

油料蛋白

乳酸链球菌素对大豆分离蛋白菌落总数的影响

时玉强¹, 刘 军¹, 何东平², 鲁绪强¹

(1. 山东禹王生态食业有限公司, 山东 禹城 251200; 2. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023)

摘要:乳酸链球菌素作为一种安全的防腐剂被广泛应用于各种食品中, 但是其对固体饮料用的大豆分离蛋白(SPI)的防腐作用鲜有报道。通过对蛋白加工工艺、蛋白的保存环境(恒温恒湿加速、普通库房)和乳酸链球菌素添加方式及添加量的考察, 得出添加0.01%的乳酸链球菌素的8周(两个月)的恒温恒湿加速实验的菌落总数结果与普通库内存放两年的结果处在同一数量级, 且高于普通库房内的储藏结果, 因此确定采用37℃、相对湿度75%的恒温恒湿加速实验验证两年的普通库房的保质期; 中和添加0.01%~0.02%的乳酸链球菌素的二次杀菌工艺能够有效地保证大豆分离蛋白在两年的保质期内菌落总数满足国家标准要求, 为大豆分离蛋白在饮料中的应用提供了数据支持, 拓展了大豆分离蛋白的应用领域。

关键词:大豆分离蛋白; 乳酸链球菌素; 保质期; 菌落总数

中图分类号: TS229; Q939.9 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)12-0065-04

Effects of nisin on bacterial colony counts of soybean protein isolate

SHI Yuqiang¹, LIU Jun¹, HE Dongping², LU Xuqiang¹

(1. Shandong Yuwang Ecological Food Industry Co., Ltd., Yucheng 251200, Shandong, China;

2. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: Nisin is widely used in various foods as a safe preservative, but the preservative effect of nisin on soybean protein isolate (SPI) used as solid beverage is rarely reported. Experiments on SPI production process, storage environments of SPI (constant temperature with humidity acceleration and common warehouse storage) and adding way and adding amount of nisin were conducted. The results showed that the bacterial colony counts of SPI added with 0.01% nisin in eight weeks constant temperature with humidity acceleration test was in the same order of magnitude with that in two years common warehouse storage test, and the bacterial colony counts of constant temperature with humidity acceleration test was higher than that of common warehouse storage. Therefore, using constant temperature with humidity acceleration test conditions of 37℃ and relative humidity 75% to determine the shelf life of the two years common warehouse. By adding 0.01%–0.02% nisin in the neutralization section, the twice sterilization process could effectively ensure the bacterial colony counts of SPI to meet the national standard in the two years of shelf life. The results provided data support for the application of SPI in beverage and extended the application of SPI.

Key words: soybean protein isolate; nisin; shelf life; bacterial colony counts

大豆蛋白是优质的植物蛋白, 其营养和保健价值为人们所共知。以大豆分离蛋白为主要原料, 制

成的大豆蛋白类饮料^[1-2], 特别是通过添加各种具有保健功能的辅料如磷脂、乳清蛋白等制成的大豆蛋白粉饮料逐渐为人们所接受。目前大豆分离蛋白(SPI)的主流生产工艺是碱溶、酸沉、中和后经高温瞬时杀菌, 真空脱气降温后, 喷雾干燥获得^[3]。由于食品卫生安全标准不断提高, 现有的生产工艺对微生物的控制出现了控制难的问题, 主要是大豆蛋

收稿日期: 2018-03-22; 修回日期: 2018-08-02

作者简介: 时玉强(1982), 男, 工程师, 硕士, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail) shiyuqiang@yuwangcn.com。

通信作者: 鲁绪强, 工程师(E-mail) luxuqiang@yuwangcn.com。

白粉和固体饮料的安全标准存在差距^[4-5],需要对大豆分离蛋白的工艺控制进行优化和提升。

对于大豆分离蛋白生产工艺的控制,除了进行常规的热杀菌外,使用符合 GB 2760—2014 的微生物抑制剂成为抑菌手段的一种选择。乳酸链球菌素(Nisin)亦称乳酸链球菌肽或音译为尼辛,是乳酸链球菌产生的一种多肽物质,由 34 个氨基酸残基组成,相对分子质量约为 3 500 Da。由于乳酸链球菌素可抑制大多数革兰氏阳性细菌,并对芽孢杆菌的孢子有强烈的抑制作用,因此被作为食品防腐剂广泛应用于食品行业。乳酸链球菌素对食品中微生物的抑制作用的研究成果有诸多报道^[4-16],但是对大豆分离蛋白粉的抑菌作用的相关研究鲜见报道。基于生产现状和目前研究的成果,本文对乳酸链球菌素对大豆分离蛋白中的菌落总数的抑制作用进行了研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

