



不同菌种发酵对藜麦蛋白质特性及脂质构成的影响

延莎, 邢洁雯, 王晓闻

(山西农业大学食品科学与工程学院, 山西太谷 030801)

摘要:【目的】比较不同菌种发酵对藜麦蛋白质水解及脂质变化的影响, 为藜麦发酵食品的开发提供理论参考。【方法】以藜麦为原料, 加入不同菌种(酵母菌、植物乳杆菌及其混合菌)进行发酵, 通过测定蛋白水解指数、蛋白质各组分、游离氨基酸、游离脂肪酸及脂质构成来判定发酵效果, 确认哪种微生物更有利于藜麦营养成分的转化。【结果】经酵母、植物乳杆菌、酵母和植物乳杆菌混合菌发酵后, 藜麦蛋白质水解指数均有所升高, 且主要是清蛋白和球蛋白发生了水解。发酵后藜麦中的游离氨基酸含量增加显著, 尤其是必需氨基酸。酵母发酵藜麦更有利于蛋白质、多肽等水解成氨基酸。通过发酵处理, 藜麦中的游离脂肪酸含量显著增加, 且饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸的比例更为接近 1:1:1; 甘油三酯、甘油二酯含量降低, 但磷脂等功能脂的含量有所提高, 且有酵母菌参与更有利于上述转化。【结论】酵母菌、植物乳杆菌发酵过程中主要水解藜麦清蛋白和球蛋白成氨基酸等小分子化合物, 且游离必需氨基酸含量显著升高; 两种菌发酵后都有利于增加游离脂肪酸含量, 降低甘油三酯、甘油二酯含量, 且提高磷脂的含量。经酵母发酵, 更有利于改善藜麦营养。

关键词: 藜麦; 发酵; 蛋白质; 脂质

Effects of Different Strain Fermentation on Protein Hydrolysis and Lipid Profile of Quinoa

YAN Sha, XING JieWen, WANG XiaoWen

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi)

Abstract: 【Objective】 This study was performed to compare the differences of the protein hydrolysis and lipid productions during the quinoa fermentation with the different strains, so as to promote the development of quinoa added-value food by the fermentation. 【Method】 Yeast, lactobacillus plantarum and the two mixed was used for the fermentation of quinoa, respectively. Proteolysis index, protein composition, lipid profile, the content of total free amino acid and free fatty acid were determined to evaluate which microbe had more advantages in the transformation of nutrients. 【Result】 The proteolysis index increased after the quinoa fermentation by different microbes, and albumin and globulin were mainly hydrolyzed among quinoa protein composition. There was a significant increase in the free amino acid of quinoa after fermentation, especially essential amino acids. The yeast-fermented quinoa was beneficial in gaining smaller molecular compounds that originated from protein hydrolysis. The free fatty acids content increased sharply after fermentation and met a proper ratio of SFA : MUFA : PUFA close to 1 : 1 : 1. The content of triglycerides and diglycerides were reduced, but the content of functional lipids (phospholipid) was increased. The quinoa with yeast fermentation was more favorable for the above transformation. 【Conclusion】 Quinoa fermented by yeast or lactobacillus plantarum could result in the hydrolysis of albumin and globulin into amino acids, especially the free essential amino acid levels increased significantly. The free fatty acids also increased after fermentation, wherein the triglyceride and diacylglycerol were

收稿日期: 2019-09-20; 接受日期: 2019-12-19

基金项目: 山西省重点研发计划(201703D211001-06)

联系方式: 延莎, E-mail: yanshawell@163.com. 通信作者王晓闻, E-mail: wangx@sxau.edu.cn

reduced, and the content of phospholipid was improved. Quinoa with yeast fermentation had great potential in developing high-value nutritional products in the future.

Key words: quinoa; fermentation; protein; lipid

0 引言

【研究意义】藜麦是一种苋科藜属假谷物，原产于南美洲安第斯山区，由于其具有卓越的营养品质而被广泛认可^[1]。藜麦蛋白质含量为 14%—16%，且是富含组氨酸和赖氨酸的优质蛋白质。淀粉是藜麦最主要的碳水化合物，含量为 58.1%—64.2%，其次还富含膳食纤维^[2]。藜麦的脂类含量约为 6%，亚油酸、亚麻酸等必需脂肪酸的含量较其他谷类更为合理^[3]。此外，藜麦富含各种矿物质、维生素和植物化学成分，是一种“全营养食品”^[4]。联合国粮农组织（FAO）指定藜麦为 21 世纪能提供粮食安全的作物之一^[3]。2014 年以来，我国在山西、吉林、青海、甘肃和河北等省份开始较大规模种植藜麦^[5]，然而藜麦在我国还属于推广初期，普通民众对藜麦知之甚少，亟待将藜麦从田地推向餐桌。国内的藜麦产品多为初加工食品，主要是藜麦米，其他深加工产品较少，开发藜麦的深加工产品对藜麦产业发展具有重要意义。【前人研究进展】发酵食品是原料经微生物作用后获得的产品，是人类日常饮食中的重要组成部分^[6]。发酵可以改变食品材料的组织结构，形成独特的风味；另外，通过降解抗营养物质和产生有益的成分来改善食品的营养特性^[7]。藜麦高碳水化合物、高蛋白含量的特性可作为发酵原料，国外已有一些关于藜麦发酵产品的报道。CEBALLOS-GONZALEZ 等^[8]用乳酸菌发酵藜麦面团制成无谷蛋白面包，获得了均匀多孔、感官品质好、营养价值高的产品。LORUSSO 等^[9]用天然发酵藜麦粉代替小麦粉制备意大利面，可明显改善其质地特性，增加蛋白质体外消化率和降低血糖生成指数。BIANCHI 等^[6]以藜麦和大豆为原料，以干酪乳杆菌为发酵剂，开发一种具有潜在益生菌功能的饮料。【本研究切入点】目前的研究较少探讨关于发酵对藜麦主要营养成分的影响，尤其是脂质方面的研究几乎没有涉及。不同加工方式对藜麦营养代谢影响的相关报道较缺乏。【拟解决的关键问题】采用不同菌种发酵后，了解藜麦蛋白质水解情况并首次利用脂质组学技术对藜麦脂质进行分析，明确发酵后藜麦主要营养成分的变化趋势，为藜麦发酵食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

