

克氏原螯虾虾壳软化工艺优化

覃静凯, 陈梅, 车桂香, 周杰, 姜洁群, 覃忠意, 刘小玲*

(广西大学轻工与食品工程学院, 广西高校特色农产品精深加工与安全重点实验室, 广西南宁 530004)

摘要: 为优化克氏原螯虾虾壳软化工艺, 基于虾壳脱钙率、虾壳硬度以及软化后虾尾的感官评价等指标分别研究了苹果酸、乙酸和柠檬酸对克氏原螯虾虾壳软化效果的影响, 并根据试验结果以酸质量浓度、浸泡时间和液料比为自变量, 虾壳脱钙率和虾壳硬度为响应变量, 运用响应面法的 Box-Behnken 实验设计方法建立多元回归模型对虾壳软化效果最佳的酸进行工艺优化。研究表明: 有机酸可以降低虾壳硬度, 当虾壳脱钙率至少达到 48.00% 时, 软化后的虾干制品被消费者接受。3 种有机酸中, 柠檬酸更适合作为克氏原螯虾虾壳的软化剂。柠檬酸质量浓度 70 g/L、浸泡时间 63.84 min、液料比 2.01:1 (V/m); 在该优化条件下的软化克氏原螯虾虾壳脱钙率为 56.21%, 虾壳硬度为 14.36 N, 虾壳硬度降低 48.99%。酸处理后, 虾壳的硬度显著下降, 克氏原螯虾的适口性更高, 更受消费者喜欢, 为克氏原螯虾带壳即食虾的生产提供了理论基础和技术支撑。

关键词: 虾壳软化; 响应面; 有机酸; 工艺优化

文章编号: 1673-9078(2024)12-227-237

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.12.1496

Process Optimization for Softening of Crayfish (*Procambarus clarkii*) Shells

QIN Jingkai, CHEN Mei, CHE Guixiang, ZHOU Jie, JIANG Jiequn, QIN Zhongyi, LIU Xiaoling*

(Institute of Light Industry and Food Engineering, Key Laboratory of Deep Processing and Safety Control for Specialty Agricultural Products in Guangxi Universities, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: To optimize the process of softening crayfish (*Procambarus clarkii*) shells, the effects of malic, acetic, and citric acids on crayfish shell softening were evaluated based on indicators such as the decalcification rate, shell hardness, and sensory score of softened crayfish tails. Multiple regression models were established using the Box-Behnken response surface methodology, with the acid concentration, soaking time, and solvent-to-solid ratio as independent variables and decalcification rate and hardness of crayfish shells as dependent variables to optimize the process of using acid to soften crayfish shells. The results showed that organic acids reduced the hardness of crayfish shells and that the dried products of softened crayfish were accepted by consumers when the decalcification rate of crayfish shells reached at least 48.00%. Among the three organic acids, citric acid was the most effective softener of crayfish shells. When the mass concentration of citric acid, soaking time, and solvent-to-solid ratio were 70 g/L, 63.84 min, and 2.01:1 (V/m), respectively, the decalcification rate and hardness of softened crayfish shells were 56.21% and 14.36 (a reduction of 48.99%), respectively. After acid treatment, the hardness of crayfish shells decreased significantly, and the palatability of crayfish was increased, increasing the appeal of

引文格式:

覃静凯, 陈梅, 车桂香, 等. 克氏原螯虾虾壳软化工艺优化[J]. 现代食品科技, 2024, 40(12): 227-237.

QIN Jingkai, CHEN Mei, CHE Guixiang, et al. Process optimization for softening of crayfish (*Procambarus clarkii*) shells [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(12): 227-237.

收稿日期: 2023-12-16

基金项目: 广西科技重大专项 (桂科 AA20302019-7)

作者简介: 覃静凯 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品贮藏与加工, E-mail: 1421275829@qq.com

通讯作者: 刘小玲 (1972-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 水产品的开发与利用, E-mail: 1106113912@qq.com

the crayfish products to consumer. The findings provide a theoretical basis and technical support for producing ready-to-eat shell-on crayfish products.

Key words: softening of crayfish shell; response surface; organic acid; process optimization

克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 俗称小龙虾, 是一种高蛋白、低脂肪的高营养水产品, 其肉质鲜美、烹饪后口味多样, 深受消费者喜爱。2022 年我国克氏原螯虾产业综合产值 4 580 亿元, 同比增长 8.48%。养殖面积 2 800 万亩、产量 289.07 万 t, 同比分别增长 7.69% 和 9.76%。养殖产量首次超过鲫鱼和鲤鱼, 位列我国淡水养殖品种第 4 位^[1]。目前小龙虾加工产品分为初级加工产品、预制菜品、休闲食品和精深加工产品^[2]。鲜活销售的小龙虾受到季节的约束和地域的影响, 价格昂贵运输成本高, 预制菜品食用时还需要二次加工, 小龙虾休闲食品便于携带和方便储存, 更受欢迎。随着经济的增长, 生活方式发生改变, 对于休闲食品接受程度变高, 休闲食品的市场占有率逐年提升^[3]。因此, 开发一款开袋即食的小龙虾休闲干制品, 具有一定的市场潜力。虾壳中含有大量的钙元素及人体必需的微量元素^[4,5], 但由于其硬度大, 不宜直接食用, 在加工时通常选择去掉虾壳, 这无疑是对资源的巨大浪费^[6,7]。因此, 将虾壳软化至可食用程度, 逐渐成为虾类制品开发的新思路。

目前, 部分学者针对虾壳的软化进行了研究。穰进藤^[8]和崔宏博等^[9]采用酸酶法软化虾壳, 可以有效减低虾壳硬度, 但是对于硬度较高的虾壳软化效果并不理想, 这个方法仅仅适合个体较小, 甲壳硬度不高的虾壳的软化。其所使用的酶也容易水解虾肉, 破坏虾肉组织结构, 导致蛋白质流失, 制品率下降不适合生产使用。浙江海洋大学的刘丽莎等^[10,11]采用有机酸软化凡纳滨对虾的虾壳时发现, 软化后虾制品的营养与风味保持较好虾壳可食用。但对于酸化工艺及各种酸化条件的交互效应未深入研究。

基于以上研究不足, 本文对比考察了苹果酸、乙酸、柠檬酸等 3 种有机酸对虾壳的软化能力, 降低虾壳硬度的同时保证感官品质也能被消费者接

受, 节约了对虾去壳的人工、时间成本, 同时也避免了虾壳中的营养成分浪费。在此基础上, 以虾壳脱钙率和虾壳硬度主要参考指标, 运用响应面法的 Box-Behnken 实验设计方法优化了柠檬酸软化克氏原螯虾虾壳工艺, 研究结果为克氏原螯虾带壳即食虾的生产提供了理论基础和技术支撑, 也丰富了即食虾种类。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

冷冻克氏原螯虾虾尾: 虾尾卷曲, 大小均匀, 带冰衣, 规格 5 g/只, 购于南宁沃尔玛明秀店。

乙酸、苹果酸、柠檬酸(食品级), 中辰生物科技; 盐酸(分析纯), 成都市科隆化学品有限公司; EDTA(分析纯), 天津欧博凯化工有限公司; 铬黑 T(分析纯), 天津市大茂化学试剂局。

