

全细胞脂肪酸气相色谱法 鉴别乳杆菌和明串珠菌

陈锡贵

王荣民

顾以林

沈国惠

汤丹剑

(食品科学与工程系)

摘要 运用气相色谱—质谱联用技术对6种乳杆菌(14株)和3种明串珠菌(3株)进行全细胞脂肪酸组成分析。根据细胞脂肪酸组成和特征峰的峰形可以把测试菌株分为5群。用这方法9株中只有3株的菌种得到鉴别。而用微机对脂肪酸组成进行聚类分析,可使除干酪乳杆菌1042(不典型菌株)和阿拉伯聚糖乳杆菌以外的所有测试菌株均能鉴别到种的水平。

关键词 全细胞脂肪酸; 乳杆菌; 明串珠菌; 聚类分析

0 前言

气相色谱技术应用于微生物的鉴定和分类起始于60年代初, Abel等首先借气相色谱分析细菌细胞脂肪酸的组分进行细菌鉴定、分类的研究^[1]。1964年Yamakawa等用气相色谱分析奈瑟氏菌的脂肪酸组分进行菌种的鉴别^[2]。1967年Moss等对梭状芽孢杆菌属中一些菌种的细胞脂肪酸甲酯色谱图进行比较分析,发现菌种之间有不同程度的差异性,可供鉴别^[3]。其后,这种分析技术应用于假单胞菌、分枝杆菌、链球菌、芽孢杆菌以及梭形杆菌等不同属的菌种鉴定研究的报道日益增多^[4~8]。在真菌方面,有人利用酵母细胞脂肪酸成分的差异,将酿造工业中常用的29个菌种包括69株酵母菌进行鉴别、分类。其鉴别的有效程度可以达到种的水平,有的甚至可以到株的水平^[9,10]。

我国在这方面的研究起步较晚,1987年才见到周方等用细胞脂肪酸气相色谱图鉴别一些芽孢杆菌、马鼻疽杆菌、布鲁氏杆菌、弧菌以及莫拉氏菌和军团杆菌的研究报道^[11,12]。

鉴于酸乳制品生产实践中,在筛选诸多发酵生产菌种时,都要通过分离、鉴定而后选取。但在鉴定菌种过程中,按照传统鉴定方法步骤较烦。因此,作者设想也借助色谱技术来简化步骤。于是选取了乳杆菌属(*Lactobacillus*)和明串珠菌属(*Leuconostoc*)的部分乳酸菌菌种为研试对象,采用气相色谱和气相色谱—质谱联用技术,进行菌种细胞脂肪酸组成分析,找出它们色谱图上脂肪酸的组成在质上的差异,及其某些色谱峰形的特点,作为菌种鉴别、分

收稿日期:1992-06-24

类的依据,并用电子计算机进行菌种细胞脂肪酸组成聚类分析,对菌种鉴别、分类作了初步探讨。

1 材料和方法

1.1 供试菌种

供试菌种 17 株,见表 1。其中乳杆菌属有 14 株(包括 6 个不同的种),明串珠菌属有 3 株(包括 3 个不同的种)。以上菌种均为经过传统方法初步鉴定至种的实验室收藏菌种。

1.2 菌体培养富集

把各试验菌株分别涂布于 MRS 琼脂平板上^[13]进行厌氧培养,培养温度采用各菌种的最适生长温度,培养 48h 后,以适量无菌生理盐水洗下平板上增殖的菌苔。把收集的菌液离心沉淀,重复洗涤 3 次。收集后的沉淀菌体贮存于-20℃冰箱中备用。

表 1 供试菌种一览表

菌种	菌株编号	株数	
嗜酸乳杆菌	(<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	1),2),3)	3
保加利亚乳杆菌	(<i>Lactobacillus bulgaricus</i>)	1),2),3),4)	4
短乳杆菌	(<i>Lactobacillus brevis</i>)	1),2)	2
干酪乳杆菌	(<i>Lactobacillus casei</i>)	1),LXI,1042	3
阿拉伯聚糖乳杆菌	(<i>Lactobacillus arabinosus</i>)		1
发酵乳杆菌	(<i>Lactobacillus fermentum</i>)		1
蚀橙明串珠菌	(<i>Lactobocillus citrovorum</i>)		1
肠膜状明串珠菌	(<i>Lectobocillus mesenterodies</i>)		1
戊糖明串珠菌	(<i>Lectobocillus destranicus</i>)		1

