

# 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

杨棒棒, 符运会, 周佳, 屈建航\*, 罗宇, 李海峰, 孙静怡, 张鑫  
(河南工业大学生物工程学院, 河南郑州 450001)

**摘要:** 自湖泊沉积物中分离得到一株产胞外多糖的细菌菌株 ZX-5, 通过 16S rRNA 基因测序和系统发育树分析, 表明该菌株为类芽孢杆菌 (*Paenibacillus* sp.); 使用硫酸-苯酚法测定胞外多糖产量, 同时对 pH、温度、碳源、碳源浓度、氮源、氮源浓度等 6 个发酵条件进行单因素试验和响应面试验, 并对二次模型进行方差分析, 结果表明, 蔗糖浓度、温度和硝酸钠浓度对产糖量影响较大, 且存在显著的交互作用, 对其进行响应面试验, 得出最佳产糖条件为初始蔗糖浓度 200 g/L、硝酸钠 3 g/L、 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  3 g/L、 $KH_2PO_4$  1 g/L、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.50 g/L, pH 6, 发酵温度 20 °C。该最优条件下菌株摇瓶发酵的胞外多糖产量为 34.55 g/L, 是基础水平 17.15 g/L 的 2.01 倍。ZX-5 菌株胞外多糖的保湿性能研究结果表明, 在干燥环境中, 38 h 该多糖的水分残留率为 50%, 具有优于甘油和壳聚糖的保湿特性。该研究在获得类芽孢杆菌 ZX-5 产胞外多糖最佳工艺条件的基础上, 研究了多糖保湿性能, 为其后续深入研究和开发奠定了基础。

**关键词:** 胞外多糖; 类芽孢杆菌; 发酵条件; 响应面优化; 保湿性

文章编号: 1673-9078(2022)01-151-158

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.1.0332

## Optimization of Fermentation Conditions and Moisturizing Properties of Exopolysaccharides Produced by *Paenibacillus* ZX-5

YANG Bangbang, FU Yunhui, ZHOU Jia, QU Jianhang\*, LUO Yu, LI Haifeng, SUN Jingyi, ZHANG Xin  
(College of Bioengineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** An exopolysaccharide-producing bacterial strain ZX-5 was isolated from lake sediments, and identified as *Paenibacillus* sp. by 16S rRNA gene sequencing and phylogenetic tree analysis. The yield of exopolysaccharides was determined by the sulfuric acid-phenol method. In the meantime, single factor tests and response surface tests were carried out on six fermentation conditions including pH, temperature, carbon source and concentration, and nitrogen source and concentration, with the analysis of variance performed on the quadratic model. Results showed that sucrose concentration, temperature and sodium nitrate concentration had a great influence on sugar production, and there were significant interactions. Response surface tests revealed that the optimal sugar-producing conditions were: the initial sucrose concentration, 200 g/L; sodium nitrate, 3 g/L;  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ , 3 g/L;  $KH_2PO_4$ , 1 g/L;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.50 g/L; pH, 6.00; fermentation temperature, 20 °C. Under the optimal conditions, the yield of exopolysaccharides from shake-flask fermentation with strain ZX-5 was 34.55 g/L, which was 2.01 times the base level of 17.15 g/L. The investigations on the moisturizing properties of the exopolysaccharides from the strain ZX-5 showed that in a dry environment, the moisture residual rate of the exopolysaccharide after 38 h was 50%, which had better moisturizing properties than glycerin and chitosan. In this study, on the basis of the optimal processing conditions for exopolysaccharide production by *Paenibacillus* ZX-5, the moisture retention property of the polysaccharide was studied, which laid a foundation for subsequent in-depth research and development.

引文格式:

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

收稿日期: 2021-03-27

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目 (20A180009); 国家自然科学基金项目 (31370147)

作者简介: 杨棒棒 (1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 环境微生物学, E-mail: 997166945@qq.com

通讯作者: 屈建航 (1976-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 环境微生物学, E-mail: qjh\_bata@163.com

**Key words:** exopolysaccharide; *Paenibacillus*; fermentation conditions; response surface optimization; moisturizing properties

多糖作为新型天然产物,越来越受到人们关注。自然界中多糖主要从植物和微生物中提取,其中微生物具有生长周期短、条件易控、多糖易与菌体分离、提取精制容易且不受季节因素和病虫害影响等优点,在工业化生产方面具有广阔的发展前景<sup>[1]</sup>。

