

不同品种纳豆的多种功能活性成分比较

许梦粤, 余金毅, 李慧, 刘琴, 曾长立, 王红波

Comparison of Multiple Functional-Active Ingredients in Different Varieties of Natto

XU Mengyue, YU Jinyi, LI Hui, LIU Qin, ZENG Changli, and WANG Hongbo

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023120296>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

市售纳豆产品中菌株的分离、鉴定及纳豆激酶活力比较

Separation and identification of commercial natto strain species and comparison of nattokinase activity

食品工业科技. 2017(01): 141-146 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.01.019>

不同黄豆自制纳豆与市购纳豆差异性比较分析

Comparative Analysis of the Differences between Self-Made Natto with Different Soybean and Market-Purchased Natto

食品工业科技. 2018, 39(20): 1-5 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.20.001>

纳豆芽孢杆菌发酵菜用大豆中总黄酮的提取及其降血脂效果评价

Extraction of Total Flavonoids in Vegetable Soybean Fermented by *Bacillus natto* and Evaluation of Its Effect on Hypolipidemic Effect

食品工业科技. 2021, 42(7): 223-230 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070003>

纳豆激酶的质量与安全评价研究进展

Research Progress of Nattokinase Quality and Safety Evaluation

食品工业科技. 2021, 42(23): 413-419 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020100257>

嗜热链球菌发酵改良纳豆工艺优化

Optimization of Fermentation Process for *Streptococcus thermophilus* Improved Natto

食品工业科技. 2020, 41(6): 161-166 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.06.027>

鹰嘴豆纳豆液态发酵高产蛋白酶的培养基及发酵条件优化

Optimization of submerged fermentation medium and condition of chickpea natto

食品工业科技. 2018, 39(7): 115-121 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.07.022>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

许梦粤, 余金毅, 李慧, 等. 不同品种纳豆的多种功能活性成分比较 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(13): 140-149. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120296

XU Mengyue, YU Jinyi, LI Hui, et al. Comparison of Multiple Functional-Active Ingredients in Different Varieties of Natto[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(13): 140-149. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120296

· 生物工程 ·

不同品种纳豆的多种功能活性成分比较

许梦粤¹, 余金毅¹, 李慧¹, 刘琴^{1,2}, 曾长立³, 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, 湖北武汉 430056;

2. 湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心, 湖北武汉 430056;

3. 湖北省汉江流域特色生物资源保护开发与利用工程技术研究中心, 湖北武汉 430056)

摘要: 为了研究不同品种纳豆中的重要功能活性成分, 以大豆、黑豆、赤小豆、绿豆、扁豆、鹰嘴豆、菜豆、豌豆、红豆和豇豆为原料制备纳豆, 比较分析这些纳豆中纳豆激酶、多酚、纳豆多糖和 γ -氨基丁酸的差异。结果表明, 10 种不同品种纳豆的纳豆激酶活力在 985.31~2453.18 U/g 之间, 鹰嘴豆纳豆的纳豆激酶活力显著高于其他品种纳豆 ($P<0.05$); 总酚含量在 1.44~3.21 mg GAE/g, 酚酸物质总含量在 19.754~183.902 μ g/g, 黑豆纳豆、绿豆纳豆和豇豆纳豆中酚类物质组成丰富; 多糖的得率在 1.03%~15.11%, 总糖含量在 21.86%~58.40%, 糖醛酸含量在 4.26%~15.09%, 其中菜豆纳豆多糖得率、总糖和糖醛酸含量显著高于其他品种纳豆多糖 ($P<0.05$); γ -氨基丁酸含量在 4.97~15.99 mg/g, 豇豆纳豆中 γ -氨基丁酸含量显著高于其他品种纳豆 ($P<0.05$); 扁豆纳豆中纳豆芽孢杆菌的活菌数显著高于其他品种纳豆 ($P<0.05$)。综合评价, 黑豆、豇豆和菜豆是开发新品纳豆的理想原料。

关键词: 纳豆, 纳豆激酶, 多酚, 纳豆多糖, γ -氨基丁酸, 纳豆芽孢杆菌

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)13-0140-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120296

本文网刊:



Comparison of Multiple Functional-Active Ingredients in Different Varieties of Natto

XU Mengyue¹, YU Jinyi¹, LI Hui¹, LIU Qin^{1,2}, ZENG Changli³, WANG Hongbo^{1,2,*}

(1. Research Center of Food Nutrition and Safety, School of Life Sciences, Jianghan University, Wuhan 430056, China;

2. Hubei Province Engineering Research Center for Legume Plants, Wuhan 430056, China;

3. Hubei Engineering Research Center for Protection and Utilization of Special Biological Resources in the Hanjiang River Basin, Wuhan 430056, China)

