

调查研究

发酵奶中乳酸菌菌种检出及活菌计数调查

徐 进 杨宝兰 李志刚 郭云昌 严卫星

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘 要:目的 分析北京市场发酵奶(酸奶)在保质期内的乳酸菌数及乳酸菌菌种的检出率。方法 对 11 个酸奶厂家的 20 种不同酸奶产品进行乳酸菌活菌计数及所用菌种的检验。结果 在保质期间,双歧杆菌和嗜酸乳杆菌检出率分别为 23.08 %和 27.27 %;保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌分别为 72.22 %和 94.44 %。在保质期末,嗜热链球菌的平均活菌数为 3.23×10^6 CFU/ml,保加利亚乳杆菌为 4.17×10^5 CFU/ml,双歧杆菌为 1.12×10^4 CFU/ml,嗜酸乳杆菌为 1.32×10^4 CFU/ml。结论 酸奶中嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的检出率及活菌数均高于双歧杆菌和嗜酸乳杆菌。

关键词:发酵乳杆菌/分离和提纯;酸乳产品;集落计数;微生物

Identification of Lactic Acid Bacteria and Viable Count for Fermented Milk

XU Jin, YANG Bao-lan, Li Zhi-gang, GUO Yun-chang, YAN Wei-xing

(National Institute of Nutrition and Food Safety, China Center for Control and Prevention, Beijing 100021, China)

Abstract: **Objective** To learn more about the qualitative and quantitative detection of lactic acid bacteria from fermented milk in Beijing. **Method** The count of viable lactic acid bacteria and the species of lactic acid bacteria in fermented milk were identified. **Results** The detection rate of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* were 23.08 %, 27.27 %, 72.22 %, 94.44 %, respectively. By the end of shelf-life, the average count of viable *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium* and *Lactobacillus acidophilus* were 3.23×10^6 CFU/ml, 4.17×10^5 CFU/ml, 1.12×10^4 CFU/ml and 1.32×10^4 CFU/ml, respectively. **Conclusion** The identifications and enumerations of viable *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* were more higher than those of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus acidophilus*.

Key words: *Lactobacillus fermentum*/isolation & purification; Cultured Milk Products; Colony Count, Microbial

目前国内发酵奶(酸奶)市场迅猛发展,企业除了在商品的包装、销售和宣传上做文章外,还制造一些新概念寻找市场销售热点,“益生菌酸奶”和标明酸奶中含有多少活菌数是目前厂家的宣传热点。2002 年 FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization) 指出^[1],益生菌是指当人体摄入足够数量时可对人体产生有益的活的微生物。通常所说的益生菌主要就是指双歧杆菌、乳杆菌和嗜热链球菌等乳酸菌。

近年来,除了嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌这些传统使用的乳酸菌菌种用于发酵酸奶外,以双歧杆菌为代表的乳酸菌逐步进入酸奶市场。双歧杆菌属中的某些菌种是非常重要的乳酸菌种属,很多研究资料表明双歧杆菌对人体的健康有许多有益的作用^[2-6]。目前酸奶厂家除了在酸奶中使用传统的嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌外,还添加双歧杆菌和

嗜酸乳杆菌。为了探讨酸奶在保质期内不同菌种的活菌数,本调查于 2007 年在北京超市采集声称含活菌的 11 个酸奶厂家共计 20 种不同的酸奶,对酸奶所使用的菌种进行分离和计数乳酸菌活菌数目。

1 样品与检测方法

1.1 样品

2007 年在北京超市采集 11 个酸奶厂家共计 20 种不同的酸奶,每种酸奶采两份,以两份酸奶中同一乳酸菌菌种活菌数的平均值作为酸奶中该菌种的活菌数,即总样本为 40 份酸奶。20 种酸奶均标注了所使用的菌种名称,其中 11 种明确标注含有益生菌。仅两种酸奶标示了产品中的活菌数,为 10^7 CFU/ml。样品中涉及到的菌种为:双歧杆菌、嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,嗜酸乳杆菌,干酪乳杆菌和鼠李糖乳杆菌,见表 1。

作者简介:徐 进 男 副研究员

通讯作者:严卫星 男 研究员

表 1 20 种酸奶标示含乳酸菌菌种表

酸奶品 种数目	同时含有的菌种
11 种	嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌
2 种	嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、双歧杆菌
5 种	嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌
1 种	鼠李糖乳杆菌
1 种	干酪乳杆菌

1.2 检测指标与检验方法

同一酸奶样本分别在保质前期、保质中期和保质末期分 3 次进行乳酸菌的活菌计数。样本出厂 3

天内定义为保质前期,距离样本保质期结束前 3 天定义为保质末期。在样本的保质前期对其标注使用的菌种进行分离与检出。乳酸菌饮料中检验方法为 GB/T 4789. 35 —2003《食品卫生微生物学检验 乳酸菌检验》和 GB/T 4789. 34 —2003《食品卫生微生物学检验乳酸菌饮料中 双歧杆菌的检验》。

