

响应面法优化葛根酸豆奶配方

李明^{1,2}, 赵良忠^{1,2,3,*}, 李新社¹, 范柳¹

- (1.邵阳学院食品与化学工程学院, 湖南邵阳 422000;
- 2.豆制品加工技术湖南省应用基础研究基地, 湖南邵阳 422000;
- 3.湖南省果蔬清洁加工工程技术研究中心, 湖南邵阳 422000)

摘要: 本文以大豆、葛根、白砂糖为主要原料, 通过单因素实验方法, 明确白砂糖、葛根汁、菌种量和发酵时间对葛根酸豆奶的感官评分和乳酸含量的影响。按照 Box-Behnken 设计实验方案, 运用响应面分析法建立二阶多项非线性回归方程和数据模型, 以感官评分为指标优化葛根酸豆奶配方, 确定白砂糖添加量、葛根汁添加量和菌种的添加量, 探索葛根酸豆奶的最佳配方。结果表明: 优化后验证实验的感官评分为 90.3 分 (n = 3), 与预测值 89.62 分接近, 偏差为 0.76%, 得到葛根酸豆奶的最佳添加量, 白砂糖的添加量为 7.86%, 葛根汁的添加量为 18.0%, 菌种添加量 0.35%。此研究结果下的葛根酸豆奶的质构、持水性、乳酸菌、蛋白质含量和总黄酮含量, 优于市售同类产品, 具有商业推广价值。
关键词: 葛根, 葛根黄酮, 葛根酸豆奶

Optimizing the formula for *Puerarin radix* fermented soymilk by response surface methodology

LI Ming^{1,2}, ZHAO Liang-zhong^{1,2,3,*}, LI Xin-she¹, FAN Liu¹

- (1.College of Food Science and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China;
- 2.Soybean Processing Techniques of the Application and Basic Research Base in Hunan Province, Shaoyang 422000, China;
- 3.Hunan Provincial Engineering Research Center for Fruits and Vegetables Cleaning Processing, Shaoyang 422000, China)

Abstract: The paper took soybean, *Puerarin radix* and sugar as the main raw material, which identified the effect of sugar, *Puerarin radix* juice, inoculation and fermenting time on sensory score and content of lactic acid of *Puerarin radix* fermented soymilk through the single factor experiments. Based on these experiments, according to the Box-Behnken design method, it introduced response surface methodology to establish the nonlinear second order polynomial regress equation and numerical model for the optimized recipe of *Puerarin radix* fermented soymilk by sensory scores, and confirmed the amount of sugar, amount of *Puerarin radix* juice, amount of inoculation. The result showed that the theoretical optimum formulas were as follows: 7.86% of sugar, 18.0% of *Puerarin radix* juice and 0.35% of inoculation. The sensory score of optimized verification test up to 90.3 (n = 3), which was close to the predicted value (89.62), deviation was 0.76%. The result showed that the texture, water holding, lactic acid bacteria, protein, and content of puerarin isoflavone of the fermented soymilk was better than commercial products and it has value of commercial promotion.

Key words: *Puerarin radix*; Pueraria isoflavone; *Puerarin radix* fermented soymilk

中图分类号: TS201.2 文献标识码: B 文章编号: 1002-0306(2017)23-0151-08
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.23.029

葛根 (*Puerariae radix*) 是豆科植物野葛或甘葛藤根, 块根肥厚, 广泛分布于我国各省, 资源非常丰富^[1]。葛根含由葛根素、葛根素木糖甙、大豆黄酮、大豆黄酮甙及 β-谷甾醇、花生酸组成的黄酮成分。葛根黄酮主要功能有清热解毒、生津止渴、护肝解酒和冠状动脉和脑血管有扩张作用, 调节血管内皮细胞功能, 延缓动脉粥样硬化, 抗氧化、清除自由基和促

进血液循环等作用; 对脑缺血、脑梗死、帕金森综合征等神经系统疾病的治疗具有显著疗效, 具有极高的保健作用, 素有“植物黄金”之美誉^[2-9]。大豆 (*Glycinemax* (L.) Merr) 富含大豆蛋白质、不饱和脂肪, 还含有卵磷脂、皂甙、大豆异黄酮、肌醇等植物生物活性物质且不含胆固醇, 并具有降低人体血液中胆固醇和清除体内自由基、延缓衰老和预防癌症的功

收稿日期: 2017-03-22

作者简介: 李明(1974-) 男, 硕士, 研究方向: 果蔬清洁加工, E-mail: richardlipqc2@126.com。

* 通讯作者: 赵良忠(1962-) 男, 硕士, 教授, 研究方向: 食品科学技术, E-mail: sys169@163.com。

基金项目: 邵阳学院豆制品加工技术湖南省应用基础研究基地(2013TP4067); 湖南省果蔬清洁加工工程技术研究中心(2015TP2022); 湖南省研究生科研创新项目(CX2017B792)。

效^[10-11]。Kreijkamp-Kaspers 研究发现^[12]:大豆含有大豆异黄酮能改善绝经妇女的骨骼密度。发酵豆奶不仅能改善豆奶的口感,而且发酵豆奶可以增强免疫能力,改善胆固醇的代谢能力^[13],还能产生 ACE 抑制肽能有效抑制 ACE 的活性,降低血管紧张素 II 的含量达到降血压作用^[14]。按照国家的酸豆奶的标准,酸豆奶中除添加白砂糖外,不允许添加其他食品添加剂,从而酸豆奶的组织状态、质构和口感难以达到消费者的要求。

本研究采用混合发酵菌种,同时在豆奶中添加葛根汁,探索发酵型豆奶配方,以改善发酵型豆奶的组织状态和口感,并增加产品中葛根黄酮类物质的含量,增强产品的保健价值。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

