

中華民國第 53 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高職組 農業及生物科技科

最佳創意獎

091405

聞「硝」色變、聞「乳」喪膽

學校名稱：國立臺南大學附屬高級中學

作者： 職二 林佳臻 職二 陳佳柔	指導老師： 劉厚蘭
---------------------------------	------------------

關鍵詞：亞硝酸、泡菜

摘要

測定市售蔬菜顯示結球作物由於使用大量農藥及化學肥料，使此類結球作物富含高量致癌前驅物質（亞硝酸），本實驗利用植生型乳酸菌進行蔬菜發酵製成泡菜，觀察種菌及自然發酵(無額外添加菌粉)的各項變化。有添加植生型乳酸菌之泡菜菌數上升速度較快，且較市售的多，pH 值的變化亦顯示其速率較自然發酵來的快速，並降低污染及失敗機率，故添加植生型乳酸菌進行泡菜發酵對於泡菜製作具極大的優勢。此外由糖度對照酸度、pH 值、酸度的數據顯示，其糖度的消耗與酸度的生成呈現正相關，故乳酸菌及調味料的添加對泡菜發酵具有決定性的影響。再觀察亞硝酸數字，強制接菌的泡菜，不論是否有調味或未調味都可抑制亞硝酸之生成，甚至可以分解亞硝酸或中和亞硝酸，但是在市售的韓式泡菜並無發現乳酸菌的生成亦無發現亞硝酸，推論因為含有防腐劑所致。

壹、研究動機

- 一、 泡菜是屬自然發酵食品，含有維生素及有機物，也可提供蒜、薑、辣椒等佐料中所含的營養成分。同時泡菜也具有大量纖維質，可以強化腸胃的活動，降低體內的糖分及膽固醇含量，因此泡菜是一種有助於預防糖尿病、心臟病、肥胖症等成年疾病、強化人體生理功能的健康食品。
- 二、 韓式泡菜常使用的蔬菜為山東大白菜，此蔬菜中含有大量硝酸鹽，硝酸鹽會在人體內轉化為亞硝酸鹽（Nitrite, NO_2^- ）然後再轉化為亞硝基化合物（N-nitroso compounds），而引致人類血液缺氧，且可能致癌及致基因突變。所以我們另外在黃金泡菜中添加不同濃度的食用性乳酸菌，擬探討硝酸鹽的濃度是否會降低，並再取與市售韓式泡菜測定其亞硝酸含量作比較。
- 三、 本科展運用三領域所學：食品果蔬加工、食品分析檢驗化學、食品微生物。

貳、研究目的

- 一. 探討蔬菜中的硝酸鹽濃度是否會因發酵時間、食用性乳酸菌添加的多寡而增加或減少。
- 二. 探討自然發酵及添加不同濃度的食用性乳酸菌對酸鹼值、酸度、鹽度、糖度、發酵食乳酸生長情形是否會有影響。
- 三. 探討市售韓式泡菜開罐後其微生物生長菌相、酸鹼值、酸度、鹽度、糖度、亞硝酸之變化情形。

參、研究設備及器材

- 一、研究器材、設備與材料

表 3 - 1 研究設備

設備名稱	廠牌
無菌操作台	HIPOINT
高壓殺菌釜	HIPOINT
四位天秤	PRECISA
熱風烘乾機	HIPOINT
恆溫箱	MEMMERI
酸鹼值測定計（pH 計）	HIPOINT
手持式糖度計	ATAGO
果汁機	貴夫人
試管振盪器	HIPOINT

表 3 – 2 器具、藥品、培養基

類別	名稱	數量	類別	名稱
器具	三角燒瓶	12 隻	藥品	蒸餾水(5L)
	定量瓶 (100mL、250mL、500mL)	6 個		酚酞溶液(100mL)
	燒杯(10mL)	8 個		鉻酸鉀溶液
	定量吸管(10mL)	各 2 隻		硝酸銀
	藥匙	各 2 隻		氫氧化鈉(NaOH)
	滴定管(透明/褐色，50mL)	各 1 隻	95%酒精(1 瓶)	
	滴定管架	2 組	培養基	
	量筒(50mL)	2 個		Nutient Agar(HiMedia) 1 瓶
	試劑瓶	1 個		Nutient MRS broth(Difco) 1 瓶
	漏斗	1 個		
	試管/試管架	60 支		
	拋棄式培養皿	300 個		
	酒精燈	1 組		
	Pipet(0.1-1mL)	1 支		
	Tip(1mL)	200 個		



無菌操作台



高壓殺菌釜



恆溫箱



熱風烘乾機



試管振盪器



酸鹼值測定計 (pH 計)



手持式糖度計

肆、研究過程或方法

一、文獻探討

(一) 醃漬蔬果^{1.9}

1.何謂醃漬物：

凡蔬菜或果實類經食鹽處理後，其組織細胞因被破壞而軟化及易於滲透，風味因此改善，並因加工條件不同，加以調味或利用微生物及酵素作用，具有特殊口味的食物。

2.醃漬：

老祖宗用來保存食物的智慧，時至今日更發展成各種多元的飲食樣貌。以蔬菜、香草、水果所變化出來的保存與應用方法，利用每一種醃菜搭配肉類、蔬果、海鮮……等不同材料，在煎煮炒炸拌等烹調方式上變化出 3~5 種料理，花費少少的時間就能使料理口感更加豐富，靠著醬汁搭配各種作法與配料，發現食物更多不同層次的美味。

3.韓式泡菜的營養價值：

(1)泡菜具有相當豐富維生素 A、C 的辣椒，有助於泡菜發酵時所需要的乳酸菌的發育，及防止脂肪的二酸化。

(2)辣椒的作用不只是讓泡菜的顏色變得鮮紅，它會將動物性的營養素和植物性的營養素微妙地融合在一起，辣椒也會促進體脂肪的燃燒。調和後的美味就成了泡菜劃時代的變化了。

(3)泡菜具有乳酸等多種的有機酸、氨基酸、維生素、礦物質等營養成份隨著泡菜的發酵，它會產生與其他食物無法相比的豐富維生素 A、B、B1、B2、B6、B12、C、E 等。

(4)泡菜的營養價值最高的時候是在適度發酵的時候，這時是它的乳酸菌和維生素含量最多的時候。

(5)泡菜因為使用了辣椒及蒜頭，所以它所需要的鹽分並不多，因此它是一種低卡路里、低膽固醇的鹼性食品。

(二) 韓式泡菜的由來^{2.8}

泡菜的由來據推測，意為將「蔬菜用鹽水醃製」沈菜(QINCHI)，原來以「TINCHI」或「DINCHI」發音，後來因為口蓋音化現象，以「TINCHI」發音。再後來才發音為現在的「KIMCHI」。對泡菜類的最初紀錄是中國的《三國誌》(魏志東夷傳)，書中記載說，「高麗人擅長製作酒、醬、醬汁等發酵食品」。由此可知，當時儲藏發酵食品已成為日常生活中的一部份。

據《三國史記》記載，神文王於 663 年娶王妃時下令準備的聘禮中包括醬油、大醬、醬汁類等食品，說明發酵食品當時已非常普及。泡菜

類早已 3000 年前開始在中國以(菹)為名出現，三國時代傳至中國，經過統一新羅時代、高麗時代，其製作方法不斷改變。再當時，泡菜可能是以蘿蔔為主要原料的泡蘿蔔、鹹菜、醬菜為主。據估計，今天的白菜和辣椒為主要原料的泡菜類是隨著朝鮮時代中期以後，傳到中國時開始普及的。

(三) 蔬菜中硝酸鹽類由何來

化學肥料以科學方式提煉氮、磷、鉀三要素為原料，農民為求蔬菜快速長的肥大，大量使用化學肥料，長期使用更造成土壤酸化嚴重。當植物吸收氮肥(N)後，由硝酸態氮(NO₃)轉成胺基酸(NH₂) + 光合作用 = 蛋白質。

使用化學肥料，3-7 天即被植物吸收，植物吸收氮肥越多，部分未完全分解，則 NO₃ 越多，則 NO₂ + 二級胺 = 致癌物(亞硝酸鹽)

