

doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2026.02.005

共培养体系下融合魏斯氏菌 XG-3 胞外多糖的 产量优化及特性研究

曹文杰,赵守祺,高古博,杨舒涵,杜仁鹏,赵丹

(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)

[摘要] 本研究建立融合魏斯氏菌(*Weissella confusa*) XG-3 与依哈塔假丝酵母(*Candida shehatae*) 共培养体系,采用单因素法优化菌株 XG-3 产胞外多糖(exopolysaccharide, EPS),并探究 EPS 的性质.结果表明,在 *W. confusa* XG-3 单培养 4 h 后接入 *C. shehatae*,接种比例为 1:1, EPS 产量达到最大(56.82±0.12) g/L,是单培养的 1.63 倍.优化后 XG-3 产 EPS 的最优培养条件:蔗糖 7%、酵母浸粉 0.3%、蛋白胨 1.2%、硫酸镁 0.03%、柠檬酸铵 0.4%、磷酸氢二钾 0.3%、吐温-80 0.05%、乙酸钠 5%、牛肉膏 10%、初始 pH 6.0、培养温度 30 ℃、摇床转速 120 rpm. 优化后菌株 *W. confusa* XG-3 的 EPS 产量为(89.32±0.55) g/L,较优化前提高 2.6 倍.共培养 XG-3 EPS 具有良好的乳化性(对豆油和汽油的乳化率分别为(92.65±0.07)%和(81.08±0.09)%)、特性粘度和重金属吸附能力.

[关键词] 共培养,融合魏斯氏菌,胞外多糖,优化,性质

[中图分类号] Q935 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2026)02-0049-10

Optimization of Exopolysaccharide Production by *Weissella confusa* XG-3 in a Co-culture System and Characterization of its Properties

Cao Wenjie, Zhao Shouqi, Gao Gubo, Yang Shuhan, Du Rengang, Zhao Dan

(School of Life Sciences, Heilongjiang University, 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, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Microbiology, Harbin 150080, China)

Abstract: In this study, a co-culture system integrating *Weissella confusa* XG-3 and *Candida shehatae* was established. The One-Factor-At-A-Time method was used to optimize exopolysaccharide production by XG3, and the properties of the produced EPS were investigated. The results demonstrated that when *C. shehatae* was inoculated 4 h after *W. confusa* XG-3 at an inoculation ratio of 1:1, the EPS yield reached its maximum(56.82±0.12) g/L, which was 1.63 times higher than that obtained from monoculture. The optimal medium formulation for EPS production was composed of 7% sucrose, 0.3% yeast extract, 1.2% peptone, 0.03% magnesium sulfate, 0.4% ammonium citrate, 0.3% dipotassium phosphate, 0.05% Tween-80, 5% sodium acetate, and 10% beef extract. The optimal culture conditions were an initial pH of 6.0, an incubation temperature of 30 ℃, and a shaking speed of 120 rpm. Based on optimization, the EPS yield of the *W. confusa* XG-3 strain reached(89.32±0.55) g/L, representing a 2.6-fold increase compared to before optimization. The EPS produced under co-culture exhibited excellent emulsifying activity (the emulsification indices for soybean oil and gasoline were (92.65±0.07)% and (81.08±0.09)%, respectively), a high intrinsic viscosity, and strong heavy-metal adsorption capacity.

Key words: co-culture, *Weissella confusa*, exopolysaccharide, optimization, properties

乳酸菌胞外多糖(exopolysaccharide, EPS)是由乳酸菌在生长代谢过程中分泌到细胞壁外的大分子碳水化合物^[1]. 乳酸菌是食品级微生物,因此乳酸菌 EPS 也被认为其具有良好的生物安全性^[2]. 因多样的生物学特性^[3],乳酸菌 EPS 在食品、环境和制药领域得到了广泛应用. 在食品工业中,乳酸菌 EPS 可作为水胶体来改善面团的粘弹特性,从而提升面包的整体品质^[4];在环境治理方面,乳酸菌 EPS 及其形成的生物

收稿日期:2025-12-02.

基金项目:国家自然科学基金项目(32072189)、黑龙江省高校基本科研业务费科研项目(2024-kYYWF-0127).

通讯作者:赵丹,博士,教授,研究方向:微生物次生代谢产物与生理. E-mail: zhaodan4u@163.com

膜能够通过官能团络合作用高效吸附水体中的 Pb(II) 离子^[5];在生物医药领域,基于乳酸菌 EPS 构建的水凝胶敷料,通过抗炎与维持微生态平衡来促进伤口愈合^[6]. EPS 不仅可以作为多功能添加剂,起到稳定、增稠和乳化作用^[7],增加风味和延长保质期^[8],还具备抗氧化^[9]、降胆固醇^[10]、免疫调节^[11]、抗肿瘤^[12]和抗病毒^[10]等医疗和保健作用.

虽然乳酸菌 EPS 具有一系列优良的生物学特性,但较低的产量限制其广泛应用,如何提高 EPS 的产量已成为糖生物学领域的焦点问题. EPS 的生物合成受到许多因素影响,例如培养基成分(碳源、氮源、无机盐等)、培养条件(温度、pH)等. Ahmed 等^[13]通过响应面实验将开菲尔乳杆菌(*Lactobacillus kefiranofaciens*) ZW3 EPS 产量从 0.88 g/L 提升至 1.61 g/L. 一些研究发现乳酸菌和酵母菌共培养时,酵母菌可以通过消耗培养体系中的有机酸缓解乳酸菌所受到的酸胁迫,从而促进乳酸菌的生长状态和代谢活性^[14]. 同时,共培养还能激活群体感应系统(quorum sensing, QS),诱导 *dsr* 基因表达,并增加葡聚糖蔗糖酶的活性,进而促进 EPS 产量的提升^[14]. 然后, Angelis 等^[15]研究表明,与单培养相比,虽然共培养能显著增加乳酸菌 EPS 产量,还改变了 EPS 的组成和结构. 本研究建立融合魏斯氏菌(*Weissella confusa*) XG-3 与休哈塔假丝酵母(*Candida shehatae*) 共培养体系,采用单因素法提高 XG-3 EPS 产量,并探究 XG-3 EPS 的乳化性、特性粘度和重金属吸附能力,为 EPS 的工业化生产及应用奠定理论基础.

