

文章编号:1003-8701(2012)05-0071-04

保加利亚乳杆菌发酵特性的研究

杨一冲,蔡 丹*

(海南大学食品学院,海口 570228)

摘 要 :酸奶具有抑制肠道内腐败菌的生长繁殖、克服乳糖不耐症、降低胆固醇含量,甚至抗癌等功能。发酵菌种是生产优质酸奶的关键,保加利亚乳杆菌(现更名为德氏乳杆菌保加利亚亚种, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)是酸奶发酵中最常见的发酵菌种之一。为进一步了解保加利亚乳杆菌的发酵特性,本文对保加利亚乳杆菌的产酸、产黏、产香(主要是乙醛)特性进行了测定。结果表明,该菌种产酸和产黏能力在发酵期强,后发酵期间能力较弱,产香能力则在后发酵期间逐渐增强。

关键词 :保加利亚乳杆菌 酸度 黏度 乙醛

中图分类号 :TQ920.1

文献标识码 :A

Studies on the Fermentation Characteristics of *Lactobacillus bulgaricus*

YANG Yi-chong, CAI Dan*

(College of Food Sciences, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Yogurt has many functions including inhibiting the growth of intestinal putrefying bacteria propagation, overcoming lactose intolerance, lowering cholesterol levels, and even preventing cancer and so on. Fermentation strain is the key to produce high quality yogurt. *Lactobacillus bulgaricus* (now renamed *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) is one of the most common strains in yogurt fermentation process. In this paper, acid producing ability, viscosity producing ability and aroma producing ability of *Lactobacillus bulgaricus* was determined for further investigating fermentation characteristics of *Lactobacillus bulgaricus*. The results showed that the acid producing ability and viscosity producing ability of the *Lactobacillus bulgaricus* were strong during fermentation period, relatively weak during post-fermentation period. The aroma producing ability was strengthened gradually during post-fermentation period.

Keywords: *Lactobacillus bulgaricus*; Acidity; Viscosity; Acetaldehyde

保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)是一种被冠以国名的细菌,1919年称为嗜热保加利亚(*Thermobacterium bulgaricus*),1971年改为乳杆菌保加利亚(*Lactobacillus bulgaricus*),1984年又附属在德氏乳杆菌(*delbrueckii*)下,称为德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*),是典型的来自乳的乳酸菌。保加利亚乳杆菌是乳酸菌家族中的重要一员,作为发酵剂在食品工业中被广泛应用在酸奶的生产中。

随着人们对肠道微生物与健康关系的认识和研究的不断深入,以及临床医学、悉生生物学、微生物学和食品科学^[1]相互渗透,作为益生菌的保加利亚乳杆菌正逐步被了解和关注。保加利亚乳杆菌的特殊生理活性通过发酵食品、微生态制剂^[2-3]等多种形式被广泛研究。保加利亚乳杆菌对人体主要具有促进有益菌的生长定殖、清肠、抗腹泻等维持胃肠道健康^[4-6],促进消化吸收的作用^[7]、增加免疫^[8]及抗癌、抗肿瘤^[9-10]等重要的生理功能,因此被规定为可用于保健食品的益生菌菌种之一,在食品发酵、工业乳酸发酵、饲料行业和医疗保健领域均有比较广泛的应用。

本文就实验室保存的保加利亚乳杆菌在牛乳中的产酸特性、产黏特性及产香特性进行研究,为

收稿日期:2012-08-24

作者简介:杨一冲(1989-),女,在读硕士,研究方向为食品工程。

通讯作者:蔡 丹,女,副教授,博士,

E-mail:dan1980623@yahoo.com.cn

筛选优良菌株、研制开发优良酸奶及发酵乳饮料发酵剂提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

保加利亚乳杆菌：由食品科学与工程学院乳品实验室提供。

脱脂乳粉：黑龙江省完达山乳业股份有限公司。

鲜牛乳：优质，新鲜，购于吉林农业大学附近奶户。

试剂：氢氧化钠、酚酞、三氯乙酸、亚硫酸氢钠、可溶性淀粉、碘、碘化钾、硫代硫酸钠、碳酸氢钠等均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 菌种的活化与传代

