



翟康,刘毅飞,孙梦君,等.间型脉孢菌固态发酵对野生黑豆功能成分和抗氧化活性的增效机制研究[J].南京农业大学学报,2026,49(4):920-929.

Zhai K,Liu Y F,Sun M J,et al. Study of enhancement mechanisms of *Neurospora intermedia* solid-state fermentation on functional components and antioxidant activity of *Glycine soja*[J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2026,49(4):920-929.

间型脉孢菌固态发酵对野生黑豆功能成分 和抗氧化活性的增效机制研究

翟康,刘毅飞,孙梦君,Ghada Said Baghdady,董明盛*

(南京农业大学食品科学技术学院,江苏 南京 211800)

摘要:[目的]本文旨在探究间型脉孢菌发酵对野生黑豆功能成分和抗氧化活性的影响及机制。[方法]以带皮野生黑豆(*Glycine soja*)为原料,采用间型脉孢菌(*Neurospora intermedia* HJ 2022-06)进行固态发酵,通过测定发酵过程中间型脉孢菌胞外酶的活性,探究其对野生黑豆功能成分生物转化的影响,并以体外抗氧化指标来衡量间型脉孢菌发酵的增效作用。[结果]间型脉孢菌发酵过程中胞外酶(蛋白酶、 α -淀粉酶、 β -葡萄糖苷酶及纤维素酶)的活性显著提高,促进了多肽和氨基酸、可提取多酚、异黄酮、类胡萝卜素、肉碱和麦角硫因等功能性物质的形成与转化。发酵 72 h 后,相对于未发酵野生黑豆,多肽含量增加 2.35 倍,多酚含量增加 43.96%,*L*-肉碱含量增加 13.31 倍,异黄酮从糖苷型向苷元型高效转化(苷元型占比从 4.09%提高到 89.36%),类胡萝卜素含量提高 83.66%,麦角硫因和 β -胡萝卜素含量分别达到 $(193.93 \pm 7.40) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $(16.10 \pm 1.75) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。同时,发酵显著增强了野生黑豆的抗氧化能力,其 DPPH、羟基自由基清除能力及还原潜力的 EC_{50} 值均显著降低。Pearson 相关性分析表明,麦角硫因和异黄酮苷元含量增加与抗氧化能力增强呈显著正相关($R^2 > 0.95$)。[结论]值间型脉孢菌固态发酵提升了野生黑豆的功能成分含量和抗氧化活性,是推动野生黑豆高值化利用的有效策略。

关键词:间型脉孢菌;野生黑豆;多酚;胞外酶;抗氧化;固态发酵

中图分类号:TS214.9

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2026)04-0920-10

Study of enhancement mechanisms of *Neurospora intermedia* solid-state fermentation on functional components and antioxidant activity of *Glycine soja*

ZHAI Kang, LIU Yifei, SUN Mengjun, Ghada Said Baghdady, DONG Mingsheng*

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 211800, China)

Abstract:[Objectives] This study aimed to investigate the effects and mechanisms of *Neurospora intermedia* fermentation on the functional components and antioxidant activity of *Glycine soja*. [Methods] Whole *G. soja* was utilized as raw material for solid-state fermentation with *N. intermedia* HJ 2022-06. By determining the extracellular enzyme activities of *N. intermedia* during fermentation, this study explored its effects on the biotransformation of functional components in *G. soja*. Additionally, *in vitro* antioxidant parameters were employed to evaluate the enhancing effects of the fermentation by *N. intermedia*. [Results] During the fermentation process of *N. intermedia*, the activities of extracellular enzymes (protease, α -amylase, β -glucosidase and cellulase) significantly increased, which promoted the formation and transformation of functional substances such as polypeptides and amino acids, extractable polyphenols, isoflavones, carotenoids, carnitine and ergothioneine. After 72 hours of fermentation, compared with the unfermented *G. soja*, the polypeptide content increased by 2.35 times, the polyphenol content increased by 43.96%, the *L*-carnitine content increased by 13.31 times, and the isoflavones were efficiently converted from the glycoside form to the aglycone form (the proportion of the aglycone form increased from 4.09% to 89.36%), and the carotenoid content increased by 83.66%. The contents of ergothioneine and β -carotene reached $(193.93 \pm 7.40) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $(16.10 \pm 1.75) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. At the same time, the fermentation significantly enhanced the antioxidant capacity of *G. soja*, and the EC_{50} values of its DPPH radical scavenging ability, hydroxyl radical scavenging ability and reducing power all significantly decreased. Pearson correlation analysis showed that there was a significant positive correlation between the increase in the contents of ergothioneine and isoflavone aglycone and the enhancement of

收稿日期:2025-03-19

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[CX(21)2003]

作者简介:翟康,硕士研究生。*通信作者:董明盛,教授,研究方向为食品微生物与生物技术, E-mail: dongms@njau.edu.cn。

antioxidant capacity ($R^2 > 0.95$). [Conclusions] Solid-state fermentation by *N. intermedia* had increased the content of functional components and antioxidant activity of *G. soja*, and it was an effective strategy to promote the high-value utilization of *G. soja*.

Keywords: *Neurospora intermedia*; *Glycine soja*; polyphenols; extracellular enzymes; antioxidation; solid-state fermentation

野生大豆亦称野生豆或马料豆,是一种栽培大豆的野生近缘种,其中野生黑豆含有丰富的多酚、花青素、蛋白质及膳食纤维等功能性成分,有开发功能食品的巨大潜力^[1]。然而,由于野生黑豆味苦质硬,食用可接受性差,限制了其作为药食两用资源的开发利用,此外,传统加工及炮制方式(如蒸煮、烘烤、醋泡等)对野生黑豆功能成分的保留与转化效率存在局限性。黑豆皮中具有丰富的水溶性多酚物质,具有良好的抗氧化、抗癌及抗炎等生物活性,但目前对于黑豆的加工通常是去皮处理,在豆油、豆腐、豆芽和其他豆制品生产中会产生大量黑豆皮渣等副产品^[2],常被作为饲料或废弃物遗弃,造成资源浪费和环境问题^[3]。刘芸等^[4]在黑豆酸奶加工过程中,将黑豆带皮磨浆,既保留了黑豆皮的营养价值,还使产品呈淡枣红色,别具特色。因此,在黑豆加工中需充分利用豆皮资源。同时,一些涉及高温的食品加工方法虽然在一定程度上能改善黑豆的食用品质,但也伴随着热敏性营养物质的流失以及风味改善欠佳等问题^[5]。Xu等^[6]研究发现,煮制过程会导致黑豆总酚含量损失40%~60%。郭颖等^[3]研究表明,焙炒会导致小粒黑大豆的总酚、总黄酮含量以及总抗氧化能力显著降低。此外,传统的醋泡黑豆加工多为手工作坊式操作,工艺简单、口味单一,长期以来未能实现标准化和规模化推广^[7]。因此,开发更具优势的加工技术以提升黑豆的营养价值和产品多样性势在必行。

