

# 发酵乳饮料——开菲尔的研究进展

袁勇军<sup>1</sup>, 黄丽金<sup>2</sup>, 陈伟<sup>1</sup>

(1. 浙江万里学院生物与环境学院, 浙江宁波 315100; 2. 浙江省宁波市鄞州区质量技术监督检测中心, 浙江宁波 315100)

**摘要** 对开菲尔粒、开菲尔的营养价值以及开菲尔的保健功能进行了综述, 同时对当前开菲尔研究中的问题进行了讨论, 并对开菲尔的研究及应用前景进行了展望。

**关键词** 开菲尔; 开菲尔粒; 发酵乳饮料

**中图分类号** TS252.54 **文献标识码** B **文章编号** 0517-6611(2009)23-11154-03

## Research Advance on Fermented Milk Beverage Kefir

YUAN Yong-jun et al (College of Biological & Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo, Zhejiang 315100)

**Abstract** The nutritional value of kefir and kefir grain and the health-care functions of kefir were reviewed. The existing problems in the current research of kefir were discussed. The research and application prospects of kefir were predicted.

**Key words** Kefir; Kefir grain; Fermented milk beverage

开菲尔(Kefir)是一种酒精性发酵乳饮料<sup>[1]</sup>,发祥于高加索地区。后来在前苏联, 东南亚、东欧、北欧等地流行, 最近在美国, 加拿大以及日本等国普及。其中, 前苏联的年产量在120万t以上, 而其他各国的产量也在逐年提高<sup>[2]</sup>。在我国又称为牛奶酒、酸牛奶酒、奶酒、开菲尔酒等。它是通过在常温条件下以牛奶或羊奶等动物奶为原料接种有活性的开菲尔粒(Kefir grain, KG)发酵而成的<sup>[3]</sup>。开菲尔不仅具有一般饮料所没有的爽口感和风味, 而且还有独特的营养和保健作用, 对治疗代谢紊乱、动脉粥样硬化、过敏性疾病、胃肠道疾病、癌症、肺结核等都有良好疗效<sup>[4]</sup>。高加索地区的人们大多长寿可能也与长期饮用开菲尔有关。在我国, 开菲尔还未成为一种商品在市场上流通, 因此开发与利用开菲尔有着广阔的市场前景。笔者将从开菲尔的发酵剂、开菲尔中的风味及营养物质以及开菲尔的保健功能对开菲尔的研究进展作一综述。

## 1 开菲尔的特殊发酵剂——开菲尔粒

开菲尔独一无二的口感与风味以及保健价值是由于它具有独一无二的发酵剂——开菲尔粒。开菲尔粒具有不规则的外形, 成珊瑚状或花椰菜花形。干的开菲尔粒一般呈黄色, 直径约1~10mm; 而有活性的开菲尔粒是白色或浅黄色, 其直径为3~20mm或更大。开菲尔粒是一个微生物的共生体系, 其微生物组成和分布情况对开菲尔的风味具有重要影响。

**1.1 开菲尔粒的微生物组成** 在微生物的种类上, 不同来源的开菲尔粒千差万别。但总的来说, 主要含有乳杆菌, 乳球菌, 明串珠菌, 酵母菌以及醋酸菌。最常见的细菌是开菲尔乳杆菌(*Lactobacillus kefir*), 植物乳杆菌(*L. plantarum*), 醋化醋杆菌(*Acetobacter aceti*)<sup>[5]</sup>; 酵母主要有乳酒假丝酵母(*Candida kefir*)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)<sup>[6]</sup>。另外, 不同来源的开菲尔粒的各种微生物的含量也是不同的。波兰曾有人报道, 开菲尔粒中含有乳酸菌 $10^8 \sim 10^9$  cfu/g, 酵母菌 $10^8$  cfu/g<sup>[7]</sup>。Graciela等<sup>[5]</sup>研究了4种不同来源开菲尔粒的微生物组成, 发现它们均含有乳酸菌、酵母菌

