

热辅助超声波处理对豆腐干杀菌工艺优化及效果

Study on sterilization effect and process optimization of dried bean curd by thermosonication treatment

吴妮¹ 赵武奇¹ 卢丹¹ 曾祥媛¹

WU Ni¹ ZHAO Wu-qi¹ LU Dan¹ ZENG Xiang-yuan¹

张清安¹ 宋树杰¹ 刘凡²

ZHANG Qing-an¹ SONG Shu-jie¹ LIU Fan²

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119;

2. 陕西大通农业科技有限公司, 陕西 商洛 726100)

(1. School of Food Engineering and Nutritional Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710119, China; 2. Shaanxi Datong Agricultural Technology Co., Ltd., Shangluo, Shaanxi 726100, China)

摘要:选取超声功率、超声时间、温度为考察因素,以细菌总数降低对数值、 ΔE 、 L^* 、 a^* 、 b^* 、硬度、咀嚼性、回复性、弹性、内聚性及蛋白质含量为考察指标,进行 Box-Behnken 试验,利用因子分析筛选出豆腐干品质的特征指标,建立模型并优化得出最佳工艺参数。结果表明,豆腐干品质特征指标为咀嚼性、色差和回复性,建立的细菌总数降低对数值及豆腐干品质特征指标的模型能用于分析和预测加工参数对豆腐干杀菌效果及品质的影响;豆腐干热辅助超声波杀菌的最佳工艺参数为时间 90 min、超声功率 876 W、温度 78 °C。热辅助超声波处理具有温度低、杀菌效率高、可较好地保持豆腐干质地和色泽的优点。

关键词:豆腐干;热辅助超声波;杀菌工艺;因子分析

Abstract: In order to obtain the optimum process of thermosonication treatment (TST) sterilization of dried bean curd (DBC), on the basis of single factor, the ultrasonic power, ultrasonic time and temperature were selected as the factors, and the decreased logarithm value of bacteria, color difference ΔE , L^* , a^* , b^* , hardness, chewiness, resilience, springiness, cohesiveness, protein content were used as indicators, the three-factor box

Behnken test was designed and the characteristic index for evaluating the quality of the DBC was screened out by factor analysis, the model was established and the best parameters were optimized. Results: the characteristic index for evaluating the quality of DBC were chewiness, color difference and resilience. The model of the decreased logarithm value of bacteria and the characteristic index for evaluating the quality of the DBC could be used to analyze and predict the effects of the TST parameters on the sterilization of the DBC and its effect on quality. The optimal process parameters for sterilization of DBC by the TST were: ultrasonic treating time 90 min, ultrasonic power 876 W, and temperature at 78 °C. TST has the advantages of low temperature, high bactericidal efficiency and good preservation of texture and color of DBC. TST can be used for the DBC sterilization.

Keywords: dried bean curd; thermosonication; germicidal technology; factor analysis

豆腐干极易腐败变质,杀菌是加工的关键工序。目前大多数企业采用的是高温蒸汽杀菌,而蛋白质作为豆腐干的主要营养成分,不耐高温,高温杀灭微生物的同时破坏了蛋白质结构,使豆腐干颜色加深,原本劲道可口变柴变硬,感官品质下降^[1]。周先汉等^[2]采用巴氏杀菌处理豆腐干,杀菌效果较好,但长时间高温处理,豆腐干风味严重损失;武杰等^[3]采用微波杀菌技术可有效延长五香豆干的货架期,但容易造成五香豆干蛋白质变性,降低营养价值。超声波作为一种快速、高效并且可靠的新兴技术,已在食品加工行业得到广泛的应用^[4],但单独使用

基金项目:陕西省重点研发计划项目(编号:2018TSCXL-NY-01-02);西安市农业科技创新计划项目(编号:2017050NC/NY009(3))

作者简介:吴妮,女,陕西师范大学在读硕士研究生。

通信作者:赵武奇(1965—),陕西师范大学副教授,博士。

E-mail: zhwq65@163.com

收稿日期:2018-10-25

超声波杀菌效果有限。研究^[5]表明热辅助超声波处理比单独采用相同功率超声波处理的杀菌效果更好,夏必帮等^[6]发现热辅助超声波处理可用于控制火龙果汁中自然菌群并保持鲜榨汁的品质,但关于热辅助超声波处理对豆腐干杀菌的研究尚未见报道。

