

DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2024.06.002

发酵乳杆菌对灭菌豆浆中晚期糖化终末产物形成的影响

张霖, 肖柯, 王文悦, 易弛, 余帆, 肖俊峰, 樊鑫, 朱晓青, 李琴, 周梦舟, 穆杨*

(湖北工业大学 生物工程与食品学院, 湖北 武汉 430068)

摘要: 豆浆含有优质蛋白质、必需脂肪酸和大量维生素, 其经过巴氏杀菌或超高温处理会促进还原糖和蛋白质之间的糖基化反应, 产生糖基化产物和晚期糖化终末产物(advanced glycation end products, AGEs), 进而对人类健康造成威胁。为提高豆浆的品质, 该文利用发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)发酵豆浆, 探究发酵乳杆菌对灭菌豆浆 AGEs 含量的影响。结果表明, 经 *L. fermentum* 发酵灭菌后的豆浆, 荧光强度降低 12%~17%。发酵豆浆可减少羰基化对蛋白二级结构的破坏, α -螺旋转变成 β -折叠和无规卷曲。同时, 发酵使灭菌豆浆的异黄酮含量从 274.43 $\mu\text{g/mL}$ 提升至 351.83 $\mu\text{g/mL}$; 发酵乳杆菌发酵豆浆与豆浆相比, 可显著提高抗氧化活性。综上所述, 乳酸菌可抑制食品加工过程中 AGEs 的形成。

关键词: 发酵豆浆; 发酵乳杆菌; 蛋白二级结构; 异黄酮生物转化; 蛋白非酶糖化反应

Effect of *Lactobacillus fermentum* on the Formation of Advanced Glycosylated End Products in Sterilized Soybean Milk

ZHANG Lin, XIAO Ke, WANG Wenyue, YI Chi, YU Fan, XIAO Junfeng, FAN Xin, ZHU Xiaoqing, LI Qin, ZHOU Mengzhou, MU Yang*

(School of Bioengineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, Hubei, China)

Abstract: Soybean milk contains high-quality protein, essential fatty acids, and a large number of vitamins. If pasteurized or treated at ultra-high temperatures, it will promote the glycation reaction between reducing sugars and proteins and produce glycosylation products and advanced glycation end products (AGEs), which pose a threat to human health. Therefore, in order to improve the health quality of soybean milk, *Lactobacillus fermentum* was used to fermentate soybean milk, and the effect of *Lactobacillus fermentum* on the content of AGEs in sterilized soybean milk was explored. The results showed that the fluorescence intensity of the soybean milk sterilized by *Lactobacillus fermentum* fermentation was reduced by 12%–17%. Additionally, the fermented soybean milk reduced the damage of carbonylation to the secondary structure of the protein, and the α -helix was transformed into a β -fold and random curl. At the same time, the content of isoflavones in the fermented soybean milk increased from 274.43 $\mu\text{g/mL}$ to 351.83 $\mu\text{g/mL}$. Compared with soybean milk, soybean milk fermented by *Lactobacillus fermentans* could significantly improve antioxidant activity. In summary, lactic acid bacteria could inhibit the formation of AGEs during food processing.

Key words: fermented soybean milk; *Lactobacillus fermentum*; secondary structure of protein; biotransformation of isoflavones; non-enzymatic glycosylation of proteins

引文格式:

张霖, 肖柯, 王文悦, 等. 发酵乳杆菌对灭菌豆浆中晚期糖化终末产物形成的影响[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(6): 9-15.

ZHANG Lin, XIAO Ke, WANG Wenyue, et al. Effect of *Lactobacillus fermentum* on the Formation of Advanced Glycosylated End Products in Sterilized Soybean Milk[J]. Food Research and Development, 2024, 45(6): 9-15.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32272299)

作者简介: 张霖(1997—), 男(汉), 硕士研究生, 研究方向: 食品发酵与酿造。

*通信作者: 穆杨(1988—), 女(汉), 实验师, 博士, 研究方向: 食品发酵。

随着社会的进步,人们越来越关注饮食健康。晚期糖化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)是一组在蛋白质、脂肪酸或核酸的氨基基团与还原糖的醛基之间发生非酶性糖基化反应(又称美拉德反应)所形成的一系列具有高度活性终产物的总称,其结构具有高度异质性^[1]。然而,AGEs容易积聚在机体的不同组织纤维、器官和循环系统中,对机体造成氧化损伤,进而引发糖尿病、阿尔茨海默病、动脉粥样硬化等疾病。当在饮食中摄入过多的精细碳水或糖类物质后,体内会保持一个高糖的环境,进而在一系列复杂的酶代谢反应中形成内源性 AGEs,其反应条件相对温和且形成周期较长。已有研究表明,内源性 AGEs 是一种强毒性分子,可加速细胞死亡,从而导致器官损伤^[2]。外源性 AGEs (dietary advanced glycation end products, dAGEs)是食物中的 AGEs 通过胃肠道消化吸收进入人体,学术界普遍认为摄入 dAGEs 会增加血液中 AGEs 的含量^[3]。

