

乳酸菌发酵对雪里蕻挥发性物质及品质的影响

吴浪, 徐俐*

(贵州大学生命科学学院, 贵州 贵阳 550025)

摘 要: 为研究菌种强化发酵对雪里蕻品质的影响, 采用接种肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、混合乳酸菌(肠膜明串珠菌和植物乳杆菌)发酵雪里蕻与传统自然发酵进行比较, 通过感官评定及理化指标测定对发酵后雪里蕻品质进行分析, 同时采用蒸馏萃取法提取挥发性物质, 利用气相色谱-质谱(GC-MS)仪进行分析。结果表明: 植物乳杆菌和肠膜明串珠菌强化发酵处理组优于自然发酵组; 其中以植物乳杆菌处理组产生醛、酯类相对含量最高, 挥发性物质总相对含量最高, VC 损失最少, 降低盐含量能力最佳, 即植物乳杆菌发酵雪里蕻品质优于其他处理组。

关键词: 雪里蕻; 乳酸菌; 挥发性物质; 强化发酵

Effect of Lactic Acid Fermentation on Quality and Volatile Components of Potherb Mustard (*Brassica juncea*)

WU Lang, XU Li*

(College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: The inoculated fermentation of potherb mustard by *Leuconostoc mesenteroides* (LM) alone, *Lactobacillus plantarum* (LP) alone and both of them and the natural fermentation were compared to understand the effect of inoculated fermentation on the quality of potherb mustard. Sensory characteristics and physicochemical properties were measured on naturally fermented and inoculated fermented potherb mustard. Meanwhile, their volatile composition was analyzed by steam distillation extraction coupled with GC-MS. The results showed that pure LM fermentation and LP fermentation was superior to natural fermentation. The highest relative contents of aldehydes and esters and the highest total volatiles content were determined in LP fermentation. In addition, the least loss of vitamin C and the strongest desalting capacity were observed. Therefore, LP fermentation is superior to the other two fermentation processes.

Key words: potherb mustard; lactic acid bacteria; volatile components; inoculated fermentation

中图分类号: TQ920.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)23-0250-06

雪里蕻别名雪菜, 发酵后食之味美。发酵主要利用乳酸菌产生乳酸、醋酸、丙酸等有机酸, 这些产物赋予发酵果蔬柔和酸味^[1]; 发酵过程产生酸性环境可抑制腐败菌与病原菌生长。发酵能改善产品营养价值, 赋予特殊风味^[2]。用于发酵果蔬的乳酸菌主要有嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、肠膜明串珠菌等^[1]。

目前发酵蔬菜中的乳酸菌主要有植物乳杆菌、肠膜明串珠菌, 研究方向多在降低亚硝酸盐规律方面, 强化发酵与自然发酵在风味比较方面研究较少。为研究菌种强化发酵对雪里蕻品质及风味的影响, 本研究采用雪里蕻接种肠膜明串珠菌、植物乳杆菌、混合乳酸菌强化发酵, 并与传统自然发酵进行比较, 为生产及发酵腌菜风味和营养价值评定提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

雪里蕻品种: 九头鸟, 栽培条件一致, 经挑选, 剔除枯、老、黄叶, 选取无机械损伤、无病虫害、成熟度一致的雪里蕻作为实验材料; 成品泡菜汤 市售散装泡菜汤。

蛋白胨 中国医药集团上海化学试剂公司; 酵母膏 北京双旋微生物培养基制品厂; 牛肉膏、琼脂 上海化学试剂公司; 氢氧化钠(纯度 96%) 成都金山化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

HP6890/HP5975C GC-MS联用仪 美国安捷伦科技公

收稿日期: 2011-09-26

基金项目: 贵州省科技厅农业攻关资助项目(NY20073022); 贵州省星火计划项目(黔科合农字[2010]5085 号)

作者简介: 吴浪(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品贮藏加工。E-mail: wulangg3222@163.com