胞外多糖(Extracellular polysaccharides, EPS)是一些特殊微生物在生长代谢过程中分泌到细胞壁外的一种高分子水溶性物质,从表观形态上分为荚膜多糖和粘液多糖<sup>[2]</sup>。胞外多糖具有抗氧化性<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4]</sup>、免疫调节<sup>[5]</sup>等活性,也可作为增稠剂、乳化剂、稳定剂等食品添加剂运用到食品生产和生活中<sup>[6]</sup>。目前报道产胞外多糖的微生物有细菌、真菌和放线菌,细菌中已有报道明串珠菌属(*Leuconostoc*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)等,类芽孢杆菌也有报道。Gao等<sup>[7]</sup>从西藏牦牛奶中分离得到一株类芽孢杆菌,经鉴定该菌是一个新种,所产生的EPS可增强免疫活性<sup>[8]</sup>。戴德慧等<sup>[9]</sup>用不同浓度的类芽孢杆菌胞外多糖喂养小鼠,并进行急性经口毒性试验、骨髓细胞染色体畸变等实验,表明小鼠的最大粘多糖耐受剂量为12 g/kg,该粘多糖为无毒物质。Sun等<sup>[10]</sup>利用*Paenibacillus* sp.产的EPS,在相对湿度为43%和81%的条件下,吸湿率接近于透明质酸,这些特性使EPS成为化妆品行业中较昂贵的透明质酸的良好替代品。保湿作用是护肤品行业最重要的性能之一,在护肤品中添加一定比例的保湿剂,既可减少产品水分的散失,又可和表皮水分进行水合,从而起到保湿增湿作用<sup>[11]</sup>。虽然微生物胞外多糖具有巨大的优势,但产胞外多糖菌株的开发及其发酵工艺条件的研究,仍是当前该领域研究的前提和关键。本研究通过对实验室分离的一株类芽孢杆菌EPS的研究,获得该菌的最佳发酵条件和EPS保湿性能,以提高EPS的产量,并为提升对天然微生物多糖的认识及应用开发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌种

实验室自湖泊沉积物中分离的一株产胞外多糖细菌菌株ZX-5。

#### 1.1.2 培养基

蛋白胨酵母膏培养基(每L):蛋白胨5 g,葡萄

糖5 g,酵母粉3 g,氯化钠5 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  2.50 g, pH 5; 固体培养基加入琼脂粉13.50 g。115 °C条件下,灭菌30 min。

基础产糖培养基(每L):蔗糖30 g,酵母粉3 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  3 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.50 g, pH 5。115 °C条件下,灭菌30 min。

### 1.2 仪器与设备

葡萄糖、可溶性淀粉、酵母粉等,购于生工生物工程(上海)股份有限公司;浓硫酸、HCl、 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,购于阿拉丁试剂(上海)有限公司。试剂均为国产分析纯。其中5%苯酚配制方法为:称取5 g苯酚加入蒸馏水加热溶解,冷却后100 mL容量瓶定容。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 16S rRNA 基因测序及系统发育树构建

利用细菌*E. coli*通用引物PCR扩增16S rRNA基因。PCR产物进行电泳检测及核苷酸序列测定,GenBank数据库BLAST比对并下载相似序列,使用MEGA 7.0软件构建系统发育树,鉴定菌株的系统分类地位<sup>[7]</sup>。

#### 1.3.2 胞外多糖的提取

将ZX-5菌种接种到蛋白胨酵母膏固体培养基,28 °C培养19 h,接入蛋白胨酵母膏液体培养基进行摇瓶培养,温度28 °C,转速150 r/min,21 h后形成种子液,以5% (V/V)的接种量接至基础产糖培养基。

按照贾玉香<sup>[4]</sup>等人的方法,稍作修改,将上述发酵液在4 °C、10000 r/min离心15 min,收集上清液;通过旋转蒸发仪55 °C浓缩至1/5;向上清液加入4倍体积无水乙醇,4 °C静置过夜,离心15 min,收集沉淀,并用适量蒸馏水溶解;液体中加入1/4体积比sevage试剂(氯仿:正丁醇=4:1),室温下置于摇床振荡30 min,然后8000 r/min离心10 min,保留水相。重复多次,直至蛋白完全除去,冻干保存。

#### 1.3.3 胞外多糖的测定

采用硫酸-苯酚法<sup>[12]</sup>测定ZX-5胞外多糖含量。测试并绘制葡萄糖标准曲线<sup>[13]</sup>,得到线性回归方程:

$$Y = 0.0047X + 0.041, R^2 = 0.994$$

#### 1.3.4 单因素实验

一次改变一个独立变量,同时保持其他因素在固定水平(初始pH 5,装液量100 mL/250 mL,接种量5%,温度28 °C,转速150 r/min,初始培养基为基础

产糖培养基)。选取 3% 水平的不同碳源 (葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉、乳糖)、0.3% 水平的不同氮源 (蛋白胨、酵母浸粉、硝酸钠、尿素), 以及不同培养条件即初始 pH(5.50、6、6.50、7 和 7.50)、培养温度(10 °C、20 °C、28 °C、35 °C、40 °C) 进行单因素实验。培养 20 h, 测定胞外多糖产量。

### 1.3.5 响应面实验设计

在单因素试验基础上, 运用 Box Behnken 的中心组合设计原理, 选取蔗糖浓度、温度和硝酸钠浓度作为自变量, 细菌胞外多糖产量作为响应值, 设计 3 因素 3 水平试验进行响应面分析, 如表 1 所示, 从而获得菌株高产胞外多糖的最佳培养条件。

