

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2019.04.007

文章编号:2095-6002(2019)04-0049-08

引用格式:刘露,张雁,魏振承,等. 肠道益生菌体外发酵山药低聚糖产短链脂肪酸的研究[J]. 食品科学技术学报,2019,37(4):49-56.



LIU Lu, ZHANG Yan, WEI Zhencheng, et al. Study on production of short chain fatty acids from yam oligosaccharides by intestinal probiotics fermentation *in vitro*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019,37(4):49-56.

肠道益生菌体外发酵山药低聚糖产短链脂肪酸的研究

刘露^{1,2}, 张雁^{1,*}, 魏振承¹, 邓媛元¹, 丘银清¹, 张惠娜¹

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所/农业部功能食品重点实验室/

广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610;

2. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉 430070)

摘要:短链脂肪酸具有促进肠道及人体健康的有益功能,采用体外模拟肠道内环境的方法,分析嗜酸乳杆菌、嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌和植物乳杆菌、青春双歧杆菌、动物双歧杆菌等肠道益生菌发酵山药低聚糖产生短链脂肪酸的种类和含量。结果发现:山药低聚糖在模拟结肠环境中被乳酸菌作为碳源利用,产生对人体健康有积极作用的乳酸、乙酸及丙酸等短链脂肪酸,且产生短链脂肪酸的浓度与菌种及发酵时间相关。在48 h发酵过程中,乳酸在植物乳杆菌48 h发酵液中含量最高,达 (13.800 ± 0.243) mg/mL;乙酸在动物双歧杆菌48 h发酵液中含量最高,达 (1.850 ± 0.003) mg/mL;丙酸则在动物双歧杆菌8 h发酵液中含量最高,为 (0.082 ± 0.001) mg/mL。研究结果提示,可通过改善膳食结构调节肠道益生菌产生短链脂肪酸,维持肠道与人体健康。

关键词:山药;低聚糖;肠道益生菌;短链脂肪酸;体外发酵

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFA),是由1~6个碳原子组成的有机脂肪酸。在人体内可由非消化性碳水化合物经结肠微生物发酵后产生,主要包括乙酸、丙酸、丁酸、乳酸等^[1]。SCFA在体内参与不同器官的代谢,发挥各自的功效^[2],如乙酸是膳食纤维发酵的主要代谢产物^[3]。在机体内,大部分乙酸经吸收进入肝脏代谢,作为周边组织的能源,除进入肝脏外,还可被脾、心脏、肌肉等组织摄入和利用,是机体从小肠不能消化吸收的碳水化合物中得到能量的主要途径^[4];丙酸经血液吸收后在肝脏中分解代谢,参与丙酮酸逆转化葡萄糖的过程,同时,还可能抑制脂肪和胆固醇的合成^[5];丁酸是

结肠的主要能量来源,能够调节细胞增殖和分化^[6],同时,具有抗肿瘤的作用^[7];乳酸可降低肠道内环境的pH值,对肠道致病菌如沙门氏菌(*Salmonella*)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)等有抑制作用,还能促进肠道蠕动,调节肠道菌群的平衡^[8]。

国内外研究表明,低聚糖具有预防便秘、结肠癌、肿瘤、糖尿病、冠心病等功效^[9],特别是具有调节肠道微生态平衡的作用^[10]。肠道益生菌可通过发酵低聚糖产SCFA调节肠道健康^[11-12],且发酵低聚糖可产出相对于其他碳源底物更高含量的SCFA或调节某类SCFA的含量。植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)和双歧杆菌(*Bifidobacteri-*

收稿日期:2018-11-13

基金项目:广东省现代农业产业技术体系创新团队项目(2018LM1089);广东省省属科研机构改革创新领域项目(2016B070701012);广东省省级科技计划项目(2016A040403081)。

第一作者:刘露,女,硕士研究生,研究方向为食品工程。

*通信作者:张雁,女,研究员,博士,主要从事食品生物化学方面的研究。

um)体外发酵低聚半乳糖,比以葡萄糖为碳源可产生更多的乳酸及SCFA^[13];青春双歧杆菌(*Bifidobacterium adolescentis*)体外发酵半乳甘露低聚糖,比以半乳糖和甘露糖为碳源可产生更多的SCFA^[14];半乳糖和乳果糖复合低聚糖可通过提高SCFA含量来调节肠道健康^[15];木寡糖可使双歧杆菌属的数量显著增加,并促进有益SCFA的形成^[16]。SCFA的种类和数量受到发酵底物的数量^[17]、类型^[18]及发酵菌种^[19]和发酵环境^[20]等因素的影响。通过测定发酵培养基中SCFA的含量,可以更全面地评价体系中菌种发酵底物的变化情况,同时,也可反映菌群的活性。

前期研究表明,山药低聚糖可被肠道益生菌群利用,对青春双歧杆菌、动物双歧杆菌(*Bifidobacterium animalis*)^[21]、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)和嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)的体外生长促进作用良好^[22]。目前,有关山药低聚糖的功效研究集中于免疫调节、抗氧化和促进益生菌生长等领域^[23-25],肠道益生菌发酵山药低聚糖产SCFA的研究暂未见报道。采用体外模拟肠道内环境的方法,分析青春双歧杆菌、动物双歧杆菌、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)、保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)和植物乳杆菌等肠道益生菌发酵山药低聚糖产生SCFA的种类和含量,希望为深入探讨山药低聚糖的益生功能提供理论基础,为山药及其低聚糖的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

