

不同酸性条件对双歧杆菌存活的影响

王 占 武

(河北省农林科学院理化所 石家庄 050051)

张 麓

(中国农业大学食品科学系 北京 100094)

摘 要 以胡萝卜复合汁为保存基质, 试验了不同的基质起始 pH 值、常用的酸味剂和盐酸、不同比例的乳酸乙酸混合酸对两歧双歧杆菌(Bb)和长双歧杆菌(BI)存活的影响。结果表明, 适于菌体存活的 pH 值, Bb 为 6.2, BI 为 4.5~5.0; 常用的酸味剂和盐酸对 Bb 存活的影响次序为柠檬酸 > 盐酸 > 乳酸 > 乙酸, 对 BI 则为乳酸 > 盐酸 > 柠檬酸 > 乙酸; 对 Bb 和 BI 存活最为不利的乳酸: 乙酸(摩尔)比例分别为 1:1 和 1:1.5。总体上, BI 的保存性优于 Bb。

关键词 双歧杆菌, 胡萝卜复合汁, 酸, 存活

双歧杆菌为严格厌氧菌, 氧和自身代谢产生的乙酸和乳酸对菌体具有直接伤害^[1,2]。这是双歧产品菌体存活期短的主要原因。一般菌株在有氧条件下不能繁殖, 活菌体暴露于有氧环境则会很快死亡^[3]。一些研究者通过耐氧驯化使双歧杆菌具有一定的耐氧性, 使生产工艺简化, 活菌存活期也相应延长^[4,5,6]。但关于不同酸性条件下双歧杆菌的存活特性研究报道较少。本文以胡萝卜复合汁为保存基质, 对不同的基质起始 pH 值、常用的食用酸化剂和盐酸、不同比例的乳酸和乙酸混合酸对双歧杆菌存活的影响进行研究, 以探明适于菌体存活的基质条件, 为双歧产品的研究和开发过程解决活菌保存期问题提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

胡萝卜: 市售优质品种, 色红, 柱心小, 不糠。

蔗糖: 市售。

柠檬酸、乳酸、冰乙酸、盐酸均为分析纯。

菌种: 两歧双歧杆菌 (*Bifidobacterium*.

bifidum 简称为 Bb)、长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum* 简称为 BI), 均为中国农业大学食品科学系微生物教研组分离、保存的菌种。

培养基: 采用改良的 MRS 液体或固体。

1.2 方法

1.2.1 酸溶液的配制: 不同摩尔比例的乳酸(L) 乙酸(A) 混合酸 L 和 A 分别配成 20% 的水溶液, 然后按表 1 配成不同摩尔比, 最终酸总浓度 10% 的混酸。柠檬酸和盐酸均为 10% 的水溶液。

表 1 不同摩尔比混酸的配制

序号	L:A	取 20% 混酸的体积 (ml)		加蒸馏水 (ml)
		L	A	
1	1:0	5	0	5
2	1:1	3	2	5
3	1:1.5	3	3	6
4	0:1	0	5	5

1.2.2 胡萝卜复合汁的制备: 胡萝卜→清洗→去根梢→去皮→切片→煮烫→打浆→均质→调配→分装→灭菌

1996-03-21 收稿

1.2.3 酸性胡萝卜复合汁的调配: 不同 pH 值的胡萝卜复合汁用 1:1.5 的乳酸乙酸混合酸分别调胡萝卜复合汁至 pH5.0、4.5 和 4.2。复合汁的自然 pH 值为 6.2。

不同摩尔比混酸、柠檬酸、盐酸调配的胡萝卜复合汁用“1.2.1”配得的相应酸溶液分别调配胡萝卜复合汁, 最终 pH 值 4.5。

以上不同酸性胡萝卜复合汁的配制均在磁力搅拌器上进行, pH 计监测, pH 值稳定后于厌氧管中充氮分装, 0.1MPa 压力下灭菌 10 min, 备用。

1.2.4 保存试验: 菌种于改良的 MRS 液体活化两次, 37℃ 培养至稳定前期, 然后取适当体积的菌液添加于相应实验基质中, 添加量为基质中的最终菌数 $10^7 \sim 10^8$ cfu/ml。混匀后保存, 定期检测。每组试验加一组重复。