* 通信作者: 徐俐(1963—), 女, 教授, 硕士, 研究方向为食品科学与工程。E-mail: xuli63@tom.com

司; M316P 电导率盐度计 上海双旭电子有限公司; XSP-3C 生物显微镜 上海精密仪器仪表公司; YQX 厌氧培养箱 上海跃进医疗器械厂。

1.3 方法

1.3.1 乳酸菌分离及生理生化鉴定

肠膜明串珠菌属分离培养基: SL 培养基^[3]; 植物乳杆菌属分离培养基: HP 培养基^[3]; 乳酸菌第一步分离培养基: MRS 培养基^[3]。

取泡菜汤 10mL 逐次稀释至 10^{-7} 浓度, 取 10^{-2} 、 10^{-5} 、 10^{-7} 3 个浓度进行平板划线, MRS 培养基平板 32 厌氧 48h 第 1 次培养, 进行菌落形态特征观察; 挑选可疑单个菌落分别在 SL、HP 培养基上平板划线, 平板 32 厌氧 48h 第 2 次培养, 进行菌落形态特征观察; 分别在 SL、HP 培养基上挑选可疑单个菌落继续培养, 平板 32 厌氧 48h 第 3 次培养, 进行菌落形态特征观察^[4], 革兰氏染色, 显微镜下进行生理形态观察, 生理生化实验, 包括生长温度、生长 pH 值、厌氧生长、碳水化合物产酸、过氧化氢酶、精氨酸产氨、淀粉水解、明胶液化、吡啶实验、糖发酵(乳糖、蔗糖、麦芽糖、阿拉伯糖、甘露糖、鼠李糖、棉子糖等), 根据生理生化实验结果鉴定出肠膜明串珠菌、植物乳杆菌。

1.3.2 乳酸菌种子液制备

米汤液制备: 取 2L 水煮沸, 放入大米 500g, 搅拌 15min, 过滤得到米汤, 在米汤中加入蔗糖 2g/100mL、食盐 42g/100mL。然后取米汤液 50%、蛋白胨 1%、酵母膏 1% 装于锥形瓶中, 于 121 灭菌 30min。冷却备用。接入不同菌种进行扩大培养, 25 培养 24~36h, 制得乳酸菌种子液。活菌计数: 采用倾注平板法, 每隔 24h 计数。

1.3.3 雪里蕻乳酸菌发酵

雪里蕻经挑选、整理、清洗、晾干等预处理后, 各处理组取 2kg 雪里蕻使用 6% 食盐腌制, 置于玻璃罐内, 将乳酸菌种子液接入玻璃罐, 菌种接种量为 10^8 CFU/g, 自然发酵不加入任何菌种, 盖上盖子, 并加水密封, 在常温(室温 18~25)进行发酵。

空白处理: 自然发酵; 处理 : 肠膜明串珠菌发酵; 处理 : 植物乳杆菌发酵; 处理 : 混合乳酸菌(植物乳杆菌发酵液与肠膜状明串珠菌发酵液体积比 1:1 发酵)。

1.4 测定指标及方法

每间隔 5d 测定一次指标, 每个指标测定 4 次重复, 结果取平均值进行分析。

VC 含量测定: 采用 2,6-二氯酚靛滴定法^[5]; 可滴定酸含量测定: 采用酸碱中和滴定法^[5]; 还原糖含量测定: 采用斐林试剂滴定法^[5]; 盐含量测定: 电导率盐度计。

感官评定: 评定人员为食品专业学生, 评分标准为: 香味: 发酵腌菜香味 8~10 分, 腌菜香味中发酸 5~7 分, 发酸过重 3~4 分, 有异味 0~2 分; 色泽: 明亮的黄绿色 8~10 分, 黄绿色偏褐 5~7 分, 黄褐色 3~4 分, 墨绿色 0~2 分; 口感: 酸咸适宜 8~10 分, 偏咸或偏酸 5~7 分, 咸或酸过重 3~4 分, 腐败味 0~2 分。

