



发芽黑豆乳的制备及其稳定剂配方优化研究

邓春丽¹, 邓日英², 陈春岚², 韦秋兰², 罗杨合¹

(1. 贺州学院 食品科学与工程技术研究院, 广西 贺州 542899; 2. 贺州学院 食品与生物工程学院, 广西 贺州 542899)

摘要:为全面提升发芽黑豆乳的营养特性及口感,将发芽 48 h 的黑豆芽经过磨浆分离、煮浆灭酶、果胶酶和纤维素酶水解后得到发芽黑豆原浆,并以此为主要原料,添加牛奶、白砂糖和柠檬酸调配成发芽黑豆乳。以感官评价和可溶性固形物含量为指标进行单因素试验,在此基础上通过正交试验优化发芽黑豆乳的配方;在发芽黑豆乳优化配方条件下,进一步以稳定系数为评价指标进行单因素试验,并采用响应面法对发芽黑豆乳的稳定剂配方进行优化。正交试验结果表明:发芽黑豆乳最佳配方为以发芽黑豆原浆用量的基础上添加牛奶 25% (V/V)、白砂糖 8% (m/V) 和柠檬酸 0.06% (m/V),其感官评分达到 88.9 分。响应面试验结果表明:以发芽黑豆乳用量为基础,各稳定剂的添加量为蔗糖酯 0.08% (m/V)、黄原胶 0.04% (m/V)、CMC 0.06% (m/V),在此条件下,发芽黑豆乳的稳定系数为 0.858,且豆乳口感细腻润滑、奶香协调、无豆腥味。

关键词:发芽黑豆;黑豆乳;配方;响应面分析

Study on the Preparation of Germinated Black Soybean Milk and Optimization of Its Stabilizer Formula

DENG Chun-li¹, DENG Ri-ying², CHEN Chun-lan², WEI Qiu-lan², LUO Yang-he¹

(1. Research Institute of Food Science & Engineering Technology, Hezhou University, Hezhou 542899, China; 2. College of Food and Biological Engineering, Hezhou University, Hezhou 542899, China)

Abstract: In order to comprehensively improve the nutritional characteristics and taste of germinated black soybean milk, we refined and separated the black soybean sprouts after germinating for 48 h, boiled it to inactivate enzymes, and hydrolyzed it with pectinase and cellulase to obtain germinated black soybean original liquid. The germinated black soybean original liquid was used as main raw material, milk, white granulated sugar and citric acid were added to prepare germinated black soybean milk. Based on the single factor experiment, the formula of germinated black soybean milk was optimized through orthogonal experiment with sensory score as index. Under the conditions of the optimized formula of germinated black soybean milk, the response surface methodology (RSM) was used to optimize the stabilizer formula based on the further single factor test results with stability as an index. The orthogonal experiment results showed that the optimal formula of germinated black soybean milk was as follows: Based on the dosage of germinated black soybean original liquid (mL), the addition of milk, white granulated sugar and citric acid was 25% (V/V), 8% (m/V) and 0.06% (m/V), respectively, and the sensory score reached 88.9. The results of response surface methodology showed that based on the dosage of germinated black soybean milk (mL), the addition amount of each stabilizer was sucrose ester 0.08% (m/V), xanthan gum 0.04% (m/V), and CMC 0.06% (m/V). Under such conditions, the stability coefficient of germinated black soybean milk system was 0.858, and the taste of the germinated black soybean milk was fine and smooth, with harmonious milk aroma and no smell of beans.

Keywords: germinated black soybean; black soybean milk; formula; response surface analysis

黑豆,又称为乌豆,属于豆科类植物,全国各地均有广泛种植,但盛产于山西、河北、陕西等地。作为药食同源的豆类,黑豆含有丰富的蛋白质、膳食纤维、多酚、花色苷异黄酮等物质^[1],具有抗氧化、抗肿瘤、降低代谢紊乱^[2]等功效,长期食用可以延年益寿、强身健体、提高免疫力^[3]。在食品行业中,以黑豆为原材料的产品主要有黑豆高蛋白饮料、黑豆发酵型酸奶、黑豆香酥脆饼、黑豆醇香酱油、黑豆蛋白果冻等^[4]。

对黑豆进行发芽处理,可以将处在休眠状态的

种子激发到呼吸作用增强、生理活动频繁的状态,黑豆内部酶的数量、种类及酶活力急剧增加^[5],黑豆中的各种物质在酶促反应条件下转化成高活性的成分,且可能产生新的高活性物质^[6]。有研究发现,将黑豆萌发成芽可以有效提高其蛋白质利用率,萌芽黑豆蛋白质通过直接消除人体自由基及促进人皮肤纤维细胞增殖来抵抗 H₂O₂ 引起的人皮肤成纤维细胞损伤,并且低分子量的萌芽黑豆蛋白质具有更强的抗氧化活性^[7]。

将种子中的活性成分以绿色、自然的萌芽方式

收稿日期:2021-08-06

基金项目:大学生创新创业训练计划(201811838134);广西中青年教師科研基础能力提升项目(2021KY0710)。

第一作者:邓春丽(1986—),女,硕士,助理研究员,主要从事农产品加工研究。E-mail: dengchunli2016@163.com。

通讯作者:罗杨合(1969—),博士,教授,主要从事农产品活性成分开发利用研究。E-mail: luoyanghe@tsinghua.org.cn。

转化,使其易于提取和富集,且更加易于人体吸收和利用,成为获取生物活性成分的新途径^[8]。目前对发芽黑豆的研究很少,对其功能成分的开发和研究也不够深入,限制了其在食品、保健品、美容护肤品和药品等领域的广泛应用。黑豆作为我国丰富的农产品资源,应该对其充分开发和利用,促进黑豆产业的整体发展。本研究以黑豆为原料,探索黑豆发芽过程中主要营养物质的变化,通过筛选最佳发芽时间,获得营养价值较高的发芽黑豆作为制备发芽黑豆乳原料。分别以感官评分、豆乳稳定性和可溶性固形物为指标,确定发芽黑豆乳优化配方、最佳稳定剂优化组合,以期获得新型黑豆乳,以期 为发芽黑豆乳工业化生产提供技术支撑和理论基础,为黑豆产业的进一步开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以河北地产黑豆品种乌皮青仁为材料,伊利纯牛奶、白砂糖;蔗糖酯、黄原胶、羧甲基纤维素钠(CMC)、柠檬酸、纤维素酶(酶活力 30 000 U·g⁻¹)、果胶酶(酶活力 100 000 U·g⁻¹)均为食品级,(河南万邦化工科技有限公司);考马斯亮蓝贮备液(南京建成科技有限公司);总蛋白(TP)测定试剂盒(上虞市创烨生物有限公司);石油醚、盐酸、浓硫酸、葱酮、抗坏血酸、NaOH 均为国产分析纯。

