

【文章编号】 1004-1540(2008)02-0103-05

促进乳酸菌发酵特性的植物激活剂筛选

活 泼¹, 蒋家新², 黄光荣², 石月峰¹, 俞远志¹, 张艳萍¹, 薛 丽¹, 李 敏¹

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 浙江 杭州 310023;

2. 中国计量学院 生命科学学院, 浙江 杭州 310018)

【摘要】 研究了激活剂对乳酸菌发酵性能的影响. 通过实验发现, 不同乳酸菌所需的激活剂不同, 马铃薯汁作为激活剂可有效缩短 2 号菌的发酵时间, 提高其产酸能力, 但对 1 号菌却没有明显的激活作用.

【关键词】 乳酸菌; 激活剂; 发酵性能

【中图分类号】 Q939.9

【文献标识码】 A

Selection of the plant promoters for improving the fermentation properties of lactic acid bacteria

HUO Po¹, JIANG Jia-xin², HUANG Guang-rong², SHI Yue-feng¹,

YU Yuan-zhi¹, ZHANG Yan-ping¹, XUE Li¹, LI Min¹

(1. School of Biology and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China;

2. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The influence of the promotor to the fermentation properties of lactic acid bacteria was studied. The results of the experiments showed that different lactic acid bacteria required different promoters. Potato juice can shorten the fermentation time of strain 2 and can also improve its acidic ability as a promotor, but it does not have any effect on strain 1.

Key words: lactic acid bacteria; promotor; fermentation property

菌种的优良与否决定了发酵食品风味的差异, 优良的菌株可赋予发酵食品较好的风味和质地, 尤其在酸奶生产中, 菌种的选育至关重要. 本研究筛选菌种目的是用于生产发酵乳制品, 从采集的新疆山区牧民自然发酵酸奶制品中分离筛选出 2 株发酵酸奶风味较好的菌株, 但其发酵时间较长. 为了

缩短其发酵时间, 使其应用于实际生产, 在本文中对其激活剂进行了研究, 获得了较好的研究结果.

1 实验材料

1.1 主要原辅料和仪器

菌种: 由实验室自行采集的样品中分离所得

【收稿日期】 2008-04-27

【基金项目】 浙江省科技计划基金资助项目 (No. 2004C32090).

【作者简介】 活泼 (1962-), 女, 新疆伊犁人, 研究员, 主要研究方向为食品生物技术.

菌种1号和2号。

牛奶:市售伊利纯牛奶、双峰纯牛奶

植物:市售新鲜土豆、番茄、胡萝卜、山药、佛手瓜,实验中使用的是土豆、番茄、胡萝卜、山药、佛手瓜的可食用部分。

试剂和仪器:蔗糖、乳糖、葡萄糖、酵母膏、蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、柠檬酸氢二铵、无水醋酸钠、氢氧化钠、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 Na_2HPO_4 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ 、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 、超净工作台、SPX-250B-G型培养箱、榨汁机等。

1.2 培养基^[1]

1号培养基(g/L):

大豆蛋白胨 5.0 g, 蛋白胨 2.5 g, 酵母膏 5.0 g, 牛肉膏 6.0 g, 乳糖 5.0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 g, Na_2HPO_4 5.0 g, Vc 0.5 g, 琼脂 15 g, pH 7.0~7.2.

2号培养基(g/L):

蛋白胨 10.0 g, 酵母膏 5.0 g, KH_2PO_4 6.0 g, 柠檬酸氢二铵 2.0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 g, $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.12 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.04 g, 无水醋酸钠 15 g, 吐温 1.0 ml, 葡萄糖 20 g, 琼脂 15 g, pH 5.5.

2 实验方法

2.1 氢氧化钠标准溶液 $[C_{(NaOH)} = 0.100 \text{ mol/L}]$

称取 40 g 氢氧化钠,溶于 100 ml 水中,摇匀使之成为饱和溶液后存于聚乙烯容器中,密闭放置数日后至溶液清亮,然后吸取该溶液 10 ml 于 1 000 ml 无二氧化碳的水(将蒸馏水煮沸后冷却)中,摇匀,标定后备用。

2.2 0.5% 酚酞指示液

酚酞 0.5 g 溶于 100 ml 95% 乙醇中,贮存于棕色瓶中保存备用。

2.3 平板菌种培养

1、2号培养基各 200 ml,分装于 500 ml 锥形瓶中,标记 1号、2号,121℃ 灭菌 20 min,倒平板,备用。用接种环蘸取菌种分别在相应平板培养基上划线接种,置 40℃ 培养 48 h。