挥发性风味物质测定: 取 2g 发酵后的雪里蕻腌菜, 用分析纯正己烷浸泡 4h, 80 蒸馏水加热回流, 冷却分层, 取上层正己烷溶液进样分析。

色谱条件: 色谱柱为 AB-INowax (30.0m × 250μm, 0.25μm)弹性石英毛细管柱, 柱温 45 (保留 2min), 以 5 /min 升温至 230 , 保持 20min; 气化室温度 250 ; 载气为高纯 He(99.999%); 柱前压 5.08psi, 载气流量 1.0mL/min; 进样量 1μL(正己烷溶液); 分流比 20:1。

质谱条件: 离子源为 EI 源, 离子源温度 230 ; 四极杆温度 150 , 电子能量 70eV, 发射电流 34.6μA; 倍增器电压 982V, 接口温度 280 , 质量范围 20~450u。

化合物鉴定及定量: 按峰面积归一化法进行计算求得各化学成分在水蒸气蒸馏物中的相对含量。通过 HPMSD 化学工作站, 结合 Nist05 标准质谱图库和 Wiley275 质谱图库, 鉴定出相应成分。

2 结果与分析

2.1 感官评定

表 1 感官评定结果

Table 1 Sensory evaluation results of naturally fermented and inoculated fermented potherb mustard

发酵方式	香味	色泽	口感	综合评分
自然发酵	7.7	7.1	6.5	7.1
肠膜明串珠菌	7.6	7.5	6.2	7.1
植物乳杆菌	7.7	6.9	6.2	6.9
混合乳酸菌	6.2	6.8	5.5	6.16

由表 1 可见, 自然发酵香味、色泽、感官评分与植物乳杆菌和肠膜明串珠菌强化发酵相差不大, 与王晓飞^[6]感官评定结果一致。但混合发酵在香味和口感上感官评价得分都较低, 原因是混合菌种复杂致使发酵过度, 酸味较重, 色泽较深, 质地较软。

2.2 雪里蕻发酵过程中 VC、可滴定酸、还原糖、盐含量相互间变化

由图 1 可知, 发酵 25d, 自然发酵、植物乳杆菌发酵组 VC 损失明显低于肠膜明串珠菌、混合乳酸菌发

酵组,其原因与酸度高有密切关系,VC在酸性环境中较为稳定^[7];在后期自然发酵酸度持续升高,与后期菌种长势是否有关有待进一步研究;植物乳杆菌发酵组VC损失和酸度变化平稳。图1b发酵初期可滴定酸含量:混合乳酸菌>自然发酵>植物乳杆菌发酵>肠膜明串珠菌发酵,与燕平梅等^[8]实验结果一致。由图1b、1c可知,酸度越高还原糖利用越少,酸与糖相互消长^[7],肠膜明串珠菌发酵可滴定酸含量少,还原糖利用较多。原因是接种肠膜明串珠菌发酵主要是微生物发酵过程的第一阶段,繁殖快、不耐酸的产气球菌类即肠膜明串珠菌发酵占优势^[6]。混合乳酸菌发酵糖利用比自然发酵高,与发酵菌种中乳酸菌的正型乳酸发酵为主有关^[9],植物乳杆菌和肠膜明串珠菌发酵糖利用居中,与菌群不复杂有关。如图1d可知,发酵第25天时自然发酵、肠膜明串珠菌、植物乳杆菌、混合乳酸菌发酵组盐含量分别为5.74%、5.29%、4.81%、5.53%,与初始盐含量6.13%相比,植物乳杆菌发酵处理降低盐含量能力优于其他处理组。

