

响应面法优化青豆复合鸡肉香肠的工艺条件

鞠 斌, 巴吐尔·阿不力克木*, 刘雅娜

(新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘 要: 应用响应面法对青豆复合鸡肉香肠进行工艺优化, 通过单因素试验初步确定, 以食盐添加量、腌制时间、青豆添加量为自变量, 以亚硝酸盐残留量为响应值, 进行Box-Behnken试验设计, 并构建二次回归方程。结果表明: 最佳工艺条件为食盐添加量2.54%、腌制时间36 h、青豆添加量10.84%, 此时亚硝酸盐残留量最低, 香肠整体色泽、口感最佳。

关键词: 青豆; 复合香肠; 响应面分析法; 工艺优化

Optimization of Process for the Production of Chicken Sausage with Added Green Soybean by Response Surface Analysis

JU Bin, Batuer ABULIKEMU*, LIU Yana

(College of Food and Pharmaceutics, Xinjiang Agricultural University, Ürümqi 830052, China)

Abstract: In this study, we report the optimization of process conditions for the production of chicken sausage with added green soybean using combination of single factor design and response surface methodology. A quadratic regression model equation was developed indicating the effect of salt concentration, curing time and green soybean concentration on nitrate residue using Box-Behnken design. Results showed that 2.54% salt, 36 h curing and 10.84% green soybean were optimum for the minimum level of nitrate residue. Overall, the sausage obtained under these conditions had the best color and taste.

Key words: green soybean; sausage; response surface analysis; process optimization

中图分类号: TS251.51

文献标志码: A

文章编号: 1001-8123 (2015) 04-0026-05

doi: 10.7506/rlyj1001-8123-201504006

随着经济社会的发展, 肉类加工的创新形式层出不穷, 生产技术和水平都在不断攀升, 产品的层次结构、立体性也越来越强, 肉类食品已成为了人们生活中必不可少的组成部分, 特别是低温肉制品^[1-2]。而低温香肠正是其中一类, 由于其色泽明亮、食用方便以及最大限度地保持了肌肉的基本结构^[3]、营养成分^[4]、风味而深受人们青睐。但由于传统香肠脂肪含量较高、营养元素损失较多等^[5]问题, 导致其市场应用存在较大局限性。而膳食纤维虽然不具有营养价值, 但却是健康饮食不可缺少的组成成分, 其具有减少胆固醇吸收, 降低结肠癌发病几率, 促进肠道蠕动^[6-8]等优点。将膳食纤维添加到香肠制品中, 制成复合香肠, 既能改善香肠的感官品质, 又能增加香肠本身的营养组分, 可改善食品的保健功能, 提高出品率、降低成本、增加附加值^[9], 提升谷物类资源的转化利用率等^[10]。亚硝酸盐主要用于发色以及抑菌, 尤其对肉毒梭状芽孢杆菌有良好抑制作用^[11], 但亚硝酸盐的过量残留会带来很多危害, 例如致畸性、致癌性^[12]。因此, 在确保色泽、抑菌效果良好的前提下应使其残留量在合理范围内^[13]。

复合香肠已有多年的研究, 但青豆复合香肠尚未见报道。本实验以鸡肉为主要原料, 对青豆复合低温香肠工艺中的食盐添加量、腌制时间、青豆添加量进行优化, 以期得到高膳食纤维、低亚硝酸盐残留量的低温复合香肠。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

冻鸡胸肉、青豆、食盐、五香粉、味精、胡椒粉、淀粉、糖、小苏打购自乌鲁木齐爱家超市。

天然羊肠衣 河北省保定市宽泽肠衣厂; 复合磷酸盐 (食品级) 徐州市天溢源食用化工有限公司; 亚硝酸钠 (食品级) 杭州市龙山化工有限公司; D-异抗坏血酸钠 (食品级) 江西省德兴市百勤异VC钠有限公司; 山梨酸钾 (食品级) 宁波王龙集团有限公司; 亚铁氰化钾、冰乙酸、乙酸钠、硼砂均为分析纯 天津市光复科技发展有限公司。