1.2 主要仪器

SQP 型电子天平, 德国 Sartorius 公司; X-GF101-3-BS 电热恒温鼓风干燥机, 上海精宏实验设备有限公司; KL-2D-3ZK 微波真空干燥设备, 广州市凯棱工业微波设备有限公司; TMS-ProFTC 质构仪, 北京盈盛恒泰科技有限责任公司; SYPH10 pH 计, 上海卓爵仪器设备有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 克氏原螯虾干制品工艺流程

克氏原螯虾干制品工艺流程如图 1 所示。

1.3.2 有机酸处理单因素实验

挑选大小均匀的克氏原螯虾虾尾(每只 4 g), 用沸水煮制 4 min, 得到的虾尾浸泡在蒸馏水中设置为空白对照组。此组虾壳的钙含量为虾壳的总钙含量。

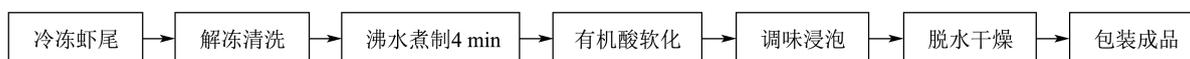


图 1 克氏原螯虾干制品工艺流程

Fig.1 Process flow of *Procambarus clarkii* dried products

1.3.2.1 有机酸质量浓度

挑选大小均匀的克氏原螯虾虾尾（每只 4 g），用沸水煮制 4 min，然后将克氏原螯虾分别浸泡于预先制备的有机酸（苹果酸、乙酸、柠檬酸）溶液中，液料比 3:1 (V/m)，反应时间 60 min，有机酸的质量浓度分别为：20、40、60、80 g/L。

1.3.2.2 浸泡时间

挑选大小均匀的克氏原螯虾虾尾（4 g/只），用沸水煮制 4 min，然后分别将克氏原螯虾浸泡于预先制备的有机酸（苹果酸、乙酸、柠檬酸）溶液中，有机酸质量浓度为 60 g/L，液料比 3:1 (V/m)，反应时间为：30、60、90、120 min。

1.3.2.3 液料比

挑选大小一致的克氏原螯虾虾尾，用沸水煮制 4 min，然后分别将克氏原螯虾浸泡于预先制备的有机酸（苹果酸、乙酸、柠檬酸）溶液中；有机质量浓度为 60 g/L，反应时间 60 min，液料比为 1:1、3:1、5:1、7:1 (V/m)。

浸泡温度为室温，浸泡结束后，将虾从浸泡液中取出，虾体表面多余的水分用厨房纸吸干。虾壳虾肉分离，将虾壳其分成两份，一份用于测定虾壳脱钙率，另一部分用于测定虾壳硬度。

1.3.3 虾壳脱钙率的测定

将软化后的克氏原螯虾虾壳放于 60 °C 烘箱中烘干后用破壁机破碎，准确称取一定量的碎虾壳于 1 mol/L 的盐酸溶液中，虾壳和盐酸的浸泡比例为 1:10 (m/V)，在室温环境下静置 24 h 过滤并用蒸馏水洗净，将虾壳脱钙液（滤液及洗涤液的混合液）定容至 50 mL 容量瓶。取 1 mL 脱钙液于锥形瓶中，分别加入去离子水（9 mL）、三乙醇胺（3 mL）以及氨性缓冲液（5 mL，pH 值 10），混合后滴入铬黑 T 指示剂，并立即用 EDTA 标准溶液滴定，并记录滴定所消耗标准溶液的量^[12,13]。计算方式如下：

$$D_{Ca} = \frac{C_{EDTA} \times V_{EDTA} \times M_{Ca} \times V_1}{m} \times 100\% \quad (1)$$

$$R_{Ca} = \frac{D_T - D_{Ca}}{D_T} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

D_{Ca} ——脱钙液中的钙含量，%；

C_{EDTA} ——EDTA 的摩尔浓度，mol/L；

M_{Ca} ——Ca 的摩尔质量，g/mol；

V_1 ——定容体积，mL；

m ——样品质量，g；

R_{Ca} ——脱钙率，%；

D_T ——总钙含量，%。

1.3.4 软化后虾壳硬度测定

选择克氏原螯虾背部第 2 节测定其硬度参数。测试参数如下：选择 100 N 感应元探头，P₅₀ 刀片探头，起始触发力为 0.5 N，回到样品高度 10 mm，探头运行速度 60 mm/s，间隔时间 3 s，形变量 100%。重复测定 8 次，取平均值。

1.3.5 调味液制作

以水的质量为计量标准，将 10% 油倒入锅中，油热之后倒入 6% 葱姜蒜爆炒 1 min，得到葱姜蒜油，加入称量好的 2.5% 辣椒粉、2.5% 花椒翻炒 30 s 后添加 3% 盐、2.5% 鸡精、3% 白糖继续翻炒 10 s，最后倒入水。将其煮沸 1 min 后关火，冷却过滤残渣，得到调味液。

1.3.6 克氏原螯虾干制品感官评定

将不同处理组软化的克氏原螯虾放入制备好的调味液中浸泡 1 h，通过微波真空干燥 35 min 得到克氏原螯虾干制品。将样品随机编号后，均匀摆置于白色瓷盘中，参加本实验的感官评定小组由食品专业征集到的 10 位同学，对软化处理后制得的克氏原螯虾干制品进行评价打分，品评时整个虾尾咀嚼对其滋味、口感进行评价，感官评定标准见表 1。总分 10 分为最高评价，小于 6 分为感官拒绝，即综合评价表现为差。

表 1 克氏原螯虾干制品感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria of *Procambarus clarkii*

指标	描述	评分
色泽 (10%)	颜色暗淡，无光泽	0~5
	颜色无明显变化，略微变色，光泽一般	6~8
	颜色鲜亮，饱满有光泽	9~10
滋味 (40%)	无虾味，酸味、苦味明显	0~5
	虾香味一般，有轻微酸味、苦味	6~8
	具有浓厚的虾香味，无酸味、苦味。	9~10
口感 (50%)	咀嚼时虾壳锋利感非常明显，难吞咽，口中异物感强，口感差	0~5
	咀嚼时有轻微锋利感，可以吞咽，吞咽有轻微渣感，口感较好	6~8
	咀嚼时无锋利感，吞咽无渣感，口感好	9~10

1.3.7 响应面优化实验

根据单因素试验结果，柠檬酸更适合作为虾壳的软化剂并选取最优试验点及前后 2 个水平，以虾

壳脱钙率、虾壳硬度为指标, 利用 Design-Expert 中 Box-Behnken 对柠檬酸进行三因素三水平响应面设计试验, 因素水平见表 2。

表 2 柠檬酸软化虾壳工艺试验因素、水平及编码

Table 2 Test factors levels and codes of malic acid softening shrimp shells acid

编码	因素	水平		
		-1	0	1
A	酸质量浓度/(g/L)	50	60	70
B	浸泡时间/min	50	60	70
C	液料比 (V/m)	2:1	3:1	4:1

