

细菌素的抑菌机制及其在食品工业中应用进展

李冰瑶^{1,2}, 郑茵², 王涓³, 吴清平¹, 张菊梅¹, 丁郁^{2*}

(1. 广东省科学院微生物研究所, 华南应用微生物国家重点实验室, 农业农村部农业微生物组学与精准应用重点实验室, 广东省微生物安全与健康重点实验室, 广东广州 510070)

(2. 暨南大学食品科学与工程系, 广东广州 510632) (3. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要: 由致病菌等微生物污染所引起的食源性疾病和食品腐败变质始终是食品工业面临的巨大难题, 而传统的抗生素防腐剂所产生的细菌耐药性会对人体健康造成潜在的威胁。出于人们对于安全和绿色防腐剂的巨大需求, 细菌素的研究愈发成为焦点, 以期发现可有效控制食源性病原体的新型抗菌物质。细菌素是细菌分泌的多肽或前体多肽, 分子量在 1~100 ku 之间不均匀分布, 可以杀死或抑制同一生态系统中竞争营养物质的敏感细菌, 少数细菌素还表现出抗病毒和抗真菌等特性。已有研究发现的细菌素具有不同的作用模式, 例如: 成孔、抑制细胞壁/核酸/蛋白质合成等。该研究综述了细菌素的种类与抑菌作用机制, 并结合最新的细菌素在食品工业上的应用, 全面概述了细菌素抑菌的特性及其对未来食品行业的应用前景与展望, 为细菌素更好的应用在食品工业中提供一定的理论依据, 同时对推动食品防腐保鲜技术的革新发展具有重要的意义。

关键词: 细菌素; 抑菌机制; 食品工业; 控制

文章编号: 1673-9078(2023)11-323-332

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.11.1499

Advances in Antibacterial Modes of Action of Bacteriocin and Food Industry Applications

LI Bingyao^{1,2}, ZHENG Yin², WANG Juan³, WU Qingping¹, ZHANG Jumei¹, DING Yu^{2*}

(1. Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, State Key Laboratory of Applied Microbiology in South China, Key Experiment of Agricultural Microbiome and Precision Application of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Microbial Safety and Health, Guangzhou 510070, China)

(2. Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

(3. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Food-borne diseases and food spoilage caused by contamination by pathogens and other microorganisms are a major problem in the food industry. Bacterial resistance to conventional antibiotic preservatives may threaten human health. The current huge demand for safe and natural food preservatives has spurred intensive research aiming to develop novel compounds active against foodborne pathogens. Bacteriocins are polypeptides or precursor polypeptides secreted by predator bacterial cells. The molecular weights of bacteriocins range from 1 to 100 ku. Bacteriocins can kill or inhibit sensitive bacteria competing for nutrients in the same ecosystem. A few bacteriocins also exhibit additional antiviral and antifungal properties. Different modes of action of bacteriocins have been reported, including pore formation and inhibition of cell wall/nucleic acid/protein synthesis. This review summarizes the classification, antibacterial mechanisms, and characteristics of bacteriocins, and their latest applications in the food industry. The review provides a theoretical basis for the better application of bacteriocins in

引文格式:

李冰瑶, 郑茵, 王涓, 等. 细菌素的抑菌机制及其在食品工业中应用进展[J]. 现代食品科技, 2023, 39(11): 323-332

LI Bingyao, ZHENG Yin, WANG Juan, et al. Advances in antibacterial modes of action of bacteriocin and food industry applications [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(11): 323-332

收稿日期: 2022-11-25

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFF1100700); 广东省基础与应用基础研究重大项目 (2020B0301030005); 国家自然科学基金项目 (31730070); 广东省科技厅广东省微生物安全与健康重点实验室项目 (2020B121201009)

作者简介: 李冰瑶 (1997-), 女, 硕士生, 研究方向: 食源性致病微生物控制, E-mail: libingyao0726@163.com

通讯作者: 丁郁 (1980-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物安全与营养, E-mail: dingyu_cu@163.com

the food industry and will inform food preservation technology innovation and developments.

Key words: bacteriocin; bacteriostatic mechanism; food industry; control

食品微生物污染一直是全球食品行业和消费者关注的重要问题。在新型冠状病毒肺炎 (Corona Virus Disease 2019, COVID-19) 仍流行的情况下, 微生物继发感染的机会仍然较高, 并且在治疗过程中变得更为复杂^[1]。食物中的腐败细菌对食品质量具有威胁性, 如肉毒杆菌、单核细胞增生李斯特菌、肠球菌、链球菌、葡萄球菌、大肠杆菌等, 进入人体组织会引起炎症性疾病、呼吸道感染、全身感染、肠道癌症等疾病, 严重者可致命。因此, 新型食品防腐技术及防腐剂开发尤为重要。已有研究表明, 一些防腐剂对人体有不利影响, 如易引起人体的过敏反应, 亚硝酸盐会形成亚硝胺等致癌物质^[2]。此外, 某些传统防腐技术也会改变食物的感官特性和破坏食品中的可利用营养成分。近年来, 人们越来越关注使用非病原微生物及其代谢产物抑制食品变质而延长食品保质期^[3]。消费者们渴望营养安全且不含合成防腐剂的食品, 因此研究人员试图通过寻找天然有效的替代品来保存食品以满足消费者需求^[4]。

