

ε-聚赖氨酸抑菌性能的研究进展

白森萌, 扶教龙*, 王月, 庄孝东, 陈佳佳, 王桃云, 纪丽莲

苏州科技大学化学与生命科学学院, 江苏 苏州 215009

白森萌, 扶教龙, 王月, 庄孝东, 陈佳佳, 王桃云, 纪丽莲. ε-聚赖氨酸抑菌性能的研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(3): 1310-1323.

BAI Senmeng, FU Jiaolong, WANG Yue, ZHUANG Xiaodong, CHEN Jiajia, WANG Taoyun, JI Lilian. Antibacterial activity of ε-poly-L-lysine: a review[J]. Microbiology China, 2023, 50(3): 1310-1323.

摘要: ε-聚赖氨酸(ε-poly-L-lysine, ε-PL)是抑菌谱广泛的天然抑菌剂, 由通过 α-羧基与 ε-氨基连接的 25–35 个赖氨酸聚合而成。ε-PL 主要由白色链霉菌发酵生产所得, 比化学生产更加高效和环保。ε-PL 具有水溶性好、耐热和对环境无污染等特点, 具有良好的应用前景。本文从发酵生产入手, 着重综述了 ε-PL 对各种微生物抑菌性能、抑菌机制及抑菌机制模型的研究进展。推测 ε-PL 是通过对细胞膜的破坏而改变细胞的通透性, 或者作用到细胞内引起活性氧(reactive oxygen species, ROS)胁迫而影响调节基因的表达, 从而起到抑菌作用。根据这 2 种抑菌方式分别建立了相应的抑菌模型, 即毡毯模型和 ROS 诱导细胞凋亡模型。本文可为 ε-PL 对微生物抑制性能的深入研究提供依据, 同时也提出了 ε-PL 抑菌机制的新模型, 为扩展 ε-PL 应用领域提供了一定的参考。

关键词: ε-聚赖氨酸; 天然抑菌剂; 抑菌机理; 抑菌模型

Antibacterial activity of ε-poly-L-lysine: a review

BAI Senmeng, FU Jiaolong*, WANG Yue, ZHUANG Xiaodong, CHEN Jiajia, WANG Taoyun, JI Lilian

School of Chemistry and Life Sciences, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, Jiangsu, China

Abstract: ε-poly-L-lysine (ε-PL) is a natural antibacterial agent with a wide range of bacteriostatic spectrum. It is synthesized by the polymerization of 25 to 35 lysines linked by α-carboxyl group and ε-amino group. ε-PL is mainly produced by the fermentation of

资助项目: 国家自然科学基金(31770903); 苏州科技大学科研基金(XKZ201411)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31770903) and the Research Fund of Suzhou University of Science and Technology (XKZ201411).

*Corresponding author. E-mail: jlfu999@mail.usts.edu.cn

Received: 2022-05-29; Accepted: 2022-07-22; Published online: 2022-09-16

Streptomyces albulus, which is more efficient and environmentally friendly than chemical production. ϵ -PL has many excellent properties, such as good water solubility, heat resistance, edibility and nontoxicity to the environment, and has good application prospects. In this paper, the research progress of ϵ -PL on the bacteriostatic properties, bacteriostatic mechanisms, and bacteriostatic mechanism models of various microorganisms were reviewed. It was speculated that ϵ -PL may affect the expression of regulatory genes by destroying the cell membrane, changing the permeability of cells, or acting on the cells to cause the stress of reactive oxygen (ROS), so as to play an antibacterial role. According to these two bacteriostatic methods, corresponding bacteriostatic models were established, respectively, namely the carpet model and the ROS-induced apoptosis model. This study provides references for the further study of ϵ -PL on microbial inhibition, and also puts forward a new model of ϵ -PL antibacterial mechanism, thus providing certain references for expanding the application field of ϵ -PL.

Keywords: ϵ -poly-L-lysine; natural antibacterial agent; antibacterial mechanism; antibacterial model

ϵ -聚赖氨酸是一种生物聚合物, 主要由 25–35 个 L-赖氨酸通过 α -羧基和 ϵ -氨基形成的酰胺键连接而成, 固体 ϵ -聚赖氨酸主要为浅黄色粉末, 吸湿性较强, 易溶于水, 微溶于乙醇, 不溶于结构复杂的有机溶剂, 具有良好的热稳定性, 但与金属离子共同作用会影响其活性^[1]。科学界普遍认可的合成途径是: ϵ -聚赖氨酸产生菌通过二氨基庚二酸途径合成前体 L-赖氨酸, 并通过该前体继续合成 ϵ -聚赖氨酸^[2]。由于其具有广泛的抑菌能力, 对环境不会造成污染, 以及成本低、可连续生产和安全性高等特点, 常用作食品领域中的防腐剂及医药领域中的抗生素和酶稳定剂等。

目前, ϵ -聚赖氨酸在日本已经有了工业化生产, 主要用作食品添加剂, 我国也在 2014 年将 ϵ -聚赖氨酸列为食品添加剂新品种^[3]。大多应用的是 ϵ -聚赖氨酸盐酸盐^[4]对水果、蔬菜和肉制品的保鲜作用。过去对于 ϵ -聚赖氨酸的研究主要在于如何提高 ϵ -聚赖氨酸的产量及其下游工艺上^[5], 对 ϵ -聚赖氨酸的抑菌性并无过多的深入研究。目前主要研究方向是与其他抑菌剂联合抑菌来提

高 ϵ -聚赖氨酸的抑菌能力, 这种做法不仅使得 ϵ -聚赖氨酸的抑菌能力提高, 并且使其抑菌谱更为广泛, 在食品、医药及环境污染处理方面有着更为广阔的前景。研究发现, ϵ -聚赖氨酸抑菌机制为: 原核和真核微生物表面一般带有一定量的负电荷, 而 ϵ -聚赖氨酸在细胞生长环境中一般为正电荷, 因此 ϵ -聚赖氨酸很容易与微生物细胞膜发生结合吸附, 进而破坏膜结构的完整性, 最终导致细胞对底物失去选择性而自溶死亡^[6]。此外, ϵ -聚赖氨酸还会通过渗入细胞内与核糖体结合而抑制酶与蛋白的合成, 甚至还能通过作用于电子传递链上而导致微生物的呼吸作用受到抑制^[1]。

为了能够全面、深入地了解 ϵ -聚赖氨酸的抑菌作用, 本文综述 ϵ -聚赖氨酸对各种微生物抑菌性能、机制及抑菌模型的研究进展。在现有的抑菌模型基础上, 我们提出了一种可能的新型抑制模型。此外, 为了解 ϵ -聚赖氨酸分子特点与其抑菌性能之间的关系, 本文也简要综述了微生物发酵生产 ϵ -聚赖氨酸状况, 为研究具有不同分子大小的 ϵ -聚赖氨酸发酵生产及其抑菌性能之间的联系提供参考, 将来可为 ϵ -聚赖氨酸的特定应用

提供定制化生产。

1 ϵ -聚赖氨酸的生物合成

ϵ -聚赖氨酸是 1977 年由学者^[7]在筛选 dragendorff-positive (DP) 化合物时首次发现, 随即开始了对 ϵ -聚赖氨酸更加深入的研究。目前, 大部分 ϵ -聚赖氨酸是从白色链霉菌中提取得到的。研究表明^[8-12], 一些特定的微生物也可分泌 ϵ -聚赖氨酸, 但其产量较白色链霉菌低。

由于过去缺乏高效的手段, 无法大量筛选 ϵ -聚赖氨酸产生菌, 导致无法大规模培养 ϵ -聚赖氨酸产生菌。随着科技的发展, 研究人员利用 ϵ -聚赖氨酸是聚阳离子多肽且呈酸性的特点找到了一个快速筛选该菌种的方法, 即基础酸性染料法, 将所有菌种培养在同样带正电荷的琼脂中, 并用碱性染料(如甲基蓝), 利用静电斥力在 ϵ -聚赖氨酸产生菌周围形成一个透明圈, 从而达到分离的目的^[13]。通过使用这种方法, 经生理生化试验和 16S rRNA 基因序列分析鉴定, 王昭君等^[14]发现除白色链霉菌外还有多种菌种可以产生 ϵ -聚赖氨酸, 如解淀粉芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌等。虽然染料法筛选 ϵ -聚赖氨酸产生菌十分明显且准确, 但甲基蓝等染料对 ϵ -聚赖氨酸产生菌的毒性会影响其产量^[2], 所以, 研究更加合适的方法来分离 ϵ -聚赖氨酸产生菌依旧是需要关注的问题。