1.2 仪器与设备

MM8型绞肉机 广东省韶关市大金食品机械厂;

收稿日期: 2014-12-01

作者简介: 鞠斌 (1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向畜产品加工。E-mail: jbdashi@sina.com

*通信作者: 巴吐尔·阿不力克木 (1968—), 男, 副教授, 博士, 研究方向畜产品加工原理与技术。E-mail: batur6805@126.com



YSN-GC7型灌肠机 广东省广州市优连食品加工机械有限公司；21型可见分光光度计 上海菁华科技仪器股份有限公司；DHG-9123A型干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司；HH-S4水浴锅 金坛市医疗仪器厂；JA2003分析天平 上海上天精密仪器有限公司；PHS-3CpH计 上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 青豆复合鸡肉香肠工艺流程

青豆→预处理→预煮→晾干

↓

冻鸡胸肉→解冻→绞碎→腌制→制馅→灌制→烘烤→蒸煮→冷却晾干

1.3.2 配方

配方参照文献[14]，并加以改进：鸡肉1 kg、食盐2.5%、复合磷酸盐（焦磷酸钠：六偏磷酸钠：三聚磷酸钠=2：2：1）0.438%、D-异抗坏血酸钠0.109%、亚硝酸钠0.012%、山梨酸钾0.12%、胡椒粉0.15%、味精0.13%、五香粉0.21%、淀粉8.77%、糖3%、青豆12%、冰水13%。

1.3.3 操作要点

1.3.3.1 前处理

鸡胸肉剔除筋膜、脂肪、血块等，将其切成适当大小并匀速通过绞肉机。

1.3.3.2 腌制

将食盐、亚硝酸钠、复合磷酸盐、抗坏血酸钠、山梨酸钾混合均匀后，涂抹于肉表面并适当翻转，确保腌制料涂抹均匀。装盘在4℃条件下腌制24 h。

1.3.3.3 拌制

将腌制完全的肉与配料混合均匀，并在拌制过程中不断加入冰水，以控制肉馅温度，防止细菌滋生。拌制前将青豆切碎，以免在香肠中分布不均，拌制时以顺时针方向搅动肉馅^[15]。

1.3.3.4 灌制

肠衣在使用前，添加适量小苏打浸泡24 h，至肠衣表面呈现白色即可使用。灌制过程中随时检查肠衣情况，保持匀速灌制，以免肠衣受力不均而破裂，同时防止气泡出现，避免局部过紧或过松（以两指按压弹性适度为宜）。

1.3.3.5 烘烤

烘烤前，在其表面使用细牙签扎出肉眼可见小孔，烘烤温度控制在80~85℃，保持香肠中心温度在75℃以上^[16]，并在烘烤的过程中不时翻动肠体，使其受热均匀，烘烤时间约1 h，直至香肠表面干燥，肠体紧致，并伴有肠衣烤制风味。

1.3.3.6 蒸煮

水烧开后将香肠置于篦子上，放入锅内，进行蒸

煮，电磁炉温度恒定于85~90℃，蒸煮30 min，选择通风良好处晾干后保藏。

1.3.4 pH值测定

准确称取10 g绞碎后的样品于锥形瓶中，加入100 mL蒸馏水，浸泡约1 h，过滤，用pH计直接测定滤液的pH值^[17]。

1.3.5 亚硝酸盐残留量测定^[18]

1.3.5.1 标准曲线的绘制

准确吸取0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.50、2.00、2.50 mL亚硝酸钠标准使用液（相当于0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、7.5、10.0、12.5 μg亚硝酸钠），分别置于50 mL带塞比色管中，分别加入2 mL对氨基苯磺酸溶液，混匀，静置3~5 min后各加入1 mL盐酸萘乙二胺溶液，加超纯水至刻度，混匀，静置15 min，在538 nm波长处测定各溶液吸光度，并绘制标准曲线。

