

冷榨豆粉凝胶特性及其在千页豆腐制作中的应用

姜永鹏, 刘娟, 朱颖, 夏晓雨, 廉文涛, 朱秀清*

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 哈尔滨 150028; 2. 黑龙江省普通高校食品科学与工程重点实验室, 哈尔滨 150028)

摘要: **目的** 研究不同加热温度(90、95、100°C)、不同加热时间(20、30、40、50、60 min)对冷榨豆粉凝胶特性的影响及其在千页豆腐中的应用。**方法** 以凝胶强度和持水性为指标探究冷榨豆粉凝胶特性; 以黏度、储能模量和损耗模量为指标探究冷榨豆粉凝胶在热处理过程中流变学特性变化。采用单因素实验和响应面优化实验对冷榨豆粉基千页豆腐加工工艺进行优化, 探讨不同冷冻条件对其品质影响。**结果** 热处理使冷榨豆粉分散液形成弹性凝胶(储能模量大于损耗模量)。冷榨豆粉凝胶黏性、储能模量、损耗模量、随着加热温度的升高及加热时间的延长而增加, 凝胶强度和持水性同样随之增加, 且分别在 100°C加热 90 min 处达到最大 [(130.57±0.02) g、0.99 g/g]。经优化得出冷榨豆粉基千页豆腐最佳工艺条件为: 冷榨豆粉添加量 100.00 g、冰水添加量 575.00%、谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TG)添加量 1.64%、大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)添加量 46.00%。优化后的冷榨豆粉基千页豆腐的硬度为 2271.24 g, 弹性为 0.95。在-18 和-45°C两种冷冻温度下, 千页豆腐中结合水(T_{2b})含量整体随着冷冻时间的延长而减小, 弛豫时间缩短, 凝胶网络中的水受到限制。不易流动水(T_{21})弛豫时间随着冷冻时间的增加先增加后减小, 且分别在冷冻 7 和 3 d 处达到最大。**结论** 热处理会对冷榨豆粉凝胶特性产生积极的影响。冷冻会使冷榨豆粉基千页豆腐内部结构中的更多结合水向自由水转移, 使冷榨豆粉基千页豆腐结构疏松, 孔径变大。

关键词: 冷榨豆粉; 凝胶强度; 凝胶持水性; 流变学特性; 千页豆腐

Properties of cold-pressing soybean meal gel and its application in the production of Chiba tofu

JIANG Yong-Peng, LIU Juan, ZHU Ying, XIA Xiao-Yu, LIAN Wen-Tao, ZHU Xiu-Qing*

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China; 2. Key Laboratory of Food Science and Engineering of Heilongjiang University, Harbin 150028, China)

ABSTRACT: Objective To study the effects of different heating temperatures (90, 95, 100°C) and different heating times (20, 30, 40, 50, 60 min) on the properties of cold-pressing soybean meal gel and its application in Chiba tofu. **Methods** The strength and water holding capacity of gel were used as indexes to investigate the properties of cold-pressing soybean meal gel; the rheological properties of cold-pressing soybean meal gel during heating treatments were investigated with viscosity, storage modulus and loss modulus as indexes. Single factor experiment and response surface optimization were used to optimize the processing technology of Chiba tofu based on

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2021ZX12B04)

Fund: Supported by the Science and Technology Major Project of “Baiwan” Project of Heilongjiang Province (2021ZX12B04)

*通信作者: 朱秀清, 硕士, 教授, 主要研究方向为蛋白质化学与大豆深加工。E-mail: xqzhuwang@163.com

*Corresponding author: ZHU Xiu-Qing, Master, Professor, College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, No.1, Songbei Road, Songbei District, Harbin 150028, China. E-mail: xqzhuwang@163.com

cold-pressing soybean meal and explore the effects of different freezing conditions on its qualities. **Results** The cold-pressing soybean meal solution could form elastic gel (storage modulus was greater than loss modulus) by heating treatment. The viscosity, storage modulus and loss modulus of cold-pressing soybean meal gel increased with increase of heating temperatures and times. The strength and water holding capacity of gel also increased and reached the maximum [(130.57±0.02) g, 0.99 g/g] at 100°C for 90 min, respectively. The optimal conditions of Chiba tofu based on cold-pressing soybean meal were following: Cold-pressing soybean meal addition of 100.00 g, ice water addition of 575.00%, transglutaminase (TG) addition of 1.64%, and soy protein isolate (SPI) addition of 46.00%. The hardness and elasticity of optimized Chiba tofu based on cold-pressing soybean meal were 2271.24 g and 0.95, respectively. The overall content of bound water (T_{2b}) in Chiba tofu and relaxation time decreased with the extension of freezing time and water in gel network was restricted at -18 and -45°C. The relaxation time of non-flowing water (T_{21}) increased first and then decreased with the increase of freezing time and reached the maximum at 7 and 3 d, respectively. **Conclusion** Heat treatment has a positive effect on the properties of cold-pressing soybean meal gel. Freezing can transfer more bound water in the internal structure of Chiba tofu based on cold-pressing soybean meal to free water, so that its structure becomes loose and pore size becomes larger.

KEY WORDS: cold-pressing soybean meal; gel strength; gel water holding capacity; rheological property; Chiba tofu

0 引言

大豆是全球种植范围最广的油料作物之一,其包含约 30%~40%的蛋白质和 20%的油脂,是我国人们日常生活所需油脂的主要来源。丰富的油脂含量使大豆成为榨取油脂的主要原料。目前,提取大豆油脂的方法主要有物理冷榨法(液压压制和螺杆冷榨)和溶剂萃取法。溶剂萃取法对人体健康和环境会造成一定程度的危害,因此,在生产工业油和食品油时常采用物理冷榨法^[1]。冷榨豆粉是大豆原料经物理冷榨提取油脂后剩余的脱脂豆粕,其蛋白质含量约占总体的 50%,且与其他植物蛋白相比,其氨基酸组成更加均衡,被认为是最好的植物蛋白来源之一^[2]。然而,冷榨豆粉目前主要用于动物饲料制备^[3-4]和大豆分离蛋白的再提取等,直接作为原料在食品领域并未得到广泛应用。

冷榨豆粉是优良的蛋白质来源,将其作为食品的原材料,既可以降低生产成本,又可以提高产品的营养价值。李晶晶^[5]发现冷榨豆粉可以有效地提高馒头的白度和比容并且能降低馒头的硬度。王逢秋等^[6]直接以冷榨豆粉为原料,通过添加 $MgCl_2$ 与谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TG)作为蛋白胶凝剂制备豆腐,以普通卤水豆腐为对照,发现冷榨豆粉豆腐具有更高的持水性和更牢固的凝胶网络结构。INGRASSIA 等^[7]对冷榨豆粉进行不同时间、不同湿度的温和热处理(60°C)后发现,其冷凝胶的性质随时间发生变化,说明冷榨豆粉可用于开发具有不同流变特性的新型豆腐产品。

千叶豆腐是以大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)为主要原料, TG、淀粉等为辅料制成的一种豆制品。与传统豆腐相比,其不仅营养丰富,而且口感更脆、更有弹性,