Abstract: In order to investigate the important functional-active components in different varieties of natto, natto was processed using soybean, black bean, red bean, mung bean, lentil, chickpea, kidney bean, pea, red bean and cowpea, and the differences of nattokinase, polyphenol, natto polysaccharide and γ -aminobutyric acid were compared and analyzed in these natto. The results showed that the nattokinase activity ranged from 985.31 to 2453.18 U/g, and the nattokinase activity in chickpea natto was significantly higher than those of other natto ($P<0.05$). The total phenol content ranged from 1.44 to 3.21 mg GAE/g, and the total phenolic acid content ranged from 19.754 to 183.902 μ g/g. The types of phenolic substances were abundant in black bean natto, mung bean natto and cowpea natto. The yield of polysaccharide was 1.03%~15.11%, the content of total sugar was 21.86%~58.40%, and the content of uronic acid was 4.26%~15.09%. And the yield of polysaccharide, the contents of total sugar and uronic acid in kidney bean natto were significantly higher than those of other natto ($P<0.05$). The content of γ -aminobutyric acid was 4.97~15.99 mg/g, and the content of γ -aminobutyric acid in cowpea

收稿日期: 2023-12-27

基金项目: 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); 江汉大学一流学科建设重大专项资助计划 (2023XKZ023)。

作者简介: 许梦粤 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物, E-mail: benmao10110403@163.com。

* 通信作者: 王红波 (1982-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: bobo110110165@sina.com。

natto was significantly higher than those of other natto ($P<0.05$). The viable number of *Bacillus subtilis* natto in lentil natto was significantly higher than those of other natto ($P<0.05$). After comprehensive evaluation, black bean, cowpea and kidney bean were ideal raw materials for the produce of new natto.

Key words: natto; nattokinase; polyphenol; natto polysaccharide; γ -aminobutyric acid; *Bacillus subtilis* natto

食用豆类是世界各地传统饮食的重要组成部分,富含多种维生素和矿物质,是膳食纤维、植物营养素和蛋白质的重要来源^[1]。食用豆类还含有酚类化合物、多肽和活性多糖等功能活性成分,具有抗氧化、抑菌和降血糖等多种生物学功能^[2]。纳豆是纳豆芽孢杆菌发酵豆子制备的一种发酵食品,原料有绿豆、黄豆、黑豆等^[3],具有溶血栓、预防骨质疏松、保护肝脏和预防心脑血管疾病等生物学功能^[4]。纳豆中含有纳豆激酶、多酚、活性多糖和 γ -氨基丁酸等多种功能活性成分。纳豆的营养价值与这些生物活性组分关系密切。纳豆激酶是一种由纳豆芽孢杆菌产生的高丝氨酸蛋白酶,具有溶血栓活性、免疫调节活性和改善酒精性肝损伤等作用^[5]。多酚是一类具有预防和治疗脏器损伤、糖尿病和心脑血管疾病的次级代谢产物^[6],豆类中含量丰富。纳豆多糖是一种具有免疫调节、抗氧化、降血糖和胃肠保护等多种生物学功能的高分子化合物^[7]。 γ -氨基丁酸是一种非蛋白质氨基酸,具有增强记忆、改善脑机能和抗焦虑等生理功能^[8]。

目前,常见纳豆的品种有大豆纳豆、赤小豆纳豆^[9]、红豆纳豆^[10]、黑豆纳豆^[11]和鹰嘴豆纳豆^[12]等,但研究较多的主要是大豆纳豆。现有的关于纳豆的研究主要集中在纳豆激酶和活性肽,采用不同方式发酵纳豆,优化工艺提高纳豆激酶酶活,针对纳豆中其他生物活性成分的报道较少。付文静等^[9]研究发现以大豆和赤小豆(质量比为 4:1)为原料,38 °C 发酵 22 h 制备纳豆,纳豆激酶酶活力可达 942 U/g。卓怡云等^[13]研究发现补充纳豆激酶可通过调节免疫细胞比例来提高机体的免疫力,从而改善大鼠酒精性肝损伤。赵谋明等^[5]研究发现荞麦纳豆的最佳发酵工艺为接种量 3%,通气量 3.5 L/min,转速 300 r/min,装液量 1.2 L,发酵时间 36 h,纳豆激酶活力达 152.5 FU/mL,且发酵产物富含谷物多酚(0.109 mg/mL)。殷凯欣等^[14]研究发现以乙醇浓度 30%、提取时间 80 min、提取温度 61 °C、料液比 1:15(g/mL)的条件下田菁纳豆多酚提取量为 119.24 mg/g,具有较好抗氧化活性。Li 等^[15]研究发现发酵 12 h 后,纳豆芽孢杆菌中 β -葡萄糖苷酶活性达到最高水平,纳豆中游离黄酮含量比大豆增加了 3.2 倍。杨文丽等^[16]研究发现纳豆多糖是由岩藻糖、木糖醇、甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成的具有三螺旋结构的杂多糖。现有的研究报告,纳豆的品种少(主要集中在大豆纳豆)、纳豆质量评价标准单一(主要为纳豆激酶),纳豆的品种和功能活性成分未被充分挖掘。

