

枯草芽孢杆菌发酵对豆类中酚类物质及抗氧化活性的影响

唐双庆¹, 鲁慧琪¹, 李秀丽¹, 邱怡君¹, 王敏¹, 徐媛¹, 王红波^{1,2*}

¹ 江汉大学生命科学学院 食品营养与安全研究中心 武汉 430056

² 湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心 武汉 430056

摘要 多酚是豆类的主要活性成分,对该类食品的抗氧化功能具有重要影响。本研究利用枯草芽孢杆菌 ATCC 6051 发酵 8 种豆类,分析发酵对豆类食品中酚类物质含量和抗氧化活性的影响。发酵红豆、菜豆、蚕豆、绿豆、大豆、扁豆和豌豆的总酚含量分别增加了 24.19%,57.89%,123.78%,172.90%,225.32%,300.00%,343.17%。对发酵前、后 8 种豆类中 19 种酚类化合物含量的比较发现,发酵影响儿茶素、表儿茶素、水杨酸和芥子酸的含量。发酵绿豆、大豆、豌豆和扁豆提取物的 DPPH 自由基清除率、ABTS⁺自由基清除活性以及铁离子还原能力均提高。总酚含量与 DPPH 自由基清除活性、ABTS⁺自由基清除活性以及铁离子还原能力均极显著相关($P<0.01$),儿茶素、水杨酸和芥子酸与 DPPH 极显著相关($P<0.01$),表儿茶素与 DPPH 显著相关($P<0.05$)。研究表明,绿豆、大豆、豌豆和扁豆是利用枯草芽孢杆菌发酵制备富含酚类和高抗氧化活性产品的理想食品原料,适用于发酵豆类功能食品的开发。

关键词 枯草芽孢杆菌; 豆类; 酚类物质; 抗氧化活性

文章编号 1009-7848(2024)01-0291-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.01.029

豆类不仅含有碳水化合物和蛋白质等营养成分,还含有多酚、多肽和低聚糖等生物活性成分^[1]。植物多酚是广泛存在于植物体内的次生代谢物,主要存在于植物的果、皮、根、叶等组织器官中,具有抗氧化、抗糖尿病、降低胆固醇、护肝以及抗心脑血管疾病等功效,植物多酚已引起食品研究领域的广泛关注^[2-5]。发酵豆制品是我国居民喜食的传统豆类食品,微生物发酵可提高豆类的营养特征和生物活性功能^[6]。目前,枯草芽孢杆菌、乳酸菌和少量真菌等微生物菌种可应用于豆类发酵^[7]。枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)常用于食品和动物饲料产品的加工。枯草芽孢杆菌所产纳豆激酶在体内、外均具有溶栓活性,且对机体无毒性,经枯草芽孢杆菌发酵的豆类食品营养价值和生物活性能得到显著改善^[8]。Sanjukt 等^[9]研究表明枯草芽孢杆菌发酵大豆和黑豆,其总酚含量分别从 1.93 mg GAE/g 和 1.64 mg GAE/g 增至 7.9~8.4 mg GAE/g 和 6.9~7.5 mg GAE/g,且大豆的 DPPH 自由基清

除率从 1.3 mg AAE/g 增至 29.9 mg AAE/g。Limón 等^[10]研究发现菜豆经枯草芽孢杆菌发酵后,可溶性酚类含量在 48 h 和 96 h 分别提升 96% 和 126%,且氧自由基清除能力从 170 mg TE/g 最高增至 540 mg TE/g。自由基的氧化应激对生物细胞具有毒害作用,抗氧化活性物质有利于清除氧化自由基,酚类物质含量与抗氧化能力显著相关^[11]。国内外现有研究报道多集中在微生物发酵对 1~5 种常见豆类酚类含量及抗氧化活性的比较研究,而研究豆类种类偏少,且不同酚类物质含量变化研究也不充分。本研究评价枯草芽孢杆菌 ATCC 6051 发酵对绿豆、蚕豆、豇豆、红豆、菜豆、豌豆、大豆以及扁豆总酚含量,19 种多酚类物质组成和抗氧化活性的影响,为中国传统发酵豆类食品的开发和推广提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

8 种豆类(绿豆、蚕豆、豇豆、红豆、菜豆、豌豆、大豆、扁豆),湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心。菌种枯草芽孢杆菌 ATCC 6051 保藏于江汉大学食品营养与安全研究中心。

6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸(6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic

收稿日期: 2023-01-18

基金项目: 武汉市属高校产学研项目(CXY202202);湖北省高价值知识产权培育工程项目(鄂知发[2021]2号);湖北省重点研发计划项目(2022BBA0064)

第一作者: 唐双庆,女,硕士生

通信作者: 王红波 E-mail: bobo110110165@sina.com

acid, Trolox)、芦丁、2,4,6-三(2-吡啶基)-1,3,5-三嗪(2,4,6-Tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine, TPTZ),北京索莱宝公司;氢化肉桂酸等19种标准品,美国Sigma公司;2,2'-联氮双-(3-乙基苯并噻唑林-6-磺酸)二胺盐(2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothi azoline-6-sulfonic acid) ammonium salt, ABTS);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH), 麦克林公司;LB(Luria-Bertani)肉汤培养基,海博生物技术有限公司;没食子酸等分析纯级试剂均购于国药集团。

1.2 仪器与设备

YRE-201D 旋转蒸发器(配有SHZ-DⅢ循环水式真空泵),予华仪器有限责任公司;SPX-150B-Z型生化培养箱,上海博讯实业有限公司;Freezone 6 Plus 冷冻干燥机,LABCONCO;Vanquish 超高液相色谱-质谱联用(配电喷雾离子源以及TraceFinder 数据处理系统)、Multiskan Go 1510 全波长酶标仪,Thermo 公司。

1.3 方法

1.3.1 菌种活化 制备LB肉汤和固体培养基,于121℃条件下灭菌15 min。将冻藏于-80℃条件下的*Bacillus subtilis* ATCC 6051 菌种接种划线,于37℃下培养24 h后,挑取单菌落进行振荡培养,得到种子液。

1.3.2 发酵处理 参考Li等^[12]和Saharan等^[13]的发酵方法。将8种豆类分别磨成粉末状,每种豆粉称取10 g,置入洁净发酵瓶,转移至灭菌锅,灭菌条件为121℃/15 min,冷却后,按照5%体积分数接入种子液,发酵温度设置为37℃,发酵时间设置为7 d。发酵结束后,将样品置于-80℃冰箱冷冻干燥12 h,于-20℃储存待测。

