

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240719003

乳酸链球菌素种类、国内外限量标准及在食品中的应用研究进展

顾晟琳, 刘璐, 徐琼*

(上海市质量监督检验技术研究院, 上海 200233)

摘要: 食品安全问题一直以来都是人们关心的热点问题, 而有效控制食品中的腐败微生物是保证食品安全的重要手段。乳酸链球菌素(Nisin)是一种天然细菌素, 能抑制大部分的革兰氏阳性菌, 目前已被鉴定的天然变体有 14 种, 主要从乳球菌属(*Lactococcus*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)以及经黏液真杆菌属(*Blautia*)中分离获得。乳酸链球菌素因其天然提取、安全性高、抑菌能力强, 在乳制品、肉制品、饮品、水产品等各类食品中应用广泛。作为一种食品级生物防腐剂, 许多国家批准使用乳酸链球菌素, 并规定了不同类型食品中乳酸链球菌素的最大添加量。本文结合目前国内外研究成果, 整理了天然抗菌剂乳酸链球菌素的种类来源、分析比较国内外限量标准以及对乳酸链球菌素在各类食品中的应用开展综述, 以期对乳酸链球菌素的种类研究及其在食品加工领域的高效利用提供新的思路。

关键词: 乳酸链球菌素; 添加剂; 限量

Research progress on types, domestic and international limit standards and applications of Nisin in food products

GU Sheng-Lin, LIU Lu, XU Qiong*

(Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China)

ABSTRACT: Food safety has always been a hot issue that people are concerned about, and effective control of spoilage microorganisms in food is an important means to ensure food safety. Nisin is a natural bacteriocin that inhibits most gram-positive bacteria, and the 14 kinds of natural variants have been identified, mainly derived from strains of *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* and *Blautia*. Because of its natural extraction, high safety and strong anti-bacterial ability, Nisin has been widely used in dairy products, meat products, drinks, aquatic products and other foods. As a food-grade biological preservative, Nisin is approved for use in many countries and maximum levels of Nisin are specified for different types of foods. Based on the current domestic and international research, this paper summarized the variants and sources of natural anti-bacterial agent Nisin, analyzed and compared the domestic and international limit standards, and reviewed the applications of Nisin in various food products, in order

基金项目: 上海市质量监督检验技术研究院青年科技启明星项目(QMX-2024-1-SP)、上海市质量监督检验技术研究院食品及相关产品生物检测技术研发服务团队支持项目

Fund: Supported by the Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research Rising-Star Program (QMX-2024-1-SP), and the Research and Development Service Team for Food and Related Products Bioassay Technologies of the Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research

*通信作者: 徐琼, 高级工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。E-mail: xuqiong@sqi.org.cn

*Corresponding author: XU Qiong, Senior Engineer, Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, No.381, Cangwu Road, Xuhui District, Shanghai 200233, China. E-mail: xuqiong@sqi.org.cn

to provide new ideas for the study of the variants of Nisin and its efficient use in the field of food processing.

KEY WORDS: Nisin; additives; limits

0 引言

乳酸链球菌素(Nisin)是一种天然的抗菌物质,属于细菌素的一种。1928 年, ROGERS 发现乳酸链球菌中能产生具有能抑制保加利亚乳杆菌的物质^[1]。这种细菌素被命名为乳酸链球菌素^[2],并于 1953 年在英国作为抗菌剂进行商业销售^[3]。

1969 年,乳酸链球菌素作为一种安全的食品添加剂,被联合国粮食及农业组织/世界卫生组织(Food and Agriculture Organization/World Health Organization, FAO/WHO)批准使用。目前,乳酸链球菌素在 80 多个国家获得使用许可^[4],并被广泛应用于各种不同类型的食品^[5-6]。我国卫生部于 1990 年将乳酸链球菌素列入批准使用的食品防腐剂,并在 GB 2760—86《食品添加剂使用卫生标准(1990 年增补品种)》中首次规定了使用范围及对应的最大使用量。

随着人们对于天然、健康、绿色食品的追求,乳酸链球菌素作为一种天然的食品抑菌剂已然成为食品领域科学研究的热点。然而,对于乳酸链球菌素的深入研究发现,乳酸链球菌素具有多种构型,且不同构型的抑菌作用有差异,同时目前也仅是 Nisin A 和 Nisin Z 被应用到实际生产加工中。对此,本文综述了乳酸链球菌素的来源、不同构

型的氨基酸差异、国内外标准限量分析以及食品工业中的应用等方面的最新研究进展,为后续天然乳酸链球菌素的深入研究、构建新的乳酸链球菌素变体提供理论依据,促进乳酸链球菌素在食品加工领域的高效利用。

1 乳酸链球菌素来源及结构

乳酸链球菌素属于 I 型羊毛硫菌素,最先发现的乳酸链球菌素异构体为 Nisin A,由乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)产生,结构中包含 5 个硫醚环状结构和 34 个氨基酸^[7],分子量约为 3354 Da。作为一种食品防腐剂,乳酸链球菌素对大多数革兰氏阳性食源性细菌,包括单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、蜡样芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)、肉食杆菌(*Caribacterium divergens*)等具有抑制作用^[8-9]。除此之外,天然乳酸链球菌素在畜牧业、渔业可以用于治疗动物疾病^[10],在医药方面、抗菌包装^[11]上也具有应用。