具有较高的吸汁能力^[8-9]。然而,千叶豆腐的品质易受到 SPI 变化的影响^[10],导致其口感、硬度和弹性变差^[11-12]。冷榨豆粉的优势能够为千叶豆腐品质的提升提供参考。目前,人们对于冷榨豆粉的研究多集中在不同凝固剂对其凝胶形成影响及动物饲料方面的应用^[13]。研究表明,大豆蛋白经过适度变性可以增强其凝胶性、乳化性等加工性能^[14],大豆经过冷榨,在高压高剪切的作用下大豆蛋白发生一定的变性。热处理是食品加工的主要手段,也是改善大豆蛋白品质的重要方法^[15],目前关于热处理对冷榨豆粉形成凝胶相关性质研究较少,探究热处理对冷榨豆粉凝胶形成的影响,可以为冷榨豆粉的应用提供更多参考。

基于此,本研究以冷榨豆粉为原料,探究热处理对冷榨豆粉凝胶持水性、凝胶强度及流变学特性的影响。并将冷榨豆粉和 SPI 组合,通过添加 TG 作为蛋白胶凝剂进行千叶豆腐制作,采用单因素实验和响应面优化实验对冷榨豆粉基千叶豆腐加工工艺进行优化,并探究冷冻对其品质的影响,为拓展冷榨豆粉应用范围提供了一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

冷榨豆粉(中国黑龙江八旗粮油有限公司)。

TG (120 U/g, 嘉兴市东圣生物科技有限公司); SPI (纯度 98%, 哈高科大豆食品有限责任公司)。

1.2 仪器与设备

AL-104 型精密电子天平(0.0001 g, 上海梅特勒-托利多仪器设备有限公司); HH-4 型恒温水浴锅(常州金坛良友仪器有限公司); DK-8B 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验

设备有限公司); BCD-218 冰箱(博西华家用电器有限公司); TA.newplus 质构仪(上海瑞玆智能科技有限公司); MCR 型流变仪(奥地利安东帕公司); NMI20-015V-I 低场核磁共振成像分析仪(苏州纽迈电子科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 热诱导冷榨豆粉凝胶制备

将冷榨豆粉溶于蒸馏水中, 制成质量浓度为 15 mg/mL 的分散液, 对其进行不同温度(90、95、100°C)、不同时间(20、30、40、50、60 min)加热处理, 加热完成后, 冷却至室温, 即为热诱导冷榨豆粉凝胶(以下简称为: 热诱导凝胶样品), 放于 4°C 冰箱储存。

1.3.2 凝胶质构测定

将 1.3.1 制备好的热诱导凝胶样品置于 25°C 恒温水浴中平衡 1 h, 利用 TA.newplus 质构仪测定其凝胶强度。测定条件为: 探头类型为 P/36, 测前速度 1 mm/s, 测试速度 1 mm/s, 测后速度 10 mm/s, 测定距离为 4 mm, 触发类型为自动。

1.3.3 凝胶持水性测定

参照盖晴晴^[6]的测定方法并稍做修改, 称取热诱导凝胶样品 0.5 g 置于预先称重的 10 mL 离心管中, 加入 5 mL 去离子水, 振荡使其混匀, 40°C 恒温水浴锅中保温 30 min, 以 4000 r/min 离心 30 min 后, 去除上层未吸附的水, 称重。根据公式(1)计算持水性:

$$\text{持水性} = (W_1 - W_2) / W_0 \quad (1)$$

式中: W_0 为凝胶样品的质量, g; W_1 为离心管、样品及水的总质量, g; W_2 为离心后离心管加沉淀的总质量, g。

1.3.4 流变特性测定

使用流变仪测定热诱导凝胶样品流变学特性。测定条件: 选择直径 60 mm、1° 的平板并设定上下探测平行板距离 1 mm, 使板间完全充满溶液, 擦去多余溶液并在平板顶部涂一层硅油以防止样品水分蒸发。

动态应变扫描: 温度 45°C, 频率 1 Hz, 应变范围 0~1%, 以确定线性黏弹区(linear viscoelasticity, LVR)。频率扫描: 将热诱导凝胶样品置于平板上, 温度 25°C, 扫描频率 0.1~10 Hz, 测定储能模量、损耗模量。

设置温度 25°C, 在 0.001~1000 s⁻¹ 剪切速率范围内测定冷榨豆粉凝胶黏度-剪切速率曲线。

1.3.5 千页豆腐制作

将冷榨豆粉与 SPI 混合均匀, 向其中加入冰水, 加热至煮沸, 冷却, 搅拌机中搅拌, 加入 TG, 混匀, 装盘静置熟化, 于 4°C 冰箱冷藏。

(1) 单因素实验

采用单因素实验的方法, 以感官评分和质构(硬度和弹性)为指标, 原料冷榨豆粉的添加量为 100 g, 考察冰水添加量(560%、580%、600%、620%、640%)、TG 添加量(1.40%、1.60%、1.80%、2.00%、2.20%)、SPI 添加量(42%、44%、46%、48%、50%) 3 个单因素, 确定冷榨豆粉基千页豆腐的较优工艺水平。

(2) 响应面实验

在单因素实验的基础上, 以 TG 添加量(A)、冰水添加量(B)和 SPI 添加量(C)为自变量, 以感官评分为响应面实验的响应值, 利用 Box-Behnken 设计原理, 进行 3 因素 3 水平实验, 确定冷榨豆粉基千页豆腐的最佳加工工艺。响应面实验因素及水平如表 1 所示。

表 1 响应面设计因素与水平表
Table 1 Response surface design factors and levels

水平	因素		
	A/%	B/%	C/%
-1	1.40	560	44
0	1.60	580	46
1	1.80	600	48

1.3.6 感官评分测定

根据 GB 2712—2014《食品安全国家标准 豆制品》制定评分标准。选择 10 名对食品感官特性敏感、辨别能力较强的人员, 分别对产品的色泽、风味、口感、组织状态、弹性进行感官评分^[17]。产品感官品质评价内容及评分标准如表 2 所示。

表 2 产品感官品质评价内容及评分标准
Table 2 Evaluation contents and scoring standards of product sensory quality

评价标准	具体特征描述	评分
色泽(20分)	色泽为乳白色且有光泽	15~20
	色泽为乳白色且略发黄	8~14
	色泽较黄	1~7
风味(20分)	无豆腥味且有浓浓的豆香味	15~20
	无豆腥味且有淡淡的豆香味	8~15
	有豆腥味且无豆香味	1~7
口感(20分)	细腻、光滑、有一定的嚼劲	15~20
	较细腻、光滑、稍有嚼劲	8~14
	粗糙、无嚼劲	1~7
组织状态(20分)	气孔细腻且分布均匀	15~20
	出现部分大气孔	8~14
	气孔分布不均匀且粗糙	1~7
弹性(20分)	弹性好、韧性强、挤压不断裂	15~20
	略有弹性和韧性, 挤压不断裂	8~14
	无弹性和韧性, 挤压破裂	1~7

