

植物源抗菌肽的筛选及其在食品中的应用进展

Screening of antimicrobial peptides from plants and their application in food

刘 敏 黄湘宇 吴 昊 文 李 程云辉 陈茂龙

LIU Min HUANG Xiangyu WU Hao WEN Li CHENG Yunhui CHEN Maolong

(长沙理工大学食品与生物工程学院, 湖南 长沙 410114)

(School of Food and Bioengineering, Changsha University of Science & Technology,
Changsha, Hunan 410114, China)

摘要:近年来,随着传统抗生素耐药性问题的加剧和对天然抗菌剂研究兴趣的增加,天然抗菌肽受到了广泛关注。其中植物源抗菌肽具有耐药性低、抗菌谱广和毒性低等特点,还因富含半胱氨酸残基,可形成多个二硫键,从而具有较高的化学稳定性、热稳定性和酶解稳定性等。文章综述了植物源抗菌肽的分类以及从植物源中提取和筛选抗菌肽的方法,重点介绍了植物源抗菌肽在食品领域的潜在应用,并对这些植物源抗菌肽的筛选和未来在食品领域中的应用进行了展望。

关键词:植物抗菌肽;筛选;提取;分离纯化;食品应用

Abstract: In recent years, with the emergence of resistance to traditional antibiotics and the growing interest in the development of natural antimicrobials, natural antimicrobial peptides have received extensive attention. Among them, plant-derived antimicrobial peptides have the characteristics of low drug resistance, wide antibacterial spectrum and low toxicity, and because of rich cysteine residues, they can form multiple disulfide bonds, so they have high chemical, thermal and enzymatic hydrolysis stability. In this paper, the classification of plant antimicrobial peptides and the methods of extracting and screening antimicrobial peptides from plant sources were reviewed. The potential applications of plant antimicrobial peptides in the field of food were emphasized, and the screening and future applications of these plant antimicrobial peptides in the field of food were prospected.

Keywords: plant antimicrobial peptides; screen; extraction;

isolation and purification; food application

由有害微生物引起的食源性感染是对人类健康产生深远影响的全球性挑战。世界上近 10% 的人在摄入受污染的食物后受到感染,每年有近 42 万人死于食源性疾病^[1]。虽然化学型食品防腐剂在控制病原菌生长、延长食品保质期方面起着至关重要的作用,但不当使用化学防腐剂,易造成食品安全风险或使病原菌产生耐药性^[2-3]。因此,为了提高食品的安全性和贮藏性,有必要探索传统化学防腐剂的天然替代品。抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)是生物体内先天免疫防御系统的重要组成部分,是新型抗菌药物的重要来源之一。抗菌肽具有广谱抗菌性能好、不易产生耐药性和对哺乳动物毒性低等特点,可在食品工业中控制食源性致病菌,延长食品贮藏稳定性^[4-6]。乳酸链球菌肽(Nisin)是最早用于食品保鲜的抗菌肽,于 20 世纪 60 年代末在美国被批准为食品工业添加剂^[7-8]。ε-聚赖氨酸(ε-PL)在日本也已被批准作为食品防腐剂,常用于日本传统的菜肴中^[9]。

抗菌肽来源广泛,包括微生物、动物、植物甚至人类^[10]。植物被认为是抗菌肽的一个重要来源,Tam 等^[11]详细综述了各种植物源抗菌肽的结构特点与作用机制。1970 年,Okada 等^[12]从大麦胚乳中提取出一个来源于植物的抗菌肽。随后,研究人员陆续从天然来源的植物中逐步提取分离纯化,或通过计算机辅助筛选与基因重组在其他宿主中表达筛选了不同植物源抗菌肽。有研究^[13]报道,植物源抗菌肽已显示出对多种食源性病原体 and 食品腐败微生物具有抑制活性,且与传统防腐剂的抑菌活性相比,杀菌活性更强。然而,要从复杂的植物体系中制备抗菌肽需要多种筛选方案组合使用。研究旨在综述近年(2019—2024 年)关于植物源抗菌肽的提取及筛选方

基金项目:湖南省基金项目(编号:2022JJ20039, 2022RC1146);
湖南省教育厅项目(编号:21B0283)

作者简介:刘敏,女,长沙理工大学在读硕士研究生。

通信作者:陈茂龙(1986—),男,长沙理工大学副教授,硕士生导师,博士。E-mail: mlchen@xmu.edu.cn

收稿日期:2024-04-22 **改回日期:**2024-06-21

法,以及其在食品工业中作为防腐成分或包装成分的潜在应用,以期促进其在食品工业中的生产和应用。

1 植物源抗菌肽的特点及分类

植物源抗菌肽的分子形态、正电荷性和两亲性与其他来源的抗菌肽拥有共同的特征。但植物源抗菌肽的进

化与其他抗菌肽不同,它们的相对分子质量通常为2 000~6 000,大多数富含半胱氨酸残基,拥有2~6个分子内二硫键^[11]。如图1所示,植物源抗菌肽根据其序列相似性、半胱氨酸基序和结构通常可分为以下几类(表1):硫素(thionins)、植物防御素(defensins)、hevein样

