

恒温及室温发酵对蕨菜泡菜代谢产物及乳酸菌的影响

舒鸿洋, 王萍

(东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要: 本文利用 16S rDNA 测序和高效液相色谱 (HPLC) 法等技术, 研究了恒温和室温发酵过程对蕨菜泡菜的理化性质、乳酸菌及有机酸的影响。研究发现, 室温发酵对发酵 7 d 泡菜卤汁及菜样的 pH 和可滴定酸总体变化影响不大 ($p < 0.05$), 恒温和室温 pH 均下降到 4.2, 可滴定酸分别增加到了 0.68% 和 0.65%, 二者上升趋势显著 ($p < 0.05$); 恒温发酵泡菜亚硝酸盐的峰值比室温发酵泡菜的峰值提前 1 d 出现, 第 7 d 分别降到了 0.68 mg/L、0.65 mg/L; 感官评分整体可接受性结果表明室温泡菜 7.5 优于恒温泡菜 7.2。室温泡菜相对于恒温泡菜中明串珠菌的存在降低了植物乳杆菌/明串珠菌的比例; 相比室温泡菜乳酸含量 103.09 mg/L, 恒温泡菜达 122.58 mg/L, 二者乙酸含量分别为 16.25 mg/L、18.90 mg/L, 乳酸/乙酸含量的差异也是导致感官评分室温泡菜比恒温泡菜更优的主要原因; 其中植物乳杆菌被鉴定为发酵过程中主要优势菌。

关键词: 泡菜; 乳酸菌; 有机酸; 蕨菜

文章编号: 1673-9078(2019)04-190-197

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.4.026

Effects of Constant Temperature and Room Temperature on Fermentation

Metabolites and *Lactic acid bacteria* of Fern Kimchi

SHU Hong-yang, WANG Ping

(School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: In this paper, 16S rDNA sequencing and high performance liquid chromatography (HPLC) were used to analyze the effects of constant temperature and room temperature fermentation on the physicochemical properties, *lactic acid bacteria* and organic acids of fern kimchi. The results showed that room temperature fermentation had little effect on the pH and titratable acid of kimchi juice and sample within 7 days. The pH of both constant temperature and room temperature fermentation were decreased to 4.2 ($p < 0.05$), and the titratable acid increased to 0.68% and 0.65% ($p < 0.05$), respectively. The peak value of nitrite in the kimchi under constant temperature appeared 1 d earlier than the kimchi under room temperature, and decreased to 0.68 mg/L and 0.65 mg/L on the 7 th day. The overall acceptability of sensory score showed that the room temperature-fermented kimchi (7.5) was better than the constant temperature-fermented kimchi (7.2). *Leuconostoc species* in the room temperature-fermented kimchi decreased the *Lactobacillus* / *Leuconostoc* ratio; the content of the lactic acid in the constant temperature-fermented kimchi was 122.58 mg/L, while the room temperature-fermented kimchi was 103.09 mg/L; their contents of acetic acid finally was 16.25 mg/L and 18.90 mg/L, respectively. The difference of lactic acid/acetic acid was also the main reason why the sensory score of room temperature-fermented kimchi was better than that of constant temperature-fermented kimchi. *Lactobacillus plantarum* was identified as the dominant bacteria in fern kimchi.

Key words: kimchi; *lactic acid bacteria*; organic acid; fern

蕨菜最早的记载见《诗经》中的“山有蕨薇”，是一种属凤尾蕨科多年生草药食两用植物，含有丰富

收稿日期: 2018-11-29

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (2572017CY02); 哈尔滨市应用技术与开发项目 (2017RAYXJ012)

作者简介: 舒鸿洋 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品发酵

通讯作者: 王萍 (1964-), 女, 教授, 研究方向: 植物活性物质分离及功能性研究

的谷氨酸和膳食纤维。在我国周朝初年, 就有伯夷、叔齐二人以蕨为食的记载。到了清代蕨菜进入宫中, 并以“山菜之王”闻名天下。如今, 蕨菜以其特殊的营养价值和山野风味, 在人们崇尚绿色蔬菜的今天亦是身价倍增。蕨菜独特的营养价值及生物活性成分^[1], 成为非常具有可开发利用价值的林下植物资源。将蕨菜加工成泡菜, 既利用蔬菜发酵的有益特点, 又保存了蕨菜鲜美肥嫩的口感, 丰富了市场蕨菜产品种类^[2]。

泡菜多由新鲜蔬菜及各种调味料混合发酵数日至数月制成,是一种历史悠久的大众化乳酸发酵制品^[3],与其他类似的发酵食品如发酵大豆、酸奶和奶酪一样,经泡制后,赋予其独特的香气和口感^[4],而品质的好坏完全取决于所使用的原料及发酵环境条件。与其益处相关的最重要的因素是益生乳酸菌,包括植物乳杆菌菌属^[5]。许多临床和动物研究表明泡菜可以显著降低肥胖^[6],糖尿病^[7],炎症,高胆固醇血症及癌症等^[8],并有助于刺激免疫系统^[9]。盐浓度和温度会极大地影响泡菜发酵中生物活性物质及乳酸菌多样性及其分布,导致其感官品质发生显著变化^[10]。一般来说,虽然发酵的温度及发酵时间与乳酸菌的产酸速率呈正相关^[11],但许多研究表明^[12],温度越高口感品质却绝非最佳,尽管高温度的发酵条件在现代工艺生产中备受欢迎,但其越来越接近自然发酵的香醇口感却更加引起泡菜行业和消费者的关注。尽管温度是发酵过程中最重要的因素之一,但是目前并没有对比恒温和室温对发酵泡菜质量影响的相关研究,研究报告多为恒温发酵泡菜,且与之相关的发酵体系主要作用的乳酸菌种类及其代谢物对泡菜口感的微妙变化尚待进一步研究。

