

天津冬菜发酵技术的研究

武晋海 著



山西科学技术出版社



天津冬菜发酵技术的研究

武晋海 编著

山西出版传媒集团
山西科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

天津冬菜发酵技术的研究/武晋海编著. —太原: 山西科学技术出版社, 2016. 5

ISBN 978 - 7 - 5377 - 5317 - 3

I. ①天… II. ①武… III. ①白菜—发酵—蔬菜加工 IV. ①S634. 309

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 095882 号

天津冬菜发酵技术的研究

出 版 人: 张金柱

编 著: 武晋海

责 任 编 辑: 王保彦

责 任 发 行: 阎文凯

封 面 设 计: 杨宇光

出 版 发 行: 山西出版传媒集团·山西科学技术出版社

地址: 太原市建设南路 21 号 邮编: 030012

编辑部电话: 0351 - 4922061

发 行 电 话: 0351 - 4922121

经 销: 各地新华书店

印 刷: 山西人民印刷有限责任公司

网 址: www.sxkjschs.com

微 信: sxkjebcs

开 本: 787mm × 1092mm 1/16 印张: 6.25

字 数: 135 千字

版 次: 2016 年 5 月第 1 版 2016 年 5 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978 - 7 - 5377 - 5317 - 3

定 价: 22.00 元

本社常年法律顾问: 王葆柯

如发现印、装质量问题, 影响阅读, 请与发行部联系调换。

前 言

天津冬菜是一种以大白菜、大蒜为主要原料，经特定传统工艺加工而成的发酵型腌渍菜，其原理是在自然条件下，微生物利用原料中的营养成分进行发酵，结合盐、酸等的渗透作用，形成具有一定色泽与风味的产品。随着现代发酵工程技术的发展，克服传统冬菜开放式加工造成的有害微生物污染、质量不稳定、生产周期长等缺点，提高传统冬菜产品品质，缩短生产周期，并实现标准化、规模化生产将成为可能。

本书分析了自然发酵（腌渍）天津冬菜不同时期的菌相变化，并对发酵体系有益菌株进行了分离、鉴定及培养条件优化；在保护剂存在的条件下，利用真空冷冻干燥技术对高密度培养的有益菌株进行了脱水加工研究，菌株存活率达到 80% 以上。同时，采用 HS-SPME 法萃取取样和乙醚萃取法处理样品，利用色谱-质谱技术对天津冬菜挥发性组分和非挥发组分进行分析，明确了天津冬菜风味构成体系。在此基础上，利用现代色谱及其他仪器分析技术研究了原料在添加有益菌纯种制剂进行固态纯种发酵、固态强化发酵、半固态纯种发酵、半固态强化发酵加工，对所获得加工样品的营养及抗营养成分变化进行了比较研究。

针对目前中国腌渍菜生产和产品品质存在的实际问题，通过对天津腌渍冬菜加工全过程的危害分析，确定出 6 个主要关键控制点，分别是原料、辅料的选料、盐水配制、乳酸发酵、密封杀菌、环境卫生消毒。生产过程的 14 个环节有危害因素，经危险级别评估统计：高度危险（+++）6 个，中度危险（++）2 个，低度危险（+）6 个，并制定出 CCP（关键控制点）的临界值和监测程序，形成了天津腌渍菜类加工生产的 HACCP 体系。

本书在编写过程中得到了天津科技大学王昌禄教授，以及陈勉华老师、王玉荣老师的大力支持和帮助。同时也参考了国内外许多作者的著作和文章，在本书出版之际谨向他们表示诚挚的谢意！

限于作者的水平和能力，本书中如有不足和错漏之处，敬请同行、专家和广大读者批评指正。

目 录

第一章 绪论	1
1.1 天津冬菜简介	1
1.2 腌渍菜生产消费现状	2
1.3 腌渍菜营养与质量安全	2
1.4 腌渍菜研究现状	4
1.5 腌渍菜发酵工艺控制国内外研究现状	6
1.6 腌渍菜传统工艺中的腐败现象	7
1.7 腌渍菜风味物质国内外研究现状	7
第二章 天津冬菜传统加工工艺中的微生物研究	10
2.1 引言	10
2.2 实验材料	11
2.3 实验方法	14
2.4 结果与讨论	16
2.5 本章小结	31
第三章 天津冬菜中风味物质的研究	33
3.1 引言	33
3.2 实验材料	34
3.3 实验方法	34
3.4 结果与讨论	35
3.5 本章小结	38
第四章 天津冬菜发酵剂制备技术	39
4.1 引言	39
4.2 实验材料	41
4.3 实验方法	42
4.4 结果与讨论	46
4.5 本章小结	61
第五章 天津冬菜新型发酵方式的研究	63
5.1 引言	63
5.2 实验材料	63