和醋酸菌, 其中乳酸菌含量为 $1.5 \times 10^8 \sim 2.1 \times 10^8$  cfu/g, 醋酸菌为 $2.5 \times 10^5 \sim 3.6 \times 10^5$  cfu/g, 而酵母菌的含量相差较大, 少的只有 $1.8 \times 10^7$  cfu/g, 多的达 $2.7 \times 10^8$  cfu/g。

开菲尔的独特微生物组成, 赋予了其许多独特的风味。由于酵母菌和异型乳酸发酵的乳酸菌的作用, 开菲尔中含有一定量的CO<sub>2</sub>, 使开菲尔具有碳酸饮料般的爽口感。Z. B. Güzel-Seydim等<sup>[8]</sup>研究表明, 发酵22hr后的开菲尔中, 含有17.5 μg/g 丙酮酸、1440 μg/g 柠檬酸、6400 μg/g 乳酸、9 μg/g 乳清酸、2.3 μg/g 尿酸、0.08 μg/g 乙醇、26 μg/g 乙醛和24 μg/g 3-羟基丁酮。另外, 还含有醋酸、丙酸、丙酮以及双乙酰等。

不同来源的开菲尔粒的微生物分布也存在差异。Takahiro Toba等研究表明, 对有活性的开菲尔粒, 其外围分布着长短不一的乳杆菌和酵母, 而内部主要是长杆菌<sup>[9]</sup>。Keizo Aribara运用荧光染色的方法研究表明, 马乳酒样乳杆菌(*Lactobacillus kefirifaciens*)分布于整个开菲尔粒, 且随着向内部的深入, 其数量也增大, 而开菲尔乳杆菌(*Lactobacillus kefir*)只是分布于开菲尔粒表面的一小区域<sup>[10]</sup>。国内的张列兵等运用扫描电镜和透射的方法研究了开菲尔粒中的微生物分布情况, 结果表明开菲尔粒表层同时存在乳球菌、乳杆菌和酵母菌, 可能还含有醋酸菌<sup>[11]</sup>。开菲尔粒基质(Kefiran)中有大量不具完整细胞结构的微生物, 这一地区的微生物大量自解, 很难与外界沟通, 因此, 作为发酵剂而言, 开菲尔粒表面的微生物具有更加重要的意义。

不同地区的开菲尔粒的微生物的组成和这些微生物在开菲尔粒中分布的差异, 是造成不同地区的开菲尔在口感和风味上有所区别以及使其显著有别于其他发酵奶的主要原因之一。Beshkova等对发酵剂发酵和用开菲尔粒发酵产生的开菲尔中挥发性芳香化合物(主要是羰基类化合物)的产生情况进行了研究, 结果发现, 虽然发酵剂的组成菌都来源于开菲尔粒, 但用发酵剂发酵产生的开菲尔A中羰基类化合物含量比用开菲尔粒发酵产生的开菲尔B多, 如开菲尔A中乙醛与双乙酰含量分别达18.3 μg/g和1.9 μg/g, 而开菲尔B中只有9.5 μg/g和1.0 μg/g<sup>[12]</sup>。

**1.2 开菲尔粒的化学组成** 开菲尔粒中除了含有多种的微

**作者简介** 袁勇军(1976-), 男, 安徽六安人, 博士, 讲师, 从事食品微生物及生物技术研究。

**收稿日期** 2009-03-11

生物以外,还含有其他化学成分,而且不同的开菲尔粒,它的化学组成也是有差异的。1990年波兰有人报道,有活性的开菲尔粒含干物质10%~16%,其中蛋白质30%,碳水化合物25%~50%<sup>[7]</sup>。阿根廷的Graciela等研究表明开菲尔粒中含有47~66 g/kg蛋白质、78~89 g/kg多糖以及793~838 g/kg水<sup>[5]</sup>。

