

复合微生物酸浆豆干发酵剂的影响因素分析

杨春华, 孙亚东, 霍靖雯, 张 娜^{*}

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 哈尔滨 150076)

摘要: 目的 分析副干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌3种商业菌株复配而成的复合发酵剂的影响因素。**方法** 选取乳糖添加量、黄浆水初始pH、乳酸菌接种量、培养温度、培养时间为考察因素,以产酸量为评价指标,进行正交实验并与单一发酵剂豆干比较。**结果** 各因素对产酸量的影响由大到小依次为培养温度、乳酸菌接种量、黄浆水初始pH值和乳糖添加量,其中培养温度对产酸量影响显著。发酵剂最优制作工艺为:菌种复配比例为副干酪乳杆菌:嗜酸乳杆菌:植物乳杆菌=1:1:2、乳糖添加量2%、黄浆水初始pH值5.5、乳酸菌接种量8%、培养温度37℃、培养时间60 h。**结论** 复合发酵剂豆干的出品率、质地、保水性、口感及感官评价上整体优于单一发酵剂豆干,本研究为酸浆豆干的工业化生产提供了理论依据。

关键词: 复合发酵剂; 酸浆豆干; 产酸量

Analysis of influencing factors of compound microbial fermented slurry dried bean curd starter

YANG Chun-Hua, SUN Ya-Dong, HUO Jing-Wen, ZHANG Na^{*}

(School of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the influencing factors of the compound starter made of *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Lactobacillus plantarum*. **Methods** The addition of lactose, the initial pH value of yellow syrup water, the inoculation amount of lactic acid bacteria, the culture temperature and culture time were selected as the investigation factors, the yield of acid was used as the evaluation index to conduct the orthogonal experiment and compared with the single starter dried soybean. **Results** The influence of various factors on the acid production of the starter in descending order was culture temperature, lactic acid bacteria inoculation amount, initial pH value of yellow syrup water and lactose addition amount. The culture temperature has a significant effect on acid production. The optimal production process was obtained as follows: the ratio of strains was *Lactobacillus paracasei:Lactobacillus acidophilus:Lactobacillus plantarum*=1:1:2, the amount of lactose added was 2%, the initial pH of yellow syrup water was 5.5, and the amount of lactic acid bacteria inoculate was 8%, the culture temperature was 37 ℃, and the culture time was 60 h. **Conclusion** The yield, texture, water retention, taste and sensory evaluation of compound fermented dried bean curd are better than those of single fermented bean curd. This study provides a theoretical basis for the industrial production of fermented slurry dried bean curd.

KEY WORDS: compound starter; fermented slurry dried bean-curd; acid production

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0400402)

Fund: Supported by the National Key R&D Program of China (2016YFD0400402)

*通信作者: 张娜, 博士, 教授, 主要研究方向为植物蛋白和粮食加工研究。E-mail: foodzhangna@163.com

*Corresponding author: ZHANG Na, Ph.D, Professor, Harbin University of Commerce, No.1, Xuehai Street, Songbei District, Harbin 150076, China. E-mail: foodzhangna@163.com

0 引言

豆干是东方人最喜欢的豆制品之一, 营养价值丰富, 随着消费者健康意识的增强, 全世界豆制品的消费量逐年升高^[1-2]。酸浆豆干是我国传统的豆制品, 色泽微黄, 质地细腻, 口感甘甜。制作工艺与卤水豆腐和石膏豆腐相类似但不同, 其区别在于凝固剂的使用种类^[3-5]。酸浆豆干是利用压制豆干产生的废水(黄浆水)发酵为酸浆进行点浆^[6]。黄浆水中含有较多乳酸菌产酸, 可降低pH至蛋白等电点, 使其凝固制成豆干^[7-8]。每生产1 kg豆干会产生9 kg黄浆水, 其中含有碳水化合物、氮化合物和矿物质等营养成分^[9]。然而我国酸浆豆干的生产模式大多为农村的家庭式作坊, 豆干质量受操作环境和技术经验影响较大。酸浆的发酵多为自然发酵, 相比于人为发酵含有较多的腐败杂菌^[10-11], 且发酵终点难以掌握, 多依据人工经验判断, 难以实现规模化生产^[12-13]。迄今为止, 研究者已从不同地区的天然发酵酸浆中分离出嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌和解淀粉乳杆菌等优势菌株。FEI等^[14]通过高通量测序研究酸浆样品发现, 乳酸菌是酸浆中的主要优势菌种, 占酸浆中菌群的95.31%, 而其他菌株含量仅为痕量。LI等^[15]从天然发酵的酸浆中分离出一株植物乳杆菌, 并将其发酵酸浆制作豆干, 其感官评分、品质优于其他传统豆干。利用安全的乳酸菌发酵黄浆水可减少酸浆内有害菌的滋生, 在保证利用黄浆水的同时又避免了黄浆水排放对环境造成的污染, 具有很好的营养前景^[16]。

本研究选用副干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌、植物乳酸菌3种商业菌复配制作复合发酵剂, 并对其影响因素进行分析。筛选最佳复配比例, 采用单因素结合正交实验考察乳糖添加量、黄浆水初始pH、乳酸菌接种量、培养温度、培养时间5个因素对复合菌发酵剂的影响, 并与单一菌种发酵剂的豆干进行质构、出品率、保水性及感官评价指标的比较, 旨在为乳酸菌酸浆豆干的推广和实现工业化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试剂与菌种

