王冬琪, 安美玲, 蒋楠楠, 等. 鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳工艺优化及其潜在降血糖机制探究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(6): 181−191. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040144

WANG Dongqi, AN Meiling, JIANG Nannan, et al. Process Optimization and the Hypoglycemic Mechanism Exploration of Chickpea Milk Fermented by *Lacticaseibacillus rhamnosus* FMBL L23004 CNN[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(6): 181−191. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040144

· 生物工程 ·

鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳工艺优化及其潜在降血糖机制探究

王冬琪[1,2], 安美玲[2], 蒋楠楠[3], 罗晓红[2], 胡军胜[4], 孙海龙[1,2,*], 倪永清[1,2,*]

(1.石河子大学食品学院, 新疆特色益生菌与乳品技术八师重点实验室, 新疆石河子 832003;
2.兵团乳制品产业创新研究院, 新疆天润生物科技股份有限公司, 新疆乌鲁木齐 830000;
3.石河子大学第一附属医院, 新疆石河子 832003;
4.巩留县人民医院, 新疆伊犁 835499)

摘　要: 为探究益生菌发酵鹰嘴豆乳的生物活性物质变化及其潜在的降血糖机制。本文筛选得到能通过发酵提升鹰嘴豆乳 *α*-淀粉酶和 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性的鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN，优化其发酵工艺和表征其发酵鹰嘴豆乳风味和功能物质变化，然后利用非靶向代谢组学解析了鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳的化合物组成变化，并结合网络药理学和分子对接技术探究了发酵鹰嘴豆乳的潜在降血糖成分及其作用机制。结果表明，鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳的最佳工艺为：接菌量 3%、发酵温度 36.5 ℃、发酵时间 17 h。鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 不仅通过发酵显著提高了鹰嘴豆乳的 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性（30.96%）、抗氧化能力（$ABTS^+$自由基清除率：72.39%，DPPH 自由基清除率：83.55%）、总酚（30.46 mg/100 mL）及总黄酮（54.69 mg/100 mL）含量，同时也通过分解己醛、辛烯醛、壬醛等豆腥味物质显著改善了鹰嘴豆乳的风味。代谢组检测结果表明，发酵鹰嘴豆乳中以氨基酸、肽及其类似物，脂肪酸及其共轭物、碳水化合物及其结合物、萜类物质以及黄酮类化合物为主。鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵促进了鹰嘴豆乳中 73 种共有化合物的显著上调及 775 种新增化合物的形成。通过网络药理学和分子对接分析了 10 种主要化合物的潜在降血糖作用，结果表明薯蓣皂苷元、鳞茎萜类、菊粉二糖等活性物质通过参与 PI3K-Akt 信号通路、脂质与动脉粥样硬化、Ras 信号通路协同发挥降血糖作用，其中，薯蓣皂苷元与靶点蛋白 STAT3（−8.9 kcal/mol）、AKT1（−8.3 kcal/mol）以及 *α*-淀粉酶（−9.7 kcal/mol）和 *α*-葡萄糖苷酶（−8.8 kcal/mol）通过氢键紧密结合。本研究的结果不仅为鹰嘴豆的高值化利用提供了技术思路，也为鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 在食品和医药领域的应用奠定了理论基础。

关键词: 益生菌, 鹰嘴豆乳, *α*-葡萄糖苷酶, 抗氧化, 非靶向代谢组, 网络药理学
中图分类号: TS262.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)06−0181−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040144　　本文网刊:

Process Optimization and the Hypoglycemic Mechanism Exploration of Chickpea Milk Fermented by *Lacticaseibacillus rhamnosus* FMBL L23004 CNN

WANG Dongqi[1,2], AN Meiling[2], JIANG Nannan[3], LUO Xiaohong[2], HU Junsheng[4], SUN Hailong[1,2,*], NI Yongqing[1,2,*]

收稿日期: 2025−04−14
基金项目: 新疆生产建设兵团科技计划项目（2023AB050、2024AB050、2026YD017）; 八师石河子市财政科技计划项目（2024GY02）; 第七师-石河子大学科技创新专项（QS2023014）; 石河子大学成果转化与技术推广计划项目（CGZH202303）。
作者简介: 王冬琪（1999−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物与发酵, E-mail: 2784164458@qq.com。
*** 通信作者:** 孙海龙（1989−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品微生物与生物技术, E-mail: sunhl610@shzu.edu.cn。
倪永清（1969−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物学, E-mail: niyqlzu@sina.com。

（1.Key Laboratory for Xinjiang Special Probiotics and Dairy Technology of the Eighth Division of Xinjiang Production and Construction Corps, School of Food Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China；
2.Innovation Research Institute for Dairy Industry of Xinjiang Production and Construction Corps, Xinjiang Tianrun Biotechnology Co., Ltd., Urumqi 830000, China；
3.The First affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832003, China；
4.The People's Hospital of Gongliu, Yili 835499, China）

Abstract: To investigate the changes in bioactive compounds and the hypoglycemic action mechanisms of chickpea milk fermented by probiotics, *Lacticaseibacillus rhamnosus* FMBL L23004 CNN that capable of enhancing the *α*-amylase and *α*-glucosidase inhibitory activities was selected in this study. The changes of flavor profiles and functional components were characterized in basis of optimizing the fermentation process of chickpea milk fermented by *L. rhamnosus* FMBL L23004 CNN, and untargeted metabolomics, network pharmacology and molecular docking techniques were combined to explore the potential hypoglycemic components and their mechanisms in fermented chickpea milk. The results showed that the optimal process for the fermentation of chickpea milk were involved following parameters: 3% of the inoculation amount of *L. rhamnosus* FMBL L23004 CNN, fermentation temperature of 36.5 ℃, and fermentation duration of 17 h. *L. rhamnosus* FMBL L23004 CNN not only significantly enhanced the *α*-amylase and *α*-glucosidase inhibitory activity (30.96%), antioxidant capacity ($ABTS^+$ radical scavenging activity: 72.39%, DPPH radical scavenging activity: 83.55%) and the contents of total phenols (30.46 mg/100 mL) and flavonoids (54.69 mg/100 mL) in chickpea milk through fermentation, but also improved the flavor by decomposing beany flavor substances such as 2-pentylfuran, octenal, and hexanal. Untargeted metabolomics revealed that the fermented chickpea milk was mainly composed of amino acids, peptides and analogues, fatty acids and conjugates, carbohydrate derivatives, terpenoids, and flavonoids. Fermentation of chickpea milk with *L. rhamnosus* FMBL L23004 CNN contributed to a significant increase in 73 pre-existing compounds and the formation of 775 novel compounds. The potential hypoglycemic effects of 10 key compounds were analyzed using network pharmacology and molecular docking. The results indicated that bioactive constituents, such as *Diosgenin*, *Lepidium terpenoid*, and *Inulobiose*, may synergistically exert hypoglycemic effects through the involvement of the PI3K-Akt signaling pathway, the lipid metabolism and atherosclerosis pathways, as well as the Ras signaling pathway. Notably, Diosgenin exhibited high docking stability with target proteins through hydrogen bonding interactions: STAT3 (−8.9 kcal/mol), AKT1 (−8.3 kcal/mol), *α*-amylase (−9.7 kcal/mol), and *α*-glucosidase (−8.8 kcal/mol). This findings provided valuable technical insights into chickpea resource utilization, while also establishing a theoretical foundation for the application of *L. rhamnosus* FMBL L23004 CNN in food and medicine.

