DOI:10.12441/spyswjs.20241217001 [文章编号] 1673-1689(2025)12-0095-12

单菌/混菌发酵对豆腐黄浆水风味、成分及抗氧化性的影响

魏涛涛[1,2] 陈 乾[2] 陶祥婕[1] 唐 斌[3] 任福生[3] 胡 萍[1*]

(1. 贵州大学酿酒与食品工程学院,贵州 贵阳 550025; 2. 贵州习酒投资控股集团有限公司,贵州 遵义 564662; 3. 贵州祖名豆制品有限公司,贵州 黔南布依族苗族自治州 551299)

摘要:【目的】探究单菌与混菌发酵对豆腐黄浆水风味、成分与抗氧化性的影响。**【方法】**采用气相色谱-离子迁移谱(GC-IMS)联合电子鼻以及高效液相色谱(HPLC)技术对单菌和混菌发酵后的豆腐黄浆水风味与功能进行测定。**【结果】**相较于发酵乳杆菌 HJS-1(*Limosilactobacillus fermentum* HJS-1)、马克斯克鲁维酵母 HJS-2(*Kluyveromyces marxianus* HJS-2)单菌发酵,发酵乳杆菌 HJS-1 与马克斯克鲁维酵母 HJS-2 混菌发酵可以有效提升豆腐黄浆水中功能性物质水平及其抗氧化性。相较于未发酵豆腐黄浆水,混菌发酵豆腐黄浆水中大豆异黄酮苷元和有机酸质量浓度分别增加了 65.53% 和 182.39%,甜味氨基酸和芳香味氨基酸占比分别增加了 49% 和 9%,鲜味/酸味氨基酸和苦味氨基酸占比分别减少了 16%、42%。此外,在混菌发酵 36 h 后,豆腐黄浆水的 $ABTS^+$ 自由基、羟自由基、DPPH 自由基清除率分别为(20.95±0.07)%、(9.08±0.07)% 和(37.62±0.21)%。GC-IMS 分析结果表明,发酵豆腐黄浆水中共鉴定出 53 种挥发性风味物质,主要为酯类、醛类、醇类和酸类物质。混菌发酵豆腐黄浆水中存在乙酸异丁酯、乙酸乙酯等大量酯类物质,可有效去除豆腐黄浆水的豆腥味。**【结论】**混菌发酵可有效提升豆腐黄浆水的风味品质及抗氧化性。

关键词:豆腐黄浆水;酵母菌;乳酸菌;风味;功能性

Effects of Single and Mixed Fermentation on Flavor, Composition, and Antioxidant Activity of Soybean Whey

WEI Taotao[1,2] *CHEN Qian*[2] *TAO Xiangjie*[1] *TANG Bin*[3] *REN Fusheng*[3] *HU Ping*[1*]

(1. School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Xijiu Investment Holding Group Co., Ltd., Zunyi 564662, China; 3. Zuming Bean Products Corporation, Qiannan Bouyei and Miao Autonomous Prefecture 551299, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to explore the impacts of single strain fermentation and mixed fermentation on the flavor, composition, and antioxidant activity of soybean whey. [**Method**] Gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS) was coupled with E-nose and high-performance liquid chromatography (HPLC) to analyze the flavor and function of soybean whey fermented by the single and mixed strains. [**Result**] Compared with single-strain fermentation by *Limosilactobacillus fermentum* HJS-1 or *Kluyveromyces marxianus* HJS-2, mixed fermentation (*Limosilactobacillus fermentum* HJS-1 + *Kluyveromyces marxianus* HJS-2) effectively improved the levels of functional substances and antioxidant activity of soybean whey. Compared with non-fermented soybean whey, mixed fermentation increased the mass concentrations of soy isoflavones and organic acids in soybean whey by 65.53% and 182.39%, respectively. Moreover, mixed fermentation increased

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合成果[2023]一般 045);贵阳市科技计划项目(筑科合同[2022]5-15 号)。

通信作者:胡萍(1970—),女,博士,教授,博士研究生导师,主要从事益生菌发酵与特色食品开发研究。E-mail:phu1@gzu.edu.cn

收稿日期:2024-12-17 **修回日期:**2025-02-20

the proportions of sweet-taste amino acids and aromatic amino acids by 49% and 9%, while reducing the proportions of umami/sour-taste amino acids and bitter-taste amino acids by 16% and 42%, respectively. The $ABTS^+$, hydroxyl, and DPPH free radical clearance rates of the soybean whey after 36 h of mixed fermentation reached (20.95±0.07)%, (9.08±0.07)%, and (37.62±0.21)%, respectively. A total of 53 volatile flavor compounds in the fermented soybean whey were identified by GC-IMS, mainly including esters, aldehydes, alcohols, and acids. Large amounts of esters such as isobutyl acetate and ethyl acetate existed in the soybean whey after mixed fermentation, which removed the beany flavor of soybean whey. [**Conclusion**] Mixed fermentation can effectively improve the flavor quality and antioxidant activity of soybean whey.

Keywords: soybean whey; yeast; lactic acid bacterium; flavor; functionality

豆腐黄浆水是豆腐生产过程中排放的黄色废水[1]，富含蛋白质、还原糖等多种营养物质[2]。豆腐黄浆水从工厂排放到自然环境中，不仅使豆腐中的营养成分流失，而且由于其富含大量营养物质，给自然界中的微生物提供了生长条件，加重了环境污染[3]。因此豆腐黄浆水的开发利用引起了国内外研究者的广泛关注[4]。

豆腐黄浆水中含有多种气味物质，形成的特殊气味即豆腥味，因其成分复杂，目前尚未有相关检测标准[5]，因此豆腥味的存在阻碍了豆腐黄浆水的应用。自然发酵的豆腐黄浆水中除了含有乳酸菌外，还含有大量其他微生物[6]。Wang 等[7]以豆腐黄浆水为原料制备了微藻培养基，发现通过调整该培养基的 pH 可促进蛋白核小球藻的生长，且生长量超过了 BG-11 培养基。杜欣等[8]利用鼠李糖乳酪杆菌与嗜酸乳杆菌混合发酵豆腐黄浆水，不仅提高了豆腐黄浆水的酸度，改善了豆腐黄浆水的滋味与风味，而且还提高了活性异黄酮、抗氧化性肽等成分的含量，提升了黄浆水的功能附加值，从而为利用豆腐黄浆水提取功能性成分或研制保健品提供了理论依据。

本研究利用从自然发酵的豆腐黄浆水中筛选分离得到的发酵乳杆菌 HJS-1 和马克斯克鲁维酵母 HJS-2 对豆腐黄浆水进行发酵，用 GC-IMS、电子鼻、HPLC 仪和酶标仪等对单菌/混菌发酵的豆腐黄浆水挥发性风味物质与功能进行检测与分析，探究单菌/混菌发酵对豆腐黄浆水挥发性风味物质与功能的影响，为豆腐黄浆水的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

豆腐黄浆水：贵州中意食品有限公司，于 4 ℃冰箱冷藏备用；发酵乳杆菌 HJS-1：保藏号为 CCTCC M 20232566，由作者所在课题组从自然发酵的豆腐黄浆水中筛选分离得到；马克斯克鲁维酵母 HJS-2：保藏号为 CCTCC M 20232567，由作者所在课题组从自然发酵的豆腐黄浆水中筛选分离得到；纯净水：广州屈臣氏食品饮料有限公司；DPPH 自由基清除能力检测试剂盒、$ABTS^+$自由基清除能力检测试剂盒、羟自由基清除能力检测试剂盒：北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器与设备

