

干酪乳杆菌发酵番茄酸汤的工艺优化

郑莎莎¹, 胡萍¹, 王晓宇², 田亚¹, 徐俐¹, 丁筑红¹, 杨晓玲¹, 李娟¹, 冯丹丹¹

(1. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025) (2. 贵州大学生命科学学院, 贵州贵阳 550025)

摘要: 本试验探究应用干酪乳杆菌 H1 作为发酵剂接种西红柿优化制作酸汤发酵工艺。研究发酵温度、发酵时间、接种量和加盐量四个因素对番茄酸汤的品质影响并对其发酵条件进行优化。在单因素实验的基础上, 进行四因素三水平的响应面实验设计, 基于模糊数学法得到的感官评定和总酸两个响应值, 对人工接种干酪乳杆菌的番茄酸汤的发酵工艺进行优化, 以确定其最佳发酵工艺。结果表明: 在发酵温度 25 °C、发酵时间 5 d, 接种量 2%, 加盐量 1.45% 时, 得到的番茄酸汤总酸达到 1.23%, 感官评分 8.48±0.58, 与理论值差异均不显著 ($p>0.05$), 说明响应面的实验值和回归方程预测值基本吻合, 响应面法建立的模型所确定的番茄酸汤的发酵条件稳定可靠, 能为番茄酸汤工业化生产提供理论依据。

关键词: 模糊数学; 响应面; 番茄酸汤

文章编号: 1673-9078(2020)07-218-226

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.7.1157

Optimization of Tomato Sour Soup Fermented by *Lactobacillus casei*

ZHENG Sha-sha¹, HU Ping¹, WANG Xiao-yu², TIAN Ya¹, XU Li¹, DING Zhu-hong¹, YANG Xiao-ling¹,
LI Juan¹, FENG Dan-dan¹

(1.School of Liquor-making and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

(2.College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to explore the optimal fermentation process of sour soup, the *Lactobacillus casei* H1 was used as starter culture inoculated into tomato. The effects of fermentation temperature, fermentation time, inoculum size and salinity on the quality of tomato sour soup were studied and the fermentation conditions were optimized. On the basis of single factor experiment, the four-factor and three-level response surface experiment design was carried out. Based on the two response values of sensory evaluation and total acid obtained by fuzzy mathematics, the fermentation process of tomato sour soup inoculated with *Lactobacillus casei* H1 was optimized to determine the optimal fermentation process. The results showed that when the fermentation temperature was 25 °C, the fermentation time was 5 days, the inoculum size was 2%, and the salinity was 1.45%, the total acid of the tomato sour soup reached 1.23%, and the sensory evaluation was 8.48±0.58, which was not significantly different from the theoretical value ($p>0.05$). These results indicated that the experimental values of the response surface were basically consistent with the predicted values of the regression equation. Furthermore, the fermentation conditions of the tomato sour soup determined by the response surface method were stable and reliable, which could provide a theoretical basis for the industrial production of tomato sour soup.

Key word: fuzzy mathematics; response surface; tomato sour soup

引文格式:

郑莎莎, 胡萍, 王晓宇, 等. 干酪乳杆菌发酵番茄酸汤的工艺优化[J]. 现代食品科技, 2020, 36(7): 218-226

ZHENG Sha-sha, HU Ping, WANG Xiao-yu, et al. Optimization of tomato sour soup fermented by *Lactobacillus casei* [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(7): 218-226

酸汤是一种以西红柿和红辣椒为主要原料发酵而成的一种天然调味品, 用其煮制的火锅酸爽适口, 并且具有开胃, 健脾, 增强食欲的独特作用^[1]。有机酸作为酸汤中最丰富的成分, 既是呈味物质又是一种天

收稿日期: 2019-11-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960485)

作者简介: 郑莎莎 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程

通讯作者: 胡萍 (1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与安全

然的防腐剂, 保障了酸汤的风味和品质^[2,3]。番茄红素和辣椒碱作为酸汤重要生物活性植物化学成分, 具备改善血管, 改善代谢功能和降低动脉硬度、抗癌、抗氧化、促进食欲、保护神经等能力^[4-6], 同时酸汤中还含有丰富的矿物质, 其中钙、镁含量较高^[7]。

作为贵州苗族人民的传统美食, 酸汤知名度不断地提升, 已经有不少企业或作坊开始规模化生产, 但其仍然采用传统的自然发酵方式, 从产品风味和质量

安全上都不能满足消费者的需求。传统发酵酸汤中微生物来源复杂,导致酸汤品质不一,发酵周期长,不利于酸汤产品的规模化生产^[8]。人工接种发酵是利用发酵剂进行发酵,同时对发酵条件进行调控,以实现快速、稳定、安全的发酵生产,目前它已成为衡量食品企业现代化加工水平的一个重要标志。前期研究表明,通过人工接种发酵的酸汤不仅可以缩短发酵进程,有效控制亚硝酸盐的产生,还能优化产品风味和提升酸汤营养价值^[9-11],有利于提高酸汤的品质、减少安全隐患,实现快速、稳定的生产。

