

多种酶复合水解作用改善鹰嘴豆发酵乳的品质

张雪^{1,2}, 张震¹, 连伟帅¹, 邹建¹, 孙智达²

(1. 河南牧业经济学院食品与生物工程学院, 河南郑州 450011)

(2. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070)

摘要: 本研究探讨了蛋白酶、 α -淀粉酶和葡萄糖苷酶组合酶解作用对鹰嘴豆发酵乳品质改善的影响。结果表明: 经过蛋白酶、 α -淀粉酶与葡萄糖苷酶组合酶解处理的鹰嘴豆浆固形物含量和总糖含量均显著增加, 分别增加了 23.76%、8.22%; 经过三酶组合处理后的样品 pH 降低、持水力显著提高, 粘度增大, 稳定性增强; 随着发酵时间的延长, 发酵乳在 0~24 h, 各组持水力均随发酵时间呈增加而增大, C₄ (三酶组合) 组增大了 17.25%; 24 h 后, 除 C₀ (空白) 组下降, 其余各组持水力增幅趋缓; 各组还原糖含量均随发酵时间呈下降趋势, C₄ (三酶组合) 组在 12~48 h 还原糖含量回升了 3.22%; 感官品评显示酶处理较显著地影响了鹰嘴豆发酵乳的气味、外观、滋味和质构。与 C₀ 组相比, 经过 C₄ (三酶组合) 组处理后感官指标提高, 总体可接受性评分从 6.13 提高到 8.53, 提高了 39.15%, 表明组合酶解作用有利于鹰嘴豆发酵乳品质的改善。

关键词: 组合酶解; 鹰嘴豆; 发酵乳; 品质

文章编号: 1673-9078(2020)09-88-95

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.9.0142

Multiple Enzyme Hydrolysis Improved the Quality of Fermented Chickpea Milk

ZHANG Xue^{1,2}, ZHANG Zhen¹, LIAN Wei-shuai¹, ZOU Jian¹, SUN Zhi-da²

(1. Food Engineering Department of Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450011, China)

(2. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: This study investigated the effects of combined enzymatic hydrolysis with protease, α -amylase and glucosidase on the quality improvement of fermented chickpea milk. After such combined enzymatic hydrolysis, the solid content and total sugar content of the chickpea milk increased significantly (by 23.76% and 8.22% respectively), with the pH of the samples decreasing, and water holding capacity, viscosity and stability increasing. With the extension of fermentation time, the water holding capacity of each fermented milk group increased in 0~24 h, with that of the C₄ group (involving the three-enzyme combination) increasing by 17.25%. After 24 hours, except for the C₀ group (the blank), the increase in the water holding capacity of the other groups slowed down, and their reducing sugar contents all decreased with the prolongation of fermentation time, and the reducing sugar content of the C₄ group increased by 3.22% in 12~48 h. Sensory evaluation showed that the smell, appearance, taste and texture of fermented chickpea milk were affected significantly by the enzymatic treatment. Compared with the C₀ group, the sensory indicators of the C₄ group were all improved after the treatment with the three enzymes, with the overall acceptability score increasing from 6.13 to 8.53 (an increase of 39.15%). These results indicated the combined enzymolysis is beneficial for improving the quality of fermented chickpea milk.

引文格式:

张雪,张震,连伟帅,等.多种酶复合水解作用改善鹰嘴豆发酵乳的品质[J].现代食品科技,2020,36(9):88-95

ZHANG Xue, ZHANG Zhen, LIAN Wei-shuai, et al. Multiple enzyme hydrolysis improved the quality of fermented chickpea milk [J].

Modern Food Science and Technology, 2020, 36(9): 88-95

收稿日期: 2020-02-17

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31802111); 河南省科技攻关项目 (202102110284)

作者简介: 张雪 (1974-), 女, 副教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏及功能食品

通讯作者: 孙智达 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物化学

Key words: combinatorial enzymolysis; chickpea; fermented milk; quality

鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* L.) 又称为桃豆, 是世界第二大消费豆类, 产量居世界豆类第三^[1], 鹰嘴豆作为食用豆类中的主要经济作物, 耐干旱、耐贫瘠, 是绿色植物蛋白来源, 也是我国中西部干旱、半干旱地区种植的主要豆类之一^[2], 具有广阔的市场开发前景。鹰嘴豆发酵乳是以鹰嘴豆为原料制成豆浆, 再经过益生菌发酵作用形成的一种高营养价值的类酸乳制品。鹰嘴豆蛋白经过益生菌产生的胞外蛋白酶的水解, 增加了体系中活性肽及氨基酸含量, 营养价值大大提高; 且零胆固醇、零抗生素和激素, 脂肪含量不及普通酸乳的一半, 富含各类维生素、有机酸、异黄酮等物质, 对人体具有重要的保健作用。

