响应面法优化 Camembert 干酪加工工艺

万俊[1]，蒋爱民[2]，曲直[2]，谭淑君[2]，陶正平[1]
（1. 广东农工商职业技术学院热作系，广东广州 510507）（2. 华南农业大学食品学院，广东广州 510640）

摘要：在氯化钙添加量、凝乳酶添加量、凝乳温度、排乳时间等单因素实验的基础上，根据 Box-Behnken 中心组合实验设计原理，采用 4 因素 3 水平响应曲面分析法，以凝乳效果为响应值建立二次多项回归模型，并验证模型的有效性。实验结果表明：Camembert 干酪最佳制作工艺为氯化钙添加量为 0.06%，凝乳酶添加量为 0.02%，凝乳温度为 32 ℃，排乳时间为 30 min。在此条件下，理论凝乳效果得分为 89.63，验证值为 89.50。

关键词：响应面；Camembert 干酪；凝乳效果
文章篇号：1673-9078(2012)7-840-844

Optimization of Processing Conditions for Camembert Cheese by Response Surface Method

WAN Jun[1], JIANG Ai-Min[2], QU Zhi[2], TAN Shu-Jun[2], TAO Zheng-Ping[1]
(1.Department of Tropical Crop, Guangdong AIB Polytechnic College, Guangzhou 510570, China)
(2.College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The effects of calcium chloride amount, curd enzyme quantity, soybean milk amount and curd temperature on a camembert cheese preparation were studied. According to Box-Behnken center combination experimental design principle, second multiple regression model were estibulshed using curd effect as response value and the effectiveness of the model was verified. The results showed that the best cheese production process conditions were as follows: 0.06% calcium chloride, 0.02% curd enzyme, curd temperature 32 ℃ and row milk time 30 min, under which the estimated value and verified yield values of curd effect were as high as 89.63 and 89.50, respectively.

Key words: response surface; camembert cheese; curd effect

Camembert 干酪起源于法国，是一种典型的表面霉菌成熟软质干酪，其成熟过程中蛋白质、脂肪分解和乳糖酵解相对比较彻底，风味独特，质地细腻温和，味道醇厚较适宜我国人民食用[1~2]。不同国家和地区生产出来的 Camembert 干酪因原料乳的选择和处理，发酵剂、凝乳酶添加量等加工工艺不同而存在感官、质地的差异，体现出明显的区域特色。

目前我国软质干酪的研究和生产还处于起步阶段。本文选取 Camembert 干酪关键工艺操作点，设计单因素实验，以凝乳效果、乳清 OD 值、凝乳时间、产品得率等为观测指标，进行筛选，在单因素实验基础上利用 SAS 统计软件，采取响应面法，建立数学模型优化 Camembert 干酪的加工工艺。

收稿日期：2012-05-18
基金项目：农业部引进国际先进农业科学技术“948”项目（2010-Z32）
作者简介：万俊（1984-），男，助教，硕士研究生，食品加工与贮藏方向
通讯作者：蒋爱民（1957-），男，博士，教授，研究方向为畜产食品加工及质量控制

1 材料与方法

1.1 材料

牛乳，购于华南农业大学实验农场；凝乳酶，PD 204931-4.1 CN Marzyme，150 MG 丹尼斯克（DANISCO）中国有限公司，2080-2305 IMCU/g；干酪发酵剂，PD 207205-6.0 CN CHOOZIT TM STAM 7 LYO 50 DCU 丹尼斯克（DANISCO）中国有限公司。

1.2 仪器与设备

FT20A 干酪槽，英国 ARMFIELD 公司；PHS-3C 型精密 PH 计，上海雷磁仪器厂；PL203 型电子天平，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；SW-CJ-2FD 超净工作台，苏州安泰空气技术有限公司；SPX-80BS-II 生化培养箱，上海新苗医疗器械有限公司；UV-1800 紫外分光光度计，岛津有限公司；全温振荡器，上海福马实验设备有限公司；HH-4 数显恒温水浴锅，常州澳华仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 Camembert 干酪加工工艺[3]