1.3.3 酚类物质提取 参考王何柱等^[14]酚类物质提取方法。称取1 g冻干样品于试管中,加入80%丙酮溶液20 mL,剧烈振荡10 min,取上清液通过0.22 μm 滤膜过滤,重复此操作2次。收集滤液蒸干至10 mL,加入蒸馏水定容至25 mL,置于-20℃下冷藏待分析。

1.3.4 总酚含量测定 参考Hung等^[15]总酚含量测定方法。配制不同浓度没食子酸标准溶液。取0.5 mL标准溶液或样品溶液,加入0.5 mL福林酚试剂,摇匀,静置30 s,加入3 mL 10 g/100 mL

Na₂CO₃ 溶液,蒸馏水定容至5.0 mL,黑暗条件下反应30 min。在波长760 nm处测定吸光度值,绘制标准曲线。结果用毫克没食子酸当量每克干重豆粉表示(mg GAE/g dw)。

1.3.5 酚类物质组成分析 利用超高液相色谱-质谱联用(外标法定量)测定酚类组成。色谱条件和质谱条件参考文献[16]~[18]的方法。色谱条件:色谱柱:Waters HSS T3 (50 mm×2.1 mm,1.8 μm);流动相:A相为超纯水,B相为乙腈(A、B相均含有0.1%乙酸);流速:0.3 mL/min;柱温:40℃;进样量:2 μL;流动相洗脱梯度程序如下:0.0 min 水:乙腈(90:10,V/V);2.0 min 水:乙腈(90:10,V/V);6.0 min 水:乙腈(40:60,V/V);8.0 min 水:乙腈(40:60,V/V);8.1 min 水:乙腈(90:10,V/V);12.0 min 水:乙腈(90:10,V/V)。质谱条件:采用电喷雾离子源,鞘气:40 arb;辅助气:10 arb;离子喷雾电压:-2 800 V;温度:350℃;离子传输管温度:320℃。扫描模式:单离子检测模式;扫描方式:负离子。样品酚类物质含量对照标准品浓度计算得出。

1.3.6 抗氧化活性测定

1.3.6.1 DPPH 清除活性测定 参考白周亚等^[19]DPPH 自由基清除活性测定方法。配制DPPH溶液和Trolox 系列标准溶液。按照以下方式添加A₀、A₁和A₂待测液进行测定:A₀为1 mL DPPH 中加入1 mL 蒸馏水,A₁为1 mL 标准液或样品溶液中加入1 mL 无水乙醇,A₂为1 mL 标准液或样品溶液中加入1 mL DPPH 溶液,摇匀,于黑暗条件下静置30 min,于波长517 nm处分别测定A₀、A₁和A₂吸光度值。豆类提取物DPPH 自由基清除活性以清除率表示。DPPH 清除率按公式(1)计算:

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}\right) \times 100 \quad (1)$$

1.3.6.2 ABTS⁺清除活性测定 参考Moghadam等^[20]ABTS⁺自由基清除活性测定方法。提前制备ABTS⁺清除活性测定工作液,配制不同浓度的Trolox 标准溶液,调整ABTS⁺工作液吸光度至0.700±0.001。按照以下方式添加A₁和A₀待测液进行测定:A₁为100 μL 标准溶液或样品溶液中加入1 mL ABTS 稀释液,A₀为100 μL 甲醇中加入1 mL ABTS 稀释液,于黑暗条件下静置10 min,于

波长 734 nm 处分别测定 A_i 和 A_0 吸光度值, 绘制标准曲线。豆类提取物 ABTS⁺ 自由基清除活性以每克干重豆粉所含 Trolox 当量的微摩尔数表示 ($\mu\text{mol TE/g dw}$)。ABTS⁺ 清除率按公式(2)计算:

$$\text{清除率}(\%) = (1 - \frac{A_0 - A_i}{A_0}) \times 100 \quad (2)$$

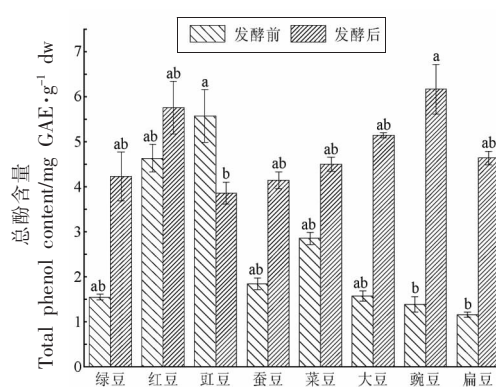
1.3.6.3 铁离子还原能力测定 参考唐双庆等^[21]铁离子还原能力测定方法。提前制备 FRAP 工作液, 使用前预热至 37 °C。配制不同浓度 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 标准溶液。分别取 100 μL 标准液或样品溶液, 加入 1.8 mL FRAP 工作液, 混匀, 37 °C 水浴反应 10 min, 于波长 593 nm 处测定吸光度值, 绘制标准曲线。豆类提取物铁离子还原能力以每克干重豆粉所含硫酸亚铁当量的微摩尔数表示 ($\mu\text{mol FE/g dw}$)。

1.3.7 数据分析 试验均设置 3 组重复, 结果按照“平均值 \pm 标准差”表示。采用 SPSS 26 分析数据的显著性和相关性, Origin Pro 2021 绘图。

