

豆腐柴汁混合乳酸菌保健饮料的研究工艺

徐安书, 王艳领

重庆工贸职业技术学院, 重庆

收稿日期: 2022年2月1日; 录用日期: 2022年2月19日; 发布日期: 2022年3月3日

摘要

目的: 研究豆腐柴叶汁混合乳酸菌发酵保健饮料。方法: 以豆腐柴叶为主要原料, 用嗜热链球菌、植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌为混合菌种, 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调配的最佳配方。结果: 用嗜热链球菌、植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌按1:1:1比例作为混合菌种; 发酵液最佳配方为豆腐柴料水比1:8 (g/mL), 脱脂乳5%, 种子液接种量2%, 发酵温度 $41^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 发酵时间24 h; 饮料调配最佳配方: 蔗糖4%, 柠檬酸0.04%, CMC 0.2%, 黄原胶0.03%。

关键词

豆腐柴汁, 乳酸菌, 保健饮料, 工艺, 研究

Research on Workmanship of *Premna microphylla* Turcz. Juice Mixed with Lactic Acid Bacteria Health Drink

Anshu Xu, Yanling Wang

Chongqing Industry & Trade Polytechnic, Chongqing

Received: Feb. 1st, 2022; accepted: Feb. 19th, 2022; published: Mar. 3rd, 2022

Abstract

Objective: The object is to study the health beverage fermented by *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria. **Methods:** Taking *Premna microphylla* Turcz. leaves as the main raw material, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* as the mixed strains, single factor test and five factor four level orthogonal test were used to determine the best formula for the final fermentation strains, fermentation broth and the taste of

fermented beverages with the acid production and the number of live lactic acid bacteria as the index. Results: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* were used as mixed strains in the ratio of 1:1:1. The optimum formula of fermentation broth was *Premna microphylla* Turcz. to water ratio of 1:8 (g/mL), 5% skimmed milk, 2% seed liquid inoculation amount, 41°C ± 1°C fermentation temperature and 24 hours fermentation time. The best formula for beverage is 4% sucrose, 0.04% citric acid, 0.2% CMC and 0.03% xanthan gum.

Keywords

Premna microphylla Turcz. Juice, Lactobacillus, Health Drink, Workmanship, Research

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

豆腐柴(*Premna microphylla* Turcz.)是马鞭草科豆腐柴属植物,其叶片含有丰富的营养成分和药用成分,包括氨基酸、碳水化合物、膳食纤维、可溶性糖、维生素 C、 β 胡萝卜素、果胶等[1]。豆腐柴叶中果胶含量尤为丰富,其含量可高达 20%~30%;其次蛋白质含量为 18.7%,粗脂肪含量 4.27%等。野生豆腐柴每 100 g 鲜叶中含 21.8 mg 的 β -胡萝卜素和 361.5 mg 的维生素 C (Vitamin C, Vc)。由于豆腐柴含有丰富的蛋白质和氨基酸及维生素以及抗氧化因子等特点,是一种难得的药食两用植物[2] [3]。豆腐柴含有人体所需氨基酸,具有较高的药用食用价值[4]。豆腐柴根的提取物可促进刀豆蛋白(ConA)诱导 T 淋巴细胞的增殖反应,野生豆腐柴中总黄酮含量较高[5] [6]。尽管目前对豆腐柴利用研究很多[7],尤其是制成豆腐,俗称“观音豆腐”或“树叶豆腐”,是安徽省,浙江省和四川江油一带的特色小吃[8]。但作为乳酸保健饮料的研究颇少。笔者利用豆腐柴汁为主要原料,三种乳酸菌为混合菌种,进行乳酸菌发酵,制成的乳酸菌发酵饮料。具有促进胃肠蠕动,调节体内微生态平衡,消除致癌因子、提高机体免疫力等保健功能[9] [10]。涪陵区适合发展豆腐柴[11],利用豆腐柴为原料做乳酸菌饮料成本低,易于投产。

2. 材料与方法

2.1. 主要材料与试剂

2.1.1. 培养基及菌种

培养基: MRS 培养基(市售)

菌种: 嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)简写 La; 植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)简写 Lp; 嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)简写 St (菌种购买于中国食品发酵工业研究院)。

