doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2026.05.007

食窦魏斯氏菌 HDE-10 胞外多糖的结构及理化性质

陈泽海[1],王童驿[1],杨　欢[1],杨　巧[1],孙明悦[2],杜仁鹏[1]

(1.黑龙江大学生命科学学院,农业微生物技术教育部工程研究中心,黑龙江省寒区植物基因与生物发酵重点实验室,
黑龙江省普通高校微生物重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150080)
(2.黑龙江省农产品和兽药饲料技术鉴定站,黑龙江 哈尔滨 150036)

[**摘要**] 本研究从自然酸菜发酵液中分离筛选出一株产胞外多糖(Exopolysaccharides,EPS)的乳酸菌(Lactic acid bacteria,LAB),经 16S rDNA 序列比对,鉴定为食窦魏斯氏菌(*Weissella cibaria*),编号为 HDE-10. 以蔗糖为底物,利用该菌株发酵生产 EPS,再经分离提纯获得高纯度 EPS. 结构与性质分析表明,该 EPS 是由 α-(1,6)糖苷键连接的葡聚糖,分子量为 1.878×10^6 Da,呈无定形片状结构. 溶解度为(95.98±5.56)%,持水量为(424.43±5.52)%,黏度较高,对大豆油、汽油和苯均有较好的乳化作用. 本研究扩展了产 EPS 乳酸菌的来源,并为乳酸菌 EPS 的功能特性及其应用提供了理论支持.

[**关键词**] 食窦魏斯氏菌,胞外多糖,鉴定,结构,特性
[**中图分类号**]Q819　[**文献标志码**]A　[**文章编号**]1001-4616(2026)05-0057-10

Structure and Physicochemical Properties of Exopolysaccharides From *Weissella cibaria* HDE-10

Chen Zehai[1],Wang Tongyi[1],Yang Huan[1],Yang Qiao[1],Sun Mingyue[2],Du Renpeng[1]

(1.Engineering Research Center of Agricultural Microbiology Technology,Ministry of Education & Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Plant Genetic Engineering and Biological Fermentation Engineering for Cold Region,School of Life Sciences,
Heilongjiang University,Harbin 150080,China)
(2.Heilongjiang Province Agricultural Products and Veterinary Drugs and Feed Technical Appraisal Station,Harbin 150036,China)

Abstract:A strain of lactic acid bacteria(LAB) producing exopolysaccharides(EPS) was isolated and screened from the fermentation broth of natural sauerkraut. After 16S rDNA sequence alignment,it was identified as *Weissella cibaria*,named HDE-10. EPS was produced by strain fermentation using sucrose as substrate,and then high purity EPS was obtained by separation and purification. The structure and physical properties analysis showed that the EPS was a glucan composed of α-(1,6)glycosidic bonds,with a molecular weight of 1.878×10^6 Da and an amorphous sheet structure. The solubility was (95.98±5.56)%,the water holding capacity was(424.43±5.52)%,the viscosity was high,and it had good emulsification effect on soybean oil,gasoline and benzene. This study expanded the source of EPS-producing lactic acid bacteria and provided theoretical support for the functional characteristics and application of EPS produced by lactic acid bacteria.

Key words:*Weissella cibaria*,exopolysaccharides,identification,structure,characteristic

乳酸菌胞外多糖(Exopolysaccharides,EPS)是乳酸菌(Lactic acid bacteria,LAB)在生长过程中产生并分泌到细胞外的多聚物. 不同乳酸菌合成的 EPS 结构各异,分子量多处于 $10^4\sim10^6$ Da[1]. 按单糖组成差异,乳酸菌 EPS 可分为同型多糖和异型多糖. 同型多糖仅由一种单糖组成,如葡萄糖、果糖,生物合成过程较简单;而异型多糖由两种以上的单糖组成[2]. 乳酸菌 EPS 具有多种生物活性,在食品、医药、化工等领域具有广阔应用前景. 在食品工业中,EPS 可作为天然添加剂,提升发酵乳制品、肉制品、面制品的持水性、流变性与稳定性,改善产品质构与感官品质;在医药领域,EPS 凭借良好的生物相容性,可用于肠道健康制剂、药物递送载体及疫苗佐剂. 还有研究表明,EPS 不仅能够促进肠道益生菌的生长与定殖,改善肠道蠕

收稿日期:2026-02-02.
基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(PL2025C077)、优秀青年教师基础研究支持计划项目(YQJH2024199)、大学生创新创业训练计划项目(S202610212049).
通讯作者:杜仁鹏,博士,教授,研究方向:微生物次生代谢产物与生理. E-mail:durenpeng20096292@163.com

动功能,还具有免疫调节、抗氧化、抑制肿瘤生长的功能,同时也能起到降低血糖和血压的生理作用;在化工领域,EPS 可作为环保型增稠剂与乳化剂[3-4].

能够产 EPS 的乳酸菌主要包括植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)、肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)、融合魏斯氏菌(*Weissella confusa*)及罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)等[1-2]. 不同乳酸菌来源的 EPS 在结构上存在显著差异,其分子量、单糖组成及糖苷键类型等结构特征是决定其理化性质与生物学功能的关键因素. 因此,解析 EPS 的结构特征并阐明其构效关系,已成为当前糖生物学研究的关键问题[5-7]. 另一方面,乳酸菌 EPS 产量较低,使其规模化生产及应用受到一定限制. 因此,通过菌种选育、遗传改良及发酵工艺优化等策略提升 EPS 产量,已成为推动其产业化的重要途径. 本研究从东北自然发酵酸菜样品中筛选出能够产 EPS 的乳酸菌,随后分离和纯化 EPS,解析 EPS 的结构及性质. 本研究将丰富产 EPS 的乳酸菌种质资源,为 EPS 的构效关系分析提供理论支持,增强乳酸菌 EPS 的应用潜力.

1 材料与方法

1.1 培养基

MRS 液体培养基:20 g/L 葡萄糖、10 g/L 蛋白胨、5 g/L 酵母浸粉、10 g/L 牛肉膏、2 g/L K_2HPO_4、5 g/L 无水乙酸钠、2 g/L 柠檬酸铵、0.2 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$、0.05 g/L $MnSO_4 \cdot H_2O$、1 mL/L 吐温-80,pH 值 5.5,108 ℃灭菌 20 min,用于 *W. cibaria* HDE-10 菌株活化与培养. MRS-S 培养基:MRS 培养基中的葡萄糖用 5 g/L 蔗糖来替代,用于菌株发酵产 EPS.

