



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20140055

速熟腐乳生产中腐乳成分及微观结构的分析

汪建明, 张燕, 于水淼, 贺乐, 李立英

(食品营养与安全教育部重点实验室, 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 通过检测经乳酸菌混合发酵剂发酵得到的速熟腐乳在成熟过程中的理化指标、感官品质、蛋白质水解度、质构特性和微观结构的变化, 分析速熟腐乳的品质和微观结构, 并与利民腐乳和王致和腐乳进行对比. 结果表明: 速熟腐乳的理化指标、感官品质、蛋白水解度、质构特性、微观结构均与市售腐乳基本相同, 证明了利用乳酸菌混合发酵剂生产速熟腐乳的可行性.

关键词: 腐乳; 微观结构; 质构; 理化指标

中图分类号: TS214.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2015)04-0035-05

Micro-character and Composition Analysis of Instant-sufu

WANG Jianming, ZHANG Yan, YU Shuimiao, HE Le, LI Liying

(Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Physical and chemical index of instant-sufu fermented by fermentation agent mixed with lactic acid bacteria, sensory evaluation of the sufu, proteolysis degree of instant-sufu, texture properties and microstructure of the sufu during maturation were studied so as to evaluate the quality and microstructure of sufu being fermented with ferments. Compared with the market sufu, the results indicated that there was no significant difference between the instant-sufu and the traditional ones, which proved that the instant-sufu could be produced with ferments.

Key words: sufu; microstructure; texture; physical and chemical index

腐乳作为大豆的一种发酵制品, 富含蛋白质以及亚油酸、油酸等不饱和脂肪酸, 不含胆固醇等^[1]. 发酵成熟的腐乳具有营养较丰富、质构较细腻柔滑、滋味鲜美和诱人食欲的特点, 是人们喜爱的开胃佐餐食品和调味品. 在欧美, 腐乳因其质构类似软质干酪而被称为“Chinese-cheese”^[2].

传统腐乳的后酵过程是形成其特殊质地和风味的关键, 但是后期成熟周期较长, 一般情况下要经过4~6个月, 腐乳的色、香、味才能达到品质要求, 使得工厂的生产效率偏低, 经济成本偏高. 因此, 在添加一定酶制剂促进蛋白质和脂肪酶解的基础上, 采用添加乳酸菌混合菌种发酵剂发酵、产酸实现凝乳, 从而得到的速熟腐乳, 既可以改善传统腐乳产品发酵周期长的问题, 同时可提高生产效率.

腐乳的质量评价通常是通过感官评定来确定, 但是感官评定的重现性不佳, 所以不能作为唯一的评价指标. 氨基态氮含量和蛋白质水解度可以作为评价腐乳成熟程度的指标之一, 二者呈正相关性. 聚丙烯酰胺-凝胶电泳(SDS-PAGE)是分离腐乳蛋白成分并确定其相对分子质量的有效方法, 这种方法基于蛋白质或肽的物理性质进行分离^[3-5]. 腐乳质构主要指腐乳内在的性质, 如弹性、黏性、硬度、脆性. 此外, 水分含量也影响腐乳的质地. 利用扫描电镜可以对腐乳进行微观结构观察.

本文研究了利用乳酸菌混合发酵剂生产速熟腐乳在成熟过程中的理化指标、感官品质、蛋白质水解度、质构特性以及微观结构变化, 并与市售腐乳进行对比.

收稿日期: 2014-04-11; 修回日期: 2014-11-26

作者简介: 汪建明(1972—), 女, 新疆库尔勒人, 教授, wangjianming@tust.edu.cn.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料

大豆,市售;MT-53X(乳酸菌、乳脂乳球菌、嗜热链球菌)发酵剂、Accelerzyme CPG、Piccantase A,荷兰 DSM 公司;利民市售腐乳,天津市利民调料有限公司;王致和市售腐乳,北京王致和食品集团有限公司.