(四) 乳酸菌的介紹^{3,4,5,6}

1. 乳酸菌的簡介

「乳酸菌」是指能夠代謝糖類、產生 50% 以上乳酸之細菌，具有這些功能的細菌包括了：乳酸桿菌(Lactobacillus)、鏈球菌(Streptococcus)、念球菌(Leuconostoc)等。但乳酸菌為習慣用語，並不是分類學上正式用語。我們經常講的雙歧桿菌或比菲德菌會產生乳酸及醋酸，但乳酸不到 50%，所以嚴格說來不應稱為乳酸菌。但若由保健營養觀點而言，雙歧桿菌同樣具有安全、健康等乳酸菌所標榜之形象，將之納入乳酸菌家族亦是理所當然。

2. 乳酸菌的發酵機制

在發酵過程中乳酸脫氫酶將丙酮酸轉換為左旋乳酸。在一般的新陳代謝和運動中乳酸不斷被產生，但是其濃度一般不會上升。只有在乳酸產生過程加快，乳酸無法被及時運走時其濃度才會提高。乳酸運輸速度由一系列因素影響，其中包括單羧基轉運體、乳酸脫氫酶的濃度和異構體形式、組織的氧化能力。

一般來說當組織的能量無法通過有氧呼吸得以滿足，組織無法獲得足夠的氧或者無法足夠快地處理氧的情況下乳酸的濃度會上升。在這種情況下丙酮酸脫氫酶無法及時將丙酮酸轉換為乙醯輔酶 A，丙酮酸開始堆積。在這種情況下假如乳酸脫氫酶不將丙酮酸還原為乳酸的話糖酵解過程和三磷酸腺苷的生產會獲得抑制。

產生乳酸的過程為：



這個過程的意義在於重建糖酵解所需要的煙醯腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 來保持三磷酸腺苷的生產。

3. 乳酸菌對腸胃道的益處

乳酸菌是「益生菌」中最重要的一群，益生菌的定義為「某一種或複數種微生物當餵食予人類或動物時可增進其腸內菌叢之品質」。乳酸菌能增進腸內叢品質之作用機轉可能是(1)生產有機酸、降低腸道 pH，(2)和有害菌競爭養份，(3)附著於腸粘膜上皮，減少有害菌增殖場所，(4)產生抗菌物質等。乳酸菌要發揮整腸效果，想當然的必須要能定著於腸道。目前有許多醃酵乳或整腸用乳酸菌製劑使用由人腸道中分離出來的乳酸菌，以求提升其在人體內的定著性。許多臨床實驗也證實這類乳酸菌確實有不錯的整腸效果，也確實會降低腸內不好的菌類。

4. 乳酸菌的營養價值

- (1) 乳酸菌會把腸管中有害微生物抑制住。
- (2) 乳酸菌會使侵入體內很強的致癌原，如二苯亞硝胺直接立刻崩解。
- (3) 乳酸菌由於會增強免疫效果，因此對先天腫瘤或後天腫瘤的生長，都能發揮很強的抑制效果。
- (4) 乳酸菌會產生或加強類似抗氧化劑的物質之活性，這些抗氧化劑能發揮很強的效果，會把侵入體內的致癌原清除，防止致癌原去攻擊 DNA，使 DNA 不會受到致癌原的傷害等等。

5. 乳酸菌在食品上的應用

- (1) 各種火腿等肉製品之製造
- (2) 製造酸酪乳、乾酪、醬油、泡菜、義大利臘腸、味噌或釀酒用的酸麵糊等，一些對胃腸有益的發酵食品。

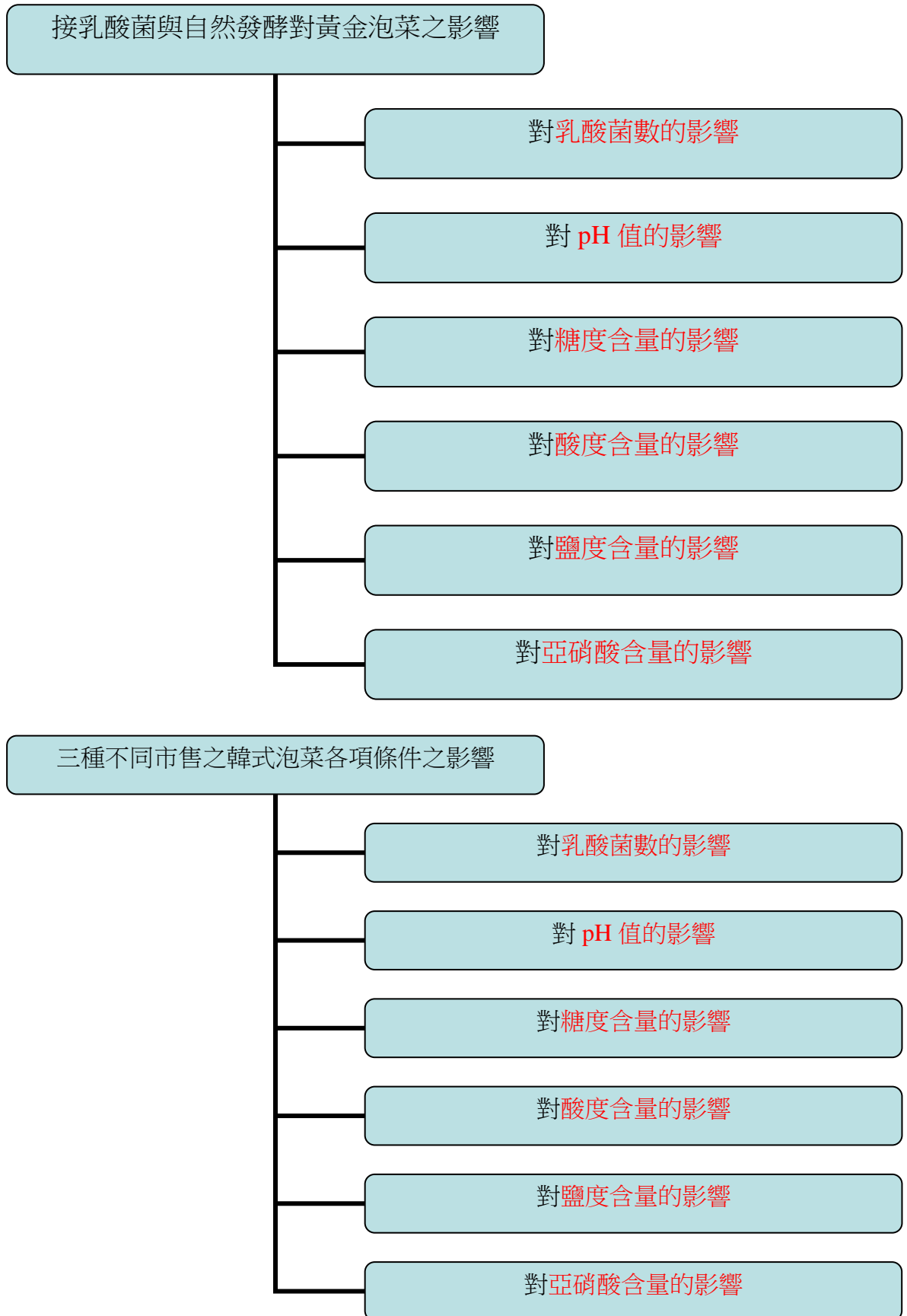
(五) 蔬菜中亞硝酸的含量

高麗菜	山東大白菜	空心菜	芹菜
47.0	52.7	0.95	8.18

表 5-1 蔬菜中亞硝酸的含量測定

此數據為市售蔬菜亞硝酸的平均含量，由此看出高麗菜和大白菜具有大量亞硝酸，其亞硝酸經代謝轉化即有可能轉化為具有高度致癌與致突變性的亞硝基化合物，所以本實驗擬定利用乳酸菌進行發酵以降低亞硝酸的生成。