5.3	实验方法	64
5.4	结果与讨论	65
5.5	本章小结	68
第六章	天津冬菜控制发酵工艺条件的优化	69
6.1	引言	69
6.2	实验材料	69
6.3	实验方法	70
6.4	结果与讨论	71
6.5	本章小结	83
第七章	腌渍菜产业 HACCP 卫生质量控制体系的建立	84
7.1	引言	84
7.2	HACCP (Hazard Analysis And Critical Control Point) 体系规范简介	86
7.3	中国腌渍菜产品质量方面存在的一些问题	87
7.4	天津腌渍菜类产品加工一般工艺流程:	87
7.5	天津腌渍菜产业示范 HACCP 卫生质量控制体系的建立步骤	87
7.6	讨论	90
7.7	本章小结	91

第一章 绪论

1.1 天津冬菜简介

“天津冬菜”是我国唯一以大白菜为主要原料进行深加工出口的创汇产品，在国内外享有很高声誉。天津市静海县运河两岸独特的地理位置和当地生产的青麻叶白菜、六瓣蒜是“天津冬菜”在世界上久负盛名的重要原因，2003年静海县生产“天津冬菜”6000t，80%用于出口，年耗用大白菜6万t，大蒜近1万t。

冬菜作为腌渍蔬菜的一种，是我国北方的特产腌渍菜，“天津冬菜”更是我国的四大咸菜之一。冬菜是传统的具有地域色彩的腌渍菜，虽然深受广大消费者欢迎，但对其所进行的基础科学研究却非常有限，系统而全面的应用研究更是没有，多数生产工艺采用传统的手工操作，产品质量不稳定。而且，冬菜的产品特色各异，对不同产地的所有产品进行系统研究也不现实，因此，为保证名牌产品质量和食品安全，扩大市场份额，满足消费者要求，必须尽快实现产业化、标准化生产和规模化经营，采用现代化设备、高新技术工艺、规范化管理，生产具有传统风味的名牌产品。

国际上对“天津冬菜”的需求量不断加大，国际市场每年需求量在50万t左右，内需也在70万t左右，目前的生产远远不能满足国际、国内两大市场的需求。但是，其加工工艺落后、没有产品国际标准、产品规模小、产业化程度低等问题，严重地影响了“天津冬菜”的出口和国际市场竞争力。

自然发酵是冬菜腌渍的主要工序，模拟自然发酵的工业发酵技术是实现冬菜产业化发展的重要一步，因此，加大用现代生产技术对“天津冬菜”的传统技术进行改造，开发系列“天津冬菜”产品是实现农业现代化的需要。实现产业化必须按照从原料到最终产品的产业一体化的发展要求进行研究和建设，要全面推进加工产业的升级，形成具有核心竞争力的产业体系。具体来讲有以下内容：

(1) 做好原料基地的建设、研究和发 展加工专用原料的品种和生产技术，实现原料的规格化、标准化生产。

(2) 用现代高新技术对传统生产工艺和设备进行改造和创新，实现工业化和标准化生产，提高产品加工的工艺和技术装备水平。

(3) 研究开发新产品，适应满足市场的需求，提升企业的科技创新能力，保持企业持续发展的后劲。

(4) 提高企业的科学管理水平, 尤其要加强从原料到产品的质量管理, 建立和实施 HACCP 等质量管理体系和标准, 与国际接轨, 满足国际市场的要求。

国内外市场每年腌渍菜的需求量在不断增加, 对产品质量要求越来越严格, 我们必须不断地研究开发适应国际市场要求、迎合不同消费群体消费习惯的产品。

天津冬菜现代化加工关键技术 in 冬菜行业中的应用与推广, 不但可以大大提高冬菜产业的现代化水平, 提高产品的技术含量, 更可以加快蔬菜加工企业现代产业化建设, 并为其他腌渍菜生产企业提供示范和借鉴, 推动蔬菜产业的产业化发展, 实现农业增效, 农民增收。

本书是用高科技手段生产腌渍菜的有益尝试。传统生产方式本是一家一户手工生产, 是自给自足型的小生产。进行批量化、规模化、标准化生产, 不仅可以降低成本, 而且能够迅速占领市场。一般来说, 打开国际市场, 尤其是占领国际市场, 产品不上规模、生产标准不统一, 特别是传统菜, 不可能取得消费者的认可。要消除人们想吃泡菜, 但又怯于“腌渍”食品不宜多吃的戒心, 就要提高“腌渍菜”的科技含量。一旦有了科学解释, 就撤去了这道无形的“墙”, 为人们的腌渍菜消费找到科学的依据。

