响应面法结合模糊数学优化南瓜籽酸奶发酵工艺

周 婵[1]，吴 宏[*2]，刘 娅[1]，代文婷[2]
（1. 石河子大学 食品学院，新疆 石河子 832003；2. 新疆农垦科学院 农产品加工研究所，新疆 石河子 832003）

摘要：为了探究南瓜籽酸奶最优发酵工艺及参数，以南瓜籽和牛奶为主要原料，在单因素试验的基础上，应用响应面法结合模糊数学综合评价南瓜籽酸奶发酵工艺及参数。结果表明，南瓜籽酸奶发酵工艺最佳参数为：质量分数为17%的南瓜籽浆与牛奶的体积比为1:1，蔗糖添加量为质量分数的9%，发酵剂为12种酸奶菌，菌种添加量为5 g/L，发酵时间为6 h，此条件下南瓜籽酸奶的感官评分为8.27，颜色微绿，质地丝滑，入口柔顺，有南瓜籽的香味，凝固性好。

关键词：南瓜籽；酸奶；响应面法；模糊数学
中图分类号：TS 252.54　**文章编号：**1673-1689(2021)11-0084-06　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.11.0011

Optimization of Fermentation Process of Pumpkin Seed Yoghurt by Response Surface Methodology and Fuzzy Mathematics

ZHOU Chan[1]，*WU Hong*[*2]，*LIU Ya*[1]，*DAI Wenting*[2]
(1. School of Food, Shihezi University, Shihezi 832003, China; 2. Institute of Agricultural Products Processing, Xinjiang Academy of Agricultural Reclamation Sciences, Shihezi 832003, China)

Abstract: In order to explore the optimal fermentation process and parameters of pumpkin seed yoghurt, pumpkin seed and milk were used as the main raw materials. The comprehensive evaluation method was used to optimize the fermentation process and parameters of pumpkin seed yogurt based on the single factor test and response surface method combined with fuzzy mathematics. The results showed that the optimum fermentation parameters of pumpkin seed yoghurt were as follows: the addition of 50% pumpkin seed pulp by volume fraction with concentration of 17%, 50% milk by volume fraction, 9% sucrose was by mass fraction, 12 kinds of lactic acid bacteria yoghurt bacteria as the starter, the addition of 5 g/L bacteria and the fermentation time of 6 h. Under this condition, the sensory score of pumpkin seed yoghurt was 8.27, with color of slightly green, delicate taste, the aftertaste retaining pumpkin seed flavor, and good solidification.

Keywords: pumpkin seed, yoghurt, response surface methodology, fuzzy mathematics

大量研究表明，南瓜籽不仅具有能够降低胆固醇、血糖，缓解高血压的功效，还能防治前列腺增生，是一种富有良好保健效果的食品，具有很高的开发利用价值[1-8]。

目前，市场上的南瓜籽产品主要为南瓜籽休闲食品、南瓜籽油等。酸奶风味独特，营养丰富，受到广大消费者的喜爱。师坤用南瓜籽与葵花籽复合研发出一种酸奶[9]。张秀凤等将南瓜籽与山药加入牛

收稿日期：2020-09-28
基金项目：新疆生产建设兵团重点领域科技攻关计划项目(2019AB027)。
*通信作者：吴 宏(1966—)，女，研究员，主要从事果蔬加工及副产物利用研究。E-mail：1220112637@qq.com

奶中,研发了风味独特的酸奶[10]。将南瓜籽应用于酸奶加工中的研究较少,且研究仍然以牛、羊乳为主导,在产品中没有突出南瓜籽的作用,研究方法仍然以单因素为主,研究方法过于单一。作者以南瓜籽为主要原料,将南瓜籽打浆后与牛奶复配进行混合发酵,利用模糊数学综合评价法和响应面发优化发酵工艺,不仅为籽用南瓜开发新产品,同时也为新的植物酸奶提供更多的产品。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

