

酸奶加工技术

SUANNAI JIAGONG JISHU

编著◎韩建春 邵美丽 郭 鸽
主审◎程 涛



HEUP 哈尔滨工程大学出版社
Harbin Engineering University Press

酸奶加工技术

编著◎韩建春 邵美丽 郭 鸽
主审◎程 涛

HEUP 哈尔滨工程大学出版社
Harbin Engineering University Press

内 容 简 介

本书以酸奶为主线,对酸奶的生产与发展和酸奶的分析检验与安全控制两大部分进行了介绍。具体阐述了酸奶的功能及其新品种、酸奶微生物与发酵生物化学、酸奶生产技术、酸奶的感官评价、酸奶的微生物检验、酸奶的生产及卫生标准和酸奶的 HACCP 体系等。较全面地反映了酸奶科学与技术的最新科研成果。全书具有较高的理论性、科学性与实践性。

本书可供从事酸奶研究、教学和生产的科技人员参考,也可作为各高等院校相关专业学生参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

酸奶加工技术/韩建春,邵美丽,郭鸽编著. —哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,2011.8
ISBN 978-7-5661-0213-3

I. ①酸… II. ①韩…②邵…③郭… III. ①酸乳-食品加工 IV. ①TS252.54

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 164536 号

出版发行 哈尔滨工程大学出版社
社 址 哈尔滨市南岗区东大直街 124 号
邮政编码 150001
发行电话 0451-82519328
传 真 0451-82519699
经 销 新华书店
印 刷 哈尔滨市石桥印务有限公司
开 本 787mm×1092mm 1/16
印 张 17.25
字 数 420 千字
版 次 2011 年 8 月第 1 版
印 次 2011 年 8 月第 1 次印刷
定 价 35.00 元
<http://press.hrbeu.edu.cn>
E-mail:heupress@hrbeu.edu.cn

前 言

当今,随着人们生活水平的提高,人们越来越注重饮食的营养健康,乳制品是除母乳外营养最为均衡的全价食品,它在人们的膳食结构中有着其他食品无法代替的地位和作用。而酸奶作为重要的乳制品之一,每年的产销量递增达 40% 以上,可见酸奶的市场很广阔。然而,目前国内关于酸奶加工技术方面的书籍和资料,与国外乳品发达国家相比存在着较大差距,主要反映在技术的滞后性和系统性方面,所以编撰一本关于酸奶加工技术的最新书籍是十分必要的。

本书从教学、科研和生产实际出发,以酸奶为主线,对酸奶的生产与发展和酸奶的分析检验与安全控制两大部分进行了介绍。具体阐述了酸奶的功能及其新品种、酸奶微生物与发酵生物化学、酸奶生产技术、酸奶的感官评价、酸奶的微生物检验、酸奶的生产及卫生标准和酸奶的 HACCP 体系等,较全面地反映了酸奶科学与技术的最新科研成果。全书具有较高的理论性、科学性与实践性。

本书获得教育部创新团队发展计划(IRT - 0059 - 303)及东北农业大学科研启动基金(博士启动金)的资助,特此表示衷心的感谢。

本书由东北农业大学食品学院韩建春、邵美丽和郭鸽共同编著,由程涛负责审核。本书在编写过程中,参考或引用了国内外一些专家学者的论著,在此深表感谢。尽管所有编者都力求全面反映当前国内外酸奶的最新加工技术,但是难免有所遗漏和不足,衷心希望读者批评指正。

编著者
2011 年 6 月

目 录

第一章 酸奶的历史与发展趋势	1
第二章 酸奶功能及其新品种	4
第一节 酸奶的功能性	4
第二节 酸奶新品种	6
第三章 酸奶微生物与发酵生物化学	16
第一节 酸奶中的微生物	16
第二节 乳酸发酵	32
第三节 乳酸凝固和影响酸奶物理性质的因素	35
第四节 除乳糖外的乳成分的化学变化	41
第五节 酸奶的风味与芳香味	49
第四章 酸奶生产技术	53
第一节 原料乳	53
第二节 菌株和发酵剂	58
第三节 在培养罐或容器中发酵	73
第四节 发酵后的冷却	78
第五节 凝胶体的机械处理	83
第六节 包装与包装材料	87
第七节 酸奶的储藏、运输及消费	96
第八节 延长酸奶储藏期的方法	101
第九节 酸奶的缺陷	108
第五章 酸奶的感官评价	112
第一节 食品感官评价基本内容和方法	112
第二节 酸奶的感官评价方法和标准	115
第六章 酸奶的理化分析及检测	121
第一节 乳样的采集、保存和分析与检验材料	121
第二节 酸奶生产原辅料成分分析与检验	125
第三节 酸奶生化检验	133
第四节 酸奶中重金属及农药残留分析与检验	140
第五节 包装材料检验	152
第七章 酸奶的微生物检验	157
第一节 微生物菌落总数的测定	159
第二节 大肠菌群的检验	161
第三节 酸奶中酵母菌和霉菌菌落总数的测定	166
第四节 酸奶中金黄色葡萄球菌的检验	168

第五节	沙门氏菌属的检验·····	170
第六节	酸奶中致病性大肠埃希氏菌的检验·····	176
第七节	志贺氏菌属的检验·····	179
第八节	酸奶中嗜冷菌的检测·····	182
第九节	酸奶中乳酸菌的测定·····	183
第八章	酸奶的生产及卫生标准·····	185
第一节	酸奶的良好操作规范·····	185
第二节	酸奶的卫生标准操作程序·····	195
第九章	酸奶的 HACCP 体系·····	203
第一节	酸奶 HACCP 计划制订的必备程序·····	203
第二节	酸奶 HACCP 的建立与实施·····	204
第三节	酸奶 HACCP 的审核·····	212
第四节	审核的启动·····	216
第五节	文件评审的实施·····	220
第六节	现场审核的准备·····	223
第七节	实施现场审核活动·····	230
第八节	审核报告和审核完成·····	250
第九节	审核后续活动与认证后监督·····	252
第十节	酸奶 HACCP 体系示例·····	256
参考文献 ·····		269