豆浆是大豆的水提取物,外观与牛奶相似,豆浆含有优质蛋白质、必需脂肪酸和大量维生素,以蔗糖、毛蕊花糖等为代表的碳水化合物,不含胆固醇和乳糖。在食品加工过程中,豆浆蛋白可能发生降解、聚集和交联等构象和结构的变化,影响蛋白的功能性^[4]。豆浆作为发酵食品的良好底物,可以通过发酵提高豆浆的品质。近几年,有不少研究发现经乳酸菌发酵后得到的化合物,在体外蛋白非酶糖化模型中具有较好的抗 AGEs 能力。Zhou 等^[5]发现发酵豆浆具有较好的延缓氧化、老化的作用,对 D-半乳糖诱导衰老小鼠具有抗氧化作用,Peng 等^[6]在研究中认为,混合菌发酵显著改变了豆浆的黏性、弹性等流变特性,丰富了发酵豆浆的口感,显著提高了发酵豆浆的营养特性和抗氧化能力。基于此,本文利用发酵乳杆菌制备发酵豆浆,以豆浆和灭菌豆浆作为对照,进行抗 AGEs 能力、抗氧化特性、感官品质及营养价值等质量标准 and 蛋白结构变化的研究,以期提高豆浆的品质。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄豆(食品级):市售;三羟甲基氨基甲烷盐酸盐[tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride, Tris-HCl]、异黄酮、二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒(均为分析纯):中国医药集团有限公司;发酵乳杆菌(*L. fermentum*):保藏于湖北工业大学湖北省食品发酵工程技术研究中心。

1.2 仪器与设备

L18-Y31 豆浆机:九阳股份有限公司;ZWYR-2102 恒温振荡培养器:上海智城分析仪器制造有限公司;CT15RE 高速冷冻离心机:日本工机株式会社;DVB/

CRA/PDMS 固相微萃取头:美国 Supelco 公司;1260 高效液相色谱、7890B-5977B 气相色谱-质谱联用仪:安捷伦科技有限公司;UV-1601 紫外可见分光光度计:北京瑞丽分析仪器有限公司;84-1A 磁力搅拌器:上海司乐仪器有限公司;Nexus470 傅里叶变换红外光谱仪:美国 Nicolet 仪器;HH.W21-Cr600 电热恒温水浴锅:北京长安科学仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 发酵豆浆的制备

称取一定量的黄豆,洗涤,按料液比 1:5(g/mL)用去离子水于 4 °C 浸泡 12 h。将黄豆捞出沥干,水:干豆=8:1(质量比)用豆浆机榨汁并煮熟。煮熟的豆浆通过 40 目筛过滤,分装至已灭菌的容器中。豆浆:4 °C 冰箱保存;灭菌豆浆:高温灭菌(121 °C 杀菌 15 min)^[7];发酵豆浆:冷却后,加入发酵乳杆菌(豆浆与乳酸菌的质量比为 100:1),置于 37 °C 恒温振荡培养器中发酵 24 h,4 °C 冰箱保存备用。

1.3.2 荧光 AGEs 的测定

将豆浆组、灭菌豆浆组和发酵豆浆组分别取一部分进行离心(8 000 r/min, 30 min),以除掉大分子蛋白,取上述上清液 200 μL 加入到黑色 96 塑料微孔板,每组保持 3 个平行,使用紫外可见分光光度计,在激发/发射波长分别为 370 nm/440 nm 和 335 nm/385 nm,激发和发射带宽均为 5 nm 的条件下,测量每组反应溶液中荧光 AGEs 和戊糖素的形成含量^[8]。AGEs 或戊糖素形成的抑制率($R, \%$)的计算公式如下。

$$R = [1 - (F_{\text{试验组}} - F_{\text{试验空白组}}) / (F_{\text{对照组}} - F_{\text{对照空白组}})] \times 100$$

式中: $F_{\text{试验组}}$ 为阳性对照[氨基胍(amino guanidine, AG)+牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)+葡萄糖(glucose, Glu)]或试验组[乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)+BSA+Glu]的荧光值; $F_{\text{试验空白组}}$ 为阳性对照[AG+BSA+磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)]或试验组(LAB+BSA+PBS)的荧光值; $F_{\text{对照组}}$ 为 BSA+Glu 的荧光值; $F_{\text{对照空白组}}$ 为 BSA+PBS 的荧光值。

1.3.3 抗氧化活性和总酚含量的测定

参考 Li 等^[9]的方法,用无水乙醇配制 0.2 mmol/L 的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)溶液,样品溶液与 DPPH 溶液等体积涡旋混合,在室温下避光反应 30 min,在 517 nm 波长下测量吸光度 A_1 。将等量的样品溶液与无水乙醇混合,在 517 nm 波长下测量吸光度 A_2 。将相同体积的 DPPH 溶液与纯水混合,在 517 nm 波长下测量吸光度 A_3 。DPPH 自由基清除率($Q, \%$)的计算公式如下。

$$Q = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100$$

用福林酚法测定总酚含量^[10],取 1 mL 样品溶液与 0.5 mL 福林酚试剂混合均匀,反应 5 min 后加入 1.5 mL 7.5% Na_2CO_3 溶液,用超纯水定容至 6 mL,摇

