

## 超高压处理对副溶血性弧菌细胞膜组成成分的影响

童钰<sup>1</sup>, 陆海霞<sup>1\*</sup>, 励建荣<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>浙江工商大学食品与生物工程学院, 浙江省食品安全重点实验室, 杭州 310012

<sup>2</sup>渤海大学, 辽宁省食品安全重点实验室, 食品贮藏加工及质量安全控制工程技术研究中心, 锦州 121013

**摘要:** 【目的】探讨水产品中副溶血性弧菌基于细胞膜损伤和修复的耐超高压胁迫机制。【方法】以 80-250 MPa 超高压多次处理原始敏感菌株, 从中筛选分离副溶血弧菌的耐压菌株, 通过紫外分光光度法测定超高压处理前后细胞膜通透性的变化; 采用 SDS-PAGE 电泳技术分析原始敏感菌株与耐超高压胁迫菌株细胞膜可溶性蛋白的差异, 采用超微量  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  ATP 酶试剂盒分别测定原始菌株与耐压菌株的  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  ATP 酶活性, 用 GC-MS 法分析耐压菌株与原始菌株细胞膜脂肪酸组成的差异。【结果】分离获得的副溶血弧菌耐压菌株直接经 250 MPa 压力胁迫处理, 存活量可较原始菌株提高  $10^3$  数量级。当处理压力大于 400 MPa 时, 耐压菌株上清液中核酸物质泄露与原始菌株差异显著。耐压菌的可溶性膜蛋白在分子量为 36 kDa 处浓度明显增加,  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  ATPase 酶活性比原始菌株提高了 83.3%, 细胞膜不饱和脂肪酸含量由 51.57% 变为 54.23%。【结论】原始的副溶血性弧菌在 250 MPa 压力处理后存活率为 0.0008%, 而耐超高压胁迫菌株在 250 MPa 压力处理后存活率可达到 0.28%。经超高压处理分离得到的耐压菌株细胞膜上低分子量可溶性膜蛋白含量高于原始菌株,  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  ATPase 酶活性显著高于原始菌株, 不饱和脂肪酸比例加大, 这些细胞膜上的主要成分含量的变化均与菌株耐压性有关。

**关键词:** 副溶血性弧菌, 细胞膜组成成分, 耐超高压胁迫机制

**中图分类号:** Q935    **文献标识码:** A    **文章编号:** 0001-6209 (2012) 10-1244-07

副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, 简称 VP) 是广泛分布于近海区域、盐湖及海产品中的嗜盐性细菌, 是沿海地区引起食物中毒的重要病原菌, 可导致患者出现腹泻、肠痉挛、恶心、呕吐、发烧等典型胃肠炎反应, 严重者可引起败血症<sup>[1]</sup>。

超高压处理食品保鲜技术具有诸如保持食品原有的风味、色泽、营养成分、低能耗、对环境无污染以及少用或不用化学添加剂等很多优点<sup>[2-4]</sup>。超高压处理不仅能杀灭食品中的微生物, 还可以抑制酶的

活性<sup>[5-6]</sup>, 有利于食品的保鲜保藏。若将像生鲜海产品这样的生食先经超高压处理, 再经简单加热食用不但没有改变原生鲜风味, 满足了人们对生鲜食品的需求, 而且大大提高了食用安全性<sup>[7]</sup>。

研究表明细菌细胞膜的损伤是超高压致死副溶血弧菌的主要原因<sup>[8-10]</sup>。但在研究中发现有些副溶血性弧菌对超高压有一定的耐受性, 在 250 MPa 以下超高压处理之后少量细胞仍保持生命活力。而 250 MPa 以上压力处理会对贝类等鲜活水产品的生鲜

**基金项目:** 浙江省自然科学基金 (Y3100675); “十二五”国家科技支撑计划 (2012BAD29B06); 教育部博士点基金 (20093326120001)

\* 通信作者。陆海霞, Tel: +86-571-88071024-7588, E-mail: luhaixia@zjgsu.edu.cn; 励建荣, Tel: +86-571-88056656, E-mail: lijianrong@zjgsu.edu.cn