表 1 响应面试验的因素及水平

Table 1 Factors and levels of response surface test

水平	因素		
	A 蔗糖浓度 / (g/L)	B 温度 / °C	C 硝酸钠浓度 / (g/L)
-1	150	10	2
0	200	20	3
1	250	28	4

### 1.3.6 方差分析

使用 IBM SPSS Statistics 26 统计软件对单因素优化实验结果进行单因素方差分析, 通过 F 检验确定其显著性, 并以 *p* 值表示, 以确定对 ZX-5 产胞外多糖影响显著的因素。

### 1.3.7 多糖保湿性测定

参照鲁铁等<sup>[14]</sup>实验方法, 称取 ZX-5 胞外多糖、甘油、壳聚糖的干燥样品各 0.20 g, 置于培养皿中, 向培养皿中分别加入 5 g 的蒸馏水将样品完全均匀地湿润, 置于干燥器中(硅胶干燥剂环境), 放入 25 °C 恒温箱中, 定时称量样品的重量。水分残存率为放置后样品中水分的质量比放置前样品中水分的质量。实验设置平行重复。

### 1.3.8 数据处理

实验均设置 3 组平行, 数据采用 Origin 软件作图, 结果以平均值±标准差表示。在“响应面方法”中, 使用 Design Expert(版本 11.1.0.1, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA) 统计软件进行回归分析。多项式模型方程的拟合质量由确定系数  $R^2$  表示, 其统计显著性通过 F 检验来确定。每个回归系数的显著性水平由 *t* 检验确定, 显著性水平以 *p* 值给出。

## 2 结果与分析

### 2.1 基于 16S rRNA 的系统发育树分析

通过对菌株 ZX-5 的 16S rRNA 基因核苷酸序列测定, 完成 GenBank 的 BLAST 同源性比对, 并下载相似序列, 构建系统发育树(图 1)。经鉴定, ZX-5 是一株类芽孢杆菌 (*Paenibacillus* sp.)。

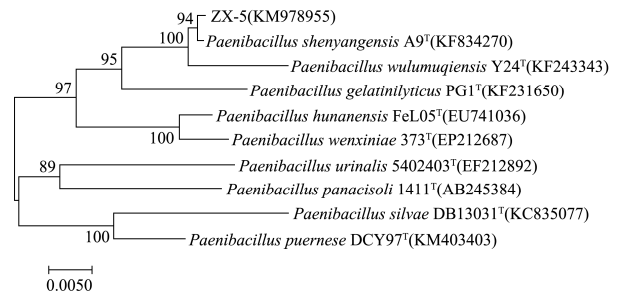


图 1 基于 16S rRNA 序列菌株 ZX-5 的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of strain ZX-5 based on 16S rRNA sequences

### 2.2 单因素结果分析

#### 2.2.1 碳源对 ZX-5 产胞外多糖的影响

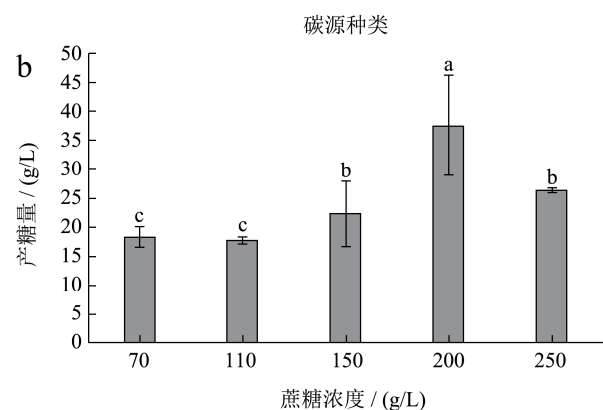
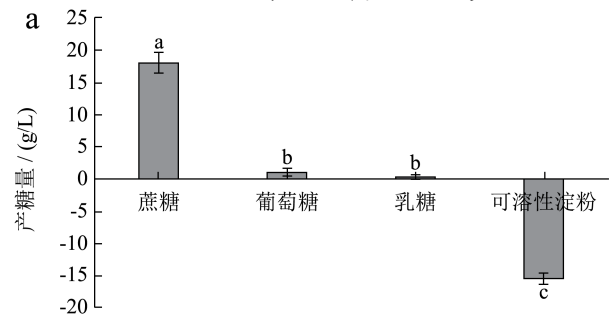


图 2 碳源对 EPS 产量的影响

Fig.2 Effect of carbon sources on the yield of EPS

注: 柱形图上字母不同表示差异性显著 ( $p < 0.05$ ), 下同。a: 3% 水平的不同碳源对 EPS 产量的影响; b: 蔗糖浓度对 EPS 产量的影响。