第一章 酸奶的历史与发展趋势

酸奶最早的历史无明确记载。古代希腊人和罗马人熟知酸奶的制作方法,在罗马皇帝 Elugabulum(AD 218—222)的传记中,记载有两种酸奶的制作方法。

有史料记载,酸奶起源于亚洲。且 8 世纪的土耳其语中就出现了“Yoghurt”一词,后来逐渐演变为“Yoshurt”。当时酸奶的干燥物称“Aurut”,饮用物称“Suvukyoghurt”。

但一些人依然认为酸奶发源于巴尔干地区。当地人饲养大群的牲畜,有助于掌握酸奶的制作方法。后来许多人用绵羊奶或水牛奶制酸奶,另一部分人则用山羊奶制酸奶。并把先制作的一部分凝固乳用作下一次制作酸奶的菌种。当时,酸奶多直接食用,或掺入各种蔬菜、香草和药草,还将酸奶用于配菜或烤制的菜肴中。古代,中东的医生把酸奶作为治疗胃、肠、肝脏疾病和增进食欲的药物。波斯的妇女则把酸奶作为化妆品使用。

据 11 世纪麻赫穆德·喀什噶里(Mehmud Qeshqiri)编写的《突厥语大词典》以及尤素甫·哈斯·哈吉甫撰写的《福乐智慧》两书记载,土耳其人在中世纪就在食用酸奶了。这两部书在不同侧面都提到了“Yoghurt”这个词,并详细记录了游牧的土耳其人使用酸奶的方法。20 世纪初,埃黎耶·埃黎赫·梅契尼柯夫(Илья Ильич Мечников)在他的“长寿说”中谈到酸奶对人类健康非常有益。此种观点虽然过高地评价了酸奶价值,但对于酸奶在欧洲各国的普及则有很大的影响。1922 年西班牙人伊萨克·卡拉索(Isac Carasso)在巴塞罗那开创了欧洲酸奶的工业生产,并在马德里建立了 Dartone 酸奶研究所。1934 年 Henneberg 首先提出为了提高酸奶的保健价值,在制作酸奶的菌群中添加嗜酸乳杆菌。

第二次世界大战后,特别是 1950 年以来,对酸奶的生产技术和影响其感官性质的因素有了较深的理解。人们能使用纯菌种制造发酵制品,能利用现代化装置进行连续生产。并能在酸奶中添加水果,进而出现许多加入各种风味物料的花色酸奶,从而进一步促进了酸奶的消费。

随着微生物学研究的不断深入,人们已明确酸奶菌种纯培养对酸奶营养价值、生理价值及其感官性质的作用,从而在选择菌种培养中开始使用新的标准。

出于增加酸奶保健价值的目的,开始在酸奶菌种中添加嗜酸乳杆菌和双歧乳杆菌等具有益生作用的益生菌,制作了所谓 Aco-Yoghurt 或称嗜酸-双歧乳杆菌酸奶以及特种发酵乳(Special Yoghurt)等新型发酵乳。

自 1964 年以来,许多国家发酵乳的消费量显著增加。1978 年国际乳品联合会发表的资料表明(见表 1-1),芬兰的消费量最多,每人每年消费 34.4 kg,其次是保加利亚、瑞典等国。

我国酸奶生产虽然起步较晚,但发展相当迅速。我国酸奶生产始于京、津等地,以后逐渐发展到上海、广州、西安、武汉、郑州等各大城市。最近二三年来,中小城市也开始生产,且消费量不断增长。

表 1-1 世界各国酸奶消费量
(根据 1978 年国际乳品联合会资料)

国 名	人均年消费量/kg		
	酸 奶	酸奶以外的发酵奶	合 计
保加利亚	31.5	1.2	32.7
芬 兰	7.0	27.4	34.4
挪 威	2.0	7.6	9.6
瑞 典	3.3	19.0	22.3
丹 麦	8.2	7.8	16.0
爱 尔 兰	1.7	—	1.7
英 国	1.9	—	1.9
西 德	6.4	1.4	7.8
荷 兰	15.6	—	15.6
比 利 时	4.4	—	4.4
奥 地 利	1.6	—	1.6
瑞 士	13.6	—	13.2
法 国	—	—	8.0
以 色 列	4.8	10.9	15.7
西 班 牙	—	—	4.7
澳大利亚	1.6	—	1.6
加 拿 大	1.8	—	1.8
美 国	1.2	—	1.2
苏 联	—	6.8	6.8
日 本	0.7	1.8	2.5

资料来源:《中国统计年鉴》2001~2005 年。

20 世纪 80 年代初,北京率先开始商业化酸奶生产,1982 年仅生产酸奶 1 180 吨,但至 1989 年已达到 3.3 万吨,8 年中产量增加了近 30 倍。有关统计显示,近年我国酸奶产量逐年增加,2003 年全国总产量近 23 万吨。虽然目前酸奶在我国乳制品总量中的比重仅为 7%~8%,但近两年其产销量增长速度均高达 40% 以上,大大超过纯奶 30% 左右的增长率,业内人士预测 2012 年后的 5 年内仍是酸奶的大发展时期。目前,酸奶生产已成为我国液态奶中除巴氏杀菌乳以外增长最快的乳制品之一,酸奶在我国大中城市已经相当普及。