感官评价法在食品领域内的应用非常广泛。但是,感官评价结果容易受感官评定人员的个人偏向等主观作用的影响。模糊数学法是用精确的数学方法来处理无法用文字描述的概念或事物^[12],模糊数学感官评价法可以避免感官评价方法的主观性和片面性,使评价结果较为客观^[13]。因此,本实验选用一株从酸汤中分离得到的优势菌种干酪乳杆菌 H1 对西红柿进行接种发酵制作酸汤,在单因素试验基础上,采用响应面分析方法,以基于模糊数学法的感官评定和总酸为响应值考察发酵温度、发酵时间、接种量、加盐量 4 因素对番茄酸汤品质的影响,得到番茄酸汤最优发酵工艺参数,为其规模化生产提供理论支撑。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

番茄、食盐,均购置于贵州省贵阳市花溪区超市。

主要试剂:MRS 肉汤培养基、氢氧化钠(分析纯)、邻苯二甲酸氢钾(分析纯)。

1.2 仪器与设备

HPX-9082 MBE 型数显电热培养箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;Testo205 型便携式 PH 计,

深圳德图仪表有限公司;FA2004N 电子天平,上海菁海仪器有限公司;SW-CJ-1FD 型超净工作台,苏州苏洁净化设备有限公司;LS-B75L-I 型立式压力蒸汽灭菌锅,江阴滨江医疗设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 发酵剂的制备

本研究所采用乳酸菌为干酪乳杆菌 H1,由实验团队前期从苗族酸汤样品中分离鉴定得到的优势菌^[14]。菌株 H1 经 MRS 肉汤培养基活化后,离心收集菌体,用 0.85% 的生理盐水调整菌液浓度为 10^9 cfu/mL 备用。

1.3.2 总酸的测定^[15]

称取 5 g 左右的酸汤,用蒸馏水于 50 mL 容量瓶定容,过滤吸取 10 mL 上清液于烧杯,加 60 mL 蒸馏水,开动自动滴定仪的磁力搅拌器,用 0.05 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定至 pH 8.2,此时为总酸滴定终点,记下此时消耗碱液体积 V_1 ,同时做空白试验,记下此时消耗碱液体积 V_0 。用下式计算(以乳酸计):

$$\text{总酸}(\%) = \frac{(V_1 - V_0) \times 0.05 \times 0.09}{m \times (10/50)} \times 100\%$$

1.3.3 模糊综合评价

1.3.3.1 感官评价

评定小组由 10 名食品学院的专业人员组成,根据感官评定表 1 进行评定,在评定前 1 h 不喝酒,不吸烟,不吃辛辣等刺激性食物,评定下一个样品前要以清水并漱口,样品之间间隔 5 min^[16]。

1.3.3.2 因素集、评语集的确立

以色泽、质地、滋味、香气 4 项指标组成得到因素集 $X = (\text{色泽 } X_1, \text{质地 } X_2, \text{滋味 } X_3, \text{香气 } X_4)$;以好、一般、差 3 为评语集 $Y = (\text{好 } Y_1, \text{一般 } Y_2, \text{差 } Y_3)$ 。在计算评分时, $Y_1 = 8 \sim 10$ 分, $Y_2 = 4 \sim 7$ 分, $Y_3 = 0 \sim 4$ 分,各级评语集对应的感官评定标准见表 1。

表 1 番茄酸汤感官评定表

Table 1 The sensory evaluation of tomato sour soup

评分项目	评分标准	分数
色泽	色泽自然均一,鲜红有光泽	好(8~10)
	淡红色,稍有光泽	一般(4~7)
	暗红色,无光泽	差(0~4)
质地	稍可流动,质地均一,无分层	好(8~10)
	流动呈液状,质地均一,稍有分层	一般(4~7)
	流动性好,分层严重	差(0~4)

转下页

接上页

滋味	酸爽适口, 回味浓, 无异味, 口感好	好 (8~10)
	酸味适当, 有回味, 无异味, 口感较好	一般 (4~7)
	酸味刺激, 有异味, 口感差	差 (0~4)
香气	风味有发酵特有风味, 无异味	好 (8~10)
	发酵味较淡, 无异味	一般 (4~7)
	无发酵味、有馊味	差 (0~4)

1.3.3.3 权重集的确立

请上述 10 名专业品评人员对番茄酸汤的色泽、质地、滋味、香气四个质量因素在感官评价中的权重进行打分, 总分为 10 分, 认为越重要的质量因素占的权重越大, 评分越高。统计所有打分, 所得每个因素得

分除以所有指标总分 100, 得到各因素权重因子如表 2, 确定各质量因素的权重, 分别为色泽 (0.17)、质地 (0.11)、滋味 (0.49)、香气 (0.23), 记为 $A=(a_1, a_2, a_3, a_4)=(0.17, 0.11, 0.49, 0.23)$, 且 $a_1+a_2+a_3+a_4=1$ 。

表 2 番茄酸汤权重评价结果

Table 2 Evaluation results of tomato sour soup weight

因素	品评人员										总分
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
色泽	1	1	1	1	2	3	1	2	3	2	17
质地	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	11
滋味	5	6	5	4	6	5	4	6	3	5	49
香气	3	2	3	3	1	1	4	1	3	2	23
合计	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100

1.3.3.4 模糊关系综合评判集

从 A 到 Y 的一个模糊映射 R, 设 A 上模糊集为 $A=(a_1, a_2, a_3, a_4)$, 表示色泽、质地、滋味、香气的加权数, 则有感官综合得分 $B=A \cdot R$, 式中, B 表示感官综合评定结果, A 表示权重集, R 表示评判矩阵。