主要实验仪器有 LRH-150 培养箱(上海一恒科技有限公司),Evolution 300 紫外可见分光光度计(广西金鑫进出口有限公司),DHG-系列电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),TGL-20M 高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),B-500A 均质分散机(上海一恒科技有限公司),V-1600PC 型可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司),SZF-06 粗脂肪测定仪(上海新嘉电子有限公司),CP512 型电子天平[奥豪斯仪器(常州)有限公司],K1160 全自动凯氏定氮仪(海能科学仪器服务商)。

1.2 试验设计

1.2.1 发芽黑豆乳配方研究 以果胶酶和纤维素酶水解后的发芽黑豆原浆用量(mL)为基础,以感官评分和可溶性固形物含量为指标,考察牛奶、白砂糖、柠檬酸的添加量对黑豆乳品质的影响。单因素试验设计如下:(1)固定添加白砂糖 8%、柠檬酸 0.05%,考察牛奶添加量(5%、15%、25%、35%、45%)对发芽黑豆乳感官评分和可溶性固形物含量

的影响;(2)固定添加牛奶 25%、柠檬酸 0.05%,考察白砂糖添加量(4%、6%、8%、10%、12%)对发芽黑豆乳感官评分和可溶性固形物含量的影响;(3)固定添加牛奶 25%、白砂糖 8%,考察柠檬酸添加量(0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%)对发芽黑豆乳感官评分和可溶性固形物含量的影响。在单因素试验基础上,进行正交处理优化配方参数,正交试验因素水平详见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 The factors and levels of orthogonal test			
水平 Level	因素 Factor		
	A	B	C
	牛奶 Milk/%	白砂糖 White granulated sugar/%	柠檬酸 Citric acid/%
1	15	6	0.04
2	25	8	0.05
3	35	10	0.06

1.2.2 发芽黑豆乳稳定剂配方优化 为增强发芽黑豆乳的稳定效果,以发芽黑豆乳用量(mL)为基础,以发芽黑豆乳稳定系数 R 为指标,考察稳定剂蔗糖酯、黄原胶、CMC 的添加量对豆乳体系稳定性的影响。单因素试验设计如下:(1)固定黄原胶和 CMC 的添加量分别为 0.06%、0.08%,考察蔗糖酯添加量(0.06%、0.08%、0.10%、0.12%、0.14%)对豆乳体系稳定性的影响;(2)固定蔗糖酯和 CMC 的添加量分别为 0.10%、0.08%,考察黄原胶添加量(0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、0.10%)对豆乳体系稳定性的影响;固定蔗糖酯和黄原胶的添加量分别为 0.10%和 0.06%,考察 CMC 添加量(0.04%、0.06%、0.08%、0.10%、0.12%)对豆乳体系稳定性的影响。根据单因素试验结果,采用三因素三水平响应面试验优化发芽黑豆乳稳定剂配方,试验因素与水平详见表 2。

表 2 响应面试验因素水平表

Table 2 The factors and levels of response surface analysis			
水平 Level	因素 Factor		
	A	B	C
	蔗糖酯 Sucrose ester/%	黄原胶 Xanthan gum/%	CMC
-1	0.08	0.04	0.06
0	0.10	0.06	0.08
1	0.12	0.08	0.10

1.3 试验工艺流程

发芽黑豆乳的生产工艺流程为:原料黑豆→清洗→浸泡→发芽→磨浆分离→煮浆灭酶→双酶水解→调配→均质→杀菌→冷却→包装→发芽黑豆乳。

选取优质黑豆,用蒸馏水冲洗 3 遍,去除表面杂质,再用蒸馏水浸泡 12 h。浸泡后的黑豆用蒸馏水冲洗干净,装入托盘中并以浸湿的纱布盖住,放入 22 ℃ 恒温培养箱中黑暗培养,在培养期间每隔 8 h 用喷壶将纱布喷湿以保证发芽环境。根据前期试验及预试验结果可知,当发芽 48 h 时,发芽黑豆的营养价值较高,蛋白质、脂肪、维生素 C、可溶性糖的含量均显著增加,其含量分别为 78.92 g·L⁻¹,139.4 g·kg⁻¹,281.7 g·kg⁻¹,18.86%,均高于未发芽黑豆相应成分含量(未发芽黑豆的蛋白、脂肪、维生素 C、可溶性糖的含量分别为 48.73 g·L⁻¹,109.0 g·kg⁻¹,135.1 g·kg⁻¹,16.59%)。为充分利用发芽黑豆丰富的营养,选择发芽时间为 48 h 的黑豆作为制备发芽黑豆乳的原料。

黑豆经发芽处理后,按质量比 1:10 加入蒸馏水进行 2 次磨浆、浆渣分离、过滤(120 目筛)得到发芽黑豆浆,将过滤后的发芽黑豆浆在电磁炉上煮沸,灭酶处理 10 min 后冷却,添加 2.5% 复合酶(果胶酶和纤维素酶用量为 1:1),水解温度为 50 ℃,水解时间为 3 h。向水解完毕的原浆中加入牛奶、白砂糖和稳定剂进行调配,对调配好的发芽黑豆乳在 60 ℃、25 MPa 条件下进行 2 次均质处理,并于 121 ℃ 杀菌 20 min。

1.4 测定项目及方法

蛋白质含量:参考古丽巴哈尔·卡吾力等^[9]的方法,配制考马斯亮蓝显色液及制备组织样本,并按总蛋白定量(TP)测定试剂盒说明书操作步骤对处理好的样品进行测定,计算公式如下:待测样本蛋白浓度(g·L⁻¹) = $\frac{\text{待测 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times 0.524 \times 100$,式中,0.524 g·L⁻¹为标准品浓度,100 为样品测定前稀释倍数。

