

天然食品防腐剂乳酸链球菌素 (Nisin) 在低温肉类食品中的应用

■ 李克柱 (浙江银象生物工程有限公司 浙江 317200)

低温肉制品是指经过巴氏消毒(Pasteurization)的肉制品,其杀菌温度一般是使其中心温度达到68~72℃。由于杀菌温度低,对产品的营养成分、组织结构以及色泽等方面破坏很小,因而产品营养价值丰富、口感好而倍受消费者喜爱,也是当今肉制品发展的一大趋势。通过巴氏杀菌,可以将大多数微生物和旋毛虫都杀死,如金黄色葡萄球菌、结核杆菌等。但仍有许多微生物不能杀死,如各种芽孢等,因此,这些产品需要进行冷藏贮存销售。但在我国,由于大多数的肉类加工企业设备、卫生环境以及在贮存销售等方面都还相对落后,还没有形成一条完整的冷链体系,因而产品的保质期就很短。其实,我国大多数肉类加工企业生产的低温肉制品的杀菌温度一般都控制在80~90℃左右,并非严格意义上的低温肉制品,一些中小型企业到了夏天,为了延长产品的保质期,甚至杀菌的温度会更高,特别是在121℃下长时间受热时,肉中含有的必需氨基酸会遭到严重破坏,肉中蛋白质的营养价值就会大大降低。

为了达到更长的货架期,有必要在低温肉制品中适当添加一些防腐保鲜剂。随着人们对食品安全意识的增强和提高,特别是肉类食品的安全越来越受政府和老百姓的关注,肉制品中贮藏保鲜添加剂也必然将向天然、绿色的方向发展,这也是食品工业发展的一个必然趋势,这些添加剂将逐步或部分替代现在使用的多种化学合成添加剂。下面我们将介绍一下关于乳酸链球菌素及在低温肉制品中的应用情况。

1 乳酸链球菌素(Nisin)介绍

乳酸链球菌素(Nisin)是由乳酸链球菌发酵而成,是一种多肽抗菌素类物质,也是世界公认的一

种安全的天然生物性食品防腐剂和抗菌剂。

1.1 乳酸链球菌素(Nisin)的分子结构

Nisin分子由34个氨基酸残基组成,分子式为 $C_{143}H_{228}N_{42}O_{37}S_7$,分子量为3510道尔顿。Nisin分子结构中包含5种稀有氨基酸即ABA、DHA、DHB、ALA-S-ALA和ALA-S-ABA,它们通过硫醚键形成五个内环,其活性分子常为二聚体或四聚体。二聚体分子量为7000道尔顿,四聚体分子量为14000道尔顿。经过几十年的研究,人们已发现Nisin分子有6种类型,它们分别是A、B、C、D、E、Z,其中以NisinA和Z两种类型的研究最为活跃。NisinA与NisinZ的差异仅在于氨基酸顺序上第27位氨基酸的种类不同。NisinA是组氨酸(His),而NisinZ是天门冬酰胺(Asn)。资料表明,同样浓度下NisinZ的溶解度和抗菌能力都比NisinA强。

1.2 溶解性与稳定性

Nisin是一种白色或灰白色的粉末,使用时需溶于水或液体中。Nisin的溶解度主要取决于溶液的pH值,在pH值较低的情况下,溶解性较好。其溶解度随pH值的降低而升高,pH5.0时溶解度为4.0%,pH为2.5时溶解度为12%。Nisin在中性和碱性条件下几乎不溶解,所以在应用时,一般先用0.02M盐酸溶解,或用蒸馏水溶解后再加入到食品中。Nisin的稳定性主要取决于温度,pH值,基质等因素。Nisin在酸性条件下呈现最大的稳定性,随着pH的升高其稳定性大大降低。Nisin的稳定性也与溶液的pH值有关。如Nisin溶于6.5的脱脂牛奶中,经85℃巴氏灭菌15分钟后,活性仅损失15%。当Nisin溶于pH=3的稀盐酸中,经121℃、15分钟高压灭菌仍保持100%的活性,在pH为9.8时其活力损失超过90%。在一定温度范围内,随着温度的升高,它的活性丧失增加。当Nisin加入到食品

中,则受到介质的保护,一些大分子食物如牛奶、肉汤等可使其稳定性大大增强。另外, Nisin 的稳定性还与热处理时间、食品保藏的温度及时间等有关。Nisin 的耐酸、耐热性能优良。

