

酸乳制品中乳酸菌的分离培养与计数

罗珍兰 谢继志 江苏农学院食品科学系 225001

近几年来,我国乳品业中酸奶生产有了飞速的发展,相应的乳酸菌饮料也应运而生,酸奶是利用嗜热链球菌(*S. thermophilus*)和保加利亚乳杆菌(*L. bulgaricus*)两种特定的乳酸菌在乳中发酵,使乳蛋白质、脂肪、乳糖等降解,因而产生独特的风味,营养价值也大为提高。乳酸菌还能改善和平衡肠道中的菌系,增强胃肠功能,在增进人们体质与健康方面起到食疗兼收的作用。无论是酸奶中,还是乳酸菌饮料中,乳酸菌的数量、形态、特异性能等对产品质量优劣都起着重要的作用。因此,通过对乳酸菌的分离培养与计数技术,经常检测其活性,甚至进一步筛选菌种,开发新产品等方面都有着现实的意义。

1 实验材料与方法

1.1 工艺路线的确定

1.2 实验材料

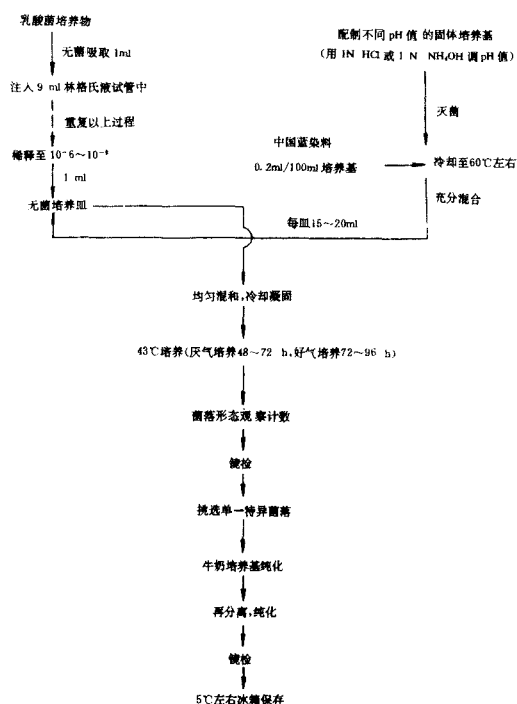
1.2.1 酸奶菌种:由丹麦 Chr. Hansen 实验室提供的真空冷冻干燥菌种(B₃),经牛奶培养基培养后,嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌正常比例为2:1。

1.2.2 牛奶培养基:乳酸菌纯培养用。按128 g 脱脂奶粉加入1000 ml 蒸馏水中的比例混匀,分装于试管中,经68.6 KPa 灭菌30 min,冷却备用。

1.2.3 林格氏液的配制:乳酸菌培养物稀释用,NaCl 9g, KCl 0.42 g, CaCl₂ 0.48 g, NaHCO₃ 0.2 g,加蒸馏水至1000 ml,经98 KPa 灭菌20 min,冷却备用。

1.2.4 中国蓝染液:菌落染色用。取5 g 中国蓝加入95 ml 蒸馏水中,经98 KPa 灭菌20 min,备

用。



1.2.5 无氧装置:作厌氧培养用。在玻璃干燥器中按1000 ml 容积加入10 ml 15% NaOH 溶液,10 g 焦性没食子酸接触发生吸氧反应。

1.2.6 固体培养基

1.2.6.1 改良 MRS 培养基:酵母浸出粉5 g, 牛肉浸膏10 g, KH₂PO₄ 2 g, K₂HPO₄ 2 g, 柠檬酸二铵2 g, 醋酸钠5 g, 吐温80 1 ml, 葡萄糖20 g, 维生素C 2 g, 胱氨酸0.7 g, 胰蛋白胍10 g, 琼脂15 g, 盐溶液5 ml MgSO₄·7H₂O 11.5 g, Mn-SO₄·4H₂O 2.5 g, 加蒸馏水至1000 ml。加蒸馏水至1000 ml, 98 KPa 灭菌20 min, 冷却备用。

1.2.6.2 西红柿培养基:酵母浸出粉5g,吐温80 15 ml,维生素C 2g,胰蛋白胨15g,西红柿汁100 ml,胱氨酸0.7g,葡萄糖10g,琼脂15g,加蒸馏水至1000 ml。98 KPa 灭菌20 min,冷却备用。

1.2.6.3 完全培养基:1000 ml 脱脂牛奶加热至100℃,然后冷却至45℃,加氯仿5 ml,胰蛋白酶3g,混合充分,在45℃恒温箱中消化3天,然后过滤。每1000 ml 滤液中,加蛋白胨10g,酵母浸出粉5g,维生素C 2g,琼脂15g。经68.6 KPa 灭菌30 min。

1.3 乳酸菌计数方法

固体培养基培养(见工艺路线)后,数每皿中的菌落数,求其平均值,再乘以样品稀释倍数,求出乳酸菌数(个/ml)。

2 结果

用改良 MRS 培养基和西红柿汁培养基,经调 pH 值后对稀释的混合乳酸菌培养结果菌落生长情况如表1所示。从菌落形态观察,有圆形、卵圆形、草帽形、棱形及大小不一的颗粒状。菌体形态比较,在改良 MRS 培养基中杆菌比较粗

表1 酸奶混合菌在不同培养基中生长情况

菌种 培养基 \ pH 值	5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.2
改良 MRS 培养基	杆*	杆	杆	杆	杆	杆	杆	杆	杆	杆	杆球	球**	
红柿汁培养基	杆	杆	杆	杆	杆	杆	杆球	球	球	球	球	球	—

