

# 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌 发酵饮料的研制

徐安书<sup>1</sup>, 胡敏<sup>1</sup>, 何军<sup>2</sup>

(1.重庆工贸职业技术学院, 重庆 408000; 2.重庆市涪陵娃哈哈饮料有限公司, 重庆 408000)

**摘要:** 研制茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料。方法: 以优质茎瘤芥叶子原汁和胡萝卜汁为原料, 用嗜热链球菌、植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌为菌种, 采用单因素试验和五因素四水平正交试验, 以产酸量和乳酸活菌数为指标, 确定最终发酵菌种和发酵液及发酵饮料口感稳定性的最佳工艺配方。结果: 用嗜热链球菌、植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌按 1:1:1 比例作为发酵菌种; 发酵液最佳配方为茎瘤芥叶胡萝卜混合汁配比 6:4、脱脂乳 4%、接种量 2%、发酵温度 40℃、发酵时间 24h; 发酵饮料最佳配方为发酵原液中添加蔗糖 4%、柠檬酸 0.04%、耐酸羧甲基纤维素钠(CMC-Na)0.2%、黄原胶 0.03%。

**关键词:** 茎瘤芥; 胡萝卜; 乳酸菌; 发酵

## Development of a Fermented Milk Beverage from Mixed Tumorous Stem Mustard Juice and Carrot Juices with Mixed Lactic Acid Bacteria

XU An-shu<sup>1</sup>, HU Min<sup>1</sup>, HE Jun<sup>2</sup>

(1. Chongqing Industry and Trade Polytechnic, Chongqing 408000, China;

2. Fuling Wahaha Beverage Company Limited, Chongqing 408000, China)

**Abstract:** Objective: Mixed tumorous stem mustard and carrot juices and skim milk were fermented by mixed lactic acid bacteria to develop a fermented milk beverage. Methods: The fermentation starter was composed of *Streptococcus thermophiles*, *Lactobacillus planetarium* and *Lactobacillus acidophilus*. One-factor-at-a-time experiments and a five-variable, four-level orthogonal array design were used to determine optimal fermentation conditions based on acid production and viable lactic acid bacterial count. Results: The optimal fermentation starter was a 1:1:1 mixture of *Streptococcus thermophiles*, *Lactobacillus planetarium* and *Lactobacillus acidophilus*. The optimal fermentation conditions were 6:4 of ratio of tumorous stem mustard to carrot juices, 4% skim milk, 2% of inoculum size, 40 °C of fermentation temperature and 24 h of fermentation time. The optimal amounts of sucrose, citric acid, sodium carboxy methyl cellulose (CMC-Na) and xanthan gum added to the fermentation broth were 4%, 0.04%, 0.2% and 0.03%, respectively.

**Key words:** tumorous stem mustard; carrot; lactic acid bacteria; fermentation

中图分类号: TS252

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2012)14-0321-05

茎瘤芥(*Brassica juncea* var. *tumida* Tsen et Lee)为十字花科(Cruciferae)芥属(*Brassica*)芥菜种的一个变种, 是榨菜加工的原料作物。榨菜加工仅用茎瘤芥的瘤状茎作原料, 而数量巨大的茎瘤芥的叶(除了少量的制成橄榄菜以外)成为废弃物, 导致环境污染和生物资源的巨大浪费<sup>[1]</sup>。茎瘤芥叶柔软多汁, 具有一定硬度, 叶片较薄, 叶茎肉厚且含有丰富的维生素、膳食纤维、水分和无机盐等营养物质<sup>[2]</sup>。胡萝卜含有多种营养素, 其中 $\beta$ -胡萝卜素的含量较高, 另外含硫胺素、核黄素、尼