固态发酵作为一种低成本、高效益的绿色生物发酵技术,不仅能够实现资源的规模化利用,还能极大地提升食品的营养保健价值,具有广阔的开发利用前景。该技术通过微生物在固态基质上的生长代谢活动,促使底物发生复杂的生物转化,显著改善基质的营养与功能特性^[8]。Queiroz-Santos等^[9]通过酿酒酵母固态发酵豆渣,发现其总酚含量和抗氧化活性显著提升,并在 β -葡萄糖苷酶的作用下,实现了异黄酮葡萄糖苷向糖苷配基形式的生物转化;Zhang等^[10]在冠突散囊菌固态发酵黑豆时发现,发酵不仅改善了黑豆的风味品质,还促使黑豆中总多酚、类黄酮以及支链氨基酸等含量显著升高,提升了黑豆的功能特性。因此,采用生物发酵技术来提升野生黑豆的功能成分并改善其食用价值,具有重要的应用意义与现实必要性。

间型脉孢菌(*Neurospora intermedia*)是一种安全的可食用微生物,其菌体本身不仅含有大量的营养成分,还像其他丝状真菌一样,具有产酶丰富、活性高等特点,其分泌的蛋白酶、淀粉酶及纤维素酶等水解酶能降解发酵底物中的大分子蛋白、纤维素等物质^[11]。间型脉孢菌生长迅速,能在多种农副产品中生长,通过发酵实现对植物基质的生物转化,提高基质中活性物质的含量和功能特性^[12]。因间型脉孢菌的无性孢子和菌丝中积累大量类胡萝卜素而呈现出独特的红橙色,故俗称为红菌或红色面包菌。传统上,间型脉孢菌被广泛用于天然发酵食品,如我国福建、广西等地传统红菌豆腐以及印度尼西亚传统发酵食品“Oncom”等的生产和加工^[12-13]。近年来,间型脉孢菌被应用于豆渣、豆粕及谷物粕等副产品的发酵改性,它也是当今真菌蛋白生产的热门菌种^[14]。本研究以野生黑豆为原料,采用间型脉孢菌进行带皮固态发酵,利用菌丝分泌的丰富酶系生物转化多酚、异黄酮等活性物质,并生成麦角硫因、类胡萝卜素等功能化合物,以期野生大豆资源的高值化利用提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

野生黑豆(*Glycine soja*),产自山东东营,购自老农店旗舰店。间型脉孢菌(*N. intermedia* HJ 2022-06)由南京农业大学食品科学技术学院食品微生物组实验室保存,并经宏基因组学分析鉴定。福林酚、羧甲基纤维素、微晶纤维素、DNS、乙酸乙酯等试剂均为国产分析纯,购自上海麦克林生化科技有限公司;FeSO₄、FeCl₃、水杨酸以及铁氰化钾等均为国产分析级,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;麦角硫因、肉碱、异黄酮等标准品购自上海源叶生物科技有限公司;甲醇、乙腈等均为国产色谱纯,三氯乙酸、无水乙醇均为分析级,购自上海吉至生化科技有限公司;磺基水杨酸、DPPH等均购自北京索莱宝科技有限公司。

SHP-250型智能生化培养箱购自上海三发仪器有限公司;EnSight多功能酶标仪购自珀金埃尔默公司;L-8900氨基酸自动分析仪购自日本日立公司;Agilent 1260型高效液相色谱仪购自美国Agilent公司。

1.2 试验方法

1.2.1 野生黑豆的固态发酵 野生黑豆以1:1.5的质量比加水,121℃灭菌20 min,添加1%(质量分数)乳酸,接种2%间型脉孢菌孢子悬浮液(1×10^6 CFU·mL⁻¹),拌匀后置于30℃培养箱发酵,每隔24 h取样,重复3次。

1.2.2 发酵过程中相关酶活性的测定 参考Bhanja等^[15]的方法制备酶液,并稍作修改。准确称取不同发酵时间的样品放入提取瓶中,然后按料液质量比1:10加入去离子水充分混合,置于30℃水浴摇床中180 r·min⁻¹提取1 h;4℃、8 000 r·min⁻¹离心10 min,收集上清液;重复操作2次,合并上清液后用去离子水定容,于-20℃贮藏备用。试验结果以每克发酵野生黑豆(干重)含有的酶活性表示(单位:U·g⁻¹)。

蛋白酶活性的测定参照Elkhalifa等^[16]的方法,并稍作修改。反应液室温下放置30 min,4℃、10 000 r·min⁻¹离心10 min,用紫外分光光度计测定上清液在280 nm处的吸光值。蛋白酶活性单位(U)定义为在测定条件下每分钟从酪蛋白中释放1 μg酪氨酸所需的酶量。 α -淀粉酶和 β -葡萄糖苷酶活性测定参照Bhanja等^[15]的方法。内切葡聚糖酶活性测定参照Ang等^[17]的方法,并稍作修改。反应液于50℃条件下孵育30 min,以DNS法测定产生的还原糖量,以高温灭活的酶液为对照。外切葡聚糖酶活性测定参照Olajuyigbe^[18]的方法,并稍作修改。取提取的0.5 mL酶液,加入0.5 mL含有1%微晶纤维素的醋酸钠缓冲液(0.05 mol·L⁻¹, pH5.0),于50℃条件下振荡反应60 min,以DNS法测定产生的还原糖量,以高温灭活的酶液为对照。

1.2.3 多肽含量的测定 参照Wu等^[19]的方法,并稍作修改。OPA试剂的配制:5 mL SDS(200 g·L⁻¹),200 μL β -巯基乙醇,2 mL 邻苯二甲醛(40 mg·mL⁻¹),50 mL 硼砂(0.1 mol·L⁻¹),最后以去离子水定容到100 mL,并避光保存。

1.2.4 游离氨基酸含量的测定 参照张浩等^[20]的方法,并稍作修改。取0.5 g样品加入10 mL 40 g·L⁻¹磺基水杨酸溶液,混匀,10 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液经0.22 μm微孔滤膜过滤,采用氨基酸自动分析仪测定游离氨基酸的组成及含量。

1.2.5 多酚含量的测定 参照Xiao等^[21]的方法,并稍作修改。用纯水提取不同发酵时间样品,取上清液1 mL,加0.5 mL 福林酚溶液,反应3 min后加入1.5 mL 75 g·L⁻¹ Na₂CO₃溶液,再加5 mL 蒸馏水稀释,混匀后室温避光反应120 min,测定760 nm处的吸光值。以没食子酸系列标准溶液(0~0.1 mg·mL⁻¹)绘制标准曲线。

1.2.6 异黄酮含量的测定 参照黄璐^[22]的方法,并稍作修改。称取适量干燥的样品,加入80%(体积分数)乙醇溶液超声提取2 h,离心后取上清液过0.22 μm有机滤膜,上机待测。液相条件:色谱柱:ZORBAX Eclipse Plus C18色谱柱(4.60 mm×250 mm,5 μm);流动相:A相为0.1%(体积分数)三氟乙酸的水溶液,B相为乙腈;进样量:20 μL;流速:0.8 mL·min⁻¹;柱温:25℃;检测器:DAD检测器;检测波长:254 nm。按照梯度洗脱:0~10 min,10%B;10~12 min,25%B;12~25 min,30%B;25~26 min,55%B。

