

谷氨酰胺转胺酶对豆腐凝胶强度的影响

张涛¹, 沐万孟¹, 江波¹, 倪逸慧²

(1. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122) (2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 本文主要研究谷氨酰胺转胺酶(TGase)对豆腐的凝胶强度的影响。运用单因素及正交实验法得出: 在豆浆中蛋白质浓度为9%的条件下, TGase酶的添加量0.8 U/g蛋白质, 离子强度0.3、pH 7.0时, 在50℃下加热1.5 h时凝胶强度为148.6 g, 并且具有良好的感官品质。

关键词: 谷氨酰胺转胺酶; 豆腐; 凝胶强度; 感官品质

中图分类号: TS214.2; **文献标识码:** A; **文章篇号:** 1673-9078(2007)10-0018-04

Effects of Transglutaminase on the Gel Strength of Tofu

ZHANG Tao¹, MU Wan-meng¹, JIANG Bo¹, NI Yi-hui²

(1.State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(2.School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The effects of transglutaminase (TGase) on the gel strength of tofu were studied. Single factor and orthogonal experiments showed that the ideal tofu was obtained by heating the soy milk at 50 °C for 1.5 h under the following optimal conditions: 9% of protein in soy milk, pH 7.0, TGase 0.8 U/g protein, and the ionic strength 0.3 Under these conditions, the tofu showed nice sensory quality and its gel strength reached 148.6 g.

Key words: transglutaminase (TGase); tofu; gel strength; sensory quality

豆腐是中国的传统豆制品之一, 营养丰富。美国《展望经济》甚至预测^[1]: “未来十年, 最成功、最有市场的并非汽车、电视机或电子产品, 乃是中国的豆腐”。目前市场上常见的豆腐有三种, 卤水豆腐、石膏豆腐和内酯豆腐。但这三种凝固剂都有其固有的缺点, 如卤水的凝固反应快, 不易控制; 石膏含有较多的镁、钙离子, 食用时往往感觉有苦味; 葡萄糖内酯的口感上酸味较重等。

谷氨酰胺转胺酶作为一种改善蛋白质性质及安全的方式, 在食品工业中具有广阔的应用前景。许多国家的食品专家均在研究谷氨酰胺转胺酶在食品中的应用^[2-7], 特别是在日本, 其应用范围已扩展到畜肉类、鱼类、虾类、面制品、大豆类、乳制品、调味品等各种食品中^[8]。1995年谷氨酰胺转胺酶在日本的销售总额即达20亿日元, 在酶制剂中仅次于淀粉酶。谷氨酰胺转胺酶在国内的研究和开发尚处于起步阶段, 因此本文主要研究谷氨酰胺转胺酶在豆腐中的应用, 为谷氨酰胺转胺酶在豆制品中的应用打下基础。

1 材料与方法

收稿日期: 2007-06-26

作者简介: 张涛(1973-), 女, 讲师, 研究方向: 生物技术在食品中应用

1.1 豆浆的制备

选用籽粒整齐饱满的大豆, 清洗, 20℃水中浸泡10 h(水量与大豆的质量的比例为3:1), 在70~80℃打浆(用水量为大豆浸泡前质量的4倍), 磨成的糊用100目左右的纱布过滤。然后在5~10 min内煮沸, 制备熟豆浆^[9]。

1.2 蛋白质含量的测定方法

本实验采用凯氏定氮法^[10]。

1.3 酶促豆腐的制法

取一定pH的熟豆浆25 mL置于小烧杯中, 将烧杯放入一定温度的水浴锅中预热。当豆浆温度达到要求时, 加入TGase酶(泰兴市一鸣精细化工有限公司, 规格: 60 U/g)使其溶解, 搅拌使二者混合均匀。一定时间后, 取出小烧杯, 冷却, 即成酶促豆腐。

