藏传刚, 刘振艳, 祝巍, 等. 锁掷孢酵母的鉴定及其产胞外多糖的结构表征 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(2): 70−76. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120080

ZANG Chuangang, LIU Zhenyan, ZHU Wei, et al. Identification, Structural Characterization of Exopolysaccharide from *Sporidiobolus pararoseus* PFY49[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(2): 70−76. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120080

· 研究与探讨 ·

锁掷孢酵母的鉴定及其产胞外多糖的结构表征

藏传刚[1], 刘振艳[2,*], 祝　巍[2], 朱金峰[2], 陈晓婷[2], 裴芳艺[2]

（1.齐齐哈尔医学院科研处, 黑龙江 齐齐哈尔 161006;
2.齐齐哈尔医学院公共卫生学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006）

摘　要: 本研究旨在从葡萄园土壤里分离出一株可以产胞外多糖（exopolysaccharide，EPS）的酵母菌株，并对其产 EPS 结构进行初步鉴定。首先，通过形态学观察、16S rDNA 序列分析和 Neighbor-joining 法构建系统发育树对分离出产 EPS 的酵母菌进行分类鉴定。在此基础上，利用 Sephadex G-100 凝胶色谱柱对 PFY49 产 EPS（PFY49-EPS）进行分离和纯化，通过傅里叶变换红外光谱、X 射线衍射光谱和原子力显微镜等方法对其结构进行表征。结果显示，该菌株为近粉红锁掷孢酵母（*Sporidiobolus pararoseus*），将其命名为 PFY49，NCBI GenBank 登录号为 MW784627.1。PFY49-EPS 的重均分子量为 3.63×10^5 Da，主要由甘露糖、葡糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和岩藻糖组成的杂聚糖，为 O-糖苷键链接的 *α*-、*β*-吡喃糖且无三股螺旋结构，并主要以无序非晶体结构存在；扫描电子显微镜和原子力显微镜显示，PFY49-EPS 表面相对粗糙不均匀，覆盖着小孔和薄膜，在水溶液中形成尖或刺的结构。本研究揭示了 PFY49-EPS 的结构特征，为 *S. pararoseus* 胞外多糖在后续结构-功能研究提供理论依据。

关键词: 近粉红锁掷孢酵母, 分离鉴定, 胞外多糖, 组成, 结构特性

中图分类号: Q939.97　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)02−0070−07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120080　　本文网刊:

Identification, Structural Characterization of Exopolysaccharide from *Sporidiobolus pararoseus* PFY49

ZANG Chuangang[1], LIU Zhenyan[2,*], ZHU Wei[2], ZHU Jinfeng[2], CHEN Xiaoting[2], PEI Fangyi[2]

（1.Office of Academic Research, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China;
2.School of Public Health, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China）

Abstract: This study aimed to isolate a yeast strain capable of producing exopolysaccharide (EPS) from vineyard soil. The isolated EPS-producing yeast was identified through morphological observation and phylogenetic analysis based on 16S rDNA sequencing using the Neighbor-joining method. On this basis, EPS produced by PFY49 (PFY49-EPS) was separated and purified by Sephadex G-100 gel column, and its structure was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction spectroscopy and atomic force microscopy. The results showed that the strain was *Sporidiobolus pararoseus*, named PFY49, with NCBI GenBank accession number MW784627.1. In addition, the weight average molecular weight of PFY49-EPS was 3.63×10^5 Da, mainly composed of polysaccharides such as mannose, glucuronic acid, glucose, galactose, and fucose. It was an O-glycosidic linked *α*-, *β*- pyranose without a triple helix structure and mainly existed in a disordered amorphous structure. Scanning electron microscopy and atomic force microscopy revealed that the surface of PFY49-EPS was relatively rough and uneven, covered with small holes and films, forming sharp or spike-like

收稿日期: 2024−12−09

基金项目: 齐齐哈尔市科技计划联合引导项目（LSFGG-2024115）; 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目（2022-KYYWF-0797, 2023-KYYWF-0858）。

作者简介: 藏传刚（1986−）, 男, 本科, 实验师, 研究方向: 微生物资源发掘与利用, E-mail: 407640612@qq.com。

*** 通信作者:** 刘振艳（1986−）, 女, 硕士, 高级实验师, 研究方向: 药食同源植物及微生物资源发掘与利用, E-mail: lzy8023@qmu.edu.cn。

structures in aqueous solutions. This study reveals the structural characteristics of PFY49-EPS, providing a theoretical basis for the subsequent structural functional research of *S. pararoseus* EPS.

Key words: *Sporidiobolus pararoseus*; isolation and identification; exopolysaccharides; composition; structure characteristics

微生物胞外多糖（exopolysaccharide, EPS）作为一种重要的次生代谢产物，能够保护细胞免受不良条件和吞噬作用的影响，因其独特的生物活性而备受瞩目[1−2]。目前，关于 EPS 的研究主要集中在乳酸菌[3−5]，而对酵母菌产生的胞外多糖研究较少，近年来，越来越多的研究表明，不仅细菌（如乳酸菌）能够产生 EPS，酵母菌也具备产生 EPS 的能力[6−8]。此外，酵母菌产 EPS 还具有成本低、无毒和易于从介质中分离出来的特点，因此在食品、医药和农业等领域具有广阔的应用前景[2,9]。然而，目前关于酵母菌产 EPS 的研究主要集中在菌株的筛选、分离及鉴定、发酵条件的优化和功能性质等方面[6,10]，而对酵母菌产 EPS 结构表征研究仍处于起步阶段，特别是对 *S. pararoseus* EPS 的结构、性质和应用潜力尚未进行深入研究，同时 EPS 的结构是分析其构效关系的基础，因此，研究 *S. pararoseus* EPS 的结构对于明确其应用潜力具有重要意义。