1.1.2 主要试剂

甲醛,中国医药上海化学试剂公司;硝酸银,上海化学试剂厂;铬酸钾,北京化学试剂公司;丙烯酰胺,北京鼎国昌盛生物技术有限公司;N,N-亚甲基双丙烯酰胺、三羟甲基氨基甲烷,北京化工厂;过硫酸铵,天津市北方天医化学试剂厂; β -巯基乙醇、考马斯亮蓝 R-250, Amresco 化学试剂公司;甘氨酸,天津市化学试剂一厂;十二烷基磺酸钠(SDS)、四甲基乙二胺(TEMED),加拿大 BBI 公司.

1.1.3 主要设备

FE-20 型 pH 计、AB204-N 型电子分析天平,梅特勒托利多仪器有限公司;SU1510 型扫描电镜,日本电子株式会社(JEOL);JY-SP-BT 型电泳槽、JY-600 型电泳仪,北京六一电泳设备有限公司;高速台式冷冻离心机、冷冻干燥机, Thermo 电子公司;台式恒温振荡培养箱,北京沃德创意技贸有限责任公司;HWS260 型电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司;TA-XT 质构仪,英国 Stable Micro Systems

公司.

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程

速熟腐乳的制作流程如图 1 所示.

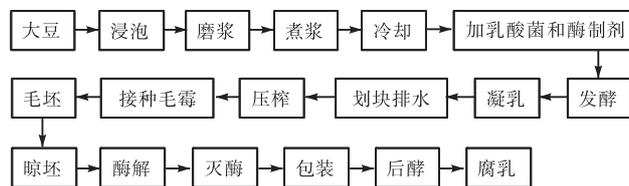


图 1 速熟腐乳的制作流程图

Fig. 1 Flow chart of making instant-sufu

1.2.2 样品的制备^[6-7]

豆浆:大豆 500 g,液料比(mL:g)为 1:3,24.5 °C 浸泡 9 h,磨浆水温 61 °C.

白坯:豆浆(固形物含量 8%),酶制剂(m(CPG):m(A)=2:1)添加量为 1.5 mg/L,发酵剂的添加量为 0.2 mL/L,培养温度为 30 °C,培养时间为 6 h,氯化钙的添加量为 0.2 g/L,将白坯切成 3.0 cm × 3.0 cm × 3.0 cm 的豆腐块备用.

毛坯:在制成的白坯豆腐块上喷洒毛霉孢子,在 28 °C 电热恒温培养箱中培养 40 h.

腐乳:将经酶解的毛坯在 75 ~ 80 °C 条件下保持 30 min,再将经灭酶的毛坯放在汤料中,进行后酵贮藏.

1.2.3 腐乳的感官评定

按照 DB 52/525—2007^[8],评分标准与细则见表 1.

表 1 腐乳的感官评分标准

Tab. 1 Sensory evaluation rules of sufu

项目	特征	得分
色泽	表面呈鲜红色或枣红色,断面呈淡黄色或杏黄色	20 ~ 25
	表面颜色着色较淡,断面颜色黄色较淡	15 ~ 20
	表面为白色,断面为白色或乳白色	10 ~ 15
	表面和断面的颜色不正且色泽不均匀	0 ~ 10
组织状态	块形完整,质地细腻,厚薄均匀,允许有卤汤存在	20 ~ 25
	块形完整,但质地略微粗糙,厚薄不均匀	15 ~ 20
	块形不完整较松散,质地粗糙,影响整体断面结构	10 ~ 15
	块形不成型,质地粗糙,厚薄不均匀	0 ~ 10
气味滋味	香气纯正,滋味鲜美,咸淡适口,具有红腐乳特有的香味,无异味	20 ~ 25
	香气不明显,或红腐乳特定的香味不足	15 ~ 20
	香气不准确,滋味不纯正,较淡或较咸	10 ~ 15
	有不良气味,过淡或过咸	0 ~ 10
杂质	无外来肉眼可见杂质	20 ~ 25
	稍微带有可见杂质	10 ~ 20
	肉眼可见杂质较多	0 ~ 10

1.2.4 测量方法

水分含量的测定采用直接干燥法^[9].