1.4 酶促豆腐的单因素实验

1.4.1 酶的添加量

每份取熟浆25 mL, 调豆浆pH至7.0, 在50℃时, 保温1 h。酶的添加量分别为0.067 U/g、0.27 U/g、0.53 U/g、0.80 U/g和1.1 U/g蛋白质。

1.4.2 豆浆的pH

每份取熟浆25 mL, 在50℃时, 保温1 h, 添加酶0.53 U/g蛋白质。调节pH分别为3.0、4.0、5.0、

6.0、7.0、8.0、9.0 和 10.0。

1.4.3 酶反应温度

每份取熟浆 25 mL, 调豆浆 pH 至 7.0, 酶的添加量 0.53 U/g 蛋白质, 保温 1 h。水浴温度分别设为 25 °C、37 °C、50 °C、60 °C 和 70 °C。

1.4.4 酶反应时间

每份取熟浆 25 mL, 调豆浆 pH 至 7.0, 水浴温度设为 50 °C, 添加酶 0.53 U/g 蛋白质。保温时间分别为 0.5 h、1 h、1.5 h、2 h 和 3 h。

1.4.5 离子强度的影响

每份取熟浆 25 mL, 调豆浆 pH 至 7.0, 在 50 °C 时, 添加酶 0.53 U/g 蛋白质, 保温 1 h。离子强度(用 NaCl 调节)分别为 0.1、0.3、0.5、0.7 和 0.9。

1.5 酶促豆腐凝胶强度的测定方法

去除豆腐表面的一层皮质, 将装有豆腐的小烧杯放在载物平台上, 将探头对准试样的中心位置, 由电脑控制探头以一定速度下压到一定深度, 测定其凝胶强度。

测定参数: 探头型号 P 0.5, 探头下降速度 3 mm/s, 探头穿刺速度 1 mm/s, 最大位移 15 mm, 返回速度 3 mm/s, 凝胶强度定义: 凝胶破裂时所需的力 (g)。

1.6 正交实验

本实验采用正交表 $L_9(3^4)$ 。取温度、时间、酶量和离子强度四个因素, 每个因素取三个水平, 如表 1。

表 1 正交实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	A(温度 /°C)	B(时间 /h)	C(酶量/U/g 蛋白质)	D(离子强度)
1	37	0.5	0.27	0.2
2	50	1	0.53	0.3
3	60	1.5	0.80	0.5

1.7 感官评定

表 2 感官评定指标设计

Table 2 Standards of sensory evaluation

评价项目	好	中	差
色泽	8~10	7	4~6
香味	8~10	7	4~6
滋味	8~10	7	4~6
粘弹性	8~10	7	4~6
细腻度	8~10	7	4~6
硬度	8~10	7	4~6

经过 6 位专业人员组成评价小组, 对酶促豆腐进行品尝, 并根据感官评定标准对其色泽、香味、滋味、粘弹性、细腻度和硬度分别进行打分, 评定标准如表

2 所示。根据打分求其各项平均值, 豆腐品质总体评分为以上各项评分的平均值之和。

2 结果与讨论

2.1 豆浆的蛋白质含量

根据 1.2 的方法, 测得豆浆的蛋白质含量为 9%。

2.1.1 酶的添加量

表 3 酶量对豆腐凝胶强度的影响

Table 3 Effects of TGase levels on tofu gel strength

酶量/(U/g 蛋白质)	0.067	0.27	0.53	0.8	1.1
凝胶强度/g	33.4	43.8	54.3	49.8	44.3

如表 3 所示, 随着 TGase 添加量的增加, 体系的凝胶强度随之增大; 当 TGase 添加量为 0.53 U/g 蛋白质时, 体系的凝胶强度最大为 54.3 g, 是 TGase 添加量为 0.067 U/g 蛋白质时凝胶强度的 1.6 倍; 随后, 随着 TGase 添加量的进一步增大, 凝胶强度略有降低。