有研究报道，不同来源酵母菌产生的 EPS 结构不同，Chen 等[11] 通过对西藏酸乳酒分离的 15 株酵母菌进行产 EPS 实验，发现 15 种 EPS 之间的微观结构和表面形态不同。Kim 等[10] 从南极假丝酵母 *Pseudozyma* sp. SY16 中提取的 EPS 由半乳糖、甘露糖和甘露糖组成，具有良好的乳化稳定性。此外，Ghada 等[12] 从 *Rhodotorula Glutinins* 分离纯化的 EPS 由甘露糖、葡萄糖和阿拉伯糖组成，具有抗肿瘤、抗氧化和抗病毒活性。前期研究表明 *S. pararoseus* PFY49 生产的 EPS 是一种新型 EPS，具有很好的持水性、水溶性、乳化性、热稳定性，同时具有良好的抗氧化活性和体外胆汁酸结合能力，已在课题组之前的研究中完成[13]。然而，迄今为止，其 EPS 的结构特征尚未被研究，因此，本研究拟用一株具有高产 EPS 的菌株为供试菌株（编号为 PFY49），采用形态学方法和 16S rDNA 序列分析等方法对菌株进行鉴定，对 PFY49-EPS 提取、纯化，并考察其结构，以期为后续 PFY49-EPS 研究结构-功能关系提供依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

1 株酵母菌（编号为 PFY49）　分离自齐齐哈尔地区葡萄园土壤，并保存于齐齐哈尔医学院卫生检验中心；葡萄糖、硫酸铵、硫酸镁、氯化钙、磷酸氢二钾、氯化钠　天津江天化工技术有限公司；酵母提取物、蛋白胨　北京奥博星生物技术有限责任公司；BCA 蛋白检测试剂盒　北京 ComWin 生物技术有限公司；葡聚糖凝胶 G-100　上海源叶生物科技有限公司；D-葡糖醛酸　大连美仑生物技术有限公司；不同分子量的葡聚糖标准品、单糖标准品　Sigma-Aldrich；高效液相色谱中所用试剂均为色谱纯，其他分析试剂由天津科密欧化学试剂有限公司提供；分子实验所涉及的试剂 2×Taq PCR Mastermix（KT201-02）、细菌基因组 DNA 提取试剂盒（DP302）、50× TAE Buffer（RT204）、Agarose LE 琼脂糖（RT101）、GeneRed 核酸染料（RT211）6×DNA 电泳 Loading（BufferRT201-01）、DL 2000 DNA Marker（MD114-01）、DL 15000 DNA Marker（MD110-01）　天根生化科技有限公司；酵母浸出粉胨葡萄糖（yeast extract peptone dextrose, YPD）液体培养基：酵母浸提物 10.00 g/L，蛋白胨 20.00 g/L，葡萄糖 20.00 g/L；产糖培养基：氯化钠 0.60 g/L，葡萄糖 17.50 g/L，硫酸镁 1.80 g/L，硫酸铵 2.00 g/L，磷酸氢二钾 0.24 g/L，氯化钙 0.28 g/L。将上述二种培养基置于高压蒸汽灭菌锅内，115 ℃ 灭菌 25 min。

Milli-Q 型纯水仪　美国 Millipore 公司；LDZF-50L 灭菌锅　上海申安公司；5804R 台式高速大容量冷冻离心机、22331Hamburg 高速离心机　德国 Eppendorf 公司；FE28 pH 计、AL204 电子天平　瑞士梅特勒-托利多集团；CX31 光学显微镜　日本 Olympus 公司；LC-18N-50D 冷冻干燥机、DHP-9162 电热恒温培养箱　上海力辰科技有限公司；UH5300 紫外可见分光光度计、SU8010 扫描电子显微镜　日本 Hitachi 公司；Spectrum 1 傅里叶变换红外光谱仪　美国 PerkinElmer 公司；LC-20AT 高效液相色谱仪　日本 Shimadzu 公司；iD3 酶标仪　美国 Molecular Devices 公司；D8 Advance X 射线衍射仪　德国 Bruker 公司；Ntegra Prima 原子力显微镜　俄罗斯 NT-MDT 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　产胞外多糖菌种的培育　菌种的培育参照 Liu 等[14] 方法，首先，将菌株 PFY49 接种于 YPD 液体培养基中，28 ℃ 培养 3 d。将活化后的菌株按 5%（v/v）接种量接种至产糖培养基中，摇床转速 210 r/min、28 ℃ 培养 6 d。

1.2.2　产胞外多糖菌株的鉴定

1.2.2.1　形态学观察　参照蒋光阳等[15] 方法，取少量菌体，使用磷酸盐缓冲溶液洗涤，离心后收集细胞；经 2.5% 戊二醛固定后，分别用 10%、30%、50%、70%、90% 和 100% 的乙醇进行脱水，干燥后喷金，使用扫描电子显微镜观察其形态。

1.2.2.2　产胞外多糖菌种的分子生物学鉴定　采用

DNA 分离试剂盒提取 PFY49 的基因组 DNA。参照 Abdelnasser 等[16]方法，用引物（27F, 5′-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3′; 1492R, 5′-GGTTACCTTGTTACGACTT-3′）对 16S rDNA 基因进行扩增。PCR 片段采用凝胶电泳进行分析，由瑞博兴生物技术有限公司（中国哈尔滨）纯化并测序，所得序列通过搜索工具（basic local alignment search tool, BLAST）与美国国家生物技术信息中心（national center for biotechnology information, NCBI）数据库进行比较，采用 Neighbor-joining 法构建菌株系统发育树[17]。

