DOI:10.12441/spyswjs.20251028003 [文章编号] 1673-1689(2026)06-0021-10

普鲁兰多糖的生物合成及其在食品工业中的应用

刘芳妤[1,2,3] 杨金玉[2,3] 周庆新[2,3] 杨晓宇[2,3] 赵双枝[2,3] 陈相艳[2,3,4] 喜尔芭·叶莲娜[2,3]
张彦昊[2,3] 姜潇潇[2,3] 陈蕾蕾[1,2,3*]

(1. 济南大学文化和旅游学院,山东 济南 250022; 2. 山东省农业科学院农产品加工与营养研究所,山东 济南 250100; 3. 农业农村部新食品资源加工重点实验室,山东 济南 250100; 4. 青岛农业大学,山东 青岛 266109)

摘要:普鲁兰多糖是一种由短梗霉合成的胞外水溶性多糖,因具有独特的成膜性、可降解性和生物相容性,在食品行业备受关注。近年来,普鲁兰多糖在食品添加剂、食品保鲜等方面发挥重要作用。然而工业化生产普鲁兰多糖面临产量低、成本高等问题,限制了其在食品工业中的广泛应用。作者梳理并总结了国内外关于普鲁兰多糖的生产菌株、生物合成影响因素以及调节机制等方面的研究进展,为普鲁兰多糖低成本发酵工艺的优化及其在食品领域的开发利用提供参考。

关键词:普鲁兰多糖;出芽短梗霉;生物合成调节机制

Biosynthesis of Pullulan and Its Applications in the Food Industry

LIU Fangyu[1,2,3] *YANG Jinyu*[2,3] *ZHOU Qingxin*[2,3] *YANG Xiaoyu*[2,3] *ZHAO Shuangzhi*[2,3]
CHEN Xiangyan[2,3,4] *Elena SERBA*[2,3] *ZHANG Yanhao*[2,3] *JIANG Xiaoxiao*[2,3] *CHEN Leilei*[1,2,3*]

(1. Culture and Tourism College, University of Jinan, Jinan 250022, China; 2. Institute of Food & Nutrition Science and Technology, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 3. Key Laboratory of Novel Food Resources Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Jinan 250100, China; 4. Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: Pullulan is an extracellular water-soluble polysaccharide synthesized by *Aureobasidium*. Due to its unique film-forming properties, biodegradability, and biocompatibility, pullulan has attracted considerable attention in the food industry. In recent years, pullulan has played an important role in areas such as food additives and food preservation. However, its industrial production faces challenges such as low yields and high production costs, which limit its widespread application in the food industry. The author reviews and summarizes the research progress in pullulan-producing strains, factors influencing biosynthesis, and regulatory mechanisms, providing insights for optimizing low-cost fermentation processes and enhancing the utilization of pullulan in the food industry.

Keywords: pullulan; *Aureobasidium pullulans*; biosynthesis regulation mechanism

普鲁兰多糖是一种由短梗霉分泌的胞外线性*α-D*-葡聚糖,由*α*-1,4糖苷键连接的麦芽三糖亚单元通过*α*-1,6糖苷键连接而成[1]。*α*-1,4和*α*-1,6糖苷键的规律性交替,赋予其结构柔韧性与高溶解度这2种独特的性质[2],其具体结构见图1。

此外,普鲁兰多糖还具备无臭、无毒、可食用、可生物降解、无致癌性等多重优点。随着健康饮

基金项目:山东省农业科学院农业科技创新工程项目(CXGC2025H02,CXGC2025A07,CXGC2025F08);泰山学者工程资助项目(tstp20250544)。

通信作者:陈蕾蕾(1982—),女,博士,研究员,硕士研究生导师,主要从事微生物资源挖掘与利用研究。E-mail: nkychenleilei@shandong.cn

收稿日期:2025-10-28 **修回日期:**2025-11-28

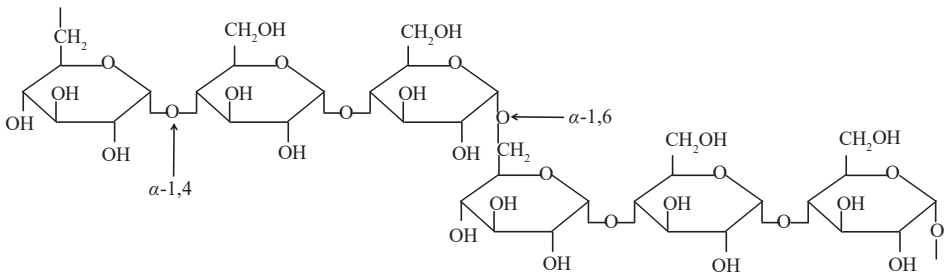


图 1 普鲁兰多糖分子结构

Fig. 1 Molecular structure of pullulan

食的理念深入人心，其凭借卓越的可塑性、稳定性、成膜性及安全性在食品领域备受关注，并已被美国食品药品监督管理局评估为“一般认为安全”[3]，成为食品行业的重要原料。

1 普鲁兰多糖的生产菌株

普鲁兰多糖的生产菌株在自然界中广泛分布，多来源于陆生植物的叶片或花朵。近年来研究表明，海洋环境中也分离出能分泌普鲁兰多糖的菌株[4]，主要为产黑色素短梗霉（*Aureobasidium melanogenum*，*A. melanogenum*）和出芽短梗霉（*Aureobasidium pullulans*，*A. pullulans*）[5]，具体菌株见表 1。

A. melanogenum P16 分离自海南省红树林生态系统，揭示了红树林资源在普鲁兰多糖生产中的潜力[6]。*A. melanogenum* TN3-1 分离自天然蜂蜜，其基因组呈现高度重复性，具备高效合成普鲁兰多糖的能力[7]。蜂蜜中高浓度的果糖与葡萄糖形成的高渗环境对微生物生长有抑制作用，但其不仅能在此环境下存活，还可利用这些糖分高效合成普鲁兰多糖，显示出极强的渗透压耐受性[8]。*A. pullulans* BL06 分离自天津某公园树叶，其分泌的普鲁兰多糖相对分子质量可达 3.3×10^6，是迄今为止报道的最高相对分子质量。高相对分子质量的普鲁兰多糖因高黏度而具有很高的商业化应用潜力[9]。*A. melanogenum* P16 的发现彰显了微生物资源的价值，*A. melanogenum* TN3-1 展示了耐高渗菌株的潜力，而 *A. pullulans* BL06 则突破了普鲁兰多糖相对分子质量的极限。这些研究共同印证了短梗霉作为普鲁兰多糖生产菌株的巨大潜力，并且从多样化的生态系统中筛选野生菌株，无需复杂的基因工程改造即可获得具备卓越潜力的天然菌种。目前，如何通过针对性的筛选与系统化的改良策略，获得更多具备优良性状的工业候选菌株，已成为亟待深入探索的关键课题。