1 材料与方法

1.1 实验试剂及培养基

苯酚、浓硫酸、95%乙醇、蔗糖、葡萄糖、果糖、乳糖、甘露糖、麦芽糖、半乳糖、木糖、三氯乙酸、汽油、柴油、豆油、苯、二甲苯、石油醚、硫酸铁、硫酸铜、硫酸锌及丙酮均购买自上海阿拉丁生化科技有限公司. 所有化学试剂均为分析纯.

YPD 培养基:葡萄糖 20 g/L,蛋白胨 20 g/L,酵母浸粉 10 g/L,pH 自然.

MRS 基础培养基:葡萄糖 20 g/L,蛋白胨 10 g/L,牛肉膏 10 g/L,酵母浸粉 5 g/L, K_2HPO_4 2 g/L,无水乙酸钠 5 g/L,柠檬酸铵 2 g/L,硫酸镁 0.2 g/L,硫酸锰 0.05 g/L,吐温-80 1(v/v),pH 5.5.

MRS-S 产糖培养基:蔗糖 60 g/L,蛋白胨 10 g/L,牛肉膏 10 g/L,酵母浸粉 5 g/L, K_2HPO_4 2 g/L,无水乙酸钠 5 g/L,柠檬酸铵 2 g/L,硫酸镁 0.2 g/L,硫酸锰 0.05 g/L,吐温-80 1(v/v),pH 5.5.

1.2 种子液制备

菌株 *W. confusa* XG-3 及 *C. shehatae* 均保存在黑龙江大学微生物重点实验室. 将 *C. shehatae* 单菌落接种到 YPD 种子培养基中,在 30 ℃、120 r/min 条件下培养 12 h,获得 *C. shehatae* 种子液. *W. confusa* XG-3 接种于 MRS 中,在 30 ℃静置条件下培养 18 h,获得 *W. confusa* XG-3 种子液.

1.3 实验方法

1.3.1 共培养发酵体系建立

将 *W. confusa* XG-3 与 *C. shehatae* 共培养组设置为实验组,仅 *W. confusa* XG-3 的单培养组设置为对照组. 分别将种子液以 2%(v/v) 的接种量接种于 100 mL/250 mL MRS-S 培养基中. 30 ℃、120 r/min 培养 60 h,每隔 6 h 取样测定 EPS 产量(g/L),并通过平板涂布法测定活菌数(CFU/mL).

将 *W. confusa* XG-3 与 *C. shehatae* 种子液按不同体积混合(1:0、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5),每组均以 2% 的接种量接种于 MRS-S 培养基中,培养 36 h 后测定 EPS 产量(g/L),确定最佳接种比例.

按照上述已确定的最佳接种比例,先在 100 mL/250 mL MRS-S 培养基中接种 2%(v/v) *W. confusa* XG-3 种子液,再分别于发酵开始后的 0 h、4 h、8 h、12 h 接种 *C. shehatae* 种子液,以 *W. confusa* XG-3 单培养组为对照组. 分别测定 EPS 产量,确定最佳接种时间.

1.3.2 共培养产 EPS 单因素优化

采用单因素实验法,分别考察碳源种类(蔗糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖、果糖、麦芽糖、乳糖、木糖)及浓度(10、20、30、40、50、60、70、80、90 g/L),牛肉膏浓度(4、6、8、10、12、14、16、18 g/L),蛋白胨浓度(4、6、8、10、12、14、16、18 g/L),酵母浸粉浓度(1、2、3、4、5、6、7、8 g/L),乙酸钠、柠檬酸铵、磷酸氢二钾浓度(4、6、8、10、12、14、16、18 g/L),硫酸镁浓度(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 g/L),吐温-80 浓度(0、0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35%),初始 pH 值(4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8),培养温度(20、25、30、35、40 ℃),

摇床转速(0、40、80、120、160、200 rpm)对 *W. confusa* XG-3 生长及产 EPS 的影响. 上述单因素实验均在培养 36 h 后测定发酵液中 EPS 含量(g/L)及活菌数(CFU/mL),确定最佳产 EPS 的培养基组成.

1.3.3 EPS 的分离和纯化

根据 Ren 等^[16]的方法,将 *W. confusa* XG-3 和 *C. shehatae* 根据“1.3.1”确定的条件接种于 MRS-S 培养基中,培养 36 h 获得发酵液. 随后将发酵液 4 ℃、8 000 rpm 离心 20 min,在上清液中加入 3 倍体积 95% (v/v)的乙醇,4 ℃过夜沉淀. 沉淀物溶于适量的去离子水中,加入等体积 10% (v/v)的三氯乙酸,在 4 ℃搅拌 4 h 后离心 20 min (4 ℃, 8 000 rpm) 去除溶液中的蛋白质. 再用乙醇进行沉淀,溶解后于 (8 000 ~ 12 000) Da 透析袋中透析 48 h,获得粗 EPS 溶液. 粗 EPS 溶液通过 Sephadex G-100、60 cm×1.6 cm 凝胶柱纯化,得到 EPS 纯溶液,冷冻干燥.

1.3.4 EPS 含量的测定

以葡萄糖为标准品,用苯酚-硫酸法^[17]测定 EPS 含量.

1.3.5 EPS 的乳化性测定

依据 Wang 等^[18]的方法,将 5 mL 2 mg/mL 的 EPS 溶液与 2.5 mL 的油类或烃类(乙醚、汽油、柴油、苯、石油、大豆油、二甲苯、己烷)震荡混匀,测量体系的总液柱高度(H_0),再分别测量在室温下静置 1 h、12 h、24 h 和 48 h 时乳化层高度(H_1). 根据下列公式计算乳化性(EA):

$$EA(\%) = H_1/H_0 \times 100\%. \quad (1)$$

1.3.6 EPS 的特性粘度测定

利用乌氏粘度计测定 EPS 的特性粘度 $[\eta]$,分别测定 25 ℃ 和 35 ℃ 条件下溶剂(t_0)与 EPS 溶液(t_1)的流出时间. 依据下列公式计算出 25 ℃ 和 35 ℃ 时 EPS 的相对粘度(η_r)和增比粘度(η_{sp}):

$$\eta_r = \frac{t}{t_0}, \quad (2)$$

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1, \quad (3)$$

再根据 Huggins 公式与 Kraemer 公式分别求出 η_{sp}/c 和 $\ln \eta_r/c$:

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k'[\eta]^2 c, \quad (4)$$

$$\ln \frac{\eta_r}{c} = [\eta] + k''[\eta]^2 c. \quad (5)$$

以 EPS 浓度为横坐标, η_{sp}/c 和 $\ln \eta_r/c$ 为纵坐标绘制出两条曲线,两条曲线的交点为 EPS 的特性粘度 $[\eta]$. 每组实验重复 3 次取平均值.

