



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103284028 A

(43) 申请公布日 2013. 09. 11

(21) 申请号 201310173961. 8

(22) 申请日 2013. 05. 13

(71) 申请人 陈正军

地址 430070 湖北省武汉市洪山区狮子山街
一号华中农业大学生命科学技术学院

(72) 发明人 陈正军 胡青娥 马成杰 林金钟
赵述淼 梅余霞 梁运祥

(74) 专利代理机构 武汉凌达知识产权事务所
(特殊普通合伙) 42221

代理人 宋国荣

(51) Int. Cl.

A23L 1/03 (2006. 01)

A23L 1/218 (2006. 01)

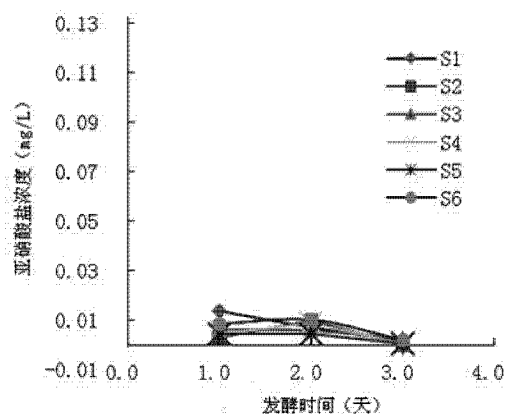
权利要求书3页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

一种泡菜发酵剂及其制备方法和在蔬菜泡制中的应用方法

(57) 摘要

本发明涉及一种泡菜发酵剂及其制备方法和在蔬菜泡制中的应用方法。泡菜发酵剂原料包括产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌两种植物乳杆菌,经制备成为液体状的泡菜发酵剂,或再进行冻干成为固体粉末状的泡菜发酵剂。泡菜发酵剂制备步骤包括:液体种子的扩大培养、菌悬液的制备和两种菌悬液的混合成为液体状的泡菜发酵剂,或再进行混合菌悬液的冻干成为固体粉末状的泡菜发酵剂。本发明泡菜发酵剂的应用步骤包括:发酵剂接种,添加一定浓度的 Ca^{2+} 离子,发酵一定时间。本发明优点是:使用本产品能缩短发酵时间,经发酵所得泡菜成品质量稳定,色泽好,酸脆爽口,亚硝酸盐等有毒有害物质远远低于标准的限定范围,是一种绿色安全型的泡菜产品。



1. 一种泡菜发酵剂,其特征在于,它的原料包括产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌两种植物乳杆菌;该两种植物乳杆菌分别接种在液体培养基中,并分别进行液体种子扩大培养,然后将扩大培养得到的两种植物乳杆菌的菌悬液进行混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂,或继续将混合菌悬液与冻干保护剂混合并冻干,即为固体粉末状的泡菜发酵剂。

2. 根据权利要求1所述的泡菜发酵剂,其特征在于,所述的产酸类植物乳杆菌主要选自于植物乳杆菌 LP115,或保藏号为 CCTCC NO:M2013036 的植物乳杆菌,分离自丹尼斯克公司产品的植物乳杆菌;所述的保健类植物乳杆菌主要选自于植物乳杆菌 LP66,或分离自嘉吉公司的植物乳杆菌 STIII;所述植物乳杆菌 LP115 是美国的丹尼斯克公司出售的产酸快、风味好的植物乳杆菌产品;植物乳杆菌 LP66 是美国的嘉吉公司出售的具有保健功能的植物乳杆菌,包括具有降低胆固醇的保健功能的植物乳杆菌。

3. 根据权利要求1所述的泡菜发酵剂,其特征在于,所述的液体培养基为 MRS 肉汤。

4. 根据权利要求3所述的泡菜发酵剂,其特征在于,所述液体培养基 MRS 肉汤,其组成物包括:蛋白胨,牛肉粉,葡萄糖,吐温,磷酸氢二钾,乙酸钠,酵母粉,硫酸镁,硫酸锰,柠檬酸三铵。

5. 根据权利要求1所述的泡菜发酵剂,其特征在于,产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌是按菌液体积是液体培养基体积的 0.5%~1.5% 的比例分别接种到液体培养基中;产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌的菌悬液的混合是按菌体数以 1:1~1.5 比例混合得到混合菌悬液。