目前已有 14 种不同微生物来源的乳酸链球菌素天然变体(Nisin A、Z、Q、F、S、U、U₂、H、P、G、E、J、O_{1、2、3}和 O₄)被鉴定(见表 1)。其中, Nisin A、Z、Q、F 都来源于乳球菌属(*Lactococcus*), Nisin S 来源于乳杆菌属

表 1 乳酸链球菌素天然变体品种的来源菌种、分离源、氨基酸序列及其分子量
Table 1 Strains, isolation sources, amino acid sequences and molecular weights of natural varieties of Nisin

Nisin 种类	来源	分离源	氨基酸序列	分子量 /Da	参考文献
A	乳酸乳球菌	/	ITSISLCTPGCKTGALMGCNMKTATCHCSIHVSK	3354	[1]
Z	乳酸乳球菌 NIZO 22186	奶制品	ITSISLCTPGCKTGALMGCNMKTATCNCSTIHVSK	3331	[12]
Q	乳酸乳球菌 61-14	日本河水	ITSISLCTPGCKTGVL MGCNLKTATCNCSTVHVSK	3327	[13]
F	乳酸乳球菌 F10	淡水鲶鱼肠道	ITSISLCTPGCKTGALMGCNMKTATCNCSTVHVSK	3315	[14]
S	唾液乳杆菌(<i>Ligilactobacillus salivarius</i>) PICEA3	猪胃肠道	ITSYSLCTPGCKTGALMGCTMKTASCGCHVHISK	3347	[15]
U	乳房链球菌(<i>Streptococcus uberis</i>) 42	自然界中主要存在于奶牛的嘴唇和皮肤、生牛奶和乳房组织中	ITSKSLCTPGCKTGILMTCPLKTATCGCHFG	3029	[16]
U ₂			VTSKSLCTPGCKTGILMTCPLKTATCGCHFG	3015	
H	猪肠链球菌(<i>Streptococcus hyointestinalis</i>) DPC6484	猪肠	FTSISMCTPGCKTGALMTCNYKTATCHCSIKVSK	3453	[17]
P	无乳链球菌(<i>Streptococcus agalactiae</i>) DPC7040	人类粪便分离物	VTSKSLCTPGCKTGILMTCAIKTATCGCHFG	2987	[18]
G	唾液链球菌(<i>Streptococcus salivarius</i>) DPC6487	新生儿粪便样本	ITSYSLCTPGCKTGVL MACHLKTATCNCSTIIVSK	3405	[19]
E	马肠链球菌(<i>Streptococcus equinus</i> Strains) APC 4007、APC 4008	羊奶	ITSKSLCTPGCKTGALMTCPIKTATCGCHFGN	3101	[20]
J	头状葡萄球菌(<i>Staphylococcus capitis</i>) APC 2923	人类皮肤微生物群筛选研究中的脚趾蹠空间区域	ITSKSLCTPGCKTGALQTCFAKTATCHCSGHVHTK	3458	[21]
O _{1、2、3}	卵形布劳特氏菌(<i>Blautia obeum</i>) A2-162	人类胃肠道(结肠)	YKSKSACTPGCPTGILMTCPLKTATCGCHITGK	3259	[22]
O ₄			TSQHSFCTPNCLTGFLCPPKTQLTCTCKLKGQ	3546	

注: /代表无此项,表 2 同。

(*Lactobacillus*), Nisin U、U₂、H、P、G、E 都来源于链球菌属, Nisin J 来源于葡萄球菌属, 而 O₁、₂、₃ 和 O₄ 来自经黏液真杆菌属(*Blautia*)。尽管它们都具有相似的 5 个硫醚环状结构, 但由于它们的氨基酸序列不同, 导致其具有不同的物理性质、生物功能特点。

研究人员利用生物技术对天然乳酸链球菌素构型进行改造, 构建新的乳酸链球菌素变体, 从而新增或强化在某特定方面的作用。Nisin M 是对 Nisin A 的第 9 位和第 10 位氨基酸残基进行生物工程改造得到的乳酸链球菌素变体。改造使 Nisin M 含有苏氨酸, 在保留与 Nisin A 相当的诱导能力的同时, 极大减弱它的抗菌性, 使 Nisin M 可以在原本对表达宿主有毒的浓度下使用, 优化多肽发酵, 以提高产量或生产速度^[23], 而 Nisin T 是将第 22 位的赖氨酸改造成苏氨酸, 提高了对包括链球菌属和葡萄球菌属在内的多种动物病原微生物以及对多重耐药菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的抗菌能力^[24]。可以看出, 同一种氨基酸改造在乳酸链球菌素结构中不同的点位上, 可能对乳酸链球菌素的抑菌性和生物活性起到完全不同的效果。Nisin V 和 Nisin PV 也都是以 Nisin A 为基础改造出的新的乳酸链球菌素变体。Nisin V 将第 21 位的蛋氨酸改为缬氨酸, 使其对多种临床和食源性病原体表现出更强的抗菌功效, 同 Nisin A 相比在控制感染方面更有效^[25]; Nisin PV 将第 29 位丝氨酸和第 30 位异亮氨酸分别替换成脯氨酸和缬氨酸, 能有效预防和去除一部分具有特异性乳酸链球菌素耐药系统的菌株所生成的生物膜, 使菌株对抗生素的耐受性降低^[26]。乳酸链球菌素的环状结构、铰链区会影响乳酸链球菌素的生物功能, 而氨基酸序列的改变会导致其形成的环状结构、肽键强度或铰链区的性质发生变化, 可能使乳酸链球菌素更容易吸附于细胞的细胞膜、在细胞膜上形成更稳定的孔洞, 使细胞受损死亡。

