

不同乳酸菌发酵黄浆水对酸浆豆腐凝胶特性及其品质的影响

郑欣茹, 刘琳琳*, 吕铭守, 杨春华, 黄雨洋, 朱 颖, 曲 敏, 朱秀清, 石彦国, 孙冰玉*

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江省谷物食品与谷物资源综合加工重点实验室, 哈尔滨 150028)

摘 要: **目的** 研究不同乳酸菌发酵黄浆水对酸浆豆腐凝胶特性及其品质的影响, 探究酸浆豆腐的凝固机制, 提高酸浆豆腐的品质稳定性, 量化生产工艺参数。**方法** 以大豆为原料, 分别以鼠李糖乳杆菌、耐高温鼠李糖乳杆菌、混合菌(乳酸链球菌乳亚种、嗜热链球菌和耐高温鼠李糖乳杆菌)发酵黄浆水制成的酸浆作为凝固剂制作豆腐, 测定豆腐的凝胶强度、持水性、出品率、色差、质构特性、感官评价、流变特性、水分分布、二级结构、三级结构、表面疏水性和微观结构等指标。**结果** 混合菌酸浆诱导的豆腐质构特性最好, 具有较高的凝胶强度、持水性和储能模量, 分别为 579.63 g、69.93% 和 8166.4 Pa, 感官评分最高。而耐高温鼠李糖乳杆菌酸浆诱导的豆腐凝胶强度和持水性比鼠李糖乳杆菌酸浆诱导的豆腐高。鼠李糖乳杆菌酸浆诱导的豆腐则硬度较低, 为 1481.38 gf, 水分流动性较大。表面疏水性结果显示, 混合菌酸浆诱导的豆腐表面疏水性较低, 为 268.75%, 三级构象最为紧密, 鼠李糖乳杆菌酸浆豆腐表面疏水性较大, 为 469.29%, 三级构象较为松散。扫描电镜结果显示, 混合菌酸浆豆腐呈致密均匀的三维网状结构, 耐高温鼠李糖乳杆菌酸浆豆腐凝胶较为连续, 孔隙较大, 鼠李糖乳杆菌酸浆豆腐凝胶网络结构较松散。**结论** 混合菌酸浆可使豆腐具有较好的凝胶特性和品质, 为酸浆豆腐的品质提高提供了理论和技术支持。

关键词: 酸浆; 豆腐; 凝胶特性; 流变特性; 品质

Effects of different lactic acid bacteria fermented yellow serous water on gel properties and quality of fermented soybean whey tofu

ZHENG Xin-Ru, LIU Lin-Lin*, LV Ming-Shou, YANG Chun-Hua, HUANG Yu-Yang,
ZHU Ying, QU Min, ZHU Xiu-Qing, SHI Yan-Guo, SUN Bing-Yu*

(Heilongjiang Key Laboratory of Grain Food and Grain Resources Comprehensive Processing,
School of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

基金项目: 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目(UNPYSCT-2020217)、哈尔滨商业大学博士科研启动支持计划项目(22BQ23)、黑龙江省“百千万”工程科技重大专项支撑行动计划(2021ZX12B04)、黑龙江省“双一流”学科协同创新成果建设项目(LJGXCG2022-084)

Fund: Supported by the University Nursing Program for Young Scholars with Creative Talents in Heilongjiang Province (UNPYSCT-2020217), the Harbin Commercial University Doctoral Research Launch Support Program Project (22BQ23), the Heilongjiang Province “Hundred Million” Project Science and Technology Major Project (2021ZX12B04), and the Heilongjiang Province “Double First-class” Discipline Collaborative Innovation Achievement Construction Project (LJGXCG2022-084)

*通信作者: 刘琳琳, 副教授, 主要研究方向为大豆、谷物化学及加工原理。E-mail: keaiduolinlin@126.com

孙冰玉, 教授, 主要研究方向为蛋白质分子化学及大豆深加工。E-mail: sby0451@163.com

*Corresponding author: LIU Lin-Lin, Associate Professor, Heilongjiang Key Laboratory of Grain Resources Comprehensive Processing, No.1, Xuehai Road, Songbei District, Harbin 150028, China. E-mail: keaiduolinlin@126.com

SUN Bing-Yu, Professor, Heilongjiang Key Laboratory of Grain Resources Comprehensive Processing, No.1, Xuehai Road, Songbei District, Harbin 150028, China. E-mail: sby0451@163.com

ABSTRACT: Objective To study the effect of different lactic acid bacteria fermented yellow serous water on the gel characteristics and quality of fermented soybean whey tofu, explore the coagulation mechanism of fermented soybean whey tofu, improve the quality stability of fermented soybean whey tofu, and quantify the production process parameters. **Methods** Tofu was made from soybeans, and the coagulant was a sour paste made from fermented yellow water by *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus rhamnosus*, high temperature resistant *Lactobacillus rhamnosus*, and a mixture of bacteria (*Lactococcus lactis* subsp., *Streptococcus thermophilus*, and *Lactobacillus rhamnosus*, high temperature resistant *Lactobacillus rhamnosus*), and the coagulant was used to make the tofu. The gel strength, water holding capacity, yield, chromatic, textural properties, sensory evaluation, rheological properties, moisture distribution, secondary structure, tertiary structure, surface hydrophobicity and microstructure of tofu were determined. **Results** The best textural properties of tofu were induced by the mixed bacterial acid plasma with high gel strength, water holding capacity and energy storage modulus, which were 579.63 gf, 69.93% and 8166.4 Pa, respectively, and the highest sensory score. While the gel strength and water holding capacity of tofu induced by high temperature resistant *Lactobacillus rhamnosus* acidophilus plasma was higher than that of tofu induced by *Lactobacillus rhamnosus* acidophilus plasma. *Lactobacillus rhamnosus* plasma-induced tofu, on the other hand, had lower firmness of 1481.38 g and higher water mobility. The surface hydrophobicity results showed that the surface hydrophobicity of tofu induced by mixed bacterial acid slurry was lower, at 268.75%, with the third order conformation being the most compact. *Lactobacillus rhamnosus* acid slurry tofu had a higher surface hydrophobicity, at 469.29%, with a relatively loose third order conformation. Scanning electron microscopy results showed that the mixed bacterial plasma tofu showed a dense and homogeneous three-dimensional mesh structure, the high temperature resistant *Lactobacillus rhamnosus* plasma tofu gel was more continuous and had larger pores, and the *Lactobacillus rhamnosus* plasma tofu gel network structure was loose. **Conclusion** Mixed bacteria sour milk can make tofu with better gel characteristics and quality, which provides theoretical and technical support for the quality improvement of sour milk tofu.