1.3.5.2 亚硝酸盐残留量的测定

准确称取样品5.00 g，置于研钵中，加入适量蒸馏水研磨，倒入50 mL烧杯中，加入饱和硼砂12.5 mL，搅拌均匀，用300 mL 70℃蒸馏水将试样冲洗进500 mL容量瓶中，100℃加热15 min，冷却至室温，加入5 mL亚铁氰化钾，摇匀，再加入5 mL乙酸锌，定容后静置30 min，过滤，取上清液40 mL按标准曲线制作步骤，在相同条件下测定吸光度，并按以下公式进行计算：

$$X = \frac{m_1 \times 1\,000 \times V_0}{m \times V_1 \times 1\,000}$$

式中：X为亚硝酸钠含量/（mg/kg）； m_1 为样液中亚硝酸钠质量/μg； m 为试样质量/g； V_1 为测定用样液体积/mL； V_0 为试样处理液总体积/mL

1.3.6 单因素试验设计

1.3.6.1 食盐添加量对亚硝酸盐残留量的影响

腌制时，腌制时间为24 h，青豆添加量为12%，并分别测定不同食盐添加量1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5%、4.0%对香肠亚硝酸盐残留量的影响。

1.3.6.2 腌制时间对亚硝酸盐残留量的影响

腌制时，食盐添加量为2.5%，青豆添加量为12%，分别测定不同腌制时间12、24、36、48、60、72 h，对香肠亚硝酸盐残留量的影响。

1.3.6.3 青豆添加量对亚硝酸盐残留量的影响

腌制时，食盐添加量为2.5%，腌制时间为24 h，分别测定不同青豆添加量6%、8%、10%、12%、14%、16%对香肠亚硝酸盐残留量的影响。

1.3.7 响应面试验设计

采用Design-Expert 8.0软件根据Box-Behnken Design响应曲面设计进行响应面试验设计，计算分析，并结合单因素试验结果，以食盐添加量、腌制时间以及青豆的

添加量为自变量, 分别为 X_1 、 X_2 、 X_3 , 以亚硝酸盐残留量为因变量 Y , 进行三因素三水平的响应面试验, 试验设计因素编码及水平见表1所示。

表1 BBD设计因素编码及水平
Table 1 Factors and their coded levels used in BBD design

因素	水平		
	-1	0	1
X_1 食盐添加量/%	2.25	2.5	2.75
X_2 腌制时间/h	32	36	40
X_3 青豆添加量/%	8	10	12

2 结果与分析

2.1 亚硝酸盐标准曲线

根据1.3.5.1节的方法进行亚硝酸盐标准曲线的绘制, 得到吸光度与亚硝酸盐质量之间的曲线, 以亚硝酸钠的质量为横坐标(x)、吸光度为纵坐标(y), 亚硝酸盐的标准曲线为 $y=0.017x+0.004$, $R^2=0.999$ 。

2.2 单因素试验

2.2.1 食盐添加量对亚硝酸盐残留量及pH值的影响

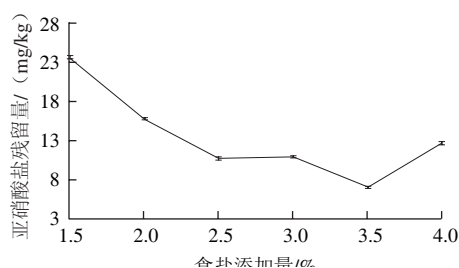


图1 食盐添加量对亚硝酸盐残留量的影响
Fig.1 Effect of salt concentration on nitrite residue

由图1可知, 食盐添加量在1.5%~2.5%时, 随着食盐添加量的不断增加, 亚硝酸盐残留量迅速降低, 由23.66 mg/kg降低至10.75 mg/kg, 降幅达到54.56%, 作用十分显著, 食盐添加量在2.5%~3.0%之间时, 对亚硝酸盐分解的作用开始呈现减缓趋势, 但食盐添加量在3.5%时, 亚硝酸盐含量又呈现出下降趋势, 并在4.0%时呈现大幅度上升。