1.3.7 质构测定

将最优条件下制成的千页豆腐切成 5 cm×5 cm×5 cm 的形状用于质构检测。采用全质构(texture profile analysis, TPA)类型。测试类型为下压, 目标模式为形变, 测试前速度为 2.00 mm/s, 测试速度为 1.00 mm/s, 测试后速度为 1.00 mm/s。选用 P/36 探头。

1.3.8 低场核磁共振检测

低场核磁共振(low-field nuclear magnetic resonance, LF-NMR)是一种测量弛豫时间(T_2)的技术, 可以用来评估千页豆腐产品内部水分分布和凝胶网络微观结构的具体信息。利用低场核磁共振成像分析仪测定冷榨豆粉基千页豆

腐在不同冷冻条件下横向弛豫时间反演谱,进而分析其内部的水分存在状态及迁移规律。

测试时仪器温度为 $(32\pm 0.01)^{\circ}\text{C}$ 。将最优条件下制成的千页豆腐切为 $2\text{ cm}\times 1\text{ cm}\times 5\text{ cm}$ 规格的条状,放入核磁管中。使用 CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill)脉冲序列测定样品的 T_2 值。Q-CPMG 序列参数: 谱仪频率(spectrometer frequency, SF)=18 MHz; 漂移频率(offset 1, O_1)=430274.70 Hz; 90 度脉宽(pulse 1, P_1)=14.00 μs ; 时间点数据(time data, TD)=265196 ms; 重复采样等待时间(time wait, TW)=3000.000 ms; 180 度脉宽(pulse 2, P_2)=29.00 μs ; 回波个数(number of echoes, NECH)=6000; 采样带宽(sampling bandwidth, SW)=200 kHz; 射频延时(regulate first data, RFD)=0.008 ms; 数字增益(regulate digital gain 1, DRG1)=3; 回波时间(echo time, TE)=0.221 ms; 重复采样次数(number sampling, NS)=16。

1.4 数据处理

所有实验重复 3 次,采用 Design Expert 13、Excel 2016 软件进行实验设计和数据分析,结果取平均值,采用 SPSS 19.0 进行显著性分析,以 $P<0.05$ 表示有显著性差异,并用 Origin 2019 软件进行绘图。

2 结果与分析

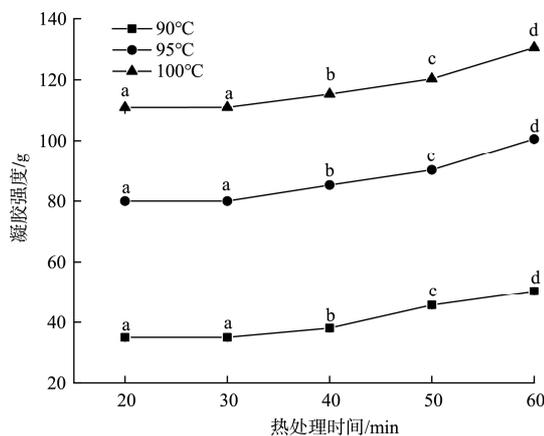
2.1 热诱导对冷榨豆粉凝胶强度的影响

蛋白质受热后发生变性,分子之间的相互作用力发生改变,使蛋白质发生聚集,形成凝胶,且强度会受热处理条件影响发生变化。如图 1 所示,加热温度为 90°C 时,蛋白质分子链展开程度较小,凝胶强度较低,当加热温度为 100°C 时,蛋白质分子结构展开,巯基暴露,凝胶强度增大,60 min 处达到最大(130.57 ± 0.02) g。在 3 种加热温度下,加热时间从 20 min 增加到 30 min 时,凝胶强度变化不显著($P>0.05$),这可能是由于较短的加热时间使蛋白质的分子结构展开较慢,导致凝胶的形成速率较慢;加热时间从 30 min 增加到 60 min,蛋白质分子链完全展开,蛋白质形成较强的凝胶网络结构^[18-19],使凝胶强度显著增强。

2.2 热诱导对冷榨豆粉凝胶持水性的影响

持水性代表凝胶体系中蛋白质和水的相互作用,是凝胶的关键特征之一。如图 2 所示,各种热处理条件下凝胶持水性具有显著差异($P<0.05$),随着加热温度和加热时间的增加,凝胶的持水性呈增加趋势, 100°C 加热 60 min 时达到最大值(0.99 ± 0.02) g/g。持水性的改善可能与凝胶结构强度的增强有关,伴随着热变性程度的增强,聚集体和粒径随之增加,加强了凝胶网络,使水能够有效地结合在凝胶网络中^[20-21];另一方面,适当的凝胶形成速率使其能够形成更加均匀的网络结构,从而增强蛋白质和水之间的相互作用,提高持水性;SPI 聚集体还会截留更多的水,导致凝胶持水性增强。URBONAITE 等^[22]研究发现,凝胶结构对持水性有显著影

响。同样,WANG 等^[23]通过研究蛋白质聚集体的大小和含量对 CaSO_4 诱导的 SPI 溶液凝胶流变学和结构特性的影响,发现凝胶的持水性随 SPI 聚集体含量的增加显著提高($P<0.05$)。ZHAO 等^[18]通过研究预热大豆蛋白的不同变性程度和聚集体大小对 CaSO_4 诱导凝胶的影响,发现凝胶硬度和持水性与大豆蛋白的聚集体大小和变性程度成正比。



注:不同小写字母表示同一温度不同热处理时间之间存在显著性差异, $P<0.05$,下同。

图 1 热诱导对冷榨豆粉凝胶强度的影响($n=3$)

Fig. 1 Effects of heating inductions on the strengths of cold-pressing soybean meal gel ($n=3$)

2.3 热诱导对冷榨豆粉凝胶流变学的影响

由图 3 可知,不同加热温度条件下,加热不同时间(20、30、40、50、60 min)的冷榨豆粉凝胶黏度均随剪切速率增大而减小,表现为假塑性流体,呈剪切变稀的非牛顿流体性质。李向红^[24]研究表明,蛋白质构象改变使体系呈现假塑性流体。此外,聚集体的分子量对流体黏度有一定的影响^[25]。由图 3 可知,冷榨豆粉凝胶黏度随着 3 种加热温度的升高和加热时间的延长而增大。这是因为高温使蛋白质产生严重变性,其分子内氢键断裂,蛋白质转为无序状态,溶液中形成形状不规则、半径比较大的蛋白质聚集颗粒相互碰撞,阻碍流动,使溶液的黏度增大^[26]。

由于本研究所得到的储能模量和损耗模量结果均呈增大趋势,以下仅列出冷榨豆粉乳液在 3 种加热条件下加热 20 和 60 min 所形成凝胶的储能模量和损耗模量结果,如图 4 所示。

储能模量主要表示蛋白形成凝胶网络的弹性特征,在热处理过程中,随着频率的增加,冷榨豆粉凝胶储能模量与损耗模量变化趋势相似,且储能模量大于损耗模量,表明热处理过程中冷榨豆粉分散液形成弹性凝胶。冷榨豆粉凝胶储能模量随着加热温度的升高和加热时间的增加而增大,这是因为加热过程中蛋白从天然状态转变为

