

# 天然微生物防腐剂溶菌酶在食品中的应用研究

崔 红

(辽宁现代服务职业技术学院, 沈阳 110164)

**摘 要:** 溶菌酶是一种安全、无毒的生物酶, 在食品行业中广泛应用。本文主要就溶菌酶的结构、性质、作用机理、分离提取方法, 以及在食品中的应用展开论述, 以期为研究人员提供参考。

**关键词:** 溶菌酶; 结构性质; 分离纯化; 应用

防腐剂是一类能抑制食品微生物生长繁殖, 延长保存时间的一类食品添加剂。根据其来源不同分为天然防腐剂和化学合成防腐剂。目前, 我国食品工业生产过程中以化学合成防腐剂为主, 尤其是山梨酸钾和苯甲酸钠因其价格低廉、防腐效果好而在食品中得到广泛应用, 但在广泛使用化学合成防腐剂的同时, 人们逐渐看到了它对人体的毒副作用。随着科学技术的不断发展, 天然防

腐剂备受人们关注, 目前, 我国《食品添加剂使用标准》(GB 2760-2011) 允许使用的天然防腐剂有乳酸链菌肽、纳他霉素、溶菌酶和  $\epsilon$ -聚赖氨酸 (2014 年新增), 其中溶菌酶是国内外研究较多的一种酶制剂。本文主要就溶菌酶的结构、性质、作用机理、提取方法, 以及其在食品中的应用展开论述, 以期为研究人员提供参考。

作者简介: 崔红 (1980—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品营养与检测。

- [29] 白建民, 刘长虹, 徐婧婷. 醒发时间对馒头品质的影响 [J]. 粮食科技与经济, 2010, 35(2): 54-56.
- [30] 刘长虹, 常冬冬, 李志健, 黄松伟. 醒发条件对北方馒头品质的影响 [J]. 粮食加工, 2012, 37(6): 28-30.
- [31] 苏东民, 等. 酵母添加量和发酵时间对馒头品质的影响 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(11): 73-77.
- [32] 袁旭超, 白丽英. 烹饪工艺和营养之间的关系之我见 [J]. 中小企业管理与科技 (下旬刊), 2009, 9: 302-303.
- [33] 苒艳花, 刘长虹, 马永生, 等. 馒头白度与汽蒸过程关系的研究 [J]. 粮食加工, 2009, 34(6): 43-46.
- [34] 刘长虹, 白建民, 苒艳花. 馒头萎缩程度的分类及原因分析 [J]. 食品科技, 2010, 17(2): 18-20.
- [35] 陈军, 潘治利, 艾志录. 微波复热对馒头品质的影响 [J]. 农产品加工, 2011, 9: 54-58.
- [36] 韩文芳. 复热方式对冷冻馒头质构和消化特性的影响 [J]. 中国粮油学报, 2013, 28(4): 93-97.

## Scientific Interpretation of Chinese Traditional Food—Steamed Buns

ZHAI Wen-yi<sup>1</sup>, ZHANG Gui-xiang<sup>1</sup>, WU Qiang<sup>2</sup>, ZHANG Bing-wen<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>University of Jinan, School of Hotel Management, Jinan 250002, China)

(<sup>2</sup>Institute of Products Quality Supervision and Inspection of Jiaozhou, Jiaozhou 266300, China)

**Abstract:** Steamed buns was introduced from raw materials to manufacturing techniques with scientific and comprehensive interpretation. Influences of components of wheat flour, different fermentation agents and processing technology on the qualities of steamed buns were analyzed to lay foundation for evaluation system of steamed buns both in its establishment and accomplishment, which could also help more consumers with correct cognition, understanding and acceptance to approve the steamed buns as a Chinese traditional food.

