



益生菌发酵降解豆乳抗营养因子机制研究进展

吕铭守,关钧元,刘琳琳,孙冰玉,黄雨洋,朱颖,朱秀清

(哈尔滨商业大学 食品工程学院/黑龙江省食品科学与工程重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150028)

摘要:大豆营养丰富,但含有天然抗营养因子成分,加热、煮沸等传统加工工艺都不能将其有效去除。近年来,益生菌发酵技术在大豆食品加工和生产中应用广泛。利用单菌种或复配菌种发酵豆乳可明显改善其抗营养因子水平,同时降低豆腥味、提高产品口感和营养价值。本文综述了益生菌发酵对豆乳中胰蛋白酶抑制剂、植酸、单宁、寡糖等抗营养因子的影响,为豆乳发酵制品加工提供参考。

关键词:大豆制品;益生菌发酵;抗营养因子;降解机制

Research Progress on the Mechanism of Soybean Milk Anti-nutrient Factor Degradation by Probiotics Fermentation

LYU Ming-shou, GUAN Jun-yuan, LIU Lin-lin, SUN Bing-yu, HUANG Yu-yang, ZHU Ying, ZHU Xiu-qing

(College of Food Engineering/Key Laboratory of Food Science and Engineering of Heilongjiang Province, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

Abstract: Soybean is rich in nutrients, while contains natural anti-nutritional factors which can't be effectively removed by traditional processing techniques such as heating and boiling methods. In recent years, fermentation technology of probiotics has been widely utilized in soybean food processing and production. Fermentation of soymilk with single strain or compound strains can significantly optimize the level of anti-nutritional factors, reduce the beany flavor, and improve the taste and nutritional value of the product. This paper summarizes the effects of probiotic fermentation on anti-nutritional factors such as trypsin inhibitors, phytic acid, tannins, oligosaccharides in soymilk, and provides a theoretical basis for the processing of soymilk products.

Keywords: soy products; probiotics fermentation; anti-nutritional factors; decomposition mechanism

大豆营养丰富,约含有40%蛋白质、25%碳水化合物、18%~20%脂类,以及生物活性物质和维生素等成分。但是,豆乳中存在多种抗营养因子,目前被广泛研究的主要有胰蛋白酶抑制剂、大豆凝集素、大豆抗原蛋白、脲酶、大豆低聚糖、植酸和单宁等,这些抗营养因子会干扰营养物质的消化吸收和利用,限制豆制品工业发展^[1-2]。

豆乳中含有热敏性和热稳定性两种类型的抗营养因子。热敏性抗营养因子包括胰蛋白酶抑制剂、脲酶和凝集素,热稳定性抗营养因子包括植酸、单宁、大豆低聚糖和抗原蛋白^[3]。目前,降解或去除豆乳中抗营养因子的方法包括:物理法,如浸泡、去皮、蒸煮、烘焙、膨化、微波和红外辐射等;化学法,如添加硫酸盐类、尿素、胆碱等,其弊端是无法准确定量并伴有化学残留,在食品加工过程中应用较少;生物法,主要为发芽法,通过大豆生长过程中

自然合成的酶降解抗营养因子^[4]。然而,上述方法均不能高效去除抗营养因子。

常规方法处理后豆乳中主要残留的抗营养因子为胰蛋白酶抑制剂、植酸、大豆低聚糖和单宁。胰蛋白酶抑制剂抑制人体内多种蛋白酶,影响蛋白质的吸收;植酸与复合盐、碳水化合物、蛋白质形成难以分解的复合物,使豆乳中潜在的营养价值无法被人体利用;大豆低聚糖摄入后因缺少特异性水解酶导致其在胃肠道无法吸收被产酸产气菌利用造成胀气;单宁会产生苦涩口味影响豆乳的口感,并且与多种营养物质结合形成大分子复合物无法被人体吸收。这4类抗营养因子在摄入后会表现出协同作用,不仅降低豆乳中营养物质的消化与吸收,还导致豆乳的风味难以被大众接受^[3]。因此降低残留的抗营养因子活性,提高大豆制品的营养特性与口感风味是研究重点。