1 材料与方法

1.1 原料

蕨菜,贵州产;可食用盐,中粮盐业制造。

1.2 培养基

乳酸菌培养基(MRS):蛋白胨 10.0 g、牛肉膏 10.0 g、酵母膏 10.0 g、柠檬酸氢二胺 5.0 g、葡萄糖 20.0 g、吐温 80 1.0 mL、无水乙酸钠 5.0 g、磷酸氢二钾 2.0 g、硫酸镁 0.51 g、硫酸锰 0.25 g、琼脂 18.0 g、蒸馏水 1000 mL、pH 6.2~6.6。

1.3 主要仪器与设备

DH6000A 型电热恒温培养箱,天津市泰斯特仪器有限公司;5030-PVL 型高压灭菌锅,长春百奥生物仪器有限公司;PHS-3E 型 pH 计,上海仪电科学仪器有限公司;BA210-T 生物显微镜,麦克奥迪实业集团有限公司;SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒,生工生物公司(上海)股份有限公司;1200 型高效液相色谱仪(配紫外检测器),美国 Agilent 公司。

1.4 方法

1.4.1 蕨菜泡菜的制作

挑选新鲜蕨菜,洗净,沥干,切分成 4 cm 段。将蕨菜装入锥形瓶中,注入 4%盐水,密封。分别在室温变温(13℃~20℃)和室温恒温(20℃)下发酵 1 周。每隔 24 h 分别取卤汁及泡菜样品,测定 pH、可滴定酸^[13]及亚硝酸盐含量^[14]。

1.4.2 蕨菜泡菜产品的感官评价

对恒温和室温发酵的泡菜进行感官评价。选择 10 名感官评价人员,5 名男性、5 名女性,工作人员提供编码样品和水以冲洗口腔后品尝每个样品。每个小组使用 9 点嗜好法评估蕨菜样品的颜色、味道、香气、口感、风味和总体可接受性(1=极度虚弱或不喜欢 9=强烈或极其喜欢),进行感官评分^[15]。

1.4.3 乳酸菌的分离、纯化与鉴定

取泡菜发酵前期 pH 急剧下降的第 2 d 的泡菜卤汁和发酵 pH 达到稳定的第 7 d 的泡菜卤汁样品,振荡混匀稀释,取适宜浓度 0.1 mL 卤汁涂抹于 MRS 培养基中,在 37℃下倒置培养 2 d。挑取不同温度条件、不同时间、不同分布位置的菌体 20 株作平板划线纯化,将纯化单一的菌体保存于斜面培养基上,置于 4℃保藏备用。

1.4.3.1 形态学及显微镜观察

对所获得的菌株进行革兰氏染色、接触酶和芽孢染色实验,将革兰氏阳性、接触酶阴性,无芽孢的杆菌和球菌暂定为乳酸菌,进行下一步的生理生化试验。

1.4.3.2 生理生化分析

表 1 乳球菌属的鉴定

Table 1 Identification of the level of *Lactococcus*

细胞形态	细胞成球形或卵圆形, 单个, 成对或短链状排列	细胞球或卵圆形, 单生, 成对或成链	细胞球形或豆状, 成对或成链排列
接触酶实验	-	-	-
硫化氢实验	-	-	-
明胶液化实验	-	-	-
硝酸盐还原实验	-	-	-
石蕊牛乳实验	+SH	+SH	+SH

转下页

接上页

葡萄糖产气实验	-	-	+
15℃生长实验	+	+	+
45℃生长实验	+	-	-
60℃ 30 min 生长实验	-	-	-
pH 9.6 生长实验	+	-	-
6.5% NaCl 生长实验	+	-	-
鉴定结果	肠球菌属	乳球菌属	明串珠菌属

表2 乳杆菌属的鉴定

Table 2 Identification of *Lactobacillus* levels

生理生化实验	1	2	3
15℃生长状况	+	+	+
45℃生长状况	-	+	-
pH 9.6 生长状况	-	+	-
阿拉伯糖	+	-	+
果糖	+	+	+
半乳糖	+	+	+
甘露醇	+	+	-
蔗糖	+	+	+
甘露糖	+	+	-
鼠李糖	-	-	-
鉴定结果	植物乳杆菌属	干酪乳杆菌属	短乳杆菌属

根据文献^[16]进行生理生化实验鉴定,主要通过硫化氢实验、石蕊牛乳实验、明胶液化实验、硝酸盐还原实验、葡萄糖产酸产气实验、生长温度实验、6.5% NaCl 生长实验、pH 9.6 生长实验和糖发酵实验等进行生理生化特性的分析。

