

研究报告

基于信号分子 AI-2 活性的发酵黏液乳杆菌 2-1 分泌胞外多糖的研究

张菁，顾悦*，田建军，贺银凤

内蒙古农业大学 食品科学与工程学院，内蒙古 呼和浩特 010018

张菁，顾悦，田建军，贺银凤. 基于信号分子 AI-2 活性的发酵黏液乳杆菌 2-1 分泌胞外多糖的研究[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 1234-1249.

ZHANG Jing, GU Yue, TIAN Jianjun, HE Yinfeng. Exopolysaccharides secretion of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 based on AI-2 activity[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 1234-1249.

摘要：【背景】LuxS/自体诱导物-2 (autoinducer-2, AI-2)群体感应系统可以通过分泌信号分子调控菌体细胞环境适应的过程，胞外多糖在保护细胞免受外界环境的刺激、伤害等方面也有着至关重要的作用，但二者之间的相互关系并不明确。【目的】探究不同培养条件下发酵黏液乳杆菌 (*Limosilactobacillus fermentum*) 2-1 的 AI-2 活性与胞外多糖产量的关系。【方法】采用苯酚-硫酸法及哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*) BB170 生物发光法测定不同培养条件下发酵黏液乳杆菌 2-1 胞外多糖产量和信号分子 AI-2 活性。【结果】发酵黏液乳杆菌 2-1 在培养初期的细胞生长速率最快，随后菌体密度逐渐趋于稳定；信号分子 AI-2 活性在 7 h 时出现峰值，随后下降；胞外多糖产量先增加后减小，16 h 时显著高于其他培养时间，达 (204.30 ± 15.98) mg/L。温度升高(44 °C)或降低(23 °C, 30 °C)，菌株的菌体密度、信号分子 AI-2 活性和胞外多糖的产生都会受到抑制；酸性条件有利于发酵黏液乳杆菌 2-1 信号分子 AI-2 的分泌，但菌株的生长和胞外多糖产量受到抑制；菌株信号分子 AI-2 活性及胞外多糖产量与接种量在 1%–3% 范围内呈正相关；培养基碳源改变时，菌株菌体密度、信号分子 AI-2 活性及胞外多糖产量也随之改变。添加终浓度为 100 μmol/L 的外源信号分子 AI-2 时，显著促进了发酵黏液乳杆菌 2-1 胞外多糖的产量($P<0.05$)。【结论】在一定条件下时，信号分子 AI-2 活性和胞外多糖产量之间呈正相关关系。

关键词：群体感应；信号分子 AI-2；发酵黏液乳杆菌 2-1；胞外多糖

资助项目：国家自然科学基金(32201996)；内蒙古自治区直属高校科研项目(BR220503)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32201996) and the Scientific Research Foundation of Inner Mongolia Directly Affiliated Universities (BR220503).

*Corresponding author. E-mail: gyimau@126.com

Received: 2024-06-17; Accepted: 2024-07-31; Published online: 2024-08-23

Exopolysaccharides secretion of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 based on AI-2 activity

ZHANG Jing, GU Yue*, TIAN Jianjun, HE Yinfeng

College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, Inner Mongolia, China

Abstract: [Background] The LuxS/autoinducer-2 (AI-2) quorum sensing system regulates bacterial adaptation to environmental changes by secreting signal molecules. Exopolysaccharides (EPS) play a crucial role in protecting cells from external environmental stress and damage. However, the relationship between the LuxS/AI-2 system and EPS production remains unclear. [Objective] To investigate the relationship between AI-2 activity and EPS production in *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 cultured under different conditions. [Methods] The phenol-sulfuric acid method and *Vibrio harveyi* BB170 bioluminescence assay were employed to determine the EPS yield and AI-2 activity, respectively, of *L. fermentum* 2-1 cultured under different conditions. [Results] The cell growth of *L. fermentum* 2-1 was the fastest during the early stages of culture, after which the cell density gradually stabilized. The AI-2 activity peaked at the time point of 7 h and then decreased. The EPS production presented a trend of first rising and then declining, reaching the peak of (204.30 ± 15.98) mg/L at the time point of 16 h, which was significantly higher than that at other time points. Both elevated (44°C) and declined (23°C , 30°C) temperatures inhibited the cell density, AI-2 activity, and EPS production. Acidic conditions favored AI-2 secretion but inhibited cell growth and EPS production. AI-2 activity and EPS production were positively correlated with inoculum size within the range of 1%–3%. Changes of the carbon source altered the cell density, AI-2 activity, and EPS production. Addition of exogenous AI-2 at a final concentration of $100 \mu\text{mol/L}$ promoted EPS production in *L. fermentum* 2-1 ($P < 0.05$). [Conclusion] Under certain conditions, there is a positive correlation between AI-2 activity and EPS production in *L. fermentum* 2-1.

Keywords: quorum sensing; signal molecule AI-2; *Limosilactobacillus fermentum* 2-1; exopolysaccharide

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是一类革兰氏阳性细菌，主要发酵产物为乳酸。大部分乳酸菌能够协助营养物质的吸收^[1-3]、调节人体的免疫能力^[4-5]等，是人体内不可缺少并且起重要作用的菌群^[6-8]。乳酸菌胞外多糖(exopolysaccharide, EPS)是一种糖类聚合物，是乳酸菌的代谢产物^[9]。EPS 作为乳酸菌的主要代谢产物，它不仅对菌体起着关键的调控作用，

而且还发挥着很好的生理调节功能^[10-11]。其除具有增加黏度、增大持水性和抗剪切性等功能之外，还具有抑制肿瘤发生、调节人体的肠道菌群平衡及降血脂等多种生理活性^[12-14]。

群体感应(quorum sensing, QS)是细菌感知到周围环境或者种群密度发生改变时调控自身代谢的一种机制，主要通过分泌信号分子来完成，其中，信号分子自体诱导物-2 (autoinducer-2,

AI-2)广泛存在于多种细菌中^[15]。已有研究表明, 细菌的多种生理活动可以受到信号分子AI-2的调控, 如表达毒力基因、形成生物膜及积累代谢产物等^[16-17]; 其中, LuxS/AI-2群体感应系统可调节LAB生物膜的产生和产量。而EPS大约占生物膜中总有机物的50%–90%^[18]; 在探究QS系统对乳酸菌生物膜形成机理的研究中发现, QS系统与EPS之间可能也存在一定的关联。乳酸菌EPS是乳酸菌代谢产物之一, 其不仅因可以提高产品稳定性和抗氧化能力等被广泛应用于食品中, 还因具有抗肿瘤、提高免疫力等功能被应用于医药行业^[19-23]。但是, EPS的产量并不稳定, 会受到菌株种类、环境因子、胁迫程度等因素的影响。QS系统是细菌细胞间交流的一种机制, 对细菌的多种生理功能都具有一定的调控作用。LuxS/AI-2QS系统可以调控菌体细胞环境适应的过程, 而EPS在保护细胞免受外界环境的刺激、伤害等方面有着至关重要的作用^[24], 但二者之间的关系还有待于进一步深入研究。本研究以发酵黏液乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*)2-1为研究对象, 分析不同培养条件下信号分子AI-2活性和EPS产量的变化, 并外源添加信号分子AI-2, 探究其对EPS产量的影响, 以期为深入研究QS系统调控乳酸菌生理功能的机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品

产信号分子AI-2和EPS的发酵黏液乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*)2-1, 由内蒙古农业大学食品科学与工程学院食品生物技术团队提供。哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)BB170, 美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC)。

1.2 培养基

MRS液体培养基参照文献[25]配制, 自动诱导生物测定(autoinducer bioassay, AB)培养基参照文献[26]配制。制备培养基使用的试剂均为国产分析纯。

1.3 主要试剂和仪器

乳糖和蔗糖, 福晨(天津)化学试剂有限公司; 半乳糖和浓硫酸, 国药集团化学试剂有限公司。生物安全柜和冷冻离心机, 上海力申科学仪器有限公司; 高压灭菌锅, TOMY公司; 生化培养箱和电热鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 电子天平, 奥豪斯仪器(上海)有限公司; 酶标仪, PerkinElmer公司。