1.3.8 验证试验相对误差计算

利用 Design-Expert 软件对有机酸浸泡条件进行优化, 优化后预测值与实际值对比, 计算预测值与实测值之间的相对误差绝对值, 计算公式如下:

$$D = \frac{|Y_T - Y_P|}{Y_T} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

D——相对误差绝对值;

Y_T ——实测值;

Y_P ——预测值。

1.3.9 数据统计与分析

采用 Office 2021 软件进行数据分析。用 SPSS 26.0 版软件进行邓肯氏单因素显著性差异分析, 并用 Origin 2021 软件绘图。每组实验 3 次平行, 用平均数 ± 标准方差表示。

2 结果与讨论

2.1 有机酸对克氏原螯虾感官品质的影响

表 3 为有机酸处理质量浓度对克氏原螯虾感官评价结果。由表 3 可知, 苹果酸、乙酸、柠檬酸在相同处理时间、液料比下, 随着处理浓度的增加, 苹果酸和柠檬酸感官评分呈现上升趋势, 乙酸的感官评分逐渐降低, 当乙酸质量浓度提高到 60 g/L 时, 感官拒绝。乙酸浸泡后的虾评分总体上低于苹果酸和柠檬酸, 是因为乙酸有强烈刺激的酸味, 这股酸味残留在虾肉之中, 导致虾肉的品质下降, 产品风味下降。严金红等^[11]研究凡纳滨对虾时也发现了同样的问题。在实验范围内苹果酸和柠檬酸在较高的酸质量浓度处理后, 不仅可以除去原有的腥味, 还可以有效降低虾壳硬度, 带壳食用时适口性提高。

表 3 有机酸处理质量浓度对克氏原螯虾感官品质的影响
Table 3 Effects of organic acid treatment concentration on sensory quality of *Procambarus clarkii*

酸质量浓度/(g/L)	苹果酸	乙酸	柠檬酸
空白	6.04 ± 0.59 ^c	6.04 ± 0.59 ^b	6.04 ± 0.59 ^c
20	6.69 ± 0.50 ^b	7.38 ± 0.93 ^a	6.78 ± 0.95 ^b
40	7.17 ± 0.96 ^b	6.71 ± 1.10 ^{ab}	7.06 ± 0.83 ^b
60	7.18 ± 0.80 ^b	5.54 ± 0.59 ^c	8.55 ± 0.32 ^a
80	8.21 ± 0.56 ^a	4.59 ± 1.46 ^d	7.35 ± 0.69 ^b

注: 进行同列比较, 不同字母表示显著性差异 ($P < 0.05$)。表 4、5 同。

表 4 有机酸处理时间对克氏原螯虾感官品质的影响

Table 4 Effects of organic acid treatment time on sensory quality of *Procambarus clarkii*

时间/min	苹果酸	乙酸	柠檬酸
空白	6.04 ± 0.59 ^b	6.04 ± 0.59 ^b	6.04 ± 0.59 ^d
30	6.32 ± 1.29 ^b	7.25 ± 0.72 ^a	6.79 ± 0.90 ^e
60	7.18 ± 0.80 ^a	5.54 ± 0.59 ^b	8.55 ± 0.32 ^a
90	7.04 ± 1.00 ^a	5.73 ± 0.91 ^b	7.72 ± 0.77 ^b
120	7.15 ± 0.93 ^a	4.78 ± 1.03 ^c	7.27 ± 0.65 ^{bc}

表 5 有机酸液料比处理对克氏原螯虾感官品质的影响
Table 5 Effects of the ratio of organic acids to liquid on sensory quality of *Procambarus clarkii*

液料比 (V/m)	苹果酸	乙酸	柠檬酸
空白	6.04 ± 0.59 ^c	6.04 ± 0.59 ^a	6.04 ± 0.59 ^b
1:1	6.80 ± 0.80 ^b	5.02 ± 0.91 ^b	6.85 ± 1.09 ^b
3:1	7.18 ± 0.80 ^{ab}	5.54 ± 0.59 ^b	8.55 ± 0.32 ^a
5:1	7.09 ± 0.91 ^a	5.22 ± 0.83 ^b	7.04 ± 1.58 ^b
7:1	6.46 ± 1.24 ^b	5.48 ± 1.04 ^b	6.81 ± 1.52 ^b

表 4 为有机酸处理时间对克氏原螯虾感官评价的影响。由表 4 可知, 苹果酸和柠檬酸随着浸泡时间增加, 感官评分呈现先上升后下降的趋势, 浸泡时间均为 60 min 时评分最高, 苹果酸浸泡 60 min 处理效果与浸泡 90 min 及 120 min 无显著差异 ($P > 0.05$)。乙酸随着浸泡时间的增加感官评分逐渐下降, 浸泡时间为 30 min 最佳。柠檬酸浸泡 60 min 感官评分优于乙酸和苹果酸。

根据表 5 有机酸液料比处理对克氏原螯虾感官评价结果可知, 苹果酸、乙酸、柠檬酸在相同处理时间、浓度下, 感官评分呈现先上升后下降的趋势, 液料比均在 3:1 (V/m) 时感官评分最高。依据表 3、表 4 和表 5 有机酸处理软化克氏原螯虾的感官评结

果为柠檬酸>苹果酸>乙酸。

结合表 3~5 的感官结果分析, 有机酸的种类、质量浓度、浸泡时间和液料比均会影响克氏原螯虾的感官评分。其中柠檬酸的感官评分大于苹果酸大于乙酸。苹果酸、乙酸和柠檬酸处理对虾总体接受度最佳时评分分别为 8.25、7.38、8.55 对应的有机酸的质量浓度分别为 80、20、60 g/L。乙酸浸泡时间为 30 min 时评分最佳, 柠檬酸和苹果酸为 60 min。液料比均为 3:1 (V/m) 时最佳。就感官结果而言, 柠檬酸更适合作为克氏原螯虾的软化剂。

2.2 有机酸对克氏原螯虾虾壳的脱钙效果影响

碳酸钙是虾壳中的钙主要的存在方式, 有机酸的加入会将虾壳的碳酸钙转化为可溶性的有机酸钙, 进而使虾壳软化^[14], 因此虾壳软化程度可以通过虾壳的脱钙率体现。测得空白对照组克氏原螯虾壳中的钙含量为 21.49%。

图 2 为不同有机酸处理对克氏原螯虾虾壳脱钙率的影响, a、b、c 分别代表有机酸质量浓度、浸泡时间、液料比对虾壳脱钙率的影响。由图 2a 可知, 在实验范围内, 有机酸质量浓度的增加虾壳的脱钙率显著提高, 苹果酸、乙酸, 柠檬酸的脱钙率分别从 47.40%、29.52%、29.50% 提高到 66.99%、51.13%、49.36%。这可能是有机酸浓度不断增大时, 有机酸中的氢离子游离出来与虾壳中的碳酸钙进行反应, 从而导致虾壳的脱钙率上升^[15]。其中乙酸的脱钙效率最高, 其次是柠檬酸。

