

刘丽平,张淑华,及雪敏.果胶的提取及应用研究进展[J].江苏农业科学,2016,44(8):30-34.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.007

果胶的提取及应用研究进展

刘丽平^{1,2}, 张淑华², 及雪敏^{1,2}

(1. 长春理工大学化学与环境工程学院, 吉林长春 130022; 2. 长春理工大学生命科学技术学院, 吉林长春 130022)

摘要:本文主要从果胶性质、果胶提取方法、原果胶酶产生菌的选育、果胶的应用及前景等方面进行综述,为相关果胶的研究工作提供理论借鉴。

关键词:果胶;果胶酶;诱变;提取方法;应用前景

中图分类号: TS202.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0030-04

随着生活质量的提高,果胶行业蓬勃发展,果胶相关产品深受消费者的欢迎。果胶的性质和功能使其在食品、纺织、环境、生物、医药等领域应用广泛,大有供不应求之势。果胶的提取方法很多,如酸提法、超声波辅助提取法、微生物酶解法等,其中酶解法具有低消耗、低污染、高品质等优点。

1 果胶

果胶是广泛存在于植物组织胞壁之间的天然糖类高分子聚合物,主要由多种糖组合形成的杂多糖,属于亲水性植物胶,如植物秸秆、葵花果盘、水果果皮等。人们常用酯化度(羟基酯化的百分数)将果胶分为高甲氧基果胶和低甲氧基果胶,认为酯化度大于 50% 的为高甲氧基果胶,即高酯果胶(HMP);酯化度小于 50% 的果胶为低甲氧基果胶,即低酯果胶(LMP)。果胶由 C、H、O 等 3 种元素组成,分子式为 $C_5H_{10}O_5$ 。果胶的性质主要有溶解性、稳定性、凝胶性、乳化性、增稠性等,能稳定存在于酸性环境中,而在碱性环境中容易分解^[1]。

1.1 果胶的性质

1.1.1 溶解性 果胶水溶液为乳白色黏稠液体,易溶于热水,微溶于冷水,不溶于甘油、乙醇等有机溶剂。除温度、离子强度和 pH 值外,果胶酯化度和甲氧基含量与分布对果胶的溶解性也有一定的影响。在溶解过程中,果胶与其他亲水溶胶一样,先溶胀再溶解,如果水中 Ca^{2+} 等含量较高, pH 值较大,就会造成溶胀的果胶颗粒因不能很好地分离而聚集成大块,难于溶解。因此,在试验或应用过程中,一般选用去离子水来溶解果胶。

1.1.2 稳定性 果胶的稳定性与 pH 值有关,高酯果胶能稳定存在的 pH 值范围是 2.5 ~ 4.5,而低酯果胶却只能在酸性较低的溶液中稳定存在。在强酸的条件下,高酯果胶可以连续脱脂形成低酯果胶;在碱性条件或有氨存在的环境中发生脱脂反应,获得具有较好物理特性的果胶。

1.1.3 凝胶性 果胶的凝胶性与酯化度有关,低酯果胶的凝胶条件为: pH 值 2.6 ~ 2.8, 固形物含量 10% ~ 80%, 在凝胶

过程中 Ca^{2+} 是不可或缺的条件,此外,相对分子质量、pH 值、冷却速度等也对低酯果胶的凝胶有一定的影响。低酯果胶的凝胶温度随酯化度的升高而降低,成反比趋势。高酯果胶恰与低酯果胶相反,高酯果胶的凝胶条件为: pH 值 3.6、含糖量 > 50%。高酯果胶的凝胶过程比低酯果胶凝胶过程复杂,受很多因素的影响,除果胶的浓度、酯化度、相对分子量外,还有乙酰化度、pH 值、离子强度、水分活度、糖的类型以及胶凝介质的冷却速度等,当糖含量、pH 值一定时,适宜的条件下使介质温度降低,即可发生凝胶。