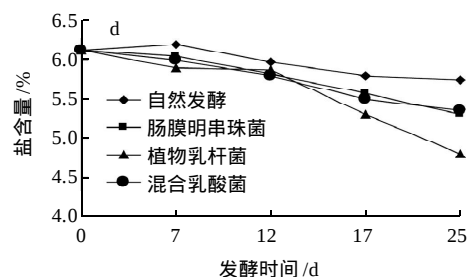
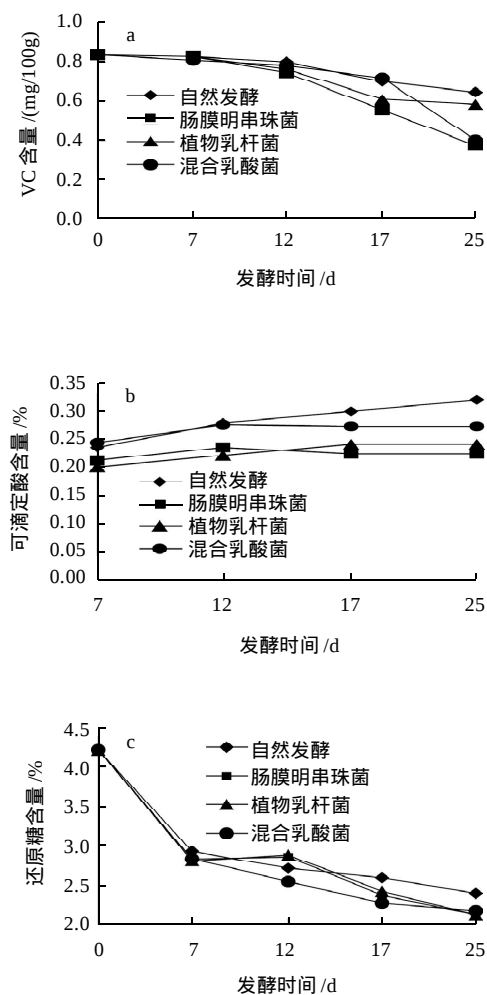
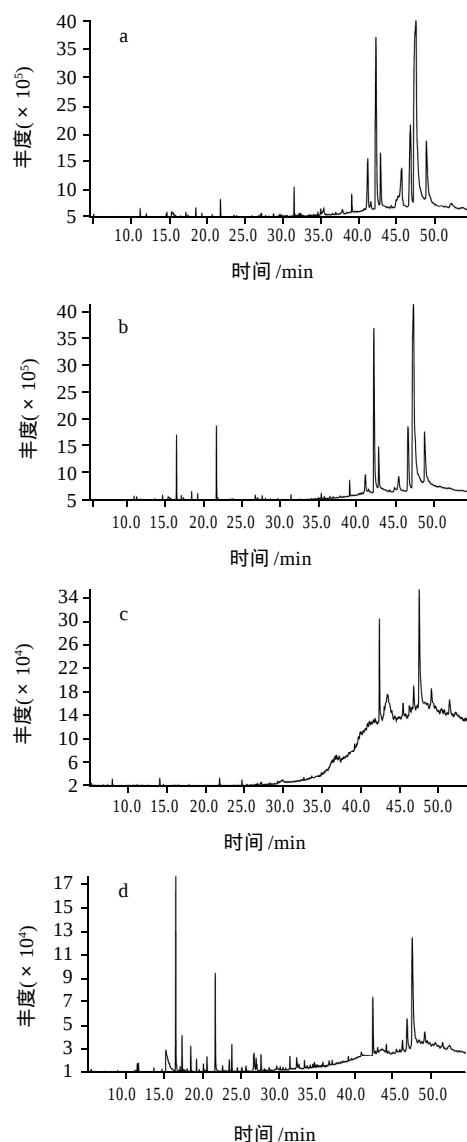


图1 不同发酵处理间VC、可滴定酸、还原糖及盐含量变化
Fig.1 Effect of different fermentation types on the content of vitamin C, titratable acids, reducing sugar and salts in fermented potherb mustard

2.3 各处理中挥发性化合物的种类及相对含量



a. 自然发酵; b. 肠菌明串珠菌; c. 植物乳杆菌; d. 混合乳酸菌。

图2 自然发酵与各菌种发酵雪里蕻总离子流图

Fig.2 Total ion current of naturally fermented, LM, LP and potherb mustard fermented by both LM and LP

表2 强化发酵与自然发酵雪里蕻挥发性化合物的相对含量

Table 2 Volatile compounds and their relative contents in naturally fermented and inoculated fermented potherb mustard