**1.3 开菲尔粒在发酵过程中的变化** 开菲尔粒在发酵过程中会发生显著变化,表观上表现为其重量的增加以及体积的增大。Graciela等对4种不同来源的开菲尔粒在发酵过程中重量的变化作了研究,结果发现,经过48 hr发酵,它们分别增重0.18、0.20、0.13和0.02 g<sup>[5]</sup>。其原因可能是在发酵过程中开菲尔粒中微生物的增殖和微生物利用乳中营养物质产生多糖等物质在开菲尔粒上累积的结果。但是第4种开菲尔粒增重不明显,可能是由于其上的微生物菌群达不到平衡,如一些微生物的丢失或损伤造成的。开菲尔在储藏过程中,其微生物和化学组成也会有不同程度的改变<sup>[13]</sup>。

## 2 开菲尔的营养成分

**2.1 碳水化合物** 开菲尔中含有的碳水化合物主要有乳糖、半乳糖、葡萄糖以及微生物发酵产生的多糖。一般pH值为4.3~4.5的开菲尔乳糖含量为3.40%~3.70%,而残存的葡萄糖和半乳糖含量极低。这是由于开菲尔粒中含有乳糖非发酵性酵母及肠膜明串珠菌(*Leuconastoc mesenteroides*)只能利用葡萄糖与半乳糖<sup>[14]</sup>。开菲尔粒中的乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)的一些菌能产生一种多糖。此多糖由半乳糖和葡萄糖所组成,它与开菲尔粒的形成有很大的关系,称为荚膜多糖(Kefiran)。Micheli等从开菲尔粒中分离出一株产荚膜多糖菌,经鉴定此菌产生的多糖为Glucogalactan(即Kefiran)它由相同数目的D-葡萄糖与D-半乳糖聚合而成的<sup>[15]</sup>。很多文献报道此多糖具有抗细菌,抗真菌,抗肿瘤<sup>[16]</sup>,增强免疫力<sup>[17]</sup>等活性。但是利用开菲尔粒进行荚膜多糖的工业化生产,不仅存在着许多技术上的困难而且代价高昂。为了解决这个问题,Takahiro等从开菲尔粒中分离出荚膜多糖产生菌*Lactobacillus Kefiranofaciens*,并经反复诱变,筛选出一株高产菌株KF-75<sup>[18]</sup>。1999年,他继续将*L. Kefiranofaciens* KF-75与酵母混合发酵,发现用3 L的发酵罐发酵6 d, KF-75纯种发酵产生1 880 mg/L荚膜多糖,而KF-75与戴尔有孢圆酵母(*Torulasporea delbrueckii*) TD-1626混合发酵,产率最大,达2 380 mg/L,表明工业生产荚膜多糖是完全可行的<sup>[19]</sup>。Benjamas等也有类似的报道<sup>[20]</sup>。

**2.2 蛋白质与氨基酸** 国内外对开菲尔发酵及成熟过程中蛋白质变化这一问题的研究甚少。Meriainen研究发现,在开菲尔发酵及成熟过程中蛋白质发生变性和分解,游离氨基酸如脯氨酸,亮氨酸,赖氨酸,鸟氨酸,组氨酸等有显著增加,这可能是乳酸菌、醋酸菌和(或)酵母菌作用的结果<sup>[14]</sup>。Vass等通过胃蛋白酶体外消化试验表明,开菲尔等发酵奶中非蛋白质氮以及游离氨基酸的含量比普通牛奶的多<sup>[21]</sup>。Guzel-Seydim-ZB等比较了普通牛奶、酸奶以及开菲尔中一些氨基酸的含量,结果表明开菲尔比普通牛奶和酸奶含有更多的苏氨酸、丝氨酸、丙氨酸以及赖氨酸,而这3种产品中含有的甲硫氨酸和半胱氨酸的量并没有太大区别<sup>[22]</sup>。

另外,由于开菲尔中含有少量CO<sub>2</sub>,这使得其凝乳呈精细薄片状,这种凝乳结构更易于人体消化吸收<sup>[14]</sup>。因此,它是一种优良的婴幼儿及老年人的营养食品。

