

乳酸菌发酵黄浆水的发酵特性以及其对大豆异黄酮的生物转化能力研究

杜 龙*

[上海清美绿色食品(集团)有限公司, 上海 201314]

摘要: 目的 研究从中国传统发酵食品中筛选得到的 9 株植物乳杆菌发酵黄浆水的发酵特性以及其对大豆异黄酮的生物转化能力。**方法** 检测黄浆水的基本成分, 并通过活细胞计数、滴定酸度和 pH 探讨乳酸菌发酵黄浆水的能力, 采用吸光度法和高效液相色谱法分别检测了 β -葡萄糖苷酶的酶活和 6 种大豆异黄酮的含量变化。**结果** 黄浆水中含有乳酸菌生长必需的营养物质, 9 株植物乳杆菌在黄浆水中都能够生长, 同时能够产 β -葡萄糖苷酶, 具有的大豆异黄酮生物转化能力。其中, *Lactiplantibacillus plantarum* 17-17 为最优良的菌株, 该菌株在发酵 6 h 时活菌数可达 8.49 lg CFU/mL, β -葡萄糖苷酶酶活可达 0.68 U/mL, 大豆苷元、大豆黄素和染料木素的含量分别增加了 15.04、2.35 和 28.71 mg/L。**结论** *Lactiplantibacillus plantarum* 17-17 菌株可以有效提高黄浆水中大豆异黄酮的生物利用度, 为黄浆水的高效回收利用提供了重要的理论依据。

关键词: 黄浆水; 植物乳杆菌; β -葡萄糖苷酶; 大豆异黄酮; 生物转化

Study on fermentation characteristics of fermented yellow serofluid by *Lactiplantibacillus plantarum* and its microbial transformation ability of soybean isoflavone

DU Long*

(Shanghai Tramy Green Food Group, Shanghai 201314, China)

ABSTRACT: Objective To study the fermentation characteristics of fermented yellow serofluid by 9 *Lactiplantibacillus plantarum* strains isolated from Chinese traditional fermented food and their microbial transformation ability of soybean isoflavones. **Methods** The basic components of yellow serofluid were detected. The ability of *Lactiplantibacillus plantarum* to yellow serofluid water was studied by cell count, titrated acidity and pH. Then, the changes of β -glucosidase activity and 6 kinds of soybean isoflavones content were detected by absorbance and high performance liquid chromatography, respectively. **Results** The yellow serofluid contained essential nutrients for the growth of lactic acid bacteria. Nine *Lactiplantibacillus plantarum* strains could grow in the yellow serofluid and produce β -glucosidase, which had a certain microbial transformation ability of soybean isoflavones. Among them, *Lactiplantibacillus plantarum* 17-17 was the best one, which could reach 8.49 lg CFU/mL of viable cell count and 0.68 U/mL of β -glucosidase activity at 6 h of the fermentation. The content of daidzein, glycitein and genistein increased by 15.04, 2.35 and 28.71 mg/L, respectively. **Conclusion** *Lactiplantibacillus plantarum* 17-17 can effectively improve the bioavailability of soybean isoflavones in yellow serofluid, providing an important theoretical

*通信作者: 杜龙, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品加工。E-mail: dulong@sh-tramy.com

*Corresponding author: DU Long, Master, Engineer, Shanghai Tramy Green Food Group, No.661, Xuanxia Road, Pudong District Shanghai 201314, China. E-mail: dulong@sh-tramy.com

basis for efficient recycling of yellow serofluid.

KEY WORDS: yellow serofluid; *Lactiplantibacillus plantarum*; β -glucosidase; soybean isoflavone; microbial transformation

0 引言

黄浆水是豆制品加工废水, 又称大豆乳清。黄浆水中含有较为丰富的营养物质, 生化需氧量(biochemical oxygen demand, BOD)高达 5000~10000 mg/L, 化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)为 15000~24000 mg/L^[1-3]。黄浆水从豆制品加工厂排放到自然界后, 不但会流失有价值的营养成分, 而且会给自然界有害微生物的繁殖提供足够的营养物质进而加重对环境的污染^[4]。近年来, 人们通过将黄浆水作为功能性物质提取的原料或作为生物发酵基质来制备代谢产物等方式, 积极推动黄浆水的回收利用^[5-8]。

大豆异黄酮(soybean isoflavone, SIF)是黄浆水中的特色生物活性物质。大豆中将近一半的 SIF 存在于黄浆水中^[9]。SIF 具有类雌性激素活性, 同时也具有抗氧化、抑制肿瘤细胞的生长、降低冠状动脉疾病风险等生理活性^[10-13]。自然界中 SIF 有 12 种异构体^[14], 包括 3 种苷元型和 9 种糖苷型。一般情况下苷元型 SIF 只占总量的 2%~3%^[15], 但其更容易被人体吸收利用, 因而具有更高的生物活性。糖苷型 SIF 可通过体外酶解或微生物发酵转化为苷元型, 提高其生物利用度^[16]。相比于高成本的体外酶解法, 低成本的微生物发酵法更利于工业化应用^[17]。王欣欣等^[18]研究了 3 种乳酸菌发酵黄浆水过程中 SIF 的生物转化情况, 发现发酵 24 h 后黄浆水中游离型 SIF 的含量增加了 14.45~18.79 mg/L。该研究虽然揭示了在黄浆水中乳酸菌具有 SIF 生物转化方面的潜力, 但其所选菌株的转化率并不高。因此需要更多的研究来筛选在黄浆水中具有高转化 SIF 能力的乳酸菌。在众多乳酸菌中, 植物乳杆菌因其对 SIF 的高转化能力而受到关注。黄玉军等^[17]研究了 140 株乳酸菌在豆乳发酵过程中的 SIF 生物转化能力, 发现转化能力最强的乳酸菌为植物乳杆菌。由此可见, 植物乳杆菌在黄浆水中对 SIF 的转化能力具有研究潜力。

本研究基于黄浆水的基本成分分析, 利用中国传统发酵食品来源的 9 株植物乳杆菌发酵黄浆水, 研究其发酵特性以及大豆异黄酮的生物转化能力, 筛选出高效转化 SIF 的乳酸菌株, 为高效再资源化利用豆制品废水提供了重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄浆水: 3 个不同批次的样品, 每批次时间间隔为一个月, 由上海清美绿色食品有限公司提供; MRS 培养基(北京

AOBOX 生物技术); 大豆苷、大豆黄苷、大豆黄素、染料木素[色谱纯, 阿拉丁试剂(上海)有限公司]; 染料木苷、大豆苷元、甲醇、乙腈(色谱纯)、其余化学试剂(分析纯)(上海麦克林生化科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

BS-1E 型恒温培养箱(常州市凯航仪器有限公司); HH-2 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); UB-7 型 pH 计(美国 Denver Instrument 公司); TU-1810 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); Y01N 型酶标仪(美国 Eppendorf 公司); 1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); GL Wondasil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 日本岛津公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 黄浆水基本成分分析

