

苯乳酸在食品保鲜中的应用研究进展

李波^{a, b}, 郑凯茜^a, 皇甫露露^a, 马云芳^a

(郑州轻工业大学 a.食品与生物工程学院 b.河南省冷链食品质量安全控制重点实验室, 郑州 450001)

摘要: **目的** 介绍苯乳酸的抑菌机制, 以及与微酸性电解水、醋酸和乳酸链球菌素的协同抗菌作用, 为苯乳酸在食品保鲜中的应用提供一定的思路和依据。**方法** 概述苯乳酸的理化性质、制备方法, 以及对不同微生物的抑菌活性和机制, 总结苯乳酸在肉制品、果蔬、水产品等保鲜领域的应用研究进展, 并对现有研究的局限性和今后的研究方向进行讨论。**结果** 苯乳酸通过破坏微生物的细胞结构, 干扰 DNA 合成和蛋白质合成, 从而抑制其生长, 与微酸性电解水、醋酸和乳酸链球菌素协同处理可显著增强抑菌效果。**结论** 苯乳酸对细菌和真菌具有广谱抑菌性, 与其他抑菌剂有协同促进作用, 在食品保鲜领域具有广阔的应用前景。

关键词: 苯乳酸; 抗菌机制; 食品保鲜; 协同作用

中图分类号: TS205.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2022)15-0129-08

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2022.15.015

Application and Research Progress of Phenyllactic Acid in Food Preservation

LI Bo^{a, b}, ZHENG Kai-xi^a, HUANGFU Lu-lu^a, MA Yun-fang^a

(a. School of Food and Bioengineering b. Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT: The work aims to introduce the antibacterial mechanism of phenyllactic acid (PLA) and its synergistic antibacterial action with slightly acidic electrolytic water, acetic acid and nisin, so as to provide ideas and basis for the application of PLA in food preservation. The physicochemical properties and preparation methods of PLA as well as its antibacterial activity and antibacterial mechanism against different kinds of microorganisms were summarized. Then, the application of PLA in preservation of meat products, fruits and vegetables and aquatic products was reviewed. In addition, limitations of existing research and future research directions were also discussed in detail. PLA could inhibit the growth of microorganisms by destroying cell structure and interfering with DNA synthesis and protein synthesis. Synergistic treatment of PLA with slightly acidic electrolytic water, acetic acid and nisin could significantly enhance the bacteriostatic effect. PLA can inhibit bacteria and fungi extensively and has synergistic effect with other bacteriostats, which has a broad application prospect in food preservation.

KEY WORDS: phenyllactic acid; antibacterial mechanisms; food preservation; synergistic effect

食品在加工、运输、储藏和销售等各个环节中极易受到微生物的污染, 造成其营养品质和感官品质的劣变, 甚至会引发食源性疾病, 严重危害人体健康^[1-2], 因此食品保鲜一直是食品工业领域中的重

要研究内容。添加防腐剂是一种常用的食品保鲜方法。目前, 使用较为广泛的防腐剂是化学防腐剂, 主要包括山梨酸、苯甲酸、对羟基苯甲酸酯类等^[3]。研究表明, 上述化学防腐剂的使用不仅会破坏食品的营养

收稿日期: 2021-11-18

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目(22A550018); 郑州轻工业大学博士科研启动项目(13501050069)

作者简介: 李波(1986—), 博士, 讲师, 主要研究方向为食品包装安全与质量控制。

养,而且还会对人体健康造成潜在危害^[3],因此开发新型、安全、高效的抗菌剂是食品保鲜领域的重要研究方向之一。苯乳酸(Phenyllactic acid, PLA)是一种具有广谱抗菌作用的新型生物防腐剂^[4-5]。PLA具有安全性高、来源广泛、稳定性强、亲水性好等优点,被广泛应用于肉制品、果蔬、水产品等的保鲜^[6]。文中拟综述 PLA 在食品领域的国内外最新研究进展,并对今后的研究方向进行展望,旨在为 PLA 在食品保鲜中的广泛应用提供思路及参考。

1 苯乳酸

1.1 理化性质

PLA 即 2-羟基-3-苯基丙酸,又名 β -苯基乳酸或 3-苯基乳酸(图 1),是一种小分子有机酸,以 L-PLA 和 D-PLA 等 2 种形式存在于微生物中。PLA 的分子式为 $C_9H_{10}O_3$,相对分子质量为 166,熔点为 121~125 $^{\circ}C$ ^[7-8]。PLA 的亲水性较好,对人体无毒无害,在高温和酸性条件下结构稳定,易于在食品体系中均匀扩散^[6]。Cortés-Zavaleta 等^[9]将 PLA 溶液于 121 $^{\circ}C$ 下加热 20 min,并用冷却至室温的 PLA 溶液分别处理胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)、扩展青霉(*Penicillium expansum*)和黄曲霉(*Aspergillus flavus*)等,结果表明,PLA 对这 4 种真菌的抗菌活性与室温下处理的对照组相比均无显著变化,而 pH 值会影响 PLA 对微生物的失活效果。Sorrentino 等^[10]研究了不同 pH (4.5~7.0)条件下 PLA 对单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)的最小抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC),结果表明, pH 为 4.5 时 PLA 的 MIC 值约为 1.6 mmol/L;当 pH 为 7.0 时, MIC 值约为 45 mmol/L。出现上述现象的原因可能是在酸性条件下, PLA 主要以未解离的形式存在,且不带电荷的分子更容易穿过细胞膜进入细胞,进而在碱性的细胞质环境中释放质子(H^+),导致微生物细胞内 pH 值降低,从而影响微生物的正常生理功能^[10]。