1.3 全细胞脂肪酸甲酯化样品的制备

称取 10g 纯菌体,置于具磨口圆底烧瓶中,加 5% 氢氧化钠甲醇溶液 10ml,在 100℃ 下,回流反应冷却至室温后,用 1:4 三氯甲烷-己烷抽取皂化液,去除有机杂质。在水相,用盐酸调节 pH 至 2,用无水硫酸钠饱和,再用 1:4 三氯甲烷-己烷抽取脂肪酸。

在抽提液中,加入 25ml 12.5% 三氟化硼甲醇溶液,在 85℃ 下回流 8min。将制备成的脂肪酸甲酯溶液移入已装有 10ml 饱和氯化钠溶液的分液漏斗中,静置、分层。将有机相浓缩至 40μl,并用无菌安培瓶密封,在-20℃ 下冷藏,待测。

用标准脂肪酸和三氟化硼醇溶液在 85℃ 下回流制备标准脂肪酸甲酯样品。

1.4 菌体全细胞脂肪酸甲酯化样品色谱检测

1.4.1 气相色谱操作条件 仪器 HP5880A 气相色谱仪,氢火焰离子化鉴定器。

色谱柱 交联甲基硅酮石英玻璃高效毛细管柱,柱长 12m(美国 Hewlett-packard 公司出品)。

柱温 初温 110℃ 以 4℃/min 升至 190℃,再以 2℃/min 升至 250℃ 保持 10min。

汽化温度 200℃

鉴定器温度 300℃

载气 高纯氮,流量 0.88ml/min,氢气流量 30ml/min,氧气流量 120ml/min,分流比 1/50,尾吹氮气 21.6ml/min,进样量 0.8~1.2 μ l.

分析结果由 Hewett-Packard 3390A 电子积分仪同步打印出百分峰高和峰面积结果。

1.4.2 脂肪酸甲酯定性 采用脂肪酸甲酯标样,色谱峰保留温度及气-质(GC-MS)联用三种方法,对菌体全细胞脂肪酸甲酯进行定性。在定性时,以十四碳脂肪酸甲酯为基准,计算各种脂肪酸甲酯的相对保留时间,以此作为定性依据。

气-质联用鉴定时,使用 Finnigan-Mat 4610 质谱仪,电子轰击源(EI),倍增器电压 1020V,电子能量 70eV. 色谱条件 DXI 色谱柱柱长 15m;柱温 80 $^{\circ}$ C(2)——180 $^{\circ}$ C/8——200 $^{\circ}$ C(25)/3. 根据色谱图定性。

1.4.3 脂肪酸甲酯定量 采用各种脂肪酸甲酯峰高百分值,作为半定量分析的依据。

1.4.4 乳酸菌菌株鉴别的系统聚类分析法 运用 IBM/PC 微机系统,处理乳酸菌细胞脂肪酸组成的数据,通过系统聚类分析后,同一类菌会聚在同一类群中,根据各乳酸菌菌株在聚类分析图中的聚类位置,就可对菌株进行分类、鉴别。其程序参照文献[19]并进行改进。