水分含量参照 GB 5009.3—2016《食品中水分的测定》中的第一法——直接干燥法测定; 蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定^[18]; 总糖的含量采用苯酚-硫酸比色法测定^[19]; 脂肪的含量参照 GB 5009.6—2016《食品中脂肪的测定》中的第一法——索氏抽提法测定。

1.3.2 黄浆水的发酵

本研究所用的 9 株植物乳杆菌在-80℃低温冰箱中保藏, 其 16S rDNA 测序结果在 NCBI 数据库中进行比对, 菌株的来源、确定菌株物种如表 1 所示。乳酸菌按照 2% (V/V) 的接种量接种于 MRS 液体培养基中, 在 37℃培养 18 h 后用于后续发酵。在 250 mL 的锥形瓶中加入 50 mL 的黄浆水样品, 在 121℃高压灭菌 15 min 备用。活化后的乳酸菌用生理盐水稀释至所需的浓度之后接种于黄浆水中, 在 37℃静置发酵 12 h。在发酵 0、2、4、6、9、12 h 时收集样品, 进行后续检测。

1.3.3 发酵特性

活菌计数: 用生理盐水以适当比例稀释样品并在平板计数培养基上进行涂板, 在 37℃下培养 48 h 后进行乳酸菌细胞计数。根据稀释倍数计算每毫升样品中的活菌数。

pH 检测: 用数字 pH 计直接读数。

滴定酸度的检测: 取 20 mL 样品中加 2 滴酚酞指示剂, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定至终点, 以每毫升样品消耗 NaOH 的毫升数乘以 100 为其滴定酸度。

1.3.4 β -葡萄糖苷酶酶活检测

β -葡萄糖苷酶酶活检测参考周俊等^[20]和 QUEIROS 等^[21]的方法。

表 1 菌株的来源与 16S rDNA 测序结果
Table 1 Origins of strains and sequencing results of 16S rDNA

| 菌株来源 | 菌株名称 | 同源性最高菌株 |
|----------|-------------|--|
| | 植物乳杆菌 G2 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain JY53 |
| 昆山臭豆腐卤液 | 植物乳杆菌 G3 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain MG5248 |
| | 植物乳杆菌 G7 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain MG5248 |
| 召稼楼臭豆腐卤液 | 植物乳杆菌 17-17 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain JY28 |
| 逢达臭豆腐卤液 | 植物乳杆菌 S1L6 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain 6-6 |
| | 植物乳杆菌 JX-4 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain 13 |
| | 植物乳杆菌 JX-16 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain SL74-3 |
| 江西泡菜 | 植物乳杆菌 JX-19 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain MJ0301 |
| | 植物乳杆菌 JX-23 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain TSGB1291 |

标准曲线的绘制: 用 0.1 mol/L 乙酸-乙酸钠缓冲液 (pH=5.0) 分别配制 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mmol/L 的对硝基苯酚溶液 10 mL, 取 0.1 mL, 并用缓冲液补足至 1.0 mL, 在 45°C 下保温 30 min。然后分别加入 1.0 mol/L 的 Na₂CO₃ 溶液 1.0 mL, 利用酶标仪在 400 nm 处测定吸光度, 所得标准曲线为 $Y=0.4857X+0.0477$ ($r^2=0.9993$)。式中 X 为对硝基苯酚的浓度 (mmol/L), Y 为 OD_{400 nm}。

样品的测定: 在 0.1 mL 的样品中加入 0.2 mL 5.0 mmol/L 对硝基苯-β-D-吡喃葡萄糖苷溶液和 0.7 mL 乙酸缓冲液 (pH=5.0), 在 45°C 恒温反应 30 min 后, 立即加入 1.0 mL 1.0 mol/L Na₂CO₃ 溶液终止反应, 在 400 nm 处测定吸光度。

酶活力计算: 在该反应条件下, 以 1 min 催化生成 1 μmol/L 对硝基苯酚所需的酶量定义为一个单位酶活力。

1.3.5 大豆异黄酮的含量检测

标准曲线的绘制: 准确称取 3 种苷元型 SIF (染料木素、大豆黄素、大豆苷元) 和 3 种糖苷型 SIF (染料木苷、大豆黄苷、大豆苷) 标准品各 10 mg, 用甲醇定容至 10 mL 配制成质量浓度为 1 g/L 的母液。将母液稀释成最终质量浓度为 0、10、20、30、40、50 μg/mL 的标准溶液, 用 0.22 μm 滤膜过滤后进行高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 检测。色谱柱为 GL Wondasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相 A 为 0.5% 冰乙酸水溶液, 流动相 B 为甲醇, 进样量为 20 μL, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 40°C, 检测波长为 260 nm, 洗脱程序为梯度洗脱, 具体程序如表 2 所示。以各组分质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标来绘制 6 种标准品的标准曲线^[22]。所得的标准曲线如表 3 所示。

表 2 梯度洗脱程序
Table 2 Gradient elution program

| 时间/min | A 相/% | B 相/% |
|--------|-------|-------|
| 0 | 90 | 10 |
| 40 | 40 | 60 |
| 50 | 40 | 60 |
| 60 | 90 | 10 |

表 3 6 种大豆异黄酮标准曲线方程
Table 3 Standard curve equations of 6 kinds of SIFs

| 大豆异黄酮种类 | 回归方程 | r^2 |
|---------|--------------------|--------|
| 大豆苷 | $Y=72.576X-197.20$ | 0.9999 |
| 大豆黄苷 | $Y=54.787X-49.338$ | 0.9997 |
| 染料木苷 | $Y=89.466X-79.943$ | 0.9999 |
| 大豆苷元 | $Y=78.715X-117.95$ | 0.9999 |
| 大豆黄素 | $Y=67.465X-34.249$ | 0.9990 |
| 染料木素 | $Y=109.53X-22.206$ | 0.9995 |

注: 表中 X 为 SIF 标准品质量浓度 (μg/mL), Y 为峰面积 (mU)。

样品的测定: 取 20 mL 样品, 加入 20 mL 甲醇, 在 60°C 超声萃取 1 h, 用 0.22 μm 的滤膜过滤后进行 HPLC 检测。最后根据标准曲线换算出样品中各类 SIF 的浓度。

1.3.6 数据分析

所有实验进行 3 个平行实验, 数据分析采用 SPSS 23.0 软件, 制图采用 GraphPad Prism v8.0.2 软件。结果以平均值±标准偏差形式表示, 显著性分析通过 Tukey 多项极差检验分析。

2 结果与分析

2.1 黄浆水基本成分分析

黄浆水基本成分分析结果显示, 黄浆水中水分、蛋白质、总糖和脂肪含量分别为 (969.10±0.40)、(1.11±0.26)、(0.60±0.11) 和 (0.32±0.02) g/L。由此可见, 黄浆水中含有较多的水分和一定量的碳源及氮源等微生物生长所必需的营养物质, 具备乳酸菌生长的基本条件, 可用于微生物发酵, 其营养物质的含量与赵冬梅等^[23]的检测结果相比相对较低。原因可能与样品本身的差异有关。此外, 检测结果的相对误差较小, 可见黄浆水批次稳定性较好。