由图 2b 可知, 随着酸浸泡时间的延长其脱钙率呈现上升趋势且有显著的差异性, 乙酸和柠檬酸在 60 min 之内脱钙率增幅较大, 60 min 之后增幅缓慢。苹果酸在实验范围内的脱钙率呈现直线上升趋势。其中脱钙率表现为乙酸>柠檬酸>苹果酸。

当液料比为 3:1 时, 三种有机酸的脱钙率最高(图 2c)。虾尾的添加量一致时, 液料比越大则反应体系中的有机酸用量也越大, 与虾壳脱钙率呈现正相关关系, 当液料比达到 3:1 时, 脱钙率达到最大值, 继续增大液料比, 脱钙率呈现下降趋势。这可能归因于有机酸在液料比 3:1 (V/m) 时对虾壳中钙质的溶出已到达理论上的平衡状态, 此时效果最佳, 继续增加酸的用量对钙的脱除影响不大甚至会产生削弱效应^[16]。因此, 液料比最佳为 3:1 (V/m)。其中脱钙率表现为乙酸>柠檬酸>苹果酸。

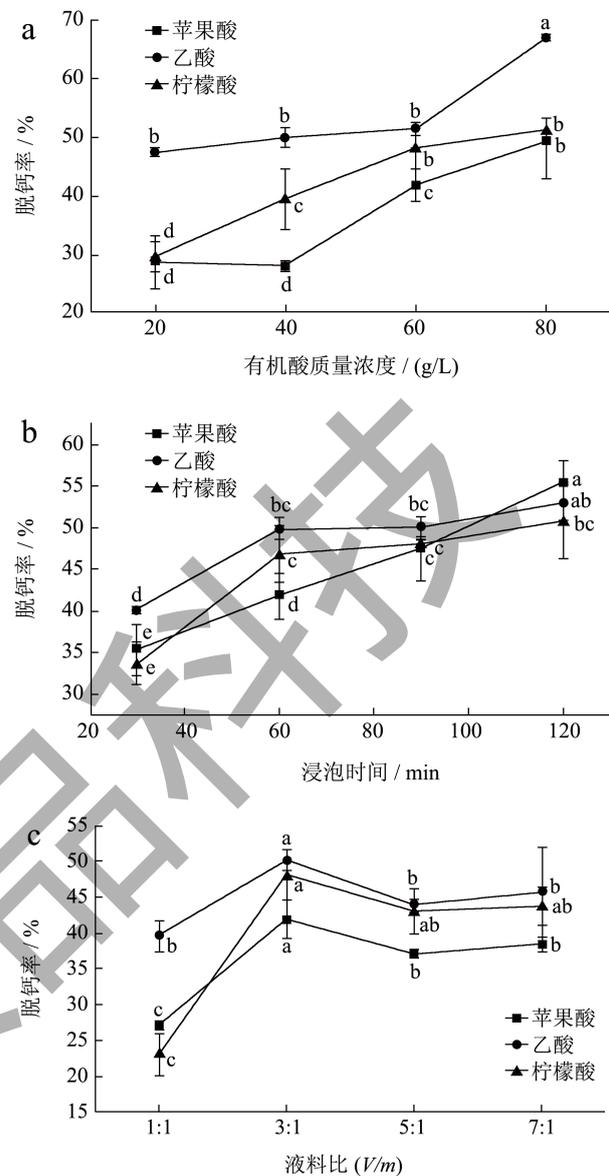


图 2 有机酸处理对克氏原螯虾虾壳脱钙率的影响

Fig.2 Effect of organic acid treatment on the hard ness of the shell of *Procambarus clarkii*

注: 不同字母表示显著性差异 ($P<0.05$)。

结合图 2、表 3~5 的感官结果, 软化后克氏原螯虾食用最佳时, 苹果酸、乙酸、柠檬酸虾壳脱钙率分别为 49.36%、50.12%、48.09%。因此推测, 虾壳达到可食用程度的脱钙率至少应达 48%。

2.3 有机酸处理克氏原螯虾虾壳硬度的影响

图 3 为有机酸处理对克氏原螯虾虾壳硬度的影响, a、b、c 分别代表有机酸质量浓度、浸泡时间、液料比。虾壳硬度是反应虾壳软化效果的最直观的指标。从图 3 可以看出, 随着有机酸质量浓度、浸泡时间的增加, 与空白对照组相比, 处理后虾壳硬

度均显著减小。有机酸对虾壳硬度越小，虾壳的脱钙率越大，脱钙率和虾壳硬度呈现负相关关系，与李明华等^[17]在探究超声波辅助柠檬酸法龙虾壳脱钙工艺结果一致。其中乙酸对虾壳硬度的影响最大，虾壳硬度降低趋势最显著。苹果酸和柠檬酸对虾壳硬度的影响无显著差异 ($P>0.05$)。

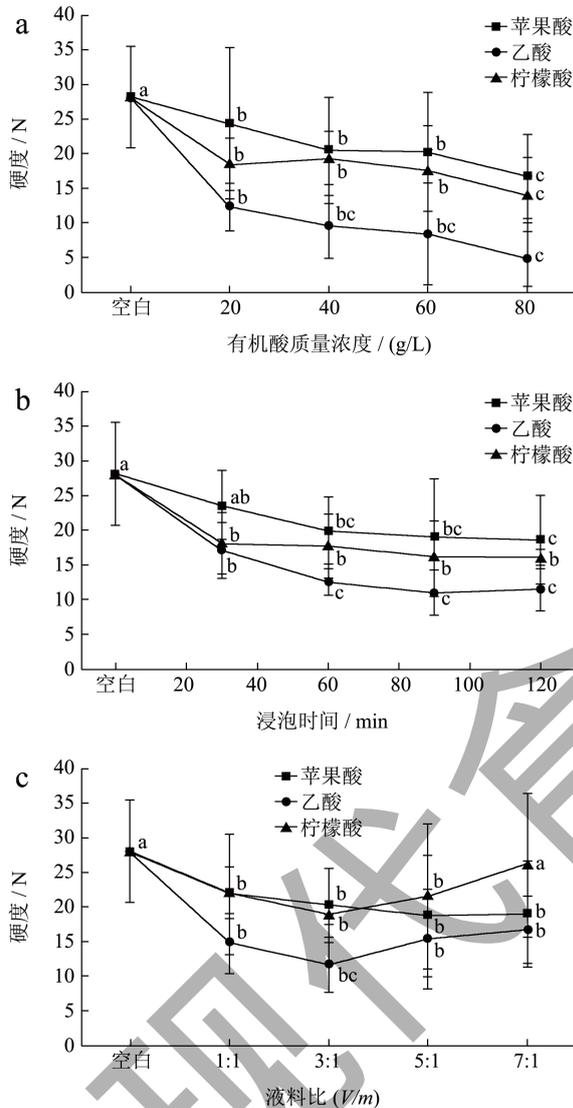


图3 有机酸处理对克氏原螯虾虾壳硬度的影响

Fig.3 Effect of organic acid treatment on the hardness of the shell of *Procambarus clarkia*

