文章编号:1009-038X(2003)06-0025-06

电泳制备家蝇幼虫抗菌肽及其性质

宫 霞[1], 乐国伟[1], 施用晖[1], 付景春[2]
(1. 江南大学 食品学院 营养与生物技术研究室,江苏 无锡 214036; 2. 无锡市疾病预防控制中心检验部, 江苏 无锡)

摘 要: 通过体壁损伤法诱导家蝇幼虫产生免疫血淋巴,经沸水浴热变性,透析浓缩处理,后经 Tricine-SDS-PAGE 得到诱导前后家蝇幼虫血淋巴中蛋白差异表达带,将该条带电泳回收,复性,抗菌活性检测等步骤,分离纯化得到 3 种抗菌肽:MDL-1、MDL-2、MDL-3. 研究结果表明:MDL-1 分子中富含 Gly,相对分子质量为 6200,对革兰氏阴性菌 *E. coli* 有较强抗性;MDL-2 分子中富含 Pro,相对分子质量为 11 000,对革兰氏阴性菌 *E. coli* 和革兰氏阳性菌 *S. aureus* 均有抗性;MDL-3 分子中富含 Gly,相对分子质量为 14 000,对革兰氏阳性菌 *S. aureus* 有较强抗性; 3 种抗菌肽具有很强的温度耐受性,均没有凝血活性和溶血活性. 同时电泳制备抗菌肽的实验方法为此类微量生物活性物质的分离纯化提供了有效的途径.

关键词: 家蝇幼虫;抗菌肽;电泳制备
中图分类号:Q 514.3 **文献标识码**: A

Electrophoretic Preparation and Biologic Characterization of Antibacterial Peptides from *Musca Domestica Larvae*

GONG Xia[1], LE Guo-wei[1], SHI Yong-hui[1], FU Jing-chun[2]
(1. Laboratory for Nutrition and Biotechnology Research, School of Food Science and Technology Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Inspection Department of Disease Preventive Controlled Center, Wuxi 214000, China)

Abstract: The immunized hemolymph was produced from Musca domestica Larvae by inducing injury. Three antibacterial peptides were purified by means of boiling water bath, dialysis and concentration, Tricine-SDS-PAGE preparation, and retrieval and renatural of peptides. The result of amino acids analysis showed that there were abundant alkaline amino acid in these antibacterial peptides. The molecule weight of antibacterial peptide 1 (MDL-1) was 6200. It contained abundant Gly, which had potential activity against Gram-negative bacteria, *E. coil*. MDL-2 ,molecule weight was 11000,contained plentiful Pro, potently acted on Gram-positive and Gram-negative bacteria, *E. coil* and *S. aureus*. MDL-3, with molecule weight of 14 000 and abundant Gly, showed antibacterial activity against Gram-positive, *S. aureus*. The antibacterial peptides do not have the activity of coagulating red cells, and that suggested that they were not lectin. The electrophrosis is an effective way to prepae the antibacterial peptides. However, the mechanism and the structure of peptides were remained to be clarified.

Key words: *Musca domestica Larvae*; antibacterial peptides;electrophoretic preparation

收稿日期:2003-04-24; **修回日期**:2003-06-10.
基金项目: 中央级科研院所基础性专项资金项目(2001DEA—20022)资助课题.
万方数据
作者简介: 宫霞(1966-),女,山东济宁人,副教授,粮食、油脂与植物蛋白工程博士研究生.

昆虫体内没有 B 和 T 淋巴系统这种完善的免疫体系,但昆虫具有高效的自我防御机制来抵抗病菌的传染. 1972 年,瑞典科学家 Boman [1] 首先从天蚕蛹中发现抗菌肽,以惜古比天蚕(Hyalophora-cecropia)为实验材料,注射蜡状芽孢杆菌(Bacillus cereus)诱导产生抗菌肽(cecropins),后又从家蚕、柞蚕、蓖麻蚕及多种昆虫中均分离得到抗菌肽[2],从此昆虫防御机制的研究进入了一个崭新的发展时期.