脂肪含量:根据 GB5009.6-2016 测定发芽黑豆中的脂肪含量。

维生素含量:参考董红兵等^[10]的方法,先制作抗坏血酸标准曲线,再称取发芽黑豆 2 g 于研钵中,按照样品制备操作步骤进行处理,测定黑豆提取液在 243 nm 波长下的吸光度。计算公式如下:Ve

含量 = $\frac{u \times V_{\text{总}}}{V_1 \times W_{\text{总}}}$,式中,u 为从标准曲线上查得抗坏血酸的含量(μg);V₁为测定吸光度值时吸取样品溶液的体积(mL);V_总为样品定容体积(mL);W_总为称样质量(g)。

可溶性糖含量:采用蒽酮比色法^[11]测定可溶性糖含量,先绘制葡萄糖标准曲线,后进行样品制备。称取 1 g 发芽黑豆粉于研钵中,将 30 mL 蒸馏水分两步加入:第一步,先在研钵中加入 6 mL 蒸馏水并进行磨浆,将磨浆匀浆转入锥形瓶中;第二步,将剩下的 24 mL 蒸馏水分 2~3 次冲洗研钵,洗出液倒进锥形瓶中。再向锥形瓶中加入 20 mL HCl(6 mol·L⁻¹),搅拌均匀,在沸水浴中水解 30 min 后过滤,向 100 mL 容量瓶中放入吸取的 10 mL 滤液,用蒸馏水定容,所得的总糖水解液稀释倍数为 1 000 倍。

吸取 1 mL 水解液于试管中,测定 620 nm 的吸光度,计算公式如下:可溶性糖含量(%) = $\frac{C \times V_1 \times D}{W \times V_2 \times 10^6} \times 100$,式中,C 为糖含量(μg);V₁为提取总体积(mL);V₂为测定总体积(mL);D 为稀释倍数;W 为样品质量(g)。

可溶性固形物含量:采用阿贝折光仪进行测定。
pH:室温条件下采用 pH 计进行测定。

稳定系数:稳定系数的大小与溶液体系的稳定状态密切相关,是评价饮料的关键指标。将样品放入离心机,在离心状态下,体系受离心力影响而失稳,通过测定样品离心前后的吸光度,即可知道其体系稳定性,当测定的稳定系数接近 1 时,表明体系更趋向于稳定,反之则体系就越不稳定。参考白青云^[12]的方法并略作修改:量取 1 mL 发芽黑豆乳放入有刻度的离心管中,用蒸馏水稀释 40 倍至 40 mL,放入转速为 4 000 r·min⁻¹离心机中离心 10 min,并在 785 nm 波长处测定发芽黑豆乳离心前后的吸光度,利用稳定系数(R)对发芽黑豆乳稳定性进行评价,计算公式为:R = $\frac{A_2}{A_1}$,式中,R 为稳定系数;A₁为离心前的吸光值;A₂为离心后的吸光值。

感官评定:以 10 名鉴评人员组成感官评价小组,对发芽黑豆乳的颜色、气味、口感、状态进行评价,评分标准详见表 3。

表 3 感官评价标准表
Table 3 The sensory evaluation criteria

项目 Item	评分标准 Evaluation criteria	评分 Scores
颜色 Color	具有黑豆乳天然的颜色(灰褐色)	16~20
	具有黑豆乳的色泽(黄灰色)	10~15
	与黑豆乳的色泽不符(浅灰色)	<10
气味 Smell	具有黑豆的香气,与奶香协调	16~20
	有黑豆的香气,但香气不够协调	11~15
	淡淡的黑豆香味	5~10
	整体黑豆香味协调性差	<5
口感 Taste and texture	味感和谐,粘度适中,口感细腻、润滑	16~20
	味感不足,粘度稍差,口感较细腻	10~15
	味感过淡,粘度不均匀,口感粗糙	<10
状态 State	混浊度上下均匀,不分层,不析出	36~40
	上下分布较均匀、轻微分层	20~35
	上层有少量水析出,下层出现絮状	10~19
	分层明显,大量沉淀	<10

2 结果与分析

2.1 发芽黑豆乳配方优化

2.1.1 单因素试验 牛奶添加量对发芽黑豆乳感官评价的影响:添加牛奶不仅可以增加营养,而且可以柔和豆乳豆腥味,使豆乳口感更加细腻润滑,是豆乳制作不容忽视的因素。如图 1 所示,牛奶的添加对豆乳可溶性固形物的影响较小,对豆乳的品质口感影响较大。当添加牛奶从 5% 增至 25% 时,感官评分逐渐增大;当牛奶添加量为 25% 时,感官评分高达 89 分,此时豆乳的品质口感最佳;当牛奶的加入量超过 25% 时,感官评分降低。牛奶添加量高于 25% 时,豆乳奶香不协调,豆味淡,质地稍浓稠;低于 25%,豆味浓、豆腥味重,影响豆乳品质。因此,选择牛奶的添加量 15%~35% 为发芽黑豆乳品质优化的最佳范围。

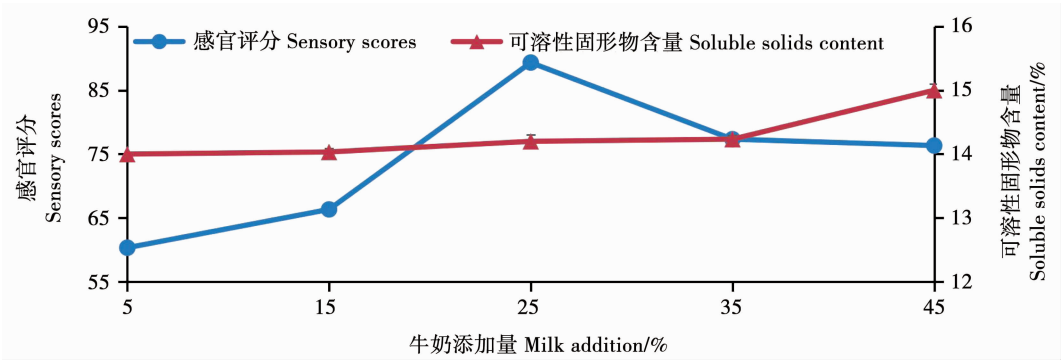


图 1 牛奶添加量对发芽黑豆乳感官评价及可溶性固形物含量的影响

Fig. 1 The effects of milk addition content on sensory evaluation and soluble solids content of germinated black soybean milk