东北大豆 黑龙江省萨福迦公司提供;鲜葛根 湖南和鑫生物科技有限公司提供;伊利纯牛奶 邵阳市超市购买(生产日期 20170307,蛋白含量 3.2%,脂肪含量 3.8%);凝固型南山老酸奶 邵阳市超市购买(生产日期:20170521,对照样);优质白砂糖 邵阳市超市购买;干酪乳杆菌 2-1 (*Lactobacillus casei* strain 2-1)、植物乳杆菌 3-2 (*Lactobacillus plantarum* strain 3-2) 豆制品加工技术湖南省应用基础研究基地提供;保加利亚杆菌 (*Lactobacillus bulgaricus*)、嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*)、嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*) 科汉森提供;MRS 液体培养基 广东环凯微生物科技有限公司;自制去离子水;其他试剂 均为分析级。

UV-1780 型紫外可见分光光度计 日本岛津公司;EL204 型电子分析天平 上海梅特勒-托利多公司;LDZX-75KB 型高压灭菌锅 上海申尖医疗器械厂;COMB-3L 型高压均质机 无锡钢本机械制造有限公司;SW-CJ-ID 型单人超净工作台 苏州智净净化设备厂;HPX-9272 型电热式恒温培养箱 上海博迅实业有限公司;MM-3 型组织捣碎机 上海中大仪器厂;ATC 型阿贝折射仪 上海淋誉贸易有限公司;TES-1310 型温度计 泰仕电子工业股份有限公司;MJ33 型水分自动测定仪 梅特勒-托利多公司;UDK139 型凯氏定氮仪 意大利 VELP 公司;CA-HM 型热量成分检测仪 日本 JWP 公司;BA301 Digital 电子显微镜 麦克奥迪实业有限公司;LS-5 型物性测定仪 美国阿美特克 (AMETEK) 有限公司;VELOCITY 18R 型台式冷冻离心机 澳大利亚达卡米公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程 如图 1 所示。

1.2.2 操作要点

1.2.2.1 葛根汁制备 选用外观良好,无腐烂、无斑点的新鲜葛根,用水清洗干净表面的泥沙和杂质,接着去皮、切成小块,按重量 1:4 加去离子水打浆制成葛根汁,再用 200 目纱布过滤,获得葛根汁,可制得色泽洁白,葛根清香味浓的葛根汁,其百利度为 0.5%,备用。

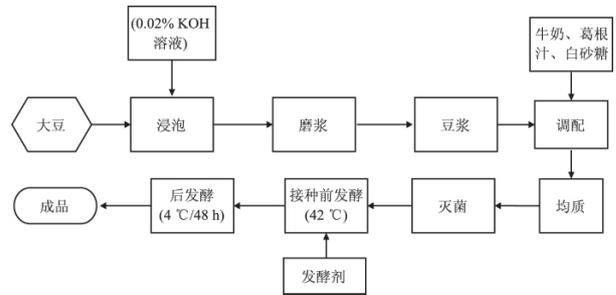


图 1 葛根酸豆奶工艺流程

Fig.1 The process flow diagram of puerarin radix fermented soymilk

1.2.2.2 豆浆制备 挑选外观良好、颗粒饱满、无霉变的大豆,添加 0.02% KOH 溶液(干豆重量计)在 70 °C 浸泡 3 h,沥水,再以豆水比为 1:6 的热水 90 °C 磨豆,然后将豆糊加热至 90~100 °C 用 120 目纱布过滤,豆浆的百利度为 6.5%,蛋白质含量 > 3.5%,并将豆浆保温待用。

1.2.2.3 豆奶的制备 将上述豆浆与纯牛奶(伊利纯牛奶,蛋白质含量为 3.2%,脂肪含量为 2.8%)按照 8:2 的比例,混合制成豆奶待用。

1.2.2.4 发酵液的调配 将预处理好的豆奶与葛根汁、白砂糖按一定的比例混合,并搅拌均匀,高压均质机均质的温度 70 °C,均质压力为 3.5 MPa,然后分装 250 mL 三角瓶中,并用线绳捆上纱布和牛皮纸。

1.2.2.5 灭菌 将分装好的发酵液的三角瓶放入高压灭菌锅进行灭菌,灭菌温度控制在 105 °C,保温时间为 8 min。将杀菌后的混合液冷却至 40 °C 左右。

1.2.2.6 菌种活化与接种 取实验室提供的菌种和科汉森提供的菌种,在 MRS 培养基中活化,以 3.0×10^8 CFU/mL 的接种量分别接种于 100 mL 已灭菌的 MRS 液体培养基内,于 37 °C 下培养 48 h。固定菌种配比(保加利亚杆菌:嗜热链球菌:嗜酸乳杆菌:干酪乳杆菌:植物乳杆菌)为 1:1:1:1:1,葡萄糖添加量为 2%,初始 pH 为 6.2,培养温度为 37 °C,培养时间 48 h。按照一定接种量接种到发酵液放在 42 °C 的恒温培养箱中保温发酵,发酵过程不断观察发酵情况,注意必须轻拿轻放,防止振动,以免影响酸豆奶凝固的组织状态。

1.2.2.7 后发酵 将发酵完成的发酵液,放在 4 °C 的条件下进行冷藏 48 h 左右,进行后熟,即当发酵达到终点后,将发酵的温度降低,产品进入后发酵阶段。

