

院学报, 1987 年 1 期。

〔17〕 无锡轻工业学院等合编: 微生物学, 轻工业出版社, 1987 年。

〔18〕 华南工学院等编著: 发酵工程与设备, 轻工业出版社, 1987 年。

〔19〕 沈同、王镜岩、赵邦梯主编: 生物化学, 高等教育出版社, 1987 年。

〔20〕 白毓谦等: 微生物学实验技术, 山东大学出版社, 1987 年。

〔21〕 陶慰孙等编著: 蛋白质分子基础, 高等教育出版社, 1985 年。

〔22〕 杨庆尧编著: 食用菌生物学基础, 1981 年 1 月。

〔23〕 程皆能主编: 微生物生理学, 1987 年 6 月。

〔24〕 森治彦等: 《酱油发酵中耐盐酵母的选择计数方法》, 朱成摘译, 应用微生物, 1986 年 3 期。

〔25〕 水沼武二: 《酱油酿造微生物学的进展》, 林北海、王斌译, 应用微生物, 1988 年 1 期。

〔26〕 C.H. Brooks 等: 发酵罐无菌和密封的统一设计方法, 毛维颖译, 应用微生物, 1988 年 2 期。

〔27〕 胡学智: 国内外酶制剂工业概况, 应用微生物,

1982 年 1 期。

〔28〕 Saul L. Neidleman, 生物催化作用在生物工程中的应用, 虞和慈译, 应用微生物, 1985 年 4 期。

〔29〕 小林猛: 食品工业中的生物工程, 施一平、王熙萍译, 应用微生物, 1985 年 6 期。

〔30〕 张柏青: 乳酸菌的保藏方法, 应用微生物, 1982 年 5 期。

〔31〕 陆刚译: 酱油的无盐酿造方法, 应用微生物, 1983 年 4 期。

〔32〕 Yoshiyuki Nomura, Masayoshi Iwahara and Motoyoshi Hongo, Lactic Acid Production by Electrodialysis Fermentation Using Immobilized Growing cell, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 30, P. 788—793(1987)

〔33〕 Berger, R.G., Neuhauser, K., and Drawert, F., Biotechnological Production of Flavor Compounds, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 30, P. 687—990(1987)

〔34〕 G. G. Birch, ENZYMES AND FOOD PROCESSING, (1981)。

肉类发酵混合培养菌种的选择

摘要

适用于研究肉类发酵混合培养的菌种有: 啤酒小球菌(*P. cerevisiae*)、乳酸小球菌(*P. acidilactic*)、胚芽乳杆菌(*L. Plantarum*)、干酪乳酸杆菌(*L. casei*)和变异细球菌(*M. Varians*)。培养基中加入 0.18% 的亚硝酸盐呈现微弱的抑制性, 而加入 7% 的混合香料对酸的产生却具有一定的刺激作用。乳酸杆菌和小球菌之间有明显的拮抗作用。变异细球菌对其他菌种未产生抑制性物质, 并对乳酸杆菌和小球菌产生的细菌素不敏感。拮抗作用在混合酸化实验中通过圆盘测定进一步得以证实, 而一些快速酸化菌株混合培养未取得成功。

一、引言

一些特制肉食品、香肠, 是通过发酵加工而制成的。发酵给肉类带来很多好处, 尤为重要是抑制了病原微生物的生长, 增强了食品的防腐能力。

肉类发酵中应用的细菌大都是乳酸杆菌属小球菌属和细球菌属的菌种。这些菌种是根据

其耐受食盐和亚硝酸盐、生长温度、风味形成以及不合或毒性化合的原则进行选择。菌种选择的依据还包括酸化率, 肉类可用单一的菌种来发酵, 乳类发酵中, 经过菌株相容性试验可以选用乳酸菌进行混合培养, 但至今我们还没有发现任何有关肉类发酵培养的系统性研究。有不少资料报告了乳酸杆菌和小球菌产生的细菌素, Anderson 和 Daeschet(1987) 报告说, 胚芽乳杆菌产生的细菌素能抑制小球菌, 这说明在肉类发酵中, 菌种间能发生抵抗作用。混合培养还有保护菌种, 避免噬菌体侵袭的优点。