2 结果

11 个酸奶厂家的 20 种酸奶菌种检出及保质期末活菌数(log CFU/ml) 结果见表 2。

表 2 11 个酸奶厂家的菌种分离检出及不同保质期活菌计数(log CFU/ml) 结果

厂家 编号	酸奶品 种数	酸奶标注 使用菌种	活菌计数平均值			检出的菌种
			保质前期	保质中期	保质末期	
1	3 种	嗜热链球菌	7.90	7.26	6.94	3 种酸奶检出嗜热链球菌
		保加利亚乳杆菌	6.56	6.19	5.91	2 种酸奶检出保加利亚乳杆菌
		嗜酸乳杆菌	5.70	5.76	4.44	1 种酸奶检出嗜酸乳杆菌
		双歧杆菌	5.30	3.77	3.70	1 种酸奶检出双歧杆菌
	1 种	鼠李糖乳杆菌	6.58	6.45	6.00	检出鼠李糖乳杆菌
2	3 种	嗜热链球菌	8.67	7.33	6.32	3 种酸奶均检出嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌
		保加利亚乳杆菌	7.47	7.07	6.91	
		嗜酸乳杆菌	5.48	5.13	4.70	1 种酸奶检出嗜酸乳杆菌
		双歧杆菌	5.30	5.34	4.30	1 种酸奶检出双歧杆菌
3	2 种	嗜热链球菌	8.65	7.15	6.41	2 种酸奶均检出嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌
		保加利亚乳杆菌	6.79	6.70	5.55	
		嗜酸乳杆菌	4.57	4.15	3.23	1 种酸奶检出嗜酸乳杆菌
		双歧杆菌	0	0	-	
4	2 种	嗜热链球菌	7.98	7.8	6.39	2 种酸奶均检出嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌
		保加利亚乳杆菌	7.42	6.98	5.54	
		嗜酸乳杆菌	0	0	-	
		双歧杆菌	5.78	5.10	4.15	1 种酸奶检出双歧杆菌
5	1 种	嗜热链球菌	0	-	-	酸奶中未检出活性乳酸菌
		保加利亚乳杆菌	0	-	-	
		嗜酸乳杆菌	0	-	-	
		双歧杆菌	0	-	-	
6	2 种	嗜热链球菌	8.36	6.70	6.10	2 种酸奶均检出嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌
		保加利亚乳杆菌	6.93	5.72	5.48	
		双歧杆菌	0	0	-	
7	1 种	嗜热链球菌	6.30	6.30	6.30	检出嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌
		保加利亚乳杆菌	7.53	4.40	4.60	
8	2 种	嗜热链球菌	8.68	8.30	6.54	2 种酸奶均检出嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌
		保加利亚乳杆菌	5.15	6.40	4.54	
9	1 种	嗜热链球菌	7.70	7.48	6.48	检出嗜热链球菌
		保加利亚乳杆菌	0	0	-	
10	1 种	嗜热链球菌	7.72	7.30	6.30	均检出嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌;
		保加利亚乳杆菌	8.88	6.48	5.00	
11	1 种	乳杆菌	8.77	8.60	7.00	检出干酪乳杆菌

注:“- ”为未检测。

本次采集的 11 个酸奶厂家共计 20 种不同的酸奶中,标示含双歧杆菌的有 13 种,仅从 3 种酸奶中检出双歧杆菌,检出率仅为 23.08 %(3/13)。这些检出有双歧杆菌的酸奶在保质期末平均活菌数为每毫升 1.12 ×10⁴ CFU。

标示含嗜酸乳杆菌的酸奶有 11 种,仅从 3 种酸

奶中检出嗜酸乳杆菌,检出率仅为 27.27 %(3/11)。这些检出有嗜酸乳杆菌的酸奶在保质期末平均活菌数为每毫升有 1.32 ×10⁴ CFU。

标示含保加利亚乳杆菌的酸奶有 18 种,从 15 种酸奶中检出保加利亚乳杆菌,检出率为 83.33 %(15/18)。这些检出有保加利亚乳杆菌的酸奶在保

质期末平均活菌数为每毫升 4.17×10^5 CFU。

标示含嗜热链球菌的酸奶有 18 种,从 17 种酸奶检出嗜热链球菌,检出率为 94.44 % (17/18)。这些检出有嗜热链球菌的酸奶在保质期末平均活菌数为每毫升 3.23×10^6 CFU。