电子鼻：PEN3 型，德国 AIRSENSE 公司；GC-IMS 风味分析仪：FlavourSpec®型，德国 G.A.S 公司；酶标仪：ZDM-1101 型，卓的仪器设备（上海）有限公司；离心机：Heraeus Fresco17 型，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；HPLC 仪：Agilent 1260 型，美国 Agilent 公司。

1.3 方法

1.3.1 发酵豆腐黄浆水的制备方法

将豆腐黄浆水于 115 ℃灭菌 10 min，然后在无菌环境中分别按体积分数 2% 接种活化好的发酵乳杆菌 HJS-1 与马克斯克鲁维酵母 HJS-2 种子液，于 37 ℃恒温培养。

试验共分 4 个组：将灭菌后冷却至室温的未发酵豆腐黄浆水命名为 K 组；将接种发酵乳杆菌 HJS-1 的豆腐黄浆水命名为 R 组；将接种马克斯克鲁维酵母 HJS-2 的豆腐黄浆水命名为 J 组；将接种发酵乳杆菌 HJS-1 与马克斯克鲁维酵母 HJS-2 的豆腐黄浆水命名为 H 组，2 种菌株的接种质量比为 1∶1。

1.3.2 电子鼻分析

PEN3 型电子鼻系统采用 10 个金属氧化物传感器作为传感器阵列，传感器反应时间<1 s，见

表1。准确吸取液体样品10 mL置于30 mL样品瓶中，室温（25 ℃）静置40 min后进行检测，每组样品进行3次平行试验。利用仪器自带的WinMuster软件，选取稳定时的传感信号进行数据统计分析。

检测条件：样品预检测时间5 s，测试时间90 s，调零时间5 s，清洗时间120 s，载气为室温过滤干燥空气，待测气体与载气的流量为200 mL/min。

表1　电子鼻传感器敏感性能

Table 1　E-nose sensor performance

序号	传感器名称	性能描述
1	W1C	对芳香成分、苯类化合物灵敏
2	W5S	对氮氧化物灵敏
3	W3C	对芳香成分、氨类化合物灵敏
4	W6S	对氢化物灵敏
5	W5C	对短链烷烃芳香成分灵敏
6	W1S	对甲基类化合物灵敏
7	W1W	对硫化物灵敏
8	W2S	对醇类、醛酮类灵敏
9	W2W	对有机硫化物灵敏
10	W3S	对长链烷烃灵敏

1.3.3　GC-IMS分析

1）检测方法：准确称取样品2 g，置于20 mL顶空瓶中，60 ℃孵育15 min后进样，每个样品平行测定3次。

2）顶空进样条件：孵化温度60 ℃，孵化时间15 min，进样体积500 μL，孵化转速500 r/min，进样针温度85 ℃。

3）GC条件：色谱柱温度60 ℃，载气为高纯氮气（纯度≥99.999%），运行时间30 min，进样口温度80 ℃。

4）IMS条件：电离源为氚源（3H），迁移管长度53 mm，电场强度500 V/cm，迁移管温度45 ℃，漂移气为高纯氮气（纯度≥99.999%），流量150 mL/min。

1.3.4　游离氨基酸质量浓度的测定

用HPLC仪测定游离氨基酸质量浓度，分析条件为：色谱柱为锂盐型氨基酸分析柱（3 μm×4.6 mm×100 mm），流动相为含锂离子的溶液，反应液为茚三酮溶液，检测波长分别为570、440 nm，流量180~250 μL/min，色谱柱柱温40~70 ℃，进样体积20 μL。

1.3.5　大豆异黄酮苷元质量浓度的测定

参照刘力[9]的方法测定大豆异黄酮苷元质量浓度。

1.3.6　有机酸质量浓度的测定

参考田亚[10]的方法测定有机酸质量浓度。

1.3.7　抗氧化性测定

根据试剂盒说明书，每隔12 h测定样品的抗氧化性，连续测定48 h。

1.4　数据处理

所有试验均平行测定3次，采用Excel 2021对数据进行分析，使用Origin 2021进行绘图，使用SIMCA-14.1对数据进行正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）及建模分析。

2　结果与讨论

2.1　发酵豆腐黄浆水的电子鼻分析

豆腐黄浆水的电子鼻分析结果见图1。4组样品对电子鼻传感器的响应值具有较大差异。其中，H组的传感器W5S、W1S、W2S、W1W、W3S、W2W响应值均为最大，这些传感器对硫化物、醇类及醛酮类等物质响应灵敏。在4组样品中，传感器W1W响应值差异最大，说明样品间的主要差异来自硫化物；传感器W2W、W3S、W1C、W3C、W6S、W5C响应值相似，说明样品中的芳香成分和苯类化合物等的含量差异较小。此外，H组与J组的各传感器响应值差异较小，但这2组与K组、R组均有较大差异。

进一步利用Winmuster软件对4组样品进行主成分分析（PCA）。如图2所示，第一主成分（PC1）的方差贡献率为97.14%，第二主成分（PC2）的方差贡献率为1.75%，总方差贡献率为98.89%，表明前2个主成分能够解释原始数据中绝大部分

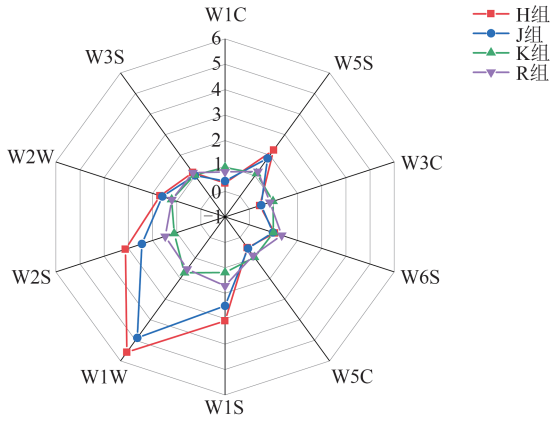


图1　单菌/混菌发酵豆腐黄浆水的电子鼻分析

Fig. 1　E-nose analysis of soybean whey samples fermented by single and mixed strains

的风味信息差异[11]。此外，H 组和 J 组的主成分分布相似，K 组和 R 组的主成分分布相似，但 K 组、R 组与 J 组、H 组主成分分布相差较大，说明 H 组与 J 组、K 组与 R 组分别具有相似的风味轮廓。H 组在 PC1 上的投影绝对值最大，结合雷达图分析，H 组在 PC1 所代表的特征风味上与其他组区别明显，说明混菌发酵产生了更丰富的风味物质。

