

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.11.037

干芥菜接种发酵剂优化

Optimization of fermentation agent for dry mustard

李文青¹ 罗凤莲^{1,2,3} 卿 泉¹ 蒋依琳¹LI Wen-qing¹ LUO Feng-lian^{1,2,3} QING Quan¹ JIANG Yi-lin¹

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 国家蔬菜加工技术研发分中心, 湖南 长沙 410128; 3. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128)

(1. College of Food Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China;

2. National R&D Center for Vegetable Processing, Changsha, Hunan 410128, China;

3. Hunan Provincial Key Laboratory of Food Science and Biotechnology, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:分别研究乳酸菌发酵剂菌株肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌的发酵特性,并对各菌株的生长情况、产酸能力、耐盐性、耐温性及pH值适应性进行测定。结果表明,3种乳酸菌组合发酵的干芥菜总酸、氨基酸态氮、挥发酯含量和感官评分最高,此时肠膜明串珠菌:植物乳杆菌:戊糖片球菌=2:3:2,发酵产品总酸含量为1.07%,氨基酸态氮含量为0.16%,挥发酯含量为2.48 g/kg,感官评分为91.0分,品质较好,为接种发酵干芥菜的最优发酵剂。

关键词:发酵芥菜;接种发酵;发酵剂;品质

Abstract: The fermentation characteristics of Lactic acid bacteria strains like *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* were researched respectively. According to the growth situation, acid-producing ability, salt resistance, temperature tolerance and adaptability to different pH value of strains, the *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* were all could be used as mustard's fermentation strains. In the mixed strains proportioning optimization experiment, the ferment effect of *Leuconostoc mesenteroides*: *Lactobacillus plantarum*: *Pediococcus pentosaceus* = 2:3:2 which was the best, the total acid content of the fermented product was 1.07%, the amino acid nitrogen content was 0.16%, the volatile ester content was 2.48 g/kg, the sensory score was 91.0, the quality was high, and it was the best starter for the inoculation and fermentation of dry mustard.

Keywords: fermented mustard; inoculation and fermentation

基金项目:湖南省科技重大专项子项目(编号:2015NK1003);湖南省自然科学基金青年基金项目(编号:2018JJ3224)

作者简介:李文青,女,湖南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:罗凤莲(1973—),女,湖南农业大学副教授,博士。

E-mail: 1351600014@qq.com

收稿日期:2020-03-13

leavening agent; quality

芥菜是中国著名蔬菜之一^[1],其营养价值、药用价值较高^[2-3]。芥菜腌制发酵后有特殊鲜味和香味,但因其显著的季节性,且加工产品含盐量较高,加之发酵后的漂洗脱盐工序使产品损失了部分色、香、味^[4-5]。刘大群等^[6]分析了不同脱水方式腌制的萧山萝卜干的挥发性成分,采用传统风脱水方式腌制的萝卜干的挥发性香气成分种类多,且相对含量高于采用盐脱水方式腌制的萝卜干。以干芥菜为原料进行发酵可以保证原料的供应,降低产品含盐量,产品品质较高。目前,发酵芥菜的制作方式以自然发酵为主,但接种发酵能显著缩短发酵时间和提升产品品质^[7-8]。敖晓琳等^[9]研究表明,接种发酵能改善泡菜的口感;云琳等^[10]研究发现,接种发酵泡菜的果糖、塔格糖和蔗糖含量高,其气味、滋味和总分均最高;同时,在卷心菜的发酵初期接种弯曲乳酸菌可降低发酵卷心菜中酰胺含量^[11]。王一淇^[12]从湖南自然发酵芥菜中筛选出适合芥菜发酵的优势菌:肠系膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*, LM)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, LP)和戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*, PP)。试验拟通过对这3种菌的生长曲线、产酸能力、耐盐性、耐温性及pH值适应性进行测定,选出适合干芥菜发酵的菌株,然后通过优势菌群构建和配比优化试验,对发酵干芥菜的发酵剂进行优化。旨在为发酵干芥菜产业化提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

干芥菜:水分含量14.4%,福建泉州;

食盐:市售;

肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*) CICC-21861、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) ATCC-8014、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*) CICC-22737;

广东省微生物菌种保藏中心；

亚铁氰化钾、乙酸锌、冰乙酸、对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺、硼酸钠、盐酸、氢氧化钠、酚酞、甲醛、硫酸等：分析纯，国药集团化学试剂有限公司；

改良 MRS 培养基、MRS 肉汤培养基：广东环凯微生物技术有限公司；

干芥菜培养基：将干芥菜复水洗净切碎，复水芥菜与蒸馏水以质量比 1 : 1 的比例混匀打浆过滤，加入 1% 蛋白胨、2% 葡萄糖，调节 pH 6.8，121 °C 高压灭菌 30 min，冷却，自制。

1.2 主要仪器设备

电子天平：TP-620A 型，湘仪天平仪器设备有限公司；
可见分光光度计：V-5000 型，上海原析仪器有限公司；
高温灭菌锅：YXQ-SG46-280S 型，上海博讯医疗设备厂；