收稿日期:2022-09-21

基金项目:黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2019ZX08B01-04);黑龙江省普通高等学校青年创新人才培养计划(UNPYSCT-2020217)。

第一作者:吕铭守(1984—),男,博士,讲师,主要从事蛋白质分子化学及大豆深加工研究。E-mail:lumingshou@hrbcu.edu.cn。

通讯作者:朱秀清(1968—),女,硕士,教授,主要从事蛋白质分子化学及大豆深加工研究。E-mail:xqzhuwang@163.com。

益生菌发酵对胰蛋白酶抑制剂、植酸、大豆低聚糖和单宁的降解作用已被逐渐熟知。已有研究表明枯草芽孢杆菌 B7046 和植物乳杆菌 K9B5466 发酵豆粕可使其易消化蛋白质含量增加, 抗营养因子含量降低^[5]。赵巧丽等^[6]使用改性 kefir (乳酸菌、醋酸菌等共生微生物组成的稳定菌落) 发酵豆乳, 结果表明发酵豆乳中抗营养因子降解超过 20%。微生物发酵可提高豆乳营养价值、去除或降低抗营养因子的含量以及提升产品口感风味。然而, 发酵菌种及条件的不同会导致发酵豆乳的营养特性和感官品质有很大差异, 筛选豆乳发酵的适宜菌种已成为该领域的研究热点及发展方向。本文将对益生菌降解豆乳制品中抗营养因子的机制进行详细阐述, 旨在为豆乳制品的工业化发展提供理论依据。

1 豆乳中的主要抗营养因子及其性质

1.1 胰蛋白酶抑制剂

豆乳中含量较高的胰蛋白酶抑制剂为: Kunitz 型(简写 KTI), 含量 1.4%; Bowman-Birk 型(简写 BBI), 含量 0.6%^[7]。其中, KTI 只含 1 个功能性抑制域和 1 个反应位点, 只能抑制胰蛋白酶活性^[8]。BBI 对胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶及弹性蛋白酶均可以发挥抑制作用, 不具有抑制专一性。豆乳中胰蛋白酶抑制剂主要通过两种方式发挥作用, 一方面是与小肠中的胰蛋白酶和糜蛋白酶结合, 引起外源性氮的损失, 另一方面引起胰腺分泌活动增强, 导致胰蛋白酶和糜蛋白酶过度分泌。胰蛋白酶抑制剂虽是热敏性抗营养因子, 但结构内存在二硫键热稳定性较高^[9]。在豆乳传统加工过程中仅有煮浆工序可降低胰蛋白酶抑制剂活性, 121 °C 高压处理 15 min 或 105 °C 蒸煮 30 min 能达到较好效果, 其缺点在于操作温度较高, 引起美拉德反应、氨基酸损失以及消化率降低。

1.2 植酸

植酸主要以钙、镁复合盐的形式存在于豆乳中^[10], 也可与部分蛋白质结合形成稳定的复合物, 抑制蛋白质的消化吸收率。pH 值会影响植酸与蛋白质的结合, 当 pH 值低于蛋白质等电点时, 植酸中

部分磷酸可与一些氨基酸(比如精氨酸、组氨酸、赖氨酸)的 NH^+ 结合, 形成植酸-蛋白质复合物。植酸可与碳水化合物、脂质等营养物质结合, 导致豆乳营养无法被充分吸收^[11]。大豆尚未萌发时缺少内源植酸酶, 导致豆乳中与植酸相结合的营养物质不能充分解离, 使豆乳潜在的营养价值无法有效表达。

1.3 大豆低聚糖

大豆低聚糖是大豆中可溶性寡糖的总称, 主要由 2~10 个相同或不同的单糖以 α -1,6 糖苷键的形式聚合而成, 主要包括蔗糖、棉子糖和水苏糖。大豆低聚糖被称为抗营养因子缘于 α -1,6 糖苷键无法在人体内进行分解, 而人体胃肠道中部分产气微生物会利用其产酸产气, 导致胀气。研究表明, 益生菌在生长繁殖过程中分泌的 α -半乳糖苷酶能够特异性分解大豆低聚糖中 α -1,6 糖苷键, 生成人体可吸收的糖类^[12]。