本试验拟利用热辅助超声波法对真空包装后的豆腐干进行杀菌改进现有的杀菌工艺,为工业化生产高品质的豆腐干提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜豆腐干:长宽厚 3.5 cm×3.5 cm×2.0 cm,真空包装并贮存于 4℃的冰箱,陕西大通农业科技有限公司;
氯化钠、无水乙醇、浓硫酸、硫酸铜、硫酸钾、氢氧化钠、硼酸,分析纯,西安晶博生物科技有限公司;
甲基红指示剂、溴甲酚绿指示剂、月桂基硫酸盐蛋白胨(LST)肉汤、平板计数琼脂培养基、黄绿乳糖胆盐(BGLB)肉汤,北京奥博星生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

电子天平:AB104-N 型,上海第二天平仪器厂;
电冰箱:海尔 BCD-210G/C 型,青岛海尔股份有限公司;
电子天平:BS224Sx 型,北京赛多利斯系统有限公司;
测色色差计:WSC-S 型,上海精密科学仪器有限公司;
质构仪:TA.XT.Plus 型,英国 Stable Micro System 公司;
全自动凯氏定氮仪:Kjeltec2300 型,瑞典福斯公司;
新苗超净工作台:SW-CJ-1FD 型,上海新苗医疗器械制造有限公司;
立式压力蒸汽灭菌锅:LDZX-30KBS 型,上海申安医疗器械厂;
隔水式恒温培养箱:GNP-9080MBE 型,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;
超声波微波协同反应工作站:XO-SM50 型,南京先欧仪器制造有限公司;
低温恒温槽(液晶板):XODC-2006 型,南京先欧仪器制造有限公司;

1.3 方法

1.3.1 响应面设计 在预试验的基础上,以超声时间、超声功率、温度为因素,以杀菌后豆腐干的微生物、质地、色泽、蛋白质为指标,进行 Box-Behnken 响应面试验设计。表 1 为试验因素水平表。

1.3.2 微生物的测定

(1) 细菌总数:细菌总数的测定按 GB 4789.2—2016 执行,再按式(1)计算细菌总数降低的对数值。

$$Y_1 = \lg(N_0 \div N), \tag{1}$$

表 1 BBD 试验因素水平编码表

Table 1 Factor level code table of Box-Behnken test

水平	A 超声时间/min	B 超声功率/W	C 温度/℃
—1	15.0	300	40
0	52.5	625	65
1	90.0	950	90

式中:

Y_1 ——细菌总数降低对数值,lg(CFU/g);
 N_0 ——豆腐干初始细菌总数,经测定为 4×10^7 CFU/g;
 N ——豆腐干杀菌后细菌总数,CFU/g。

(2) 大肠菌群:按 GB/T 4789.3—2016 执行。

(3) 致病菌(沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色的葡萄球菌):分别按 GB 4789.4—2010、GB 4789.5—2012、GB 4789.10—2010 执行。

1.3.3 色泽的测定 豆腐干色泽 L^* 、 a^* 、 b^* 用色差计直接测定。色泽的变化程度色差按式(2)计算。

$$\Delta E = [(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2]^{1/2}, \tag{2}$$

式中:

ΔE ——色差;

L_0^* 、 L^* ——分别为初始和杀菌后豆腐干的明度指数;

a_0^* 、 a^* ——分别为初始和杀菌后豆腐干的红绿值;

b_0^* 、 b^* ——分别为初始和杀菌后豆腐干的黄蓝值。

每个样品重复测试 3 次取平均值,计算总色差。

1.3.4 质构的测定 将杀菌后的样品用打孔器制成直径为 12 mm 的圆片用于质构品质的测定,参数设置:探头型号 P36/R;开始速度 1 mm/s;探头下降速度 1 mm/s;离开速度 1 mm/s;压缩程度 50%,在室温条件下测试。平行测定 5 次,去掉最大值与最小值,其他 3 次试验求平均值。

1.3.5 蛋白质含量的测定 按 GB 5009.5—2016 执行。

1.4 数据处理

采用 Designer-Expert 7.0.0 和 SPSS 17.0 数据处理软件进行统计回归分析。

2 结果与分析

2.1 响应面试验结果

响应面设计与结果见表 2。

2.2 豆腐干品质评价特征指标提取结果

微生物是豆腐产品生产过程中的重要控制指标,因此将细菌总数降低对数值作为响应面考察的主要指标之一。因子分析能实现用少数几个因子去描述许多指标,起到降维的作用,对表 2 中其他品质指标进行因子分析,以提取出豆腐干的品质评价特征指标,结果见表 3。