单人单面净化工作台：SW-CJ-1FD 型，苏州净化设备有限公司；

全自动细菌生长测定仪：RTS-1 型，上海怡赛科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 干芥菜加工工艺流程及操作要点

干芥菜复水清洗 → 沥干 → 切分 → 添加食盐和发酵剂 → 混匀装瓶 → 密封发酵 → 成品

(1) 复水清洗沥干：干芥菜和水以质量比 1 : 20 复水 30 min，清洗，沥干 10 min。

(2) 接种发酵剂：以复水芥菜为基准，将制备好的发酵剂按相应的种类和比例接种至复水芥菜中。

(3) 添加食盐：以复水芥菜为基准，加入 8% 的食盐。

(4) 密封发酵：拌匀后装入玻璃瓶中密封，37 °C 恒温发酵。

1.3.2 菌种的活化 将安瓿管用酒精棉片擦拭消毒，用酒精灯加热安瓿管的凹陷封口处，封口处使用无菌吸管滴 1~2 滴无菌水使安瓿管破裂，用无菌吸管吸取 0.5 mL 无菌水于管中，待干粉全部溶解，接种于 5 mL MRS 肉汤培养基中，37 °C 静置培养 24~36 h，连续转管活化 2 次后取几滴转接至试管斜面上保藏菌种。

1.3.3 生长曲线的测定 将斜面上的菌种用 MRS 肉汤培养基转管活化 2 代，活化后的菌株分别按体积分数 5% 接种至 MRS 肉汤培养基和芥菜培养基中(100 mL MRS 肉汤培养基中加入 5 mL 活化后的菌种)，混匀，用全自动细菌生长测定仪测定 $OD_{850\text{ nm}}$ 值，以时间为横坐标， $OD_{850\text{ nm}}$ 值为纵坐标，绘制各菌株生长曲线图。

1.3.4 产酸能力的测定 将活化 2 次的菌株按体积分数 5% 接种至已灭菌的芥菜培养基中，混匀，取少量样品作为 0 h 样品，测定 pH 值，将各菌株于 37 °C 恒温培养，每隔 2 h 取样，测定，以培养时间为横坐标，pH 值为纵坐标，绘制各菌株的产酸曲线图。

1.3.5 耐盐性的测定 用食盐调节芥菜培养基的含盐量，使其食盐浓度分别为 0%，2%，4%，6%，8%，10%，12%，将 3 种菌株按体积分数 5% 接种至上述芥菜培养基中，混匀，37 °C 恒温培养，用全自动细菌生长测定仪测定第 36 h 的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值。

1.3.6 耐温性的测定 将菌株按体积分数 5% 接种至芥菜培养基中，混匀，分别于 17, 22, 27, 32, 37, 42, 47 °C 恒温培养，用全自动细菌生长测定仪测定第 36 h 的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值。

1.3.7 pH 适应能力的测定 用 1 mol/L NaOH 和 1 mol/L HCl 调节芥菜培养基，使其 pH 值分别为 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9，将菌株按体积分数 5% 接种至芥菜培养基中，混匀，37 °C 恒温培养，用全自动细菌生长测定仪测定第 36 h 的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值。

1.3.8 发酵剂的制备 按 1.3.1 活化菌种后，按接种量 5% 扩大集中培养 50 mL，在菌种的对数生长期进行离心分离(4 000 r/min, 20 min)，去除液体培养基，用 50 mL 0.85% 的生理盐水洗涤菌悬液，制成发酵剂备用(菌浓度为 10^8 CFU/mL)。

1.3.9 优势菌群构建及其配比优化

(1) 优势菌群构建：参照洪冰^[13]的方法，按表 1 将各菌株接种至盐度为 8% 的复水芥菜中，以自然发酵为对照组，37 °C 下发酵，每 3 d 测定各发酵产品的总酸、亚硝酸盐、氨基酸态氮和挥发酯含量，并进行感官评价。

(2) 发酵菌株的配比优化：参照王巧^[14]的方法，按表 2 进行发酵菌株的配比优化。按 3% 的接种量接种至盐度为 8% 的复水芥菜中，37 °C 下发酵，每 3 d 测定发酵产品的总酸、亚硝酸盐、氨基酸态氮和挥发酯含量，并进行感官评价。

表 1 优势菌群构建

Table 1 Construction of dominant bacteria

试验号	LM 接种量	LP 接种量	PP 接种量
1	3.0	0.0	0.0
2	0.0	3.0	0.0
3	0.0	0.0	3.0
4	1.5	1.5	0.0
5	1.5	0.0	1.5
6	0.0	1.5	1.5
7	1.0	1.0	1.0

表 2 发酵菌株配比优化

Table 2 Optimization of fermentation strains

试验号	LM : LP : PP	试验号	LM : LP : PP
1	1 : 1 : 1	6	2 : 3 : 2
2	1 : 2 : 2	7	3 : 1 : 2
3	1 : 3 : 3	8	3 : 2 : 3
4	2 : 1 : 3	9	3 : 3 : 1
5	2 : 2 : 1		