表2 食盐添加量对pH值的影响
Table 2 Effect of salt concentration on pH

食盐添加量/%	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
pH	6.45	6.35	6.37	6.33	5.98	5.91

由表2可知, 食盐添加量增高, 有助于形成低pH值环境, 对亚硝酸盐分解有促进作用, 但高浓度的盐也使细胞脱水, 阻碍 HNO_2 的复分解反应, 表现为亚硝酸盐残留量变化不显著甚至上升, 因而继续增大食盐添加量变化不大, 所带来的边际效应减弱。考虑到香肠口味上的变化以及口感接受程度, 选择食盐添加量为2.5%。

2.2.2 腌制时间对亚硝酸盐残留量的影响

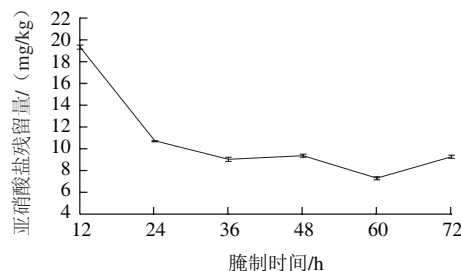


图2 腌制时间对亚硝酸盐残留量的影响
Fig.2 Effect of curing time on nitrite residue

由图2可知, 随着腌制时间的延长, 亚硝酸盐残留量整体呈现下降趋势, 在开始腌制后的36 h内亚硝酸盐残留量由19.40 mg/kg迅速降低至9.12 mg/kg, 降幅达到52.99%, 但在随后的12 h内又呈现出小幅的上升趋势, 亚硝酸盐残留量为9.40 mg/kg, 并且在60 h时小幅降低, 72 h时由呈现上升趋势。

表3 腌制时间对pH值的影响
Table 3 Effect of curing time on pH

腌制时间/h	12	24	36	48	60	72
pH	6.24	6.19	6.04	6.08	5.84	5.82

由表3可知, 随着腌制时间延长, 亚硝酸盐不断分解, 并在腌制36 h时, 分解速率接近最大, 而在36~72 h内, 由于含盐量不足以长时间抑制细菌生长, 蛋白质开始降解, 导致部分与蛋白质结合的亚硝酸盐得到释放, 使亚硝酸盐含量异常上升, 因此, 为保证腌制质量, 避免蛋白质发生降解, 选择腌制时间为36 h。

2.2.3 青豆添加量对亚硝酸盐残留量的影响

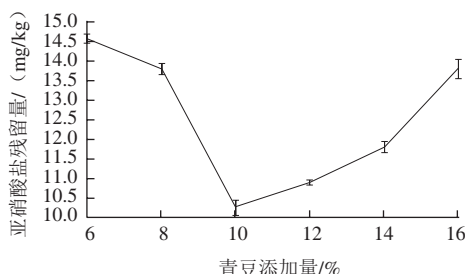


图3 青豆添加量对亚硝酸盐残留量的影响
Fig.3 Effect of green soybean concentration on nitrite residue

由图3可知, 随着青豆添加量的增大, 亚硝酸盐残留量呈现出先下降后上升的趋势, 青豆添加量在6%~10%时, 亚硝酸盐残留量下降趋势十分显著, 由14.58 mg/kg下降至10.25 mg/kg, 降幅约30%。而青豆添加量在10%~16%时, 亚硝酸盐残留量又迅速回升。

