

# Tween 20 对强化骆驼刺泛菌 NX-11 合成胞外多糖的影响

李全飞<sup>1,2</sup>, 陈乾<sup>1,2</sup>, 杨凯<sup>1,2</sup>, 胡凯<sup>1,2</sup>, 雷鹏<sup>1,2</sup>, 谷益安<sup>1,2</sup>, 孙良<sup>1,2</sup>, 徐虹<sup>1,2</sup>, 王瑞<sup>1,2\*</sup>

1 南京工业大学食品与轻工学院, 江苏 南京 210009

2 材料化学工程国家重点实验室, 江苏 南京 210009

李全飞, 陈乾, 杨凯, 胡凯, 雷鹏, 谷益安, 孙良, 徐虹, 王瑞. Tween 20 对强化骆驼刺泛菌 NX-11 合成胞外多糖的影响[J]. 生物工程学报, 2024, 40(3): 921-930.

LI Quanfei, CHEN Qian, YANG Kai, HU Kai, LEI Peng, GU Yi'an, SUN Liang, XU Hong, WANG Rui. Effect of Tween 20 on enhancing extracellular polysaccharide synthesis by *Pantoea alhagi* NX-11[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(3): 921-930.

**摘要:** 骆驼刺泛菌 NX-11 胞外多糖(*Pantoea alhagi* NX-11 exopolysaccharides, PAPS)是一种新型微生物源生物刺激素, 可增强农作物对盐和干旱胁迫的抗性, 且生物可降解, 在农业提产增效领域具有巨大应用前景。但其高黏发酵特征体系造成的发酵过程传氧效率低下, 严重制约产量提升和下游处理。本研究分析了 Span 80、Span 20、Tween 80、Tween 20、甘油、橄榄油和大豆油等 7 种氧载体对发酵产量的影响。结果表明: 添加 0.5% (体积分数) Tween 20 促进 PAPS 生产效果最佳。扩大培养中, 在 7.5 L 生物反应器添加 0.5% (体积分数) Tween 20 后, PAPS 产量达(16.85±0.50) g/L, 比对照组提高了 17.70%。此外, 多糖流变学表征和多糖产品微观结构结果显示, 氧载体处理组多糖的特征结构未发生改变但其黏度增加。本研究结果为进一步提高其他高分子产品的生物合成效率提供了一定的借鉴。

**关键词:** 骆驼刺泛菌; 胞外多糖; Tween 20; 氧载体; 流变学

资助项目: 国家重点研发计划绿色生物制造项目(2021YFC2101700); 江苏省农业自主创新基金项目[CX(21)3158]; 江苏省协同创新中心先进生物制造项目(XTB2202)

This work was supported by the National Key Research and Development Plan Green Bio-manufacturing Project (2021YFC2101700), the Agricultural Independent Innovation Fund Project of Jiangsu Province (CX(21)3158), and the Collaborative Innovation Center Advanced Bio-manufacturing Project of Jiangsu Province (XTB2202).

\*Corresponding author. E-mail: ruiwang2013@njtech.edu.cn

Received: 2023-06-29; Accepted: 2023-08-15; Published online: 2023-08-18

# Effect of Tween 20 on enhancing extracellular polysaccharide synthesis by *Pantoea alhagi* NX-11

LI Quanfei<sup>1,2</sup>, CHEN Qian<sup>1,2</sup>, YANG Kai<sup>1,2</sup>, HU Kai<sup>1,2</sup>, LEI Peng<sup>1,2</sup>, GU Yi'an<sup>1,2</sup>, SUN Liang<sup>1,2</sup>, XU Hong<sup>1,2</sup>, WANG Rui<sup>1,2\*</sup>

1 College of Food Science and Light Industry, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, Jiangsu, China

2 State Key Laboratory of Materials-oriented Chemical Engineering, Nanjing 210009, Jiangsu, China

**Abstract:** *Pantoea alhagi* NX-11 exopolysaccharide (PAPS) is a novel microbial biostimulant that enhances crop resistance to salt and drought stress. It is biodegradable and holds promising applications in improving agricultural yield and efficiency. However, the fermentation process of PAPS exhibits a high viscosity due to low oxygen transfer efficiency, which hinders yield improvement and downstream processing. This study aimed to investigate the effects of seven oxygen carriers (Span 80, Span 20, Tween 80, Tween 20, glycerin, olive oil, and soybean oil) on fermentation yield. The results showed that the addition of 0.5% (V/V) Tween 20 significantly enhanced the production of PAPS. Moreover, the introduction of 0.5% (V/V) Tween 20 in a 7.5 L fermenter resulted in a PAPS titer of (16.85±0.50) g/L, which was 17.70% higher than that of the control group. Furthermore, the rheological characterization and the microstructure analysis of the polysaccharide products revealed that the characteristic structure of polysaccharides remained unchanged in the oxygen carrier treated group, but their viscosity increased. These findings may facilitate enhancing the biosynthesis efficiency of other polymer products.