1.1 菌株的诱变与定向改造

尽管已有研究报道了多种生产菌株，但多数野生菌株的生产性能仍难以满足工业化需求。因此，采用随机诱变和基因工程等手段进行菌株改良，对于提高产量、降低成本和提升生产效率至关重要。目前，菌株的诱变与定向改造已成为研究重点并取得了显著进展。

表 1 普鲁兰多糖生产菌株

Table 1 Strains for pullulan production

菌种	菌株名称	菌株来源	产量	参考文献
产黑色素短梗霉	*A. melanogenum* P16	海南省红树林生态系统	以质量分数 12% 的蔗糖为碳源，产量为 65.0 g/L	[6]
	A. melanogenum TN3-1	天然蜂蜜	以 140 g/L 葡萄糖为碳源，产量为 110.29 g/L	[7-8]
	A. melanogenum TN1-2	天然蜂蜜	以 140 g/L 蔗糖为碳源，产量为 97.0 g/L	[8]
出芽短梗霉	*A. pullulans* BL06	天津某公园树叶	以 140 g/L 蔗糖为碳源，产量为 84.3 g/L	[9]
	A. pullulans M1-B3	紫外线诱变结合流式细胞术筛选获得	以 50 g/L 蔗糖为碳源，产量为 41.59 g/L	[10]
	A. pullulans NCPS2016	法国梧桐树叶	以 80 g/L 果糖为碳源，产量为 59.8 g/L	[11]
	A. pullulans Y68	中国南方树叶	以质量分数 8% 的葡萄糖为碳源，产量为 52.47 g/L	[12]
	A. pullulans M233	常压室温等离子体（ARTP）诱变获得	以 100 g/L 葡萄糖为碳源，产量为 61.3 g/L	[1]
	A. Pullulans M233-20	适应性实验室进化获得	以 200 g/L 葡萄糖为碳源，产量为 162.3 g/L	[1]

紫外线诱变是一种利用紫外线作为诱变因子引发微生物基因突变的经典物理诱变方法。Zhang等[10]应用紫外线诱变结合流式细胞术单细胞筛选，获得了高产菌株*A. pullulans* M1-B3，其普鲁兰多糖产量从26.50 g/L大幅提升至76.88 g/L，相对分子质量也从2.09×10^5显著升高至3.90×10^5~8.99×10^5，扩大了应用范围。该研究成功构建了依赖于荧光强度的高通量筛选方法，有效提升了普鲁兰多糖的产量和相对分子质量。然而，该方法仍存在局限性，需通过基因组测序等手段进一步验证菌株的遗传变化。

ARTP诱变是另一种高效诱变方法，突变率较高且易于获得遗传稳定的突变株。Li等[1]通过ARTP技术处理*A. pullulans* NCPS2016，获得了高产菌株*A. pullulans* M233，以100 g/L葡萄糖作为碳源时，其普鲁兰多糖产量达到61.3 g/L，通过ARTP诱变可以获得高效利用高质量浓度葡萄糖合成普鲁兰多糖的优良菌株。

适应性实验室进化是一种在可控条件下定向筛选具有特定表型菌株的技术。Li等[1]通过适应性实验室进化对*A. pullulans* M233菌株进行筛选，得到了耐高渗菌株*A. pullulans* M233-20，以200 g/L葡萄糖为碳源时，其普鲁兰多糖产量高达162.3 g/L，展现了巨大的工业应用潜力。通过适应性实验室进化可以提高菌株对高渗透压的抵抗力和生产性能。将ARTP诱变和适应性实验室进化相结合，可有效提高短梗霉生产普鲁兰多糖的能力。

1.2 短梗霉细胞形态

出芽短梗霉具有显著的环境适应性，可在多种极端环境中生存，如盐田、深海、沙漠、天然蜂蜜及冰川等[13]。其形态呈多形性，主要包括酵母状细胞、菌丝体、膨胀细胞、芽生孢子和厚垣孢子5种细胞形态。初期菌落通常呈浅黄色或乳白色，后期随着厚垣孢子的形成逐渐转变为深褐色直至黑色[2]。研究表明，普鲁兰多糖的合成与细胞形态有关，酵母状细胞和膨胀细胞是合成普鲁兰多糖的主要细胞形态，其合成能力高于芽生孢子和菌丝体[14]。Ma等[4]研究表明，*A. melanogenum* P16菌株具有酵母状细胞和厚垣孢子2种形态，该菌株能利用质量分数为12%的蔗糖合成65.0 g/L的普鲁兰多糖。而Xue等[8]发现*A. melanogenum* TN3-1菌株在YPD平板上以芽生孢子为主，并伴有少量节孢子；在PDA平板上则主要形成厚垣孢子及浅色节孢子。值得注意的是，在普鲁兰多糖生产培养基中，多数细胞为浅色节孢子，并可观察到丝状节孢子，因此浅色节孢子被认为是*A. melanogenum* TN3-1菌株合成普鲁兰多糖的关键形态。研究发现，耐高渗菌株*A. pullulans* M233-20高效合成普鲁兰多糖的细胞形态呈酵母状，且无膨大。因此，不同菌株合成普鲁兰多糖的细胞形态可能各不相同，具有菌株特异性。现有研究揭示了细胞形态对合成普鲁兰多糖的重要性，但菌株细胞形态如何影响普鲁兰多糖的产量，仍需深入研究。在发酵过程中，可通过调控发酵条件引导细胞形态向酵母状细胞和膨胀细胞转变，从而提高普鲁兰多糖产量。