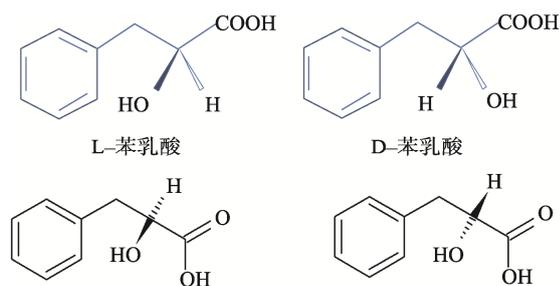


图 1 苯乳酸的对映异构体结构
Fig.1 Enantiomer structure of PLA

1.2 合成

目前,主要采用化学合成法和生物合成法制备 PLA。由于化学合成法存在技术路线复杂、设备要求高、副产物多、分离纯化困难、环境污染等问题,因此近年来生物合成法备受关注^[11-14]。研究证实,乳酸乳球菌(*Lactococcus lactate*)、白地霉(*Geotrichum candidum*)、肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)和凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)等多种微生物均可代谢产生 PLA,其产量为 91~1 000 mg/L^[15-21]。王海宽等^[19]从脱脂奶粉中分离出一株产生 PLA 的 *B. coagulans* TQ33,其 PLA 产量可达到 726.1 mg/L。

虽然微生物能够合成 PLA,但其产量普遍较低^[6]。如何提高 PLA 的产量是当前重点研究的方向之一。PLA 不仅可以在生物体内合成,也可以利用酶工程方法在体外合成。酶催化合成 PLA 主要包括 2 种方法:以过苯丙氨酸为底物,加入 α -酮戊二酸,通过氨基转移酶发生转氨反应,生成苯丙酮酸,苯丙酮酸在乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)的作用下转化为 PLA^[22];苯丙酮酸在 LDH 的作用下直接生成 PLA^[23]。第 1 种合成方法需要加入 α -酮戊二酸和氨基转移酶,不仅会增加生产成本,而且会生成副产物谷氨酸,加大了 PLA 分离纯化的难度,因此实际生产中常采用第 2 种方法^[3]。由于采用这 2 种方法合成 PLA 的产量较低,一些学者采用基因工程等方法来提高 PLA 的产量^[24]。王秀婷^[25]首先采用酶偶联的方法将 LDH 与甲酸脱氢酶融合表达,然后与 L-氨基酸脱氢酶共表达,构建了高产 PLA 的重组大肠杆菌(*Escherichia coli*),经全细胞转化 L-苯丙氨酸, L-PLA 的产量高达 30 g/L,而对照组仅为 5 g/L。此外,由于 D-PLA 的抗菌活性大于 L-PLA,而 *L. lactate* F44 仅含有 L-LDH,所以 Liu 等^[26]采用基因打靶技术敲除该菌株上的 2 个 L-LDH 基因后,通过电穿孔技术引入外源 D-LDH 基因,构建了一株新型乳酸菌,使其合成 D-PLA 的产量相对于野生乳酸菌增加了 1.77 倍。

1.3 PLA 的抑菌特性和抑菌机制

1.3.1 PLA 对不同微生物的抑制效果

PLA 是一种广谱抑菌剂,能够有效抑制细菌和大部分真菌的生长,它对不同微生物的最小抑菌浓度见表 1^[27-32]。刘韵昕^[31]采用试管倍半稀释法测定 D-PLA 和 L-PLA 对革兰氏阳性细菌和阴性细菌的 MIC 值,结果表明,当质量浓度均为 2.5 mg/mL 时, D-PLA 和 L-PLA 能够有效抑制金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、白色葡萄球菌(*Staphylococcus albus*)、痢疾志贺氏菌(*Shigella castellani*)、铜绿假单胞杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)的生长。此外, Lavermicocca 等^[32]发现,当 PLA 的质量浓度达到 10 mg/mL 时,对

从烘焙面包、面粉和谷物中分离出的镰刀菌 (*Fusarium* spp.)、疣孢青霉 (*Penicillium verrucosum*)、罗克福尔青霉菌 (*Penicillium roqueforti*)、产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、*A. flavus* 和土曲霉 (*Aspergillus terreus*) 等真菌均具有良好的抑制作用。