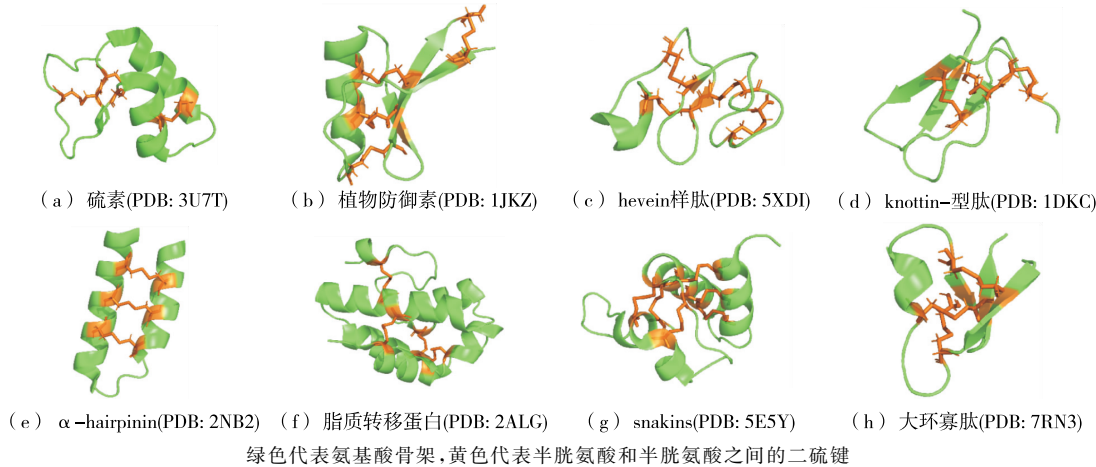


图1 植物源抗菌肽的3D结构

Figure 1 3D structure of plant antimicrobial peptides

表1 植物源抗菌肽的分类与特点

分类	相对分子质量/ 氨基酸残基	二硫键/个	结构	特点	参考文献
硫素	约5 000	3~4	2个反平行的α-螺旋和1个反平行的β-折叠	存在于各种单子叶植物和双子叶植物中,可在体外抑制细菌和真菌的生长	[14-15]
植物防御素	45~54个	4	3个反平行的β-折叠和1个平行β-折叠的α-螺旋	存在于植物中,是所有具有膜裂解作用中最典型的植物抗菌肽,除抗菌活性外,还具有温度和pH值的稳定性	[16]
hevein样肽	29~45个	4	2个无规卷曲	富含甘氨酸残基,拥有几丁质的结合位点,可控制有几丁质真菌或无几丁质真菌以及细菌的生长	[17-18]
knottin-型肽	约30个	3	3个β-折叠	具有广泛的抗真菌活性和热稳定性,还可以作为蛋白酶抑制剂,如淀粉酶、羧肽酶、胰蛋白酶和弹性蛋白酶	[19]
α-hairpinin	33~51个	4	2个反平行的α-螺旋	具有螺旋—环—螺旋结构,富含赖氨酸/精氨酸,可特异性使胰蛋白酶失活,通过核糖体失活破坏蛋白质的合成抑制细菌和丝状真菌的生长	[20-22]
脂质转移蛋白	7 000~10 000	4	4~5个α-螺旋	可形成1个内部疏水腔,与脂质或其他配体结合,对真菌、卵菌和细菌具有抑菌活性	[23-24]
snakins	约60个	6	2个α-螺旋和无规卷曲	对各种细菌和真菌具有极强的抑制活性	[25-26]
大环寡肽	28~37个	3	/	拥有1个由首尾相连的环化肽主链和3个二硫键的互锁排列形成的环状半胱氨酸结,具有杀虫、抗菌和抗病毒活性	[27-28]

肽、knottin-型肽、 α -hairpinin、脂质转移蛋白(lipid transfer proteins)、snakins 和大环寡肽(cyclotides)。

2 植物源抗菌肽的提取

植物源抗菌肽可来源于植物的各个部分如根、茎、叶、花、果实、种子或整株,在植物被感染后会被立即释放,以抵抗外来病原体的侵入^[29]。其中种子和果实被更多地用于提取抗菌肽。在提取植物源抗菌肽之前通常需要对植物材料进行预处理,如将种子从果肉部分分离并进行干燥,去皮,使用粉碎机或者研磨机进行粉碎或研磨。从植物源中提取抗菌肽,通常使用 2 种类型的萃取剂:第 1 种是水和水基溶液,如酸、碱、盐和缓冲液;第 2 种包括有机溶液,例如乙醇的水溶液^[30]。一些植物或其某个部分中积累了大量其他代谢产物,在提取过程中还需要脱脂、去除单宁或多余的蛋白质等^[31]。目前,已提取分离出几百种植物源抗菌肽。然而,由于这些肽的组成复杂,植物源抗菌肽的提取过程通常是繁琐和具有挑战性的,需要多种提取技术组合使用。

2.1 硫酸铵沉淀法

采用硫酸铵沉淀法提取多肽混合物时,多肽的内部结构保持不变,保持其天然的多肽性质,但提取率较低^[30]。多肽在高浓度的盐溶液中,其周围的水合膜被破坏,盐离子会中和多肽分子的电荷,导致多肽的胶体稳定性被破坏而发生沉淀。基于多肽在不同硫酸铵浓度下的溶解度差异,可去除一些非多肽的杂质成分。为了去除多余的盐分,常常还需要进行透析处理。例如, Song 等^[32]将硫酸铵加入到含有抗菌肽的上清液中,直至硫酸铵的质量分数分别达到饱和浓度的 40%, 60%, 80%, 100%。通过离心收集沉淀,再溶解于柠檬酸—磷酸盐缓冲液来脱盐处理提取中国泡菜中的抗菌肽。

2.2 物理辅助提取法

酶解法提取反应条件较温和且几乎没有杂质或其他有害物质,可有效避免靶蛋白失活,成为生物活性肽提取的常用方法之一。如从脱脂的山苍子粕中提取出蛋白,利用 6 种不同蛋白酶酶解山苍子蛋白,其中使用酸性蛋白酶酶解制备的抗菌肽,对常见的细菌和霉菌均有一定的抑菌活性^[33]。但单一的酶解法存在酶利用率低,底物转化率低,反应时间长等局限性。

超声波辅助酶解不仅提高了酶解过程的整体效率,还降低了提取成本,是一种经济、高效且适合大规模应用的方法。江晨等^[34]以花生蛋白为原料,采用单因素试验和响应面试验对超声波法辅助酶解制备抗菌肽的工艺进行优化。在最优的超声波功率、超声波频率和酶解条件下制备的花生抗菌肽对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和米曲霉均有抑菌活性。

微波辅助法提高了目标多肽的提取率,减少了溶剂

的消耗,缩短了提取时间。在微波辅助提取应用过程中,微波能量通过离子传导和偶极子旋转转化为热量,而多肽极性较大,极易被加热。因此,微波辅助提取法可能不适合提取热敏性植物抗菌肽,且成本较高,难以大规模生产^[35-36]。Aguilar-Toalá 等^[37]使用碱性蛋白酶和风味蛋白酶将脱脂奇亚籽粕进行常规水浴和微波辅助酶解。由于微波辅助酶解效率高,不但与常规水浴获得相似水解程度所需的时间缩短了 50%,还提高了奇亚籽蛋白酶解产物的抗菌活性。

