

溶菌酶在水产品防腐保鲜中的应用

任西营^{1,2}, 胡亚芹^{1,2}, 胡庆兰^{1,2}, 杨水兵², 余海霞², 郑刚², 杨志坚^{2,3,*}

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江杭州 310058;

2. 浙江大学舟山海洋研究中心, 浙江舟山 316021;

3. 浙江大学生命科学院, 浙江杭州 310058)

摘要:溶菌酶作为天然安全的防腐剂广泛应用于水产品加工和贮运过程中。文章概述了溶菌酶的理化性质、作用机理、抑菌特性等, 阐述了溶菌酶在水产品冷藏加工中的应用现状, 探讨了被修饰的溶菌酶的安全性、溶菌酶发挥作用的最适条件以及溶菌酶纯化程度对其抑菌活性的影响等问题, 对溶菌酶复合生物保鲜剂在国内外的应用以及与超高压处理技术、气调包装(MAP)技术协同保鲜进行了概述, 并对溶菌酶与环境管理系统(EMS)、辐照处理、高压超声(MS)处理等保鲜技术结合的应用研究做出展望。

关键词:溶菌酶, 水产品, 防腐保鲜, 应用研究, 保鲜技术

Application of lysozyme in preservation of aquatic products

REN Xi-ying^{1,2}, HU Ya-qin^{1,2}, HU Qing-lan^{1,2}, YANG Shui-bing², YU Hai-xia², ZHENG Gang², YANG Zhi-jian^{2,3,*}

(1. College of Biosystem Engineering and Food Science Zhejiang University Hangzhou 310058 China ;

2. Ocean Research Center of Zhoushan Zhejiang University Zhoushan 316021 China ;

3. College of Life Science Zhejiang University Hangzhou 310058 China)

Abstract: Lysozyme, as a natural and safe preservative, is widely used in the processing and storage during the transportation of aquatic products. This paper briefly described the physical and chemical properties, antibacterial properties and its function mechanism of lysozyme. Discussed the safety of the modified lysozyme, the optimum condition by using it, the effect of purification of lysozyme etc. The application status of the lysozyme in the refrigeration and packaging, the application researched about the complex biological fresh-keeping agents worldwide and the combination with the ultrahigh pressure treatment and modified atmosphere packaging (MAP) were reviewed. Finally, prospected about the combination of lysozyme with new preservative technologies, such as environmental management system (EMS), irradiation treatment and manosonication (MS) treatments, were given an overview.

Key words: lysozyme; aquatic products; preservation; application research; preservation technologies

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)08-0390-06

随着人们生活水平的提高, 保健意识的增强, 极具营养价值的水产品备受消费者青睐^[1]。但水产品及其制品具有高蛋白、低脂肪等特点, 极易发生腐败变质; 且鲜度一旦变差, 其营养价值必然下降, 甚至可能完全丧失食用价值。为防止水产品腐败变质, 在确保原料新鲜度的基础上, 水产品在其生产加工、贮运过程中添加防腐剂的方法较为多见。常用防腐保鲜剂可分为化学保鲜剂和生物保鲜剂两大类。化学保鲜剂的安全性逐渐引起人们的担忧, 天然安全无毒的生物保鲜剂成为研究热点。目前我国允许广泛使用的天然生物保鲜剂只有乳酸链菌肽(Nisin)和纳他

霉素两种。但是在GB 2760-2011《食品添加剂使用标准——增补》^[2]中对另外一种生物保鲜剂——溶菌酶的适用范围和用量也作了相应的规定。溶菌酶是国内外研究较早、较多的一种酶类生物保鲜剂。早在1922年英国细菌学家Fleming将人的唾液、眼泪中可溶解细菌细胞壁的成分命名为溶菌酶; 且其最早研究是从尼科尔1907年发表枯草杆菌溶解因子的报告开始^[3]。目前, 溶菌酶已广泛应用于食品工业、畜牧业、医学等领域。其中, 在食品工业中主要应用于水产类制品、乳制品、果蔬、肉类、酒及饮料的防腐保鲜。因此, 文章对溶菌酶在水产品防腐保鲜中的应用进行综述, 为解决溶菌酶在生产应用中存在的问题以及提高溶菌酶防腐保鲜效果提供参考。

