



果蔬酵素豆腐凝固剂的应用研究

刘艳红^{1,2}, 周艳婷², 陈雨², 王心如², 罗思佳², 季春艳^{1,2}

(1. 阜阳师范大学 生物与食品工程学院, 安徽 阜阳 236000; 2. 阜阳师范大学 信息工程学院, 安徽 阜阳 236000)

摘要:为探讨利用果蔬酵素作为凝固剂制作豆腐的可行性及加工工艺,采用单因素实验、正交实验及方差分析方法,以感官评价结果和持水力为指标,研究果蔬酵素添加量、养花时间、点浆温度和压制时间对果蔬酵素豆腐口感和持水力的影响。优化果蔬酵素豆腐的工艺配方,并将果蔬酵素豆腐与市面上的卤水豆腐和内酯豆腐的理化和质构指标进行比较。结果表明:利用含有植物乳杆菌 N13、保加利亚乳杆菌、瑞士乳杆菌、肠膜明串珠菌肠膜亚种和嗜热链球菌 5 种益生菌的发酵剂,与 5 种果蔬共同混合发酵制备的果蔬酵素作为凝固剂,制得的果蔬酵素豆腐最佳工艺配方为养花时间 10 min、点浆温度 90 ℃、压制时间 8.5 h、酵素添加量 20%。此工艺条件下制得的果蔬酵素豆腐呈浅黄色,色泽光亮均匀,果味芬芳纯正,豆香浓郁,口感细腻柔和。果蔬酵素豆腐硬度为 27.68 N,弹性为 5.42 mm,咀嚼性为 61.7 mj。与市售的卤水豆腐和内酯豆腐相比,果蔬酵素豆腐硬度高、弹性较好、咀嚼性好、口感绵密,拥有独特的果香味。研究结果对天然豆腐凝固剂的开发具有一定参考价值。

关键词:果蔬酵素;酵素豆腐;工艺优化;持水力;质构测定;酸性凝固剂

Research on the Application of Fruit and Vegetable Enzyme Tofu Coagulant

LIU Yanhong^{1,2}, ZHOU Yanting², CHEN Yu², WANG Xinru², LUO Sijia², JI Chunyan^{1,2}

(1. Biology and Food Engineering School, Fuyang Normal University, Fuyang 236000, China; 2. College of Information Engineering, Fuyang Normal University, Fuyang 236000, China)

Abstract: In order to study the feasibility and processing technology of making bean curd by using fruit and vegetable enzyme as coagulant. Single factor and orthogonal experiments and variance analysis were used to study the effects of enzyme addition, coagulation time, coagulation temperature and pressing time on the taste and water-holding capacity of tofu, the technological formula of fruit and vegetable enzyme tofu was optimized, and the physicochemical and texture indexes of fruit and vegetable enzyme tofu were compared with those of marinated tofu and lactone tofu. The results showed that: Using the starter culture containing 5 kinds of probiotics, such as *Lactobacillus plantarum* N13, *Lactobacillus Bulgaricus*, *Lactobacillus Swissoensis*, *Leuconostoc intestinalis* subspecies and *Streptococcus thermophilus*, the fruit and vegetable enzyme prepared by mixed fermentation with 5 kinds of fruits and vegetables is used as the coagulant. The optimal process formula of fermented bean curd was as follows: Incubation time 10 min, pulping temperature 90 ℃, pressing time 8.5 h and enzyme content 20%. Under this condition, fruit and vegetable enzyme tofu is produced with a light yellow color, a bright and uniform color, a pure and fragrant fruit flavor, a strong bean aroma, and a delicate and soft taste. The fruit and vegetable enzyme tofu has a hardness of 27.68 N, elasticity of 5.42 mm, and chewiness of 61.7 mj. Compared with commercially available brine tofu and lactone tofu, fruit and vegetable enzyme tofu has higher hardness, better elasticity, the chewing type is better, a dense taste, and a unique fruity aroma. The results of this study have certain reference value for the development of natural tofu coagulants.

Keywords: fruit and vegetable enzymes; enzymatic tofu; process optimization; holding water capacity; texture determination; acid coagulant

食用果蔬酵素是以果蔬为原料,由微生物发酵后制得的可供食用的含有特定生物活性成分的酵素产品^[1]。果蔬微生物发酵后含有丰富的 SOD、矿物质、有机酸、氨基酸、维生素、粗纤维、酚类物质、黄酮类化合物、单宁、白藜芦醇等物质^[2],具有较高细胞免疫力、解酒、抑菌、降血脂、改善肠胃功能、抗氧化衰老^[3]、抗疲劳、润肠通便、提高消化功能和新陈代谢,以及帮助增强免疫力、对自身消化系统和身

体健康均有一定的好处。酵素中的有机酸等物质可以作为豆腐的凝固剂^[4,5]。

豆腐(tofu)是中国人餐桌上常见的豆制品。豆腐生熟食皆可,老幼咸宜,具有高蛋白、低脂肪的特点,对于降血压、降血脂和降胆固醇效果显著^[6]。目前,市场上常见的豆腐有卤水豆腐、内酯豆腐和石膏豆腐。卤水豆腐主要用脱脂大豆为原料,以氯化镁为凝固剂,豆腐有韧性,且保留有豆香味,但其

收稿日期:2024-09-26

基金项目:安徽省高等学校自然科学基金重点项目(2023AH052854, 2023AH052855);安徽省质量工程项目(2023kcszsf233, 2023xsxx408, 2023sdx325, 2023cxtd136);安徽省优秀青年培育重点项目(YQZD2024101);国家级大学生创新创业计划项目(202413619004);安徽省大学生创新创业计划项目(s202313619013);阜阳师范大学校级项目(FXG2021ZY02, 2021FXJY05, 2022XGJYZD01, 2022XGJY01, 2022XGJY04, 2024YLC0001, 2024YLYZ0002);阜阳地方农产品食品工艺开发科研创新团队资助(FX-2020KCT02)。