2 发酵生产普鲁兰多糖的影响因素

为提高普鲁兰多糖产量，近年来的研究主要围绕通过基因工程与诱变技术选育优良菌株和精细调控发酵工艺展开。微生物的生长与代谢高度依赖营养物质以及发酵环境的调控[15]，优化这些因素对于提高普鲁兰多糖产量、降低生产成本至关重要。

2.1 碳源

碳源为微生物生长与代谢提供物质基础与能量来源，其种类和浓度直接影响普鲁兰多糖的合成效率。蔗糖和葡萄糖通常被认为是最佳碳源，*A. pullulans* NCPS2016等菌株亦可利用果糖高效合成普鲁兰多糖，产量达59.8 g/L[11]。Duan等[12]研究发现，*A. pullulans* Y68利用质量分数为8.0%的葡萄糖可生产52.47 g/L的普鲁兰多糖，表明生产普鲁兰多糖所需的最佳碳源具有菌株特异性。

当碳源质量分数超过5.0%时，普鲁兰多糖的合成会受到抑制。若能通过基因手段解除葡萄糖抑制，则有望利用高质量分数葡萄糖实现普鲁兰多糖的高效合成。Wang等[16]通过敲除*A. melanogenum* P16菌株中编码葡萄糖抑制因子的*CREA*基因，发现敲除菌株在含120 g/L葡萄糖的培养基中可合成64.93 g/L普鲁兰多糖，而野生型P16菌株仅产出52.00 g/L的普鲁兰多糖。表明*CREA*基因缺失可激活多个原本受葡萄糖抑制的基因表达，进而增强普鲁兰多糖相关合成酶的活性，促进其生物合成。提高碳源浓度会增加发酵

环境的渗透压，抑制微生物生长，降低底物利用率。因此，在提升碳源浓度的同时，为维持较高的碳源转化率，急需选育耐高渗的优良生产菌株[17]。已有报道指出，甘油、海藻糖及液泡与普鲁兰多糖的生物合成及高渗耐受性密切相关。Chen 等[18]通过敲除 TN3-1 菌株中参与甘油、海藻糖合成及液泡形成的相关基因，发现所有突变株的普鲁兰多糖合成能力均有所下降，且对高浓度葡萄糖耐受性减弱。当敲除维持液泡分裂与融合平衡的 *VSP11* 和 *VSP12* 基因后，细胞中液泡数量减少，体积异常增大，酵母状细胞变为膨胀细胞，无法在含高浓度葡萄糖的培养基上正常生长，普鲁兰多糖产量急剧下降，并且产生大量黄色素，这说明细胞形态可影响菌株对碳源的响应。在高渗环境下，耐高渗菌株 *A. pullulans* M233-20 中甘油、海藻糖合成酶相关基因的表达均大幅上调[1]，表明上述因素在调节渗透压及多糖合成中具有重要作用。针对碳源的调控研究不应只局限在浓度和种类上，还应通过基因手段解除葡萄糖抑制和选育耐高渗优良菌株，以实现普鲁兰多糖的高效合成。

利用糖蜜、木薯渣及马铃薯废料等工农业副产品作为碳源生产普鲁兰多糖，既降低生产成本，又减少环境污染，是近年来废弃物高值化利用的研究热点[19]。糖蜜是制糖工业的副产品，含有质量分数 48%~60% 的可发酵糖（如葡萄糖和果糖等），是潜在的廉价碳源[20]。Srikanth 等[21]优化 *A. pullulans* MTCC 2195 发酵培养基后，利用质量分数 5.0% 的糖蜜生产出 45 g/L 的普鲁兰多糖。Sugumaran 等[22]探索了以木薯渣为碳源，利用 *A. pullulans* MTCC 2670 生产普鲁兰多糖的工艺。此外，*A. pullulans* P56 菌株以马铃薯淀粉废料为碳源，可生产 19.2 g/L 的普鲁兰多糖[23]。短梗霉通过其独特的生物合成机制，将农业废弃物等可再生资源高效转化为普鲁兰多糖，兼具经济效益与环境效益。

2.2 氮源

氮源是细胞合成生物大分子的必需营养物质。适量的氮源虽可促进菌体快速生长，但其种类和浓度需精确控制以平衡菌体生长与产物合成。Cheng 等[24]研究结果表明，当硫酸铵质量浓度为 5 g/L 时，普鲁兰多糖产量最高，可达 23.1 g/L，纯度 94.6%。然而，过多的氮源会导致菌体过度生长，并在碳源耗尽后引发普鲁兰多糖的降解，从而导致产量下降。

在发酵过程中，存在氮分解代谢物抑制（NCR）现象，这是微生物在氮源受限时，通过调控基因表达来适应环境的一种机制。在氮限制情况下，微生物可以激活特定的转录因子，促进氮代谢相关基因的表达，从而提高氮的利用效率[25]。Wang 等[26]研究了硫酸铵和酵母粉对普鲁兰多糖合成的影响，发现其最佳质量浓度分别为 0.6 g/L 和 3.0 g/L。在氮限制条件下，出芽短梗霉会形成酵母细胞和菌丝体几乎等量的混合形态，有利于普鲁兰多糖的持续合成。在此条件下，普鲁兰多糖产量增加了 14%。与此同时，*α*-磷酸葡萄糖变位酶和葡萄糖基转移酶的活性升高，*pgm1* 基因表达水平上调，细胞内 ATP 水平也更高，从而为普鲁兰多糖的生物合成提供了更多能量供应。Kang 等[27]从分子水平研究了合成普鲁兰多糖的氮源调控机理，发现在氮限制条件下，更多的碳源用于普鲁兰多糖以及所需 ATP 的生成；而在氮过量时，碳源则主要用于菌体生物量的积累，菌体的快速增长会导致普鲁兰多糖产量降低。在氮过量条件下，通过敲除转录调控基因 *AreA* 和 *AreB* 并转化突变型 *AreA* 基因，使突变株能够用 120.0 g/L 蔗糖合成 39.8 g/L 普鲁兰多糖，显著高于野生型菌株 P16 的产量（21.3 g/L），表明缓解 NCR 能有效提高普鲁兰多糖的合成效率。这说明调控氮源种类和浓度具有一定效果，但还应通过基因工程等手段缓解 NCR，使氮源更多地流向普鲁兰多糖生物合成并形成有效的细胞形态，以最大限度提升普鲁兰多糖产量。

