

# 家蝇幼虫壳聚糖的抑菌活性及影响因子

荆迎军, 单颖, 李德森, 杜荣骞\*

(南开大学生命科学学院遗传工程研究室, 天津 300071)

**摘要:** 为研究昆虫壳聚糖的抑菌活性及影响因子, 由家蝇 *Musca domestica* 幼虫制备了 10 个不同分子量的壳聚糖, 在不同条件下分别对 6 种细菌作抑菌实验, 并通过测定细菌细胞膜和细胞壁的透性初步探讨了壳聚糖的抑菌机理。结果表明, 分子量在 21 ~ 251 kD 的壳聚糖有很强的抑菌活性, 抑菌活性呈现随 pH 的降低而增加的趋势, pH 5.5 时最低抑菌浓度在 0.03% ~ 0.06% 之间,  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  能够显著降低壳聚糖的抑菌作用。通过对实验结果的方差分析表明, 壳聚糖的不同分子量、pH 值和金属离子等外界因素都是壳聚糖抑菌活性的极显著影响因素, 而菌株本身也是极显著影响因素之一。壳聚糖能够增加细胞膜通透性, 造成细胞内容物的外泄。

**关键词:** 家蝇; 壳聚糖; 抑菌活性; 抑菌机理; 细胞膜; 通透性

中图分类号: Q636.1 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)04-0582-06

## Antibacterial activities of chitosans obtained from cuticle of *Musca domestica* larvae and affecting factors

JING Ying-Jun, SHAN Ying, LI De-Sen, DU Rong-Qian\* (Genetic Engineering Laboratory, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract:** In order to study the antibacterial activities of chitosans obtained from cuticle of housefly (*Musca domestica*) larvae and affecting factors, chitosans with different molecular weights prepared from cuticle of housefly larvae were examined against six bacteria at different conditions. The results showed that chitosans with the molecular weights of 21 – 251 kD had stronger antibacterial activities. Chitosans showed higher antibacterial activities at low pH value. The minimum inhibitory concentration of chitosans ranged from 0.03% – 0.06%.  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  could reduce the antibacterial activity of chitosans remarkably. Molecular weight of chitosans, pH value and ion were the factors strongly affecting the antibacterial activities of chitosan, which was also significantly related to the strain of the bacteria. Chitosan could increase cell membrane penetrability of the bacteria and cause the leakage of cytoplasm.

**Key words:** *Musca domestica*; chitosan; antibacterial activity; antibacterial mechanism; cell membrane; penetrability

壳聚糖是一种无毒性的天然高聚物, 是甲壳素脱乙酰基的产物。壳聚糖和甲壳素在自然界广泛存在, 是地球上数量最大的含氮有机化合物之一, 已经被广泛地应用于化工、日用品、食品、医药及农林等许多领域。近年的一些研究表明低分子量的壳聚糖具有抑细菌(Xie *et al.*, 2002)、抗肿瘤(Pospieszny, 1997)和抗真菌(Roller and Covill, 1999)等生物学活性, 在医药领域有广阔的应用前景。目前国内外的研究主要集中在虾、蟹等甲壳纲动物的甲壳素和壳

聚糖, 虽然对来源于昆虫的甲壳素、壳聚糖亦有些研究, 但研究相对较少。虾、蟹的生产受到季节和气候的影响较大, 生产不稳定。而家蝇幼虫是昆虫中几丁质含量较高的类群之一, 且家蝇繁殖力强、生活周期短, 便于大规模人工饲养, 不受季节和气候的影响(韦新葵和雷朝亮, 2004), 具有巨大的开发价值。本实验采用家蝇幼虫作为原料制备几丁质和壳聚糖, 对不同分子量的昆虫壳聚糖抑菌活性及其影响因素进行了详细的研究, 并初步探讨了其抑菌机理。

基金项目: 天津市自然科学基金资助项目(033604911)

作者简介: 荆迎军, 男, 1974年1月生, 河南郑州人, 博士研究生, 主要从事昆虫几丁质和壳聚糖的生物学活性研究, E-mail: jingyingjun@eyou.com

\* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: (022) 23503503; E-mail: ourgene@eyou.com

收稿日期 Received: 2005-11-16; 接受日期 Accepted: 2006-05-08

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

家蝇幼虫由本实验室饲养。革兰氏阳性细菌:枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*,金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*,溶壁微球菌 *Micrococcus luteus*;革兰氏阴性细菌:野生型大肠杆菌 *Escherichia coli*<sup>+</sup>,大肠杆菌 DH5 $\alpha$ ,变形杆菌 *Proteus vulgaris*,均为本实验室保藏。

