.040 7	显著
BC	0.240	1	0.240	36.83	<0.000 1	极显著
BD	0.012	1	0.012	1.92	0.187 7	不显著
CD	0.210	1	0.210	32.18	<0.000 1	极显著
A ²	0.120	1	0.120	18.70	0.000 7	极显著
B ²	1.310	1	1.310	202.11	<0.000 1	极显著
C ²	0.130	1	0.130	20.76	0.000 4	极显著
D ²	0.470	1	0.470	72.20	<0.000 1	极显著
残差 Resdual	0.090	14	6.46×10 ⁻³			
失拟项 Unintended term	0.083	10	8.32×10 ⁻³	4.61	0.077 1	不显著
纯误差 Pure error	7.22×10 ⁻³	4	1.81×10 ⁻³			

2.4 黄秋葵酸奶关键指标测定

通过表 5 可以直观的看出,黄秋葵酸奶的酸度、脂肪、总固形物、蛋白质含量和乳酸菌活菌数

均高于国家酸奶标准中的限定最低值,符合人体食用风味酸奶所应该摄入的营养标准。

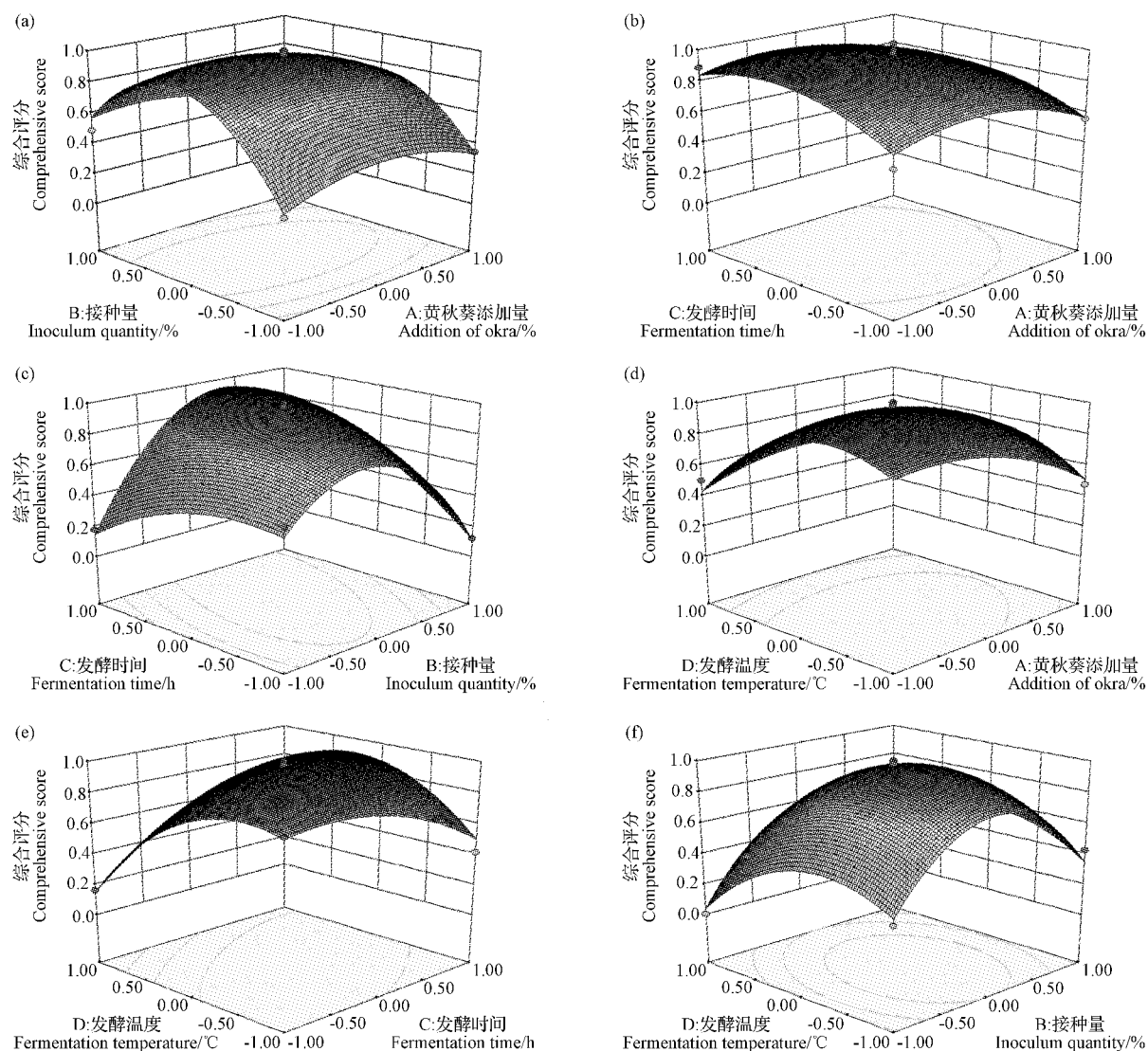


图2 黄秋葵酸奶的响应面模型

Fig. 2 Response surface pattern of okra yogurt

表5 黄秋葵酸奶关键指标测定结果

Table 5 Determination of key indexes of okra yogurt

指标 Index	黄秋葵酸奶 Okra yogurt	发酵乳标准 (GB19302-2010) Standard of yogurt
酸度 Acidity/°T	80.2	≥70.0
脂肪 Fat/%	3.1	≥2.5
总固形物含量 Total solid content/%	20.8	≥17.0
蛋白质 Protein/%	3.6	≥2.3
乳酸菌 Lactobacillus/(CFU·mL ⁻¹)	≥4.2×10 ⁶	≥1.0×10 ⁶

