

嗜热乳酸菌的筛选及其在玉米淀粉湿法  
生产浸泡工艺中的应用\*赵寿经<sup>1</sup>, 黄丽<sup>1</sup>, 钱延春<sup>1</sup>, 王辉<sup>2</sup>, 梁彦龙<sup>1</sup>

1(吉林大学 生物与农业工程学院, 吉林长春, 130022) 2(长春大成实业集团有限公司, 吉林长春, 130118)

**摘要** 从淀粉生产车间的玉米浆中筛选出耐 50℃ 高温的嗜热乳酸菌, 以不同浓度接种量接种嗜热乳酸菌到玉米浸泡水中, 研究嗜热乳酸菌对缩短玉米浸泡时间的效果。结果表明, 选育的嗜热乳酸菌适应浸泡环境, 接入 10% 的嗜热乳酸菌可缩短玉米细胞破壁所需有效乳酸浓度到达的时间, 由传统工艺的 20 h 缩短为 14 h; 乳酸菌发酵有效地降低了浸泡水的 pH 值, 在玉米浸泡过程的第 1 阶段不加入 SO<sub>2</sub> 同样可以抑制其他微生物的生长。

**关键词** 玉米淀粉, 浸泡工艺, 嗜热乳酸菌, SO<sub>2</sub>

目前, 国内外玉米淀粉生产主要采用湿法加工工艺, 而浸泡过程是该工艺的关键环节, 浸泡效果的好坏直接影响到后道工序淀粉的得率和质量<sup>[1]</sup>。浸泡过程是将玉米籽粒在 (50±2)℃ 含有 0.2%~0.3% SO<sub>2</sub> 的浸泡水中浸泡 36~48 h, 达到软化玉米胚乳释放淀粉的目的<sup>[2]</sup>。尽管该工艺具有淀粉回收率高、可获得多种副产品的优点, 但同时存在着 SO<sub>2</sub> 污染、浸泡时间过长和能源消耗大等问题, 成为限制生产企业发展的重要因素<sup>[3]</sup>。近年来, 国内外有关降低浸泡水中 SO<sub>2</sub> 浓度和缩短浸泡时间的研究报道较多。但主要是利用纤维素酶等部分替代 SO<sub>2</sub><sup>[4,5]</sup>, 以及开展玉米浸泡液中乳酸菌群代谢规律等方面的研究<sup>[6~8]</sup>, 而与本文相关的研究报道较少。

笔者从玉米淀粉生产厂的玉米浆中筛选出耐 50℃ 高温的嗜热乳酸菌, 通过在玉米浸泡阶段加入发酵的嗜热乳酸菌, 缩短了玉米细胞破壁所需有效乳酸浓度达到的时间。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

玉米浆、玉米籽粒均由长春大成实业集团有限公司玉米淀粉生产车间提供。

### 1.2 试验设备

JJ-2 型组织粉碎机, 江苏省金坛市仪器制造有限公司; 低速落地离心机, 菲恰尔仪器制造有限公司; HZQ-F 全温振荡培养摇床, 哈尔滨东联电子技术开发有限公司; GZX-9240 数显鼓风式干燥箱, 上海博

迅电子仪器有限公司; 日本岛津 SCL-10A 高效液相色谱仪, 岛津; UV-2450 紫外分光光度计, 岛津。

### 1.3 试验设计

#### 1.3.1 嗜热乳酸菌株初选

取工业玉米浆 10 mL, 分别稀释至 10、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup> 和 10<sup>-7</sup> 倍, 然后分别取 1 mL 涂于溴甲酚紫-碳酸钙(MRS 固体培养基中加入 CaCO<sub>3</sub> 0.5%, 溴甲酚紫 1.6% 1.4 mL/L) 平板上, (50±2)℃ 培养 24~48 h。挑取有溶钙圈的单菌落, 在平板上划线分离, 反复纯化。分离出变色圈大的菌落接入斜面保藏, 培养基采用 MRS 培养基<sup>[9]</sup>。

#### 1.3.2 嗜热乳酸菌复选

选取菌株在 MRS 液体培养基上活化→10% 接种量接入种子培养基中发酵→测生长曲线、乳酸定量定性分析→检验遗传稳定性<sup>[10]</sup>。

#### 1.3.3 菌株生长曲线的绘制

将待测的菌株接种于 100 mL MRS 液体培养基中, (50±2)℃ 培养 24 h, 吸取 10 mL 培养液接种于 90 mL MRS 液体培养基中, 继续培养。每隔 2 h 取样测定 OD<sub>600</sub> 值。以培养时间为横坐标, 以 OD<sub>600</sub> 值为纵坐标, 绘制生长曲线。

