

传统发酵食品—浆水中微生物的 分离与初步鉴定

张 轶, 王玉丽, 陈晓前, 赵 萍
(兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050)

摘 要:通过对浆水中的微生物进行分离培养及数量测定, 查明了浆水中的优势菌为乳酸菌及酵母菌, 其次尚有少量放线菌, 霉菌为污染菌。从不同样品中分离得到了 2 株乳酸菌、3 株酵母菌, 1 株放线菌及 2 株霉菌, 通过对其形态、培养特征及生物学特性的研究, 初步鉴定 2 株乳酸菌分属于乳杆菌属(*Lactobacillus*)和明串珠菌属(*Leaconostoc*); 3 株酵母菌分属于酒香酵母属(*Brettanomyces*)、隐球酵母属(*Cryptococcus*)及裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces*); 放线菌属于诺卡氏菌属(*Nocardia*); 2 株霉菌分属于青霉属(*Penicillium*)和曲霉属(*Aspergillus*)。

关键词: 浆水; 微生物; 分离; 初步鉴定

Isolation and Initiative Identification of Microorganism from Traditional Fermentative Food-Jiangshui

ZHANG Yi, WANG Yu-li, CHEN Xiao-qian, ZHAO Ping
(College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

Abstract: Microorganisms in traditional fermentative food-Jiangshui were isolated and purified. Through isolation and quantity measurement of the microorganisms, we found that the dominant microorganisms during the process of the fermentation of Jiangshui are lactic acid bacteria and yeast, and also a few actinomycetes, fungi is polluting microorganism. 2 strains lactic acid bacteria, 3 strains yeast, 1 strain actinomycete and 3 strains fungi were isolated from several sample. According to the colony forms and biology characteristics, 1 strain lactic acid bacteria was identified as *Lactobacillus*, 1 strain lactic acid bacteria as *Leaconostoc*; 1 strain yeast was identified as *Brettanomyces*, 2 strains yeast as *Cryptococcus* and *Schizosaccharomyces*; 1 strain actinomycete was identified as *Nocardia*; 1 strain fungi was identified as *Penicillium*, 1 strain fungi as *Aspergillus*.

Key words: Jiangshui; microorganism; isolation; initiative identification

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)01-0219-04

浆水系我国西北地区极具特色的一种传统发酵食品, 一般用蔬菜加入面汤或米汤经乳酸菌发酵制成。浆水味道至酸, 多用于夏日制汤或下面, 可清热解暑, 是受欢迎的夏令风味食品^[1]。但目前浆水多为家庭自制, 产品的卫生难以保证, 质量不够稳定, 消费地域性强。为使该食品能够实现工业化生产, 有必要对其进行全面的研究。

本研究对浆水发酵过程中的微生物菌系进行了初步的分析, 即对浆水自然发酵过程中的微生物的组成和种类情况进行研究, 以期对浆水的纯种发酵和实现工业化生产及产品开发提供相关依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 原料

新鲜浆水样品 6 份分别购自兰州理工大学前门市场和兰州市建兰市场。

1.1.2 培养基^[2]

1.1.2.1 分离用培养基

(1) 分离乳酸菌用培养基(MRS 培养基): 牛肉膏 10g, 蛋白胨 10g, 琼脂 15g, 酵母提取物 5.0g, 磷酸氢二钾 2.0g, 乙酸钠 5.0g, 葡萄糖 20g, 碳酸钙 20g, 吐温 80 1ml, MgSO₄·7H₂O 0.58g, 硫酸锰 0.25g, 蒸馏水 1000ml, pH 值 6.2~6.4。

(2) 分离酵母菌用培养基(豆芽汁培养基): 黄豆芽

收稿日期: 2006-09-11

作者简介: 张轶(1976-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为农产品加工、食品微生物与发酵。

100g, 蔗糖(或葡萄糖)50g, 水1000 ml, pH 值自然。

(3)分离霉菌用培养基(查氏培养基): 蔗糖 30g, 氯化钾 0.5g, 硫酸镁 0.5g, 硫酸亚铁 0.5g, 磷酸氢二钾 1.0g, 硝酸钠 3.0g, 水 1000ml, pH 值 6.7。

(4)分离放线菌用培养基(高氏 1 号培养基): 可溶性淀粉 20g, 硝酸钾 1.0g, 氯化钠 0.5g, 磷酸氢二钾 0.5g, 硫酸镁 0.5g, 硫酸亚铁 0.01g, 琼脂 20g, 水 1000ml, pH 值 7.2~7.4。