1.1 ϵ -聚赖氨酸的微生物育种

由于从自然界中筛选的 ϵ -聚赖氨酸产生菌产量较少且培养周期长, 很难满足应用需求, 因此, 研究人员对 ϵ -聚赖氨酸产生菌进行了大量的育种工作, 希望可以提高 ϵ -聚赖氨酸的产量。目前, 对于菌种分泌 ϵ -聚赖氨酸的原理尚在研究之中, 所以育种方式大多采用诱变育种^[15]。尤丽新等^[16]使用硫酸二乙酯对 ϵ -聚赖氨酸进行化学诱变, 获得了一株高产 ϵ -聚赖氨酸的菌株

DES-27, 其较未诱变前的产量提升 38.1%。在核糖体工程和基因工程的发展帮助下, ϵ -聚赖氨酸的产量又有了进一步的提升。吴光耀等^[17]利用核糖体工程育种的方法, 成功使 ϵ -聚赖氨酸补料分批发酵的产量提高到 53.0 g/L; 刘春梅等^[18]利用 genome shuffling 改造技术使 ϵ -聚赖氨酸产生菌产量获得了提升。

1.2 ϵ -聚赖氨酸的发酵生产

目前, 欧美一些国家及韩国、日本等通过发酵培养已经实现了 ϵ -聚赖氨酸的商业化应用。我国仅有几家公司对 ϵ -聚赖氨酸实现了工业化生产。对于 ϵ -聚赖氨酸的发酵生产, 目前所做的研究主要包括利用废弃物制作培养基^[19]及改变发酵方式^[20]提高产量。Shukla 等^[21]利用甘蔗酵母提取物作为培养基培养苏云金芽孢杆菌, 之后通过响应面分析法对培养基进行优化, 得到了 2.38 g/L 的 ϵ -聚赖氨酸。Ren 等^[22]利用甘油、玉米浸泡液和鱼粉作为培养基, 利用人工神经网络优化廉价的碳氮源来培养白色链霉菌, 得到了 35.24 g/L 的产量。此外, 对于发酵方式, 目前大部分工业化生产选用的是补料分批发酵, 并且在此过程中, 研究人员发现 pH 会对 ϵ -聚赖氨酸的产量有很大的影响。Kahar 等^[23]通过使用 pH 控制策略, 即先将 pH 值控制在 5.0 以促进细胞生长, 再将 pH 值调节到 4.0 进行发酵生产 ϵ -聚赖氨酸, 经过 192 h 的分批补料发酵获得了 48.3 g/L 的 ϵ -聚赖氨酸。Wang 等^[24]在补料分批发酵的基础上, 使用多重抗生素和 pH 冲击共同作用进行发酵生产, 得到了 70.3 g/L 的 ϵ -聚赖氨酸, 这也是目前产量最高的发酵生产方法。

1.3 ϵ -聚赖氨酸的生物合成机理

总而言之, 生物聚合物的分子量与其实际应用密切相关^[25]。对于 ϵ -聚赖氨酸来说, 分子量是影响其抑菌活性的重要因素。研究发现, 分子量在 3 600–4 300 Da 之间的 ϵ -聚赖氨酸有着较

好的抑菌性能;当分子量在 1 300 Da 以下时, ϵ -聚赖氨酸并无抑菌活性^[26]。截至目前,大部分菌种分泌的 ϵ -聚赖氨酸的分子量均与最初发现的分子量相同^[25],值得关注的是, *Kitasatospora* sp. PL6-3 分泌了分子量最大的 ϵ -聚赖氨酸,其分子量达到了 5 100 Da^[27]。因此,了解了分子量对 ϵ -聚赖氨酸抑菌性的影响后,可以为我们提供 ϵ -聚赖氨酸合成的新途径,并在基因工程上有针对性地合成特定分子量的 ϵ -聚赖氨酸。

如引言所述, ϵ -聚赖氨酸产生菌通过二氨基庚二酸途径合成前体 L-赖氨酸,具体的合成途径如图 1 所示,但是赖氨酸单体合成 ϵ -聚赖氨酸的机理尚不清楚,因此这也成为目前研究 ϵ -聚赖氨酸的关注点。

对于 ϵ -聚赖氨酸合成机理的研究仍在深入。Kawai 等^[28]在无细胞系统中首次实现了 ϵ -聚赖

氨酸的生物合成,得出 ϵ -聚赖氨酸在细胞膜合成主要依赖于 ATP 这一结论; Yamanaka 等^[29]通过对 ϵ -聚赖氨酸合成酶(Pls)的结构进行分析,确定了 Pls 为 ϵ -聚赖氨酸合成途径中的关键限速酶之一; Purev 等^[30-31]发现 Pls 不只存在于白色链霉菌中,一些真菌和棒状放线菌中也含有 Pls,尽管其氨基酸序列相似性很低,但这些 Pls 都含有十分相似的结构域。

2 ϵ -聚赖氨酸抑菌性能和机制

ϵ -聚赖氨酸作为食品加工工艺中应用较为广泛的防腐剂,其优势在于对人体无害,摄入后在人体体内即可转化成赖氨酸并且具有广泛的抑菌谱,少量即可达到抑菌效果。魏奇等^[32]对贮藏期间的双孢蘑菇表面生长的假单胞菌使用 ϵ -聚赖氨酸盐酸盐处理,结果表明,在 4 °C 条件

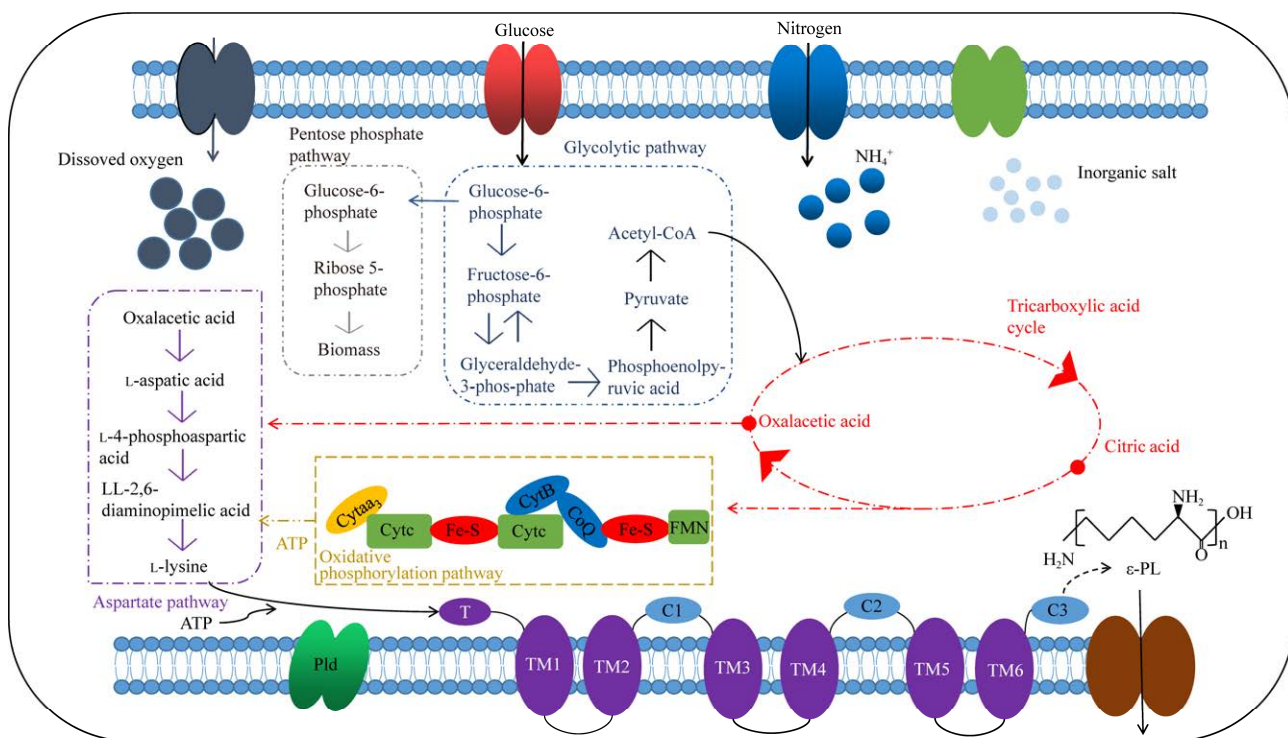


图 1 ϵ -聚赖氨酸的合成途径

Figure 1 The synthetic route of ϵ -poly-L-lysine.