2 结果与讨论

2.1 供试乳酸菌的细胞脂肪酸组成

鉴于在乳杆菌属中,十四碳酸的含量比较稳定^[14]。因此用标准样定性时,采用十四碳酸甲酯作为基准物。计算各种脂肪酸甲酯的相对保留时间,作为定性依据。

乳酸菌细胞甲酯化样品,能被检出并经鉴定的脂肪酸甲酯有 15 种。因此其相应的脂肪酸也有如下 15 种,见表 2。

其中 2-十一烷基环丙烷戊酸、2-辛基环丙烷辛酸、2-己基环丙烷癸酸均为环丙烷十九烷酸。环丙烷十九烷酸最早在乳杆菌属的细菌细胞中发现^[15],故又称它为乳杆菌酸,不仅在乳杆菌属的菌种中而且在明串珠菌属的菌种中也可检出。结果明显表明,所测试的乳酸菌,其细胞组成的主要脂肪酸是十六烷酸、十八烯酸、环丙烷十九烷酸、十六烯酸和十四烷酸,(见表 2)。这与文献[14]中记载的乳杆菌属细菌细胞脂肪酸组成是一致的,而有关明串珠菌属的菌种细胞脂肪酸组成还未见报道。

2.2 供试乳酸菌不同菌种的脂肪酸组成的比较及分群

2.2.1 乳酸菌的细胞脂肪酸组成的特点 17 株乳酸菌细胞脂肪酸组成测试结果(见表 2),可发现有 9 种脂肪酸是除了其中的 2-辛基环丙烷辛酸在 3 株嗜酸乳杆菌中未能检出外,其它菌株均能检出,其含量作相对比较,以十六烷酸最高,其次是十八烯酸、环丙烷十九烷酸、十六烯酸,十四烷酸最低。上述细胞脂肪酸质与量的构成,是供试乳酸菌菌种所显示的主要特点。

在乳杆菌属与明串珠菌属的两属之间,关于它们的细胞脂肪酸组成,还难于找出足以提供区分两属菌群的特点。

2.2.2 乳酸菌不同菌种细胞脂肪酸组成的比较 为区分不同菌种,必须找出菌种之间细胞脂肪酸组成有质或量的不同,借此可作为对某些菌种进行分类鉴别的依据。虽然有人曾对多种乳酸菌细胞脂肪酸组成进行分析研究^[15,16],但还未见到用此方法对该两属乳酸菌一起进行分类鉴别的报道。在本实验中,所检出并经鉴定的 15 种脂肪酸中,有 8 种脂肪酸是测试菌

表 2 供试菌株的全细胞脂肪酸组成表

菌 株	10:0	12:0	14:0	15:0	16:1 ^a	16:1 ^b	16:0	Cyclo 17	18:2	18:1 ^a	18:1 ^b	Cyclo 19 ^a	Cyclo 19 ^c	19:1
嗜酸乳杆菌 1)	4.44	0.74	5.02	0.72	9.24	2.32	14.07	3.54	4.81	21.66	8.49	1.28	2.23	—
嗜酸乳杆菌 2)	2.13	0.71	2.62	—	6.00	3.08	17.89	5.38	4.24	15.42	10.73	1.28	2.51	—
嗜酸乳杆菌 3)	0.88	1.41	6.72	0.91	12.19	—	20.34	0.78	7.33	32.42	5.96	1.23	1.72	—
保加利亚乳杆菌 1)	—	2.32	16.54	1.23	3.18	1.22	40.53	0.91	1.52	11.29	4.49	1.97	2.64	2.33
保加利亚乳杆菌 2)	—	0.43	13.13	1.16	3.92	0.68	59.95	—	1.73	6.78	1.75	1.66	2.15	4.98
保加利亚乳杆菌 3)	—	2.61	8.34	0.87	3.63	—	36.61	1.42	1.72	16.07	5.61	1.84	2.69	3.99
保加利亚乳杆菌 4)	—	3.57	3.63	0.86	3.45	1.25	33.70	2.00	3.04	16.53	5.13	1.60	3.53	6.98
短乳杆菌 1)	—	0.83	15.67	1.65	8.56	0.98	34.02	0.05	2.22	4.80	2.69	2.51	4.56	11.97
短乳杆菌 2)	0.11	0.48	7.55	1.02	7.31	1.47	36.68	1.49	1.53	5.10	4.44	2.54	4.79	9.10
干酪乳杆菌 1)	—	—	4.33	0.73	7.98	2.34	34.36	—	0.75	8.39	18.44	1.80	2.61	7.49
干酪乳杆菌 LXI	0.30	—	3.99	0.72	7.59	2.73	32.71	1.36	2.09	7.62	17.45	1.66	3.34	4.53
干酪乳杆菌 1042	0.24	0.23	8.67	0.68	8.67	3.31	24.56	0.80	2.56	5.57	13.03	1.75	2.43	8.30
阿拉伯聚糖乳杆菌	0.77	—	7.23	0.49	12.51	3.03	30.09	0.67	1.44	4.78	13.11	1.20	2.57	4.55
发酵乳杆菌	2.41	2.94	7.19	—	12.86	2.21	20.00	—	2.39	6.20	10.46	—	4.81	4.99
蚀透明串珠菌	0.88	0.53	7.89	0.82	15.15	2.86	21.45	—	2.92	7.38	9.95	1.03	2.35	7.96
肠膜状明串珠菌	—	0.69	0.83	0.79	3.10	2.29	32.10	—	1.12	4.75	32.26	2.05	2.30	11.13
戊糖明串珠菌	1.34	1.64	5.38	1.47	13.58	—	28.98	—	2.54	12.14	7.06	2.64	5.75	2.67