**2.3 维生素与矿物质** 开菲尔中含有丰富的B族维生素,如维生素B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub>以及叶酸等。据报道<sup>[14]</sup>,开菲尔粒中的醋酸菌在代谢时可合成V<sub>B2</sub>与V<sub>B5</sub>,而酵母在发酵过程中可合成V<sub>B1</sub>、V<sub>B2</sub>和V<sub>B12</sub>。孙天松等<sup>[2]</sup>测定了用开菲尔粒发酵前后奶中维生素B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>和B<sub>6</sub>的含量,结果发现,发酵后开菲尔中的这些维生素的含量都有所增加,V<sub>B1</sub>增加6.55%,V<sub>B2</sub>增加6.11%,V<sub>B6</sub>增加35.08%。

开菲尔中含有大量的钙、镁、磷等矿物质。开菲尔的低pH值环境有利于人体对钙的吸收,而且钙与乳糖结合形成低分子可溶性物质,这也促进了人体对钙的吸收。在乳酸的存在下,其他的矿物质的利用性也可得到改善<sup>[1]</sup>。关于这方面的进一步研究的报道比较少。

## 3 开菲尔的保健作用

开菲尔作为一种传统发酵乳饮料受到普遍关注,这和它特殊的保健作用是分不开的。国内外有关专家对其保健功能和生物活性物质作了许多研究,并取得了一定的进展。

**3.1 改善胃肠道菌群** 成品开菲尔中含有大量活的乳酸菌及酵母菌。人体长期饮用开菲尔后,这些活菌会定居于人体肠道内,成为肠道优势菌,从而抑制病原菌及肠道寄生菌的侵入增殖<sup>[23]</sup>;另一方面,乳酸菌能生成Nisin等抗菌物质,对肠道病原菌也有抑制作用。Ryan MP等从开菲尔粒中分离出1株乳酸菌*Lactococcus lactis* DPC3147<sup>[24]</sup>。该菌能产生一种具有广谱抗菌特性的细菌素,这种细菌素具有热稳定性强,特别在低pH值条件下热稳定性良好的特点。因此,即使在加热条件下,开菲尔可能也具有有良好的抗菌活性。

**3.2 抑制肿瘤生长** Liu JR等研究了开菲尔对小鼠中肿瘤生长情况的影响,结果表明,口服开菲尔对接种肉瘤180肿瘤细胞的小鼠中的肿瘤的生长抑制率达64.8%,而且口服开菲尔的小鼠中apoptotic肿瘤细胞裂解<sup>[25]</sup>。有很多文献报道,开菲尔中具有这种抑制肿瘤的活性物质为荚膜多糖<sup>[16]</sup>。

**3.3 缓解压力** 现代生活中,每个人都承受着不同程度的压力。压力刺激压力激素(如皮质素、去甲肾上腺素等)的分泌,抑制了免疫应答系统的正常运作,导致人体感染各种疾病的机率增加,癌症的患病率也升高。Shigeru等研究表明,开菲尔中含有1,2-甘油二酯,它能去除压力激素对免疫应答系统的抑制作用,同时它含有的脂质能消除皮质醇对人体的不良影响<sup>[26]</sup>。从开菲尔粒中分离得到的*L. kefirifaciens* GKL-28分泌的荚膜多糖也能降低人体皮质醇和去甲肾上腺素的分泌量。

## 4 问题与展望

目前,对开菲尔的研究取得了一定的进展,但是还有很多问题有待于进一步解决。过去对开菲尔功能特性的研究,都是通过体外试验或动物试验来进行的,并没有进行真正的人体试验。而且开菲尔的组分、特性、口味在很大程度上受到原料乳、开菲尔粒及培养条件等因素的影响。因此,不同地区生产的开菲尔是不同的,从某种意义上可以说,开菲尔是一种乳饮料的总称。Wszolek等曾用3种不同的乳(绵羊

