啤酒中乳酸菌的分离鉴定及产酸特性研究

栗 伟[1],赵 辉[2]

(1.黑龙江省轻工研究院,黑龙江 哈尔滨 150000;2.黑龙江大学生命科学学院,黑龙江 哈尔滨 150080)

摘 要: 从发酵啤酒样品中分离鉴定出 4 株不同的乳酸菌,分别为短乳杆菌(*L.brevis*)、坏发酵乳杆菌(*L.malefermentans*)、布氏乳杆菌(*L.buchneri*)和乳酸片球菌(*P.acidilactici*)。4 株乳酸菌在低温麦芽汁中进行 72 h 发酵产酸实验,结果表明,酸度会上升 0.1 g/100 mL 左右,足以使正常发酵的啤酒酸败;抑菌实验表明,分别采用巴氏消毒法、pH<2 的酸性条件和 2 %的 NaOH 处理纯培养的乳酸菌培养 1 h,4 种乳酸菌的致死率为 90 %以上。(孙悟)

关键词: 啤酒; 乳酸菌; 分离; 鉴定

中图分类号:TS262.5;TS261.1;Q93-33 文献标识码:B 文章编号:1001-9286(2006)02-0044-02

Separation and Identification of Lactic Acid-producing Bacteria in Beer and the Characters of Acid-producing

LI Wei[1] and ZHAO Hui[2]

(1.Heilongjiang Light Industry Research Institute, Haerbin, Heilongjiang 150000; 2.Life Science College of Heilongjiang University, Haerbin, Heilongjiang 150080)

Abstract: Four strains of lactic acid bacteria were separated and identified from beer. These strains belong to *L.brevis*, *L.malefermentans*, *L.buchneri* and *P.acidilactici*. The experiments of acid-producing for the four different lactic acid bacteria were done in low temperature wort for 72 h. And the results showed that the acidity was up 0.1 g/100 mL round. It would get the normal fermentation beer acidification. The experiments of inhibitary suggested that the dead rate of the four strains was above 90 % when they were treated by respectively by pasteurization, acidity condition for pH<2 and 2 % NaOH treatment for 1 h.

Key words: beer; lactic acid bacteria; separation; identification

啤酒是纯种培养酵母发酵麦芽汁得到的发酵产物,在啤酒生产过程中许多环节都可能有其他微生物进入啤酒中,杂菌的繁殖会产生多种代谢产物而影响啤酒的生物和非生物稳定性,最终影响成品啤酒的质量。乳酸菌是啤酒生产中最主要的污染细菌,它们可能存在于发酵设备的死角处以及回收再利用的酵母泥中。所以如何控制乳酸菌对啤酒发酵过程的污染是保持啤酒生物稳定性的关键。笔者就啤酒中的乳酸菌进行了分离鉴定,并对其生物学特性进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

黑龙江大学生命科学学院多批次微型啤酒。

1.1.2 培养基

MRS 分离培养基:蛋白胨 10 g,牛肉膏 10 g,酵母提取物 5 g,K_2HPO_4 2 g,柠檬酸二钠 2 g,乙酸钠 5 g,葡萄糖 20 g, 吐温 80 1 mL,$MgSO_4$ 0.58 g,$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.25 g,琼脂 15 g,蒸馏水 1 L,调 pH6.2~6.4,121 ℃灭菌 15 min。

麦芽汁酒花培养基:纯麦芽浸出糖化法制作。

1.2 方法

1.2.1 乳酸菌的分离与纯化

将不同批次的啤酒进行梯度稀释涂布于含 MRS 培养基的平板中,37 ℃培养,48 h 挑取单菌落,涂片染色镜检观察,4 ℃冰箱保存备用。

1.2.2 乳酸菌的鉴定及生物学特性

分别进行苦杏仁苷、阿拉伯糖、纤维二糖、七叶灵、

收稿日期:2005-12-28

作者简介:栗伟(1976-),女,硕士研究生,国家级白酒评委,高级品酒师,发表论文数篇。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

果糖、半乳糖、葡萄糖、葡糖酸盐、乳糖、麦芽糖、甘露醇、甘露糖、松三糖、蜜二糖、棉籽糖、鼠李糖、核糖、水杨苷、山梨醇、蔗糖、海藻糖、木糖、从精氨酸产 NH_3、乳酸旋光性、15 ℃生长、过氧化氢酶实验、明胶水解实验和硫化氢等实验,对所分离乳酸菌进行鉴定。