**Keywords:** *Pantoea alhagi*; extracellular polysaccharide; Tween 20; oxygen carrier; rheology

骆驼刺泛菌 NX-11 胞外多糖(*Pantoea alhagi* NX-11 exopolysaccharides, PAPS)是由骆驼刺泛菌 NX-11 发酵产生的一种胞外杂多糖,因其具有保水、抗旱和耐盐等良好性质在农业生产领域具有巨大应用前景<sup>[1]</sup>, PAPS 分子结构较为复杂,主要由葡萄糖、半乳糖、葡萄糖醛酸、氨基葡萄糖和甘露糖等组成<sup>[2]</sup>。有研究表明 PAPS 可以促进植物生长和增强作物抗性<sup>[3]</sup>,此外, *Pantoea* 属的许多物种被认为是植物生长促进细菌,它们可以促进生物膜的形成以进行定殖,增加土壤水稳定聚集体,一些 *Pantoea* 属细菌还可以增加植物中信号分子的积累,从而促进作物生长并增强作物的抗性<sup>[4]</sup>。本研究团队前期从滩涂海水稻根际筛选到 1 株高产胞外多糖的内生细菌骆驼刺

泛菌 NX-11<sup>[2]</sup>,并发现在骆驼刺泛菌 NX-11 发酵过程中发酵液黏稠溶氧水平较低,菌体生长和 PAPS 产量受到明显的影响。

PAPS 属于生物高分子物质,发酵后期因产量增加和分子量高导致发酵体系黏度显著增加,进而严重阻碍氧气传递效率。氧传递速率是好氧生物发酵工业中一个重要因素<sup>[5]</sup>,直接影响菌体生长代谢和产物合成,尤其在发酵的中后期,反应器中发酵液的高黏特性使得气-液两相间的混合和传质受阻<sup>[6]</sup>,严重影响了多糖的产量,进而制约了下游农业低成本应用。传统提高发酵液中溶氧水平的方法有提高搅拌转速和增大通气量等<sup>[7]</sup>,但这会造成剪切应力过大,容易造成多糖分子量和发酵液黏度降低,而且增大搅拌转速和

提高通气量也会增加运行费用和设备成本<sup>[8]</sup>。此外, PAPS 发酵后期因体系黏度增加, 搅拌桨周围剪切力较大, 但反应器边缘位置呈现凝固状态, 造成合成的多糖产品质量不均一。因此, 攻克生物高分子高黏发酵过程溶氧强化问题具有重要意义。添加氧载体是促进胞外多糖分泌的新策略<sup>[9]</sup>, 在发酵过程中添加氧载体能提高细胞膜的通透性<sup>[10]</sup>, 降低发酵体系中物质进出细胞的传递阻力, 从而提高目标代谢物的浓度<sup>[11]</sup>, 并且由于其具有价格低廉、可以容易地从发酵混合物中分离等诸多优点, 许多氧载体已被用来提高代谢物的生产效率<sup>[12]</sup>。Wu 等<sup>[13]</sup>在菌株枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) CGMCC0833 发酵产  $\gamma$ -聚谷氨酸( $\gamma$ -polyglutamic acid,  $\gamma$ -PGA)的培养体系中加入 Tween 80 和二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide, DMSO), 使  $\gamma$ -PGA 的产量达到了 34.4 g/L, 比对照的产量提高了 28.8%。Liu 等<sup>[14]</sup>发现添加 1 g/L 的 Triton X-100 可以促进纳豆芽孢杆菌发酵生产维生素 K2, 使其产量提高至 37.96 mg/L, 比对照提高了 143.18%。为了探讨不同种类的氧载体对骆驼刺泛菌 NX-11 生产 PAPS 的影响, 本研究通过对 7 种不同氧载体进行研究, 并对其浓度进行优化, 从微观结构和流变学特征等方面探讨氧载体对 PAPS 的影响, 预期结果将为 PAPS 的高效生产提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌种

生产菌株为骆驼刺泛菌 NX-11, 保藏号为 CGMCC NO.15525。骆驼刺泛菌 NX-11 为革兰氏阴性菌, 细胞呈直杆状, 产黄色色素, 菌株在 LB 固体培养基(37 °C 培养 12 h 后)上呈鲜黄色菌落, 且菌落细小、表面光滑; 在活化用固体培养基上呈水滴状菌落, 菌落黏稠, 挑取有拉丝, 具

有较强的胞外多糖分泌能力<sup>[15]</sup>。

#### 1.1.2 培养基和主要试剂

蔗糖购自郑州德旺化工实业有限公司; 蛋白胨购自北京奥博星生物技术有限责任公司; 酵母粉购自北京奥博星生物技术有限责任公司; 琼脂粉购自天津市博迪化工股份有限公司; Tween 20 购自湖南汇百益新材料有限公司; Tween 80 购自南通新宝源化工有限公司; 大豆油购自益海嘉里金龙鱼粮油食品股份有限公司。

活化培养基(g/L): 蔗糖 20, 酵母粉 3, 蛋白胨 10, 氯化钠 5, 琼脂 20。种子培养基(g/L): 氯化钠 10, 酵母粉 5, 蛋白胨 10。发酵培养基(g/L): 蔗糖 60, 蛋白胨 10, 氯化钠 5, 磷酸氢二钾 1, pH 7。

## 1.2 方法

### 1.2.1 摇瓶发酵

从甘油管中吸取 100  $\mu$ L 菌液, 置于已凝固的活化培养基上, 用涂布棒涂布, 使菌液分散均匀, 置于培养箱中 37 °C 培养 24 h 后, 通过接种环挑取直径和黏度较大的菌落, 划线至 LB 培养基上。然后将 LB 培养基上的菌苔接种于种子培养基(300 mL 摇瓶装液量为 100 mL), 37 °C、200 r/min 摇床培养 12 h。将种子液按 5% 接种量转接发酵液(500 mL 摇瓶装液量为 200 mL), 30 °C、200 r/min 摇床培养 24 h<sup>[16]</sup>。

### 1.2.2 胞外多糖的提取

将骆驼刺泛菌 NX-11 的发酵液用 3 倍体积超纯水稀释, 与硅藻土混合并通过真空过滤进行过滤, 除去菌体后将滤液浓缩至初始体积的 1/5。浓缩后的上清液用 Sevage 试剂(正丁醇:氯仿=1:4, 体积比)脱蛋白 3 次。随后加入 3 倍体积的 95%乙醇, 在 4 °C 过夜沉淀即得粗多糖。