1.2.7 类胡萝卜素和 β -胡萝卜素含量的测定 类胡萝卜素含量的测定参照骆琴等^[23]的方法,并稍作修改。取干燥的发酵样品0.30 g,加入10 mL 丙酮-乙酸乙酯混合溶液(体积比2:3),超声提取30 min,然后在室温下避光浸提2 h,离心后取上清液即为类胡萝卜素浸提液,在469 nm处测定浸提液的吸光值。取类胡萝卜素浸提液经0.22 μm有机微孔滤膜过滤后测定 β -胡萝卜素含量,液相条件参照何跃等^[24]的方法。

1.2.8 肉碱含量的测定 参照詹越城等^[25]的方法,并稍作修改。配制浓度梯度为0.5、1、10、100、500、1 000 μg·L⁻¹的L-肉碱、丙酰基肉碱和乙酰基肉碱混合标准工作液,用0.22 μm滤膜过滤后备用。液相色谱条件:色谱柱:Agilent Poroshell 120 HILIC-Z(3.0 mm×100 mm,2.7 μm);流动相:A相,水;B相,90%乙腈水溶液;进样量:1 μL;流速:0.30 mL·min⁻¹。质谱条件:采用电喷雾离子源(ESI),正离子多反应监测模式(MRM)检测;IS为4 500 V;干燥气流速:10 L·min⁻¹,干燥气温度:350℃;喷雾压力:45 psi。

1.2.9 麦角硫因含量的测定 参照标准《NY/T 3872—2021 食用菌中L-麦角硫因的测定 超高效液相色谱法》,并稍作修改。准确称取干燥样品,加入15 mL 70%甲醇水溶液,超声提取30 min,10 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液过0.22 μm有机滤膜后待测。液相色谱条件:色谱柱:HILIC色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm),或相当规格色谱柱;流动相:0.1%甲酸-乙腈溶液:0.1%甲酸水溶液(体积比88:12);流速:0.4 mL·min⁻¹;柱温:40℃;波长:262 nm;进样量:3 μL。

1.2.10 体外抗氧化能力的测定 称取发酵前、后干燥的样品0.5 g,加入10 mL 纯水超声辅助提取2 h,

10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min 后取上清液为原始溶液,浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,以此溶液分别稀释至 10、5、2、1、0.5、0.1、0.05 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 用于抗氧化活性的测定。

1) DPPH 自由基清除能力的测定参照 Xiao 等^[26]的方法,并稍作修改。纯水代替 DPPH 反应液作为对照组,纯水代替样品溶液作为空白组。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = (A_0 - (A_i - A_j)) / A_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 为空白组吸光值; A_i 为样品组吸光值; A_j 为样品对照组吸光值。

2) 羟基自由基清除能力的测定参照 Xiao 等^[26]的方法,并稍作修改。取 0.4 mL $9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸亚铁溶液和 0.4 mL 0.015% (体积分数)过氧化氢溶液,再加入 0.4 mL 水提样品溶液($0.05 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)和 0.4 mL $9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水杨酸-乙醇溶液,摇匀后在 37°C 条件下水浴 30 min,取出后在 510 nm 波长下测定其吸光值。用蒸馏水取代样品重复步骤作为空白对照,按照公式计算羟基自由基清除率。

$$\text{羟基自由基清除率} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 为空白对照吸光值; A_1 为样品吸光值。

3) 还原潜力测定参考 Xiao 等^[26]的方法。

1.3 数据分析

试验均为 3 次重复,以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。采用单因素方差分析对数据进行显著性分析,当 $P < 0.05$ 时具有显著性差异;使用 Origin 2024 和 GraphPad Prism 8 软件绘图并进行线性回归分析;采用双尾检验确定各变量之间的皮尔逊相关系数并分析相关性。

2 结果与分析

2.1 间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中相关酶活性变化

如图 1 所示,蛋白酶活性在发酵前 48 h 内快速上升,可能与这段时间内菌丝生长旺盛有关,而后趋于平缓;发酵过程中 α -淀粉酶活性随着发酵时间的延长显著升高,发酵 72 h 时酶活性可达 $(165.77 \pm 4.99) \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,说明间型脉孢菌在发酵过程中可能通过水解大量淀粉,为自身生长提供碳源和能量。随着发酵时间的延长,间型脉孢菌分泌的外切葡聚糖酶和内切葡聚糖酶活性逐渐增强,然后基本趋于平稳,发酵 72 h 时外切葡聚糖酶和内切葡聚糖酶活性分别达到 (2.05 ± 0.39) 和 $(1.94 \pm 0.31) \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,说明间型脉孢菌在发酵过程中能够破坏野生黑豆细胞壁,从而分解野生黑豆豆皮。发酵过程中 β -葡萄糖苷酶活性随着发酵时间的延长不断增强,发酵 72 h 时酶活性可达 $(3.07 \pm 0.31) \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,可水解野生黑豆基质中的葡萄糖苷键。以上

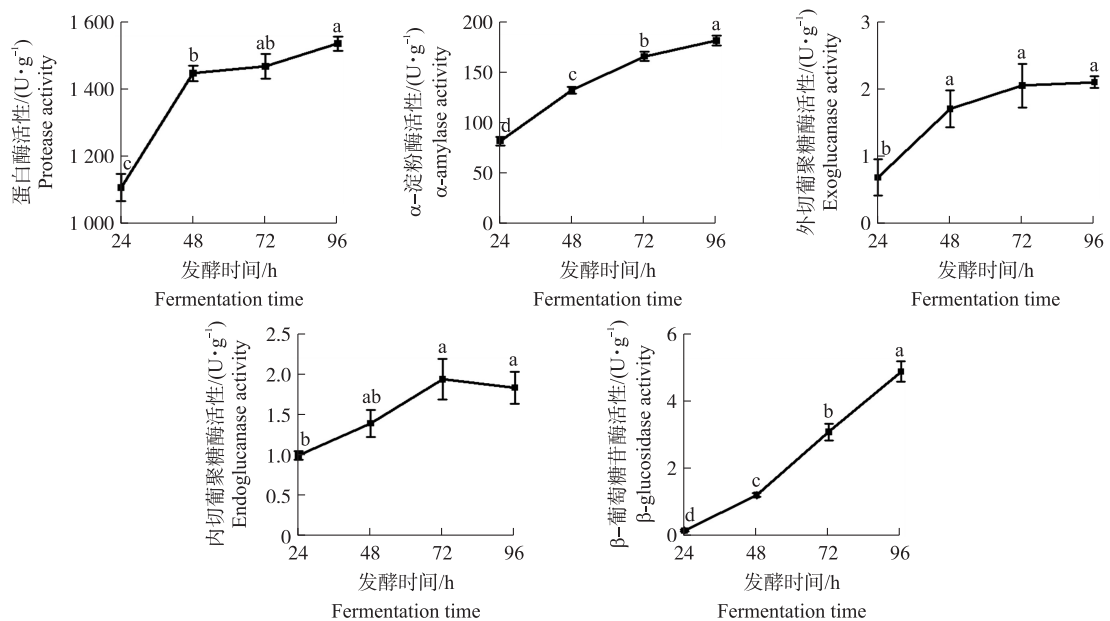


图 1 间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中相关酶活性的变化

Fig. 1 Changes in related enzyme activities during fermentation of *Glycine soja* by *Neurospora intermedia*

不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences($P < 0.05$). The same as follows.