第一作者:刘艳红,女,硕士,副教授,主要从事食品加工贮藏及生物技术研究。E-mail:liuyan hong8917@126.com。

含水量相比内酯豆腐较少。内酯豆腐是以葡萄糖酸 δ 内酯(*GDL*)为凝固剂,豆腐质地细腻嫩滑,但豆香味损失较多,且咀嚼性较差^[7],烹饪方式受限。石膏豆腐是以石膏(硫酸钙)为凝固剂制得,豆腐含水量较多,质地细腻,但有苦涩味,且长期食用可能引发胆结石等疾病,对健康不利。

近年来,各种酸性凝固剂逐渐被学者开发研究。如谢秀玲等^[8]用柠檬汁作为凝固剂制成的具有柠檬香味的豆腐;曲艳^[9]利用泡菜菌发酵的小米发酵液制成的豆腐感官评价与结构质地较优;张巧玲等^[10]研发的竹荪酸浆豆腐具有独特竹荪香味,总酚含量较高,具有保健功能的潜力。但是鲜有报道果蔬酵素作为酸性凝固剂对豆腐品质的影响。果蔬酵素中含有丰富的小分子有机酸类^[2],可以作为酸性凝固剂使豆浆溶液的pH值降低,释放的质子会使大豆蛋白表面上带负电的基团变少,导致静电斥力变弱然后互相靠近,便于蛋白质分子凝结成豆腐。而凝固剂的使用决定了豆腐的成型程度、均匀性和微观结构,对制作出的豆腐的口感、产量、感官等方面都会产生不同程度的影响^[11]。

因此,本研究选用含有多种益生菌的发酵剂,发酵混合果蔬,以果蔬酵素中的天然酸性成分作为酸性凝固剂,利用单因素实验和正交试验,以感官评分和持水力为评价指标,探究制作果蔬酵素豆腐的可行性。利用果蔬酵素中天然酸性成分替代人工合成酸性凝固剂,一方面增加豆腐酸性凝固剂的可能性,另一方面拓宽果蔬酵素类新产品的种类和应用领域,以期为天然豆腐凝固剂的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

黄豆为超市购买(阜新蒙古自治县丰缘农产品有限公司);安琪果蔬发酵剂(江苏微康生物科技有限公司,含有植物乳杆菌N13、保加利亚乳杆菌、瑞士乳杆菌、肠膜明串珠菌肠膜亚种和嗜热链球菌5个益生菌);茭白、猕猴桃、苹果、橙子和番茄(购自阜阳市七彩世界永辉超市)。

1.2 仪器及设备

MJ-12磨浆机(广州雷迈机械设备有限公司);IH30E9型电磁炉(苏泊尔股份有限公司);DHP-9041电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);TMS—Pro型质构仪(Food Technology Corporation);XF-103MB水分测定仪(厦门雄发仪器

仪表有限公司);TG16G台式高速离心机(常州领立科技公司);LH-T90手持糖度计(上海函格生物科技有限公司)。

1.3 豆腐制备方法

1.3.1 果蔬酵素的制备 果蔬清洗去皮,按照料液比1:1放入玻璃罐中,果蔬发酵剂的添加量为0.08%^[12,13]。将发酵罐放入恒温培养箱中32℃,发酵4d。发酵结束后,酵素用滤网过滤,备用。

1.3.2 果蔬酵素豆腐加工工艺流程 筛选黄豆→清洗→泡豆→清洗→磨浆→过滤(重复两次)→煮浆→搅拌冷却→酵素点浆→养花→压制→成型→成品。

1.3.3 操作要点 筛选黄豆:挑选豆粒饱满、色泽光亮、无病虫害、无霉变、无发芽且无污染的大豆^[14]。

泡豆:于25℃下浸泡9~10h。豆子吸水分膨胀变软,用手轻轻一搓豆皮易脱落,有利于后续营养物质的渗出和提取^[15]。

清洗:泡好的大豆清洗1~2次,去除漂浮的豆皮,降低豆子的酸度^[16]。

磨浆、过滤:将黄豆放入磨浆机中,按干豆与水1:10的比例加入水,研磨3~4min,然后用100目纱布过滤得到豆浆。

煮浆:边加热边搅拌,防止豆浆糊底。豆浆上层的泡沫可用勺子撇去,然后继续加热至沸腾,保持3~5min,防止假沸。

点浆:将发酵好的果蔬酵素缓慢地滴入豆浆,搅拌均匀使其形成豆花。

压制:将养好的豆花倒入带有纱布的豆腐模具中,用纱布包好豆花,盖上盖子,在盖子上放置1kg(约10N)重物压制。

1.4 试验设计

1.4.1 单因素实验 以养花时间、酵素添加量(酵素质量/煮浆后豆浆质量)、点浆温度、压制时间为单因素。养花时间为0,5,10,15和20min,酵素添加量为17%、20%、23%、26%和29%,点浆温度为60,70,80,90和100℃,压制时间为5,6,7,8和9h。分别讨论养花时间、酵素添加量、点浆温度和压制时间各因素对果蔬酵素豆腐感官品质和持水力的影响,每个处理3次重复。

1.4.2 正交因素水平实验 在单因素实验的基础上,以感官评分和持水力为指标进行 $L_9(3^4)$ 正交实验(表1),每个处理组重复3次。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交因素水平实验设计

Table 1 $L_9(3^4)$ orthogonal factor-level experimental design

水平 Level	因素 Factor			
	A	B	C	D
	养花时间 Coagulation time/min	点浆温度 Temperature of adding coagulant/℃	压制时间 Pressing time/h	果蔬酵素添加量 Fruit and vegetable enzyme volume/%
1	10	95	7.5	17
2	5	90	8	20
3	0	85	8.5	23