乳球菌属的鉴定如表 1 所示。

乳杆菌属的鉴定如表 2 所示。

1.4.3.3 分子生物学鉴定

将发酵过程中所占比例最高的分离纯化的乳酸菌接种于 MRS 液体培养基中,震荡离心,用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒进行 DNA 提取^[17]。以基因组 DNA 为模板,采用细菌通用引物 27F 和 1492R 进行 16S rDNA 的 PCR 扩增。送至生工生物工程(上海)测序公司进行测序,16S rDNA 测序结果在核糖体数据库 <http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp> 上进行比对,根据比对结果,鉴定菌株。

1.4.4 有机酸的测定

HPLC 法对有机酸进行测定,样品混匀,取 5 mL 离心,有机膜过滤。

色谱柱: Waters C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温 35℃, 进样量 10 μL, 流量 0.7 mL; 流动相 A 为 0.5%磷酸二氢钾, B 为甲醇; A 为 97%, B 为 3%, 紫外检测器, 检测波长 210 nm。

样品处理: 样品 8000 r/min 离心 10 min, 取上清液 1 mL, 用水定容至 10 mL, 过 0.22 μm 滤膜上机。

1.4.5 数据分析

试验数据以 $\bar{x}\pm sd$ 的形式表示,用 Origin 8.5 作图, SPSS 20.0 进行数据处理,以 $p<0.05$ 为统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 蕨菜泡菜的品质分析

2.1.1 发酵过程中卤汁及泡菜的 pH、可滴定酸和亚硝酸盐的变化

在无菌操作间对蕨菜泡菜的卤汁和菜进行取样,立即测定 pH、可滴定酸和亚硝酸盐。蕨菜泡菜恒温及室温条件下卤汁及菜样 pH 随时间的变化如图 1 所示,在 7 d 的发酵过程中,蕨菜泡菜的 pH 曲线与典型的泡菜发酵相似^[18]。所测定泡菜的卤汁中初始 pH (6.4) 相对于菜样的初始 pH (7.2) 要低,主要原因可能是受蕨菜植物所特有酸碱性的影响。随着发酵过程不断的进行,二者 pH 下降程度相近 ($p>0.05$), 卤汁及菜样的 pH 逐渐趋于相同。在恒温泡菜制备 1 d 后卤汁及菜样的 pH 低于室温 1 d 后数值,表明泡菜在发酵初期,恒温比室温发酵更快,即恒温为微生物提供了更加稳定发酵环境。发酵 7 d, pH 急剧下降,但 pH 下降程

度相近 ($p>0.05$), 说明在发酵中后期恒温及室温环境对泡菜发酵没有显著影响 ($p>0.05$)。发酵 7 d 后, 所有泡菜样品的 pH 稳定 (4.2)。显然恒温发酵在初期对泡菜 pH 下降有促进作用, 在中后期没有显著影响。

蕨菜泡菜恒温及室温条件下卤汁及菜样可滴定酸值随时间的变化如图 2 所示, 分析测量了 2 种发酵条件泡菜的可滴定酸值。经过 7 d 的发酵恒温卤汁中可滴定酸分别达到 0.65%、0.61%, 泡菜酸值发生显著变化, 但这两个值受温度状态的影响并不显著 ($p>0.05$)。通过一周的发酵酸值持续上升, 恒温发酵泡菜的可滴定酸度高于在室温条件下的酸度, 可能是由于产生酸的微生物在恒温条件比在室温条件下生长得快。产生的酸主要是乳酸, 但也可形成其他有机酸, 这取决于发酵期间在泡菜中生长的微生物类型^[19]。

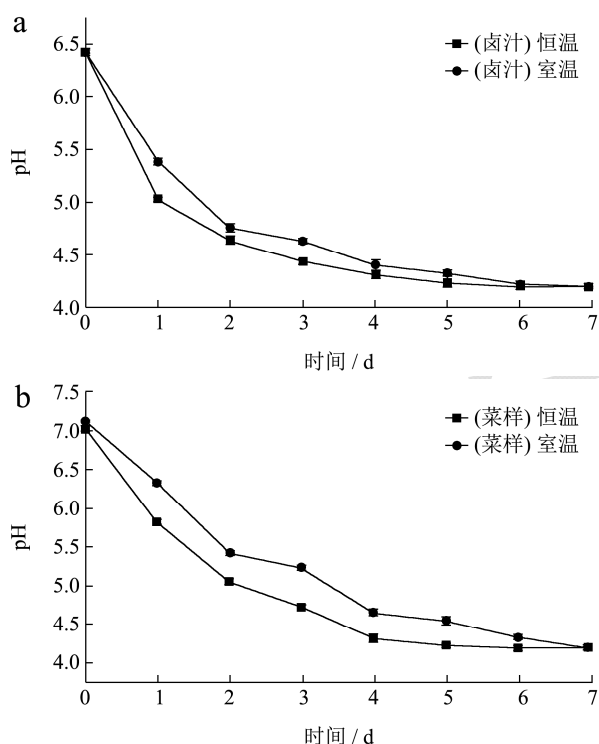


图 1 蕨菜泡菜恒温及室温条件下卤汁及菜样 pH 值随时间的变化

Fig.1 Changes in pH of *Fern* kimchi at constant temperature and room temperature of juice and dish