由于昆虫抗菌肽具有相对分子质量低、热稳定和广谱高效抗菌活性,而且不同于现有的抗生素的抗菌机理,已成为昆虫学、生理学及药理学等生命科学研究的热点[3~6]. 目前根据抗菌肽的氨基酸组成和结构特点分为 5 类[6]:天蚕素类(cecropins)、昆虫防御素(insect defensins)、富含脯氨酸的抗菌肽(proline-rich peptides)、富含甘氨酸的抗菌肽(glycine-rich peptides)、抗真菌肽(anti-fungal peptides). 这些抗菌肽的发现和结构的阐明,为肽类抗菌药物的研究及其应用开辟了广阔前景. 家蝇(*Musca domestica L*)属于双翅目、环裂亚目、蝇科、家蝇属的昆虫,从幼虫到成虫都生活在杂菌横生的污浊环境中,有着极强的适应恶劣环境的生存能力,预示着它们体内存在着独特的免疫防御机制,具有很高的理论和潜在的应用价值. 但长期以来由于人们对家蝇认识偏见,再者家蝇个体小,经济价值未被深入开发等原因,国内外对其研究较少,我们经过血淋巴的电泳制备、回收、复性等实验从家蝇幼虫中得到了 3 种新的抗菌肽,并对其氨基酸组成、生物活性及性质进行了检测.

1 材 料

1.1 家蝇幼虫

三龄幼虫:无锡昆龙生态生物环保有限公司提供.

1.2 菌株

大肠杆菌 ATCC25922 (*Escherichia coli* ATCC25922)、金黄色葡萄球菌 ATCC6538 (*Staphilococcus aureus* ATCC6538) 由无锡市疾病预防控制中心提供;大肠杆菌 Jm109 (*Escherichia coli* Jm109 抗氨苄青霉素型)由作者所在实验室保存菌株.

1.3 仪器

DY-A 电泳仪:上海生化所西巴斯生物技术有限公司生产;高速组织捣碎机:上海标本模型厂产品;Waters600/600 高效液相色谱仪:美国 Waters 公司生产; Ag1100 氨基酸色谱仪:美国 Agilent 公司生产;UV755B 紫外分光光度计:上海精密仪器有限公司制造; GL-16G-II 冷冻离机:上海安亭科学仪器厂制造.

1.3 试剂

丙烯酰胺:Canalab 产品;N,N′-甲叉双丙烯酰胺(分析纯):Biomol 公司产品; Tricine:Amresco 公司产品;过硫酸铵和 TEMED:BIB 产品;标准相对分子质量上海生化所监制;胰岛素(40 U/mL):上海生物化学制药厂;透析袋:Sigma 公司产品.

2 方 法

2.1 抗菌肽的分离纯化

2.1.1 家蝇幼虫的免疫 用沾有大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的小针斜刺幼虫的腹腔,刺伤后继续饲养 24 h,同时设立对照组(只饲养不进行诱导). 将虫体与饲料剥离,立即放入液氮速冻.

2.1.2 血淋巴的提取 将一定量虫体放入高速组织捣碎机中,按 m(mg) ∶ V(mL)比为 1 ∶ 3 加入提取液(0.05 mol/L 乙酸铵缓冲液,pH 5.0,35 μg/mL PMSF),充分捣碎,匀浆用 12 000 r/min 高速冷冻离心 30 min,取上清液,重复 3 次,合并上清液;用 400 目纱网过滤,得滤液. 将滤液于沸水浴中搅拌加热 5 min,迅速冷却后,4 800 r/min 离心 30 min,上清液相对分子质量用 2 000 透析袋透析浓缩,将浓缩液 −20 ℃冰箱保存备用.

2.1.3 抗菌肽的电泳制备 寻找家蝇幼虫诱导前后蛋白表达差异条带,将免疫的血淋巴和对照组未免疫的血淋巴分别与上样缓冲液(未加巯基乙醇)加热处理后,进行 Tricine-SDS-PAGE 电泳. 其参照 Schagger[7] 的方法并进行改进,分离胶质量浓度 16.5 g/dL, 间隙胶质量浓度 6.2 g/dL,浓缩胶质量浓度 4 g/dL,交联度 3%,胶厚 1.5 mm,电压 60 V,电流 30 mA,电泳 6 h,将凝胶银染色.

(1)回收:将蛋白凝胶剪碎,加入适量的 Tris-HCl 缓冲液 pH 7.0,浸泡,然后放入 2 000 透析袋进行洗脱电泳,电压 60 V,时间 3 h,400 目纱网过滤,得滤液; 向滤液中滴加乙酸使 pH 值为5.5,然后离心得抗菌肽,室温干燥. 但部分肽已变性,其水溶性较差,必需进行复性. (2)复性: 将干燥的肽中加入 pH 8.0,TE 缓冲液和终浓度为 0.5 mol/L 的盐酸胍,振荡均匀,静止 24 h,肽得以复溶、复性后,再经抗菌活性及纯度的检验.