二、 研究架構



三、實驗方法

(一) 乳酸菌劑擴大培養之製備

1. 秤取乳酸菌粉
2. 加入預先滅菌冷卻 9 mL MRS broth
3. 混合震盪均勻
4. 放入恆溫箱，37°C 靜置培養 4 小時

(二) 韓式泡菜醃漬配方

1. 韓式泡菜的配方

	材料名稱	百分比 (%)	重量 (g)
材料	大白菜	100	6000
	紅蘿蔔(絲)	10	600
	芹菜(段)	10	600
合計		120	7200
醃 漬 料	1 食鹽	0.6	36
	2 細砂糖	3	180
	3 蒜頭	5	300
	4 辣椒	3.5	210
	5 香油	3	180
	6 醋	3.5	210
	7 辣椒油	3.5	210
	8 味精	1.2	72
	9 辣豆瓣醬	2.5	150
合計		25.8	1548
	低鹽乳酸菌劑 (擴大培養後再使用)	0.004	0.24
		0.008	0.48
		0.010	0.6

2.韓式泡菜的製法

		
1.去蒂，一葉葉切開	2.加鹽，攪拌製出水，用水洗淨	3.放入熱風烘箱烘乾
		
4.紅蘿蔔削皮刨成絲	5.芹菜洗淨、切段、瀝乾	6.醃料以果汁機攪碎
		
7.接菌混合均勻	8.所有材料拌勻	9.至桶內發酵

(三) 食品化學檢測

1.待測樣品前處理¹² (泡菜液從零到每隔三天，取樣一次，分別測定 pH、糖度、鹽度、酸度、微生物菌相之測定。)

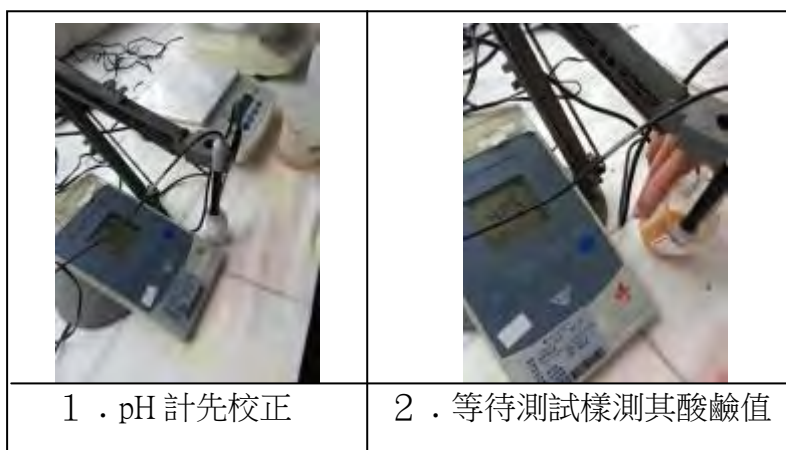
(1)秤取已過濾的泡菜汁液 10 c.c

(2)使用定量瓶加入蒸餾水定量到 100 c.c (稀釋 10 倍)

2.酸鹼值(pH 值)測定¹²：

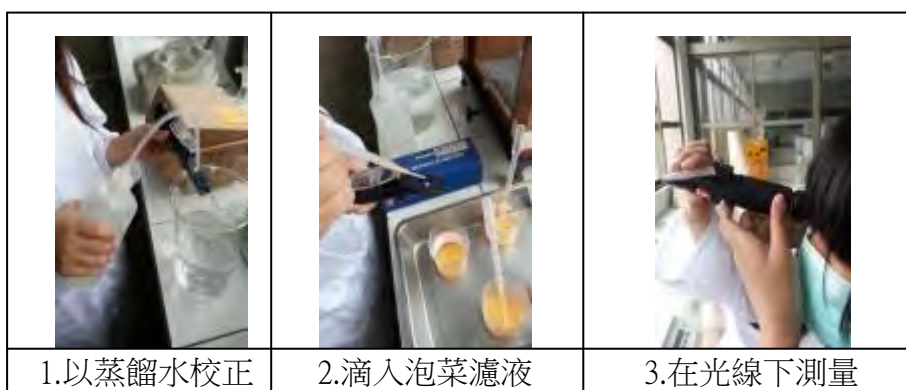
酸鹼值測定:泡菜汁原料，進行酸鹼度(pH 值)的分析是以酸鹼度(pH meter)進行之。

酸鹼度計使用前須用 pH 7 及 pH 4 之標準溶液進行兩點校正，測定得到其結果並紀錄之。



3.糖度測定¹²

糖度測定:將泡菜汁原料，進行糖度分析是採用糖度計進行分析，分析前於糖度計測定面板上滴上蒸餾水並蓋上，不可產生氣泡，進行歸零動作後，使用塑膠吸管吸取少許泡菜汁液，滴於糖度計測定面板上，並蓋上測定面板，朝亮光處確認糖度計內藍白相間之介面之座落處，並記錄其值。



4.有機酸含量分析(二重複)¹²

(1)吸取待測試樣 20 mL 於三角瓶內

(2)加入 50 mL 蒸餾水

(3)加入酚酞指示劑

(4)以 0.1 N NaOH 溶液滴定達終點粉紅色，並記錄其值且帶入公式計算








(5)公式：TA (lactate%) = (0.1 N × F × V × 0.09 / 樣品重) × 100%

0.1 N 為 NaOH 當量濃度；F 為力價；V 為 0.1 N NaOH 滴定量；樣品為 20g

5.鹽度測定(二重複)¹²

公式：NaCl(%) = (0.1 N × F × V × 58.5 / 1000 / 20 × 10) × 100%

0.1 N、F 為 AgNO₃ 當量濃度、力價；V 為 0.1 N AgNO₃ 滴定量；稀釋倍數：10 倍

		
1.吸取測試樣品 10ml	2.定量至 100ml	3.以吸管吸取 20ml 於三角瓶
 		
4.加入 50ml 蒸餾水	5.加 0.5ml 鉻酸鉀指示計	6.以 1N 硝酸銀滴定

(四) 食品微生物菌種培養

1. 乳酸菌落數計數配製

- (1) 秤 MRS broth 及 Agar, 並混和在一起
- (2) 加蒸餾水
- (3) 所有器具、培養基滅菌
- (4) 將培養基倒入培養皿中待凝固





2. 乳酸菌落數測定

泡菜汁液每隔三天取出 1ml 不同濃度得的泡菜液注入 9ml 無菌水中，震盪混合均勻做 10^{-5-8} 倍系列一連串稀釋，並取 1ml 稀釋液以傾注平板法加入 MRS agar，混合均勻後凝固，在 37°C 倒置培養 2 天，並每天觀察。進行平板計數，觀察其菌落型態並計數 25~250CFU/ml 的菌落數

a. 無菌操作檯開紫外燈殺菌



b. 吸取 1 mL 原液，放入 9 mL 無菌水，震盪混合均勻，做連續稀釋

	
c. 吸取連續稀釋之 1mL 稀釋液	d. 放入已加入培養基之培養皿中
e. 放入 37°C 恆溫箱倒置培養 24 小時	
f. 菌落數計算(*依實驗設計製作不同稀釋倍數)	

(五) 亞硝酸測定

(此測定向南台灣科技股份有限公司租借實驗儀器)

1. 檢量線製作:

製備不同濃度之亞硝酸離子標準液，進行亞硝酸離子分析，隨後將分析後的數值依照不同濃度進行檢量線製作，並計算其斜率公式。

2. 樣品前處理:

將樣品連汁帶葉進行粉碎後，過濾取得樣品液，隨後將樣品進行稀釋一千倍處理。

3. 亞硝酸離子分析:

將稀釋好的樣品代測液利用幫浦送入流動注入分析系統(Flow injection analysis, FIA)進行亞硝酸離子分析，並將所得數值代入檢量線斜率公式進行濃度，計算所得為樣品中所含之亞硝酸離子含量。

伍、研究結果

本實驗發現有調味無菌的泡菜原生菌株對醋酸的敏感，所以導致添加調味料後，後其原生菌株大量死亡，致使起始菌數呈現較低 ($3.90 \log(\text{CFU/g})$) (圖 1)，而無調味有菌的沒有調味料抑制雜菌，前期必須和雜菌競爭養分，後期長得比較好(圖 7)，可能是因為調味料中含有抑制乳酸菌的生長物質。