匀,室温下避光反应 30 min,在 760 nm 处测量吸光度。按上述方法分别取 2、4、6、8、10 $\mu\text{g/mL}$ 没食子酸标准溶液测量吸光度,绘制没食子酸标准曲线(0~10 $\mu\text{g/mL}$)。

1.3.4 发酵豆浆蛋白的提取

参照夏佳恒^[11]的方法并稍作修改。将豆浆 pH 值调至 8.0,与 Tris-HCl 溶液以料液比 1:1(g/mL)混合,再加入等体积的正己烷溶液,置于磁力搅拌器上 4 $^{\circ}\text{C}$ 充分混匀 4 h,再经过 8 000 r/min 离心 30 min,取中间澄清溶液,记为豆浆蛋白溶液,用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,收集的溶液在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,备用。

1.3.5 发酵豆浆蛋白结构表征

将孵育后的样品上清溶液放入 8 000 Da 透析袋,在 PBS 溶液中充分透析 24 h 以去除游离葡萄糖。透析完成后,将样品冷冻干燥成厚度均匀的干片,用傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared, FTIR)仪测量,并将干片放在 FTIR 附件上扫描。采用 OMNIC 软件记录红外光谱:测量范围为 4 000~400 cm^{-1} ,波长精度为 0.01 cm^{-1} ,分辨率为 4 cm^{-1} ,扫描次数为 32,环境温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。利用傅里叶反褶积、二阶导数求导和高斯曲线对 1 700~1 600 cm^{-1} 的峰进行拟合,根据拟合结果,利用峰面积计算蛋白质各二级结构的相对含量^[12]。

1.3.6 表面疏水性的测定

采用 8-苯氨基-1-萘磺酸(8-anilino-1-naphthalene-sulfonic acid, ANS)荧光探针法监测豆浆发酵前后对表面疏水性的影响。称取适量 ANS,完全溶解于二甲基甲酰胺溶液中,制得浓度为 30 $\mu\text{mol/mL}$ 的 ANS 溶液。样品与 ANS 溶液等体积混合,在 25 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件中反应 30 min。扫描记录荧光激发波长为 380 nm,发射波长为 390~650 nm,激发和发射狭缝宽度为 5 nm。所得的测量光谱被调整为空白值。

1.3.7 大豆异黄酮成分分离和含量测定

豆浆中大豆异黄酮的分离和定量采用高效液相色谱检测法^[13]。采集的豆浆样品冻干至粉末状,精确称量 0.1 g 粉末,溶于 6 mL 80% 甲醇溶液,超声提取异黄酮 2 h,然后 13 000 r/min 离心 5 min,上清液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤。采用梯度洗脱的方式对异黄酮进行定量检测。检测条件:进样量 20 μL ;流速 1 mL/min;选用 YMC-Pack ODS-AMC18(250 mm \times 4.6 mm \times 5 μm , 12 nm) 色谱柱;柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;二极管阵列检测器(diode array detector, DAD)检测波长 254 nm;流动相 0.1% 乙酸和 0.1% 乙酸乙腈。按照 GB/T 26626—2011《动植物油脂 水分含量测定 卡尔费休法(无吡啶)》设置梯度洗脱条件。

标准曲线的建立:准确称取大豆苷、染料木苷、黄豆苷、大豆苷元、染料木素、黄豆黄素标准品各 1 mg,分别溶于甲醇溶液,定容至 10 mL,即为标准液,储存在 4 $^{\circ}\text{C}$ 备用。取适量的大豆异黄酮标准液,用甲醇按梯度稀释,制作不同浓度的标准工作液,上机进行检测

分析。用每种标准品的质量浓度(x)和峰面积(y)绘制线性方程,并进行回归分析。

1.3.8 挥发性风味成分的测定

采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(head sead solid phase microextractions - gas chromatography - mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)测定挥发物。准确称取豆浆 20 mL,5 g 氯化钠置于 40 mL 顶空进样瓶,加入一颗搅拌子,用带有橡胶隔垫的瓶盖密封。将其放在 45 $^{\circ}\text{C}$ 的电热恒温水浴锅中,预热 10 min,平衡 20 min,用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 纤维针插入顶空瓶中,距离液面 1 cm,萃取风味化合物 30 min。随后,将针头缓慢插入注射口,250 $^{\circ}\text{C}$ 下解吸 5 min。

