

枯草芽孢杆菌 fmbR 抗菌物质稳定性研究

别小妹, 吕凤霞, 陆兆新*, 王冬立
(南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095)

摘 要: 枯草芽孢杆菌 fmbR 能够产生抗菌物质, 对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具显著的抑菌效果。本文研究了该抗菌物质对温度、pH 和三种蛋白酶(胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胃蛋白酶)的稳定性。研究结果表明: 抗菌物质在 pH7.0 下, 在 20~120 的范围内, 抑菌活性不发生变化; 此外在室温下, pH 处理在 2.0~12.0 范围内抗菌物质保持稳定, 抑菌活性不受影响。结果还表明: 抗菌物质对胃蛋白酶的作用表现出很高的稳定性, 而胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶能够在一定条件下将抗菌物质降解。

关键词: 枯草芽孢杆菌 fmbR; 抗菌物质; 温度; pH; 蛋白酶; 稳定性

Study on Stability of Antimicrobial Substance Produced by *Bacillus subtilis* fmbR

BIE Xiao-mei, LÜ Feng-xia, LU Zhao-xin*, WANG Dong-li
(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: *Bacillus subtilis* fmbR is found to produce antimicrobial substance, which has exhibited significant inhibitory effect on Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria. In the paper, the stability of the antimicrobial substance on temperature, pH and three proteinases (trypsin, chymotrypsin and pepsin) was studied. The results showed that the antimicrobial substance is very stable within the tested range from 20 to 120 under pH7.0. In addition, the antimicrobial substance show no change from pH2.0~12.0 under 20 . With regard to the three proteinases, the results indicated that the antimicrobial substance is sensitive to trypsin and chymotrypsin, but it is very stable to pepsin.

Key words: *Bacillus subtilis* fmbR; the antimicrobial substance; temperature; pH; proteinases; stability

中图分类号: Q939.92

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)06-0104-05

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)在生长代谢过程中能够产生两类抗菌物质, 一类是非核糖体合成的脂肽类抗生素(lipopeptide antibiotics) 例如 surfactin, iturin, plipastatin 等^[1~3], 通常对植物病原真菌具有显著的抑菌活性, 对细菌、病毒和寄生虫也有一定抑制效果; 另一类为核糖体合成的细菌素(bacteriocin), 例如 subtilosin, sublancin, subtilin^[4,5] 属于类似于 nisin 的羊毛硫抗生素(lantibiotics), 能够有效地杀死近缘细菌。因此, *Bacillus subtilis* 抗菌物质在医学、农业和食品上具有广阔的应用前景。

在国内有关 *Bacillus subtilis* 对植物病原菌的生物防治研究报道很多^[5~8]。例如, 孔建等发现 *Bacillus subtilis* B-903 产生的抗菌物质对多种植物病原真菌有抑制作用, 对其发酵条件优化和理化特性进行了研究^[9,10]; 胡剑等研究了 *Bacillus subtilis* BS-98 分泌抗菌蛋白的条件及其发

酵液特性^[11]。

近年来, 一直开展 *Bacillus subtilis* 抗菌物质的研究^[12~14], 已经筛选得到 *Bacillus subtilis* fmbR, 该菌产生的抗菌物质对食品致病菌(包括革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌)具有明显抑菌效果。本论文进一步对 *Bacillus subtilis* fmbR 产生的抗菌物质的稳定性进行研究, 为抗菌物质的实际应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质的发酵生产和提取
Bacillus subtilis fmbR 菌株为南京农业大学酶工程实验室分离鉴定和保藏。取 1~2 环 fmbR 菌种接种于内装 70ml 营养琼脂培养基的三角瓶(250ml)中, 在 37℃ 震荡培养(130r/min)15~16h, 获得种子液。将 5% 的种子液接种于内装 100ml Landy^[15] 培养基的 500ml 三角瓶中,

收稿日期: 2005-07-28

*通讯作者

基金项目: 江苏省高新技术项目(BG2003311)