KEY WORDS: fermented soybean whey; tofu; gel characteristics; rheology; quality

0 引言

豆腐是由大豆蛋白制成且富含蛋白质、异黄酮、维生素、矿物质和其他营养成分的蛋白质凝胶体^[1-2]。豆腐在我国国民日常膳食中起着举足轻重的作用,在日本、韩国等国家的饮食中也是不可缺少的。由于其丰富的营养价值,近年来豆腐及其制品在西方国家也逐步得到关注^[3-4]。

酸浆豆腐是我国传统豆制品之一,其口感细腻、弹性较好,具有独特的风味^[5-6]。近几年,酸浆豆腐越来越受到人们的欢迎。酸浆是酸类凝固剂的一种,是豆腐在压制时产生的黄浆水经过微生物发酵制成的。前期研究发现,酸浆中的有机酸主要为L-乳酸,表明乳酸菌是酸浆中的主要微生物^[7-8]。制作豆腐时,酸浆中大量的乳酸会使溶液的pH降低,向大豆蛋白的等电点移动,蛋白质互相交联形成豆腐凝胶。酸浆豆腐在制作过程中无其他凝固剂添加,减少了金属离子的引入,压制后产生的黄浆水还可重复利用,减少了环境污染。传统的酸浆大多数采用自然发酵的方式,其中可能含有腐败杂菌,导致生产的酸浆豆腐保质期短。酸浆生产过程还易受到环境、温度和季节变化等各种因素的影响^[9],从而导致酸浆豆腐品质的不稳定,生产工艺参

数无法量化等问题^[10]。酸浆的纯种发酵对于生产出高品质且稳定的酸浆豆腐尤为重要。

目前关于酸浆豆腐的研究大多集中于制作过程的工艺优化^[1],而对不同微生物发酵黄浆水对豆腐凝胶和品质的影响研究较少。本研究通过测定不同酸浆豆腐的凝胶强度、持水性、出品率、色差、质构特性、感官评价、流变特性、水分分布、二级结构、三级结构、表面疏水性和微观结构等指标,研究不同菌发酵黄浆水对豆腐凝胶特性及其品质的影响,为提高酸浆豆腐品质稳定性及工业化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆(哈高科大豆食品有限公司);耐高温鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*, HCUL1.1901-1912, 经鼠李糖乳杆菌紫外诱变,哈尔滨商业大学食品工程学院实验室保藏);乳酸链球菌乳亚种(*Lactococcus lactis* subsp., CGMCC: 1.2472, 商业菌);嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*, CGMCC: 1.2718, 商业菌);鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*, HCUL 1.1801-1912, 经云南酸浆豆腐分离菌种);

磷酸盐缓冲溶液(分析纯, 0.01 mol/L, pH 7.2, phosphate buffer solution, PBS, 北京索莱宝科技有限公司); 8-苯胺-1-萘磺酸(8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid, ANS, 分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

HH-4 型恒温水浴锅(江苏金坛宏华仪器厂); TA.new plus 质构仪(上海 ISENCO 公司); MCR 102 高级旋转流变仪[安东帕(上海)商贸有限公司]; NMI20 低场核磁共振仪[苏州(上海)纽迈电子科技有限公司]; MCR 102NH300 色差仪(深圳市三恩驰科技有限公司); Spectrum Two 红外光谱仪、Lambda 365 紫外光谱仪(美国 PerkinElmer 公司); F97Pro 荧光分光光度计(上海棱镜科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 酸浆的制备

黄浆水经高压灭菌后, 待冷却至室温分别接入乳酸链球菌乳亚种、嗜热链球菌和耐高温鼠李糖乳杆菌, 经 37℃, 24 h 培养下制得混合菌酸浆; 耐高温鼠李糖乳杆菌, 经 37℃, 24 h 培养下制得耐高温菌酸浆; 鼠李糖乳杆菌, 经 37℃, 60 h 培养下制得鼠李糖乳杆菌酸浆。

1.3.2 豆腐的制备及工艺要点

(1)泡豆: 挑选颗粒饱满、无黑紫色、无缺陷的大豆进行清洗, 并浸泡 12 h。

(2)磨浆: 按照豆水比 1:5 ($m:I$)进行磨浆。

(3)过滤: 使用纱布进行过滤, 滤出豆渣。

(4)煮浆: 豆浆加热煮沸后, 持沸 5 min, 煮浆期间不停的进行搅拌。

(5)点浆: 将豆浆放入 80℃恒温水浴锅, 当豆浆温度降到 80℃时进行点浆, 将酸浆缓慢加入其中, 加酸浆时用勺子顺时针在锅壁上匀速推着豆浆搅拌, 当锅内呈现凝固的大块豆腐脑花时停止搅拌。

(6)蹲脑: 将点浆好的豆浆放置 80℃的水浴锅中静置 25 min。

(7)压制: 将蹲脑后的豆腐脑倒入压制豆腐的模具中, 用重物将其中的黄浆水压出, 压制 25 min 后, 得到豆腐制品, 3 种豆腐分别命名为: 1 号(混合菌酸浆); 2 号(耐高温鼠李糖乳杆菌酸浆); 3 号(鼠李糖乳杆菌酸浆)。

1.3.3 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐持水性的测定

参考 LI 等^[11]的方法稍作修改, 称取一定质量的豆腐计 m_1 , 将豆腐置于底部含有滤纸的离心管中, 计 m_2 , 离心 8000 r/min 15 min, 称取离心后的豆腐重量计 m_3 。持水性 (water binding capacity, WHC)的计算公式如式(1)。

$$\text{WHC}/\% = \frac{m_3}{m_1} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.4 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐凝胶强度的测定

参考 ZHAO 等^[12]的方法稍作修改后对豆腐凝胶进行

凝胶强度测定。探头型号为 P/0.5, 测前速率为 2 mm/s, 测试速率为 1 mm/s, 测后速率为 1 mm/s, 压缩形变量为 40%, 触发力 5×g, 触发类型为自动。

1.3.5 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐出品率的测定

参考 HUANG 等^[13]的方法对豆腐出品率进行测定, 制作豆腐前, 称取所需的干豆重量, 计 m_a 。在室温条件下, 称取刚压制完的豆腐重量, 计 m_b 。 m_b 与 m_a 比值即为豆腐出品率, 计算公式如式(2)。

$$\text{豆腐出品率}/\% = \frac{m_b}{m_a} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.6 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐色度的测定

按照王逢秋等^[14]的方法稍作修改, 室温下, 切取 3 cm×3 cm×3 cm 的豆腐样品, 放置于洁净食品感官工作台上, 使用色差仪测定豆腐色度, 取亮度值(L^*)、红绿值(a^*)和黄蓝值(b^*)。