南瓜籽、巴氏杀菌乳、双乙酰酒石酸单双甘油酯(DATEM)、白砂糖:市售;酸奶菌:安琪食品公司产品。

1.2 仪器与设备

均质机:温州江南机械厂产品;DFD-700 恒温水浴锅:浙江东方公司产品;SPX-150B 智能型生化培养箱:上海琅玕公司产品。

1.3 工艺流程

无壳南瓜籽→打浆→过滤→牛奶复配→添加剂→均质→灌装→杀菌→冷却→发酵剂→发酵→后熟→成品。

1.4 操作要点

无壳南瓜籽与纯净水按 1 kg:6 L 配制,破壁机打浆 4 min,过 200 目筛。将南瓜籽浆与牛奶混合加热到 60 ℃左右,一级压力 20 MPa,二级压力 5 MPa 条件下均质。复配好的液体装入杀菌后的容器中,在 65 ℃下水浴杀菌 30 min,迅速冷却至室温。发酵结束后,立即放入 4 ℃左右的冰箱冷藏后熟 10 h。

1.5 单因素试验

1.5.1 南瓜籽浆添加量 在牛奶中分别加入体积分数为 0、20%、40%、50%、60%、80%、100%的南瓜籽浆,杀菌冷却后加入 1 g/L 的 2 菌酸奶菌,42 ℃发酵 6.5 h,通过感官评价确定南瓜籽浆的最佳添加量,感官评分表见表 2。

1.5.2 发酵剂品种 在牛奶中加入体积分数为 50%的南瓜籽浆,杀菌冷却后分别加入 1 g/L 的 2 菌酸奶菌、8 菌酸奶菌、10 菌酸奶菌、12 菌酸奶菌,42 ℃发酵 6.5 h,通过感官评价确定最优发酵剂品种,感官评分表见表 2。

1.5.3 发酵剂添加量 在牛奶中加入质量分数为 50%的南瓜籽浆,杀菌冷却后分别加入 1、2、3、4、5 g/L 的 12 菌酸奶菌,42 ℃发酵,通过合理的发酵时间,确定发酵剂的最佳添加量。

1.5.4 蔗糖添加量 在牛奶中加入质量分数为 50%的南瓜籽浆,分别加入质量分数为 0、3%、5%、7%、9%、11%的蔗糖,杀菌冷却后加入 5 g/L 的酸奶菌,42 ℃发酵 4 h,通过感官评价确定蔗糖的最佳添加量,感官评分见表 2。

1.6 响应面分析试验

根据单因素试验结果,利用响应面法分析发酵工艺中各因素对感官评分的影响及各因素间的相互影响,进行参数优化。选取对感官评分影响较大的 3 个因素:发酵剂数量、发酵时间和蔗糖。通过 Design Expert 8.0 软件,对发酵工艺进行响应面分析。设计结果如表 1 所示。

表 1 分析试验因素与水平

Table 1 Analysis test factors and levels

水平	*A* 蔗糖质量分数/%	*B* 发酵剂数量	*C* 发酵时间/h
1	3	8	2
0	7	10	4
−1	11	12	6

1.7 感官评定

感官评定小组由身体状况良好、年龄跨度显著的 5 男 5 女组成,以优、良、差 3 个等级对每组样品进行评分,感官评分见表 2。

1.8 模糊数学模型的建立

根据感官评定员对个因素的评价标准,以色泽 u_1、口感 u_2、凝固性 u_3 3 项指标建立评价因素集 $\boldsymbol{U}=\{u_1,u_2,u_3\}$;以 10 分为满分,$v_1$ 7~10 分为等级优,v_2 4~6 分为等级良,v_3 1~3 分为等级差,建立评语集 $\boldsymbol{V}=\{v_1,v_2,v_3\}$[11],具体的的感官评定细则见表 2。根据感官评定小组的评定结果,用模糊数学模型进行分析。

2 结果与分析

2.1 模糊评价结果

2.1.1 确定质量因素权重集 用来表示权重 $\boldsymbol{k}=(k_1,k_2,k_3,\cdots k_m)$,即各因素对结果影响程度在总体因素中所占比重,所有因素的权重总和为 1[12]。由感官评定小组根据个人情感倾向评价色泽、口感、凝固性 3 项因素在南瓜籽酸奶感官评价中的重要性,按百分制打分,最后求出各项感官品质权重平均值,结果见表 3。

表 2　酸奶的感官评分表

Table 2　Sensory score of yogurt

评定项目	评定细则	得分
u_1	微绿,光洁度高	v_1
	微绿,光洁度略差	v_2
	色淡,过绿,光洁度差	v_3
u_2	酸甜适中,口感细腻,带南瓜籽的香味,无异味	v_1
	过酸,过甜,口感略粗糙,南瓜籽味略浓,略有异味	v_2
	过酸,过甜,口感粗糙,南瓜籽味或异味浓	v_3
u_3	凝固优良,质地均匀,无乳清析出	v_1
	凝固良好,质地不均,乳清析出少	v_2
	凝固较差,质地不均,乳清大量析出	v_3