1.3.10 指标测定

- (1) 总酸:参照文献[15]。
- (2) 亚硝酸盐:按 GB 5009.33—2016 执行。
- (3) 挥发酯含量:按 GB/T 11857—2008 执行。
- (4) 氨基酸态氮含量:按 GB 5009.235—2016 执行。

(5) 感官评分:参照表 3,分别从色泽(25分)、质地(25分)、香气(25分)、滋味(25分)4个方面进行感官评分,总分 100 分,结果取平均值。

1.3.11 数据处理及分析 采用 SPSS 23 软件进行显著性检验分析, $P < 0.05$ 为显著性水平,采用 Excel 2016 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 发酵菌株性质

2.1.1 MRS 肉汤培养基生长曲线 由图 1 可知,肠膜明串珠菌和戊糖片球菌的适应期大于植物乳杆菌;植物乳杆菌于培养 5 h 后进入对数生长期,5~13 h 生长旺盛,13 h 后进入稳定生长期;肠膜明串珠菌与戊糖片球菌的生长曲线类似,于培养 10 h 时进入对数生长期,10~20 h 生长旺盛,20 h 后进入稳定生长期;3 株菌株的最终 $OD_{850\text{ nm}}$ 值均为 4.00 左右,其中肠膜明串珠菌的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值最高,为 4.25。

表 3 感官评定标准
Table 3 Sensory evaluation standard

项目	评分标准	分值
色泽 (25分)	颜色有光泽,发酵液清晰透明	16~25
	稍有褐变,发酵液清晰度一般	6~15
	褐变严重,发酵液浑浊	0~5
质地 (25分)	质地脆嫩,形态完整	16~25
	出现软化,形态基本完整	6~15
	软化严重,形态不完整	0~5
香气 (25分)	香味和酸味浓郁	16~25
	香味稍淡,出现冲味	6~15
	基本无香味和酸味	1~5
滋味 (25分)	滋味鲜美,酸度、咸度适宜	16~25
	酸味或鲜味稍强或稍淡	6~15
	口感不佳	1~5

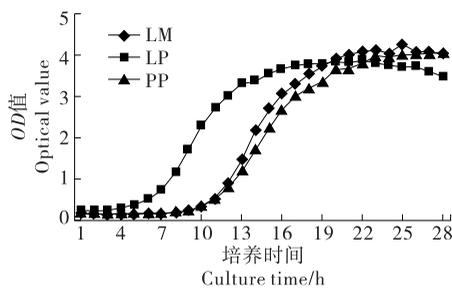


图 1 菌株的 MRS 肉汤培养基生长曲线
Figure 1 Growth curve of different strains in MRS medium

2.1.2 芥菜培养基生长曲线 由图 2 可知,与 MRS 培养基相比,3 株菌株在芥菜培养基中的起酵时间延长,可能是菌株接种至新环境后需要一定时间重新合成必需的酶类、辅酶或者其他中间产物;植物乳杆菌于培养 12 h 后进入对数生长期,12~20 h 生长旺盛,肠膜明串珠菌于培养 18 h 后进入对数生长期,18~28 h 生长旺盛,最终 $OD_{850\text{ nm}}$ 值稳定在 1.78,戊糖片球菌于培养 19 h 后进入对数生长期,19~27 h 生长旺盛;3 种菌株在芥菜培养基中最终的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值小于 MRS 肉汤培养基中,可能是干芥菜复水后的营养物质与 MRS 肉汤培养基存在差异。

2.1.3 产酸能力 由图 3 可知,3 株菌株的 pH 值随发酵时间的延长呈下降趋势,并缓慢趋于稳定。菌株的产酸能力变化规律与其生长曲线相关,发酵前期环境条件适宜,其生长代谢较快,产酸能力较强;发酵后期,培养基中的营养物质被逐渐消耗,同时培养基 pH 值的降低抑制了菌株的生长,使得 pH 值趋于平稳^[16]。3 株菌株的产酸能力均较强,培养 36 h 后 pH 稳定于 4 左右。

2.1.4 耐高温能力 由图 4 可知,菌株的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值随发酵温度的增加呈先增长后下降的趋势。当发酵温度为 17 °C 时,因温度较低,乳酸菌的生长代谢活动很慢,3 株菌株的吸光度都较低;随着发酵温度的升高,3 株菌株的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值不断升高;温度过高,微生物细胞的结构和代谢都受到影响,所以各菌株的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值随之下降,当发酵温度为 47 °C 时,3 株菌株几乎不生长。肠膜明串珠菌的最适生长温度为 32 °C,其 $OD_{850\text{ nm}}$ 值为 1.67;植物乳杆菌和戊糖片球菌的最适生长温度为 37 °C,其 $OD_{850\text{ nm}}$ 值