1.3.7 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐质构的测定

参考李倩如等^[15]的方法稍作修改。将豆腐样品切成 3 cm×3 cm×3 cm 的小块, 利用 TA.new plus 质构仪进行测定。探头型号为 P/50, 测前速率为 2 mm/s, 测试速率为 1 mm/s, 测后速率为 1 mm/s, 测定距离为 40 mm, 触发力 5×g, 触发类型为下压, 压缩形变量是 40%, 时间为 5.00 s。

1.3.8 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐的感官评价

按照 LI 等^[16]描述的方法对豆腐样品进行感官评价, 并稍作修改。10 名训练有素的小组成员(5 男 5 女, 年龄在 20 到 30 岁之间)接受了训练, 并被要求识别和评分不同豆腐样品的感官属性。用于感官评价的指标包括色泽、风味、质地、口感和总体接受度。结果用 5 分制来记录(1 分表示不喜欢, 5 分表示非常喜欢)。每个豆腐被切成 10 块立方体(15 mm×15 mm×15 mm), 放在一个无味的白色盘子上, 然后使用随机设计进行编码和评估。

1.3.9 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐流变特性的测定

将制作好的豆腐凝胶取适量进行流变测试。平行板间隙为 1 mm。多余试样轻轻刮除, 以硅油封住平行板周围, 防止水分流失。

频率扫描: 每个样品通过应变扫描进行测试, 使用平行板(直径 40 mm, 间隙 1 mm)进行频率扫描。参数设置如下: 温度为 25℃、固定变形为 0.01, 扫描频率为 0.1~100 rad/s。

1.3.10 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐水分分布的测定

按照 TENG 等^[17]的方法, 稍作修改。室温 25℃下, 取适量样品于样品管, 进行采样。采用 CPMG 序列, 单次采样参数: 主频率 18 MHz; 90°脉宽 14; 采样点数 1020; 重复采样等待时间 1500 nms; 频谱宽度 100 kHz; 偏移频率 430360.89; 模拟增益 20。

1.3.11 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐二级结构的测定

采用红外光谱仪测定样品的二级结构^[18], 测定在波数范围为 4000~400 cm⁻¹的吸收光谱, 分辨率 4 cm⁻¹, 波数

精度 0.01 cm^{-1} , 扫描次数 32 次, 环境温度 25°C 。采用 Peakfit 4.12 软件对高斯 I 带进行拟合, 计算出 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲的含量。

1.3.12 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐三级结构的测定

参照 SUN 等^[19]的方法测定蛋白质三级结构, 并稍作修改。用 10 mmol/L PBS 稀释蛋白质量浓度至 0.5 mg/mL , 紫外光谱波长范围为 $190\sim 400\text{ nm}$, 分辨率为 0.2 nm , 扫描速率为 50 nm/min 。

1.3.13 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐表面疏水性的测定

参照 LI 等^[20]的方法。采用 ANS 荧光探针法。将 20 mg 样品大豆蛋白溶于 $20\text{ mL } 10\text{ mmol/L}$ PBS 中, 用 10 mmol/L PBS 稀释以形成蛋白质量浓度梯度为 0.02 、 0.04 、 0.06 、 0.08 、 0.10 mg/mL 的系列 4 mL 溶液。在测试前添加 $20\text{ }\mu\text{L } 8\text{ mmol/L ANS}$ 储液, 振荡均匀后测试。激发波长分别为 390 nm , 扫描波长范围 $400\sim 600\text{ nm}$, 激发和发射狭缝宽均为 5 nm 。以 $4\text{ mL } 10\text{ mmol/L PBS}$, 添加 $20\text{ }\mu\text{L } 8\text{ mmol/L ANS}$ 储液为空白样。样品的荧光强度值减去试剂空白值即为蛋白的相对荧光强度值。

1.3.14 不同菌发酵黄浆水诱导豆腐微观结构的测定

根据 ZUO 等^[21]的方法, 将凝胶切成约 $3\text{ mm}\times 3\text{ mm}$ 的正方形(厚度 $<2\text{ mm}$), 并在 4°C 下浓度 2.5% 、 $\text{pH } 7.2$ 戊二醇固定 1.5 h 以上, 用 PBS (0.1 mmol/L , $\text{pH } 7.2$) 冲洗 3 次之后, 用梯度浓度(50% 、 70% 、 90% 、 100% , $V:V$)的乙醇溶液将凝胶脱水、置换并进行临界点干燥。将干凝胶样品安装在涂有金的铝短棒上, 并在 5.0 kV 的加速电压下观察。

1.4 数据处理

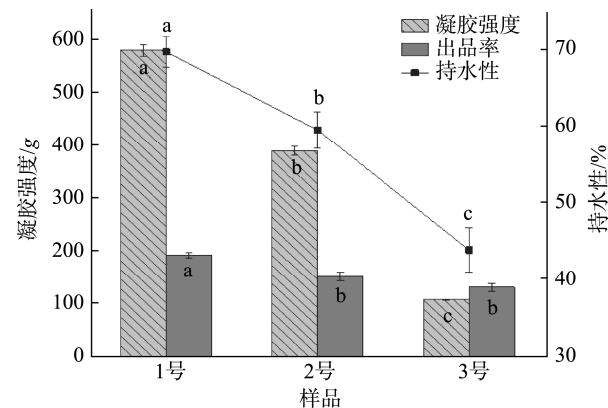
所有实验均重复 3 次取平均值, 结果以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。利用 SPSS 25 软件进行数据处理, 用单因素方差分析检验差异性, 当 $P<0.05$ 时差异性显著, 使用 Origin 2019 制图。

2 结果与分析

2.1 不同酸浆诱导豆腐持水性和凝胶强度以及出品率分析

凝胶强度和持水性是蛋白凝胶的重要特性, 可反映蛋白质-蛋白质交联和蛋白质-水分子相互作用的指标^[22]。3 种酸浆豆腐的凝胶强度、持水性和出品率如图 1 所示, 凝胶强度和持水性与豆腐的出品率成正比关系。3 号豆腐具有较低的凝胶强度和持水性, 分别为 108.44 g 和 44.07% , 这说明鼠李糖乳杆菌诱导的豆腐凝胶结构松散、不均匀, 凝胶强度和持水性较低, 从而使其出品率较低, 为 132% 。1 号豆腐凝胶强度、持水性和出品率显著高于 2 号和 3 号, 分别为 579.63 g 、 69.93% 和 193% , 可能是混合菌酸浆诱导豆腐凝胶形成了均匀致密的空间网络结构, 这种均匀连续的凝胶网络结构可以捕获更多的水, 使其具有更高的 WHC、凝胶强度和出品