奶,牛奶,山羊奶)来发酵生产开菲尔,发现3种类型开菲尔的凝固特性,口味都是不同的。绵羊奶的凝固特性最好,牛奶的其次,山羊奶的最差;牛奶与绵羊奶生产的开菲尔口味基本相似,而山羊奶产的开菲尔口味不如前二者<sup>[27]</sup>。开菲尔粒中的菌群非常复杂,目前对开菲尔粒研究还不够,因此很难控制整个发酵过程,生产的开菲尔质量也是不稳定的,对开菲尔的研究带来了许多困难。

为了解决传统开菲尔发酵过程不易控制的问题,Beshkova等研究了纯培养发酵生产的开菲尔的特性,发现开菲尔A(同时添加乳酸菌与酵母菌的纯培养)有很强的酵母味,温和的酸味;开菲尔B(发酵时先添加乳酸菌,至pH=4.7时再添加酵母菌)粘稠度比开菲尔A大,质地致密,有独特的酵母香味以及爽口感<sup>[28]</sup>。而传统的开菲尔粒发酵的开菲尔C质地类似于奶油,但酵母味较弱,也没有明显的爽口感。因此,利用纯培养进行开菲尔的工业化生产是将来的一个发展方向。但是,目前使用纯培养发酵生产的开菲尔多使用乳糖发酵性酵母,而且对肠膜明串珠菌不甚重视,也没有考虑醋酸菌的作用,这使得开菲尔成品中乳糖的降解率以及葡萄糖和半乳糖的残存量近似于普通酸奶,失去了传统开菲尔的风味,因此,如何利用现代工艺生产出具有传统特色的开菲尔,仍需要继续深入研究。

同时传统开菲尔为新型开菲尔型饮料的开发提供了思路。将开菲尔粒接种于果汁、果肉、草药提取物以及花粉中发酵生产开菲尔型饮料,能使草药及花粉的有效成分更易于被人体吸收,产品将具有口味独特、营养丰富等特点,这是将来开菲尔发展的另一个重要方向。此外,目前对开菲尔中的生物活性物质的研究也还远远不够。因此,随着对开菲尔的研究不断深入,开菲尔将具有更加广阔的前景。