2 结果与分析

2.1 豆类总酚含量变化

图 1 为发酵前、后 8 种豆类总酚含量变化。发酵前扁豆、豌豆、绿豆、大豆、蚕豆、菜豆、红豆和豇豆总酚含量依次为 (1.16 ± 0.05), (1.39 ± 0.17), (1.55 ± 0.06), (1.58 ± 0.11), (1.85 ± 0.13), (2.85 ± 0.13), (4.63 ± 0.30), (5.56 ± 0.59) mg GAE/g dw, 豇豆和红豆总酚含量较高, 豌豆和扁豆总酚含量较低。发酵绿豆、豇豆、红豆、菜豆、蚕豆、豌豆、大豆和扁豆总酚含量分别达到 (4.23 ± 0.54), (3.86 ± 0.24), (5.75 ± 0.58), (4.50 ± 0.15), (4.14 ± 0.19), (6.16 ± 0.55), (5.14 ± 0.06), (4.64 ± 0.55) mg GAE/g dw。发酵豇豆总酚含量下降了 30.58%, 可能由于枯草芽孢杆菌在发酵过程中多酚氧化酶活力较高, 导致酚类化合物被氧化分解, 豇豆总酚含量降低^[22]。发酵红豆、菜豆、蚕豆、绿豆、大豆、扁豆和豌豆总酚含量分别增加 24.19%, 57.89%, 123.78%, 172.90%, 225.32%, 300.00% 和 343.17%。发酵豆类总酚含量增加与枯草芽孢杆菌发酵过程产生 β -葡萄糖苷酶有关, 这种酶可以水解以共轭形式存在的酚苷的 β -葡萄糖苷键, 使之成为相应的酚苷元, 从而增加游离总酚含量^[23]。Jhan 等^[24]研究也发



注: 小写字母不同表示发酵前、后不同种豆类有显著性差异 ($P < 0.05$), 图 3 同。

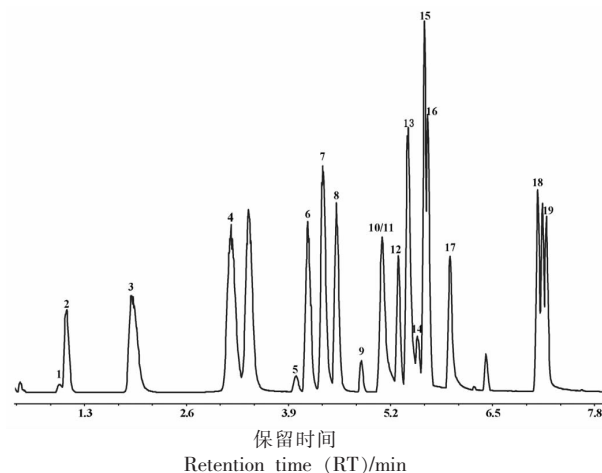
图 1 8 种豆类发酵前、后总酚含量变化

Fig.1 Changes in the total phenol content of 8 kinds of beans before and after fermentation

现发酵红豆总酚含量从 (2.59 ± 0.01) mg GAE/g 增加至 (3.63 ± 0.03) mg GAE/g。Ali 等^[25]研究发现发酵绿豆、大豆和蚕豆总酚含量增加。

2.2 豆类酚类物质组成分析

图 2 为 19 种酚类物质标准品离子流色谱图。表 1 为发酵前、后 8 种豆类 19 种酚类化合物含量。发酵豇豆、蚕豆、绿豆、豌豆、菜豆、红豆、大豆和扁豆游离苯丙氨酸含量分别增加了 706.92%,



注: 1: 没食子酸; 2: 苯丙氨酸; 3: 3,4-二羟基苯甲酸; 4: 3,4-二羟基苯甲醛; 5: 儿茶素; 6: 香草酸; 7: 咖啡酸; 8: 丁香酸; 9: 表儿茶素; 10: 香草醛; 11: 4-羟基苯甲酸; 12: 对香豆酸; 13: 丁香醛; 14: 水杨酸; 15: 反式阿魏酸; 16: 芥子酸; 17: 苯甲酸; 18: 氯化肉桂酸; 19: 反式肉桂酸。

图 2 19 种酚类化合物标准品离子流色谱图

Fig.2 Ion chromatography of 19 phenolic compound standards

8069.4%, 878.97%, 1041.82%, 1489.77%, 1645.47%, 1910.11%和 4077.23%, 发酵大豆具有最高的苯丙氨酸含量, 达到(174.88±9.09) μg/g。苯丙氨酸是一种人体必需氨基酸, 发酵过程中微生物分泌水解蛋白酶是游离苯丙氨酸含量提高的原因^[26]。3,4-二羟基苯甲酸、苯甲酸和对香豆酸是常见的防腐剂^[27], 发酵后 8 种豆类 3,4-二羟基苯甲酸和苯甲酸含量上升, 对香豆酸含量下降, 发酵红豆 3,4-二羟基苯甲酸含量最高达到(14.96±0.78) μg/g, 发酵大豆苯甲酸含量最高达到(5.19±0.82) μg/g。3,4-二羟基苯甲醛、丁香醛和香草醛 3 类醛类化合物在微生物发酵过程中, 易被氧化生成相应的酸类化合物, 发酵后均未被检出。儿茶素、表儿茶素、水杨酸和芥子酸是 8 种豆类中具有抗氧化功能的酚酸^[28-29]。发酵能影响豆类中儿茶素、表儿茶素、水杨酸和芥子酸的含量。发酵红豆和豇豆中儿茶素、表儿茶素含量增加, 分别达到(21.64±2.77) μg/g 和(13.90±1.48) μg/g, (5.00±0.28) μg/g 和(2.38±0.37) μg/g。发酵红豆的水杨酸含量上升, 达到(1.15±0.19) μg/g; 而菜豆芥子酸含量下降了 87.80%。