**作者简介:** 童钰 (1989-), 女, 湖北黄冈人, 硕士研究生, 研究方向食品工程。E-mail: tongyu890307@163.com

**收稿日期:** 2012-04-10; **修回日期:** 2012-05-18

品质造成不利影响。

为何副溶血性弧菌对超高压表现出不同的耐受性以及耐超高压胁迫的机制迄今为止尚无系统研究和报道。对于超高压处理后耐压细菌细胞膜损伤修复方式的研究亦尚未展开。本文通过研究超高压对水产品中副溶血性弧菌细胞膜蛋白和脂肪酸组成等的影响,阐明水产品中副溶血性弧菌基于细胞膜损伤和修复的耐超高压胁迫机制,以便于在超高压杀菌时采取有效的作用方式以降低其对超高压的耐受性,为超高压有效杀灭水产品中耐超高压致病菌提供思路,为超高压技术在水产品保鲜杀菌和改善水产品品质中的应用奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌种:**副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus* ZJ GSMC001)由浙江工商大学食品与生物工程学院提供,购于中国科学院微生物研究所。

**1.1.2 主要试剂和仪器:**HPB-A2-600/0.6超高压生物处理机,天津市华泰森淼生物工程技术有限公司;GS-800凝胶成像分析系统、Mini-Protein cell II电泳系统,美国Bio-Rad公司;TAS-900型原子吸收分光光度计;气相色谱-质谱联用仪,安捷伦7890A-5975C;MIR-554低温恒温培养箱,日本SANYO;3-30K台式高速离心机, Sigma; M200多功能酶标仪, TECAN。

### 1.2 耐压菌的筛选方法

将活化好的副溶血弧菌  $5000 \times g$  离心 10 min, 弃上清液, 以无菌生理盐水将菌悬液浓度调整至  $10^8$  cfu/mL, 分装于 50 mL 的无菌蒸煮袋中, 封口。

采用 80-250 MPa 由低至高的超高压多次处理副溶血性弧菌的方式来获得可以耐受超高压胁迫的副溶血弧菌菌株。压力处理程序为 80, 100, 120, 150, 180, 200, 200, 200, 200, 250, 250, 250 MPa 的压力依次处理 15 min, 对处理后的菌液进行分离培养, 从中分离得到最终存活下来的菌株。然后再分别以 250MPa 压力处理原始菌株和分离得到的菌株, 若分离得到的菌株存活率远远高于原始菌株, 即视其为耐高压胁迫菌株。

### 1.3 副溶血弧菌对超高压处理的耐受性试验

将活化好的原始菌株和耐压菌株接种到 3% 氯

化钠碱性蛋白胨水培养基中 37℃ 摇床培养 18 h。

取菌液于  $5000 \times g$  离心 10 min, 弃上清液, 以无菌生理盐水将菌悬液浓度调整至  $10^8$  cfu/mL 分装于 50mL 的无菌蒸煮袋中, 封口。将样品置于超高压加压釜中, 分别于 100-500 MPa 加压处理 15 min, 每个样品做 3 次平行。

### 1.4 微生物数量的测定方法

按《食品微生物检验国家标准》(GB4789.2-2010)和《食品卫生微生物学检验副溶血性弧菌的检验》(GB/T4789.7-2008), 采用平板倾注计数法进行菌落总数的测定。以无菌生理盐水适当稀释超高压处理后和未处理作为对照的供试菌悬液, 于 3% 氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂平板 37℃ 培养 48 h 后, 进行菌落计数。

### 1.5 超高压对副溶血弧菌细胞膜通透性的影响及其与耐压性的关系

将处理过的样品  $5000 \times g$  离心 10 min, 取上清液 1 mL, 置于石英比色皿中, 使用紫外分光光度计 260nm 处测定吸光值<sup>[11]</sup>。

### 1.6 超高压对副溶血弧菌可溶性膜蛋白成分的影响及其与耐压性的关系<sup>[12-13]</sup>

采用细菌可溶性膜蛋白提取试剂盒分别提取原始菌株与耐压菌株的可溶性膜蛋白。提取的可溶性膜蛋白于 -70℃ 冰箱内储存, 备用。采用 Mini-Protein cell II 系统 (BioRad) 进行 SDS-PAGE 电泳。蛋白质采用考马斯亮兰 R-250 染色, 电泳参考《蛋白质技术手册》进行。全自动凝胶成像分析系统拍照观察电泳结果。