1.2.3 PFY49-EPS 的提取和纯化 PFY49-EPS 的提取和纯化基于本课题组之前的方法[18−19]。将发酵液用高速冷冻离心机离心（4 ℃, 12000 r/min, 10 min），收集上清液，并向其中加入 3 倍体积分数的乙醇（95%），于 4 ℃ 静置 24 h 后，12000 r/min 离心 10 min，用 50 mL 去离子水溶解沉淀，获得粗多糖。向粗多糖溶液加入 50 mL 三氯乙酸（10%）脱蛋白，低温搅拌 10 h，4 ℃、12000 r/min 离心 10 min 去除蛋白。向上清液中再次加入 3 倍体积分数的乙醇（95%），4 ℃、12000 r/min 离心 10 min，然后将粗多糖溶于 100 mL 去离子水中，置于透析袋中 4 ℃ 透析 2 d，透析袋孔径为 8~12 kDa，最后，使用 Sephadex G-100 凝胶色谱柱（1.6 cm×50 cm）以 0.2 mL/min 的流速进行纯化粗多糖，收集纯多糖，命名为 PFY49-EPS，在 50 ℃ 下旋转蒸发，冷冻干燥，待用。

1.2.4 结构表征

1.2.4.1 化学成分测定 分别采用苯酚-硫酸法[20]（葡萄糖为标准品）、硫酸-咔唑法[21]（葡糖醛酸为标准品）、氯化钡-明胶法[22]（硫酸钾为标准品）和 BCA 蛋白试剂盒（以牛血清白蛋白为标准品）分析 PFY49-EPS 中的总糖、糖醛酸、硫酸基团和蛋白含量。以葡萄糖（y=22.361x+0.0051, R^2=0.9991）、葡糖醛酸（y=0.0154x+0.0044, R^2=0.9992）、硫酸钾（y=0.0021x+0.0022, R^2=0.9992）和牛血清白蛋白（y=0.8448x+0.052, R^2=0.9968）含量为横坐标，吸光值为纵坐标，建立标准曲线回归方程。取一定浓度的 PFY49-EPS 溶液以同样的方法进行测定，获得其在波长 490、530、360 和 562 nm 处的吸光值，通过标准曲线回归方程计算 PFY49-EPS 中总糖、糖醛酸、硫酸基团和蛋白质含量，从而确定其化学成分。

1.2.4.2 分子量测定 采用凝胶渗透色谱法[23]（Gel Permeation Chromatography, GPC）测定 PFY49-EPS 分子量，配备 Shodex SB-806HQ 柱（13 μm, 300 mm×8.0 mm），配制 PFY49-EPS（0.2 mg/mL）溶液用 0.2 mol/L 硝酸钠以 0.5 mL/ min 速率洗脱。

1.2.4.3 单糖组成分析 采用 Sun 等[24]和 Bai 等[5]的方法测定纯化后的 PFY49-EPS 单糖组成。称取 2 mg PFY49-EPS 置于酸水解瓶中，加入 1 mL 盐酸-甲醇（2 mol/L）溶液，置于油浴锅中（80 ℃）反应 16 h。反应结束后，使用氮吹仪将水解管中盐酸-甲醇吹干，再加入 1 mL 三氟乙酸（2 mol/L）于 120 ℃ 反应 1 h，反应结束后再将其吹干。向酸水解小瓶中加入 500 μL NaOH（0.3 mol/L），使单糖样品完全溶解。加入 500 μL 1-苯基-3-甲基-5-吡唑酮-甲醇（0.5 mol/L），并用移液枪吹打底部，使不溶物分散均匀。取 200 μL 混合液于 EP 管中，将样品放入 70 ℃水浴锅中保持 30 min。将反应后的样品取出，加入 100 μL HCl（0.3 mol/L）中和反应产物，加入 700 μL CH_2Cl_2，使有机相和水相分层。将 EP 管旋涡振荡 90 s，直至完全混匀，离心。用注射器将下层的有机相抽干净，再用 1 mL 的注射器抽取剩下的水相，再用 0.22 μm 的滤膜过滤，随后采用高效液相色谱（high performance liquid chromatography, HPLC）系统分析水相中单糖组成。选用葡萄糖（glucose, Glc）、甘露糖（mannose, Man）、半乳糖（galactose, Gal）、鼠李糖（rhamnose monohydrate, Rha）、木糖（xylose, Xyl）、岩藻糖（fucose, Fuc）、阿拉伯糖（arabinose, Ara）、葡萄糖醛酸（glucuronic acid, GlcA）和半乳糖醛酸（galacturonic acid, GalA）9 种单糖作为对照。色谱条件：色谱柱：5C_{18}-PAQ 柱（4.6 ID×250 mm）；流动相：用乙腈-KH_2PO_4 缓冲液（0.1 mol/L, pH7.0）（19.2∶80.8）；体积流速：1.0 mL/min；检测波长：245 nm；柱温：25 ℃；进样量：10 μL。

1.2.4.4 紫外-可见光谱（ultraviolet-visible spectroscopy, UV-Vis）和傅里叶变换红外光谱（fourier transform infrared, FT-IR）分析 将冻干的 PFY49-EPS 溶解在蒸馏水中，使其浓度为 1 mg/mL，在波长为 190~400 nm 范围内记录紫外吸收光谱[25−26]。将冻干的 PFY49-EPS（0.5 mg）与 KBr（100 mg）混匀，压成透明片剂，然后用红外光谱仪测定 400~4000 cm^{-1} 波数下的透光率[27−28]。