2 我国乳酸链球菌素限量标准与国际标准对比分析

乳酸链球菌素是一种天然的多肽物质, 食用后可被人体内的蛋白酶(如胰蛋白酶、胰酶、唾液酶等)消化分解成氨基酸, 无生物毒性或致病性, 因此其安全性较高。国内外也不断扩大乳酸链球菌素在食品中的使用范围。2017 年欧盟食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)发布 10.2903/j.efsa.2017.5063 号文件。该公告基于新的毒理学数据, 建议允许在未成熟的奶酪(最高 12 mg/kg)和热处理肉制品(最高 25 mg/kg)中添加乳酸链球菌素, 并不会有安全隐患^[27]。2024 年加拿大卫生部发布 M-FAA-24-04 号文件, 批准乳酸链球菌素用于蛋清中, 其限量为 20 ppm^[28]。

2019 年国家食品安全风险评估中心对扩大乳酸链球菌素使用范围进行了意见征求, 拟扩大在非发酵豆制品、大米制品、淀粉制品、生湿面制品、方便米面制品和卤蛋类食品中增加乳酸链球菌素的适用范围和用量。2025 年 2 月即将实施的新版 GB 2760—2024《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》, 该标准明确规定了我国对乳酸链球菌素作为添加剂的限量要求。本文结合国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)制定的 Codex STAN 192—1995《法典食品添加剂通用标准》(2023 修订版)(general standard for food additives, GSFA)进行比较分析。

目前 GB 2760—2024 允许添加乳酸链球菌素作为防腐剂的食品大类有 9 个, 分别为乳及乳制品(01.0)、蔬菜和食用菌、藻类等(04.0)、粮食和粮食制品(06.0)、焙烤食品(07.0)、肉及肉制品(08.0)、水产及其制品(09.0)、蛋及蛋制品(10.0)、调味品(12.0)、饮料类(14.0), 而 GSFA 标准中允许添加乳酸链球菌素的食品大类有 6 个, 分别为乳制品及其类似产品(01.0)、谷物和谷物制品(06.0)、焙烤制品(07.0)、肉和肉制品(08.0)、蛋和蛋制品(10.0)、汤、沙司及其类似调味产品(12.0)(表 2)。

从适用范围来看, 我国对于乳酸链球菌素在食品中的应用范围更广, GB2760—2024 囊括了 GSFA 中所有的食品类别, 并增加了在蔬菜和食用菌、藻类等(04.0)、水产及其制品(09.0)和饮料类(14.0)中的应用。但是 GSFA 将乳制品及其类似产品(01.0)产品均进行了细致的分类, 下分为 8 个细类: 含乳饮料(01.1.4)、浓缩奶油(01.4.3)、非熟化干酪(01.6.1)、熟化干酪(01.6.2)、再制干酪(01.6.4)、仿真干酪(01.6.5)、乳清蛋白奶酪(01.6.6)和乳制品甜点(01.7)。

从使用限量来看, GSFA 中的限量要求比我国要严格。我国对于乳酸链球菌素的限量都大于等于 200 mg/kg, 如饮料类(14.0)的限量值为 200 mg/kg, 乳及乳制品类(01.0)和蔬菜、食用菌、藻类等(04.0)的限量最大为 500 mg/kg; 而 GSFA 各食品类别中乳酸链球菌素的限量最高的是肉和肉制品(08.0)类, 其限量值为 25 mg/kg, 谷物和谷物制品(06.0)最低的限量是值为 3 mg/kg。

为确保食品添加剂在食品中摄入量的安全性, FAO/WHO 食品添加剂联合专家委员会评估提出每日允许摄入量, 用于各国参考制定食品添加剂的最大使用量。对于不同国家不同食品, 食品添加剂的最大使用量也会不同。各个国家会根据国情进行综合评价, 包括: 人种之间的差异、食用量的差异、食品制造工艺区别等因素, 对这些数据进行整合统计处理, 再权衡添加剂可能对人体健康造成危害的添加量以及其有效抑菌作用的添加量, 最后制定出该食品添加剂的最大使用量。在整个过程中, 我国与国外在国情上的不同、对于数据处理方式的不同, 可能都

是导致乳酸链球菌素国内外最大使用量存在较大差异的原因。在膳食结构上，西方以动物性食品为主；东方以植物性食品为主，动物性食品为辅，饮食较均衡。 因此，在制

定乳酸链球菌素的使用范围上，我国可能会考虑的食品种类更广更全面，而国外可能会在乳制品和肉制品上考虑更细致。

表 2 GB 2760—2024 与 Codex STAN 192—1995 (2023 修订版)对乳酸链球菌素使用范围和限量比较
Table 2 Comparison of scope and limit of use of Nisin in GB 2760—2024 and Codex STAN 192—1995 (revision 2023)