表 1 8 种豆类发酵前、后酚类化合物组成

酚类物质/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Table 1 Phenolic composition of 8 kinds of beans before and after fermentation								
	绿豆	红豆	豇豆	蚕豆	菜豆	大豆	豌豆	扁豆	
没食子酸	发酵前	0.27 ± 0.03 ^d	0.72 ± 0.09 ^a	0.32 ± 0.02 ^{cd}	0.59 ± 0.08 ^b	0.09 ± 0.01 ^e	0.05 ± 0.01 ^e	0.05 ± 0.01 ^e	0.38 ± 0.06 ^c
	发酵后	0.99 ± 0.08 ^b	1.17 ± 0.08 ^b	0.64 ± 0.05 ^c	1.04 ± 0.10 ^b	0.16 ± 0.03 ^d	0.02 ± 0.00 ^d	0.02 ± 0.00 ^d	1.51 ± 0.22 ^a
苯丙氨酸	发酵前	12.84 ± 0.80 ^a	6.40 ± 0.81 ^d	10.40 ± 0.78 ^b	8.65 ± 0.80 ^c	8.41 ± 0.81 ^c	8.70 ± 0.82 ^c	12.29 ± 0.41 ^a	3.47 ± 0.47 ^e
	发酵后	125.70 ± 5.99 ^{cd}	111.71 ± 10.52 ^d	83.92 ± 7.64 ^c	78.45 ± 7.65 ^c	133.70 ± 11.16 ^{bc}	174.88 ± 9.09 ^a	140.33 ± 8.59 ^{bc}	144.95 ± 7.37 ^{bc}
3,4-二羟基苯甲酸	发酵前	0.69 ± 0.19 ^c	3.19 ± 0.52 ^b	1.91 ± 0.28 ^b	0.51 ± 0.09 ^e	1.60 ± 0.33 ^b	0.41 ± 0.10 ^e	3.72 ± 0.71 ^a	0.93 ± 0.23 ^c
	发酵后	3.10 ± 0.48 ^d	14.96 ± 0.78 ^a	4.99 ± 0.80 ^c	2.10 ± 0.46 ^d	4.67 ± 0.94 ^d	0.27 ± 0.06 ^e	7.87 ± 0.66 ^b	4.42 ± 0.45 ^c
3,4-二羟基苯甲醛	发酵前	0.21 ± 0.07 ^b	0.93 ± 0.19 ^a	0.33 ± 0.09 ^b	0.20 ± 0.06 ^e	0.32 ± 0.09 ^b	0.03 ± 0.01 ^e	Nd	0.34 ± 0.05 ^b
	发酵后	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
儿茶素	发酵前	0.43 ± 0.09 ^c	10.58 ± 1.41 ^a	7.49 ± 1.26 ^b	0.31 ± 0.11 ^e	0.46 ± 0.05 ^e	0.18 ± 0.08 ^e	0.02 ± 0.01 ^e	0.12 ± 0.04 ^c
	发酵后	1.28 ± 0.16 ^c	21.64 ± 2.77 ^a	13.90 ± 1.48 ^b	0.53 ± 0.14 ^c	0.35 ± 0.06 ^d	0.01 ± 0.00 ^e	0.01 ± 0.00 ^e	0.35 ± 0.08 ^c
香草酸	发酵前	0.24 ± 0.08 ^e	0.22 ± 0.07 ^e	1.14 ± 0.22 ^{cd}	0.09 ± 0.01 ^e	2.01 ± 0.30 ^b	1.31 ± 0.17 ^c	0.82 ± 0.21 ^d	2.84 ± 0.31 ^a
	发酵后	0.05 ± 0.01 ^{bc}	0.09 ± 0.03 ^{bc}	0.19 ± 0.04 ^b	0.03 ± 0.00 ^e	0.06 ± 0.01 ^{bc}	0.79 ± 0.19 ^a	0.07 ± 0.02 ^{bc}	0.11 ± 0.04 ^{bc}
咖啡酸	发酵前	0.26 ± 0.05 ^a	0.05 ± 0.02 ^c	0.05 ± 0.01 ^e	0.03 ± 0.00 ^e	0.13 ± 0.03 ^b	0.02 ± 0.01 ^e	0.24 ± 0.06 ^a	0.04 ± 0.01 ^e
	发酵后	0.04 ± 0.02 ^a	0.01 ± 0.00 ^e	0.01 ± 0.00 ^e	0.01 ± 0.00 ^e	0.01 ± 0.00 ^e	Nd	0.02 ± 0.01 ^b	0.01 ± 0.00 ^e
丁香酸	发酵前	0.03 ± 0.01 ^e	0.04 ± 0.01 ^e	0.05 ± 0.01 ^e	0.02 ± 0.01 ^e	1.05 ± 0.19 ^a	0.98 ± 0.23 ^a	0.07 ± 0.02 ^c	0.31 ± 0.10 ^b
	发酵后	Nd	0.02 ± 0.00 ^{bc}	0.01 ± 0.00 ^e	Nd	0.04 ± 0.01 ^{bc}	0.46 ± 0.06 ^a	0.01 ± 0.00 ^e	0.06 ± 0.01 ^b
表儿茶素	发酵前	0.04 ± 0.01 ^e	0.21 ± 0.01 ^b	0.22 ± 0.05 ^b	0.56 ± 0.10 ^a	0.02 ± 0.00 ^e	Nd	Nd	0.18 ± 0.05 ^b
	发酵后	0.11 ± 0.03 ^d	5.00 ± 0.28 ^a	2.38 ± 0.37 ^b	0.27 ± 0.03 ^d	0.11 ± 0.03 ^d	Nd	Nd	1.26 ± 0.19 ^c
香草醛	发酵前	0.02 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.00 ^e	0.02 ± 0.00 ^e	0.02 ± 0.00 ^e	0.03 ± 0.00 ^e	0.02 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^e	0.03 ± 0.01 ^a
	发酵后	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0.02 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^e	Nd

(续表 1)