### 1.2.3 胞外多糖产量测定

PAPS 是由骆驼刺泛菌 NX-11 分泌的一种超高分子量杂多糖, 发酵条件下分子量可达 1 000 kDa 以上, 是发酵液中分子量最高的产物, 因此可通

过 GPC 色谱柱与发酵液中的其他物质区别,从而对其进行定量分析,但由于糖类物质在紫外下吸收较弱,故一般液相检测时采用示差检测器。液相检测条件如下,色谱柱:OHpak SB-806M HQ×2,检测器:示差检测器(检测池温度 55 °C),流动相:2 mmol/L 乙酸铵溶液(乙酸调节 pH 至 4.0–4.5)流速:1 mL/min,柱温:55 °C,保留时间:40 min。

#### 1.2.4 氧载体的筛选及优化

将 Span 80、Span 20、Tween 80、Tween 20、甘油、橄榄油和大豆油以添加浓度为 0.2% (体积分数)分别添加至发酵培养基中,灭菌后再接种培养,待发酵 24 h 后检测菌体生物量以及胞外多糖产量。随后,选择一种能显著提高 PAPS 产率的氧载体进行浓度优化。因此,在发酵培养基中添加浓度为 0.05%、0.1%、0.3%、0.5%、0.7%、1.1%和 1.5%<sup>[11]</sup>(体积分数)的 Tween 20。以不添加氧载体的发酵过程为对照组,每个摇瓶发酵实验重复 3 次。

#### 1.2.5 最佳添加时间

考察 Tween 20 最适添加时间时,分别在发酵进行了 0、2、4、6、8、10、12 h 和 14 h 后加入 0.5% (体积分数) Tween 20,然后在发酵进行了 24 h 后检测生物量以及 PAPS 产量。以不添加氧载体的发酵过程为对照组,每个摇瓶发酵实验重复 3 次。

#### 1.2.6 放大培养

在 7.5 L 发酵罐中,添加 4 L 发酵培养基分批发酵骆驼刺泛菌 NX-11。搅拌速度 500 r/min,通气量 1 vvm。培养温度 30 °C,种子培养以 10% (体积分数)接种,每隔 2 h 取次样,并以不添加氧载体的发酵过程为对照组。

#### 1.2.7 胞外多糖的微观结构分析

扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)用于观察胞外多糖微观结构。将干燥的样

品固定在样品架上,并用金粉溅射。在 3 kV 下,通过 S4800SEM (Hitachi)观察微观结构。

#### 1.2.8 胞外多糖的紫外与红外分析

用紫外分光光度计(UV-2550)测定 10 g/L 样品在 200–400 nm 范围内的紫外光谱。

利用傅里叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)对有机官能团进行评价。将 2 mg 的样品粉末与 200 mg 的 KBr 粉混合,压制成透明材料,在 500–4 000 cm<sup>-1</sup> 频率范围内进行红外光谱分析。

#### 1.2.9 胞外多糖流变特性

多糖的流变测试是在具有平行板几何形状的应力/应变控制的 DHR-3 流变仪上进行的。将 1 mL 多糖溶液带到测试台上,并在 25 °C 下用 40 mm 平行板夹具将间隙设置为 1 mm,剪切黏度测量以 0.1 s<sup>-1</sup> 增加到 100 s<sup>-1</sup> 的剪切速率进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 氧载体的筛选结果

为了有效改善发酵体系中的溶氧水平,在发酵初始阶段添加了 0.2% (体积分数)不同的氧载体,并以不添加氧载体为对照,发酵 24 h 后检测其生物量和 PAPS 产量。7 种氧载体(Span 80、Span 20、Tween 80、Tween 20、甘油、橄榄油和大豆油)对发酵结果的影响如图 1A 所示,结果表明:添加 Tween 20 的效果最佳,胞外多糖的产量达到 11.67 g/L,与对照组相比产量提高了 16.7% (10.00 g/L)。然后进一步确定 Tween 20 最佳添加浓度,结果表明(图 1B): Tween 20 的添加量在 0.1%–0.5%时,胞外多糖的产量和生物量随添加量的增加而增加,但当添加量高于 0.5% 后, Tween 20 会抑制其生物量和 PAPS 产量,所以,添加 0.5% Tween 20 效果最佳。胞外多糖的产量达到了 12.41 g/L,不使用氧载体胞外多糖产量为 10.21 g/L,提高了 17.7%。

