

响应面法优化再制干酪乳化盐配方

陈 苓, 刘会平*

(天津科技大学 食品营养与安全教育部重点实验室, 天津 300457)

摘 要: 通过单因素试验、最陡爬坡试验(SAD)、中心组合试验(CCD)和响应面分析法(RSM)对再制干酪的乳化盐配方进行优化。单因素试验结果表明: 柠檬酸钠、多聚磷酸钠、焦磷酸钠3种乳化盐对再制干酪的乳化效果有显著影响, 利用SAD的3个显著因素的水平取值逼近最大响应区域, 通过CCD和RSM确定了3个显著因素的最优水平, 得到再制干酪的乳化盐配方: 柠檬酸钠2.0%、多聚磷酸钠0.20%、焦磷酸钠0.37%(均以原料天然干酪的质量计), 在此配方条件下, 验证实验得到再制干酪的溶胶系数为62.15%, 与模型预测值非常接近。采用响应面法对再制干酪的乳化盐配方进行优化合理可行。

关键词: 再制干酪; 乳化盐; 溶胶系数; 响应面法

Optimization of Emulsification Salt Formulation for Preparing Cheese by Response Surface Methodology

CHEN Ling, LIU Hui-ping*

(Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Single-factor tests, central composite design (CCD) and response surface methodology (RSM) were used to optimize the emulsification salt formulation for preparing cheese. The results of single-factor tests showed that sodium citrate, sodium polyphosphate and sodium pyrophosphate had an obvious emulsification effect on cheese preparation. Three significant factors were made by the steepest ascent design (SAD) to approach the maximum response area and then optimized by CCD and RSM. The optimal formulation was composed of 2.0% sodium citrate, 0.20% sodium polyphosphate and 0.37% sodium pyrophosphate (on the basis of the weight of natural cheese). Under the optimal formulation, the peptization coefficient was 62.15%, which was close to the predicted value. Therefore, RSM can provide a reliable process for optimizing emulsification salt formulation for preparing cheese.

Key words: cheese preparation; emulsification salt; peptization coefficient; response surface methodology

中图分类号: TS252.53

文献标志码: B

文章编号: 1002-6630(2013)08-0321-05

再制干酪是通过在天然干酪中, 加入适当的乳化盐(如柠檬酸钠, 多聚磷酸钠、焦磷酸钠等)和其他乳及非乳制品经过加热、持续搅拌乳化而制得的一种质地均匀、货架期长的乳制品^[1-2]。与天然干酪相比其优势在于: 经过加热可以改善天然干酪的强烈气味, 使风味更温和、使口感更柔和、更易被消费者接受; 产品的质量稳定均一; 同时提高了产品的安全性、保存性和质量稳定性^[3]。

再制干酪的生产中, 乳化盐是一个很重要的添加物。乳化盐是一种离子化合物, 由单价阳离子和多价阴离子组成。再制干酪在乳化盐的作用下使酪蛋白变成水合状态的一种凝胶体系, 乳化盐通过离子交换使天然干酪中的副酪蛋白钙转变成可溶性的钠盐, 并相互交联形成紧密的结构让脂肪球包裹于其中, 便形成了再制干酪的结构^[4-5]。乳化盐最主要的两个功能是: 钙螯合作用, 即打断天然干酪中蛋白网络结构里的磷酸钙桥; 调

整pH值^[6-7]。然而, 不同的乳化盐对不同的天然干酪的熔融能力和水合程度是各不相同的。

乳化盐的种类比较多, 有单钠、二钠和三钠磷酸盐、六偏磷酸盐、焦磷酸盐等。而实际生产中使用的都不是单一的乳化盐, 而是几种乳化盐的复配, 才能达到终产品所需的效果。商业生产中, 乳化盐配方一直是被作为一种商业机密, 其产品始终被大的生产商垄断。因此, 本实验通过对乳化盐的单一作用和复合作用的研究, 利用响应面试验设计对乳化盐的配比进行优化, 以生产出所需要的再制干酪产品, 为相关产品的开发提供一定的技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