1.2 试剂与仪器

1.2.1 试剂

葡聚糖凝胶 G-100 购于合肥千盛生物科技有限公司;细菌基因组 DNA 分离试剂盒购于北京兰杰柯科技有限公司;葡萄糖、胰蛋白胨、碳酸钙、硝酸钠、三氯乙酸、苯酚、溴化钾等试剂均为分析纯,购于上海麦克林生化科技股份有限公司.

1.2.2 仪器

美国基因公司 ABI9700 PCR 仪;北京博医康实验仪器有限公司 FD-IC-50 冷冻干燥机;岛津仪器(苏州)有限公司 UVmini-1240 紫外可见分光光度计;英国马尔文帕纳科公司 TDA305 凝胶渗透色谱(Gel permeation chro matography,GPC);瑞士 Bruker 公司 AVANCE Ⅲ核磁共振谱仪(Nuclear magnetic resonance spectroscopy,NMR);株式会社岛津制作所高效液相色谱(High performance liquid chromatography,HPLC);株式会社岛津制作所 IRAffinity-1S 傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectroscopy,FT-IR);德国布鲁克公司 D8 ADVANCE X 射线粉末衍射仪(X-ray powder diffractometer,XRD);日本日立公司 S-4800 场发射扫描电子电镜(Scanning electron microscopy,SEM);山东恒美电子科技有限公司 HM-AAS1 原子吸收光谱仪.

1.3 试验方法

1.3.1 菌株的分离与 16S rDNA 鉴定

用于生产 EPS 的候选菌株分离自黑龙江大兴安岭家庭酸菜样品. 菌株分离与 16S rDNA 鉴定按照 Yang 等[8]的方法,首先对酸菜汁样本进行梯度稀释,然后在无菌条件下将稀释液接种到 MRS-S 固体培养基上,30 ℃培养 48 h. 挑取表面发黏、菌落为白色、背面淡黄色等具备乳酸菌典型特征的菌落,接种到 MRS-S 液体培养基中培养 24 h,使用苯酚硫酸法来测定 EPS 的产量. 采用基因组 DNA 分离试剂盒(北京兰杰柯股份有限公司)提取候选菌株的基因组 DNA. 利用引物(8F:5′-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3′和 1492R:5′-ACGGTTACCTTGTTACGACTT-3′)进行 PCR 扩增,对产物进行测序. 利用邻接法(Neighbor-Joining,NJ)将测序结果提交到 NCBI 数据库,构建菌株系统发育树.

1.3.2 EPS 的分离纯化

根据周渤森等[9]、Yu 等[10]的方法,将菌株以接种量 2%(v/v)接入 MRS-S 培养基中,30 ℃培养 48 h,将发酵液 9 000 r/min 离心 20 min,除去菌体沉淀,收集上清液. 将发酵上清液与 3 倍体积预冷的 95%乙醇混合,4 ℃过夜静置沉淀 EPS,12 000 r/min 离心 30 min,得到 EPS 沉淀. 用超纯水溶解 EPS 沉淀后,加入等体积 10%三氯乙酸(TCA)溶液混合,沉淀蛋白,经 4 ℃离心(12 000 r/min,30 min),除去蛋白. 将 3 倍体积乙醇加

入到上清液中,于 4 ℃冷藏放置 24 h,12 000 r/min 离心 30 min,收集 EPS 沉淀,超纯水复溶 EPS,将复溶液转到 8~14 kDa 透析袋中,在 4 ℃低温环境下透析,以除去小分子成分. 选用直径 1.6 cm、长度 50 cm 的 G-100 葡聚糖凝胶柱精细提纯,采用流速 0.2 mL/min 的超纯水洗脱后,将 EPS 冷冻干燥,用于后续分析.

1.3.3 EPS 纯度和单糖组成测定

利用紫外可见分光光度计在 190~400 nm 波长范围内检测 EPS 样品纯度. 根据 Yang 等[8]的方法,称取 2 mg HDE-10 EPS,加入 1 mol/L HCl 的甲醇溶液溶解,静置 16 h,于 80 ℃加入 2 mol/L 三氟乙酸,120 ℃孵育 1 h,加入 1-甲氧基-2-丙酸酯进行衍生化处理后,利用 HPLC 测定 HDE-10 EPS 的单糖组成.

1.3.4 EPS 分子量测定

利用 GPC 测定 HDE-10 EPS 的分子量(M_w). 将 EPS 样品通过 0.2 μm 过滤器过滤后注入 GPS 系统,色谱分析温度为 30 ℃,流动相为 0.1 M $NaNO_3$,流速为 0.8 mL/min. 从一系列葡聚糖标准品(1 170、1 740、2 400 和 3 755 kDa)绘制标准曲线,根据标准曲线计算 EPS 的分子量.

1.3.5 EPS 分支结构和官能团测定

将 30 mg EPS 完全溶解于 550 μL 重水(D_2O)中,利用真空冷冻干燥机干燥. 干燥的 EPS 再次溶解于 550 μL D_2O,并置于 NMR 管中. EPS 的^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、HMBC、HSQC、NOESY 和 COSY 通过 Avance III 核磁共振波谱仪测定[11]. 数据使用 MestReNova 软件(MestReNova x64-14.2.1)进行分析. 根据先前的方法[12],在 4 000~400 cm^{-1}范围内,利用 FT-IR 测定 EPS 的官能团组成.

1.3.6 EPS 结晶结构和微观形态测定

将干燥的 EPS 样品平铺于样品池中,利用 XRD 分析其结晶结构,测试速率为 2°/min. 采用 Wang 等[13]的方法,将 HDE-10 EPS 粉末固定在样品台上,并镀一层约 10 nm 的薄金层. 在 10 kV 电压下测试,利用 SEM 分别在放大倍数 100×和 500×下观察 HDE-10 EPS 的微观结构.