脱脂乳粉和水按 1:9 混合制成脱脂乳培养基，将培养基放入高压灭菌锅中 115℃ 灭菌 15 min，取出冷却至室温，备用。将实验室保藏的生长状态良好的保加利亚乳杆菌按 4% 接种量进行接种，扩大培养 3~5 代至达到活力要求，4℃ 保存备用。

1.2.2 产酸特性试验

在酸奶生产过程中，乳酸菌的产酸分为发酵产酸和后酸化两个阶段。发酵产酸指酸奶发酵期间乳酸菌的产酸，而后酸化指酸奶在 0~5℃ 下后熟贮存过程中乳酸菌的产酸。

1.2.2.1 发酵产酸特性试验

将活化好的菌株以接种量 2% 接入鲜牛乳中，放入 42℃ 培养箱中恒温发酵 10 h，每隔 2 h 取乳样测定其滴定酸度和 pH 值。

1.2.2.2 后酸化特性试验

将活化好的菌株以接种量 2% 接入鲜牛乳中，在 42℃ 下发酵至凝乳后，放入 0~5℃ 贮存室进行后发酵，通过测定酸奶在后发酵过程中滴定酸度和 pH 值的变化来判断后酸化能力的强弱。

1.2.2.3 滴定酸度测定

采用酸碱滴定法。取 10 mL 发酵乳加入到 150 mL 的三角瓶中，用 20 mL 蒸馏水稀释，加入 0.5% 酚酞指示剂 4 滴，用 0.1 mol/L NaOH 标准溶液滴定，直至三角瓶中呈粉红色在 30 s 内不消失为止，样品酸度以 °T 表示^[1]。每个样品测定 3 次，取平均值。

1.2.2.4 pH 值的测定

采用精密数字 pH 计在室温下测定 pH 值。每个样品测定 3 次，取平均值。

1.2.3 产黏特性试验

1.2.3.1 发酵产黏特性试验

将活化好的菌株以接种量 2% 接入鲜牛乳中，放入 42℃ 培养箱中恒温发酵 10 h，每隔 2 h 取乳样测定其黏度。

1.2.3.2 后发酵产黏特性试验

将活化好的菌株以接种量 2% 接入鲜牛乳中，在 42℃ 下发酵至凝乳后，放入 0~5℃ 贮存室进行后发酵，通过测定酸奶在后发酵过程中黏度的变化来判断菌株产黏能力的强弱。

1.2.3.3 黏度测定

采用 NDJ279 型旋转式黏度计测定。每个样品测定 3 次，取平均值。

1.2.4 产香特性试验

将活化好的菌株以 2% 的接种量接入鲜牛乳中，在 42℃ 下发酵至凝乳后，放入 0~5℃ 贮存室进行后发酵，通过测定酸奶在凝乳时以及后发酵 12 h 和 24 h 时的乙醛产生量来判断其产乙醛能力的强弱。

乙醛浓度测定采用文献[12]的方法。取发酵乳 30 mL，加入等体积 16% 三氯乙酸溶液，经 3 500 r/min 离心 10 min，过滤后得到澄清液。精确量取 1% NaHSO₃ 溶液 5 mL 于 250 mL 锥形瓶中，加入澄清液 25 mL 摇匀，在室温放置 1 h，然后加入 1% 淀粉溶液 1 mL，用 0.1 mol/L 碘液滴至淡蓝色后，用 0.01 mol/L 碘液继续滴定至淡蓝紫色，此时不计消耗碘液的毫升数，再加 1 mol/L NaHCO₃ 溶液 20 mL，振荡混匀 30 s，当溶液蓝色退去时，用 0.01 mol/L 碘 (1/2I₂) 标准溶液滴定至淡蓝紫色，30 s 不退色，即为滴定终点，记录此时消耗碘 (1/2I₂) 标准溶液的毫升数，同时用鲜牛奶做空白试验，用下式计算：