3 种抗菌肽制备都按以上步骤直接进行操作.

万方数据

2.2　抗菌活性的检测

采用 2 种方法(1)抑菌圈测量法:采用 LB 培养基,通过测定抑菌圈直径表示定性检测抑菌活力;(2)比浊法:用 0.1 mol/L pH 6.5 磷酸盐缓冲液冲洗固体斜面上的检测菌,配成一定浓度的悬浊液(A=0.3～0.5),取该悬浊液置于冰浴中,再加入 100 μL 淋巴液或纯化抗菌肽,混匀,测其保温前在 600 nm 波长处的光密度值 A_0,然后将其放入 37 ℃ 恒温水浴中 1 h,取出后立刻置冰浴中 5 min,终止反应,测其 600 nm 处的光密度值 A,按 Hultmark[3] 的方法计算抗菌活力,$U=A_0-A/A_0$,U 为抑菌活力单位.

2.3　蛋白及抗菌肽的测定

Bradford[8] 方法测定,以牛血清白蛋白为标准,考马斯亮蓝 G-250 染色,595 nm 比色测定.抗菌肽的测定:参照 Steiner[9] 的实验方法.

2.4　抗菌肽的初步性质

2.4.1　纯度鉴定　采用 HPLC 与 Tricine-SDS-PAGE 分别进行鉴定.

HPLC 鉴定:采用分析型 C^{18} 反相柱,流动相 A:体积分数 0.05%TFA,B:体积分数 70%乙晴(含 0.05%TFA),线性梯度洗脱,流速 1 mL/min,检测波长 λ=220 nm.

2.4.2　抗菌肽相对分子质量测定　采用 Tricine-SDS-PAGE 不连续电泳测定,分离胶质量浓度 14 g/dL,间隙胶质量浓度 6 g/dL,浓缩胶质量浓度 4 g/dL,交联度 3%,胶厚0.7 mm.标准相对分子质量(14 400～97 400)为上海生化所监制,考虑到抗菌肽相对分子质量实际情况,在测定时添加胰岛素亦为相对分子质量标准.

2.4.3　氨基酸组成分析　样品加 6 mol/L 盐酸真空封管,水解 24 h 后,用氨基酸分析仪测定.

2.4.4　凝血和溶血试验　取新鲜家兔血液,用生理盐水 3 000 r/min 离心 10 min 反复洗涤多次,保存于生理盐水中备用,取血细胞 200 μL 滴加到载玻片上,在加入纯化的抗菌肽 50 μL(0.5 μg/μL)显微镜下观察血细胞凝集现象,以麦胚凝集素为阳性对照,同时观察有无溶血现象.

2.4.5　对温度的稳定性试验　分别将 3 种抗菌肽溶于 TE 缓冲液中,经－20℃冰箱反复冻融数次和沸水浴中处理 10 min,然后分别测定其抗菌活性.

3　结　果

3.1　抗菌肽的纯化及抑菌活性

为了准确快速得到抗菌肽,在分离纯化的主要试验步骤中都进行定性、定量抗菌活性的跟踪检测,免疫血淋巴对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌 Jm109 均有抑菌活性见图 1～3.

