

# 酱油在贮存过程中偶有胀袋原因的初步研究

孙志愿 刘焕书 张晓斌

(安徽省科苑应用技术开发(集团)股份有限公司 宿州 234023)

**摘要:**山崎酱油在贮存过程中偶有胀袋、细菌总数超标、继续酸化等问题,怀疑是乳酸菌(*Lactobacillus*)在酱油中继续生长引起的。试图通过本实验阐明乳酸菌在稀醪中生长和产酸的关系。

**关键词:**乳酸菌,稀醪,生长,产酸

**中图分类号:**Q93 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2654(2001)02-0012-04

## THE PRELIMINARY RESEARCH ABOUT THE REASONS OF BUSTING BAGS OCCASIONALLY DURING SOY STORAGE

SUN Zhi-Yuan LIU Huan-Shu ZHANG Xiao-Bin

(Anhui Koyo Applied Technology Development(Group)PTY. CO., LTD. Suzhou 234023)

**Abstract:** Shan Qi soy has busting bags, bacteria sum overproof, continue acidification and other problems occasionally during the storage. It's probably caused by the *Lactobacillus* continue growth in the soy. We tried expounding the relationship between growth and producing acid when *Lactobacillus* growing in the thin fermented material.

**Key words:** *Lactobacillus*, Thin fermented material, Grow, Produce acid

乳酸菌(*Lactobacillus*)在酱油发酵过程中参与曲霉菌(*Aspergillus*)和酵母菌(*Saccharomyces*)的作用,对增进酱油的风味有一定的帮助<sup>[1]</sup>。因此山崎公司在发酵后期接入乳酸菌和酵母菌希望其产生的乳酸等有机酸和醇类进一步化合而成各种酯类和其它芳香物质,从而增加酱油的香气和风味<sup>[2]</sup>。但乳酸菌的破坏力也存在,发酵调味品以及食物的酸败也往往是乳酸菌所引起<sup>[3]</sup>。所以山崎酱油在贮存过程中偶有胀袋、细菌总数超标、继续酸化等问题,怀疑是乳酸菌在酱油中继续生长引起的。我们试图通过本实验进行探讨。

## 1 材料与方方法

### 1.1 供试菌种与样品

乳酸菌(*Lactobacillus*)、酵母菌(*Saccharomyces*)、稀醪及成品酱油由中外合资合肥山崎酿造有限公司提供。

### 1.2 培养基

1.2.1 乳酸菌培养基: 饴糖 60g, 酵母膏 6g, 蛋白胨 4g, 硫酸铵 2g, 磷酸二氢钾 0.8g, 氯化钠 20g, pH7.0, 碳酸钙 20g(pH调好之后加), 琼脂 32.4g, 定容自来水中。

1.2.2 酵母菌培养基: 饴糖 80g, 硫酸铵 4g, 酱油 240mL, 氯化钠 24g, pH7, 琼脂 14.4g, 定容

512mL自来水中。

1.2.3 牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 1.5g,蛋白胨 5g,氯化钠 2.5g,pH5~6,琼脂 10g,定容 500mL自来水中。

1.2.4 乳酸菌种子培养基:饴糖 60g,酵母膏 6g,蛋白胨 4g,硫酸铵 2g,硫酸二氧钾 0.8g,氯化钠 20g,pH7.0,碳酸钙 20g(pH调好之后加)。

1.2.5 产酸培养基:(1)饴糖 9g,酵母膏 0.45g,蛋白胨 0.3g,硫酸铵 0.3g,硫酸二氢钾 0.12g,氯化钠 13g,pH7.0,碳酸钙 3g(pH调好之后加)。(2)pH5.0~6.0的稀醪(指二油水或三油水浸泡酱醋的浸泡液用稀碱液调得)。

### 1.3 生理盐水的配制

用食盐配制成 0.85%的生理盐水。

### 1.4 模拟稀醪发酵实验

见表 1。

表 1 模拟稀醪发酵实验

	样品编号					
	1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup> (对照)	6 <sup>#</sup>
是否灭菌	-	-	+	+	+	+
接入 10mL 乳酸菌	+	+	+	+	-	-
再接入 16mL 酵母菌	-	+	-	+	-	+

注:1<sup>#</sup>至 6<sup>#</sup>样品是指分别装有 180mL 稀醪的 6 个 250mL 的三角瓶

“-”表示灭菌(1×10<sup>5</sup>Pa/20'),“+”表示不灭菌

### 1.5 计数与测定

1.5.1 乳酸菌计数:采用平板计数法分别对 1<sup>#</sup>至 6<sup>#</sup>处理的一些稀释梯度的平皿进行计数。

1.5.2 酵母菌计数:采用血球计数板法分别对 1<sup>#</sup>至 6<sup>#</sup>处理的稀醪进行计数;采用平板计数法分别对 1<sup>#</sup>至 6<sup>#</sup>处理的一些稀释梯度的平皿进行计数。