1.5 测定项目及方法

1.5.1 果蔬酵素理化性质 采用 2,6-二氯靛酚滴定法^[17]测定果蔬酵素中维生素 C 含量,利用 LH-T90 手持糖度计测量果蔬酵素的可溶性固形物含量,手持式折光仪依标准温度(20 ℃)设计而成,若非标准温度,需根据可溶性固形物对温度的校正表进行校正。根据酸碱中和原理测定果蔬酵素可滴定酸。利用碱液滴定试样中的酸,以酚酞为滴定终点,按碱液的消耗量计算总酸的含量^[18],以质量分数计算,公式为: $X = C \times (V_1 - V_2) \times K \times F / M \times 1\,000$ 。式中, X 为总酸度含量, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; C 为 NaOH 标准滴定溶液浓度, $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; V_1 为滴定试液时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积, mL; V_2 为空白试验时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积, mL; K 为折算系数, 0.064; F 为试液的稀释倍数; M 为试样的取样量, g。

1.5.2 豆腐持水力 准确称取 50 mL 离心管的质量(M_0),将豆腐放入到已编号的离心管中,称取各

管总质量(M_1), $2\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,用吸水纸吸取多余的水分后称取离心管及剩余物的质量(M_2)^[19]。计算公式:持水力 = $(M_2 - M_0) / (M_1 - M_0)$ 。

1.5.3 豆腐总酸含量 同 1.5.1 中总酸测定方法一致。

1.5.4 豆腐质构 将豆腐切割成 $2\text{ cm} \times 2\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ 的方块,置于载物台上,将 TPA-70MM 探头对准中心位置,测定豆腐硬度、弹性和咀嚼性。测定参数:检测速度 $60\text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$,起点感应力 0.75 N,应变 50%,压缩 2 次,2 次压缩间隔 3 s^[20]。

1.5.5 豆腐感官评定 感官评价小组由 10 名(5 女、5 男)经过培训且具有经验的食物专业学生组成。将评价员随机分组、编号,分成若干组。要求各评价员根据标准规定^[21]执行评分,分别对果蔬酵素豆腐的口感、风味、色泽和组织状态进行评分^[22],具体标准如表 2。

1.6 数据分析

利用 Excel 2016 进行试验数据分析。

表 2 果蔬酵素豆腐感官评分标准

Table 2 Sensory evaluation of fruit and vegetable enzyme tofu

评价项目 Evaluation project	评价标准 Evaluation criterion	分值 Score
色泽(10 分) Colour and lustre(score = 10)	豆腐呈浅黄色,色泽光亮均匀	7 ~ 10
	豆腐呈浅淡黄色,呈色基本均匀	4 ~ 6
	豆腐呈色不均	0 ~ 3
气味(25 分) Flavor(score = 25)	果味较重,豆香浓郁,微酸,无豆腥味,无异味	20 ~ 25
	果味较浓,有豆香,微酸,无豆腥味	11 ~ 19
	果味较淡,偏酸,豆香味较淡或有豆腥味	0 ~ 10
组织形态(40 分) Texture(score = 40)	块形完整,表面光滑无黏性,手感绵软,组织均匀细腻	26 ~ 40
	块形基本完整,表面较粗糙无黏性,组织孔隙均匀	10 ~ 25
	块形不完整,表面粗糙或有黏性,组织孔隙不均匀	0 ~ 9
口感(25 分) Taste(score = 25)	口感细腻柔和,咀嚼无渣感,弹性好	20 ~ 25
	口感较软或较硬,咀嚼稍有渣感,弹性一般	11 ~ 19
	口感过软或过硬,咀嚼有明显渣感,弹性差或无弹性	0 ~ 10

2 结果与分析

2.1 果蔬酵素理化指标分析

由茭白、番茄、橙子、苹果和猕猴桃发酵 4 d 制成的果蔬酵素的总酸度为 $49.13\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 维生素 C 含量为 $200\text{ mg}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$, 可溶性固形物含量为 2.79%。

2.2 果蔬酵素豆腐加工单因素实验

2.2.1 养花时间 由图 1 可知,养花时间过长,果蔬酵素豆腐口感不佳,感官评分低;果蔬酵素豆腐的持水力随着养花时间的增加而逐渐减小,主要由于蛋白质的网状结构网眼越来越小^[23]所致。因此,综合比较得出养花时间控制在 5 min 左右为宜,此时形成的果蔬酵素豆腐感官品质较好,持水力适中。

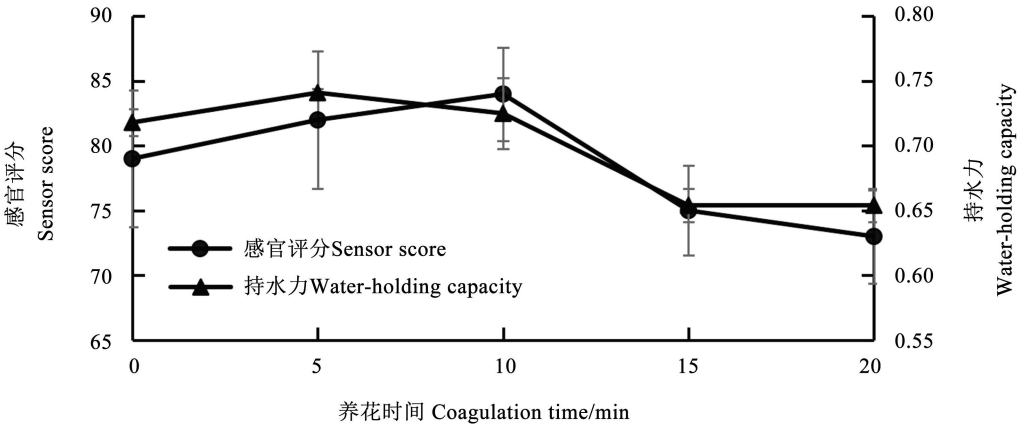


图 1 养花时间对果蔬酵素豆腐感官评分与持水力的影响

Fig.1 Effects of coagulation time on the sensory scoring and water retention of fruit and vegetable enzyme tofu

