

# 一株波茨坦短芽孢杆菌产胞外多糖条件优化及多糖乳化性分析

梁安健<sup>1</sup>,丁玲玲<sup>1</sup>,王金丽<sup>1</sup>,朱成林<sup>1</sup>,邹立扣<sup>2</sup>,朱鹏程<sup>3\*</sup>,李东亮<sup>3</sup>,唐俊妮<sup>1\*</sup>

(1.西南民族大学食品科学与技术学院,四川成都610041;2.四川农业大学资源学院,四川成都611830;3.四川中烟工业有限责任公司,四川成都610021)

**摘要:**为提高细菌胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)的工业生产效率,该研究通过单因素试验优化一株波茨坦短芽孢杆菌 S8 的产糖培养条件,进一步采用 Plackett-Burman 设计和最陡爬坡试验对最佳产糖培养条件进行响应面优化,并将菌株所产 EPS 分别与不同疏水底物混合,以吐温 80 作阳性对照,对其乳化性进行探究。结果表明:优化的最佳产糖条件为接种量 4.56%、培养时间 39.9 h、碳源添加量 30.04 g/L;在此条件下, EPS 产量可达到 (107.81±1.47) mg/L;乳化性探究试验结果表明波茨坦短芽孢杆菌 S8 产生的 EPS 对疏水性底物具有较好的乳化作用,12 h 和 24 h 的乳化效果明显优于吐温 80。

**关键词:**胞外多糖;波茨坦短芽孢杆菌;培养条件;产量;乳化性

## Culture Condition Optimization of a *Brevibacillus borstelensis* Strain for Producing Exopolysaccharides and Analysis of Exopolysaccharide Emulsifying Performance

LIANG Anjian<sup>1</sup>, DING Lingling<sup>1</sup>, WANG Jinli<sup>1</sup>, ZHU Chenglin<sup>1</sup>, ZOU Likou<sup>2</sup>, ZHU Pengcheng<sup>3\*</sup>, LI Dongliang<sup>3</sup>, TANG Junni<sup>1\*</sup>

(1. College of Food Sciences and Technology, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, Sichuan, China; 2. College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611830, Sichuan, China; 3. China Tobacco Sichuan Industrial Co., Ltd., Chengdu 610021, Sichuan, China)

**Abstract:** The culture conditions of *Brevibacillus borstelensis* S8 for producing exopolysaccharides (EPS) were explored by single-factor experiments to improve the production efficiency of EPS. The culture conditions for producing EPS were optimized by Plackett-Burman design and steepest ascent experiments. The EPS produced by strain S8 was mixed with different hydrophobic substrates to investigate its emulsifying performance, with Tween 80 as a positive control. The results showed that the optimal culture conditions of the strain for EPS production were the inoculation amount of 4.56%, carbon source addition at 30.04 g/L, and culture for 39.9 h. Under these conditions, the EPS yield reached (107.81±1.47) mg/L. The EPS produced by *B. borstelensis* S8 had good emulsifying performance on hydrophobic substrates, with the emulsifying performance better than that of Tween 80 at the time points of 12 h and 24 h.

**Key words:** exopolysaccharides; *Brevibacillus borstelensis*; culture condition; output; emulsifying performance

引文格式:

梁安健,丁玲玲,王金丽,等.一株波茨坦短芽孢杆菌产胞外多糖条件优化及多糖乳化性分析[J].食品研究与开发,2025,46(2):136-143.

LIANG Anjian, DING Lingling, WANG Jinli, et al. Culture Condition Optimization of a *Brevibacillus borstelensis* Strain for Producing Exopolysaccharides and Analysis of Exopolysaccharide Emulsifying Performance[J]. Food Research and Development, 2025, 46(2): 136-143.

基金项目:卷烟减害降焦四川省重点实验室开放课题项目(川烟工技[2022]220号);西南民族大学大学生创新创业训练计划项目(S202410656125)

作者简介:梁安健(2000—),男(汉),硕士研究生,研究方向:食品安全与食品微生物。

\*通信作者:唐俊妮(1971—),女(汉),教授,博士,研究方向:食品安全与食品微生物。

微生物胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)是一类具有丰富结构和功能的天然高分子化合物,广泛存在于微生物(如细菌、真菌等)的细胞外环境中<sup>[1]</sup>。由于其特殊的生物活性和优异的功能性质,成为了近年来的研究热点。在食品工业中, EPS可作为天然的增稠剂和凝胶剂<sup>[2-3]</sup>,在食品加工过程中起到调节和保持食品结构、改善产品的质地和口感的作用<sup>[4]</sup>;其次, EPS具有出色的乳化性能,因其可以稳定油水混合物,所以广泛应用于乳制品、面包、糕点等食品中<sup>[5]</sup>;另外, EPS还具有抗氧化、抗菌和免疫调节等生物活性,可延长食品的保质期,提高产品的品质和安全性<sup>[6]</sup>。随着人们对健康产品需求的不断增长, EPS在功能性食品领域也表现出较大的应用潜力,其具有调节血糖、降低胆固醇、增强免疫力等保健功能,可应用于功能性饮料、膳食补充剂等产品中<sup>[7-9]</sup>。尽管微生物胞外多糖具有缓解炎症、抗氧化、乳化性、保湿性等多方面的功能,但是,其在食品工业中的应用也面临着一些挑战和难题。如何提高产率并高效提取微生物胞外多糖,如何开发其应用工艺和优化稳定性,以及微生物胞外多糖与其他食品成分相容性等问题都需要进一步研究和探索<sup>[10]</sup>。

