

克东腐乳生产过程中化学组分变化研究

邹丽宏¹,杨跃峰²,孙冰玉¹,刘琳琳¹,孙菁赫¹,刘本勇¹,石彦国^{1*}

(1.哈尔滨商业大学食品工程学院,黑龙江省普通高等学校食品科学与工程重点实验室,
黑龙江哈尔滨 150076;
2.黑龙江省克东腐乳有限公司,黑龙江齐齐哈尔 164800)

摘要:以克东腐乳为研究对象,对克东腐乳后酵生产过程中化学组分的变化进行监测分析,揭示克东腐乳生产过程中化学组分的变化规律。结果表明,在腐乳后酵阶段,腐乳坯粗蛋白、粗脂肪含量随时间增加呈显著下降趋势($p < 0.05$);汤汁中粗蛋白、游离脂肪酸含量随时间增加显著上升($p < 0.05$);腐乳坯及汤汁中游离氨基酸态氮、总酸含量随时间增加显著上升($p < 0.05$);腐乳坯中还原糖含量随时间增加显著上升($p < 0.05$),而汤汁中还原糖含量总体呈现上升趋势,但数据具有一定的波动性;腐乳坯及汤汁pH呈显著下降趋势;食盐含量变化不显著,而水分含量变化显著($p < 0.05$)。本研究为其腐乳品质的提高、工艺的改进提供了一定的理论指导。

关键词:腐乳,化学组分,监测分析

Study on chemical composition of KeDong fermented soybean curds during the production

ZOU Li-hong¹, YANG Yue-feng², SUN Bing-yu¹, LIU Lin-lin¹, SUN Jing-he¹, LIU Ben-yong¹, SHI Yan-guo^{1*}

(1.Key Laboratory of Food Science and Engineering, College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;
2.Heilongjiang Province KeDong Sofu Co., Ltd., Qiqihaer 164800, China)

Abstract: The changes of chemical composition were analyzed during the production of KeDong fermented soybean curds, and the rule of chemical composition changes was revealed. Crude protein and crude fat content of sofu pieces showed a declining trend significantly ($p < 0.05$). Crude protein, free fatty acid content of the sofu soup showed a increasing trend significantly ($p < 0.05$). Free amino acid nitrogen, total acid of sofu continued to increase prominently ($p < 0.05$). Reducing sugar of sofu pieces showed a increasing trend significantly ($p < 0.05$), reducing sugar of sofu soup had a increasing trend, but the data was not stable. pH of Sofu went down dramatically. Salt content remained stabilization, and water content had significant change ($p < 0.05$). Certain theoretical guidance was provided for the quality and process improvement of fermented bean curds.

Key words: sofu; chemical composition; analysis

中图分类号: TS264.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)06-0094-04

腐乳作为我国传统的大豆发酵制品,具有较高的营养价值。依据发酵微生物的不同,可以将腐乳分为霉菌型腐乳和细菌型腐乳^[1]。传统腐乳发酵生产分为前期发酵和后期发酵两个阶段,腐乳的发酵过程是一个复杂的生化过程,主要利用菌体所产生的酶类,促使蛋白质水解成低分子肽、氨基酸等^[2-4]。我国腐乳大多使用毛霉菌进行发酵生产,而黑龙江克东腐乳采用独特的藤黄微球菌进行发酵生产,是典型的细菌型发酵腐乳^[5-9]。

克东腐乳前酵过程中,以微球菌为主的菌系在豆腐坯上生长繁殖,主要产生蛋白酶并进行积累,从而有利于发酵阶段蛋白质水解的进行^[9-12]。后酵过程经过复杂的生物化学变化,将蛋白质分解为胨、多肽和氨基酸等物质,同时生成一些有机酸、醇类和酯类等,最终形成腐乳特殊的风味和质构^[13-16]。本研究以微球菌生产的克东腐乳为研究对象,揭示克东腐乳生产过程中化学组分的变化,对独特的微球菌型腐乳生产技术进行初步研究分析,为其腐乳产品品质的提高、工艺的改进及进一步发展提供一定的理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