结果表明,间型脉孢菌在发酵野生黑豆的过程中,能够分泌大量胞外酶,通过水解底物基质,不仅为自身生长提供能量和物质需求,还为野生黑豆中功能成分的利用和转化提供前提。

2.2 间型脉孢菌发酵过程中野生黑豆功能成分的变化

2.2.1 多肽和游离氨基酸含量的变化

由图2可知,发酵前24 h内多肽含量处于较低水平,且增长速度较慢,随着发酵时间的延长,多肽含量迅速增加,发酵72 h时可达到 $(80.42 \pm 7.43) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,相比于0 h增加了2.35倍。这一结果明显高于Wu等^[19]的研究,其用米根霉发酵燕麦后,多肽的含量在72 h内增加到 $356.35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,相比于未发酵燕麦(0 h)提高了9.72%。相关关系分析表明,蛋白酶活性与多肽含量呈显著正相关($R^2 = 0.92$)。试验测得间型脉孢菌发酵野生黑豆120 h时蛋白酶活性为 $(1\ 632.08 \pm 29.18) \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,通过拟合公式计算出发酵120 h时多肽的含量为 $93.31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,与实际测得发酵120 h时的多肽含量 $(88.23 \pm 2.88) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 相近,因此该拟合曲线具有准确性。说明间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中分泌的蛋白酶具有很强的活性,能作用于野生黑豆中的大分子蛋白质,使其分解为小分子的多肽。

由表1可知,间型脉孢菌发酵72 h后野生黑豆的游离氨基酸总量从 $5.724 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $8.809 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,提高53.90%,必需氨基酸含量从 $0.590 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $3.305 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,提高460.17%,其中3种支链氨基酸(缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸)含量从 $0.068 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $0.422 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,提高520.59%,含硫氨基酸(甲硫氨酸和半胱氨酸)含量相对于0 h也提高了65.09%。这与Ren等^[5]的研究结果相似,通过灵芝发酵也能显著增加黑豆中的游离氨基酸总量和必需氨基酸总量,发酵17 d与未发酵相比分别增加了34.99%和79.39%。上述研究结果表明,间型脉孢菌在发酵野生黑豆过程中产生大量蛋白酶,可有效降解基质中的蛋白质,并提高发酵产物中多肽和游离氨基酸含量。

表1 发酵野生黑豆游离氨基酸含量的变化

Table 1 The changes in free amino acid contents of fermented *G. soja*

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

游离氨基酸 Free amino acids	未发酵野生黑豆 Unfermented <i>G. soja</i> (UF-GS)	发酵野生黑豆 Fermented <i>G. soja</i> (F-GS)
必需氨基酸 Essential amino acids		
苏氨酸 Threonine	0.018 ± 0.001^b	1.479 ± 0.108^a
缬氨酸 Valine	0.032 ± 0.002^b	0.272 ± 0.006^a
异亮氨酸 Isoleucine	0.022 ± 0.002^b	0.060 ± 0.004^a
亮氨酸 Leucine	0.014 ± 0.001^b	0.090 ± 0.014^a
甲硫氨酸 Methionine	0.016 ± 0.001^b	0.051 ± 0.004^a
苯丙氨酸 Phenylalanine	0.266 ± 0.015^b	0.643 ± 0.079^a
赖氨酸 Lysine	0.089 ± 0.002^b	0.325 ± 0.015^a
组氨酸 Histidine	0.133 ± 0.003^b	0.385 ± 0.011^a
小计 Subtotal	0.590	3.305
其他氨基酸 Other amino acids		
天冬氨酸 Aspartic acid	0.443 ± 0.004^a	0.149 ± 0.014^b
丝氨酸 Serine	0.029 ± 0.003^b	0.379 ± 0.020^a
谷氨酸 Glutamic acid	0.545 ± 0.007^b	2.181 ± 0.075^a
甘氨酸 Glycine	0.027 ± 0.002^b	0.095 ± 0.004^a
丙氨酸 Alanine	0.079 ± 0.005^b	0.638 ± 0.017^a
半胱氨酸 Cysteine	0.196 ± 0.003^b	0.299 ± 0.009^a
酪氨酸 Tyrosine	0.273 ± 0.016^b	1.009 ± 0.215^a
精氨酸 Arginine	3.542 ± 0.036^a	0.754 ± 0.064^b
总计 Total	5.724	8.809

注:同行不同小写字母表示两组间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between two groups ($P < 0.05$).

2.2.2 多酚含量的变化 如图3所示,野生黑豆中可提取多酚含量在间型脉孢菌发酵24 h后明显上升,发酵72 h时增加到 $(15.97 \pm 0.16) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,相对于0 h增加43.96%,延长发酵时间,多酚含量趋于平衡。说明间型脉孢菌固态发酵可以显著增加野生黑豆可提取多酚的含量。

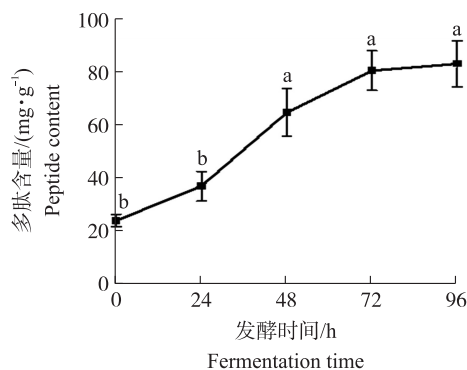


图2 间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中多肽含量的变化

Fig. 2 Changes in polypeptide content during fermentation of *G. soja* by *N. intermedia*

多酚含量与 α -淀粉酶、 β -葡萄糖苷酶、内切葡聚糖酶及外切葡聚糖酶的相关系数 R^2 分别为0.95、0.65、0.83和0.99。多酚含量变化除与 β -葡萄糖苷酶的关系相对较弱外,与其他3种酶都显著相关, R^2 值都大于0.8。因此,野生黑豆发酵过程中 α -淀粉酶、纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶均参与多酚类的释放,使野生黑豆中可提取多酚物质得到富集。

2.2.3 异黄酮组分及含量变化 如图4所示,间型脉孢菌发酵后,野生黑豆浆苷型异黄酮逐渐下降,而苷元型异黄酮显著上升;发酵前,野生黑豆中苷元型异黄酮含量占总异黄酮含量的4.09%,发酵72 h后大豆苷元、黄豆黄素以及染料木素3种苷元型异黄酮的含量分别为 (1.24 ± 0.03) 、 (0.27 ± 0.01) 和 (0.92 ± 0.02) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,占总异黄酮含量的89.36%,大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的含量相对于未发酵黑豆分别增加24.96、8.50和21.41倍,表明间型脉孢菌发酵促使野生黑豆中糖苷型异黄酮转变为苷元型异黄酮。这与Xiao等^[26]的研究结果相似,经少孢根霉发酵后大豆的大豆苷元、黄豆黄素和染料木素含量分别为0.30、0.06和0.56 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,分别比未发酵的大豆高13.14、5.49和18.79倍;其认为苷元形式的增加来源于微生物产生的 β -葡萄糖苷酶的作用,该酶可以在发酵过程中将葡萄糖苷水解成糖苷配基形式。前面研究表明间型脉孢菌在发酵过程中能分泌 β -葡萄糖苷酶,因此,发酵后野生黑豆中苷元型异黄酮的增加可能是 β -葡萄糖苷酶的作用。

