

荔枝汁-大豆蛋白培养基鼠李糖乳杆菌发酵过程 脂肪酸组的变化动态

刘欣, 郑雪芳, 刘芸, 陈峥, 王阶平*, 刘波*

(福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福州 350003)

摘要: **目的** 解析荔枝汁-大豆蛋白培养基鼠李糖乳杆菌发酵过程脂肪酸组的变化动态。**方法** 利用气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 脂肪酸自动测定仪, 分析植物原料荔枝汁、大豆蛋白(豆浆)、荔枝汁+大豆蛋白(体积比为 1:1) 培养基的脂肪酸组成, 以及鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 (*Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807) 发酵前后和发酵过程脂肪酸组的变化。**结果** 荔枝汁-大豆蛋白复合培养基经过鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵脂肪酸组成发生显著变化 ($P < 0.05$), 发酵前脂肪酸标记 30 条, 发酵后上升到 53 条, 增加了 76.77%, 脂肪酸总量增加 115.01%; 脂肪酸标记可分为高含量(2 条)、中含量(10 条)和低含量(41 条)3 组, 其中高含量组的脂肪酸标记 C16:0 和 C18:1 ω 9c, 含量占比超过 45%, 具有乳杆菌种属特征; 鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵过程中, 脂肪酸组和活菌数变化趋势相近; 发酵 1 h, 活菌数达 8.7×10^7 CFU/mL, 此时, 脂肪酸总量达 1426116(响应值); 发酵 1~6 h, 活菌数略有下降, 为 6.20×10^7 CFU/mL, 脂肪酸总量相应下降为 1106592(响应值); 发酵 6~12 h, 活菌数含量急速上升到高峰 56.00×10^7 CFU/mL, 相应的脂肪酸总量也急速上升到 2349101(响应值)。**结论** 乳杆菌发酵能显著增加脂肪酸组的种类和含量, C16:0 和 C18:1 ω 9c 为乳杆菌种属特征脂肪酸标记, 可通过检测脂肪酸总量的变化, 可以监测乳杆菌数量变化动态。

关键词: 鼠李糖乳杆菌; 荔枝汁; 大豆蛋白; 发酵; 脂肪酸组

Dynamic of fatty acid group during fermentation of *Lactobacillus rhamnosus* in the medium of lychee juice and soybean protein

LIU Xin, ZHENG Xue-Fang, LIU Yun, CHEN Zheng, WANG Jie-Ping*, LIU Bo*

(Agricultural Bio-Resources Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the dynamic of fatty acid group during fermentation of *Lactobacillus rhamnosus* in the medium of lychee juice and soybean protein. **Methods** Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) fatty acid automatic analyser was used to analyze fatty acid profiles of plant materials of litchi juice, soybean protein (soya-bean milk) and litchi juice + soybean protein ($V:V=1:1$), as well as that of *Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807) before and after fermentation. **Results** The fatty acid profiles of litchi juice-soybean protein complex culture medium was significantly changed by *Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807 ($P < 0.05$). Thirty

基金项目: 福建省科技计划项目-省属公益类科研院所基本科研专项(2016R1017-4, 2017R1017-5)

Fund: Supported by the Fujian Provinces Special Fund for Public Welfare Scientific Institutes (2016R1017-4, 2017R1017-5)

*通讯作者: 王阶平, 研究员, 主要研究方向微生物系统发育与生物技术。E-mail 781063449@qq.com

刘波, 研究员, 主要研究方向为微生物生物技术与农业生物药物。E-mail: fzliubo@163.com

*Corresponding author: WANG Jie-Ping, Professor, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China. E-mail: 781063449@qq.com
LIU Bo, Professor, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China. E-mail: fzliubo@163.com

fatty acid biomarkers were labeled before fermentation of *Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807 in the litchi juice-soybean protein composite medium, and 53 after fermentation, increasing by 76.77%, and the total fatty acids increased of 115.01%. The fatty acid biomarkers could be divided into three groups of the high content group with 2 biomarkers, middle content group with 10 biomarkers and low content group with 41 biomarkers. The high content group contained 2 fatty acid biomarkers C16:0 and C18:1 ω 9c, the content of which accounted more than 45% of the total fatty acids, and had the characteristics of lactobacillus species. During the strain FJAT-13807 fermentation, the change trend of the fatty acid group and the number of viable bacteria was similar. After fermentation for 1 h, the number of viable bacteria reached 8.7×10^7 CFU/mL, simultaneously the total amount of fatty acids reached 1426116 (response). Fermented for 1-6 h, the number decreased slightly to 6.20×10^7 CFU/mL, at the same time, the total fatty acid reduced to 1106592 (response). Fermented for 6-12 h, the number increased rapidly to the peak of 56.00×10^7 CFU/mL, and the total fatty acid also increased rapidly to 2349101 (response). **Conclusion** The fermentation of *Lactobacillus rhamnosus* could increase the species and content of fatty acid group. C16:0 and C18:1 ω 9c were the characteristics fatty acid markers of lactobacillus species and by detecting the change of total fatty acids, the dynamic change of *Lactobacillus* quantity can be monitored.

KEY WORDS: *Lactobacillus rhamnosus*; litchi juice; soybean protein; fermentation; fatty acid group

1 引言

20 世纪初,著名的生物学家梅契尼柯夫(Mechnikoff, 1845-1916)明确指出,日常生活中经常饮用的酸奶中含有大量的乳酸菌,定殖在人体内,可有效地抑制有害菌的生长,成为健康的重要原因之一^[1]。人类日常食用的泡菜、酸奶、酱油、豆豉等,都是应用乳酸菌的随机天然发酵的^[2,3]。乳酸菌在动物体内能发挥许多的生理功能,提高食物消化率和生物效价^[4];降低血清胆固醇,控制内毒素^[5];抑制肠道内腐败菌生长,提高机体免疫力等^[6]。乳酸菌来源大体上可分为动物来源和植物来源 2 大类^[7,8]。