本试验以一株环境分离的波茨坦短芽孢杆菌为目标菌株,从生长条件、培养基成分等关键工艺因素进行优化,探究细菌产胞外多糖的最佳条件,进一步将提取的 EPS与不同疏水底物混合,探究 EPS的乳化性,以期 EPS的工业生产方法提供理论基础,并为其后续利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株来源

波茨坦短芽孢杆菌 S8: 分离来源于土壤, 由四川农业大学资源学院微生物实验室提供。

#### 1.1.2 试剂

胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)培养基: 青岛海博生物公司; 果糖、蔗糖、葡萄糖、水溶性淀粉、乳糖、吐温 80、牛肉膏、蛋白胨、酵母浸粉(分析纯): 北京索莱宝科技有限公司; 三氯乙酸(分析纯): 成都科隆化学有限公司; 橄榄油、大豆油、菜籽油、芝麻油、汽油: 市售。

### 1.2 仪器与设备

GHP-9270D 恒温培养箱: 上海齐欣科学仪器有限公司; 5810R 冷冻离心机: 艾本德(上海)国际贸易有限公司; SP-726 酶标仪: 上海沛欧分析仪器有限公司; SP-176 紫外分光光度计: 上海美谱达仪器有限公司; MLS-3030H 高压蒸汽灭菌锅: 上海拜格生物科技发展有限公司; F6/10 高速匀浆机: 上海净信实业发展有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 菌株 S8 胞外多糖的提取

参考李兴恺等<sup>[11]</sup>的方法提取菌株 EPS。将活化后

的 S8 菌液以 2% 添加量接种于 TSB 培养基中, 37 °C、180 r/min 条件下培养 36 h 后, 与预冻完全的 95% 乙醇混合, 于 4 °C 下放置过夜。在 10 000 r/min、4 °C 条件下离心 20 min 后收集沉淀, 并加入适量超纯水使其完全溶解, 加入等体积 10% 三氯乙酸, 将其混匀后于 4 °C 条件下沉淀静置过夜。待蛋白沉淀完全后, 在 10 000 r/min、4 °C 条件下离心 20 min, 保留上清液。加入 3 倍体积的 95% 乙醇与上清液混合, 于 4 °C 条件下, 静置过夜。收集沉淀后, 置于截留量为 14 000 Da 的透析袋中, 在 4 °C 的超纯水中透析 48 h, 每隔 2 h 更换 UP 水, 透析完成后, 将样品冷冻干燥, 所得粉体即为胞外多糖粗品。

#### 1.3.2 EPS 的分离纯化

参考彭嘉屹等<sup>[12]</sup>的方法对 EPS 进一步纯化, 配制浓度为 10 mg/mL 的 EPS 溶液, 上样于 DEAE-52 层析柱中(10 mm×60 cm, 填充高度 40 cm), 以 0.5 mL/min 流速的 UP 水洗脱。收集纯化后的 EPS, 冷冻干燥后测定多糖含量。

#### 1.3.3 多糖含量测定

采用苯酚硫酸法<sup>[13]</sup>测定多糖含量。

#### 1.3.4 单因素试验

为确定最适产糖条件, 进行单因素优化试验。探究菌株最适产糖培养基成分时, 以 TSB 为基础培养基的条件下进行成分的添加以及变量控制, 试验方案设计以文献[14-17]的试验方案为基础, 试验设计见表 1、表 2。

表 1 最适产糖培养条件单因素试验设计

Table 1 Single factor design for optimizing the culture conditions for EPS production

培养时间/h	培养温度/°C	接种量/%	初始 pH 值
12、24、36、48、60	35	2	7
36	25、30、35、40、45	2	7
36	40	2、4、6、8、10	7
36	40	4	5、6、7、8、9

表 2 最适产糖培养基成分单因素试验设计

Table 2 Single factor design for optimizing the medium composition for EPS production

氮源	碳源	添加量/(g/L)
胰蛋白胨、牛肉膏、酵母浸粉、胰蛋白胨+牛肉膏(1:1, 质量比)、蛋白胨+酵母浸粉(1:1, 质量比)、牛肉膏+酵母浸粉(1:1, 质量比)	TSB 基础上无额外添加	2
TSB 基础上无额外添加	果糖、葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉、乳糖	10
蛋白胨+酵母浸粉	TSB 基础上无额外添加	2、4、6、8、10
TSB 基础上无额外添加	蔗糖	10、20、30、40、50

#### 1.3.5 Plackett-Burman (P-B) 试验

在单因素试验基础上, 选用试验次数为 12 的 P-B

设计,以培养时间、培养温度、接种量、初始 pH 值以及氮源、碳源添加量 6 个因素进行评价,选出主响应因子,每个因素取最高(1)和最低(-1)两个水平<sup>[18]</sup>。

### 1.3.6 最陡爬坡试验

最陡爬坡试验是根据各因素的效应大小和变化方向确定爬坡步长和方向。根据 P-B 试验的结果,选择对 EPS 产量有显著影响的因素作为响应面试验的中心点开展试验,由此逼近最大响应值区域<sup>[19]</sup>。