Sakamoto^[11]对 TGase 酶促反应物 ϵ -(γ -谷酰氨)赖氨酸 (GL) 的含量进行测定, 证实 GL 的含量随着 TGase 浓度的升高而升高, 这与本实验中低酶浓度时的变化相符。

2.1.2 豆浆的 pH

表 4 豆浆的 pH 对豆腐凝胶强度的影响

Table 4 Effects of pH on tofu gel strength

pH	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
凝胶强度/g	15.8	48.7	54.2	35.7	30.4	17.9

由表 4 可知, 在不同 pH 下形成的凝胶强度明显不同。当 pH 为 3.0 时, 蛋白质大量沉淀不能形成凝胶; pH 为 4.0 时, 体系形成的凝胶很弱, 不在仪器的测量范围之内; pH 为 6.0 和 7.0 时, 体系的凝胶强度最大分别高达 48.7 g 和 54.2 g; pH 高于 7.0, 随着 pH 增大, 凝胶强度呈下降趋势, 在 pH 为 10.0 时形成的凝胶仅为 pH 7.0 时的 33.1%。

体系 pH 的改变一方面影响酶活性和稳定性, TGase 的最适 pH 范围是 6.0~7.5, TGase 在 pH 5.0~7.0 范围内相当稳定, pH 小于 4.0 或 pH 大于 9.0 时该酶不稳定, 在 pH 3.0~4.0 于 37 °C 保温几小时, 酶活损失非常严重^[8]; 另一方面影响大豆分离蛋白的溶解性, 影响蛋白质相互作用过程中疏水作用和静电作用之间的平衡, 进而影响凝胶的网状结构。

2.1.3 酶反应温度

如表 5 所示, 随着酶反应温度的升高, 体系的凝胶强度经历了先逐渐变大再急剧变小的过程。50 °C 时, 体系的凝胶强度最大, 为 54.3 g; 60 °C 时, 凝胶强度为 18.6 g, 约为 50 °C 时的 1/3; 而 70 °C 时, 其

凝胶强度更低。

表 5 酶反应温度对豆腐凝胶强度的影响

Table 5 Effects of temperature on tofu gel strength

温度/℃	25	37	50	60	70
凝胶强度/g	31.8	38.8	54.3	18.6	12.1

温度影响酶的活性。据报道^[8], TGase 的最适反应温度为 50~55 ℃, 大于 60 ℃时, 该酶热失活较严重。这与本实验结果相同, 在 60 ℃和 70 ℃时, 酶严重失活, 所形成的凝胶强度也很低, 其值远低于 50 ℃时的凝胶强度。

2.1.4 酶反应时间

表 6 酶反应时间对豆腐凝胶强度的影响

Table 6 Effects of time on tofu gel strength

时间/h	0.5	1	1.5	2	3
凝胶强度/g	30.5	54.5	49.3	41.7	39.4

如表 6 所示, 随着酶作用时间的增加, 体系的凝胶强度先由小增大再由大减小, 并且起初增大的趋势大于随后的减小趋势。体系的凝胶强度在 1 h 时达到最大值 54.5 g。

凝胶强度与反应时间的关系, 表现为随时间的增加凝胶强度增加, 达到最高值后稍有下降。这与长时间高温处理蛋白质间相互作用变化有关。

2.1.5 钠离子浓度

表 7 钠离子浓度对豆腐凝胶强度的影响

Table 7 Effects of ionic strength on tofu gel strength

离子强度	0.1	0.2	0.3	0.5	0.6
凝胶强度/g	79.3	91.2	102.7	73.3	66.6

如表 7 所示, 当离子强度为 0.1~0.6 时, 体系的凝胶强度均明显高于离子浓度为 0 时形成的凝胶; 离子强度从 0.1 变化到 0.3 时, 凝胶强度几乎呈直线增加, 0.3 时达到最高值 102.7 g, 离子强度进一步增加, 凝胶强度略有下降。