1.1.2.2 生化实验鉴定培养基

糖发酵培养基、淀粉培养基、明胶液化培养基、石蕊牛乳培养基、蛋白胨水培养基。

1.1.3 主要仪器设备

手提式高压蒸汽灭菌锅(YXQ-SG46-280S); 数显电热培养箱(HPX-9162MBE HPX-9052ME); 洁净工作台(SB-JC-IB) 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 烘箱(0700302型) 天津奥特温度仪表厂; 电子天平(DT1000) 常熟市衡器厂; 分析天平(AB104-N 型) 梅特勒-托利多仪器上海有限公司; 130 万像素数码显微摄像系统、K-400 型四档变倍体视显微镜 Motic 实业集团。

1.2 方法

1.2.1 浆水中微生物的分离培养^[3]

采用稀释平板法对样品中微生物进行分离。即将浆水 10 倍级进行稀释, 稀释度为 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 。根据检测的对象不同取不同稀释度的 1ml 样液倾注平板, 每个稀释度做 3 个重复。将上述平板按表 1 条件进行培养, 培养后进行观察、计数。

1.2.2 浆水中微生物的数量测定^[2]

采用倾注式平板菌落计数法统计浆水中的微生物活菌总数。

1.2.3 菌种初步鉴定^[3,5]

将培养好的平皿选取单个分散的菌落进行显微镜观察, 对典型菌落纯化培养后进行初步菌种鉴定。

1.2.3.1 培养特征观察

对所有分离纯化菌株平板培养后进行培养特征的观察。

1.2.3.2 形态特征观察

取典型菌落涂片, 染色后进行显微镜形态观察。

1.2.3.3 生化鉴定实验^[2]

淀粉水解试验、明胶液化试验、石蕊牛乳试验、糖发酵试验、过氧化氢酶试验、吲哚试验、硫化氢试验。

2 结果与分析

2.1 浆水中微生物菌系的组成及数量测定结果

从浆水各样品中均能分离得到三类微生物, 分别是乳酸菌、酵母菌和放线菌。此外, 1/3 的样品中还存在有少量霉菌。分别测得浆水不同样品中主要微生物数量, 平均结果见表 2。

表 2 浆水中主要微生物平均数量
Table 2 Average quantity of main microorganisms in Jiangshui

菌名	平均数量(CFU/ml)
(有氧)乳酸菌	1.8×10^3
(厌氧)乳酸菌	3.9×10^3
酵母菌	2.3×10^3
放线菌	1.8×10
霉菌	6

从表 2 可以看出, 乳酸菌与酵母菌在数量上占优势, 说明在浆水的菌系组成中, 乳酸菌和酵母菌为主要菌群, 放线菌的数量相对较少。各样品中都有放线菌存在, 且放线菌的数量变化相对稳定, 据分析该菌来自于植物体内或土壤^[6], 至于是否为浆水发酵的必要组成有待进一步研究。而霉菌只存在于部分样品中, 且其在各样品中菌落特征均不同, 故认为霉菌并非浆水发酵的菌系组成, 应为污染菌。此外, 浆水中的乳酸菌在厌氧条件下的生长优于有氧条件, 说明浆水发酵中起主要作用的乳酸菌系厌氧或兼性厌氧的菌群。

2.2 培养及形态特征观察结果

本研究从浆水样品中分离得到的微生物, 通过培养基上菌落特征观察和显微镜个体形态观察, 确定为 8 株菌株, 分别为乳酸菌 L1、乳酸菌 L2、酵母菌 Y1、酵母菌 Y2、酵母菌 Y3、放线菌、霉菌 M1、霉菌 M2。其具体培养及形态特征见表 3, 优势菌株的菌体形态如图 1~5 所示。

2.3 优势菌株的生化鉴定实验

结果见表 4。

2.4 菌种初步鉴定结果

综合形态观察、培养特性和生化鉴定实验结果,

表 1 微生物的分离与培养
Table 1 The isolation and culture of microorganisms

分离对象	稀释度	培养基名称	培养温度(℃)	培养时间(d)	培养方式
乳酸菌	10^{-4} 、 10^{-2} 、 10^{-3}	MRS	30~37	1~2	有氧及厌氧
酵母菌	10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3}	豆芽汁葡萄糖	28~30	2~3	有氧
放线菌	原样	高氏 1 号	28	5~7	有氧
霉菌	原样	查氏	28~30	3~5	有氧