基于果胶的性质,学者们也在逐渐深入研究果胶的提取方法,希望能用高效、快速的方法获得性能稳定优质的果胶。

1.2 果胶的提取方法

果胶的提取方法主要有酸提法、超声波辅助提取法、酶解法、微波法、螯合剂法等。

1.2.1 酸提法 酸提取法的作用机制是:将植物细胞中不溶的原果胶在热酸性的条件下转变成可溶性果胶,并将其提取出来。虽然酸提取法会对果胶的品质产生一定的影响,但由于提取工艺较为成熟,国内外均在采用此方法生产果胶。因此,酸提取法的研究也更加深入,不再局限于单一的酸提法,对混合酸提法有了更多的研究,赵惠之等以磷酸和盐酸为萃取酸从向日葵花盘中提取果胶,用含 Fe^{3+} 做沉淀剂,果胶的产率为 16.1%^[2]。颜文斌等分别用无机酸和有机酸进行萃取试验,经反复优化试验得出结论:无机酸盐酸的萃取效果最好,硫酸、硝酸、磷酸、苹果酸、柠檬酸效果次之,而有机酸乙酸的萃取效果最差^[3-4]。徐金瑞研究发现,磷酸和亚硫酸的混合酸比单独一种酸的效果要好很多,提取的果胶的色泽好,得率高^[5]。由此证明,混合酸的酸解效果要比单独使用一种酸好。所以,单独的酸提取法会逐步被混合酸提取法取代。酸提法虽工艺较成熟,但反应条件复杂,提取的果胶品质较差。

1.2.2 超声波提取法 超声波提取法别称超声波辅助提取法,利用超声波的频率 > 20 kHz 使细胞破碎或崩解,加速果胶溶出。在提取工艺中超声波辅助提取法一般与其他方法一起使用,提高果胶的产量和质量,不影响果胶的成分,对果胶品质的破坏也较小。万国福等利用超声波提取法提取新鲜柠檬皮中的果胶,经反复试验研究确定最佳工艺条件:超声波最适输出功率为 500 W,最适温度为 50 ℃,料液比为 1 g : 3 mL,时间为 42 min,其中超声时间为 4 s,间歇时间为 3 s^[6]。李涛采用

收稿日期:2015-07-09

基金项目:吉林省科技发展计划(编号:20130206042N Y)。

作者简介:张淑华(1972—),女,博士,副教授,从事微生物发酵与生物检测研究。E-mail:zhangsh1018@126.com。

超声波辅助酸解法提取苹果渣中的果胶物质,以果胶产率为评价指标设定试验,最终确定最佳工艺条件:在果胶提取过程中,超声波频率为 65 kHz,温度为 80 ℃,pH 值为 1.8,时间为 120 min,此条件下果胶产率可达 13.12%^[7]。陈莉华等采用酸提醇沉超声波辅助法提取红果参果胶,并对其进行抗氧化性研究^[8],结果表明用维生素 C 作对照,当质量浓度为 0.6 g/L 时,红果参果胶提取物对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2\cdot$ 的清除率分别为 40.53%、26.02%,还原 Fe^{3+} 产生的吸光度为 0.51,对植物油和动物油的保护率分别为 96.83%、39.22%,其抗氧化性均在一定浓度范围呈剂量正相关效应。超声波辅助提取法受设备的影响,提高了果胶的生产成本,限制了果胶的规模化工业生产。

1.2.3 微生物提取法 微生物提取法别称酶分离法,利用酶或微生物降解果胶中的大分子物质或将不溶性果胶转化成水溶性,进而将果胶提取出来。最初是由日本学者坂井研究发现的,他用果胶作为唯一碳源来培养菌种,该菌在生长过程中由于果胶的诱导作用产生一种酶,该酶能使果胶分离从而提取果胶。Alexander 等研究发现,采用细菌酶法提取的果胶黏度为 0.9 dL/g,酸法提取的果胶黏度为 3.3 dL/g,这是由于在发酵过程中长的分子链被一些内源酶切断,因而果胶黏度较低^[9]。刘义武等利用木瓜蛋白酶提取柠檬皮果胶,通过单因素试验和正交试验确定最佳工艺条件:木瓜蛋白酶浓度为 0.1%,pH 值为 7.0,提取时间为 2 h,提取温度为 55 ℃,液固比为 25 mL:1 g,果胶得率达到 32.3%^[10]。石海燕等利用纤维素酶、半纤维素酶和木瓜蛋白酶组成的复合酶法提取向日葵盘低酯果胶,最佳工艺条件:加酶量分别为纤维素酶 1.0%、半纤维素酶 1.0%、木瓜蛋白酶 0.5%,时间为 2 h,温度为 60 ℃,pH 值为 5.0,果胶得率为 11.45%^[11]。台建祥等利用酶法提取菠萝蜜果皮果胶(含腱)并对其条件进行优化,确定最佳工艺条件:最适温度为 42 ℃,时间为 15 h,加酶量为 450 μg ,料液比为 1 g:14 mL,果胶提取率为 13.69%,总半乳糖醛酸为 87.6%,比国家标准高 22.6%^[12]。酶法提取的果胶保留了原有的多种营养成分,可用于饲料。微生物酶解法提取果胶,具有低消耗、无污染、反应条件易于控制等优点,因此学者们希望能找到高效的优质菌株来提取果胶酶,进一步制取果胶。因而,首要任务就是选育果胶酶产生菌。