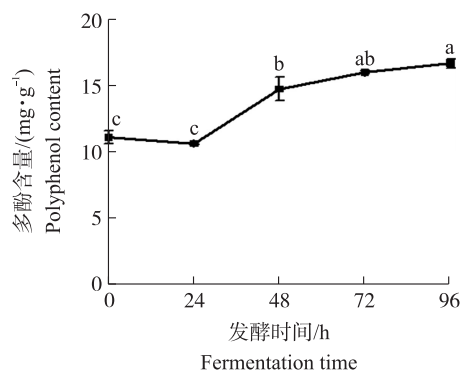


图3 间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中多酚含量的变化

Fig. 3 Changes in polyphenol content during fermentation of *G. soja* by *N. intermedia*

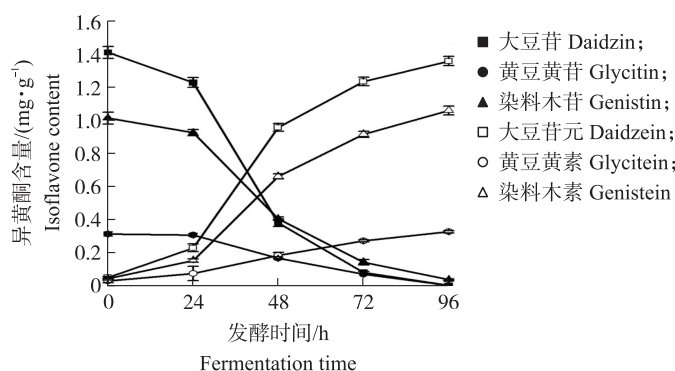


图4 间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中异黄酮含量的变化

Fig. 4 Changes in isoflavone content during fermentation of *G. soja* by *N. intermedia*

相关关系分析表明,糖苷型异黄酮含量与 β -葡萄糖苷酶活性呈负相关,相关系数 R^2 为0.71;而苷元型异黄酮含量与 β -葡萄糖苷酶活性呈正相关,相关系数 R^2 为0.76。说明异黄酮含量的变化与 β -葡萄糖苷酶活性显著相关, β -葡萄糖苷酶催化水解基质中大分子多糖或多糖与非碳水化合物之间的糖苷键,从而将野生黑豆中异黄酮的糖苷形式水解成糖苷配基形式。

2.2.4 类胡萝卜素组分及含量变化 如图5所示,野生黑豆经间型脉孢菌发酵72 h后类胡萝卜素含量可达 (63.23 ± 2.42) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,与未发酵对照相比增加了83.66%;而野生黑豆本身不存在 β -胡萝卜素,发酵后含量可达 (16.10 ± 1.75) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。表明间型脉孢菌发酵通过提高类胡萝卜素含量和合成 β -胡萝卜素从而增强了野生黑豆的营养健康功能。

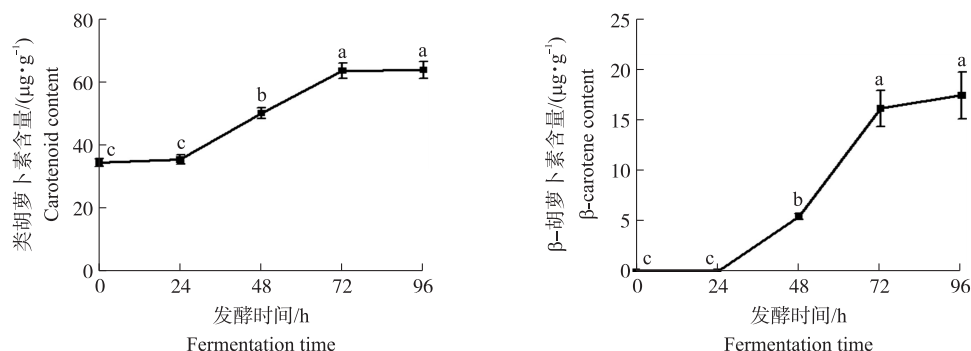


图5 间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中类胡萝卜素和 β -胡萝卜素含量的变化

Fig. 5 Changes in carotenoid and β -carotene contents during fermentation of *G. soja* by *N. intermedia*

2.2.5 肉碱化合物组成及含量变化 如图6所示,野生黑豆经间型脉孢菌发酵后其L-肉碱、乙酰基肉碱(ALC)和丙酰基肉碱(PLC)含量显著增加($P<0.01$),发酵72 h时野生黑豆中L-肉碱、ALC和PLC含量分别为 (20.89 ± 0.62) 、 (10.23 ± 0.49) 和 (0.76 ± 0.07) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,比未发酵黑豆分别增加13.31、339.93和20.65倍。

2.2.6 麦角硫因含量的变化 如图7所示,麦角硫因在间型脉孢菌发酵野生黑豆24 h后开始形成,野生黑豆本身并不存在麦角硫因,发酵72 h其含量达 (193.93 ± 7.40) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。这一结果与Rekdal等^[14]的研究相似,豆渣中不存在麦角硫因,经间型脉孢菌发酵后其含量达到 (376.54 ± 63.43) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

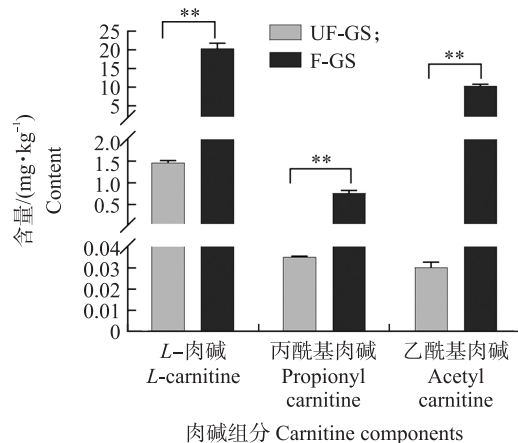


图6 野生黑豆发酵前后肉碱组分及含量的变化

Fig. 6 Changes in carnitine components and contents of *G. soja* before and after fermentation

** $P<0.01$. The same as follows.

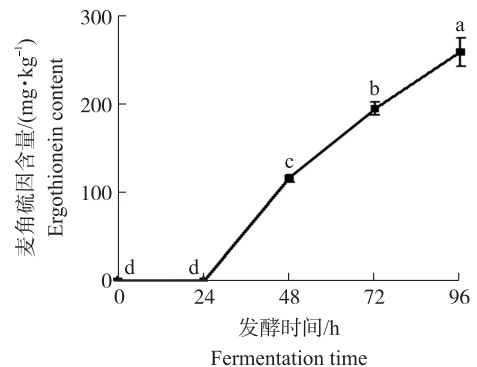


图7 间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中麦角硫因含量的变化

Fig. 7 Changes in ergothioneine content during fermentation of *G. soja* by *N. intermedia*