1.2 腌渍菜生产消费现状

欧洲发酵蔬菜制品的规模在 1985 年为 51 万 t 橄榄、22 万 t 卷心菜 (15℃ 自然发酵 14d, 在 5~6℃ 贮存) 和 4.5 万 t 腌黄瓜。1999 年韩国国内泡菜市场产值约为 16.7 亿美元。1998 年日本泡菜生产量达 18 万 t, 产值为 13 亿美元, 在国际市场上日韩两国占据了 95% 以上的份额。欧洲, 北美和韩国生产的具有重要经济价值的蔬菜主要有橄榄和黄瓜, 具有次要经济价值的蔬菜种类较多, 如洋蓟、圆头菜、胡萝卜、花椰菜、绿色番茄、朝鲜泡菜、甜瓜、甜辣椒、芹菜、茄子等。

2000 年, 中国泡菜工业的市场销售额约为 10 亿元, 中国泡菜的代表之一——四川泡菜企业出口总额约 500 万美元, 仅占国际泡菜市场总量的 3%。近年来, 在江浙一带已有一些加工厂在传统工艺基础上大规模生产盐腌雪里红, 加工出口已形成批量, 其中仅上海雪里红咸菜就出口远销中国香港、日本、新加坡等地, 20 世纪 80 年代末年出口量统计在 500t 以上。目前, 各种白菜、卷心菜、甜菜、萝卜、黄瓜、青番茄、辣椒、青豆、菜豆等, 都可用于加工腌渍菜, 并可根椐市场需求, 将腌渍菜制成适酸味、酸甜味、酸辣味、麻辣味等不同风味的产品。

1.3 腌渍菜营养与质量安全

腌渍菜属乳酸菌发酵食品, 是我国传统的一种发酵性腌渍品, 以其独特的鲜、嫩、脆特色而风靡国内外。长期以来, 我国人民在生活实践中创造了各种各样的腌渍方法, 其腌渍工艺大致相同, 但制品风味各异, 咸、甜、酸、辣应有尽有。不同种类的蔬菜

发酵方法略有不同，古代的基本方法都是先用盐水洗菜，菜入瓮后加盐，在菜上加上重物以利发酵，再加热米汤浸泡发酵。一般秋末腌制，蔬菜可保存到翌年春末。现代的腌渍菜制法，原理上基本与古代类似，但更加卫生，因为掌握了微生物学原理，比较容易保证产品的质量。

人们在享受腌渍菜美味的同时，更关注腌渍菜的营养与保健作用。长期以来，科研工作者都致力于改进传统的工艺条件，力求使腌渍菜的质量进一步提高，使泡制过程中产生的有害物质降低到最低限度。二十多年前，曾经在癌症高发区的酸菜中发现致癌物质，使不少人害怕吃酸菜，经过分析，致癌物主要是亚硝酸盐和某些霉菌毒素。如果在腌渍时选择新鲜蔬菜，并且洗净器皿，注意卫生，致癌物是可以避免的。如果在酸菜缸里发现含有白毛或绿毛，那就可能长有霉菌，有些霉菌会产生霉菌毒素，这些酸菜就不应该食用了。现代规模化生产，卫生条件基本可以保证，国外还采用接种乳酸菌的方法生产，产生致癌物的可能性应该是极小的。

腌渍菜的营养成分按原料的不同有所不同，除钠外，主要含有钙、铁、磷、铜等成分，动物性原料中含有氨基酸和蛋白质；植物性原料中含有丰富的维生素 B₁ 和纤维素。腌渍菜的各种营养成分对于各种心血管疾病，缺铁性贫血，免疫力低下和肠道疾病具有一定的预防效果。

自然发酵型腌渍菜产品存在很多不足和腐败问题，如圆头菜失色，失酸，口味寡淡，有异味（霉味，酵母味和酸臭味），发黏，变软，有时呈粉红色；本书中对天津冬菜中风味物质进行有效分离；并进一步利用柱层析将提取物分成不同组分，利用 GC-MS, MS, HPLC 对各组分成分进行鉴定；探索已分离组分的生物学特性，为腌渍菜的安全性和保健性提供理论依据。

