梁子骏, 杨斐淇, 吴晓蒙. 融合魏斯氏菌絮凝甘薯淀粉的机制 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(11): 118−125. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040411

LIANG Zijun, YANG Feiqi, WU Xiaomeng. Mechanism of Sweet Potato Starch Flocculated by *Weissella confusa*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(11): 118−125. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040411

·研究与探讨·

融合魏斯氏菌絮凝甘薯淀粉的机制

梁子骏[1], 杨斐淇[1], 吴晓蒙[1,2,*]

（1.中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083;
2.国家果蔬加工工程技术研究中心, 农业农村部果蔬加工重点实验室,
食品非热加工北京市重点实验室, 北京 100083）

摘　要: 前期研究中发现从甘薯酸浆中分离出融合魏斯氏菌（*Weissella confusa* SJ-5）具有絮凝甘薯淀粉的作用，但其作用机制和结构基础不明。本研究对 *W. confusa* SJ-5 表面进行了酶解处理，通过红外光谱、Zeta 电位和结合键阻断剂等实验探究了其絮凝淀粉的机制，并分析了 pH 和离子浓度等溶液条件对菌体絮凝的影响。结果表明，菌体表面的蛋白质、脂质、胞外多糖对于絮凝率均影响，其中热休克蛋白 Hsp 70 和 GroEL 是其絮凝淀粉的关键活性成分。菌体与淀粉主要是通过离子键的方式相互作用，其絮凝机制符合吸附架桥理论。pH 和溶液中离子浓度对 *W. confusa* SJ-5 的絮凝率有显著影响，随着 pH 或离子浓度的增大，菌体絮凝率先升高后降低；当 pH 为 8.0、K^+浓度为 20 mmol/L 时，菌体絮凝率达 69%。本研究为融合魏斯氏菌在淀粉生产中的应用奠定了理论基础。

关键词: 融合魏斯氏菌, 淀粉, 絮凝率, 机制, 吸附架桥

中图分类号: TS231　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)11−0118−08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040411

本文网刊:

Mechanism of Sweet Potato Starch Flocculated by *Weissella confusa*

LIANG Zijun[1], YANG Feiqi[1], WU Xiaomeng[1,2,*]

（1.College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;
2.National Engineering Research Center for Fruit and Vegetable Processing, Key Laboratory of Fruit and Vegetable Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beiing Key Laboratory for Food Non-thermal Processing, Beijing 100083, China）

Abstract: A previous study demonstrated that *Weissella confusa* SJ-5, a strain isolated from sweet potato sour liquid during starch production, could efficiently flocculate sweet-potato starch, yet the underlying molecular mechanism and structural basis remained unclear. In this study, the bacterial surface was selectively enzymatically treated, and a combination of Fourier-transform infrared spectroscopy, Zeta-potential analysis, and bond-blocking assays was employed to elucidate the starch-flocculation mechanism of *W. confusa* SJ-5. Effect of pH and ionic strength on flocculation efficiency was also investigated. The results suggested that flocculation of starch by *W. confusa* SJ-5 was greatly influenced by surface protein, lipids, and extracellular polysaccharides. Heat-shock protein 70 (Hsp70) and the chaperonin GroEL were identified as the key surface proteins responsible for starch-bonding. Interactions between the bacterium and starch were primarily mediated by ionic bonds, in accordance with the bridging-adsorption mechanism. Both pH and ion concentration significantly modulated flocculation performance. The flocculation rate initially increased and subsequently declined as pH or ionic strength rose, peaking at 69% under the optimized conditions of pH8.0 and 20 mmol/L K^+. These findings provide a theoretical basis for the application of *W. confusa* SJ-5 as a low-cost biological flocculant in starch production.

Key words: *Weissella confusa*; starch; flocculation rate; mechanism; bridging-adsorption

收稿日期: 2025−05−06

基金项目: 国家自然科学基金项目“Lc Gtf 蛋白特异性絮凝淀粉的结构特征及作用机制研究”（32472366）。

作者简介: 梁子骏（2005−）, 女, 本科, 研究方向: 食品营养与健康, E-mail: zijun_ll@qq.com。

*** 通信作者:** 吴晓蒙（1986−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 绿色食品加工技术, E-mail: wuxmeng@cau.edu.cn。

甘薯淀粉是甘薯的主要组分（占干重 50%~80%）[1]，在食品工业中应用广泛。传统的酸浆法利用自然发酵酸浆促使甘薯淀粉沉淀，是一种重要的甘薯淀粉生产方法[2]。然而，该方法对非人为因素依赖性强，难以大规模应用[2]。研究表明，酸浆中发挥淀粉絮凝作用的主要是其中的微生物，已鉴定出的活性菌株如副干酪乳杆菌、植物乳杆菌 HS1 等均属于乳酸菌[3−4]。本团队前期从甘薯酸浆中成功分离出一株融合魏斯氏菌（*Weissella confusa* SJ-5），该菌株展现出较高的甘薯淀粉絮凝活性[5]。鉴于 *W.confusa* SJ-5 菌株所表现出的良好絮凝特性，深入探究其作用机制，对于开发更稳定、高效的甘薯淀粉分离技术具有潜在意义。

目前对乳酸菌絮凝甘薯淀粉的研究已有一定进展。研究证实乳酸菌的絮凝活性主要源于菌体本身[3,6]，其黏附能力与表面疏水性有关，表面疏水性越高，黏附力越强[7]。李新华等[6] 的研究发现，副干酪乳杆菌的细菌蛋白是关键的絮凝活性成分[6]。环境因素如 pH、离子浓度等可调节絮凝率[3,8]。然而，对于菌体在絮凝过程的具体作用原理的阐释较少。此外，尽管融合魏斯氏菌因高产淀粉酶能力[9−10] 及表面黏附特性[7] 受到了广泛关注，但该菌在淀粉絮凝领域的相关研究尚未深入展开。

基于此，本研究以前期分离出的具有高絮凝活性的菌株 *W.confusa* SJ-5 为研究对象，通过酶解处理、蛋白及谱学分析，系统解析其絮凝甘薯淀粉的细胞结构基础并阐明絮凝过程的内在机制，以期拓展对乳酸菌絮凝淀粉机制的理解，为该菌株在甘薯淀粉加工领域的应用奠定理论基础。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