2.2 发酵豆腐黄浆水的挥发性风味物质变化

通过 GC-IMS 分析单菌/混菌发酵豆腐黄浆水的挥发性风味物质分布与差异，结果见图 3。如图

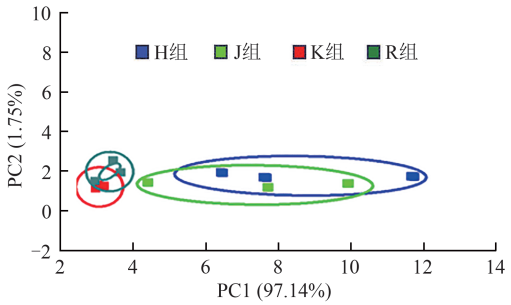
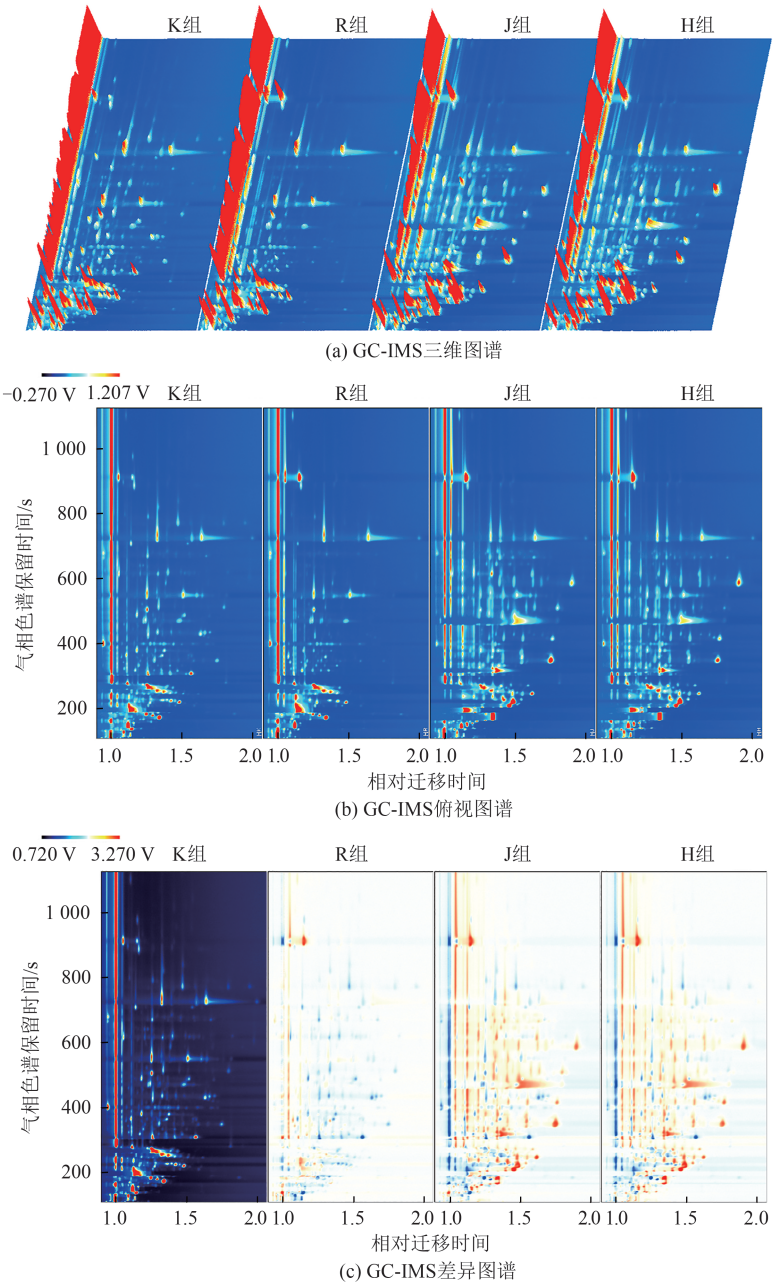


图 2 单菌/混菌发酵豆腐黄浆水电子鼻响应值 PCA

Fig. 2 PCA of E-nose response values for soybean whey fermented by single and mixed strains



(a) GC-IMS三维图谱

(b) GC-IMS俯视图谱

(c) GC-IMS差异图谱

图 3 单菌/混菌发酵豆腐黄浆水中挥发性风味物质的 GC-IMS 谱图分析

Fig. 3 GC-IMS profiles of volatile flavor compounds in soybean whey fermented by single and mixed strains

3(a)所示，K组、R组、J组、H组的挥发性风味物质分布存在显著差异，各组均存在特征峰区域，同时也存在相似的区域。进一步通过归一化处理获得GC-IMS的俯视图谱，见图3(b)。图中横坐标1.0的位置由红色竖线标识，代表反应离子峰(RIP)[12]。在RIP的两侧，每一个点都代表一种挥发性风味物质。颜色深浅表示物质的浓度，红色越深，意味着物质的浓度越高[13-14]。如图3(c)所示，K组、R组、J组、H组的RIP位置、颜色与数量存在比较明显的差异。相较于其他3组，K组的淡蓝色与红色RIP较少，表明其挥发性风味物质种类相对较少；J组、H组的淡蓝色与红色RIP相对较多，表明马克斯克鲁维酵母HJS-2单菌发酵及混菌发酵均能产生新的挥发性风味物质，这些新的挥发性风味物质赋予了豆腐黄浆水新的风味特征。

2.3　发酵豆腐黄浆水中挥发性风味物质成分分析

如图4所示，从单菌/混菌发酵豆腐黄浆水中共检测到挥发性风味物质信号65个，其中经GC-IMS内置数据库定性了53种。在鉴定出的53种挥发性风味物质中，包括18种酯类、15种醇类、11种醛类、5种酮类、2种酸类、1种呋喃类和1种吡嗪类。