近年来, 酶解因反应条件温和、速度快、无有害物质产生、反应可控等优点, 已成为了研究热点。姚余祥^[3]采用碱性蛋白酶水解鹰嘴豆蛋白制备了降胆固醇肽; 张涛^[4]采用 Alcalase 碱性蛋白酶和谷氨酰胺转氨酶 (TG 酶) 对鹰嘴豆分离蛋白 (CPI) 进行了酶法改性, 发现 Alcalase 酶法水解, 可改善低离子强度下 CPI 的溶解性及乳化性。但乳酸菌在纯豆乳中发酵较为缓慢, 酸度值不理想, 其发酵机理有待于更深入的探究。由于鹰嘴豆发酵乳的组成成分和凝胶结构与普通发酵牛乳不同, 因此在理化性质及口感上与普通发酵牛乳制品相比, 有一定的缺陷; 虽然有研究试图改善植物发酵乳的理化性质和感官品质, 但从酶法改善鹰嘴豆发酵乳品质的研究报道较少。

木瓜蛋白酶是最便宜的植物来源蛋白酶之一, 且已通过 FDA 批准可用于食品配方和食品加工中。木瓜蛋白酶主要作用于蛋白质亲水氨基酸赖氨酸 (Lys)、精氨酸 (Arg) 和苯丙氨酸 (Phe) 的羧基端, 这样可以避免 C-末端为疏水性氨基酸的苦味肽的产生^[5,6]。鹰嘴豆浆经木瓜蛋白酶解处理后, 产生的多肽和游离氨基酸可以为益生菌生长所利用。此外, 鹰嘴豆中还含有 30% 左右的淀粉, 进一步采用 α -淀粉酶 (内切型) 和葡糖苷酶 (外切型), 将其水解成葡萄糖, 部分取代发酵时添加的外源糖, 既可增加微生物所利用的碳源, 又可在改善发酵乳口感的同时节约生产成本。

基于此, 为改善鹰嘴豆发酵乳风味和品质, 满足市场需求, 本文采用木瓜蛋白酶组合 α -淀粉酶、葡糖苷酶共同对鹰嘴豆浆进行轻度水解, 利用其协同酶解作用, 研究酶处理对鹰嘴豆发酵乳风味、理化特性及品质的影响。植物蛋白一直是除动物蛋白之外的一类

最为重要的蛋白资源, 可提供人体所需的所有氨基酸营养。本研究对于丰富我国的植物基发酵乳市场, 提高鹰嘴豆的经济价值, 推动鹰嘴豆发酵乳的研究具有深远的影响。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

鹰嘴豆, 购于超市; 木瓜蛋白酶 (10 万 U/g), 南宁庞博生物工程有限公司; 高温 α 淀粉酶 (40000 U/g), 江苏锐阳生物科技有限公司; 葡糖苷酶 (100000 U/g), 江苏锐阳生物科技有限公司; 蔗糖, 购于超市; 碳酸氢钠、氢氧化钠、盐酸、酒石酸铜、乙酸锌、亚铁氰化钾, 分析纯; 双歧杆菌, 北京川秀科技有限公司。

1.2 仪器与设备

PYX-DHS-500BS 恒温培养箱, 上海跃进医疗器械厂; PHS-25 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; SW-CJ-1F 超净工作台, 苏州净化设备有限公司; 紫外可见分光光度计 UV Power, 北京莱伯泰科仪器有限公司; 冷冻离心机 PRTINA380R, 德国 Hettich 科学仪器有限公司; RS-600 流变仪, 德国 HAAKE 公司; HP1100 氨基酸分析仪, 美国安捷伦公司。

1.3 方法

1.3.1 鹰嘴豆发酵乳的制备方法

1.3.1.1 工艺流程

鹰嘴豆→浸泡→热磨浆→过滤→鹰嘴豆浆加糖→灭菌→冷却→接种→42 °C 发酵 48 h→4 °C 冷藏 12 h

1.3.1.2 操作要点

(1) 鹰嘴豆经过挑选、冲洗后在含 0.5% NaHCO₃ (m/V) 的水中常温下浸泡 14 h (豆水比为 1:4 m/V), 再清洗后以豆水比 1:8 (m/V)、85 °C 热水打浆, 过 180 目筛得到纯豆浆, 并添加 5% 蔗糖充分溶解, 100 °C 灭菌 15 min, 冷却后, 作为空白对照组记为 C₀。

(2) 同前所述, 并以每克淀粉 10⁴ U 的比例添加 α -淀粉酶, 50 °C 保温 60 min, 打浆完毕后过 180 目筛得到纯豆浆, 同上述处理后, 得到样品记为 C₁。