下, 0.3 g/L 的 ϵ -聚赖氨酸盐酸盐溶液即可达到最佳抑菌效果。更有相关研究表明^[5], ϵ -聚赖氨酸与其他抑菌剂联合使用效果更佳, 用 ϵ -聚赖氨酸与乳酸链球菌素协同抑菌, 不仅降低了单个抑菌剂的使用量, 还使得之前单独用 ϵ -聚赖氨酸抑菌或乳酸链球菌素效果不佳的大肠杆菌有了更明显的抑制作用。

由于 ϵ -聚赖氨酸被广泛应用于食品防腐剂中, 所以关于其灭菌机理主要集中在食物中常见的细菌, 如李斯特菌和金黄色葡萄球菌等。 ϵ -聚赖氨酸针对真菌、革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌有着不同的抑菌效果^[33]。

2.1 ϵ -聚赖氨酸对真菌的抑菌机制

由于酿酒酵母可以作为真菌中具有代表性的菌种, 所以薄涛等^[34-35]利用酵母来研究 ϵ -聚赖氨酸对真菌的抑菌机制, 确定了 ϵ -聚赖氨酸对酿酒酵母的抑菌情况。实验表明, ϵ -聚赖氨酸对酵母的抑菌效果取决于其浓度: 当 ϵ -聚赖氨酸的浓度超过 200 $\mu\text{g/mL}$ 时对酵母有着明显的抑制作用; 超过 500 $\mu\text{g/mL}$ 时具有致死作用。随着研究的进一步深入, 研究人员同样发现经过 ϵ -聚赖氨酸处理过的酵母细胞其通透性和疏水性普遍发生了改变; 通过碘化丙啶染色实验发现, 从浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 开始, 酵母细胞的荧光强度明显增加, 浓度达到 500 $\mu\text{g/mL}$ 时荧光强度与对照组相比增加最为显著, 这个结果表明 ϵ -聚赖氨酸对酵母细胞的细胞膜造成了损伤^[34]。此外, 之前有学者报道^[6], 他们认为 ϵ -聚赖氨酸是通过静电作用结合到细胞表面, 由于 ϵ -聚赖氨酸带正电荷, 会与其他阳离子共同竞争细胞膜表面的阳离子结合位点, 从而影响细胞膜的通透性, 随即他们采用外源添加相同浓度的阳离子来进行对照实验, 得到的结论是, 阳离子在达到一定浓度时均会对 ϵ -聚赖氨酸的抑菌效果产生影响。

ϵ -聚赖氨酸不仅对酿酒酵母细胞的细胞膜产生影响, 对细胞壁也有相同的作用。另外, ϵ -

聚赖氨酸对酿酒酵母的抑制作用可能与细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平上升有关。Tan 等^[36]使用二氢鞣酮罗丹明 123 (DHR123)测定了用 ϵ -聚赖氨酸处理后的酿酒酵母细胞的溶解氧水平, 结果表明, ROS 显著上升; 进一步观察发现其细胞壁更加脆弱、通透性增强, 推测 ϵ -聚赖氨酸对酿酒酵母具有多靶点抗菌作用。对于机会性致病菌白色念珠菌, 余甜等^[37]利用微量稀释法获取了 ϵ -聚赖氨酸对其最小的抑菌浓度(512 $\mu\text{g/mL}$)和最小杀菌浓度(1 024 $\mu\text{g/mL}$), 并且测定了白色念珠菌被 ϵ -聚赖氨酸处理前后的 ROS 含量, 结果发现含量呈上升趋势, 并且与 ϵ -聚赖氨酸的浓度呈正相关, 说明 ϵ -聚赖氨酸对白色念珠菌的抑菌作用是通过 ROS 胁迫造成的。

此外, 相关研究^[38-39]表明 ϵ -聚赖氨酸增强了酵母菌的融冻耐受性, 经过 4 次冻融处理后, ϵ -聚赖氨酸处理过的酵母菌活性明显高于对照组, 并且 ϵ -聚赖氨酸在酵母菌表面形成了包膜, 同时抑制了细胞内部的三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA cycle), 使酵母菌在融冻初期的固定阶段时间延长, 从而提高了其耐受性, 进一步表明了 ϵ -聚赖氨酸不仅只作用于细胞膜, 对细胞内部也有一定的影响。在农业方面, 使用 ϵ -聚赖氨酸将有效抑制采摘后真菌对蔬菜、水果的破坏。Shu 等^[40]应用 ϵ -聚赖氨酸对水果进行抑菌实验, 发现 ϵ -聚赖氨酸可以有效抑制烟草赤星病菌等真菌, 并且得到了 500 $\mu\text{g/mL}$ 的 ϵ -聚赖氨酸为其最适抑菌浓度; 同时也观察到该类真菌的膜完整性的损失, 通过荧光定量分析发现了细胞内源活性氧的积累, 引起了脂质的过氧化, 导致了膜损伤。这也证实了 ϵ -聚赖氨酸对抗霉腐病很有应用前景。

在抑制植物病原真菌方面, 目前发现 ϵ -聚赖氨酸在对白叶枯病菌作用时效果最佳。Liu 等^[41]研究发现, 仅 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 ϵ -聚赖氨酸就对白叶

枯病菌有着明显的抑菌效果, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 即可抑制孢子的萌发, 诱导其菌丝形态发生异常; 通过聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 实验发现, 使得农作物受到破坏的环腺苷单磷酸蛋白(cAMP)及依赖性蛋白激酶 a (PKA) 含量明显减少, 推测是由于 ϵ -聚赖氨酸进入细胞内部与 DNA 结合, 影响基因的表达。

除了 ϵ -聚赖氨酸直接对真菌的细胞膜和细胞内部的 DNA 进行攻击达到抑制细菌的效果外, ϵ -聚赖氨酸同样可以与被细菌附着在表面的宿主共同作用来抑制真菌病原体。Dou 等^[42]的研究证实了这一点, 扩张青霉菌是一种采后常见的真菌病原体, 是导致苹果腐烂的主要原因。研究人员^[40]使用 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ϵ -聚赖氨酸达到了抑制的效果, 进一步研究发现 ϵ -聚赖氨酸激活了苹果果实组织中的防御相关酶, 包括多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 和氧化氢酶 (catalase, CAT) 等, 使其活性和基因表达量明显增加; 随后在观察扩张青霉菌时同样发现孢子的细胞壁和细胞膜被破坏, 说明即使在体外发生作用, 其作用部位依然在细胞膜上。

2.2 ϵ -聚赖氨酸对于革兰氏阴性菌的抑菌机制

对于革兰氏阴性菌菌种的选取, 通常选用具有代表性的大肠杆菌。与 ϵ -聚赖氨酸对酵母的抑菌作用相同, 在 0–150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度范围内 ϵ -聚赖氨酸的浓度越高, 则抑菌效果越好。付萍^[43]使用不同浓度的 ϵ -聚赖氨酸后观察大肠杆菌细胞, 发现在浓度依赖范围内, 随着 ϵ -聚赖氨酸的浓度逐渐提升, 大肠杆菌的细胞膜出现越来越明显的粗糙、皱缩, 进一步研究发现 ϵ -聚赖氨酸的抑菌性受阴离子浓度、盐离子浓度及 pH 的影响。以上结论证实, ϵ -聚赖氨酸对细胞造成损伤是通过膜损伤的方式完成的。在膜损伤机制中, 已经得到证实且较为成熟的理论包括桶板模型、毡毯模型和环孔机制模型。然而, ϵ -聚赖氨酸与大肠