1.2.4.5 糖肽键分析 参照 Zhang 等[29]的方法，通过 β-消除反应检测 PFY49-EPS 的 O-糖苷键。向 5.0 mL $NaBH_4$-NaOH（1 mol/L）溶液中加入 10 mg PFY49-EPS 冻干样，45 ℃ 反应 24 h，扫描范围为 190~400 nm，以相同浓度不含 NaOH 的 PFY49-EPS 作对照。

1.2.4.6 三股螺旋结构测定 通过刚果红试验测定 PFY49-EPS 是否具有三股螺旋结构[25−26]。将 2.0 mL PFY49-EPS 溶液（1 mg/mL）与 2.0 mL 刚果红溶液（80 μmol/L）混合，并将 NaOH 溶液（1 mol/L）加入到混合液中，使 NaOH 的浓度为 0~0.5 mol/L，使用酶标仪扫描其最大吸收波长（λ_{max}），扫描范围为 400~800 nm。以不含 PFY49-EPS 的水和刚果红混合物溶液作对照。

1.2.4.7 结晶度测定 参照 Krishnamurthy 等[30]的方法，采用 X 射线衍射仪（X-ray diffraction, XRD）对 PFY49-EPS 进行分析，衍射条件为：管压 40 kV，管

流 150 mA，扫描范围 2θ 为 5°~80°，采样步宽 0.02°。

1.2.4.8　扫描电子显微镜（scanning electron microscope，SEM）分析　使用 SEM 对 PFY49-EPS 的形态进行了分析[31]。取适量 PFY49-EPS 样品置于样品台，用导电胶固定后进行镀金，在 5 kV电压下对其表面形态进行观察。

1.2.4.9　原子力显微镜（atomic force microscopy，AFM）分析　参照 Chen 等[32] 方法，将 PFY49-EPS 用去离子水稀释至 10 μg/mL，过 0.22 μm 滤膜，滴在云母片上，室温干燥，通过 AFM 在敲击模式下观察 PFY49-EPS分子形态。

1.3　数据处理

所有实验都独立进行三次，结果以平均值±标准差表示，SPSS 软件（25.0 版本）对数据进行分析，统计分析采用方差分析（ANOVA），P<0.05 为有统计学差异（*），P<0.01 为有显著统计学差异（**），P<0.001 为有极其显著的统计学差异（***），采用 Origin 2024 64Bit 软件进行绘图。

2　结果与分析

2.1　菌株 PFY49 的鉴定

菌株 PFY49 的形态见图 1A 和图 1B。由图 1 可知，细胞呈现出椭球状。采用 DNA 分离试剂盒提取菌株的 DNA，将测序结果与 BLAST 与 NCBI 公布的数据库进行比对，并通过 Neighbor-joining 法构建系统发育树，发现菌株 PFY49 与 *S. pararoseus* CZ410-1（GenBank 登录号：FJ755245.1）的相似度为 99.64%，证明锁掷孢酵母是其最近的亲缘关系（图 1C），因此，菌株 PFY49 被鉴定为近粉红锁掷孢酵母（*Sporidiobolus pararoseus*），命名为 *Sporidiobolus pararoseus* PFY49（*S. pararoseus* PFY49），其 16S rDNA 部分基因序列已存入 NCBI GenBank，登录号为 MW784627.1。

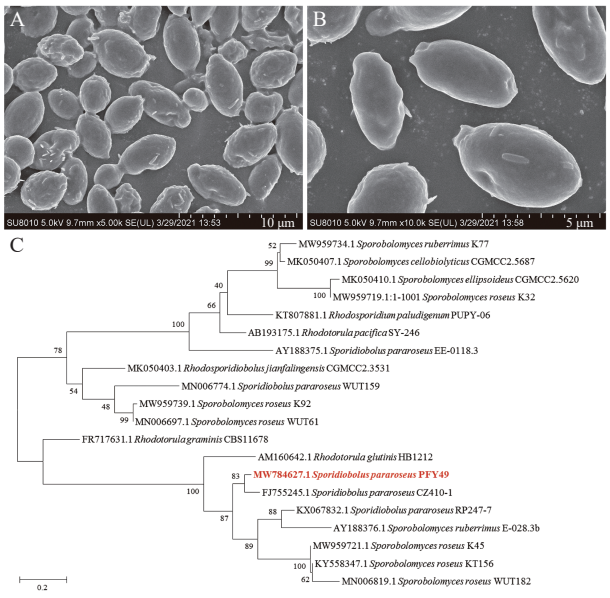


图 1　菌株 PFY49 的形态（A 和 B）及基于 16S rDNA 序列构建的系统发育树（C）

Fig.1　Morphology of strain PFY49 (A and B) and phylogenetic tree based on 16S rDNA gene sequence (C)

2.2　PFY49-EPS 结构表征

2.2.1　化学成分分析　PFY49-EPS 的总糖、糖醛酸、蛋白质和硫酸基团占比分别为 91.86%±0.10%、7.89%±0.12%、0.07%±0.02% 和 0.18%±0.02%，与 Liu 等[6] 研究结果相似。此外，Seyfi 等[33] 的研究表明，糖和蛋白质之间存在两种糖肽连接方式，PFY49-EPS 中是否存在侧链的酰胺氮原子（N-聚糖）或氧原子（O-聚糖），还需要通过 β-消除实验进一步验证。