低盐溶液下, 无机盐离子在蛋白质表面上吸附, 使颗粒带相同电荷而相互排斥, 同时增加了蛋白质的亲水性, 改善与水膜的结合, 增加了蛋白质分子与溶剂分子相互作用力, 影响了体系中氢键、疏水键和静电相互作用, 使分子间的网络得到加强, 提高了凝胶强度。随着离子强度进一步增加, 盐与蛋白质争夺水分, 蛋白质沉淀, 凝胶强度降低。

2.2 酶促豆腐的正交实验结果

实验结果及极差分析分别如表 8 所示。从表 8 的极差分析可知, 温度 A 的极差为 48.4, 时间 B 的极差为 13.0, 酶量 C 的极差为 18.9, 离子强度 D 的极差为 30.0, 所以影响豆腐凝胶强度的各因素主次关系是:

温度>NaCl 浓度>酶量>时间, 其中, 温度和离子强度是主要的因素。

表 8 正交实验数据及结果

Table 8 Results of orthogonal experiments

实验号	A(温度/℃)	B(时间/h)	C(酶量/U/g 蛋白质)	D(离子强度)	凝胶强度/g
1	37	0.5	0.27	0.2	52.5
2	37	1	0.53	0.3	95.2
3	37	1.5	0.8	0.5	74.1
4	50	0.5	0.53	0.5	80.0
5	50	1	0.8	0.2	104
6	50	1.5	0.27	0.3	109
7	60	0.5	0.8	0.3	56.4
8	60	1	0.27	0.5	26.3
9	60	1.5	0.53	0.2	54.9
K1	73.9	66.3	62.5	70.4	
K2	97.6	75.1	76.7	90.1	
K3	49.2	79.3	81.5	60.1	
R	48.4	13.0	18.9	30.0	

2.3 方差分析

对正交实验测试指标进行方差分析, 结果见表 9。

表 9 方差分析

Table 9 Variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	显著性
A	3509.607	2	24.42	**
B	263.247	2	1.83	
C	581.887	2	4.75	*
D	1394.180	2	9.70	**
误差	578.92	8		

注: 其中 $F_{0.05}(2,8)=4.46$, $F_{0.01}(2,8)=8.65$ 。**表示高度显著, *表示显著。

由表 9 可以看出, 对于凝胶强度这一指标而言, 因为 $F_A > F_{0.01}(2,8)$, $F_D > F_{0.01}(2,8)$, 所以因素 A 和 D 都具有高度显著性; 因为 $F_C > F_{0.05}(2,8)$, 所以因素 C 具有显著性。因此, 温度和离子强度都是主要的影响因素, 这一分析结果和极差分析结果一致。该实验中各个因素的主次关系依次是: 温度>离子强度>酶量>时间, 摒弃因素是时间。

根据正交表 $L_9(3^4)$ 进行了正交实验, 通过极差分析和方差分析, 确定了最佳的因素水平组合 $A_2C_3D_2$, 即温度 50 ℃, 酶量 0.8 U/g 蛋白质, 离子强度 0.3。

2.4 酶促豆腐与普通豆腐凝胶强度的比较

在上述最佳实验条件(温度 50 ℃, 酶量 0.8 U/g 蛋白质, 离子强度 0.3、pH 7.0 时, 加热 1.5 h)下,

制备酶促豆腐,并与其他类型豆腐的凝胶强度进行比较,结果如表 10 所示。酶促豆腐的凝胶强度在内酯豆腐与压制豆腐之间。由于嫩豆腐和卤水豆腐均经过压制,所以其凝胶强度远大于酶促豆腐。酶促豆腐的制作过程与内酯豆腐相似,但它的凝胶强度几乎是内酯豆腐的 2 倍,显示出酶作为新型凝固剂的优越性。