2 生物法提取果胶酶

利用微生物产生的果胶酶酶解植物法提取的果胶相比于其他方法制得的果胶品质高、灰分含量低、色泽好、中性糖含量高等优点。减少能源消耗,降低环境污染,是生产果胶较为理想的方法。但市场上果胶酶的价格昂贵,若用此方法提取果胶无疑提高了生产成本。利用微生物生长周期短、性质稳定等特点,高产果胶酶,再用酶解法提取果胶是行之有效的方法。因此,选育出高产菌株生产果胶酶,再利用酶解法制备果胶一直是学者们研究的目标。

2.1 自然菌株筛选

有很多微生物在生长过程中可以分泌果胶酶,因此,果胶酶产生菌的来源极其广泛,目前已知的果胶酶产生菌有芽孢杆菌属(*Bacillus*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、梭菌属(*Clostridium*)、黄单胞菌属(*Xanthomonas*)、青霉菌属(*Penicillium*)、根霉属(*Rhizopus*)、酵母属(*Saccharomy-*

ces)、毛霉属(*Mucor*)等。其中,研究和应用较多的是真菌,尤以曲霉属较为突出,如黑曲霉(*Aspergillus niger*)、米曲霉(*A. oryzae*)、黄曲霉(*A. flavus*)等。目前,工业生产中大都采用黑曲霉来生产果胶酶。实验室研究中除黑曲霉外,大都是有目的地从果皮、土壤、向日葵等中筛选获得需要的果胶酶产生菌。

2.2 人工诱变筛选

2.2.1 紫外线诱变 紫外线诱变技术所用的诱变设备操作简单快捷、诱变效率高,是广泛采用的一种获取优良菌株的诱变手段。DNA 和 RNA 的嘌呤和嘧啶在 260 nm 处紫外吸收峰最大,特别是链上碱基的改变能够引起 DNA 的变化。此外,紫外诱变对核酸的损伤是比较单一的,所以在生物研究上,紫外诱变对 DNA 的损伤和修复也有重要的意义^[13]。杜国军等以黑曲霉 HY 为出发菌株,进行紫外诱变处理,最后选育出一株高产果胶酶的突变株 HY-D3,其产酶遗传特性稳定,产酶量比原始菌株提高了 1 倍,酶活力可达 2 000 U/g^[14]。杨天波等通过紫外诱变对果胶酶产生菌 ASP.3.396 进行了诱变处理,筛选了孢子色泽及产果胶酶性能等有利于水果加工业的优良菌株^[15]。

2.2.2 激光诱变 激光别称光微粒,是一种光量子流。激光具有能量密度高、靶点小、单色性和方向性好等优点。激光对生物体的诱变是一种(光、热、压力和电磁场)综合的诱变效应,直接或间接地影响生物有机体,导致细胞中遗传物质发生变异,酶被激活或者钝化,改变细胞代谢活动,使基因发生定向突变,积累某种代谢产物,并且激光诱变具有无毒的特性,不会造成环境污染。激光小剂量辐射可以刺激某些菌类的生长和繁殖。王爱峰等利用功率为 11.5 mW 的 He-Ne 激光对黑曲霉进行诱变,照射时间为 30 min,经反复优化,最终获得 1 株果胶酶高产菌株^[16]。产酶能力比原始菌株提高 100 倍,最终酶活力为 1 618.4 个酶活单位,且产酶性能稳定。朱宏莉等用波长为 632.8 nm,功率为 15 mW 的 He-Ne 激光诱变果胶酶产生菌的细胞,获得突变菌株 ZH-g,酶活力为 301 U/mL,比出发菌株提高 1.3 倍^[17]。在用 He-Ne 激光照射突变株 ZH-g 的原生质体,进一步获得高产突变株 ZH-gA,酶活力为 357 U/mL,比 ZH-g 提高 18%,是原始菌株的 1.6 倍,经传代培养,产酶性能稳定。在实际应用中,激光诱变对筛选果胶酶高产菌株也是一种行之有效的方法。