序号	GB 2760—2024			Codex STAN 192—1995 (2023 修订版)		
	食品 分类号	食品名称	最大使用量 /(mg/kg)	食品 分类号	食品名称	最大使用量 /(mg/kg)
1	01.0	乳及乳制品(13.0 特殊膳食用食品 涉及品种除外)(01.01.01 巴氏杀菌 乳、01.01.02 灭菌乳和高温杀菌乳、 01.02.01 发酵乳、01.03.01 乳粉和奶 油粉和 01.05.01 稀奶油除外)	500	01.1.4	风味液态乳饮料	12.50
2	04.02.02.03	腌渍的蔬菜	500	01.4.3	凝固稀奶油(原味)	10.00
3	04.03.02	加工食用菌和藻类(04.03.02.04 食 用菌和藻类罐头除外)	500	01.6.1	非熟化干酪	12.50
4	04.04.01.03.02	卤制豆干	500	01.6.2	熟化干酪	12.50
5	06.04.02.02	其他杂粮制品(仅限杂粮灌肠制品)	250	01.6.4	再制干酪	12.50
6	06.07	方便米面制品(仅限方便湿面制品)	250	01.6.5	干酪类似产品	12.50
7	06.07	方便米面制品(仅限米面灌肠制品)	250	01.6.6	乳清蛋白干酪	12.50
8	07.01	面包	300	01.7	乳基甜点(如布丁、水果 或调味酸乳)	12.50
9	07.02	糕点	300	06.5	谷物和淀粉类甜点(如米 布丁、木薯布丁)	3.00
10	08.02	预制肉制品	500	07.2	精制焙烤制品(甜的、咸 的、美味的)及其混合物	6.25
11	08.03	熟肉制品(08.03.08 肉罐头类除外)	500	08.2.2	整块或分割的热处理加 工的畜、禽肉和野味	25.00
12	09.04	熟制水产品(可直接食用)	500	08.3.2	热处理的加工碎畜、禽肉 和野味制品	25.00
13	10.03	蛋制品(改变其物理性状)(10.03.01 脱水蛋制品和 10.03.03 蛋液与液态 蛋除外)	250	08.4	可食用肠衣(如香肠肠衣)	7.00
14	12.03	食醋	150	10.2.1	液体蛋制品	6.25
15	12.04	酱油	200	12.5.1	即食清汤和浓汤, 包括罐 装, 瓶装和冷冻制品	5.00
16	12.05	酿造酱	200	12.6.1	乳化沙司(如蛋黄酱, 沙 拉酱)	5.00
17	12.10	复合调味料	200	12.6.2	非乳化沙司(如番茄酱, 干酪汁, 奶油汁, 卤汁)	5.00
18	14.0	饮料类(14.01 包装饮用水、14.02.01 果蔬汁/浆、14.02.02 浓缩果蔬汁/ 浆除外)	200	12.6.4	调味清汁(如鱼露)	5.00
19	/	/	/	12.7	沙拉(如通心粉沙拉、土 豆沙拉)和三明治酱 (04.2.2.5 可可酱和 05.1.3 坚果酱除外)	5.00

3 乳酸链球菌素在食品中的应用

3.1 乳制品中的应用

乳酸链球菌素能有效抑制乳制品中易出现的病原微生物, 主要有单核细胞增生李斯特氏菌、乳杆菌属、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、生孢梭菌(*Clostridium sporogenes*)等^[29-32]。DAVIES 等^[33]对里科塔奶酪保质期的研究表明, 在奶酪中加入 2.5 mg/L 的乳酸链球菌素可抑制李斯特氏菌生长长达 8 周。对于一些冷加工乳制品的加工, 乳酸链球菌素的添加可以减少热处理杀菌步骤, 降低对乳制品风味被破坏的同时, 有效防止食品变质^[34]。除此之外, 乳酸链球菌素也被用于提高最终产品的质量, 如加速奶酪成熟、增添风味等^[35]。然而, 当直接用于乳制品时, 产品的 pH、蛋白质及脂肪的含量会影响乳酸链球菌素的功效, 例如乳酸链球菌素在中性 pH 下缺乏稳定性, 可能由于其与脂肪球、酪蛋白和二价阳离子的相互作用而失效^[36]。BHATTI 等^[37]在新鲜的巴氏消毒全脂和脱脂牛奶中加入 12.5 mg/L 乳酸链球菌素后发现, 当全脂牛奶均质化时, 抗李斯特氏菌活性降低, 甚至消失。为了尽可能消除乳酸链球菌素在乳制品中失效的因素, 将乳酸链球菌素加入乳制品包装、与其他防腐剂复合使用都是很有前景的解决方法。