**Keywords:** Chinese traditional food; steamed buns; production process; scientific interpretation

(责任编辑 李燕妮)

1 溶菌酶的结构及性质

1.1 结构

1922 年, Fleming 发现人的鼻涕、唾液、眼泪具有很强的溶菌活性, 由于其具有溶菌作用, 故命名为溶菌酶, 全称 1, 4- $\beta$ -N-溶菌酶。溶菌酶是一种碱性球蛋白, 相对分子量为 14 300KD, 由 18 种、129 个氨基酸残基构成的单肽链蛋白质, 分子中有 4 个二硫键。1965 年 Phillips 等人发现溶菌酶分子近椭圆形, 大小为 4.5nm  $\times$  3.0nm  $\times$  3.0nm, 其空间结构中  $\alpha$ -螺旋占 25%, 疏水作用在其构像中起到重要作用<sup>[1]</sup>。自 1937 年 Abraham 与 Robinson 从卵蛋白中分离出溶菌酶, 迄今为止, 人们已经先后从植物、动物和微生物体内提取出溶菌酶, 并根据来源将其分为三大类, 见表 1。

表 1 溶菌酶的种类

种类	来源	活性
动物源溶菌酶	鸡蛋清、人和哺乳动物的组织和分泌液	蛋清溶菌酶在酸性条件下稳定, 可分解革兰氏阳性细菌; 人溶菌酶活性比蛋清溶菌酶活性高 2 倍。
植物源溶菌酶	木瓜、无花果、大麦等 170 种植物	对溶壁小球的溶菌活性不超过鸡蛋清溶菌酶的 1/3, 对胶体状甲壳质的分解活性是蛋清溶菌酶的 10 倍
微生物源溶菌酶	微生物	不同来源的溶菌酶有不同的抗菌范围, 将不同的溶菌酶合用, 能起到显著的协同作用。

1.2 性质

溶菌酶是一种化学性质稳定的葡萄糖苷酶, 在干燥的室温下可以长时间保存。纯溶菌酶是白色 (或微黄色) 结晶或不定型粉末, 味甜、无臭, 易溶于水, 不溶于丙酮、乙醚等有机溶剂<sup>[2]</sup>。

溶菌酶是一种无毒蛋白质, 等电点为 10.7 ~ 11.3, 最适 pH 6 ~ 7, 最适温度 50℃。在酸性条件下溶菌酶活性很稳定, 当 pH 等于 3 时, 在 100℃ 的高温下, 溶菌酶能耐受 45min; 当 pH 等于 4.5 时, 溶菌酶在 100℃ 的高温下耐受 3min 也不会失活, 但在中性或碱性条件下, 溶菌酶的耐高温性较差<sup>[3]</sup>。费国琴<sup>[4]</sup>利用溶菌酶试剂盒对微生物酶学性质的研究也充分表明了溶菌酶在酸性条件下稳定, 其对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有一定的抑制作用, 最低抑菌浓度 0.005 ~ 0.6mg/mL。在应用溶菌酶进行生产时, 由于生产环境环境和加工工艺等原因, 溶菌酶极易失活。王彦等<sup>[5]</sup>研究发现, 当脲浓度高时, 硫酸铵能很好地

提高溶菌酶的复性回收率。董晓燕等<sup>[6]</sup>也发现, 在适宜的盐酸胍浓度下, 利用十六烷基三甲基溴化和  $\beta$ -环糊精的协同作用, 可以使溶菌酶 100% 复性。

2 溶菌酶的作用机理及提取方法

2.1 作用机理

微生物溶菌酶是一种的天然防腐剂, 能够有效地抑制微生物的生长, 起到保鲜作用。它可以通过其活性中心水解细菌细胞壁肽聚糖上的 N-乙酰胞壁酸与 N-乙酰葡萄糖胺之间的  $\beta$ -1, 4 糖苷键, 将肽聚糖骨架结构断裂, 使细胞壁受损, 从而引起细菌破裂, 最终导致细胞溶解, 直至死亡<sup>[7]</sup>。由于革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌细胞壁中肽聚糖含量不同, 革兰氏阳性菌细胞壁 90% 有肽聚糖组成, 故溶菌酶对其作用十分显著; 而革兰氏阴性菌内壁为肽聚糖结构, 外面有一层由脂多糖、磷脂和糖脂形成的外壳, 故溶菌酶对其作用较弱。