克酸、锌、锰、钾、钠、钙、铁等微量元素<sup>[3]</sup>。单纯的蔬菜汁存在野蒿味重和风味欠佳等缺点, 影响了蔬菜汁的商品价值和消费<sup>[4]</sup>。随着乳酸菌应用于蔬菜加工中的研究日益广泛和深入, 寻求将不同蔬菜原料的营养、保健成分与乳酸菌的独特的保健功能相结合成为研究的热点<sup>[5]</sup>。根据茎瘤芥和胡萝卜的特点, 利用蔬菜汁制成的饮料具有无醇、低糖、低钠, 有益健康等优点<sup>[6]</sup>, 利用乳酸菌的重要功能, 以维持肠道菌群的生态平衡, 抑制病原菌与抗感染, 改善乳酸不耐症, 促

收稿日期: 2012-03-30

作者简介: 徐安书(1964—), 女, 副教授, 本科, 研究方向为微生物及发酵。E-mail: flxas@163.com

进胃肠蠕动, 消除致癌因子、提高机体免疫力<sup>[7-8]</sup>。重庆市涪陵区茎瘤芥年产约 120 万 t, 而长久以来仅用来加工榨菜, 用途单一, 利用茎瘤芥叶子为原料做乳酸菌饮料成本低, 易于投产。在榨菜收获季节, 还可减少因腐烂废弃而造成的经济损失和环境污染, 开发出具有保健功能的茎瘤芥保健饮料产品, 可大大提高茎瘤芥的附加值<sup>[9]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*, St)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, Lp)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*, La) 中国食品发酵工业研究院; MRS 培养基、10% 脱脂乳(NFM)培养基 市售。

涪陵地产茎瘤芥的叶子; 胡萝卜、食用级蔗糖和葡萄糖、脱脂奶粉 市售。氢氧化钠、碳酸钠、pH 缓冲液(邻苯二甲酸氢钾)、黄原胶、CMC-Na、柠檬酸、VC、氯化钠均由重庆工贸职业技术学院生物化学工程系实验室提供。

SPX-300B 型生化培养箱 上海跃进医疗器械厂; HG72-1 恒温干燥箱 北京市朝阳区来广营医疗器械厂; AR2140 电子天平 奥豪斯国际贸易(上海)有限公司; B203LED 型生物显微镜 重庆奥特公司; SM-CJ-IFD 洁净工作台 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司; 2W 型阿贝折射仪 上海光学仪器厂; LDZX-50KB 立式压力蒸汽灭菌锅 上海申安医疗器械厂; GYB60-6S 高压均质机 上海东华高压均质机厂; LG10-2.4A 高速离心机 江苏常州诺基仪器有限公司; Avance HR1871 榨汁机 飞利浦公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料工艺流程

杀菌(100℃、10min)←调 pH6.3 ←按比例混合←蔬菜汁制备  
菌种→活化→驯化→扩大培养  
↓  
冷却至 40℃, 加入驯化后母发酵剂→发酵→加入已杀菌的糖、柠檬酸、稳定剂(CMC-Na+ 黄原胶)  
↓  
杀菌(100℃、10min)→无菌灌装→成品(灭菌型)  
成品(活菌型)←无菌灌装机灌装←均质(30MPa)←

#### 1.2.2 蔬菜汁制备工艺流程

茎瘤芥叶子汁: 选择无病虫害、无黄脚叶的茎瘤芥叶子→清洗→Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液浸泡30min→切分→0.1% VC 溶液护绿→80℃烫漂30s→榨汁机榨汁→4层以上纱布过滤→离心机离心5min(1000r/min)→取上清液<sup>[10]</sup>。

胡萝卜汁: 选择无霉烂、色泽橙红、肉厚、饱满的胡萝卜→清洗→切块→0.2% 柠檬酸+0.1% VC 混合液煮沸6min→加入鲜样1/2质量的水→榨汁机榨汁0.05% 果胶酶在50℃保温液化酶解1h→4层以上沙布过滤→离心机离心5min(1000r/min)→取上清液<sup>[11]</sup>。