2.4　单菌/混菌发酵豆腐黄浆水GC-IMS挥发性风味物质指纹图谱分析

利用VOCal数据处理软件中的Gallery Plot插件绘制单菌/混菌发酵豆腐黄浆水挥发性风味

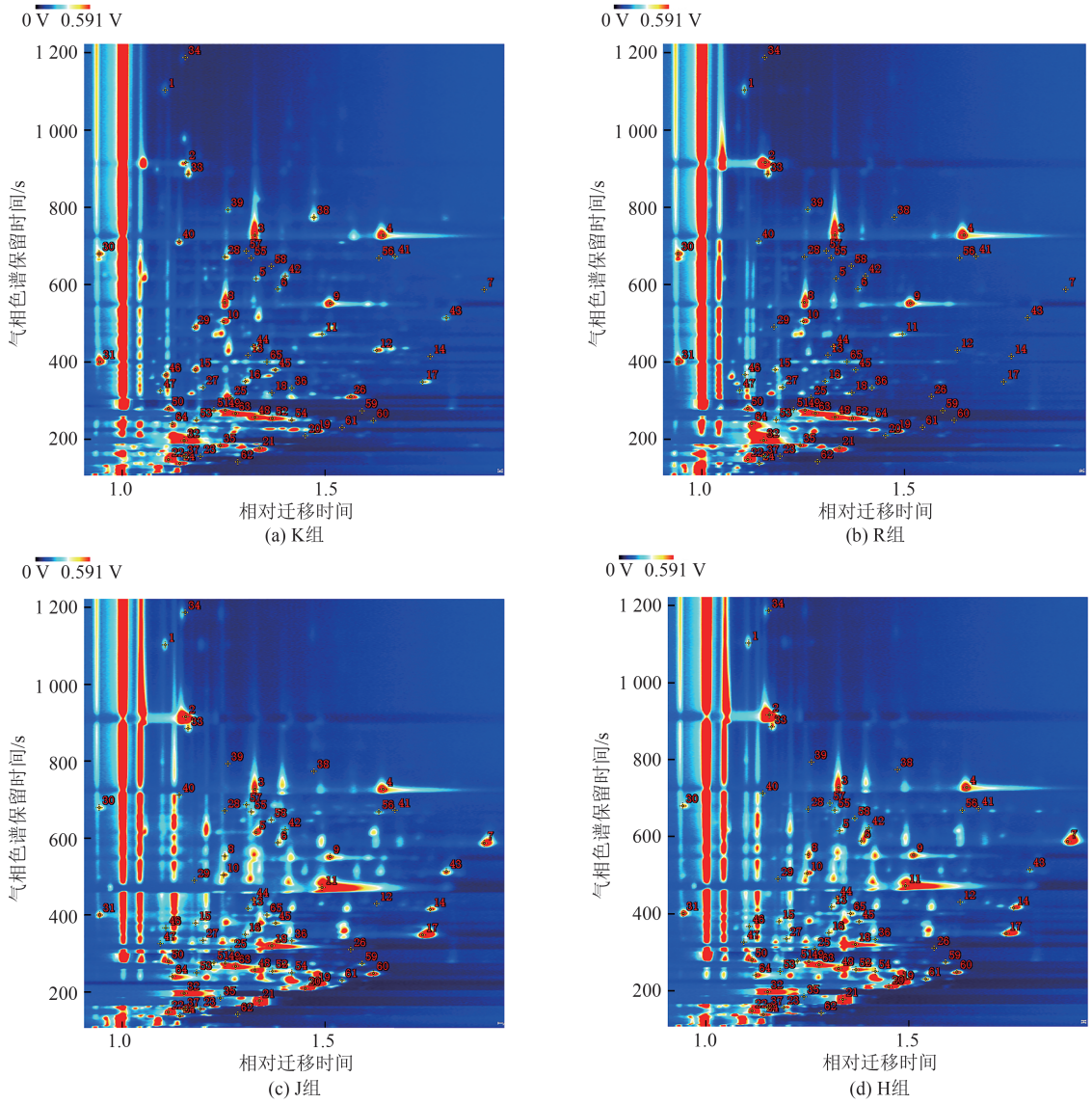
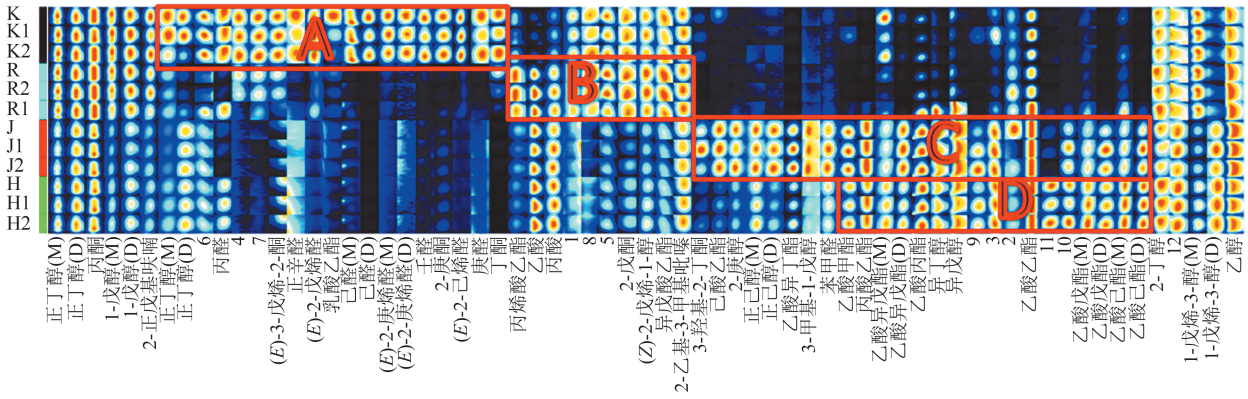


图4　单菌/混菌发酵豆腐黄浆水中挥发性风味物质的GC-IMS定性谱图

Fig. 4　GC-IMS profiles of volatile flavor compounds in soybean whey fermented by single and mixed strains

物质指纹图谱[15]，进一步分析比较单菌/混菌发酵豆腐黄浆水中特征挥发性风味物质。如图5所示，图中每一行代表一个菌种发酵的豆腐黄浆水中选取的全部信号峰，每一列代表同一挥发性风味物质在单菌、混菌发酵黄浆水中的信号峰，图中每一个亮点代表一种挥发性风味物质的信号，亮点的颜色越深代表该挥发性风味物质的强度越高、相对含量越大[16]。从单菌/混菌发酵黄浆水中共鉴定出53种挥发性风味物质。图5中A区域是未发酵豆腐黄浆水的特征挥发性风味物质区域，包含10种醛类、2种醇类、3种酮类和1种酯类。B区域是发酵乳杆菌HJS-1发酵豆腐黄浆水的特征挥发性风味物质区域，包含2种酸类、2种酯类、1种吡嗪类、1种醇类和1种酮类。C区域是马克斯克鲁维酵母HJS-2发酵豆腐黄浆水的特征挥发性风味物质区域，包含12种酯类、6种醇类、1种醛类和1种酮类。D区域是发酵乳杆菌HJS-1和马克斯克鲁维酵母HJS-2混菌发酵豆腐黄浆水的特征挥发性风味物质区域，包含10种酯类和2种醇类。综上可知，C区域中酯类、醇类物质丰富度高于其他3组。酯类物质富含浓郁花香和果香[17]，醇类物质富含果香、花香等[18]，醛类物质是豆腐黄浆水中主要的豆腥味物质之一[19]。以上结果表明，单菌/混菌发酵能够有效降低豆腐黄浆水中的醛类物质，显著改善豆腐黄浆水的豆腥味。



1~12—未知挥发性风味物质；M—单体；D—二聚体。

图5　单菌/混菌发酵黄浆水中挥发性风味物质指纹图谱

Fig. 5　Fingerprint of volatile flavor compounds in soybean whey fermented by single and mixed strains

2.5　单菌/混菌发酵豆腐黄浆水的差异分析

单菌/混菌发酵豆腐黄浆水的差异分析见图6。为分析样品之间的差异，对R组、J组、H组进行OPLS-DA。3组样品的OPLS-DA得分图见图6(a)，其中横坐标是主要成分得分值，表示组间样品差异；纵坐标是正交成分得分值，表示组内样品差异[20]。单菌/混菌发酵豆腐黄浆水风味成分差异显著，R组、J组、H组样品各自聚为一类，表明这3组样品之间的风味差异较大。可见，GC-IMS分析能够较好地判别单菌/混菌发酵豆腐黄浆水(R组、J组、H组)。在本研究建立的OPLS-DA模型中，R_X^2=0.992，R_Y^2=1.000，Q^2=0.987，表明该模型对已知数据具有极高的解释率，预测能力好[21]。

变量投影重要性(variable importance in projection，VIP)值是用于评估每个变量在OPLS-DA模型中对样品分类区分度的量化指标。VIP值>1的变量意味着它们对于区分不同样品类别具有显著贡献[22-23]。如图6(b)所示，17个变量的VIP值>1，变量对区分不同样品分类的贡献依次为乙酸丙酯>乙酸异戊酯(D)>乙酸>乙酸乙酯>丙酸乙酯>乙酸己酯(D)>3-羟基-2-丁酮>异戊醇>乙酸异丁酯>异丁醇>丙醛>乙醇>丙酮>乙酸己酯(M)>丙烯酸乙酯>正己醇(M)>正己酸乙酯，其中乙酸丙酯和乙酸异戊酯(D)是对分类具有最大贡献的挥发性风味物质。

为了更加直观地区分单菌/混菌发酵豆腐黄浆水中挥发性风味物质的变化，基于已鉴定的53种挥发性风味物质，利用凝聚层次聚类分析(hierarchical cluster analysis，HCA)法及热图将单菌/混菌发酵豆腐黄浆水与53种挥发性风味物质的相关性进行可视化。如图6(c)所示，各组风味物质存在较大差异。结合VIP值分析可知，K组中

