

天然生物保鲜剂应用于海鲜保鲜的研究进展

陈晶晶¹, 吕敏², 阮志德², 荣文秀²

(1. 浙江舟山群岛新区旅游与健康职业学院, 浙江舟山 316111; 2. 广西壮族自治区水产科学研究院, 广西南宁 530021)

摘要 海鲜因营养价值高和味鲜美深受广大消费者的青睐,但海鲜的品质与加工贮藏过程中的酶、微生物和化学致腐作用有关。虽然化学合成防腐剂能有效遏制海产在低温贮藏过程中腐败,阻止质地和颜色劣变,抑制异味和酸败产生,降低营养物流失,但是接触到或食用这类防腐剂对人体健康有危害。鉴于此,寻找和筛选具有良好抑菌和抗氧化功能的天然生物保鲜剂作为海鲜防腐剂的安全替代品,延长其货架期,是当前海鲜保鲜的重要研究内容。目前,常用天然生物保鲜剂有植物活性提取物和精油、壳聚糖和壳寡糖、细菌素、生物活性肽等,对这些天然生物保鲜剂的最新研究成果进行综述,为海鲜的保鲜提供参考依据。

关键词 海鲜; 抗菌; 天然生物保鲜剂; 抗氧化; 保质期

中图分类号 TS 254.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)02-0009-06

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.02.003



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Advances in the Application of Natural Biological Preservatives to Seafood Preservation

CHEN Jing-jing¹, LÜ Min², RUAN Zhi-de² et al (1. Zhejiang Zhoushan Archipelago New Area Tourism and Health Career Academy, Zhoushan, Zhejiang 316111; 2. Guangxi Academy of Fishery Sciences, Nanning, Guangxi 530021)

Abstract Seafood is favored by consumers because of its high nutritional value and delicious taste. However, the quality of seafood is related to the decay effect of enzymes, microorganisms and chemicals in the process of processing and storage. Although synthetic preservatives can effectively curb the spoilage of seafood during low-temperature storage, prevent the deterioration of texture and color, inhibit the production of peculiar smell and rancidity, and reduce the loss of nutrients, such preservatives are harmful to human health if they are exposed to or eaten. In this paper, finding and screening natural biological preservatives with good antibacterial and antioxidant functions as safe alternatives to seafood preservatives and extending their shelf life are important research content of seafood preservation. At present, the commonly used natural biological preservatives include plant active extracts and essential oils, chitosan and chitosan oligosaccharides, bacteriocins, bioactive peptides and so on. This paper reviews the latest research results of these natural biological preservatives to provide a reference for seafood preservation.

Key words Seafood; Antibacterial; Natural biological preservatives; Anti-oxidation; Shelf life

味鲜美、营养价值高的鱼类、甲壳类动物、软体动物和棘皮动物等海鲜由于各种营养物含量高、pH呈中性、水分高,导致难以长时间贮藏。海鲜死后立即发生微生物和化学反应,导致感官和营养特性劣变,保质期缩短。海鲜由于富含多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)易发生脂质氧化,造成异味和臭味、营养损失、有害有毒物产生和颜色劣变。微生物、化学和物理共同作用导致海鲜腐败变质过程复杂,腐败开始主要由内源酶和化学作用,完全腐败是微生物代谢所致。收获或捕获地与加工厂的距离、贮藏温度和加工方法等因素决定海鲜品质和腐败变质。当前优质安全海鲜需求量激增,运用各种保鲜技术和非热加工技术延长海鲜保质期是研究热点。

采用如苯甲酸钠、亚硝酸钠和二氧化硫等化学合成防腐剂能有效防止微生物、酶或化学作用造成的海鲜营养和品质损失,延长产品保质期,但这些防腐剂对人体健康有害。盐制法是延长海鲜保质期的常用最古老的天然防腐方法之一,能够降低肌肉水活性,抑制细菌生长和酶活性,成本低且简单。在盐制海鲜上生长的耐盐和嗜盐细菌能利用能量让细胞排盐,避免蛋白质在细胞质聚集(盐析)。这些微生物不受

控制生长也会导致盐制海鲜发酵变质,不仅导致海鲜口感差,还导致其成为影响人体健康的高钠食品。

大量研究表明,植物活性提取物、精油(essential oil, EOs)、细菌素、壳聚糖和生物活性肽等天然生物保鲜剂具有优越抗菌抗氧化性能,可作为合成化学防腐剂的潜在替代品,特别防止微生物、脂质氧化或两者兼有导致的腐败变质。该研究介绍一些常用天然生物保鲜剂的生产制备、抗菌抗氧化活性及其在海鲜保鲜中的应用与局限,旨在为海鲜保鲜选择潜在的天然生物保鲜剂,确保食用安全和品质。

1 食品腐败变质机制

食品腐败指酶、化学或微生物作用下,食品贮藏初始条件发生变化,导致食品异味和臭味、感官和质地恶化。死后僵直指鱼死后肌肉立即发生不利生化变化,导致肌肉收缩变硬,失去伸展性和弹性。内源蛋白酶、脂肪酶、致腐微生物和脂质氧化是鱼僵直之后再贮藏导致腐败变质的主要原因。采用预处理、添加防腐剂和保鲜包装等方式控制化学、微生物和酶所导致的腐败变质,保持产品感官和营养特性。

1.1 微生物引起的腐败 海鲜富含微环境,极易遭受病原微生物入侵,也很大程度决定海鲜携带的微生物负荷。海鲜腐败变质与生成生物胺、醇、组胺、腐胺、尸胺、硫化物、有机酸、醛和酮的微生物生长代谢有紧密关系,如,海鲜低温贮藏下,嗜冷菌是主要腐败菌群,这些菌生长代谢所产生的腐败物质无论在数量、类型、生成速率上都与果蔬、畜牧肉等不一样。Sivertsvik等^[1]认为好氧或兼性厌氧性好氧革兰氏阴性菌是导致海鲜腐败的主要菌群,如乳酸菌(lactic acid bacteria,

基金项目 浙江省科技厅科技公益技术应用研究项目(2017C33239); 广西科技计划项目(桂科 AB19245013, 桂科 AB20297006, 桂科 AB21196020); 广西重点研发计划项目(桂科 AB21220048)。