2.2 乳酸菌发酵黄浆水的发酵特性分析

微生物在发酵基质内的良好生长是大豆异黄酮生物转化的前提。首先采用 9 株植物乳杆菌分别发酵黄浆水, 对不同采样点的样品进行了活菌数、pH 和滴定酸度的测定以评估其生长情况, 结果分别如表 4~6 所示。总体来说, 发酵时间为

0~6 h 时, 所有样品中的活菌数和滴定酸度升高, pH 降低。在发酵 6 h 时, 活菌数达到最大值; 发酵 6 h 之后, 活菌数开始大幅度降低, pH 继续降低, 滴定酸度持续升高。菌株 17-17 的生长能力最强, 发酵 6 h 后其活菌数从 0 h 时的 4.98 lg CFU/mL 增长到 8.49 lg CFU/mL。其次为 G7 菌株, 发酵 6 h 后其活菌数从 0 h 时的 4.50 lg CFU/mL 增长到 6.91 lg CFU/mL。从黄浆水的基本成分分析结果来看, 氮源和碳源的含量并不是十分充足, 可能因此导致所有乳酸菌发酵黄浆水的过程中没有很明显的稳定期^[24-25], 所有菌株在发酵 6 h 后达到最高活菌数, 之后活菌数迅速下降。从结果中可以初步确定, 乳酸菌发酵黄浆水的最佳发酵时间为 6 h。

从表 5 和表 6 中可以看出, 9 株乳酸菌在黄浆水发酵

过程中产酸能力较强。其中, 菌株 17-17 和 G7 发酵黄浆水的 pH 在发酵结束时从 4.15 分别下降到 3.80 和 3.86, 其滴定酸度从 5.00°T 分别上升到 88.60 和 86.20°T。乳酸菌发酵黄浆水的过程中产生的乳酸和乙酸等酸类物质可能使发酵体系的 pH 下降, 滴定酸度升高的主要原因。滴定酸度的升高还与游离氨基酸残基和肽端等酸性基团的增加有关^[26], 乳酸菌会将黄浆水中的大豆蛋白等蛋白质水解, 生成游离氨基酸、短肽等。

可见, 即使同属的植物乳杆菌, 其对于黄浆水的适应能力各不相同。其中, 17-17 菌株生长能力最强, 明显高于其他 8 株菌的生长能力。该菌株可以作为黄浆水的优良发酵菌株。

表 4 发酵期间活菌数的变化($n=3$)
Table 4 Variation of bacterial concentration during the fermentation ($n=3$)

| 发酵菌株 | 活菌数/(lg CFU/mL) | | | | | |
|-------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 9 h | 12 h |
| G2 | 4.45±1.25 ^{aA} | 4.53±1.02 ^{aA} | 5.52±0.26 ^{aA} | 6.39±1.24 ^{abA} | 4.93±1.41 ^{aA} | 3.43±0.21 ^{aA} |
| G3 | 4.30±1.11 ^{aA} | 4.56±0.15 ^{aA} | 4.74±1.10 ^{aA} | 5.44±0.17 ^{abA} | 4.31±1.36 ^{aA} | 3.29±0.30 ^{aA} |
| G7 | 4.50±0.31 ^{aA} | 5.04±0.37 ^{aA} | 5.54±1.37 ^{aA} | 6.91±0.06 ^{abA} | 6.34±0.40 ^{aA} | 5.78±1.09 ^{abA} |
| S1L6 | 4.20±0.17 ^{aA} | 4.30±1.41 ^{aA} | 4.43±1.26 ^{aA} | 4.96±0.10 ^{aA} | 4.42±0.31 ^{aA} | 3.62±1.28 ^{aA} |
| JX-4 | 4.80±1.11 ^{aA} | 5.79±0.34 ^{aA} | 6.05±0.19 ^{aA} | 6.61±1.37 ^{abA} | 6.35±0.00 ^{aA} | 6.05±0.97 ^{abA} |
| JX-16 | 4.50±1.02 ^{aA} | 4.85±1.06 ^{aA} | 5.82±1.32 ^{aA} | 6.67±0.14 ^{abA} | 6.26±1.20 ^{aA} | 5.66±0.09 ^{abA} |
| JX-19 | 4.30±1.08 ^{aA} | 4.34±1.33 ^{aA} | 5.30±0.02 ^{aA} | 5.43±1.02 ^{abA} | 5.12±0.37 ^{aA} | 4.37±0.09 ^{abA} |
| JX-23 | 4.20±1.17 ^{aA} | 4.20±0.41 ^{aA} | 4.84±1.04 ^{aA} | 4.74±0.19 ^{aA} | 4.52±1.11 ^{aA} | 4.37±1.40 ^{abA} |
| 17-17 | 4.98±0.95 ^{aA} | 6.58±0.09 ^{aA} | 7.97±1.39 ^{aA} | 8.49±1.02 ^{bA} | 7.94±1.23 ^{aA} | 6.93±0.19 ^{bA} |

注: 表中小字母上标表示同一列样品之间, 大字母上标表示同一行样品之间的显著水平($P<0.05$), 下同。

表 5 发酵期间 pH 的变化($n=3$)
Table 5 Variation of pH during the fermentation ($n=3$)

| 发酵菌株 | pH | | | | | |
|-------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 9 h | 12 h |
| G2 | 4.15±0.01 ^{aA} | 4.11±0.00 ^{abB} | 4.09±0.00 ^{abC} | 4.08±0.00 ^{abC} | 4.05±0.01 ^{aD} | 4.02±0.01 ^{aD} |
| G3 | 4.15±0.01 ^{aA} | 4.14±0.00 ^{cA} | 4.10±0.01 ^{abB} | 4.07±0.01 ^{aC} | 3.98±0.00 ^{bD} | 3.80±0.01 ^{bE} |
| G7 | 4.15±0.00 ^{aA} | 4.13±0.00 ^{cbAB} | 4.11±0.01 ^{abcBC} | 4.09±0.00 ^{abC} | 4.03±0.00 ^{cD} | 3.86±0.00 ^{cE} |
| S1L6 | 4.15±0.00 ^{aA} | 4.14±0.01 ^{cA} | 4.13±0.00 ^{bcA} | 4.09±0.00 ^{abB} | 4.02±0.00 ^{cC} | 3.85±0.01 ^{cD} |
| JX-4 | 4.15±0.00 ^{aA} | 4.14±0.00 ^{cAB} | 4.14±0.00 ^{cAB} | 4.13±0.00 ^{dB} | 4.08±0.01 ^{dC} | 3.96±0.01 ^{dD} |
| JX-16 | 4.15±0.01 ^{aA} | 4.10±0.00 ^{abB} | 4.09±0.00 ^{abC} | 4.07±0.01 ^{aC} | 3.94±0.00 ^{bD} | 3.86±0.00 ^{cE} |
| JX-19 | 4.15±0.00 ^{aA} | 4.14±0.01 ^{cA} | 4.12±0.01 ^{abcAB} | 4.10±0.00 ^{bcB} | 4.01±0.01 ^{cC} | 3.85±0.01 ^{cD} |
| JX-23 | 4.15±0.00 ^{aA} | 4.14±0.00 ^{cAB} | 4.13±0.00 ^{bcBC} | 4.12±0.00 ^{cdC} | 4.05±0.00 ^{aD} | 3.86±0.01 ^{cE} |
| 17-17 | 4.15±0.00 ^{aA} | 4.12±0.00 ^{abcB} | 4.10±0.01 ^{abBC} | 4.09±0.00 ^{abC} | 3.99±0.00 ^{bD} | 3.80±0.01 ^{bE} |