总酸含量(乳酸)的测定采用酸碱中和滴定(酸度计)法^[10].

氨基酸态氮含量的测定采用甲醛滴定法^[11-12].

蛋白质含量的测定采用凯氏微量定氮法^[13].

NaCl 含量的测定采用硝酸银滴定法^[14],并稍作改进:精确称取 10 g 样品,加入 90 mL 蒸馏水搅拌均匀,在电炉上烧开后冷却,定容至 100 mL. 精确吸取 5 mL,随后加入 25 mL 蒸馏水,加入 10 滴铬酸钾指示剂,用 0.1 mol/L 硝酸银滴至砖红色为终点,记录消耗硝酸银标准溶液的体积. 同时进行试剂空白实验,记录空白滴定消耗硝酸银标准溶液的体积. NaCl 含量的计算公式为

$$\text{NaCl含量} = \frac{(V - V_0)c \times 0.05844}{m} \times 100\%$$

式中: V 为消耗硝酸银标准溶液的体积, mL; V_0 为空白滴定时,消耗硝酸银标准溶液的体积, mL; c 为硝酸银标准溶液的浓度, mol/L; NaCl 的摩尔质量为 0.05844 kg/mol; m 为样品的质量, g.

1.2.5 SDS-PAGE 电泳的测定

A 液(丙烯酰胺储存液):称取 29.2 g 丙烯酰胺和 0.8 g 双丙烯酰胺,加蒸馏水至 100 mL, 4 °C 冰箱保存.

B 液(4#分离胶缓冲液):将 75 mL 2 mol/L 的 Tris-HCl(pH 8.8)、4 mL 10% SDS、21 mL 蒸馏水混匀, 4 °C 冰箱保存.

C 液(4#浓缩胶缓冲液):将 50 mL 1 mol/L 的 Tris-HCl(pH 6.8)、4 mL 10% SDS、46 mL 蒸馏水混匀, 4 °C 冰箱保存.

电泳缓冲液:称取 3 g Tris、14.4 g 甘氨酸、1 g SDS,加蒸馏水至 1 L.

上样缓冲液:含有 2 mL 0.5 mol/L Tris-HCl(pH 6.8), 2 mL 甘油, 2 mL 10% SDS, 0.5 mL 0.1% 溴酚蓝, 1.0 mL 2-β-巯基乙醇, 2.5 mL 双蒸水, 室温保存.

分离胶的配制(15%, 20 mL): 10 mL A 液, 5 mL B 液, 0.1 mL 10%过硫酸铵, 10 μL TEMED, 0.5 mL 蒸馏水, 混匀, 现用现配.

浓缩胶的配制(5%, 8 mL): 1.34 mL A 液, 2 mL C 液, 60 μL 10%过硫酸铵, 10 μL TEMED, 4.6 mL 蒸馏水, 混匀, 现用现配.

染色液: 0.2 g 考马斯亮蓝 R-250, 84 mL 95% 乙

醇, 20 mL 冰乙酸, 定容到 200 mL 并过滤, 室温保存.

脱色液: 乙醇、冰乙酸、蒸馏水的体积比为 9 : 1 : 10.

取 0.05 g 样品, 加入 100 μL 去离子水, 室温振荡 2 h, 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液备用. 取上清液加入上样缓冲液, 煮沸 5 min, 8 000 r/min 离心 5 min. 用微量进样器将处理好的样品缓慢均匀加入加样孔中. 浓缩胶上所加的电压是 80 V, 当染料进入分离胶后, 将电压提高至 120 V. 电泳结束后, 凝胶在固定液中固定 1 h, 染色 5 h 后脱色, 直到蛋白质背景干净, 蓝色条带清晰为止. 最后用凝胶成像仪进行数据采集并分析^[15].