注 冒号左为碳原子数,右为键数,16:1^o为9-十六烯酸,16:1^o为11-十六烯酸,Cyclo17为2-乙基环丙烷辛酸,18:1^o为9-十八烯酸,18:2为9,12-十八烯酸,Cyclo19^o为2-十一烷基环丙烷戊酸,Cyclo19^o为2-己基环丙烷癸酸,Cyclo19^o为2-辛基环丙烷辛酸,一为未测出;t为百分值<0.05%。

种所共有的,其余 7 种是属于因菌种不同而检出的脂肪酸。经分析发现,其中十九烯酸在供试的 9 种菌种中,有 5 种菌种的细胞中可以检出。另外,2-辛基环丙烷辛酸除了在嗜酸乳杆菌细胞中未能检出外,其它 8 种菌种中均能检出。因此,前者的检出与否,可有助于菌种类群的划分,后者对嗜酸乳杆菌具有关键性的鉴别作用。

通过进一步分析表明,测试的样品在气相色谱图上,均出现具有 $18:2$, $18:1^a$, $18:1^b$ 三种脂肪酸所组成有重叠峰,而且峰形重复性很好。在气相色谱鉴定微生物菌种时,常采用裂解色谱技术,利用被裂解后的菌体组成在色谱图上具有特征峰的峰形来鉴定微生物^[17]。只要这种重叠峰的峰形按比例重复具有“量”的差异并结合不同菌种细胞脂肪酸组成上“质”的区别,对乳酸菌鉴定是有帮助的。

2.2.3 乳酸菌菌株的分群 按照上述方法,根据色谱图上脂肪酸组成在质上的差异(见表 2)以及它们特征峰峰形的区别,可将 17 株菌株分为 5 个群(见表 3)。本实验利用气相色谱中特征峰来划分类群,可有助于进一步缩小鉴别菌种的范围,为微生物分类提供了一个值得探索的途径。这种特征峰是在多种具有相同的某些脂肪酸组成(即“质”的相同)的情况下,又因它们的含量在不同菌种相对比较下,还存在着一定的差异而形成的。可以设想,在遇到某些菌种的亚种或变种,甚至不同的菌株时,是否可以有效地从某些特征峰上显示出来进行鉴别,这是值得进一步探索的。

2.3 供试乳酸菌分群后菌种之间的鉴别

分别属于 9 个菌种的 17 株乳酸菌分为 5 个群后可以看到(表 3):