这项工作的目的就是研究肉类发酵所用菌种间的拮抗性和共生现象, 以寻求相容性混合培养的菌种。

二、材料和方法

1 菌种

干酪乳酸杆菌*4008、胚芽乳杆菌*4166 和*4003、变异细球菌*4168、乳酸小球菌*

4183 和啤酒小球菌*4184 (Rosell 学院提供)。它们都保存在MRS液体培养基中, 而变异细球菌则保存在营养琼脂斜面上。

2 培养基

用于酸化腊肠研究的改良肉汤培养基(MEB), 其成分是每升培养液中有: 牛肉膏 10g、蔗糖 10g、蛋白胨 10g、亚硝酸钠 1.8g、7255—A70g (食盐、固体乳、糖、香料、异抗坏血酸钠、亚硝酸钠, 由蒙特利尔市UFL食品有限公司提供), pH值调至 6.5, 然后 121°C 高压灭菌 15 分钟, 备用。

细菌培养液可用MRS或MV液体培养基制备, 成分是每升中加入肉膏 3 g、酵母膏 3 g、蛋白胨 8 g、葡萄糖 20g。

3、拮抗性试验

变异细球菌* 4186 接种在 MV 液体培养基中, 在 30°C, 摇速 300rpm 条件下培养 24hr, 其他菌种接种在MRS液体培养基中, 37°C 静止培养 24hr。从每种培养液中取 1 ml 加入到 10ml 营养琼脂 (变异细球菌*4186) 或 MRS 琼脂 (所有其他菌种) 中, 然后倾注到培替氏平皿中, 制成靶菌琼脂平板, 把 13mm 的圆盘放在琼脂上面。然后, 取 0.1ml 新鲜培养液加入到圆盘中。构成抑菌培养。所有其他菌种在 37°C 下培养。经 48 小时后可见培养皿中的抑制区。在某些情况下, 抑制菌种液要稀释 20 倍后再加入到圆盘中。为了估计培养液本身酸化对靶菌的影响, MRS 和 MV 培养基都酸化至 pH3.9。(用 85% 的乳酸酸化), 然后取 0.1ml 加入到圆盘中。平皿培养和观察同上。

4、发酵率

如前所述, 接种物是制备作拮抗性试验用的。MEB 液体培养基中的接种量为 1%, 在 37°C 下培养, 分别于 0、4、6 和 8 hr 时检测其 pH 值。

其结果是四次试验的平均情况。

三、结果与讨论

1、抗生现象

试验结果: 有的菌种产生了抑制性物质(表

1), 因此不是所有的菌种都适用于肉类发酵。这不是由于培养液的酸化, 我们用酸化的 MRS 或 MV (pH3.9) 作了对照, 并未发现靶菌被抑制, 因为 MRS 中有三种缓冲盐 (柠檬酸盐、磷酸盐和醋酸盐), 对抑制培养液的 pH 值影响很小。胚芽乳杆菌#4166 特别活跃, 它抑制了其他三种试验菌。我们的结果更进一步证实了 Anderson 和 Daechel (1987) 关于胚芽乳杆菌能产生菌素的报道。胚芽乳杆菌 *4166 具有一种广谱的抑菌性, 因为乳酸杆菌 (*4008) 和球菌 (*4183, *4184) 都为之所抑制 (表 1)。虽然胚芽乳杆菌也许对某种抗菌素具有抵抗力, 但 *4166 菌株对于酪乳酸杆菌 *4008 和乳酸小球菌*4183 的代谢物却极为敏感。

变异细球菌#4186 不受其他菌种的代谢物所影响 (表 1), 而对某些细球菌的其他培养基也不产生抑制性物质, 因此这个菌种特别适合与其它菌种一起进行混合培养。

表 1 不同乳酸菌种的拮抗作用

指 标 菌 种 (琼脂内)	抑制微生物(圆盘中)				
	#4008	#4166	#4183	#4184	#4186
干酪乳酸杆菌 #4008	—	20.8①	20.4	20.2	阴性②
胚芽乳酸杆菌 #4166	16.0	—	18.0	阴性	阴性
乳酸小球菌 #4183	阴性	21.2	—	18.1	阴性
啤酒小球菌 #4184	阴性	21.4	阴性	—	阴性
变异细球菌 #4186	阴性	阴性	阴性	阴性	—

注: 1 抑制区域直径(mm)

2 阴性: 抑制区不可见

小球菌也表现出抗菌活性。乳酸小球菌 *4183 抑制两种乳酸杆菌 (表 1), 而啤酒小球菌 *4184 抑制了干酪乳酸杆菌 *4008 和乳酸小球菌 *4183。这样一来, 我们在小球菌属中也看到了 collins (1961) 在链球菌属中所看到的现象: 同属菌种间产生了抑制性物质。Gonzales 和 Kunka (1987) 发现乳酸小球菌在培养基中有蔗糖时能够产生细菌素。而 MRS 中没有蔗糖, 所以在我们的实验条件下, 不产生这种刺激作用。而在 MEB 中, 可能由于香精混合物中有蔗糖, 而使小球菌产生刺激性细菌素。