利用乳酸菌分别发酵荔枝汁或大豆蛋白有过许多报道;邹颖等^[9]报道了酵母菌乳酸菌共发酵对荔枝汁品质的影响;刘欣等^[10]报道了不同乳酸菌荔枝汁发酵特性及其贮藏稳定性,吴倩等^[11]报道了不同乳酸菌对凝固型荔枝酸奶的发酵特性和质构的影响。刘国明等^[12]报道了不同品种荔枝的乳酸菌发酵饮料挥发性香气成分对比。乳酸菌发酵酸豆奶的研究也有过许多的报道,王尚等^[13]从专利和文献角度综述了酸豆乳研究进展;王龄焱^[14]等报道了乳酸菌在豆乳中的生长特性及其与酵母菌联合发酵作用;李学莉等^[15]综述了乳酸菌发酵豆乳研究进展;王永等^[16]报道了发酵豆奶加工工艺研究,王蔚新等^[17]报道了全大豆凝固型酸乳发酵工艺优化;徐寅等^[18]报道了乳酸菌对发酵豆乳风味成分的影响;贾西灵等^[19]报道了大豆酸奶加工工艺;而关于荔枝汁-大豆蛋白复合培养基乳酸菌发酵的研究还未见报道。

乳酸菌发酵过程能产生脂肪酸等功能物质为宿主所利用^[20];乳酸菌调节人体肠道菌群结构、抑制致病菌与其脂肪酸的产生关系密切^[21];乳酸菌发酵产生的脂肪酸,表

现出乳酸菌的种属特性,魏宇欣^[22]利用脂肪酸组的测定鉴定出 13 个乳酸菌的新种;乳酸菌发酵青贮玉米秸秆能提高挥发性脂肪酸含量有助于品质提高,酸奶发酵和冷藏过程脂肪酸含量增加有利于酸奶保持风味^[23,24],乳酸菌发酵加工羊肉香肠过程脂肪酸含量提高保持了产品风味^[25];乳酸菌菌株混合组干预增加了短链脂肪酸总水平,可以改善机体对能量的吸收,有效抑制高脂饮食诱导小鼠肥胖的形成^[26];可见乳酸菌脂肪酸组重要性。然而,乳酸菌发酵过程脂肪酸组变化动态的研究未见报道,

本研究选择荔枝汁-大豆蛋白复合培养基发酵乳酸菌,从植物原料脂肪组测定入手,研究乳酸菌发酵前后物料脂肪酸组数量与结构的变化,分析乳酸菌发酵过程脂肪酸组变化动态,为探索植物混合原料乳酸菌发酵过程脂肪酸组变化规律提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 实验材料

(1)乳酸菌培养基:①MRS(man rogosa sharp)肉汤培养基和 MRS 固体培养基(北京陆桥技术股份有限公司)。②荔枝汁-大豆蛋白复合培养基制备,1)荔枝汁的制备:选取新鲜荔枝,洗净去皮核,将果肉榨汁过滤备用;2)豆浆的制备,黄豆用蒸馏水浸泡 10 h 后清洗,加入干重 20 倍的纯净水,磨浆去渣备用;3)荔枝汁-大豆蛋白复合培养基制备,将荔枝汁和豆浆体积比(1:1)混合,加入质量分数为 2%的白砂糖,分装于 250 mL 蓝盖瓶中,每瓶 200 mL,灭菌,备用。

(2)乳酸菌选择:鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807(*Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807)(福建省农业科学院农业生物资源研究所微生物保存中心)。

(3) 仪器与设备: 7890N 型气相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); ZHJH-C1209C 超净工作台(上海智城分析仪器制造有限公司); Bluepard 隔水式恒温培养箱(上海一恒科技有限公司); Sartorius PB-10 pH 计(德国赛多利斯集团)。

2.2 实验方法

(1) 荔枝汁-大豆蛋白复合培养基乳酸菌发酵实验: 选择鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807(*Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807), 种子浓度 1×10^8 CFU/mL, 以体积分数 5% 接种量分别接种于荔枝汁大豆蛋白复合培养基, 置于 37 °C 培养箱培养 12 h, 发酵初期(1 h)、发酵中期(6 h), 发酵后期(12 h)各取样一次, 测定活菌数, 分析脂肪酸组。

(2) 乳酸菌活菌数计数: 乳酸菌发酵过程的活菌数的统计: 采用稀释平板计数法, 分别配制 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 浓度发酵液, 进行平板涂布, 每个浓度梯度重复 3 次。将平板倒置于恒温箱中 37 °C 培养 3 d。按公式统计培养平板上菌落数:

每毫升样品中活菌数 = 同一稀释度的菌落平均数 × 稀释倍数 × 10。

(2) 脂肪酸分析: 分别进行荔枝汁、大豆蛋白、荔枝汁-大豆蛋白复合、乳杆菌发酵过程样品的脂肪酸测定, 取样发酵前培养基原料液体或发酵后乳酸菌发酵液(包含乳酸菌), 进行取样液体脂肪酸的释放与甲酯化、溶液的中和、脂肪酸的萃取、脂肪酸的溶解等脂肪酸提取步骤, 方法参照 Frostegård 等^[27]的方法。采用气相色谱仪进行脂肪酸成分测定。分流进样法, 分流比为 100:1, 进样量 1 μL。二阶程序升高柱温: 170 °C 起始, 5 °C/min 升至 260 °C, 而后 40 °C/min 升温至 310 °C, 维持 90 s; 汽化室温度 250 °C、检测器温度 300 °C; 载气为 H₂(2 mL/min)、尾气气为 N₂(30 mL/min); 柱前压 10.00 psi。脂肪酸成分的鉴定采用 Sherlock MIS 4.5 系统(美国 MIDI 公司)。

2.3 统计学方法

(1) 植物原料(荔枝汁、大豆蛋白、荔枝汁+大豆蛋白)和乳杆菌发酵液(发酵初期、发酵中期、发酵后期)脂肪酸分析, 统计直链脂肪酸(straight-chain fatty acids, SCFA)、支链脂肪酸(branched-chain fatty acids, BCFA)、复合脂肪酸(complex fatty acids, CFA, 2 个以上脂肪酸检测过程无法分开, 仪器将之放在 Sum In Feature 内)、总脂肪酸含量(total fatty acids, TFA)进行比较, 脂肪酸单位为响应值(response), 响应值指示着脂肪酸生物标记的绝对含量。

