

泡菜直投复配菌中试研究

宗绪岩, 李丽, 张静, 熊俐, 罗惠波

(四川理工学院生物工程学院, 四川 自贡 643000)

摘要:为了保证口味和质量的基础上改进四川泡菜的生产工艺,利用从传统泡菜中分离、筛选出的三株乳酸菌,应用于自制的中试发酵设备中进行复配试验。通过正交试验、感官评价等试验方法获得试验结果,然后采用二次多项式逐步回归方法构建数学模型对验证试验样品进行了理化分析。试验结果表明:三株乳酸菌对于产品的感官品质的影响顺序分别为 ZL116 > ZL146 > ZL207。从得到的数学模型分析可以进一步判定三株乳酸菌间没有拮抗关系,有一定的促进作用,最优的复配比例为 $[ZL116] = 1E5.8$, $[ZL146] = 1E5.2$, $[ZL207] = 1E5.1$ 。进行验证试验后,验证试验结果与预测值偏差较小,样品理化指标符合国家相应标准。

关键词:泡菜;中试设备;感官评价;菌种复配

中图分类号:TS255.54

文献标志码:A

引言

泡菜是通过乳酸菌作为主要微生物经发酵制得的传统蔬菜食品^[1-2]。乳酸菌及其发酵过程中产生的 B 族维生素对人体具有很大益处^[3-4],产生的代谢产物具有提高免疫力、降低血脂、降低胆固醇、抗氧化及通便等作用^[5-6]。四川是泡菜生产大省,其年产值已超过百亿^[7],拥有上百家产值 1000 万以上的泡菜加工企业^[8]。但目前加工方法大多采用自然方式发酵,发酵周期长,工业化与标准化程度较低,而且亚硝酸盐含量高^[9-11]。针对以上问题,选择了从四川泡菜中分离出的几株优质乳酸菌,在自制的中试发酵设备上进行试验,采用数学方法研究其工艺,并建立数学模型,用于指导生产。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

乳酸菌(ZL116、ZL146 和 ZL207),由四川理工学院

微生物实验室从泡菜中分离、保存;泡菜盐,市售。

氢氧化钠、亚铁氰化钾、乙酸锌、冰醋酸、硼酸钠、盐酸、氨水、对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺、亚硝酸钠,均为分析纯。

泡菜发酵中试设备(自制),匀浆机(德国 IKA 公司 T18),pH 计(德国 Sartorius 公司 PB-10),电位滴定仪(瑞士 Metrohm 公司 877 Titrino plus),分光光度计(美国 PE 公司 Lamda35)。

1.2 感官评定方法

感官评价标准:根据产品的色泽、香味、酸度、盐度、脆度,参考表 1 标准,选择专业人士组成 9 人评定小组进行感官评价。

1.3 正交试验设计

在传统发酵泡菜中分离出多株微生物菌种,选择出发酵效果最好的三株菌进行试验,各菌种分别选择四个浓度,以菌种浓度的自然对数为试验水平,进行复配菌种的正交试验(表 2)。

收稿日期:2016-06-14

基金项目:固态酿造关键技术研究四川省院士(专家)工作站开放基金项目(GY2014-01);四川省教育厅川菜发展研究中心科技项目(CC13Z05);四川理工学院科研项目(2014RC10)

作者简介:宗绪岩(1976-),男,黑龙江哈尔滨人,副教授,博士,主要从事发酵过程控制方面的研究,(E-mail)suse62651@139.com

表 1 感官评分标准

因素	好	一般	略差	极差
酸度 (25 分)	酸味适中 (20~25 分)	酸味较浓 或较淡 (14~19 分)	酸味过浓 或过淡 (8~13 分)	无酸味或酸味 无法接受 (1~7 分)
盐度 (15 分)	咸度适中 (12~15 分)	咸度略高 或略低 (8~11 分)	咸味偏高 或偏低 (4~7 分)	过咸或 无咸味 (1~3 分)
香味 (20 分)	浓郁的 发酵清香 (16~20 分)	较淡的 发酵清香 (11~15 分)	蔬菜的 生青味 (6~10 分)	有异味 (1~5 分)
脆度 (20 分)	良好 (16~20 分)	较好 (11~15 分)	一般 (6~10 分)	差 (1~5 分)
色泽 (20 分)	微黄透明 (16~20 分)	棕黄透明 (11~15 分)	土黄透明 (6~10 分)	深土黄浑浊 (1~5 分)