白砂糖添加量对发芽黑豆乳感官评价的影响:白砂糖的添加对产品的甜度有直接影响,对豆乳的细腻程度、口感风味起到关键作用。如图 2 所示,豆乳可溶性固形物随着白砂糖添加量增加而增加,呈正相关关系,而豆乳感官评定值则随着白砂糖的添

加表现出先增后减的趋势。当白砂糖添加量为 8% 时,感官评分达到最大;当添加量低于 8% 时,豆乳口味淡且豆涩感强;高于 8% 时,豆乳甜腻且质地粘稠。因此,选择白砂糖的添加量 6%~10% 为发芽黑豆乳品质优化的最佳范围。

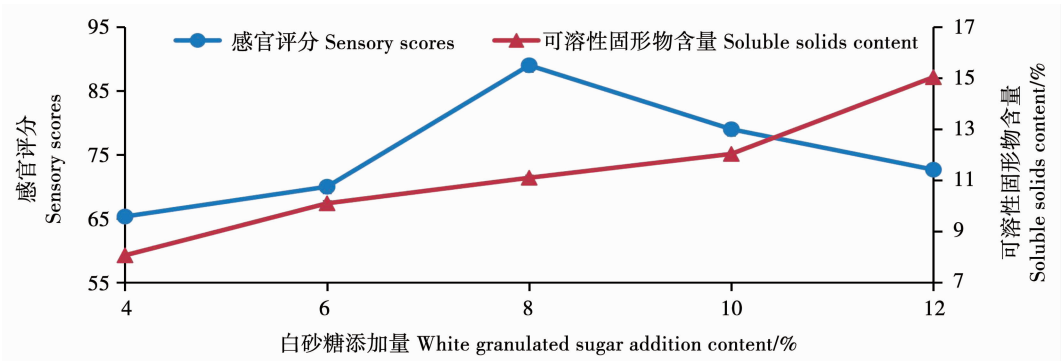


图 2 白砂糖添加量对发芽黑豆乳感官评价及可溶性固形物含量的影响

Fig. 2 The effects of white granulated sugar addition content on sensory evaluation and soluble solids content of germinated black soybean milk

柠檬酸添加量对发芽黑豆乳感官评价的影响: 柠檬酸的添加可调节豆乳饮料体系 pH,使豆乳口感甜度适中、增进风味、去除豆腥味,降低豆涩感,协调奶香味,是豆乳制作不可忽视的因素。如图 3 所示,柠檬酸的添加对豆乳可溶性固形物以及感官评分都有较大影响。当柠檬酸添加量为 0.05% 及

0.06% 时,豆乳奶香协调、质地均匀、口感较佳;低于 0.04% 时,豆乳有沙粒感、质地较稀;高于 0.06% 时,豆乳表现出明显的涩感,口感偏淡不细腻、质地偏稀、分层明显。因此,选择柠檬酸的添加量为 0.04% ~0.06% 作为发芽黑豆乳品质优化的最佳范围。

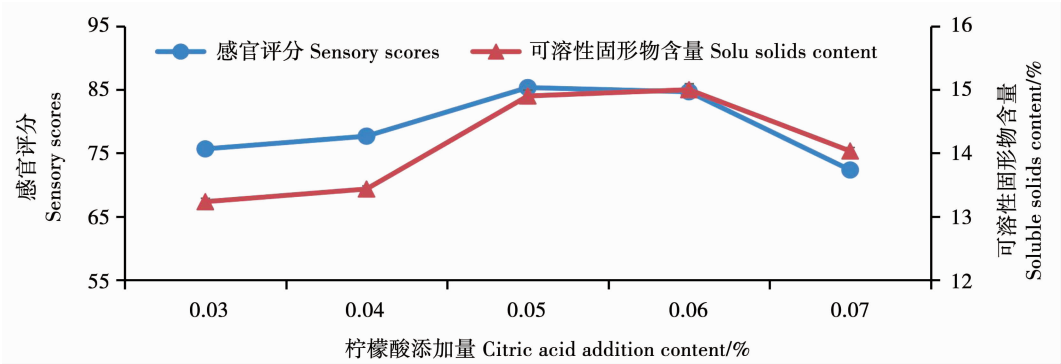


图 3 柠檬酸添加量对发芽黑豆乳感官评价及可溶性固形物含量的影响
Fig.3 The effects of citric acid addition content on sensory evaluation and soluble solids content of germinated black soybean milk

2.1.2 正交试验结果 综合单因素试验结果,以牛奶、白砂糖及柠檬酸的添加量为影响因素,以发芽黑豆乳的感官评分值为指标,进行正交试验的结果如表 4 所示,白砂糖添加量对发芽黑豆乳的品质有较大影响,各因素的添加对豆乳产品的感官评分影

响大小顺序为白砂糖 > 柠檬酸 > 牛奶。发芽黑豆乳配方最佳优化组合为 A₂B₂C₃,即以发芽黑豆原浆用量 (mL) 为基础,添加牛奶 25% (V/V)、白砂糖 8% (m/V) 和柠檬酸 0.06% (m/V),此时感官评分达到 88.9,黑豆乳品质口感最佳。

表 4 发芽黑豆乳配方正交试验结果

Table 4 The orthogonal test results of germinated black soybean milk formula

编号 Number	A	B	C	空列 Null column	感官评分 Sensory evaluation
1	1	1	1	1	75.3
2	1	2	2	2	82.1
3	1	3	3	3	67.8
4	2	1	2	3	74.7
5	2	2	3	1	88.9
6	2	3	1	2	69.2
7	3	1	3	2	82.8
8	3	2	1	3	69.4
9	3	3	2	1	68.5
k1	75.067	77.600	71.300	77.566	
k2	77.600	80.133	75.100	78.033	
k3	73.567	68.500	79.833	70.633	
R	4.033	11.633	8.533	7.400	

