

益生菌甜酒酿的研究

吕嘉彬,舒国伟,周胜敏,刘平

(陕西科技大学生命科学与工程学院,陕西 咸阳 712081)

摘要:以糯米经甜酒曲糖化发酵后的醪液(甜酒酿)为初始培养基,通过在添加各种促生长因子,对益生菌嗜酸乳杆菌的最适生长培养基及培养条件进行了研究。结果表明,在12°Bx糖度的甜酒酿中加入0.1%的大豆蛋白胨和1.5%的脱脂奶粉后培养嗜酸乳杆菌,在37℃下恒温培养16~18h,其活菌数可达 5.8×10^8 cfu/ml,酸度可控制在0.5%以下。

关键词: 益生菌; 嗜酸乳杆菌; 甜酒酿

中图分类号: TS262.4; TS261.1; TS261.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2003)03-0063-02

Study on Fermented Glutinous Rice of Probiotic Bacteria

LU Jia-li, SHU Guo-wei, ZHOU Sheng-min and LIU Ping

(College of Life Science and Engineering, Shanxi University of Science and Technology, Xianyang, Shanxi 712081, China)

Abstract: The nutrient and culture condition of *Lactobacillus acidophilus* in fermented glutinous rice was studied by adding some growth factors. The results showed that the optimal medium for growth contained 12°Bx glutinous sweet wine, 0.1% albumen of bean and 1.5% skimmed milk and optimal condition of culture was fermented at 37℃ for 16~18h, the number of active probiotic bacteria can reach 5.8×10^8 cfu/ml and acidity was below 0.5%.

Key words: probiotic bacteria; *Lactobacillus acidophilus*; fermented glutinous rice

益生菌是一类可增进人体健康的微生物,其主要作用是通过改善人体肠道菌群结构,抑制病原菌,消除致癌因子,提高机体免疫力,降低胆固醇等^[1,2]。因此,益生菌对于人类的营养和健康具有重要的意义。作为益生菌的代表菌嗜酸乳杆菌和双歧杆菌,已广泛应用于发酵乳制品中^[3,4]。目前益生菌食品作为一个新领域在欧美非常盛行,随着人们对益生菌越来越多的关注和深入的研究,更多有益于人类健康的益生菌将应用于食品工业中。

甜酒酿中含有1%~2%的酒精、20%~30%的葡萄糖以及多种氨基酸、维生素、有机酸及矿物质等成分^[5,6],历来被人们当作一种滋补食品,深受人们喜爱。本文旨在研究益生菌中的嗜酸乳杆菌在甜酒酿中生长繁殖的营养条件和培养条件,以生产含高活性的益生菌甜酒酿,使人们在食用甜酒酿时,可获得甜酒酿和益生菌的双重营养健康作用。

1 材料和方法

1.1 材料

菌种:嗜酸乳杆菌LAJ90菌株,由本校菌种室提供。

原料:优质糯米。

糖化菌种:浓缩甜酒曲。

1.2 测试项目

1.2.1 糖度 用勃力克氏糖度计测定。

1.2.2 总酸度 用标准NaOH滴定法测定。

1.2.3 嗜酸乳杆菌活菌数的测定 平板计数法^[7]。

1.3 甜酒酿制作工艺流程^[6]

糯米→淘洗→浸米→蒸饭→淋冷→拌曲→入缸发酵→糖化醪液→稀释调配→灭菌→甜酒酿

1.4 益生菌甜酒酿的制作

甜酒酿→接入嗜酸乳杆菌→培养→益生菌甜酒酿

2 结果与分析

2.1 嗜酸乳杆菌在甜酒酿中的生长试验

把糯米经甜酒曲糖化发酵后的醪液加水稀释成不同糖度的醪液后,分别接入嗜酸乳杆菌,于37℃下培养24h,其活菌数随糖度的变化曲线如图1所示。由图1可知,糖度为12°Bx左右时活菌数最高,为 3.0×10^6 cfu/ml。因此,确定12°Bx糖度的醪液为嗜酸乳杆菌适合生长的醪液。