### 1.3.7 Box-Behnken (B-B) 试验

在 PB 试验和最陡爬坡试验结果的基础上,选择 A 接种量、B 培养时间、C 碳源添加量 3 个因素,建立三因素三水平模型对产糖量(Y)进行优化,其余因素条件固定为单因素试验所得产糖最优条件。因素与水平见表 3。

表 3 Box-Behnken 设计因素与水平

Table 3 Factors and levels of Box-Behnken design

水平	A 接种量/%	B 培养时间/h	C 碳源添加量/(g/L)
-1	3	36	25
0	4	40	30
1	5	44	35

### 1.3.8 模型验证

对 B-B 试验得出的模型进行显著性检验,并按照所得出的最佳产糖培养条件培养菌株后,将产糖量的实际值与模型预测值相比较,判断模型是否有偏差。

### 1.3.9 EPS 乳化性探究

乳化率通常指乳化层体积与溶液总体积的比值。参照杨棒棒等<sup>[20]</sup>的方法并进行调整,将胞外多糖配制成 5 g/L 的溶液,以吐温 80 作为阳性对照。分别选择橄榄油、大豆油、菜籽油、芝麻油、汽油作为疏水性底物,与 EPS 以 3:2 体积比混合。接着使用高速匀浆机剧烈振荡 2 min,在室温下静置,在 12、24、36、48、60 h 取样测定乳化率。乳化率(Y,%)计算公式如下。

$$Y = \frac{V_1}{V_2} \times 100$$

式中:V<sub>1</sub>为乳化层体积,mL;V<sub>2</sub>为底物总体积,mL。

### 1.4 数据处理

所有试验均进行 3 次重复试验,所得数据经过 IBM SPSS Statistics 27 的单因素 ANOVA 进行显著性分析(P<0.05),使用 Origin 2022 进行绘图,使用 DE 13 进行 P-B 试验、最陡爬坡试验、B-B 试验的试验设计及分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果分析

#### 2.1.1 菌株生长、产糖曲线及葡萄糖标准曲线的绘制

根据苯酚硫酸法绘制葡萄糖标准曲线,得到方

程为  $y=0.0055x+0.006$ ,  $R^2=0.9924$ 。培养时间是影响 EPS 产生的重要条件之一<sup>[21]</sup>,根据单因素探究最适产糖培养时间所得结果绘制产糖曲线见图 1。

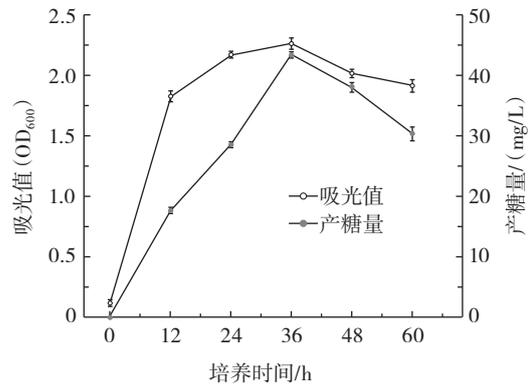


图 1 葡萄糖标准曲线及菌株生长和产糖曲线

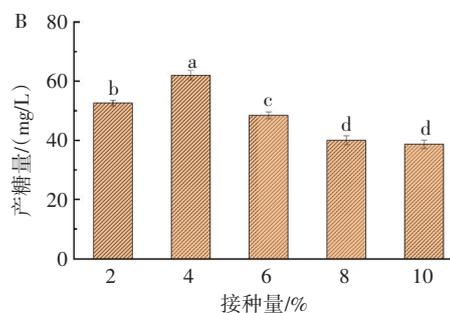
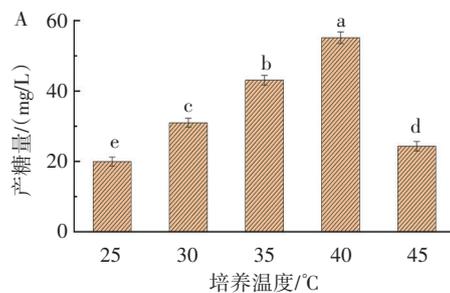
Fig.1 Glucose standard curve, strain growth curve, and EPS production curve

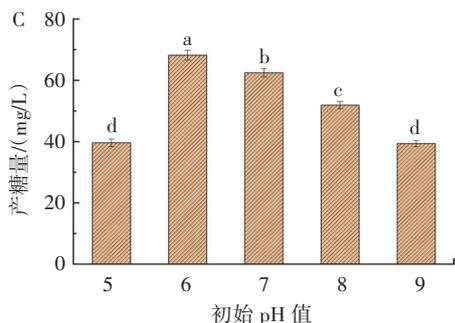
由图 1 可知,在培养时间为 36 h 时,菌株产糖量达到最高 42.3 mg/L,此时菌液的 OD<sub>600</sub> 也处于最高点。

#### 2.1.2 环境条件对菌株产糖量的影响

环境温度影响微生物 EPS 的合成。在较低温度下,微生物的代谢活性减弱,导致胞外多糖的合成速率慢,产量少;过高的温度则可能破坏细胞结构,也会影响胞外多糖的产生<sup>[22]</sup>。不同的微生物菌株对环境温度的适应能力有所差异。因此,进行单因素试验探究菌株的最适环境条件,结果见图 2。