实验所用菌株 *W.confusa* SJ-5　由本实验室从甘薯酸浆中分离鉴定[5]，保藏于−80 ℃ 冰箱；甘薯淀粉、MRS（De Man, Rogosa and SharPe）肉汤、胰蛋白酶（250 U/mg）、氯化钾、尿素、无水氯化钙　北京索莱宝科技有限公司；琼脂粉　北京奥博星生物技术有限责任公司；溶菌酶（20000 U/mg）　罗氏诊断产品（上海）有限公司；脂肪酶（100000 U/g）、乙腈（色谱纯）　阿拉丁试剂（上海）有限公司；右旋葡萄糖苷酶（100 U/g）　上海源叶生物科技有限公司；氯化钠　天津市众联化学试剂有限公司；氢氧化钠　现代东方（北京）科技发展有限公司；六水合氯化镁（氯化镁）　国药集团化学试剂有限公司；甲酸（色谱纯）　赛默飞世尔科技（中国）有限公司；硝酸银　国药集团化学试剂有限公司；β-巯基乙醇　西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；除已标明试剂外所有化学试剂均为分析纯。

TRY-380 智能生化培养箱　宁波赛福实验仪器有限公司；CF 16RX2 离心机　日立（中国）有限公司；KA1405050 紫外-可见分光光度计　尤尼柯（上海）仪器有限公司；MLS-3750 高压蒸汽灭菌锅　松下健康医疗器械（上海）有限公司；OrbitraP Fusion Lumos 三合一超高分辨组合式质谱仪、Acclaim PepMap C_{18} 柱（300 μm×5 mm, 5 μm, 100 Å）、Acclaim PepMap C_{18} 柱（150 μm×150 mm, 1.9 μm, 100 Å）、Nicolet IS 10 傅里叶变换红外光谱仪　赛默飞世尔科技（中国）有限公司；Zetasizer Nano ZS 电化学工作站　马尔文帕纳科公司；DSA100 接触角测定仪　克吕士科学仪器（上海）有限公司；FE28-Standard pH 计　梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；Spectra/Por 透析袋（截留分子量 14 kDa）　瑞普利金（上海）生物科技有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　甘薯淀粉絮凝　菌株经 MRS 琼脂平板 37 ℃ 活化 48 h 后，挑取单菌落接种于 10 mL MRS 液体培养基中，37 ℃ 培养 18 h。随后按体积比 1∶100（v/v）接种量转接至 250 mL 新鲜 MRS 培养基，同条件培养 16 h，离心（10 min, 8000×g, 4 ℃）收集菌体，经生理盐水洗涤两次后重悬备用。配制 25 g/L 甘薯淀粉溶液，加入氯化钾，浓度为 20 mmol/L。将菌液和甘薯淀粉液按体积比 2∶25（v/v）混匀，摇晃 30 s，静置沉降 10 min。在液面下约 0.5 cm 处取样，测定 $OD_{550\ nm}$，以生理盐水代替甘薯淀粉作为对照。絮凝率的计算公式为：

$$FR(\%) = \frac{OD_{550\ control} - OD_{550\ test}}{OD_{550\ control}} \times 100$$

式中，FR 表示絮凝率，%；$OD_{550\ control}$ 表示对照组在 550 nm 下的吸光度值；$OD_{550\ test}$ 表示实验组在 550 nm 下的吸光度值。

1.2.2　絮凝成分分析　参考刘娇等[11] 的方法并适当修改。用蒸馏水配制酶液：胰蛋白酶（1 mg/mL）、溶菌酶（400 μg/mL）、右旋糖酐酶（1 mg/mL）、脂肪酶（1 mg/mL）。离心（10 min, 8000×g, 4 ℃）收集培养的菌体并重悬于生理盐水中，按体积比 1∶1（v/v）加入酶液和菌体重悬液，调节 pH 为 7（溶菌酶组为 6），37 ℃ 下孵化 30 min（溶菌酶组为 15 min），离心（10 min, 8000×g, 4 ℃）收集菌体，生理盐水洗涤两次后重悬得酶处理液。酶处理液 2 mL 和甘薯淀粉液 25 mL（甘薯淀粉 25 g/L, KCl 10 mmol/L）混匀，测定絮凝率。

1.2.3　表面蛋白分离与鉴定　参考 Malamud 等[12] 的方法分离细胞表面蛋白。离心（10 min, 8000×g, 4 ℃）收集培养的菌体并重悬于蒸馏水中，按体积比 1∶1（v/v）加入 5 mol/L 盐酸胍（Guanidine Hydrochloride, GHCl），在 37 ℃ 下孵化处理 30 min，离心（10 min, 8000×g, 4 ℃）收集上清液。所得上清液经 0.45 μm 滤膜过滤获得粗提液。含表面蛋白的滤液装入截留分子量为 14 kDa 的透析袋中，于 4 ℃ 条件下用蒸馏水透析纯化 72 h，期间每隔 8 h 更换一次透析液。透析结束后，用 10 g/L $AgNO_3$ 溶液检测洗出液至

无白色沉淀出现，冻干后复溶于 0.01 mol/L 磷酸缓冲盐溶液（Phosphate Buffered Saline, PBS）缓冲液（1 mg/mL）。取 1 mL 蛋白液与 10 mg 甘薯淀粉 37 ℃ 孵育 30 min，离心（10 min，8000×g，4 ℃）弃去上清液收集蛋白-淀粉复合物。将复合物与上样缓冲液（0.2% 溴酚蓝、4% SDS、100 mmol/L pH6.8 Tris-HCl、5% β-巯基乙醇、20% 甘油）按体积比 3∶2（v/v）比例混合，煮沸 10 min 后离心得到上清液即结合蛋白。