铁棍山药购于广州市越秀区果蔬批发市场,产地河南,新鲜度和成熟度良好;嗜酸乳杆菌、嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、植物乳杆菌、青春双歧杆菌和动物双歧杆菌以及培养基生化试剂均购于广州市微生物研究所;其余化学试剂均为市售分析纯。

体外结肠环境培养基根据参考文献^[26]的方法制备,稍作改进:以山药低聚糖(自制)作为碳源。配方为(g/L蒸馏水):山药低聚糖 13;黏蛋白 4.0,酪蛋白 3.0,蛋白胨 5.0,胰蛋白胨 5.0,胆盐 0.4,酵母浸膏 4.5,FeSO₄·7H₂O 0.005,NaCl 4.5,KCl 4.5,KH₂PO₄ 0.5,MgSO₄·7H₂O 1.25,CaCl₂·6H₂O 0.15,NaHCO₃ 1.5,半胱氨酸 0.8,氯高铁血红素 0.05,吐

温 80 1.0。121 ℃高压灭菌 15 min。

乳酸菌基础培养基(改良MRS培养基)用于嗜酸乳杆菌、嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌和植物乳杆菌的活化,配方(广州市微生物研究所提供)如下:胰蛋白胨 10.0 g,牛肉膏 10.0 g,酵母膏 5.0 g,柠檬酸 2.0 g,葡萄糖 20.0 g,KH₂PO₄ 2.0 g,乙酸钠 5.0 g,吐温 80 1.0 mL,MgSO₄·7H₂O 0.58 g,硫酸锰 0.25 g,K₂HPO₄ 2.0 g。蒸馏水定容 1 000 mL,pH 值 6.2~6.5,121 ℃高压灭菌 15 min。

青春双歧杆菌基础培养基用于青春双歧杆菌的菌种活化,配方(广州市微生物研究所提供)如下:大豆蛋白胨 5.0 g,胰胨 5.0 g,酵母粉 10.0 g,葡萄糖 10.0 g,盐溶液 40 mL,L-半胱氨酸 0.5 g,0.1%刃天青 1.0 mL。pH 值 6.5~7.0,121 ℃高压灭菌 15 min。其中盐溶液的配制:CaCl₂ 0.2 g,MgSO₄·7H₂O 0.48 g,K₂HPO₄ 1.0 g,KH₂PO₄ 1.0 g,NaHCO₃ 10.0 g,NaCl 2.0 g。蒸馏水定容 1 000 mL,pH 值 6.5。

动物双歧杆菌基础培养基用于动物双歧杆菌的菌种活化,配方(广州市微生物研究所提供)如下:蛋白胨 10.0 g,牛肉膏 10.0 g,酵母粉 5.0 g,葡萄糖 5.0 g,K₂HPO₄ 0.45 g,KH₂PO₄ 0.33 g,NH₄Cl 1.0 g,MgSO₄·7H₂O 0.1 g,L-半胱氨酸 0.5 g,0.1%刃天青 1.0 mL,Na₂S·9H₂O 0.5 g。pH 值 7.5,121 ℃高压灭菌 15 min。

1.2 仪器与设备

BS2105型电子天平,德国Sartorius公司;Agilent 1200型液相色谱仪,美国Agilent科技有限公司;Agilent 1200 series DND型检测器,美国Agilent科技有限公司;压力蒸汽灭菌锅,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;LRH-250型生化培养箱,上海一恒科技有限公司;YQX-II型厌氧培养箱,上海跃进医疗器械有限公司;JJ-CJ-1F型洁净工作台,吴江市净化设备总厂;VORTEX-5型旋涡混合器,广州市深华生物技术有限公司;KS-300EII型超声波清洗机,宁波海曙科生超声设备有限公司;3-18K型台式高速冷冻离心机,德国Sartorius公司;MilliQ Plus型超级纯水仪,美国Millipore公司;制冰机,美国Scotsman(斯科茨曼)公司;FDU-1200型冷冻干燥机,日本东京理化。

1.3 实验方法

1.3.1 山药低聚糖的制备

采用参考文献^[27]的方法制备山药低聚糖。所得山药低聚糖提取物中低聚糖含量为78.46%±0.29%。

1.3.2 菌种的活化

乳酸菌菌种活化: 在无菌操作条件下, 取乳酸菌冻干粉菌种, 接种于 10 mL 脱脂乳中, 充分振荡后, $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 静置培养, 凝固后以 5% 的接种量继续培养传代。传代 3 次后, 取第 3 代菌液 4°C 保存备用。

双歧杆菌活化: 在无菌无氧操作条件下, 取双歧杆菌冻干粉, 用双歧杆菌基础培养基溶解, 接种于双歧杆菌基础培养基上, $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 厌氧培养 48 h, 用 5% 的接种量继续培养传代。活化后, 传代 3 次, 取第 3 代菌液 -80°C 保存备用。