3 讨论

本次调查在北京超市采集含活菌的 11 个酸奶厂家共计 20 种不同的酸奶,这些酸奶均标注了所使用的菌种名称,其中有 11 种酸奶明确标注含有“益生菌”。同时含有嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、双歧杆菌和嗜酸乳杆菌 4 个菌种的酸奶有 11 种。5 种酸奶标注含有嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌。2 种酸奶标注只含有 1 种乳酸菌。

本调查结果表明,酸奶中嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌和双歧杆菌的分离率分别为 94.44 %、83.33 %、27.27 %和 23.08 %;在酸奶保质期末,嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌均保持较高的活菌数;但嗜酸乳杆菌和双歧杆菌在酸奶中的分离率较低,活菌数均较嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌低。

在调查的 11 个酸奶厂家的 20 种酸奶中,标签均未明确注明所使用菌种的来源,而双歧杆菌只标明了属名。由于酸奶产品中菌种来源没有明确标注,由此产生的问题是,难以对酸奶中分离的乳酸菌菌种进行溯源,不能对乳酸菌的安全性问题,即遗传稳定性及耐药性进行有效的监管。

我国酸奶行业目前已进入快速发展的时期,为使该领域健康有序地发展,有必要在以下三个方面加强乳酸菌酸奶市场的质量监督与管理,及时发现可能存在的食品安全问题。在酸奶标签中明确所使用的乳酸菌菌种,即明确产品配方中菌种属名、种名。有必要对乳酸菌酸奶规定其在保质期内的各单一菌种的活菌数。构建我国的乳酸菌菌种安全使用评估体系,对在我国市场上应用的菌种进行安全性评估。目前我国在酸奶使用菌种方面并没有一

个明确的名单,酸奶厂家基本上是购买国外的菌种用于发酵,由此可能会对菌种的管理带来一些困难。为更好地对乳酸菌菌种进行安全管理,一是要建立乳酸菌菌种的分子分型数据库,这是菌种安全使用评估体系的基石,即利用脉冲场凝胶电泳技术将菌种检出到株的水平,监测这些菌株在长期使用过程中的遗传变异。尤其是在遇到涉及菌种的食物安全问题,依靠该技术可进行溯源。该技术亦可对基因修饰的乳酸菌进行识别,防止基因修饰的乳酸菌进入我国市场。二是对在我国市场上使用的乳酸菌菌种的耐药性进行流行病学监测,为乳酸菌菌种的危险性评估提供技术依据。

(志谢:本文得到中国疾病预防控制中心营养与食品安全所罗雪云研究员的审阅与修改,期间三易其稿,谨对罗雪云研究员的严谨治学态度及对本文的大力支持表示感谢。)

参考文献

- [1] Guidelines for the Evaluation of Probiotics in food[Z]. WHO/FAO, 2002.
- [2] GRATZ S, MYKKANE H, OUWEHAND AC, et al. Intestinal Mucus Alters the Ability of Probiotic Bacteria To Bind Aflatoxin B1 In Vitro. Applied and Environmental Microbiology[J]. 2004, 70 (10): 6306-6308.
- [3] KAOUTHER BA, PIETER BREEUWER, PATRICK VERBAARSCHOT. Multiparametric Flow Cytometry and Cell Sorting for the Assessment of Viable, Injured, and Dead Bifidobacterium Cells during Bile Salt Stress. Applied and Environmental Microbiology[J]. 2002, 68 (11): 5209-5216.
- [4] DORA IA, PEREIRA, GLENN R GIBSON. Cholesterol Assimilation by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria Isolated from the Human Gut. Applied and Environmental Microbiology[J]. 2002, 68 (9): 4689-4693.
- [5] GREGOR REID, JANA JASS M, JOHN K, et al. McCormick. Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. Clinical Microbiology Reviews[J]. 2003, 16(4): 658-672.
- [6] DAVID M COLLINS, GLENN R GIBSON. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. American Journal of Clinical Nutrition[J]. 1999, 69 (5): 1052S-1057S.

[收稿日期:2009-03-13]

中图分类号:R155;TS207 文献标识码:C 文章编号:1004-8456(2009)04-0378-03

消息(三)

欧盟农业部长同意销售克隆肉

2009年6月23日在卢森堡举行的欧盟农业部长会议上,27国中有24国农业部长同意在市场上销售克隆肉。这项原则上的决定遭到许多欧盟议员和民间组织的反对。

迄今为止,欧盟市场上还没有出售过真正的克隆肉,而在美国和加拿大早已允许市场上销售由克隆动物生产的奶制品和肉制品,美国食品和药品管理局在6年前就进行检测,并认为食用和出口克隆的猪、牛、羊食品对人体没有危害。欧盟目前还没有针对克隆肉的相应法规。