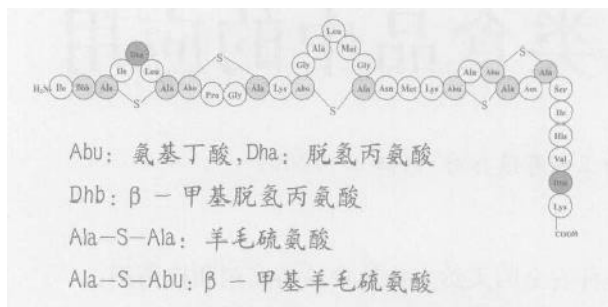


图1乳酸链球菌素(Nisin)的分子结构

1.3 高效

只要添加剂几万至几十万即可对革兰氏阳性菌具有强烈抗菌活性,尤其能有效抑制梭菌和芽孢杆菌这些能耐受低温灭菌的细菌及其孢子。能有效的抑制许多引起食品腐败的革兰氏阳性菌生长、繁殖,如乳酸杆菌、明串珠菌、小球菌、葡萄球菌、李斯特菌等,特别对耐热、产芽孢的细菌如芽孢杆菌、肉毒梭菌及李斯特氏菌有强烈的抑制作用,是一种安全、无毒、高效、无副作用的天然食品防腐剂,并具有良好的溶解性和稳定性。

早期的研究认为, Nisin 一般对霉菌、酵母菌和 G^- 菌是无效的,但近期的研究表明,在一定条件下,如冷冻、加热、降低 pH 和 EDTA、柠檬酸盐等处理,一些 G^- 菌(如沙门氏菌、大肠杆菌、假单胞菌等)对 Nisin 敏感。

1.4 安全

乳酸链球菌素对蛋白酶特别敏感,进入人体后可被消化道 α -胰凝乳蛋白酶降解为多种氨基酸,可吸收,无残留,不产生抗药性,不影响人体益生菌,与其它抗生素不产生交叉抗性。通过病理学家研究以及毒理学实验证明 Nisin 是安全的, LD_{50} 为 7000mg/kg,属实际无毒级。1994 年,FAO/WHO 规定其 ADI 为 33000IU/kg。

目前世界上已有 60 多个国家和地区得到广泛使用,欧盟规定其编号为 E234,美国认定其为公认安全物质(GRAS)。英、法、澳等世界上许多发达国家对 Nisin 在食品中添加量不限,成为食品防腐剂中的一个特例。在中国,乳酸链球菌素被批准用于罐头食品、植物蛋白食品、乳制品、肉制品。

1.5 天然、绿色

Nisin 是乳中存在的一种天然成分,千百年来被人们食用未见毒性问题;其生产菌种从奶中分离,采用发酵方法获得产物,物理方法提取,没有化学反应过程。

乳酸链菌肽可以满足人们对健康食品、安全食品的需求。符合国家农业行业标准绿色食品《食品添加剂使用准则 NY/T392 - 2000》。绿色食品、有机食品是世界食品工业发展的趋势,食品防腐剂的天然化亦成为这一趋势的必然要求。

1.6 作用机理

乳酸链球菌素对 G^+ 菌营养细胞和芽孢有不同的抗菌机理。乳酸链球菌素对营养细胞的抗菌机理有不同的看法。一种观点认为,乳酸链球菌素吸附于细胞膜上,可以抑制细胞壁中肽聚糖的生物合成,使细胞膜和磷脂化化合物的合成受阻,导致细胞内物质外泄,引起细胞裂解。另一观点认为乳酸链球菌素的抗菌机理与 DHA 和 DHB 密切相关,因为乳酸链球菌素中的 DHA 和 DHB 能够与敏感菌株细胞膜中某些酶的巯基发生作用,释放细胞质,造成敏感细胞裂解。Nisin 对芽孢的作用是在其萌发前期及膨胀期破坏其膜,以抑制其发芽过程。

1.7 产品功效

乳酸链球菌素能有效抑制引起食品腐败的细菌和孢子,延长食品货架期;同时又是一种食品品质改良剂,可降低食品灭菌温度,缩短食品灭菌时间,节省能耗,节省工时,降低生产成本,提高食品口感,使食品保持原有风味,减少营养破坏,延长食品保藏时间,还可减少或部分取代某些化学合成防腐剂,社会效益显著。

尤新司长在浙江银象生物工程有限公司和中科院微生物研究所共同承担的国家“九五”攻关成果鉴定会上说:“Nisin 的问世,最重要的贡献是解决了短时间低温灭菌的难题,并从根本上改善了食品的口味。”

