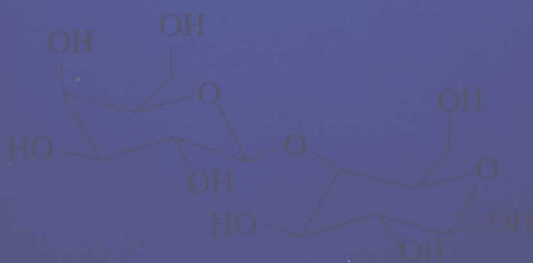


乳品科学与技术

Dairy Science and Technology

陈历俊 主编 骆承庠 主审



中国轻工业出版社

乳品科学与技术

陈历俊 主编

骆承庠 主审



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

乳品科学与技术 / 陈历俊主编. —北京: 中国轻工业出版社,
2007.8

ISBN 978-7-5019-5957-0

I. 乳… II. 陈… III. 乳品工业—新技术 IV. TS252-39

中国版本图书馆CIP数据核字 (2007) 第063106号

责任编辑: 马 妍 张 靓

策划编辑: 李亦兵 责任终审: 唐是雯 封面设计: 刘 鹏

版式设计: 马金路 责任校对: 燕 杰 责任监印: 胡 兵 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街6号, 邮编: 100740)

印 刷: 河北省高碑店市鑫昊印刷有限责任公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2007年8月第1版第1次印刷

开 本: 720×1000 1/16 印张: 24.5

字 数: 493千字

书 号: ISBN 978-7-5019-5957-0/TS·3475 定价: 45.00元

读者服务部邮购热线电话: 010-65241695 85111729 传真: 85111730

发行电话: 010-85119845 65128898 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

61191K1X101ZBW

《乳品科学与技术》编写人员

主 编 陈历俊

副主编 马 莺 任发政

主 审 骆承庠

参编人员 卢阳、姜铁民、隋欣、范丽芳、张雪梅、王建、周伟民、张国钰、那海涛、张玲改、陈历水、乔为仓、林莉、董翠霞、贾士乾

前 言

过去5年即“十五”（2001—2005年）是中国乳业发展最快的时期，乳类产量、乳品加工量和城市居民乳品消费量都保持两位数的年均增长速度，乳业的生产规模和产品质量不断提高，综合生产能力显著增强。

《中国食物与营养发展纲要（2001—2010年）》规划我国到2010年全国主要食物生产总量的安全保障目标乳类为2600万t，增长1倍以上，即人均乳类年摄入量为16kg，其中，城市居民人均年摄入量为32kg，农村居民人均乳类年摄入量为7kg。事实上，到2006年，较2000年乳类人均消费量5.5kg，全国城镇居民平均每人消费牛乳32.02kg，中国人均乳类消费量已逾25kg，已提前完成了2001—2010年发展纲要规划。

“十五”期间，国家政府、地方政府及企业本身在加大乳业产业固定资产投入的同时，前所未有地加大了对乳业科技投入，仅国家科技部与农业部联合启动的国家重大科技专项“乳业重大关键技术研究产业化技术集成示范”乳业专项总投入4.05亿元，其中国家科技攻关投入1.5亿元，带动地方、企业配套2.55亿元。

与此同时，消费者已不再单纯以价格对乳制品进行取舍。品牌、价格与品质的综合作用是决定其最终购买动因。消费者对于高价位的乳制品需求虽然不那么简单坚决，但市场占有率稳中有升，可以预见随着人们生活水平的提高，在品牌和品质的优势下市场需求将会增大。

但与此同时我们还应该看到我们的诸多不足：我国乳类年人均消费量仅为世界平均水平的1/4左右；在一些乳制品消费较高的地区如北京、上海等地，乳制品消费量的增长出现了少有的波动，遭遇到了消费增长的瓶颈；尽管乳制品的价格在提高，但从价格区间看，中档价位的增加较多，平均价格却在下降等并不和谐的现象时有发生，因此，保持中国乳业健康持续的发展成为中国乳业龙头企业及科技工作者必须面对的现实。加大科技投入，强化科技创新，将科技转化为市场，提高产品附加值，增强产品的差异化，提高产品在国内国际市场竞争力是中国乳品工业发展的必由之路。

