

SOD 双歧酸奶的研制

张中义 林原 章银良 王德亮

郑州轻工业学院食工系 450002

摘 要 对双歧杆菌进行耐氧驯化,发酵制造双歧杆菌酸奶是可行的。双歧杆菌和酸奶菌种单独接种发酵,并按 1:2 比例混合发酵乳,产品可获得较高的双歧杆菌活菌数 $10^8/\text{ml}$ 以上,和良好的酸奶风味。双歧杆菌单独发酵牛乳时,8 h 是较理想的发酵终点。发酵后在酸奶中添加 SOD 可保持酸奶中较高的 SOD 活性。SOD 双歧杆菌酸奶在 4~6℃ 保存 20 天, pH4.1, SOD 活性可保持 70% 以上。

关键词 双歧杆菌 酸奶 超氧化物歧化酶 中图分类号 TS252.54

0 引言

乳酸菌是一类对人体有保健作用的细菌,乳酸菌进入人体肠道后,能产生乳酸、乙酸、乳链球菌素,抑制肠道内有害细菌的生长繁殖,对腹泻、消化不良有一定疗效,还可促进肠蠕动,防止便秘。乳酸菌进入人体肠道后,通过调节宿主肠道菌丛,提高机体的免疫力,增强抗病能力。乳酸菌及其制品还有降低胆固醇,抑制癌细胞生长,防老化和防癌作用^[1]。大量的研究还证明,双歧杆菌的生理保健作用远远超过普通乳酸菌,双歧杆菌制品具有比普通乳酸菌制品更佳的保健功能^[2]。超氧化物歧化酶(SOD)自从被美国生化学者 McCord 和 Fridovich 发现后,受到学术界的重视,已经证明,SOD 能特异性清除人体的超氧自由基(O_2^-),SOD 对机体的防护和抗衰老、抗炎症、抗肿瘤、抗自身免疫疾病,抗辐射、抗氧中毒,都具有积极作用^[3]。笔者将 SOD 添加到双歧杆菌酸奶中,研制了具有生物活性的 SOD 双歧杆菌酸奶。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 婴儿双歧杆菌(8 个月以内母乳喂养婴儿粪便中分离);普通酸奶菌种(保加利亚乳杆菌:嗜热链球菌=1:1)

1.1.2 培养基 双歧杆菌专用培养基

1.1.3 鲜牛乳 河南农业大学禽畜站提供

1.1.4 蔗糖、葡萄糖等辅料符合国家有关标准

1.1.5 菌种促进剂 选用国内材料

1.1.6 牛血 Cu, Zn—SOD 冻干粉 3000~3500u/mg, 上海宝安生物技术公司

1.2 主要仪器和设备

LD5-10 离心机 北京医用离心机厂

发酵罐 自制

ZD-2 型自动电位滴定计 上海第二分析仪器厂

7520 型分光光度计 上海分析仪器厂

ALM2 型均质机

1.3 实验方法

1.3.1 耐氧驯化

首先将婴儿双歧杆菌在一般好氧条件下培养于深层牛奶培养基中,在脱脂牛乳培养基中添加多种促进发育的物质,并添加葡萄糖以降低氧化还原电位,开始在氮气厌氧条件下培养,逐渐增加培养基气相中氧气的压力。经过多次传代培养,使双歧杆菌菌种适应在一般好氧条件下的牛乳培养基中正常生长和发酵。

1.3.2 生长曲线的测定

采用 BL 选择性培养基,巴斯德滴注,厌氧培养,间隔一定时间进行活菌计数。

1.3.3 酸度测定

以氢氧化钠滴定, 以乳酸计。

1.3.4 pH 值测定

用 ZD-2 型自动电位滴定计测定。

1.3.5 酸奶中 SOD 测定

发酵乳→离心 (3000rpm, 15min) →取乳清液→调 pH (用 0.5mol/LNaOH 调 pH 到 6.0)→测 SOD 活力 (采用微量邻苯三酚自氧化法)