表 3　评价南瓜籽酸奶质量因素的权重分布统计

Table 3　Weight distribution statistics of quality factors of pumpkin seed pulp yoghurt

感官品质	色泽	口感	凝固性
权重	0.125	0.643	0.232

3 项质量因素权重集合为 $\boldsymbol{k}=(k_1,k_2,k_3)=(0.125,0.643,0.232)$，即影响南瓜籽浆酸奶感官品质的质量指标中口感最重要,其次是凝固性,而色泽影响程度较小。

2.1.2　模糊矩阵的建立及综合评价结果　根据感官评定员对酸奶的色泽、口感、凝固性 3 个因素分别进行评分的结果,得到酸奶的感官评价模糊关系矩阵 $\boldsymbol{R}$。

$$\boldsymbol{R}_j=\begin{vmatrix} r_{11} & r_{12} & \cdots & r_{1n} \\ r_{21} & r_{22} & \cdots & r_{2n} \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ r_{m1} & r_{m2} & \cdots & r_{mn} \end{vmatrix}$$

其中:j=1,2,3…,t 为样品编号，每一行为各因素评价结果。

依据矩阵公式:$\boldsymbol{H}_j=k\times\boldsymbol{R}_j$ 计算感官评分结果。

以第一组样品 $\boldsymbol{R}_1$ 为例,其感官评定结果见表 4。

表 4　样品 $\boldsymbol{R}_1$ 感官评价结果

Table 4　Sensory evaluation results of $\boldsymbol{R}_1$

因素集	评语集		
	$\boldsymbol{v}_1$	$\boldsymbol{v}_2$	$\boldsymbol{v}_3$
$\boldsymbol{u}_1$	2(r_{11})	8(r_{12})	0(r_{13})
$\boldsymbol{u}_2$	2(r_{21})	8(r_{22})	0(r_{23})
$\boldsymbol{u}_3$	8(r_{31})	2(r_{32})	0(r_{33})

注:$\boldsymbol{r}_{mn}$(m=1,2,3;n=1,2,3)是赞成第 m 项因素和第 n 项评判等级的票数。

由上表得到对应的模糊关系矩阵:

$$\boldsymbol{R}_1=\begin{vmatrix} 0.2 & 0.8 & 0 \\ 0.2 & 0.8 & 0 \\ 0.8 & 0.2 & 0 \end{vmatrix}$$

据公式 $\boldsymbol{H}_j=k\times R_j$,样品 $\boldsymbol{R}_1$ 的综合评价结果:

$$\boldsymbol{H}_1=(0.125,0.643,0.232)\times\begin{vmatrix} 0.2 & 0.8 & 0 \\ 0.2 & 0.8 & 0 \\ 0.8 & 0.2 & 0 \end{vmatrix}=$$

$$(0.339\ 2,0.660\ 8,0)$$

该处理结果表明,由南瓜籽浆添加量为 0,加入 1 g/L 的 2 菌酸奶菌,42 ℃发酵 6.5 h,所制备的南瓜籽酸奶,有 34%的成员认为其感官为优,66%的成员认为其感官为良,无人认为其感官为差。同理可以得到其他样品的综合评价结果。

得到以上结果后,对评价标准赋值(v_1=9,v_2=6,v_3=3),再与 $\boldsymbol{H}_1$ 相乘,

$$\boldsymbol{Y}_1=\boldsymbol{H}_1\times\begin{vmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{vmatrix}=7.017\ 6$$

同理得到其他样品的感官评分。

2.2　单因素试验

由图 1(a)可知,南瓜籽浆添加量越高,感官评分越低,口感越酸,添加量为质量分数 60%时开始出现乳清析出、分层等不良现象，添加量为 100%时,析出大量液体,散发浓烈的异味,当南瓜籽浆添加量为 0 时,口感最好,综合考虑到南瓜籽在此研究中为主要原料,在发酵良好的情况下,最终选取体积分数为 50%的南瓜籽浆添加量。