原料牛乳→标准化→杀菌（75℃，15 s）→冷却（32℃）→加乳酸菌发酵剂（3%）→发酵（32℃）→加氯化钙→加凝乳酶→切割→搅拌升温→排乳清→压榨（0.25~0.30 MPa，30min）→盐渍（2%）→加后熟菌种（1%）→后熟（12~14℃，RH 95%）

1.3.2 凝乳效果评价

采用加权系数法，以凝乳感官、乳清 OD 值、凝乳时间、产品得率为指标，进行综合评定。综合评定总分为 100 分，其中凝乳感官、乳清 OD 值、凝乳时间、产品得率各为 30、30、20 和 20 分，具体评定标准见表 1。

表 1 干酪凝乳效果评分体系

Table 1 Scoring standards of cheese curd effect

项目	指标	得分
凝乳效果（30 分）	凝乳松散，易碎，无弹性，刀迹模糊，入模时凝乳块易外流，不成型。	0~9
	凝乳较细腻，但结构松散，刀迹较模糊，入模时有部分碎乳块外流，压榨结束后仍有部分水分析出。	10~19
	凝乳细腻，洁白，有弹性，光滑，刀迹清晰，无碎末，入模时凝乳块不外流，压榨结束后无明显水分析出。	20~30
	凝乳变硬，无弹性，刀迹生硬，入模不易成型，压榨后凝乳易松散或有空隙。	15~24
凝乳时间（30 分）	＜10 min 或＞60 min	0~10
	10~20 min 或 40~60 min 之间	11~20
	20~40 min	21~30
乳清 OD 值（20 分）	＞2.5	0~9
	2.5~2.0 之间	10~15
	小于 2.2	16~20
产品得率（20 分）	＜15%	0~15
	15%~20%	16~20
	大于 20%	09~14

1.3.2.1 干酪产品得率计算

干酪产品的得率按下式计算：产品得率=终产品质量/原料质量×100%。

1.3.2.2 干酪凝乳时间的确定

从加入凝乳酶到凝乳可以切割所需要的时间。

1.3.2.3 乳清 OD 值的测定

根据乳清浓度，适度稀释后在 480 nm 处测定[4]。

1.3.3 响应面优化设计

选取单因素实验最优点为中心点，利用 SAS 9.0 软件，采用响应面法中的 Box-Behnken 实验设计优化 Camembert 干酪加工工艺。根据 Box-Behnken 中心组合设计原理，选用影响凝乳特性的 4 个主要因素：X_1 凝乳酶添加量，X_2 氯化钙添加量，X_3 凝乳温度，X_4 排乳时间。每一个自变量水平分别以-1、0、1 进行编码，以凝乳效果评分为响应值（Y），实验因素及水平设计见表 2，数据采用 SAS 9.0 软件分析[5~6]。

表 2 中心组合 Box-Behnken 方案设计因素水平表

Table 2 Center combination Box-Behnken scheme design factors level table

因素	水平		
	-1	0	1
X_1 (凝乳酶添加量/%)	0.015	0.020	0.025
X_2 (氯化钙添加量/%)	0.04	0.06	0.08
X_3 (凝乳温度/℃)	29	32	35
X_4 (排乳时间/min)	20	30	40

表 3 响应面法实验设计及结果

Table 3 Experimental design and results of the response surface method

实验号	X_1	X_2	X_3	X_4	凝乳得分(Y)
1	-1	-1	0	0	62.4
2	-1	1	0	0	67.6
3	1	-1	0	0	71.3
4	1	1	0	0	79.1
5	0	0	-1	-1	82.1
6	0	0	-1	1	84.6
7	0	0	1	-1	84.3
8	0	0	1	1	86.6
9	-1	0	0	-1	68.6
10	-1	0	0	1	74.7
11	1	0	0	-1	77.5
12	1	0	0	1	79.1
13	0	-1	-1	0	67.2
14	0	-1	1	0	75.9
15	0	1	-1	0	71.2
16	0	1	1	0	79.8
17	-1	0	-1	0	67.2
18	-1	0	1	0	72.2
19	1	0	-1	0	79.7
20	1	0	1	0	81.8
21	0	-1	0	-1	72.9
22	0	-1	0	1	73.6
23	0	1	0	-1	77.5
24	0	1	0	1	82.6
25	0	0	0	0	90.5
26	0	0	0	0	89.5
27	0	0	0	0	88.9