表 6 发酵期间滴定酸度的变化($n=3$)
Table 6 Variation of titration acidity during the fermentation ($n=3$)

| 发酵菌株 | 滴定酸度/ $^{\circ}\text{T}$ | | | | | |
|-------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 9 h | 12 h |
| G2 | 5.00±0.01 ^{aA} | 13.50±0.04 ^{aB} | 26.30±0.07 ^{abC} | 39.40±0.02 ^{aD} | 56.95±0.00 ^{aE} | 62.50±0.01 ^{aF} |
| G3 | 5.00±0.01 ^{aA} | 14.30±0.43 ^{aB} | 27.90±0.00 ^{cC} | 46.70±0.28 ^{bcdD} | 63.20±0.06 ^{bE} | 75.20±0.01 ^{bF} |
| G7 | 5.00±0.01 ^{aA} | 17.00±0.11 ^{bB} | 30.10±0.41 ^{dC} | 46.90±0.03 ^{cdD} | 67.75±0.07 ^{cE} | 86.20±0.05 ^{cF} |
| S1L6 | 5.00±0.01 ^{aA} | 14.50±0.07 ^{aB} | 25.70±0.01 ^{aC} | 48.20±0.02 ^{dD} | 66.10±0.03 ^{dE} | 70.70±0.05 ^{dF} |
| JX-4 | 5.00±0.01 ^{aA} | 13.70±0.06 ^{aB} | 27.00±0.04 ^{bC} | 46.20±0.09 ^{bcD} | 66.80±0.01 ^{cdE} | 83.10±0.07 ^{cF} |
| JX-16 | 5.00±0.01 ^{aA} | 11.50±0.01 ^{cB} | 20.30±0.00 ^{cC} | 32.90±0.57 ^{eD} | 54.45±0.05 ^{eE} | 66.60±0.02 ^{fF} |
| JX-19 | 5.00±0.01 ^{aA} | 14.50±0.37 ^{aB} | 27.10±0.19 ^{bcC} | 50.00±0.80 ^{fdD} | 73.00±0.61 ^{fE} | 81.60±0.09 ^{fF} |
| JX-23 | 5.00±0.01 ^{aA} | 17.40±0.86 ^{bB} | 29.90±0.43 ^{dC} | 45.10±0.84 ^{bdD} | 70.90±0.36 ^{gE} | 75.30±0.04 ^{bF} |
| 17-17 | 5.00±0.01 ^{aA} | 19.20±0.06 ^{dB} | 29.40±0.00 ^{dC} | 50.10±0.09 ^{fdD} | 74.95±0.34 ^{hE} | 88.60±0.03 ^{hF} |

2.3 乳酸菌对大豆异黄酮的生物转化能力分析

糖苷型 SIF 可以由 α -半乳糖苷酶或 β -葡萄糖苷酶转化成苷元型 SIF^[27]。这两种酶少量存在于大豆中,也可能由各种微生物产生^[28-29]。目前研究比较多的是 β -葡萄糖苷酶,它能使糖苷键断裂,将糖苷水解为对应的苷元和葡萄糖^[30]。在 β -葡萄糖苷酶的作用下,大豆苷可以转化为大豆苷元,大豆黄苷可以转化为大豆黄素,染料木苷可以转化为染料木素。已有研究报道,很多乳酸菌具有产生 β -葡萄糖苷酶的能力^[17,31], β -葡萄糖苷酶被认为是发酵大豆产品中异黄酮形式的生物转化的关键酶^[32]。因此,可以通过检测不同发酵样品中的 β -葡萄糖苷酶活力,初步确定发酵菌株对 SIF 的生物转化能力。

从表 7 中可知,9 株植物乳杆菌在发酵黄浆水的过程中均产生 β -葡萄糖苷酶,但酶活具有较大差异。G2、G3、G7、S1L6、JX-4、JX-16 和 17-17 菌株的 β -葡萄糖苷酶

活力在发酵 0~6 h 之内不断上升,且在 6 h 时达到最高酶活力,随后降低;而 JX-19 和 JX-23 菌株的 β -葡萄糖苷酶活力在发酵 0~4 h 内上升,在 4 h 时酶活力最高,随后降低。分析原因可能为随着发酵时间的延长和发酵体系的 pH 的降低, β -葡萄糖苷酶逐渐失活。

在 9 株乳酸菌中,17-17 和 G7 菌株,其酶活最高时达到 0.68 U/mL,这是其他样品最高酶活的 2~3 倍,推测这两株菌可能具有较高的 SIF 的生物转化能力。此外,所有乳酸菌的酶活变化与在黄浆水的生长情况基本一致,表明这些植物乳杆菌产 β -葡萄糖苷酶的类型至少是部分生长相关型。

采用 HPLC 法检测了样品中 6 种 SIF 的含量。图 1 为 6 种 SIF 标准品混合液的 HPLC 图,其出峰顺序依次为:大豆苷、大豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、大豆黄素和染料木素。图 1 中可以看出,组分之间分离效果好,峰形良好,故在此 HPLC 条件下可继续检测。

表 7 发酵期间 β -葡萄糖苷酶酶活的变化($n=3$)
Table 7 Variation of β -glucosidase activity during the fermentation ($n=3$)

| 发酵菌株 | β -葡萄糖苷酶活/(U/mL) | | | | | |
|-------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 9 h | 12 h |
| G2 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.13±0.05 ^{aB} | 0.32±0.01 ^{abC} | 0.43±0.01 ^{aD} | 0.29±0.01 ^{abC} | 0.24±0.01 ^{aC} |
| G3 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.35±0.01 ^{bB} | 0.39±0.01 ^{aB} | 0.50±0.01 ^{bC} | 0.29±0.02 ^{abD} | 0.25±0.01 ^{aD} |
| G7 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.54±0.02 ^{bB} | 0.58±0.02 ^{bB} | 0.68±0.01 ^{cC} | 0.49±0.05 ^{cD} | 0.43±0.01 ^{bD} |
| S1L6 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.26±0.01 ^{dB} | 0.26±0.00 ^{bdB} | 0.28±0.00 ^{dC} | 0.17±0.00 ^{deD} | 0.12±0.00 ^{eE} |
| JX-4 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.25±0.00 ^{dB} | 0.26±0.01 ^{bdB} | 0.40±0.01 ^{aC} | 0.15±0.00 ^{dD} | 0.12±0.00 ^{eE} |
| JX-16 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.22±0.00 ^{dB} | 0.23±0.00 ^{dB} | 0.24±0.00 ^{dB} | 0.17±0.01 ^{deC} | 0.12±0.01 ^{cD} |
| JX-19 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.26±0.01 ^{dB} | 0.30±0.00 ^{bdC} | 0.27±0.00 ^{dB} | 0.24±0.01 ^{aeD} | 0.23±0.00 ^{aD} |
| JX-23 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.38±0.00 ^{bB} | 0.41±0.00 ^{aB} | 0.25±0.02 ^{dC} | 0.14±0.01 ^{dD} | 0.12±0.00 ^{cD} |
| 17-17 | 0.00±0.00 ^{aA} | 0.51±0.00 ^{bB} | 0.56±0.06 ^{bB} | 0.68±0.00 ^{cC} | 0.33±0.01 ^{bdD} | 0.24±0.00 ^{aD} |