作者简介: 别小妹(1964-), 女, 副教授, 主要从事食品微生物和生物技术研究。

于30~33℃、180r/min条件下培养35~40h,获得抗菌发酵液。将发酵液在11000×g条件下离心15min去除菌体,上清液用6mol/L HCl调节pH值为2,离心后保留沉淀。然后调pH值,利用甲醇萃取几次,离心保留上清液获得抗菌提取物。将抗菌提取物冷冻离心干燥,用少量无菌水悬浮,用于后面的抑菌实验和稳定性实验。

1.2 *Bacillus subtilis* fmbR抗菌物质抑菌实验

选10种重要的食品致病菌作为指示细菌,其中:大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*) (AS1.487) 大肠埃希氏杆菌0157H7(*Escherichia coli* 0157:H7) (CMCC (B) 882364) 蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) (AS1.1846) 单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*) (54004),金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) (AS1.2465) 藤黄微球菌(*Micrococcus aureus*) (AS1.191) 副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*) (CMCC (B) 89001) 源于中国医药微生物保藏中心和中科院微生物研究所菌种保藏中心;小肠结肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*), β 型溶血性链球菌(*β -Streptococcus hemolytic*)和嗜热脂肪芽孢杆(*Bacillus stearothermophilus*)源于江苏省疾病控制中心。

10种指示菌活化悬浮在无菌水中制备成浓度为10⁶CFU/ml菌悬液,取0.1ml菌悬液均匀涂在营养琼脂平板上,平板表面于酒精灯火焰旁烘干。将灭菌的滤纸片(3层滤纸,直径0.5cm)摆放于平板表面,用微量移液器抗菌物提取物点样于滤纸片上,点样量以样品不溢出滤纸片为限(17 μ l),平板于37℃恒温培养箱培养约14h,其中*Bacillus stearothermophilus*在54℃高湿度条件下培养, *β -Streptococcus hemolytic*在培养时采用血平板(营养琼脂平板中添加8%的羊血)。通过滤纸片周围形成的抑菌圈大小判断抗菌物质的抑菌活性。实验重复三次。

1.3 *Bacillus subtilis* fmbR抗菌物质稳定性研究

1.3.1 热处理 取6只刻度试管,每只试管中添加3ml抗菌提取物(pH7.0),分别在20、40、60、80、100和120℃条件下处理3h。冷却后,如果离心管中液体有挥发,则补加无菌水到2ml。其中20℃为室温作为对照。实验重复三次。

1.3.2 pH处理 取6只刻度试管,每只试管中添加3ml抗菌提取物,在室温(20℃)分别调pH到2.0、4.0、6.0、8.0、10.0和12.0条件下处理5h,再依次调pH至7.0,用无菌水定容至4ml。对照为原提取物,pH为7.0。实验重复三次。

1.3.3 酶处理 胰凝乳蛋白酶(>1000U/mg),胃蛋白酶(1:3000)

胰蛋白酶:首先用pH8.0的Tris-HCl缓冲液将胰蛋白酶(1:250)配成浓度为0.5、1.0、1.5、2.0和2.5(mg/ml)

的酶液。取7只刻度试管,每只试管中添加3ml抗菌提取物,1~6号管冷冻离心干燥。1~5号管中加入以上5种不同浓度酶液3ml。6(C1)不加酶液,仅加入3ml Tris-HCl缓冲液,作为抗菌物质经胰蛋白酶处理后活性是否发生变化的参照。1~6号管置37℃水浴6h,80℃水浴2min终止酶活。7号管(C2)作为参照,不加酶液和缓冲液,不进行水浴处理,pH调到8.0。实验重复三次。

胰凝乳蛋白酶:处理方法与胰蛋白酶相同,但是1~5号管中加入的胰凝乳蛋白酶浓度(>1000U/mg)依次为100、200、400、600和800(μ g/ml),缓冲液同样为pH8.0的Tris-HCl。实验重复三次。

胃蛋白酶:胃蛋白酶(1:3000)用pH2.0 KCl-HCl缓冲液配制,1~5号管中加入的胃蛋白酶浓度依次为50、100、150、200和250 μ g/ml,6号管(C1)中仅加入缓冲液。1~6号管经过水浴处理、终止酶活性后,需将pH调回7.0。7号管(C2)不进行任何处理,其它处理方法与胰蛋白酶相同。实验重复三次。