1.3.7 EPS 的重金属吸附性测定

根据 Grinev 等^[19]的方法,将 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Fe^{2+} 工作液用去离子水稀释至 (2~10) $\mu\text{g}/\text{mL}$,并使用原子吸收分光光度计在各自波长处测定吸光度,绘制标准曲线. 称取 0.25 g EPS 样品溶于 250 mL 去离子水中,并与 1 mg/mL 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶液按 1:1 混合,使 EPS 和金属盐终浓度分别为 0.5 g/L 和 0.4 g/L,室温下反应 0.5 h. 反应结束后,将混合溶液与预冷丙酮按 1:3 比例混合,5 000 rpm 离心 30 min. 向上清液中分 3 次加入 8 mL 混合酸,加热至无色透明后冷却,并用双蒸水定容至 10 mL. EPS 对金属离子吸附能力(q)的计算公式如下:

$$q(\text{mg/g}) = V(C_i - C_f)/W, \quad (6)$$

其中, $V(\text{L})$ 为反应体系的总体积, $C_i(\text{mg/L})$ 与 $C_f(\text{mg/L})$ 分别是金属的初始浓度与最终浓度, $W(\text{g})$ 为 EPS 的质量.

1.3.8 水接触角测定

水接触角采用 Jiang 等^[20]的方法进行测定,将 *W. confusa* XG-3 分别在 MRS 培养基和含 5% 蔗糖的 MRS 培养基中培养 48 h,然后用 0.45 μm 滤膜负压过滤. 待滤膜干燥后,使用接触角分析仪测定水接触角. 每个样品均测量 5 个时间点,并记录 7 s 时的数值.

1.3.9 数据分析

所有实验均独立重复 3 次,取平均值进行分析. 利用 Origin 2024 内置的非线性数学模型和 JMP 10 软

件对实验数据进行分析 and 绘图.

2 结果与讨论

2.1 共培养体系对菌株产 EPS 的影响分析

在共培养体系中,菌株的接种比例和接种时间对发酵进程的影响起着至关重要的作用^[21]. *W. confusa* XG-3 与 *C. shehatae* 在不同接种比例条件下 EPS 产量变化如图 1A 所示. 当 *W. confusa* XG-3 与 *C. shehatae* 接种比例为 1:1 时, EPS 的产量最高. 不同接种时间对 EPS 产量影响如图 1B 所示. 在 *W. confusa* XG-3 发酵 4 h 时接种 *C. shehatae*, EPS 产量达到最高值,为(56.82±0.12)g/L,提升了约 25.51%. 相比之下在 8 h 或 12 h 进行接种, EPS 的产量均出现下降趋势,但高于单培养组.

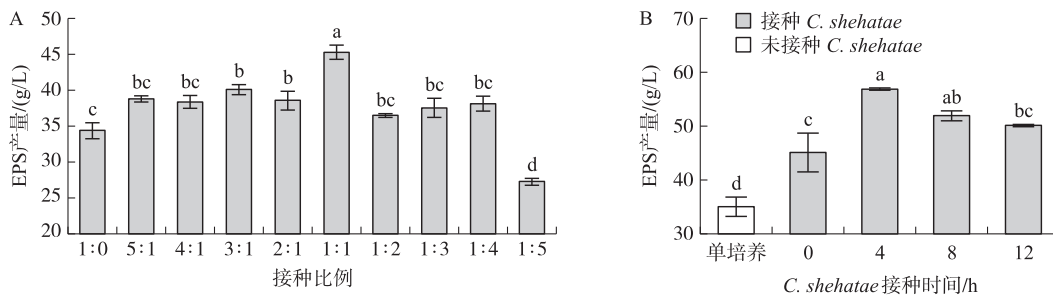


图 1 *W. confusa* XG-3 与 *C. shehatae* 不同接种比例(A)以及 *C. shehatae* 接种时间(B)对 EPS 产量的影响

Fig. 1 Effects of different inoculation ratios of *W. confusa* XG-3 and *C. shehatae* (A), and the inoculation time of *C. shehatae* (B) on EPS production

注:不同字母代表不同变量间差异显著.

2.2 单因素法优化 *W. confusa* XG-3 产 EPS

2.2.1 碳源种类及蔗糖浓度的优化

碳源是微生物生长代谢过程中的关键物质,对菌株 EPS 生物合成具有重要影响^[22]. 当添加适当的碳源种类和浓度可有效刺激微生物细胞,从而促进 EPS 合成相关基因的表达及相应酶系统的合成,进而提高 EPS 的产量^[23]. 图 2A 展示了 8 种不同碳源对 *W. confusa* XG-3 生长及 EPS 产量的影响. 当蔗糖作为碳源时, EPS 产量达到(50.41±0.70)g/L,显著高于其他 7 种碳源,此时菌株的生长状态最佳,活菌数为(5.29±0.27)Lg CFU/mL. Rosca 等^[24]发现, *W. confusa* 在含果糖和葡萄糖的培养基中发酵时 EPS 产量仅为 2.8 g/L,而在添加蔗糖的培养基中发酵可达到 5.18 g/L,提高约 1.85 倍,说明其酶促体系更易识别完整蔗糖而非单糖. 因此,蔗糖被确定为培养基的最优碳源. 当蔗糖浓度为 70 g/L 时, EPS 的产量达到峰值(78.37±0.37)g/L(图 2B).