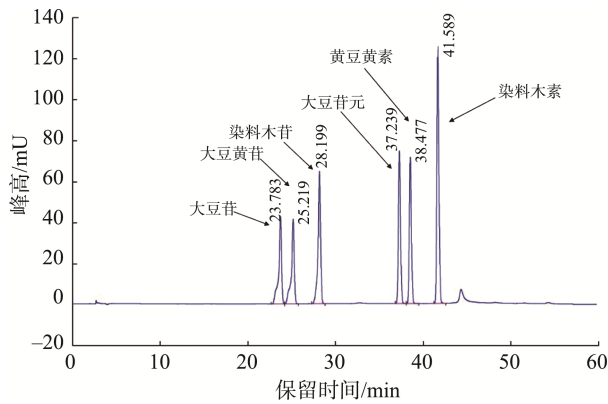


图 1 6 种大豆异黄酮标准品混合液的 HPLC 图
Fig.1 HPLC diagram of 6 kinds of SIFs standard mixture

未发酵的黄浆水中 6 种 SIF 的含量分别为: 大豆苷 22.76 mg/L、大豆黄苷 11.67 mg/L、染料木苷 43.52 mg/L、大豆苷元 1.14 mg/L、大豆黄素 2.90 mg/L 和染料木素 18.91 mg/L。糖苷型 SIF 的总量为 77.95 mg/L, 苷元型 SIF 的总量为 22.02 mg/L, 可见发酵前苷元型 SIF 的含量只占总 SIF 含量的 22.03%。由表 8 可得, 发酵后 3 种糖苷型 SIF 的含

量均有不同程度下降, 转化为对应的 3 种苷元型 SIF, 其含量也因此升高。在大豆苷和染料木苷的转化方面, 在发酵初期转化速率较快, 在发酵后期较为缓慢, 发酵 4~6 h 后大部分样品中大豆苷、大豆苷元、染料木苷和染料木素的含量基本不变。黄浆水在被上述乳酸菌短时间发酵后, 其糖苷型 SIF 基本完成转化, 具有较好的工业化前景。大豆黄苷的转化规律也类似于其他 SIF 的转化, 但黄浆水中大豆黄苷含量不高。大豆黄苷的转化能力最强的 17-17 菌株能够将大豆黄素的含量从 2.90 mg/L 提高至 5.25 mg/L。

综合考虑所有 SIF 的转化能力, 在 9 株乳酸菌中, 17-17 菌株的 SIF 转化能力最强, 其次为 G7 菌株。17-17 菌株的 SIF 转化率可达 54.14%, 其中大豆苷元、大豆黄素和染料木素分别增加了 15.04、2.35 和 28.71 mg/L。发酵仅 6 h 后, 黄浆水中的游离型 SIF 的总量高达 67.29 mg/L, 是王欣欣等^[18]研究结果的 3~4 倍以上。此外发现乳酸菌在黄浆水中的生长能力、产 β -葡萄糖苷酶的能力和 SIF 的转化能力呈正相关, ZHU 等^[33]的研究中也得出类似的结论。该结果对筛选 SIF 生物转化能力强的微生物提供了很好的参考价值。

表 8 发酵期间 6 种大豆异黄酮的含量的变化($n=3$)
Table 8 Variation of 6 kinds of SIFs content during the fermentation ($n=3$)

| 种类 | 发酵菌株 | 含量/(mg/L) | | | | | |
|-------|-------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 9 h | 12 h |
| 大豆苷 | G2 | 22.76±1.57 ^{aA} | 14.43±0.58 ^{abB} | 13.24±1.87 ^{abcB} | 10.10±0.68 ^{abC} | 8.09±0.83 ^{abC} | 7.29±0.76 ^{abC} |
| | G3 | 22.76±1.57 ^{aA} | 17.46±1.52 ^{bcB} | 15.30±1.14 ^{bcB} | 15.06±0.61 ^{bbB} | 14.98±0.56 ^{cbB} | 14.01±0.48 ^{cbB} |
| | G7 | 22.76±1.57 ^{aA} | 4.17±1.36 ^{dB} | 4.06±1.68 ^{dB} | 3.92±0.83 ^{cdB} | 3.87±0.51 ^{dB} | 3.84±0.55 ^{abB} |
| | S1L6 | 22.76±1.57 ^{aA} | 12.30±1.49 ^{acB} | 8.05±0.57 ^{adB} | 8.20±1.44 ^{adB} | 8.36±0.99 ^{bbB} | 7.99±1.80 ^{bbB} |
| | JX-4 | 22.76±1.57 ^{aA} | 9.32±1.04 ^{cbB} | 5.80±1.53 ^{dcBC} | 3.41±0.81 ^{cC} | 3.33±0.75 ^{dcC} | 3.16±1.07 ^{acC} |
| | JX-16 | 22.76±1.57 ^{aA} | 20.41±0.51 ^{caA} | 15.39±1.72 ^{bcB} | 9.33±1.27 ^{aC} | 4.27±0.66 ^{adD} | 3.24±1.02 ^{adD} |
| | JX-19 | 22.76±1.57 ^{aA} | 14.27±1.49 ^{abB} | 10.25±1.66 ^{abcBC} | 8.24±1.39 ^{aC} | 7.19±1.51 ^{abdC} | 7.13±1.32 ^{abC} |
| | JX-23 | 22.76±1.57 ^{aA} | 16.96±1.46 ^{abcB} | 16.65±1.07 ^{cbB} | 15.85±1.03 ^{bbB} | 15.84±1.77 ^{cbB} | 15.82±0.65 ^{cbB} |
| | 17-17 | 22.76±1.57 ^{aA} | 4.08±0.92 ^{dB} | 3.99±1.25 ^{dB} | 3.80±1.31 ^{cbB} | 3.78±0.50 ^{dB} | 3.77±1.67 ^{abB} |
| | 大豆黄苷 | G2 | 11.67±1.55 ^{aA} | 10.99±1.76 ^{aA} | 10.82±1.82 ^{aA} | 10.77±1.76 ^{aA} | 10.75±1.56 ^{aA} |
| G3 | | 11.67±1.55 ^{aA} | 10.60±0.84 ^{aA} | 10.55±1.85 ^{aA} | 10.50±0.66 ^{aA} | 10.48±0.92 ^{aA} | 10.47±0.78 ^{aA} |
| G7 | | 11.67±1.55 ^{aA} | 10.31±1.10 ^{aA} | 9.09±1.72 ^{aA} | 8.94±1.78 ^{aA} | 8.21±1.53 ^{aA} | 8.06±0.50 ^{aA} |
| S1L6 | | 11.67±1.55 ^{aA} | 10.96±0.75 ^{aA} | 10.95±1.56 ^{aA} | 10.83±1.68 ^{aA} | 10.80±1.48 ^{aA} | 10.40±1.58 ^{aA} |
| JX-4 | | 11.67±1.55 ^{aA} | 10.38±1.07 ^{aA} | 9.83±1.49 ^{aA} | 9.63±1.40 ^{aA} | 9.53±1.55 ^{aA} | 9.52±0.85 ^{aA} |
| JX-16 | | 11.67±1.55 ^{aA} | 9.22±0.78 ^{aA} | 8.92±0.73 ^{aA} | 8.62±0.95 ^{aA} | 7.71±1.06 ^{aA} | 7.71±1.69 ^{aA} |
| JX-19 | | 11.67±1.55 ^{aA} | 11.04±1.53 ^{aA} | 10.44±0.63 ^{aA} | 9.37±0.54 ^{aA} | 8.53±1.05 ^{aA} | 8.53±0.49 ^{aA} |
| JX-23 | | 11.67±1.55 ^{aA} | 10.57±1.54 ^{aA} | 10.53±0.64 ^{aA} | 9.38±1.78 ^{aA} | 9.36±0.89 ^{aA} | 9.08±1.46 ^{aA} |
| 17-17 | | 11.67±1.55 ^{aA} | 9.86±1.42 ^{aA} | 7.96±1.85 ^{aA} | 7.06±1.58 ^{aA} | 7.05±0.59 ^{aA} | 6.41±0.94 ^{aA} |