Key words: probiotics; chickpea milk; *α*-glucosidase; antioxidant; untargeted metabolomics; network pharmacology

糖尿病是一种影响全球数亿人健康的慢性代谢性疾病，给人类社会造成了巨大的公共卫生压力和经济负担[1]。调查显示，90% 的糖尿病为 2 型糖尿病（Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM）[2]。T2DM 的口服药物以双胍类、钠-葡萄糖协同转运子-2 抑制剂、*α*-葡萄糖苷酶抑制剂、二肽基肽酶-IV（Dipeptidyl peptidase-IV, DPP-IV）抑制剂为主[3]。其中，双胍类药物（如二甲双胍）主要通过激活腺苷酸活化蛋白激酶、抑制肝糖原的异生和分解来发挥作用；*α*-葡萄糖苷酶抑制剂（如阿卡波糖、伏格列波糖）通过抑制小肠黏膜刷状缘的 *α*-葡萄糖苷酶以延缓碳水化合物的吸收，降低餐后高血糖；而 DPP-IV 抑制剂（如利格列汀），则主要通过增加胰岛素分泌和抑制胰高血糖素释放来降低血糖[3]。虽然二甲双胍、阿卡波糖、利格列汀等药物在 T2DM 治疗中各有优势，然而这些药物在治疗/缓解糖尿病过程中常常会伴有肥胖、胃肠不适、肝肾损伤等副作用[3]。研究表明，摄食益生菌产品可以提高肠道有益菌的丰度，调节肠道菌群平衡，并通过增加短链脂肪酸等后生元的产生、恢复碳水化合物代谢水平及调节机体免疫等降低血脂、血糖水平，从而预防或缓解 T2DM[4]。目前已有多项研究报道了益生菌对 T2DM 的预防或缓解作用，如鼠李糖乳酪杆菌 LRa05 通过调节胰高血糖素介导的信号通路和肠道菌群改善 2 型糖尿病小鼠的高血压[5]；植物乳杆菌 HAC01 通过调节肠道菌群改善 2 型糖尿病小鼠的胰岛素抵抗[6]。益生菌作为一种广泛应用于食品中对人类健康有益的活性微生物，已被用作代谢性疾病辅助治疗的手段之一。

鹰嘴豆是世界上第二大食用豆类，富含各类营养素且具有多种健康功效。作为药食同源材料，鹰嘴豆不仅在传统中医药应用中有深厚的理论基础，大量现代科学研究也证实了其对代谢性疾病的改善作用，是开发降血糖功能保健产品的良好来源。研究表明，鹰嘴豆提取物不仅可以显著改善胰岛素抵抗，且能有效控制高脂饮食大鼠的餐后血糖和血脂异常[7]，而鹰嘴豆芽则具有改善胰岛素敏感性和分泌的作用[8]。鹰嘴豆富含益生元 *α*-低聚半乳糖，这种低聚糖不仅是益生菌生长所需的优质底物，同时也能促进益生菌在肠道中的定植和代谢活动，进一步强化益生菌在维持宿主健康方面的功能[9−11]。在中医药和食品领域，

通常采用微生物发酵技术提升原料的活性成分的含量及生物利用度以增强其功效。如植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌等益生菌发酵鹰嘴豆水提物能显著增强其抗氧化活性及对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制活性[12]。尽管已有研究证明了益生菌发酵鹰嘴豆在降低 T2DM 风险方面的有益作用[12]，但其代谢产物中的生物活性物质在改善 T2DM 中的降血糖机制仍缺乏系统性研究。因此，深入探究益生菌发酵鹰嘴豆调控血糖的分子机制，对基于益生菌和鹰嘴豆的新型功能性食品开发及其在 T2DM 改善和辅助治疗中的应用具有重要意义。

本团队从健康人群粪便中筛选出 5 株能够高效利用鹰嘴豆乳中的营养成分实现迅速增殖的乳杆菌[13]。在此基础上，本研究拟基于鹰嘴豆固有的降血糖健康属性，进一步通过发酵筛选具有潜在改善鹰嘴豆乳风味和提升其 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶抑制活性的益生菌，利用非靶向代谢组解析鹰嘴豆乳发酵前后的代谢物变化，并结合网络药理学及分子对接的方法，分析发酵鹰嘴豆乳关键核心成分的降血糖潜在作用靶点及分子机制，从而为鹰嘴豆的高值化利用和益生菌发酵鹰嘴豆乳功能性产品开发提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

鹰嘴豆（Kabuli）　木垒县鹰哥生物科技有限公司；鼠李糖乳酪杆菌（*Lacticaseibacillus rhamnosus*）FMBL L23004 CNN　分离自伊犁哈萨克族人群肠道；植物乳植杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）FMBL L23251 FJX　分离自武威地区汉族人群肠道；植物乳植杆菌 FMBL L23252 FJX、副干酪乳酪杆菌（*Lacticaseibacillus paracasei*）FMBL L23249 FJX、副干酪乳酪杆菌 FMBL L23250 FJX　分离自阿克苏地区维吾尔族人群肠道；鼠李糖乳酪杆菌（*Lacticaseibacillus rhamnosus*）GG（CICC 6141）　中国工业微生物菌种保藏管理中心；植物乳植杆菌 WCFS1（CGMCC1.6971）、副干酪乳酪杆菌 ATCC334（CGMCC1.2345）　中国普通微生物菌种保藏管理中心；α-淀粉酶（猪胰腺，≥5 U/mg）、α-葡萄糖苷酶（酵母，50 units/mg）　西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；可溶性淀粉、3,5 二硝基水杨酸、对硝基苯基-α-D-吡喃葡萄糖苷（PNPG）　分析纯，上海麦克林生化科技股份有限公司；对硝基苯磷二钠六水合物（PNPP）、福林酚　分析纯，上海源叶生物科技有限公司；碳酸钠（Na_2CO_3）、亚硝酸钠（$NaNO_2$）、氢氧化钠（NaOH）、硝酸铝（$Al(NO_3)_3$）、硫酸钾（$K_2S_2O_8$）分析纯，天津市科密欧化学试剂有限公司；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）、2,2-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸（ABTS）　分析纯，北京索莱宝技术有限公司；无水甲醇、无水乙醇、没食子酸、芦丁　色谱纯，南京化学试剂有限公司。

Thermo fisher U 3000 超高效液相色谱质谱仪　美国 Thermo Fisher Scientific 公司；DPH-360 智能生化培养箱　武汉博安特仪器科技有限责任公司；Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪、Fresco 21 高速冷冻离心机　赛默飞世尔科技公司；BXM-30R 高压蒸汽灭菌锅　上海博讯实业有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　菌悬液和发酵鹰嘴豆乳的制备　将保藏于 −80 ℃ 的菌株于室温解冻后，接种于 MRS 液体培养基中，在 37 ℃ 下培养 12 h。连续活化两代后，按 2%（v/v）接种量接入 MRS 液体基，在 37 ℃ 发酵 18 h。在 8000 r/min 下离心 3 min，菌泥经无菌生理盐水清洗后，用 0.9% 生理盐水将其配制成浓度为 1.0×10^9 CFU/mL 的菌悬液。

参照文献 [12] 方法制备鹰嘴豆乳，将制备的菌悬液按 2%（v/v）接种于灭菌鹰嘴豆乳中（95 ℃，15 min），于 37 ℃ 静置发酵 12 h。

1.2.2　pH 及酸度测定　pH 的测定参考国标 GB 5009.237-2016《食品安全国家标准 食品 pH 值的测定》[14]。酸度测定参考国标 GB 5009.239-2016《食品安全国家标准 食品酸度的测定》[15]。

1.2.3　酶抑制活性测定　参照 Zhong 等[16] 描述的方法测定菌株发酵鹰嘴豆乳的 α-淀粉酶抑制率和 α-葡萄糖苷酶抑制率。

1.2.4　发酵鹰嘴豆乳的工艺优化

1.2.4.1　单因素实验　在鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 接种量为 3%、发酵温度 37 ℃、发酵时间 18 h 的条件下，探究不同发酵温度（31、34、37、40、43 ℃）、发酵时间（12、18、24、30、36 h）、接种量（1%、2%、3%、4%、5%）对鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳的 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响。

1.2.4.2　响应面优化试验　在单因素实验的基础上，采用 Design Expert 13 软件，使用 Box-Behnken 响应面设计优化发酵工艺参数，以 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率为响应值进行三因素三水平响应面优化试验，试验因素水平及编号见表 1。

表 1　响应面试验因素及水平

Table 1　Factors and levels of the response surface experiment

水平	因素		
	接菌量(%)	发酵温度(℃)	发酵时间(h)
−1	2.0	34	12
0	3.0	37	18
1	4.0	40	24

1.2.5　挥发性风味物质含量测定　挥发性风味物质含量测定参考 Tangyu 等[17] 描述的方法。以 0.1 mg/mL 的 2-甲基-3-庚酮作为内标。色谱条件：Agilent HP-innowax 色谱柱（30 m×0.25 μm）；载气：He；流速 1.5 mL/min；分流比 10∶1。升温程序：35 ℃ 保持 3 min，6 ℃/min 升至 210 ℃，保持 10 min。再

以 30 ℃/min 升至 240 ℃, 保持 5 min。质谱条件: 电子轰击离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 ℃; 质谱范围: m/z: 33~350。