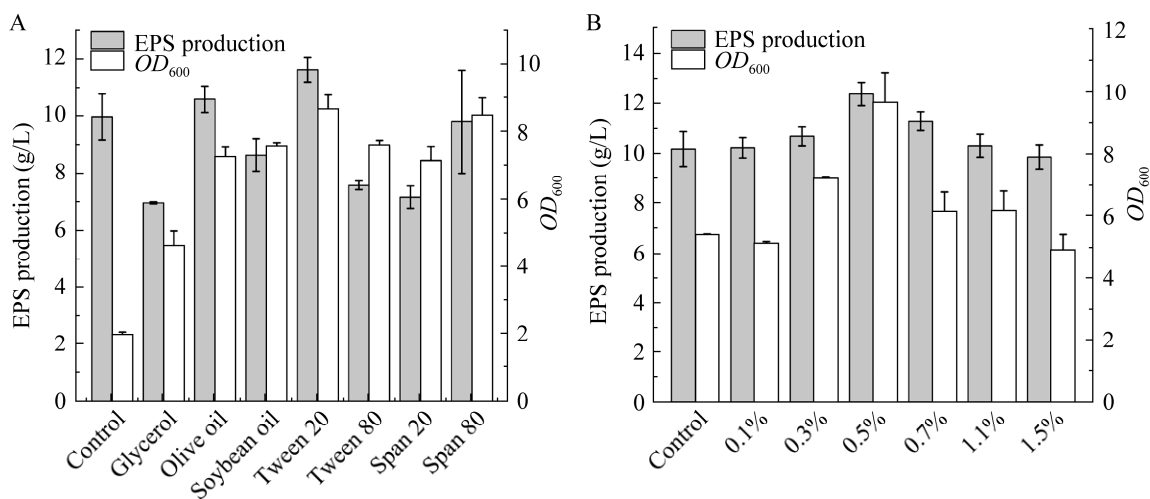


图1 氧载体的筛选 A: 不同类型氧载体对生物量及 PAPS 产量的影响. B: 发酵培养基中 Tween 20 浓度(体积分数)优化

Figure 1 Screening of oxygen carriers. A: Effects of different types of oxygen carriers on biomass and PAPS yield. B: Optimization of Tween 20 concentration (V/V) in fermentation medium.

## 2.2 氧载体的最佳添加时间

进一步研究了 Tween 20 的最佳添加时间。在摇瓶发酵中,在不同时间(0、2、4、6、8、10、12 h 和 14 h)加入 0.5% (体积分数) Tween 20, 发酵 24 h 后检测生物量及 PAPS 产量。结果如图 2 所示: 在发酵的起始阶段(0 h)添加 Tween 20 效

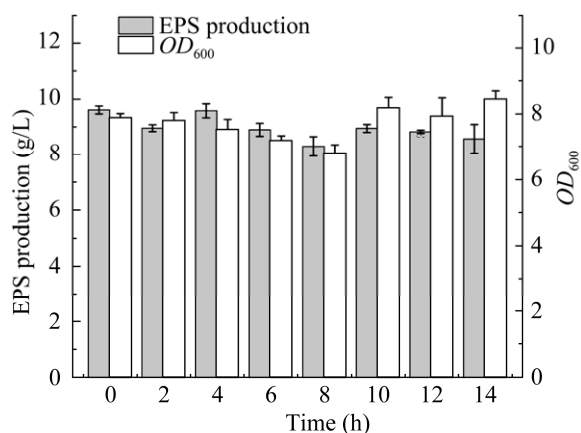


图2 不同时间添加 0.5% (体积分数) Tween 20 24 h 后的生物量和 PAPS 产量

Figure 2 Biomass and PAPS yield after adding 0.5% (V/V) Tween 20 at different times for 24 h.

果最佳, PAPS 的产量达到 9.93 g/L。在亚氧乙酸杆菌(*Acetobacter suboxydans*)发酵产山梨糖、红法夫酵母(*Phaffia rhod-ozyma*)产类胡萝卜素<sup>[17]</sup>及酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)产 S-腺苷蛋氨酸<sup>[18]</sup>的研究中,观察到类似的实验结果。该现象可能的原因是发酵初期氧载体的加入促进了骆驼刺泛菌 NX-11 的生长,增加了发酵初期的生产强度。但在菌株生长后期加入氧载体,在一定程度上导致细菌过早死亡<sup>[17]</sup>。

## 2.3 7.5 L 发酵罐中 Tween 20 对胞外多糖生产的影响

在 7.5 L 发酵罐中进行骆驼刺泛菌 NX-11 连续发酵,在发酵初始添加 0.5% (体积分数)的 Tween 20,以不添加氧载体作为对照组。如图 3A 所示:骆驼刺泛菌 NX-11 生物量在 16–18 h 达到最大值,胞外多糖产量在 20 h 达到最大值为 16.85 g/L,相比于对照组 13.99 g/L 提高了 17.0%。由图 3B 可知,添加 0.5% (体积分数)的 Tween 20 以后,在 PAPS 合成阶段发酵液中的溶氧水平从 5% 提高到 17% 左右,说明添加 Tween 20

对发酵液中溶氧不足的现象有很大的缓解作用。氧载体的添加提高了发酵液中的溶氧水平,促进细胞呼吸作用的增强,导致胞内 ATP 水平的提高,ATP 水平的提高,不仅为细胞生产提供了能量,而且有利于胞外多糖的合成<sup>[19]</sup>。

## 2.4 胞外多糖的微观形貌分析

从发酵液中提取并经冷冻干燥处理后得到

纯净的 PAPS,经 Tween 20 处理得到的多糖命名为 T<sub>20</sub>,未经 Tween 20 处理得到的多糖命名为 CK。其显微结构如图 4 所示,T<sub>20</sub>(图 4A)和 CK(图 4B)呈片状、枯叶状,与线性或颗粒状胞外多糖不同,T<sub>20</sub>和 CK 的表面闭合表明多糖之间有很强的分子间相互作用<sup>[20]</sup>,此外,T<sub>20</sub>表面较为光滑,而 CK 表面相对粗糙。