所有样品均取自克东腐乳有限公司实际生产过程,取样点为腐乳后酵阶段第0、10、30、45、60、75、90d(成品)的腐乳样品;浓硫酸、硫酸铵、混合指示剂

收稿日期:2013-08-01 * 通讯联系人

作者简介:邹丽宏(1987-),女,硕士研究生,研究方向:粮食油脂及植物蛋白。

基金项目:“十二五”农村领域国家科技计划课题“固态发酵传统大豆食品品质提升关键技术及新产品开发”(2012BAD34B03-4)。

(甲基红-亚甲基蓝)、铬酸钾指示剂、甲醛、乙醚、氢氧化钠、硝酸银、亚铁氰化钾 均为分析纯。

KDN-F型自动定氮仪 上海纤检仪器有限公司; pH-3C型pH计 上海仪电科学仪器有限公司; ZHWY-110X3D型往返式恒温水浴摇床 上海智诚分析仪器有限公司; DHG-9203A型电热恒温鼓风干燥箱 上海恒科学仪器有限公司; 78-1型磁力搅拌器 上海南汇电讯器材厂。

1.2 实验方法

1.2.1 腐乳生产过程中取样方法 在腐乳生产后酵阶段,取装坛前的腐乳毛坯8块及适量汤汁记为后酵第0天的样品,在后酵第10、30、45、60、75、90d(成品)取腐乳坯样品8块及适量汤汁,测定其中的粗蛋白、游离氨基酸态氮、总酸、粗脂肪、游离脂肪酸、还原糖、食盐、水分含量以及pH。

1.2.2 化学组分测定样品的制备 称取30.0g腐乳样品放入干燥的研钵中研磨成糊状,准确称取20.00g样品于150mL烧杯中,加入60℃蒸馏水80.0mL,搅拌均匀,冷却至室温后定容至200mL容量瓶中^[7]。放置待自然沉淀,取上清液,用于测定游离氨基酸态氮、总酸、游离脂肪酸、还原糖、食盐的含量;用于脂肪、蛋白质、水分含量测定的样品处理参照相应标准测定方法;称取5.00g研磨成糊状的腐乳样品,加入30.0mL蒸馏水,搅拌均匀,用于pH的测定。

1.2.3 测定方法 蛋白质含量测定凯氏自动定氮法,参照GB/T 5009.5-2003;脂肪含量测定采用索式提取法,参照GB 5009.6-2003;氨基酸态氮含量测定采用甲醛滴定法,参照GB 5009.39-85;总酸的测定采用酸度计法,参照GB 5009.51-85;游离脂肪酸测定采用氢氧化钠滴定法,参照GB/T 15684-1995;还原糖测定采用亚铁氰化钾法,参照SB/T 10213-1994;水分含量测定采用105℃干燥法,参照GB 5009.3-85;食盐含量测定采用硝酸银滴定法,参照GB 5009-85;按1.2.2中对样品进行处理,然后用pHS-3CpH计测定,直接读取pH。

1.3 数据处理

对克东腐乳后酵生产过程中各化学组含量进行测定,实验重复三次;并利用Excel及SPSS Statistics17软件对实验结果进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 腐乳生产过程中粗蛋白含量变化

由实验结果(表1)显示,整个腐乳后酵过程中,腐乳坯中粗蛋白的含量随时间增加而呈现下降的趋势,汤汁中粗蛋白的含量随时间增加而呈现上升的趋势。汤汁粗蛋白含量变化如下:在0~10d内,显著增加;在10~30d内,变化不显著;在30~60d内,显著增加;在60~75d内,变化不显著,在75~90d,显著增加。在整个腐乳后酵阶段,腐乳坯粗蛋白含量呈现显著下降的趋势。由于微生物分泌大量的蛋白酶并积累,在以蛋白酶为主的酶系作用下,腐乳坯中蛋白质被分解成为肽、肽等中间物质,最终分解成氨基酸等可溶性物质,进而溶入汤汁中;因此腐乳坯中粗蛋白含量降低,汤汁中粗蛋白含量升高。