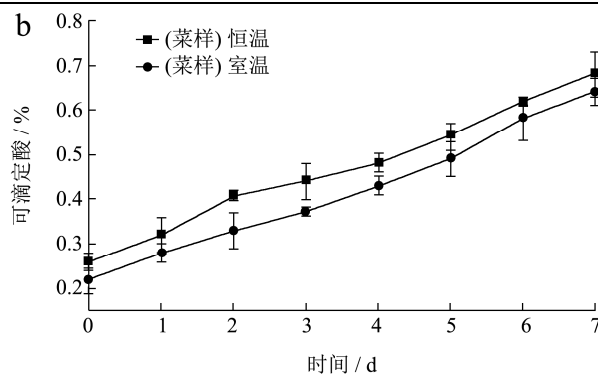
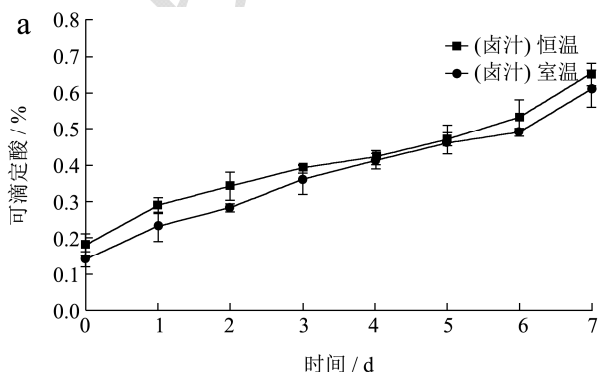


图 2 蕨菜泡菜恒温及室温条件下卤汁及菜样可滴定酸值随时间的变化

Fig.2 The titratable acid value of *Fern* kimchi at constant temperature and room temperature of juice and dish

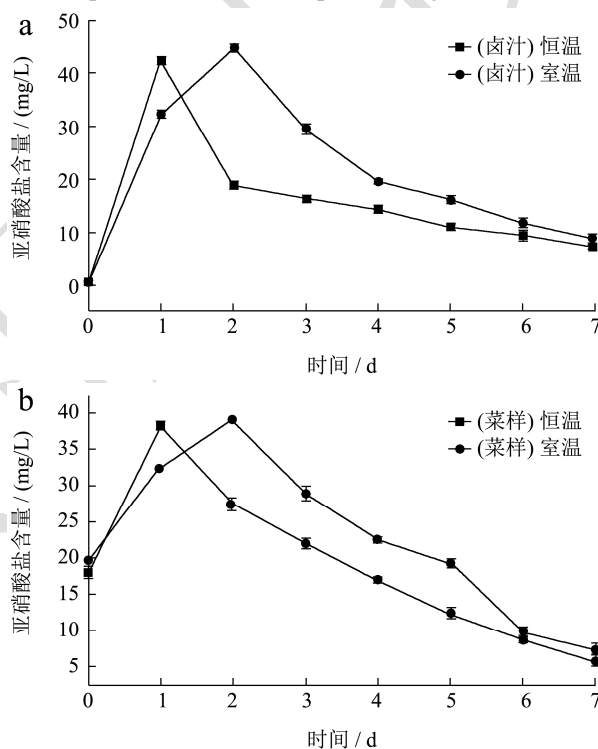


图 3 蕨菜泡菜恒温及室温条件下卤汁及菜样亚硝酸盐含量随时间的变化

Fig.3 Changes in nitrite content of *Fern* kimchi at constant temperature and room temperature of juice and dish

蕨菜泡菜恒温及室温条件下卤汁及菜样亚硝酸盐含量随时间的变化如图 3, 温度对泡菜发酵过程中的亚硝酸盐含量有很大的影响。在卤汁中, 恒温条件下亚硝酸盐峰值在第 2 d 出现, 而室温条件下最卤汁高亚硝酸盐浓度在第 24 h 达到 44.73 mg/L。亚硝酸盐在峰值出现后含量急剧下降到第 7 d 分别达到 7.2 mg/L 和 8.92 mg/L。在恒温条件下, 峰值的出现比室温更早, 这对于更好的控制亚硝酸盐的含量具有指导意义^[20]。在发酵初期, 卤汁中的盐浓度不能有效抑制硝酸盐还原菌的生长, 而在厌氧条件下硝酸盐还原菌会增加,

这些还原细菌能够将硝酸盐还原成亚硝酸盐,随着乳酸菌成为优势菌会抑制硝酸盐还原菌的生长,并有效控制亚硝酸盐的形成^[21]。

2.1.2 恒温及变温条件下蕨菜泡菜的感官评价分析

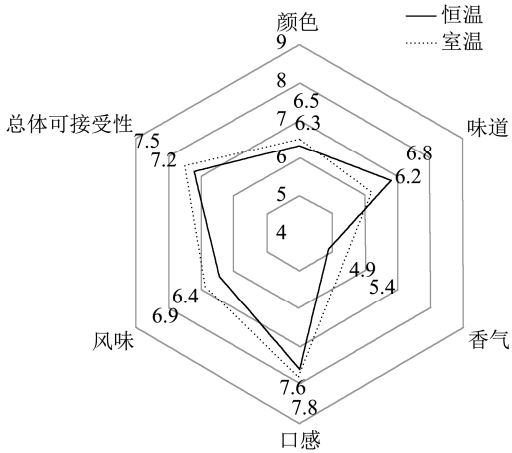


图4 恒温及室温条件下蕨菜泡菜的感官评价

Fig.4 Sensory evaluation of Fern kimchi at constant temperature and room temperature