2.2.2 酵素添加量 由图 2 可知,酵素添加量的增加会增强蛋白质之间的疏水作用,使蛋白之间的凝胶强度加大^[24]。当添加量为 20% 时,持水力和感官评分均达最大值。其原因为若酵素添加量继续增加,会使得蛋白质的酸化速率过快,此时的蛋白

质的网路结构比较差^[25],故持水力出现下降的趋势;口感不佳,感官评分偏低。因此,随着酵素添加量的增加,持水力与感官评分均呈现先增加后降低的趋势。综合比较以酵素添加量控制在 20% 左右为宜,此时形成的豆腐感官品质与持水力较好。

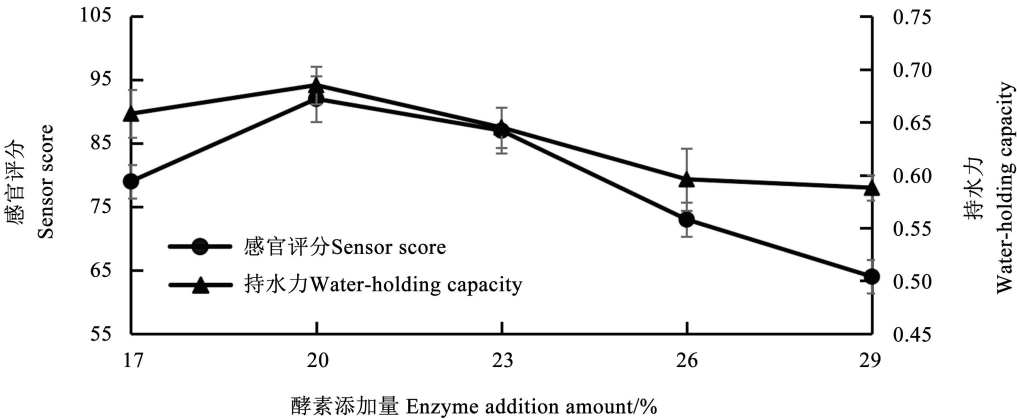


图 2 酵素添加量对果蔬酵素豆腐感官评分与持水力的影响

Fig.2 Effects of enzyme addition amount on the sensory score and water retention of fruit and vegetable enzymetofu

2.2.3 点浆温度 由图 3 可知,点浆温度过低,点出的豆花少,渗出液多,豆腐组织状态与凝固状态

差,持水力低;持水力随着点浆温度的升高而逐渐升高,90℃时持水力最高,有研究指出蛋白质的变

性会影响持水力^[26],所以在温度升高的过程中,豆浆中的蛋白质暴露更多 SH-基团,该基团促进二硫键交联,使得蛋白质的网状结构更加紧密,增加蛋白质的凝胶强度,但继续增加温度会使得巯基

氧化现象越来越严重,对持水力产生负面影响^[27]。因此,综合比较得出点浆温度控制在 90 ℃ 左右为宜,此时形成的果蔬酵素豆腐感官品质和持水力较好。

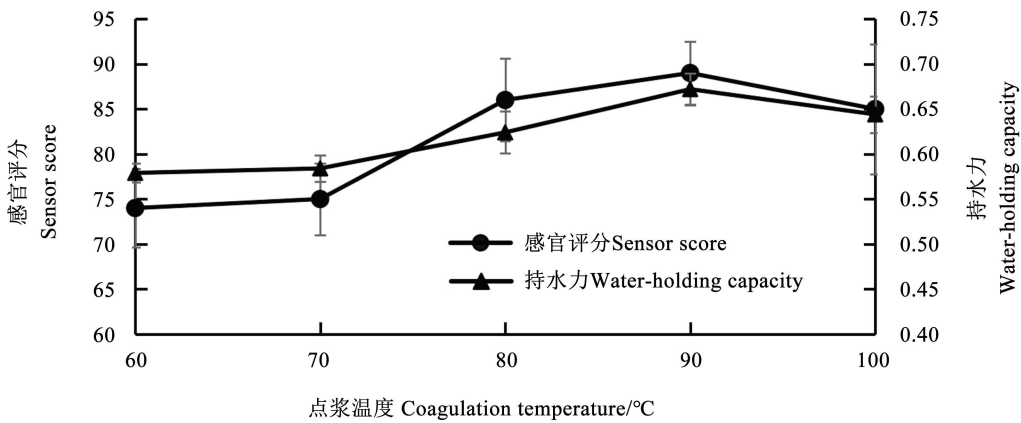


图3 点浆温度对果蔬酵素豆腐感官评分与持水力的影响

Fig. 3 Effects of coagulation temperature on the sensory scoring and water retention of fruit and vegetable enzyme tofu

2.2.4 压制时间 由图4可知,压制时间越长豆腐的结构越稳定,从感官评分上来看,压制7~9 h左右时,豆腐的感官评分与持水力较好。压制时间小于7 h时,豆腐成品的持水力低,结构不稳定,十分