1.4 单宁

单宁属水溶性酚类化合物, 会降低细胞膜的通透性, 使营养物质难以被溶出利用。单宁与唾液蛋白、口腔糖蛋白等相互作用产生苦涩味, 影响豆乳的口感。豆乳中单宁可以与蛋白质、氨基酸等大分子物质和矿物质结合, 形成不溶性化合物, 从而阻碍营养物质消化释放^[13]。

2 益生菌发酵降解抗营养因子机制

2.1 降解植酸

微生物在生长过程中分泌的植酸酶主要分为两种, 3-肌醇六磷酸酶(简称 3-植酸酶, EC 3.1.3.8) 和 4-肌醇六磷酸酶(简称 4-植酸酶, EC 3.1.3.26)^[14]。前者最先水解的是肌醇 3 号碳原子位置的磷酸根, 后者最先水解的是 4 号碳原子的磷酸根。微生物中的植酸酶催化植酸分解的过程及作用位点如图 1 所示, 植酸酶将植酸分子上的磷酸基团逐个切下形成中间产物 IP5、IP4、IP3、IP2 和 IP1, 植酸分解为肌醇和磷酸盐, 终产物为肌醇和磷酸。同时, 一部分肌醇在微生物作用下将植酸转化为 D-肌醇。在微生物的作用下植酸分解并为人体提供肌醇及手性肌醇等必需物质^[15]。

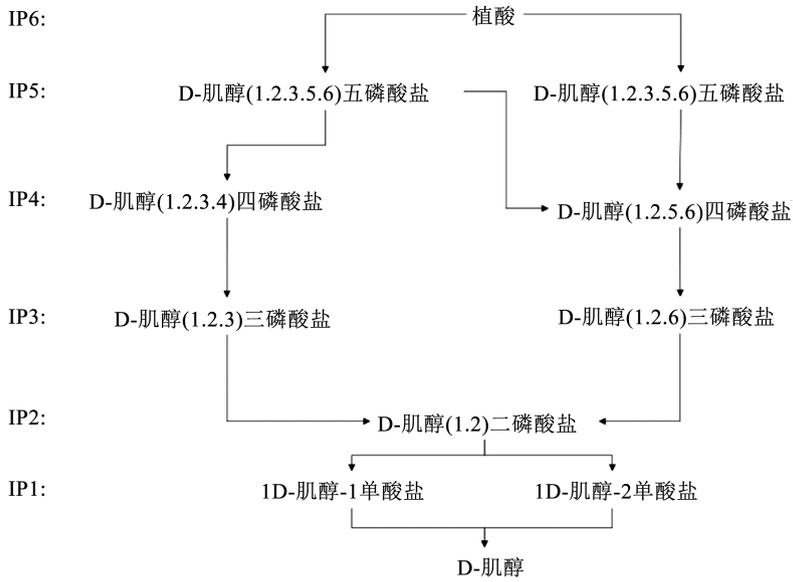


图1 植酸酶分解植酸过程

Fig. 1 Break-down process of phytic acid by phytase

据报道,多种微生物发酵豆乳的过程中分泌的植酸酶可将大分子植酸分解为肌醇和磷酸,将豆乳中与植酸结合的营养物质解离从而提升其营养价值。豆乳中添加解淀粉芽孢杆菌-DS11生产的碱性植酸酶可对植酸产生去磷酸化效应,从而提高豆乳中矿物质(Ca、Mg和Fe等)的利用率^[16]。在豆乳中添加嗜热链球菌14085和婴儿双歧杆菌14603,37℃协同发酵24h,植酸酶的催化作用可使豆乳中植酸盐的含量降低,进而促进豆乳营养物质在肠道中的消化和吸收^[17]。Saraniya等^[18]对8个乳杆菌菌株(包括戊糖乳杆菌SJ65、植物乳杆菌SJ5、植物乳杆菌SJ22以及植物乳杆菌SJ9等)的研究表明,不同乳杆菌可使豆乳中的植酸含量降低,降解率为47%~66%。

