

王宏亮,李 昂,那 杰. 抗菌肽在果蔬保鲜中的应用[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):238-240.

抗菌肽在果蔬保鲜中的应用

王宏亮,李 昂,那 杰

(辽宁师范大学生命科学学院/辽宁省植物生物技术重点实验室,辽宁大连 116081)

摘要:食源性致病菌是导致果蔬腐败变质的主要因素,利用抗菌肽高效杀菌、安全、无毒副作用等特点来保鲜果蔬具有潜在的应用价值。本文综述了动物源、微生物源和植物源的抗菌肽在果蔬保鲜及抗菌包装中的研究进展。

关键词:食源性致病菌;抗菌肽;果蔬保鲜

中图分类号: TS255.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0238-03

食源性病原微生物(food-borne pathogens)是造成果蔬腐败变质的主要因素,人们习惯采用化学防腐剂等方法进行保鲜,效果虽好,但因目前很多化学防腐剂对人体具有潜在毒性危害并可破坏环境生态平衡而被禁用。天然防腐剂凭借其抗菌活性强、安全无毒、热稳定性强、可降解、作用范围广及对人体有保健作用等特点正逐步展现出取代化学防腐剂的趋势。

作为天然防腐剂的抗菌肽(antibacterial peptides)另称抗微生物肽(antimicrobial peptides)或肽抗生素(peptide antibiotics),是由多种生物细胞经诱导产生的一类可广谱抗细菌、真菌、病毒、原虫,甚至有抑杀肿瘤细胞等作用的小肽^[1],其来源丰富,广泛存在于植物、昆虫、两栖类动物、水生生物、微生物等体内。绝大部分抗菌肽是阳离子肽,具有两亲性、较好的水溶性、热稳定性、不易产生耐药性、安全无毒副作用等优势^[2],因而在食品工业、农业、畜牧业、医药业、水产养殖业以及保健品、化妆品加工业中都存在潜在的应用价值。目前,首例且唯一被批准应用于食品防腐保鲜的抗菌肽——尼生素(nisin)已在 50 多个国家和地区应用^[3]。

关于抗菌肽在加工型食品防腐中的研究已有较多报道,包括罐藏食品、植物蛋白食品、乳制品、肉制品及乙醇类饮料等,但在果蔬保鲜中的应用研究较少。本文综述了动物源、微生物源和植物源抗菌肽在果蔬保鲜及抗菌包装中的应用情况。

1 抗菌肽在果蔬保鲜中的应用

来源于瓜果蔬菜的腐烂致病菌种类繁多,传统的杀菌方法如高温、超高压等会损伤果蔬组织,影响品质,从而造成营养成分流失。生物来源的抗菌肽具有广谱的抗菌性,能够在常温下保持产品的风味,延长果蔬货架期,保证食品安全,因此在果蔬保鲜中具有代替化学防腐剂的潜能。

1.1 动物源抗菌肽在果蔬保鲜中的应用

收稿日期:2013-11-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:31071727)。

作者简介:王宏亮(1988—),女,辽宁锦州人,硕士研究生,从事植物细胞生物学研究。E-mail: hongliangwang_1221@126.com。

通信作者:那 杰,女,辽宁丹东人,博士,副教授,从事植物细胞生物学与分子生物学方面的研究。E-mail: jiena@lnnu.edu.cn。

脊椎动物和无脊椎动物体内广泛存在的抗菌肽参与组成生物体的防御系统,其主要作用机制是通过静电作用吸附并插入到细菌细胞膜表面,扰乱质膜上蛋白质和脂质的排列顺序,并在膜上形成离子通道,从而改变细菌细胞的渗透压而杀死细菌;抗菌肽也可通过胞内损伤机理杀死细菌^[4]。可食用家蝇(*Musca domestica* Linnaeus)幼虫是抗菌肽的一大重要来源,而家蝇抗菌肽具有良好的耐热性、酸碱稳定性以及广谱杀菌活性,可以作为食品产业的中级防腐剂。苟仕金等申请了应用蝇蛆抗菌肽作为食品保鲜剂的专利,并以转基因蝇蛆为原料生产出可用于果蔬的抗菌肽保鲜剂^[5]。两栖动物裸露的表皮是微生物生存的良好“生态培养基”,蛙类的皮肤中含有大量的抗菌肽,邱芳萍等将从吉林林蛙(*Rana temporaria*)干皮中提取的抗菌肽 FSE-31.5 喷洒于草莓表面,结果发现,草莓能在室温下保存 120 h 而不腐烂,而对照组在 72 h 时就完全腐烂,说明林蛙抗菌肽具有杀死草莓表面病原菌的作用^[6]。海洋无脊椎动物体内同样含有丰富的抗菌肽,宋宏霞研究发现,在相同的贮藏条件下,使用从紫贻贝(*Mytilus edulis*)中制备的抗菌肽浸泡草莓样品,保鲜效果明显^[7]。