2.3 膜分离法

膜分离技术可降低多肽的生产成本,在工业上已被广泛应用于生物活性肽的提取。在膜分离技术中,最常用的方法是超滤法。它是利用高压或离心力推动水等小溶质分子通过半透膜,而目标肽段被截留在膜上的多肽提取法。可以选择不同孔径的超滤膜来保留不同相对分子质量的目标抗菌肽。例如 Liu 等^[38]将酶解产物依次通过 30 000, 10 000, 3 000 的膜盒,得到了 4 种不同相对分子质量的超滤组分。测定 4 种组分的抑菌活性,发现相对分子质量为 3 000~10 000 的组分对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌具有最高的抑菌活性。由外加电场力驱动的电驱动膜技术,缩短了提取时间,但对相似相对分子质量多肽的选择性仍然有限,同样需要多级膜系统或通过与其他提取技术相结合如电泳迁移技术,进一步提高对靶肽的选择性提取和纯度^[30]。

2.4 吸附法

由于大多数抗菌肽带有阳离子氨基酸残基,因此可以利用阴离子材料去选择性富集。Um 等^[39]使用由阴离子果胶/海藻酸盐制备的凝胶从酶解物中吸附阳离子抗菌肽,经质谱鉴定得到了 4 种已知的抗菌肽。该方法采用的是在食品工业中被广泛使用的食品级材料,为植物源抗菌肽的提取提供了一种安全、快速、经济有效的吸附法。此外,磁性纳米颗粒具有环保、无毒性、易于表面功能化和分离简单等优点,已被广泛用于多肽的提取和分离。由二氧化硅修饰的磁性 Fe_3O_4 纳米粒子采用单一的吸附—解吸过程,快速提取分离的抗菌肽对酸土脂环酸芽孢杆菌具有良好的抑菌活性,表明该磁分离技术在抗菌肽提取中的应用取得了成功^[40]。随着表面改性技术的快速发展,越来越多的功能性吸附材料被设计和制备出来,以满足人们对各种具有特定生物活性肽的需求。探索高选择性、高产率和可工业化实施的提取方法是今后植物源抗菌肽提取的主要发展方向。

3 植物源抗菌肽的分离纯化

如图 2 所示,植物源抗菌肽在提取后,为了得到高纯度和抗菌活性好的抗菌肽通常需要进行进一步分离纯化筛选,将纯化后的组分通过质谱鉴定获取抗菌肽的氨基酸

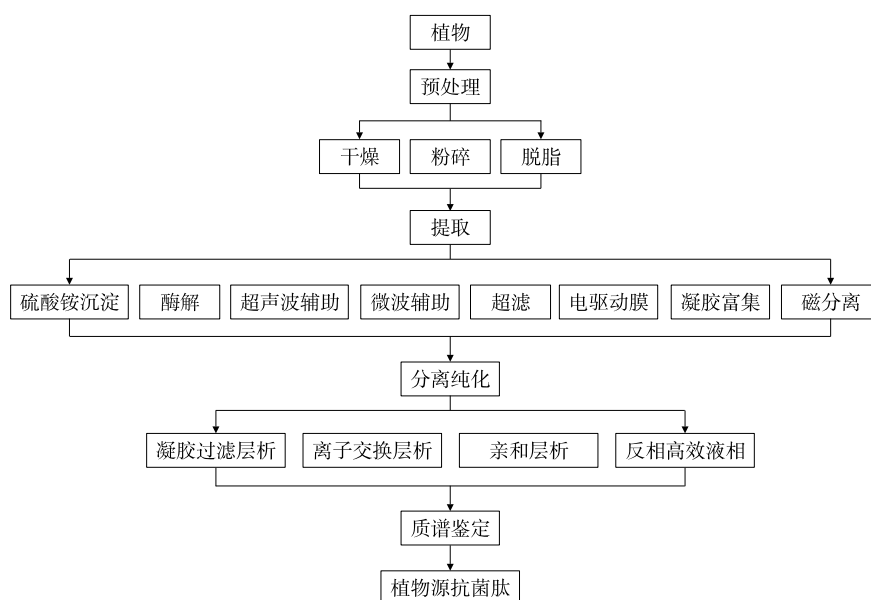


图2 直接从植物中筛选抗菌肽的流程图

Figure 2 Flow chart for screening antimicrobial peptides directly from plants

序列。传统的分离纯化方法有凝胶过滤层析法、离子交换层析法、亲和层析法和反相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 以及这些方法的组合等^[30]。

凝胶过滤色谱技术将溶解的多肽分子通过含有微孔填料的色谱柱, 根据它们的相对分子质量进行分离。例如使用葡聚糖凝胶 (SP Sephadex C-25) 柱层析从棉籽蛋白酶解物中靶向分离抗菌肽, 并通过 RP-HPLC 法进一步纯化制备抗菌肽, 最终鉴定的多肽 KDFPGRR 对大肠杆菌具有较强的抑制活性^[41]。离子交换色谱法通过电荷分离阳离子植物源抗菌肽和阴离子植物源抗菌肽。当 pH 值高于其等电点 (pI) 时, 抗菌肽带负电荷, 而 pH 值低于其 pI 时, 抗菌肽带正电荷^[42]。Schmidt 等^[43]将经过硫酸铵沉淀和透析之后的粗提物采用阴离子交换层析, 其中非保留部分进行阳离子交换层析。结果发现, 阴离子交换组分未显示出抗菌活性, 而从阳离子交换组分中分离出鉴定为豇豆-thionin II 的抗菌肽。亲和层析法可从非常复杂的蛋白质混合物中有效分离高纯度的抗菌肽。这种方法是基于某些蛋白质特异性和非共价结合另一种配体的能力。Wang 等^[44]基于多肽与细胞膜之间的亲和吸附, 从油籽蛋白质水解物的超滤组分 ($<3\ 000$) 中分离纯化抗菌肽。将水解物、经亲和吸附后不含抗菌肽的上清液和含抗菌肽 $<3\ 000$ 的组分通过 RP-HPLC 分析得到差值峰, 从而确定出抗菌活性最高的组分。植物源抗菌肽通常对用作流动相的各种有机溶剂具有抗性, 因此 RP-HPLC 是纯化植物源抗菌肽的最合适选择^[42]。在 RP-HPLC 中, 极性流动相被泵送到含有非极性固定相的色谱柱中。当流动相流过固定相时, 基于溶质之间的疏水