2.1.2. 材料

涪陵地产豆腐柴、食用级蔗糖和葡萄糖、脱脂奶粉(市售)。

2.1.3. 药品与试剂

碳酸钠、氢氧化钠、pH 缓冲液(邻苯二甲酸氢钾)、柠檬酸、维生素 C、氯化钠、纤维素酶 10,000 u/g (罗恩试剂)、CMC-Na (食品级 - 河南华悦化工产品有限公司)、果胶酶 3000 u/g (山东西北化学服务有限公司)、黄原胶(食品级 - 淄博中轩生化有限公司)。

2.2. 主要仪器与设备

SW-CJ-1FD 洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司)、LDZX-50KB 立式压力蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂)、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)、GYB60-6S 高压均质机(上海东华高压均质机厂)、2WZSH 型阿贝折射仪(上海光学仪器厂)、飞利浦 HR1871 榨汁机、HH-1 数显恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司)等。

2.3. 方法

2.3.1. 豆腐柴汁混合乳酸菌发酵饮料的工艺流程

菌种→活化→驯化→扩大培养→母发酵剂

↓

豆腐柴汁制备→调 pH 6.3→杀菌(100℃ 10 min)→冷却至 40℃ 接种→发酵→加入已杀菌的糖、柠檬酸、稳定剂(CMC-Na + 黄原胶)→均质(30 MPa)→杀菌(100℃ 10 min)→无菌灌装→产品

2.3.2. 豆腐柴汁制备

鲜叶称量→清洗→90℃~100℃漂烫 1 min→冷却→加水(1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10) (g/mL) (不同季节采摘的鲜叶含水量不同) [12]→加质量分数 0.04%Na₂CO₃ 和 0.2 mol/L 抗坏血酸混合液→打浆 5 min (20℃~30℃、1000~3000 r/min)→四层纱布过滤→豆腐柴浆液[13]→无水 Na₂CO₃ 调 pH 6.3→0.5%果胶酶 + 0.5%纤维素酶保温液化酶解 60 min (50℃、150 r/min)→杀菌 1 min (90℃~100℃)→冷至 40℃→四层纱布过滤→静置→取上清液备用。

2.3.3. 菌种活化和驯化

用灭菌并冷却的 10%脱脂乳(NFM)活化安瓿管里的冻干粉 St (43℃培养 24 h~48 h, 传代 3~4 次), 放置冰箱备用[14]。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 1℃~5℃冰箱备用[15] [16]。

St、Lp 和 La 的生长繁殖对营养素要求较高, 豆腐柴汁虽然含有丰富蛋白质, 仍需进行浓度梯度驯化, 使其逐渐适应豆腐柴汁的生长环境[17]。将活化后的三株单菌株和 St:Lp、St:La、Lp:La、St:Lp:La 四个混合菌株(V/V)分别接种在脱脂乳和豆腐柴汁比例为 9:1 的培养基中培养(42℃, 24 h), 测定其乳酸菌数达到 1.0×10^7 CFU/mL 以上, 同样方法 8:2、7:3……1:9、纯豆腐柴汁培养。每次培养后均测定其乳酸菌数达到要求, 反复多次, 至产酸较快(24 h 内分 3 个时段测定其 pH 值)生长良好为止。将驯化后的菌株分别用纯豆腐柴汁接种量 10%~20% (V/V)进行扩大培养, 同样方法测定乳酸菌数达到要求后作为母发酵剂放置 1℃~5℃冰箱备用[18]。

2.3.4. 单因素试验

1) 豆腐柴汁筛选

将备用豆腐柴汁分别接种驯化后的三株单一菌株和四组混合菌株母发酵剂, 接种量 5%, 41℃恒温发酵 24 h, 测 pH 和产酸量(酸碱滴定法)及乳酸活菌数(MRS 平板计数法)。筛选出产酸量和乳酸活菌数均较高的豆腐柴汁备用[19]。

2) 菌种筛选

选择产酸量高, 适应性强不易变异菌株是决定发酵成功的关键之一[20] [21]。将备用的豆腐柴汁杀菌冷却后分别接种扩大培养的 3 株单一菌株和 4 种组合的混合乳酸菌进行筛选, 接种量 5%, 43℃, 24 h 后测 pH 值、酸度和乳酸活菌数。以产酸较好, 活菌数高、感官最好的菌种进行试验。