由图 2A 可知,在 40 °C 条件下培养,菌株产糖量达到最高点 55.14 mg/L,继续升高培养温度,产糖量呈下降趋势,因此 40 °C 为菌株最适培养温度,与 Khanal 等<sup>[23]</sup>所得结果相符,因此选择培养温度为 40 °C 进行后续试验。





A. 培养温度;B. 接种量;C. 初始 pH 值。不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

图2 环境条件对菌株产糖能力的影响

Fig.2 Effects of different culture conditions on EPS production

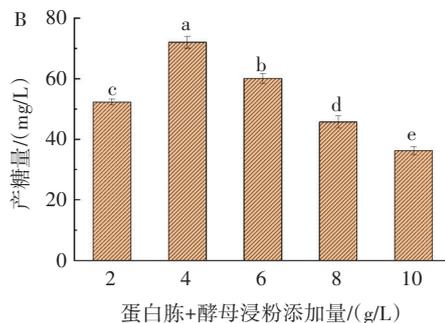
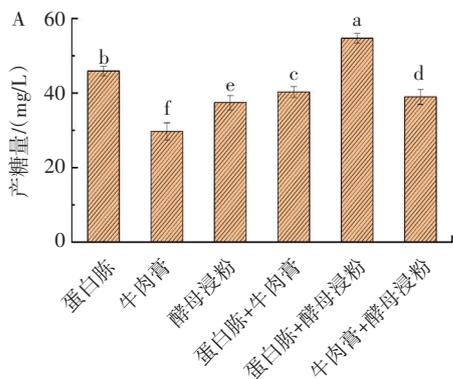
菌株在培养过程中需要足够的营养物质和空间来生长和繁殖,从而提高产糖能力,但过高的接种量会导致菌株之间的竞争以及加快营养物质的消耗,从而降低EPS的产量<sup>[24]</sup>。由图2B可知,菌株S8最适产糖接种量为4%,此时,产糖量为62.02 mg/L,继续增大接种量时,随着接种量的增加产糖量逐渐减小,因此选择接种量为4%进行后续试验。

由图2C可知,初始pH值为6时,菌株的产糖量达到最大值,为68.22 mg/L。随着初始pH值的增加,菌株的产糖量呈现出缓慢下降的趋势。因此,初始pH值为6时是菌株产糖的最佳pH值条件,与杨棒棒等<sup>[25]</sup>的研究结果相似,因此选择初始pH值为6进行后续试验。

### 2.1.3 最适产糖氮源及其添加量结果分析

氮源种类的选择是微生物次级代谢产物合成的重要影响因素<sup>[26]</sup>,氮源种类及其添加量对菌株产糖能力的影响见图3。

由图3A可知,在控制其他条件相同的情况下,不同氮源种类中,混合氮源蛋白胨+酵母浸粉(1:1,质量比)的产糖量最高,为53.9 mg/L。由图3B可知,当混合氮源蛋白胨+酵母浸粉添加量为4 g/L时,菌株的产糖量达到最高值,为72.02 mg/L,之后随着添加量的增加,产糖量逐渐减少,因此选择4 g/L蛋白胨+酵母浸粉(1:1,质量比)作为氮源进行后续试验。



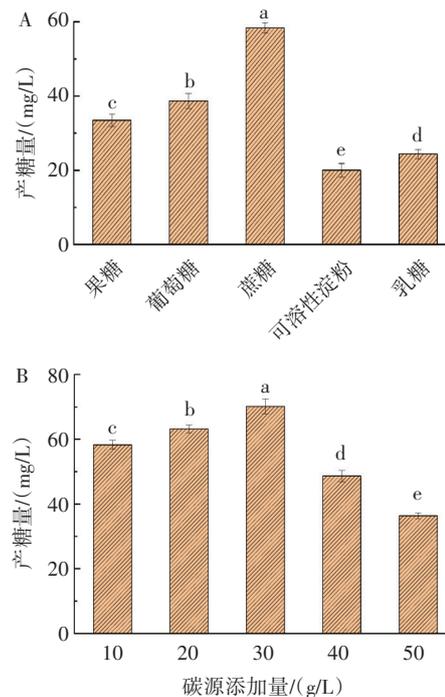
A. 氮源种类对产糖量的影响;B. 氮源添加量对产糖量的影响。不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

图3 氮源种类及其添加量对菌株产糖能力的影响

Fig.3 Effects of nitrogen sources and their addition amounts on EPS production

### 2.1.4 最适产糖碳源及其添加量结果分析

碳源种类及其添加量对菌株产糖能力的影响结果见图4。



A. 碳源种类对产糖量的影响;B. 碳源添加量对产糖量的影响。不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

图4 碳源种类及其添加量对菌株产糖能力的影响

Fig.4 Effects of carbon sources and their addition amounts on EPS production

由图4A可知,当选择蔗糖作为唯一碳源时,产糖量最高,达到58.34 mg/L,因此,进一步对其进行最适添加量探究。由图4B可知,蔗糖添加量为10~20 g/L时,产糖量缓慢增加,当添加量为30 g/L时,产糖量达到最高(70.14 mg/L),之后随着添加量的增加,产糖量逐渐降低,因此选择30 g/L左右的蔗糖作为碳源进行后续试验。