本研究选用常见的 10 种豆子(大豆、黑豆、赤小

豆、绿豆、扁豆、鹰嘴豆、菜豆、豌豆、红豆和豇豆)制备了不同品种的纳豆,对纳豆中纳豆激酶、多酚、纳豆多糖和 γ -氨基丁酸 4 种重要的功能活性成分以及纳豆芽孢杆菌进行了比较分析,为开发新型纳豆产品和建立纳豆质量评价新标准提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大豆 东农 252;黑豆(高淳黑豆)、扁豆(赤峰小白扁豆)、鹰嘴豆、豌豆、赤小豆(大红袍赤豆)、红豆(东北红豆)、绿豆(明光绿豆) 购于黑龙江省哈尔滨市;菜豆(SJ-0052)、豇豆(鄂豇豆 2 号) 湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心提供;纳豆芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* natto, CICC 10263) 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心;凝血酶 1000 U,索莱宝公司;尿素酶 1280 IU,乐研公司;纤维蛋白原 纯度 99%,罗恩公司;反式阿魏酸、4-羟基苯甲酸、没食子酸、苯丙氨酸、3,4-二羟基苯甲酸、3,4-二羟基苯甲醛、儿茶素、香草酸、咖啡酸、丁香酸、表儿茶素、香草醛、对香豆酸、丁香醛、水杨酸、芥子酸、苯甲酸、氯化肉桂酸、反式肉桂酸、右旋糖酐 纯度均不低于 98%,美国 Sigma 公司;牛血清白蛋白、福林酚试剂 纯度 99%,国药集团化学试剂有限公司; γ -氨基丁酸 纯度 99%,麦克林公司;没食子酸、七水合硫酸亚铁、三氯乙酸(Trichloroacetic acid, TCA) 分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

Freezone 6 Plus 冷冻干燥机 美国 LABCONCO 公司;Multiskan Go 1510 全波长酶标仪、U3000 高效液相色谱仪、Vanquish 超高效液相色谱、Q Exactive 高分辨质谱 美国 Thermo 公司;SPX-150B-Z 型生化培养箱 上海博迅实业有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 纳豆制备工艺 参考刘彦敏等^[17]制备纳豆的方法。将纳豆芽孢杆菌划线接种至 LB 培养基,于 37 °C 下培养 48 h,挑取纳豆芽孢杆菌单菌落于 LB 液体培养基中,37 °C 摇床培养 18 h,得到种子液。挑选完整粒径均匀的豆子,清洗后在 25 °C 下浸泡 16 h(料液比为 1:3)。沥干水后于 121 °C 蒸煮 30 min,冷却后以 5%(质量比)接种量将菌株种子液接种于豆子,搅拌均匀,置于 37 °C 发酵培养 24 h,4 °C 后熟 24 h。取部分纳豆直接测定纳豆激酶活力和纳豆芽孢杆菌活菌数,剩余部分纳豆冷冻后置于冷冻干燥机,在-80 °C 条件下冷冻干燥 18 h 磨成纳豆粉后置于-20 °C 冰箱储存备用。

1.2.2 纳豆激酶活力测定 参考 Astrup 等^[18]的方法,

采用纤维蛋白平板法测定纳豆激酶活力。吸取 10 μL 尿激酶标准品(80、280、480、680、880、1080、1280 U/mL)点样于纤维蛋白平板, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 18 h。用游标卡尺测量透明圈直径, 计算透明圈面积。以测定的溶解圈面积(A)的自然对数值为横坐标, 以尿激酶标准品浓度(C)的自然对数值为纵坐标, 得线性回归方程为: $\text{LnA}=1.1543\text{LnC}+0.9764$, $R^2=0.9975$ 。一个酶活力单位(U)定义为 1 min 内水解纤维蛋白产生 0.01 mm^2 透明圈所需要的酶量。

1.2.3 酚类物质测定

1.2.3.1 总酚含量测定 参考唐双庆等^[19]的方法, 采用福林酚法测定纳豆中总酚含量。称取 1 g 冻干纳豆粉, 加入 20 mL 体积分数 80% 的丙酮, 涡旋 10 min, 上清液过滤(0.22 μm), 收集滤液, 重复两次后将所得滤液旋转蒸发至 10 mL, 定容至 25 mL。以没食子酸溶液浓度为横坐标, 吸光值为纵坐标, 得线性回归方程: $y=2.9566x+0.0543$, $R^2=0.9994$ 。取 0.5 mL 样品溶液, 加入 0.5 mL 福林酚试剂, 摇匀后静置 30 s。加入 10 g/100 mL 碳酸钠溶液 3.0 mL, 定容至 5.0 mL, 避光反应 30 min, 760 nm 处测定吸光值。结果用毫克没食子酸当量(GAE)每克纳豆粉表示(mg GAE/g), 以干质量计。