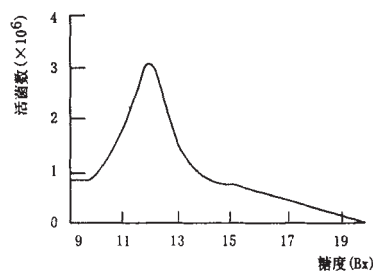


图1 活菌数与糖度的关系

以12°Bx糖度的甜酒酿为培养液,在37℃下培养嗜酸乳杆菌,并定时测其活菌数。根据活菌数变化作生长曲线(图2)。由图2可知,培养时间16~18h,生长达对数期末期,进入稳定期前期。此时活菌数最高,为 2.3×10^6 cfu/ml。

2.2 甜酒酿中添加单因素试验

由于用12°Bx糖度甜酒酿单纯培养嗜酸乳杆菌时,活菌数较

收稿日期:2003-01-03

作者简介:吕嘉彬(1964-),女,陕西人,硕士,副教授,发表学术论文30余篇,著作5部,主持国家“十五”重大科研项目1项,省部级项目4项。

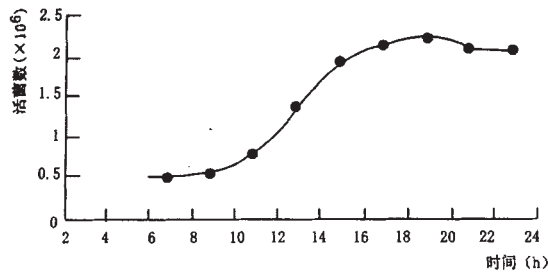


图2 嗜酸乳杆菌在甜酒酿中的生长曲线

低,所以应补充一些其他营养素,以满足该菌旺盛生长繁殖的需要。实验选择了牛肉膏、蛋白胨、酵母膏、脱脂奶粉、麦芽汁等5种营养素,分别添加于12°Bx糖度的甜酒酿中,接种嗜酸乳杆菌,于37℃恒温箱中培养18h后,其活菌数检测结果如表1所示。

营养组合	活菌数	营养组合	活菌数
A	0.85	AC4	2.6
AB	7.2	AC5	1.1
AC1	6.1	AD	5.8
AC2	16.3	AE	9.5
AC3	5.5	AF	6.3

*: A—12°Bx糖化醪液, B—牛肉膏0.5%, C1—牛蛋白胨0.5%, C2—大豆蛋白胨0.5%, C3—胰蛋白胨0.5%, C4—鱼蛋白胨0.5%, C5—酪蛋白胨0.5%, D—酵母膏0.5%, E—脱脂奶粉1.5%, F—麦芽汁10%(15°Bx)。以下符号代表的营养因子相同。

由表1可知,各辅助因子的加入都对乳杆菌起到一定促生长作用,但除了添加大豆蛋白胨时活菌数可达 10^8 cfu/ml外,其余均未突破 10^8 cfu/ml。因此,还需把各因素组合起来实验。

2.3 甜酒酿中添加双因素试验

将牛肉膏、大豆蛋白胨、酵母膏、脱脂奶粉和麦芽汁等5种营养素两两组合后,添加到12°Bx糖度的甜酒酿中,接入嗜酸乳杆菌,于37℃下培养18h后,进行活菌数检测和感官评定,结果如表2所示。可见,双因素组合后均能明显提高嗜酸乳杆菌活菌数,其活菌数均达到了 10^8 cfu/ml以上。但从发酵结束后甜酒酿感官评定结果看,AC1E组合最好,此组合对甜酒酿色泽及风味影响最小。为了进一步提高嗜酸乳杆菌的活菌数,又进行了三因素试验。

因素	总菌数	感官评价	因素	总菌数	感官评价
ABC1	2.71	浅黄色,有异味	AC1E	4.31	微黄色,无异味
ABD	4.21	黄色,异味重	AC1F	2.32	浅红色,无异味
ABE	4.24	微黄色,有异味	ADE	4.92	微红色,有异味
ABF	3.47	浅红色,略有异味	ADF	3.01	浅红色,有异味
AC1D	2.28	浅黄色,有异味	AEF	4.44	浅红色,无异味

