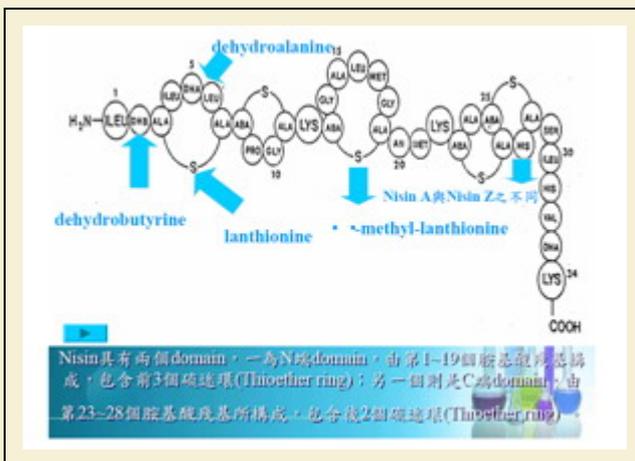


乳酸链球菌素 (NISINPRO™) 说明书

乳酸链球菌素是乳酸乳球菌乳酸亚种 (*Lactococcus lactis*) 在受控条件下经发酵产生的细菌多肽，对革兰氏阳性菌具有抑制作用，对酵母菌、霉菌等真菌没有作用。

1969 年，FAO/WHO 联合食品添加剂专家委员会 (JECFA) 对乳酸链菌素的安全性进行了评估，并确定食品的使用范围、使用量、使用方法，编号为：INS234。目前世界上超过 50 个国家允许作为食品防腐剂使用。我国与 1998 年批准行业标准 (QB2394-1998)。

使用范围及使用量：



1 G

B 2760-90: 罐装、植物蛋白饮料 0.2g/kg; 乳制品、肉制品 0.5g/kg

2 FAO/WHO, 1984: 干酪、干酪制剂 12.5mg/kg.

3 FDA §184.1 (b) (1): 干酪及含水果、蔬

菜、肉类的巴氏灭菌干酪涂抹食品

4 EEC 准用于干酪、罐头食品、包装奶油

在澳大利亚和新西兰，它被允许使用在乳酪（调味、搅拌和发酵乳酪）的生产中，最大用量为

10mg/kg。在烘焙食品中的最大用量为 250mg/kg。在奶酪、奶酪制品、含油量小于 80%的乳化油、pH4.5 的西红柿、啤酒及其相关产品、蛋制品、奶制品、的餐后甜点、酱油、奶油、蛋黄酱、沙拉、调味品中普遍使用。

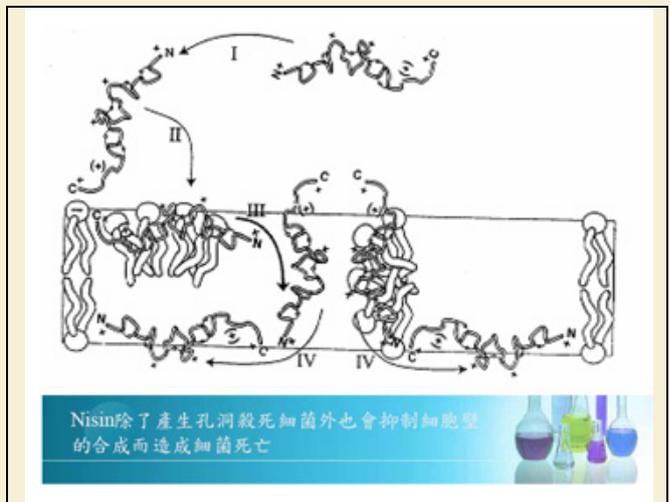
乳酸链球菌素与食品用食盐和可溶性蛋白质混合，商品名：NISINPro。包括大约 2.5%的乳酸链球菌素。