$$\text{总酚含量(mg GAE/g)} = \frac{C \times V \times F}{M} \quad \text{式(1)}$$

式中: C 为样品质量浓度, mg/mL; V 为样品定容体积, mL; M 为样品质量, g; F 为稀释因子。

1.2.3.2 酚类组成测定 参考 Zhuang 等^[20]的方法, 采用超高液相色谱-质谱联用(外标法定量)的方法测定纳豆中 19 种酚酸含量。称取 1 g 冻干纳豆粉, 加入 2 mL 4 mol/L NaOH, 于 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅, 水解 2 h。用 4 mol/L HCl 将调节 pH 至 2, 加入 2 mL 正己烷, 振荡 20 min 后除去正己烷。加入 2 mL 乙酸乙酯提取水层, 重复两次后于 35 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发器上减压浓缩至接近干燥。加入 200 μL 50% 甲醇-水溶液, 溶解后待测。色谱条件: 色谱柱为 Waters HSS T3(50 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm); 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: A 相: 0.1% 乙酸-水溶液, B 相: 乙腈(含 0.1% 乙酸); 进样量: 2 μL ; 洗脱梯度: 0.0~2.0 min A/B (v/v=90:10), 2.0~6.0 min A/B (v/v=90:10), 6.0~8.0 min A/B (v/v=40:60), 8.1~12.0 min A/B (v/v=90:10)。质谱条件: 采用电喷雾离子源; 扫描模式: Full MS(范围: 100~900 m/z; 方式: 负离子); 鞘气流速: 40 arb, 辅气流速: 10 arb; 离子喷雾电压: -2800 V; 温度: 350 $^{\circ}\text{C}$; 离子传输管温度: 320 $^{\circ}\text{C}$ 。利用软件 Trace Finder 处理质谱数据, 根据仪器导出数据进行人工数据处理, 计算公式如下:

$$\text{酚酸含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V \times F \times 10^{-3}}{M} \quad \text{式(2)}$$

式中: C 为仪器读取浓度, ng/mL; V 为样品提取液体积, mL; M 为样品称取总量, g; F 为稀释因子。

1.2.4 纳豆多糖提取与测定

1.2.4.1 纳豆多糖提取 参考屈雅宁等^[21]的方法提取纳豆的粗多糖。称取 12 g 冻干纳豆粉, 加入 95% 乙醇(w/v=1:10), 振荡 6 h, 以 4300 \times g 离心 10 min, 收集沉淀, 70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干。加入蒸馏水(w/v=1:20), 95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴提取 6 h, 冷却后以 4300 \times g 离心 10 min, 收集清液。等体积加入 3% TCA 以除去蛋白质, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置过夜, 以 7700 \times g 离心 10 min, 收集清液。等体积加入无水乙醇, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置过夜, 以 7700 \times g 离心 10 min, 收集沉淀, 冷冻干燥得粗多糖, 按式(3)计算纳豆中粗多糖得率。

$$\text{粗多糖得率}(\%) = \frac{\text{冻干后粗多糖的质量(g)}}{\text{原料质量(g)}} \times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.2.4.2 纳豆多糖化学组成测定 以葡萄糖为标准品, 采用苯酚-硫酸法^[22]测定样品中总糖含量, 得线性回归方程: $y=3.4157x+0.071$, $R^2=0.9985$ 。以半乳糖醛酸为标准品, 采用间羟基联苯比色法^[23]测定样品中糖醛酸含量, 得线性回归方程: $y=2.7071x+0.0479$, $R^2=0.9985$ 。以牛血清蛋白为标准品, 采用 Bradford 法^[24]测定样品中蛋白质含量, 得线性回归方程: $y=1.8714x+0.1424$, $R^2=0.9927$ 。

$$\text{总糖含量}(\%) = \frac{C \times V \times F}{M} \times 100 \quad \text{式(4)}$$

$$\text{糖醛酸含量}(\%) = \frac{C \times V}{M} \times 100 \quad \text{式(5)}$$

$$\text{蛋白质量}(\%) = \frac{C \times V \times F}{M} \times 100 \quad \text{式(6)}$$

式中: C 为样品质量浓度, mg/mL; V 为样品定容体积, mL; M 为样品质量, mg; F 为稀释因子。

1.2.4.3 纳豆多糖分子量测定 参考 Liu 等^[25]的方法, 采用 HPGPC 串联柱测定多糖样品的分子量分布。以不同右旋糖酐标准品相对分子质量的对数值为纵坐标, 以相应色谱峰的保留时间(t)为横坐标, 得 $\lg M_w$ -t(重均分子量)、 $\lg M_p$ -t(峰位分子量)、 $\lg M_n$ -t(数均分子量)校正曲线 $\lg M_w = -0.1761t + 11.0299$, $R^2=0.9927$ 、 $\lg M_p = -0.1678t + 10.6291$, $R^2=0.9916$ 、 $\lg M_n = -0.1674t + 10.5361$, $R^2=0.9937$ 。色谱条件: 流动相: 0.05 mol/L NaCl 溶液; 检测器: 示差检测器(RID); 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 0.65 mL/min; 进样量: 30 μL 。

1.2.5 γ -氨基丁酸含量测定 参考李朔等^[26]的方法, 称取 1 g 冻干纳豆粉, 加入 6 mL 蒸馏水, 超声 10 min, 静置 5 min。取上清液 2 mL 加入活性炭, 混匀, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置过夜, 以 7700 \times g 离心 10 min, 收集清液。取 0.3 mL 上清液, 加入 0.2 mL 0.2 mol/L 硼酸盐缓冲液(pH9.0)、1 mL 6% 苯酚溶液和 0.8 mL 5% 次氯酸钠溶液, 涡旋混匀, 沸水水浴 10 min, 冰水浴 15 min。涡旋至溶液呈蓝色, 加入 2 mL 60% 乙醇溶液, 645 nm 处测定吸光值。 γ -氨基丁酸含量以干重计。

$$\gamma\text{-氨基丁酸}(\text{mg/g}) = \frac{C \times V \times F}{M} \quad \text{式 (7)}$$