### 1.7 超高压对副溶血弧菌细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATP 酶活性的影响及其与耐压性的关系

采用超微量  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  ATP 酶试剂盒分别测定原始菌株与耐压菌株的  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  ATP 酶活性。

### 1.8 超高压对副溶血弧菌细胞膜脂肪酸组成的影响及其与耐压性的关系

**1.8.1 脂肪酸提取:**脂肪酸的提取参考 MIDI 脂肪酸提取步骤<sup>[14]</sup>, 分别取原始菌株, 耐压菌株对脂肪酸组成进行分析。收集第三区划线的培养物, 经皂化, 甲酯化, 萃取, 碱洗涤四个步骤后, 移出上层有机相的 2/3 到干净的 GC 样品瓶中。

**1.8.2 脂肪酸分析:**使用安捷伦气质联用仪对甲酯化后的样品进行分析, 色谱柱采用 HP-5 弹性石英毛细管柱 (60 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25 mm)。色谱条件如下: 气

室温度 250℃;柱温采用程序升温:初温 70℃,保持 2 min;以 5℃/min 升到 230℃,保持 20 min。

### 1.9 数据分析

文中数据为 3 次平行测定值的平均值。采用 Origin 8.0 绘图,显著性分析采用 SPSS 17.0 的单因素方差分析(One-Way ANOVA, Turkey) 在显著性水平  $P < 0.05$  下进行数据分析与统计。

## 2 结果和讨论

### 2.1 耐压菌的筛选及副溶血性弧菌对超高压处理耐受性实验

经 80–250 MPa 反复处理最终分离获得的耐压菌株经 250 MPa 的压力胁迫处理存活率较原始菌株大大提高。耐压菌株和原始菌株均参照 GBT4789.7-2008 经生理生化鉴定为副溶血弧菌,结果如表 1。

由图 1 可以发现,未经高压处理的副溶血性弧菌原始菌株的菌落总数对数为 9.2,经 100、200 MPa、250 MPa 高压处理后菌落总数对数分别降至 8.8、8.2、4.4。经 300 MPa 及以上的压力处理,副溶血性弧菌原始菌株全部致死。说明副溶血弧菌原始菌株所能耐受的最高压力约 250 MPa。耐压菌株的菌落总数对数为 8.8,经 100、200 MPa、250 MPa 高压处理后菌落总数对数分别降至 8.6、8.0、6.3。经 250 MPa 的压力处理后,耐压菌的存活数量较原始菌株高  $10^3$  级,说明该分离得到的菌株为耐压菌株,且其比原始菌株对超高压有更强的耐受性。

表 1 原始菌株和耐压菌株生化鉴定结果

Table 1 Biochemical appraisal result of pressure-sensitive and pressure-resistant strains

Items	Results	
	Pressure-sensitive strain	Pressure-resistant strains
Gram stain	negative, no spores	Negative, no spores
Lysine	+	+
Ornithin	+	+
Arginine	-	-
Amino comparision	-	-
Glucose	+	+
Lactose	-	-
Sucrose	-	-
Mannitol	+	+
Hydrogen sulfide	-	-

Note: + positive; - negative.

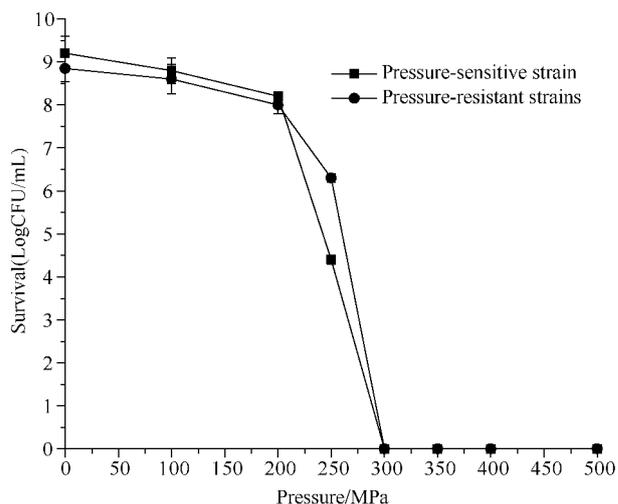


图 1 副溶血性弧菌对超高压处理的耐受性

Fig. 1 Tolerance of *Vibrio parahaemolyticus* (ZJGSMC001) to Ultra high pressure.