乳酸链球菌素的抑菌原理：

乳酸链球菌素的作用效果由它的浓度所决定。因此在食物中存在的细菌越多，则需要的乳酸链球菌素就越多。乳酸链球菌素与细胞壁上的脂质体 II 形成一个复合体。然后乳酸链球菌素--脂质 II 联合体插入细胞膜构成细胞膜的小孔，并且使细胞内物质外泄，从而导致细菌死亡或受抑制。

乳酸链球菌素对革兰氏阴性菌没有作用的原因是乳酸链球菌素穿透革兰氏阴性菌的细胞壁比穿透革兰氏阳性菌更困难。但是其它的一些处理方式，如：螯合剂、渗透压、加热、冷冻等，会使乳酸链球菌素对革兰氏阳性菌的作用加强。虽然在缓冲体系中螯合剂表现出一定的优势，但在食品体系中主要归功于螯合剂于食品中二价金属离子的交

互作用。乳酸链球菌素主要是杀死萌发时的孢子，对静息状态的孢子无致死作用。



稳定性和溶解性

NisnPro 在温度低于 25 度、避光条件下存储两年活性不会降低。乳酸链球菌素在酸性环境下溶解度增加，当 pH 升高溶解度降低。乳酸链球菌素的溶液在 pH 值 3.0-3.5 范围内非常稳定，（121℃高温灭菌 15min 失活 15%）。pH 值低于或高于这个范围，活性会非常显著的降低（在 pH 为 1 或 7 时，采用同样方法处理活性丧失 > 90%）。在巴斯德灭菌温度条件下活性的丧失可以忽略（在 pH5.6-5.8 条件下制作干酪产品标准工艺过程中活性丧失 20%）。加热过程中食品中的其他成分与缓冲体系一样也能够保护乳酸链球菌素。

乳酸链球菌素在食品存贮中稳定性由以下三种因素决定：温度、时间和 pH 值。温度越低活性保持越好。例如：用巴氏灭菌法处理的融化干酪产品（pH 5.6-5.8, 温度 85-105℃, 时间 5-10min）生产工艺过程中活性丧失 20-30%。乳酸链球菌素在存储 30 个星期，当温度为 20℃时，保持大约 80%的活性，25℃时为 60%，30℃时为 40%。因此，如果在较高温度环境下使用，要添加较高浓度的乳酸链球菌素。



在冷冻食品中，蛋白水解酶影响乳酸链球菌素的稳定性。

在食品添加剂中，二氧化钛和偏亚硫酸氢钠也能够对乳酸链球菌素的稳定性起反作用。

乳酪产品

乳酸链球菌素在乳酪产品应用的范围非常广，包括块状干酪（含水量为 44-46%）、切片干酪（含水量 46-50%）、涂

抹乳酪（含水量 52-60%），浸蘸调味乳酪（含水量 56-65%）。所有的产品制作过程都需要加热，并且都含有乳化盐。乳酪产品为人们提供低脂肪和低食盐食品，包含多种香味添加剂，比如植物性香料、鱼肉、贝肉和其他肉类，原料中细菌的数量、溶化的方式、货架期的要求等因素都对乳酪产品的微生物稳定性产生影响，因此需要性质稳定的乳酸链球菌素。

生产这些产品所需要的原料是未加工的乳酪、黄油、脱脂奶粉、乳清粉、磷酸盐或柠檬酸盐和水。厌氧梭状芽胞杆菌的芽孢经常存在这些成份中，特别是干酪中，在加热 85-105℃，6-10min 的工艺条件下仍能够生存。高 pH 值（5.6-6.0）、高含水量和低氧条件（厌氧条件）导致芽孢发芽和生长。梭菌属种经常会使干酪变质，这些梭状芽胞菌属种包括 *C. sporogenes*、*C. butyricum* 和 *C. tyrobutyricum*。将多种芽孢接种在乳酪产品上，大约每克接 200 个孢子。在温度 37℃ 条件下培养，浓度为 6.25mg/kg 的乳酸链球菌素能够防止变质。浓度为 2.5mg/kg 乳的链菌肽会部分变质，同时作为对照组不加乳酸链球菌素的样品很容易变质。