酚类物质/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	绿豆		红豆		豇豆		蚕豆		菜豆		大豆		豌豆		扁豆	
	发酵前	发酵后	发酵前	发酵后	发酵前	发酵后	发酵前	发酵后	发酵前	发酵后	发酵前	发酵后	发酵前	发酵后	发酵前	发酵后
4-羟基苯甲酸	0.02 ± 0.01 ^a	Nd	0.02 ± 0.00 ^a	Nd	0.02 ± 0.00 ^a	Nd	0.02 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	Nd
对香豆酸	0.56 ± 0.11 ^{bc}	0.01 ± 0.00 ^a	0.73 ± 0.14 ^b	0.01 ± 0.00 ^a	1.04 ± 0.13 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.30 ± 0.06 ^d	0.29 ± 0.05 ^d	Nd	0.01 ± 0.00 ^a	0.32 ± 0.09 ^d	0.49 ± 0.09 ^c	0.57 ± 0.06 ^{bc}	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a
丁香醛	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	Nd	0.01 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	Nd	0.01 ± 0.00 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	Nd	Nd
水杨酸	0.53 ± 0.09 ^c	0.84 ± 0.09 ^b	0.72 ± 0.10 ^b	1.15 ± 0.19 ^a	1.42 ± 0.20 ^a	0.07 ± 0.02 ^e	0.07 ± 0.02 ^e	0.25 ± 0.04 ^d	0.11 ± 0.03 ^e	0.28 ± 0.06 ^d	0.10 ± 0.02 ^{de}	0.15 ± 0.02 ^c	0.17 ± 0.03 ^{de}	0.08 ± 0.00 ^e	0.15 ± 0.02 ^c	0.25 ± 0.02 ^c
反式阿魏酸	0.03 ± 0.01 ^d	Nd	0.20 ± 0.03 ^d	0.01 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	2.19 ± 0.31 ^b	0.02 ± 0.01 ^b	0.02 ± 0.01 ^b	0.12 ± 0.03 ^d	1.54 ± 0.20 ^c	3.11 ± 0.49 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.00 ^b	0.01 ± 0.00 ^b
芥子酸	Nd	Nd	0.17 ± 0.03 ^{bc}	0.04 ± 0.01 ^d	0.04 ± 0.01 ^d	0.07 ± 0.02 ^{cd}	0.07 ± 0.02 ^{cd}	0.82 ± 0.12 ^a	0.05 ± 0.01 ^d	0.07 ± 0.02 ^{cd}	0.05 ± 0.01 ^d	0.07 ± 0.02 ^{cd}	0.26 ± 0.09 ^b	0.07 ± 0.02 ^{cd}	0.07 ± 0.02 ^{cd}	0.26 ± 0.09 ^b
苯甲酸	0.01 ± 0.00 ^e	0.44 ± 0.08 ^{bc}	0.16 ± 0.04 ^a	0.48 ± 0.06 ^b	0.04 ± 0.02 ^d	0.08 ± 0.01 ^e	0.08 ± 0.01 ^e	0.10 ± 0.02 ^{bc}	0.10 ± 0.02 ^{bc}	0.21 ± 0.03 ^d	0.02 ± 0.00 ^{de}	0.10 ± 0.01 ^{bc}	0.13 ± 0.02 ^{ab}	0.10 ± 0.01 ^{bc}	0.10 ± 0.01 ^{bc}	0.13 ± 0.02 ^{ab}
氯化肉桂酸	3.12 ± 0.56 ^c	0.01 ± 0.00 ^a	4.28 ± 0.63 ^b	0.02 ± 0.00 ^a	0.92 ± 0.11 ^e	0.02 ± 0.00 ^a	1.51 ± 0.21 ^{de}	2.31 ± 0.16 ^{cd}	0.02 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	5.19 ± 0.82 ^a	4.36 ± 0.66 ^{ab}	2.27 ± 0.26 ^{cd}	0.02 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a
反式肉桂酸	0.06 ± 0.01 ^e	0.04 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^d	0.02 ± 0.00 ^d	0.13 ± 0.02 ^b	0.02 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^d	0.22 ± 0.05 ^a	0.03 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^d	0.01 ± 0.00 ^d	0.05 ± 0.01 ^{cd}	0.01 ± 0.00 ^d	0.01 ± 0.00 ^d	0.01 ± 0.00 ^d	0.01 ± 0.00 ^d
	0.09 ± 0.02 ^b	0.17 ± 0.05 ^a	0.17 ± 0.05 ^a	0.08 ± 0.01 ^{bc}	0.08 ± 0.01 ^e	0.03 ± 0.01 ^e	0.03 ± 0.01 ^e	0.16 ± 0.05 ^a	0.08 ± 0.02 ^{bc}	0.09 ± 0.02 ^b	0.08 ± 0.02 ^{bc}	0.09 ± 0.02 ^b	0.03 ± 0.01 ^e	0.09 ± 0.02 ^b	0.03 ± 0.01 ^e	0.03 ± 0.01 ^e

注: Nd. 未检测到; 小写字母不同表示发酵前、后不同种豆类有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.3 豆类提取物抗氧化活性变化

2.3.1 豆类提取物 DPPH 清除活性 图 3a 为发酵前、后 8 种豆类提取物 DPPH 清除活性变化。发酵前红豆、豇豆和菜豆提取物 DPPH 清除活性较高, 分别达到 $95.10\% \pm 0.24\%$, $95.37\% \pm 0.40\%$ 和 $81.82\% \pm 2.40\%$ 。发酵后豇豆和菜豆 DPPH 清除活性分别下降了 20.48% 和 39.86% 。抗氧化活性与总酚含量显著相关, 豇豆总酚含量下降, 导致 DPPH 清除活性下降^[30]。豆类抗氧化活性组分主要有酚类化合物和类胡萝卜素等, 菜豆提取物 DPPH 清除活性下降, 可能与发酵过程中具有抗氧化活性成分含量下降的原因有关^[31]。发酵

后绿豆、豌豆、蚕豆、扁豆和大豆提取物 DPPH 清除活性均有提高, 其中豌豆和大豆提高最多, 分别增加了 118.00% 和 106.94% 。Li 等^[2] 研究发现干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei*) 发酵大豆 48 h 后大豆提取物 DPPH 清除活性增加至 61.10% 。Jeon 等^[32] 利用枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) P229 发酵大豆, 也获得了较高的 DPPH 清除活性。2.3.2 豆类提取物 ABTS⁺清除活性 图 3b 为发酵前、后 8 种豆类提取物 ABTS⁺清除活性变化。发酵前蚕豆、豇豆和豌豆提取物 ABTS⁺清除活性较高, 分别达到 (36.18 ± 1.70) , (40.29 ± 1.93) , (47.86 ± 1.93) $\mu\text{mol TE/g dw}$ 。发酵后豇豆和蚕豆提取物 ABTS⁺清除活性分别

下降了54.91%和60.59%。豇豆提取物ABTS⁺自由基清除活性与发酵后其总酚含量下降相关。研究发现少孢根霉发酵也会导致蚕豆提取物ABTS⁺清除活性下降^[33]。发酵后绿豆、大豆、扁豆和豌豆提取物的ABTS⁺清除活性上升,分别提高了241.34%,176.29%,244.95%和570.60%,其中豌豆ABTS⁺清除活性上升最高。Yu等^[34]研究发现利用蛹虫草(*Cordyceps militaris*)SN-18发酵绿豆,其ABTS⁺清除活性提升了2.1倍。

2.3.3 豆类提取物铁离子还原能力 图3c为发

酵前、后8种豆类提取物铁离子还原能力变化。发酵前红豆和豇豆提取物铁离子还原能力较高,分别达到(47.60±0.72),(59.49±0.97)μmol FE/g dw。发酵后绿豆、扁豆、豌豆和大豆提取物铁离子还原能力分别提高了69.07%,188.63%,279.87%和297.12%。发酵后豇豆、红豆和菜豆提取物铁离子还原能力下降,其中豇豆最多下降了61.35%。Muhialdin等^[35]研究发现发酵苦豆提取物铁离子还原能力下降了6.75%。