### 2.2 细胞膜通透性与副溶血弧菌耐压性的关系

由于核酸中的碱基都具有共轭双键,所以具有紫外吸收性质。核酸在紫外光谱区有一条典型的吸收曲线,其吸收高峰在 260 nm 处,所以通过测定 260 nm 处的紫外吸收强度来确定细胞内核酸物质的流出情况。

超高压处理对副溶血弧菌及其耐压菌株细胞膜通透性的影响如图 2 所示。由图 2 可以发现,经 100–500 MPa 处理的原始菌株上清液中核酸物质逐渐增加,100 MPa 高压处理对细胞膜通透性影响不显著,随着压力的增加,细胞膜的通透性增大,更多的细胞内核酸物质流出到细胞外,从而导致细菌的死亡。同时可以发现,在 200 和 300 MPa 压力下,原始菌株和耐压菌株的细胞膜通透性进一步加大,与 100 MPa 处理时差异显著,但此时细胞膜损伤尚可修复,细胞仍有一定存活率。而当对样品 400、500 MPa 处理后,细胞膜损伤加大,原始菌株和耐压菌株均无法修复而死亡,微生物检测已经不能检测到活菌,但上清液紫外物质的泄露程度与热处理的阳性对照(90℃, 10 min)仍存在显著差异( $P < 0.05$ ),这说明超高压与热处理的杀菌机理不完全相同,超高压虽然不能使细胞膜成为全透性,但是仍然可以使细胞膜未被彻底破坏的细菌因高压而致死<sup>[15-16]</sup>。

耐压菌株和原始菌株核酸泄露情况并没有显著差异,超高压仍然会引起耐压菌株膜通透性的变化,

说明细胞膜通透性的变化不是耐压菌株耐受超高压胁迫的主要原因。

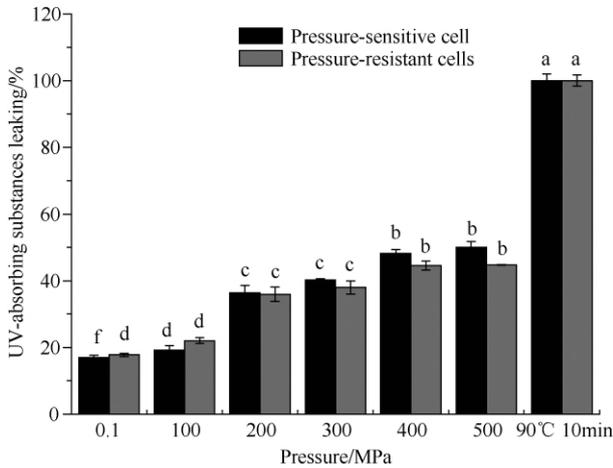


图2 副溶血性弧菌细胞紫外吸收物质的泄露

Fig. 2 Relative amount of UV-absorbing substances leaking of *Vibrio parahaemolyticus*. a, b, c, d represent significant difference of different treatment.

### 2.3 可溶性膜蛋白的组成与副溶血弧菌耐压性的关系

环境中的胁迫因子,对生物的生长发育和生存产生严重影响,这些胁迫能引起大量蛋白质在种类和表达量上的变化。

图3为耐压菌和原始菌株的可溶性膜蛋白SDS-PAGE电泳图。从图中可以看出,耐压菌的膜蛋白在分子量大约为36 kDa附近浓度明显增大,耐压菌的高分子量可溶性膜蛋白条带强度较原始菌株明显减弱,而在分子量约为28 kDa、15 kDa处的条

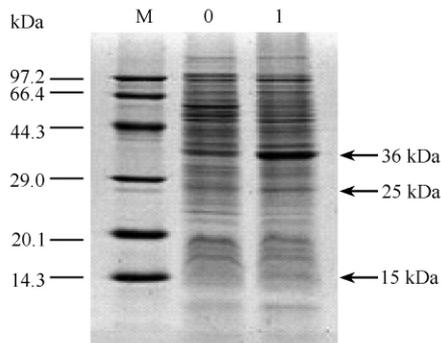


图3 原始菌株和耐压菌株细菌可溶性膜蛋白SDS-PAGE电泳图

Fig. 3 Soluble membrane protein of pressure-sensitive and pressure-resistant *Vibrio parahaemolyticus* analysed by SDS-PAGE. M - Mark; 0 - pressure-sensitive cells; 1 - pressure-resistant cells.