2 结果与分析

2.1 响应面优化实验结果

Box-Behnken 的 4 因素 3 水平实验中共有 27 个实验点，其中实验 1~24 个是分析因子实验，实验 25~27 是零点实验，凝乳效果评分（*Y*）为响应值，实验结果如表 3 所示。

采用 SAS 9.0 软件对表 3 中的凝乳得分进行多元回归分析，得到凝乳酶添加量（X_1）、氯化钙添加量（X_2）、凝乳温度（X_3）、排乳时间（X_4）的二次回归模型，该式表达了凝乳效果（*Y*）与各因素之间的变化规律，其二次多元回归模型为：Y_1=-714.505+17696.67*X_1 + 3291.25*X_2 + 29.62407*X_3 + .7225*X_4-419166.7*X_1*X_1 - 26229.17*X_2*X_2-0.450463*X_3*X_3 - 0.026167*X_4*X_4

对该模型进行方差分析，结果见表 4。

表 4 回归方程的方差分析结果

Table 4 Regression equation of the results of variance analysis

参数	自由度	平方和	均方	*F* 值	*P* 值
模型	14	1395.057	99.6469	15.32031	0.0001
X_1	1	259.47	259.47	39.89246	0.0001
X_2	1	99.1875	99.1875	15.24968	0.002091
X_3	1	68.16333	68.16333	10.47984	0.007123
X_4	1	27.9075	27.9075	4.290665	0.060539
X_1*X_1	1	585.669	585.669	90.04424	0.0001
X_1*X_2	1	1.69	1.69	0.259831	0.619481
X_1*X_3	1	2.1025	2.1025	0.323251	0.580145
X_1*X_4	1	5.0625	5.0625	0.778339	0.394979
X_2*X_2	1	587.067	587.067	90.25918	0.0001
X_2*X_3	1	0.0025	0.0025	0.000384	0.984681
X_2*X_4	1	4.84	4.84	0.74413	0.405251
X_3*X_3	1	87.66009	87.66009	13.47738	0.0032
X_3*X_4	1	0.01	0.01	0.001537	0.969367
X_4*X_4	1	36.51704	36.51704	5.614347	0.035436
残差	12	78.05083	6.504236		
失拟项	10	76.74417	7.674417	11.74656	0.08095
纯误差	2	1.306667	0.653333		
总和	26	1473.107			
		R^2=0.9470	R^2_{Adj}=0.8852		

由表 4 可知，对 Camembert 干酪凝乳效果评分变化所建立的回归模型（$P<0.05$）显著，实验数据与模型不相符的情况（$P>0.05$）不显著，表明模型选择正确，模型相关系数 R^2=0.9470，矫正相关系数 R^2_{Adj}=0.8852 表明响应值的变化能较好的描述各因素与响应值之间的实验结果，模型拟合程度好，实验误差小，可有效分析和预测 Camembert 干酪的凝乳效果。在各因素所选择的水平范围内，一次项 X_1、X_2、X_3，二次项 X_1^2、X_2^2、X_3^2、X_4^2 对凝乳效果的影响显著，交互项不显著。

2.2 响应面分析

响应面和等值线可以直观的看到各因素间的交互作用情况，其中等值线的形状可以反映因素间交互效应的强弱。圆形表示两因素间交互作用不明显，椭圆形则表示较明显，具体结果见图 1~图 6。