Mozzarella天然干酪(1个月成熟和4个月成熟) 实验

收稿日期: 2011-12-16

作者简介: 陈苓(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工技术。E-mail: lingchen332689289@163.com

*通信作者: 刘会平(1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为乳品科学与新技术。E-mail: liuhuiping111@163.com

室自制；凝乳酶、TCC-3发酵剂 北京科汉森公司；柠檬酸钠 天津市北联精细化学品开发有限公司；多聚磷酸钠 天津市化学试剂三厂；焦磷酸钠 天津市化学试剂研究所。

D2010W电动搅拌器 上海梅颖浦仪器仪表有限公司；Avanti J-26XP系列高效离心机 美国Beckman Coulter公司；TA.XTPlus质构仪 英国Stable Micro System公司；数显pH计 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 再制干酪工艺流程

天然干酪→预处理→切块→混合→加乳化盐→加水→加热融化→搅拌→乳化均质→冷却→灌装→贮藏

1.2.2 再制干酪溶胶系数的测定

1.2.2.1 总氮(total nitrogen, TN)的测定

采用凯氏定氮法。

1.2.2.2 再制干酪可溶性氮(soluble nitrogen, SN)的测定

取5g再制干酪样品溶解在95mL蒸馏水中，超声分散3min(20℃)，8000r/min离心10min(20℃)，上清液即为可溶性氮。取上清液，采用凯氏定氮法确定可溶性氮含量^[8-9]。

1.2.2.3 非酪蛋白氮(non-casein nitrogen, NCN)测定

取0.75g再制干酪样品，加入pH4.6醋酸缓冲溶液50mL，进行充分碾磨溶解后，4000r/min离心20min，取上清液，采用凯氏定氮法确定非酪蛋白氮。

1.2.2.4 酪蛋白溶胶系数的计算

酪蛋白溶胶系数=(SN-NCN)/(TN-NCN)

酪蛋白溶胶系数可以用来衡量钙螯合能力，溶胶系数越大，说明钙螯合能力越强，酪蛋白的乳化性越好^[6]。

1.2.3 再制干酪pH值的测定

产品在4℃条件储藏24h后，称取12g再制干酪样品加入40mL、30℃的蒸馏水，研钵中研磨至完全溶解，常温下用pH计测定^[11]。

1.2.4 再制干酪质构特征分析(texture profile analysis, TPA)的测定

TPA参数由质构仪测定，各参数均由质构仪测定并自动计算给出。分析再制干酪的TPA指标参数。产品在4℃储藏24h后，采用特制取样器将再制干酪样品切割为直径2cm，高3cm的圆柱形样品供TPA测试用。所有样品取样后至测试前均统一放置于4℃冰箱中，以防止温度对产品质地产生影响。每个样品取3个平行样。探头选用的型号为P/0.5。探头测定速度为2mm/s，下压距离10mm，回复时间5s。TPA测试的质地特征曲线，通过两次下压可以模拟人类咀嚼时对食品的破坏作用。根据压缩周期中测得的各个参数即可方便确定干酪的质构特性。可以客观地反应干酪包括硬度、黏聚性、胶着性、咀嚼性、黏着性、弹性等在内的质构特性^[12-13]。

1.2.5 单因素、最陡爬坡试验及响应面试验设计

乳化盐的种类比较多，本实验选取几种比较常用且具有代表性的乳化盐：柠檬酸钠、多聚磷酸钠、焦磷酸钠、磷酸氢二钠和六偏磷酸钠进行研究，对相同基料组合进行再制干酪研制的单因素试验，每种乳化盐的添加质量分数分别为1%、1.5%、2%、2.5%、3%。分别观察酪蛋白溶胶系数、pH值及其质构的变化规律。

加热融化过程是再制干酪生产过程中最重要的阶段。整个操作过程一般是在融化锅中进行，通过直接或间接蒸汽，在部分真空和不断地搅拌的情况下，对混合物进行加热和搅拌^[14]。但是由于本实验室的条件限制，只能利用水浴锅对混合干酪进行搅拌加热。需要达到的水浴温度是80~97℃维持3~7min，搅拌器转速设定在600~1000r/min。