试验于 2019 年 3 月在山西农业大学食品科学与工程学院进行。

1.1 材料与试剂

藜麦购于赣州市九鲤湖食品有限公司；活性干酵母、植物乳杆菌购于安琪酵母股份有限公司。

甲醇、乙腈、甲酸、甲酸铵、异丙醇购于赛默飞世尔科技（中国）有限公司，色谱纯；37 种脂肪酸混合标准品、17 种氨基酸混合标准品、色氨酸标准品购于 Sigma 公司，分析纯；牛肉膏、蛋白胨购于上海索莱宝生物科技有限公司；氢氧化钠、牛血清白蛋白、考马斯亮蓝、D-无水葡萄糖、3,5-二硝基水杨酸等购于国药集团化学试剂有限公司，均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SC-3610 低速离心机，安徽中科中佳科学仪器有限公司；YHG-400-BS-II 远红外快速恒温干燥箱，上海跃进医疗器械有限公司；SCIENTZ-18N 真空冷冻干燥机，宁波新芝生物科技股份有限公司；SH220F 型石墨消解仪，山东海能科学仪器有限公司；安捷伦 6560 离子淌度 Q-TOF LC/MS，安捷伦科技（中国）有限公司；ThermoFisher Trace 1310 ISQ 气相色谱质谱联用仪、ThermoFisher U3000 液相色谱仪，赛默飞世尔科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 原料预处理 酵母菌复壮：配置酵母菌培养基，于 121℃灭菌 20 min，待培养基冷却后在无菌条件下接入酵母菌，在 30℃的培养箱中静置培养 48 h，直至菌悬液浓度达到 5×10^8 CFU/mL。

植物乳杆菌复壮：配置植物乳杆菌培养基，于 121℃灭菌 20 min，待冷却后在无菌条件下接入植物乳杆菌，在 37℃的培养箱中静置培养 48 h，直至菌悬液浓度达到 5×10^8 CFU/mL。

藜麦发酵粉的制备：藜麦经中草药粉碎机粉碎后，过 80 目筛，制得藜麦粉（Q）。称取 50 g 藜麦粉，共 3 份，加入 50 mL 无菌水，分别接入复壮的酵母菌（接种量 4%）、植物乳杆菌（接种量 4%）、酵母菌和植物乳杆菌混合菌（酵母 4%+植物乳杆菌 4%），在适宜条件（36℃）下培养 48 h。发酵结束后，真空冷冻干燥

即得酵母发酵藜麦粉(QY)、植物乳杆菌发酵藜麦粉(QL)和混合菌发酵藜麦粉(QM),保存于-20℃备用。

1.3.2 发酵藜麦蛋白水解特性的测定 蛋白质水解指数(PI)的测定^[10]: $PI = NPN/TN \times 100\%$, NPN(非蛋白氮)、TN(总氮)采用凯氏定氮法测定。

蛋白组分的测定^[11]: 分别称取 5 g 藜麦粉和制备好的发酵藜麦样品,用索氏抽提法脱脂后,采用 Osborne 分级法测定样品的各蛋白组分,分别得到清蛋白、球蛋白、谷蛋白和醇溶性蛋白。

游离氨基酸的测定^[12]: 17 种氨基酸分析方法: 称取 0.5 g 样品,加入 0.01 mol·L⁻¹ 盐酸 40 mL,涡旋混匀 5 min 后超声提取 10 min,定容于 50 mL 容量瓶。避光静置 2 h 后 4 000 r/min 离心 10 min,取 1 mL 上清液,加入 1 mL 3% 的碘基水杨酸,涡旋 1 min,避光静置 1 h,15 000 r/min 离心 15 min,取上清液过膜待测。上机条件: Agilent C-18 分析柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相 A (0.1 mol·L⁻¹ 醋酸钠溶液: 乙腈=93: 7),流动相 B (乙腈: 水=8: 2),流速为 1 mL·min⁻¹,柱温 40℃,检测波长 254 nm,洗脱梯度为: 0 min, 0% B; 14 min, 15% B; 29 min, 34% B; 30 min, 100% B; 37 min, 100% B; 38 min, 0% B; 45 min, 0% B。色氨酸分析方法: 用 4 mol·L⁻¹ NaOH 溶液充分溶解样品,调 pH 至中性,过膜待测。色谱柱同上,流动相为 0.02 mol·L⁻¹ 醋酸溶液: 甲醇=8: 2,检测波长为 280 nm,柱温 25℃。

1.3.3 发酵藜麦脂质的测定 游离脂肪酸的测定^[12]: 称取 1 g 样品于试管中,加入 2 mL 5% 盐酸甲醇溶液,3 mL 氯仿甲醇溶液,100 μL 十九烷酸甲酯内标,于 85℃ 水浴 1 h。待冷却到室温,加入 1 mL 正己烷,震荡萃取 2 min 后,静置 1 h,待分层后取上层清液 100 μL,用正己烷定容到 1 mL,过膜后待测。分析条件: 色谱柱为 TG-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm),进样口温度 290℃,载气流速 1.2 mL·min⁻¹。升温条件: 80℃ 保持 1 min,以 10℃/min 的速率升温至 200℃,再以 5℃/min 的速率升温至 250℃,最后以 2℃/min 的速率升到 270℃,保持 3 min。质谱条件: 离子源温度 280℃,溶剂延迟时间 5 min,扫描范围 30—400 amu,电离方式 EI,电子能量 70 eV。

脂质的测定^[13]: 称取 1 g 样品于玻璃试管中,加入 10 mL 溶液(二氯甲烷: 甲醇=2: 1),涡旋 10 min,5 000 r/min 离心 10 min,萃取 2 次,合并两次上清液。上清液中加入 5 mL 水,涡旋混匀 1.5 min,5 000 r/min

