

生物工程

DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.2021.02.019

生物转化共轭亚油酸乳杆菌的筛选

夏嘉祎, 王 欣, 陈科学, 沈慧敏, 嵇熠彬, 张 瀚, 杨 波, 陈 卫

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要:以选定的乳杆菌为对象,系统性地探究其生物转化共轭亚油酸(CLA)的规律,并筛选得到高产菌株。首先用酶标仪快速检测法,对5个种属76株乳杆菌生物转化CLA的能力进行了分析,然后利用GC-MS进一步分析高产菌株生物转化CLA产物异构体组成。结果显示:植物乳杆菌大部分可生物转化CLA,但菌株间转化能力存在较大差异;副干酪乳杆菌、干酪乳杆菌和卷曲乳杆菌普遍具备生物转化CLA的能力,但转化能力不高;唾液乳杆菌普遍不具备生物转化CLA的能力。筛选得到3株高产菌株,其中植物乳杆菌CCFM241 CLA的转化能力最高,CLA转化率为16.35%,转化产物存在3种CLA异构体,以t9,t11-CLA为主。

关键词:共轭亚油酸;乳杆菌;酶标仪;气相色谱质谱联用

中图分类号:TQ641; Q936 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)02-0102-05

Screening of *Lactobacillus* with high conjugated linoleic acid production capacity

XIA Jiayi, WANG Xin, CHEN Kexue, SHEN Huimin, JI Yibin,
ZHANG Hao, YANG Bo, CHEN Wei

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: Taking selected *Lactobacillus* as the object, the law of its biotransformation of conjugated linoleic acid (CLA) were systematically explored, and high - yield strains were screened. The biotransformation ability of 76 strains of *Lactobacillus* from 5 species to CLA were analyzed by enzyme - labeled instrument, then the isomer composition of CLA obtained by high - yield strains was analyzed by GC - MS. The results showed that most of *Lactobacillus plantarum* could biotransform to CLA linoleic acid, but there were great differences among strains. *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus crispatus* generally had the biotransformation ability to CLA, but the transformation ability was not high. *Lactobacillus salivarius* generally did not have the ability to biotransform to CLA. In addition, three strains with high - yield CLA were screened, among which *Lactobacillus plantarum* CCFM241 had the highest transformation ability, with a conversion rate of 16.35%, and there were three CLA isomers in the converted products, mainly was t9,t11-CLA.

Key words: conjugated linoleic acid; *Lactobacillus*; enzyme - labeled instrument; gas chromatography - mass spectrometry

共轭亚油酸(CLA)具有抗癌、预防心血管疾病、增强免疫、抗糖尿病等多种生理功能,对人体健康具

收稿日期:2020-03-19;修回日期:2020-09-14

基金项目:国家自然科学基金项目(31801521);江苏高校品牌专业建设工程项目建设工程项目(PPZY2015A052)

作者简介:夏嘉祎(1999),男,在读本科,专业为食品科学与工程(E-mail)1164252662@qq.com。

通信作者:杨波,副研究员,硕士生导师(E-mail)bo.yang@jiangnan.edu.cn。

有积极作用^[1-2],已成为医学、化学、营养学等领域的研究热点。CLA是含有共轭双键的十八碳二烯酸的总称,由亚油酸(LA)衍生所得,是亚油酸的几何异构体,其中最主要的两种异构体是c9,t11-CLA和t10,c12-CLA^[3]。

CLA主要来源于反刍动物脂肪和牛奶产品,乳制品和肉制品是日常生活中摄入CLA的主要来源^[4]。目前,CLA主要通过对富含亚油酸的植物油进行碱性异构化获得,所得产物为多种CLA异构体

的混合物,且还含有大量的杂环产物,其分离与提纯均比较困难^[5]。而微生物具有利用亚油酸底物转化生产 CLA 的能力,其中乳酸菌因其转化率高、安全性高而具有一定优势^[6-7]。因此,运用生物合成的方法生产 CLA 较化学合成法而言更具积极意义。