3) 种子液的筛选

用 L₉(3⁴)正交试验筛选出最佳种子液配方, 检测指标是乳酸菌数。见表 1。

Table 1. Factor level of seed liquid of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria fermented beverage
表 1. 豆腐柴汁混合乳酸菌发酵饮料种子液因素水平表

因素水平	料水比 A (g/mL)	葡萄糖 B (g/100mL)	脱脂乳 C (g/100mL)	接种量 D (V/V/V)
1	1:6	4	2	3
2	1:7	6	4	5
3	1:8	8	6	7

2.3.5. 发酵液筛选

选用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验筛选, 以产生乳酸量为检测指标[22]。A 料水比(g/mL)、B 脱脂乳添加量(g/100mL)、C 接种量(%)、D 发酵温度($^{\circ}\text{C}$)、E 发酵时间(h)。见表 2。

Table 2. Factor level of fermented liquid of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria fermented beverage
表 2. 豆腐柴汁乳酸菌发酵饮料发酵液因素水平表

水平	因素				
	料水比 A (g/mL)	脱脂乳 B (g/100mL)	种子液接种量 C (%)	发酵温度 D ($^{\circ}\text{C}$)	发酵时间 E (h)
1	1:6	1	2	40	12
2	1:7	3	4	41	16
3	1:8	5	6	42	20
4	1:9	7	8	43	24

2.3.6. 发酵饮料口感调配试验

选用 $L_9(3^4)$ 正交试验, 以口感打分评比, 其评价标准见表 3。豆腐柴汁混合乳酸菌发酵饮料口感调配试验正交因素水平见表 4。

Table 3. Scoring criteria for taste preparation of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria beverage
表 3. 豆腐柴汁乳酸菌饮料口感调配评分标准

项目	评分标准	满分
口感(40)	细腻滑润、酸甜爽口、柔和适宜	35~40
	偏甜或偏酸	25~34
	口感粗糙, 带涩味	≤ 24
颜色和组织状态(30)	黄绿色、晶莹透亮、无气泡、无杂质、不分层	25~30
	浅黄绿色, 较透亮, 静置有分层	15~24
	黄褐色, 混浊, 有沉淀	≤ 14
香气滋味(30)	香气浓郁、清爽宜人、有豆腐柴特殊香味, 无异味	25~30
	豆腐柴气味过浓	15~24
	有酸馊异味	≤ 14

Table 4. Factor level of taste blending test of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria beverage (g/100mL)**表 4.** 豆腐柴汁乳酸菌饮料口感调配试验因素水平表(g/100mL)

水平	因素		
	蔗糖 A	柠檬酸 B	稳定剂 C
1	4	0.02	CMC 0.1 黄原胶 0.01
2	6	0.04	CMC 0.2 黄原胶 0.03
3	8	0.06	CMC 0.3 黄原胶 0.05

2.3.7. 成品质量测定

感官(色泽、香气和口感)、乳酸菌数(MRS 平板计数法)、乳酸含量(GB5009.157-2016)、酸度(GB/T12456-90)酸碱滴定法、pH 值(酸度计)、可溶性固形物(阿贝折光仪)。

2.4. 统计方法

将每次试验重复 4 次, 结果三次平行取样, 取均值, 数据以平均值±标准差表示。实验数据用方差分析进行处理。

3. 结果与分析

3.1. 豆腐柴汁筛选

通过乳酸菌发酵试验筛选出最佳豆腐柴汁料水比, 做重复试验, 筛选出产酸较好, 活菌数高、感官较好的豆腐柴汁。选择 St:Lp:La 混合菌种发酵, 结果见表 5。

Table 5. pH and viable lactic acid bacteria number of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria fermented beverage of with different ratio of material to water**表 5.** 不同料水比的豆腐柴汁混合乳酸菌发酵饮料的 pH 及乳酸活菌数结果