在*Bacillus subtilis* fmbR抗菌物质稳定性实验中,通过抑菌实验检测热处理、pH处理和三种蛋白酶处理前后抗菌物质的稳定性。指示菌选择革兰氏阴性菌*Escherichia coli*和革兰氏阳性菌*Bacillus cereus* 抑菌实验方法同1.2。

2 结果与分析

2.1 *Bacillus subtilis* fmbR抗菌物质对食品致病菌的抑菌作用

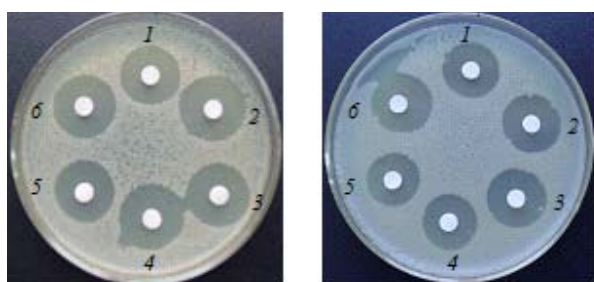
通过抑菌实验表明:*Bacillus subtilis* fmbR能够产生的抗菌物质,该抗菌物质对10种食品病原菌具有明显的抑制作用(见表1),包括7种革兰氏阳性菌和3种革兰氏阴性菌。研究证明:*Bacillus subtilis*产生的羊毛硫抗生素Sublancin, subtilosin, and sublancin具有抑制细菌的活性,同时*Bacillus subtilis*产生的脂肽类抗生素surfactin, iturin, and bacilysin通常具有抗真菌活性,有些还具有抑制病原细菌、抗病毒和抗寄生虫的效果^[16,17]国内有关*Bacillus subtilis*抗菌物质的研究,目前主要认为属于抗菌蛋白,有些抗植物病原真菌,还有的抗植物病原细菌。在该研究中,*Bacillus subtilis* fmbR能够产生的抗菌物质对革兰氏阳性菌和种革兰氏阴性菌具有显著的抑菌作用,但是没有检测到抗真菌活性,可以初步确定属于细菌素类抗菌物质。

2.2 *Bacillus subtilis* fmbR抗菌物质对热的稳定性

由图1可以看出,*Bacillus subtilis* fmbR抗菌物质经过不同温度处理后,抑菌能力没有发生明显的变化。抗菌物质(pH7.0)经过40、60、80、100和120℃热处理3h后,无论是对于革兰氏阴性菌*Escherichia coli*还是对于革兰氏阳性菌*Bacillus cereus*,其抑菌效果与对照

表1 *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质对食品致病菌的抑菌作用
Table 1 Inhibitory effect of the antimicrobial substance produced by *Bacillus subtilis* fmbR on food pathogens

微生物	抑菌圈直径(mm)
蜡状芽孢杆菌	26.7 ± 0.6
单核细胞增生李斯特菌	32.7 ± 0.6
金黄色葡萄球菌	24.3 ± 0.5
藤黄微球菌	30.5 ± 0.7
副溶血性弧菌	24.6 ± 0.4
β 型溶血性链球菌	23.2 ± 0.2
嗜热脂肪芽孢杆菌	38.4 ± 0.5
大肠埃希氏杆菌	22.3 ± 0.4
大肠埃希氏杆菌 0157H7	23.6 ± 0.5
小肠结肠炎耶尔森氏菌	26.2 ± 0.6



大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*) 蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)

1~6 代表抗菌物质处理的温度为: 20、40、60、80、100 和 120。

图1 热处理对 *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质稳定性的影响
Fig.1 Effect of temperature on stability of the antimicrobial substance produced by *Bacillus subtilis* fmbR

(20) 的抗菌物质没有明显的差异。

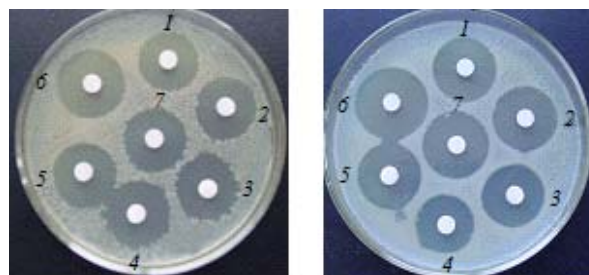
Glulino Bernal 等的研究结果则证实^[18]: *Bacillus subtilis* 产生的抗菌物质经过 100 /15min 和 120 /20min 处理后, 抑菌圈大小没有变化。此外, 钟青萍等报道的对食品致病菌有抑菌作用的纳豆菌(*Bacillus subtilis*) 抗菌蛋白在 pH5~9 时, 对 100 热处理比较稳定^[19]。