注：不同字母表示显著性差异 ($P<0.05$)。

结合图2结果分析，当苹果酸、乙酸、柠檬酸虾壳脱钙率分别为49.36%、50.12%、48.09%时，对应虾壳硬度为19.96、17.18、17.80 N。空白组虾壳的硬度为28.15 N，虾壳的硬度经过酸软化之后有减小的趋势，苹果酸、乙酸、柠檬酸分别减少了29.09%、39.00%、36.77%。克氏原螯虾经

有机酸软化后虾壳的硬度均下降，表现为乙酸<柠檬酸<苹果酸。

结合图2、图3以及感官的结果，经过乙酸软化后的虾壳脱钙率大于苹果酸和柠檬酸，虾壳硬度小于苹果酸和柠檬酸，但是乙酸的气味刺激，虾浸泡后有较强的酸味残留，产品风味不佳，不受消费者的喜爱。柠檬酸的脱钙效率大于苹果酸，且经过柠檬酸处理后的虾壳硬度小于苹果酸处理的虾壳硬度，其感官评分也高于苹果酸。因此，柠檬酸更适合作为克氏原螯虾的软化剂。

2.4 响应面结果分析

2.4.1 试验结果与模型比选

表6 柠檬酸软化虾壳的脱钙率和虾壳硬度结果分析

Table 6 Test and predicted values of decalcification rate and hardness of shrimp shell softened by citric acid

序号	因素编码			脱钙率/%	硬度/N
	A	B	C		
1	70	70	3:1	44.10 ± 0.45	16.58 ± 2.22
2	50	70	3:1	33.65 ± 0.54	19.47 ± 0.81
3	70	60	3:1	44.98 ± 0.42	17.60 ± 2.16
4	60	60	2:1	40.04 ± 0.11	18.64 ± 1.73
5	60	60	2:1	54.31 ± 0.14	14.88 ± 1.14
6	50	60	3:1	43.79 ± 1.58	17.98 ± 0.91
7	60	50	4:1	41.50 ± 0.83	18.56 ± 0.82
8	70	50	3:1	37.97 ± 0.18	18.03 ± 1.68
9	60	70	2:1	40.43 ± 0.52	17.12 ± 2.69
10	50	60	4:1	46.23 ± 0.64	16.87 ± 1.92
11	60	60	3:1	46.12 ± 0.45	17.72 ± 1.95
12	50	60	4:1	48.72 ± 0.58	18.68 ± 0.51
13	60	70	4:1	37.55 ± 0.37	18.23 ± 0.60
14	70	50	2:1	36.32 ± 0.78	18.49 ± 1.81
15	60	60	3:1	46.81 ± 0.64	17.6 ± 1.57
16	60	50	3:1	32.30 ± 0.55	19.69 ± 0.51
17	60	60	3:1	46.19 ± 0.68	18.06 ± 0.63

为探究柠檬酸软化虾壳各变量之间的交互效应，并筛选最佳软化工艺，采用BBD响应面法，选择有机酸质量浓度A、浸泡时间B、液料比C为影响因素，以克氏原螯虾虾壳脱钙率和虾壳硬度为响应值，对柠檬酸软化克氏原螯虾虾壳工艺条件进行三因素三水平的响应面分析试验。根据表2中相关试验条件测定得到的柠檬酸对克氏原螯虾虾壳脱

钙率和虾壳硬度的实验值如表 6 所示。

基于 Linear、2FI、Quadratic 和 Cubic 模型，采用 Design-Expert 软件对虾壳脱钙率和虾壳硬度实验值与各因素间的关系进行拟合分析，结果列于表 7。由表可知，采用 Quadratic 模型对虾壳脱钙率和虾壳硬度进行拟合时，其 P 值分别为 $<0.000 1$ 和 $0.001 3$ ，均为非常显著，且两者的 R^2 较高。因此采用 Quadratic 模型分析柠檬酸软化时的虾壳脱钙率和虾壳硬度。

表 7 脱钙率和硬度的多种模型综合分析结果

Table 7 Comprehensive analysis results of multiple models of decalcification rate and hardness

项目	模型	P		R^2	
		Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted
虾壳脱钙率	Linear	0.386 9	0.002 3	0.017 1	-0.569 0
	2FI	0.457 1	0.001 8	0.003 4	-1.773 3
	Quadratic	$<0.000 1$	0.223 2	0.934 0	0.695 8
	Cubic	0.232 2		0.956 2	
虾壳硬度	Linear	0.000 3	0.101 6	0.699 9	0.500 8
	2FI	0.258 0	0.016 7	0.734 6	0.194 4
	Quadratic	0.001 3	0.326 5	0.954 7	0.813 8
	Cubic	0.326 5		0.963 7	

2.4.2 响应面回归模型分析

2.4.2.1 回归模型的建立

利用 Design-Expert 数据分析软件对表 6 中试验数据进行多元回归分析，得到柠檬酸对虾壳脱钙率 (Y_1) 虾壳硬度 (Y_2) 与酸质量浓度 (A)、浸泡时间 (B)、浸泡液料比 (C) 之间的二次多项式回归方程如式 (3)、(4) 所示：

$$Y_1 = 45.58 + 3.49 \times A + 0.96 \times B - 0.36 \times C + 1.19 \times AB + 4.19 \times AC + 2.02 \times BC - 0.09 \times A^2 - 8.47 \times B^2 + 1.85 \times C^2 \quad (4)$$

$$Y_2 = 17.79 - 1.26 \times A - 0.42 \times B - 0.40 \times C - 0.30 \times AB - 0.49 \times AC - 0.02 \times BC - 0.09 \times A^2 + 0.74 \times B^2 - 0.43 \times C^2 \quad (5)$$

式中：

Y_1 —虾壳脱钙率，%；

Y_2 —虾壳硬度，N；

A —有机酸质量浓度，g/L；

B —浸泡时间，min；

C —料液比 (V/m)。

2.4.2.2 回归模型的方差分析

回归模型 Y_1 的方差分析列于表 8。由方差分析可知，回归方程的 $P < 0.000 1$ 且失拟项

$P=0.232 2 > 0.05$ ， $F=26.16$ ，表明所建立的模型显著性和拟合精度高均较高。一次项的偏回归系数绝对值 $A > B > C$ ，说明各因素对虾壳脱钙率 Y_1 的影响中，酸质量浓度对脱钙率的影响最大，浸泡时间次之，液料比的影响最小。对于两因素的交互效应，除酸质量浓度和浸泡时间的交互效应外，其余因素的交互效应均表现为显著，其中酸质量浓度和液料比交互效应的显著性最高。

表 8 脱钙率回归方程的方差分析结果

Table 8 Results of variance analysis of regression equations of sensory score data