由图 1(b)可知,12 菌酸奶菌的感官评分最高,黏稠度最好,口感温和。口感酸度随着菌种数增加逐渐递减,黏稠度也逐渐增加,其中 2 菌酸奶菌口感最酸,黏稠度较差。

发酵剂的添加量决定了酸奶发酵成型的时间,达到规定酸度即可(GB 19302—2010)。酸奶的发酵时间不宜过长,过长浪费时间成本;也不宜过短,过短酸奶还未成型,且其中的香气物质和部分营养物质也会受到影响。由图 1(c)可知,最终选取 5 g/L 的添加量,发酵 4 h。

由图 1(d)可知,随着蔗糖质量分数的提高,口感酸度逐渐降低，酸奶的感官评分也逐渐提高,在质量分数为 7%达到最大值。

2.3　响应面优化工艺条件

试验设计结果见表 5。各因素经系统进行回归拟合后,得到如下二次多项回归方程:

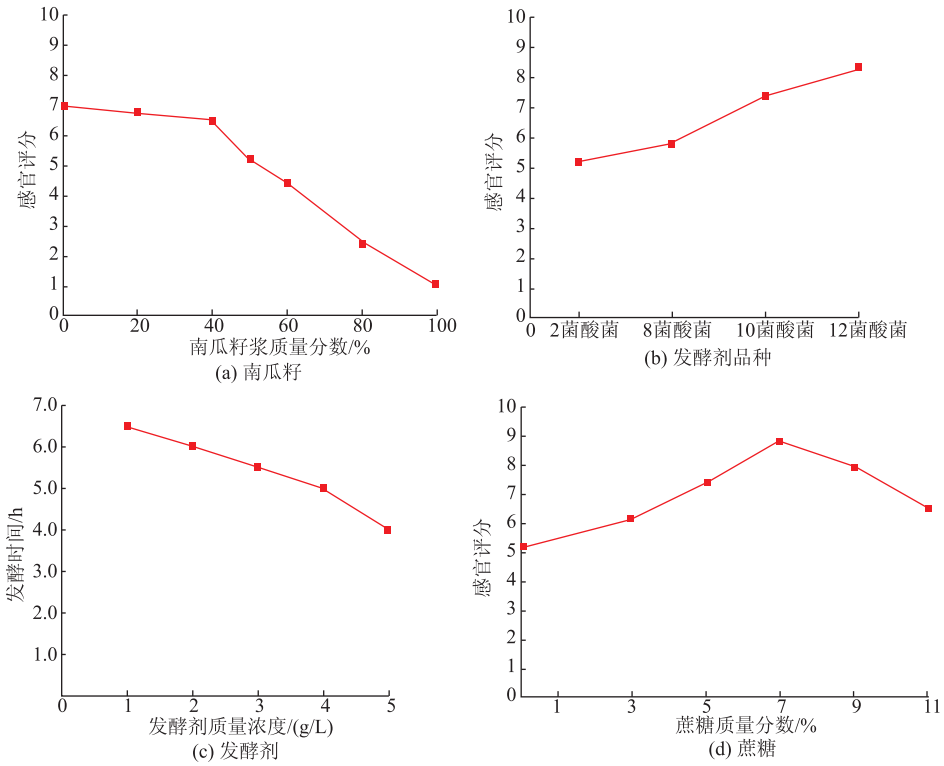


图 1 单因素试验结果

Fig. 1 Results of single factor experiments

表 5 Box–Behnken 试验设计方案及结果

Table 5 Design and results of Box–Behnken experiments

试验号	*A*	*B*	*C*	*Y*
1	0	0	0	8.5
2	1	1	0	7.6
3	1	0	1	6.4
4	0	0	0	8.3
5	−1	1	0	7.4
6	0	0	0	8.6
7	−1	−1	0	7.1
8	1	0	−1	6.2
9	0	0	0	8.4
10	0	−1	1	8.3
11	1	−1	0	7.6
12	0	1	−1	8.2
13	−1	0	1	6.3
14	0	−1	−1	8.1
15	−1	0	−1	6.1
16	0	0	0	8.5
17	0	1	1	8.4

$$Y=8.46+0.11A+0.063B+0.01C-0.075AB-1.52A^2+0.48B^2-0.69C^2 \quad (1)$$

从表 6 中可以看出该模型回归显著且失拟项不显著($P<0.01$),$R^2=0.993\ 5$,说明该模型能够与实际试验拟合,且拟合效果较好,上述回归方程可以说明各影响因子与感官评分键的管关系,对酸奶发酵工艺进行预测。从各项的 P 值(A:0.023 1,B:0.151 7,C:0.036 8)可以说明各因子对酸奶品质影响显著;根据各项的 F 值(A:8.39,B:2.59,C:6.63)可以看出,在所选的各因素水平范围内,对酸奶质