1.2.6 发酵鹰嘴豆乳的抗氧化活性测定 根据 Wang 等[18] 描述的方法测定发酵鹰嘴豆乳的 $ABTS^{+}$和 DPPH 自由基清除率。

1.2.7 发酵鹰嘴豆乳的总酚和总黄酮含量测定 根据 Zhang 等[19] 描述的方法测定发酵鹰嘴豆乳的总酚含量; 总黄酮含量的测定参照 Granato 等[20] 的方法进行。

1.2.8 发酵鹰嘴豆乳的非靶向代谢组检测及差异代谢物分析 发酵鹰嘴豆乳的非靶向代谢组学检测在 Demurtas 等[21] 的基础上略作修改。1 mL 样品在 4 ℃ 下涡旋 1 min 后加入 400 μL 甲醇, 再次涡旋 1 min 后于 12000 r/min, 4 ℃ 离心 10 min, 上清液经浓缩并干燥后, 重溶于 150 μL 的 2-氯-1-苯丙氨酸溶液(用 80% 甲醇水配制), 经 0.22 μm 滤膜过滤后上机检测, 进样量 2 μL。采用 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1×100 mm, 1.8 μm), 柱温 40 ℃。LC-ESI(+)-MS 分析采用(B2)0.1% 甲酸-乙腈(v/v)和(A2)0.1% 甲酸-水(v/v)为流动相。梯度洗脱条件: 0~1 min, 8% B2; 1~8 min, 8% B2; 8~10 min, 98% B2。LC-ESI(−)-MS 分析采用(B3)乙腈和(A3)甲酸铵(5 mmol/L)为流动相。梯度洗脱条件: 0~1 min, 8% B3; 1~8 min, 8%~98% B3; 8~10 min, 98% B3; 10~10.1 min, 98%~8% B3; 流速 0.3 mL/min。质谱条件: 采用 ESI 离子源, 正、负离子模式检测。鞘内气体压力 40 arb; 辅助气体流量 10 arb; 喷雾电压: ESI(+)为 3.50 kV, ESI(−)为-2.50 kV; 毛细管温度 325 ℃; MS1 范围: m/z 100~1000; MS1 分辨率 70000 FWHM; MS/MS 分辨率为 17500 FWHM; 归一化碰撞能量 30 eV[22]。

以 P<0.05, 正交偏最小二乘判别分析中变量重要性投影(VIP)值>1.0, 组间峰面积倍数差异>2.0 为差异代谢物筛选标准筛选差异代谢物。

1.2.9 网络药理学分析

1.2.9.1 代谢物的靶点和疾病靶点的综合筛选 将筛选出的关键代谢物导入 PubChem 数据库(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)检索其结构等信息, 利用 Swiss Target Prediction 数据库预测成分潜在作用靶点。在 Gene Cards(https://www. genecards.org)、OMIM(http://www.omim.org) 数据库中收集与 T2DM 相关的靶蛋白基因。去除重复基因, 利用 Uniprot 数据库(https://www.uniprot.org/uploadlists)标准化靶点基因名称。通过 Venny 2.1.0 在线软件获得发酵鹰嘴豆乳关键成分与 T2DM 的交集靶点。

1.2.9.2 蛋白相互作用(PPI)网络构建 将交集靶点导入 STRING 数据库(https://string-db.org), 根据 0.9 的置信度来确定蛋白质相互作用关系。利用 Cytoscape 3.10.0 软件根据度值、介值中心度、紧密中心度筛选核心靶点。

1.2.9.3 GO 和 KEGG 富集分析 在 David 数据库导入发酵鹰嘴豆乳关键成分与 T2DM 的交集靶点, 进行 GO 和 KEGG 富集分析。基于 P<0.05 筛选出 GO 富集中生物过程(Biological process, BP)、细胞组分(Cellular component, CC)和分子功能(Molecular function, MF)类别排名前 10 个显著富集的条目和前 20 个 KEGG 通路。将所得结果进行可视化处理, 分别以柱形图和气泡图展示结果。

1.2.10 分子对接 从 PubChem 数据库获取关键活性成分的 3D 结构(sdf 格式)并对其加氢。从 PDB 数据库(https://www.rcsb.org)下载度值排名前五的靶点蛋白 AKT1(1H10)、STAT3(6NJS)、PIK3CA(2ENQ)、MAPK3(4QTB)和 BCL2(2W3L)以及 α-淀粉酶(4GQR)和 α-葡萄糖苷酶(3A4A)的三维结构, 并对其进行去水加氢。采用 Autodock Tools1.5.7 模拟软件进行分子对接, 使用 Pymol 2.1.1 对结果进行可视化分析[23]。

1.3 数据处理

每组试验数据由 3 次重复所得, 结果用平均值±标准差(SD)表示, 使用 IBM SPSS Statistics 26 进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 使用 Graph Prism 8.0.2 软件对数据进行可视化处理, 显著性水平为 P<0.05。

2 结果与分析

2.1 不同菌株发酵鹰嘴豆乳的 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制活性测定

与未发酵鹰嘴豆乳相比, 经不同乳杆菌发酵后鹰嘴豆乳的 pH 迅速下降至 3.72~4.00 之间, 酸度从 8.0 °T 上升至 40.1~62.8 °T 之间; 其中副干酪乳酪杆菌 ATCC 334 的酸度最低(40.1 °T), 鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 的发酵终点酸度最高(62.8 °T)。所有菌株发酵的鹰嘴豆乳均符合发酵植物基乳饮品的酸度要求(10.0~70.0 °T)(图 1A)。与未发酵鹰嘴豆乳相比, 5 株实验菌株发酵的鹰嘴豆乳的 α-淀粉酶抑制率均显著高于对照组(P<0.05)。在 α-葡萄糖苷酶抑制率实验中, L23004、L23252、L23249 发酵后豆乳的抑制活性较对照组显著上升(P<0.05); 其余菌株发酵组无显著性差异(P>0.05)(图 1B)。3 株模式菌中, 在 α-淀粉酶抑制率方面, 模式菌均显著低于对照组(P<0.05)。ATCC 334 发酵组的 α-葡萄糖苷酶抑制率显著高于对照组(P<0.05), 其余菌株发酵组无显著性差异(P>0.05)。综合上述结果, 最终选择鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 作为后续研究的目标菌株。

2.2 鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳响应面工艺优化

研究表明, 发酵时间、发酵温度、接菌量是影响

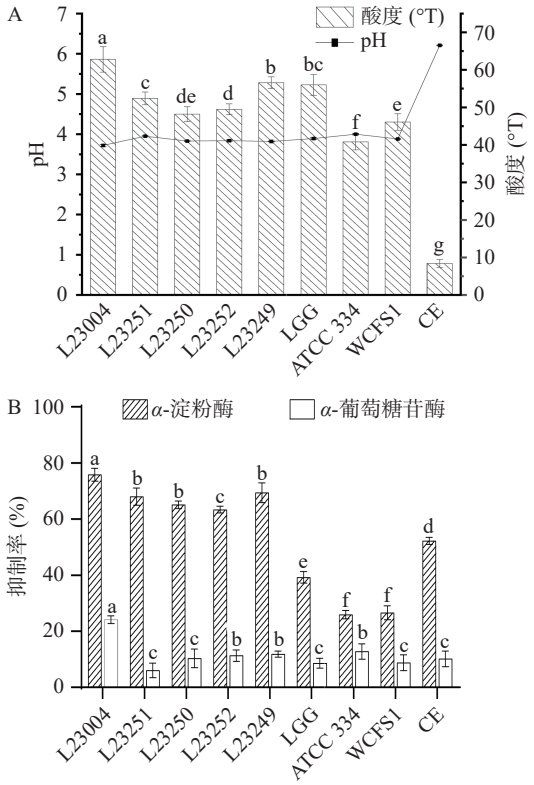


图 1　发酵鹰嘴豆乳的酸度、pH 及酶抑制率

Fig.1　Acidity, pH, and enzyme inhibition rate of fermented chickpea milk

注：A：发酵鹰嘴豆乳的酸度和 pH，B：不同菌株发酵鹰嘴豆乳的 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶抑制率；CE：未发酵鹰嘴豆乳；图中不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

发酵饮品的品质、风味和稳定性的几个关键因素[24]。单因素实验结果表明，当发酵温度为 37 ℃，接菌量为 2%（v/v），发酵时间达到 18 h 时，鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN发酵鹰嘴豆乳的 α-葡萄糖苷酶抑制率最高（图 2A~图 2C）。然而接菌量对发酵鹰嘴豆乳的 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率则略有差异，当接菌量分别为 2% 和 3% 时，α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率分别达到最高。