#### 1.2.3 菌种活化

将装有菌种的安瓿管用75%酒精棉球擦拭, 将安瓿管封口处于酒精灯火焰上烧热, 立即滴一滴无菌水于封口处将安瓿管前端炸开, 以无菌吸管吸取部分液体已灭菌并冷却的10%脱脂乳(NFM)培养基于装有St的安瓿管中将冻干粉全部溶解, 吸出并放入另一支装有4~5mL液体脱脂牛奶培养基中, 放置43℃培养24~48h, 传代3~4次, 取4h内凝乳的酸奶, 此时乳酸菌活力已达要求(用MRS琼脂培养基平板计数法测定乳酸菌活菌数), 放置冰箱备用<sup>[12]</sup>。用同样的方法将Lp、La冻干粉用MRS液体培养基活化菌种, 放置37℃培养箱培养24~48h, 培养2~3次, 测定乳酸菌活菌数达要求, 放置冰箱备用<sup>[13-14]</sup>。

#### 1.2.4 菌种驯化

St、Lp和La的生长繁殖对营养素要求较高, 在牛奶中的生长状态最好。混合蔬菜汁虽然含有较多的单糖可供利用, 但蛋白质与氨基酸含量很少, 如果直接将乳酸菌接种在蔬菜汁中, 很难正常生长。因此, 需对它们进行浓度梯度驯化, 使其更好地适应蔬菜汁的生长环境<sup>[15]</sup>。将活化后St、Lp和La三株单菌种和St:Lp、St:La、Lp:La、St:Lp:La四组复合菌种(V/V)分别接种在脱脂乳和混合蔬菜汁比例为9:1的培养基中培养<sup>[16]</sup>, 再至两者比例为8:2的培养基培养。直到两者比例为1:9的培养基培养, 最后用纯混合蔬菜汁培养。每次培养后均测定其乳酸菌数达到1.0×10<sup>7</sup>CFU/mL以上, 反复多次, 至产酸较快(24h内分3个时段测定其pH值)生长良好为止, 作为母发酵剂放置冰箱备用。

#### 1.2.5 茎瘤芥叶胡萝卜混合蔬菜汁筛选

二种蔬菜汁按不同比例进行混合, 随机选择10组配方进行感官风味比较, 以10人进行感官评价, 评价标准见表1, 最后综合评价结果。

表1 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料感官评价标准  
Table 1 Criteria for sensory evaluation of fermented milk beverage of tumorous stem mustard and carrot juices

项目	评分标准	满分
口感	细腻滑润、爽口、酸甜、柔和适宜	40
组织状态	紧密、均匀、无气泡、无杂质、不分层	30
香气滋味	香气浓郁、清爽宜人、有龙眼番茄和胡萝卜特有的香味, 无异味	30

1.2.6 菌种筛选

将驯化后的3株单一菌株和4种组合的复合乳酸菌进行试验筛选。将混合蔬菜汁液(表4)以无水Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>调pH6.3, 100℃ 10min 灭菌, 冷却至35℃分别接种扩大培养后的3株单一菌株和4组复合菌株, 接种量5%, 37℃恒温发酵24h, 测pH值和产酸量及乳酸活菌数。最后以产酸较好, 活菌数高、感官最好的蔬菜汁比例和菌种进行试验。

1.2.7 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵工艺优化

选用L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>)正交试验进行筛选, 以产生乳酸量为检测指标<sup>[17]</sup>。将每次试验重复4次, 取均值。茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵工艺正交试验的各因素水平见表2。

表2 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵工艺正交试验因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal array design for the optimization of fermentation conditions

水平	因素				
	A 茎瘤芥叶汁: 胡萝卜汁(V/V)	B 脱脂乳添加量/(g/100mL)	C 接种量/%	D 发酵温度/℃	E 发酵时间/h
1	8:2	0	2	37	12
2	7:3	2	4	40	16
3	6:4	4	6	42	20
4	5:5	6	8	44	24

1.2.8 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料配方及稳定性试验<sup>[3]</sup>

选用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表, 安排正交试验, 进行饮料配方的优化, 以感官评价为评定指标。茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料配方及稳定性试验正交因素水平见表3。

表3 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料配方及稳定性正交试验因素水平表

Table 3 Factors and levels of orthogonal array design for the optimization of beverage formulation