恒温及室温条件下蕨菜泡菜的感官评价如图4所示。对发酵7 d后 pH 4.2 的蕨菜泡菜进行感官品质的分析。虽然两种泡菜产品的外观和口感没有显著差异,但室温泡菜的风味评价优于恒温泡菜,导致室温泡菜的总体的可接受性得分更高。风味的成因可能是由于发酵过程中7 d 后有机酸含量不同的原因。此外,室温泡菜的香气5.4 优于恒温泡菜4.9 的数值,正如文献^[22]报道,植物乳杆菌由于其产生多种酶的能力,可以显著改变发酵饮料的香气特征,更进一步说明由于温度的变化,使环境中微生物菌系发生着变化,从而导致了室温泡菜的高香气和风味的感官评分。综合小组成员结果,整体可接受性表明,与恒温发酵条件相比,室温环境下泡菜的品质更好。

2.2 蕨菜自然发酵过程中乳酸菌的鉴定及其分布

2.2.1 形态学鉴定

从泡菜入坛到成熟,将恒温和室温条件下,第2 d 和第7 d 的泡菜进行取样,不同时间段分离出的乳酸菌总数及球、杆菌数,总计分离80 株菌株如表1。

2.2.1.1 乳杆菌细胞形态及菌落形态

蕨菜泡菜从不同发酵方式、发酵阶段分离得到的80 株菌株中,有48 株杆菌。杆菌菌落形态主要呈边缘整齐、表面光滑、中央有凸起或扁平的白色或乳白色菌落。也有边缘不整齐、表面粗糙无光泽、中央有

凸起或中央扁平的褐色或乳黄色半透明菌落。在显微镜下,杆状细胞形态有细长状、弯曲状、短粗状,杆状两端有方形或圆滑,细胞排列方式有单个、成对、链状、分散或呈簇。

2.2.1.2 乳酸球菌细胞形态及菌落形态

蕨菜泡菜从不同发酵方式、发酵阶段分离得到的80 株菌株中,有32 株球菌。MRS 平板上,球菌菌落形态大致有三种:①圆形、边缘整齐、不透明、中心凸起的乳白色菌落;②圆形、边缘整齐、表面光滑、扁平隆起的灰白色菌落;③圆形、边缘光滑、半透明、微凸起的白色菌落。在显微镜下观察,球状细胞形态有球形或卵圆形,或豆状,细胞单生、成对或成链状。

表3 乳酸菌总数及球、杆菌数

Table 3 The total number of Lactic acid bacteria and the number of Lactococcus and Lactobacillus

发酵方式和时间	分离乳酸菌数	杆菌数	球菌数
恒温第2 d	20	7	13
室温第2 d	20	5	15
恒温第7 d	20	20	0
室温第7 d	20	16	4

2.2.2 恒温、室温条件下2 d、7 d 泡菜主要乳酸菌的分布情况

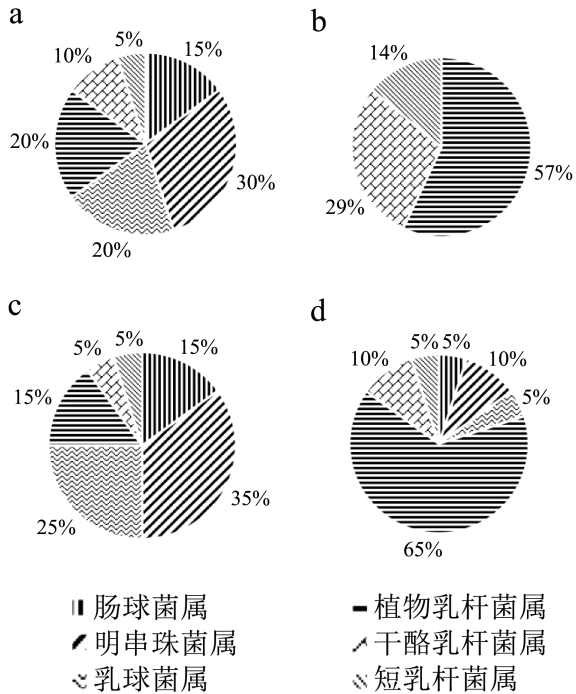


图5 恒温、室温条件下2 d、7 d 泡菜主要乳酸菌的分布情况

Fig.5 Distribution of main Lactic acid bacteria in 2 d and 7 d kimchi under constant temperature and variable temperature conditions

