

文章编号:1673-1689(2005)06-0094-06

# 果胶及果胶酶研究进展

薛长湖<sup>1</sup>, 张永勤<sup>1,2</sup>, 李兆杰<sup>1</sup>, 李志军<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学 生命科学与技术部, 山东 青岛 266003; 2. 青岛科技大学 生物与制药工程系, 青岛 266042)

**摘要:** 果胶分子是由 HGA、RG-I 和 RG-II 3 个结构区域构成, 后二者为结构复杂的杂多糖成分, 因此参与果胶分解的酶类也是复杂多样的, 逐渐延伸了果胶酶概念的内涵. 其应用已不再停留在最初食品加工上, 而是在纺织、造纸、化妆品等行业都有所发展, 在天然产物提取以及果胶低聚糖的生理活性研究等方面也有了阶段性的进展, 果胶酶的固定化研究也在逐步深入.

**关键词:** 果胶; 果胶酶; 几丁聚糖; 固定化

中图分类号: Q 55

文献标识码: A

## Recent Development of Pectin and Pectolytic Enzyme

XUE Chang-hu<sup>1</sup>, ZHANG Yong-qin<sup>1,2</sup>, LI Zhao-jie<sup>1</sup>, LI Zhi-jun<sup>1</sup>

(1. Division of Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Department of Biological & Pharmaceutical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China)

**Abstract:** Pectin encompass a group of acidic heteropolysaccharides with three structural domains: homogalacturonan (HGA), rhamnogalacturonan I (RG-I) and rhamnogalacturonan II (RG-II), covalently linked to one another. The pectolytic enzymes are of great variety, the definition of which had been extended. The pectolytic enzymes can be used in textile, paper, and cosmetic industries in addition to its uses in food processing. Nowadays, their application in extraction of natural products and bioactive pectic oligosaccharides have jumped to new stages. The immobilization of pectolytic enzyme have been practiced in many ways. This short review highlights the progress on pectin and pectolytic enzymes and their application, and suggests their perspectives in application.

**Key words:** pectin; pectolytic enzyme; pectinase; chitosan; immobilization

随着分析手段的不断提高, 人们进一步了解到果胶的分子结构并开发出相应酶类, 从而使果胶酶的应用进入一个新的蓬勃发展时期, 其应用已不再停留在最初的饮料加工上, 而是在粮油加工、纺织、造纸、化妆品等行业都有所发展, 在与天然产物提

取相关的精细化工、医药等领域也有了阶段性的进展, 果胶酶的固定化研究也正在逐步深入.

## 1 果 胶

果胶分子是由不同酯化度的半乳糖醛酸以  $\alpha$ -

收稿日期: 2005-03-04; 修回日期: 2005-05-09.

作者简介: 薛长湖(1964-), 男, 江苏兴化人, 教授, 博士生导师.

万方数据

1,4 糖苷键聚合而成的多糖链,常带有鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖、海藻糖、芹菜糖等组成的侧链,游离的羧基部分或全部与钙、钾、钠离子,特别是与硼化合物结合在一起<sup>[1]</sup>. 它存在于所有的高等植物中,沉积于初生细胞壁和细胞间层,在初生壁中与不同含量的纤维素、半纤维素、木质素的微纤丝以及某些伸展蛋白(extensin)<sup>[2]</sup>相互交联,使各种细胞组织结构坚硬,表现出固有的形态. 果胶分子的

结构因植物的种类、组织部位、生长条件等的不同而不同,其大致的结构简图如图 1 所示,总体可分为光滑区(smooth region)和须状区(hairy region)两部分,主要由 HGA、RG- I 和 RG- II 三个结构区域构成,其中 RG- II 常以二聚体的形式存在. 同其它植物多糖一样,果胶也是多分子的、多分散的、多结构的、有高级空间构象的,也具有一定的相对分子质量分布.