1.3.3 山药低聚糖发酵

菌种活化完成后, 在无菌条件下, 按照 5% 的接种量分别接于以山药低聚糖为碳源的体外结肠环境培养基中。厌氧培养 0、4、8、12、24 h 后, 测定发酵液 pH 值, 同时, 取发酵液于灭菌的聚乙烯管中, 保存, 待分析用。

1.3.4 SCFA 含量的测定^[28-29]

1.3.4.1 色谱条件的选择

色谱柱为 SB-AQ 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 进样量为 20 μL , 流动相为 0.01 mol/mL KH_2PO_4 (磷酸调节 pH 值为 2.65 ± 0.05) 与甲醇, 二者体积比为 97:3, 流速为 0.8 mL/min, 柱温 25°C , 紫外检测器检测波长为 210 nm。

1.3.4.2 SCFA 标准曲线的绘制

取乳酸、乙酸和丙酸三种标准品各 20.00 mg, 以超纯水定容至 10.00 mL, 配制成标准溶液。分别取各标准溶液 25、50、100、125、250、500、1 000 μL , 以超纯水定容至 1.00 mL, 配制成标准系列。以 SCFA 标准溶液浓度为横坐标, 相应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得到线性回归方程。样品中待测组分用保留时间和峰高增量法定性, 标准曲线法定量。

根据 HPLC 测定结果得出, 乳酸的标准曲线为 $Y = 458.9X + 7.1013, R^2 = 0.9998$; 乙酸的标准曲线为 $Y = 807.86X + 4.5651, R^2 = 0.9999$; 丙酸的标准曲线为 $Y = 829.35X - 0.8886, R^2 = 0.9993$ 。

1.3.4.3 样品测定

取发酵液 1 mL, 加入 0.01 mol/mL 磷酸 100 μL , 离心 5 min (10 000 r/min)。取上清液 100 μL , 稀释至 500 μL , 经 0.25 μm 孔径滤膜过滤后进行 HPLC 分析。相同色谱条件下检测标准品及样品, 根据保留时间和峰面积确定样品中对应的 SCFA 及其含量。

1.4 数据处理和统计分析

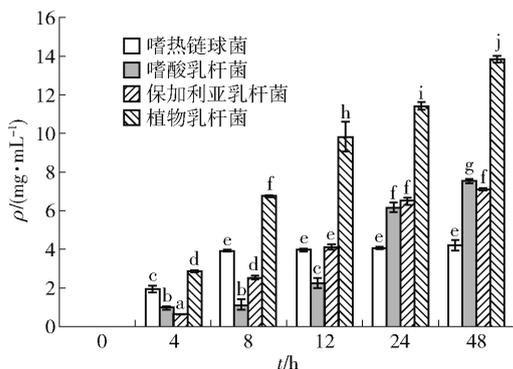
检测数据结果用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 运用 SPSS 20 软件, 采用方差分析 (ANOVA) 进行数据统计分析; 各处理组间的差异比较用 LSD 法, $P < 0.05$ 时有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 4 种乳酸菌发酵山药低聚糖产 SCFA 分析

2.1.1 4 种乳酸菌发酵山药低聚糖产乳酸分析

4 种乳酸菌利用山药低聚糖发酵产乳酸结果如图 1。图中显示, 发酵液中乳酸含量均随发酵时间延长而增加, 在 48 h 时分别为 (4.19 ± 0.27) 、 (7.53 ± 0.10) 、 (7.09 ± 0.01) 、 (13.80 ± 0.24) mg/mL, 其中嗜热链球菌在 8 h 的乳酸含量显著高于 4 h, 随后其乳酸含量趋于稳定, 无显著增加趋势。在 0 ~ 48 h 发酵时间内, 植物乳杆菌发酵能力一直强于其他 3 种乳酸菌, 是产乳酸量最多的菌种; 在 0 ~ 8 h 内嗜热链球菌产乳酸能力强于嗜酸乳杆菌和保加利亚乳杆菌; 随着发酵持续, 在 12 ~ 48 h, 嗜酸乳杆菌和保加利亚乳杆菌发酵产乳酸能力超过嗜热链球菌。



不同小写字母表示差异显著。

图 1 发酵时间对 4 种乳酸菌产乳酸的影响

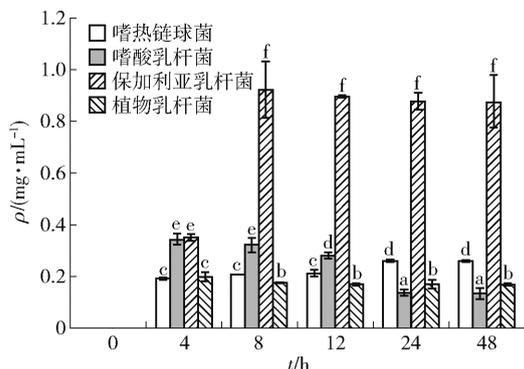
Fig. 1 Impacts of fermentation time on lactate acid production of 4 kinds of lactic acid bacteria

