

Nisin在凝固型酸奶后酸化控制中的应用

鲍盈盈,周 斌*,周桂飞

(浙江银象生物工程有限公司,浙江天台 317200)

摘 要:通过实验比较了不同 Nisin 添加量对凝固型酸奶的影响,结果表明,当 Nisin 添加浓度为 25mg/kg 时,在 10℃ 的保藏条件下,保质期为 20d,比空白组延长了 8d,且发酵时间控制在正常发酵时间(3~6h)内,对酸奶的品质无不良影响,酸奶的口感有明显的提高。

关键词:凝固型酸奶, Nisin, 后酸化

Application of Nisin for avoiding postacidification of solidification yoghurt

BAO Ying-ying, ZHOU Bin*, ZHOU Gui-fei

(Zhejiang Silver-Elephant Bio-engineering Co., Ltd., Tiantai 317200, China)

Abstract: The influence of Nisin on the concretion of solidification yoghurt was studied. The findings indicated that the addition of 25mg/kg Nisin coextended the shelf life to 20d compared with 8d in the control group under the storage condition of 10℃, and fermentation time controls in 3~6h. It can improve the taste of yoghurt.

Key words: solidification yoghurt; Nisin; postacidification

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)02-0259-03

酸奶因其独特的风味、丰富的营养价值及对人体有诸多保健作用^[1]而倍受消费者的青睐,特别是对于不适宜饮用牛奶的“乳糖不耐症”人群,酸奶更是最佳替代品,而且酸奶比牛奶有更多及更容易吸收的营养成分。但酸奶是含活性乳酸菌的乳制品,正常发酵结束后,在产品贮存、运输、销售、食用前这一过程中,菌体仍要生长繁殖,从而发生后酸化现象(postacidification),导致酸奶存在着贮存期短的缺陷,困扰着酸奶生产企业和消费者。Nisin 是一种高效、安全、无毒副作用的天然食品防腐剂,对乳酸菌的生长繁殖具有一定程度的抑制作用,其抑菌机理为破坏细菌细胞膜的完整性,使菌体物质运输与能量代谢发生困难,最终导致菌体死亡^[2]。目前,通过在酸奶中添加适量的 Nisin 来抑制后酸化^[3]是较为有效的方法。搅拌型酸奶是先发酵再搅拌分装,在搅拌分装时加入 Nisin 即可抑制后酸化,这种方法在生产应用中已较为成熟;而凝固型酸奶是先分装后发酵, Nisin 只能在发酵前添加,会对正常发酵过程有一定的抑制,所以应用成功的报道不多。本文通过实验,寻求既能延长凝固型酸奶保质期,又控制在正常发酵时间内,而且不影响凝固型酸奶品质的 Nisin 添加浓度。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

牛奶 光明 3.5% 脂肪香浓无抗生素纯牛奶,净含量 1L,生产日期:20061115H;乳酸菌 从光明 e⁺ 益生菌酸牛奶(批号:2006 11 12 · 11 25)中接种活化;蔗糖 市售,宁波市糖业烟酒有限公司;Nisin 浙江银象生物工程有限公司,生产日期:2006/04/06。

TDL-5-A 型台式离心机 上海安亭科学仪器厂;洁净工作台 洁净等级 100;GNP-9160 型隔水式恒温培养箱,SPX-250B-Z 型生化培养箱, JJ500 型精密电子天平,移液枪, YXO-SG46-280S 型不锈钢手提式压力蒸汽灭菌器。

1.2 培养基与试剂

1.2.1 脱脂乳培养基 全脂纯牛奶→离心脱脂(4000r/min, 20min)→分装→115℃ 灭菌 20min→冷却至室温后迅速移入冰箱保存

1.2.2 改良 MC 培养基(Modified Chalmers 培养基)

大豆蛋白胨 5g,牛肉浸膏 5g,酵母浸膏 5g,葡萄糖 20g,乳糖 20g,碳酸钙 10g,琼脂 15g,蒸馏水 1000mL, 1% 中性红溶液 5mL, pH6.0。将前面 7 种成分加入蒸馏水中,加热溶解,校正 pH6,加入中性红溶液,分装于烧瓶中,121℃ 高压灭菌 15~20min。临用时加热熔化琼脂,冷却至 50℃。