2.4 菌种培养

用接种环以无菌操作分别取 2.3 培养的菌种于液体培养基中,40℃ 培养约 4 h。用已灭菌的吸量管吸取 1 ml 菌液于 100 ml 牛奶培养基中,

40℃ 培养到凝乳完全。再取凝乳的菌种以 2% 接种牛奶培养至凝乳,依此方法活化菌种 3 代,所得酸奶备用。

2.5 植物激活剂的制备方法

将植物洗净、去皮,切块后用榨汁机榨汁,过滤取汁,备用。

2.6 植物激活剂的使用方法

牛奶加入激活剂后,95℃ 水浴灭菌 15 min,取活化好的菌种接种于添加了激活剂的牛奶培养基中,置 40℃ 恒温培养箱中培养至其凝乳完全,备用。同法另做不加激活剂的空白对照,见图 1。

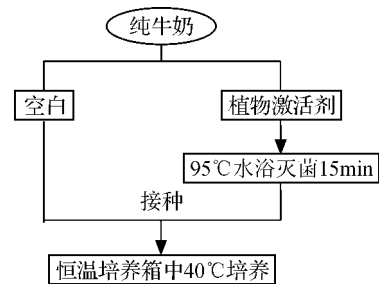


图 1 植物激活剂的使用方法

Figure 1 Using method of plant promotor

2.7 酸奶酸度测定^[2]

称取已搅拌均匀的试样 5 g,准确至 0.01 g,置于 150 ml 锥形瓶中,加入 40 ml 新煮沸放置冷却至 40℃ 的水,小心摇匀,再加入 5 滴酚酞指示液,小心摇匀,用 0.100 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定至出现粉红色,并在 0.5 min 内不褪色,记录消耗的氢氧化钠标准溶液毫升数,同时做空白试验。

酸度计算:

$$X_2 = C \times 5.00 \times (V_2 - V_1) \times 20 / (0.1000M_2)$$

X_2 —试样的酸度,°T

C —氢氧化钠标准滴定溶液的浓度, mol/l

V_2 —试样消耗氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数, ml

V_1 —空白试验消耗氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数, ml

M_2 —试样的质量, g

2.8 粘度测定方法

采用乌氏粘度计测量酸奶粘度。

2.9 产酸速度测定

产酸速度是酸奶发酵的重要参数,其大小是对菌种活力和发酵效果的重要反映;平均产酸速度=终点滴定酸度/发酵时间,°T/h^[3]。

3 结果与讨论

3.1 植物激活剂的筛选

1号菌、2号菌在纯牛奶中的发酵凝乳时间分

别为24 h和6 h,为了提高其发酵活力、缩短其凝乳时间,进行了1号、2号菌的植物激活剂筛选,结合文献检索结果^[4-9],初步选定Vc、佛手瓜、山药、胡萝卜、番茄、马铃薯、蛋白胨、酪蛋白胨等植物提取液作为2号菌激活剂,对2号菌进行激活实验,结果见表1、表2。

表1 各种激活剂对2号菌的发酵时间影响

Table 1 Influence of promoters to strain 2

激活剂	性状	凝乳时间/h	结论
空白	凝乳较松软有部分乳清析出,有轻微发酵乳香味	6	
Vc、酪蛋白胨、蛋白胨	凝乳较松软有部分乳清析出,有淡淡发酵乳香味	6	无激活效果
佛手瓜汁	凝乳较松软有部分乳清析出,有佛手瓜香味,但无发酵乳特有香味	6	无激活效果
山药	凝乳较松软有部分乳清析出,有轻微山药特有香味及发酵乳香味	6	无激活效果
胡萝卜汁	凝乳形态较结实,上层有些许乳清析出,搅碎后形态均匀,滑润不含块状物,无大量乳清分离,有轻微胡萝卜香味及发酵乳特有香味	5	有激活效果
番茄汁	凝乳形态较实,上层有些许乳清析出,搅碎后形态均匀,滑润不含块状物	5	有激活效果
马铃薯汁	凝乳形态较实,上层无乳清析出,搅碎后形态均匀,滑润不含块状物,有马铃薯香味及发酵乳的特有香味	4	有激活效果

