

# 猪血凝胶条件的响应面法优化

张佳敏, 王卫, 白婷, 吉莉莉

(成都大学肉类加工四川省重点实验室, 四川成都 610106)

**摘要:** 实验研究了不同加工条件下猪血凝胶的持水力和回复性的变化。在分析纯血含量、加热温度、加热时间及 NaCl 含量对猪血凝胶持水力和回复性影响的基础上, 以凝胶持水力和回复性的综合评分为优化指标, 采用响应面法对热加工条件进行优化。结果表明: 加热温度、加热时间及 NaCl 含量对猪血凝胶的持水力和回复性有显著影响 ( $p < 0.05$ ), 各因素对持水力和回复性综合评分的影响程度依次为 NaCl 含量 > 加热温度 > 加热时间 > 纯血含量。对各因素与持水力和回复性的综合评分进行拟合分析, 所得拟合模型具有较好的可靠性。通过拟合模型进行优化, 得到最佳工艺条件为: 纯血含量 86.05% (即血蛋白含量 16.66 g/100 mL)、温度 95 °C、加热时间 20 min 及 NaCl 含量 4 g/100 mL, 在此条件下的猪血凝胶综合评分最高, 综合评分为 69.66, 持水力为 88.21%, 回复性值为 0.511, 具有最佳的凝胶品质。

**关键词:** 猪血, 持水力, 回复性, 响应面, 工艺优化

## Optimization of pig blood gel processing with response surface method

ZHANG Jia-min, WANG Wei, BAI Ting, JI Li-li

(Meat Processing Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

**Abstract:** The experiment was carried out to study the water-holding capacity and resilience properties of pig blood gel processed under different conditions. Based on the analysis of the effects of pure blood content, temperature, heating time and NaCl content, by setting the synthesis score of WHC and resilience as optimization target, the processing condition was optimized with response surface method. The results showed that the temperature, heating time and NaCl content impacted the WHC and resilience significantly ( $p < 0.05$ ), the impact degree of different factors ranks as the following: NaCl content > heating time > temperature > pure blood content. The fitting analysis of the factors and the synthesis score results indicated that, the fitting model was comparatively reliable. By using the fitting model to optimize the gelling condition, the best condition was determined as follow: pure blood percentage was 86.05% (blood protein content was 16.66 g/100 mL), temperature, heating time and NaCl content was 95 °C, 20 min and 4 g/100 mL respectively. Under such condition, the synthesis score reached the highest level of 69.66, with 88.21% WHC and 0.511 resilience, and the gel had the best quality.

**Key words:** pig blood; water-holding capacity; resilience; response surface; process optimization

中图分类号: TS251.6

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2016)17-0237-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.17.038

我国是世界上最大的畜禽肉类生产和消费国, 肉类总产量居世界第一。血液是畜禽屠宰加工产生的主要副产物。以 2012 年统计数据显示, 我国畜禽血液总产量达 2500 多万 t。血液中蛋白质含量 17%~22%, 含有 18 种氨基酸, 尤其是赖氨酸含量丰富, 还含有多种生物酶、低分子氮化物、葡萄糖、维生素、微量矿物质元素, 铁的含量高达 6.4%<sup>[1-2]</sup>。目前我国对畜禽血液的加工利用率较低, 除部分用于食用外, 加工制品主要包括初级血粉制品、血红素、水解蛋白、SOD 以及氨基酸等产品<sup>[3-7]</sup>。在食品加工中, 添加动

物血液不仅能充分利用其营养价值, 还可改善产品色泽、风味及质构特性<sup>[8-12]</sup>。因此畜禽血在食品加工中的利用越来越受到重视<sup>[13-15]</sup>。但加工中的温度、时间、含盐量等对血液的凝胶性质和持水性有重要影响。本实验以猪血为研究对象, 利用质地多面剖析法<sup>[16]</sup> (Texture Profile Analysis, TPA) 和离心法对猪血凝胶的质构特性和持水性进行研究, 探讨猪血在不同条件下凝胶的持水力和回复性的变化, 并采用响应面法, 以回复性和持水力权重后的综合评分为优化目标, 对猪血的热加工条件进行优化, 以确定猪血

收稿日期: 2016-03-18

作者简介: 张佳敏 (1982-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 农产品加工与贮藏食品工程, E-mail: 492346884@qq.com。