6. 根据权利要求1所述的泡菜发酵剂,其特征在于,所述的冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉 15~25 份,海藻糖 5~15 份。

7. 一种制备泡菜发酵剂方法,其特征在于,它的原料包括产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌两种植物乳杆菌,该两种植物乳杆菌分别接种在液体培养基中,并分别扩大培养,然后将扩大培养得到的两种植物乳杆菌的菌悬液进行混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂,或继续将混合菌悬液与冻干保护剂混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;

制备步骤包括:

第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体培养基体积的一定百分数的接种量,分别接种到液体培养基中扩大培养;

第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到一定浓度,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;

第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以一定比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;

或再进行:

第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以一定比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂。

8. 根据权利要求7所述的制备泡菜发酵剂方法,其特征在于,制备步骤中:

第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体 MRS 培养基体积

的 0.5% ~ 1.5% 接种量,分别接种到液体培养基中扩大培养;

第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5 \sim 2$,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10 \sim 15$,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;

第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以 1:1 ~ 1.5 比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;

或再进行:

第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以 1:1 ~ 1.5 比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;

所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉 15 ~ 25 份,海藻糖 5 ~ 15 份。

9. 根据权利要求 7 所述的制备泡菜发酵剂方法,其特征在于,制备步骤中:

第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体 MRS 培养基体积的 0.5% ~ 1.3% 接种量,分别接种到液体培养基中扩大培养;

第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5 \sim 1.8$,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10 \sim 13$,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;

第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以 1:1 ~ 1.3 比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;

或再进行:

第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以 1:1 ~ 1.3 比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;

所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉 15 ~ 23 份,海藻糖 5 ~ 13 份。

10. 根据权利要求 7 所述的制备泡菜发酵剂方法,其特征在于,制备步骤中:

第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体 MRS 培养基体积的 1% 接种量,分别接种到 MRS 液体培养基中扩大培养;

第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5$,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10$,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;

第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以 1:1 比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;

或再进行:

第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以 1:1 比例混合并放入冻干机中冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;

所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉 20,海藻糖 10 份。

11. 用权利要求 1 至 6 任意一个权利要求所述的泡菜发酵剂在蔬菜泡制中的应用方法,

其特征在于,包括下述步骤:

A、将蔬菜洗净后投入盛有适量净水的器皿或发酵池中,再加入饮用水至完全覆盖蔬菜;

B、按蔬菜重量的 0.1%~0.3%比例,将泡菜发酵剂接种于 A 步骤的蔬菜中,并添加终浓度为 0.5%~1%的 Ca^{2+} 离子,所述终浓度是指泡菜水中额外添加的钙离子的浓度;

C、发酵一定时间,即得到泡菜成品。

12. 根据权利要求 11 所述的泡菜发酵剂在蔬菜泡制中的应用方法,其特征在于,发酵时间为:30℃时为 16~48 小时,20℃时为 48~96 小时。

一种泡菜发酵剂及其制备方法和在蔬菜泡制中的应用方法

[0001]

技术领域

[0002] 本发明涉及一种泡菜发酵剂及其制备方法和在蔬菜泡制中的应用方法,所述发酵剂是一种生产绿色安全型泡菜的活性乳酸菌活性发酵剂,属于发酵技术领域。

背景技术

[0003] 泡菜是一种常见的乳酸菌发酵制品,具有悠久的历史。但是现有传统的泡菜加工,由于生产周期长,成本高,质量不稳定,感官较差和亚硝酸盐等有毒物质含量易超标等缺点,使泡菜生产较难达到工业化、规模化和标准化。

[0004] 现有的自然发酵方法弊端有:1、发酵周期相对较长,生产力低下;2、受卫生条件、生产季节和用盐量影响,发酵易失败;3、发酵质量不稳定,不利于工厂化、规模化及标准化生产;4、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;5、异地生产,难以保证产品质量的一致性;6、亚硝酸盐、食盐含量高,食用安全性差。