2.4 甜酒酿中添加三因素试验

同样将配制好的三因素培养液加入到甜酒酿中,接入嗜酸乳杆菌,于37℃下培养18h后,检测结果如表3所示。从表3检测结果可以明显看出,活菌数与双因素比较均有所增加,但仍为 10^8 数量级,且醪液颜色及异味加重,感官质量下降。

2.5 最佳培养液配方的确定

据以上试验可知,单因素只能使菌数达到 10^7 数量级,双因素及三因素都可使菌数达到 10^8 数量级,但相差不大。所以最终选择大豆蛋白胨和脱脂奶粉为辅助营养素,并作双因素全面无重复实验,结果如表4所示,其方差分析如表5所示。

由表4、表5得知,3%脱脂奶粉和1%大豆蛋白胨组合中活菌

表3 三因素试验结果 ($\times 10^8$ cfu/ml)

因素	总菌数	感官评价	因素	总菌数	感官评价
ABC1D	4.32	黄色,异味重	ABEF	5.99	浅红,微有异味
ABC1E	5.21	浅黄,微带异味	AC1DF	3.07	浅红,微有异味
ABC1F	4.42	浅红,有异味	AC1EF	4.98	浅黄,微有异味
ABDE	6.12	浅黄,有絮状沉淀,异味重	ADEF	5.09	浅红,有絮状沉淀,有异味
ABDF	4.57	浅红,异味重			

表4 双因素无重复完全实验 ($\times 10^8$ cfu/ml)

因素	大豆蛋白胨(%)				
脱脂奶粉	0.1	0.5	1.0	x_1	x_1
0.5%	2.69	3.52	4.79	11.00	3.67
1.5%	5.01	4.03	5.47	14.51	4.87
3.0%	4.62	4.56	6.87	16.05	5.35
x_2	$X_1 =$	$X_2 =$	$X_3 =$	$X_{..} =$	$X_{..} =$
	12.32	12.11	17.13	41.56	4.62

表5 方差分析表

方差来源	因素A	因素B	误差e	总和
偏差平方和($\times 10^{16}$)	$S_A = 4.48$	$S_B = 5.39$	$S_e = 1.4$	$S_T = 11.27$
自由度	$f_A = 2$	$f_B = 2$	$f_e = 4$	$f_T = 3$
方差($\times 10^{16}$)	$V_A = 2.24$	$V_B = 2.69$		
F比	$F_A = 6.4$	$F_B = 7.69$		
F_{α}	$F_{0.05} = 6.94$	$F_{0.01} = 18$		
显著性	*			

数最多,但因具加入量过多,不仅有大重量沉淀产生,而且异味加重;而1.5%脱脂奶粉和0.1%大豆蛋白胨组合,不但活菌数多,而且无异。因此,可以以此作为最佳配方。

2.6 嗜酸乳杆菌甜酒酿发酵终止时间的确定

本研究的目的是在利用甜酒酿的营养及健康功能的同时,培养出大量有活力的嗜酸乳杆菌,强化甜酒酿的功能。因此培养结束后,酸度不能过大,而且要保持甜酒酿原有风味,所以发酵时间要严格控制。为了找出适合的发酵终点,试验绘出了嗜酸乳杆菌在所选的最佳配方营养液中的生长曲线和酸度变化曲线(图3和图4)。由图3、图4得知,培养16~18h为对数生长期和平衡期的交点,即为嗜酸乳杆菌生长繁殖的旺盛时期。此时,活菌数可达 5.8×10^8 cfu/ml,而酸度在0.5%以下。随着发酵时间的延长,酸度不断上升。因此,发酵终止时间应控制在18h以内。