#### 1.3.4 高效液相色谱法定性定量检测乳酸

采用高效液相色谱法定性定量检测乳酸, 色谱条件: 日本岛津 SCL-10A 高效液相色谱, UP-C180DS 色谱柱(5μm, 250 mm×4.6 mm); 柱温 25℃; 进样量为每次 5μm。主要试验步骤为: 取 100 mL 发酵后玉米浸泡液, 稀释离心, 取上清液。用 0.22 μm 的微孔滤膜进行过滤, 经液相色谱检验与乳酸标准品作比较, 进行定性定量分析。

#### 1.3.5 产酸曲线的绘制

将菌株接种于斜面上培养 24~48 h 后取出, 挑取部

第一作者: 博士, 教授。

\* 长春市振兴老工业基地科技攻关及市、院科技合作计划 (05GG62)

收稿日期: 2007-07-10, 改回日期: 2007-10-16

分菌落到种子培养基中活化。活化培养 24 h 后,取 10 mL 菌液接种于 90 mL 发酵培养基中,继续培养。培养 24 h 后,取 10 mL 菌液接种于 MRS 培养基中培养,每隔 2 h 取样,测定乳酸含量。以培养时间为横坐标,以乳酸含量为纵坐标,绘制菌体的产酸曲线。

### 1.3.6 淀粉的制备及浸泡效果评价

采用 Dowd<sup>[11]</sup> 等报道的 100 g 玉米淀粉实验室制备方法,在此基础上改进,用 63% 蔗糖溶液离心分离代替水槽分离。在玉米浸泡第 1 阶段设 0.2%  $H_2SO_3$ 、10% 嗜热菌、0.2%  $H_2SO_3$  + 10% 嗜热菌 3 个处理,观察籽粒达到饱时各处理所需时间。对达到饱和的上述 3 个处理的籽粒进行浸泡第 2 阶段处理,10% 嗜热菌处理组加入 0.2%  $H_2SO_3$  继续浸泡 16 h,达到破坏包裹淀粉颗粒蛋白质的目的;其他 2 个处理不需加入  $H_2SO_3$ ,也继续浸泡 16 h。分离以上 3 个达到浸泡终点处理的籽粒淀粉,通过淀粉得率,评价 10% 嗜热菌在浸泡第 1 阶段取代  $SO_2$  的效果。

### 1.3.7 嗜热乳酸菌的鉴定

通过革兰氏染色及过氧化氢酶试验,并以瑞士乳杆菌 (*L. casei* ATCC) 15009 和嗜酸乳杆菌 (*L. acidophilus*) ATCC4356 为标准对照,根据乳酸菌鉴定程序区分属的类别<sup>[12]</sup>

## 2 结果和讨论

### 2.1 嗜热乳酸菌初选

从玉米浆液出发,在 MRS 平板培养基上进行菌种分离,初步分离出菌株 64 株,经过革兰氏染色镜检、接触酶反应和溴甲酚紫-碳酸钙平板试验,筛选出 18 株符合条件的菌株。

### 2.2 嗜热乳酸菌复选

对 18 株初筛的菌株进行高温发酵产酸比较,结果筛选出 4 株产酸性能和稳定性较好的菌株,分别为 C4、C6、E2 和 G7。其形态特征见表 1。

表 1 4 株高产乳酸菌株菌落及菌体形态

编号	菌落形态(培养 60h)	菌体形态
C4	乳褐色,板球状隆起,光滑圆整,直径 0.5~1.5mm	$G^+$ ,杆状,单个或成对
C6	乳褐色,油状,扁平,直径 0.75~2.5mm	$G^+$ ,短粗杆状,单个成堆
E2	乳白色,半球状隆起,光滑圆整,直径 0.5~1.5mm	$G^+$ ,细杆状,成链
G7	乳白色,油状,扁平,直径 0.75~2.5mm	$G^+$ ,杆状,单个或成对

### 2.3 嗜热乳酸菌的生长曲线

C4、C6、E2 和 G7 菌株的生长曲线如图 1 所示。从生长曲线可见,C4、C6 两种菌株的生长繁殖速度较快,在 10 h 左右达到稳定。且 C4 的生长最旺盛,繁殖周期短,表现优异。