参考冯笑笑^[14]的方法设置 GC-MS 分析条件:色谱柱 HP-5MS(30 m \times 250 μm \times 0.25 μm)。升温程序:起始温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 3 min,以 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 100 $^{\circ}\text{C}$,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 230 $^{\circ}\text{C}$,保持 7 min。载气:氦气,流速 1.3 mL/min;不分流。MS 条件:电子电离(electron impact, EI);离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$;电子轰击能量 70 eV;离子扫描范围 m/z 33~500;全扫描模式。

挥发性风味物质定性定量分析:经美国国家标准技术研究所(National Institute of Standards and Technology, NIST) 11 标准质谱库进行检索、定性定量,采用峰面积进行相对定量。

1.4 数据处理

所有试验均重复 3 次,结果以平均值 \pm 标准差表示,数据采用 SPSSv21.0 分析,在 $P<0.05$ 时认为差异有统计学意义。利用 OriginPro 8.0 绘图。

2 结果与分析

2.1 豆浆中 AGEs 含量变化

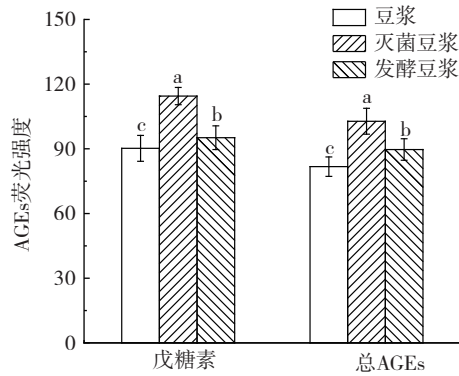
热加工是豆浆生产过程中必不可少的环节,商业豆浆在生豆浆包装前或包装后还需经过巴氏杀菌或超高温处理。高温处理用于杀死病原体和变性抗营养因子,如胰蛋白酶抑制剂和脂氧合酶,可以确保微生物安全、提高消化率并延长产品的保质期^[15]。热处理会促进还原糖与蛋白质之间的糖基化反应,产生糖基化产物和 AGEs。AGEs 可通过阻断赖氨酸残基,改变消化率、掩盖或产生过敏原而降低蛋白质的营养价值^[16]。豆浆中 AGEs 含量如图 1 所示。

由图 1 可知,与豆浆相比,灭菌豆浆的 AGEs 荧光强度均升高,戊糖素与总 AGEs 均增长了 25%。再经发酵乳杆菌发酵后,发酵豆浆 AGEs 的荧光强度较灭菌豆浆降低了 12%~17%,相较于豆浆增长了 5%~9%。

2.2 发酵对豆浆蛋白结构的影响

2.2.1 二级结构

豆浆蛋白的二级结构对其物理化学性质和功能具有重要影响。 α -螺旋结构是豆浆蛋白主要的二级结构



不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图1 豆浆中 AGEs 含量

Fig.1 AGE content in soybean milk

之一,其稳定性和可消化性高。 β -折叠具有良好的乳化和发泡和凝胶性质,豆浆蛋白的二级结构与酸碱度、温度、蛋白浓度等因素有关^[17]。豆浆经灭菌、发酵后的蛋白二级结构如图2、表1所示。

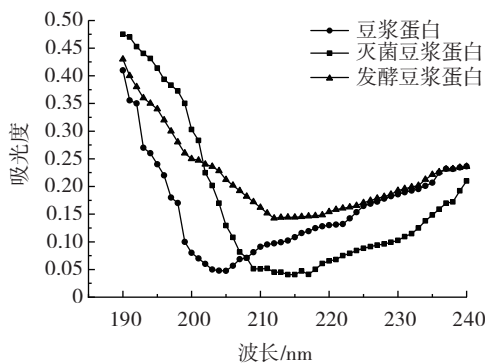


图2 豆浆蛋白的红外光谱

Fig.2 Infrared spectrometry of soybean milk protein

表1 豆浆蛋白二级结构含量

Table 1 Secondary structure content of soybean milk protein %

项目	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规卷曲
豆浆蛋白	16.37 \pm 0.03 ^b	28.31 \pm 0.03 ^b	21.35 \pm 0.04 ^b	34.06 \pm 0.04 ^b
灭菌豆浆蛋白	28.63 \pm 0.04 ^a	16.75 \pm 0.02 ^c	23.69 \pm 0.05 ^a	30.77 \pm 0.05 ^c
发酵豆浆蛋白	10.26 \pm 0.01 ^c	30.75 \pm 0.01 ^a	20.28 \pm 0.02 ^b	38.64 \pm 0.03 ^a

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

由图2、表1可知,与豆浆蛋白相比,经灭菌处理后的豆浆蛋白二级结构均发生显著变化,其中 α -螺旋和 β -折叠主要被破坏。 β -转角呈现细微上升的趋势,无规卷曲呈现细微下降的趋势。发酵豆浆蛋白中的 β -转角呈现细微下降的趋势,无规卷曲呈现细微上升的趋势。结果表明,灭菌豆浆经发酵后,减少了对蛋白二级结构的破坏,增长的 α -螺旋变成 β -折叠和无规卷曲,使蛋白结构发生改变,变得更加灵活和松散。