采用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳（Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis, SDS-PAGE）对结合蛋白进行检测：配制 4%~20% 梯度分离胶，取 40 μL 样品与 60 μL 上样缓冲液混合煮沸，冷却后取 40 μL 与 10 μL Marker 上样于 1.5 mm 胶板。电泳参数设置为初始 90 V 恒压，待样品进入分离胶后调整为 160 V 恒压。电泳完成后用过滤的考马斯亮蓝染色液（25% 甲醇、7% 乙酸、0.1% 考马斯亮蓝 R250）染色，经脱色液（5% 乙醇、10% 乙酸）处理至条带清晰后通过凝胶成像系统分析。

通过液相色谱-电喷雾电离串联质谱技术（Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-tandem Mass Spectrometry Method, LC-ESI-MS/MS）处理甘薯淀粉结合蛋白，并和数据库中蛋白质序列进行比对得到候选肽段，定性鉴定甘薯淀粉结合蛋白。通过比较样品与标准品的保留时间和多反应监测模式下的离子对信息，对目标蛋白进行靶向定性确证。参考 Mohsin 等[13] 的方法并稍作修改处理样品。样品前处理为：将 SDS-PAGE 分离得到的蛋白凝胶切成 1 mm×1 mm×1 mm 碎块，胶块经胶内消化脱色液（25 mmol/L 碳酸氢铵、50% 乙腈）脱色两次，用乙腈脱水至胶块变白后真空脱去乙腈。向样品中依次加入 10 mmol/L DTT（56 ℃ 水浴还原 1 h）和 50 mmol/L IAA（避光烷基化 40 min），随后加入 1 μg 胰蛋白酶 37 ℃ 酶解过夜。酶解产物经自填充盐柱脱盐并冻干，脱盐处理冻干肽段以溶解液（0.1% 甲酸、2% 乙腈）复溶，离心（10000×g，4 ℃，10 min）后取上清用于质谱检测。

参考蔡芝鸿等[14] 的方法设置液相色谱和质谱条件。液相色谱条件为：预柱为 Acclaim PepMap C_{18} 柱（300 μm×5 mm，5 μm，100 Å）；分析柱为 Acclaim PepMap C_{18} 柱（150 μm×150 mm，1.9 μm，100 Å）；流动相为 A 相（0.1% 甲酸、2% 乙腈），B 相（0.1% 甲酸、80% 乙腈）；流速为 600 nL/min；梯度设置为 5% B 保持 5 min，5~75 min B 由 5% 线性升至 35%，75~90 min 由 35% 线性升至 80% 并保持 10 min，2 min 后 B 的浓度降低至 5% 并保持 20 min。质谱参数为：一级质谱分辨率 70000，AGC 3e6，最大注入时间 60 ms，质荷比 300~1400 m/z；二级质谱分辨率 17500，AGC 5e4，最大注入时间 15 ms，TopN=5，质荷比 200~2000 m/z。

1.2.4 傅里叶变换红外光谱测定 参考金桥等[15] 的方法并稍作修改。离心收集培养的菌体（10 min，8000×g，4 ℃），蒸馏水洗涤 2 次后冻干 48 h。甘薯淀粉 50~60 ℃ 干燥过夜。将菌液和甘薯淀粉溶液（甘薯淀粉 25 g/L，KCl 10 mmol/L）按 2∶25 比例混匀，摇晃 30 s，静置 10 min，收集底部沉淀，冻干 48 h 获得菌体淀粉复合物。称取冻干后的菌体、菌体淀粉复合物和甘薯淀粉三种样品各 2 mg 与干燥溴化钾粉末 200 mg 压片，用傅里叶变换红外光谱仪对样品扫描分析。设置参数为：光谱范围 400~4000 cm^{-1}，扫描次数 64 次，分辨率 4 cm^{-1}。

1.2.5 Zeta 电位测定 参考宁亚维等[16] 的方法测定。在与絮凝溶液体系同比例的条件下分别测定甘薯淀粉和菌体在 0、1、10 mmol/L 的 KCl 和 NaCl 溶液体系中的 Zeta 电位。

1.2.6 结合键检验 参考冯佳霖等[17] 的方法并稍作修改。将菌液 2 mL 和甘薯淀粉液 25 mL（甘薯淀粉 25 g/L，KCl 10 mmol/L）混匀，摇晃 30 s，静置 10 min。对照组直接测定絮凝率。尿素处理组向絮体中加入 2 mL 5 mmol/L 尿素溶液处理 5 min，再加入 25 mL KCl（10 mmol/L）溶液重新絮凝后测定絮凝率。盐酸处理组向絮体中加入 2 mL 0.01 mol/L HCl 溶液处理 5 min 后重新絮凝。

1.2.7 溶液条件对絮凝的影响

1.2.7.1 pH 对絮凝的影响 设置 pH 水平为 4~10，梯度为 1，用 0.1 mol/L HCl 和 0.1 mol/L NaOH 溶液调整 pH。将菌液 2 mL 和甘薯淀粉液 25 mL（甘薯淀粉 25 g/L，KCl 10 mmol/L）混匀，测定絮凝率。

1.2.7.2 金属离子对絮凝的影响 分别配制浓度为 1、10、20、50 mmol/L 的 KCl 和 NaCl 溶液。向各溶液中加入甘薯淀粉，浓度为 25 g/L。将菌液 2 mL 和甘薯淀粉液 25 mL 混匀，测定絮凝率。

1.3 数据处理

每组实验重复三次，实验结果用平均值±标准差来表示。使用 Graphpad Prism 8 统计软件对数据进行单因素方差分析（ANOVA）及多重比较（显著性水平为 0.05）并作图。

2 结果与分析

2.1 *W. confusa* SJ-5 表面组分作用及分析

2.1.1 *W. confusa* SJ-5 表面组分对絮凝影响 为了探究 *W. confusa* SJ-5 表面各组分对絮凝的影响，采用胰蛋白酶、溶菌酶、脂肪酶和右旋糖酐酶对菌体进行处理后，结果如图 1 所示。经溶菌酶处理后细菌细胞壁被破坏[18]，菌体絮凝率显著下降了 14.23%（$P<0.05$），这表明完整的细胞结构可能有利于絮凝。易建华等[19] 研究发现，酵母细胞壁可以絮凝光合细菌，这与本研究的结果相似。胰蛋白酶分解了菌体的表面蛋白[20]，菌体絮凝率降至 2.14%，与对照组（71.17%）差异显著（$P<0.05$），这表明菌体絮凝淀粉