国内腌渍菜企业多采用自然发酵工艺，该工艺的弊端，有人将之归纳为：发酵周期相对较长，生产力低下；受卫生条件、生产季节和用盐量影响，发酵易失败；发酵质量不稳定，不利于工厂化、规模化及标准化生产；沿用老泡渍盐水的传统工艺，难以实现大规模的工业化生产；异地生产，难以保证产品的一致性；亚硝酸盐、食盐含量高，安全性差。传统工艺利用开放式接种，形成微生物的大量聚集，达到蔬菜腌渍所需的微生物群系，同时增加了有害微生物污染的可能性。随着人们食品安全意识的提高，传统工艺的不足日益突显，诸如劳动强度大，生产中卫生条件不合格，为抑制有害微生物生长，加入的防腐剂超标，腌渍周期过长，难以进行低盐发酵等。现代食品要求营养、安全、美味。但在传统泡菜制作过程中如果控制不当，硝酸盐还原菌便可将菜体中的硝酸盐还原成亚硝酸盐。亚硝酸盐一方面可以直接危害人体健康，另一方面还可与蛋白质分解产物二级胺、三级胺结合生成具有致癌作用的亚硝胺。传统蔬菜腌渍中的高盐及腌渍中形成的亚硝酸盐及其衍生物对人的健康提出了严重的挑战。自从医学卫生界关于腌渍菜中含有亚硝酸盐、亚硝胺以及我国一些地区食道癌研究报道相继发表以后，不少学者认为腌渍菜和发霉食物中的亚硝胺是诱发食道癌的病因，此报道引起人们对腌渍菜致癌问题的极大关注，也引起广大的消费者对腌渍菜的过度

恐慌。泡菜应具有良好的脆度和色泽。但泡菜在腌渍过程中常常出现软化、变色、生膜、发黏等现象。

软化是泡菜最常见的质量问题。导致软化的主要因子是细胞壁中原果胶的变化,其机理是原果胶在果胶分解酶的作用下分解成果胶或果胶酸,从而使泡菜软化,果胶分解酶广泛地存在于蔬菜原料和某些微生物中。其次,细胞的膨压变化和蔬菜本身的组织结构也是影响泡菜软化的因素。泡菜变色主要是叶绿素在酸性条件下生成脱镁叶绿素所致。此外,酶褐变和某些杂菌如粉红色酵母感染也会使泡菜颜色改变。泡菜生膜是由于腌渍过程中密封不严,某些耐盐耐酸的好气性微生物(如日本假丝酵母等产膜酵母菌)生长繁殖所致。预防生膜的关键在于保持厌氧环境并注意卫生。

1.4 腌渍菜研究现状

近年来,在腌渍菜优势菌产生的风味物质鉴定及其发酵过程中造成的安全性问题研究报道比较多,这些研究主要以不同地方风味或已形成地方特色的腌渍菜为研究材料,这方面的研究工作主要是利用现代先进的检测技术实现发酵产物的在线或离线检测,实现发酵产物的定性和相对定量分析,但人工菌剂控制发酵及相应的安全性研究方面近年来少有报道。在传统腌渍菜发酵工艺过程中,在一定外界条件下,使各不同生物群系通过形成生态优势,实现有益菌发酵产品,但在这个过程中,往往产生有害物质并造成发酵产品品质的不稳定,甚至在一定情况下使产品品质恶化,给生产安全和食品安全造成影响。

1.4.1 腌渍菜微生物学国内外研究现状

早在20世纪初,人们已开始研究蔬菜发酵中的微生物学,在过去一段时期内,发酵蔬菜的工业化生产几乎没有什么变化。随着卤水造成的环境问题的日益严重,人们除了对发酵工艺关注外,使用选育菌株控制发酵过程,提高产品稳定性也成了不可忽视的一个方面。

1.4.1.1 细菌

新鲜蔬菜上占优势的微生物是革兰氏阴性好氧菌和酵母菌,而生产初期,乳酸菌的数量较少。在缺氧、湿润的条件下,当盐浓度和温度适当时,乳酸菌的生长则处于优势,大多数蔬菜或蔬菜汁都要经历乳酸发酵阶段。

在发酵早期,由于盐的添加,使革兰氏阴性菌受到抑制,以后随着有机酸的快速产生,革兰氏阴性的生长进一步受到抑制。

研究发现,在蔬菜的起始发酵和主发酵阶段,占优势的有益细菌包括肠膜明串珠菌、短乳杆菌、啤酒片球菌、植物乳杆菌、保加利亚乳杆菌以及粪链球菌等。

表 1-1 发酵蔬菜中产生乳酸的主要菌株

乳酸菌	发酵类型	主要产物	乳酸盐类型
粪链球菌	同型发酵	乳酸盐	L (+)
保加利亚乳杆菌	同型发酵	乳酸盐	L (+)
短乳杆菌	异型发酵	乳酸盐, 醋酸盐, CO ₂	DL
植物乳杆菌	同型发酵	乳酸盐	D (-), L (+), DL
植物乳杆菌	异型发酵	乳酸盐, 醋酸盐	D (-), L (+), DL
乳酸乳球菌	同型发酵	乳酸盐	L (+)
肠膜明串珠菌	异型发酵	乳酸盐, 醋酸盐, CO ₂	D (-)
戊糖片球菌	同型发酵	乳酸盐	DL, L (+)