表 6　回归模拟方差分析结果

Table 6　Analysis of variance for the fitted regression model

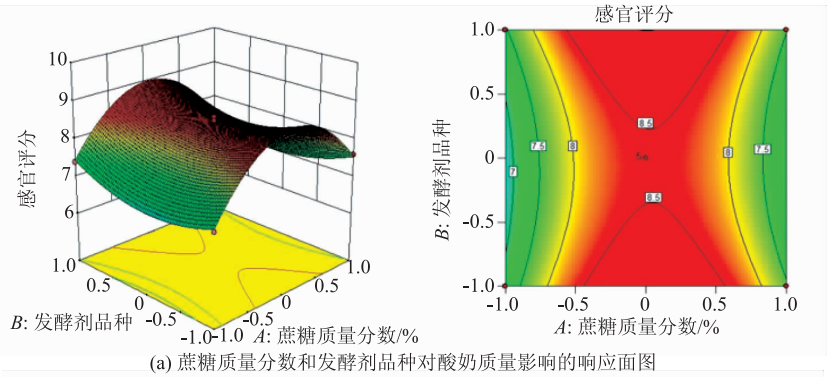
来源	自由度	平方和	均方	*F*	*P*
模型	13.00	9	1.44	119.640	<0.000 1
A	0.10	1	0.10	8.390	0.023 1
B	0.031	1	0.031	2.590	0.151 7
C	0.080	1	0.080	6.630	0.036 8
AB	0.023	1	0.023	1.860	0.214 4
AC	0.000	1	0.000	0.000	1.000 0
BC	0.000	1	0.000	0..000	1.000 0
A^2	9.700	1	9.700	803.220	<0.000 1
B^2	0.980	1	0.980	81.200	<0.000 1
C^2	2.020	1	2.020	167.270	<0.000 1
残差	0.085	7	0.012		
失拟项	0.033	3	0.011	0.830	0.541 3
净误差	0.052	4	0.013		
总误差	13.08	16	R^2=0.993 5		

注：*P*<0.01 为极显著 **；*P*<0.05 显著。

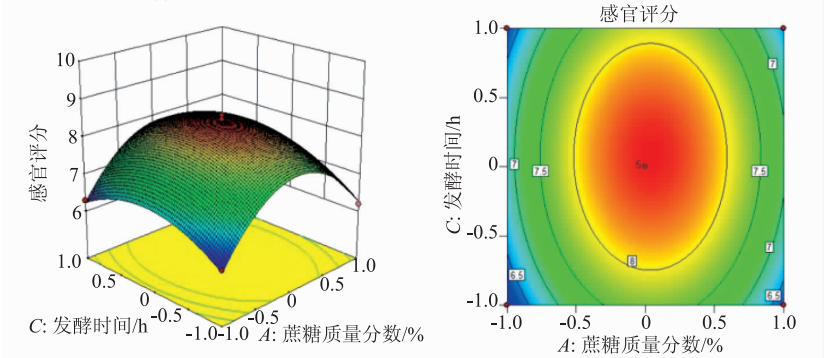
量影响大小的顺序为：蔗糖质量分数>发酵时间>发酵剂品种。

根据图 2(a)中的弧面及等高线的变化程度，可以看出对酸奶质量的影响蔗糖添加量大于发酵剂品种，且两因素之间存在较强的相互作用。从图 2(b)可以看出，对酸奶质量影响程度蔗糖添加量显著大于发酵时间，且两因素之间不存在明显的相互作用，即其中一个因素对酸奶质量的影响作用并不会随着另一个因素的变化而变化。从图 2(c)可以看出，发酵时间对酸奶感官评分的影响高于发酵剂品种，且两者存在较强的相互作用。