基金项目: 四川省教育厅 2015 年度科研计划项目“畜禽屠宰副产物可食内脏与血液的综合利用与产品开发” (15ZB0389); 成都大学 2014 年校青年基金“猪屠宰副产物传统特色风味食品开发与综合利用研究” (2014XJZ02); 成都市产业集群协同创新项目“优质猪肉精深加工与冷链贮运综合技术集成与产业化”。

的最佳凝胶条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

新鲜猪血 由四川欣康绿食品有限公司提供。氯化钠(分析纯) 购于成都市科龙化工试剂厂。

TA-XTplus 型质构分析仪 英国 Stable Micro Systems 公司;JA3130N 电子天平 上海民桥精密科学仪器有限公司;DZKW-4 水浴锅 北京中兴伟业仪器有限公司;TGL-20M 高速台式冷冻离心机 长沙湘仪离心机仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 纯血含量对持水力和回复性影响 经前期预实验测得该批次猪血中蛋白质含量为 19.36 g/100 mL,在此基础上,分别量取 30、35、40、45、50 mL 新鲜猪血于 5 个 50 mL 的容量瓶中,加蒸馏水定容至 50 mL,制得纯血含量分别为 60%、70%、80%、90% 及 100% 的血溶液,即血蛋白含量分别为 11.62、13.55、15.49、17.42、19.36 g/100 mL,摇匀后转入烧杯中,用保鲜膜封住烧杯口,在 95 °C 温度条件下加热 15 min,待猪血凝固后取出冷却,测定猪血凝胶的持水力和回复性。

1.2.2 加热温度对持水力和回复性影响 量取 50 mL 新鲜纯猪血分别置于 5 个烧杯中,用保鲜膜封住烧杯口,将烧杯放入水浴锅中,分别于 80、85、90、95、100 °C 下加热 15 min,取出冷却,测定猪血凝胶的持水力和回复性。

1.2.3 加热时间对持水力和回复性影响 量取 50 mL 新鲜纯猪血分别置于 5 个烧杯中,用保鲜膜封住烧杯口,将烧杯放入水浴锅中,分别于 95 °C 下加热 5、10、15、20、25 min,取出冷却,测定猪血凝胶的持水力和回复性。

1.2.4 NaCl 含量对持水力和回复性影响 分别称取 1、2、3、4、5 g NaCl 置于 5 个 50 mL 的容量瓶中,用纯猪血定容置 50 mL,即猪血溶液中 NaCl 的含量为 2、4、6、8、10 g/100 mL,摇匀后转入烧杯中,用保鲜膜封住烧杯口,在 95 °C 温度条件下加热 15 min,待猪血凝固后取出冷却,测定猪血凝胶的持水力和回复性。

1.2.5 热凝固工艺条件的优化 在单因素实验基础上,采用 Box - Behnken 响应面设计,以猪血含量(A)、加热温度(B)及加热时间(C)三个热加工参数作为相应因子,以凝胶的持水力( $Y_1$ )、回复性( $Y_2$ )和综合评分( $Y_3$ )作为响应值建立响应曲面模型,以优化出猪血凝胶最佳热凝固条件。优化实验因素水平见表 1,由权重法确定持水力和回复性的权重均为 0.5,考虑实验结果数值的数量级,确定综合评分为: $Y_3 = 0.5 \times Y_1 + 0.5 \times Y_2 \times 100$ 。

1.2.6 持水力的测定 称量离心管的质量( $m_0$ ),将猪血凝胶样品放进离心管中,称离心管和样品的总质量( $m_1$ ),于 7600 r/min 转速下离心 10 min,分离液体后再次称离心管和样品的质量( $m_2$ ),每个样品做 3 个平行,按以下公式计算持水力(WHC):

$$WHC(\%) = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

表 1 优化实验因素水平

Table 1 Factors and levels of optimization exam

因素及水平				
编码值	A 纯血含量 (%)	B 加热温度 (°C)	C 加热时间 (min)	D NaCl 含量 (g/100 mL)
-1	80	90	15	3
0	85	92.5	17.5	3.5
1	90	95	20	4

式中:WHC-凝胶持水力(%); $m_0$ -离心管的质量(g); $m_1$ -离心前离心管与样品的质量总和(g); $m_2$ -离心后离心管与样品的质量总和(g)。