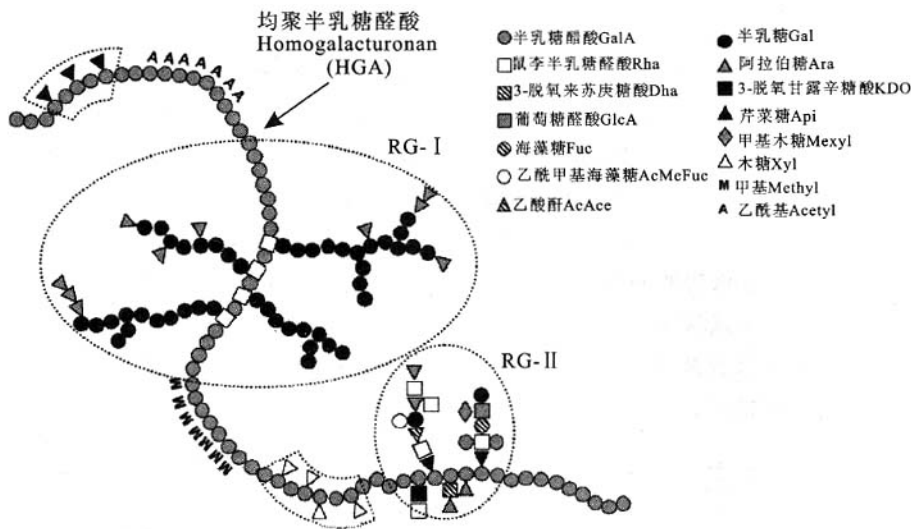


图 1 果胶的结构简图

Fig. 1 Schematic representation of the primary structure of pectins

## 2 果胶酶

果胶酶(pectolytic enzyme or pectinase)是指能够分解果胶物质的多种酶的总称.

### 2.1 果胶酶的分布

许多霉菌及少量的细菌和酵母菌都可产生果胶酶,主要以曲霉和杆菌为主. 新近报道的其它菌有青霉如意大利青霉(*Penicillium italicum*)、扩展青霉(*Penicillium expansum*)以及 *Penicillium griseooreum*<sup>[3]</sup>等,白绢菌(*Sclerotium rolfsii*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、微小毛霉(*Mucor pusilus*)<sup>[4]</sup>、高大毛霉(*Mucor mucedo*)<sup>[5]</sup>、热解糖梭菌(*Clostridium thermosaccharolyticum*)、匍枝根霉(*Rhizopus stolonifer*)、出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)、粗糙链孢霉(*Neurospora rassa*)<sup>[6]</sup>嗜热侧孢霉(*Sporotrichum thermophile*)<sup>[7]</sup>等. 由于真菌中的黑曲霉(*Aspergillus niger*)属于公认安全级(GRAS, General Regarded As Safe),其代谢产物是安全的,因此目前市售的食品级果胶酶主要来源于黑曲霉,最适 pH 值一般在酸性范围. 近年来,一些来源于细菌杆菌属的碱性果胶酶

日益受到重视如浸麻芽孢杆菌(*Bacillus macerans*)<sup>[6]</sup>、*Bacillus sp. RK9*、*Bacillus sp. NT-33*<sup>[4]</sup>、*Bacillus No. P-4-N*<sup>[8]</sup>、*Bacillus sp. MG-cp-2*<sup>[9]</sup>等. 随着分子生物学技术的不断提高,也可利用基因克隆技术实现果胶酶在其它微生物宿主的表达.

### 2.2 果胶酶类型上的分化

果胶酶大致分为果胶水解酶(pectin hydrolases)、果胶裂解酶(pectin lyases, PL)、果胶酯酶(pectin esterases, PE)和原果胶酶等,其中果胶水解酶又可分为聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonases, PG)、聚半乳糖醛酸甲酯水解酶(polymethylgalacturonases, PMG)、聚鼠李半乳糖醛酸酶(rhamnogalacturonases, RHG)、阿拉伯聚糖酶、半乳糖聚糖酶<sup>[10]</sup>、木糖基半乳糖醛酸酶(xylogalacturonase)<sup>[11]</sup>等,由于人们对 PG 的认识最早、应用最广泛,因此早先常被称为果胶酶(pectinase). 为避免发生概念混淆,国际上常用 Pectolytic Enzyme 来代替 Pectinase. PMG 水解高酯化果胶分子的  $\alpha$ -1,4 糖苷键,而 PG 则通过水解作用切断果胶酸分子的  $\alpha$ -1,4 糖苷键,后者对果胶的水解速度及程度随果胶酯化程度的增加而降低,与 PE 协同作用可加

速降解;对寡聚半乳糖醛酸的水解作用也随聚合度的长度减少而降低<sup>[12]</sup>. endo-PG 可将果胶降解为小分子,使果胶粘度降低并释放还原末端. PL 只能裂解贴近甲酯基的  $\alpha$ -1,4 糖苷键,裂解反应遵循  $\beta$ -消去机制,生成在非还原末端的 C4 和 C5 位置有不饱和键的半乳糖醛酸,但还原性末端与用 PG 水解的情况完全相同. 即 PL 与 PG 的分解效果在表观上是一样的,都能造成还原糖含量的增高和粘度的降低.