易碎^[28]。综上所述,压制时间选择在8 h左右为宜,此时形成的果蔬酵素豆腐感官品质和持水力较好。

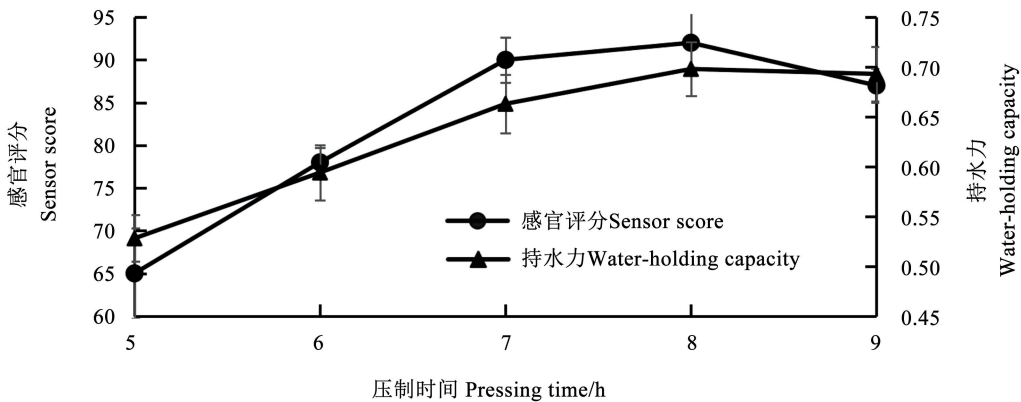


图4 压制时间对果蔬酵素豆腐感官评分与持水力的影响

Fig. 4 Effects of pressing time on the sensory scoring and hydraulic retention of fruit and vegetable enzymetofu

2.3 正交实验

2.3.1 感官评价正交实验 在单因素实验的基础上进行正交实验的结果如表3所示,果蔬酵素豆腐最佳工艺配方组合是 A₁ B₂ C₃ D₂, 即养花时间 10 min、点浆温度 90 ℃、压制时间 8.5 h、酵素添加

量 20%。由极差分析可知,影响果蔬酵素豆腐感官评分因素主次顺序:酵素添加量>养花时间>压制时间>点浆温度。由方差分析可知,养花时间、点浆温度、压制时间和酵素添加量对感官评分的影响均达到极显著水平($P<0.01$)(表4)。

表 3 感官评价正交实验结果

Table 3 Results of the orthogonal tests for sensory evaluation

序号 No.	试验因素 Experimental factor				感官评分 Sensory Score
	A	B	C	D	
	养花时间	点浆温度	压制时间	酵素添加量	
	Coagulation time/min	Coagulation temperature/℃	Pressing time/h	Enzyme addition amount/%	
1	10	95	7.5	17	72 ± 0.2
2	10	90	8.0	20	88 ± 0.5
3	10	85	8.5	23	82 ± 0.5
4	5	95	8.0	23	82 ± 0.2
5	5	90	8.5	17	75 ± 0.3
6	5	85	7.5	20	84 ± 0.6
7	0	95	8.5	20	84 ± 0.3
8	0	90	7.5	23	77 ± 0.6
9	0	85	8.0	17	70 ± 0.6
K ₁	242	238	233	217	
K ₂	241	240	240	256	
K ₃	231	236	241	241	
k ₁	80.667	79.333	77.667	72.333	
k ₂	80.333	80.000	80.000	85.333	
k ₃	77.000	78.667	80.333	80.333	
R	3.667	1.333	2.667	13	
较优组合 Optimal combination	A ₁	B ₂	C ₃	D ₂	
主次顺序 Primary and secondary order	D > A > C > B				

表 4 感官评价方差分析表

Table 4 Variance analysis of sensory evaluation

项目 Item	偏差平方和 Deviation sum of squares	自由度 Degree of freedom	<i>F</i>	显著性 Significance level	<i>P</i>
养花时间 Coagulation time	79.509	2	570.941	**	<0.001
点浆温度 Coagulation temperature	6.720	2	48.255	**	<0.001
压制时间 Pressing time	39.896	2	286.484	**	<0.001
酵素添加量 Enzyme addition amount	783.429	2	5625.686	**	<0.001
误差 Error range	1.253	18			
总计 Total	170509.770	27			
修正后总计 Revised total	910.807	26			
<i>R</i> ²	0.999				
<i>Adj R</i> ²	0.998				

注: * 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。

Note: * indicates significant difference ($P < 0.05$); ** indicates a significant difference ($P < 0.01$). The same below.

2.3.2 持水力正交实验 在单因素实验的基础上进行正交实验,果蔬酵素豆腐持水力的正交实验结

果如表 5 所示,果蔬酵素豆腐最佳工艺配方组合是 A₁B₂C₃D₂,即养花时间 10 min、点浆温度 90 ℃、压

制时间 8.5 h、酵素添加量 20%。由极差分析可知,影响果蔬酵素豆腐感官评分因素主次顺序为酵素添加量 > 压制时间 > 点浆温度 > 养花时间。

由方差分析可知,酵素添加量和压制时间对持水力影响极其显著($P < 0.01$),养花时间和点浆温度影响不显著($P > 0.05$)(表 6)。

表 5 持水力正交试验结果

Table 5 Orthogonal hydraulic holding test results

序号 No.	试验因素 Experimental factor				持水力 Water-holding capacity
	A	B	C	D	
	养花时间	点浆温度	压制时间	酵素添加量	
	Coagulation time/min	Coagulation temperature/℃	Pressing time/h	Enzyme addition amount/%	
1	10	95	7.5	17	0.5239 ± 0.001
2	10	90	8.0	20	0.7050 ± 0.011
3	10	85	8.5	23	0.6755 ± 0.017
4	5	95	8.0	23	0.6602 ± 0.015
5	5	90	8.5	17	0.5854 ± 0.002
6	5	85	7.5	20	0.6388 ± 0.012
7	0	95	8.5	20	0.7161 ± 0.020
8	0	90	7.5	23	0.6430 ± 0.012
9	0	85	8.0	17	0.5402 ± 0.002
K ₁	1.9044	1.9002	1.8057	1.6495	
K ₂	1.8844	1.9334	1.9054	2.0599	
K ₃	1.8993	1.8545	1.9770	1.9787	
k ₁	0.6348	0.6334	0.6019	0.5498	
k ₂	0.6281	0.6445	0.6351	0.6866	
k ₃	0.6331	0.6182	0.6590	0.6596	
R	0.0067	0.0263	0.0571	0.1368	
较优组合 Optimal combination	A ₁	B ₂	C ₃	D ₂	
主次顺序 Primary and secondary order	D > C > B > A				