表1 不同发酵时间的腐乳样品粗蛋白含量差异显著性

Table 1 Significant difference of crude protein content in different fermentation time

发酵时间(d)	汤汁粗蛋白含量(%)	腐乳坯粗蛋白含量(%)
0	8.88±0.30a	18.15±0.24a
10	10.26±0.22b	17.58±0.27b
30	10.65±0.29b	16.61±0.25c
45	11.77±0.25c	15.59±0.23d
60	13.46±0.33d	14.60±0.26e
75	13.42±0.32d	13.06±0.42f
90	14.33±0.30e	12.09±0.24g

注:同列不同字母代表差异显著($p<0.05$)。表2~表4、表7~表8同。

周炎等^[8]在腐乳发酵过程中化学组分与质构的变化一文中研究指出,在毛霉型腐乳后酵阶段,腐乳坯蛋白质的含量有所降低,但变化不明显。而克东腐乳坯粗蛋白含量由18.15%降至12.09%,变化较明显。可能由于克东腐乳采用独特的小球菌生产工艺,在前酵过程中积累大量高活性的蛋白酶,蛋白质被迅速分解,因此蛋白质含量降低幅度较大。

2.2 腐乳生产过程中氨基酸态氮含量变化

由实验结果(表2)显示,腐乳后酵过程中,氨基酸态氮的含量随时间增加而呈现上升的趋势。汤汁氨基酸态氮含量变化如下:在10~45d内,显著增加;在45~60d内,变化不显著;在60~75d内,显著增加,在75~90d内,变化不显著。腐乳坯氨基酸态氮含量变化如下:在10~45d内,显著增加;在45~75d内,变化不显著;在75~90d内,显著增加。由于以蛋白酶为主的酶系发挥作用,使腐乳坯中的蛋白质被逐渐分解成可溶性物质溶入汤汁中,蛋白质含量不断减少游离氨基酸态氮的含量逐渐增多。周炎等^[8]在腐乳发酵过程中化学组分与质构的变化一文中研究指出,在毛霉型腐乳后酵阶段,腐乳坯氨基酸态氮含量逐渐上升,变化明显。游离氨基酸态氮的含量可以作为判断腐乳成熟的依据。

表2 不同发酵时间的腐乳样品氨基酸态氮含量差异显著性

Table 2 Significant difference of free amino acid nitrogen in different fermentation time

发酵时间(d)	汤汁氨基酸态氮含量(%)	腐乳坯氨基酸态氮含量(%)
10	0.188±0.020a	0.174±0.020a
30	0.382±0.020b	0.353±0.020b
45	0.436±0.011c	0.407±0.011c
60	0.430±0.010c	0.395±0.010c
75	0.517±0.015d	0.414±0.015c
90	0.536±0.014d	0.478±0.014d

2.3 腐乳生产过程中总酸含量变化

由实验结果(表3)显示,腐乳后酵过程中,总酸的含量随时间增加而呈现上升的趋势。在整个腐乳后酵阶段,汤汁总酸含量呈现显著上升的趋势。腐乳坯总酸含量变化如下:在10~75d内,显著增加;在75~

90d内,变化不显著。腐乳后酵过程中产生游离氨基酸、脂肪酸以及有机酸等大量酸性物质,因此总酸含量升高。同时,酸度的增加可以促进腐乳的后酵成熟。吴拥军等^[9]在腐乳发酵过程中酶活力和化学组分变化研究中指出,腐乳后酵阶段总酸含量随时间增加呈上升趋势,变化较明显。

表3 不同发酵时间的腐乳样品总酸含量差异显著性
Table 3 Significant difference of total acid in different fermentation time