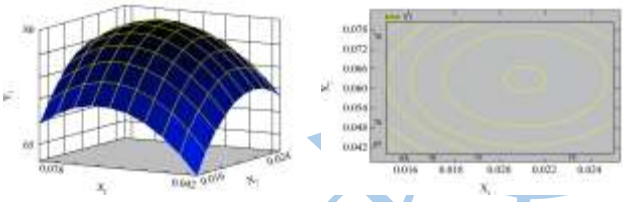


图 1 $Y=f(X_1, X_2)$的响应面和等值线图

Fig.1 The response surface and equivalence value maps of Y=f(X_1, X_2)

由图 1 可以看出，凝乳酶添加量、氯化钙添加量对凝乳效果的影响呈现相似变化趋势，添加量过高或过低均不利于得到良好凝乳。原料乳中添加氯化钙是为了补充牛乳中 Ca^{2+}浓度，促进凝乳，缩短工艺时间，改善凝乳质地，优化品质。氯化钙添加量逐渐增大，可导致凝乳时间缩短，凝乳弹性先增加后减弱，当添加量为 0.08%时，排出乳清后的凝乳颗粒硬度较大，粘结性差，压榨时不易成型，导致产品中存在空隙，同时在乳清中有凝乳碎末溢出，乳蛋白部分流失，凝乳块口感有苦味；添加量为 0.06%时，凝乳效果达到最佳，凝乳富于弹性，乳清清晰，凝乳时间满足工艺要求；添加量为 0.04%时，凝乳块弹性较差，乳清排出困难，凝乳时间较长。可能的原因是 Ca^{2+}是维护乳中盐类平衡的关键因素，一方面原料乳经杀菌处理后，乳中酪蛋白胶粒增大，水相中的 Ca^{2+}向胶体相中转移，使乳中可溶性 Ca^{2+}含量减少，导致凝乳速度变慢，凝乳块弹性变差，乳清含量增加，切割时易形成碎末，造成蛋白质损失；另一方面 Ca^{2+}浓度过大时，Ca^{2+}会干扰 αs-酪蛋白和 κ-酪蛋白之间的结合键，导致蛋白过快沉淀，凝乳速度过快，乳脂肪不能及时被酪蛋白形成的网状结构包裹，易随乳清排出，导致营养损耗，Ca^{2+}浓度过大，也会造成凝乳块过硬，表面粗糙，切割时形成碎末，引起出品率下降等不良现象[7~8]。

凝乳酶在干酪的加工过程中主要起凝乳和分解蛋白质的作用，部分凝乳酶进入凝块中，有利于干酪的成熟。由于凝乳酶的种类和添加量的不同，凝乳效果和蛋白质分解的程度也有所差异，从而影响干酪的出品率和感官品质[9~10]。

从图 2 中可以得出随着凝乳酶添加量的增加，凝乳时间逐渐缩短，凝乳酶添加量为 0.025%时，凝乳块

失水较多，硬度升高，弹性差，粗糙易碎，结构不细腻，这是因为蛋白酶水解蛋白质的活力较强，在凝乳的同时，大量分解蛋白质，形成小分子肽类等有机物，随乳清排出，增加了乳清的吸光度，降低了蛋白质的回收率，从而导致产品得率下降；凝乳酶添加量为0.015%时，凝乳块柔软，弹性较差，切割时有凝乳碎末产生，乳蛋白等营养成分随着乳清流失，压榨结束后仍有少量乳清析出。结合表 4 可知，不同凝乳酶添加量、氯化钙添加量对凝乳效果具有显著性影响，但两者之间交互作用不够显著。