1.4 乳酸菌活化及保存

将发酵黏液乳杆菌2-1以2%接种量接种于灭菌后的MRS液体培养基中, 37 °C条件下静置培养24 h活化后, 将生长对数期的菌株与甘油混合, 比例为发酵液:甘油为4:1, 于1.5 mL冻存管中混合均匀, 于-80 °C冰箱中储存, 备用。

1.5 供试菌液的制备

将保存的菌株2-1解冻后, 按2%接种量接种至灭菌后的MRS液体培养基中, 37 °C静置培养, 活化3代后将菌株的发酵液在4 °C、6 000 r/min离心5 min, 弃掉上清液, 向菌体中加入灭菌的生理盐水洗涤, 去除培养基的影响, 重复洗涤3次, 调整OD₅₉₅值为1.0左右, 制成供试菌液。

1.6 不同环境因素下信号分子AI-2和EPS关系的探究

1.6.1 不同环境因素对EPS产量的影响

在不同条件的MRS培养基中, 接种发酵黏液乳杆菌2-1, 不同环境因素如表1所示。采用苯酚-硫酸法测定EPS含量, 同法处理空白MRS培养基并测定, 二者差值即为EPS的产量^[27]。

表 1 实验中所涉及的环境因素

Table 1 Environmental factors involved in the experiment

因素 Factor	参数 Parameter
培养时间 Culture time (h)	0, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25
培养温度 Culture temperature (°C)	23, 30, 37, 44
pH 值 pH value	4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 8.5
接种量 Inoculum size (%)	1, 2, 3, 4
碳源 Carbon source	葡萄糖、乳糖、半乳糖、蔗糖 Glucose, lactose, galactose, saccharose

粗多糖的提取：菌株经 3 代活化后，将发酵液于 8 000 r/min 离心 5 min 去除菌泥，向上清液中添加 80% 三氯乙酸(终浓度为 4%)，4 °C 静置 24 h 后 10 000 r/min 离心 20 min 除去蛋白质，保留上清液并加入 3 倍体积的 95% 冷乙醇，4 °C 沉淀多糖 24 h 后 10 000 r/min 离心 20 min 收集沉淀，将沉淀溶于等体积的超纯水，装于处理好的透析袋中，每隔 6 h 换水 1 次，透析 24 h，即得粗多糖。

葡萄糖标准曲线的绘制：当葡萄糖被烘干到恒定重量后，精确地称量 10 mg 放入容量瓶中，然后加入适当的蒸馏水，使其成为 100 μg/mL 的葡萄糖标准液，取 6 个试管，分别加入 0、0.1、0.3、0.5、0.7、0.9 mL 的葡萄糖标准液，然后加入蒸馏水至 1.0 mL，每支试管中加 1.0 mL 6% 芸酚溶液摇匀后加入 5.0 mL 浓硫酸，室温下反应 30 min 测定 OD₄₉₀ 值，以葡萄糖标准溶液的质量浓度为横坐标，以 OD₄₉₀ 值为纵坐标，绘制标准曲线。

采用芸酚-硫酸法测定乳酸菌 EPS 产量，取粗多糖 1.0 mL，分别加入 6% 芸酚溶液 1.0 mL 和浓硫酸 5.0 mL 摆匀，室温放置 30 min，测 OD₄₉₀ 值，将 OD₄₉₀ 值代入标准曲线中即可得出 EPS 浓度。

1.6.2 不同环境因素对乳酸菌 AI-2 活性的影响

采用 *V. harveyi* BB170 生物发光检测法对发酵黏液乳杆菌 2-1 的信号分子 AI-2 活性进行

检测。结合乳酸菌 EPS 的分泌规律，分析乳酸菌 EPS 产生与 AI-2 活性的相关性。

无细胞发酵上清液(cell-free fermentation supernatant, CFS)的制备：首先将待测菌株培养液、*V. harveyi* BB170 培养液、AB 培养基和 MRS 培养基于 4 °C、8 000 r/min 离心 5 min；然后使用 0.22 μm 的水系滤膜对上清液进行过滤，从而得到待测样品、阳性对照、阴性对照和介质对照；最后将无菌 CFS 和对照样品保存在-80 °C。

信号分子 AI-2 活性的测定：将 *V. harveyi* BB170 按 2% 接种量接种于 AB 培养基中，30 °C、100 r/min 振荡培养 3 代至 OD₆₀₀ 为 0.9–1.1 之间，用 AB 培养基按 1:5 000 稀释 *V. harveyi* BB170 菌液。将待测样品、阳性对照、阴性对照和介质对照分别与稀释后的 *V. harveyi* BB170 菌液以 1:100 进行混合，继续 30 °C、100 r/min 振荡培养。在 0–6 h 内，每隔 30 min 取 200 μL 混合液测定其荧光强度值。在阴性对照荧光强度值达到最低点时对各个样品的荧光强度进行测定，用公式(1)^[28]计算其相对荧光强度用以代表信号分子 AI-2 的活性。

$$\text{待测样品相对荧光强度} = \frac{\text{待测样品的荧光强度值}}{\text{介质对照的荧光强度值}} \quad (1)$$

1.7 不同浓度外源信号分子 AI-2 对发酵粘液乳杆菌 2-1 菌体密度、AI-2 活性和 EPS 产量的影响

分别添加不同浓度的外源信号分子 AI-2 至

灭菌后的 MRS 培养基中,使培养基中信号分子 AI-2 的终浓度分别达到 0、50、100、150 $\mu\text{mol/L}$, 37 °C 培养菌株, 在 7 h 和 16 h 时测定发酵液 OD_{595} 值; 在 7 h 时测定菌株信号分子 AI-2 活性; 在 16 h 时测定 EPS 含量。

1.8 数据统计分析

每组试验重复 3 次, 实验数据用 SPSS 26 软件进行处理和显著性差异分析, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同培养时间下发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 及 EPS 的变化规律

2.1.1 不同培养时间下发酵黏液乳杆菌 2-1 信号分子 AI-2 活性的变化

在不同培养时间测定发酵黏液乳杆菌 2-1 的菌体密度和信号分子 AI-2 活性, 结果如图 1 所示。在培养初期, 发酵黏液乳杆菌 2-1 的细胞生长速率最快, 随着培养时间的延长, 菌体密度逐渐趋于稳定。发酵黏液乳杆菌 2-1 的信号分子 AI-2 活性呈先上升后下降的变化, 在 7 h

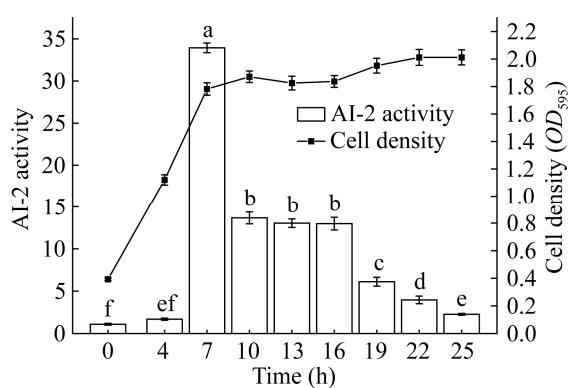


图 1 不同培养时间的菌体密度和 AI-2 活性的关系 不同小写字母表示差异显著。下同。

Figure 1 Relationship between cell density and AI-2 activity at different culture times. Different lowercase letters indicate significant differences. The same below.

时出现峰值, 达到 33.94 ± 0.57 , 显著高于其他培养时间($P<0.05$), 此时的菌株繁殖速率最快, 随后 AI-2 活性下降。

2.1.2 葡萄糖标准曲线的绘制

以葡萄糖浓度(mg/L)为横坐标, 以 OD_{490} 值为纵坐标绘制的葡萄糖标准曲线见图 2, 回归线性方程为: $y=0.0027x+0.1084$, $R^2=0.9991$ 。

2.1.3 不同培养时间下发酵黏液乳杆菌 2-1 EPS 产量的变化

不同培养时间下发酵黏液乳杆菌 2-1 的 EPS 产量变化结果如图 3 所示, 随着菌株的生

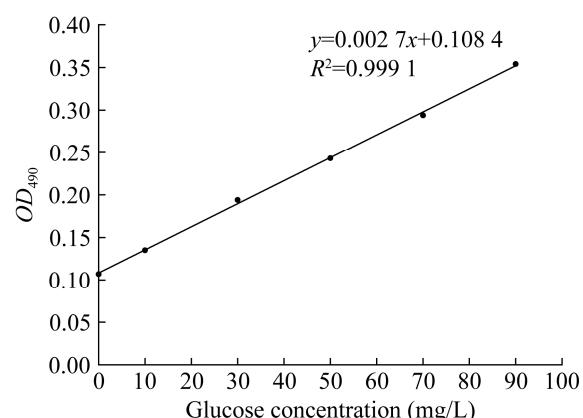


图 2 葡萄糖标准曲线

Figure 2 Standard curve of glucose.