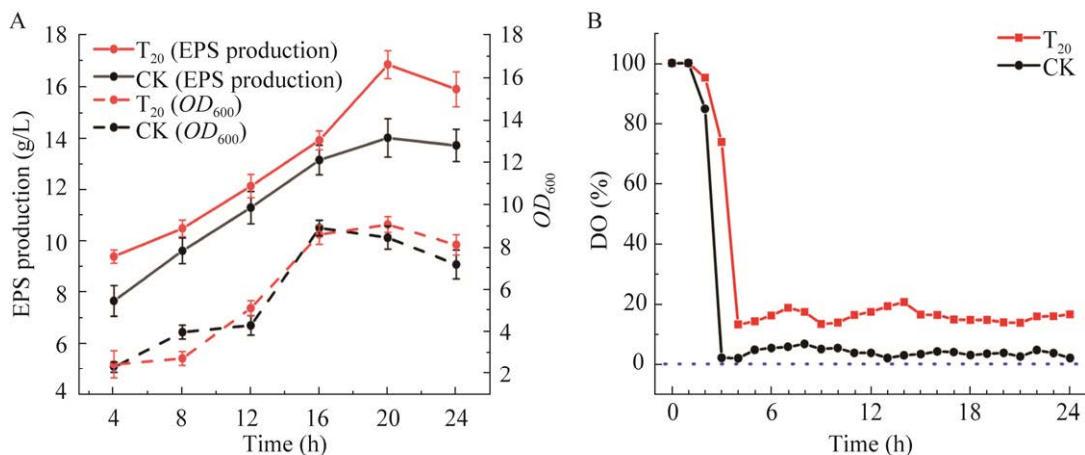


图 3 Tween 20 对骆驼刺泛菌 NX-11 扩大培养的影响 A: 7.5 L 发酵罐中添加 Tween 20 对生物量及 PAPS 产量的影响. B: 7.5 L 发酵罐中添加 Tween 20 对溶氧的影响

Figure 3 Effect of Tween 20 on expanded culture of *Pantoea alhagi* NX-11. A: Effects of Tween 20 addition on biomass and PAPS yield in 7.5 L fermenter. B: Effect of addition of Tween 20 on dissolved oxygen concentration in 7.5 L fermenter.

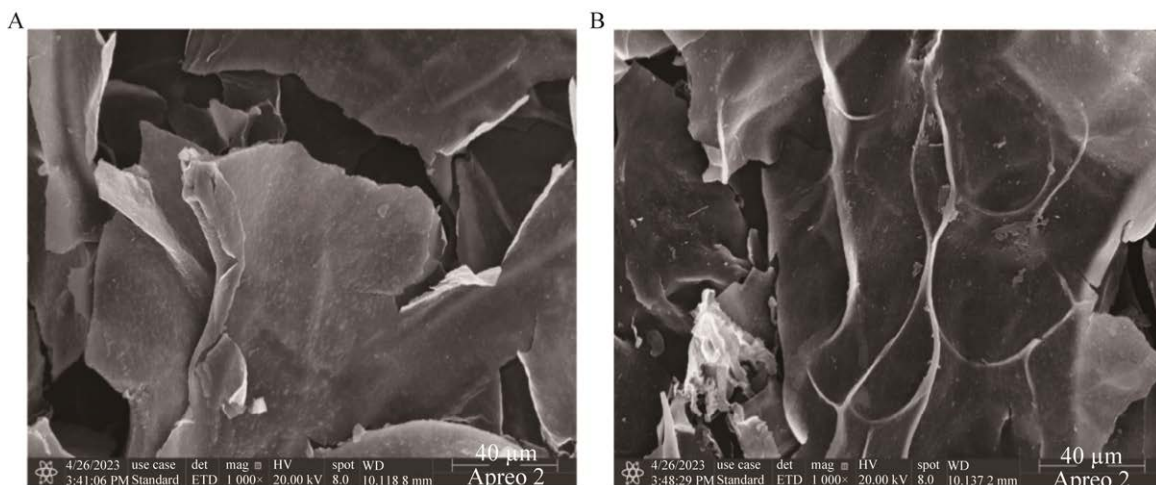


图 4 T<sub>20</sub>(A)和 CK(B)的扫描电镜图像(放大 1 000 倍, 比例尺 40 μm)

Figure 4 Scanning electron microscopy images (magnification 1 000×, scale bar 40 μm) of T<sub>20</sub> (A) and CK (B).

## 2.5 胞外多糖的紫外与红外分析

根据 Sun 等<sup>[16]</sup>先前的研究, 纯净的骆驼刺泛菌多糖结构中没有蛋白质和核酸, 含有 O-H、C-H、COO<sup>-</sup>、C-OC、C-O-H 和 C-O 等特征基团。本实验中紫外光谱显示 T<sub>20</sub> 和 CK 在 260 nm 和 280 nm 处均无吸收峰, 说明 T<sub>20</sub> 和 CK 中没有蛋白质和核酸(图 5A)。FT-IR 光谱已被证明是鉴定官能团的最重要的分析方法, 它可以根据特征吸收峰推断多糖组分中一些可能的特征结构。T<sub>20</sub> 和 CK 的 FT-IR 光谱如图 5B 所示, 在约 3 420 cm<sup>-1</sup> 处的典型峰为 O-H 伸缩振动, 2 930 cm<sup>-1</sup> 左右的峰值代表糖亚甲基的 C-H 伸缩振动, 在 1 623 cm<sup>-1</sup> 和 1 403 cm<sup>-1</sup> 处的强吸收峰归属于 COO<sup>-</sup> 和 C-H 结合振动, 表明糖醛酸存在于 PAPS 中。1 160–1 020 cm<sup>-1</sup> 区域的吸收峰是由 C-O-C 和 C-O-H 的伸缩振动引起的<sup>[21]</sup>, 具体来说, 在 1 155 cm<sup>-1</sup> 和 1 036 cm<sup>-1</sup> 处的 2 个拉伸峰表明碳氧键的存在<sup>[22]</sup>。此外, 1 077 cm<sup>-1</sup> 附近的吸收峰也代表了糖基残基中存在吡喃糖<sup>[23]</sup>。890 cm<sup>-1</sup> 的信号表明存在 β 型糖苷键, 827 cm<sup>-1</sup> 为 α 型糖苷键, 表明单糖以 α-糖苷键和 β-糖苷键连接<sup>[24]</sup>。此外, 在 1 250 cm<sup>-1</sup> 和 850 cm<sup>-1</sup> 处均无吸收峰, 说明 T<sub>20</sub>