1.3.7 EPS 持水率和溶解性测定

按 Yang 等[14]的方法,称 45 mg EPS 粉末完全溶于 0.5 mL 去离子水,称重记为 M_1. 在 12 000×g 离心 30 min 保留不溶解的 EPS,然后将其冷冻干燥并称重记为 M_2. 通过下式计算水溶性指数(Water solubility index,WSI):

$$\mathrm{WSI}(\%)=\frac{M_1-M_2}{M_1}\times 100\%. \tag{1}$$

取 45 mg EPS 粉末加入 0.5 mL 去离子水溶解,离心分离后收集不溶物,测得质量记作 W_1. 将样品在 40 ℃下进行孵育 40 min,使样品均匀分散. 通过 4 000×g 离心 10 min 保留未溶解的 EPS,然后冷冻干燥,称重记为 W_2. 通过下式计算持水性指数(Water holding capacity,WHC):

$$\mathrm{WHC}(\%)=\frac{W_2}{W_1}\times 100\%. \tag{2}$$

1.3.8 EPS 乳化性测定

采用 Wang 等[15]的方法测定 EPS 的乳化性能,选取 6 种具有代表性的有机相作为测试对象:汽油、己烷、柴油分别代表不同碳链长度及极性的烃类;苯代表芳香烃类;大豆油和葵花籽油则代表常见的食用油脂. 具体操作如下:取 2.5 mL EPS 溶液与 2.5 mL 上述烃类或油类混合,涡旋震荡使充分乳化,静置后立即测量混合液总高度,记为 H_0. 将混合液室温放置 48 h,分别于 24 h 和 48 h 时测量乳化层高度,记为 H_1. 通过以下公式计算乳化率(Emulsifying ability,EA):

$$\mathrm{EA}(\%)=\frac{H_1}{H_0}\times 100\%. \tag{3}$$

1.3.9 EPS 黏度测定

根据 Han 等[16]方法,在不同 EPS 浓度(20、40、60 mg/mL)以及不同 pH(4、6、8)条件下,利用黏度计测定 EPS 溶液的黏度特性,测定转速分别为 6、60、100 r/min.

1.3.10 EPS 金属离子吸附能力测定

采用 Grinev 等[17]的方法,称取 2 mg 冻干 EPS 样品,以 2 mL 超纯水溶解,配制 1 mg/mL 的 EPS 溶液,

将 5 种结晶水合物($ZnSO_4\cdot7H_2O$、$Cd(OAc)_2\cdot2H_2O$、$CuSO_4\cdot5H_2O$、$FeSO_4\cdot7H_2O$、$Pb(CH_3CO_2)_2\cdot3H_2O$)溶于超纯水,配制重金属盐混合液,获得含金属离子 0.8 g/L 的混合溶液. EPS 与盐溶液按体积比 1∶1 混合,室温静置处理 30 min,用 3 倍体积的冷丙酮(12 mL)沉淀 EPS,离心后,采用原子吸收光谱仪对残余金属进行定量分析,所有测量均重复 3 次,采用下述公式进行计算:

$$q(\mathrm{mg/g})=\frac{V(C_i-C_f)}{W}. \tag{4}$$

其中,V(L)代表金属溶液和 EPS 混合物的吸附剂体积,C_i(mg/L)为初始浓度,C_f(mg/L)为最终浓度,W(g)为 EPS 的干重.

2　结果与讨论

2.1　产 EPS 菌株的分离与鉴定

从酸菜发酵液中成功筛选到 5 株产 EPS 的乳酸菌,其中菌株 HDE-10 展现出(36.8±1.28)g/L 的 EPS 产量,高于其他 4 株菌的产量. 菌株 HDE-10 在 MRS-S 培养基上呈现光滑、乳白色、隆起且边缘清晰的特征,符合一般产 EPS 乳酸菌的菌落形态特征. 16S rDNA 序列分析结果表明,菌株 HDE-10 与 *W. cibaria* HBUR51027 的相似度达到 99%. 通过构建系统发育树,确定了菌株 HDE-10 与 *W. cibaria* 亲缘关系最近(图 1),并命名为 *W. cibaria* HDE-10,GenBank 登录号为 PX472040.

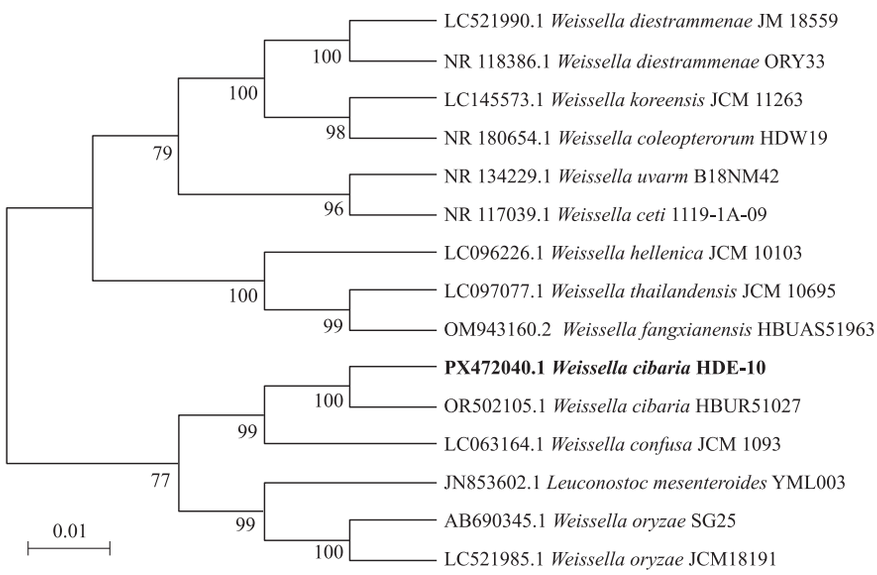


图 1　菌株 HDE-10 系统发育树

Fig. 1　Phylogenetic tree of strain HDE-10

2.2　EPS 的纯度分析

Sephadex G-100 凝胶过滤柱纯化后,所得色谱图呈现单一对称的 EPS 峰,表明该 EPS 成分均一. 纯化后的 HDE-10 EPS 紫外-可见光谱如图 2(a)所示,在 260 nm 和 280 nm 处无特征吸收峰,说明纯化后的