2.2 降解胰蛋白酶抑制剂

大豆中的BBI抑制剂可对胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶及弹性蛋白酶3种相关的蛋白酶产生抑制;KTI抑制剂只有1个活性中心,特异抑制胰蛋白酶^[19]。KTI相对分子质量为21ku,与胰蛋白酶的结合位点是Arg63和Ile64,能够专一地对胰蛋白酶产生抑制,抑制活性中心环能够插入到胰蛋白酶的活性中心。该分子以化学计量的方式与胰蛋白酶结合,即1分子的抑制剂使1分子胰蛋白酶失活。形成的复合物类似于酶-底物复合物。由于抑制剂与酶非常紧密地结合且不可逆,抑制剂与酶反应的米氏常数很低,且胰蛋白酶对抑制剂与其反应位点的肽键不

能作用,故该复合物与通常易于解离成产物和酶的酶-底物复合物不同,不会明显解离^[20]。

研究表明通过微生物发酵使豆乳中的胰蛋白酶抑制剂失活的方法安全且有实际意义^[21],通过降低胰蛋白酶抑制剂含量能提升豆制品蛋白质的吸收率。微生物发酵豆乳时,蛋白酶以及微生物对大分子蛋白质的分解作用使胰蛋白酶抑制剂失活,从而使豆乳中胰蛋白酶抑制剂活性降低。刘家维等^[22]研究表明枯草芽孢杆菌可以产肽酶S8。其中1~30位氨基酸为信号肽区域,57~143位氨基酸为一段抑制结构域(inhibitor_I9),该结构域负责调节前酶或酶原的折叠和活性。前段对接到保护底物结合位点的酶部分,促进酶的抑制。da Silva Júnior等^[23]使用保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌生产出了大豆酸奶,并将其与豆乳和市售牛奶酸奶进行比较,发现传统牛乳发酵剂可提高大豆酸奶中蛋白质的质量并降低胰蛋白酶抑制剂。有报道指出,当使用植物乳杆菌B1-6对大豆进行固态发酵后,大豆中胰蛋白酶抑制剂的含量降低95%左右,证明其含量可在植物乳杆菌B1-6的发酵作用下显著降低^[24]。另外,de Pasquale等^[25]以植物乳杆菌MRS-1和短乳杆菌MRS-4为复合发酵剂发酵糊化豆粉,两菌株可通过增加游离氨基酸的浓度和蛋白质的消化率,间接降低糊化豆粉中胰蛋白酶抑制剂的活性,进而提高豆类产品的营养价值。

2.3 降解低聚糖

微生物产 α -半乳糖苷酶能专一性催化非还原末端 α -半乳糖苷键水解,并能作用于含有 α -半乳糖苷的糖蛋白和糖脂质。此外,部分 α -半乳糖苷酶在高底物浓度时不仅具有水解酶活性,还可转移 α -半乳糖苷活性^[26]。豆乳中水苏糖、棉子糖与 α -半乳糖苷酶反应后, α -1,6 糖苷键水解,从人体无法直接消化吸收的低聚糖转化为可以被人体吸收的糖分。通过水解半乳甘露聚糖的侧链促进 β -甘露聚糖酶水解^[27],或通过转糖苷活性合成 α -低聚半乳糖及其他重要的新型糖苷化合物^[28]。酶解位点如图 2 所示。