Sutherland<sup>[13]</sup> 认为多糖裂解酶具有严格的底物专一性,而对于多糖水解酶而言,多糖结构中的取代基团在一定范围内对许多种多糖水解酶的活性影响很小. 这就意味着果胶酶中 PG 有可能存在水解除果胶之外的其它多糖的糖苷键的酶. 迄今已发现 Pectinase G 和 Pectinex 3XL(Novo Chemical Co.)<sup>[14]</sup>、Aspergillus niger 果胶酶的同功酶可降解几丁聚糖,并就该种果胶酶的同功酶对几丁质的水解机制进行了研究<sup>[15]</sup>. 我们在试验中发现 Sigma 公司生产的 Aspergillus niger 果胶酶对不同脱乙酰度的几丁聚糖具有一定的水解能力.

3 果胶酶的应用性研究

3.1 利用果胶酶瓦解植物细胞的细胞壁

3.1.1 果蔬汁的生产、果酒的澄清 目前,在大部分的原果汁、浓缩果汁的生产过程中,都在使用果胶酶. 由于各种水果中果胶的含量差别较大,而且果胶质的成分也略有差异,因此,要根据不同品种、不同加工目的来确定果胶酶的酶组成. 由于 PG 的专一性对果胶的酯化度要求不如 PL 高,在澄清果汁方面往往注重以 PG 为主的酶组成,而在提高浸出汁,特别是自流汁方面往往注重使用以 PL 为主的酶制剂.

3.1.2 天然产物的提取 果胶物质的存在不同程度的影响或阻碍着天然产物的释放. 在适宜条件下,植物细胞会发生自溶也可产生包括果胶酶在内的分解酶类,但这会使待分离产物发生结构改变,甚至产生一些大多数情况下不利于分离的小分子副产物,因此,靠植物细胞的自身酶系并不利于天然产物的提取. 一般应先热失活钝化胞内酶系,再有选择地进行酶处理.

天然色素如葡萄紫、番茄红、紫苏紫、萝卜红等均可使用酶法提取,但所用果胶酶不得含有花青素酶等杂酶以免影响某些产品色泽.

其次,天然生物活性物质提取物是目前中药进入国际市场的一种理想方式,出口比例已超过中

药,并呈上升趋势. 可利用果胶酶生产的提取物有:银杏叶提取物、大蒜油浓缩液、蘑菇浓缩液、人参浆、当归浸膏、甘草液等. 另外,在金耳多糖<sup>[16]</sup>、香菇多糖<sup>[17]</sup>、金针菇多糖、山楂叶总黄酮<sup>[18]</sup>等的提取中也使用了果胶酶. 利用酶类提取,不仅可提高萃取率,还可提高纯度.

另外,在油料萃取方面,按照传统的生产工艺,菜籽油、棕榈油、葵花籽油、橄榄油等一般是由正己烷等脂溶性溶剂萃取制得,而正己烷是一种致癌物质. 将果胶酶和纤维素酶、半纤维素酶结合使用,可破坏油料作物的细胞壁,便于油料的释放,从而提高萃取率<sup>[19]</sup>. 由于酶法提取条件温和,油料中多酚物质和 VE 都有所增加,从而提高油料的稳定性.

3.1.3 纺织品的生物脱胶 用碱性果胶酶处理,代替碱对棉、麻等织物进行煮练加工和整理工艺,以去除初生胞壁中的果胶物质,在比较缓和的 pH 值和温度条件下使处理后的织物手感柔软,强度高,取代了耗能大、污染严重的传统热碱脱胶工艺. 另外,可避免因微生物处理造成的纤维素的降解<sup>[20,21]</sup>.