2.1.2 4 种乳酸菌发酵山药低聚糖产乙酸分析

4 种乳酸菌发酵山药低聚糖不同时间产生乙酸的变化情况如图 2。各乳酸菌随发酵时间产乙酸的变化趋势均不一样。嗜热链球菌发酵液中乙酸含量随发酵时间增加, 嗜热链球菌发酵液中乙酸含量在 4 ~ 12 h 和 24 ~ 48 h 内无明显变化, 发酵 48 h 含量最高, 为 (0.260 ± 0.003) mg/mL; 嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌和植物乳杆菌发酵液中乙酸含量随发酵

时间先增加后减少,嗜酸乳杆菌发酵液中乙酸含量在4 h时最高,为 (0.34 ± 0.02) mg/mL;保加利亚乳杆菌发酵液中乙酸含量在8~48 h内无显著变化,发酵8 h含量最高,为 (0.92 ± 0.11) mg/mL;植物乳杆菌发酵液中乙酸含量在24 h时最高,为 (0.70 ± 0.02) mg/mL。

在0~48 h发酵时间内,保加利亚乳杆菌发酵能力一直强于其他3种乳酸菌,是产乙酸量最多的菌种;在0~12 h发酵时间内,嗜酸乳杆菌发酵液中乙酸含量高于嗜热链球菌和植物乳杆菌;24~48 h发酵时间内,嗜热链球菌发酵液中乙酸含量高于嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌。发酵过程中出现乙酸含量下降的现象,究其原因,可能是乙酸发生分解所致。



不同小写字母表示差异显著。

图2 发酵时间对4种乳酸菌产乙酸的影响

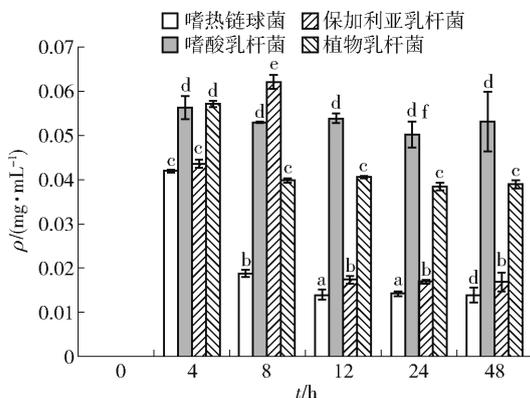
Fig. 2 Impacts of fermentation time on acetic acid production of 4 kinds of lactic acid bacteria

2.1.3 4种乳酸菌发酵山药低聚糖产丙酸分析

4种乳酸菌发酵山药低聚糖不同时间产生丙酸的变化情况如图3。相对于乳酸和乙酸,4种乳酸菌利用山药低聚糖发酵产丙酸的含量均较少。嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌和植物乳杆菌发酵液中丙酸含量均随时间先增加后减少。嗜热链球菌发酵液丙酸含量在4 h后开始减少,12 h后稳定,4 h时最高,为 (0.0420 ± 0.0003) mg/mL;保加利亚乳杆菌发酵液中丙酸含量在8 h后开始减少,12 h后稳定,8 h时最高,为 (0.0600 ± 0.0016) mg/mL;植物乳杆菌发酵液中丙酸含量在4 h后减少,8 h后稳定,4 h时最高,为 (0.0570 ± 0.0007) mg/mL;嗜酸乳杆菌发酵液中丙酸含量在4~48 h发酵时间内无显著差异,4 h时含量最高,为 (0.0560 ± 0.0030) mg/mL。

在0~4 h发酵时间内,嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌发酵能力强于嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌;4~8 h发酵时间内,保加利亚乳杆菌发酵能力强于其他

3种菌种;8~48 h发酵时间内,嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌发酵液中丙酸含量高于嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌。



不同小写字母表示差异显著。

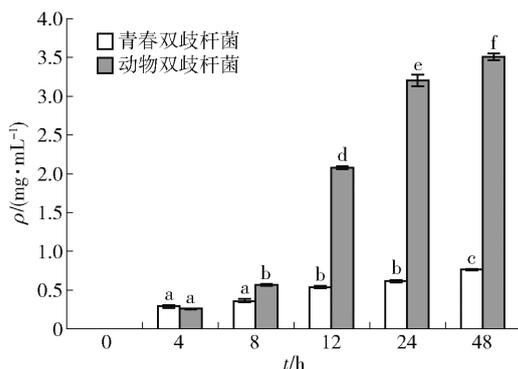
图3 发酵时间对4种乳酸菌产丙酸的影响

Fig. 3 Impacts of fermentation time on propionic acid production of 4 kinds of lactic acid bacteria

2.2 2种双歧杆菌发酵山药低聚糖产SCFA分析

2.2.1 2种双歧杆菌发酵山药低聚糖产乳酸分析

青春双歧杆菌和动物双歧杆菌发酵山药低聚糖不同时间产生乳酸的变化结果如图4。在整个发酵过程中,青春双歧杆菌和动物双歧杆菌发酵液中乳酸的含量均随时间延长而增加,在48 h时分别达到 (0.760 ± 0.005) 、 (3.500 ± 0.040) mg/mL。在48 h发酵时间内,动物双歧杆菌产乳酸的量显著高于青春双歧杆菌,但其发酵液中乳酸含量不及4种乳酸菌发酵液。