表 8(续)

| 种类 | 发酵菌株 | 含量/(mg/L) | | | | | |
|------|-------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 9 h | 12 h |
| 染料木苷 | G2 | 43.52±1.74 ^{aA} | 31.72±1.16 ^{abcB} | 25.18±1.85 ^{abcC} | 21.33±1.43 ^{abCD} | 19.69±0.97 ^{abD} | 19.68±0.71 ^{abD} |
| | G3 | 43.52±1.74 ^{aA} | 35.98±0.48 ^{bB} | 16.66±0.99 ^{deC} | 11.68±1.59 ^{cD} | 11.23±1.35 ^{cD} | 11.05±0.73 ^{cD} |
| | G7 | 43.52±1.74 ^{aA} | 33.84±1.28 ^{bcB} | 31.65±1.70 ^{fB} | 24.10±0.83 ^{bC} | 23.66±1.33 ^{bC} | 21.77±1.25 ^{bC} |
| | S1L6 | 43.52±1.74 ^{aA} | 31.31±0.57 ^{acdB} | 27.25±0.62 ^{befC} | 22.19±1.13 ^{abD} | 21.20±0.47 ^{bD} | 20.43±0.95 ^{bD} |
| | JX-4 | 43.52±1.74 ^{aA} | 33.43±1.26 ^{bcB} | 27.40±0.88 ^{cfC} | 24.24±0.90 ^{bCD} | 21.25±0.83 ^{cD} | 20.35±1.72 ^{bD} |
| | JX-16 | 43.52±1.74 ^{aA} | 23.34±1.85 ^{eB} | 21.33±1.36 ^{aeBC} | 17.32±0.83 ^{adBCD} | 16.31±1.82 ^{adCD} | 15.09±1.30 ^{acD} |
| | JX-19 | 43.52±1.74 ^{aA} | 27.31±0.89 ^{deB} | 22.29±0.64 ^{abC} | 20.23±1.76 ^{abC} | 19.27±1.07 ^{abCD} | 15.21±0.96 ^{acD} |
| | JX-23 | 43.52±1.74 ^{aA} | 35.80±1.10 ^{bB} | 15.60±1.82 ^{dC} | 13.39±1.18 ^{cdC} | 13.19±0.54 ^{cdC} | 12.32±1.03 ^{cC} |
| | 17-17 | 43.52±1.74 ^{aA} | 27.69±0.72 ^{adcb} | 12.62±0.99 ^{dC} | 12.42±1.16 ^{cdC} | 11.41±1.40 ^{cC} | 11.35±1.61 ^{cC} |
| 大豆苷元 | G2 | 1.14±0.20 ^{aA} | 6.85±0.71 ^{abB} | 6.88±1.24 ^{aB} | 8.44±0.87 ^{aB} | 9.16±1.46 ^{aB} | 9.32±0.62 ^{abB} |
| | G3 | 1.14±0.20 ^{aA} | 4.03±1.15 ^{aAB} | 4.96±0.52 ^{aB} | 5.79±0.60 ^{aB} | 5.86±0.77 ^{aB} | 5.87±1.10 ^{abB} |
| | G7 | 1.14±0.20 ^{aA} | 15.76±1.81 ^{eB} | 15.49±1.42 ^{bB} | 15.67±0.49 ^{bB} | 16.5±0.64 ^{bB} | 16.78±1.71 ^{cB} |
| | S1L6 | 1.14±0.20 ^{aA} | 9.30±0.50 ^{bB} | 13.19±1.15 ^{bBC} | 14.33±0.85 ^{bC} | 14.75±1.83 ^{bC} | 15.09±1.48 ^{cC} |
| | JX-4 | 1.14±0.20 ^{aA} | 10.04±0.75 ^{bdB} | 13.51±1.84 ^{bBC} | 15.54±0.68 ^{bC} | 15.61±0.78 ^{bC} | 15.79±1.29 ^{dC} |
| | JX-16 | 1.14±0.20 ^{aA} | 6.71±1.79 ^{abB} | 7.95±0.57 ^{aB} | 8.87±1.49 ^{aB} | 9.37±0.72 ^{aB} | 9.42±1.24 ^{abB} |
| | JX-19 | 1.14±0.20 ^{aA} | 6.74±1.02 ^{abB} | 7.55±0.88 ^{aB} | 8.33±1.13 ^{aB} | 9.00±1.32 ^{aB} | 10.37±0.49 ^{bB} |
| | JX-23 | 1.14±0.20 ^{aA} | 4.12±0.49 ^{aAB} | 4.99±1.88 ^{aAB} | 5.82±1.08 ^{aB} | 5.82±1.14 ^{aB} | 5.84±1.13 ^{aB} |
| | 17-17 | 1.14±0.20 ^{aA} | 14.85±1.87 ^{cdB} | 14.93±1.42 ^{bB} | 15.12±1.35 ^{bB} | 15.29±0.80 ^{bB} | 16.18±0.49 ^{cB} |
| 大豆黄素 | G2 | 2.90±1.63 ^{aA} | 3.35±1.28 ^{aA} | 3.36±1.66 ^{aA} | 3.38±1.17 ^{aA} | 3.53±1.80 ^{aA} | 3.64±0.96 ^{aA} |
| | G3 | 2.90±1.63 ^{aA} | 3.00±1.04 ^{aA} | 3.02±0.75 ^{aA} | 3.07±1.26 ^{aA} | 3.08±1.81 ^{aA} | 3.08±0.59 ^{aA} |
| | G7 | 2.90±1.63 ^{aA} | 4.19±1.78 ^{aA} | 4.35±0.49 ^{aA} | 4.54±1.21 ^{aA} | 4.68±0.56 ^{aA} | 4.72±1.66 ^{aA} |
| | S1L6 | 2.90±1.63 ^{aA} | 3.07±0.68 ^{aA} | 3.16±0.93 ^{aA} | 3.23±1.73 ^{aA} | 3.24±0.76 ^{aA} | 3.25±0.50 ^{aA} |
| | JX-4 | 2.90±1.63 ^{aA} | 3.51±1.85 ^{aA} | 3.76±1.77 ^{aA} | 3.82±1.26 ^{aA} | 3.93±0.67 ^{aA} | 3.97±1.30 ^{aA} |
| | JX-16 | 2.90±1.63 ^{aA} | 2.96±0.77 ^{aA} | 3.32±0.94 ^{aA} | 3.94±1.82 ^{aA} | 4.10±1.08 ^{aA} | 4.11±1.56 ^{aA} |
| | JX-19 | 2.90±1.63 ^{aA} | 3.30±1.88 ^{aA} | 3.58±0.92 ^{aA} | 3.59±0.82 ^{aA} | 3.60±1.07 ^{aA} | 3.61±0.86 ^{aA} |
| | JX-23 | 2.90±1.63 ^{aA} | 3.15±0.90 ^{aA} | 3.26±1.48 ^{aA} | 3.45±0.69 ^{aA} | 3.58±1.14 ^{aA} | 3.60±1.09 ^{aA} |
| | 17-17 | 2.90±1.63 ^{aA} | 4.22±0.66 ^{aA} | 4.27±0.88 ^{aA} | 5.11±1.72 ^{aA} | 5.22±1.82 ^{aA} | 5.25±1.11 ^{aA} |
| 染料木素 | G2 | 18.91±1.14 ^{aA} | 23.53±0.82 ^{aAB} | 26.19±0.61 ^{aB} | 31.88±1.33 ^{aC} | 33.69±1.39 ^{aC} | 33.76±1.68 ^{aC} |
| | G3 | 18.91±1.14 ^{aA} | 24.89±1.24 ^{aB} | 34.77±1.14 ^{bcC} | 39.06±1.04 ^{bCD} | 39.34±0.92 ^{bD} | 41.36±1.09 ^{bD} |
| | G7 | 18.91±1.14 ^{aA} | 29.71±1.16 ^{bB} | 30.97±0.78 ^{cdB} | 38.78±0.83 ^{bC} | 39.00±1.10 ^{bC} | 40.65±1.39 ^{bC} |
| | S1L6 | 18.91±1.14 ^{aA} | 25.36±0.57 ^{abB} | 29.35±1.06 ^{adC} | 29.92±0.89 ^{aC} | 30.34±0.62 ^{acC} | 30.84±0.97 ^{aC} |
| | JX-4 | 18.91±1.14 ^{aA} | 22.88±1.05 ^{aA} | 28.06±1.77 ^{adB} | 28.30±0.48 ^{aB} | 28.54±1.11 ^{eB} | 29.62±1.40 ^{aB} |
| | JX-16 | 18.91±1.14 ^{aA} | 26.49±1.35 ^{abB} | 27.14±1.22 ^{adBC} | 31.19±0.93 ^{aCD} | 32.43±0.75 ^{adD} | 33.03±0.77 ^{adD} |
| | JX-19 | 18.91±1.14 ^{aA} | 36.40±0.56 ^{eB} | 40.13±1.46 ^{eBC} | 42.51±0.72 ^{bC} | 42.53±1.17 ^{bC} | 42.99±1.66 ^{bcC} |
| | JX-23 | 18.91±1.14 ^{aA} | 26.86±1.52 ^{abB} | 36.98±1.03 ^{bcC} | 40.73±1.33 ^{bC} | 40.75±1.23 ^{bC} | 40.84±1.51 ^{bC} |
| | 17-17 | 18.91±1.14 ^{aA} | 35.22±1.21 ^{eB} | 46.82±1.07 ^{fcC} | 47.06±1.10 ^{cC} | 47.62±1.69 ^{dC} | 47.24±0.50 ^{cC} |