3 结论与讨论

该研究通过单因素试验分别得出了黄秋葵酸

奶的黄秋葵添加量、发酵时间、发酵温度、接种量的最优值,以此为基础通过响应面分析获得了相应的黄秋葵酸奶的回归方程。从回归方程得到黄秋葵酸奶最佳的发酵条件为黄秋葵添加量0.37%,接种量4.1%,发酵时间5.3 h,发酵温度41.8℃。在此条件上,获得的黄秋葵酸奶品质最优,其综合评分为0.989 5,理论值为0.999 1与试验值相对偏差为0.97%,验证了此模型的准确性和有效性。在此工艺下对其进行酸度、脂肪、蛋白质、总固形物、乳酸菌等指标进行测定,各项指标均达到国家标准,且产品具有风味浓郁、营养健康等特点。

目前,有关不同风味酸奶的产品开发以及研究较多,华景清等^[12]研究了蜂蜜杨梅酸奶,张倩等^[13]利用响应面法优化了小麦胚酸奶的发酵工艺,吴素萍^[14]通过正交实验对黑豆酸奶的工艺进行了研究,这些酸奶都具备独特的风味,且质地优良,口感也较为细腻。但这些风味酸奶在制作过程中需要添加一定的稳定剂来保持其品质,而黄秋葵酸奶可能由于添加的黄秋葵中富含一些粘性的糖蛋白物质,其特性与添加到酸奶当中的稳定剂类似,制得的黄秋葵酸奶持水率较好,质地均匀,可以为无添加剂风味酸奶的研制提供一定的参考。

参考文献

- [1] 单承莺,马世宏,张卫明. 保健蔬菜黄秋葵的应用价值与前景[J]. 中国野生植物资源, 2012, 31(2): 68-71.
- [2] 黄阿根,陈学好,高云中,等. 黄秋葵的成分测定与分析[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 451-455.
- [3] 李加兴,陈选,邓佳琴,等. 黄秋葵黄酮的提取工艺和体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2014, 35(10): 121-125.
- [4] 温春秀,贾东升,谢晓亮,等. 黄秋葵提取物的抗疲劳活性研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(23): 164-166.
- [5] 练冬梅,姚运法,赖正锋,等. 黄秋葵酸辣泡菜发酵工艺的研究[J]. 农产品加工, 2016(7): 25-27.
- [6] 胡韬,王辉,李臻,等. 黄秋葵保健茶加工技术研究[J]. 河南科技, 2012(22): 96, 101.
- [7] 张洪磊,刘孟霞,余剑,等. 黄秋葵果荚真空低温油炸关键工艺研究[J]. 现代农业科技, 2017(23): 240-241, 245.
- [8] 陈虹,梅建凤,应国清. 新琼寡糖对保加利亚乳杆菌的促生长作用研究[J]. 食品科技, 2014, 9(12): 24-27.
- [9] 董秀丽. 黄秋葵真空冷冻干燥的工艺研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016.
- [10] 鞠焰. 高钙酸奶的开发研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [11] 王晖,陈丽,陈垦,等. 多指标综合评价方法及权重系数的选择[J]. 广东药学院学报, 2007(5): 583-589.
- [12] 华景清,李文明,胡舒洋,等. 蜂蜜杨梅酸奶的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2015(3): 54-58.
- [13] 张倩,张晓峰,韩萍,等. 响应面法优化小麦胚酸奶工艺的研究[J]. 中国酿造, 2011, 30(6): 125-128.
- [14] 吴素萍. 黑豆酸奶工艺条件的研究[J]. 中国酿造, 2011, 30(12): 192-195.

Optimization of Fermentation Process for Okra Yogurt by Response Surface Analysis

MA Zeyu, WU Fenghua, HE Zhiping, ZHU Zhiyu, LI Tiantian, LIU Xingquan

(College of Agriculture and Food Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou, Zhejiang 311300)

Abstract: The fermentation technology of okra yogurt was studied with freeze-dried okra powder and fresh cow milk as main materials. With ratio of water holding and sensory score as evaluation indexes, the process for production of okra yogurt was optimized by response surface methodology based on single-factor experiments. The results showed that the optimum fermentation parameters were determined as follows, freeze-dried okra powder addition of 0.37%, inoculum quantity of 4.1%, fermentation time of 5.3 hours and fermentation temperature of 41.8 °C. Under these conditions, the comprehensive index of yogurt was 0.989 5 showing a relative standard deviation of 0.97% compared to the theoretical value of 0.999 1. The okra yogurt obtained under the optimized fermentation conditions exhibited exquisite mouth feeling, unique flavor and elegant aroma, and the basic physical and chemical indexes conformed to national standard of yogurt.

Keywords: response surface methodology; okra yogurt; production process; optimization