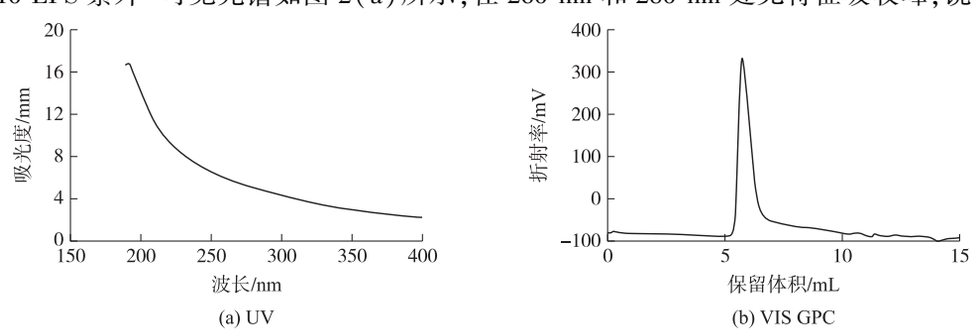


图 2　HDE-10 EPS 的 UV-VIS 和 GPC 谱图

Fig. 2　UV-VIS and GPC spectrum of HDE-10 EPS

W. cibaria HDE-10 EPS 无核酸或蛋白质污染.

2.3 EPS 的结构分析

2.3.1 单糖组成与分子量分析

单糖组成分析结果显示,*W. cibaria* HDE-10 EPS 的单糖组成为葡萄糖. HDE-10 EPS 分子量测定结果如图 2(b)所示,在保留时间为 5.5 min 左右的情况下,有一个狭长对称的峰,这说明样品纯度较高. HDE-10 EPS 分子量为 1.878×10^6 Da. 已有研究表明,EPS 的分子量是决定其理化特性和益生功能的关键因素[18].

2.3.2 分支结构分析

如图 3(a)所示,*W. cibaria* HDE-10 EPS 的^{1}H-NMR 可以分为两个区域:异头质子区(δ4.6~5.0 ppm)和质子信号区(δ3.3~4.0 ppm)[19],信号峰主要集中在 δ5.2~3.1 ppm. 在 δ4.70 ppm 处的吸收峰是溶剂 D_2O 产生的. δ4.89 ppm 处出现强信号,表明 *W. cibaria* HDE-10 EPS 是由 α-(1,6)糖苷键组成的吡喃糖[20]. 在质子信号区,存在许多重叠,δ3.50、δ3.66、δ3.37、δ3.83 和 δ3.91 ppm 分别对应 H-2 到 H-6 的氢信号[21]. *W. cibaria*