不同小写字母表示差异显著。

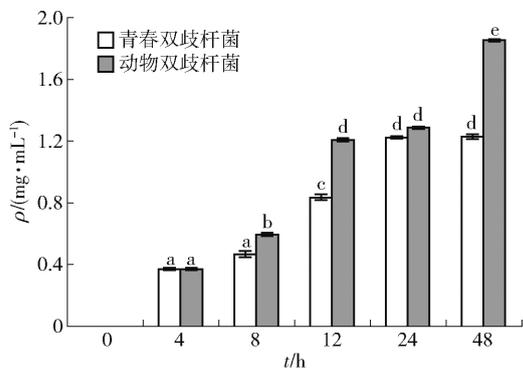
图4 发酵时间对2种双歧杆菌产乳酸的影响

Fig. 4 Impacts of fermentation time on lactate acid production of 2 kinds of bifidobacteria

2.2.2 2种双歧杆菌发酵山药低聚糖产乙酸分析

青春双歧杆菌和动物双歧杆菌发酵山药低聚糖不同时间产生乙酸的变化情况如图5。在整个发酵

过程中,青春双歧杆菌和动物双歧杆菌发酵液中乙酸的含量均随时间不断上升,在48 h时分别达到 (1.230 ± 0.020) 、 (1.850 ± 0.003) mg/mL。在0~48 h发酵时间内,动物双歧杆菌发酵山药低聚糖产乙酸含量高于青春双歧杆菌;且双歧杆菌发酵山药低聚糖产乙酸含量要高于4种乳酸菌。



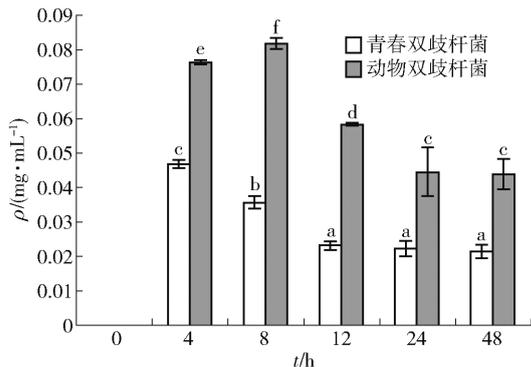
不同小写字母表示差异显著。

图5 发酵时间对2种双歧杆菌产乙酸的影响

Fig. 5 Impacts of fermentation time on acetic acid production of 2 kinds of bifidobacteria

2.2.3 2种双歧杆菌发酵山药低聚糖产丙酸分析

青春双歧杆菌和动物双歧杆菌发酵山药低聚糖不同时间产生丙酸的变化情况如图6。在0~48 h发酵过程中,双歧杆菌发酵液中丙酸含量均较少,且动物双歧杆菌产丙酸的量显著性高于青春双歧杆菌。动物双歧杆菌发酵液中丙酸含量在8 h时最高,为 (0.082 ± 0.001) mg/mL;青春双歧杆菌发酵液中丙酸含量在4 h时最高,为 (0.050 ± 0.001) mg/mL。与4种乳酸菌相较,双歧杆菌整体发酵产丙酸含量要高于乳酸菌。



不同小写字母表示差异显著。

图6 发酵时间对2种双歧杆菌产丙酸的影响

Fig. 6 Impacts of fermentation time on propionic acid production of 2 kinds of bifidobacteria

3 讨论

肠道健康日益受到重视,植物中活性成分经肠道微生物菌群发酵产SCFA研究已成为热点。研究表明,肠道中的微生物菌群可在体外利用低聚糖^[30]、多糖^[31]、抗性淀粉^[32]、膳食纤维^[33]、茶叶儿茶素^[34]等植物活性成分作为碳源发酵产生SCFA,随着菌种、碳源等条件的变化,产生SCFA的种类和含量也各不相同。

SCFA的产生与发酵底物的种类以及细菌种类有着密切的关系。本实验通过对肠道内主要的两类优势菌种:乳酸菌和双歧杆菌,在模拟结肠环境中发酵山药低聚糖产SCFA的研究,发现青春双歧杆菌、动物双歧杆菌2种双歧杆菌及嗜酸乳杆菌、嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌和植物乳杆菌4种乳酸菌均能利用山药低聚糖发酵产生乙酸、丙酸和乳酸等SCFA,但产生SCFA含量差别较大。在相同的发酵时间内,4种乳酸菌发酵山药低聚糖产乳酸量显著高于2种双歧杆菌,说明这4种乳酸菌发酵山药低聚糖产乳酸的能力强于2种双歧杆菌;而2种双歧杆菌发酵山药低聚糖产乙酸量显著高于4种乳酸菌,说明双歧杆菌发酵山药低聚糖产乙酸的能力较强。