依据单因素试验结果，使用最陡爬坡试验(steepest ascent design, SAD)，中心组合试验(central composite design, CCD)和响应面法(response surface methodology, RSM)分析柠檬酸钠、多聚磷酸钠和焦磷酸钠的添加量对响应值的影响。

1.3 数据分析

所有样品均重复测定3次。方差分析分析借助SPSS 17.0统计分析软件完成分析；中心复合设计由Design-Expert 7.0.0辅助设计。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 不同乳化盐及其添加量对溶胶系数的影响

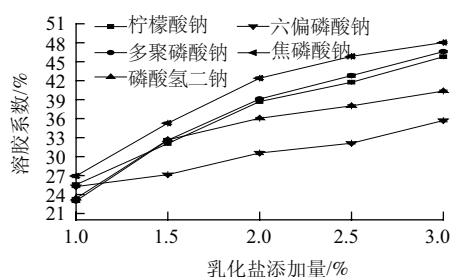


图1 不同乳化盐对再制干酪酪蛋白溶胶系数的影响

Fig.1 Effect of emulsification salt on peptization coefficient of prepared cheese

由图1可以看出，除六偏磷酸钠之外，样品的溶胶系数基本上都是随着乳化盐的添加量的增加而增加。当乳化盐的添加量达到3%时其酪蛋白溶胶系数也达到最大。不同乳化盐对再制干酪的乳化能力有很大的差别。焦磷酸钠的乳化能力最强，当添加量为3%时酪蛋白溶胶系数可达48.03%，说明其钙的结合能力在这几种乳化盐中最大，其次是柠檬酸钠、多聚磷酸钠、磷酸氢二钠和六偏

磷酸钠。添加量为3%的磷酸氢二钠溶胶系数为40.35%，添加量3%的六偏磷酸钠的溶胶系数最低，仅为35.70%。可见对于以Mozzarella为主要原料的再制干酪，焦磷酸钠的乳化能力最强，而磷酸二钠相对较弱，乳化能力最弱的是六偏磷酸钠。

2.1.2 不同乳化盐及其添加量对pH值的影响

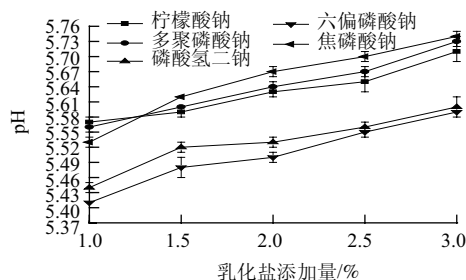


图2 不同乳化盐对再制干酪pH值的影响

Fig.2 Effect of emulsification salt on pH of processed cheese

由图2可以看出，随着5种乳化盐添加量的增加，再制干酪的pH值也随之增加。并且经统计分析乳化盐添加种类不同对再制干酪的pH值有显著的影响($P<0.05$)，用焦磷酸钠和多聚磷酸钠生产的再制干酪样品的pH值较高，随着这两种乳化盐添加量的增加，样品pH值均有明显的增加($P<0.05$)。而六偏磷酸钠两种乳化盐对应样品的pH值较小，随着添加量的增加样品的pH值也相应增加。

2.1.3 不同乳化盐及其添加量对再制干酪硬度的影响

表1 不同乳化盐对产品硬度的影响
Table 1 Effect of emulsification salt on hardness of products

添加量/%	柠檬酸钠	多聚磷酸钠	磷酸氢二钠	六偏磷酸钠	焦磷酸钠
1.0	438.919±6.595 ^{ab}	464.661±8.420 ^{ab}	387.297±7.460 ^a	244.805±4.492 ^b	416.252±4.072 ^{ab}
1.5	474.090±17.694 ^{ab}	481.814±8.456 ^{ab}	397.321±4.625 ^{ab}	281.309±7.556 ^b	445.153±8.685 ^{ab}
2.0	614.721±9.603 ^{ac}	614.397±3.603 ^{ac}	420.889±23.543 ^{ab}	363.063±2.847 ^c	645.627±7.016 ^{bc}
2.5	630.595±8.216 ^{ad}	629.452±7.776 ^{ad}	461.634±15.880 ^{bc}	425.327±4.403 ^d	652.577±6.415 ^{bd}
3.0	657.297±8.973 ^{ac}	678.839±5.650 ^{bc}	498.138±9.970 ^d	484.228±4.313 ^{de}	695.832±13.778 ^{ab}