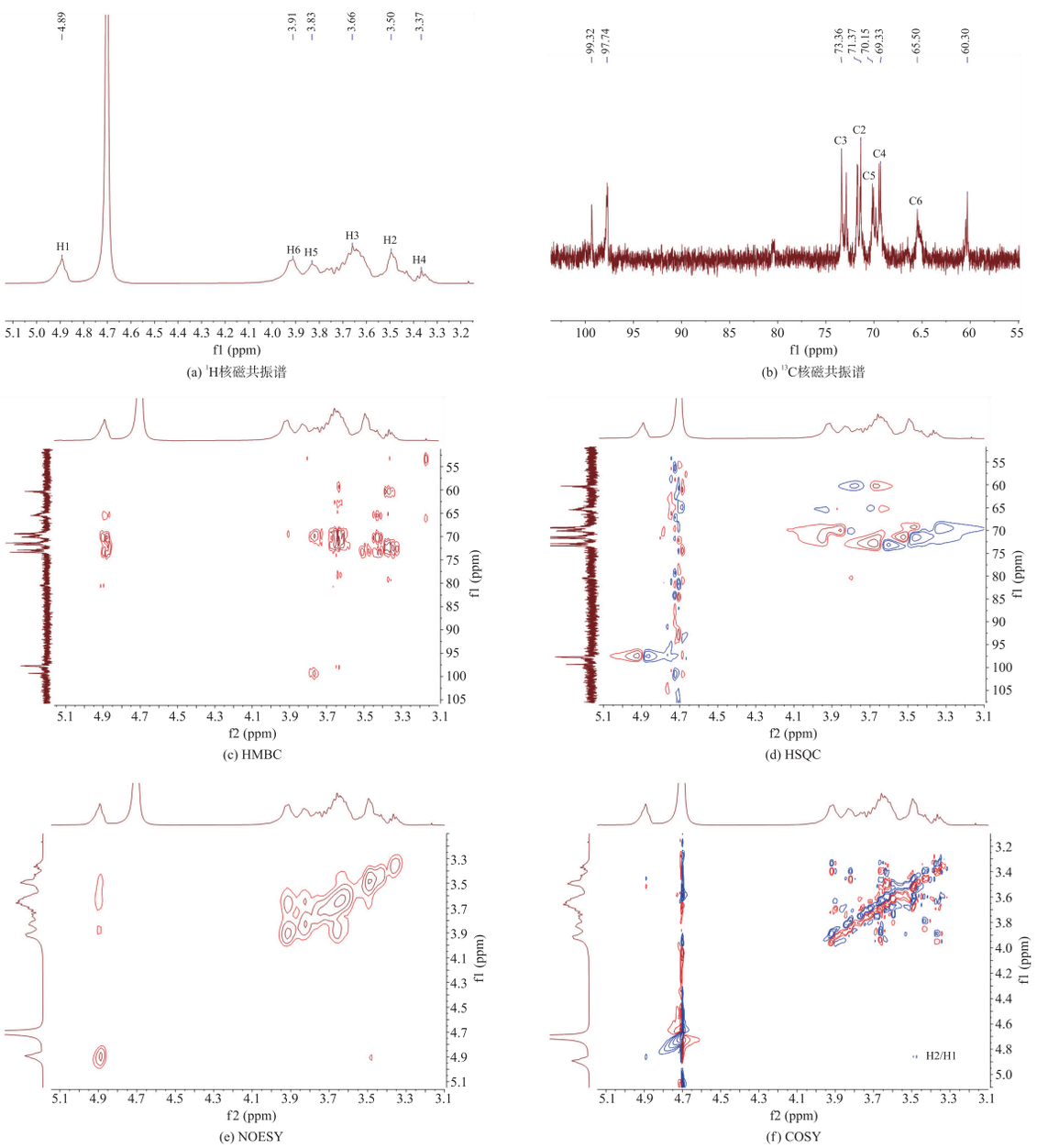


图 3 EPS 的 NMR 谱图

Fig. 3 NMR spectrum of EPS

HDE-10 EPS 的^{13}C-NMR 显示化学位移出现在异头碳区(δ90~100 ppm)和环碳区(δ60~80 ppm),如图 3(b)所示. δ97.74 ppm 处出现信号峰,表明 *W. cibaria* HDE-10 EPS 存在 α 糖苷键. 在 δ90 ppm 附近没有信号峰,证明糖苷键以吡喃环的形式存在,没有呋喃糖环[22]. 同时,异头碳信号出现在 δ97.74 ppm,与 δ65.50 ppm 处的 C-6 信号连接形成 α-(1,6)糖苷键[23]. δ73.36、δ71.37、δ70.15、δ69.33、δ65.50 ppm 处的信号峰分别对应 C-3、C-2、C-5、C-4 和 C-6. 图 3(d)显示,质子与相应的碳原子之间的连接关系可以在 HSQC 光谱中被观测到,4.89/97.74(H_1/C_1)、3.50/71.37(H_2/C_2)、3.66/73.36(H_3/C_3)、3.37/69.33(H_4/C_4)、3.83/70.15(H_5/C_5)和 3.91/65.50(H_6,H_6'/C_6). 在 HSQC 光谱中,δ4.89 ppm 质子信号与 δ97.74 ppm 的碳信号出现交叉峰,表明 EPS 具有构型糖残基. 结合^{13}C NMR,进一步证实 α-(1,6)葡萄糖残基的存在. 长距离碳核与氢核信号的耦合关系可以通过 HMBC 谱图来了解[24]. 图 3(f)所示,在 COSY 谱中,通过计算 JH_2,H_3,JH_3,H_4 和 JH_4,H_5 的^{1}H-^{1}H 耦合常数,确认分离的 EPS 为吡喃糖形式的葡聚糖. NOESY(图 3(e))和 HMBC(图 3(c))谱验证了 COSY 和 HSQC 谱的结果. 因此,*W. cibaria* HDE-10 的结构被预测为 α-(1,6)-D-葡萄糖,不含有分支结构.

2.3.3　官能团组成分析

HDE-10 EPS 的官能团分析结果如图 4 所示,该 EPS 在 400~4 000 cm^{-1}的波数范围内展现出多种典型多糖特征吸收峰. 其中在 3 423.20 cm^{-1}处的吸收峰代表羟基(—OH)的伸缩振动,这是 EPS 的特征吸收峰[25]. 在 2 923.70 cm^{-1}处的信号峰是由 C—H 伸展振动引起的. 在 1 700~1 550 cm^{-1}的范围内观察到 EPS 特有的羰基不对称伸缩振峰,在 1 645.06 cm^{-1}的信号峰表明存在 C ═ O 键拉伸缩振动,这也是 EPS 的特征峰,在 1 155.21 cm^{-1}处的吸收峰通常与 C—O—C 伸缩振动相关[26]. 在 1 014.42 cm^{-1}、916.07 cm^{-1}和 761.78 cm^{-1}处可以看到吸收峰,表明该 EPS 存在由(1,6)连接的 α-D-葡萄糖单元. 另外,在 547.71 cm^{-1}处信号峰归因于 α-D-吡喃糖的存在[7]. 因此,通过 FT-IR 和 NMR 证实,HDE-10 EPS 是一种由 α-(1,6)糖苷键链接而成的高度线性葡聚糖.

2.3.4　晶体结构分析

XRD 可测定多糖等大分子聚合物中是否含有晶体结构,然后对其物理性质进行预测[27]. 从 XRD 图谱(图 5)可以看出,EPS 在衍射角度 17.61°(2θ)附近具有明显的宽色散峰,这表明 EPS 主要由非结晶体组成. 相似的结果也有报道,*W. confusa* H2 EPS 同样呈现无定形非晶态结构[12].

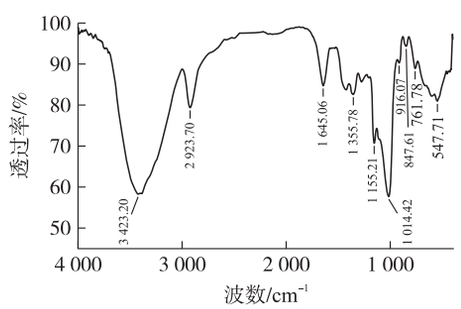


图 4　HDE-10 EPS 的 FT-IR 图谱

Fig. 4　FT-IR spectrum of HDE-10 EPS

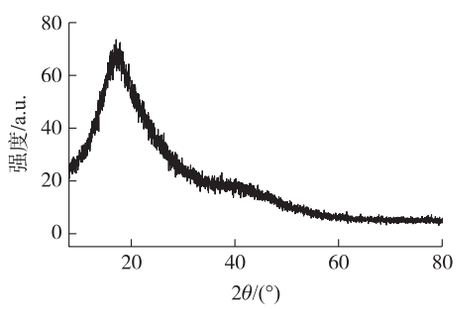


图 5　HDE-10 EPS 的 XRD 图谱

Fig. 5　XRD chromatograms of HDE-10 EPS

2.3.5　显微形态分析

EPS 的微观结构与其物理性能密切相关,SEM 可直观表征其微观形貌与结构特征. 如图 6 所示,HDE-10 EPS 表现为不规则片状结构,表面粗糙且分布大量不规则微孔. 高倍下整体呈疏松多孔形貌. EPS 的多孔结构可通过构建水合聚合物基质,改善产品的黏度与保水能力等物理性能,进而推动其在食品与化妆品领域的应用[28].

2.4　HDE-10 EPS 性质分析

2.4.1　水溶性和持水性分析

溶解性与持水能力的优劣直接影响 EPS 在食品行业的应用潜力[18]. HDE-10 EPS 的 WSI 为(95.98±5.56)%,WHC 为(424.43±5.52)%. 分子中丰富的羟基组分与复杂的空间构型是其优异持水特性的核心来源[29],这种分子结构赋予 HDE-10 EPS 良好的亲水性与持水能力,使其在食品工业中可作为潜在的稳定剂及保湿剂.