式中, C 为样品质量浓度, mg/mL; V 为样品定容体积, mL; M 为样品质量, g; F 为稀释因子。

1.2.6 纳豆芽孢杆菌活菌数测定 参考 GB 4789.2-2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》采用平板计数法测定纳豆芽孢杆菌活菌数^[27]。吸取 0.1 mL 不同稀释度的样品匀液, 加入至平板计数琼脂平板内, 涂布均匀, 每个稀释度做三个平皿。37±1 °C 培养 48±2 h, 计数。吸取 0.1 mL 空白稀释液加入平板计数琼脂平板内做空白对照。

1.3 数据处理

所有实验均重复 3 次, 实验结果以平均值±标准偏差表示。采用 SPSS(version 25.0)进行单因素方差分析和 Duncan 多重比较检验, $P < 0.05$ 表明具有显著性差异。使用 Origin 2021 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 不同品种纳豆制备结果

10 种不同品种的纳豆如图 1 所示。10 种纳豆豆粒均完整。大豆纳豆颜色金黄; 黑豆纳豆、赤小豆纳豆和绿豆纳豆呈暗褐色; 扁豆纳豆、鹰嘴豆纳豆和菜豆纳豆呈暗黄色; 豌豆纳豆呈暗绿色, 红豆纳豆和豇豆纳豆呈棕红色。鹰嘴豆纳豆、豌豆纳豆、绿豆纳豆、菜豆纳豆和豇豆纳豆拉丝细长均匀, 且黏液量

多。黑豆纳豆、赤小豆纳豆和红豆纳豆的粘丝均呈白色块状。于江森等^[11] 研究发现发酵条件为浸泡 15 h, 蒸煮 30 min, 接种量 4%, 37 °C 发酵 18 h, 制备的黑豆纳豆豆粒饱满有光泽, 拉丝物质均匀附着在黑豆表面。刘彦敏等^[17] 研究发现 8 株枯草芽孢杆菌菌株中 HN48 和 TC100 菌株发酵的纳豆感官效果最好, 黏液多, 拉丝长。从纳豆外观形态评价, 大豆、鹰嘴豆、豌豆、绿豆、菜豆和豇豆均为制作纳豆的理想原料。

2.2 不同品种纳豆的纳豆激酶活力结果分析

纳豆的纳豆激酶活力如图 2 所示, 不同品种纳豆的纳豆激酶活力差异显著 ($P < 0.05$), 纳豆激酶活力在 985.31~2453.18 U/g 之间, 其中鹰嘴豆纳豆 (2453.18±75.61 U/g) 的纳豆激酶活力显著高于其他品种纳豆 ($P < 0.05$)。现有研究有关不同品种纳豆中纳豆激酶活力的范围为 216.98~1140 U/g^[9,10,28], 部分较高纳豆激酶活力为 1689~3269.38 U/g^[12,29]。本研究中纳豆激酶活力高于 2000 U/g 的纳豆品种有鹰嘴豆纳豆 (2453.18±75.61 U/g)、黑豆纳豆 (2329.22±148.75 U/g)、豌豆纳豆 (2104.53±147.19 U/g) 和红豆纳豆 (2112.11±153.02 U/g), 与国内已有研究的纳豆制品中纳豆激酶活力比较处于较高水平。菜豆纳豆和扁豆纳豆的纳豆激酶活力较低, 分别为 1021.30±46.89 和 985.31±68.67 U/g, 两者之间差异不显著



图 1 10 种不同品种的纳豆

Fig.1 Ten different varieties of natto

($P>0.05$)。张杰等^[30]研究发现 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 对纳豆激酶活性具有促进作用, Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 有明显抑制作用。Venkidasamy 等^[31]研究发现黑豆、鹰嘴豆和豌豆中钙和镁含量较高, 菜豆中铁和铜含量较高。赵谋明等^[5]研究发现纳豆芽孢杆菌在发酵过程中对可溶性蛋白与还原糖的消耗量较大, 提高氮源和碳源比例可提高纳豆激酶活力至 834.91 U/mL。Liu 等^[32]研究发现以大豆为底物发酵的纳豆激酶活力高达 9582 FU/mL。这可能是由于蛋白质含量高的底物能通过氧化磷酸化积累 NADH 和丙酮酸, 增加微生物细胞密度, 启动纳豆激酶合成; 而蛋白质不足会导致氨基酸缺乏, 从而限制微生物细胞生长, 阻碍纳豆激酶的合成。Kdamar 等^[33]研究发现大豆和黑豆的蛋白质含量(35.1%~42%)高于菜豆(20.9%~27%)、豌豆(18.3%~31%)、鹰嘴豆(15.5%~28.2%)、豇豆(23.5%)和绿豆(22.9%~23.6%)等豆子。10种豆子中矿物质(Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 等)和蛋白质含量不同是纳豆激酶活力存在差异的重要原因。