通过综合考虑文献^[8-9]报道的可产 CLA 的菌株及本实验室的菌种资源,本文以植物乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌、卷曲乳杆菌和唾液乳杆菌 5 个种属共 76 株菌株作为实验对象,系统性地评估这 5 个种属乳杆菌生物转化 CLA 的规律,并筛选获得具有高产 CLA 能力的菌株。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验菌种、培养基及原料

植物乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌、卷曲乳杆菌和唾液乳杆菌,由江南大学食品生物技术中心菌种库保存。

mMRS 液体培养基:蛋白胨(10 g),牛肉膏(10 g),酵母粉(5 g),无水葡萄糖(20 g),无水乙酸钠(2 g), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.5 g), $MnSO_4 \cdot H_2O$ (0.25 g),柠檬酸氢二铵(2 g), $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ (2.6 g),水(1 L),吐温 80(1 mL),L-半胱氨酸盐酸盐(1 g),pH 6.5。

mMRS 固体培养基:在 mMRS 液体培养基中添加 2% 琼脂。

亚油酸(LA),Nu-Chek 公司;共轭亚油酸(CLA)、十七烷酸(C17:0)标准品,Sigma 公司。

1.1.2 仪器与设备

Multiscan GO1510 全波长酶标仪, Thermo Fisher; Sorvall Legend Micro 17 微型离心机; Thermo 超低温冰箱; 西门子 BCD-610W 双开门冰箱; QGC-24T 氮吹仪, 上海精密仪器仪表有限公司; Zealway GDZC-2014-0163 全自动灭菌锅; Airtech SW-CJ-1FD 超净工作台; MS 3 basic 旋涡振荡混合器, 德国 IKA 公司; 岛津 GCMS-QP2010Mltra 气相色谱质谱联用仪; Don Whitley Scientific DG250 灭氧工作站。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株活化

用接种环从乳杆菌保藏试管取菌株划线于 mMRS 固体培养基,在隔水式恒温培养箱中 37℃ 培养 48 h;挑取单菌落接种至含 5 mL mMRS 液体培养基的试管中,37℃ 培养 48 h;然后按 1% 接种量转接于含 5 mL mMRS 液体培养基的试管中,37℃ 培养 24 h。

1.2.2 亚油酸母液的配制

称取 300 mg 亚油酸和 200 mg 吐温 80 溶于水并定容至 10 mL,充分搅拌乳化后,经 0.22 μm 无菌滤膜过滤除菌后于 -20℃ 避光保存。

1.2.3 菌株发酵培养

吸取 1.2.1 中活化好的菌液按 2% 接种量接种至含 48 μL 亚油酸母液的 3 mL mMRS 液体培养基的试管中,并于恒温培养箱中 37℃ 培养 48 h;同时以添加 48 μL 亚油酸母液的 3 mL mMRS 液体培养基为阴性空白对照^[10]。

1.2.4 酶标仪快速检测 CLA 含量

利用 CLA 的紫外特征吸收波长在 233~234 nm 之间,而在此范围内亚油酸几乎没有被吸收,采用全波长酶标仪快速检测发酵液中 CLA 含量^[11]。

1.2.4.1 标准曲线绘制

CLA 系列标准工作溶液配制:称取 300 mg CLA 标准品和 200 mg 吐温 80 溶于水并定容至 10 mL,充分搅拌乳化后,经 0.45 μm 无菌滤膜过滤除菌后获得 30 mg/mL 的 CLA 标准储备液,于 -20℃ 避光保存。分别取 50、40、30、20、10、8、7、6、5、4、3、2、1 μL CLA 标准储备液于 3 mL mMRS 培养基中,充分振荡 30 s 混匀,得到 CLA 系列标准工作溶液。

酶标仪法快速检测:取 1 mL 标准工作溶液至干净 EP 管,加入 1 mL 异丙醇、2 mL 正己烷,充分振荡 30 s,再静置 2 min;阴性对照样品同样处理。吸取所得有机层至 96 孔板,每个孔 300 μL,每个样品做 2 个平行,测定 233 nm 下的吸光值。以 CLA 质量浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.4.2 样品检测与计算