坚持科学发展观是中国乳品工业必须面对的课题。速度与效益并举、原料与产品市场并重，坚持产品与服务的细分与差异化。总之为了主动适应市场需求，中国乳品行业要努力加快调整产品结构，在大力开发传统乳制品的同时，加快发展乳制品精深加工，提高产品附加值，增强产业的核心竞争力。

中国在乳品科学技术领域落后是不争的事实,基础理论研究薄弱,显然在短期内难以缩短差距;但加强应用技术研究,通过吸收借鉴国际先进研究成果,相信可以在短时间内取得成效。

随着现代科学技术的进步,乳品科学正逐步成为一门动物科学、微生物学、生物化学、营养学、环保科学、现代生物技术及机械科学等学科的综合性学科。但再好的技术只有通过实际生产的应用转化为市场后才会具有真正的生命力。现代化加工新技术和新设备的研究与推广,研究开发提供适合中国人消费的安全、营养、健康的乳制品,为技术转变为市场打下良好基础,势必极大地刺激国内市场需求,促进乳品工业的持续快速的发展,带动我国乳业产业的健康发展。

本书较为全面和系统地介绍了北京三元食品股份有限公司在“十五”期间承担的国家科技部、国家农业部、原国家经贸委、北京市科委、北京市工促局、北京市人事局等共9项相关科研课题,通过专家验收,成果整体达到国际先进水平或国内领先水平,共取得了11项国家发明专利。建成了国内唯一的ESL乳生产技术体系和日产100t的ESL乳生产示范线;首次采用HPLC法测定低乳糖奶中5-HMF含量和色差值评价褐变程度,成功解决了UHT低乳糖褐变以及由于褐变引起的风味变化问题,成为国内首家生产低乳糖乳的企业;优选了10株综合性能较好的益生菌株,并通过了耐药性和遗传稳定性测定的安全实验,达到应用标准;构建了表达人乳铁蛋白的外蛋白酶缺失的毕赤氏酵母 $pep4^-$ 重组菌株,确立了两段发酵工艺法,并完成了基因重组人乳铁蛋白的中试研究。同时,在本书的编著过程中,作者参阅了国内外大量的专著和文献,对国际乳品研究的前沿领域和最新研究成果均有提及和介绍,可为从事乳品加工行业的科研、教学和乳业界的朋友提供借鉴和帮助。

在本书编写过程中,得到了国家科技部、国家农业部、北京市科委、北京市工促局、北京市人事局等的支持和帮助,在此深表感谢。卢阳、张国钰参与了统稿工作。

同时感谢中国轻工业出版社的李亦兵与马妍编辑,是他们严谨的态度与辛勤的劳动保证了本书的顺利出版。

限于作者的水平和能力,书中存在的不妥或错误之处,敬请读者批评指正。

目 录

第一篇 直投式乳酸菌发酵剂的研究	1
第一章 绪论	1
第一节 概述	1
第二节 发酵剂的发展历史	1
第三节 发酵剂菌株	5
第四节 发展前景与研究展望	11
第二章 主要制备技术与内容	16
第一节 概述	16
第二节 技术路线	16
第三节 菌株选育	16
第四节 培养基	20
第五节 增殖因子	22
第六节 高效富集培养	23
第七节 菌体细胞分离技术	28
第八节 冷冻保护介质	29
第九节 冷冻	31
第十节 干燥	32
第十一节 复水	34
第十二节 保藏技术	34
第三章 国内外主要研究进展	35
第一节 国外主要研究历程	35
第二节 我国学者研究进展	36
第四章 直投式酸乳发酵剂的研制	39
第一节 菌种筛选	39
第二节 菌体增殖	40
第三节 浓缩技术	50
参考文献	55
第二篇 加速干酪成熟的研究	59
第五章 绪论	59
第一节 干酪生产的基本工序及其原理	59

