

# 榨菜发酵腌制工艺改进研究

曾凡坤<sup>1</sup>, 罗晓妙<sup>2</sup>

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.西昌学院, 四川 西昌 615013)

**摘 要:** 为使乳酸菌和酵母菌更快成为优势菌, 加速发酵过程, 迅速降低产品 pH 值, 保障产品质量并缩短生产周期, 本试验尝试借鉴酸泡菜的人工控制发酵在榨菜的自然发酵基础上接种微生物纯种, 确定了菌种的比例和用量: 肠膜明串珠菌 2%、短乳杆菌 1%、植物乳杆菌 1% 以及 1% 的酿酒酵母 1398。综合考虑在不同的接种量和温度条件下的氨基酸态氮含量和酸度的变化以及感官质量上的变化来确定发酵剂用量和后熟温度, 结果表明 2% 的发酵剂接种量、室温条件(10℃左右)可使榨菜在 30d 达到较好的成熟效果。与传统工艺相较而言, 加工周期缩短至原来的三分之一左右。

**关键词:** 榨菜; 人工接种; 腌制; 纯种发酵

## Study on Improvement of Processing Technology of Pickled Mustard Tuber

ZENG Fan-kun<sup>1</sup>, LUO Xiao-miao<sup>2</sup>

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Xichang College, Xichang 615013, China)

**Abstract:** In order to make lactic acid bacteria and yeast become dominant microbes more rapidly, accelerate fermentation, decrease pH value of product rapidly and guarantee quality of product, pure *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* 1398 were inoculated into mustard tuber juice-tomato juice (1:1, V/V) medium, and the culture was used as fermentation starter. Through orthogonal test, the inoculation amounts of these strains are optimized to be 2%, 1%, 1% and 1%, respectively. According to amino acid nitrogen content, acidity and sensory quality, the optimal starter amount and ripening temperature are 2% and about 10 °C, respectively. After 30-day fermentation, pickled mustard tuber with good flavor can be obtained. By this improvement, the processing cycle can be shortened by two-thirds.

**Key words:** mustard tuber; artificial inoculation; pickling; pure fermentation

中图分类号: TS255.53

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)04-0114-04

榨菜成熟过程包括三方面的内容: 辛辣味的消失; 一定酸味的形成; 特殊鲜香风味的形成。在这个成熟过程中既存在微生物发酵, 又有蛋白质酶解, 它们对榨菜品质有举足轻重的作用<sup>[1-5]</sup>。榨菜成熟中的微生物有细菌、酵母菌和霉菌, 其中细菌占绝大多数, 而霉菌和酵母菌均为少数<sup>[6]</sup>。榨菜生产过程中, 控制大部分不利或有害的微生物, 添加一些有益微生物(如乳酸菌, 鲁氏酵母等), 引导榨菜后熟转化, 缩短后熟时间和提高品质。

榨菜成熟过程中的有利发酵主要是乳酸发酵, 伴随着少量的酒精发酵和极轻微的醋酸发酵。因此, 参与发酵的乳酸菌种类以及乳酸发酵的程度对产品质量具有直接的影响, 在加工过程中控制好乳酸菌区系的动态发展进程及区系中不同种类乳酸菌的比例关系是至关重要

的。在腌制过程中及后熟期间, 所含的蛋白质会分解成氨基酸, 这是在蔬菜腌制过程和后熟期间十分重要的生物化学变化, 也是腌制品色、香、味的主要来源, 游离氨基酸含量越多, 蔬菜腌制品的风味越浓。而蛋白质的这种分解过程大多都要依靠蛋白质水解酶的作用<sup>[7-11]</sup>。

传统榨菜加工中存在微生物发酵作用, 对榨菜成熟和风味形成有利的主要是乳酸发酵和轻微的酒精发酵。乳酸菌能将原料中的碳水化合物分解为乳酸, 使产品的 pH 值下降, 一方面可以抑制有害菌的生长, 另一方面可以赋予产品特有的风味。轻微的酒精发酵产生少量醇类物质, 其本身及与乳酸的反应产物都有利于产品风味。传统加工中这些有利的发酵作用是由榨菜原料表面自然携带的微生物完成的。然而, 榨菜原料本身所带的微生物种类甚多, 乳酸菌和酵母菌等有益菌在其中要通