从表 1 可知, 不同微生物对 PLA 具有不同的敏感性。其中, 真菌对 PLA 的抵抗力最强。原因可能是细胞壁的厚度和结构组成不同, 真菌细胞壁的厚度一般为 100~250 nm, 而细菌仅为 15~30 nm, 且真菌细胞壁构成较为复杂, 含有葡聚糖、半乳糖、蛋白质等多种组分, 不同的多糖链相互缠绕交联, 会嵌入蛋白质、类脂及一些小分子多糖的基质中^[33]。

1.3.2 PLA 抑制微生物生长的作用机制

国内外学者对 PLA 的抗菌机制进行了大量研究, 普遍认为 PLA 失活微生物的作用机制主要包括以下 3 个方面。

1) 破坏细胞结构。研究发现, PLA 能够破坏细胞膜的完整性, 进而导致蛋白质、核酸等细胞内容物泄露, 最终使微生物死亡。Ning 等^[34]通过碘化丙啶 (Propidium iodide, PI) 染色结合流式细胞仪观察发现, 经 4.5 mg/mL PLA 处理 30 min 后, PI 染色的 *L. monocytogenes* 细胞的百分比高达 94.5%, 而未经 PLA 处理的对照组的仅为 6.1%, 表明经 PLA 处理后破坏了 *L. monocytogenes* 细胞膜的完整性。Ning 等^[34]使用 2.25 mg/mL PLA 处理

L. monocytogenes 细胞 1 h 后, 采用扫描电子显微镜观察到细胞膜上出现了褶皱和局部破裂, 内容物泄出, 形成了聚集和粘连, 表明 PLA 处理破坏了 *L. monocytogenes* 的形态和超微结构。

2) 干扰 DNA 的合成。PLA 能够与 DNA 结合, 并影响 DNA 的正常复制和转录, 从而抑制细胞生长, 甚至导致细胞死亡。Ning 等^[34]采用溴化乙锭 (Ethidium bromide, EB) 荧光探针研究了 PLA 与 DNA 的结合作用, 发现 DNA-EB 混合溶液中加入 PLA 可以导致 EB 荧光发生淬灭, 而且淬灭强度与 PLA 的浓度呈正相关。以上结果表明, PLA 以与 EB 类似的方式嵌入 DNA 螺旋的碱基对中。

3) 影响蛋白质的合成。PLA 进入细胞后能够干扰核糖体的功能, 进而影响蛋白质的合成, 最终导致细胞死亡。Ning 等^[30]采用基于相对和绝对定量同位素标记 (Isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ) 技术研究了 PLA 处理对蜡样芽胞杆菌 (*Bacillus cereus*) 蛋白质表达的影响。结果表明, 经质量浓度为 1.25 mg/mL 的 PLA 处理 1 h 后, *B. cereus* 出现 30 个差异表达蛋白, 其中 19 个蛋白表达水平上调, 11 个蛋白表达水平下调。由于 kdpB 蛋白 (K^+ 转运蛋白) 表达水平下调, 从而导致 K^+ 的运输受到抑制, 最终导致膜电位耗散。此外, 编码为 50s 核糖体蛋白 L30 (rpmD) 和 30s 核糖体蛋白 S13 (rpmG) 的基因表达下调, 而与 RNA 降解体相关的蛋白 GroEL 基因表达上调。

表 1 PLA 对不同微生物的最小抑菌浓度
Tab.1 MICs values of PLA to different microorganisms

微生物名称	最小抑菌质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	参考文献
单核细胞增生李斯特菌 (<i>L. monocytogenes</i> 10403S)	2.25	[28]
大肠杆菌 (<i>E. coli</i> ATCC 44752)	1.25	[29]
蜡样芽胞杆菌 (<i>B. cereus</i> ATCC14579)	1.25	[30]
金黄色葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)	2.5	[31]
白色葡萄球菌 (<i>S. albus</i>)	2.5	[31]
痢疾志贺氏菌 (<i>S. castellani</i>)	2.5	[31]
铜绿假单胞杆菌 (<i>P. aeruginosa</i>)	2.5	[31]
鼠伤寒沙门氏菌 (<i>S. typhimurium</i>)	2.5	[31]
镰刀菌 (<i>Fusarium</i> spp. ITEM5153)	3.75	[32]
疣孢青霉 (<i>P. verrucosum</i> FR22625)	3.75	[32]
罗克福尔青霉菌 (<i>P. roqueforti</i> IBT18687)	5.0	[32]
产黄青霉 (<i>P. chrysogenum</i> ITEM5151)	3.75	[32]
产黄青霉 (<i>P. chrysogenum</i> ITEM5152)	5.0	[32]
黑曲霉 (<i>A. niger</i> ITEM5132)	7.5	[32]
黄曲霉 (<i>A. flavus</i> FTDC3226)	7.5	[32]
土曲霉 (<i>A. terreus</i> ITEM5136)	7.5	[32]