取 1.2.3 中的发酵液 1 mL,按 1.2.4.1 酶标仪法快速检测在 233 nm 下的吸光值,然后根据 CLA 标准曲线计算 CLA 含量,并按式(1)计算转化率。

$$Y = C_1 / 0.48 \times 100\% \quad (1)$$

式中: C_1 为待测物中 CLA 含量,mg/mL;0.48 为原发酵液中亚油酸的质量浓度,mg/mL; Y 为 CLA 转化率。

1.2.5 GC-MS 测定 CLA 异构体组成

1.2.5.1 脂肪酸提取及甲酯化

向 1 mL 发酵液中添加 1 mL 异丙醇,再添加 2 mL 正己烷,充分振荡 30 s。吸取正己烷层至干净提脂瓶中,氮气吹干,然后加入 1 mL 10% 的盐酸甲醇溶液,充分振荡混匀后于 60℃ 水浴 3 h,每 30 min 振荡 30 s。用 1 mL 正己烷回溶,转移至气相瓶中,待 GC-MS 分析^[12]。

1.2.5.2 GC-MS 检测条件

GC 条件: Rtx-wax 色谱柱 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$); 进样器温度 240°C ; 检测器温度 240°C ; 升温程序为初始 170°C , 保持 3 min , 以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 190°C , 保持 3 min , 后以 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 220°C , 保持 1 min , 以 $2^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 230°C , 保持 18 min ; 载气为氦气; 分流进样, 分流比 $10:1$; 进样量 $1\text{ }\mu\text{L}$ 。

MS 条件: 离子源温度 220°C , 电子能量 70 eV ^[13]。

2 结果与讨论

2.1 酶标仪法检测 CLA 的标准曲线

按 1.2.4 的方法可以得到酶标仪法测定 CLA 含量时 CLA 质量浓度 - 吸光值的对应关系。该对应关系的线性范围为 $0.01 \sim 0.08\text{ mg/mL}$, 当 CLA 质量浓度大于 0.08 mg/mL 时, 对应关系不再为线性, 故不列入标准方程的计算。CLA 质量浓度 - 吸光值标准曲线如图 1 所示。由图 1 可见, 当 CLA 的质量浓度在 $0.01 \sim 0.08\text{ mg/mL}$ 时, 标准曲线方程为 $y = 23.6450x + 0.8437 (R^2 = 0.9938)$ 。当 CLA 的质量浓度在 $0.01 \sim 0.08\text{ mg/mL}$ 时, 吸光值的范

围在 $1.080 \sim 2.735$; 当 CLA 的质量浓度小于 0.01 mg/mL , 吸光值小于 1.080 ; 当吸光值大于 2.735 时, 尽管无法准确计算 CLA 的质量浓度, 但可确认 CLA 质量浓度大于 0.08 mg/mL 。

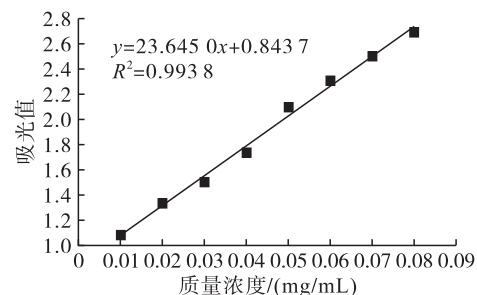


图 1 CLA 质量浓度 - 吸光值的标准曲线

2.2 酶标仪法分析乳杆菌生物转化 CLA 能力

Coakley 等^[14]发现游离脂肪酸对某些菌株的生长有抑制作用, 而本实验所涉及的几个菌株在含有亚油酸的培养基中生长良好, 并未出现受游离脂肪酸抑制而不生长的情况。76 株乳杆菌菌株发酵液酶标仪法测定的吸光值, 以及根据 CLA 标准曲线计算的 CLA 含量、CLA 转化率见表 1。