近些年,酸奶生产的发展变化主要体现在以下几个方面。

1. 工艺技术及装备水平现代化程度不断提升

改革开放以来,我国不少大中城市引进国外整套酸奶生产线,再加上国内 40 多家乳品制造企业,使酸奶制品的生产工艺技术及生产设备向较高水平发展。从原料奶、运输、储存、净乳、均质、杀菌、发酵到灌装全部工序实现管道化、封闭性生产,且设备及管路的清洗消毒

也实现自动化。由于生产过程的自动控制及采用国际上统一的菌种、发酵技术,使得酸奶制品口味纯正,质量稳定,保存期延长。

2. 酸奶制品系列化

凝固型系列中由于消费者对产品的要求不同而出现脱脂型(含脂率0.1%),低脂型(含脂率0.5%),全脂型(含脂率3.0%以上)及高脂型(含脂率5.0%以上)。圣代系列中因在凝固型酸奶中加入果料(上层、中层或底层),使该类酸奶制品既保持了天然酸奶独具的无色不透明,组织光滑及柔软蛋奶羹状形体,而且又有果料风味。搅拌型酸奶中除了现有草莓型外,还将出现椰子型、香芋型、山楂型及水蜜桃型等以香精为主的果味酸奶系列。在果酱系列中将出现桃酱、苹果酱、哈密瓜酱及复合什锦酱的果酱(料)酸奶。在酸奶搅拌过程中加入腰果、核桃、花生、松子、葡萄干、瓜子仁及芝麻,则又形成了果仁酸奶系列。还有蔬菜系列、蜂产品系列等也将形成新一代酸奶系列制品。此外,冷酸奶(如酸奶冰淇淋、酸奶冰霜及酸奶雪糕)及酸奶系列再加工制作,如酸奶粉、酸奶糕、酸奶酱、酸奶干酪及酸奶饮料也将给人们带来新的感受。

3. 酸奶原辅料组合化

目前酸奶生产主要配料为鲜奶、奶粉、糖及乳酸菌发酵剂,而乳清粉、脱脂奶粉、奶油及酪乳粉的组合加入将使酸奶制品高档化。不久的将来,还会出现以大豆蛋白粉、花生浆、杏仁浆等取代部分奶及奶制品的花色酸奶。为了增加产品的黏稠度和稳定性,稳定剂、乳化剂及其组合使用也将应用到酸奶生产中去,例如果胶、明胶、琼脂、角胶、瓜尔豆胶、羧甲基纤维素、黄原胶、海藻酸钠、单甘酯、蔗糖酯等。香味剂、天然色素等的使用将使酸奶品种增多,色、香、味更趋于自然。在甜味剂的选择上,加蜂蜜、高果糖浆以提高风味的同时,选用蛋白糖、甜蜜素、木糖醇、低聚糖等进行添加,减少了热量的摄入,有些成分也有保健功能。此外,原辅料的组合化还将体现在加入植物(如蒲公英、枸杞子)、食用菌(香菇、灵芝混合菌丝体)、谷物(燕麦粉)、蔬菜(胡萝卜、芹菜)等以形成特殊产品。

4. 奶制品口味、口感多样化

当前大部分酸奶制品主要靠调整甜酸比来满足风味要求,即以甜酸味为主。未来,酸奶将出现多种口味,如鲜果汁味、可可味、酒味、咖啡味、咸味、碳酸味、醋味、葱、蒜味及辛辣味。此外,黏性酸奶、发泡酸奶及均质酸奶也将给人们带来新的口感。功能性酸奶的研制尤其是均质酸奶将因质地绵密、口味清淡、滑爽而很快占领市场。

5. 酸奶产品营养化

在原料乳中添加蛋白质、氨基酸、维生素或矿物质将弥补食物中营养元素的不足,使酸奶营养价值更进一步增加。随着功能食品与酸奶结合推向市场,如加入食物纤维素、低聚糖、胡萝卜素、茶多酚、SOD(超氧化歧化酶)及MT(金属硫蛋白)等将提高酸奶制品的功能特性。另外,选用可合成VB₂、VB₁、烟酸、抗坏血酸的发酵剂菌种,以增加产品的营养价值,这些菌种包括双歧杆菌、嗜酸乳杆菌及明串珠菌等。

6. 酸奶产品包装高档化、多样化

现在市场上酸奶包装多为玻璃瓶装(250 mL, 225 mL)、瓷罐装(250 mL)及塑料杯装(160 mL)。不久将出现酒杯型(350 mL大塑料杯)、迷你型(80 mL型小塑料杯)、砖型纸盒(250 mL, 500 mL, 1 000 mL)及锥型纸盒包装(1 000 mL)。国际上处于领先地位的花样包装,如酸奶与果料分隔式包装(底部相连、食前混合)及礼品盒式包装也已经出现在我国市场上。且在包装及封盖材料选择上也出现了以美观、实用为主的高档化趋势。

第二章 酸奶功能及其新品种

第一节 酸奶的功能性

自 20 世纪初以来,人们对酸奶的营养保健功能进行了深入的研究,并取得了令人瞩目的进展。

一、营养功能

酸奶是以牛乳或乳制品为原料,经均质(或不均质)、杀菌(或灭菌)、冷却后,加入特定的微生物发酵剂而制成的产品。由于乳酸菌的发酵作用,使营养成分比牛乳更趋完善,更易于消化吸收。

(一) 酸奶中的碳水化合物容易消化

牛乳中的碳水化合物以乳糖为主,约占 4.5%,制成酸奶后有 20%~30% 的乳糖转变为乳酸及其他有机酸,如琥珀酸、柠檬酸、醋酸和乙酸等。而产生的酸味物质除供给机体能源外,还有以下营养和生理效果:提高乳的保存性,增加乳的愉快风味,抑制有害微生物的繁殖,促进胃肠蠕动和胃液分泌,提高机体对 Ca、P、Fe 的吸收利用。此外,乳糖还有部分分解为葡萄糖和半乳糖,除供给能源外,半乳糖可参与脑脂和神经物质的合成,有助于婴幼儿脑和神经系统的发育。并且,由于乳酸菌的发酵作用,酸奶中乳糖含量大大降低,对于体内缺少乳糖酶的人来说可安心食用,不会发生饮用牛奶时出现的腹泻、恶心等所谓乳糖不耐症状。