2.3 野生黑豆发酵后抗氧化能力的变化

如图8所示,UF-GS和F-GS水提液的DPPH自由基清除能力均随着浓度的增加而增强,且在相同浓度下F-GS的DPPH自由基清除率高于UF-GS。UF-GS和F-GS水提液都具有较强的羟基自由基清除能力,且间型脉孢菌发酵后能显著提高野生黑豆的羟基自由基清除能力。在 $0.05\sim10$ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的F-GS与UF-GS样品浓度范围内,还原潜力(RP)与浓度呈正相关关系,且F-GS水提液的RP显著高于UF-GS。为了便于比较发酵前后野生黑豆水提液的抗氧化能力,计算了各试验样品的 EC_{50} 值(清除率为50%和RP值为0.5时所需样品的浓度)。抗氧化能力与 EC_{50} 值成反比,即检测样品的 EC_{50} 值越低,其抗氧化效果越好。对于间型脉孢菌发酵72 h的野生黑豆,其DPPH自由基清除能力、羟基自由基清除能力以及还原潜力的 EC_{50} 值分别为 (0.63 ± 0.03) 、 (5.16 ± 0.20) 和 (14.73 ± 0.29) $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,显著低于未发酵野生黑豆的 EC_{50} 值。以上结果表明间型脉孢菌固态发酵可以显著增强野生黑豆的抗氧化活性。

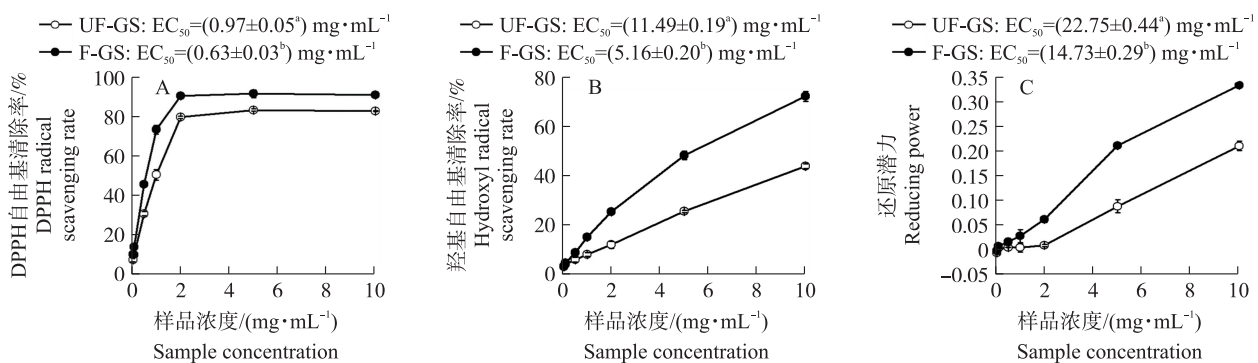


图8 发酵野生黑豆与未发酵野生黑豆的体外抗氧化活性

Fig. 8 Antioxidant activity of fermented *G. soja* and unfermented *G. soja* in vitro

A. DPPH自由基清除率与样品浓度的关系 The relationship between DPPH radical scavenging rate and sample concentration; B. 羟基自由基清除率与样品浓度的关系 The relationship between hydroxyl radical scavenging rate and sample concentration; C. 还原潜力与样品浓度的关系 The relationship between reducing power and sample concentration.

2.4 发酵野生黑豆抗氧化活性与其活性成分的关系

由表 2 可见,抗氧化活性与野生黑豆中多酚、多肽、麦角硫因、L-肉碱、异黄酮苷元以及类胡萝卜素含量均极显著相关($P<0.01$),且野生黑豆中的这些活性物质与 DPPH 自由基清除能力、羟基自由基清除能力以及还原潜力的相关系数均大于 0.85,其中麦角硫因和异黄酮苷元与抗氧化活性的相关系数均大于 0.95,说明间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中产生的多酚、多肽、麦角硫因及苷元型异黄酮等物质在野生黑豆的抗氧化能力增强方面起重要作用,这些活性物质的含量越高,野生黑豆的抗氧化活性越强。

表 2 野生黑豆抗氧化活性与活性成分的皮尔逊相关系数

Table 2 Pearson correlation coefficient between antioxidant activity and active ingredients of <i>G. soja</i>						
指标 Index	多酚 Polyphenol	多肽 Polypeptide	麦角硫因 Ergothionein	L-肉碱 L-carnitine	异黄酮苷元 Isoflavone aglycone	类胡萝卜素 Carotenoid
DPPH	0.95 **	0.97 **	0.98 **	0.98 **	0.98 **	0.86 **
·OH	0.93 **	0.96 **	0.99 **	0.98 **	0.99 **	0.88 **
RP	0.88 **	0.91 **	0.96 **	0.94 **	0.96 **	0.89 **

注:DPPH:DPPH 自由基清除率 DPPH radical scavenging rate;·OH:羟基自由基清除率 Hydroxyl radical scavenging rate;RP:还原潜力 Reducing power.

3 讨论与结论

本研究通过间型脉孢菌对野生黑豆进行带皮固态发酵,系统探究了发酵过程中的产酶情况、功能成分的动态变化及其抗氧化活性增强机制。野生黑豆粒小质硬,带皮固态发酵不仅可以减少成本,还促进了野生黑豆中活性物质的转化和释放,提高了野生黑豆的功能成分含量和抗氧化活性。

酶的生成通常被认为是真菌在发酵过程中的重要功能,真菌通过向胞外分泌丰富的酶系,分解基质为自身生长繁殖提供能量和物质基础,同时催化发生复杂的代谢行为,增强底物基质的生物活性。de Castro 等^[27]在利用米曲霉发酵麦麸、豆粕、棉籽粕过程中检测到了较高的蛋白酶和 α-淀粉酶活性;Matsuo^[28]在用间型脉孢菌发酵大豆和豆渣时发现,β-葡萄糖苷酶和纤维素酶活性在发酵过程中显著增强。本研究结果与以上研究相似,在间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中,蛋白酶、α-淀粉酶、β-葡萄糖苷酶以及纤维素酶活性显著增强。多酚作为一种天然的抗氧化物质而引起人们的广泛关注,在本研究中发现,经间型脉孢菌发酵的野生黑豆的可提取多酚含量显著增加,相比于未发酵的野生黑豆增加 43.96%,Lee 等^[29]研究发现用泡盛曲霉发酵黑豆 72 h 后多酚含量相较于未发酵黑豆增加 63.86%。通过对间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中多酚含量的变化与 α-淀粉酶、β-葡萄糖苷酶和纤维素酶活性的相关性分析可知,α-淀粉酶、β-葡萄糖苷酶和纤维素酶均参与酚类物质的富集。Bhanja 等^[15]研究表明米曲霉发酵小麦过程中分泌的 α-淀粉酶和 β-葡糖苷酶与小麦多酚含量的增加密切相关,且相关系数大于 0.9;Xiao 等^[21]也指出,微生物发酵过程中产生的各种微生物酶类如 α-淀粉酶、β-葡糖苷酶、纤维素酶等均对酚类物质的释放起促进作用。同时,发酵野生黑豆中多肽以及异黄酮的含量也与酶活性有显著的线性相关关系,间型脉孢菌分泌的蛋白酶可通过水解大分子蛋白质,将其转化为小分子多肽和氨基酸等;在未发酵的野生黑豆中,异黄酮主要以糖苷型存在,虽然结构稳定,但生物利用度较低,经间型脉孢菌发酵后,且在 β-葡萄糖苷酶的作用下,糖苷型异黄酮转化为相应的糖苷配基形式,功能活性明显增强。