杆菌的细胞膜阴离子结合位点的阳离子基团发生竞争, 破坏了囊泡, 在膜上实施了负曲率折叠^[5]。这种膜损伤的方式与毡毯模型十分相似。

目前, 对于 ϵ -聚赖氨酸与其他抑菌素联合抑菌的作用依然是十分热门的话题。Ning 等^[44]利用溶解素 Lysqdv001 与 ϵ -聚赖氨酸联合作用来对副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 进行抑制, 其效果十分显著; 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 和 37 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下溶解素 Lysqdv001 (60 U/mL) 与 ϵ -聚赖氨酸 (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的组合显著降低了菌悬液中的细胞密度, 并且在共同处理时, 菌悬液中副溶血性弧菌的 β -内酰胺酶与 β -半乳糖苷酶的泄漏量明显高于 ϵ -聚赖氨酸或溶解素单独处理时的量; 通过荧光和透射电镜观察发现菌种的细胞膜不仅受到破坏, 细胞形态也发生了改变。因此, 使用 ϵ -聚赖氨酸与其他抑菌素联合抑菌在食品工业领域会有很好的发展前景。

2.3 ϵ -聚赖氨酸对于革兰氏阳性菌的抑菌机制

对于革兰氏阳性菌, 主要选取了几个具有代表性的菌种, 分别为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 及金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)。在相关研究人员^[45-46]对 ϵ -聚赖氨酸与乳酸链球菌素联用来观察枯草芽孢杆菌的实验中发现, 单独加入 ϵ -聚赖氨酸时枯草芽孢杆菌的细胞壁并无太大损伤; 随即, 研究人员又单独加入了乳酸链球菌素, 发现枯草芽孢杆菌的细胞壁明显受到了损伤, 细胞表面出现褶皱, 将 ϵ -聚赖氨酸与乳酸链球菌素联合使用后发现细胞的形态结构受到破坏, 用碘化丙啶做渗透处理后枯草芽孢杆菌的细胞通透性明显增强; 之后, 荧光光谱显示 ϵ -聚赖氨酸与细胞内 DNA 有相互作用, 但乳酸链球菌素却没有, 推测两者联合使用后 ϵ -聚赖氨酸主要作用于细胞内部, 先由乳酸链球菌素破坏枯草芽孢杆菌

的细胞壁。

Hyldgaard 等^[47-48]研究了 ϵ -聚赖氨酸对李斯特菌的抑菌作用,发现效果并不明显,推测是由于革兰氏阳性菌的细胞壁较厚,阻碍了 ϵ -聚赖氨酸对细胞膜的作用。Epand 等^[49]进一步研究发现,李斯特菌的细胞膜富含心磷脂的结构域,并且赖氨酸心磷脂为两性离子,无净负电荷, ϵ -聚赖氨酸是聚阳离子多肽,两者不易结合,导致 ϵ -聚赖氨酸对李斯特菌的抑制效果不佳。

在复合材料做食品包装材料保鲜方面,利用 ϵ -聚赖氨酸制作的纳米纤维对李斯特菌依旧有很好的抑菌效果。Lin 等^[50-51]设计了凝胶-甘油- ϵ -聚赖氨酸纳米纤维,通过静电纺丝溶液和纳米纤维物理性能的共同评价,确定了最佳比例为 25:6:10 (*W:V:W*),并且将该纤维用作牛肉保鲜,发现在 4 °C 的条件下保鲜 10 d 及 12 °C 保鲜 7 d,该纤维均对单核增生的李斯特菌有抑制作用。

与上述 2 种革兰氏阳性菌的情况不同,单独的 ϵ -聚赖氨酸对金黄色葡萄球菌的抑菌效果较好。有学者通过研究 ϵ -聚赖氨酸对巴氏杀菌奶中金黄色葡萄球菌的抑制作用得出结论,400 $\mu\text{g/mL}$ 的 ϵ -聚赖氨酸即可使 89.4% 的细胞膜破损,通过电镜观察发现细胞壁与细胞膜同样被严重破坏^[52-53]。推测其原因可能是 ϵ -聚赖氨酸降低了跨膜电位,导致了钾离子外泄,随后通过夹层结合金黄色葡萄球菌并与其 DNA 相互作用,引起 ROS 诱导凋亡^[43]。

关于 ϵ -聚赖氨酸对革兰氏阳性菌的抑菌机理研究较少,目前还有待进一步研究。

2.4 ϵ -聚赖氨酸对不同微生物的抑菌机制比较

通过对各菌种抑菌情况分析, ϵ -聚赖氨酸的抑菌效果与自身浓度和目标菌种的结构有关。在对酿酒酵母作用时,500 $\mu\text{g/mL}$ 的 ϵ -聚赖氨酸可使酵母细胞死亡;而在对大肠杆菌作用时,150 $\mu\text{g/mL}$ 的 ϵ -聚赖氨酸即可使大肠杆菌

内外膜发生破损,细胞完整性被破坏^[34]。但在对革兰氏阳性菌如枯草芽孢杆菌和李斯特菌作用时其效果并不明显^[47]。单独的 ϵ -聚赖氨酸对枯草芽孢杆菌作用仅会使细胞轻微受损,只有在 ϵ -聚赖氨酸与乳酸链球菌素联合使用时才能破坏细胞结构。相关研究^[2]推测, ϵ -聚赖氨酸对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的抑菌作用有明显的差距,原因是阴性菌的膜表面主要是脂多糖和磷脂,无大量的肽聚糖,所以其机械强度较小;并且 ϵ -聚赖氨酸作为聚阳离子抑菌肽可以与阴性菌表面的二价钙镁离子竞争阴离子活性位点,从而破坏细胞膜结构,更容易进入到细胞内部^[46]。而革兰氏阳性菌膜表面有较厚的肽聚糖层,细胞的机械强度较高,并且没有较多的阴离子结合位点,使得 ϵ -聚赖氨酸对阳性菌的抑菌效果不够明显。

虽然 ϵ -聚赖氨酸对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的抑菌效果有明显的区别,但近年来的研究依然致力于寻找可以使 ϵ -聚赖氨酸对阳性菌及阴性菌均产生抑制作用的方法。Bastarrachea 等^[54-55]通过使用聚丙烯和 ϵ -聚赖氨酸为原料制备出的抗菌塑料成功使其对阳性菌和阴性菌产生抑制效果,利用红外光谱观察发现 ϵ -聚赖氨酸与聚丙烯通过亚胺环偶联实施共价连接,荧光分析表明该抗菌材料将大肠杆菌及李斯特菌的数量降低了 90%。

表 1 为 ϵ -聚赖氨酸对不同菌种的抑菌情况。

3 ϵ -聚赖氨酸抑菌机制的模型

3.1 毡毯模型^[47]

由于 ϵ -聚赖氨酸是通过破坏细胞膜结构实现抑菌效果,王梓源等^[56-57]以大肠杆菌作为研究对象,经过 ϵ -聚赖氨酸处理后的大肠杆菌内外膜电势发生改变,胞内大分子物质如核酸、蛋白质等大量溢出,所以有研究人员认为 ϵ -聚赖氨酸抑菌

表 1 ϵ -聚赖氨酸对不同菌种的抑菌情况Table 1 Inhibitory effect of ϵ -poly-L-lysine on different strains