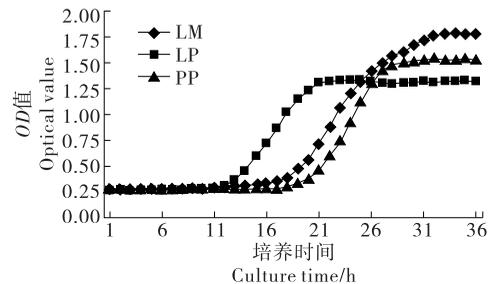


图 2 菌株的芥菜培养基生长曲线
Figure 2 Growth curve of different strains in mustard medium

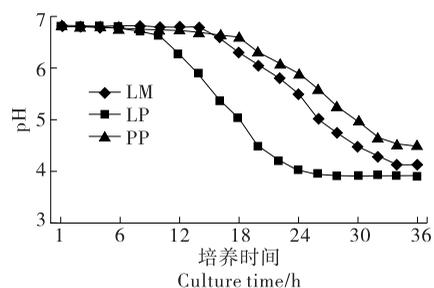
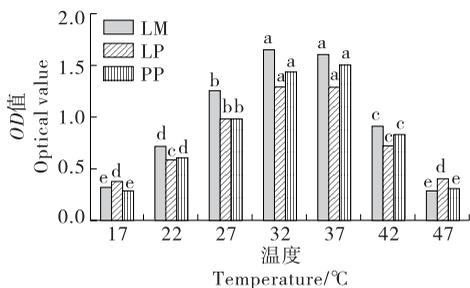


图 3 菌株的产酸曲线
Figure 3 Acid production curves of the strains



同一菌株字母不同表示不同温度之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 4 菌株的耐温能力

Figure 4 The temperature tolerance of each strain

分别为 1.30, 1.54。

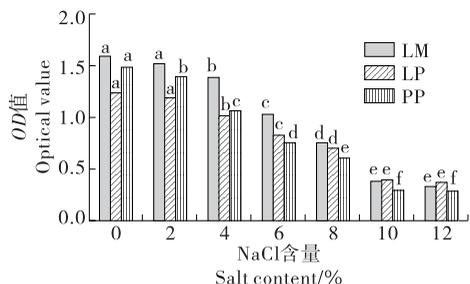
2.1.5 耐盐能力 由图 5 可知, 3 株菌株的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值随食盐浓度的增大而下降; 当食盐浓度为 0% 时, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌、戊糖片球菌的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值最高, 分别为 1.60, 1.25, 1.50; 当食盐浓度为 12% 时, 3 株菌株都停止生长, 故在发酵芥菜中, 食盐含量不宜超过 12%。

2.1.6 pH 值适应能力 由图 6 可知, 3 株菌株的 $OD_{850\text{ nm}}$ 值随 pH 值的升高呈先升高后下降的趋势, pH 值过高或过低都会抑制菌株的生长; 肠膜明串珠菌和植物乳杆菌的最适生长 pH 值为 6, 其 $OD_{850\text{ nm}}$ 值分别为 1.67, 1.27; 戊糖片球菌的最适生长 pH 值为 7, 其 $OD_{850\text{ nm}}$ 值为 1.49。

2.2 优势菌群的建立

2.2.1 对总酸含量的影响 由图 7 可知, 发酵干芥菜的总酸含量随发酵时间的增加而上升, 并于发酵后期逐渐平稳。乳酸菌利用原料发酵产酸, 总酸含量逐渐上升, 发酵后期, 发酵液 pH 值较低, 乳酸菌群的活动受到抑制。总酸含量在发酵第 3~9 天上升较快; 从第 6 天开始, 3 种菌混合发酵的样品总酸含量高于其他组, 发酵 18 d 后, 3 种菌混合发酵的样品总酸含量达 $(0.97 \pm 0.016)\%$, 显著高于其他样品 ($P < 0.05$); 3 种菌混合发酵时产酸较快, 发酵产品总酸含量最高。

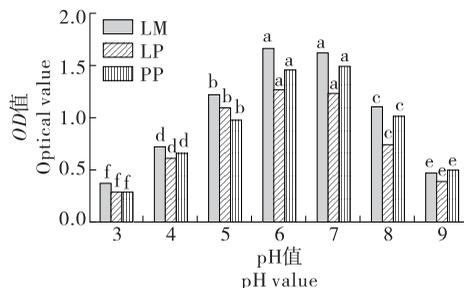
2.2.2 对亚硝酸盐含量的影响 由图 8 可知, 发酵过程中, 亚硝酸盐都处于较低水平, 低于 GB2714—2015 的规



同一菌株字母不同表示不同含盐量之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 5 菌株的耐盐能力

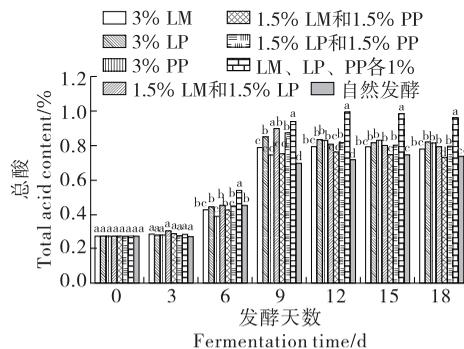
Figure 5 The salt tolerance of each strain



同一菌株字母不同表示不同 pH 值之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 6 菌株的 pH 值的适应能力