表2 各种激活剂对1号菌的发酵时间影响

Table 2 Influence of promoters to strain 1

激活剂	空白	胡萝卜汁	番茄汁	马铃薯汁
凝乳时间/h	24	20	20	18
激活剂	Vc	佛手瓜汁	蛋白胨	酪蛋白胨
凝乳时间/h	21	24	18	18

注:1号菌由于菌种自身发酵速度较慢,故只对发酵时间进行记录

结果表明,Vc、佛手瓜、山药等植物提取液对2号菌发酵无促进作用,胡萝卜、番茄、马铃薯等植物提取液对2号菌发酵有促进作用。1号菌发酵速度较慢,八种激活剂对其均无明显促进作用,马铃薯汁、蛋白胨、酪蛋白胨等对其有微弱的激活效果,但发酵周期仍然过长,适合于1号菌的激活剂有待进一步研究探讨,由此也可看出不同的乳酸菌需要不同的激活剂。所以以下仅对2号菌的

激活剂进行进一步研究。

3.2 三种植物激活剂对2号菌发酵活力的影响

为了进一步研究胡萝卜、番茄、马铃薯等植物提取液对2号菌的激活效果,以植物激活剂用量5%,接种量10%,培养温度40℃,对2号菌进行发酵培养,结果如表3。

与对照相比,马铃薯汁对2号菌种的激活作用效果最好,可缩短发酵时间2 h,胡萝卜汁和番茄汁对2号菌种的激活作用均不如马铃薯明显。

3.3 不同植物激活剂用量对2号菌发酵活力的影响

为了缩短2号菌的发酵周期,增加激活剂用量以便观察其是否对2号菌的发酵周期具有更明显的缩短作用,见表4。

优化工艺条件:蔬菜汁用量5%、10%,菌种接种量10%,培养温度40℃。

表3 三种植物激活剂对2号菌发酵时间的影响
Table 3 Influence of three kinds of promoters to strain 2

时间/h	激活剂			
	胡萝卜汁	番茄汁	马铃薯汁	空白
1	上层无结膜液体状, 无明显变化	上层无结膜液体状, 无明显变化	上层无结膜液体状, 无明显变化	上层无结膜液体状, 无明显变化
2	上层无结膜液体状, 无明显变化	上层无结膜液体状, 无明显变化	上层有部分粘稠状可流动液体 下层部分凝固	上层无结膜液体状, 无明显变化
3	上层有部分粘稠状 可流动液体下层部分凝固	上层有部分粘稠状 可流动液体下层部分凝固	凝乳未完全	液体变粘稠
4	凝乳未完全	凝乳未完全	凝乳完全形态较结实	开始凝乳
5	凝乳完全上层有些 许乳清析出	凝乳完全上层有些 许乳清析出		6h后凝乳完全 取出培养箱
冷藏 24 h 后 观察结果	凝乳形态较实, 表面无乳清析出, 搅碎后, 形态均匀, 滑润不含块状物.	凝乳形态较实, 表面无乳清析出, 搅碎后, 形态均匀, 滑润不含块状物.	凝乳形态较实, 表面无乳清析出, 搅碎后, 形态均匀, 滑润不含块状物, 有发酵乳的特有香气香味.	凝乳形态较前3者, 不够结实较松软, 上层少量乳清析出搅碎后, 形态不够均匀含少量块状物.

表4 激活剂用量对2号菌的发酵影响
Table 4 Influence of the ammount of promotor to strain 2

时间/h	激活剂		
	马铃薯汁 5 ml	马铃薯汁 10 ml	空白
1	上层无结膜液体状, 无明显变化	上层无结膜液体状, 无明显变化	上层无结膜液体状, 无明显变化
2	上层有部分粘稠状可流动液体下层凝固	上层有部分粘稠状可流动液体下层凝固	上层无结膜液体状, 无明显变化
3	凝乳未完全	凝乳未完全	液体变粘稠
4	凝乳完全形态较结实	凝乳完全形态较结实	上层有部分粘稠状可流动液体 下层凝固凝乳未完全
6			凝乳完全形态较结实, 有少许乳清析出
4℃冰箱保存 24 h后观察	凝乳形态较结实, 表面无乳清析出, 搅碎后形态均匀, 滑润不含块状物.	凝乳形态较结实, 表面无乳清析出, 搅碎后形态均匀, 滑润不含块状物.	凝乳不够结实较松软, 上层少量乳清析出, 搅碎后, 形态不够均匀含少量块状物.

