

分离自内蒙古传统肉肠乳酸菌的生长及产酸能力研究

段 艳,靳 焱*,靳志敏,通力嘎

(内蒙古农业大学食品科学与工程学院,内蒙古呼和浩特 010018)

摘 要:对从内蒙古传统肉肠中分离的8株乳酸菌在不同温度、pH条件下的生长能力以及在不同培养基中的产酸能力进行研究。结果显示,8株菌株在不同温度及不同pH条件下均能够生长,在30℃及pH 6.5的条件下生长能力最强。8株乳酸菌在MRS液体培养基、MRS+6%NaCl+150mg/kg NaNO₂培养基及模拟肉汤培养基中培养1~13d的产酸能力基本一致,在不同培养基中均有很强的产酸能力,所有菌株在培养24h后pH均迅速下降至4.2以下,此后逐渐趋于平缓。

关键词:乳酸菌,生长,产酸能力

Growth and acid-production ability of lactic acid bacteria from traditional sausages in Inner Mongolia

DUAN Yan, JIN Ye*, JIN Zhi-min, TONG Li-ga

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: Growth ability in different temperature, different pH and acid-production ability in different culture medium of 8 lactic acid bacteria strains, which were isolated from traditional sausages in Inner Mongolia, were studied. The results indicated that 8 lactic acid bacteria strains could grow in different temperature and different pH condition, especially in 30℃ and pH 6.5. 8 lactic acid bacteria strains almost had the same acid-production ability in different culture medium from 1d to 13d, the pH were all below 4.2 after 24h and kept stable.

Key words: lactic acid bacteria; growth; acid-production ability

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)10-0206-03

内蒙古传统肉肠是游牧民族发明的一道美食,是在新鲜羊、猪、牛等动物的肠子里灌注不同汤料的一种食物。传统的肉肠多在冬季制作,作好的肉肠可即刻煮食,亦可将灌好的肉肠挂至户外晾干,待日后食用。肉肠在贮藏过程中部分微生物在其中生长,使其轻微发酵而呈现特殊的风味。因此内蒙古传统肉肠是筛选发酵香肠发酵剂的宝贵自然菌种资源。作为发酵香肠发酵剂的乳酸菌具有最基本的特性应是短期内产生足够量的酸,以使发酵环境低于pH5.1,抑制其他杂菌的生长,保证产品的安全性^[1]。为了在发酵香肠的制作过程中具有足够的竞争力,乳酸菌需在不同温度(2~24℃)及不同pH条件下(pH4.2~6.0)具有良好的生长能力^[2]。本实验所用菌株为分离自内蒙古传统肉肠中的乳酸菌,通过实验了解乳酸菌的产酸特性及生长能力,为其最终用作发酵香肠发酵剂提供依据。

1 材料与方 法

收稿日期:2011-10-27 *通讯联系人

作者简介:段艳(1980-),女,讲师,研究方向:畜产品加工。

基金项目:国家自然科学基金项目(30960300);内蒙古农业大学科技创新团队计划(NDPYTD2010-4)。

1.1 材料与仪器

实验菌株 分离自内蒙古地区传统肉肠中的乳酸菌8株,HX2-4、X3-1、X7-1b为弯曲乳杆菌,X3-2B、X3-3B、X3-4B、X3-5B、X3-13B为植物乳杆菌,经前期筛选,均符合发酵肉制品发酵剂的基本特性;MRS液体培养基^[3] 蛋白胨10g,牛肉膏10g,酵母提取物5g,K₂HPO₄2g,柠檬酸二铵2g,乙酸钠5g,葡萄糖20g,吐温-80 1mL,MgSO₄·7H₂O 0.5g,MnSO₄0.25g,蒸馏水1000mL,pH6.2~6.4;MRS+6.5%NaCl+150mg/kgNaNO₂ 上述MRS培养基中添加6.5%NaCl及150mg/kgNaNO₂;模拟肉汤培养基^[4] 牛肉膏2%,蛋白胨2%,葡萄糖1%,盐3%,NaNO₂0.015%,pH6.5。

DHT-9082型生化培养箱 上海一恒科技有限公司;ZHJH-C1214C垂直流超净工作台 上海智城分析仪器制造有限公司;T6新世纪-紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;AL204万分之一电子天平 梅特勒-托利多仪器有限公司;PB-10 pH计 德国赛多利斯。