微生物	最佳抑菌浓度	机制	应用	参考文献
Microorganisms	Optimal inhibitory concentrations ($\mu\text{g/mL}$)	Mechanisms	Applications	References
<i>Agaricus bisporus</i>	300	破坏细胞膜 Damage the cell membrane	延长食品保质期 Extend food shelf life	[32]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	500	破坏细胞膜, ROS 胁迫共同作用 Damage the cell membrane and ROS stress together	作为食品防腐剂 Use for food preservative	[34]
<i>Candida albicans</i>	512	ROS 胁迫 ROS stress	作为临床抗真菌药物 Use for clinical antifungal drug	[37]
<i>Alternaria alternata</i>	500	破坏细胞膜, ROS 胁迫共同作用 Damage the cell membrane and ROS stress together	用于防止水果采后损失 Use for preventing postharvest fruit loss	[40]
<i>A. alternata</i>	100	破坏细胞膜, ROS 胁迫共同作用 Damage the cell membrane and ROS stress together	农业上用作杀菌剂 Use for fungicide in agriculture	[41]
<i>Penicillium expansum</i>	600	破坏细胞膜, 并且激活宿主细胞中防御相关酶活性 Damage the cell membrane and activate defence-related enzymes in host cells	用作食品防腐剂 Use for food preservative	[42]
<i>Escherichia coli</i>	150	破坏细胞膜 Damage the cell membrane	用作抗生素 Use for antibiotics	[43]
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	200	与溶解素 Lysqdv001 共同作用引起 ROS 胁迫 Cooperate with lysin Lysqdv001 and cause ROS stress	用于食品工业中的抑菌剂 Use for bacteriostatic agent in food industry	[44]
<i>Listeria monocytogenes</i>	No data	ϵ -聚赖氨酸对其并无太大影响 No significant effect		[47,49]
<i>Staphylococcus aureus</i>	400	降低跨膜电位导致 K^+ 外泄引起 ROS 胁迫 Lower transmembrane potential leads to K^+ efflux and ROS stress	用于乳制品的杀菌剂 Use for fungicide in dairy products	[53]

机制模型与毡毯模型类似。毡毯模型为抑菌肽抑制细菌的主要模型(图 2)所示, 抑菌肽先铺满整个细胞膜, 并与其结合, 先使磷脂双分子层发生弯曲破损并伴有内含物流出, 从而导致细菌死亡。

为了进一步研究毡毯模型的抑菌过程及现象, 薄涛等^[34]用酿酒酵母作为研究对象, 通过测定碘化丙啶来测定荧光强度确定 ϵ -聚赖氨酸对细胞膜的穿透活性, 并采用微生物黏着碳氢化

合物法测定酿酒酵母细胞的表面疏水性^[58]。结果表明, 经 ϵ -聚赖氨酸处理过后的酿酒酵母细胞其荧光强度和表面疏水性均有明显增加。说明 ϵ -聚赖氨酸对细胞膜造成了损伤, 使其通透性增加。

综合以上研究人员对 ϵ -聚赖氨酸抑菌机理的研究, 我们猜测 ϵ -聚赖氨酸首先以静电形式铺满整个细胞膜, 随后, 类似强力胶, 将细胞膜撕扯使其破损, 造成疏水集团以及疏水蛋白外露, 最终造成细胞死亡。

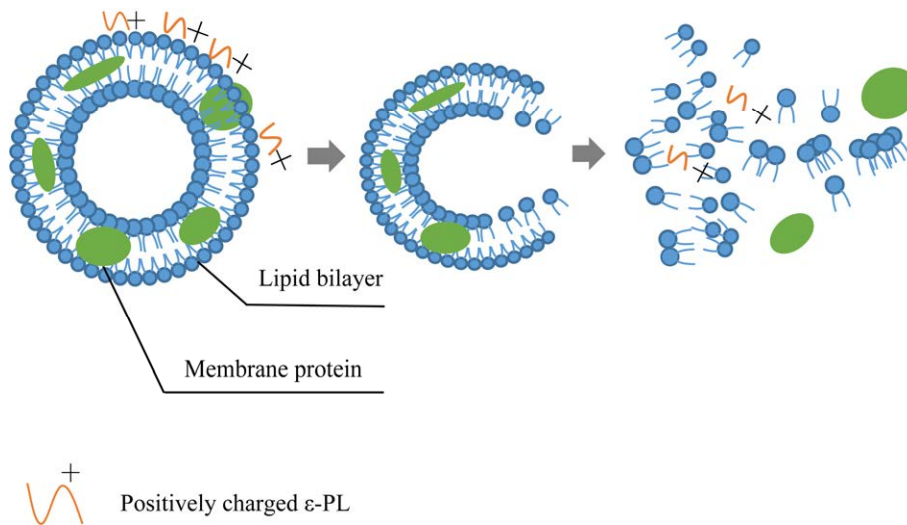


图2 毡毯模型

Figure 2 Model of carpet.

3.2 ROS 诱导细胞凋亡模型^[36]

在研究 ϵ -聚赖氨酸抑菌机制时, Ye 等^[59]通过使用透射电子显微镜观察 ϵ -聚赖氨酸对大肠杆菌细胞的破坏效果, 结果表明大肠杆菌细胞中 ϵ -聚赖氨酸的浓度与活性氧(ROS)呈正相关, 并且在添加了抗氧化剂乙酰半胱氨酸后大肠杆菌的死亡率下降, 说明 ϵ -聚赖氨酸作用于大肠杆菌细胞后会引引起 ROS 胁迫, 影响调节基因的表达(图 3), 从而使细胞死亡。

随着研究人员对抗菌肽的不断研究, 发现有多种抗菌肽的抑菌过程可以用 ROS 诱导细

胞凋亡模型进行解释, 如 PAF26 (一种合成的杀菌六肽)、coprisin (一种多肽)和 melittin (蜂毒肽)等, 其中 Lee 等^[60]使用 coprisin 来研究对白色念珠菌的诱导凋亡, 通过 annexin V-FITC 染色及 TUNEL 检测结果显示, coprisin 参与了细胞凋亡的过程, 且细胞内 ROS 的含量增加, 之后, 通过观察发现该多肽并未破坏真菌质膜。这与之前 Tan 等^[36]使用 ϵ -聚赖氨酸使酵母细胞内 ROS 的积累, 最后导致细胞死亡的情况类似。所以上述几项研究进一步证明了该机制的可行性。

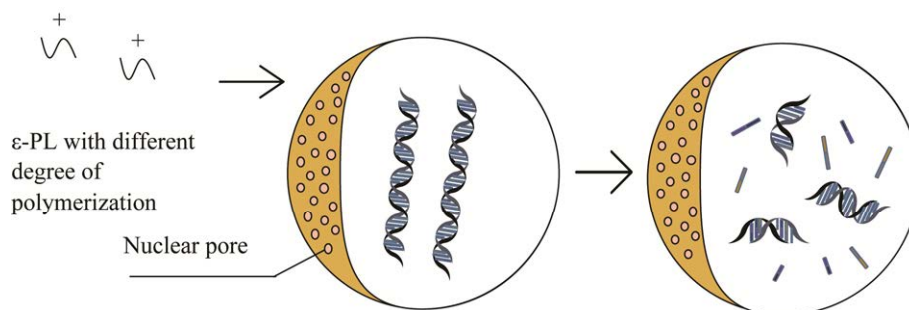


图3 ROS 诱导细胞凋亡模型

Figure 3 Model of ROS induces apoptosis.