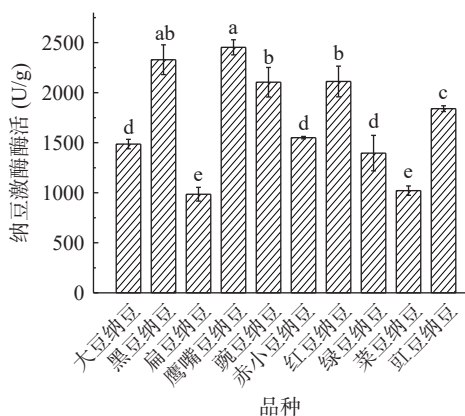


图2 10种不同品种纳豆的纳豆激酶活性

Fig.2 Nattokinase activities of ten different varieties of natto
注: 图中不同字母表示差异显著($P<0.05$); 图3、图6、图7同。

2.3 不同品种纳豆的酚类物质比较

2.3.1 总酚含量 10种不同品种纳豆的总酚含量如图3所示。不同品种纳豆中总酚含量差异显著($P<0.05$), 总酚含量在 1.44~3.21 mg GAE/g, 大豆纳

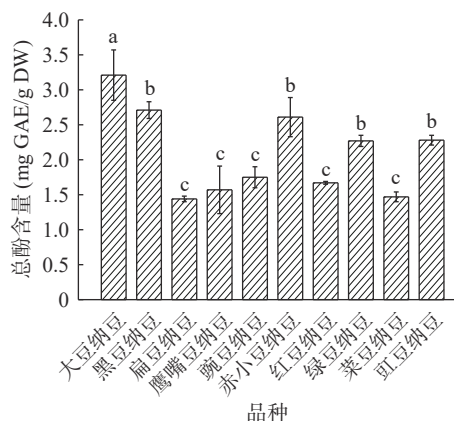


图3 10种不同品种纳豆的总酚含量

Fig.3 Total phenolic contents of ten different varieties of natto

豆中总酚含量显著高于其他品种纳豆($P<0.05$)。其中, 绿豆纳豆(2.27±0.09 mg GAE/g)和豇豆纳豆(2.28±0.08 mg GAE/g)的总酚含量与刘仙俊等^[34](2.16~2.18 mg/g)研究结果相似。菜豆纳豆(1.47±0.07 mg GAE/g)、豌豆纳豆(1.75±0.15 mg GAE/g)和扁豆纳豆(1.44±0.04 mg GAE/g)的总酚含量与唐双庆等^[19](1.57~1.98 mg GAE/g)研究结果相似。纳豆中总酚含量与其抗氧化生物活性相关。王何柱等^[35]研究发现7种不同花色的芸豆中, 黑色芸豆的酚类物质含量最高(48.73±2.68 mg/g), 且其抗氧化能力最强。大豆纳豆、黑豆纳豆和赤小豆纳豆中总酚含量较高, 可能具有更好的抗氧化能力。

2.3.2 总酚中酚酸物质的组成 纳豆的酚酸物质的组成见图4和表1, 不同品种纳豆中酚酸物质组成含量差异显著($P<0.05$), 酚酸物质总含量在 19.754~183.902 $\mu\text{g/g}$, 大豆纳豆的酚酸物质总含量显著高于其他品种纳豆($P<0.05$)。扁豆纳豆和鹰嘴豆纳豆的酚酸物质的组成和含量相似, 总含量均较低, 两者之间差异不显著($P>0.05$)。黑豆纳豆、绿豆纳豆和豇豆纳豆共鉴定出19种酚酸及其衍生物; 赤小豆纳豆、红豆纳豆和菜豆纳豆中检测出18种; 扁豆纳豆、豌豆纳豆和大豆纳豆中检测出17种; 而鹰嘴豆纳豆中仅鉴定出16种。仅黑豆纳豆、绿豆纳豆和豇豆纳豆的酚酸物质组成中含有表儿茶素, 且含量均低于 0.10 $\mu\text{g/g}$ 。大豆纳豆和黑豆纳豆中酚类物质组成相似, 以丁香酸、芥子酸、反式阿魏酸、对香豆酸和香草酸为主, 大豆纳豆中没食子酸的含量显著高于其他纳豆($P<0.05$), 黑豆纳豆中儿茶素的含量显著高于其

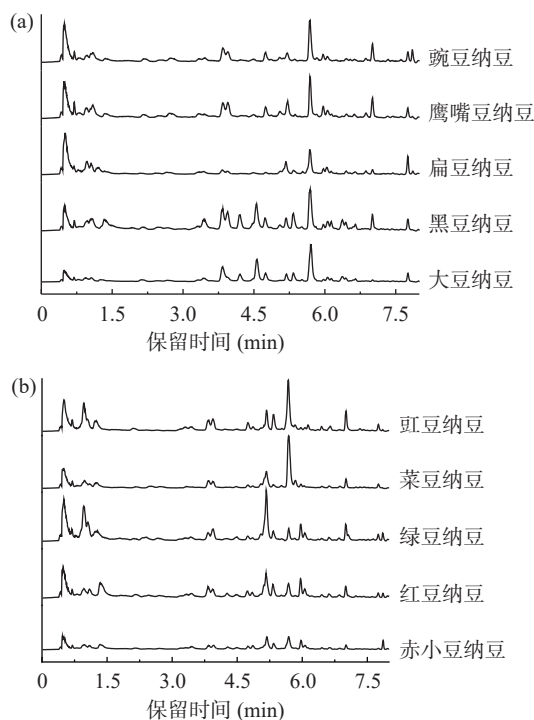


图4 10种纳豆中酚类物质的总离子流图

Fig.4 Total ion chromatogram of phenols from ten varieties of natto

表 1 10 种纳豆中酚类物质的组成和含量(μg/g)
Table 1 Composition and content of phenols from ten varieties of natto (μg/g)