3.2 肉及肉制品中的应用

目前, 常用于肉及肉制品的防腐剂主要是化学防腐剂, 如: 山梨酸钾、苯甲酸钠、亚硝酸盐等。作为生物防腐剂, 乳酸链球菌素也在大量研究中被证明能有效抑制引起肉及肉制品腐败的微生物。LEE 等^[38]验证了仅用乳酸链球菌素对牛肉干和火腿片中的单核细胞增生李斯特氏菌也具有杀菌效果, 其中 100 ppm 的乳酸链球菌素对单核细胞增生李斯特氏菌的杀菌活性最高。WIJNKER 等^[39]将香肠肠衣浸泡在 50 mg/L 乳酸链球菌素溶液中 8 d, 与对照组处理相比, 梭状芽胞杆菌的孢子数减少 90%。乳酸链球菌素也容易与肉中的谷胱甘肽、蛋白水解酶以及脂肪相互作用, 降低其生物活性^[40]。当乳酸链球菌素与肉类基质接触时, 其抑菌效果在很大程度上取决于肉类的特性: 温度、pH、谷胱甘肽和活性蛋白酶。为了减小肉质对乳酸链球菌素的影响, 利用乳酸链球菌素与其他抗菌物质复合使用能更好地提高抗菌效果, 防止腐败微生物的生长^[41-42]。CALDERÓN-OLIVER 等^[43]将含乳酸链球菌素和牛油果皮提取物的微胶囊加入牛肉中, 在真空条件下进行包装, 在储存 10 d 后, 肉糜中嗜温菌的生长量显著降低, 同时减缓了氧化反应, 且对肉糜的品质影响不大。DAI 等^[44]发现经 1%壳聚糖、2.5%茶多酚和 0.04%乳酸链球菌素处理的植物性肉制品较对照样品的保质期延长了 40 多天, 长达 56 d。

3.3 果蔬汁中的应用

果蔬汁的灭菌工艺是确保果蔬汁质量的重要环节。巴氏杀菌法工艺具有灭菌灭酶效率高、安全性高和成本低的特点, 是果蔬汁保存中应用最广泛的方法^[45]。然而, 巴氏杀菌法的高温会导致果蔬汁的颜色、口感发生变化, 破坏热敏感营养物质和功能物质(如维生素 C、抗氧化能力等), 从而降低果蔬汁的营养价值和感官特性^[46]。在果蔬汁饮品中添加乳酸链球菌素, 可以避免巴氏杀菌工艺缺点的同时, 有效延长果蔬汁的保质期, 给果蔬汁的防腐方法提供一种选择。目前主要有两种使用策略, 一种是以其他物质作为载体将乳酸链球菌素包裹或装载在其中以延长、增强其抗菌能力。如 SOTO 等^[47]采用静电纺丝法制备了装载乳酸链球菌素的纳米纤维, 能分别在 48、20 和 48 h 后完全抑制接种于苹果汁中的沙门氏菌(*Salmonella*)、单核细胞增生李斯特氏菌和肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)活性。SARKAR 等^[48]发现水包油乳状液在哈密瓜汁贮存过程中能更好地保留乳酸链球菌素的活性, 对李斯特氏菌和沙门氏菌的抑菌效果优于非乳状液水溶液。另一种是将乳酸链球菌素和非高温物理灭菌方法联合使用, 在避免高温对果蔬汁的损害的同时达到灭菌效果。ISAYA 等^[49]研究表明 149.76 J/cm² 紫外线(ultraviolet, UV)和 200 ppm 乳酸链球菌素联合使用对柑桔汁中的腐败和致病微生物以及总菌落计数的对数减少最大, 而对颜色性能影响不显著, 可以作为传统巴氏杀菌法的可行替代方法。CUI 等^[50]研究了超声联合乳酸链球菌素处理对板栗百合饮料性能的影响, 发现此方法能有效杀灭板栗百合饮料的微生物, 与巴氏杀菌法相比, 该处理中总酚含量和抗氧化能力显著增加。

3.4 水产品中的应用

总挥发性盐基氮的含量常用于评价水产品的新鲜程度。总挥发性盐基氮含量越高, 表明氨基酸被破坏的越多, 营养价值越低。添加高浓度的乳酸链球菌素除了能有效抑制水产品腐败微生物的生长, 还能使挥发性盐基氮的增长趋慢, 延长水产品的货架期^[51]。水产品中的乳酸链球菌素通常会和一些其他防腐剂或抑菌措施一起使用, 以达到更好的防腐效果。JANG 等^[52]研究了乳酸链球菌素与不同浓度的氯化钠联合使用在冷藏条件下对鱼制品有抑菌效果, 研究表明, 同时添加乳酸链球菌素和质量浓度为 5%(或 7%)氯化钠溶液能使尼罗罗非鱼肉末中的单核细胞增生李斯特氏菌或金黄色葡萄球菌明显减少。AL 等^[53]发现在鱼子酱和三文鱼中加入乳酸链球菌素并进行高频加热, 可以抑制李斯特氏菌的生长。乳酸链球菌素也可以和一些原料制成复合膜保鲜剂, 覆盖在水产品表面以抑制微生物的生长。李晨等^[54]发现芥麦胰蛋白酶抑制剂和乳酸链球菌素复合涂膜于鲈鱼鱼糜, 能显著抑制其中的微生物生长, 并减缓其总挥发性盐基氮增长, 从而延长货架期。MERAL 等^[55]