1.2.7 回复性的测定 以自制圆柱型模具分别从烧杯中取猪血凝胶样,切制成直径 13 mm、高 10 mm 的样品。采用 TA-XTplus 型质构分析仪进行 TPA 质构剖面分析,测定凝胶的回复性(Resilience)。回复性的定义为样品在第一次压缩过程中回弹的能力,是第一次压缩返回过程中样品所释放的弹性能与压缩时探头的耗能之比<sup>[17]</sup>。检测条件参数为:探头型号(P/36R-圆柱型平底探头)、测前探头下降速度(Pre-Test Speed)5 mm/s、测试中探头下降速度(Test Speed)1 mm/s、测试后探头上升速度(Post-Test Speed)5 mm/s、测试距离(Distance)2 mm、测试时间(Time)5 s。

## 2 结果及分析

### 2.1 热凝固单因素实验结果

2.1.1 纯血含量对持水力和回复性的影响 不同猪血含量的凝胶持水力和回复性的测定结果如图 1 所示,由图可见,随着纯猪血含量的增加,凝胶的持水力和回复性均明显地增大( $p < 0.05$ ),说明猪血蛋白含量越高,凝胶的持水力和回复性越好。猪血浆蛋白在加热的情况下蛋白变性,结构展开并发生分子间交联,进而聚集形成凝胶<sup>[13]</sup>。蛋白含量过低形成凝胶不稳定,水分易析出,血蛋白含量高的猪血浆由于加热交联形成的网络结构更加紧密,束缚水分的能力更强,所以形成的凝胶更加稳定<sup>[18]</sup>。但蛋白含量过高时,形成的凝胶质地较硬,口感较差,实验中发现当纯血含量在 80%~90% 时,凝胶弹性、触感较好,组织细腻光滑无孔洞。

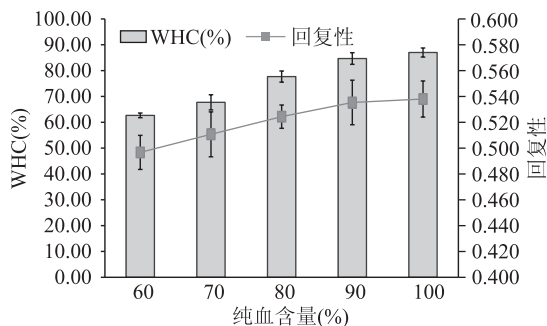


图 1 纯血含量对猪血凝胶的持水力和回复性的影响

Fig.1 The influence of pure blood content on the WHC and resilience of pig blood gel

### 2.1.2 加热温度对持水力和回复性的影响 温度对

猪血凝胶持水力和回复性影响的测定结果如图2所示。由图可见,随着温度的升高,凝胶的持水力显著地增大( $p = 0.006 < 0.05$ ),回复性随着温度的升高先增大后降低( $p = 0.02 < 0.05$ )。当温度低于80℃时,猪血蛋白不能完全凝固;85℃以下形成凝胶所需的时间较长,凝固后质地较软,易碎裂;90℃以上形成的凝胶结构稳定,蛋白凝固完全,持水力显著提升;当温度达到95℃时,回复性达到最大值,之后降低,且形成的凝胶弹性差,表面产生较多孔洞,内部组织粗糙。这一方面是由于温度升高可促进血蛋白快速凝结,保持水分,但另一方面,过高的温度使蛋白质老化变硬,凝胶回复性变差<sup>[19]</sup>。实验表明,较佳的加热温度为90~95℃。

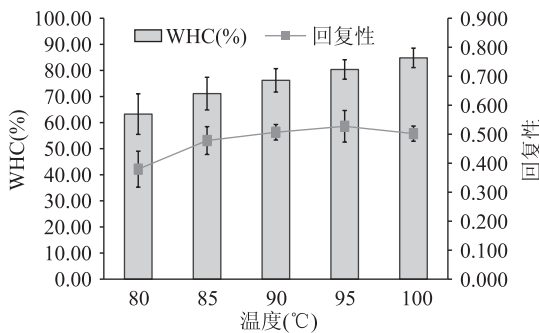


图2 温度对猪血凝胶的持水力和回复性的影响  
Fig.2 The influence of temperature on the WHC and resilience of pig blood gel

2.1.3 加热时间对持水力和回复性的影响 猪血凝胶持水力和回复性随时间的变化如图3所示,由图可知,持水力和回复性均随着加热时间延长而先增大后降低( $p < 0.05$ )。持水力在15 min时最高,而回复性在20 min时最大。加热时间短,猪血蛋白凝固不完全,形成的凝胶结构不稳定,持水力差。加热越长,蛋白凝固越完全,形成的凝胶质地越坚实。但时间过长使得蛋白质过度变性,形成的凝胶组织结构被破坏,且由于水分在高温下蒸发,使凝胶产生较多孔洞,变得坚硬而失去弹性,持水力也降低。实验结果显示,加热时间在15~20 min较为适宜。