(3) 同前所述, 然后以每克蛋白 2000 U 的比例添加蛋白酶, 50 °C 保温 60 min, 然后煮沸灭酶, 并添

加5%蔗糖(m/V),经过100℃、15 min 灭菌后得到样品记为C₂。

(4) 同前所述,并以每克淀粉10⁴ U 的比例添加α-淀粉酶,打浆完毕后过180目筛得到纯豆浆,然后以每克蛋白2000 U 的比例添加蛋白酶,50℃保温60 min,同上述处理后,得到样品记为C₃。

(5) 同前所述,并以每克淀粉10⁴ U 的比例添加α-淀粉酶,打浆完毕后过180目筛得到纯豆浆,然后以每克蛋白2000 U 的比例添加蛋白酶,以0.12%(V/V)的比例添加葡萄糖苷酶,50℃保温60 min,同上述处理后,得到样品记为C₄。

1.3.1.3 接种

双歧杆菌活化:取双歧杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* CICC 20257)接种于10 mL 灭菌MRS培养基中,接种量1%,活化3次,每次12 h。

接种:取1 mL 活化后的双歧杆菌菌液,离心,去上清,加入1 mL 灭菌生理盐水重悬,按0.05 g/L 的比例添加,混匀溶解后分装,于42℃发酵48 h,置于4℃后熟12 h。

1.4 指标测定分析

1.4.1 鹰嘴豆浆的指标测定

1.4.1.1 固形物含量的测定

参照GB 541339-2010 执行。

1.4.1.2 总糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法^[7]测定发酵乳总糖的含量。采用干燥恒重的葡萄糖为标品,配制不同浓度葡萄糖溶液制作标准曲线,吸取标液及稀释至适当浓度的样液1.0 mL,加入现配的6%苯酚溶液1.0 mL和浓硫酸5.0 mL,涡旋震荡混匀,放置30 min 冷却至室温后,于490 nm 测定OD值,以蒸馏水为空白。

1.4.1.3 游离氨基酸(FAA)的测定^[8]

采用甲醛滴定法测定氨基氮的含量,取5 mL 样品,加入60 mL 蒸馏水,调pH到8.2,加入20 mL 已中和到pH 7.0的甲醛,然后用0.10 mol/L 标准NaOH 滴定到pH 9.2,记下体积V₁。用蒸馏水代替样品,操作方法相同,测得空白体积V₀。

$$\text{氨基氮含量}(\%) = [(V_1 - V_0) \times N \times 0.014 / m] \times 100\% \quad (1)$$

式中:V₁-样品耗用NaOH 标液毫升数;V₀-空白耗用NaOH 标液毫升数;N-NaOH 标液摩尔浓度;m-样品质量。

HPLC 测定:取10 mL 鹰嘴豆浆,经10000 ×g

离心10 min 后,取清液过0.45 μm 微膜,得待测样液。分析条件:安捷伦高效液相色谱;氨基酸分析柱;流动相A:含有三乙胺(0.018%, V/V)和四氢呋喃(0.3%, V/V)的NaAC 缓冲液(pH=7.2, 0.02 mol/L);流动相B:NaAC 缓冲液(pH=7.2, 0.02 mol/L);乙腈:甲醇=1:2:2;流速1 mL/min;检测波长254 nm。

1.4.2 鹰嘴豆发酵乳指标的测定

1.4.2.1 pH 值测定

按1.3.1.2 处理的鹰嘴豆乳经42℃分别发酵6、12、24 和48 h,准确称取10 g 后熟结束后捣碎的样品于250 mL 锥形瓶中,加入100 mL 无二氧化碳蒸馏水,25℃室温下边浸泡边摇动15 min 后,过滤,取滤液用酸度计直接测定。

1.4.2.2 流变学特性的测定(黏度随剪切速率的变化)

采用小振幅频率扫描法测定鹰嘴豆发酵乳的流变特性。先将鹰嘴豆发酵乳常温涡旋震荡搅拌均匀,选用直径60 mm 不锈钢平板探头,平板与底面的间隙为1 mm,测试温度25±0.5℃,剪切速率0.1~100 s⁻¹,测定表观黏度,每个样品重复测定两次。

1.4.2.3 持水力的测定

取30 g 接种后的发酵鹰嘴豆乳,在离心管(直径28 mm,高115 mm)中42℃分别发酵6、12、24 和48 h,取出,4℃冷藏后12 h 后,将样品在20℃、410 g×10 min 条件下离心,去除乳清后称重。持水力表达为:

$$Q\% = (W_1 - W_2) \times 100\% \quad (2)$$

其中:Q 为持水力,%;W₁ 为离心后样品的质量,g;W₂ 为离心前样品的质量,g。

1.4.2.4 还原糖的测定^[9]