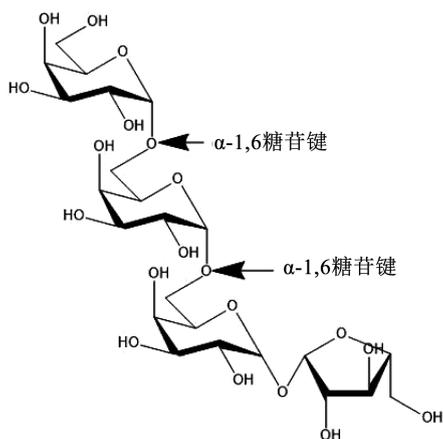


图 2 α -半乳糖苷酶作用位点

Fig. 2 Action site of α -galactosidase

乳酸菌发酵能降低豆乳中的低聚糖含量,不同益生菌对低聚糖利用能力存在差异。双歧杆菌 MB258、MB233 和 MB300 在发酵豆乳时,对蔗糖、棉子糖和水苏糖都具有水解作用,每种菌株的抗营养因子棉子糖和水苏糖的消耗量都很高。3 株菌株都能完全代谢棉子糖,而水苏糖在发酵 48 h 后,短双歧杆菌 MB233 组降低到 68%,婴儿双歧杆菌 MB258 组降低 73%,长双歧杆菌 MB300 组降低到 35%^[29]。嗜酸乳杆菌 CRC14079 和嗜热链球菌 CRC14085 被用于单一菌株发酵豆乳,可以使水苏糖和棉子糖含量分别降低 35.6% ~ 40.2% 和 11.3% ~ 19.0%^[30];乳酸杆菌 LR-C8 培养 6 ~ 18 h 期间表现出最高的 α -半乳糖苷酶活性,其对蔗糖和棉子糖利用率最高,同时水苏糖含量减少 90% 以上,显著高于其他菌株^[31]。另外,干酪乳杆菌与鼠李糖乳杆菌混种发酵豆乳时,可利用低聚糖作为益生元,显著促进益生菌增殖,提高益生菌的活力^[32]。Xia 等^[33]利用乳酸菌和红茶菌发酵豆乳饮料,在

28 °C 和 37 °C 条件下酵母、乙酸菌(AAB)和乳酸菌(LAB)在豆乳中大量生长,促进 LAB 和 AAB 的生长,水苏糖和棉子糖在发酵过程中大部分被分解吸收且含量明显降低^[33]。

2.4 发酵降解豆乳中单宁

豆乳中单宁与多种物质结合形成抗分解的复合物。由于缩合单宁具有特殊性,水解单宁的酶解无法完全应用于缩合单宁,需要其他酶辅助分解(图 3)。儿茶酚(黄烷-3-醇)的降解过程是首先被降解生成二芳基丙烷,再开环形成乙酸盐和苯戊内酯,后者转变成苯丙酸盐,并进一步转变成苯乙酸盐。栲精(黄酮醇)的降解过程是其先分解成间苯三酚和苯乙酸盐的衍生物,在厌氧条件下,间苯三酚可以被快速降解,产物进入柠檬酸循环,在瘤胃内可以生成甲烷和二氧化碳。缩合单宁的生物降解过程中会产生苯丙酸盐和苯乙酸盐,或者相对分子质量更小的酚类,如邻苯二酚、苯酚和对甲苯酚等^[34]。

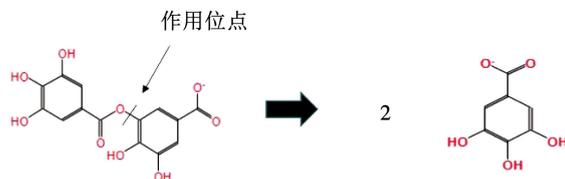


图 3 单宁酶分解单宁机制

Fig. 3 The mechanism of tannase decomposing tannins

陈度宇等^[35]以牛羊粪土驯化筛选出一株肠杆菌 B1,并通过正丁醇-盐酸法和液相色谱法检测儿茶素含量和缩合单宁降解率,72 h 时缩合单宁的降解率可达 90% 以上,这是缩合单宁的生物降解研究中首次获得的能有效将缩合单宁降解为儿茶素的细菌。根据 Govindarajan 等^[36]研究,发酵后单宁的降解取决于是否有单宁酶、多酚酶或脱羧酶单一酶分泌。迄今为止,尚未全面报道在发酵豆乳中单宁代谢途径。有研究发现嗜酸乳杆菌 CSCC 2400、副干酪乳杆菌 CSCC279、玉米乳杆菌 ASCC 15820 和鼠李糖乳杆菌 WQ2LR 发酵时间延长可显著提高豆乳中酚类物质含量,但在发酵过程中较大的酚类化合物包括单宁会被单宁酶等细菌酶代谢^[37]。此外,用植物乳杆菌发酵大豆可将原料样品中的单宁含量从 $1.93 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 降低到 $0.12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ^[38]。加布里埃尔使用植物乳杆菌 CRL2211 发酵鹰嘴豆乳时发现,发酵 24 h 后单宁含量显著低于发酵 8 h,表明发酵时间延长是降低单宁含量的有效途径^[39]。