3.1.4 造纸业的生物制浆 造纸工业中的生物制浆与纺织品的生物脱胶类似,都是通过果胶酶等酶处理降解植物纤维原料中的果胶、半纤维素及木质素,使其分散成满足造纸工业不同要求的束纤维或单纤维,以生产柔软、均一、有弹性的高品质材料. 由于纸浆中高分子果胶带负电荷,经酶降解至六糖以下即可将其除去,避免了成品纸的静电现象<sup>[22]</sup>.

3.2 部分分解细胞间质中的果胶物质

3.2.1 带果肉食品的生产 一般常规加工所得到的果肉在必要的高温处理或机械泵出后,成型颗粒量明显减少,硬度降低,直接影响了产品品质. 果胶质在 PE 作用下脱去甲氧基,在钙离子存在下形成凝胶,从而保持了果肉原有的形状和硬度. 以此为基料的产品有果汁、果冻、果肉酸奶、果肉冰淇淋等.

3.2.2 单细胞产品的生产 所谓单细胞产品是指将生物组织进行转化而形成的完整的单细胞悬液. 这种单细胞内各种营养成分保存完好,表面及内部的张力较小,易稳定存在,而且易被酶类消化. 它最初应用于细胞融合技术,随着制备技术的不断完善,这种单细胞产品可用于婴儿、老人及病人食品中,还可作为美容品中的活性成分,用于保湿、抗氧化、抑制黑色素生成等. 酶法降解植物细胞间质中的果胶物质产生完整的单细胞悬液的过程称为浸解作用(maceration). 在浸解过程中,一方面设法使

内源性果胶酯酶灭活,避免细胞软化;另一方面,用外源果胶酶适度降解胞外果胶及其它成分,避免胞内物质泄漏,降低品质.该工艺常用于生产带肉果蔬汁饮料、乳制品的配料、即食的干燥土豆泥、胡萝卜泥等食品,以及芦荟、人参、越橘叶、红花等美容保健品的配料.

### 3.3 利用果胶酶生产果胶低聚糖

**3.3.1 以果胶为底物生产低聚果胶** PG 可水解细胞壁中的果胶成分产生聚合度为 10 左右的寡聚半乳糖醛酸,后者是植物防御反应的诱导因子,防御作用包括产生有抗真菌活性的抗毒素,抑制蛋白质合成的抑制剂等等,而且当 endo-PG 与其抑制蛋白结合以后可进一步激活此防御反应,所以 PG 在植物致病、抗病中具有双重作用<sup>[23]</sup>.某些中草药中的药用成分也与果胶成分有关,如艾草叶中的果胶成分是一种生物活性成分,柴胡根中的抗溃疡糖类与果胶分子中的 RG-II 有关<sup>[24]</sup>,而人参叶中的 RG-II 也具有抗溃疡作用<sup>[25]</sup>,柴胡根中的 RG-I 能够促进鼠 B 细胞产生 IL-6,增进机体免疫力<sup>[26]</sup>,苍术根中的果胶片段具有肠道免疫活性<sup>[27]</sup>.此外,果胶酶解产物还具有抑菌活性,可显著抑制乳酸菌的生长<sup>[28]</sup>;还可作为功能性食品的配料.

**3.3.2 以几丁质、几丁聚糖为底物生产低分子寡糖** PG 可水解几丁质、几丁聚糖的  $\beta$ -(1,4)-糖苷键,得到水溶性寡糖.这类低分子寡糖具有多方面的生理功能,如抗肿瘤、抗菌、增强免疫机能,改善肠道微生物区系的分布,刺激有益菌的生长等<sup>[29,31]</sup>.另外,几丁寡糖可作为保水剂、抗菌剂、植物生长调节剂等应用于农业、食品和化妆品业.

## 4 果胶酶的固定化

固定化酶技术的关键是开发高效、价廉、通透性好、性能稳定、安全无毒的载体,以及简便易行的固定化方法.载体和固定化方法的好坏直接影响固定化酶的性质、稳定性和应用范围.已报导的果胶酶的固定化方法可归纳如下:

### 4.1 共价键合法

该法的最大优点是酶和载体结合牢固,即使高浓度底物或盐类溶液也不会使酶脱落.但在固定化过程中,易造成酶的高级结构发生改变,破坏其活性中心.以下叙述的是一些具有代表性并有一定实用意义的研究.