1.2.3　乳酸菌产酸分析

在低温下,用麦芽汁酒花培养基培养乳酸菌,观察产酸情况,酸度测定采用酸碱滴定法。

1.2.4　抑菌实验

分别采用巴氏消毒法、pH<2 的酸性条件和 2 %的 NaOH 处理纯培养的乳酸菌培养液进行实验,观察各因素对乳酸菌的抑制情况。

2　结果与分析

2.1　乳酸菌的鉴定

对乳酸菌的分离鉴定结果见表 1。

表 1　生理生化鉴定结果

组分	菌株			
	1	2	3	4
苦杏仁苷	-	-	-	+
阿拉伯糖	+	-	+	d
纤维二糖	-	-	-	+
七叶灵	d	-	d	+
果糖	+	-	+	+
半乳糖	d	-	d	+
葡萄糖	+	+	+	+
葡糖酸盐	+	d	+	+
乳糖	d	-	d	d
麦芽糖	+	+	+	-
甘露醇	-	-	-	-
甘露糖	-	-	-	+
松三糖	-	-	+	-
蜜二糖	+	-	+	-
棉籽糖	d	-	d	+
鼠李糖	-	-	-	d
核糖	+	+	+	+
水杨苷	-	-	-	+
山梨醇	-	-	-	-
蔗糖	d	-	d	-
海藻糖	-	-	-	d
木糖	d	-	d	+
从精氨酸产 NH_3	+	+	+	+
乳酸旋光性	DL	DL	DL	DL
15℃生长	+	+	+	+
过氧化氢酶实验	-	-	-	+
明胶水解实验	-	-	-	-
硫化氢实验	-	-	-	-

通过对分离得到的乳酸菌进行鉴定,得到 4 株不同的乳酸菌,经鉴定分别为短乳杆菌(*L.brevis*)、坏发酵乳杆菌(*L.malefermentans*)、布氏乳杆菌(*L.buchneri*)和乳酸片球菌(*P.acidilactici*)。

2.2　乳酸菌在低温麦芽汁中的发酵产酸特性

将 4 株乳酸菌分别接种在麦芽汁酒花培养基中,接种后乳酸菌的数量为 10^3 个 /mL,15 ℃条件下进行 72 h 产酸实验分析,验证这 4 株乳酸菌在啤酒低温发酵过程中的产酸情况以及对啤酒的影响,产酸结果见图 1。

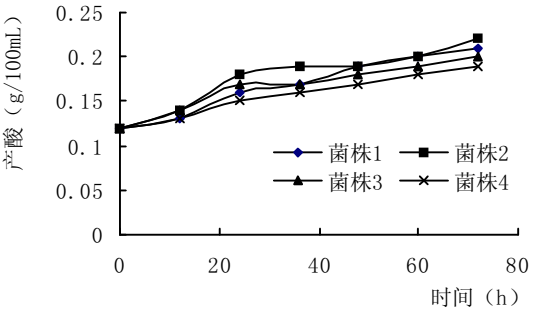

图 1　乳酸菌在啤酒低温发酵过程中的产酸情况

如图 1 所示,4 株乳酸菌以 10^3 个 /mL 在低温酒花麦芽汁培养基中发酵 72 h,酸度会上升 0.1 g/100 mL 左右,足以使正常发酵的啤酒酸败。

2.3　抑菌实验

分别采用巴氏消毒法、pH<2 的酸性条件和 2 %的 NaOH 处理纯培养的乳酸菌培养 1 h,4 种乳酸菌的致死率为 90 %以上，表明发酵设备的 CIP 处理和啤酒发酵液的巴氏消毒对乳酸菌有较好的抑制作用。

3　结论

从发酵的微型啤酒中分离鉴定出 4 株不同的乳酸菌分别为短乳杆菌(*L.brevis*)、坏发酵乳杆菌(*L.malefermentans*)、布氏乳杆菌(*L.buchneri*)和乳酸片球菌(*P.acidilactici*)。并在低温麦芽汁中进行 72 h 发酵产酸实验,得到了 4 株菌产酸的变化情况,并且得出了相关因素的抑菌实验结果,为研究啤酒中乳酸菌的污染奠定了初步的基础。

参考文献：

[1]　凌代文.乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M].北京 :中国轻工业出版社,1999.
[2]　顾国贤.酿造酒工艺学[M].北京 :中国轻工业出版社,1995.
[3]　管敦仪.啤酒工业手册[M].北京 :中国轻工业出版社,2000.
[4]　马玉玲,等.马奶酒中乳酸菌的分离及其生物学特性的研究[J].试验研究,2005,(3) :.

《酿酒科技》中文核心期刊

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net