表 3 菌株分群

分群	菌株名称	脂肪酸质的差异		特征峰的区别	
		Cycle 19^c	$19:1$	峰高百分值大小比较	峰形示意图
第一群	嗜酸乳杆菌 1), 2), 3)	无	无	$18:2 < 18:1^a < 18:1^b$	
第二群	保加利亚乳杆菌 1), 2), 3), 4) 短乳杆菌 1) 2)	有	无	$18:2 < 18:1^b < 18:1^a$	
第三群	肠膜状明串珠菌	有	无	$18:2 < 18:1^a < 18:1^b$	
第四群	戊糖明串珠菌	有	有	$18:2 < 18:1^b < 18:1^a$	
第五群	干酪乳杆菌 阿拉伯聚糖乳杆菌 发酵乳杆菌 蚀橙明串珠菌	有	有	$18:2 < 18:1^a < 18:1^b$	

(1) 第一、三、四各群都只包括 1 个种,因而可使这 3 种不同菌种之间及其和其它 6 种

菌种明显地区分开来。

(2) 第二群中包括两种菌种,这两种菌种虽然能与其它各群的菌种区别,但还不能在本群两菌种之间得到鉴别。

(3) 第五群有 6 株菌株,包括两个不同属的 4 种菌种。在这群中的蚀橙明串珠菌虽然能与同属的上述两属菌种区分,但却与 3 个不同种的乳杆菌归一群。这说明蚀橙明串珠菌在明串珠菌属中具有一定的特殊性,同时也显示了明串珠菌属和乳杆菌属的一些菌种之间存在着一定的交叉性。所以本群中的 4 种不同菌种在菌种或者在菌属之间还不能加以区分。

根据以上分群结果表明,在测试的 9 种乳酸菌中,可以鉴别达到“种”的水平仅 3 种,而其它 6 种只能区分至“群”。

2.4 系统聚类分析应用于乳酸菌的分类鉴别

为提高菌种的分类鉴别力,用计算机对上述 17 株乳酸菌脂肪酸组成的数据进行聚类分析^[18~21],结果见图 1。若在欧氏距离为 0.38 处分类,就可分成 8 个群:

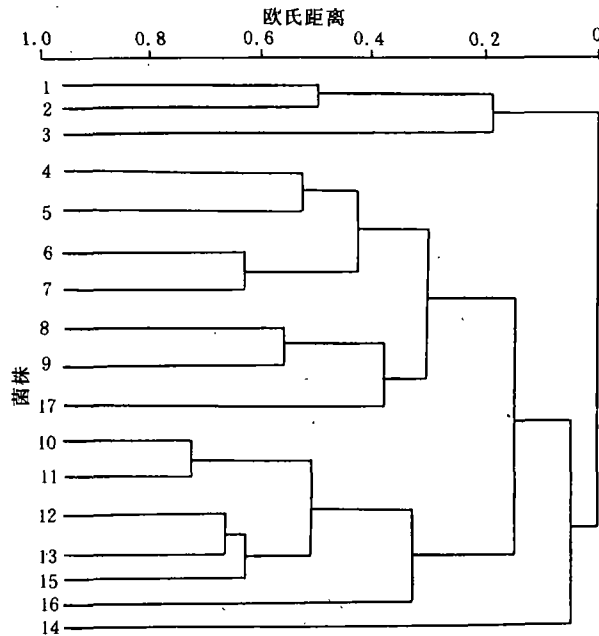


图 1 乳杆菌及明串珠菌细胞脂肪酸组成聚类分析图

注 1~3. 嗜酸乳杆菌 1), 2), 3) 4~7. 保加利亚乳杆菌 1), 2), 3), 4) 8~9. 短乳杆菌 10~12. 干酪乳杆菌 1), LXI, 104213. 阿拉伯聚糖乳杆菌 14. 发酵乳杆菌 15. 蚀橙明串珠菌 16. 肠膜状明串珠菌 17. 戊糖明串珠菌

第一群 嗜酸乳杆菌 1), 嗜酸乳杆菌 2)

第二群 嗜酸乳杆菌 3)

第三群 保加利亚乳杆菌 1), 保加利亚乳杆菌 2), 保加利亚乳杆菌 3), 保加利亚乳杆菌 4)

第四群 短乳杆菌 1), 短乳杆菌 2)