带浓度强于原始菌株,此结果与Kiran Nandal等人的研究结果一致<sup>[17]</sup>。Ritz<sup>[12]</sup>在研究超高压对沙门氏菌的影响中也发现,不管在中性还是酸性介质中,超高压处理后高分子量的蛋白质几乎消失,电泳结果只显示分子量为35 kDa和43 kDa的膜蛋白。总体上看,原始菌株与耐压菌株可溶性膜蛋白表达有差别。高压处理后,低分子量的可溶性膜蛋白浓度显著增加。

### 2.4 细胞膜Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATP酶活性与副溶血弧菌耐压性的关系

ATP酶存在于组织细胞及细胞器的膜上,是生物膜上的一种蛋白酶,它在物质运送、能量转换以及信息传递方面具有重要的作用,机体在缺氧及一些疾病状态下,此酶活力发生一系列改变<sup>[18]</sup>,另外有些遗传疾病也与此酶活力有关。

Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase是在Mg<sup>2+</sup>、K<sup>+</sup>和Na<sup>+</sup>存在下水解ATP的一种酶,相关研究表明<sup>[19]</sup>,Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase的主要作用是分解ATP,逆浓度梯度把胞外的K<sup>+</sup>移入胞内,同时把胞内的Na<sup>+</sup>转运到胞外,从而维持胞内高K<sup>+</sup>和胞外高Na<sup>+</sup>的跨膜离子浓度梯度。一旦膜上的离子通道开放,Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>会迅速顺浓度梯度跨膜扩散,这种跨膜的电化学梯度是信号转导和细胞兴奋的基础。由Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase维持的离子浓度梯度不仅可维持细胞膜的膜电位,而且可调节细胞的体积并驱动某些细胞中的糖和氨基酸的运输<sup>[20]</sup>。

副溶血弧菌在超高压胁迫下Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATP酶的活性远远高于原始菌株,原始菌株Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATP酶活性仅为2.39 ± 0.04 U/mgprot,而耐高压胁迫菌株Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATP酶活性高达4.37 ± 0.09 U/mgprot,提高了83.3%,差异显著(P < 0.05)。这可能是由于在逆境环境下,细胞为了维持正常的生命活动而产生的一种应激反应,姚瑞玲等<sup>[21]</sup>也在研究中发现盐胁迫下柳叶苗叶片中ATP酶活性提高。

### 2.5 细胞膜脂肪酸组成与副溶血弧菌耐压性的关系

从表2中可以看出,耐压菌株细胞膜不饱和脂肪酸为54.23%,饱和脂肪酸含量为45.77%,不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比由1.06增加到1.18(P < 0.05)。脂肪酸是细胞膜中含量丰富的物质,脂肪酸组成的变化是细胞适应外部环境的内在调节机制<sup>[22]</sup>。细胞膜中脂肪酸成分的不同,直接影响着细胞膜的结构、流动性和通透性,影响着膜上功能蛋

白的构象和功能发挥。细胞可以通过脂肪酸组成的变化来改变膜的一些特性以适应外界环境的变化,如不饱和脂肪酸和饱和脂肪酸的比率可以间接反映细胞膜的流动性。

这与高瑀珑等人的研究结果相符合<sup>[23]</sup>,高瑀珑等人经研究发现,超高压使大肠杆菌细胞膜流动性下降,流动性的降低给大肠杆菌正常的生理活动带来严重影响,引起细胞膜功能的丧失、从而导致细胞死亡。

Casadei 等人<sup>[24]</sup>经研究发现细胞对压力的耐受性与膜的流动性和脂肪酸的组成有关,细胞膜的流动性越强,对压力的耐受性就越强。Wang 等<sup>[25]</sup>在对 *Shewanella piezotolerans* WP3 菌株的研究中发现,当细胞处于低温或者高压环境中时,不饱和脂肪酸的含量就会增加。