## 2.2 响应面优化菌株产糖条件

### 2.2.1 P-B 试验结果分析

P-B 试验的结果见表 4。

表 4 P-B 试验结果

Table 4 Results of P-B design

序号	培养时间/h	培养温度/°C	接种量	pH 值	氮源添加量/(g/L)	碳源添加量/(g/L)	产糖量/(mg/L)
1	24	35	6	5	6	40	40.7
2	24	45	6	7	2	20	40.6
3	48	45	2	7	6	40	54.1
4	24	45	6	5	6	40	50.3
5	48	35	2	5	6	20	48.3
6	48	35	6	7	6	20	50.2
7	48	45	6	5	2	20	57.2
8	48	45	2	5	2	40	52.3
9	24	35	2	5	2	20	54.6
10	48	35	6	7	2	40	39.8
11	24	35	2	7	2	40	50.4
12	24	45	2	7	6	20	55.3

由表 4 可知,影响菌株产胞外多糖能力的环境因素主要有培养时间、培养温度、初始 pH 值、接种量、氮源添加量及碳源添加量,根据表 4 所得结果,利用 Design-Expert 13 推断出各因素的效应系数。P-B 试验各因素水平及效应评价见表 5。

表 5 P-B 试验各因素水平及效应评价

Table 5 Factor effect evaluation of P-B design

因素	效应系数	影响顺序
培养时间	4.70	1
培养温度	3.57	4
菌液接种量	-3.66	3
pH 值	1.7	6
氮源添加量	-1.91	5
碳源添加量	-3.77	2

由表 5 可知,根据效应系数大小选取 3 个因素,即接种量、培养时间和碳源添加量,因此选择这 3 个因素进行后续试验,并根据单因素试验结果保持其他因素为最适产糖值。

### 2.2.2 最陡爬坡试验结果分析

通过 P-B 试验的筛选,确定了对菌株产酶能力最显著的 3 个因素,分别是培养时间、菌液接种量以及碳源添加量。为确定响应面试验的中心点,选择上述 3 个因素进行最陡爬坡试验。根据接种量和碳源添加量的效应系数为负值,选择从低水平进行爬坡试验。而培养时间的效应系数为正值,因此选择高水平进行爬坡试验。最陡爬坡试验结果见表 6。

由表 6 可知,第 4 组试验的产糖量最高。因此,选择接种量 4%、培养时间 40 h、碳源添加量 30 g/L 作为 B-B 试验的中心点。

表 6 最陡爬坡试验结果

Table 6 Result of steepest ascent experiments

编号	接种量/%	培养时间/h	碳源添加量/(g/L)	产糖量/(mg/L)
1	1	54	15	35.53
2	2	48	20	56.26
3	3	44	25	75.23
4	4	40	30	106.13
5	5	36	35	82.47

### 2.2.3 B-B 试验结果

B-B 试验设计方案及结果见表 7。

表 7 B-B 设计优化方案及结果

Table 7 B-B design and results

编号	A 接种量/%	B 培养时间/h	C 碳源添加量/(g/L)	Y 产糖量/(mg/L)
1	3	36	30	78.33
2	5	36	30	77.89
3	3	44	30	71.61
4	5	44	30	77.76
5	3	40	25	82.47
6	5	40	25	70.65
7	3	40	35	71.40
8	5	40	35	73.37
9	4	36	25	81.92
10	4	44	25	76.18
11	4	36	35	76.44
12	4	44	35	76.99
13	4	40	30	110.34
14	4	40	30	108.75
15	4	40	30	106.87
16	4	40	30	107.31
17	4	40	30	107.30

由表 7 可知,使用 Design Expert 13 软件对 B-B 试验的结果进行回归分析,所得的模型方程为  $Y=108.11-0.5175A-1.5B-1.63C+1.65AB+3.45AC+1.57BC-17.56A^2-14.15B^2-16.08C^2$ 。

回归模型方差分析见表 7。

表 7 产糖条件优化模型方差分析

Table 7 Analysis of variance for optimization model of EPS production conditions

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	3 716.40	9.00	412.93	71.34	<0.000 1	**
A 接种量	2.14	1.00	2.14	0.37	0.560 0	
B 培养时间	18.12	1.00	18.12	3.13	0.120 0	
C 碳源添加量	21.19	1.00	21.19	5.66	0.040 0	*
AB	10.86	1.00	10.86	1.88	0.210 0	
AC	47.54	1.00	47.54	8.21	0.020 0	*
BC	9.89	1.00	9.89	1.71	0.230 0	
A <sup>2</sup>	1 298.81	1.00	1 298.81	224.39	0.000 0	**
B <sup>2</sup>	843.43	1.00	843.43	145.71	0.000 0	**
C <sup>2</sup>	1 088.46	1.00	1 088.46	188.05	0.000 0	**
残差	40.52	7.00	5.79			
失拟项	32.30	3.00	10.77	5.24	0.07	
纯误差	8.22	4.00	2.05			
总和	3 756.92	16.00				

注:\*表示影响显著( $P<0.05$ );\*\*表示影响极显著( $P<0.01$ )。

由表7可知,该模型的  $F$  值为 71.34,  $P < 0.01$ , 表明模型极显著,失拟项  $F$  值为 5.24,  $P > 0.05$ , 则失拟项不显著。模型的决定系数  $R^2 = 0.9892$ , 证明模型具有良好的相关性, 矫正决定系数为 0.9753, 与  $R^2$  较为接近, 说明模型拟合度高, 此外, 碳源添加量对菌株产糖量影响显著 ( $P < 0.05$ );  $AC$  对产糖量影响显著 ( $P < 0.05$ ); 二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  影响极显著 ( $P < 0.01$ ), 综上所述, 表明模型对菌株产糖情况拟合程度较好。