1.2.5 检测: 活菌计数采用 Hungat 滚管法^[7], pH 值用 pH 计测定。

2 结果与讨论

2.1 不同起始 pH 值的影响

活化了的 Bb 和 Bl 分别加入 pH4.2 ~ 6.2 胡萝卜复合汁中, 4℃ 下保存, 活菌数随保存时间的变化如图 1、图 2 所示。

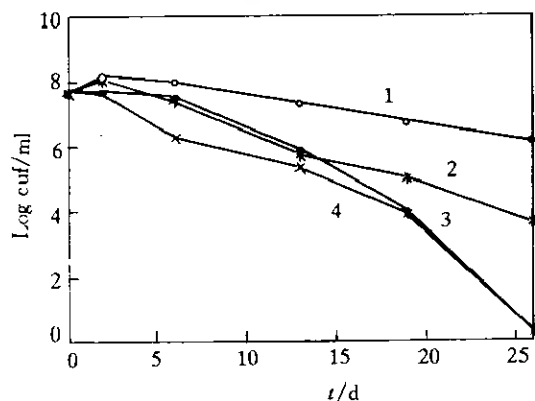


图 1 不同起始 pH 值对 Bb 存活的影响

1.pH 为 6.2; 2.pH 为 5.0; 3.pH 为 4.5; 4.pH 为 4.2

分析两图结果, 在不同的起始 pH 条件下, 两种双歧杆菌的存活情况是不一致的。起始

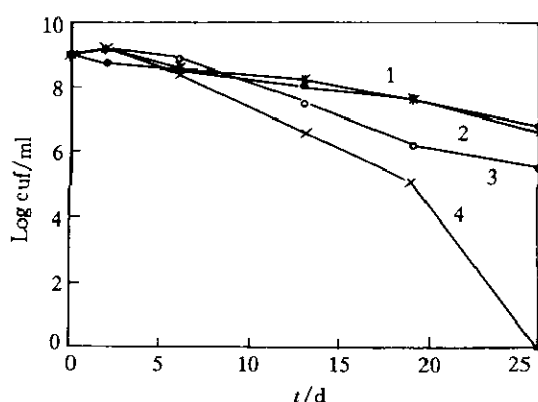


图 2 不同起始 pH 值对 Bl 存活的影响

1.pH 为 6.2; 2.pH 为 5.0; 3.pH 为 4.5; 4.pH 为 4.2

pH6.2 时, Bb 始终能保持较高的活菌数, 而 Bl 在 pH4.5 和 pH5.0 时保持的活菌数最高。对保存 20 天的结果进行方差分析, $F_{Bb}=234$, $F_{Bl}=123.5$, 二者均大于 $F_{0.01}(3,4)=16.69$, 说明不同的基质起始 pH 值对双歧杆菌存活的影响极显著。用新复极差法测验不同起始 pH 值对双歧杆菌存活影响的差异显著性。结果可见表 2, 起始 pH6.2 时对 Bb 存活的影响最小, 与其它 pH 水平相比差异极显著; pH4.5 和 pH5.0 对 Bl 存活的影响最小, 二者间无显著差异, 与 pH6.2 和 pH4.2 相比则达极显著水平。

表 2 不同起始 pH 值对双歧杆菌存活影响的差异显著性比较

	Bb (pH)			
	6.2	5.0	4.5	4.2
显著水平 5%	a	b	c	c
显著水平 1%	A	B	C	C

	Bl (pH)			
	4.5	5.0	6.2	4.2
显著水平 5%	a	a	b	c
显著水平 1%	A	A	B	C

实验还发现, 保存过程基质 pH 值的下降幅度, 两种菌都是 pH6.2 > pH5.0 > pH4.5 >

pH4.2, 但在相同 pH 条件下, B1 试验组 pH 值的下降幅度均大于 Bb, 说明低 pH 环境对双歧杆菌的产酸代谢具有抑制作用, B1 的耐酸能力大于 Bb。

以上结果表明, 双歧杆菌存活的适宜 pH 值依种的不同而有差别, 适于 Bb 和 B1 存活的基质 pH 值分别为 6.2 和 4.5 ~ 5.0, 实际应用时应考虑这一因素。