率^[23-24]。可见, 混合菌种酸浆制备的豆腐在凝胶强度、持水性和出品率方面优于单一菌种发酵酸浆制备的豆腐。



注: 不同字母表示组间具有显著性差异, $P<0.05$, 下同。

图 1 不同酸浆制备豆腐的持水性和凝胶强度以及出品率

Fig.1 Water holding capacity, gel strength and yield of tofu prepared from different fermented soybean whey

2.2 不同酸浆诱导豆腐色差分析

色差是影响消费者的接受度, 评价食品品质的一个重要感官指标。一般就颜色而言, 认为白色或乳白色为豆腐的理想颜色。通过测定豆腐的色差发现, 不同酸浆制备豆腐的 L^* 、 a^* 和 b^* 存在显著差异。如表 1 所示, 1 号豆腐的 L^* 较高, 这可能与水分含量有关, 水分含量越高, 对光的折射越强^[25-26], 这也是其持水性高的原因, 而 a^* 和 b^* 都显著低于 2 号和 3 号豆腐, 说明 1 号豆腐的红感和黄感低于 2 号和 3 号豆腐。综上, 1 号豆腐呈现出较好的色泽, 且更接近理想豆腐的颜色。

表 1 不同酸浆制备豆腐的色差

Table 1 Chromatic aberration of tofu prepared from different fermented soybean whey

样品	L^*	a^*	b^*
1 号	88.58 ± 0.25^a	1.07 ± 0.04^c	18.35 ± 0.33^b
2 号	85.88 ± 0.57^b	2.03 ± 0.21^b	22.34 ± 0.56^a
3 号	84.86 ± 0.41^c	1.47 ± 0.10^a	22.00 ± 0.13^a

注: 在同一列中字母不同, 则表示差异显著($P<0.05$), 下同。

2.3 不同酸浆诱导豆腐质构分析

质构是蛋白凝胶最重要的指标之一, 可以反映出蛋白凝胶内部的结构特征^[27-28]。由表 2 可以看出, 不同的酸浆会影响豆腐的硬度、弹性、咀嚼性、黏附性和内聚性。硬度是最能直观体现豆腐质构好坏的指标。3 种豆腐的硬度具有显著的差异($P<0.05$), 1 号豆腐的硬度最大, 其次是 2 号豆腐, 3 号豆腐的硬度最小。3 种豆腐的咀嚼性和内聚性表现出相似的趋势, 其中, 1 号豆腐的咀嚼性和内聚性最高。弹性是结构性能的第二特征, 表现为硬度和内聚性之

表 2 不同酸浆制备豆腐的质构
Table 2 Texture of tofu prepared from different fermented soybean whey

样品	测量参数				
	硬度/gf	弹性	咀嚼性/gf	黏附性/gf	内聚性
1 号	2590.07±86.93 ^a	0.93±0.01 ^a	1959.20±93.48 ^a	2129.66±101.61 ^a	0.87±0.01 ^a
2 号	2128.98±131.22 ^b	0.90±0.03 ^b	1549.17±117.93 ^b	1787.55±122.06 ^b	0.82±0.02 ^b
3 号	1481.38±23.26 ^c	0.88±0.02 ^c	1342.41±19.03 ^b	1387.27±23.30 ^c	0.79±0.01 ^c

间的正相关关系^[29]。因此,硬度值越大,弹性值越大。3 种豆腐的弹性也具有显著差异,1 号豆腐的弹性值稍高于其他两种。3 种豆腐的黏附性存在显著差异,1 号豆腐的黏附性值最大,为 2129.66 gf,其次是 2 号豆腐,为 1787.55 gf,3 号豆腐的黏附性最小,为 1387.27 gf。可见,混合菌酸浆与单一菌酸浆相比,豆腐硬度和弹性以及咀嚼性和黏附性较高,表明在凝固过程中通过蛋白质分子发生聚集和蛋白质、脂质和水分子的相互作用,可使得豆腐三维网络结构更加紧密、均匀,从而使豆腐的硬度、弹性和咀嚼性较大。STANOJEVIC 等^[30]也证实,豆腐的硬度来自于蛋白质聚集体和致密的微观结构。

2.4 不同酸浆诱导豆腐感官评价分析

豆腐感官评价雷达图如图 2 所示,3 种豆腐在色泽、风味、质地、口感和总体接受度上存在较大差异。1 号豆腐具有较好的色泽、风味、质地和口感,总体接受度也较高,这与 SHI 等^[31]的研究结果一致。1 号豆腐的色泽较白,可能是其色泽评级较高的原因。2 号豆腐口感和质地与 1 号豆腐相似,但色泽和总体接受度较低于 1 号豆腐。3 号豆腐的总体接受度较低,可能与其较差的风味、口感和质地有关。综上表明,混合菌酸浆豆腐具有较好的感官评价,更容易受到消费者的喜欢。

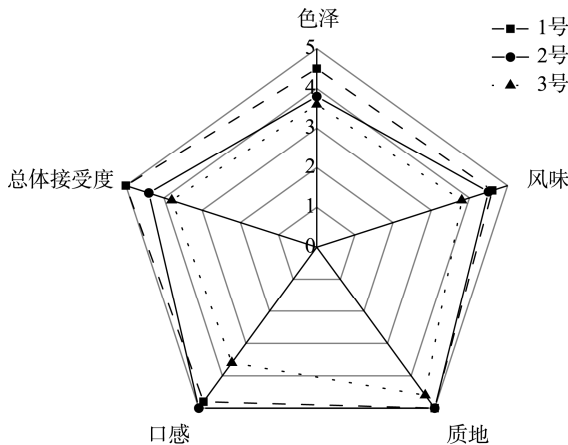


图 2 不同酸浆制备豆腐的感官评价雷达图
Fig.2 Sensory evaluation radar map of tofu prepared from different fermented soybean whey

2.5 不同酸浆诱导豆腐流变特性分析

动态流变学可作为分析凝胶形成过程以及胶凝能力的指标^[32]。不同酸浆制备豆腐的储能模量(G')、损耗模量(G'')和损耗角正切值($\tan\delta$)如图 3 所示。所有凝胶样品的 G' (图 3a)和 G'' (图 3b)都随着角频率的增加而增加,且 G' 均大于 G'' ,表明 3 种凝胶样品均具有弹性固体性质^[33]。1 号豆腐的 G' 和 G'' 均远高于其他两种,说明混合菌酸浆诱导的豆腐凝胶具有较高的弹性和更均匀致密的凝胶网络。相反,3 号豆腐的 G' 和 G'' 均较低,原因可能是鼠李糖乳杆菌酸浆诱导的豆腐凝胶的弹性较差,凝胶网络松散且不均匀,这也是其凝胶强度和持水性较低的原因^[34]。