可见, 不同的研究结果是有区别的, 在本实验采取的条件下, 抗菌物质提取物对热表现出极高的稳定性, 特别是当热处理温度高达 100 和 120 的条件下 3h, 抗菌物质的抑菌活性仍然没有改变, 这与 Glulino Bernal 和钟青萍的报道有类似之处, 但是相比之下抗菌物质对热的稳定性要更高。

2.3 *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质对 pH 的稳定性

图 2 表明: *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质在 20 下经过不同 pH 条件处理后, 抑菌活性没有显著改变。从抑菌实验图可以看出, 抗菌物质在 pH2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 和 12.0 条件下处理 5h, 对 *Escherichia coli* 和 *Bacillus cereus* 的抗菌效果与对照(pH7) 没有明显的差异。研究表明, 在 20 下, 抗菌物质对 pH 的稳定性很好, 在 pH2.0~12.0 的范围内, 表现出很高的稳定性。

G. Y. YU 等报道^[20]: *Bacillus subtilis* 的抗真菌物质



大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*) 蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)

1~7 代表抗菌物质处理的 pH 值为: 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 和 7.0。

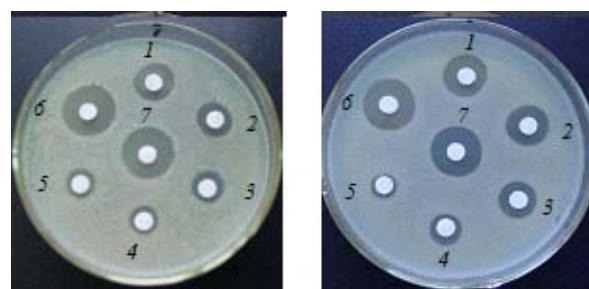
图2 pH 处理对 *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质稳定性的影响
Fig.2 Effect of pH on stability of the antimicrobial substance produced by *Bacillus subtilis* fmbR

iturin 在 pH3~11 条件下, 20 处理 24h, 抗菌效果不受影响。据孔建等报道^[9], B-903 菌株培养滤液也对多种植物病原真菌有强抑制作用。在 pH6 条件下, 经高温处理 20min, 抗菌物质活性无衰减, 与未经高温处理的培养滤液无显著差异; 但在 pH7~7.5 下, 经高温处理抗菌活性全部丧失。说明该物质在偏酸性条件下具热稳定性。

本研究的结果 G. Y. YU 相近, 不同之处是该研究中抗菌物质对病原细菌有抑菌活性, 而且对 pH 的稳定范围更广, 在 pH2.0 或 12.0 下, 抗菌活性没有改变。此外, 该研究结果与孔建的报道不一致, 在 pH7.0 下, 抗菌物质经 120 高温处理抗菌活性不仅没有全部丧失, 而且没有受到任何影响。

2.4 *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质对蛋白酶的稳定性

2.4.1 胰蛋白酶



大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*) 蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)

1~7 代表胰蛋白酶作用抗菌物质的浓度(mg/ml)为: 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、C1 和 C2。

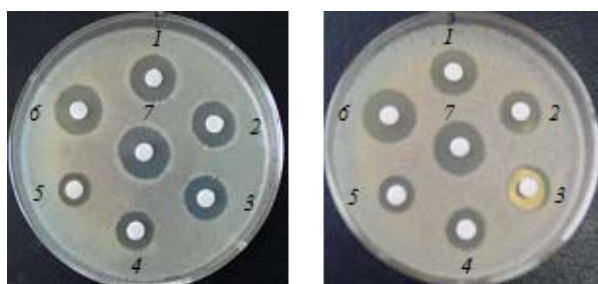
图3 胰蛋白酶对 *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质稳定性的影响
Fig.3 Effect of trypsin on stability of the antimicrobial substance produced by *Bacillus subtilis* fmbR