第二节	干酪的品质及其影响因素	63
第三节	干酪成熟的生化过程	94
第四节	影响干酪成熟的因素	98
第六章	加速干酪成熟	103
第一节	加速干酪成熟的意义	103
第二节	加速干酪成熟的常用方法	104
第七章	加速干酪成熟的研究进展	108
第一节	添加辅助菌种	108
第二节	添加外源酶	110
第三节	提高成熟温度	113
第四节	其它方法	115
参考文献		123
第三篇	低乳糖牛乳的研究与应用	129
第八章	绪论	129
第一节	乳中主要构成成分	129
第二节	乳糖不耐症及解决措施	134
第三节	低乳糖乳的生产方法	136
第四节	低乳糖乳生产过程中亟待解决的问题	138
第九章	β -半乳糖苷酶对乳糖的酶解效果研究	139
第一节	β -半乳糖苷酶作用于乳糖的机理	139
第二节	β -半乳糖苷酶对乳糖的酶解效果	141
第十章	超高温低乳糖乳的褐变抑制技术	147
第一节	美拉德反应及对乳制品质量的影响	147
第二节	低乳糖乳中5-HMF的抑制技术	153
第十一章	低乳糖乳的临床效果研究	167
参考文献		170
第四篇	膜分离技术与延长货架期(ESL)乳的研究	175
第十二章	膜分离技术概论	175
第一节	膜的定义	176
第二节	膜的发展	176
第三节	膜的分类	177
第四节	膜的基本原理	180
第十三章	膜分离技术在乳品工业中的应用	184
第一节	无机膜	185
第二节	膜分离技术在乳品中的应用	187
第三节	应用实例——延长货架期乳	191

第四节 存在问题	193
第十四章 膜污染控制与清洗	195
第一节 膜污染概述	195
第二节 膜污染的控制	196
第三节 被污染膜的清洗	198
第十五章 延长货架期乳新技术的研究与应用	199
第一节 延长货架期乳微滤除菌技术的研究	200
第二节 延长货架期乳加工技术的研究	206
第三节 高效液相色谱法测定异构化乳糖的研究	210
第四节 延长货架期乳的产业化	212
参考文献	216
第五篇 人乳铁蛋白在毕赤酵母中的表达及基因工程在乳品中的 应用	221
第十六章 人乳铁蛋白在毕赤酵母中的表达	221
第一节 甲醇毕赤酵母高效表达外源蛋白概述	223
第二节 人乳铁蛋白基因在毕赤酵母中的表达	233
第十七章 基因工程在乳品中的应用	245
第一节 基因工程在乳制品加工中的应用	245
第二节 牛乳成分及品质的改善	251
第三节 基因工程在奶牛育种及养殖中的应用	254
参考文献	256
第六篇 益生菌的分离、鉴定和功能特性及应用研究	265
第十八章 绪论	265
第一节 益生菌的发展现状	265
第二节 益生菌存在的问题	272
第三节 益生菌的前景展望	276
第十九章 益生菌	279
第一节 乳杆菌属	280
第二节 双歧杆菌属	281
第三节 益生菌的益生作用	284
第二十章 益生菌的研究与应用	293
第一节 益生菌的分离、培养及鉴定	293
第二节 益生菌的抗性、吸附及定植	298
第三节 益生菌的功能特性研究	301
第四节 益生菌的鉴定、专利申请及安全性检测	310
第五节 益生菌产品的开发与应用	313

参考文献	316
第七篇 夸克干酪的研究	319
第二十一章 绪论	319
第一节 干酪概述	319
第二节 影响夸克干酪品质及产率的因素	322
第二十二章 夸克干酪的研究	329
第一节 不同发酵剂对夸克干酪品质的影响	329
第二节 不同酶添加量对夸克干酪品质的影响	338
第三节 原料乳的不同杀菌方式对夸克干酪品质的影响	343
第四节 凝块不同切割pH对干酪的影响和乳清排放条件的确定	346
第五节 酶添加量、切割pH及后加热处理条件的优化	348
参考文献	354
第八篇 乳源酪蛋白糖巨肽的生物活性及其分离技术	359
第二十三章 乳源酪蛋白糖巨肽的生物活性	359
第一节 国内外乳清生产和利用现状	359
第二节 乳源酪蛋白糖巨肽国内外研究与应用现状	362
第三节 乳源酪蛋白糖巨肽的浓缩与纯化技术	366
第四节 乳源酪蛋白糖巨肽生物活性的应用	367
第二十四章 乳源酪蛋白糖巨肽分离与纯化研究	369
第一节 酪蛋白糖巨肽超滤工艺流程简介	369
第二节 乳源酪蛋白糖巨肽凝胶纯化技术	370
第三节 乳源酪蛋白糖巨肽分子质量和含量的测定	374
第四节 酪蛋白糖巨肽氨基酸组成	376
参考文献	378