收稿日期: 2008-03-26

作者简介: 曾凡坤(1963-), 男, 教授, 硕士, 研究方向为食品(果蔬)加工。E-mail: zengfankun@swu.edu.cn

过控制条件且经过较长时间的竞争才有可能占优势,发酵速度较慢,影响成熟时间,而且品质不能保证<sup>[12-16]</sup>。因此,本实验尝试借鉴酸泡菜的人工控制发酵方法在榨菜的自然发酵基础上接种纯种微生物,使乳酸菌和酵母菌成为优势菌,加速发酵过程,迅速降低产品 pH 值,使产品质量得以保障并缩短生产周期。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 青菜头及处理

重庆市北碚区天生菜市场购置。经洗净、切丝、预处理、脱水、酶解、加盐、辅料、接种微生物发酵、包装、后熟等处理。

#### 1.1.2 菌种

短乳杆菌 6042(B)、肠膜明串珠菌 6055(A)、植物乳杆菌 6009(C)、酿酒酵母 1596(D)、酿酒酵母 1398(E)。

#### 1.1.3 培养基

MRS 培养基:蛋白胨 1%、牛肉膏 1%、酵母膏 0.5%、 $K_2HPO_4$  0.2%、柠檬酸二铵 0.2%、乙酸钠 0.5%、葡萄糖 2%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.06%、 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0.03%、吐温 80 0.1%,调 pH6.2~6.4, 121℃灭菌 15min; 用于乳酸菌扩大培养。

豆芽汁培养基:大豆芽:水=1:10,煮沸 30min,过滤,加 5% 葡萄糖或蔗糖为液体培养基,再加 2% 琼脂为固体培养基,121℃灭菌 15min; 用于酵母菌扩大培养。

菜汁培养基:番茄汁和榨菜汁 1:1 混合,再加入 2% 葡萄糖、1% 蛋白胨,调 pH6.8; 用于菌种特性检验和制备发酵剂。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 发酵菌种特性检验

在 50ml 三角瓶中装入 20ml 菜汁培养基,向此培养基中分别接种已活化的各菌株,接种量 5%,28℃培养 48h,每隔 6h 取样,测定酸度、OD 值,并以培养时间为横坐标,相应的酸度、OD 值为纵坐标绘成曲线,以检验菌种发酵特性。另外,在菜汁培养基中加入 0%、1%、3%、5%、7% 的食盐,再分装 50ml 三角瓶(每个装 20ml),接种已活化菌株(接种量 5%),28℃培养 48h,测定酸度、OD 值,并以含盐量为横坐标,相应的酸度、OD 值为纵坐标绘成曲线,以检验含盐量对菌种发酵特性的影响。

#### 1.2.2 发酵剂的制备

采用乳酸菌和酵母菌两类微生物的混合培养物作为发酵剂。选用 3 种乳酸菌和两种酵母菌接种于菜汁培养基中,28℃培养 48h,进行感官评定,以确定菌种比

例和用量。3 株乳酸菌的接种量为 0%、1%、2%、3%; 2 株酵母菌的接种量为 0%、0.25%、0.5%、1%。正交试验因素水平见表 1。

表 1 菌种用量水平设计表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test on inoculation amounts of five strains

水平	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)	E (%)
1	0	0	0	0	0
2	1	1	1	0.25	0.25
3	2	2	2	0.5	0.5
4	3	3	3	1	1

注: A.短乳杆菌 6024; B.肠膜明串珠菌 6055; C.植物乳杆菌 6009; D.酿酒酵母 1596; E.酿酒酵母 1398。

### 1.2.3 发酵剂用量、发酵温度和发酵时间的确定

确定发酵剂中菌种比例及用量以后,制备发酵剂(菌数达  $10^8$  个/ml 以上),分别以 0%、1%、2%、3% 的量喷雾接种于经前处理的榨菜丝中,真空包装,分别置于室温和 28℃下发酵,10d 后开始进行风味评定并测定 pH 值,此后每 10d 再进行评定和 pH 值的测定,直至榨菜成熟为止。

### 1.3 指标测定

水分测定:采用烘箱干燥法;酸度(%)测定:采用中和滴定法;OD 值测定:用 722 型分光光度计,在最大吸收光波长 610nm 处测定;氨基酸态氮测定:采用甲醛法;感官评定:从色、香、味三方面进行,其中颜色 20 分、香气 30 分、滋味 50 分。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵菌种特性检验