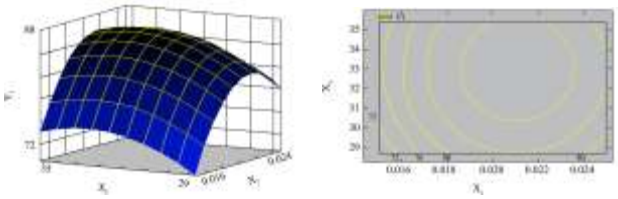


图 2 $Y=f(X_1, X_3)$的响应面和等值线图

Fig.2 The response surface and equivalence value maps of $Y=f(X_1, X_3)$

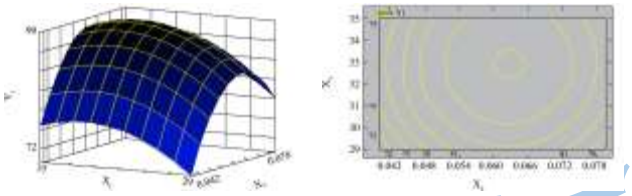


图 3 $Y=f(X_2, X_3)$的响应面和等值线图

Fig.3 The response surface and equivalence value maps of $Y=f(X_2, X_2)$

图 2~图 3 表明，凝乳酶添加量、氯化钙的添加量与凝乳温度之间有一定的交互作用，表现在等值线为椭圆形，结合响应面可以看出，凝乳酶、氯化钙添加量小，凝乳温度低得到较差凝乳效果，这与前期单因素分析一致，但过高的凝乳酶、氯化钙添加量和凝乳温度也会降低凝乳效果。根据 Smoluchowski 阐述的机理：乳的凝结与凝乳温度有很大关系，当牛乳的温度低于 15 ℃时，由于凝聚反应过慢，可能导致不会凝结，当温度升高时，粒子的碰撞速度增加，而且碰撞效率也得到提高，因此过高、过低的凝乳温度均不利于良好凝乳的形成。32 ℃的凝乳温度下，有利于凝乳酶发挥作用，提高 Ca^{2+}的活度，与此同时乳清蛋白更多的滞留在在凝乳块中，因此得到的凝乳块保水适宜，富于弹性，符合工艺要求，凝乳评价较好。

图 4 分析表明凝乳酶的添加量和排乳清时间有一定的关联，这是因为排出乳清在较高的温度下进行，随着时间的延长，干酪乳酸菌发酵产生的乳酸会显著降低凝乳的 pH 值，促使凝乳酶的活性增加，加速副 κ-酪蛋白的产生，促进凝乳的形成[11]。但时间过长，也会使胶束中磷酸钙的溶解作用增加，降低了酪蛋白胶团表面的静电荷，使胶团之间的静电斥力下降，从而导致凝乳中乳清大量析出，凝乳块显著收缩，凝乳变硬，弹性变差，产品得率下降；而排乳清时间过短，则凝乳中水分含量较高，凝乳酶残留量增加，同样会对干酪品质产生不利影响[11~12]。