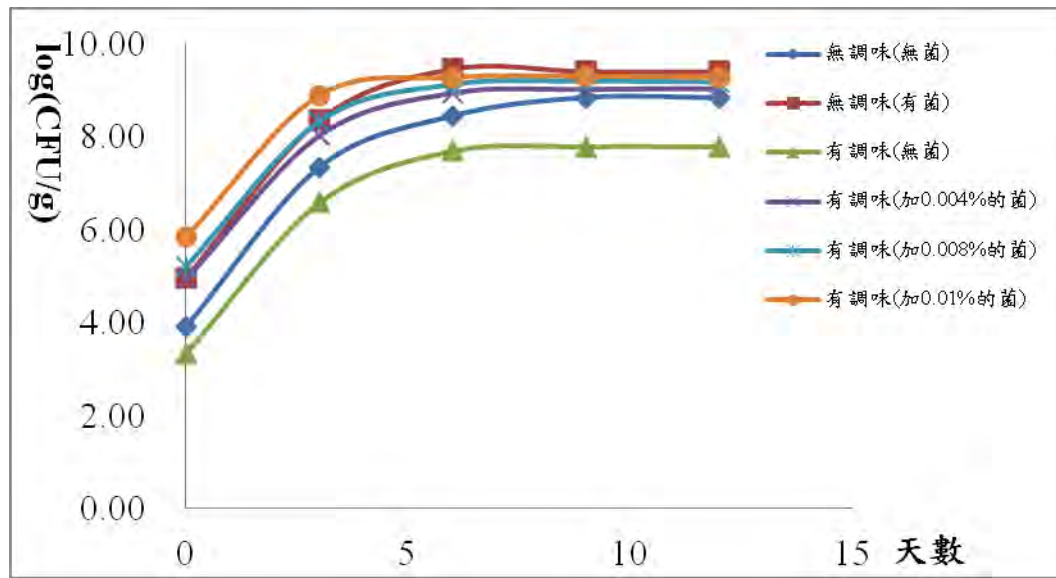


圖 1、不同條件發酵黃金泡菜其乳酸菌數的變化

而從數據上顯示含有調味料泡菜其 pH 值下降速度較不含調味料的泡菜 pH 值下降速度快，且最終 pH 值為低(圖 2)，由此看出調味料的存在對於泡菜 pH 值的變化具有影響。

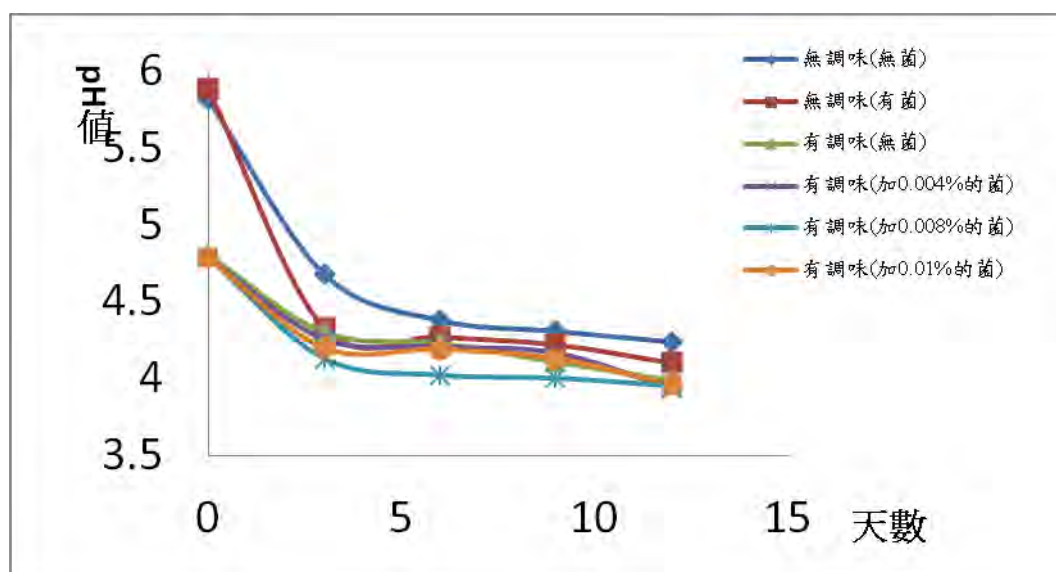


圖 2、不同條件下發酵黃金泡菜 pH 值的變化

另從糖度的變化來看有添加調味料其糖度下降速度與菌數及酸度相符(圖 3)，由此觀察出乳酸菌除了利用東北山東白菜做為營養來源亦會利用調味料中醣類做為營養來源

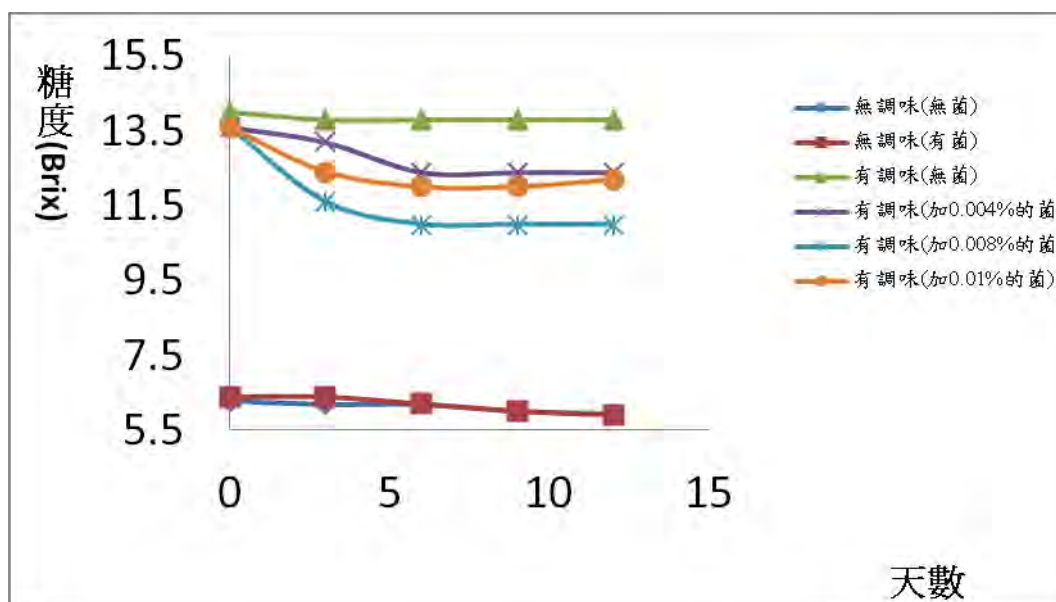


圖 3、不同條件下發酵黃金泡菜糖度(Brix)的變化

隨著時間的培養、乳酸菌數的上升，從酸度的結果顯示數據相符(圖 4)，此外出現有趣的現象，含有調味料的泡菜其酸度較無添加調味料的酸度來的高，由糖度的數據推論可能由於調味料中糖類等碳氮源的影響導致。

