

土家豆豉中微生物的初步研究

秦恩华

(湖北民族学院生物科学与技术学院, 湖北 恩施 445000)

摘要: 本文对两种不同发酵类型的土家豆豉的微生物进行初步研究。结果表明: 细菌型的土家豆豉以长杆菌、短杆菌杆菌属的细菌为主; 霉菌型的土家豆豉有毛霉、根霉、曲霉和青霉四种类型, 随着培养基和温度的不同而不同。

关键词: 土家豆豉; 发酵; 微生物分离

中图分类号: TS214.2; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2007)05-0030-03

Preliminary Study on the Microorganism isolated from Tujia Fermented Brown Bean

QIN En-hua

(School of Bioscience and Technology, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China)

Abstract: Two kinds of microbes isolated from Tujia fermented brown bean were investigated here. The main kinds of microbe in the bacteria-fermented brown were found to be bacillus species. In mold-fermented brown bean, *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus* and *Penicillium* were the predominant species and their contents varied by changing the mediums and temperature.

Key words: Fermented brown bean; Fermentation; Isolation of microbes

豆豉是我国传统的大豆发酵制品, 主要类型有毛霉型、曲霉型及少量细菌型(俗称水豆豉)^[1]。其营养丰富、风味独特, 并有一定的保健作用, 常吃豆豉能有效地预防脑血栓的形成, 预防老年性痴呆^[2,3]。恩施土家豆豉具有民族特色, 在恩施地区被广大消费作喜爱, 本文对恩施土家豆豉的微生物的种类进行了初步鉴定, 为同行提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄豆; 75%酒精、表面消毒液等。

1.2 主要仪器与设备

YXQ-LS-30S11 立式压力蒸汽灭菌器; SKP-01 电热恒温培养箱; ALPHAPHO-2YS2-H 电子显微镜; SW-CJ-2FD 超净工作台; OLYMPUS-DP12 显微数码相机。

1.3 试验方法

1.3.1 土家豆豉的制作方法

材料选择及预处理: 选择颗粒饱满, 新鲜豆为佳, 要求豆粒大小均匀、无虫蛀、无霉烂变质和其它杂质, 挑选后短时间浸泡至表皮无皱纹, 一方面是洗净豆粒

收稿日期: 2007-01-25

作者简介: 秦恩华(1964-), 女, 实验师, 主要从事食品微生物与发酵工作

表面的灰尘及杂物, 另一方面是使豆中的水分达一定比例, 将浸泡好的黄豆用电饭锅蒸煮 2 h, 直到豆粒软化, 捏成饼状无实粒即可。

细菌型豆豉的制作: 待豆子冷却后, 用湿纱布将其包裹, 用芭蕉树叶垫层、盖层。按一定位置摆在制曲室内, 待豆子表面成灰白色, 灰白色表面下面呈淡黄色的菌丝。

霉菌型豆豉制作: 将蒸煮好的豆子从锅中取出置于盘子上冷却, 用芭蕉树叶垫层、盖层(室温)19~22℃, 将冷却后的熟豆按一定位置摆在制曲室内, 曲料升温, 18~24 h 空气中的霉菌孢子开始发芽, 豆粒表面出现白色均匀菌丝。

1.3.2 微生物的培养

1.3.2.1 细菌型培养基: 牛肉膏、蛋白胨培养基^[4]

1.3.2.2 霉菌型培养基: A 马铃薯固体培养基; B 高盐查氏培养基^[4]

1.3.2.3 放线菌培养基: 高氏 1 号培养基^[4]

1.3.3 微生物的分离方法: 平板稀释分离技术^[4]

制备豆豉稀释液: 称取豆豉 10 g, 放入盛 90 ml 无菌水并带有玻璃珠的三角瓶中, 振摇约 20 min, 使豆豉与水充分混合, 将微生物分散, 然后制配成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 不同稀释度的豆豉溶液, 每个稀释度做 3 个重复。

涂布: 首先倒平板, 将培养基按实验要求, 按照 10^4 、 10^5 、 10^6 三种不同的稀释度和不同温度进行标记, 然后用无菌吸管分别从 10^4 、 10^5 和 10^6 三管豆豉稀释液中各吸取 0.1 ml 对号放入已写好的稀释的平板中, 用无菌玻璃涂棒在培养基表面轻轻的涂布均匀, 室温下静置 5~10 min, 使菌液吸附进培养基, 倒置培养。

1.3.4 培养方法与细菌计数

1.3.4.1 细菌的培养与计数

细菌在牛肉膏蛋白胨琼脂培养基内进行培养, 培养温度为 36 °C, 培养 15 h 观察菌落形态, 并进行菌落计数。

1.3.4.2 霉菌的培养与计数

霉菌分别在马铃薯琼脂培养基和高盐查氏培养基内于 3 种不同的温度下 (15~20 °C, 25~28 °C, 32~35 °C) 进行培养, 培养 3 d, 分时段观察菌落形态, 并进行菌落计数。