2.2.2 氮源浓度的优化

氮源不仅通过调节蛋白质的合成间接影响 EPS 的合成^[25],还可以调控 EPS 生物合成过程中所参与酶的活性^[26]. 酵母浸粉是促进 EPS 生成最有效的氮源,其添加能显著提升细菌菌株的 EPS 产量^[27]. 这可

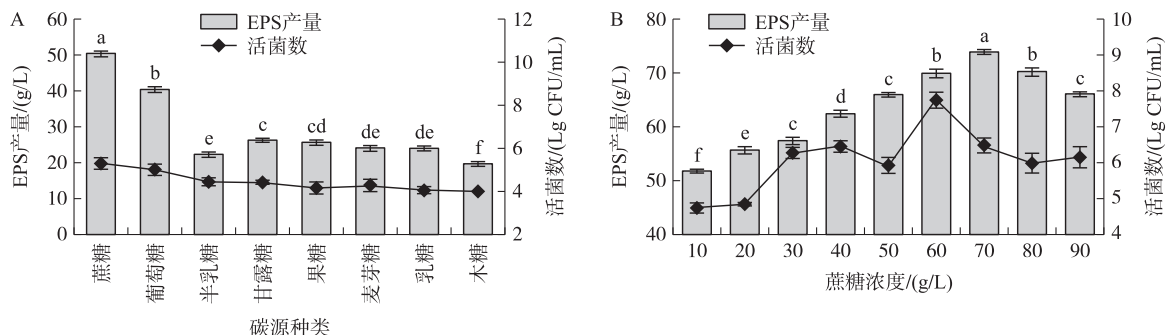


图 2 碳源种类(A)及蔗糖浓度(B)对 *W. confusa* XG-3 生长及 EPS 产量的影响

Fig. 2 Effects of carbon source types(A) and sucrose concentration(B) on the growth and EPS production of *W. confusa* XG-3

注:不同字母表示差异显著.

能与酵母浸粉中富含游离氨基酸、短肽、碳水化合物及无机盐等成分有关^[28]. 图3展示了3种氮源浓度对 *W. confusa* XG-3 生长及 EPS 产量的影响. 结果表明,当牛肉膏、蛋白胨及酵母浸粉分别为 10 g/L、12 g/L 和 3 g/L 时, EPS 的产量达到峰值,分别为 (73.92±0.63) g/L、(78.30±0.23) g/L 和 (83.86±0.41) g/L. 周渤森等^[29]发现 *L. plantarum* HDL-03 产 EPS 的最佳氮源为蛋白胨、牛肉膏和酵母浸粉,并且添加量分别为 10 g/L、12 g/L 和 3 g/L 时, EPS 的产量最高.

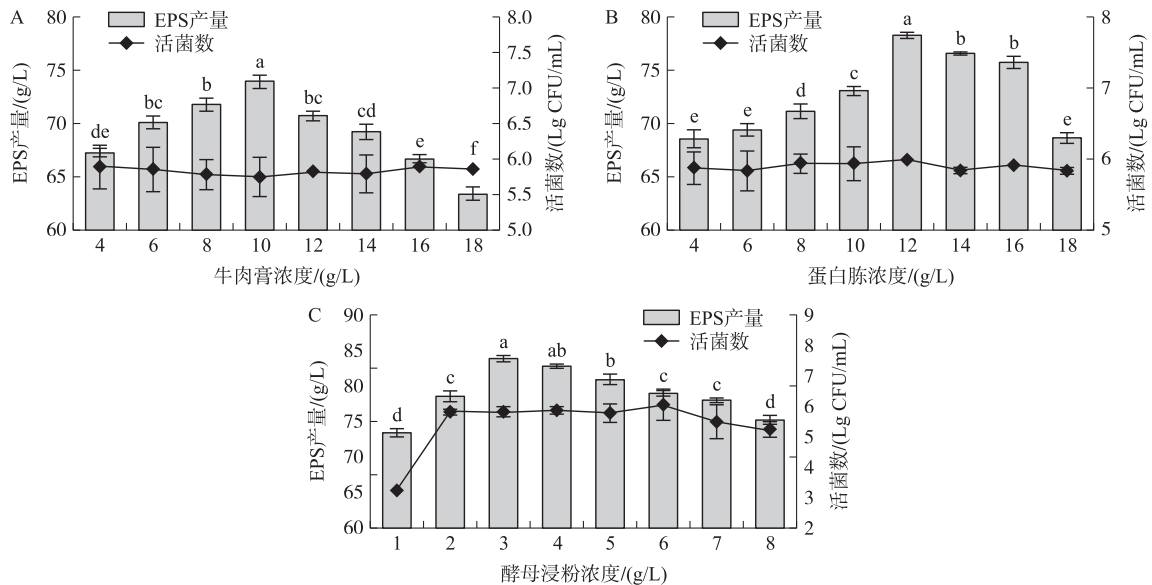


图3 牛肉膏(A)、蛋白胨(B)及酵母浸粉浓度(C)对 *W. confusa* XG-3 生长及 EPS 产量的影响

Fig. 3 Effect of beef extract (A), peptone (B), and yeast extract concentration (C) on the growth and EPS production of *W. confusa* XG-3

注:不同字母表示差异显著.

2.2.3 无机盐浓度的优化

无机盐作为培养基重要组分之一,即使在低浓度下也可以通过调控代谢途径影响 EPS 的产生^[1]. 其中, Mg^{2+} 是乳酸菌必不可少的生长因子,它能够调节磷酸葡萄糖变位酶的活性,该酶是参与 EPS 生物合成过程中的关键酶之一,因此添加 Mg^{2+} 有助于 EPS 产量的提升^[30]. 图4展示了4种无机盐浓度对共培养体系中