序号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%			
			自然发酵	肠膜明串珠菌发酵	植物乳杆菌菌发酵	混合乳酸菌发酵
酮			5.812	8.863	1.275	9.957
1	10.96	acetoin 3-羟基-2-丁酮	0.027	0.421	-	-
2	14.75	acetol acetate 乙酰基丙酮	0.036	0.061	-	0.077
3	13.65	5-methyl-2(3H)-furanone 5-甲基-2(3H)-呋喃酮	0.025	0.118	-	0.326
4	21.67	2-hydroxycyclopent-2-en-1-one 2-羟基-3-甲基-2-环戊烯-1-酮	0.587	3.498	0.987	2.291
5	27.10	furaneol 呋喃酮	-	0.106	0.288	0.773
6	27.02	2-pyrrolidinone 2-吡咯烷酮	0.117	-	-	-
7	20.20	2,3-dihydro-1-methyl-4(1H)-pyridinone 2,3-二氢-1-甲基吡啶酮	-	-	-	0.492
8	26.83	2-(1-pyrrolidinyl)-2-cyclopenten-1-one 2-(1-吡咯烷基)-2-环戊烯酮	-	-	-	2.291
9	22.72	octahydro-2(1H)-quinolinone 八氢-2(1H)-喹啉酮	-	-	-	0.496
10	42.79	15-hexadecanolide 15-氧杂环十七烷-2-酮	4.097	3.908	-	-
11	22.88	3-methyl-1,2-cyclopentanedione 3-甲基环戊烷-1,2-二酮	0.028	0.044	-	-
12	17.39	4-cyclopentene-1,3-dione 4-环戊烯-1,3-二酮	0.053	0.145	-	2.330
13	26.73	2H-pyran-2,6(3H)-dione 2H-吡喃-2,6(3H)二酮	-	0.333	-	-
14	31.39	4H-pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4-吡喃-4-酮	0.842	0.229	-	0.881
醇			0.512	3.074	1.545	15.463
1	11.29	acetol 乙酰甲醇	0.283	0.190	-	0.116
2	32.40	glycerol 丙三醇	-	-	-	1.198
3	16.49	2,3-butanediol 丁二醇	0.047	2.549	-	13.114
4	24.55	benzeneethanol 苯乙醇	-	0.051	0.586	0.250
5	12.60	(Z)-3-hexen-1-ol (Z)-3-己烯-1-醇	-	0.012	-	-
6	19.24	furfuralcohol 糠醇	0.105	0.243	-	0.672
7	20.59	5-methyl-2-furanmethanol 5-甲基-2-呋喃醇	0.077	0.029	-	-
8	20.51	methionol 3-甲硫基丙醇	-	-	-	0.113
9	5.24	2-methyl-1-propanol 2-甲基-1-丙醇	-	-	0.158	-
10	7.94	3-methyl-1-butanol 3-甲基-1-丁醇	-	-	0.636	-
11	17.81	2,6-dimethyl-cyclohexanol 2,6-二甲基环己醇	-	-	0.165	-
酯			0.359	0.357	5.509	2.251
1	18.45	butyrolactone 丁内酯	0.284	0.357	-	1.663
2	13.69	5-methyl-2(3H)-furanone 当归内酯	0.025	-	-	0.326
3	19.57	2-penten-4-olide 2-戊烯-4-内酯	0.016	-	-	0.177
4	12.50	(Z)-3-hexen-1-ol 乙酸叶醇酯	-	-	0.117	-
5	51.42	methyl linolenate 亚麻酸甲酯	-	-	5.036	-
6	32.64	dihydro-actinidiolide 二氢猕猴桃内酯	-	-	0.356	-
7	19.04	methylmethanethiosulfinate 甲硫磺酸-甲酯	0.016	-	-	-
8	11.58	senfoel 异硫氰酸烯丙酯	0.018	-	-	0.085
酸			85.429	82.067	62.876	55.127
1	15.40	acetic acid 醋酸	1.104	1.389	4.874	8.620
2	35.71	lauric acid 月桂酸(十二(烷)酸)	-	0.096	-	0.276
3	39.02	myristic acid (肉)豆蔻酸(十四酸)	0.880	0.824	-	0.337
4	42.17	palmitic acid 棕榈酸(十六(烷)酸)	17.034	18.709	14.461	6.370
5	46.60	stearic acid 硬脂酸(十八酸)	11.039	9.411	5.241	6.132
6	47.32	lactic acid 油酸(十八烯酸)	45.485	44.055	32.684	30.624
7	48.77	linoleic acid 亚油酸	9.419	7.583	5.616	2.292
8	18.07	isobutyric acid 异丁酸	-	-	-	0.298
9	20.25	isovaleric acid 异戊酸	-	-	-	0.178
10	32.05	capric acid 正癸酸	0.138	-	-	-
11	34.93	undecenoic acid 10-十一烯酸	0.330	-	-	-
硫			0.250	0.125	-	0.689
1	11.74	2,3,4-trithiapentane 二甲基三硫	0.162	0.125	-	0.689
2	4.95	2,3-dithiabutane 二甲基二硫	0.088	-	-	-