$$c \text{ 乙醛}(\text{g/mL}) = (V_1 - V_2)C \times 0.022/25$$

式中： V_1 为样品滴定消耗碘标准溶液的体积 (mL)；

V_2 为空白滴定消耗碘标准溶液的体积 (mL)；

C 为碘 (1/2I₂) 标准溶液的浓度 (mol/L)；

25 为处理后澄清液的体积 (mL)；

0.022 为乙醛化学反应基本单位 (g)。

2 结果与分析

2.1 保加利亚乳杆菌产酸特性

2.1.1 保加利亚乳杆菌发酵产酸特性

将乳酸菌菌株分别以 2% 接种量接入鲜牛乳中，42℃ 恒温发酵 10 h，每隔 2 h 测定其酸度和

pH 值,结果见图 1、图 2。

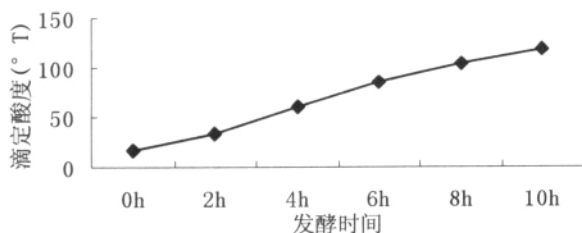


图 1 保加利亚乳杆菌发酵期间滴定酸度变化

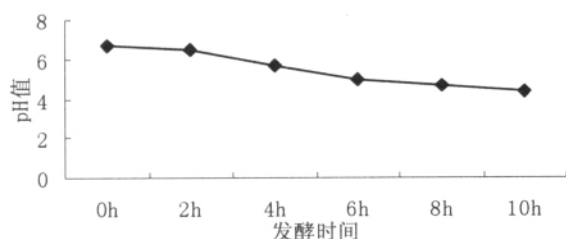


图 2 保加利亚乳杆菌发酵期间 pH 变化

由图 1、2 可知,保加利亚乳杆菌在发酵 10 h 过程中酸度均呈上升趋势,2~6 h 时酸度上升较快,后期减缓。pH 值则始终保持下降趋势。

2.1.2 保加利亚乳杆菌后酸化

将乳酸菌菌株以 2% 的接种量接入鲜牛乳中,在 42℃ 下发酵至凝乳后,放入 0~5℃ 贮存室进行后发酵,通过测定酸奶在后发酵过程中酸度和 pH 值的变化来判断后酸化能力的强弱,结果见图 3、图 4。