表 6 持水力正交实验方差分析

Table 6 Variance analysis of hydraulic orthogonal experiment

方差来源 Source of variance	偏差平方和 Deviation sum of squares	自由度 Degree of freedom	<i>F</i>	显著性 Significance level	<i>P</i>
养花时间 Coagulation time	0.000	2	0.025		0.784
点浆温度 Coagulation temperature	0.002	2	0.247		0.068
压制时间 Pressing time	0.010	2	1.505	**	<0.001
酵素添加量 Enzyme addition amount	0.063	2	10.765	**	<0.001
误差 Error range	0.003	9			
总计 Total	7.267	18			
修正后总计 Revised total	0.078	17			
<i>R</i> ²	0.967				
<i>Adj R</i> ²	0.938				

正交实验结果与方差分析所得结果一致,影响果蔬酵素豆腐持水力的因素主次顺序为酵素添加量>压制时间>点浆温度>养花时间,说明影响酵素豆腐持水力主要来源于酵素添加量,其次为压制时间(表5和表6)。得出优化后的果蔬酵素豆腐最佳工艺配方组合是A₁B₂C₃D₂,即养花时间10 min、点浆温度90℃、压制时间8.5 h和酵素添加量20%(表3和表5)。

2.4 验证试验

以感官评价和持水力为指标,进行正交实验得出的果蔬酵素豆腐的最佳加工工艺条件为养花时间10 min、点浆温度90℃、压制时间8.5 h、酵素添加量20%。此条件下的果蔬酵素豆腐的感官评分为93分,持水力为0.741 9,均高于正交实验的九组工艺条件。得到的果蔬酵素豆腐成块完整,豆腐呈浅黄色,色泽光亮均匀,果味芬芳纯正,豆香浓郁。口感细腻柔和,硬度大,弹性好,咀嚼性好。因此确定A₁B₂C₃D₂为果蔬酵素豆腐的最优组合。

2.5 果蔬酵素豆腐与市售豆腐理化和质构指标比较

由表7可知,果蔬酵素豆腐的持水力和总酸度与市售卤水豆腐的相应指标相近,但分别是内酯豆腐的1.36和2.17倍。果蔬酵素豆腐硬度比卤水豆腐和内酯豆腐的硬度都高,约是卤水豆腐的1.22倍,内酯豆腐的4.40倍。果蔬酵素豆腐的弹性与咀嚼性均略低于卤水豆腐,但均高于内酯豆腐,弹性约是内酯豆腐的2.08倍,咀嚼性约是内酯豆腐的25.71倍。内酯豆腐除水分活度较高外,其他各项理化和质构指标均低于果蔬酵素豆腐和卤水豆腐。

表7 3种豆腐的理化和质构指标

Table 7 The quality and structure indexes and the physical and chemical indexes of the three kinds of tofu

指标类型 Pointer type	果蔬酵素豆腐 Fruit and vegetable enzyme tofu	卤水豆腐 Marinated tofu	内酯豆腐 Lactone tofu
持水力 Water-holding capacity	0.7419	0.7534	0.5463
总酸度 Total acidity	4.36	4.35	2.01
水分活度 Water activity/%	57.00	64.41	77.61
硬度 Hardness/N	27.68	22.64	6.29
弹性 Elasticity/mm	5.42	9.05	2.60
咀嚼性 Chewiness/mj	61.7	82.6	2.4

3 讨论

本研究通过对果蔬酵素豆腐加工工艺的优化,以感官评分和持水力为指标,分析讨论果蔬酵素豆腐凝胶机制,由正交实验分析可知,各因素对果蔬酵素豆腐感官品质影响的顺序为酵素添加量>养花时间>压制时间>点浆温度;各因素对果蔬酵素豆腐持水力影响的顺序为酵素添加量>压制时间>点浆温度>养花时间。

研究过程中发现,随着果蔬酵素添加量的增多,果蔬酵素豆腐的感官评分和持水力有先上升后下降的趋势,这与陈斌等^[24]研究表明随着凝固剂的添加量的增加,豆腐的凝胶强度出现先增加再减少的趋势的结论一致。这主要是因为凝固剂添加量的增加可以增强蛋白质间的疏水作用,氢键间的相互作用力加强,导致蛋白之间的凝胶强度加大。但是凝固剂的添加量如果过大,会使得蛋白质的酸化速率过快,此时的蛋白质的凝胶网路结构就会比较差^[29]。压制时间对豆腐软硬度也有影响。压制时间过短时,果蔬酵素豆腐成品的含水量过高,结构不稳定,十分易碎^[28]。压制时间越长,豆腐的结构越稳定。虽然长时间的压制可以制作出口感硬实的老豆腐,但过长的压制时间会让豆腐变得干硬,失去原本的柔软口感。随着点浆温度的升高,果蔬酵素豆腐的感官评分及持水力均有先上升后下降的趋势,这与杨岚等^[27]和刘明等^[30]的研究结论一致,原因可能是随着凝固温度逐渐升高,豆腐中的蛋白质分子运动激烈,暴露的SH-基团促进了二硫键的交联,使蛋白质网状结构紧密凝胶强度增强,但是若继续升温会出现巯基氧化现象使得蛋白凝胶强度减弱^[26,27,30]。豆腐的凝胶强度增大,脱水性减小,只有凝胶强度在一定范围内制成的豆腐才能软硬适中^[31]。养花时间是蛋白质分子凝集的重要过程,在一定的养花时间内,随着养花时间的延长,可形成凝胶网络的变性蛋白分子数目增多,从而导致豆腐网络致密性提高,蛋白网络链条粗、分布均匀,网络链条之间作用力大^[32],豆腐的硬度和咀嚼性较好。若养花时间过长,蛋白质分子上的巯基也会发生氧化^[33],形成凝胶的巯基含量减少,导致凝胶强度降低,从而达不到豆腐的较好品质。本研究发现养花时间对果蔬酵素豆腐的感官评分、持水力影响最小,可能是本研究的养花时间间隔差较小,不同组之间持水力差别不大。也可能是设置的压制重量较轻。在压制初期,养花步骤仍在进行,无形中延长了养花时间。