表4 青豆添加量对pH值的影响
Table 4 Effect of green soybean concentration on pH

青豆添加量/%	6	8	10	12	14	16
pH	6.18	6.11	6.01	6.26	6.36	6.42

由表4可知, 青豆添加量在6%~10%时, pH值较为稳定, 并保持在较高水平, 这表明, 青豆中的有效成分, 如VE、碳水化合物等, 对亚硝酸盐的分解产生促进作用, 但过量添加使得青豆中的硝酸盐成为残留主要来源, 并且分解缓慢, 因此, 选择10%青豆添加量最为适宜。

2.3 响应面设计结果

表5 响应面设计结果

Table 5 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	因素			亚硝酸盐 残留量/(mg/kg)
	X_1	X_2	X_3	
1	1	1	0	9.88
2	-1	0	1	10.44
3	-1	1	0	11.86
4	1	0	1	10.48
5	0	0	0	9.43
6	-1	-1	0	11.01
7	0	0	0	9.56
8	0	1	1	10.20
9	1	0	-1	11.92
10	0	1	-1	11.14
11	0	0	0	9.45
12	0	-1	1	9.97
13	1	-1	0	10.86
14	0	-1	-1	12.21
15	0	0	0	9.54
16	-1	0	-1	12.86
17	0	0	0	9.12

2.4 回归模型的建立及方差分析

表6 回归模型方差分析

Table 6 Analysis of variance (ANOVA) of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
X_1	1.147 6	1	1.147 6	18.470 5	0.003 6	**
X_2	0.117 6	1	0.117 6	1.892 9	0.211 3	
X_3	6.195 2	1	6.195 2	99.710 1	<0.000 1	**
X_1X_2	0.837 2	1	0.837 2	13.474 9	0.008 0	**
X_1X_3	0.240 1	1	0.240 1	3.864 3	0.090 0	
X_2X_3	0.422 5	1	0.422 5	6.800 0	0.035 0	*
X_1^2	4.327 1	1	4.327 1	69.643 7	<0.000 1	**
X_2^2	0.925 2	1	0.925 2	14.890 3	0.006 2	**
X_3^2	4.137 2	1	4.137 2	66.586 5	<0.000 1	**
模型	19.320 1	9	2.146 7	34.550 2	<0.000 1	**
残差	0.434 9	7	0.062 1			
失拟项	0.309 9	3	0.103 3	3.3059	0.1391	
纯误差	0.125 0	4	0.031 3			
总和	19.755 0	16				
R^2			97.80%			
R^2_{Adj}			94.97%			

注: *.差异性显著 ($P<0.05$); **.差异性极显著 ($P<0.01$)。

回归方程为: $Y=9.420\ 0-0.378\ 6X_1-0.121\ 3X_2-0.880\ 0X_3-0.457\ 5X_1X_2+0.245\ 0X_1X_3+0.325\ 0X_2X_3+1.013\ 8X_1^2+0.468\ 8X_2^2+0.991\ 3X_3^2$ 。

由表6可知, 模型的整体显著水平小于0.000 1, 为极显著水平, 并且试验失拟项不显著, 表明所选用的二次多项模型有效, 试验方法较为可靠, 决定系数为97.80%, 校正决定系数为94.97%, 则说明此模型与实际试验拟合度较好, 可用此模型进行结果的预测。

2.5 响应面分析

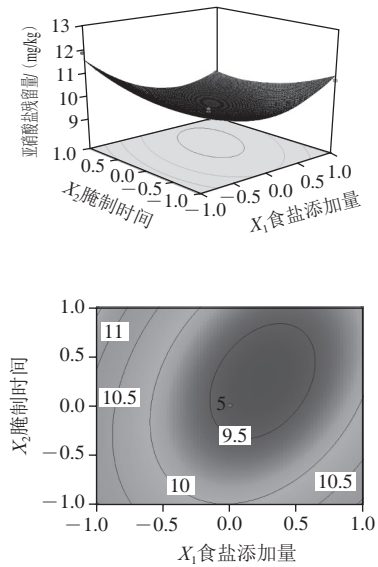
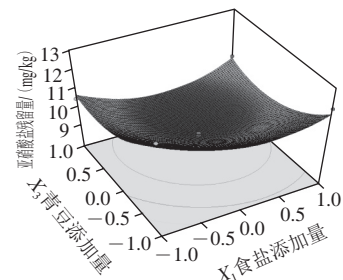