### 1.2 方法

**1.2.1 家蝇幼虫几丁质及壳聚糖的制备:**取培养4天的家蝇幼虫,加入15%的NaCl溶液漂洗,去掉杂质。以粉碎机破皮、洗涤、过滤后得到蛆皮,以无离子水充分冲洗。加入5% NaOH溶液脱蛋白,95℃反应6h,无离子水冲洗至pH 7.0。加入0.3% KMnO<sub>4</sub>溶液脱色,室温反应4h。加入1% C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>脱锰,室温反应3h。加入1 mol/L HCl脱钙,室温反应3h。无离子水冲洗至pH 7.0,50℃烘干,即得家蝇幼虫几丁质。

取家蝇幼虫几丁质,加入42%(W/W)NaOH溶液脱乙酰基。在70℃反应8h,换新碱液再反应4h,无离子水冲洗至pH 7.0,50℃烘干,得到家蝇幼虫壳聚糖。得到的壳聚糖粘均分子量为467 kD,脱乙酰度为91%。

**1.2.2 不同分子量壳聚糖的制备:**使用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-乙酸方法(Shimojoh *et al.*, 1998)将制备的壳聚糖降解为一系列不同粘均分子量(分子量分别为:8,21,28,44,63,76,121,148,251,467 kD)的壳聚糖。所有制备的壳聚糖均为粉末状,室温干燥保藏。将壳聚糖溶于浓度为0.5%(V/V)乙酸溶液中,制备成1%(W/V)溶液,壳聚糖溶液现用现配。

**1.2.3 壳聚糖抑菌活性的测定:**分别取6种菌株3  $\mu$ L菌液(109 CFU/mL),加入到10 mL LB培养基中,充分混匀,倒入直径9 cm平板中,水平放置凝固。然后使用直径3 mm打孔器在培养基上打孔。每孔加入待测壳聚糖溶液样品15  $\mu$ L,37℃培养12 h。测定抑菌圈直径(含孔径),以抑菌圈直径的大小表示抑菌活性的大小。对照采用相应的溶剂。

**1.2.4 不同分子量壳聚糖的抑菌活性分析:**将壳聚糖溶液调整到pH 5.5,每孔中分别加入不同分子量的壳聚糖溶液15  $\mu$ L,测定其抑菌活性。

**1.2.5 pH值对抑菌活性的影响:**用0.1 mol/L NaOH或0.1 mol/L HCl调整壳聚糖(分子量为21

kD)溶液的pH值分别为4.0,4.5,5.0,5.5和6.0,测定抑菌活性。

**1.2.6 最小抑菌浓度(MIC):**将浓度为1%(W/V)的壳聚糖溶液倍比稀释到0.5%,0.25%,0.12%,0.06%和0.03%,调整pH 5.5,测定抑菌活性。以没有抑菌圈时的浓度为最小抑菌浓度。

**1.2.7 金属离子对抑菌活性的影响:**分别向浓度为1%的壳聚糖溶液(分子量为21 kD)中加入不同金属离子(K<sup>+</sup>,Na<sup>+</sup>,Ca<sup>2+</sup>,Mg<sup>2+</sup>,Li<sup>+</sup>),使金属离子终浓度为0.1%(W/V),调pH 5.5进行抑菌活性检测。

**1.2.8 细胞壁和细胞膜透性的测定:**将野生型大肠杆菌和金黄色葡萄球菌分别接入LB培养基(加入1%乳糖作为酶诱导剂)37℃培养18 h,4 000 r/min离心15 min收集菌体,0.05 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)洗涤3次后重新悬浮,稀释细胞浓度为OD<sub>600</sub> = 0.2。加入壳聚糖(分子量为21 kD)溶液,使最终浓度为0.25%,调pH 5.5,37℃温育,定时取样,在OD<sub>405</sub>处测定溶液碱性磷酸酶活性(黄秀琴和王卫星,1996)和 $\beta$ -半乳糖苷酶活性(Hara and Yamakawa,1995)。以OD<sub>405</sub>的吸光度表示酶量的多少。

### 1.3 实验数据处理

1.2.4,1.2.5和1.2.7节中的实验数据采用二因素方差分析,SAS软件(6.12版本)进行处理。数据为3次实验数据的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同分子量壳聚糖对6种细菌的抑菌活性