随着食品科学的不断发展, 研究人员发现了一种安全和天然的防腐剂—天然生物防腐剂。在微生物中, 乳酸菌 (Lactic Acid Bacteria, LAB) 具有生物保存能力, 因为它能产生一系列天然活性抗菌物质, 如有机酸、过氧化氢、细菌素等^[5]。另外, 乳酸链球菌素 (Nisin) 被认为是一种“天然防腐剂”, 以耐受高热应力且在宽 pH 值范围内的活性而闻名^[6], 从而增加了其市场应用。第一个发现的细菌素是 1925 年从革兰氏阴性菌大肠杆菌中分离得到大肠杆菌素 (Colicin), 其通过抑制细胞壁合成与改变细胞膜通透性而抑制细菌, 仅对与大肠杆菌密切相关的细菌或窄谱杀菌作用。后来发现来自乳酸菌的革兰氏阳性菌的细菌素, 更具有广谱性, 对一系列食物腐败微生物和食源性病原体有效^[3]。目前, 有几种经过鉴定和纯化的细菌素用作食品添加剂和防腐剂, 主要包括: 枯草杆菌素、Thuricin、Cerein 和植物霉素。最常见的抗微生物肽 (Antimicrobial Peptides, AMPs), 也称为生物活性肽、细菌素或抗微生物活性肽, 是乳酸链球菌生产的乳酸链球菌素, 被认为在食品中使用是安全的^[7]。

在过去的几十年里, 细菌素在食品生物保鲜、果汁饮料加工、牛奶乳制品杀菌、食品防腐剂、新型食品包装材料等领域得到了持续的关注。因此, 本文综

述了细菌素的发展, 重点介绍了细菌素的抑菌机制, 以及细菌素在食品行业的应用及展望, 为细菌素在食品工业中的应用提供一定的理论依据, 同时对推动食品防腐保鲜技术的革新具有重要的意义。

1 细菌素的种类

Klaenhammer 等^[8]描述的经典分类方法将细菌素分为四类。I 类细菌素是小的 (分子量 < 5 ku) 膜活性肽, 称为羊毛硫抗生素, 通常由 19~50 个氨基酸组成, 经过广泛的翻译后修饰, 产生了非标准氨基酸, 如羊毛硫氨酸、 β -甲基羊毛硫氨酸、脱氢丁碱、脱氢丙氨酸和 Labyrinthine。I 类又细分为 Ia 类 (Lantibiotics)、Ib 类 (Labyrinthopeptins) 和 Ic 类 (Sanctibiotics)。Nisin 是研究最深入的 I 类细菌素。II 类细菌素是小的 (分子量 < 10 ku) 耐热非羊毛硫抗生素, 包含热稳定性小的、未修饰的多肽, 并可进一步细分为 IIa 类 (儿茶素样细菌素)^[9], IIb 类 (双肽未修饰细菌素)、IIc 类 (环状细菌素) 和 IId 类 (未修饰的、线性的、非小儿茶素样细菌素)。IIa 亚类包括单核细胞增多性李斯特菌含有 N 末端共有序列 Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys 的活性肽; 亚类 IIb 包含由两个活性肽组成的穿孔复合物; IIc 亚类包括需要减少半胱氨酸残基的硫醇活化肽。III 类包括大的 (分子量 > 30 ku) 耐热细菌素。IV 类包括由一个或多个化学部分组成的复杂蛋白质, 且数量较小。

1.1 革兰氏阳性细菌素

已有研究发现, 革兰氏阳性细菌素包括 I 类、II 类和 III 类。I 类细菌素有 Nisin A、Nisin U 以及 Nisin Z 等; II 类细菌素包括 IIa 类、IIb 类和 IIc 类。IIa 类细菌素包括儿茶素 PA-1^[10]和肉毒杆菌素 X^[11]; IIb 类细菌素包括 lactacin F^[12]和 ABP-118^[13]; IIc 类细菌素包括卡诺环素 A^[14,15]和肠霉素 AS-48^[16]; III 型革兰氏阳性细菌素包括表皮霉素 NI01^[17]和乳霉素 A^[18] (表 1)。I 类革兰氏阳性细菌素如 Nisin 和 lactacin 3147 是具有正电荷的柔性螺旋形分子, 可在目标生物的细胞膜上形成孔, 从而导致目标物种细胞质膜去极化^[19]。另外, 由芽孢杆菌属分泌的 Mersacidin, 没有净电荷或净负电荷, 这是一种可以干扰细胞酶促反应 (如细胞壁合成) 的球状分子^[20]。

表1 革兰氏阳性细菌素分类

Table 1 Summary of classification of Gram-positive bacteriocins

| 分类 | 细菌素 | 分子量/u | 产生菌 | 参考文献 |
|-------|---------------------|---------|--|------|
| I类 | Nisin A | 3 352 | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactic</i> | [21] |
| I类 | Nisin U | 3 029 | <i>Streptococcus uberis</i> | [23] |
| I类 | Nisin Z | 3 493 | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactic</i> | [23] |
| I类 | Mersacidin | 1 824 | <i>Bacillus</i> sp.HILY-85, 54728 | [24] |
| I类 | Labyrinthopeptin A2 | 1 922 | <i>Actinomadura</i> sp. | [25] |
| I类 | Subtilisin A | 3 399 | <i>Bacillus subtilis</i> 168 | [26] |
| I类 | Pediocin PA-1 | 4 629 | <i>Pediococcus acidilactici</i> PAC-1.0 | [10] |
| I类 | Carnobacteriocin X | 3 602 | <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> C2 | [11] |
| I类 | ABP-1 18 | 4 096 | <i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> UCC1 18 | [13] |
| II类 | Carnocyclin A | 5 862 | <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> UAL30 7 | [27] |
| II类 | Lactococcin A | 5 778 | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> | [18] |
| II a类 | Enterolisin A | 34 501 | <i>Enterococcus faecalis</i> LMG 2333 | [28] |
| II b类 | Lactacin F | 4 755 | <i>Lactobacillus</i> spp. | [29] |
| II c类 | Enterocin AS-48 | 7 149 | <i>Enterococcus faecalis</i> | [30] |
| III类 | Epidermicin NI01 | 6 074 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | [17] |
| III类 | Caseicin 80 | ~42 000 | <i>Lactobacillus casei</i> B80 | [31] |