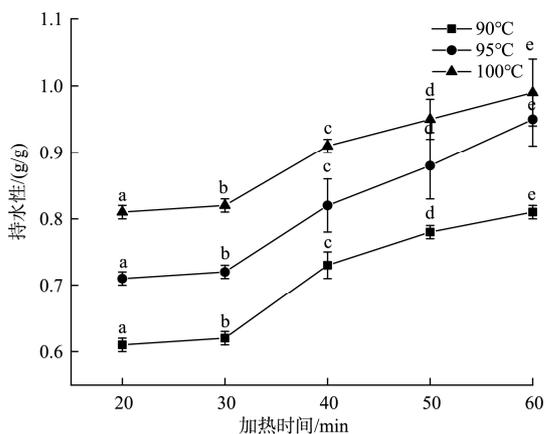


图 2 热诱导对冷榨豆粉凝胶持水性的影响(n=3)

Fig.2 Effects of heating induction on the water holding capacities of cold-pressing soybean meal gel (n=3)

无序状态, 蛋白质聚集体显著增加, 颗粒增大, 增加了由聚集体为结构单元构成的凝胶网络弹性, 使冷榨豆粉凝胶储能模量增大^[27]。CHEN 等^[28]通过研究大豆蛋白聚集的情况, 发现大豆蛋白聚集体随着加热温度的升高显著增加, 凝胶的储能模量随之增大, 与本研究结果一致。蛋白形成凝胶的能力与蛋白质的聚集状态具有重要的关系。因此, 蛋白在不同热处理过程中发生的不同聚集模式可能会对蛋白的凝胶性质起到较大影响。温度升高后冷榨豆粉凝胶储能模量变大, 可以推测热处理过程中蛋白结构发生改变, 使其形成聚集体, 促进了蛋白质形成交互凝胶结构, 并通过氢键、疏水相互作用和范德华力等非共价键来加强稳定, SPERONI 等^[19]通过研究连续高压和热处理诱导大豆蛋白凝胶的形成, 发现经 Ca^{2+} 和高压处理 SPI 形成了大聚集体, 在疏水相互作用下促进了储能模量的增加。

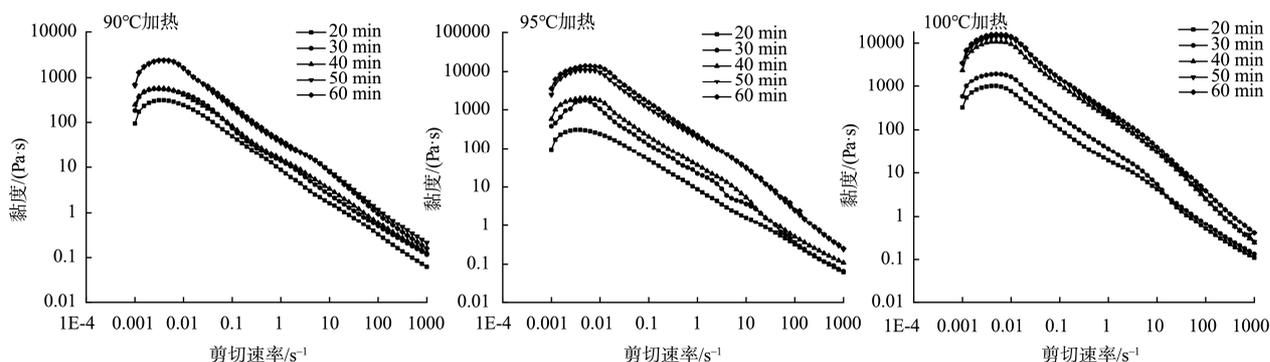


图 3 不同处理冷榨豆粉凝胶黏度-速率曲线

Fig.3 Viscosity-rate curves of cold-pressing soybean meal gel with different treatments

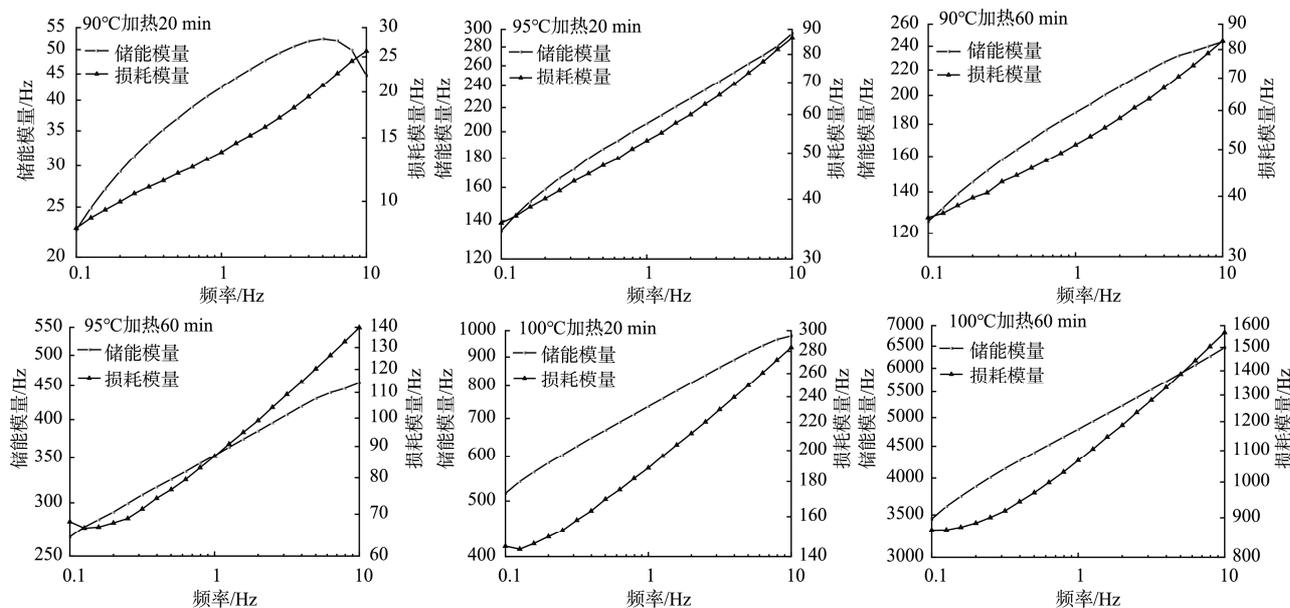


图 4 不同处理冷榨豆粉凝胶储能模量与损耗模量

Fig.4 Storage modulus and loss modulus of cold-pressing soybean meal gel with different treatments

2.4 单因素实验结果分析

2.4.1 冰水添加量对千页豆腐品质特性的影响

冰水添加量由 560% 增加到 640%，冷榨豆粉基千页豆腐硬度、弹性和咀嚼性先增大后减小；当冰水添加量为 580% 时，其硬度、弹性和咀嚼性达到最大值，分别为 (2220.00 ± 15.00) g、 (0.96 ± 0.00) 、 (2623.60 ± 50.00) g。当冰水添加量较小时，冷榨豆粉基千页豆腐硬度较大，冰水添加量增大后，蛋白质浓度减小，使其形成的凝胶网络结构降低。感官评分表明，冰水添加量达到 580%，所制作的冷榨豆粉基千页豆腐得分最高，为 81.20 分，豆腐品质较好。综上，选择 560%、580%、600% 冰水添加量进行响应面优化实验。