将乳酸链球菌素制成静电纺丝纳米纤维膜并负载姜黄素,涂覆在虹鳟鱼片上可以使鱼片的感官特性(气味、颜色、质地和总体接受度)由维持 4 d 延长至 12 d。这些研究结果为食品包装材料研究领域提供新的思路,通过乳酸链球菌素和食品包装材料结合,抵消产品本身的特性对乳酸链球菌素的抑菌因素,具有重要的参考价值。

4 结束语

乳酸链球菌素作为一种高效的生物抑菌剂,具有多种变体,能抑制大部分的革兰氏阳性病原微生物。乳酸链球菌素可以在起到有效防腐作用的同时,避免食品灭菌工艺对食品的风味、颜色、口感等破坏,在乳制品、肉制品、果蔬汁产品、水产品等各类食品中得到运用,为我们的食品安全保驾护航。然而,乳酸链球菌素的抑菌效果容易受到 pH、温度、产品基质等因素影响,为达到更好的防腐效果,与其他抗菌物质复合使用、同其他物理灭菌方法联合使用以及改变性状制成复合膜保鲜剂都是近年来更有效的方法。

目前针对乳酸链球菌素的研究仍然面临一些挑战和不足:食品中的应用主要以 Nisin A 和 Nisin Z 为主,而针对其他构型所表现的生物学活性、理化性质差异较大,对此类问题的研究并不系统,如不同构型对微生物的抑菌结果没有统一的比较;乳酸链球菌素作为一种食品添加剂在国内外有限值要求,但在产品中缺少配套的含量检测方法。同时,乳酸链球菌素的氨基酸序列对其功能的影响机理、新发现的乳酸链球菌素变体在食品中的抑菌能力及安全性仍需要进一步探究。这些研究可以为今后更高效、规范地利用乳酸链球菌素、挖掘新型生物防腐剂、保证食品安全提供理论参考依据。

参考文献

- [1] ROGERS LA. The inhibiting effect of *Streptococcus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus* [J]. J Bacteriol, 1928, 16(5): 321–325.
- [2] HIRSCH A, MATTICK ATR. Some recent applications of Nisin [J]. Lancet, 1949, 254(6570): 190–193.
- [3] DELVES-BROUGHTON J, BLACKBURN P, EVANS RJ, et al. Applications of the bacteriocin, Nisin [J]. Anton Leeuw Int J G, 1996, 69(2): 193–202.
- [4] CHIKINDAS ML, WEEKS R, DRIDER D, et al. Functions and emerging applications of bacteriocins [J]. Curr Opin Biotech, 2017, 49: 23–28.
- [5] GHARSALLAOUI A, OULAHAL N, JOLY C, et al. Nisin as a food preservative: Part 1: Physicochemical properties, antimicrobial activity, and main uses [J]. Crit Rev Food Sci, 2016, 56(8): 1262–1274.
- [6] CHIKINDAS ML. Use of bacteriocins and bacteriocinogenic beneficial organisms in food products: Benefits, challenges, concerns [J]. Foods, 2022, 11(19): 3145.
- [7] GROSS E, MORELL JL. Structure of Nisin [J]. J Am Chem Soc, 1971, 93(18): 4634–4635.
- [8] DES F, MIGUEL UDF, PAUL RR, et al. After a century of Nisin research, where are we now and where are we going? [J]. Fems Microbiol Rev, 2023, 47(3): 1–18.
- [9] 黄伟英, 叶红雨, 刘晓婷, 等. 乳酸链球菌素对肉食杆菌和腐生葡萄球菌的抑菌机制研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(14): 95–104.
- [10] 祝金山. 乳酸链球菌素天然异构体 Nisin A、Nisin Z、Nisin Q 的应用研究进展[J]. 广东化工, 2019, 46(16): 110–111.
- [11] PATTARIN L, CHAYANAT P, PAPHAWIN S, et al. Effects of Nisin and EDTA on morphology and properties of thermoplastic starch and PBAT biodegradable films for meat packaging [J]. Food Chem, 2022, 369: 130956.
- [12] VOS WMD, MULDER JWM, SIEZEN RJ, et al. Properties of Nisin Z and distribution of its gene, *nisZ*, in *Lactococcus lactis* [J]. Appl Environ Microb, 1993, 59(1): 213.
- [13] ZENDO T, FUKAO M, UEDA K, et al. Identification of the lantibiotic Nisin Q, a new natural Nisin variant produced by *Lactococcus lactis* 61-14 isolated from a river in Japan [J]. Biosci Biotech Bioch, 2003, 67(7): 1616–1619.
- [14] DE-KWAADSTENIET M, TEN-DOESCHATE K, DICKS LMT. Characterization of the structural gene encoding Nisin F, a new lantibiotic produced by a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolate from freshwater catfish (*Clarias gariepinus*) [J]. Appl Environ Microb, 2008, 74(2): 547–549.
- [15] ESTER S, NURIA P, IRENE L, et al. Nisin S, a novel Nisin variant produced by *Ligilactobacillus salivarius* P1CEA3 [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(7): 6813.
- [16] WIRAWAN RE. Molecular and genetic characterization of a novel Nisin variant produced by *Streptococcus uberis* [J]. Appl Environ Microb, 2006, 72(2): 1148–1156.
- [17] O'CONNOR PM, O'SHEA EF, GUINANE CM, et al. Nisin H is a new Nisin variant produced by the gut-derived strain *Streptococcus hyointestinalis* DPC6484 [J]. Appl Environ Microb, 2015, 81(12): 3953–3960.
- [18] GARCIA-GUTIERREZ E, O'CONNOR PM, SAALBACH G, et al. First evidence of production of the lantibiotic Nisin P [J]. Sci Rep-uk, 2020, 10(1): 3738.
- [19] LAWRENCE GW, GARCIA-GUTIERREZ E, WALSH CJ, et al. Nisin G is a novel Nisin variant produced by a gut-derived *Streptococcus salivarius* [J]. Bio Rxiv, 2022. DOI: 10.1101/2022.02.15.480493
- [20] IVAN S, DARAGH H, O'CONNOR PM, et al. Nisin E is a novel Nisin

