

# 抗微生物酶在食品工业中的应用

(浙江大学食品营养系, 杭州 310029) 刘小杰  
(杭州瑞霖化工有限公司, 杭州 311500) 蒋雪红 秦翠群

**摘要** 抗微生物酶主要包括两大类:溶菌酶和氧化还原酶,其中溶菌酶包括细菌溶菌酶和真菌溶菌酶,氧化还原酶主要有葡萄糖氧化酶、乳过氧化物酶和髓过氧化物酶。抗微生物酶作为天然防腐剂,在食品工业中具有广泛的用途。本文综述了国内外近年来在这一领域的研究进展,指出当前存在的问题,并对应用抗微生物酶提出了一些设想。

**关键词** 溶菌酶 几丁质酶 氧化还原酶 食品工业

**Abstract** Antimicrobial enzymes include lysozyme and oxido-reductase. Lysozyme may come from bacteria or fungus. Glucose oxidase, lactoperoxidase and myeloperoxidase are major oxido-reductases. As natural food antiseptic agents antimicrobial enzymes are applied in food industry widely. This article reviews advancement in research on antimicrobial enzymes in and abroad, and points out problem of application of antimicrobial enzymes. This paper also puts forward application ideas of antimicrobial enzymes.

**Key words** lysozyme; chitinases; oxido-reductase; food industry

中图分类号: TS201.2<sup>5</sup> 文献标识码: A  
文章编号: 1002-0306(2002)03-0080-03

一般认为,最具应用前景的抗微生物酶有两大类,一是溶菌酶类,它们作用的底物往往是微生物细胞壁的主要组分;二是氧化还原酶类,它们催化的反应可生成一些活性物质,这些物质可以破坏细胞中一些重要蛋白质。本文综述了国内外近年来对这两类酶在食品工业中应用的研究进展。

## 1 溶菌酶类

### 1.1 溶菌酶的种类

溶菌酶(lysozyme, EC3.2.1.17)是一种专门作用于微生物细胞壁的水解酶,又称细胞壁溶解酶。随着研究的不断深入,发现溶菌酶不仅对细菌细胞壁有作用,还可作用于真菌细胞壁。根据来源不同,溶菌酶可以分为以下三类:a.动物溶菌酶 鸡蛋白中约含有3.5%的溶菌酶,可分解革兰氏阳性菌,对革兰氏阴性菌不起作用,其分子量为14 000。此外,从其它鸟类蛋白、哺乳动物乳汁及体液中也分离到了溶菌酶;

b.植物溶菌酶 Audy 等曾对116科410种植物进行普查,发现168种植物中含有溶菌酶。其中木瓜、无花果、大麦等植物中均可分离出溶菌酶,其分子量较大,约为24 000~29 000,其对溶壁小球菌的溶菌活性不超过鸡蛋蛋白溶菌酶的1/3;c.微生物溶菌酶 人们从60年代发现微生物也产生溶菌酶,按其作用对象可分为两大类,即细菌溶菌酶和真菌溶菌酶。本文主要讨论微生物的溶菌酶。

1.1.1 细菌溶菌酶 细菌溶菌酶通常可分为三大类:N-乙酰氨基己糖苷酶,它催化水解肽聚糖中糖骨架中的 $\beta$ (1-4)糖苷键;N-乙酰胞壁酰-丙氨酸酰胺酶,它催化裂解肽聚糖中糖基与肽基;内肽酶,它催化裂解肽聚糖肽桥中的肽键。研究发现,溶菌酶的抗菌活性不仅表现在其分解细菌细胞壁方面,当酶受到不可逆抑制后,它仍然显示出抗菌效应,这可能与溶菌酶呈碱性有关。不同来源的溶菌酶有不同的抗菌范围,并对不同类型的肽聚糖有特异性,特别是它们对O-乙酰化肽聚糖的分解能力不同。由于革兰氏阳性菌无外膜,所以溶菌酶对它们作用较强。溶菌酶与EDTA并用,可加强对革兰氏阴性菌的抑制作用。用紫苏醛处理溶菌酶,或将溶菌酶连接到半乳甘露聚糖上,可加强该酶穿过外膜进入靶细胞,从而增强其对革兰氏阴性菌的作用。此外,溶菌酶与其它抗微生物酶(葡萄糖氧化酶、乳过氧化物酶)或与传统的防腐措施(如山梨酸盐、乙醇、温度和低pH)联用,可以提高食品微生物安全性。