采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定还原糖的含量,以干燥至恒重的葡萄糖为标准品做标准曲线。收集按1.3.1.2 处理的鹰嘴豆乳经42℃分别发酵6、12、24 和48 h,取出,4℃冷藏后12 h 后,10000 r/min 离心10 min,取上清液,对发酵乳还原糖含量进行测定。

1.4.2.5 感官指标的测定^[8]

按9 分制进行打分,1 分最差,9 分最好。按照气味、外观、滋味、质构和总体可接受性五项,邀请10 位品评员,并对其相关培训;按照表1 中的标准进行打分,并对气味、外观、滋味、质构进行描述分析。

表1 鹰嘴豆发酵乳感官评分标准

Table 1 Sensory evaluation criteria of chickpea fermented milk

项目	特征	评分
气味	有鹰嘴豆发酵乳固有气味, 但异味轻	9~7
	有鹰嘴豆发酵乳固有气味, 但异味重	7~5
	无鹰嘴豆发酵乳固有气味	5~3
	气味异常	3~1
外观	呈均匀乳白色、微黄色; 表面光滑、无裂纹、无乳清析出或较少量乳清析出	9~7
	不均匀淡黄色; 表面光滑、少量乳清析出	7~5
	浅灰色或灰白色; 表面有裂纹、乳清析出	5~3
	绿色、黑色斑点或有霉菌生长、异常颜色; 表面有裂纹、乳清析出严重	3~1
滋味	酸味和甜味比例适当	9~7
	过酸或过甜, 稍有豆味	7~5
	有苦涩味, 豆味明显	5~3
	异常滋味	3~1
质构	质构柔软、爽滑、组织细腻	9~7
	质构过硬或过软、不够爽滑、组织较细腻	7~5
	质构粗糙、组织松散、内部有少量空隙、稍有颗粒感	5~3
	质构粗糙、组织松散、内部有大量空隙、有明显颗粒感	3~1
总体接受性	非常好	9~7
	较好	7~5
	较差	5~3
	非常差	3~1

1.5 数据统计分析

采用 SPSS V 18.0 软件对试验数据进行统计分析, 处理间差异采用 One-Way ANOVA with Duncan 检验, 显著性水平 $p < 0.05$, 不同字母代表组间有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 鹰嘴豆浆指标测定结果

2.1.1 酶解处理对鹰嘴豆浆固形物及总糖含量的影响

酶解处理制备的鹰嘴豆浆固形物含量见表2。从表2可知, C₄ (三酶组合) 酶解处理的鹰嘴豆浆的固形物和总糖含量比未加酶空白样品 (C₀), 以及单纯使用淀粉酶 (C₁) 和蛋白酶 (C₂) 的都高, 分别从 5.68 g/100 g、7.91 g/L 增加到 7.03 g/100 g、8.56 g/L, 增幅为 23.76% 和 8.22%。 α -淀粉酶是一种内切淀粉酶, 可将淀粉链水解为不同长度的多聚糖^[10]。葡糖苷酶又称葡萄糖淀粉酶, 是一种外切型淀粉水解酶, 从非还原

末端水解淀粉, 除可以水解 α -1,4-糖苷键外, 还可以水解 α -1,6-及 α -1,3-糖苷键^[11]。在水解过程中, α -淀粉酶和葡糖苷酶协同作用的水解效率比单酶作用的水解效率高^[12,13], 其根源在于 α -淀粉酶为葡糖苷酶提供了新的非还原末端, 提高了葡糖苷酶的底物浓度进而提升了催化效率^[14]。鹰嘴豆浆经过 α -淀粉酶和葡糖苷酶协同酶解后有更多的可溶性糖从豆渣中释放出来, 从而使固形物和总糖含量都有所增高。

表2 酶解处理对鹰嘴豆浆固形物及总糖含量的影响

Table 2 Soluble solids content and reducing sugar content of chickpea milk elaborated

样品	固形物含量/(g/100 g)	总糖/(g/L)
C ₀	5.68±0.01 ^a	7.91±0.08 ^a
C ₁	6.42±0.05 ^b	8.05±0.21 ^b
C ₂	6.71±0.12 ^c	8.14±0.13 ^b
C ₃	6.84±0.36 ^d	8.20±0.09 ^b
C ₄	7.03±0.07 ^c	8.56±0.32 ^b

注: 结果为平均值±标准差 (n=3), 同列不同字母表示有显著性差异 ($p < 0.05$); C₀=未加酶空白样品, C₁=经过 α -淀粉酶处理的鹰嘴豆浆, C₂=经过蛋白酶处理的鹰嘴豆浆, C₃=经过