以总酸和感官评价为考核指标, 将 H1 接种到番茄酸汤中, 研究发酵温度、发酵时间、接种量、加盐量对番茄酸汤品质的影响。

1.3.5.2 响应面法优化番茄酸汤发酵工艺

应用 Box-Behnken 实验设计原理, 在单因素实验确定的最佳因素水平的基础上进行四因素三水平响应面试验。

1.3.4 番茄酸汤的制作工艺

番茄 → 挑选 → 去杂、去柄 → 洗净 → 晾干 → 打碎 → 混匀 → 加盐 → 接种 → 发酵 → 成品

选择发酵温度 (A)、发酵时间 (B)、接种量 (C)、加盐量 (D) 为考查对象, 以总酸 (X) 和感官评价 (Y) 为考察指标, 采用 Design Expert v 8.0.6 软件进行响应面试验, 各因素及水平编码如表 3 所示。

1.3.5 发酵番茄酸汤工艺优化

1.3.5.1 单因素试验

表 3 番茄酸汤发酵条件优化响应面因素与水平

Table 3 Optimization of response surface factors and levels of fermentation conditions of tomato sour soup

因素	A 发酵温度/°C	B 发酵时间/d	C 接种量/%	D 加盐量/%
-1	20	4	1	1
0	25	5	2	2
1	30	6	3	3

1.4 数据处理与统计分析

所有试验重复 3 次, 结果为平均值 ± 标准差。使用 Origin 2018 作图, 从图中分析数据的变化趋势; 使用 SPSS 20.0 进行统计分析, 并进行方差分析 ($p < 0.05$), 由此来判定数据间是否有差异以及差异是否具有显著性。

2 结果与讨论

2.1 番茄酸汤发酵工艺单因素模糊评判结果

由模糊综合评定小组的 10 位成员以番茄酸汤的色泽、质地、滋味、香气 4 个因素为评价指标, 对单

因素试验中各组样品进行感官评价。发酵温度感官评价结果见表 4，其余因素的样品均以发酵温度为例得到最终感官评分。

表 4 番茄酸汤发酵温度感官评定结果

Table 4 Sensory evaluation results of fermentation temperature of tomato sour soup

发酵温度	色泽			质地			滋味			香气		
	好	一般	差	好	一般	差	好	一般	差	好	一般	差
	Y1	Y2	Y3	Y1	Y2	Y3	Y1	Y2	Y3	Y1	Y2	Y3
20 °C	0.6	0.4	0	0.4	0.4	0.2	0.2	0.6	0.2	0.7	0.3	0
25 °C	0.9	0.1	0	0.7	0.2	0.1	0.8	0.2	0	0.8	0.2	0
30 °C	0.8	0.2	0	0.7	0.3	0	0.7	0.3	0	0.6	0.3	0.1
35 °C	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.5	0.4	0.1	0.5	0.3	0.2
40 °C	0.7	0.3	0	0.5	0.5	0	0.2	0.3	0.5	0.4	0.2	0.4

由表 4 可知在 10 名专业品评人员对 20 °C、25 °C、30 °C、35 °C、40 °C 这五个温度梯度下四个因素的评

价结果写成一个模糊综合感官评价矩阵为 (以 R_{20 °C} 为例):

$$R_{20\text{ }^{\circ}\text{C}} = (0.17, 0.11, 0.49, 0.23) \times \begin{pmatrix} 0.6 & 0.4 & 0 \\ 0.4 & 0.4 & 0.2 \\ 0.2 & 0.6 & 0.2 \\ 0.7 & 0.3 & 0 \end{pmatrix} = (0.405, 0.475, 0.12)$$

在计算评分时, Y1=9 分, Y2=6 分, Y3=3 分。则得出的感官综合评分如下:

$$B_{20\text{ }^{\circ}\text{C}} = (0.405, 0.475, 0.12) \times (9, 6, 3) = 0.405 \times 9 + 0.475 \times 6 + 0.12 \times 3 = 6.855$$

参照发酵温度的评判方法评判发酵时间, 接种量, 加盐量, 分别计算出发酵时间:

B₃=5.526、B₄=6.921、B₅=8.367、B₆=7.209、B₇=6.294; 接种量: B_{1%}=6.804、B_{2%}=8.253、B_{3%}=7.062、B_{4%}=6.36、B_{5%}=6.015; 加盐量: B_{1%}=6.855、B_{2%}=8.214、B_{3%}=8.013、B_{4%}=7.233、B_{5%}=6.081。