(二) 酸奶中蛋白质易于吸收

牛乳中蛋白质经过乳酸菌的发酵,可变为微细的凝块,且易于消化。酸奶中游离氨基酸含量约比牛奶增加 4 倍,多肽类也有显著增多,从而容易受消化酶作用,易于吸收。如果将酸奶按干物质计算,其中 1% 为乳酸菌菌体细胞,这种菌体细胞的蛋白质含必需氨基酸丰富,营养价值更高。

(三) 胆固醇与脂肪的代谢优于牛乳

酸奶中约含 3% 的脂肪,其脂肪球小,易于消化,脂肪酸高而容易代谢,且必需脂肪酸含量较多。乳脂中的磷脂能促进脂肪乳化,调节胆固醇浓度。另外,酸奶中脂类因受乳酸菌脂酶的作用,不仅产生少量的游离脂肪酸,而且脂肪的构造发生变化,易于消化吸收。

(四) 维生素和矿物质含量丰富

酸奶中含有丰富的脂溶性维生素如 VA、 β -胡萝卜素、VE、VD,而且乳酸菌的发酵作用,可合成大量的 B 族维生素。此外,酸奶中矿物元素 K 和 P 含量较多。

二、保健功能

(一) 缓解乳糖不耐症作用

部分人群饮用牛乳后,出现腹胀、腹痛、肠道痉挛,甚至呕吐或下泻,这是由于他们体内

缺乏乳糖分解酶,不能对牛乳中的乳糖加以分解利用所造成的,这部分人群被称为乳糖不耐症患者。这类病人在婴儿中很少发生,但随年龄增大而增多,且乳糖不耐症与人种有关,有色人种发病率较高。而牛乳经发酵,近 1/3 的乳糖发酵转化成乳酸和其他物质,降低了乳中的乳糖含量,即使有部分乳糖进入人的胃肠,也会继续被乳酸菌产生的乳糖酶降解。有人用含同样乳糖量的牛乳和酸奶对同一组人进行试验,结果有 80% 的人饮用牛乳后有胃胀或下泻现象,而饮用等量酸奶后仅有 20% 的人有此感觉。且喝酸奶后呼出的气体中氢气含量仅为喝牛乳后的 1/3,这说明喝酸奶后进入结肠的未消化乳糖的数量减少是缓解乳糖不耐症的原因之一。

(二) 整肠作用

人类生存在一个充满微生物的环境中,因此,人自出生后肠道就逐渐被各种微生物所占据。这些微生物菌群大致可分为对人体有益的菌群,如乳酸菌、双歧杆菌等;对人体既无害也无益的寄生菌群,如部分大肠菌群;对人体有害的菌群,如致病菌、产毒菌等。这些菌群之间互相拮抗或互相共生,共同构成人类肠道菌群区系。据研究,这些菌群之间的比例随人类的生理状况变化而变化,与人的健康状况关系非常密切。当双歧杆菌和嗜酸杆菌占优势时,肠道 pH 值低,其他菌群受抑制,人的健康状况就会很好。若相反则抵抗力下降,即会出现各种各样的疾病,如腹泻、下痢、腹胀、肠胀气、中毒、肝胃机能下降及组织器官癌变等。人们食用酸奶后,酸奶中的乳酸和菌体物质在肠道内为乳酸菌和双歧杆菌生长提供了适宜的环境,并抑制腐败菌和有害菌群生长繁殖,使肠道菌群趋于正常,故具有整肠作用。因此,经常食用酸奶的人,胃肠道机能健全,不易生病。

(三) 改善便秘作用

酸奶和乳酸菌饮料中的乳酸进入胃肠后,大部分在肠道被中和。进入肠道中的活乳酸菌可大量增殖,产生乳酸、醋酸等有机酸,对肠道产生刺激作用,并可加强肠蠕动,故经常饮用酸奶可使肠道运动加强,减少便秘。如果在酸奶中混以纤维素、蜂蜜及蔬菜等,则对慢性便秘有更好的治疗效果。

(四) 降低胆固醇作用

乳中的抗胆固醇因子是乳清酸、乳糖和钙,酸奶中的抗胆固醇因子增加了羟甲基戊二酸。据 Happne 报告,每人每餐饮用 200 mL 酸奶,一周后血清中的胆固醇含量降低 5% ~ 10%,用大鼠和猪等做的试验也早已得出了同样结果。

(五) 免疫增强作用和抗癌作用

酸奶的整肠作用使肠道嗜酸乳杆菌和双歧杆菌占优势,并形成不利于其他细菌存活的环境。故外来有害菌进入肠道后难以存活,机体的抵抗力也就增强了。同时,肠道内占优势的嗜酸乳杆菌和双歧杆菌对维持机体的免疫力有关。研究表明,当人们免疫力减弱时,肠道双歧杆菌和嗜酸乳杆菌减少,相反则增多。随着年龄的增长,人体肠道内的双歧杆菌和嗜酸乳杆菌减少,免疫力和抗病力下降,癌症发病率上升。因此认为,饮食酸奶,特别是嗜酸杆菌乳和双歧杆菌乳,能提高和维持肠道内正常菌群的数量,具有增强机体抗病力和免疫力的作用。