1.2.3 单因素实验 按照豆奶为基准,白砂糖添加量、葛根汁、菌种的添加量分别为 7%、15.0%、0.3% 和发酵时间为 6 h 为基本配方,以感官评分和产乳酸量为评价指标,采用单因素实验,依次对白砂糖、葛根汁、菌种和发酵时间进行考察,实验水平分别选择白砂糖添加量为 5%、6%、7%、8%、9%,其他添加量和发酵时间为 6 h 固定;葛根汁添加量分别为 10.0%、12.5%、15.0%、17.5%、20% (v/v),其他添加量和发酵时间为 6 h 固定;菌种的接种量为 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5% (v/v),其他添加量和发酵

时间为 6 h 固定;白砂糖添加量、葛根汁、菌种的添加量分别为 7%、15.0%、0.3% ,发酵时间为 4、5、6、7、8 h。

1.2.4 响应面设计实验 根据以上单因素实验结果确定白砂糖、葛根汁和菌种为实验因素,选取三者较优添加量,采用三因素三水平进行响应面分析。

表 1 响应面实验因素水平编码

Table 1 Levels and codes of BBD

水平	因素		
	A 白砂糖添加量 (% g/v)	B 葛根汁添加量 (% v/v)	C 菌种添加量 (% v/v)
-1	6	15	0.2
0	7	17.5	0.3
1	8	20	0.4

1.2.5 感官评价标准 凝固型葛根酸豆奶的感官评价^[15]由 10 名品评人员组成,分别从是否有乳清新析出、组织状态、风味、滋味 4 个方面进行感官评分,评分项目和标准见表 1,总分为 100 分。

表 2 葛根酸豆奶感官评定标准

Table 2 Sensory evaluation standard of

Puerarin radix fermented soymilk

项目	评分标准	分数
色泽 (满分 20)	乳白色略带黄	16~20
	淡黄色略带白色	11~15
	黄色或灰色	小于 10
乳清析出 (满分 20)	无乳清析出或微量乳清析出	16~20
	有明显的乳清析出	11~15
	乳清析出严重	小于 10
香气 (满分 20)	愉快的豆香味 (无豆腥味,淡葛清香味)	16~20
	豆香味平淡 (有少许豆腥味,无葛香味)	11~15
	香味微弱或没有(明显豆腥味)	小于 10
组织状态 (满分 20)	凝乳细腻、稳定、均匀一致	16~20
	凝乳细腻、不够稳定、均匀	11~15
	凝乳粗糙不结实	小于 10
滋味 (满分 20)	酸甜适中,口感爽滑	16~20
	略偏酸,口感较爽滑	11~15
	酸甜不协调、风味平淡,口感粗糙	小于 10

1.2.6 理化分析

1.2.6.1 蛋白质含量测定 按照《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定 GB 5009.5-2016》中的方法进行测定^[16]。

1.2.6.2 脂肪含量测定 按照《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定 GB 5009.6-2016》中的方法进行测定^[17]。

1.2.6.3 蔗糖含量测定 按照《食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定 GB 5009.8-2016》中的方法进行测定^[18]。

1.2.6.4 乳酸含量的测定方法 参照国标《GB/T

12456-2008 食品中总酸的测定》即以酸碱滴定的方法,用标定好的 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液滴定发酵样品,记录氢氧化钠的消耗体积,再通过计算公式,得出酸豆奶的总酸含量,其计算公式为:

$$X = \frac{C_1 \times (V_1 - V_0) \times K}{V} \times 1000$$

式中: X-酸豆奶的乳酸含量(g/L); C-NaOH 溶液浓度(mol/L); V₁-NaOH 滴定发酵液消耗的体积(mL); V₀-NaOH 滴定空白样的体积(mL); V-待测发酵液体积(mL); K-换算为酸的主要系数,即 1 mol NaOH 相当于主要酸的克数,用乳酸计则 K=0.090;

1.2.6.5 持水率的测定 称量 20 g 左右的样品(m₀),在 20 °C,置于 50 mL 离心管的底部,在转速为 1000 r/min 下离心 10 min,倒出上清液并称量(m₁),持水率(%)=(m₀-m₁)/m₀,每个样品作三个平行样的持水性^[19]。

1.2.6.6 发酵葛根豆奶的质构测定 采用对食品测量的二次压缩方法测量酸豆奶质构,根据样品的种类和实验的目的,重点选取硬度、黏度指数和韧性三个指标对酸豆奶样品进行质构评价^[20]。

采用阿美特克有限公司生产的 LS 系列材料质构实验机测定,测试条件如下:在发酵葛根豆奶上部分别取样,要求样品表面平整,高度为 1 cm,然后用 P35 圆柱型平底探头测定酸豆奶,操作如下:开机启动程序,设定测前、测中、测后速度,分别为 40、30、40 mm/s,下压距离设定为 40%,中间停留时间 5 s,触发力 0.05 N,同一个样品选择 2 个不同部位进行测定,取其平均值。

1.2.6.7 葛根总黄酮的测定 UV 法测定总黄酮含量。

精密称取葛根素对照品 1.25 mg,用 95% 乙醇溶解并定容于 25 mL 容量瓶中,得 0.5 mg/mL 的葛根素标准溶液。准确吸取该标准溶液 0、1、2、3、5、8 mL 于 10 mL 容量瓶中,各加 1 mL 95% 乙醇,然后加蒸馏水定容,摇匀,静置,得到 0、5、10、15、25、40 μg/mL 对照品溶液,于 251 nm 处测定各对照品溶液吸光度,以吸光度 A 为纵坐标、葛根素质量浓度 C(μg/mL)为横坐标,绘制标准曲线。

精确称量 10 g 待测样品于 100 mL 容量瓶中摇匀,静置 2 h,再取 1 mL 样液于 25 mL 容量瓶中,用 95% 乙醇稀释至刻度,摇匀,静置。从中精密移取 1 mL 于 10 mL 容量瓶中,加入 1 mL 95% 乙醇,然后加蒸馏水定容,摇匀,静置,在 251 nm 处测定,然后由葛根素标准曲线计算出待测样液中的总黄酮含量,每组实验均重复 3 次,最后的结果乘以稀释倍数 10 为产品最终葛根黄酮含量^[21]。