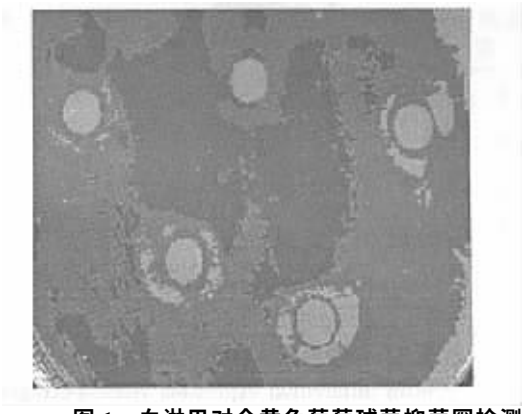


图 1　血淋巴对金黄色葡萄球菌抑菌圈检测

Fig. 1　Antibacterial effect of immunized hemolyph against *S. aureus*

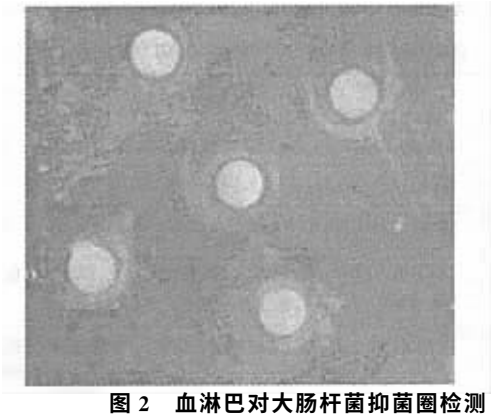


图 2　血淋巴对大肠杆菌抑菌圈检测

Fig. 2　Antibacterial effect of immunized hemolyph against *E. coil*

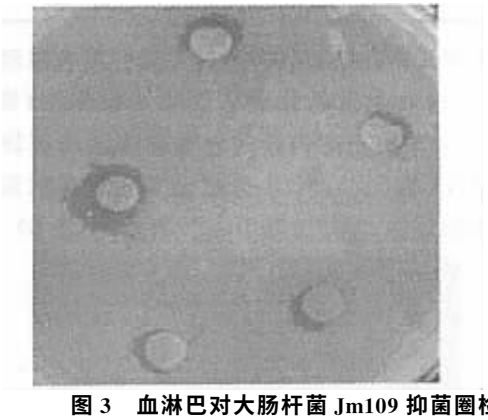
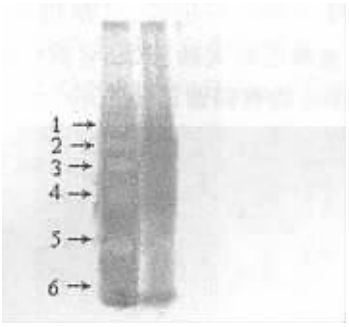


图 3　血淋巴对大肠杆菌 Jm109 抑菌圈检测

Fig. 3　Antibacterial effect of immunized hemolyph against *E. coil* Jm109

经 Tricine-SDS-PAGE 电泳得到 6 条差异表达蛋白条带(图 4).将这 6 条条带回收、复性后,做抗菌活性检测,得到 3 种抗菌谱和抗菌活性不同的抗菌多肽(图 4 中所示 6、4、3 条带),分别命名为 MDL-1、MDL-2、MDL-3,具体结果见表 1.

万方数据



A B

Lane A: immunized hemolyph

Lane B: unimmunized hemolyph

图 4 家蝇诱导蛋白表达差异电泳

Fig. 4 Protein differential expression electropherogram of *Musca domestic larvae* hemolymph

表 1 家蝇幼虫血淋巴、抗菌肽的抗菌活性

Tab. 1 Antibacterial activity in hemolymph and antibacterial peptides of *Musca domestica larvae*

样品	蛋白质质量浓度/(mg/mL)	抗大肠杆菌活力/U	比活力/(U/g)	抗金黄色葡萄球菌活力/U	比活力/(U/g)
未加热血淋巴	3.2	0.276	0.086	0.342	0.106
加热血淋巴	0.7	0.205	0.292	0.313	0.447
透析浓缩血淋巴	1.4	0.531	0.379	0.806	0.575
MDL-1	0.034	0.0410	1.205	0.0002	0.050
MDL-2	0.025	0.0300	1.200	0.0218	0.872
MDL-3	0.018	0.0001	0.005	0.0730	4.056

从表 1 中得出，MDL-1 对大肠杆菌有强烈的抗菌活性，而对金黄色葡萄球菌几乎没作用(图 5)；MDL-2 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有较强的抗菌活性(图 6、7)；MDL-3 对金黄色葡萄球菌有强烈的抗菌活性，而对大肠杆菌没有作用(图 8).