2.2 发芽黑豆乳复配稳定剂优化

2.2.1 单因素试验 蔗糖酯添加量对发芽黑豆乳稳定性的影响:蔗糖酯是由蔗糖和长链脂肪酸进行酯化反应而生成,具有较高表面活性,能降低表面、界面张力,可以提高豆乳体系的稳定性系数、防止

颗粒聚集,是乳制品中常用的乳化剂^[13]。从图 4 可以看出,蔗糖酯的添加对豆乳的稳定性有一定的影响。随着蔗糖酯的加入,豆乳体系的稳定性先上升后下降,当添加量为 0.1% 时,稳定系数达到 0.74,此时豆乳体系稳定性最佳。

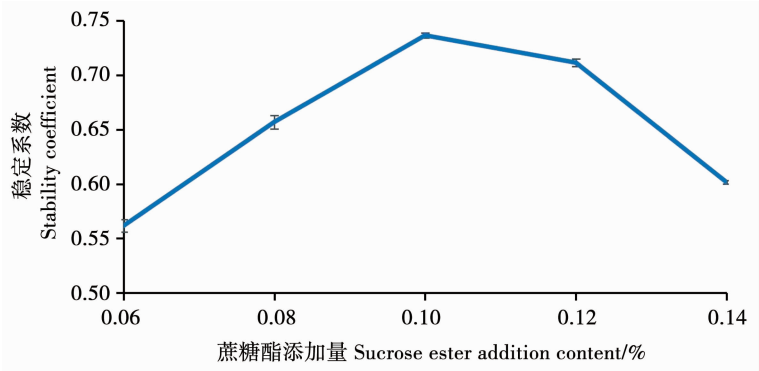


图4 蔗糖酯添加量对发芽黑豆乳稳定性的影响

Fig.4 The effects of sucrose ester addition content on the stability of germinated black soybean milk

黄原胶添加量对发芽黑豆乳稳定性的影响:黄原胶是一种具有三糖侧链的刚性线性阴离子多糖,可以显著增加乳状液分散相的粘度或形成凝胶网络结构,从而减缓由于油滴的布朗运动或重力作用引起的分层现象的发生,赋予产品理想的质构特

征,因此被广泛应用于食品乳状液中^[14]。从图5可以看出,豆乳稳定系数随着黄原胶添加量的增加呈先增后减的趋势,当黄原胶的添加量为0.06%时,稳定系数最大,此时豆乳最稳定。

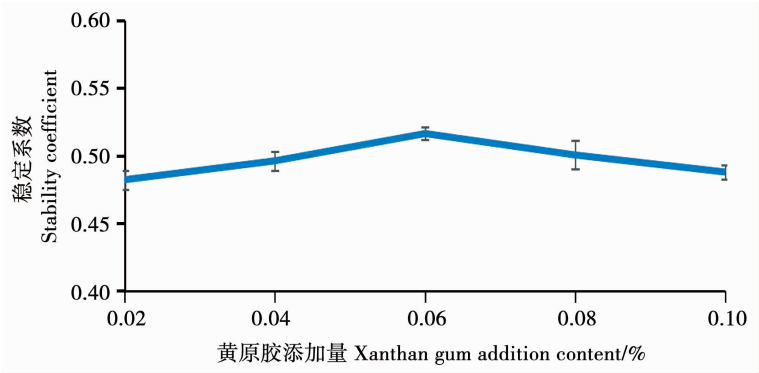


图5 黄原胶添加量对发芽黑豆乳稳定性的影响

Fig.5 The effects of xanthan gum addition content on the stability of germinated black soybean milk

CMC添加量对发芽黑豆乳稳定性的影响:羧甲基纤维素钠(CMC)是一种离子型纤维素胶,由于具有独特的悬浮性、增稠性和黏合性,常用作增稠剂、稳定剂、乳化剂或持水剂添加于食品中^[15]。由图6

可知,受CMC添加影响,黑豆乳体系的稳定性总体上呈先增强后减弱趋势,当添加量为0.08%时,豆乳稳定系数可达到0.66,此时豆乳更稳定。

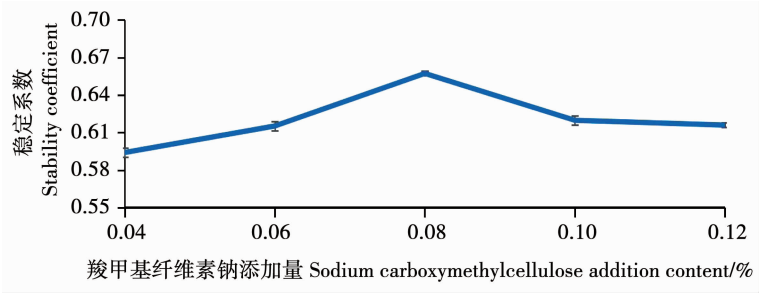


图6 羧甲基纤维素钠添加量对发芽黑豆乳稳定性的影响

Fig.6 The effects of sodium carboxymethylcellulose addition content on the stability of germinated black soybean milk

2.2.2 响应面试验 豆乳蛋白含量高,其体系内部蛋白质分子容易聚集在一起,影响产品的品质,蔗糖酯、黄原胶和 CMC 等稳定剂可以有效与豆乳体系中的大分子蛋白质相吸附,结合水相状态使蛋白颗粒均匀分散在体系中^[16]。根据单因素试验结果,以稳定系数(R)为指标,应用 Box-Behnken 对发芽黑豆乳复配稳定剂工艺进行响应面分析,试验设计及结果详见表 5,回归模型方差分析详见表 6。

表 5 响应面中心组合试验设计及结果

Table 5 The design and results of response surface test				
编号 Number	A 蔗糖酯 Sucrose ester	B 黄原胶 Xanthan gum	C CMC	稳定系数 R
1	-1	-1	0	0.689
2	1	-1	0	0.467
3	-1	1	0	0.591
4	1	1	0	0.503
5	-1	0	-1	0.697
6	1	0	-1	0.533
7	-1	0	1	0.667
8	1	0	1	0.566
9	0	-1	-1	0.635
10	0	1	-1	0.620
11	0	-1	1	0.631
12	0	1	1	0.556
13	0	0	0	0.312
14	0	0	0	0.354
15	0	0	0	0.358
16	0	0	0	0.317
17	0	0	0	0.319