作者简介 陈晶晶(1984—),女,安徽宿州人,实验师,硕士,从事天然产物功能活性物质与人类健康研究。

收稿日期 2022-03-19

LAB)、莫氏杆菌(*Moraxella*)、希瓦氏菌(*Shewanella*)、不动杆菌(*Acinetobacter*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、光合菌(*Photosynthetic Bacteria*)、气单胞菌(*Aeromonas*)、黄杆菌(*Flavobacterium*)和弧菌(*Vibrio*)。Gram等^[2]认为食物腐败由特定优势腐败生物造成,不是所有腐败菌都是引起特定食物变质的主要腐败因素,而是根据食物特性、微环境等因素,主要由在种群和数量上占据优势的一定腐败菌群所引起,如希瓦氏菌(*Shewanella*)、磷光合杆菌(*Phosphotobacter*)和假单胞菌(*Pseudomonas*)。海鲜加工和贮运时间过长也可导致革兰氏阳性菌成为优势腐败菌,如微球菌(*Micrococcus*)、棒状杆菌(*Corynebacterium*)、芽孢杆菌(*Bacillus*)、葡萄球菌(*Staphylococcus*)、梭菌(*Clostridium*)、链球菌(*Streptococcus*)。甘晖等^[3]研究证实了这一观点。因此,革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌都是造成海鲜腐败的主要原因。海鲜含有的丰富营养物极易为腐败菌生长繁殖提供营养和能量,如寡肽、碳水化合物和游离氨基酸等低分子量物质是微生物生长能源,被腐败菌利用后生成生物胺、组胺、含硫化物等有毒有害物。也有研究称,次黄嘌呤是食品腐败过程中产生的苦味物,除了由海鲜内源酶诱导生成外,还与细菌酶分解肌苷或单磷酸肌苷等核苷酸有关。另外,海鲜冷藏中一些细菌酶可将三甲胺氧化物(trimethylamine oxide, TMAO)还原成呈腥味物三甲胺(trimethylamine, TMA),并伴随生成有苦味的次黄嘌呤,如耐冷大肠杆菌(*Escherichia coli*)、弧菌、气单胞菌和希瓦氏腐败菌。

1.2 化学物质引起的腐败 海鲜富含脂类,特别是长链不饱和脂肪酸(PUFAs),在海鲜异味和臭味形成、营养物损失中起重要作用。脂肪酰基链的不稳定氢原子被夺取后脂质启动氧化作用产生自由基,在金属、离子、辐照和热催化下,自由基与氧迅速反应生成过氧自由基,再从另一脂肪酰基链夺取氢原子,产生新自由基和过氧化氢,这样一直延续自由基链式反应,随着自由基形成而非自由基产物积累,脂质氧化就会终止,这就是脂质氧化机制。脂质氧化速率取决于氧有效性、光、金属以及脂质的水分、温度、不饱和程度。脂质氧化生成的如游离脂肪酸(free fatty acids, FFAs)、二烯和过氧化物等初级产物不稳定,如醛、三烯和羰基等次级产物是初级产物分解而来,两者数量和类型均取决于氧化程度和脂肪酸组成。血红蛋白、肌红蛋白和细胞色素c等促氧化剂也诱导脂质氧化。脱氧或氧化血红蛋白作为鱼类血液主要氧化促进物能加速脂质氧化,贮藏前放血以减少血红蛋白,可减轻脂质氧化。研究表明,除了蛋白质氧化产生异味、营养损失,次级氧化产物与蛋白质、胺和多肽发生氧化反应,也导致营养损失和功能丧失。蛋白质与脂质水解所产生的FFAs之间相互作用能造成肌原纤维和肌浆蛋白变性,也导致蛋白质营养损失。

1.3 酶引起的腐败变质 海鲜自溶指僵死结束后迅速发生内源酶降解蛋白质的过程,冷藏和冻藏海鲜以非常缓慢速度发生自溶,为细菌生长提供有利环境,使感官指标降低。海鲜贮藏过程中TMAO脱乙酰基酶使鱼肉TMAO去甲基化,诱导

甲醛生成,并且甲醛通过亚甲基桥接交联蛋白质,使鱼肌肉紧实,持水能力低。酶促黑变或褐变也是腐败变质现象,特别是虾蟹黑变或褐变是酪氨酸酶或多酚氧化酶发生酶促作用引起的。蛋白酶也是酶促腐败变质的主要作用酶,贮藏温度和pH是影响蛋白酶活性的主要因素,大多数蛋白酶最佳pH在微碱性和中性范围,如,内源性酶或微生物酶代谢作用使TMAO还原为TMA和其他挥发物,导致pH增加。脂肪酶或磷脂酶水解海鲜脂肪,导致腐败变质。三酰甘油酰水解酶(EC3.1.1.3)存在水的情况下可诱导单、二和甘油三酯水解成甘油和FFA,FFA易发生氧化是生成醛类(多不饱和醛类),产生异味(鱼腥味),鱼类放血能减轻腥味强度。此外,贮藏时间较长时,鳃或皮的脂氧合酶也可诱导海鱼发生氧化。

2 植物活性物

随着优质安全海鲜的市场需求不断增加,具有抗氧化和抗菌功效的保鲜剂需求量也日益激增。植物活性物是最早最广泛用于食品的天然活性物。植物活性物由于含有胡萝卜素、视黄酸、生育酚、抗坏血酸、酚酸、萜类、黄酮类和多酚,抗菌和抗氧化活性较强。由于是天然绿色保鲜剂,可作为食品添加剂用于食品保鲜。植物次生代谢物是具有一个或多个酚环的多酚类化合物,可分为黄酮类和非黄酮类多酚,根据杂环氧化程度,黄酮类又分为不同亚类:黄酮醇、黄烷醇、异黄酮、黄酮、黄烷和花青素。除了黄酮类在植物体内含量丰富,酚酸和非黄酮类多酚含量也丰富。

2.1 植物活性的制备提取研究 植物富含芳香族、脂肪族活性物和EO,其数量和质量在很大程度上取决于植物的类型、种源、生长土壤类型、基因型、气候、年龄、提取工艺等因素。植物活性物步骤分为植物样品的预制备和提取过程。植物原料的干燥程度、研磨或粉碎及脱氯都是提取前的主要处理过程,这些方式取决于植物原料特性。Olatunde等^[4]研究表明,溶剂对植物原料脱氯具有重要影响,氯仿对番石榴叶原料脱氯后,提取物的抗氧化活性最高,而丙酮脱氯后,提取物的产率很低。因此,需要选择合适方法和溶剂分离获得可溶性植物活性物。水、甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、正己烷、二氯甲烷和甲苯是主要提取溶剂,浸泡法、煎煮法、过滤法、浸渍法、索氏抽提法、超声波提取法、加速溶剂提取、超临界流体提取和微波辅助提取是当前常用提取方法,但这些溶剂和提取方法步骤不同,并且各有优点和局限性。