2.2 提取方法

目前, 溶菌酶主要从鸡蛋清和蛋壳膜中提取, 方法很多, 而且各有优势, 具体如表 2 所示。

表 2 溶菌酶的提取方法

提取方法	原理	优缺点
结晶法	利用溶菌酶的特点, 准备过程简单, 重结晶后通过改变溶液的 pH 值等条件, 使溶菌酶以晶体形式析出。	可得到高纯度的溶菌酶, 但不适宜分离微量溶菌酶, 原料损耗相对较大, 生产周期长。
离子交换层析法	溶菌酶为碱性蛋白质, 最适宜 pH 为 6.5, 可利用弱酸性阳离子交换树脂对其进行分离, 然后再用氯化钠或硫酸铁溶液洗脱, 达到分离目的。	操作简便、高效、成本低, 可自动化连续操作。
亲和层析法	利用溶菌酶与作用底物的专一性结合将其与其他蛋白质分离。	各种来源的溶菌酶均适用, 对失活的溶菌酶也可分离纯化, 纯度高, 适用于微量溶菌酶分离纯化, 不适合规模生产, 而且成本高。
反胶团萃取法	依据溶菌酶等电点, 调整溶液 pH 值至微碱性, 使溶菌酶带正电荷, 这样溶菌酶就会有选择性的进入阴离子表面活性剂形成的反胶束中。	萃取率高, 但由于存在有机溶剂和表面活性剂, 易造成剩余蛋白质污染。
超滤法	通过控制超滤膜孔径大小达到分离目的。	可获得高产和高纯度溶菌酶。

### 3 溶菌酶在食品防腐中的应用

#### 3.1 溶菌酶在肉制品中的应用

鲜肉含有丰富的营养成分,易被微生物腐败变质,储存过程中,即使在低温条件下,也不能彻底杀死微生物或抑制其生长,因而保鲜期较短。溶菌酶本身无有害作用,还可以延长食品的保质期,因此很多学者对其在肉制品中的保鲜作用做了大量研究。李永富<sup>[8]</sup>等在研究猪肉保鲜过程中发现,溶菌酶活力为 80 000U/mL 时能够较好的抑制微生物的生长繁殖,猪肉的色泽保持较好。如果与 0.1% (w/v) 异 VC 钠和 5.0% (w/v) 茁酶多糖复合保鲜效果更好,能够有效抑制微生物生长繁殖。顾仁勇等<sup>[9]</sup>在研究溶菌酶、Nisin、山梨酸钾用于冷鲜肉保鲜配比方案中发现,0.05% 的溶菌酶和同浓度的 Nisin 混合保鲜猪肉是效果较好,4℃ 下可保鲜 12d,真空包装可保鲜 24d。王永刚等<sup>[10]</sup>在利用动物源天然保鲜液对羊肉保鲜效果的研究中,跟踪测定羊肉的相关理化指标和感官指标发现,最有效的复合保鲜液配方为:2.0g/L 蜂胶、1.0g/L 壳聚糖、0.2g/L 溶菌酶和 0.2g/L 鱼精蛋白。该保鲜液能保鲜羊肉达 21d 之久。康怀彬<sup>[8]</sup>在对低温禽肉保鲜作用的研究中发现,0.05% Nisin、0.05% 溶菌酶、1% 双乙酸钠和 2% 乳酸钠的复合保鲜液可将 15~20℃ 禽肉保鲜期延长至 20d。

在熟制肉制品中添加一定量的溶菌酶,也可有效延长这些食品的保质期。Athina G 等<sup>[8]</sup>将溶菌酶与植物抗菌天然成分混合涂在半数的鸡肉上,发现真空包装在 4℃ 下可储存 18d。2012 年,马龙等<sup>[11]</sup>研究了溶菌酶对烧全鸡优势腐败菌的抑制作用,结果表明,溶菌酶能够有效抑制该腐败菌。相关的研究在对腊肠的报道中也可见。综上所述我们可以看到,溶菌酶和其他天然防腐剂复合而成的保鲜剂,在鲜肉和熟制肉品的保鲜过程中确实有明显的效果。

#### 3.2 溶菌酶在乳制品中的应用

溶菌酶作为一种非特异性免疫因子,对肠道中腐败性微生物有特殊杀灭作用,在牛乳中添加溶菌酶能够使牛乳具有杀菌和增强双歧杆菌的能力。有研究发现,在牛乳中加入 0.05~1mg 溶菌酶,37℃ 保温 3h,可使牛乳中的双歧杆菌含量与人乳几乎无区别,有平衡婴幼儿肠道菌群的作用。溶菌酶含量不同时人乳与牛奶之间主要区别之一,向牛乳中添加溶菌酶可使其更接近母乳,更适合婴儿食用。目前,日本森将公司已经采用蛋清溶菌酶保存婴儿食用的乳制品。另外,在巴氏杀菌奶中也可用溶菌酶做保鲜剂。