2.2 单因素试验结果与分析

2.2.1 发酵温度的确定

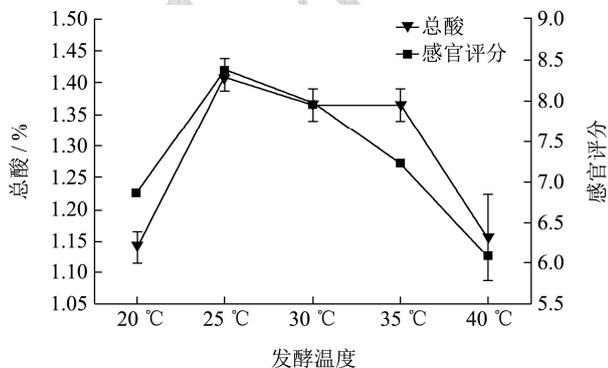


图 1 不同温度对番茄酸汤品质的影响

Fig.1 Effect of different temperatures on the quality of tomato sour soup

在蔬菜发酵过程中, 乳酸菌的生长活动及其代谢离不开酶的作用, 其在不同的温度下呈现出不同的产

酶能力, 过低或过高的温度呈现出弱的酶活性, 从而影响发酵蔬菜的品质及风味^[17]。由图 1 可知, 随着温度的升高, 酸汤总酸含量和感官评分均先上升后下降, 在 20 °C 时, 酸汤的总酸和感官值均处于较低的水平, 说明发酵温度过低时, 达不到乳酸菌的生长繁殖的温度要求, 导致发酵进程缓慢且风味不佳^[18]; 在 25 °C 时, 番茄酸汤的总酸和感官达到最高值, 说明此时的温度是最适合 H1 生长同时发酵番茄代谢产酸的温度。随着温度的继续升高, H1 的生长以及代谢开始受到抑制, 导致酸汤的总酸以及感官评定不断下降, 综合总酸含量和感官评定考虑, 选择最佳发酵温度为 25 °C。

2.2.2 发酵时间的确定

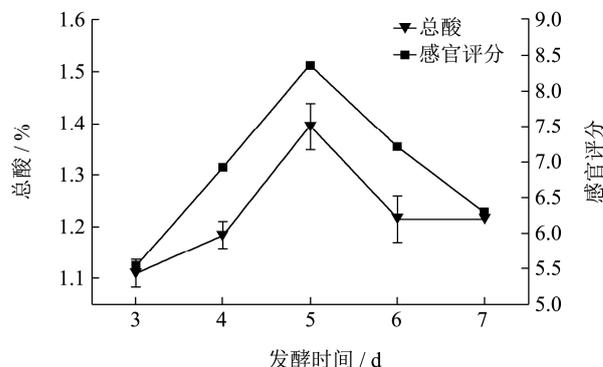


图 2 不同时间对番茄酸汤的影响

Fig.2 Effect of different time on tomato sour soup

发酵是微生物利用基质生长繁殖产生代谢产物以形成风味物质的过程。如图 2 所示, 在第 3 d 时, 发酵时间过短, 乳酸菌还处于在利用酸汤中的营养物质进行自身生长的阶段, 此时乳酸菌产酸不足, 酸味不

纯正, 导致酸汤风味不佳^[19]; 随着发酵时间的不断延长, 感官评分和总酸均逐渐上升, 分析原因是 H1 已生长完全处于非常活跃的状态下并不断产酸, 在第 5 d 时, 两者值达到最高, 随着发酵的继续进行, 酸汤中产生的其他代谢产物开始积累并与一些酸类物质反应, 因此总酸开始下降, 此时感官评定也开始下降。综合总酸含量和感官评定考虑, 选择最佳发酵时间为 5 d。

2.2.3 接种量的确定

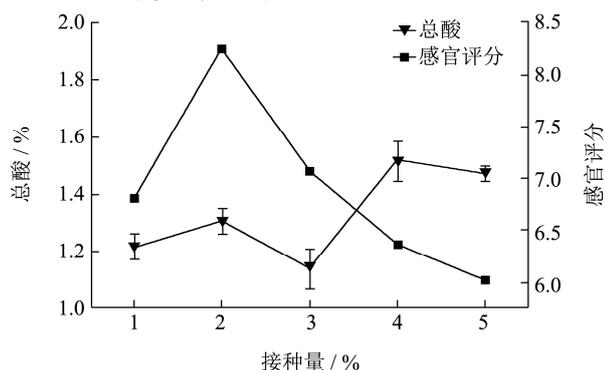


图3 不同接种量对番茄酸汤品质的影响

Fig.3 Effect of different inoculation amount on the quality of tomato sour soup

有研究表明乳酸菌发酵不仅提高蔬菜的营养状况, 降低亚硝酸盐等有害物质, 改善酸味和风味, 同时由于抗菌物质的产生, 延长了发酵制品的保存时间^[20]。不同接种量对番茄酸汤发酵的影响结果如图 3 所示。当乳酸菌接种量增大时, 感官评分先增大后减小, 总酸呈现不规则变化; 当接种量太低时, 导致发酵缓慢, 延长发酵时间, 容易感染杂菌^[21]; 当接种量超过 2% 之后, 其发酵出的酸汤感官评定分数不断在降低, 原因可能是由于接种量过高会导致基质中有限的碳源、氮源等营养物质不能充分满足细胞的繁殖代谢, 另外营养物质被用于乳酸菌自身的生长繁殖, 使得用于生成香味物质的底物比例降低, 导致感官评分有所下降^[22]。当接种量为 2% 时, 感官评分达到最高此时