而耐压菌株不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比由 1.06 增加到 1.18 ( $P < 0.05$ ),不饱和脂肪酸的含量由 51.57% 变为 54.23%。不饱和脂肪酸含量增加,细胞膜流动性增加。不饱和脂肪酸的流动性强,利于细胞处于高压环境中细胞的形变,维持细胞的结构完整,当细胞所处的高压环境消除时,细胞又可恢复原来的形状,从而降低压力对细胞的损伤。

表 2 原始菌株和耐压菌株细胞膜脂肪酸组成

Table 2 Membrane fatty acid composition in pressure-sensitive and pressure-resistant strains

R. T.	Composition	Each fatty acid proportion /%	
		Pressure-sensitive strain	Pressure-resistant strains
19.875	C12:0	6.89 ± 0.26	7.24 ± 0.3
21.386	C13:0	1.87 ± 0.17*	-
24.481	C14:0	9.64 ± 0.2	9.74 ± 0.25
26.616	C15:0	4.62 ± 0.11	4.62 ± 0.13
28.229	C16:1 - n9	31.84 ± 0.2	33.11 ± 0.28*
28.321	C16:1 - n7	8.99 ± 0.15	9.79 ± 0.17*
28.664	C16:0	22.88 ± 0.37	21.61 ± 0.31*
30.604	C17:0	2.53 ± 0.07	2.56 ± 0.04
32.086	C18:1 - n9	10.74 ± 0.2	11.33 ± 0.21*
	USFA	51.57 ± 0.8	54.23 ± 0.9*
	SFA	48.43 ± 1.16*	45.77 ± 0.75
	U/S	1.06 ± 0.02	1.18 ± 0.03*

R. T., reserve time; Each fatty acid proportion,  $C_i = C_i / (C_1 + \dots + C_n)$  ( $1 \leq i \leq n$ );  $C_{n1}:n_2$ ,  $n_1$  represent carbon atom number,  $n_2$  represent olefinic bond number; SFA, saturated fatty acid; USFA, unsaturated fatty acid; \* represent  $P < 0.05$ .

### 3 结论

本文通过对副溶血弧菌原始菌株和耐压菌株细胞膜  $Na^+K^+$  ATP 酶、脂肪酸、可溶性膜蛋白质等的差异研究,阐述了副溶血性弧菌基于细胞膜损伤和修复的耐超高压胁迫机制,得出以下结论:

(1) 经 300 MPa 及以上的压力处理,副溶血性弧菌全部死亡。当压力超过 250 MPa 时,原始菌株存活率几乎为 0,但仍有部分副溶血弧菌可以修复细胞膜的损伤而存活,继续升高压力会导致细胞膜受到不可修复的损伤而死亡。耐压菌株和原始菌株核酸泄露情况并没有显著差异,说明细胞膜通透性的变化不是耐压菌株耐受超高压的主要原因。

(2) 耐压菌株与原始菌株细胞膜可溶性蛋白分子组成不同,最主要的区别是耐压菌细胞膜中高分子量可溶性蛋白含量减少,而分子量为 36 kDa 的可溶性蛋白含量显著增加。

(3) 原始菌株  $Na^+K^+$  ATP 酶活性为  $2.39 \pm 0.04$  U/mgprot,而耐高压胁迫菌株  $Na^+K^+$  ATP 酶活性高达  $4.37 \pm 0.09$  U/mgprot,提高了 83.3%,差异显著。这可能是由于在逆境环境下,细胞为了维持正常的生命活动而产生的一种应激反应。

(4) 耐压菌株不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比由原始菌株的 1.06 增加到 1.18,不饱和脂肪酸的含量增加,不饱和脂肪酸的流动性强,利于细胞处于高压环境中细胞的形变,维持细胞的结构完整,当细胞所处的高压环境消除时,细胞又可恢复原来的形状,从而降低压力对细胞的损伤。