1.5.3 杂菌计数:平板计数法。

1.5.4 pH测定:精密试纸测定;pH计测定。

### 1.6 产酸试验

从 6d 和 14d 的培养皿中挑取特征性杂菌,分别接入 pH5~6 的稀醪试管和 pH7.0 的乳酸菌培养液试管中恒温 30℃ 培养,观察其 pH 变化,并做标记。

## 2 结果

### 2.1 pH

对 1<sup>#</sup>至 6<sup>#</sup>样品定期测 pH,0d 时 1<sup>#</sup>样品 pH 为 4.5,2<sup>#</sup>样品 pH 为 4.4,3<sup>#</sup>至 6<sup>#</sup>样品 pH 为 3.8,在 6d 和 14d 时 pH 在 3.8~3.9 之间(表 2),说明此时的稀醪偏酸,而这种酸性环境不利于乳酸菌的生长。

### 2.2 乳酸菌存活情况

因为 5<sup>#</sup>、6<sup>#</sup>样品接的是灭过菌的乳酸菌,所以没有乳酸菌生长,又因 5<sup>#</sup>、6<sup>#</sup>样品中的稀醪没灭菌,这样就说明原稀醪中无乳酸菌。在 0d 的平板数据中 1<sup>#</sup>至 4<sup>#</sup>样品乳酸菌数达 10<sup>6</sup> 级,而至 6d 时及其以后平板上都无乳酸菌生长(表 2),从而得出乳酸菌在 6d 内全部死亡,说明乳酸菌在这种酸性稀醪中不能存活。

表2 不同时期主要指标的情况

时间 (d)	项目	样品编号					
		1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup>	6 <sup>#</sup>
0	杂菌(个/mL)	0	2.7×10 <sup>5</sup>	1.0×10 <sup>6</sup>	9.3×10 <sup>5</sup>	1.23×10 <sup>6</sup>	8×10 <sup>5</sup>
	乳酸菌(个/mL)	6.67×10 <sup>6</sup>	3.4×10 <sup>6</sup>	2.63×10 <sup>6</sup>	3.4×10 <sup>6</sup>	0	0
	酵母菌(个/mL)	2.45×10 <sup>6</sup>	2.80×10 <sup>6</sup>	2.90×10 <sup>6</sup>	1.25×10 <sup>6</sup>	1.95×10 <sup>6</sup>	1.7×10 <sup>6</sup>
	pH	4.5	4.4	3.8	3.8	3.8	3.8
6	杂菌(个/mL)	0	4.5×10 <sup>5</sup>	2.5×10 <sup>6</sup>	3.0×10 <sup>6</sup>	6×10 <sup>5</sup>	1.25×10 <sup>6</sup>
	乳酸菌(个/mL)	0	0	0	0	0	0
	酵母菌(个/mL)	2.2×10 <sup>6</sup>	1.5×10 <sup>6</sup>	2.8×10 <sup>6</sup>	3.1×10 <sup>6</sup>	2.8×10 <sup>6</sup>	1.6×10 <sup>6</sup>
	pH	3.8	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9
14	杂菌(个/mL)	0	1.14×10 <sup>7</sup>	4.7×10 <sup>6</sup>	2.47×10 <sup>6</sup>	8.57×10 <sup>5</sup>	1.16×10 <sup>6</sup>
	乳酸菌(个/mL)	0	0	0	0	0	0
	酵母菌(个/mL)	2.42×10 <sup>6</sup>	2.3×10 <sup>6</sup>	1.55×10 <sup>6</sup>	0.95×10 <sup>6</sup>	1.95×10 <sup>6</sup>	1.05×10 <sup>6</sup>
	pH	3.8	3.8	3.9	3.9	3.8	3.8
	酵母菌(个/mL)(平板法)	0	1.8×10 <sup>4</sup>	7.7×10 <sup>3</sup>	4.1×10 <sup>4</sup>	8×10 <sup>2</sup>	4.25×10 <sup>4</sup>

2.3 酵母菌存活情况

在0d、6d、14d的镜检数据中酵母菌数为1~3×10<sup>6</sup>个/mL,而在14d时的平板计数中酵母菌数远低于血球计数板的计数,这是因为一是镜检中有死酵母的细胞形态;二是血球计数板中看到的一串串酵母在平板上只形成一个菌落。在14d时的平板计数中,因1<sup>#</sup>、3<sup>#</sup>、5<sup>#</sup>处理接的是灭过菌的酵母菌液,故酵母菌数小于2<sup>#</sup>、4<sup>#</sup>、6<sup>#</sup>处理,又因1<sup>#</sup>处理是经过灭菌的,故没有酵母菌生长,而3<sup>#</sup>与5<sup>#</sup>处理的酵母菌数达10<sup>2</sup>~10<sup>3</sup>级,这就说明原稀醪中存在酵母菌。