注: 有氧及厌氧培养方法见文献[4]。

表3 纯菌的菌落及形态特征
Table 3 Clone characterization of purified microorganisms

种类	培养特征观察结果	形态特征观察结果
乳酸菌 L1	菌落圆形，表面高突起，边缘整齐，表面光滑有光泽，乳白色，直径约 2 ~ 3 mm。	G ⁺ ，圆端直杆菌，单个或成对，不运动
乳酸菌 L2	菌落圆形，表面突起，边缘整齐，表面光滑有光泽，乳白色，直径小于 1 mm。	G ⁺ ，菌体呈球状，排列成对和短链，不运动
酵母菌 Y1	有明显啤酒酵母的气味，表面湿润无光泽，中心隆起较高呈突脐状，乳白色，边缘整齐，直径小于 1 cm。	菌体椭圆，多极芽殖
酵母菌 Y2	无明显气味，表面湿润有光泽，中心隆起，边缘呈放射状，颜色为粉红色，有同心环，中等大小菌落。	菌体卵圆，单极芽殖
酵母菌 Y3	表面湿润，有光泽，呈突脐状，乳白色，不透明，边缘整齐。中等大小菌落。	菌体椭圆，裂殖
放线菌	菌落平坦、光滑，边缘菌丝根毛状，气丝、基丝为乳白色。	孢子链短链、柔曲
霉菌 M1	气生菌丝不发达，菌落呈白色绒毛状，中间为绿色，菌落小，边缘扩展性较差。	有扫帚分生孢子小梗
霉菌 M2	气生菌丝相当发达，菌丝初期呈灰白色，随着生长时间的延长，菌丝变化呈灰褐色，孢子呈黑色，菌落蔓延性很强，菌丝可以布满整个平皿。	菌丝有隔，巨大顶囊呈椭圆形



图1 乳酸菌 L1
Fig.1 Lactic acid bacteria L1

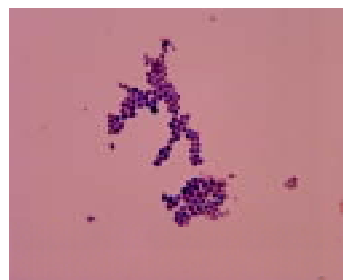


图4 酵母菌 Y2
Fig.4 Yeast Y2

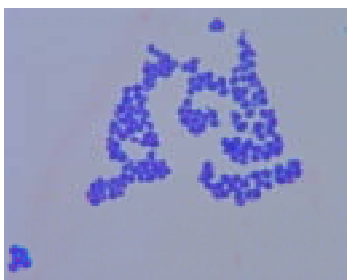


图2 乳酸菌 L2
Fig.2 Lactic acid bacteria L2



图5 酵母菌 Y3
Fig.5 Yeast Y3

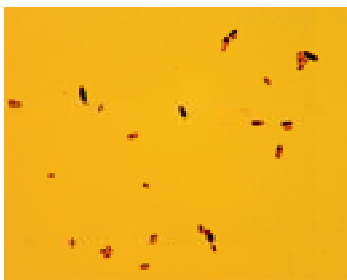


图3 酵母菌 Y1
Fig.3 Yeast Y1

定手册》^[8]及前人研究结果^[3, 9-10]，可初步鉴定出样品中的乳酸菌 L1 属于乳杆菌科的乳杆菌属(*Lactobacillus*)，乳酸菌 L2 属于链球菌科的明串珠菌属(*Leaconostoc*)；酵母菌 Y1 属于酒香酵母属(*Brettanomyces*)，酵母菌 Y2 属于隐球酵母属(*Cryptococcus*)，酵母菌 Y3 属于裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces*)；放线菌属于诺卡氏菌属(*Nocardia*)；霉菌 M1 属于青霉属(*Penicillium*)，霉菌 M2 属于曲霉属(*As-pergillus*)。

3 结论与讨论

根据《伯杰氏细菌鉴定手册》^[7]、《酵母菌的特征与鉴

3.1 浆水这种发酵型食品虽在西北民间盛行已久，但

表4 优势菌株的生化鉴定实验结果

Table 4 Physiological and biochemical experiment of dominant microorganisms

实验项目	菌株代号				
	L1	L2	Y1	Y2	Y3
淀粉水解	+	-	-	+	-
明胶液化	-	-	-	-	-
石蕊牛奶	产酸、 胨化	产酸、 胨化	凝乳酶 凝固	产酸、 酸凝固	胨化
糖发酵					
葡萄糖	+	+	+	-	+
半乳糖	-	+	-	-	+
乳糖	-	-	-	-	-
蔗糖	+	+	+	-	+
麦芽糖	-	+	-	-	+
可溶性淀粉	-	-	-	-	-
过氧化氢酶	-	-	N D	N D	N D
吲哚实验	-	-	N D	N D	N D
硫化氢实验	-	-	N D	N D	N D