大豆: 东北非转基因大豆; 黄浆水: 实验室自制。

氢氧化钠(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 盐酸(分析纯, 哈尔滨市新达化工厂); 乳糖(食品级, 天津市东方卫生材料厂); MRS肉汤培养基(北京奥博星生物技术有限责任公司); 嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) (中国菌种保藏中心)。

1.1.2 仪器与设备

QYL 2t立式油压千斤顶(海盐县光耀机械厂);

FDM-Z100磨浆机(镇江新区大港晶晶食品机械厂); LDZX-50FBS立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂); DHP-9052电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司); TDZ5A-WS离心机(中科华辰实业有限公司); TA-XT2i质构仪(上海瑞玢智能科技有限公司); DHG-9123A电热鼓风干燥箱(上海科技有限公司); BS224S分析天平(德国赛多利斯科学有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 酸浆豆干加工工艺流程

参考张影等^[17]的加工工艺稍作修改。

(1) 工艺流程

大豆→清洗→浸泡12 h→磨浆→过滤→豆浆煮沸后持沸10 min→降温至80 °C点浆→蹲脑20 min→压制30 min→豆干成品。

(2) 工艺流程操作要点

清洗: 挑选颗粒饱满, 形状均匀的大豆于清水中清洗至无杂物, 无肉眼可见尘土;

浸泡: 将大豆浸泡在水中12 h, 待大豆吸水膨胀, 用手掰开后大豆子叶平整光滑, 无硬芯;

磨浆: 将浸泡好的大豆和流水匀速放入磨浆机中磨浆, 得到4.5倍干大豆质量的豆浆;

过滤: 将磨好的豆浆用纱布过滤, 防止豆渣残留;

煮浆: 将过滤好的豆浆于锅中煮沸并持沸10 min, 为防止豆浆糊锅, 煮浆过程中需不停地搅拌;

点浆: 待豆浆降温至80 °C时, 边搅拌边加入发酵剂, 直至出现均匀脑花;

蹲脑: 将点好的脑花放置80 °C水浴锅中蹲脑20 min;

压制: 将蹲好的脑花倒入豆腐模具中, 于1000 pa的压力下压制30 min, 即得到豆腐成品。

1.2.2 菌种复配比例的确定

将3种乳酸菌以2%(*V/V/V*)接种量接种到黄浆水中, 复配比例分别为副干酪乳杆菌:嗜酸乳杆菌:植物乳杆菌=1:1:1、1:1:2、1:2:3、2:1:2、2:2:3、2:3:1、3:1:3、3:2:1、3:3:2, 初始pH 5.5, 乳糖添加量4%, 在37 °C下培养60 h, 测定发酵剂的产酸量及pH值。

1.2.3 单因素实验

(1) 乳酸菌接种量对发酵剂产酸量的影响

将2%的乳糖添加到黄浆水中, 固定黄浆水初始pH值为5.5, 改变乳酸菌接种量分别为2%、4%、6%、8%、10%, 培养温度37 °C培养时间60 h, 测定发酵剂的产酸量。

(2) 黄浆水初始pH对发酵剂产酸量的影响

将2%的乳糖添加到黄浆水中, 调整黄浆水初始pH分别为5.0、5.5、6.0、6.5、7.0, 将乳酸菌以2%接种量接种于不同pH的黄浆水中, 培养温度37 °C, 培养时间60 h, 测定发酵剂的产酸量。

(3) 培养温度对发酵剂产酸量的影响

将 2% 的乳糖添加到黄浆水中, 固定黄浆水初始 pH 值为 5.5, 乳酸菌接种量 2%, 培养温度分别为 29、33、37、41、45 °C, 培养时间 60 h, 测定发酵剂的产酸量。

(4) 乳糖添加量对发酵剂产酸量的影响

将 0%、2%、4%、6%、8% 的乳糖添加到黄浆水中, 固定黄浆水初始 pH 值 6.0, 乳酸菌接种量 2%, 培养温度 37 °C, 培养时间 60 h, 测定发酵剂的产酸量。

(5) 培养时间对发酵剂产酸量的影响

将 2% 的乳糖添加到黄浆水中, 固定黄浆水初始 pH 值为 5.5, 乳酸菌接种量 2%, 培养温度 37 °C, 培养时间分别为 48、54、60、66、72 h, 测定发酵剂的产酸量。

1.2.4 正交实验

根据上述单因素实验结果, 设计四因素三水平的正交实验, 确定复合发酵剂最佳工艺条件。实验选取的因素及水平见表 1。

表 1 正交实验的因素与水平
Table 1 Factors and levels of orthogonal design

水平	A 乳酸菌接种量/%	B 黄浆水初始 pH 值	C 培养温度/°C	D 乳糖添加量/%
1	6	5.0	34	0
2	8	5.5	37	2
3	10	6.0	40	4

1.2.5 产酸量的测定

产酸量按照 GB/T 12456—2008《食品安全国家标准食品中总酸的测定》^[18]测定。

1.2.6 感官指标评价方法

感官评价表参考张影等^[17]制作豆腐感官评价表稍作修改, 本次感官评价采用百分制, 评价步骤及要求如下:

(1) 选择感官评价人员: 颁选 10 个具有食品专业知识且对豆干的加工制作和特性都比较了解的教师和学生, 组成评定小组, 对实验制成的豆干按如下感官指标进行评价。按照感官评价标准表 2 进行打分。