注: a: 恒温2 d; b: 恒温7 d; c: 室温2 d; d: 室温7 d。
恒温、室温条件下2 d、7 d 泡菜主要乳酸菌的分

布情况如图 5 所示,在发酵 2 d 的泡菜中,恒温发酵蕨菜泡菜植物乳杆菌属、乳球菌属、明串珠菌属分别占乳酸菌总数的 20%、20%、30%。室温泡菜中这些乳酸菌的比例随着发酵时间的不同而与恒温发酵存在差异,说明室温下,泡菜环境的菌系比例发生着改变,随之代谢产物发生改变,从而会表现出不同的理化性质,这也是恒温及室温泡菜感官评价存在差异的主要原因^[23]。

在初期发酵期间,恒温泡菜和室温泡菜的微生物多样性差异不显著,随着发酵时间的进行,室温泡菜的微生物多样性的降低明显低于恒温泡菜。乳酸菌多样性的统计分析表明,室温发酵不同的乳酸菌菌种的生长延长了发酵初期,并且在发酵的中后期维持了明串珠菌属、肠球菌属及乳球菌属的多样性,使初期室温发酵泡菜 pH 比恒温泡菜 pH 降的慢。由于其不同菌株在生理生化反应上存在区别的有益作用,使得泡菜发酵过程中微生物的多样性的维持对于生产优质泡菜来说是非常必要的^[24]。

随着泡菜发酵的进行,在第 7 d 中,植物乳杆菌属在恒温及室温泡菜中分别上升了 37%和 50%,而在相同的发酵时间下,明串珠菌属则下降到了 0%及 10%。在发酵过程中植物乳杆菌/明串珠菌上升,这也是导致泡菜走向成熟的重要原因^[25];相反在泡菜发酵过程中,异型发酵乳酸菌产生二氧化碳、乙醇和甘露醇作为代谢产物,同时产生比同型发酵乳酸更少的乳酸。而明串珠菌属的存在被认为是对泡菜发酵具有理想的效果,可以导致感官特性的改善和发酵速率的调节^[26]。结果表明,与恒温发酵条件相比室温发酵条件能为泡菜带来更高的感官品质。

表 4 菌株的 16S rDNA 序列同源性比对结果

Table 4 Homologous alignment analysis of 16S rDNA sequences from isolates

菌株编号	BLAST 结果	序列大小	覆盖报分率/%	同源性/%
D1-1	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain b-2 chromosome, complete genome	13931	100	100
D1-2	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain nF1 chromosome, complete genome	13909	100	100
D1-3	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain DSR_M2 chromosome, complete genome	13914	100	100
D1-4	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain SK151 chromosome, complete genome	13909	100	100
D1-5	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain HBUAS52244 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2789	100	100
D1-6	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain HBUAS52227 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2789	100	100
D1-7	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain HBUAS52224 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2789	100	100
D1-8	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain HAC01 chromosome, complete genome	13897	100	100
D1-9	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain KC28 chromosome, complete genome	13925	100	100
D1-10	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain K259 chromosome, complete genome	13903	100	100

2.2.3 主要作用乳酸菌分子生物学鉴定

2.2.3.1 乳酸菌 16S rDNA 的 PCR 扩增结果

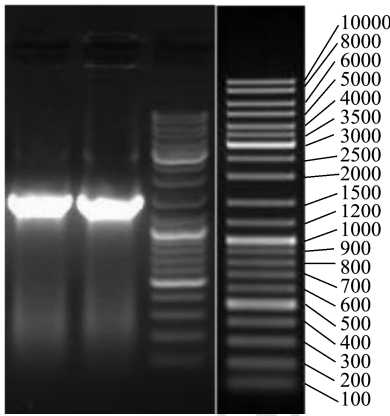


图 6 乳酸菌 16S rDNA 片段 PCR 扩增产物凝胶电泳图

Fig.6 Agarose gel electrophoresis pattern of PCR amplified products of 16S rDNA fragment

乳酸菌 16S rDNA 片段 PCR 扩增产物凝胶电泳图如图 6 所示,在 500、1000、3000 bp 处出现荧光条带,且无明显拖尾现象,说明 PCR 扩增成功,能满足后续 16S rDNA 序列测定的需要,实验结果在 1500 bp 处有明显结果,电泳图清晰。

2.2.3.2 测序结果及相似性分析

登陆 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) DNA 数据库,将各菌株的序列采用 BLAST 软件与已知序列比对,同源性结果见表 6。

一般来讲,在种分类等级上,如果 2 个分类单位间的 16S rDNA 序列同源性大于 97.5%,则认为属于同一个种。由表 4 可知,16S rDNA 序列同源性均大于 97.5%,都鉴定到种的水平,菌株鉴定结果为植物乳杆菌。

2.2.3.3 电子显微镜观察

图7为植物乳杆菌电子显微镜放大1000倍成像。植物乳杆菌是乳酸菌的一种,最适生长温度为30~35℃,厌氧或兼性厌氧,菌种为直或弯的杆状,单个、成对或成链状,最适pH 6.5左右,属于同型发酵乳酸菌。