续表 2

序号	保留时间 /min	化合物名称	相对含量 /%			
			自然 发酵	肠膜明串 珠菌发酵	植物乳杆 菌发酵	混合乳酸 菌发酵
		胺	-	0.021	-	1.221
1	5.47	trimethylamine	三甲胺	-	0.021	0.237
2	20.67	1H-pyrrole-2,5-dione,1-ethy	1- 顺丁烯二酰亚胺	-	-	0.984
		醛	0.289	0.549	0.322	0.373
1	14.51	furfural	糠醛	0.099	0.041	0.161
2	17.11	5-methyl-2-furfural	5- 甲基 - 糠醛	0.148	0.235	0.161
3	18.64	hyacinthin	苯乙醛	0.042	0.069	-
4	35.32	5-oxymethylfurfurole	5- 羟甲基糠醛	-	0.204	-
		酚	0.081	0.190	0.216	1.162
1	23.50	guaiacol	愈创木酚	0.059	0.154	-
2	30.24	4-vinyl-2-methoxy-phenol	4- 乙烯基 -2- 甲氧基 - 苯酚	-	-	0.208
3	26.61	phenol	苯酚	0.029	0.036	0.216
		烷	-	-	30.147	-
1	43.40	octadecane	十八烷	-	-	30.147
		吡嗪	0.026	-	-	0.205
1	10.04	methylpyrazine	甲基吡嗪	-	-	0.113
2	13.33	trimethyl pyrazine	2,3,5- 三甲基吡嗪	-	-	0.092
3	9.85	2-methyl pyrazine	2- 甲基吡嗪	0.026	-	-
		腈	-	-	-	-
1	7.24	3-butenenitrile	3- 丁烯腈	0.010	0.018	0.109
		呱嗪	0.042	-	-	-
1	11.32	2,6-dimethylpyrazine	2,6- 二甲基呱嗪	-	-	-
		呋喃	-	-	-	-
2	15.50	2-acetylfuran	2- 乙酰呋喃	0.019	-	-
		吡咯	0.064	-	-	-
1	25.82	2-acetylpyrrole	2- 乙酰基吡咯	-	-	-
2	25.78	2-acetylpyrrole	2- 乙酰基吡咯	-	-	0.428
		种类	38	33	19	39
		总相对含量	92.900	95.264	97.125	86.945

对 4 组实验组进行 GC-MS 定性分析，总离子流图见图 2。由表 2 可知，采用气相色谱 - 质谱联用仪分析 4 个发酵组鉴定出：酸 11 种、酮 14 种、醇 11 种、酯 8 种、醛 4 种、酚 3 种、胺 2 种、吡嗪 3 种、吡咯 2 种、呱嗪 1 种、呋喃 1 种、腈 1 种、烷 1 种、硫 2 种共 64 种挥发性成分。肠膜明串珠菌组和植物乳杆菌组强化发酵产生种类不如自然发酵组丰富，但某些组分相对含量比自然发酵组高。