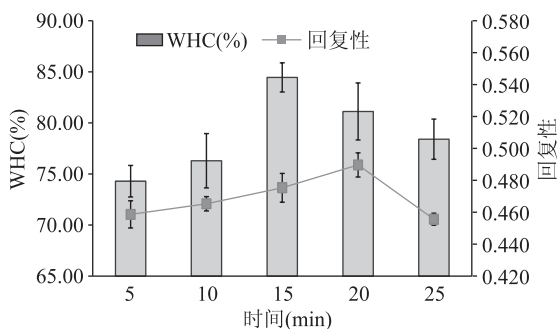


图3 加热时间对猪血凝胶的持水力和回复性的影响  
Fig.3 The influence of heating time on the WHC and resilience of pig blood gel

2.1.4 NaCl含量对持水力和回复性的影响 猪血凝胶持水力和回复性随NaCl含量的变化如图4所示,由图可见,持水力( $p = 0.022$ )和回复性( $p = 0.001$ )均

随着NaCl含量的增加先升高后降低( $p < 0.05$ )。持水力在NaCl含量为4 g/100 mL时最高,而回复性在3 g/100 mL时最大。这可能是由于NaCl中的Cl<sup>-</sup>提高了体系离子强度,从而加大猪血蛋白质之间的净电斥力,蛋白质网状结构松弛,持水力提高<sup>[4,19]</sup>;但当NaCl含量高于3 g/100 mL时,随着NaCl含量的增加,由于NaCl的水合作用较强而使蛋白质发生盐析作用而脱水<sup>[20]</sup>,凝胶内部组织变得松散,持水力降低,回复性也随之降低。实验结果显示,NaCl含量在3~4 g/100 mL左右较为适宜。

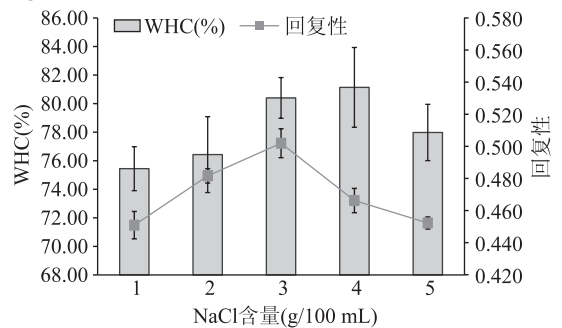


图4 NaCl含量对猪血凝胶的持水力和回复性的影响  
Fig.4 The influence of NaCl content on the WHC and resilience of pig blood gel

## 2.2 工艺条件优化结果及分析

在单因素实验结果基础上,以纯血含量、温度、时间及NaCl含量为影响因子,以持水力、回复性及综合评分为响应值,采用响应面法对猪血凝胶的热加工条件进行优化,实验结果见表2。对表2中各因素与响应值的关系进行拟合,结果的显著性分析见表3。

由表3中各项的p值显著性分析可见,B、C、D、BC、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>及D<sup>2</sup>的 $p < 0.05$ ,为显著项,各影响因子的显著性依次为D > B > C > A,即NaCl含量 > 加热温度 > 加热时间 > 纯血含量;由 $P_{BC} = 0.0490 < 0.05$ 可知,温度与时间之间存在交互作用;由 $P_{模型} = 0.0003 < 0.05$ , $P_{失拟项} = 0.9466 > 0.05$ ,结合相关系数 $R^2 = 0.8797$ 可知拟合模型可靠,可用于猪血凝胶工艺的优化。通过拟合建立的综合评分与各因素之间的拟合模型为:

$$\text{综合评分} = -1664.32775 + 8.57987A + 30.06473B - 7.86727C + 1.70533D + 0.04AB - 0.0236AC + 0.0725AD + 0.178BC + 0.095BD - 0.081CD - 0.070877A^2 - 0.19611B^2 - 0.16531C^2 - 1.80692D^2$$

其中,A为纯血含量,B为加热温度,C为加热时间,D为NaCl含量。

根据上述回归方程及温度与时间之间存在显著的交互作用,绘出温度与时间对综合评分影响的响应面图,如图5所示。此回归模型得出实验的最优处理条件为纯血含量86.05% (即血蛋白含量16.66 g/100 mL),加热温度95℃,加热时间20 min,NaCl含量4 g/100 mL,综合评价得分为69.03。通过验证实验,在此条件下处理的猪血凝胶持水力为88.21%,回复性值为0.511,综合评分为69.66,接近预测值,此条件下得到的猪血凝胶具有较好的凝胶