2.2.3 微波诱变 微波辐射属于一种低能电磁辐射,是一种高频电磁波,在 300 MHz 至 300 GHz 内对生物有热效应和非热效应。其中,热效应可以使生物体的局部温度上升,引起一系列的生理生化反应,使微生物 DNA 发生变异,导致遗传物质改变造成突变。微波的非热效应会使生物体产生与温度非相关的生理生化反应。2 种效应的综合作用改变了生物体的遗传物质,发生突变。何海燕等利用果胶作为唯一碳源的培养基从蚕沙堆放地筛选出 1 株果胶酶产生菌 D80,经表型分析及 ITS rDNA 序列分子鉴定为棘孢曲霉(*A. aculeatus*),经微波诱变获得 1 株酶活提高的正突变株 DW75,其酶活力为 10.166 U/mL,是初始菌株的 2.47 倍,且能稳定遗传^[18]。目前为止,微波对果胶酶产生菌诱变,提高其产酶量,单独用于果胶酶产生菌的研究较少,还有待进一步研究。

2.2.4 烷化剂诱变 烷化剂是一类化学诱变剂的总称,能强烈诱变微生物,这类诱变剂含有的活性烷基能取代 DNA 分子中活泼的氢原子,使 DNA 在复制过程中由于碱基和磷酸的部

分被烷化而发生错配,导致突变。亚硝基胍 (NTG)、硫酸二乙酯 (DES)、亚硝酸等是选育微生物时常用的烷化剂,这些诱变剂能够使 GC-AT 相互转化,诱变作用强烈,改变原有碱基的性质,引起突变。Hadj 等采用亚硝酸对青霉菌 (*Penicillium occitanis*) 进行诱变,得到 1 株组成突变型菌株 CT1,突变菌株 CT1 的酶活力比原始菌株提高 50 倍,在选育过程中突变株无需果胶或其类似物的诱导,有效减少生产成本^[19]。杜国军等用化学剂甲基磺酸乙酯对黑曲霉 HY-D3 进行诱变,经反复培养后获得 1 株高产果胶酶突变株 HY-M27,酶活力为 2 290 U/g,比原始菌株提高 2.91 倍,且产酶性能稳定^[20]。

2.2.5 碱基类似物诱变 碱基类似物既能诱发正向突变,又能诱发回复突变,其分子结构与天然的嘧啶等 4 种碱基的分子结构基本相似。碱基类似物在微生物细胞代谢旺盛时期,在 DNA 复制过程中使其本身的分子结构发生改变,引起变异。对处于静止或休眠状态的细胞来说,碱基类似物则不起作用。

除上述化学诱变剂外,还有金属盐类、抗生素、甲基磺酸乙酯 (EMS) 等,这些化学诱变剂均能引起微生物遗传物质发生突变,但是大多对人体有害,且易对环境造成污染,所以相比之下物理诱变更易于接受和应用。

2.2.6 复合诱变 复合诱变是结合物理和化学诱变共同作用微生物的方法,按照人们的意愿,营造特殊的环境条件,选育有益微生物。殷志鹏利用物理诱变剂——紫外线和化学诱变剂——硫酸二乙酯对菌株 F22 进行复合诱变,最终得到突变菌株 F14,其在 24 h 时的酶活力为 111.27 $\mu\text{mol/mL}$,是出发菌株产量 (34.39 $\mu\text{mol/mL}$) 的 3.2 倍^[21]。杜国军等以黑曲霉 HY-D3 为出发菌株,采用化学试剂-亚硝酸及物理诱变剂-紫外线进行诱变处理果胶酶产生菌,最终筛选出 1 株产果胶酶性能稳定且酶活力明显增强的突变株 HY-LL3,其酶活力达到了 3 124 U/g,比出发菌株提高 3.59 倍^[22]。由田等用紫外线及硫酸二乙酯对 HDYM-02 进行诱变,获得 2 株产酶性能稳定且酶活力提高的突变株 UV-21 和 DES-1,产酶期有所提前,UV-21 在 24 h 时的酶活力是原始菌株的 1.6 倍,HDYM-02 在 16 h 时的酶活力是原始菌株的 1.44 倍^[23]。

2.2.7 其他诱变方法 离子注入技术是利用离子注入设备生产高能离子束 (40~60 keV) 并注入生物体引起的遗传物质的永久性改变。从碰撞和能量交换的角度来看,离子注入法是由于注入的离子与生物体内的靶分子和原子发生碰撞而使能量和质量沉积,从而引起染色体突变,遗传物质变异,阻止损伤修复造成突变。因此,利用离子注入法来诱变微生物,不但同时具备物理诱变和化学诱变的特点,还对选育微生物具有高突变频率的特性。空间诱变育种主要是在太空中进行,因此别称为航天育种。自从人类探索太空以来,人们一直致力于研究在太空这样特殊的环境条件下,如微重力、高真空、辐射等对微生物的影响。这种新的诱变手段已经被很多科学家重视和研究,太空中的特殊环境条件会引起生物体的染色体畸形,进而导致生物体遗传变异。