1.3.4.3 放线菌的培养与计数

放线菌在高氏 1 号培养基内进行培养, 培养温度为 30 °C, 培养 7 d, 每隔一时段观察菌落, 计数。

1.3.5 微生物的初步鉴定方法

1.3.5.1 细菌的初步鉴定^[4,6]: 石炭酸复红染色法。

1.3.5.2 霉菌鉴定^[4,5]: 乳酸石炭酸棉蓝染色法。

2 结果与分析

2.1 细菌型豆豉中的微生物

2.1.1 细菌型豆豉中细菌数量的检测结果

在牛肉膏蛋白胨琼脂培养基上接种细菌型豆豉样品, 培养 15 h 检测出的细菌菌落数如表 1 所示。

表 1 豆豉中细菌数量的计数结果

培养基种类	有效释稀度	细菌菌落 (cfu/g)
牛肉膏蛋白胨	10^4	1.2×10^5
牛肉膏蛋白胨	10^5	3.4×10^6
牛肉膏蛋白胨	10^6	4.2×10^7

2.1.2 细菌型豆豉中放线菌的检测结果

在高氏 1 号培养基内基本上没有菌落长出, 有的培养基平板上有少许菌落长出, 可能是在培养基的制作过程中及接种过程中, 有空气中的杂菌混入的结果。

2.1.3 细菌型豆豉中霉菌的检测结果

细菌型豆豉发酵的温度是 30~35 °C, 保持一定的湿度和通气量, 适宜细菌的生长, 而不适宜霉菌的生长。主要原因是发酵前期细菌生长较快, 消耗了大部分的营养物质, 同时产生了一些代谢物质改变了生长环境的 pH; 而霉菌生长较缓, 可利用的营养物质不足,

pH 也不适宜其生长。

2.1.4 菌落形态描述和中微生物形态观察

菌落隆起呈丘陵状, 边缘不整齐, 菌落表面有光泽, 不透明, 有黏液, 挑起有拉丝现象。从微生物形态观察看, 可鉴定为长杆菌、短杆菌杆菌属。

2.2 霉菌型豆豉中的微生物

2.2.1 霉菌在不同温度下的培养与计数结果

实验结果知, (1) 霉菌在不同的培养基内的生长情况不一样, 霉菌在马铃薯琼脂培养基内生长初期呈现明显的菌落特征, 但有湿润菌落, 半透明, 培养的后期菌丝发达, 仍有湿润菌落, 并呈白色和浅黄色; 在高盐查氏培养基内霉菌生长前期不明显, 后期较为茂盛, 菌丝发达疏松, 菌落干燥, 并连成一片, 无法计数菌落数, 未发现细菌生长。(2) 对在马铃薯琼脂培养基上的菌落进行分离培养, 并对单菌落进行革兰氏染色, 发现有革兰氏阴性球菌和短杆菌存在, 可能是自然环境中混入的; 高盐查氏培养基中高盐对细菌抑制作用。(3) 霉菌在不同温度下的生长情况也不一样, 霉菌的生长的较适温度 25-28 °C, 低温或高温都不利于霉菌的生长, 结果见表 2。

表 2 马铃薯培养基中豆豉中霉菌数量的计数结果 单位: cfu/g

培养温度/°C	有效释稀度		
	10^4	10^5	10^6
15~20	3.5×10^5	4.1×10^5	3.8×10^5
25~28	5.5×10^7	4.2×10^7	3.7×10^7
32~35	2.7×10^7	3.1×10^7	1.2×10^7

注: 查氏培养基的霉菌数量不可计数, 故不再列表说明。

2.2.2 霉菌型豆豉中放线菌的检测结果

在高氏 1 号培养基内基本上没有菌落长出, 有的培养基平板上有少许菌落长出, 可能是在培养基的制作过程中以及接种过程中, 有空气中的杂菌混入的结果。

2.2.3 平皿中的菌落形态描述

实验结果知, 可分为四个类型:

霉菌型 1: 气生菌丝不发达, 中间为绿色, 菌落小, 边缘扩展性差。

霉菌型 2: 气生菌丝较多, 可布满整个平皿, 初期纯白色, 然后色泽有的加深。

霉菌型 3: 气生菌丝相当发达, 菌扩展性好, 菌丝可以布满整个平皿, 菌丝初期呈白色, 随时间的延长菌丝变化呈灰褐色。

霉菌型 4: 生长局限, 初期呈白色绒毛状, 边缘整齐, 气生菌丝不发达, 中央突起, 成圆心圆的生长

(下转第 39 页)