表 6 响应面二次回归方程模型方差分析结果

Table 6 The variance analysis results of response surface quadratic regression equation model

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>	显著性 Significance
模型 Model	0.3045	9	0.0338	80.68	<0.0001	**
A	0.0413	1	0.0413	98.56	<0.0001	**
B	0.0029	1	0.0029	6.89	0.0342	*
C	0.0005	1	0.0005	1.26	0.2988	
AB	0.0045	1	0.0045	10.71	0.0136	*
AC	0.0010	1	0.0010	2.37	0.1679	
BC	0.0009	1	0.0009	2.15	0.1863	
A ²	0.0590	1	0.0590	139.52	<0.0001	**
B ²	0.0530	1	0.0530	127.37	<0.0001	**
C ²	0.1200	1	0.1200	276.28	<0.0001	**
残差 Residual	0.0029	7	0.0004			
失拟项 Lack of fit	0.0010	3	0.0003	0.67	0.6137	
纯误差 Pure error	0.0020	4	0.0005			
总和 Total	0.3074	16				
		<i>R</i> ² = 0.9905	<i>R</i> _{adj} ² = 0.9782	信噪比 = 24.164		

注:*P* > 0.1 000 为差异不显著, * 表示差异显著 (*P* < 0.05), ** 表示差异极显著 (*P* < 0.01)。
Note: If *P* > 0.1 000, there is not significant difference, * indicates significant difference (*P* < 0.05), ** indicates extremely significant difference (*P* < 0.01).

利用 Design Expert 8.0.6 软件对表 5 进行回归分析,得到稳定系数(Y)对自变量蔗糖酯(A)、黄原胶(B)和 CMC(C)的二次回归方程: $Y = 0.332 - 0.072A - 0.019B - 0.008C + 0.034AB + 0.016AC - 0.015BC + 0.118A^2 + 0.113B^2 + 0.166C^2$ 。

由表 6 可知,模型极显著($F = 80.68, P < 0.0001$),失拟项不显著($P = 0.6137 > 0.05$),模型的拟合度系数 R^2 高达 99.05%,表示模型与实际情况拟合的

很好,可以用来预测试验。模型的一次项 A、B 的 P 值小于 0.05,说明蔗糖酯与黄原胶对结果影响显著,且一次项各因素对稳定系数 R 影响的大小顺序为:蔗糖酯(A) > 黄原胶(B) > CMC(C)。二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 的 P 值均小于 0.01,具有极高的显著性,各因素对醋酸产量的影响不是简单的线性关系,响应面效应显著(图 7)。

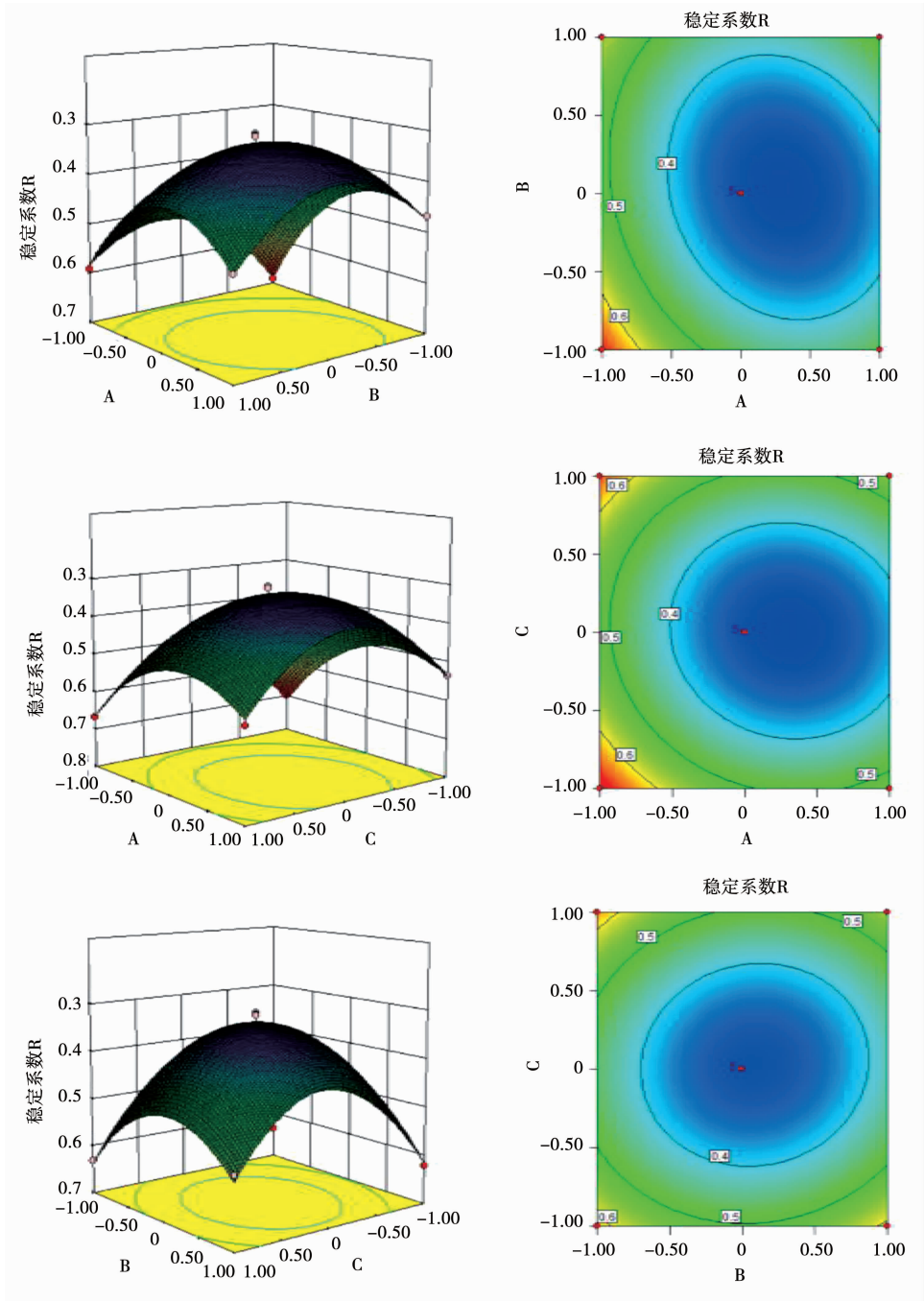


图 7 蔗糖酯、黄原胶和 CMC 添加量对发芽黑豆乳稳定性影响的响应面及等高线

Fig. 7 The response surface and contour map of sucrose ester, xanthan gum and sodium carboxymethylcellulose addition content on the stability of germinated black soybean milk