表 1 乳杆菌发酵液的吸光值、CLA 含量及 CLA 转化率

菌株	吸光值	CLA 含量/ (mg/mL)	CLA 转化率/%	菌株	吸光值	CLA 含量/ (mg/mL)	CLA 转化率/%
植物乳杆菌 CCFM241	2.699 ± 0.085	0.0785	16.35	植物乳杆菌 CCFM169	1.427 ± 0.024	0.0247	5.15
植物乳杆菌 CCFM164	2.368 ± 0.058	0.0645	13.44	植物乳杆菌 CCFM47	1.650 ± 0.027	0.0341	7.10
植物乳杆菌 CCFM307	2.356 ± 0.198	0.0640	13.33	植物乳杆菌 CCFM190	0.902 ± 0.052	<0.0100	
植物乳杆菌 CCFM163	1.509 ± 0.101	0.0281	5.85	植物乳杆菌 CCFM179	1.425 ± 0.110	0.0246	5.13
植物乳杆菌 CCFM231	1.203 ± 0.085	0.0152	3.17	植物乳杆菌 CCFM187	1.334 ± 0.069	0.0207	4.31
植物乳杆菌 CCFM232	1.303 ± 0.176	0.0194	4.04	植物乳杆菌 12.2a4	1.697 ± 0.019	0.0361	7.52
植物乳杆菌 CCFM309	1.486 ± 0.124	0.0272	5.67	植物乳杆菌 FGDLZ7M3	1.390 ± 0.113	0.0231	4.81
植物乳杆菌 CCFM201	1.229 ± 0.075	0.0163	3.40	植物乳杆菌 FSCPS8-4	0.950 ± 0.057	<0.0100	
植物乳杆菌 CCFM174	1.156 ± 0.091	0.0132	2.75	植物乳杆菌 FXJJC17M1	1.441 ± 0.192	0.0253	5.27
植物乳杆菌 CCFM194	0.808 ± 0.046	<0.0100		副干酪乳杆菌 15m11	1.420 ± 0.098	0.0244	5.08
植物乳杆菌 CCFM191	0.827 ± 0.033	<0.0100		副干酪乳杆菌 LC3	1.684 ± 0.071	0.0355	7.40
植物乳杆菌 CCFM185	1.074 ± 0.116	<0.0100		副干酪乳杆菌 DQHXRQ38M3	1.970 ± 0.538	0.0476	9.92
植物乳杆菌 CCFM177	0.501 ± 0.051	<0.0100		副干酪乳杆菌 DNMHLBE-3-L1	1.654 ± 0.078	0.0343	7.15
植物乳杆菌 CCFM168	1.059 ± 0.181	<0.0100		副干酪乳杆菌 LC2	1.566 ± 0.143	0.0305	6.35
植物乳杆菌 CCFM178	0.879 ± 0.0131	<0.0100		副干酪乳杆菌 MZD6FU1L423	1.618 ± 0.097	0.0327	6.81
植物乳杆菌 CCFM189	0.866 ± 0.266	<0.0100		副干酪乳杆菌 DNMHLBE-5-L10	1.858 ± 0.089	0.0429	8.94
植物乳杆菌 CCFM225	1.105 ± 0.260	0.0111	2.31	副干酪乳杆菌 PS5-4	1.681 ± 0.098	0.0354	7.38
植物乳杆菌 CCFM193	1.138 ± 0.058	0.0124	2.60	副干酪乳杆菌 HN13-1	1.689 ± 0.091	0.0357	7.44
植物乳杆菌 CCFM196	1.037 ± 0.273	<0.0100		副干酪乳杆菌 FJSSZ3L1	1.454 ± 0.091	0.0258	5.38
植物乳杆菌 CCFM259	0.968 ± 0.181	<0.0100		副干酪乳杆菌 JSWX3L3	1.635 ± 0.102	0.0335	6.98
植物乳杆菌 CCFM308	1.130 ± 0.039	0.0121	2.52	副干酪乳杆菌 RS24-1	1.492 ± 0.089	0.0274	5.71
植物乳杆菌 CCFM171	1.021 ± 0.328	<0.0100		副干酪乳杆菌 FFJND15-L2	1.633 ± 0.079	0.0334	6.96
植物乳杆菌 CCFM167	0.929 ± 0.107	<0.0100		副干酪乳杆菌 CQ-BS-2-1	1.518 ± 0.107	0.0285	5.94
植物乳杆菌 CCFM235	1.011 ± 0.017	<0.0100		卷曲乳杆菌 FHNFQ15-L11	1.145 ± 0.095	0.0127	2.65