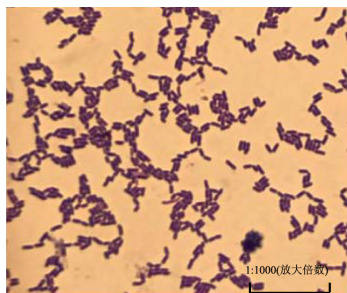


图7 植物乳杆菌电子显微放大1000倍成像

Fig.7 *Lactobacillus plantarum* electron microscopic magnification 1000 times imaging

2.3 蕨菜泡菜有机酸的分析

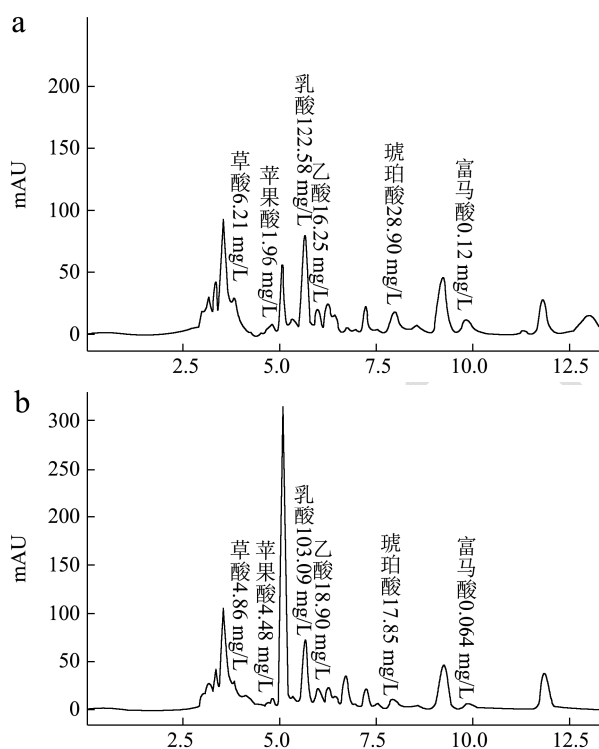


图8 恒温(a)及室温(b)条件下第7d有机酸混合的样品高效液相色谱图

Fig.8 High performance liquid chromatogram of 7 d organic acid mixed standard at constant temperature (left) and room temperature (right)

恒温(图8a)及室温(图8b)条件下第7d有机酸混合标样的高效液相色谱图如图8。在发酵初期,作为泡菜发酵主要产物的乳酸和乙酸的水平会随着泡菜发酵进程中游离糖的减少而增加,乳酸迅速产生,

而乙酸则稳定产生,直至发酵后期;恒温发酵终产物乳酸积累量比室温更多,这与后期大量的植物乳杆菌作用是相对应的^[27]。乳酸菌主要利用蔗糖、果糖和苹果酸等在初期泡菜发酵过程中通过底物磷酸化作用产生能量,与室温泡菜相比,恒温泡菜中的乳酸菌更快地消耗苹果酸,并产生更多的乳酸^[28]。琥珀酸、富马酸、草酸的增加在泡菜的味道形成中起着重要的作用,且它们的产生受不同微生物泡菜发酵期间生长繁殖的影响,而相对于环境温度更加稳定的恒温泡菜来说,室温泡菜的口感更好可能由于是乳酸及乙酸含量、比例有关,其适当的含量、比例所带来的口感才是最宜人的。

3 结论

通过研究恒温及室温发酵对蕨菜泡菜理化性质、乳酸菌生长分布和代谢产物的对比影响得出结论。恒温与室温发酵在pH值下降和可滴定酸含量的增长程度上差异性不显著,但恒温发酵相对于室温发酵会更加稳定,亚硝酸盐的峰值更早的出现。感官评价得出,温度的变化是泡菜乳酸菌谱差异的主要原因,室温泡菜相对于恒温泡菜的明串珠菌种类的维持降低了与泡菜质量相关的植物乳杆菌/明串珠菌比例,产生乳酸和乙酸相对最适含量,从而证明室温发酵泡菜的品质更优于恒温发酵泡菜,其中主要作用的乳酸菌被鉴定为植物乳杆菌。这些结果表明动态温度处理对泡菜细菌生长多样性及分布和与泡菜相关的代谢物的变化有着积极的影响。

参考文献

- [1] Yu X, Wang J, Zhang J, et al. Physicochemical properties of starch isolated from bracken (*Pteridium aquilinum*) rhizome [J]. Journal of Food Science, 2016, 80(12): C2717-C2724
- [2] 马艳弘,魏建明,侯红萍,等.发酵方式对山药泡菜理化特性及微生物变化的影响[J].食品科学,2016,37(17):179-184
MA Yan-hong, WEI Jian-ming, HOU Hong-ping, et al. Effects of fermentation methods on physicochemical and microbiological characteristics of pickled Chinese yam [J]. Food Science, 2016, 37(17): 179-184
- [3] Ji Y J, Lee S H, Che O J. Kimchi microflora: history, current status, and perspectives for industrial kimchi production [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2014, 98(6): 2385-2393
- [4] Kim, Hannah, Park, et al. Functionality and safety of lactic bacterial strains from Korean kimchi [J]. Food Control, 2013, 31(2): 467-473