利用响应面法对单因素结果表 2 进行多元二次回归拟合，得到 3 个因素对 α-淀粉酶抑制率（Y1）、α-葡萄糖苷酶抑制率（Y2）影响的二次多元回归方程为：$Y1=-1567.76+56.0665A+83.0214B+7.1723C+0.0425AB+0.0045AC-0.0722BC-10.095A^2-1.1224B^2-0.1367C^2$（A、B、C 分别为接菌量、发酵温度、发酵时间）$Y2=-1533.46+0.6286A+78.9568B+12.6559C+0.5266AB+0.01708AC-0.01866BC-3.8152A^2-1.0503B^2-0.1528C^2$（A、B、C 分别为接菌量、发酵温度、发酵时间）。方差分析结果表明，模型的回归方程具有显著差异（P<0.01）；α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率的失拟项 P 值分别为 0.4949 和 0.8837，均不显著（P>0.05），表明误差较小。α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率模型的决定系数 R^2 分别为 0.9666 和 0.9671，校正决定系数 R^2adj 分别为 0.9236 和 0.9249，表明模型拟合程度较好，可真实反映响应值与影响因素的变化情况（表 3）。进一步分析发现，3 个因素对鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳 α-淀粉酶抑制率的影响顺序为发酵温度（B）>接菌量（A）>发酵时间（C），其中 B、A^2、B^2、C^2 对结果影响极显著（P<0.01），一次项 C 对结果影响显著（P<0.05）；3 个因素对鹰嘴豆发酵豆乳

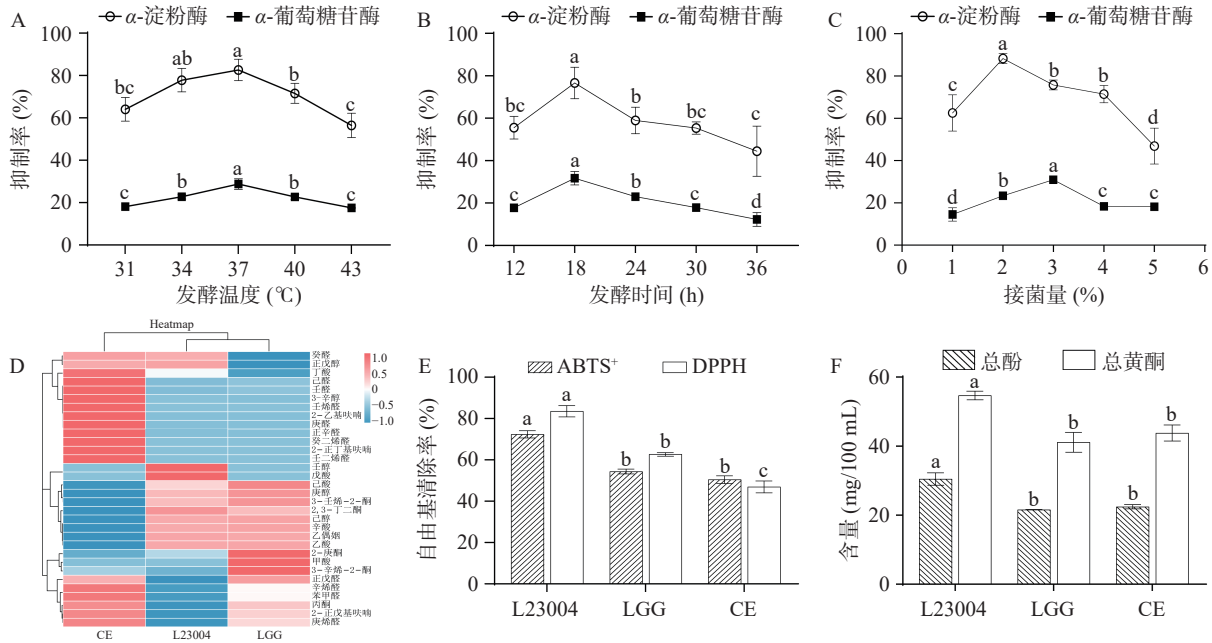


图 2　发酵鹰嘴豆乳的降血糖菌株筛选

Fig.2　Screening of hypoglycemic strains for fermented chickpea milk

注：A：发酵温度对鹰嘴豆乳的酶抑制率的影响；B：发酵时间对鹰嘴豆乳的酶抑制率的影响；C：接菌量对鹰嘴豆乳的酶抑制率的影响；D：发酵鹰嘴豆乳的挥发性风味物质；E：发酵鹰嘴豆乳的抗氧化能力；F：发酵鹰嘴豆乳的总酚和总黄酮含量；L23004：鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳，LGG：LGG 发酵鹰嘴豆乳，CE：未发酵鹰嘴豆乳；图中不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

表 2 BOX-Behnken 试验设计及结果

Table 2 Design and results of Box-Behnken experiment

实验号	A接菌量(%)	B发酵温度(℃)	C发酵时间(h)	α-淀粉酶抑制(%)	α-葡萄糖苷酶抑制(%)
1	3	34	12	75.12	12.34
2	3	37	18	87.16	29.38
3	3	37	18	89.81	31.32
4	3	37	18	88.1	30.01
5	4	37	12	73.32	17.78
6	3	40	12	70.36	15.03
7	4	37	24	65.48	20.49
8	3	37	18	83	27.25
9	3	40	24	65.87	13.01
10	2	37	12	78.25	23.06
11	2	34	18	73.18	22.96
12	3	34	24	75.83	23.76
13	4	40	18	60.39	15.64
14	4	34	18	67.27	15
15	3	37	18	87.02	34.98
16	2	37	24	70.3	25.36
17	2	40	18	65.79	17.28

的 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响顺序为接菌量(A)>发酵时间(C)>发酵温度(B), A、A^2、B^2、C^2 对结果影响极显著(P<0.01)。一次项 B、C, 交互项 BC 对结果影响显著(P<0.05)(表 3)。

在最优条件下, α-淀粉酶抑制率集中在 87.02%~89.81% 范围内, 与优化前相比无显著性变化。因此, 选择以 α-葡萄糖苷酶抑制率作为响应值进行响应面试验交互作用分析。各因素交互作用对鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳 α-葡萄糖苷酶抑制率影响的响应曲面与等高线见附图 1(详见本刊官网 http://www.spgykj.com/文章的网络版), 最佳工艺参数为接菌量 2.648%、发酵温度 36.542 ℃、发酵时间 16.639 h, α-葡萄糖苷酶抑制率为 31.27%。为了方便实际操作, 在接种量为 3%、发酵温度为 36.5 ℃、发酵时间为 17 h 条件下制备鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳, 其 α-葡萄糖苷酶抑制率为 30.96%±2.38%, 相比优化前(24.12%)显著提高了 28.4%, 与模型预测的结果无明显差别(P>0.05), 验证了模型的可靠性。

2.3 发酵鹰嘴豆乳挥发性风味物质变化

植物基乳受欢迎程度往往是由其风味决定, 而鹰嘴豆的豆腥味是影响消费者接受度的最关键因素。豆乳中的青腥气源于豆类破碎打浆时, 脂氧合酶与氧气共同催化氧化亚麻酸、亚油酸等不饱和脂肪酸, 生成 C6~C9 醛类物质所致, 而乳酸菌则能通过 β-氧化途径分解长链醛类物质, 其关键酶(如醛脱氢酶)可催化醛类转化为羧酸或醇类[25]。利用 GC-MS 从发酵前后的鹰嘴豆乳中共鉴定出 32 种风味化合物, 包括 6 种有机酸类、5 种醇类、12 种醛类、5 种酮类和 3 种呋喃类。发酵前鹰嘴豆乳的主要风味物质由醛类(戊醛、己醛、庚醛、壬醛、癸醛、苯甲醛)和呋喃类物质(2-乙基呋喃、2-戊基呋喃等)组成(图 2D), 这些物质会给鹰嘴豆乳带来涩味、豆腥味等不利影响, 使其难以被消费者所接受。经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵后, 鹰嘴豆乳中己醛、辛烯醛、壬醛等刺激性和豆腥味化合物含量显著降低, 正戊醛、壬二烯醛、癸二烯醛、苯甲醛等化合物则被完全降解; 2,3-丁二酮、乙偶姻、庚醇、壬醇等化合物的含量则显著升高, 这些物质含量的增加能给鹰嘴豆乳带来独特的发酵香味和酪香味。而鼠李糖乳酪杆菌 GG 通过发酵降解壬醛、辛烯醛、己醛等豆腥味物质和增加 2,3-丁二酮、壬醇等香气物质的能力则显著低于鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN。