(2) 乳杆菌发酵脂肪酸组聚类分析, 以脂肪酸组为样本, 以发酵时期为指标, 卡方距离为尺度, 数据不转换, 用类平均法进行系统聚类, 分析不同含量脂肪酸的组成, 进行比较。

(3) 乳杆菌发酵过程脂肪酸组和活菌数变化动态, 利用直方图比较发酵不同时期脂肪酸指标(直链脂肪酸、支链脂肪酸、脂肪酸总量、特征脂肪酸)和活菌数变化动态, 分

析脂肪酸含量与活菌数变化的相互关系。

3 结果与分析

3.1 植物原料脂肪酸组分析

3.1.1 荔枝汁原液脂肪酸组分析

荔枝汁脂肪酸组分析见表 1。共检测到 16 个脂肪酸, 总含量 335164(响应值); 其中直链脂肪酸 3 个, 即 C14:0、C16:0、C18:0, 含量 92231(响应值), 占比 27.42%; 支链脂肪酸 11 个, 含量 165108(相应值), 占比 49.34%; 复合脂肪酸 2 个, 即 Sum In Feature 3(C16:1 ω7c/C16:1 ω6c)、Sum In Feature 5(C18:2 ω6,9c/C18:0 ante), 含量 77825(响应值), 占比 23.24%。分析结果表明新鲜加工的荔枝汁原液含有脂肪酸, 这与荔枝汁自身的脂肪酸含量以及荔枝汁含有内生细菌有关。

表 1 荔枝汁脂肪酸组分析
Table 1 Analysis of fatty acid group in litchi juice

保留时间/min	脂肪酸名称	脂肪酸含量(response)	脂肪酸占比/%
直链脂肪酸			
6.759	C14:0	541	0.16
9.850	C16:0	88534	26.32
13.271	C18:0	3156	0.94
直链脂肪酸小计		92231	27.42
支链脂肪酸			
5.160	C13:0 anteiso	313	0.10
6.398	C14:0 anteiso	725	0.22
7.828	C15:0 anteiso	811	0.24
9.402	C16:0 anteiso	625	0.19
9.699	C16:1 ω5c	467	0.14
9.483	C16:1 ω9c	1320	0.39
11.071	C17:0 anteiso	526	0.16
13.123	C18:1 ω5c	923	0.28
12.878	C18:1 ω9c	157981	47.2
16.314	C20:1 ω9c	508	0.15
16.247	C20:2 ω6,9c	909	0.27
支链脂肪酸小计		165108	49.34
复合脂肪酸			
9.551	Sum In Feature 3	4433	1.32
12.785	Sum In Feature 5	73392	21.92
复合脂肪酸小计		77825	23.24
总计		335164	100

注: Sum In Feature 3=C16:1 ω7c/C16:1 ω6c; Sum In Feature 5=C18:2 ω6,9c/C18:0 ante。

3.1.2 大豆蛋白原液脂肪酸组分析

大豆蛋白脂肪酸组分析见表 2。共分析到 31 个脂肪酸, 总含量 1228854(响应值); 其中直链脂肪酸 5 个, 即 C14:0、C16:0、C17:0、C18:0、C20:0, 含量 348851(响应值), 占比 28.29%; 支链脂肪酸 20 个, 含量 599380(响应值), 占比 48.85%; 复合脂肪酸 6 个, 含量 280623(响应值), 占比 22.86%。分析结果表明新鲜加工的大豆蛋白(豆浆)还有较高的脂肪酸, 与荔枝汁原液比较, 其脂肪酸总量比荔枝汁高出 266.64%; 这与大豆自身含有的脂肪酸以及含有的内生细菌有关。

表 2 大豆蛋白脂肪酸组分析
Table 2 Analysis of fatty acid group in soybean protein

保留时间/min	脂肪酸名称	脂肪酸含量 (response)	脂肪酸占比/%
直链脂肪酸			
6.754	C14:0	2658	0.22
9.857	C16:0	322460	26.14
11.543	C17:0	650	0.05
13.271	C18:0	20750	1.69
16.708	C20:0	2333	0.19
直链脂肪酸小计		348851	28.29
支链脂肪酸			
4.476	C11:0 iso 3OH	902	0.08
6.399	C14:0 anteiso	4472	0.37
6.619	C14:1 ω5c	1576	0.13
7.827	C15:0 anteiso	5374	0.44
10.085	C15:0 iso 3OH	2476	0.2
7.415	C15:1 iso G	539	0.04
7.343	C15:1 iso ω9c	218	0.02
9.402	C16:0 anteiso	4650	0.38
11.793	C16:0 iso 3OH	1303	0.11
9.699	C16:1 ω5c	1608	0.13
9.480	C16:1 ω9c	4238	0.34
11.067	C17:0 anteiso	3899	0.32
11.16	C17:1 ω9c	1366	0.11
13.125	C18:1 ω5c	7135	0.58
13.404	C18:1 ω7c C11-methyl	33958	2.77
12.886	C18:1 ω9c	516644	42.09
12.543	C18:3 ω6c (6, 9, 12)	772	0.06
14.823	C19:0 cyclo w8c	3445	0.28
14.341	C19:0 iso	2758	0.23
16.313	C20:1 ω9c	2047	0.17
支链脂肪酸小计		599380	48.85

续表 2

保留时间/min	脂肪酸名称	脂肪酸含量 (response)	脂肪酸占比/%
复合脂肪酸			
3.496	Sum In Feature 2	713	0.06
9.552	Sum In Feature 3	14378	1.17
10.652	Sum In Feature 4	7309	0.59
12.791	Sum In Feature 5	236199	19.24
14.766	Sum In Feature 7	16730	1.37
10.585	Sum In Feature 9	5294	0.43
复合脂肪酸小计		280623	22.86
总计		1228854	100

注: Sum In Feature 2=unknown 10.928; Sum In Feature 3=C16:1 ω7c/C16:1 ω6c; Sum In Feature 4=C17:1 iso 1/anteiso B; Sum In Feature 5=C18:2 ω6, 9c/C18:0 ante; Sum In Feature 7=C19:0 cyclo ω10c/C19ω6; Sum In Feature 9=C16:0 10-methyl。