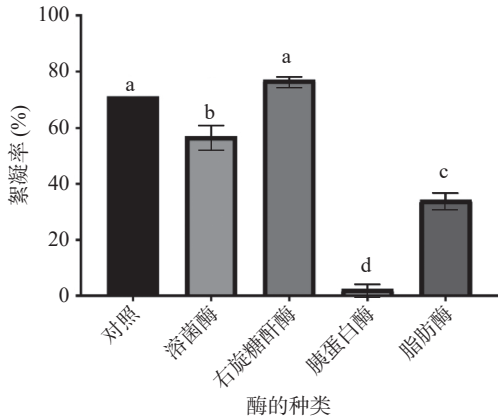


图 1　酶处理对 *W. confusa* SJ-5 絮凝率的影响

Fig.1　Effect of enzymatic treatment on flocculation rate of *W. confusa* SJ-5

注：不同的小写字母代表数据间存在显著性差异（P<0.05），图 4~图 5 同。

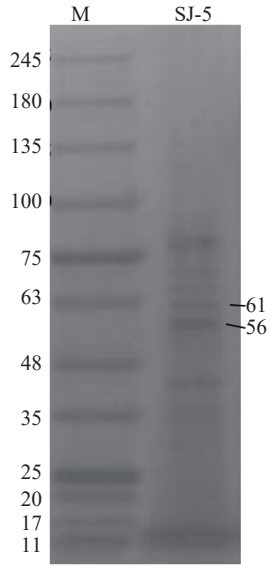


图 2　*W. confusa* SJ-5 结合淀粉表面蛋白的 SDS-PAGE 电泳

Fig.2　SDS-PAGE electrophoresis of *W. confusa* SJ-5 binding starch-surface protein

注：M：标准品；分子量单位为 kDa；SJ-5：*W. confusa* SJ-5 样品。

的活性成分主要是细菌表面的蛋白质，这与 Zhang 等[21] 对副干酪乳杆菌亚种 L1 的研究结果一致。经脂肪酶处理后，菌体对淀粉的絮凝率显著下降了 37.01%（P<0.05），说明脂类也在菌体的絮凝过程中发挥了显著的促进作用[22]。经右旋糖酐酶处理后，菌体表面的胞外多糖被降解，其絮凝率反而上升了 6.05%，但结果不显著（P>0.05），说明胞外多糖对 *W. confusa* SJ-5 的絮凝起到一定的阻碍作用，而右旋糖酐酶的酶解减少了这种阻碍。细菌胞外多糖具有许多官能团[23]，一般情况下有着较强的吸附性，可以吸附各种有机或无机物质[24]，实验结果表示，胞外多糖不仅没有协助絮凝作用反而抑制了絮凝，这可能是由于胞外多糖对表面蛋白的屏障作用导致部分表面蛋白无法结合淀粉，菌体絮凝率下降[25]。以上结果与 Magdalena 等[26] 的研究结果基本一致，他们发现 *Lactobacillus rhamnosus* PEN 的黏附能力主要依赖于表面蛋白和特定脂肪酸，胞外多糖的存在会阻碍细菌的黏附。以上结果表明，*W. confusa* SJ-5 的主要絮凝活性成分是表面蛋白，细胞壁和表面脂类成分有利于絮凝，而胞外多糖的存在不利于絮凝作用的发生。

2.1.2　*W. confusa* SJ-5 具有絮凝活性的表面蛋白分析　通过 SDS-PAGE 电泳和 LC-ESI-MS/MS 进一步鉴定了 *W. confusa* SJ-5 发挥絮凝作用的主要表面蛋白，结果如图 2 和表 1 所示。SDS-PAGE 电泳结果表明，有两种表面蛋白结合了淀粉。通过 LC-ESI-MS/MS 进一步鉴定这两种蛋白，得分最高的是 Hsp70 和 GroEL。Hsp70 在细胞内主要作为分子伴侣，能够增强细胞对应激的抵抗能力，维持蛋白质的稳态[27−28]。GroEL 是一种伴侣素，在原核和真核生物中普遍存在[29]，对折叠蛋白质起重要作用[30]。在对志贺菌的研究中发现，GroEL 还能帮助黏蛋白黏附，从而利于病原体的侵袭和定居[29]。Hsp70 和 GroEL 具有的絮凝淀粉活性可能与它们本身的结构以及它们帮助折叠或黏附其他絮凝相关表面蛋白有关。

2.2　*W. confusa* SJ-5 絮凝淀粉机制探究

2.2.1　傅里叶红外光谱分析　为了探究 *W. confusa* SJ-5 的絮凝淀粉的机制，通过分析絮凝前后菌体和淀粉红外吸收峰的变化初步判断了菌体与淀粉间的相互作用力，红外测试结果如图 3 所示。从图 3A 可以看出，与淀粉相比，絮凝后的复合物在两个吸收峰处发生了显著位移。3230 cm^{-1} 处的 O-H 振动吸收峰[31] 移动至 3234 cm^{-1}，1646 cm^{-1} 处酰胺Ⅰ带吸收峰移动至 1644 cm^{-1}[32]，O-H 振动吸收峰的位移表示 *W. confusa* SJ-5 和淀粉间可能形成了氢键，利用光谱差减技术得到了絮凝前后 *W. confusa* SJ-5 的红外光谱（图 3B）。从未絮凝菌体的红外特征吸收峰来看，菌体表面主要是蛋白、脂类以及糖类的特征吸收峰，絮凝后菌体有三处吸收峰发生了显著改变：1651 cm^{-1} 处酰胺Ⅰ带吸收峰移动至 1646 cm^{-1}，1542 cm^{-1} 处酰胺Ⅱ带吸收峰和 1238 cm^{-1} 的酰胺Ⅲ带吸收峰消失。这表明细菌表面蛋白的二级结构发生了变化，酰胺Ⅰ带和酰胺Ⅱ带的位移说明菌体与淀粉间有静电相互作用[33]。红外光谱的分析结果表

