

粉丝生产中引起淀粉粒凝集的 乳酸链球菌纯培养的研究

北京大学生物系 卢光莹 甘忠如 曹宗翼
北京粉丝厂 刘仲岑

在我国,遍布各省的大小粉丝厂均采用酸浆法生产淀粉,然后制成粉丝。在生产过程中,酸浆质量的好坏对粉丝的产量和质量有着决定性的影响。我们的工作^[1,2]已证明,酸浆中促使淀粉粒沉淀的主要因素是乳酸链球菌(*Streptococcus Lactis*)中的一个菌株。为了区别于其它菌株,本文将这个菌株称为淀粉粒凝集菌。我们的工作还指出,在一定条件下,其活菌数与淀粉沉淀量成正比。因此,了解淀粉粒凝集菌的生长繁殖条件是关系到提高酸浆质量的首要问题。

乳酸链球菌是最早发现的一种乳酸菌,主要应用于乳制品中。虽然人们对这类菌研究很多。但不同菌株的乳酸链球菌之间的生理和营养差别较大,所以,有必要对从酸浆中分离出来的淀粉粒凝集菌的生长条件和营养要求等特性进行研究,为淀粉和粉丝生产提供参考。

材料和方法

一、淀粉粒凝集菌的纯菌种:全部实验均以我们从酸浆中分离出的第36号乳酸链球菌为材料,以液体菌种按2%的接种量进行液体培养。

二、培养基:

1. 一般培养基:将生产车间的“拔缸头”废液煮沸后过滤,取滤液1000毫升,加入酵母膏5克, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 9.5克, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 11.3克。生长曲线试验、温度试验和需氧试验均用此培养基。

2. pH试验培养基:先配制两种母液,母液甲——“拔缸头”煮沸后的滤液1000毫升中,加入酵母膏5克和 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 27.8克;母液乙——除以 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 71.7克代替

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 以外,其它均同甲。将两种母液以不同体积比混合配制成各种不同pH值的培养基。

3. 营养试验培养基:取“拔缸头”煮沸后的滤液1000毫升,加入酵母膏5克(氮源实验中则为加入不同量的酵母膏)及 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 9.5克, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 11.3克(磷源实验中加入不同量的上述二种磷酸盐)或复合维生素(仅在维生素实验中加入)和 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cl^- 等混合盐溶液(仅在无机离子实验中加入)。

4. 共生关系试验培养基:取“拔缸头”煮沸后的滤液1000毫升,加入 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 50.2克,柠檬酸6克。

三、培养条件:除温度试验是在不同温度的恒温箱或水浴中培养11小时以外,其它试验均在30°C恒温箱中培养20小时。此外,有氧培养试验条件为:在300毫升三角瓶中,装入100毫升培养基,接入菌种后在摇床上振荡培养;微量氧培养试验条件为:在150毫升三角瓶中,装入100毫升培养基,接入菌种后,每隔二小时摇动一次;缺氧培养试验条件为:在100毫升三角瓶中,装入100毫升培养基,接入菌种后,用石蜡密封瓶口,静置培养。

四、菌量测定方法:

1. 平皿稀释计数法^[1]

2. 最低需浆量法^[1]:取生产车间的豆粕20毫升,测量使其中的淀粉完全沉淀所需菌液的最低毫升数。相对菌数与所需最低毫升数成反比。

3. 浊度测定法:测定培养液在550nm波长下的光密度值 OD_{550} ,以空白培养基作对照,相对菌数与光密度成正比。

结果和讨论

一、淀粉粒凝集菌(第36号乳酸链球菌,下同)的生长曲线:如图1所示,淀粉粒凝集菌的对数生长期在8~12小时之间,在18小时左右即达到最高生长期。培养24小时后,菌体开始沉淀;48小时后,菌体全部沉淀于底部,此时培养液的上部清液不能使淀粉沉淀,只有将沉淀物摇起才能使淀粉沉淀。