3 果胶的应用

3.1 食品行业

在食品行业中,果胶被认为是最安全的食品添加剂,通常被用来作凝胶剂、稳定剂、悬乳剂、乳化剂等,对食品的色、香、

味等发挥着不可或缺的作用。彭晓燕等经过大量研究发现,甜菜果胶分子量低,乙酰化程度高,具有良好的乳化性能^[24],可以作为牛奶等的乳化剂。梁瑞红等利用酸提法和水提法提取南酸枣中的果胶,得到酯化度和半乳糖醛酸含量不同的果胶,对其凝胶性研究表明,在 pH 值 2.8 时,酸提果胶的凝胶强度和咀嚼性最大;在 pH 值 2.6 时,水提果胶凝胶强度和咀嚼性最大,为制备南酸枣糕提供了理论参考^[25]。梅新等以甘薯渣为原料采用酸法提取甘薯果胶,分析结果表明,甘薯果胶含有丰富的膳食纤维,主要有葡萄糖和半乳糖醛酸等,具有较强的乳化能力和乳化稳定性^[26]。

3.2 医疗领域

果胶是一种能被人体消化吸收的可溶性膳食纤维,对人体有益无害,因此被广泛地用于医疗保健产品中。治疗中用的软膏、栓剂和微囊类药物中的果胶扮演着重要的角色,起着抗菌、止血、解毒以及防辐射的作用,被称为“人体健康的平衡素”^[27-29]。靳桂艳分别用胶体果胶铋胶囊和维酶素对 120 名胃癌前病变患者进行治疗,观察病变黏膜组织中 *Bcl-2*、*P53* 基因蛋白水平的影响。结果接受胶体果胶铋胶囊治疗的患者能明显阻断化学致癌物对黏膜的炎症损伤,改善癌前病变组织黏膜不典型增生程度。治疗后 *Bcl-2*、*P53* 基因蛋白阳性指数显著低于维酶素治疗患者 ($P < 0.05$)。说明胶体果胶铋胶囊通过降低 PLGC 患者病变组织增殖水平,诱导细胞正常凋亡,从而对胃癌前病变细胞的增殖有良好的阻断作用^[30]。在保健品中,果胶作为膳食纤维的重要成分,具有降低胆固醇水平、抑制心脏病、预防高血压、抑制肠内致病菌的繁殖等功能^[31-33]。范玉莹对人参果胶研究结果表明,人参果胶能特异性抑制 L-929 细胞的迁移,迁移速度的最大抑制可达到 60%^[34]。人参果胶主要含有半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖和鼠李糖,除能抑制细胞迁移外,还能调节免疫、抑制肿瘤、促进细胞凋亡、防辐射等功能,并具有药用价值。张燕燕等通过 pH 值改性法和热改性法对甘薯果胶进行改性,研究改性果胶对结肠癌细胞 HT-29、乳腺癌细胞 Bcap-37 和肝癌细胞 SMMC-7721 增殖的影响。结果表明,改性甘薯果胶能有效的抑制 HT-29 和 Bcap-37 细胞的增殖,具有潜在的抗结肠癌和乳腺癌作用^[35]。

3.3 环境治理

环境的治理问题一直困扰着人类,其中尤以重金属污染的治理最为困难。针对重金属离子引起的环境污染问题,可以用果胶为吸附剂来治理、改善环境的同时还不会给环境造成二次污染,具有一定的研究价值。Li 等证明 MCP(柑橘果胶)对 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 有吸附作用,室温下最大吸附量分别为 1.82、1.794、0.964 mmol/g^[36]。郭晶晶分别用水合肼的化学方法和先皂化后交联的方法对果胶进行改性,得到了相应的改性果胶,这些改性果胶对水中的汞离子均具有较好的吸附能力,其中水合肼改性果胶对汞离子的去除率 70%,比原果胶高 40% 多;皂化交联改性果胶对汞离子的去除率为 50% 以上,比原果胶高 20%^[37]。王春香等利用醚化改性法对农业生产废料红橘皮中提取的果胶进行改性,得到的改性果胶具有去除废水中的高浓度油脂和 Cr(VI) 的功能,优化试验后,油脂的去除率为 93.8%,Cr(VI) 的去除率为 91.4%^[38]。果胶能够改善由环境污染造成的水质问题,是天然、无害的重金

