

利用固定化细胞连续发酵生产酸牛奶

施安辉

(山东大学微生物学系 济南 250100)

本文报道了利用固定化技术连续发酵生产酸牛奶的方法。对单菌种与双菌种固定化、最适发酵温度和 pH、发酵时间、固定化方式等进行了研究,得出了在实验室条件下,连续发酵生产酸牛奶的最佳技术条件。与传统的间歇生产工艺相比,可简化菌种制备过程,反复利用乳酸菌种,充分利用发酵酸化设备、便于自动化控制等优点。作者尚未见国内外利用固定化技术连续生产酸牛奶的报道。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌种:保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*),乳脂链球菌(*Streptococcus cremoris*),由中国科学院微生物研究所提供。

1.1.2 培养基:菌种培养为麦芽汁(12°Bx)培养基,发酵培养基为鲜牛奶。

1.2 方 法

1.2.1 细胞制备:接种 2 环斜面活化菌种于 10ml 麦芽汁中,42℃ 培养 25 小时,移种于 100ml 的麦芽汁中(加 0.5—1.5% 的 CaCO_3 ,以利乳酸菌的生长),42℃ 培养 20 小时,制得细胞数目适宜的种子培养液。

1.2.2 固定化活细胞颗粒的制备^[1,2]:载体为海藻酸钠,强化剂为氯化钙。以 2% 的海藻酸钠进行包埋。

1.2.3 连续发酵^[3,4]:在 42℃ 时把增殖的固定化细胞颗粒,装入 1000ml 灭菌的连续玻璃生物反应器内,开启进料阀,42℃ 的灭菌鲜牛奶自动流入反应器内,3 小时后,反应器内 pH 达到 5.5 时,排料阀自动开启,酸奶自动连续流出。而传统的间歇发酵需经种子培养(约 78 小时);接种酸化 9—12 小时。

1.2.4 分析方法:乳酸测定:络合滴定法^[4,5]。还原糖测定:Lan-Eynon^[6]。

2 结 果

2.1 单菌和双菌种固定化后连续发酵的比较

经增殖后的乳酸菌单菌和双菌种分别固定后,连续发酵灭菌的鲜牛奶。40℃ 滞留了 3 小时。结果见表 1。由表 1 可见,双菌种固定化后发酵鲜牛奶比单菌优越。其乳酸产率有明显的提高。提高的百分率与滞留时间有关。滞留 3 小时,平均产率提高了 14.76%。

表 1 单菌与双菌固定化发酵鲜牛奶

菌种	<i>L. bulgaricus</i>	<i>S. cremoris</i>	<i>L. bulgaricus</i> + <i>S. cremoris</i>	提高(%)
乳酸产量(g)*	7.68	7.83	8.90	14.76

* 表内数据为 100ml 发酵液,每小时产酸量,发酵时间为 3 小时。(表 2—4 同表 1)。

2.2 温度对双菌种固定化连续发酵的影响

把增殖后的 *L. bulgaricus* 和 *S. Cremoris* 各 50% 混合,固定化后置于灭菌后不同温度的盛鲜牛奶的生物反应器中,发酵 12 小时。实验结果见表 2。

表 2 温度对双菌种固定化发酵的影响

发酵温度(℃)	35	37	40	42	45
产酸(g)*	2.34	3.96	6.14	8.67	7.82

章丘市乳品厂的郭新明、徐厥宝等曾参加部分实验。
本文于 1993 年 10 月 19 日收到。

由表 2 表明,发酵温度为 42℃时,乳酸产量最高,且酸牛奶的口感酸甜适中,风味醇厚。

2.3 pH 值对双菌种固定化发酵的影响

固定化方法同 2.2,发酵温度 42℃,3 小时后,用稀释的 NaOH 溶液控制发酵 pH 值。将固定化的细胞分别放入灭菌后不同 pH 的鲜牛奶中发酵。实验结果见表 3。由表 3 可见,pH 为 5.5 时,乳酸的生成量最高。

表 3 pH 值对发酵的影响

pH	6.5	6.0	5.5	5.0	4.5
产酸(g)*	—	4.95	7.81	4.7	—

2.4 固定化方式对发酵的影响

把两种菌先分别固定化后,按各 50%混匀(1);同时把以上两种菌的细胞各 50%混匀后再固定化(1)。然后分别置于反应器中,在 42℃,pH5.5 的条件下发酵 3 小时。实验结果见表 4。

表 4 固定化方式对发酵的影响

固定化方式	I	II	提高(%)
产酸(g)*	8.92	7.65	16.60

由表 4 可见,采用两菌先分别固定化后,再混合发酵对产酸更为有利。

参 考 文 献

- [1] 施安辉等. 微生物学通报, 1993, 20(2): 94—97.
- [2] 严 复等. 食品与发酵工业, 1981, 81(2): 68—71.
- [3] 堀津浩章. Bio Industry, 1987, 4(3): 75—81.
- [4] 李永丰等. 医药工业, 1985, 16(1): 1—3.
- [5] 中商部编. 中华人民共和国专业标准, ZBx66015—87, 1987, 北京: 中国标准出版社, 1988, p. 14—15.
- [6] 上海市酿造科学研究所编. 中国调味品(酿造分析专刊), 1983, pp. 56—58.

A Technology on Continuous Production Acid Milk by Immobilized Growing Cell

Shi Anhui

(Department of Microbiology, Shandong University, Jinan 250100)

Abstract A method on continuous production acid milk by immobilized production cells was reported. Firstly, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus cremoris* were immobilized, respectively then mixed and filled into a 1000ml continuous bioreactor. Under the experiment condition of 42℃ and pH5.5, the rate of lactic acid products was 89mg/ml · h after 3 hours fermentation.

Key words *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus cremoris*, immobilized growing cells, continuous fermentation