性差异实现梯度洗脱, 溶质的疏水性越强, 保留值越大。Dang 等^[45]用 30% 硫酸铵沉淀和 RP-HPLC 相结合从越南紫堇中分离纯化出一种富含半胱氨酸的大环寡肽, 且与根和叶部分相比, 茎含有更高浓度的大环寡肽。这些抗菌肽对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌以及真菌表现出高水平的抗菌效果。综上, 采用传统的纯化方法均能得到能有效抑制微生物的植物源抗菌肽, 但存在耗时和产率低等局限性。

4 其他筛选植物源抗菌肽的方法

植物源抗菌肽具有良好的抗菌活性, 且对人体具有较低的细胞毒性作用。然而植物原料中抗菌肽含量较低, 提取纯化技术繁琐复杂, 导致其生产应用仍然有限。基因工程法具有成本低、周期短、提取过程简单等优点^[46]。该方法利用构建编码目标抗菌肽的基因工程菌株筛选抗菌肽, 常见的宿主菌株有毕赤酵母菌和大肠杆菌。例如 Huang 等^[47]将来源于尾穗苋种子的 Ac-AMP2 和澳洲坚果的 MiAMP1 2 种抗菌肽利用基因工程技术在毕赤酵母中重组表达, 通过凝胶过滤和亲和层析纯化抗菌肽, 最终抗菌肽的最大质量浓度分别为 210, 220 mg/L。2 种重组表达的植物源抗菌肽均有效抑制了梨中由扩展青霉引起的病害发生。Barashkova 等^[48]将从黑孜然种子中提取的抗菌肽在大肠杆菌体系中异源表达, 采用亲和层析和 RP-HPLC 相结合的方法纯化该抗菌肽, 总产率可达到 650 mg/L。

近年来, 人工智能 (AI) 法已逐渐成为具有成本效益和省时的解决方案, 已被应用于新型天然抗菌肽的筛选。其主要根据数据集中抗菌肽和非抗菌肽的理化性质, 如

净电荷含量、氨基酸的个数和疏水性等,形成特殊的判断系统,通过训练不同数据集,优化和完善算法模型,最终筛选出具有抗菌活性的肽段^[49]。AI 技术主要有两种模型算法包括机器学习模型和深度学习模型,将计算机虚拟筛选出的抗菌肽与试验相结合可验证其抗菌活性。如 Xu 等^[50]使用宏基因组学数据集结合机器学习模型筛选了 27 个候选抗菌肽,并通过试验验证了由化学合成的 21 种抗菌肽对 4 种菌株具有抗菌活性。该方法证明了开发抗菌肽的有效性并具有筛选新的植物源抗菌肽的潜力。当机器学习法与化学合成结合使用时,该筛选方法快速有效且纯度高但受到氨基酸长度的限制即不适用于合成大于 50 个氨基酸残基的抗菌肽^[51]。Pandi 等^[52]使用深度学习模型从头设计了数千个抗菌肽,并使用无细胞蛋白合成(CFPS)管道进行了筛选,其中 6 个抗菌肽在体外显示出广谱的抗菌活性。该深度学习法和 CFPS 的结合方法为植物源抗菌肽的筛选提供了一种快速、低成本和高产量的有效方法。Zhang 等^[53]开发并改进了一个抗菌肽深度学习预测模型,结合高通量无细胞抗菌肽合成筛选方法,在数小时内将抗菌肽产率提高到 0.5 ~ 2.1 g/L,超过了其他模型。

5 植物源抗菌肽在食品中的潜在应用

5.1 在食品保鲜中的应用

抗菌肽作为食品保鲜的良好选择,备受关注。Nisin 是第 1 种用于食品防腐剂的抗菌肽,可抑制许多重要食源性病原体的生长^[54]。Pedocin PA-1 是一种在市场上以 ALTA 2431 的商品名出售的抗菌肽,可被用作食品添加剂来抑制导致肉类变质的单核细胞增生李杆菌的生

长^[55]。如表 2 所示,植物源抗菌肽对食物中常见的细菌和真菌有很好的抑制作用,可被广泛应用于食品保鲜领域。辣木籽中鉴定的抗菌肽 MOp3 在 1 mg/mL 质量浓度下处理的巴氏奶在 25,4 °C 保存 7 d 时,对金黄色葡萄球菌有明显的抑制效果^[56]。王丽芳等^[57]发现茶叶抗菌肽对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌均有抑制活性,可抑制冷却肉中微生物的生长,延长保鲜时间。其防腐效果与乳酸链球菌肽相当,具有开发利用价值。植物源性抗菌肽作为天然抗菌肽的主要来源之一,具有用作乳制品、肉制品、罐装蔬菜、果汁和酒精饮料中防腐剂的潜力,未来可以作为防腐剂来提高食品的保质期。虽然抗菌肽目前主要用于治疗人类疾病和农业生产,但它们在食品领域的用途不应被忽视^[30]。

5.2 在食品包装中的应用

将植物源抗菌肽喷洒、涂抹在食品表面或直接添加到食品中,可能导致某些食品中的活性成分失活,或者由于抗菌肽本身在食品中的迅速扩散,导致抗菌肽无法有效地抑制微生物的生长^[58]。抗菌包装可减少、延缓甚至抑制微生物的生长,利用多肽的抗菌特性通过各种包装技术可以将植物源抗菌肽应用于食品保鲜的活性包装^[59-60]。如在糠醛明胶水解物基质上掺入活性肽 Ala-Tyr,增强了薄膜的机械性能和流变性能,同时降低了薄膜的水溶性,鲭鱼样本的微生物污染在长达 4 个月的贮存期内保持相对稳定,这些特性都是作为食品包装材料的理想选择^[61]。同样,将苦荞抗菌肽与传统多糖相结合制备的复合膜对于牛肉糜的保鲜效果普遍优于市售保鲜膜^[62]。