1.2.7 微生物检测

1.2.7.1 乳酸菌菌落总数测定 按照《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验 GB 4789.35-2010》中的方法进行^[22]。

1.2.7.2 大肠菌群的测定 按照《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数 GB 4789.3-2016》中的方法进行^[23]。

1.2.8 数据处理 实验数据以 x ± s 表示,采用 Excel

2007 软件作图, Design-Expert 8.0.6 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 白砂糖添加量的单因素实验 从图2可知,在白砂糖的添加量低于8%时,葛根酸豆奶的感官评分和乳酸含量随着白砂糖的添加量增加而递增,当白砂糖添加量超过8%时,产品感官得分和乳酸含量随白砂糖量增加而下降;但白砂糖的添加量在7%~8%之间时,产酸的趋向平缓,超过8%时,产酸量开始下降,所以,白砂糖添加量为8%,葛根酸豆奶的感官品质最佳。在0.05水平下,经方差分析, F 大于临界值,且 $p < 0.01$,表明不同白砂糖添加量对产品的感官得分影响存在显著差异,数据具有统计学意义。

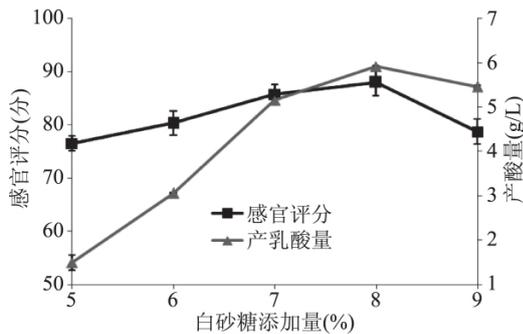


图2 白砂糖添加量对葛根酸豆奶感官评分和乳酸含量的影响

Fig.2 Effect of sugar on sensory score and content of lactic acid of fermented soy milk

2.1.2 葛根汁添加量的单因素实验 从图3可以看到,在葛根汁的添加量低于17.5%时,葛根酸豆奶的感官评分和乳酸含量的变化较为平缓,当葛根汁添加量超过17.5%,产酸曲线急剧下降,说明在此区间,对产品产酸量影响最大,张继红等^[24]研究发现葛根素具有抑菌作用,因此,当葛根汁的添加量增加到一定程度时,葛根素的抑菌作用就显现出来。所以,最佳的添加比例为15.0%~17.5%之间。在0.05水平下,经方差分析, F 大于临界值,且 $p < 0.01$,表明不同葛根汁添加量对产品的感官得分影响存在显著差异,数据具有统计学意义。

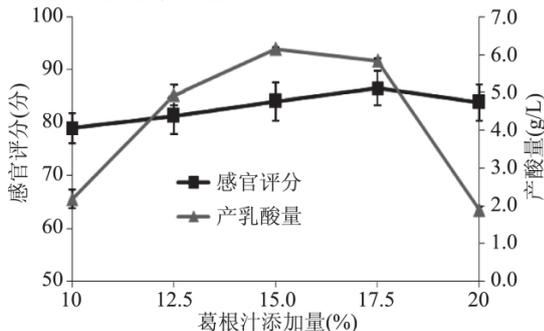


图3 葛根汁添加量对葛根酸豆奶感官品质的影响

Fig.3 Effect of Puerarin radix juice on sensory score and content of lactic acid of fermented soy milk

2.1.3 菌种添加量的单因素实验 从图4可以看出,当菌种添加量低于0.3%时,葛根酸豆奶的感官品质和乳酸含量随菌种的添加增加也上升,当菌种添加量超过0.3%时,产品感官评分和乳酸含量随菌种添加量增加而下降。由于菌种添加量超过一定的量,在相同的发酵时间,容易导致发酵过度,从而影响产品组织状态、风味;此外,产酸能力趋向平稳,因此,菌种添加量为0.3%,葛根酸豆奶的感官品质最佳。在0.05水平下,经方差分析, F 大于临界值,且 $p < 0.01$,说明菌种的添加量对产品的感官得分影响存在显著差异,数据具有统计学意义。

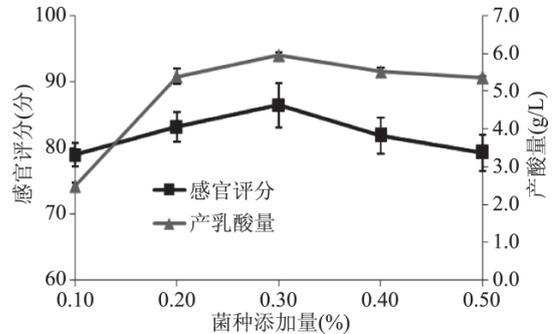


图4 菌种添加量对葛根酸豆奶感官品质的影响

Fig.4 Effect of inoculation on sensory score and content of lactic acid of fermented soy milk

2.1.4 发酵时间的单因素实验 图5数据表明,在发酵时间6h之内,葛根酸豆奶的感官评分变化平缓,但发酵时间超过6h后,产品的感官评分反而随着发酵时间延长而下降,这是发酵过度的表现;由产品的产酸曲线可知,发酵时间在6h之内,产品的酸含量随时间增加而递增,这也佐证菌种添加量的曲线,因此,最佳的发酵时间6h为宜。在0.05水平下,经方差分析, F 大于临界值,且 $p < 0.01$,说明发酵时间对产品的感官得分影响存在显著差异,数据具有统计学意义($p < 0.01$)。