肠道中的 3 种酶: β -葡萄糖醛酸酶、偶氮还原酶和硝基还原酶,其中任何一种都能将一些前体物转化为致癌物。而具有抗癌性的物质可降低这三种酶的活性,Goldin 等人对人、大鼠、猪等分别做了多次试验,结果均证明饮用酸奶后,动物粪便中这 3 种酶的活性大大下降。

机体内的巨噬细胞对肿瘤细胞的生长有抑制作用。Perdigon 等人研究证明,食用乳酸菌后,对动物体内的巨噬细胞有激活作用,从而起到抗癌作用。关于乳酸菌具有抗肿瘤活性的研究报告很多,其中关于嗜酸乳杆菌和双歧杆菌的抗肿瘤活性的研究报告多于其他乳酸菌。研究结果表明,抗癌的机制是多方面的,甚至乳酸菌死后细胞成分也有抗肿瘤作用。

第二节 酸奶新品种

一、双歧杆菌酸奶

双歧杆菌酸奶是以生鲜牛乳为原料,添加双歧杆菌或内含双歧杆菌的混合菌种进行发酵培养而制成的酸奶产品。

1899 年法国著名的巴斯特研究所 Henry Tissier 博士从母乳营养儿的粪便中分离出一种厌氧的革兰氏阳性杆菌——双歧杆菌 (*Bifidobacteria*),根据其独有的轻度弯曲的末端有分叉的形态,将其命名为双歧杆菌 (*Bacillus bifidus communis*)。Orla-Jensen 于 1919 年将其命名为双歧细菌,并于 1924 年设置了一个独立的双歧杆菌属,但是当时未被接受。直到伯杰氏细菌鉴定手册第 8 版(1974)才将其正式属名列入放线菌目的放线菌科下。至今双歧杆菌属由原来列入的 11 个种已增加至 32 个种。目前国际上公认的能安全应用于食品的 5 种双歧杆菌分别为两歧双歧杆菌 (*B. bifidum*)、青春双歧杆菌 (*B. adolescentis*)、婴儿双歧杆菌 (*B. infantis*)、长双歧杆菌 (*B. longum*) 和短双歧杆菌 (*B. breve*)。

(一) 双歧杆菌的特性

1. 双歧杆菌的形态和生理生化特性

双歧杆菌的细胞呈现多种形态,有短杆较规则形、纤细杆状、具有尖细末端形、球形、长而稍弯曲状、各种分叉形、棍棒状或匙形。单个、链状、V 型、栅栏状排列或聚集成星状。不能游动,无芽孢、荚膜及鞭毛。革兰氏染色呈阳性,美兰染色菌体着色不规则。其典型形态是有分叉的杆菌。但同种不同的菌株,形态也不尽相同。即使同一株菌在不同时期或培养于不同的培养基上,也可能显现不同的形态,这种表型变异是可逆的。

(1) 双歧杆菌的特征

双歧杆菌最初由法国巴斯德研究所的 Henry Tissier 于 1899 年从母乳喂养婴儿的粪便中分离出来,他将其命名为 *Bacillus bifidus communis*。随着对双歧杆菌研究的不断深入,1986 年的伯杰氏系统细菌学手册中双歧杆菌属 24 种,现在已发现 28 种(10 种从人体分离、13 种从温血动物中分离、3 种从自制蜜蜂中分离、2 种从垃圾中分离)。

双歧杆菌菌落光滑、凸圆、边缘完整、奶油色至白色、质地柔软有弹性。双歧杆菌革兰氏染色呈阳性,美蓝等染色菌体着色不均,不耐酸,厌氧,不同的种和菌株对氧的敏感性存在差异。最适生长温度 37~41℃,最低生长温度 25~28℃,最高生长温度 43~45℃,起始生长最适 pH 6.5~7.0,在 pH 4.5~5.0 或 pH 8.0~8.5 以上不生长。过氧化氢酶阴性,但星状双歧杆菌和蜜蜂双歧杆菌例外。双歧杆菌通常不还原硝酸盐。然而,当生长于含有溶解红细胞的培养基时,则可能有还原硝酸盐的作用。吡嗪反应阴性。明胶液化阴性。联苯胺反应阴性。DNA 的 G+C 含量为摩尔分数 55%~67%。

(2) 双歧杆菌的营养需要

人们在进行双歧杆菌生长因子研究时,最初采用的是 Gyorgy 所分离的 *B. bifidum var pennsylvanicus* 菌株,发现 N-乙酰葡萄糖胺是其必需的生长因子,因该菌细胞壁的合成必须有该糖的参与,所以 N-乙酰葡萄糖胺又称双歧因子。人乳中尤其初乳中含有较多的双歧生长因子 I,牛乳中 N-乙酰葡萄糖胺含量较低。Gyorgy 等人研究发现人乳中的双歧因子 I 可分为可透析和不可透析两部分,总活性的 40%~60% 存在于不可透析组分中。

除人乳外,在唾液、泪液、羊水、血液中的黏蛋白中均存在双歧因子 I。

除双歧因子 I 外,还有双歧因子 II,它通常是指蛋白经酶水解或温和酸水解所形成的肽类。酪蛋白酶水解物、肝浸液、酵母提取物或自溶物对双歧菌的生长有促进作用。

泛酰巯基乙胺 (Pantethine) 是某些双歧菌如 *B. bifidum var pennsylvanicus* 的促进因子,蛋白胨、胡萝卜中含有较丰富的泛酰巯基乙胺。

人乳中胞壁质酶含量达 400 mg/100 mL,远高于牛乳中此酶的含量。Kuncewicz 的研究发现直接添加胞壁质酶 (100 mg/L) 并不表现对 *B. bifidum* 生长的促进作用,以胞壁质酶对牛乳进行 37℃、2 h 的保温处理后,其对 *B. bifidum* 的生长有促进作用。