注：同一行中不同大写字母代表乳化盐的不同添加量对再制干酪硬度的影响差异显著($P<0.05$)；同一列中不同小写字母代表乳化盐的不同添加量对再制干酪硬度的影响差异显著($P<0.05$)。

由表1显著差异性分析($P<0.05$)可知，随着乳化盐添加量的增加，硬度也随之有显著的增加；不同种类的乳化盐对产品的硬度也有显著的影响。从表1中可以看出，磷酸氢二钠和六偏磷酸钠生产出的再制干酪样品的硬度相对其他三种乳化盐低，其中焦磷酸钠生产出的产品的硬度在几种乳化盐中最大，其次是多聚磷酸钠。因此焦磷酸钠和多聚磷酸钠的切片性也较磷酸氢二钠、柠檬酸钠和六偏磷酸钠好。

由单因素试验可知，乳化盐分离钙的能力即各种乳

化盐乳化能力的顺序是：焦磷酸钠>多聚磷酸钠>柠檬酸钠>磷酸氢二钠>六偏磷酸钠；焦磷酸钠、多聚磷酸钠和柠檬酸钠在添加量达到3%时样品的组织结构均一，有较好的切片性，磷酸氢二钠和六偏磷酸钠当添加量达到3%时，其质构参数在6种乳化盐中较小，组织结构不均一，偏软，无法切成完整的干酪片，用六偏磷酸钠和磷酸氢二钠生产的再制干酪品质最差，因此在下步实验中将其排除。通过以上综合比较分析，所选出3种乳化盐：焦磷酸钠、柠檬酸钠和多聚磷酸钠进行复配优化实验。

2.2 一阶拟合

通过表2设计拟合柠檬酸钠、多聚磷酸钠和焦磷酸钠对溶胶系数的一阶线性模型。

表2 一阶拟合试验设计与结果
Table 2 First-order fitting experimental design and results

编号	柠檬酸钠添加量/%	多聚磷酸钠添加量/%	焦磷酸钠添加量/%	溶胶系数/%
1	1(2)	1(0.5)	1(0.5)	33.19
2	-1(0)	-1(0)	1	31.72
3	-1	1	-1(0)	30.35
4	1	-1	-1	32.77

试验结果通过最小二乘法建立了3个主效因素柠檬酸钠、多聚磷酸钠、焦磷酸钠关于溶胶系数的一阶线性模型，方程如下：溶胶系数=32.0+0.973 柠檬酸钠-0.237 多聚磷酸钠+0.447 焦磷酸钠。

2.3 最陡爬坡试验

根据2.1节实验筛选出的3种比较好的乳化盐，通过最陡爬坡试验，选择响应面有最大增量的方向逐步移动，以使具有显著性因素的水平取值逼近最大响应值区域；因素水平及步长设计见表3。

表3 最陡爬坡试验设计与结果
Table 3 Experimental design and results for steepest ascent analysis

试验号	柠檬酸钠添加量/%	多聚磷酸钠添加量/%	焦磷酸钠添加量/%	溶胶系数/%
1	0.6	0.27	0.225	37.24
2	1.0	0.25	0.275	44.57
3	1.4	0.23	0.325	43.04
4	1.8	0.21	0.375	44.85
5	2.2	0.19	0.425	41.65