2.4 杂菌生长情况

在自然状态下3<sup>#</sup>至6<sup>#</sup>样品中的杂菌数为1~3×10<sup>6</sup>个/mL;1<sup>#</sup>与2<sup>#</sup>样品同样是灭过菌的,而1<sup>#</sup>样品却无杂菌生长(表2),同时1<sup>#</sup>样品接灭菌的酵母菌液,2<sup>#</sup>样品接了未灭菌的酵母菌液,这就说明本次实验的酵母菌液不纯,将这些杂菌进行革兰氏染色,结果绝大多数为革兰氏阳性芽孢杆菌。

2.5 杂菌产酸试验结果

挑22株杂菌(均作标记)分别接入pH5

~6的稀醪试管中,挑21株杂菌分别接入pH7.0的乳酸菌培养液试管中,培养一段时间后,用

表3 产酸试验的结果(pH变化情况,用pH计测定)

标记号	在pH5.0~6.0 稀醪中的pH	标记号	在pH7.0乳酸菌 培养液中的pH
I(空白)	4.35	B <sub>1</sub> *	4.0
I(空白)	4.35	B <sub>2</sub> *	3.6
A <sub>1</sub>	4.38	B <sub>3</sub>	5.0
A <sub>2</sub>	4.4	B <sub>4</sub>	5.0
A <sub>3</sub>	4.4	B <sub>5</sub>	5.15
A <sub>4</sub>	4.4	B <sub>6</sub>	5.5
A <sub>5</sub>	4.38	B <sub>7</sub>	5.32
A <sub>6</sub>	4.38	B <sub>8</sub>	5.5
A <sub>7</sub>	4.4	B <sub>9</sub>	5.4
A <sub>8</sub>	4.4	B <sub>10</sub>	5.48
A <sub>9</sub>	4.4	B <sub>11</sub>	5.3
A <sub>10</sub>	4.4	B <sub>12</sub>	5.3
A <sub>11</sub>	4.45	B <sub>13</sub>	4.9
A <sub>12</sub>	4.4	B <sub>14</sub>	5.35
A <sub>13</sub>	4.45	B <sub>15</sub>	4.75
A <sub>14</sub>	4.46	B <sub>16</sub>	5.7
A <sub>15</sub>	4.46	B <sub>17</sub>	5.15
A <sub>16</sub>	4.45	B <sub>18</sub>	5.3
A <sub>17</sub>	4.45	B <sub>19</sub>	5.3
A <sub>18</sub>	4.48	B <sub>20</sub>	4.98
A <sub>19</sub>	4.48	B <sub>21</sub>	5.2
A <sub>20</sub>	4.38		

注:标\*为黑色膜状生长,未标\*为白色膜状生长

pH 计测 pH 值所得结果(表 3),原稀醪中 pH 下降至 4.4 左右,乳酸菌培养液中 pH 在 4.75~5.5 之间,说明绝大多数杂菌都产酸,其中有两株杂菌产酸更为突出。

### 3 讨论

乳酸菌在这种酸性稀醪中不能存活,说明乳酸菌在这种酸性稀醪中不能达到通过接种乳酸菌改善酱油香气和风味的目的,也说明致使酱油偏酸的不是乳酸菌;至于生产工艺中是否使用及如何使用乳酸菌还有待进一步探讨。酵母菌能在这种酸性稀醪中存活,只是山崎公司提供的酵母菌种子液不纯。杂菌在稀醪中生长,且多为产酸的芽孢杆菌,它们所产的杂酸致使乳酸菌不能生长,这些杂菌可能是酱油在贮存过程中偏酸的原因,该公司生产工艺中的瞬时灭菌,只能杀死不耐热或无芽孢的菌株,而那些有芽孢的产酸菌株被反复地浓缩,致使酱油在贮存过程中有继续酸化、偶尔胀袋、细菌总数超标等现象的发生,应设法改进生产工艺解决上述问题。

### 参 考 文 献

- [1] 无锡轻工业学院编.《食品微生物学》.北京:中国轻工业出版社,1995,195~196.
- [2] 唐欣昀编.《调味品发酵工艺等》.合肥:安徽农业大学生物工程学院出版,1997,3.
- [3] 上海市酿造科学研究所编.《发酵调味品生产技术上册》.北京:轻工业出版社,1987,108.