3.1.3 荔枝汁-大豆蛋白复合培养基脂肪酸组分析

荔枝汁和大豆蛋白复合培养基脂肪酸组分析见表 3。共检测到 30 个脂肪酸, 总含量 756800(响应值); 其中直链脂肪酸 5 个, 即 C14:0、C15:0、C16:0、C17:0、C18:0, 含量 209270(响应值), 占比 27.1%; 支链脂肪酸 20 个, 含量 382036(响应值), 占比 50.65%; 复合脂肪酸 5 个, 含量 165494(响应值), 占比 21.91%。分析结果显示, 荔枝汁和大豆蛋白 1:1 配比时, 其脂肪酸含量相近于 2 者脂肪酸含量的平均值, 即 335164(荔枝汁)+1228854(大豆蛋白)/2=782009(响应值), 表明荔枝汁和大豆蛋白复合培养基发酵前含有一定的脂肪酸。

表 3 荔枝汁-大豆蛋白复合培养基脂肪酸组分析
Table 3 Fatty acid group analysis of litchi juice-soybean protein compound medium

保留时间 /min	脂肪酸名称	脂肪酸含量 (response)	脂肪酸占比 /%
直链脂肪酸			
6.752	C14:0	2625	0.35
8.232	C15:0	1093	0.12
9.851	C16:0	192596	25.38
11.533	C17:0	474	0.06
13.268	C18:0	12482	1.66
直链脂肪酸小计		209270	27.57
支链脂肪酸			
4.475	C11:0 iso 3OH	2042	0.28
4.575	C11:0 2OH	654	0.09

续表 3

保留时间/min	脂肪酸名称	脂肪酸含量(response)	脂肪酸占比/%
5.157	C13:0 anteiso	717	0.10
6.395	C14:0 anteiso	2198	0.29
7.824	C15:0 anteiso	3101	0.41
10.083	C15:0 iso 3OH	2174	0.29
7.411	C15:1 iso G	612	0.08
9.398	C16:0 anteiso	2170	0.29
9.478	C16:1 ω 9c	2518	0.33
9.694	C16:1 ω 5c	1111	0.15
11.066	C17:0 anteiso	2096	0.28
11.162	C17:1 ω 9c	962	0.13
12.878	C18:1 ω 9c	310855	41.17
13.119	C18:1 ω 5c	5158	0.68
13.399	C18:1 ω 7c 11-methyl	23974	3.18
12.545	C18:3 ω 6c (6, 9, 12)	727	0.10
14.336	C19:0 iso	13066	1.74
14.822	C19:0 cyclo ω 8c	4768	0.64
16.680	C20:0	1945	0.26
16.311	C20:1 ω 9c	1188	0.16
支链脂肪酸小计		382036	50.65
复合脂肪酸			
3.492	Sum In Feature 2	712	0.10
9.549	Sum In Feature 3	9094	1.20
10.587	Sum In Feature 9	8964	1.18
12.786	Sum In Feature 5	138608	18.35
14.761	Sum In Feature 7	8116	1.08
复合脂肪酸小计		165494	21.91
总计		756800	99.66

注: Sum In Feature 2=unknown 10.928; Sum In Feature 3=C16:1 ω 7c/C16:1 ω 6c; Sum In Feature 9=C16:0 10-methyl; Sum In Feature 5=C18:2 ω 6, 9c/C18:0 ante; Sum In Feature 7=C19:0 cyclo ω 10c/19 ω 6。

3.2 乳酸菌发酵过程脂肪酸组分析

3.2.1 乳酸菌发酵过程脂肪酸组测定

荔枝汁-大豆蛋白培养基鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807(*Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807)发酵过程脂肪

酸组分析结果见表 4。经乳酸菌发酵,脂肪酸含量发生了变化,从脂肪酸平均值看,发酵前脂肪酸条数 30 条,发酵后脂肪酸平均条数 53 条,增加了 76.77%;发酵后比发酵前,直连脂肪酸含量增加 505.85%,支链脂肪酸增加 8.27%,复合脂肪酸减少 6.33%,脂肪酸总量增加 115.01%。脂肪酸的结构从发酵前的直链脂肪酸:支链脂肪酸:复合脂肪酸由 27.1%:50.65%:21.91% 变化为发酵后 65.05%:25.42%:9.52%,脂肪酸总量平均值发酵后比发酵前提高了 115.01%。有趣的发现是发酵初期(1 h)脂肪酸总量比发酵中期(6 h)来的略高,这与发酵初期培养基自有的脂肪酸含量有关,这段时间乳酸菌处于发酵的适应期,生长较为缓慢,脂肪酸产生的量也相对的少,脂肪酸含量主要来源于原料,处于消化和平衡培养基中的脂肪酸含量阶段,到了发酵中期乳酸菌才开始进入对数增长期,形成了发酵初期脂肪酸含量略高于发酵中期。

3.2.2 乳酸菌发酵过程脂肪酸组聚类分析

利用表 4 构建矩阵,对发酵后乳酸菌脂肪酸生物标记进行聚类分析(图 1)。分析结果可将鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵过程脂肪酸组分为 3 组(表 5),第 1 组为脂肪酸低含量组,包括了 41 个脂肪酸标记,含量平均值为 1732.64(响应值),每个标记平均值为 1732.64/41=42.25,到中心距离为 1812.03;第 2 组为脂肪酸中含量组,包括了 10 个脂肪酸标记,含量平均值为 54463.133(响应值),每个标记平均值为 4463.133/10=5446.31,到中心距离为 52426.15;第 3 组为脂肪酸高含量组,包括了 2 个脂肪酸标记,即 C16:0、C18:1 ω 9c,含量平均值为 505826.50(响应值),每个标记平均值为 505826.50/2=252913.25,到中心距离为 314384.83。分析结果表明,乳酸菌发酵过程高含量脂肪酸组种类少,仅有 2 个标记(C16:0、C18:1 ω 9c),含量高,占比 31.08%,单个脂肪酸平均值是第 1 组的 5986.11 倍,是第 2 组的 46.43 倍,主导着脂肪酸总量的变化。