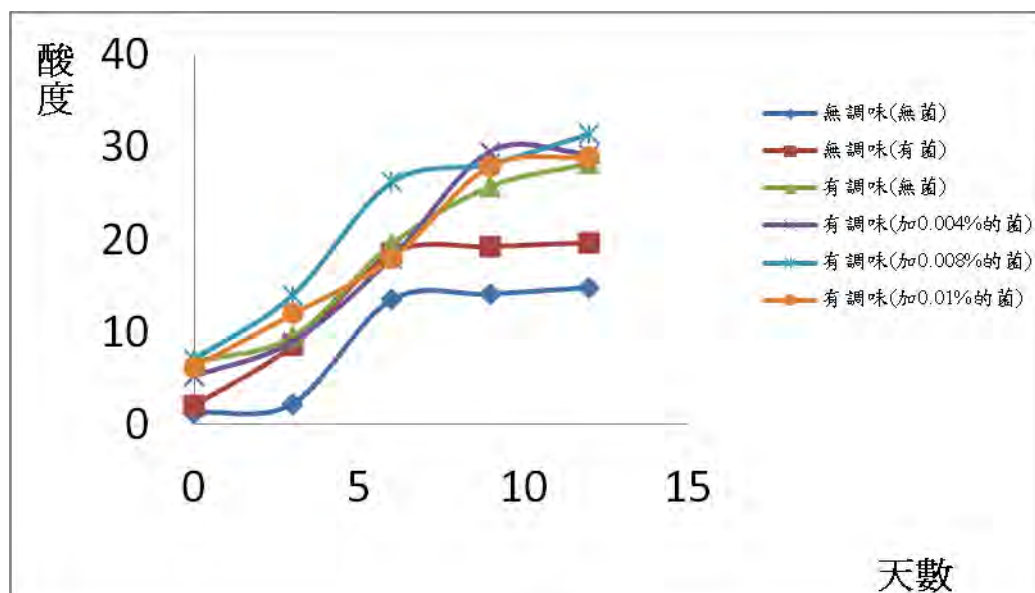


圖 4、不同條件下發酵黃金泡菜酸度的變化

從(圖 5)數據顯示乳酸菌的存在與鹽度的變化形成正相關，可能由於乳酸菌分泌乳酸，與離子形成錯合鹽類之緣故。

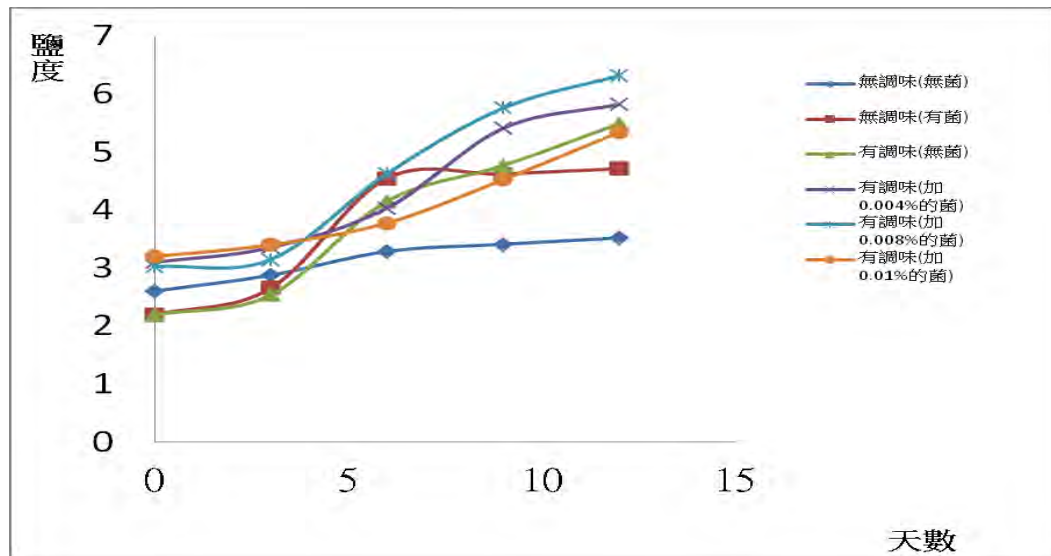


圖 5、不同條件下發酵黃金泡菜鹽度的變化

於文獻中指出自然界中存在部分微生物，具有將蔬菜中物質轉變為亞硝酸或將蔬菜中亞硝酸釋放的能力，而從本實驗結果顯示無調味料無菌的數據顯示與文獻相符(圖 6)，經室溫培養至第三天亞硝酸受到微生物的轉化及釋放含量明顯增加，隨後因原生的乳酸菌優勝劣汰，將雜菌抑制並使亞硝酸還原降解，使泡菜中的亞硝酸下降，而從添加乳酸菌的部分來看，由於一開始乳酸菌便將雜菌抑制，所以亞硝酸所測得含量並無增加，甚至有隨培養下降的趨勢，然則有調味料無添加菌的結果顯示，亞硝酸經實驗測出含量較低，可能是因為調味料中含有醋酸等抑制物質可有效抑制雜菌或殺死雜菌。

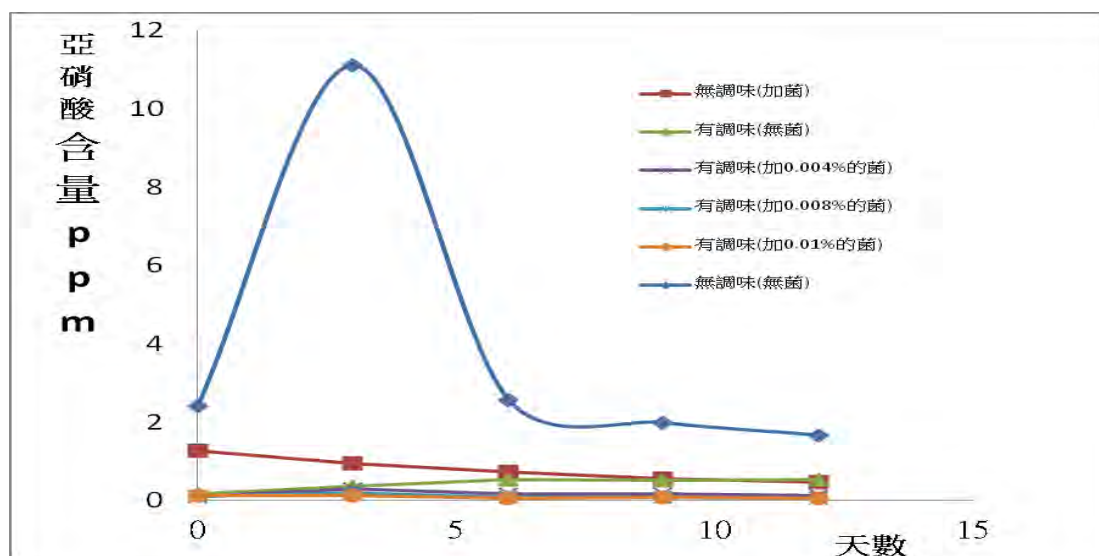


圖 6、不同條件發酵黃金泡菜其亞硝酸含量變化



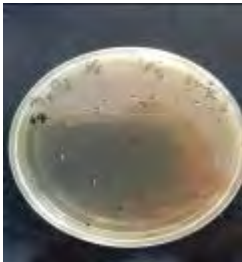
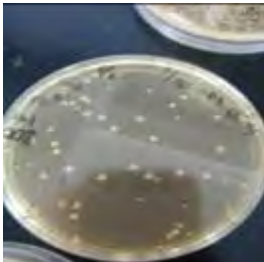
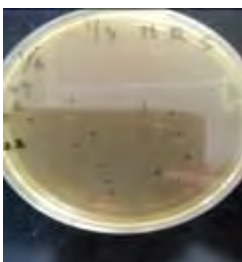






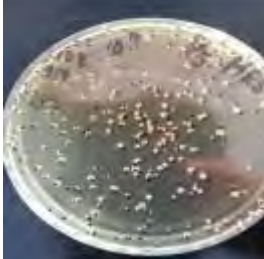
樣品	第一天	第二天
無調味 (無菌)		
無調味 (有菌)		
有調味 (無菌)		
有調味 (0.004%菌)		
有調味 (0.008%菌)		
有調味 (0.01%菌)		