碳源优化结果如图 2a, 不同碳源之间对多糖产量具有显著性差异 ( $p < 0.05$ ), 蔗糖为碳源时, 菌株 ZX-5 的胞外多糖产量最大, 为 18.03 g/L。据报道细菌产胞外多糖的最适碳源多为蔗糖<sup>[15]</sup>, 如周璇等<sup>[16]</sup>在敦煌地

区筛选的地衣芽孢杆菌 II 4-01, 25 g/L 蔗糖为碳源, 胞外多糖产量最大达 8.59 g/L, 王波等<sup>[17]</sup>对多粘类芽孢杆菌菌株 ZX-2 的培养基配方及发酵培养条件进行了优化研究, 表明蔗糖 15 g/L 为最佳碳源; 大多数类芽孢杆菌利用蔗糖发酵产糖量较高<sup>[18]</sup>。菌株 ZX-5 以可溶性淀粉作为碳源时, 由于淀粉本身是多糖, 在发酵过程中可能菌体产胞外多糖量没有消耗的淀粉量大, 因此测得的产糖量结果是负值。蔗糖浓度优化结果如图 2b, 当蔗糖浓度为 200 g/L 时, 胞外多糖产量最大为 37.59 g/L, 蔗糖浓度进一步增大, 多糖产量反而减少, 可能是蔗糖浓度过高, 外界渗透压较大, 不利于菌株生长和产胞外多糖。

### 2.2.2 氮源对 ZX-5 胞外多糖产量的影响

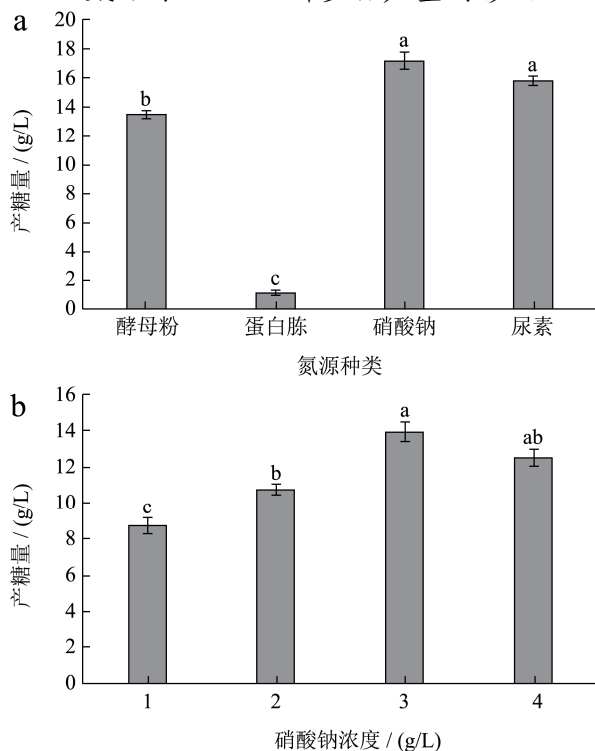


图 3 氮源对 EPS 产量的影响

Fig.3 Effect of nitrogen sources on the yield of EPS

注: a: 0.3%水平的不同氮源对 EPS 产量的影响; b: 硝酸钠浓度对 EPS 产量的影响。

测定不同氮源培养液中 ZX-5 的产糖量, 结果如图 3 所示, ZX-5 发酵产糖过程中对硝酸钠、酵母浸粉和尿素的利用率较高, 但对蛋白胨利用率较低。以蛋白胨为氮源时, 多糖产量仅为 1.20 g/L, 而以硝酸钠为氮源时, 产糖量最高, 为 17.18 g/L, 表明该菌对速效氮源的利用率更高。在硝酸钠浓度 3 g/L 时, 菌株产胞外多糖量达到最大 13.90 g/L, 与其它组有显著性差异 ( $p < 0.05$ ), 氮源浓度过低, ZX-5 生长所需氮源成为限制因素, 影响其生长繁殖和合成胞外多糖, 浓度过高, 碳氮比值变小, 生长环境不适宜, 同样会产生负面影

响。因此, 初步确定最适氮源浓度为 3 g/L 硝酸钠。

### 2.2.3 温度、pH 对 ZX-5 胞外多糖产量的影响

不同培养温度下 ZX-5 产糖量如图 4a 所示, 20 °C 时产糖量最大。随着培养温度的降低, 胞外多糖的产量逐渐增加, 与 Bruno 等<sup>[19]</sup>研究结果一致, 可能该菌胞外多糖能够保护菌株生长繁殖, 温度过低时, 影响体内相关酶的活性, 产糖量进而减小。不同温度间存在显著性差异, 表明温度是产糖量的主要影响因素之一。不同 pH 对微生物生长代谢影响很大, 孙红斌<sup>[20]</sup>等人研究发现, 发酵液的初始 pH 值对多糖产量有较大影响, pH 过高或过低均会影响菌株的生长繁殖, 进而影响多糖产量, 本研究也印证了这一点, 如图 4b 所示, 当 pH 增加到 7.50 或者降低为 5.50 时, 两组数据没有显著性差异, 但胞外多糖产量下降明显, pH 为 6 时, EPS 产量达到最大值 23.12 g/L, 差异为极显著水平 ( $p < 0.01$ ), 因此选择培养基初始 pH 值为 6。