低温脱脂豆粕,山东禹王生态食业有限公司;乳酸链球菌素,沈阳仁达生物科技有限公司;液体氢氧化钠,滨化化工有限公司;盐酸,东营赫邦有限公司。

1.1.2 仪器与设备

2-16KLSigma 离心机,德国 Sigma 公司;AL204-2C 电子天平,梅特勒-托利多有限公司;RHB-32ATC 糖度计;LHS-80HC-I 恒温恒湿箱;LRH-70 恒温培养箱;HWS-12 恒温水浴箱;DKZ-1C 振荡器;LB20EG 均质器,美国 Waring 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌落总数检测

参照 GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行检测。每个实验点检测 5 次,取平均值。

1.2.2 蛋白粉加工工艺

一次杀菌工艺^[3]:低温脱脂豆粕→加水混合精细均质(水料比 6:1,45℃)→过筛(80 目)→加水(按照水料比 8:1 补水)→调 pH(30% 氢氧化钠溶液 pH 7.3~7.4)→搅拌萃取(120 r/min,30 min)→离心分离(4 500 r/min,10 min)→取上清液→调 pH(pH 4.5~4.6)→离心分离(5 000 r/min,10 min)→取离心沉淀→加水调 pH 中和(pH 7.2~7.5,白利糖度 12.5~13.0,添加或不添加乳酸链球菌素)→杀菌(130℃,5 s)→闪蒸脱气→喷雾干燥→包装→成品。

二次杀菌工艺:低温脱脂豆粕→加水混合精细

均质(水料比 6:1,45℃)→过筛(80 目)→加水(按照水料比 8:1 补水)→调 pH(30% 氢氧化钠溶液 pH 7.3~7.4)→搅拌萃取(120 r/min,30 min)→离心分离(4 500 r/min,10 min)→取上清液→调 pH(pH 4.5~4.6)→离心分离(5 000 r/min,10 min)→取离心沉淀→加水调 pH 中和(pH 7.2~7.5,白利糖度 12.5~13.0,添加或不添加乳酸链球菌素)→杀菌(130℃,5 s)→闪蒸脱气→杀菌(130℃,5 s)→闪蒸脱气→喷雾干燥→包装→成品。

1.2.3 加速实验的保质期验证

普通库房保存:包装方式为外包装使用塑料编织袋,内包装使用聚乙烯为主要原料的薄膜,经吹塑、热合等工艺制成的平口塑料袋。库房为临邑禹王食品有限公司的高大平房仓,仓房长 40 m,宽 20 m,仓内有通风系统一机三道地上笼 3 组,模拟电子测温系统一套 10 组、每组 6 个点每点 4 层,固定式环流熏蒸系统 1 套,功率 0.75 kW;山墙轴流风机 1 台,功率 1 kW。保存两年,每半年测定 1 次。

恒温恒湿箱保存:包装方式为聚乙烯材料食品塑封袋热合塑封,每袋 60 g,恒温恒湿箱设置为 37℃,空气相对湿度 75%。每两个星期测定 1 次。

1.2.4 乳酸链球菌素的不同添加方式及添加量的对比

方法一:按照 1.2.2 二次杀菌工艺在中和过程中通过计算溶质量,按照干基含量的 0.01%、0.02% 添加乳酸链球菌素后进行喷雾干燥。

方法二:将按照 1.2.2 二次杀菌工艺不添加乳酸链球菌素喷雾干燥后的蛋白粉,按照干基含量的 0.01%、0.02% 添加乳酸链球菌素。

2 结果与讨论

2.1 不同加工工艺对菌落总数的影响

分别采用 1.2.2 两种加工工艺进行蛋白粉的制备,同时在中和过程中添加 0.01% 乳酸链球菌素,得到的产品采用 1.2.3 的恒温恒湿箱保存方式保存,定期测定菌落总数,结果如图 1 所示。