2.4.2 TG 添加量对千页豆腐品质特性的影响

TG 添加量由 1.40% 增加到 2.20%，冷榨豆粉基千页豆腐硬度、弹性和咀嚼性先增大后减小，其中当 TG 添加量为 1.60% 时，产品的硬度、弹性和咀嚼性最好，分别为 (1992.80 ± 20) g、 0.96 ± 0.00 、 (2355.36 ± 60.01) g，TG 添加量对千页豆腐的硬度和咀嚼性影响较大。石天臣等^[29]发现 TG 会催化蛋白质及肽键中谷氨酰胺残基 γ -羰基和伯胺之间酰基的转移，增加 SPI 的交联使产品的弹性增强。当 TG 添加过量时，使更多的蛋白质与之交联形成凝胶网络结构，导致其刚性增强，削弱凝胶网络的可弯曲程度，使千页豆腐的弹性、硬度和咀嚼性降低^[30]。感官评分表明，TG 添加量达到 1.60%，所制作的冷榨豆粉基千页豆腐得分最高，为 81.60 分，豆腐品质较好。综上，选择 1.40%、1.60%、1.80% TG 添加量进行响应面优化实验。

2.4.3 SPI 添加量对千页豆腐品质特性的影响

SPI 添加量由 42% 增加到 46%，冷榨豆粉基千页豆腐硬度、弹性和咀嚼性逐渐增大至最大值，由于蛋白质含量增加导致其形成的凝胶增多，网状结构致密^[31]。王喜波等^[32]研究了 SPI 与千页豆腐品质特性的关系，结果表明蛋白质的网状结构会在较大程度上影响千页豆腐的硬度、弹性和咀嚼性，适度的 SPI 添加量与千页豆腐的品质呈正相关，过多或过少的 SPI 添加量会对产品不利影响。感官评分表明，SPI 添加量达到 46%，所制作的冷榨豆粉基千页豆腐得分最高，为 78.40 分，豆腐品质较好。综上，选择 44%、46%、48% 的 SPI 添加量进行响应面优化实验。

2.5 响应面实验结果分析

2.5.1 响应面实验设计与实验结果

响应面实验结果如表 3 所示。以感官评分为响应值，利用 Design Expert 13 软件对实验数据进行多元回归拟合，得到感官评分(Y)对 TG 添加量(A)、冰水添加量(B)、SPI 添加量(C)的二次多项回归模型： $Y = 89.88 + 3.49A - 1.38B + 0.19C + 1.87AB + 0.004AC + 0.52BC - 5.57A^2 - 2.29B^2 - 3.81C^2$ ，相关系数 $r^2 = 0.9931$ ，表明因变量和自变量之间线性关系显著，回归方程拟合度较高。模型校正决定系数 $R^2_{adj} = 0.9843$ ，表明该模型能解释 98.43% 响应值变化，数据结果可靠。

表 3 Box-Behnken 实验设计与结果

Table 3 Box-Behnken test design and results

实验组	A	B	C	感官评分
1	0	0	0	89.5
2	0	-1	1	84.7
3	0	0	0	90.4
4	0	0	0	89.9
5	0	1	-1	81.8
6	-1	0	-1	76.4
7	0	-1	-1	85.3
8	0	0	0	90.1
9	1	0	-1	84.3
10	1	-1	0	84.7
11	0	0	0	89.5
12	1	1	0	85.4
13	-1	1	0	75.6
14	0	1	1	83.3
15	1	0	1	84.6
16	-1	0	1	76.7
17	-1	-1	0	82.4

2.5.2 模型的建立及方差分析

如表 4 所示，由 F 检验可知 A、B、C 3 个因素对感官评分的影响显著性为 $A > B > C$ ，即 TG 添加量 > 冰水添加量 > SPI 添加量。综合分析该模型达到显著水平 ($P < 0.0001$)，失拟性不显著 ($P = 0.1006$)，表明该方程对实验拟合性较好，可以对不同条件下的感官评分进行预测。变异系数是衡量每个平均值偏离情况的参数，其值越小，重复性越好，该模型的变异系数为 0.71，在可接受范围内。

2.5.3 最佳加工工艺配方的响应面分析与优化

图 5 为各因素交互作用对产品感官评分影响的响应面图与等高线图。由图 5 可知，当 TG 添加量在 1.4~1.8%、冰水添加量在 580%~600% 时，感官评分在中心点附近存在极大值。随着 TG、冰水添加量增大，产品感官评分呈现先增大后减小的趋势。由此可知适当增大 TG、冰水添加量有利于感官评分的提高。由图 5 等高线图可知，其成椭圆形，表明 TG 添加量和冰水添加量的交互作用对产品感官评分的影响极其显著，与方差分析结果一致。

表 4 评分模型的方差分析表

Table 4 Table of scoring model variance analysis

来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	362.77	9	40.33	112.46	<0.0001	显著
A	97.30	1	97.30	271.30	<0.0001	显著
B	15.13	1	15.13	42.17	0.0003	显著
C	0.28	1	0.28	0.78	0.4052	不显著
AB	14.06	1	14.06	39.21	0.0004	显著
AC	0.000	1	0.00	0.00	1.0000	不显著
BC	1.10	1	1.10	3.07	0.1230	不显著
A ²	130.40	1	130.40	363.58	<0.0001	显著
B ²	22.08	1	22.86	1.57	0.0001	显著
C ²	61.28	1	61.28	170.87	<0.0001	显著
残差	2.51	7	0.36			
失拟性	1.90	3	0.63	4.17	0.1006	不显著
纯误差	0.61	4	0.15			
总误差	365.50	16				

2.5.4 验证实验

根据回归方程对实验结果进行优化, 得到冷榨豆粉基千页豆腐的最优工艺条件为: 冷榨豆粉添加量 100.00 g、冰水添加量 575.22%、TG 添加量 1.64%、SPI 添加量 46.15%, 此工艺条件下冷榨豆粉基千页豆腐感官评分为 90.45。为检测预测结果的可靠性, 考虑到实际情况, 将冷榨豆粉基千页豆腐的最佳制作条件修正为: 冷榨豆粉添加量 100.00 g、冰水添加量 575.00%、TG 添加量 1.64%、SPI 添加量 46.00%。

采用上述最佳制作条件进行 3 次验证实验, 豆腐色泽呈乳白色且有光泽, 无豆腥味且有浓浓的豆香味, 气孔分布较均匀, 口感细腻, 有一定的嚼劲, 弹性好、韧性强、挤压不易断裂, 其硬度为 2271.24 g, 弹性为 0.95, 得到感官评分为 89.88±0.60, 与预测结果接近, 表明模型可靠。