离心 10 min,取下层氯仿层氮吹后用甲醇复溶,过膜待测。分析条件: 色谱柱为 Agilent Eclipse Plus C8 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相: 含 5 mmol·L⁻¹ 甲酸铵和 0.1% 甲酸水溶液(A),乙腈: 异丙醇(5: 2, v/v)含 5 mmol·L⁻¹ 甲酸铵和 0.1% 甲酸(B); 流速为 0.3 mL·min⁻¹; 梯度洗脱条件(0 min, 60% B; 11 min, 100% B; 20 min, 100% B); 柱温为 40℃。离子源: AIS ESI; 检测模式为正离子模式; 干燥气流速为 15 L·min⁻¹; 干燥气温度 200℃; 雾化气流速 35 psi; 鞘气流速 11 L·min⁻¹; 鞘气温度 350℃; 毛细管电压 3.5 kV; 喷嘴电压 0 kV; 扫描范围: m/z 100—1 200; 参比离子: 121.0509、922.0098。

1.3.4 发酵藜麦淀粉含量的测定 采用 DNS 法^[14]: 根据葡萄糖反应后在 540 nm 处测定的吸光值,绘制的标准曲线为 $Y=1.058X-0.1269$ ($R^2=0.9986$), X 为葡萄糖浓度(mg·mL⁻¹), Y 为吸光度值。准确称取 1 g 藜麦样品,放入 100 mL 三角瓶中,加 10 mL 6 mol·L⁻¹ HCL 和 15 mL 蒸馏水,在沸水浴中加热 30 min,使其充分水解。待冷却至室温后调到中性,稀释合适浓度进行测定。

淀粉含量(g/100 g) = $\frac{\text{还原糖含量} \times \text{稀释释倍}}{\text{样品量}} \times 0.9 \times 100$

1.4 数据处理

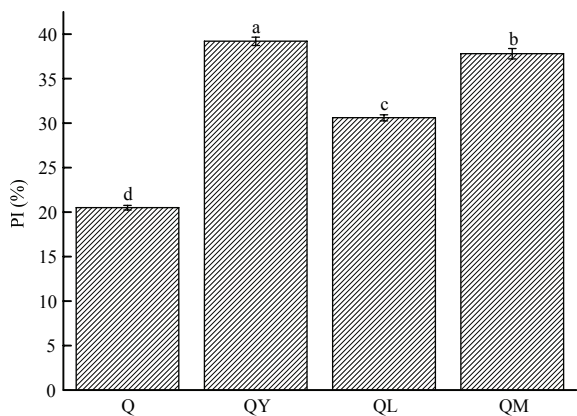
每个样品进行 3 次平行试验,结果表示为平均值±标准差。数据统计分析通过软件 IBM SPSS Statistics 22 处理,多重比较采用 LSD 法,显著水平为 0.05; 采用 2010 版 Excel 和 Origin 9.0 软件绘制图表。

2 结果

2.1 发酵对藜麦蛋白质水解的影响

2.1.1 对藜麦蛋白质水解指数的影响 如图 1 所示,经酵母菌、植物乳杆菌和混合菌作用后,藜麦蛋白质的水解指数都显著升高($P<0.05$),表明发酵后产生了更多的多肽、短肽及游离氨基酸等非蛋白氮,且不同菌的作用效果差异显著。与 Q 相比,QY、QL 和 QM 的 PI 分别提高了 18.7%、10.1% 和 17.3%,表明有酵母参与的发酵过程,更有利于藜麦蛋白向较小分子非蛋白氮的转化。

2.1.2 对藜麦各蛋白组分的影响 藜麦蛋白构成包括 42.21% 清蛋白、37.52% 球蛋白、0.56% 醇溶蛋白和 7.22% 谷蛋白,其中清蛋白和球蛋白是最主要的藜麦蛋白,约占总蛋白的 80%,藜麦中的醇溶蛋白含量极低。经微生物作用后,各处理中的醇溶蛋白含量变化



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同
Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). The same as below

图 1 发酵对藜麦蛋白质水解指数的影响
Fig. 1 Effect of fermentation on protein hydrolysis index of quinoa

不显著 ($P>0.05$)，清蛋白、球蛋白和谷蛋白含量均显著降低 ($P<0.05$)，其中清蛋白和球蛋白变化更为明显，说明微生物和蛋白酶主要分解作用这两种蛋白。经酵母发酵后，QY 的清蛋白和球蛋白含量较 Q 分别降低了 10.43%和 6.96%；植物乳杆菌作用后，QL 的清蛋白和球蛋白含量较 Q 分别下降了 5.10%和 4.26%；混合菌发酵后，QM 的清蛋白和球蛋白的含量分别下降了 7.68%和 4.65%（图 2）。酵母菌发酵，更有利于藜麦蛋白分解成较小的分子，这与前面发酵对蛋白质水解指数影响的结果一致。

2.1.3 对藜麦游离氨基酸含量的影响 发酵后藜麦游离氨基酸的变化情况如表 1 所示。藜麦富含所有的必需氨基酸且构成合理，其中亮氨酸、色氨酸和缬氨酸含量较高。藜麦中的含硫氨基酸含量较少，与前面测得的醇溶蛋白含量少相一致。经发酵后，必需和非必需游离氨基酸含量都显著增加 ($P<0.05$)，不同微

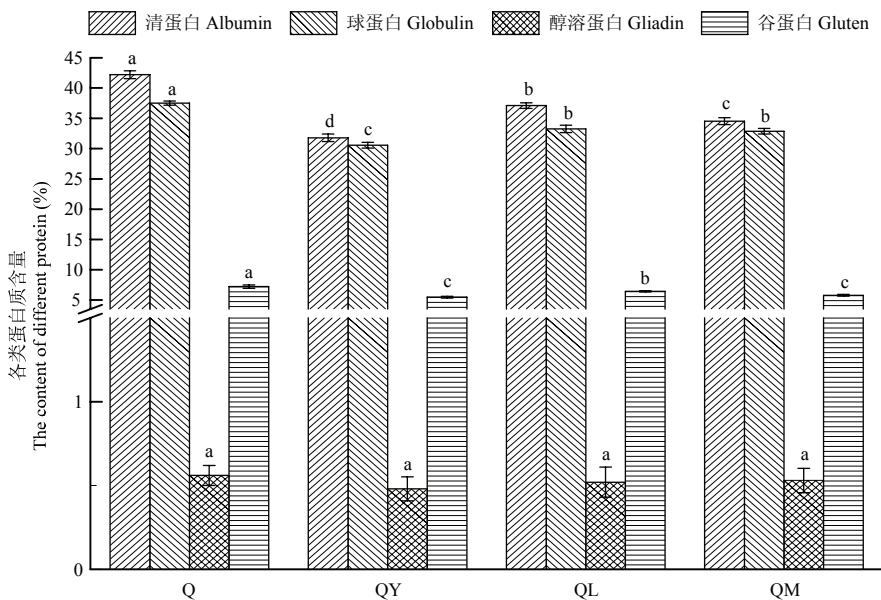


图 2 发酵对藜麦各蛋白组分含量的影响
Fig. 2 Effect of fermentation on content of protein components in quinoa