发酵时间(d)	汤汁总酸含量(%)	腐乳坯总酸含量(%)
10	0.250±0.020a	0.363±0.022a
30	0.316±0.019b	0.467±0.017b
45	0.472±0.018c	0.607±0.021c
60	0.533±0.021d	0.645±0.018d
75	0.551±0.018e	0.700±0.017e
90	0.762±0.022f	0.700±0.020e

2.4 腐乳生产过程中pH变化

由实验结果(表4)显示,腐乳后酵过程中,腐乳坯和汤汁pH随时间增加而呈现下降的趋势。汤汁pH变化如下:在0~10d内,变化不显著;在10~30d内,显著降低;在30~45d、45~60d内,变化不显著,但30d、60d差异显著;在60~90d内,显著降低。腐乳坯pH变化如下:在0~45d内,显著降低;在45~60d、60~90d内,变化不显著,但45d和75d差异显著。腐乳坯和汤汁pH先显著下降,而后基本保持同一水平,略有下降;汤汁pH下降幅度较大。由于腐乳后酵过程中产生大量的酸性物质,总酸含量升高,因此pH下降。

表4 不同发酵时间的腐乳样品pH差异显著性
Table 4 Significant difference of pH in different fermentation time

发酵时间(d)	汤汁pH	腐乳坯pH
0	6.84±0.03a	6.76±0.03a
10	6.80±0.02a	6.62±0.02b
30	6.23±0.04b	6.53±0.04c
45	6.18±0.03bc	6.46±0.03d
60	6.13±0.03c	6.42±0.03de
75	5.82±0.03d	6.40±0.03e
90	5.65±0.04e	6.42±0.04de

2.5 腐乳生产过程中粗脂肪含量变化

表5 不同发酵时间的腐乳坯粗脂肪含量差异显著性

Table 5 Significant difference of crude fat in different fermentation time

发酵时间(d)	0	10	30	45	60	75	90
粗脂肪含量(%)	11.44±0.14a	10.34±0.12b	9.60±0.13c	9.15±0.13cd	9.01±0.16d	8.71±0.10d	8.80±0.13d

注:同行不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。表6、表9同。

表6 不同发酵时间的汤汁游离脂肪酸含量差异显著性

Table 6 Significant difference of free fatty acid in different fermentation time

发酵时间(d)	10	30	45	60	75	90
游离脂肪酸含量(%)	9.23±0.12a	10.35±0.18b	11.48±0.16c	11.43±0.14d	12.11±0.13d	12.12±0.12d

由实验结果(表5)显示,腐乳后酵过程中,腐乳坯中粗脂肪的含量随时间增加而呈现下降的趋势。腐乳坯粗脂肪含量变化如下:在0~30d内,显著降低;在30~45d、45~90d内,变化不显著。在腐乳发酵初期下降较快,到30d后下降缓慢基本保持稳定。由于脂肪酶等酶系发挥作用,将脂肪分解游离脂肪酸等可溶性物质,因此腐乳坯中粗脂肪含量下降。吴拥军等^[9]在腐乳发酵过程中酶活力和化学组分变化研究中指出,腐乳后酵阶段粗脂肪含量随时间增加呈下降趋势,变化较明显。

2.6 腐乳生产过程中游离脂肪酸含量变化

由实验结果(表6)显示,腐乳后期发酵过程中,汤汁中游离脂肪酸的含量随时间增加而呈现上升的趋势。在10~60d内,汤汁中游离脂肪酸的含量显著增加;在60~90d内,汤汁中游离脂肪酸的含量变化不显著。由于腐乳中脂肪酶活力较高,脂肪酶等酶系发挥作用,将腐乳坯中脂肪降解成游离脂肪酸溶入汤汁,使得汤汁中游离脂肪酸含量升高。