3.3 复合抑菌模型

以上 2 种模型均对 ϵ -聚赖氨酸的抑菌作用给出了合理的解释,但无论是毡毯模型还是 ROS 诱导细胞凋亡模型都并不完整,不能够解释 ϵ -聚赖氨酸对所有细菌的抑制机理。因此,本文在原有模型的基础上提出一个新的模型,称其为复合抑菌模型(图 4)。可以看出,复合抑菌模型将毡毯模型和 ROS 诱导细胞凋亡模型进行了整合,当 ϵ -聚赖氨酸的抑菌作用发生时,先出现毡毯模型,等细胞膜出现较大裂隙时, ϵ -聚赖氨酸进入细胞内,再利用 ROS 诱导细胞凋亡模型,引起 ROS 胁迫,加速破坏了细胞的正常结构和功能。图 4 同时也将 ϵ -聚赖氨酸以上述 3 种模型作用到细胞后细胞内部发生的变化进行了描述^[61],以供研究人员进一步理解 ϵ -聚赖氨酸的抑菌机制。

4 结论与展望

ϵ -聚赖氨酸用途广泛,作为食品中的防腐剂、工业生产中的化妆品、药物载体及基因工程中的载体,具有十分广阔的商业前景。本文综述了 ϵ -聚赖氨酸对不同菌种的抑菌作用,并对 ϵ -聚赖氨酸的抑菌模型进行了概括,同时在原有的模型基础上提出了一个新抑菌模型。根据本文综述内容及目前的研究情况,提出如下几点展望:

1) ϵ -聚赖氨酸作为防腐剂广泛应用于食品工业,但应用在防止水果采后变质、对农作物致病微生物抑制等相关内容较少,因此,对 ϵ -聚赖氨酸应用在农业方面的研究还应加强。现代生物技术已显著提升了 ϵ -聚赖氨酸在工业生产中的效率,并扩大了工业化应用。

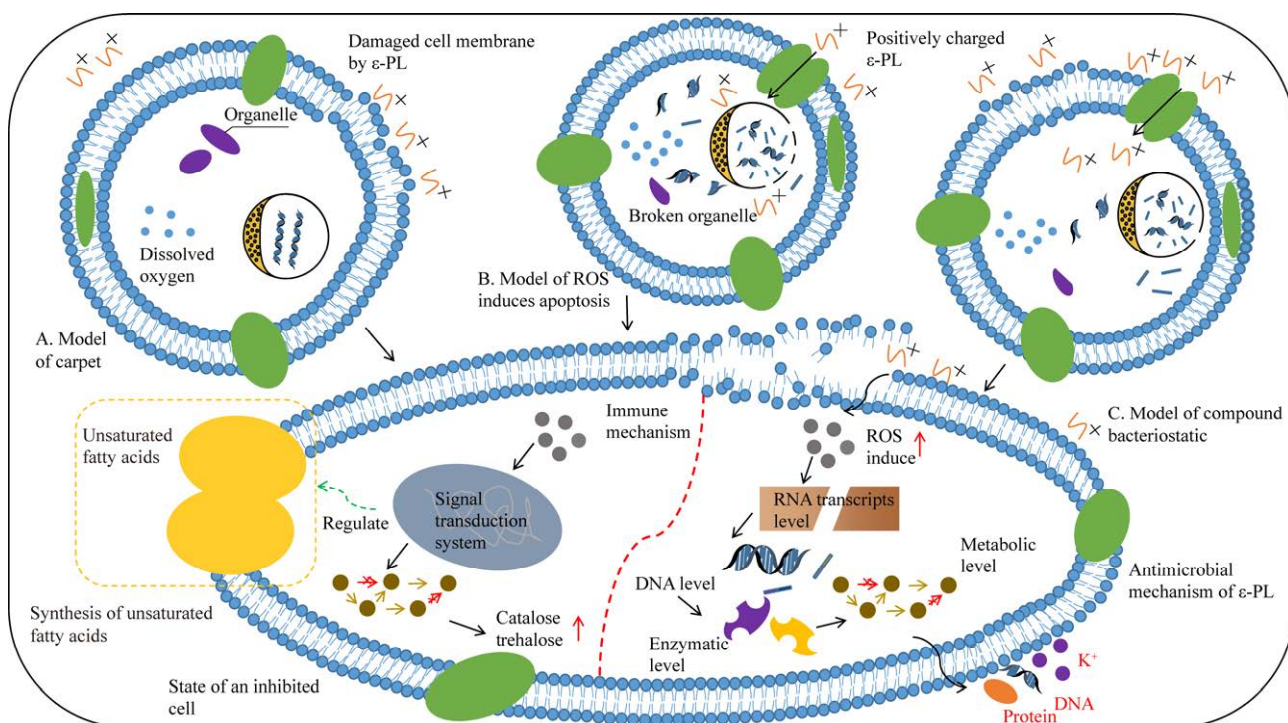


图 4 复合抑菌模型

Figure 4 Model of compound bacteriostatic.

2) ϵ -聚赖氨酸虽然有良好的抑菌性和较为广泛的抑菌谱,但单一物质的抑菌能力依旧有其局限性,未来的关注点可以适当放在与其他抑菌物质联合使用增强其抑制效果,或与高分子材料结合进行环境污染处理或医疗材料(如创可贴、医用材料)等。目前,较明确的研究方向在于,与某些高分子材料结合,利用 ϵ -聚赖氨酸的抑菌性使感染创面快速愈合^[62]或采用TEMPO氧化法进行接枝技术^[63],充分将 ϵ -聚赖氨酸的抑菌性应用到环境治理及药物载体方面。

3) ϵ -聚赖氨酸在初次使用后会迅速损耗,其活性也会逐渐降低。因此,如何延长 ϵ -聚赖氨酸的抑菌能力也是值得研究人员关注的方面。

今后在探究上述问题时,利用高通量基因测序技术或许会找到上述问题的答案。最终实现对 ϵ -聚赖氨酸更全面的应用。

REFERENCES

- [1] SHIMA S, OSHIMA S, SAKAI H. Biosynthesis of ϵ -poly-L-lysine by washed mycelium of *Streptomyces albulus* No. 346[J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 1983, 57(3): 221-226.
- [2] 李晓玥, 刘潭, 杨博. ϵ -聚-L-赖氨酸及其抑菌机理研究进展[J]. 作物研究, 2019, 33(6): 608-614.
LI XY, LIU T, YANG B. Advance in the research on ϵ -poly-L-lysine and its antimicrobial mechanisms[J]. Crop Research, 2019, 33(6): 608-614 (in Chinese).
- [3] 韩金龙, 董梅, 王琴, 赵璐, 罗叶丽, 武鑫. 天然食品防腐剂研究进展[J]. 中国食品, 2021(23): 104-105.
HAN JL, DONG M, WANG Q, ZHAO L, LUO YL, WU X. Research progress of natural food preservatives[J]. China Food, 2021(23): 104-105 (in Chinese).
- [4] 张玉华, 孟一, 朱金峰, 孙毅, 孙崇德. 超声- ϵ -聚赖氨酸盐酸盐复合处理对鲜切苹果的保鲜作用[J]. 食品工业科技, 2022, 43(19): 238-245.
ZHANG YH, MENG Y, ZHU JF, SUN Y, SUN CD. Effect of ultrasonic- ϵ -polylysine hydrochloride compound treatment on fresh-cut apple[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(19): 238-245 (in Chinese).
- [5] WANG L, ZHANG CY, ZHANG JH, RAO ZM, XU XM, MAO ZG, CHEN XS. Epsilon-poly-L-lysine: recent advances in biomanufacturing and applications[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021, 9: 748976.
- [6] SHIMA S, MATSUOKA H, IWAMOTO T, SAKAI H. Antimicrobial action of ϵ -poly-L-lysine[J]. The Journal of Antibiotics, 1984, 37(11): 1449-1455.
- [7] SHIMA S, SAKAI H. Polylysine produced by *Streptomyces*[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1977, 41(9): 1807-1809.
- [8] CHEN SJ, HUANG ST, LI Y, ZHOU CC. Recent advances in epsilon-poly-L-lysine and L-lysine-based dendrimer synthesis, modification, and biomedical applications[J]. Frontiers in Chemistry, 2021, 9: 659304.
- [9] LV ZY, LU YX, LI BY, SHI LM, ZHANG KC, GE BB. Effects of ϵ -poly-L-lysine combined with wuyiencin as a bio-fungicide against *Botrytis cinerea*[J]. Microorganisms, 2022, 10(5): 971.
- [10] CHHEDA AH, VERNEKAR MR. Improved production of natural food preservative ϵ -poly-L-lysine using a novel producer *Bacillus cereus*[J]. Food Bioscience, 2014, 7: 56-63.
- [11] EL-SERSY NA, ABDELWAHAB AE, ABOUELKHIIR SS, ABOU-ZEID DM, SABRY SA. Antibacterial and anticancer activity of ϵ -poly-L-lysine (ϵ -PL) produced by a marine *Bacillus subtilis* sp.[J]. Journal of Basic Microbiology, 2012, 52(5): 513-522.
- [12] XU DL, WANG R, XU ZX, XU Z, LI S, Wang MX, Feng XH, Xu H. Discovery of a short-chain ϵ -poly-l-lysine and its highly efficient production via synthetase swap strategy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(5): 1453-1462.
- [13] 王月, 扶教龙, 张映. ϵ -聚赖氨酸发酵工艺的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(23): 315-321.
WANG Y, FU JL, ZHANG Y. Research progress of ϵ -poly-L-lysine fermentation process[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(23): 315-321 (in Chinese).
- [14] 王昭君, 赵志军, 孙俊松, 史吉平, 王绍明. 产 ϵ -聚赖氨酸菌株的筛选、鉴定及发酵[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(18): 291-296.
WANG ZJ, ZHAO ZJ, SUN JS, SHI JP, WANG SM. Screening, identification and fermentation of ϵ -polylysine producing strains[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(18): 291-296 (in Chinese).
- [15] XIANG JH, YANG Y, DABBOUR M, MINTAH BK, ZHANG ZL, DAI CH, HE RH, HUANG GP, MA HL. Metabolomic and genomic profiles of *Streptomyces*