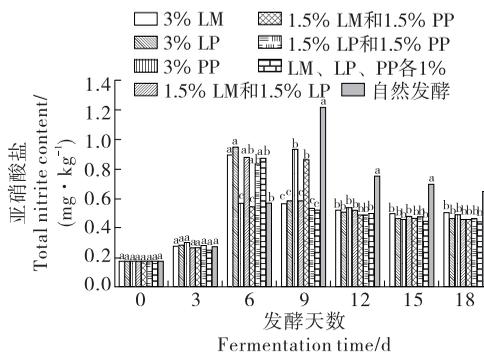
Figure 6 The adaptability of each strain to different pH values



同一发酵天数字母不同表示不同样品之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 7 发酵干芥菜的总酸含量

Figure 7 The effects of different strains on total acid content



同一发酵天数字母不同表示不同样品之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 8 发酵干芥菜的亚硝酸盐含量

Figure 8 The effects of different strains on total nitrite content

定量 (20 mg/kg)。自然发酵组在发酵第 9 天出现亚硝峰, 为 (1.21 ± 0.07) mg/kg, 可能是自然发酵组的发酵液中杂菌数量较多, 使得干芥菜原料中的硝酸盐在杂菌分泌的硝酸盐还原酶的作用下转变成亚硝酸盐, 形成亚硝峰^[17]。发酵 12 d 后, 亚硝酸盐含量趋于平稳, 但自然发

酵组的亚硝酸盐含量显著高于接种发酵组 ($P < 0.05$); 接种发酵组在第 6, 9 天出现亚硝峰, 发酵后期各接种发酵组之间无显著性差异 ($P > 0.05$) 且含量较低, 可能是接种发酵组中含有大量的乳酸菌, 其在较短的时间内迅速产酸, 使 pH 迅速下降, 酸性条件下有利于 NO_2^- 还原成 NO , 从而降低亚硝酸盐含量^[18]。表明接种发酵有利于抑制发酵过程中亚硝酸盐的生成, 提高食用安全性。

2.2.3 对氨基酸态氮含量的影响 由图 9 可知, 发酵干芥菜的氨基酸态氮含量随发酵时间的增加呈先上升后略有下降的趋势, 可能是原料中的蛋白质通过相关酶和微生物的作用被分解为氨基酸, 使得初期氨基酸态氮含量不断增加, 发酵后期, 发酵液中的盐分提高了细胞液的渗透压, 芥菜细胞被破坏, 一些游离氨基酸随细胞渗透到泡菜液中被微生物利用, 产品中氨基酸态氮含量减少^[19-20]。发酵第 3~9 天氨基酸态氮含量上升速度较快, 发酵 9 d 后, 3 种菌混合发酵产品的氨基酸态氮含量显著高于其他组 ($P < 0.05$), 其含量为 0.103%~0.112%, 其他接种发酵的干芥菜之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。说明接种不同的菌种对发酵干芥菜的氨基酸态氮含量有较大影响, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌同时使用时, 氨基酸态氮含量较高, 发酵产品品质较好。

2.2.4 对挥发酯含量的影响 由图 10 可知, 发酵干芥菜的挥发酯含量随发酵时间的增加呈先上升后平稳的趋势, 发酵第 12 天, 发酵干芥菜的挥发酯含量达到顶峰, 除只接种戊糖片球菌的试验组外, 其他接种发酵的产品挥发酯含量显著高于自然发酵组 ($P < 0.05$); 发酵 12 d 后, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌 3 种菌混合发酵组与植物乳杆菌、戊糖片球菌两种菌混合发酵组的挥发酯含量显著高于其他组 ($P < 0.05$), 且 3 种菌混合发酵的挥发酯含量最高, 为 1.79~1.99 g/kg。综上, 不同菌种对发酵干芥菜挥发酯含量有较大影响, 其中 3 种菌混合发酵产品的挥发酯含量较高, 风味较好。

2.2.5 对感官评分的影响 由表 4 可知, 自然发酵产品

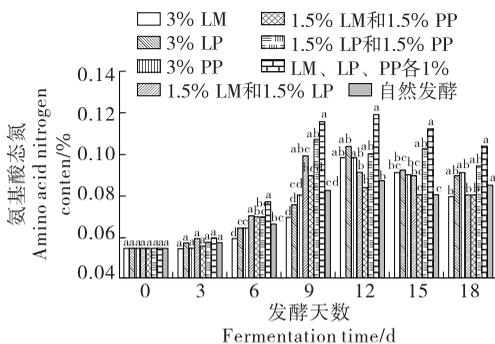
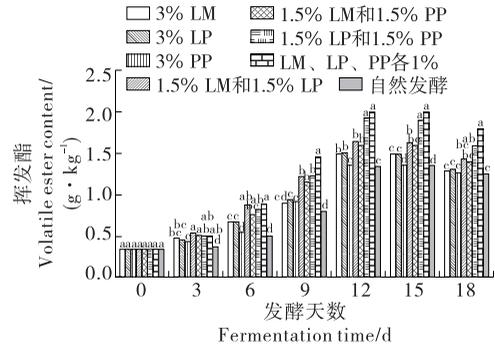