2.2.2 表面疏水性

ANS 是一种用于蛋白质研究的荧光染料,已广泛

用于监测暴露的蛋白质疏水斑块及其折叠中间体、蛋白质错误折叠和表面疏水基团的存在^[18]。ANS 结合到蛋白质表面或膜的非极性区域时,流动性受到限制,导致荧光发射最大值的蓝移和荧光强度的增加。豆浆蛋白的表面疏水性主要取决于蛋白质表面的氨基酸残基的组成和分布。具体而言,富含疏水性氨基酸残基(如烷基、苯环等)的蛋白表面通常具有较高的疏水性。相反,富含亲水性氨基酸残基(如羟基、羧基等)的蛋白表面通常具有较高的亲水性。豆浆蛋白表面的疏水性对其在食品加工中的乳化、稳定、发泡等性质有着重要的影响。除了影响豆浆蛋白的物理化学性质外,豆浆蛋白表面疏水性还对其生物活性和免疫学特性产生影响。近年来的研究表明,豆浆蛋白表面的疏水性能够影响豆浆蛋白与消化酶的相互作用,从而影响豆浆蛋白的消化和生物利用率^[19]。豆浆经灭菌、发酵后的表面疏水性如图3所示。

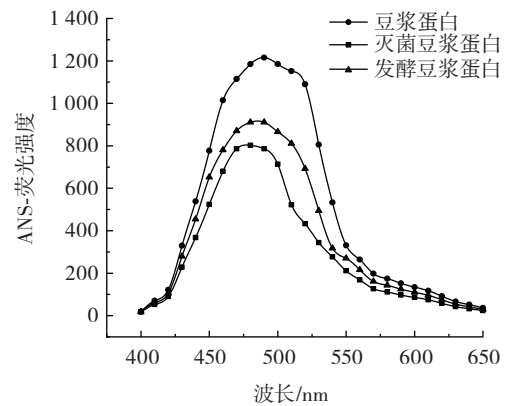


图3 豆浆蛋白的表面疏水性测定

Fig.3 Determination of surface hydrophobicity of soybean milk protein

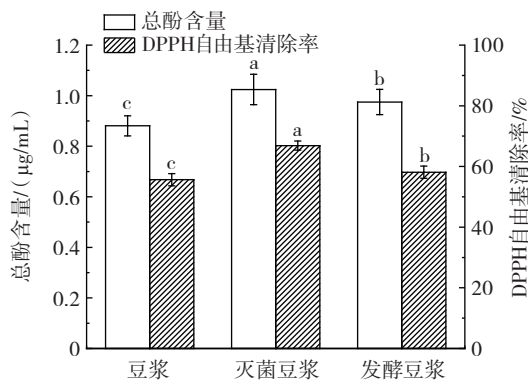
由图3可知,豆浆经灭菌后的表面疏水性明显升高,这可能是因为豆浆蛋白受热后发生聚集,结构展开,内部的疏水性基团被暴露,与ANS结合的程度升高,使得荧光强度升高。经发酵后,荧光强度明显降低,聚集的蛋白被酶水解、疏水基团被保护或隐藏。但是,发酵豆浆蛋白的表面疏水性比豆浆蛋白的表面疏水性高,可能是因为发酵形成新的疏水肽,这与Rui等^[20]的研究结果一致。

2.3 发酵对豆浆功能性质的影响

2.3.1 抗氧化特性

各样品组的DPPH自由基清除能力和总酚的含量如图4所示。

由图4可知,灭菌豆浆的抗氧化性最好,清除DPPH自由基的能力达到66.86%,比发酵豆浆高8.75%,比豆浆高11.22%。灭菌豆浆的总酚含量较高,这可能与豆浆高温灭菌中因发生美拉德反应而产生的棕色类黑素有关,而美拉德反应是抗氧化性增强的原



不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

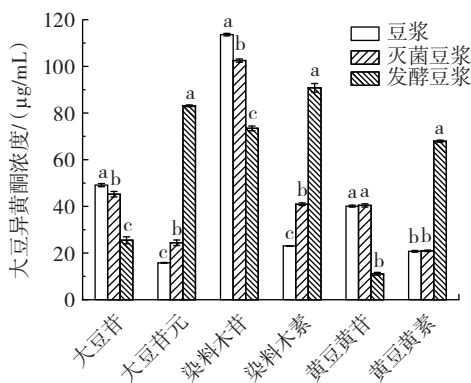
图4 豆浆的抗氧化活性

Fig.4 Antioxidant activity of soybean milk

因。发酵乳杆菌发酵豆浆后降低了灭菌豆浆中的抗氧化活性,另外 Mirlohi 等^[21]证明豆浆发酵过程中生育酚的破坏是发酵后大豆产品抗氧化能力降低的主要原因。

2.3.2 异黄酮的生物转化

在大豆的不同生物活性成分中,异黄酮是重要成分之一。研究已验证它们具有抗氧化、抗炎、抗糖尿病和植物雌激素的特性。异黄酮的种类很多,其中结合型的糖苷包括黄豆苷、染料木苷和大豆苷,游离型的苷元为豆黄素、染料木素和大豆素。据报道,糖苷和苷元都具有重要的生理活性,但苷元由于分子量较低,疏水性较高,容易在小肠中被吸收,在医学研究中的治疗效果最好^[22]。豆浆异黄酮含量见图5。