1.2 微生物源抗菌肽在果蔬保鲜中的应用

细菌素(bacteriosin)是某些细菌在代谢过程中通过基因编码、核糖体合成的一类具有抗菌活性的多肽或蛋白质(通常有 30~60 个氨基酸),它能抑杀亲缘关系较近的其他细菌,但对产生菌本身无毒害作用。细菌素具有酶稳定性、热稳定性、无免疫原性等特点,是一类安全、高效、无毒的天然防腐剂。

尼生素是由乳酸乳球菌乳酸亚种(*Lactococcus lactis* sp. *lactis*)中的特定菌株产生的一类多肽,可以通过在细菌细胞膜上形成孔洞而破坏跨膜质子的动力势和 pH 值平衡,造成胞内离子泄露及 ATP 水解异常而导致细菌死亡^[8]。尼生素能有效抑杀革兰氏阳性菌(G^+),尤其能抑制芽孢的生长,但对革兰氏阴性菌(G^-)、酵母、霉菌无明显作用^[9]。丛建民发现尼生素利于常温下草莓的保鲜^[10]。张素琴等发现尼生素在 4℃ 冷藏条件下能显著降低白玉枇杷的腐烂率^[11]。Mythili 等在常温下用尼生素涂抹胡萝卜等蔬菜发现,尼生素不但可以延长 15~25 d 货架期,而且可以减少冷藏时氟利昂的排放,从而保护环境^[12]。

尼生素是窄谱抗菌肽,与其他抗菌剂联合使用能拓宽其抗菌谱。Ukuku 等发现,用 10 $\mu\text{g/mL}$ 尼生素、0.02 mol/L

EDTA 保鲜香瓜及香瓜切片的效果好于氯气,可延长 9~12 d 货架期;继续用 50 g/mL 尼生素、2% 乳酸钠、0.02% 山梨酸钾处理香瓜发现,当天即可降低沙门氏菌(*Salmonella*)近 3 个数级,表明尼生素与其他防腐剂联合使用的保鲜效果更佳^[13-14]。还有研究发现,用 50 g/mL 尼生素、0.02 mol/L EDTA、2% 乳酸钠、0.02% 山梨酸钾保鲜香瓜,能有效控制污染菌的数量^[15]。用 1% 过氧化氢、25 μ g/mL 尼生素、1% 乳酸钠和 0.5% 柠檬酸浸洗香瓜表面,鲜切瓜片上的细菌数量显著减少^[16]。综上所述,用尼生素喷洒、浸洗、涂抹新鲜果蔬,能起到防腐保鲜的作用。

Enterocin AS-48 是由粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)产生的一种环状抗菌肽,具有广谱抑杀 G^+ 、 G^- 的效果。Molinos 等研究发现,在 6 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 Enterocin AS-48 能将紫花苜蓿、黄豆芽、芦笋 3 种蔬菜的货架期延长 1~3 d;利用 Enterocin AS-48 浸洗草莓、木莓及黑莓,能显著减少单增李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)的数量,且在 15、22 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,3 种水果均能储藏 2 d,在 6 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,草莓和黑莓能储藏 7 d;Enterocin AS-48 还能延长黄豆芽的货架期^[17-19]。可见肠道菌素在果蔬保鲜领域同样具有潜在的应用价值。