$\tan\delta$ (G''/G')是凝胶网络中蛋白质-蛋白质键动态特性的指标。较低的 $\tan\delta$ 值表明凝胶具有较强的弹性特性和较弱的黏性特性^[34]。由图 3 可知,3 种豆腐样品的 $\tan\delta < 1$,说明样品是以弹性为主的凝胶体。1 号豆腐具有较低的 $\tan\delta$ 值,其次是 2 号豆腐和 3 号豆腐。原因可能是混合菌酸浆的加入使豆腐凝胶表现出更强的弹性特性,并且结构变得稳定。可见,1 号豆腐比 2 号和 3 号豆腐具有更高的 G' (8166.4 Pa)和更低的 $\tan\delta$,从而表现出较好的弹性,这与质构的结果相一致。

2.6 不同酸浆诱导豆腐水分分布分析

低场核磁共振技术可反映凝胶内部的水分分布和状态^[35]。不同酸浆豆腐的水分分布和弛豫时间如图 4 和图 5 所示,在 0.01~10000.00 ms 的核磁反演图中可以看到 T_{21} 、 T_{22} 和 T_{23} 3 个峰。 T_{21} 通常表示与水密切相关的大分子(结合水, 0~10 ms); T_{21} 表示不自由流动的水(固定水, 30~100 ms); T_{23} 表示具有很大自由度的水(自由水, 100~1000 ms)^[36]。弛豫时间(T_2)与该状态下水的流动性呈正比关系,3 号豆腐的 T_2 弛豫时间最长,为 231.01 ms,说明水分子在体系中的自由度越高,可反映出较低的持水性^[37]。相反,1 号豆腐的弛豫时间最短,为 151.99 ms,说明短弛豫时间内蛋白凝胶结合的 H 质子增多,被凝胶束缚在网络结构中的结合水结合的更加紧密^[38],使凝胶具有较高的凝胶强度和持水性,与前面研究结果相一致。综上,混合菌酸浆豆腐凝胶内部结构均匀致密,水分迁移程度低,蛋白内部水分流动性较小,从而凝胶持水性较大。

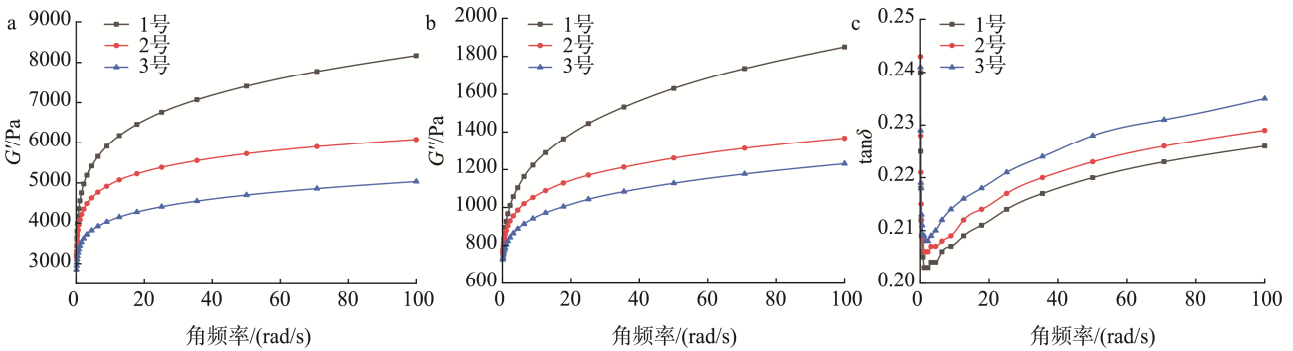


图 3 不同酸浆制备豆腐的流变特性的频率扫描图
Fig.3 Frequency scan of rheological properties of tofu prepared from different fermented soybean whey

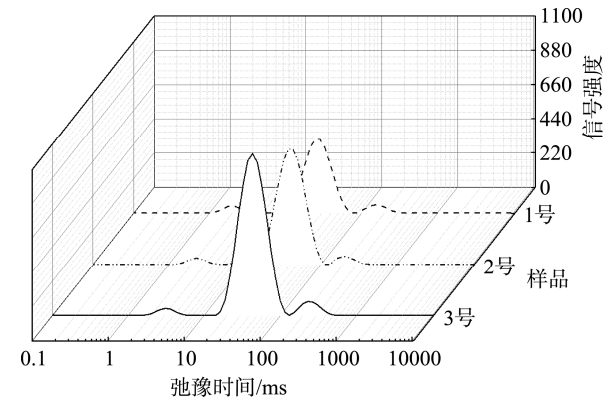


图 4 不同酸浆制备豆腐的低场核磁共振反演图谱
Fig.4 Low field nuclear magnetic resonance inversion spectra of tofu prepared from different fermented soybean whey

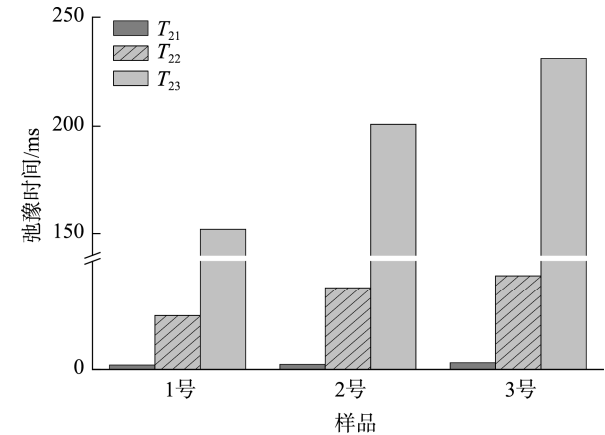


图 5 不同酸浆制备豆腐的弛豫时间
Fig.5 Relaxation time of tofu prepared from different fermented soybean whey

2.7 不同酸浆诱导豆腐二级结构分析

傅里叶变换红外光谱技术是根据蛋白质二级结构在 1700~1600 cm^{-1} 酰胺 I 带区间内产生不同的特征吸收峰来区分 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲^[39]。对酰胺 I 带进行高斯峰拟合得到二级结构百分比如表 3 所示, 3 种豆腐的二级结构含量以 β -折叠为主, 这是凝胶具有刚性的主要原