和 CK 结构中没有硫酸盐基团<sup>[25]</sup>。紫外光谱和 FT-IR 光谱结果表明, 氧载体 Tween 20 的加入, 并未改变 PAPS 的特征结构。

## 2.6 胞外多糖流变特性

流变学是研究物体的流动和变形, 特别是固体和流体之间过渡期间的行为。具有独特流变学和凝胶特性的材料示例是黄原胶和结冷胶, 它们广泛用于食品工业。近年来, 许多研究都集中在研究从各种天然植物中提取的多糖。如图 6 所示: PAPS 流变特性是黏度随着剪切速率的增加而降低, 在相同的剪切速率下, 黏度随浓度的增加而增加。这表明多糖表现出剪切稀化行为<sup>[26]</sup>, 这是由其分子组分的取向引起的<sup>[27]</sup>。当剪切速率增加时, 分子链之间的纠缠被破坏, 导致分子链的取向变得更加随机。结果使相邻链之间的相互作用减少, 因此黏度降低<sup>[26]</sup>。在相同的剪切速率下, 相同浓度(5 g/L)下的多糖比较表明, T<sub>20</sub> 的黏度高于 CK。这可能是由于 2 个样品的分子量不同, 另一个原因可能是 T<sub>20</sub> 具有较高的碳水化合物含量。也有研究表明, Mw 较低的多糖具有较少的分子相互作用次数, 这导致黏度降低<sup>[28]</sup>。

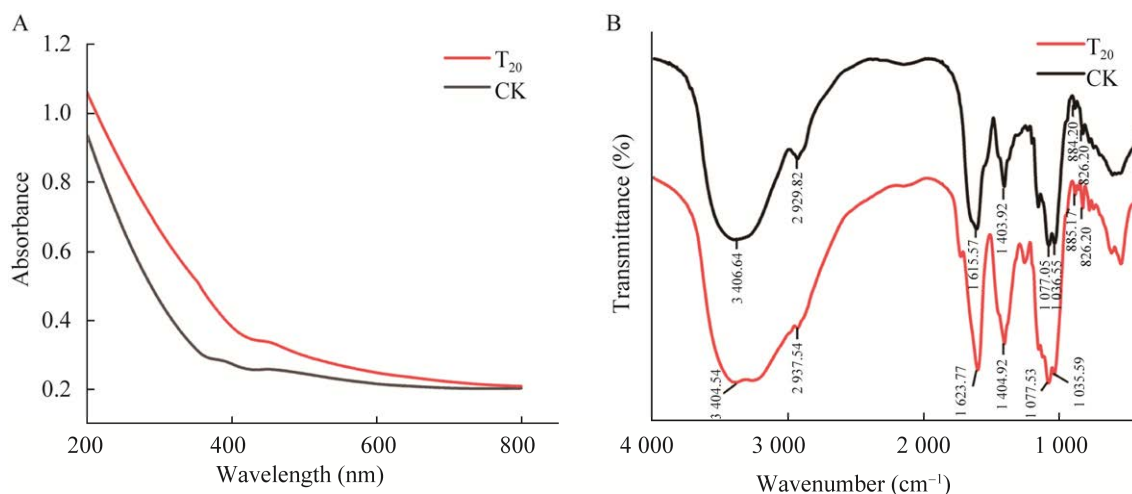


图 5 T<sub>20</sub> 和 CK 的 UV 光谱(A)与 T<sub>20</sub> 和 CK 的 FT-IR 光谱(B)

Figure 5 UV (A) and FT-IR spectra (B) of T<sub>20</sub> and CK.