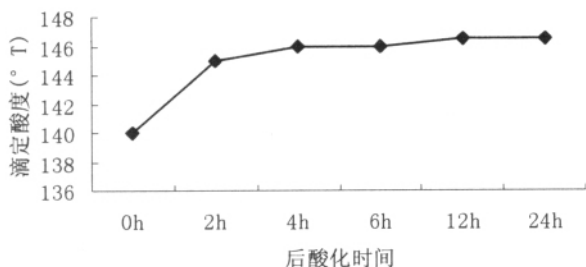


图 3 保加利亚乳杆菌后发酵期间滴定酸度变化

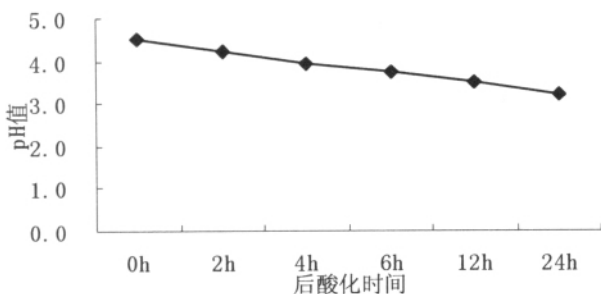


图 4 保加利亚乳杆菌后发酵期间 pH 值变化

由图 3 可知,保加利亚乳杆菌在后发酵期间

的滴定酸度变化均不大,前 2 h 变化相对较大,范围在 5°T 内,后 22 h 变化很小,在 2°T 以内。因此,保加利亚乳杆菌菌株的后酸化能力较弱。

由图 4 可知,保加利亚乳杆菌在后发酵期间的 pH 变化呈递减趋势。

2.1.3 保加利亚乳杆菌产酸特性结论

保加利亚乳杆菌发酵过程中的产酸能力均强于后发酵过程中的产酸能力,后发酵过程中酸度和 pH 值变化不明显,后酸化能力弱。

乳酸是一种电离度小的弱酸,而且乳是一个缓冲体系,其蛋白质、磷酸盐、柠檬酸盐等物质具有缓冲作用,可使乳中保持相对稳定的活性氢离子浓度,所以在一定范围内虽然产生了乳酸,但由于 pH 反映了乳中处于电离状态的所谓的活性氢离子的浓度,乳的 pH 并不相应的发生明显的规律性变化。测定滴定酸度时,按质量作用定律随着碱液的滴加乳酸也继续电离,由乳酸带来的氢离子活性和潜在的氢离子均陆续与氢氧离子发生中和反应。所以滴定酸度可以及时反映出乳酸产生的程度^[13]。滴定酸度可以更准确的表示保加利亚乳杆菌的产酸能力,这也是滴定酸度和 pH 趋势存在差别的原因。

2.2 保加利亚乳杆菌产黏特性

2.2.1 保加利亚乳杆菌发酵产黏

将乳酸菌菌株分别以 2% 接种量接入鲜牛乳中,42℃ 恒温发酵 10 h,每隔 2 h 测定其黏度,结果见图 5。

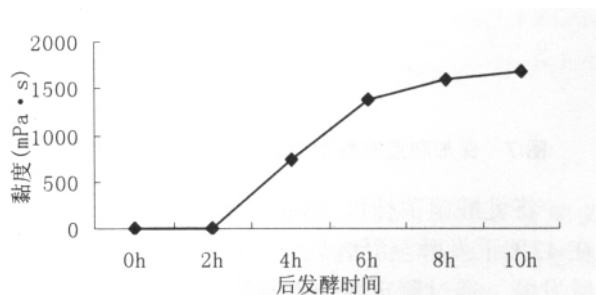


图 5 保加利亚乳杆菌发酵期间黏度变化

由图 5 可知,保加利亚乳杆菌在发酵 10 h 过程中前 2 h 黏度基本没有变化,而 2~6 h 产黏速度较快,后 4 h 产黏速度逐渐变慢。

2.2.2 保加利亚乳杆菌后发酵产黏

将乳酸菌菌株以 2% 的接种量接入鲜牛乳中,在 42℃ 下发酵至凝乳后,放入 0~5℃ 贮存室进行后发酵,通过测定酸奶在后发酵过程中黏度的增加值来判断后发酵期间产黏能力的强弱,结果见图 6。

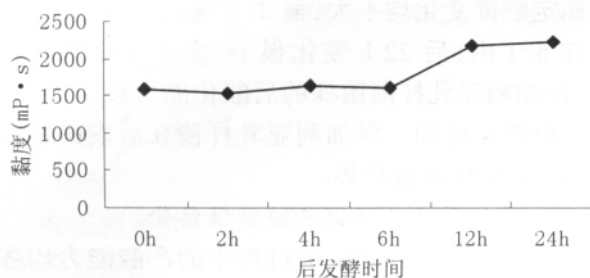


图6 保加利亚乳杆菌后发酵期间黏度变化

由图6可知,保加利亚乳杆菌在后发酵期间的黏度6~12 h间变化较大。

2.2.3 保加利亚乳杆菌产黏特性结论

发酵过程中产生微量的黏性物质,将有助于改善酸乳的组织状态和黏度,特别是对固形物含量低的酸乳尤为重要。鲜牛乳的黏度为7.30 mPa·s,发酵阶段开始一段时间后,黏度迅速增长,直到凝乳后进入后熟阶段时,增长速度减缓。牛乳发酵后黏度增加有两个原因:一是酪蛋白增加了发酵乳的黏稠度;二是保加利亚乳杆菌产生的胞外多糖多聚物作为增稠剂、胶凝剂增加了发酵乳的黏稠度^[14]。