细菌素是细菌生产的一种抗菌多肽或蛋白, 它可以抑制相关细菌的菌种和菌株。乳酸菌是用于生产细菌素的典型菌, 其细菌素抑菌范围有大有小。从有关自然发酵蔬菜中分离得到的产细菌素的乳酸菌的文献中可看出抗菌蛋白在传统发酵食品中的重要性。

1.4.1.2 酵母菌

腌渍发酵期间酵母是较为活跃的菌类之一。一些表面的或深层发酵的酵母生活在腌渍菜的盐水中或蔬菜上, 在利用可发酵的碳水化合物发酵期间对蔬菜发酵起着有益的作用, 直至环境中的可发酵碳水化合物被耗尽为止。

工业化生产发酵蔬菜的过程中主要出现的酵母菌有: 易变酒香酵母、球形酒香酵母、异常汉逊酵母、霍尔姆球拟酵母、克鲁斯丝酵母、罗斯酵母、亚膜汉逊酵母等。

1.4.1.3 霉菌

对蔬菜中的果胶分解能力强的霉菌, 可引起发酵蔬菜组织的软化和严重的腐败现象的发生。蔬菜发酵期间主要的有害霉菌有: 灰绿曲霉、草酸青霉、细链格孢霉、芽枝状枝孢、黄瓜壳二孢、粉红镰刀菌、尖孢镰刀菌、腐皮镰刀菌以及串珠镰刀菌等。

1.4.2 腌渍菜发酵中的主要代谢产物

在传统工艺蔬菜腌渍中, 乳酸菌是发酵的主体。环境中的乳酸菌可同时进行同型乳酸发酵和异型乳酸发酵, 前者代谢产物是乳酸, 后者代谢产物除乳酸外, 还有乙酸、乙醇、甘露醇、葡聚糖、CO₂ 以及极少量的其他产物。

酒香酒母在大多数蔬菜发酵前期较为活跃, 主要的代谢产物是乙醇及相关酯类, 使发酵后的蔬菜具有一定的酯香和醇香。在发酵中、后期数量较少, 基本生活在酸盐中, 对腌渍菜风味起一定的作用。

1.5 腌渍菜发酵工艺控制国内外研究现状

干腌法是将预处理好的蔬菜按层放入，逐层加盐，然后将发酵容器密封即可；盐水法腌渍时，是将少量配制好的盐水放入容器中，然后放入全部蔬菜，将剩余的盐水缓缓加入，最后加盖密封。研究发现，在蔬菜发酵过程中，盐的使用量通常以2%~6%较为合适，泡菜类一般为2%~3%。处于临界食盐浓度时，如果提供适宜的发酵条件，环境中的乳酸菌将迅速繁殖，并产生足量的乳酸。食盐与乳酸的联合作用，可有效地阻止有害微生物对发酵蔬菜的侵染。研究发现，高浓度的食盐溶液（10%~16%）有助于酵母菌的生长，而低浓度的食盐溶液（3%~6%）则有助于乳酸菌的生长。理想的发酵温度为18~20℃，这对于提高腌渍菜的风味是有益的。但发酵温度不宜过高，否则将导致渍菜酸涩味过高而影响其应有的天然风味。纯菌种发酵在20世纪90年代进行了大量研究，但至今少有工业生产的成功实例。研究发现，在发酵前加入同型和异型乳酸菌进行发酵培养，可以有效改变自然发酵的过程；植物乳杆菌因其较高的耐酸和耐盐（8%以上）的特点，可以完成蔬菜发酵的全部过程。

1.5.1 SauerKraut 发酵中的微生物

SauerKraut（酸菜，德文译为圆头白菜）。在其自然发酵过程中，当加入的盐水将圆白菜干浸入盐水中时，就进入了微生物发酵阶段。最初为异型发酵或产气发酵阶段，在产气阶段，异型乳酸菌代谢圆白菜中的糖分（葡萄糖，果糖，蔗糖）产生乳酸，醋酸和CO₂。然后是同型或不产气阶段。发酵初期是肠膜明串菌的异型发酵阶段，此时它的数量最多，且生长繁殖速度快，这是因为肠膜明串珠菌比发酵液中的其他乳酸菌的世代周期要短。但是，它对酸的敏感性较强，随着发酵的进一步进行就会很快减少。随后，短乳杆菌和植物乳杆菌在发酵液中生长繁殖。在发酵的后期阶段，同型发酵植物乳杆菌利用存在的碳水化合物产生大量的乳酸，使环境pH降低。自然发酵中的微生物的消长规律对于生产具有纯正风味和口味的酸菜起到了重要作用。人们从发酵的酸菜中还分离到弯曲乳杆菌、米酒醋杆菌、粪肠球菌、融合乳杆菌和醋酸片球菌。但是，这些微生物在发酵中的作用还不清楚。