由于胚芽乳杆菌*4166 抗大多数试验菌株,

所以我们只有估算其他两种胚芽乳杆菌的拮抗作用,以便寻找一种能和其他培养菌较相容的菌株(表2)。由于乳酸小球菌#4183是我们收集的菌种中酸化最快的,所以选定它做相容性试验(图1),#4183也因此被认为在混合培养应用中是具有高耐受性的菌株。

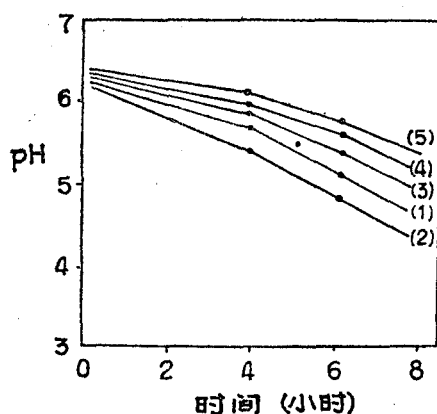


图1. 附加 MEB 中乳酸菌的酸化率

①啤酒小球菌 #4184; ②乳酸小球菌 #4183; ③胚芽乳杆菌 #4186; ④胚芽乳杆菌 #4003; ⑤干酪乳酸杆菌 #4008。

表2 乳酸小球菌和胚芽乳杆菌间的拮抗作用

指 标 菌 种 (琼脂菌)	抑制微生物(圆盘中)		
	#4003	#4159	#4183
胚芽乳杆菌 #4003	—	—	阴性②
胚芽乳杆菌 #4159	—	—	14.5①
乳酸小球菌 #4183	阴性	阴性	—

胚芽乳杆菌#4003对乳酸小球菌#4183不产生细菌素,也对#4183产生的细菌素不敏感。胚芽乳杆菌#4159受小球菌抑制。因此,我们选用胚芽乳杆菌#4003进行混合培养测试。

Anderson和Daeschel(1987)发现:胚芽乳杆菌的上清培养液稀释500倍,足以在120秒内杀死每毫升 10^4 的小球菌属的细菌,由此足以估量#4183和#4166代谢产物的抑制效能。拮抗物稀释一般是缩小了抑制区域。乳酸小球菌#4183生成的细菌素在稀释两倍的情况下检验不到抑制区;而胚芽乳杆菌#4166产生的抑制物质却非如此,稀释20倍依旧可以检测到(表3)抑制区。

试验结果证明了 Anderson 和 Deeschel

表3 抑制菌种液和指标菌种间的拮抗情况

指标菌种 (琼脂中)	抑制菌种 (圆盘中)	抑制菌种液稀释倍数		
		0	2	20
胚芽乳杆菌 #4166	乳酸小球菌 #4183	18.0	阴性	阴性
乳酸小球菌 #4883	胚芽乳杆菌 #4166	21.2	20.6	19

(1987)所观察到的胚芽乳杆菌素的强抑制性。

2. 混合培养菌株的选择

在肉类发酵中,酸化率是细菌选用的一项重要依据,由于胚芽乳杆菌和乳酸菌小球菌对某些草药和香料较为敏感,我们添加亚硝酸盐和混合香料以验证菌株酸化的潜能(表4)。亚硝酸盐的抑制性很弱,相反地,混合香料却对两种菌产生了刺激作用(表4),这也许可用混合物中有 Mh^{2+} 和固体乳来解释。必须指出的是:虽然在菌种混合液中有缓冲液(特别是固体乳),但混合液依旧达到较低的pH值。就培养基中加入香料而言,混合香料刺激了干酪乳酸杆菌和啤酒小球菌产酸(表4),与缺乏亚硝酸盐的基础培养比较,亚硝酸盐对酸生成的抑制作用小或根本没有。

表4 混合香料和亚硝酸盐对酸化的影响

菌 种	基础培养基	加混合香料	加亚硝酸盐	两者都加
干酪乳酸杆菌 #4008	4.8*	3.9	5.0	4.3
胚芽乳杆菌 #4166	3.8	3.8	4.0	4.1
乳酸小球菌 #4183	4.0	3.9	4.0	3.9
啤酒小球菌 #4184	4.4	4.0	4.6	4.0