方差来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值	显著性
回归模型	509.38	9	56.60	26.14	0.000 1	***
A	97.30	1	97.30	44.95	0.000 3	**
B	7.30	1	7.30	3.37	0.109 0	
C	1.05	1	1.05	0.485 6	0.508 4	
AB	5.71	1	5.71	2.64	0.148 3	
AC	70.22	1	70.22	32.44	0.000 7	**
BC	16.24	1	16.24	7.50	0.029 0	*
A^2	0.041 3	1	0.041 3	0.019 1	0.894 1	
B^2	302.35	1	302.35	139.66	$<0.000 1$	***
C^2	14.35	1	14.35	6.63	0.036 8	*
残差	15.15	7	2.16			
失拟项	9.41	3	3.14	2.19	0.232 2	不显著
纯误差	5.74	4	1.44			
合计	524.53	16				

注：*** 表示 $P < 0.000 1$ ，显著性差异为极显著；** 表示 $0.000 1 < P < 0.01$ ，显著性差异为高度显著；* 表示 $0.01 < P < 0.05$ ，显著性差异为显著。下表同。

回归模型 Y_2 的方差分析如表 9 所示。由表 9 可知，与回归方程 Y_1 一样，回归模型 Y_2 显著性和拟合精度较高。在单因素效应中，酸质量浓度对虾壳硬度的影响最大，浸泡时间次之，液料比的影响最小，三者均为显著因素；其中酸质量浓度的影响表现为非常显著，故虾壳硬度主要受酸质量浓度的影响。两因素交互作用中，酸质量浓度和浸泡时间、酸质量浓度和液料比的交互作用显著，浸泡时间和液料比的交互作用不显著。单因素二次作用对虾壳硬度影响最大的是浸泡时间，液料比次之，酸质量浓度的影响最小。

表 9 硬度回归方程的建立与方差分析
Table 9 Establishment of hardness regression equation and variance analysis

方差来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值	显著性
回归模型	20.10	9	2.23	38.46	<0.000 1	***
<i>A</i>	12.80	1	12.80	220.42	<0.000 1	***
<i>B</i>	1.42	1	1.42	24.44	0.001 7	**
<i>C</i>	1.29	1	1.29	22.18	0.002 2	**
<i>AB</i>	0.378 2	1	0.378 2	6.51	0.038 0	*
<i>AC</i>	0.950 6	1	0.950 6	16.37	0.004 9	*
<i>BC</i>	0.270 4	1	0.270 4	4.66	0.067 8	
<i>A</i> ²	0.034 9	1	0.034 9	0.600 3	0.463 8	
<i>B</i> ²	2.32	1	2.32	39.86	0.000 4	**
<i>C</i> ²	0.791 3	1	0.791 3	13.62	0.007 7	**
残差	0.406 6	7	0.058 1			
失拟项	0.220 5	3	0.073 5	1.58	0.326 5	不显著
纯误差	0.186 1	4	0.046 5			
合计	20.51	16				

2.4.2.3 回归模型 3D 响应曲面图分析

响应面可分析各因素间的交互效应对响应值的影响规律，响应曲面越陡，表明交互效应影响越强烈^[18]。图 4 为柠檬酸软化虾壳时各因素间交互效应对虾壳脱钙率、虾壳硬度的 3D 响应曲面图，可更加直观地反映酸浓度、浸泡时间、液料比对柠檬酸软化克氏原螯虾后虾壳脱钙率、虾壳硬度的影响程度和交互作用。

图 4a~4c 为虾壳脱钙率的两两因素交互作用响应曲面图。由图 4a 表示酸浸泡时间与酸质量浓度交互作用。当液料比保持不变时，酸质量浓度与浸泡时间两因素交互作用对脱钙率的影响规律。响应面图波动较平缓，近似一个平面，表明酸质量浓度与浸泡时间交互效应对虾壳脱钙率的影响较小。这与表 8 回归模型方差分析中结果一致。酸质量浓度和浸泡时间两因素交互作用对脱钙率的 $P=0.148\ 3 > 0.5$ ，说明酸浓度和浸泡时间两因素之间交互作用对脱钙率的影响不显著。由图 4b 表示酸质量浓度与液料比交互作用，可以看出，液料比较高时，酸质量浓度对虾壳的影响较大，随着酸质量浓度的增加，脱钙率从 36.32% 增加到了 54.31%，增加了 58.76%；液料比较低时，随着酸质量浓度的增加，脱钙率有下降的趋势，下降了 14.75%。从上述现象可以看出酸质量浓度和液料比的交互作用对虾壳脱钙率影响

最为显著，与上述模型回归系数 P 值得到的结果相吻合。图 4c 为浸泡时间与液料比交互作用中可看出，交互作用曲面图呈“马鞍”状，表明两者交互有一定作用，且加浸泡时间线弯曲程度大于液料比，说明浸泡时间对虾壳脱钙率的影响大于液料比^[19]，说明两者之间的交互作用显著。这与表 8 回归模型方差分析中结果一致。液料比和浸泡时间两因素交互作用对脱钙率的 $P=0.029\ 0 < 0.5$ 。

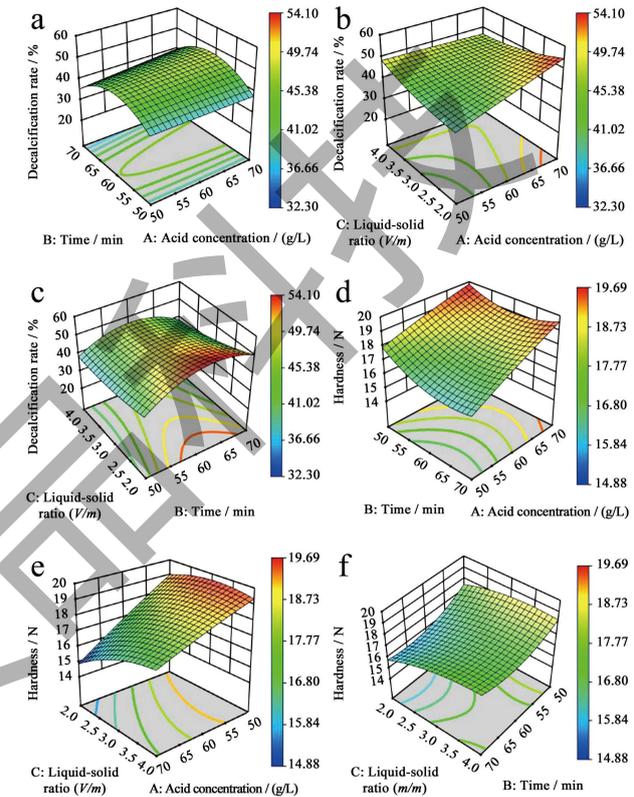


图 4 虾壳脱钙率、虾壳硬度两因素交互作用 3D 响应曲面图
Fig.4 3D response surface diagram of interaction between shrimp shell decalcification rate and shrimp shell hardness

注：(a) 浸泡时间与柠檬酸质量浓度、(b) 柠檬酸质量浓度与液料比和 (c) 浸泡时间与液料比交互作用对虾壳脱钙率的影响，(d) 浸泡时间与柠檬酸质量浓度、(e) 酸浓度与液料比和 (f) 浸泡时间与液料比交互作用对虾壳硬度的影响。