陶炜煜将枯草芽孢杆菌 R21-4 抗菌肽添加到 1% 普鲁兰多糖中,在 10 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下对西兰花进行涂膜处理,发现能有效延缓西兰花的腐败^[20]。李蒙等在(8 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 下研究不同浓度葡萄糖酸内酯、壳聚糖和抗菌肽(由淀粉液化芽孢杆菌 ES-2-4 产生)对樱桃番茄保鲜效果的影响,得到最优组合为 0.5% 葡萄糖酸内酯+4% 壳聚糖+抗菌肽原液^[21]。

1.3 植物源抗菌肽在果蔬保鲜中的应用

植物防御素是广泛存在于植物体内的一类阳离子抗菌多肽,是植物先天免疫系统的重要组成部分,具有良好的活性,对真菌、某些细菌和昆虫具有强烈的抑杀作用,可以通过破坏微生物膜的渗透性、增加 Ca^{2+} 流入及 K^+ 输出等过程杀死微生物,但对人体无任何毒性^[22]。Berrocal-Lobo 等首次成功利用小麦抗菌肽抑杀利什曼原虫(*Leishmania* spp.)^[23]。此外,将防御素作为防腐剂添加到食品中,可对人体起调理素的作用,如抑制甾醇类激素的分泌,增强脂蛋白与内皮细胞、脂蛋白与内层平滑肌细胞的结合能力等^[24]。

2 抗菌肽在活性包装中的应用

将抗菌剂直接添加到食品中或者喷洒、涂抹在食品表面,可能致使食品中的某些活性物质部分失活,而食品本身的变性作用及抗菌剂的迅速扩散又会降低抗菌剂的活性,进而导致抗菌剂无法有效地抑杀致病菌。抗菌包装的使用弥补了这一缺陷。抗菌包装是活性包装中最重要的一种,它是以高分子聚合物为载体,将抗菌剂加入其中而制成的,抗菌剂可缓慢并连续地从包装材料中向食品表面及内部渗透,通过破坏细菌细胞渗透压而杀死细菌^[25]。

崔珊珊等将 Nisin 加到载体材料中并涂覆于 PE 薄膜上,形成 0.07 mm 的涂膜,当接触溶液时 Nisin 会扩散出来,从而达到抑菌效果,并且随着温度升高,扩散系数逐渐增大^[26]。Ercolini 等将 Nisin 添加到塑料中制成抗菌包装,用于 1 $^{\circ}\text{C}$ 下牛肉的冷藏,结果发现该包装不仅减少了 G^+ 的数量,而且不会影响牛肉中原有微生物种群,能够保持微生物的多样性,维

持肉品营养^[27]。Alrabadi 在室温下用结合了 2 000 IU/mL Nisin 的低密度聚乙烯薄膜(LDPE)保存奶酪时发现,Nisin 抗菌包装能有效抑制微生物生长,并且可以减少食品中一些挥发性代谢产物的释放,从而起到保鲜食品的作用^[28]。Ferroci-no 等在 1 $^{\circ}\text{C}$ 真空条件下用 Nisin 抗菌包装保藏牛肉时发现,可以有效控制多种微生物的数量^[29]。

Nithya 等将从地衣芽孢杆菌(*Bacillus Licheniformis*) Me1 中得到的抗菌肽 ppABP 用于 LDPE 和纤维素薄膜 2 种不同的包装材料中,发现 2 种包装均表现出良好的抗菌活性,且 LDPE 薄膜遇水即会释放抗菌肽,而纤维素薄膜逐步释放抗菌肽,说明抗菌肽的释放与材料本身性质有关^[30]。大量试验证明,利用抗菌肽制成抗菌包装用于食品防腐具有广阔的应用前景。