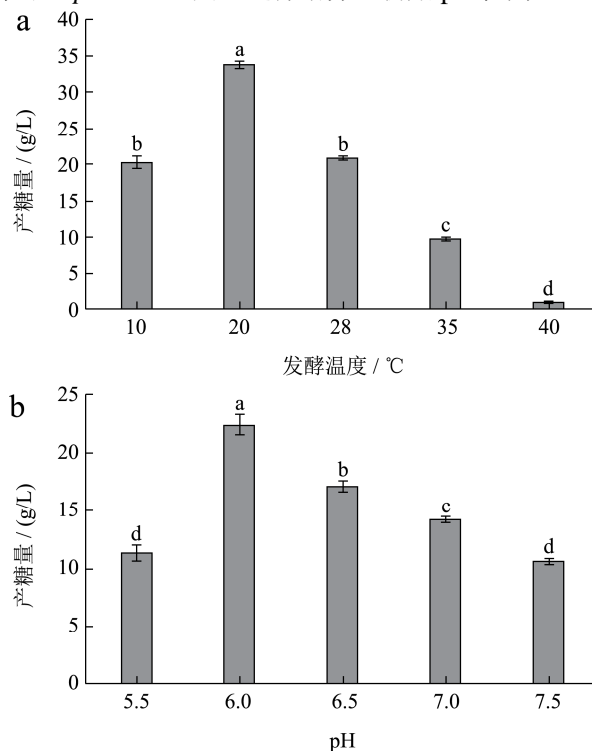


图 4 温度和 pH 对 EPS 产量的影响

Fig.4 Temperature and pH on the yield of EPS

注: a: 发酵温度; b: 发酵初始 pH。

## 2.3 方差分析

在单因素实验优化基础上, 进行方差分析来确定各因素对 ZX-5 胞外多糖产量影响的大小。方差分析结果如表 2 所示。

根据表 2 结果可以得出: 硝酸钠浓度、蔗糖浓度、初始 pH、发酵温度的  $p < 0.01$ , 说明硝酸钠浓度、蔗糖浓度、初始 pH、发酵温度均对 ZX-5 产胞外多糖量

产生极显著影响, 初始 pH 影响菌的生存能力, 间接影响胞外多糖的产量, 因此不适宜做响应面的优化指

标, 最终选择硝酸钠浓度、蔗糖浓度、发酵温度这三个影响因素。

表2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
硝酸钠浓度	29.75	3	9.92	22.52	0.006	**
蔗糖浓度	1118.80	4	372.94	216.44	0.000	**
发酵温度	1240.98	4	310.25	642.87	0.000	**
pH	138.39	4	45.846	89.38	0.000	**

注:  $p < 0.05$ , 差异显著, \*;  $p < 0.01$ , 差异极显著, \*\*。

表3 Box Behnken 试验设计与结果

Table 3 Response surface test design and results

序号	水平			产糖量/(g/L)	
	A: 蔗糖浓度/(g/L)	B: 温度/°C	C: 硝酸钠浓度/(g/L)	实际值	预测值
1	-1	-1	0	8.37±0.22	7.35
2	1	-1	0	14.23±0.18	13.17
3	-1	1	0	9.31±0.36	10.38
4	1	1	0	25.42±0.38	26.43
5	-1	0	-1	17.29±0.28	17.55
6	1	0	-1	28.63±0.27	28.94
7	-1	0	1	16.47±0.32	16.16
8	1	0	1	28.05±0.35	27.79
9	0	-1	-1	11.86±0.32	12.65
10	0	1	-1	27.35±0.21	25.99
11	0	-1	1	15.86±0.31	17.15
12	0	1	1	20.82±0.33	20.10
13	0	0	0	35.31±0.28	35.48
14	0	0	0	35.58±0.18	35.48
15	0	0	0	35.19±0.27	35.48
16	0	0	0	35.88±0.36	35.48
17	0	0	0	35.44±0.31	35.48

### 2.4 多因素结果分析

进行 3 因素 3 水平的响应面实验, 共 17 组实验。表 3 为实验设计与结果。

### 2.5 响应面分析

对实验数据进行多元回归拟合, 得到二次方程为:  
 $Y = 35.18 + 5.47A + 4.07B - 0.3468C + 2.56AB + 0.06AC - 2.6BC - 8.75A^2 - 12.09B^2 - 4.12C^2$

式中:

Y——胞外多糖产量, g/L;

A——蔗糖浓度, g/L;

B——温度, °C;