发酵产酸率和各菌种的发酵顺序还受到NaCl浓度和发酵温度的影响。研究发现，与乳杆菌或四联球菌相比，肠膜明串珠菌受高浓度盐溶液抑制程度更大。如果盐浓度过高，同型发酵会占优势，从而使异型发酵过程缩短，使乳酸含量增大，破坏产品的颜色，风味和组成。当盐浓度高于正常值时，啤酒片球菌和粪链球菌也会生长。研究还发现，酸菜在低温下（7.5℃）也能发酵。肠膜明串珠菌比其他发酵菌株的最适生长温度低。

圆头白菜的发酵种子发酵。研究表明，使用发酵种子进行发酵比生产中仅依靠天然微生物生产的产品质量要好。但是使用发酵种子，有两个方面需要注意，一是如何

保证不同微生物群系在生产中的发酵顺序，二是要求对原料进行巴氏灭菌。人们已对前者进行了大量的研究。

1.6 腌渍菜传统工艺中的腐败现象

软化、产气性膨胀以及变色是发酵蔬菜常见的腐败问题。发酵蔬菜的软化大多由蔬菜或微生物的酶、食盐用量不足、酵母菌和霉菌在渍菜表面过量生长等引起。研究人员发现，大多数发酵蔬菜控制食盐量为2%~6%，即可阻止适当的渍菜软化。人们也曾讨论了有效控制蔬菜发酵过程中的果胶酶产生菌的生长方法，如蔬菜在发酵前充分洗净，发酵约36h将盐水倒出，再换新的无盐水和适量的氯化钙，即可一定程度上防止渍菜的软化。

蔬菜发酵过程中环境中的氮气和发酵产生的二氧化碳气体，会使环境产生一定的气压，这些气体进入蔬菜组织后，将造成发酵蔬菜的膨胀而导致其发生产气性腐败。研究发现，当环境中的盐浓度低于3%，pH值高于5.8时，产气性细菌尤其是大肠杆菌、异型发酵的乳酸菌以及酵母菌等会迅速生长繁殖。

变色、异味和异臭是蔬菜发酵过程中出现的另一些变质问题。通常短乳杆菌能引起发酵蔬菜产生粉红色至褐色斑点，粉红色酵母、禾谷镰刀菌等会使发酵蔬菜转变成粉红色至红色。保存不当的盐水和发酵蔬菜生产中的违章操作，将导致一些氧化酵母、霉菌、丁酸菌等大量生长。

多年来，发黏或成丝现象被认为是酸菜的不足。酸菜发黏，有人认为可能是由于肠膜明串珠菌可形成葡聚糖的原因，这种葡聚糖是通过可被蔗糖诱导的葡聚糖酶作用而得到。蔗糖可分解为果糖和葡萄糖，葡萄糖可形成一条葡聚糖链，从而形成多糖。如果酸菜中蔗糖含量低，除肠膜明串珠菌外的其他菌也能利用胞外的一些其他多糖形成多糖。

1.7 腌渍菜风味物质国内外研究现状

1.7.1 食品风味物质分离，鉴定技术进展

(1) 分子蒸馏法 分子蒸馏法是从油脂中分离挥发成分的一种极好方法，如调味大料油中的挥发性香气成分即可采用 Brandt - Jensen 提取技术加以分离。实质上就是涂膜式分子蒸馏技术。整个分离过程在较低温度下进行，不会生成新的化合物，回收率达71%~114%。因此，分离出的香气浓缩物经稀释后非常接近样品原来的香气。影响回收率的因素包括油的温度和体系的真空度，油温越高，体系的真空度越大，回收率也越大。同样，也可以采用降膜式分子蒸馏技术分离调味大料油中的香气成分。

(2) 超临界流体抽提法 物质的临界状态是指其气态与液态共存的一种边缘状态。

在此状态中,液态的密度与其饱和蒸汽的密度相同,因此界面消失。这样的状态,只有在临界温度 T_e 和临界压力 P_e 下才能实现。如果温度 $T > T_e$, 并且压力 $P > P_e$ 时,物质是处于超临界状态。所谓超临界流体,就是处于这种超临界状态的流体。超临界流体抽提法既可以用来从复杂的天然产品中制备分析样品,又可应用于工业生产过程以获得新产品或提高产品质量。 CO_2 是超临界法最常用的溶剂,价廉、操作简便,尤其对亲油组分溶解性好。