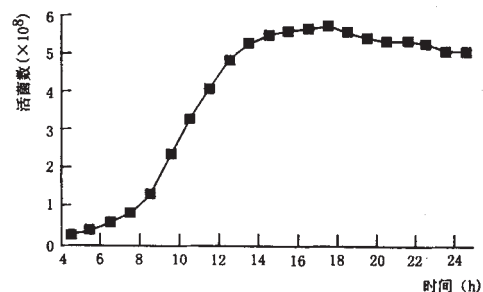


图3 嗜酸乳杆菌在加富甜酒酿中的生长曲线

2.7 益生菌嗜酸乳杆菌甜酒酿质量检测结果

以所选最佳条件制备益生菌甜酒酿,所得产品经检测分析,其感官特性:乳白色或淡黄色,自然清香,无异味,甜酸适口,醇正绵和,具甜酒酿特有的风味。主要理化指标:糖度10°Bx;酒度1.5%(v/v);酸度0.46g/100ml(以乳酸计);嗜酸乳杆菌活菌数 5.8×10^8 cfu/ml。

(下转第62页)

表4 静止后测定酵母数 ($\times 10^7$ 个/ml)

酵母	次数				
	1	2	3	4	5
APV	2.3	1.6	1.0	1.4	1.1
APK	0.3	0.4	1.9	1.4	0.8

注: $\bar{x}$ 为将沉淀酵母摇匀所测悬浮酵母数平均值, s 为试管在 25℃ 静置 30 min 所测悬浮酵母数平均值。

由以上数据可以看出, APK 酵母的凝聚力 F 值比 APV 的稍高。同时我们结合酵母悬浮细胞数变化与发酵天数的实验情况分析, 后酵结束, APK 菌种发酵液中悬浮细胞数明显较 APV 菌种发酵液中悬浮细胞数降低许多, 有利于发酵液的澄清。

2.6 高级醇的变化

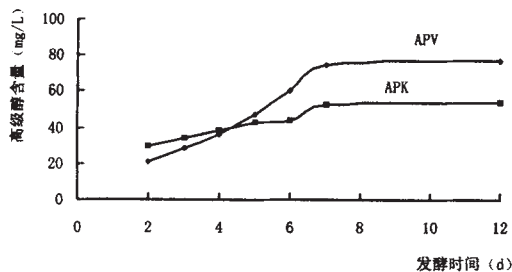


图5 发酵过程中高级醇的变化

由图5可以看出, 两菌种在发酵过程中, 高级醇的含量都呈现出由少到多的增长趋势, 且增长主要在主酵期间完成, 后酵期增长趋于平缓, 稍有增长。利用 APV 发酵的成品啤酒中高级醇达到 76.4 mg/L, 而 APK 菌种发酵则为 53.4 mg/L。在主酵期间, 酵母充分利用麦汁的营养成分进行增殖, 从而使高级醇的含量趋于增值, 随着麦汁营养成分的消耗和酵母的衰败, 高级醇含量的增长也趋缓^[6-10]。由图1和图5的变化趋势可以看出, 菌种 APV 的增殖密度较 APK 大, 所生成的高级醇含量也较 APK 高。这可以说明, 酵母是影响啤酒高级醇含量的一个因素。而菌种 APK 在控制啤酒高级醇含量时较菌种 APV 表现出了更适合酿造淡爽型啤酒口味的要求。

2.7 发酵终了理化指标 (见表5)

3 结论

(上接第 64 页)

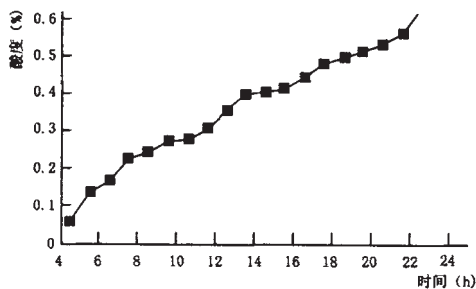


图4 嗜酸乳杆菌在加富甜酒酿中培养过程中酸度的变化

3 结论

3.1 以甜酒酿培养嗜酸乳杆菌时, 其最适糖度为 12°Bx。

3.2 单纯用甜酒酿培养嗜酸乳杆菌时, 其活菌数最高为 2.3×10^6 cfu/ml, 而添加 0.1% 大豆蛋白胨和 1.5% 脱脂奶粉后, 其活菌数可达 5.8×10^8 cfu/ml, 大大超出了益生菌产品中益生菌活菌数的要求 (一般要求大于或等于 10^6 cfu/ml)。