2. 双歧杆菌的代谢及其相关酶类

(1) 双歧杆菌的代谢

双歧杆菌发酵代谢采用了特殊的双歧杆菌支路方法,与同型发酵、异型发酵均有不同。双歧杆菌利用体内果糖-6-磷酸盐磷酸酐酶 (F6PPK),通过特异的“果糖-6-磷酸支路”对葡萄糖进行发酵,这与其他细菌利用醛缩酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶明显不同。双歧杆菌对葡萄糖的发酵可通过 F6PPK 途径和丙酮酸还原成乳酸进行解释,果糖-6-磷酸经由 F6PPK 的作用分解成乙酰磷酸和赤藓糖-4-磷酸,再经由转二羟丙酮基酶 (EC2.2.1.2)、转羟乙醛酶 (EC2.2.1.1)、木酮糖-5-磷酸酶 (EC4.1.2.9) 的顺序作用及 3-磷酸-甘油醛的糖酵解途径转化形成终产物。双歧杆菌分解己糖形成乙酸、乳酸,两者的摩尔比在理论上应为 3:2。但是在双歧杆菌实际培养中两种酸的数量很少符合这一理论比率。Desjardins 等人报道双歧杆菌在牛奶中培养时,产生的乙酸和乳酸比为 0.4:1~3:1,不产生丁酸和丙酸,不生成 CO₂,产生极少的甲酸和琥珀酸。

(2) 双歧杆菌的酶类

α , β -半乳糖苷酶:所有双歧杆菌都含有 α , β -半乳糖苷酶,且酶活力明显高于其他肠道菌。 β -半乳糖苷酶能分解乳糖,用于乳制品加工中,可提高“乳糖不耐症”患者对乳制品的利用率。此外,半乳糖苷酶能降解 β -半乳糖苷寡糖,这种多糖不能被机体利用而可被双歧杆菌消化。

α , β -葡萄糖苷酶:所有双歧杆菌中均存在着 α -葡萄糖苷酶,而 β -葡萄糖苷酶存在于除 *B. bifidum* 或 *B. longum* 的其他双歧杆菌中。最近研究表明,淀粉抑制小肠中的胰淀粉酶,从而成为进入结肠的主要糖源,其水解物可能就是双歧杆菌生长的重要基质。Beverly 以淀粉作为唯一的碳源和能源研究 α -葡萄糖苷酶,结果表明双歧杆菌利用淀粉作为碳源,是由于合成一个或两个 α -葡萄糖苷酶。目前,对 β -葡萄糖苷酶的研究不如 α -葡萄糖苷酶多。

肽酶:生长迅速的双歧杆菌中发现有活力较高的 L-亮氨酸氨肽酶。其作用于蛋白质或多肽的 N 端氨基酸残基,也能水解某些脂肪酸胺类。对双歧杆菌有促生长作用的牛乳蛋白水解物即部分来自肽酶的水解。Nishizawa 认为双歧杆菌等乳酸菌含有磷蛋白磷酸酶,可

分解乳中 α -酪蛋白,形成微细的凝固奶酪脂肪肽和氨基酸等,进而提高蛋白消化率。

与胆酸有关的酶:双歧杆菌能产生结合胆酸水解酶,尤其是甘氨酸胆酸水解酶,使结合胆酸游离,更有效地抑制致病菌生长。

其他:某些双歧杆菌含有 N-乙酰-D-葡萄糖胺酶活力,以含 N-乙酰-D-葡萄糖胺的多糖为底物,参与合成细胞壁。含此酶的双歧杆菌多来源于婴儿,成人则未发现。在某些双歧杆菌体内,则存在微量的 NAD-氧化还原酶、N-亚硝酸降解酶和 SOD 酶,其专门用于降解或吸收某些特殊物质。双歧杆菌中的谷氨酰胺合成酶和谷氨酰胺脱氢酶加强氮的贮留,在氮代谢中起着重要作用。

双歧杆菌中已分离纯化的与糖代谢有关的酶,除上述之外,还有 β -呋喃果糖苷酶、甘露糖苷酶、D-木糖苷酶、D-木糖异构酶等,这些能水解寡糖的酶均是人体所不具有的。

3. 双歧杆菌对人体的生理功能

肠道菌群数量庞大、构成复杂。其中双歧杆菌属、消化链球菌属等专性厌氧菌约占肠道总菌量的 99%,肠杆菌科、肠球菌属等兼性厌氧菌约占 1%。日本学者光冈知足认为,双歧杆菌是对人类整个生命活动有益的肠道细菌。国内刘秉阳通过对长寿老人肠道菌群的研究发现,其肠道双歧杆菌非但没有减少,而是显著增加,这间接表明了双歧杆菌与人类健康长寿有一定的关系。

欧洲食品与饲料菌种协会(EFFCA)对益生菌的最新定义为:益生菌是活的微生物,通过摄入充足的数量,对宿主产生一种或多种特殊且经论证的功能性健康的益处。

双歧杆菌通过改善肠道微生物菌群的平衡而发挥保健功能。而当肠道内有高浓度水平的双歧杆菌时,入侵的病原大肠埃希菌、痢疾志贺菌、伤寒沙门菌、变形杆菌、金黄色葡萄球菌、白假丝酵母菌或内源的腐生菌及条件致病菌等的生长就会受到抑制。机制之一是由于双歧杆菌在肠上皮细胞的黏附与其他细菌形成特异性微生态位,从而产生特异生态效应,形成有益菌屏障,密布于肠黏膜形成细菌生物膜增强肠道菌的定植抗力,抑制肠道病原菌的生长。

(二) 双歧发酵乳生产技术

双歧杆菌在肠道中具有重要生理作用已是人所共知的事实,若发酵乳中含有双歧杆菌,并使其以活菌形式到达肠道,则这类发酵乳制品就能发挥重要的生理作用。现阶段来自人的肠道且对胃液、胆汁有较强耐受性的双歧杆菌是 *B. breve* 和 *B. bifidum*。