圖 7、本研究製作的泡菜乳酸菌的生長情形

第三天乳酸作用使 pH 值降低，第六天時有上升趨勢，此後 pH 值達到一個平衡狀態。

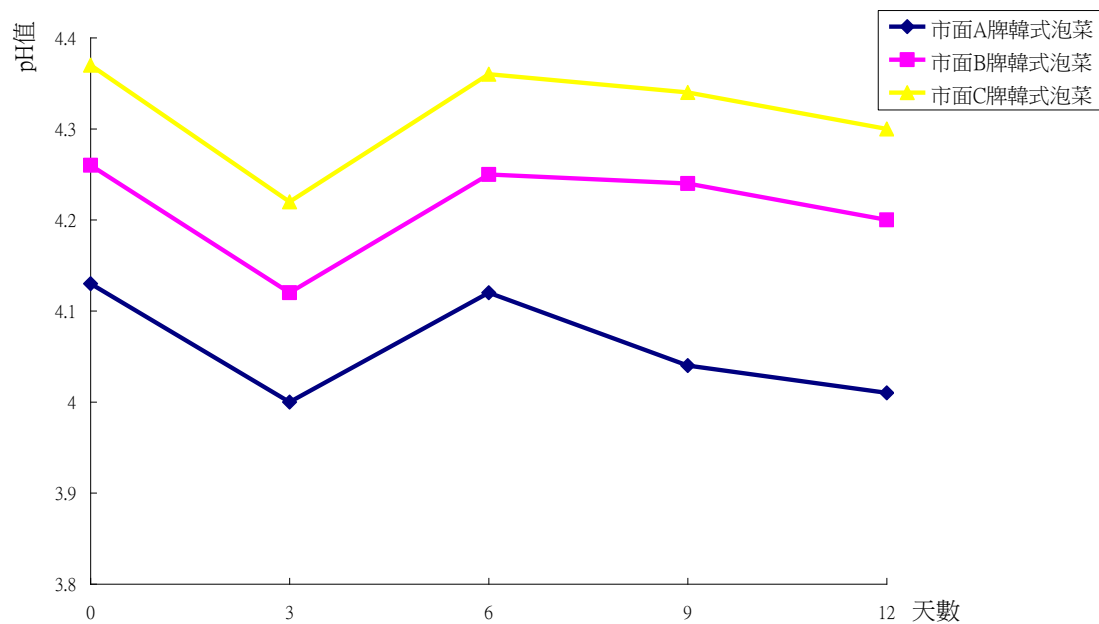


圖 8、不同廠牌的韓式泡菜其 pH 值變化

市面 A 牌韓式泡菜、市面 B 牌韓式泡菜、市面 C 牌韓式泡菜在第六天有下降的趨勢，推測可能為空氣中的腐敗菌造成為生物繁殖，消耗掉碳源所致，這是值得探討的地方

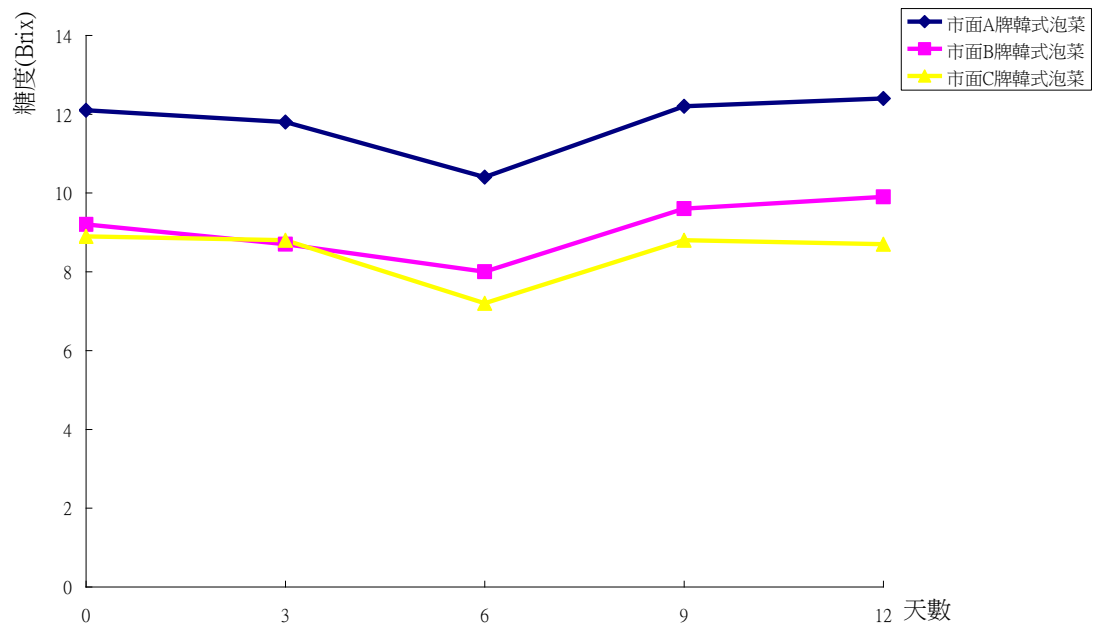


圖 9、不同廠牌的韓式泡菜其糖度變化

乳酸增加的時候，酸度增加，第三天到第六天趨向穩定，市面 A 牌韓式泡菜第九天乳酸持續增加，pH 值降低，如圖 8、10，推測為儲存環境改變造成酸敗。市面 C 牌韓式泡菜在第三天到第六天其酸度降低，可能為腐敗菌汙染，pH 值上升，酸度降低，如圖 8、10。