间型脉孢菌发酵野生黑豆不仅可以实现对底物活性物质的生物转化,还会产生麦角硫因、类胡萝卜素以及肉碱等功能物质。麦角硫因是一种类氨基酸,被称为自然界最强抗氧化剂之一,由于人类不能直接合成麦角硫因,只能通过饮食摄入,但天然食物中的麦角硫因含量较低,因此本研究为麦角硫因提供了食物来源的新途径。同时,间型脉孢菌发酵能提高野生黑豆中类胡萝卜素的含量。由增长趋势可知,类胡萝卜素和 β-胡萝卜素的含量主要集中在发酵的 24~72 h 富集,这一时期菌丝生长旺盛且产生大量孢子,说明类胡萝卜素和 β-胡萝卜素的产生与间型脉孢菌的菌丝和孢子有关,这一结论与 Starzyńska-Janiszewska 等^[30]的研究结果相似。2 种短链肉碱酯 ALC 和 PLC 与 L-肉碱一起,形成内源性肉碱库,在间型脉孢菌发酵野生黑豆过程中,3 种肉碱含量均显著增加,这与 Park 等^[31]研究结果相似。L-肉碱对减肥和促进身体运动机能具有增效作用,且由于其有效的抗氧化活性,能最大限度地减少因自由基引起的与年龄相关的疾病。同时,有证据表明,短链肉碱酯,尤其是 PLC 似乎比 L-肉碱具有显著的治疗优势^[32]。

间型脉孢菌固态发酵野生黑豆不仅提高了野生黑豆中功能活性物质的含量,还显著增强了野生黑豆的抗氧化能力。本研究结果表明,间型脉孢菌发酵的野生黑豆,其水提液的 DPPH 自由基清除能力、羟基

自由基清除能力和还原潜力均强于未发酵野生黑豆。Singh 等^[33]研究表明固态发酵能显著提高样品中 DPPH 自由基清除能力,且这种较高的抗氧化活性与发酵后酚类化合物的富集密切相关;Chandrasekara 等^[34]指出,样品提取液中存在的酚类化合物是有效的亚铁离子螯合剂,而亚铁离子是产生羟基自由基的关键因素,因此,样品表现出的羟基自由基清除活性,可能源于对羟基自由基的直接清除作用,或通过螯合亚铁离子,抑制羟基自由基的生成;同样,Chi 等^[35]研究表明通过芽胞杆菌固态发酵可以提高豆粕的还原潜力,且还原潜力的提高主要归因于发酵过程中多酚物质和多肽含量的增加。因此,间型脉孢菌发酵野生黑豆的抗氧化能力增强可能是发酵后多酚等物质富集的作用。同时,采用皮尔逊双变量相关性分析了抗氧化能力与多酚、多肽、麦角硫因、肉碱、异黄酮苷元以及类胡萝卜素之间的相关性,结果表明野生黑豆的抗氧化能力与这些活性物质显著相关,且相关系数均大于 0.85。Albishi 等^[36]指出,提取物中多酚物质的含量和其抗氧化活性呈现密切的正相关关系。Bhattacharya 等^[37]研究发现蘑菇提取物中的麦角硫因浓度与 DPPH 自由基清除能力存在正相关关系($R^2=0.94$)。Guzmán-Ortiz 等^[38]也发现大豆发芽过程中异黄酮的含量与抗氧化能力存在显著的正相关关系。因此,发酵野生黑豆的抗氧化活性主要与其所含的多酚、麦角硫因、异黄酮苷元及多肽等活性物质有关,且这些活性物质的含量越高,其抗氧化能力就越强。

综上所述,本研究系统阐明了间型脉孢菌发酵对野生黑豆功能成分和抗氧化活性的增效机制,为其在功能性食品开发中的高值化利用提供了理论依据和技术支撑。

参考文献 References:

- [1] 党玉婷,张彦,井波鑫,等. 几种黑豆成分、体外抗氧化及酶抑制作用对比[J]. 食品与机械,2024,40(3):181-187,195.
Dang Y T, Zhang Y, Jing B X, et al. Comparative study on several black bean components, antioxidant and enzyme inhibition *in vitro*[J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 181-187, 195 (in Chinese with English abstract).
- [2] 周萍,黄才欢,刘付,等. 黑豆皮花色苷的酶法酰化制备及其稳定性分析[J]. 精细化工,2021,38(7):1416-1422,1512.
Zhou P, Huang C H, Liu F, et al. Preparation and stability analysis of anthocyanin from black bean hull by enzymatic acylation[J]. Fine Chemicals, 2021, 38(7): 1416-1422, 1512 (in Chinese with English abstract).
- [3] 郭颖,江帆,乔丽华,等. 焙炒对小粒黑大豆及其种皮抗氧化活性的影响[J]. 中国粮油学报,2019,34(6):18-23.
Guo Y, Jiang F, Qiao L H, et al. Effect of roasting on antioxidant property of small soybean and seed coat[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 34(6): 18-23 (in Chinese with English abstract).
- [4] 刘芸,刘欣,曹宜,等. 凝固型黑豆酸豆奶生产工艺的研究[J]. 食品安全质量检测学报,2022,13(3):774-781.
Liu Y, Liu X, Cao Y, et al. Study on the production technology of solidifying black soybean yogurt[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(3): 774-781 (in Chinese with English abstract).
- [5] Ren X Q, Chen Q L, Wang F, et al. Dynamic changes in nutritions and antioxidant activities of germinated black bean based on solid-state fermentation of *Ganoderma oregonense*[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2025, 100: 103934.
- [6] Xu B J, Chang S K C. Reduction of antiproliferative capacities, cell-based antioxidant capacities and phytochemical contents of common beans and soybeans upon thermal processing[J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 974-981.
- [7] 王娟娟,刘丹,李应天,等. 5 种加工工艺的醋泡黑豆风味和抗氧化活性比较[J]. 现代食品科技,2022,38(3):211-218,236.
Wang J J, Liu D, Li Y T, et al. Comparison and analysis of the special flavor and antioxidant activity of black soybean soaked in vinegar by five kinds processing techniques[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(3): 211-218, 236 (in Chinese with English abstract).
- [8] Xiao Y, Huang Y X, Chen Y L, et al. Effects of solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* YL-1 on the nutritional value, total phenolics, isoflavones, antioxidant activity, and volatile organic compounds of black soybeans[J]. Agronomy, 2021, 11(6): 1029.
- [9] Queiroz-Santos V A, Nascimento C G, Schmidt C A P, et al. Solid-state fermentation of soybean okara: isoflavones biotransformation, antioxidant activity and enhancement of nutritional quality[J]. LWT: Food Science and Technology, 2018, 92: 509-515.
- [10] Zhang Y Y, Qi B R, Li Q N, et al. Dynamic changes on sensory property, nutritional quality and metabolic profiles of green kernel black beans during *Eurotium cristatum*-based solid-state fermentation[J]. Food Chemistry, 2024, 455: 139846.
- [11] 付文娟,刘志伟,钟鸣,等. 间型脉孢菌固体发酵豆渣产蛋白酶条件优化及其酶学特性研究[J]. 饲料研究,2025,48(4):80-86.
Fu W J, Liu Z W, Zhong M, et al. Study on optimization of protease production by solid fermentation of soybean okara with *Neurospora intermedia* and its enzymatic properties[J]. Feed Research, 2025, 48(4): 80-86 (in Chinese with English abstract).
- [12] Wijaya C H, Nuraida L, Nuramalia D R, et al. Oncom: a nutritive functional fermented food made from food process solid residue[J]. Applied Sciences, 2024, 14(22): 10702.
- [13] 黎英,蔡源昊,李金玉,等. 福建客家“红菌豆渣”发酵工艺及品质研究[J]. 食品科技,2024,49(9):184-192.
Li Y, Cai Y H, Li J Y, et al. Research on technology and quality for the fermentation of “red fungus bean dregs” of Fujian Hakka[J]. Food Science and Technology, 2024, 49(9): 184-192 (in Chinese with English abstract).
- [14] Rekdal V M, Villalobos-Escobedo J M, Rodriguez-Valeron N, et al. *Neurospora intermedia* from a traditional fermented food enables waste-to-food conversion[J]. Nature Microbiology, 2024, 9(10): 2666-2683.