第一篇 直投式乳酸菌发酵剂的研究

第一章 绪 论

第一节 概 述

发酵乳制品的制作历史十分悠久,自从20世纪初沙俄诺贝尔生理学和医学奖获得者梅契尼柯夫(Metchnikoff)提出“酸乳长寿说”,一个世纪以来,人们越来越关注酸乳的保健功能和对人体健康的益处。科学实验已证实,乳酸菌对人体健康十分有益,它能维持肠道菌群的微生物平衡,并具有整肠、促进食物营养物质消化吸收、清除血清中胆固醇、抗衰老、延长寿命、防止和降低乳糖不耐症、提高人体对钙、磷、铁的吸收以及增强机体免疫功能等作用。特别是近年来,随着人们生活水平的提高和健康意识的增强,酸乳等发酵乳制品产业在全世界范围内得到了空前迅猛的发展,在我国以乳酸菌活体细胞或代谢产物的高效利用为核心技术的乳酸菌产业方兴未艾,以酸乳和乳酸菌饮料为代表的乳酸菌应用产业呈现飞速增长势头,目前国内乳酸菌产业的总体规模已经突破160亿元人民币,发酵型酸乳的年总产量突破120万t,年产值突破60亿元,且正以40%的速度增长。

与此同时,酸乳制作技术的发展和人们对相关领域的研究也越来越引起人们的重视。作为发酵乳制品制备的关键技术——乳酸菌发酵剂的制备也得到了相应的发展与提高,对乳酸菌发酵剂的品质、特性、种类与功能提出了更高的要求。发酵剂的制备也已从原始的天然发酵剂发展到传统发酵剂、冷冻浓缩发酵剂,直至目前优良的真空冷冻浓缩干燥发酵剂(又称直投式发酵剂, Direct Vat Inoculation, DVI),极好地解决了发酵剂在传代过程中所造成的人力、物力方面的资源浪费,更为重要的是使噬菌体污染、菌种比例失衡、菌株变异等问题得以解决,克服了原始手工制作发酵乳及工业化大生产中可能出现的产品质量不稳定性的难题,极大地推进了发酵乳制品行业的发展。

第二节 发酵剂的发展历史

乳酸菌发酵剂系指为制作发酵乳制品和乳酸菌饮料而调制的特定微生物培养

物, 主要包括嗜热链球菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种或嗜酸乳杆菌、双歧杆菌等乳酸菌菌株。发酵剂的制备是生产发酵乳制品的关键技术之一。

人类使用发酵剂的历史大致经历了经验型发酵剂和选择型发酵剂两个阶段, 其过程如图1-1所示:

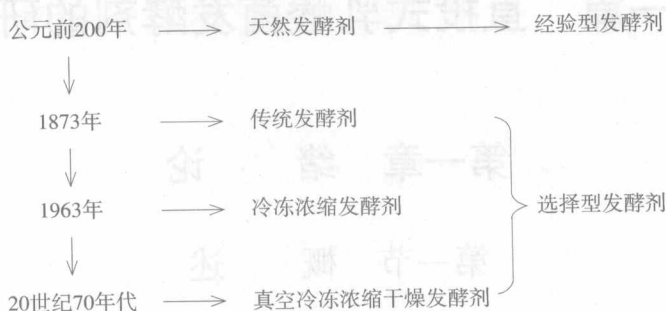


图 1-1 发酵剂的发展历史 (刘会平)