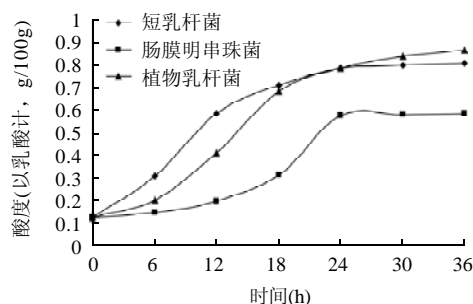


图 1 菌种产酸曲线

Fig.1 Acid-producing curves of three species of lactic acid bacteria

三种乳酸菌在菜汁培养基中的增殖情况都较好,短乳杆菌在 18h 达菌数高峰,而肠膜明串珠菌和植物乳杆菌 24h 也可达到一个较大值,此后增长较为缓慢(图 1)。就产酸速度和产酸量而言,肠膜明串珠菌可以在 24h 达

到产酸高峰,此后有平缓的降低趋势,短乳杆菌和植物乳杆菌在前18h产酸速度快,此后产酸速度变慢,酸度增长趋于平缓。从三种菌株在菜汁培养基中的OD值和酸度变化来看,三种菌株均可试用于发酵(图2)。

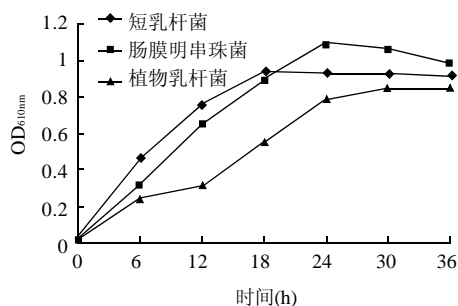


图2 菌种生长曲线

Fig.2 Growth curves of three species of lactic acid bacteria

榨菜加工过程中须加入食盐,因此有必要考查食盐对菌种生长及产酸的影响,结果见图3、4。

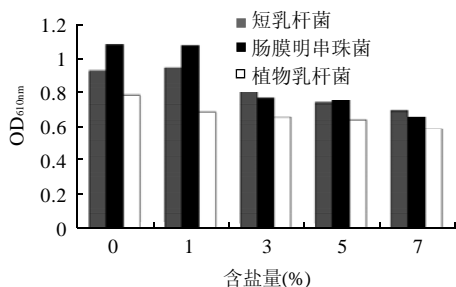


图3 含盐量对菌种生长的影响

Fig.3 Effects of salt amount on growth of three species of lactic acid bacteria

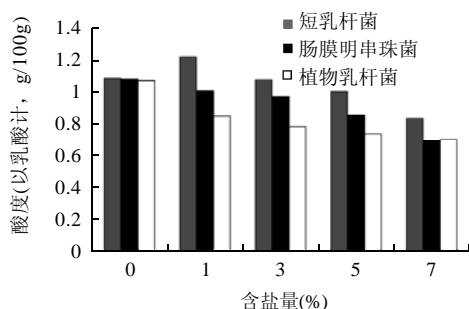


图4 含盐量对菌种产酸的影响

Fig.4 Effects of salt amount on acid production

从OD值的变化可以看出,含盐量的变化对肠膜明串珠菌生长的影响大于其他两种菌株,1%的含盐量不会抑制短乳杆菌和肠膜明串珠菌的生长,甚至有略微的促进作用,对两种菌产酸的影响也是这样,特别是对短乳杆菌的产酸有明显的促进作用。1%食盐对植物乳杆

菌的生长及产酸则有明显的抑制作用。当含盐量达到3%及以上时,几种微生物的生长和产酸均有明显下降趋势,尽管如此,各菌株仍可在短时间内达到较高的产酸量。因此,三种菌株可考虑试用为发酵剂。

## 2.2 发酵剂的制备

选择几株乳酸菌即肠膜明串珠菌(A)、短乳杆菌(B)和植物乳杆菌(C)用于发酵。另选两株酵母菌辅助发酵菌种,即酿酒酵母1596(D)和酿酒酵母1398(E)。5种菌株分别扩大培养到菌数达 $10^8$ 个/ml,再按一定用量接种于菜汁培养基中进行正交试验,结果如表2所示,几种菌株的接种量对菜汁培养基感官质量的影响顺序为:植物乳杆菌>肠膜明串珠菌>酿酒酵母1398>短乳杆菌>酿酒酵母1596。结果表明,最优的发酵剂组合为 $A_3B_2C_3D_1E_4$ ,即2%肠膜明串珠菌、1%短乳杆菌、1%植物乳杆菌及1%酿酒酵母1398。