表 5 响应面试验感官评定结果

Table 5 Sensory evaluation results of response surface test

试验号	色泽			质地			滋味			香气		
	好	一般	差	好	一般	差	好	一般	差	好	一般	差
	Y1	Y2	Y3	Y1	Y2	Y3	Y1	Y2	Y3	Y1	Y2	Y3
1	0.8	0.2	0	0.7	0.2	0.1	0.7	0.2	0.1	0.6	0.4	0
2	0.7	0.3	0	0.3	0.5	0.2	0.3	0.2	0.5	0.1	0.2	0.7
3	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.5	0.4	0.1	0.5	0.4	0.1
4	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.6	0.1	0.3
5	0.7	0.3	0	0.3	0.5	0.2	0.2	0.6	0.2	0.6	0.3	0.1

转下页

总酸含量也较高, 综合总酸含量和感官评定考虑, 选择最佳接种量为 2%。

2.2.4 加盐量的确定

盐在发酵食品中起着重要的重用, 微生物使用低浓度的盐来维持其正常活性同时抑制腐败微生物的生长, 而较高的浓度则导致溶酶并最终导致微生物死亡^[23]。从图 4 中可知, 总酸随着食盐量的增加而逐渐降低, 在超过 2% 的加盐量后, 总酸出现呈大幅度下降, 说明此时盐浓度过高从而抑制乳酸菌的生长; 而从感官评定来看, 加盐量在 2% 时, 感官评定分数达到最高, 品评人员认为 1% 加盐量时的酸汤过酸, 稍带刺激味, 而在 3% 之后的味道差不适口, 因而优选加盐量为 2%。

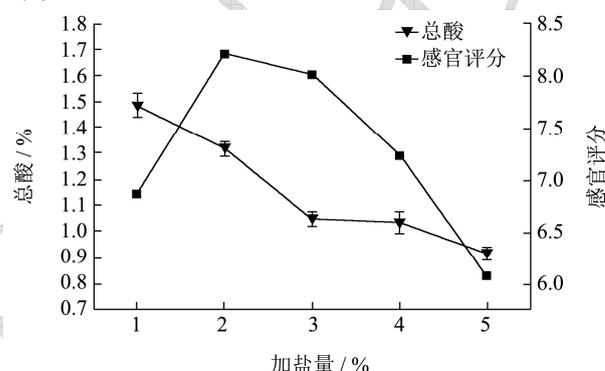


图4 不同加盐量对番茄酸汤品质的影响

Fig.4 Effect of different salt additions on the quality of tomato sour soup

2.3 番茄酸汤发酵工艺响应面优化试验结果分析

2.3.1 响应面试验模糊评判结果

由模糊综合评定小组的 10 位成员以番茄酸汤的色泽、质地、滋味、香气 4 个因素为评价指标, 对响应面试验 29 组不同样品进行评价。汇总评价结果见表 5。

接上页

6	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.7	0.2	0.1	0.5	0.3	0.2
7	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.5	0.4	0.1	0.5	0.2	0.3
8	0.6	0.4	0	0.4	0.4	0.2	0.2	0.7	0.1	0.7	0.3	0
9	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.5	0.4	0.1	0.5	0.3	0.2
10	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3
11	0.8	0.2	0	0.7	0.2	0.1	0.7	0.3	0	0.6	0.3	0.1
12	0.7	0.3	0	0.5	0.5	0	0.2	0.3	0.5	0.4	0.2	0.4
13	0.7	0.3	0	0.3	0.5	0.2	0.1	0.4	0.5	0.2	0.1	0.7
14	0.7	0.3	0	0.3	0.5	0.2	0.1	0.3	0.6	0.2	0.2	0.6
15	0.6	0.4	0	0.8	0.1	0.1	0.5	0.4	0.1	0.5	0.3	0.2
16	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.5	0.4	0.1	0.4	0.4	0.2
17	0.8	0.2	0	0.7	0.3	0	0.4	0.3	0.3	0.6	0.2	0.2
18	0.8	0.2	0	0.7	0.2	0.1	0.7	0.3	0	0.6	0.1	0.3
19	0.8	0.2	0	0.7	0.3	0	0.8	0.2	0	0.8	0.2	0
20	0.8	0.2	0	0.8	0.2	0	0.8	0.1	0.1	0.8	0.1	0.1
21	0.8	0.2	0	0.7	0.3	0	0.4	0.3	0.3	0.6	0.1	0.3
22	0.7	0.3	0	0.5	0.5	0	0.2	0.3	0.5	0.4	0.1	0.5
23	0.8	0.2	0	0.7	0.3	0	0.4	0.3	0.3	0.6	0.2	0.2
24	0.9	0.1	0	0.6	0.3	0.1	0.8	0.2	0	0.7	0.2	0.1
25	0.7	0.3	0	0.3	0.5	0.2	0.2	0.6	0.2	0.6	0.2	0.2
26	0.8	0.2	0	0.8	0.2	0	0.4	0.3	0.3	0.6	0.2	0.2
27	0.6	0.4	0	0.6	0.2	0.2	0.5	0.4	0.1	0.5	0.3	0.2
28	0.8	0.2	0	0.7	0.3	0	0.8	0.2	0	0.8	0.2	0
29	0.8	0.2	0	0.7	0.2	0.1	0.7	0.3	0	0.6	0.3	0.1

表6 番茄酸汤发酵工艺条件优化响应面试验设计与结果

Table 6 Design and results of optimized response surface test for fermentation conditions of tomato sour soup