1.2.3 0.1mol/L NaOH 溶液 称取 120g 氢氧化钠,加 100mL 水,振摇使之溶解成饱和溶液,冷却后置于聚乙烯塑料瓶中,密塞,放置数日,澄清后备用。吸取 5.6mL 澄清的氢氧化钠饱和溶液,加适量新煮沸过的冷水至 1000mL,摇匀^[4],进行标定后待用。

1.2.4 0.5% 酚酞指示剂 取 0.5g 酚酞,用乙醇溶解,

收稿日期:2008-12-11 * 通讯联系人

作者简介:鲍盈盈(1984-),女,初级工程师,研究方向:食品防腐剂的应用。

表1 发酵剂活力与接种量的关系^[5]

活力	<0.40	0.40~0.60	>0.60	0.65~0.75	0.80~0.95
接种量(%)	—	—	>5.5	4~5.5	2.5~3.5
生产管理	更换发酵剂	发酵时间超过5h,易污染杂菌	可投入生产	增大接种量	最佳活力

表2 凝固型酸奶酸度随时间的变化情况

Nisin 添加浓度 (mg/kg)	发酵时间 (h)	酸奶凝固时 (°T)	第0d (后熟结束时,°T)	第4d (°T)	第8d (°T)	第12d (°T)	第16d (°T)	第20d (°T)
0	3.5	74	80	89	103	108	136	—
25	5	65	65	73	85	89	108	110
50	5.8	64	67	75	85	92	108	113
75	5.8	63	64	73	85	90	106	114
100	6.5	63	65	77	83	89	110	112
150	6.5	63	63	72	82	89	107	110

并稀释至100mL。

1.2.5 1%酚酞指示剂 将1g酚酞溶于90mL乙醇中,加水至100mL。

1.3 实验方法

1.3.1 凝固型酸奶的制作

1.3.1.1 乳酸菌的活化 取10mL灭菌脱脂乳培养基试管,接入搅拌混匀后的1mL光明e⁺益生菌酸牛奶,42℃培养数小时或37℃过夜培养待酸乳凝固,反活化数次。

1.3.1.2 乳酸菌的活力测定方法 取10mL灭菌脱脂乳培养基试管,加3%接种量,42℃培养3.5h,然后迅速从培养箱中取出试管,加入20mL蒸馏水及2mL 1%酚酞指示剂,用0.1mol/L NaOH溶液滴定,活力计算公式为:活力=0.1mol/L NaOH溶液体积(mL)×0.009/(10×牛乳相对密度)

1.3.1.3 发酵剂的制备 按实际生产需要量,取适量灭菌脱脂乳,按3%接种量接入活化好的菌种,42℃培养至凝固。同时做乳酸菌活力测定,经鉴定合格后,按表1选择合适的接菌量。

1.3.1.4 凝固型酸奶的生产工艺流程 原料乳→加糖(6%)加热溶解→杀菌(85℃,20 min)→冷却(42℃左右)→接种(2%~5%)→灌装→发酵(42℃)→冷藏后熟(5℃,12~24h)→保藏(10℃)

1.3.2 Nisin的添加量 接种后添加,把牛奶分成6组,每组分别添加Nisin 0、25、50、75、100、150mg/kg。实验过程中所用的用具均经过高压灭菌。

1.3.3 酸度的测定方法 取样品10mL于100mL三角瓶中,再加入20mL蒸馏水和0.5mL 0.5%酚酞指示剂,摇匀,用0.1N(近似值)NaOH溶液滴定至微红色,并在1min内不消失为终点。记录0.1N NaOH溶液所消耗的毫升数(A),其总酸度(吉尔涅尔度)计算式为:

$$\text{酸度}(\text{°T}) = A \times F \times 10$$

式中:A:滴定时所消耗的0.1N(近似值)NaOH溶液毫升数;F:0.1N(近似值)NaOH溶液的校正系数;10:乳样的倍数。

滴定酸度终点判定标准颜色的制备方法为:取滴定酸度测定的同批和同样数量的样品,如牛乳10mL,置于250mL三角烧瓶中,加入20mL蒸馏水,

再加入3滴0.005%碱性品红溶液,摇匀后作为该样品滴定酸度终点判定的标准颜色^[6]。

1.3.4 感官评价

1.3.4.1 色泽和组织状态 取适量试样于50mL烧杯中,在自然光下观察色泽和组织状态。

1.3.4.2 滋味和气味 取适量试样于50mL烧杯中,先闻气味,然后用温开水漱口,再品尝样品的滋味^[7]。

1.3.5 酸奶保藏结束后乳酸菌数的测定 测定方法按“乳酸菌饮料中乳酸菌的微生物学检验 GB/T 16347-1996”进行,每隔3d测一次,选用改良MC培养基。