一、经验型发酵剂

在发酵剂出现以前, 牛乳的发酵是依靠原料乳中存在的乳酸菌自然发酵实现的。尽管有些人认为这些乳酸菌可能来自于某些绿色植物, 但这一观点仍不十分确定, 因为在野生型和商业菌株的乳球菌中的乳糖水解酶的发酵类型并不相同 (Farrow, 1980)。有学者 (Garvie, 1984) 认为, 这种差异可能是由于商业菌株在牛乳基质中生长了一段时间后而形成的。发酵乳制品的食用已有几千年的历史, 在那一时期, 人们依赖偶然和随意的细菌菌群去自然酸化牛乳, 并希望去生产预期的发酵剂制品。在细菌学作为一个研究领域出现之前很长的一段时间里, 发酵剂已经被使用。尽管酸化的原因还未可知, 但经验表明, 用少量的酸乳在新鲜牛乳中接种可以重复酸化这一过程, 这种“天然发酵剂”又称经验型发酵剂, 它是利用原料乳自然发酵而制成的液体发酵产物。制作时将已做好的发酵剂 (自然发酵而成的酸乳) 作为种子, 接种在生乳或经加热处理过的乳中以制成酸乳, 它实质上就是利用乳中固有微生物使其定向繁育而形成的产物。因这种方法与古老的传统方法相似, 故用来作为种子的优质酸乳被称为“天然发酵剂”。在古代, 人类尚未认识微生物之前, 一直沿用这种“天然发酵剂”来生产酸乳制品。

据史料记载, 早在公元前200年左右, 埃及、印度和古希腊人已掌握了发酵乳的手工制作方法。在我国, 制作酸乳的历史也很悠久, 后魏贾思勰所著的《齐民要术》中专门记述了酸乳的制做方法, “牛羊乳暂得做, 煎乳四、五沸便止, 以绢袋滤入瓦罐中, 其卧酪暖和人体, 熟乳一升用香酪半匙, 痛搅令散泻, 明旦酪成”。其中所述的“香酪”, 实际上就是一种天然的乳酸菌发酵剂, 此技

术一直沿用到19世纪末。1008年法国开始建厂生产酸乳,1866年美国波士顿的C.A.Fhoi写道,“把牛乳从牛舍中拿来后,经过滤,迅速倒入预先放有少量酸乳的容器中,根据天气的变化放入酸乳的量由一汤匙到半茶杯不等”。因此,从世界各地的应用历史可以看出,早期天然发酵剂的应用十分广泛,它亦为酸乳制品的普遍食用与发展奠定了基础。

综上所述,可认为经验型发酵剂(天然发酵剂)是一种以乳酸菌占绝对优势的多种菌并存的复杂的微生物共生菌系。它的主要优点是菌种成分比较复杂,除乳酸菌外,还有酵母等微生物,发酵产物成分较多,易形成多种风味物质,可赋予产品独特的风味。但它也存在着缺点,由于存在太多不确定的因素,发酵条件控制不严格,易使杂菌大量繁殖,导致发酵失败,产物不易控制,无法得到预期的产品。世代相传,许多风味独特的传统手工乳制品,如干酪、奶油、马奶酒、牛奶酒、奶豆腐、“扣碗酪”等,正是人们通过类似经验的方法,将发酵性能优越的发酵剂代代相传,今天在某些少数民族地区仍然沿用这种加工方法生产传统酸乳制品。

二、选择型发酵剂

对酸化原因的观点认识始于19世纪70年代,1873年,英国的Joseph Lister最先采用稀释技术从自然发酵的酸乳中分离出了第一个纯乳酸菌菌株(*Bacterium lactis*),这个菌株后来被Orla-Jensen命名为乳酸链球菌(*Streptococcus lactis*),现在名称为乳酸乳球菌乳酸亚种(*Lactococcus lactis*ssp.*lactis*)。乳酸菌是原料乳中的天然污染菌,也是乳制品发酵的核心,它的发现为分离、研究和利用乳中的微生物奠定了基础。通过对这一纯乳酸菌菌株的研究,将分离提纯制得的纯乳酸菌经活化、扩培后作为发酵剂来生产酸乳制品,从此开始了选择型乳酸菌发酵剂的研究与应用。之后俄国Kern和法国Tisser分别发现了乳杆菌和双歧杆菌,美国康涅狄格州的考尼(Conn, 1889年),丹麦的斯道克(Storch, 1890年)和德国的维格曼(Wetgman)也曾先后发表了这方面的报道,证实了使用筛选的乳酸菌发酵生产奶油的优势。选择型发酵剂的发展经历了传统发酵剂、冷冻浓缩发酵剂和真空冷冻浓缩干燥发酵剂三个阶段。