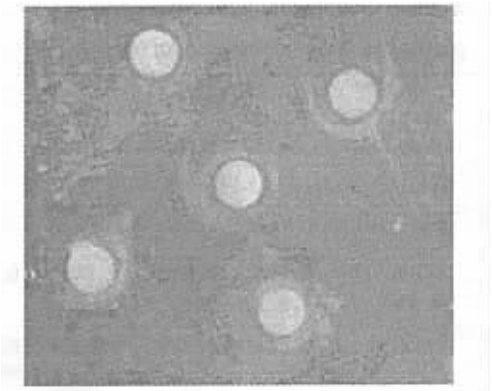


图 5 MDL-1 对大肠杆菌的抑制作用

Fig. 5 Antibacterial effect of MDL-1 against *E. coil*

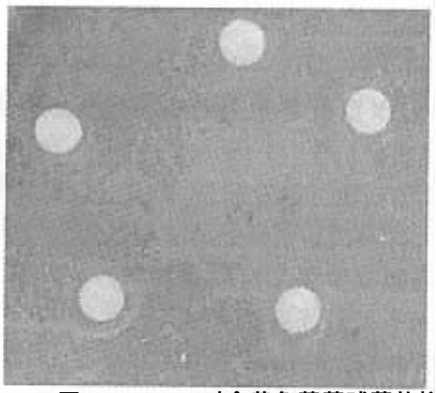


图 6 MDL-2 对金黄色葡萄球菌的抑制作用

Fig. 6 Antibacterial effect of MDL-2 against S. aureus

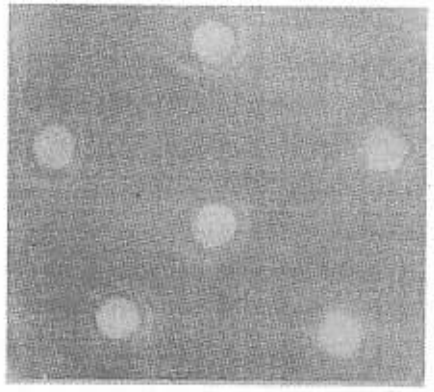


图 7 MDL-2 对大肠杆菌的抑制作用

Fig. 7 Antibacterial effect of MDL-2 against *E. coil*

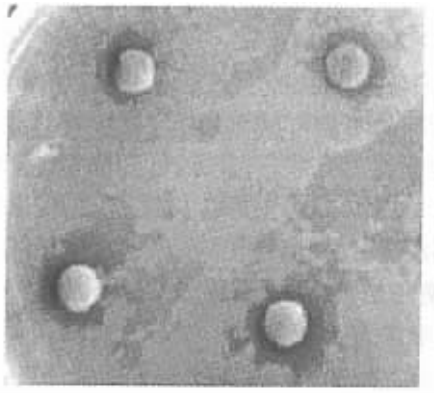


图 8 MDL-3 对金黄色葡萄球菌的抑制作用

Fig. 8 Antibacterial effect of MDL-3 against *S. aureus*

3.2 纯度检测

电泳制备得到 3 种抗菌肽：MDL-1、MDL-2、MDL-3，经 HPLC 检测均为单一峰，Tricine-SDS-PAGE 后银染均得到单一条带，因此认为 3 种抗菌肽达到均一程度(图 9).

3.3 抗菌肽的相对分子质量

经 Tricine-SDS-PAGE 不连续电泳，测定标准相对分子质量的 R_f 值，计算出家蝇幼虫抗菌肽相对分子质量：MDL-1 6 200；MDL-2 11 000；MDL-3 14 000(图 10).

万方数据

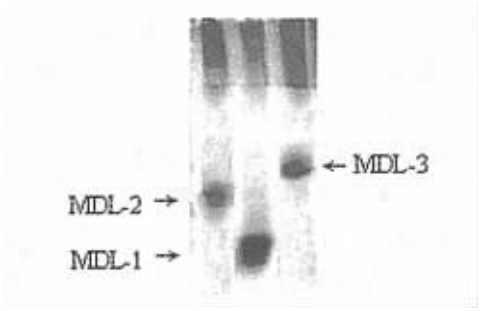
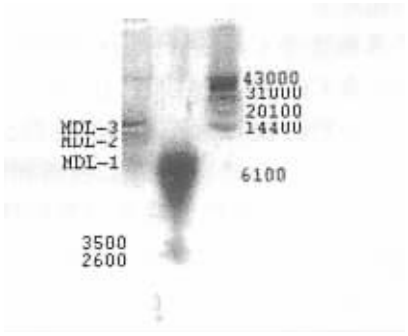


图 9　抗菌肽纯度鉴定

Fig. 9　Purity analysis of antibacterial peptides MDL-1, MDL-2, MDL-3



Lane A: MDL-1, MDL-2, MDL-3

Lane B: insulin 100, chain A 3500, chain B2600

图 10　抗菌肽相对分子质量测定

Fig. 10　Trincine-SDS-PAGE indicating molecular weight of Antibacterial peptides MDL-1, MDL-2, MDL-3

3.4　抗菌肽氨基酸组成分析:

3 种抗菌肽均不含有甲硫氨酸和半胱氨酸,MDL-1 氨基酸组成分析结果见表 2,此肽由 51 个氨基酸组成,富含碱性氨基酸和甘氨酸. MDL-2 氨基酸组成分析结果见表 3,此肽由 106 个氨基酸组成,富含脯氨酸,其质量分数达 38%.