水平	因素		
	A 蔗糖添加量/%	B 柠檬酸添加量/%	C 稳定剂添加量
1	4	0.02	CMC-Na 0.1%-黄原胶 0.01%
2	6	0.04	CMC-Na 0.2%-黄原胶 0.03%
3	8	0.06	CMC-Na 0.3%-黄原胶 0.05%

1.2.9 成品质量测定

感官评价标准见表1; 乳酸菌数: MRS 平板直接计数法; 酸度: GB/T 12456—2008《食品中总酸的测定》; pH值: 酸度计; 可溶性固形物: 采用阿贝折光仪测定。

1.3 数据处理

将每次试验重复4次, 数据以“平均值±标准差”表示。实验数据采用方差分析进行处理。

2 结果与分析

2.1 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁比例筛选

混合汁颜色主要由橄榄色的茎瘤芥叶子汁和橙红色胡萝卜汁呈现, 若胡萝卜汁含量过低(20%), 则混合汁颜色偏淡且风味较淡; 若胡萝卜汁含量过高(60%), 颜色偏暗且突出的胡萝卜风味掩盖了茎瘤芥汁风味<sup>[13]</sup>, 同时也体现不出以茎瘤芥叶子汁为主的特色, 偏离了本研究的意图。根据表现结果, 初步选出4组配方为发酵用混合蔬菜汁, 试验结果见表4。

表4 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁的比例

Table 4 Effect of mixing ratio on the sensory evaluation of tumorous stem mustard and carrot juices

试验号	茎瘤芥叶胡萝卜混合汁比例(V/V)	感官风味(色、味)
1	8:2	橙黄色, 蔬菜特有香味
2	7:3	淡红, 微清香
3	6:4	红褐, 清香
4	5:5	粉红, 浓胡萝卜香味

2.2 乳酸发酵菌株筛选

蔬菜汁乳酸发酵菌株的标志是: 产酸量高, 有生香味, 无异味, 产生左旋或消旋乳酸<sup>[18]</sup>。对混合汁分别接种经驯化后 St、La 和 Lp 单一菌株和混合菌株 St:Lp、St:La、Lp:La、St:Lp:La 母发酵剂进行发酵试验, 接种量5%、发酵温度43℃、发酵时间24h, 进行pH值、酸度和乳酸活菌数测定及感官风味评价, 试验结果见表5。

表5 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁乳酸发酵菌株筛选

Table 5 Screening of optimal fermentation starter

混合汁比例	指标	St	La	Lp	St:Lp (1:1)	St:La (1:1)	Lp:La (1:1)	St:Lp:La (1:1:1)
8:2	pH	6.28	4.74	4.70	3.41	3.45	3.45	3.57
	酸度/%	0.02	0.27	0.30	2.41	2.53	2.57	2.48
	活菌数 (×10 <sup>6</sup> CFU/mL)	0.03	0.05	0.58	2.92	2.59	4.22	5.05
7:3	pH	6.25	6.24	4.52	3.41	3.45	3.40	3.46
	酸度/%	0.03	0.03	0.34	2.54	2.59	2.68	2.53
	活菌数 (×10 <sup>6</sup> CFU/mL)	0.51	0.65	0.56	0.33	5.03	3.22	5.11
6:4	pH	6.24	6.20	5.34	3.41	3.46	3.44	3.45
	酸度/%	0.03	0.03	0.13	2.53	2.45	2.45	2.45
	活菌数 (×10 <sup>6</sup> CFU/mL)	0.56	0.62	0.74	2.92	2.30	5.10	5.00
5:5	pH	6.19	5.47	5.27	3.45	3.46	3.45	3.46
	酸度/%	0.06	0.12	0.18	2.43	2.31	2.44	2.32
	活菌数 (×10 <sup>6</sup> CFU/mL)	0.61	1.09	0.85	3.10	0.90	4.20	2.60

注: 酸度以乳酸计。

表5表明,使用两种及以上复合菌种发酵的产酸量显著高于单一菌种发酵后的产酸量,发酵汁口感较好,酸味纯正无异味,而单一菌种发酵后产酸量低,口感差,香味淡,有茎瘤芥特有生菜味。