* 附加7%混合香料和0.18%亚硝酸盐或未加以上物质的基础培养基在37°C下,培养24hr后pH值。

胚芽乳酸杆菌#4166是酸化率最高的乳酸杆菌,酸化最快的是乳酸小球菌#4183(图1)。为此,我们选这两种菌作进一步混合培养测试。由于胚芽乳杆菌#4166表现出值得考虑的抗菌活性(表1),因而在我们混合培养菌种中包括了没有抑制物合成的#4003菌种(表2)。

由于细菌减少亚硝酸盐的形成和过氧化氢酶活性,所以我们首先用它来进行培养,变异细菌#4186没有观察到对其他菌种的拮抗现

象, 也被选做我们所有的混合培养研究 (表 1)。我们的目的是把产酸高的菌种和变异细球菌一起培养。

3. 混合培养

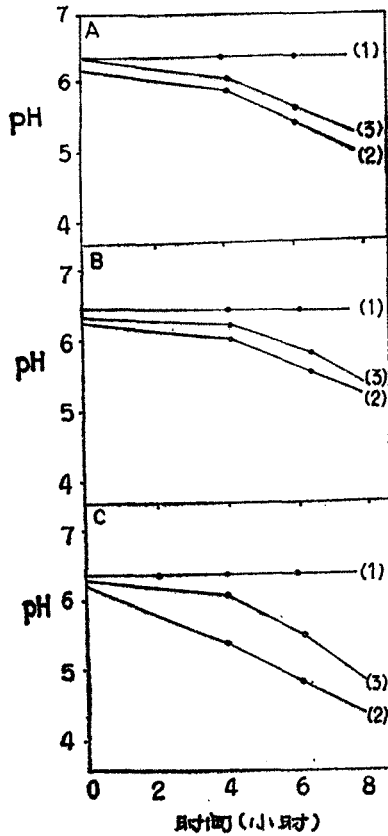


图2. MEB 中附加纯培养液和混合培养液的乳酸菌酸比率
 A 图: (1) 是 1% 变异细球菌 #4186; (2) 是 1% 的胚芽乳杆菌 #4166; (3) 0.9% 的 #4166 和 0.1% 的 #4186。
 B 图: (1) 1% 变异细球菌 #4186; (2) 1% 的胚芽乳杆菌 #4003; (3) 0.9% 的 #4003 和 0.1% 的 #4186。
 C 图: (1) 1% 变异细球菌 #4186; (2) 1% 的乳酸小球菌 #4183; (3) 0.9% 的 #4183 和 0.1% 的 #4186。

三种菌株与变异细球菌 #4186 (图 2) 配合培养由于变异细球菌促进酸化作用不大, 即发现配合培养酸化细胞减少, 其酸化作用可能降低。胚芽乳杆菌 #4183 是其实例。培养 4 hr 后保护期虽增加, 酸化率仍类似 (图 2 C)。胚芽乳杆菌 #4166 与 #4003 配合培养在酸化曲线上没有产生大的差别 (图 2 A 和 2 B)。在 MEB 中, 以菌种和变异细球菌配合培养未发现任何强酸化的刺激作用。然而在乳制品中有报告说细球菌

对乳酸菌产生了刺激作用 (Mocquot 1979); 在那种情况下, 细球菌的蛋白水解活性增加了氨基酸和蛋白胨对乳酸培养的效应。这也见于肉类发酵, 因为其中游离氨基酸颇少。但是, 由于肉汤培养基加入了蛋白胨, 对于乳酸培养而言, 细球菌的蛋白水解活性无关紧要。因此, 特殊的实验条件不会促进这些菌种的共生。

由于乳酸对噬菌体极为敏感, 应用单一菌种产酸就有因噬菌体对单一培养的分解而导致细菌完全丧失其活性的危险。混合培养可用于防止由于噬菌体侵入而导致酸化的失败。因而, 用变异细球菌和两种酸化最快的细菌组成了我们的实验。培养液中仅胚芽乳杆菌 #4166 和乳酸小球菌 #4183 是不能令人满意的。 (图 3 B) 混合培养比单一菌种培养的酸化速度慢, 这些结果证明在圆盘分析抑制试验中获得的结论 (表 1) 是正确的, 在圆盘中, 观察到这两种菌间的拮抗作用。胚芽乳杆菌 #4003 和乳酸小球菌 #4183 混合, 虽然没有共生现象也较为成功 (图 3