3.3 乳酸菌发酵过程脂肪酸组和活菌数变化相互关系

鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵过程脂肪酸组和活菌数变化趋势相近,发酵 1 h,活菌数达 8.7×10^7 CFU/mL,此时,脂肪酸总量达 1426116(响应值);1~6 h 为乳杆菌发酵的适应期,活菌数略有下降为 6.20×10^7 CFU/mL,脂肪酸总量相应下降为 1106592(响应值),6~12 h 为乳杆菌对数期,活菌数含量急速上升到高峰 56.00×10^7 CFU/mL,相应的脂肪酸总量也急速上升到 2349101(响应值)。研究结果表明,不同发酵时期乳酸菌脂肪酸含量的变化与活菌数的变化呈相关关系,相关系数 0.9789($P < 0.01$),活菌数在发酵初期(1 h)略高于发酵中期(6 h),相应的脂肪酸含量也略高,到了发酵后期(12 h)乳酸菌处于对数生长期,活菌数提高了 9.03 倍,相应的脂肪酸提高了 2.12 倍。发酵初期乳酸菌接种使得活菌数含量增加,这一阶段乳酸菌处于适应期,活菌数会呈现小幅下降,到了发酵中期进入对数增长期,活

菌数迅速增加; 脂肪酸也呈相应的变化。

4 结论与讨论

本研究解析荔枝汁-大豆蛋白培养基鼠李糖乳杆菌发酵过程脂肪酸组的变化动态。其中原料枝汁直链脂肪酸(SFA)27.42%、支链脂肪酸(49.34%)和复合脂肪酸(23.24%), 组成比例与宋光泉等人^[28]的研究结果相近。大豆蛋白和荔枝汁脂肪酸组结构差异显著, 荔枝汁脂肪酸量比大豆蛋白脂肪酸总量低 2.67 倍; 二者共有脂肪酸 14 条, 荔枝汁独有的脂肪酸 2 条, 大豆蛋白独有的脂肪酸 16 条; 荔枝汁含有

1 条人体必需脂肪酸 C20:2 ω 6,9c, 大豆蛋白含有 1 条人体必需脂肪酸 C18:3 ω 6c (6,9,12)。经鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵, 脂肪酸组的种类和含量发生显著变化($P < 0.05$)。魏宇欣^[22]报道了乳杆菌种类的主要脂肪酸 C16:0 和 C18:1 ω 9c, 具有种属特性, 本研究发现, 鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵过程, C16:0 和 C18:1 ω 9c 这 2 个脂肪酸标记含量占比超过 45%。鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵过程脂肪酸组和活菌数变化趋势相近, 脂肪酸含量高指示着乳杆菌含量高, 反之, 乳杆菌含量低, 可通过检测脂肪酸总量的变化, 可以监测乳杆菌数量变化动态。

表 4 荔枝汁-大豆蛋白复合培养基鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵过程脂肪酸组分析
Table 4 Fatty acid group analysis of *Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807 fermentation in litchi juice-soybean protein complex medium

脂肪酸	鼠李糖乳杆菌 FJAT-13807 发酵过程脂肪酸组含量(response)			平均值
	发酵初期(1 h)	发酵中期(6 h)	发酵后期(12 h)	
直链脂肪酸				
C9:0	738	1822	884	1148.00
C10:0	44823	40573	39125	41507.00
C11:0	1482	1400	1241	1374.33
C12:0	59141	46071	51544	52252.00
C13:0	1608	1143	1518	1423.00
C14:0	163397	109595	140573	137855.00
C15:0	15053	9879	12877	12603.00
C16:0	469783	320903	1230323	673669.66
C17:0	6205	3813	6187	5401.67
C18:0	153627	93821	128983	125477.00
C19:0	2320	2058	4439	2939.00
C 20:0	3553	2540	2741	2944.67
直链脂肪酸小计	921730	633618	1620435	1058594.33
支链脂肪酸				
C10:0 3OH	0	509	0	169.67
C11:0 iso 3OH	1606	1917	0	1174.33
C12:0 iso	0	2942	0	980.67
C13:0 2OH	1109	400	0	503.00
C13:0 anteiso	608	797	659	688.00
C13:0 iso	397	1276	799	824.00
C14:0 anteiso	1302	992	1087	1127.00
C14:0 iso	2464	1607	1685	1918.67
C14:1 ω 5c	14008	10682	12410	12366.67
C15:0 3OH	0	0	1553	517.67
C15:0 anteiso	7137	4114	6670	5973.67

续表 4

脂肪酸	鼠李糖乳杆菌 FJAT- 13807 发酵过程脂肪酸组含量(response)			平均值
	发酵初期(1 h)	发酵中期(6 h)	发酵后期(12 h)	
C15:0 iso	3408	2013	3212	2877.67
C15:1 anteiso A	0	262	0	87.33
C15:1 iso G	349	0	0	116.33
C15:1 ω 6c	2079	562	958	1199.67
C16:0 anteiso	562	540	569	557.00
C16:0 iso	3387	2257	5037	3560.33
C16:0 iso 3OH	947	0	1608	851.67
C16:1 ω 9c	2103	1779	0	1294.00
C17:0 3OH	1455	0	0	485.00
C17:0 anteiso	5147	2909	8082	5379.33
C17:0 iso	3971	2122	5543	3878.67
C17:1 ω 8c	2540	1850	2726	2372.00
C18:0 10-methyl, TBSA	1824	715	0	846.33
C18:0 3OH	3770	3005	2907	3227.33
C18:1 ω 5c	13698	8508	12126	11444.00
C18:1 ω 9c	287021	240329	486594	337981.33
C18:3 ω 6c (6,9,12)	5213	0	0	1737.67
C19:0 cyclo ω 8c	502	2216	1702	1473.33
C19:0 iso	0	0	132	44.00
C20:0 iso	0	1046	0	348.67
C20:1 ω 9c	667	0	1156	607.67
C20:2 ω 6,9c	2794	0	1556	1450.00
C20:4 ω 6,9,12,15c	4456	6652	5694	5600.67
支链脂肪酸小计	374524	302001	564465	413663.33
复合脂肪酸				
Sum In Feature 1	0	350	316	222.00
Sum In Feature 3	20574	14694	21305	18857.67
Sum In Feature 5	84500	137932	113442	111958.00
Sum In Feature 6	1016	1376	1169	1187.00
Sum In Feature 7	1476	0	2843	1439.67
Sum In Feature 8	20717	16105	24081	20301.00
Sum In Feature 9	1579	516	1045	1046.67
复合脂肪酸小计	129862	170973	164201	155012.00
总计	1426116	1106592	2349101	1627269.66