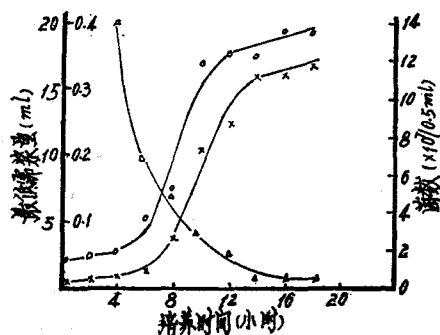


图1 淀粉粒凝集菌的生长曲线。图中表明三种菌量测定法所得结果是一致的。×平皿稀释法,○浊度法
△最低需浆量法

二、pH对生长的影响:从图2中可以看到,我们从酸浆中分离出的这个菌株的生长最适pH在5.9~6.3之间,pH大于7.4则生长缓慢。因此可以看到此菌对碱性条件非常敏感,在生产中应注意;另一方面,pH下降到4.4~4.5以下,此菌生长也缓慢,生产车间使用时的盆浆一般为pH3.8~4.0,从我们的结果可以推测,自然形成的盆浆在pH下降到4.5时即可使用,不必等到下降至4.0时才用。

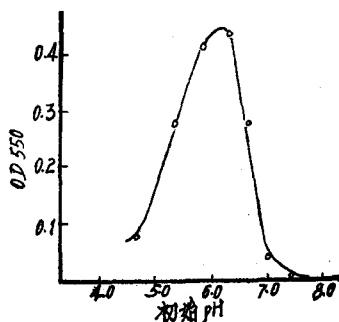


图2 pH对生长的影响

三、温度对生长的影响:从图3可以看

到,淀粉粒凝集菌的最适生长温度在25~30°C之间,从图中还可以看到,此菌在较低的温度下(10°C~15°C)比在较高的温度下(40°C~45°C)生长得要好一些。

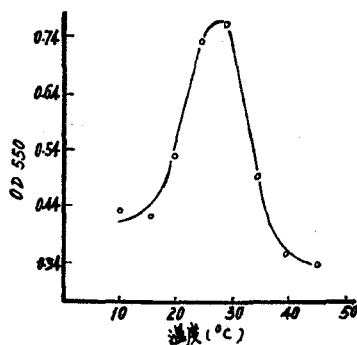


图3 温度对生长的影响

四、氧气对生长的影响:在生产车间,此菌的自然生长条件基本上是有微量氧的。我们的试验结果表明(表1),此菌在有氧、微量氧及缺氧的条件下,生长并无重大差别。从表中可见,随着供氧量的增加,浊度法所测得之光密度值OD₅₅₀稍有增加。但原因可能不是由于菌量的增加,而是由于振荡使一些沉淀物悬浮于培养液中。

表1 氧气对生长的影响

氧气条件	有 氧	微 量 氧	缺 氧
OD ₅₅₀	0.80	0.73	0.72
最低需浆量(ml)	1	1	1

五、淀粉粒凝集菌的营养需求:生产车间每当换料时,酸浆的质量就容易受影响,可能是由于营养条件有所改变。不过,在一般生产条件下,淀粉粒凝集菌总是能生长繁殖的。

过去人们对乳酸链球菌营养需要的研究,主要用单一省去法,即在一个完全的化学组合的培养基中分别省去不同成分以测定菌的生长对被省去部分的需求。我们的实验则是从生产条件考虑,加入某些营养物质后观察是否可促进菌的生长,探索提高酸浆质量的可能性。

1. 氮源:乳酸链球菌的生长需要氮源。我们用车间的“拔缸头”煮沸后的滤液作培养基,在不加入酵母膏的情况下,淀粉粒凝集菌的生

长很慢；加入酵母膏后，在一定范围内，培养液中酵母膏的含量与菌的生长量成正比（图4）。从图中可看出，此菌在酵母膏含量为0.3%时生长最好，当浓度增加到0.8%以上，似乎反而稍不利于菌的生长。