孔璐等^[35]利用健康成人粪便提取物体外模拟低聚异麦芽糖的肠道发酵,分别添加嗜酸乳杆菌、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)、植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)6株外源乳酸菌于发酵体系,发现不同菌种促进低聚异麦芽糖肠道发酵产SCFA的能力不同,屎肠球菌和鼠李糖乳杆菌促进低聚异麦芽糖产生乙酸、丙酸和丁酸3种短链脂肪酸的能力最强。郭文奎等^[36]研究发现,儿童粪便发酵菌群体系中产生的SFCA要高于成人粪便发酵菌群系统。Holzapfel等^[37]报道,肠道益生菌中乳酸杆菌(*Lactobacillus*)降解碳水化合物代谢物的能力非常强,可促进SCFA的产生;且肠道乳酸杆菌菌群的数量与SCFA浓度呈正相关,乳酸杆菌越多SCFA浓度也越高,但这一作用是在与肠道中其他产SCFA菌协同作用的结果^[38]。SCFA的产生也与发酵底物及其他因素有关。Rycroftyc等^[39]研究发现,低聚异麦芽糖发酵产生乙酸的能力高于低聚果糖、乳果糖等。张宁等^[40]发现,不同聚合度大蒜果聚糖体外发酵产

SCFA,聚合度低的大蒜果聚糖产 SCFA 量高于聚合度高的果聚糖。

不同的益生元经肠道益生菌群发酵利用,代谢产生不同种类和数量的 SCFA 对人体肠道环境产生不同影响,并在体内参与不同器官的代谢,发挥各自的功效。因此,可通过改善膳食结构来调节肠道益生菌产 SCFA 的种类和含量,向着有益于肠道及人体健康的方向发展。

4 结 论

1)山药低聚糖在模拟结肠环境中可被嗜酸乳杆菌、嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌和植物乳杆菌、青春双歧杆菌、动物双歧杆菌等肠道益生菌作为碳源利用,产生对人体健康有积极作用的乳酸、乙酸及丙酸等 SCFA。

2)乳酸菌发酵山药低聚糖产生乳酸、乙酸及丙酸的浓度与菌种及发酵时间有关。在 48 h 发酵过程中,乳酸在植物乳杆菌 48 h 发酵液中含量达最高,为(13.800 ± 0.243) mg/mL;乙酸在动物双歧杆菌 48 h 发酵液中含量达最高,为(1.850 ± 0.003) mg/mL;丙酸则在动物双歧杆菌 8h 发酵液中含量达最高,为(0.082 ± 0.001) mg/mL。

参考文献:

[1] PSICHAS A, SLEETH M L, MURPHY K G, et al. The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents [J]. *International Journal of Obesity*, 2015, 39 (3): 424 - 429.

[2] HUFF G R, HUFF W E, RATH N C, et al. Efficacy of a novel prebiotic and a commercial probiotic in reducing mortality and production losses due to cold stress and *Escherichia coli* challenge of broiler chicks [J]. *Poultry Science*, 2015, 94(5): 918 - 926.

[3] CONNOLLY M L, LOVEGROVE J A, TUOHY K M. *In vitro* evaluation of the microbiota modulation abilities of different sized whole oat grain flakes [J]. *Anaerobe*, 2010, 16(5): 483 - 488.

[4] ARPAIA N, CAMPBELL C, FAN X, et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation [J]. *Nature*, 2013, 504(7480): 451 - 455.

[5] 刘松珍,张雁,张名位,等. 肠道短链脂肪酸产生机制及生理功能的研究进展 [J]. *广东农业科学*, 2013 (11): 99 - 103.

LIU S Z, ZHANG Y, ZHANG M W, et al. Advances in research on the mechanism and physiological function of intestinal short-chain fatty acids [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2013(11): 99 - 103.

[6] HAME R H M, JONKE R S D, VENEMA K, et al. Review article: the role of butyrate on colonic function [J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2008, 27 (2): 104 - 119.

[7] GIANNINI G, CABRI W, FATTORUSSO C, et al. Histone deacetylase inhibitors in the treatment of cancer: overview and perspective [J]. *Future Medicinal Chemistry*, 2012, 4 (11): 1439 - 1460.

[8] VOLTOLINI C, BATTERSBY S, ETHERINGTON S L, et al. A novel anti-inflammatory role for the short-chain fatty acids in human labor [J]. *Endocrinology*, 2012, 153: 395 - 403.

[9] MERCEDES O G, BORJA O, ISABELR C, et al. Nondigestible oligosaccharides exert nonprebiotic effects on intestinal epithelial cells enhancing the immune response via activation of TLR 4-NFκB [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2014, 58(2): 384 - 393.

[10] FRIEDRICH M J. Unraveling the influence of gut microbes on the mind [J]. *The Journal of the American Medical Association*, 2015, 313(17): 1699 - 1701.

[11] ALEJANDRA C C, AGUSTIN O. *In Vitro* fermentation of lactulose-derived oligosaccharides by mixed fecal microbiota [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(8): 2024 - 2032.

[12] 孙庆申,周丽楠. 益生菌类保健食品研究进展 [J]. *食品科学技术学报*, 2018, 36(2): 21 - 26.

SUN Q S, ZHOU L N. Progress in Research on Health Foods of Ubiomycetes [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 36(2): 21 - 26.