第五群 戊糖明串珠菌

第六群 干酪乳杆菌 1), 干酪乳杆菌 LXI, 干酪乳杆菌 1042, 阿拉伯聚糖乳杆菌, 蚀橙明串珠菌

第七群 肠膜状明串珠菌

第八群 发酵乳杆菌

用色谱特征峰进行分群与用聚类分析图分群的情况比较,前者分为5群,后者分为8群。前者的第一群及第五群的菌种,在后者聚类中,分别各分为2个群;前者的第三群、第四群在后者分群中无变化。

用聚类分析法,可将原来用特征峰分群时还不能区分的菌种甚至某些菌株得到进一步区分。如原来第二群中的保加利亚乳杆菌和短乳杆菌可以分开,各自成为一群;原第五群中的发酵乳杆菌从该群中划分出来成为一群;原第一群有3株嗜酸乳杆菌,其中一株嗜酸乳杆菌3)被区分出来,单独成为一群,这说明某些同种异株之间的差异也可以得到鉴别。在聚类分析后的第六群中包括3株干酪乳杆菌和阿拉伯聚糖乳杆菌及蚀橙明串珠菌各1株。在聚类图中可以看到,在该群的分支聚类中,已把干酪乳杆菌1)和干酪乳杆菌 LXI,并列归为一类,蚀橙明串珠菌单独为一类,而干酪乳杆菌 1042 与阿拉伯聚糖乳杆菌归为一类。从干酪乳杆菌 1042 菌株的生化反应来看,它对葡萄糖酸钠的分解要比其它两株干酪乳杆菌明显缓慢,这说明该菌株已有变异为不典型的菌种。所有测试的菌株经聚类分析后除干酪乳杆菌 1042 和阿拉伯聚糖乳杆菌以外,均可鉴别到种的水平。由此可见,用聚类图分析方法对菌种鉴别的有效程度要高于色谱特征峰方法。究其原因,由于色谱特征峰方法是根据脂肪酸组成在质方面的差异和组成特征峰的脂肪酸含量不同(即峰形不同)来划分类群的,而聚类分析图方法是完全根据脂肪酸质和量来进行分类的。总体来看,虽然采用的方法不同,但两者聚类的倾向是一致的。所不同之处,仅是它们对菌种分类鉴别的深度不同而已。

研究结果表明,运用气相色谱法测定菌种脂肪酸组成,然后将测定数据引用系统聚类分析法,用微机处理得到聚类分析图,对乳酸菌中的乳杆菌属和明串珠菌属的测试菌种进行分类鉴别是可行的。本实验方法应用于乳酸菌菌种的系统分类鉴别达到种的水平将是有可能的。