1 溶菌酶概述

1.1 溶菌酶的种类及理化性质

溶菌酶又称胞壁质酶或N-乙酰胞壁质聚糖水解酶, 是一种葡萄糖苷酶。蛋清中含量最高, 而人乳、眼

收稿日期: 2012-09-24 * 通讯联系人

作者简介: 任西营(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工及保藏。

基金项目: “十二五”国家支撑计划项目(2012BAD38B09; 2012BAB09B02); 浙江省重大科技专项(2011C11016)。

泪、唾液中的溶菌酶活性远高于蛋清溶菌酶^[4]。按结构、分子量和来源不同,可将溶菌酶分为动物源溶菌酶、植物源溶菌酶、微生物源溶菌酶、噬菌体溶菌酶四种。其中动物型溶菌酶又可分为C型(chicken egg-white lysozyme)、G型(goose egg-white lysozyme)和I型(invertebrate type lysozyme)^[5],大部分溶菌酶属于C型。其中,植物源溶菌酶对溶壁微球菌的溶菌活性不超过鸡蛋清溶菌酶的1/3,但对胶体状甲壳质的分解活性则是鸡蛋清溶菌酶的10倍。溶菌酶纯品为白色或微黄色结晶体或无定型粉末,无嗅、味甜,易溶于水,不溶于丙酮、乙醚。湿度较低时,溶菌酶在室温下可长期保存。在酸性环境中,溶菌酶的化学性质稳定,耐热性好,pH4~7的范围内,100℃处理1min仍保持原酶活性,在碱性环境中该酶的热稳定性较差。食盐对溶菌酶的活性起活化作用^[6],碱和氧化剂则抑制其活性。

1.2 溶菌酶作用机理及抑菌特性

溶菌酶主要通过切断细胞壁肽聚糖中的N-乙酰胞壁酸(NAG)和N-乙酰葡萄糖胺(NAM)之间的 β -1,4糖苷键^[7],使细胞壁不溶性黏多糖分解成可溶性糖肽,导致细胞壁破裂,细菌裂解。溶菌酶杀灭革兰氏阳性(G^+)菌,除水解肽聚糖外,还可诱导细菌产生自溶酶,通过非酶机制激发微生物产生自溶酶而灭菌,但此机理有待进一步研究^[8]。已有报道称,T4溶菌酶因具有两亲性质的C端,可以直接干扰细菌、真菌和植物细胞的膜活性,进而抑制微生物生长,并非通过溶解细胞壁发挥抑菌活性^[9]。由于 G^+ 菌与革兰氏阴性(G^-)菌其细胞壁中肽聚糖含量不同, G^+ 细菌细胞壁90%由肽聚糖组成,而 G^- 菌仅内壁层为肽聚糖,所以溶菌酶对于 G^+ 菌的细胞壁破坏性较强。该酶可强力分解 G^+ 菌的枯草杆菌、耐辐射微球菌等,部分溶菌酶对大肠杆菌、普通变球菌和副溶血性弧菌等 G^- 菌也有一定的溶解作用。溶菌酶还可与带负电荷的病毒蛋白直接结合,与DNA、RNA、脱辅基蛋白形成复盐,使病毒失活。溶菌酶作为抗微生物药物具有良好的生物相容性,至今未出现耐药现象^[10-11]。

2 溶菌酶在水产品防腐保鲜中的应用

水产品的腐败变质主要表现在某些细菌降解游离氨基酸,生成胺、硫化物、酯等,产生感官上不可接受的味道^[12]。Undeland^[13]指出,鱼肉蛋白可以与全脂肪、自由脂肪酸和脂肪氧化产物发生交互作用,该作用主要导致蛋白质结构的变化。但同时伴有蛋白质-脂肪氧化产物的交互作用,引起气味的变化。因此多脂鱼类的油脂氧化问题也亟待解决。研究表明,微生物是引起水产品腐败变质的主要原因^[14-15]。水产品防腐保鲜的实质是创造一定的环境,抑制其体内酶活性,阻止易引起水产品腐败变质的微生物生长繁殖,延缓腐败进程^[16]。因此,开发安全、有效的防腐保鲜剂,对防止因微生物造成的腐败变质至关重要。