表 2 不同植物源抗菌肽在食品中的潜在应用

Table 2 Potential food applications of AMPs from different plants

抗菌肽	来源	目标微生物	食品中的潜在应用	参考文献
Cp-thionin II	豇豆	<i>Fusarium culmorum</i> 、 <i>Aspergillus niger</i> 和 <i>Penicillium expansum</i>	小麦	[43]
Ac-AMP2	尾穗苋种子	<i>Penicillium expansum</i>	梨	[47]
MOp3	辣木籽	<i>Staphylococcus aureus</i>	牛奶	[56]
TAE	龙井茶叶	<i>Staphylococcus aureus</i> 和 <i>Escherichia coli</i>	冷却肉	[57]
Ala-Tyr	玉米	<i>Yeast</i> 、 <i>Mould</i> 和 <i>Pseudomonas</i>	大西洋鲑	[58—61]
BAP	苦荞	<i>Staphylococcus aureus</i> 和 <i>Escherichia coli</i>	牛肉糜	[62]
Mo-CBP ₃ -PepI	辣木籽	<i>Penicillium digitatum</i>	橙子	[63—64]
D-lp1	大麦胚乳	<i>Zygosaccharomyces bailii</i> 和 <i>Debaryomyces hansenii</i> 等	苹果汁、橙汁和葡萄酒	[65]
Snakin-1	马铃薯块茎	<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	橙汁、蔓越莓汁和苹果汁	[66]
<i>Lactobacillus pentosus</i> MS031	四川泡菜	<i>Listeria monocytogenes</i> 、 <i>Escherichia coli</i> 和 <i>Salmonella typhi</i>	鲜切水果	[67]
Rs-AFP1 和 Rs-AFP2	萝卜	<i>Zygosaccharomyces bailii</i> 等	橙汁和沙拉酱等	[68]

某些植物源抗菌肽除具有抗菌活性外,还具有多种生物活性如抗氧化作用^[69]、抗炎作用^[70]和免疫调节作用^[71],它们可以用作功能性食品或膳食补充剂中的生物活性成分。部分植物来源的抗菌肽对不同的细胞表现出细胞毒性,这使得它们不适合用于食品工业^[3]。但在筛选抗菌肽时,可通过计算设计来降低或消除其潜在的细胞毒性作用,进一步通过体外和体内技术结合,验证其在食品中的应用^[72]。此外,还需要更多的研究来提高目前已开发植物源抗菌肽的安全性,并挖掘新的植物抗菌肽用于食品工业,以降低食品污染和食品腐败的风险。

6 总结和展望

在食品保鲜领域,植物源抗菌肽展现出了卓越的抗菌活性,对延长食品的保质期具有显著作用。然而,当前用于提取和分离纯化这些抗菌肽的技术,如硫酸铵沉淀、酶解、超滤、吸附法和色谱法等,普遍面临操作繁琐、耗时长、产率低以及成本高昂等挑战。尽管近年来基因工程技术和人工智能技术在提升抗菌肽产率和纯度等方面取得了一定进展,但其成本效益仍然不够理想,这在一定程度上限制了植物源抗菌肽在工业级应用中的广泛推广。鉴于此,加强学术科研与食品工业之间的紧密合作,共同推动植物源抗菌肽的商业化进程十分必要。通过跨学科的研究合作,开发更多高效、经济且易于产业化的植物源抗菌肽筛选生产方案,以满足食品行业对高效、天然防腐剂的需求。

此外,已有一些关于抗菌肽在食品中具有潜在应用的研究报道,但关于植物源抗菌肽的具体应用研究相对较少。因此,需要继续深入探索更多具有潜在防腐抗菌作用的植物源抗菌肽,并充分评估它们在食品行业中的实际应用潜力和安全性。这不仅有助于提升食品的质量与安全,也可为食品保鲜技术的创新提供新的思路 and 方向。

参考文献

- [1] QIU M Y, ZHENG M, ZHANG J W, et al. Recent advances on emerging biosensing technologies and on-site analytical devices for detection of drug-resistant foodborne pathogens [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2023, 167: 117258.
- [2] MA B, GUO Y X, FU X, et al. Identification and antimicrobial mechanisms of a novel peptide derived from egg white ovotransferrin hydrolysates[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 131: 109720.
- [3] BAINDARA P, MANDAL S M. Plant-derived antimicrobial peptides: novel preservatives for the food industry[J]. Foods, 2022, 11(16): 2 415.
- [4] DEO S, TURTON K L, KAINTH T, et al. Strategies for improving antimicrobial peptide production[J]. Biotechnology Advances, 2022, 59: 107968.
- [5] RAMAZI S, MOHAMMADI N, ALLAHVERDI A, et al. A review on antimicrobial peptides databases and the computational tools[J]. Database, 2022, 2 022: 1-17.
- [6] YANG S, YUAN Z J, AWEYA J J, et al. Antibacterial and antibiofilm activity of peptide PvGBP2 against pathogenic bacteria that contaminate *Auricularia auricular* culture bags[J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(6): 1 607-1 613.
- [7] HE L, ZOU L K, YANG Q R, et al. Antimicrobial activities of nisin, tea polyphenols, and chitosan and their combinations in chilled mutton[J]. Journal of Food Science, 2016, 81(6): M1 466-M1 471.
- [8] WANG N, YU X, KONG Q J, et al. Nisin-loaded polydopamine/hydroxyapatite composites: biomimetic synthesis, and in vitro bioactivity and antibacterial activity evaluations[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2020, 602: 125101.
- [9] HIRAKI J, ICHIKAWA T, NINOMIYA S I, et al. Use of ADME studies to confirm the safety of ϵ -polylysine as a preservative in food[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2003, 37(2): 328-340.
- [10] KUMARESAN V, KAMARAJ Y, SUBRAMANIYAN S, et al. Understanding the dynamics of human defensin antimicrobial peptides: pathogen resistance and commensal induction [J/OL]. Applied Biochemistry and Biotechnology. (2024-03-13) [2024-05-22]. <https://doi.org/10.1007/s12010-024-04893-8>.
- [11] TAM J, WANG S J, WONG K, et al. Antimicrobial peptides from plants[J]. Pharmaceuticals, 2015, 8(4): 711-757.
- [12] OKADA T, YOSHIZUMI H. A lethal toxic substance for brewing yeast in wheat and barley: part II isolation and some properties of toxic principle[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1970, 34(7): 1 089-1 094.
- [13] HEYMICH M L, FRIEDLEIN U, TROLLMANN M, et al. Generation of antimicrobial peptides Leg1 and Leg2 from chickpea storage protein, active against food spoilage bacteria and foodborne pathogens[J]. Food Chemistry, 2021, 347: 128917.
- [14] VASILCHENKO A S, SMIRNOV A N, ZAVRIEV S K, et al. Novel thionins from black seed (*Nigella sativa* L.) demonstrate antimicrobial activity[J]. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 2016, 23(2): 171-180.
- [15] AZMI S, HUSSAIN M K. Analysis of structures, functions, and transgenic of phytopeptides defensin and thionin: a review[J]. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 2021, 10(1): 1-11.
- [16] SOHRABI S M, SHAHMOHAMMADI M, MOHAMMADI M, et al. Identification and functional characterization a cysteine-rich peptide from the garlic (*Allium sativum* L.) [J]. South African Journal of Botany, 2024, 166: 690-697.
- [17] SLAVOKHOTOVA A A, SHELENKOV A A, ANDREEV Y A, et al. Hevein-like antimicrobial peptides of plants[J]. Biochemistry