试验号	A	B	C	D	X 总酸/%	Y 感官评分
1	25	5	3	1	1.07523	7.869
2	25	5	1	3	0.77125	5.682
3	20	5	1	2	0.87435	7.302
4	20	5	3	2	0.71058	6.351
5	30	5	1	2	0.7761	6.735
6	25	4	2	1	1.06167	7.527
7	25	6	1	2	0.86171	7.164
8	30	6	2	2	0.60877	6.933
9	25	4	3	2	0.87629	7.233
10	20	4	2	2	0.65477	6.360
11	25	5	2	2	1.21409	7.980
12	25	4	2	3	0.70126	6.081
13	25	6	2	3	0.65712	5.457
14	30	5	2	3	0.60594	5.379
15	30	5	2	1	0.9171	7.332
16	25	6	3	2	0.8985	7.164

转下页

接上页

17	30	4	2	2	1.06965	7.062
18	25	5	1	1	1.01367	7.842
19	25	5	2	2	1.26832	8.367
20	25	5	2	2	1.22209	8.184
21	25	4	1	2	0.82697	6.993
22	25	5	3	3	0.65429	6.012
23	20	6	2	2	0.83612	7.062
24	25	5	2	2	1.15664	8.214
25	20	5	2	3	0.59861	6.666
26	30	5	3	2	0.71325	7.062
27	20	5	2	1	0.94867	7.365
28	25	5	2	2	1.17321	8.367
29	25	6	2	1	1.13316	7.980

表 7 响应面二次回归模型方差分析表

Table 7 Response surface quadratic regression model analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值
模型	1.17/18.90772	14	0.084/1.350552	21.47/16.44708	<0.0001/<0.0001**/**
A-发酵温度	3.821E-004/0.030301	1	3.821E-004/0.030301	0.098/0.369004	0.7590/0.5533
B-发酵时间	3.176E-003/0.021168	1	3.176E-003/0.021168	0.81/0.257785	0.3824/0.6196
C-接种量	3.198E-003/6.07E-05	1	3.198E-003/6.07E-05	0.82/0.00074	0.3807/0.9787
D-加盐量	0.39/9.430587	1	0.39/9.430587	99.67/114.8461	<0.0001/<0.0001**/**
AB	0.10/0.17264	1	0.10/0.17264	26.41/2.102421	0.0002/0.1691**/
AC	2.546E-003/0.408321	1	2.546E-003/0.408321	0.65/4.972553	0.4329/0.0426/*
AD	3.783E-004/0.393129	1	3.783E-004/0.393129	0.097/4.787544	0.7602/0.0461/*
BC	3.925E-005/0.0144	1	3.925E-005/0.0144	0.010/0.175364	0.9216/0.6817
BD	3.343E-003/0.289982	1	3.343E-003/0.289982	0.86/3.531418	0.3705/0.0812
CD	7.967E-003/0.022952	1	7.967E-003/0.022952	2.04/0.279514	0.1751/0.6053
A ²	0.46/3.835356	1	0.46/3.835356	117.61/46.70716	<0.0001/<0.0001**/**
B ²	0.16/2.281543	1	0.16/2.281543	40.98/27.78475	<0.0001/0.0001**/**
C ²	0.20/1.919232	1	0.20/1.919232	50.17/23.3725	<0.0001/0.0003**/**
D ²	0.17/4.372957	1	0.17/4.372957	44.17/53.25408	<0.0001/<0.0001**/**
残差	0.0055/1.149609	14	3.905E-003/0.082115		
失拟项	0.047/1.047488	10	4.695E-003/0.104749	2.43/4.102922	0.2029/0.093
纯误差	7.716E-003/0.102121	4	1.929E-003/0.02553		
总和	1.23/20.05733	28			
R ²				95.55%/94.27%	

注：左边数据为总酸的，右边为感官评定的，*表示影响显著 (p<0.05)；**表示影响极显著 (p<0.01)。

2.3.2 响应面优化结果与分析

Box-Behnken 实验设计及结果如表 6、表 7 所示。由总酸和感官评定的方差分析表可知，两个响应值对应的模型显著性极高 (p<0.0001)，失拟项 F_{总酸}=2.43，F_{感官}=4.10，p_{总酸、感官}>0.05，差异性不显著，R_{总酸}=95.55%，R_{感官}=94.27%，说明两个模型对实验拟合情况良好，可信度较高，可以利用这两个回归方程对总酸和感官

评定进行预测。由表 7 可以看出，总酸模型的一次项 D (加盐量) 为极显著，A，B，C 不显著，根据 F 值，判断各因素对番茄酸汤的总酸的影响大小依次为加盐量、发酵温度、接种量、发酵时间，其中加盐量对番茄酸汤的酸度有着较大的影响；交互项 AB 极显著，AC，AD，BC，BD，CD 不显著，二次项 A²，B²，C²，D² 均表现为极显著。感官评定模型的一次项 D (加

盐量)为极显著, A, B, C 不显著, 根据 F 值, 判断各因素对番茄酸汤的感官评定的影响大小依次为加盐量、发酵温度、发酵时间、接种量, 其中加盐量对番茄酸汤的感官评定有着较大的影响; 交互项 AC, AD 显著, AB, BC, BD, CD 不显著, 二次项 A^2 , B^2 , C^2 , D^2 均表现为极显著。说明各因素对响应值的影响较复杂, 不是简单的线性关系。

