



天然食品防腐剂——细菌素

史沁红¹, 李青²

(1. 西南大学 食品科学学院, 重庆 400715; 2. 华南农业大学, 广州 510000)

摘要: 细菌素是一类安全、高效、无毒的天然食品防腐剂。本文介绍了细菌素的分类, 以及细菌素与抗生素的区别, 以尼生素, 纳他霉素为重点阐述了细菌素的抑菌机理及在肉制品中的应用。

关键词: 细菌素; 抗生素; 尼生素; 纳他霉素; 食品防腐

The Natural Food Preservatives —— Bacteriocins

SHI Qin-hong¹, LI Qing²

(1. College of Food Science, Southwest Normal University, Chongqing 400715;
2. South China Agricultural University, Guangzhou 510000)

Abstract: Bacteriocins are safe, efficient, non-toxic natural food preservative. This paper reports the classification of bacteria and different between bacteriocin and antibiotics. This article also gives an overview of the inhibition mechanism of bacteria and application of bacteriocin in meats.

Key words: bacteriocin; antimicrobial; nisin; natamycin; food preservation

中图分类号: TS202 文献标识码: A 文章编号: 1001-8123(2008)10-0044-04

在食品工业中, 防腐保鲜始终是最重要问题。据统计, 全世界约有10%~20%的食品损失源于各种腐败变质。目前使用的防腐剂多以化学防腐剂为主, 但经长期的研究发现, 一些化学防腐剂有诱癌性、致畸性和易引起食物中毒等问题。随着人们对食品安全性的认识和营养要求的逐步提高, 传统化学防腐剂的使用受到严峻挑战, 食品防腐剂的天然化已成为今后的发展方向。天然防腐剂具有抗菌性强、安全无毒、水溶性好、热稳定性好、作用范围广等合成防腐剂无法比拟的优点。因此, 开发高效、广谱、安全稳定且便宜的新型防腐剂具有重要的意义。

一般认为, 优良的食品防腐剂应具备以下特点:

①应对导致食品变质的微生物具有良好的抑制作用;

②必须对消费者是安全的;

③对食品应有的外观、气味、颜色和味道没有或有很小的影响;

④价格低廉。

依据这一原则, 目前食品防腐剂的研究工作人员发现了很多优良的自然防腐剂。其中被广泛应用的是乳酸链球菌素, Nisin作为一种高效、无毒的天然食品添加剂符合未来食品防腐剂的要求, 随着乳酸链球菌素的发现, 很多研究者对生产天然抗细菌防腐剂产生了极大的兴趣。

1 细菌素

由许多细菌产生的抗细菌肽或蛋白叫细菌素, 是一种多肽或多肽与糖和脂的复合物^[1]。细菌素是某些细菌在代谢过程中通过核糖体机制产生的一类具有抑菌生物活性的蛋白质, 产生菌对其产生

收稿日期: 2008-08-01

作者简介: 史沁红 (1984年—), 女, 山西长治人, 硕士研究生, 研究方向: 食品安全

的细菌素具自身免疫性^[2]。第一个细菌素是 Gratia 从革兰氏阴性细菌中发现的。他认为大肠杆菌 V 菌株产生的某种物质能抑制 ϕ 菌株的生长, 随后通过分离发现了一种类似于噬菌体的物质, 这种物质不进行自主复制, 把这种物质称为大肠杆菌素^[3]。后来发现很多细菌都可以产生类似物质, Jacob 于 1953 年将这类物质定义为细菌素。大肠杆菌素的种类很多, 能够杀死与其种属相关的细菌, 作用机理也是多种多样的, 细菌素有广泛的来源, 既可以由革兰氏阳性菌产生, 也可由革兰氏阴性菌产生。

细菌素具有安全性、酶稳定性、热稳定性、免疫性等优点, 因此研发更多的细菌素作为食品防腐剂具有重大意义。

2 细菌素的分类

根据细菌素的化学结构, 分子量大小和其他特性, 通常将其分为三类:

(1) 羊毛硫细菌素。这类分子量小于 5kDa, 是一类多肽分子, 这类多肽还可以分成两小类: 一类结构柔软, 带正电和疏水基团, 可在靶细胞膜上形成通道而起作用; 另一类是球状多肽, 不带电或带负电荷^[4]。

(2) 小分子热稳定、非修饰的肽, 分为 IIa 和 IIb 两个亚类。IIa 包括片球菌素样抗李氏杆菌活性肽, 均具有 N- 末端序列 Tyr-Gly-Asn-Gly-Val 和两个半胱氨酸在肽的 N 末端形成 S-S 桥; IIb 为含有两个不同肽的寡聚体, 需两个肽的共同作用才发挥活性, 两个肽由相邻的基因编码, 氨基酸序列不同, 但只有一个免疫基因^[5]。