- (Moscow), 2018, 82(13): 1 659-1 674.
- [18] GAMES P D, DASILVA E Q G, BARBOSA M D O, et al. Computer aided identification of a Hevein-like antimicrobial peptide of bell pepper leaves for biotechnological use[J]. BMC Genomics, 2016, 17: 999.
- [19] SHAO F, HU Z, XIONG Y M, et al. A new antifungal peptide from the seeds of *Phytolacca americana*: characterization, amino acid sequence and cDNA cloning[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology, 1999, 1 430(2): 262-268.
- [20] SLAVOKHOTOVA A A, ROGOZHIN E A. Defense peptides from the α -hairpinin family are components of plant innate immunity[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 465.
- [21] BARASHKOVA A S, RYAZANTSEV D Y, ROGOZHIN E A. Rational design of plant hairpin-like peptide EcAMP1: structural-functional correlations to reveal antibacterial and antifungal activity[J]. Molecules, 2022, 27(11): 3 554.
- [22] CUI X D, DU J J, LI J, et al. Inhibitory site of α -hairpinin peptide from tartary buckwheat has no effect on its antimicrobial activities [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2018, 50(4): 408-416.
- [23] AMADOR V C, SANTOS-SILVA C A D, VILELA L M B, et al. Lipid transfer proteins (LTPs)-structure, diversity and roles beyond antimicrobial activity[J]. Antibiotics, 2021, 10(11): 1 281.
- [24] BARASHKOVA A S, SMIRNOV A N, ZORINA E S, et al. Diversity of cationic antimicrobial peptides in black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(9): 8 066.
- [25] SU T, HAN M, CAO D, et al. Molecular and biological properties of snakins: the foremost cysteine-rich plant host defense peptides [J]. Journal of Fungi, 2020, 6(4): 220.
- [26] SHANG C J, YE T, ZHOU Q, et al. Genome-wide identification and bioinformatics analyses of host defense peptides snakin/GASA in mangrove plants[J]. Genes, 2023, 14(4): 923.
- [27] 郑兰兰, 陆强, 刘丹丹, 等. 植物抗菌肽的抗肿瘤活性及其临床治疗展望[J]. 国外医药抗生素分册, 2017, 38(6): 279-283.
- ZHENG L L, LU Q, LIU D D, et al. Research progress of plant antimicrobial peptides with antitumor activity[J]. World Notes on Antibiotics, 2017, 38(6): 279-283.
- [28] CONZELMANN C, MURATPAHIC E, TOMAŠEVIC N, et al. In vitro inhibition of HIV-1 by cyclotide-enriched extracts of *Viola tricolor*[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 888961.
- [29] 田野, 王贵锋, 张向前. 植物抗菌肽的研究进展及其应用[J]. 现代食品科技, 2017, 33(11): 285-291.
- TIAN Y, WANG G F, ZHANG X Q. Research progress and application of plant antimicrobial peptides [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(11): 285-291.
- [30] ZOU F L, TAN C M, SHINALI T S, et al. Plant antimicrobial peptides: a comprehensive review of their classification, production, mode of action, functions, applications, and challenges [J]. Food & Function, 2023, 14(12): 5 492-5 515.
- [31] BARASHKOVA A S, ROGOZHIN E A. Isolation of antimicrobial peptides from different plant sources: does a general extraction method exist? [J]. Plant Methods, 2020, 16(1): 143.
- [32] SONG J J, PENG S D, YANG J, et al. Isolation and identification of novel antibacterial peptides produced by *Lactobacillus fermentum* SHY10 in Chinese pickles[J]. Food Chemistry, 2021, 348: 129097.
- [33] 张琦, 王凤扬, 鄢梦, 等. 山苍子蛋白抗菌肽的抑菌特性及稳定性研究[J]. 中国测试, 2023, 49(8): 81-86.
- ZHANG Q, WANG F Y, YAN M, et al. Study on antibacterial properties and stability of antibacterial peptides from *Litsea cubeba* protein[J]. China Measurement & Test, 2023, 49(8): 81-86.
- [34] 江晨, 齐宏涛, 于丽娜, 等. 响应面优化花生蛋白抗菌肽制备工艺[J]. 山东农业科学, 2021, 53(11): 111-119.
- JIANG C, QI H T, YU L N, et al. Optimization of peanut antibacterial peptide preparation by response surface methodology [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2021, 53(11): 111-119.
- [35] ECHAVE J, FRAGA-CORRAL M, GARCIA-PEREZ P, et al. Seaweed protein hydrolysates and bioactive peptides: extraction, purification, and applications[J]. Marine Drugs, 2021, 19(9): 500.
- [36] 费丛璇, 付美玲, 张迪, 等. 果胶的提取、生理功能及应用研究进展[J]. 食品与机械, 2024, 40(3): 233-240.
- FEI C X, FU M L, ZHANG D, et al. Research progress on extraction, physiological function and application of pectin [J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 233-240.
- [37] AGUILAR-TOALÁ J E, DEERING A J, LICEAGA A M. New insights into the antimicrobial properties of hydrolysates and peptide fractions derived from chia seed (*Salvia hispanica* L.) [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2020, 12(4): 1 571-1 581.
- [38] LIU D W, LIU M, MENG D H, et al. Harsh sensitivity and mechanism exploration of an antibacterial peptide extracted from walnut oil residue derived from agro-industrial waste[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(24): 7 460-7 470.
- [39] UM J, MANGUY J, ANES J, et al. Enriching antimicrobial peptides from milk hydrolysates using pectin/alginate food-gels[J]. Food Chemistry, 2021, 352: 129220.
- [40] NIU C, SONG X Y, ZHANG Y X, et al. A rapid one-step process for the isolation of antibacterial peptides by silica-decorated Fe₃O₄ nanoparticles [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 155: 112858.
- [41] SONG W G, KONG X Z, HUA Y F, et al. Identification of antibacterial peptides generated from enzymatic hydrolysis of cottonseed proteins[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 125: 109199.
- [42] TANG S S, PRODHAN Z H, BISWAS S K, et al. Antimicrobial peptides from different plant sources: isolation, characterisation, and purification[J]. Phytochemistry, 2018, 154: 94-105.
- [43] SCHMIDT M, ARENDT E K, THERY T L C. Isolation and