2.2.2　分子量及单糖组成　采用 GPC 系统测量了 PFY49-EPS 的分子质量。结果表明 PFY49-EPS 的重均分子量（weight-average molecular weight，Mw）、数均分子量（number-average molecular weight，Mn）和多分散系数（Mw/Mn）分别为 3.63×10^5 Da、3.52×10^5 Da 和 1.03（图 2A）。通过 HPLC 技术分析了 PFY49-EPS 的单糖组成，如图 2B 所示，PFY49-EPS 为杂多糖，由 Man、GlcA、Glc、Gal 和 Fuc 组成，摩尔组成比例为 19.06∶1∶3.05∶9.41∶2.07。Poli 等[34] 也报道了类似的结果，由 Man、Glc 和 Gal 组成的 *Sporobolomyces salmonicolor* AL_1 产生的 EPS 摩尔比为 1∶0.1∶0.08，由此可见，微生物的种类、培养基成分和培养条件对 EPS 的结构有显著影响。

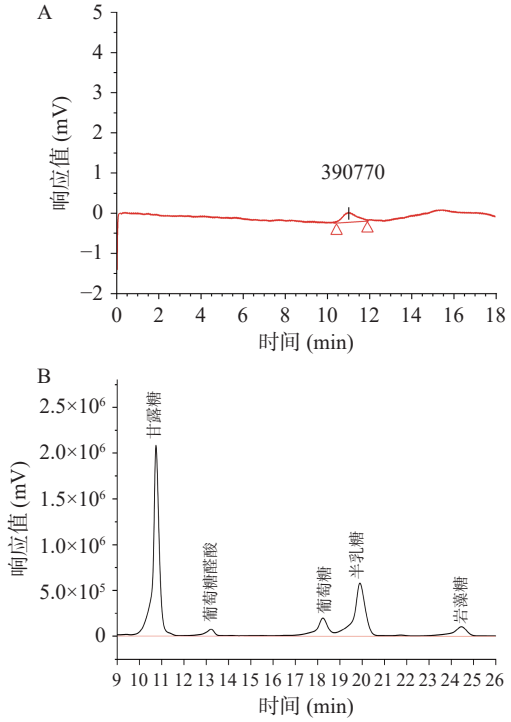


图 2　PFY49-EPS 分子量的凝胶渗透色谱图（A）及 PFY49-EPS 单糖组成的高效液相色谱图（B）

Fig.2　GPC of PFY49-EPS molecular weight (A) and HPLC of PFY49-EPS monosaccharides composition (B)

2.2.3　UV-Vis 和 FT-IR 分析　PFY49-EPS 的 UV-Vis 光谱如图 3A 所示，其最大吸收峰在 190 nm 处，此外，在波长 280 nm 和 260 nm 处，没有明显的吸收峰，表明 PFY49-EPS 中核酸和蛋白的含量较低，说

明 PFY49-EPS 的纯化效果较好，基本不含蛋白质或核酸。FT-IR 是识别 400~4000 cm^{-1} 中 PFY49-EPS 特征官能团的一种分析方法[5]。如图 3B 所示，PFY49-EPS 在 3405 cm^{-1} 处有较强吸收峰，这是由 O-H 和 N-H 伸缩振动产生的，羟基是糖类共有的特征，而氨基是糖胺聚糖特有的特征[35]。在 2932 cm^{-1} 处表现出较弱的 C-H 拉伸振动，表明其分子间及分子内结构中有 C-H[25−26]。1652 cm^{-1} 处的吸收峰与乙酰氨基有关[36]，此外，在 1417 cm^{-1} 处出现了由于多糖结合水或者 C=O 发生了非对称伸缩振动、对称伸缩振动才引起的吸收峰，说明 PFY49-EPS 有 C=O 官能团[37]，在 1652 cm^{-1} 处观察到内酯 C=O 拉伸振动的特征峰[38]。1074 cm^{-1} 处有吸收峰，表示 PFY49-EPS 中有吡喃糖环的存在[14]。同时，在810 cm^{-1} 和 877 cm^{-1} 处的吸收峰表明 PFY49-EPS 中同时含有 α-和 β-糖苷。综上所述，PFY49-EPS 具有 α-吡喃糖和 β-吡喃糖，这与单糖组成的结果一致。

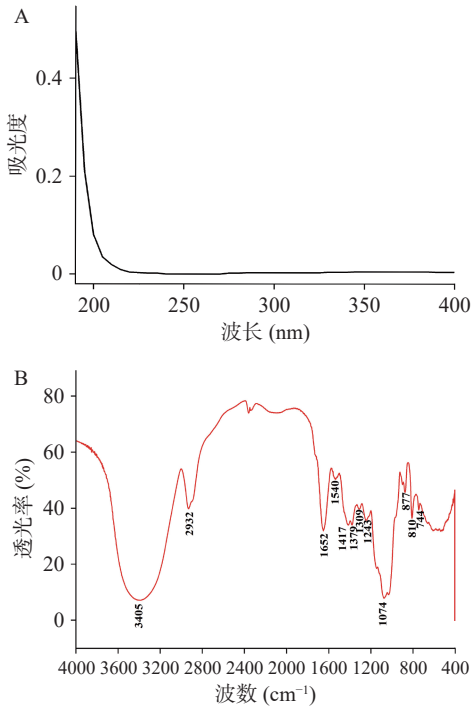


图 3 PFY49-EPS 的紫外-可见光光谱分析(A)和红外光谱分析(B)