(2) 豆干感官评价方法: 将压制好的豆干整块放入冰箱内冷藏 12 h, 在感官评价开始前, 将豆干从冰箱内拿出恢复至室温, 并把豆干切成 5 cm×5 cm×3 cm 的小块^[19]。在感官评价室中请感官评价人员对豆干试样进行感官测评, 评价标准见表 2, 本次感官评价主要对豆干的色泽、风味、口感、结构和总体可接受性进行评分。

色泽: 通过观察豆干的颜色从而判断豆干色泽方面的好坏, 其等级分为黄、淡黄、白, 最高分不超过 20 分。

风味: 通过品尝和闻来判断试样是否具有豆制品所独有的豆香味, 其等级分为豆香味清淡、浓郁豆香味、酸涩味, 最高分不得超过 20 分。

口感: 因豆干为豆花压制的产物, 入口后会有颗粒感, 故在感官评价过程中, 口感的评价标准应包括硬度、饱密度、细腻度。因此在评价时, 应综合三项打分, 最高分不得超过 20 分。

结构: 主要考察组织结构是否致密, 弹性和韧性是否良好, 最高不超过 20 分。

总体的可接受性: 综合以上几点, 对所评价的豆干进行评分, 得到研究人员认为品质最好的豆干, 满分 20 分。

1.2.7 豆干质构测定

用质构仪分别对不同乳酸菌制得的酸浆豆干的硬度、弹性、咀嚼性 3 个指标进行质构分析^[20~22]。测定时将豆干切成 2 cm×2 cm×1 cm 规格的立方体, 采用 P35 圆柱形探头测定豆干的质构特性。质构测定参数设定如下: 采用全质构分析(texture profile analysis, TPA)二次下压的方法, 设定测前、中、后速度分别为 2.00、1.00、2.00 mm/s, 目标模式形变 30%, 触发力为 5.00 g。

表 2 感官评价表
Table 2 Sensory evaluation list

项目	评分标准		
色泽 (20 分)	豆干表面平滑, 光亮均一, 颜色呈白色或乳白色 (16~20 分)	豆干表面平整, 颜色呈淡黄色 (11~15 分)	豆干表面无光泽, 颜色呈黄色 (0~10 分)
风味 (20 分)	豆香味浓郁无异味 (16~20 分)	豆香味清淡, 有淡淡豆腥味 (11~15 分)	略带酸味、苦涩 (0~10 分)
口感 (20 分)	口感细腻、劲道且无颗粒感, 无涩味 (16~20 分)	口感较细腻、略带涩味 (11~15 分)	口感无韧性、粗糙, 有涩味 (0~10 分)
结构 (20 分)	断面光滑细腻, 组织结构均匀 (16~20 分)	光滑细腻, 组织结构较均匀、空隙较小 (11~15 分)	断面粗糙, 内部空隙大小不一 (0~10 分)
总体可接受性 (20 分)	很好 (16~20 分)	一般 (11~15 分)	不好 (0~11 分)

1.2.8 豆干出品率测定

精准称量制作好的豆干冷却至室温, 计算出每千克干豆得到的新鲜豆干质量, 即为豆干的出品率^[23~24], 豆干出品率计算见公式(1)。

$$\text{豆干出品率}(\%) = \frac{\text{鲜豆干质量}}{\text{大豆质量}} \times 100 \quad (1)$$

1.2.9 豆干保水性测定

保水性是豆干的重要品质指标之一^[25], 表示豆干中所能保持的水分含量。准确称取 2 g(精确到 0.0001 g)豆干, 置于底部有脱脂棉的 50 mL 离心管中, 1000 r/min 转速离心 10 min, 称重并记离心后豆干样品质量为(M_1 , g), 将离心豆干样品置于 105 °C 下干燥至恒重记质量为(M , g)。豆干保水性计算见公式(2)。

$$\text{保水性}(\%) = \frac{M_1 - M}{M_1} \times 100 \quad (2)$$

1.2.10 数据处理

所得数据均进行 3 次重复实验取平均值, 采用 Excel 2010 和 IBM SPSS Statistics13 进行数据处理与统计分析。

2 结果与分析

2.1 菌种复配比例的确定

如图 1 可知, 不同复配比例对发酵剂的产酸量有不同影响, 在其他培养条件相同的情况下, 3 种乳酸菌的不同混合比例下发酵剂的 pH 在 3.62~4.08 之间, 在 1:1:2 比例下的发酵剂产酸量最高, pH 较低, 可能是因为乳酸菌在此比例下刚好能够协同作用, 共同发酵产酸。故选择 1:1:2 比例为最佳复配比。

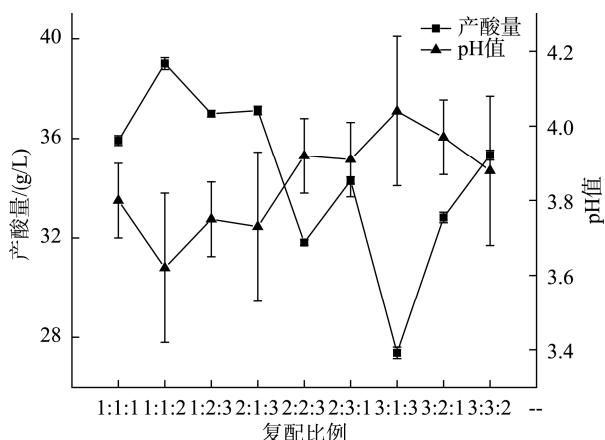


图 1 复配比例对发酵剂产酸量的影响($n=3$)