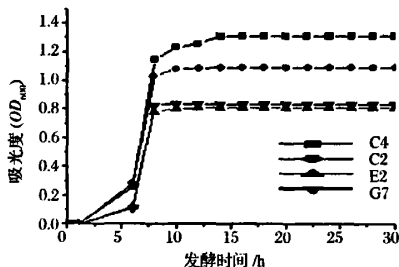


图 1 4 菌株生长曲线比较

C4 菌株在接种后 2 h 生长缓慢,4 h 后生长速度明显加快,进入对数生长期;在 10 h 左右时生长基本达到稳定,OD 值上升开始缓慢,菌种发酵基本完毕。

### 2.4 C4 菌株乳酸含量检测及产酸曲线

根据标准样品色谱图获得乳酸标准曲线,分别检测 C4 菌株乳酸产量。计算发酵 4、10、16、24、32 h 的发酵液中乳酸含量,结果为分别含乳酸 0.12 g/L、15.18 g/L、16.90 g/L、18.65 g/L、18.72 g/L。产酸曲线如图 2 所示。比较 C4 菌株产乳酸的变化趋势,乳酸含量在 18.70 g/L 附近开始稳定。从含葡萄糖 20 g/L 的 MRS 培养基出发,经发酵最终乳酸产量为 18.72 g/L,转化率为 93.6%。

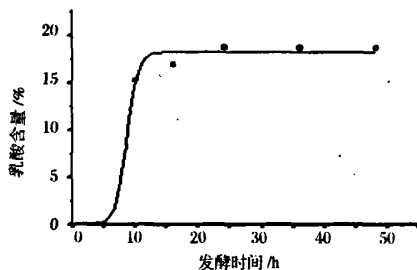


图 2 C4 菌株乳酸含量随时间变化曲线

### 2.5 嗜热乳酸菌对玉米浸泡效果的影响

将玉米籽粒分别在含有 0.2%  $H_2SO_3$  的自来水(传统工艺)、含有 0.2%  $H_2SO_3$  且分别加 1%、5%、10% C4 菌株的发酵液的自来水[(50±2)℃]中浸泡,每 4 h 测量玉米籽粒的吸水率,观察 C4 菌株对玉米浸泡效果的影响。结果发现,在含有 0.2%  $H_2SO_3$  的玉米浸泡水中加入 10% C4 菌株处理的浸泡效果优于其他处理。以 0.2%  $H_2SO_3$ 、10% C4 菌株、10%

C4 菌株 + 0.2%  $\text{H}_2\text{SO}_3$  3 个处理的籽粒吸水率为纵坐标,浸泡时间为横坐标作图,可得图 3。

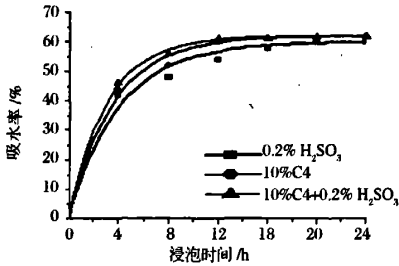


图 3 浸泡水中加入 0.2%  $\text{H}_2\text{SO}_3$ 、10% C4、10% C4 + 0.2%  $\text{H}_2\text{SO}_3$  三个处理的浸泡效果

图 3 表明,在  $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$  的浸泡温度下,传统工艺需要 20 h 达到饱和,而含有 10% C4 嗜热乳酸菌、10% C4 + 0.2%  $\text{H}_2\text{SO}_3$  处理的浸泡液在 14 h 左右能使玉米籽粒达到饱和。说明嗜热乳酸菌能缩短玉米的浸泡时间,在此阶段人工加入嗜热乳酸菌可以替代  $\text{SO}_2$ 。

乳酸在浸泡过程中虽不能直接作用于蛋白质网络使淀粉颗粒游离,但能在种皮细胞上形成有助于玉米籽粒内外物质交换的坑洞。对比人工加入 10% C4 乳酸菌前后的玉米种皮,发现浸泡 14 h 后玉米种皮的纤维组织较浸泡前稀疏,并且在显微镜下能观察到局部出现的坑洞和缝隙。说明浸泡 14 h 已达到乳酸破壁的效果。为下一阶段亚硫酸或蛋白酶分子的进入以及物质交换提供了条件。