属离子吸附剂、絮凝剂,具有潜在的生态效应。

3.4 生物领域

果胶在生物技术和微生物发酵等领域同样有着积极的贡献。Mielenz 等采用菌株 *Saccharomyces cerevisiae* D₅A 以豆皮为原料经同步糖化发酵工艺生产燃料乙醇,在生产过程中添加果胶酶、纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶,这些物质的添加量均为 15%,无需进行预处理,乙醇的产率也较高,浓度可达到 25~30 g/L,比原始豆皮的蛋白质含量提高 10%,蛋白质的最终含量为 25%^[39]。这是由于碱性果胶酶和纤维素酶从植物的组织中分离出病毒,并对病毒进一步纯化,因而制备相对较纯的植物病毒。彭霞薇等由草酸青霉菌果胶酶发酵液分离出不同组分的半乳糖醛酸酶 P-1、P-2、P-3,并稀释成不同浓度后分别喷雾供试黄瓜。结果显示,3 个组分均能不同程度地提高诱导黄瓜对黑星病的抗性,酶活力为 200 U/mL 时,诱导效果分别为 35.18%、57.11%、38.83%,且在该浓度下 3 个组分对病菌孢子的萌发和芽管生长没有影响^[40]。这些结果在果胶生物学特性的研究中有着非常重要的意义。

3.5 其他领域

随着研究的深入,果胶已拓展到了环保材料的制备、辅助医疗的检测等领域。王红霞等采用果胶和魔芋胶混合制备不同质量比的果胶/魔芋胶复合膜,并对其力学性能、透光率、吸湿性能、溶胀性能、体外降解和抗菌性能进行研究。结果表明,当魔芋胶质量占总质量的 30% 时,各项性能最好,该复合膜可以代替明胶作为药用胶囊膜和可食性包装膜材料^[41]。张晶莹等利用橙皮果胶为原料制备保鲜薄膜,其透光率为 87.8%,厚度为 0.127 mm,抗拉强度为 3.983 MPa,断裂伸长率为 24.883%,其保鲜效果优于 PE 塑料保鲜膜,安全、可食用,具有实用价值^[42]。关于果胶与果胶酶的研究的不断深入,对造福人类有着巨大的贡献。

4 前景展望

全世界对果胶的需求量约为 2 万 t/年,并且每年都以 15% 的速度持续增长。据不完全统计,我国消耗果胶约为 1 500 t/年,但大都依靠国外进口(约为 80%),同世界平均水平相比仍呈高速增长趋势。日常生活中向日葵花盘和梗作为废弃物丢掉,果皮也是生活垃圾,然而这些物质中的果胶含量相当丰富,如均作为垃圾而丢弃着实可惜,若能有效地利用这些资源,不但可以废物再利用,同时更为果胶的生产原料紧缺提供解决之路。另外,市场上果胶酶价格昂贵,在一定程度上限制了果胶的规模化工业生产,如果能以向日葵、果皮为原料选育出果胶酶高产菌株,并将其应用于生产中,不仅能够降低果胶的生产成本,减少我国果胶的进口量,同时也减少了环境污染,具有潜在的经济效应和生态效应。另外,利用果胶在食品、医疗、生物工艺、环保治理等领域的优势将会带来新的革命性的发展势头,因此果胶具有广阔的前景。

参考文献:

- [1] 刘文,董赛丽,梁金亚. 果胶的性质、功能及其应用[J]. 三门峡职业技术学院学报,2008,7(2):118-121.
- [2] 赵惠芝,崔凤芝,赵永光,等. 从向日葵花盘中提取果胶的研究[J]. 河北农业技术师范学院学报,1996,10(3):42-44.