Fig.1 Effect of mixed proportions on acid production of starter ($n=3$)

2.2 单因素实验

2.2.1 乳糖添加量对发酵剂产酸量的影响

乳糖是促进乳酸菌生长繁殖、延长菌群生长稳定期的

碳源^[26]。如图 2 所示, 随着乳糖添加量的增加, 发酵剂产酸量呈先上升后下降的趋势, pH 呈先下降后上升趋势, 当乳糖添加量为 2% 时发酵剂产酸量最高为 38.70 g/L, 此时 pH 为 3.59; 乳糖添加量为 4%~6% 时发酵剂产酸量呈下降趋势, pH 呈上升趋势; 当乳糖添加量为 6%~8% 时发酵剂产酸量和 pH 趋于平稳。原因可能是当乳糖添加量为 2% 时发酵剂内的碳氮源促进了乳酸菌发酵, 代谢速度得到提高; 当乳糖添加量增加到 6% 时, 发酵剂内碳氮源已经满足此时菌群生长所需; 当添加量到 8% 时, 发酵剂中碳氮源比例变化改变其渗透压, 影响菌群生长^[27]。综上所述, 选择乳糖添加量为 2% 进行后续研究。

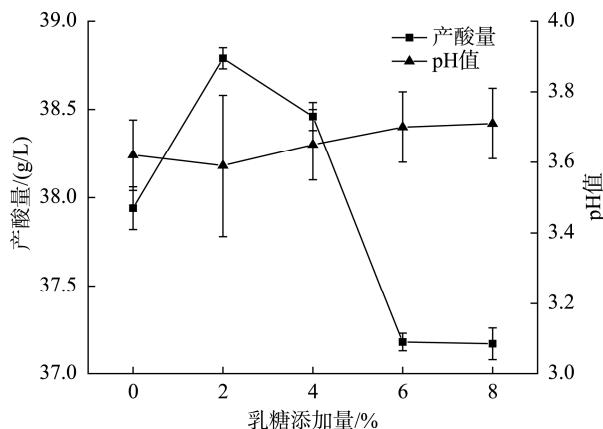


图 2 乳糖添加量对发酵剂产酸量的影响($n=3$)

Fig.2 Effect of the amount of lactose added on acid production of starter ($n=3$)

2.2.2 黄浆水初始 pH 对发酵剂产酸量影响

黄浆水初始 pH 值会影响菌群的生长及产酸效果^[28]。如图 3 所示, 随着黄浆水初始 pH 值的升高, 发酵剂的产量呈先上升后下降趋势, pH 值呈先下降后升高的趋势。当发酵剂初始 pH 为 5.5 时, 发酵剂产酸量最高为 39.62 g/L, pH 为最低为 3.62; 当发酵剂初始 pH 为 6.5 时发酵剂产酸量呈下降趋势; 当发酵剂初始 pH 为 7 时产酸量和 pH 值均趋于平稳。原因可能是当初始 pH 为 5.5 时的酸度环境适合乳酸菌生长, 促进产酸; 当初始 pH 为 6.5 时, 发酵剂 pH 值过高, 不能满足乳酸菌生长的需求, 产酸量减少; 当黄浆水初始 pH 为 7 时, pH 接近中性, 此时的发酵剂 pH 直接影响乳酸菌生长繁殖, 原因可能是偏酸环境下更适宜乳酸菌生长。综上所述, 选择黄浆水初始 pH 值为 5.5 进行后续研究。

2.2.3 乳酸菌接种量对发酵剂产酸量的影响

接种量影响乳酸的积累, 进而直接影响发酵速度^[29]。如图 4 所示, 随着乳酸菌接种量的增加, 发酵剂的产酸量呈先上升后下降趋势, pH 呈先下降上升趋势。当乳酸菌接种量为 2%~8% 时, 发酵剂产酸量不断上升, pH 不断下降; 当乳酸菌接种量为 8% 时, 产酸量最大为 40.14 g/L, pH 最低为 3.67。原因可能是当乳酸菌接种量为 2%~6% 时, 发酵剂中碳氮源含量

高, 渗透压使乳酸菌产酸速度慢, 当乳酸菌接种量为 8% 时, 环境中的乳糖等营养物质满足乳酸菌的需要; 当乳酸菌接种量为 10% 时, 发酵剂内菌种数量多, 碳氮源无法满足其生长需要。综上所述, 选择接种量为 8% 进行后续研究。

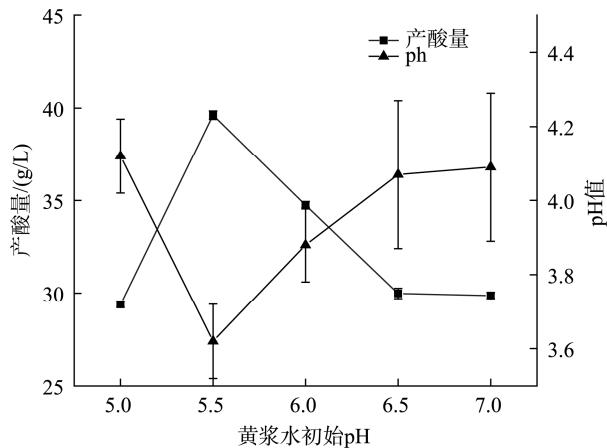


图 3 黄浆水初始 pH 对发酵剂产酸量的影响($n=3$)