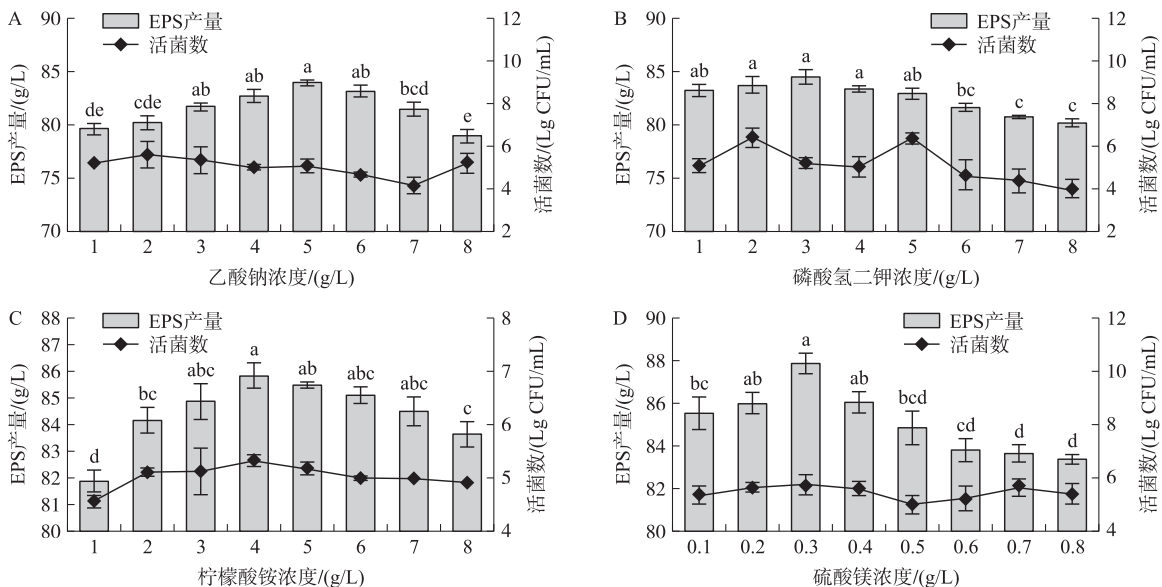


图4 乙酸钠(A)、磷酸氢二钾(B)、柠檬酸铵(C)及硫酸镁浓度(D)对 *W. confusa* XG-3 生长及 EPS 产量的影响

Fig. 4 Effect of sodium acetate (A), dipotassium hydrogen phosphate (B), ammonium citrate (C), and magnesium sulfate concentration (D) on the growth and EPS yield of *W. confusa* XG-3

注:不同字母表示差异显著.

W. confusa XG-3 生长及 EPS 产量的影响. 结果表明,当乙酸钠、磷酸氢二钾、柠檬酸铵和硫酸镁的浓度分别为 5 g/L、3 g/L、4 g/L 和 0.3 g/L 时, EPS 的合成能力最强,分别为 (83.96±0.23) g/L、(84.50±0.68) g/L、(85.85±0.48) g/L 和 (87.88±0.47) g/L,在此条件的菌株均处于优良的生长状态.

2.2.4 吐温-80 浓度的优化

研究表明,吐温-80 作为氧载体,能提高氧转移效率,促进代谢物生产^[31]. 当吐温-80 浓度为 0.15% (v/v), EPS 的产量和活菌数均达到最大值 (87.98±0.72) g/L 和 (6.58±0.13) Lg CFU/mL, EPS 产量提升 0.12% (图 5).

2.2.5 培养条件的优化

图 6 展示了培养条件对共培养体系中 *W. confusa* XG-3 生长及 EPS 产量的影响. 结果表明,当培养基初始 pH 为 6、培养温度为 30 °C、摇床转速为 120 r/min 时,相对应的 EPS 含量和活菌数分别达到峰值,分别为 (89.08±0.34) g/L 和 (6.69±0.24) Lg CFU/mL、(89.32±0.55) g/L 和 (6.25±0.14) Lg CFU/mL、(89.67±0.50) g/L 及 (5.28±0.03) Lg CFU/mL, EPS 的含量分别提高了 1.25%、0.27% 和 0.40%. 优化后菌株 *W. confusa* XG-3 的 EPS 产量为 (89.32±0.55) g/L,与优化前 EPS 的产量 (34.37±1.12) g/L 相比,提高了约 2.6 倍.

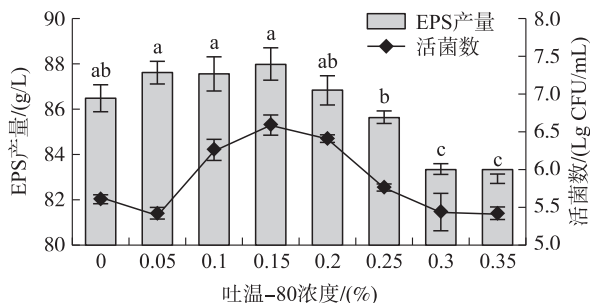


图 5 吐温-80 浓度对 *W. confusa* XG-3 生长及 EPS 产量的影响
 Fig. 5 Effect of Tween-80 concentration on the growth and EPS production of *W. confusa* XG-3
 注:不同字母表示差异显著.