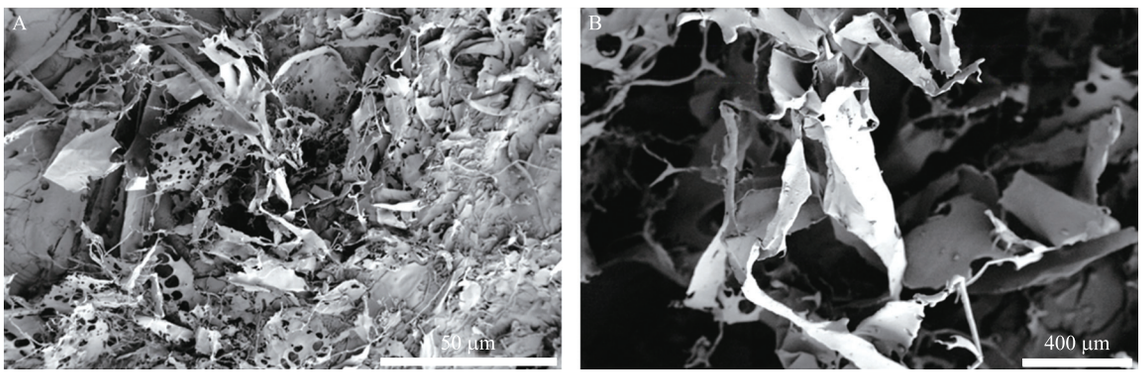


图 6　HDE-10 EPS 的表面形态特征(A:100×,B:500×)

Fig. 6　Microscopic morphology of HDE-10 EPS(A:100×,B:500×)

2.4.2　乳化性分析

EPS 对油类/烃类物质的乳化能力如表 1 所示,随处理时间延长,EPS 对乳化过程的优化效果逐渐明显,经过 48 h 后,EPS 对油类/烃类物质的乳化能力由高到低依次为:汽油>大豆油>苯>葵花籽油>柴油>己烷,其中对大豆油、汽油的乳化性都在 75%以上.

表 1　HDE-10 EPS 对不同烃类或油类的乳化能力

Table 1　Emulsifying abilities of HDE-10 EPS on different organic solvents and fats

有机相	乳化率/%		有机相	乳化率/%	
	24 h	48 h		24 h	48 h
柴油	39.56±2.08	47.23±1.00	苯	62.27±1.67	66.36±1.03
汽油	76.94±1.58	80.23±1.00	大豆油	78.27±1.06	76.60±1.48
己烷	40.60±2.47	43.09±1.21	葵花籽油	57.67±1.53	59.93±1.54

2.4.3　黏度特性分析

EPS 的黏稠特性使其在食品工业中可作为理想的增稠剂,能够提升食品的质感. HDE-10 EPS 的黏度特性如图 7(a)所示,当转速为 6 r/min 和 100 r/min 且 pH 6 时黏度高于 pH 4 和 pH 8,这可能是由于 HDE-10 EPS 的离子化状态和电荷分布影响了其分子间的相互作用[30]. 适宜的 pH 能够保持较高的黏度,而过高的 pH 可能导致分子间的相互作用减弱,黏度降低. 浓度对 HDE-10 EPS 黏度的影响如图 7(b)所示,低转速下,HDE-10 EPS 黏度较高,随着转速增加,黏度逐渐减小. 且随着 EPS 浓度的升高,HDE-10 EPS 的黏度呈上升趋势,在 60 mg/mL 时,黏度最高,达到 3 608 mPa·s. EPS 浓度越高黏度越大,这可能是由于分子运动减慢,增加了分子间的相互作用. 但分子间作用力随浓度升高而逐渐减弱,从而引起分子空间结构的改变. 无规则卷曲逐步瓦解,使流体的阻力减小,最终导致黏度下降[16].

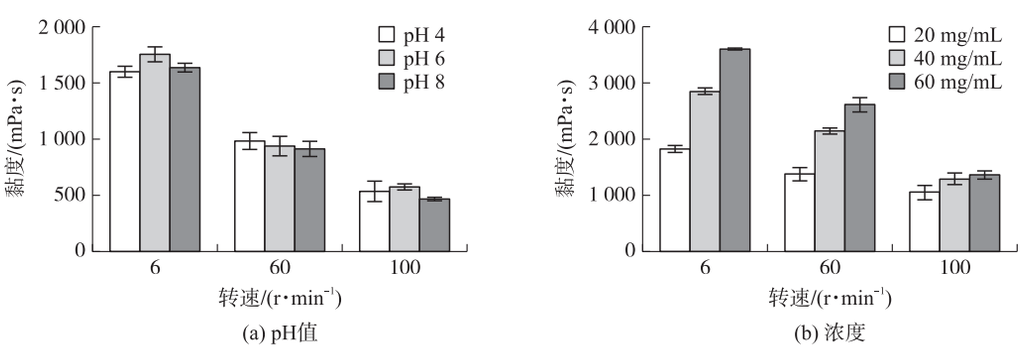


图 7　pH 值和浓度对 EPS 黏度的影响

Fig. 7　Effect of pH and concentration on EPS viscosity

2.4.4　金属离子吸附能力

EPS 中的功能基团如羟基、羧基、氨基等对吸附重金属起到关键作用[31],这些功能基团可与金属离子形成配合物,从而达到吸附作用. HDE-10 EPS 对金属离子吸附结果如图 8 所示,EPS 对 Fe^{2+} 吸附率最高,达到

(81.56±1.53)%,Cu^{2+}为(77.93±1.47)%. Cd^{2+}和 Zn^{2+}的吸附率较低,分别为(76.36±1.86)%和(74.30±0.90)%,Pd^{2+}的吸附率最低,为(71.27±1.06)%. 推测可能是由于 Fe^{2+}与 HDE-10 EPS 分子间的特殊相互作用,使其更容易被 EPS 所吸附. 因此,EPS 可以吸附周围环境中的有机物和无机离子,形成稳定的生物膜结构,有助于提高污水处理效率.