因。其中 1 号豆腐的 β -折叠含量高于 2 号和 3 号豆腐, 为 57.65%, 与硬度结果一致; 并且 α -螺旋含量较高, 为 18.49%, 无规则卷曲含量较低, 为 13.27%, 说明 1 号豆腐具有较为有序的二级结构, 推测可能是由于混合菌酸浆中 H^+ 的增加导致维持蛋白构象的内部作用力(如疏水作用)暴露, 分子间作用力的增加使得蛋白质聚集, 形成了有序且稳定的结构^[40]。2 号和 3 号豆腐的 α -螺旋含量低于 1 号豆腐, 无规则卷曲含量高于 1 号豆腐, 说明单一菌发酵的酸浆可使蛋白中的 α -螺旋解离并向无规则卷曲转变, 使其无序结构增加。因此, 混合菌酸浆的加入会使豆腐中二级结构 α -螺旋和 β -折叠含量较高, 有序结构上升, 即引起蛋白聚集和凝胶行为。

表 3 不同酸浆制备豆腐的二级结构含量
Table 3 Content of secondary structure of tofu prepared from different fermented soybean whey

样品	α -螺旋/%	β -折叠/%	β -转角/%	无规卷曲/%
1 号	18.49 $\pm$ 3.11 ^a	57.65 $\pm$ 0.62 ^a	10.36 $\pm$ 1.00 ^a	13.27 $\pm$ 1.55 ^b
2 号	14.64 $\pm$ 1.48 ^{ab}	55.75 $\pm$ 1.98 ^a	12.11 $\pm$ 1.04 ^a	17.50 $\pm$ 0.54 ^b
3 号	11.71 $\pm$ 1.18 ^b	50.93 $\pm$ 0.66 ^b	13.08 $\pm$ 2.24 ^a	24.27 $\pm$ 2.89 ^a

2.8 不同酸浆诱导豆腐三级结构分析

蛋白质在紫外区有特定的吸收光谱, 这与芳香氨基酸的环境有关^[41]。吸收峰(260~280 nm)代表色氨酸(tryptophan, Trp)、酪氨酸(tyrosine, Tyr)和苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)氨基酸残基的吸收^[19]。紫外二级衍生图谱可用来分析上述 3 种芳香氨基酸的结构变化。 r 值为紫外二阶导数波峰与波谷的比值($r=a/b$)。图 6 为不同酸浆制备豆腐的紫外光谱二阶导。3 种豆腐样品的 r 值分别为: 0.772、0.870 和 1.020。可以发现 1 号豆腐的 r 值最小(0.772), 说明与其他两种豆腐相比, 1 号豆腐的三级构象表现为较紧密的状态。而 3 号豆腐的 r 值最大(1.020), 表明鼠李糖乳杆菌酸浆会使豆浆中蛋白结构展开, 疏水基团暴露于蛋白质表面。并且更多的酪氨酸残基暴露于极性环境中, 微环境变得亲水, 使其三维构象较为松散。综上, 混合菌酸

浆会使豆腐中蛋白聚集到最大程度,使其微环境更加疏水,从而具有较为紧密的三级构象。

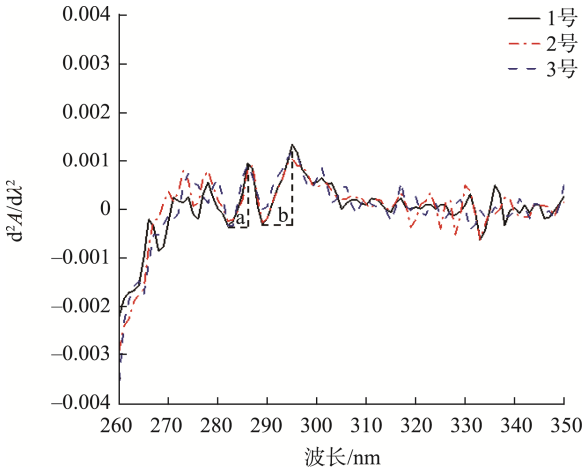
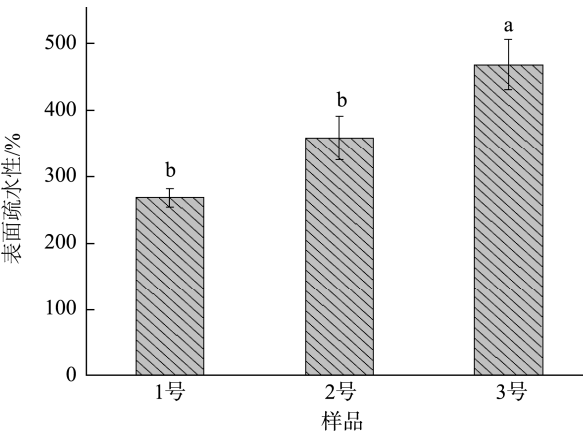


图 6 不同酸浆制备豆腐的紫外光谱二阶导

Fig.6 Second order ultraviolet spectrum of tofu prepared from different fermented soybean whey

2.9 不同酸浆诱导豆腐表面疏水性分析

蛋白的表面疏水性可以体现极性环境中蛋白表面疏水基团的数量,是评估在极性条件下蛋白质三级构象和功能性质的重要指标,并且它与蛋白凝胶性密切相关^[42]。3种酸浆豆腐的表面疏水性如图 7 所示,3号豆腐表面疏水性最高,为 469.29%,说明鼠李糖乳杆菌酸浆的加入使得蛋白的空间构象发生了变化,促进了蛋白的静电斥力和亚基解离,导致蛋白内部疏水区不断暴露,更多的疏水位点暴露在蛋白质表面,从而增加了表面疏水性^[43],该结果与紫外光谱结果一致。相反,1号豆腐的表面疏水性低于 2 号和 3 号豆腐,为 268.75%。说明 1 号豆腐具有更紧密的三级构象。可见,混合菌酸浆的加入使豆浆中蛋白质之间空间结构聚集更紧密,疏水基团暴露较少,蛋白聚集程度增大。



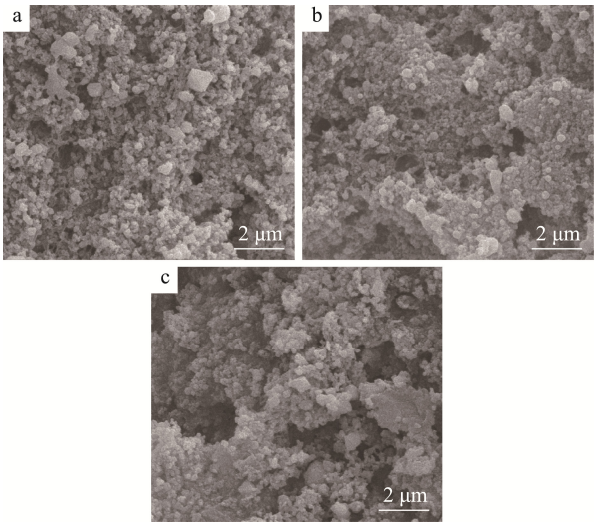
注:不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