由图 7 可知,与单因素试验结果一致,随着各稳定剂添加量的增加,发芽黑豆乳稳定性呈先增大后减小的趋势。蔗糖酯、黄原胶、CMC 间均有着明显的交互作用,在等高线图中,通过观察圆形的椭圆程度,可明显发现蔗糖酯和黄原胶的交互作用更加显著;稳定系数随着各因素水平的增大呈现先增大后减小的趋势。根据模型预测得到发芽黑豆乳复配稳定剂优化最佳条件为:以发芽黑豆乳的用量(mL)为基础,各稳定剂的添加量为蔗糖酯 0.08%、黄原胶 0.04%、CMC 0.06%,根据模型预测得到的理论最大稳定系数为 0.862。

根据最佳优化条件进行验证试验表明,在黑豆乳体系中添加蔗糖酯(0.08%)、黄原胶(0.04%)、CMC(0.06%),试验稳定系数为 0.858,与模型预测值(0.862)相接近,说明响应面分析优化得出的发芽黑豆乳稳定剂组合用量是可行的,具有较高的准确性。

3 讨论

根据预试验结果可知,黑豆种子内部的蛋白质、脂肪、维生素 C 及可溶糖的含量随着发芽时间的延长呈现一定波动,与前人^[17-19]的研究一致。发芽过程中,黑豆的营养成分含量波动的主要原因是种子发芽激发呼吸作用增强,同时酶活性增强,脂肪分解酶、脂肪氧化酶和酯酶活性增强^[20],使种子新陈代谢加速,这也是种子发芽后糖和纤维素增多的原因。本研究通过分析发芽过程中的营养成分变化,筛选最佳发芽时间,获得最高营养价值的发芽黑豆作为制备发芽黑豆乳原料,分别以感官评分、豆乳稳定性和可溶性固形物为指标,确定发芽黑豆乳优化配方、最佳稳定剂优化组合,获得一款新型优质黑豆乳。

本研究首先采用单因素试验,分别确定牛奶的添加量为 25%,白砂糖的添加量为 8%,柠檬酸的添加量为 0.06%。以感官评分为指标,通过正交试验确定发芽黑豆乳优化配方,即以发芽黑豆原浆用量(mL)为基础,添加牛奶 25%(V/V)、白砂糖 8%(m/V)和柠檬酸 0.06%(m/V),此时发芽黑豆乳的口感最佳。并在发芽黑豆乳优化配方的基础上,采用单因素试验结合稳定性测定结果,分别确定稳定剂蔗糖酯的添加量为 0.1%、黄原胶的添加量为 0.06%和 CMC 的添加量为 0.08%。通过响应面分析,以稳定系数为评定指标,得到以稳定系数为响应值的三元二次方程。近年来,较多研究将回归模

型与试验拟合,并用于食品加工工艺与配方的预测。邓春丽等^[21]采用该方法得到了芒果果醋发酵工艺的可靠数据模型,并认为该模型可用于芒果果醋发酵工艺最优参数的优化和预测。汪秀妹等^[22]将该方法应用于红枣酸奶工艺参数的优化,并得到响应面模型预测值。本研究采用响应面法建立了发芽黑豆乳中蔗糖酯、黄原胶和 CMC 添加量的稳定系数评定二次回归方程数学模型,验证试验表明该模型可用于发芽黑豆乳稳定剂配方的优化和预测。

综上,本研究对发芽黑豆乳配方及其稳定剂配方进行探索和优化为增加产品营养价值,选取经发芽处理后的黑豆芽为原料,优化发芽黑豆乳配方及其稳定剂配方,并建立了可预测发芽黑豆乳稳定剂配方的二次回归方程数学模型。本研究所获得的黑豆乳营养价值丰富,豆乳口感细腻润滑、奶香协调、无豆腥味,不但能满足日趋变化的消费市场,还有助于推动黑豆食品的加工与利用。

4 结论

本研究以发芽 48 h 的乌皮青仁黑豆作为制备发芽黑豆乳的原料,添加牛奶、白砂糖、柠檬酸,在单因素的基础上,通过正交试验优化发芽黑豆乳配方,得到发芽黑豆乳配方最佳优化组合,即在发芽黑豆原浆中添加牛奶 25%(V/V)、白砂糖 8%(m/V)和柠檬酸 0.06%(m/V),此时感官评价达到 88.9 分。按此配方制备所得的发芽黑豆乳奶香协调,无豆腥味,色泽均匀且细腻润滑,质地无分层。进一步研究得出发芽黑豆乳的最佳稳定剂添加量为:蔗糖酯 0.08%、黄原胶 0.04%、CMC 0.06%在此条件下制备所得的发芽黑豆乳的稳定系数为 0.858,口感香味俱佳,品质稳定。

参考文献

[1] 徐飞,葛阳阳,刘新春,等.黑豆营养成分及生物活性的研究进展[J].中国食物与营养,2019,25(9): 55-61. (XU F, GE Y Y, LIU X C, et al. Research advancement of nutritional composition and biological activity of black soybean [J]. Food and Nutrition in China, 2019, 25 (9): 55-61.)

[2] 秦琦,张英蕾,张守文.黑豆的营养保健价值及研究进展[J].中国食品添加剂,2015(7): 145-150. (QIN Q, ZHANG W L, ZHANG S W. The nutritional value and research progress of black soybean [J]. China Food Additives, 2015(7): 145-150.)

[3] 来吉祥.黑豆萌芽水提物抗氧化活性研究及其机理初探[D].无锡:江南大学,2014. (LAI J X. Investigation of antioxidant activity and primary antioxidant mechanism of black soybean sprouts [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.)