生物作用效果差别明显。酵母发酵后，游离的必需氨基酸约增加了 15 倍，游离的非必需氨基酸约增加了 7 倍，总游离氨基酸约增加了 9 倍；植物乳杆菌作用后，游离的必需氨基酸约增加了 9 倍，游离的非必需氨基酸约增加了 3 倍，总游离氨基酸约增加了 5 倍；混合菌发酵后，游离的必需氨基酸约增加了 12 倍，游离的非必需氨基酸约增加了 6 倍，总游离氨基酸约增加了

8 倍。藜麦发酵后，有更多的必需氨基酸得到释放。经过酵母发酵，藜麦中的游离氨基酸含量显著增加，尤其是必需氨基酸，进一步说明酵母发酵藜麦更有利于蛋白质水解成氨基酸。

2.2 发酵对藜麦脂类的影响
2.2.1 对藜麦游离脂肪酸含量的影响 经不同发酵处理后，藜麦中游离脂肪酸含量的变化情况如表 2 所示。

表 1 发酵对藜麦游离氨基酸含量的影响

Table 1 Effect of fermentation on free amino acids content of quinoa

氨基酸 Amino acids (mg·kg ⁻¹)	Q	QY	QL	QM
必需氨基酸 Essential amino acids				
苏氨酸 Threonine	101.42±2.06	2199.18±8.53	815.74±3.07	1051.65±4.73
缬氨酸 Valine	174.99±2.74	3384.52±8.77	1705.11±6.91	2319.03±6.54
甲硫氨酸 Methionine	122.37±1.86	1533.06±6.39	1047.83±4.85	1355.92±3.06
异亮氨酸 Isoleucine	143.02±2.05	3080.71±9.03	1692.01±5.23	2242.94±7.22
亮氨酸 Leucine	255.84±4.29	4719.57±9.75	3232.84±7.86	4536.63±10.54
苯丙氨酸 Phenylalanine	159.70±1.72	3070.32±8.48	1886.72±4.72	2720.13±6.18
赖氨酸 Lysine	141.19±1.53	943.36±5.09	862.52±5.68	977.09±5.02
色氨酸 Tryptophan	236.05±5.07	2796.41±10.04	2109.33±7.03	2619.24±7.06
总必需氨基酸 Total essential amino acid	1334.58±21.32d	21727.13±66.08a	13352.10±45.35c	17822.63±50.35b
非必需氨基酸 Nonessential amino acids				
天冬氨酸 Aspartic acid	488.50±6.93	3547.80±7.82	1935.12±8.28	3329.41±8.35
谷氨酸 Glutamic acid	925.82±5.74	4049.22±9.86	2777.75±6.09	3387.20±8.19
半胱氨酸 Cysteine	40.36±0.75	343.30±2.59	213.93±1.07	125.78±1.05
丝氨酸 Serine	77.40±1.03	1744.23±6.03	472.15±2.64	1025.13±4.82
甘氨酸 Glycine	136.90±2.84	2498.26±8.74	963.47±4.91	1777.93±5.03
组氨酸 Histidine	193.23±2.79	682.02±3.06	456.23±2.08	741.49±2.84
精氨酸 Arginine	742.21±3.62	4979.91±10.23	3868.34±11.03	5676.42±10.96
丙氨酸 Alanine	193.41±3.91	3133.15±8.39	1231.01±9.75	2615.62±4.67
脯氨酸 Proline	168.91±2.94	2023.48±6.08	780.49±5.36	1247.71±3.80
酪氨酸 Tyrosine	172.65±3.82	2491.18±7.74	1486.96±8.19	2219.03±6.49
总非必需氨基酸 Total non-essential amino acid	3139.39±34.37d	25492.55±70.54a	14185.45±59.40c	22145.72±56.20b
总氨基酸 Total amino acid	4473.97±55.69d	47219.68±136.62a	27537.55±104.75c	39968.35±106.55b

不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同

Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). The same as below

藜麦中的饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸含量分别是 5 588.22、13 433.32 和 30 705.28 mg·kg⁻¹，且三者的比例约为 1 : 2.4 : 5.5。在这些脂肪酸中，必需脂肪酸亚油酸含量最高，为 26 213.13 mg·kg⁻¹，此外，作为 DHA 和 EPA 前体的亚麻酸含量也较高，为 4 353.54 mg·kg⁻¹。通过发酵处理后，藜麦中游离的饱和、单不饱和和多不饱和脂肪酸含量都显著增加($P<0.05$)。与藜麦原料相比，经酵母发酵后，饱和脂肪酸含量约增加了 3.7 倍，单不饱和脂肪酸含量约增加了 2.4 倍，多不饱和脂肪酸含量约增加了 1.9 倍，且 3 种脂肪酸的比例约为 1 : 1.7 : 3.3；经植物乳杆菌发酵后，饱和脂肪酸含量约增加了 2.5 倍，单不饱和脂肪酸含量约增加了 1.8 倍，多不饱和脂肪酸含量约增加了 1.8 倍，且 3 种脂肪酸的比例约为 1 : 1.9 : 4.3；而经混合菌发

酵后，饱和脂肪酸含量约增加了 3.1 倍，单不饱和脂肪酸含量约增加了 2.3 倍，多不饱和脂肪酸含量约增加了 1.8 倍，且 3 种脂肪酸的比例为 1 : 2 : 3.8。

2.2.2 对藜麦脂质的影响 在正离子模式下，通过 IM-MS 采集，与谱库离子的一级、二级和碰撞横截面积 (CCS) 信息比对共鉴定出 176 种脂质化合物，包括 9 种脂类，分别是 97 种甘油三酯 (TG)、13 种甘油二酯 (DG)、28 种卵磷脂 (PC)、7 种脑磷脂 (PE)、13 种溶血卵磷脂 (LPC)、2 种溶血磷脂酰乙醇胺 (LPE)、6 种磷脂酸 (PA)、5 种神经酰胺 (Cer) 和 5 种鞘磷脂 (SM)。根据不同处理的藜麦样品脂质构成绘制图 3。藜麦中的脂类最主要是 TG (90.5%) 和 DG (5.5%)，其他脂类含量不足 5% (LPC (1.1%)、LPE (0.02%)、PA (1.0%)、PC (1.1%)、PE (0.6%)、