3 总结与展望

综上,益生菌发酵能降解大豆制品中的抗营养因子、提升营养并改善口感。微生物法降解抗营养因子的机制本质上是微生物在生长过程中需要分解有机物获得碳源、氮源等营养物质而完成酶解反应,以及发酵过程导致酸度增加,部分抗营养物质变性。与物理、化学方法相比,微生物发酵法的降解效果更显著,适用于各类抗营养因子。此外,微生物发酵还能将大分子物质降解成更易消化的小分子,积累有益的微生物代谢产物,提高豆乳消化率,提升营养价值。目前,应用微生物发酵降解豆乳抗营养因子尚存在一些问题,如益生菌株间具有极高的个体差异性等。未来,需结合基因组学和代谢组学等新型组学联用技术筛选出专用于发酵豆乳的优质益生菌,还应在发酵制剂和菌种组合等技术领域持续挖掘,着重于菌种的安全性和遗传稳定性,为益生菌在豆乳制作中的广泛应用提供技术参考。

参考文献

- [1] RASIKA D, VIDANARACHCHI J, ROCHA R, et al. Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2021, 38(20): 8-20.
- [2] 徐寅. 乳酸菌对发酵豆乳风味及抗氧化活性影响研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2012. (XU Y. Effect of lactic acid bacteria on flavor and antioxidant activity of fermented soybean milk [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2012.)
- [3] 李德发. 大豆抗营养因子研究进展[J]. *饲料与畜牧*, 2019(1): 52-58. (LI D F. Research progress of soybean anti-nutritional factors[J]. *Feed and Animal Husbandry*, 2019(1): 52-58.)
- [4] 姜雷. 多重预处理工艺对豆浆抗营养因子与品质影响研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2019. (JIANG L. Effect of multiple pretreatment processes on anti-nutritional factors and quality of soybean milk [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2019.)
- [5] KALASHNIKOVA O B, SUKHIKH S A, KRIGER O V, et al. Study of effect of mixed culture of probiotic microorganisms on the efficiency of fermentative hydrolysis of soybean processing products [J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 852(1): 012040.
- [6] 赵巧丽. 低抗营养因子豆乳粉的研制[D]. 广州: 华南农业大学, 2016. (ZHAO Q L. Development of soybean milk powder with low anti-nutritional factors [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016.)
- [7] 王蕾, 王雅馨, 石亚伟. 植物多肽类胰蛋白酶抑制剂降糖功效研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(22): 406-412. (WANG L, WANG Y X, SHI Y W. Research progress of hypoglycemic effect of plant polypeptide trypsin inhibitor[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2021, 42(22): 406-412.)
- [8] 张娴, 廖东颖, 缙绪卓, 等. 植物 Kunitz 型蛋白酶抑制剂的结构与功能[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(9): 1391-1400. (ZHANG X, LIAO D Y, GOU X Z, et al. Structure and function of plant Kunitz protease inhibitor[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2018, 54(9): 1391-1400.)