表2 革兰氏阴性细菌素分类

Table 2 Summary of classification of Gram-negative bacteriocins

| 分类 | 细菌素类 | 代表 |
|------|---|---------------------------------|
| I类 | Microcins (Low Molecular Weight Proteins, <5 ku) | Microcins B17, C7-C51, D93, J25 |
| II类 | Microcins (High Molecular Weight Proteins, 5~10 ku) | |
| IIa类 | Sub Class IIa | Microcins L, V, N |
| IIb类 | Sub Class IIb | Microcins E492, M, H47 |
| III类 | Pore Forming Colicins | Colicins A, B, E1, Ia, Ib, K, N |
| III类 | Nuclease Type Colicins | Colicins E2 to E9 |
| III类 | Peptidoglycanase Colicins | Colicin M |

1.2 革兰氏阴性菌细菌素

低分子量肽(1~10 ku)的小菌素(Microcins)和高分子量蛋白质(30~80 ku)的大肠杆菌素(Colicins)是两种较常见的革兰氏阴性菌细菌素。大肠杆菌素由含有 Colicins 质粒的大肠杆菌菌株产生^[6]。Microcins 通常是高度稳定的分子,对蛋白酶、极端 pH 值和温度具有抗性。它们是由肠道细菌在压力条件下产生的,特别是在营养耗尽的情况下产生。如 Microcin B17、C7-C51、D93 和 J25 等也属于 I 类细菌素。II 类细菌素又可进一步分为两个亚类,包括 IIa 类和 IIb 类。如 Microcin L、V 和 N 属于 IIa 类微肽,它们是需要三个不同的基因来合成和组装的功能肽。如 Microcin E492、M 和 H47,它们属于 IIb 类微肽,是一种 C 末端有或没有翻译后修饰的线状多肽^[32]。如 Colicin A、B、K 和 N 等都属于 III 类细菌素,都是成孔大肠杆菌素。

2 细菌素的抑菌机制

细菌素是细菌用来在同一环境中与微生物竞争手段之一。研究人员首次发现乳酸链球菌素以来,已经报道了大量具有独特结构和不同活性模式的细菌素^[33]。大部分细菌素的作用机制取决于细菌素受体分子。细菌细胞表面和细胞膜对细菌素具有敏感性,因此细胞膜通透性改变和孔隙形成是细菌素攻击目标微生物细胞的重要因素之一^[34]。然而,同一类别的所有细菌素不遵循相似的作用方式^[35]。细菌素可能利用相同的受体,但它们与这些受体分子的相互作用方式以及对靶细胞的后效应可能完全不同。Lozo 等^[36]根据细菌素靶向受体分子之间的结构相似性,对细菌素抑菌方式进行分类。总的来说包括细胞膜损伤机制、阻碍细胞分裂和细胞壁损伤机制三个方面^[37]。其中细胞膜损伤机制又包括 5 种模型^[38]: (1)“桶板”型^[39],指附着在

细胞膜表面的细菌素会聚合在一起, 形成一个离子通道; 其中细菌素的疏水面朝向质膜疏水酰基链, 亲水面朝向跨膜孔道; (2) “楔”型^[40], 与“桶板”型不同的是细菌素主要暴露于缺乏膜的疏水核心, “桶板”型中质子动力势使肽失活, 而“楔”型中质子动力势能够减少肽结合到膜的能力; (3) “虫孔”型^[41], 抗菌肽与细胞膜表面结合后, 其疏水区的移位可使细胞膜疏水中心形成裂口, 并引发磷脂单分子层向内弯曲, 直至形成孔道; (4) “毯式”型^[38], 细菌素平行于细胞膜排列, 如同一张地毯覆盖于磷脂膜外表面。所以当细菌素浓度到达最大或者最小值时, 裂缝会因为细胞膜的稳定性降低而形成。

2.1 靶向抑制革兰氏阳性菌的细菌素及其抑菌机制

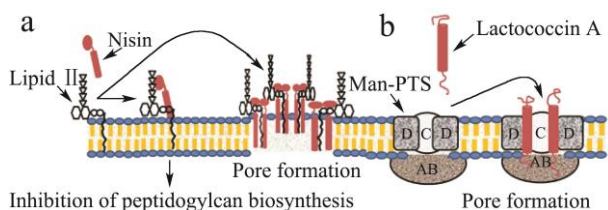


图1 革兰氏阳性细菌素 Nisin 和 Lactococcin A 的抑菌机理

Fig.1 Bacteriostatic mechanism of bacteriocin Nisin and Lactococcin A

许多抑制革兰氏阳性菌的细菌素, 通过攻击细胞膜起作用。某些 I 类细菌素抑制细胞膜上的脂质 II (肽聚糖亚基从细胞质到细胞壁的主要转运蛋白), 从而消除肽聚糖的合成。其他细菌素形成孔隙以抑制或杀死它们的目标细菌 (图 1)^[6]。另外, 某些革兰氏阳性细菌素可以在细菌的细胞膜上定位, 使胞内无机盐离子、三磷酸腺苷 (Adenosine Triphosphate, ATP) 发生泄露, 改变细胞膜 $\Delta\psi$ 而引起质子动力的消耗^[43], 增大细胞膜通透性抑制其生长。此外, 细菌素能够使得蜡样芽孢杆菌细胞膜损伤, 并且导致核酸降解从而导致细胞死亡^[44]。革兰氏阳性细菌素中对 Nisin 的研究较为深入。据报道, Nisin 对引起食品腐败的革兰氏阳性菌尤其是芽孢杆菌属比如梭状芽孢杆菌、嗜热芽孢杆菌、致死肉毒芽孢杆菌及芽孢等都具有很强的抑制作用, 但是对革兰氏阴性菌、霉菌却没有较强的抑制效果^[45]。已有研究表明 Nisin 在革兰氏阳性菌中通过对细胞壁前体类脂 II 的高亲和力而使细胞膜去极化从而达到抑菌效果。首先, Nisin 在细胞膜上招募脂类 II 分子形成稳定的通道。这些通道的形成导致细胞内容物的泄露, 离子的外流驱散细胞的质子动力, 并耗尽细胞内的 ATP, 从而进一步扰乱细胞膜和依赖于