从表3可以看出，试验4的溶胶系数最高，而从试验5的溶胶系数开始下降，因此以4号组合中各因素的水平作为后续响应面试验的中心点。

2.4 中心组合试验设计及响应面分析

2.4.1 中心组合试验设计及结果

在上述单因素试验与最陡爬坡试验基础上，利用中心组合设计原理，对柠檬酸钠、多聚磷酸钠和焦磷酸钠3个因素作进一步优化。中心组合试验设计与结果如表4所示。

表4 中心组合试验设计与结果
Table 4 Central composite design and results

试验号	X_1 柠檬酸钠 添加量/%	X_2 多聚磷酸 钠添加量/%	X_3 焦磷酸钠 添加量/%	Y 溶胶系数/%
1	-1(1.4)	-1(0.23)	-1(0.31)	47.29
2	1(2.2)	-1	-1	55.57
3	-1	1(0.18)	-1	52.83
4	1	1	-1	57.55
5	-1	-1	1(0.44)	46.49
6	1	-1	1	54.43
7	-1	1	1	51.73
8	1	1	1	57.01
9	-1.68(1.1)	0(0.20)	0(0.38)	47.91
10	1.68(2.5)	0	0	58.18
11	0(0.72)	-1.68(0.24)	0	51.72
12	0(1.8)	1.68(0.16)	0	55.95
13	0	0	-1.68(0.27)	57.14
14	0	0	1.68(0.475)	57.50
15	0	0	0	60.73
16	0	0	0	62.21
17	0	0	0	60.88
18	0	0	0	60.35
19	0	0	0	60.42
20	0	0	0	60.76

2.4.2 模型方差分析

对表4试验数据进行响应面回归分析可得到二阶拟合模型： $Y=0.61+0.032X_1+0.016X_2-2.177\times10^{-3}X_3-7.791\times10^{-3}X_1X_2-0.031X_1^2-0.028X_2^2-0.016X_3^2$ 。由于该方程的二次项系数均为负数，所以方程代表的抛物面的开口向下，因而有极大值点。

表5 二阶回归模型方差分析表

变异源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.043	7	6.028×10^{-3}	59.94	<0.0001
残差	1.218×10^{-3}	12	1.015×10^{-4}		
失拟	9.886×10^{-4}	7	1.412×10^{-4}	3.08	0.1167
纯误差	2.291×10^{-4}	5	4.581×10^{-5}		
总和	0.044	19			

$R^2=0.9722$ $R^2_{Adj}=0.9560$

表6 回归模型系数显著性检验表

模型项	回归系数	标准误差	F 值	P 值	显著性
常数项	0.61	4.108×10^{-3}	—	—	—
X_1	0.032	2.726×10^{-3}	135.62	<0.0001	极显著
X_2	0.016	2.726×10^{-3}	36.39	<0.0001	极显著
X_3	-2.177×10^{-3}	2.726×10^{-3}	0.64	0.4400	
X_1X_2	-7.791×10^{-3}	3.561×10^{-3}	4.79	0.0492	显著
X_1^2	-0.031	2.654×10^{-3}	135.59	<0.0001	极显著
X_2^2	-0.029	2.654×10^{-3}	112.15	<0.0001	极显著
X_3^2	-0.016	2.654×10^{-3}	35.34	<0.0001	极显著

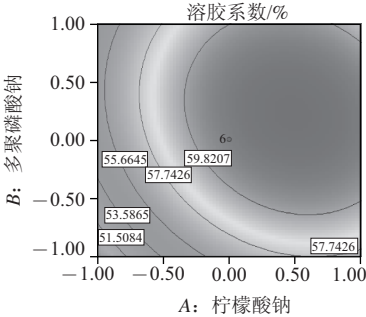
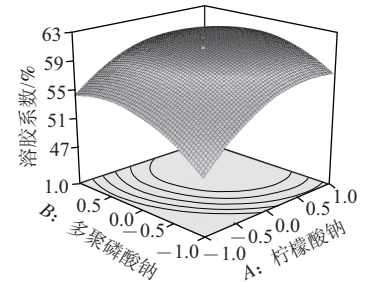
表5中回归方差分析显著性检验表明，该回归模型 $P<0.0001$ ，方程模型达到极显著，失拟项 $P=0.1167>$