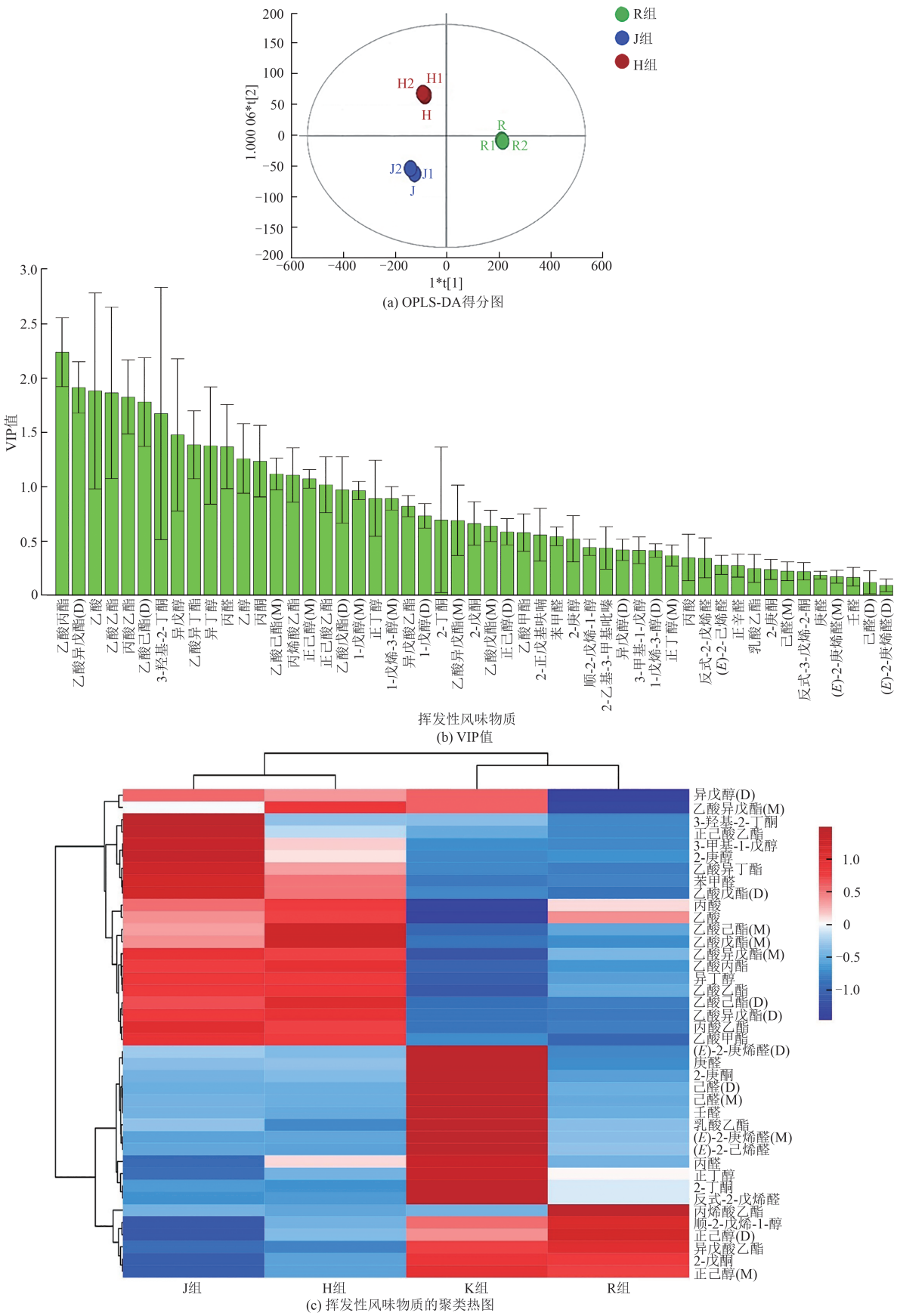


图 6　单菌/混菌发酵豆腐黄浆水的挥发性风味物质差异分析

Fig. 6　Analysis of volatile flavor compound differences in soybean whey fermented by single and mixed strains

特征挥发性风味物质共15种，R组中特征挥发性风味物质共6种，J组中特征挥发性风味物质共20种，H组中特征挥发性风味物质共12种。

综上可知，单菌/混菌发酵豆腐黄浆水的特征挥发性物质有显著差异，不同菌株发酵样品之间的醛类、酯类挥发性风味物质变化明显。K组中的特征挥发性风味物质多为醛类，其中庚醛（昆虫味、青草味、脂肪味）[24]、（*E*）-2-己烯醛、2-庚酮、壬醛（山羊味）[25-26]、（*E*）-2-庚烯醛（M）、（*E*）-2-庚烯醛（D）、己醛（M）（生油脂味、青草味）[27]、己醛（D）、反式-2-戊烯醛、丙醛和2-丁酮等是主要的特征挥发性风味物质。J组样品产生了大量酯类，其中乙酸异丁酯（果香）、乙酸乙酯（甜香、果香、葡萄香气、朗姆酒香味）[28]、乙酸戊酯（M）、乙酸戊酯（D）、乙酸己酯（M）、正己酸乙酯是主要的特征挥发性风味物质。发酵乳杆菌HJS-1发酵可有效抑制样品中醛类物质的生成，且可促进乙酸、丙酸等挥发性风味物质的生成，但产生的酯类等挥发性风味物质较少。H组和J组产生的挥发性风味物质具有相似性，但H组中不仅酯类含量丰富，且乙酸、丙酸相对含量高于J组。