综上所述, 根据对番茄酸汤中总酸、感官评定的显著影响因素响应面分析, 及 Box-Behnken 设计结果, 得到番茄酸汤中总酸的多元二次回归方程:

$$X = -14.43627 + 0.67985 \times A + 2.42122 \times B + 0.65760 \times C + 0.65735 \times D - 0.032111 \times A \times B + 5.04600E-003 \times A \times C + 1.94500E-003 \times A \times D - 0.13250E-003 \times B \times C - 0.028907 \times B \times D - 0.044630 \times C \times D - 0.010643 \times A^2 - 0.15706 \times B^2 - 0.17379 \times C^2 - 0.16307 \times D^2$$

感官评定的多元二次回归方程:

$$Y = -37.59282 + 1.73320 \times A + 7.67 \times B + 0.72455 \times C + 5.16005D - 0.041550 \times A \times B + 0.063900 \times A \times C - 0.062700 \times A \times D - 0.060000 \times B \times C - 0.26925 \times B \times D + 0.075750 \times C \times D - 0.030758 \times A^2 - 0.59307 \times B^2 - 0.54395 \times C^2 - 0.82108 \times D^2$$

2.3.3 响应面验证试验

由 Design Expert 8.0.6 软件进行优化, 以总酸和感官评分为双响应值, 确定最佳发酵工艺为发酵温度: 25.01 °C, 发酵时间: 5.00 d, 接种量: 2.02%, 加盐量: 1.45%, 此时理论总酸达到 1.26%, 感官评分为 8.46。为检验响应面分析结果准确性, 基于实际操作问题, 将发酵工艺修正为发酵温度 25 °C、发酵时间 5 d, 接种量 2%, 含盐量 1.45%。在此条件下进行 3 次平行验证实验, 得到总酸平均值为 1.23%, 感官评分 8.48±0.58。与理论值差异均不显著 ($p > 0.05$), 说明响应面的实验值和回归方程预测值基本吻合, 响应面法建立的模型所确定的红酸汤的发酵条件稳定可靠。

2.4 讨论

番茄在蔬菜农产品市场占有相当重要的地位, 其消费量仅次于马铃薯, 是世界第二大蔬菜^[24], 番茄是一种富水蔬菜, 特别在夏季气温高时, 存放期短, 易变质腐烂。将番茄加工成为番茄酸汤可使生产效益成倍翻番, 又解决了市场过剩、不易存放的问题。人工添加的乳酸菌发酵剂可以通过改变发酵蔬菜的微生物群落来减少亚硝酸盐含量并缩短发酵过程^[25], 有研究采用正交优化法对乳酸菌组合发酵番茄浆的工艺, 其采用的乳酸菌并非红酸汤中的内生菌, 在使用的时候需要对其进行驯化^[9], 而本试验所采用的干酪乳杆菌是本实验室从传统红酸汤中分离出来的优势菌, 通过本试验得知, 其能够很好地适应番茄酸汤的发酵环境同时快

速产酸, 同时干酪乳杆菌被证明是一种益生菌, 其能够耐受有机体的防御机制, 进入人体后可以在肠道内大量存活, 起到调节肠道内菌群平衡、促进消化吸收等作用^[26,27]。何嘉敏等^[28]通过响应面优化乳酸菌发酵复合果蔬汁的加工工艺, 而本文在运用响应面的基础上, 通过模糊数学评价法进行感官评定, 并对番茄酸汤的色泽、质地、滋味、香气四个质量因素在感官评价中的权重进行打分, 能有效避免感官评价员主观意识对结果的影响, 使感官评价结果更为客观; 通过响应面实验结果我们可以知道各因素对响应值的影响较复杂, 不是简单的线性关系, 因此我们可以通过各个因素的交互作用以及对红酸汤的品质影响大小, 同时根据实际生产中的调控难度大小对其工艺进行相应的调整。

3 结论

本试验以发酵温度、发酵时间, 接种量, 加盐量为单因素, 以总酸和基于模糊数学的感官评定为双响应值, 进行 4 因素 3 水平的 Box-Behnken 响应面实验设计并对模型进行优化, 4 个因素对红酸汤总酸的影响大小依次为: 加盐量、发酵温度、接种量、发酵时间; 4 个因素对红酸汤感官评定的影响大小依次为: 加盐量、发酵温度、发酵时间、接种量。最终得到干酪乳杆菌 H1 发酵番茄酸汤的最佳发酵工艺为: 发酵温度 25 °C、发酵时间 5 d, 接种量 2%, 加盐量 1.45%。在此条件下, 得到番茄酸汤总酸平均值为 1.23%, 感官评分 8.48±0.58, 同时验证实验证明, 模糊数学法和响应面法相结合用于优化干酪乳杆菌发酵红酸汤的工艺切实可行, 且重复性好。该工艺可以为番茄酸汤产品的工业化生产提供理论支持和技术参数。