不同分子量壳聚糖对供试的6株细菌的抑制活性见表1。从表1可以看出,壳聚糖对6种细菌都有抑菌作用,抑菌活性随着壳聚糖分子量和菌株的不同而有所不同。分子量在21~251 kD之间的壳聚糖有十分显著的抑菌能力,分子量为21 kD的壳聚糖抑菌能力最强,28~76 kD的次之,当分子量为8 kD和大于251 kD时,其抑菌活性较弱。壳聚糖对金黄色葡萄球菌的抑菌能力最强,对大肠杆菌DH5 $\alpha$ 和变性杆菌的抑菌能力次之,对野生型大肠杆菌抑菌能力最低,说明壳聚糖对不同菌种的抑菌能力有所不同。方差分析也显示,不同分子量的壳聚糖、不同菌株的P值均小于0.01,说明壳聚糖的分子量、菌株在抑菌作用上都是极显著因素。特别是分子量与菌株的交互作用也是极显著因素,该结果说明壳聚糖的抑菌效果是由分子量与菌株共同决定的,即特定的菌株只有在特定分子量的壳聚糖作用下抑菌

效果才最明显。由此可以看出为了得到最佳的抑菌效果,不同菌株应该选择不同分子量的壳聚糖。郑连英等(2000)研究发现对于革兰氏阴性菌,随分子量的减小,壳聚糖的抑菌作用逐渐增强,而对于革兰

氏阳性菌则正好相反。但从本实验结果看,无论是革兰氏阳性菌还是革兰氏阴性菌,壳聚糖的抑菌活性的趋势是基本一致的,都有随分子量的减小,壳聚糖的抑菌活性逐渐增强的趋势。

表 1 不同分子量壳聚糖的抑菌活性(mm)

Table 1 Antibacterial activities(mm) of chitosans with different molecular weights

细菌 Bacteria	对照 CK	壳聚糖粘均分子量 Molecular weight of chitosans(kD)									
		8	21	28	44	63	76	121	148	251	467
G <sup>-</sup> 野生型大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> <sup>+</sup>	3.0 d	3.0 d(d)	7.1 d(e)	7.0 d(d)	7.0 d(d)	7.0 d(d)	6.9 d(d)	6.8 d(d)	6.0 l(d)	5.5 d(c)	3.0 d(d)
大肠杆菌 DH5 $\alpha$ <i>Escherichia coli</i> DH5 $\alpha$	3.0 f	11.0 d(a)	12.8 d(b)	11.8 l(b)	11.8 l(b)	11.3 b d(a)	10.8 d(b)	10.3 d(b)	9.3 c d(b)	8.0 d(b)	6.7 d(b)
变形杆菌 <i>Proteus vulgaris</i>	3.0 f	9.2 d(b)	12.8 d(b)	12.3 d(b)	11.5 l(b)	11.3 l(a)	10.3 d(b)	9.8 d(b)	8.0 d(c)	7.8 d(b)	6.3 d(b,c)
G <sup>+</sup> 金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	3.0 f	11.5 d(a)	16.3 d(a)	13.4 l(a)	12.5 b d(a)	11.7 d(a)	11.5 d(a)	11.2 d(a)	10.5 c d(a)	9.0 d(a)	7.8 d(a)
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	3.0 f	8.0 d(c)	10.7 d(c)	10.0 a l(c)	9.7 l(c)	9.5 l(b)	9.2 b d(c)	8.8 d(c)	8.7 d(b,c)	7.9 d(b)	6.2 d(c)
溶壁微球菌 <i>Micrococcus luteus</i>	3.0 f	8.9 b d(b)	9.9 d(d)	9.5 d(c)	9.4 d(c)	9.0 l(c)	9.0 l(c)	8.5 d(c)	8.3 d(c)	7.7 d(b)	6.1 d(c)

注:同行数据后不同小写字母表示组间差异显著( $P < 0.05$ ); 同列数据后括号内不同小写字母表示组间差异显著( $P < 0.05$ )。

Notes: Data within a row with different small letters are significantly different at  $P < 0.05$ ; data within a column with different small letters in brackets are significantly different at  $P < 0.05$ .