0.05，不显著；该回归模型的总决定系数 $R^2=0.9722$ 说明近97%的试验数据变异性可用此模型解释，且调整决定系数 $R^2_{Adj}=0.9560$ ，说明该模型可以很好的预测新数据。方程中 X_1 、 X_2 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对 Y 值的影响高度显著， X_1X_2 对 Y 值的影响显著，表明试验因素对响应值的影响不是简单的线性关系，交互项和二次项也都有显著影响(表6)。

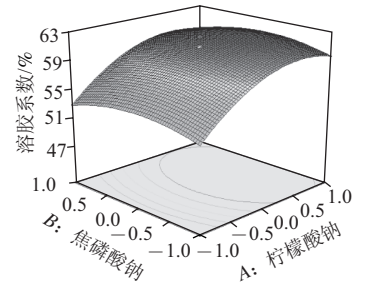
2.4.3 响应面分析

乳化盐复配试验中柠檬酸钠、多聚磷酸钠和焦磷酸钠3个因素之间交互作用对溶胶系数的影响如图3所示。

由图3可以看出，在焦磷酸钠保持在最佳添加水平时，随着多聚磷酸钠或柠檬酸钠添加量的增大，再制干酪的溶胶系数增大，但是多聚磷酸钠或柠檬酸钠添加量过大时，溶胶系数又会降低；由图4可以看出，在多聚磷酸钠保持在最佳添加水平时，随着焦磷酸钠或柠檬酸钠添加量的增大，再制干酪的溶胶系数增大，但是焦磷酸钠或柠檬酸钠添加量过大时，溶胶系数又会降低；由图5可以看出，在柠檬酸钠保持在最佳添加水平时，随着多聚磷酸钠或焦磷酸钠添加量的增大，再制干酪的溶胶系数增大，但是多聚磷酸钠或焦磷酸钠添加量过大时，溶胶系数又会降低。因此在实际生产中应将乳化盐的添加量控制在最佳的范围内。



a. 柠檬酸钠与多聚磷酸钠



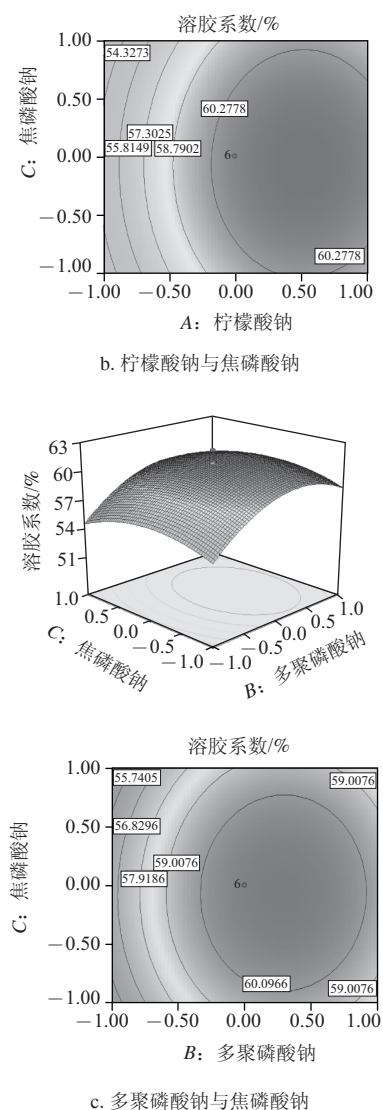


图3 两因素交互作用对溶胶系数影响的响应面图和等高线图
Fig.3 Response surface and contour plots for the effect of cross-interaction among factors on peptization coefficients

进一步用Design-Expert 7.0软件对试验模型进行典型性分析,以获得最优的发酵条件。经分析得,在 $X_1=0.49$ 、 $X_2=0.22$ 、 $X_3=-0.07$,即柠檬酸钠添加量1.992%、多聚磷酸钠添加量0.1962%、焦磷酸钠添加量为0.37%时得到的再制干酪的溶胶系数最高,为62.02%。