干酪生产过程中,由于酪酸菌作用产生酪酸和气体,

易造成干酪膨胀,添加一定量的溶菌酶,可防止有微生物引起的发酵。德国早在 1995 年发布的奶酪法规中就批准,可以使用溶菌酶来阻止奶酪生产中引起的胀气现象。我国《食品添加剂使用标准》(GB2760—2011)中也允许在生产奶酪过程中,按照生产需要量添加适量的溶菌酶。其对于低盐、高发酵 pH 值、储存温度较高的奶酪<sup>[2]</sup>,如瑞士奶酪,能起到良好的防腐效果。

#### 3.3 溶菌酶在水产品中的应用

微生物是引起水产品腐败变质的主要原因,对水产品的保鲜实质就是抑制其体内酶活性,阻止引起腐败变质的微生物生长繁殖,延缓腐败。溶菌酶对水产品的保鲜作用国内外均有报道。2003 年, Hikima<sup>[12]</sup>通过研究发现,日本囊对虾的 C 型溶菌酶对多种弧菌及鱼类的病原菌都有不同程度的杀菌作用。2010 年,蓝蔚青等<sup>[13]</sup>研究发现,在 4℃ 条件下,溶菌酶对带鱼具有明显的保鲜作用。但从报道来看,单一使用溶菌酶对水产品进行保鲜的不多,而将溶菌酶复合生物保鲜剂应用在水产品中的研究较多。如 Wang 等<sup>[14]</sup>利用溶菌酶-EDTA 复合剂有效降低了鳕鱼李斯特菌数量,延长鳕鱼保质期。郭良辉等研究表明,溶菌酶、Nisin、山梨酸钾等几种复合保鲜剂可延长三角蚌的冷藏时间。2011 年,蓝蔚青等<sup>[15]</sup>研究发现,溶菌酶与壳聚糖复合生物保鲜剂对带鱼具有保鲜作用。目前,国内外有关溶菌酶复合保鲜剂在水产品中的应用研究已经较为成熟,但同时关于溶菌酶的最适作用条件及其纯化等问题也有待进一步研究。

#### 3.4 溶菌酶在饮料中的应用

低度酒中常用水杨酸做防腐剂,但其对人体有一定的毒副作用,所以人们考虑用无有害的天然微生物防腐剂溶菌酶来替代水杨酸。最多的相关报道就是将其添加到清酒中去。清酒含有 15% 左右的乙醇,由于乙醇本身具有一定的防腐作用,因此,绝大多数微生物不能在清酒中生存。但有一种叫火落菌的乳酸菌能在清酒中生长繁殖,产酸,从而使酒变质,若向清酒中添加溶菌酶便能有效抑制该菌生长,延长清酒的保质期<sup>[6]</sup>。倪英等<sup>[16]</sup>报道,向葡萄酒中加入一定量的溶菌酶,还可大大减少二氧化硫的使用量。我国《食品添加剂使用标准》(GB2760—2011)中指出在发酵酒中溶菌酶的添加量为 0.5g/kg<sup>[17]</sup>。此外,溶菌酶还可用于 pH 6.0~7.5 的饮料和果汁的防腐。

#### 3.5 溶菌酶在水果中的应用

溶菌酶在抑制水果表皮细菌生长、防止水果腐烂、延长水果保鲜期等方面具有重要作用。早在 1999 年时,张银良等利用溶菌酶、氯化钠、甘氨酸复合保鲜剂等草

莓进行保鲜,取得较好效果。吴晓英等在对杨梅的研究中发现,利用溶菌酶对杨梅进行处理,大大降低了杨梅的烂果率和失重率。目前,溶菌酶在水果中的应用报道较少,尤其是对于易腐烂的浆果类水果的防腐保鲜作用仍有待于进一步研究。

除了上述食品中使用溶菌酶,在酱油、焙烤食品和保健食品中均有关于溶菌酶保鲜作用的报道。如陆正清、范蕴莹<sup>[18,19]</sup>等先后报道溶菌酶在酱油酿造中的防腐作用优于其他化学防腐剂。对于蛋糕、面包等易腐败变质的食品,在制作过程中添加一定量的溶菌酶,可以起到较好的防腐效果。