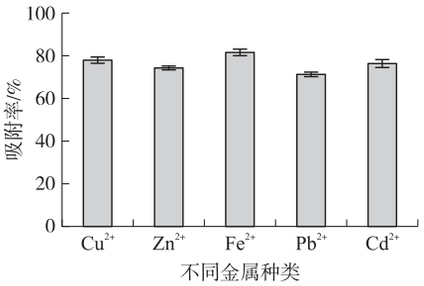


图 8　HDE-10 EPS 对不同种类金属的吸附能力

Fig. 8　Adsorption capacity of HDE-10 EPS for different types of metals

2.5　讨论

在本研究中,*W. cibaria* HDE-10 的发酵液经过乙醇沉淀、去蛋白、透析和凝胶过滤层析,最终得到纯 EPS. 紫外光谱分析显示,所得 EPS 中未检测到核酸和蛋白质的残留. 测定 EPS 的分子量有助于解释其潜在的构效关系,这与 EPS 的生物活性密切相关. 不同菌株 EPS 分子量不同[32],GPC 分析表明,HDE-10EPS 的分子量为 1.878×10^6 Da,高于假肠膜明串珠菌(*Leuconostoc pseudointestinalis*)HDL-3 EPS (1.581×10^6 Da). 研究表明,较高分子量的 EPS 通常具有更强的黏性、更紧密的糖链结构以及更强的生物结合能力[28]. NMR 结果显示,HDE-10 EPS 是由 α-(1,6)-D-葡萄糖组成的葡聚糖. 然而,*L. plantarum* HDC-01 EPS 的结构由 α-(1,3)-D-葡萄糖和 α-(1,6)-D-葡萄糖组成,这与本研究结果不同[30]. 这是由于菌株来源、培养方法和培养条件的差异显著影响 EPS 的结构[33]. FT-IR 分析显示,HDE-10 EPS 表现出 EPS 的特征吸收峰,是由 α-(1,6)糖苷键连接而成的高度线性葡聚糖. EPS 的物理化学性质变化与其分支结构差异密切相关,例如 α-(1,2)糖苷键连接的 EPS 溶解性欠佳,或许是因其表面亲水基团数量不足所造成的[34]. EPS 的 α-(1,3)糖苷键含量较高,这增加了分子间的交联程度,从而降低了溶解性并增强了亲水性[35]. XRD 结果显示,HDE-10 EPS 呈现非晶态无定形结构. *W. confusa* H2 EPS 也呈现类似的无定形结构[12]. SEM 结果显示,HDE-10 EPS 具有粗糙多孔的表面,并呈不规则薄片状结构. *Ln. mesenteroides* DRP105 EPS 也具有类似结构[36],然而 *W. confusa* H2 EPS 则呈光滑的片状结构[12],与 HDE-10 EPS 有较大差异.

对 HDE-10 EPS 的性质进行表征,研究显示,HDE-10 EPS 的 WSI 和 WHC 分别为(95.98±5.56)%和(424.43±5.52)%,其溶解性低于 *Ln. pseudomesenteroides* HDL-3 EPS(98.63±1.03)%[2],但持水性更高. Wang 等[37]发现,EPS 的 WSI 和 WHC 与其单糖组成有关. 当单糖组成中含有葡萄糖时,EPS 的 WSI 和 WHC 较高. EPD 的乳化能力测试显示,其总体乳化趋势为:汽油>大豆油>苯>葵花籽油>柴油>己烷. 这一特征与乳酸明串珠菌(*Leuconostoclactis*)L2 EPS 类似[10],两者均显示出良好的乳化性能. 此外,HDE-10 的 EPS 能够结合大量二价重金属离子,并对 Cu^{2+}、Zn^{2+}、Fe^{2+}、Pb^{2+}和 Cd^{2+}具有吸附能力. *W. confusa* H2 EPS 对 Cu^{2+}、Fe^{2+}吸附能力较强,两者较为相似[12].

3　结论

本研究从东北酸菜发酵液中筛选出一株能分泌 EPS 的乳酸菌,经形态学和分子生物学实验鉴定该菌株为 *W. cibaria*,并命名为 *W. cibaria* HDE-10. 该 EPS 由葡萄糖聚合而成,分子量为 1.878×10^6 Da,是由 α-(1,6)糖苷键连接、无分支结构的葡聚糖. 此 EPS 呈现不规则片状结构,表面粗糙且多孔. HDE-10 EPS 的 WSI 为(95.98±5.56)%,WHC 为(424.43±5.52)%,对大豆油、汽油表现出优秀的乳化性能,且 HDE-10 EPS 展现出优良的重金属吸附能力,其在环境保护、污水处理、食品加工及高温工业处理等领域展现出可观的应用潜力. 未来研究可进一步深入探究 EPS 的理化性质与结构特性,优化制备工艺与结构调控策略,提升其功能特性与实际应用价值.

[参考文献]

[1]　于文娜,于连升,王烁,等. 乳酸片球菌 J1 产胞外多糖发酵条件优化[J]. 中国农学通报,2024,40(6):143-151.

[2]　赵丹,曹慧莹,孙梦,等. 假肠膜明串珠菌 HDL-3 胞外多糖的分离纯化及结构性质分析[J]. 食品工业科技,2022,43(21):115-122.

[3]　Du R P,Qiao X X,Zhao F K,et al. Purification,characterization and antioxidant activity of dextran produced by *Leuconostoc*

pseudomesenteroides from homemade wine[J]. Carbohydrate Polymers,2018,198:529-536.

[4] 蔡华扬,于连升,孜木然·伊木然,等. 生物信息学法分析右旋糖酐蔗糖酶的结构和功能特性[J]. 黑龙江大学自然科学学报,2025,42(2):202-213.

[5] 索超,曲晓军,崔艳华. 乳酸菌胞外多糖研究进展[J]. 中国乳品工业,2017,45(11):32-36.

[6] 姜陈波,洪青,杭锋. 乳酸菌胞外多糖构效关系的研究进展[J]. 乳业科学与技术,2017,40(4):30-35.

[7] 邱杨,臧文晶,赵丹,等. 融合魏斯氏菌(*Weissella confuse*)P2 的鉴定及环境耐受性评估(英文)[J]. 黑龙江大学工程学报(中英俄文),2025,16(4):104-112.

[8] Yang Y,Ye G B,Qi X T,et al. Exploration of exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* HDE-8:unveiling structure,bioactivity,and food industry applications[J]. Polymers,2024,16(7):954.