## 2.2 pH 值对壳聚糖抑菌活性的影响

pH 值对壳聚糖抑菌活性的影响见表 2。由于壳聚糖的等电点为 6.3,所以选择 pH 值 6.0 到 4.0 为研究范围。从表 2 中可以看出,壳聚糖的抑菌活性随着 pH 值的降低而增高,壳聚糖溶液的 pH 值从 6.0 降低到 4.0,对于不同菌株的抑菌活性分别增加了 31% 到 98% 不等,而 pH 值 6.0 和 5.5 时壳聚糖对

革兰氏阳性菌的抑菌活性没有显著差异。方差分析也显示,pH 值对抑菌活性是一个极显著影响因素。这与 Hong 等(2002)的研究结果一致,即随着 pH 值的降低,壳聚糖分子所带正电荷增加,从而导致了抑菌活性的增加。这个结果表明酸性环境能够更好地发挥壳聚糖的抑菌能力。

表 2 pH 值对壳聚糖抑菌活性(mm)的影响

Table 2 Effect of pH on antibacterial activity(mm) of chitosans

细菌 Bacteria	pH				
	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
G <sup>-</sup> 野生型大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> <sup>+</sup>	11.9 a	10.8 b	8.7 c	7.1 d	6.0 e
大肠杆菌 DH5 $\alpha$ <i>Escherichia coli</i> DH5 $\alpha$	17.3 a	15.8 b	13.3 c	12.8 d	11.8 e
变形杆菌 <i>Proteus vulgaris</i>	19.5 a	17.5 b	15.3 c	12.8 d	11.0 e
G <sup>+</sup> 金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	21.0 a	20.1 b	17.0 c	16.3 d	16.0 d
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	16.2 a	14.2 b	11.8 c	10.7 d	10.3 d
溶壁微球菌 <i>Micrococcus luteus</i>	14.1 a	12.8 b	11.0 c	9.9 d	9.7 d

注:同行数据后不同小写字母表示组间差异显著( $P < 0.05$ ),表 4 同。

Notes: Data within a row with different small letters are significantly different at  $P < 0.05$ . The same for Table 4.

### 2.3 壳聚糖的最小抑菌浓度

在 pH 5.5 条件下,测定了分子量为 21 kD 的壳聚糖的最小抑菌浓度,结果见表 3。对于 6 种测试菌株,壳聚糖的最小抑菌浓度多数在 0.03% ~ 0.06%(W/V)之间,说明壳聚糖的抑菌能力很强,同时也看到最小抑菌浓度与细菌的种类和壳聚糖的分子量大小相关。对不同的细菌和不同分子量的壳聚

糖,壳聚糖的最小抑菌浓度有差异。对野生型大肠杆菌的最小抑菌浓度较高,这与壳聚糖对野生型大肠杆菌抑菌能力相对较低有关。不同分子量壳聚糖的最小抑菌浓度也不一样,21 ~ 251 kD 的壳聚糖最小抑菌浓度相对较小,这与该分子量范围的壳聚糖抑菌活性较高是相一致的。

表 3 不同分子量壳聚糖的最小抑菌浓度(%)

Table 3 Minimum inhibitory concentration (%) of chitosans with different molecular weights

细菌 Bacteria	粘均分子量 Molecular weight (kD)									
	8	21	28	44	63	76	121	148	251	476
野生型大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> +	0.12	0.06	0.06	0.06	0.12	0.12	0.25	0.25	0.5	0.5
大肠杆菌 DH5 $\alpha$ <i>Escherichia coli</i> DH5 $\alpha$	0.06	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.06	0.06	0.12
变形杆菌 <i>Proteus vulgaris</i>	0.06	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.06	0.06	0.12
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	0.06	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.06	0.12
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	0.12	0.06	0.06	0.06	0.03	0.03	0.06	0.06	0.12	0.25
溶壁微球菌 <i>Micrococcus luteus</i>	0.06	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.06	0.12

### 2.4 金属离子对壳聚糖抑菌活性的影响

金属离子对壳聚糖抑菌活性的影响见表 4。从表 4 可以看出,金属离子能够显著降低壳聚糖的抑菌活性,且对于革兰氏阴性菌的影响要大于对革兰氏阳性菌的影响。但不同金属离子的影响程度不同, $Ca^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  的影响最大,使壳聚糖的抑菌活性

最大降低了 25%。壳聚糖能够螯合金属离子(丁德润等,2003)增加溶液中金属离子的量,可以在一定程度上降低壳聚糖的抑菌效果,特别是  $Ca^{2+}$  和  $Mg^{2+}$ ,而  $Ca^{2+}$  对于维持细胞膜的电位正常极为重要。推测壳聚糖能够抑菌的可能之一是螯合了溶液中的金属离子,使细胞的膜电位发生异常,最终导致死亡。