2 苯乳酸与其他抑菌剂协同抑菌

近年来,为了增强 PLA 的生产效率及降低使用成本,大量研究者将 PLA 协同其他物质处理微生物,发现其抑菌效果显著增强,同时还对其协同杀菌机理进行了研究。

2.1 苯乳酸与微酸性电解水协同抑菌

微酸性电解水 (Slightly acid electrolyzed water, SAEW) 是一种广谱抗菌剂,具有安全、便利、成本低和环境友好等优点。研究表明,使用低浓度的 PLA 协同 SAEW 处理与使用高浓度 PLA 的灭菌效果相当。史云娇^[35]使用质量分数为 1% 的 PLA 与余氯质量浓度为 30 mg/L 的 SAEW 协同处理 5 min,可将粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*) 从初始值 8.23 lg(CFU/mL) 降至 3.01 lg(CFU/mL); 使用质量分数为 2% 的 PLA 处理 *E. faecalis* 5 min,可将其降至 2.98 lg(CFU/mL)。同样地, Liu 等^[36]使用质量分数为 1% 的 PLA 与余氯质量浓度为 30 mg/L 的 SAEW 协同处理 5 min 后,产酸克雷伯氏菌 (*Klebsiella oxytoca*) 游离细胞由初始值约 8 lg(CFU/mL) 降至 1.4 lg(CFU/mL) 以下。此外, Liu 等^[36]研究了 PLA 协同 SAEW 对 *K. oxytoca* 生物被膜的失活作用,经质量分数为 1% 的 PLA 和余氯浓度为 30 mg/L 的 SAEW 单独处理 20 min 后, *K. oxytoca* 生物被膜中的细胞数量分别降低了 1.4 和 0.9 个对数值,而经二者协同处理 20 min 后约降低了 4.5 个对数值。以上结果表明,二者协同的抑菌机制可能是 PLA 破坏细胞壁后, SAEW 与细胞膜上物质发生了反应,引起质壁分离、细胞膜通透性增加,致使细胞内容物流出,最终导致菌体死亡。在今后的研究中,还应开展 PLA 和 SAEW 在肉制品、果蔬等食品杀菌保鲜中的应用研究。

2.2 苯乳酸与醋酸协同抑菌

研究证实, PLA 协同醋酸处理可以显著抑制大多数食源性致病菌和腐败菌的活性^[37]。宁亚维等^[28]研究发现, PLA 协同醋酸处理可以有效失活 *L. monocytogenes* 和 *E. coli*。将 PLA (0.562 5 mg/mL) 和醋酸 (0.875 mg/mL) 单独或协同处理 *L. monocytogenes* 24 h,结果表明,协同处理组的活菌数与单独处理组相比均降低了 2 lg(CFU/mL) 以上,在 *E. coli* 中也发现了类似的现象。将 PLA (0.312 5 mg/mL) 与醋酸 (0.25 mg/mL) 单独或协同处理 *E. coli* 24 h,结果表明,协同处理组的活菌数比单一抑菌剂处理组的活菌数降低了 2 lg(CFU/mL) 以上。笔者推测二者协同的抑菌机制可能是通过改变细胞膜的通透性、破坏细胞膜完整性,从而进入细胞与 DNA 发生相互作用,最终导致细胞死亡。关于 PLA 协同醋酸处理对食品表面微生物的杀灭作用及品质影响还有待深入研究。

2.3 苯乳酸与乳酸链球菌素协同抑菌

Nisin 是由乳酸菌的某些菌株产生的一种天然的抗菌肽,可以有效地抑制革兰氏阳性菌的活性,但对革兰氏阴性菌、酵母和霉菌等的抑制作用较弱^[38]。Liu 等^[26]通过对 *S. xylosus* 和藤黄微球菌 (*Micrococcus luteus*) 进行抑菌圈实验,研究了 PLA 与 Nisin 的协同抗菌活性。结果表明,协同处理组的抑菌圈直径达到了 13.72 mm,而 PLA 和 Nisin 单独处理组的抑菌圈直径分别为 11.59 mm 和 10.88 mm。笔者推测 PLA 与 Nisin 协同抑菌机制可能是作用位点不同, PLA 通过作用于细胞隔膜,进而影响细胞的正常分裂; Nisin 通过作用于细胞膜,进而影响细胞膜的通透性,最终使细胞失活。今后应对 PLA 协同 Nisin 失活食品中的有害微生物进行深入研究。

3 苯乳酸在食品保鲜中的应用

乳酸菌是公认安全 (Generally recognized as safety, GRAS) 的微生物,广泛用于食品的防腐保鲜,而 PLA 作为乳酸菌的代谢产物,对人和动物细胞同样无毒、无害^[39],因此 PLA 被广泛应用于肉制品、果蔬、水产品等的保鲜。研究证实, PLA 可以有效抑制微生物的生长繁殖,并延长食品的货架期。