2.2 常用的酸味剂和盐酸对菌体存活的影响

柠檬酸、乳酸和乙酸是常用的食品酸味剂, 而盐酸则是胃酸的主要成分, 了解这几种酸对双歧杆菌存活的影响有一定的实际意义。

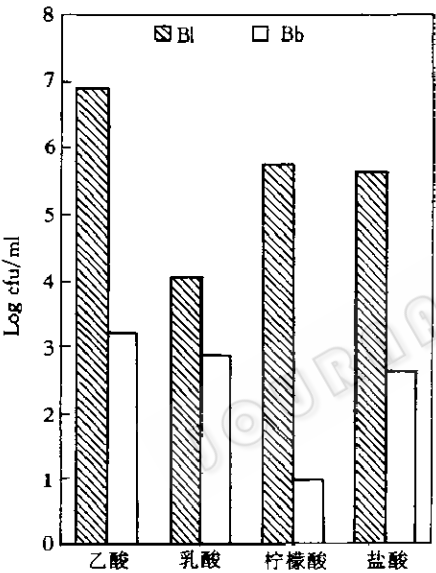


图 3 酸味剂和盐酸对双歧杆菌存活的影响

由图 3 可见, 四种酸对 Bb 和 B1 存活的影响存在差别。柠檬酸对 Bb 存活的影响最大, 而对 B1 存活影响最大的是乳酸。对保存结果进行方差分析, $F_{Bb}=86.22$, $F_{B1}=132.35$, 二者均大于 $F_{0.01}(3,4)=16.69$, 表明四种酸对两种菌存活的影响极显著。用新复极差测验差异显著性, 结果表明(表 3), 柠檬酸对 Bb 存活的影响与其它三种酸相比差异极显著, 乙酸与乳酸, 乳酸与盐酸间差异不显著, 影响次序为柠檬酸 > 盐酸 > 乳酸 > 乙酸。对 B1, 乳酸的影响程度与其它酸相比差异极显著, 除柠檬酸

与盐酸间差异显著外, 其它二者间均达极显著水平, 影响次序为乳酸 > 盐酸 > 柠檬酸 > 乙酸。

表 3 酸味剂和盐酸对 Bb 和 B1 存活影响的差异显著性比较

	Bb				B1			
	1	2	3	4	1	2	3	4
显著水平 5%	a	ab	b	c	a	b	c	d
显著水平 1%	A	AB	AB	C	A	B	B	C

注: 1. 乙酸; 2. 乳酸; 3. 盐酸; 4. 柠檬酸

综合上述结果, 乳酸和柠檬酸对两种双歧杆菌存活的影响最为显著, 但依菌种不同而有差异。这一结果提示, 对于用酸调味的双歧产品应注意酸味剂的选择, 例如, 对使用两歧双歧杆菌的产品应避免使用柠檬酸, 而使用长双歧杆菌的产品应尽量不用乳酸。

2.3 不同比例的乳酸和乙酸的影响

乳酸和乙酸是双歧杆菌代谢的两种主要产物, 理论上二者的代谢比例(摩尔比)为 1:1.5^[1-3]。但实际检测发现, 不同种和同种不同菌株的酸代谢比例差别较大, 以改良的 MRS 液体为培养基, 37℃ 培养 24 h, 所测乳酸和乙酸的比例范围为 1:0.67 ~ 1:1.76, 大多为 1:1 ~ 1:1.5, 总酸含量为 0.37 ~ 0.78%^[8]。不同比例的乳酸和乙酸对双歧杆菌存活的影响, 通过本项实验论证。

从图 4 可见, 对 Bb 存活不利的混酸比例依 1:1、1:0、1:1.5、0:1 的顺序减小, 对 B1 则为 1:1.5、1:0、1:1、0:1。进行方差分析, $F_{Bb}=9.04 > F_{0.05}(3,4)=6.59$, $F_{B1}=141.92 > F_{0.01}(3,4)=16.69$, 表明不同比例的乳酸乙酸混合酸对 Bb 的存活影响显著, 对 B1 的影响则达到了极显著水平。

用新复极差法测验不同比例混合酸对 Bb 和 B1 存活影响的差异显著性, 结果表明, L:A=1:1 对 Bb 存活的影响程度与其它三种比例的混合酸比较差异极显著, 1:1.5 的混合酸对 B1 的影响与其它三种比例混合酸比较差异