### 1.1.2 真菌溶菌酶

1.1.2.1 几丁质酶 虽然一些外几丁质酶(exochitinases, EC3.2.1.30)也表现出抗真菌的特性,但抗真菌的几丁质酶主要是内几丁质酶(endochitinases, EC3.2.1.14)。人们已经研究了许多来自于植物和微生物的几丁质酶,并对有些几丁质酶抑制真菌生长/裂解真菌细胞的作用进行了研究。科学家们首先在植物中发现了几丁质酶的抗真菌作用,这类几丁质酶可以对抗侵入植物体的真菌病原体。微生物几丁质酶主要是由链霉菌属、杆菌和大多数真菌产生的。细菌分泌几丁质酶主要用于真菌细胞壁的降解和重组,但在大多数产几丁质酶的真菌

收稿日期: 2001-08-27

作者简介: 刘小杰(1973-),男,博士研究生,研究方向:食品微生物与发酵工程。

中,此酶主要用于真菌细胞壁的成型过程。只有在一些特定的寄生霉菌中,如 *Trichoderma harzianum*、*Aphanocladium album* 和 *Gliocladium virens* 中,胞外几丁质酶和  $\beta$ -葡聚糖酶用来附着和降解菌丝。这些抗真菌的几丁质酶与植物几丁质酶相似,多为内几丁质酶。由于肽聚糖和甲壳质的糖骨架具有相似的结构,因此,一些几丁质酶也具有溶菌酶活性。

1.1.2.2  $\beta$ -葡聚糖酶  $\beta$ -葡聚糖酶 ( $\beta$ -glucanases; EC 3.2.1.39)具有抗真菌作用主要是因为它能水解  $\beta$  (1-3) 糖苷键。研究表明,  $\beta$  (1-3) 葡聚糖酶对几丁质降解真菌细胞壁具有显著的协同作用。如将纯化的几丁质酶和  $\beta$ -葡聚糖酶合用,抗灰色葡萄孢 (*Botrytis cinera*) 的作用提高了 10 倍。内葡聚糖酶与外葡聚糖酶、不同内葡聚糖酶间也具有协同抗真菌作用。因为许多植物性食品中含有  $\beta$ -葡聚糖成分,它对维持产品的组织性、粘度和外观都有作用,将  $\beta$ -葡聚糖酶加入这类食品,可能会引起不良影响。真菌的细胞壁主要组分为几丁质和  $\beta$ -葡聚糖,但一些真菌和大多数酵母细胞壁含有其它类型的多糖(甘露聚糖、 $\alpha$ -葡聚糖和纤维素),因此,甘露聚糖酶、 $\alpha$ -葡聚糖酶也可作为抗真菌的酶类应用于食品工业。

## 1.2 溶菌酶在食品工业中的应用

1.2.1 溶菌酶在乳制品中的应用 人乳中含有大量的溶菌酶,而牛乳中则很少,将溶菌酶添加到牛乳及其制品中,可使牛乳人乳化。研究还表明,溶菌酶是双歧杆菌增长因子,有防止肠炎和变态反应的作用,对婴、幼儿的肠道菌群有平衡作用,在干酪生产中添加溶菌酶可代替硝酸盐等抑制丁酸菌的污染,防止干酪产气,并对干酪的感官质量有明显改善作用。

1.2.2 溶菌酶在新鲜海产品、肉类制品中的应用 研究表明,溶菌酶、氯化钠和亚硝酸盐联合应用到肉制品中可延长肉制品的保质期,其防腐效果比单独使用时效果更好。对于一些新鲜的海产品和水产品经溶菌酶处理后均可延长储存期。

1.2.3 溶菌酶在低度酒类和饮料中的应用 在低度酒中添加 20mg/kg 的溶菌酶不仅对酒的风味无任何不良影响,还可防止产酸菌的生长,同时受酒类澄清剂的影响很小,是低度酒类较好的防腐剂,如日本就把溶菌酶用于清酒的防腐。此外,溶菌酶还可用于 pH 6.0~7.5 的饮料和果汁的防腐。

1.2.4 溶菌酶在其它食品中的应用 奶油蛋糕是容易腐败变质的食品之一,在糕点中加入溶菌酶,可防止微生物的繁殖,起到防腐作用。章银良研究了溶菌酶对草莓的保鲜作用,发现将溶菌酶与甘氨酸联用,保鲜效果更佳。由于处于酵母细胞壁中的蛋白质利用率很低,所以利用溶菌酶破坏酵母细胞壁,可制成微生物蛋白质,提高酵母蛋白质的利用率。用含放线菌体的溶菌酶处理酵母液可生产出含有 5'-肌苷酸、