表2 响应面设计方案及结果  
Table 2 Design scheme and results of experiment

实验号	A 纯血含量 (%)	B 温度 (°C)	C 时间 (min)	D NaCl 含量 (g/100 mL)	Y <sub>1</sub> 持水力 (%)	Y <sub>2</sub> 回复性	综合评分
1	80	92.5	17.5	3	78.33	0.475	62.92
2	85	92.5	20	3	83.75	0.452	64.48
3	85	92.5	17.5	4	80.08	0.529	66.49
4	80	92.5	17.5	5	79.83	0.486	64.22
5	85	92.5	17.5	4	80.08	0.502	65.14
6	85	92.5	17.5	4	85.53	0.52	68.77
7	90	90	17.5	4	77.50	0.484	62.95
8	85	92.5	15	5	83.25	0.461	64.68
9	90	92.5	20	4	81.50	0.501	65.80
10	85	90	17.5	5	79.00	0.466	62.80
11	85	90	15	4	78.75	0.467	62.73
12	90	95	17.5	4	84.07	0.502	67.14
13	85	90	20	4	79.00	0.469	62.95
14	80	92.5	15	4	77.25	0.465	61.88
15	85	95	17.5	3	83.67	0.454	64.54
16	85	95	17.5	5	85.42	0.458	65.61
17	85	92.5	17.5	4	85.33	0.514	68.37
18	80	95	17.5	4	80.17	0.488	64.49
19	85	95	15	4	80.25	0.501	65.18
20	85	92.5	20	5	85.00	0.473	66.15
21	90	92.5	15	4	77.75	0.492	63.48
22	85	92.5	17.5	4	85.13	0.493	67.22
23	90	92.5	17.5	3	78.83	0.467	62.77
24	85	95	20	4	88.00	0.517	69.85
25	80	92.5	20	4	82.15	0.486	65.38
26	80	90	17.5	4	77.50	0.471	62.30
27	90	92.5	17.5	5	84.83	0.462	65.52
28	85	92.5	15	3	77.00	0.474	62.20
29	85	90	17.5	3	78.75	0.466	62.68

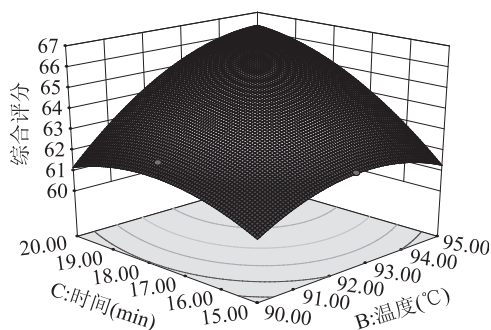


图5 温度与加热时间影响综合评分的响应面  
Fig.5 Response surface plot of effects combined of temperature and heating time on the score

特性。

### 3 结论

单因素实验结果表明:纯血含量增加,即猪血蛋白浓度越大,形成的凝胶结构越稳定,但过高的蛋白浓度使猪血凝胶组织过于致密,回复性降低,适宜的纯血含量范围为80%~90%;升高温度和延长加热时

间有利于猪血蛋白变性凝固,提高凝胶的持水力和回复性,但过高的温度和长时间加热使血蛋白变性过度,持水力和回复性降低,适宜的温度和时间范围为90~95 °C、15~20 min;添加适量的NaCl有利于提高体系离子强度,增大凝胶持水力,但高浓度的NaCl使蛋白发生盐析作用,持水力和回复性降低,适宜的NaCl含量为3~4 g/100 mL。

采用响应面法对纯血含量、加热温度、加热时间和NaCl含量进行Box-Behnken优化实验设计。实验表明,热加工条件下,各影响因子对猪血凝胶持水力和回复性综合评分的影响显著性大小依次为:NaCl含量>加热温度>加热时间>纯血含量,且温度与时间之间存在交互作用。通过拟合建立综合评分与各因素之间的拟合模型,得到猪血热凝固最佳工艺条件为:纯血含量86.05% (即血蛋白含量16.66 g/100 mL)、温度95 °C、加热时间20 min及NaCl含量4 g/100 mL。在此条件下处理的猪血凝胶持水力为88.21%,回复性值为0.511,综合评分为69.66,具有最佳的凝胶特性。