表 1　*W. confusa* SJ-5 结合淀粉表面蛋白结果

Table 1　Results of *W. confusa* SJ-5 binding starch surface proteins

条带	蛋白种类	登录号	肽段匹配数	得分	分子量(kDa)
1	Hsp70	ABC86990.1	335	9098	61
2	chaperonin GroEL	WP-004901547.1	384	12489	56
3	chaperonin GroEL	WP-004901547.1	63	1802	56

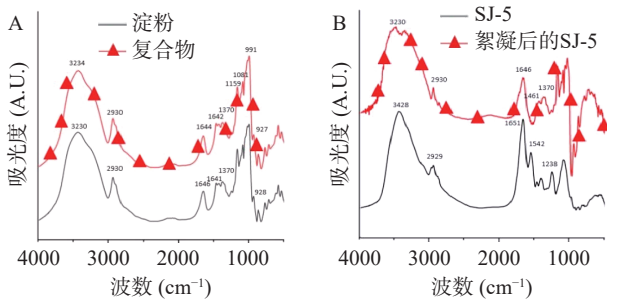


图 3　淀粉和 *W. confusa* SJ-5 在絮凝前后的红外光谱

Fig.3　Fourier-transform infrared spectra of starch and *W. confusa* SJ-5 before and after flocculation

明, *W. confusa* SJ-5 和淀粉可能通过氢键和静电相互作用结合。

2.2.2　金属离子对 *W. confusa* SJ-5 和淀粉的 Zeta 电位影响　为了进一步探究 *W. confusa* SJ-5 与淀粉间的静电作用力, 实验测定了菌体与淀粉的 Zeta 电位, 结果如表 2 所示。当离子浓度为零时, *W. confusa* SJ-5 和淀粉颗粒的表面电位均为−27 mV, 具有高负电性, 说明 *W. confusa* SJ-5 不是通过电荷中和实现絮凝的。Zeta 电位绝对值越小, 体系稳定性越低[34]。随着离子浓度的逐渐升高, 淀粉和菌体的 Zeta 电位绝对值逐渐降低, 表明体系的稳定性也随之下降。这是由于金属阳离子在中和表面电荷以及压缩双电层方面发挥了作用。当金属离子浓度为 10 mmol/L 时, 菌体和淀粉表面仍带负电, 这说明菌体和淀粉不是靠两者间的静电作用相结合的。结合微生物絮凝剂絮凝机理主流学说中的吸附架桥作用以及红外光谱的结果推断, 在絮凝过程中金属离子通过在菌体和淀粉间形成金属桥接离子键实现两者结合[35−36]。

表 2　金属离子对淀粉和 *W. confusa* SJ-5 的 Zeta 电位影响

Table 2　Effect of metal ions on starch potential and *W. confusa* SJ-5 potential

离子浓度 (mmol/L)	淀粉(mV)		*W. confusa* SJ-5 (mV)	
	K^+	Na^+	K^+	Na^+
0	−27.00±0.20^c	−27.00±0.20^c	−26.57±0.40^c	−26.57±0.40^c
1	−12.72±2.65^b	−11.50±1.25^b	−19.47±1.03^b	−19.97±0.42^b
10	−3.29±0.23^a	−4.68±0.41^a	−16.53±0.55^a	−14.6±1.49^a

注: 同一列中不同小写字母代表数据间存在显著性差异(P<0.05)。

2.2.3　*W. confusa* SJ-5 与淀粉间结合键探究　为了验证菌体和淀粉间是否形成了氢键和金属桥接离子键, 采用尿素和盐酸对 *W. confusa* SJ-5 絮凝淀粉后形成的絮体进行了处理, 并重新测定了絮凝率。如图 4 所示, 尿素处理组和对照组的絮凝率没有显著差异。尿素可以破坏复合物之间的氢键[17], 该结果说明 *W. confusa* SJ-5 与淀粉间的氢键作用并不是它们结合的主要原因。红外光谱中展示的 O-H 键的变化可能是菌体或者淀粉和水之间的作用。另一方面, 图 4 中盐酸处理组的絮凝率降到几乎为零。盐酸是一种离子键破坏剂[17], 这一结果说明菌体与淀粉结合主要依赖的是离子键的作用。这与许艳婷[37] 对 *Streptomyces* sp. hSN06 的研究结果一致。结合上述研究结果, 可以推断出 *W. confusa* SJ-5 与淀粉间的短程相互作用力为桥接金属离子键。*W. confusa* SJ-5 絮凝淀粉的机制符合吸附架桥机理[38], 即菌体作为絮凝剂吸附在淀粉颗粒表面, 并通过金属离子的桥接作用, 将多个淀粉颗粒连接起来, 形成较大的菌体-淀粉絮体, 进而通过重力作用使颗粒从体系中沉降出来。

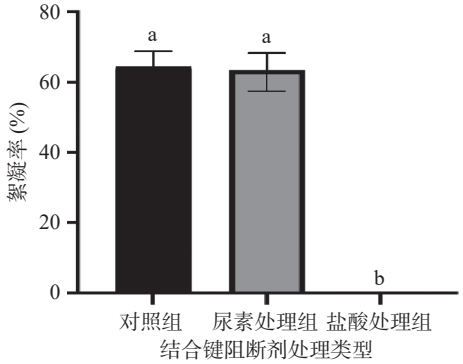


图 4　不同结合键阻断剂对 *W. confusa* SJ-5 絮凝率的影响

Fig.4　Effect of different bonding blockers on flocculation rate of *W. confusa* SJ-5

2.3　溶液性质对 *W. confusa* SJ-5 絮凝活性的影响

2.3.1　pH 对 *W. confusa* SJ-5 絮凝活性的影响　*W. confusa* SJ-5 的絮凝活性对环境 pH 有很大依赖性。菌体的絮凝率随着 pH 的升高呈现先升高后降低的趋势(图 5)。pH 在 4.0~8.0 内, 菌体的絮凝率随 pH 的增大而不断上升至最大值(65.08%)。pH 为 8.0~10.0 时, 菌体絮凝率随 pH 的增大出现小幅度的下降。pH 可能是通过改变 *W. confusa* SJ-5 的表面电荷和表面蛋白的性质以及菌体与淀粉间的离子键来影响絮凝过程。酸性环境下, H^+会干扰菌体和淀粉间的金属桥接离子键的形成, 因此絮凝率会随着 pH 的降低而下降。在碱性条件, *W. confusa* SJ-5 会发生去质子化现象[39]。因此, 当 pH>8 时, 菌体和淀粉间的静电斥力随着 pH 的增高不断增大, 絮凝率不断下降。这与李新华等[40] 的研究结果类似, 他们也发现随着 pH 的增大, 副干酪乳杆菌的絮凝率先增