2.4 发酵鹰嘴豆乳的抗氧化能力、总酚和总黄酮含量

与未发酵的鹰嘴豆乳和鼠李糖乳酪杆菌 GG 发酵的鹰嘴豆乳相比, 鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳表现出较强的抗氧化能力, 其

表 3 中心组合试验设计的方差分析

Table 3 Analysis of variance for the quadratic model

方差来源	自由度	α-淀粉酶抑制率				α-葡萄糖苷酶抑制率			
		平方和	均方	F值	P值	平方和	均方	F值	P值
模型	9	1273	141.44	22.5	0.0002**	770.89	85.65	22.89	0.0002**
A	1	55.44	55.44	8.82	0.0208*	48.76	48.76	13.03	0.0086**
B	1	105.05	105.05	16.71	0.0046**	21.45	21.45	5.73	0.0479*
C	1	47.87	47.87	7.62	0.0281*	25.96	25.96	6.94	0.0337*
AB	1	0.065	0.065	0.0103	0.9218	9.99	9.99	2.67	0.1464
AC	1	0.003	0.003	0.0005	0.9831	0.0420	0.0420	0.0112	0.9196
BC	1	6.76	6.76	1.08	0.3342	45.16	45.16	12.07	0.0104*
A^2	1	426.04	426.04	67.77	<0.0001**	61.29	61.29	16.38	0.0049**
B^2	1	429.64	429.64	68.34	<0.0001**	376.23	376.23	100.53	<0.0001**
C^2	1	101.98	101.98	16.22	0.0050**	127.38	127.38	34.04	0.0006**
残差	7	44.01	6.29			26.2	3.74		
失拟项	3	18.36	6.12	0.9545	0.4949	3.59	1.20	0.2115	0.8837
误差	4	25.65	6.41			22.61	5.65		
总和	16	1317.01				797.08			

注: **表示差异极显著P<0.01; *表示差异显著P<0.05。

ABTS^{+}和 DPPH 自由基清除率均分别高达 72.39%和 83.55%(图 2E)。经鼠李糖乳酪杆菌 GG 发酵后，鹰嘴豆乳的总酚和总黄酮含量与未发酵的鹰嘴豆乳相比无明显差异；而经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵后的鹰嘴豆乳总黄酮含量为 54.69 mg/100 mL、总酚含量为 30.46 mg/100 mL，与未发酵的鹰嘴豆乳相比显著增加(图 2F)。研究表明，益生菌发酵能够提高豆类的营养价值和功能特性[12]。这与本研究结果一致，经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵后的鹰嘴豆乳总酚、总黄酮含量显著提升，这可能是其抗氧化活性、α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制作用增强的原因之一[26−27]。

2.5　鹰嘴豆乳发酵前后的差异代谢物

代谢组学检测结果表明，鹰嘴豆乳经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵前后分别检测得到 2226 和 2234 种化合物，主要以脂肪酰基、有机氧化合物、羧酸及其衍生物、烯醇酮脂类、苯及其取代衍生物、类固醇和类固醇衍生物、吲哚及其衍生物、酚类、有机氮化合物、黄酮类化合物、咪唑并嘧啶类为主。比较发酵前后鹰嘴豆乳的化学组成发现，有 1459 种共有化合物同时在未发酵和经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵后的鹰嘴豆乳中被检测到，这些化合物以脂肪酰基化合物、有机氧化合物、羧酸及其衍生物、烯醇酮脂类、苯及其取代衍生物、类固醇及其衍生物、吲哚及其衍生物和酚类为主。有 775 种化合物只在经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵的鹰嘴豆乳中被检测到，这些化合物则是鹰嘴豆乳经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵后产生的新物质，主要包括 45 种氨基酸和肽及其类似物、38 种脂肪酸及其共轭物、35 种羰基化合物、27 种碳水化合物及其结合物、21 种单萜类化合物、16 种脂肪酸酯、11 种二萜类、11 种苯甲酸及其衍生物和 11 种亚麻酸及其衍生物以及其他代谢物。

差异分析结果表明，从未发酵和经发酵的鹰嘴豆乳中共筛选出差异代谢物 955 种，其中包括 180

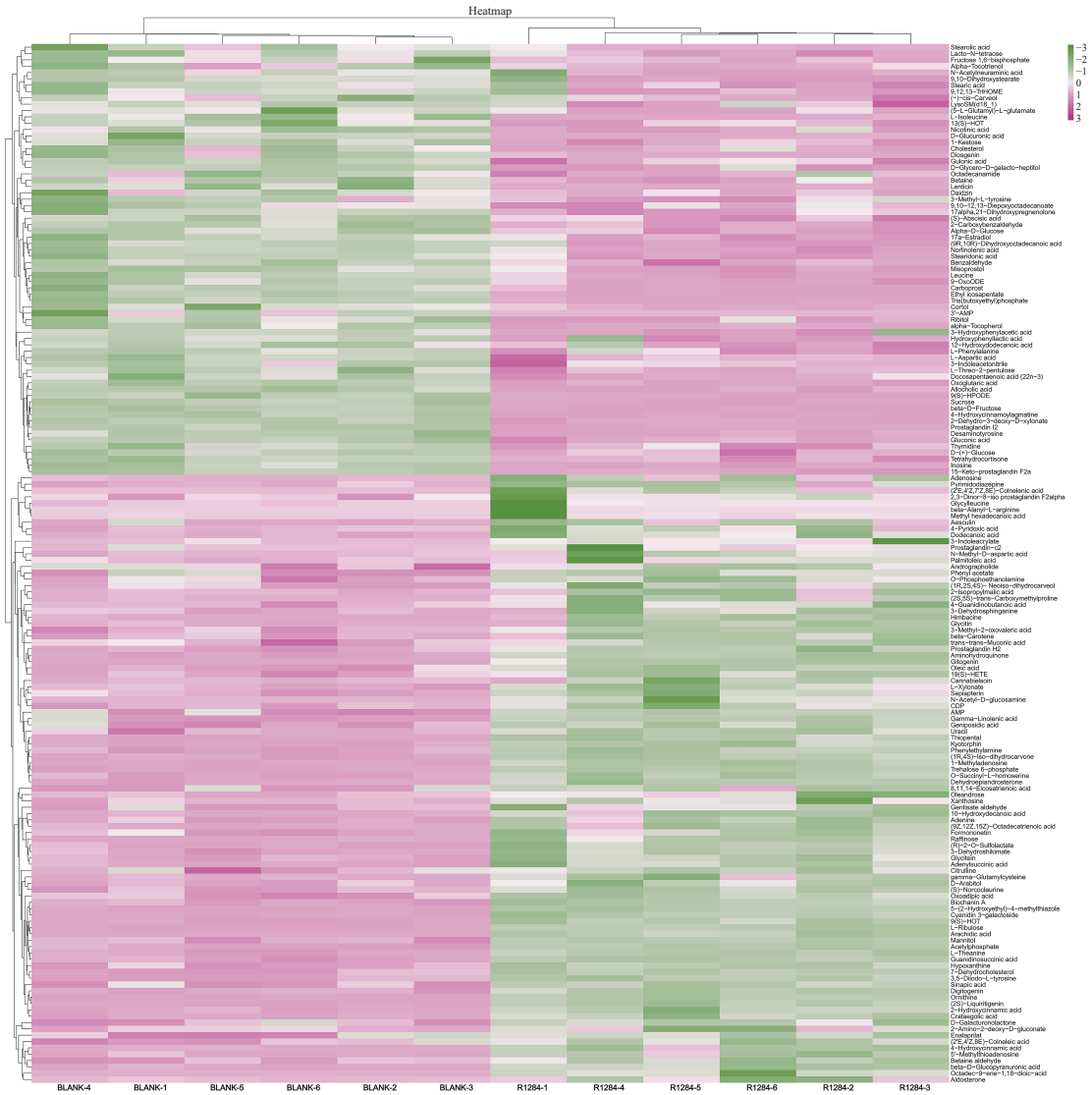


图 3　未发酵鹰嘴豆乳和发酵鹰嘴豆乳的共有差异代谢物

Fig.3　Common differential metabolites in unfermented chickpea extract and chickpea fermentation broth