2.3 金属离子

金属离子在发酵过程中起着多方面的重要作用，不仅有助于维持细胞结构和稳定性，还可作为多种酶的辅助因子调节酶活性，其浓度影响发酵液的 pH 和离子强度，进而影响微生物生长。K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Na^+等金属离子对普鲁兰多糖的合成有显著影响[28]。Wang 等[29]研究表明，NaCl 能增强 PGM 和 FKS 的活性，上调 *pgm1*、*fks* 和 *amy2* 基因的表达，提升 ATP 供应水平，并维持细胞内尿苷二磷酸葡萄糖的高浓度。Yang 等[11]发现，K_2HPO_4 质量浓度对细胞生长和普鲁兰多糖合成具有双重效应：低质量浓度促进生长，高质量浓度抑制生长但

提高产量，而过高的质量浓度又会导致产量下降。相反，$(NH_4)_2SO_4$在高质量浓度时促进菌体生长，但显著降低普鲁兰多糖产量。目前，关于细胞形态和金属离子影响普鲁兰多糖产量的报道较少，具体机制有待深入研究。在发酵过程中，多种金属离子处于动态平衡状态，它们相互影响、共同调控。因此，不仅要控制各金属离子浓度，更需维持其平衡，以实现普鲁兰多糖的高效生产。

2.4 pH

发酵液的pH通过影响酶活性和细胞代谢，对普鲁兰多糖的合成起着关键作用。适宜的pH可以促进细胞生长和代谢，提高普鲁兰多糖的产量。菌体通过多种信号通路来感知和响应pH的变化，调节其生长和代谢以适应生境[30]。研究表明，pH<2.5时，细胞以菌丝体为主，酵母状细胞极少；在中性条件下，以酵母状细胞为主[28]。Zhang等[31]研究表明，普鲁兰多糖发酵的最适pH为5.5~7.5。微酸性条件利于产物合成，而微中性条件则利于普鲁兰多糖的稳定积累，酸性过强可能导致普鲁兰多糖水解，而碱性条件则会抑制出芽短梗霉的生长。Pan等[32]发现，pH为5.5时，*A. pullulans* CJ001的普鲁兰多糖产量（32.47 g/L）最高，且尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶活性达到峰值。Wang等[33]研究表明，*A. pullulans* CCTCC M 2012259在pH为3.8时，普鲁兰多糖产量（26.8 g/L）最高，且相对分子质量随pH降低而减小。Zhang等[30]研究pH转录因子Appacc时发现，在pH为4.0和7.0时，细胞主要为酵母状细胞和膨胀细胞，而在碱性条件下会诱导细胞向菌丝体转变。敲除*pacc*基因后，中性条件下酵母状细胞和膨胀细胞直径显著减小，生长受抑制，菌丝化显著，普鲁兰多糖产量下降。而过表达*pacc*基因后，碱性条件下细胞形态为酵母状细胞和膨胀细胞，抑制其菌丝化，普鲁兰多糖产量上升，这表明pH是驱动出芽短梗霉形态转换的关键环境信号。发酵液的pH是影响普鲁兰多糖产量的关键因素，通过两阶段控制pH，可以保持较高生物量、促进细胞转变为适宜形态、提高普鲁兰多糖产量，还可以从基础角度剖析短梗霉在pH应激下的信号通路与调控网络，选育能适应特定发酵pH的强化菌株，从而突破当前发酵条件对普鲁兰多糖合成的限制[31]。具体调控策略见表2。

表2 普鲁兰多糖的发酵条件及调控策略

Table 2 Fermentation conditions and regulation strategies of pullulan

发酵条件	影响因素	调控策略	参考文献
碳源	碳源种类	利用菌株特异性，筛选蔗糖、葡萄糖、果糖等碳源，高效合成普鲁兰多糖，提高相关酶活性	[8,11-12]
	碳源浓度	通过敲除*CREA*基因提高普鲁兰多糖产量，解除表达抑制，提高酶活性，驱动碳源流向普鲁兰多糖的合成	[16]
		通过育种技术选育耐高渗菌株，克服高浓度葡萄糖抑制，高效合成普鲁兰多糖，在高渗环境中上调基因表达	[1]
氮源	氮源浓度	通过适度的氮限制，同步上调关键酶活性与基因表达，增加细胞内ATP水平，提高普鲁兰多糖产量	[26]
		当氮过量时，敲除转录调控基因*AreA*和*AreB*，提高普鲁兰多糖产量，增强相关合成基因表达	[27]
金属离子	离子种类	通过优化培养基组分进行调控，添加K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Na^+等金属离子，以提高产量与相应酶活性，上调相关基因表达	[29]
	离子浓度	通过优化培养基金属离子浓度，维持离子间动态平衡，协同作用于细胞生长及普鲁兰多糖合成	[11]
pH	适宜范围	通过将环境条件控制在微酸性范围内，有效诱导相关基因表达，提高普鲁兰多糖产量	[31]
		通过过表达pH转录因子Appacc，驱动出芽短梗霉形态转换，在碱性条件下也能维持酵母状细胞，提高普鲁兰多糖产量	[30]
	两阶段控制	通过两阶段控制pH，前期维持较低pH以促进菌体生长；后期调节至微酸性环境，促进普鲁兰多糖合成	[34]

2.5 黑色素

短梗霉在发酵生产普鲁兰多糖的过程中会产生次级代谢产物——黑色素，其成分主要是二羟基萘黑色素[35]。大多数黑色素会沉积在真核细胞的细胞壁上，随着其不断累积，发酵液的颜色由浅变深[36]。研究表明，黑色素和普鲁兰多糖的合成呈正相关，黑色素会促进普鲁兰多糖的合成，而高浓度的普鲁兰多糖则会诱导黑色素的合成。敲除生物合成黑色素的聚酮合酶基因*alb1*后，普鲁兰多糖产量下降41.01%，但将黑色素重新加入培养基中，产量则提高了31.44%。当敲除普鲁兰多糖合成酶基因*pul*后，该菌株既不合成普鲁兰多糖也不合成黑色素。然而，在培养基中加入高质量浓度的普鲁兰多糖则会促进黑色素的合成。镜检表