2.1 单一溶菌酶保鲜剂在水产品中的应用研究

水产品从捕捞上来以后,会即刻死亡,且贮运期间易在微生物与酶的作用下发生腐败变质以及脂肪氧化。目前从源头到成品是在低温冷链下进行,是防

止水产品变质的主要方式,但保鲜期短;普通的低温冷冻还会导致鱼肉硬化、品质下降。早在1989年,Grinde^[17]对于虹鳟鱼中提取纯化的溶菌酶在鱼类保鲜中的应用进行了研究报道。结果表明,该溶菌酶可以有效抑制易侵染挪威农场养殖的鲑鱼鱼体的五种G-菌,其中包括四种致病菌。Hikima等^[18]通过对日本囊对虾的C型溶菌酶的研究证实,该溶菌酶对多种弧菌及鱼类的病原菌具有不同程度的杀菌作用。目前,国内对于溶菌酶的研究和应用开始加以重视。蓝蔚青等^[19]研究发现,经溶菌酶保鲜液浸渍的带鱼段在 $(4\pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下贮藏,其感官品质、微生物指标和理化指标均优于未经处理的对照组。将一种商业用途的溶菌酶制剂(ART FRESH 50/50)应用到切碎的金枪鱼原料和三文鱼鱼籽制品中,冷藏期间可以有效抑制单核李斯特菌的生长,溶菌酶的有效抑菌浓度为2000ppm^[20]。Enrique等^[21]利用溶菌酶保鲜液对南美白对虾进行研究,实验表明,溶菌酶保鲜液抑制弧菌属生长的效果与抑制藤黄微球菌的效果相当,并且对南美白对虾致病菌(如溶藻弧菌、溶血性弧菌以及霍乱弧菌)具有更为明显的抗菌作用,能够有效延长南美白对虾的货架期。据报道,在0.05%溶菌酶、1.5%甘氨酸和3%食盐混合溶液中将海产品或水产品进行浸渍,并沥干,常温保存9d后无异味、无色泽变化^[22]。溶菌酶的应用,极大延长了海产品或水产品的保鲜期,为贮藏、运输等带来了诸多方便。目前,单独将溶菌酶添加到水产蛋白制品的报道不多,但乳酸链球菌素(Nisin)在虾肉糜冷藏保鲜的应用已有研究^[23],这可能与溶菌酶抑菌谱的局限性有关^[24]。

2.2 溶菌酶复合保鲜剂的应用研究

复合生物保鲜剂是根据栅栏理论,将具有不同抑菌功能的生物保鲜剂组合,达到协同保鲜的目的^[25]。Wilfred^[26]通过微生物培养实验得出,将溶菌酶和Nisin进行复配可以增强抑菌效果,尤其是对 G^+ 菌。Wang等^[27]将新鲜鳕鱼片利用溶菌酶-EDTA混合溶液进行浸渍涂层,有效降低了单增李斯特菌的菌落数量,且由于EDTA的添加,不仅抑制了其他腐败菌的生长,也抑制了鳕鱼体表粘液的形成,延长了鳕鱼的保鲜期。国外对于溶菌酶复合生物保鲜剂在畜肉类产品中的应用较多。将其应用到羊肉、鸵鸟肉饼或即食火鸡、腊肠中,可以有效抑制李斯特菌和大部分肉类腐败菌的生长,延长保藏期^[28-30]。鱼糜制品中鱼糜含量较高,同样受到肉制品中易感染微生物的侵染。因此,推广溶菌酶复合保鲜剂具有伟大的现实意义。目前,国内有关溶菌酶复合生物保鲜剂在水产品中的应用研究已较为成熟。舒留泉等^[31]利用溶菌酶与Nisin复合生物保鲜剂使得蛭肉的冷藏保鲜期明显延长。郭良辉等^[32]研究表明,溶菌酶、Nisin、山梨酸钾等几种复合保鲜剂可使三角帆蚌在冷藏条件下的保鲜期延长约1倍或更长时间。溶菌酶、壳聚糖以及茶多酚的复合型保鲜剂可延长牡蛎和带鱼的货架期^[33-34]。邱春江等^[35]研究发现随着冷藏时间的延长,溶菌酶复合保鲜剂对贻贝的保鲜作用越来越强,且感官评价明显优于溶菌酶单一组。陈舜胜等^[36]以

虾、带鱼段、扇贝柱和柔鱼条等作为实验材料,研究发现溶菌酶复合保鲜剂保鲜效果显著,在其他条件相同的情况下可将保鲜期延长约一倍时间。

2.3 溶菌酶与保鲜技术的结合应用

随着食品工业的快速发展,各种高效、安全的食品保鲜技术层出不穷。将溶菌酶与保鲜技术结合,使水产品加工和贮藏时取得良好的防腐效果。

2.3.1 溶菌酶与超高压处理结合的应用研究 超高压处理技术被认为是生物制品和食品非热杀菌技术中最有潜力和发展前途的^[37]一项技术。Gómez等^[38]研究发现在300MPa的水压下,冷冻烟熏鳕肉片的感官品质是最佳的,且减少储藏前期微生物的含量。据Nakimbugwe等^[39]报道:在相同的超高压处理下,溶菌酶为食品防腐提供了另一个屏障。

2.3.2 溶菌酶与气调包装(MAP)技术结合的应用研究 气调包装(MAP)技术是目前国际流行的一种无防腐剂或低防腐剂的保藏包装技术。Ozogul等^[40]对真空包装和MAP的比较发现,MAP中的细菌繁殖要缓慢得多,进一步证实了MAP技术的价值。Fernández等^[41]将溶菌酶与气调包装结合,使大西洋鲑鱼片的货架期延长。谢晶等^[42]将复合生物保鲜剂(1.0%壳聚糖+0.4%溶菌酶)结合气调包装,在带鱼二级鲜度内,既延长货架期,又能较好维持感官品质,取得良好的保鲜效果。