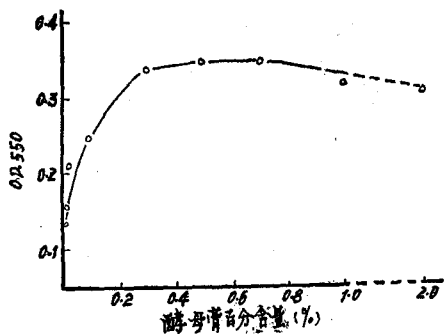


图4 酵母膏含量对生长的影响

有人指出，乳酸链球菌有五种必需氨基酸，即亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、精氨酸和组氨酸^[3]。酵母膏含有丰富的可溶性有机物，包括各种氨基酸、维生素、嘌呤、嘧啶等，所以酵母膏提供了一部分必需氨基酸及其它营养物质，比“拔缸头”中原有的氮源更为充足。

2. 碳源：从图5中可以看到，培养基中加入葡萄糖含量为0.02~0.04%时，此菌即可达到最佳生长。再增加糖的浓度，菌量和沉淀粉的能力不再增加，而菌的产酸量则随糖浓度的增加而增加。据测定，“拔缸头”里含有的糖量在上述浓度范围内，已能满足此菌生长对碳源的需求。

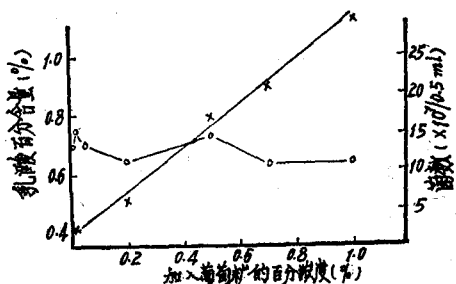


图5 不同葡萄糖浓度对菌生长的影响
o 菌数 x 乳酸百分含量

3. 磷源：实验结果表明，在“拔缸头”中加入磷酸盐后，并不能促进此菌的生长。这可能是由于植物种子中有大量的含磷物质，“拔缸

头”中已有足够的磷源。

4. 维生素：乳酸菌对维生素的要求非常严格，这一特性常被用来测定维生素的含量。有人指出菸碱酸和泛酸是乳酸链球菌的必需维生素，B₆是其强力刺激剂^[4]。我们在“拔缸头”培养基里加入复合维生素，即100毫升“拔缸头”中含3毫克维生素B₁、10毫克烟酰胺、1毫克泛酸钙、10毫克维生素C。实验结果表明，不论是否加入酵母膏，菌的生长都稍有增加（表3）。至于是上述哪种或哪几种维生素起作用，尚待进一步实验。

表3 维生素对生长的影响

加入到“拔缸头”中的物质	空白	复合维生素	0.5%酵母膏	复合维生素0.5%酵母膏
培养液 O·D550	0.09	0.117	0.18	0.24

5. 其他：在“拔缸头”培养基中加入吐温80或K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Mn²⁺、Fe²⁺和Cl⁻等离子的混合盐溶液，对此菌的生长无促进作用。

为了准确测定淀粉粒凝集菌对营养的需求，尚需进一步用单一省去法进行实验。

六、淀粉粒凝集菌与其它菌间的共生关系：关于乳酸链球菌之间及乳酸链球菌与其它菌之间的共生关系，已有过报导^[5]。我们的实验表明，在“拔缸头”培养基里接种自然生成的酸浆后，其生长的菌量比接种淀粉粒凝集菌纯种生成的菌量高得多，沉淀淀粉的效果也明显提高（表4）。因此，很可能在酸浆中，淀粉粒凝集菌与某种或某些其它乳酸链球菌或其它菌之间存在着共生关系，促进了它们的生长。进一步对于这种共生关系进行研究具有重要的实际意义，生产中可以将它们共同培养，以提高酸浆的质量。