表2 正交试验结果

Table 2 Result of orthogonal test on inoculation amounts of five strains

试验号	A	B	C	D	E	感官评价(分)
1	1	1	1	1	1	61
2	1	2	2	2	2	79
3	1	3	3	3	3	67
4	1	4	4	4	4	67
5	2	2	3	4	3	80
6	2	3	4	3	2	75
7	2	4	1	2	1	70
8	2	1	2	1	4	89
9	3	3	4	3	2	71
10	3	4	1	2	1	77
11	3	1	2	1	4	89
12	3	2	3	4	3	88
13	4	4	1	2	1	68
14	4	1	2	1	4	75
15	4	2	3	4	3	70
16	4	3	4	3	2	68
K <sub>1</sub>	274	314	267	314	276	
K <sub>2</sub>	314	317	332	294	293	
K <sub>3</sub>	325	281	305	281	305	
K <sub>4</sub>	281	282	281	305	320	
k <sub>1</sub>	68.5	78.5	69.0	78.5	69.0	
k <sub>2</sub>	78.5	79.2	83.0	73.5	73.2	
k <sub>3</sub>	81.2	70.2	76.2	70.2	76.2	
k <sub>4</sub>	70.2	70.5	70.2	76.2	80.0	
R	12.7	9.0	14.0	8.3	11.0	

## 2.3 发酵剂用量和发酵温度、时间确定

将确定的菌种比例和菌种量接种于菜汁培养基中制成发酵剂,不同发酵剂用量和温度下榨菜后熟过程中氨基酸态氮和酸度的变化如图5、6。

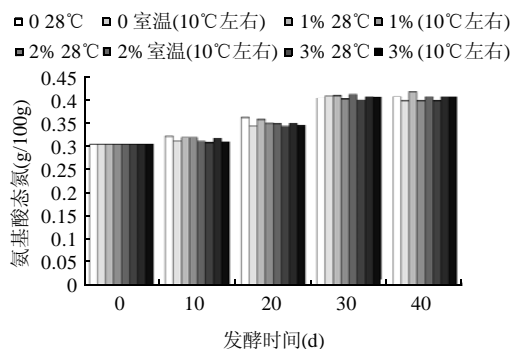


图5 发酵剂用量和温度对榨菜后熟过程中氨基酸态氮含量的影响

Fig.5 Effects of fermentation starter amount and temperature on amino acid nitrogen content during ripening of pickled mustard tuber

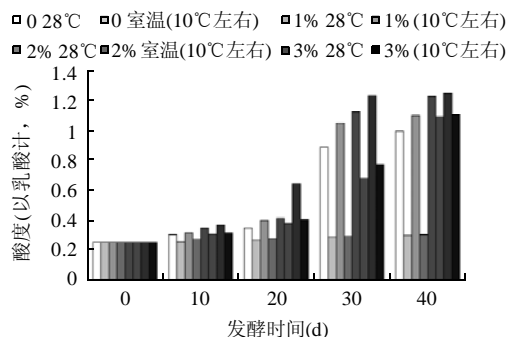


图6 发酵剂用量和温度对榨菜后熟过程中酸度的影响

Fig.6 Effects of fermentation starter amount and temperature on acidity during ripening of pickled mustard tuber

在后熟过程中, 氨基酸态氮含量随时间的推移有所增加, 但发酵剂用量和温度对榨菜后熟过程中氨基酸态氮含量影响甚微。酸度随时间的推移而逐渐上升, 但在不同的发酵剂用量和温度条件下榨菜的酸度变化是有明显差异的。接种量相同时, 28℃发酵产品的酸度较室温(10℃左右)发酵产品增长快, 特别是不接种微生物和发酵剂接种量为1%的产品在室温下其酸度增长非常缓慢, 而在28℃时30d就可能超过标准范围而口感过酸。发酵剂接种量为2%和3%的产品, 其酸度变化仍然是28℃条件下增长快于室温条件下, 但其差异已明显小于不接种和接种量为1%的产品, 且均可在室温条件下20d达到0.4%左右的含酸量, 30d达到标准要求的含酸量。温度引起含酸量的变化差异可能是因为温度影响了产酸菌株生长速度, 从而影响到其在整个发酵体系中的优势。在同一温度条件下, 发酵剂接种量的差异也导致含酸量变化的较大差异, 特别是在室温条件下, 不接种和1%接种量的含酸量增长明显慢于2%和3%接种量, 其原因可能在于接入发酵剂使乳酸菌群成为优势菌群, 即使不在乳酸菌的最适温度下也可以让其尽快生长产酸。