3 展望

抗菌肽作为一种安全、无毒副作用、抗菌谱广、高效杀菌的天然防腐剂,具有潜在的应用价值,但将其工业化、规模化推向市场仍面临诸多挑战,主要原因有以下几点:(1)抗菌肽的规模化生产。高生产成本是阻碍抗菌肽规模化生产的首要问题,由于抗菌肽在生物体内含量极低,天然资源有限,分离纯化困难,提取率低,而化学合成成本高且无法保证合成肽的活性,目前仅限于一些小肽的合成;利用基因工程手段获得抗菌肽,虽然已经实现了在某些细菌、酵母菌等体系中的表达,但小分子肽极易被蛋白酶水解,导致产量较低,无法满足现代工业的市场需求^[31],因此如何通过廉价、高效的手段大量生产抗菌肽是目前研究的重点。(2)基因改造。某些抗菌肽的溶血性不利于其在动物及人体中的应用,可以通过基因修饰手段改造不利基因,由于影响抗菌肽生物活性的生化参数较多,如何在综合考虑各参数的基础上,既保证抗菌肽活性,又克服其溶血性,是改造抗菌肽的一大难点^[32]。(3)应用于包装材料的问题。将抗菌肽制成包装材料时,对抗菌剂的稳定性、控制释放、释放量以及外界条件的控制等因素需要进行深入探究^[33]。

参考文献:

- [1] 黎观红,洪智敏,贾永杰,等. 抗菌肽的抗菌作用及其机制[J]. 动物营养学报,2011,23(4):546-555.
- [2] 侯晓姝,胡宗利,陈国平,等. 抗菌肽的抗菌机制及其临床应用[J]. 微生物学通报,2009,36(1):97-105.
- [3] 张玉鑫. 天然防腐剂乳酸链球菌素的研究进展[J]. 农业科技与装备,2010(5):27-29.
- [4] 尚田田,徐彦召,杭柏林,等. 抗菌肽的抗菌机理及构效关系研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医,2013(9):26-28.
- [5] 苟仕金,苟鸿鹰,王成余. 转基因家蝇蛆中提取的基因抗菌肽用于食品防腐和蔬菜水果保鲜剂:中国,01106362[P]. 2001-10-31.
- [6] 邱芳萍,周杰,李向晖,等. 天然食品保鲜防腐剂——林蛙皮抗菌肽[J]. 食品科学,2002,23(8):279-282.
- [7] 宋宏霞. 紫贻贝(*Mytilus edulis*)抗菌肽的研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2007:57-70.
- [8] Deegan L H, Cotter P D, Hill C, et al. Bacteriocins: biological tools for bio-preservation and shelf-life extension[J]. International Dairy