1.8 经济效益分析

1.8.1 添加 Nisin 后增加成本

按照 150ppm 的添加量,每吨产品应添加 Nisin 0.15kg,设定 Nisin 单价为 1500 元/kg,添加 Nisin 后平均 1 吨增加成本为 0.15kg/吨 $\times$ 1500 元/kg = 225 元。

1.8.2 降低返货的成本

我们通过在许多肉类加工企业的实际应用表明:添加Nisin后可以延长产品的货架期,在产品的保质期时间范围内,让返货降低15%左右。如按日产1吨肉制品计算,平均返货为15%,即日返货为150kg,返货平均按8元/kg成本计算,那么每天的返货成本为150kg×8元/kg=1200元。

1.8.3 每吨产品 Nisin 创造的经济效益

返货成本Nisin成本=1200元-25元=975元,不但降低了成本,还加强了质量保证体系。

1.9 国外技术进展情况

1928年:Rogers 首先发现;

1933年:分离出这种物质;

1944年:Mattick 证明了该物质可以抑制许多G⁺菌并命名为Nisin;

1951年:用作食品防腐剂,成功地控制了肉毒梭菌引起的干酪的膨胀腐败;

1953年:Nisin作为商品进入市场;

60年代:英国 Aplin & Barrett 公司实现工业化生产;

1969年:FAO/WHO 确认可作为食品防腐剂。

1.10 国内技术进展情况

1989年:中科院微生物所在国家自然科学基金支持下,对乳链菌肽进行基础研究;

1992年:我国卫生部批准乳链菌肽用作食品防腐剂;

1993年:中科院微生物所与浙江银象生物工程有限公司合作进行“八五”攻关中试;

1996年:中科院微生物所与浙江银象生物工程有限公司合作进行国家“九五”攻关;

1998年:国家颁布参照浙江银象生物工程有限公司企业标准制定的乳链菌肽国家行业标准(QB2394-98);

2000年:乳酸链球菌素通过国家科技部专家验收;

2002年:中科院微生物所与浙江银象生物工程有限公司合作进行国家“十五”攻关;

2004年:乳酸链球菌素高技产业化示范工程被列入国家高技术发展规划。银象生物建设产业化新厂,规模全球第一,全面投产。

2 乳酸链球菌素在低温肉类食品加工中的应用

2.1 使用方法及用量

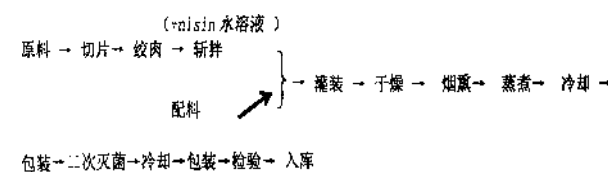
用蒸馏水或冷开水配成5%的溶液,再加入食品中充分混匀,可采用分级扩大法,以达到均匀混合的目的,并可和其他食品防腐剂复合使用,nisin纯品参考用量为0.1~0.2g/kg。复合型nisin参考用量为1~1.5g/kg。

2.2 Nisin在低温肉类制品加工过程中的应用举例:

根据低温肉制品加工工艺流程的特点,我们列举下面的两个实例:

2.2.1 斩拌类型(e.g. 维也纳香肠)

将nisin水溶液加入盐水中,充分搅拌,使其均匀的溶解,在斩拌原料肉时加入。



Nisin 在维也纳香肠生产过程中添加的时间:

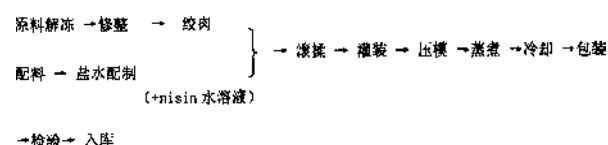
表2 维也纳香肠37℃培养对比

	产品规格	防腐方案	蒸煮参数	二次杀菌参数	37℃培养
1#	120g/袋	未添加	78℃,30min	90℃,10min	36h 后胀袋
2#	120g/袋	双乙酸钠0.1%,nisin 150ppm	78℃,30min	90℃,10min	5天后 胀袋

实验结果:我们采用相同的加工工艺对两组实验产品进行37℃微生物培养观察,第一组36h后产气胀袋,表现为质地变软、发粘、产生难闻的气味,已明显变质。第二组效果较好,抑菌效果明显,培养5天后才胀袋变质。

2.2.2 滚揉类型(e.g. 盐水方腿)