2.7 腐乳生产过程中还原糖含量变化

由实验结果(表7)显示,腐乳后期发酵过程中,汤汁和腐乳坯中还原糖的含量随时间增加而呈现上升的趋势。汤汁还原糖含量变化如下:在10~45d内,显著增加;在45~60d内,显著降低;在60~90d内,变化不显著,但总体呈现上升趋势。在10~60d内,腐乳坯还原糖含量显著增加;而在60~90d内,变化不显著。淀粉酶等酶系发挥作用,将腐乳坯中多糖分解为可溶性小分子糖,使还原糖含量增加。

表7 不同发酵时间的腐乳样品还原糖含量

Table 7 Significant difference of reducing sugar in different fermentation time

发酵时间(d)	汤汁还原糖含量(%)	腐乳坯还原糖含量(%)
10	7.47±0.20a	4.76±0.15a
30	8.19±0.10b	5.75±0.18b
45	9.18±0.18c	7.75±0.15c
60	8.69±0.16d	7.33±0.16d
75	8.64±0.14d	7.48±0.16d
90	8.65±0.15d	7.65±0.17d

2.8 腐乳生产过程中食盐含量变化

由实验结果(表8)显示,腐乳后酵过程中,食盐的含量随时间增加变化不显著。腐乳坯中食盐含量在8.10%~8.31%之间,汤汁中食盐含量在9.30%~

9.70%之间。克东腐乳的原汤汁中含盐量为10.0%，在发酵过程中食盐几乎不参与体系中的化学反应，汤汁中一部分食盐会随时间的延长慢慢溶入腐乳坯，因此食盐总含量基本保持不变，汤汁中食盐含量高于腐乳坯。最终成品的食盐含量在8.00%~9.00%之间，符合腐乳产品的质量标准；同时食盐抑制微生物的生长，起到很好的保藏作用。

表8 不同发酵时间的腐乳样品食盐含量

Table 8 Significant difference of Salt in different fermentation time

发酵时间(d)	汤汁食盐含量(%)	腐乳坯食盐含量(%)
10	9.35±0.11a	8.31±0.11a
30	9.60±0.10b	8.29±0.10a
45	9.57±0.12b	8.23±0.08a
60	9.59±0.12b	8.25±0.13a
75	9.60±0.09b	8.14±0.11a
90	9.67±0.11b	8.13±0.12a

2.9 腐乳生产过程中水分含量变化

由实验结果(表9)显示,在腐乳后酵第0~10d内,腐乳坯水分含量显著增加;在10~75d内,腐乳坯水分含量变化不显著。克东腐乳坯前酵结束后,要进行干燥处理,调节水分含量为45%左右,然后加入原汤汁进入后酵;在腐乳后酵阶段,汤汁中一部分水分迁移至腐乳坯。因此,在后酵前10d,腐乳坯水分含量迅速升高,其后基本保持不变。

3 结论与讨论

在腐乳后酵阶段:腐乳坯粗蛋白含量显著减少,汤汁粗蛋白含量显著增加;发酵体系中含有大量高活性的蛋白酶,其将豆腐坯中的蛋白质分解,从而产生腐乳独特的滋味气味,这是腐乳生产的关键。从此角度出发,采用高新技术提高蛋白酶的活力,延长保持活力的时间;对缩短腐乳的发酵周期,降低成本具有一定的意义。腐乳坯和汤汁游离氨基酸态氮含量显著增加;氨基酸态氮含量大于0.45%,腐乳即成熟,因此其可以作为判断腐乳成熟的依据。腐乳坯及汤汁中总酸含量呈显著上升趋势,其pH显著下降;腐乳的酸度主要是发酵中产生的有机酸、游离氨基酸及脂肪酸,结果表明在发酵后期有大量酸物质产生,相应pH降低。

腐乳坯粗脂肪含量显著下降,汤汁中游离脂肪酸含量显著上升;腐乳中脂肪酸主要是由脂肪水解产生的,可以根据游离脂肪酸的含量来判断脂肪水解程度的大小。腐乳坯中还原糖含量随时间增加显著上升,而汤汁中还原糖含量总体呈现上升趋势,但数据具有一定的波动性;水分含量变化显著。食盐含量变化不显著,实验结果显示最终腐乳产品的食盐含量在8.00%~9.00%,国家标准为食盐含量大于6.00%,