- [15] Bhanja T, Kumari A, Banerjee R. Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(11): 2861–2866.
- [16] Elkhailifa A E O, Bernhardt R. Influence of grain germination on functional properties of sorghum flour [J]. *Food Chemistry*, 2010, 121(2): 387–392.
- [17] Ang S K, Shaza E M, Adibah Y, et al. Production of cellulases and xylanase by *Aspergillus fumigatus* SK1 using untreated oil palm trunk through solid state fermentation [J]. *Process Biochemistry*, 2013, 48(9): 1293–1302.
- [18] Olajuyigbe F M. Bioconversion of cellulose and simultaneous production of thermoactive exo- and endoglucanases by *Fusarium oxysporum* [J]. *Cellulose*, 2017, 24(10): 4325–4336.
- [19] Wu H, Rui X, Li W, et al. Whole-grain oats (*Avena sativa* L.) as a carrier of lactic acid bacteria and a supplement rich in angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides through solid-state fermentation [J]. *Food & Function*, 2018, 9(4): 2270–2281.
- [20] 张浩, 易宇文, 朱开宪, 等. 牦牛肉烤制过程中游离氨基酸对风味物质的影响 [J]. *中国食品学报*, 2024, 24(9): 457–472.
Zhang H, Yi Y W, Zhu K X, et al. Effect of free amino acid changes on flavor substances of yak meat during roasting [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2024, 24(9): 457–472 (in Chinese with English abstract).
- [21] Xiao Y, Zhang B, Chen Y L, et al. Solid-state bioprocessing with *Cordyceps militaris* enhanced antioxidant activity and DNA damage protection of red beans (*Phaseolus angularis*) [J]. *Cereal Chemistry*, 2017, 94(2): 177–184.
- [22] 黄璐. 混合菌株发酵及后熟对丹贝品质和功能特性的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
Huang L. Effect of mixed fermentation and after-ripening on quality and functional properties of tempeh [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [23] 骆琴, 邓清月, 唐森, 等. 一株固态发酵甘蔗渣产类胡萝卜素脉孢菌的分离鉴定 [J]. *中国饲料*, 2021(1): 43–47.
Luo Q, Deng Q Y, Tang S, et al. Isolation and identification of a strain of carotenoid *Neurospora* produced from solid-state fermentation sugarcane bagasse [J]. *China Feed*, 2021(1): 43–47 (in Chinese with English abstract).
- [24] 何跃, 田雪平, 马艳丽, 等. 粗糙脉孢菌固态发酵产 β -胡萝卜素及对蛋鸡饲喂的影响 [J]. *应用与环境生物学报*, 2024, 30(3): 600–606.
He Y, Tian X P, Ma Y L, et al. β -Carotene production by solid-state fermentation of *Neurospora crassa* and the effects of feeding it to laying hens [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2024, 30(3): 600–606 (in Chinese with English abstract).
- [25] 詹越城, 何斌, 刘梦婷, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定婴幼儿配方食品中胆碱 L-肉碱含量方法研究 [J]. *农产品加工*, 2019(12): 68–70, 73.
Zhan Y C, He B, Liu M T, et al. Simultaneous determination of choline and L-carnitine in infant formula food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Agricultural Products Processing*, 2019(12): 68–70, 73 (in Chinese with English abstract).
- [26] Xiao Y, Fan J, Chen Y L, et al. Enhanced total phenolic and isoflavone aglycone content, antioxidant activity and DNA damage protection of soybeans processed by solid state fermentation with *Rhizopus oligosporus* RT-3 [J]. *RSC Advances*, 2016, 6(35): 29741–29756.
- [27] de Castro R J S, Sato H H. Synergistic effects of agroindustrial wastes on simultaneous production of protease and α -amylase under solid state fermentation using a simplex centroid mixture design [J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, 49: 813–821.
- [28] Matsuo M. Chemical components, palatability, antioxidant activity and antimutagenicity of oncom miso using a mixture of fermented soybeans and okara with *Neurospora intermedia* [J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2006, 52(3): 216–222.
- [29] Lee I H, Hung Y H, Chou C C. Total phenolic and anthocyanin contents, as well as antioxidant activity, of black bean koji fermented by *Aspergillus awamori* under different culture conditions [J]. *Food Chemistry*, 2007, 104(3): 936–942.
- [30] Starzyński-Janiszewska A, Stodolak B, Duliński R, et al. Fermentation of colored quinoa seeds with *Neurospora intermedia* to obtain oncom-type products of favorable nutritional and bioactive characteristics [J]. *Cereal Chemistry*, 2017, 94(3): 619–624.
- [31] Park N, Lee T K, Nguyen T T H, et al. The effect of fermented buckwheat on producing l-carnitine- and γ -aminobutyric acid (GABA)-enriched designer eggs [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(9): 2891–2897.
- [32] Lango R, Smolenski R T, Narkiewicz M, et al. Influence of l-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary bypass [J]. *Cardiovascular Research*, 2001, 51(1): 21–29.
- [33] Singh H B, Singh B N, Singh S P, et al. Solid-state cultivation of *Trichoderma harzianum* NBRI-1055 for modulating natural antioxidants in soybean seed matrix [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(16): 6444–6453.
- [34] Chandrasekara A, Shahidi F. Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated *in vitro* digestion and microbial fermentation [J]. *Journal of Functional Foods*, 2012, 4(1): 226–237.
- [35] Chi C H, Cho S J. Improvement of bioactivity of soybean meal by solid-state fermentation with *Bacillus amyloliquefaciens* versus *Lactobacillus* spp. and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *LWT: Food Science and Technology*, 2016, 68: 619–625.
- [36] Albishi T, John J A, Al-Khalifa A S, et al. Phenolic content and antioxidant activities of selected potato varieties and their processing by-products [J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(2): 590–600.
- [37] Bhattacharya M, Srivastav P P, Mishra H N. Optimization of process variables for supercritical fluid extraction of ergothioneine and polyphenols from *Pleurotus ostreatus* and correlation to free-radical scavenging activity [J]. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2014, 95: 51–59.
- [38] Guzmán-Ortiz F A, Martín-Martínez E S, Valverde M E, et al. Profile analysis and correlation across phenolic compounds, isoflavones and antioxidant capacity during germination of soybeans (*Glycine max* L.) [J]. *CyTA—Journal of Food*, 2017, 15(4): 516–524.