1.2.6 质构分析

质构分析是采用压缩方式测试食品的触觉特性. 触觉特性影响到消费者的感官感觉和对食品在接受程度^[16]. 选取探头类型为 P/0.5, 测前速度为 3.00 mm/s, 测中速度为 1.50 mm/s, 测后速度为 1.50 mm/s, 2 次下压间隔时间为 10.00 s, 下压距离为 10.00 mm.

测定的质构参数包括硬度、弹性、内聚性、黏性、咀嚼度和回复性, 各参数的定义见表 2^[17].

表 2 质构参数的含义

Tab. 2 Definition of texture parameters

质构参数	定义
硬度	样品达到一定变形所必须的力, g
弹性	第 1 次压缩的结束与第 2 次压缩的开始间, 样品能恢复的高度之间的比值
内聚性	第 2 次压缩出现的峰面积与第 1 次的峰面积的比值
黏性	硬度与内聚性的乘积, g
咀嚼度	黏性与弹性的乘积, 即硬度、内聚性、弹性三者之积, g
回复性	第 5 次压缩出现的峰面积与第 4 次的峰面积的比值

1.2.7 微观结构观测

取待测样品切成薄片, 使其表面保持平整, 浸泡于 2.5% 的戊二醛溶液中, 置于 4 °C 条件下固定 3 h 以上. 然后, 用 pH 7.2 的磷酸缓冲液清洗 3 次, 每次保持 10 min. 分别用 30%、50%、70%、90%、100% 的乙醇梯度脱水 10 min 左右. 再将样品放置在冷冻干燥器下迅速冷冻, 然后进行捶击, 使之自然断裂, 选择小块样品. 采用离子溅射方法喷金约 5 min, 最后置于扫描电镜下进行观察^[18-19].

2 结果与讨论

2.1 感官品质评价

对速熟腐乳进行感官指标的测定,并与市售的利民腐乳和王致和腐乳进行对比,结果见表3。

表3 速熟腐乳与传统腐乳的感官评价分析比较

Tab.3 Sensory evaluation of instant-sufu and traditional sufu

评定指标及分值	速熟腐乳	利民腐乳	王致和腐乳
断面结构(25分)	21	23	24
色泽(25分)	22	24	23
口感(25分)	24	20	22
香气(25分)	24	23	22
总分(100分)	91	90	91

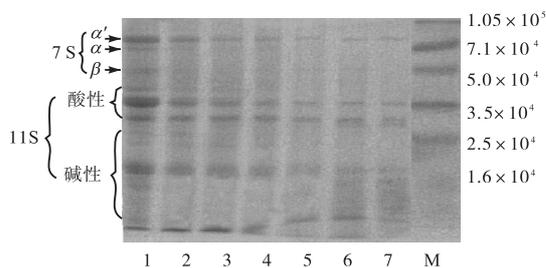
表4 速熟腐乳与传统腐乳的理化指标比较

Tab.4 Index comparison of instant-sufu and traditional sufu

评定指标	速熟腐乳	利民腐乳	王致和腐乳	国家标准
水分含量/%	64.33 + 0.065	62.76 + 0.045	66.83 + 0.056	≤72.0
总酸含量/%	1.01 + 0.35	1.09 + 0.45	1.12 + 0.23	≤1.20
氨基酸态氮含量/(g/100 g)	3.35 + 0.75	3.46 + 0.95	3.36 + 1.05	≥0.45
蛋白质含量/(g/100 g)	17.73 + 0.61	14.87 + 0.53	15.32 + 0.23	≥4.0
NaCl 含量/(g/100 g)	4.64 + 0.053	9.21 + 0.089	9.01 + 0.171	≥6.5