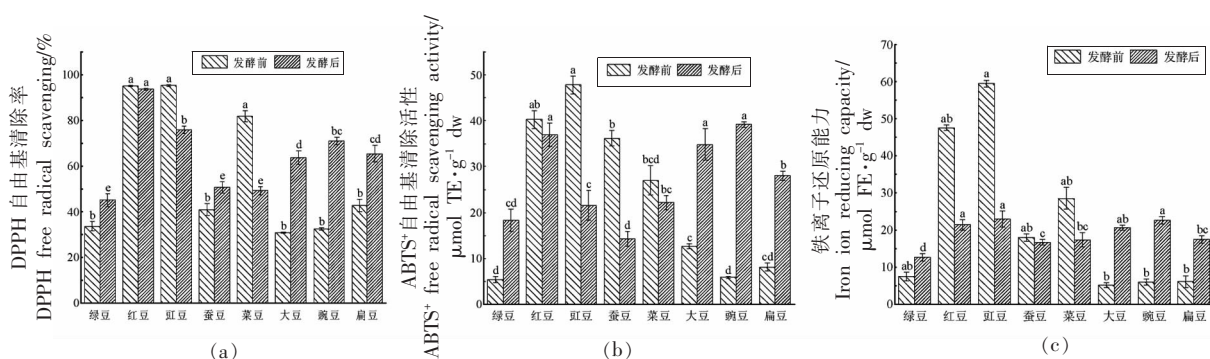


图3 8种豆类发酵前、后抗氧化活性变化

Fig.3 Changes in antioxidant activity of 8 kinds of beans before and after fermentation

利用3种不同抗氧化活力评价方法比较分析8种豆类发酵前、后抗氧化功能变化。研究结果表明:大豆、绿豆、豌豆和扁豆适宜于利用枯草芽孢杆菌发酵制备高抗氧化活力的豆类食品。

2.4 不同豆类总酚含量及酚类组成与抗氧化活性的相关性分析

由表2可知,总酚含量与DPPH自由基清除活性、ABTS⁺清除活性和铁离子还原能力均极显著相关($P < 0.01$)。刘婷婷等^[36]对不同杂豆总酚和抗氧化活性的研究表明,总酚与总抗氧化之间呈极显著正相关。本研究发现儿茶素、水杨酸和反式肉桂酸与DPPH、FRAP呈极显著正相关,芥子酸与DPPH呈极显著正相关($P < 0.01$);表儿茶素与DPPH呈显著正相关,水杨酸与ABTS呈显著正相关,3,4-二羟基苯甲酸和氢化肉桂酸与DPPH、FRAP呈显著正相关($P < 0.05$)。多酚化合物清除自由基抗氧化活性主要通过顺序质子损失电子转移、氢原子转移和单电子转移等机制实现^[37]。儿茶素和水杨酸等酚类化合物可以通过给出氢离子与

自由基结合或直接给出电子将自由基转化为反应活性低的阴离子,还可以先给出质子转化为阴离子,再由阴离子给出电子将自由基转化为阴离子去清除自由基^[38-39]。苯丙氨酸、香草酸、香草醛、没食子酸、丁香酸、丁香醛、咖啡酸、4-羟基苯甲酸、对香豆酸、反式阿魏酸和苯甲酸与抗氧化相关性较低。王何柱等^[40]对不同花色芸豆的酚类化合物与抗氧化进行相关性分析,发现没食子酸、咖啡酸、4-羟基苯甲酸、对香豆酸和阿魏酸也与抗氧化的相关性较低。

3 结论

本试验利用枯草芽孢杆菌ATCC 6051发酵绿豆和红豆等在内的8种常见豆类。发酵后绿豆、红豆、蚕豆、菜豆、大豆、豌豆和扁豆7种豆类多酚含量增加,其中发酵豌豆总酚含量提高了343.17%,达到(6.16±0.55)mg GAE/g dw。发酵后8种豆类游离苯丙氨酸、3,4-二羟基苯甲酸和苯甲酸含量增加。发酵绿豆、豌豆、蚕豆、扁豆和大豆

表2 总酚、酚类组成与抗氧化活性的相关性
Table 2 Correlation between total phenols, phenolic composition and antioxidant activity

化合物	DPPH	ABTS	FRAP
总酚	0.716**	0.791**	0.676**
没食子酸	0.251	0.068	0.064
苯丙氨酸	0.100	0.155	0.074
3,4-二羟基苯甲酸	0.442*	0.238	0.305*
3,4-二羟基苯甲醛	0.127	0.131	0.187
儿茶素	0.543**	0.244	0.437**
香草酸	-0.034	-0.118	-0.021
咖啡酸	-0.212	-0.258	-0.127
丁香酸	-0.070	-0.084	-0.073
表儿茶素	0.353*	0.193	0.224
香草醛	-0.188	-0.087	-0.066
4-羟基苯甲酸	-0.206	-0.174	-0.115
对香豆酸	-0.067	-0.095	-0.048
丁香醛	-0.165	0.005	-0.099
水杨酸	0.647**	0.342*	0.534**
反式阿魏酸	0.027	0.017	0.111
芥子酸	0.387**	0.215	0.265
苯甲酸	0.215	0.161	0.111
氯化肉桂酸	0.308*	0.126	0.292*
反式肉桂酸	0.499**	0.273	0.465**

注:**表示在0.01水平(双侧)显著相关,*表示在0.05水平(双侧)显著相关。

提取物 DPPH 自由基清除率上升,其中豌豆上升最多。发酵绿豆、大豆、豌豆和扁豆提取物 ABTS⁺清除活性增加,其中豌豆增加最多为 570.60%。发酵绿豆、扁豆、豌豆和大豆提取物铁离子还原能力提高,其中大豆增加最多为 297.12%。总酚含量与 3 个抗氧化指标均极显著相关($P < 0.01$)。大豆、绿豆、豌豆和扁豆是利用枯草芽孢杆菌发酵制备高抗氧化活力食品的理想豆类食品原料。