1. 传统发酵剂

传统发酵剂一般是指使用者将少量自己保存的菌种,经活化、扩培后制备的普通液体发酵剂,目前我国仍有许多中小企业的发酵剂制备技术还停留在这一水平。由于此种发酵剂含菌量低($10^7 \sim 10^8$ cfu/mL),不能直接用于生产,在生产工艺中一般需要经过菌种活化、母发酵剂、中间发酵剂、生产发酵剂等逐级扩大培养才能用于生产。与天然发酵剂相比,传统发酵剂的优点是菌种纯正、发酵性能稳定,且发酵产物除产生乳酸以外,还含有一定数量的风味物质、维生素、抗菌物质等。但传统发酵剂也存在着明显的缺陷:活菌数较低,所以用量大(一般生

产中质量分数为2%~4%)而导致生产成本低;制作过程繁杂且周期长、保藏期短(4℃, 1~2d),容易污染杂菌和噬菌体而使质量不易控制,从而影响产品品质;需要专门的技术人员,严格的无菌条件,复杂的操作步骤和繁重的体力劳动完成,加大了乳制品厂的人员配置和设备投资。这些弊端的存在,直接导致了酸乳及发酵乳饮料产品质量不稳定和生产效率十分低下,阻碍了我国酸乳及发酵乳饮料产业的快速发展,人们迫切需要寻找出一种高效的发酵剂,从而开始了发酵剂领域更加积极的探索和研究。

2. 冷冻浓缩发酵剂

西方乳业发达国家在19世纪末20世纪初,开始了浓缩型乳酸菌发酵剂的研制,目的在于提高发酵剂的活菌数,制备出能一次性集中制备生产发酵剂或发酵乳制品的发酵剂,以减少制备乳酸菌发酵剂繁杂的工序和操作,防止菌株的变异和噬菌体的污染。1963年浓缩发酵剂进入商品化生产阶段,此种冷冻浓缩发酵剂的活菌数可达到 $10^9 \sim 10^{11}$ cfu/mL。最初制成的冷冻浓缩发酵剂,是将菌体通过浓缩培养、离心等手段,把制成的浓缩悬浮液添加抗冻保护剂,在低于-70℃的低温条件下速冻,再置于低温下深冻保藏而成,其活菌数和活力在六个月内变化不大。由于此种冷冻浓缩发酵剂的保存需要特殊的制冷系统,维持冷冻费用成本较高,运输不方便,需要配备专用冷藏车,对发酵剂中心的依赖性过强,影响其推广,在生产中应用存在一定的困难。

3. 真空冷冻浓缩干燥发酵剂

由于冷冻浓缩发酵剂在贮藏运输方面的缺陷,20世纪60~70年代,浓缩型发酵剂的研究得到了进一步的发展提高,高活力的培养物可以在生产菌种罐中直接使用而无需在乳品厂预先活化,目前在乳制品工业发达国家有相当的生产和应用规模。随着冷冻干燥技术的发展,现可将离心分离后高浓度的乳酸菌悬浮液,添加抗冻保护剂,经冻结,再在真空条件下升华干燥,制成干燥粉末状的固体发酵剂——真空冷冻浓缩干燥发酵剂,又称直投式发酵剂(Direct Vat Inoculation, DVI)或直接使用型酸乳发酵剂,是指不需要经过活化和扩培,能直接应用于生产的一类新型发酵剂,处于技术领先水平的丹麦汉森公司(1988年)研制了这种直投式乳酸菌发酵剂,它具有以下优点:①活菌含量高(单位质量活菌数可达到 $10^{10} \sim 10^{12}$ cfu/g);②保存和管理方便,大大提高了发酵乳制品的劳动生产率和产品质量,保障消费者的利益和健康;③接种方便,只需简单的复水处理,就可直接用于生产;④减少了污染环节,并能够直接、安全有效地生产乳制品,使发酵乳制品的生产标准化,并减少了菌种的退化和污染;⑤发酵剂活力强,接种量相当于传统人工发酵剂的1/1000~1/100,菌株比例适宜;⑥易于进行工艺管理和质量控制,所以直投式乳酸菌发酵剂对于没有调制发酵剂能力的工厂或新建厂来说非常方便。目前我国绝大多数的大型企业都在使用,应用前景十分广阔。