- [5] Song H M, Moon J S, Chang H C. Rapid manufacture and quality evaluation of long-term fermented kimchi (mukeunji) using *Lactobacillus sakei*, SC1 [J]. Food Science & Biotechnology, 2015, 24(5): 1797-1804
- [6] 朱奇奇,蒲博,王周,等.一株降胆固醇乳酸菌的筛选、鉴定及在发酵泡菜中的应用[J].中国调味品,2016,41(5):16-22
ZHU Qi-qi, PU Bo, WANG Zhou, et al. Screening and identification of a strain of lactobacillus with cholesterol-reducing ability and its application in pickles [J]. China Condiment, 2016, 41(5): 16-22
- [7] 陈乃东,陈乃富,张莉.化学发光法测定蕨菜黄酮的抗氧化活性[J].食品与发酵工业,2013,39(6):199-204
CHEN Nai-dong, CHEN Nai-fu, ZHANG Li. Determination of antioxidant activity of bracken flavonoids by Chemiluminescence method [J]. Food and Fermentation Industry, 2013, 39(6): 199-204
- [8] 黄劲松,姜丽,石韵,等.蕨菜总蛋白质向电泳技术体系的建立[J].食品与生物技术学报,2013,32(7):762-766
HUANG Jin-song, JIANG Li, SHI Yun, et al. Establishment of electrophoresis technology system for total protein of Bracken [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2013, 32(7): 762-766
- [9] Choi H J, Lee N K, Paik H D. Health benefits of *Lactic acid bacteria* isolated from kimchi, with respect to immunomodulatory effects [J]. Food Science & Biotechnology, 2015, 24(3): 783-789
- [10] Hae-Won Lee, So-Ra Yoon, Su-Ji Kim. Identification of microbial communities, with a focus on foodborne pathogens, during kimchi manufacturing process using culture-independent and -dependent analyses [J]. Food Science and Technology, 2017, 81: 153-159
- [11] Kim H W, Jang J J, Kim N H, et al. Factors that determine the microbiological quality of ready-to-use salted napa cabbage (*Brassica pekinensis*): Season and distribution temperature [J]. Food Control, 2018, 87: 1-8
- [12] Kim J, Bang J, Beuchat L R, et al. Controlled fermentation of kimchi using naturally occurring antimicrobial agents [J]. Food Microbiology, 2012, 32(1): 20-31
- [13] GB/T 12456-2008,食品中总酸的测定[S]
GB/T 12456-2008, Determination of total acid in food [S]
- [14] GB/T5009.33-2008,食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S]
GB/T5009.33-2008, Determination of nitrite and nitrate in food [S]
- [15] Kwaw Emmanuel, Ma Yongkun, Tchabo William. Effect of fermentation parameters and their optimization on the phytochemical properties of lactic-acid-fermented mulberry juice [J]. Food Measure, 2017, 11: 1462-1473
- [16] 陈功,张其圣,余文华,等.四川泡菜乳酸菌多样性及其功能特性[J].食品与发酵工业,2013,39(3):1-4
CHEN Gong, ZHANG Qi-sheng, YU Wen-hua, et al. Diversity and functional properties of *Lactic Acid Bacteria* in Sichuan pickled vegetables [J]. Food and Fermentation Industry, 2013, 39(3): 1-4
- [17] 甘奕,李洪军,付杨,等.韩国泡菜制作过程中理化特性及微生物的变化[J].食品科学,2014,35(15):166-171
GAN Yi, LI Hong-jun, FU Yang, et al. Physicochemical properties and microbial changes in kimchi production process [J]. Food Science, 2014, 35(15): 166-171
- [18] Su Jin Jung, Min Jung Kim, Soo Wan Chae. Quality and functional characteristics of kimchi, made with organically cultivated young Chinese cabbage (olgari-baechu) [J]. Journal of Ethnic Foods, 2016, 3(2): 150-158
- [19] 樊爱萍,董鹏,苏宇,等.热烫对超高压杀菌泡菜风味成分的影响[J].中国食品学报,2015,15(11):227-233
FAN Ai-ping, DONG Peng, SU Yu, et al. Effects of hot stamping on flavoring composition of ultra high pressure sterilized kimchi [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(11): 227-233
- [20] Kim S H, Kang K H, Kim S H, et al. *Lactic acid bacteria* directly degrade N-nitrosodimethylamine and increase the nitrite-scavenging ability in kimchi [J]. Food Control, 2017, 71: 101-109
- [21] Clifford T, Howatson G, West D J, et al. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease [J]. Nutrients, 2015, 7(4): C2801-C2822
- [22] Hong S P, Lee E J, Kim Y H, et al. Effect of fermentation temperature on the volatile composition of kimchi [J]. Journal of Food Science, 2016, 81(11): 2623-2629
- [23] Jeong S H, Lee H J, Jung J Y, et al. Effects of red pepper powder on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 160(3): 252-259
- [24] Jeong S H, Lee S H, Jung J Y, et al. Microbial succession and metabolite changes during long-term storage of kimchi [J]. Journal of Food Science, 2013, 78(5): M763-M769
- [25] Kim D W, Kim B, Lee H, et al. Effects of different salt treatments on the fermentation metabolites and bacterial profiles of kimchi [J]. Journal of Food Science, 2017, 82(5): 1124-1131

现代食品科技