- variant produced by multiple *Streptococcus equinus* strains [J]. Microorganisms, 2023, 11(2): 427.
- [21] O'SULLIVAN JN, O'CONNOR PM, REA MC, *et al.* Nisin J, a novel natural Nisin variant, is produced by *Staphylococcus capitis* sourced from the human skin microbiota [J]. J Bacteriol, 2020, 202(3). DOI:10.1128/JB.00639-19
- [22] DIANE H, CRISTINA G, GERHARD S, *et al.* Discovery of a novel lantibiotic Nisin O from *Blautia obeum* A2-162, isolated from the human gastrointestinal tract [J]. Microbiology, 2017, 163(9): 1292-1305.
- [23] O'CONNOR M, FIELD D, GRAINGER A, *et al.* Nisin M: A bioengineered Nisin A variant that retains full induction capacity but has significantly reduced antimicrobial activity [J]. Appl Environ Microb, 2020, 86(15). DOI:10.1128/AEM.00984-20
- [24] FIELD D, QUIGLEY L, O'CONNOR PM, *et al.* Studies with bioengineered Nisin peptides highlight the broad-spectrum potency of Nisin V [J]. Microb Biotechnol, 2010, 3(4): 473-486.
- [25] CAMPION A, CASEY PG, FIELD D, *et al.* In vivo activity of Nisin A and Nisin V against *Listeria monocytogenes* in mice [J]. Bmc Microbiol, 2013, 13(1): 23.
- [26] PÉREZ-IBARRECHE M, FIELD D, ROSS RP, *et al.* A bioengineered Nisin derivative to control *Streptococcus uberis* biofilms [J]. Appl Environ Microb, 2021, 87(16). DOI:10.1128/AEM.00391-21
- [27] YOUNES M, AGGETT P, AGUILAR F, *et al.* Safety of Nisin (E234) as a food additive in the light of new toxicological data and the proposed extension of use [J]. EFSA J, 2017, 15(12): e05063.
- [28] Health Canada's Food and Nutrition Directorate. Modification to the list of permitted preservatives to extend the use of Nisin [EB/OL]. [2024-05-31]. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/public-involvement-partnerships/modification-list-permitted-preservatives-extend-use-nisin.html> [2024-07-10].
- [29] BAI FT, GUO D, WANG YY, *et al.* The combined bactericidal effect of Nisin and thymoquinone against *Listeria monocytogenes* in tryptone soy broth and sterilized milk [J]. Food Control, 2022, 135: 108771.
- [30] VILLARREAL AL, LADERO V, SARQUIS A, *et al.* Bacteriocins against biogenic amine-accumulating lactic acid bacteria in cheese: Nisin A shows the broadest antimicrobial spectrum and prevents the formation of biofilms [J]. J Dairy Sci, 2024, 107(7): 4277-4287.
- [31] SONG YC, LU YS, BI XF, *et al.* Inactivation of *Staphylococcus aureus* by the combined treatments of ultrasound and Nisin in nutrient broth and milk [J]. eFood, 2021, 2(3): 140-146.
- [32] OLIVEIRA RBA, RAMOS GLPA, SÁ PBZR, *et al.* Controlling *Clostridium sporogenes* spoilage of "requeijão cremoso" processed cheese: Modeling the growth/no-growth probability as a function of pH, sodium chloride and Nisin [J]. Food Control, 2024, 162: 110435.
- [33] DAVIES EA, BEVIS HE, DELVES-BROUGHTON J. The use of the bacteriocin, Nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes* [J]. Lett Appl Microbiol, 1997, 24(5): 343-346.
- [34] OSHIMA S, HIRANO A, KAMIKADO H, *et al.* Nisin A extends the shelf life of high-fat chilled dairy dessert, a milk-based pudding [J]. J Appl Microbiol, 2014, 116(5): 1218-1228.
- [35] ANUMUDU C, HART A, MIRI T, *et al.* Recent advances in the application of the antimicrobial peptide Nisin in the inactivation of spore-forming bacteria in foods [J]. Molecules, 2021, 26(18): 5552.
- [36] IBARRA-SÁNCHEZ LA, EL-HADDAD N, MAHMOUD D, *et al.* Invited review: Advances in Nisin use for preservation of dairy products [J]. J Dairy Sci, 2020, 103(3): 2041-2052.
- [37] BHATTI M, VEERAMACHANENI A, SHELEF LA. Factors affecting the antilisterial effects of Nisin in milk [J]. Int J Food Microbiol, 2004, 97(2): 215-219.
- [38] LEE HJ, HEO Y, KIM HJ, *et al.* Bactericidal effect of combination of atmospheric pressure plasma and Nisin on meat products inoculated with *Escherichia coli* O157:H7 [J]. Food Sci Anim Resour, 2023, 43(3): 402-411.
- [39] WIJNKER J, WEERTS EAWS, BREUKINK E, *et al.* Reduction of clostridium sporogenes spore outgrowth in natural sausage casings using Nisin [J]. Food Microbiol, 2011, 28(5): 974-979.
- [40] ROSE NL, SPORNS P, STILES ME, *et al.* Inactivation of Nisin by glutathione in fresh meat [J]. J Food Sci, 2010, 64(5): 759-762.
- [41] KHELISSE S, CHIHIB NE, GHARSALLAOUI A. Conditions of Nisin production by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and its main uses as a food preservative [J]. Arch Microbiol, 2021, 203(2): 465-480.
- [42] WORAPRAYOTE W, MALILA Y, SORAPUKDEE S, *et al.* Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products [J]. Meat Sci, 2016, 120: 118-132.
- [43] CALDERÓN-OLIVER M, ESCALONA-BUENDÍA HB, PONCE-ALQUICIRA E. Effect of the addition of microcapsules with avocado peel extract and Nisin on the quality of ground beef [J]. Food Sci Nutr, 2020, 8(3): 1325-1334.
- [44] DAI ZH, HAN LN, LI Z, *et al.* Combination of chitosan, tea polyphenols, and Nisin on the bacterial inhibition and quality maintenance of plant-based meat [J]. Foods, 2022, 11(10): 1524.
- [45] KIM MK, JANG HW, LEE KG. Sensory and instrumental volatile flavor analysis of commercial orange juices prepared by different processing methods [J]. Food Chem, 2018, 267(30): 217-222.
- [46] ZHAO QY, YUAN QY, GAO CX, *et al.* Thermosonication combined with natural antimicrobial Nisin: A potential technique ensuring microbiological safety and improving the quality parameters of orange juice [J]. Foods, 2021, 10(8): 1851.
- [47] SOTO KM, HERNÁNDEZ-ITURRIAGA M, LOARCA-PIÑA G, *et al.* Antimicrobial effect of Nisin electrospun amaranth: Pullulan nanofibers in apple juice and fresh cheese [J]. Int J Food Microbiol, 2019, 295: 25-32.