Fig.3 UV-Vis spectra (A) and FT-IR spectra (B) of PFY49-EPS

2.2.4 β-消除反应、刚果红试验和 XRD 衍射结果分析 PFY49-EPS 的 β-消除结果如图 4A 所示，用 β-消除反应来判断糖苷键的连接方式，在氢氧化钠溶液下，O-糖苷键容易断裂，释放出不饱和氨基酸，在 240 nm 处出现特征吸收峰，而 N-糖苷键相对稳定，吸光度没有变化，图 4A 显示在 240 nm 处检测到特征吸收峰，表明 PFY49-EPS 中存在 O-糖苷键，该 β-消除反应的结果与 Liu 等[14] 的研究结果一致。刚果红可以和具有三螺旋结构的多糖形成络合物(刚果红-EPS)，如图 4B 所示，随着氢氧化钠溶液(0~0.5 mol/L)浓度的增加，刚果红-PFY49-EPS 的 λ_{max} 降低，没有明显的红移现象，对照组 λ_{max}(无 PFY49-EPS 的刚果红溶液)也有类似的趋势。这些结果表明，PFY49-EPS 的结构不是三螺旋结构。研究表明，杂多糖不容易形成三股螺旋结构[38]，这与单糖组成分析结果相一致。通过测定 XRD 图谱，探究 PFY49-EPS 的结晶结构。在图 4C 中记录了 PFY49-EPS 从 5°~80°时的 XRD 图谱，显示在 15°~25°(2θ)附近出现了一个衍射峰，其峰形圆钝，说明 PFY49-EPS 主要以无序非晶体存在。XRD 结果表明，PFY49-EPS 处于无规则非晶体状态，这与刚果红试验的结果一致，Jeddou 等[39] 也得到了类似的结果。

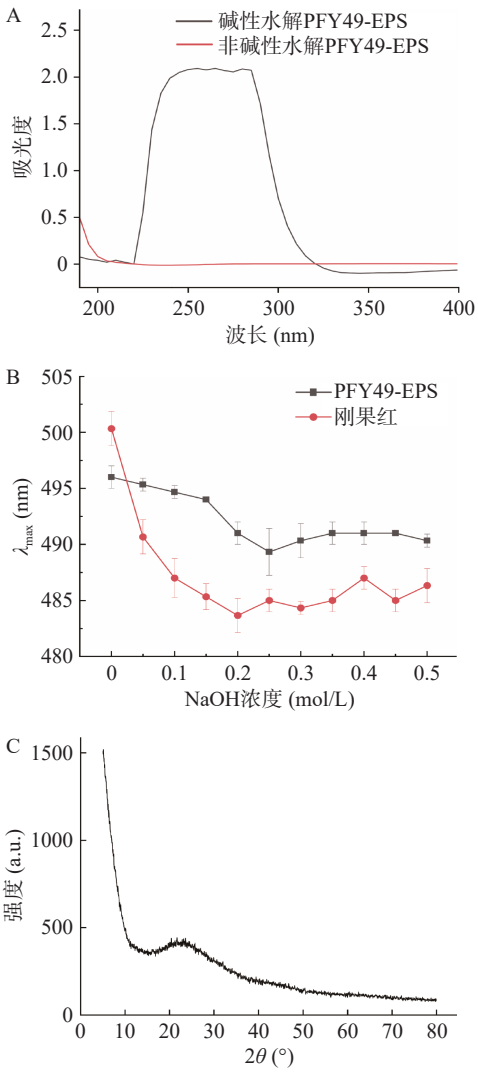


图 4 PFY49-EPS 的 β-消除反应(A)、刚果红试验(B)及 XRD 模式(C)

Fig.4 β-Elimination reaction (A), Gongo red experiment (B) and XRD pattern (C) of PFY49-EPS

2.2.5 形态学性质 采用 SEM 和 AFM 观察 PFY49-EPS 的形态学特征(图 5)。PFY49-EPS 的扫描电镜结构图像如图 5A 和图 5B 所示，表面相对粗糙不均匀，呈片状结构，表面有小孔和裂缝，内部成分复杂聚集，由于其粗糙的表面结构使其更易与水结合，从而提高其溶解性[33]。图 5C 和图 5D 显示，PFY49-EPS

在水溶液中表面很粗糙，有一些不规则的突起，其结构相对稀疏，各团块的最大高度为 47.26 nm，平均粗糙度为 7.66 nm。Ayyash 等[40] 发现格氏乳球菌（*L. garvieae*）C47 的 EPS 呈片状且分层，EPS 微观结构的不同可能是由于其单糖组成以及提取方式的差异导致这些微观结构不同[41]。

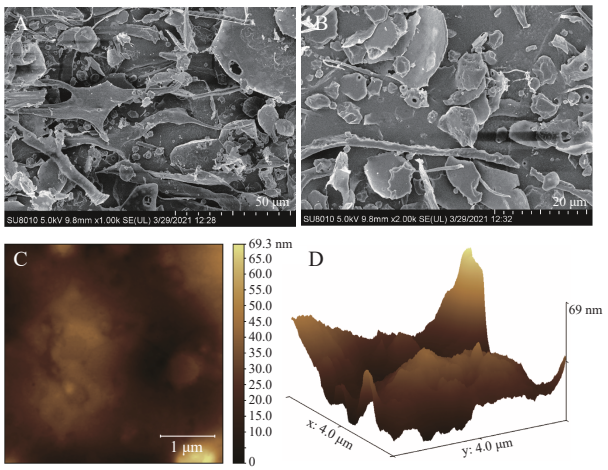


图 5　PFY49-EPS 的扫描电镜（A、B）、原子力显微镜图像平面视图（C）和立方视图（D）

Fig.5　SEM images (A, B) , atomic force microscopy (AFM) images planar view (C) and three-dimensional view (D) of PFY49-EPS