### 参考文献

- [1] Yukiko HK, Sugiyama K, Nishibuchi M, Chowdhury A, Yatsuyanagi J, Ohtomo Y, Saito A, Nagano H, Nishina T, Nakagawa H, Konuma H, Miyahara M, Kumagai S. Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 in seafood and the coastal environment in Japan. *Applied and Environment Microbiology*, 2003, 69 (7) : 3883-3891.
- [2] Gomes MRA, Ledward DA. Effect of high-pressure treatment on the activity of some polyphenoloxidases. *Food Chemistry*, 1996, 56(1) :1-5.
- [3] 潘见,张文成. 饮料超高压杀菌实用性工艺及设备探讨. 农业工程学报 (*Transactions of the Chinese Society of*

- Agricultural Engineering*), 2000, 16 (1) :125-128.
- [4] Tauscher B. Pasteurization of food by hydrostatic high pressure chemical aspects. *Lebensm Unters Forsch*, 1995, 200:3-13.
- [5] Spilimbergo S, Elvassore N, Bertuccio A. Microbial inactivation by high-pressure. *Supercritical Fluids*, 2002, 22:55-63.
- [6] 李汴生, 曾庆孝, 彭志英, 芮汉明, 阮征. 超高压杀菌及其反应动力学. *食品科学 (Food Science)*, 1997, 18 (9) :3-8.
- [7] 曾庆梅, 潘见, 谢慧明, 杨毅, 徐慧群. 中温协同超高压处理对梨汁中微生物的影响. *食品科学 (Food Science)*, 2004, 25 (8) :30-34.
- [8] 杭瑜瑜, 陆海霞, 励建荣. 超高压处理对副溶血性弧菌的影响研究. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)*, 2009, 49 (11) :1489-1493.
- [9] Ganzle MG, Voge RF. On-line fluorescence determination of pressure mediated outer membrane damage in *Escherichia coli* system. *Applied and Environment Microbiology*, 2001, 24:477-485.
- [10] Ulmer HM, Ganzle MG, Vogel RF. Effects of high pressure on survival and metabolic activity of *Lactobacillus plantarum* TMW1.460. *Applied and Environment Microbiology*, 2000, 66:3966-3973.
- [11] Aronsson K, Ronner U, Borch E. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in relation to membrane permeabilization and subsequent leakage of intracellular compounds due to pulsed electric field processing. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 99 (1) :19-32.
- [12] Ritz M, Freulet M, Orange N, Federighi M. Effect of high hydrostatic pressure on membrane proteins of *Salmonella typhimurium*. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 55:115-119.
- [13] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册. 北京: 科学出版社, 2000.
- [14] Kaur A. Phospholipid fatty acid-A bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. *Current Science*, 2005, 89 (7) :1103-1112.
- [15] Ananta E, Heinz V, Knorr D. Assessment of high pressure induced damage on *Lactobacillus rhamnosus* GG by flow cytometry. *Food Microbiology*, 2004, 21:567-577.
- [16] Moussa M, Perrier-Cornet J-M, Gervais P. Damage in *Escherichia coli* cells treated with a combination of high hydrostatic pressure and subzero temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73 (20) :6508-6518.
- [17] Nandal K, Sehrawat AR, Yadav AS, Vashishat RK, Boora KS. High temperature-induced changes in exopolysaccharides, lipopolysaccharides and protein profile of heat-resistant mutants of *Rhizonium sp.* *Microbiological Research*, 2005, 160:367-373.
- [18] 成同怡. Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATP酶的结构和功能. 国外医学分子生物学分册 (*Foreign Medical Sciences*), 1990, 12 (5) :236-238.
- [19] Sandrine V. Pierre, Zijian Xie. The Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase Receptor Complex. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2006, 46:303-316.
- [20] Bouquin T, Meier C, Foster R, Nielsen ME, Mundy J. Control of specific gene expression by gibberellin and brassinosteroid. *Plant Physiology*, 2001, 127:450-458.
- [21] 姚瑞玲, 王胤, 方升佐. 盐胁迫下青钱柳叶苗叶片中 H<sup>+</sup> ATP酶的细胞化学定位和超微结构变化. 植物生理学通讯 (*Plant Physiology Communications*), 2008, 44 (2) :206-210.
- [22] Sinensky M. Homeoviscous adaptation: A homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1974, 71:522-525.
- [23] 高璐璐, 鞠兴荣, 邱伟芬, 吴定. 超高压对大肠杆菌细胞膜流动性的影响. *中国农业科学 (Scientia Agricultura Sinica)*, 2009, 42 (4) :1365-1371.
- [24] Casadei, M. A., Mañas, P., Niven, G., Needs, E., Mackey, B. M.. The role of membrane fluidity in pressure resistance of *Escherichia coli* 8164. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68:5965-5972.
- [25] Wang F. Role and Regulation of Fatty Acid Biosynthesis in the Response of *Shewanella piezotolerans* WP3 to Different Temperatures and Pressures. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191:2574-2874.