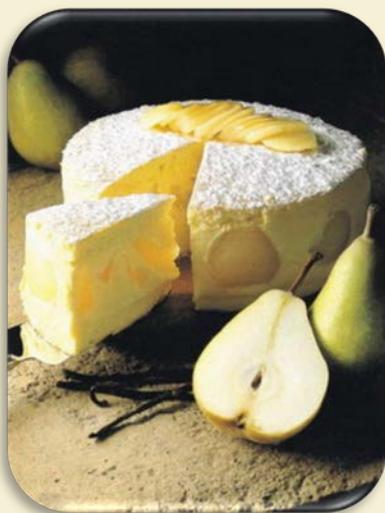
在乳酪产品中的 *C. butyricum* 的生长和细菌毒素的产生，特别是传播会产生严重的后果。在乳酪中接种的 *C. butyricum* A、B 孢子，然后加入 12.5mg/kg 的乳酸链球菌素，可有效抑制细菌的生长延长细菌毒素产生的时间。在干酪产品中能够引起变质的好氧菌也能够被 5-20mg/kg 浓度的乳酸链球菌素所抑制。

其它巴氏灭菌法处理的奶制品

其它巴氏灭菌法处理的奶制品如日常的餐后甜点、乳酪、凝结的奶油等，为了保持这些产品的品质在采用巴氏灭菌时微生物孢子不能全部杀灭，需要使用乳酸链球菌素以防止变质。巧克力奶制品餐后甜点加入浓度为 3.75mg/kg 乳酸链球菌素，在 7℃ 条件下储存，货架期增加了 20 天。同时在乳酪餐

后甜点内，加入相同浓度的乳酸链球菌素，在温度为 12℃ 时储存使货架期增加了 30 天。

有些国家允许将乳酸链球菌素作为添加剂使用在巴氏灭菌法处理的牛奶中。在英国 reading 大学的实验中，在 72℃，15s 巴氏灭菌或者 115℃，2s 巴氏灭菌之前加入浓度为 1mg/L 的乳酸链球菌素，在 10℃ 条件下储存，对延长牛奶的货架期发挥了重要作用。



天然干酪

乳酸链球菌素首先的应用是防止半硬的成熟干酪的漏气问题。如在豪达干酪和瑞士干酪（Emmenthal and Gouda）中抑制 *C. butyricum* 和 *C. tyrobutyricum* 的生长。虽然得到了预期的结果，但是发酵液培养物受抑制，推迟了成熟时间。采用基因重组技术生产 NISIN 产品，或者采用抗 NISIN 的起始培养基以获得期望质量的乳酪产品已经具

备条件能。在制作干酪时，加入足够的乳酸链球菌素能够抑制梭菌属，金黄葡萄球菌和李斯特氏菌的生长。

酸奶

乳酸链球菌素加入搅拌搅拌性酸奶生产过程的最后工序，（发酵液培养菌为：乳酸菌亚种、嗜热链球菌系、保加利亚菌）能够抑制继续发酵，从而防止产品过度酸化，延长货架期，并且保持酸奶的口味和阻止了脱水收缩。典型的添加浓度为 0.5-1.25mg/kg。



蛋制品

将巴氏灭菌的液体蛋制品（完整的蛋、蛋黄或蛋白）和精加工的蛋制品（例如煎蛋、炒蛋、薄烤饼）经热处理以杀死沙门氏菌属。例如在英国，液体蛋必须受 2.5min，温度 64.4℃巴氏杀菌处理。但是这种热处理对杀死细菌的芽孢和非常耐热的无芽孢的革兰氏阳性菌像 *Enterococcus faecali* 是无效的。浓度为 2.5-5mg/L 的乳酸链球菌素，能起到有效的增加货架期，并且能够抑制引起食物中毒的细菌如蜡状芽孢杆菌和李斯特氏菌的生长。