- [9] 王荣春, 孙建华, 何述栋, 等. 胰蛋白酶抑制剂的结构与功能研究进展[J]. *食品科学*, 2013, 34(9): 364-368. (WANG R C, SUN J H, HE S D, et al. Research progress of structure and function of trypsin inhibitor[J]. *Food Science*, 2013, 34(9): 364-368.)
- [10] 谷雪莲, 孙冰玉, 刘琳琳, 等. 热处理及植酸与脂肪对豆浆中大豆蛋白凝胶体系的影响研究进展[J]. *食品科学*, 2022, 43(3): 333-340. (GU X L, SUN B Y, LIU L L, et al. Research progress on the effects of heat treatment and phytic acid and fat on soy protein gel system in soybean milk[J]. *Food Science*, 2022, 43(3): 333-340.)
- [11] KUMAR A, SINGH B, RAIGOND P, et al. Phytic acid: Blessing in disguise, a prime compound required for both plant and human nutrition[J]. *Food Research International*, 2021, 142: 110193.
- [12] 周晓莉, 许喜林. 大豆低聚糖的生理功能及应用[C]. *健康中国 2030 · 暨 2019 年广东省食品学会学术年会论文集*, 2019: 25-28. (ZHOU X L, XU X L. Physiological function and application of soybean oligosaccharides [C]. *Healthy China 2030 & 2019 Proceedings of the Academic Annual Meeting of Guangdong Food Society*, 2019: 25-28.)
- [13] 王新坤. 钙处理改善大豆芽菜营养与功能品质的机制[D]. 南京: 南京农业大学, 2016. (WANG X K. Mechanism of calcium treatment to improve nutrition and functional quality of soybean sprouts[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.)
- [14] GESSLER N N, SERDYUK E G, ISAKOVA E P, et al. Phytases and the prospects for their application[J]. *Applied Biochemistry & Microbiology*, 2018, 54(4): 352-360.
- [15] 吴非霏, 殷丽君. 豆豉后发酵过程中植酸、肌醇含量及植酸酶活变化的探究[C]. 北京: 中国食品科学技术学会第十三届年会, 2016: 2. (WU F F, YIN L J. Study on the changes of phytic acid, inositol content and phytase activity during the post-fermentation of Douchi [C]. Beijing: 13th Annual Meeting of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016: 2.)
- [16] KWON D A, PARK S, KWON D, et al. Improving mineral availability in soymilk by dephosphorylation of phytic acid using an alkaline phytase from *Bacillus amyloliquefaciens* DS11[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2014, 23(4): 1067-1072.
- [17] LAI L R, HSIEH S C, HUANG H Y, et al. Effect of lactic fermentation on the total phenolic, saponin and phytic acid contents as well as anti-colon cancer cell proliferation activity of soymilk[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2013, 115(5): 552-556.
- [18] SARANIYA A, JEEVARATNAM K. *In vitro* probiotic evaluation of