表 2 正交试验因素水平表

水平	Lg [ZL116]	Lg [ZL146]	Lg [ZL207]
1	7	7	7
2	6	6	6
3	5	5	5
4	4	4	4

1.4 数学模型构建

使用 DPS 数据处理软件,采用二次多项式逐步回归分析方法进行数据拟合,对正交试验结果进行数学模型构建。使用 Matlab 软件对得到的模型绘制响应面,并进行分析。

1.5 泡菜理化指标分析

pH 值的测定:按照 GB 10468 - 1989《水果和蔬菜产品 pH 值的测定方法》测定^[12]。

酸度的测定:按照 GB/T 12456 - 2008《食品中总酸的测定》中酸碱滴定法测定,结果以乳酸计^[13]。

盐度的测定:按照 GB/T 12457 - 2008《食品中氯化钠的测定》中电位滴定法进行测定,结果以氯化钠计^[14]。

亚硝酸盐含量的测定:按照 GB 5009.33 - 2010《食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》中分光光度法测定,结果以亚硝酸钠计^[15]。

2 结果与分析

2.1 菌种复配对产品感官的正交试验

根据泡菜中分离出的微生物菌种的发酵性能,选择了三株发酵效果最好的微生物进行正交试验,以其接种浓度的自然对数为试验水平,选择了三个因素,各因素选择四个水平,选择正交表 $L_{16}(4^3)$ 进行试验,以感官评价为考核指标(Y),其结果见表 3。

表 3 正交试验结果

No.	X1	X2	X3	Y
1	7	7	7	51.84
2	6	6	6	88.36
3	5	5	5	92.84
4	4	4	4	59.21
5	7	6	5	81.75
6	6	7	4	72.58
7	5	4	7	66.15
8	4	5	6	70.64
9	7	5	4	81.39
10	6	4	5	91.12
11	5	7	6	68.05
12	4	6	7	53.47
13	7	4	6	72.53
14	6	5	7	85.17
15	5	6	4	78.84
16	4	7	5	56.47
K1	287.51	248.94	256.63	
K2	337.23	302.42	299.58	
K3	305.88	330.04	322.18	
K4	239.79	289.01	292.02	
R	97.44	81.10	65.55	

该三株微生物所属种属和发酵特性不同。其中 ZL116 和 ZL146 属于乳杆菌属,但其产酸速率和产香不同,ZL116 产酸更快,但产香较少,ZL146 产酸慢,产香多。ZL207 属于链球菌属;其产香特性与其他两株菌不同,且该菌株对其他两株菌具有促进作用。

正交试验结果可知,在使用三种菌进行复配发酵时各菌对于制得泡菜的感官品质的影响顺序为 ZL116 > ZL146 > ZL207。

2.2 菌种复配的数学模型构建

根据正交试验得到的数据,使用 DPS 数据处理软件进行二次多项式逐步回归数据拟合。

$$Y = - 425.51 + 86.23 * X1 + 60.92 * X2 + 44.80 * X3 - 7.36 * X1^2 - 5.91 * X2^2 - 4.48 * X3^2 - 0.172 * X1 * X2 + 0.237 * X2 * X3$$

该模型的相关系数 $R = 0.9879$,其 F 值 = 35.55, p - 值 = 0.0001,模型中各因素的方差分析见表 4。计算出的最优组合为 $X1 = 5.80, X2 = 5.18, X3 = 5.13$ 时,最佳的感官得分可以到达 $Y = 97.18$ 。