巴氏灭菌的汤

在汤类制品中，近年来的趋势是生产新鲜的巴氏灭菌的产品，然后冷冻保存。抗热的芽孢杆菌属的孢子经巴氏灭菌后仍能够生存。浓度为 2.5-5.0mg/kg 的乳酸链球菌素在延长存贮期中能够有效的抑制或延缓腐败菌芽孢杆菌属的产物。

表一 典型的乳酸链球菌素添加浓度和 NisinPro 在食品中的应用情况

食品应用	典型微生物	乳酸链球菌素浓度	NisinPro
		(mg/kg 或 mg/L)	浓度 (mg/L)
融化干酪	梭菌属、芽孢杆菌属	5-15	200-600
巴氏灭菌牛奶和奶制品	梭菌属、芽孢杆菌属	0.25-10.0	10-400
巴氏灭菌冷汤	蜡状芽孢杆菌、巴氏芽孢梭菌	2.5-6.25	100-200
烤饼	蜡状芽孢杆菌	4-6.25	150-250
罐装食品（高酸）	肉毒梭状芽孢杆菌、热解糖梭菌	2.5-5.0	100-200

意大利乳清干酪	单核细胞增生李斯特氏菌	2.5-5.0	100-200
早餐型烹调香肠	乳酸菌、单核细胞增生李斯特氏菌	5-25	200-1000
浸蘸酱油	乳酸菌	1.25-6.25	50-250
沙拉调味品	乳酸菌	1.25-5	50-200
啤酒:	乳酸菌	25.0-37.5	1000-1500
酒花酵母			
啤酒(威尔士)			
快速发酵		0.25-1.25	10-50



面制品

在英国、澳大利亚和新西兰，烤饼是非常大众化的面食。它是用面粉、牛奶鸡蛋和酵母或酥松剂或两者都加，调成糊状，放入盘中热加工成一定的外形，吃前需要烤。烤饼是非酸性（pH6），高含水量(48-54%)和高水分活度（0.95-0.97）食品，在常温下出售，货架期为 5 天。有很大数量的食品导致人中毒。由于在烤饼中的蜡状芽孢杆菌的生长，特别是在澳大拉西亚，用来制作烤饼的面粉总是含有少量的蜡状芽孢杆菌的孢子，这些孢子在热的烹调过程中，不能够被杀死。在常温下，产品的货架期为 3-5 天内。蜡状芽孢杆菌能够从很低的浓度增加到大于 10^{15} cfu/g——足够多的细菌能引起食物中毒。浓度为大于 3.75mg/kg 的乳酸链球菌素添加剂混合

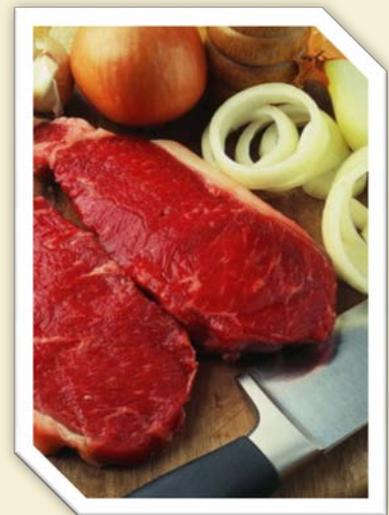
在牛奶鸡蛋面糊中，能够抑制蜡状芽孢杆菌的生长。在澳大利亚和新西兰乳酸链球菌素已经被正式批准使用。

罐装食品

乳酸链球菌素使用在灌装食品中，主要是抑制由嗜热菌引起的变质。在大部分国家的低酸罐头食品（ $\text{pH} > 4.5$ ）将强制接受 $F_0=3$ 的最低热处理，以保证杀死肉毒梭状菌的孢子。低酸食品在 $F_0 \geq 3$ 加工，易受未死的抗热的嗜热菌种嗜热脂肪芽孢杆菌（引起产酸不产气的腐败）和热解糖梭菌孢子（引起胀罐）的影响，引起食品腐败。乳酸链球菌素添加剂能够延长常温下保存灌装蔬菜的贮存期，抑制这些嗜热微生物的孢子长出，并且能够减少 $F_0=3$ 的最低热处理而不增加嗜热腐败的风险。乳酸链球菌素在低酸罐装蔬菜中的使用浓度为 2.5-5.0mg/kg，罐装食品经高温处理后，残留的乳酸链球菌素浓度降低 2%。但是事实上具有抗热性的嗜热孢子对乳酸链球菌素高度敏感，并且加热提高了它们的敏感性。意味着残留的浓度非常低的乳酸链球菌素，在应用中仍然有效。柠檬酸盐的前酸化使加工后蔬菜的 pH 影响最小，因此可以提高乳酸链球菌素的抑菌能力。