3 溶菌酶在水产品保鲜应用中存在的问题

溶菌酶作为一种天然蛋白质,应用于食品的安全性在1992年就已得到FAO/WHO食品添加剂协会的认证。天然溶菌酶作为生物保鲜剂具有广泛的应用前景,且目前已有较为深入的研究,但在加工应用过程中仍存在问题。

3.1 经修饰溶菌酶的安全性

天然溶菌酶价格较高,抑菌谱较窄,在一定程度上限制了其推广应用。近年来,一些学者通过物理、化学或是生物的方法对溶菌酶进行改性研究,以期获得对G⁻菌较好的抑制或灭菌效果^[43]。庞莉等^[44]利用阿魏酸化学修饰溶菌酶,生成一定程度的阿魏酸修饰酶。与天然溶菌酶相比,修饰酶的酶活力略有下降,但是扩展了抑菌谱,对G⁻菌的抑制作用增强,而抑制金黄色葡萄球菌的能力略有下降。溶菌酶经化学改性后,酶的空间构象会发生变化,但是尚不能准确解释其结构和功能的关系。此外,如果所使用的化学修饰剂属非食品级,则化学修饰后的溶菌酶在食品领域使用的安全性,有待进一步研究证明。

3.2 溶菌酶发挥作用的最适条件

作为酶类生物保鲜剂,需在适宜的温度、pH、水分等条件下,才能发挥较大的活性。一般溶菌酶的最适温度为45~50℃,最适pH为6.6。在鱼丸的生产过程中一般会有杀菌工序,即90℃,2~5min;且水产品一般进行低温保藏,这两种操作极有可能使得溶菌酶的抑菌效果受到抑制。但有报道称,热变性的溶菌酶,虽然丧失了酶活,但仍可以对多种细菌和真菌表现出抗菌活性^[45],例如T4溶菌酶^[8]。溶菌酶的抑菌活性与酶活之间的关系有待考究。

3.3 溶菌酶的纯化对活性的影响

Xue等^[46]通过研究太平洋牡蛎血浆中溶菌酶的分离纯化及其特征,发现经纯化的溶菌酶可有效抑制G⁺菌(如链球菌、肠道球菌)和G⁻菌(如海洋弧菌、大肠杆菌)的生长。Mecitoglu等^[47]在玉米醇溶蛋白膜中添加部分纯化的溶菌酶,可以有效抑制枯草芽孢杆菌和胚芽乳酸杆菌,提高食品安全性。是否溶菌酶的纯度越高,抑菌效果越好,亦有待考证。

3.4 其他

为降低生产成本,溶菌酶作为保鲜剂在添加时要分析导致水产品腐败的微生物种类;不同来源的溶菌酶或复合溶菌酶保鲜剂对产品的保鲜效果是否具有协同作用等。这些均增加了集团公司的科研资金和人才投入。此外,在应用溶菌酶作为食品保鲜剂的同时,必须注意到酶的专一性,其对酵母、霉菌引起的腐败变质,单一生物保鲜剂不能起到很好的保鲜效果,进而突显了复合生物保鲜剂应用的必要性和重要性。

4 溶菌酶与其他技术结合应用研究

4.1 溶菌酶与环境管理系统技术

国外某公司最新研制出一种名为“环境管理系统(Environment Management System EMS)”的保鲜技术。该设备使空气通过等离子气体发生器,将其内部产生的半衰期活性氧自由基(例如羟基自由基、单线态氧和过氧亚硝基阴离子),在EMS反应室内杀灭不利菌群、分解产生异味的化合物^[48]。这种装置不同于以低温等离子气体直接接触食品进行清洁,因为等离子气体直接接触食品的安全性有待进一步考察^[49-50]。这一微生物干扰系统已在食品(包括果蔬、鲜花、畜禽类)供应链中初步显现作用^[51]。James等^[52]运用该技术装置和空气净化技术成功抑制牛肉中的O157:H7大肠杆菌和沙门氏菌的生长,且经EMS处理后的牛肉样品没有可察觉的臭氧或过氧化氢残留物。EMS是一种新型的保鲜手段,对于保障食品安全具有很大的现实意义,该装置在抑制微生物生长方面的研究已取得初步成果,但应用于水产品加工贮藏方面的报道很少,将该装置与溶菌酶结合应用的研究尚未有报道,可尝试该方面的研究,使其广泛应用于水产品保鲜。

4.2 溶菌酶与辐照保鲜技术

食品辐照保鲜已被证明是一种高效、安全的加工手段,可有效应用于食品保藏。研究表明,水产品腐败菌中大部分是G⁻菌,该菌对射线较为敏感^[15]。国外关于冰鲜鱼的辐照保鲜研究得出辐照剂量为1kGy即可起到很好的保鲜效果^[53]。通过辐照的沙丁鱼可显著延长保鲜期,且对产品品质影响较小^[54]。崔生辉等^[55]利用不同辐照剂量对真空包装鲫鱼保存期进行研究,表明4℃,2.5kGy的辐照剂量可以延缓鲫鱼中挥发性盐基氮(TVB-N)含量的升高。刘春泉等^[56]发现在较低温度时辐照出口冷冻虾仁,不但可以降低辐照剂量,而且保鲜效果比在较高温度时的要好。将溶菌酶、辐照,甚至与低温协同保鲜的文献还未有报道,可以进行尝试研究,并且辐照对于溶菌酶抑菌