- albulus* with a higher ϵ -polylysine production through ARTP mutagenesis[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2020, 162: 107720.
- [16] 尤丽新, 胡楠楠, 班硕. 产 ϵ -聚赖氨酸白色链霉菌的化学诱变育种[J]. *中国酿造*, 2019, 38(3): 130-133.
YOU LX, HU NN, BAN S. Breeding of ϵ -polylysine-producing *Streptomyces albus* by chemical mutagenesis[J]. *China Brewing*, 2019, 38(3): 130-133 (in Chinese).
- [17] 吴光耀, 陈旭升, 王靓, 毛忠贵. 核糖体工程技术选育 ϵ -聚赖氨酸高产菌株[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(12): 2744-2751.
WU GY, CHEN XS, WANG L, MAO ZG. Screening of high-yield ϵ -poly-L-lysine producing strains through ribosome engineering[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(12): 2744-2751 (in Chinese).
- [18] 刘春梅, 李树, 董传亮, 赵福林, 毛忠贵. Genome shuffling 技术改造 ϵ -聚赖氨酸重组菌 *Streptomyces* sp. feel-1[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(8): 36-41.
LIU CM, LI S, DONG CL, ZHAO FL, MAO ZG. Genome shuffling enhanced ϵ -poly-L-lysine production of a recombinant *Streptomyces* sp. feel-1[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2012, 38(8): 36-41 (in Chinese).
- [19] ZHANG Y, BAI J, WU CQ, WANG Y, JU X, QI X, LI LZ, JI LL, FU JL. Efficient production of ϵ -poly-l-lysine using cassava starch and fish meal by *Streptomyces albulus* FQC-24[J]. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 2022, 52(5): 525-533.
- [20] BHATTACHARYA S, DINESHKUMAR R, DHANARAJAN G, SEN R, MISHRA S. Improvement of ϵ -polylysine production by marine bacterium *Bacillus licheniformis* using artificial neural network modeling and particle swarm optimization technique[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2017, 126: 8-15.
- [21] SHUKLA SC, MISHRA A. ϵ -PolyLysine production from sugar cane molasses by a new isolates of *Bacillus* sp. and optimization of the fermentation condition[J]. *Annals of Microbiology*, 2013, 63(4): 1513-1523.
- [22] REN XD, CHEN XS, TANG L, SUN QX, ZENG X, MAO ZG. Efficient production of ϵ -poly-L-lysine from agro-industrial by-products by *Streptomyces* sp. M-Z18[J]. *Annals of Microbiology*, 2015, 65(2): 733-743.
- [23] KAHAR P, IWATA T, HIRAKI J, PARK EY, OKABE M. Enhancement of ϵ -polylysine production by *Streptomyces albulus* strain 410 using pH control[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2001, 91(2): 190-194.
- [24] WANG L, LI S, ZHAO JJ, LIU YJ, CHEN XS, TANG L, MAO ZG. Efficiently activated ϵ -poly-L-lysine production by multiple antibiotic-resistance mutations and acidic pH shock optimization in *Streptomyces albulus*[J]. *MicrobiologyOpen*, 2019, 8(5): e00728.
- [25] SHA YY, ZHANG YT, QIU YB, XU ZQ, LI S, FENG XH, WANG MX, XU H. Efficient biosynthesis of low-molecular-weight poly- γ -glutamic acid by stable overexpression of PgdS hydrolase in *Bacillus amyloliquefaciens* NB[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(1): 282-290.
- [26] LEE JM, KIM JH, KIM KW, LEE BJ, KIM DG, KIM YO, LEE JH, KONG IS. Physicochemical properties, production, and biological functionality of poly- γ -d-glutamic acid with constant molecular weight from halotolerant *Bacillus* sp. SJ-10[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 108: 598-607.
- [27] OUYANG J, XU H, LI S, ZHU HY, CHEN WW, ZHOU J, WU Q, XU L, OUYANG PK. Production of ϵ -poly-L-lysine by newly isolated *Kitasatospora* sp. PL6-3[J]. *Biotechnology Journal*, 2006, 1(12): 1459-1463.
- [28] KAWAI T, KUBOTA T, HIRAKI J, IZUMI Y. Biosynthesis of epsilon-poly-L-lysine in a cell-free system of *Streptomyces albulus*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 311(3): 635-640.
- [29] YAMANAKA K, KITO N, IMOKAWA Y, MARUYAMA C, UTAGAWA T, HAMANO Y. Mechanism of epsilon-poly-L-lysine production and accumulation revealed by identification and analysis of an epsilon-poly-L-lysine-degrading enzyme[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(17): 5669-5675.
- [30] PUREV E, KONDO T, TAKEMOTO D, NIONES JT, OJIKI M. Identification of ϵ -poly-L-lysine as an antimicrobial product from an *Epichloë* endophyte and isolation of fungal ϵ -PL synthetase gene[J]. *Molecules: Basel, Switzerland*, 2020, 25(5): 1032.
- [31] JIANG W, ZHOU XH. Enzymatic preparation of oxidized viscose fibers-based biosorbent modified with ϵ -polylysine for dyes removal and microbial inactivation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 166: 509-520.
- [32] 魏奇, 李婕, 刘蓓蓓, 罗小芳, 方婷, 陈炳智, 江玉姬. ϵ -聚赖氨酸盐酸盐对贮藏期间双孢蘑菇表面微生物生长和保鲜的影响[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(3):