图 9 发酵干芥菜的氨基酸态氮含量

Figure 9 The effects of different strains on the content of amino acid nitrogen



同一发酵天数字母不同表示不同样品之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 10 发酵干芥菜的挥发酯含量

Figure 10 The effects of different strains on the content of volatile ester content

组织较松散, 酸味较淡, 感官评分最低, 为 (68.5 ± 0.7) , 接种发酵产品在质地、香气和滋味 3 方面都显著优于自然发酵产品 ($P < 0.05$); 3 种菌混合发酵产品的发酵香气浓郁, 发酵液较透明, 口味酸爽脆嫩, 其感官评分显著高于其他发酵组 ($P < 0.05$)。因此, 后续对 3 种菌株混合进行进一步配比, 以得到最佳的配比。

2.3 混合菌株配比优化

2.3.1 对总酸含量的影响 由图 11 可知, 发酵 12 d 后, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌配比为 2:2:1 时总酸含量最高 (为 1.00%~1.11%), 其次为 2:3:2 (总酸含量为 1.01%~1.07%); 发酵第 18 天, 3 种菌株配比为 2:3:2 时的总酸含量最高, 与其他组有显著性差异 ($P < 0.05$)。综上, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌配比为 2:2:1 和 2:3:2 时的发酵产品总酸含量较高, 产品品质较好。

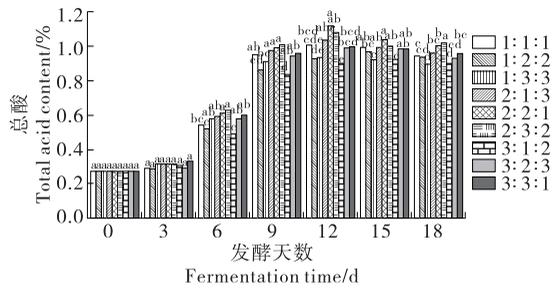
2.3.2 对亚硝酸盐含量的影响 由图 12 可知, 各组亚硝酸盐含量均较低, 分别于第 6 天或第 9 天出现峰值, 最高为 1.17 mg/kg; 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌

表 4 发酵干芥菜的感官评分[†]

Table 4 The effects of different strains on the sensory score

试验号	色泽	质地	香气	滋味	总分
1	19.5	20.5	17.7	17.8	75.5±0.4 ^d
2	20.8	21.5	18.3	18.2	78.3±1.5 ^{bc}
3	19.7	20.2	16.7	16.7	73.2±0.8 ^e
4	21.2	21.2	19.5	19.0	80.8±0.6 ^b
5	20.0	19.7	18.5	18.7	76.8±1.5 ^{cd}
6	19.8	20.3	19.0	19.7	78.8±0.9 ^{bc}
7	21.8	21.8	21.3	21.0	86.0±0.7 ^a
自然发酵	19.8	18.7	16.2	13.8	68.5±0.7 ^f

[†] 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。



同一发酵天数字母不同表示不同样品之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 11 混菌比对总酸含量的影响

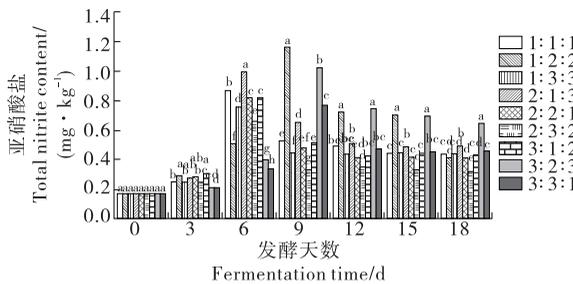
Figure 11 The effects of different ratio of mixed strain on total acid content

配比为 2 : 3 : 2 时的亚硝酸盐含量显著低于其他组 ($P < 0.05$), 于发酵第 18 天稳定于 0.34 mg/kg; 其次为 2 : 2 : 1 和 3 : 1 : 2 的, 分别于发酵第 18 天稳定于 0.41, 0.43 mg/kg, 但两者之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。综上, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌配比为 2 : 3 : 2, 2 : 2 : 1, 3 : 1 : 2 时的发酵产品亚硝酸盐含量较低。

2.3.3 对氨基酸态氮含量的影响 由图 13 可知, 发酵 12 d 后, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌配比为 2 : 3 : 2 时的氨基酸态氮含量最高 (为 0.13%~0.16%), 其次为 2 : 1 : 3 的 (0.13%~0.14%), 发酵 18 d 后, 其氨基酸态氮含量显著高于其他组 ($P < 0.05$)。综上, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌配比为 2 : 3 : 2, 2 : 2 : 1 : 3 时的发酵产品氨基酸态氮含量较高, 产品鲜味较好。

2.3.4 对挥发酯含量的影响 由图 14 可知, 发酵 12 d 后, 各组挥发酯含量均趋于稳定, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌配比为 3 : 2 : 3, 2 : 3 : 2, 2 : 2 : 1 的挥发酯含量显著高于其他组 ($P < 0.05$); 其中混合菌株配比为 3 : 2 : 3 时的挥发酯含量最高 (为 2.22~2.51 g/kg), 其次为 2 : 3 : 2 和 2 : 2 : 1 的。说明肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌配比为 3 : 2 : 3, 2 : 3 : 2, 2 : 2 : 1 时的发酵产品挥发酯含量较高, 产品有发酵芥菜特有的风味。