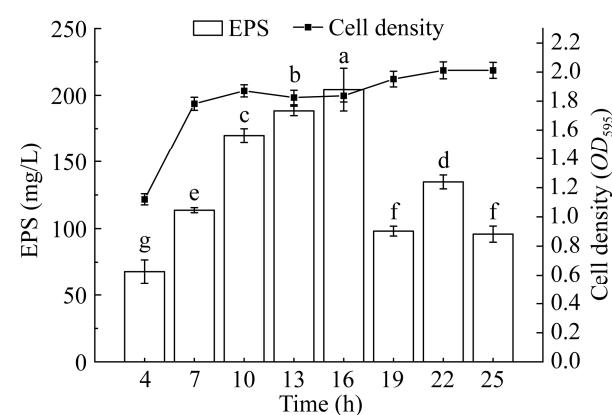


图 3 不同培养时间的菌体密度和 EPS 产量的关系

Figure 3 The relationship between cell density and EPS production at different culture times.

长, 发酵黏液乳杆菌 2-1 的 EPS 产量呈先增加后减少的趋势, 并且在培养时间为 16 h 时 EPS 产量达到(204.30 ± 15.98) mg/L, 显著高于其他培养时间($P<0.05$)。结合图 1 和图 3 可知, 发酵黏液乳杆菌 2-1 的信号分子 AI-2 活性和 EPS 产量在 0~7 h 内均随时间延长呈上升趋势, 7 h 之后 AI-2 活性逐渐下降, 此时 EPS 产量依然呈上升趋势。

2.2 培养温度对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 及 EPS 的影响

2.2.1 培养温度对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的影响

对不同温度下发酵黏液乳杆菌 2-1 的菌体密度和信号分子 AI-2 活性进行测定, 结果如表 2 和表 3 所示。由表 2 可知, 以培养温度 37 °C 为对照组, 除 4 h、13~16 h 外, 发酵黏液乳杆菌

表 2 不同培养温度对发酵黏液乳杆菌 2-1 菌体密度的影响

Table 2 Effect of different culture temperature on cell density of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 ($\bar{x}\pm SD$, $n=3$)

Time (h)	23 °C	30 °C	37 °C (control)	44 °C
0	0.395±0.011a	0.396±0.004a	0.390±0.009a	0.392±0.007a
4	0.421±0.008d	0.519±0.017c	1.126±0.022b	1.275±0.046a
7	0.463±0.008c	0.965±0.035b	1.789±0.059a	1.837±0.069a
10	0.589±0.006c	1.420±0.081b	1.818±0.040a	1.767±0.046a
13	0.915±0.016d	1.740±0.036c	1.832±0.046b	1.927±0.058a
16	1.120±0.020c	1.783±0.037b	1.833±0.050b	1.942±0.061a
19	1.284±0.024c	1.758±0.040b	1.927±0.065a	1.990±0.067a
22	1.541±0.018c	1.737±0.027b	1.994±0.055a	1.975±0.047a
25	1.610±0.030b	1.717±0.055b	1.883±0.136a	1.951±0.058a

同一行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Different lowercase letters on the same line indicate significant differences ($P<0.05$). The same below.

表 3 不同培养温度对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的影响

Table 3 Effect of different culture temperature on AI-2 production of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 ($\bar{x}\pm SD$, $n=3$)

Time (h)	23 °C	30 °C	37 °C (control)	44 °C
0	0.956±0.076c	1.332±0.138b	1.879±0.125a	1.508±0.104b
4	1.746±0.141c	2.017±0.149c	3.304±0.159b	6.679±0.168a
7	2.392±0.025d	3.536±0.430c	39.415±0.488a	27.563±0.373b
10	3.188±0.158d	8.740±0.329c	24.105±0.800a	15.652±0.469b
13	3.724±0.179d	14.078±0.570b	27.519±1.127a	11.481±0.110c
16	4.514±0.193d	16.834±0.483b	18.989±0.656a	8.193±0.301c
19	5.138±0.440c	14.293±0.500a	6.188±0.133b	5.083±0.126c
22	10.669±0.481c	13.691±0.581a	12.514±0.545b	3.702±0.426d
25	7.337±0.058b	8.414±0.914ab	8.541±0.572a	2.216±0.177c

2-1 在 44 °C 的菌体密度与对照组无明显差异，在 23 °C 与 30 °C 条件下，发酵黏液乳杆菌 2-1 生长速度较缓慢，并且在 23 °C 时菌株生长受到的抑制较为严重，由此说明低温降低了菌株的生长速度。

由表 3 可知，除 4 h 外，0–16 h 培养时间内，对照组信号分子 AI-2 活性高于其他试验组。23 °C 培养时，发酵黏液乳杆菌 2-1 的各时间信号分子 AI-2 活性均显著低于对照组($P<0.05$)，此结果可能是培养温度降低，减缓了菌株的生长代谢，信号分子 AI-2 的分泌和累积也受到了影响。在 30 °C 的培养条件下，除 19 h 和 22 h 外，信号分子 AI-2 活性均低于对照组。在 44 °C 培养条件下，4 h 时信号分子 AI-2 活性高于对照组，其余时间均低于对照组，可能是因为提高培养温度不利于菌株生长、代谢及信号分子 AI-2 的分泌。结合表 2 和表 3 可得出，相对于最适生长温度 37 °C，温度降低或升高都会对菌株生长及 AI-2 活性造成影响。

2.2.2 培养温度对发酵黏液乳杆菌 2-1 产 EPS 的影响

不同培养温度对发酵黏液乳杆菌 2-1 的 EPS 产量影响如图 4 所示，随着培养时间的延长，各组菌株的 EPS 产量均有不同程度的增加或减少，但都低于对照组所产 EPS，说明低温条件和高温条件都会抑制发酵黏液乳杆菌 2-1 EPS 的产生。结合以上结果，温度的升高(44 °C)或降低(23 °C、30 °C)都会对发酵黏液乳杆菌 2-1 的生长代谢造成一定程度的影响，并且温度越低(23 °C)，菌株受到的抑制作用更明显，信号分子 AI-2 的活性和 EPS 产量均受到抑制，二者呈正相关。

2.3 培养基 pH 值对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 及 EPS 的影响

2.3.1 培养基 pH 值对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的影响

不同 pH 值对发酵黏液乳杆菌 2-1 菌体密

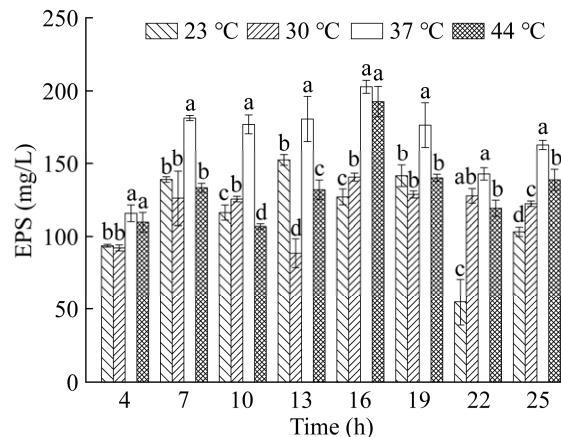


图 4 不同培养温度对发酵黏液乳杆菌 2-1 产 EPS 的影响

Figure 4 Effect of different culture temperatures on EPS production of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1.