注：BLANK：未发酵鹰嘴豆乳，R1284：发酵鹰嘴豆乳，每个样品 6 个平行。

种共有差异代谢物和新产生的物质 775 种。结果如图 3 所示，180 种共有差异代谢物主要以氨基酸和肽及其类似物、脂肪酸及其共轭物、碳水化合物及其结合物、有机酸及黄酮类化合物为主，其中有 107 种含量显著下调，73 种含量显著上调。发酵后代表性下调的化合物主要包括：鸟氨酸(Ornithine)、9-十八碳烯二酸(Octadec-9-ene-1, 18-dioic-acid)、花生酸(Arachidic acid)、吉托皂苷元(Gitogenin)、β-丙氨酸-L-精氨酸(beta-Alanyl-L-arginine)等，显著上调的化合物则主要包括：β-D-果糖(beta-D-Fructose)、薯蓣皂苷元(Diosgenin)、三丁氧基乙基磷酸酯(Tris(butoxyethyl)phosphate)、二十碳五烯酸乙酯(Ethyl icosapentate)、腺苷 3'-单磷酸(3'-AMP)等。而经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵后新产生的代表性化合物则主要包括：菊粉二糖(Inulobiose)、3,4-二甲氧基苯甲醛(3,4-Dimethoxybenzaldehyde)、鳞茎萜类(Lepidiumterpenoid)、6-磷酸果糖赖氨酸(Fructoselysine 6-phosphate)、苏氨酸(Threonic acid)等。因此，为探究经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵前后鹰嘴豆乳中关键化合物的潜在降血糖功能及差异，选取经发酵后鹰嘴豆乳新产生的代表性化合物菊粉二糖、3,4-二甲氧基苯甲醛、鳞茎萜类、6-磷酸果糖赖氨酸、苏氨酸和含量显著上调的前 5 种共有化合物 β-D-果糖、薯蓣皂苷元、三丁氧基乙基磷酸酯、二十碳五烯酸乙酯、腺苷 3'-单磷酸($lg_2FC5.02\sim4.02$)进行后续的网络药理学分析。

2.6 发酵鹰嘴豆乳核心靶点的筛选

获得发酵鹰嘴豆乳中 10 种关键成分的相关作用靶点 530 个。在 Gene Cards、OMIM 数据库检索获得 T2DM 相关靶点 1447 个，将得到的发酵鹰嘴豆乳关键成分相关作用靶点与 T2DM 靶点取交集共获得交集靶点 186 个(图 4A)。将得到的交集靶点相互作用，去掉单独作用的靶点，获得 146 个核心靶点(图 4B)。146 个核心靶点根据度值(degree)由高到低排序，筛选排名前 5 位的靶点 STAT3(信号转导及转录激活蛋白 3)、AKT1(丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1)、HSP90AA1(热休克蛋白 90α 家族 A 类成员 1)、SRC(类固醇受体辅激活因子)、PIK3CA(磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α)进行分子对接。

2.7 GO 和 KEGG 富集分析

为进一步明确发酵鹰嘴豆乳中 10 种关键成分降血糖的作用通路，对其与 T2DM 的交集靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析，结果如图 4C 和图 4D 所示。发酵鹰嘴豆乳关键成分主要参与的生物过程涉及信号转导(signal transduction)、蛋白质磷酸化(protein phosphorylation)、细胞分化(cell differentiation)。主要作用于质膜(plasma membrane)、细胞

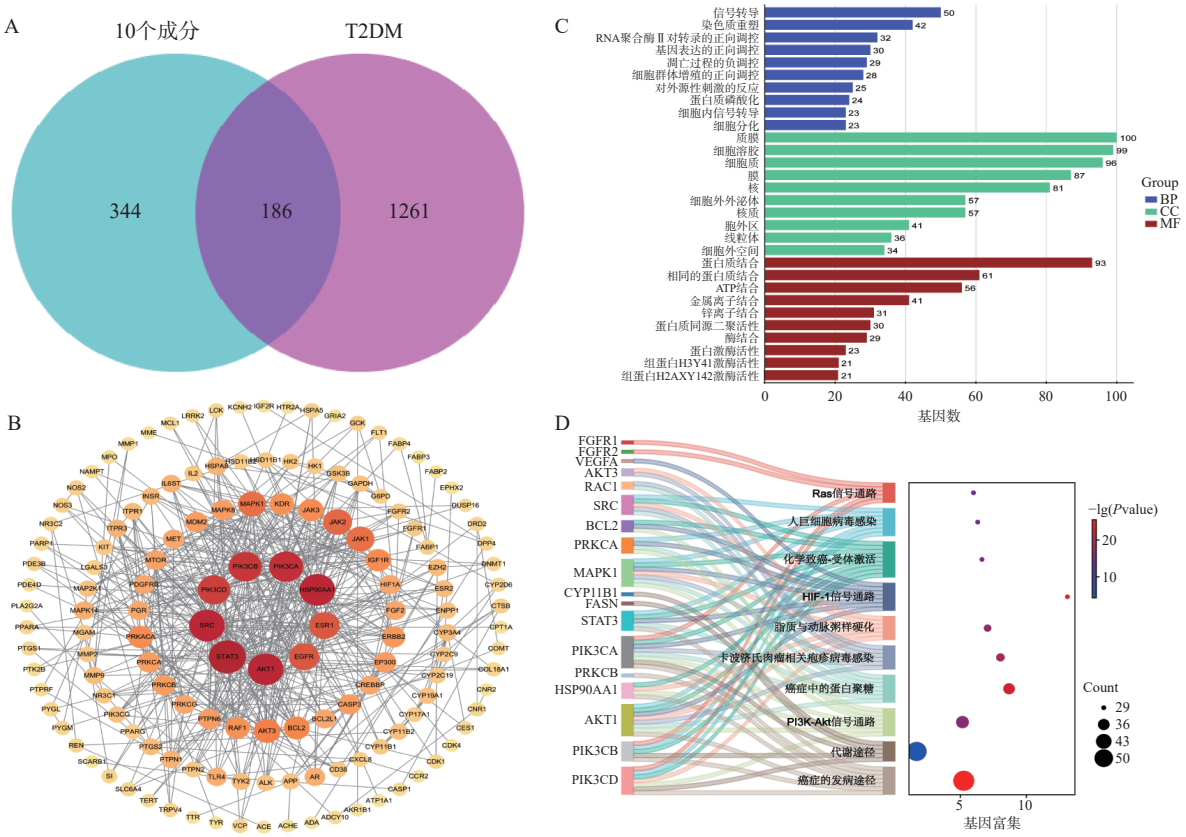


图 4 发酵鹰嘴豆乳 10 个活性成分的网络药理学集合图

Fig.4 Set diagram network pharmacology set diagram of 10 active ingredients in chickpea fermentation broth

注：A：发酵鹰嘴豆乳 10 个活性成分与 T2DM 交集靶点的韦恩图；B：核心靶点的网络图；C：交集靶点 GO 富集分析；D：交集靶点 KEGG 富集分析。

液(cytosol)、细胞膜(membrane)等细胞组分。细胞结构的关键功能区域，特别是膜筏、膜微区和膜域，主要位于细胞膜上。分子功能主要参与蛋白激酶活性(protein kinase activity)、蛋白质结合(protein binding)、酶结合(enzyme binding)。发酵鹰嘴豆乳活性成分对 T2DM 的作用途径主要涉及 PI3K-Akt 信号通路(PI3K-Akt signal pathways)、脂质与动脉粥样硬化(lipid and atherosclerosis)通路、Ras 信号通路(ras signaling pathway)。

2.8　分子对接结果

分子对接结合能越小，说明小分子配体与靶点蛋白之间的亲和力越大[28]。如图 5 所示，其结合能均小于 0，说明这 10 种活性成分均能与 7 个靶点蛋白自发相互结合。活性成分与靶点蛋白的对接自由能<−5 kcal/mol，表明活性成分对靶点具有高亲和力。腺苷 3'-单磷酸和 6-磷酸果糖赖氨酸与靶点 7 个靶点的结合能<−5 kcal/mol，菊粉二糖除了靶点 PIK3CA 与其他靶点的结合能<−5.4 kcal/mol，三丁氧基乙基磷酸酯仅与靶点 3A4A 结合能<−5 kcal/mol，β-D-果糖与靶点 STAT3、HSP90AA1、SRC 靶点结合能<−5 kcal/mol，二十碳五烯酸乙酯与靶点 STAT3、3A4A、4GQR 的结合能<−5.2 kcal/mol，鳞茎蓟类与靶点 STAT3、HSP90AA1、3A4A 和 4GQR 的结合能<−5.7 kcal/mol。值得注意的是，薯蓣皂苷元与 7 个靶点蛋白的结合能均<−7.7 kcal/mol，具有较好的结合活性。