激活剂不同用量对2号菌的凝乳时间均有明显缩短, 其中马铃薯汁对2号菌的作用最为明显. 故对2号菌选用5%马铃薯汁为激活剂最为恰当, 见表3、表4.

3.4 植物激活剂对2号菌发酵酸奶的酸度影响

酸奶的酸度与粘度是酸奶质量的重要指标, 对2号菌添加了激活剂与不添加激活剂进行酸度测定, 观察其发酵效果, 结果见表5.

表5 植物激活剂对2号菌发酵酸奶酸度的影响
Table 5 Influence of promotor to acidic ability of strain 2

项目/时间 (h)	1	2	3	4	5	6	产酸速度 (°T/h)
对照酸度 (°T)	38.4	47.8	87.6	115.6	139.6	148.6	24.77°T/h
激活剂 (马铃薯汁)	78	94.2	116.4	165.8			41.45°T/h

由图2可见,马铃薯汁组酸度、产酸速度均明显高于空白组,说明马铃薯汁对2号菌的产酸有显著提高。

3.5 植物激活剂对2号菌发酵酸奶粘度的影响

由表6可见,实验所用粘度计在发酵3h后就无法测出马铃薯汁组的粘度,已超出其测量范围。说明添加了马铃薯汁的2号菌产胞外多糖(产粘)能力明显提高。胞外多糖可以以荚膜多糖或黏多糖形式存在。乳酸菌产胞外多糖可以提高酸乳的流变学特性,减少或阻止乳清的析出。可见,马铃薯汁对2号菌有较好的激活效果,可以明显提高酸奶凝乳效果。

表6 植物激活剂对2号菌发酵酸奶粘度的影响

Table 6 Influence of promotor to the viscosity of strain 2 (s)

项目	时间/h					
	1	2	3	4	5	6
对照	24.2	24.3	1258.2	1229.6	∞	∞
激活剂 (马铃薯汁)	22.4	28.3	∞	∞		

注:∞表示粘度计已无法测出其粘度;S表示秒

4 结 语

通过以上实验,我们发现马铃薯汁可有效激活2号菌的生长发酵,缩短2号菌的牛奶发酵时间,并提高其产酸能力,增加发酵后酸奶的黏度,改善酸奶的品质和口感。这有可能是因为马铃薯含有的丰富矿物质和维生素如钙、磷、铁、维生素B1、维生

素B2、尼克酸、维生素C等,对2号菌生长起到了促进作用的结果。在实验中同时发现,马铃薯汁对1号菌却没有明显的激活作用,这说明同一植物激活剂对不同的乳酸菌的作用效果不同,也可以说不同的乳酸菌需要不同的激活剂,这可能与其生长代谢过程有关,对此尚需进行进一步研究。

【参 考 文 献】

- [1] 瞿明芳,张梦寒. 酸奶中乳酸菌计数条件的研究[J]. 医学动物防治, 2006, 22(2): 129-130.
- [2] 谢继志,肖宏彬. 酸奶中乳酸菌及酸度的检测与评价[J]. 中国乳品工业, 2002(1): 22-25.
- [3] 张 红. 乳酸菌的发酵性质和生物学功能[J]. 生物学通报, 1999, 34(12): 18-20.
- [4] 吕加平. 乳酸菌增菌培养基的优化设计[J]. 中国乳品工业, 2004, 27(3): 19-22.
- [5] 张兰威,刘 维,张书军. 促进混合培养的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌生长物质的研究[J]. 中国乳品工业, 1999, 27(1): 27-29.
- [6] SHIN D H, PARK Y S, KIM Y S. Study on the optimum fermentation condition for making lactic acid beverage by using mixed-vegetable juice[J]. Food Science & Technology, 2003, 5(13): 1256-1260.
- [7] OSBORNE R J. Productiort of frozen concentrated cheese starters by diffusion culture[J]. Journal of the Society of Dairy Technology, 1977, 30(1): 40-41.
- [8] 徐晓晖,孙骏威,郭泽建. 植物与病原菌互作中活性氧的检测方法[J]. 中国计量学院学报, 2007, 18(1): 30-32.
- [9] 张明洲,应华冠. 转基因植物生物反应器的研究进展[J]. 中国计量学院学报, 2005, 16(3): 40-43.
- [10] 李 峤,王兰州,李东升,等. 三种菊科植物电信号的分析[J]. 中国计量学院学报, 2006, 17(4): 43-45.