表 4 数学模型的方差分析

	Deviation	t	p
$r(y, X1)$	0.9512	8.1535	0.0001
$r(y, X2)$	0.9258	6.4786	0.0002
$r(y, X3)$	0.8481	4.2359	0.0029
$r(y, X1 * X1)$	-0.9578	8.8124	0.0001
$r(y, X2 * X2)$	-0.9473	7.8247	0.0001
$r(y, X3 * X3)$	-0.8971	5.3708	0.0007
$r(y, X1 * X2)$	-0.0908	0.2412	0.8155
$r(y, X2 * X3)$	0.1245	0.3319	0.7485

2.3 模型的响应面分析

使用 MatLAB 数学软件对得到的数学模型进行响应面绘制,如图 1 所示。

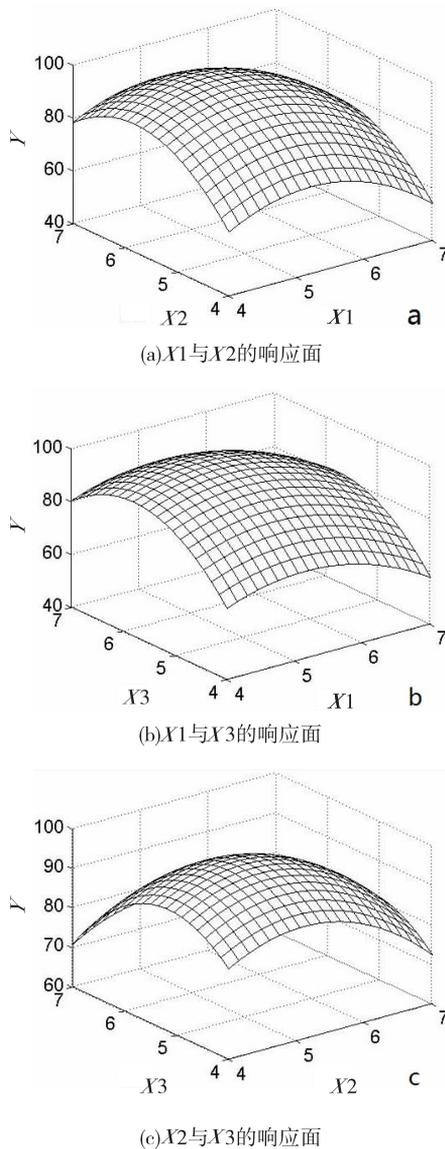


图 1 数学模型的响应面

从响应曲面图 1 可知,当其他因素固定不变时,任何一个菌种添加量的增加都会使得产品感官指标呈现先增加后下降的趋势,因此可以初步判定三株菌之间没有明显的拮抗关系,并具有一定程度的相互促进作用。

2.4 验证试验及其理化分析

按照模型计算出的最佳条件,选择 $[ZL116] = 1E5.8$, $[ZL146] = 1E5.2$, $[ZL207] = 1E5.1$ 进行复配发酵验证,经过 7 d 的发酵,其感官评分为 95.24,与预测值的偏差为 2.04%。由于微生物计数只是相对的数量,而且细菌计数需要培养时间,所以实际数量是凭经验估计的,验证试验时其菌种浓度与理论要求可能存在差

异,而 2.04% 的偏差几乎可以忽略,因此可以认为该模型能够极好的反应实际情况。

将验证试验得到的样品放入匀浆机中匀浆,滤纸过滤,进行滤液理化指标分析,结果为泡菜样品的 pH 值为 3.52,酸度(以乳酸计)为 0.81 g/100g,盐度(以氯化钠计)为 12.03%,亚硝酸盐(以亚硝酸钠计)为 3.84 mg/kg,该值远低于 GB 2762-2012《食品安全国家标准 食品中污染物限量》^[16]中规定的腌渍蔬菜中亚硝酸盐(以亚硝酸钠计)限量 20 mg/kg 的标准。