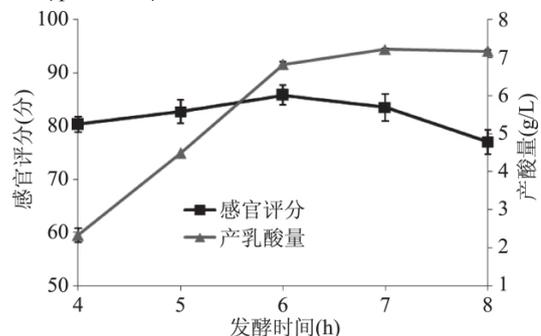


图5 发酵时间对葛根酸豆奶感官品质的影响

Fig.5 Effect of fermenting time on sensory score and content of lactic acid of fermented soy milk

2.2 响应面实验

2.2.1 实验结果 根据以上单因素实验结果,从以上的4个单因素中,选出其中3个影响最大的单因素白砂糖添加量、葛根汁添加量和菌种接种量为实验因素,根据Box-Behenk实验设计方案,采用三因素三水平响应面分析,结果见表3。

表3 响应面实验设计方案及结果
Table 3 Experimental design and results
for response surface optimization

实验号	A	B	C	感官评价总分 (分)
1	-1	1	0	79.35
2	0	1	1	82.18
3	1	0	-1	79.55
4	0	0	0	85.16
5	0	1	-1	78.89
6	-1	0	1	79.64
7	-1	0	-1	76.00
8	0	0	0	86.92
9	1	0	1	88.79
10	0	0	0	88.27
11	1	-1	0	80.64
12	-1	-1	0	71.91
13	0	0	0	86.91
14	1	1	0	86.82
15	0	-1	1	82
16	0	-1	-1	72.09
17	0	0	0	87.27

2.2.2 回归模型 运用 Design-Expert 8.0.6 对表 3 进行多元回归拟合,得到葛根酸豆奶感官评价总分(Y)对自变量白砂糖(A)、葛根汁(B)、菌种(C)的多元回归方程: $Y = 86.91 + 3.61A + 2.58B + 3.26C - 0.32AB + 1.40AC - 1.65BC - 2.51A^2 - 4.72B^2 - 3.40C^2$ 。

用 Box-Behnken Design 响应面分析法对实验结果拟合的模型进行方差分析和显著性检验,由回归方程的方差中概率 p 判定各个感官评分分值 Y 影响的显著性,模型的回归方程和显著性见表 4。

由表 4 可以看出,该二次多项式模型 p 值 <

表 4 葛根酸豆奶工艺研究结果的方差分析

Table 4 Analysis of variance for the experimental results of the *Puerarin radix* fermented soymilk

方差来源	平方和	自由度	均分	F 值	p 值	显著性
模型	448.64	9	49.85	28.85	0.0001	**
A	104.40	1	104.40	60.41	0.0001	**
B	53.05	1	53.05	30.69	0.0009	**
C	85.02	1	85.02	49.20	0.0002	**
AB	0.40	1	0.40	0.23	0.6464	ns
AC	7.84	1	7.84	4.54	0.0707	*
BC	10.96	1	10.96	6.34	0.0399	*
A ²	26.54	1	26.54	15.36	0.0058	**
B ²	93.63	1	93.63	54.18	0.0002	**
C ²	48.69	1	1.73	28.17	0.0011	**
残差	12.10	7	2.35	1.87		
失拟项	7.06	3	1.26		0.2761	ns
纯误差	5.04	4				
总和	460.73	16				
R ²	0.9737		C.V%	1.61		
R ² _{adj}	0.940					

注: * 差异显著(p < 0.05); ** 差异极显著(p < 0.01); ns 差异不显著(p > 0.05)。

0.0001,模型极显著,失拟项 p 值为 0.2761 > 0.05,失拟项不显著,表明该回归方程拟合度较好,误差小,与实际预测值能较好的拟合;该模型的复相关系数为 $R^2 = 0.9737$ 校正决定系数 $R^2_{adj} = 0.940$,说明建立的模型能够解释 94.00% 的响应值变化,可用来进行葛根酸豆奶感官评分分值 Y (响应值) 的预测;由显著性检验可知,一次项 A、B、C,二次项 A²、B²、C² 对感官评分影响均极显著,交互项 AC、BC 对葛根酸豆奶的感官评分影响显著;而交互项 AB 的交互作用对感官评分影响不显著,由此可知,各实验因素对响应值的影响不是简单的线性关系;另外,通过 F 值大小,可判定各因素对感官评分影响的重要性,F 值越大,重要性越大,所以各因素对葛根酸豆奶感官评价总分的影响大小为: A > C > B,即白砂糖添加量 > 菌种添加量 > 葛根汁添加,这也佐证文献资料关于白砂糖添加量对发酵豆奶的口感影响程度。

2.2.3 响应面分析 感官评分分值 Y 对白砂糖添加量(A)、葛根汁添加量(B)、菌种添加量(C)所构成的三维的曲面图见图 6(a~c)。

由图 6(a、b、c)可知,响应面图形是凸起、开口朝下的曲面,说明感官评分分值 Y 存在极值,该值为响应面的最高点,各个实验因素的最佳作用点都位于实验设计值范围内,在葛根汁添加量一定的条件下,随葛根汁的增大,白砂糖添加的增加,感官评分呈先上升后下降趋势,由此可见适当的葛根汁和白砂糖可以改善葛根酸豆奶的口感。等高图可判定交互作用的显著性,等高图趋向椭圆,交互作用显著,反之,则不显著,AC、BC 交互作用的等高图呈椭圆形,说明 AC 之间的交互作用及 BC 之间的交互作用显著,见图 6(b、c),AB 的等高图趋于圆形,说明 AB 之间的交互作用不显著,见图 6(a)。等高线的疏密程度可判定各因素对感官评分的影响大小,等高线越密,影响越大,反之则越小,故 A 对发酵豆奶