表4 共生关系的初步实验

培养基	菌种	O·D550	最低需浆量(ml)
“拔缸头”	淀粉粒凝集菌	0.315	4
“拔缸头”	盆浆	0.62	1.5

七、菌种的保藏：淀粉粒凝集菌的保藏是

比较容易的。用含 1%CaCO₃, 0.5%酵母膏的拔缸头煮沸后的滤液作液体培养基, 在室温下存放一个月后, 培养液仍有沉淀淀粉的能力, 转接固体斜面上一天后即可长出菌落。用固体斜面在 4°C 冰箱中, 可保存二至数月。

我们对淀粉粒凝集菌的生长繁殖规律的研究还只是初步的。因为探索提高现有酸浆的质量以及实现淀粉粒凝集菌人工纯培养的可能性, 尚需进行深入的研究。

参考文献

1. 北京粉丝厂、北京大学酸浆研究小组, 《北京大学学报》(自然科学版), 1974, 1, 57
2. 曹宗巽、卢光莹、宋云、刘美莲, 《微生物学报》, 1980, 20(3), 271
3. I. Hvsain and I. J. McDonald, *Canad. Jour. Microbial*, 1957, 3, 487
4. B. Reiter and J. D. Oram, *J. Dairy Res.*, 1962, 29, 63
5. A. L. Branen and T. W. Keenan, *Applied Microbiology*, 1970, 20, 757

数理统计在食品加工工艺中的应用

江苏省南京市粮食科学研究所 朱振海

摘要

正交试验法是用数理统计方法进行试验的一种方法。在食品加工工艺试验中应用它, 不仅可以迅速、准确、科学地确定工艺条件, 而且, 可以获得有效的试验结果。使工艺改革试验、科学试验研究水平大大提高; 节省人力、物力、财力, 避免试验的盲目性。从剖析“新型天然吸附剂凹凸棒土替代活性白土对植物油脱色净化工艺试验研究”应用数理统计方法, 收到较理想的效果。在这里介绍给大家, 会给您得到启发。此文, 着重介绍应用正交试验法的主要程序、计算与分析的方法。

前言

在科学试验、食品加工以及调查中获得的大量数据, 由于生产条件、原料、外界因素等偶然原因的作用, 使这些数据不醒目地反映出它们的联系与变化, 直接应用是困难的。通过数理统计, 就是从波动的大量的数据中找出其规律。

在食品加工工艺试验、改革某项工艺, 要寻找最佳生产条件(可控因素)是十分错综复杂的试验工作, 影响的因素也十分多。随着食品加工深度的提高, 可控因素也在增加, 完成全试验的次数也迅速增加。如试验中可控因素 5

个, 每个因素取 4 个水平(处理), 全试验次数是: 5^4 等于 625 次。在实施中是难以办到的, 一般不采用全试验, 而应用正交试验法。

正交试验法, 是利用规格化的正交表, 安排试验。由于它的正交性, 使试验具备均衡分散和可比性。此法应用方便, 准确性高, 在多因素条件下应用有很大的优越性。根据试验中的因素及设计要求, 可选用以下几种正交表, 如 $L_8(2^7)$ 、 $L_9(3^4)$ 、 $L_4(2^3)$ 、 $L_{16}(4^5)$ 、 $L_{16}(2^{15})$ 、 $L_{25}(5^8)$ 等见附表

一、正交试验法试验程序

食品加工受原料、生产设备、因素条件等多种因素的影响。要完成一次工艺试验需要作大量工作。正交试验法是数理统计重要方法之一。主要试验工作程序共二十道(见图 1)。

为了便于读者在以后科学研究、工艺设计以及技术管理工作中灵活应用。现剖析一例: 新型天然吸附剂凹凸棒石粘土对菜毛油脱色净化工艺试验中应用正交试验法的技术。

二、正交试验方法

(一) 首先确定试验目的与指标

新型天然吸附剂凹凸棒石粘土(以下简称棒土)对菜毛油脱色净化工艺技术研究。我们