溶菌酶作为一种安全、无毒副作用的天然微生物防腐剂越来越受到食品企业的关注,但同时很多问题也亟待解决,如溶菌酶分离提取方法的工业化生产还不成熟,成本较高;溶菌酶与其他食品添加剂的相互协同保鲜作用优化配比等<sup>[20]</sup>。相信随着溶菌酶研究的深入和成熟,其在食品中的应用也会越来越广泛,必将会给人们带来更安全、更营养的食品。◇

#### 参考文献

- [1] 林翠花,肖素荣,等. 溶菌酶结构特点及其应用 [J]. 潍坊学院学报, 2005 5(2): 108-110.
- [2] 郝常明,钱方,等. 溶菌酶在乳制品工业中的应用 [J]. 中国食品添加剂, 2010 3: 158-161.
- [3] 张红印,吴祖兴,等. 天然防腐剂及其在食品加工中的应用 [J]. 冷饮与速冻食品工业, 2001 7(3): 20-21.
- [4] 费国琴,李晓晖,等. 微生物溶菌酶酶学性质及抑菌特性研究 [J]. 江苏农业科学, 2012 9: 286-288.
- [5] 王彦,耿信笃,等. 离子交换色谱流动相组成对溶菌酶复性的影响 [J]. 西北大学学报, 2004 27(1): 47-51.
- [6] 马正智,等. 我国溶菌酶的研究与应用进展 [J]. 中国食品添加剂, 2007 3: 177-182.
- [7] 曹涛,刘同军,等. 微生物溶菌酶的研究及应用 [J]. 中国调味品, 2011 3(36): 23-25.
- [8] 赵华. 溶菌酶在肉制品保鲜中的应用 [J]. 肉类研究, 2010 7(135): 31-35.
- [9] 顾仁勇,马美湖,付伟昌,等. 溶菌酶、Nisin、山梨酸钾用于冷却肉保鲜的配比优化 [J]. 食品与发酵工业, 2003 29(7): 45-48.
- [10] 王永刚. 动物源天然保鲜液对羊肉保鲜效果的研究 [J]. 农产品加工, 2009 8(7): 41-43.
- [11] 马龙,丁李倩,曾卫国,等. 溶菌酶对烧全鸡优势腐败菌抑菌性能研究 [J]. 食品科技, 2012 1: 125-126.
- [12] Hikima S, Hikima J, Rojtinakorn J, et al. Characterization and function of kuruma shrimp lysozyme possessing lytic activity against *Vibrio* species [J]. Geng, 2003, 316: 187-195.
- [13] 蓝蔚青,谢晶. 溶菌酶对带鱼冷藏保鲜效果的影响 [J]. 湖南农业科学, 2010 4(17): 114-117.
- [14] 任西营,胡亚芹,胡庆兰,等. 溶菌酶在水产品防腐保鲜中的应用 [J]. 食品工业科技, 2013 8: 390-399.
- [15] 蓝蔚青,谢晶. 壳聚糖复合生物保鲜剂对冷藏带鱼保鲜效果的优化配比 [J]. 福建农林大学学报, 2011 40(3): 311-317.
- [16] 倪瑛,钟立人. 溶菌酶在葡萄酒中的应用 [J]. 食品研究与开发, 2003 24(6): 162-163.
- [17] 《食品添加剂使用标准》GB2760-2011 [S].
- [18] 陆正清,刘连成. 溶菌酶在酱油酿造中的应用研究 [J]. 中国酿造, 2012 4: 132-136.
- [19] 范蕴莹. 溶菌酶在酱油中的抑菌效果研究 [J]. 中国食品添加剂, 2012 4: 117-120.
- [20] 杨双春,邓昊,潘一. 微生物食品防腐剂的研究与应用现状 [J]. 中国食品添加剂, 2013 2: 186-189.

## Research on Application of Natural Microbial Preservatives Lysozyme in Food

CUI Hong

(Liaoning Vocational Technical College of Modern Service, Shenyang 110164, China)

**Abstract:** Lysozyme is a safty and non-toxic biological enzyme, which is widely used in food industry. The structure and properties, mechanism of action, separation and purification, applications of lysozyme were summarized.

**Keywords:** lysozyme; structure and property; separation and purification; application

(责任编辑 李燕妮)