- [48] SARKAR P, BHUNIA KA, YAO Y. Impact of starch-based emulsions on the antibacterial efficacies of Nisin and thymol in cantaloupe juice [J]. Food Chem, 2017, 217: 155–162.
- [49] ISAYA K, AHMAD KS, SAEID J, *et al.* Microbial inhibition by UV radiation combined with Nisin and shelf-life extension of tangerine juice during refrigerated storage [J]. Foods, 2023, 12(14): 2725.
- [50] CUI Y, LIU JX, HAN SH, *et al.* Chestnut lily beverage (CLB) processing using ultrasound-assisted Nisin: Microbiota inactivation and product quality [J]. Foods, 2022, 11(21): 3344.
- [51] 杨絮, 鲁淑彦, 郭全友. 乳酸链球菌素对高水分烤虾贮藏中品质的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(10): 330–335.
- YANG X, LU SY, GUO QY. Effect of Nisin on the quality change of roasted shrimp with high water content during storage [J]. Food Ind Technol, 2023, 44(10): 330–335.
- [52] JANG WJ, HASAN MT, PARK SY, *et al.* Synergy of Nisin Z and sodium chloride in the inhibition of food-borne pathogens and quality control of aquatic foods [J]. J Aquat Food Prod T, 2023, 32(2): 175–184.
- [53] AL HM, LIN M, RASCO B. Destruction of *Listeria monocytogenes* in sturgeon (*Acipenser transmontanus*) caviar by a combination of Nisin with chemical antimicrobials or moderate heat [J]. J Food Protect, 2005, 68(3): 512–520.
- [54] 李晨, 牛泽洁, 李文婕, 等. BTI 和 Nisin 复合涂膜液对鲈鱼鱼糜的保鲜效果[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(22): 8–13.
- LI C, NIU ZJ, LI WJ, *et al.* Preservation effect of composite coating liquid containing BTI and Nisin on *Lateolabrax japonicus* surimi [J]. Food Res Dev, 2021, 42(22): 8–13.
- [55] MERAL R, ALAV A, KARAKAS C, *et al.* Effect of electrospun Nisin and curcumin loaded nanomats on the microbial quality, hardness and sensory characteristics of rainbow trout fillet [J]. LWT-Food Sci Technol, 2019, 113: 108292.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)

作者简介



顾晟琳, 助理工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。

E-mail: gushl@sqi.org.cn

徐 琼, 高级工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。

E-mail: xuqiong@sqi.org.cn