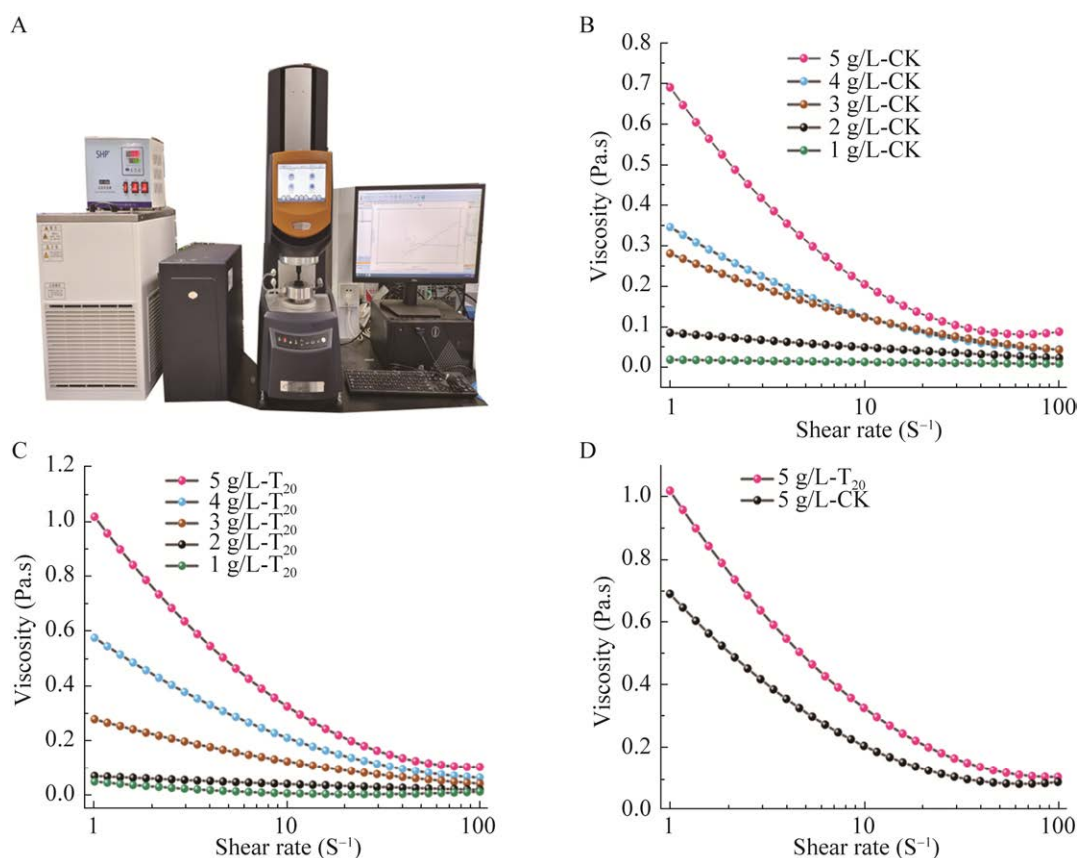


图 6  $T_{20}$  和 CK 的流变学特性 A: TA 流变仪. B-C: 不同浓度下两种类型的 PAPS 水溶液的黏度-剪切速率曲线. D: 5 g/L 浓度下两种类型的 PAPS 水溶液的黏度-剪切速率曲线

Figure 6 Rheological properties of  $T_{20}$  and CK. A: TA rheometer. B-C: Viscosity-shear rate curves of two types of aqueous PAPS solutions at different concentrations. D: Viscosity-shear rate curves for two types of PAPS aqueous solutions at 5 g/L concentration.

### 3 结论

本实验以课题组前期从滩涂海水稻根际筛选到的 1 株高产胞外多糖的内生细菌骆驼刺泛菌 NX-11 为研究对象,考察 7 种不同种类的氧载体对菌株发酵生产 PAPS 的产量、菌体生长、多糖微观结构和流变学的影响。结果表明:在骆驼刺泛菌 NX-11 产胞外多糖的过程中,大部分氧载体的添加对胞外多糖的生成有促进作用,其中,在发酵初期添加 0.5% (体积分数) Tween 20 的效果最佳。在 7.5 L 发酵罐中连续发酵时,添加 0.5% Tween 20 后研究表明,胞外多糖产量在 20 h 达到最大值为

16.85 g/L, 相比于对照组 13.99 g/L 提高了 17.0%。其微观结构和流变学特征表明了添加 Tween 20 发酵产生的多糖的结构更加光滑且对其的特征结构无影响,相同浓度下 PAPS 的黏度高于对照组。总之,在发酵体系中添加适当的氧载体能够改善氧供应,促进好氧菌的细胞生长以及产物积累。尤其对于高黏发酵体系中,发酵后期因产量增加和分子量高导致发酵体系黏度显著增加,进而严重阻碍氧气传递效率。氧载体的加入不仅能够改善溶氧,且对发酵产物的结构无不良影响。该研究为相关高分子产物的高效生产提供了理论依据,对高耗氧发酵体系的构建具有重要意义。