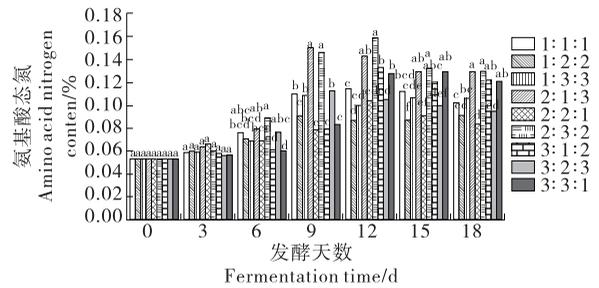
2.3.5 对感官评分的影响 由表 5 可知, 第 6 组产品的



同一发酵天数字母不同表示不同样品之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 12 混菌比对亚硝酸盐含量的影响

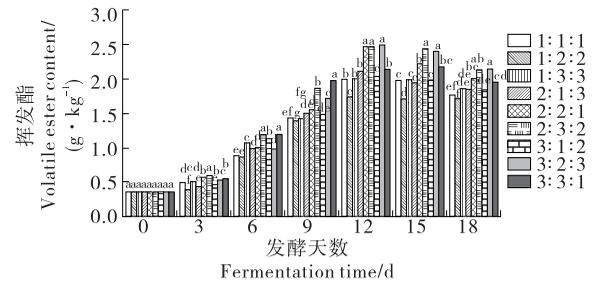
Figure 12 The effects of different ratio of mixed strain on total nitrite content



同一发酵天数字母不同表示不同样品之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 13 混菌比对氨基酸态氮含量的影响

Figure 13 The effects of different ratio of mixed strain on amino acid nitrogen



同一发酵天数字母不同表示不同样品之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 14 混菌比对挥发酯含量的影响

Figure 14 The effects of different ratio of mixed strain on volatile ester content

表 5 混菌比对发酵干芥菜感官评分的影响[†]

Table 5 The effects of different ratio of mixed strain on the sensory score

试验号	色泽	质地	香气	滋味	总分
1	21.8	21.8	21.3	21.0	86.0±0.7 ^c
2	22.0	19.7	20.5	20.7	82.8±1.2 ^d
3	20.8	20.8	22.2	21.7	85.5±0.4 ^c
4	22.2	20.7	21.8	21.3	86.0±0.4 ^c
5	20.7	20.0	20.8	20.3	81.8±0.2 ^d
6	22.3	22.7	22.8	23.2	91.0±0.8 ^a
7	21.0	20.7	20.8	20.7	83.2±0.6 ^d
8	21.2	22.5	22.8	21.8	88.3±1.0 ^b
9	20.8	20.7	21.5	20.5	83.5±1.2 ^d

[†] 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

感官评分最高, 其次是第 8 组, 通过显著性分析可知, 这两组产品之间的感官评分差异显著 ($P < 0.05$); 各组产品在色泽评分上差异不显著 ($P > 0.05$), 第 6 组和第 8 组在质地评分和香气评分上显著优于其他组 ($P < 0.05$), 第 6 组在滋味评分上优于其他组 ($P < 0.05$)。综上, 肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌配比为 2 : 3 : 2, 3 : 2 : 3 时的发酵产品感官评分较高, 酸度适中, 发酵香气较浓, 风味较好。

3 结论

以干芥菜作为原料,从肠膜明串珠菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌3株乳酸菌种中筛选发酵剂,分析了3种菌的发酵特性。结果表明:3株菌均可作为干芥菜的发酵菌株,3种菌株混合接种发酵的干芥菜产品总酸、氨基酸态氮、挥发酯含量和感官评分最高,亚硝酸盐含量最低。其中肠膜明串珠菌:植物乳杆菌:戊糖片球菌=2:3:2时,发酵干芥菜的总酸含量为1.07%,氨基酸态氮含量为0.16%,挥发酯含量为2.48 g/kg,感官评分为91.0,其品质较高。研究探讨了以干芥菜为原料生产发酵芥菜的可能性,通过人工接种乳酸菌提升产品品质,缩短发酵周期。但使用的芥菜原料和菌种种类有限,下一步将研究不同原料品种和不同菌种对产品品质的影响、发酵成品杀菌方式的优化等。

参考文献

- [1] 张德纯. 叶用芥菜[J]. 中国蔬菜, 2014(9): 64.
- [2] 薛娜. 发酵叶用芥菜新产品研制[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2016: 1.
- [3] 范永红, 沈进娟, 董代文. 芥菜类蔬菜产业发展现状及研究前景思考[J]. 农学学报, 2016, 6(2): 65-71.
- [4] 徐刚, 胡伯凯, 吴康云, 等. 八种高盐腌制芥菜挥发性风味物质的对比分析[J]. 食品与机械, 2013, 29(5): 10-14.
- [5] 曾希珂, 罗凤莲, 张喻, 等. 发酵辣椒低盐化研究进展及展望[J]. 中国调味品, 2017, 42(9): 153-156.
- [6] 刘大群, 华颖. 基于电子鼻与 SPME-GC-MS 法分析不同脱水方式下萧山萝卜干中的挥发性风味物质[J]. 现代食品科技, 2014, 30(2): 279-284.
- [7] 张国华, 何国庆. 传统发酵食品中乳酸菌多样性及其功能特

性[J]. 中国食品学报, 2013, 13(9): 174-181.