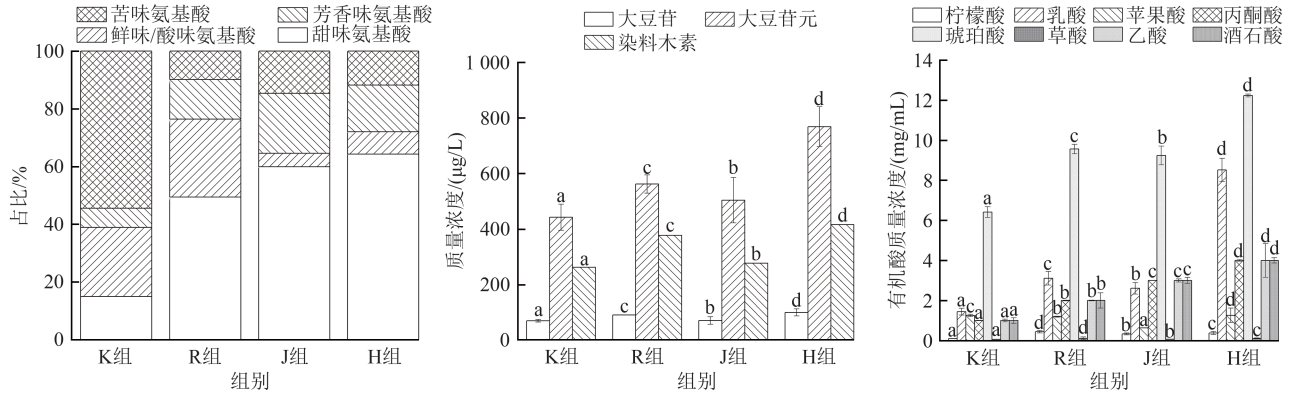
2.6 单菌/混菌发酵豆腐黄浆水的成分分析

根据滋味特征，游离氨基酸可分为4类，分别为鲜味/酸味氨基酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸、芳香味氨基酸[29]。如图7（a）所示，不同样品各组分游离氨基酸差异明显。K组中苦味氨基酸占比为54%，鲜味/酸味氨基酸占比为24%，甜味氨基酸占比为15%，芳香味氨基酸占比为7%。相较于K组，R组中苦味氨基酸占比减少了44%，鲜味/酸味氨基酸占比增加了3%，甜味氨基酸占比增加了34%，芳香味氨基酸占比增加了7%；J组中苦味氨基酸占比减少了39%，鲜味/酸味氨基酸占比减少了19%，甜味氨基酸占比增加了45%，芳香味氨基酸占比增加了14%；H组中苦味氨基酸占比减少了42%，鲜味/酸味氨基酸占比减少了16%，甜味氨基酸占比增加了49%，芳香味氨基酸占比增加了9%。这些结果表明，这2种菌株发酵均可减少豆腐黄浆水中苦味氨基酸占比，增加甜味、芳香味氨基酸占比，对豆腐黄浆水的风味和口感具有改善作用。

大豆异黄酮苷元主要由染料木素、大豆苷元等组成，约占总量的2%~3%[30]。大豆异黄酮主要以结合型*β*-葡萄糖苷的形式存在，由于结合型*β*-葡萄糖苷不易被人体吸收，而游离型大豆异黄酮苷元易被人体吸收，且生理活性高，因此将结合型转化为苷元型具有重要意义[31]。如图7（b）所示，经过不同单一菌种和混合菌种发酵后，豆腐黄浆水中的大豆异黄酮苷元质量浓度发生了明显变化。K组中大豆苷、染料木素、大豆苷元质量浓度分别为（70.69±4.75）、（262.95±15.76）、（442.53±46.89）μg/L。相较于K组，R组中大豆苷、染料木素、大豆苷元质量浓度分别增加至（91.50±0.54）、（377.55±17.77）、（562.00±32.82）μg/L；J组中大豆苷、染料木素、大豆苷元质量浓度分别增加至（71.79±13.56）、（277.45±28.07）、（503.87±81.28）μg/L；H组中大豆苷、染料木素、大豆苷元质量浓度分别增加至（100.76±12.56）、（416.08±51.97）、（767.97±71.58）μg/L。

综上所述，菌株发酵可有效提高豆腐黄浆水中游离型大豆异黄酮苷元质量浓度，其中发酵乳杆菌HJS-1的发酵效果优于马克斯克鲁维酵母HJS-2，混菌发酵的效果优于单菌发酵，与李洁等[32]的研究结果一致。豆腐黄浆水发酵前后的有机酸质量浓度见图7（c），发酵前豆腐黄浆水中总有机酸质量浓度为（10.82±0.13）mg/mL，其中琥珀酸质量浓度最高，为（6.41±0.27）mg/mL，其次为乳酸、苹果酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸、草酸、丙酮酸，其质量浓度分别为（1.44±0.17）、（1.25±0.06）、（0.96±0.13）、（0.57±0.08）、（0.10±0.01）、（0.06±0.00）、（0.03±0.01）mg/mL。琥珀酸作为三羧酸循环的中心代谢产物，对人体血糖调节、能量代谢和抗炎等有着至关重要的作用[33]。与K组相比，R组中总有机酸质量浓度增加了70.42%，其中琥珀酸质量浓度达到（9.56±0.23）mg/mL；J组总有机酸质量浓度增加了65.38%，其中琥珀酸质量浓度达到（9.24±0.47）mg/mL；H组总有机酸质量浓度增加了182.39%，其中琥珀酸质量浓度达到（12.23±0.07）mg/mL。这可能是因为相较于单菌发酵，混菌发酵有效促进了豆腐黄浆水中有机酸的转化[34]。

相较于发酵乳杆菌HJS-1或马克斯克鲁维酵母HJS-2单菌发酵，采用发酵乳杆菌HJS-1和马克斯克鲁维酵母HJS-2混菌发酵，能显著增加豆腐黄浆水中有机酸质量浓度，这与陈思雨[35]的研究一致。此外，混菌发酵有效调整了各有机酸的质量



(a) 游离氨基酸

(b) 大豆异黄酮苷元

图中不同小写字母代表组间大豆异黄酮苷元成分的质量浓度差异显著(P<0.05)。

(c) 有机酸

图中不同小写字母代表组间有机酸质量浓度差异显著(P<0.05)。

图7　豆腐黄浆水发酵前后游离氨基酸、大豆异黄酮苷元及有机酸水平

Fig. 7　Changes in levels of free amino acids, soybean isoflavones, and organic acids in soybean whey before and after fermentation

浓度占比，对豆腐黄浆水的风味和功能起到了积极作用。

2.7　单菌/混菌发酵对豆腐黄浆水抗氧化性的影响

2.7.1　ABTS$^+$自由基清除能力

从表2可知，相较于K组，J组和R组的ABTS$^+$自由基清除能力均有所增强，而H组的ABTS$^+$自由基清除能力提升更为明显。H组与其他组样品的ABTS$^+$自由基清除能力存在明显差异，且在发酵过程中随着时间的延长，其抗氧化性呈增强趋势，在36 h时，各组ABTS$^+$自由基清除率均达到最大值，其中最高的是H组，其次是R组。

表2　ABTS$^+$自由基清除能力

Table 2　ABTS$^+$ free radical scavenging ability

时间/h	ABTS$^+$自由基清除率/%			
	K组	J组	R组	H组
0	11.58±0.74	13.72±0.30	12.54±0.69	12.99±0.58
12	12.14±0.50	14.07±0.37	14.64±0.45	19.51±0.36
24	13.59±0.37	14.40±0.27	16.97±0.44	20.30±0.43
36	14.19±0.13	14.87±0.35	17.51±0.25	20.95±0.07
48	14.01±0.38	14.74±0.26	17.33±0.38	20.79±0.14

2.7.2　羟自由基清除能力

由表3可知，相较于K组，J组和R组的羟自由基清除能力均有所提高，而H组的羟自由基清除能力提高更为明显。H组与其他组样品之间的羟自由基清除能力存在明显差异，且在发酵过程中随着时间的延长，其抗氧化性呈增强趋势，在36 h时，各组羟自由基清除率均达到最大值，其中最高的是H组，其次是R组。

表3　羟自由基清除能力

Table 3　Hydroxyl free radical scavenging ability

时间/h	羟自由基清除率/%			
	K组	J组	R组	H组
0	0.46±0.16	2.24±0.29	3.77±0.00	2.76±0.17
12	0.83±0.16	2.50±0.36	5.21±0.17	3.15±0.00
24	1.16±0.16	4.11±0.01	7.01±0.00	8.98±0.19
36	1.56±0.32	5.47±0.39	8.11±0.12	9.08±0.07
48	1.48±0.33	5.35±0.09	7.76±0.56	8.73±0.29

2.7.3　DPPH自由基清除能力

由表4可知，相较于K组，J组、R组的DPPH自由基清除能力均有所提高，而H组的DPPH自由基清除能力提高更为明显。H组与其他组样品之间的DPPH自由基清除能力存在明显差异，且在发酵过程中随着时间的延长，其抗氧化性呈增强趋势，在36 h时，J组、R组和H组DPPH自由基清除率均达到峰值，且都高于K组，其中最高的是H组，其次是R组。