- [3] 颜文斌,姚茂君,贾事栋,等. 薛荔果胶提取工艺条件研究[J]. 食品与发酵工业,2000,26(6):71-72.
- [4] 缪祥平,陆伟东,杨成乔. 蚕沙提取果胶水解环境研究[J]. 曲靖师范学院学报,2002,21(3):54-56.
- [5] 徐金瑞. 苹果渣中果胶的提取及纯化技术研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2003.
- [6] 万国福,谷 绒,唐会英,等. 超声波处理在果胶提取工艺中的应用[J]. 食品研究与开发,2006,(7):122-125.
- [7] 李 涛. 苹果渣中果胶提取工艺研究[J]. 天津农业科学,2015,21(1):18-21,25.
- [8] 陈莉华,王晓静,肖 琴,等. 红果参果胶提取物的抗氧化性研究[J]. 食品工业科技,2015(4):143-145,150.
- [9] Matora A V, Korshunova V E, Shkodina O G, et al. The application of bacterial enzymes for extraction of pectin from pumpkin and sugar beet[J]. Food Hydrocolloids, 1995, 9(1):43-46.
- [10] 刘义武,刘 莹,王 碧,等. 采用木瓜蛋白酶提取柠檬皮果胶[J]. 食品与发酵工业,2014,40(3):227-230.
- [11] 石海燕,周娅静,曹志钦,等. 复合酶法提取向日葵盘果胶的工艺研究[J]. 食品安全导刊,2014(23):56-58.
- [12] 台建祥,范鸿雁,薛 慧,等. 菠萝蜜果皮果胶提取工艺的优化[J]. 食品科技,2014,39(1):236-239.
- [13] Wang F Z, Liang Q X. Applications of mutation and screening in microbiology breeding[J]. Transaction of Luoyang Normal College, 2002(2):95-99.
- [14] 杜国军,刘晓兰,郑喜群. 产果胶酶黑曲霉的筛选及诱变育种[J]. 农业与技术,2008,28(2):68-70.
- [15] 杨天波,屈龙庆,詹高越,等. 果胶酶产生菌白色孢子突变株的诱变育种[J]. 微生物学通报,1985(4):162-164.
- [16] 王爱峰,张智维,曹忙选. 果胶酶高产菌株的激光诱变选育研究[J]. 西北农林学报,2009,18(2):256-268.
- [17] 朱宏莉,郭爱莲,宋纪荣,等. 氮-氛激光诱变细菌细胞及原生质体选育果胶酶高产菌株[J]. 光子学报,2005,34(11):1693-1696.
- [18] 何海燕,覃拥灵,陆世则,等. 产果胶酶棘孢曲霉的筛选鉴定及微波诱变育种[J]. 中国饲料,2015(2):20-22.
- [19] Hadj - Taieb N, Ayadi M, Trigui S, et al. Hyperproduction of pectinase activities by a fully constitutive mutant (CY1) of *Penicillium occitanis* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 30(5):662-666.
- [20] 杜国军,程 红,彭 凯,等. 高产果胶酶的黑曲霉化学诱变选育[J]. 江苏农业科学,2012,40(4):348-350.
- [21] 殷志鹏. 果胶酶产生菌 HDYM-02 的诱变育种[D]. 哈尔滨:黑龙江大学,2008.
- [22] 杜国军,王殿友,刘晓兰,等. 高产果胶酶黑曲霉的复合诱变选育[J]. 食品工业,2014,35(12):1-3.
- [23] 由 田,宋 刚,凌红志,等. 果胶酶高产菌株的紫外线及硫酸二乙酯的诱变育种[J]. 微生物学杂志,2011,31(5):69-72.
- [24] 彭小燕,木泰华,孙红男,等. 甜菜果胶的结构、提取及乳化特性研究进展[J]. 核农学报,2014,28(6):1070-1075.
- [25] 梁瑞红,郭文丽,陈 军,等. 南酸枣果胶性质研究[J]. 食品工业科技,2015(4):301-304.
- [26] 梅 新,木泰华,郭 庆. 甘薯果胶的乳化特性研究[J]. 中国农业科学,2010,43(13):2759-2766.
- [27] Bergman M, Djaldetti M, Salman H, et al. Effect of citruspectin on malignant cell proliferation[J]. Biomedicine and Pharmacotherapy,

徐璐,尹海波,张侠,等. 互花米草 *NHX1* 基因的 cDNA 全长克隆、序列信息及定量表达分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):34-38.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.008

互花米草 *NHX1* 基因的 cDNA 全长克隆、序列信息及定量表达分析

徐璐¹,尹海波¹,张侠¹,曹雪霖²,卢楠楠¹,闫丽华¹,陈世华¹,郭善利¹

(1. 烟台大学生命科学学院,山东烟台 264005; 2. 武警后勤学院二旅,天津 300309)

摘要:以盐生植物互花米草(*Spartina alterniflora*)为试验材料,利用 RACE 技术克隆到编码 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的 *NHX1* 基因的 cDNA 全长序列。利用生物信息学软件及网站对获得的基因核苷酸序列及编码的蛋白质序列进行分析,结果发现该核苷酸序列长度为 2 277 bp,开放阅读框为 1 623 bp,编码 540 个氨基酸残基,且该基因所编码的蛋白质与植物的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白 *NHX1* 同源,所以命名为 *SaNHX1* 基因。同时氨基酸序列比对显示,其与芦苇(*Phragmites australis* NHX, BAD95562.1)、玉米(*Zea mays* NHX, XP_008653443.1)、水稻(*Oryza sativa* NHX, BAA83337.1)等的 *NHX* 亲缘关系相近,同源相似性依次为 94%、92%、91%。利用 Qiagen Rotor Gene Q 荧光实时定量 PCR 仪对不同时间盐处理及 ABA 处理的互花米草材料进行荧光定量 PCR 检测。结果发现,在盐处理及 ABA 处理的不同处理时期,该基因的相对表达量都发生了明显的变化,这表明该基因受到了盐胁迫及 ABA 胁迫的诱导,由此可以看出 *SaNHX1* 基因与植物的耐盐性有着密切的关系。