3 结 论

(1) 检测9种乳酸菌共17株,其主要的、并经鉴定的细胞脂肪酸是:十六烷酸,十八烯酸,环丙十九烷酸,十六烯酸及十四烷酸。

(2) 运用微机对乳杆菌属和明串珠菌属两属菌种的细胞脂肪酸组成进行聚类分析,其分类鉴别的有效程度要高于色谱特征峰的方法。

(3) 本实验应用的细菌细胞脂肪酸聚类图分析法是可行的,它可为应用于乳酸菌系统分类鉴定的可能性提供了依据。

致 谢

本文中数据的计算机处理得到杨锦健老师的帮助,谨致谢意。

参 考 文 献

- 1 Abel k, Schmertz H, Peterson J I. Classification of Microorganisms by Analysis of Chemical Composition I Feasibility of Utilizing Gas Chromatograph. *J Bacteriol*, 1963; 85: 1039~1044
- 2 Yamakawa T U Ueta . Gas Chromatographic Studies of Microbial Components. I Carbohydrate and Fatty Acid Constitution of *Nisseria*. *Japan J Exptl Med*, 1964; 34: 361~374
- 3 Moss C W and Vester J Lewis. Characterization of Clostridia by Gas Chromatography. I. differentiation of Species by Cellular Fatty Acids *Appl Microbiol*, 1967; 15: 390~397
- 4 Moss C W S B Samuels and Weaver R E. Cellular Fatty Acid Composition of Selected *Pseudomonas* Species *appl Microbiol*, 1972; 24: 596~598
- 5 Charles O Thoen, Alfred G Karlson and Ralph D Ellefson. Differentiation between *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium marinum* by Gas-liquid Chromatographic Analysis of Cellular Fatty Acid *Appl Microbiol*; 1972; 24: 1009~1010
- 6 Drucker D B. Chemotaxonomic Fatty-acid Fingerprints of some Streptococci with subsequent Statistical Analysis *Can. J Microbiol*, 1974; 20: 1723~1728
- 7 Niskanen A, Kiutamo T, Raisanen S and Raevuori M. Determination of Fatty Acid Composition of *Bacillus Cereus* and Related Bacteria. A rapid Gas Chromatographic Method Using A Glass Capillary Column *Appl Environ Microbiol*, 1978; 35: 453~455
- 8 Erik Jantzen and Tor Hofstad. Fatty Acid of *Fusobacterium* Species. Taxonomic Implication *J Gen Microbiol*, 1981; 123: 163~171
- 9 Nagar-Legmann R and Margalith P. Comparative Study of the Lipid Composition of Yeasts with different Fermentative Capacities. *Appl Microbiol*, 1987; 26: 49~54
- 10 Adine Oosthuizen, Johan L F Kock, Piet J Botes and Pieter M Lategan. The Long-chain Fatty Acid Composition of Yeasts Used in the Brewing Industry. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1987; 26: 55~60
- 11 周方等. 细胞脂肪酸气相色谱图鉴别细菌的研究. *微生物学报*, 1978; 27(2): 95-104
- 12 周方等. 全细胞脂肪酸气相色谱法鉴别莫拉氏菌和军团杆菌. *分析微生物学专辑*. 科学出版社, 1988; 122-127
- 13 何晓青等译. 食品微生物学检验方法提要. 人民出版社, 1982; 75
- 14 Veerkamp J H. Fatty Acid Composition of *Bifidobacterium* and *Lacto-bacillus* Strains. *J Bacteriol*, 1971; 108: 861~867
- 15 Hofmann K. Fatty Acid Metabolism in Microorganisms, John Wiley & sons, New York
- 16 drucker D B. Microbiological applications of Gas Chromatography. Cambridge University Press, 1981
- 17 Gutteridge C S & Norris J R. A Review the Application of Pyrolysis Techniques to the Identification of Microorganisms. *J Appl Bacteriol*, 1979; 47: 5~43
- 18 孟照赫主编. 食品卫生检验方法注解. 微生物学部分. 人民卫生出版社, 1990
- 19 Piggott J R. Statistical Procedures in Food Research. Elsevier Applied Science Publishers Ltd England; 1986
- 20 Massart D L, et al. The Interpretation of Analytical Chemical Data by the Use of Cluster Analysis, John Wiley, London; 1983
- 21 张尧庭等. 多元统计分析引论. 科学出版社, 1982

Gas Chromatography of Whole-cell Fatty Acid in the Discrimination of *Lactobacilli* and *Leuconostocs*

Chen Xielai Wang Rongmin Gu Yeling Shen Guohuai Tong Danjian

(Dept. of Food Science and Eng.)

Abstract The whole-cell fatty acids of 6 species (14 strains) of *Lactobacilli* and 3 species (3 strains) of *Leuconostocs* were analyzed by gas chromatography-mass spectrometric method. Based on the cellular fatty acid components and the forms of the characteristic peaks, all examined strains could be divided into five groups, by means of which only 3 of 9 species examined were found to be distinguishable. But all the examined strains except *Lactobacillus casei* 1042 (atypical strain) and *Lactobacillus arabinosus* were able to be discriminated to the level of species based on cellular fatty acids analysis by hierarchical clustering analysis with microcomputer.

Key-words Whole-cell fatty acids; *Lactobacillus*; *Leuconostoc*; Clustering analysis