注：A 为 1000×；B 为 2000×。

3　结论

菌株 PFY49 通过形态学和 16S rDNA 序列分析等方法被鉴定为近粉红锁掷孢酵母（*Sporidiobolus pararoseus*），命名为 *S. pararoseus* PFY49，其 16S rDNA 部分基因序列已存入 NCBI GenBank，登录号为 MW784627.1。通过醇提、去蛋白、透析、过凝胶柱从 PFY49 中获得纯 EPS（PFY49-EPS），分析其化学成分，PFY49-EPS 主要由中性糖组成，伴随少量的蛋白质和硫酸基团的存在，其中总糖含量高达 91.86%±0.10%。HPLC 分析表明，PFY49-EPS 是一种主要由 Man 组成的杂多糖，其 Mw、Mn 和 Mw/Mn 值分别为 3.63×10^5 Da、3.52×10^5Da 和 1.03。FT-IR、刚果红试验和 XRD 结果表明，PFY49-EPS 具有 EPS 的特征吸收峰，并含有吡喃结构，是以 O-糖苷键链接的 α-、β-吡喃糖且无三股螺旋结构，主要以无序非晶体结构存在。扫描电子显微镜和原子力显微镜显示，PFY49-EPS 表面相对粗糙不均匀，覆盖着小孔和薄膜，在水溶液中形成尖或刺的结构。本研究揭示了 *S. pararoseus* EPS 主要化学成分和结构特征，但其具体的生物活性、功能机制以及在不同应用领域中的潜力仍有待进一步探索。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] RAHBAR S Y, YARI K A, POURGHASSEM G B. Yeast exopolysaccharides and their physiological functions[J]. Folia Microbiologica, 2021, 66(2): 171−182.

[2] MA W, CHEN X, WANG B, et al. Characterization, antioxidativity, and anti-carcinoma activity of exopolysaccharide extract from *Rhodotorula mucilaginosa* CICC 33013[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 181: 768−777.

[3] RAJOKA M S R, MEHWISH H M, KITAZAWA H, et al. Techno-functional properties and immunomodulatory potential of exopolysaccharide from *Lactiplantibacillus plantarum* MM89 isolated from human breast milk[J]. Food Chemistry, 2022, 377: 131954.

[4] SALEEM M, MALIK S, MEHWISH H M, et al. Isolation and functional characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* S123 isolated from traditional Chinese cheese [J]. Archives of Microbiology, 2021, 203(6): 3061−3070.

[5] BAI Y Y, LUO B L, ZHANG Y, et al. Exopolysaccharides produced by *Pediococcus acidilactici* MT41-11 isolated from camel milk: Structural characteristics and bioactive properties[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 185: 1036−1049.

[6] LIU L N, XU J J, DU R P, et al. The response surface optimization of exopolysaccharide produced by *Saccharomyces cerevisiae* Y3 and its partial characterization[J]. Preparative biochemistry & biotechnology, 2021, 52: 566−577.

[7] 马岩石, 刘韩, 裴芳艺. 产胞外多糖酵母菌的分离鉴定及其发酵条件优化[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(14): 68−76. [MA Y S, LIU H, PEI F Y. Isolation and identification of an exopolysaccharide-producing sporidiobolus and optimization of fermentation process[J]. Food Research And Development, 2020, 41(14): 68−76.]

[8] 裴芳艺, 薛迪, 马岩石, 等. 锁掷孢酵母产胞外多糖发酵条件优化[J]. 中国酿造, 2020, 39(6): 99−105. [PEI F Y, XUE D, MA Y S, et al. Optimization of fermentation conditions for exopolysaccharide from *Sporidiobolus pararoseus*[J]. China Brewing, 2020, 39(6): 99−105.]

[9] CHI Z M, ZHAO S Z. Optimization of medium and cultivation conditions for pullulan production by a new pullulan-producing yeast strain[J]. Enzyme & Microbial Technology, 2003, 33(2−3): 206−211.

[10] KIM K N, LEE Y J, CHO D H, et al. A novel galactoglucomannan exopolysaccharide produced by oil fermentation with *Pseudozyma* sp. SY16[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2020, 25(5): 742−748.

[11] CHEN Z N, SHI J L, YANG X J, et al. Isolation of exopolysaccharide-producing bacteria and yeasts from Tibetan Kefr and characterisation of the exopolysaccharides[J]. International Journal of Dairy Technology, 2016, 69(3): 410−417.

[12] GHADA S I, MANAL G M, MOHSEN M S A, et al. Production and biological evaluation of exopolysaccharide from isolated *Rhodotorula glutinins*[J]. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2012, 6: 401−408.

[13] 朱金峰, 裴芳艺, 刘振艳, 等. 锁掷孢酵母胞外多糖体外抗氧化和调节糖脂代谢的性质研究[J]. 中国酿造, 2023, 42(6): 109−115. [ZHU J F, PEI F Y, LIU Z Y, et al. Antioxidative properties and regulation of glycolipid metabolism of exopolysaccharide from *Sporidiobolus pararoseus in vitro*[J]. China Brewing, 2023, 42(6): 109−115.]