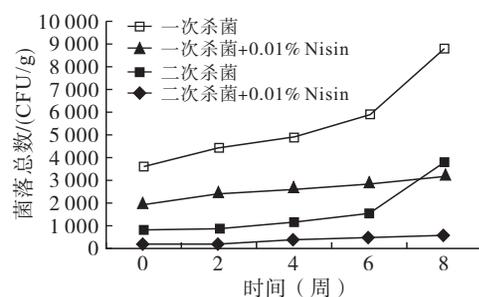


图 1 不同加工工艺的菌落总数

由图 1 可以看出,现有的大豆蛋白粉的一次杀

菌工艺,刚生产时及储藏加速实验8周时能够满足GB 20371—2016《食品安全国家标准 食品加工用植物蛋白》中的食品用大豆蛋白要求(菌落总数 $\leq 30\ 000$ CFU/g),但是不能满足GB 7101—2015《食品安全国家标准 饮料》(菌落总数 $\leq 1\ 000$ CFU/g)标准要求。菌落总数变化趋势随保存时间延长呈逐渐增加趋势,在4~6周开始增加明显,6~8周增长率显著增加,增长量达到50%。

二次杀菌与一次杀菌相比菌落总数初始值降低了78.1%,差异显著($P=0.013$)。二次杀菌与一次杀菌得到微生物增长趋势曲线基本一致,且初始菌落总数较低,但是随着时间的推移菌落总数不能得到有效的抑制,特别是超过6周后,菌落总数增长明显。

在一次杀菌工艺基础上,中和料液中添加0.01%的乳酸链球菌素时,初始值与空白相比菌落总数降低了45.2%,差异显著($P=0.015$)。且菌落总数增加趋势在8周内不明显。

二次杀菌工艺在中和料液中添加0.01%的乳酸链球菌素时,初始值与空白相比菌落总数降低了94.5%,差异显著($P=0.003$)。且菌落总数增加趋势在8周内不明显,说明二次杀菌工艺中添加0.01%的乳酸链球菌素能够有效地抑制菌落总数的增加。

综上,可以看出二次杀菌优于一次杀菌,且添加乳酸链球菌素后,抑菌效果更好。

2.2 加速实验的保质期验证

在中和料液添加0.01%的乳酸链球菌素经过二次杀菌后喷雾干燥的蛋白粉,分别放置于普通库房和加速实验的恒温恒湿箱中,其生产日期为2015年6月18日。放置于普通库房中的蛋白粉每半年测定1次菌落总数,放置在恒温恒湿箱中蛋白粉每两周测定1次菌落总数,对比常温库与加速实验之间的相关性。其结果如图2所示。

由图2可以看出,在恒温恒湿箱中8周内菌落总数增加趋势逐渐提高,前两周增加较慢,之后增长速度加快,8周后菌落总数增长2.25倍。这说明在恒温恒湿的加速条件下菌落总数增加速度越来越快,聚乙烯材料的塑封袋有一定的湿度渗透性。在8周之内,添加乳酸链球菌素能够将菌落总数控制在国标范围之内。

在普通库房条件下,两年内普通库房内蛋白粉的菌落总数增加量明显低于8周的恒温恒湿环境的增加量。普通库房两年保质期内菌落总数增长量为恒温恒湿加速实验的24.4%,且两种保存方式的结果在同一个数量级,由此可见虽然8周恒温恒湿的