Fig.3 Effect of the initial pH value of yellow syrup water on acid production of starter ($n=3$)

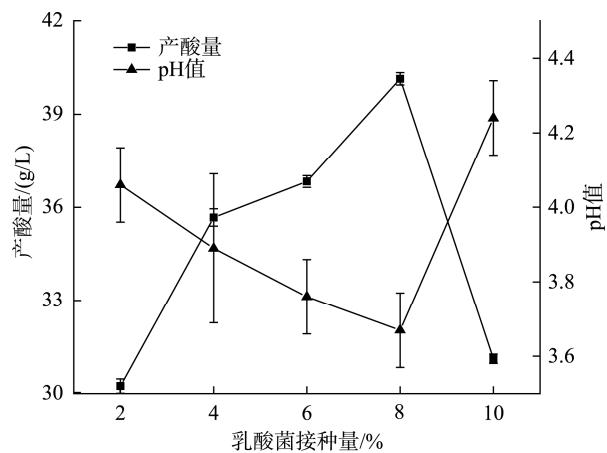


图 4 乳酸菌接种量对发酵剂产酸量的影响 ($n=3$)

Fig.4 Effect of inoculation amount of *Lactobacillus* inoculum on acid production of starter ($n=3$)

2.2.4 培养温度对发酵剂产酸量的影响

培养温度对乳酸菌的生长起着至关重要的作用, 不同温度下乳酸菌的繁殖速度不同, 发酵黄浆水的速度也不同^[30]。如图 5 所示, 随着培养温度的不断升高, 发酵剂的产酸量呈先上升后下降趋势, pH 值呈先下降后升高趋势。当培养温度从 29 °C 升至 37 °C 时, 发酵剂的产酸量不断升高, pH 值不断下降; 当培养温度为 37 °C 时, 发酵剂的产酸量最大为 40.03 g/L, pH 值均达到谷值为 3.65, 说明乳酸菌在此温度下能够很好的生长繁殖; 当培养温度从 37 °C 升至 45 °C 时, 发酵剂的产酸量下降, pH 值不断升高。可能是因为温度过高不适于乳酸菌的生长。当培养温度为 29 和

45 °C 时, 乳酸菌发酵剂的产酸量明显低于培养温度为 33、37、41 °C 的产酸量, 说明培养温度在一定范围内能够促进乳酸菌的生长, 但超过这一范围则会限制其生长。综上所述, 选择培养温度为 37 °C 进行后续研究。

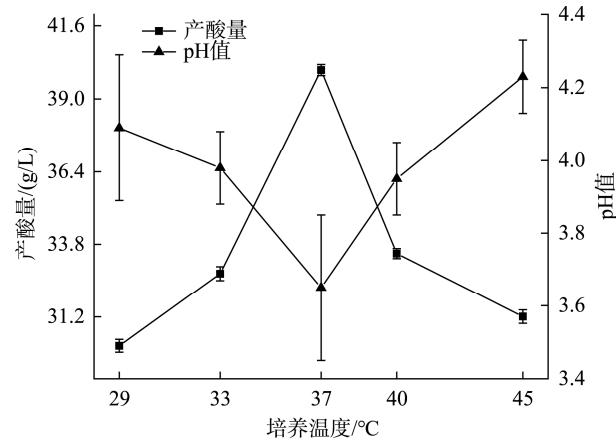


图 5 培养温度对发酵剂产酸量的影响($n=3$)

Fig.5 Effect of culture temperature on acid production of starter ($n=3$)

2.2.5 培养时间对发酵剂产酸量的影响

乳酸菌发酵时间过长会使整体微生物呈现衰亡现象^[31]。如图 6 所示, 随着培养时间的增加, 发酵剂产酸量呈上升趋势, pH 值呈下降趋势。当培养时间为 48~54 h 时, 发酵剂产酸量呈上升趋势, pH 值呈下降趋势, 说明乳酸菌在发酵产酸, 发酵剂的 pH 值符合豆干凝固的要求。但发酵时间过短, 不利于乳酸菌产香, 黄浆水的苦涩味不易消除; 当培养时间增加至 60 h 时, 产酸量最高为 39.38 g/L, pH 达到最低点 3.63; 当培养时间增加到 66~72 h 时, 发酵剂产酸量和 pH 变化不大, 可能是因为黄浆水中营养物质不能满足菌群生长, 而且发酵时间过长菌群会出现衰亡现象, 发酵剂状态不稳定^[29]。综上所述, 考虑到时间成本, 选择培养时间在 60 h 进行后续研究。

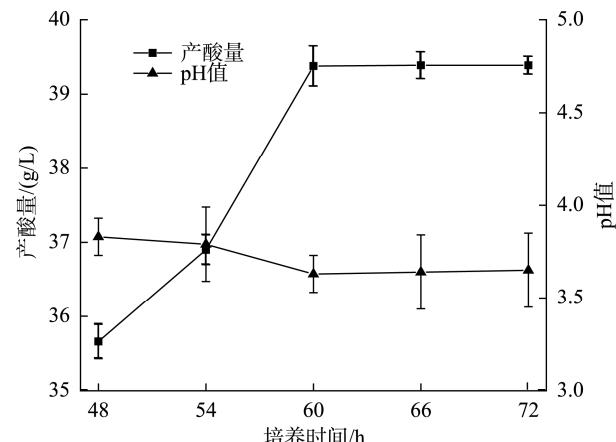


图 6 培养时间对发酵剂产酸量的影响($n=3$)