注: * 保加利亚乳杆菌; ** 嗜热链球菌

壮,较短,其细胞原生质部分分布均匀,菌体变形不明显。在 pH5.8~7.6大范围内为杆菌菌落。球菌生长范围很小。但西红柿汁培养基中,在不同 pH 值分别有杆菌、球菌生长。其中 pH 6.4杆菌菌落最多,pH7.4球菌菌落最多。杆菌菌体细长,原生质染色较淡,有颗粒出现,且有少数杆菌呈不规则弯曲或螺旋形。球菌菌落较大,而且培养的球菌数多。

在西红柿汁培养基中,试比较在有氧及无氧条件下培养的乳酸菌变化情况。在好氧环境中菌落出现较迟,在培养基表面菌落数少,而且又小,杆菌细长,着色不匀。球菌小,呈椭圆状。而在厌氧环境中菌落出现较早,主要存在于培养基基质中,菌落大,数量多。杆菌粗短,着色均匀,球菌较大,呈球状。

选择嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌都能同时生长的最适 pH 值的西红柿汁培养基(pH 7.0)与完全培养基(pH6.6)比较,在 10^{-7} 稀释度情况下经培养计算每毫升乳酸菌培养物中的菌落数,前者为 3.8×10^8 个/ml,后者为 1.03×10^9 个/ml。

3 讨论

虽然乳酸菌在自然界中分布广泛,但其营养要求复杂,这些微生物中酶的构成单纯,不能合成许多氨基酸,维生素及有关生长因子。因此,为了使乳酸菌很好地生长,在合成的培养基中,除了必需的碳源、氮源外,还必须根据乳酸菌种类的不同,而增减某些营养素。例如在西红柿汁培养基中含有大量的维生素物质,特别是Vc的含量很高,在不同的 pH 条件下除适宜保加利亚乳杆菌生长外,也特别适宜于嗜热链球菌生长。前者的 pH 值范围为5.8~7.0,后者的 pH 值为7.0~8.0,而最值 pH 值分别为6.4~7.4。所以用同一培养基不同 pH 值就很容易将保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌分离开。

改良的 MRS 培养基中,保加利亚乳杆菌在 pH 值5.8~7.8的大范围内能生长,而嗜热链球菌生长范围很小,故该培养基适合于从酸奶混合菌种中将杆菌分离出来。

在培养过程中,氧气的有无对菌体生长影响较大。保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌具有厌

气性或兼性厌氧性。它们不具有过氧化氢酶,在有氧的条件下不能将产生的过氧化氢分解,并能使某些酶及辅酶的活性基被氧化而失活。对这类菌的培养要求低的氧化还原电位。所以在厌氧条件下培养菌落生成早,培养基底部生长的菌落数较多,菌体形态变形少。

以完全培养基与西红柿汁培养基相比较,前者培养的菌落出现较早,菌落变色快,而且生成的菌落数多。而后的不如前者,故认为采用完全培养基进行活菌计数,符合乳酸菌质量活

性检测要求。

参 考 文 献

- 1 姜丽华等. 浙江食品工业, 1989, 1(1).
- 2 许本发等. 中国乳品工业, 1987, 6.
- 3 马田三夫著. 应用微生物, 1983, 1.
- 4 饭场广等. 应用微生物, 1982, 5.
- 5 Jeremija Lj. Rasic et al. Yoghurt Scientific Grounds, Technology, Manufacture and Preparations, 1978.

提高烤鱼片外观质量的探索

朱冠利 江苏省海洋渔业公司鱼品加工厂 215432

1989年以来市场销售出现疲软,这样对产品质量提出了更高的要求,而外观质量是消费者极为重视的第一印象,所以我们在烤鱼片防腐基础上进一步提高其外观质量显得尤为重要,为此我厂对烤鱼片外观质量进行了试验和测试,这项试验工作从1989年6月份开始的,经过一年多的试验工作,下面分三个方面加以论述。

1 原料鱼选择

以前我厂对烤鱼片的外观质量不够重视,故在市场竞争中吃不少亏。我厂对照国家标准进行了试验和测定,按正常工艺操作,前期新鲜马面鱼,挥发性盐基氮一般小于15 mg/100 g,这类鱼体大而肉厚,弹性好,能加工的烤鱼片能达到国标外观质量要求。后期新鲜马面鱼,其挥发性盐基氮同上,这类鱼小且鱼肉薄,弹性尚好,经加工的烤鱼片色泽尚好,但因鱼肉薄而不够疏松,若用较差马面鱼为原料,其挥发性盐基氮一般大于25 mg/100 g,由于这类鱼蛋白质已能部分变质,因而弹性差,加工的烤鱼片达不到

国家外观质量的标准。根据以上试验,我厂生产选入前期马面鱼并尽量采用鲜鱼加工,少采用冻鱼加工。这样做鱼价要增加35%左右,但成品率可提高7%左右,更重要的是增强市场竞争力,经济上还是合标的。

2 低温烘道的正常操作

我厂低温烘道投产已经8年了,开始生产经验不足,造成调味生片干湿不均,色泽不好,这样直接影响了烤鱼片的外观质量。经我们对低温烘道的试验和测试,积累了一些经验,下面从烘道温度和烘干时间两方面加以论述。

2.1 烘道温度: 鱼肉在烘干过程中,一般出现恒率和降率两个阶段,掌握好恒率阶段的操作对生鱼片外观质量影响极大,在此阶段热空气向物料提供的热量全部用于蒸发水份,所以从理论上讲尽可能提高进风端温度,但由于鱼肉中蛋白质含量高,调味加入鱼肉中糖易向外渗透,因此烘道温度过高将引起鱼肉表面层硬化,形成不透水的硬薄层,且硬薄层随温度升高而变深变硬。因此烘道温度一般采用38~40℃为