这些菌在发酵乳中必须具备下列四个条件:第一,牛乳培养基的双歧杆菌增殖性要好;第二,此菌要有较高的耐受性;第三,这些菌要有一定的耐酸性;第四,产品风味良好。

和第一个条件相关的是在适宜条件下培养双歧杆菌不少于 10^9 cfu/mL。继代培养时,其增殖保持稳定。能制备出这类发酵剂是生产双歧发酵制品的先决条件。耐酸、耐酶的双歧杆菌才能保证在食用后有足够的活菌到达肠道而起生理作用,且双歧杆菌发酵制品不应有异味。如果双歧杆菌在发酵过程中产生的乙酸和乳酸摩尔比超过 1.5,则产品就会有不良风味,人们希望找到产乙酸能力差的双歧杆菌,但目前尚未发现这种菌株,故在双歧杆菌酸奶生产时必须采取措施控制乙酸的生成量。

1. 生产工艺及工艺流程(搅拌型)

如图 2-1 所示。

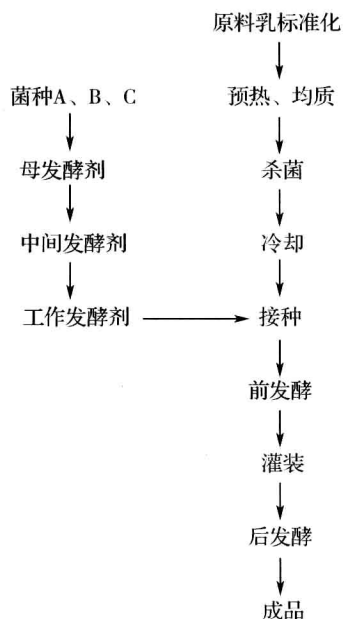


图 2-1 双歧发酵乳生产工艺流程

注：菌种 A、B、C 分别指双歧杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌

2. 操作要点

(1) 母发酵剂的制备(以双歧杆菌为例):将购进的菌种经连续两次转种后,达到活力旺盛时期,接种于牛乳深层锥形瓶培养基中(接种量为 1% ~ 2%),37℃ 过夜培养,观察发酵结果。正常情况是凝乳细腻紧密,然后取样做染色镜检,如无杂菌,则可用于中间发酵剂的制作。接种深层牛乳培养基时,接种环应伸入到试管下部,以防表层空气对厌氧菌生长不利。

(2) 发酵:牛乳经接种后(接种量 6% ~ 10%),于 42℃ 发酵 3 ~ 5 h,后置于 4 ~ 8℃ 进行后发酵。

用单一双歧杆菌可制得酸奶,但选用多菌种发酵可改善产品的风味(异型发酵)。

(三) 双歧杆菌酸奶存在的问题

双歧乳制品的最关键问题是保持在加工后产品和产品保存期间有足够的活菌起生理作用。双歧杆菌在乳制品的储存期间活菌数呈下降趋势。通常双歧杆菌酸奶在 10℃ 能保存一周。如果能保持较好的双歧杆菌生存环境和选择环境适应性较好的双歧菌生产乳制品,则双歧乳制品的储存期可望更长。

现在对双歧杆菌的摄入量虽无确切规定,但一般双歧菌含量应该为 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mL。为了有治疗疾病的效果,双歧杆菌含量应达到 $(1 \sim 6) \times 10^9$ cfu/mL。Rasic 和 Kurmann 认为欧洲的双歧酸奶制品若要有生理作用,要求产品生产后双歧杆菌量达 10^8 cfu/mL,储存一周后双歧杆菌量在 10^7 cfu/mL 以上,消费时双歧杆菌量应在 10^6 cfu/mL 以上。

西欧制作的大部分双歧酸奶 7 d 后双歧杆菌的量多数已在 10^4 cfu/mL 以下。

随着双歧乳制品种类、数量的不断增加,对有关双歧菌制品的许多问题应该法规化、程序化。目前,对双歧菌的摄取量、菌数水平、菌数测定方法尚无标准可循。日本的企业间自行制定的“发酵乳、乳酸菌饮料公平竞争法规”中规定双歧菌的含量不得少于 10^7 cfu/mL。

但目前找出一种对全部双歧菌适用,且对含有其他乳酸菌的混合发酵制品中双歧杆菌测定也适用的简单方法十分困难。双歧杆菌的测定分为非选择培养基和选择性培养基两种方法。厌氧培养时一般选用钢丝棉法和气体填充法,且一般应用非选择培养基。用钢丝棉法进行厌氧培养,在相同培养基上同时进行非厌氧培养,然后观察菌落性状、形态、好氧性发育情况,记录双歧杆菌的数量,此法称为光网法。为了更好地开发研制新型双歧杆菌制品和保证现有双歧杆菌制品的质量,尽快建立双歧杆菌通用的测定方法是十分必要的。

二、嗜酸乳杆菌酸奶

嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)酸奶通常指在高热处理的脱脂乳或全乳中,接种选择培养的嗜酸乳杆菌,培养至其大量出现,充分生成乳酸,致产生凝集后的产品。嗜酸乳杆菌菌株的选择要以能在牛乳中及人的肠管中良好生长为原则。

(一) 嗜酸乳杆菌酸奶的医疗价值

在 1921 年~1926 年期间,有许多关于嗜酸乳杆菌医疗价值的研究报告。这些报告均通过详实数据说明嗜酸乳杆菌如何在人的肠道中繁殖及其对便秘、腹泻及其他肠道疾病的治疗效果。Morey(1954)指出嗜酸乳杆菌能改变肠道中细菌的菌落组成,其变化程度则因菌株个体而不同。菌株选择的试验结果表明只有乳酸菌(*Lactic acid bacteria*)可以耐过胃酸而进入肠道中,引起肠道细菌的改变。