(3) 大的、热不稳定的细菌素。

除了这三种主要类型外还有一些由多肽与其他非肽类基团结合而形成的细菌素。

表 1 细菌素的类型^[6]

类型	特征	代表性细菌素
I	Ia 羊毛硫细菌素, 小于 5kDa 的肽, 含有羊毛硫氨酸和 β -甲基羊毛硫氨酸, 分子柔软	Nisin
	Ib 球状肽, 不带电或负电	Mersacidin
II	IIa 小分子热稳定肽, 抗离氏杆菌, 具 N 末端保守序列	Pediocin PA-1, sakacins A and P, leucocin A, carnobacteriocins, etc
	IIb 由两个不同肽组成有活性的复合物	Lactococcins G and F, lactacin F, Plantaricin EF and JK
III	对热敏感的大分子	Helveticins J and V-1829, acidophilucin A, lactacins A and B

3 细菌素与抗生素

很多人容易把细菌素的概念与抗生素混淆, 这种混淆妨碍了细菌素在食品中的应用, 因此区分细菌素和抗生素是非常重要的。

传统的多肽抗生素是由细胞多酶复合体催化形成的, 不存在结构基因, 而细菌素由基因编码, 可以通过基因工程的手段加以改造。它们的合成及作用模式与临床使用的抗生素亦不同。此外, 对抗生素显示抗性的微生物通常不对细菌素显示交叉抗性, 且与抗生素的抗性不一样, 细菌素抗性通常不是由遗传决定的^[7]。

生产细菌素的细胞对其产物(细菌素)具有免疫力是细菌素与抗生素的主要区别。细菌素中编码免疫蛋白的基因靠近其结构及调整基因。通常细菌素的结构与免疫基因位于同一个操纵子且是紧连的^[3]。

通过表 2 可以看出抗生素虽然抗菌谱宽, 但与乳酸菌素相比安全性较差, 因此细菌素可以安全及有效地使用以达到控制食品中目标病原体生长的目的。

表 2 乳酸菌素与抗生素的区别

特性	乳酸菌素	抗生素
应用领域	食品	临床
合成	核糖体合成的蛋白或多肽	次级代谢物
活性	窄谱	广谱
宿主细胞免疫	免疫	非免疫
作用方式	在细胞膜上形成孔道或抑制细胞壁的生物合成或检测出	细胞膜或胞内物质
毒性	细胞膜成分的改变	有
抗性机理		交叉抗性

4 可作为食品防腐剂的细菌素

4.1 Nisin

乳酸链球菌素 Nisin 是一类由乳酸菌在代谢过程中通过核糖体合成机制产生的抗菌多肽或蛋白, 胞外分泌, 能够通过细胞膜上形成孔道或抑制细胞壁合成来达到溶菌目的, 由 34 个氨基酸组成, 在酸性条件下具有热稳定性。它是第一个应用于食品防腐的细菌素, 其生产基因稳定。

对于 Nisin 的抑菌机理一直是研究的热点, 所得结论不一。Nisin 吸附在微生物的细胞质膜上是杀菌的前提, 这已是达到共识的, 分歧在于如何进一步作用。Nes 研究认为 Nisin 可以抑制营养细胞的肽聚糖等物质的生物合成, 使细胞膜和磷脂化合物的合成受阻, 导致细胞内物质外泄, 细胞裂解^[8]。因为 Nisin 单体中的脱氢丙氨酸和 β -甲基脱氢丙

氨酸可能与敏感性细胞膜中的某些酶的巯基发生作用, 释放细胞质, 造成敏感细胞裂解, 故有人认为 Nisin 的作用机制和这两个脱氢氨基酸有关^[9]。也有人认为, Nisin 对微生物的作用机理是 Nisin 的靶细胞是细胞膜, 在一定膜电位的存在下, Nisin 吸附于细胞膜上, 然后在细胞膜上形成孔洞。Nisin 是一个带正电荷的阳离子分子, 在缺乏阴离子膜磷脂的情况下, Nisin 起阴离子选择载体的作用; 当存在阴离子膜磷脂时, Nisin 吸附在膜上, 利用离子间相互作用, 及其分子的 C 末端和 N 末端对膜结构产生作用形成穿膜“孔道”, 可允许分子量为 0.5kDa 的亲水溶液通过, 导致 K⁺ 从胞浆中流出, 细胞膜去极化及 ATP 泄漏, 细胞外水分子流入, 导致细胞解体死亡^[10]。

Nisin 对革兰氏阳性菌特别是芽孢菌有很好的抑制作用。Nisin 通过杀菌的方式完成后, 混合物中的 Nisin 仍保持一定活力。在通常情况下, 由于芽孢对热具有强烈的敏感性, 这些残留的 Nisin 能抑制细菌芽孢的发芽^[11]。近期研究表明在一定条件下 Nisin 与 EDTA 配合使用对革兰氏阴性菌有一定的抑制作用。