ATP 的生化过程。Nisin 与脂质 II 的结合也阻止了肽聚糖的合成, 从而扰乱了细胞壁的生物功能^[46]。细菌素导致目标细菌细胞的细胞膜通透性增加, 可能是通过离子选择性孔的形成, 影响质子细胞内 ATP 的动力和还原, 细胞内底物泄漏, 并最终导致细胞死亡^[34]。

2.2 靶向抑制革兰氏阴性菌的细菌素及其抑菌机制

许多抑制革兰氏阴性菌的细菌素通过干扰 DNA、RNA 和蛋白质代谢来抑制其靶细菌。例如, 小菌素 MccJ25 (Microcin J25, MccJ25) 抑制 RNA 聚合酶, MccB17 抑制 DNA 旋转酶, MccC7-C51 抑制天冬氨酰 tRNA 合成酶, 这些细菌素通过抑制酶的合成来达到抑菌效果。除此之外, 一些细菌素如 MccE492 可通过形成孔隙来达到抑菌效果^[6] (图 2)。Colicins 是革兰氏阴性细菌产生的一种抗菌蛋白由三个特定的结构域组成^[47], 一个氨基末端易位 (T) 结构域, 它参与通过转运子蛋白穿过外膜的转运; 一个中央受体结合 (R) 结构域, 它与细菌外膜受体结合; 以及一个羧基末端细胞毒素结构域, 它具有抗菌活性^[48,49]。当细菌外膜表面有粘附素识别受体蛋白和转位蛋白系统时, 粘附素被转运到细菌中, 从而杀死细菌, 这些细菌被称为敏感菌株。对于一种特殊的粘菌素, 携带非受体蛋白的细菌被归类为耐药菌株。转运蛋白系统缺陷的细菌被归类为耐受菌株, 产生免疫蛋白的细菌被归类为免疫菌株。耐药、耐受和免疫菌株不会被相应的粘菌素杀死。典型的粘菌素基因簇编码毒素蛋白、免疫蛋白和裂解基因^[50]。根据外膜 (转运体) 系统的转运, 粘菌素分为两组: A 组和 B 组。一般来说, A 组粘菌素由带有裂解基因的小质粒编码, 可以从细菌中释放出来; 而 B 组粘菌素由没有裂解基因的大质粒编码^[48]。当粘菌素进入靶细胞后, 根据杀菌机制可分为三类: (1) 成孔型粘菌素: 在细胞内膜形成孔或通道, 导致胞质化合物渗漏、破坏电化学梯度、离子丢失和细胞死亡。它们包括粘菌素 A、B、E1、Ia、Ib、K 和 N; (2) 核酸酶型粘菌素: 含有 DNase、16S rRNase 和 tRNase 的粘菌素, 用于非特异性地消化细菌的 DNA 和 RNA, 这些蛋白包括粘附素 E2 到 E9; (3) 肽聚糖酶型粘附素: 这些蛋白可以消化肽聚糖前体, 导致细菌不能合成肽聚糖而死亡^[48]。另一种由革兰氏阴性细菌产生的细菌素是微球菌素, 主要由大肠杆菌产生, 对高温、极端 pH 值和蛋白酶有很强的耐受性^[51]。微球菌素的杀菌机制多种多样, 包括成孔型、核酸酶型 (如 DNase 和 RNase 功能) 及蛋白质合成或

DNA 复制的抑制剂型。对革兰氏阴性菌产生作用的细菌素大多是几种已知细菌素的不同组合，其机制是靶向致死。由于蛋白区域片段的不同组合，这也丰富了细菌素的种类。Margaret 等^[52]对大肠杆菌被细菌素抑菌的过程进行了研究，电镜发现大肠杆菌的细胞膜不仅出现了大量的孔洞，ATP 也因为孔洞而大量外泄，细胞内液紊乱也最终导致大肠杆菌无法正常生长^[53]。

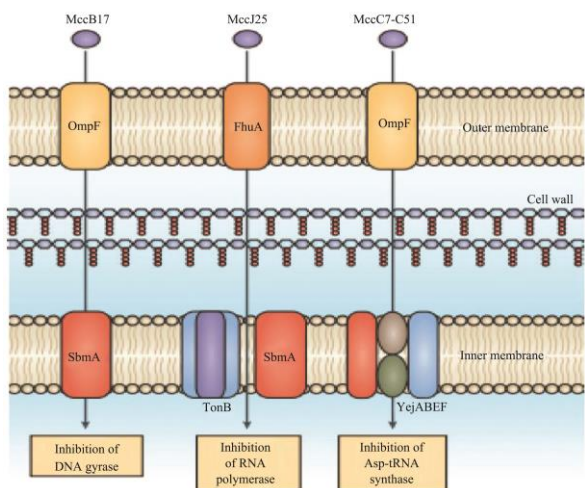


图2 典型细菌素对革兰氏阴性菌的作用机制

Fig.2 The action of typical bacteriocins MccB17, MccJ25 and MccC7-C51 on Gram-negative bacteria

2.3 同时抑制革兰氏阳性菌和阴性菌细菌的

细菌素及其抑菌机制

自然界中不仅存在可以分别抑制革兰氏阳性菌的细菌素，还存在可以同时抑制革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的细菌素，主要有乳酸链球菌素、细菌素 AS-48、细菌素 Helvetin-M 以及 *Latilactobacillus curvatus* LAB-3H^[54]等，具体的作用方式因细菌素的类型而不同。大部分这种类型的细菌素的主要受体是存在于细胞质膜中的阴离子脂质分子，细菌素分子的结合导致膜孔的形成，使离子和其他分子流出细胞外，造成细胞不可恢复的损伤和死亡^[55]。其中细菌素 AS-48 是环形细菌素家族的原型，它们仅由革兰氏阳性细菌产生。