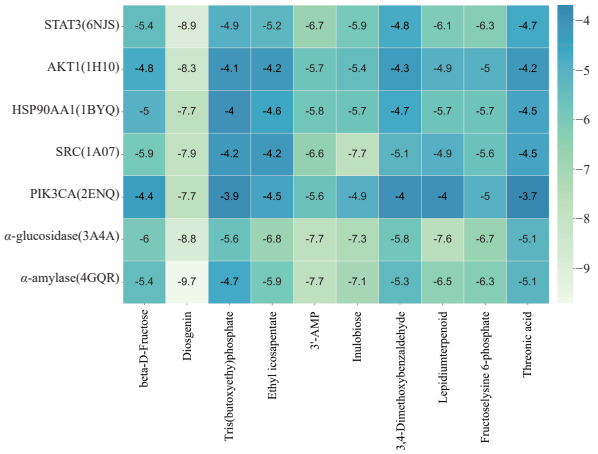


图 5　发酵鹰嘴豆乳关键活性成分与核心蛋白的结合能(kcal/mol)

Fig.5　Binding energy between the key active components of chickpea fermentation broth and core protein (kcal/mol)

以成分与靶点结合能<−8 kcal/mol 为标准，将关键成分与靶点的分子对接结果可视化，结果如图 6 所示。鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳关键活性成分薯蓣皂苷元能分别与 AKT1 的 ASN-567 残基形成 1 条氢键，与 STAT3 的 GLU-91、GLU-95 残基形成 2 条氢键，与 3A4A 的 ASN-317、GLY-160、GLY-161 残基形成 3 条氢键，与 4GQR 的 ASP-197、HIS-101 残基形成 2 条氢键。以上结果表明，发酵鹰嘴豆乳的关键活性成分通过氢键能与靶点蛋白紧密结合。

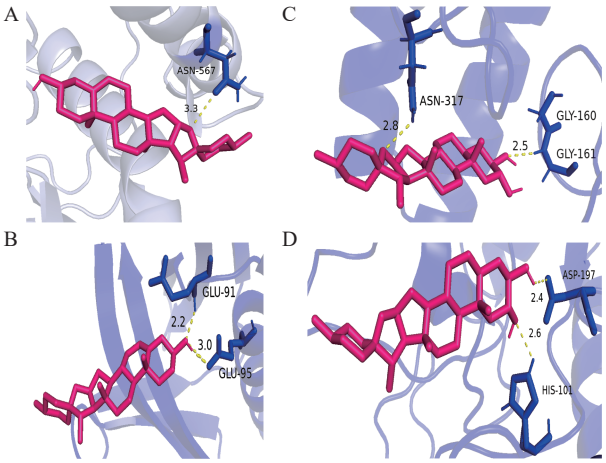


图 6　发酵鹰嘴豆乳缓解 T2DM 的关键活性成分和核心靶点的分子对接结果

Fig.6　Molecular docking results of key active components and core targets in chickpea fermentation broth for alleviating T2DM

注：A：薯蓣皂苷元与 AKT1；B：薯蓣皂苷元与 STAT3；C：薯蓣皂苷元与 3A4A；D：薯蓣皂苷元与 4GQR；图中黄色虚线为氢键，玫红色部分为活性成分，带有字母标签的蓝色部分为氨基酸残基。

3　讨论与结论

研究表明豆类及其制品中富含的有机物、蛋白质、多糖、皂苷及萜类等化合物，具有抗氧化、抗炎、抑菌及降血糖和防治心血管疾病等作用[29]。在豆类发酵过程中，微生物分泌的蛋白酶、脂肪酶等酶类可将豆类中的蛋白质和脂肪分解为游离氨基酸、脂肪酸及小分子水溶性蛋白，这种生物转化过程不仅赋予了发酵豆制品独特风味，也有助于提升其消化吸收率[30]；同时微生物也会利用豆类中的营养成分产生一些新的活性物质或间接增加原有活性物质含量以增强发酵产品的功能，使发酵豆制品在营养与保健方面更具优势[31]。经鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵后，鹰嘴豆乳中原有的黄酮类(如矢车菊素-3-半乳糖苷)、氨基酸肽类(如异亮氨酸、苯丙氨酸、3-甲基-L-酪氨酸)、脂肪酸(如去甲亚麻酸、二十碳五烯酸乙酯、十八碳四烯酸)以及薯蓣皂苷元等皂苷类物质含量显著增加的同时，也新产生了包括鳞茎蓟类和低聚糖菊粉二糖等在内的多种生物活性物质以及苏氨酸、6-磷酸果糖赖氨酸等氨基酸类物质。氨基酸具有多种生物功能，与机体代谢和免疫调节密切相关，在食品、医药领域应用广泛[32]。二十碳五烯酸乙酯可降低甘油三酯水平并减少心血管疾病的发生[33]。薯蓣皂苷元是治疗 T2DM 的新兴来源，能够改变胰腺 β 细胞更新途径以更好地分泌胰岛素，从而启动葡萄糖转运蛋白 4 型，提高激素水平，修饰雌激素受体 α 介导的 PI3K/Akt 通路[33]。鳞茎蓟类属于三萜类化合物，研究表明三萜类化合物具有促进胰

岛素分泌，抑制 α-糖苷酶、醛糖还原酶和二肽基肽酶-4 的活性的作用[34]；而低聚糖菊粉二糖则具有作为益生元促进机体内益生菌增殖和定植的功效[35]。

分子对接结果显示，发酵后含量显著上调的薯蓣皂苷元及新增物质鳞茎萜类和菊粉二糖既能与 T2DM 疾病 STAT3、HSP90AA1 等靶点紧密结合，同时和 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶靶点蛋白的结合能均<−6.5 kcal/mol，说明薯蓣皂苷元及新增物质鳞茎萜类和菊粉二糖不仅能够通过紧密结合 T2DM 靶点间接参与作用通路，还能通过与 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶靶点蛋白结合，通过抑制 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶活性发挥潜在降血糖作用。同时，GO 和 KEGG 结果表明发酵鹰嘴豆乳降血糖作用靶点主要参与 PI3K/Akt 信号通路、脂质与动脉粥样硬化通路和 Ras 信号通路。PI3K/Akt 信号通路在 T2DM 中起着关键作用，其功能障碍会导致胰岛素介导的葡萄糖摄取和利用受损，进而促进胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能衰退[36]。T2DM 患者常常伴有血脂异常，脂质异常是动脉粥样硬化的主要危险因素，动脉粥样硬化是其主要并发症之一[37]。Ras 信号通路可以激活 PI3K 和 Akt，进而激活 PI3K/Akt 信号通路，最终影响胰岛素信号转导和葡萄糖代谢[38]。这也进一步说明发酵鹰嘴豆乳发挥降血糖功能是基于多成分-多靶点-多通路共同作用的结果。

整体而言，本研究的结果不仅说明鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵能显著提高鹰嘴豆乳的 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制活性、抗氧化能力、总酚和总黄酮含量，并改善其豆腥味；也表明发酵鹰嘴豆乳中的薯蓣皂苷元、鳞茎萜类和菊粉二糖能通过氢键与 PIK3R1、SRC 等 T2DM 疾病靶点蛋白及 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶蛋白靶点紧密结合，间接参与 PI3K/Akt 等多条信号通路，从而基于多成分-多靶点-多通路协同发挥潜在降血糖效果。本研究的结果不仅为基于鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 的功能性食品开发奠定了科学基础，也为提质增效促进鹰嘴豆的高值化利用提供了新思路。然而，网络药理学存在局限性，基于数据库和程序的应用无法有效说明结论的准确性，后续将在本研究的基础上结合体内和体外实验，进一步详尽解析和验证鼠李糖乳酪杆菌 FMBL L23004 CNN 发酵鹰嘴豆乳的降血糖相关分子基础和机制，为其在糖尿病预防和改善中的应用提供更为科学的数据支撑。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] GAO K, YANG R, ZHANG J, et al. Effects of Qijian mixture on type 2 diabetes assessed by metabonomics, gut microbiota and network pharmacology[J]. Pharmacological Research, 2018, 130: 93−109.

[2] ZHENG Y, LEY S H, HU F B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2018, 14(2): 88−98.

[3] PADHI S, NAYAK A K, BEHERA A. Type II diabetes mellitus: A review on recent drug based therapeutics[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 131: 110708.