表 4 金属离子对壳聚糖抑菌活性(mm)的影响

Table 4 Effect of metal ion on antibacterial activity (mm) of chitosan

细菌 Bacteria	对照 CK	金属离子 Metal ion					
		K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Li <sup>+</sup>
野生型大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> +	7.1 a	6.8 b	6.7 b	6.2 c	6.0 c	6.8 b	6.8 b
大肠杆菌 DH5 $\alpha$ <i>Escherichia coli</i> DH5 $\alpha$	12.8 a	12.2 b	12.3 b	10.8 c	10.9 c	12.3 b	12.0 b
变形杆菌 <i>Proteus vulgaris</i>	12.8 a	12.3 b	12.2 b	10.5 c	10.3 c	12.5 a b	12.3 b
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	16.3 a	14.5 b	14.2 b	12.3 c	12.2 c	14.5 b	14.8 b
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	10.7 a	10.0 b	9.9 b	9.2 c	9.0 c	10.2 b	10.0 b
溶壁微球菌 <i>Micrococcus luteus</i>	9.9 a	9.0 b	8.8 b	8.1 c	8.0 c	9.2 b	9.0 b

### 2.5 壳聚糖对细胞壁和细胞膜通透性的影响

碱性磷酸酶位于细胞壁和细胞膜之间,而  $\beta$ -半乳糖苷酶位于细胞膜内,二者不分泌到细胞外,正常

情况下在胞外不能检测到其活性或活性很低。但当细胞壁或细胞膜遭到破坏后,通透性增加,二者会泄漏到细胞外,通过检测胞外两种酶量的变化可以反映

细胞壁和细胞膜的透性变化 (Hara and Yamakawa, 1995; 黄秀琴和王卫星, 1996)。从图 1 可以看出, 壳聚糖作用金黄色葡萄球菌和大肠杆菌后, 两种菌溶液中碱性磷酸酶的量分别在 30 min 和 60 min 后迅速增加, 反映了壳聚糖作用后, 两种菌的细胞壁的透性都有了一定的增加, 且对金黄色葡萄球菌的作用

要快于大肠杆菌。这与壳聚糖对金黄色葡萄球菌抑菌效果大于对大肠杆菌的结果一致。在壳聚糖作用两种菌 90 min 后, 溶液中  $\beta$ -半乳糖苷酶开始增加, 说明两种菌的细胞膜的透性也都有了一定的增加。说明壳聚糖作用细菌后, 能够使其胞内细胞质外泄。

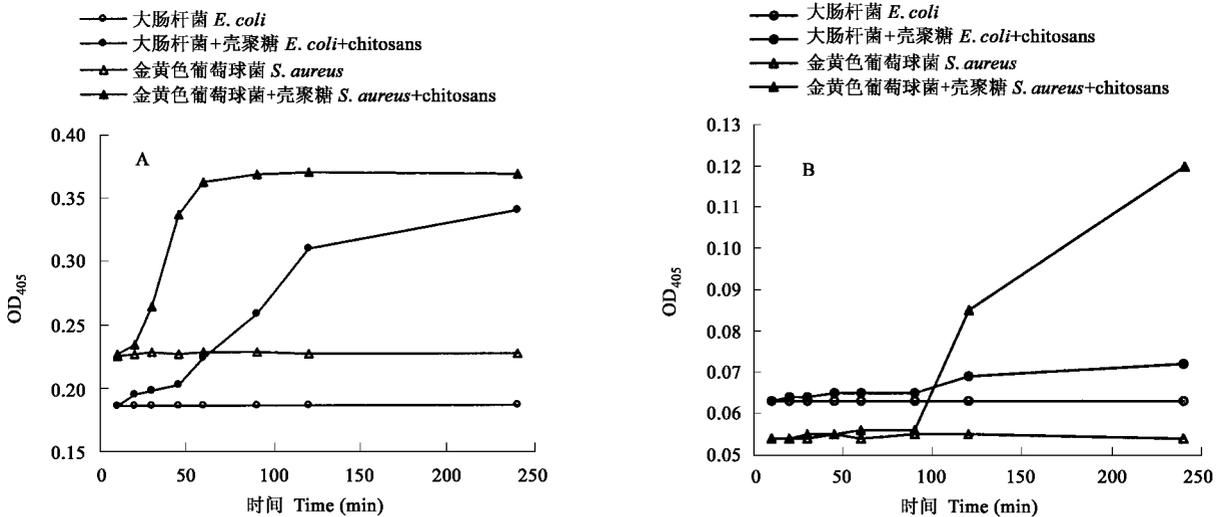


图 1 细菌细胞碱性磷酸酶 (A) 和  $\beta$ -半乳糖苷酶 (B) 的渗漏

Fig. 1 Leakage of alkaline phosphatase (A) and  $\beta$ -galactosidase (B) from bacterial cells