表 3 细菌素在食品工业中的应用

Table3 Application of bacteriocin in food industry

| 产品 | 细菌素 | 产菌素菌株 | 参考文献 |
|-------|----------------------------|---|------|
| 防腐剂 | Cerein 8A | <i>Bacillus</i> sp. starin 8A | [67] |
| 防腐剂 | Bovicin HC5 | <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> | [68] |
| 防腐剂 | Enterobactin CRL35 | <i>Enterococcus montellae</i> CRL35 | [69] |
| 保鲜剂 | <i>P. pentosaceus</i> BLIS | <i>Pediococcus pentosaceus</i> ATCC 43200 | [70] |
| 生物保鲜膜 | Bacteriocin BM-1 | <i>Lactobacillus plantarum</i> BM-1 | [71] |
| 生物保鲜膜 | Bacteriocin HD1.7 | <i>Lactobacillus paracasei</i> HD1.7 | [72] |

迄今为止，已经报道了 13 种不同的球状环状细菌素，由 58 到 70 个氨基酸组成^[56]。AS-48 是一种有效的环状细菌素，它可以插入敏感细菌的膜中，以一种独立于任何受体的机制产生孔从而导致细菌死亡。细菌素 AS-48 对食物腐败和病原菌的活性以及对多种人类病原体具有很好的活性，其最小抑菌浓度（Minimum Inhibitory Concentration, MIC）在纳摩尔到微摩尔范围内^[57]。它们对多种革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都具有抗菌活性。比如对泌尿致病型肠球菌^[56] (*Uropathogenic enterococci*)、临床多药耐药金黄色葡萄球菌^[58] (*Staphylococcus aureus*)、结核分枝杆菌^[59] (*Mycobacterium tuberculosis*)、鱼类病原体^[60] (*Lactococcus garvieae*) 等。由于这些原因，细菌素 AS-48 在天然食品防腐剂及医疗和兽医应用中潜力巨大^[61]。另外，Helveticin-M 是一种由卷曲乳杆菌 (*Lactobacillus crispatus*) 生产的新型 III 类细菌素，对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、腐生链球菌 (*Staphylococcus saprophyticus*) 和阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 具有抗菌活性。Helvetin-M 破坏革兰氏阳性菌的细胞壁、革兰氏阴性菌的外膜，从而改变了细菌的表面结构。同时，Helveticin-M 也被证明会破坏细胞的内膜，导致细胞内 ATP 的泄漏和靶细菌膜电位去极化。研究表明，Helveticin-M 处理会引起细胞膜通透性增加，但胞质酶不受影响，表明为亚致死性损伤^[9]。

3 细菌素在食品工业中的应用

食品安全已成为国际日益关注的问题，因此细菌素的应用受到了极大的关注，旨在控制食品腐败菌或病原体的生长，使其不会对食品本身产生不利影响^[62,63]。同时，细菌素对人类生物体系影响最小，且可稳定的存在于食品基质中^[55]。在过去的二十年里，人们已经研究出了它们作为食品防腐剂和保鲜剂的用途，常用于奶制品、水果、蔬菜、肉禽类、海鲜、果汁和饮料^[64]。细菌素一般可通过三种方式添加到食品中：(1) 作为纯细菌素制剂；(2) 作为含有细菌素的发酵上清液；或 (3) 直接添加细菌素产生菌^[65,66]。

3.1 细菌素作为食品中的防腐剂

由于细菌素的高抑菌活性以及稳定性,使其在不同的食品基质中具有潜在的防腐应用价值,例如在牛奶和奶酪等乳制品中^[73]。如地衣芽孢杆菌产生的细菌素 Bacillocin 490 在需氧和厌氧条件下,在 4 °C 储存期间保持杀菌活性、拥有宽 pH 值范围、以及在高温食品基质(即牛奶)中均能保持较好的杀菌活性^[74]。这些特征使得 Bacillocin 490 可以在高温下进行的食品加工过程中使用。另外一种可以在牛奶和软奶酪中抑制单核细胞增生李斯特菌生长的 cerein 8A,由蜡样芽孢杆菌 8A 产生^[67]。另外,细菌素 Bovicin HC5 是一种羊毛硫抗生素,对芒果果肉中的 *Alicyclobacillus acidoterrestris* 具有杀芽孢作用。因此,细菌素 Bovicin HC5 可能可以用作经过热处理的酸性食品的生物防腐剂^[68]。同时,从蜡样芽孢杆菌 NS02 中鉴定的热稳定性低分子量肽蜡质蛋白可作为一种潜在的生物抗菌剂,在食品饮料中具有有效的抗李斯特菌活性^[75]。另外,已经有研究报道细菌素 RC20975 可以抑制苹果汁中的酸土脂环酸杆菌(*Alicyclobacillus acidoterrestris*),虽然不能杀死内生孢子,但添加细菌素 RC20975 有助于降低苹果汁中 *Alicyclobacillus acidoterrestris* 菌株中芽孢的耐热性,对苹果汁中的 *Alicyclobacillus acidoterrestris* 具有良好的杀灭作用^[76]。由于细菌素的无毒性,抗菌性强等特点,近几年已经成为开发研究食品保鲜剂的热点。蒙氏肠球菌 CRL35 是一种无毒、非抗生素耐药的菌株,它能产生肠菌素 CRL35,是一种 IIa 类细菌素,可减少肉类发酵过程中的单增李斯特菌增殖^[69]。

3.2 细菌素作为食品生物保鲜剂

新鲜的食物果蔬制品在贮藏、运输和销售的过程中容易受微生物污染而导致食品的品质发生变化。为了防止食品发生腐烂变质、减少营养损失,各种细菌素型食品生物保鲜剂被开发。由于传统的腌制盐会对食物产生不利影响,而蒙氏肠球菌 CRL35 可以在发酵肉类中生长没有明显的负面影响,因此添加蒙氏肠球菌 CRL35 在肉制品中可以发挥较好的保护作用。*L. plantarum* subsp. *plantarum* 是一株从培根中分离到的植物乳杆菌,其产生的细菌素可抑制单核细胞增多性乳杆菌的生长^[77]。该细菌素的应用可进一步扩大到牛奶和奶制品、水果、蔬菜和方便食品的保鲜。Pamela 等^[70]发现在加入细菌素 *Pediococcus pentosaceus* 后,火腿样品在亮度、红色和黄色方面的着色在整个冷藏过程中的稳定性较好,没有出现变色现象。这些结果