续表 1

菌株	吸光值	CLA 含量/ (mg/mL)	CLA 转化率/%	菌株	吸光值	CLA 含量/ (mg/mL)	CLA 转化率/%
卷曲乳杆菌 FHNFQ45-L4	1.656 ± 0.173	0.034 4	7.17	唾液乳杆菌 FGSYC47M10	0.858 ± 0.080	<0.010 0	
卷曲乳杆菌 FHNXY70M14	1.481 ± 0.090	0.027 0	5.63	唾液乳杆菌 FXJKS17M7	0.896 ± 0.066	<0.010 0	
卷曲乳杆菌 FHNXY73M2	1.389 ± 0.140	0.023 1	4.81	唾液乳杆菌 FXJKS25M8	0.915 ± 0.056	<0.010 0	
卷曲乳杆菌 FHNFQ37L2	1.305 ± 0.124	0.019 5	4.06	唾液乳杆菌 FXJSW20M4	0.991 ± 0.064	<0.010 0	
卷曲乳杆菌 FHNFQ29L3	1.343 ± 0.051	0.021 1	4.40	唾液乳杆菌 FZJTZ1M1	0.948 ± 0.029	<0.010 0	
卷曲乳杆菌 FHNXY45L1	1.326 ± 0.181	0.020 4	4.25	唾液乳杆菌 FXJWS6M4	0.845 ± 0.043	<0.010 0	
卷曲乳杆菌 FHNXY64M2	1.744 ± 0.121	0.038 1	7.94	唾液乳杆菌 FJSWX10-2	1.046 ± 0.041	<0.010 0	
卷曲乳杆菌 FHNFQ56M4	1.501 ± 0.132	0.027 8	5.79	干酪乳杆菌 LC38	1.457 ± 0.187	0.025 9	5.40
卷曲乳杆菌 FHNXY35M5	1.332 ± 0.062	0.020 7	4.31	干酪乳杆菌 M2-06-F01-L4-2-3	1.578 ± 0.114	0.031 1	6.48
卷曲乳杆菌 FHNXY56M7	1.137 ± 0.057	0.012 4	2.58	干酪乳杆菌 DP1-1	1.517 ± 0.079	0.028 5	5.94
卷曲乳杆菌 FAHXC2L1	1.225 ± 0.109	0.016 1	3.35	干酪乳杆菌 CQYY1M8	1.404 ± 0.069	0.023 7	4.94
唾液乳杆菌 FXJCJ23M1	0.838 ± 0.063	<0.010 0		干酪乳杆菌 DQHQNQ19M20	1.796 ± 0.141	0.040 3	8.40
唾液乳杆菌 FGSYC2M4	0.975 ± 0.060	<0.010 0		干酪乳杆菌 17005	1.487 ± 0.140	0.027 2	5.67
唾液乳杆菌 FXJCJ21M6	0.942 ± 0.042	<0.010 0		干酪乳杆菌 DL4-9	1.061 ± 0.220	<0.010 0	