**4.1.1 尼龙共价法** Lozano 等人<sup>[32]</sup>将尼龙膜进行 O-烷基化活化后与果胶酶共价偶联,然后置于微滤反应器中,被降解的小分子果胶随滤膜流出,贮

液粘度降低 88.4%,从而破坏果汁的胶体状态.因此,利用该法可提高过滤效率,延长系统的使用寿命.张来群等<sup>[33]</sup>将尼龙网经 3-二甲氨基丙胺活化后,用戊二醛共价偶联果胶酶,所得固定化酶  $K_m$  值与自然酶接近,在较宽的 pH 范围内保持正常活力,对温度的稳定性有较大提高.用 0.5% 的果胶溶液作底物,重复使用 10 次后,酶活力仍保留 44%.

**4.1.2 离子交换树脂为载体的共价法** Milena 等人<sup>[34]</sup>以叔氨基聚苯乙烯阴离子交换树脂 oston AT 为载体用戊二醛法、偶氮法进行固定化,发现戊二醛法优于偶氮法,所得固定化酶蛋白质偶联率为 93%,活力回收为 4.7%,操作半衰期较长,达  $t_{1/2} = 456$  d,将该固定化酶进行工业化应用发现,清除载体上的果汁悬浮物仍是个难题.

**4.1.3 以丙烯酸-乙基丙烯酸酯共聚物为载体的吸附-共价法** Dimella 等人<sup>[35]</sup>利用丙烯酸-乙基丙烯酸共聚物(EUDRAGITL100-55)在  $pH > 5.0$  时由不溶于水变为溶于水的特点,在被 EDC(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodi imide)活化后,很容易将多余的 EDC 除去,另外也可除去杂蛋白. pH 5.6 时 PL 带正电荷有利于与 EL100-55 的静电吸附,从而使酶与载体的结合更趋合理,避免了多点共价键合造成的酶结构刚性化失活.游离 PL 的保藏半衰期为 7 d,单纯吸附式固定 PL 的  $t_{1/2}$  为 20 d,而共价键合 PL 的  $t_{1/2}$  大于 30d.

**4.1.4 以蚕丝丝素为载体的戊二醛共价法**<sup>[36]</sup> 将蚕丝脱胶、溶解、脱盐、成膜或丝,干燥后即得蚕丝丝素,用戊二醛分步共价偶联,所得固定化酶最适温度比游离酶提高了 10 °C,改善了果胶酶的适用范围.

**4.1.5 几丁质、壳聚糖共价法** Vaillant 等<sup>[37]</sup>以虾壳几丁质为载体,以戊二醛为偶联剂共固定 PL 和内切纤维素酶.发现几丁质比尼龙更适合于果汁澄清,其半衰期为 407 小时.

### 4.2 吸附法

吸附法可分为物理吸附和化学吸附.由于物理吸附法中酶与载体的结合不够牢固,容易脱落,因而很少单独使用. Sarioğlu 等人<sup>[38]</sup>以粒径为  $525\mu m$  的阴离子交换树脂珠(Dowex WBA. Marathon, USA)为载体吸附果胶酶,所得固定化果胶酶,初次重复使用活力降低明显,而后使用 9 次活力只减少 20%. 将该固定化酶用于杏原汁的处理,重复使用 5 次,活力损失 6%.

### 4.3 化学吸附—共价法共固定果胶酶

该法是以活性氧化铝微球(直径为 2.4 ~

4.0mm)为载体,通过磷酸乙醇胺与铝离子发生离子键合而将微球活化,戊二醛一端与磷酸乙醇胺共价接臂,另一端与果胶酶的复合酶系统发生共价偶联<sup>[39]</sup>.固定化酶的活力回收 PG 为 0.35%, PL 为 0.4%.分别以 pH6.0 和 pH3.0 的果胶和 pH4.1 的果胶酸进行柱式稳定性实验,循环六次发现固定化酶的残留活力分别为 67%、74%和 76%,通过活力测定发现 PL 所起的水解作用很微弱,主要是 PG 参与果胶分解作用。

## 5 展 望

随着对果胶及果胶酶研究的日益深入,其应用领域已逐渐拓宽.尽管如此,就果胶酶的高效、多功能特点而言,其应用尚有较大的发展空间.目前,某些新开发的新酶仍限制在结构分析应用上.另外,