图 7 不同酸浆制备豆腐的表面疏水性

Fig.7 Surface hydrophobicity of tofu prepared from different fermented soybean whey

2.10 不同酸浆诱导豆腐微观结构分析

为了进一步确定不同酸浆诱导下豆腐凝胶网络结构的变化,通过扫描电子显微镜对 3 种豆腐的微观结构进行了观察。扫描电子显微镜结果显示(图 8),1 号豆腐凝胶具有更为连续均匀的结构,且孔隙最小,这种结构可能能够容纳更多的蛋白质和其他可溶性物质,从而增强了硬度和咀嚼性^[13]。2 号豆腐凝胶结构较为连续,孔隙较大。3 号豆腐凝胶结构较为松散,呈不连续的网状结构,并且还有不规则的大孔隙。扫描电子显微镜结果与豆腐持水性和质构等的分析一致。1 号豆腐 WHC 最高,结构有序、致密,这可提高豆腐的硬度、弹性和咀嚼性。此外,KAO 等^[44]和 SHI 等^[31]发现混合菌酸浆豆腐的微观结构更加连续和均匀。综上,混合菌酸浆豆腐具有较高的凝胶强度,这证实了混合菌酸浆诱导的豆腐可以形成更致密的凝胶结构,从而具有较好的凝胶特性和品质。



注: a: 1 号; b: 2 号; c: 3 号。

图 8 不同酸浆制备豆腐的微观结构

Fig.8 Microstructure of tofu prepared from different fermented soybean whey

3 结 论

本研究发现,不同乳酸菌发酵的酸浆对豆腐的凝胶特性和感官品质有显著影响。在豆腐凝胶特性方面,与单一菌发酵的酸浆诱导的豆腐相比,混合菌酸浆诱导的豆腐表现出较高的凝胶强度和储能模量,分别为 579.63 gf 和 8166.4 Pa,以及较小的水分流动性。在豆腐品质方面,混合菌酸浆豆腐具有较高的硬度、持水性和出品率,分别为 2590.07 gf、69.93%和 193%,豆腐色泽也较好、感官评价中总体接受度最高。在蛋白构象方面,混合菌酸浆诱导的豆腐二级结构较为有序,三级结构紧密,表面疏水性较低,为 268.75%,微观结构致密均匀。结果表明,混合菌酸浆诱

导的豆腐在凝胶特性和品质等方面都优于其他酸浆豆腐。本研究为提高酸浆豆腐的品质稳定性、量化生产工艺参数以及酸浆豆腐的工业化生产提供理论依据。

参考文献

- [1] HUANG ZR, HE WY, ZHAO LZ, *et al.* Processing technology optimization for tofu curded by fermented yellow whey using response surface methodology [J]. *Food Sci Nutr*, 2021, 9(7): 3701–3711.
- [2] SUN D, LI T, MA L, *et al.* Effect of selective thermal denaturation and glycosylation on the textural properties and microstructure of vegetable tofu [J]. *J Food Process Eng*, 2019, 42(3): e13001.
- [3] GUO YL, HU H, WANG Q, *et al.* A novel process for peanut tofu gel: Its texture, microstructure and protein behavioral changes affected by processing conditions [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2018, 96: 140–146.
- [4] 高若珊, 孙亚东, 张光, 等. 酸浆豆腐研究进展[J]. *大豆科技*, 2020, (1): 32–37.
- GAO RS, SUN YD, ZHANG G, *et al.* Research progress of producing tofu with sour pulp [J]. *Soybean Sci Technol*, 2020, (1): 32–37.
- [5] 叶青, 许云贺, 张莉力. 豆腐酸浆中干酪乳杆菌的分离、鉴定及作为豆腐凝固剂的应用[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(18): 94–98, 104.
- YE Q, XU YH, ZHANG LL. Isolation and identification of *Lactobacillus casei* in tofu acid pulp and its application as tofu coagulant [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2017, 38(18): 94–98, 104.
- [6] WU H, DONG JJ, DAI YQ, *et al.* Effects of lactic acid bacteria fermented yellow whey on the protein coagulation and isoflavones distribution in soymilk [J]. *Food Chem*, 2020, 334: 127484.
- [7] 杜龙. 乳酸菌发酵黄浆水的发酵特性以及其在大豆异黄酮的生物转化能力研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(16): 5209–5217.
- DU L. Study on fermentation characteristics of fermented yellow serofluid by *Lactiplantibacillus plantarum* and its microbial transformation ability of soybean isoflavone [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(16): 5209–5217.
- [8] 刘琳琳, 王嘉琪, 曾剑华, 等. 云南建水豆腐酸浆中乳酸菌的分离与鉴定[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(11): 239–245.
- LIU LL, WANG JQ, ZENG JH, *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria from tofu fermented soybean whey in Jianshui, Yunnan [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2019, 19(11): 239–245.
- [9] XU YH, YE Q, ZHANG HJ, *et al.* Naturally fermented acid slurry of soy whey: High-throughput sequencing-based characterization of microbial flora and mechanism of tofu coagulation [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1088.
- [10] GUAN Z, ZHANG J, ZHANG S, *et al.* Effect of coagulant and treatment conditions on the gelation and textural properties of acidic whey tofu [J]. *Foods*, 2023, 12(5): 918.
- [11] LI Y, WAN Y, MAMU Y, *et al.* Aggregation and gelation of soymilk protein after alkaline heat treatment: Effect of coagulants and their addition sequences [J]. *Food Hydrocolloid*, 2023, 135: 108178.
- [12] ZHAO C, YIN H, YAN J, *et al.* Structural and physicochemical properties of soya bean protein isolate/maltodextrin mixture and glycosylation conjugates [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2020, (10): 55.
- [13] HUANG Z, LIU H, ZHAO L, *et al.* Evaluating the effect of different processing methods on fermented soybean whey-based tofu quality, nutrition, and flavour [J]. *LWT*, 2022, 158: 113139.
- [14] 王逢秋, 杨鑫鑫, 谷雪莲, 等. TG 酶-MgCl₂ 协同诱导对冷榨豆粉凝胶的影响[J]. *食品科学*, 2022, 43(16): 169–176.
- WANG FQJ, YANG XX, GU XL, *et al.* Effect of synergistic induction of transglutaminase and magnesium chloride on cold-pressed soy flour gel [J]. *Food Sci*, 2022, 43(16): 169–176.
- [15] 李倩如, 熊瑶, 林嘉诺, 等. 酸化速率对大豆蛋白凝胶结构的调控[J]. *食品科学*, 2020, 41(6): 31–35.
- LI QR, XIONG Y, LIN JN, *et al.* Regulatory effect of acidification rate on soy protein isolate gels induced by glucono- δ -lactone [J]. *Food Sci*, 2020, 41(6): 31–35.
- [16] LI C, RUI X, ZHANG Y, *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.
- [17] TENG LI, XIN RUI, WEI LI. 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.
- [18] ZHANG Z, WANG X, YU J, *et al.* Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions stabilized by soy protein isolate-dextran conjugates [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2017, 78: 241–249.
- [19] SUN BY, GU XL, WANG FQJ. Effect of high-pressure homogenization on Ca²⁺-induced gel formation of soybean 11S globulin [J]. *Sci Food Agric*, 2023, 103: 2057–2069.
- [20] LI X, FU L, HE Z, *et al.* Effect of protein-glutaminase on calcium sulphate-induced gels of SPI with different thermal treatments [J]. *Molecules*, 2023, 28(4): 1752.
- [21] 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.
- [22] CUI Q, WANG G, GAO D, *et al.* Improving the gel properties of transgenic microbial transglutaminase cross-linked soybean-whey mixed protein by ultrasonic pretreatment [J]. *Process Biochem*, 2020, 91: 104–112.
- [23] 戴意强, 周剑忠, 刘小莉, 等. 不同凝固剂对豆腐品质特性及风味成分的影响[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(15): 17–26.
- DAI YQ, ZHOU JZ, LIU XL, *et al.* Effects of different coagulants on quality characteristics and flavor components of tofu [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(15): 17–26.
- [24] OBATOLU VA. Effect of different coagulants on yield and quality of tofu from soymilk [J]. *Eur Food Res Technol*, 2008, 226(3): 467–472.
- [25] 黄永霞. 凝固剂、余碱及热处理对豆腐干品质的影响研究[D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- HUANG YX. Effect of coagulants, alkali and heat treatment on the quality of semi-dehydrated tofu [D]. Chongqing: Master Dissertation of Southwest University, 2022.
- [26] PRABHAKARAN MP, PERERA CO, VALIVAVEETIL S. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu [J]. *Food Chem*, 2006, 99(3): 492–499.
- [27] MUJOO R, TRINH DT, NG PKW. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture [J]. *Food Chem*, 2003, 82(2): 265–273.