2.3 SDS-PAGE 电泳分析

分别取白坯、毛坯、后酵 10 d、后酵 20 d、速熟腐乳(后酵 30 d)、利民腐乳、王致和腐乳进行电泳实验,并采用凝胶呈像系统软件,通过相对分子质量的对比分析乳酸菌发酵豆乳凝胶样品中蛋白质的水解情况,结果见图2。



M. marker; 1. 白坯; 2. 毛坯; 3. 后酵 10 d; 4. 后酵 20 d; 5. 酶促腐乳; 6. 利民腐乳; 7. 王致和腐乳

图2 样品的 SDS 凝胶电泳图
Fig.2 SDS-PAGE of the sample

由图2可以看出:白坯中大豆蛋白主要由7S和11S球蛋白构成,7S主要由 α' 、 α 、 β 三个亚基构成,相对分子质量分别为76 000、72 000、50 000,而11S由酸性亚基(相对分子质量为30 000~40 000)

和碱性亚基(相对分子质量在25 000以下)构成。在乳酸菌发酵豆乳凝胶过程中,随着发酵时间的延长,大分子质量的蛋白质被水解成小分子质量的肽、肽和氨基酸,球蛋白的水解程度也增加,7S和11S球蛋白的亚基被水解,表现为条带变窄,说明出现了大量的小分子质量物质。在11S碱性亚基以下的小分子的快速迁移中肽随时间逐渐增多,最终该新型的速熟腐乳后酵30d所得到的腐乳与市售成熟6月的腐乳出现条带的宽窄相似,表明速熟腐乳的成熟程度与市售腐乳一致。

2.2 理化指标分析

将发酵30d的速熟腐乳与市售的利民腐乳和王致和腐乳进行比较,3种腐乳的理化指标对比结果见表4。

由表4可以看出:速熟腐乳的水分含量、总酸含量、氨基酸态氮和蛋白质含量与市售的利民腐乳和王致和腐乳没有显著的差异,均符合国家标准;速熟腐乳的NaCl含量明显低于市售的两种腐乳,且略低于国家标准,这更加符合人们对低盐食品的需求,同时也改变了腐乳只能作为调料品的观念,其可作为辅餐食用。

利用质构仪对白坯、发酵10d、发酵20d和速熟腐乳(后酵30d)样品进行质构参数测定,并与利民腐乳和王致和腐乳进行对比,结果见表5。

2.4 质构分析

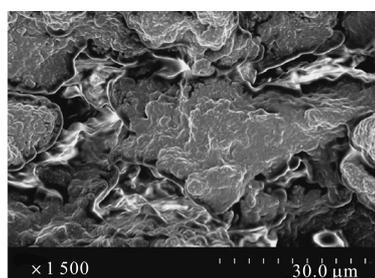
由表5可以看出:速熟腐乳的硬度随着发酵的延长不断地变小,与市售的利民腐乳相差不大,但却明显高于市售王致和腐乳,这可能是因为在王致和腐乳在制作过程中水分含量较高;速熟腐乳的弹性、黏性、咀嚼度和回复性随着发酵时间的推后,均呈现小幅度下降的趋势,且与市售腐乳的指标相差不大,比较适中。