#### 参考文献

- [1] 金世琳. 古老而新型的酒精性发酵乳饮料——开菲尔[J]. 中国乳品工业, 1999, 27(2): 18-23.
- [2] 孙天松, 鲁律, 利克, 等. Kefir的初步研究[J]. 乳品工业, 1998, 27(1): 27-28.
- [3] 余东震. 一种新型发酵乳——Kefir[J]. 食品工业, 1999(1): 25-26.
- [4] FARNWORTH E R. Kefir: From folklore to regulatory approval[J]. Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Food, 1999, 1(14): 57-68.
- [5] GARROTE GRACIELA L, ABRAHAM ANALIA G, DE GRACIELA L. Antoni. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains[J]. Journal of Daily Research, 2001, 68: 639-652.
- [6] MOTAGHERI M, MAZAHARI M, MOAZAMI N, et al. Short communication: Kefir production in Iran[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 1997, 13: 579-581.
- [7] 赵琦, 陆苏丹. 波兰的 Kefir 生产[J]. 上海奶牛, 1992(2): 34-35, 40.
- [8] GÜZEL-SEYDİM Z B, SEYDİM A C, GREENE A K, et al. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2000, 13: 35-43.
- [9] TAKAHIRO TOBA, KEIZO ARIHARA, SUSUMU ADACHI. Distribution of microorganisms with particular reference to encapsulated bacteria in kefir grains[J]. International Journal of Food Microbiology, 1990, 10(3/4): 219-224.
- [10] KEIZO ARIHARA, TAKAHIRO TOBA, SUSUMU ADACHI. Immunofluorescence microscopic studies on distribution of *Lactobacillus kefirifaciens* and *Lactobacillus kefir* in kefir grains[J]. International Journal of Food Microbiology, 1990, 11(2): 127-134.
- [11] 张列兵, 苑伍申, 程涛, 等. 开菲尔粒表面超微结构及微生物在开菲尔粒表面分布的研究[J]. 中国乳品工业, 1998, 26(1): 14-15, 42.
- [12] BESHKOVA D M, SIMOVA E D, FRENGOVA G I, et al. Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures[J]. International Dairy Journal, 2003, 13(7): 529-536.
- [13] GARROTE G L, ABRAHAM A G, DE ANTONI G L. Preservation of kefir grains, a comparative study[J]. Lebensmittelwiss Technol, 1997, 30: 77-84.
- [14] 张列兵. Kefir的营养特性及保健作用[J]. 中国乳品工业, 1997, 25(3): 36-38.
- [15] MICHELI L, UCCELLETTI D, PALLESCI C, et al. Isolation and characterization of a rosy *Lactobacillus* strain producing the exopolysaccharide kefiran[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 53: 69-74.
- [16] CEVIKBAS A, YEMNI E, EZZEDENN F M, et al. Antitumoral antifungal activities of kefir and kefir grain[J]. Phytother Res, 1994, 8: 78-82.
- [17] MITSUGU MUROFUSHI, JUNICHIRO MIZUGUCHI, KAGEAKI AIBARA, et al. Immunopotentiative effect of polysaccharide from Kefir grain, KGF-C, administered orally in mice[J]. Immunopharmacology, 1986, 12(1): 29-35.
- [18] TAKAHIRO MITSUE, KUNIHARU TACHIBANA, TOSHIO HARA, et al. Isolation of kefir-producing lactic acid bacteria from kefir grain and improvement of kefir productivity[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1998, 76(1): 447-450.
- [19] TAKAHIRO MITSUE, KUNIHARU TACHIBANA, YUSAKU FUJIO. Efficient kefir production by a mixed culture of *Lactobacillus kefirifaciens* KF-75 and yeast strains[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 1999, 77(3): 99-103.
- [20] BENJAMAS CHEIRSILP, HIROSHI SHIMIZU, SUTEAKI SHIOYA. Enhanced kefir production by mixed culture of *Lactobacillus kefirifaciens* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Biotechnology, 2003, 100(1): 43-53.
- [21] MARCELA ZUBILLAGA, RICARDO WEILL, ERIC POSTAIRE, et al. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases[J]. Nutrition Research, 2001, 21: 569-579.
- [22] GUZEL-SEYDİM Z B, SEYDİM A C. Comparison of amino acid profiles of milk, yogurt and Turkish Kefir[J]. Milchwissenschaft, 2003, 58(3/4): 158-160.
- [23] OTA A. Protection against an infectious disease by enterohaemorrhagic *E. coli* O-157[J]. Medical Hypotheses, 1999, 53(1): 87-88.
- [24] RYAN M P, REA M C, HILL C, et al. An application in cheddar cheese manufacture for a strain of *Lactococcus lactis* producing a novel broad-spectrum bacteriocin, lacticin 3147[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62: 612-619.
- [25] LIU J R, WANG S Y, LIN Y Y, et al. Antitumor activity of milk kefir in tumor-bearing mice[J]. Nutr Cancer, 2002, 44(2): 183-187.
- [26] SHIGERU KABAYAMA, KAZUHIRO OSADA, HIROFUMI TACHIBANA, et al. Enhancing effects of food components on the production of interferon  $\beta$  from animal cells suppressed by stress hormones[J]. Cytotechnology, 1997, 23: 119-125.
- [27] WSZOLEK M, TAMIME A Y, MUIR D D, et al. Properties of kefir made in scotland and poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures[J]. Lebensmittelwiss Technol, 2001, 34: 251-261.
- [28] BESHKOVA D M, SIMOVA D E, SIMOV Z I, et al. Pure cultures for making kefir[J]. Food Microbiology, 2002, 19: 537-544.