蛋白酶、 α -淀粉酶处理的鹰嘴豆浆, C_4 =经过蛋白酶、 α -淀粉酶和葡萄糖苷酶处理的豆浆。

2.1.2 酶解处理对鹰嘴豆浆游离氨基酸含量的影响

不同酶处理方式得到的豆浆游离氨基酸含量如表3所示。由表3可知, 以样品 C_0 作为对照, 鹰嘴豆浆经 C_4 (三酶组合) 组处理后, 游离氨基酸总量从 60.23 (C_0) 增加至 74.53 (C_4), 单纯 α -淀粉酶水解的

C_1 组增加的游离氨基酸最少, C_4 (三酶组合) 组增加的最多。木瓜蛋白酶属于半胱氨酸蛋白酶和内肽酶, 优先断裂与 L-Arg (精氨酸)、L-Lys (赖氨酸)、Phe-COOH (苯丙氨酸) 连接的肽键^[15], 终产物以长肽为主。从表3可知, 除了甘氨酸、蛋氨酸的含量变化较小外, 其他氨基酸的含量都有所增加, 豆浆中游离氨基酸的含量随着酶解程度的增加而增加。

表3 酶解处理对鹰嘴豆浆中游离氨基酸含量的影响

Table 3 Content of free amino acid (FAA) in chickpea milk elaborated by different enzymatic actions

氨基酸/($\mu\text{g}/100\text{ mL}$)	C_0	C_1	C_2	C_3	C_4
天冬氨酸 (Asp)	1.56	1.82	1.93	2.18	2.27
谷氨酸 (Glu)	4.68	4.91	5.02	5.23	5.65
丝氨酸 (Ser)	3.79	3.65	3.81	3.68	4.02
组氨酸 (His)	3.84	3.42	3.50	4.01	4.13
甘氨酸 (Gly)	0.89	0.91	0.96	1.02	1.15
苏氨酸 (Thr)	5.48	6.12	6.51	7.18	7.23
精氨酸 (Arg)	20.84	21.06	21.93	22.13	22.28
丙氨酸 (Ala) *	3.12	3.24	3.56	3.43	4.07
酪氨酸 (Tyr) *	5.43	5.72	5.90	6.18	6.31
缬氨酸 (Val) *	1.41	1.69	1.67	2.04	2.42
蛋氨酸 (Met)	0.89	0.89	1.05	1.12	1.23
苯丙氨酸 (Phe) *	1.29	1.30	1.53	1.71	2.08
异亮氨酸 (Ile) *	0.62	0.69	0.81	1.13	2.01
亮氨酸 (Leu) *	1.13	1.93	1.98	1.82	2.26
赖氨酸 (Lys)	3.91	4.01	4.39	4.75	5.24
脯氨酸 (Pro)	1.23	1.31	1.59	1.70	1.83
半胱氨酸 (Cys)	0.12	0.13	0.21	0.27	0.35
以上氨基酸总和	60.23	62.80	66.35	69.58	74.53

注: C_0 =未加酶空白样品, C_1 =经过 α -淀粉酶处理的鹰嘴豆浆, C_2 =经过蛋白酶处理的鹰嘴豆浆, C_3 =经过蛋白酶、 α -淀粉酶处理的鹰嘴豆浆, C_4 =经过蛋白酶、 α -淀粉酶和葡萄糖苷酶处理的豆浆。

2.2 鹰嘴豆发酵乳指标测定结果

2.2.1 酶解处理对鹰嘴豆发酵乳 pH 变化的影响

双歧杆菌发酵过程中鹰嘴豆发酵乳 pH 结果如图1所示。前 6 h 内, 各实验组 pH 值迅速降低, 降幅依次为 $C_4 > C_3 > C_1 > C_2 > C_0$; 6~24 h 内, 各组 pH 值持续降低, 除 C_4 (三酶组合) 组外, 其他各组 pH 降幅趋缓; pH 随发酵时间的延长不断降低, 说明双歧杆菌可以利用鹰嘴豆浆中的营养物质并代谢产酸, 使得 pH 降低。24 h 后, 各组 pH 趋于稳定, 最终 C_4 (三酶组合) 组 pH 最小, C_3 、 C_2 与 C_1 组 pH 无显著差异, C_0 (空