活性的发挥是否有促进或是抑制作用亦可成为研究重点。

4.3 溶菌酶与高压超声处理技术

有关高压、超声分别对水产品保鲜品质的研究报道较多。Montiel等^[57]研究表明在冷藏5℃条件下,高压处理增加了烟熏鳕鱼表面的光鲜度,延缓冷藏期有害微生物的生长,但鳕鱼的硬度和抗剪切能力有所下降。超声波在食品加工中的应用比较广泛,超声处理具有保持食品原有特质,减少能源消耗等特点^[58]。随着高功率超声作用机理研究的深入及其对食品工艺和功能的影响,超声处理在食品工业中的优势将更加明显^[59]。据报道,将食品经过超高压超声(manosonication MS)双道处理,可以提高枯草芽孢杆菌的芽孢对溶菌酶的敏感性^[60],并且推断超声波处理可以破坏芽孢外层,促进其对水的吸附,进而降低其耐热性。超声波使芽孢失活的机理已经比较明确,但高压超声处理使芽孢灭活的机制尚不明确^[61]。溶菌酶和高压超声处理结合在水产品中的应用还没有相关报道。在保证水产品品质和外观的同时,科研人员可以尝试有关方面的实验研究。

4.4 溶菌酶与水产品包装材料

将溶菌酶固定在食品包装材料上,生产出有抗菌保鲜功效的食品包装材料^[62]。Appendini等^[63]早在1997年对溶菌酶作为可直接接触食品的潜在抗菌膜的稳定性和可行性进行了研究。研究发现,将溶菌酶固定在纤维素膜上,其抑菌活性可以保留90%。马美湖等^[64]将包装材料浸泡在溶菌酶溶液中,可获得较好的保鲜效果。Park等^[65]研究发现,溶菌酶-壳聚糖复合保鲜膜可以很好的抑制乳酸菌和大肠杆菌的生长,故利用壳聚糖成膜特性和抑菌性,使其与溶菌酶复合,在水产品及其制品表面形成一层保护膜,以达到防腐保鲜的目的。Cooksey^[66]重点研究了在低密度聚乙烯外包装膜中添加Nisin、壳聚糖,能分别明显降低真空包装中热狗制品、气调包装(MAP)的新鲜鸡脯肉中李斯特菌含量,因此可以尝试将溶菌酶也加入到包装材料中,以期获得更广的抑菌谱,得到最佳的抑菌效果。目前关于溶菌酶在包装上的理论研究较多,但真正应用到水产品生产加工中的并不多见。可以此为契机,加快溶菌酶在水产品包装材料中应用的步伐。

5 展望

溶菌酶作为一种天然蛋白质,在体内可以被消化和吸收,对人体无毒性,亦不会在体内残留,是一种安全性很高的食品保鲜剂、营养保健品和药品。随着科技水平的提高,人们对食品安全性的关注,高效、安全的溶菌酶作为生物保鲜剂在食品中的应用亦会愈来愈受到重视,其已应用于奶酪与纯生啤酒中^[67-68]。在崇尚绿色安全食品的大潮中,科研工作者定会加大天然安全溶菌酶的理论及应用研究力度,以促进其在水产品防腐保鲜中的推广。

参考文献

[1] 陈蓝荪. 中国水产品进出口现状与趋势(上)[J]. 科学养鱼,

2011(4):1-3.

[2] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. GB 2760-2011 食品添加剂使用标准[S]. 北京:中国标准出版社,2011.

[3] 白刃,杨百学,常洋,等. 溶菌酶及其应用[J]. 畜禽业,2009(8):46-47.

[4] 张凤凯,马美湖. 溶菌酶及其食品保鲜剂的应用[J]. 肉类研究,2001(4):41-42.

[5] Jolles P. Lysozymes: Model enzymes in biochemistry and biology[M]. Basel: Birkhauser Verlag, 1996.

[6] 李鹤,马力,王维香. 溶菌酶的研究现状[J]. 食品研究与开发,2008,29(1):182-185.

[7] Jolles P. Lysozymes: A chapter in molecular biology [J]. Angewandte Chemie, 1969(8):227-294.

[8] 徐永平,汪婷婷,孙永欣,等. 水产动物溶菌酶研究的最新进展[J]. 水产科学,2011,30(5):307-310.