- [8] 吴丽娜, 谢小本, 刘东红, 等. 腌制蔬菜微生物的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(12): 18-22.
- [9] 敖晓琳, 张小平, 史令, 等. 四川泡菜中两株优良乳酸菌的鉴定及不同发酵条件对其发酵泡菜品质的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 152-156.
- [10] 云琳, 毛丙永, 崔树茂, 等. 不同发酵方式对萝卜泡菜理化特性和风味的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.023677.
- [11] 唐小曼, 唐垚, 张其圣, 等. 传统发酵蔬菜中生物胺的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 345-348, 355.
- [12] 王一淇. 芥菜发酵过程中菌相变化规律及发酵剂的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014: 16-22.
- [13] 洪冰. 大头菜发酵工艺及其品质变化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2016: 19.
- [14] 王巧. 复合菌预处理秸秆产沼气试验研究[D]. 西安: 西安工程大学, 2013: 25.
- [15] 大连轻工业学院. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2014: 118.
- [16] 胡楠, 雷鸣, 王远一飞, 等. 传统发酵蓝莓饮料中乳酸菌的分离鉴定及筛选[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(23): 205-211.
- [17] 卿煜维, 杨剑, 赵玲艳, 等. 湖南剁辣椒降解亚硝酸盐乳酸菌筛选鉴定及发酵特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(1): 69-74.
- [18] 朴泓洁, 黄存辉, 金清. 肠膜明串珠菌发酵对四川泡菜品质的影响[J]. 食品科技, 2018, 43(8): 31-35.
- [19] 刘宗敏, 谭兴和, 周红丽, 等. 植物乳杆菌发酵萝卜干品质变化分析[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 198-202.
- [20] 卿泉. 腌制条件对干芥菜发酵品质的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2019: 15.

(上接第 182 页)

- [8] 杨锡洪, 王维民, 崔波, 等. 猪血综合利用技术[J]. 山东食品科技, 2000(6): 5.
- [9] 杨葆春, 靳义超, 李全, 等. 动物血液资源的开发利用研究进展[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2011, 41(5): 44-46.
- [10] 黄晶晶, 张福生, 鄢嫣, 等. 响应面法优化猪血复合微量元素补铁剂螯合工艺[J]. 肉类研究, 2018, 32(12): 24-30.
- [11] 殷俊峰, 张福生, 朱峰, 等. 响应面法优化猪血浆蛋白制备铁螯合肽的酶解工艺[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(23): 84-88.
- [12] XIE Ning-ning, HUANG Jing-jing, LI Bo, et al. Affinity purification and characterisation of zinc chelating peptides from rapeseed protein hydrolysates: Possible contribution of characteristic amino acid residues [J]. Food Chemistry, 2015, 173: 210-217.
- [13] WANG Chan, LI Bo, AO Jing. Separation and identification of zinc-chelating peptides from sesame protein hydrolysate using IMAC-Zn²⁺ and LC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 1 231-1 238.
- [14] CHOPE G A, TERRY L A. Use of canonical variate analy-

sis to differentiate onion cultivars by mineral content as measured by ICP-AES[J]. Food Chemistry, 2009, 115(3): 1 108-1 113.

- [15] 胡晓艳, 王春维. 酶解血球蛋白粉的开发及应用研究进展[J]. 兽药与饲料添加剂, 2008(1): 22-24.
- [16] 赵治国, 吴桃, 青格勒, 等. 饲料中血球蛋白粉替代鱼粉对金鲫鱼生长和饲料利用的影响[J]. 畜牧与饲料科学, 2017, 38(10): 47-49.
- [17] 薛照辉, 吴谋成, 尹经章. 复合酶水解菜籽清蛋白的研究[J]. 中国粮油学报, 2004(3): 57-61.
- [18] JONES S K, REES R M, SKIBA U M, et al. Greenhouse gas emissions from a managed grassland[J]. Global and Planetary Change, 2005, 47(2/3/4): 201-211.
- [19] 陈树俊, 李乐, 石玥, 等. 响应面法优化酶解制备核桃多肽工艺[J]. 食品工业科技, 2017, 38(16): 142-149, 158.
- [20] 黄艳燕, 王升, 冯涛, 等. 大米蛋白水解条件的响应面法优化[J]. 广西科学, 2020, 27(2): 175-181, 194.
- [21] 汪婵, 陈敏, 李博. 芝麻蛋白制备金属螯合肽的酶解工艺研究[J]. 食品科技, 2011, 36(9): 184-189.