度和信号分子 AI-2 活性的影响结果如表 4 和表 5 所示。由表 4 可知，在 0–25 h 的培养过程中对照组的菌体密度均显著高于其他组($P<0.05$)，证明发酵黏液乳杆菌 2-1 在此 pH 值条件下生长情况最好。在 pH 值 4.5、5.5 的条件下，菌株生长较为缓慢，菌体密度均显著低于对照组($P<0.05$)，并且 pH 值越低菌体密度越小，表明酸性条件会抑制发酵黏液乳杆菌 2-1 的生长。菌株在 pH 值为 7.5 的培养基中培养时，0–16 h 的菌体密度低于对照组，但高于其他条件，19–25 h 时菌体密度与对照组无明显差异，可能是发酵黏液乳杆菌 2-1 在生长过程中利用糖类物质产生酸类，进而改变了培养基的 pH 值，使得 pH 值逐渐适合菌株的生长。培养基 pH 值为 8.5 时，菌体密度一直低于对照组，说明与最适 pH 值 6.5 的偏离程度越大，菌株的生长越慢，其进入稳定期所需的时间越长。

由表 5 可知，发酵黏液乳杆菌 2-1 在 pH 值为 4.5 和 5.5 的培养条件下，信号分子 AI-2 的最高活性高于对照组和其他试验组，说明在酸

表 4 不同 pH 值对发酵黏液乳杆菌 2-1 菌体密度的影响Table 4 Effect of different pH value of medium on cell density of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Time (h)	4.5	5.5	6.5 (control)	7.5	8.5
0	0.279±0.004e	0.348±0.008d	0.847±0.008a	0.642±0.022b	0.537±0.026c
4	0.376±0.003e	0.830±0.010d	1.515±0.021a	1.308±0.027b	1.060±0.021c
7	0.854±0.020e	1.448±0.068d	2.130±0.019a	1.977±0.058b	1.799±0.045c
10	1.301±0.016d	1.738±0.035c	2.094±0.061a	1.938±0.033b	1.895±0.046b
13	1.413±0.024d	1.791±0.037c	2.101±0.038a	1.954±0.049b	1.870±0.053c
16	1.569±0.021e	1.767±0.053d	2.119±0.049a	2.024±0.034b	1.896±0.040c
19	1.648±0.024d	1.759±0.035c	2.114±0.009a	2.068±0.050a	1.978±0.044b
22	1.663±0.026d	1.816±0.030c	2.139±0.045a	2.092±0.037ab	2.059±0.045b
25	1.672±0.028d	1.951±0.040c	2.176±0.022a	2.108±0.038ab	2.073±0.042b

表 5 不同 pH 值对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的影响Table 5 Effect of different pH value of medium on AI-2 production of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Time (h)	4.5	5.5	6.5 (control)	7.5	8.5
0	1.151±0.097a	1.059±0.070ab	1.033±0.130ab	0.829±0.133b	0.833±0.125b
4	1.151±0.240b	1.245±0.110b	1.656±0.179a	1.424±0.213ab	1.145±0.154b
7	7.525±0.423d	16.888±0.664b	29.311±1.739a	10.039±0.629c	8.145±0.545cd
10	37.641±2.115a	22.225±0.868b	20.762±1.126c	16.922±1.203d	9.468±0.183e
13	25.130±1.056a	22.477±2.428a	17.391±0.695b	16.927±1.179b	11.591±0.611c
16	21.324±1.428b	29.609±0.379a	12.278±0.749c	9.497±0.111d	6.661±0.428e
19	11.619±0.380b	14.402±1.036a	13.470±1.011a	7.468±0.337c	4.532±0.081d
22	6.504±0.196b	9.066±0.552a	7.364±0.601b	3.995±0.197c	4.457±0.514c
25	3.943±0.278c	6.086±0.083b	7.351±0.800a	5.600±0.368b	2.941±0.397d

性条件下其会分泌更多的信号分子 AI-2 来抵御不良环境。菌株在培养基 pH 值为 4.5 时, 其 AI-2 活性在 10 h 时达到最大, 而培养基 pH 值为 5.5 时, 其 AI-2 活性在 16 h 达最大值, 说明适当的酸胁迫可诱导发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的峰值提前。结合发酵黏液乳杆菌 2-1 的生长情况可知, 菌株在 pH 值为 4.5 和 5.5 的培养条件下时, 其生长和代谢会受到影响, 但是信号分子 AI-2 的活性得到增强, 说明在酸性培养条件下, 酸胁迫会诱导菌株信号分子 AI-2 的分泌。培养条件为 pH 值 7.5 和 8.5 时, 在 0~25 h 培养过程中信号分子 AI-2 活性

均低于对照组, 结果表明碱性条件会抑制菌株的正常生长, 并且信号分子 AI-2 的活性也会受到抑制。

2.3.2 培养基 pH 值对发酵黏液乳杆菌 2-1 产 EPS 的影响

对不同 pH 值下发酵黏液乳杆菌 2-1 的 EPS 产量进行测定, 结果如图 5 所示, 随着培养时间的延长, 各组 EPS 产量逐渐先增加后减少, 但对照组产量始终最高, 说明酸性条件和碱性条件都抑制了菌株 EPS 的产生。

结合发酵黏液乳杆菌 2-1 在不同 pH 值条件下的生长、信号分子 AI-2 活性及 EPS 产量的变

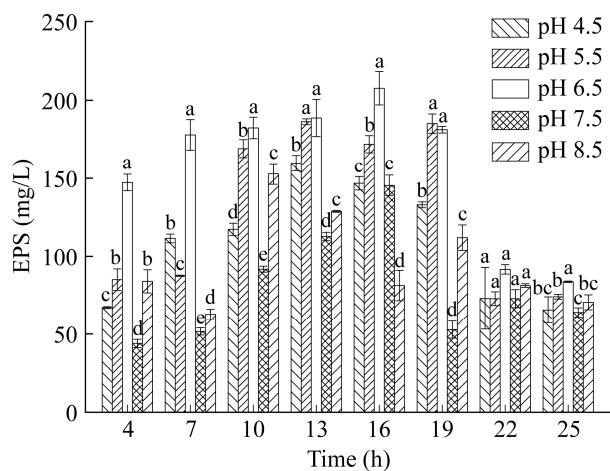


图5 不同培养基 pH 值对发酵黏液乳杆菌 2-1 产 EPS 的影响

Figure 5 Effect of different pH value of medium on EPS production of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1.

化可知, pH 值(4.5、5.5)降低, 菌株的生长及 EPS 产生会受到抑制, 但信号分子 AI-2 活性得到增强。pH 值(7.5、8.5)升高, 菌株的生长、信号分子 AI-2 活性和 EPS 产量均受到抑制, AI-2 活性和 EPS 产量此时呈正相关。

2.4 接种量对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 及 EPS 的影响

2.4.1 接种量对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的影响

按不同的接种量将菌株接入至 MRS 培养

基中, 菌体密度结果如表 6 所示, 以接种量为 2% 为对照组, 在 0~16 h 培养时间内, 接种量为 1% 时的菌体密度低于对照组, 在 19~25 h 与对照组无显著差异, 可能是由于接种量的减小使菌体初始的生长相对减缓, 但随时间的延长, 菌株逐渐适应并缓慢上升。接种量为 3%、4% 时, 0~25 h 的培养过程中菌体密度与对照组无明显差异。接种量的减小影响了菌株的生长速度, 但在稳定期后无显著差异。适当增大接种量对菌株的菌体密度影响不显著。

不同接种量对信号分子 AI-2 的影响结果如表 7, 在培养时间为 7 h 时, 4 个不同接种量的菌株信号分子 AI-2 活性均达到最大, 并且在 1%~3% 的接种量范围内, 接种量越大, 信号分子 AI-2 活力越高, 3% 接种量组达到 35.359 ± 2.086 , 接种量继续增大, 信号分子 AI-2 活力降低。可能是由于接种量的增大, 导致培养基内营养物质不足以使菌体正常生长, 进而影响了信号分子 AI-2 的产生。接种量为 1% 时, 信号分子 AI-2 活力均低于其他组, 可能是由于菌体密度低, 菌株生长缓慢, 导致信号分子 AI-2 活力较低。