Design-Expert 13 绘制不同组合因素之间的响应面结果及分析图见图5。

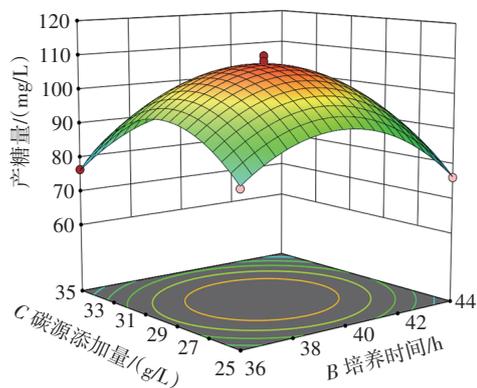
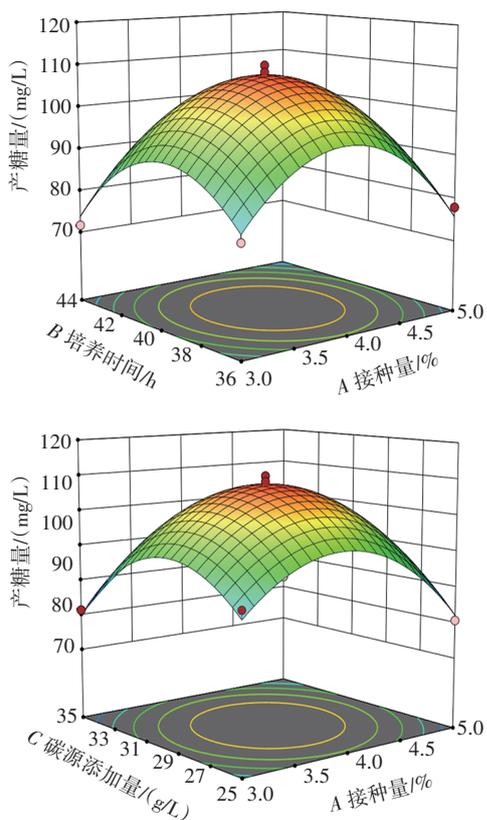


图5 各因素对产糖量交互作用的响应面和等高线

Fig.5 Response surfaces and contour plots of the effects of interactions between factors on EPS production

等高线表示越接近圆形则两因素之间交互作用不显著, 反之, 越接近椭圆形则表示交互作用越显著<sup>[27-28]</sup>。由图5和方差分析可知, 菌液接种量和碳源添加量的交互作用对菌株S8产糖量影响显著, 而培养时间和接种量的交互作用、碳源添加量和培养时间的交互作用对产糖量影响不显著。随着各因素数值的增加, 菌株产糖量呈现先增加后减少的趋势。

### 2.2.4 模型验证试验

利用 Design-Expert 13 软件分析, 对菌株产糖最优培养条件参数进行预测。得到的工艺条件为接种量 4.56%、培养时间 39.9 h、碳源添加量 30.04 g/L。在此条件下进行 3 次重复试验, 测得菌株产糖量的平均值为  $(107.81 \pm 1.47)$  mg/L。与预测值 102.29 mg/L 相比, 误差仅为 5.12%, 这表明该模型能够对菌株产糖量的实际情况进行预测。与其他产多糖菌株相比, 低于杨棒棒等<sup>[20]</sup>的菌株产糖量 (140.49 mg/L), 远低于吴寒月等<sup>[29]</sup>的菌株产糖量 (261.56 mg/L)。

### 2.3 多糖乳化性探究结果

菌株 S8 产 EPS (5 g/L) 的乳化性探究结果见表 9。

表9 菌株 S8 产 EPS (5 g/L) 的乳化性探究结果

Table 9 Emulsification rates of EPS to different hydrophobic substrates

疏水底物	12 h 乳化率/%		24 h 乳化率/%		36 h 乳化率/%		48 h 乳化率/%	
	EPS	吐温 80						
橄榄油	100.00	83.47	92.34	77.46	87.52	73.79	81.31	72.24
大豆油	100.00	81.63	95.61	73.62	90.97	68.36	88.26	67.14
菜籽油	94.80	74.32	79.89	74.12	62.11	72.03	43.68	70.86
芝麻油	98.67	78.65	94.65	74.33	92.17	68.73	89.82	68.08
汽油	100.00	79.83	82.34	70.64	71.46	66.67	65.21	65.97

由表9可知, 菌株 S8 产的 EPS 对部分疏水性底物具有乳化作用, 混合 12 h 时, EPS 对各疏水底物的乳化率均高于吐温 80; 混合 24 h 时, EPS 对疏水底物的乳化率有所下降, 但仍高于吐温 80; 混合 36 h 后, EPS 对菜籽油的乳化率为 62.11%, 稍低于吐温 80 的

72.03%, 其余底物乳化率均高于吐温 80; 混合 48 h 后, EPS 对橄榄油、大豆油、芝麻油的乳化率高于吐温 80, 分别为 81.31%、88.26%、89.82%, 而对菜籽油和汽油的乳化率则低于吐温 80。与其他研究相比, 发现不同微生物产生的 EPS 间乳化性存在一定的差异, 如 Nikne-

zhad 等<sup>[30]</sup>研究发现胞外多糖对汽油和橄榄油的乳化率分别为 44.70% 和 57.80%, 低于本研究菌株 S8 产生的 EPS 乳化率。