2.6 冷冻对冷榨豆粉基千页豆腐水分分布的影响

根据 LF-NMR 衰减曲线拟合发现 T_2 弛豫时间分布在 3 个峰中, 分别对应结合水(T_{2b})、不易流动水(T_{21})、自由水(T_{22}), 其可以评估蛋白质凝胶系统中部分水分子的流动性和结构特性^[33-34]。 T_{2b} 所占比例较小, 弛豫时间为 1.53 到 2.74 ms, 被认为是与蛋白质聚合物紧密结合的水, 甚至可能是蛋白质的一部分^[35]。 T_{21} 是较小凝胶网络孔隙中的水, 弛豫时间为 32.90~49.40 ms, 而位于较大凝胶网络孔隙中的自由水 T_{22} 弛豫时间为 166.00~471.00 ms, 不受蛋白质结构影响。

通常, 由于水受到周围环境的影响, 凝胶网络结构会影响奶酪和豆腐等非均质系统中的横向水质子弛豫时间, 较慢的弛豫时间表明凝胶形成过程中分子流动性降低^[36]。

由表 5 和图 6 可知, 在-18 和-45℃温度下, T_{2b} 弛豫时间整体随着冷冻时间的延长而减小, 且与冷冻时间 1 d 相比, -18℃冷冻 9 d 的 T_{2b} 弛豫时间下降至(7.21±0.32) ms, -45℃冷冻 5 d 的 T_{2b} 弛豫时间下降至(4.33±0.01) ms, 说明凝胶网络中的水受到限制。由此可知, 降低冷冻温度可缩短水受到限制的时间。 T_{2b} 弛豫时间降低可能是由于凝胶形成期间蛋白质之间的交联增强, 蛋白质网络结构中孔隙逐渐变小, 导致水的流动性降低。千页豆腐的三维网络结构由不同大小孔隙组成。冷冻使千页豆腐三维网络结构孔隙变的更加不均匀。LI 等^[37]的研究表明, 冰晶的形成和大豆蛋白的冷冻变性促进了水更复杂多样的变化。YASUI 等^[38]发现, 与弛豫时间较短的结合水和不易流动水相比, 弛豫时间较长的自由水与大分子结合更松散。

在两种冷冻温度下(-18、-45℃)冷榨豆粉基千页豆腐样品的 T_{21} 弛豫时间随着冷冻时间的增加先增加后减小, 且分别在冷冻 7 和 3 d 处达到最大, 这是因为样品在冷冻过程中形成了大量冰晶, 这些冰晶升华会造成各种大小的孔隙, 增加千页豆腐内部孔隙的大小, 从而使结构更加疏松。由表 5 可知, -18、-45℃冷冻温度下峰面积 M_{22} 随着冷冻时间增加先增加后减小, -18℃的冷冻温度下, 冷冻时间达到 13 d 的 M_{22} 恢复到冷冻时间为 1 d 的情况。表明千页豆腐中的自由水再次向不易流动水转移。 M_{22} 的增大表明冷冻会使冷榨豆粉基千页豆腐的内部结构中的更多不易流动水向自由水转移, 使冷榨豆粉基千页豆腐的结构变得疏松, 孔径变大。不同冷冻条件下冷榨豆粉基千页豆腐中不易流动水和结合水的变化可以归结为低温使蛋白质结构发生变化。

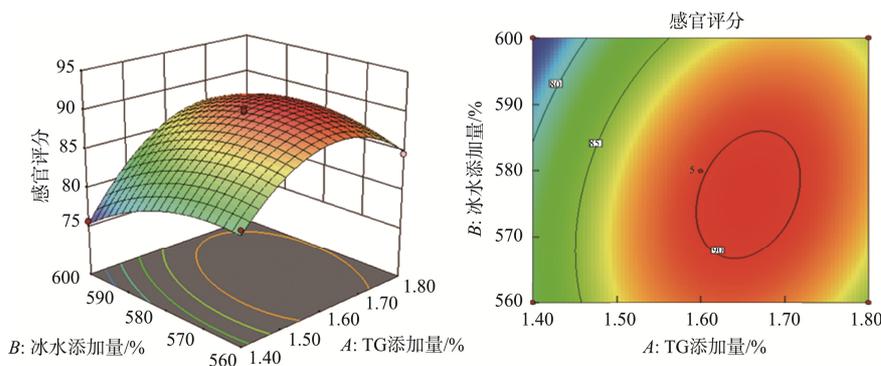


图 5 各因素交互作用对感官评分的影响的响应面图及等高线图

Fig.5 Response surface and contour charts of the interaction effects of various factors on sensory scores

表 5 冷冻对千页豆腐 T_2 弛豫时间的影响

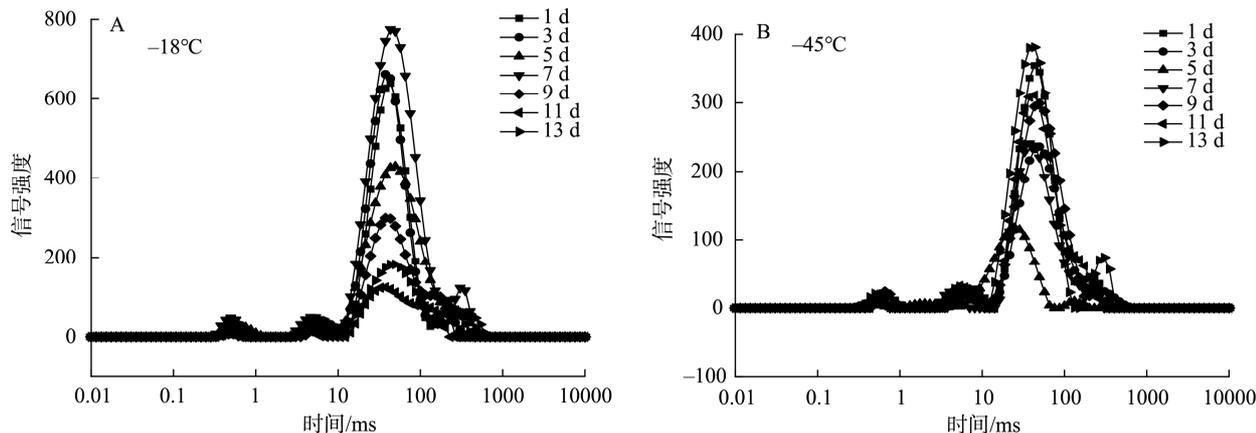
Table 5 Effects of freezing on Chiba tofu T_2 relaxation time

冷冻温度/℃	冷冻时间/d	弛豫时间/ms			峰面积		
		T_{2b}	T_{21}	T_{22}	M_{2b}	M_{21}	M_{22}
-18	1	8.06±0.01 ^c	119.86±0.30 ^f	381.67±1.13 ^c	224.93±1.79 ^c	5451.33±3.33 ^c	389.83±0.51 ^d
	3	8.41±0.02 ^a	120.86±0.32 ^f	312.16±0.01 ^d	247.36±0.79 ^b	5771.92±2.21 ^b	274.89±2.12 ^f
	5	8.23±0.12 ^b	140.00±2.23 ^d	696.15±2.22 ^a	114.54±5.79 ^c	128.18±1.12 ^f	5540.40±1.12 ^a
	7	8.06±0.12 ^c	188.59±0.12 ^a	233.14±2.21 ^c	297.83±2.23 ^a	8524.08±2.21 ^a	1601.30±1.54 ^b
	9	7.21±0.32 ^d	145.86±1.12 ^b	153.39±0.23 ^e	155.55±2.24 ^d	3070.11±5.54 ^d	489.06±0.12 ^c
	11	6.11±0.03 ^e	142.74±0.23 ^c	218.68±0.00 ^f	18.206±5.55 ^e	62.31±5.42 ^e	382.40±1.21 ^c
	13	5.05±0.32 ^f	122.42±2.23 ^e	504.55±0.23 ^b	86.70±0.10 ^f	2121.17±2.23 ^c	388.10±2.54 ^d