白) 组 pH 最大。

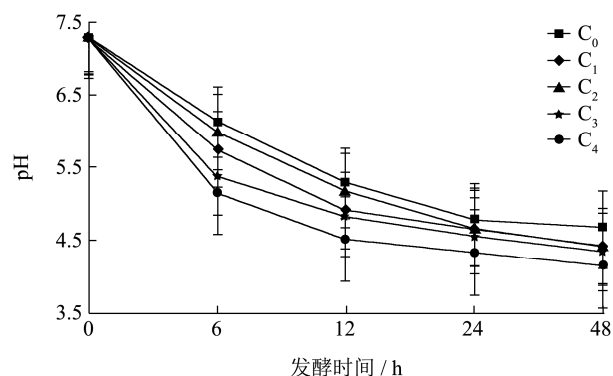


图1 pH 随发酵时间的变化

Fig.1 pH changes with fermentation time

注: C₀为未加酶空白发酵乳样品, C₁为经过α-淀粉酶处理的鹰嘴豆发酵乳, C₂为经过蛋白酶处理的鹰嘴豆发酵乳, C₃为经过蛋白酶、α-淀粉酶处理的鹰嘴豆发酵乳, C₄为经过蛋白酶、α-淀粉酶和葡糖苷酶处理的发酵乳, 下图及表4同。

2.2.2 酶解处理对鹰嘴豆发酵乳流变性质的影响

由图2可知, C₄(三酶组合)组黏度最大, 其次是C₃组和C₂组, C₀组最小, 根据Stokes公式, 粘度较大的体系稳定性相对较好; 说明鹰嘴豆浆经过蛋白酶和淀粉酶轻度水解后, 乳化性逐渐提高, 稳定性增强, 类似的现象也发现于酶解的大豆蛋白中^[16]。

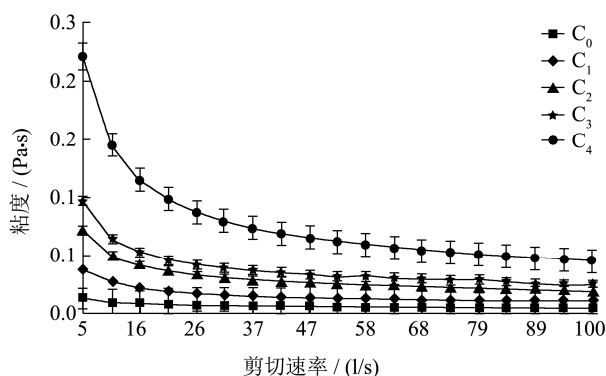


图2 酶解处理对发酵乳流变性质的影响

Fig.2 Effect of enzymatic hydrolysis on rheological properties of fermented milk

2.2.3 酶解处理对鹰嘴豆发酵乳持水力的影响

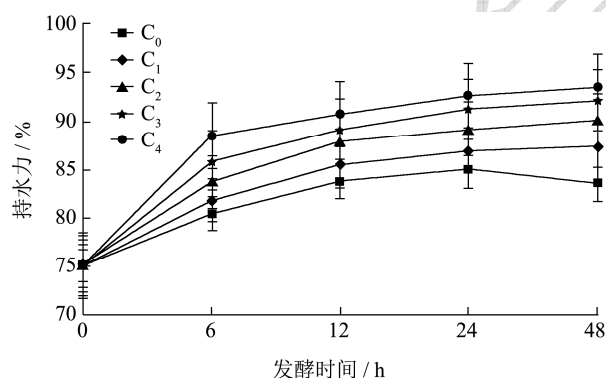


图3 持水力随发酵时间的变化

Fig.3 Change of holding capacity with fermentation time

持水力是评价鹰嘴豆发酵乳凝胶网络体系稳定性的一个重要指标。持水力变化结果表明, 在0~24 h, 各组持水力均随发酵时间呈增加而增大, C₄(三酶组合)组增幅最大; 24~48 h, 空白组持水力下降, 其余各组持水力增幅趋缓。持水力低主要是由于发酵乳不稳定的三维凝胶网络结构而导致^[17]。经过组合酶解后, 鹰嘴豆蛋白和淀粉发生适度降解, 可溶性多糖和蛋白分子间相互作用增大, 导致凝胶能力增强, 更易将水分包裹在其中, 显示出较强的持水力, 这与流变学测试的结果一致; 有研究报道在豆浆阶段经15 U/g Alcalase 蛋白酶处理的大豆酸奶持水力最大增加了8.89%^[18]。

2.2.4 酶解处理对鹰嘴豆发酵乳还原糖含量的影响

还原糖含量变化结果表明, 各组还原糖含量总体均随发酵时间呈下降趋势, 说明双歧杆菌在发酵增殖过程中持续消耗还原糖。C₄(三酶组合)组在12~48 h, C₃组在24~48 h, 还原糖含量呈上升趋势; C₁还原糖在0~6 h呈小幅上升趋势, 6~48 h呈下降趋势, C₂组和C₀组还原糖含量均呈下降趋势, 12~48 h, C₁、C₂和C₀组还原糖含量趋于稳定。