注: Sum In Feature 1=C15:1 iso H/C13:0 3OH; Sum In Feature 3=C16:1 ω 7c/C16:1 ω 6c; Sum In Feature 5=C18:2 ω 6,9c/C18:0 ante; Sum In Feature 6=C19:1 w11c/C19:1 ω 9c; Sum In Feature 7=C19:0 cyclo ω 10c/C19 ω 6; Sum In Feature 8=C18:1 ω 6c; Sum In Feature 9=C16:0 10-methyl。

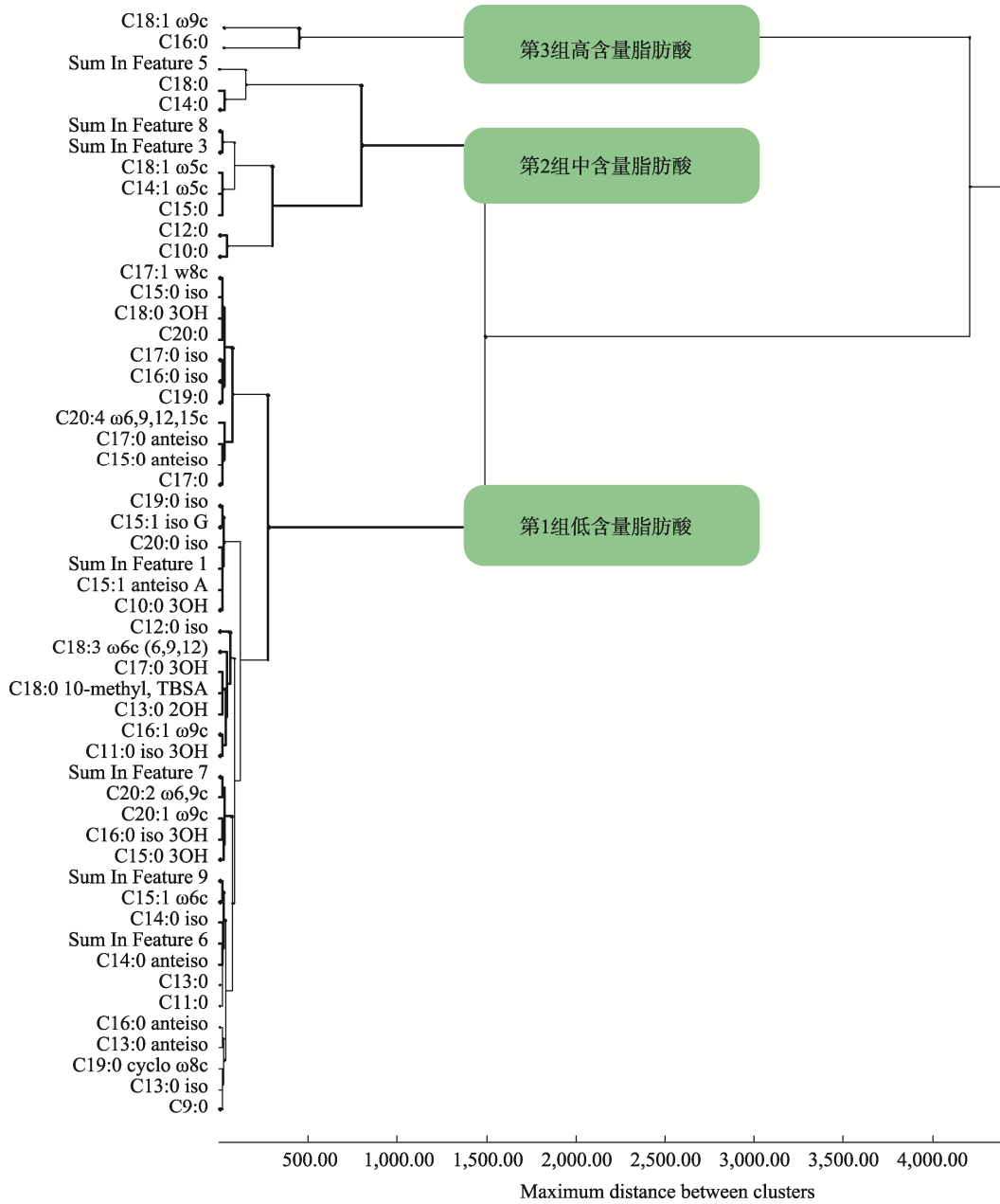


图 1 鼠李糖乳杆菌 FJAT- 13807 发酵过程脂肪酸组聚类分析

Fig.1 Fatty acid cluster analysis of *Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807 during fermentation process

表 5 鼠李糖乳杆菌 FJAT- 13807 发酵过程脂肪酸组聚类结果

Table 5 Fatty acid group clustering results of *Lactobacillus rhamnosus* FJAT-13807 fermentation

组别	脂肪酸生物标记	发酵过程脂肪酸含量(响应值)			到中心距离
		发酵初期(1 h)	发酵中期(6 h)	发酵后期(12 h)	
低含量组	C9:0	739.00	1823.00	885.00	1600.48
	C11:0	1483.00	1401.00	1242.00	762.89
	C13:0	1609.00	1144.00	1519.00	538.01
	C17:0	6206.00	3814.00	6188.00	6541.40