加速实验的菌落总数的结果高于实际两年普通库房储藏的结果,但是能够在同一个数量级内。因此,使用该加速方式验证蛋白粉的菌落总数变化能够保证两年的保质期,略有盈余。

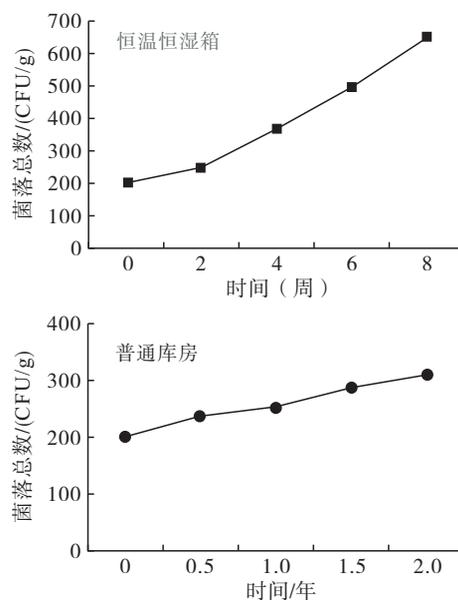


图2 加速实验的保质期验证

2.3 乳酸链球菌素的添加方式及添加量对蛋白粉保质期的影响

对二次杀菌的中和料液添加乳酸链球菌素与干燥后在蛋白粉中添加乳酸链球菌素进行对比,结果如图3所示。

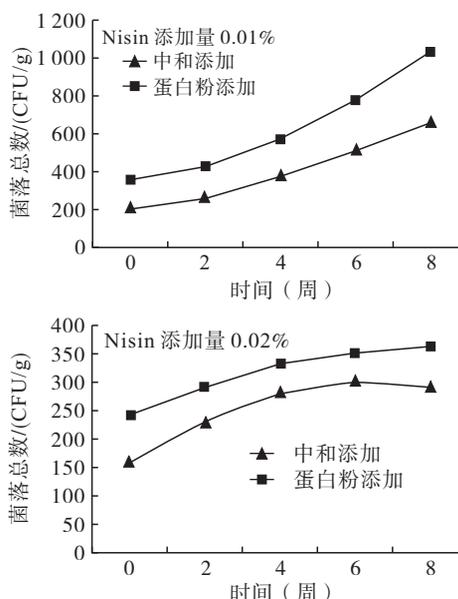


图3 不同添加方式及添加量的菌落总数结果

由图3可以看出,乳酸链球菌素添加量为0.01%时,中和添加方式的菌落总数低于蛋白粉添加方式的菌落总数,初始值低43.7%。随着保存时间的延长,两种添加方式的菌落总数都呈增长趋势,且增加速度越来越快,8周后,中和添加方式的菌落

总数低于蛋白粉添加方式的菌落总数,低 36.7%。蛋白粉添加方式的产品 8 周加速实验后菌落总数超过固体饮料的国家标准要求,中和添加方式的菌落总数在国家标准要求的范围内,因此蛋白粉添加方式存在保质期内菌落总数超标的风险。分析原因,在中和添加乳酸链球菌素后,中和罐内其抑菌效果开始起作用,抑制了中和罐内的微生物基数,在杀菌过程中相同的杀菌效果下,蛋白粉内的菌落总数较少,同时乳酸链球菌素在 pH 呈中性状态时,溶解度较低,蛋白链展开程度较差,受杀菌的影响较小,并且其本身耐高温能力较强,在 121℃ 下 15 min 仍然能够达到 100% 的活性^[17];而喷雾干燥后蛋白粉再添加乳酸链球菌素,在中和长达 30~50 min 的时间内处于没有抑制手段控制的条件下,从而相较于中和添加方式的杀菌前的中和料液中的菌落总数基数大,在相同的杀菌效果下,蛋白粉中的微生物存活量较高。虽然乳酸链球菌素没有经过杀菌,但是其作用不足以弥补微生物基数大带来的差异。

由图 3 还可以看出,乳酸链球菌素添加量在 0.02% 时,中和添加方式的菌落总数低于蛋白粉添加方式的菌落总数,初始值低 33.3%。随着保存时间的延长,中和添加方式的菌落总数呈先增加后减少的趋势,在 6~8 周时出现了减少;而蛋白粉添加方式的菌落总数呈增长趋势,但增加速度越来越慢。分析原因,乳酸链球菌素添加量增加,抑菌效果提高,微生物生长受到较大的抑制,因此与乳酸链球菌素添加量 0.01% 的趋势有较大的差别,主要是趋势由增加变成了减少。特别是中和添加方式时,微生物基数少甚至在 8 周结束时出现了微生物减少的现象。