酶法生物活性物质的提取工艺应吸收我国中药炮制理论之精华,才可达到理想效果。

至于 PG 酶谱问题仍值得进一步探讨,出现同类现象的还有淀粉酶、纤维素酶、蛋白酶、脂肪酶等酶类,它们都具有较广泛的水解活性.以廉价易得的 PG 替代专性—水解酶,可为生产具有生物活性的果胶低聚糖、几丁低聚糖等开辟一条新路。

果胶酶的固定化方法较多,但迄今为止极少应用于工业化生产.原因主要在于酶与载体结合的有效性、牢固性不够高,载体的机械强度不够大等造成活力回收率偏低,操作稳定性以及储藏稳定性差等问题.因此,探索廉价、高效、应用性强的固定化果胶酶的方法,应用于更具发展前景的新领域仍是一个值得深入研究的课题。

## 参考文献:

- [1] Pérez S, Rodríguez-Carvajal M A, Doco T. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function[J]. **Biochimie**, 2003, 85: 109—121.
- [2] Serge Pérez, Karim Mazeau, Catherine Herv du Penhoat. The three-dimensional structures of the pectic polysaccharides [J]. **Plant Physiol. Biochem.**, 2000, 38 (1/2), 37—55.
- [3] Piccoli-Valle R H, Passos F J V, Brandi I V, *et al.* Influence of different mixing and aeration regimens on pectin lyase production by *Penicillium griseoroseum*[J]. **Process Biochemistry**, 2003, 38: 849—854.
- [4] Kashyap D R, Vohra P K, Chopra S, *et al.* Applications of pectinases in the commercial sector: a review[J]. **Biore-source Technology**, 2001, 77: 215—227.
- [5] 顾红燕, 齐鸿雁, 张洪勋. 高大毛霉制取果胶酶发酵条件实验[J]. **过程工程学报**, 2002, 2(3): 252—256.
- [6] Gummadi S N, Panda T. Purification and biochemical properties of microbial pectinases—a review[J]. **Process Biochemistry**, 2003, 38: 987—996.
- [7] Guneet Kaur, Sanjeev Kumar, T Satyanarayana. Production, characterization and application of a thermostable polygalacturonase of a thermophilic mould *Sporotrichum thermophile* Apinis[J]. **Bioresource Technology**, 2004, 94(3): 239—243.
- [8] Cao J, Zheng L, Chen S. Screening of pectinase producer from alkalophilic bacteria and study on its potential application in degumming of rammie[J]. **Enz. Microbiol. Technol**, 1993, 14: 1013—1016.
- [9] Kapoor M, Beg Q K, Bhushan B, *et al.* Production and partial purification and characterization of a thermo-alkali stable polygalacturonase from *Bacillus* sp. MG-cp-2[J]. **Process Biochemistry**, 2000, 36: 467—473.
- [10] Henk A Schols, Edwin J Bakx, Dick Schipper, *et al.* A xylogalacturonan subunit present in the modified hairy regions of apple pectin[J]. **Carbohydrate Research**, 1995, 279: 265—279.
- [11] C J B van der Vlugt-Bergmans, P J A Meeuwssen, A G J Voragen, *et al.* Endo-Xylogalacturonan Hydrolase, a Novel Pectinolytic Enzyme[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2000, 66(1) 36—41.
- [12] M M H Huisman, H A Schols, A G J Voragen. Enzymatic degradation of cell wall polysaccharides from soybean meal [J]. **Carbohydrate Polymers**, 1999, 38: 299—307.
- [13] Sutherland I W. Polysaccharases for microbial exopolysaccharides[J]. **Carbohydrate Polymers**, 1999, 38: 319—328.
- [14] Pantaleone D, Yalpani M, Scollar M. Unusual susceptibility of chitosan to enzymic hydrolysis[J]. **Carbohydrate Research**, 1992, 237: 325—332.
- [15] Kittura F S, Kumara A B V, Gowdab L R, *et al.* Chitosan analysis by a pectinase isozyme of *Aspergillus niger*—A non-specific activity[J]. **Carbohydrate Polymers**, 2003, 53: 191—196.