图4 食盐添加量和腌制时间对亚硝酸盐残留量的响应面和等高线
Fig.4 Response surface and contour plots showing the effect of salt concentration and curing time on nitrite residue

由图4和表6的方差分析可知, 食盐添加量对亚硝酸盐残留量的影响极显著 ($P<0.01$), 而腌制时间对亚硝酸盐残留量的影响不显著 ($P>0.05$), 食盐添加量和腌制时间对亚硝酸盐残留量的影响极显著 ($P<0.01$)。食盐添加量对亚硝酸盐残留量的影响比腌制时间的影响更为显著。



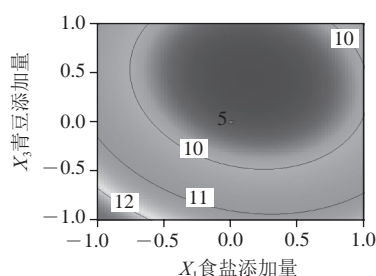


图5 食盐添加量和青豆添加量对亚硝酸盐残留量的响应面和等高线
Fig.5 Response surface and contour plots showing the effect of salt and green soybean on nitrite residue

由图5和表6方差分析可知, 食盐添加量对亚硝酸盐残留量的影响极显著 ($P<0.01$), 而青豆添加量对亚硝酸盐残留量的影响同样极显著 ($P<0.01$), 食盐添加量和青豆添加量对亚硝酸盐残留量的影响显著 ($P<0.05$)。

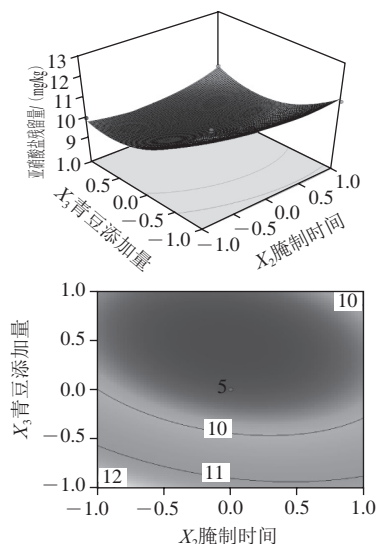


图6 腌制时间和青豆添加量对亚硝酸盐残留量的响应面和等高线
Fig.6 Response surface and contour plots showing the effect of curing time and green soybean on nitrite residue

由图6和表6的方差分析可知, 响应面图形较为平缓, 青豆添加量对亚硝酸盐残留量的影响极显著 ($P<0.01$), 而腌制时间对亚硝酸盐残留量的影响不显著 ($P>0.05$), 食盐添加量和腌制时间对亚硝酸盐残留量的影响不显著 ($P>0.05$)。而响应面整体较为陡峭, 等高线图则呈现出近椭圆形, 表明其交互作用较其他两种情况更为明显, 对亚硝酸盐残留量的影响也更为显著。青豆添加量对亚硝酸盐残留量的影响比腌制时间的影响更显著。

2.6 模型的验证

由模型得出青豆香肠的最佳工艺条件为: 食盐添加量2.54%、腌制时间36.24 h、青豆添加量10.84%, 在此条件下, 亚硝酸盐残留量为9.205 2 mg/kg, 符合

GB2760—2011《食品添加剂使用标准》关于肉灌肠类食品的残留标准(以亚硝酸盐计, 残留量 ≤ 30 mg/kg)但考虑到实际操作条件, 将工艺条件调整为食盐添加量2.54%、腌制时间36 h、青豆添加量10.84%, 在此优化条件下进行3次平行验证实验, 得到亚硝酸盐残留量的平均值为9.321 7 mg/kg, 实际值与预测值之间相对误差为1.27%, 在可接受范围内, 说明采用此模型优化后得到的残留量在理想范围内, 具有实际意义。