### 3 讨论

壳聚糖对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有很强的抑菌活性。Hong 等 (2002) 报道, 壳聚糖对革兰氏阳性菌的抑菌作用高于对革兰氏阴性菌的抑菌作用, 但从本实验结果看, 壳聚糖对革兰氏阴性菌变形杆菌的抑制作用强于对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌的抑菌作用。即使对同一菌种的不同菌株, 也表现出了不同的抑菌活性, 对大肠杆菌 DH5 $\alpha$  的抑菌能力要远大于对野生型大肠杆菌的抑菌能力。说明壳聚糖对于细菌的抑菌作用与菌株的革兰氏阳性与革兰氏阴性并没有关系, 而是与菌株本身的特征有关。不同菌株细胞的特点不同, 如膜电位和细胞膜通透性等不同, 导致了不同分子量壳聚糖及不同 pH 值下壳聚糖的抑菌作用不同。壳聚糖的不同分子量、pH 值、金属离子等外界因素会对壳聚糖的抑菌活性起到重要的作用, 而菌株本身也是壳聚糖抑菌活性大小的关键因素之一。

对于壳聚糖的抑菌机理目前还不清晰。Helander 等 (2001) 认为, 壳聚糖对革兰氏阴性菌的抑菌机理是由于细胞外膜被破坏, 最终造成菌体死

亡。从本研究结果看, 壳聚糖对细菌细胞壁和细胞膜的透性都有一定的作用, 使其通透性增加, 造成细胞质物质外流, 说明这有可能是壳聚糖抑菌的作用因素之一, 但壳聚糖的抑菌机理还需要进一步的研究。

### 参考文献 (References)

- Ding DR, Chen YQ, Liu HZ, 2003. Chelating properties of salicylaldehyde modified derivatives of degraded chitosan toward  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{3+}$ . *Fine Chemicals* (4): 247–249. [丁德润, 陈燕青, 刘鸿志, 2003. 降解壳聚糖与水杨醛改性衍生物对  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  的螯合性质. *精细化工* (4): 247–249]
- Hara S, Yamakawa M, 1995. Moricin, a novel type of antibacterial peptide isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Biological Chemistry*, 270 (50): 29 923–29 927.
- Helander IM, Nurmiaho-Lassila EL, Ahvenainen JR, Rhoades C, Roller S, 2001. Chitosan disrupts the properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 71: 235–244.
- Hong KN, Na YP, Shin HL, Samuel PM, 2002. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, 74: 65–72.
- Huang XQ, Wang WX, 1996. The lethal event in the complement bactericidal reaction. *Journal of East China Normal University (Natural Science)*, (2): 103–105. [黄秀琴, 王卫星, 1996. 补体对大肠

- 杆菌的致死过程. 华东师范大学学报(自然科学版), (2): 103 - 105 ]
- Pospieszny H, 1997. Antiviroid activity of chitosan. *Crop Protection*, 16 (2): 105 - 106.
- Roller S, Covill N, 1999. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 47: 67 - 77.
- Shimohjoh M, Fukushima K, Kurita K, 1998. Low-molecular-weight chitosans derived from chitin: preparation, molecular characteristics and aggregation activity. *Carbohydrate Polymers*, 35: 223 - 231.
- Wei XK, Lei CL, 2004. Studies on the antimicrobial activity of chitoooligosaccharides from housefly larvae (*Musca domestica* Macquart). *Scientia Agricultura Sinica*, 37(4): 552 - 557. [ 韦新葵, 雷朝亮, 2004. 蝇蛆几丁低聚糖抑菌作用的初步研究. 中国农业科学, 37(4): 552 - 557 ]
- Xie WM, Xu PX, Wang W, Liu Q, 2002. Preparation and antibacterial activity of a water-soluble chitosan derivative. *Carbohydrate Polymers*, 50: 35 - 40.
- Zheng LY, Zhu JF, Sun KS, 2000. Antimicrobial activity of chitosan. *Materials Science and Engineering*, 18(2): 22 - 24. [ 郑连英, 朱江峰, 孙昆山, 2000. 壳聚糖的抗菌性能研究. 材料科学与工程, 18(2): 22 - 24 ]

(责任编辑: 黄玲巧)