Fig.6 Effect of culture time on acid production of starter ($n=3$)

2.3 正交实验结果

在单因素实验的基础上, 以乳酸菌接种量、黄浆水初始 pH 值、培养温度、乳糖添加量为实验因素, 设计四因素三水平正交实验, 选出复合微生物发酵剂的最优培养条件。正交实验结果见表 3, 方差分析见表 4。

表 3 正交实验设计及结果
Table 3 Orthogonal experimental design and results

序号	A	B	C	D	产酸量/(g/L)
1	1	1	1	1	36.78
2	1	2	2	2	39.41
3	1	3	3	3	38.66
4	2	1	2	3	38.57
5	2	2	3	1	39.05
6	2	3	1	2	37.54
7	3	1	3	2	38.05
8	3	2	1	3	36.74
9	3	3	2	1	38.17
k_1	38.283	37.800	37.020	38.000	
k_2	38.387	38.400	38.717	38.333	
k_3	37.653	38.123	38.587	37.990	
R	0.734	0.600	1.679	0.343	
因素主次: C>A>B>D					
最优方案: $A_2B_2C_2D_2$					

表 4 发酵剂产酸量的方差分析

Table 4 Analysis of variance of fermentation

差异来源	离差平方和	自由度	F 值	$F_{0.05}$	显著性
A	0.945	2	4.127	19.000	
B	0.541	2	2.362	19.000	
C	5.350	2	23.362	19.000	*
D	0.229	2	1.000	19.000	
误差	0.23	2			

注: *表示差异显著, $P<0.05$ 。

由表 3 可知, 各因素对发酵剂产酸量的影响大小依次为 C (培养温度)> A (乳酸菌接种量)> B (黄浆水初始 pH 值)> D (乳糖添加量), 根据 k 值可确定最优组合是 $A_2B_2C_2D_2$, 即为培养温度 37 °C、乳酸菌接种量 8%、黄浆水初始 pH 值 5.5、乳糖添加量 2%。由表 4 可知, 在 $\alpha=0.05$ 条件下, 培养温度的 F 值为 23.362, 大于 $F_{0.05}(19.000)$, 说明温度对发酵剂的产酸量有显著影响。综上所述, 本研究的最优水平组合为 $A_2B_2C_2D_2$ 。

2.4 感官评价

豆干作为一种备受消费者欢迎的食品, 其感官特性直接决定着豆干的可接受性^[32]。如表 5 所示, 复合发酵剂制作出的豆干风味、结构、口感和总体可接受度方面优于其他 3 种单菌发酵剂, 综上所述, 复合发酵剂制作出的豆干感官方面明显优于其他单菌发酵剂制作的豆干。

2.5 豆干出品率测定结果

豆干的出品率是生产中重要的商业指标, 出品率越高, 说明发酵剂品质越好^[33-34]。如表 6 所示, 复合发酵剂制作的豆干出品率高于其他单菌发酵剂制作的豆干。综上所述, 复合发酵剂提高了豆干的出品率。

表 5 豆干感官评价表
Table 5 Sensory assessment form of fermented tofu

发酵剂种类	色泽	风味	口感	结构	总体可接受	总分
嗜酸乳杆菌发酵剂	17.33±0.43	17.21±0.51	17.66±0.87	13.51±0.39	17.68±0.16	82.18±1.44
植物乳杆菌发酵剂	16.35±0.71	16.38±0.26	16.28±0.97	11.37±0.33	12.51±0.19	71.24±0.87
副干酪乳杆菌发酵剂	18.27±0.21	15.57±0.38	15.39±0.58	10.29±0.16	10.66±0.25	68.26±0.94
复合发酵剂	18.55±0.37	19.39±0.46	19.17±0.78	18.47±0.37	19.24±0.31	93.63±0.88

表 6 豆干出品率比较
Table 6 Comparison of yield rate of fermented tofu

发酵剂种类	豆干出品率/%
嗜酸乳杆菌发酵剂	148.75±3.77
植物乳杆菌发酵剂	152.64±2.58
副干酪乳杆菌发酵剂	145.85±4.91
复合发酵剂	176.47±5.33

2.6 豆干质构测定结果

质构是衡量豆干品质最重要的指标^[35], 本研究选取了硬度、咀嚼性、弹性作为主要参数来判断复合防腐剂与单一防腐剂之间的优劣。如表 7 所示, 复合防腐剂的硬度和咀嚼性明显大于其他 3 种单株乳酸菌发酵剂制作出的豆干。复合发酵剂制作豆干的硬度比吕博等^[26]用双菌凝固剂制作豆干的硬度高。在弹性方面复合发酵剂制作出的豆干