2.4.2 接种量对发酵黏液乳杆菌 2-1 产 EPS 的影响

不同接种量对 EPS 产量的影响如图 6 所示, 当接种量范围在 1%~3% 时, EPS 产量随接

表 6 不同接种量对发酵黏液乳杆菌 2-1 菌体密度的影响

Table 6 Effect of different inoculum size on cell density of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Time (h)	1%	2% (control)	3%	4%
0	$0.393 \pm 0.026b$	$0.424 \pm 0.011ab$	$0.438 \pm 0.014a$	$0.454 \pm 0.004a$
4	$0.823 \pm 0.015c$	$1.009 \pm 0.028b$	$1.005 \pm 0.029b$	$1.188 \pm 0.036a$
7	$1.658 \pm 0.031b$	$1.721 \pm 0.033a$	$1.678 \pm 0.033a$	$1.798 \pm 0.040a$
10	$1.854 \pm 0.028b$	$1.859 \pm 0.027a$	$1.830 \pm 0.032a$	$1.839 \pm 0.015a$
13	$1.802 \pm 0.036b$	$1.817 \pm 0.045a$	$1.827 \pm 0.026a$	$1.836 \pm 0.046a$
16	$1.856 \pm 0.064b$	$1.892 \pm 0.039a$	$1.910 \pm 0.065a$	$1.939 \pm 0.047a$
19	$1.956 \pm 0.047a$	$1.994 \pm 0.066a$	$1.992 \pm 0.045a$	$1.986 \pm 0.062a$
22	$2.029 \pm 0.045a$	$2.028 \pm 0.062a$	$1.995 \pm 0.043a$	$1.972 \pm 0.044a$
25	$2.003 \pm 0.048a$	$2.000 \pm 0.046a$	$1.997 \pm 0.058a$	$2.003 \pm 0.061a$

表 7 不同接种量对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的影响

Table 7 Effect of different inoculum size on AI-2 production of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 ($\bar{x} \pm SD$, $n=3$)

Time (h)	1%	2% (control)	3%	4%
0	1.172±0.107b	1.742±0.014a	1.711±0.186a	1.617±0.040a
4	2.859±0.415c	6.320±0.297b	9.164±0.514a	9.313±0.382a
7	27.601±2.183b	28.539±1.918b	35.359±2.086a	32.867±0.135a
10	27.062±1.482b	25.406±2.704bc	33.718±1.173a	22.586±0.893c
13	21.273±1.879ab	23.289±1.127a	22.086±0.559ab	19.797±0.399b
16	19.781±0.387b	21.609±1.442ab	23.476±1.130a	19.672±1.485b
19	15.320±0.750b	15.773±0.901b	18.031±0.663a	13.312±0.446c
22	11.094±0.459bc	13.406±1.402a	12.594±0.413ab	10.305±0.693c
25	6.594±0.427b	8.039±0.624a	8.586±0.659a	7.812±0.236a

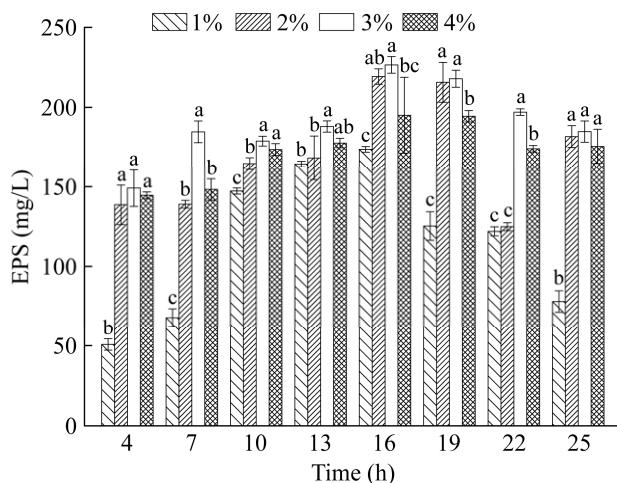


图 6 不同接种量对发酵黏液乳杆菌 2-1 产 EPS 的影响

Figure 6 Effect of different inoculum size on EPS production of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1.

种量的增大而增多，当接种量为 3% 时 EPS 产量显著增加($P<0.05$)，并且在 16 h 时达到最大值(226.54±5.19) mg/L。当继续增大接种量(4%)时，EPS 的产量减小。结合以上结果得知，在一定接种量范围内(1%~3%)，信号分子 AI-2 活性与 EPS 产量会随接种量的增大而增大，呈正相关关系，推测信号分子活性的增大调控了菌株 EPS 产生这一生理功能；持续增大接种量(4%)时，培养基中有限的营养物质使信号分子的活

性降低，进而抑制了 EPS 的产生。

2.5 碳源对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 及 EPS 的影响

2.5.1 碳源对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的影响

以培养基中碳源为葡萄糖作为对照组，碳源为乳糖、半乳糖、蔗糖为试验组，由表 8 可知，对照组的菌体密度均显著高于各试验组($P<0.05$)。

不同碳源对发酵黏液乳杆菌 2-1 信号分子 AI-2 活性的影响如表 9 所示，对照组信号分子 AI-2 活性的峰值显著高于各试验组，在 7 h 时，除培养基碳源为半乳糖和蔗糖组外，其余 2 组信号分子 AI-2 活性均达到最大，并且对照组值显著高于其他组($P<0.05$)，碳源为蔗糖组在 10 h 时信号分子 AI-2 活性达到最大，但最高值仍低于对照组。结果表明碳源不同会影响发酵黏液乳杆菌 2-1 的信号分子 AI-2 活性，并且碳源为葡萄糖时，发酵黏液乳杆菌 2-1 的信号分子 AI-2 活性最高。

2.5.2 碳源对发酵黏液乳杆菌 2-1 产 EPS 的影响

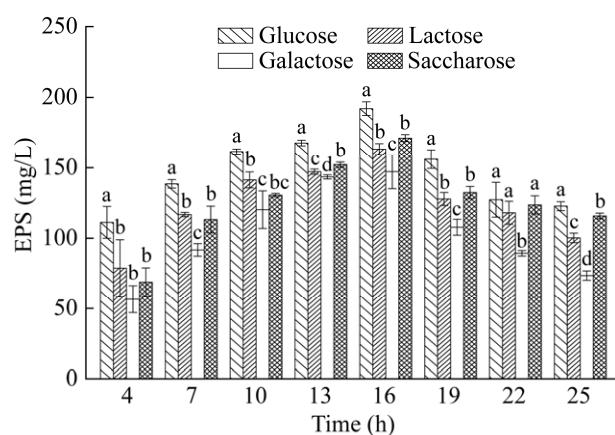
由图 7 可知，随着培养时间的延长，发酵黏液乳杆菌 2-1 的 EPS 产量呈先上升后下降的趋势，

表 8 不同碳源对发酵黏液乳杆菌 2-1 菌体密度的影响Table 8 Effect of different carbon sources on cell density of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Time (h)	Glucose (control)	Lactose	Galactose	Saccharose
0	0.393±0.002a	0.389±0.003a	0.401±0.009a	0.386±0.011a
4	0.994±0.047a	0.701±0.013c	0.768±0.031b	0.659±0.021c
7	1.698±0.035a	1.441±0.029c	1.150±0.048d	1.563±0.063b
10	1.850±0.022a	1.792±0.014b	1.393±0.029d	1.633±0.024c
13	1.818±0.037a	1.711±0.051b	1.528±0.041d	1.622±0.028c
16	1.853±0.045a	1.694±0.059b	1.578±0.056c	1.701±0.036b
19	1.939±0.048a	1.719±0.051b	1.509±0.080c	1.765±0.033b
22	1.981±0.052a	1.822±0.054b	1.549±0.052c	1.783±0.058b
25	1.995±0.034a	1.880±0.032b	1.543±0.050d	1.792±0.031c

表 9 不同碳源对发酵黏液乳杆菌 2-1 产信号分子 AI-2 的影响Table 9 Effect of different carbon sources on AI-2 production of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1 ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Time (h)	Glucose (control)	Lactose	Galactose	Saccharose
0	1.378±0.245a	1.240±0.146ab	0.986±0.071bc	0.762±0.105c
4	2.378±0.212a	1.931±0.175b	1.206±0.117c	1.137±0.088c
7	31.022±1.689a	9.371±0.714c	2.103±0.104d	14.440±1.206b
10	12.074±0.491b	7.537±0.333c	1.753±0.315d	24.393±0.728a
13	10.318±0.819b	7.372±0.909c	3.411±0.055d	14.119±0.350a
16	7.770±0.691b	3.937±0.148c	2.986±0.493c	11.274±0.518a
19	4.371±0.354b	4.406±0.112b	1.911±0.299c	7.976±0.250a
22	2.867±0.389b	2.446±0.109b	1.753±0.315c	4.804±0.125a
25	1.318±0.100b	1.211±0.035b	0.863±0.036c	2.119±0.143a

**图 7 不同碳源对发酵黏液乳杆菌 2-1 产 EPS 的影响**Figure 7 Effect of different carbon sources on EPS production of *Limosilactobacillus fermentum* 2-1.