[9] 周渤森,曹慧莹,齐心彤,等. 植物乳杆菌 HDL-03 胞外多糖合成条件的优化研究[J]. 中国农学通报,2024,40(11):14-21.

[10] Yu W N,Wang Z W,Zhao H R,et al. Lactic acid bacteria and yeast co-culture system:Mechanism of quorum-sensing regulation on the high yield of exopolysaccharides in *Weissella confusa*[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2025,327:147395.

[11] Du R P,Yu L S,Yu N X,et al. Characterization of exopolysaccharide produced by *Levilactobacillus brevis* HDE-9 and evaluation of its potential use in dairy products[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2022,217:303-311.

[12] Du R P,Pei F Y,Kang J,et al. Analysis of the structure and properties of dextran produced by *Weissella confusa*[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2022,204:677-684.

[13] Wang Z W,Yang Y,Yu W N,et al. Analysis of the metabolic process of sugarcane juice fermented by *Leuconostoc mesenteroides* and identification of exopolysaccharides[J]. Food Research International,2025,220:117098.

[14] Yang Y F,Feng F,Zhou Q Q,et al. Isolation,purification,and characterization of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc citreum* N21 from dried milk cake[J]. Transactions of Tianjin University,2019,25(2):161-168.

[15] Wang Y,Du R P,Qiao X X,et al. Optimization and characterization of exopolysaccharides with a highly branched structure extracted from *Leuconostoc citreum* B-2[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2020,142:73-84.

[16] Han Y Z,Liu E Q,Liu L S,et al. Rheological,emulsifying and thermostability properties of two exopolysaccharides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* LPL061[J]. Carbohydrate Polymers,2015,115:230-237.

[17] Grinev V S,Tregubova K V,Anis'Kov A A,et al. Isolation,structure,and potential biotechnological applications of the exopolysaccharide from *Paenibacillus polymyxa* 92[J]. Carbohydrate Polymers,2020,232:115780.

[18] Kothari D,Tingirikari J M R,Goyal A. In vitro analysis of dextran from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1426 for functional food application[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre,2015,6(2):55-61.

[19] Mohite B V,Koli S H,Rajput J D,et al. Production and characterization of multifacet exopolysaccharide from an agricultural isolate,*Bacillus subtilis*[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry,2019,66(6):1010-1023.

[20] Kumar R,Bansal P,Singh J,et al. Purification,partial structural characterization and health benefits of exopolysaccharides from potential probiotic *Pediococcus acidilactici* NCDC 252[J]. Process Biochemistry,2020,99:79-86.

[21] Wang B B,Song Q Z,Zhao F K,et al. Purification and characterization of dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* PC as a potential exopolysaccharide suitable for food applications[J]. Process Biochemistry,2019,87:187-195.

[22] Saravanan C,Shetty P K H. Isolation and characterization of exopolysaccharide from *Leuconostoclactis* KC117496 isolated from idli batter[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2016,90:100-106.

[23] Dilara Y,HüMeyra I,Enes D. Identification of Lactic Acid Bacteria(LAB)from pre-fermented liquids of selected cereals and legumes and characterization of their exopolysaccharides(EPS)[J]. Food Bioscience,2022,50:102014.

[24] Du R P,Chen Z H,Zhao S Q,et al. Enhanced dextran production by *Weissella confusa* in co-culture with Candida shehatae and its quorum sensing regulation mechanism[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2025,295:139662.

[25] Kanamarlapudi S L R K,Muddada S. Characterization of exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* CC30[J]. BioMed Research International,2017,1:4201809.

[26] Du R P,Xing H W,Yang Y P,et al. Optimization,purification and structural characterization of a dextran produced by *L. mesenteroides* isolated from Chinese sauerkraut[J]. Carbohydrate Polymers,2017,174:409-416.

[27] Zhang F S,Ran C X,Zheng J,et al. Polysaccharides obtained from bamboo shoots(*Chimonobambusa quadrangularis*)processing by-products:New insight into ethanol precipitation and characterization[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2018,112:951-960.

[28] Zhao D,Jiang J,Liu L N,et al. Characterization of exopolysaccharides produced by *Weissella confusa* XG-3 and their potential

biotechnological applications[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2021,178:306-315.
[29] 姜静,杜仁鹏,郭尚旭,等. 融合魏斯氏菌胞外多糖的分离纯化及其生化特性[J]. 食品科学,2020,41(1):9-15.
[30] Yu L S,Ye G B,Qi X T,et al. Purification,characterization and probiotic proliferation effect of exopolysaccharides produced by *Lactiplantibacillus plantarum* HDC-01 isolated from sauerkraut[J]. Frontiers in Microbiology,2023,14:1210302.
[31] Ghosh A,Sah D,Chakraborty M,et al. Mechanism and application of bacterial exopolysaccharides:An advanced approach for sustainable heavy metal abolition from soil[J]. Carbohydrate Research,2024,544:109247.
[32] Zhang K Y,Tang H W,Farid M S,et al. Effect of *Lactobacillus helveticus* exopolysaccharides molecular weight on yogurt gel properties and its internal mechanism[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2024,262(P1):130006.
[33] Liu X T,Yao T. Types,synthesis pathways,purification,characterization,and agroecological physiological functions of microbial exopolysaccharides:A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2024,281(P3):136317.
[34] 李明源,王继莲,魏云林,等. 细菌胞外多糖的特性及应用研究[J]. 生物技术通报,2014(6):51-56.
[35] Cania B,Vestergaard G,Krauss M,et al. A long-term field experiment demonstrates the influence of tillage on the bacterial potential to produce soil structure-stabilizing agents such as exopolysaccharides and lipopolysaccharides[J]. Environ Microbiome,2019,14(1):14.
[36] Yang Y,Wang Z W,Chen Z H,et al. Exploring exopolysaccharide production from sugarcane bagasse:Mechanisms and processes involving *Leuconostocmesenteroides*[J]. Chemical Engineering Journal,2025,516:164155.
[37] Wang Z M,Cheung Y C,Leung P H,et al. Ultrasonic treatment for improved solution properties of a high-molecular weight exopolysaccharide produced by a medicinal fungus[J]. Bioresource Technology,2010,101(14):5517-5522.

[责任编辑:黄　敏]