3 结 论

本研究将黄浆水作为研究对象,在分析其基本成分的基础上,利用中国传统食品中筛选得到的9株植物乳杆菌对其进行发酵,研究了乳酸菌在黄浆水中的生长情况和SIF的生物转化能力。黄浆水中含有微生物生长必需的营养物质,研究所用的9株乳酸菌都能够在黄浆水中生长,并且能够产生 β -葡萄糖苷酶,具有一定大豆异黄酮的生物转化能力。其中*Lactiplantibacillus plantarum* 17-17的生长能力和产苷元型SIF的能力最强,发酵6h可显著提高黄浆水中苷元型SIF的含量,表明该菌株在处理黄浆水的领域具有较大的开发潜力,为回收利用低成本的黄浆水而生产高附加值的苷元型SIF提供了优良发酵菌株和理论依据。

参考文献

- [1] WANG YF, SERVENTI L. Sustainability of dairy and soy processing: A review on wastewater recycling [J]. *J Clean Prod*, 2019, 237: 117821.
- [2] 佟献俊, 孙洋, 钱方. 大豆黄浆水中乳清蛋白和低聚糖制备研究进展[J]. *中国酿造*, 2009, (12): 3-5.
TONG XJ, SUN Y, QIAN F. Preparation of whey protein and oligosaccharides from soybean whey [J]. *China Brew*, 2009, (12): 3-5.
- [3] 王秋霜, 应铁进. 大豆制品生产废水综合开发研究进展[J]. *食品科学*, 2007, 28(9): 594-599.
WANG QS, YING TJ. Research progress on wastewater utilization in soybean processing [J]. *Food Sci*, 2007, 28(9): 594-599.
- [4] SORGENTIN DA, WAGENER JR. Comparative study of structural characteristics and thermal behavior of whey and isolate soybean proteins [J]. *J Food Biochem*, 2010, 23(5): 489-507.
- [5] BELÉN F, BENEDETTI S, SÁNCHEZ J, *et al.* Behavior of functional compounds during freeze concentration of tofu whey [J]. *J Food Eng*, 2013, 116(3): 681-688.
- [6] 王丽夏. 黄浆水的蛹虫草发酵及其功能活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
WANG LX. Functional activities of soybean whey fermented by *Cordyceps Militaris* SN-18 [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017.
- [7] WU P, HAN ZQ, MO WT, *et al.* Soybean processing wastewater supported the removal of propylamide and biochemical accumulation from wastewater by *Rhodopseudomonas Capsulata* [J]. *Bioproc Biosyst Eng*, 2019, 42(8): 1375-1384.
- [8] 唐思颖, 涂传海, 胡文秀, 等. 红茶菌发酵黄浆水的体外抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2019, 40(17): 1-6.
TANG SJ, TU CH, HU WX, *et al.* Antioxidant activity of fermented soy whey with kombucha consortium [J]. *Food Sci*, 2019, 40(17): 1-6.
- [9] 顾建明, 潘春云. 黄浆水中大豆异黄酮的回收——黄浆水的预处理[J]. *食品研究与开发*, 2007, 28(1): 60-64.
GU JM, PAN CY. The recovery of soybean isoflavone from soybean processing wastewater—the pretreatment of soybean processing wastewater [J]. *Food Res Dev*, 2007, 28(1): 60-64.
- [10] 陈思雨, 梁鑫, 雷钰, 等. 豆腐黄浆水发酵阶段产物抗氧化成分和色泽变化[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(6): 34-41.
CHEN SY, LIANG X, LEI Y, *et al.* Changes in antioxidant components and color of fermentation products in effluent from tofu squeezing [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(6): 34-41.
- [11] 陈嘉序, 陈如扬, 连媛, 等. 大豆异黄酮的生物转化及功能活性研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(9): 176-182.
CHEN JX, CHEN RY, LIAN Y, *et al.* Progress in microbial conversion and functional activity of soy isoflavones [J]. *Food Res Dev*, 2021, 42(9): 176-182.
- [12] HWANG YW, KIM SY, JEE SH, *et al.* Soy food consumption and risk of prostate cancer: A meta-analysis of observational studies [J]. *Nutr Cancer*, 2009, 61(5): 598-606.
- [13] 张月洁, 兰韬, 初侨, 等. 大豆异黄酮的制备技术与功能活性进展研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(17): 5964-5970.
ZHANG YJ, LAN T, CHU Q, *et al.* Progress in preparation technology and functional activity of soybean isoflavones [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(17): 5964-5970.
- [14] WANG QL, GE XY, TIAN XW, *et al.* Soy isoflavone: The multipurpose phytochemical (review) [J]. *Biomed Rep*, 2013, 1(5): 697-701.
- [15] 赵晓佳, 李易聪, 王秀伶. 大豆异黄酮微生物转化研究进展[J]. *微生物学报*, 2020, 60(2): 211-226.
ZHAO XJ, LI YC, WANG XL. Progress in microbial conversion of soy isoflavones [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2020, 60(2): 211-226.
- [16] XIE JL, LI XB, ZHAO F, *et al.* Isolation and identification of an isoflavone reducing bacterium from feces from a pregnant horse [J]. *PLoS One*, 2019, 4(11): 1-14.
- [17] 黄玉军, 周帆, 于俊娟, 等. 高转化大豆异黄酮乳酸菌的筛选及在豆乳中的发酵特性[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(3): 157-162.
HUANG YJ, ZHOU F, YU JJ, *et al.* Screening of lactic acid bacteria with high conversion of soybean isoflavones and fermentation characteristics in soybean milk [J]. *Food Res Dev*, 2021, 42(3): 157-162.