料水比/(g/mL)	时间(h) (不同时间的 pH 变化)				乳酸活菌数 (1.0×10^7 cfu/mL)
	0	12	17	24	
1:5	6.00	5.34	4.98	4.30	3.25
1:6	6.01	5.24	4.87	4.58	4.23
1:7	5.98	4.95	4.32	4.46	8.40
1:8	5.99	5.19	4.65	4.52	4.53
1:9	5.97	5.17	4.86	4.71	3.90
1:10	5.98	5.65	5.01	4.88	3.45

由表 5 得知: 产酸较好, 活菌数高、感官最好的豆腐柴汁料水比为 1:6、1:7、1:8。因为料水比过小如 1:5 (g/mL), 滤汁过稠, 难以过滤, 产生气泡悬浮于滤汁中, 影响酶解和乳酸菌生长; 料液比例大如 1:10 (g/mL) 以上, 滤汁过稀, 营养成分减少, 乳酸菌生长不良。

3.2. 菌株筛选

选取豆腐柴汁(料水比 1:7 (g/mL)), 分别接种经驯化后三株单一菌株和四组混合菌株母发酵剂进行发酵试验, 测定 pH、酸度及乳酸活菌数, 结果见表 6。

Table 6. Screening results of lactic acid fermentation strains of *Premna microphylla* Turcz. juice
表 6. 豆腐柴汁乳酸发酵菌株筛选结果

料水比 (g/mL)	菌种 测试项目	St	La	Lp	St:Lp (1:1)	St:La (1:1)	Lp:La (1:1)	St:Lp:La (1:1:1)
		1:7	pH	5.02	4.80	4.87	3.55	3.67
	酸度	0.01	0.37	0.30	2.68	2.73	2.54	2.90
	活菌数(1×10^8 cfu/mL)	0.01	0.03	0.58	2.32	2.78	4.31	5.13

*酸度以乳酸计%。

由表 6 得知: 使用多种混合菌种发酵的产酸量显著高于单一菌种发酵后的产酸量, 发酵汁酸甜爽口, 口感纯正无异味, 而单一菌种发酵后产酸量低, 口感差, 香味淡, 豆腐柴味太浓。

为了准确选出发酵用最适宜的菌株, 我们对四个组合的混合菌株做了重复试验, 结果显示: 混合菌株 St:Lp:La (1:1:1)的各项指标优势最明显, 发酵汁口感较其它几个均好, 酸味纯正, 无生青涩味, 具有豆腐柴固有特殊气味, 又具有乳香香味。用于食品发酵的乳酸菌较多, 由于球菌和杆菌的共生作用, 使用混合菌发酵明显优于单一菌种发酵[23]。

3.3. 筛选最佳种子液

选择 $L_9(3^4)$ 正交试验, 无误差列。将每次实验重复 3 次, 取均值。豆腐柴汁灭菌冷却后接种, 42°C , 24 h 后测定乳酸菌数, 结果见表 7。

Table 7. Screening results of the best seed solution of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed lactic acid bacteria fermented beverage

表 7. 豆腐柴汁混合乳酸菌发酵饮料最佳种子液筛选结果表

试验号	A	B	C	D	试验结果 (乳酸菌数 1.0×10^8 cfu/mL)
1	1	1	1	1	8.61
2	1	2	2	2	2.62
3	1	3	3	3	8.07
4	2	1	2	3	6.10
5	2	2	3	1	5.19
6	2	3	1	2	7.18
7	3	1	3	2	12.19
8	3	2	1	3	5.18
9	3	3	2	1	56.39
K_1	19.30	26.90	20.97	70.19	
K_2	18.47	12.99	65.11	21.99	
K_3	73.76	71.64	25.45	19.35	
极差 R	55.29	68.65	44.14	50.84	
优水平	A_3	B_3	C_2	D_1	

由表 7 可见, 9 号样在试验过程中乳酸菌数最高。其配方为 $A_3B_3C_2D_1$ 。方差分析也是 $A_3B_3C_2D_1$ 。即豆腐柴叶汁混合乳酸菌发酵种子液: 豆腐柴料水比 1:8 (g/mL), 葡萄糖 8%, 脱脂乳 4%, 接种量 3%, 发酵温度 42℃, 发酵时间 24 h; 从极差分析中可看到, 影响试验的四因素的大小顺序是 $B > A > D > C$ 。