嗜酸乳杆菌作为一种短棒状,革兰氏染色呈阳性反应,单元发酵型的乳酸菌,其在 36~38℃ 环境的牛乳或乳清中,均可很好地生长。且其可以通过竞争性抑制取代肠道中的腐败细菌。

(二) 嗜酸乳杆菌酸奶的制备

嗜酸乳杆菌培养基可由厂家直接购入,培养液通常以杀菌牛乳接种后,于 36~38℃ 温度下培养。大规模生产时将牛乳于 87~90℃ 热处理 10 min,然后冷却至 36~38℃,接种 1%~2% 的嗜酸乳杆菌培养基。接种后的牛乳,保持在 36~38℃ 之间,至少滴定酸度达到 0.75%~0.85% 为止。培养后的成品,需保持在 4℃ 左右。

由于有些消费者不喜欢嗜酸乳杆菌牛乳的风味,生产者只有利用其他乳制品使这种嗜酸乳杆菌培养牛乳以另一种适口性较佳的形式被消费。有一种具甜味、每毫升含嗜酸乳杆菌 500 亿以上的 *Acidophilus* 牛乳是由菌孢悬浮液添加在具有甜味的脱脂牛乳中制成的(Morey,1954)。此菌孢悬浮液是将培养菌液置于适当基质中,离心收集而得。

三、乳糖酶生产的酸奶

在酸奶发酵过程中,只有部分乳糖作为能源被发酵剂菌种利用并转化为乳酸,而那些过量的乳糖可增加酸奶的甜度,却不增加热值。因此,可以通过使用 β -D-半乳糖苷酶(粉状或液状)水解乳糖转为葡萄糖和半乳糖。如果以蔗糖甜度作为 1 进行对照,乳糖和这些单糖的相对甜度对比如下:乳糖 0.4、半乳糖 0.6、葡萄糖 0.7。有人称根据甜度,只需 50% 的蔗糖水解即可。乳糖水解可在原料乳冷藏时进行,也可在原料乳预处理之前 35℃ 左右的条件下进行。其生产工艺流程如图 2-2 所示。

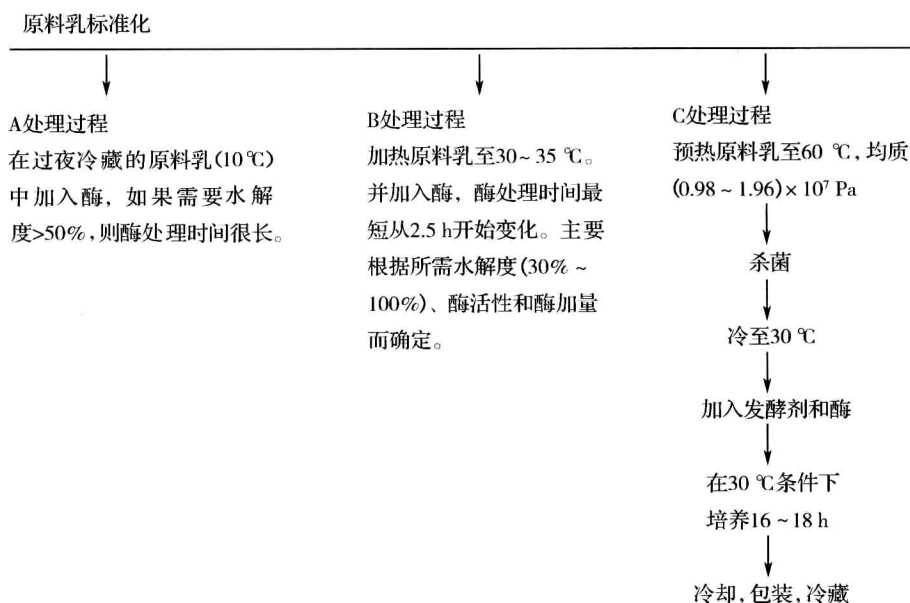


图 2-2 乳糖酶生产的酸奶

减少酸奶中的乳糖含量,可提高它的治疗作用,因此工业化生产乳糖水解酸奶正在研究中。准备工作包括在乳糖水解乳中存在葡萄糖和半乳糖的条件下,提高嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的活性。最近有人研究发现在 β -D-半乳糖苷酶的商业样品中存在某些蛋白分解酶(有可能由于制作中污染造成),并且发现酸奶菌种活性的提高与必需氨基酸的自由化的关系甚于葡萄糖和半乳糖的关系。

利用乳糖水解乳制作酸奶是可行的,但商业化生产成本还太高。固定化酶的使用或许可能提高其经济性。

四、充气酸奶

目前充气软饮料风靡全世界,充气酸奶饮料也相继问世,其优点如下:提高了酸奶的解渴感和爽口感,并促使舌头味蕾形成爽快的刺激感。

充气酸奶可分为液态和固态两种,前者是风味型充气饮用酸奶,而后者须与水混合后缓慢释放 CO_2 ,二者的制作工艺如下。

(一) 液态充气酸奶

液态充气酸奶的生产工艺流程如图 2-3 所示。

(二) 固态充气酸奶

固态充气酸奶的生产工艺流程如图 2-4 所示。

在酸奶中应用碳酸盐具有以下优点:

第一,碳酸盐可中和酸奶中的酸,因此充气酸奶的 pH 接近 7;

第二,尽管可使用多种碳酸盐,但碳酸钙优于碳酸钠,前者由于在水中的溶解速度较慢,所以可缓慢释放出 CO_2 ,否则充气酸奶中的 CO_2 在非常短的时间内释放就会结束,而酸奶口感就会趋于平缓。