续表 5

组别	脂肪酸生物标记	发酵过程脂肪酸含量(响应值)			到中心距离
		发酵初期(1 h)	发酵中期(6 h)	发酵后期(12 h)	
	C19:0	2321.00	2059.00	4440.00	2699.90
	C20:0	3554.00	2541.00	2742.00	2162.65
	C10:0 3OH	1.00	510.00	1.00	2827.47
	C11:0 iso 3OH	1607.00	1918.00	1.00	1946.99
	C12:0 iso	1.00	2943.00	1.00	3093.00
	C13:0 2OH	1110.00	401.00	1.00	2261.76
	C13:0 anteiso	609.00	798.00	660.00	1888.61
	C13:0 iso	398.00	1277.00	800.00	1874.12
	C14:0 anteiso	1303.00	993.00	1088.00	1077.07
	C14:0 iso	2465.00	1608.00	1686.00	580.21
	C15:0 3OH	1.00	1.00	1554.00	2416.39
	C15:0 anteiso	7138.00	4115.00	6671.00	7587.20
	C15:0 iso	3409.00	2014.00	3213.00	2091.63
	C15:1 anteiso A	1.00	263.00	1.00	2914.96
	C15:1 iso G	350.00	1.00	1.00	2815.48
	C15:1 ω 6c	2080.00	563.00	959.00	1230.46
	C16:0 anteiso	563.00	541.00	570.00	2071.51
	C16:0 iso	3388.00	2258.00	5038.00	3603.48
	C16:0 iso 3OH	948.00	1.00	1609.00	1738.18
	C16:1 ω 9c	2104.00	1780.00	1.00	1891.33
	C17:0 3OH	1456.00	1.00	1.00	2370.28
	C17:0 anteiso	5148.00	2910.00	8083.00	7169.10
	C17:0 iso	3972.00	2123.00	5544.00	4275.70
	C17:1 ω 8c	2541.00	1851.00	2727.00	1151.75
	C18:0 10-methyl, TBSA	1825.00	716.00	1.00	1974.33
	C18:0 3OH	3771.00	3006.00	2908.00	2649.59
	C18:3 ω 6c (6,9,12)	5214.00	1.00	1.00	4006.57
	C19:0 cyclo ω 8c	503.00	2217.00	1703.00	1663.47
	C19:0 iso	1.00	1.00	133.00	2948.40
	C20:0 iso	1.00	1047.00	1.00	2706.18
	C20:1 ω 9c	668.00	1.00	1157.00	2019.68
	C20:2 ω 6,9c	2795.00	1.00	1557.00	1664.63
	C20:4 ω 6,9,12,15c	4457.00	6653.00	5695.00	6975.71
	Sum In Feature 1	1.00	351.00	317.00	2690.11
	Sum In Feature 6	1017.00	1377.00	1170.00	1150.84
	Sum In Feature 7	1477.00	1.00	2844.00	1783.23
	Sum In Feature 9	1580.00	517.00	1046.00	1250.24
	第 1 组 41 个标记平均值	1946.71	1403.44	1847.78	1812.03

续表 5

组别	脂肪酸生物标记	发酵过程脂肪酸含量(响应值)			到中心距离
		发酵初期(1 h)	发酵中期(6 h)	发酵后期(12 h)	
中含量组					
	C10:0	44824.00	40574.00	39126.00	23239.97
	C12:0	59142.00	46072.00	51545.00	4923.17
	C14:0	163398.00	109596.00	140574.00	147711.24
	C15:0	15054.00	9880.00	12878.00	72596.65
	C18:0	153628.00	93822.00	128984.00	127942.93
	C14:1 ω 5c	14009.00	10683.00	12411.00	73085.18
	C18:1 ω 5c	13699.00	8509.00	12127.00	74595.22
	Sum In Feature 3	20575.00	14695.00	21306.00	61762.60
	Sum In Feature 5	84501.00	137933.00	113443.00	109269.97
	Sum In Feature 8	20718.00	16106.00	24082.00	59384.24
	第 2 组 10 个标记平均值	58954.80	48787.00	55647.60	52426.15
中含量组					
	C16:0	469784.00	320904.00	1230324.00	385041.21
	C18:1 ω 9c	287022.00	240330.00	486595.00	385041.21
	第 3 组 2 个标记平均值	378403.00	280617.00	858459.50	314384.83

参考文献

[1] 房启波. 浅析乳酸菌发酵在乳品加工中的应用[J]. 农民致富之友, 2014, (9): 60.
Fang QB. Application of *Lactobacillus* fermentation in dairy processing [J]. Friend Farm Get Rich, 2014, (9): 60.

[2] 王磊. 乳酸菌的生理功能及其在乳制品中的应用[J]. 农产品加工, 2012, (6): 10-11.
Wang L. Physiologica character of Lactic acid bacteria and its application in dairy products [J]. Farm Prod Process, 2012, (6): 10-11.

[3] 马桂华. 植物性乳酸菌发酵饮料的开发[J]. 食品工业科技, 1989, (4): 30-33.
Ma GH. Development of *Lactobacillus* fermenting beverage with plant raw material [J]. Sci Technol Food Ind, 1989, (4): 30-33.

[4] 霍恺. 乳杆菌的益生特性研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
Huo K. Study on the probiotic properties of Lactic acid bacteria [D]. Jinan: Shandong University, 2015.

[5] 邹孝顺, 王红光. 乳酸菌的作用及其在养殖业中的应用[J]. 农业开发与装备, 2016, (10): 136.
Zhou XS, Wang HG. The action of Lactic acid bacteria and its application in animal breeders [J]. Agric Dev Equip, 2016, (10): 136.

[6] 王红梅, 张永忠. 牛乳清 β -乳球蛋白过敏原非酶改性技术研究进展[J]. 中国乳品工业, 2007, (6): 48-53.
Wang HM, Zhang YZ. Studies on nonenzymatic moification of β -lactoglobulin allergen [J]. Dairy Ind, 2007, (6): 48-53.

[7] 刘萍, 宋霞. 乳酸菌的应用与发展前景[J]. 中国当代医药, 2010, 17, (10): 133.
Liu P, Song X. Development and application of lactic acid bacteria [J]. Chin Mod Med, 2010, 17, (10): 133.

[8] 韦金娜, 朱宝生, 龙琳. 乳酸菌发酵植物基饮料的研究进展[J]. 饮料工业, 2019, 22(5): 68-72.
Wei JN, Zhu BS, Long L. Research progress of Lactic acid bacteria fermented plant-based drinks [J]. Beverage Ind, 2019, 22(5): 68-72.

[9] 邹颖, 邹波, 余元善, 等. 酵母菌乳酸菌共发酵对荔枝汁品质的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(10): 189-195.
Zou Y, Zou B, Yu YS, et al. Effect of fermentation by Co-culture of Yeast and Lactic acid bacterium on the quality of lychee juice [J]. Mod Food Sci Technol, 2019, 35(10): 189-195.

[10] 刘欣, 刘芸, 刘波, 等. 不同乳酸菌荔枝汁发酵特性及其贮藏稳定性的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(11): 3522-3529.
Liu X, Liu Y, Liu B, et al. Study on fermentation characteristics and storage stability of litchi juice with different lactic acid bacteria [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(11): 3522-3529.