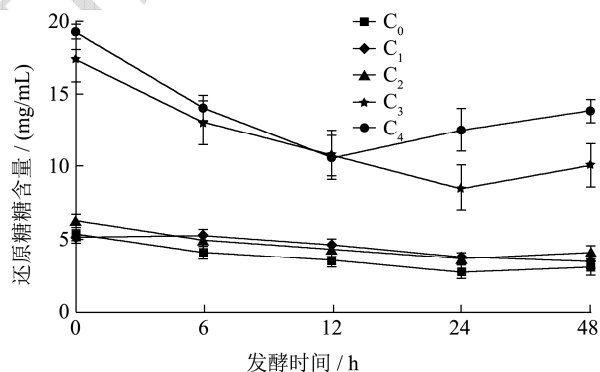


图4 还原糖含量随发酵时间的变化

Fig.4 Changes of reducing sugar content with fermentation time

2.2.5 酶解处理对鹰嘴豆发酵乳感官指标的影响

表4 酶解处理对鹰嘴豆发酵乳感官指标的影响

Table 4 Effects of enzymatic hydrolysis on sensory indexes of chickpea fermentation milk

样品	气味	外观	滋味	质构	总体接受性
C ₀	6.35±0.02 ^a	6.87±0.15 ^c	6.42±2.06 ^c	6.37±3.10 ^d	6.13±0.42 ^b
C ₁	6.47±0.13 ^b	7.31±0.08 ^a	7.23±0.85 ^a	6.75±1.10 ^d	6.57±0.17 ^a
C ₂	6.58±0.27 ^c	7.62±0.24 ^b	7.47±0.18 ^b	7.32±0.64 ^a	7.34±0.52 ^d
C ₃	7.06±0.50 ^e	7.89±0.04 ^f	7.65±1.02 ^d	7.84±0.63 ^f	7.62±0.06 ^f
C ₄	7.13±0.64 ^d	7.95±0.37 ^e	8.34±0.09 ^f	8.69±2.16 ^e	8.53±1.07 ^c

酶解处理对鹰嘴豆发酵乳感官指标的影响如表4所示。酶处理较显著地影响了鹰嘴豆发酵乳的气味、外观、滋味和质构。与 C₀ 组相比, 经过 C₄ (三酶组合) 组处理后感官指标提高, 气味、外观、滋味和质构分别从 6.35、6.87、6.42 和 6.37 提高到 7.13、7.95、8.34 和 8.69, 总体可接受性评分从 6.13 提高到 8.53, 提高了 39.15%。

3 结论

3.1 经过蛋白酶、 α -淀粉酶与葡糖苷酶组合酶解的鹰嘴豆浆固形物含量和总糖含量均显著增加, 分别增加了 23.76%、8.22%; 这说明鹰嘴豆浆经过 α -淀粉酶和葡糖苷酶协同酶解后有更多的可溶性糖从豆渣中释放出来, 从而增加了豆浆中的总糖含量及固形物的含量。

3.2 经过蛋白酶、 α -淀粉酶与葡糖苷酶组合酶解的鹰嘴豆发酵乳粘度最大, 稳定性最高。随着发酵时间的延长, 发酵乳在 0~24 h, 各组持水力均随发酵时间呈增加而增大, C₄ (三酶组合) 组增大了 17.25%; 24~48 h, C₀ (空白) 组持水力下降, 其余各组持水力增幅趋缓。各组还原糖含量均随发酵时间呈下降趋势, C₄ 组在 12~48 h, 还原糖含量回升了 3.22%。

3.3 感官品评结果表明酶处理较显著地影响了鹰嘴豆发酵乳的气味、外观、滋味和质构。与 C₀ 组相比, 经过 C₄ (三酶组合) 组处理后感官指标提高, 总体可接受性评分从 6.13 提高到 8.53, 提高了 39.15%。表明组合酶解处理可显著改善鹰嘴豆发酵乳的感官品质, 在植物基发酵乳中具有理论指导意义以及潜在的应用价值。