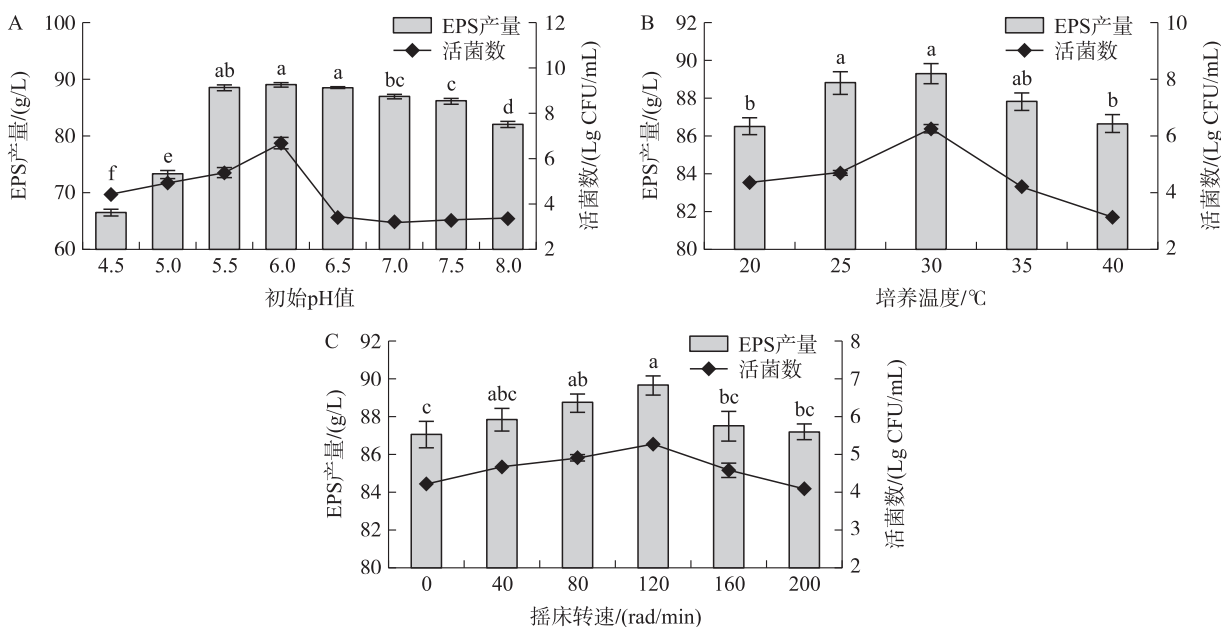


图 6 初始 pH 值(A)、培养温度(B)及摇床转速(C)对 *W. confusa* XG-3 生长及 EPS 产量的影响
 Fig. 6 Effects of initial pH(A), cultivation temperature(B), and shaker speed(C) on the growth and EPS production of *W. confusa* XG-3
 注:不同字母代表差异显著.

2.3 *W. confusa* XG-3 EPS 性质分析

2.3.1 *W. confusa* XG-3 EPS 的乳化性分析

XG-3 EPS 的乳化能力如表 1 所示. 结果显示,XG-3 EPS 在 36 h 时对油类和烃类的乳化能力排序:豆油>汽油>苯>柴油>二甲苯>煤油>石油醚, XG-3 EPS 对豆油的乳化效果极佳,乳化的高达 (92.65±0.07)%,对汽油的乳化率为 (81.08±0.09)%,这一结果不仅显著优于 XG-3 单培养 EPS^[32]对汽油的乳化率 (70.66±0.65)%,也超过了 HDE-9 EPS^[33]在 48 h 对豆油的乳化率 (80.73±1.32)%和 *W. confusa* H2 EPS^[34]在 24 h 时对豆油的乳化率 (78.28±1.73)%. 研究发现, EPS 的乳化性与其亲水性密切相关^[35], EPS 亲水性越强,越有利于与水相结合. 共培养 XG-3 EPS 主要是由 α-(1,6) 和 α-(1,3) 糖苷键连接的葡萄糖构成

的^[14],这种结构具有良好的亲水性,因此可以使乳化性能更加稳定.与 XG-3 单培养 EPS 相比^[32],共培养的 XG-3 EPS 具更良好的溶解性和持水性能,进而显著地提升了对豆油、柴油和煤油的乳化性能.

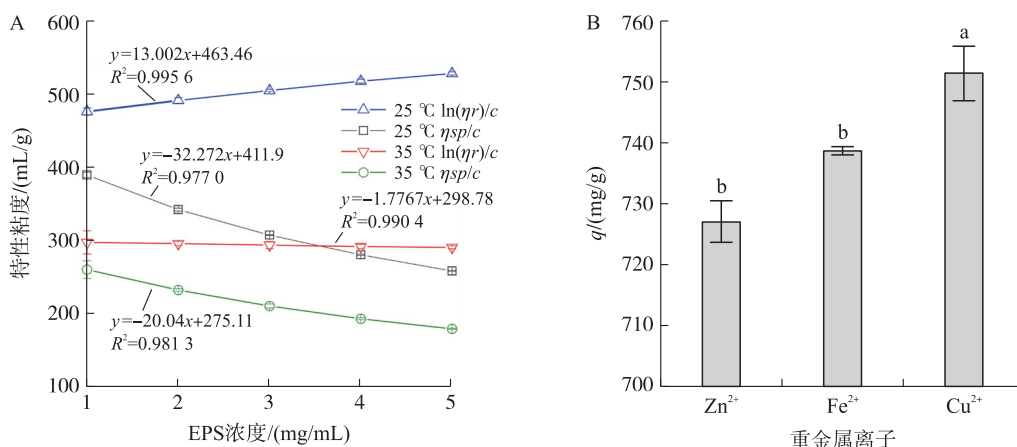
表 1 共培养 *W. confusa* XG-3 EPS 对油类和烃类化合物的乳化性能Table 1 The effect of *W. confusa* XG-3 EPS on the emulsification of oils and hydrocarbons

乳化性 (%)	1 h	12 h	24 h	36 h
苯	85.21±0.55 ^{Ba}	82.01±1.37 ^{BCb}	80.01±0.87 ^{BCb}	79.98±0.21 ^{Cb}
二甲苯	67.39±0.54 ^{Da}	62.34±2.05 ^{Db}	60.74±0.69 ^{Db}	59.85±0.17 ^{Eb}
汽油	85.33±0.72 ^{Ba}	83.29±1.00 ^{Bab}	81.73±1.17 ^{Bb}	81.08±0.09 ^{Bb}
柴油	81.20±0.09 ^{Ca}	78.95±1.08 ^{Cb}	76.58±0.07 ^{Cc}	74.45±0.13 ^{Dd}
豆油	89.14±0.57 ^{Aa}	89.24±0.16 ^{Aa}	91.64±3.33 ^{Aa}	92.65±0.09 ^{Aa}
煤油	64.76±1.47 ^{Ea}	61.44±0.02 ^{DEb}	60.18±0.16 ^{Db}	59.70±0.49 ^{Eb}
石油醚	61.46±0.41 ^{Fa}	58.38±1.00 ^{Eb}	56.90±0.19 ^{Db}	52.48±0.72 ^{Fc}

注:不同大写字母为同一时间、不同有机相间显著差异;相同小写字母为同一有机相、不同时间显著差异.

2.3.2 *W. confusa* XG-3 EPS 的特性粘度及重金属吸附性分析

XG-3 EPS 在 25 °C 和 35 °C 的特性粘度 $[\eta]$ 分别是 437.68 mL/g 和 286.94 mL/g (图 7A). 由此可知, XG-3 EPS 的特性粘度 $[\eta]$ 与温度呈负相关. 这一数值显著高于同等条件下 XG-3 单培养 EPS^[36] (25 °C 时为 409.7 mL/g, 35 °C 时为 201.7 mL/g). 研究发现 EPS 的特性粘度 $[\eta]$ 与分子量成正相关^[37]. 已有研究报道共培养 XG-3 EPS^[14] 的平均分子量为 3.45×10^6 Da, 略高于单培养 XG-3 EPS^[36] 的平均分子量 (3.19×10^6 Da). 在与其他来源多糖相比之下发现, XG-3 EPS 的特性粘度 $[\eta]$ 虽高于灵芝 (*Ganoderma atrum*) 多糖^[38] (90 mL/g), 但远低于植物来源的多糖如黄芪 (*Astragalus gombo*) 多糖^[39] (860 mL/g). 这种较低的特性粘度使其结构和性能更加稳定.