3 结论

本研究通过单因素试验和Box-Behnken响应曲面设计对青豆香肠的制作工艺进行了优化, 拟合出以食盐添加量、腌制时间、青豆添加量为自变量, 亚硝酸盐残留量为因变量的回归模型, 并得到了最终的回归方程: $Y=9.420 0-0.378 8X_1-0.121 3X_2-0.880 0X_3-0.457 5X_1X_2+0.245 0X_1X_3+0.325 0X_2X_3+1.013 8X_1^2+0.468 8X_2^2+0.991 3X_3^2$, 且通过验证实验确保了模型的可靠性。

由模型确定的最佳工艺为食盐添加量2.54%、腌制时间36 h、青豆添加量10.84%, 在此条件下得到亚硝酸盐残留量最低, 为9.321 7 mg/kg。

参考文献:

- [1] 孙建青, 徐宝才, 周辉, 等. 低温肉制品关键工艺及装备技术应用研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(23): 454-459.
- [2] 杨琴, 胡国华. 海藻酸钠的复配及在低温肉制品中应用研究[J]. 中国食品添加剂, 2013(4): 145-148.
- [3] NDOGDU A K, KARAHAN A G, CAKMAKCM L. Production of nitric oxide (NO) by lactic acid bacteria isolated from fermented products[J]. European Food Research and Technology, 2006, 223(1): 178-182.
- [4] 袁先群. 酱卤类低温肉制品品质变化[D]. 重庆: 西南大学, 2012.
- [5] 苏丹, 赖雪雷, 康建波, 等. 肉制品加工研究进展与新技术应用[J]. 农产品加工, 2011(3): 52-58.
- [6] 郑立红, 李凤英, 任发政, 等. 葡萄皮在低温香肠中的应用研究[J]. 中国食品学报, 2008, 8(6): 82-85.
- [7] THOMAS R, ANJANEYULU A S R, GADEKAR Y P, et al. Effects of comminution temperature on the quality and shelf-life of buffalo meat nuggets[J]. Food Chemistry, 2007, 103(3): 787-794.
- [8] 谢婷, 李诚. 膳食纤维功能性肉制品研究进展[J]. 肉类研究, 2007, 21(9): 3-6.
- [9] 唐学燕, 励建荣, 赵爱明, 等. 洋葱对西式香肠品质及储存稳定性的影响[J]. 食品与机械, 2008, 24(2): 29-32.
- [10] 周亚军, 吕晨艳, 付天宇, 等. 复合发酵香肠加工工艺与发酵特性研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(4): 107-111.
- [11] 皇甫超申, 史齐, 李延红, 等. 亚硝酸盐对人体健康的利害分析[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(8): 733-736.
- [12] 徐敦明, 周昱, 李志煌, 等. 燕窝中亚硝酸盐风险分析研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2010, 2(1): 53-58.
- [13] 吴赤蓬, 张晓蓉, 韩辉. 亚硝酸盐对大鼠睾丸支持细胞DNA损伤的研究[J]. 现代预防医学, 2008, 35(9): 1688-1690.
- [14] 秦阳. 添加新疆特色干果对灌肠制品品质的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2013.
- [15] 刘迪迪, 孔保华. 斩拌条件和添加成分对肉糜类制品质量的影响[J]. 肉类研究, 2009, 23(3): 14-18.
- [16] 孙震, 徐世梅, 杭峰. 微波杀菌动力学及其影响因素的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 126-129.
- [17] 田呈瑞, 张富新. 中式发酵香肠发酵特性的研究[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2001, 24(2): 77-80.
- [18] 中华人民共和国卫生部. GB5009.33—2010 食品安全国家标准食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.