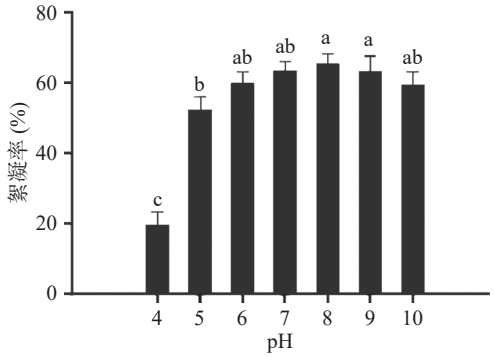


图 5　不同 pH 下 *W. confusa* SJ-5 絮凝率

Fig.5　Flocculation rate of *W. confusa* SJ-5 at different pH conditions

大，至 pH 为 7.5 时活性最高，随后絮凝率随 pH 增大而减小。

2.3.2　溶液中离子浓度对 *W. confusa* SJ-5 絮凝活性的影响　溶液中的离子，尤其是金属阳离子，在 *W. confusa* SJ-5 絮凝淀粉的过程中发挥着重要作用。为了研究助凝离子对菌体絮凝的影响，调节溶液中 Na^+和 K^+的浓度，得到的菌体絮凝率与离子浓度变化的关系如图 6 所示。随着 Na^+、K^+的浓度增大，*W. confusa* SJ-5 的絮凝率先上升后下降。当溶液浓度为 20 mmol/L 时，絮凝率达到最大值(Na^+为 43.53%，K^+为 69.40%)。金属阳离子的加入减弱了菌体和淀粉之间的静电斥力[41]，增加金属桥接离子键的数量可以显著促进絮凝过程。当盐溶液浓度超过 20 mmol/L 时，大量离子占据了菌体和淀粉的活性位点并把两者隔开抑制絮凝，絮凝率下降[42]。通过对 Na^+和 K^+对菌体絮凝率的影响进行对比分析，同一浓度下，K^+组的菌体絮凝率显著高于 Na^+组(P<0.05)，说明 K^+在促进菌体絮凝方面的效果更为显著。这与侯颖等[4]对植物乳植杆菌 HS1 的研究结果一致。钾离子助凝效果更好的原因可能是其水合半径小，能够更显著地压缩菌体和淀粉的双电层。

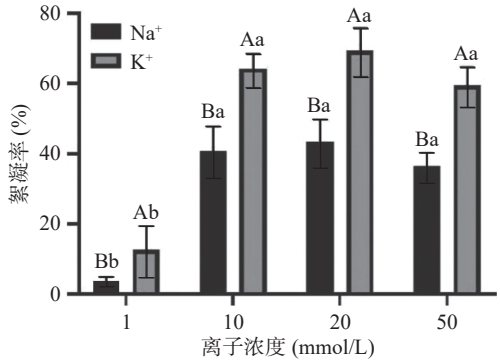


图 6　不同离子和浓度对 *W. confusa* SJ-5 絮凝率的影响

Fig.6　Flocculation rate of *W. confusa* SJ-5 at different ion concentrations

注：不同的大写字母代表不同离子同一浓度的数据间存在显著性差异(P<0.05)；不同的小写字母代表同一离子不同浓度的数据间存在显著性差异(P<0.05)。

3　结论

本研究通过酶解处理、蛋白及谱学分析，明确了融合魏斯氏菌 SJ-5(*Weissella confusa*)的表面热休克蛋白 Hsp70 与伴侣素 GroEL 是其介导甘薯淀粉絮凝的关键活性蛋白，并基于 FTIR、Zeta 电位及化学键阻断实验，证明该菌与淀粉颗粒间的相互作用以金属阳离子(K^+/Na^+)桥接离子键为主，氢键贡献微弱，整体絮凝机理符合吸附架桥理论。*W. confusa* SJ-5 对甘薯淀粉的絮凝效率显著受到溶液化学条件的调控，絮凝率随着 pH 和离子浓度增强而提高，但过高的离子强度会导致絮凝率的回落。本研究结果为定向改造融合魏斯氏菌表面蛋白表达水平提供了明确的分子靶点，为优化甘薯淀粉生产工艺、开发基于高效生物絮凝剂奠定了理论与实验基础。

© 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] LAI Y C, WANG S Y, GAO H Y, et al. Physicochemical properties of starches and expression and activity of starch biosynthesis-related genes in sweet potatoes[J]. Food Chemistry, 2016, 199: 556−564.

[2] 季子非, 王筱瑜, 田原, 等. 一株自然发酵甘薯酸浆的促淀粉絮凝酵母菌的分离鉴定及其共凝集特性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(11): 147−151,160. [JI Zifei, WANG Xiaoyu, TIAN Yuan, et al. The isolation, identification and coaggregation characteristics of a yeast with starch flocculation from naturally fermented sweet potato sour liquid[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(11): 147−151,160.]

[3] 张莉力, 许云贺, 李新华. 对甘薯淀粉具有絮凝活性的乳酸菌的分离鉴定及其特性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 228−231. [ZHANG Lili, XU Yunhe, LI Xinhua. Isolation, identification and characterization of lactic acid bacteria with activity to flocculate sweet potato starch[J]. Food Science, 2010, 31(7): 228−231.]

[4] 侯颖, 李毅昊, 李海阳, 等. 红薯酸浆中淀粉絮凝菌的筛选、絮凝条件优化与絮凝成分分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(10): 172−180. [HOU Ying, LI Yihao, LI Haiyang, et al. Screening of starch flocculation bacteria in sweet potato sour pulp, optimization of flocculation conditions and analysis of flocculation components[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(10): 172−180.]