## REFERENCES

- [1] SUN L, CHENG L, MA YH, LEI P, WANG R, GU Y, LI S, ZHANG FH, XU H. Exopolysaccharides from *Pantoea alhagi* NX-11 specifically improve its root colonization and rice salt resistance[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 209: 396-404.
- [2] SUN L, LEI P, WANG Q, MA JJ, ZHAN YJ, JIANG K, XU ZQ, XU H. The endophyte *Pantoea alhagi* NX-11 alleviates salt stress damage to rice seedlings by secreting exopolysaccharides[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 10: 3112.
- [3] 张宁, 傅亮, 彭志英. 表面活性剂对土壤杆菌 Q9415 发酵产胶的影响[J]. 食品科学, 2004, 25(5): 141-143. ZHANG N, FU L, PENG ZY. Effects of emulsifiers added on gel production by *Agrobacterium radiobacter* Q9415[J]. Food Science, 2004, 25(5): 141-143 (in Chinese).
- [4] KIMURA E. Triggering mechanism of L-glutamate overproduction by DtsR1 in coryneform bacteria[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2002, 94(6): 545-551.
- [5] 张永刚, 吉武科, 武琳, 严希海, 万丽萍. 高粘性微生物多糖发酵生产的关键性因素[J]. 齐鲁工业大学学报, 2013, 27(3): 37-40. ZHANG YG, JI WK, WU L, YAN XH, WAN LP. The key factors in the high viscosity microbial polysaccharide fermentation production[J]. Journal of Qilu University of Technology, 2013, 27(3): 37-40 (in Chinese).
- [6] 冯尧成, 任厉泰, 张锋, 张志炳. 好氧发酵过程微界面传质耦合模拟分析[J]. 化工学报, 2020, 71(11): 4936-4944. FENG YC, REN LT, ZHANG F, ZHANG ZB. Coupling simulation analysis of micro-interface mass transfer in aerobic fermentation[J]. CIESC Journal, 2020, 71(11): 4936-4944 (in Chinese).
- [7] JEZERSKA S, CLAUS S, van BOGAERT I. Yeast glycolipid biosurfactants[J]. FEBS Letters, 2018, 592(8): 1312-1329.
- [8] WANG JD, WANG S, ZHAO SY, SUN PJ, ZHANG Z, XU QY. Productivity enhancement in L-lysine fermentation using oxygen-enhanced bioreactor and oxygen vector[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 11: 1181963.
- [9] OLIVA-TARAVILLA A, CARRASCO C, JÖNSSON LJ, MARTÍN C. Effects of biosurfactants on enzymatic saccharification and fermentation of pretreated softwood[J]. Molecules, 2020, 25(16): 3559.
- [10] KAHAR P, KOBAYASHI K, IWATA T, HIRAKI J, KOJIMA M, OKABE M. Production of  $\epsilon$ -polylysine in an airlift bioreactor (ABR)[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2002, 93(3): 274-280.
- [11] YU CY, FANG Y, HUANG WW, LEI P, XU XQ, SUN DF, WU LT, XU H, LI S. Effect of surfactants on the production and biofunction of *Tremella fuciformis* polysaccharide through submerged fermentation[J]. LWT, 2022, 163: 113602.
- [12] 颜日明, 艾佐佐, 汪涯, 张志斌, 曾庆桂, 朱笃. 双液相体系强化氧传递促进微生物油脂生产[J]. 生物工程学报, 2013, 29(4): 536-539. YAN RM, AI ZZ, WANG Y, ZHANG ZB, ZENG QG, ZHU D. Improved production of microbial lipids in the two-liquid phase fermentation system[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2013, 29(4): 536-539 (in Chinese).
- [13] WU Q, XU H, SHI NN, YAO J, LI S, OUYANG PK. Improvement of poly ( $\gamma$ -glutamic acid) biosynthesis and redistribution of metabolic flux with the presence of different additives in *Bacillus subtilis* CGMCC 0833[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 79(4): 527-535.
- [14] 刘珍, 李会, 张晓梅, 史劲松, 许正宏. 表面活性剂对纳豆芽孢杆菌产维生素 K2(MK-7)的影响[J]. 生物加工过程, 2023, 21(1): 32-38. LIU Z, LI H, ZHANG XM, SHI JS, XU ZH. Effect of surfactant on vitamin K2 (MK-7) production by *Bacillus natto*[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2023, 21(1): 32-38 (in Chinese).
- [15] SUN L, YANG YB, WANG R, LI S, QIU YB, LEI P, GAO J, XU H, ZHANG FL, LV YF. Effects of exopolysaccharide derived from *Pantoea alhagi* NX-11 on drought resistance of rice and its efficient fermentation preparation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 946-955.
- [16] SUN L, YANG YB, LEI P, LI S, XU H, WANG R, QIU YB, ZHANG W. Structure characterization, antioxidant and emulsifying capacities of exopolysaccharide derived from *Pantoea alhagi* NX-11[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 261: 117872.
- [17] GIRIDHAR R, SRIVASTAVA AK. Productivity enhancement in L-sorbose fermentation using oxygen vector[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2000, 27(7): 537-541.
- [18] LIU YS, WU JY. Use of n-hexadecane as an oxygen vector to improve *Phaffia rhodozyma* growth and carotenoid production in shake-flask cultures[J].

- Journal of Applied Microbiology, 2006, 101(5): 1033-1038.
- [19] 薄芳芳, 许召贤, 孙朱贞, 曹长虹, 夏军, 徐虹, 冯小海. 氧载体对小白链霉菌发酵生产  $\epsilon$ -聚赖氨酸的影响[J]. 生物工程学报, 2015, 31(3): 431-435.  
BO FF, XU ZX, SUN ZZ, CAO CH, XIA J, XU H, FENG XH. Effect of oxygen-vectors on the production of  $\epsilon$ -poly-L-lysine[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2015, 31(3): 431-435 (in Chinese).
- [20] GE Q, ZHANG AQ, SUN PL. Structural investigation of a novel water-soluble heteropolysaccharide from the fruiting bodies of *Phellinus baumii* Pilát[J]. Food Chemistry, 2009, 114(2): 391-395.
- [21] GUO QW, MA QQ, XUE ZH, GAO XD, CHEN HX. Studies on the binding characteristics of three polysaccharides with different molecular weight and flavonoids from corn silk (*Maydis stigma*)[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 198: 581-588.
- [22] MALINOWSKA E, KLIMASZEWSKA M, STRĄCZEK T, SCHNEIDER K, KAPUSTA C, PODSADNI P, ŁAPIENIS G, DAWIDOWSKI M, KLEPS J, GÓRSKA S, PISKLAK DM, TURŁO J. Selenized polysaccharides-biosynthesis and structural analysis[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 198: 407-417.
- [23] ZHU RG, ZHANG XY, WANG Y, ZHANG LJ, ZHAO J, CHEN G, FAN JG, JIA YP, YAN FW, NING C. Characterization of polysaccharide fractions from fruit of *Actinidia arguta* and assessment of their antioxidant and antiglycated activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 210: 73-84.
- [24] MEI YX, ZHU H, HU QM, LIU YY, ZHAO SM, PENG N, LIANG YX. A novel polysaccharide from mycelia of cultured *Phellinus linteus* displays antitumor activity through apoptosis[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 124: 90-97.
- [25] WANG BH, CAO JJ, ZHANG B, CHEN HQ. Structural characterization, physicochemical properties and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of polysaccharide from the fruits of wax apple[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 211: 227-236.
- [26] XU JL, ZHANG JC, LIU Y, SUN HJ, WANG JH. Rheological properties of a polysaccharide from floral mushrooms cultivated in Huangshan Mountain[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 139: 43-49.
- [27] VARDHANABHUTI B, IKEDA S. Isolation and characterization of hydrocolloids from monoi (*Cissampelos pareira*) leaves[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(6): 885-891.
- [28] WANG B, ZHANG WM, BAI XP, LI CF, XIANG D. Rheological and physicochemical properties of polysaccharides extracted from stems of *Dendrobium officinale*[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 103: 105706.

(本文责编 陈宏宇)