[13] 辛跃强. 低聚半乳糖对肠道益生菌作用机理的研究 [D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2015.

XIN Y Q. Study on the mechanism of action of oligogalactose on intestinal probiotics [D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2015.

[14] 陆旻妍,杨磊,赖晨欢,等. 田菁来源半乳甘露低聚糖对青春双歧杆菌的增殖 [J]. *林业工程学报*, 2017 (3): 64 - 69.

LU W Y, YANG L, NAI C H, et al. *In vitro* proliferation of *Bifidobacterium adolescentis* by galactomanno-oligosaccharides from *Sesbania cannabina* [J]. *Journal of Forestry Engineering*, 2017(3): 64 - 69.

[15] KWON J, PARK Y, NOH D, et al. Complex-oligosaccharide composed of galacto-oligosaccharide and lactulose ameliorates loperamide-induced constipation in rats [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2018, 27(3): 781 - 788.

- [16] CARLSON J L, ERICKSON J M, HESS J M, et al. Prebiotic dietary fiber and gut health: comparing the *in vitro* fermentations of beta-glucan, inulin and xylooligosaccharide[J]. *Nutrients*, 2017(9):1361–1367.
- [17] 王晓成, 张明, 陈善斌, 等. 副干酪乳杆菌 L9 对小鼠肠道短链脂肪酸含量的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(13):238–243.
- WANG X C, ZHANG M, CHEN S B, et al. Effect of *Lactobacillus paracasei* L9 on the content of short-chain fatty acids in the intestine of mice[J]. *Food Science*, 2017, 38(13):238–243.
- [18] 贾彦, 魏秀秀, 赵培, 等. 魔芋葡甘露聚糖和香蕉抗性淀粉对小鼠肠道短链脂肪酸分泌及血脂影响的研究[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(7):18–25.
- JIA Y, WEI X X, ZHAO P, et al. Effects of konjac glucomannan and banana resistant starch on intestinal short-chain fatty acid secretion and blood lipid in mice[J]. *Modern Food Technology*, 2016, 32(7):18–25.
- [19] LE R C, ŠTĚPETOVA J, SEPP E, et al. New insights into the impact of *Lactobacillus* population on host-bacteria metabolic interplay[J]. *Oncotarget*, 2015, 31(6):30545–30556.
- [20] 郭文奎, 焦月华, 刘飞. 小米和燕麦中水溶性膳食纤维结构表征及对体外发酵体系短链脂肪酸的影响[J]. *食品科技*, 2017, 42(3):190–194.
- GUO W K, JIAO Y H, LIU F. Structural characterization of water soluble dietary fiber in millet and oats and its effect on short-chain fatty acids in *in vitro* fermentation system[J]. *Food Science and Technology*, 2017, 42(3):190–194.
- [21] 刘露, 张雁, 池建伟, 等. 山药低聚糖对 2 种双歧杆菌的体外促生长作用[J]. *食品科学*, 2017, 38(6):130–135.
- LIU L, ZHANG Y, CHI J W, et al. Effects of yam oligosaccharides on the growth promotion of two species of bifidobacteria *in vitro*[J]. *Food Science*, 2017, 38(6):130–135.
- [22] 刘露, 张雁, 邓媛元, 等. 山药低聚糖体外调节乳酸菌生长的作用[J]. *中国食品学报*, 2017, 17(10):37–43.
- LIU L, ZHANG Y, DENG Y Y, et al. Effects of yam oligosaccharide on the growth of lactic acid bacteria *in vitro*[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science*, 2017, 17(10):37–43.
- [23] 贾士奇, 黄霞, 刘惠霞. 山药低聚糖的免疫增强作用[J]. *河南大学学报(医学版)*, 2009, 28(1):44–45.
- JIA S Q, HUANG X, LIU H X. Immune enhancement of yam oligosaccharides[J]. *Journal of Henan University (Medical Edition)*, 2009, 28(1):44–45.
- [24] CHEN Y F, ZHU Q, WU S. Preparation of oligosaccharides from Chinese yam and their antioxidant activity[J]. *Food Chemistry*, 2015, 15:173:1107–1010.
- [25] 杭锋, 陈卫. 益生乳酸菌的生理特性研究及其在发酵果蔬饮料中的应用[J]. *食品科学技术学报*, 2017, 35(4):33–41.
- HANG F, CHEN W. Study on physiological characteristics of probiotics and its application in fermented fruit and vegetable beverages[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 35(4):33–41.
- [26] SEITZ M. Toll-like receptors: sensors of the innate immune system[J]. *Allergy*, 2003, 58(12):1247–1249.
- [27] 刘露, 张雁, 张名位, 等. 响应面法优化超声波辅助提取山药低聚糖的工艺研究[J]. *广东农业科学*, 2014, 41(11):100–105.
- LIU L, ZHANG Y, ZHANG M W, et al. Optimization of ultrasonic assisted extraction of yam oligosaccharides by response surface methodology[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014, 41(11):100–105.
- [28] SIEGRID D, EECKHAUT V, STEPPE M, et al. Development of a HPLC–UV method for the quantitative determination of four short-chain fatty acids and lactic acid produced by intestinal bacteria during *in vitro* fermentation[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, 80(3):107–115.
- [29] 王彩, 高培鑫, 许竞男, 等. 小鼠粪便中短链脂肪酸提取与检测方法的建立及应用[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(6):1012–1015.
- WANG C, GAO P X, XU J N, et al. Establishment and application of short-chain fatty acid extraction and detection methods in mouse feces[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2017, 17(6):1012–1015.
- [30] 秦清娟, 邓利, 徐小青, 等. 魔芋葡甘露聚糖及其衍生物肠道益生性的体外发酵评价[J]. *食品科学*, 2015, 36(15):217–220.
- QING Q J, DENG L, XU X Q, et al. *In vitro* fermentation evaluation of intestinal probiotics of konjac glucomannan and its derivatives[J]. *Food Science*, 2015, 36(15):217–220.
- [31] 胡婕伦. 大粒车前子多糖体内外消化与酵解特征体系构建及其促进肠道健康的作用[D]. 南昌: 南昌大学, 2014:18–34.
- HU J L. Construction of *in vitro* and *in vivo* digestion and glycolysis of polysaccharides from *Psyllium chinensis* and its role in promoting intestinal health[D]. Nanchang: Nanchang University, 2014:18–34.
- [32] 林杨, 赵新淮. 抗性淀粉的体外产酸发酵研究[J]. *食品与发酵工业*, 2008(11):44–47.
- LIN Y, ZHAO X H. Study on *in vitro* acidogenic fermentation of resistant starch[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2008(11):44–47.