- characterisation of the antifungal activity of the cowpea defensin Cp-thionin II[J]. Food Microbiology, 2019, 82: 504-514.
- [44] WANG X F, HE L, HUANG Z Y, et al. Isolation, identification and characterization of a novel antimicrobial peptide from *Moringa oleifera* seeds based on affinity adsorption[J]. Food Chemistry, 2023, 398: 133923.
- [45] DANG T T, TRAN T T T, TRAN G H, et al. Cyclotides derived from *Viola dalatensis* gagnep: a novel approach for enrichment and evaluation of antimicrobial activity[J]. Toxicon, 2024, 239: 107606.
- [46] XU K J, ZHAO X Y, TAN Y M, et al. A systematical review on antimicrobial peptides and their food applications[J]. Biomaterials Advances, 2023, 155: 213684.
- [47] HUANG Y N, GAO L G, LIN M, et al. Recombinant expression of antimicrobial peptides in *Pichia pastoris*: a strategy to inhibit the *Penicillium expansum* in pears [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 171: 111298.
- [48] BARASHKOVA A S, RYAZANTSEV D Y, ZHURAVLEVA A S, et al. Recombinant fusion protein containing plant nigelthionin regulates the growth of food-spoiling fungus (*Aspergillus niger*) [J]. Foods, 2023, 12(16): 3 002.
- [49] 薛凤, 封硕, 李菁. 人工智能方法在抗菌肽筛选领域的应用及展望[J]. 中国医科大学学报, 2023, 54(3): 314-322.
- XUE F, FENG S, LI J. Application and prospect of artificial intelligence in antimicrobial peptides screening [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2023, 54(3): 314-322.
- [50] XU J Q, XU X, JIANG Y H, et al. Waste to resource: mining antimicrobial peptides in sludge from metagenomes using machine learning[J]. Environment International, 2024, 186: 108574.
- [51] GAN B H, GAYNORD J, ROWE S M, et al. The multifaceted nature of antimicrobial peptides: current synthetic chemistry approaches and future directions[J]. Chemical Society Reviews, 2021, 50(13): 7 820-7 880.
- [52] PANDI A, ADAM D, ZARE A, et al. Cell-free biosynthesis combined with deep learning accelerates de novo-development of antimicrobial peptides[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 7 197.
- [53] ZHANG Y, LIU L H, XU B, et al. Screening antimicrobial peptides and probiotics using multiple deep learning and directed evolution strategies [J/OL]. Acta Pharmaceutica Sinica B. (2024-05-06) [2024-05-22]. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.05.003>.
- [54] 杨悦, 李燕, 王小方, 等. 抗菌肽及其在食物储藏与保鲜中的应用[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(4): 9-16.
- YANG Y, LI Y, WANG X F, et al. Antimicrobial peptides and their applications in food storage and preservation[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2021, 40(4): 9-16.
- [55] HUAN Y C, KONG Q, MOU H J, et al. Antimicrobial peptides: classification, design, application and research progress in multiple fields[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 582779.
- [56] SUN A D, HUANG Z Y, HE L, et al. Metabolomic analyses reveal the antibacterial properties of a novel antimicrobial peptide MOP3 from *Moringa oleifera* seeds against *Staphylococcus aureus* and its application in the infecting pasteurized milk [J]. Food Control, 2023, 150: 109779.
- [57] 王丽芳, 叶良, 谢忠稳, 等. 茶叶抗菌肽粗提物的抑菌活性及其对冷却肉保鲜的影响[J]. 浙江农业学报, 2022, 34(10): 2 268-2 276.
- WANG L F, YE N, XIE Z W, et al. Antibacterial activity of tea antimicrobial peptide extraction and its effect on preservation of chilled meat[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2022, 34(10): 2 268-2 276.
- [58] 王宏亮, 李昂, 那杰. 抗菌肽在果蔬保鲜中的应用[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 238-240.
- WANG H L, LI A, NA J. Application of antimicrobial peptides in fruit and vegetable preservation[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2014, 42(3): 238-240.
- [59] RIVERO-PINO F, LEON M J, MILLAN-LINARES M C, et al. Antimicrobial plant-derived peptides obtained by enzymatic hydrolysis and fermentation as components to improve current food systems[J]. Trends in Food Science & Technology, 2023, 135: 32-42.
- [60] LIU Y W, SAMEEN D E, AHMED S, et al. Antimicrobial peptides and their application in food packaging[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 112: 471-483.
- [61] JAMROZ E, KULAWIK P, TKACZEWSKA J, et al. The effects of active double-layered furcellaran/gelatin hydrolysate film system with Ala-Tyr peptide on fresh Atlantic mackerel stored at -18°C [J]. Food Chemistry, 2021, 338: 127867.
- [62] 唐田园. 苦荞抗菌肽/多糖复合膜的制备及其在牛肉糜保鲜中的应用[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2019: 74.
- TANG T Y. Preparation of bitter buckwheat antimicrobial peptide/polysaccharide composite membrane and its application in fresh-keeping of ground beef[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2019: 74.
- [63] OLIVEIRA J T A, SOUZA P F N, VASCONCELOS I M, et al. Mo-CBP3-PepI, Mo-CBP3-PepII, and Mo-CBP3-PepIII are synthetic antimicrobial peptides active against human pathogens by stimulating ROS generation and increasing plasma membrane permeability[J]. Biochimie, 2019, 157: 10-21.
- [64] LIMA P G, FREITAS C D T, OLIVEIRA J T A, et al. Synthetic antimicrobial peptides control *Penicillium digitatum* infection in orange fruits[J]. Food Research International, 2021, 147: 110582.
- [65] SHWAIKI L N, SAHIN A W, ARENDT E K. Study on the inhibitory activity of a synthetic defensin derived from barley endosperm against common food spoilage yeast [J]. Molecules, 2020, 26(1): 165.
- [66] SHWAIKI L N, ARENDT E K, LYNCH K M. Study on the characterisation and application of synthetic peptide snakin-1 derived from potato tubers-action against food spoilage yeast[J]. Food Control, 2020, 118: 107362.