1.2 实验方法

1.2.1 乳酸菌的活化 -80℃保存的菌种接种于MRS液体培养基,30℃培养24h,传代3代后用于以

下实验。

1.2.2 乳酸菌在不同温度下生长能力的测定 将菌种接种在 MRS 液体培养基中, 分别在 4、10、15、25、30、37、45℃ 下培养 24h, 于 600nm 处测定其 OD 值。

1.2.3 乳酸菌在不同 pH 条件下生长能力的测定 将菌种接种于 pH3.5、4.5、5.5、6.5、9.6 的 MRS 液体培养基, 30℃ 培养 24h, 于 600nm 处测定其 OD 值。

1.2.4 乳酸菌在不同培养基中产酸能力的测定 将菌种接种在 MRS 液体培养基, 添加 6.5% NaCl 及 150mg/kg NaNO₂ 的 MRS 液体培养基以及模拟肉汤培养基中, 于第 1、2、4、6、8、10、13d 测定其 pH。

1.2.5 数据统计分析 用 Microsoft Excel 统计处理, 用 SPSS18.0 软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌在不同温度下生长能力结果

由图 1 可知不同温度对菌株影响不同。8 株菌在 4、10、15、25、30、37、45℃ 条件下均能够生长。大体趋势为 6 株菌(X3-13B、X3-4B、X3-5B、X3-1、X3-2B、X3-3B)在 4℃ 时生长状况最差, 与其它温度下的 OD 值差异显著 (P < 0.05), 而 HX2-4、X7-1b 在 4℃ 时的生长状况则与 45℃ 条件下的 OD 值差异不显著。但是随着温度的增加菌株的生长能力也随之增加, 在 25、30 及 37℃ 条件下生长均较好, 与 4、10、15、45℃ 下测得的 OD 值差异显著 (P < 0.05), 在 45℃ 时 8 株菌生长能力均有明显下降。

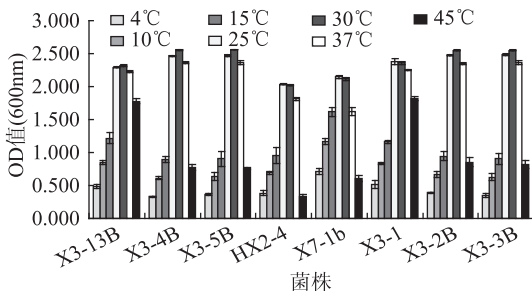


图 1 8 株菌在不同温度下生长情况

Fig.1 Effect of different temperature on the growth of 8 strains

发酵香肠生产过程中, 一般地涂抹型香肠的发酵温度为 22~30℃, 半干香肠的发酵温度为 30~37℃, 干发酵香肠的发酵温度为 15~27℃^[5], 在此温度范围内 8 株乳酸菌均能够较好地生长, 因此适合作为发酵香肠的发酵剂。

2.2 乳酸菌在不同 pH 条件下生长能力结果

由图 2 可以看出, 8 株菌在 pH3.5、4.5、5.5、6.5、9.6 的 MRS 液体培养基中均能够生长。菌株在 pH 3.5 条件下生长速率受到显著影响 (P < 0.05), 其中 H3-13B、X7-1b 及 HX2-4 与其它菌株存在极显著差异 (P < 0.01)。所有菌株在 pH4.5、5.5、6.5、9.6 条件下均能够很好生长, 其中 X3-4B、X3-5B、X3-1、X3-2B 及 X3-3B 菌体密度较大, 与其它菌株存在极显著差异 (P < 0.01)。发酵香肠发酵结束后其 pH 多低于 5.3^[6], 而本实验中使用的 8 株菌均能够在 pH4.5 的条件下很好地生长, 适合作为发酵香肠发酵剂。