不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图5 豆浆异黄酮含量

Fig.5 Isoflavone content of soybean milk

由图5可知,豆浆中异黄酮含量为 262.38 μg/mL,其中糖苷总含量为 202.81 μg/mL(染料木苷含量为 113.60 μg/mL),苷元总含量为 59.57 μg/mL(大豆苷元含量为 15.78 μg/mL,染料木素含量为 23.05 μg/mL)。灭菌后,豆浆中异黄酮含量发生了细微的变化,含量为 274.43 μg/mL,其中糖苷总含量为 188.15 μg/mL(染料木苷含量为 102.48 μg/mL),较豆浆中含量显著降低

($P < 0.05$),苷元总含量为 86.28 μg/mL(大豆苷元含量为 24.41 μg/mL,染料木素含量为 40.91 μg/mL),较豆浆中含量显著升高($P < 0.05$)。发酵后异黄酮含量明显升高,总含量为 351.83 μg/mL,苷元总含量显著增加,为 241.80 μg/mL($P < 0.05$),糖苷和苷元分别占异黄酮含量的 31.27% 和 68.73%,苷元型异黄酮比例增大。结果表明,加热引起的糖基化反应导致了异黄酮类型向苷元型转化,发酵对豆浆的异黄酮生物转化、抗氧化活性有明显的提升作用。

2.4 发酵对豆浆挥发性风味物质的影响

豆浆含有 70 种以上挥发性风味成分,不同的风味成分具有不同的风味特征^[23]。影响豆浆接受度的主要属性之一是其独特的风味,主要表现为青草味、油脂味、果味、黄瓜味等。为了探究发酵对豆浆中豆类挥发性风味物质含量的影响,通过 HS-SPME-GC-MS 从豆浆中定性定量鉴定出 15 种典型的风味化合物,具体如下表 2 所示。

表2 典型风味化合物含量

Table 2 Content of typical flavor compound

挥发性成分名称	风味描述 ^[24]	含量/(μg/L)		
		豆浆	灭菌豆浆	发酵豆浆
正己醛	青草味	417.62	66.96	0.00
2-戊基呋喃	青草味	148.57	163.23	180.57
辛醛	油脂味	17.62	3.39	0.00
反,反-2,4-癸二烯醛	香料、油脂味	46.06	68.00	56.93
壬醇	果味	0.00	0.00	10.18
反,反-2,4-壬二烯醛	黄瓜味、煮大豆味	37.90	59.46	55.32
反-2-辛烯醛	青草味、油脂味、黄瓜味	10.80	7.89	1.88
1-辛烯-3-醇	蘑菇味	36.47	50.64	88.56
1-辛醇-3-酮	蘑菇味	13.69	16.26	3.60
苯乙醇	花香味	1.40	5.14	10.88
2-庚酮	花香味	10.60	32.26	45.19
乙酸	酸味	0.00	27.57	118.77
正己酸	酸味	0.00	5.61	14.07
苯甲醛	焦糖味	34.06	32.45	16.33
愈创木酚	焦糖味	0.00	0.85	0.00

由表2可知,1-辛烯-3-醇、正己醛、辛醛、苯甲醛等挥发性化合物,在豆浆、灭菌豆浆和发酵豆浆中的风味含量中存在明显差异。

实际制作出来的豆浆风味清淡,还有一些黄豆的香气,再结合上述 15 种化合物的气味含量和气味特征,分别绘制了 3 种豆浆中气味活性成分的分布雷达图,如图 6 所示。