表5(续)

冷冻温度/°C	冷冻时间/d	弛豫时间/ms			峰面积		
		T_{2b}	T_{21}	T_{22}	M_{2b}	M_{21}	M_{22}
-45	1	8.81±0.01 ^a	137.81±1.23 ^d	358.91±2.21 ^b	147.20±0.01 ^b	3023.28±5.53 ^a	208.00±0.01 ^b
	3	8.41±0.01 ^b	798.80±6.23 ^a	4277.63±5.53 ^a	51.21±0.19 ^c	100.1±5.23 ^g	2512.37±8.49 ^a
	5	4.33±0.01 ^c	169.51±2.30 ^c	99.10±0.21 ^e	51.17±2.21 ^c	1102.41±1.12 ^d	276.76±5.00 ^c
	7	3.45±0.03 ^d	161.57±0.23 ^b	104.46±7.73 ^f	94.72±2.19 ^d	2255.55±5.23 ^c	269.69±3.21 ^d
	9	2.91±2.30 ^e	160.57±1.13 ^b	150.19±0.09 ^e	143.32±2.32 ^c	3012.41±5.20 ^b	252.38±5.10 ^c
	11	1.43±0.02 ^f	7.21±2.10 ^f	291.21±2.23 ^d	47.22±1.53 ^f	138.36±2.25 ^f	240.17±2.12 ^f
	13	1.02±0.02 ^g	139.66±2.21 ^c	312.16±2.23 ^c	174.12±2.25 ^a	174.12±2.25 ^c	18.12±3.05 ^g

注:不同小写字母表示同一温度下不同时间之间存在显著性差异, $P < 0.05$ 。



注: A: -18°C冷冻 1、3、5、7、9、11、13 d; B: -45°C冷冻 1、3、5、7、9、11、13 d。

图6 冷冻对冷榨豆粉基千页豆腐水分迁移的影响

Fig.6 Effects of freezing on water transfer of cold-pressing soybean meal Chiba tofu

3 结论

热处理会对冷榨豆粉凝胶特性产生一定的影响。热处理过程中,冷榨豆粉凝胶的强度、持水性、黏性、储能模量和损耗模量随着加热温度的升高及加热时间的增长而增加。以冷榨豆粉为原料, SPI、冰水和 TG 为辅料进行冷榨豆粉基千页豆腐的加工制作,在单因素实验基础上,通过响应面优化实验,以感官评价和质构为指标,得出冷榨豆粉基千页豆腐的最佳工艺条件:冷榨豆粉添加量 100.00 g、冰水添加量 575.00%、TG 添加量 1.64%、SPI 添加量 46.00%。优化后的冷榨豆粉基千页豆腐的硬度为 2271.24 g,弹性为 0.95,感官评分最高,为 89.88 分。冷冻会对产品的品质产生一定的影响。在-18 和-45°C两种冷冻温度下, T_{2b} 值随着冷冻时间的延长而减小,弛豫时间缩短,凝胶网络中水的流动受到限制。降低冷冻温度可缩短水流动受到限制的时间,导致水的流动性降低。 T_{21} 值随着冷冻时间的增加先增加后减小,且分别在冷冻 7 和 3 d 处达到最大,冷冻会使冷榨豆粉基千页豆腐的内部结构中的更多结合水向自由水转移,使冷榨豆粉基千页豆腐的结构变得疏松,孔径变大,本研究为冷榨工艺在大豆蛋白的加工过程中豆粉的应用提供了理论基础,对于以冷榨豆粉为原料生产千页豆腐保质期仍需添加食品添加剂来延长。

参考文献

- 朱秀清,姜永鹏,杨鑫鑫,等.冷榨对大豆蛋白结构特性的影响研究[J].食品科技,2021,46(12):179-185.
ZHU XQ, JIANG YP, YANG XX, *et al.* Effects of cold pressing on structural properties of soybean protein [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(12): 179-185.
- LOMAN AA, ISLAM S, LI Q, *et al.* Soybean bio-refinery platform: Enzymatic process for production of soy protein concentrate, soy protein isolate and fermentable sugar syrup [J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2016, 39(10): 1501-1514.
- MEYER MM, BOBECK EA. Growth performance of male broilers fed express soybean meal and high-shear dry extruded corn [J]. J Appl Poult Res, 2021, 30: 100191.
- CHEW SC. Cold-pressed rapeseed (*Brassica napus*) oil: Chemistry and functionality [J]. Food Res Int, 2020, 131: 108997.
- 李晶晶.半脱脂豆粉对面粉白度及馒头品质的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2018.
LI JJ. Effects of semi-degreased soybean powder on whiteness and quality of steamed bread [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.
- 王逢秋,杨鑫鑫,谷雪莲,等.转谷氨酰胺酶-氯化镁协同诱导对冷榨豆粉凝胶的影响[J].食品科学,2022:1-12.[2022-06-10].
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20210927.2302.022.html>
WANG FQJ, YANG XX, GU XL, *et al.* Effect of transglutaminase-magnesium chloride coinduction on cold-pressed soybean powder gel [J]. Food Sci, 2022: 1-12. [2022-06-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20210927.2302.022.html>
- INGRASSIA R, PALAZOLO GG, WAGNER JR, *et al.* Heat treatments of defatted soy flour: Impact on protein structure, aggregation, and cold-set gelation properties [J]. Food Struct, 2019, 22: 100130.
- ALI F, TIAN K, WANG ZX. Modern techniques efficacy on tofu processing: A review [J]. Trends Food Sci Technol, 2021, 116: 766-785.