图 3 的结果表明, *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质经过不同浓度的胰蛋白酶处理后, 抑菌能力发生明显的改变。从图 3 可以看出, 胰蛋白酶作用的浓度从 1~5

依次为0.5、1.0、1.5、2.0和2.5mg/ml, 抗菌物质随着胰蛋白酶作用的浓度增加, 与两个没有经过胰蛋白酶处理的对照(C1和C2)相比抑菌作用显著下降, 抑菌圈明显变小。

从图3还可以看出, 抗菌物质对 *Escherichia coli* 和 *Bacillus cereus* 抑菌作用趋势是一致的。当胰蛋白酶浓度达到2.0mg/ml以上时, 抗菌物质的抑菌效果已经很小。研究结果说明: 抗菌物质对胰蛋白酶的作用不稳定性, 在一定条件下能够被其降解, 从而失去抑菌活性。此外, 对照C1和C2的抑菌效果没有明显差异, 说明水浴条件对抗菌物质的稳定性没有影响。

2.4.2 胰凝乳蛋白酶



大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*) 蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)

1~7代表胰凝乳蛋白酶作用抗菌物质的浓度($\mu\text{g/ml}$)为: 100、200、400、600、800、C1和C2。

图4 胰凝乳蛋白酶对 *B. subtilis* fmbR 抗菌物质稳定性的影响

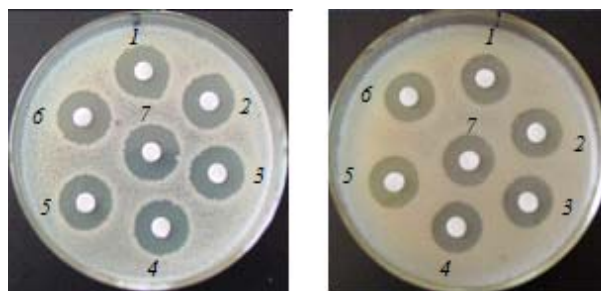
Fig.4 Effect of chymotrypsin on stability of the antimicrobial substance produced by *Bacillus subtilis* fmbR

由图4可以看出, 与胰蛋白酶的作用相似胰凝乳蛋白酶对抗菌物质抑菌能力同样有显著的影响。

在本实验采取的条件下, 胰凝乳蛋白酶作用的浓度从1~5依次为50、100、150、200和250 $\mu\text{g/ml}$, 抗菌物质随着胰凝乳蛋白酶作用的浓度增加, 与对照(C1和C2)相比抑菌作用逐渐下降, 抑菌圈变小。当酶浓度为50、100和150 $\mu\text{g/ml}$ 时, 对抗菌物质的抑菌效果作用不明显, 但是随着酶作用浓度增高, 抗菌物质的抑菌活性明显变小。抗菌物质对 *Escherichia coli* 和 *Bacillus cereus* 抑菌作用趋势同样是一致的。研究结果表明: *B. subtilis* fmbJ 抗菌物质对胰凝乳蛋白酶的作用不稳定, 在一定条件下能够被其降解。

2.4.3 胃蛋白酶

图5的结果表明, 胃蛋白酶对 *B. subtilis* fmbR 抗菌物质的稳定性没有影响。在本实验中, 由于该酶酶活单位较高(1:3000), 采用的胃蛋白酶作用浓度1~5依次为50、100、150、200、250 $\mu\text{g/ml}$, 作用浓度和时间远远超过了通常应用范围。但是经过反复实验的证明, 抗菌物质经过不同浓度的胃蛋白酶处理后, 抗菌物质的



大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*)

蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)

1~7代表胃蛋白酶作用抗菌物质的浓度($\mu\text{g/ml}$)为: 50、100、150、200、250、C1和C2。

图5 胃蛋白酶对 *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质稳定性的影响

Fig.5 Effect of pepsin on stability of the antimicrobial substance produced by *Bacillus subtilis* fmbR

抑菌效果不受影响, 抑菌圈大小与对照相比没有明显区别。因此, 在本实验条件下, *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质对胃蛋白酶的稳定性非常高, 不能被其分解。