2.2 植物生物活性及海鲜保鲜应用 植物酚类提取物通过与细菌或真菌的膜蛋白相互作用破坏细胞膜完整性,增加细胞膜通透性,引起钾离子和其他细胞质结构的外渗,导致细胞死亡。细菌的细胞膜含有磷脂,可被植物活性提取物的疏水化合物切割破坏,使细胞膜外渗并破坏细胞结构。细胞死亡也与关键离子大量外渗和细菌细胞壁破坏有关。革兰氏阴性菌比革兰氏阳性菌的细胞壁更薄,表明其更容易被植物活性提取物或EO抑制。

植物活性物可防止富含PUFA的海鲜脂质氧化,尤其是多酚类。抗氧化剂可通过抑制自由基形成或通过一种或多种机制中断自由基传播来阻止脂质氧化,作用机制主要有:

①清除引发过氧化的自由基种类;②螯合金属离子阻断氧化反应诱发因子;③猝灭氧以防止过氧化物形成;④阻断自动氧化链反应;⑤降低氧浓度。阻断自由基链反应能力是测定抗氧化剂有效性的主要标准。尽管酚羟基是有效氢给体,与初始反应自由基类相互作用后,使多酚自身也成为自由基,而醌结构形式和芳香环内共振诱导的电子离域稳定了自由基中间体,从而防止脂质氧化。

植物活性物通过抑制微生物和化学反应,防止海鲜腐败变质,延长保质期。研究发现,用仙人掌果皮活性物(10%)处理沙丁鱼鱼片后,总活菌数、TMA 和硫代巴比妥酸反应物质(TBARS)显著降低,保质期延长至 12 d,而未处理样品组的货架期是 7 d^[5]。添加葡萄籽(2%)或丁香芽活性物(2%)可延缓鲑鱼鱼片的脂质氧化,与对照相比,4℃冷藏鱼片的色泽、盐溶性蛋白质含量和总巯基恶变得到抑制,保质期延长了 3 d^[6]。Li 等^[7]研究发现,用紫菜活性物(5 g/L)处理太平洋白虾,4℃冷藏后,挥发性碱性氮(TVB-N)、TBARS 和 K 值被抑制,处理组的总活计数(TVC)和多酚氧化酶活性比与未处理组显著降低,保质期延长到 8 d,未处理组仅为 3 d。研究发现,同 1%水平下,月桂叶、葡萄籽、亚麻籽 3 种精油使-20℃冻藏鲭鱼的保质期延长至 7 个月,而百里香、迷迭香、黑籽、鼠尾草、柠檬 5 种精油的保质期为 6 个月^[8]。

植物活性物与其他保鲜方法结合大大提高抗菌效果,形成保鲜新方式。将植物活性物加入水中冻结成活性冰,利用冰缓慢融化将活性成分缓释以保鲜贮藏海鲜,这种方式又称活性冰保鲜。Houicher 等^[9]分别用含有百里香(0.04% W/V)、麝香草(0.03% W/V)和丁香(0.02% W/V)活性物的活性冰冷藏去头凤尾鱼,结果表明,活性冰组的保质期为 12 d,而传统冰藏组仅 5 d。Erkan 等^[10]采用月桂叶、黑色孜然籽、迷迭香、柠檬 4 种精油处理火熏虹鳟后,真空包装贮藏于 2℃条件,7 周贮藏后发现,各组的 TVC、总嗜冷菌数、LAB 菌数、TMA-N、TVB-N 和 TBARS 值低于对照组,除月桂叶 EO,所有组保质期为 6 周,对照组为 4 周。

由于天然活性物难溶于水、生物特性不稳定等特性,导致活性分子扩散至目标部位或细胞的性能较差。包封是一种将活性剂包裹在载体基质内的常见传递系统,通过包封传递以提高活性物的利用率和稳定性。包封的优点为:①降低天然活性物与环境(光、氧和水)接触;②降低活性物向外界环境的转移速率和蒸发损失;③改善活性物的半衰期、生物利用度和保鲜能力。对天然活性物的包封处理能增强其扩散性,微量既可达到保鲜效果又能减轻活性物本身气味。Mazandrani 等^[11]采用脂质体包裹茴香活性物(LFE)和未包封(NFE)处理鲑鱼片后 4℃贮藏,发现 LFE 的脂质氧化水平、TVB-N 含量和菌群总数最小,LFE 的保质期是 15 d,NFE 组为 12 d。

另一种提高活性物利用率和稳定性的策略是将植物活性物掺入包装膜,制备成活性包装,活性成分可缓释,实现有效保鲜。例如,Da Rocha 等^[12]分别将鱼蛋白水解物(FPH)(0.5 g/g)和丁香 EO(0.5 g/g)加入琼脂制备成活性包装膜处

理比目鱼片,结果发现,2 种活性包装均能延长鱼片保质期,但 FPH 膜的 TVB-N、pH、重量、总菌数略低。Thaker 等^[13]也发现,10%明胶、10%明胶+30%石灰汁+1.5%壳聚糖、10%明胶+30%大蒜活性物+1.5%壳聚糖使鲑鱼片的保质期分别延长至 8、16 和 16 d,对照组仅为 4 d。还有研究表明,含有 1%墨角藻(*Fucus vesiculosus*)活性物的明胶膜能抑制枪鱼鱼片的化学和微生物腐败变质,在 4℃下可贮藏 12 d,维持鱼片品质^[14]。Lee 等^[15]分别采用 1%明胶、4%红辣椒籽蛋白粉、0.5%月桂叶 EO 制备出活性包装膜,将脂肪含量高的金枪鱼肉分别包裹于 3 种膜内,4℃下贮藏,鱼肉的保质期为 12 d,与对照相比,0.5%月桂 EO 组的单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)和伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)被抑制,鱼肉脂质氧化速率降低。

2.3 植物活性物在海鲜保鲜方面的应用局限 尽管植物活性物即使在极低浓度下仍具有优良抗菌和抗氧化活性,但在食品保鲜体系中其保鲜效果未有完全发挥,切实用于食品保鲜的植物活性物种类较少,如迷迭香。利用植物活性物保鲜食品时,尤其是海鲜,其剂量浓度需要高于合成化学保鲜剂,否则海鲜的外观和色泽依然改变,消费者感官排斥。另外,源自草药和香料的 EO 在低浓度下仍有强烈香气,会严重影响海鲜本身的鲜味和口感。此外,由于植物的生长年限、生态和地理条件、收获时间和提取方法能引起活性物产生化学结构变化,活性也随之改变,极大限制活性物作为天然保鲜剂用于海鲜保鲜。