表 2　MDL-1 氨基酸组成

Tab. 2　Amino acid composition of antibacterial peptide MDL-1

氨基酸	浓度 (pmol/μL)	残基数/个	氨基酸	浓度 (pmol/μL)	残基数/个
Asx*	32.22	4	Val	35.34	5
Glx*	41.01	5	Met	—	0
Ser	48.60	6	Phe	9.10	1
His	10.66	2	Ile	11.89	2
Gly	54.49	8	Leu	19.94	3
Thr	17.47	3	Lys	19.19	3
Ala	34.73	5	Pro	9.39	1
Arg	11.34	2	Tyr	9.58	1
Total	364.95	51			

注:Asx* 代表 Asn 或 Asp 或 Asn+Asp;Glx* 代表 Gln 或 Glu 或 Gln+Glu. 以下相同.

万方数据

表 3　MDL-2 氨基酸组成

Tab. 3　Amino acid composition of antibacterial peptide MDL-2

氨基酸	浓度 (pmol/μL)	残基数/个	氨基酸	浓度 (pmol/μL)	残基数/个
Asx	6.65	4	Val	10.04	6
Glx	7.09	6	Met	—	0
Ser	15.90	9	Phe	6.05	6
His	2.83	2	Ile	5.61	4
Gly	17.65	8	Leu	6.51	4
Thr	4.83	3	Lys	5.90	4
Ala	8.45	4	Pro	71.49	41
Arg	3.55	3	Tyr	2.14	2
Total	174.70	106			

MDL-3 氨基酸组成分析结果见表 4,此肽由 111 个氨基酸组成,富含碱性氨基酸和甘氨酸.

3.5　凝血与溶血活性检测

通过显微镜观察 3 种抗菌多肽对家兔的红细胞均没有凝集作用和溶血作用,而作为凝集阳性对照的麦胚凝集素使兔红细胞相互聚集形成簇状.

表 4　MDL-3 氨基酸组成

Tab. 4　Amino acid composition of antibacterial peptide MDL-3

氨基酸	浓度 (pmol/μL)	残基数/个	氨基酸	浓度 (pmol/μL)	残基数/个
Asx	70.75	11	Val	42.62	6
Glx	105.36	18	Met	—	0
Ser	78.11	10	Phe	18.85	4
His	14.63	6	Ile	25.79	4
Gly	95.76	8	Leu	53.80	9
Thr	36.43	5	Lys	42.88	8
Ala	59.70	6	Pro	22.32	5
Arg	35.15	7	Tyr	16.74	4
Total	718.89	111			

3.6　对温度稳定性实验

3 种抗菌肽经 −20 ℃冻融多次,其溶解性能良好,抗菌活性没有任何改变. 沸水浴 10 min 处理后,MDL-1 抗菌活力未发生变化,MDL-2、MDL-3 抗菌活力略有下降,但不显著.

4　讨　论

用蘸有菌液的针损伤体壁的方法诱导家蝇幼

虫产生抗菌肽和抗菌蛋白,通过离心获得的血淋巴中含有大量的杂蛋白,因抗菌肽具有很高的热稳定性特点,经沸水浴使大部分杂蛋白变性除去,再用透析袋浓缩脱盐,使后续电泳制备得以顺利进行.

由于昆虫在创伤或注射感染细菌后诱导抗菌肽基因表达,合成大量抗菌多肽,因此依据诱导前后家蝇幼虫血淋巴中蛋白表达差异的电泳图谱迅速得到 3 种有不同抗菌活性的多肽,免去了繁琐的凝胶色谱纯化步骤,不仅节省时间,更重要的是通过制备电泳可以快速、准确寻找这些含量较少的生物活性物质并且得到高度均一产品,为抗菌肽的分离纯化提供一种行之有效的方法.