使用的例子如：豌豆、胡萝卜、胡椒、马铃薯、蘑菇、秋葵、小型甜玉米和芦笋。乳酸链球菌素也被使用在奶制布丁罐头上，罐头中包含粗小麦粉和木薯粉。

高酸食品罐头（ $\text{pH} < 4.5$ ）的腐败菌对非致病的腐败菌的抑制是有限的，像巴氏芽孢梭菌，软化芽孢杆菌和凝结芽孢杆菌。乳酸链球菌素在高酸番茄制品中的使用浓度为 1.25-2.5mg/kg.



肉制品:

在熏制好的肉中由于亚硝酸盐含量很高，因此在研究中使用少量乳酸链球菌素代替亚硝酸盐。只有高浓度的乳酸链球菌素对肉毒梭状芽孢杆菌能起到很好的控制作用。在实验前需要证明在真空包装的烹调早餐型香肠中乳酸菌能够引起变质。将浓度为 1.25-6.25mg/kg 的乳酸链球菌素混合到或将浓度为 5.0-25.0mg/L 乳酸链球菌素溶液蘸涂在烹调香肠的表面，在 6-12℃ 条件下储存可增加货架期。乳酸链球菌素在低脂肪的香肠中对乳酸菌具有较好的抑制作用，这种应用在美国得到正式的认可。

海产食品



在真空包装或改进的气体包装海产食品，存在潜在的危险——波特淋菌中毒。在英国 Torry 研究所对乳酸链球菌素的应用进行研究。将乳酸链球菌素喷在鳕鱼片、鲱鱼和熏制鲭鱼上，并接种肉毒梭状芽孢杆菌 E 型孢子，在 10 和 26℃ 条件下贮存，结果发现毒素产物产生明显的延迟。在熏

制鱼中存在另外一个是病原体李斯特氏菌的生长，特别是在新鲜的和略微腌制品中。乳酸链球菌素在熏制鲑鱼中是一种有效的防腐剂，特别是当使用二氧化碳气体包装时。

乳酸链球菌素使用浓度为 25mg/kg 时，降低热处理，不会引起龙虾肉产品变质，达到了杀死李斯特氏菌的效果。比用加热或单纯用乳酸链球菌素的效果好。用乳酸链球菌素洗涤的螃蟹肉可以降低李

斯特氏菌生长的量。

沙拉调味品

降低酸度可以改良色拉调味品的口感，但把 pH 由 3.8 升高到 4.2 沙拉调味品易在乳酸菌的作用下引起变质。浓度为 2.5-5.0mg/L 的乳酸链球菌素能成功的抑制乳酸菌的生长。

酒精饮料

耐酸的乳酸菌、微球菌 (Lactobacillus, Pediococcus) 和乳杆菌 (Leuconostoc) 能够导致啤酒和葡萄酒变质。浓度为 0.25-2.5mg/L 的乳酸链球菌素能够有效的抑制这种变质。酵母菌不受乳酸链球菌素的影响，因此这种防腐剂能在发酵中直接添加。在发酵液中加入乳酸链球菌素能够抑制或控制染菌，并且也能够增加未经高温消毒和散装啤酒的货架期。而且，浓度为 25.0-37.8mg/kg 的乳酸链球菌素能够作为一种选择的酸性洗涤剂使用在酒花酵母的洗涤中，用来控制乳酸菌。