各处理组中均以酸类组分相对含量最高，发酵蔬菜中酸类物质是乳酸菌发酵的主导产物^[10]，也是构成发酵蔬菜特殊香味主体的物质，酸类以油酸相对含量最高，棕榈酸次之。自然发酵和混合发酵处理组酸种类多，其原因与蔬菜自身含有复杂菌群有关，其中十一烯酸、正癸酸只在自然发酵中检出；混合发酵挥发性酸类相对含量最低，与混合优势菌种相互制约的影响相关^[11]，异戊酸、异丁酸只在混合乳酸菌发酵组中检出，异丁酸检出说明混合乳酸菌发酵出现异常^[12]，乳酸菌发酵随着

乳酸增多而受到抑制^[13]，导致后期发酵出现异常。

发酵过程中乳酸菌代谢产生醛酮类化合物对雪里蕻风味有十分重要的影响，醇类、酮类含量次于酸类^[12]。植物乳杆菌发酵产生醛、酯类相对含量多，其中亚麻酸甲酯、糠醛、丁烯腈最多，植物乳杆菌和肠膜明串珠菌强化发酵组中都未产生吡嗪、呱嗪、呋喃、吡咯等，这与发酵菌种密切相关。

4 种处理中肠膜明串珠菌和植物乳杆菌发酵的挥发性种类比自然发酵少，但总相对含量多，植物乳杆菌为 97.125%、肠膜明串珠菌为 95.264%、自然发酵为 92.900%、混合乳酸菌发酵为 86.945%。

3 结 论

采用气相色谱 - 质谱联用仪分析发酵雪里蕻挥发性成分，分离鉴定出 64 种挥发性成分，其中自然发酵、肠膜明串珠菌、植物乳杆菌、混合乳酸菌处理分别为 38、33、19、39 种，强化发酵产生挥发性成分种类

没有自然发酵丰富,但某些主体成分相对含量比自然发酵高。自然发酵和混合乳酸菌发酵所得挥发性物质种类多,原因与发酵菌群复杂有关。从理化指标分析,植物乳杆菌和肠膜明串珠菌强化发酵处理组酸度适中、降解盐的能力好。综合评定为植物乳杆菌和肠膜明串珠菌强化发酵优于自然发酵;植物乳杆菌和肠膜明串珠菌强化发酵组中,以植物乳杆菌处理产生的醛、酯类相对含量最多,挥发性物质相对含量最高,VC 损失少,降低盐的能力强,品质好。

参考文献:

- [1] 汤务霞. 乳酸菌及其应用[J]. 四川食品与发酵, 2001(4): 35-39.
- [2] 陈有容, 杨凤琼. 降低腌制蔬菜亚硝酸盐含量方法的研究进展[J]. 上海水产大学学报, 2004, 13(2): 65-68.
- [3] 杨洁彬. 生物学基础及应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996, 4(1): 3-30.
- [4] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组, 译. 北京: 科学出版社, 1984: 716-719.
- [5] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 55-69.
- [6] 王晓飞. 纯种发酵及其风味物质的研究[D]. 南京: 南京工业大学, 2005: 40-65.
- [7] 罗云波, 蔡同一. 园艺产品贮藏加工学: 加工篇[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2001: 193-194.
- [8] 燕平梅, 薛文通, 张惠. 纯种发酵技术对发酵甘蓝中亚硝酸盐含量的影响[J]. 中国农业大学学报, 2007, 12(3): 70-74.
- [9] 胡书芳, 王雁萍. 乳酸菌在泡菜生产中的应用[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(21): 9275-9276.
- [10] 周光燕, 张小平, 孙桂丹. 乳酸菌对泡菜发酵过程中亚硝酸盐含量变化及泡菜质量的影响研究[J]. 西南农业学报, 2006, 19(2): 290-293.
- [11] 徐俐, 戴岳宗. 乳酸菌对酸汤挥发性物质的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 505-509.
- [12] 赵大云, 丁霄霖. 雪里蕻腌菜风味物质的研究[J]. 食品与机械, 2001, 16(2): 22-24.
- [13] 杨春哲, 冉艳红. 乳酸菌在泡菜生产中的应用[J]. 中国食物与营养, 2003(1): 10-11.