C——硝酸钠浓度, g/L。

对二次模型进行方差分析, 从中可以看出(表 4), 模型 F 值为 127.93, 具有显著性。 $p$  值小于 0.05 表示模型项具有显著性,  $p$  值小于 0.01 表示模型项具有极显著性, 同样的, A、B、C、AB、BC、 $A^2$ 、 $C^2$  和  $B^2$  均具有极显著性。失拟项 F 值为 43.64,  $p$  值大于 0.05, 意味着失拟项相对于纯误差并不显著。决定系数  $R^2 = 0.99 > 90\%$ , 说明 EPS 产量的试验值与模型回归数值有良好的—致性。模型的校正系数  $R^2_{Adj} = 0.98$ , 说明该模型能够解释相应值变化的 98%, 模型拟合度较好, 预测值与实测值有较好的相关性, 可用于对 ZX-5 胞外多糖发酵生产进行分析和预测。

三个因素(温度、硝酸钠浓度和蔗糖浓度)对 ZX-5 胞外多糖产量的交互作用, 可以由响应面图和等高线图直观地看出, 由图 5 (a) 和 (d) 可看出, 温度和

蔗糖浓度增大或减小,胞外多糖产量也随之变化,二者之间存在交互作用故变化趋势不同,图的颜色变化表示多糖产量从少到多的变化,变化的越快,表示坡度越大,即对试验结果的影响更为显著。图5(b)

和(e)是硝酸钠浓度和蔗糖浓度对ZX-5胞外多糖产量影响的响应面及等高线图,图5(c)和(f)是硝酸钠浓度和温度对ZX-5胞外多糖产量影响的响应面及等高线图。

表4 二次模型的方差分析

Table 4 Analysis of variance in quadratic model

来源	平方和	自由度	均方	F值	P	显著性
模型	1578.91	9	175.43	127.93	<0.0001	**
A-蔗糖浓度	237.82	1	237.82	173.43	<0.0001	**
B-温度	132.68	1	132.68	96.76	<0.0001	**
C-硝酸钠浓度	0.95	1	0.96	0.69	0.4313	
AB	26.37	1	26.37	19.23	0.0032	**
AC	0.01	1	0.01	0.01	0.9213	
BC	27.22	1	27.22	19.85	0.003	**
A <sup>2</sup>	322.74	1	322.74	235.35	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	596.39	1	596.39	434.91	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	71.30	1	71.30	51.99	0.0002	**
残差	9.60	7	1.37			
失拟项	9.31	3	3.10	43.64	0.0016	**
纯误差	0.28	4	0.07			
总和	1588.50	16				

R<sup>2</sup>=0.994  
R<sup>2</sup><sub>Adj</sub>=0.98

注: \*差异显著 ( $p<0.05$ ), \*\*差异极显著 ( $p<0.01$ )。

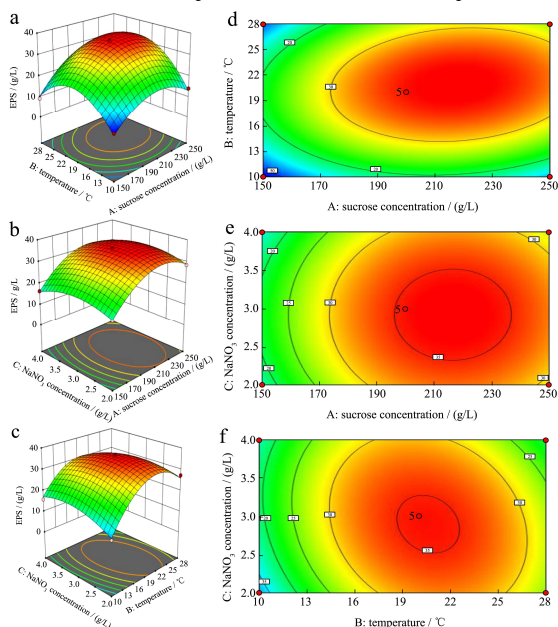


图5 各因素间对EPS产量的等高线图和响应面图

Fig.5 Contour and response surface about the effects of two factors on the yield of EPS

注: a: 温度与蔗糖浓度的响应面; b: 蔗糖浓度与硝酸钠浓度的响应面; c: 温度与硝酸钠浓度的响应面; d: 温度与蔗糖浓度的等高线; e: 蔗糖浓度与硝酸钠浓度的等高线; f:

温度与硝酸钠浓度的等高线。

## 2.6 多糖最优条件验证

通过单因素和响应面实验分析,得到最佳产糖条件为:蔗糖 200 g/L,硝酸钠 3 g/L,温度 20 °C,其它条件为 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O 3 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g/L, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.50 g/L, pH 6, 转速 150 r/min, 21 h, 预测产糖量为 35.48 g/L。根据最佳培养方案,进行三组平行实验,实验结果平均值为 34.55 g/L,与预测结果接近。