从表 3 可知,前 3 个因子的特征值均 >1 ,且前 3 个因

表 2 BBD 试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results of Box-Behnken															
编号	A	B	C	细菌总数降低对数值/ $\lg(\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1})$	ΔE	L^*	a^*	b^*	硬度/ g	咀嚼性	回复性	弹性	内聚性	蛋白质含量/%	
1	0	0	0	1.81	3.03	68.06	12.39	40.36	1 989.35	1 468.41	0.39	0.90	0.75	22.99	
2	-1	0	-1	1.08	3.77	69.58	13.16	40.62	2 122.88	1 874.10	0.36	0.90	0.71	22.95	
3	0	-1	1	2.40	7.10	73.09	13.01	40.55	1 508.37	1 010.77	0.35	1.12	0.65	22.14	
4	0	1	-1	2.19	6.22	72.24	12.73	41.22	1 545.71	1 205.13	0.40	0.93	0.77	22.01	
5	1	-1	0	1.95	2.57	68.21	13.99	40.43	2 255.93	1 365.38	0.39	0.95	0.76	23.34	
6	1	0	-1	2.96	3.22	68.13	13.76	39.49	2 250.63	1 473.37	0.35	0.92	0.71	24.30	
7	0	0	0	1.62	1.15	67.09	13.65	41.44	2 163.86	1 437.20	0.38	0.94	0.75	22.90	
8	-1	0	1	2.69	6.17	69.93	12.67	37.34	1 664.29	1 448.71	0.36	0.98	0.72	21.31	
9	0	-1	-1	1.01	7.01	72.32	13.05	38.75	1 506.17	1 253.05	0.38	0.92	0.71	21.62	
10	-1	1	0	1.90	0.89	67.00	13.66	42.08	1 861.27	1 496.24	0.43	0.85	0.78	22.53	
11	0	0	0	1.96	1.16	65.85	13.90	40.98	1 947.75	1 460.50	0.39	0.94	0.76	25.49	
12	0	0	0	1.82	0.41	66.05	14.32	41.77	2 093.46	1 492.87	0.38	0.93	0.76	23.48	
13	-1	-1	0	0.68	7.72	73.64	13.65	39.93	1 761.90	1 476.38	0.39	1.03	0.75	21.64	
14	0	0	0	1.89	1.42	66.32	14.14	40.65	2 089.60	1 420.86	0.38	0.93	0.77	25.10	
15	0	1	1	4.30	5.04	70.95	12.82	40.84	1 121.79	831.18	0.38	0.94	0.71	21.54	
16	1	1	0	4.15	5.45	70.85	12.38	39.74	1 985.29	1 302.40	0.38	0.92	0.75	25.43	
17	1	0	1	4.89	2.63	66.28	13.13	39.62	2 110.57	1 305.68	0.34	0.93	0.69	22.92	

表 3 解释的总方差

Table 3 Total variance of interpretation			
成分	特征值(λ)	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	4.683	46.825	46.825
2	1.912	19.118	65.943
3	1.146	11.457	77.400
4	0.810	8.096	85.495
5	0.622	6.217	91.712
6	0.414	4.144	95.857
7	0.203	2.029	97.886
8	0.137	1.367	99.253
9	0.070	0.697	99.949
10	0.005	0.051	100.000

子的特征值之和占总特征值的 77.40%，说明这 3 个因子可以代表豆腐干 10 个品质指标的绝大部分信息。

采用 Kaiser 标准化最大方差法进行因子旋转,得到旋转后的成分矩阵见表 4,能更加清楚直观地表现主因子与变量之间的对应关系。旋转后的因子载荷系数(以绝对值计)越接近 1,变量信息越能够被主因子解释。第 1 主因子与咀嚼性和硬度 2 个指标相关性最强,它反映了人口腔牙齿对豆腐干的触觉感;第 2 主因子与色差 ΔE 和 L^* 、 a^* 、 b^* 4 个指标最为相关,反映了豆腐干的色泽品质指标;第 3 主因子与回复性和内聚性 2 个指标的相关性最强,体现了豆腐干的质地特征。以每个主因子中载荷系数最大(以绝对值计)为标准,可以得到咀嚼性、 a^* 和回复性 3 个指标,但考虑到 a^* 是表示样品颜色的红绿