- [33] ROSE D J, DEMEO M T, KESHAVARZIAN A, et al. Influence of dietary fiber on inflammatory bowel disease and colon cancer: importance of fermentation pattern [J]. *Nutrition Reviews*, 2007, 65(2): 51–62.
- [34] 贾彦, 魏秀秀, 赵培, 等. 茶叶儿茶素的益生元活性研究[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(4): 128–136.
JIA Y, WEI X X, ZHAO P, et al. Study on the prebiotic activity of tea catechins [J]. *Modern Food Technology*, 2015, 31(4): 128–136.
- [35] 孔璐, 赵新淮. 外源乳酸菌对低聚异麦芽糖肠道发酵产酸的影响[J]. *中国食品学报*, 2016, 12: 30–35.
KONG L, ZHAO X W. Effect of exogenous lactic acid bacteria on intestinal fermentation of oligomeric isomalt [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science*, 2016, 12: 30–35.
- [36] 郭文奎, 刘飞. 不同人体肠道菌群利用厚黑拟层孔菌胞外多糖产酸特性的研究[J]. *食品科技*, 2016, 10(41): 2–4.
GUO W K, LIU F. Study on acidogenic characteristics of extracellular polysaccharides from different human intestinal flora using *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Food Technology*, 2016, 10(41): 2–4.
- [37] HOLZAPFELL W H. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2002, 75(3): 197–212.
- [38] LEBEERS, VANDERLEYDEN J, DE K S. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2008, 72(4): 728–764.
- [39] RYCROFTYC E, JONES M R, GIBSON G R. A comparative *in vitro* evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 91(5): 878–887.
- [40] 张宁, 曾艳华, 吴希阳, 等. 中性大蒜果聚糖体外发酵产短链脂肪酸[J]. *食品与发酵工业*, 2013, 39(1): 51–54.
ZHANG N, ZENG Y H, WU X Y, et al. Neutral fermentation of neutral garlic fructan to produce short-chain fatty acids [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2013, 39(1): 51–54.

Study on Production of Short Chain Fatty Acids from Yam Oligosaccharides by Intestinal Probiotics Fermentation *in vitro*

LIU Lu^{1,2}, ZHANG Yan^{1,*}, WEI Zhencheng¹, DENG Yuanyuan¹, QIU Yinqing¹, ZHANG Huina¹
(1. *Sericultural & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China;*
2. *College of Food Science and Technology, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China*)

Abstract: Based on the advantageous functions of short chain fatty acids to human intestine and body, the species and content of short chain fatty acids (SCFA) produced from Chinese yam oligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria fermented in simulated intestinal environment were investigated, respectively. The results showed that Chinese yam oligosaccharides could be utilized as carbon source by lactic acid bacteria and bifidobacteria in simulated colonic fermentation environment. SCFA, such as lactic acid, acetic acid and propionic acid with positive effects on the body were produced in the process. And the concentration of SCFA is related to strains of *Lactobacillus* and fermentation time. The lactic acid concentration in 48 h fermented liquid of *Lactobacillus plantarum* reached (13.800 ± 0.240) mg/mL. The acetic acid concentration in 48 h fermented liquid of *Bifidobacterium animalis* reached (1.850 ± 0.003) mg/mL; while the propionic acid concentration in 8h fermented liquid of *Bifidobacterium animalis* reached (0.082 ± 0.001) mg/mL. The results suggested that SCFA could be produced by intestinal probiotics with the adjustment of diet structure to keep our intestine and body healthy.

Keywords: yam; oligosaccharides; intestinal probiotics; short chain fatty acids; *in vitro* fermentation

(责任编辑:叶红波)