



利用纳豆菌发酵大豆乳液的特性研究

蒋立文 卢月娥 唐书泽 龙 洵

(湖南农业大学食品科学技术学院, 长沙, 410128)

TQ92 A

摘 要 在不同培养条件下观察纳豆菌对大豆乳液的发酵能力。结果表明, 纳豆菌在大豆乳液中发酵的适宜温度为 37~40℃、pH 值在 7.0~9.0 内均可分泌蛋白酶, 发酵过程中粘度呈下降趋势, 发酵液状态也发生了相应的变化。

关键词 纳豆菌, 发酵, 大豆乳液

纳豆不仅具有独特的风味和丰富的营养价值, 而且还具有许多生理学功能。本试验试图以大豆榨汁所得的大豆乳液作为发酵基质, 对接入纳豆菌发酵的特性变化作研究, 寻求一种既能够确保纳豆营养保健价值, 又能适应自动化工业生产的新工艺, 开发一种纳豆菌类益生饮料。

1 材料与与方法

1.1 材 料

纳豆菌, 由湖南农业大学食品科技学院微生物教研室提供。纳豆菌固体培养基, 牛肉膏蛋白胨固体培养基。纳豆菌液体培养基, 牛肉膏蛋白胨液体培养基。甲醛溶液(38%~40%)、NaOH 溶液(0.05 mol/L)及 1% 酚酞试液, 均由湖南农业大学食品科技学院教研室提供。大豆(食用级), 市场购买。

1.2 仪器与设备

恒温(振荡)培养箱、高温高压灭菌锅、“九阳”豆浆机、722S 分光光度计、旋转式粘度计、碱式滴定管、三角瓶、精密 pH 值试纸。

1.3 方 法

1.3.1 菌种活化

取纯种纳豆菌接种至纳豆菌固体斜面牛肉膏蛋白胨培养基中, 在 37℃ 恒温箱中活化培养 2 d, 置于低温冰箱中备用。

1.3.2 菌种的扩大培养

将已活化的纳豆斜面菌种接种到已灭菌的纳豆菌液体培养基中, 37℃ 恒温振荡(速度为 100 r/min, 下同), 培养 2 d 后, 置于低温冰箱中备用。

1.3.3 大豆乳的制备

将大豆洗净, 除去杂质, 清水浸泡 12 h 后, 沥干放进打浆机中打浆(每次 1 000 mL 清水、100 g 湿大豆), 静置 2~4 h 后使大豆中的各种成分充分渗出。过滤 3 遍, 将大豆乳液以 250 mL/瓶分别装到 300 mL 三角瓶中, 经高温杀菌(121℃/30 min), 冷却备

用。

1.3.4 纳豆菌生长曲线的测定

将经扩大培养的纳豆菌按无菌操作接入纳豆菌培养液中, 分 3 次进行恒温(30℃, 40℃, 50℃)摇床振荡培养。采用 OD 值法^[2]测定纳豆菌生长曲线, 取 4 h 为 1 个周期, 每个样品重复 3 次, 测各个周期纳豆菌培养液的平均吸光度, 得纳豆菌生长曲线。

1.3.5 不同温度下大豆乳液的水解情况

将扩大培养后的纳豆菌培养液在无菌操作条件下按 3% 接种至装有大豆乳液的三角瓶中, 不同温度下恒温振荡培养(30℃、40℃、50℃), 以 4 h 为 1 个周期, 每个样品重复 3 次, 测定氨基氮含量的变化。

1.3.6 不同 pH 值条件下大豆乳液的水解情况

将扩大培养后的纳豆菌培养液无菌操作按 3% 接种至装有大豆乳的三角瓶中, 在不同 pH 值(pH 4.0、7.0、9.0), 37℃ 下恒温振荡培养。以下操作同 1.3.4。

1.3.7 大豆乳液粘度变化情况

在 37~38℃、pH 值为 7.0 条件下, 将接种纳豆菌的大豆乳液恒温振荡培养。以 5 h 为 1 个周期用旋转式粘度计测定该大豆乳液的粘度。

1.3.8 检验方法

感官测定, 利用感官评定。氨基氮的测定, 利用甲醛双指示剂法^[3]。生长曲线的测定, OD 值测定法测定。粘度测定, 利用旋转式粘度计测定。

2 结果与讨论

2.1 纳豆菌生长情况

将经扩大培养的纳豆菌接种至培养液中, 在 30、40 和 50℃ 条件下恒温振荡培养, 生长曲线见图 1。

从图 1 可以看出, 纳豆菌在 40℃ 达到较高的 OD 值。结合微生物生长曲线进行分析, 发现该菌种适应期为 0~12 h, 而后进入对数生长期。40℃ 培养 36 h 达到平衡期, 50℃ 时, 生长曲线在 40 h 后平