[11] 吴倩, 余元善, 徐玉娟, 等. 不同乳酸菌对凝固型荔枝酸奶的发酵特性和质构的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(7): 99-106.
Wu Q, Yu YS, Xun YJ, et al. Effects of different lactic acid bacteria on fermentation characteristics and texture of litchi juice-solidified yogurt [J]. Mod Food Sci Technol, 2019, 35(7): 99-106.

[12] 刘国明, 黄川, 李杰民, 等. 不同品种荔枝发酵饮料挥发性香气成分对比研究[J]. 中国酿造, 2018, 37(7): 173-179.
Liu GM, Huang C, Li JM, et al. Comparison of volatile aroma components in fermented beverages with different litchi varieties [J]. Chin Brew, 2018, 37(7): 173-179.

[13] 王尚, 胡洋, 王婧, 等. 从专利和文献角度分析酸豆乳研究进展[J]. 大

- 豆科学, 2018, 37(4): 621–628.
- Wang S, Hu Y, Wang J, *et al.* Analysis on progress of fermented soymilk based on patent and reference [J]. *Soybean Sci*, 2018, 37(4): 621–628.
- [14] 王龄焯, 陈辰, 万洋灵, 等. 乳酸菌在豆乳中的生长特性及其与酵母菌联合发酵作用[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(19): 129–135.
- Wang LH, Chen C, Wan YL, *et al.* Growth characteristics of lactic acid bacteria in soymilk and its combined fermentation with yeast [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(19): 129–135.
- [15] 李学莉, 胡海娥, 张金桃, 等. 乳酸菌发酵豆乳研究进展[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(12): 385–390.
- Li XL, Hu HE, Zhang JT, *et al.* Progress in researches on lactic acid bacteria-fermented soymilk [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2016, 37(12): 385–390.
- [16] 王永, 李勇, 陈尚龙, 等. 发酵豆奶加工工艺研究[J]. *农产品加工学刊*, 2014, (20): 49–51.
- Wang Y, Li Y, Chen SL, *et al.* The processing of soybean yogurt [J]. *Acad Period Farm Prod Process*, 2014, (20): 49–51.
- [17] 王蔚新, 陈攀. 全大豆凝固型酸乳发酵工艺优化[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(21): 4850–4851.
- Wang WX, Chen Z. Fermentation process optimization of whole soybean caky yoghurt [J]. *Hubei Agric Sci*, 2012, 51(21): 4850–4851.
- [18] 徐寅, 黄玉军, 顾瑞霞, 等. 乳酸菌对发酵豆乳风味成分的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(5): 91–95.
- Xu Y, Huang YJ, Gu RX, *et al.* Influence of lactic bacteria on the flavor of fermented soymilk [J]. *Food Ferment Ind*, 2012, 38(5): 91–95.
- [19] 贾西灵, 胥建萍, 祁效林, 等. 大豆酸奶加工工艺的探讨[J]. *农产品加工学刊*, 2008, (10): 37–39.
- Jia XL, Xu JP, Qi XL, *et al.* Study on processing of soybean yogurt [J]. *Acad Period Farm Prod Process*, 2008, (10): 37–39.
- [20] 马晨, 张和平. 益生菌、肠道菌群与人体健康[J]. *科技导报*, 2017, 35(21): 14–25.
- Ma C, Zhang HP. Probiotic, intestinal microbiota and human health [J]. *Sci Technol Rev*, 2017, 35(21): 14–25.
- [21] 曹振辉, 刘永仕, 潘洪彬, 等. 乳酸菌的益生功能及作用机制研究进展[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(24): 366–370.
- Cao ZH, Liu YS, Pan HB, *et al.* Research progress of Lactic acid bacteria on the probiotic properties and mechanisms [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2015, 36(24): 366–370.
- [22] 魏宇欣. 乳杆菌属(*Lactobacillus*)内 13 个新种的分类[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- Wei YX. Phylogenetic of 13 new species in *Lactobacillus* sp. [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019.
- [23] 杨梦婷, 张梦瑶, 徐养滨, 等. 添加饲用复合菌剂青贮全株玉米的效果研究[J]. *饲料工业*, 2019, 40(16): 22–28.
- Yang MT, Zhang MY, Xu YB, *et al.* Study on the effect of adding compound microbes to silage whole-crop corn [J]. *Feed Ind*, 2019, 40(16): 22–28.
- [24] 魏光强, 陈越, 卓加珍, 等. 酸奶发酵和冷藏过程中品质评价及主要风味成分变化分析[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(18): 113–119.
- Wei GQ, Chen Y, Zhuo JZ, *et al.* Quality evaluation and changes in main flavor components of yogurt during fermentation and storage [J]. *Food Ferment Ind*, 2019, 45(18): 113–119.
- [25] 景智波. 乳酸菌产脂肪酶特性研究及其在羊肉发酵香肠中的应用[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.
- Jing ZB. Study on lipase production characteristics of lactic acid bacteria and its application in mutton fermented sausage [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019.
- [26] 陆婧婧. 植物乳杆菌调节抑制高脂诱导小鼠肥胖的形成[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- Lu JJ. Regulation of *Lactobacillus plantarum* to inhibit the formation of obesity induced by high fat in mice [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019.
- [27] Frostegård A, Tunlid A, Bååth E. Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, (59): 3605–3617.
- [28] 宋光泉, 卜宪章, 古练权, 等. 荔枝果皮提取物化学成分的 GC-MS 分析[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 1999, (4): 49–52.
- Song GQ, Pu XZ, Gu LQ, *et al.* GC-MS analysis of components in litchi pericarp [J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyatseni*, 1999, (4): 49–52.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



刘欣, 硕士, 实习研究员, 主要研究方向为食品微生物(乳酸菌)的研究与应用。
E-mail: 164454540@qq.com



王阶平, 博士, 研究员, 主要研究方向为芽胞杆菌纲(乳酸菌)系统发育与分子生物学。
E-mail: 781063449@qq.com



刘波, 博士, 研究员, 主要研究方向为芽胞杆菌系统发育与微生物菌剂研制与应用。
E-mail: fzliubo@163.com