酶活力单位定义: 在一定条件下, 1ml 的反应液中, 每分钟控制邻苯三酚在 325nm 波长处的自氧化速率达 50% 时的酶量定为一个活力单位。

1.3.6 SOD 双歧杆菌酸奶工艺流程

(1) 混合发酵工艺

原料乳→检验→标准化→配料 (加蔗糖 10%)→预 热 (60℃)→均质 (10MPa)→杀菌 (90℃, 5min)→冷却 (42℃)→接 种→搅拌→罐装

↑ 添加生长促进剂, SOD (溶解后加入) ↑ 双歧杆菌发酵剂 5% 酸奶发酵剂 3%

→培养 (42℃)→冷藏 (4~6℃)→成品

(2) 单一发酵后混合工艺

原料乳→检验→标准化→配料 (加蔗糖 10%)→预 热 (60℃)→均质 (18MPa)→杀菌 (90℃, 5min)→冷却 (42℃)→

双歧杆菌发酵剂 (5%)→培养→冷却 (18~20℃)
↑
生长促进剂
酸奶发酵剂 (3%)→培养→冷却 (18~20℃)

添加 SOD (溶解后加入)

↓
→混合→罐装→冷藏 (4~6℃)→成品

2 结果与讨论

2.1 生长曲线、酸度曲线、pH 曲线

双歧杆菌单一发酵和与酸奶菌混合发酵时, 双歧杆菌生长曲线见图 1。由图 1 看出, 单一发酵中, 发酵 4h 左右, 双歧杆菌生长进入对数期, 增殖速度最快, 到发酵 8h 以后, 生长曲线趋于平缓, 随后活菌数开始下降; 混合发酵中, 双歧杆菌的对数生长期也是出现在 4h 以后, 但对数生长期提前结束, 6h 后生长曲线变

得平缓, 随后活菌数下降。这是由于在发酵前期酸奶菌的生长对双歧杆菌的生长有一定促进作用, 在发酵后期, 酸奶菌对双歧杆菌生长有一定抑制作用。

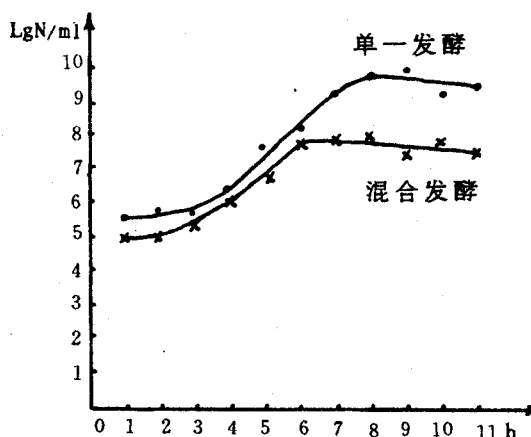


图 1 双歧杆菌单一和与酸奶菌混合发酵中生长曲线比较

双歧杆菌单一发酵和与酸奶菌混合发酵时, 酸度曲线变化见图 2。由图 2 看出, 单一发酵时, 4h 后酸度曲线上升很快, 接近直线, 8h 以后, 酸度曲线变化平缓; 混合发酵时, 发酵 2h 后, 酸度曲线接近直线上升, 6h 后酸度曲线变化趋于平缓。在混合发酵中, 酸度较单一发酵中增加快是由于酸奶菌快速增殖代谢产生大量乳酸积累造成的。

双歧杆菌单一发酵和与酸奶菌混合发酵时, pH 曲线变化见图 3。由图 3 看出, 单一发酵时, 4h 后 pH 曲线接近直线下降, 8h 后, pH 曲线变化平缓, 凝乳期在 7~8h 之间。混合发酵时, 2h 后 pH 曲线接近直线下降, 5h 后 pH 曲线变化平缓, 5h 左右出现凝乳期。

2.2 发酵工艺的比较

比较图 1、图 2、图 3 可看出, 单一发酵时, 产品有较高的双歧杆菌活菌数, 但迟滞期较长, 凝乳期出现较晚, 在 7~8h 之间, 且产品风味差。这是因为单一发酵时, 双歧杆菌除产生乳酸外, 还产生一定量的醋酸。混合发酵时, 凝乳期提前到 5h, 产品风味也接近正常酸奶。但产品的双歧杆菌活菌数较单一发酵低。为了使