本研究与前人研究的柠檬汁^[8]、小米发酵液^[9]

及竹荪酸浆^[10]等可以作为豆腐酸性凝固剂的结果一致,证实了果蔬酵素可以作为豆腐凝固剂的可能性,同时拓宽了果蔬酵素类产品的应用和产品开发范围。虽然果蔬酵素与大豆都具有较高的营养价值,但果蔬酵素豆腐的具体营养成分和功能作用,还需进一步的实验探究。

4 结论

本研究以感官评价和持水力为指标,通过单因素和正交实验与方差分析得到果蔬酵素豆腐的最佳工艺配方为:养花时间 10 min、点浆温度 90 ℃、压制时间 8.5 h、酵素添加量 20%。在此工艺组合下,制得的果蔬酵素豆腐呈淡黄色,色泽光亮均匀,口感细腻,具有浓郁的豆香味与特殊果香气,硬度大,弹性好,咀嚼性好,持水力好。本研究的果蔬酵素豆腐相较于市售内酯豆腐更具有果香和豆香味,咀嚼性强,口感更佳,弥补了内酯豆腐咀嚼性差的缺点,增加了烹饪方式的多样性。果蔬酵素豆腐与市售的卤水豆腐相比,两者理化与质构指标基本相似,但果蔬酵素豆腐相较于卤水豆腐拥有独特的果香味,口感更丰富,可以给消费者带来新颖的口感,增加了消费者对豆腐种类的选择性。

参考文献

[1] 李艳杰. 食用植物酵素菌种选择及功能作用研究进展[J]. 辽宁林业科技, 2023(6): 56-59.
LI Y J. Advancein selection and function of edible plant enzymestrains[J]. Liaoning Forestry Science and Technology, 2023(6): 56-59.

[2] 殷小菊, 吴静, 苏少鹏, 等. 果蔬微生物酵素的功能与应用研究进展[J]. 当代化工研究, 2022(10): 71-73.
YIN X J, WU J, SU S P, et al. Advances in the function and application of fruit and vegetable microbial enzyme[J]. Modern Chemical Research, 2022(10): 71-73.

[3] 惠美星, 宋虹, 余萍, 等. 一种玫瑰本草酵素的制备及其抗皮肤衰老功能的研究[J]. 生物加工过程, 2024, 22(1): 99-105.
HUI M X, SONG H, YU P, et al. Preparation of rose enzyme and its anti-skin aging function[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2024, 22(1): 99-105.

[4] 张红艳, 韩姗姗, 冉淦侨, 等. 食用酵素的营养功效及研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2021, 57(1): 107-110.
ZHANG H Y, HAN S S, RAN G Q, et al. Nutritional efficacy and research progress of edible enzymes [J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2021, 57(1): 107-110.

[5] 谢秀玲, 金宏杏, 纪文静, 等. 豆腐酸性凝固剂的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2023(31): 182-184, 192.
XIE X L, JIN H X, QI W J, et al. Research progress of acidic coagulant for tofu[J]. China Food Safety Magazine, 2023(31): 182-184, 192.

[6] 程音. 豆类营养价值及豆制品合理选择[J]. 食品安全导刊, 2022(12): 103-105.
CHENG Y. Nutritional value of legumes and rational selection of bean productsbean products[J]. China Food Safety Magazine, 2022(12): 103-105.

[7] 杨雅婧, 张志衡, 琚魏波, 等. δ-葡萄糖酸内酯添加量对豆腐凝胶特性的影响[J]. 中国调味品, 2023, 48(2): 183-187, 194.
YANG Y J, ZHANG Z H, JU W B, et al. Effect of glucono-δ-lactone addition amount on the gel properties of tofu[J]. China Condiment, 2023, 48(2): 183-187, 194.

[8] 谢秀玲, 吴静静, 童慕贤, 等. 基于模糊综合评价的柠檬豆腐工艺研究[J]. 大豆科学, 2019, 38(3): 443-448.
XIE X L, WU J J, TONG M X, et al. Study on the production process and quality of lemon ToFu based on fuzzy synthetical evaluation[J]. Soybean Science, 2019, 38(3): 443-448.

[9] 曲艳. 小米发酵液豆腐凝固剂工艺优化及其泡腾片的研制[D]. 太谷: 山西农业大学, 2022.
QU Y. Process optimization of millet fermentation liquid tofu coagulant and development of effervescent tablets [D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2022.

[10] 张巧玲, 陈浩, 李冰鑫, 等. 竹荪酸浆发酵工艺优化及其作为豆腐凝固剂的应用[J]. 农产品加工, 2022(15): 40-44, 51.
ZHANG Q L, CHEN H, LI B X, et al. The optimization of fermentation technology of *Dictyophora* acid pulp and its application as tofu coagulant[J]. Farm Products Processing, 2022(15): 40-44, 51.

[11] 刘宁, 高艺笑, 孙钰姬, 等. 豆腐凝固剂的研究进展[J]. 中国调味品, 2021, 46(3): 189-194.
LIU N, GAO Y X, SUN Y J, et al. Research progress of tofu coagulants[J]. China Condiment, 2021, 46(3): 189-194.