注: 阴性对照组的吸光值为 0.583。

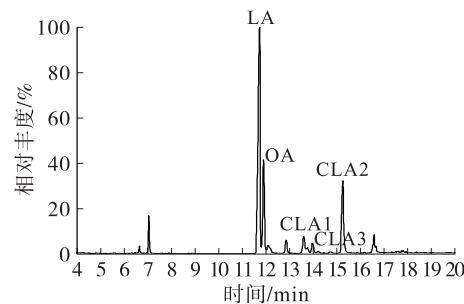
由表 1 可知, 乳杆菌总体的 CLA 转化率不高, 基本都在 20% 以下, 且不同种属的乳杆菌转化 CLA 的能力存在差异。副干酪乳杆菌、干酪乳杆菌和卷曲乳杆菌种属菌株具备生物转化 CLA 的能力, 但转化能力均不高, CLA 转化率均低于 10%, 其中副干酪乳杆菌种属转化能力(转化率 5% ~ 10%)总体略高于干酪乳杆菌和卷曲乳杆菌, 具备一定的种属间规律性。绝大部分唾液乳杆菌发酵液的吸光值都低于 1.0, 其转化 CLA 的能力非常低, 可近似忽略。植物乳杆菌种属发酵液的吸光值在不同菌株之间差距较大, 具有明显的菌株特异性, 且在植物乳杆菌种属中筛选获得 3 株高产菌株, 分别为植物乳杆菌 CCFM241、植物乳杆菌 CCFM164 和植物乳杆菌 CCFM307, 其中转化率最高的为植物乳杆菌 CCFM241, CLA 转化率为 16.35%。

2.3 GC-MS 分析 CLA 产物异构体组成

为进一步分析高产菌株转化所得 CLA 异构体情况, 将所得转化率最高的植物乳杆菌 CCFM241 菌株的发酵液分别进行脂肪酸提取和 GC-MS 检测, GC-MS 检测结果见图 2。由图 2 可见, 发酵液中共检出 *c9,t11*-CLA(CLA1)、*t9,t11*-CLA(CLA2) 和 *t10,c12*-CLA(CLA3)3 个峰。

根据已有文献^[15-17]报道, *c9,t11*-CLA 和 *t10,c12*-CLA 是最具生理活性的 CLA 异构体, 周凌华等^[18]筛选所得的植物乳杆菌 ZS2058 转化结果即以 *c9,t11*-CLA 为主。本实验 GC-MS 检测结果显示, 植物乳杆菌 CCFM241 所产的 CLA 存在 3 种异构体, 即 *c9,t11*-CLA(CLA1)、*t9,t11*-CLA(CLA2)

(CLA2) 和 *t10,c12*-CLA(CLA3), 其中 *t9,t11*-CLA 占主导, 这与 Kishino 等^[19]筛选所得的植物乳杆菌 AKU1009a 转化结果一致。而 Lee 等^[20]发现罗伊氏乳杆菌转化得到的产物中还含有 *c10,t12*-CLA。张亚刚等^[17]认为大多数反应原料中亚油酸 9, 12 位的双键均为顺式, 即为 *c9,c12*-LA, 所以通常 *c9,t11*-CLA 和 *t10,c12*-CLA 是含量最多的 2 种产物。由于 *t,t*-CLA 的能量相对其他异构体比较低, 升高温度、延长反应时间, 提供了越过构型转化能垒所需要的能量, *t,t*-CLA 的含量会增加。因此, 本实验中 *t9,t11*-CLA 占主导的结果可能是因为培养条件所致, 可尝试通过优化发酵条件起到降低 *t9,t11*-CLA 含量的目的。



注: CLA1 为 *c9,t11*-CLA, CLA2 为 *t9,t11*-CLA, CLA3 为 *t10,c12*-CLA, OA 为油酸。

图 2 CCFM241 在含有亚油酸的培养基中生长后发酵液脂肪酸组成

3 结 论

本实验利用酶标仪快速检测法和 GC-MS 检测法, 对 76 株乳杆菌转化 CLA 的能力进行了评估, 结果发现, 植物乳杆菌种属内不同菌种转化 CLA 的能

力存在较大差异,副干酪乳杆菌、卷曲乳杆菌、干酪乳杆菌3种乳杆菌普遍具有转化CLA的能力,但均不具备高产能力,唾液乳杆菌普遍不具备生物转化CLA的能力。同时,本实验共筛选获得3株高产CLA的植物乳杆菌,可应用在后续的相关研究中。