表3 发酵剂用量和温度对产品成熟时间的影响

Table 3 Effects of fermentation starter amount and temperature on ripening time of pickled mustard tuber

温度	发酵剂用量(%)	成熟时间及成品感官评定
室温	0	60d, 仍有未熟辛辣味
	1	60d, 仍有未熟辛辣味
	2	30d, 酸味适度, 辛辣味消失, 有发酵香气, 风味较好
	3	30d, 酸味适度, 辛辣味消失, 有发酵香气, 风味较好
28℃	0	样品在10d内出现杂菌菌落
	1	30d, 酸味过强, 还有稍许未熟辛辣味
	2	20d, 酸味适度, 辛辣味消失, 风味稍差, 30d时酸味过强
	3	20d, 酸味适度, 辛辣味消失, 风味稍差, 30d时酸味过强

将各处理样品氨基酸含量和产酸量结合感官评定(表3)可以得知, 接种2%或3%的发酵剂可以在室温条件下30d达到成熟品质, 也可以在28℃条件下20d达到成熟, 但风味略差。综合考虑各方面的条件, 确定发酵剂使用量2%、温度为室温(10℃左右)。与传统工艺相比较而言, 加工周期缩短至原来的三分之一。

#### 参考文献:

- [1] 阮祥林. 涪陵榨菜腌制机理与味感[J]. 调味副食品科技, 1983(2): 7-10.
- [2] 孙文章. 榨菜风味形成的生物学基础——与阮祥林同志商榷[J]. 调味副食品科技, 1983(5): 6-8.
- [3] 曾凡坤, 王中凤, 吴永娟, 等. 涪陵榨菜工业化生产工艺研究[J]. 中国食品学报, 2004, 4(1): 24-29.
- [4] 邓勇. 四川榨菜后熟转化作用机制的研究[J]. 食品科学, 1992, 13(10): 8-12.
- [5] 王中凤, 吴永娟, 曾凡坤. 榨菜风味形成机理及其影响因素[J]. 中国酿造, 1995(1): 10-11.
- [6] 杨珺, 吴永娟, 曾凡坤. 四川榨菜后熟时期微生物区系的研究[J]. 中国调味品, 2001(12): 18-20.
- [7] 张庆芳, 迟乃玉, 孟宪军, 等. 蔬菜腌渍发酵乳酸菌剂的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(1): 13-16.
- [8] 吴祖芳, 刘璞, 翁佩芳. 传统榨菜腌制加工应用乳酸菌技术的研究[J]. 食品工业科技, 2008(2): 101-103.
- [9] WIANDER B, RYHANEN E L. Laboratory and large-scale fermentation of white cabbage into sauerkraut and sauerkraut juice by using starters in combination with mineral salt with a low NaCl content[J]. European Food Research & Technology, 2005, 220(2): 191-195.
- [10] KOHAJDOVA Z, KAROVICOVA J. Optimisation of method of fermentation of cabbage juice[J]. Czech Journal of Food Sciences, 2004, 22(2): 39-50.
- [11] MCFEETERS R F. Fermentation microorganisms and flavor changes in fermented foods[J]. Journal of Food Science, 2004, 69(1): FMS35-FMS37.
- [12] 陈惠音, 杨汝德. 超低盐多菌种快速发酵腌菜技术[J]. 食品科学, 1994, 15(5): 18-22.
- [13] 吴祖芳, 刘璞, 翁佩芳. 榨菜加工中乳酸菌技术的应用及研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(8): 73-76.
- [14] YAMANAKA H, AKIMOTO M, KANAI S, et al. Changes in microflora and chemical properties of pork loins cured with pickle[J]. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology, 2001, 48(11): 835-839.
- [15] SPICKA J, KALAC P, BOVER-CID S, et al. Application of lactic acid bacteria starter cultures for decreasing the biogenic amine levels in sauerkraut[J]. European Food Research and Technology, 2002, 215(6): 515-519.
- [16] SPICKA J, KALAC P, BOVER-CID S, et al. Application of lactic acid bacteria starter cultures for decreasing the biogenic amine levels in sauerkraut[J]. European Food Research & Technology, 2002, 215(6): 515-519.