对照组的 EPS 产量显著高于各试验组($P<0.05$)，并且在 16 h 达到最高值(192.09±4.83) mg/L，随后各组 EPS 呈下降趋势。结合以上结果可知，在不利于发酵黏液乳杆菌 2-1 生长的环境中，菌株的正常生理代谢受到影响，信号分子 AI-2 活性被抑制，EPS 的产量减少，二者呈正相关关系。

2.6 外源信号分子 AI-2 对发酵黏液乳杆菌 2-1 的影响

2.6.1 外源信号分子 AI-2 对菌株菌体密度的影响

为进一步探究信号分子 AI-2 活性与 EPS 产生之间的关系，将外源信号分子 AI-2 添加至培

养基中对菌株进行培养。对添加了不同浓度外源信号分子 AI-2 的发酵黏液乳杆菌 2-1 在培养时间为 7 h 和 16 h 的菌体密度进行测定。由图 8 可知, 外源信号分子 AI-2 添加量的终浓度为 0、50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 在 7 h 和 16 h, 发酵黏液乳杆菌 2-1 的 OD_{595} 无显著差异, 说明此浓度下的信号分子 AI-2 对该菌株的生长无显著影响; 而终浓度为 150 $\mu\text{mol/L}$ 时, 在 7 h 和 16 h, 发酵黏液乳杆菌 2-1 的 OD_{595} 显著降低($P<0.05$), 表明此时菌株的菌体密度受到明显抑制。这可能是因为 150 $\mu\text{mol/L}$ 的信号分子 AI-2 被菌体识别, 调控菌株减慢生长代谢, 使得其菌体密度低于未添加组。

2.6.2 外源信号分子 AI-2 对体系中 AI-2 活性的影响

由图 9 得知, 当外源信号分子 AI-2 终浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 体系中 AI-2 活性显著高于未添加外源信号分子 AI-2 组($P<0.05$), 并且终浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 组体系中的 AI-2 活性达到 48.39 ± 1.72 , 显著高于其他组($P<0.05$), 继续增大终浓度至 150 $\mu\text{mol/L}$, 此时体系中的

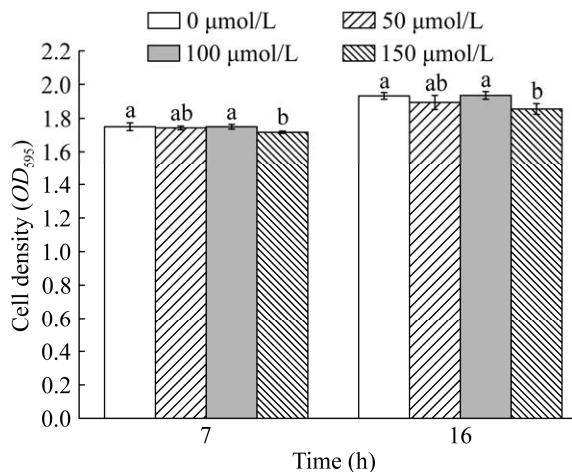


图 8 不同浓度外源信号分子 AI-2 对 7 h 和 16 h 菌体密度的影响

Figure 8 Effect of different concentrations of exogenous AI-2 on cell density at 7 h and 16 h.

AI-2 活性降低, 与未添加外源信号分子组无显著差异。

2.6.3 外源信号分子 AI-2 对菌株 EPS 产量的影响

由图 10 得知, 相较于外源信号分子 AI-2 终浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 组, 终浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 这 2 组的 EPS 产量显著增加($P<0.05$),

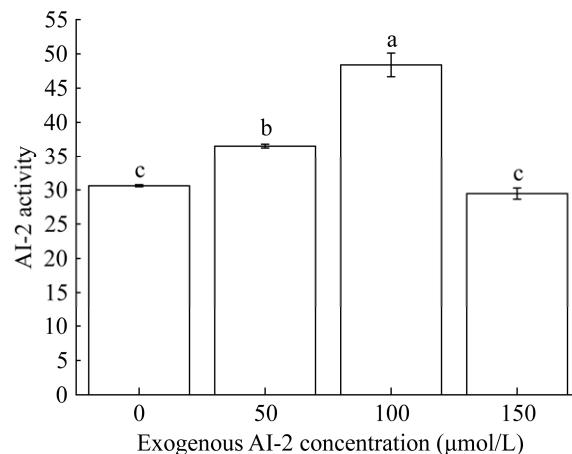


图 9 不同浓度外源信号分子 AI-2 对 7 h AI-2 活性的影响

Figure 9 Effect of different concentrations of exogenous AI-2 on AI-2 activity cultured for 7 h.

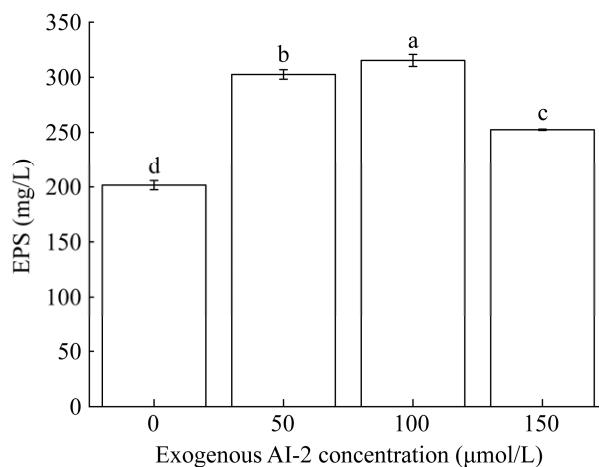


图 10 不同浓度外源信号分子 AI-2 对 16 h EPS 产量的影响

Figure 10 Effect of different concentrations of exogenous AI-2 on EPS production cultured for 16 h.

并且外源信号分子 AI-2 终浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, EPS 产量显著高于其他组($P<0.05$)。外源信号分子 AI-2 终浓度为 150 $\mu\text{mol/L}$ 时, EPS 产量显著低于终浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 这 2 组的 EPS 产量($P<0.05$), 但仍显著高于未添加外源信号分子 AI-2 组($P<0.05$), 说明适当浓度外源信号分子 AI-2 的添加可以提高菌株的 EPS 产量。

结合以上结果可知, 信号分子 AI-2 活性和 EPS 产量会同时受到外源信号分子 AI-2 的影响。外源信号分子 AI-2 终浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 发酵黏液乳杆菌 2-1 在 7 h 的信号分子 AI-2 活性和在 16 h 的 EPS 产量得到了显著促进($P<0.05$)。

3 讨论

本研究显示, 发酵黏液乳杆菌 2-1 的信号分子 AI-2 活性随培养时间的延长不断变化。蔡针华^[29]研究显示 AI-2 的活性随培养时间的变化具有动态性, 本试验中发酵黏液乳杆菌 2-1 的 AI-2 活性随时间变化的趋势进一步证实了这一结论。菌株 EPS 的产生同样呈先上升后下降的趋势, 可能是因为当营养物质不能继续达到菌株的生长需求时, EPS 会被利用来满足菌株自身生长^[30]。信号分子 AI-2 和 EPS 产量的变化趋势一致, 但时间上并不完全同步, 这可能是由于菌株生长过程中利用能量参与了调控某些生理活动, 例如 EPS 的产生^[31]。温度的改变影响了 EPS 的产量, 有研究表明, 高于或低于最适温度会使菌株内酶促反应速率发生改变, 不利于 EPS 的产生^[32]。曹永强等^[33]研究表明, 过高或过低的温度都会抑制菌株活性, 并降低其次生代谢产物的分泌, 而 EPS 是次生代谢产物, 所以其产量会受到影响并降低。环境 pH 值改变时, 酸性条件更有利于信号分子 AI-2 活性的增强。Gu 等^[34]的研究同样表明, 酸胁迫提高了