表 2 发酵对藜麦游离脂肪酸含量的影响
Table 2 Effect of fermentation on free fatty acids content of quinoa

脂肪酸 Fatty acids (mg·kg ⁻¹)	Q	QY	QL	QM
饱和脂肪酸 Saturated fatty acids				
C8:0	0.58±0.03	2.69±0.33	0.90±0.04	3.62±0.24
C10:0	0.43±0.02	13.76±0.79	0.87±0.04	7.65±0.33
C12:0	3.40±0.12	37.73±1.83	12.48±0.51	19.34±0.61
C13:0	0.72±0.03	1.76±0.03	0.97±0.05	1.18±0.24
C14:0	69.46±1.09	296.47±4.38	224.87±4.09	259.17±3.78
C15:0	22.45±0.64	94.19±2.05	78.32±1.73	85.64±1.52
C16:0	4482.64±11.26	21018.07±16.78	16171.65±15.82	17657.56±15.94
C17:0	17.48±0.85	74.50±4.02	57.84±3.64	72.57±4.75
C18:0	344.31±2.36	2279.72±9.61	897.62±8.52	2191.76±8.92
C20:0	169.04±1.82	551.17±4.93	496.99±5.06	561.57±4.86
C21:0	13.95±0.78	55.08±0.85	47.87±0.73	52.67±1.93
C22:0	308.46±3.06	1305.70±8.42	1108.93±7.68	1208.67±8.72
C23:0	21.02±0.61	99.40±2.06	87.62±1.06	93.69±0.85
C24:0	134.28±1.05	696.46±4.59	554.77±3.28	623.36±2.63
总饱和脂肪酸 Total saturated fatty acid	5588.22±23.72d	26526.70±60.67a	19741.70±52.25c	22838.45±55.32b
单不饱和脂肪酸 Monounsaturated fatty acids				
C14:1	0.59±0.04	2.33±0.72	0.86±0.05	2.82±0.54
C16:1	40.73±0.88	1354.02±4.83	100.49±1.19	1640.35±6.39
C17:1	13.55±0.57	38.50±1.04	31.19±0.96	51.44±0.84
C18:1N9C	10579.78±19.52	37318.61±24.05	32149.23±29.71	36904.41±23.61
C20:1	589.41±8.72	1281.06±7.92	1236.96±8.04	1438.67±9.88
C22:1N9	2034.98±12.3	5628.81±8.80	3735.53±6.92	3701.20±7.42
C24:1	174.28±1.09	689.84±4.19	807.97±5.36	976.22±6.92
总单不饱和脂肪酸 Total monounsaturated fatty acid	13433.32±43.12d	46313.17±51.55a	38062.23±52.23c	44715.11±55.6b
多不饱和脂肪酸 Polyunsaturated fatty acids				
C18:2N6C	26213.13±22.87	76635.37±26.08	74195.18±25.82	75988.65±26.09
C18:3N3	4353.54±9.51	10777.47±12.39	10502.01±13.86	11222.60±13.62
C20:2	55.19±1.02	162.08±4.71	152.79±3.08	175.64±2.08
C20:3N3	2.83±0.36	11.09±0.82	9.71±0.77	10.33±0.84
C22:2	80.59±2.44	288.43±4.74	218.54±3.14	208.64±3.09
总多不饱和脂肪酸 Total polyunsaturated fatty acid	30705.28±36.2d	87874.44±48.74a	85078.23±46.67c	87605.86±45.72b
总脂肪酸 Total fatty acid	49726.82±103.04d	160714.30±160.96a	142882.20±151.15c	155159.40±156.64b

SM 微量)。不同微生物发酵后会降低液质检出藜麦总脂的含量,且各类脂的构成也发生了变化。经酵母发酵后,QY 中 TG 和 DG 分别减少了 3.7%和 17.9%,其他功能脂除了 SM 都有所增加,脂类构成为: TG (90.1%)、DG (4.7%)、LPC (1.7%)、LPE (0.03%)、PA (1.1%)、PC (1.4%)、PE (0.7%)、Cer (0.2%)、

SM 微量。经植物乳杆菌发酵后,QL 中 TG 和 DG 分别减少了 0.9%和 10.5%,除了未测到 Cer,其他功能脂都有所增加,脂类具体构成为: TG (90.0%)、DG (5.0%)、LPC (1.6%)、LPE (0.03%)、PA (1.2%)、PC (1.3%)、PE (0.84%)和 SM (0.03%)。经混合菌作用后,QM 中 TG 和 DG 分别减少了 3.6%和 11.7%,

除了 LPE 变化不大, 其他功能脂含量都有所增加, 具体的脂类构成如下: TG (90.3%)、DG (5.1%)、LPC (1.2%)、LPE (0.02%)、PA (1.1%)、PC (1.2%)、