产品有较好的风味,并同时有较高的双歧杆菌活菌数,我们选择了双歧杆菌和酸奶菌分别单一发酵,然后混合、搅拌、罐装、冷藏的工艺。双歧杆菌发酵乳和酸奶菌发酵乳混合比不同,产品的双歧杆菌活菌数和风味见表 1。

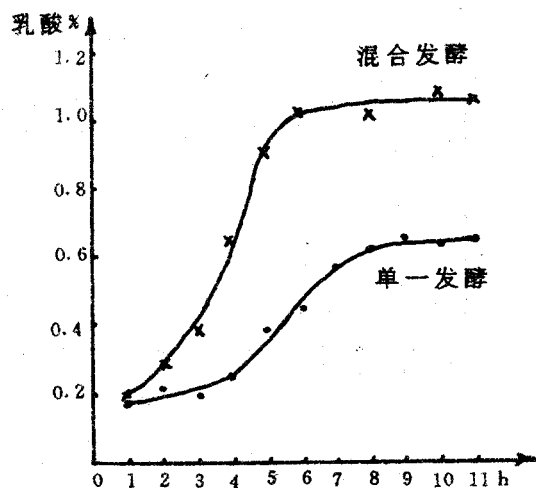


图2 双歧杆菌单一和与酸奶菌混合发酵中酸度曲线比较

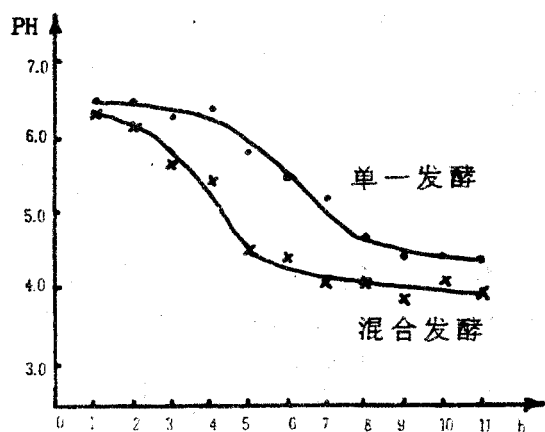


图3 双歧杆菌单一和与酸奶菌混合发酵中 pH 曲线比较

由表 1 看出,双歧杆菌和酸奶菌分别单一发酵后混合时,双歧杆菌发酵乳和酸奶菌发酵乳按 1:2 混合时,产品有较高的双歧杆菌活菌数 $10^8/\text{ml}$ 以上,且产品具有良好的酸奶风味。通过产品中双歧杆菌活菌数和风味的比较,确定了单一接种发酵后混合是较理想的工艺。

表 1 不同混合比产品双歧杆菌活菌数和风味

双歧杆菌 比酸奶菌	双歧杆菌活菌数 $\lg \text{N}/\text{ml}$	pH	产品风味
0:1		4.46	风味好
1:1	9.36	4.36	有轻微异味
1:2	8.51	4.30	风味好
1:3	7.65	4.25	风味好
1:4	6.78	4.20	风味好
2:1	9.44	4.50	有异味
3:1	9.51	4.55	有异味

2.3 不同 SOD 添加方式产品 SOD 剩余活性

SOD 添加方式有发酵后加入和发酵前加入两种方式。双歧杆菌和酸奶菌分别单一发酵时,在发酵后混合时加入 SOD 冻干粉,加入量 $20\text{u}/\text{ml}$ 。混合发酵时,发酵前接种时加入 SOD 冻干粉,加入量同前。两种添加方式产品 SOD 剩余活性见表 2。

表 2 不同添加方式产品 SOD 剩余活性

测活时间	发酵前接种时 添加 SOD	发酵后添加 SOD
发酵前	100	
发酵后	92	100
冷藏 12h ($4\sim 6^\circ\text{C}$)	91.2	98.5

由表 2 看出,发酵前添加 SOD,发酵过程中 SOD 活性有一定损失,这是由于发酵过程中, pH 下降到 5 以下,在发酵温度 42°C 下,对 SOD 稳定性不利, SOD 有部分失活现象。在酸奶冷藏条件下 ($4\sim 6^\circ\text{C}$), SOD 比较稳定,活性损失较小。因此,在发酵后添加 SOD,对保存 SOD 活性有利。