[14] LIU Z Y, PEI F Y, ZHU J F, et al. Production, characteriza-

tion and antioxidant activity of exopolysaccharide from *Sporidiobolus pararoseus* PFY-Z1[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2023, 39(1): 10.
[15] 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 G Y, TIAN Y Q. Optimization of fermentation condition of lactic acid bacteria with high-yield exopolysaccharides and its antioxidant activity[J]. China Brewing, 2023, 42(4): 187−195.]
[16] ABDELNASSER S M, YAHYA S M M, MOHAMED W F, et al. Antitumor exopolysaccharides derived from novel marine bacillus: isolation, characterization aspect and biological activity[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2017, 18(7): 1847−1854.
[17] YANG H X, DENG J J, YUAN Y, et al. Two novel exopolysaccharides from *bacillus amyloliquefaciens* C-1: antioxidation and effect on oxidative stress[J]. Current Microbiology, 2015, 70(2): 298−306.
[18] PEI F Y, MA Y S, CHEN X T, et al. Purifcation and structural characterization and antioxidant activity of levan from *Bacillus megaterium* PFY-147[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 161: 1181−1188.
[19] XUE D, PEI F Y, LIU H N, et al. Evaluation of antioxidation, regulation of glycolipid metabolism and potential as food additives of exopolysaccharide from *Sporidiobolus pararoseus* PFY-Z1[J]. Preparative Biochemisitry & Biotechnology, 2023, 53: 1176−1186.
[20] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTION J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 2002, 28(3): 350−356.
[21] BITTER T, MUIR H M. A modifed uronic acid carbazole reaction[J]. Analytical Biochemistry, 1962, 4(4): 330−334.
[22] KAWAI Y, SENO N, ANNO K. A modifed method for chondrosulfatase assay[J]. Analytical Biochemistry, 1969, 32(2): 314−321.
[23] LIU T, ZHOU K, YIN S, et al. Purification and characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* HY isolated from home-made Sichuan Pickle[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 134: 516−526.
[24] SUN X Q, WANG L, FU R J, et al. The chemical properties and hygroscopic activity of the exopolysaccharide lubcan from *Paenibacillus* sp. ZX1905[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164(11): 2641−2650.
[25] LI S S, XIA H Q, XIE A Q, et al. Structure of a fucose-rich polysaccharide derived from EPS produced by *Kosakonia* sp. CCTCC M2018092 and its application in antibacterialflm[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 159: 295−303.
[26] LI X W, LÜ S, SHI T T, et al. Exopolysaccharides from yoghurt fermented by *Lactobacillus paracasei*: production, purification and its binding to sodium caseinate[J]. Food Hydrocolloid, 2020, 102: 105635.
[27] MAO Y H, SONG A X, LI L Q, et al. A highmolecular weight exopolysaccharide from the Cs-HK1 fungus: ultrasonic degradation, characterization and *in vitro* fecal fermentation[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 246: 116636.
[28] PEI F Y, CAO X B, WANG X M, et al. Structural characteristics and bioactivities of polysaccharides from blue honeysuckle after probiotic fermentation[J]. LWT- Food Science and Technology, 2022, 165: 113764.
[29] ZHANG H, ZOU P, ZHAO H T, et al. Isolation, purification, structure and antioxidant activity of polysaccharide from pinecones of *Pinus koraiensis*[J]. Carbohydrate polymers, 2021, 251: 117078.
[30] KRISHNAMURTHY M, UTHAYA C J, THANGAVEL M, et al. Optimization, compositional analysis, and characterization of exopolysaccharides produced by multi-metal resistant *Bacillus cereus* KMS3-1[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 227: 115369.
[31] TAN C, WANG J, SUN B G. Polysaccharide dual coating of yeast capsules for stabilization of anthocyanins[J]. Food Chemistry, 2021(5), 357: 129652.
[32] CHEN J W, MENG Q, JIANG B, et al. Structure characterization and *in vitro* hypoglycemic efect of partially degraded alginate[J]. Food Chemistry, 2021, 356(3): 129728.
[33] SEYFI R, KASAAI M R, CHAICHI M J. Isolation and structural characterization of a polysaccharide derived from a local gum: Zedo (*Amygdalus scoparia* Spach)[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 87: 915−924.
[34] POLI A, ANZELMO G, TOMMONARO G, et al. Production and chemical characterization of an exopolysaccharide synthesized by psychrophilic yeast strain *Sporobolomyces salmonicolor* AL_1 isolated from Livingston Island Antarctica[J]. Folia Microbiologica, 2010, 55(6): 576−581.
[35] 穆琳, 赵晓玥, 高岳, 等. 刺参多糖的提取纯化及其组分的分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 314−321. [MU L, ZHAO X Y, GAO Y, et al. Purification of polysaccharides and analysis of their contents and compositions in sea cucumbers (*Apostichopus japonicas*)[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2016, 7(1): 314−321.]
[36] GRINEVA V S, TREGUBOVA K V, ANIS'KOV A A, et al. Isolation, structure, and potential biotechnological applications of the exopolysaccharide from *Paenibacillus polymyxa* 92[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 232: 115780.
[37] ZHU Y T, WANG C T, JIA S S, et al. Purifcation, characterization and antioxidant activity of the exopolysaccharide from *Weissella cibaria* SJ14 isolated from Sichuan paocai[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 115: 820−828.
[38] DONG Y H, CHUN C, HUANG Q, et al. Study on a novel spherical polysaccharide from *Fructus mori* with good antioxidant activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 256(1): 117516.
[39] JEDDOU K B, CHAARI F, MAKTOUF S, et al. Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels[J]. Food Chemistry, 2016, 205: 97−105.
[40] AYYASH M, ABU-JDAYIL B, ITSARANUWAT P, et al. Exopolysaccharide produced by the potential probiotic *Lactococcus garvieae* C47: Structural characteristics, rheological properties, bioactivities and impact on fermented camel milk[J]. Food Chemistry, 2020, 333: 127418.
[41] JI X L, HOU C Y, YAN Y Z, et al. Comparison of structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides from jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 149: 1008−1018.