## 2.7 多糖的保湿性

胞外多糖作为天然物质具有一定的湿度,可应用于食品工业及化妆品工业中。本研究表明(图6),干燥环境中,ZX-5胞外多糖在38h的水分残留率为50%,保湿性略优于壳聚糖和甘油。Li等<sup>[12]</sup>研究一株假单胞菌PGM37的胞外多糖,发现其保湿能力优于甘油,但次于透明质酸,在化妆品和临床医学领域具有潜在应用价值。Chao等<sup>[21]</sup>研究发现蔗糖酯和玉竹多糖混合可调节水分结合能力,并提高多孔碳水化合物基质的保湿和防潮性能。Yong等<sup>[22]</sup>研究发现



*Phyllobacterium* sp.产生的EPS是一种新型多糖,具有良好的流变性和优异的保水能力。本研究中ZX-5菌株的胞外多糖易溶于水,具有良好的保水能力,在32 h时,水分残留率优于壳聚糖6%,在37 h水分残留率优于甘油7.52%,并且在70 h之前,保湿能力一直大于甘油和壳聚糖。因此ZX-5胞外多糖可作为天然物质保持一定的湿度,具有应用于食品工业或化妆品工业的保湿潜力。

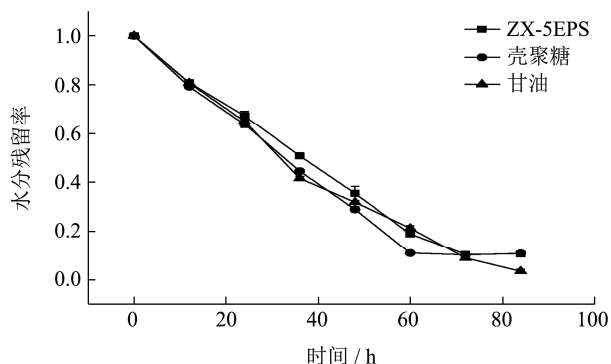


图6 胞外多糖的保湿性

Fig.6 Moisturizing properties of extracellular polysaccharides

### 3 结论

3.1 本研究对分离自湖泊沉积物的一株产胞外多糖的细菌菌株,通过单因素和响应面实验分析,得到最佳产糖条件为:初始蔗糖浓度200 g/L、硝酸钠3 g/L、 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  3 g/L、 $KH_2PO_4$  1 g/L、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.50 g/L, pH 6, 发酵温度20 °C。该最优条件下菌株摇瓶发酵的胞外多糖产量为34.55 g/L,是基础水平17.15 g/L的2.01倍,产糖量提升比较明显。本研究类芽孢杆菌ZX-5的多糖产量,在目前相关报道中处于前列。

3.2 目前的保湿剂主要为多元醇类、甘油、透明质酸及其钠盐等品种,近年来研究者在拓宽传统保湿剂的应用和开发新型保湿剂方面做了许多工作,尤其以多糖类物质为主。本研究所得到的类芽孢杆菌ZX-5所产胞外多糖在56 h前保湿性一直优于甘油和壳聚糖,在38 h其水分残留率仍为50%,具有较长时效的保湿性能,在食品和化妆品等水分保持应用中,具有一定的潜力和价值,有待于进一步开发。

### 参考文献

[1] 朱桂兰,童群义.微生物多糖的研究进展[J].食品工业科技,2012,33(6):444-448  
ZHU Guilian, TONG Qunyi. Research progress on microbial polysaccharide [J]. College of Food Science and Technology, 2012, 33(6): 444-448

[2] 王鹏,江晓路,江艳华,等.细菌胞外多糖构效关系及特性的

研究[J].食品科学,2005,26:257-260

WANG Peng, JIANG Xiaolu, JIANG Yanhua, et al. Review on research and development on structure-function relationship and characteristics of bacterial exopolysaccharides [J]. Division of Life Science and Technology, 2005, 26: 257-260

[3] Banerjee A, Rudra S G, Mazumder K, et al. Structural and functional properties of exopolysaccharide excreted by a novel *Bacillus anthracis* (strain PFAB2) of hot spring origin [J]. Indian Journal of Microbiology, 2018, 58(1): 39-50

[4] 贾玉香,耿晓琦,黄正梅,等.根瘤菌多糖的发酵优化及抗肿瘤活性[J].食品与发酵工业,2019,45(20):144-148  
JIA Yuxiang, GENG Xiaoqi, HUANG Zhengmei, et al. Fermentation optimization and anti-tumor activity of polysaccharides from *Rhizobium* sp. NG10 [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(20): 144-148

[5] Saadat Y R, Khosroushahi A Y, Gargari B P. A comprehensive review of anticancer, immuno modulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 217: 79-89

[6] Torino M I, Font De Valdez G, Mozzi F. Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 253-259

[7] Gao C X, Han J, Liu Z M, et al. *Paenibacillus bovis* sp. nov., isolated from raw yak (*Bos grunniens*) milk [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66: 1413-1418

[8] Xu X F, Gao C X, Liu Z M, et al. Characterization of the levan produced by *Paenibacillus bovis* sp. nov. BD3526 and its immunological activity [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 144: 178-186