[9] Düring K, Porsch P, Mahn A, et al. The non-enzymatic microbicidal activity of lysozymes[J]. Federation of Biochemical Societies, 1999,449:93-100.

[10] 刘淑鑫,李荃清,袁新华,等. 溶菌酶医学应用研究概况[J]. 中国医药指南,2011,21(9):226-228.

[11] Bukharin OV, Valyshev AV. Microbial Inhibitors of Lysozyme [J]. Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i Immunobiologii, 2006(4):8-13.

[12] 姜兴为,杨宪时. 水产品腐败菌与保鲜技术研究进展[J]. 湖南农业科学,2010(15):100-103.

[13] Undeland I. Lipid-protein interaction in fish during cold storage[M]. France: Nantes, 1997:258-262.

[14] Gram L, Dalgaard P. Fish spoilage bacteria problems and solutions[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, 13(3):262-266.

[15] Dufes F. Improving the control of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon[J]. Trends in Food Science & Technology, 1999,10(6/7):211-216.

[16] 张爱萍,刘翔,李永才,等. 水产品储运过程中的防腐保鲜[J]. 包装与食品机械,2009,27(5):116-118.

[17] Grinde B. Lysozyme from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, as an antibacterial agent against fish pathogens[J]. Journal of Fish Diseases, 1989(12):95-104.

[18] Hikima S, Hikima J, Rojinnakorn J, et al. Characterization and function of kuruma shrimp lysozyme possessing lytic activity against *Vibrio* species[J]. Gene, 2003,316:187-195.

[19] 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(17):114-117.

[20] Takahashi H, Kuramoto S, Miya S, et al. Use of commercially available antimicrobial compounds for prevention of *Listeria monocytogenes* growth in ready-to-eat minced tuna and salmon roe during shelf-life[J]. Journal of Food Protection, 2011,74(6):994-998.

[21] de-la-Re-Vega E, García-Galaz A, Martha E. White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) recombinant lysozyme has antibacterial activity against Gram negative bacteria: *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholera*[J]. Fish & Shellfish immunology, 2006,20:405-408.