### 2.3 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵工艺优化

表6 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵工艺正交试验设计及结果

Table 6 Orthogonal array design and experimental results for the optimization of fermentation conditions

试验号	A	B	C	D	E	乳酸含量/%
1	1	1	1	1	1	0.12 ± 0.01
2	1	2	2	2	2	1.42 ± 0.06
3	1	3	3	3	3	1.56 ± 0.03
4	1	4	4	4	4	1.61 ± 0.11
5	2	1	2	3	4	1.62 ± 0.01
6	2	2	1	4	3	1.45 ± 0.04
7	2	3	4	1	2	1.01 ± 0.01
8	2	4	3	2	1	1.12 ± 0.09
9	3	1	3	4	2	1.03 ± 0.03
10	3	2	4	3	1	1.11 ± 0.03
11	3	3	1	2	4	1.77 ± 0.06
12	3	4	2	1	3	0.24 ± 0.08
13	4	1	4	2	3	1.19 ± 0.05
14	4	2	3	1	4	0.49 ± 0.01
15	4	3	2	4	1	1.31 ± 0.04
16	4	4	1	3	2	1.89 ± 0.02
K <sub>1</sub>	4.71	3.96	5.23	1.86	3.66	
K <sub>2</sub>	5.20	4.47	4.59	5.50	5.35	
K <sub>3</sub>	4.15	5.65	4.20	6.18	4.44	
K <sub>4</sub>	4.88	4.86	4.92	5.40	5.49	
R	0.03	0.13	0.05	0.95	0.18	
优水平	A <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	

由表6得知,11号和16号样品在试验过程中乳酸量较高,其配方为A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>E<sub>4</sub>和A<sub>4</sub>B<sub>4</sub>C<sub>1</sub>D<sub>3</sub>E<sub>2</sub>,根据方差分析可得知优水平配方(K)为A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>3</sub>E<sub>4</sub>,从极差分析中可见,影响试验的5个因素的大小顺序是D > E > B > C > A。为了得到最佳配方,将此3个配方作重复实验,试验结果见表7。

表7 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料发酵液的重复实验

Table 7 Validation results for optimal fermentation conditions

试验号	A	B	C	D	E	乳酸含量/%
16	4	4	1	3	2	1.52 ± 0.03
11	3	3	1	2	4	1.72 ± 0.01
K	2	3	1	3	4	1.04 ± 0.03

由表7得知,通行重复实验,11号样产酸量最高,感官品质最好,因此选择11号样为最佳配方,即A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>E<sub>4</sub>,即茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料发酵液配方为混合汁6:4、脱脂乳添加量4%、复合菌株St:Lp:La(1:1:1)接种量2%、发酵温度40℃、发酵时间24h。

### 2.4 茎瘤芥叶胡萝卜混合蔬菜汁复合乳酸菌发酵饮料配方优化

表8 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料配方正交试验设计及结果

Table 8 Orthogonal array design and experimental results for the optimization of beverage formulation

试验号	A	B	C	误差	感官评分			总分
					口感 (40分)	组织状态 (30分)	香味 (30分)	
1	1	1	1	1	28	27	28	83
2	1	2	2	2	33	27	26	86
3	1	3	3	3	26	25	23	74
4	2	1	2	3	33	22	22	77
5	2	2	3	1	34	26	25	85
6	2	3	1	2	30	25	20	75
7	3	1	3	2	33	20	28	81
8	3	2	1	3	36	28	24	88
9	3	3	2	1	31	23	24	78
K <sub>1</sub>	243	241	246	246				
K <sub>2</sub>	237	259	241	242				
K <sub>3</sub>	247	227	240	239				
R	3.3	10.7	2.0	2.3				
优水平	A <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>1</sub>				

由表8可见,2、5号和8号调配得分较高,2号配方为A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,5号配方为A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>,8号配方为A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>,根据方差分析可得到另一优水平配方(N号)A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>。从极差分析中可见,影响试验的4因素的大小顺序是B > A > D > C。为了得到最佳配方将这4个配方做重复实验,结果见表9。