5'-鸟苷酸及其它呈味物质。

## 2 氧化还原酶类

与溶菌酶不同,氧化还原酶本身并不具有抗微生物的作用,但抗微生物的氧化还原酶系统反应的产物具有细胞毒性,能抑制微生物的生长。在食品防腐领域研究最多的是葡萄糖氧化酶和乳过氧化物酶。

### 2.1 氧化还原酶种类

2.1.1 葡萄糖氧化酶 葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase GOX; EC 1.1.3.4) 一般由黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 和青霉 (*Penicillium spp*) 产生,催化  $O_2$  和  $\beta$ -D-葡萄糖形成  $H_2O_2$  和 D-葡糖酸- $\alpha$ -内酯,酯再与水反应生成葡糖酸。

2.1.2 乳过氧化物酶 乳过氧化物酶 (lactoperoxidase LP; EC 1.11.1.7) 是由多种乳腺分泌的含有卟啉的过氧化物酶,其分子量为 70~80kDa,因此,在乳汁和唾液中存在此酶。LP 催化  $H_2O_2$  将硫氰酸盐 ( $SCN^-$ ) 氧化为次硫氰酸盐 ( $OSCN^-$ ) 或 ( $SCN_2$ )。

2.1.3 其它氧化还原酶 髓过氧化物酶 (myeloperoxidase) 催化  $Cl^-$  和  $H_2O_2$  反应生成次氯酸盐 ( $OCl^-$ ) 和水。

### 2.2 氧化还原酶在食品工业中的应用

2.2.1 葡萄糖氧化酶在食品工业中的应用 葡萄糖氧化酶系统抗微生物作用主要是由于生成的  $H_2O_2$  具有细胞毒性,当然形成的葡糖酸引起 pH 下降,也有抑菌作用。GOX 系统作为食品防腐剂抗微生物的效果报道不一, Tiina 和 Sandholm 研究表明, GOX 系统能显著抑制多种病原菌的生长,如婴儿沙门氏菌 (*Salmonella infantis*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和产气荚膜梭菌 (*Clostridium perfringens*)。GOX 系统对液体全蛋中的革兰氏阴性和阳性菌也有显著抑制作用。但是,将 GOX 系统应用于接种过假单胞菌属 (*Pseudomonas spp*) 和鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 的禽类中,未发现这些腐败菌的生长受到抑制。不同微生物对 GOX 系统的敏感性决定于它们产生  $H_2O_2$  清除剂(如过氧化氢酶、谷胱甘肽和抗坏血酸等)的能力。GOX 系统更多的应用于食品加工中,而不是作为食品防腐剂,其原因是食品长期暴露于过氧化氢的环境易造成食品脂肪酸败。它与过氧化氢酶合用,作为抗氧化剂广泛应用于食品加工过程中,这个组合系统引发的链锁反应可以清除氧 ( $\beta$ -D-葡萄糖 +  $1/2O_2 \rightarrow$  D-葡糖酸),所以可间接影响严格好氧微生物的生长。

2.2.2 乳过氧化物酶在食品工业中的应用 人们很早就知道乳过氧化物酶 (LP) 系统(包括 LP、 $H_2O_2$  和  $SCN^-$ ) 是牛奶中的主要抗细菌因子,牛乳 LP 系统具有一定的热稳定性(能耐受 60℃ 以上的短时巴氏灭菌),但是当  $SCN^-$  浓度很低时,易被  $H_2O_2$  氧化。酶促

生成的 OSCN<sup>-</sup>或高浓度的含氧酸具有抗微生物作用,因为它们可与含巯基的蛋白质反应,导致一些代谢关键酶失活,尤其是那些活性中心含半胱氨酸的酶类。但这并不能完全解释 LP 系统对一些微生物极强的杀伤作用。LP 系统的抗微生物作用可能比产 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的 GOX 系统或 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 本身更强,因为 OSCN<sup>-</sup>或高含氧酸具有更强的抗微生物作用。LP 的最适 pH 稍偏酸 (pH5),因此这个系统在此 pH 条件下作用最强。在低 pH 时,HO<sup>+</sup>SCN 可穿过微生物的细胞膜,引起细胞内损伤,这有助于提高抗微生物作用。