- [4] 赵璇,金素娟,牛宁,等. 黑豆的利用价值与开发前景[J]. 河北农业科学,2015,19(1): 99-101. (ZHAO X, JIN S J, NIU N, et al. Utility value and development propect of black soybean [J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2015,19(1): 99-102.)
- [5] 鲍会梅. 黑豆发芽过程中成分的变化[J]. 食品工业,2016,37(5): 1-4. (BAO H M. Changes in components during germination of black soybean [J]. Food Industry,2016,37(5): 1-4.)
- [6] 来吉祥,魏少敏,方云,等. 黑豆萌芽后主要成分变化及其生物活性研究进展[J]. 大豆科学,2013,32(6): 840-844. (LAI J X, WEI X M, FANG Y, et al. Research advances on variation of main compositions and its biological activities of black soybean after germination [J]. Soybean Science, 2013,32(6): 840-844.)
- [7] 来吉祥,何聪芬,方云,等. 萌芽黑豆中蛋白质组分分子量分布及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2015,36(1): 49-53. (LAI J X, HE C F, FANG Y, et al. Study on molecular weight distribution and antioxidant activity of protein components in germinal black soybean [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015,36(1): 49-53.)
- [8] 董雨薇,刘学,薛晓欣,等. 浅谈黑豆萌发过程中营养成分的变化[J]. 广东蚕业,2019,53(6): 25-26. (DONG Y W, LIU X, XUE X X, et al. Discussion on the changes of nutrition components of black soybean during germination [J]. Guangdong Canye, 2019,53(6): 25-26.)
- [9] 古丽巴哈尔·卡吾力,高晓黎,常占瑛,等. 响应面法优化新疆鲜马奶粉冷冻干燥工艺参数[J]. 安徽农业科学,2013,41(26): 10823-10825,10827. (GULIBAHAR K, GAO X L, CHANG Z Y, et al. Optimal frozen and drying parameters of Xinjiang fresh horse milk by response surface method [J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2013, 41 (26): 10823-10825,10827.)
- [10] 董红兵,胡蓝. 不同初加工方式对绿叶蔬菜营养物质的影响[J]. 武汉商学院学报,2019,33(1): 91-94. (DONG H B, HU L. Effects of different initial processing on nutrients of green-leafy vegetables [J]. Journal of Wuhan Business University,2019,33(1): 91-94.)
- [11] 位杰,吴翠云,蒋媛,等. 蒽酮法测定红枣可溶性糖含量条件的优化[J]. 食品科学,2014,35(24): 136-140. (WEI J, WU C Y, JIANG Y, et al. Sample preparation optimization for determination of soluble sugar in red jujube fruits by anthrone method [J]. Food Science,2014,35(24): 136-140.)
- [12] 白青云. 富含多肽的发芽豆乳饮料的研制[J]. 食品与机械,2011,27(4): 156-159. (BAI Q Y. Preparation of enriched-peptide germinated soybean milk beverage [J]. Food & Machinery, 2011,27(4): 156-159.)
- [13] 刘道林. 酪蛋白酸钠-蔗糖酯-黄原胶相互作用对乳浊液界面特性与稳定特性的影响[D]. 广州:华南理工大学,2014. (LIU D L. The influence of sodium caseinate-sucrose ester-xanthan gum interaction on the interfacial properties and stability of emulsions [D]. Guangzhou:South China University of Technology, 2014.)
- [14] 杨晋杰,邵国强,王胜男,等. 黄原胶对大豆分离蛋白乳状液聚集稳定性的影响[J]. 中国粮油学报,2019,34(4): 21-25. (YANG J J, SHAO G Q, WANG S N, et al. Effect of xanthan Gum on the aggregation stability of soy protein isolated emulsions [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 34(7): 21-25.)
- [15] 李艳如,杨畅,牛世祯,等. 羧甲基纤维素钠在乳饮料体系中的应用评价[J]. 中国食品添加剂,2020(7): 92-98. (LI Y R, YANG C, NIU S Z, et al. Evaluation on the application of sodium carboxymethyl cellulose in milk beverage [J]. China Food Additives, 2020(7): 92-98.)
- [16] 王昌陵,张立军,孙旭刚,等. 响应面法优化黑豆乳稳定剂配方研究[J]. 辽宁农业科学,2015(3): 16-19. (WANG C L, ZHANG L J, SUN X G, et al. Optimization of formula of black soy milk stabilizer by response surfacemethod [J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2015(3): 16-19.)
- [17] 王慧. 大豆品种及发芽时间对豆芽营养成分与产量的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2014. (WANG H. Effects of soybean varieties and germination time impact on bean sprouts nutrients [D]. Harbin:Northeast Agricultural University, 2014.)
- [18] 赵霞,曹改萍,王敏,等. 不同类型大豆萌发期维生素E组分及含量的比较[J]. 中国粮油学报,2020,35(8): 48-55,83. (ZHAO X, CAO G P, WANG M, et al. Comparison of vitamin E components and contents in different types of soybean during germination [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020,35(8): 48-55,83.)
- [19] 王薇,朱庆珍. 黑豆不同发芽期VC变化规律研究[J]. 农产品加工,2011(10): 49-50,56. (WANG W, ZHU Q Z. Effect of growing condition on the vitamin C content of black soybean sprouts [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2011(10): 49-50,56.)
- [20] 陈凤清,丛建民,杜站宇,等. 萌发黑豆几种生理生化指标变化研究[J]. 食品工业科技,2013(9): 142-145. (CHEN F Q, CONG J M, DU Z Y, et al. Research of the physiological and biochemical of germination *Glycine max* var [J]. Science and Technology of Food Industry,2013(9): 142-145.)
- [21] 邓春丽,韦芳兰,苏辉兰,等. 响应面法优化芒果果醋发酵工艺研究[J]. 中国调味品,2020,45(2): 116-120,141. (DENG C L, WEI F L, SUI H L, et al. Optimization of mango vinegar fermentation process by response surface methodology [J]. China Condiment,2020,45(2): 116-120,141.)
- [22] 汪秀妹,汪毅宁,胡玲芳,等. 响应面法优化红枣酸奶配方及质构特性研究[J]. 食品研究与开发,2021,42(7): 62-69. (WANG X M, WANG Y N, HU L F, et al. Optimization of the formula of red jujube yogurt by response surface methodology and its textural properties analysis [J]. Food Research and Development, 2021,42(7): 62-69.)