明，黑色素可以在膨胀细胞和菌丝体中合成，但在酵母状细胞中不能合成，并且大量的膨胀细胞和菌丝体内部不含黑色素，这表明膨胀细胞和菌丝体的形成不依赖于黑色素，但黑色素的形成依赖于细胞形态[14]。尽管黑色素对宿主有多种保护作用，但它是普鲁兰多糖工业化生产过程中需要去除的副产品。因此寻找具有高普鲁兰多糖产量和低黑色素合成能力的工业菌株迫在眉睫[14]。万翠香等[37]成功选育出能有效提高普鲁兰多糖产量且黑色素合成基因缺失的菌株 *A. pullulans* P1012，该菌株在发酵过程中不分泌黑色素，且普鲁兰多糖产量达到 28.01 g/L，糖转化率可达 56.02%。普鲁兰多糖与黑色素的合成存在相关性，因此深入研究普鲁兰多糖与黑色素之间相互调控的分子机制，探索其和细胞形态的关系，并通过基因手段在高产菌株中精准敲除黑色素合成关键基因，调控普鲁兰多糖合成相关基因，筛选出不产黑色素但高产普鲁兰多糖的菌株[14]，对促进普鲁兰多糖的工业化发展具有积极意义。

3 普鲁兰多糖的生物合成机制

A. melanogenum TN3-1 为 *A. melanogenum* CBS105.22/CBS110374 与一株类似 *A. melanogenum* P16 未知菌株的杂交后代，这一独特的遗传背景赋予其卓越的代谢能力和环境适应性，使其在高糖环境中通过增强甘油、海藻糖和糖原的合成，高效积累普鲁兰多糖[38]。在同时敲除 α-淀粉酶编码基因 *AMY1* 与黑色素合成基因 *PKS1* 后，敲除株能够利用 140.0 g/L 葡萄糖产生 103.50 g/L 的普鲁兰多糖，相对分子质量为 3.2×10^5[9]。因此，深入研究此类耐高渗菌株的生理机制，对于理解微生物的逆境适应策略具有重要价值[18]。

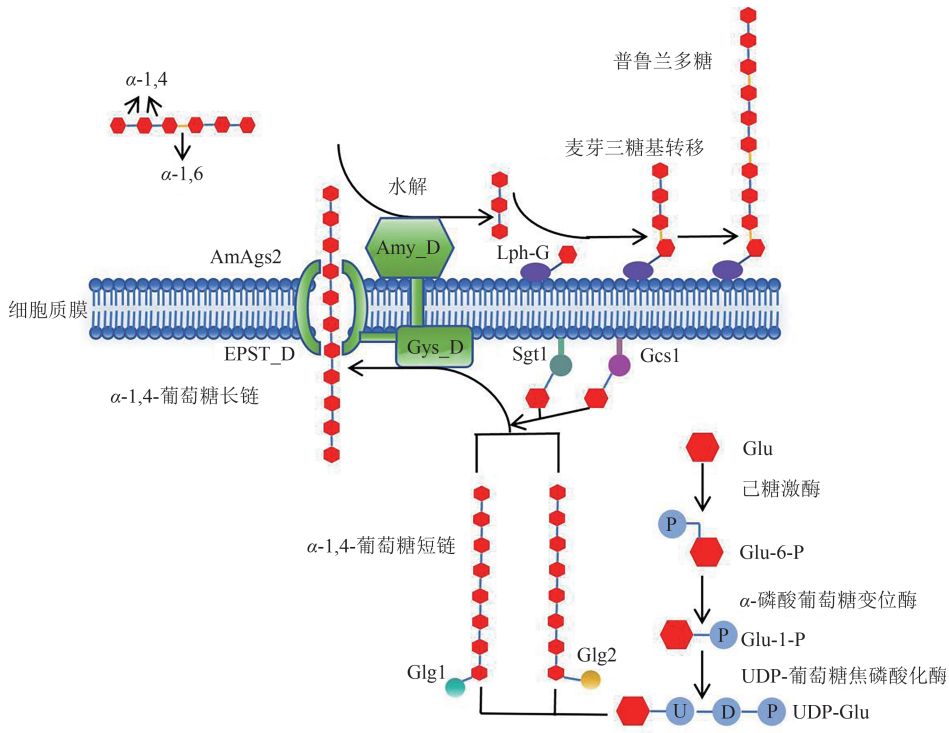
Gao 等[39]在敲除 *A. pullulans* BL06 菌株中多聚苹果酸合成酶基因 *PMAs* 时发现，在 48 h 内普鲁兰多糖产量为 32.7 g/L，显著高于野生型菌株的 21.6 g/L，但发酵早期产物的相对分子质量显著降低。为探究此现象，在敲除株中进一步敲除淀粉酶基因 *Amy1*，48 h 后普鲁兰多糖相对分子质量从 6.8×10^5 大幅提升至 5.9×10^6；而过表达 *Amy1* 则使其相对分子质量降至 2.8×10^5，表明 *Amy1* 是调控普鲁兰多糖相对分子质量的关键基因。研究表明，调控 *Amy1* 能够有效控制相对分子质量，这为获得相对分子质量可控的普鲁兰多糖提供了关键技术依据，但如何将其应用于大规模工业化生产仍是当前需要解决的关键问题。

研究发现，α-1，3-葡聚糖合成酶 2（AmAgs2）是 *A. melanogenum* P16 菌株合成普鲁兰多糖的关键酶。AmAgs2 的胞外结构域含有细菌免疫球蛋白样（Big5）结构域，并且仅 Big5 结构域中含有保守氨基酸基序 LQS 的少数短梗霉属菌株可以合成普鲁兰多糖，说明 Big5 结构域中保守氨基酸基序 LQS 可能发挥着底物识别的关键作用[40]。序列分析表明，AmAgs2 位于细胞质膜，包含胞外淀粉酶催化结构域（Amy_D）、胞内糖原合成酶结构域（Gys_D）和胞外多糖转运跨膜结构域（EPST_D）。推断其合成过程可能如下：Gys_D 催化延伸 α-1，4-葡萄糖短链，得到 α-1，4-葡萄糖长链（普鲁兰多糖前体）；胞内合成的普鲁兰多糖前体通过 EPST_D 转运，穿过质膜到达周质空间；Amy_D 水解普鲁兰多糖前体的 α-1，4 糖苷键释放麦芽三糖单元，并将释放的麦芽三糖通过糖基转移酶转移到脂质体-葡萄糖，将其聚合成普鲁兰多糖分子[41]。具体生物合成途径见图 2。