图 7 共培养 *W. confusa* XG-3 EPS 在 25 °C 和 35 °C 的特性粘度 (A) 以及对不同种类金属的吸附能力 (B)Fig. 7 Characteristics of the EPS produced by co-cultured *W. confusa* XG-3 at 25 °C and 35 °C in terms of intrinsic viscosity (A) and adsorption capacity for different types of metals (B)

注:不同字母代表差异显著.

EPS 中的功能基团,如羟基、羧基和氨基,在重金属的吸附中起到了关键作用^[40]. 如图 7B 所示, XG-3 EPS 对 Cu²⁺、Fe²⁺ 和 Zn²⁺ 3 种金属离子均表现出优良的吸附能力,其吸附值(q)分别为 (751.45 ± 4.52) mg/g、(727.07 ± 3.47) mg/g 及 (738.76 ± 0.72) mg/g. 共培养 XG-3 EPS 虽低于 *W. confusa* H2 EPS^[41] 对 Cu²⁺、Fe²⁺ 和 Zn²⁺ 3 种金属离子的吸附能力,但远远高于肠杆菌属 (*Enterobacter*) A47 EPS^[42] 对 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 吸附能力,分别是 36.1% 和 35.9%. 综合分析,共培养来源的 XG-3 EPS 是一种高效且易获得的金属吸附剂. 它在减少环境和食品中的重金属污染方面展现一定的潜力,有望在相关行业中得到广泛应用.

2.4 *W. confusa* XG-3 的水接触角分析

水接触角是一种评估细菌菌株所产生 EPS 疏水性的有效手段. 结果显示,在 7 s 时 *W. confusa* XG-3 在 MRS 培养基中的水接触角为 28.7° (图 8A),而在添加 5% 蔗糖的 MRS 培养基中,水接触角提升至 59.1° (图 8B). 这一提升是由于 *W. confusa* XG-3 在含蔗糖的 MRS 培养基中产生的 EPS 更多,从而增加菌株表

面的疏水性. 已有研究报道, 该菌株的表面疏水性与其表面蛋白的结构有密切关系^[43]. 该结果与 *W. cibaria* HDL-4^[44] 接触角结果相同, 但与 *L. plantarum* 23^[45] 的接触角结果不同.

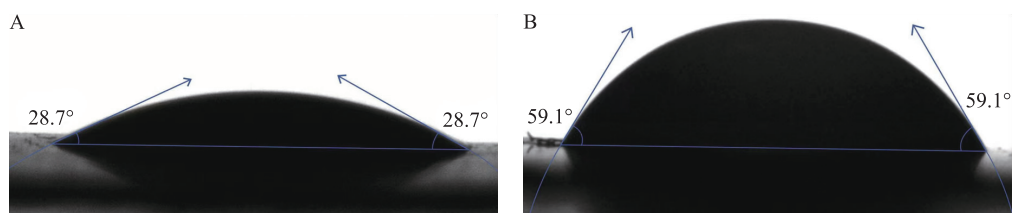


图8 MRS(A)和MRS+5%蔗糖(B)发酵液的水接触角分析

Fig. 8 Water contact angle analysis of fermentation broth of MRS(A) and MRS+5% sucrose(B)

3 结论

本研究建立 *W. confusa* XG-3 和 *C. shehatae* 共培养体系, 确定了最佳的共培养条件, 使 XG-3 EPS 的产量由 (34.97 ± 1.87) g/L 升至 (56.82 ± 0.12) g/L, 提高了 1.87 倍. 通过优化培养基组分进一步提升 XG-3 EPS 产量, 优化后 EPS 最终产量达到 (89.32 ± 0.55) g/L. 该 XG-3 EPS 表现出优良的乳化性、特性粘度和重金属吸收能力. 本研究不仅提高了乳酸菌 EPS 产量, 还展示了其作为食品级稳定剂和乳化剂的潜在作用. 未来研究可进一步解析共培养对 EPS 生物合成途径及结构特征的影响, 并结合结构修饰与应用评价, 拓展其在食品、环境治理及生物医用材料中的应用潜力.

[参考文献]

- [1] Zhang R T, Zhou Z K, Ma Y H, et al. Production of the exopolysaccharide from *Lactiplantibacillus plantarum* YT013 under different growth conditions: optimum parameters and mathematical analysis [J]. *International Journal of Food Properties*, 2023, 26(1): 1941–1952.
- [2] Yang X Y, Ke C X, Li L. Physicochemical, rheological and digestive characteristics of soy protein isolate gel induced by lactic acid bacteria [J]. *Journal of Food Engineering*, 2021, 292: 110243.
- [3] Jurášková D, Ribeiro S, Silva C. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from biosynthesis to health-promoting properties [J]. *Foods*, 2022, 11(2): 156.
- [4] Zhang J, Yao Y J, Li J, et al. Impact of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria on the chemical, rheological properties of buckwheat sourdough and the quality of buckwheat bread [J]. *Food Chemistry*, 2023, 425: 136369.
- [5] Singh A, Roy S, Saini P. Exploring lead biosorption via *Lactobacillus*-based exopolysaccharides and biofilms: a structural and functional study [J]. *Next Sustainability*, 2026, 7: 100226.
- [6] Xu H T, Li Y Q, Song J P, et al. Highly active probiotic hydrogels matrixed on bacterial EPS accelerate wound healing via maintaining stable skin microbiota and reducing inflammation [J]. *Bioactive Materials*, 2024, 35: 31–44.
- [7] 李佳伟, 虞宁馨, 于连升, 等. 乳酸菌胞外多糖在食品工业中的应用研究 [J]. *中国酿造*, 2023, 42(6): 17–21.
- [8] 陈少先, 林佳欣, 王杰, 等. 乳酸菌胞外多糖在食品中的研究进展及应用前景 [J]. *食品工业*, 2025, 46(2): 206–212.
- [9] 夏季, 杨琴, 李慧. 开菲尔粒中乳酸菌胞外多糖的提取及其抗氧化活性评价 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2025, 16(16): 279–287.
- [10] Ramaprabha K, Kumar V, Saravanan P, et al. Exploring the diverse applications of Carbohydrate macromolecules in food, pharmaceutical, and environmental technologies [J]. *Environmental Research*, 2024, 240: 117521.
- [11] 赵丹, 赵守祺, 王烁, 等. 融合魏斯氏菌 P2 胞外多糖对巨噬细胞 RAW264.7 增殖及免疫调节活性的影响 [J]. *黑龙江大学自然科学学报*, 2024, 41(2): 200–206.
- [12] 秦孟春, 张玲芳, 胡顺安, 等. 乳酸菌胞外多糖抗肿瘤活性研究进展 [J]. *中国乳品工业*, 2023, 51(9): 36–40.
- [13] Ahmed Z, Mehmood T, Ferheen I, et al. Optimization of exopolysaccharide produced by *L. Kefiranofaciens* ZW3 using response surface methodology [J]. *International Journal of Food Properties*, 2023, 26(1): 2285–2293.
- [14] 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.
- [15] Angelis S D, Novak A, Sydney E, et al. Co-culture of microalgae, cyanobacteria, and macromycetes for exopolysaccharides