从这 3 种抗菌肽的氨基酸组成分析可知,3 种抗菌肽分子中没有含硫的氨基酸即 Met 和 Cys,而碱性氨基酸比例较高,因此 3 种抗菌肽不属于防御素类,MDL-1 与 MDL-3 富含 Gly,MDL-1 相对分子质量相对小,且对革兰氏阴性细菌抗性较强,推测 MDL-1 可能属于天蚕素类,MDL-3 属于富含甘氨酸型,MDL-2 富含 Pro,比率高达 38%,但与常规的富含脯氨酸型抗菌肽比较,相对分子质量偏小,抗菌谱较广,是否属于富含脯氨酸型抗菌肽类型目前不能完全肯定.

凝集素也是昆虫体液防御的组成因子之一,昆虫凝集素相对分子质量一般较大,家蝇凝集素由一个单体组成,相对分子质量为 33 000,而得到的抗菌肽相对分子质量较小,且凝血实验表明其均没有凝血活性,因此推测 3 种抗菌肽不是凝集素类.

迄今为止,国内外学者在双翅目蝇类中的肉蝇[17](*Sarcopgaga peregrina*)、绿蝇[17](*Phormia terranorae*)、果蝇[17](*Drosophila melanogaster*)、地中海实蝇[10](*Ceratitis capitata*)、厩螯蝇[11](*Stonzoxys poregrinn*)中分离到具有不同抗菌活性的抗菌肽,但以家蝇为试验对象分离抗菌肽的研究我们经计算机联网检索和翻阅大量资料发现国外未见报道,我国对家蝇抗菌物质的研究进展缓慢,长期停留在免疫应答[12]及血淋巴理化性质[13]的阶段.本世纪初国内学者陈留存[14]、柏鸣[15,16]通过离子交换和凝胶过滤层析从家蝇中各分离得到一种抗菌肽,前者得到抗菌肽的相对分子质量为 1 000,未进行氨基酸组成和结构分析;后者得到抗菌肽的相对分子质量为 12 600,106 个氨基酸残基,富含 Pro 和 2 个 Cys,通过电泳得到的 3 种抗菌肽分子中不含 Cys 和 Met 残基,且相对分子质量与氨基酸组成分析比较与他们得到的抗菌肽均不相同,最近将 3 种抗菌肽进行了圆二色谱和红外光谱分析,目前推断该 3 种抗菌肽是新型的抗菌肽.并且证明蝇类抗菌肽组分较复杂,表现在一方面随着蝇种类不同抗菌肽类型有明显不同,分离活性成分的难易程度亦有很大不同;另一方面同一物种在不同诱导源诱导下产生的抗菌物质的活性大小有所不同,达到最大活性时间也不同,不同的分离方法可以分离到不同的抗菌肽.

综上所述,家蝇免疫血淋巴通过电泳纯化得到的 3 种新型抗菌肽,具有很强的热稳定性和抗菌活性,不具凝血活性,亦不能引起血细胞溶血,但它们究竟属于哪种类别抗菌肽,还有待于对其一级结构、高级结构,生理生化性质、得到其 DNA 序列后分析等深入研究后证实.

参考文献:

[1] Boman H G, Nilsson I. Rasmuson B. Inducible antibacterial defense system in drosophial [J]. **Nature**, 1972,237:232－235.

[2] Faye I,Pye A, Rasmuson B, *et al*. Insect immunity Ⅱ,simultaneous induction of antibacterial activity and selective synthesis of some hemolymph protein in *Diapausing pupae* of hyalophora, cecropia and sarnia cythia [J]. **Infect Immun**, 1975,12:1426－1438.

[3] Ultmark D,Steriner H,Rasmuson T,*et al* . Insect immunity . Purification and properties of three inducible bactericialproteins from hemolymph of immunized pupae of hyalophora cecropia[J]. **Eur J Biochem**,1980 ,106: 7－16.

[4] Boman H G, Steiner H. Humoral immunity in cecropia pupae Curr Top[J]. **Microbial Immuniol**, 1981,95:75－89.

[5] Yamakawa M. Insect antibacterial proteins:Regulatory mechanisms of their synthesis and a possibility as new antibiotics [J]. **J Seric Sci**, 1998,67(3):163－182.

[6] 宫霞,乐国伟,施用晖. 昆虫抗菌肽及其基因工程研究进展 [J]. 遗传,2002,24(5):591－594.

[7] Hermann Schagger, Gebhard Von Jagow. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100Kda[J]. **Analytical Biochemistry**, 1987,166:368－379.

[8] 汪家政,范明. 蛋白质技术手册[M]. 北京: 科学技术出版社,2001. 42－46.

万方数据

(下转第 38 页)

香菇应在 85.5%～87.0%气调保鲜贮藏效果较好.