PE (0.8%)、SM (0.04%) 和 Cer (0.2%)。有酵母菌参与的藜麦发酵能更有效降低 TG 含量, 提高了其他功能脂的含量 (DG 除外)。

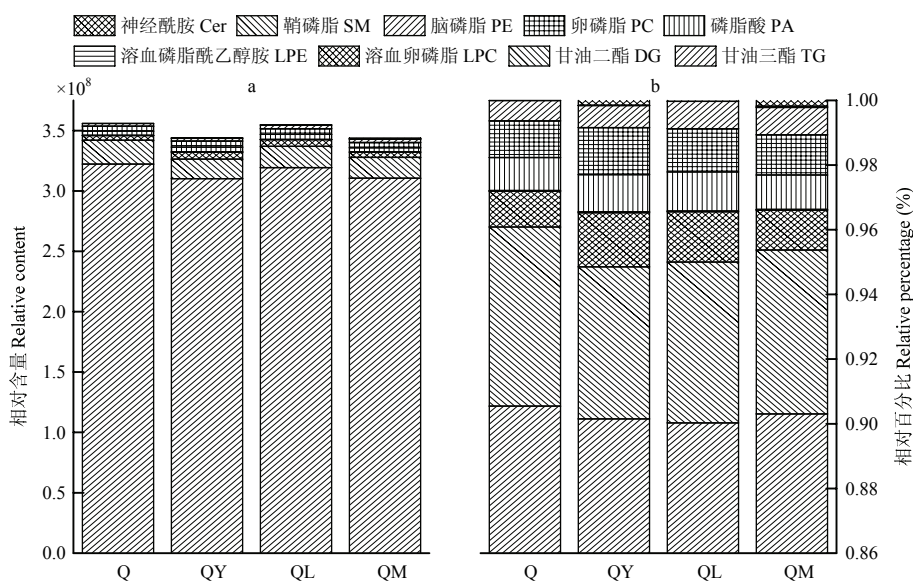


图 3 发酵对藜麦脂质构成的影响

Fig. 3 Effect of fermentation on lipid composition of quinoa

2.3 发酵对藜麦淀粉含量的影响

未处理的藜麦淀粉含量为 53.6%, 经不同发酵处理后, 藜麦淀粉含量均显著降低 ($P < 0.05$)。与 Q 相比, QY 淀粉含量降低了 56.2%, QL 淀粉含量降低了 35.1%, QM 淀粉含量降低了 68.5%, 酵母菌和植物乳杆菌生长代谢过程中都会大量消耗碳水化合物, 且经混合菌发酵后, 藜麦中淀粉含量下降最多 (图 4)。可见, 酵母较植物乳杆菌利用糖的效率更高。

3 讨论

由于藜麦具有独特的营养价值和潜在的健康益处, 近年来备受关注^[15]。藜麦富含大量营养素, 平均蛋白质的质量分数约为 16%, 淀粉质量分数约为 55%, 脂类的质量分数约为 7%, 这 3 大营养成分约为藜麦总质量的 78%。蛋白质和脂类相较于淀粉组成更为复杂, 但醇对它们的影响在以往的研究中极少涉及。在发酵过程中, 由于微生物或内源性蛋白酶的作用, 将蛋白质水解为多肽、短肽及游离氨基酸等多种非蛋白氮形式^[16], 从而会使衡量蛋白质水解程度的蛋白质水解指数 (非蛋白氮占蛋白氮的百分含量) 升高。利用清酒乳杆菌和木糖葡萄糖菌在发酵成萨拉米香肠

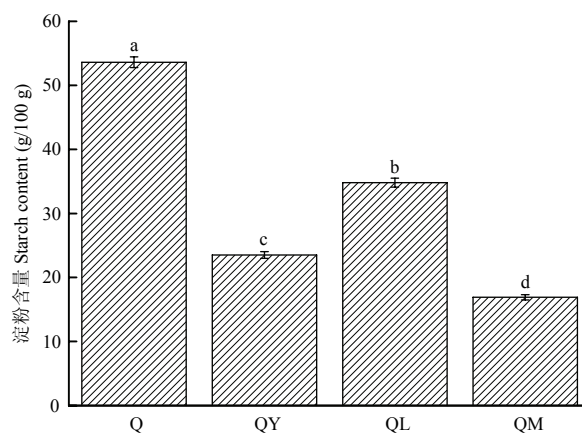


图 4 发酵对藜麦淀粉含量的影响

Fig. 4 Effect of fermentation on starch content of quinoa

的过程中, 45 d 的发酵期后蛋白质水解指数增加了约 15%^[17]。在本研究中, 酵母发酵后蛋白水解指数增加了 18.7%, 混合菌提高了 17.3%, 植物乳杆菌发酵后变化最小, 为 10.1%。酵母、植物乳杆菌发酵过程中, 主要是清蛋白和球蛋白变化更为明显, 其中酵母对这两种蛋白含量下降的影响更突出。王金水等^[18]研究酵

母和植物乳杆菌对小麦酸面团发酵过程中的蛋白质分解规律,发现酵母对面团中的蛋白质降解作用弱,而植物乳杆菌的降解效果显著,且可溶蛋白和谷蛋白降解最为明显。这个结果与本研究不完全一致,可能是由于小麦与藜麦的蛋白组成差异较大且发酵条件并不相同。已有研究表明,在仅有葡萄糖、果糖和乳糖作为碳源时,乳酸菌和酵母菌具有共生作用^[19],酵母菌产生了促进乳酸菌生长的生长因子,然而,这些生长因子的性质和功效取决于发酵微生物的种类和碳源等条件。从藜麦蛋白水解结果来看,混合菌发酵对蛋白的降解作用不如酵母单独作用的效果好。在发酵过程中,谷物酶和微生物代谢对谷物蛋白质转化都起到了重要作用^[20]。蛋白质水解依赖于谷物蛋白酶,酵母、乳酸菌的肽酶活性决定了肽、氨基酸和氨基酸代谢物在面团或发酵制品中的积累^[21]。然而已有研究表明,酸面团中肽含量较低,氨基酸含量较高,这是由于细胞内肽水解产生的多余氨基酸从细胞中释放出来,肽的细胞内水解有助于氨基酸在酸面团中的积累^[22],这可能也是藜麦发酵后游离氨基酸含量增多的原因。此外,谷物中酚类化合物的种类和含量与酶促转化和微生物代谢息息相关^[23],选择对酚类具有抗性的微生物发酵至关重要。在谷物制品的发酵和焙烤过程中,微生物的蛋白质代谢除了具有水解产生氨基酸的作用外,还有助于风味的形成^[24]。例如,鸟氨酸是小麦面包皮关键风味化合物 2-乙酰-1-吡咯啉在烘烤过程中形成的前体化合物,酵母或乳酸菌可以通过精氨酸代谢产生鸟氨酸^[25]。本研究结果初步表明,酵母较植物乳杆菌发酵藜麦更有利于蛋白质、多肽等水解成氨基酸这些小分子化合物,有利于大分子的转化。