### 3 结论

目前对于微生物胞外多糖的研究主要集中在乳酸菌和部分芽孢杆菌。关于波茨坦短芽孢杆菌产胞外多糖的研究相对较少。本研究通过对波茨坦短芽孢杆菌产胞外多糖培养条件进行优化和研究, 为工业生产 EPS 提供新的菌种资源。

通过单因素和响应面试验结果, 确定了菌株 S8 的最佳产糖培养条件为菌液的接种量 4.56%, 培养时间 39.9 h, 碳源的添加量 30.04 g/L, 在此条件下, 菌株 S8 的 EPS 产量可达到(107.81±1.47) mg/L。这些结果为进一步研究 EPS 的应用提供了依据。此外, 波茨坦短芽孢杆菌 S8 的 EPS 对部分疏水底物具有乳化性, 乳化性探究试验中发现波茨坦短芽孢杆菌 S8 产生的 EPS 于不同疏水底物混合 12、24 h 时, 对各底物乳化率均高于吐温 80。这些特性使其在后续有一定的开发应用潜力。未来还需针对 S8 菌株产生的 EPS 食用安全性及生物活性进行后续探究, 为食品工业胞外多糖的应用提供更多新方案。

### 参考文献:

- [1] SALIMI F, FARROKH P. Recent advances in the biological activities of microbial exopolysaccharides[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2023, 39(8): 213.
- [2] PETRY S, FURLAN S, WAGHORNE E, et al. Comparison of the thickening properties of four *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains and physicochemical characterization of their exopolysaccharides[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 221(2): 285-291.
- [3] PACHEKREPAPOL U, LUCEY J A, GONG Y, et al. Characterization of the chemical structures and physical properties of exopolysaccharides produced by various *Streptococcus thermophilus* strains[J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(5): 3424-3435.
- [4] 黄倩, 梁安健, 朱鹏程, 等. 魏斯氏菌胞外多糖在发酵食品中的应用进展[J]. 食品科学, 2024, 45(4): 352-359.  
HUANG Qian, LIANG Anjian, ZHU Pengcheng, et al. Progress in the application of extracellular polysaccharides of weissiella in fermented foods[J]. Food Science, 2024, 45(4): 352-359.
- [5] SUN L, YANG Y B, LEI P, et al. Structure characterization, antioxidant and emulsifying capacities of exopolysaccharide derived from *Pantoea alhagi* NX-11[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 261: 117872.
- [6] YANG H Y, MENG H, XIE L M, et al. Contribution of quercetin to the composition and antioxidant properties of *Monascus* exopolysaccharides[J]. Foods, 2023, 12(5): 1004.
- [7] CHEN Y C, HUANG S D, TU J H, et al. Exopolysaccharides of *Bacillus amyloliquefaciens* modulate glycemic level in mice and promote glucose uptake of cells through the activation of Akt[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 146: 202-211.
- [8] AFREEN A, AHMED Z, KHALID N, et al. Optimization and cholesterol-lowering activity of exopolysaccharide from *Lactiplantibacillus paraplantarum* NCCP 962[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(4): 1189-1204.
- [9] TIAN J J, ZHAO X G, TANG C, et al. Protective effect of *Paecilomyces cicadae* TJJ11213 exopolysaccharide on intestinal mucosa and regulation of gut microbiota in immunosuppressed mice[J]. Food Research International, 2023, 165: 112477.
- [10] NETRUSOV A I, LIYASKINA E V, KURGAEVA I V, et al. Exopolysaccharides producing bacteria: A review[J]. Microorganisms, 2023, 11(6): 1541.
- [11] 李兴恺, 张耀根, 姚皓昱, 等. 毛韧革菌胞外多糖的结构表征、抗氧化活性研究及发酵条件优化[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(21): 36-41.  
LI Xingkai, ZHANG Yaogen, YAO Haoyu, et al. Structure characterization, antioxidant activity and fermentation optimization of exopolysaccharide from *Stereum hirsutum* NX-22[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(21): 36-41.
- [12] 彭嘉屹, 李尧, 张孟雨, 等. 航天诱变肠膜明串珠菌胞外多糖的分离纯化、结构解析及功能活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(14): 25-34.  
PENG Jiayi, LI Yao, ZHANG Mengyu, et al. Isolation, purification, structure, and functional activity of the exopolysaccharides from a space mutant of *Leuconostoc enterica*[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(14): 25-34.
- [13] 周万龙, 焦学, 孙亚杰, 等. 1 株海洋来源鞘氨醇单胞菌胞外多糖的含量测定[J]. 中国海洋药物, 2017, 36(2): 27-34.  
ZHOU Wanlong, JIAO Xue, SUN Yajie, et al. Determination of extracellular polysaccharides produced by marine derived *Sphingomonas* sp. WG[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2017, 36(2): 27-34.
- [14] 蒋光阳, 田永强. 乳酸菌产胞外多糖的发酵条件优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2023, 42(4): 187-195.  
JIANG Guangyang, TIAN Yongqiang. Optimization of fermentation condition of lactic acid bacteria with high-yield exopolysaccharides and its antioxidant activity[J]. China Brewing, 2023, 42(4): 187-195.
- [15] 宋倩倩, 李苏冉, 胡宇辰, 等. 一株解淀粉芽孢杆菌胞外多糖的分离纯化及其抗氧化性研究[J]. 天津理工大学学报, 2022, 38(5): 27-36.  
SONG Qianqian, LI Suran, HU Yuchen, et al. Research on isolation, purification and antioxidant activity of exopolysaccharide from *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. Journal of Tianjin University of Technology, 2022, 38(5): 27-36.
- [16] 杨静, 高泽鑫, 朱莉, 等. 产胞外多糖的苏云金芽孢杆菌的筛选及发酵工艺优化[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(24): 124-131.  
YANG Jing, GAO Zexin, ZHU Li, et al. Screening of an extracellular polysaccharides producing *Bacillus thuringiensis* strain and its fermentation optimization[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(24): 124-131.
- [17] 杨清清, 雷霜江, 包善思, 等. 鼠李糖乳杆菌产胞外多糖发酵条件优化及发酵动力学模型构建[J]. 中国酿造, 2023, 42(5): 206-211.  
YANG Qingqing, LEI Shuangjiang, BAO Shansi, et al. Optimization of fermentation conditions and construction of fermentation kinetic model of exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus*[J]. China Brewing, 2023, 42(5): 206-211.
- [18] DHAGAT S, JUJJAVARAPU S E. Green synthesis of bioemulsifier and exopolysaccharides by *Brevibacillus borstelensis* and process parameters optimization using response surface model, genetic algorithm and NSGA[J]. Journal of Environmental Management, 2021, 291: 112667.