3.1 苯乳酸在肉制品保鲜中的应用

肉制品因含有丰富的蛋白质和微量元素而深受消费者的喜爱,但其水分含量过高,容易发生微生物污染,造成品质劣变,甚至引发食源性疾病^[40]。邓林等^[41]研究发现,将鲜牛肉浸泡于体积分数为 3% 的苯乳酸发酵液 5 min 后于 25 °C 下密封保存,其贮存时间可达 10 d 以上,而对照组的鲜牛肉在贮藏 6 d 时已发生变质。研究证实,将 PLA 与其他抑菌剂协同处理肉制品,可以有效地延长肉制品的货架期。刘绍鹏等^[42]将鸡肉浸泡于质量分数为 0.4% 的 PLA 和质量分数为 3% 的大蒜及生姜精油溶液中 15 s,然后于 4 °C 下储存 12 d,不仅可使鸡肉的货架期相对于对照组延长了 4 d,且无腐败气味出现。以上结果表明, PLA 单独或联合其他抑菌剂处理可以有效灭活肉制品中的微生物,从而延长肉制品的货架期。

3.2 苯乳酸在果蔬保鲜中的应用

果蔬中富含多种营养成分,对人体健康十分有益,但微生物污染和酶促褐变是果蔬保鲜中的两大难题^[43]。在实际应用中,通常将 PLA 与其他抑菌剂协同使用,以增强抑菌效果。Liu 等^[26]将草莓在质量浓度均为 0.1 g/L 的 PLA 和乳酸链球菌素 (Nisin) 的混合溶液中浸泡 30 s,并于 25 °C 下贮藏 6 d,结果表明,与对照组相比, PLA 和 Nisin 处理组样品的腐烂率下降了约 30%。此外,有学者将 PLA 制成可食膜用于

果蔬的保鲜。赵珊等^[44]将质量浓度为 6 g/L 的 PLA、5 g/L 的甘油、5 g/L 的黄原胶和 2 g/L 的海藻酸钠制成保鲜剂,并涂膜于甜樱桃表面,在低温条件下贮藏。结果表明,贮藏 40 d 后,未涂膜组样品的腐烂率和质量损失率分别为 18.01%和 5.27%,而涂膜处理组样品的腐烂率和质量损失率分别为 7.26%和 2.79%。

此外,PLA 可以有效地抑制多酚氧化酶的活性,从而抑制果蔬的酶促褐变。Ren 等^[45]将鲜切双孢蘑菇分别浸泡于浓度为 0.5、3.0 mmol/L 的 PLA 溶液中 15 min,自然干燥后于 4 °C 下储存 12 d,发现与蒸馏水处理组样品相比,PLA 处理组的多酚氧化酶活性降低了 12.7%。国内外学者对 PLA 抑制酶促褐变的机制进行了大量研究,目前普遍认为 PLA 结构中的苯基会与多酚氧化酶中的氨基酸残基形成 CH- π ,并相互作用,且会与多酚氧化酶中的铜原子发生螯合作用,从而有效地抑制其活性,进而抑制果蔬的酶促褐变^[45]。以上研究表明,PLA 可以有效地抑制果蔬中的微生物污染和酶促褐变,进而延长果蔬的货架期。

3.3 苯乳酸在水产品保鲜中的应用

水产品的蛋白质和水分含量较高,在运输、加工和销售等过程中极易受到微生物的污染^[46]。Fang 等^[47]将接种了副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)的鲜切三文鱼片于 6.4 mg/mL 的 PLA 溶液中浸泡 20 min。结果表明,PLA 对 *V. parahaemolyticus* 的灭活率高达 95.72%。此外,PLA 协同其他抑菌剂对水产品也有很好的保鲜效果。于晓倩等^[48]将新鲜鲟鱼片浸泡在质量浓度为 0.1 mg/mL 的壳聚糖-明胶-PLA 成膜液中 20 min,并于 4 °C 下储存 10 d,结果表明,在储存第 6 天时对照组样品的菌落总数高达 8.70 lg(CFU/g),而协同处理组样品的菌落总数仅为 5.16 lg(CFU/g),且对照组鲟鱼片中的挥发性盐基氮含量达到了 277.6 mg/kg,而壳聚糖-明胶-PLA 协同处理组的挥发性盐基氮含量仅为 144.7 mg/kg,且这种趋势一直延续至第 10 天。以上结果表明,PLA 能够有效抑制水产品表面微生物的生长,并延长产品的货架期。

3.4 苯乳酸在其他食品保鲜中的应用

PLA 不仅可以延长肉制品、果蔬、水产品的保质期,也可以应用于其他食品的保鲜。Liu 等^[26]在接种了木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*)的巴氏杀菌牛奶中单独或联合添加质量浓度为 0.1 mg/L 的 PLA 和 Nisin 溶液,并于 4 °C 下储存 9 h。结果表明,与未处理组相比,Nisin 单独处理组样品中的 *S. xylosus* 数量未显著降低,而 Nisin+PLA 协同处理组和 PLA 单独处理组样品中 *S. xylosus* 数量分别降低了约 2 lg(CFU/mL)和 1 lg(CFU/mL)。以上结果表明,Nisin 与 PLA 协同使用可以有效地灭活牛奶中的微生物。此外,Bustos 等^[49]研究发现,将质量分数为 0.3% 的丙酸钙和乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici* CRL