相较于蛋白质和碳水化合物,脂类在藜麦中仅占少部分,但对发酵制品品质有重要影响,不仅能为人们的日常饮食提供必需脂肪酸,在加工贮藏中,脂类物质易发生氧化反应且是一些关键香气化合物的前体物质^[26]。脂类是一个具有高度多样性的大家族,尽管传统质谱法在脂质组学中具有高敏感和高选择性,但由于脂类分子的结构多样性且同分异构体的存在,很多脂类物质还是不能完全分离和准确鉴定^[27]。离子淌度质谱(Ion Mobility-Mass Spectrometry, IM-MS)是离子淌度分离与质谱联用的一种新型二维质谱分析技术。离子淌度分离原理是基于离子在漂移管中与缓冲气体碰撞时的碰撞截面不同,离子可按大小和形状进行分离,所得的漂移时间可进一步计算得到碰撞截面积(CCS)^[28]。脂质离子的 CCS 值代表其与缓冲气体

之间可以发生碰撞的有效面积,该值与脂质离子自身的大小、形状及其所带电荷有关,是脂质离子固有的物理化学特性,在鉴定中引入 CCS 值可以极大地提高可信度^[29]。本研究中,通过离子碎片的一级、二级和 CCS 的信息与谱库进行匹配共鉴定出 176 种脂质化合物,包括 9 个种类。小麦粉发酵后,糖脂含量会降低,而非极性脂和磷脂含量会增加,JANSSEN 等^[30]认为是由于发酵前后蛋白质与不同种类脂的结合而造成。EI-SEBAIY 等^[31]研究发酵鲮鱼的脂质变化,发现发酵结束后,饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的比值有所升高,这与本研究的结果一致,且饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸的比值更接近 1:1:1 (FAO/WHO 推荐的脂肪酸平衡饮食)。VISESSANGUAN 等^[32]研究了发酵对泰式香肠 Nham 脂质及脂肪酸的影响,结果与本研究相似,随着游离脂肪酸的增加,甘油三酯、甘油二酯含量会有所下降。加工对脂质构成的影响在动物性食品中研究较多,在谷物类食品中相对较少涉及。本研究发现通过发酵可以改变藜麦的脂质组成,甘油三酯含量相对降低,LPC、LPE、PA、PC 和 PE 相对含量都有所增加,微生物发酵可使藜麦的脂质组成更为合理。

发酵会改善淀粉类食品的营养组成和口感。淀粉作为藜麦含量最多的成分,也是微生物消耗的碳源,发酵后,藜麦中的淀粉含量显著降低。在植物乳杆菌发酵糯米粉过程中,总淀粉含量降低的同时,直链淀粉在总淀粉中的比例会增大。推测可能是植物乳杆菌产生的异淀粉酶将支链淀粉转化为直链淀粉^[33]。NUMFOR 等^[34]对发酵木薯粉的淀粉进行了研究,也发现直链淀粉含量显著增加。本研究只测定了发酵对藜麦淀粉含量的影响,而未对淀粉的理化特性进行分析,然而淀粉的特性对谷物食品的加工适性有重要影响,下一步可针对这部分内容开展深入研究。

4 结论

不同菌种发酵均会增加藜麦蛋白质水解指数,且主要作用于清蛋白和球蛋白。有酵母参与的发酵,更有利于藜麦蛋白向较小分子非蛋白氮的转化。不同发酵都会显著提高游离脂肪酸的含量,且脂类的构成也会发生变化,降低甘油三酯、甘油二酯含量,磷脂等功能脂含量增加,酵母菌发酵更有利于这种转化。因此,酵母较植物乳杆菌更有利于改善发酵藜麦的营养,研究结果为藜麦发酵制品的开发提供了理论依据。

References

- [1] LOPES C D O, BARCELOS M D F P, VIEIRA C N D G, DE ABREU W C, FERREIRA E B, PEREIRA R C, DE ANGELIS-PEREIRA M C. Effects of sprouted and fermented quinoa (*Chenopodium quinoa*) on glycemic index of diet and biochemical parameters of blood of Wistar rats fed high carbohydrate diet. *Journal of Food Science and Technology*, 2019, 56(1): 40-48.
- [2] CORDEIRO L M C, REINHARDT V D F, BAGGIO C H, WERNER M F D P, BURCI L M, SASSAKI G L, IACOMIN M. Arabinan and arabinan-rich pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: Structure and gastroprotective activity. *Food Chemistry*, 2012, 130(4): 937-944.
- [3] RIZZELLO C G, LORUSSO A, MONTEMURRO M, GOBBETTI M. Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiol*, 2016, 56: 1-13.
- [4] PEIRETTI P G, GAI F, TASSONE S. Fatty acid profile and nutritive value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds and plants at different growth stages. *Animal Feed Science and Technology*, 2013, 183 (1/2): 56-61.
- [5] 任贵兴, 杨修仕, 么杨. 中国藜麦产业现状. 作物杂志, 2015(5): 1-5.
- REN G X, YANG X S, YAO Y. Current situation of quinoa industry in china. *Crops*, 2015(5): 1-5. (in Chinese)
- [6] BIANCHI F, ROSSI E A, GOMES R G, SIVIERI K. Potentially synbiotic fermented beverage with aqueous extracts of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) and soy. *Food Science and Technology International*, 2015, 21(6): 403-415.
- [7] ZHAO H M, GUO X N, ZHU K X. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran. *Food Chemistry*, 2017, 217: 28-36.
- [8] CEBALLOS-GONZALEZ C, BOLIVAR-MONSALVE J, RAMIREZ-TORO C, BOLIVAR G A. Effect of lactic acid fermentation on quinoa dough to prepare gluten-free breads with high nutritional and sensory quality. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2018. doi: 10.1111/jfpp.13551.
- [9] LORUSSO A, VERNI M, MONTEMURRO M, CODA R, GOBBETTI M, RIZZELLO C G. Use of fermented quinoa flour for pasta making and evaluation of the technological and nutritional features. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 78: 215-221.
- [10] 赵见营, 唐静, 吴海舟, 张迎阳, 章建浩. Alcalase 协同强化高温风干成熟工艺对狼山鸡蛋白质水解的影响. 食品科学, 2014, 35(2): 30-35.
- ZHAO J Y, TANG J, WU H Z, ZHANG Y Y, ZHANG J H. Proteolysis in dry-cured Langshan chicken as influenced by alcalase combined with intensifying high-temperature air-drying. *Food Science*, 2014, 35(2): 30-35. (in Chinese)
- [11] 王赟. 藜麦蛋白和淀粉的分离提取及性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- WANG F. Study on the extraction and properties of quinoa protein and starch [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018. (in Chinese)
- [12] YAN S, LI Q Q, XUE X F, WANG K, ZHAO L W, WU L M. Analysis of improved nutritional composition of bee pollen (*Brassica campestris* L.) after different fermentation treatments. *International Journal of Food Science & Technology*, 2019, 54(6): 2169-2181.
- [13] LI Q Q, LIANG X W, ZHAO L, ZHANG Z Y, XUE X F, WANG K, WU L M. UPLC-Q-Exactive orbitrap/MS-based lipidomics approach to characterize lipid extracts from bee pollen and their *in vitro* anti-inflammatory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(32): 6848-6860.
- [14] 延莎, 毛晓慧, 杨莉榕, 张金叶, 冯翠萍, 王晓闻. 不同蒸煮方式对藜麦营养特性及风味的影响. 中国粮油学报, 2018, 33(4): 20-26.
- YAN S, MAO X H, YANG L R, ZHANG J Y, FENG C P, WANG X W. Effects of different cooking methods on nutritional properties and flavor of quinoa. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2018, 33(4): 20-26. (in Chinese)
- [15] TANG Y, TSAO R. Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, anti-inflammatory and potential health beneficial effects: A review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2017, 61(7): 1-16.
- [16] KLEMENT J T, CASSENS R G, FENNEMA O R. The association of protein solubility with physical properties in a fermented sausage. *Journal of Food Science*, 2010, 38(7): 1128-1131.
- [17] 韦友兵, 吴香, 周辉, 李新福, 李聪, 徐宝才. 萨拉米香肠发酵成熟过程中蛋白质水解及脂质氧化规律的研究. 食品科学, 2019, 40(20): 67-73.
- WEI Y B, WU X, ZHOU H, LI X F, LI C, XU B C. Protein hydrolysis and lipid oxidation during Salami fermentation and ripening. *Food Science*, 2019, 40(20): 67-73. (in Chinese)
- [18] 王金水, 杨森, 贾峰, 周晓配, 冯景丽. 酸面团发酵过程中蛋白质分解及多肽形成的变化规律. 现代食品科技, 2015, 31(10): 69-73.
- WANG J S, YANG S, JIA F, ZHOU X P, FENG J L. Patterns of protein degradation and peptide formation during sourdough fermentation. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(10): 69-73. (in Chinese)