表明 *Pediococcus pentosaceus* 作为肉类和其他食品加工行业的生物保鲜剂的潜在用途。徐畅等^[78]将水果的天然产物以及 Nisin 复合添加,用来储藏肉制品,发现不仅保持了肉质的原来色泽,还有效的延迟了脂肪氧化以及蛋白质降解,同时大幅度的降低了肉制品中病原菌的总数。

3.3 细菌素作为食品的生物活性包装材料

生物活性包装是细菌素的另一种潜在的应用形式,细菌素或产生细菌素的菌株可以被添加到食品包装材料中。研究将细菌素的保藏功能与传统保鲜膜相结合,加强了细菌素与包装结合使用的吸引力,用来改善食品安全和延长保质期^[71]。Contessa 等^[79]开发一种与细菌素结合的壳聚糖/琼脂生物塑料薄膜。该薄膜用作奶油干酪包装时,它有助于提高微生物稳定性,并且有助于在储存期间将活性化合物逐渐释放到食品中。Renpeng 等^[72]研发了一种负载细菌素的纳米纤维(Bacterial Cellulose-Bacteriocin, BC-B),大大提高了纳米纤维的机械强度、抗氧化活性、热稳定性和抗菌活性。该研究结果显示了 BC-B 纳米纤维作为抗菌生物材料的潜力,可用作活性食品包装的增强剂。

4 总结与展望

本文综述了细菌素的分类、抑菌机制以及在食品中的应用。细菌素具有较高抗菌性、无残留、杀菌快等特点;不仅对抗生素耐药病原菌有较好的效果外,还具备生产低成本的优势。市场对于以细菌素为代表的新型绿色防腐剂需求增加,未来细菌素将大量用于食品保鲜剂、生物活性包装材料以及食品防腐剂等领域。

虽然乳酸链球菌素和乳酸菌素等一些细菌素已经在商业上用于某些食品中,但细菌素的局限性和可变食物基质的一些影响因素限制了其广泛使用。所以,在积极发现新型细菌素的同时,还应该探索其他食品保鲜防腐的模式。大部分细菌素与抗生素一样也具有一定的耐药性,因此在探索细菌素在食品工业中的应用时应谨慎,可以考虑采用不同的方法来缓解这些耐药性问题。此外,为了降低细菌素生产纯化的成本,还可以通过细菌素的异源表达来实现,这将在很大程度上直接降低生产和纯化的成本。另外,随着细菌素与产生细菌素菌株与食品包装材料相结合的新技术的开发,细菌素作为食品的生物活性包装材料的未来市场被十分看好。

目前对细菌素的研究机制仍不够透彻,针对某些新型细菌素的安全性问题还需要进一步探索,比如细菌素在人体体内毒性问题、稳定性问题仍有待研究。

因此, 未来仍需要充分挖掘其抑菌分子机制, 采取适当的方法消除或减少副作用影响, 以保障其在食品中的安全使用。

参考文献

- [1] Sheonran P, Tiwari S. Synergistically-acting enterocin LD3 and plantaricin LD4 against Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2021, 13(2): 542-554.
- [2] Kashani H, Nikzad H, Mobaseri S, et al. Synergism effect of nisin peptide in reducing chemical preservatives in food industry [J]. Life Science Journal-Acta Zhengzhou University Overseas Edition, 2012, 9(1): 496-501.
- [3] Johnson E M, Jung Y G, Jin Y, et al. Bacteriocins as food preservatives: Challenges and emerging horizons [J]. Critical Reviews in Food and Nutrition, 2018, 58(16): 2743-2767.
- [4] Papadochristopoulos A, Kerry J P, Fegan N, et al. Natural anti-microbials for enhanced microbial safety and shelf-life of processed packaged meat [J]. Foods, 2021, 10: 1598.
- [5] Rashmi K, Anita K G, Rajput Y S, et al. Bacteriocins: classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria [J]. Microbial Pathogenesis, 2019, 128: 171-177.
- [6] Negash A W, Tsehai B A. Current applications of bacteriocin[J]. International Journal of Microbiology, 2020: 4374891.
- [7] 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): 5522.
- [8] Zou J, Jiang H, Cheng H, et al. Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 117: 781-789.
- [9] Sun Z L, Wang X M, Zhang X, et al. Class III bacteriocin Helveticin-M causes sublethal damage on target cells through impairment of cell wall and membrane [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2018, 45(3): 213-227.
- [10] Henderson J T, Chopko A L, Wassenaar P D, et al. Purification and primary structure of pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* PAC-1.0 [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1992, 295(1): 5-12.
- [11] Fabricio L T, Christopher T L, Karla C F B, et al. Purification and characterization of antimicrobial peptides from fish isolate *Carnobacterium maltaromaticum* C2: Carnobacteriocin X and carnolysins A1 and A2 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 173: 81-88.
- [12] Allison G E, Fremaux C, Klaenhammer T R, et al. Expansion of bacteriocin activity and host range upon complementation of two peptides encoded within the lactacin F operon [J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(8): 2235-2241.
- [13] Sarah F, Douwe V S, Gerardine M T, et al. Characterization of the genetic locus responsible for the production of ABP-118, a novel bacteriocin produced by the probiotic bacterium *Lactobacillus salivarius* subsp. *Salivarius* Ucc118 [J]. Microbiology, 2002, 148(pt 4): 974-984.
- [14] Xia D G, Leah A M, Drew N, et al. The circular bacteriocin, carnocyclin A, forms anion-selective channels in lipid bilayers [J]. Biochimica et Biophysica acta, 2009, 1788(9): 1797-1803.
- [15] Leah A M, Gong X D, Marek D, et al. The three-dimensional structure of carnocyclin A reveals that many circular bacteriocins share a common structural motif [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(42): 28674-28681.
- [16] Martinez M, Maqueda M, Galvez A, et al. Determination of the gene sequence and the molecular structure of the enterococcal peptide antibiotic AS-48 [J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(20): 6334-6339.
- [17] Stephanie S, Mathew U. Identification, characterization, and recombinant expression of epidermicin NI01, a novel unmodified bacteriocin produced by *Staphylococcus epidermidis* that displays potent activity against *Staphylococci* [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2012, 56(3): 1539-1547.
- [18] Holo H, Nilssen O, Nes I F. Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*: isolation and characterization of the protein and its gene [J]. Journal of Bacteriology, 1991, 173(12): 3879-3887.
- [19] Sumanpreet K, Sukhraj K. Bacteriocins as potential anticancer agents [J]. Frontiers in Pharmacology, 2015, 6: 272.
- [20] Sahl H G, Bierbaum G. Lantibiotics: Biosynthesis and biological activities of uniquely modified peptides from Gram-positive bacteria [J]. Annual Review of Microbiology, 1998, 52: 41-79.
- [21] Des F, Maire B, Paula M O, et al. Bioengineered nisin A derivatives with enhanced activity against both Gram positive and Gram negative pathogens [J]. Public Library of Science