3 壳聚糖

甲壳素是自然界第二大丰富天然聚合物,主要源于昆虫、甲壳类外壳。甲壳素去乙酰化产生壳聚糖[结构式为多聚-β(1→4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡聚糖],壳聚糖可解聚成壳寡糖,又称为壳聚糖寡聚体。壳聚糖和壳寡糖由于无毒、可降解和天然绿色等特性广泛用于食品工业。壳聚糖和壳寡糖的结构含有氨基、乙酰化氨基和羟基,可与细胞受体相互作用,引发生物体一系列生化反应,具有抗癌、抗血管生成、神经保护、免疫刺激、抗糖尿病、抗氧化和抗菌等特性。壳聚糖和壳寡糖溶于酸和水,可作为添加剂、涂层剂或涂膜剂用于海鲜保鲜。当前,壳聚糖作为一种食品包装材料已被用作涂膜保鲜和活性包装。

3.1 壳聚糖的制备提取 壳聚糖是甲壳素通过碱性脱乙酰法(浓碱 100℃煮沸)或酶解法制备而成。自然界中,甲壳素是以 N-乙酰-D-氨基葡萄糖形式存在的线性结构多糖,根据微纤维位向分为 3 种多态型,即 α-甲壳素、β-甲壳素和 γ-甲壳素,反平行 α-甲壳素是昆虫外壳角质层和甲壳类外壳的最稳定多态型。从虾壳提取甲壳素的主要步骤是脱矿物质(1.25 mol HCl)和去蛋白(5%NaOH)。壳聚糖制备中出现不完全 N-脱乙酰化物,是 N-脱乙酰衍生物。壳寡糖是指壳聚糖解聚成平均分子量低于 3 900 D 和聚合度(DP)低于 20 的壳聚糖寡聚体。采用酶、酸或物理降解方法可解聚壳聚糖,例如,壳聚糖酶、纤维素酶、蛋白酶和脂肪酶可用于壳聚糖的酶解聚;磷酸、亚硝酸、氢氟酸和盐酸用于酸解聚;低频超声

(20 kHz)辐照用于水解聚。壳聚糖的解聚方法和条件影响其分子量和聚合度,影响生物活性。

3.2 壳聚糖生物活性及海鲜保鲜应用 壳聚糖和壳寡糖是一种用于海鲜保鲜的绿色无害添加剂、涂层剂或包膜剂,对海鲜的化学、营养和感官等特性没有影响。壳聚糖作为一种抗氧化剂、氧屏障、呼吸速率阻止剂,可延缓食品微生物生长。壳聚糖和壳寡糖有广谱抗菌性,对细菌、酵母菌和霉菌均有抑制作用。壳聚糖的主要抗菌机制是利用自身带正电荷聚合物与带负电荷微生物细胞膜的相互作用,破坏细胞膜结构,引起蛋白质组分和其他细胞内成分外泄,导致微生物失活。另外,还存在其他可能机制,如通过与微生物 DNA 相互作用及与必需营养物质、金属和孢子螯合,抑制微生物的 mRNA 和蛋白质翻译。壳聚糖和壳寡糖的抗菌活性比霉菌更强。

细菌对壳聚糖和壳寡糖的敏感性尚未更明确,可能是多因素造成了不同抗菌效果。与革兰氏阴性菌相比,革兰氏阳性菌对壳聚糖和壳寡糖不太敏感,与 Rabea 等^[16]研究结果相反。另有研究发现,壳聚糖抑制细菌和霉菌的效果比壳寡糖低^[17],也与 No 等^[18]的观点相反。这种抗菌性能矛盾可能与壳聚糖和壳寡糖的脱乙酰度和分子量差异有关。此外,初始微生物量、pH、聚合物的浓度和类型、温度和食品特性等可能也是造成壳聚糖和壳寡糖呈现不同抑菌效果的重要因素。

壳聚糖和壳寡糖也是一种抗氧化剂,能直接清除细胞内自由基,也可螯合金属淬灭自由基。壳聚糖脱乙酰度和分子量及壳寡糖的解聚度是影响其抗氧化活性的主要因素。研究发现,壳聚糖和壳寡糖被广泛用作外涂层剂,延长面包和肉类的货架期,而直接使用壳聚糖和壳寡糖用于海鲜保鲜的研究报道鲜少,仅有 Mohan 等^[19]研究发现,1%、2%的壳聚糖抑制沙丁鱼片的感官、菌群和化学指标劣变,货架期分别为 8 和 10 d,显著高于对照组(5 d)。由于海鲜与面包、肉类的微生物区系不同,壳聚糖和壳寡糖单独制备成涂层剂对海鲜的某些腐败菌群抑制效果不佳,但与其他天然保鲜剂结合使用抑菌效果更好,例如,Chen 等^[20]研究发现,含有 1%茶多酚、0.5%EO 的壳聚糖(1%)涂层剂处理牡蛎后 4℃冷藏,涂层组(15 d)比对照组(5 d)、壳聚糖(8 d)和茶多酚(7 d)。

壳聚糖和壳寡糖可作为包覆剂,包裹其他天然活性保鲜剂,延长活性成分缓释时间,提高海鲜保鲜效果。Günlü 等^[21]用溶于 1%乙酸的 2%壳聚糖制备食用膜,研究 4℃贮藏下对海鲈鱼片品质影响,结果表明,食用膜组的 TVB-N 和 TMA-N 含量、嗜冷菌数和嗜温菌数显著低于对照组,保质期是 27 d,对照组为 3 d。Alparslan 等^[22]研究发现,含有橘皮 EO(0.5%~2.0%)的壳聚糖(1.5% W/V 壳聚糖)涂层剂使深海红虾的货架期延长至 15 d,比单用壳聚糖多 5 d。

壳聚糖与其他保鲜方式结合也大大提高保鲜效果。Cao 等^[23]研究发现,臭氧杀菌结合 2%壳聚糖处理牡蛎后,其脂质氧化和微生物总数低于对照组,臭氧水组、壳聚糖样品、臭氧水-壳聚糖样品的货架期分别延长到 10~12 d、14~15 d 和 20~21 d,对照组为 8~9 d。Cao 等^[24]以 1:2(W:V)的比例将牡蛎浸泡在 5 g/L 壳聚糖溶液中,用无菌塑料袋包裹在

5℃贮藏,结果发现,壳聚糖组将牡蛎货架期从 8~9 d 延长至 14~15 d。

3.3 壳聚糖在海鲜保鲜方面的应用限制 壳聚糖属于酸性溶液,对海鲜的质地和外观有不利影响,酸性条件造成蛋白质沉淀、持水力丧失或酸败,导致品质降低。然而,化学或酶修饰壳聚糖可提高溶解度,将壳聚糖与丙烯酸钠盐共聚体、单(2-甲基丙烯酰氧乙基)酸式磷酸盐、甲基丙烯酸钠盐和乙烯基磺酸钠盐等亲水性化合物形成共聚物开发出水溶性壳聚糖共聚体。有时,海鲜与其他食品均是一个由脂肪、蛋白质、维生素、盐、碳水化合物和其他成分组成的复杂体系,这些化合物可以与壳聚糖和壳寡糖相互作用,引起抗氧化和抗菌功能丧失。