3 结束语

将传统四川泡菜中分离出的三株优势菌作为因素,以其添加量作为水平,设计正交试验,经极差分析确定三株菌对泡菜感官品质的影响顺序为 ZL116 > ZL146 > ZL207,使用二次多项式逐步回归方法对正交试验的结果进行数学拟合,绘制了相应面曲线图,初步判定三株菌之间没有拮抗作用,且具有一定相互促进作用,经计算三株菌最优的添加量为 $[ZL116] = 1E5.8$, $[ZL146] = 1E5.2$, $[ZL207] = 1E5.1$,验证试验样品的感官评分为 95.24,与预测值存在 2% 的偏差,验证试验样品的 pH 值为 3.52,酸度为 0.81 g/100g,盐度为 12.03%,亚硝酸盐含量为 3.84 mg/kg,符合国家标准。

参考文献:

- [1] LI X, NING Y, LIU D, et al. Metabolic mechanism of phenyllactic acid naturally occurring in Chinese pickles[J]. Food Chemistry, 2015, 186: 265-270.
- [2] SUNG C, PENG L. Educational Research and Experience Design of Taiwanese Traditional Pickles' Visualization[J]. Procedia-Social and Behavioral Sciences, 2014, 112: 348-356.
- [3] XI X, FAN J, HOU Y, et al. Characterization of three cryptic plasmids from Lactobacillus plantarum G63 that was isolated from Chinese pickle[J]. Plasmid, 2013, 70(3): 321-328.
- [4] 巨晓英, 韩焯, 周志江. 自然发酵泡菜中乳酸菌的分离鉴定[J]. 食品与机械, 2008, 24(5): 29-31.
- [5] 赵立彬, 刘凌, 童军茂, 等. 泡菜乳酸菌筛选鉴别及耐受性和促益生菌增殖的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(10): 28-31.
- [6] 卢翰, 苏爱军, 谭兴和. 辣椒酱发酵工艺研究[J]. 食品

- 与机械,2006,22(3):126-129.
- [7] 网易新闻.131.8亿元东坡泡菜产值再创新高[EB/OL].[2016-06-03].<http://news.163.com/15/1223/01/BBG0FFDA00014Q4P.html>.
- [8] 食品商务网.四川泡菜产品专题[EB/OL].[2016-06-03].<http://www.21food.cn/zhuanti/chanpin-658.html>.
- [9] ZHANG M,HUANG D,CAO Z,et al.Determination of trace nitrite in pickled food with a nano-composite electrode by electrodepositing ZnO and Pt nanoparticles on MWCNTs substrate[J]. LWT-Food Science and Technology,2015,64(2):663-670.
- [10] HOU J,JIANG C,LONG Z.Nitrite level of pickled vegetables in Northeast China [J]. Food Control, 2013,29(1):7-10.
- [11] 范丽平,任国平,张学兵,等.接菌发酵泡菜品质分析[J].食品与机械,2012,28(5):55-58.
- [12] GB 10468-1989,水果和蔬菜产品 pH 值的测定方法[S].
- [13] GB/T 12456-2008,食品中总酸的测定[S].
- [14] GB/T 12457-2008,食品中氯化钠的测定[S].
- [15] GB 5009.33-2010,食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S].
- [16] GB 2762-2012,食品安全国家标准 食品中污染物限量[S].

Studies on the Direct Compound Fermentation Agents of Pickles in Pilot Scale Test

ZONG Xuyan, LI Li, ZHANG Jing, XIONG Li, LUO Huibo

(School of Bioengineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract: To promote the process of producing Sichuan pickles, three strains of lactic bacteria were used in pilot scale test with self-made devices. It was used to construct the math model with orthogonal test, sensory evaluation and quadratic polynomial stepwise regression. Verification test and physicochemical analysis were done for the validation test sample. The results showed, the order of that three strains influence the sensory evaluation of pickles are ZL116 > ZL146 > ZL207. It can be determined preliminarily that three lactobacilli have no antagonistic, but promotion. The best proportion of complex is [ZL116] = 1E5. 8, [ZL146] = 1E5. 2, [ZL207] = 1E5. 1. It is small deviation between verification test results and predicted value. Physical and chemical test indicators of the verification sample are accord with standards.

Key words: pickles; pilot scale test; sensory evaluation; strains remixed