表 4 旋转成分矩阵

Table 4 Rotated component matrix of factor analysis			
指标	主因子 1	主因子 2	主因子 3
色差	-0.500	-0.754	-0.270
L^*	-0.606	-0.655	-0.121
a^*	0.156	0.809	0.050
b^*	-0.200	0.684	0.523
硬度	0.806	0.446	-0.096
咀嚼性	0.814	0.057	0.111
回复性	-0.121	0.080	0.954
弹性	-0.610	0.008	-0.608
内聚性	0.297	0.230	0.834
蛋白质含量	0.519	0.509	-0.005

指数, ΔE 是色差评价的综合指标且其载荷系数 >0.75 ,因此选取咀嚼性、 ΔE 和回复性 3 个指标作为豆腐干的品质特征指标。咀嚼性是影响豆腐干质地的重要指标,咀嚼性的增大对豆腐干口感的提升具有重要意义^[7];豆腐干色泽极大地影响着消费者的可接受性,杀菌过程中需保持色泽的稳定,试验中 ΔE 值越小,代表杀菌前后的豆腐干色差越小^[8],说明与新鲜豆腐干颜色越接近,可接受程度越高;回复性反映了豆腐干以弹性变形保存的能量,豆腐干的内部孔隙越小,越均匀一致,其回复性越大^[9]。可见,本试验利用因子分析提取的特征品质是合理的。

2.3 回归模型的建立与分析

利用 Design Expert 软件进行多元回归拟合,得到超声时间、功率、温度分别与细菌总数降低对数值(y_1)、咀

嚼性(y_2)、 ΔE (y_3)及回复性(y_4)的二次多项回归方程:

$$y_1 = 1.82 + 0.95A + 0.81B + 0.88C + 0.25AB + 0.18BC + 0.39A^2 + 0.69C^2, \quad (3)$$

$$y_2 = 1\ 455.97 - 106.07A - 151.16C + 64.43AC + 202.28A^2 - 248.15B^2 - 132.79C^2, \quad (4)$$

$$y_3 = 1.43 - 0.85B + 2.43AB + 2.56B^2 + 2.35C^2, \quad (5)$$

$$y_4 = 0.38 - 0.010A + 1.000E - 002B - 7.500E - 003C - 0.012AB + 0.019B^2 - 0.026C^2. \quad (6)$$

各考察指标的方差分析结果见表 5,4 个指标的回归模型均显著($P < 0.05$),失拟项均不显著($P > 0.05$),各模型的决定系数 R^2 均 $> 0.932\ 2$,调整决定系数 R_{Adj}^2 均 $> 0.845\ 5$,说明建立的细菌总数降低对数值、咀嚼性、色差及回复性模型与实际试验拟合度较好,能用此回归方程对热辅助超声波杀菌后的各考察指标进行分析和预测。

表 5 各指标回归模型方差分析表

Table 5 Variance analysis table of each index regression model

变异来源	P 值			
	y_1	y_2	y_3	y_4
模型	$<0.000\ 1$	$<0.000\ 1$	$0.002\ 5$	$0.001\ 4$
A	$<0.000\ 1$	$0.000\ 3$	$0.129\ 3$	$0.008\ 2$
B	$<0.000\ 1$	$0.074\ 2$	$0.041\ 1$	$0.008\ 2$
C	$<0.000\ 1$	$<0.000\ 1$	$0.799\ 0$	$0.029\ 0$
AB	$0.007\ 0$	$0.394\ 2$	$0.001\ 5$	$0.014\ 5$
AC	$0.258\ 4$	$0.025\ 6$	$0.164\ 3$	$0.539\ 2$
BC	$0.027\ 8$	$0.192\ 3$	$0.530\ 5$	$0.539\ 2$
A^2	$0.000\ 5$	$<0.000\ 1$	$0.736\ 5$	$0.171\ 5$
B^2	$0.548\ 1$	$<0.000\ 1$	$0.001\ 0$	$0.001\ 4$
C^2	$<0.000\ 1$	$0.000\ 6$	$0.001\ 6$	$0.000\ 2$
失拟项	$0.442\ 7$	$0.079\ 6$	$0.488\ 9$	$0.137\ 6$
R^2	$0.994\ 6$	$0.981\ 9$	$0.932\ 2$	$0.943\ 6$
R_{Adj}^2	$0.987\ 7$	$0.958\ 7$	$0.845\ 5$	$0.871\ 1$