## 2.6 浸泡过程中乳酸含量与浸泡液 pH 的关系

通过定时测定加入嗜热乳酸菌后玉米浸泡过程中的乳酸含量和 pH 值的变化,发现随浸泡时间的增加,乳酸含量不断提高、pH 逐渐降低,并最终达到一个稳定值。结果见表 2。

表 2 浸泡过程中乳酸含量和 pH 值随时间变化规律

浸泡时间/h	4	10	16	24	36	48
pH 值	6.5	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1
乳酸含量/%	0.02	15.25	16.90	18.72	18.70	18.70

表 2 表明,浸泡液中随着乳酸菌的不断繁殖,其数量较自然发酵的浸泡液中的乳酸菌明显增多,浸泡水的酸度也不断增加,在 pH 值 4 时达到稳定。虽然后期乳酸含量还在不断增加,但 pH 值不随之下降,可能原因是浸泡液中含有大量的缓冲物质所致。

## 2.7 加入嗜热乳酸菌对淀粉得率的影响

利用改进的实验室淀粉制备方法分离以上 3 个达到浸泡终点处理的籽粒淀粉。其得率分别为

0.2%  $\text{H}_2\text{SO}_3$  处理: 62.8%; 10% C4 菌液处理: 63.8%; 0.2%  $\text{H}_2\text{SO}_3$  + 10% C4 处理: 65.1%。说明在浸泡工艺第 1 阶段的浸泡水中只加入 10% 的嗜热乳酸菌不仅比传统工艺(加入 0.2%  $\text{SO}_2$ )缩短了浸泡时间,而且最终的淀粉得率不受影响,同时可以达到取代  $\text{SO}_2$  的目的。

## 2.8 嗜热乳酸菌的鉴定

以瑞士乳杆菌 (*L. casei*) ATCC15009 和嗜酸乳杆菌 (*L. acidophilus*) ATCC4356 为标准对照,对从玉米浆中分离出的乳酸菌进行属种特性的研究。如图 4 所示,在显微镜下乳酸菌形态呈短杆状,而在液体培养基中形成沉淀,在含有  $\text{CaCO}_3$  的琼脂培养基上形成透明圈。过氧化氢酶试验、硝酸盐还原试验呈阴性,且不液化明胶、不产生  $\text{H}_2\text{S}$ 、无运动性、并可在  $15^\circ\text{C}$  和  $45^\circ\text{C}$  条件下生长。据此,判断所分离的嗜热乳酸菌为乳杆菌。

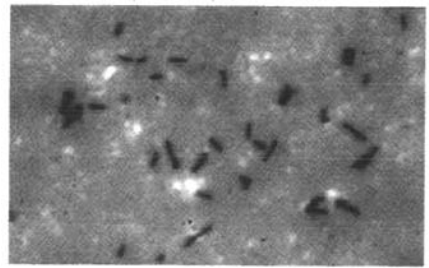


图 4 高温乳酸菌显微形态

## 3 结 论

乳酸在破坏玉米籽粒细胞壁,使籽粒吸水膨胀以及创造  $\text{H}_2\text{SO}_3$  进入胚乳细胞的通道等方面的作用是非常重要的。但传统工艺在玉米浸泡时完全依靠玉米表面或浸泡水中的少量乳酸菌自然发酵产生乳酸,因此要达到籽粒细胞破壁所需的乳酸浓度,就必须延长浸泡时间<sup>[13]</sup>。同时浸泡液中含有大量的干扰微生物,他们的大量繁殖严重影响淀粉的得率,在传统工艺中只有通过加入  $\text{SO}_2$  的方法降低浸泡液的 pH 值<sup>[14]</sup>。

文中在生产车间的玉米浆中筛选出嗜热乳酸菌,经过发酵培养接入到玉米浸泡液中,起到快速提高乳酸含量的作用,使浸泡过程第 1 阶段的浸泡时间由 20 h 缩短为 14 h,从而缩短了总浸泡时间,降低了生产能耗和成本。由于人工加入乳酸菌加速了乳酸的产生,浸泡液的 pH 值迅速降低并保持低水平,起到了与  $\text{SO}_2$  相同的抑菌效果,可取代传统工艺加入