- [9] CHEN K, HUANG Y, LI X, *et al.* Textural properties of firm tofu as affected by calcium coagulants [J]. *J Food Meas Charact*, 2021, 15(5): 4508–4516.
- [10] ZHENG L, WANG ZI, KONG Y, *et al.* Different commercial soy protein isolates and the characteristics of Chiba tofu [J]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 110: 106115.
- [11] 江连州, 冉安琪, 贾子璇, 等. 不同贮藏期大豆蛋白对千页豆腐品质的影响[J]. *农业工程学报*, 2019, 35(20): 311–318.
- JIANG LZ, RAN ANQ, JIA ZX, *et al.* Effects of soybean protein in different storage periods on quality of Chiba tofu [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2019, 35(20): 311–318.
- [12] 时玉强, 何东平, 鲁绪强, 等. 不同储存期大豆提取的大豆分离蛋白对千页豆腐的影响[J]. *中国油脂*, 2019, 44(8): 31–34.
- SHI YQ, HE DP, LU XQ, *et al.* Effects of SPI extracted from soybean at different storage periods on Chiba tofu [J]. *China Oils Fats*, 2019, 44(8): 31–34.
- [13] MACCELLINE SP, WICKRAMASURIYA SS, CHO HM, *et al.* Broilers fed a low protein diet supplemented with synthetic amino acids maintained growth performance and retained intestinal integrity while reducing nitrogen excretion when raised under poor sanitary conditions [J]. *Poult Sci*, 2020, 99(2): 949–958.
- [14] LI QY, ZHENG JB, GE G, *et al.* Impact of heating treatments on physical stability and lipid-protein co-oxidation in oil-in-water emulsion prepared with soy protein isolates [J]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 100: 105167.
- [15] LIANG GJ, CHEN WP, QIE XJ, *et al.* Modification of soy protein isolates using combined pre-heat treatment and controlled enzymatic hydrolysis for improving foaming properties [J]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 105: 105764.
- [16] 盖晴晴. 水酶法提取牡丹籽油工艺改进及水相蛋白特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020.
- GAI QQ. Improvement of extraction process of peony seed oil by water enzyme and study on characteristics of water phase protein [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020.
- [17] 谢春平, 赵良忠, 周晓洁, 等. 响应面法优化全豆腐复配凝固剂工艺[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(10): 4034–4041.
- XIE CP, ZHAO LZ, ZHOU XJ, *et al.* Optimization of whole bean rot compound coagulant process by response surface methodology [J]. *J Food Saf Food Qual*, 2021, 12(10): 4034–4041.
- [18] ZHAO HB, LI WW, QIN F, *et al.* Calcium sulphate-induced soya bean protein tofu-type gels: Influence of denaturation and particle size [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2016, 51(3): 731–741.
- [19] SPERONI F, BEAUMAL V, LAMBALLERIE MD, *et al.* Gelation of soybean proteins induced by sequential high-pressure and thermal treatments [J]. *Food Hydrocolloid*, 2009, 23(5): 1433–1442.
- [20] MOHAN N, MELLEM JJ. Functional properties of the protein isolates of hyacinth bean (*Lablab purpureus* L. Sweet): An effect of the used procedures [J]. *Food Sci Technol*, 2020, 129: 109572.
- [21] LI Q, ZHENG J, GE G, *et al.* Impact of heating treatments on physical stability and lipid-protein co-oxidation in oil-in-water emulsion prepared with soy protein isolates [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 100: 105167.
- [22] URBONAITE V, JONGH HD, VAN D, *et al.* Water holding of soy protein gels is set by coarseness, modulated by calcium binding, rather than gel stiffness [J]. *Food Hydrocolloid*, 2015, 46(8): 103–111.
- [23] WANG X, HE Z, ZENG M, *et al.* Effects of the size and content of protein aggregates on the rheological and structural properties of soy protein isolate emulsion gels induced by CaSO₄ [J]. *Food Chem*, 2017, 221(15): 130–138.
- [24] 李向红. 大豆蛋白聚集体—多糖混合体系相行为及微观结构的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- LI XH. Study on phase behavior and microstructure of soybean protein aggregation-polysaccharide mixture system [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008.
- [25] KOSHIYAMA I. Purification and physico-chemical properties of 11S globulin in soybean seeds [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2010, 4(3): 167–176.
- [26] 李爽. 热处理及淀粉添加对葵花分离蛋白结构与流变学性质的影响[D]. 齐齐哈尔: 齐齐哈尔大学, 2016.
- LI S. Effects of heat treatment and starch addition on structure and rheological properties of sunflower protein isolate [D]. Qiqihar: Qiqihar University, 2016.
- [27] IKEDA S, FOEGEDING EA, HAGIWARA T. Rheological study on the fractal nature of the protein gel structure [J]. *Langmuir*, 2000, 15(25): 8584–8589.
- [28] CHEN N, ZHAO M, CHASSENIEUX C, *et al.* Thermal aggregation and gelation of soy globulin at neutral pH [J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 61(12): 740–746.
- [29] 石天臣, 黄学, 王学锋. 转谷氨酰胺酶改性蛋白质的研究进展[J]. *食品安全导刊*, 2018, (36): 162–164, 166.
- SHI TC, HUANG X, WANG XF. Research progressing of transglutaminase modified protein [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2018, (36): 162–164, 166.
- [30] 黄笛, 李翠云, 万敏惠, 等. 谷氨酰胺转氨酶添加量对蛋黄粉乳化性和凝胶性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(3): 101–106.
- HUANG D, LI CY, WAN MH, *et al.* Effects of glutamine transaminase supplementation on emulsification and gelation of egg yolk meal [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(3): 101–106.
- [31] 唐文婷, 蒲传奋. 千页豆腐品质特性的影响因素研究[J]. *食品科技*, 2015, 40(11): 30–33.
- TANG WT, PU CF. Study on influencing factors of quality characteristics of Chiba tofu [J]. *Food Sci Technol*, 2015, 40(11): 30–33.
- [32] 王喜波, 聂鑫, 廖一, 等. 大豆蛋白与千页豆腐品质特性的关系[J]. *食品科学*, 2020, 41(7): 30–37.
- WANG XB, NIE X, LIAO Y, *et al.* Relationship between soybean protein and quality characteristics of Chiba tofu [J]. *Food Sci*, 2020, 41(7): 30–37.
- [33] NIU H, LI Y, HAN J, *et al.* Gelation and rheological properties of myofibrillar proteins influenced by the addition of soybean protein isolates subjected to an acidic pH treatment combined with a mild heating [J]. *Food Hydrocolloid*, 2017, 70(9): 269–276.
- [34] IUABC D, YANG H, JYAB C, *et al.* Influence of Okara dietary fiber with varying particle sizes on gelling properties, water state and microstructure of tofu gel [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 89: 512–522.
- [35] LI T, RUIX, LI W, *et al.* Water distribution in tofu and application of T_2 relaxation measurements in determination of tofu's water-holding capacity [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(34): 8594–8601.
- [36] FARAG KW, DUGGAN E, MORGAN DJ, *et al.* A comparison of conventional and radio frequency defrosting of lean beef meats: effects on water binding characteristics [J]. *Meat Sci*, 2009, 83(2): 278–284.
- [37] LI Y, SHI W, CHENG S, *et al.* Freezing-induced proton dynamics in tofu evaluated by low-field nuclear magnetic resonance [J]. *J Food Meas Charact*, 2017, 11(3): 1003–1010.
- [38] YASUI T, ISHIOBOROSHI M, NAKANO H, *et al.* Changes in shear modulus, ultrastructure and spin-spin relaxation times of water associated with heat-induced gelation of myosin [J]. *J Food Sci*, 2010, 44(4): 1201–1204.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介



姜永鹏, 硕士研究生, 主要研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。

E-mail: 1677367535@qq.com



朱秀清, 硕士, 教授, 主要研究方向为蛋白质化学与大豆深加工。

E-mail: xqzhuwang@163.com