- [19] 王晓洁, 孟凡强, 周立邦, 等. 响应面优化侧孢短芽孢杆菌产短杆菌素发酵培养基[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 153-160.  
WANG Xiaojie, MENG Fanqiang, ZHOU Libang, et al. Optimization of brevibacillin fermentation medium with *Brevibacillus laterosporus* by response surface methodology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 153-160.
- [20] 杨棒棒, 周佳, 屈建航, 等. *Rufibacter sediminis* H-1 产胞外多糖发酵条件优化及多糖保湿和乳化性能研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2022, 43(3): 81-88.  
YANG Bangbang, ZHOU Jia, QU Jianhang, et al. Fermentation condition optimization, moisturizing and emulsifying properties of exopolysaccharides produced by *Rufibacter sediminis* H-1[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2022, 43(3): 81-88.
- [21] POLAK-BERECKA M, WAŚKO A, KUBIK-KOMAR A. Optimization of culture conditions for exopolysaccharide production by a probiotic strain of *Lactobacillus rhamnosus* E/N[J]. Polish Journal of Microbiology, 2014, 63(2): 253-257.
- [22] BENGGA A A, LLAMAS M G, IRAPORDA C, et al. Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains[J]. Food Microbiology, 2018, 69: 212-218.
- [23] KHANAL S N, LUCEY J A. Effect of fermentation temperature on the properties of exopolysaccharides and the acid gelation behavior for milk fermented by *Streptococcus thermophilus* strains DGCC7785 and St-143[J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(5): 3799-3811.
- [24] NEHAL F, SAHNOUN M, SMAOUI S, et al. Characterization, high production and antimicrobial activity of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* F-Mou[J]. Microbial Pathogenesis, 2019, 132: 10-19.
- [25] 杨棒棒, 符运会, 周佳, 等. 类芽孢杆菌 ZX-5 产胞外多糖的发酵条件优化及其保湿特性[J]. 现代食品科技, 2022, 38(1): 151-158.  
YANG Bangbang, FU Yunhui, ZHOU Jia, et al. Optimization of fermentation conditions and moisturizing properties of exopolysaccharides produced by *Paenibacillus ZX-5*[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(1): 151-158.
- [26] MARIMUTHU S, SHARON PAPPU J, RAJENDRAN K. Artificial neural network modeling and statistical optimization of medium components to enhance production of exopolysaccharide by *Bacillus* sp. EPS003[J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2023, 53(2): 136-147.
- [27] FAN H Y, DUMONT M J, SIMPSON B K. Extraction of gelatin from salmon (*Salmo salar*) fish skin using trypsin-aided process: Optimization by Plackett-Burman and response surface methodological approaches[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54(12): 4000-4008.
- [28] 蔡亚慧, 王青, 王文玉, 等. 暹罗芽孢杆菌 LW-1 产  $\gamma$ -聚谷氨酸发酵培养基的优化[J]. 食品工业科技, 2021, 42(16): 163-170.  
CAI Yahui, WANG Qing, WANG Wenyu, et al. Optimization of fermentation medium for  $\gamma$ -polyglutamic acid production by *Bacillus Siamese LW-1*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(16): 163-170.
- [29] 吴寒月, 王慧美, 岳庆磊, 等. 植物乳杆菌 PA01 胞外多糖合成条件的优化[J]. 家畜生态学报, 2023, 44(4): 22-30.  
WU Hanyue, WANG Huimei, YUE Qinglei, et al. Optimization of synthesis conditions of exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* PA01[J]. Journal of Domestic Animal Ecology, 2023, 44(4): 22-30.
- [30] NIKNEZHAD S V, NAJAFPOUR-DARZI G, MOROWVAT M H, et al. Exopolysaccharide production of *Pantoea* sp. BCCS 001 GH: Physical characterizations, emulsification, and antioxidant activities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118 (Pt A): 1103-1111.

加工编辑: 刘艳美  
收稿日期: 2023-10-08