表5 样品的质构参数测量结果比较
Tab. 5 Comparison of texture and structure

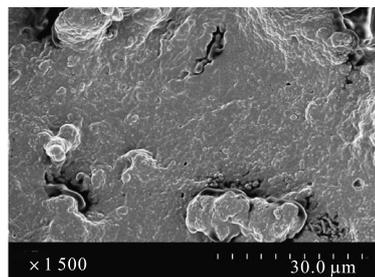
样品	硬度/g	弹性	内聚性	黏性/g	咀嚼度/g	回复性
白坯	179.98 ± 0.012	0.806 ± 0.092	0.453 ± 0.077	81.643 ± 0.013	66.231 ± 0.017	0.166 ± 0.026
发酵 10 d	137.56 ± 0.009	0.746 ± 0.301	0.543 ± 0.256	74.673 ± 0.033	55.133 ± 0.010	0.204 ± 0.199
发酵 20 d	131.09 ± 0.011	0.716 ± 0.020	0.552 ± 0.010	72.765 ± 0.005	52.242 ± 0.005	0.189 ± 0.028
速熟腐乳	127.45 ± 0.011	0.661 ± 0.269	0.554 ± 0.069	70.561 ± 0.008	46.634 ± 0.014	0.059 ± 0.010
利民腐乳	125.02 ± 0.022	0.745 ± 0.009	0.550 ± 0.057	68.211 ± 0.010	51.345 ± 0.008	0.208 ± 0.059
王致和腐乳	95.10 ± 0.623	0.650 ± 0.072	0.455 ± 0.018	42.801 ± 0.013	29.654 ± 1.643	0.084 ± 0.014

2.5 微观结构观测

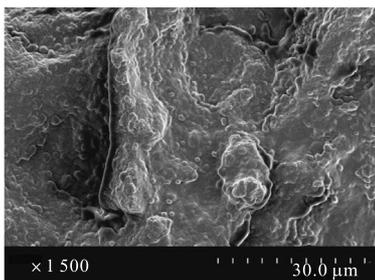
对白坯、速熟腐乳(后酵 30 d)及市售的腐乳的微观结构进行电镜扫描实验,对比其微观结构,结果见图 3.



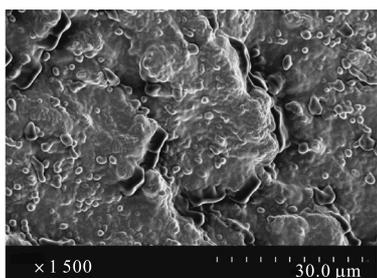
(a) 白坯



(b) 速熟腐乳



(c) 利民腐乳



(d) 王致和腐乳

图3 样品的微观结构对比

Fig. 3 Comparison of the microstructure of the samples

豆浆中由于水化膜和双电层的存在,使得蛋白质粒子均匀稳定地溶解于水中,而豆腐白坯则是借助乳酸菌产酸和钙桥的作用使得大豆蛋白相互联结,形成致密稳定的网络结构,如图 3(a)所示. 由于毛坯的水解作用,腐乳内部大的胶粒状蛋白质聚集集体被降解成小聚集集体,随着后酵时间的增加,蛋白质胶粒逐渐变小,当速熟腐乳的后酵时间达到 30 d 时,坯体中胶粒蛋白质消失,蛋白质已经完全被水解,形成平滑均一的形态,如图 3(b)所示. 速熟腐乳与市售腐乳对比发现,速熟腐乳的微观结构与市售 6 月的腐乳结构较相似,其形态较市售腐乳平滑均一,说明后酵 30 d 的腐乳已达到成熟.

3 结 语

本文将经乳酸菌混合发酵剂发酵得到的速熟腐乳与市售两种腐乳进行了对比. 分析表明,在感官指标、电泳分析、质构分析、微观结构和理化指标中除 NaCl 含量外,速熟腐乳与市售的利民腐乳和王致和腐乳间无明显差异,且符合国家标准. 速熟腐乳的发酵生产周期显著缩短,并且其 NaCl 含量明显低于市售腐乳,可作为辅餐使用,具有较好的开发前景.

参考文献:

- [1] Chung H Y. Volatile flavor components in red fermented soybean (*Glycine max*) curds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(5): 1803–1809.
- [2] Megumi K, Kumi T, Shinkichi T, et al. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides isolated from tofuyo fermented soybean food[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2003, 67(6): 1278–1283.
- [3] Chin H W, Rosenberg M. Monitoring proteolysis during cheddar cheese ripening using two-dimensional gel electrophoresis[J]. *Journal of Food Science*, 1998, 63(3): 423–428.

(下转第 44 页)