由图 6 可知,青草味在 3 种豆浆中所占比例均最高。其中,豆浆中青草味风味特征最明显,壬醇所呈现

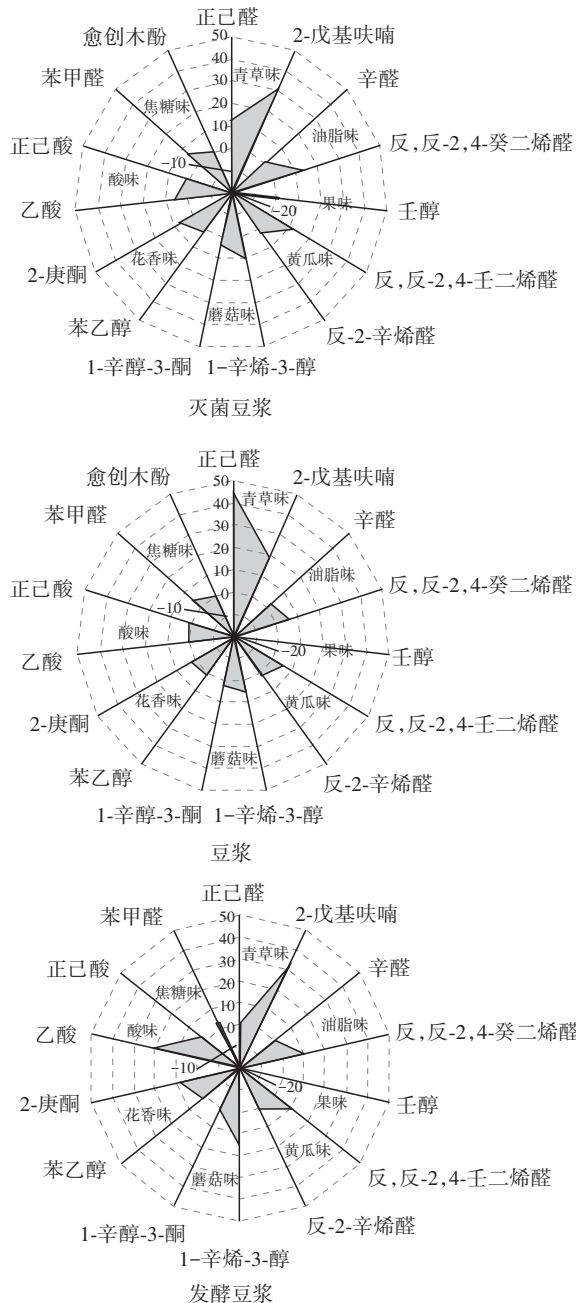


图6 豆浆风味特征

Fig.6 Flavor features of soybean milk

的果味微乎其微,其他风味占比较均匀;灭菌豆浆中青草味的强度明显弱于豆浆,美拉德反应促使豆浆的焦糖味和油脂味明显增加,还出现微量香甜的果味;发酵豆浆会产生有机酸,从而导致其青草味也明显减弱^[25]。

3 结论

以豆浆为基质,将乳酸菌掺入豆浆后,低聚糖发酵产生的大量短链脂肪酸不仅可以作为乳酸菌的能量来源,还可以提高产品营养价值。结果表明,发酵乳杆菌对灭菌豆浆进行发酵后,显著减少了由加热造成的美拉德反应(或蛋白非酶糖化反应)生成的 AGEs 含量,

最高可降低 17% 的 AGEs;高温灭菌造成豆浆蛋白质的结构展开,蛋白质二级结构中的无规卷曲和 β -折叠向 α -螺旋和 β -转角转变,蛋白质三级结构中的疏水基团被暴露。然而,经发酵后的豆浆蛋白质结构变得更加舒展, α -螺旋向无规卷曲和 β -折叠转变,疏水性降低 37%;发酵的豆浆表现出较好的 DPPH 自由基清除能力和较高的总酚含量,这是由于发酵豆浆中异黄酮含量增加和异黄酮类型向苷元型转化,其中,异黄酮含量较发酵豆浆增加了 77.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$,苷元型异黄酮比例从 22.70% 增加到 68.73%。本研究结果可为乳酸菌在豆浆中的应用提供参考。

参考文献:

- [1] 孔增霞,杨娟,徐蓓蓓,等. AGEs 在糖尿病性骨质疏松发展中的作用及抗 AGEs 治疗研究进展[J]. 山东医药, 2022, 62(34): 96-100.
KONG Zengxia, YANG Juan, XU Beibei, et al. The role of AGEs in the development of diabetic osteoporosis and the research progress of anti-AGEs therapy[J]. Shandong Medical Journal, 2022, 62(34): 96-100.
- [2] TAKEUCHI M, SAKASAI-SAKAI A, TAKATA T, et al. Effects of toxic AGEs (TAGE) on human health[J]. Cells, 2022, 11(14): 2178.
- [3] GUILBAUD A, NIQUET-LERIDON C, BOULANGER E, et al. How can diet affect the accumulation of advanced glycation end-products in the human body?[J]. Foods, 2016, 5(4): 84.
- [4] ZHANG Y, DONG L, ZHANG J H, et al. Adverse effects of thermal food processing on the structural, nutritional, and biological properties of proteins[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2021, 12: 259-286.
- [5] ZHOU X R, SUN H L, TAN F, et al. Anti-aging effect of *Lactobacillus plantarum* HFY09-fermented soymilk on D-galactose-induced oxidative aging in mice through modulation of the Nrf2 signaling pathway[J]. Journal of Functional Foods, 2021, 78: 104386.
- [6] PENG X H, LIAO Y, REN K Y, et al. Fermentation performance, nutrient composition, and flavor volatiles in soy milk after mixed culture fermentation[J]. Process Biochemistry, 2022, 121: 286-297.
- [7] KANO M, KUBOTA N, MASUOKA N, et al. Oral administration of fermented soymilk products protects the skin of hairless mice against ultraviolet damage[J]. Nutrients, 2016, 8(8): 514.
- [8] 李晓琳. 面包皮中结合态、游离态的 AGEs 测定及对大鼠肝脏、肾脏的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
LI Xiaolin. Determination of AGEs in bound and free state of bread crust and its effects on liver and kidney in rats[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2016.
- [9] LI X Y, GAO J E, SIMAL-GANDARA J, et al. Effect of fermentation by *Lactobacillus acidophilus* CH-2 on the enzymatic browning of pear juice[J]. LWT- Food Science and Technology, 2021, 147: 111489.
- [10] CHEN K Y, GAO C C, HAN X M, et al. Co-fermentation of lentils using lactic acid bacteria and *Bacillus subtilis* natto increases functional and antioxidant components[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(2): 475-483.
- [11] 夏佳恒. 乳酸菌发酵豆奶的工艺优化及其致敏性评估[D]. 南昌: 南昌大学, 2017.
XIA Jiaheng. Process optimization and allergenicity evaluation of fermented soybean milk by lactic acid bacteria[D]. Nanchang: Nanchang University, 2017.