[22] 马正智,胡国华,方国生. 我国溶菌酶的研究与应用进展

- [J]. 中国食品添加剂, 2007(2): 177-182.
- [23] 罗水忠, 潘利华. 乳酸链球菌素用于虾肉糜保鲜的研究[J]. 肉类研究, 2004(2): 23-24.
- [24] Tsutsumi M, Suda I, Lee JK, *et al.* Preservative effect by the combined use of polyphosphate glycerol monocaprates and lysozyme[J]. Journal of Food Hygienic Society of Japan, 1983, 24(3): 301-307.
- [25] Vijay KJ, Dwivedi HP, Xianghe Y. Novel natural food antimicrobials[J]. Food Science and Technology, 2012(3): 381-403.
- [26] Chung W, Hancock REW. Action of lysozyme and Nisin mixtures against lactic acid bacteria[J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 60: 25-32.
- [27] Chi W, Shelef LA. Behavior of *Listeria monocytogenes* and the spoilage microflora in fresh cod fish treated with lysozyme and EDTA[J]. Food Microbiology, 1992, 9(3): 207-213.
- [28] Rao MS, Chander R, Sharma A. Synergistic effect of chitooligosaccharides and lysozyme for meat preservation[J]. Food Science and Technology, 2008, 41: 1995-2001.
- [29] Mastromatteo M, Lucera A, Sinigaglia M, *et al.* Synergic antimicrobial activity of lysozyme, nisin, and EDTA against *Listeria Monocytogenes* in ostrich meat patties[J]. Journal of Food Science, 2010, 75: 422-429.
- [30] Mangalassary S, Han I, Rieck J, *et al.* Effect of combining nisin and/or lysozyme with in-package pasteurization for control *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat turkey bologna during refrigerated storage[J]. Food Microbiol, 2008, 25: 866-700.
- [31] 舒留泉, 薛长湖, 邱春江. 溶菌酶与Nisin生物保鲜剂对缢蛏保鲜效果的研究[J]. 食品科技, 2003(11): 35-37.
- [32] 郭良辉, 许巧情, 许永久. 溶菌酶与Nisin复合生物保鲜剂对蚌肉的保鲜效果[J]. 水利渔业, 2007, 27(4): 112-114.
- [33] 曹荣, 薛长湖, 刘洪. 一种复合型生物保鲜剂在牡蛎保鲜中的应用研究[J]. 食品科学, 2008(11): 653-655.
- [34] 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.
- [35] 邱春江, 薛长湖, 舒留泉. 复合生物保鲜剂在贻贝保鲜中的实验研究[J]. 食品科学, 2004, 25(7): 184-186.
- [36] 陈舜胜, 彭云生, 严伯奋. 溶菌酶复合保鲜剂对水产品的保鲜作用[J]. 水产学报, 2001, 25(3): 254-259.
- [37] 郝梦甄, 胡志和. 超高压技术在水产品加工中的应用[J]. 食品科学, 2012(1): 298-304.
- [38] Gómez-Estaca J, Gómez-Guillén MC, Montero P. High pressure effects on the quality and preservation of cold-smoked dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) fillets[J]. Food Chemistry, 2007, 102: 1250-1259.
- [39] Dorathy N, Barbara M, Grace A, *et al.* Inactivation of gram-negative bacteria in milk and banana juice by hen egg white and lambda lysozyme under high hydrostatic pressure[J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 112: 19-25.
- [40] Man CMD, Jones AA. Shelf life evaluation of foods[M]. Gaithersburg Maryland USA: Aspen Publishers Inc, 2000.
- [41] Fernández K, Aspe E, Roeckel M. Shelf-life extension on fillets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) using natural additives superchilling and modified atmosphere packaging[J]. Food Control, 2009, 20: 1036-1042.
- [42] 谢晶, 杨胜平. 生物保鲜剂结合气调包装对带鱼冷藏货架期的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(1): 376-382.
- [43] 赵电波, 白艳红, 张小燕, 等. 天然生物防腐剂溶菌酶的改性研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2010(5): 200-204.
- [44] 庞莉, 陆建安, 王森, 等. 阿魏酸化学修饰溶菌酶及扩展抑菌谱的研究[J]. 食品工业科技, 2009(11): 184-187.
- [45] During K, Porsch P, Mahn A, *et al.* The non-enzymatic microbicidal activity of lysozymes[J]. Federation of Biochemical Societies Letters, 1999, 449(2/3): 93-100.
- [46] Xue QG, Schey KL, Volety AK, *et al.* Purification and characterization of lysozyme from plasma of the eastern oyster (*Crassostrea virginica*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2004, 139: 11-25.
- [47] Mecitoğlu Ç, Yemencioğlu A, Arslanoğlu A, *et al.* Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein films for antimicrobial food packaging[J]. Food Research International, 2006, 39: 12-21.
- [48] 侯伟峰, 谢晶. 南美白对虾保鲜方法的研究[J]. 山西农业科学, 2010, 38(11): 68-72, 93.
- [49] Niemira BA, Sites J. Cold plasma inactivates *Salmonella* Stanley and *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on golden delicious apples[J]. Journal of Food Protection, 2008, 71: 1357-1365.
- [50] Perni S, Shama G, Kong MG. Atmospheric plasma disinfection of cut fruit surfaces contaminated with migrating microorganisms[J]. Journal of Food Protection, 2008, 71: 1619-1625.
- [51] Sherri C. Environment management system; Surface and air sanitation for food quality and safety: review of efficacy for the meat industry[R]. Food Safety Systems, 2009.
- [52] Marsden JL. Treatment of beef carcass tissue in simulated cold storage for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* using EMS surface and air sanitation technology[R]. Food Safety Systems, 2009.
- [53] Mbarki R, Sadok S, Barkallah I. Quality changes of the Mediterranean horse mackerel (*Thachurus mediterraneus*) during chilled storage: The effect of low-dose gamma irradiation[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2009, 78: 288-292.
- [54] Kasimoglu A, Denli E. The extension of the shelf-life of sardine which were packaged in vacuum stored under refrigeration, and treated by δ -irradiations[J]. Journal of Food Science and Technology, 2003, 38(5): 529-535.
- [55] 崔生辉, 江涛, 李玉伟. 辐照对几种水产品保藏作用的研究[J]. 卫生研究, 2000, 29(2): 120-122.
- [56] 刘春泉, 朱佳廷, 赵永富. 冷冻虾仁辐照保鲜研究[J]. 核农学报, 2004, 18(3): 216-220.
- [57] Montiel R, Alba DM, Bravo D, *et al.* Effect of high pressure treatments on smoked cod quality during refrigerated storage[J]. Food Control, 2012, 23: 429-436.
- [58] Cárcel JA, García-Pérez JV, Benedito J. Food process innovation through new technologies: use of ultrasound[J].

(下转第399页)