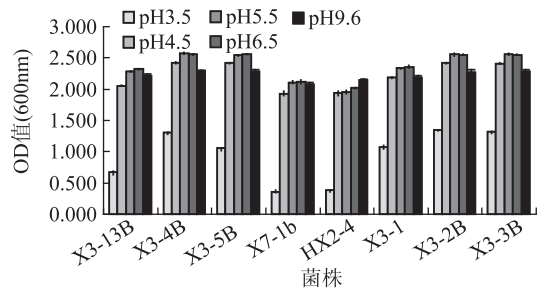


图 2 8 株菌在不同 pH 条件下生长情况

Fig.2 Effect of different pH on the growth of 8 strains

2.3 乳酸菌在不同培养基中产酸能力结果

由图 3~图 5 可知 8 株乳酸菌在 MRS、MRS + 6.5% NaCl + 150mg/kg NaNO₂ 液体培养基以及模拟肉汤培养基中培养 24h 后 pH 均下降到 4.2 以下, 说明 8 株乳酸菌均能够在短时间能快速产酸。此后乳酸菌在不同培养基中的产酸趋势大体一致, 直至第 4d pH 仍缓慢下降, 之后至第 13d pH 逐渐趋于平缓, 并且基本保持在 pH4 左右。其中培养 2d 后 X3-5B 在 MRS 液体培养基中 pH 达到最低值 3.687, 培养 4d 后 X3-4B 在 MRS + 6.5% NaCl + 150mg/kg NaNO₂ 液体培养基达到最低值 3.337, 在模拟肉汤中达到最低值 3.307。从统计分析的结果可以看出, 在不同的培养基中 3 株弯曲乳杆菌与 5 株植物乳杆菌产酸能力存在显著差异 (P < 0.05), 植物乳杆菌的产酸能力略强于弯曲乳杆菌。

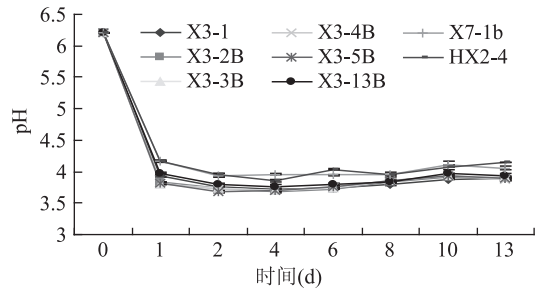


图 3 8 株菌在 MRS 液体培养基中产酸情况

Fig.3 Acid production ability of 8 strains in MRS

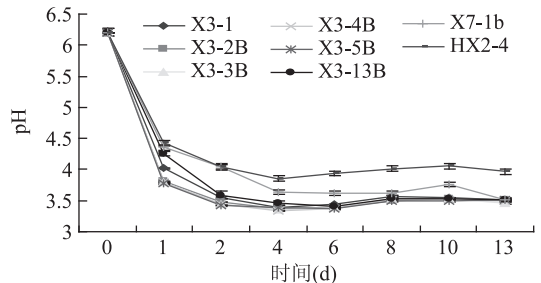


图 4 8 株菌在 MRS + 6.5% NaCl + 150mg/kg NaNO₂ 液体培养基中产酸情况

Fig.4 Acid production ability of 8 strains in MRS + 6.5% NaCl + 150mg/kg NaNO₂

8 株菌在 MRS + 6.5% NaCl + 150mg/kg NaNO₂ 液体培养基中能够快速产酸, 说明菌株均能够耐受 (下转第 211 页)

优工艺条件为 A₂B₃C₂D₂, 即: 蔗糖添加量 180g/L, 发酵温度 24℃, pH 为 4.5, SO₂ 添加量为 15mg/L。比较 R 值, 绿茶酒发酵的四大影响因素中, 发酵温度对茶酒发酵影响最大, 其次为 pH, SO₂ 和蔗糖添加量。比较表 3 中总酚含量和感官综合评分值, 发现两者间并不存在正相关, 总酚含量很高时, 反而得到的茶酒苦涩味较重, 风味不佳。这也充分表明, 决定绿茶酒感官质量的不仅仅有酚类物质, 还有其他物质, 酒是一个复杂组合体。但也可以看出, 酚类物质在一定含量范围内, 茶酒感官质量较好, 是影响其感官质量的重要因素之一。

3 结论与讨论

酚类物质对茶酒品质有重要影响, 但是酚类物质易受物理化学因素 (pH、游离 SO₂ 含量、温度、蔗糖添加量) 的影响而发生变化。由以上分析可知, 茶酒在发酵初期, 酚类物质含量迅速下降; 当主发酵结束后, 其含量总体是下降的, 但下降幅度并不大, 仍保持较高浓度。

对茶酒工艺进一步优化, 实验结果表明, 发酵温度对茶酒发酵影响最大, 其次为 pH, SO₂ 和蔗糖添加量。酚类物质在一定含量范围内, 茶酒感官质量较好, 是影响茶酒感官质量的重要因素之一。茶酒中总酚含量和感官评分值间并不存在正相关。这表明酒是一个复杂组合体, 决定绿茶酒感官质量的不仅有酚类物质, 还有其他物质。