3.4. 最佳发酵液筛选

选用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验, 因素水平填入正交表 1 中, 无误差列。每次试验重复 4 次, 取均值, 结果见表 8。

Table 8. Orthogonal table of fermented liquid of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria fermented beverage

表 8. 豆腐柴汁乳酸菌发酵饮料发酵液正交表

试验号	料水比 A (g/mL)	脱脂乳 B (g/100mL)	接种量 C (%)	发酵温度 D (°C)	发酵时间 E (h)	试验结果(%) (平均乳酸量 ± 标准差(%))
1	1	1	1	1	1	0.21 ± 0.01
2	1	2	2	2	2	1.34 ± 0.05
3	1	3	3	3	3	1.54 ± 0.07
4	1	4	4	4	4	1.58 ± 0.03
5	2	1	2	3	4	1.59 ± 0.10
6	2	2	1	4	3	1.40 ± 0.04
7	2	3	4	1	2	1.08 ± 0.01
8	2	4	3	2	1	1.19 ± 0.03
9	3	1	3	4	2	1.01 ± 0.01
10	3	2	4	3	1	1.20 ± 0.08
11	3	3	1	2	4	1.68 ± 0.04
12	3	4	2	1	3	0.30 ± 0.01
13	4	1	4	2	3	1.21 ± 0.02
14	4	2	3	1	4	0.50 ± 0.01
15	4	3	2	4	1	1.32 ± 0.01
16	4	4	1	3	2	1.88 ± 0.00
K1	4.67	4.02	5.17	2.09	3.92	
K2	5.26	4.44	4.55	5.42	5.31	
K3	4.19	5.62	4.24	6.21	4.45	
K4	4.91	4.95	5.07	5.31	5.35	
极差 R	1.07	1.60	0.93	4.12	1.43	
优水平	A ₂	B ₃	C ₁	D ₃	E ₄	

由表 8 得知, 11 号和 16 号样品在试验过程中乳酸量较高, 其配方为 $A_3B_3C_1D_2E_4$ 和 $A_4B_4C_1D_3E_2$, 根据方差分析可得知优水平另一配方 $A_2B_3C_1D_3E_4$, 从极差分析中可见, 影响试验的五因素的大小顺序是 $D > B > E > A > C$ 。为了得到最佳工艺配方, 将此 3 个配方作重复试验, 结果见表 9。

Table 9. Repeated test of fermented liquid of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria fermented beverage

表 9. 豆腐柴汁乳酸菌饮料发酵液的重复试验

试验号	A	B	C	D	E	试验结果
						(平均乳酸量(%) ± 标准差(%))
16	4	4	1	3	2	0.87 ± 0.01
11	3	3	1	2	4	1.98 ± 0.03
K	2	3	1	3	4	0.76 ± 0.02

由表 9 得知, 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 $A_3B_3C_1D_2E_4$, 即豆腐柴汁乳酸菌饮料发酵液最佳配方和参数为料水比 1:8 (g/mL), 脱脂乳 5%, 混合菌株 St:Lp:La (1:1:1), 种子液接种量 2%, 发酵温度 41℃, 发酵时间 24 h。

3.5. 筛选饮料口感配方

选用 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选最佳豆腐柴汁乳酸菌发酵液口感配方。按照表 4 设计正交试验表, 添加蔗糖、柠檬酸、稳定剂。结果见表 10。

Table 10. Orthogonal test table of taste preparation of fermented liquid of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria beverage

表 10. 豆腐柴汁乳酸菌饮料口感调配正交试验表

试验号	A	B	C	误差	结果评分			总分
					口感 (40 分)	组织状态 (30 分)	香味 (30 分)	
1	1	1	1	1	30	29	30	89
2	1	2	2	2	35	29	28	92
3	1	3	3	3	30	27	25	82
4	2	1	2	3	35	24	24	83
5	2	2	3	1	37	28	27	93
6	2	3	1	2	32	27	22	81
7	3	1	3	2	35	22	30	87
8	3	2	1	3	38	30	26	94
9	3	3	2	1	33	25	26	84
K1	263	259	264	266				
K2	257	279	259	260				
K3	265	247	262	259				
极差 R	8	32	5	7				
优水平	A_3	B_2	C_1	D_1				