参考文献

- [1] Poltronieri F, Aréas J A G, Colliá C. Extrusion and iron bioavailability in chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. Food Chemistry, 2000, 70(2): 175-180
- [2] 张敏, 范小兵, 杭晓敏, 等. 青年人肠道菌群分布及关键益生菌群落结构分析[J]. 微生物学报, 2004, 44(5): 621-626
ZHANG Min, FAN Xiao-bing, HANG Xiao-min, et al. Analysis of intestinal flora distribution and key probiotics community structure in young people [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2004, 44(5): 621-626
- [3] 姚余祥, 张久亮, 何慧, 等. 鹰嘴豆降胆固醇肽的制备及活性[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(1): 33-38
YAO Yu-xiang, ZHANG Jiu-liang, HE Hui, et al. Preparation and activity of cholesterol-lowering peptide in chickpea [J]. Chinese Journal of Grain and Oil, 2015, 30(1): 33-38
- [4] 张涛. 鹰嘴豆分离蛋白的制备及其功能性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2005
ZHANG Tao. Preparation and functional properties of chickpea protein isolate [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2005
- [5] 常慧敏, 杨敬东, 田少君. 超声辅助木瓜蛋白酶改性对米糠蛋白溶解性和乳化性的影响[J]. 中国油脂, 2019, 44(4): 35-40
CHANG Hui-min, YANG Jing-dong, TIAN Shao-jun. Effects of ultrasound-assisted modification of papain on the solubility and emulsification of rice bran protein [J]. Chinese Oils, 2019, 44(4): 35-40
- [6] 郭荣佳. 酶解对大豆蛋白结构功能性影响及高乳化起泡性蛋白制备[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014
GUO Rong-jia. Effect of enzymatic hydrolysis on the structure and function of soybean protein and preparation of highly emulsified foaming protein [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014
- [7] Dubois M, Gilles K, Hamilton JK, et al. A colorimetric method for the determination of sugars. *siam* [J]. Journal on Numerical Analysis, 1951, 168(4265): 167
- [8] 杨媚. 应用萌发大豆制备益生菌发酵豆乳的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011
YANG Mei. Study on preparation of probiotics fermented soybean milk by germination soybean [D]. Guangzhou: South China university of Technology, 2011
- [9] Miller G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar [J]. Analytical Biochemistry, 1959, 31(3): 426-428
- [10] 黄亚杰, 杨艳, 孟庆军, 等. 豌豆粉渣中碳水化合物化合物的研究[J]. 山东科学, 2011, 24(5): 39-41
HUANG Ya-jie, YANG Yan, MENG Qing-jun, et al. Study on carbohydrate in pea powder residue [J]. Shandong Science, 2011, 24(5): 39-41
- [11] Cardona F, Goti A, Brandi A. Molecular dynamics simulation of the complexes of gucoamylase II (471) from *Aspergillus awamori* var. X100 with deoxynojirromycin and lentiginosine [J]. Journal of Molecular Modeling, 1997, 3(1): 249-260
- [12] 史瑜婷, 王志耕, 史方玉, 等. 双酶法水解 β -乳球蛋白[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(6): 94-97
SHI Yu-ting, WANG Zhi-geng, SHI Fang-yu, et al. Study on dual-enzyme hydrolysis β -Lactoglobulin [J]. Food and

- Fermentation Industry, 2010, 36(6): 94-97
- [13] 曹辉,马海乐,贾俊强,等.大米蛋白的双酶分步水解及其产物的抗氧化研究[J].中国粮油学报,2008,23(6):5-10
CAO Hui, MA Hai-le, JIA Jun-qiang, et al. Study on the enzymatic hydrolysis of rice protein and its antioxidant products [J]. Chinese Journal of Grain and Oil, 2008, 23(6): 5-10
- [14] 王华,韩金玉,钟穗生,等.双酶一步法水解马铃薯淀粉的动力学研究[J].高校化学工程学报,2001,15(5):446-452
WANG Hua, HAN Jin-yu, ZHONG Sui-sheng, et al. Kinetics of one-step hydrolysis of potato starch with double enzymes [J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2001, 15(5): 446-452
- [15] 吴婷.牦牛骨胶原蛋白提取纯化及结构解析[D].兰州:甘肃农业大学,2017
WU Ting. Extraction and purification of yak bone collagen and its structure analysis [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2017
- [16] 刘瑾.酶法改善大豆分离蛋白乳化性和起泡性的研究[D].无锡:江南大学,2008
LIU Jin. Study on improving emulsification and foaming properties of soybean protein isolate by enzymatic method [D]. Wuxi: JiangNan University, 2008
- [17] Bau H M, Villaume C, Nicolas J P, et al. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (glycine max) seeds [J]. Journal of Science of Food and Agriculture, 1996, 73: 1-9
- [18] 于茜,李理.Alcalase 蛋白酶及碳源对大豆酸奶流变学特性的影响[J].食品与机械,2014,4(30):21-23
YU Qian, LI Li. Effects of alcalase protease and carbon source on rheological properties of soybean yogurt [J]. Food & Machinery, 2014, 4(30): 21-23

欢迎订阅中文核心期刊 《现代食品科技》

邮发代号：46-349 刊号：ISSN 1673-9078/CN 44-1620

每期定价 40 元，全年 12 期 480 元。欢迎食品及相关行业的机构和科学工作者到各地邮局订阅，并踊跃投稿和建立产学研合作关系。

地址：广州五山华南理工大学食品科学与工程学院麟鸿楼 506 室，邮编：510640

电话：020-87113352

E-mail: xdspkj@126.com

投稿系统：<http://xdspkj.ijournals.cn>