2 结果与分析

2.1 酸奶酸度的变化

在10℃的保藏条件下,凝固型酸奶的酸度变化见表2。

本实验中的菌种活力为0.68,接种量为5%。从表2可知,Nisin添加量为25mg/kg组的凝固型酸奶的发酵时间比空白组延长1.5h;50、75mg/kg组延长了2.3h,但都在正常发酵时间(3~6h)之内;而100、150mg/kg组则超出了正常发酵时间。

一般市售酸奶的货架期为2~6℃,14d。本实验为了使对比更加明显及缩短实验周期,将保藏温度设为10℃。根据GB 2746-85,酸奶制品的酸度应在70.00~110.00°T。单从酸度角度来评价,由表2可知,在10℃的保藏条件下,空白组的保质期为12d,添加Nisin后保质期为20d,延长了8d;而在2~6℃保藏条件下,保质期应该可以延长更多时间,由此可见,Nisin对凝固型酸奶后酸化有明显抑制作用。而在25~150mg/kg之间,不同Nisin浓度的抑制作用的差异不大。

2.2 感官评价

所有的酸奶的色泽均正常,呈均匀一致的乳白色。添加Nisin浓度为0、25、50、75mg/kg的酸奶,组织状态细腻;而添加Nisin浓度为100、150mg/kg的酸奶较为粗糙,有细小沙粒状颗粒,但品尝时并无沙粒感。

所有的酸奶都具有酸牛乳固有的滋气味,无其他杂味,但空白组在第4d即感觉过酸,无甜味,且酸味较尖锐,较刺激,有一丝不愉快的苦涩后味,到第

(下转第264页)

表8 金属离子对竹红菌素稳定性的影响

金属离子	空白	Mg ²⁺	Pb ²⁺	Mn ²⁺	Na ⁺	Zn ²⁺	Ca ²⁺	Fe ²⁺	Fe ³⁺	Al ³⁺	Cu ²⁺
吸光度($\lambda=464\text{nm}$)	0.629	0.621	0.630	0.619	0.632	0.631	0.621	0.289	0.410	0.516	0.595
颜色	红色	红色	红色	红色	红色	红色	红色	紫红色	紫红色	粉红色	紫色

性影响不大,色素颜色没有变化,而 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 和 Cu^{2+} 对色素的稳定性影响较大,竹红菌素溶液的颜色发生了较大变化,因而在竹红菌素的提取、贮存和使用过程中应避免使用铁器、铜器和铝器。

3 结论

3.1 竹红菌素是醇溶性色素,丙酮为最佳提取溶剂,在 464nm 处有最大吸收峰,最佳提取工艺为料液比(g/mL)1:40,提取温度 70℃,提取时间 3h。

3.2 竹红菌素热稳定性很好,应用于食品加工中可以耐受一定程度的高温处理。竹红菌素具有较好的光稳定性,但在加工和使用过程中仍应尽量避免长时间的日光直射。

3.3 竹红菌素在酸性条件下呈红色,稳定性较好,在碱性条件下呈亮绿色,稳定性较差,变色域为 pH7~9,因而适合在酸性条件下使用。

3.4 竹红菌素对双氧水和焦亚硫酸钠耐受性较好,亚硫酸钠对竹红菌素稳定性影响较大。

3.5 常见食品添加剂蔗糖、柠檬酸、维生素 C、山梨酸钾和苯甲酸钠对竹红菌素的稳定性没有影响。

3.6 金属离子 Mg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Na^{+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 对竹红菌素的稳定性影响不大,而 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 和 Cu^{2+} 对色素的稳定性影响较大,在色素提取、贮存和使用过程中应避免使用铁器、铜器和铝器。

(上接第 260 页)