2.4 产品保存期间双歧杆菌活菌残存和 SOD 剩余活性

对于双歧杆菌酸奶保存期的研究表明^[4],在 $4\sim 10^\circ\text{C}$ 下存放,双歧杆菌有较高的存活率。我们对双歧杆菌和酸奶菌分别单一发酵后,再添加 SOD 并混合的酸奶进行检测, $4\sim 6^\circ\text{C}$ 冷藏条件下双歧杆菌活菌残存和 SOD 剩余活性结

果见表 3。

表 3 保存期间双歧杆菌活菌数和 SOD 剩余活性(4~6℃)

	时间(天)						
	0	5	10	15	20	25	30
pH	4.30	4.20	4.15	4.12	4.10	4.10	4.06
双歧杆菌活菌数 LgN/ml	8.51	7.12	6.81	6.44	6.11	5.85	5.64
SOD 剩余活性%	100	93	87	82	78	75	72

由表 3 看出,采用分别单一发酵再混合的工艺,在 4~6℃ 下存放过程中,随着存放天数的增加,pH 缓慢下降,双歧杆菌慢慢死亡,SOD 活力也在缓慢降低,这是由于乳酸菌在低温下仍不断产酸,造成 pH 下降对双歧杆菌存活和 SOD 保存活性不利。因此,生产出的 SOD 双歧杆菌治菌酸奶应尽快销售,以保证产品有较高的双歧杆菌活菌数和 SOD 活性。SOD 双歧杆菌酸奶在 4~6℃ 条件下存放 20 天,双歧杆菌数仍在 $10^6/\text{ml}$ 以上,SOD 剩余活性仍在 70% 以上。

3 结论

3.1 双歧杆菌经耐氧驯化,添加生长促进剂后可在牛乳中良好地生长和发酵。双歧杆菌单一

发酵时,8h 是较理想的发酵终点,这时双歧杆菌活菌数达到最大值。双歧杆菌单一发酵时,7~8h 开始凝乳。

3.2 双歧杆菌和酸奶菌分别单一发酵,然后按 1:2 的比例混合,可使双歧杆菌酸奶有较好的风味,同时也有比混合发酵较高的活双歧杆菌数。

3.3 发酵结束后添加 SOD 到酸奶中,可使 SOD 保持较高的活性。

3.4 SOD 双歧杆菌酸奶在冷藏过程中(4~6℃),有 pH 逐渐下降,双歧杆菌逐渐死亡,SOD 活力下降的趋势。冷藏 20 天后,产品双歧杆菌活菌数仍在 $10^6/\text{ml}$ 以上,SOD 剩余活性仍在 70% 以上。

参考文献

- 1 孟昭赫等. 乳酸菌与人体健康,人民卫生出版社,北京,1993,85~92.
- 2 金世琳,双歧杆菌在乳制品生产中的应用,食品与发酵工业,1983,(3).
- 3 袁勤生. SOD 在医药、食品和日用化学工业上的应用,中国生化药物杂志,1994,15(4).
- 4 傅晓超等. 保健食品——BB 乳的研究,食品与发酵工业,1990(4).

灵芝孢子酶法破壁的研究

蒋家新 赵澎湃 王新辉

杭州商学院 310035

摘 要 选择复合酶在 10% 酒精浓度下水解 6 天,孢子的破壁率达 49%;75% 酒精浸泡 3 天后用复合酶水解 4 天,孢子破壁率达 52%。

关键词 灵芝孢子 破壁率

1 前言

灵芝属于低等植物中的真菌门、担子菌纲、多孔菌目、多孔菌科、灵芝亚科、灵芝属。灵芝孢

子中含精氨酸、色氨酸、天门冬氨酸等 13 种氨基酸,并含有甘露醇、葡萄糖、 α 、 α -海藻糖、 α 、 β -海藻糖和 β 、 β -海藻糖,还含有高分子糖、有机锗及一些未知的活性物质。结合灵芝子实体