- [12] JING X L, YANG C, ZHANG L P. Characterization and analysis of protein structures in oat bran[J]. *Journal of Food Science*, 2016, 81(10): C2337-C2343.
- [13] 贺显书. 超高效液相色谱—串联质谱法检测大豆异黄酮含量[J]. *中国食品工业*, 2021(8): 30-31, 115.
HE Xianshu. Determination of isoflavones in soybean by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *China Food Industry*, 2021(8): 30-31, 115.
- [14] 冯笑笑. 豆浆关键挥发性异味成分的形成机制及加工工艺对豆浆风味影响的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
FENG Xiaoxiao. Study on the formation mechanism of key volatile odor components of soybean milk and the influence of processing technology on the flavor of soybean milk[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [15] XU B J, CHANG S K C, LIU Z S, et al. Comparative studies on the chemical and cell-based antioxidant activities and antitumor cell proliferation properties of soy milk manufactured by conventional and commercial UHT methods[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(6): 3558-3566.
- [16] GU J Y, BK A, WU H J, et al. Impact of processing and storage on protein digestibility and bioavailability of legumes[J]. *Food Reviews International*, 2023, 39(7): 4697-4724.
- [17] LAMPART-SZCZAPA E, KONIECZNY P, NOGALA-KAŁUCKA M, et al. Some functional properties of lupin proteins modified by lactic fermentation and extrusion[J]. *Food Chemistry*, 2006, 96(2): 290-296.
- [18] SINGH K, HUSSAIN I, MISHRA V, et al. New insight on 8-anilino-1-naphthalene sulfonic acid interaction with TgFNR for hydrophobic exposure analysis[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 122: 636-643.
- [19] 张莉丽, 崔宪, 张功圣, 等. 植物乳杆菌发酵对豆粕蛋白结构的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(14): 78-83.
ZHANG Lili, CUI Xian, ZHANG Gongsheng, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* fermentation on the structure of soybean meal proteins[J]. *Food Science*, 2017, 38(14): 78-83.
- [20] RUI X, XING G L, ZHANG Q Q, et al. Protein bioaccessibility of soymilk and soymilk curd prepared with two *Lactobacillus plantarum* strains as assessed by *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2016, 38: 155-159.
- [21] MIRLOHI M, BAGHBADORANI S, EHSANI M, et al. Antioxidant capability of ultra-high temperature milk and ultra-high temperature soy milk and their fermented products determined by four distinct spectrophotometric methods[J]. *Advanced Biomedical Research*, 2017, 6(1): 62.
- [22] TSUI C Y, YANG C Y. Evaluation of semi-solid-state fermentation of *Elaeocarpus serratus* L. leaves and black soymilk by *Lactobacillus plantarum* on bioactive compounds and antioxidant capacity[J]. *Foods*, 2021, 10(4): 704.
- [23] 施小迪, 郭顺堂. 豆乳风味物质的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(10): 3079-3084.
SHI Xiaodi, GUO Shuntang. Research developments of soymilk flavor compounds[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2014, 5(10): 3079-3084.
- [24] 朱云扬. 核黄素富集发酵豆浆的功能特性及其对小鼠核黄素缺乏和肠道菌群的影响[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021.
ZHU Yunyang. Functional characteristics of riboflavin-enriched fermented soybean milk and its effects on riboflavin deficiency and intestinal flora in mice[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2021.
- [25] DI BIASE M, LE MARC Y, BAVARO A R, et al. Modeling of growth and organic acid kinetics and evolution of the protein profile and amino acid content during *Lactiplantibacillus plantarum* ITM21B fermentation in liquid sourdough[J]. *Foods*, 2022, 11(23): 3942.

加工编辑:张昱
收稿日期:2023-03-22