参 考 文 献

- [1] NARLI M B, OZCAN T. Assessment of bifidogenic potential of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) extract in *in vitro* and milk fermentation models[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 157: 113071.
- [2] 刘晓丽, 杨冰鑫, 陈柳青, 等. 余甘子多酚对体外酒精性肝损伤的保护作用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 108-115.
- [3] LIU X L, YANG B X, CHEN L Q, et al. Hepatoprotective effect of polyphenols of *Phyllanthus emblica* L. against alcohol-induced oxidative damage *in vitro*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021(10): 108-115.
- [4] 蓝蔚青, 赵欣宇, 刘嘉莉, 等. 植物多酚的主要抑菌机制及在水产品保鲜中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(10): 259-264.
- [5] LAN W Q, ZHAO X Y, LIU J L, et al. Main antimicrobial mechanism of plant polyphenols and its research progress in the preservation of aquatic products[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(10): 259-264.
- [6] 丁羽萱, 王尧, 姚羿安, 等. 外源 γ -氨基丁酸对发芽大豆酚类物质富集及抗氧化能力的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(13): 72-78.
- [7] DING Y X, WANG R, YAO Y A, et al. Effect of exogenous γ -aminobutyric acid on the accumulation of phenolics and antioxidant capacity in germinated soybean[J]. Food Science, 2021, 42(13): 72-78.
- [8] DEL R D, RODRIGUEZ M A, SPENCER J P E, et al. Dietary polyphenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2013, 18(14): 1818-1892.
- [9] PADHI S, CHOURASIA R, KUMARI M, et al. Production and characterization of bioactive peptides from rice beans using *Bacillus subtilis*[J]. Bioresource Technology, 2022, 351: 126932.
- [10] 王晓燕, 孙培利, 焦捷, 等. 发酵技术对食用种子及其制品改性的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(18): 197-203.
- [11] WANG X Y, SUN P L, JIAO J, et al. Research progress in the fermentation technology of modified edible seeds and their products[J]. Food Research and Development, 2021, 42(18): 197-203.
- [12] 朱俊丰, 刘帅, 赵鹏燕, 等. 纳豆枯草芽孢杆菌 LNUB236 所产纳豆激酶的溶栓活性[J]. 食品科学, 2020, 41(13): 148-159.
- [13] ZHU J F, LIU S, ZHAO P Y, et al. Thrombolytic activity of nattokinase produced by *Bacillus subtilis* natto LNUB236[J]. Food Science, 2020, 41(13): 148-159.
- [14] SANJUKT A S, RAI A K, MUHAMMED A, et al.

- Enhancement of antioxidant properties of two soybean varieties of Sikkim Himalayan region by proteolytic *Bacillus subtilis* fermentation [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 14: 650–658.
- [10] LIMÓN R I, PEÑAS E, TORINO M I, et al. Fermentation enhances the content of bioactive compounds in kidney bean extracts[J]. *Food Chemistry*, 2015, 172: 343–352.
- [11] CHO Y S, KIM S K, CHANG B A, et al. Preparation, characterization, and antioxidant properties of gallic acid-grafted-chitosans[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 83(4): 1617–1622.
- [12] LI S L, JIN Z Y, HU D J, et al. Effect of solid-state fermentation with *Lactobacillus casei* on the nutritional value, isoflavones, phenolic acids and antioxidant activity of whole soybean flour[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 125: 109264.
- [13] SAHARAN P, SADH P K, DUHAN S, et al. Bio-enrichment of phenolic, flavonoids content and antioxidant activity of commonly used pulses by solid-state fermentation[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2020, 14(3): 1497–1510.
- [14] 王何柱, 朱勇, 朱怡, 等. 7种芸豆中酚类化合物组成及其抗氧化活性[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(9): 28–33.
- WANG H Z, ZHU Y, ZHU Y, et al. Composition and antioxidant activity of phenolic compounds in seven kidney beans[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2020, 35(9): 28–33.
- [15] HUNG C Y, YEN G C. Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens* Hemsl [J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(10): 2993–2997.
- [16] ZHANG L Q, LI Y, LIANG Y, et al. Determination of phenolic acid profiles by HPLC-MS in vegetables commonly consumed in China[J]. *Food Chemistry*, 2018, 276: 538–546.
- [17] ZHUANG J H, DAI X L, ZHU M Q, et al. Evaluation of astringent taste of green tea through mass spectrometry-based targeted metabolic profiling of polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2020, 305: 125507.
- [18] 张立伟, 郭劲廷, 陈建国, 等. 不同粒径分级葵花籽仁组成比较分析[J/OL]. *中国油脂*: 1–10. (2022-01-21)[2022-12-20]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210726>.
- ZHANG L W, GUO J T, CHEN J G, et al. Comparison of sunflower seed kernels composition with different particle sizes[J/OL]. *China Oils and Fats*: 1–10. (2022-01-21)[2022-12-20]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210726>.
- [19] 白周亚, 阚丽娇, 李昌, 等. 不同豇豆中酚类含量与抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2017, 38(15): 153–157.
- BAI Z Y, KAN L J, LI C, et al. Antioxidant activity and phenolic content of different varieties of cowpea[J]. *Food Science*, 2017, 38(15): 153–157.
- [20] MOGHADAM M, SALAMI M, MOHAMMADIAN M, et al. Development of antioxidant edible films based on mung bean protein enriched with pomegranate peel [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 104: 105735.
- [21] 唐双庆, 屈雅宁, 刘琴, 等. 干酪乳杆菌发酵8种食用豆提取物抗氧化活性研究[J]. *中国酿造*, 2022, 41(10): 119–124.
- TANG S Q, QU Y N, LIU Q, et al. Antioxidant activity of 8 kinds of edible bean extracts fermented by *Lactobacillus casei*[J]. *China Brewing*, 2022, 41(10): 119–124.
- [22] POLANOWSKA K, SZWENGIEL A, KULIGOWSKI M, et al. Degradation of pyrimidine glycosides and L-DOPA in the faba bean by *Rhizopus oligosporus* [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 127: 109353.
- [23] GEORGETTI S R, VICENTINI F T M C, YOKOYAMA C Y, et al. Enhanced *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity and mobilization of free phenolic compounds of soybean flour fermented with different β -glucosidase-producing fungi[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 106(2): 459–466.
- [24] JHAN J K, CHANG W F, WANG P M, et al. Production of fermented red beans with multiple bioactivities using co-cultures of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 63(2): 1281–1287.
- [25] ALI N M, YEAP S K, YUSOF H M, et al. Comparison of free amino acids, antioxidants, soluble phenolic acids, cytotoxicity and immunomodulation of fermented mung bean and soybean[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2016, 96(5): 1648–1658.
- [26] YANG H, QU Y Z, LI J T, et al. Improvement of