功能验证表明，敲除 *AmAgs2* 基因后，菌株完全丧失普鲁兰多糖合成能力，而回补该基因则能恢复普鲁兰多糖合成能力。将该基因异源表达于不产普鲁兰多糖的 *A. melanogenum* CBS105.22 菌株中，其产量达到 13.52 g/L[41]。这是首次报道 *AmAgs2* 基因在普鲁兰多糖生物合成中的关键作用，具有重要意义。然而，AmAgs2 各结构域的具体生化功能、底物识别与催化分子机制仍有待进一步阐明。利用分子及生化手段，深入研究每个结构域的作用机制，对其分别进行敲除、回补和过表达，分析这些菌株普鲁兰多糖产量、相对分子质量、细胞形态的差异，以确认该关键酶各结构域的具体功能是目前急需研究的问题。

4 普鲁兰多糖在食品领域的应用

近年来，普鲁兰多糖作为一种多功能的天然高分子聚合物，在食品领域的应用范围持续扩大。随着消费者对健康和天然成分的日益重视，普鲁兰多糖的市场规模呈现出显著增长趋势，其应用领域的拓展推动了相关产业的蓬勃发展。



Glu—葡萄糖；Glu-6-P—6-磷酸-葡萄糖；Glu-1-P—1-磷酸-葡萄糖；UDP-Glu—尿苷二磷酸葡萄糖；Glg1、Glg2—糖原合成引物蛋白；Gcs1—神经酰胺葡萄糖基转移酶；Sgt1—甾醇葡萄糖基转移酶；Lph-G—脂质体-葡萄糖；Amy_D—胞外淀粉酶催化结构域；Gys_D—胞内糖原合成酶结构域；EPST_D—胞外多糖转运跨膜结构域。

图 2　普鲁兰多糖可能的生物合成途径

Fig. 2　Proposed biosynthesis pathway of pullulan

在食品工业中，普鲁兰多糖可作为增稠剂、稳定剂和低热量食品添加剂，用于改善糖果、巧克力、饮料等产品的质构、口感和稳定性，并能有效延长货架期[42]。普鲁兰多糖低热量和可缓慢消化的特性，使其适用于糖尿病患者的膳食[43]。与其他多糖相比，普鲁兰多糖具有更高的益生元活性评分（PAS）[35]。Hong 等[44]研究表明，添加质量分数 0.3%~0.5% 的普鲁兰多糖能有效改善冷冻熟面团的质构和蒸煮品质，抑制水分迁移和面筋蛋白大分子聚合物的解聚，并对面筋网络结构产生积极影响。

在保鲜领域，普鲁兰多糖、壳聚糖、海藻糖等多糖各具功能优势，但壳聚糖阻氧能力较差，易结晶、龟裂，降低产品稳定性，不利于长期贮藏[45]。海藻糖若涂膜不均匀且过厚，则会阻碍气体交换，助长腐败菌的繁殖[46]。而普鲁兰多糖凭借其优异的成膜性和可降解性，在保鲜领域展现出广阔应用前景。传统的保鲜方法如塑料薄膜包装、低温冷藏、气调包装和化学杀菌剂等，存在污染环境、能耗高、成本高或安全风险等问题[47]。可食用涂层技术，特别是多糖基涂层，因环保、可降解并能有效阻隔水分和气体而受到广泛关注[48]。Shao 等[49]以普鲁兰多糖和大豆磷脂制备的肉桂醛乳液作为涂层，能有效保持蘑菇的贮藏品质，延长货架期。Das 等[50]开发了基于普鲁兰多糖和阿拉伯胶的功能化可食用涂层，用于鲜切番石榴保鲜，在常温和冷藏条件下可分别保鲜 6 d 和 14 d。Hu 等[51]研究发现，含有 ε-聚赖氨酸和谷胱甘肽的普鲁兰多糖涂层能有效延缓豇豆采后品质劣变。Xiao 等[52]开发的壳聚糖-普鲁兰多糖-香芹酚复合膜能改善羊肉的感官特性，抑制腐败菌生长。Khan 等[53]以普鲁兰多糖为基质，添加姜黄素及普鲁兰多糖介导的银纳米颗粒，制备活性包装膜，该膜可显著抑制鸡肉中微生物生长与脂肪氧化，延缓品质劣变，从而有效维持新鲜度、延长货架期。

然而，普鲁兰多糖膜固有的亲水性可能导致其在潮湿环境下变脆，且成本相对较高，这是需要进一步解决的问题。未来可通过制备复合膜，对复配成分的协同作用及潜在毒性进行深入分析，重点提高其耐水性。此外，将普鲁兰多糖与天然

抗氧化剂和生物源纳米抗菌剂相结合，制备多功能活性包装，有利于更好地保障产品质量安全，具有广阔应用前景。

5 展望

普鲁兰多糖作为一种具有独特理化性质的微生物多糖，其研究和应用已取得显著进展。然而，当前仍面临生产成本较高、部分菌株产量有限、工业化产物相对分子质量难以精准调控等挑战。未来研究应集中于：1）通过基因工程、代谢工程和先进育种技术进一步改良菌种，获得高产、低黑色素、耐高渗的优良工业菌株；2）深入优化发酵工艺参数，并积极探索利用工农业废弃物作为廉价底物，以大幅降低生产成本；3）加强普鲁兰多糖合成机制的基础研究，特别是在关键酶（如 AmAgs2）的催化机理和调控网络方面；4）拓展其高附加值应用领域，特别是在可食用包装膜、生物活性包装方面的创新应用开发。

随着全球对食品安全、健康产品和环境可持续性要求的不断提高，普鲁兰多糖的市场潜力将日益凸显。今后需加大研发投入，深化产学研结合，推动普鲁兰多糖产业的快速发展，使其在食品领域发挥更重要的作用。

参考文献

[1] Li X W，Zhao S Z，Chen L L，et al. High-level production of pullulan from high concentration of glucose by mutagenesis and adaptive laboratory evolution of *Aureobasidium pullulans* [J]. Carbohydrate Polymers，2023，302：120426.