(3) 超滤法 超滤装置已被用于食品风味物质的提取。在甜叶菊甙提取工艺中使用了有效膜面积为 3m^2 的 YM-200 型内压管式超滤器(磺化聚砜膜),对甜叶菊甙水浸取液进行净化处理,脱色率达 90%,去杂率为 45%,产量为 $30 \sim 35\text{L}/\text{m}^2 \cdot \text{h}$ 。在成本较低的情况下,由于除去了大量的胶体、色素、蛋白质及多糖类大分子杂质使产品质量得到提高,粗制品不潮解,深度纯化费用减少。

(4) 直接萃取法(浸提法) 根据风味物质的理化特性,选择合适的溶剂和萃取温度,可直接将风味成分从原材料中萃取出来。目前直接萃取法的使用还是非常广泛的。对虾香料就是采用乙醇/水作为溶剂进行加热提取。对虾的香味是在烹调新鲜对虾后产生的,对虾中的蛋白质、氨基酸(尤其是含硫氨基酸)、还原糖、无机盐、脂肪等组成的香味前体物质经加热后,经过一系列反应而产生了虾特有的香气,其中具有鲜味的谷氨酸、核苷酸和具有甜味的甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、甜菜碱等的含量对对虾的香味起着决定性的作用,这些物质均有较好的水溶性。此外,考虑到对虾香料若能带上虾黄素将更加完美,而虾黄素在加热后可以与蛋白质分离,并易溶于乙醇等非极性溶剂中。因此,采用乙醇/水混合溶剂加热回流浸提,便可以将对虾中的呈香、呈味、呈色物质提取出来。使用萃取法时应注意的一个问题是:用不同的萃取方法所得的风味物质成分有所不同,故对于不同的风味物质需要选择合适的萃取方法。

(5) 吸附法 该方法已用于甜茶甙的分离。国内分离纯化甜茶甙时采用的方法十分烦琐,有机溶剂消耗量大,不适于工业化生产,得率也不高。据报道,日本采用热水提取,提取液用大孔吸附树脂处理以吸附甜茶甙,解吸后的解吸液再用阴阳离子交换树脂脱盐、脱色。这种方法使用的有机溶剂少,甜茶甙的得率也大为提高(7%),并适合于工业化生产。国内也有人做了这方面的工作,甜茶甙的得率为 4.9%。

任何一种抽提方法都不应破坏风味物质,不应产生异味而掩盖原有风味。但是一般的风味物质都具热敏性,易氧化。这就要求抽提过程的条件要温和。例如,尽可能用较低的温度,抽提介质要避免与被抽提风味物质发生化学反应,避免造成污染。

(6) SPME 技术

通常分析食品风味和香料成分,用来浓缩待测样品制备方法有顶空法、吹扫捕集法、液液萃取法、固相萃取法、蒸馏萃取法和超临界流体萃取法等。这些传统方法都不同程度地存在着某些缺陷,或花费太高,或耗时过多,或使用的有机溶剂非常昂贵以及对人体造成某种潜在的危害。一种分析检测食品风味物质的新方法——固相微萃取法(SPME),正在越来越受到食品研究工作者及其他分析从业人员的普遍关注并正

在推广应用。它几乎克服了过去一些传统样品处理的所有缺点，无需有机溶剂、简单方便、测试快、费用低，集采样、萃取、浓缩、进样于一体，能够与气相色谱或液相色谱仪连用，有手动或自动两种操作方式，使得样品处理技术及分析操作简单省时。

20 世纪 90 年代发展起来的简单无溶剂 SPME 技术。该装置使用一根细的熔融石英纤维丝或在细的石英纤维丝上涂上一层具有选择性的聚合物薄膜（可以是固相，也可以是液相）来从分析基质中萃取待测物，然后将固相微萃取针管插入气相色谱的进样器内经热解吸或将取样后的固相微萃装置与气相色谱或液相色谱连用后供分析检测。纤维头上薄膜的种类依据聚合物的极性分，通常有两大类，如极性的聚丙烯酸酯或聚乙二醇，非极性的聚二甲基硅氧烷。固相微萃取可用来检测气相或液相样品甚至固态样。固相微萃取应用多见于顶空取样分析食品的挥发性风味成分。