[5] WANG Xuan, ZHAO Liang, WANG Yongtao, et al. A new *Leuconostoc citreum* strain discovered in the traditional sweet potato sour liquid fermentation as a novel bioflocculant for highly efficient starch production[J]. Food Research International, 2021, 144: 110327.

[6] 李新华, 赵晓阳, 张荔力. 副干酪乳杆菌对甘薯浆液中淀粉絮凝机理研究[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 273−276. [LI Xinhua, ZHAO Xiaoyang, ZHANG Lili. Flocculation mechanism of sweet potato starch by addition of *Lactobacillus paracasei*-fermented sweet potato slurry[J]. Food Science, 2010, 31(19): 273−276.]

[7] 白霞, 崔梦含, 朱鹏程, 等. 3 株魏斯氏菌的分离鉴定与生物学特性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(9): 59−69. [BAI Xia, CUI Menghan, ZHU Pengcheng, et al. Isolation, identification and biological characteristics of 3 strains of *Weissella*[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2023, 14(9): 59−69.]

[8] 张明, 顾英, 张莉力. 不同条件下副干酪乳杆菌 L1 絮凝甘薯淀粉的研究及酸浆的自然发酵[J]. 饲料研究, 2015, 38(18): 61−63,69. [ZHANG Ming, GU Ying, ZHANG Lili. Study on flocculation of sweet potato starch by *Lactobacillus paracasei* L1 under different conditions and natural fermentation of *Physalis alkekengi*[J]. Feed Research, 2015, 38(18): 61−63,69.]

[9] 黄倩, 梁安健, 朱鹏程, 等. 一株高产淀粉酶魏斯氏菌产酶条件优化[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2024, 50(1): 16−27. [HUANG Qian, LIANG Anjian, ZHU Pengcheng, et al. Optimization of enzyme production conditions for a high yield amylase pro-

ducing strain of *Weissella*[J]. Journal of Southwest Minzu University (Natural Science Edition), 2024, 50(1): 16−27.]
[10] 吴玉新, 陈佳芳, 马子琳, 等. 乳酸菌发酵米粉酸面团生化特性及其对馒头蒸制特性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(6): 64−71. [WU Yuxin, CHEN Jiafang, MA Zilin, et al. Biochemical characteristics of rice flour sourdough fermented by lactic acid bacteria and its effects on steaming characteristics of steamed bread[J]. Food Science, 2020, 41(6): 64−71.]
[11] 刘娇, 李源, 王佳瑶, 等. 豌豆酸浆中淀粉絮凝菌的筛选及其絮凝性质分析[J]. 食品工业, 2023, 44(7): 130−136. [LIU Jiao, LI Yuan, WANG Jiayao, et al. Screening and flocculating property analysis of starch flocculating bacteria in pea sour pulp[J]. The Food Industry, 2023, 44(7): 130−136.]
[12] MALAMUD M, CAVALLERO G J, CASABUONO A C, et al. Immunostimulation by *Lactobacillus kefiri* S-layer proteins with distinct glycosylation patterns requires different lectin partners[J]. Journal of Biological Chemistry, 2020, 295(42): 14430−14444.
[13] MOHSIN A Z, SUKOR R, SELAMAT J, et al. A highly selective two-way purification method using liquid chromatography for isolating αS2-casein from goat milk of five different breeds[J]. Journal of Chromatography B, 2020, 1160: 122380.
[14] 蔡芝鸿, 何洪, 王梅, 等. 鸡蛋清蛋白质糖肽的结构鉴定[J]. 食品科学, 2024, 45(21): 58−67. [CAI Zhihong, HE Hong, WANG Mei, et al. Structural identification of glycopeptides derived from chicken egg white proteins[J]. Food Science, 2024, 45(21): 58−67.]
[15] 金桥, 王涛, 曲敏, 等. 大鲵皮酶解产物的制备、结构表征及抗菌活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(16): 116−125. [JIN Qiao, WANG Tao, QU Min, et al. Preparation, structural characterization and antimicrobial activity of enzymatic products from the skin of giant salamander (*Andrias davidianus*)[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(16): 116−125.]
[16] 宁亚维, 付浴男, 何建卓, 等. 苯乳酸和醋酸联用对单核细胞增生李斯特菌的协同抑菌机理[J]. 食品科学, 2020, 41(23): 70−76. [NING Yawei, FU Yunan, HE Jianzhuo, et al. Synergistic antibacterial mechanism of phenyllactic acid combined with acetic acid against *Listeria monocytogenes*[J]. Food Science, 2020, 41(23): 70−76.]
[17] 冯佳霖, 赵江琦, 葛晓彤, 等. 解淀粉芽孢杆菌 SQ-2 所产胞外聚合物的絮凝特性研究[J/OL]. 环境与健康杂志, 1−6 [2025-08-19]. https://link.cnki.net/urlid/12.1095.R.20241218.1113.002. [FENG J L, ZHAO J Q, GE X T, et al. Flocculation characteristics of extracellular polymer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* SQ-2[J/OL]. Journal of Environment and Health: 1−6 [2025-06-01]. https://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1095.R.20241218.1113.002.html.]
[18] TOMCZYK Ł, LEŚNIEROWSKI G, CEGIELSKA-RADZIEJEWSKA R. Lysozyme modification using proteolytic enzymes[J]. Molecules, 2023, 28(17): 6260.
[19] 易建华, 胡骏鹏, 覃先武, 等. 不同絮凝剂对光合细菌采收的影响[J]. 中国饲料, 2022(23): 146−150. [YI Jianhua, HU Junpeng, QIN Xianwu, et al. Effect on photosynthetic bacteria collection by different flocculants[J]. China Feed, 2022(23): 146−150.]
[20] ASENSIO-COB D, MATA C P, GOMEZ-BLANCO J, et al. Structural determinants of rotavirus proteolytic activation[J]. PLoS Pathogens, 2025, 21(8): e1013063.
[21] ZHANG Lili, YU Yang, LI Xinhua, et al. Starch flocculation by the sweet potato sour liquid is mediated by the adhesion of lactic acid bacteria to starch[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1412.
[22] 张灿, 姜国芳, 杨江楠, 等. 多孔材料固定化脂肪酶的研究进展[J]. 分子催化, 2020, 34(4): 378−396. [ZHANG Can, JIANG Guofang, YANG Jiangnan, et al. Research progress of immobilized lipase on porous materials[J]. Journal of Molecular Catalysis (China), 2020, 34(4): 378−396.]
[23] CHEN Ziwei, CHEN Jiajun, NI Dawei, et al. Microbial dextran-hydrolyzing enzyme: Properties, structural features, and versatile applications[J]. Food Chemistry, 2024, 437: 137951.
[24] GALLARDO K, SERRANO G, CASTILLO R, et al. Lanthanide bioadsorption by the extremophile *Exiguobacterium* sp. Utilizing microbial extracellular polysaccharides for high-value element recovery[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1575677.
[25] WU Yaxuan, YANG Bowen, ZENG Qianzhi, et al. Effects of perfluorobutanesulfonic acid (PFBS) on the sediment microbial communities, and the interaction mechanism with urease and extracellular polymeric substances (EPS)[J]. Journal of Hazardous Materials, 2025, 496: 139396.
[26] MAGDALENA P, ADAM W, ROMAN P, et al. The effect of cell surface components on adhesion ability of *Lactobacillus rhamnosus*[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2014, 106(4): 751−762.
[27] ROSENZWEIG R, NILLEGODA N B, MAYER M P, et al. The Hsp70 chaperone network[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2019, 20(11): 665−680.
[28] 朱金言, 何明慧, 吴凡, 等. 热休克蛋白 70 小分子抑制剂的研究进展[J]. 药学学报, 2024, 59(11): 2962−2974. [ZHU Jinyan, HE Minghui, WU Fan, et al. Current status and perspectives of small molecule inhibitors of heat shock protein 70[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2024, 59(11): 2962−2974.]
[29] FOURIE K R, WILSON H L. Understanding GroEL and DnaK stress response proteins as antigens for bacterial diseases[J]. Vaccines, 2020, 8(4): 773.
[30] 陈永恒, 陈主初. 医学结构蛋白质组学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2022: 199−201. [CHEN Yongheng, CHEN Zhuchu. Medical structural proteomics[M]. Changsha: Hunan Science & Technology Press, 2022: 199−201.]
[31] JAN R, SAXENA D C, SINGH S. Pasting, thermal, morphological, rheological and structural characteristics of *Chenopodium* (*Chenopodium album*) starch[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 66: 267−274.
[32] 苏靖, 石晶红, 王金帅, 等. 基于红外光谱分析河套春小麦储藏期蛋白质二级结构变化[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(11): 24−27, 35. [SU Jing, SHI Jinghong, WANG Jinshuai, et al. Changes in secondary structure of Hetao spring wheat protein under storage analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy[J]. Cereals & Oils, 2021, 34(11): 24−27, 35.]
[33] SAKAGUCHI N, ONODA A, OMATA K, et al. Changes in the protein secondary structure on the surface of silica nanoparticles with different sizes[J]. Langmuir, 2025, 41(23): 15143−15148.
[34] TU Yi, ZHANG Xinxia, WANG Li. Effect of salt treatment on the stabilization of Pickering emulsions prepared with rice bran protein[J]. Food Research International, 2023, 166: 112537.