为了验证响应面法的可行性,采用得到的最佳复配乳化盐进行验证实验,同时考虑到实际操作和生产的便利性,将乳化盐的添加量修正为柠檬酸钠量2%、多聚磷酸钠为0.2%、焦磷酸钠为0.37%。3次平行实验得到的溶胶系数为62.12%,所得实验值与预测值接近,二者的良好拟合性证实了模型的有效性。因此,优化后的再制干酪的乳化盐添加量的配方为柠檬酸钠量2%、多聚磷酸钠为0.2%、焦磷酸钠为0.37%。

3 结论

本实验采用单因素试验,综合考察5种常用的乳化盐对再制干酪的影响,从中筛选出3种比较好乳化盐即柠檬酸钠、多聚磷酸钠、焦磷酸钠;并进一步通过最陡爬坡试验、中心组合试验优化,对柠檬酸钠、多聚磷酸钠、焦磷酸钠这3种乳化盐进行响应面分析,得到了溶胶系数的二次多项式方程,对模型中各因素间交互作用和有效性进行了分析。最终得到的再制干酪的乳化盐配方为:柠檬酸钠2%、多聚磷酸钠0.2%、焦磷酸钠0.37%。优化后的溶胶系数(62.10%)与初始溶胶系数(48.03%)相比提高了29%。

参考文献:

- [1] 谢跃杰,吕加平,闫坤,等.再制干酪物化特性及加工工艺的研究[J].食品工业科技,2010,31(8):215-218.
- [2] KAPOOR R, METZGER L E. Process cheese: scientific and technological aspects: a review[M]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2008, 7(2): 194-214.
- [3] 王慧霞,范贵生,白晓光,等.不同乳化盐对再制干酪质构的影响[J].内蒙古农业大学学报,2009,30(2):165-168.
- [4] CAVALIER-SALOU S, CHEFTEL J C. Emulsifying salts influence on characteristics of cheese analogs from calcium caseinate[J]. Journal of Food Science, 1991, 56(6): 1542-1547.
- [5] 乔为仓,刘宁.再制干酪生产中乳化剂的种类和作用[J].中国乳业,2004(5):46-48.
- [6] GUPTA V K, REUTER. Firmness and melting quality of processed cheese foods with added whey protein concentrates[J]. Lait, 1993, 73: 381-388.
- [7] ABDEL-HAMID L B, EL-SHABRAWY S A, AWAD R A, et al. Rheology and microstructure of processed Ras cheese spreads with formulated emulsifying salt mixtures[J]. International Journal of Food Properties, 2000, 3(1): 15-36.
- [8] MARCHESSEAU S, CUQ J-L. Water-holding capacity and characterization of protein interactions in processed cheese[J]. Journal of Dairy Research, 1995, 62(3): 479-489.
- [9] HEER T J E. The microstructure of processed cheese[J]. Neth Milk Dairy J, 1981, 35: 177.
- [10] ABDEL-HAMID L B, EL-SHABRAWY S A, AWAD R A. Chemical properties of processed Ras cheese spreads as affected by emulsifying salt[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2002, 24(3): 191-208.
- [11] YAZICI F, DERVISOGLU M. Effect of pH adjustment on some chemical, biochemical, and sensory properties of civil cheese during storage[J]. Journal of Food Engineering, 2003, 56(4): 361-369.
- [12] HAMED A, KHADER A. Effect of storage on the composition, rheological properties and organoleptic quality of commercial processed cheese[J]. Egyptian Journal of Dairy Science, 1997, 25: 113-122.
- [13] FRENCH S J, LEE K M, DECSTRO M, et al. Effects of different protein concentrates and emulsifying salt conditions on the characteristics of a processed cheese product [J]. Milchwissenschaft, 2002, 57(2): 79-83.
- [14] 邵辉,王春满,孙艳波.再制干酪制造方法的研究[J].农产品加工:畜产品,2007(8):72-73;77.