注：“+”表示实验阳性；“-”表示实验阴性，“N D”表示未测定。

从未有人对其进行系统研究，在营养成分、保健功能、菌系组成、发酵机理和控制方面的研究基本属于空白。本实验首次对浆水中的微生物菌系进行了初步研究，经实验证实，自然发酵的浆水中微生物菌系复杂，主要包括乳酸菌、酵母菌及放线菌，其中优势菌群为乳酸菌和酵母菌，且乳酸菌多为厌氧或兼性厌氧菌株，如卫生控制不当，还会污染霉菌。乳酸菌为浆水发酵的主要微生物，而酵母菌和放线菌在发酵过程中对产品质量的影响及菌群间的共生关系，共生理理有待进一步研究。

3.2 本实验分离得到了八株菌株并进行了初步鉴定，其中乳酸菌2株，分属于乳杆菌属(*Lactobacillus*)及明串珠菌属(*Leaconostoc*)；酵母菌3株，分属于酒香酵母属

(*Brettanomyces*) 隐球酵母属(*Cryptococcus*)及裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces*)；放线菌1株，属于诺卡氏菌属(*Nocardia*)，污染的霉菌2株，分属于青霉菌属(*Penicillium*)和曲霉属(*As-pergillus*)。

由于时间及实验条件限制，生化鉴定实验方法还不够完善，项目还不够全面，有待进一步改进。

3.3 结合本实验研究情况，对浆水的后续研究可以在以下几方面展开：(1)对共生菌群进一步的分离和鉴定，以完全确定浆水中的菌群组成；(2)对已分离的菌株进一步的鉴定，明确其菌种；(3)对微生物的生长和发酵特性及对产品的影响进行深入研究，选育优良菌株；(4)对微生物菌群的共生关系及共生理理进行深入的研究和探讨。

参考文献：

- [1] 王文奎. 浆水入肴消暑热[J]. 四川烹饪, 2001(8): 42.
- [2] 杜连祥, 等. 工业微生物学实验技术[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1992: 43-138.
- [3] 蒋立文, 夏波. 浏阳豆豉发酵微生物的初步研究[J]. 中国酿造, 2004(12): 11-18.
- [4] 刘慧, 李平兰, 宫品, 等. 开菲尔粒中酵母菌的分离及发酵性能的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(2): 97-99.
- [5] 刘变芳, 孔庆学, 郭蔼光. 自然发酵剂“西藏雪莲”的初步研究与菌种鉴定[J]. 中国酿造, 2004(11): 11-15.
- [6] 赵玲艳, 邓放明, 等. 自然发酵辣椒中优良乳酸菌的分离与鉴定[J]. 食品研究与开发, 2004(6): 105-108.
- [7] 布坎南R E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组, 译. 北京: 科学出版社, 1984: 660-1207.
- [8] 巴尼特J A. 酵母菌8的特征与鉴定手册[M]. 胡瑞卿, 译. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1991: 140-174.
- [9] 郭燕, 侯义宏, 刘炳琦, 等. 蛋白饲料中酵母菌的分离与鉴定试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2005(6): 53-54.
- [10] 邢鲲, 韩巨才, 刘慧平, 等. 辣椒内生放线菌的分离、鉴定和拮抗作用[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(5): 777-778.



美国宣布开放全基因组研究数据库

美国国家医学图书馆于近日宣布开放一个全基因组范围(genome wide association, GWA)内的全新数据库「基因型与表型数据库(the database of Genotype and Phenotype, dbGaP)」, 能够于第一时间提供给研究者所有基因之间相关与否的研究资料。

这项由美国国家卫生研究院主导的GWA研究计划, 主要探讨特定基因型与表型之间的关联, 例如血压与体重之间与是否导致某些疾病等关系; 这对于了解基因, 以及发展治疗法与策略十分重要。

隶属于国家生物信息中心的dbGaP, 能够及时提供性状比对、测量变异数(measured variables)摘要, 和基因与表型之间统计相关性的预估分析。目前dbGaP首先开放衰老眼疾研究(the Age-Related Eye Diseases Study, AREDS)中, 老年黄斑病变(Age-related Macular Degeneration AMD)和老年白内障(age-related cataracts)等临床预期研究约600份资料。此外, 美国国家神经疾病和中风研究院(the National Institute of Neurological Disorders and Stroke)的帕金森氏症相关研究亦提供细胞样品和详细表型资料达2573份。