表3 回归模型方差分析  
Table 3 ANOVA for response surface quadratic model

方差来源	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值	p 值 Prob > F	显著性
模型	109.05	14	7.79	7.31	0.00	显著
A 纯血含量	0.094	1	0.094	0.088	0.77	
B 温度	6.42	1	6.42	6.02	0.03	
C 时间	5.94	1	5.94	5.58	0.0332	
D NaCl 含量	27.61	1	27.61	25.93	0.0002	
AB	1	1	1	0.94	0.3490	
AC	0.35	1	0.35	0.33	0.5766	
AD	0.53	1	0.53	0.49	0.4939	
BC	4.95	1	4.95	4.65	0.0490	
BD	0.23	1	0.23	0.21	0.6524	
CD	0.16	1	0.16	0.15	0.7006	
A <sup>2</sup>	20.37	1	20.37	19.12	0.0006	
B <sup>2</sup>	9.74	1	9.74	9.15	0.0091	
C <sup>2</sup>	6.92	1	6.92	6.5	0.0231	
D <sup>2</sup>	21.18	1	21.18	19.89	0.0005	
残差	14.91	14	1.07			
失拟项	6.33	10	0.63	0.29	0.9466	不显著
纯误差	8.58	4	2.15			
总差	123.96	28				
相关系数 R <sup>2</sup>				0.8797		
校正决定系数 AdjR <sup>2</sup>				0.7594		
预测相关系数 Pred R <sup>2</sup>				0.5978		
信噪比 Adeq Precision				9.480		

参考文献

[1] 郑召君, 张日俊. 畜禽血液的开发与研究进展[J]. 饲料工业, 2014, 35(17): 65-69.

[2] 孔凡春. 畜禽屠宰后血液的利用现状及前景[J]. 肉类工业, 2011(5): 46-49.

[3] 倪娜, 齐月, 穆莎茉莉, 等. 畜禽屠宰副产物附加值提升技术的研究与应用[J]. 黑龙江畜牧兽医(科技版), 2015(6): 67-70.

[4] 周光宏. 畜产品加工学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011, 49-50, 356-361.

[5] 于福满. 畜禽副产品加工现状和应用前景[J]. 肉类工业, 2010(2): 1-5.

[6] 王琳琳, 余群力, 曹晖, 等. 我国牛副产品加工利用现状及技术研究[J]. 农业工程技术-农产品加工业, 2015(6): 36-41.

[7] Jayathilakan K, Sultana Khudisia, Radhakrishna K, et al. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries[J]. Journal of Food Science and Technology, 2012, 49(3): 278-293.

[8] 雷雨, 夏文水, 姜启兴, 等. 猪血浆蛋白对鲢鱼鱼糜品质的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 14: 103-108.

[9] 蔡克周, 张立娟, 孔保华, 等. 猪血浆蛋白与大豆蛋白在乳化肠中的应用[J]. 食品研究与开发, 2010, 11: 44-47.

[10] 王尧, 张杰, 韩璐, 等. 鹅血食用价值及其深度开发的研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2013, 49(8): 68-72.

[11] 张莹, 雄伟, 衡柳青, 等. 猪血肠制作工艺的响应面法优化[J]. 成都大学学报(自科版), 2015, 34(4): 339-344.

[12] Toldrá Fidel, Aristoy M.- Concepción, Mora Leticia, et al. Innovations in value-addition of edible meat by-products[J]. Meat Science, 2012, 92(3): 290-296.

[13] 尧思华. 鸭血制备肉味风味物质的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2014.

[14] 孔保华, 张立娟, 刁新平. 影响猪血浆蛋白热诱导凝胶质构特性及持水性因素的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 75-80.

[15] 陈振林, 石忠志, 肖华党, 等. 影响猪血豆腐品质的主要因素探讨[J]. 肉类工业, 2010, 5: 21-25.

[16] 李翔. 猪血和鸭血豆腐质构分析(TPA)几种测试条件的确定[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2015, 11: 36-43.

[17] 张婷, 吴艳艳, 李来好, 等. 咸鱼品质的质构与感官相关性分析[J]. 水产学报, 2013, 37(2): 303-311.

[18] 倪娜. 羊血浆蛋白-肌原纤维蛋白复合凝胶形成的作用力分析[D]. 中国农业科学院, 2014.

[19] P Wang, X Xu, M Huang, et al. Effect of pH on heat-induced gelation of duck blood plasma protein[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 35(1): 324-331.

[20] 王鹏. 血液蛋白的凝胶性质及其对肌原纤维蛋白凝胶的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2010.