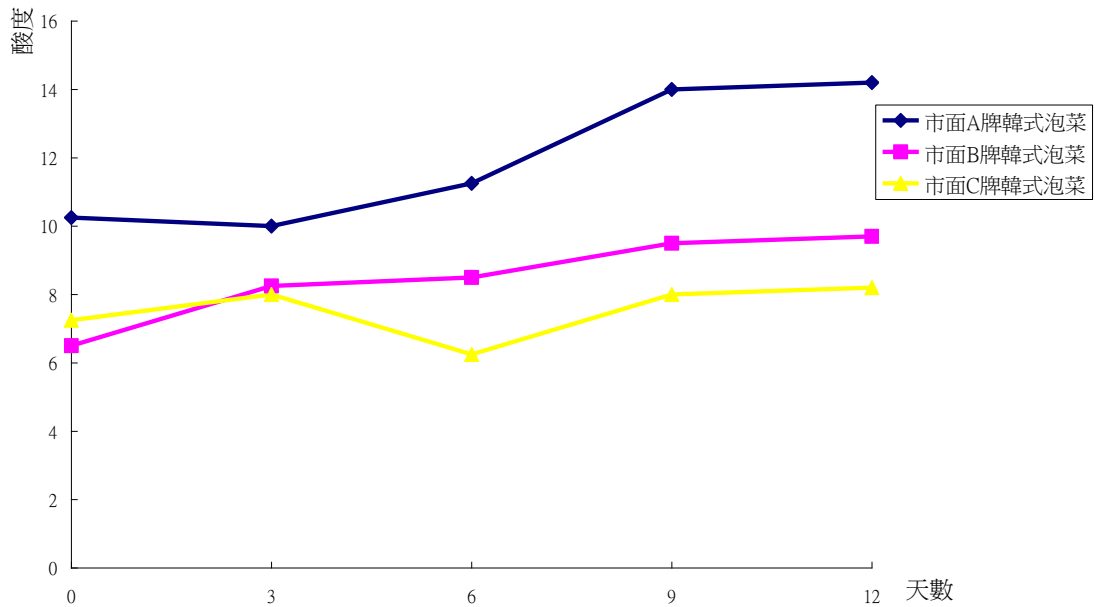


圖 10、不同廠牌的韓式泡菜其酸度變化
市售三種產品經過開罐取樣 12 天存放後，鹽度變化不大。

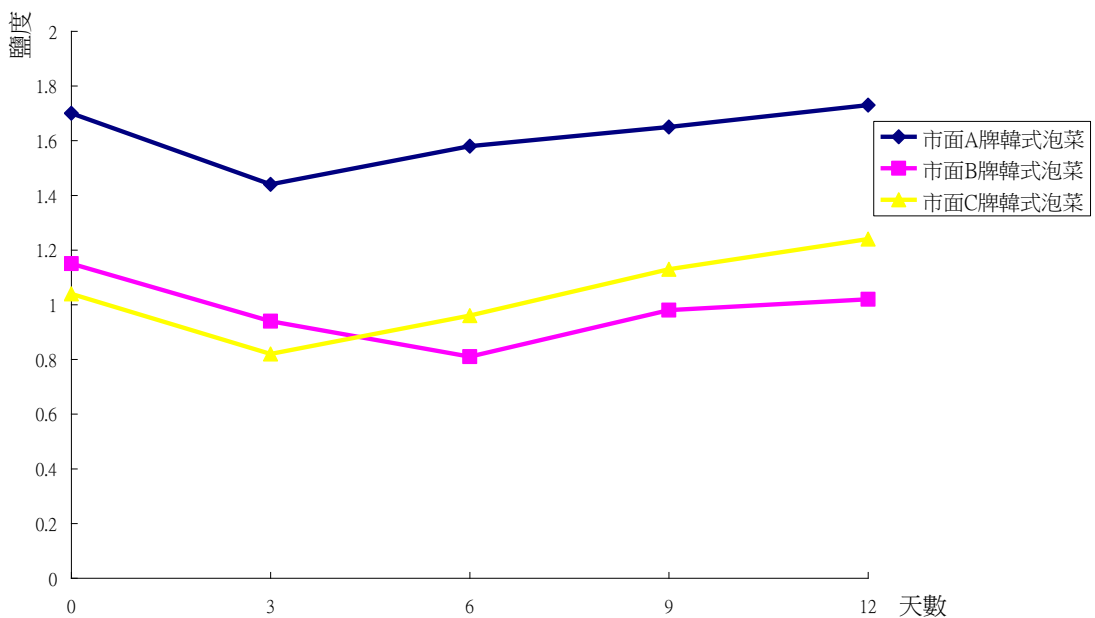


圖 11、不同廠牌的韓式泡菜其鹽度變化

由圖 12 及圖 13 所示，市售泡菜所測出的乳酸菌數及亞硝酸鹽的含量皆為零，這是因為添加防腐劑的緣故，添加防腐劑會抑制菌種的生長，所以導致乳酸菌數為零。添加防腐劑也可延長保存期限，而市售韓式泡菜是裝在密封罐中，這兩項原因形成脫硝反應的最佳條件:無氧且長時間，故蔬菜中的亞硝酸鹽則經由脫硝反應還原成氧及氮氣。本實驗則因無添加防腐劑故不影響乳酸菌生長狀態，而因時間不夠長的緣故使得亞硝酸鹽仍存在微量。



圖 12、不同廠牌的韓式泡菜其亞硝酸變化

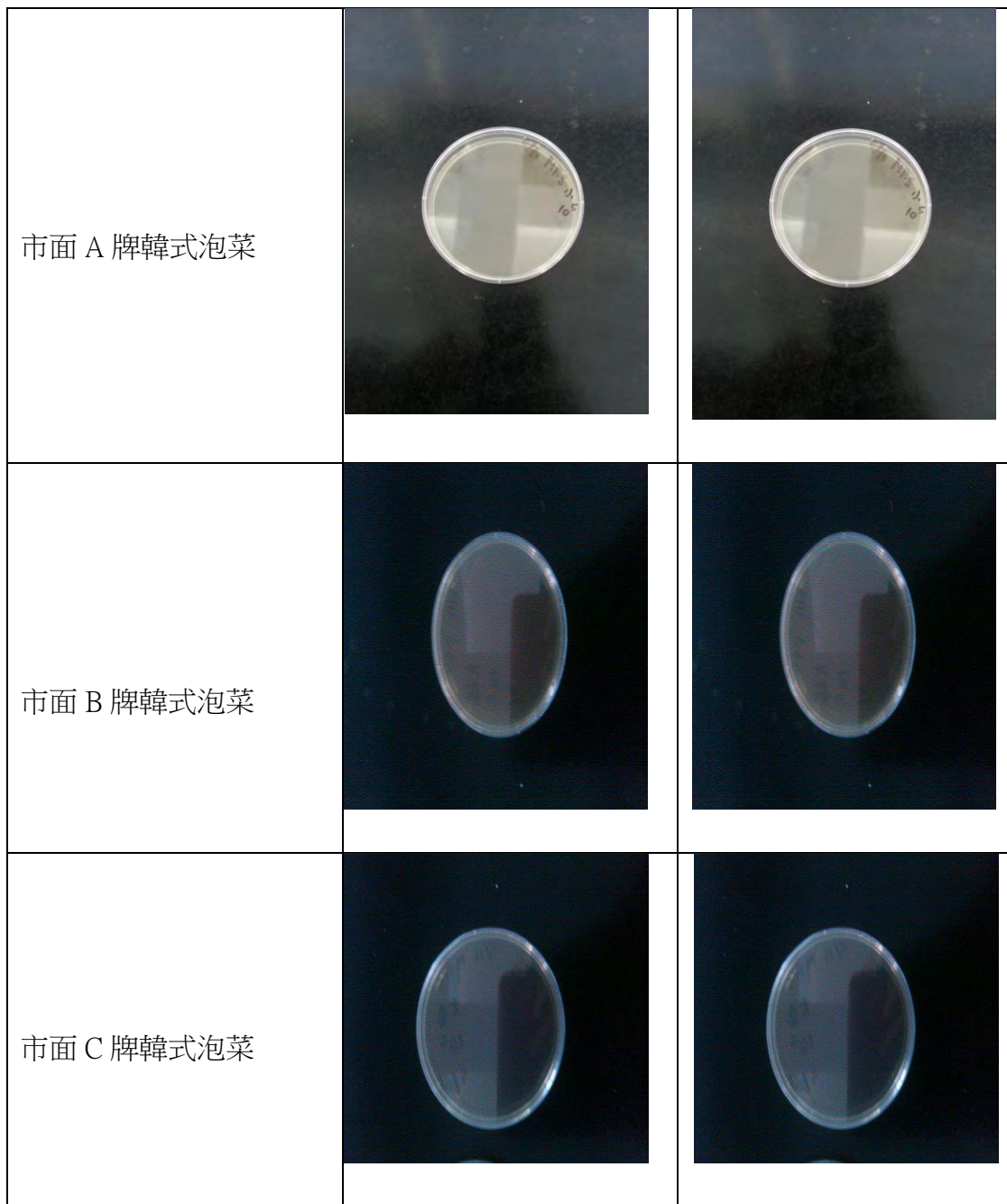


圖 13、市售泡菜乳酸菌生長情形

陸、討論

由(圖 1)結果來看控制組未接菌之山東大白菜起始乳酸菌含量為 3.90 log (CFU / g)，接菌後乳酸菌數為 4.95 log (CFU / g)，有調味料無菌 3.34 log (CFU / g)，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後菌數分別為 4.92、5.21、5.84 log (CFU / g)，隨著發酵時間的延長，由六到十二天結果可以發現培養一周菌數即可達到平穩期，而數據顯示添加 0.01%菌液與發酵第三天菌數即可達到 8.88 log (CFU / g)，此外從無調味的控制組來看添加乳酸菌液發酵 12 天後乳酸菌數由 8.82 log (CFU / g)提升至 9.93 log (CFU / g)，而從不同濃度菌液的添加顯示隨著濃度的增加發酵菌數的曲線有呈現正相關，從以上菌數來看菌液的添加能有助於泡菜提升乳酸菌最終活菌濃度，而起始菌數的增加能有效的促使泡菜得提早熟成。

由(圖 2)結果來看控制組未接菌之山東大白菜 pH 起始值為 pH5.81，接菌後 pH 為 pH5.88，無添加菌調味後 pH 值為 pH4.8，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後 pH 值皆為 pH4.79，發酵三天後，山東大白菜 pH 值為 pH4.68，無添加菌調味後 pH 值為 pH4.3，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後 pH 值分別為 pH4.26、pH4.13、pH4.2，發酵第六天，山東大白菜 pH 值為 pH4.38，無添加菌調味後 pH 值為 pH4.23，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後 pH 值分別為 pH4.21、pH4.02、pH4.19，由上述結果來看調味組相較於未調味組 pH 起始值較低較易達到發酵 pH 的終點。

由(圖 3)結果來看控制組未接菌之山東大白菜糖度起始值為 6.3Brix，接菌後糖度為 6.4 Brix，無添加菌調味後糖度值為 14Brix，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量添加菌液後糖度值皆為 13.6Brix，發酵三天後，山東大白菜糖度值為 6.2Brix，無添加菌調味後糖度值為 13.8Brix，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後糖度值分別為 13.2Brix、11.6Brix、12.4Brix，發酵最後一天，山東大白菜糖度值為 5.93Brix，無添加菌調味後糖度值為 13.8Brix，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後糖度分別為 12.4Brix、11Brix、12.2Brix，由此可見乳酸菌發酵至平穩期後開始大量使用糖類做為養份來源。

由(圖 4)結果來看控制組未接菌之山東大白菜酸度起始值為 1.25，接菌後酸度為 2，無添加菌調味後酸度值為 6.75，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後酸度值分別為 5.25、7、6.25，發酵第六天後，山東大白菜酸度值為 13.5，無添加菌調味後酸度值為 19.5，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後酸度值分別為 18、26.25、18，其數據