- [18] 王欣欣, 张莉, 蕾蕾, 等. 益生菌发酵黄浆水过程中大豆异黄酮的生物转化[J]. *大豆科学*, 2014, 33(4): 583-588.
WANG XX, ZHANG L, LEI L, *et al.* Biotransformation of isoflavone by probiotics in fermented soybean whey [J]. *Soybean Sci*, 2014, 33(4): 583-588.
- [19] 王欣欣. 利用黄浆水制备富含苷元型大豆异黄酮发酵乳的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
WANG XX. Study on production of soybean whey-yogurt rich with isoflavone aglycones [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.
- [20] 周俊, 夏秀东, 李亚辉, 等. 产 β -D-葡萄糖苷酶乳酸菌的筛选、鉴定及系统发育分析[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(12): 119-123, 131.
ZHOU J, XIA XD, LI YH, *et al.* Screening, identification and phylogenetic analysis of lactic acid bacteria producing β -D-glucosidase [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2018, 39(12): 119-123, 131.
- [21] QUEIROS LD, AVILA ARA, BOTARO AV, *et al.* Combined isoflavones biotransformation increases the bioactive and antioxidant capacity of soymilk [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2020, 104(23): 10019-10031.
- [22] 张奕吉. 乳酸菌发酵豆乳的工艺、功能以及香气成分研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2019.
ZHANG YJ. Study on the process, function and aroma components of lactic acid bacteria fermented soymilk [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2019.
- [23] 赵冬梅, 刘凌, 张京健. 豆制品生产中高浓度废水的检测与分析[J].

- 食品与发酵工业, 2006, 32(1): 68–71.
- ZHAO DM, LIU L, ZHANG JJ. Detection and analysis of the concentrated waste water from soybean processes [J]. *Food Ferment Ind*, 2006, 32(1): 68–71.
- [24] 罗雪松, 方呈祥, 谈静泉. 微生物生活周期中的一个新时期——长期稳定期[J]. *微生物学通报*, 2007, 34(2): 343–346.
- LUO XS, FANG CX, TAN JQ. A new phase of bacteria life cycle: Long-term stationary phase [J]. *Microbiol China*, 2007, 34(2): 343–346.
- [25] 何国庆, 贾英民, 丁立孝. 食品微生物学第三版[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2016.
- HE GQ, JIA YM, DING LX. *Food microbiology 3th ed* [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2016.
- [26] 苏芳. 六株植物乳杆菌在豆乳中的发酵特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011.
- FANG F. The study on fermentation characteristic in soymilk with six *Lactobacillus plantarum* [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2011.
- [27] TODA T, SAKAMOTO A, TAKAYANAGI T, *et al.* Changes in isoflavone compositions of soybean during soaking in water [J]. *Food Sci Technol Res*, 2001, 7(2): 171–175.
- [28] KUDA T, KATAOKA M, NEMOTO M, *et al.* Isolation of lactic acid bacteria from plants of the coastal Satoumi regions for use as starter cultures in fermented milk and soymilk production [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2016, 68: 202–207.
- [29] SINGH BP, VIJ S. α -galactosidase activity and oligosaccharides reduction pattern of indigenous lactobacilli during fermentation of soy milk [J]. *Food Biosci*, 2018, 22: 32–37.
- [30] 梁文欧, 赵力超, 方祥, 等. 大豆异黄酮与肠道微生物相互作用研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(9): 283–289.
- LIANG WOU, ZHAO LC, FANG X, *et al.* Progress in the research of the interactions of soy isoflavones with gut microbiota [J]. *Food Sci*, 2019, 40(9): 283–289.
- [31] ZHU Y, WANG ZM, ZHANG L. Optimization of lactic acid fermentation conditions for fermented tofu whey beverage with high-isoflavone aglycones [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2019, 111: 211–217.
- [32] HATI S, VIJ S, SINGH BP, *et al.* Beta-glucosidase activity and bioconversion of isoflavones during fermentation of soymilk [J]. *J Sci Food Agric*, 2015, 91(1): 216–220.
- [33] ZHU YY, THAKUR K, FENG JY, *et al.* Riboflavin-overproducing lactobacilli for the enrichment of fermented soymilk: Insights into improved nutritional and functional attributes [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2020, 104: 5759–5772.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



杜 龙, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品加工。

E-mail: dulong@sh-tramy.com