- phytase producing *Lactobacillus* species isolated from Uttapam batter and their application in soy milk fermentation[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(9): 5631-5640.
- [19] 罗玉娇,李滨,舒衡平,等. Kunitz 型胰蛋白酶抑制剂的研究进展[J]. *中国生化药物杂志*,2012,33(3): 316-319. (LUO Y J, LI B, SHU H P, et al. Research progress of Kunitz trypsin inhibitor [J]. *Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics*, 2012, 33(3): 316-319.)
- [20] 王蕾,王雅馨,石亚伟. 植物多肽类胰蛋白酶抑制剂降糖功效研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(22): 406-412. (WANG L, WANG Y X, SHI Y W. Research progress on hypoglycemic effect of plant polypeptide trypsin inhibitors [J]. *Food Industry Science and Technology*,2021,42(22): 406-412.
- [21] VANGAS K, WANG J, RAGHAVAN V. Effect of ultrasound and microwave processing on the structure, *in-vitro* digestibility and trypsin inhibitor activity of soymilk proteins [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 131: 109708.
- [22] 刘家维,黄昆仑,梁志宏. 降解大豆胰蛋白酶抑制剂的短小芽孢杆菌菌株及其胞外蛋白的鉴定[J]. *现代食品科技*,2020,36(2): 129-136. (LIU J W, HUANG K L, LIANG Z H. Identification of *Bacillus pumilus* strain degrading soybean trypsin inhibitor and its extracellular protein[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020,36(2):129-136.)
- [23] da SILVA JÚNIOR S I, TAVANO O L, DEMONTE A, et al. Nutritional evaluation of soy yoghurt in comparison to soymilk and commercial milk yoghurt. Effect of fermentation on soy protein [J]. *Acta Alimentaria*,2012,41(4): 443-450.
- [24] RUI X, WANG M, ZHANG Y, et al. Optimization of soy solid-state fermentation with selected lactic acid bacteria and the effect on the anti-nutritional components[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2017, 41(6): e13290.
- [25] de PASQUALE I, PONTONIO E, GOBBETTI M, et al. Nutritional and functional effects of the lactic acid bacteria fermentation on gelatinized legume flours [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 316: 108426.
- [26] TAPMOUX-LVTHI E M, BOHM A, KELLER F. Cloning, functional expression, and characterization of the raffinose oligosaccharide chain elongation enzyme, galactan: Galactan galactosyltransferase, from common bugle leaves [J]. *Plant Physiology*, 2004,134: 1377-1387.
- [27] MALGAS S, VAN DYK J S, PLETSCHKE B I. A review of the enzymatic hydrolysis of mannans and synergistic interactions between β -mannanase, β -mannosidase and α -galactosidase [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*,2015,31(8): 1167-1175.
- [28] BAKUNINA I Y, BALABANOVA L A, PENNACCHIO A, et al. Hookedon α -D-galactosidases: From biomedicine to enzymatic synthesis [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*,2016,36(2): 233-245.
- [29] SCALABRINI P, ROSSI M, SPETTOLI P, et al. Characterization of *Bifidobacterium* strains for use in soymilk fermentation [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1998, 39(3): 213-219.
- [30] WANG Y C, YU R C, YANG H Y, et al. Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria[J]. *Food Microbiology*, 2003, 20(3): 333-338.
- [31] HATI S, VIJ S, MANDAL S, et al. α -Galactosidase activity and oligosaccharides utilization by lactobacilli during fermentation of soy milk [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2014, 38(3): 1065-1071.
- [32] 雷海容,张枫燃,梁洪祥,等. 大豆益生元发酵豆乳的制备及其对益生菌数量的影响[J]. *食品研究与开发*,2020,41(1): 139-146. (LEI H R, ZHANG F R, LIANG H X, et al. Preparation of soybean milk fermented with prebiotics and its effect on the number of probiotics [J]. *Food Research and Development*, 2020,41(1): 139-146.)
- [33] XIA X, DAI Y, WU H, et al. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 62: 103549.
- [34] 胡文斌,邹佩,李红歌,等. 单宁及其微生物降解途径研究进展 [J]. *江西科学*, 2015, 33(1): 85-89, 132. (HU W B, ZOU P, LI H G, et al. Research progress of tannin and its microbial degradation pathway [J]. *Jiangxi Science*, 2015,33(1): 85-89, 132.)
- [35] 陈度宇,王森,张宇,等. 一株缩合单宁降解菌的筛选、鉴定及降解效果分析[J]. *生物技术进展*, 2018, 8(4): 345-350. (CHEN D Y, WANG S, ZHANG Y, et al. Screening, identification and degradation effect analysis of a condensed tannin degrading bacterium[J]. *Biotechnology Progress*, 2018, 8(4): 345-350.)
- [36] GOVINDARAJAN R K, REVATHI S, RAMESHKUMAR N, et al. Microbial tannase: Current perspectives and biotechnological advances[J]. *Biocatalysis & Agricultural Biotechnology*, 2016, 6: 168-175.
- [37] ZHAO D, SHAH N P. Changes in antioxidant capacity, isoflavone profile, phenolic and vitamin contents in soymilk during extended fermentation[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 58(2): 454-462.
- [38] ADEYEMO S M, ONILUDE A A. Enzymatic reduction of anti-nutritional factors in fermenting soybeans by *Lactobacillus plantarum* isolates from fermenting cereals [J]. *Nigerian Food Journal*, 2013, 31(2): 84-90.
- [39] SÁEZ G D, SABATER C, FARA A, et al. Fermentation of chickpea flour with selected lactic acid bacteria for improving its nutritional and functional properties [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 133(1): 181-199.