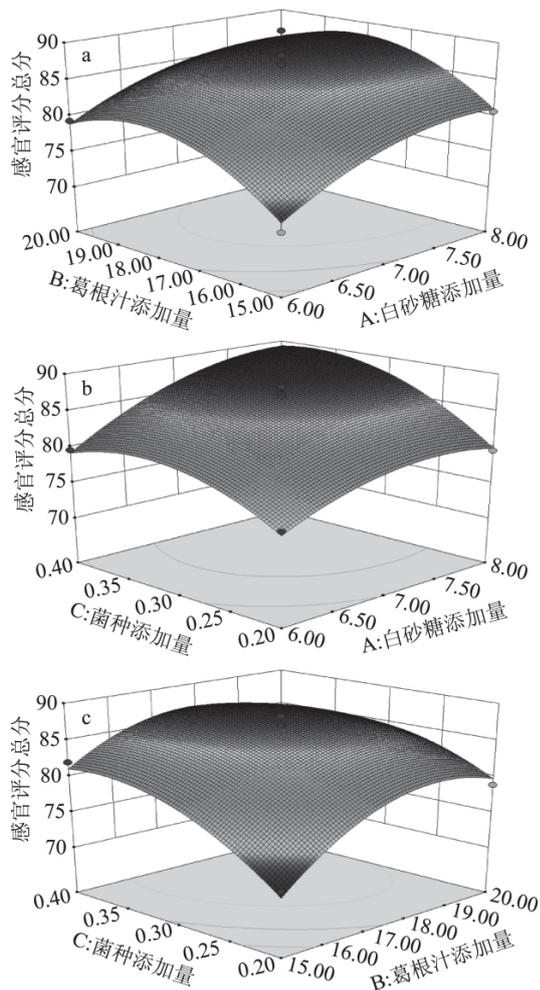


图6 两因素交互作用对感官得分的响应面图

Fig.6 Response surfaces plots of variable of parameters on sensory scores

感官品质的影响比 B、C 的影响大,见图 6(a、b)。C 对发酵豆奶感官品质的影响比 B 的影响大,见图 6(c) 这与方差分析的结果是一致的。

2.2.4 葛根酸豆奶最佳配方的确定 基于软件分析,预测出葛根酸豆奶的最优配方:白砂糖的添加量为 7.86%,葛根汁的添加量为 18.14%,菌种添加量 0.35%,此时模型预测葛根酸豆奶感官评价总分为 89.62 分,按照白砂糖的添加量为 7.86%,葛根汁的添加量为 18.0%,菌种添加量 0.35%,经 3 次验证性实验,测得的葛根酸豆奶的感官评分的均值为 90.3,与软件预测值较为接近,偏差为 0.76%,说明模型的拟合程度较好,具有较好实用价值。

2.3 葛根酸豆奶的品质性能检测

2.3.1 产品的理化检测 理化检测结果见表 5。

从表 5 可知,产品的蛋白质含量、脂肪含量和总糖含量均符合相应的国家标准要求。

2.3.2 产品的持水性 称量 20 g 按照持水性测试方

表 6 葛根酸豆奶持水性检测结果

Table 6 Test result of water holding rate of *Puerarin radix* fermented soymilk

样品	样品 1(%)	样品 2(%)	样品 3(%)	对照样(%)
持水性	84.65 ± 0.003	81.92 ± 0.002	80.76 ± 0.001	86.02 ± 0.002

法进行检测,每个样品作三个平行样,取平均值,结果参见表 6。

表 5 葛根酸豆奶理化检测结果

Table 5 Analysis result of physical-chemical in *Puerarin radix* fermented soymilk

样品	蛋白质含量 (%)	脂肪含量 (%)	总糖含量 (%)
葛根酸豆奶	3.53 ± 0.06	3.76 ± 0.06	10.70 ± 0.1
对照样	3.0	3.4	10.0

注:对照样数据来源于样品的营养标签。

刘晓恒等^[25]等研究发现蛋白含量为 2.8% 的酸牛奶的持水率为 51.85%。葛根酸豆奶的持水率超过 80%,好于普通酸牛奶的持水率。发酵型豆奶的持水率大小主要和凝胶结构有关,水分主要储藏在这样的网络结构中,而这种凝胶的紧密程度,蛋白质胶束之间的连接作用以及凝胶孔径大小是决定持水率的主要因素。Mei^[26]等研究者提出,大豆蛋白的空间结构是一种紧密,刚性的结构,紧密,蛋白胶束间连接作用增强,从而导致持水率升高;从检测数据看,样品的持水率略低于对照样品,其主要原因依据国家标准《GB/T 30885-2014 植物蛋白饮料豆奶和豆奶饮料》的规定^[15],酸豆奶是不允许添加除白砂糖以外的食品添加剂,而对照样品从配料中可知,对照样老酸奶添加明胶、琼脂和双乙酰酒石酸单双甘油酯,这样可能导致对照样的持水率高于样品。

2.3.3 产品的质构检测 质构检测结果见表 7。

表 7 葛根酸豆奶质构检测结果

Table 7 Test result of texture of *Puerarin radix* fermented soymilk

样品	硬度(gf)	粘度指数(N)	韧性(gf)
葛根酸豆奶	6.56 ± 0.09	0.19 ± 0.05	6.39 ± 0.34
对照样	5.58 ± 0.04	0.13 ± 0.01	5.38 ± 0.32