组织 10 个人对试验结果进行打分, 其评价标准见表 3, 取平均值。其结果如下: 表 10 中, 2 号、5 号和 8 号调配得分较高, 2 号配方为 $A_1B_2C_2$, 5 号配方为 $A_2B_2C_3$, 8 号配方为 $A_3B_2C_1$, 根据方差分析可得到另一优水平配方(K 号) $A_3B_2C_1$ 。为了得到最佳配方将这四个配方做重复试验, 结果见表 11。从极差分析中可见, 影响试验的四因素的大小顺序是 $B > A > D > C$ 。

Table 11. Repeated test of taste preparation of *Premna microphylla* Turcz. juice mixed with lactic acid bacteria beverage
表 11. 豆腐柴汁乳酸菌发酵饮料口感调配重复试验

试验号	A	B	C	口感 (40 分)	组织状态 (30 分)	香味 (30 分)	总分
8	3	2	1	39	29	28	96
2	1	2	2	40	29	30	99
5	2	2	3	38	30	28	96
K	3	2	1	30	28	26	84

由表 11 得知, 通过重复试验, 2 号配方得分最高, 即在发酵液中添加蔗糖 4%, 柠檬酸 0.04%, CMC-Na 0.2%, 黄原胶 0.03%。用 40 MPa 均质后杀菌得到产品。

3.6. 豆腐柴汁混合乳酸菌发酵饮料成品质量测定[24]

3.6.1. 感官(色泽、香气、口感)

黄绿色, 具有豆腐柴特殊香味, 滋味酸甜、爽口。

3.6.2. 乳酸菌数测定

采用 MRS 平板计数法, 乳酸菌数都在 1.00×10^{10} cfu/mL(平均值)以上。

3.6.3. 酸度测定

饮料装瓶前乳酸含量是 0.61% (均值), 观察 2 个月后, 乳酸含量是 1.09% (均值)。

3.6.4. pH 值

装瓶前 3.45, 观察 2 个月后 3.54。

3.6.5. 可溶性固形物测定

饮料装瓶前 12.7%, 观察 2 个月后 8.9%。

本实验产品为豆腐柴汁混合乳酸菌发酵饮料, 要求保质期内不发生分层、沉淀现象, 通过添加稳定剂然后均质来提高饮料的稳定性[25]。

4. 结论

以豆腐柴叶为主要原料生产保健饮料, 充分利用野生资源, 原料易得, 成本低。实验结果用三种混合乳酸菌按 1:1:1 比例混合, 对豆腐柴汁进行发酵。先用脱脂乳对菌种活化后再用脱脂乳与豆腐柴汁混合逐级驯化, 最后用纯豆腐柴汁取代脱脂乳。每次驯化后测定的乳酸活菌数至少在 1.00×10^7 cfu/mL 以上。发酵液最佳配方为: 豆腐柴汁料水比 1:8 (g/mL), 脱脂乳 5%, 种子液接种量 2%, 发酵温度 $41^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, 发酵时间 24 h。在发酵液中加入蔗糖和柠檬酸, 使其酸甜适中, 口感较好。最佳配方为蔗糖 4%, 柠檬酸 0.04%, CMC-Na 0.2%, 黄原胶 0.03%。

由于豆腐柴营养成分丰富, 既可作为功能食品开发, 又可作药用成分原料, 具有极大的开发利用价值。结合乳酸菌发酵饮料的优越性, 本实验研究最后产品是豆腐柴汁杀菌型乳酸菌保健饮料, 笔者想可否制成另一种活菌型豆腐柴汁混合乳酸菌发酵饮料。根据酸性饮料常识要求, 活菌型饮料对包装和存放条件有严格要求, 货架期短, 在 4℃低温条件下可保存至少 1 个月品质保持不变。因此活菌型乳酸菌发酵饮料对稳定剂的选择及工艺条件要求更高, 这也是我以后进一步深入对豆腐柴的研究方向。

致 谢

本项目得到重庆重庆市教育委员会 2021 年科学技术研究项目青年项目资金支持, 重庆市涪陵区科技局 2020 年农业与社会事业领域资金大力支持, 除了感谢以上两个单位以外, 另外十分感谢重庆工贸职业技术学院给予本项目资金大力支持, 感谢重庆工贸职业技术学院科研处和账务处的同志们, 也感谢本项目组其它成员的辛勤劳作, 谢谢!