[0005] 现有技术中还有一种是采用纯种发酵,具有好的效果。如:20 世纪 60 年代,欧洲的 Pederson C S 和 Aibury M N 就率先研究了将纯菌接种发酵技术应用于泡菜。而后, Caldwell Biofermentation Canada inc. 公司在蔬菜发酵领域处于领先地位,并于 1998 年获得了复合菌种接种的蔬菜(sauerkraut-type)发酵专利技术。中国的李幼筠等于 1996 年分离出两株乳酸菌:干酪乳杆菌和短乳杆菌,并申请了专利。沈国华等进行了采用植物乳杆菌或干酪乳杆菌单独或以 1:1 比例混合的蔬菜接种发酵。四川际天时公司、四川大学和西南农大筛选出的纯种乳酸菌菌种可使泡菜的发酵期由传统工艺的 25 天缩短为 2 天。

[0006] 目前,现有技术的泡菜的加工工艺研究的重点主要在接种菌种和发酵这个环节上,例如乳酸菌菌种的选择、发酵工艺条件的选择等。这些研究对象直接关系到泡菜加工后的口感、色泽、滋味等品质及产品产量,因而是现在泡菜加工研究的热点。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于,用人工接种植物乳杆菌的方法,在降低发酵时间的同时降低亚硝酸盐等有毒有害物质的含量,生产绿色安全、口感较好、质量稳定的有机泡菜,为此目的提供一种泡菜发酵剂及其制备方法和在蔬菜泡制中的应用方法,其中,泡菜发酵剂是生产绿色安全型泡菜的活性乳酸菌活性发酵剂。

[0008] 本发明一种泡菜发酵剂的技术方案是:

一种泡菜发酵剂,它的原料包括产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌两种植物乳杆菌;该两种植物乳杆菌分别接种在液体培养基中,并分别进行液体种子扩大培养,然后将扩大培养得到的两种植物乳杆菌的菌悬液进行混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂,或继续将混合菌悬液与冻干保护剂混合并冻干,即为固体粉末状的泡菜发酵剂。

[0009] 进一步的技术方案是:

所述的泡菜发酵剂,其产酸类植物乳杆菌主要选自于植物乳杆菌 LP115,或保藏号为 CCTCC NO:M2013036 的植物乳杆菌,分离自丹尼斯克公司产品的植物乳杆菌;所述的保健类植物乳杆菌主要选自于植物乳杆菌 LP66,或分离自嘉吉公司的植物乳杆菌 STIII;所述植物乳杆菌 LP115 是美国的丹尼斯克公司出售的产酸快、风味好的植物乳杆菌产品;植物乳杆菌 LP66 是美国的嘉吉公司出售的具有保健功能的植物乳杆菌,包括具有降低胆固醇的保健功能的植物乳杆菌。

[0010] 所述的泡菜发酵剂,其液体培养基为 MRS 肉汤。

[0011] 所述的泡菜发酵剂,其液体培养基 MRS 肉汤组成物包括:蛋白胨,牛肉粉,葡萄糖,吐温,磷酸氢二钾,乙酸钠,酵母粉,硫酸镁,硫酸锰,柠檬酸三铵。

[0012] 所述的泡菜发酵剂,其产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌是按菌液体积是液体培养基体积的 0.5% ~ 1.5% 的比例分别接种到液体培养基中;产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌的菌悬液的混合是按菌体数以 1:1 ~ 1.5 比例混合得到混合菌悬液。

[0013] 所述的泡菜发酵剂,其冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉 15 ~ 25 份,海藻糖 5 ~ 15 份。

本发明泡菜发酵剂制备方法技术方案是:

一种制备泡菜发酵剂方法,它的原料包括产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌两种植物乳杆菌,该两种植物乳杆菌分别接种在液体培养基中,并分别扩大培养,然后将扩大培养得到的两种植物乳杆菌的菌悬液进行混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂,或继续将混合菌悬液与冻干保护剂混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;制备步骤包括:第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体培养基体积的一定百分数的接种量,分别接种到液体培养基中扩大培养;第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到一定浓度,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以一定比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;或再进行:第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以一定比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂。

[0014] 进一步的技术方案是:

所述的制备泡菜发酵剂方法,其制备步骤中:第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体 MRS 培养基体积的 0.5% ~ 1.5% 接种量,分别接种到液体培养基中扩大培养;第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5 \sim 2$,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10 \sim 15$,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以 1:1 ~ 1.5 比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;或再进行:第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以 1:1 ~ 1.5 比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉 15 ~ 25 份,海藻糖 5 ~ 15 份。

[0015] 所述的制备泡菜发酵剂方法,其制备步骤中:第一步、液体种子的扩大培养:将两

种植物乳杆菌按菌液体积是液体 MRS 培养基体积的 0.5% ~ 1.3% 接种量,分别接种到液体培养基中扩大培养;第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5 \sim 1.8$,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10 \sim 13$,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以 1:1 ~ 1.3 比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;或再进行:第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以 1:1 ~ 1.3 比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉 15 ~ 23 份,海藻糖 5 ~ 13 份。

[0016] 所述的制备泡菜发酵剂方法,其制备步骤中:第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体 MRS 培养基体积的 1% 接种量,分别接种到 MRS 液体培养基中扩大培养;第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5$,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10$,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以 1:1 比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;或再进行:第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以 1:1 比例混合并放入冻干机中冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉 20,海藻糖 10 份。

[0017] 用本发明任意一种泡菜发酵剂在蔬菜泡制中的应用方法,其步骤为:A、将蔬菜洗净后投入盛有适量净水的器皿或发酵池中,再加入饮用水至完全覆盖蔬菜;B、按蔬菜重量的 0.1% ~ 0.3% 比例,将泡菜发酵剂接种于 A 步骤的蔬菜中,并添加终浓度为 0.5% ~ 1% 的 Ca^{2+} 离子,所述终浓度是指泡菜水中额外添加的钙离子的浓度;C、发酵一定时间,即得到泡菜成品。

[0018] 优选的,其发酵时间为:30℃ 时为 16 ~ 48 小时,20℃ 时为 48 ~ 96 小时。

[0019] 结合本发明的技术方案、原理,对本发明的技术效果说明如下:

文献表明,人工添加乳酸菌到泡菜中,不但能极大的缩短泡菜的生产时间,同时也能显著的降低产品中亚硝酸盐的含量;不但能有效的改善成品泡菜的感官品质,同时能很大程度的改善泡菜的口感,这与我们之前所得到的结果是一致的。用高效液相色谱,气相色谱质谱联用对人工接种与自然发酵泡菜中的有机酸、氨基酸和香气成分进行了分析。结果表明,选用的发酵剂人工接种发酵产品与自然发酵产品中的游离氨基酸、有机酸和挥发性风味物质基本一致。

[0020] 与现有技术相比,本发明泡菜发酵剂产品中的两种植物乳杆菌均可以明显的缩短发酵的时间,发酵剂的发酵性能好,经测定该发酵剂活菌数达 $10^9 \sim 10^{11}$ cfu/g;两株混合菌种叫单一菌种,具有更好的效果,而且还证实同比例的两种菌较其余配比的菌种具有更好成品质,辅以适宜浓度的 Ca^{2+} 等离子发酵得到的泡菜成品色泽宜人,酸脆爽口,质量稳定;用本发明泡菜发酵剂能进行工业化生产泡菜;经检测产品,发酵过程中的亚硝酸盐等有毒有害物质极低,所得泡菜成品亚硝酸盐浓度低于 $50 \mu\text{g/kg}$,远远低于现有食品标准限定的亚硝酸盐浓度,真正是一种绿色安全型的泡菜产品。

附图说明

[0021] 图 1 是本发明泡菜成品的感官评价表。图中是以白萝卜作为蔬菜原料, CK 代表未接种任何菌的实例, S1-S6 代表接种了不同量和比例的植物乳杆菌的实例, 图表中“-”号表示“弱”, “+”号表示强。

[0022] 图 2 是自然发酵和人工接种发酵条件下 pH 值的变化图。

[0023] 图 3 是用本发明接种了不同量和比例的植物乳杆菌制备的泡菜发酵剂生产泡菜过程中亚硝酸盐浓度随时间的变化图。

图 4 是对照组, 即未接种任何菌的情况下所检测的亚硝酸盐浓度随时间的变化图。

具体实施方式

[0024] 结合实施例, 对本发明一种泡菜发酵剂及其制备方法和在蔬菜泡制中的应用方法作进一步的说明如下:

实施例 1: 是本发明一种泡菜发酵剂的一个实施例。一种泡菜发酵剂, 它的原料包括产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌两种植物乳杆菌; 该两种植物乳杆菌分别接种在液体培养基中, 并分别进行液体种子扩大培养, 然后将扩大培养得到的两种植物乳杆菌的菌悬液进行混合, 成为混合菌悬液, 即为液体状的泡菜发酵剂, 当继续将混合菌悬液与冻干保护剂混合并冻干, 即为固体粉末状的泡菜发酵剂。所述的产酸类植物乳杆菌主要选自于植物乳杆菌 LP115, 或保藏号为 CCTCC NO:M2013036 的植物乳杆菌, 分离自丹尼斯克公司产品的植物乳杆菌; 所述的保健类植物乳杆菌主要选自于植物乳杆菌 LP66, 或分离自嘉吉公司的植物乳杆菌 STIII; 所述植物乳杆菌 LP115 是通用名称, 英文名称为 *Lactobacillus plantum* LP115, 是美国的丹尼斯克公司出售的产酸快、风味好的植物乳杆菌产品; 植物乳杆菌 LP66 是通用名称, 英文名称为 *Lactobacillus plantum* LP66, 是美国的嘉吉公司出售的具有保健功能的植物乳杆菌, 包括具有降低胆固醇的保健功能的植物乳杆菌。所述的液体培养基为 MRS 肉汤, 其组成物包括: 蛋白胨, 牛肉粉, 葡萄糖, 吐温, 磷酸氢二钾, 乙酸钠, 酵母粉, 硫酸镁, 硫酸锰, 柠檬酸三铵。所述的产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌是按菌液体积是液体培养基体积的 0.5% ~ 1.5% 的比例分别接种到液体培养基中; 产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌的菌悬液的混合是按菌体数以 1:1 ~ 1.5 比例混合得到混合菌悬液, 即为液体状的泡菜发酵剂。

实施例 2: 是本发明一种泡菜发酵剂的另一个实施例。与实施例 1 不同的是将上述混合菌悬液与冻干保护剂混合并冻干, 即为固体粉末状的泡菜发酵剂, 所述的冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成, 按重量份计: 脱脂奶粉 15 ~ 25 份, 海藻糖 5 ~ 15 份。

[0025] 实施例 3: 是本发明一种泡菜发酵剂制备方法的一个基本实施例。一种制备泡菜发酵剂方法, 它的原料包括产酸类植物乳杆菌和保健类植物乳杆菌两种植物乳杆菌, 该两种植物乳杆菌分别接种在液体培养基中, 并分别扩大培养, 然后将扩大培养得到的两种植物乳杆菌的菌悬液进行混合, 成为混合菌悬液, 即为液体状的泡菜发酵剂, 或继续将混合菌悬液与冻干保护剂混合并冻干, 即得到固体粉末状的泡菜发酵剂; 制备步骤包括: 第一步、液体种子的扩大培养: 将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体培养基体积的一定百分数的接种量, 分别接种到液体培养基中扩大培养; 第二步、菌悬液的制备: 待第一步两种植物乳杆

菌细胞分别长到一定浓度,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以一定比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;或再进行:第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以一定比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂。

[0026] 实施例4:是本发明一种泡菜发酵剂制备方法的一个优选的实施例。与实施例3不同的是:其制备步骤中:第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体MRS培养基体积的0.5%~1.5%接种量,分别接种到液体培养基中扩大培养;第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5\sim 2$,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10\sim 15$,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以1:1~1.5比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;或再进行:第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以1:1~1.5比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉15~25份,海藻糖5~15份。