关于 LP 系统抗菌作用的综述很多,学者研究了牛奶中 LP 系统的抑菌、杀菌作用。当细胞浓度很低时,LP 系统就具有杀菌作用,可抑制一些革兰氏阴性菌,包括大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 和鼠伤寒沙门氏菌;当细胞浓度较高时,革兰氏阴性菌在经历一个停滞期后又恢复了生长。在一些情况下,LP 系统对革兰氏阳性菌也具有杀伤作用。抗菌作用取决于下列因素:pH、可利用的底物量、微生物的生长阶段和 LP 系统所处的培养基。富含蛋白质的培养基中含有可被氧化的物质,削弱了 LP 系统的作用。人们研究发现,LP 系统可抑制嗜冷细菌和家禽鼠伤寒沙门氏菌,作用非常显著,其效果与作用时间和 LP 系统的浓度有关。

可利用奶中 LP 系统的自发作用来保藏奶制品。当奶中加入 SCN<sup>-</sup>和氧化酶系统(如葡萄糖氧化酶),可以加强 LP 系统的抗菌作用。国际奶联合会制定了 LP 系统作为奶类防腐剂的指南,因为其它食品中不含有 LP 系统,必须加入 LP 系统来抑制有害微生物,但当前 LP 系统还不能大规模工业生产。

2.2.3 髓过氧化物酶在食品工业中的应用 人类白细胞中的髓过氧化物酶是抵抗病原微生物侵入的有效手段之一,与 OSCN<sup>-</sup>一样,OCI<sup>-</sup>同 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 相比具有更强的抗微生物作用,这可能是氧化酶/蛋白质的特异

性更高,或是生成了氯胺。与 GOX 相比,在很低的酶和底物浓度条件下,此系统就能对抗较广范围的微生物。许多微生物酶与髓过氧化物酶的作用相似:如烟色卡尔黑霉 (*Caldariomyces fumago*) 产一种含血红素的嗜盐过氧化物酶,能抑制一些微生物的生长;不等弯孢 (*Curvularia inequalis*) 产的依赖钒的嗜盐过氧化物酶能产生 HOCl,但其抗微生物作用还未见报道。

### 3 存在的问题及展望

虽然抗微生物酶作为天然防腐剂,可以替代传统防腐剂,但在实际应用中还存在如下几个问题:a. 抗微生物酶的投入/效率低,这就限制了它们的广泛使用;b. 溶菌酶具有特异性,只能抑制某些细菌,降解真菌细胞壁的酶类还没有用做食品防腐剂;c. 虽然氧化还原酶系统作用的微生物种类较广,但它必须依赖于一定的底物,才能产生抗微生物的分子;且当食品中有大量可被氧化的物质时,就会削弱其作用,这些都限制了它们的应用。

将抗微生物酶联用,如把不同的溶菌酶混合,或者将抗微生物酶与其它保藏手段结合使用,可能会扩展它们的使用范围,但这方面的报道还不多。在微生物中异质表达抗微生物酶为今后获得新的抗微生物酶,并将其纯化、大量用于食品工业提供了可能。目前,表达乳腺和植物重组酶的工作进展不大,所以 LP 系统只用于能自发产生 LP 系统的食品中,如奶制品。另一条将抗微生物酶引入食品工业和食品的方法是直接使用转基因酶产品或食品级微生物,这种方法一般很难实现,除非食品中已经含有微生物或添加微生物(如酒、啤酒、豆制品)。有些食品利用发酵保藏,如酸奶制品,因为其自身的低 pH 具有抑菌作用,且加入抗微生物酶会影响发酵初始培养菌的生长,所以抗微生物酶不宜应用于这些食品中。

参考文献(略)

## 出售高产奶牛 山西省忻州市良种奶牛服务中心

我区是华北庞大的养牛基地,有 30 多年的养牛历史,本中心是政府定点经营奶牛单位,手续齐全,面向全国提供各种优质奶牛。主要品种有:北京纯种黑白花奶牛、美国荷斯坦牛、瑞士褐牛、爱尔夏牛等。主要特征:整体呈三角形,前窄后宽,前浅后深,乳房发达,产奶量高,适应冷热带、山地平川饲养。本中心对买牛单位和个人绝对负责,并承诺不售劣质奶牛,任你挑选,价格合理,以质论价,先货后款,并备有运牛车,运费优惠 30%,为你送牛到家,免费提供养牛资料,免费提供食宿,代办验胎、检疫等一切手续。技术人员可到家为你指导培训专业人员。欢迎各界有识之士来人来电洽谈,共谋发展。

接待处:山西省忻州市忻府区光明东街区政府一楼 1-37 室

负责人:巩福荣(科协主席、高级畜牧师)

手机:(0)13509702431

交易场所:山西省忻州市忻府区奔牛良种养殖场

业务联系人:姜福和

电话:0350-3671202 3671017

手机:(0)13935014936