SO<sub>2</sub> 的做法,减少了环境污染。

### 参 考 文 献

- 1 刘亚伟. 玉米淀粉生产及转化技术[M]. 北京:化学工业出版社,2003. 41~42
- 2 孙先明,孙锦秀,马 君. 玉米深加工技术现状与对策[J]. 农机化研究,2005,27(1): 75~76
- 3 樊智翔,郭玉宏,安 伟,等. 玉米综合利用的现状与发展前景[J]. 山西农业大学学报,2003,47(2): 182~184
- 4 段玉权,李新华,马秋娟. 纤维素酶对玉米淀粉生产中浸泡效果的影响[J]. 粮油食品科技,2004,12(1):14~15
- 5 胡进译. 在玉米湿磨工业中一种酶的新奇应用[J]. 淀粉与淀粉糖,1993,10(1):49~52
- 6 Perez O E, Haros M, Suarez C. Corn Steeping; influence of time and Lactic acid on isolation and thermal properties of starch[J]. Journal of Food Engineering,2001,48(3):251~265
- 7 Roushdi M, Ghali Y A H. Formation of lactic acid during corn steeping [J]. Egypt J Food Sci,1991, 7(12): 17~25
- 8 Dailey O D. Effect of Lactic Acid on protein solubilization and starch yield in corn wet-mill steeping; A study of hybrid effect [J]. Cereal Chem, 2002, 2(79): 257~260
- 9 方 祥,胡文峰,张辉华,等. 乳酸菌的分离、鉴定及其生长特性[J]. 中国微生态学杂志,2000, 12(5): 262~264
- 10 王 鑫,马桂荣,孔健,等. 几株乳酸菌的分离鉴定[J]. 生物技术,1994, 4(1): 37~39
- 11 Dowd M K. Improvements to laboratory-scale maize wet-milling procedure [J]. Industrial Corps and Products, 2003,18(11): 67~76
- 12 凌代文,东秀珠. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M]. 北京:中国轻工业出版社,1993. 1~3
- 13 杜连起. 玉米淀粉生产中的乳酸菌及其应用[J]. 现代商贸工业,2000,13(8): 50~51
- 14 曹亚彬,高素杰,郭雨姝,等. 玉米浸渍过程中乳酸杆菌作用的研究[J]. 生物科学技术,1996, 6(6): 39~40

## A *Lactobacillus Thermophilus* Selected and Apply in Improving Preparation Process of Corn Starch

Zhao Shoujing<sup>1</sup>, Huang Li<sup>1</sup>, Qian Yanchun<sup>1</sup>, Wang Hui<sup>2</sup>, Liang Yanlong<sup>1</sup>

1(College of Biological and Agriculture Engineering, Jilin University, Changchun 130022, China)

2(Changchun Da Cheng Industry Group Company Limited, Changchun 130118, China)

**ABSTRACT** A *Lactobacillus thermophilus* was isolated from corn steep liquid of starch workshop. The effect of this strain on soak time of maize during starch production was investigated. The results suggested that this strain can grow well under the industrial soak conditions of maize. Interestingly, this strain can reduce the soak time from 20 h to 14 h with inoculum size of 10%; this strain can also suppress other microorganisms by lowering pH, indicating that it is not necessary to use SO<sub>2</sub>, which is harmful to environment, during maize soak.

**Key words** corn starch, preparation process, *Lactobacillus thermophilus*, SO<sub>2</sub>

### 行业动态

## 肽乳高级牛奶通过专家鉴定填补世界空白

一种添加了多肽物质的牛奶最近通过由中国工程院、中国农业大学等多位专家组成的鉴定委员会的技术鉴定,填补了该领域的世界空白。这种被成为“肽乳”的高级牛奶由山东银香伟业集团与中山大学联合开发。它是以纯天然、无污染的有机牛奶为生产原料,添加在有机环境下从新生牛胸腺、脾脏、脑组织以及胎盘中提取的多肽和小分子调节蛋白等活性成分,生产出来的功能食品。实验表明,与普通牛奶相比,“有机肽乳”具有明显的提供肌体免疫力、抗疲劳、促进智力发育等功能。“有机肽乳”研制为世界首创,目前已经申报了4项国家专利。

由中国工程院院士洪涛教授等9位国内权威专家组成的鉴定委员会,对“有机肽乳”项目进行的技术鉴定;认为“有机肽乳”的整体研究已经达到了国际先进水平,饮用“有机肽乳”可以通过食疗的方式达到增强体质和免疫力的效果。