[0027] 实施例5:是本发明一种泡菜发酵剂制备方法的一个优选的实施例。与实施例3不同的是:其制备步骤中:第一步、液体种子的扩大培养:将两种植物乳杆菌按菌液体积是液体MRS培养基体积的0.5%~1.3%接种量,分别接种到液体培养基中扩大培养;第二步、菌悬液的制备:待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5\sim 1.8$,然后收集菌体,倒掉上清液,再用生理盐水重悬细胞,并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10\sim 13$,得到两种植物乳杆菌的菌悬液;第三步、两种菌悬液的混合:将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以1:1~1.3比例混合,成为混合菌悬液,即为液体状的泡菜发酵剂;或再进行:第四步、混合菌悬液的冻干:将第二步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以1:1~1.3比例混合并冻干,即得到固体粉末状的泡菜发酵剂;所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成,按重量份计:脱脂奶粉15~23份,海藻糖5~13份。

[0028] 实施例6:是用本发明所述的泡菜发酵剂在蔬菜泡制中的应用方法的实施例。包括下述步骤:A、将蔬菜洗净后投入盛有适量净水的器皿或发酵池中,再加入饮用水至完全覆盖蔬菜;B、按蔬菜重量的0.1%~0.3%比例,将泡菜发酵剂接种于A步骤的蔬菜中,并添加终浓度为0.5%~1%的 Ca^{2+} 离子,所述终浓度是指泡菜水中额外添加的钙离子的浓度;C、发酵一定时间,即得到色泽宜人,酸脆爽口泡菜成品;其发酵时间为:30℃时为16~48小时,20℃时为48~96小时。

[0029] 实施例7:是本发明一种泡菜发酵剂及其制备方法和在蔬菜泡制中的应用方法优选的综合实施例:

一、材料准备:

1、发酵菌株:第一种产酸类植物乳杆菌选自LP115,培养基为MRS肉汤,30℃生长;第二种保健类植物乳杆菌选自LP66,培养基为MRS肉汤,30℃生长;

2、培养基:MRS肉汤培养基成分为:蛋白胨10g,牛肉粉5g,葡萄糖20g,吐温80 1ml,磷酸氢二钾2g,乙酸钠5g,酵母粉4g,硫酸镁0.2g,硫酸锰0.05g,柠檬酸三铵2g,用蒸馏水定容至1000ml;调节pH6.2,115℃灭菌20min,即可备用;

3、液体植物乳杆菌种子液准备：取两个 20ml 小玻璃瓶，各往里面添加 5ml MRS 液体培养基，分别挑取固体平板上植物乳杆菌菌种 LP115 和 LP66 单菌落到液体培养基中，30℃ 静置培养 16h 即可；

二、制备泡菜发酵剂：

第一步、液体种子的扩大培养：取已灭菌的 250ml 三角瓶两个，各加入灭菌好的 MRS 培养基 100ml，按培养基重量的 1% 的接种量分别接种上述两种制备好的植物乳杆菌液体种子，在 30℃ 摇床 100rpm 下培养；第二步、菌悬液的制备：待第一步两种植物乳杆菌细胞分别长到浓度为 $OD_{600}=1.5$ ，4℃ 下 5000rpm，然后离心收集菌体，倒掉上清液，再用生理盐水重悬细胞，并调整菌体浓度为 $OD_{600}=10$ ，得到两种植物乳杆菌的菌悬液；第三步、两种菌悬液的混合：将第二步的产酸类植物乳杆菌的菌悬液和保健类植物乳杆菌的菌悬液按菌体数以 1:1 比例混合，成为混合菌悬液，即为液体状的泡菜发酵剂。

[0030] 实施例 8：本实施例是在上述实施例 7 的基础上再进行制备固体粉末状的泡菜发酵剂，其步骤接上述实施例 7，即第四步、混合菌悬液的冻干：将第三步的混合菌悬液与冻干保护剂按体积以 1:1 比例混合并放入冻干机中冻干，即得到固体粉末状的泡菜发酵剂。所述冻干保护剂由脱脂奶粉和海藻糖组成，脱脂奶粉 20g，海藻糖 10g，用蒸馏水定容到 100ml；115℃ 灭菌 20min。

[0031] 因冻干保护剂的来源的多样化，使得冻干保护剂的选择更加的多样化。海藻糖酶法使得海藻糖的价格大幅降低，使其用于工业化产品成为现实。本发明冻干保护剂还可使用脱脂奶粉，该脱脂奶粉实际属于一种混合型的冻干保护剂，也可分别使用 WPI（乳清蛋白浓缩粉）、酪蛋白和乳糖，或者按照一定的比例混合，从而能获得更佳的冻干保护剂组合；