表5 啤酒的最终测定指标

理化指标	菌种 APV	菌种 APK
双乙酰值(mg/L)	0.20	0.07
杂醇油含量(mg/L)	76.4	53.4
pH 值	4.62	4.72
α -AN 含量(mg/L)	82	71
真正浓度(%)	5.072	3.990
酒精度(%, v/v)	4.310	4.815
外观浓度(%)	4.052	3.400
原麦芽汁浓度(%)	13.364	13.259
真正发酵度(%)	62.05	69.91
外观发酵度(%)	69.68	74.36

3.1 菌种 APK 比较符合酿造啤酒, 是两者当中较为优秀的一株。

3.2 从双乙酰的变化情况来看, 我们认为菌种 APK 双乙酰峰值低, 出现早, 最高峰值为 0.21 mg/L (第 2 天), 而且后期还原快, 且含量低, 成品啤酒双乙酰含量为 0.07 mg/L, 而菌种 APV 双乙酰峰值稍高, 出现迟缓, 最高峰值为 0.23 mg/L (第 4 天), 而且发酵终了菌种 APV 的双乙酰值出现反弹现象, 相比较而言, APK 菌种的还原性能较 APV 好。

3.3 菌种 APV 与 APK 对 α -氨基氮的同化情况, 显然菌种 APK 同化 α -氨基氮快且多, 酵母健壮。

参考文献:

- [1] 顾国贤. 酿造工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996.
- [2] 管敦仪. 啤酒工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1985.
- [3] 戴仁泽. 啤酒发酵进展[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1985.
- [4] 韩志芳, 等. 浅谈如何控制啤酒中的双乙酰[J]. 酿酒, 2000, (4): 64-65.
- [5] 温志宇. 线性回归方程在检测白酒中杂醇油的运用[J]. 酿酒, 2000, (1): 57-58.
- [6] 蔡克舟. 浅谈啤酒酿造过程中高级醇的产生及控制[J]. 广州食品工业科技, 2001, (2): 55-56.
- [7] 林志国. 啤酒中高级醇的控制[J]. 酿酒科技, 2001, (2): 55-56.
- [8] 何祖荣. 啤酒酿造过程高级醇形成的控制[J]. 酿酒科技, 2001, (1): 64-65.
- [9] 张传部. 影响啤酒中高级醇含量的主要因素及控制[J]. 酿酒科技, 2000, (3): 58-59.
- [10] 曹程节. 影响啤酒中高级醇形成的因素[J]. 酿酒科技, 2000, (6): 70-71.

3.3 嗜酸乳杆菌甜酒酿发酵时间应控制在 16~18 h, 这样才能使产品酸度控制在 0.5% 以下。

3.4 所制得的益生菌嗜酸乳杆菌甜酒酿成品中, 酸度 0.46%, 糖度 10°Bx, 酒度 1.5% (v/v), 活菌数 5.8×10^8 cfu/ml, 且具有甜酒酿特有的风味。

参考文献:

- [1] 胡学智. 国外微生态制剂的研究与市场概况[J]. 工业微生物, 2002, 32(3): 56-61.
- [2] 刘小杰, 何国庆, 袁长贵. 益生菌的安全性及其功能[J]. 中国乳品工业, 2002, 30(1): 16-18.
- [3] 张艳杰, 徐红华. 益生菌及其在食品中的应用[J]. 中国乳品工业, 2001, 29(5): 48-50.
- [4] 宫春波, 谢丽源, 贺稚非. 酸乳中益生菌活性影响因素的研究概况[J]. 饮料工业, 2002, 5(3): 32-37.
- [5] 傅金泉. 传统发酵食品甜酒酿[J]. 酿酒, 1987, (5): 9-10.
- [6] 吕嘉杨. 固体稠酒的研究[J]. 酿酒科技, 1999, (4): 53-54.
- [7] IDF/ISO/AOAC 联合标准. 酸奶特征微生物的菌落计数[J]. 中国乳品工业, 1990, 18(4): 178-191.