[12] 杨彬彦, 党娅, 黎坤怡. 蓝莓酵素复合菌种发酵工艺优化及品质分析[J]. 中国酿造, 2023, 42(12): 165-169.
YANG B Y, DANG Y, LI K Y. Optimization of fermentation process and quality analysis of blueberry Jiaosu by mixed strains [J]. China Brewing, 2023, 42(12): 165-169.

[13] 樊秋元. 黑加仑酵素制备及其抗氧化活性研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2019.
FAN Q Y. Study on preparation and antioxidant activity of blackcurrant enzyme [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2019.

[14] 刘庆庆, 李红丽. 百合绿豆内酯豆腐加工工艺优化[J]. 安徽农学通报, 2021, 27(18): 117-119, 130.
LIU Q Q, LI H L. Optimization of processing technology of lily mung bean lactone tofu[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2021, 27(18): 117-119, 130.

[15] 罗珮桓, 麦秋燕, 黄鹏, 等. 非物质文化遗产: 传统豆制品工艺探究[J]. 大豆科技, 2021(5): 26-31.
LUO P H, MAI Q Y, HUANG P, et al. Intangible cultural heritage-study on traditional bean products technology [J]. Soybean Science & Technology, 2021(5): 26-31.

[16] 冷进松, 郝晓玮. 乳清粉营养豆腐加工工艺研究[J]. 大豆科学, 2015, 34(3): 485-492.
LENG J S, HAO X W. Processing technological study on health food of whey powder tofu[J]. Soybean Science, 2015, 34(3):

485-492.

[17] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中抗坏血酸的测定: GB 5009.86—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

National Health and Family Planning Commission. Determination of ascorbic acid in food: GB 5009.86—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.

[18] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中总酸的测定: GB 12456—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.

National Health Commission, State Administration for Market Regulation. National food safety standard, Determination of total acid in food: GB 12456—2021[S]. Beijing: Standards Press of China, 2021.

[19] 叶青. 乳酸菌酸浆豆腐工艺优化及凝固机理初探[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2018.

YE Q. Optimization of the process bean curd solidified by *Lactobacillus* fermenting acid slurry and preliminary mechanism of the solidification [D]. Shenyang: Jinzhou Medical University, 2018.

[20] CAI T, CHANG K C. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(2): 720-727.

[21] 思旭平, 赵良忠, 谢灵来. 沙棘果汁点浆法生产营养豆腐的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(3): 113-118.

SI X P, ZHAO L Z, XIE L L. Study on nutrition tofu production with sea-buckthorn fruit juice by curdling method [J]. Food Research and Development, 2017, 38(3): 113-118.

[22] 农双宁, 谢文佩, 郭茵, 等. 响应面优化百香果豆腐的加工工艺及品质研究 [J]. 食品研究与开发, 2022, 43 (11): 164-170.

NONG S N, XIE W P, GUO Y, et al. Optimization of processing technology and quality of passion fruit tofu by response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2022, 43 (11): 164-170.

[23] 郑明珠. 豆制品加工 200 问[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2007: 5-6.

ZHENG M Z. Soybean products processing question [M]. Changchun: Jilin Science and Technology Press, 2007: 5-6.

[24] 陈斌, 杨玥熹, 李自成, 等. 豆干黄浆水发酵条件优化及其作为酸浆豆腐凝固剂的应用研究[J]. 中国粮油学报, 2021, 36 (9): 157-163.

CHEN B, YANG Y X, LI Z C, et al. Fermentation optimization

of yellow serofluid produced from manufactory of compressed tofu and its application as coagulate for tofu production[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2021, 36 (9): 157-163.

[25] 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 J J. Study on processing technology of *Physalis* tofu [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020.

[26] CAMPBELL L, RAIKOS V, EUSTON S R. Modification of functional properties of egg-white proteins[J]. Die Nahrung, 2003, 47(6): 369-376.

[27] 杨岚, 成玉梁, 郭亚辉, 等. 热处理强度对大豆分离蛋白凝胶形成能力的影响[J]. 大豆科学, 2018, 37(1): 141-148.

YANG L, CHENG Y L, GUO Y H, et al. Effect of heat treatment conditions on gel formation ability of soybean protein isolate[J]. Soybean Science, 2018, 37(1): 141-148.

[28] 李雨思. 豆腐酸浆凝固剂技术研究及应用和浆水发酵饮料的开发[D]. 太谷: 山西农业大学, 2020.

LI Y S. Research and application of tofu acid slurry coagulant technology and development of slurry fermented beverage [D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2020.

[29] SHEN Y R, KUO M I. Effects of different carrageenan types on the rheological and water-holding properties of tofu [J]. LWT, 2017, 78: 122-128.

[30] 刘明, 顾萱, 唐婷, 等. 不同类型的凝固剂对豆腐中蛋白质消化特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(5): 206-212.

LIU M, GU X, TANG T, et al. Effects of different coagulants on protein digestibility of tofu[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(5): 206-212.

[31] 朱玲, 孔欣欣. 绿色豆腐的加工工艺优化及储藏周期影响因素研究[J]. 中国调味品, 2023, 48(4): 143-147.

ZHU L, KONG X X. Optimization of green tofu processing technology and study on influencing factors of storage period[J]. China Condiment, 2023, 48(4): 143-147.

[32] CHEN Y, ZHANG F, WANG T, et al. Hydraulic retention time affects stable acetate production from tofu processing wastewater in extreme-thermophilic (70 ℃) mixed culture fermentation [J]. Bioresource Technology, 2016, 216: 722-728.

[33] KAMIZAKE N K K, SILVA L C P, PRUDENCIO S H. Effect of soybean aging on the quality of soymilk, firmness of tofu and optimum coagulant concentration [J]. Food Chemistry, 2016, 190: 90-96.