用本实施例的泡菜发酵剂在蔬菜泡制中的应用方法，具体是在白萝卜泡制中的应用方法，步骤为：

A、将白萝卜洗净后投入盛有适量饮用水的发酵器皿或发酵池中，再加入饮用水至完全覆盖白萝卜；B、按白萝卜重量的 0.2% 比例，将固体粉末状的泡菜发酵剂接种于 A 步骤的白萝卜中，并添加终浓度为 0.8% 的 Ca^{2+} 离子，所述终浓度是指泡菜水中额外添加的钙离子的浓度；C、发酵一定时间，即得到色泽好并酸脆爽口的泡菜成品；所述发酵时间：30℃ 时为 30 小时，20℃ 时为 60 小时。

[0032] 对本发明泡菜发酵剂的应用效果作进一步说明如下：

以白萝卜作为原料为例，分为两组，一组是用本发明泡菜发酵剂发酵，即接种了植物乳杆菌，另一组是未接种任何菌做为对照组。当接种了不同量的植物乳杆菌，其结果见图表 1 所示的泡制白萝卜成品的感官评价。图表 1 中 CK 代表未接种任何菌，S1-S6 代表接种了不同量和比例的植物乳杆菌的泡菜发酵剂。图 2 是自然发酵和人工接种发酵条件下 pH 值的变化。

[0033] 测定发酵泡菜成品的亚硝酸盐含量见图 3 和图 4。测定方法是：取发酵过程中的泡菜水，根据食品标准要求，测定其亚硝酸盐的含量。图 3 是本发明泡菜发酵剂泡制蔬菜组的亚硝酸盐浓度随时间的变化，图 4 是未接种任何菌的对照组亚硝酸盐浓度随时间的变化。用本发明泡菜发酵剂制得的泡菜成品亚硝酸盐浓度低于 $50 \mu g/kg$ ，远远低于现有食品标准的限定的亚硝酸盐浓度，真正是一种绿色安全型的泡菜产品。

[0034] 实施例 9：是本发明一种泡菜发酵剂在蔬菜泡制中的应用方法另一个具体的实施

例。与上述施例 8 不同的是：将大白菜 5kg 洗净切好装入泡菜坛中，添加 0.05g 固体粉末状的泡菜发酵剂，加适量的水至完全覆盖大白菜，在 30℃下发酵 16-24h 后，即可食。

[0035] 本发明的权利要求保护范围不限于上述实施例。

实验组代号	CK	S1	S2	S3	S4	S5	S6
污染度	++	+	-	++	-	-	-
泡菜水透明度	-	-	+	-	+	+	+
色泽	黄	黄	黄+	黄	黄	黄	黄
脆度	一点软	脆+	脆	软	软	软+++	脆++
味道	萝卜味, 不酸	泡菜味, 酸	酸爽++	腐败	腐败	酸, 软	酸爽脆+++
嗅觉	酸味	微臭	泡菜味	果味	萝卜味	酸味	酸味