[2] Chi Z M，Wang F，Chi Z，et al. Bioproducts from *Aureobasidium pullulans*，a biotechnologically important yeast [J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2009，82（5）：793-804.

[3] de Souza C K，Ghosh T，Lukhmana N，et al. Pullulan as a sustainable biopolymer for versatile applications：a review [J]. Materials Today Communications，2023，36：106477.

[4] Ma Z C，Fu W J，Liu G L，et al. High-level pullulan production by *Aureobasidium pullulans* var. *melanogenium* P16 isolated from mangrove system [J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2014，98（11）：4865-4873.

[5] 徐澜，王宇杰，池振明，等. 短梗霉普鲁兰多糖合成和调控的研究进展[J]. 微生物学报，2024，64（10）：3633-3646.
Xu L，Wang Y J，Chi Z M，et al. Research progress in the synthesis and regulation of pullulan in *Aureobasidium* spp. [J]. Acta Microbiologica Sinica，2024，64（10）：3633-3646.（in Chinese）

[6] Liu N N，Chi Z，Wang Q Q，et al. Simultaneous production of both high molecular weight pullulan and oligosaccharides by *Aureobasdium melanogenum* P16 isolated from a mangrove ecosystem [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2017，102：1016-1024.

[7] Chen L，Chi Z，Liu G L，et al. Improved pullulan production by a mutant of *Aureobasidium melanogenum* TN3-1 from a natural honey and capsule shell preparation [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2019，141：268-277.

[8] Xue S J，Chen L，Jiang H，et al. High pullulan biosynthesis from high concentration of glucose by a hyperosmotic resistant，yeast-like fungal strain isolated from a natural comb-honey [J]. Food Chemistry，2019，286：123-128.

[9] Chen S Y，Zheng H C，Gao J Q，et al. High-level production of pullulan and its biosynthesis regulation in *Aureobasidium pullulans* BL06 [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology，2023，11：1131875.

[10] Zhang S Y，Feng Z，Zeng Q M，et al. Enhancing pullulan production in *Aureobasidium pullulans* through UV mutagenesis breeding and high-throughput screening system[J]. Fermentation，2024，10（2）：103.

[11] Yang J Y，Zhang Y H，Zhao S Z，et al. Statistical optimization of medium for pullulan production by *Aureobasidium pullulans* NCPS2016 using fructose and soybean meal hydrolysates[J]. Molecules，2018，23（6）：1334.

[12] Duan X H，Chi Z M，Wang L，et al. Influence of different sugars on pullulan production and activities of α-phosphoglucose mutase，UDPG-pyrophosphorylase and glucosyltransferase involved in pullulan synthesis in *Aureobasidium pullulans* Y68 [J]. Carbohydrate Polymers，2008，73（4）：587-593.

[13] Chi Z，Kong C C，Wang Z Z，et al. The signaling pathways involved in metabolic regulation and stress responses of the yeast-like fungi *Aureobasidium* spp.[J]. Biotechnology Advances，2022，55：107898.

[14] Liu F，Zhang J H，Zhang L J，et al. Correlation between the synthesis of pullulan and melanin in *Aureobasidium pullulans* [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2021，177：252-260.

[15] Raychaudhuri R，Naik S，Shreya A B，et al. Pullulan based stimuli responsive and sub cellular targeted nanoplatforms for biomedical application：synthesis，

nanoformulations and toxicological perspective [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2020，161：1189-1205.

[16] Wang Q Q，Lu Y，Ren Z Y，et al. CreA is directly involved in pullulan biosynthesis and regulation of *Aureobasidium melanogenum* P16[J]. Current Genetics，2017，63(3)：471-485.

[17] 李熙文. 普鲁兰多糖生物合成及高产菌株定向选育的研究[D]. 无锡：江南大学，2023：4.

[18] Chen L，Wei X，Liu G L，et al. Glycerol，trehalose and vacuoles had relations to pullulan synthesis and osmotic tolerance by the whole genome duplicated strain *Aureobasidium melanogenum* TN3-1 isolated from natural honey [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2020，165：131-140.

[19] Singh R S，Saini G K，Kennedy J F. Pullulan：microbial sources，production and applications[J]. Carbohydrate Polymers，2008，73(4)：515-531.

[20] Wani S M，Ahmad Mir S，Khanday F A，et al. Advances in pullulan production from agro-based wastes by *Aureobasidium pullulans* and its applications [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies，2021，74：102846.

[21] Srikanth S，Swathi M，Tejaswini M，et al. Statistical optimization of molasses based exopolysaccharide and biomass production by *Aureobasidium pullulans* MTCC 2195[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology，2014，3(3)：7-12.

[22] Sugumaran K R，Jothi P，Ponnusami V. Bioconversion of industrial solid waste：cassava bagasse for pullulan production in solid state fermentation[J]. Carbohydrate Polymers，2014，99：22-30.

[23] Göksungur Y，Uzunoğulları P，Dağbağlı S. Optimization of pullulan production from hydrolysed potato starch waste by response surface methodology [J]. Carbohydrate Polymers，2011，83(3)：1330-1337.

[24] Cheng K C，Demirci A，Catchmark J M，et al. Effects of initial ammonium ion concentration on pullulan production by *Aureobasidium pullulans* and its modeling [J]. Journal of Food Engineering，2011，103(2)：115-122.

[25] Georis I，Ronsmans A，Vierendeels F，et al. Differing SAGA module requirements for NCR-sensitive gene transcription in yeast[J]. Yeast，2024，41(4)：207-221.

[26] Wang D H，Chen F F，Wei G Y，et al. The mechanism of improved pullulan production by nitrogen limitation in batch culture of *Aureobasidium pullulans* [J]. Carbohydrate Polymers，2015，127：325-331.

[27] Kang X X，Wang Q Q，Chi Z，et al. The GATA type transcriptional factors regulate pullulan biosynthesis in *Aureobasidium melanogenum* P16[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2021，192：161-168.