1989 年联合国粮食及农业组织(FAO/WHO)、食品添加剂联合专家委员会承认 Nisin 为一种高效、无毒的天然食品防腐剂, 不仅有较好的防腐抑菌作用, 而且能减弱热处理强度, 降低加工成本, 改善食品风味、外观和营养价值。现已被英、美、法、中国等 50 多个国家和地区批准 Nisin 作为食品防腐剂广泛使用。按国际规定, 罐装食品、植物蛋白食品中的最大使用量为 0.2g/kg; 在乳制品、肉制品中的最大使用量为 0.5g/kg, 一般的参考用量为 0.1~1.2g/kg。

4.2 纳他霉素

纳他霉素(Natamycin), 也称匹马菌素或田纳西菌素, 是由放线菌中纳塔尔链霉菌经生物技术精炼而成的生物防腐剂, 是一种四烯大环内脂类化合物, 呈白色至乳白色的几乎无臭无味的结晶性粉末^[12], 对真菌、酵母菌、某些原生动物和某些藻类作用效果好, 对细菌、病毒以及其他微生物没有抑制作用。孙启华^[13]等人采用试管稀释法和琼脂稀释法研究了纳他霉素对真菌的抑菌效果, 结果表明纳他霉素对黄曲霉菌、青霉菌和酵母菌具有较强的抑制作用, 其最低抑菌浓度为 1.25~5.0mg/L 和 0.62~1.25mg/L。

纳他霉素抑菌机理在于它能与细胞膜上的甾醇化合物反应, 纳他霉素分子的疏水部分即大环内

酯的双键部分以范德华力和真菌细胞质膜上的甾醇分子结合, 形成的抗生素-甾醇复合物。由此引发细胞膜结构改变而破坏细胞膜的渗透性, 导致细胞内容物的渗漏, 使细胞死亡。但是当某些微生物的细胞壁及细胞膜不存在这些甾醇化合物时, 纳他霉素就不会产生抗菌活性^[14]。

纳他霉素无毒, 并且不致突变、不致癌、不致畸、不致敏。经卫生学调查和皮肤斑点试验, 表明纳他霉素无过敏反应^[15]。1985 年 Smith 和 Moss 报道, FDA/WHO 给出纳他霉素的 ADI 值, 规定其每日膳食许可量为 0.3mg/kg。由于纳他霉素具有毒性低, 使用安全, 抗菌谱与乳链球菌素正好互补的特性, 因此可以与乳链球菌素共同使用。姜元荣^[16]等研究发现, 将纳他霉素和 Nisin 配合使用可有效地防止传统方法酿造的酱油霉变, 并可降低纳他霉素的用量。

在葡萄酒中纳他霉素能取代山梨酸和其它抗真菌剂, 可减少 SO₂ 的使用量。与传统的抗真菌剂比较, 纳他霉素的使用浓度和用量较低。主要在奶酪、肉制品和葡萄酒及果汁中用作抗真菌剂。

4.3 枯草菌素

1945 年, 最先由 Johnson 报道, 枯草芽孢杆菌能够产生抗菌物质。枯草菌素(subtilin)是由枯草芽孢杆菌的一些菌株在合适的条件下产生, 它是一种环多肽, 能抑制真菌但对细菌作用很小^[17], 对 G⁺ 菌有较高的抑菌效果, 对酸稳定耐热性强, 可耐 121℃, 30~60min 的加热条件, 而且生产比 Nisin 容易, 可以用淀粉作为营养源, 有很强的抗不良环境的能力, 因此在食品上具有较好的应用前景, 但在国内尚无生产, 也无使用及相关规定^[18]。枯草芽孢杆菌一个主要的应用方向是作为生防菌株抑制植物病原性真菌和植物病原性细菌, 这也是国内外学者展开对枯草芽孢杆菌抗菌物质研究的初衷。

4.4 泰乐菌素

由链霉菌产生的泰乐菌素(Tylosin)是一种大环内脂类物质, 主要有酒石酸泰乐菌素和磷酸泰乐菌素, 具有抗菌谱广、毒副作用小、性质稳定等特点, 其作用类似乳酸链球菌素。链霉菌产生几丁质酶对大部分真菌具有抑制作用^[19]。泰乐菌素对 G⁺ 有强烈的抗菌效果, 但在安全性方面还有一定的问题, 国外报道于 1961 年, 主要作为兽用抗生素药, 目前在食品防腐剂方面只有用于罐头食品的报道, 还尚需进一步的研究。泰乐菌素已在美国、日本、荷兰、英国等国家投入生产, 但在我国尚未生产。