4 细菌素

细菌素是指细菌代谢过程中产生的一类具有抑菌活性的蛋白质或多肽,是细菌在生长初期由核糖体合成的初级代谢物。细菌素不是抗生素,抗生素是抗菌谱较宽的次级代谢物,而细菌素是抗菌谱狭窄且抗菌效果与物种相关的初级代谢物。细菌素含有的精氨酸和赖氨酸残基,自身具有阳离子和两性特性。LAB 可产生大量细菌素,根据生化和遗传特性分为 3 类:硫醚细菌素、非硫醚细菌素和溶菌素。LAB 细菌素分子量较低,易被哺乳动物蛋白水解酶降解,对人体安全无毒害作用。LAB 细菌素对病菌具有良好抗菌功能,如单核细胞增生李斯特菌(*L. monocytogenes*)、弯曲杆菌属(*Campylobacter* spp.)和产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*);对食品腐败菌效果也较好,如蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)。因此,LAB 细菌素由于抗菌性能优越且安全而广泛用于食品工业。

4.1 细菌素的生产制备 人们利用乳酸菌发酵可大量制备生产细菌素,采用肉类提取物、酵母提取物(deMann-Rogosa-Sharpe)和生物蛋白胨等底物均可用于发酵生产细菌素,但这些底物成本较高限制了生产制备。研究发现,可利用乳清、水产品副产物、糖蜜及其他工业废物(如土豆液、葡萄废物和鱼粉)生产细菌素,并且该技术成本较低、环境污染少。改善细菌素生产环境因素可大大提高细菌素产量,降低生产成本,例如,对 LAB 菌株改性和优化工艺参数(温度、pH 和培养基组成)。生物合成细菌素的基因通常与结构同源免疫基因集聚。细菌素通常被合成为含具有连接到肽 C 端的可修饰 N 端先导肽的无活性前体,这种无活性前体经酶促过程(称为细菌素成熟)转化为活性细菌素,之后被运出细胞。先导肽的主要功能包括:①保护细菌素,确保菌株内代谢物处于非活性状态(前体肽形式);②作为识别位点,引导前体肽通过生物合成酶成熟及识别细胞转运蛋白;③确保前体肽在成熟过程中以适宜构象与酶相互作用。研究表明,在跨膜过程中,细菌和真菌产生运输铁的铁载体(铁螯合化合物),也有抗革兰氏阴性菌活性,也是一种未来潜在细菌素。

4.2 细菌素抗菌功效及应用 细菌素主要通过目标菌株细胞膜上结构分子与阳离子细菌素相互作用发挥抗菌功能,即

带正电荷的细菌素与带负电荷的细菌细胞膜结构分子产生静电相互作用,进而抑制或杀死细菌。细菌素的杀菌抑菌能力因细菌素类和亚类不同而有差异,这取决于与细菌细胞膜受体结构分子的相互作用强度,且其具有杀菌抑菌类型和类别专一性。I类细菌素(硫酰类)有2种抗菌机制:一是通过形成孔隙破坏细菌细胞膜的完整性,导致膜电位受损及胞内成分丢失;二是作为酶抑制,与脂质II(肽聚糖亚基从细胞质到细胞壁的主要转运体)结合,造成细胞壁合成异常,从而导致细菌死亡。II细菌素(非硫酰类)的抗菌机制因亚类不同而有多种,一般来说,它们通过诱导膜通透性而导致细胞质分子外泄。总之,I类细菌素的受体或对接分子是脂质II,而II类细菌素与甘露糖ABC转运体MptD相互作用,但乳酸Q是一种无前体的细菌素,不需要对接分子。然而,目标菌株在无特定受体情况下的高水平膜透性是III类细菌素的抗菌作用机制。革兰氏阴性菌的外膜由于含有脂多糖,与细菌素相互作用罕见或受限,只当细菌素与细菌表面活性剂结合时,细胞完整性才受到损伤。

细菌素已用于控制鱼类致病菌和腐败菌,细菌素与其他保鲜剂或方法结合使用,可大大延长鱼和鱼类制品的保质期。Ekhtiarzadeh等^[25]研究证实,4%NaCl处理的咸鱼片在4℃贮藏21d,用细菌素Nisin(Ni)、Zataria multiflora Boiss 香精油或组合处理后,副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*,初始接种量为 10^5 CFU/g)和单核细胞增生李斯特菌(初始接种量为 10^3 CFU/g)的生长受到显著抑制,副溶血性弧菌分别在第2、6和9天被组合组(0.75 mg/mL Ni + 0.405% EO)、0.405% EO组和0.75 μg/ml Ni组完全抑制,另外,在第1天,EO组和Ni组的单核细胞增生李斯特菌比初始值增加,而组合组完全抑制。

尽管细菌素杀菌抑菌效果非常好,但是针对不同类型病原菌和腐败菌的使用浓度差异较大。例如,低浓度(1 183 IU/g)Ni能抑制贮藏30℃下鱼肉匀浆的革兰氏阳性植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)和无害李斯特菌(*Listeria innocua*);而抑制革兰氏阴性绿脓杆菌(*P. aeruginosa*)和荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)需要较高浓度(>4 300 IU/g)^[26]。这种差异主要由于革兰氏阴性菌存在不透水外细胞膜,它阻止Ni与细胞质膜相互作用。然而,壳聚糖(300 mg/L)+Ni(3 000 IU/g)组合组对腐败希瓦氏菌具有协同抑制效应,对无害李斯特菌有加性抑制效应。Ghalifi等^[27]开发出一种被细胞吸收的细菌素制备新方法,即通过调整弯曲乳酸杆菌(*Lactobacillus curvatus* CWBI-B28)的pH,固定化大分子细菌素生产量,增加易于被细胞吸收的小分子细菌素产出量,结果显示,生产出的细菌素在3d内完全灭活冷烟鲑鱼的单核细胞增生李斯特菌,22d完全没有无害李斯特菌检测出。当前,细菌素被广泛应用于鱼类保鲜,然而在软体动物和虾保鲜应用较少,可能由于对细菌素抑制虾贝和头足类的病原菌、腐败菌研究较少,导致缺少应用技术和工艺参数。