2) 平菇、香菇气调包装的条件为 1.5%～2.0%O_2＋15%～20%CO_2时较好,在此条件下可延长货架期 6～7 d;处理过浸泡液(10^{-7} g/mL 纳米银,0.05 g/dL 山梨醇,0.05 g/dL 山梨酸钾,0.1 g/dL 泥泊金乙脂)可有效控制酸度及抑制其褐变,提高平菇、香菇的感官值.

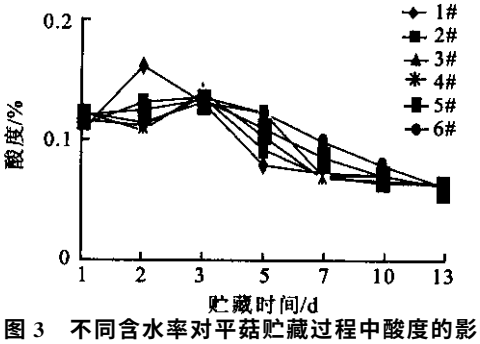


图 3 不同含水率对平菇贮藏过程中酸度的影响

Fig. 3 Effects of different treatments on the acidity of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex. fr.) *Quél.* cells during storage

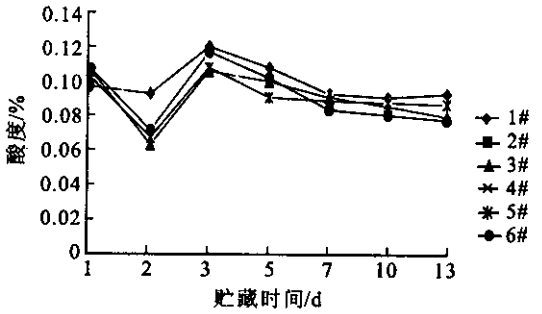


图 4 不同含水率对香菇贮藏过程中酸度的影响

Fig. 4 Effects of different treatments on the acidity of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler cells during storage

参考文献:

[1] 张有林,苏东华. 果品贮藏保鲜技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000.

[2] 中科院上海植物生理研究所,上海市植物生理学协会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社,1999.

[3] 黄邦彦,杨谦. 果蔬采后生理与贮藏保鲜[M]. 北京:轻工业出版社,1992.

[4] 吕素彬,张庆芳,殷梅. 不同处理防止蘑菇褐变的研究[J]. 沈阳农业大学学报,1997,28(3):248－250.

[5] 肖功年. 两种芒果病原微生物的生物学特性研究及其抗微生物对芒果的保鲜作用研究[D]. 南宁:广西大学,2000.

[6] 刘福岭,戴行钧. 食品物理与化学分析方法[M]. 北京:轻工业出版社,1987.

(责任编辑:杨 勇)

(上接第 30 页)

[9] Steiner H. Secondary structure of the cecropins antibacterial peptides from the moth hyalophora cecropia[J]. **FEBS Letters**, 1982,137:283－287.

[10] Marchini D, Giordano P C. Purification and primary structure of ceratotoxin A and B, two antibacterial peptides from the female reproductive accessory glomds of the medfly ceratitis capitata[J]. **Insect Biochem Mol Biol**, 1993,23(5):591－598.

[11] Lehane M J. Midgut-spectific immune molecules are produced by the blood-sucking insect stonzoxys poregrinn[J]. **Proc Natl Acad Sic USA**, 1997,94(21):11502－11507.

[12] 周永富,饶军华, 黄自然. 家蝇抗菌物质的诱导[J]. 生物学杂志 , 1997,14(3):23－26.

[13] 王远程,左晓峰. 家蝇幼虫抗菌物质组成及其理化性质 [J]. 微生物学报, 1997,32(2):148－153.

[14] 陈留存,王金星. 家蝇抗菌肽的分离纯化及性质研究 [J]. 山东大学学报,2001,36(3):351－357.

[15] 柏鸣,周立家. 蝇抗菌蛋白的分离纯化及部分性质 [J]. 应用与环境生物学报,2001,7(6):568－571.

[16] 柏鸣,周立家. 蝇抗菌蛋白的部分结构信息及生物学活性[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2002,18 (5):633－637.

[17] Cociancich S, Bulet P, Hetru C, *et al*. The inducible antibacterial peptides of insect[J]. **Parasitol Today**, 1994,10:132－139.

(责任编辑:杨 萌)

万方数据