对于 *Bacillus subtilis* 抗菌物质蛋白酶稳定性国内外的报道不尽相同。Silva的研究认为^[17]: *Bacillus subtilis* 产生的脂肽类抗菌物质不仅对热稳定, 对蛋白酶也具有稳定性, 但是 *Bacillus subtilis* 产生的细菌素类抗菌物质对热稳定但是能够被蛋白酶分解。在国内, 朱伟光等研究了对植物病原细菌有抑菌作用的 *Bacillus cereus* G35 蛋白类抗菌物质的酶稳定性, 结果表明, 该物质对蛋白酶K、蛋白酶K敏感, 对胰蛋白酶部分敏感^[21]。

该研究结果与前人研究不完全一致。研究结果清楚地表明: *Bacillus subtilis* fmbR 抗菌物质在一定条件下对胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶敏感, 能够被这两种酶分解, 随着酶作用浓度增高, 抗菌活性逐渐减小; 但是该物质对胃蛋白酶的作用相当稳定, 不能够被其降解。

3 讨论

对于 *Bacillus subtilis* 抗菌物质稳定性研究国内外有一些报道, 通过结果与分析已经知道该研究结果与以往的研究结论有相似之处, 但也不完全一致。

首先该研究所设置的温度和pH范围较广, 因此了解到 *Bacillus subtilis* 抗菌物质在pH2.0或12.0温度120的条件下仍然保持稳定性。对于蛋白酶设置了较宽作用浓度范围, 从该酶正常作用浓度到远远高于正常作用浓度, 比单一作用浓度更能够准确说明抗菌物质对蛋白酶的稳定性。这样对抗菌物质的稳定性进行研究比较全面细致。

其次, 在严格控制实验条件情况下, 首次利用抑菌实验图非常真实直观的反映出实验结果, 得出准确的相关结论。另外, 由于 *Bacillus subtilis* 产生的抗菌物质种类较多, 有脂肽类、细菌素以及蛋白质, 有的抗

真菌,有的抗细菌,还有的两者兼而有之。该研究结论与前人结果之所以有差异,这也是其中的原因之一。

参考文献:

- [1] Nakayma S, Takahashi M, Hirai M. Isolation of new variants of surfactin by a recombinant *Bacillus subtilis*[J]. Applied Microbiol Biotechnol, 1997, 48: 80-82.
- [2] Gluliano B, Andres H, Luigi C. Isolation and partial purification of a metabolite from a mutant strain of *Bacillus* sp. with antibiotic activity against plant pathogenic agents[J]. Journal Biotenology, 2002, (5): 1-8.
- [3] Kenji T, Takahashi A, Makoto S. Isolation of a gene essential for biosynthesis of the lipopeptide antibiotics plipastatin B1 and surfactin in *Bacillus subtilis* YB8[J]. Archive Microbiology, 1996, 165: 243-251.
- [4] Palik SH, Chakicheria A, And Hansen J N. Identification and characterization of the structural and transporter genes for the chemical and biological properties of sublacina 168, a novel lantibiotic produced by *Bacillus subtilis* 168[J]. J Biol Chem, 1998, 273: 23134-23142.
- [5] Hansen J N. Antibiotics synthesized by post translational modification [J]. Annu Rev Microbiol, 1993, 47: 535-564.
- [6] 刘颖, 徐庆, 陈章良. 抗真菌肽 L P 1 的分离纯化及特性分析[J]. 微生物学报, 1999, 39(5): 441-447.
- [7] 童有仁, 马志超, 陈卫良, 等. 枯草芽孢杆菌 B 034 拮抗蛋白的分离纯化及特性分析[J]. 微生物学报, 1999, 39(4): 340-343.
- [8] 孔建, 王文夕, 赵白鸽, 等. 枯草芽孢杆菌 B-903 菌株的研究 I. 对植物病原菌的抑制作用和防治试验[J]. 中国生物防治, 1999, 15(4): 157-161.
- [9] 孔建, 王文夕, 赵白鸽. 枯草芽孢杆菌 B-903 抗菌物质的研究[J]. 微生物学报, 1992, 32(6): 445-449.
- [10] 孔建, 王文夕, 赵白鸽, 等. 枯草芽孢杆菌 B-903 菌株的研究 II. 抗菌物质的理化特性[J]. 中国生物防治, 2000, (2): 12-14.
- [11] 胡剑, 林心怡, 张九一, 等. 拮抗菌 BS-98 分泌抗菌蛋白的条件及其发酵液特性[J]. 微生物通报, 1996, 23(6): 323-335.
- [12] Bie Xiaomei, Lu Zhaoxin, Lu Fengxia, et al. Screening the main factors affecting extraction of the antimicrobial substance from *Bacillus* sp. fmbJ using the Plackett-Burman method[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2005, 21: 925-928.
- [13] Bie Xiaomei, Lu Zhaoxin, Lu Fengxia. Preservative effect of the antimicrobial substance from *Bacillus subtilis* fmbJ on pasteurized milk during storage[J]. Food Sci Technol INT, 2005, 12(3).
- [14] 别小妹, 陆兆新. 影响 *Bacillus subtilis* fmbR 中抗菌物质提取的主要因素因子评价[J]. 南京农业大学学报, 2005, 4: 126-129.
- [15] Landy M, Warren G H, Rosenman S B. Colio LG an antibiotic from *Bacillus subtilis* active against pathogenic fungi[J]. Proc Soc Exp Med, 1948, 67: 539-541.
- [16] Andres H, Luigi C. Isolation and partial purification of a metabolite from a mutant strain of *Bacillus* sp. with antibiotic activity against plant pathogenic agents[J]. Journal of Biotechnology, 2002, (5): 1-8.
- [17] Francois A, Philippe J, Magali D. Surfactin and iturin A effects on *Bacillus subtilis* surface hydrophobicity[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2000, 27: 749-754.
- [18] Gluliano B, Andres H, Luigi C. Isolation and partial purification of a metabolite from a mutant strain of *Bacillus* sp. with antibiotic activity against plant pathogenic agents[J]. J Biotenology, 2002, (5): 1-8.
- [19] 钟青萍, 谢俊杰, 余世望. 纳豆菌抗菌蛋白的稳定性[J]. 中国食品添加剂, 2002, (4): 42-45.
- [20] Yu G Y, Sinclair J B, Hartman G L, et al. Production of iturin A by *Bacillus amyloliquefaciens* suppressing *Rhizoctonia solani*[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34: 955-963.
- [22] 朱伟光, 李德保, 葛起新. 植物病原细菌拮抗菌及其拮抗物质测定[J]. 浙江农业大学学报, 1990, 16(4): 345-350.



哈佛的科学家研究称维生素 D 不足会影响肺功能

俄罗斯消息报网站 5 月 24 日消息, 哈佛大学的科学家们最近通过一项研究得出结论称, 人体内维生素 D 含量不足会影响肺功能。

科学家们在此项研究中发现, 那些血液中维生素 D 含量较低的青少年肺功能要比体内维生素 D 含量正常的同龄人要差。

从事此项研究的专家们表示, 众所周知, 人体内的维生素 D 是在太阳光辐射作用下形成的。许多食品中也含有这种维生素, 比如: 蛋、富含蛋白质的奶制品、动物肝脏、鱼(包括大马哈鱼和鲑鱼)。维生素 D 对人体骨骼的形成和发育至关重要: 它可促使胃肠道对钙的消化吸收以及钙与骨组织的接合。但维生素 D 与肺功能的关系还是第一次被人发现。

由简·布恩领导的哈佛大学科学家们在本次研究中共吸纳了 2112 名年龄在 16 至 19 岁之间的青少年作为研究对象。最终的研究结果显示, 有 35% 的孩子维生素 D 的摄入量低于 200 国际单位(专家们推荐的剂量)。那些维生素 D 摄入量不足 157 国际单位的孩子肺功能明显比维生素 D 摄入量达到专家推荐剂量的同龄孩子要差。而且肺功能对维生素 D 的这种依赖关系无论是在男孩子还是在女孩子中都普遍存在。

负责该项研究的科学家们表示, 尽管他们目前还没有查清楚维生素 D 对功能产生影响的原理, 但他们还是建议人们多食用富含维生素 D 的食物以获取充足的维生素 D。过去科学家们已经通过研究证实, 维生素 D 还会对人体免疫系统产生影响。