1753)发酵液联用,作为制作面包的生物保鲜剂,并在面包制作完成后于 30 °C 条件下储存 18 d。结果表明,在 18 d 的储存期中单独使用丙酸钙处理的面包约有 70%发生了霉变,而协同处理组面包未出现霉菌。综上所述,PLA 在食品保鲜中的应用广泛,且有很大的应用前景。

4 结语

PLA 对细菌和真菌显示出广谱的抑菌活性,在食品保鲜领域具有巨大的应用前景。目前,大多数菌株自身合成 PLA 的能力较弱,导致 PLA 的产量较低,生产成本较高,制约了它在食品领域的实际应用。在今后的工作中,应综合运用结构生物学、酶工程和代谢工程等策略,来提高微生物合成 PLA 的转化率和产量。同时,应对 PLA 在人体的代谢模式进行安全性评价,从而不断推动 PLA 在食品工业中的应用。

参考文献:

- [1] EL-SABER B G, HUSSEIN D E, ALGAMMAL A M, et al. Application of Natural Antimicrobials in Food Preservation: Recent Views[J]. Food Control, 2021, 126: 108066.
- [2] STONEHOUSE G G, EVANS J A. The Use of Supercooling for Fresh Foods: A Review[J]. Journal of Food Engineering, 2015, 148: 74-79.
- [3] 邓廷山, 武国干, 孙宇, 等. 苯乳酸生物合成的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2020, 40(9): 62-68.
DENG Ting-shan, WU Guo-gan, SUN Yu, et al. Advances in Biosynthesis of Phenyllactic Acid[J]. China Biotechnology, 2020, 40(9): 62-68.
- [4] SINGH V P. Recent Approaches in Food Bio-Preservation - a Review[J]. Open Veterinary Journal, 2018, 8(1): 104-111.
- [5] ZHANG Jian-ming, ZHANG Cheng-cheng, LEI Peng, et al. Isolation, Purification, Identification, and Discovery of the Antibacterial Mechanism of Ld[J]. Food Control, 2022, 132: 108490.
- [6] QIAO Nan-zhen, YU Lei-lei, ZHANG Cheng-cheng, et al. A Comparison of the Inhibitory Activities of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Against *Penicillium Expansum* and an Analysis of Potential Antifungal Metabolites[J]. FEMS Microbiology Letters, 2020, 367(18): 1-10.
- [7] MAO Yin, ZHANG Xiao-juan, XU Zheng-hong. Identification of Antibacterial Substances of *Lactobacillus Plantarum* DY-6 for Bacteriostatic Action[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(6): 2854-2863.