信号分子 AI-2 活性, 碱胁迫抑制了信号分子 AI-2 活性。适宜的接种量可以提高菌株的生长和代谢产物的积累^[35], 菌株的初始浓度会受到接种量的影响, 进一步也会影响到菌体的生长量和代谢产物的积累。本研究显示, 在一定接种量范围内(1%–3%), 信号分子 AI-2 活性与 EPS 产量呈正相关关系, 这可能是由于接种量增大导致菌体浓度也随之增加, 代谢产物也逐渐增加, 当接种量达到一定值时, 培养基中有有限的能量及营养物质不能满足菌体细胞正常的生长代谢, 致使其代谢产物也相应减少^[35–37]。碳源是培养基中不可或缺的成分, 是菌株生长繁殖所必需的营养物质^[38–39]。当环境中营养物质改变或缺乏时, 菌株的生产代谢和信号分子 AI-2 的活性均会受到影响^[34]。为进一步分析信号分子 AI-2 和 EPS 产生之间的关系, 外源添加信号分子 AI-2 对菌株进行培养, 研究显示适当增加信号分子 AI-2 的浓度可以促进 EPS 的产生。有研究表明, AI-2 可以调节菌体细胞的环境适应过程^[40], 并且达到一定阈值时, 菌株的生长代谢会发生改变^[41]。

4 结论

本试验探究了环境因素改变时发酵黏液乳杆菌 2-1 信号分子 AI-2 活性和 EPS 产量的变化及关系, 温度升高和降低都会影响菌株的 AI-2 活性和 EPS 产量; 酸性条件有利于信号分子 AI-2 的分泌, 但菌株的生长和 EPS 产量受到抑制; 当 pH 值升高至碱性条件, AI-2 活性和 EPS 产量受到抑制; 接种量改变时, 菌株 AI-2 活性和 EPS 产量随接种量改变; 培养基碳源改变时, 菌株信号分子 AI-2 活性及 EPS 产量随之改变。综上所述, 在一定条件下时, 信号分子 AI-2 活性和 EPS 产量之间呈正相关关系。当体系中增加一定浓度的信号分子 AI-2 时, 对发酵黏液乳

杆菌 2-1 EPS 的产生也存在促进作用。以上研究表明信号分子 AI-2 对 EPS 的产生有一定的影响，但是否存在调控关系还需进一步验证。

REFERENCES

- [1] 王怡明. 乳酸菌及其生物工程研究新进展[J]. 科技风, 2022(10): 152-154.
WANG YM. Research progress of lactic acid bacteria and its bioengineering[J]. Ke Ji Feng, 2022(10): 152-154 (in Chinese).
- [2] 朱萌茜. 调节糖、脂代谢乳酸菌的筛选及其功能评价[D]. 郑州: 河南工业大学硕士学位论文, 2023.
ZHU MQ. Screening and functional evaluation of lactic acid bacteria regulating sugar and lipid metabolism[D]. Zhengzhou: Master's Thesis of Henan University of Technology, 2023 (in Chinese).
- [3] LIU R. A promising area of research in medicine: recent advances in properties and applications of *Lactobacillus*-derived exosomes[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1266510.
- [4] 张卓. 红树莓提取物复配益生菌对小鼠肠道菌群的影响[D]. 北京: 北京林业大学硕士学位论文, 2020.
ZHANG Z. Effect of raspberry extract combined with probiotics on intestinal flora in mice[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing Forestry University, 2020 (in Chinese).
- [5] 张会. 降血糖功能乳酸菌的筛选\降糖机理及应用研究[D]. 镇江: 江苏大学硕士学位论文, 2023.
ZHANG H. Screening of lactic acid bacteria with hypoglycemic function\study on hypoglycemic mechanism and application[D]. Zhenjiang: Master's Thesis of Jiangsu University, 2023 (in Chinese).
- [6] AHIRE JJ, KASHIKAR MS, MADEMPUDI RS. Comparative accounts of probiotic properties of spore and vegetative cells of *Bacillus clausii* UBBC07 and in silico analysis of probiotic function[J]. 3 Biotech, 2021, 11(3): 116.
- [7] 赵婧, 高永娇, 孙靖辰, 左锋, 潘禹溪, 郁孟蝶, 王坤. 乳酸菌胞外多糖的研究进展[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2023, 35(5): 51-56, 105.
ZHAO J, GAO YJ, SUN JC, ZUO F, PAN YX, TAI MD, WANG K. Research progress of exopolysaccharide from lactic acid bacteria[J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2023, 35(5): 51-56, 105 (in Chinese).
- [8] ZHA JH, ZHANG JN, LU JF, ZHANG GC, HUA MZ, GUO WM, YANG J, FAN G. A review of lactate-lactylation in malignancy: its potential in immunotherapy[J]. Frontiers in Immunology, 2024, 15: 1384948.
- [9] JIANG GY, GAN LZ, LI XG, HE J, ZHANG SH, CHEN J, ZHANG RS, XU Z, TIAN YQ. Characterization of structural and physicochemical properties of an exopolysaccharide produced by *Enterococcus* sp. F2 from fermented Soya beans[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 744007.
- [10] MATSUZAKI C, KAMISHIMA K, MATSUMOTO K, KOGA H, KATAYAMA T, YAMAMOTO K, HISAKA K. Immunomodulating activity of exopolysaccharide-producing *Leuconostoc mesenteroides* strain NTM048 from green peas[J]. Journal of Applied Microbiology, 2014, 116(4): 980-989.
- [11] CHEGINI P, SALIMI F, ZARE EN, FARROKH P. Biogenic synthesis of antibacterial and antioxidant silver nanoparticles using *Enterococcus faecium* DU.FS-derived exopolysaccharides: a sustainable approach for green nanotechnology[J]. Journal of Polymers and the Environment, 2024.
- [12] 方伟, 李佳佳, 耿伟涛, 贾龙刚, 陈铁涛, 王艳萍. 发酵乳杆菌 CECT 5716 产胞外多糖培养基成分优化及抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2022, 41(11): 187-192.
FANG W, LI JJ, GENG WT, JIA LG, CHEN TT, WANG YP. Optimization for medium components of exopolysaccharide production by *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 and antioxidant activity[J]. China Brewing, 2022, 41(11): 187-192 (in Chinese).
- [13] 李超, 王春凤, 杨桂连. 乳酸菌胞外多糖肠道黏附及免疫调节作用研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(11): 314-318.
LI C, WANG CF, YANG GL. Progress in intestinal adhesion and immunoregulatory effect of extracellular polysaccharides of lactic acid bacteria[J]. Food Science, 2014, 35(11): 314-318 (in Chinese).
- [14] HU SM, ZHOU JM, ZHOU QQ, LI P, XIE YY, ZHOU T, GU Q. Purification, characterization and biological activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* ZFM231 isolated from milk[J]. LWT, 2021, 147: 111561.
- [15] QIAN YL, LI Y, XU TT, ZHAO HJ, ZENG MY, LIU ZY. Dissecting of the AI-2/LuxS mediated growth characteristics and bacteriostatic ability of *Lactiplantibacillus plantarum* SS-128 by integration of transcriptomics and metabolomics[J]. Foods, 2022, 11(5): 638.
- [16] 马文敏, 陈轩岐, 马红霞, 张文慧, 孔令聪, 周昱伽, 胡元元, 贾宇. 群体感应信号分子对免疫系统的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 2024, 51(11): 2853-2867.
MA WM, CHEN XQ, MA HX, ZHANG WH, KONG LC, ZHOU YJ, HU YY, JIA Y. Effects of quorum sensing molecules on the immune system[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2024, 51(11): 2853-2867 (in Chinese).
- [17] DENG ZX, HOU KW, VALENCAK TG, LUO XM, LIU JX, WANG HF. AI-2/LuxS quorum sensing system promotes biofilm formation of *Lactobacillus rhamnosus* GG and enhances the resistance to enterotoxigenic *Escherichia coli* in germ-free zebrafish[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(4): e0061022.
- [18] 张悦, 贺银凤, 顾悦, 王艳, 郑砚学. 高产生物膜乳酸菌抗逆性及其抗氧化特性[J]. 农业工程学报, 2021, 37(6): 282-288.