- production; process preliminary optimization and partial characterization[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 167(5):1092–1106.
- [16] Ren Y X, Pei F Y, Cao X B, et al. Purification of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* and changes in their characteristics by regulating quorum sensing genes *via* polyphenols[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 240:124414.
- [17] Chen W, Gao L, Song L R, et al. An improved phenol-sulfuric acid method for the quantitative measurement of total carbohydrates in algal biomass[J]. *Algal Research*, 2023, 70:102986.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] Jiang J, Guo S X, Ping W X, et al. Optimization production of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* L2 and its partial characterization[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 159:630–639.
- [21] Nguyen T T D, Nguyen T T, An Binh Q, et al. Co-culture of microalgae-activated sludge for wastewater treatment and biomass production: Exploring their role under different inoculation ratios[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 314:123754.
- [22] 刘丽娜, 郭尚旭, 姜静, 等. 融合魏斯氏菌 (*Weissella confusa*) XG-3 产胞外多糖条件研究[J]. *黑龙江大学学报*, 2020, 11(3):85–91.
- [23] Zhang Y, Dai X F, Jin H N, et al. The effect of optimized carbon source on the synthesis and composition of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus paracasei*[J]. *Journal of Dairy Science*, 2021, 104(4):4023–4032.
- [24] Rosca I, Petrovici A R, Peptanariu D, et al. Biosynthesis of dextran by *Weissella confusa* and its *in vitro* functional characteristics[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107:1765–1772.
- [25] Gamar L, Blondeau K, Simonet J M. Physiological approach to extracellular polysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* strain C83[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1997, 83(3):281–287.
- [26] Zhang L, Zhao B, Liu C J, et al. Optimization of biosynthesis conditions for the production of exopolysaccharides by *Lactobacillus plantarum* SP8 and the exopolysaccharides antioxidant activity test[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2020, 60(3):334–345.
- [27] Adesulu-Dahunsi A, Sanni A, Jeyaram K, et al. Extracellular polysaccharide from *Weissella confusa* OF126: Production, optimization, and characterization[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 111:514–525.
- [28] Imran M Y M, Reehana N, Jayaraj K A, et al. Statistical optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus plantarum* NTMI05 and NTMI20[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93:731–745.
- [29] 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.
- [30] Sørensen H M, Rochfort K D, Maye S, et al. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: production, purification and health benefits towards functional food[J]. *Nutrients*, 2022, 14(14):2938.
- [31] Yang X B, Yang Y Y, Zhang Y F, et al. Enhanced exopolysaccharide production in submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* by Tween 80 supplementation[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2021, 44(1):47–56.
- [32] 姜静, 郭尚旭, 张鑫, 等. 融合魏斯氏菌 (*Weissella confusa*) XG-3 的分离鉴定及其胞外多糖性质初步研究[J]. *黑龙江大学自然科学学报*, 2020, 37(1):71–80.
- [33] Du R P, Yu L N, 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.
- [34] 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):9115.
- [35] Diana C R, Humberto H S, Jorge Y F. Structural characterization and rheological properties of dextran produced by native strains isolated of *Agave salmiana*[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 90:1–8.
- [36] 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.
- [37] Liu L N, Xu J J, Na R Y, et al. Purification, characterization and partial biological activities of exopolysaccharide produced by *Saccharomyces cerevisiae* Y3[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 206:777–787.
- [38] Zhang H, Nie S P, Guo Q B, et al. Conformational properties of a bioactive polysaccharide from *Ganoderma atrum* by light scattering and molecular modeling[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 84:16–25.
- [39] Chouana T, Pierre G, Vial C, et al. Structural characterization and rheological properties of a galactomannan from *Astragalus*

- gombo* Bunge seeds harvested in Algerian Sahara[J]. Carbohydrate Polymers,2017,175:387-394.
- [40] 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.
- [41] 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.
- [42] Concórdio-Reis P,Reis M A,Freitas F. Biosorption of heavy metals by the bacterial exopolysaccharide FucoPol[J]. Applied Sciences,2020,10(19):6708.
- [43] Vadillo-Rodríguez V,Busscher H J,Norde W,et al. Dynamic cell surface hydrophobicity of *Lactobacillus* strains with and without surface layer proteins[J]. Journal of Bacteriology,2004,186(19):6647-6650.
- [44] Zhou B S,Wang C L,Yang Y,et al. Structural characterization and biological properties analysis of exopolysaccharides produced by *Weissella cibaria* HDL-4[J]. Polymers,2024,16(16):2314.
- [45] Yu Y J,Chen Z,Chen P T,et al. Production, characterization and antibacterial activity of exopolysaccharide from a newly isolated *Weissella cibaria* under sucrose effect[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering,2018,126(6):769-77.

[责任编辑:黄 敏]