- [8] LIU Fang, SUN Zhi-lan, WANG Feng-ting, et al. Inhibition of Biofilm Formation and Exopolysaccharide Synthesis of *Enterococcus Faecalis* by Phenyllactic Acid[J]. *Food Microbiology*, 2020, 86: 103344.
- [9] CORTÉS-ZAVALA O, LÓPEZ-MALO A, HERNÁNDEZ-MENDOZA A, et al. Antifungal Activity of Lactobacilli and Its Relationship with 3-Phenyllactic Acid Production[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 173: 30-35.
- [10] SORRENTINO E, TREMONTE P, SUCCI M, et al. Detection of Antilisterial Activity of 3-Phenyllactic Acid Using *Listeria Innocua* as a Model[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1373.
- [11] LIU Fang, WANG Feng-ting, DU Li-hui, et al. Antibacterial and Antibiofilm Activity of Phenyllactic Acid Against *Enterobacter Cloacae*[J]. *Food Control*, 2018, 84: 442-448.
- [12] ZHU Yi-bo, WANG Ying, XU J, et al. Enantioselective Biosynthesis of L-Phenyllactic Acid by Whole Cells of Recombinant *Escherichia Coli*[J]. *Molecules*, 2017, 22(11): 1966.
- [13] DRAANEN N A, HENGST S. The Conversion of L-Phenylalanine to (S)-2-Hydroxy-3-Phenylpropanoic Acid: A Simple, Visual Example of a Stereospecific S(N)2 Reaction[J]. *Journal of Chemical Education*, 2010, 87(6): 623-624.
- [14] WU Wen-yu, DENG Gang, LIU Chen-jian, et al. Optimization and Multiomic Basis of Phenyllactic Acid Overproduction by *Lactobacillus Plantarum*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(6): 1741-1749.
- [15] JUNG S, HWANG H, LEE J H. Effect of Lactic Acid Bacteria on Phenyllactic Acid Production in Kimchi[J]. *Food Control*, 2019, 106: 106701.
- [16] ZHENG Zhao-juan, MA Cui-qing, GAO Chao, et al. Efficient Conversion of Phenylpyruvic Acid to Phenyllactic Acid by Using Whole Cells of *Bacillus Coagulans* SDM[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19030.
- [17] DIEULEVEUX V, VAN DER PYL D, CHATAUD J, et al. Purification and Characterization of Anti-*Listeria* Compounds Produced by *Geotrichum Candidum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(2): 800-803.
- [18] VALERIO F, LAVERMICOCCA P, PASCALE M, et al. Production of Phenyllactic Acid by Lactic Acid Bacteria: An Approach to the Selection of Strains Contributing to Food Quality and Preservation[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 233(2): 289-295.
- [19] 王海宽, 高雪芹, 张淑丽, 等. 底物对凝结芽孢杆菌 TQ33 产苯乳酸的影响[J]. *天津科技大学学报*, 2014, 29(6): 11-15.
WANG Hai-kuan, GAO Xue-qin, ZHANG Shu-li, et al. Effect of Substrates on the Production of Phenyllactic Acid of *Bacillus Coagulans* TQ33[J]. *Journal of Tianjin University of Science & Technology*, 2014, 29(6): 11-15.
- [20] VALERIO F, DI BIASE M, LATTANZIO V M T, et al. Improvement of the Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria by Addition to the Growth Medium of Phenylpyruvic Acid, a Precursor of Phenyllactic Acid[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 222: 1-7.
- [21] LI Xing-feng, JIANG Bo, PAN Bei-lei. Biotransformation of Phenylpyruvic Acid to Phenyllactic Acid by Growing and Resting Cells of a *Lactobacillus* Sp[J]. *Biotechnology Letters*, 2007, 29(4): 593-597.
- [22] LUO Xi, ZHANG Ying-ying, YIN Long-fei, et al. Efficient Synthesis of D-Phenyllactic Acid by a Whole-Cell Biocatalyst Co-Expressing Glucose Dehydrogenase and a Novel D-Lactate Dehydrogenase from *Lactobacillus Rossiae*[J]. *3 Biotech*, 2020, 10(1): 14.
- [23] 倪正, 关今韬, 沈绍传, 等. 苯乳酸的微生物合成及分离研究进展[J]. *化工进展*, 2016, 35(11): 3627-3633.
NI Zheng, GUAN Jin-tao, SHEN Shao-chuan, et al. An Overview of Recent Advances in Microbial Synthesis and Separation of Phenyllactic Acid[J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2016, 35(11): 3627-3633.
- [24] 郭明, 胡昌华. 生物转化——从全细胞催化到代谢工程[J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(4): 110-115.
GUO Ming, HU Chang-hua. Bioconversion — From Whole Cell Biocatalysis to Metabolic Engineering[J]. *China Biotechnology*, 2010, 30(4): 110-115.
- [25] 王秀婷. 重组大肠杆菌全细胞转化 L-苯丙氨酸合成苯乳酸的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 45-49.
WANG Xiu-ting. Study of Biosynthesis of Phenyllactic Acid by Recombinant *E. coli* Whole-Cell Biotransformation of L-Phenylalanine[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018: 45-49.
- [26] LIU Jia-heng, HUANG Rong-rong, SONG Qian-qian, et al. Combinational Antibacterial Activity of Nisin and 3-Phenyllactic Acid and Their Co-Production by Engineered *Lactococcus Lactis*[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 9: 612105.
- [27] WANG Feng-ting, WU Hai-hong, JIN Pan-pan, et al. Antimicrobial Activity of Phenyllactic Acid Against