将nisin水溶液加入盐水中,充分搅拌,使其均匀的溶解,在滚揉时加入肉馅中。



Nisin 在盐水方腿生产过程中添加的时间:

表3 盐水方腿37℃培养对比

	产品规格	防腐方案	蒸煮参数	37℃培养
1#	240g/支	未添加	90℃,90min	8天后胀袋
2#	240g/支	双乙酸钠0.1%,nisin 150ppm	90℃,90min	6天后胀袋

实验结果：我们采用相同的加工工艺对两组实验产品进行37℃微生物培养观察，第一组2天后产气胀袋，明显变质，第二组效果很好，培养6天后才胀袋。

研究表明：nisin对G⁺菌的抑制作用很强，双乙酸钠可以抑制一些细菌和霉菌的生长和繁殖，但它们单独使用却都具有一定的局限性。因此，我们将两者复合使用，明显提高了效果。通过大量的实验和有关资料证实，科学合理的配合使用两种或两种以上的防腐剂，可以大大发挥多种防腐剂之间的互补和协效作用，从而得到非常满意的防腐保鲜效果。

3 低温肉制品加工流程中注意事项

我们知道，引起肉类的腐败主要的三种因素是：微生物污染、生长繁殖；脂肪氧化腐败；肌红蛋白的变色。这些因素相互作用，使肉类腐败加速。如：微生物的繁殖会促进油脂氧化和肌红蛋白变色；而油脂氧化也会改变微生物菌系并促进肌红蛋白变色等。这三种因素在pH值、温度、水分活性、防腐剂、初始带菌量等有关参数不同的条件下，发生变化的速度也不一样。下面我们就肉类加工过程中比较容易促进微生物生长繁殖的几个关键因素，如温度、真空度等因子加以控制，即将栅栏技术运用与肉类加工，尽最大可能的将微生物生长繁殖的一些条件加以阻止和隔离，确保食品的稳定和安全，从而延长产品的货架期。

3.1 标准化肉类加工车间环境温度控制

3.1.1 滚揉或腌制车间温度为0~4℃。

3.1.2 生加工车间和包装车间的温度为15℃以下。

3.1.3 低温产品库房温度为0~4℃。

3.2 半成品肉馅温度的控制

3.2.1 滚揉肉馅：灌装前的温度为2~6℃为较佳。

3.2.2 斩拌、搅拌肉馅：灌装前的温度为4~8℃为

较佳。

3.2.3 食盐含量高、通过静态腌制后肉馅和肉块：温度应在10℃以下。

3.3 真空度控制

3.3.1 滚揉：连续抽真空度，整个滚揉过程中真空度为-0.08Mpa。

3.3.2 灌装：真空度为-0.1Mpa。

3.3.3 包装：真空度为-0.1Mpa。

3.4 密封控制

3.4.1 复合肠衣膜在打卡时一定要要求密封良好，产品两端分肉馅干净。

3.4.2 包装材料透气量，受材料材质与材料厚度影响。

3.5 时间控制

3.5.1 半成品尽量缩短其在常温下的停留时间。

3.5.2 加热时间：根据产品直径科学合理确定具体加热时间（包括蒸煮、干燥、烟熏和二次杀菌时间）。

3.5.3 热处理后产品要迅速冷却，真空包装产品可用循环水冷却工艺，非真空包装产品可用冷风系统降温，使产品中心温度小于15℃，包装入库。

3.6 卫生控制

设备、工器具、人员、建筑物等要定时、定期进行消毒，保持清洁卫生。

4 展望

Nisin在我国的应用已有十多年的历史了，其在低温肉制品中的运用技术已经逐步成熟，现已得到广泛运用。随着我国肉类工业的发展和人们综合素质的提高，人们对安全、健康的食品需求度日益提高，我们的政府和社会也正在呼吁食品的安全和健康，乳酸链球菌素作为一种无毒、无任何副作用的天然食品防腐剂正迎合了人们的需求，必将会倍受青睐并广泛的使用。

新疆巴什拜羔羊肉首次出口马来西亚

近日，经过精心分割包装的400公斤巴什拜羔羊肉，从裕民县转道深圳，由深圳出口到马来西亚。这是巴什拜羔羊肉首次走出国门。

近年来，巴什拜绵羊的发源地——新疆西北

部裕民县的畜牧部门采用野生盘羊与巴什拜生产母羊杂交的方法，进一步提高了该羊的品质。

据介绍，此次交易属巴什拜羔羊肉出口马来西亚大宗交易的前奏。