16d 时已无酸奶固有风味,口感难以接受;而添加 Nisin 的酸奶在第 12d 时仍感觉酸甜可口,第 16d 时仍有甜味,第 20d 时虽无甜味但酸味较柔和,有酸奶固有风味。故就口感而言,添加 Nisin 的酸奶 20d 后的味道比空白组 4d 后的好。从这方面来说,Nisin 在凝固型酸奶后酸化控制中极具应用价值。

2.3 酸奶保藏结束后乳酸菌数的测定

在保藏期间,按“乳酸菌饮料中乳酸菌的微生物学检验”方法计数,各组的乳酸菌数均 $>10^8\text{cfu/mL}$,符合国家标准中乳酸菌数不得低于 $1 \times 10^6\text{cfu/mL}$ 的规定^[7]。

3 讨论

综上所述,Nisin 在控制凝固型酸奶后酸化,特别是延缓酸奶口感变差方面,极具应用价值。全面考虑凝固型酸奶的发酵时间、保质期、品质和经济效益,Nisin 的添加浓度以 25~50mg/kg 为宜,视具体生产条件而定。Nisin 不仅对乳酸菌有抑制作用,同时也对其他一些腐败菌有抑制作用,所以,生产条件不是非常优秀的企业可以适量增加 Nisin 的添加量,以减少杂菌污染的可能性。

此外,乳酸菌种、奶源好坏、生产卫生条件、发酵终点的控制及发酵结束后的冷却速度等对凝固型酸奶的后酸化也有影响,所以在生产时,除了根据实际

参考文献:

- [1] 陈运中.天然色素的生产及应用[M].北京:中国轻工业出版社,2007,2.
- [2] 霍光华,郭成志.苋红色素的开发研究[J].食品工业科技,1996(1):47~50.
- [3] 谢林明,励建荣.红曲色素的提取及其稳定性研究[J].食品工业科技,2004(3):118~121.
- [4] 谭志伟,刘应焯.茗荷中食用红色素提取及稳定性研究[J].食品科学,2008,29(3):211~215.
- [5] 姚艾东.玉米黄色素的提取及应用研究[J].食品工业科技,2001,22(4):32~34.
- [6] 刘波.中国药用真菌[M].太原:山西人民出版社,1978.14.
- [7] 王景祥.竹黄的研究概况[J].中草药,1999,30(6):478~479.
- [8] Yuewei Zhao, Jingquan Zhao. Preparation of a novel hypocrellin derivative and its photochemical, photophysical properties[J].Dyes and Pigments,2004,63:175~179.
- [9] 邓丹,张灏.竹黄的研究进展及应用[J].食品科技,2001(5):36~37.
- [10] Yu-Ying He, Jing-Yi An, Li-Jin Jiang. pH Effect on the spectroscopic behavior and photoinduced generation of semiquinone anion radical of hypocrellin B[J].Dyes and Pigments, 1999,41:79~87.

情况添加适量的 Nisin 外,也要对影响酸奶后酸化的各个要点进行有效的控制,这样才能最有效地抑制后酸化,尽可能地延长凝固型酸奶的保质期。如添加适量 Nisin 的凝固型酸奶,在 63℃ 左右凝固后即快速冷却,不是到 70℃ 时取出,而是利用后熟及产品贮存、运输的时间,使酸度达到 70℃ 以上,是一种有效的抑制后酸化的方法。

参考文献:

- [1] Arthur C, Seppo J. The health effects of cultured milk products with vial and non-vial bacteria[J].Int Dairy J,1998.
- [2] Liu W, J N Hansen. Some chemical and physical properties of nisin, a small-protein antibiotic produced by Lactococcus lactis[J].Appl Environ Microbiol,1990,56:2551~2558.
- [3] 郭清泉,张兰威,林淑英.酸奶发酵机理及后酸化控制措施[J].食品与发酵工业,2001,27(2):83.
- [4] GB/T 5009.1-2003.中华人民共和国国家标准食品卫生检验方法理化部分总则[S].
- [5] 蒋明利主编.酸奶和发酵乳饮料生产工艺与配方[M].北京:中国轻工业出版社,2005.
- [6] GB/T 5409-85.中华人民共和国国家标准牛乳检验方法[S].
- [7] GB 2746-1999.中华人民共和国国家标准酸牛乳[S].