- Journal, 2006, 16(9): 1058–1071.
- [9] 赵春燕, 王源, 孟晓曦, 等. 乳链菌肽的研究现状及应用进展[J]. 中国酿造, 2010(5): 13–16.
- [10] 丛建民. Nisin 在草莓保鲜中的应用研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(2): 131–133.
- [11] 张素琴, 周建俭. 乳酸链球菌素在白玉枇杷保鲜中的应用[J]. 江苏农业科学, 2010(5): 401–402.
- [12] Mythili R S, Sathivelu A. Recovery of bacteriocin (NISIN) from *Lactococcus lactis* and testing its ability to increase the shelf life of vegetables (carrot and beans) [J]. Research Journal of Biological Sciences, 2010, 5(11): 727–730.
- [13] Ukuku D O, Fett W F. Effectiveness of chlorine and nisin–EDTA treatments of whole melons and fresh–cut pieces for reducing native microflora and extending shelf–life [J]. Journal of Food Safety, 2002, 22(4): 231–253.
- [14] Ukuku D O, Fett W F. Effect of nisin in combination with EDTA, sodium lactate, and potassium sorbate for reducing salmonella on whole and fresh–cut cantaloupe [J]. Journal of Food Protection, 2004, 67(10): 2143–2150.
- [15] Bari M L, Ukuku D O, Kawasaki T, et al. Combined efficacy of nisin and pediocin with sodium lactate, citric acid, phytic acid, and potassium sorbate and EDTA in reducing the *Listeria monocytogenes* population of inoculated fresh–cut produce [J]. Journal of Food Protection, 2005, 68(7): 1381–1387.
- [16] Ukuku D O, Bari M L, Kawamoto S, et al. Use of hydrogen peroxide in combination with nisin, sodium lactate and citric acid for reducing transfer of bacterial pathogens from whole melon surfaces to fresh–cut pieces [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 104(2): 225–233.
- [17] Molinos A C, Abriouel H, López R L, et al. Inhibition of *Bacillus cereus* and *Bacillus weihenstephanensis* in raw vegetables by application of washing solutions containing enterocin AS–48 alone and in combination with other antimicrobials [J]. Food Microbiology, 2008, 25(6): 762–770.
- [18] Molinos A C, Abriouel H, Ben Omar N, et al. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in raw fruits by enterocin AS–48 [J]. Journal of Food Protection, 2008, 71(12): 2460–2467.
- [19] Cobo Molinos A, Abriouel H, López R L, et al. Combined physico–chemical treatments based on enterocin AS–48 for inactivation of Gram–negative bacteria in soybean sprouts [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(8): 2912–2921.
- [20] 陶炜煜. 乙醇及抗菌膜在最小加工西兰花保鲜上的应用[D]. 北京: 北京林业大学, 2006: 33–39.
- [21] 李蒙, 陆兆新, 周翔, 等. 复合生物源保鲜剂对樱桃番茄“绿宝石”保鲜效果的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(18): 301–306.
- [22] 付蓝宝, 于嘉林, 刘伟华. 防御素的生物学特性及其抗病基因工程[J]. 遗传, 2011, 33(5): 512–519.
- [23] Berrocal–Lobo M, Molina A, Rodríguez–Palenzuela P, et al. *Leishmania donovani*: thionins, plant antimicrobial peptides with leishmanicidal activity [J]. Experimental Parasitology, 2009, 122(3): 247–249.
- [24] Bauer R, Dicks L M T. Mode of action of lipid II–targeting lantibiotics [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 101(2): 201–216.
- [25] 徐启军, 黎锡流, 李晓玺, 等. 天然多肽抗菌活性物质 Nisin 及其在食品抗菌保鲜中的应用[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(4): 177–182.
- [26] 崔珊珊, 卢立新, 刘志刚. 温度对抗菌涂层薄膜中 Nisin 扩散性能的影响[J]. 包装工程, 2009, 30(9): 8–9, 12.
- [27] Ercolini D, Ferrocino I, la Stora A, et al. Development of spoilage microbiota in beef stored in nisin activated packaging [J]. Food Microbiology, 2010, 27(1): 137–143.
- [28] Alrabadi N I. Shelf life extension of cheddar processed cheese using polyethylene coating films of nisin against *Bacillus cereus* [J]. Journal of Biological Sciences, 2012, 12(7): 406–410.
- [29] Ferrocino I, La Stora A, Torrieri E, et al. Antimicrobial packaging to retard the growth of spoilage bacteria and to reduce the release of volatile metabolites in meat stored under vacuum at 1°C [J]. Journal of Food Protection, 2013, 76(1): 52–58.
- [30] Nithya V, Murthy P S, Halami P M. Development and application of active films for food packaging using antibacterial peptide of *Bacillus licheniformis* Mel [J]. Journal of Applied Microbiology, 2013, 115(2): 475–483.
- [31] 朱张洪基. SDLH 抗菌肽在食品防腐作用中的初步探索[D]. 太原: 山西大学, 2012: 39–46.
- [32] 张海波, 金莉莉, 王秋雨. 抗菌肽活性及天然抗菌肽的改造[J]. 生命的化学, 2011, 31(2): 227–232.
- [33] 应丽莎, 赵东方, 付海蛟, 等. 控释技术在食品活性包装中应用与研究[J]. 食品科学, 2012, 33(9): 335–340.
- 孙春伟. 食品安全风险指数的指标体系探析[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 241–243.

食品安全风险指数的指标体系探析

孙春伟

(哈尔滨工程大学人文学院, 黑龙江哈尔滨 150001)

摘要: 食品安全风险指数是基于具体的风险指标编制的。食品安全风险指标是食品安全风险因素的具体体现, 可以用于对食品安全风险进行定性定量分析, 可以有不同的分类, 不同的食品安全风险指标之间存在着一定的层级关系, 不同种类的风险指标构成了指标体系。科学地划分食品安全风险指标, 是准确编制食品安全风险指数的关键。

关键词: 食品安全; 风险指数; 风险指标; 指标体系

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002–1302(2014)03–0241–03

作者简介: 孙春伟(1963—), 黑龙江哈尔滨人, 男, 博士, 教授, 从事食品安全制度研究。E–mail: sunchunwei361@163.com。