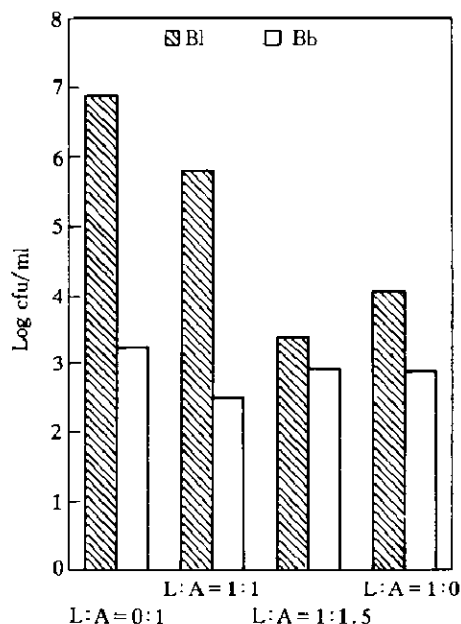


图4 不同比例的乳酸乙酸对双歧杆菌存活的影响

显著。

1:1 对 Bb, 1:1.5 对 Bl 存活的影响最大, 其原因可能在于, 这两种混酸中乳酸和乙酸的比例与二菌的酸代谢比例^[8]接近, 当基质中加入相应比例的混合酸后, 便形成了产物(一定比例的乳酸和乙酸)对糖代谢关键酶——6 磷酸果糖解酮酶的反馈抑制或阻遏^[1], 减少了菌

体代谢活动和细胞构建所需能量和物质的提供, 而不利菌体的存活。

综上所述, 不同的酸性条件对双歧杆菌的存活具有不同程度的影响, 所试两种菌的存活特性也存在着较大差别。从整体实验结果看, 在相同条件下, 保存相同时间, 长双歧杆菌的活菌数均高于两歧双歧杆菌。作者认为, 长双歧杆菌更适用于生产应用。实际应用时, 除针对不同的菌种(株)选择适宜的基质条件外, 如能结合耐酸菌株的筛选或其它保存措施, 双歧杆菌的活菌保存期将会进一步延长, 相关实验结果将另文阐述。

参 考 文 献

- [1] Poupard J A, Husain I and Norris R F. Bact. Reviews, 1973, 6: 136 ~ 165.
- [2] Martin J H, Clark P A and Cotton L N. Cultured dairy products J., 1992, 27(4): 21, 23 ~ 26.
- [3] Scardovi, V. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 1986 Williams and Wilkins, Baltimore Vol. 2 Section 15.
- [4] 傅晓超, 胡明明. 食品与发酵工业, 1992, 5: 35.
- [5] 胡援, 张宝元, 闫春等. 食品工业科技, 1994, 2: 3.
- [6] 许本发, 王艳萍, 陈莹. 食品科学, 1994, 2: 3.
- [7] 张簋, 郑海涛, 杜晓兵. 食品科学, 1994, 9: 47.
- [8] 刘希梅. 来自健康老人肠道双歧杆菌生理生化特性的研究, 北京农业大学硕士学位论文, 1995.

EFFECTS OF DIFFERENT ACIDIC CONDITIONS ON THE SURVIVAL OF *BIFIDOBACTERIA*

Wang Zhanwu

(Institute of Agro-Physics, Physiology and Biochemistry, Hebei Academy of Agriculture and Forestry, Shijiazhuang 050051)

Zhang Chi

(Department of Food Science, China Agriculture University, Beijing 100094)

Abstract The effects of different acidic conditions on the survival of *B. bifidum* (Bb) and *B. longum* (Bl) in carrot compound juice (CCJ) were studied. The results indicated that the suitable initial pH of CCJ for the survival of Bb and Bl were 6.2, 4.5—5.0, respectively. The effect turns of acidulants on the stability of viable cells were citric acid (C) > hydrochloric acid (H) > lactic acid (L) > acetic acid (A) for Bb, L > H > C > A for Bl. The most unfavorable molar ratio for the cells

survival were 1:1 (for Bb) and 1:1.5 (for Bl). It was found that the survival ability of Bl was better than that of Bb.

Key words *Bifidobacterium*, Carrot compound juice, Acid, Survival