基金项目

1) 重庆市教委 2021 年度科学技术研究计划青年项目 - 渝教科函[2021] 27 号(KJQN202103605); 2) 重庆市涪陵区科技局 2020 年农业与社会事业领域科研项目(FLKJ, 2020ABB2015)。

参考文献

- [1] 李月文, 杜红, 王显琼, 等. 重庆豆腐柴叶营养成分测定及分析评价[J]. 中国林副特产, 2011(6): 18-20.
- [2] 高贵珍, 曹稳根, 蔡红, 等. 野生豆腐柴叶营养成分分析及评价[J]. 植物资源与环境学报, 2003, 12(1): 60-61.
- [3] 方雪梅, 曹稳根. 豆腐柴鲜叶 β -胡萝卜素及维生素 C 的含量测定[J]. 淮北煤炭师范学院学报(自然科学版), 2004, 25(4): 66-68.
- [4] 曹稳根, 蔡红, 高贵珍, 等. 野生豆腐柴营养成分分析[J]. 生物学杂志, 2001, 18(4): 23-24.
- [5] 罗兴武, 王菲. 豆腐柴保健饮料的研制[J]. 食品工业科技, 2012(2): 246-249.
- [6] 罗文谦, 王琳, 鲁绪会, 等. 野生豆腐柴总黄酮及微量元素的测定[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(14): 6429-6430.
- [7] 王世强, 王德青, 张沙沙. 发酵型豆腐柴叶汁胶冻形成条件的探讨[J]. 食品工业科技, 2008(1): 169-170.
- [8] 张攀, 熊双丽, 薛朝云. 豆腐柴叶果胶的提取与理化性质分析[J]. 食品工业科技, 2016, 37(16): 278-284.
- [9] 王燕, 许锋, 张风霞, 等. 豆腐柴研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2007, 26(4): 12-14.
- [10] 张驰, 吴永尧, 彭振坤, 等. 豆腐柴中有效成分复合分离提取研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 234-238.
- [11] 徐安书, 刘健. 秋季豆腐柴鲜叶豆腐加工工艺条件研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(23): 133-137.
- [12] 罗东升, 余萍, 阚健全. 豆腐柴鲜叶豆腐的工艺条件优化[J]. 食品科学, 2013, 34(24): 313-317.
- [13] Black, S.A. and Smit, C.J.B. (1972) The Grading of Low-Ester Pectin for Use in Dessert Gels. *Journal of Food Science*, 37, 726-729. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1972.tb02736.x>
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 郭春宝. 乳酸菌发酵草莓汁的研制[J]. 食品科学, 2001, 22(9): 52-55.
- [17] 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.
- [18] 徐安书, 胡敏, 何军. 茎瘤芥叶胡萝卜混合汁复合乳酸菌发酵饮料的研制[J]. 食品科学, 2012, 33(14): 321-325.
- [19] 徐安书, 田春美, 刘炜. 龙眼混合果蔬汁乳酸菌饮料的生产工艺[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(6): 128-132.
- [20] 西南农业大学食品学系蔬菜汁乳酸发酵饮料研究课题组. 蔬菜汁乳酸发酵饮料研究[J]. 西南农业大学学报, 1991, 13(2): 165-169.
- [21] 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.
- [22] 高晗, 高愿军, 孙用明, 冯卫华, 孔瑾. 红薯乳酸菌发酵饮料的研制[J]. 食品科学, 1998, 19(7): 62-64.

- [23] 施安辉, 周波. 乳酸菌分类、生理特性及在食品酿造工业上的应用[J]. 中国调味品, 2001, 23(11): 3-8.
- [24] 徐安书, 张洪礼, 何军. 茎瘤芥胡萝卜混合汁乳酸菌饮料稳定性研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(13): 62-66.
- [25] 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, 13(3): 31-33.