- 256-264.
- WEI Q, LI J, LIU BB, LUO XF, FANG T, CHEN BZ, JIANG YJ. Effects of ϵ -polylysine hydrochloride on microorganisms growth and freshness of *Agaricus bisporus* fruiting bodies during storage[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(3): 256-264 (in Chinese).
- [33] CHEN XS, WANG KF, ZHENG GC, GAO Y, MAO ZG. Preparation, characterization and antimicrobial activity of ϵ -poly-L-lysine with short chain length produced from glycerol by *Streptomyces albulus*[J]. Process Biochemistry, 2018, 68: 22-29.
- [34] 薄涛, 杨萍, 宋萌, 谭之磊, 贾士儒. ϵ -聚-L-赖氨酸对酿酒酵母抑菌机制的初步研究[J]. 中国食品添加剂, 2015(6): 53-59.
- BO T, YANG P, SONG M, TAN ZL, JIA SR. A preliminary study on antimicrobial mechanism of ϵ -poly-L-lysine on *Saccharomyces cerevisiae*[J]. China Food Additives, 2015(6): 53-59 (in Chinese).
- [35] BO T, LIU M, ZHONG C, ZHANG Q, SU QZ, TAN ZL, HAN PP, JIA SR. Metabolomic analysis of antimicrobial mechanisms of ϵ -poly-L-lysine on *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(19): 4454-4465.
- [36] TAN ZL, BO T, GUO FZ, CUI JD, JIA SR. Effects of ϵ -Poly-L-lysine on the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* and its involved antimicrobial mechanism[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118(Pt B): 2230-2236.
- [37] 余甜, 时文静, 谢跃, 李可可, 邹凤梅, 刘刚, 李军春, 张兴旺, 魏莲花. ϵ -聚赖氨酸对白念珠菌抑菌活性及机制研究[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(5): 606-612.
- YU T, SHI WJ, XIE Y, LI KK, ZOU FM, LIU G, LI JC, ZHANG XW, WEI LH. *In vitro* antifungal activity of ϵ -poly-lysine against *Candida albicans*[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2019, 44(5): 606-612 (in Chinese).
- [38] LU L, ZHU KX, YANG Z, GUO XN, XING JJ. Metabolomics analysis of freeze-thaw tolerance enhancement mechanism of ϵ -poly-L-lysine on industrial yeast[J]. Food Chemistry, 2022, 382: 132315.
- [39] LU L, XING JJ, YANG Z, GUO XN, ZHU KX. Influence of ϵ -poly-L-lysine treated yeast on gluten polymerization and freeze-thaw tolerance of frozen dough[J]. Food Chemistry, 2021, 343: 128440.
- [40] SHU C, CUI KB, LI QQ, CAO JK, JIANG WB. Epsilon-poly-L-lysine (ϵ -PL) exhibits multifaceted antifungal mechanisms of action that control postharvest *Alternaria rot*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 348: 109224.
- [41] LIU H, CHEN JG, XIA ZH, AN MN, WU YH. Effects of ϵ -poly-L-lysine on vegetative growth, pathogenicity and gene expression of *Alternaria alternata* infecting *Nicotiana tabacum*[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2020, 163: 147-153.
- [42] DOU Y, ROUTLEDGE MN, GONG YY, Godana EA, Dhanasekaran S, Yang QY, Zhang XY, Zhang HY. Efficacy of epsilon-poly-L-lysine inhibition of postharvest blue mold in apples and potential mechanisms[J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 171: 111346.
- [43] 付萍. ϵ -聚赖氨酸对 *E. coli* 抑菌机制及影响因素的研究[D]. 天津: 天津科技大学硕士学位论文, 2016.
- FU P. Research on the bacteriostatic mechanism and influence-factor of ϵ -poly-L-lysine on *Escherichia coli*[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin University of Science & Technology, 2016 (in Chinese).
- [44] NING HQ, LIN H, WANG JX. Synergistic effects of endolysin Lysqdv001 and ϵ -poly-lysine in controlling *Vibrio parahaemolyticus* and its biofilms[J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 343: 109112.
- [45] BORTOLOTTO FCK, DA ROSA FARFAN MH, JEDE NCK, DANIELSKI GM, DE MACEDO REF. Nisin and ϵ -poly-L-lysine as natural antimicrobials towards spoilage-associated *Lactobacillus plantarum*[J]. Ciência Rural, 2021. DOI: 10.1590/0103-8478cr20200423.
- [46] LIU HX, PEI HB, HAN ZN, FENG GL, LI DP. The antimicrobial effects and synergistic antibacterial mechanism of the combination of ϵ -Polylysine and nisin against *Bacillus subtilis*[J]. Food Control, 2015, 47: 444-450.
- [47] HYLDGAARD M, MYGIND T, VAD BS, STENVANG M, OTZEN DE, MEYER RL. The antimicrobial mechanism of action of epsilon-poly-L-lysine[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(24): 7758-7770.
- [48] 赵昇, 吴学妍, 张硕, 王君, 黎京滔, 吴瑜凡, 申进玲, 董庆利, 王翔. ϵ -聚赖氨酸对重要食源性致病菌的作用效果研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(13): 304-310.
- ZHAO S, WU XY, ZHANG S, WANG J, LI JT, WU YF, SHEN JL, DONG QL, WANG X. Research progress on the effect of ϵ -poly-lysine on important foodborne pathogens[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(13): 304-310 (in Chinese).

- [49] EPAND RM, EPAND RF. Domains in bacterial membranes and the action of antimicrobial agents[J]. *Molecular BioSystems*, 2009, 5(6): 580-587.
- [50] LIN L, GU YL, CUI HY. Novel electrospun gelatin-glycerin- ϵ -Poly-lysine nanofibers for controlling *Listeria monocytogenes* on beef[J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2018, 18: 21-30.
- [51] 曹云刚, 张瀚丹, 张鑫, 陆瑞琪, 卞忠明, 刘苗苗, 黄峻榕. ϵ -聚赖氨酸抑菌机制及其在肉类保鲜中的应用[J]. *精细化工*, 2022, 39(1): 1-6, 64.
CAO YG, ZHANG HD, ZHANG X, LU RQ, BIAN ZM, LIU MM, HUANG JR. Antibacterial mechanism of ϵ -poly-L-lysine and its application in meat preservation[J]. *Fine Chemicals*, 2022, 39(1): 1-6, 64 (in Chinese).
- [52] 汪蕾, 刘洋, 孙杨赢, 潘道东. 迷迭香酸协同 ϵ -聚赖氨酸对金黄色葡萄球菌的抑菌机理初探[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(14): 192-196, 227.
WANG L, LIU Y, SUN YY, PAN DD. Primary exploration on antibacterial mechanism of the combination of rosmarinic acid and ϵ -polylysine against *Staphylococcus aureus*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(14): 192-196, 227 (in Chinese).
- [53] NING HQ, LI YQ, LIN H, WANG JX. Apoptosis-induction effect of ϵ -poly-lysine against *Staphylococcus aureus* and its application on pasteurized milk[J]. *LWT*, 2021, 137: 110493.
- [54] BASTARRACHEA LJ. Antimicrobial polypropylene with ϵ -poly(lysine): effectiveness under UV-A light and food storage applications[J]. *LWT*, 2019, 102: 276-283.
- [55] GE LM, LI ZJ, HAN M, WANG YJ, LI XY, MU CD, LI DF. Antibacterial dialdehyde sodium alginate/ ϵ -polylysine microspheres for fruit preservation[J]. *Food Chemistry*, 2022, 387: 132885.
- [56] 王梓源, 李欣颖, 吕俊阁, 付萍, 孙雪文, 李雪晶, 谭之磊, 贾士儒. ϵ -聚赖氨酸对大肠杆菌的抑菌机制[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(21): 34-41.
WANG ZY, LI XY, LYU JG, FU P, SUN XW, LI XJ, TAN ZL, JIA SR. The antimicrobial mechanism of ϵ -poly-L-lysine against *Escherichia coli*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(21): 34-41 (in Chinese).
- [57] CHENG C, ZHONG HW, ZHANG Y, GAO XR, WANG JM, LIU JF, HAN X. Bacterial responsive hydrogels based on quaternized chitosan and GQDs- ϵ -PL for chemo-photothermal synergistic anti-infection in diabetic wounds[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 210: 377-393.
- [58] ROSENBERG M, GUTNICK D, ROSENBERG E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1980, 9(1): 29-33.
- [59] YE RS, XU HY, WAN CX, PENG SS, WANG LJ, XU H, AGUILAR ZP, XIONG YH, ZENG ZL, WEI H. Antibacterial activity and mechanism of action of ϵ -poly-L-lysine[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 439(1): 148-153.
- [60] LEE J, HWANG JS, HWANG IS, CHO J, LEE E, KIM Y, LEE DG. Coprisin-induced antifungal effects in *Candida albicans* correlate with apoptotic mechanisms[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2012, 52(11/12): 2302-2311.
- [61] LI SB, MAO YR, ZHANG LF, WANG M, MENG JH, LIU XL, BAI YX, GUO Y. Recent advances in microbial ϵ -poly-L-lysine fermentation and its diverse applications[J]. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 2022, 15(1): 65.
- [62] TIAN R, LIU JN, DOU G, LIN B, CHEN JJ, YANG GD, LI P, LIU SY, JIN Y, QIU XY. Synergistic antibiosis with spatiotemporal controllability based on multiple-responsive hydrogel for infectious cutaneous wound healing[J]. *Smart Materials in Medicine*, 2022, 3: 304-314.
- [63] NIE CL, SHEN T, HU WC, MA Q, ZHANG JH, HU SQ, TIAN HF, WU H, LUO XG, WANG JG. Characterization and antibacterial properties of epsilon-poly-L-lysine grafted multi-functional cellulose beads[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 262: 117902.