酚类物质	大豆纳豆	黑豆纳豆	扁豆纳豆	鹰嘴豆纳豆	豌豆纳豆	赤小豆纳豆	红豆纳豆	绿豆纳豆	菜豆纳豆	豇豆纳豆
没食子酸	0.132±0.010 ^a	0.025±0.002 ^{abc}	0.014±0.001 ^{ef}	0.016±0.002 ^{def}	0.007±0.001 ^f	0.044±0.009 ^b	0.026±0.002 ^{cd}	0.030±0.007 ^c	0.013±0.003 ^{ef}	0.021±0.000 ^{def}
苯丙氨酸	10.789±0.090 ^c	6.762±0.139 ^c	9.174±0.790 ^d	12.420±0.710 ^b	6.768±0.302 ^e	12.439±1.014 ^b	12.838±0.478 ^b	15.931±0.205 ^a	7.130±0.232 ^e	1.241±0.055 ^f
3,4-二羟基苯甲酸	0.144±0.008 ^{ef}	2.012±0.176 ^a	0.019±0.001 ^f	0.009±0.002 ^f	0.034±0.001 ^f	1.058±0.146 ^b	0.387±0.041 ^e	0.169±0.015 ^{de}	0.017±0.002 ^f	0.282±0.005 ^{cd}
3,4-二羟基苯甲醛	0.016±0.001 ^e	1.531±0.057 ^b	0.027±0.004 ^e	0.014±0.002 ^e	0.030±0.008 ^e	1.380±0.177 ^c	0.733±0.076 ^d	0.718±0.082 ^d	0.021±0.002 ^e	1.882±0.036 ^a
4-羟基苯甲酸	5.658±0.391 ^b	8.350±0.527 ^a	1.648±0.136 ^f	1.191±0.105 ^e	1.526±0.179 ^{bc}	4.241±0.117 ^c	2.411±0.145 ^c	2.131±0.190 ^c	0.544±0.087 ^b	3.645±0.083 ^d
儿茶素	ND	0.122±0.016 ^a	ND	ND	ND	0.014±0.000 ^d	0.016±0.003 ^{cd}	0.025±0.002 ^c	0.006±0.001 ^d	0.050±0.003 ^b
香草酸	14.810±0.558 ^a	14.718±0.334 ^a	0.204±0.024 ^e	0.057±0.005 ^e	0.370±0.077 ^e	0.857±0.134 ^b	0.136±0.011 ^c	0.124±0.010 ^c	0.106±0.007 ^c	0.794±0.017 ^b
咖啡酸	0.037±0.001 ^e	0.098±0.000 ^{bc}	0.009±0.001 ^f	ND	0.009±0.001 ^f	0.241±0.044 ^a	0.087±0.015 ^c	0.078±0.005 ^{cd}	0.059±0.008 ^{de}	0.124±0.006 ^b
丁香酸	54.342±2.021 ^a	27.242±1.248 ^b	0.272±0.051 ^e	0.046±0.009 ^e	0.077±0.000 ^e	0.139±0.013 ^c	0.059±0.010 ^c	0.032±0.001 ^c	0.113±0.009 ^e	0.113±0.006 ^c
表儿茶素	ND	0.035±0.00 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	0.008±0.000 ^c	ND	0.014±0.001 ^b
香草醛	0.205±0.021 ^{bc}	0.166±0.013 ^c	0.258±0.045 ^b	0.223±0.019 ^{bc}	0.378±0.056 ^a	0.198±0.024 ^{bc}	0.209±0.030 ^{bc}	0.204±0.057 ^{bc}	0.269±0.045 ^b	0.214±0.012 ^{bc}
对香豆酸	19.417±0.915 ^b	17.718±1.757 ^c	3.145±0.324 ^f	0.196±0.014 ^e	0.542±0.064 ^e	11.980±0.532 ^d	12.456±0.529 ^d	7.738±0.547 ^c	4.163±0.308 ^f	22.789±1.385 ^a
丁香醛	0.369±0.043 ^a	0.214±0.031 ^{bc}	0.164±0.035 ^e	0.060±0.012 ^{de}	0.263±0.054 ^b	0.157±0.027 ^c	0.094±0.016 ^d	0.020±0.000 ^e	0.387±0.046 ^a	0.081±0.015 ^d
水杨酸	0.741±0.047 ^c	0.562±0.097 ^{ef}	2.069±0.169 ^e	0.136±0.028 ^e	0.413±0.045 ^f	4.633±0.275 ^b	1.302±0.115 ^d	0.549±0.081 ^{ef}	0.427±0.028 ^f	6.464±0.123 ^a
反式阿魏酸	28.959±1.125 ^b	25.822±0.973 ^c	0.571±0.044 ^e	0.097±0.022 ^e	7.434±0.446 ^d	5.242±0.131 ^d	2.188±0.280 ^e	1.113±0.063 ^c	43.106±1.206 ^a	44.642±3.709 ^a
芥子酸	36.033±0.000 ^a	10.985±0.562 ^c	0.418±0.051 ^f	0.164±0.017 ^e	2.501±0.324 ^d	2.473±0.234 ^d	2.458±0.197 ^d	0.070±0.000 ^f	15.277±0.265 ^b	1.381±0.049 ^c
苯甲酸	11.071±0.159 ^a	9.339±0.489 ^b	2.979±0.262 ^e	5.058±0.630 ^e	3.501±0.186 ^f	6.834±0.098 ^c	6.409±0.173 ^{cd}	5.901±0.239 ^d	1.700±0.104 ^b	2.883±0.134 ^e
氯化肉桂酸	0.083±0.008 ^a	0.054±0.007 ^b	0.010±0.002 ^e	0.019±0.004 ^d	0.009±0.001 ^e	0.031±0.006 ^c	0.018±0.003 ^d	0.016±0.001 ^d	0.012±0.001 ^e	0.036±0.003 ^c
反式肉桂酸	1.095±0.115 ^a	0.63±0.06 ^b	0.098±0.016 ^d	0.047±0.010 ^d	0.038±0.005 ^d	0.585±0.061 ^b	0.570±0.073 ^b	0.070±0.009 ^d	0.123±0.008 ^d	0.299±0.016 ^c
总计	183.902±4.191 ^a	126.382±2.030 ^b	21.083±1.151 ^b	19.754±1.483 ^b	23.900±1.111 ^b	52.546±0.940 ^c	42.396±1.174 ^c	34.927±0.077 ^e	73.470±1.441 ^d	86.955±5.610 ^e