與糖度變化成正相關。

由(圖 5)結果來看控制組未接菌之山東大白菜鹽度起始值為 2.6，接菌後鹽度為 2.2，無添加菌調味後鹽度值為 2.2，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後鹽度值分別為 3.1、3.02、3.2，發酵至第六天後，山東大白菜鹽度值為 3.285，無添加菌調味後鹽度值為 4.15，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後鹽度值分別為 4.035、4.625、3.775，對應酸度數據來看鹽度的上升與酸的變化似乎存在某種相關性。

由(圖 6)結果來看控制組未接菌之山東大白菜亞硝酸起始值為 2.42ppm，接菌後亞硝酸為 1.26 ppm，無添加菌調味後亞硝酸值為 0.17 ppm，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後亞硝酸值分別為 0.11 ppm、0.11 ppm、0.12 ppm，發酵至第三天後，山東大白菜亞硝酸值由起始的 2.42 ppm 上升至 11.1 ppm，無添加菌調味後亞硝酸值為 0.36 ppm，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後亞硝酸分別為 0.29 ppm、0.19 ppm、0.13ppm，發酵至第六天後，山東大白菜亞硝酸值為 2.57 ppm，無添加菌調味後亞硝酸值為 0.54 ppm，調味後分別以最終濃度為 0.004、0.008、0.01%的添加量，添加菌液後亞硝酸分別為 0.17 ppm、0.08 ppm、0.07 ppm，由上述結果乳酸菌能有效抑制亞硝的生成。

市售 A 牌、B 牌、C 牌三種韓式泡菜與本研究所製作的六種泡菜以同樣的條件保存 0 天、3 天、6 天、9 天、12 天後，每組在不同儲存天數取三種樣品分別測定乳酸菌數、pH 值、鹽度、糖度、酸度、與亞硝酸鹽濃度。

發現在乳酸菌方面，市售的三種泡菜置於培養基中皆無乳酸菌長出的現象(圖 13)，這結果與本研究所製作的泡菜有所差異，乳酸菌數在同樣的條件下所培養的結果其乳酸菌數是隨著天數增加而增長至六天後漸漸平穩，其菌數之直接在 6~10log(CFU/g)的結果是相異的(圖 1)，故推測市售的三種泡菜可能有添加抑菌劑或防腐劑妨害乳酸菌生長，而本研究製作的產品因無添加所以仍然保有乳酸菌的存在。

在 pH 值方面，市售的三種韓式泡菜之 pH 值隨著不同的儲存天數變化分佈在 pH4~4.3 之間(圖 8)，而本研究所做的六種泡菜的 pH 值，在不同儲存的天數變化下，第 3 天後其 pH 值皆穩定的分佈在 pH4~4.5 之間(圖 2)，亦即市售的三種泡菜 pH 值與本研究製作的六種泡菜 pH 值相近。

在糖度方面，市售的三種泡菜其糖度分別在 8~14Brix(圖 9)，而本研究製作的泡菜無調味(無菌)、無調味(有菌)較低分布在 5.5~7.5Brix(圖 3)，其他有調味(無菌)、有調味(加 0.004%的菌)、有調味(加 0.008%的菌)、有調味(加 0.01%的菌)之分布在 11.5~13.5Brix 之範圍(圖 3)，這與糖的添加量有關，市售的三種泡菜糖度皆分布在 8~14Brix，這表示糖度每種品牌各有差異存在。

在酸度方面，市售的泡菜酸度分布在 6~14 的範圍(圖 10)，而本研究所製作

的六種泡菜酸度之分別隨著製作天數增加，等到第 9 天以後有無調味(無菌)、無調味(有菌)分布在 10~20，有調味(無菌)、有調味(加 0.004%的菌)、有調味(加 0.008%的菌)、有調味(加 0.01%的菌)分布在 20~30(圖 4)，由此得知市售的三種泡菜酸度比本研究的六種泡菜較低。

在鹽度方面，市售的三種泡菜之鹽度在圖 11 所示，隨著儲存的天數變化不大，其中市面 B 牌韓式泡菜、市面 C 牌韓式泡菜的鹽度分布在 1~1.2，而市面 A 牌韓式泡菜的鹽度變化不大，但略高於市面 B 牌韓式泡菜、市面 C 牌韓式泡菜的鹽度分布約在 1.8，而在本研究六種泡菜之鹽度如圖 5 所示，隨著存天數增加而略微提高，但是其中有一種無調味(無菌)的泡菜的鹽度均維持很穩定狀態，其鹽度分布在 2~3，無調味(有菌)儲存 6 天至 12 天的鹽度仍然維持在 4，有調味(無菌)、有調味(加 0.004%的菌)、有調味(加 0.008%的菌)、有調味(加 0.01%的菌)的鹽度在儲存 9 天後至 12 天其鹽度分布在 4~5，由這結果發現本研究的六種泡菜之鹽度均較市售的高。

在亞硝酸鹽的方面，市售韓式泡菜之亞硝酸鹽濃度(圖 12)，亞硝酸鹽的含量皆為零，這是因為添加防腐劑的緣故，添加防腐劑可延長保存期限，而市售韓式泡菜是裝在密封罐中，這兩項原因形成脫硝反應的最佳條件：無氧且長時間，故蔬菜中的亞硝酸鹽則經由脫硝反應還原成氧及氫氣。本實驗則因無添加防腐劑因時間不夠長使得亞硝酸鹽仍存在微量。

柒、結論

- 一、從 pH、糖、酸的測定分析中，乳酸菌在泡菜中有發酵的現象。
- 二、從菌數生長情形，可再一次證明它有參與到發酵。
- 三、沒強制接菌有原生乳酸菌在發酵，但生長欠佳。
- 四、添加乳酸菌後，可加速泡菜的熟成，也可以加速產生酸的速度，也可降低製作泡菜的失敗機率，也可確保它是一個健康菌種。
- 五、在亞硝酸數字顯示，強制接菌，不論是否有調味或未調味都可抑制亞硝酸之生成，甚至可以分解亞硝酸或中和亞硝酸。
- 六、市售的三種韓式泡菜並無發現有乳酸菌的生成，亦無發現亞硝酸含量，推論因為含有防腐劑所致。
- 七、由本次實驗結果發現，鹽度為何上升、何種鹽類生成及其機轉，都是值得進一步探討的。

另外是否有其他雜菌影響亞硝酸的生成，是否亞硝酸抑制這些有害菌，導致亞硝酸生成受到抑制，還是對亞硝酸進行還原，或亞硝酸生成酶被抑制，期待未來可去探討這些機轉。

捌、參考資料及其他

- 1.曾道一、賈宜琛(2002)。食品科學概論。臺北市:新文京。
- 2.馬宗能(2002)。分析化學實習。臺南市:復文。
- 3.劉軒如等(2011)。高職組 農業及生物科技科 低鹽的韓式泡菜接 菌對
發酵期間之影響，未出版，高雄市。
- 4.http://yengo.blogspot.tw/2008/10/blog-post_12.html
- 5.<http://tw.knowledge.yahoo.com/question/question?qid=1609060602210>
6. <http://www.talab.org.tw/knowledge.htm#01>
7. <http://tw.knowledge.yahoo.com/question/question?qid=1008073004278>
8. <http://hk.knowledge.yahoo.com/question/question?qid=7008091900022>
9. <http://tw.knowledge.yahoo.com/question/question?qid=1007111202436>
10. <http://tw.aboluowang.com/life/2011/0628/209817.html>
- 11.<http://www.wretch.cc/blog/edutrinity/448823>
- 12.<http://zh.wikipedia.org/wiki/%E9%9F%93%E5%9C%8B%E6%B3%A1%E8%8F%9C>
13. <http://www.shs.edu.tw/works/essay/2011/03/2011033011102081.pdf>
14. <http://tw.myblog.yahoo.com/kimgad3357655/article?mid=392&next=383&l=a>

【評語】 091405

1. 實驗主題以乳酸菌降低泡菜中硝酸鹽含量，內容具創意。
2. 實驗設計及執行方法較欠缺嚴謹度。
3. 實驗成果若能更進一步分析則具有應用性。