虽然同其他 3 种单株乳酸菌发酵剂制作的豆干差别不大, 但并不影响复合凝固剂整体口感。若豆干硬度小、咀嚼性差、弹性差, 则会导致豆干吃起来口感差, 豆干过于松散、易碎、食用不便, 也不便于二次加工烹调。本研究制作的复合微生物发酵剂, 不仅保证了豆干自身的香气, 还相对加大了豆干的硬度、咀嚼性和弹性, 使豆干不易破碎, 保持了豆干完整性, 易于烹调^[36]。综上所述, 复合发酵剂制作的豆干在质构方面优于其他单菌发酵剂制作的豆干。

表 7 豆干质构比较

Table 7 Textural characteristics of fermented tofu

发酵剂	硬度/gf	咀嚼性/gf	弹性
嗜酸乳酸杆菌发酵剂	726.67±37.59	828.76±97.35	0.93±0.02
植物乳酸杆菌发酵剂	1816.00±78.93	2175.43±103.67	0.95±0.01
副干酪乳杆菌发酵剂	683.33±35.87	736.80±85.14	0.89±0.03
复合发酵剂	2803.33±97.13	3151.89±99.57	0.96±0.02

3 结论与讨论

本研究以东北非转基因大豆为原料, 选用副干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌 3 种商业菌复配作为发酵剂并通过单因素结合正交实验进行影响因素分析, 其中培养温度对产酸量有显著影响。得到的最佳工艺条件为副干酪乳杆菌、嗜酸乳酸杆菌和植物乳酸杆菌的比例 1:1:2, 培养温度 37 °C、乳酸菌添加量 8%、黄浆水初始 pH 值 5.5、乳糖添加量 2%、培养时间 60 h。在此条件下, 酸浆豆干出品率、质地、保水性及感官评分达到最优, 具有推广食用价值, 本研究为乳酸菌酸浆豆干的推广和工业化生产提供了实践参考。

参考文献

- [1] ROSSI F, FELIS GE, MARTINELLI A, et al. Microbiological characteristics of fresh tofu produced in small industrial scale and identification of specific spoiling microorganisms (SSO) [J]. LWT-Food Sci Technol, 2016, 70: 280–285.
- [2] QIAO ZH, CHEN XD, CHENG YQ, et al. Microbiological and chemical changes during the production of acidic whey, a traditional Chinese tofu-coagulant [J]. Food Prop, 2010, 13(1): 90–104.
- [3] SHI YG, YANG Y, PIEKOSZEWSKI W, et al. Influence of four different coagulants on the physicochemical properties, textural characteristics and flavour of tofu [J]. Int J Food Sci Technol, 2020, 55(3): 1218–1229.
- [4] PRABHAKARAN MP, PERERA CO, VALIYAVEETTILALI S. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu [J]. Food Chem, 2006, 99(3): 492–499.
- [5] CAO FH, LI XJ, LUO SZ, et al. Effects of organic acid coagulants on the physical properties of and chemical interactions in tofu [J]. LWT-Food Sci Technol, 2017, 85: 58–65.
- [6] YAN S, LIU H, ZHANG J, et al. *Lactobacillus delbrueckii* is the key functional microorganism of natural fermented tofu sour water involved in the traditional coagulation of Chinese Huizhou Mao-tofu [J]. LWT-Food Sci Technol, 2020, 131: 109706.
- [7] CHUA JY, LU Y, LIU SQ. Evaluation of five commercial non-Saccharomyces yeasts in fermentation of soy (tofu) whey into an alcoholic beverage [J]. Food Microbiol, 2018, 76: 533–542.
- [8] GRYGORCZYK A, CORREDIG M. Acid induced gelation of soymilk, comparison between gels prepared with lactic acid bacteria and glucono- δ -lactone [J]. Food Chem, 2013, 141(3): 1716.
- [9] HAN W, JIA JD, YI QD, et al. Effects of lactic acid bacteria fermented yellow whey on the protein coagulation and isoflavones distribution in soymilk [J]. Food Chem, 2021, 334: 127484.
- [10] SERRAZANETTI DI, NDAGIJIMANA M, MISEROCCHI C, et al. Fermented tofu: Enhancement of keeping quality and sensorial properties [J]. Food Control, 2013, 34(2): 336–346.
- [11] LEED Y, KWON KH, CHAI C, et al. Microbial contamination of tofu in Korea and growth characteristics of *Bacillus cereus* isolates in tofu [J]. LWT-Food Sci Technol, 2017, 78: 63–69.
- [12] 贺云. 豆腐酸浆中乳酸菌的分离鉴定及其在酸浆豆腐中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- [13] HE Y. The isolation and identification of lactic acid bacteria from naturally fermented tofu whey and the application of the strains in the acidic whey tofu [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018.
- [14] 乔支红, 同佳, 陈虹, 等. 酸浆标准化生产工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(12): 162–164, 169.
- [15] QIAO ZH, YAN J, CHEN H. Research on the standard technology of acid whey [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(12): 162–164, 169.
- [16] FEI YT, LI L, CHEN LY, et al. High-throughput sequencing and culture-based approaches to analyze microbial diversity associated with chemical changes in naturally fermented tofu whey, a traditional Chinese tofu-coagulant [J]. Food Microbiol, 2018, 76: 69–77.
- [17] LI C, RUI X, ZHANG YH, et al. Production of tofu by lactic acid bacteria isolated from naturally fermented soy whey and evaluation of its quality [J]. LWT-Food Sci Technol, 2017, 82, 227–234.
- [18] BELÉN F, BENEDETTI S, SÁNCHEZ J, et al. Behavior of functional compounds during freeze concentration of tofu whey [J]. J Food Eng, 2013, 116: 681–688.
- [19] 张影, 刘志明, 刘卫, 等. 酸浆豆腐的工艺研究[J]. 农产品加工(学刊), 2014, (4): 21–23, 26.
- [20] ZHANG Y, LIU ZM, LIU W, et al. Processing technology of acid slurry bean curd [J]. Acad Periodical Farm Prod Process, 2014, (4): 21–23, 26.
- [21] GB/T 12456—2008 食品安全国家标准 食品中总酸的测定[S].
- [22] GB/T 12456—2008 National food safety standard-Determination of total acid in food [S].
- [23] JUN JY, JUNG MJ, JEONG IH, et al. Effects of crab shell extract as a coagulant on the textural and sensorial properties of tofu (soybean curd) [J]. Food Sci Nutr, 2019, 7(2): 547–553.
- [24] LI JP, WANG KL, GAO YT, et al. Effect of thermal treatment and pressure on the characteristics of green soybean tofu and the optimization conditions of tofu processing by TOPSIS analysis [J]. LWT-Food Sci Technol, 2017, 85: 58–65.