第二章 天津冬菜传统加工工艺中的微生物研究

2.1 引言

明朝书籍记载有“其菜作菹食优良”，菹食即是配有多种调味料的腌菜，后来逐渐发展成为商品生产。清《中馈录》中已有冬菜制法的详细记载。冬菜的品种，按产地，原料和加工方法的不同，分为京（津）冬菜、仿冬菜（浙江）和川冬菜三种。京冬菜配料中，除大白菜、精盐、香料，有大蒜头碎粒的称荤冬菜（大蒜含量约15%）。天津冬菜属荤冬菜，为发酵型蔬菜。

发酵蔬菜是一种新型开发的蔬菜制品，利用不同植物原料，加一定配比混合制成的复合发酵菌剂，对原料菜进行发酵加工。与传统新产品比较，开发后的发酵蔬菜制品，既能保留传统新产品的基本特色又能使产品的质地，色泽，口感，风味，货架寿命得到明显改善，即它的感官、理化、微生物指标更具有营养、卫生、保健、安全的特点。完善发酵蔬菜加工工艺的发酵控制体系，筛选优良发酵菌株，提高传统发酵蔬菜加工的科技含量，促进传统发酵蔬菜向现代化加工技术转变是本书的重要目标。本章对冬菜自然复合发酵体系中微生物区系进行了分离纯化、形态学观察以及生理生化试验，并分析了各种微生物在不同发酵期间的菌群变化规律。结果表明，发酵体系中的优势菌群是乳酸菌、醋酸菌以及少量的芽孢细菌、酵母菌，在发酵初始还有部分霉菌、大肠杆菌的存在。实验中对原料中的大肠杆菌进行了分析，结果表明，随着发酵时间的延长，大肠杆菌逐渐消失，进一步提高了产品的安全性。

近年来，一些“杀菌类”蔬菜和大蒜头、青蒜、洋葱、鱼腥草等成为食品安全性研究中的重点。大蒜中含有一种叫硫化丙烯的蒜辣素，其杀菌能力是青霉素的1/10，实验证明，这种抗菌物质对葡萄球菌、链球菌、肺炎球菌、炭疽杆菌、伤寒杆菌、大肠杆菌等都有杀菌作用。大蒜还有抗真菌作用，实验证明，把蒜汁稀释1000倍时，就可以杀灭发癣菌属和小芽孢菌属的各种真菌。利用微生物和原料本身所具有的抗菌性物质对食品进行防腐的方法将日益受到重视，因为它迎合了人们要求食品更加天然化，不使用化学添加剂的愿望。

本章对冬菜发酵体系中的微生物进行分离鉴定，观察不同发酵期微生物的菌相变化规律，并对有害代谢产物进行动态测定，确定微生物消长规律与产品安全的相关性。

对分离的优势微生物进行单菌株培养、两菌株和三菌株混合培养,观察菌相变化,为冬菜控制发酵提供理论依据。采用分离所得优势微生物接种进行固态发酵和半固态纯菌种发酵,对发酵产品进行感观评价,确定添加微生物菌剂的最佳比例,研究半固态发酵方式对产品质地、口感以及生产周期的影响。

2.2 实验材料

2.2.1 主要试剂

表 2-1 实验主要试剂

名称	规格	生产厂家
甲醇	HPLC 级	天津市四通化工厂
冰醋酸	HPLC 级	天津市四通化工厂
无水乙醇	AR	天津市凯通化学试剂有限公司
葡萄糖	AR	天津市化学试剂一厂
蛋白胨	生化试剂	天津市珠江卫生材料厂
酵母膏	生化试剂	天津市珠江卫生材料厂
乙腈	HPLC 级	天津市科密欧化学试剂开发中心
甲醇	HPLC 级	天津市四通化工厂
冰醋酸	HPLC 级	天津市四通化工厂
乙醚	分析纯	天津市津东天正精细化学试剂厂
无水乙醇	分析纯	天津市凯通化学试剂有限公司
木糖	生化试剂	上海伯奥生物科技有限公司
果糖	生化试剂	上海恒信化工厂
蔗糖	生化试剂	天津市凯通化学试剂有限公司
鼠李糖	生化试剂	上海恒信化工厂
棉籽糖	生化试剂	上海化学试剂站分装厂
肌醇	分析纯	西安化学试剂厂
甘露醇	分析纯	西安化学试剂厂的
麦芽糖	生化试剂	上海恒信化工厂
阿拉伯糖	生化试剂	上海恒信化工厂
正丁醇	AR	天津北方化玻购销中心
亚硫酸氢钠	AR	天津北方化玻购销中心
乙酸乙酯	AR	天津北方化玻购销中心
亚硫酸钠	AR	天津北方化玻购销中心
豆饼粉	食品级	天津易初莲花超市
玉米淀粉	食品级	天津易初莲花超市
H ₃ PO ₄	AR	天津市化学试剂六厂
HCl	AR	天津市化学试剂三厂