(下转第 215 页)

- bacteriolytic activity of the purified AMP [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2021, 13(5): 1 780-1 789.
- [46] LIN Q, XIE K H, CHEN D, et al. Expression and functional characterization of a novel antimicrobial peptide: human beta-defensin 118[J]. Bio Med Research International, 2020(11): 1-10.
- [47] LEE B C, TSAI J C, LIN C Y, et al. Using *Bacillus subtilis* as a host cell to express an antimicrobial peptide from the marine chordate *Cionaintestinalis*[J]. Marine Drugs, 2021, 19(2): 1-19.
- [48] 李飞航, 武浩恒, 李宏, 等. 抗菌肽 Cathelicidin-1 真核表达及发酵液抑菌活性鉴定[J]. 热带生物学报, 2023, 14(3): 1-7.
- LI F H, WU H H, LI H, et al. Eukaryotic expression of Cathelicidin-1 and validation of its antimicrobial activity in the fermentation broth[J]. Journal of Tropical Biology, 2023, 14(3): 1-7.
- [49] 谭强来, 曾臻, 许莉, 等. 牡蛎抗菌肽 Molluscidin 的密码子优化、重组毕赤酵母表达及抑菌活性[J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 106-113.
- TAN Q L, ZENG Z, XU L, et al. Optimization and recombinant expression of antimicrobial peptide Molluscidin in *Pichiapastoris* and its antibacterial activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(3): 106-113.
- [50] JIANG R, ZHANG P, WU X, et al. Expression of antimicrobial peptide Cecropin P1 in *Saccharomyces cerevisiae* and its antibacterial, antiviral activity in vitro [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2020, 50(12): 16-22.
- [51] HADIATULLAH H, WANG H, LIU Y X, et al. *Chlamydomonas reinhardtii*-derived multimer Mytichitin-CB possesses potent antibacterial properties[J]. Process Biochemistry, 2020, 96: 21-29.
- [52] LI A, HUANG R, WANG C, et al. Expression of anti-lipopolysaccharide factor isoform 3 in *Chlamydomonas reinhardtii* showing high antimicrobial activity[J]. Marine Drugs, 2021, 19(5): 1-13.
- [53] TRACY A S, GREGORY B C, DORNA R L, et al. Positive charge patterning and hydrophobicity of membrane-active antimicrobial peptides as determinants of activity, toxicity, and pharmacokinetic stability[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2019, 62(13): 6 276-6 286.
- [54] KAMYSZ E, SIKORSKA E, KARAFOVA A, et al. Synthesis, biological activity and conformational analysis of head-to-tail cyclic analogues of LL37 and histatin 5 [J]. Journal of Peptide Science, 2012, 18(9): 560-566.
- [55] LI W, LIN F, HUNG A, et al. Enhancing proline-rich antimicrobial peptide action by homodimerization: influence of bifunctionallinker[J]. Chem Sci, 2022, 13(8): 2 226-2 237.
- [56] MOURTADA R, HERCE H D, YIN D J, et al. Design of stapled antimicrobial peptides that are stable, nontoxic and kill antibiotic-resistant bacteria in mice[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(10): 1 186-1 197.
- [57] 何成霞. 天蚕素抗菌肽的融合表达及其在橙汁中的抑菌研究[D]. 成都: 成都大学, 2021: 57-58.
- HE C X. Fusion expression of cecropin A and its antibacterial activity in orange juice[D]. Chengdu: Chengdu University, 2021: 57-58.
- [58] 陶雪菊. 人源抗菌肽 LL-37 在毕赤酵母中的表达及在牛奶和果汁中的保鲜应用[D]. 成都: 成都大学, 2023: 63-64.
- TAO X J. Expression of human-derived antimicrobial peptide LL-37 in *Pichiapastoris* and its application in milk and juice [D]. Chengdu: Chengdu University, 2023: 63-64.
- [59] 谭小千. 鲢鱼重组 Cystatin 对冷藏乌鱼肉片保鲜作用的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2022: 63-64.
- TAN X Q. Effects of silver carp recombinant Cystatin on preservation of frozen Mullet fillet[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2022: 63-64.
- [60] DONG C M, XU L J, LU W T, et al. Antibacterial peptide PMAP-37 (F34-R), expressed in *Pichiapastoris*, is effective against pathogenic bacteria and preserves plums [J]. Microbial Cell Factories, 2023, 22(1): 1-12.
- antimicrobial, antibiofilm, and antioxidant potential [J]. Computational Biology and Chemistry, 2022, 98: 107695.
- [70] JIANG J, HOU X, XU K, et al. Bacteria-targeted magnolol-loaded multifunctional nanocomplexes for antibacterial and anti-inflammatory treatment [J]. Biomedical Materials, 2024, 19(2): 025029.
- [71] PAVLICEVIC M, MARMIROLI N, MAESTRI E. Immunomodulatory peptides: a promising source for novel functional food production and drug discovery[J]. Peptides, 2022, 148: 170696.
- [72] KAMAL I, ASHFAQ U A, HAYAT S, et al. Prospects of antimicrobial peptides as an alternative to chemical preservatives for food safety[J]. Biotechnology Letters, 2022, 45(2): 137-162.

(上接第 207 页)

- [67] YI L H, QI T, MA J H, et al. Genome and metabolites analysis reveal insights into control of foodborne pathogens in fresh-cut fruits by *Lactobacillus pentosus* MS031 isolated from Chinese Sichuan Paocai [J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 164: 111150.
- [68] SHWAIKI L N, ARENDT E K, LYNCH K M. Anti-yeast activity and characterisation of synthetic radish peptides Rs-AFP1 and Rs-AFP2 against food spoilage yeast [J]. Food Control, 2020, 113: 107178.
- [69] LEON MADRAZO A, SEGURA CAMPOS M R. In silico prediction of peptide variants from chia (*S. hispanica* L.) with