表9 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料口感调配重复实验

Table 9 Validation results for optimal beverage formulation

实验号	A	B	C	口感 (40分)	组织状态 (30分)	香味 (30分)	总分
8	3	2	1	37	25	26	88
2	1	2	2	38	25	28	94
5	2	2	3	36	28	26	90
N	3	2	1	34	28	26	88

由表9可见,通过重复实验,2号配方得分最高,即在发酵液中蔗糖添加量4%、柠檬酸添加量0.04%、CMC-Na添加量0.2%、黄原胶添加量0.03%。

### 2.5 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料稳定性观察

杀菌型饮料的稳定性:杀菌型饮料室温放置2个月后,饮料性状稳定,无分层、无沉淀、色泽无变化。活菌型饮料的稳定性:放置4℃条件下2个月后,饮料的性状较稳定,无分层,无沉淀,色泽稍变浅,其

活菌数  $5.4 \times 10^6$  CFU/mL。

## 2.6 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料成品质量测定

感官(色、感官、口感): 乳黄色, 特有茎瘤芥叶胡萝卜乳酸发酵香味, 滋味酸甜、爽口。

乳酸菌数测定: 最初发酵乳酸菌数在  $1.00 \times 10^{11}$  CFU/mL 以上。活菌型饮料放置  $4^\circ\text{C}$  条件下 2 个月后, 其活菌数达  $5.4 \times 10^6$  CFU/mL。

酸度测定: 饮料装瓶口前乳酸含量是 0.73%, 杀菌型饮料观察 2 个月后, 乳酸含量是 1.18%, 活菌型饮料观察 2 个月后, 乳酸含量是 1.49%。

pH 值: 装瓶前 3.63, 杀菌型饮料观察 2 个月后 3.69; 活菌型饮料观察 2 个月后 3.82。

可溶性固形物测定: 饮料装瓶前 13.5%, 杀菌型饮料观察 2 个月后 9.5%, 活菌型饮料观察 2 个月后 10.6%。

## 3 讨 论

菌种的筛选是乳酸发酵的关键之一, 菌株选择条件是: 具有生香、无异味, 产生的乳酸为左旋乳酸或消旋乳酸; 产酸量高, 适应性强不易变异等<sup>[19]</sup>。用于食品发酵的乳酸菌较多, 根据相关文献报道<sup>[20]</sup>, 在乳酸菌发酵过程中, 由于球菌和杆菌的共生作用, 使混合菌发酵明显优于单一菌种发酵。因此本实验选择球状的嗜热链球菌、杆状的植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌, 通过菌种筛选和乳酸发酵复选, 3 种混合菌株按 1:1:1 比例混合, 对茎瘤芥叶胡萝卜混合汁进行发酵。先将菌种活化后再逐级驯化, 使乳酸菌逐渐适应脱脂牛乳的纯蔬菜汁培养基中生长, 每次驯化后都以测定的乳酸活菌数为指标, 至少在  $1.00 \times 10^7$  CFU/mL 以上。考虑到茎瘤芥植物含有硫代葡萄糖苷等特有成分, 具有刺激舌头和鼻窦的辛辣味<sup>[9]</sup>, 直接用茎瘤芥叶汁发酵后有很重的熟青草味, 同时考虑影响发酵技术的主要因素——温度、时间、接种量。本实验以混合汁的配比、脱脂乳添加量、接种量、发酵温度、发酵时间进行五因素四水平正交试验, 结果得出混合汁发酵最佳工艺为茎瘤芥叶胡萝卜混合汁比例 6:4、脱脂乳添加量 4%、混合菌种接种量 2%、发酵温度  $40^\circ\text{C}$ 、发酵时间 24h。

在发酵液中加入蔗糖和柠檬酸, 使其酸甜适中, 口感较好。本实验产品为蔬菜汁复合乳酸菌发酵饮料, 要求保持期内不发生分层, 沉淀现象, 通过添加稳定剂然后均质来提高饮料的稳定性<sup>[21]</sup>。通过正交试验筛选出饮料最佳配方为蔗糖添加量 4%、柠檬酸添加量