- the protein quality and degradation of allergens in soybean meal by combination fermentation and enzymatic hydrolysis[J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2020, 128: 109442.
- [27] 王玉田, 张艳, 商凤凯, 等. 三维荧光结合 AWRC-QLD 测量化妆品中三种添加剂[J]. *光谱学与光谱分析*, 2020, 40(2): 501-505.
- WANG Y T, ZHANG Y, SHANG F K, et al. Three - dimensional fluorescence combined with AWRCQLD to measure three additives in cosmetics [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2020, 40 (2): 501-505.
- [28] 王彦淇, 郭玉蓉, 王永涛, 等. 不同品种苹果非浓缩还原汁的多酚组成及与抗氧化能力的关系[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(5): 74-83.
- WANG Y Q, GUO Y R, WANG Y T, et al. Analyses of phenolic composition and antioxidant activities of NFC apple juices from different cultivars [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(5): 74-83.
- [29] 严锐, 韩延超, 吴伟杰, 等. 水杨酸处理对鲜莲采后品质及抗氧化酶活性的影响[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(3): 235-245.
- YAN R, HAN Y C, WU W J, et al. Effect of salicylic acid treatment on the postharvest quality and antioxidant enzyme activity of fresh lotus [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(3): 235-245.
- [30] VERNI M, DE M G, DE C F, et al. Lactic acid bacteria fermentation to exploit the nutritional potential of Mediterranean faba bean local biotypes [J]. *Food Research International*, 2019, 125: 108571.
- [31] 阚丽娇. 不同豆类营养成分及抗氧化组分研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2017.
- KAN L J. Characterization of nutrients and antioxidant components from legumes[D]. Nanchang: Nanchang University, 2017.
- [32] JEON H L, YANG S J, SON S H, et al. Evaluation of probiotic *Bacillus subtilis* P229 isolated from *cheonggukjang* and its application in soybean fermentation [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2018, 97: 94-99.
- [33] POLANOWSKA K, GRYGIER A, KULIGOWSKI M, et al. Effect of tempe fermentation by three different strains of *Rhizopus oligosporus* on nutritional characteristics of faba beans [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2020, 122: 109024.
- [34] YU X, QIU Q Z, JUN Q M, et al. Antioxidant activity and DNA damage protection of mung beans processed by solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2015, 31: 216-225.
- [35] MUHIALDIN B J, RANI N F A, HUSSIN A S M. Identification of antioxidant and antibacterial activities for the bioactive peptides generated from bitter beans (*Parkia speciosa*) via boiling and fermentation processes [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2020, 131: 109776.
- [36] 刘婷婷, 包佳微, 李嘉欣, 等. 浸泡和发芽对杂豆酚类物质及其抗氧化性的影响[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(8): 26-33.
- LIU T T, BAO J W, LI J X, et al. Effects of soaking and germination on the content and antioxidant activity of phenols of beans [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2019, 34 (8): 26-33.
- [37] 陈金祥. 酚酸抗氧化活性的构效关系及抗氧化机制的研究[D]. 太原: 中北大学, 2020.
- CHENG J X. Study on the structure-activity relationship and antioxidant mechanism of antioxidant activity of phenolic acids[D]. Taiyuan: North University of China, 2020.
- [38] NAKANISHI I, OHKUBO K, MIYAZAKI K, et al. A planar catechin analogue having a more negative oxidation potential than (+)-catechin as an electron transfer antioxidant against a peroxy radical [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2004, 17 (1): 26-31.
- [39] PÉREZ-GONZÁLEZ A, GALANO A, ALVAREZ-IDABOY J R. Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: Mechanisms, kinetics, and trends in activity [J]. *New Journal of Chemistry*, 2014, 38(6): 2639-2652.
- [40] 王何柱, 朱勇, 朱怡, 等. 不同花色芸豆种皮酚类化合物组成及抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2020, 41 (12): 204-210.
- WANG H Z, ZHU Y, ZHU Y, et al. Phenolic composition and antioxidant activity of seed coats of kidney beans with different colors [J]. *Food Science*, 2020, 41(12): 204-210.

Effects of *Bacillus subtilis* Fermentation on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Legumes

Tang Shuangqing¹, Lu Huiqi¹, Li Xiuli¹, Qiu Yijun¹, Wang Min¹, Xu Yuan¹, Wang Hongbo^{1,2*}

(¹Research Center of Food Nutrition and Safety, School of Life Sciences, Jiangnan University, Wuhan 430056

²Hubei Province Engineering Research Center for Legume Plants, Wuhan 430056)

Abstract Polyphenols are the main active components of legumes and have important effects on the antioxidant function of these foods. In this study, *Bacillus subtilis* ATCC 6051 was used to ferment 8 kinds of legumes, and the effects of fermentation on the content of phenolic substances and antioxidant activity in legumes were analyzed. The total phenol content of fermented red bean, kidney bean, broad bean, mung bean, soybean, lentil and pea increased by 24.19%, 57.89%, 123.78%, 172.90%, 225.32%, 300.00% and 343.17%, respectively. The comparison of 19 phenolic compounds in 8 kinds of beans before and after fermentation showed that fermentation affected the contents of catechin, epicatechin, salicylic acid and sinapic acid. The DPPH free radical scavenging rate, ABTS⁺ free radical scavenging activity and iron ion reducing ability of fermented mung bean, soybean, pea and lentil extract were improved. The total phenol content was significantly correlated with DPPH free radical scavenging activity, ABTS⁺ free radical scavenging activity and iron ion reduction ability ($P<0.01$), catechin, salicylic acid and sinapic acid were significantly correlated with DPPH ($P<0.01$), epicatechin was significantly correlated with DPPH ($P<0.05$). The results showed that soybean, mung bean, pea and lentil were the ideal food raw materials for preparing products rich in phenols and high antioxidant activity by using *Bacillus subtilis* fermentation, which is suitable for the development of fermented bean functional food.

Keywords *Bacillus subtilis*; legume; phenolic compounds; antioxidant activity