第三节 发酵剂菌株

发酵剂菌株是决定发酵剂特性和用途的主要因素,优良乳酸菌菌株的选择是制备浓缩型发酵剂的基础。乳酸菌是指一群发酵碳水化合物(主要是葡萄糖)、产生大量乳酸的革兰氏阳性球菌和杆菌的兼性厌氧细菌,它们具有如下基本特征:细胞为革兰氏阳性,细胞形态呈球状或杆状,过氧化氢酶为阴性,消耗的葡萄糖50%以上产生乳酸,不形成芽孢,不运动或极少运动,分解蛋白质但不产生腐败物质,脂肪分解能力较弱。在细菌分类上,依据《伯杰氏系统细菌学手册》第9版第2卷(1986),乳酸菌主要包括链球菌属(*Streptococcus*)(指N群和D群的某些菌)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、片球菌属(*Pediococcus*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)和产孢乳杆菌属(*Sporolactobacillus*)六个不同属的一些细菌。另外工业上应用的肠球菌属(*Enterococcus*)和乳球菌属(*Lactococcus*)也包括在内。除片球菌外,以上各属乳酸菌均广泛应用于发酵乳生产中。在这些菌种中,双歧杆菌因其栖生于缺氧大肠里,为专性厌氧性乳酸菌,其余均为兼性厌氧菌或微需氧性乳酸菌。它们的生长要求都十分复杂,经血清学和16SrRNA研究证明,除双歧杆菌外,所有乳酸菌在种系上均有联系。

一、传统构成菌

乳酸菌发酵剂的传统构成菌是由嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)和德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus bulgaricus*)组成,已经延续了上千年。其代谢乳糖的方式为通过菌体细胞透膜酶系统将乳糖运到细胞内,在 β -半乳糖苷酶的作用下,分解成葡萄糖和半乳糖,之后单糖被分解代谢。酸乳是可追溯到数千年以前的古老食品,当时人们缺乏微生物认识,不了解酸乳形成的原因,直到20世纪初才确认了酸乳中乳酸菌的存在。之后,人们一直采用这两种菌制作酸乳,所以称其为传统构成菌。

二、其它构成菌

20世纪80年代,以日本和欧洲为重点,出现了添加双歧杆菌(*Bifidobacterium*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)的发酵乳制品,成为现代优良乳酸菌株的代表。它们主要的功能在于可以克服人体消化道对乳酸菌的破坏,而增加其在肠道内的定殖量,改善产品风味,提高发酵乳制品的保健作用等。例如通过追加嗜酸乳杆菌、双歧杆菌或同时追加这两类菌,可以制成现代新型的功能性酸乳制品,如嗜酸乳杆菌酸乳(*Acidophilus-Yoghurt*)、双歧杆菌酸乳(*Bifidus-*

Yoghurt)、嗜酸乳杆菌-双歧杆菌酸乳(*Acidophilus-Bifidus*-Yoghurt)、特制酸乳(*Special*-Yoghurt)、阿克酸乳(*Aco*-Yoghurt)等。一般情况下,追加的有效菌相必须采用恰当的肠道菌株,用于追加的乳酸菌也可不与嗜热链球菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种组合而单独作为发酵剂。

此外,为了增加产品的营养生理学价值,也可添加能合成维生素的特殊菌株,特别是合成B族维生素的菌,例如合成维生素B₁₂的谢氏丙酸杆菌(*Propionibacterium Shermanii*)、合成维生素B₁₂和维生素B₂的明串珠菌(*Leuconostoc*)、合成烟酸、维生素C和维生素B₁₂的嗜酸乳杆菌等。为了改善产品风味,还可添加双乙酰乳链球菌(*Str.diacetilactis*)或明串珠菌属的产香菌株,这两类菌都能产生双乙酰和3-羟-2-丁二酮等香味物质;为了改善产品的硬度,可添加能产生黏性物质的乳链球菌变种(*Str.lactis* Var.taette);为增强对生长有害物质(特别是青霉素等)的抗性,可添加乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*),这种菌对生长阻碍物质的抗性比嗜热链球菌强得多。

近几年来,对其它乳酸菌株的研究正引起越来越多学者的关注,比如在芬兰,有学者通过从健康人体肠道中分离出鼠李糖乳杆菌,而制成新型功能性发酵乳制品,正日益受到人们的青睐。

三、常用菌株

目前用于工业化生产的乳酸菌发酵剂的常用菌株种类虽千差万别,但都具有酸化、改善质构和产生良好风味的功能,常用菌株如表1-1所示:

表 1-1

乳酸菌发酵剂中常用的菌株(李艾黎)

发酵剂种类	菌种中文名	菌种拉丁文名	发酵乳制品
嗜温型	乳酸乳球菌奶油亚种	<i>Streptococcus cremoris</i>	酸性奶油
	明串珠菌	<i>Leuconostoc cremoris</i>	契达干酪
	乳酸乳球菌乳酸亚种	<i>Streptococcus lactis</i>	夸克干酪
	乳酪乳杆菌	<i>Lactobacillus casei</i>	非它干酪
嗜热型	唾液链球菌嗜热亚种	<i>Streptococcus thermophilus</i>	酸乳、乳酸
	德氏乳杆菌保加利亚亚种	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	菌饮料、埃
	瑞士乳杆菌	<i>Lactobacillus helveticus</i>	门塔尔干酪、
	德氏乳杆菌乳酸亚种	<i>Lactobacillus lacis</i>	瑞士干酪
益生菌	双歧杆菌	<i>Bifidobacterium</i>	益生酸乳或
	嗜酸乳杆菌	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	酸乳饮料

按照发酵剂使用菌种数量的不同,可将发酵剂分为单一和混合型两种发

酵剂。不过习惯上多依据微生物的生长特性,大致分为最适生长温度介于20~30℃之间的嗜温型发酵剂和最适生长温度介于40~45℃之间的嗜热型发酵剂。其中,生产传统酸乳类制品用的嗜热型发酵剂的主要功能是分解乳糖转化为乳酸;而嗜温型发酵剂多能够将乳中柠檬酸代谢产生重要的风味物质,同时释放出CO₂,促进产品质构的形成。实际上,这种应用划分并不严格,还有许多嗜热型发酵剂也可用于嗜温工艺生产中(如嗜热链球菌用在布里干酪和契达干酪生产中)。

四、菌株生长特性

在牛乳中生长的乳酸菌其生长过程通常经历四个阶段:延滞期、对数期、稳定期和衰亡期。在延滞期,细胞增大或变长,但菌体数量并不增加,这主要是由于发酵剂菌种进入新的生长环境时,细菌内的酶系统还需要适应环境以能够代谢培养基中的营养物质。一般而言,延滞期的长短取决于细菌的生理状态、菌龄接种量、培养温度以及培养基等因素,因此,在菌体富集培养时缩短延滞期可以从以上几方面进行研究。在对数期,细胞发生分裂,细胞数以几何级数大量增加,细菌的繁殖速率达到最大,在此阶段,细胞的生长需要提供其丰富的营养、最适生长条件(温度和pH),这一阶段也是在制备直投式发酵剂时特别关键的时期,可以通过添加促生长因子、改进培养方式、除去细胞代谢产物等方面,来延长对数生长期,以获得更高的活菌数。稳定期也称静止期,细菌仍然继续繁殖,生长速率降低的同时伴随着细胞的死亡,此时细胞分裂与细胞死亡达到动态平衡,因此,生长速率为0。在此阶段菌体产量为最高,所以在制备直投式发酵剂时,一般要选取对数期的末期或稳定期的初期,作为发酵控制终点,以进行菌体最高量时的收集工作。细胞之所以达到稳定期不再继续无限生长,主要是由于营养物质的消耗、代谢产物的堆积、生长环境的改变(尤其是pH和氧化还原电位)所致。因此,在实验中,可以采取有效措施解决此类问题,延缓菌体进入稳定期的时间,以有利于大量富集培养。最后,细菌的生长由静止期过渡到衰亡期,在衰亡期细胞增长远远少于细胞的死亡,菌体数量开始下降。因此,衰亡期体系呈负增长状态,在发酵剂的生产中应避免在此阶段收集菌体。

五、共生特性

当将嗜热链球菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种两种微生物进行混合培养时,比分别单独培养时生长情况好、发酵凝乳时间大大缩短,这种现象称为共生。众所周知,嗜热链球菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种的组合菌是乳酸菌发酵剂的典型代表。当两菌共同培养时,乳的凝固时间比单一发酵剂的凝乳时间短,在40~45℃培养,凝固时间只需2~3h,而单一发酵剂则必须经过数小时或更长时间才能达到所需的凝乳状态与酸度。其共生原理如图1-2所示。