- Technol, 2021, (136): 1–6.
- [21] ADITYA I, KATTOHARDJONO S. Effect of pH of coagulant on the treatment of wastewater from tofu industry [J]. EDP Sci, 2018, 67(5): 04006.
- [22] ZHU Q, WU F, SAITO M, et al. Effect of magnesium salt concentration in water-in-oil emulsions on the physical properties and microstructure of tofu [J]. Food Chem, 2016, 201: 197–204.
- [23] ZUO F, CHEN Z, SHI X, et al. Yield and textural properties of tofu as affected by soymilk coagulation prepared by a high-temperature pressure cooking process [J]. Food Chem, 2016, 213: 561–566.
- [24] ZHAO YY, CAO FH, LI XJ, et al. Effects of different salts on the gelation behaviour and mechanical properties of citric acid-induced tofu [J]. Int J Food Sci Technol, 2020, 55(2): 785–794.
- [25] DARMAJANA DA, AFIFAH N, INDRIAH A. The effect of extraction method and types of coagulants on the results and physicochemical properties of tofu [J]. Ciênc Tecnol Al, 2020, (3): 101–106.
- [26] 吕博, 黎晨晨, 刘宁, 等. 双菌发酵黄浆水制备豆腐凝固剂培养条件优化[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 212–216.
- LV B, LI CC, LIU N, et al. Optimization of culture conditions for yellow serofluid fermented by double lactobacillus to prepare organic acid coagulant [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(2): 212–216.
- [27] 赵贵丽, 罗爱平, 廖娅凡, 等. 酸浆最适自然发酵条件优化[J]. 食品科学, 2013, 34(17): 201–204.
- ZHAO GL, LUO AP, LIAO YF, et al. Optimization of natural fermentation conditions for yellow serofluid [J]. Food Sci, 2013, 34(17): 201–204.
- [28] CHUA JY, LIU SQ. Soy whey: More than just wastewater from tofu and soy protein isolate industry [J]. Trends Food Sci Technol, 2019, (91): 24–32.
- [29] 乔明武, 田洁, 赵秋艳, 等. 用响应曲面法优化发酵黄浆水制备豆腐凝固剂的工艺[J]. 江西农业学报, 2014, 26(3): 85–89, 100.
- QIAO MW, TIAN J, ZHAO QY, et al. Optimization of technologies for preparation of tofu coagulator with fermented tofu whey by using response surface method [J]. Acta Agric Jiangxi, 2014, 26(3): 85–89, 100.
- [30] WANG Y, YANG X, LI L. A new style of fermented tofu by *Lactobacillus casei* combined with salt coagulant [J]. 3 Biotech, 2020, 10(2): 1–8.
- [31] 李娟娟. 酸浆豆腐加工工艺的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020.
- LI JJ. Study on processing technology of physalis tofu [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020.
- [32] REKHA CR, VIJAYALAKSHMI G. Influence of processing parameters on the quality of soycurd (tofu) [J]. J Food Sci Technol, 2013, 50(1): 176–180.
- [33] LI M, CHEN FS, YANG B, et al. Preparation of organic tofu using organic compatible magnesium chloride incorporated with polysaccharide coagulants [J]. Food Chem, 2015, 167(15): 168–174.
- [34] JIN XH, CHEN C, GUO ST, et al. Analysis on physicochemical and sensory qualities of soymilk prepared by various cultivars: Application of fuzzy logic technique [J]. J Food Sci, 2020, 85(6): 1635–1641.
- [35] LIU S, QIAO J. Bacterial diversity of Anshun sufu, a traditional fermented tofun in Guizhou province of China [J]. Trans Tianjin Univ, 2019, 25(5): 497–503.
- [36] YUAN S, CHANG SK. Texture profile of tofu as affected by instron parameters and sample preparation, and correlations of instron hardness and springiness with sensory scores [J]. J Food Sci, 2007, 72(2): 136–145.

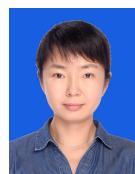
(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



杨春华, 博士, 副教授, 主要研究方向为大豆加工技术研究。

E-mail: yangchunhua25295@126.com



张娜, 博士, 教授, 主要研究方向为植物蛋白和粮食加工研究。

E-mail: foodzhangna@163.com