4.3 细菌素在海鲜保鲜方面的应用局限 低产量和高生产

成本是限制细菌素作为生物保鲜剂用于食品保鲜的主要制约因素。通过向商业培养基(如 de Mann-Rogosa-Sharpe)添加肉类提取物、酵母提取物和多肽来提高生产产量,但这种培养基昂贵。因此,选择食品级培养基可克服这一不足,如奶酪乳清、鱼粉和大豆残渣。纯化是工业或商业生产细菌素的主要过程,文献调查发现,尽管在实验室成功开发出许多技术,但工业生产细菌素工艺需要更精简、成本更低、效益更高。细菌素能单独抑制微生物生长,延长海鲜保质期。然而,它们不能降低或防止脂质氧化。因此,它必须与抗氧化剂结合应用才更有效地延长海鲜保质期。

5 生物活性肽

生物活性肽是蛋白酶水解蛋白质生成含有2~20个氨基酸残基的具有生理调节功效的特定片段,如免疫调节、降血压、抗血栓、抗菌和抗氧化活性。生物活性肽的生理活性取决于多肽的大小、构象、氨基酸组成和序列。

5.1 生物活性肽的生产 生物活性肽是分子量较低的多功能蛋白质,原料来源丰富,鱼类、鸡蛋、牛奶、豆类、谷物和水产品及加工副产物都是生产生物活性肽的丰富原料。酶解方法是当前生产生物活性肽的重要技术,蛋白酶的来源和特异性是决定生物活性肽的大小、氨基酸序列和生理活性的主要因素。酸法和碱法水解蛋白质也用来产生生物活性肽,但是,酸碱法可能导致消旋、色氨酸丢失、赖氨酸转化成赖丙氨酸,造成多肽组分破坏,部分生理活性改变或丧失。与微生物发酵、酸水解、碱水解相比,蛋白酶是最可靠有效的方法,如木瓜蛋白酶、中性酶、风味酶、嗜热菌蛋白酶、淀粉酶、链霉蛋白酶和无花果蛋白酶。蛋白质水解成多肽导致电荷密度增加,进而溶解度增加。当前,酶解法从鱼类蛋白质制备具有不同生物活性的多肽,包括海鲈鱼、短吻鲑鱼、罗非鱼、黄条斑纹鲷和沙丁鱼。多肽水解度(degree of hydrolysis of polypeptide, DH)指裂解多肽的键数量与总肽键的比值,是蛋白质酶解成多肽的重要指标,关系多肽产量和生物活性,酶解温度与时间、蛋白酶类型与浓度影响生物活性肽水解度(DH)。

5.2 生物活性肽活性及海鲜保鲜应用 生物活性肽的抗菌功能是海鲜保鲜应用的根本,不同生物活性肽具有不同抗菌活性和抑菌杀菌作用方式。生物活性肽的抗菌功能主要通过其与微生物细胞质膜相互作用。生物活性肽的阴离子残基与微生物表面带电脂质之间的静电相互作用抑制微生物生长。生物活性肽的疏水残基、多肽可塑性与微生物膜相互作用决定其是否可作为有效性抗菌剂。总之,生物活性肽与菌表面脂多糖或脂壁酸的静电相互作用是其具有抗菌活性的基础,静电相互作用移除了菌表面的天然阳离子(Ca^{2+} 和 Mg^{2+}),多肽通过主动跨膜方式进入菌细胞内。随后,多肽在菌细胞质膜表面排列,经渗透和位移通过细胞质膜,引起菌应激和死亡。生物活性肽根据抗菌特性可分为两大类:①作用于菌细胞质膜的多肽类;②通过跨膜进入菌细胞内而不造成实质性膜干扰的抗菌多肽类。

生物活性肽具有抗氧化活性,能整合金属离子($Fe^{2+}/$

Cu²⁺),抑制脂质过氧化,可作为天然抗氧化剂用于食品保鲜。生物活性肽能防止自由基形成,清除活性氧和自由基,是海鲜保鲜的重要抗氧化剂,具有高能量的自由基,特别是羟基自由基,可以与20种氨基酸相互作用,与含咪唑氨基酸(His)、芳香氨基酸(Tyr、Phe和Trp)和亲核含硫氨基酸(Met和Cys)的作用较强。

与多肽相比,游离氨基酸不能作为有效抗氧化剂。氨基酸序列赋予生物活性肽独特理化性质,尤其是清除自由基的多肽通过提供一个光子而淬灭自由,阻断下一步氧化反应,这是多肽抗氧化功能高于游离氨基酸的原因。生物活性肽的构效关系、抗氧化功能及潜在应用领域均有研究报道。

含有生物活性肽的水解产物可作为抗氧化剂或抗菌剂直接用于海鲜保鲜。用Protamex™蛋白酶解黄鳍金枪鱼下脚料获得鱼蛋白水解物(1.0%和1.5%)处理鲢鱼肉质后,经4℃贮藏,鱼肉的脂质氧化(TBARS和过氧化值为测定指标)和微生物生长受到抑制,保质期延长到12d,而未经处理组延长到6d^[28]。Li等^[29]研究了草鱼蛋白水解物对-10℃冷冻鱼糜脂质氧化的影响,结果发现,在贮藏第5周,添加2.0%草鱼蛋白水解物与对照相比,PV水解物体对-10℃冷冻TBARS和共轭双烯生成水平分别降低了51.1%、34.5%和49.7%。

5.3 生物活性肽在海鲜保鲜方面的局限性 苦味对产品感官特性产生不良影响。疏水氨基酸(Phe、Gly、Val、Ala、Leu、Trp、Iso、Pro和Met)的C端或N端,C端的基本氨基酸、C端的2个疏水氨基酸,或含有1个或多个疏水氨基酸的低分子肽(6kDa)易造成苦味肽产生,是限制生物活性肽应用食品保鲜的重要因素。氨基酸组成、DH及支链氨基酸R基团上的碳原子数、位置和浓度决定多肽的苦味。另外,苦味形成也取决于所使用酶及底物,又是造成蛋白水解物在食品保鲜应用的另一个局限。这种局限可通过不同方法解决苦味问题,例如,使用外肽酶、质体反应、溶剂萃取(乙醇、异丙醇、丁醇)、大孔吸附树脂或组合脱去苦味肽。

6 结语

海鲜易腐败变质,保鲜难度大,保质期短,需要寻找绿色无害保鲜技术和产品支撑海鲜加工贮藏与冷链流通。当前,一些潜在抗菌剂和抗氧化剂已被研究与开发成海鲜的绿色无害保鲜剂,大多数天然保鲜剂可从价格低廉、原料供应稳定的生物资源中提取制备,可作为化学合成添加剂的替代品,防止海鲜的化学、微生物和酶促腐败变质,保障海鲜品质,延长保质期。但是,仍需要开发出更多应用不同海鲜品种保鲜的生物活性剂,研究保鲜机制和机理,探索新型保鲜技术,开展安全性评价。

参考文献

[1] SIVERTSVIK M,JEKSRUD W K,ROSNES J T.A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products-significance of microbial growth,activities and safety[J].International journal of food science & technology,2002,37(2):107-127.