各因子对细菌总数降低对数值的影响均极显著, C^2 对细菌总数降低对数值有极显著的影响, A^2 和交互项 AB、BC 影响显著;各因子对咀嚼性影响的大小依次是 $C > A > B$, A^2 、 B^2 对咀嚼性有极显著的影响, C^2 和交互项 AC 影响显著;各因子对色差影响的大小依次是 $B > A > C$, B^2 、 C^2 和交互项 AB 影响显著;各因子对回复性影响的大小依次是 $A = B > C$, B^2 、 C^2 和交互项 AB 对回复性的影响显著。

2.4 杀菌工艺的优化

试验中细菌总数降低对数值达 $4.72\ \lg(\text{CFU/g})$ 时,真空包装的豆腐干中菌落总数低于 $750\ \text{CFU/g}$,符合 DB 34/T 720.2—2009。在试验参数范围内,以细菌总数降低对数值 $> 4.72\ \lg(\text{CFU/g})$,色差值最小,咀嚼性和回复性最大为原则,利用 Designer-Expert 7.0.0 软件对豆腐干杀菌工艺进行综合优化,得到热辅助超声波杀菌的最佳工

艺参数为:超声时间 $90.00\ \text{min}$ 、超声功率 $875.90\ \text{W}$ 、温度 $78.11\ ^\circ\text{C}$,考虑到实际生产条件,将超声功率和温度分别调整成 $876\ \text{W}$ 和 $78\ ^\circ\text{C}$,在最佳工艺参数下实测值与模型预测值如表 6 所示。

表 6 回归方程预测效果表

Table 6 Prediction effect table of regression equation

指标	细菌总数降低对数值/ $\lg(\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1})$	咀嚼性	色差	回复性
预测值	4.72	1 266.80	3.93	0.37
实测值	4.73	1 270.50	3.91	0.38
误差值/%	0.21	0.29	-0.51	2.63

从表 6 可以看出,预测值与实测值的误差值 $\leq 2.63\%$,该模型可靠有效。并且在此条件下处理的豆腐干的细菌总数降低对数值为 $4.73\ \lg(\text{CFU/g})$ 、咀嚼性为 $1\ 270.50$ 、色差为 3.91 、回复性为 0.38 ,大肠菌群小于 $40\ \text{MPN}/100\ \text{g}$,3 种致病菌均未检出。

3 结论

豆腐干热辅助超声波杀菌工艺的最佳参数为超声时间 $90\ \text{min}$ 、超声功率 $876\ \text{W}$ 、温度 $78\ ^\circ\text{C}$ 。热辅助超声波处理具有温度低、杀菌效率高、可较好地保持豆腐干质地和色泽的优点,可用于豆腐干的杀菌。热辅助超声波作为一种新的杀菌技术,下一步应在探讨其杀菌机理的基础上,开发适合工业化生产的热辅助超声波杀菌装置。

参考文献

- [1] 杨倩. 调味豆腐干加工及保藏的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- [2] 周先汉, 朱稀桦, 王亚东, 等. 茶干杀菌工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2009(6): 199-201.
- [3] 武杰, 朱飞, 赵颖. 五香豆干微波杀菌真空包装加工工艺研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(4): 697-699.
- [4] CHANDRAPALA J, OLIVER C, KENTISH S. Ultrasonics in food processing[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2012, 19(5): 975-983.
- [5] PIYASENA P, MOHAREB E, MCKELLAR R C. Inactivation of microbes using ultrasound a review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 87(3): 207-216.
- [6] 夏必帮, 朱文娟, 廖红梅. 热辅助超声波处理对鲜榨火龙果汁品质的影响[J]. 食品工业科技, 2019(1): 6-10.
- [7] 王建明, 王健. 萌发技术改善豆干感官品质的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(13): 124-128.
- [8] KROKIDA M K, MAROULIS Z B. Effect of microwave drying on some quality properties of dehydrated products[J]. Drying Technology, 1999, 17(3): 449-466.
- [9] 赵延伟, 王雨生, 陈海华. 豆制品的质构与感官评定相关性的研究[J]. 青岛农业大学学报: 自然科学版, 2012, 29(2): 126-131, 135.