从表 7 可知,实验样品的硬度、粘度指数和韧性均明显大于对照样,从而可知,实验样品的质构状态优于商品化的老酸奶。

2.3.4 产品的葛根黄酮含量测定

2.3.4.1 葛根黄酮的标准曲线 绘制标准曲线,得到吸光度 X 与葛根素质量浓度 Y(μg/mL)的线性回归方程: $Y = 0.0578X + 0.0000$ ($R^2 = 0.9944$)。

2.3.4.2 样品测量 按照上述葛根黄酮的检测方法,制备样品,然后由葛根素标准曲线计算出待测样液中的葛根黄酮含量,每组实验均重复 3 次,取平均值,见表 8。

从表 8 数据可知,产品的葛根黄酮含量稳定,达到设计目的。

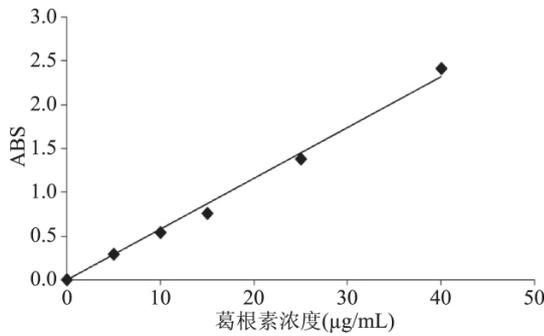


图8 葛根素的标准曲线

Fig.8 Standard curve of puerarin

表8 葛根酸豆奶葛根黄酮含量

Table 8 Content of Puerarin flavonoids in *Puerarin radix* fermented soymilk

样品编号	1	2	3
含量 (mg/100 g)	29.98 ± 0.005	29.97 ± 0.004	29.98 ± 0.002
平均值 (mg/100 g)	29.97 ± 0.05		

2.3.5 产品的微生物检测 按照国家标准对样品的乳酸菌和大肠菌群进行检测,样品检测2个平行样,取平均值见表9。

表9 葛根酸豆奶微生物检测结果

Table 9 Test result of microbiology in *Puerarin radix* fermented soymilk

样品	乳酸菌数 (CFU/mL)	大肠菌群 (CFU/mL)
葛根酸豆奶	13 × 10 ⁷	未检出
对对照	10 × 10 ⁷	未检出

注: CFU: 菌落形成单位。

依据国家标准《GB/T 30885-2014 植物蛋白饮料 豆奶和豆奶饮料》的规定^[15],发酵豆奶出厂的乳酸菌活菌数超过 1.0 × 10⁶ CFU/mL,符合国家标准要求。

3 结论与展望

3.1 结论

通过单因素实验,结合 Box-Behnken 设计方案,得到优化后的配方为:白砂糖的添加量为 7.86%,葛根汁的添加量为 18.0%,菌种的接种量为 0.35%。对感官评分的影响顺序为:白砂糖添加量 > 菌种接种量 > 葛根汁添加量,在该配方条件下,发酵时间为 6 h,发酵葛根豆奶的感官效果最佳 (90.3 分),产品除具有普通发酵酸奶特有的酸甜可口风味外还有特殊豆香味和葛根清香味,凝乳状态良好,组织细腻,质地均匀,入口即化,无分层现象。理化分析结果表明,产品理化指标符合相关的国家标准;微生物检测结果,乳酸菌 ≥ 1.0 × 10⁶ CFU/mL,大肠菌群未检出。该配方生产的凝固型葛根酸豆奶的质构、持水率、蛋白质含量和乳酸菌含量均优于商业化的凝固型老酸奶,解决了目前酸豆奶存在的组织状态和感官方面的不足,具有商业推广价值。

3.2 展望

本次实验采用的菌种是从豆清发酵液分离的菌种与商业化的菌种相结合的混合菌种,从实验结果看,酸豆奶的组织状态和质构能达到市场商品化的凝固型酸豆奶的相应的要求。由于大豆中的碳水化合物主要以蔗糖、棉籽糖、水苏糖、毛蕊花糖等低聚糖类和阿拉伯半乳聚糖等多糖类,然而,动物性来源的乳酸菌最适宜的碳源为乳糖,若进一步研究,可以选择植物来源性乳酸菌作用发酵菌种,可能更好发酵豆奶,从而获得更好的酸豆奶。

关于酸豆奶的酸度问题,国家标准《GB/T 30885-2014 植物蛋白饮料 豆奶和豆奶饮料》也没有规定发酵豆奶的酸度^[15]。本研究只是在单因素实验时检测产品的产酸能力,而在响应面实验时,只采用感官评分作为评价指标。此外,乳酸菌在产酸的同时,也产生一定量的细胞内外酶,在酶和酸协同作用促使大豆蛋白产生凝乳现象,其作用机理还有待进一步深入探索。

葛根酸豆奶是植物蛋白发酵产品,大豆异黄酮、葛根黄酮具有特定的健康作用,此产品符合现代人对健康的追求。此葛根酸豆奶的工艺条件及其配比是在实验室条件下获得,若工业化生产,还需要进一步实验。

参考文献

[1]杨旭东,王爱勤,何龙飞.葛根种质资源及其开发利用研究进展[J].中国农学通报,2014(24):11-16.

[2]尤春雪,张振秋,李峰,等.HPLC 波长切换技术对葛根中 8 种成分的测定及指纹图谱研究[J].中草药,2013,44(5):616-621.

[3]蔡琳.葛根的化学成分、药理及临床作用的研究进展[J].山东化工,2014(8):40-41.

[4]宋玮,李艳姣,乔雪,等.中药葛根的化学成分研究进展[J].Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences,2014(6):347-360.

[5]张晓娟,周海纯.葛根化学成分、现代药理及临床应用研究进展[J].中医药信息,2017(1):124-126.