3 结 论

通过对大豆蛋白粉添加乳酸链球菌素的实验可以看出,乳酸链球菌素能够在一定程度上起到抑制大豆蛋白粉中微生物生长的作用,在二次杀菌的情况下添加乳酸链球菌素能够有效保证大豆蛋白粉在两年的保质期内菌落总数达到国家的固体饮料标准要求。考虑到乳酸链球菌素价格较高,且本身具有酸味,不利于大豆蛋白粉本身风味的体现,因此虽然添加量 0.02% 时抑菌效果最佳,建议添加量在 0.01%~0.02% 之间。

参考文献:

[1] 彭义交. 核桃-大豆双蛋白饮料工艺配方优化[J]. 食品科学, 2012, 33(2): 286-289.
 [2] 郭顺堂, 杨柏崇. 在饮料中发挥大豆蛋白的特性[J]. 中国食品工业, 2005, 19(5): 30-31.

[3] 时玉强, 鲁绪强, 马军, 等. 湿法粉碎豆粕对大豆分离蛋白生产的影响[J]. 中国油脂, 2017, 42(5): 45-47.
 [4] 汪玲玲, 郝淑贤, 吕彦均. 食用防腐剂对金黄色葡萄球菌生长参数的影响[J]. 食品科学, 2013, 32(15): 62-65.
 [5] WU T T, WU C H, FANG Z X, et al. Effect of chitosan microcapsules loaded with nisin on the preservation of small yellow croaker[J]. Food Control, 2017, 79: 317-324.
 [6] SHI C, ZHAO X C, MENG R Z, et al. Synergistic antimicrobial effects of nisin and *p*-anisaldehyde on *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk[J]. LWT - Food Sci Technol, 2017, 84: 222-230.
 [7] HE M, GUO Q Y, SONG W, et al. Inhibitory effects of chitosan combined with nisin on *Shewanella* spp. isolated from *Pseudosciaena crocea*[J]. Food Control, 2017, 79: 349-355.
 [8] KHAN I, OH D H. Integration of nisin into nanoparticles for application in foods[J]. Innovat Food Sci Emerg Technol, 2016, 34: 376-384.
 [9] KAJWADKAR R, SHIN J M, LIN G H, et al. High-purity nisin alone or in combination with sodium hypochlorite is effective against planktonic and biofilm populations of *Enterococcus faecalis* [J]. J Endodont, 2017, 43(6): 989-994.
 [10] SARKAR P, BHUNIA A K, YAO Y. Impact of starch-based emulsions on the antibacterial efficacies of nisin and thymol in cantaloupe juice[J]. Food Chem, 2017, 217: 155-162.
 [11] CUI H Y, WU J, LI C Z, et al. Anti-listeria effects of chitosan-coated nisin-silica liposome on Cheddar cheese[J]. J Dairy Sci, 2016, 99(11): 8598-8606.
 [12] KRIVOROTOVA T, CIRKOVAS A, MACIULYTE S, et al. Nisin-loaded pectin nanoparticles for food preservation[J]. Food Hydrocoll, 2016, 54: 49-56.
 [13] RESA C P O, GERSCHENSON L N, JAGUS R J. Starch edible film supporting natamycin and nisin for improving microbiological stability of refrigerated Argentinian Port Salut cheese[J]. Food Control, 2016, 59: 737-742.
 [14] ALY S, FLOURY J, PIOT M, et al. The efficacy of nisin can drastically vary when produced in situ in model cheeses[J]. Food Microbiol, 2012, 32(1): 185-190.
 [15] RESA C P O, JAGUS R J, GERSCHENSON L N. Effect of natamycin, nisin and glycerol on the physicochemical properties, roughness and hydrophobicity of tapioca starch edible films[J]. Mater Sci Eng C, 2014, 40: 281-287.
 [16] KALSCHNE D L, GEITENES S, VEIT M R, et al. Growth inhibition of lactic acid bacteria in ham by nisin: a model approach[J]. Meat Sci, 2014, 98(4): 744-752.
 [17] 孙来华, 张志强. 乳酸链球菌素的特性及其在食品中的应用[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(10): 119-123.