- [28] HAN BZ, ROMBOUTS FM, NOUT MJR. Amino acid profiles of sufu, a Chinese fermented soybean food [J]. *J Food Compos Anal*, 2004, 17(6): 689–698.
- [29] KONG F, CHANG SKC. Changes in protein characteristics during soybean storage under adverse conditions as related to tofu making [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(2): 387–393.
- [30] STANOJEVIC SP, BARA MB, PEI MB, *et al.* Protein composition and textural properties of inulin-enriched tofu produced by hydrothermal process [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2020, 126: 109309.
- [31] 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.
- [32] YOON WB, GUNASEKARAN S, PARK JW. Characterization of thermorheological behavior of alaska pollock and pacific whiting surimi [J]. *J Food Sci*, 2004, 69(7): 338–343.
- [33] HU Y, WANG L, LI Z. Modification of protein structure and dough rheological properties of wheat flour through superheated steam treatment [J]. *J Cereal Sci*, 2017, 76: 222–228.
- [34] ZHANG P, BAO Z, WANG H, *et al.* Ultrasonic pretreatment improved the physicochemical properties and riboflavin delivery ability of transglutaminase-catalyzed soy protein isolate gel [J]. *Food Hydrocolloid*, 2022, 131: 107782.
- [35] LI K, FU L, ZHAO YY, *et al.* Use of high-intensity ultrasound to improve emulsifying properties of chicken myofibrillar protein and enhance the rheological properties and stability of the emulsion [J]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 98: 105275.
- [36] HAN M, WANG P, XU X, *et al.* Low-field NMR study of heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with microstructural characteristics [J]. *Food Res Int*, 2014, 62: 1175–1182.
- [37] 张泽翔. 豆腐形成过程中水分、蛋白质变化表征及快速定量检测研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2020.
- ZHANG ZX. Characterization and rapid quantitative detection of water and protein changes during tofu formation [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2020.
- [38] 田海娟, 胡耀辉, 于寒松, 等. 转谷氨酰胺酶诱导调质大豆分离蛋白凝胶的水分分布及凝胶特性[J]. *食品科学*, 2018, 39(5): 20–25.
- TIAN HJ, HU YH, YU HS, *et al.* Moisture distribution and texture properties of transglutaminase-induced soybean protein isolate gels [J]. *Food Sci*, 2018, 39(5): 20–25.
- [39] LI X, HE X, MAO L, *et al.* Modification of the structural and rheological properties of β -lactoglobulin/ κ -carrageenan mixed gels induced by high pressure processing [J]. *J Food Eng*, 2020, 274: 109851.
- [40] 张志衡, 陈振家, 李玉娥, 等. 不同酸浆添加量制备的豆腐凝胶特性比较[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(4): 161–170.
- ZHANG ZH, CHEN ZJ, LI YE, *et al.* Comparative properties of tofu gels prepared with different levels of physalis addition [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2022, 38(4): 161–170.
- [41] YAMAGISHI T, YAMAUCHI F, SHIBASAKI K. State of aromatic amino acid residues in soybean 11S globulin heated in the presence of N-ethylmaleimide by derivative spectrophotometry [J]. *Agric Biol Chem*, 1981, 45(2): 459–467.
- [42] TIAN R, ZHU G, FENG J, *et al.* Ultrasound driven conformational and physicochemical changes of soy protein hydrolysates [J]. *Ultrason Sonochem*, 2020, 68: 105202.
- [43] YAN S, XU J, ZHANG S, *et al.* Effects of flexibility and surface hydrophobicity on emulsifying properties: Ultrasound-treated soybean protein isolate [J]. *LWT*, 2021, 142: 110881.
- [44] KAO FJ, SU NW, LEE MH. Effect of calcium sulfate concentration in soymilk on the microstructure of firm tofu and the protein constitutions in tofu whey [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(21): 6211–6216.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介

郑欣茹, 硕士研究生, 主要研究方向为农产品加工及贮藏。
E-mail: 1712851044@qq.com

刘琳琳, 副教授, 主要研究方向为大豆、谷物化学及加工原理。
E-mail: keaiduolinlin@126.com

孙冰玉, 教授, 主要研究方向为蛋白质分子化学及大豆深加工。
E-mail: sby0451@163.com