［35］ 陈存根, 姚昆, 郭益茂. 微生物絮凝剂的研究现状与发展趋势[J]. 广东化工, 2025, 52(1): 102−105. ［CHEN Cungen, YAO Kun, GUO Yimao. Research status and development trends of microbial flocculants[J]. Guangdong Chemical Industry, 2025, 52(1): 102−105.］

［36］ CHEN Lei, ZHAO Bin, AN Qiang, et al. The characteristics and flocculation mechanisms of SMP and B-EPS from a bioflocculant-producing bacterium *Pseudomonas* sp. XD-3 and the application for sludge dewatering[J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 479: 147584.

［37］ 许艳婷. *Streptomyces* sp. hsn06 对小球藻的絮凝机制[D]. 新乡: 河南师范大学, 2018. ［XU Y T. Flocculation mechanism of *Streptomyces* sp. hsn06 on *Chlorella biomass*[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2018.］

［38］ ZHANG Bing, LI Kangping, MAO Xin, et al. Modified microbial flocculant-enhanced ferric chloride pre-coagulation for membrane fouling mitigation during the treatment of actual funeral wastewater: Role and concentration effects of modified microbial flocculant[J]. Journal of Water Process Engineering, 2025, 70: 107120.

［39］ 李强, 付鉴, 苏楠, 等. 两性离子型聚合物絮凝剂的制备及性能评价[J]. 工业水处理, 2023, 43(1): 62−67. ［LI Qiang, FU Jian, SU Nan, et al. Preparation and performance evaluation of zwitterionic polymer flocculant[J]. Industrial Water Treatment, 2023, 43(1): 62−67.］

［40］ 李新华, 金圣, 张荔力. 副干酪乳杆菌在绿豆淀粉生产中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(1): 109−111. ［LI Xinhua, JIN Sheng, ZHANG Lili. Study on the application of *Lactobacillus paracasei* in the producing of mung bean starch[J]. Food and Fermentation Industries, 2012, 38(1): 109−111.］

［41］ 田瑜琳, 雒晓芳, 朱雅雯, 等. 微生物絮凝剂 ZF-1C 的絮凝效果研究[J]. 生物化工, 2020, 6(3): 90−94. ［TIAN Yulin, LUO Xiaofang, ZHU Yawen, et al. Analysis of the effect of high-efficiency flacationagent *Shigella* ZF1[J]. Biological Chemical Engineering, 2020, 6(3): 90−94.］

［42］ 于荣丽, 孙丽娜, 孙铁珩. 微生物絮凝剂絮凝机理的研究概况及例证[J]. 安全与环境学报, 2012, 12(1): 24−26. ［YU Rongli, SUN Lina, SUN Tieheng. Research on the flocculation mechanism of microbial flocculants[J]. Journal of Safety and Environment, 2012, 12(1): 24−26.］