参考文献

- [1] 俞露, 丁筑红, 程艳薇, 等. 水族酸汤火锅底料加工新工艺研究[J]. 中国调味品, 2011, 36(2): 118-120
YU Lu, DING Zhu-hong, CHENG Yan-wei, et al. The research on processing technology of chili ferment sour soup [J]. Chinese Condiments, 2011, 36(2): 118-120
- [2] Sera Jung, Hyelyeon Hwang, Jong-Hee Lee. Effect of lactic acid bacteria on phenyllactic acid production in kimchi [J]. Food Control, 2019, 106: 106701
- [3] Y W Ning, A H Yan, K Yang, et al. Antibacterial activity of phenyllactic acid against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* by dual mechanisms [J]. Food Chem, 2017, 228: 533-540
- [4] Milani A, Basirnejad M, Shahbazi S, et al. Carotenoids:

- biochemistry, pharmacology and treatment [J]. British Journal of Pharmacology, 2017, 174(11): 1290-1324
- [5] Shaherin B, Minghua C, Sunhye H, et al. Harnessing the therapeutic potential of capsaicin and its analogues in pain and other diseases [J]. Molecules, 2016, 21(8): 966
- [6] Srinivasan K. Biological activities of red pepper (capsicum annum) and its pungent principle capsaicin: a review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2015, 56(9): 1488
- [7] 鲁杨,王楠兰,李贤,等.凯里番茄酸汤主要营养和功能成分的分析研究[J].食品研究与开发,2019,40(7):163-166
LU Yang, WANG Nan-lan, LI Xian, et al. Analysis and research on main nutrition and functional components of kaili red acid soup [J]. Food Research and Development, 2019, 40(7): 163-166
- [8] 郑莎莎,胡萍.利用乳酸菌发酵番茄酸汤的品质变化研究[J].中国调味品,2019,44(8):65-70
ZHENG Sha-sha, HU Ping. Study on quality change of tomato sour soup fermented by lactic acid bacteria [J]. Chinese Condiments, 2019, 44(8): 65-70
- [9] 张东亚,徐俐,鲁青松,等.菌群强化凯里番茄酸汤“番茄浆”及发酵工艺的优化[J].食品科技,2018,43(5):313-318
ZHANG Dong-ya, XU Li, LU Qing-song, et al. Optimization of Kaili tomato sour soup “tomato juice” fermentation process and fortified microflora [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(5): 313-318
- [10] 徐俐,戴岳宗.乳酸菌对酸汤中亚硝酸盐变化研究[J].中国调味品,2009,34(5):43-46
XU li, DAI Yue-zong. Study on the effect of nitrite in sour soup of different lactic acid bacteria [J]. Chinese Condiments, 2009, 34(5): 43-46
- [11] 韦明明.番茄酸汤发酵过程分析及混菌发酵工艺研究[D].南京:南京农业大学,2016
WEI Ming-ming. Analysis of tomato sour soup fermentation process and study on the mixed culture fermentation technology for tomato sour soup [D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2016
- [12] Singh K P, Mishra A, Mishra H N. Fuzzy analysis of sensory attributes of bread prepared from millet-based composite flours[J]. LWT - Food Science and Technology, 2012, 48(2): 276-282
- [13] Qian Lu, Yaqiang He, Xiufang Liu. Property assessment of steamed bread added with cellulose by using fuzzy mathematical model [J]. Journal of Texture Studies, 2015, 46, 420-428
- [14] 张玉龙,胡萍,王金龙,等.产胞外多糖乳酸菌的筛选及抗氧化特性研究[J].中国酿造,2015,34(10):37-42
ZHANG Yu-long, HU Ping, WANG Jin-long, et al. Isolation of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria and its antioxidant properties [J]. China Brewing, 2015, 34(10): 37-42
- [15] GB/T 12456-2008 食品中总酸的测定[S]
GB/T 12456-2008 Determination of Total Acids in Foods [S]
- [16] 刘加友,陈兵兵,王振斌,等.模糊数学和响应面在葛根乳酸菌饮料感官评定中的应用[J].中国食品学报,2017,17(1): 224-229
LIU Jia-you, CHEN Bing-bing, WANG Zhen-bin, et al. Application of fuzzy mathematics and response surface in sensory assessment of kudzu root beverage [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(1): 224-229
- [17] 张庆峰,吴祖芳,翁佩芳,等.浙东腌冬瓜优势乳酸菌的分离及产酶特性分析[J].现代食品科技,2016,32(3):119-125
ZHANG Qing-feng, WU Zu-fang, WENG Pei-fang, et al. Isolation of dominant lactic acid bacteria strains in pickled wax gourd from eastern Zhejiang and analysis of its enzyme-producing characteristics [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(3): 119-125
- [18] 徐丹.番茄醋加工工艺研究[D].西安:陕西师范大学,2017
XU Dan. Study on processing technology of tomato vinegar [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2017
- [19] 王陈强,施晓艳,沈广军,等.发酵番茄汁饮料的制备工艺研究[J].中国果菜,2016,36(12):16-19
WANG Chen-qiang, SHI Xiao-yan, SHEN Guang-jun, et al. Preparation process of fermented tomato juice beverage [J]. China Fruit Vegetable, 2016, 36(12): 16-19
- [20] 梁小波,王智能,杨伟伟,等.抗氧化活性乳酸菌的分离鉴定及其在泡菜发酵中的应用[J].现代食品科技,2016,32(12): 225-233
LIANG Xiao-bo, WANG Zhi-neng, YANG Wei-wei, et al. Isolation and identification of antioxidant lactic acid bacteria and its application in pickle fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(12): 225-233

(下转第 234 页)