[6]孙慧茹,杨庆有.葛根素葡萄糖注射液对椎基底动脉供血不足患者脑血流动力学和血液流变学的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2012,10(1):58-59.

[7]盛军庆,章常华,涂秀英,等.葛根素对 Hep G2 细胞胰岛素抵抗状态的改善作用[J].时珍国医国药,2014,25(8):1831-1833.

[8]颜王鑫,宋冬,陈海娥,等.葛根素对再灌注损伤肝能量代谢的保护作用及机制[J].中国中西医结合消化杂志,2014,22(10):563-567.

[9]黄雄峰,汪建民.葛根素的神经保护作用机制研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2015(4):224-230.

[10]董喜梅,包艳,张勇,等.国内外发酵豆乳研究发展现状[J].大豆科学,2010,29(5):883-888.

[11]Singh P, Kumar R, Sabapathy S N, et al. Functional and Edible Uses of Soy Protein Products[J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2007, 7(1):14-28.

- [12] Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee D E, et al. Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial [J]. *Jama the Journal of the American Medical Association* 2004 292(1): 65-74.
- [13] Da S F M, Sanches L F, Rodrigues D, et al. Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of kefir-fermented soymilk storage and after the *in vitro* digestive system simulation [J]. *Food Chemistry* 2017 229: 373.
- [14] Rossi E A, Cavallini D C U, Carlos I Z, et al. Intake of isoflavone-supplemented soy yogurt fermented with *Enterococcus faecium* lowers serum total cholesterol and non-HDL cholesterol of hypercholesterolemic rats [J]. *European Food Research and Technology* 2008 228(2): 275-282.
- [15] GB/T 30885-2014 植物蛋白饮料 豆奶和豆奶饮料 [S]. 北京: 中国标准出版社 2014.
- [16] GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定 [S] 北京: 中国标准出版社 2016.
- [17] GB 5009.6-2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定 [S] 北京: 中国标准出版社 2016.
- [18] GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定 [S] 北京: 中国标准出版社 2016.
- [19] Chang S Y, Kim D H, Han M J. Physicochemical and sensory characteristics of soy yogurt fermented with *Bifidobacterium breve*, K-110, *Streptococcus thermophilus*, 3781, or *Lactobacillus acidophilus* Q509011 [J]. *Food Science and Biotechnology* 2010, 19(1): 107-113.
- [20] Yuan S, Chang S K C. Texture Profile of Tofu as Affected by Instron Parameters and Sample Preparation, and Correlations of Instron Hardness and Springiness with Sensory Scores [J]. *Journal of Food Science* 2007, 72(2): S136-S145.
- [21] 赵颖, 王然. 葛根素及总黄酮含量测定 [J]. *饮料工业*, 2012(1): 37-40.
- [22] GB 4789.35-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验 [S]. 北京: 中国标准出版社 2016.
- [23] GB 4789.3-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数 [S]. 北京: 中国标准出版社 2016.
- [24] 张继红, 罗泽宇, 陶能国, 等. 葛根素提取及其抑菌实验研究 [J]. *激光生物学报* 2010, 19(4): 507-510.
- [25] 刘晓恒. 大豆蛋白替代牛乳蛋白对酸奶性质影响 [D]. 无锡: 江南大学 2013.
- [26] Mei Y, Jing F, Li L. Rheological characteristics and microstructure of probiotic soy yogurt prepared from germinated soybeans [J]. *Food Technology & Biotechnology*, 2012, 50(1): 73.
- [27] profile analysis of oriental noodles. [J]. *Cereal Chemistry*, 1994, 71(4): 315-320.
- [23] 王志兵, 姜海峰, 王力, 等. 西兰花营养面条的工艺研究 [J]. *农业机械* 2012(6): 87-91.
- [24] 黄龙安, 张宏康. 黑豆面条的研制 [J]. *农业机械*, 2012(14): 83-86.
- [25] 李艳双, 曾珍香, 张闽, 等. 主成分分析法在多指标综合评价方法中的应用 [J]. *河北工业大学学报*, 1999, 28(1): 94-97.
- [26] Guillén-Casla V, Rosales-Conrado N, León-González M E, et al. Principal component analysis (PCA) and multiple linear regression (MLR) statistical tools to evaluate the effect of E-beam irradiation on ready-to-eat food [J]. *Journal of Food Composition & Analysis* 2011 24(3): 456-464.
- [27] Chun M H, Kim E K, Kang R L, et al. Quality control of *Schizonepeta tenuifolia* Briq by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry and principal component analysis [J]. *Microchemical Journal* 2010 95(1): 25-31.
- [28] Beatriz S Siqueira, Priscila Z, et al. Analyses of technological and biochemical parameters related to the HTC phenomenon in carioca bean genotypes by the use of PCA [J]. *LWT-Food Science and Technology* 2016 65(1): 939-945.
- [29] 李玉龙, 杨焯, 陆国权. 基于均匀设计和主成分分析的甘薯薯片油炸工艺优化 [J]. *食品科学* 2017(4): 223-230.
- [30] Ghosh D, Chattopadhyay P. Application of principal component analysis (PCA) as a sensory assessment tool for fermented food products [J]. *Journal of Food Science and Technology* 2012 49(3): 328-334.
- [31] 马栋, 宋斌, 李逸鹤, 等. 马铃薯面条加工工艺研究 [J]. *现代面粉工业* 2016 30(3): 10-13.
- [32] 王蔚新, 陆兴森, 占剑峰. 马铃薯荞麦面条的研制 [J]. *黄冈师范学院学报* 2016 36(3): 38-41.

(上接第150页)

《食品工业科技》
愿为企业铺路、搭桥!