表 10 几种豆腐凝胶强度的比较

Table 10 Comparison of tofu gel strength

豆腐种类	酶促豆腐	内酯豆腐	嫩豆腐	卤水豆腐
凝胶强度/g	148.6	81.3	599.7	602.8

2.5 感官评定结果

表 11 感官评定评分结果

Table 11 Sensory evaluation results

豆腐种类	酶促豆腐	内酯豆腐	嫩豆腐	卤水豆腐
色泽	8.5	8	6.5	6
香味	9.5	7	6.5	6
滋味	8.5	7	7	6.5
粘弹性	9.5	4	5.5	5.5
细腻度	9.5	8	4	4
硬度	8	4.5	8.5	8.5
总体评分	45	38.5	38	36.5

从表 11 可以看出,酶促豆腐与普通豆腐相比,在香味、粘弹性和细腻度方面都有明显的优势。酶促豆腐虽然在外观上、制作方法上同内酯豆腐较为相似,但在质构上,它比内酯豆腐更具有弹性,且不易松散。由于没有添加传统方法中使用的凝固剂,酶促豆腐不会有涩味、酸味等不良滋味,并且还带有豆浆的香味。

参考文献

(上接第 28 页)

50 °C 和 60 °C 协同 500 MPa 处理后,果浆中检测不到微生物,除了聚原花色素外,其他酚类比处理前显著增高,果浆的 L 值显著升高,颜色向好。50 °C 以上的热结合高压处理可使果浆的颜色得以改善的同时控制果浆中的微生物。

参考文献

[1] Manas P, Barsotti L, Claude C P. Microbial inactivation by pulsed electric fields in a batch treatment chamber: effect of some electric parameters and food constituents[J]. Innovative Food Sciences & Emerging Technologies,

[1] 李里特.中外大豆食品研发的观念取向[J].农产品加工,2006,(7):4-6

[2] Nielsen P M. Reactions and potential applications of transglutaminase[J]. Food Biotechnology, 1995, 9(3): 119-156

[3] Zhu Y, Rinzema A, Tramper J. Micoorganism transglutaminase-a review of its production and application in food processing[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995, 44:277-282

[4] 江波,周红霞.谷氨酰胺转胺酶对大豆 7S 蛋白质及肌球蛋白胶凝性质的影响[J]. 无锡轻工大学学报, 2001,20: 122-127

[5] 江波,周红霞.谷氨酰胺转胺酶对火腿肠凝胶性质的影响[J]. 食品与发酵工业,2001,27:1-6

[6] 倪新华,江波,王璋.谷氨酰胺转胺酶对面粉品质的改良作用[J].无锡轻工大学学报,2002,21:613-616,621

[7] 王淼,李寅,陈坚.新型食品酶制剂—微生物来源的谷氨酰胺转胺酶的性能及其在食品中的应用[J].乳品科学与技术,2001,24:24-26

[8] 常忠义.轮枝链霉菌谷氨酰胺转胺酶的生物合成及其对草鱼鱼糜制品质构的影响[D].江南大学博士学位论文.2001

[9] 石彦国.大豆制品工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2005

[10] GB/T 5009.5-1985.北京:中国标准出版社,1985

[11] Sakamoto H, Kumazawa Y, Motoki M. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions[J]. Journal of Food Science, 1994, 59(4): 866-871

[2] 钟葵,廖小军,梁楚霖,等.脉冲电场和热处理对鲜榨苹果汁贮藏期品质的影响[J].食品与发酵工业,2004,8,49-54

[3] 赵光远,王璋,许时婴.混浊苹果汁生产工艺改进的研究[J].无锡轻工大学学报,2004,(23):542-47

[4] 綦菁华,蔡同一,倪元颖,等.活性炭对苹果汁中多酚和混浊物的吸附研究[J].食品与发酵工业,2000,29(4)11-14

[5] 罗平.饮料分析与检验[M].中国轻工业出版社,北京,1992, 132-136

[6] 赵光远,王璋,许时婴.混浊苹果汁加工过程中的酶促褐变及其防止的研究[J].食品工业科技,2003,(10),57-61