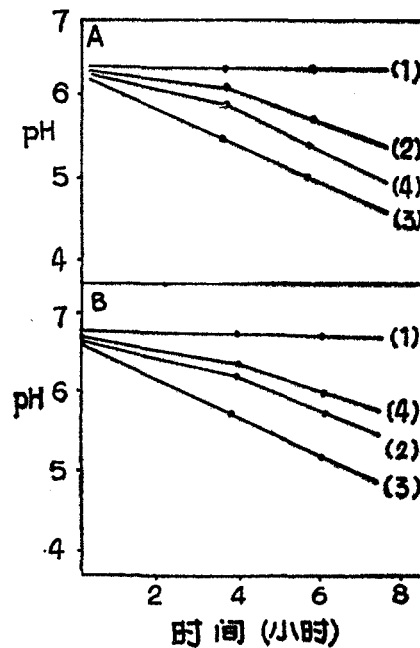


图3. 附加纯培养和混合乳酸 MEB 液体培养液的酸化情况

A 图: (1) 变异细球菌 #4186; (2) 胚芽乳杆菌 #4003; (3) 乳酸小球菌 #4186。
 B 图: (1) 变异细球菌 #4189; (2) 胚芽乳杆菌 #4166; (3) 乳酸小球菌 #4183; (4) 0.45% #4166、0.45% 的 #4183 和 0.1% 的 #4186 的混合培养。

A)。正如圖盘分析所示,两种菌间没有发生拮抗现象。

试验结果表明,大多数快速发酵菌株的混合培养,不能获得理想的培养结果,肉类发酵混合培养,其菌株必须进行相容性选择,并进行一种有价值的圆盘测定,以评估菌种间的拮

抗作用。寻求有利于肉类发酵的菌种。

毛建伟 苏世彦译自 Journal of Food Science. Vol. 54. No 4, 839~842, 1989。

张敏行校

樱桃罐头的染色固色技术研究

西北农业大学 臧 晋
丹凤县野味罐头厂 贺国升

在糖水染色樱桃罐头标准生产工艺中,樱桃的染色规定使用赤藓红色素,固色使用柠檬酸稀溶液。由于赤藓红色素主要靠近口,国内很难买到,因此,目前我国大多数罐头食品厂多采用胭脂红,苋菜红等色素来代用。由于代用色素染色效果不如赤藓红,而且染色后的果实极易脱色,所以有必要对樱桃罐头的染色和固色技术重新进行研究,以适应国内生产的需要。

本文以大量的试验为依据,对代用色素的种类、用量及染色液酸度,染色温度等影响染色效果的因素进行了系统的研究,并进行了阶段染色工艺及固色技术的研究。以便确定糖水染色樱桃罐头更加科学合理的工艺。

一、试验材料和方法

(一)试验材料:

樱桃原料:中国樱桃 *Prunus Pseudo-cerasus* Lindl 8~9成熟。

食用色素:胭脂红、苋菜红、柠檬黄。

食用酸:柠檬酸(纯度99.5%)。

(二)试验方法:

为了确定染色效果较好的代用色素种类及其用量,以及染色液酸度、染色温度、染色时间等工艺技术条件,我们分别进行了色素种类及其用量的研究;染色效果最佳的染色液酸度,染色温度和染色时间的研究。此外,为提

高染色效果,降低果实营养和风味成分的损失,我们还进行了阶段染色工艺和固色技术的研究。为减轻罐装樱桃果实的脱色现象,我们对杀菌温度和时间也进行了研究。通过以上试验研究,为我们确定糖水染色樱桃罐头的最佳生产工艺提供了大量的试验数据。

二、结果和讨论

1. 不同食用红色素的染色效果

国产食用红色素主要有胭脂红、苋菜红等,我们配制了不同浓度的染色液,调染色液酸度,使 $pH=4.0$, 在 $90^{\circ}C$ 温度下染色 25 分钟,进行了色素种类及其用量的试验,试验结果见表 1。

表 1 不同色素种类及其用量染色效果

色素种类	胭脂红				苋菜红			
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.05	0.1	0.15	0.2
色素浓度(%)	0.05	0.1	0.15	0.2	0.05	0.1	0.15	0.2
果粒色泽	淡红	浅红	鲜红	深红	淡红	浅红	鲜红	深红

由表 1 可以看出,胭脂红和苋菜红对樱桃的染色效果无明显差异,染色效果较好的色素浓度为 0.15%。

2. 胭脂红、柠檬黄复合染色效果

为使染色樱桃的色泽更接近樱桃的天然色泽,我们进行了胭脂红、柠檬黄复合染色试验。配制不同浓度的复合染色液,调染色液酸度,