参考文献:

- [1] PARK Y. Conjugated linoleic acid (CLA): good or bad trans fat? [J]. J Food Compos Anal, 2010, 22(6): S4 – S12.
- [2] YANG B, CHEN H, STANTON C, et al. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease[J]. J Funct Food, 2015, 15:314 – 325.
- [3] 冯有胜, 丁红梅. 共轭亚油酸的结构与性质[J]. 中国粮油学报, 2005, 20(5):93 – 97.
- [4] 王丽芳, 卢德勋, 马燕芬. 共轭亚油酸的来源及其生物学作用[J]. 畜牧与饲料科学, 2011(9):13 – 15.
- [5] 吴祖芳, 石清花, 翁佩芳. 生物转化法生产共轭亚油酸及其研究进展[J]. 中国粮油学报, 2005, 20(6): 84 – 87.
- [6] OGAWA J, MATSUMURA K, KISHINO S, et al. Conjugated linoleic acid accumulation via 10 – hydroxy – 12 octadecaenoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*[J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(3):1246 – 1252.
- [7] ALONSO L, CUESTA E P, GILLILAND S E. Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin[J]. J Dairy Sci, 2003, 86(6):1941 – 1946.
- [8] YANG B, GAO H, STANTON C, et al. Bacterial conjugated linoleic acid production and their applications [J]. Prog Lipid Res, 2017, 68:26 – 36.
- [9] YANG B, CHEN H, GU Z, et al. Synthesis of conjugated linoleic acid by the linoleate isomerase complex in food – derived *Lactobacilli*[J]. J Appl Microbiol, 2014, 117(2): 430 – 439.
- [10] 杨波. 乳酸菌生物转化共轭亚油酸的研究[D]. 江苏无锡: 江南大学, 2014.
- [11] BARRETT E, ROSS R P, FITZGERALD G F, et al. Rapid screening method for analyzing the conjugated linoleic acid production capabilities of bacterial cultures [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73 (7):2333 – 2337.
- [12] 杨波, 陈海琴, 刘李至, 等. 生物转化共轭亚麻酸乳酸菌的快速筛选[J]. 中国油脂, 2016, 41(10):44 – 47.
- [13] GAO H, YANG B, STANTON C, et al. Characteristics of bifidobacterial conjugated fatty acid and hydroxy fatty acid production and its potential application in fermented milk [J/OL]. LWT – Food Sci Technol, 2020, 120:108940 [2020 – 03 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108940>.
- [14] COAKLEY M, ROSS R P, NORDGREN M, et al. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human – derived *Bifidobacterium* species[J]. J Appl Microbiol, 2003, 94 (1):138 – 145.
- [15] 熊文珂, 蒋瑜, 黄昕烟, 等. 共轭亚油酸异构体生理功能的差异[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(11):8 – 11.
- [16] 衣丹, 林学政, 沈继红, 等. 酶法分离共轭亚油酸两种主要异构体的工业生产研究[J]. 食品科技, 2011, 36 (8):12 – 16.
- [17] 张亚刚, 吾满江·艾力, 文彬. 共轭亚油酸几何异构体的形成机制[J]. 新疆大学学报(自然科学版), 2003, 20(4):386 – 389.
- [18] 周凌华, 张灏, 陈卫, 等. 生物合成共轭亚油酸菌种的筛选与鉴定[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(5): 53 – 57.
- [19] KISHINO S, OGAWA J, OMURA Y, et al. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria[J]. J Am Oil Chem Soc, 2002, 79 (2):159 – 163.
- [20] LEE S O, KIM C S, CHO S K, et al. Bioconversion of linoleic acid into conjugated linoleic acid during fermentation and by washed cells of *Lactobacillus reuteri* [J]. Biotechnol Lett, 2003, 25:935 – 938.

· 公益广告 ·



节能减排，提质增效！

《中国油脂》宣