关键词:耐盐性;互花米草;*NHX1* 基因;相对定量表达

中图分类号: Q785;Q786 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0034-05

随着土壤盐碱化面积的不断增加,植物面临着越来越严

峻的高盐挑战。土壤中高浓度的盐分会给植物带来生理干旱、离子毒害等多种危害,严重影响到植物的正常生长发育,从而抑制农作物的高产。对于大部分植物来说,高盐胁迫对植物的危害主要是由高浓度的 Na^+ 积累所导致的。虽然不同植物的耐盐机制存在差异,但是其基本策略都是保持胞内 Na^+ 的平衡^[1]。其中,植物体内的液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白(vacuolar Na^+/H^+ antiporter)在植物抗盐碱的过程中起着至关重要的作用,它可以将细胞质中过多的 Na^+ 区域化在液泡中,从而使得胞内的 Na^+ 处于相对平衡的状态,以此来使

收稿日期:2016-03-15

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31370296);烟台大学研究生科技创新基金(编号:YDYB1624);烟台大学博士启动基金(编号:HY07B1、TM09B25)。

作者简介:徐璐(1990—),女,山东青岛人,硕士研究生,主要从事植物抗逆生理研究。E-mail:313145365@qq.com。

通信作者:郭善利,博士,教授,主要从事植物发育分子生物学研究。Tel:(0535)6902595;E-mail:gsl@ytu.edu.cn。

2016,64(1):44-47.

- [28] Salman H, Bergman M, Djaldetti M, et al. Citrus pectin affects cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells[J]. Biomedicine and Pharmacotherapy, 2008, 62(9): 579-582.
- [29] Hexeberg B S, Hexeberg E, Willumsen N, et al. A study on lipid metabolism in heart and liver of cholesterol and pectin-fed rat[J]. British Journal of Nutrition, 1994, 71(2): 181-192.
- [30] 靳桂艳. 胶体果胶铋胶囊对胃癌前病变 *Bcl-2*、*P53* 基因蛋白影响的研究[J]. 中国医疗前沿, 2007, 1(2): 52-54.
- [31] Terpstra A H M, Lapre J A, Vries H T, et al. Dietary pectin with high viscosity lowers plasma and liver cholesterol concentration and plasma cholesteryl ester transfer protein activity in hamsters[J]. Journal of Nutrition, 1998, 128(11): 1944-1949.
- [32] Salman H, Bergman M, Djaldetti M, et al. Citrus pectin affects cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells[J]. Biomedicine and Pharmacotherapy, 2008, 62(9): 579-582.
- [33] Craig W J. Phytochemical: guardians of our health[J]. Journal of American Dietetic Association, 1997, 97(10): 199-204.
- [34] 范玉莹. 人参果胶对细胞迁移的影响及其机理研究[D]. 长春:

东北师范大学, 2010.

- [35] 张燕燕, 木泰华, 张苗. 改性甘薯果胶对癌细胞增值的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(9): 1798-1806.
- [36] Li F T, Yang H, Zhao Y, et al. Novel modified pectin for heavy metal adsorption[J]. Chinese Chemical Letters, 2007, 18(3): 325-328.
- [37] 郭晶晶. 改性果胶的制备及其对水溶液中的汞离子的去除研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2014.
- [38] 王春香, 杨鲲, 李玉静, 等. 改性果胶絮凝剂对废水中油脂和 Cr(VI) 的去除[J]. 西南师范大学学报, 2014, 39(1): 20-27.
- [39] Mielenz J R, Bardsley J S, Wyman C E. Fermentation of soy-bean hulls to ethanol while preserving protein value[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(14): 3532-3539.
- [40] 彭霞微, 谢响明, 白志辉, 等. 草酸青霉 BZH-2002 果胶酶系的纯化及其诱导抗病作用[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(6): 750-753.
- [41] 王虹霞, 胡诗保, 张瑜, 等. 果胶/魔芋胶复合膜结构及应用性能研究[J]. 西南民族大学学报, 2015, 41(1): 60-65.
- [42] 张晶莹, 王朝瑾, 沈宗霖, 等. 橙皮果胶可食性保鲜膜的应用[J]. 食品与发酵工业, 2012, 32(3): 128-131.