5 细菌素在肉品中的应用

细菌素在肉品的保藏中广泛应用于香肠、西式火腿、即食腊肉制品、扒鸡等肉制品中。在加工肉制品中,为了改进肉色、风味以及抑制肉毒梭状芽孢杆菌的生长,传统的方法是在肉品中加入一定量的硝酸盐,但是硝酸盐通过硝酸盐还原菌的作用转化为亚硝酸盐,而硝酸盐与体内的胺类物质作用,生成具有致癌的亚硝胺化合物,对人是十分有害的,在肉制品中加入乳酸菌素,可降低pH值,较低pH值能减少残留的亚硝酸盐含量,减少亚硝胺的形成,避免对人的危害,同时Nisin能很好地抑制肉毒梭状芽孢杆菌的生长,可以降低灭菌温度,缩短灭菌时间,提高食用品质,延长食品保藏时间,从而保证肉制品的安全。

在肉类保鲜方面,可采用纳他霉素浸泡或喷涂肉类食品,来达到防止霉菌生长的目的。每平方米喷涂4 μg的纳他霉素时,可达到安全而有效的抑菌水平。在制作香肠时,将纳他霉素悬浮液浸泡或喷涂已添好馅料的香肠表面,可有效的防止香肠表面长霉^[20]。在肉类工业中,由于研究较晚,纳他霉素的应用面还较窄,目前还远不如乳酸链球菌素(Nisin)等天然防腐剂应用广泛,因此还有很大的潜力。

随着社会经济的发展和人们生活水平的提高,人们对健康的重视程度也日益加强。因此纯天然食品防腐、保鲜剂取代或者部分取代化学防腐剂是大势所趋势。细菌素作为天然食品防腐剂的效果是显而易见的,但是由于细菌素的研究起步较晚,只有乳酸菌素是唯一纯化后能在商业上使用的细菌素,因此,加强对天然、无毒、安全的食品防腐剂——细菌素的基础研究和应用研究极为迫切,而且在食品工业上越来越引起关注和重视,具有广阔的市场前景,将对人类健康有着实际意义。

参考文献

[1] Margaret Riley. Molecular mechanisms of bacteriocin evolution[J]. proQuest Biology Journals.1998,32:256.
 [2] 赖毅东,宁正祥.生物防腐剂—细菌素[J].广州食品工业科技.18(4):54.
 [3] 靳慧杰.细菌素及其在乳制品中的应用[J].中国

乳业.2007,1:3.
 [4] 郝纯,常忠义,高红亮等.天然食品防腐剂—细菌素的研究新进展[J].食品科学.2004,25.(12):194.
 [5] 周志江,韩焯.细菌素及其在食品安全中的应用[J].农产品加工.2005,9(10):160.
 [6] Jennifer Cleveland, Thomas J Montville, Ingolf F Nes, et al.Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001,71:1—20.5.
 [7] 刘耕,杨洋.安全的天然食品防腐剂细菌素[J].食品科学.26(7):252
 [8] Nes I F. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria [J]. Antonie Van Leeuwenhoek,1996,70:113—128.
 [9] 蒋永福.天然防腐剂——乳酸链球菌素的研究进展[J].精细化工.2002,19(8):454.
 [10] Altana K, Guder A, Cramer C.Appl. Env-iron. Microbiol, 2000, (66):2565~2571.
 [11] 朱小乔.极具潜力的天然防腐剂—Nisin[J].食品与发酵工业,2001,27(4),66—68.
 [12] 杜荣茂.天然食品防腐剂[J].中国食品添加剂.2003,2:71.
 [13] 孙启华,崔树玉.纳他霉素防腐抑菌效果的研究[J].中国消毒学志.2005,22(4):435.
 [14] Gill J A,Martin J F, Polyeneantibiotics. Biotechnology of antibiotics [M] 2nd edu,Marcel Dekker,New York, 1997:551—576.
 [15] 刘树立,王春艳,邹忠义.纳他霉素的研究现状及其在肉类工业中的应用[J].肉类工业.2007,11:37.
 [16] 姜元荣,钱海峰,孟德其.纳他霉素和乳酸链球菌素复合防腐剂在酱油防霉中的应用[J].无锡轻工大学学报.2002,21(2):170—172.
 [17] 李澄冰,陈孝荣等.天然防腐剂的发展与应用[J].食品研究与开发.2000,21(2):10.
 [18] 浮吟梅,吕亚西.生物防腐剂的应用和发展动向[J].中国食品添加剂.2004,3:53.
 [19] 李凇,邓斌,胡承.类细菌素的研究进展[J].中国防伪.2005,8:56.
 [20] 王喜波,刘杨.天然生物食品防腐剂——纳他霉素[J].食品研究与开发.2007,28(1):193.