- Enterococcus Faecalis* and Its Effect on Cell Membrane[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2018, 15(10): 645-652.
- [28] 宁亚维, 付浴男, 何建卓, 等. 苯乳酸和醋酸联用对单核细胞增生李斯特菌的协同抑菌机理[J]. *食品科学*, 2020, 41(23): 70-76.
NING Ya-wei, FU Yu-nan, HE Jian-zhuo, et al. Synergistic Antibacterial Mechanism of Phenyllactic Acid Combined with Acetic Acid Against *Listeria Monocytogenes*[J]. *Food Science*, 2020, 41(23): 70-76.
- [29] 宁亚维, 付浴男, 何建卓, 等. 苯乳酸和醋酸联用对大肠杆菌的抑菌机理[J]. *食品科学*, 2021, 42(3): 77-84.
NING Ya-wei, FU Yu-nan, HE Jian-zhuo, et al. Antibacterial Mechanism of Phenyllactic Acid Combined with Acetic Acid on *Escherichia Coli*[J]. *Food Science*, 2021, 42(3): 77-84.
- [30] NING Ya-wei, FU Yu-nan, HOU Lin-lin, et al. ITRAQ-Based Quantitative Proteomic Analysis of Synergistic Antibacterial Mechanism of Phenyllactic Acid and Lactic Acid Against *Bacillus Cereus*[J]. *Food Research International*, 2021, 139: 109562.
- [31] 刘韵昕. 苯乳酸的抑菌活性及抑菌机理研究[D]. 临汾: 山西师范大学, 2017: 9-17.
LIU Yun-xin. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Phenyllactic Acid[D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2017: 9-17.
- [32] LAVERMICOCCA P, VALERIO F, VISCONTI A. Antifungal Activity of Phenyllactic Acid Against Molds Isolated from Bakery Products[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(1): 634-640.
- [33] GARCIA-RUBIO R, OLIVEIRA H C, RIVERA J, et al. The Fungal Cell Wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* Species[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 10: 2993.
- [34] NING Ya-wei, YAN Ai-hong, YANG Kun, et al. Antibacterial Activity of Phenyllactic Acid Against *Listeria Monocytogenes* and *Escherichia Coli* by Dual Mechanisms[J]. *Food Chemistry*, 2017, 228: 533-540.
- [35] 史云娇. 藏羊肉优势腐败菌的分离、成膜特性及其控制技术研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2019: 40-55.
SHI Yun-jiao. Study on Isolation, Film Formation and Control Technology of Dominant Putrid Bacteria in Tibetan Mutton[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2019: 40-55.
- [36] LIU Fang, TANG Chun, WANG De-bao, et al. The Synergistic Effects of Phenyllactic Acid and Slightly Acid Electrolyzed Water to Effectively Inactivate *Klebsiella Oxytoca* Planktonic and Biofilm Cells[J]. *Food Control*, 2021, 125: 107804.
- [37] 宁亚维, 侯琳琳, 于同月, 等. 中国食醋中苯乳酸的检测、鉴定及其与醋酸的联合抑菌作用[J]. *食品科学*, 2021, 42(12): 233-241.
NING Ya-wei, HOU Lin-lin, YU Tong-yue, et al. Detection and Identification of Phenyllactic Acid in Chinese Vinegar and Its Combined Bacteriostatic Effect with Acetic Acid[J]. *Food Science*, 2021, 42(12): 233-241.
- [38] SANTOS J C P, SOUSA R C S, OTONI C G, et al. Nisin and other Antimicrobial Peptides: Production, Mechanisms of Action, and Application in Active Food Packaging[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2018, 48: 179-194.
- [39] 郑维君. 食品中苯乳酸的研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(7): 217-220.
ZHENG Wei-jun. Study on Phenyllactic Acid in Food[J]. *Food Research and Development*, 2017, 38(7): 217-220.
- [40] MUNEKATA P E S, ROCCHETTI G, PATEIRO M, et al. Addition of Plant Extracts to Meat and Meat Products to Extend Shelf-Life and Health-Promoting Attributes: An Overview[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2020, 31: 81-87.
- [41] 邓林, 刘延岭. 苯乳酸菌发酵液在牛肉保鲜中的应用研究[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(2): 24-28.
DENG Lin, LIU Yan-ling. Study on the Application of Lactobacillus Fermentation Broth in Beef Preservation[J]. *Food and Fermentation Sciences & Technology*, 2017, 53(2): 24-28.
- [42] 刘绍鹏, 曹秀娟, 贺峰. 苯乳酸复合保鲜剂在鸡肉保鲜中的应用[J]. *肉类工业*, 2019(6): 46-50.
LIU Shao-peng, CAO Xiu-juan, HE Feng. Application of Phenyllactic Acid Compound Preservative in Chicken Preservation[J]. *Meat Industry*, 2019(6): 46-50.
- [43] AMIT S K, UDDIN M M, RAHMAN R, et al. A Review on Mechanisms and Commercial Aspects of Food Preservation and Processing[J]. *Agriculture & Food Security*, 2017, 6(1): 51.
- [44] 赵珊, 贡汉生, 田亚晨, 等. 苯乳酸-海藻酸钠涂膜保鲜剂的制备及其在甜樱桃保鲜中的应用[J]. *食品科学*, 2018, 39(11): 221-226.
ZHAO Shan, GONG Han-sheng, TIAN Ya-chen, et al. Preparation of PLA/SA Composite Coating and Its Application in Quality Preservation of Sweet Cherries[J]. *Food Science*, 2018, 39(11): 221-226.
- [45] REN Hai-wei, DU Na-na, NIU Xiao-qian, et al. Inhibitory Effects of L-3-Phenyllactic Acid on the Activity of

- Mushroom Polyphenol Oxidase[J]. Food Science and Technology, 2021, 41(S1): 343-351.
- [46] DEHGHANI S, HOSSEINI S V, REGENSTEIN J M. Edible Films and Coatings in Seafood Preservation: A Review[J]. Food Chemistry, 2018, 240: 505-513.
- [47] FANG Mei-mei, WANG Rui-fei, AGYEKUMWAA A K, et al. Antibacterial Effect of Phenylactic Acid Against *Vibrio Parahaemolyticus* and Its Application on Raw Salmon Fillets[J]. LWT, 2022, 154: 112586.
- [48] 于晓倩, 张成林, 李晴, 等. 苯乳酸纳米粒保鲜膜对冷藏鲟鱼保鲜效果研究[J]. 包装工程, 2020, 41(9): 17-22.
- YU Xiao-qian, ZHANG Cheng-lin, LI Qing, et al. Effect of G-C-NanoPLA Films on the Preservation of Froze Sturgeon[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(9): 17-22.
- [49] BUSTOS A Y, FONT DE VALDEZ G, GEREZ C L. Optimization of Phenylactic Acid Production by *Pediococcus Acidilactici* CRL 1753. Application of the Formulated Bio-Preserver Culture in Bread[J]. Biological Control, 2018, 123: 137-143.

责任编辑: 彭颀