图 4d~4f 为虾壳硬度的两两因素交互作用响应曲面图。图 4d 为酸浸泡时间与酸浓度交互作用，酸浓度和浸泡时间两因素交互作用对虾壳硬度影响显著。对于酸浓度与液料比而言，由图 4e 可知，虾壳硬度随酸浓度的增加而降低，当酸质量浓度由 50 g/L 增加至 70 g/L 时，虾壳硬度从 18.64 N 下降到 14.88 N，下降了 25.57% 表明酸浓度和液料比的交互作用对虾壳脱钙率影响显著，这与回归模型方差分析中所

得结论一致。由图 4f 可知，浸泡时间和液料比的交互作用对虾壳的硬度影响的响应面曲面近似一个平面，表明虾壳硬度几乎不受浸泡时间和液料比交互效应的影响。

2.4.2.4 回归模型的可信度分析

柠檬酸软化克氏原螯虾虾壳脱钙率、虾壳硬度响应面回归模型的可信度检验分析结果见表 10，其中，可通过 R^2 与 Adjusted R^2 的差异程度验证模型的拟合精度，同时变异系数 (C.V.%) 满足不大于 10%，信噪比 (Adeq precision) > 4 时，表明实验可靠性较高^[20,21]。由表 10 可知， Y_1 与 Y_2 两者的相关系数 R^2 分别为 0.971 1 和 0.980 2，Adjusted R^2 分别为 0.934 0 和 0.954 7，同时两者均满足变异系数及信噪比的相关要求，表明所建立的回归模型可信度较高，可较准确预测实验结果。

2.4.2.5 回归模型的残差分析及预测值与实验值对比

采用残差分析验证回归模型的合理性和可靠性，图 5 为虾壳脱钙率、虾壳硬度残差分析图和实验值与预测值对比图。a、b、c、d 分别代表虾壳脱钙率残差正态分布图、虾壳脱钙率实验值与预测值对比图、虾壳硬度正态分布图、虾壳硬度实验值与预测值对比图。由图 5a 和 5c 可知，所有数据点均随机分布，均匀分散在一条直线附近，且无异常点出现，这表明所建立的虾壳脱钙率回归模型 Y_1 和虾壳脱钙率回归模型 Y_2 在统计学上符合正态分布^[22]，这进一步表明了模型 Y_1 和模型 Y_2 的合理性。柠檬酸对虾壳脱钙率、虾壳硬度实验值与预测值对比图如图 5b、5d 所示。由图可知，实验值与预测值十分相近，两者的所有散点均随机分布在一条标准直线附近，呈现出较高程度的线性关系。

表 10 柠檬酸软化虾壳模型可信度检验分析结果

Table 10 Reliability test results of citric acid softened shrimp shell model

Regression model	C.V./%	R^2	Adjusted R^2	Predicted R^2	Adeq precision
Y_1	3.47	0.971 1	0.934 0	0.695 8	18.930 4
Y_2	1.35	0.980 2	0.954 7	0.813 8	25.468 5

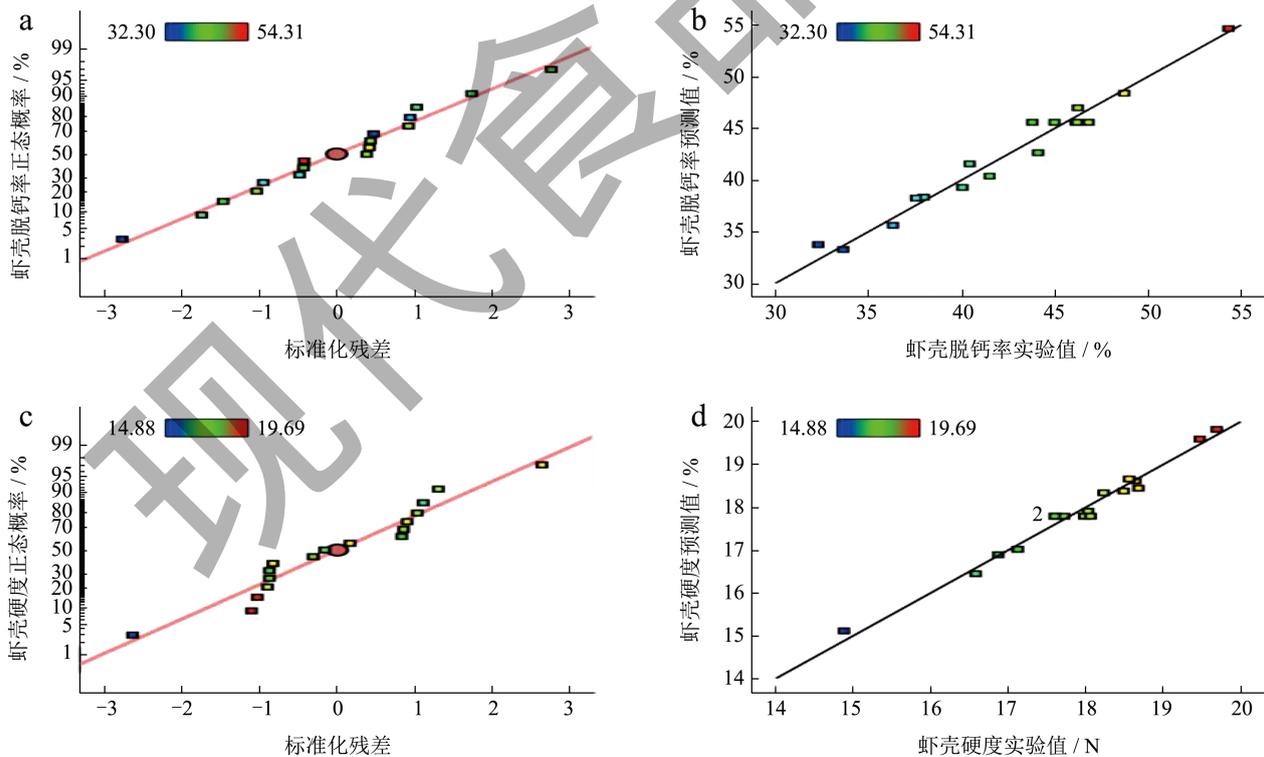


图 5 虾壳脱钙率、虾壳硬度残差分析图和实验值与预测值对比图

Fig.5 Residual analysis diagram of shrimp shell decalcification rate, shrimp shell hardness and comparison diagram of test value and predicted value

表 11 配合比优化后实际值与预测值对比

Table 11 Reliability test results of hardness mode

因素编码			脱钙率/%			硬度/N		
A	B	C	实验值	预测值	D%	实验值	预测值	D%
70	63.83	2.01: 1	56.21 ± 1.02	54.84	2.44	14.36 ± 0.79	14.88	3.62