图 1

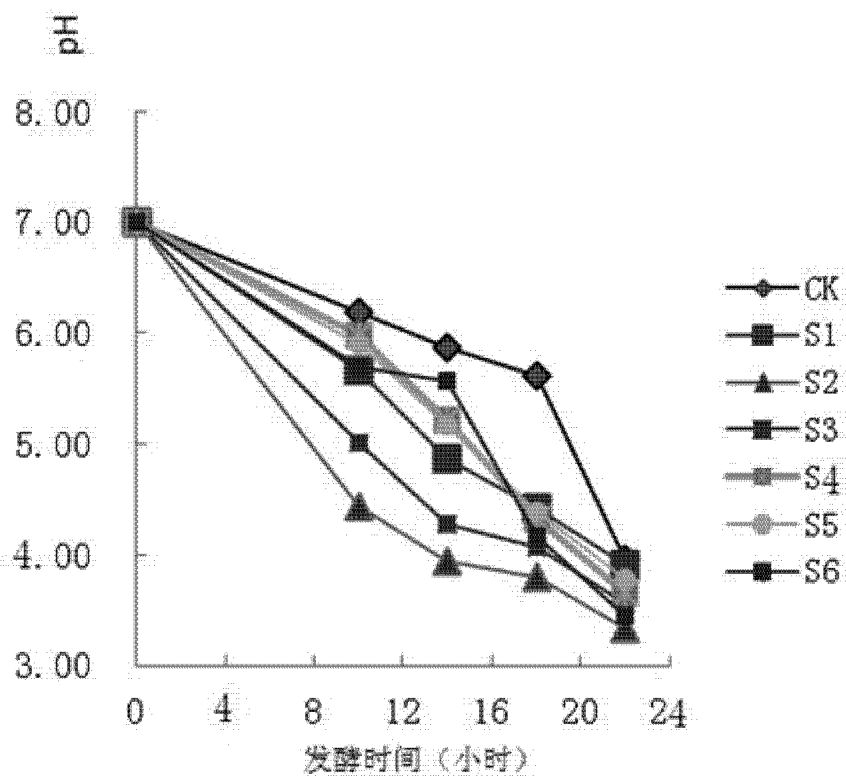


图 2

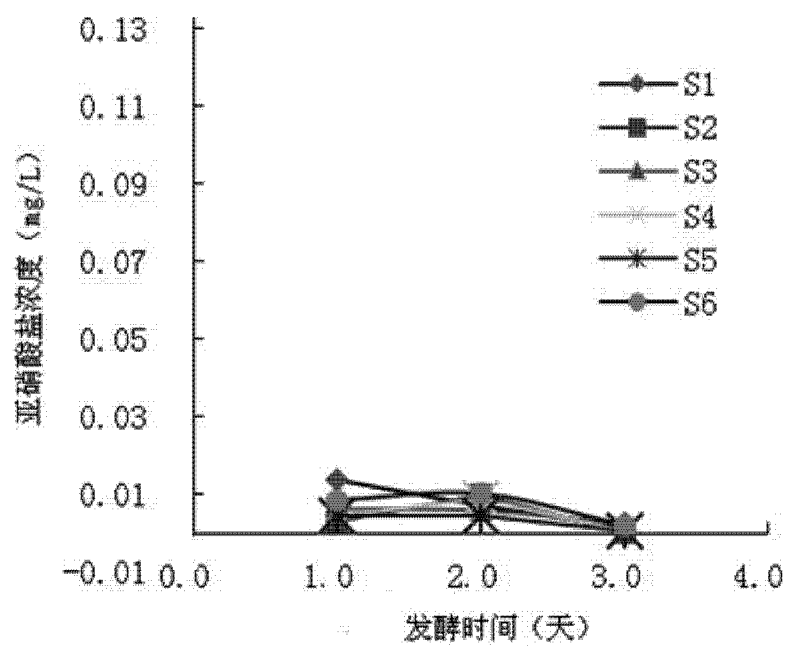


图 3

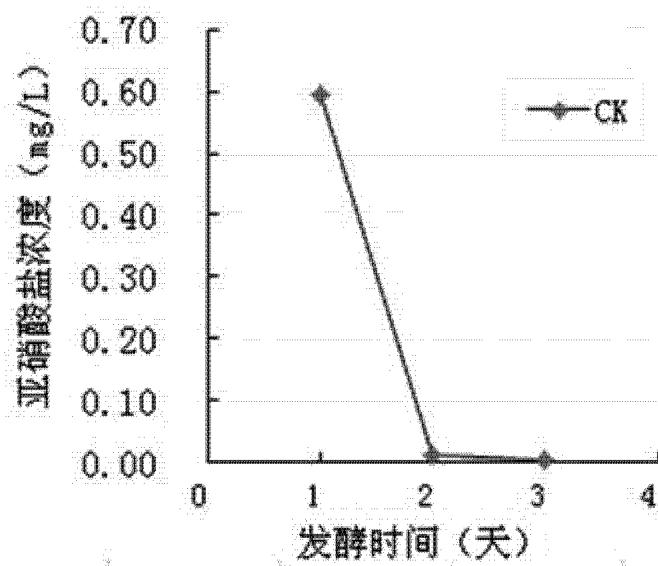


图 4