综上可知，经过马克斯克鲁维酵母HJS-2、发酵乳杆菌HJS-1单菌发酵可小幅增强豆腐黄浆水的DPPH自由基、羟自由基、ABTS$^+$自由基清除能力，而混菌发酵可显著增强豆腐黄浆水的抗氧化性。这可能是因为大豆异黄酮，特别是其苷元形式，是一种具有抗氧化、抗炎活性的多酚类化合物[36]，酵母菌与乳酸菌对大豆异黄酮由糖苷向苷元的转化有促进作用[37]，而混菌发酵的协同作用进一步促进了这一转化过程，这与党辉[38]的研究结果一致。

表4 DPPH自由基清除能力

Table 4 DPPH free radical scavenging ability

时间/h	DPPH自由基清除率/%			
	K组	J组	R组	H组
0	21.78±0.04	29.19±0.36	24.76±0.16	27.64±0.73
12	21.82±0.47	32.07±0.35	28.68±0.00	30.03±0.00
24	22.04±0.36	32.81±0.47	32.29±0.36	33.41±0.50
36	24.24±0.36	34.84±0.96	35.67±0.24	37.62±0.21
48	26.19±0.25	34.34±0.33	35.22±0.11	37.43±0.16

3 结论

作者利用混菌发酵豆腐黄浆水，基于GC-IMS从未发酵、发酵乳杆菌HJS-1单菌发酵、马克斯克鲁维酵母HJS-2单菌发酵、混菌发酵豆腐黄浆水中共鉴定出53种挥发性风味物质，包括18种酯类、15种醇类、11种醛类、5种酮类、2种酸类、1种呋喃类和1种吡嗪类。马克斯克鲁维酵母HJS-2发酵会促进豆腐黄浆水生成乙酸异丁酯、乙酸乙酯、乙酸戊酯（M）、乙酸戊酯（D）、乙酸己酯（M）、正己酸乙酯等大量酯类，可以有效去除豆腐黄浆水中的豆腥味。混菌发酵豆腐黄浆水中产生的酯类风味物质与马克斯克鲁维酵母HJS-2单菌发酵豆腐黄浆水较一致，但乙酸、丙酸等物质的相对含量高于马克斯克鲁维酵母HJS-2单菌发酵豆腐黄浆水，且混菌发酵显著减少了醛类等豆腥味物质的相对含量。混菌发酵豆腐黄浆水中大豆异黄酮苷元质量浓度增加了65.53%、有机酸质量浓度增加了182.39%。相较于单菌发酵，混菌发酵36 h后，豆腐黄浆水的抗氧化性明显增加，其$ABTS^{+}$自由基、羟自由基、DPPH自由基清除率分别达（20.95±0.07）%、（9.08±0.07）%、（37.62±0.21）%。

结果表明，采用发酵乳杆菌HJS-1与马克斯克鲁维酵母HJS-2复配（接种质量比1∶1）进行混菌发酵，能显著增加豆腐黄浆水中游离氨基酸、大豆异黄酮苷元和有机酸等功能性物质水平，提高其抗氧化性，有效改善豆腐黄浆水的豆腥味，增强其特征挥发性风味物质水平。本研究为豆腐黄浆水的高值化利用提供了理论依据，为提高豆制品生产企业的经济效益、减少环境污染提供了可持续发展的策略。

参考文献

[1] 乌力吉德力根，韩文静，仪垂江，等. 乳酸菌发酵豆腐乳清的风味特征研究[J]. 中国食品工业，2023（15）：45-46，48.
Wulijideligen，HAN W J，YI C J，et al. Flavor characteristics of tofu whey fermented by lactic acid bacteria [J]. China Food Industry，2023（15）：45-46，48.（in Chinese）

[2] FUNG W Y，WOO Y P，LIONG M T. Optimization of growth of *Lactobacillus acidophilus* FTCC0291 and evaluation of growth characteristics in soy whey medium：a response surface methodology approach[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2008，56（17）：7910-7918.

[3] QIAO Z H，CHEN X D，CHENG Y Q，et al. Microbiological and chemical changes during the production of acidic whey，a traditional Chinese tofu-coagulant[J]. International Journal of Food Properties，2010，13（1）：90-104.

[4] NGUYEN THI L，CHAMPAGNE C P，LEE B H，et al. Growth of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* on tofu whey[J]. International Journal of Food Microbiology，2003，89（1）：67-75.

[5] 唐巧. 酵母菌发酵大豆粉去除豆腥味的研究及其应用[D]. 长沙：湖南农业大学，2014.

[6] 周婷婷，易敏英，相大鹏，等. 白腐乳及其生产过程中蜡样芽孢杆菌的污染及防治[J]. 中国酿造，2014，33（5）：77-80.
ZHOU T T，YI M Y，XIANG D P，et al. Occurrence and inhibition of *Bacillus cereus* in the white sufu processing[J]. China Brewing，2014，33（5）：77-80.（in Chinese）

[7] WANG S K，WANG X，MIAO J，et al. Tofu whey wastewater is a promising basal medium for microalgae culture[J]. Bioresource Technology，2018，253：79-84.

[8] 杜欣，李理. 乳酸菌发酵黄浆水的抗氧化研究[J]. 中国酿造，2013，32（7）：24-27，64.
DU X，LI L. Antioxidant activities of tofu whey fermented by lactic acid bacteria[J]. China Brewing，2013，32（7）：24-27，64.（in Chinese）

[9] 刘力. 豆腐酸浆中乳酸菌的分离鉴定、代谢研究及高密度培养[D]. 广州：华南理工大学，2015.

[10] 田亚. 贵州米酸汤优势微生物与品质特性的相关性研究[D]. 贵阳：贵州大学，2020.

[11] ZHU W H，LUAN H W，BU Y，et al. Flavor characteristics of shrimp sauces with different fermentation and storage time[J]. LWT-Food Science and Technology，2019，110：142-151.

[12] 陈小爱，蔡惠钿，刘静宜，等. 基于电子鼻、GC-MS和GC-IMS技术分析老香黄发酵期间的挥发性成分变化[J]. 食品工业科技，2021，42（12）：70-80.
CHEN X A，CAI H T，LIU J Y，et al. Analysis of volatile components in Laoxianghuang during fermentation by electronic nose，GC-MS and GC-IMS[J]. Science and

Technology of Food Industry，2021，42（12）：70-80.（in Chinese）

[13] 李娟，田亚，王晓宇，等. 基于GC-IMS技术对多菌系复合发酵特色米酸汤的风味特征研究[J]. 食品与发酵科技，2022，58（1）：72-79，96.
LI J，TIAN Y，WANG X Y，et al. Study on flavor characteristics of multi-bacterial system composite fermented special rice sour soup based on GC-IMS technology [J]. Food and Fermentation Science & Technology，2022，58（1）：72-79，96.（in Chinese）

[14] 陈德勇，张泽洲，赵珊珊，等. 气相色谱-离子迁移谱法结合多元统计分析方法鉴定不同产地贝母[J]. 食品安全质量检测学报，2022，13（1）：19-26.
CHEN D Y，ZHANG Z Z，ZHAO S S，et al. Identification of *Fritillariae* from different origins based on gas chromatography-ion mobility spectrometry combined with multivariate statistical analysis[J]. Journal of Food Safety & Quality，2022，13（1）：19-26.（in Chinese）

[15] 陈俊宇，凌建刚，杜丽慧，等. 基于GC-IMS技术分析不同干燥方式花菇的挥发性风味成分差异[J]. 食品与机械，2024，40（6）：43-52.
CHEN J Y，LING J G，DU L H，et al. Differences in volatile components between different drying methods of *Lentinus edoeds* analyzed by GC-IMS [J]. Food and Machinery，2024，40（6）：43-52.（in Chinese）

[16] 后春静，贾爽，柒梦阳，等. GC-IMS、GC-MS技术分析龙蒿挥发性成分[J]. 食品与生物技术学报，2024，43（6）：119-127.
HOU C J，JIA S，QI M Y，et al. Analysis of volatile components of tarragon based on GC-IMS and GC-MS[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43（6）：119-127.（in Chinese）

[17] CHEN K，LIU C，WANG Y X，et al. Predominance of indigenous non-*Saccharomyces* yeasts in the traditional fermentation of greengage wine and their significant contribution to the evolution of terpenes and ethyl esters[J]. Food Research International，2021，143：110253.