综上所述, 回归模型 Y_1 和回归模型 Y_2 对柠檬酸软化克氏原螯虾壳脱钙率以及虾壳硬度预测的精确度较高, 可以通过该回归模型对试验结果进行预测。

2.4.3 最优工艺结果及验证试验

基于实验结果, 在实验涉及的条件范围内, 利用 Design Expert 软件中的 Numerical 功能对柠檬酸软化虾壳的配比进行多指标优化设计, 以期获得在考虑多种优化目标下虾壳软化最佳的配比方案, 选脱钙率的最大值和硬度最小值作为目标优化值对酸质量浓度、浸泡时间和液料比进行优化, 从而得出柠檬酸最优配合比为酸质量浓度 70 g/L、浸泡时间 63.84 min、液料比 2.01:1 (V/m)。表 11 为配合比优化后预测值与实际值对比。相对绝对值误差按照公式 (5) 计算。

由表 11 可知, 脱钙率和硬度之间相对误差绝对值分别为 2.44%、3.62%, 均小于 5%, 这与 Jeong 等^[23]在验证紫菜粉、木薯淀粉和米粉优化宣纸制备工艺结果一致, 说明所建立的柠檬酸对小龙虾虾壳脱钙率和柠檬酸对小龙虾硬度的预测模型精度较高, 在统计学上是有效的。

3 结论

有机酸浸泡克氏原螯虾会降低虾壳的含钙量和虾壳的硬度。通过苹果酸、乙酸、柠檬酸对虾壳脱钙率、虾壳硬度以及干制后的感官评价结果发现, 柠檬酸更适合用于作为克氏原螯虾壳的软化剂, 其次是苹果酸。基于酸质量浓度、浸泡时间、液料比三因素, 采用 Box-Behnken Design 试验设计进一步优化柠檬酸软化克氏原螯虾工艺发现, 三者的影响显著性排序为酸质量浓度 > 浸泡时间 > 液料比。故酸质量浓度是影响虾壳脱钙率和虾壳硬度的最主要的因素。根据相应面模型分析, 酸质量浓度和液料比两因素、浸泡时间和液料比两因素对虾壳的脱钙率的交互作用较好, 酸质量浓度和浸泡时间、浸泡时间和液料比两因素对虾壳的硬度的交互作用较好。建立二次多元回归数学模型, 得到柠檬酸软化

克氏原螯虾最佳工艺条件为: 酸质量浓度 70 g/L、浸泡时间 63.83 min、液料比 2.01:1 (V/m)。在该条件下测得虾壳的脱钙率为 50.25%, 虾壳的硬度为 15.05 N, 虾壳硬度显著下降, 软化后干制得到的虾产品适口性更高, 且预测值与实验值之间的相对误差绝对值小于 5%, 证明利用响应面法可实现柠檬酸虾壳软化工艺的多目标优化, 可为带壳即食虾提供理论依据。

参考文献

- [1] 于秀娟, 郝向举, 杨霖坤, 等. 中国小龙虾产业发展报告 (2023)[J]. 中国水产, 2023, 7: 26-31.
- [2] FAN H, FAN D, HUANG J, et al. Cooking evaluation of crayfish (*Procambarus clarkia*) subjected to microwave and conduction heating: A visualized strategy to understand the heat-induced quality changes of food [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 62: 102368.
- [3] 朱美乔. 今年我国休闲零食市场规模将达 15 000 亿元[N]. 中国食品报, 2022-08-09(007).
- [4] DEY S S, DORA K C. Optimization of the production of shrimp waste protein hydrolysate using microbial proteases adopting response surface methodology [J]. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 2014, 51(1): 16-24.
- [5] BEDFORD M, ROUSSEAU X. Recent findings regarding calcium and phytase in poultry nutrition [J]. Animal Production Science, 2017, 57(11): 2311-2316.
- [6] BRUNO S F, EKORONG F J A A, KARKAL S S, et al. Green and innovative techniques for recovery of valuable compounds from seafood by-products and discards: A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 85: 10-22.
- [7] DAYAKAR B, XAVIER K A M, DAS O, et al. Application of extreme halophilic archaea as biocatalyst for chitin isolation from shrimp shell waste [J]. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2021, 2(25): 100093.
- [8] 穰進藤. 殻付きエビの処理方法, 日本: JP; 6607632B (B2)[P]. 2019-11-20.
- [9] 崔宏博, 刘鑫, 薛勇, 等. 南美白对虾壳软化及其制品的研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(5): 52-56.
- [10] 刘丽莎, 徐斌, 邓尚贵. 即食南美白对虾制品虾壳软化工艺研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2016, 35(1): 30-35, 51.

- [11] 严金红, 缪文华, NYAISABA BHOKE MARWA, 等. 有机酸软化凡纳滨对虾壳的效果研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2018, 37(5): 394-399.
- [12] 彭元怀, 刘小美, 李杏清. 柠檬酸法鱼鳞脱钙的工艺研究[J]. 农业机械, 2012(21): 132-135.
- [13] AHMED S H, SHEIKH E M E, MORSY A M A. Potentiality of uranium biosorption from nitric acid solutions using shrimp shells [J]. Journal of Environmental Radioactivity, 2014, 134: 120-127.
- [14] POHLING J, DAVE D, LIU Y, et al. Two-step demineralization of shrimp (*Pandalus borealis*) shells using citric acid: an environmentally friendly, safe and cost-effective alternative to the traditional approach [J]. Green Chemistry, 2022, 24(3): 1141-1151.
- [15] 陈珊珊, 丁俏羽, 李佳, 等. 响应面法优化虾壳可溶性钙提取工艺[J]. 中国食品学报, 2014, 14(6): 81-89.
- [16] 喻亚丽, 周运涛, 文平, 等. 响应面法优化克氏原螯虾壳中乙酸钙的提取工艺[J]. 食品工业科技, 2017, 38(21): 167-173.
- [17] 李明华, 孟秀梅. 超声波辅助柠檬酸法龙虾壳脱钙工艺研究[J]. 食品工业, 2017, 38(5): 8-10.
- [18] 郭梦玲, 陈旭. 响应面法优化克氏螯虾壳蛋白质酶解工艺研究[J]. 农产品加工, 2023(12): 24-28, 33.
- [19] 徐丹鹤, 郑梦莹, 周志, 等. 响应面法优化土家族传统食品煎制洋芋粑粑加工工艺[J]. 中国调味品, 2023, 48(11): 95-101, 125.
- [20] CHIAVELLI L U R, GODOY A C, SILVEIRA R D, et al. Optimization of milk sample cleanup using response surface methodology [J]. Food Analytical Methods, 2020, 13(1): 166-175.
- [21] 胡静, 张品乐, 吴磊, 等. 基于响应面法的ECC基体力学性能研究与配合比优化[J]. 材料导报, 2022, 36(S2): 173-177.
- [22] MANMAI N, UNPAPROM Y, RAMARAJ R. Bioethanol production from sunflower stalk: application of chemical and biological pretreatments by response surface methodology (RSM) [J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2021, 11(5): 1759-1773.
- [23] JEONG G, KHAN F, KANG M, et al. Preparation of rice paper enriched with laver (*Pyropia* sp.) and tapioca starch with process optimization using response surface methodology [J]. LWT, 2022, 160: 113312.