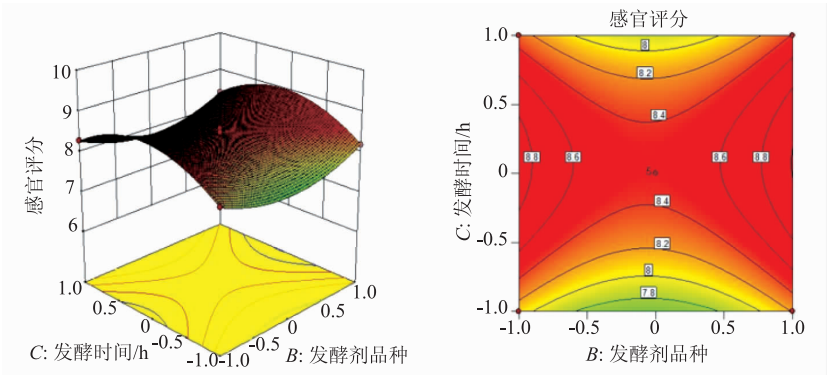
结合以上回归模型分析结果可知，最佳工艺参



(a) 蔗糖质量分数和发酵剂品种对酸奶质量影响的响应面图



(b) 蔗糖质量分数和发酵时间对酸奶质量影响的响应面图



(c) 发酵剂品种和发酵时间对酸奶质量影响的响应面图

图 2 各因素交互作用的响应面图

Fig. 2 Response surface plots for the effects of three process conditions on the extraction yield of polysaccharide

数为:蔗糖添加量为质量分数的 9%,发酵剂品种为 12 菌酸奶菌,发酵时间为 6 h,南瓜籽浆添加量为体积分数 50%。

3 结 语

根据以上试验结果得到南瓜籽酸奶的最适发酵工艺:质量分数为 17%的南瓜籽浆与牛奶的体积比为 1:1,蔗糖添加量为质量分数的 9%,发酵剂为 12 种乳酸菌酸奶菌,菌种添加量为 5 g/L,发酵时间为 6 h。此时,酸奶的感官评分为 8.27,颜色微绿,质地丝滑,入口柔顺,后味留有南瓜籽的香味,凝固性好。用南瓜籽和牛奶复合发酵的酸奶产品不仅拥有普通酸奶的保健功能,还增加了南瓜籽的抗氧化、提高免疫力等优良特性。

参考文献:

[1] 石金娥,于海玲,王岩,等. 气相色谱 - 质谱联用测定南瓜籽油中角鲨烯的含量[J]. 中国油脂,2014,39(11):88-91.

[2] PHILLIPS K M,RUGGIO D M,ASHRAF-KHORASSANI M. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the united states[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2005,53(24):9436-9445.

[3] VESNA V,SONJA D,ETELKA D,et al. The effect of roasting on the chemical composition and oxidative stability of pumpkin oil[J]. **European Journal of Lipid Science and Technology**,2012,114(5):568-574.

[4] 牛广财,朱丹,孙清瑞,等. 南瓜籽油超临界 CO_2 流体萃取及其脂肪酸成分分析[J]. 中国粮油学报,2010,25(4):31-33.

[5] 刘玉梅,高智明,王健,等. 裸仁南瓜籽及南瓜籽油的营养成分研究[J]. 食品工业科技,2010,31(6):313-316.

[6] 周红丽. 南瓜籽蛋白血管紧张素转化酶抑制肽的研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2013.

[7] WANG L B,LIU F C,WANG A X,et al. Purification,characterization and bioactivity determination of a novel polysaccharide from pumpkin(*Cucurbita moschata*) seeds[J]. **Food Hydrocolloids**,2017,66:357-364.

[8] 李千会,徐德平. 南瓜籽抗前列腺增生化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(6):978-982.

[9] 师坤. 新型果仁风味酸奶的研制[J]. 中国乳业,2018,195(3):70-73.

[10] 张秀凤,申晓琳,杨海宁. 南瓜籽、山药复合酸奶的研制[J]. 现代牧业,2018,2(2):18-21.

[11] 张斌,孙兰萍,胡海燕,等. 基于模糊数学和响应面法的超高压嫩化河蚌肉的感官评价[J]. 食品与发酵工业,2017,43(6):157-162.

[12] 汪倩,姜万舟,王瑞花,等. 基于模糊数学综合评价法确定燕麦麸猪肉丸中的淀粉种类[J]. 食品与发酵工业,2016,42(3):55-60.