第一作者: 硕士、副教授。

收稿时间: 2003-03-16, 改回时间: 2003-07-23

衡, 30℃ 则 28 h 进入平衡期。因此以下各实验均可采用 37~40℃, 培养 40 h 作为最佳接种期。

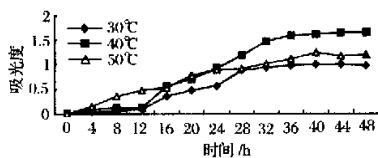


图1 纳豆菌生长曲线

2.2 不同温度下大豆乳液的水解情况

将接种纳豆菌的大豆乳液分成 3 批 (30、40 和 50℃) 进行振荡培养, 采用甲醛定氮法测定氨基酸的含量, 结果见图 2。

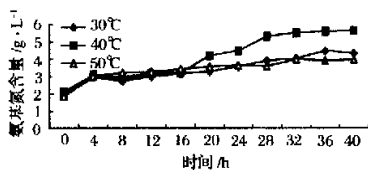


图2 不同温度下氨基酸含量变化曲线

从图 2 可以看出, 发酵过程中, 大豆乳液中的氨基酸含量呈不断上升的趋势, 说明纳豆菌在 40℃ 培养 16 h 左右, 可分泌较多蛋白酶分解大豆乳液中的蛋白质, 因此实验中采用 40℃ 作为最佳发酵温度。

2.3 不同 pH 值下大豆乳液的水解情况

将接种纳豆菌的大豆乳液在 pH 值分别为 4.0、7.0、9.0 于 40℃ 恒温振荡培养, 测定其氨基酸含量, 见图 3。

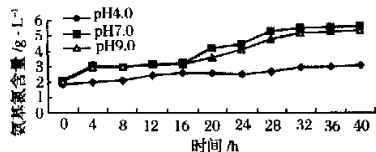


图3 不同 pH 值条件下氨基酸含量变化

从图 3 中可以看出, 纳豆菌在 pH4.0 条件下生长受到抑制, 水解大豆蛋白质的能力最差, 其蛋白酶活性较低。而 pH 值为中性或偏碱性时, 纳豆菌均能生长良好且分泌较多的蛋白酶。

2.4 粘度变化

37~38℃, pH7.0 条件下接种纳豆菌的大豆乳液的粘度, 变化见图 4。

由图 4 可以看出, 随着发酵时间的延长, 大豆乳液的粘度不断下降。这可能是由于发酵后 pH 值降低, 达到蛋白质的等电点而产生絮状沉淀, 乳液静置后出现上下分层, 这样就使得液体的粘度不断呈下降趋势。

2.5 大豆乳液发酵过程中的 pH 值变化

测定 37~40℃, 且初始 pH 值为 7.0 大豆乳液

的 pH 值变化情况, 以 4 h 为 1 个周期, 结果见图 5。

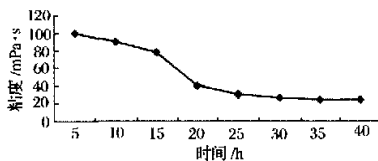


图4 pH 7 时大豆乳液的粘度变化曲线

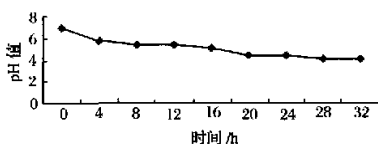


图5 大豆乳液的 pH 值变化曲线

从图 5 可以看出, 大豆乳液的 pH 值不断下降, 在 pH3.8~4.0 开始稳定。这是由于纳豆菌发酵大豆乳液过程中分解蛋白质后, 产生了氨基酸。当 pH 值降到一定程度后, 纳豆菌的蛋白酶活性受到抑制, 氨基酸产生量逐渐减少, pH 值逐渐达到平衡点。

2.6 感官变化

初期大豆乳呈乳白色豆乳状, 且均匀稳定。经纳豆菌发酵后静置, 逐渐出现絮状沉淀, 上层为淡黄色清液。随着发酵的不断进行, 絮凝现象越来越明显, 同时还产生纳豆特有的风味。

3 结果与讨论

(1) 采用培养 36 h 的纳豆菌作为种子接入一定浓度的大豆乳液后发酵, 氨基酸含量在 40 h 达到最高, pH 值、粘度呈下降趋势, 大豆乳液中还产生纳豆特有风味和蛋白质的絮凝。

(2) 在生产工艺上, 大豆乳液在发酵初期呈液态, 便于工厂自动化生产; 纳豆菌是强好氧型菌类, 因此纳豆菌发酵大豆乳液可以在发酵罐中充氧进行, 不需要大面积摊铺, 这样可以达到对纳豆菌生长过程中充分供氧的目的, 大大缩短发酵周期。同时纳豆菌在大豆乳液中可以均匀分布, 使发酵更充分。这样, 既可以将发酵液调配为功能性饮料, 也可以通过菌种的诱变和代谢的调控使纳豆菌在液态基质中发酵高产能够溶解血栓的纳豆激酶。

参考文献

- 1 郑友军. 调味品生产工艺与配方. 北京: 中国轻工业出版社, 1998
- 2 陶慰孙. 蛋白质分子基础. 北京: 人民教育出版社, 1981
- 3 艾志录. 软饮料工艺学. 北京: 中国农业出版社, 1995
- 4 仇学农. 食品科学, 2002.1
- 5 董明盛, 江晓, 刘诚. 食品工业与发酵, 2001.10
- 6 董明盛, 江晓. 食品工业与发酵, 2001.12.