# Effects of ultra-high pressure on membrane components in *Vibrio parahaemolyticus*

Yu Tong<sup>1</sup>, Haixia Lu<sup>1\*</sup>, Jianrong Li<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Food science & Biotechnology Engineering of Zhejiang Gongshang University; Key Laboratory of Food Safety of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China

<sup>2</sup> Engineering and Technology Research Center of Food preservation, Processing and Safety Control of Liaoning Province, Bohai University, Jinzhou 121013, China

**Abstract:** [Objective] We observed the changes in cell membrane of *Vibrio parahaemolyticus* which is a prevalent food-borne pathogen by high pressure treatments. [Methods] Pressure-resistant mutant strains of *V. parahaemolyticus* were selected with repeated hydrostatic pressures treatment of 80 – 250MPa from a pressure-sensitive *V. parahaemolyticus* (ZJGSMC001). The changes of soluble cell membrane protein, fatty acid profiles and the Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase activity in the pressure-resistant strains and its pressure-sensitive parent strain were determined. [Results] The pressure-resistant strains had more soluble cell membrane protein of 36 KDa. The Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase of the pressure-resistant strains were 83.3% more active than the parent strain. The proportion of unsaturated fatty acids in cell membranes was 54.23% comparing to 51.57% ( $P < 0.05$ ) in the pressure-sensitive strain. [Conclusion] The pressure-resistant strains may have survived pressure treatments through expressing more low-molecular soluble cell membrane proteins, enhancing the activity of Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase, and increasing the content of unsaturated fatty acids in cell membrane.

**Keywords:** *Vibrio parahaemolyticus*, cell membrane composition, pressure-resistant mechanism

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Y3100675) and by the National Science & Technology Pillar Program of 12th “Five-Year” plan (2012BAD29B06)

\* Corresponding authors. Haixia Lu, Tel: +86-571-88071024-7588, E-mail: luhaixia@zjgsu.edu.cn; Jianrong Li, Tel: +86-571-88056656, E-mail: lijianrong@zjgsu.edu.cn

Received: 10 April 2012/Revised: 18 May 2012

## 科学出版社新书推介(2012年8月)

### 罗布麻生理生态学研究



李国旗, 陈彦云等; ISBN:9787030352156; 定价:60; 开本:B5; 页码:168; 专业分类:农业、生态

**内容简介:**《罗布麻生理生态学研究》是在国家林业局“948”项目“罗布麻属耐盐植物新种及其培育技术引进”(2004-04-10)、国家科技支撑课题“荒漠草原区农牧复合生态系统构建与可持续利用技术集成与试验示范”(2011BAC07B03)及宁夏大学“草业科学与生态工程”“211”重点学科建设的支撑下完成的阶段性成果的总结。多年来,宁夏大学罗布麻课题组成员在深入了解国内外罗布麻研究进展的基础上,紧紧围绕罗布麻生理生态特性这个主题,系统开展了罗布麻繁育技术,营养器官解剖,盐碱胁迫下的生理生化特性、光合特性、遗传多样性,总黄酮提取工艺及其积累规律的研究。这些研究成果不仅丰富了罗布麻基础研究的内容,也将为罗布麻的人工栽培提供借鉴。

订购方式 1:网上购书

淘宝商城科学出版社旗舰店:<http://kxpbs.tmall.com/>

卓越亚马逊:<http://www.amazon.cn/>

当当网:<http://www.dangdang.com/>

京东图书:<http://book.360buy.com/>

订购方式 2:电话购书

联系人:科学出版社 贾海涛 13501022258 010-64017321

订购方式 3:邮件购书

生物分社:lifescience@mail.science.com;贾海涛:jiahaitao@mail.science.com