[2] GRAM L,DALGAARD P.Fish spoilage bacteria-problems and solutions[J].Current opinion in biotechnology,2002,13(3):262-266.

[3] 甘晖,米强,韦恺丽,等.壳聚糖-茶多酚复合物对冷藏南美白对虾的微生物区系与品质的影响[J].食品科学,2020,41(23):212-220.

[4] OLATUNDE O O,BENJAKUL S,VONGKAMJAN K.Antioxidant and anti-

bacterial properties of guava leaf extracts as affected by solvents used for prior dechlorophyllization[J].Journal of food biochemistry,2018,42(5):1-11.

[5] BESBES N,JOFFRAUD J J,BEN KHEMIS I,et al.Antimicrobial and antioxidant activities of cactus polyphenols extract on seafood preservation[J].Biointerface research in applied chemistry,2016,6(6):1612-1620.

[6] SHI C,CUI J Y,YIN X F,et al.Grape seed and clove bud extracts as natural antioxidants in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during chilled storage:Effect on lipid and protein oxidation[J].Food control,2014,40:134-139.

[7] LI C,YANG Z Y,LI J R.Shelf-life extension of Pacific white shrimp using algae extracts during refrigerated storage[J].Journal of the science of food and agriculture,2017,97(1):291-298.

[8] ERKAN N,BILEN G.Effect of essential oils treatment on the frozen storage stability of chub mackerel fillets[J].Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit,2010,5(1):101-110.

[9] HOUICHER A,BENSID A,REGENSTEIN J M,et al.Control of biogenic amine production and bacterial growth in fish and seafood products using phytochemicals as biopreservatives: A review[J].Food bioscience,2021,39:1-9.

[10] ERKAN N,ULUSOY S,YASEMIN TOSUN S,et al.Effect of combined application of plant extract and vacuum packaged treatment on the quality of hot smoked rainbow trout[J].Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit,2011,6(4):419-426.

[11] MAZANDRANI H A,JAVADIAN S R,BAHRAM S.The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage[J].Food science & nutrition,2016,4(2):298-304.

[12] DA ROCHA M,ALEMÁN A,ROMANI V P,et al.Effects of agar films incorporated with fish protein hydrolysate or clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) fillets shelf-life[J].Food hydrocolloids,2018,81:351-363.

[13] THAKER M,DEVI HANJABAM M,GUDIPATI V,et al.Protective effect of fish gelatin-based natural antimicrobial coatings on quality of Indian salmon fillets during refrigerated storage[J].Journal of food process engineering,2017,40(1):e12270-e12280.

[14] VALA M,AUGUSTO A,HORTA A,et al.Effect of tuna skin gelatin-based coating enriched with seaweed extracts on the quality of tuna fillets during storage at 4℃[J].International journal of food studies,2017,6(2):201-221.

[15] LEE J H,YANG H J,LEE K Y,et al.Physical properties and application of a red pepper seed meal protein composite film containing oregano oil[J].Food hydrocolloids,2016,55:136-143.

[16] RABEA E I,BADAWY E T,STEVENS C V,et al.Chitosan as antimicrobial agent:Applications and mode of action[J].Biomacromolecules,2003,4(6):1457-1465.

[17] RAKKHUMKAEW N,PENG S C.Chitosan and chitooligosaccharides from shrimp shell waste:Characterization,antimicrobial and shelf life extension in bread[J].Food science and biotechnology,2018,27(4):1201-1208.

[18] NO H K,PARK N Y,LEE S H,et al.Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights[J].International journal of food microbiology,2002,74(1):65-72.

[19] MOHAN C O,RAVISHANKAR C N,LALITHA K V,et al.Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage[J].Food hydrocolloids,2012,26(1):167-174.

[20] CHEN X L,LV M,GAN H,et al.Impact of chitosan-based coatings on myofibrillar protein denaturation,muscle microstructure and lipid oxidation of oyster (*Crassostrea hongkongensis*) during 0℃ storage[J].Journal of aquatic food product technology,2020,29(10):1001-1012.

[21] GÜNLÜ A,KOYUN E.Effects of vacuum packaging and wrapping with chitosan-based edible film on the extension of the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets in cold storage (4℃)[J].Food & bioprocess technology,2013,6(7):1713-1719.

[22] ALPARSLAN Y,BAYGAR T.Effect of chitosan film coating combined with orange peel essential oil on the shelf life of deepwater pink shrimp[J].Food and bioprocess technology,2017,10(5):842-853.

[23] CAO R,LIU Q,YIN B Z,et al.Combined effect of ozonated water and chitosan on the shelf-life of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J].Innovative food science & emerging technologies,2010,11(1):108-112.