[18] LIU W H，JI R J，AIMAIER A，et al. Adjustment of impact phenolic compounds，antioxidant activity and aroma profile in Cabernet Sauvignon wine by mixed fermentation of *Pichia kudriavzevii* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Chemistry：X，2023，18：100685.

[19] LAN Y，XU M W，OHM J B，et al. Solid dispersion-based spray-drying improves solubility and mitigates beany flavour of pea protein isolate[J]. Food Chemistry，2019，278：665-673.

[20] 马媛，张玥，李蕊，等. 脓毒症小鼠髓源性抑制细胞氨基酸代谢特点[J]. 北京大学学报（医学版），2022，54（3）：532-540.
MA Y，ZHANG Y，LI R，et al. Characteristics of amino acid metabolism in myeloid-derived suppressor cells in septic mice [J]. Journal of Peking University（Health Sciences），2022，54（3）：532-540.（in Chinese）

[21] 朱婉，吴颖，黎晓湘，等. 基于广泛靶向代谢组学结合高效液相色谱法分析‘紫娟’和‘迎霜’茶树花代谢物差异[J]. 浙江大学学报（农业与生命科学版），2023，49（6）：825-839.
ZHU W，WU Y，LI X X，et al. Analysis of differential metabolites between ‘Zijuan’ and ‘Yingshuang’ tea flowers based on widely targeted metabolomics combined with high performance liquid chromatography [J]. Journal of Zhejiang University（Agriculture and Life Sciences），2023，49（6）：825-839.（in Chinese）

[22] 李行，吴李玲，裴荣红，等. 6种武陵酱香型白酒中挥发性含硫化合物差异分析[J]. 食品科学技术学报，2024，42（1）：83-93.
LI X，WU L L，PEI R H，et al. Difference analysis of volatile sulfur-containing compounds in 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu[J]. Journal of Food Science and Technology，2024，42（1）：83-93.（in Chinese）

[23] 杨夕缘，杨波，赵建新等. 动物双歧杆菌乳亚种对便秘的改善研究[J]. 食品与生物技术学报，2024，43（7）：22-34.
YANG X Y，YANG B，ZHAO J X，et al. Exploration of the effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* on improving constipation[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43（7）：22-34.（in Chinese）

[24] 庄楷杏，陈泽娜. 用热脱附方法分析哈密瓜香气成分[J]. 饮料工业，2022，25（1）：33-36.
ZHUANG K X，CHEN Z N. Analysis of the aroma components in Hami melon using thermal desorption method [J]. Beverage Industry，2022，25（1）：33-36.（in Chinese）

[25] 彭凯雄，唐群勇，陈晓明. 酿酒用生、熟大米挥发性风味物质差异分析[J]. 中国食品学报，2023，23（11）：303-319.
PENG K X，TANG Q Y，CHEN X M. Difference analysis of volatile flavor substances in raw and cooked rice for winemaking[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2023，23（11）：303-319.（in Chinese）

[26] WANG J，YUAN C J，GAO X L，et al. Characterization of key aroma compounds in Huangjiu from northern China by sensory-directed flavor analysis [J]. Food Research International，2020，134：109238.

[27] 吕文庆，孙菁茹，张舒，等. 豌豆肽-大豆复配豆乳粉冲

调品质及风味特性[J]. 食品科学,2024,45(10):89-97.
LÜ W Q,SUN J R,ZHANG S,et al. Reconstitutability and flavor characteristics of pea peptide-incorporated soymilk powder[J]. Food Science,2024,45(10):89-97.(in Chinese)

[28] GUO H X,FENG T,QI W Y,et al. Effects of electron-beam irradiation on volatile flavor compounds of salmon fillets by the molecular sensory science technique[J]. Journal of Food Science,2021,86(1):184-193.

[29] LI B,KIMATU B M,PEI F,et al. Non-volatile flavour components in *Lentinus edodes* after hot water blanching and microwave blanching[J]. International Journal of Food Properties,2017,20(Suppl. 3):S2532-S2542.

[30] ISLAM A,ISLAM M S,UDDIN M N,et al. The potential health benefits of the isoflavone glycoside genistin[J]. Archives of Pharmacal Research,2020,43(4):395-408.

[31] DE CAMARGO A C,FAVERO B T,MORZELLE M C,et al. Is chickpea a potential substitute for soybean? Phenolic bioactives and potential health benefits[J]. International Journal of Molecular Sciences,2019,20(11):2644.

[32] 李洁,鲁皓,刘柳,等. 益生菌发酵豆乳对提高结合态大豆异黄酮转化的效果[J]. 食品与发酵工业,2022,48(9):91-96.
LI J,LU H,LIU L,et al. Probiotic fermentation of soymilk to improve the transformation of bound soybean isoflavones[J]. Food and Fermentation Industries,2022,48(9):91-96.(in Chinese)

[33] 贺喆,危当恒,唐惠芳. 琥珀酸与代谢性疾病的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志,2022,30(5):454-460.
HE Z,WEI D H,TANG H F. The advanced research of succinate in metabolic diseases[J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis,2022,30(5):454-460.(in Chinese)

[34] 陶祥婕,胡萍. 复合菌种发酵黄浆水的风味品质分析[J]. 食品与发酵工业,2024,50(11):308-318.
TAO X J,HU P. Analysis of flavor quality of soybean whey fermented by compound cultures[J]. Food and Fermentation Industries,2024,50(11):308-318.(in Chinese)

[35] 陈思雨. 豆腐黄浆水发酵食醋生产工艺及其理化特性[D]. 西安:陕西师范大学,2021.

[36] 杨波,代兴红,梁显义,等. 大豆异黄酮对鱼类生长性能、抗氧化能力和免疫力的影响[J]. 水产养殖,2022,43(12):29-33.
YANG B,DAI X H,LIANG X Y,et al. Effects of soybean isoflavones on growth performance,antioxidant capacity and immunity in fish[J]. Journal of Aquaculture,2022,43(12):29-33.(in Chinese)

[37] 郭旭,徐炳超. 豆制品中大豆异黄酮的转化与富集研究进展[J]. 食品安全导刊,2024(31):20-23.
GUO X,XU B C. Progress of transformation and enrichment of soybean isoflavones in soy products[J]. China Food Safety Magazine,2024(31):20-23.(in Chinese)

[38] 党辉. 乳酸菌和酵母菌混合发酵黄浆水对豆腐品质的影响机制[D]. 西安:陕西师范大学,2020.

(责任编辑:张馨文)