- [16] 汪虹,瞿传菁. 酶法提取金耳多糖的研究简报[J]. 食用菌,2002,24(2):7—8.
- [17] 余冬生,纪卫辛. 酶法提取香菇多糖. 江苏食品与发酵,2001,(4):10—11.
- [18] 王晓,李林波,马小来. 酶法提取山楂叶中总黄酮的研究[J]. 食品工业科技,2002,23(3):37—39.
- [19] M K Bhat. Cellulases and related enzymes in biotechnology[J]. **Biotechnology Advances**, 2000,18: 355—383.
- [20] Cao J, Zheng L, Chen S. Screening of pectinase producer from alkalophilic bacteria and study on its potential application in degumming of rammie[J]. **Enz. Microbiol. Technol.**, 1992, 14: 1013—1016.
- [21] 樊增禄,权衡果胶酶 Bioprep<sup>TM</sup>处理对棉织物性能的影响[J]. 印染助剂,2002,19(5):11—13.
- [22] Reid I, Ricard M. Pectinase in papermaking: solving retention problems in mechanical pulps bleached with hydrogen peroxide[J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2000, 26: 115—123.
- [23] H Yamada. Pectic polysaccharides from Chinese herbs: structure and biological activity, Carbohydr[J]. **Polym**, 1994 (25) 269—276.
- [24] Sakamoto T, Bonnin E, Thibault J-F. A new approach for studying interaction of the polygalacturonase-inhibiting proteins with pectins[J]. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2003, 1621: 280—284.
- [25] Kiyohara H, Hirano M, Wen XG, *et al.* Characterisation of an anti-ulcer pectic polysaccharide from leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer[J]. **Carbohydrate Research**, 1994, 263: 89—101.
- [26] Guo YJ, Matsumoto, Kikuchi Y. Effects of a pectic polysaccharide from a medicinal herb, the roots of *Bupleurum falcatum* L. on interleukin 6 production of murine B cells and B cell lines[J]. **Immunopharmacology**, 2000, 49: 307—316.
- [27] Yu KW, Kiyohara H, Matsumoto T, *et al.* Characterization of pectic polysaccharides having intestinal immune system modulating activity from rhizomes of *Atractylodes Lancea* DC[J]. **Carbohydrate Polymers**, 2001, 46: 125—134.
- [28] 李学红,马庆一,张昱,等. 果胶酶液抑菌性能的研究[J]. 食品工业科技,2003,24(1):51—53.
- [29] 竺国芳,赵鲁杭. 几丁寡糖和壳寡糖的研究进展[J]. 中国海洋药物,2000,19(1):43—46.
- [30] 夏文水,张帆,何新益. 甲壳低聚糖抗菌作用及其在食品保藏中的应用[J]. 无锡轻工大学学报,1998,17(4):10—14.
- [31] 张虎,杜昱光,虞里炬. 几丁寡糖与壳寡糖的制备和功能[J]. 中国生化药物杂志,1999,20(2):99.
- [32] Lozano P, Manjon A, Romojaro F, *et al.* A crossflow reactor with immobilized pectolytic enzymes for juice clarification [J]. **Biotechnology Letters**, 1987, 9(12): 875—880.
- [33] 张来群,高天慧. 尼龙网固定化果胶酶的制备及其性质的研究[J]. 生物化学杂志,1992,8(4):462—467.
- [34] Kminkov A M, Kucera J. Comparison of pectolytic enzymes using different methods of binding[J]. **Enzyme Microbiology and Technology**, 1983,(5): 204—208.
- [35] C Dimella, G Lanzarini, P Ercolessi. Preparation and Properties of an Immobilized Soluble-Insoluble Pectinlyase[J]. **Process Biochemistry**, 1995, 30(2):151—157.
- [36] 朱祥瑞,林蓉,王建瓴. 家蚕丝素固定化果胶酶的研究[J]. 浙江农业大学学报,1998,24(1):74—78.
- [37] Vaillant F, Millan A, Millan P, *et al.* Co-immobilized pectinlyase and endocellulase on chitin and Nylon supports[J]. **Process Biochemistry**, 2000, 35: 989—996.
- [38] Sarioglu K, Demir N, Acar J, *et al.* The use of commercial pectinase in the fruit juice industry, part 2: Determination of the kinetic behaviour of immobilized commercial pectinase[J]. **Journal of Food Engineering**, 2001,47: 271—274.
- [39] Caterina D, Andrea S, Gaetano L. Pectolytic enzymes co-immobilization on  $\gamma$ -alumina spheres via organophosphate compounds[J]. **Process Biochemistry**, 1997, 32(8): 715—722.

(责任编辑:杨 萌)