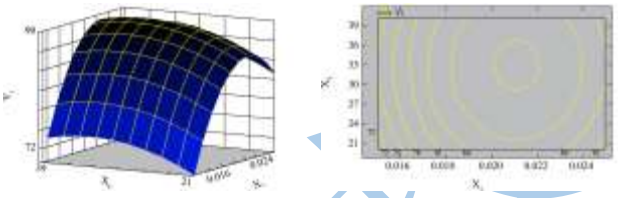


图 4 $Y=f(X_1, X_4)$的响应面和等值线图

Fig.4 The response surface and equivalence value maps of $Y=f(X_1, X_4)$

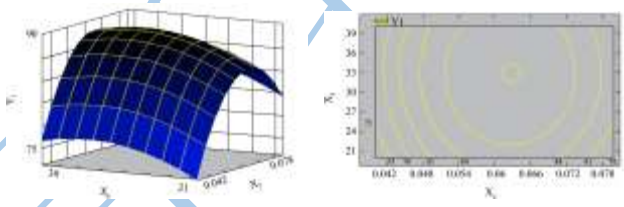


图 5 $Y=f(X_2, X_4)$的响应面和等值线图

Fig.5 The response surface and equivalence value maps of $Y=f(X_2, X_4)$

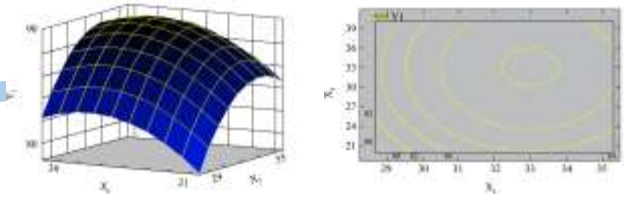


图 6 $Y=f(X_3, X_4)$的响应面和等值线图

Fig.6 The response surface and equivalence value maps of $Y=f(X_3, X_4)$

图 5 显示排乳时间与氯化钙添加量有一定的交互作用，图 6 表明凝乳温度和排乳时间的交互作用不明显。排乳时间很大程度上决定凝乳块终水分的含量，因此对于凝乳块的感官有显著影响，凝乳时间过长（40 min）或过短（20 min）均不利于良好凝乳的形成[13]。凝乳时间较短时，凝乳块水分含量大，质地柔软，弹性较差；凝乳时间较长时，凝乳块的质地显著变硬，收缩严重，弹性差，易碎，排乳时间在 30 min 左右时，凝乳块质地细腻，弹性较好，残留的凝乳酶、氯化钙适中，获得理想凝乳效果。

2.3 最优工艺的确定及验证实验

在以上实验结果分析的基础上，利用 SAS 9.0 软件分析得到 X_1、X_2、X_3、X_4 的优化值为 0.02%、0.06%、32 ℃、30 min，此条件下理论凝乳效果得分 89.63。

为检验响应面法所得结果的可靠性，采用上述优化条件，3 次制作 Camembert 干酪，评价凝乳效果，得到平均值 89.50，与预测值基本吻合。

因此，利用响应面法得到的优化结果具有利用价值。

3 结论

用响应面法对 Camembert 干酪加工工艺进行优化，建立了氯化钙添加量，凝乳酶添加量，凝乳温度，排乳时间对凝乳效果的二次回归方程模型，经检验，模型准确有效，可以用该模型分析预测上述因素对凝乳效果的影响。结合前期单因素实验数据和响应面优化模型确定 Camembert 干酪加工工艺为：氯化钙添加量为 0.06%，凝乳酶添加量为 0.02%，凝乳温度为 32 ℃，排乳时间为 30 min。在此条件下，理论凝乳效果得分为 89.63，验证值为 89.50。

参考文献

[1] 陈伟.软质奶酪加工工艺及质量控制方法研究[D].西安:西北农林科技大学,2006

[2] 陈伟,阳晖,刘思聪,等.豆奶 Camembert 干酪的品质分析与工艺优化[J].中国乳品工业,2006,2:31-33

[3] 郭善广,陈伟,王志江,等.Camembert 奶酪加工过程中主要理化特性研究[J].食品与机械,2009,25(2):26-29,81

[4] 崔旭海.豆乳干酪工艺优化及成熟特性的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2006

[5] 彭勇胜,王江之,黄程,等.响应面法优化姬松茸多糖的提取工艺[J].现代食品科技,2011,27(9):1119-1122

[6] 徐春泽,王泽南,占子奇,等.响应面法对产甘露醇发酵乳杆菌发酵条件的优化[J].现代食品科技,2012,28(2):168-171

[7] 李昌盛,邹鲤岭.不同因素对羊奶干酪出品率和感官品质的影响[J].乳业科学与技术,2008,6:269-272

[8] Raynal-Ljutovac K, Park Y Gaucheron F, et al. Heatstability and enzymatic modifications of goat and sheep milk [J]. Small Ruminant Research, 2007, 68(1): 345-347

[9] Uprehi P, Metzger L E. Influence of calcrum and phosphorus，lactose and salt-to-moisture ratio on Cheddar Cheese quality: Proteolysis during ripening [J]. Joural of Dairy Science, 2006, 89(2): 444-453

[10] 李星科.干酪发酵剂的筛选及干酪加工工艺研究[D].石河子:石河子大学,2007

[11] 杜琨,何日光,张亚宁.枸杞干酪加工中凝乳效果的研究[J].食品工业,2006,1:35-37

[12] J Fontecha, Pelaez M, Juárez T, et al. Biochemical and microbiological characteristics of artisanal hard goat's cheese [J]. Dairy Sci, 1990, 73: 1150-1157

[13] Pastonno A J. Effect of chemical parameters on structure-function relationships of cheese [J]. Utah State University, 2002, 72-72, 101-105

现代食品科技