[9] 戴德慧,胡伟莲.栗树类芽孢杆菌 S3 胞外粘多糖毒理安全性评价[J].中国酿造,2020,39(6):79-83  
DAI Dehui, HU Weilian. Toxicological safety evaluation of extracellular mucopolysaccharides from *Paenibacillus castaneae* S3 [J]. China Brewing, 2020, 39(6): 79-83

[10] Xiaqing Sun, Lei Wang, Renjie Fu, et al. The chemical properties and hygroscopic activity of the exopolysaccharide lubcan from *Paenibacillus* sp. ZX1905 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 2641-2650

[11] 张瑞琪.植物糖原的提取及其在化妆品中的应用探究[D].无锡:江南大学,2019  
ZHANG Ruiqi. Extraction of plant glycogen and its application in cosmetics [D]. Wuxi: Jiangnan University,

- 2019
- [12] Zhao L, Fan F, Wang P, et al. Culture medium optimization of a new bacterial extracellular polysaccharide with excellent moisture retention activity [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97: 2841-2850
- [13] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28: 350-356
- [14] 鲁铁,陈怀中,金阳,等.裂褶菌多糖发酵培养基优化及其活性研究[J].*中国酿造*,2020,39(5):162-167  
LU Tie, CHEN Huaizhong, JIN Yang, et al. Optimization of fermentation medium of *Schizophyllum commune* and schizophyllan polysaccharide activity [J]. *China Brewing*, 2020, 39(5): 162-167
- [15] 蹇华丽,田文祥,杨幼慧,等.多黏类芽孢杆菌 PS04 产胞外多糖发酵条件优化[J].*食品科技*,2013,38(1):26-30  
JIAN Huali, TIAN Wenxiang, YANG Youhui, et al. Optimization of fermentation conditions for production of exopolysaccharide by *Bacillus polymyxa* PS04 [J]. *Food Technology*, 2013, 38(1): 26-30
- [16] 周璇,牛世全,郑豆豆,等.敦煌地区产胞外多糖菌株的筛选鉴定及其发酵条件研究[J].*生物学通报*,2019,54(5):44-49  
ZHOU Xuan, NIU Shiquan, ZHENG Doudou, et al. Screening, identification and fermentation conditions of exopolysaccharide producing strains in Dunhuang area [J]. *Bulletin of Biology*, 2019, 54(5): 44-49
- [17] 王波,王幸,周兴根,等.多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*) XZ-2 发酵条件优化的研究[J].*江西农业学报*, 2018,30(11):57-61  
WANG Bo, WANG Xing, ZHOU Xinggen, et al. Research on optimization of fermentation conditions for *Paenibacillus polymyxa* strain XZ-2 [J]. *Jiangxi Agricultural Evening News*, 2018, 30(11): 57-61
- [18] 李润静,张涛,江波,等.甲基营养芽孢杆菌 SK21.002 产果聚糖蔗糖酶的发酵条件优化[J].*食品工业科技*,2013,34(7): 157-161  
LI Ruijing, ZHANG Tao, JIANG Bo, et al. Optimization of culture conditions for levansucrases by *Bacillus methylotrophicus* SK21.002 [J]. *College of Food Science and Technology*, 2013, 34(7): 157-161
- [19] Bruno M Guerreiro, Filomena Freitas, João C, et al. Demonstration of the cryoprotective properties of the fucose-containing polysaccharide FucoPol [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 245(C)
- [20] 孙红斌,刘梅森,陈海晏.液态发酵猴头菌多糖工艺优化研究(II)-促生长剂、pH 值、装液量、菌龄及菌种稳定性对多糖产量的影响[J].*食品与发酵工业*,2001,11:30-32  
SUN Hongbin, LIU Meisen, CHEN Haiyan. Study on the optimum process of *Hericium erinaceus* polysaccharide (HEP) production by submerged culture (II) - the influence of promine, pH value, amount of broth in flask, seed age and generation stability on HEP production [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2001, 11: 30-32
- [21] Chao Lin, Heping Cui, Xuejiao Wang, et al. Regulating water binding capacity and improving porous carbohydrate matrix's humectant and moisture proof functions by mixture of sucrose ester and *Polygonatum sibiricum* polysaccharide [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 147: 667-674
- [22] Yongzhou Chi, Han Ye, Huining Li, et al. Structure and molecular morphology of a novel moisturizing exopolysaccharide produced by *Phyllobacterium* sp. 921F [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135: 998-1005

---

(上接第 180 页)

- [24] Liangbo D, Xiaotong L, Dou Y, et al. High-level expression of highly active and thermostable trehalase from *Myceliophthora thermophila* in *Aspergillus niger* by using the CRISPR/Cas9 tool and its application in ethanol fermentation [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2020, 47(1): 133-144
- [25] Sapio M R, Fricker L D. Carboxypeptidases in disease: insights from peptidomic studies [J]. *Proteomics Clinical Applications*, 2014, 8(5-6): 327-337