- [43] GB 1534-2003. 花生油[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [44] GB 1536-2004. 菜籽油[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [45] GB 1535-2003. 大豆油[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [46] GB 10464-2003. 葵花籽油[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [47] Bada J C, León-Camacho M, Prieto M, *et al.* Characterization of walnut oils(*Juglans regia* L.) from Asturias, Spain[J]. J Am Oil Chem Soc, 2010, 87(12): 1469-1474.
- [48] De Greyt W F, Kellens M J, Huyghebaert AD. Effect of physical refining on selected minor components in vegetable oils[J]. Lipid/Fett, 1999, 101(11): 428-432.
- [49] Tsamouris G, Hatziantoniou S, Demetzos C. Lipid analysis of Greek walnut oil(*Juglans regia* L.)[J]. J Biosci, 2002, 57: 51-56.
- [50] 佟云伟, 陈凤香, 杨波涛. 不同食用植物油氧化稳定性的研究[J]. 中国油脂, 2009, 34(2): 31-34.
- [51] 中国预防医学科学院营养卫生研究所. 食物营养成分表(全国代表值)[M]. 北京:人民卫生出版社, 1991.
- [52] 余旭亚, 王洪钟, 郑桂兰, 等. 核桃油总黄酮含量的测定[J]. 中国油脂, 2002(1): 59-60.
- [53] 万本屹, 董海洲, 李宏, 等. 核桃油的特性及营养价值的研究[J]. 西部粮油科技, 2001, 26(5): 18-19.
- [54] 鲍建民. 多不饱和脂肪酸的生理功能及安全性[J]. 中国食物与营养, 2006(1): 45-46.
- [55] Smith T J. Squalene potential chemopreventive agent[J]. Expert Opin Invest Drugs, 2000(8): 1841-1848.
- [56] Maguire L S, Ó'Sullivan S M, Galvin K, *et al.* Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut[J]. Int J Food Sci Nutr, 2004, 55(3): 171-178.
- [57] Reiter R J, Manchester L C, Tan D X. Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood[J]. Nutrition, 2005, 21(9): 920-924.

(上接第389页)

- 脱腥机理[J]. 食品与生物技术学报, 2009(1): 57-62.
- [34] 武利刚, 谢广深, 段杉. 活性炭和酵母粉对虾头虾壳蛋白水解液脱腥脱苦的比较研究[J]. 现代食品科技, 2008(12): 1243-1246.
- [35] 何佳易, 徐鑫, 刘国艳, 等. 小黄鱼酶解液生物脱腥效果比较[J]. 扬州大学烹饪学报, 2011(4): 49-52.
- [36] Seo Y-S, Bae H-N, Eom S-H, *et al.* Removal of off-flavors from sea tangle(*Laminaria japonica*) extract by fermentation with *Aspergillus oryzae*[J]. Bioresource Technology, 2012, 121: 475-479.
- [37] Yarnpakdee S, Benjakul S, Kristinsson H G, *et al.* Effect of pretreatment on lipid oxidation and fishy odour development in protein hydrolysates from the muscle of Indian mackerel[J]. Food Chemistry, 2012, 135(4): 2474-2482.
- [38] 鱼肉制品腥味物质形成及脱除的研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2008(2): 117-120.
- [39] Roh H S, Park J Y, Park S Y, *et al.* Isolation of off-flavors and odors from tuna fish oil using supercritical carbon dioxide[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2006, 11(6): 496-502.
- [40] 苑洪德, 孙秀云, 苑海鹏, 等. 鱼油低温除腥的工艺方法: 中国: 200710061563[P]. 2008-09-03.
- [41] Gokoglu N, Topuz O K, Buyukbenli H A, *et al.* Inhibition of lipid oxidation in anchovy oil(*Engraulis encrasicolus*) enriched emulsions during refrigerated storage[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2012, 47(7): 1398-1403.

(上接第394页)

- Journal of Food Engineering, 2012, 110: 200-207.
- [59] Soria AC, Villamiel M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 21: 323-331.
- [60] Raso J, Palop A, Pagan R, *et al.* Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment[J]. Appl Microbiol Biotechnology, 1998, 85: 849-854.
- [61] Demirdöven A, Baysal T. The use of ultrasound and combined technologies in food preservation[J]. Food Reviews International, 2009, 25: 1-11.
- [62] 肖怀秋, 林亲录, 李玉珍, 等. 溶菌酶及其在食品工业中的应用[J]. 中国食物与营养, 2005(2): 32-34.
- [63] Appendini P, Hotchkiss JH. Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films[J]. Packaging Technology and Science, 1997, 10: 271-279.
- [64] 马美湖, 林亲录, 张凤凯. 冷却肉生产中保鲜技术的初步研究——溶菌酶、Nisin、GNa液保鲜效果的比较实验[J]. 食品科学, 2002, 23(8): 235-241.
- [65] Park SI, Daeschel MA, Zhao Y. Functional Properties of Antimicrobial Lysozyme-Chitosan Composite Films[J]. Journal of Food Science, 2004, 69(8): 215-221.
- [66] Cooksey K. Effectiveness of antimicrobial food packaging materials[J]. Food Additives and Contaminants, 2005, 22(10): 980-987.
- [67] Scott D, Hammer FE, Szalkucki TJ. Bioconversions: enzyme technology in food biotechnology[M]. New York: Marcel Dekker, 1987.
- [68] Silveti T, Brasca M, Lodi R, *et al.* Effects of lysozyme on the microbiological stability and organoleptic properties of unpasteurized beer[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2010, 116(1): 33-40.