因此, 为保证茶酒产品的风味、色泽及其稳定

性, 液态茶酒的发酵温度应控制在 20~24℃; 发酵环境应在中酸性条件下进行; 与生产其他果酒相比, 发酵前可以适当减少 SO₂ 的添加量; 添加蔗糖时可分次加糖, 一般控制在 2~3 次, 这样可以适当地控制酚类物质的含量。

参考文献

- [1] 刘晓春. 茶文化学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 11-12.
- [2] 刘恩岐, 朱维枝, 王凤君, 等. 茶酒对小鼠移植瘤抑制作用及其机理的实验研究 [J]. 中国实验动物学杂志, 1996, 6(1): 32-34.
- [3] 刘素纯, 胡茂丰, 廖兴华, 等. 乌龙茶酒的研制 [J]. 食品与机械, 2004, 20(5): 40-42.
- [4] 周丹丹, 高逢敬, 李延云. 发酵型茶叶酒生产工艺的研究 [J]. 酿酒科技, 2010, 192(6): 72-74.
- [5] 徐亚军, 赵龙飞. 微生物发酵生产绿茶酒的工艺研究 [J]. 酿酒科技, 2008, 163(1): 96-97, 101.
- [6] 李建芳, 周颖, 周枫, 等. 液态绿茶酒发酵工艺参数优化研究 [J]. 茶叶科学, 2011, 31(4): 313-318.
- [7] 卫春会, 罗惠波, 黄治国, 等. 液态发酵茶酒的研制 [J]. 酿酒科技, 2008, 173(11): 97-99.
- [8] 张正竹. 茶叶生物化学实验教程 [M]. 第一版. 北京: 中国农业出版社, 2009: 44-45.
- [9] 阙健全. 食品化学 [M]. 第二版. 北京: 中国农业大学出版社, 2008.

(上接第 207 页)

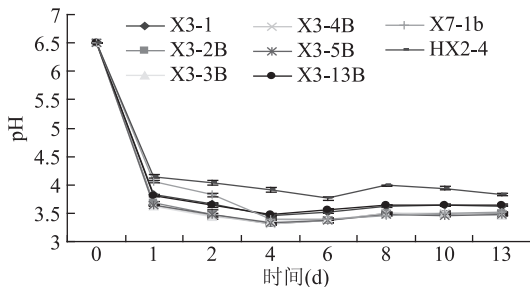


图 5 8 菌株在模拟肉汤中产酸情况

Fig.5 Acid production ability of 8 strains in simulation broth

6.5% 的 NaCl 及 150mg/kg NaNO₂ 的混合作用, 即能够耐受发酵香肠生产过程所需添加的盐及亚硝酸盐量^[7]; 另外 8 株乳酸菌能够在模拟肉汤培养基中快速产酸, 说明其在肉类基质中的产酸能力较强。因此本实验中 8 株乳酸菌均符合作为发酵香肠发酵剂产酸的要求, 适合作为发酵香肠发酵剂。

3 结论

从内蒙古传统肉肠中分离到的 8 株乳酸菌在不同的培养温度下均能够生长, 其中在 25、30、37℃ 条件下生长能力较强。在不同 pH 条件下 8 株菌均能够很好生长。在不同培养基中菌株的产酸能力均很

强, 在 24h 内能够将培养基的 pH 降至 4.2 以下。因此, 本实验中所选用的 8 株乳酸菌均符合作为发酵香肠发酵剂生长及产酸能力的要求。菌株的其他特性有待进一步研究, 以从中筛选出最优菌株用作发酵香肠发酵剂。

参考文献

- [1] Buckenhuskes H J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities [J]. FEMS Microbiology Reviews, 1993(12): 253-271.
- [2] Mohammed Salim Ammor, Baltasar Mayo. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update [J]. Meat Science, 2007, 76: 138-146.
- [3] 陈天寿. 微生物培养基的制造和应用 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [4] 王永霞, 杨风云, 牛天贵. 乳酸菌肉品发酵剂的选择 [J]. 肉类工业, 2006(5): 27-30.
- [5] 周光宏. 畜产品加工学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [6] W P Hammes, H J Knauf. Starters in the processing of meat products [J]. Meat Science, 1994, 36: 155-168.
- [7] 孔保华, 罗欣, 彭增起. 肉制品工艺学 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2001.