因此克东腐乳盐含量符合国家标准。食盐不仅起着调节腐乳滋味的的作用,而且可以抑制微生物的生长,延长食品的货架期。现代饮食提倡少盐的理念,尤其患有高血压、心脑血管疾病的人群不宜食用高盐食品,那么低盐腐乳的生产研究就具有重要的意义。本文对克东腐乳生产过程中各化学组分变化进行了跟踪监测分析,为其腐乳品质的提高、工艺的改进提供了一定的理论依据。

参考文献

- [1] 石彦国. 大豆制品工艺学[M]. 第二版. 北京:中国轻工业出版社, 2009:125-137.
- [2] 李娟. 低盐腐乳的研究[J]. 农产品加工, 2008(5):21-22.
- [3] 王晖, 钟冠山. 青腐乳发酵的初步研究[J]. 中国酿造, 2003(3):14-20.
- [4] 李里特. 中国传统豆腐类食品的保健价值[J]. 农产品加工, 2009(11):67-69.
- [5] 刘井权, 孙剑秋, 臧威. QU1.602藤黄微球菌腐乳工艺操作要点[J]. 中国调味品, 2008(4):61-64.
- [6] 李幼筠. 中国豆腐乳的现代研究[J]. 中国酿造, 2006(1):5-6.
- [7] 刘会勇, 杨立苹, 刘瑞钦. 缩短腐乳发酵周期的研究[J]. 中国调味品, 2003, 1(1):13-14.
- [8] 刘韞贤, 王玟琦, 程永强, 等. Bacillus Subtilis B2发酵细菌型低盐腐乳的开发[J]. 农产品加工·学刊, 2011(4):4-7.
- [9] 王瑞芝. 腐乳“换卤”是提升品质有效途径[J]. 中国酿造, 2011(10):152-154.
- [10] 宋国安. 藤黄小球菌型腐乳加工工艺技术[J]. 中国酿造, 2004(5):27-28.
- [11] Liu Zhi-sheng, Sam Kow-Ching Chang. Effect of soy milk characteristics and cooking conditions on coagulant requirements for making filled tofu[J]. Agricultural and Food Chemistry, 2004(52):3405-3411.
- [12] Veronica A Obatolu. Effect of different coagulants on yield and quality of tofu from soymilk[J]. Eur Food Res Technol, 2008(226):467-472.
- [13] 马勇. 腐乳生产过程中酶活力变化和理化性质的研究[D]. 北京:中国农业大学, 2001.
- [14] 余若黔, 涂煜. 腐乳生产后期发酵的化学变化[J]. 华南理工大学学报, 2001, 29(5):64-67.
- [15] 杨坚, 童华荣, 贾利蓉. 豆腐乳感官和理化品质的主成分分析[J]. 农业工程学报, 2002, 18(2):131-135.
- [16] 张水华. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2009:95-160.
- [17] 王瑞芝. 中国腐乳制造[M]. 第二版. 北京:中国轻工业出版社, 2009:294-314.
- [18] 周莹, 潘思轶. 腐乳发酵过程中化学组分与质构的变化[J]. 食品科学, 2011, 32(1):70-73.
- [19] 吴拥军, 龙菊, 程昌泽, 等. 腐乳发酵过程中酶活力和化学组分变化研究[J]. 食品科学, 2009(3):249-252.

表9 不同发酵时间的腐乳坯水分含量差异显著性

Table 9 Significant difference of water in different fermentation time

发酵时间(d)	0	10	30	45	60	75	90
水分含量(%)	46.14±0.88a	62.19±0.95b	61.36±1.12bc	62.25±0.76b	61.13±1.03bc	60.73±1.10bc	60.04±1.12c