[4] 刘佳, 夏永军, 熊智强, 等. 益生菌对 2 型糖尿病缓解作用的研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(1): 466−471. [LIU J, XIA Y J, XIONG Z Q, et al. Research progress on the alleviating effect of probiotics on type 2 diabetes[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(1): 466−471.]

[5] WU T, ZHANG Y, LI W, et al. *Lactobacillus rhamnosus* LRa05 ameliorate hyperglycemia through a regulating glucagon-mediated signaling pathway and gut microbiota in type 2 diabetic mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(31): 8797−8806.

[6] LEE Y, LEE D, PARK G, et al. *Lactobacillus plantarum* HAC01 ameliorates type 2 diabetes in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice in association with modulating the gut microbiota[J]. Food & Function, 2021, 12(14): 6363−6373.

[7] LI P, LU B, GONG J, et al. Chickpea extract ameliorates metabolic syndrome symptoms via restoring intestinal ecology and metabolic profile in type 2 diabetic rats[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021, 65(13): e2100007.

[8] GAO Y, YAO Y, ZHU Y, et al. Isoflavones in chickpeas inhibit adipocyte differentiation and prevent insulin resistance in 3T3-L1 cells[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(44): 9696−9703.

[9] 辛跃强, 梁荣荣, 王瑞明. 低聚半乳糖对肠道益生菌产胞外多糖作用的研究[J]. 生物技术通报, 2015, 31(6): 144−150. [XIN Y Q, LIANG R R, WANG R M. Study on the effect of galactooligosaccharides on the production of extracellular polysaccharides by intestinal probiotics[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(6): 144−150.]

[10] KITTIBUNCHAKUL S, MAISCHBERGER T, DOMIG K J, et al. Fermentability of a novel galacto-oligosaccharide mixture by *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp.[J]. Molecules, 2018, 23(12): 3352.

[11] THONGARAM T, HOEFLINGER J L, CHOW J, et al. Prebiotic galactooligosaccharide metabolism by probiotic *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(20): 4184−4192.

[12] 徐超. 乳酸菌发酵对鹰嘴豆乳营养成分及降血糖活性的影响[D]. 郑州: 河南工业大学, 2023. [XU C. Effects of lactic acid bacteria fermentation on nutritional components and hypoglycemic activity of chickpea milk[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023.]

[13] FAN J, LU Y, LI X, et al. Omics analysis of key pathway in flavour formation and B vitamins synthesis during chickpea milk fermentation by *Lactiplantibacillus plantarum*[J]. Food Chemistry, 2025, 463: 141083.

[14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.237-2016 食品安全国家标准 食品 pH 值的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [The State Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 5009.237-2016 National food safety standard determination of pH value of food[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.]

[15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB

5009.239-2016 食品安全国家标准 食品酸度的测定[S]. 北京：中国标准出版社，2016.［The State Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 5009.239-2016 National food safety standard Determination of food acidity[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.］

［16］ ZHONG H, ABDULLAH, ZHANG Y, et al. Screening of novel potential antidiabetic *Lactobacillus plantarum* strains based on in vitro and in vivo investigations[J]. LWT, 2021, 139: 110526.

［17］ TANGYU M, FRITZ M, ARAGAO-BÖRNER R, et al. Genome-based selection and application of food-grade microbes for chickpea milk fermentation towards increased llysine content, elimination of indigestible sugars, and improved flavour[J]. Microbial Cell Factories, 2021, 20(1): 109.

［18］ WANG Y, LI H, LI X, et al. Widely targeted metabolomics analysis of enriched secondary metabolites and determination of their corresponding antioxidant activities in *Elaeagnus angustifolia* var. orientalis (L.) Kuntze fruit juice enhanced by *Bifidobacterium animalis* subsp. Lactis HN-3 fermentation[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131568.

［19］ ZHANG Q, ZHANG J, SHEN J, et al. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds[J]. Journal of applied phycology, 2006, 18(3): 445−450.

［20］ GRANATO D, SANTOS J S, MACIEL L G, et al. Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016, 80: 266−279.

［21］ DEMURTAS A, PESCINA S, NICOLI S, et al. Validation of a HPLC-UV method for the quantification of budesonide in skin layers[J]. Journal of Chromatography B, 2021, 1164: 122512.

［22］ WANT E J, MASSON P, MICHOPOULOS F, et al. Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS[J]. Nature Protocols, 2013, 8(1): 17−32.

［23］ 彭伟, 王潇, 傅舒, 等. 基于代谢组学和网络药理学探讨附子甘草药对在生理/病理状态下的核心配伍内涵[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(14): 3793−3805.［PENG W, WANG X, FU S, et al. Exploring the core compatibility of Fuzi Gan herbal medicine under physiological/pathological conditions based on metabolomics and network pharmacology[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2023, 48(14): 3793−3805.］

［24］ 马嫄, 殷晓翠, 罗钰湲, 等. 发酵石榴汁工艺优化及成分分析[J]. 西华大学学报(自然科学版), 2020, 39(6): 37−46.［MA Y, YIN X C, LUO Y Y, et al. Optimization of fermentation process and component analysis of pomegranate juice[J]. Journal of Xihua University (Natural Science Edition), 2020, 39(6): 37−46.］

［25］ TSANGALIS D, SHAH N P. Metabolism of oligosaccharides and aldehydes and production of organic acids in soymilk by probiotic *Bifidobacteria*[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2004, 39(5): 541−554.

［26］ ZHANG B, DENG Z, RAMDATH D D, et al. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on α-glucosidase and pancreatic lipase[J]. Food Chemistry, 2015, 172(1): 862−872.

［27］ TAO L, SONG S, LIU C, et al. Fermentation reduced the *in vitro* glycemic index values of probiotic-rich bean powders[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2022, 57(5): 3038−3045.

［28］ 尹路洁, 李玉峰, 肖珉, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨蔓荆子降压作用机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2025, 23(1): 10−17.［YIN L J, LI Y F, XIAO M, et al. Exploring the mechanism of blood pressure lowering effect of Fructus Sophorae based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine in Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases, 2025, 23(1): 10−17.］

［29］ WANG J, LI Y, LI A, et al. Nutritional constituent and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review[J]. Food Research International, 2021, 150: 110790.

［30］ 贾璠, 郭霞, 何晨, 等. 传统发酵豆制品营养功能成分研究进展[J]. 中国酿造, 2019, 38(4): 1−6.［JIA F, GUO X, HE C, et al. Research progress on nutritional functional components of traditional fermented soy products[J]. China Brewing, 2019, 38(4): 1−6.］

［31］ 曹娅, 于佳佳, 冯云龙. 鹰嘴豆的营养、活性成分与功效研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(1): 204−209.［CAO Y, YU J J, FENG Y L. Research progress on nutrition, active ingredients and efficacy of chickpeas[J]. Food Research and Development, 2021, 42(1): 204−209.］

［32］ CHILUKURI H, KULKARNI M J, FERNANDES M. Revisiting amino acids and peptides as anti-glycation agents[J]. Medchemcomm, 2018, 9(4): 614−624.

［33］ DOGGRELL S A. Clinical trials of eicosapentaenoic acid (EPA) prescription products for the treatment of hypertriglyceridemia[J]. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2019, 20(10): 1221−1225.

［34］ ARYA P, KUMAR P. Diosgenin: An ingress towards solving puzzle for diabetes treatment[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(12): e14390.

［35］ HUGHES R L, ALVARADO D A, SWANSON K S, et al. The prebiotic potential of inulin-type fructans: A systematic review[J]. Advances in Nutrition, 2022, 13(2): 492−529.

［36］ LIN T S, HUANG W N, YANG J L, et al. Allyl isothiocyanate inhibits cell migration and invasion in human gastric cancer AGS cells via affecting PI3K/Akt and MAPK signaling pathway *in vitro*[J]. Environmental Toxicology, 2023, 38(10): 2287−2297.

［37］ 延照. 脂蛋白在 2 型糖尿病与冠心病患者动脉粥样硬化中的作用机制[J]. 临床医学进展, 2024, 14(1): 640−646.［YAN Z. The mechanism of lipoproteins in atherosclerosis in patients with type 2 diabetes and coronary heart disease[J]. Clinical Medical Progress, 2024, 14(1): 640−646.］

［38］ CAO R, TIAN H, ZHANG Y, et al. Signaling pathways and intervention for therapy of type 2 diabetesmellitus[J]. MedComm, 2023, 4(3): e283.