2.3 保加利亚乳杆菌产香特性

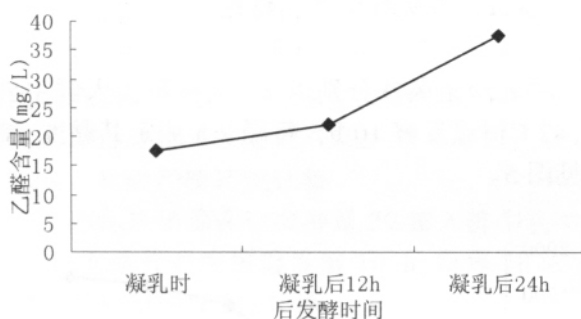


图7 保加利亚乳杆菌后发酵期间产香能力变化

将乳酸菌菌株以2%的接种量接入鲜牛乳中,在42℃下发酵至凝乳后,放入0~5℃贮存室进行后发酵,通过测定酸奶在凝乳时以及后发酵12 h和24 h时的乙醛产生量来判断其产乙醛能力的强弱,结果见图7。

由图7可知,保加利亚乳杆菌后发酵期间,凝乳后12~24 h期间产乙醛量比凝乳后12 h内高,

产香能力更强。

3 结 论

保加利亚乳杆菌被广泛应用在食品发酵领域,通过发酵产生的有机酸、特殊酶系及细菌表面成分等物质在体内发挥许多生理功能,其应用前景十分广阔。本文对乳品实验室保存的保加利亚乳杆菌的产酸、产黏、产香(主要是乙醛)特性进行了测定,结果表明,该菌种产酸和产黏能力在发酵期强,后发酵期间能力较弱;产香能力则在后发酵期间逐渐增强。试验结果为筛选优良菌株、研制发酵剂,进一步开发应用保加利亚乳杆菌提供了理论指导。

参考文献:

- [1] 康明丽. 乳酸菌及其在食品工业中的应用 [J]. 河北工业科技, 2008, 25(6): 391-393.
- [2] 吕嘉彬, 张淑娟, 董云森, 等. 乳酸菌抗湿热保护剂的研究 [J]. 西北轻工业学院学报, 2002, 20(4): 29-33.
- [3] 邢美孜. 利用德氏保加利亚乳杆菌发酵脱脂乳生产生物活性肽及其体外生理功能初步研究 [D]. 上海交通大学, 2006.
- [4] 余 瑛, 张 娅, 刘 锐, 等. 不同乳杆菌对常见病原菌的抑菌效果研究 [J]. 西南农业学报, 2006, 19(2): 294-296.
- [5] 刘 洁, 史贤明. 两种乳酸菌及其发酵液对单核细胞增生李斯特菌生长的抑制作用 [J]. 上海交通大学学报 (农业科学版), 2006, 24(3): 221-225.
- [6] 王小红, 谢笔钧, 史贤明, 等. 乳酸菌对金黄色葡萄球菌生物拮抗作用的初步研究 [J]. 食品工业科技, 2005, 26(1): 68-73.
- [7] 张兰威. 乳与乳制品工艺学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 206-207.
- [8] 刘文群, 邓泽元, 徐尔尼, 等. 保加利亚乳杆菌对微量元素硒、铬、锌的富集 [J]. 食品科技, 2006(2): 135-137.
- [9] 刘 宇. 保加利亚乳杆菌胞外多糖诱导人胃癌细胞凋亡的作用与机制 [D]. 东北农业大学, 2007.
- [10] 张 筠, 刘 宁, 孟祥晨. 保加利亚乳杆菌胞外多糖对人癌细胞抑制作用的研究 [J]. 中华预防医学杂志, 2007(3): 238-239.
- [11] 邓鹏超. 乳酸菌的高密度培养及酸奶冻干发酵剂的研究 [D]. 华中农业大学, 2008.
- [12] 李 妍, 邢慧敏, 邵亚东, 等. 发酵乳中丁二酮和乙醛含量检测方法探讨 [J]. 食品与发酵工业, 2008(3): 157-159.
- [13] 张兰威. 乳与乳制品工艺学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [14] Costerton J. How bacteria stick [J]. Scientific American 1978, 238 (1): 86-95.