- One, 2012, 7(10): e46884.
- [22] Ruth E W, Nikolai A K, Ralph W J, et al. Molecular and genetic characterization of a novel nisin variant produced by *Streptococcus uberis* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2): 1148-1156.
- [23] Mulders J W, Boerrigter I J, Rollema H S, et al. Identification and characterization of the lantibiotic nisin Z, a natural nisin variant [J]. European Journal of Biochemistry/FEBS, 1991, 201(3): 581-584.
- [24] Chatterjee S, Chatterjee S, Lad S J, et al. Mersacidin, a new antibiotic from *Bacillus* fermentation, isolation, purification and chemical characterization [J]. The Journal of Antibiotics, 1992, 45(6): 832-838.
- [25] Kathrin M, Timo S, Kathrin S, et al. Labyrinthopeptins: A new class of carbacyclic lantibiotics [J]. Angewandte Chemie, 2010, 49(6): 1151-1154.
- [26] Babasaki K, Takao T, Shimonishi Y, et al. Subtilisin A, a new antibiotic peptide produced by *Bacillus subtilis* 168: Isolation, structural analysis, and biogenesis [J]. Journal of Biochemistry, 1985, 98(3): 585-603.
- [27] Leah A M, Marco J V B, Sylvie G, et al. Isolation and characterization of carnocyclin a, a novel circular bacteriocin produced by *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(15): 4756-4763.
- [28] Joerger M C, Klaenhammer T R. Cloning, expression, and nucleotide sequence of the *Lactobacillus helveticus* 481 gene encoding the bacteriocin helveticin J [J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(11): 6339-6347.
- [29] Fremaux C, Ahn C, Klaenhammer T R, et al. Molecular analysis of the lactacin F operon [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(11): 3906-3915.
- [30] Samyn B, Martinez M, Devreese B, et al. The cyclic structure of the enterococcal peptide antibiotic AS-48 [J]. FEBS Letters, 1994, 352(1): 87-90.
- [31] Trine N, Ingolf F N, Helge H, et al. Enterolysin A, a cell wall-degrading bacteriocin from *Enterococcus faecalis* LMG 2333 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(5): 2975-2984.
- [32] Konstantin S, Ekaterina S, Alexey K, et al. Low-molecular-weight post-translationally modified microcins [J]. Molecular Microbiology, 2007, 65(6): 1380-1394.
- [33] Michael L C, Richard W, Djamel D, et al. Functions and emerging applications of bacteriocins [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2018, 49: 23-28.
- [34] Alexis S, Kamel A, Raphael E D, et al. Bacteriocins, antimicrobial peptides from bacterial origin: overview of their biology and their impact against multidrug-resistant bacteria [J]. Microorganisms, 2020, 8(5): 639.
- [35] Alka R, Khem C S, Felix B, et al. A review on microbial products and their perspective application as antimicrobial agents [J]. Biomolecules, 2021, 11(12): 1860.
- [36] Jelena L, Ljubisa T, Milan K, et al. Natural bacterial isolates as an inexhaustible source of new bacteriocins [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2021, 105(2): 477-492.
- [37] Sikder M A, Kenji S. Lantibiotics: Diverse activities and unique modes of action [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009, 107(5): 475-487.
- [38] Bauer R, Dicks L M T. Mode of action of lipid II-targeting lantibiotics [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 101(2): 201-216.
- [39] Hooven H W V D, Spronk C A, Kamp M V D, et al. Surface location and orientation of the lantibiotic nisin bound to membrane-mimicking micelles of dodecylphosphocholine and of sodium dodecylsulphate [J]. European Journal of Biochemistry/FEBS, 1996, 235(1-2): 394-403.
- [40] Sahl H G, Kordel M, Benz R. Voltage-dependent depolarization of bacterial membranes and artificial lipid bilayers by the peptide antibiotic nisin [J]. Archives of Microbiology, 1987, 149(2): 120-124.
- [41] Ludtke S J, He K, Heller W T, et al. Membrane pores induced by magainin [J]. Biochemistry, 1996, 35(43): 13723-13728.
- [42] 滕坤玲,钟瑾.益生菌产生的细菌素及其功能机制[J].微生物学报,2022,62(3):858-868.
- [43] 周伟,刘国荣,李平兰,等.植物乳杆菌素 L-1 对单核细胞增生李斯特氏菌作用机理的研究[J].微生物学报,2007,47(2): 260-264.
- [44] 赵圣明.植物乳杆菌素 JLA-9 的鉴定及其对芽孢杆菌抑菌机制的研究[D].南京:南京农业大学,2017.
- [45] 王双童.大豆球蛋白碱性肽与 Nisin 对单增李斯特氏菌的协同抑菌机制[D].济南:齐鲁工业大学,2021.
- [46] Imelda J G M, Bruce M, Alex W, et al. Mode of action of nisin on *Escherichia coli* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2020, 66(2): 161-168.
- [47] Simone H L, Anett S, Anett S, et al. Colicins and salmocins-new classes of plant-made non-antibiotic food antibacterials [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 437.
- [48] Eric C, Susan B, Denis D, et al. Colicin biology [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR,