0.04%、CMC-Na 添加量 0.2%、黄原胶添加量 0.03%。

本实验最后产品有两种, 一种是活菌型蔬菜汁复合乳酸菌发酵饮料, 另一种杀菌型蔬菜汁复合乳酸菌发酵饮料。活菌型饮料对包装和存放条件有严格要求, 货架期短, 在  $4^\circ\text{C}$  低温条件下可保存至少 1 个月品质保持不变。而杀菌型乳饮料, 观察 2 个月各项指标基本不变。因此产品可按市场需要制成灭菌型和活菌型两种。

## 参考文献:

- [1] 李敏. 果胶酶辅助提取茎瘤芥叶片中叶绿素的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2011(22): 130-134.
- [2] 方卢秋. 涪陵榨菜叶产品的开发[J]. 中国乳业, 1996(4): 17.
- [3] 曾献春, 刘金宝, 李晓华. 番茄、胡萝卜乳酸菌发酵饮料的研制[J]. 食品科学, 2005, 26(11): 137-140.
- [4] 张菊华, 单杨, 李高阳. 乳酸菌发酵蔬菜汁的呈味作用[J]. 湖南农业科学, 2004(1): 67-70.
- [5] 张菊华, 单杨. 乳酸菌发酵蔬菜汁工艺研究[J]. 现代食品科技, 21(4): 61-63.
- [6] 严维凌, 赵琦, 谢志镭. 发酵条件对乳酸菌发酵蔬菜汁产品指标的影响[J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 20(6): 603-607.
- [7] 余焕玲, 晏萍. 乳酸菌的生理功能及在食品中的应用[J]. 饮料工业, 2000, 3(4): 10-13.
- [8] 张红. 乳酸菌的发酵性质和生物学功能[J]. 生物学通报, 1999, 34(12): 18-20.
- [9] 长江师范学院. 茎瘤芥(榨菜)晒多糖保健功能饮料的研制(第二届“挑战杯”省赛作品)[EB/OL]. <http://www.tiaozhanbei.net/project/538/>.
- [10] 常学东, 朱京涛, 李春华. 菠菜复合汁的护绿研究[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1996, 10(2): 42-45.
- [11] 董基. 杨桃黄瓜复合汁乳酸菌发酵饮料的研制[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(31): 17803-17805.
- [12] 伍菱, 肖安风, 李利君, 等. 三种乳酸菌混合培养的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(3): 7-10.
- [13] 刘会平, 李玉娥, 康连平. 活性乳酸菌饮料的研制[J]. 山西农业大学学报, 1998, 18(3): 254-258.
- [14] 郭春宝. 乳酸菌发酵草莓汁的研制[J]. 食品科学, 2001, 22(9): 52-55.
- [15] 汪枫, 董英. 乳酸发酵复合果蔬汁配方的研制[J]. 食品科技, 2006, 31(3): 76-80.
- [16] 段善海, 缪铭, 陈凌远. 多株乳酸菌发酵制作果汁型饮料的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 138-141.
- [17] 高愿军, 孙用明, 冯卫华. 红薯乳酸菌发酵饮料的研制[J]. 食品科学, 1998, 19(7): 62-64.
- [18] 西南农业大学食品学系蔬菜汁乳酸菌发酵饮料研究课题组. 蔬菜汁乳酸菌发酵饮料研究[J]. 西南农业大学学报, 1991, 13(2): 165-168.
- [19] 张翠霞, 王淑华, 张翠焕. 功能性乳酸菌系列产品的研制开发[J]. 微生物学杂志, 1997, 17(1): 33-35.
- [20] 施安辉, 周波. 乳酸菌分类、生理特性及在食品酿造中的应用[J]. 中国调味品, 2001(11): 3-8.
- [21] 胡萍, 王雪青, 王莅. 活性乳酸菌饮料稳定性研究[J]. 食品科技, 1998, 23(3): 31-33.