- [19] SIEUWERTS S, BRON P A, SMID E J. Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 90: 201-206.
- [20] GÄNZLE M G. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 2014, 37(2): 2-10.
- [21] GOBBETTI M, DE ANGELIS M, CORSETTI A, DI CAGNO R. Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 2005, 16(1): 57-69.
- [22] GÄNZLE M G, VERMEULEN N, VOGEL R F. Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food Microbiology*, 2007, 24(2): 128-138.
- [23] HOLE A S, RUD I, GRIMMER S, SIGL S, NARVHUS J, SAHLSTROM S. Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(25): 6369-6375.
- [24] VERMEULEN N, GÄNZLE M G, VOGEL R F. Influence of peptide supply and cosubstrates on phenylalanine metabolism of *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM20451(T) and *Lactobacillus plantarum* TMW1.468. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2006, 54 (11): 3832-3839.
- [25] DE ANGELIS M, MARIOTTI L, ROSSI J, SERVILI M, FOX P F, ROLLAN G, GOBBETTI M. Arginine catabolism by sourdough lactic acid bacteria: Purification and characterization of the arginine deiminase pathway enzymes from *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(12): 6193-6201.
- [26] HANSEN A, SCHIEBERLE P. Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: Applied and fundamental aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 2005, 16(1): 85-94.
- [27] HINZ C, LIGGI S, GRIFFIN J L. The potential of Ion Mobility Mass Spectrometry for high-throughput and high-resolution lipidomics. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2018, 42: 42-50.
- [28] MAY J C, GOODWIN C R, LAREAU N M, LEAPOTROT K L, MORRIS C B, KURULUGAMA R T, MORDEHAI A, KLEINI C, BARRY W, DARLAND E, OVERNEY G, IMATANI K, STAFFORD G, FJELDSTED J C, MCLEAN J J. Conformational ordering of biomolecules in the gas phase: Nitrogen collision cross sections measured on a prototype high resolution drift tube ion mobility-mass spectrometer. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(4): 2107-2116.
- [29] STOW S M, CAUSON T J, ZHENG X, KURULUGAMA R T, MAIRINGER T, MAY J C, RENNIE E E, BAKER E S, SMITH R D, MCLEAN J A, HANN S, FJELDSTED J C. An interlaboratory evaluation of Drift Tube Ion Mobility - Mass Spectrometry Collision Cross Section Measurements. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(17): 9048-9055.
- [30] JANSSEN F, WOUTERS A G B, PAREYT B, GERITS L R, DELCOUR J A, WAELEKENS E, DERUA R. Wheat (*Triticum aestivum* L.) lipid species distribution in the different stages of straight dough bread making. *Food Research International*, 2018, 112: 299-311.
- [31] EI-SEBAIY L A, METWALLI S M. Changes in some chemical characteristics and lipid composition of salted fermented Bouri Fish muscle (*Mugil cephalus*). *Food Chemistry*, 1989, 31(1): 41-50.
- [32] VISESSANGUAN W, BENJAKUL S, RIEBROY S, YARCHAI M, TAPINGKAE W. Changes in lipid composition and fatty acid profile of Nham, a Thai fermented pork sausage, during fermentation. *Food Chemistry*, 2006, 94(4): 580-588.
- [33] 梁言, 陈中, 刘秉杰. 三株乳杆菌发酵籼米粉浆及其产酶特性. 食品科学, 2019. doi:10.7506/spkx1002-6630-20190515-168.
- LIANG Y, CHEN Z, LIU B J. Preliminary study on the fermentation of indica rice flour slurry by three strains of lactobacillus and its amylase production. *Food Science*, 2019. doi:10.7506/spkx1002-6630-20190515-168. (in Chinese)
- [34] NUMFOR F A, WALTER W M, SCHWARTZ S J. Physicochemical changes in cassava starch and flour associated with fermentation: Effect on textural properties. *Starch-Starke*, 1995, 47: 86-91.

(责任编辑 赵伶俐)