[28] 安超，常帆，马赛箭，等. 出芽短梗霉发酵生产普鲁兰多糖研究进展[J]. 陕西农业科学，2012，58(3)：121-124，126.
An C，Chang F，Ma S J，et al. Research progress on pullulan production by *Aureobasidium pullulans* fermentation [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences，2012，58(3)：121-124，126.(in Chinese)

[29] Wang D H，Ni T F，Ju X M，et al. Sodium chloride improves pullulan production by *Aureobasidium pullulans* but reduces the molecular weight of pullulan[J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2018，102(20)：8921-8930.

[30] Zhang K，Lin C Y，Zhao S S，et al. The role of pH transcription factor Appacc in upregulation of pullulan biosynthesis in *Aureobasidium pullulans* using potato waste as a substrate [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2023，242：124797.

[31] Zhang K，Wang W，Yang Q. Transcriptome analysis reveals the regulation of *Aureobasidium pullulans* under different pH stress[J]. International Journal of Molecular Sciences，2023，24(22)：16103.

[32] Pan S K，Yao D R，Chen J，et al. Influence of controlled pH on the activity of UDPG-pyrophosphorylase in *Aureobasidium pullulans*[J]. Carbohydrate Polymers，2013，92(1)：629-632.

[33] Wang D H，Yu X L，Wei G Y. Pullulan production and physiological characteristics of *Aureobasidium pullulans* under acid stress [J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2013，97(18)：8069-8077.

[34] Cheng K C，Demirci A，Catchmark J M. Evaluation of medium composition and fermentation parameters on pullulan production by *Aureobasidium pullulans* [J]. Food Science and Technology International，2011，17(2)：99-109.

[35] Cruz-Santos M M，Antunes F A F，Arruda G L，et al. Production and applications of pullulan from lignocellulosic biomass：challenges and perspectives[J]. Bioresource Technology，2023，385：129460.

[36] 张淑玥. 出芽短梗霉高产普鲁兰多糖工程菌构建研究[D]. 济南：齐鲁工业大学，2024：1.

[37] 万翠香，王贤卓，郭建军，等. 高产无色素普鲁兰糖突变菌株P1012的选育及发酵性能研究[J]. 现代食品科技，2015，31(1)：101-106.
Wan C X，Wang X Z，Guo J J，et al. Screening of non-

pigmented *Aureobasidium pullulans* strain P1012 for high-yield pullulan production[J]. Modern Food Science and Technology,2015,31(1):101-106.(in Chinese)

[38] Jia S L, Zhang M, Liu G L, et al. Novel chromosomes and genomes provide new insights into evolution and adaptation of the whole genome duplicated yeast-like fungus TN3-1 isolated from natural honey [J]. Functional & Integrative Genomics,2023,23(3):206.

[39] Gao J Q, Liao X P, Ma H W, et al. Transcriptome analysis of *Aureobasidium pullulans* BL06 and identification of key factors affecting pullulan production [J]. Carbohydrate Polymers,2025,349:122984.

[40] Qi C Y, Jia S L, Wei X, et al. The differences between fungal α-glucan synthase determining pullulan synthesis and that controlling cell wall α-1,3 glucan synthesis[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2020,162:436-444.

[41] Chen T J, Liu G L, Wei X, et al. A multidomain α-glucan synthetase 2 (AmAgs2) is the key enzyme for pullulan biosynthesis in *Aureobasidium melanogenum* P16 [J]. International Journal of Biological Macromolecules,2020,150:1037-1045.

[42] 杨西江,徐田华,徐玲,等. 普鲁兰多糖的应用及研究生产现状[J]. 发酵科技通讯,2010,39(4):25-28.
Yang X J, Xu T H, Xu L, et al. The applications and current research production status of pullulan [J]. Bulletin of Fermentation Science and Technology, 2010, 39(4):25-28.(in Chinese)

[43] Rashid A, Qayum A, Liang Q F, et al. Exploring the potential of pullulan-based films and coatings for effective food preservation: a comprehensive analysis of properties, activation strategies and applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules,2024,260:129479.

[44] Hong T T, Ma Y, Yuan Y R, et al. Understanding the influence of pullulan on the quality changes, water mobility, structural properties and thermal properties of frozen cooked noodles[J]. Food Chemistry,2021,365:130512.

[45] 沈越. 普鲁兰/壳聚糖复合膜的制备及其在水果保鲜中的应用[D]. 苏州:苏州大学,2023:7.

[46] 王帅静,朱延光,蓝尉冰,等. 海藻糖对生鲜类食品保鲜的机理及其应用研究[J]. 中国调味品,2017,42(10):165-170.
Wang S J, Zhu Y G, Lan W B, et al. Study on the mechanism of trehalose for fresh food preservation and its application[J]. China Condiment, 2017, 42(10): 165-170.(in Chinese)

[47] Dong H, Tian Z J. Preparation and characterization of pullulan-based packaging paper for fruit preservation[J]. Molecules,2024,29(6):1394.

[48] Pillai A R S, Eapen A S, Zhang W L, et al. Polysaccharide-based edible biopolymer-based coatings for fruit preservation: a review[J]. Foods,2024,13(10):1529.

[49] Shao X, Niu B, Fang X J, et al. Pullulan-stabilized soybean phospholipids/cinnamaldehyde emulsion for *Flammulina velutipes* preservation[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2023,246:125425.

[50] Das K, Sharma S, Kumar S, et al. Chitosan nanoparticles and neem essential oil functionalized pullulan/gum arabic active edible biocomposites for fresh-cut guava preservation [J]. International Journal of Biological Macromolecules,2024,283:136936.

[51] Hu A X, Mao Y M. Effects of pullulan-based coatings incorporating ε-polylysine and glutathione on the preservation of cowpeas (*Vigna unguiculata* L.) postharvest[J]. Coatings,2023,13(1):125.

[52] Xiao L Q, Lapu M, Cui L, et al. Impacts of chitosan/pullulan/carvacrol film on the quality and microbial diversity of refrigerated goat meat[J]. Meat Science, 2025,220:109704.

[53] Khan M J, Ramiah S K, Selamat J, et al. Utilisation of pullulan active packaging incorporated with curcumin and pullulan mediated silver nanoparticles to maintain the quality and shelf life of broiler meat[J]. Italian Journal of Animal Science,2022,21(1):244-262.