- C1512–C1521.
- [22] HOUSE J D, NEUFELD J, LESON G. Evaluating the quality of protein from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2010, 58(22): 11801–11807.
- [23] WU G Y, BAZER F W, DAVIS T A, et al. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease [J]. *Amino acids*, 2009, 37(1): 153–168.
- [24] FARINON B, MOLINARI R, COSTANTINI L, et al. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition [J]. *Nutrients*, 2021, 12(7): 1–59.
- [25] RAIKOS V, DUTHIE G, RANAWANA V. Denaturation and oxidative stability of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein isolate as affected by heat treatment [J]. *Plant foods for human nutrition*, 2015, 70(3): 304–309.
- [26] TANG C H, TEN Z, WANG X S, et al. Physicochemical and functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006, 54(23): 8945–8950.
- [27] MALOMO S A, ONUH J O, GIRGIH A T, et al. Structural and antihypertensive properties of enzymatic hemp seed protein hydrolysates [J]. *Nutrients*, 2015, 7(9): 7616–7632.
- [28] MURRAY E D, ARNTFIELD S D, ISMOND M A H. The influence of processing parameters on food protein functionality. II. Factors affecting thermal properties as analyzed by differential scanning calorimetry [J]. *Canadian institute of food science & technology journal*, 1985, 18(2): 158–162.
- [29] DAP ČEVI Č, HADNA ĐEV T, HADNA ĐEV M, LAZARIDOU A, et al. Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part II. Gelation properties at different ionic strengths [J]. *Food hydrocolloids*, 2018, 81: 481–489.
- [30] 孟妍, 曾剑华, 王尚杰, 等. 汉麻籽蛋白研究进展 [J]. *食品工业*, 2020, 41(1): 268–273.
- [31] 孟妍, 曾剑华, 李美莹, 等. 汉麻籽分离蛋白提取技术优化及其组成和乳化性表征 [J]. *中国食品学报*, 2021, 21(5): 250–262.
- [32] ORIO L P, BOSCHIN G, RECCA T, et al. New ACE-inhibitory peptides from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) proteins [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2017, 65(48): 10482–10488.
- [33] XU Y J, LI J, ZHAO J K, et al. Hempseed as a nutritious and healthy human food or animal feed source: A review [J]. *International journal of food science & technology*, 2021, 56(2): 530–543.
- [34] LIM X Y, TAN T Y C, ROSLI S H M, et al. *Cannabis sativa* subsp. *sativa*'s pharmacological properties and health effects: A scoping review of current evidence [J]. *PLoS One*, 2021, 16(1): 1–22.
- [35] LU R R, QIAN P, SUN Z, et al. Hempseed protein derived antioxidative peptides: Purification, identification and protection from hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells [J]. *Food chemistry*, 2010, 123(4): 1210–1218.
- [36] PIOVESANA S, CAPRIOTTI A L, CAVALIERE C, et al. Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation [J]. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2018, 410(15): 3425–3444.
- [37] TEH S S, BEKHIT A E D A, CARNE A, et al. Antioxidant and ACE-inhibitory activities of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates produced by the proteases AFP, HT, Pro-G, actinidin and zingibain [J]. *Food chemistry*, 2016, 203: 199–206.
- [38] GIRGIH A T, ALASHI A M, HE R, et al. A novel hemp seed meal protein hydrolysate reduces oxidative stress factors in spontaneously hypertensive rats [J]. *Nutrients*, 2014, 6(12): 5652–5666.
- [39] PENTA-RAMOS E A, XIONG Y L. Antioxidant activity of soy protein hydrolysates in a liposomal system [J]. *Journal of food science*, 2002, 67(8): 2952–2956.
- [40] LOGARUŠI Ć M, SLIVAC I, RADOŠEVI Ć K, et al. Hempseed protein hydrolysates' effects on the proliferation and induced oxidative stress in normal and cancer cell lines [J]. *Molecular biology reports*, 2019, 46(6): 6079–6085.
- [41] RODRIGUEZ-MARTIN N M, MONTERRAT-DE LA PAZ S, TOSCANO R, et al. Hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates promote anti-inflammatory response in primary human monocytes [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(5): 1–12.
- [42] LEE S Y, HUR S J. Antihypertensive peptides from animal products, marine organisms, and plants [J]. *Food chemistry*, 2017, 228: 506–517.
- [43] DASKAYA-DIKMEN C, YUCETEPE A, KARBANCIOGLU-GULER F, et al. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides from plants [J]. *Nutrients*, 2017, 9(4): 1–19.
- [44] KOBAYASHI Y, YAMAUCHI T, KATSUDA T, et al. Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory mechanism of tripeptides containing aromatic residues [J]. *Journal of bioscience and bioengineering*, 2008, 106(3): 310–312.
- [45] GIRGIH A T, HE R, ALUKO R E. Kinetics and molecular docking studies of the inhibitions of angiotensin converting enzyme and renin activities by hemp seed (*Cannabis sativa* L.) peptides [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2014, 62(18): 4135–4144.
- [46] GIRGIH A T, ALASHI A M, HE R, et al. Preventive and treatment effects of a hemp seed (*Cannabis sativa* L.) meal protein hydrolysate against high blood pressure in spontaneously hypertensive rats [J]. *European journal of nutrition*, 2014, 53(5): 1237–1246.
- [47] MALOMO S A, ALUKO R E. *In vitro* acetylcholinesterase-inhibitory properties of enzymatic hemp seed protein hydrolysates [J]. *Journal of the American oil chemists' society*, 2016, 93(3): 411–420.
- [48] SAMSAMIKOR M, MACKAY D, MOLLARD R C, et al. A double-blind, randomized, crossover trial protocol of whole hemp seed protein and hemp seed protein hydrolysate consumption for hypertension [J]. *Trials*, 2020, 21(1): 1–13.
- [49] RODRIGUEZ-MARTIN N M, TOSCANO R, VILLANUEVA A, et al. Neuroprotective protein hydrolysates from hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds [J]. *Food function*, 2019, 10(10): 6732–6739.
- [50] AIELLO G, LAMMI C, BOSCHIN G, et al. Exploration of potentially bioactive peptides generated from the enzymatic hydrolysis of hempseed proteins [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2017, 65(47): 10174–10184.
- [51] ZANONI C, AIELLO G, ARNOLDI A, et al. Hempseed peptides exert hypcholesterolemic effects with a statin-like mechanism [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2017, 65(40): 8829–8838.
- [52] 李永进, 杨睿悦, 扈学俸, 等. 火麻仁蛋白对小鼠抗疲劳和免疫调节功能的初步研究 [J]. *卫生研究*, 2008, 37(2): 175–178.
- [53] REN Y, LIANG K, JIN Y Q, et al. Identification and characterization of two novel α -glucosidase inhibitory oligopeptides from hemp (*Cannabis sativa* L.) seed protein [J]. *Journal of functional foods*, 2016, 26: 439–450.

(上接第 14 页)

- [24] CAO R, XUE C H, LIU Q. Changes in microbial flora of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) during refrigerated storage and its shelf-life extension by chitosan [J]. *International journal of food microbiology*, 2009, 131(2/3): 272–276.
- [25] EKHTIARZADEH H, AKHONDZADEH BASTI A, MISAGHI A, et al. Growth response of *Vibrio parahaemolyticus* and *Listeria monocytogenes* in salted fish fillets as affected by zataria multiflora boiss. Essential oil, nisin, and their combination [J]. *Journal of food safety*, 2012, 32(3): 263–269.
- [26] SCHELEGUEDA L I, GLIEMMO M F, CAMPOS C A. Antimicrobial synergic effect of chitosan with sodium lactate, nisin or potassium sorbate against the bacterial flora of fish [J]. *Journal of food research*, 2012, 1(3): 272–281.
- [27] GHALFI H, ALLAOUI A, DESTAIN J, et al. Bacteriocin activity by *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 to inactivate *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon during 4-degrees C storage [J]. *Journal of food protection*, 2006, 69(5): 1066–1071.
- [28] PEZESHK S, OJAGH S M, REZAEI M, et al. Antioxidant and antibacterial effect of protein hydrolysis of yellowfin tuna waste on flesh quality parameters of minced silver carp [J]. *Journal of genetic resources*, 2017, 3(2): 103–112.
- [29] LI X, LUO Y K, YOU J, et al. Stability of papain-treated grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) protein hydrolysate during food processing and its ability to inhibit lipid oxidation in frozen fish mince [J]. *Journal of food science & technology*, 2015, 52(1): 542–548.