- 2007, 71(1): 158-229.
- [49] Colin K. Swimming against the tide: progress and challenges in our understanding of colicin translocation [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(12): 843-848.
- [50] Guasch J F, Enfedaque J, Ferrer S, et al. Bacteriocin 28b, a chromosomally encoded bacteriocin produced by most *Serratia marcescens* biotypes [J]. *Research in Microbiology*, 1995, 146(6): 477-483.
- [51] Sylvie R. Microcins in action: amazing defence strategies of *Enterobacteria* [J]. *Biochemical Society Transactions*, 2012, 40(6): 1456-1462.
- [52] Margaret A R, John E W. Bacteriocins: Evolution, ecology, and application [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2002, 56: 117-137.
- [53] Petr B, Maikke B O, Denise M. Innate immune response to *Salmonella typhimurium*, a model enteric pathogen [J]. *Gut Microbes*, 2012, 3(2): 62-70.
- [54] Zahra H, Mohammad F G, Leila M. Antimicrobial activity of bacteriocin produced by a new *Lactobacillus curvatus* sp. LAB-3H isolated from traditional yogurt [J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 204(1): 101.
- [55] Eldin M J, Jung Y G, Jayabalan R, et al. Bacteriocins as food preservatives: challenges and emerging horizons [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018, 58(16): 2743-2767.
- [56] Manuel M L, Ruben C, Rosa G, et al. Synergy of the bacteriocin AS-48 and antibiotics against uropathogenic *Enterococci* [J]. *Antibiotics*, 2020, 9(9): 567.
- [57] Ruben M E, Ruben C, Mercedes M, et al. Assessing the effectiveness of AS-48 in experimental mice models of Chagas' disease [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, 75(6): 1537-1545.
- [58] Cristina V S, Ruben C, Carmen G C, et al. Antimicrobial activity of the circular bacteriocin AS-48 against clinical multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Antibiotics*, 2021, 10(8): 925.
- [59] Clara A P, Begona G, Liliana R, et al. Synergy between circular bacteriocin AS-48 and ethambutol against *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2018, 62(9): e00359-18.
- [60] Alberto B, Juan J A, Cristina N, et al. Effects of *Enterococcus faecalis* UGRA10 and the enterocin AS-48 against the fish pathogen *Lactococcus garvieae*. *Studies in vitro and in vivo* [J]. *Food Microbiology*, 2019, 77: 69-77.
- [61] Amina P, Hilana C, Marcus L V C, et al. The gene cluster of aureocyclicin 4185: the first cyclic bacteriocin of *Staphylococcus aureus* [J]. *Microbiology*, 2014, 160(Pt 5): 917-928.
- [62] Paula M O, Tais M K, Ricardo P O, et al. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2020, 61: 160-167.
- [63] Samira S, Risdh H, Paul D C, et al. Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2021, 45(1): fuaa039.
- [64] Celia C G S, Sofia P M S, Susana C R. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 594.
- [65] Paul D C, Ross P R, Colin H. Bacteriocins - A viable alternative to antibiotics? [J]. *Nature Reviews. Microbiology*, 2013, 11(2): 95-105.
- [66] Abigail B S, Randy W. Chemical and genetic characterization of bacteriocins: Antimicrobial peptides for food safety [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(1): 28-44.
- [67] Bizani D, Brandelli. Characterization of a bacteriocin produced by a newly isolated *Bacillus* sp. strain 8 A [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2002, 93(3): 512-519.
- [68] Aryadina M R, Aline D P, Alexandra M C, et al. Bovicin HC5 and nisin reduce cell viability and the thermal resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* endospores in fruit juices [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2022, 102(10): 3994-4002.
- [69] Alejandra O, Julieta B, Maria J V, et al. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in a meat model using a combination of a bacteriocinogenic strain with curing additives [J]. *Food Research International*, 2018, 107: 289-296.
- [70] Pamela O S D A, Carlos M N M, Liane S, et al. Bacteriocin-like inhibitory substance of *Pediococcus pentosaceus* as a biopreservative for *Listeria* sp. control in ready-to-eat pork ham [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2020, 51(3): 949.
- [71] 张敏. 乳酸菌素 BM-1 生物保鲜膜制备及在冷鲜肉保鲜中抑菌性研究[D].北京:北京农学院,2017.
- [72] Rengeng D, Wenxiang P, Gang S, et al. Ecofriendly green biosynthesis and characterization of novel bacteriocin-loaded bacterial cellulose nanofiber from *Gluconobacter cerinus* HDX-1 [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 193(PT A): 693-701.
- [73] Sharma N, Gautam N. Purification and characterization of bacteriocin like substance produced from *Bacillus lentus* with

- perspective of a new biopreservative for food preservation [J]. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research (Pakistan), 2009, 52(4): 191-199.
- [74] Luca M, Mario V, Gino N, et al. Purification and partial characterization of bacillocin 490, a novel bacteriocin produced by a thermophilic strain of *Bacillus licheniformis* [J]. Microbial Cell Factories, 2002, 1(1): 1.
- [75] Senbagam D, Senthilkumar B, Jayasudha J, et al. Effect of *Bacillus cereus* peptide conjugated with nanoporous silica on inactivation of *Listeria monocytogenes* in apple juice, as an ecofriendly preservative [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2018, 25(29): 29345-29355.
- [76] Jin J P, Tianli Y, Weng G J. Application of bacteriocin RC20975 in apple juice [J]. Food Science and Technology International, 2017, 23(2): 166-172.
- [77] Veeresh J, Jin C W. Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications [J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(8): 2187-2200.
- [78] 徐畅,于基成,刘秋.微生物源食品保鲜剂的研究进展[J].包装工程,2021,42(13):9-20.
- [79] Camila R C, Gabriela S D R, Caroline C M. New active packaging based on biopolymeric mixture added with bacteriocin as active compound [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19): 10628.