- ZHANG Y, HE YF, GU Y, WANG Y, ZHENG YX. Stress resistance and antioxidant properties of lactic acid bacteria with high biofilm production[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2021, 37(6): 282-288 (in Chinese).
- [19] 杨义, 赵守祺, 葛菁萍, 宋刚, 杜仁鹏. 微生物胞外多糖在环境中的应用[J]. 中国农学通报, 2024, 40(9): 66-74.
- YANG Y, ZHAO SQ, GE JP, SONG G, DU RP. Application of microbial exopolysaccharides in environment[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2024, 40(9): 66-74 (in Chinese).
- [20] 吴梦园, 徐慧敏, 张鑫, 朱青永, 陈宇杰, 陈启和, 刘政捷. 黄绿卷毛菌胞外多糖发酵条件的优化及其生物活性研究[J]. 核农学报, 2023, 37(8): 1598-1608.
- WU MY, XU HM, ZHANG X, ZHU QY, CHEN YJ, CHEN QH, LIU ZJ. Optimization of fermentation conditions and biological activities of exopolysaccharides from *Floccularia luteovirens*[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2023, 37(8): 1598-1608 (in Chinese).
- [21] 唐京, 陈明, 柯文灿, 王丽娜, 张娟, 丁武蓉. 乳酸菌在疾病防治和人体保健中的应用研究进展[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(4): 98-107.
- TANG J, CHEN M, KE WC, WANG LN, ZHANG J, DING WR. Advances in lacto-bacteria in disease control, prevention and health care[J]. *Journal of Microbiology*, 2017, 37(4): 98-107 (in Chinese).
- [22] 李佳伟, 虞宁馨, 于连升, 杜仁鹏. 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.
- LI JW, YU NX, YU LS, DU RP. Application of exopolysaccharides of lactic acid bacteria in food industry[J]. *China Brewing*, 2023, 42(6): 17-21 (in Chinese).
- [23] 王坤, 牛萌萌, 赵婧. 乳酸菌胞外多糖的免疫调节及抗肿瘤特性的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2019, 31(3): 51-55.
- WANG K, NIU MM, ZHAO J. Research on immunoregulation and anti-tumor characteristics of exopolysaccharides from lactic acid bacteria[J]. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University*, 2019, 31(3): 51-55 (in Chinese).
- [24] JIVKOVA D, SATHIYANARAYANAN G, HARIR M, HERTKORN N, SCHMITT-KOPPLIN P, SANHAJI G, FOCHESATO S, BERTHOMIEU C, HEYRAUD A, ACHOUAK W, SANTAELLA C, HEULIN T. Production and characterization of a novel exopolysaccharide from *Ramlibacter tataouinensis*[J]. *Molecules*, 2022, 27(21): 7172.
- [25] TAGA ME, XAVIER KB. Methods for analysis of bacterial autoinducer-2 production[J]. *Current Protocols in Microbiology*, 2011, Chapter 1: Unit1C.1.
- [26] 燕彩玲. 乳酸菌产信号分子 AI-2 的研究及其与生物膜形成的关系[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2016.
- YAN CL. Study on signal molecule AI-2 produced by lactic acid bacteria and its relationship with biofilm formation[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [27] 纪亚楠. 环境胁迫对乳酸菌产生物膜、信号分子 AI-2 及胞外多糖的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2020.
- JI YN. Effects of environmental stress on biofilm, signal molecule AI-2 and extracellular polysaccharide production by lactic acid bacteria[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [28] 顾悦. 环境胁迫及酵母菌对乳酸菌 LuxS/AI-2 群体感应系统的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学博士学位论文, 2017.
- GU Y. Effects of environmental stress and yeast on quorum sensing system of lactic acid bacteria LuxS/AI-2[D]. Hohhot: Doctoral Dissertation of Inner Mongolia Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [29] 蔡针华. 群体感应信号分子 AI-2 高产乳酸菌株筛选及特性研究[D]. 临汾: 山西师范大学硕士学位论文, 2018.
- CAI ZH. Screening and characterization of high-yield lactic acid bacteria strains with quorum sensing signal molecule AI-2[D]. Linfen: Master's Thesis of Shanxi Normal University, 2018 (in Chinese).
- [30] 司天昭, 柳陈坚, 秦晓萌, 李晓然, 罗义勇, 杨恩. 植物乳杆菌 YM-2 菌株胞外多糖生物合成工艺优化[J]. 食品科学, 2017, 38(10): 24-30.
- SI TZ, LIU CJ, QIN XM, LI XR, LUO YY, YANG E. Optimization of biosynthesis conditions for the production of exopolysaccharides by *Lactobacillus plantarum* YM-2[J]. *Food Science*, 2017, 38(10): 24-30 (in Chinese).
- [31] 刘蕾. AI-2 对鸭疫里默氏杆菌生物学功能调控的研究[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2013.
- LIU L. Study on the regulation of biological function of *Riemerella anatipestifer* by AI-2[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013 (in Chinese).
- [32] 龙丹丹, 叶淑红, 燕欣悦, 王琛郴, 崔艳平, 张彧. 黄褐假单胞菌 Y11 产胞外多糖发酵条件优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2024, 43(4): 115-122.
- LONG DD, YE SH, YAN XY, WANG CC, CUI YP, ZHANG Y. Optimization of fermentation conditions for extracellular polysaccharide production by *Pseudomonas syringae* Y11 and its antioxidant activity[J]. *China Brewing*, 2024, 43(4): 115-122 (in Chinese).
- [33] 曹永强, 王辑, 赵笑, 杨贞耐. 植物乳杆菌 YW11 生产胞外多糖的发酵条件研究[J]. 食品科学技术学报, 2016, 34(1): 42-49, 78.
- CAO YQ, WANG J, ZHAO X, YANG ZN. Optimization of fermentation conditions of *Lactobacillus plantarum* YW11 for exopolysaccharides production[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2016, 34(1): 42-49, 78 (in Chinese).
- [34] GU Y, LI B, TIAN JJ, WU R, HE YF. The response of

- LuxS/AI-2 quorum sensing in *Lactobacillus fermentum* 2-1 to changes in environmental growth conditions[J]. *Annals of Microbiology*, 2018, 68(5): 287-294.
- [35] 钟华晨. 高产生物膜乳酸菌的筛选、鉴定及胞外多糖分泌条件的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2019.
- ZHONG HC. Screening and identification of lactic acid bacteria with high biofilm production and study on extracellular polysaccharide secretion conditions[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [36] 冯美琴. 植物乳杆菌胞外多糖发酵、结构鉴定及其功能特性研究[D]. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2012.
- FENG MQ. Fermentation, structural identification and functional characteristics of extracellular polysaccharide from *Lactobacillus plantarum*[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [37] ZHANG D, BAO YL, MA Z, ZHOU JW, CHEN HC, LU YL, ZHU LJ, CHEN XL. Optimization of fermentation medium and conditions for enhancing valinomycin production by *Streptomyces* sp. ZJUT-IFE-354[J]. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 2023, 53(2): 157-166.
- [38] AI LZ, ZHANG H, GUO BH, CHEN W, WU ZJ, TANG J. Optimization of culture conditions for exopolysaccharide production by *Lactobacillus casei* LC2W[J]. *Agricultural and Food Science*, 2006, 61(4): 374-377.
- [39] 周渤海, 曹慧莹, 齐心彤, 于连升, 杨义, 葛青萍, 宋刚, 杜仁鹏. 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.
- ZHOU BS, CAO HY, QI XT, YU LS, YANG Y, GE JP, SONG G, DU RP. Exopolysaccharides from *Lactiplantibacillus plantarum* HDL-03: synthesis conditions optimization[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2024, 40(11): 14-21 (in Chinese).
- [40] GU Y, TIAN JJ, ZHANG Y, WU R, LI LJ, ZHANG BJ, HE YF. Dissecting signal molecule AI-2 mediated biofilm formation and environmental tolerance in *Lactobacillus plantarum*[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2021, 131(2): 153-160.
- [41] WANG Y, YI L, ZHANG ZC, FAN HJ, CHENG XC, LU CP. Biofilm formation, host-cell adherence, and virulence genes regulation of *Streptococcus suis* in response to autoinducer-2 signaling[J]. *Current Microbiology*, 2014, 68(5): 575-580.