注: 所有结果以样品干质量计(n=3); ND: 未检测到或含量过低; 同行不同字母上标表示不同纳豆中相似成分含量差异显著(P<0.05)。

他纳豆(P<0.05)。扁豆纳豆、赤小豆纳豆、红豆纳豆和绿豆纳豆中的酚类物质均以苯丙氨酸、对香豆酸和苯甲酸为主。豇豆纳豆的酚酸物质组成中 3,4-二羟基苯甲醛、对香豆酸和水杨酸显著高于其他纳豆(P<0.05),对香豆酸含量是鹰嘴豆纳豆的 116.27 倍。鹰嘴豆纳豆和豌豆纳豆中对香豆酸的含量显著低于其他品种纳豆,两者之间差异不显著(P>0.05)。菜豆纳豆和豇豆纳豆中反式阿魏酸的含量显著高于其他品种纳豆,两者之间差异不显著(P>0.05),分别是鹰嘴豆纳豆中反式阿魏酸的含量的 444 倍和 460 倍。10 种纳豆中仅鹰嘴豆纳豆中未检测出咖啡酸,赤小豆纳豆中咖啡酸的含量显著高于其他纳豆(P<0.05)。Oh 等^[36]研究表明牛蒡叶子中含有大量的对香豆酸(49.28±0.07 mg/g),对慢性限制性应激诱导的抑郁小鼠具有抗抑郁作用。Lou 等^[37]研究发现补充阿魏酸可以减少体内尿酸的产生,从而改善高尿酸血症。10 种不同品种纳豆的酚酸组成不同,赋予纳豆不同的生物活性。

2.4 不同品种的纳豆多糖比较

2.4.1 纳豆多糖得率与组成 纳豆多糖得率与组成如表 2 所示,不同品种纳豆多糖的得率和组成差异显著(P<0.05),多糖得率在 1.03%~15.11%,菜豆纳豆多糖得率显著高于其他品种纳豆多糖(P<0.05),黑豆纳豆和大豆纳豆的多糖得率较低,两者之间差异不显著(P>0.05)。不同品种纳豆多糖总糖含量在 21.86%~58.40%,大豆纳豆多糖的总糖含量显著低于其他纳豆(P<0.05)。不同品种纳豆多糖的糖醛酸含量在 4.26%~15.09%,菜豆纳豆多糖和豇豆纳豆多糖的糖醛酸含量显著高于其他品种纳豆多糖(P<0.05),两者之间差异不显著(P>0.05)。豇豆纳豆多糖、黑豆纳豆多糖、大豆纳豆多糖和扁豆纳豆多糖中糖醛酸含量与屈雅宁等^[21]研究结果相近。多糖分子中糖醛酸的含量与多糖的溶解性质和生物活性密切相关。Wu 等^[38]研究发现从蔷薇多糖中分离出的 WSRP-2b 的糖醛酸含量(74.73%±3.43%)高于 WSRP-2a (61.46%±2.29%),体外降血糖活性(对 α-淀粉酶的抑

表 2 10 种纳豆多糖的含量和组成
Table 2 Content and chemical composition of polysaccharide from ten varieties of natto

指标	大豆纳豆	黑豆纳豆	扁豆纳豆	鹰嘴豆纳豆	豌豆纳豆	赤小豆纳豆	红豆纳豆	绿豆纳豆	菜豆纳豆	豇豆纳豆
得率(%)	1.03±0.18 ^c	2.38±0.52 ^c	9.93±1.28 ^{cd}	8.15±1.03 ^d	10.12±1.34 ^{cd}	12.45±1.71 ^b	10.45±1.88 ^{bcd}	12.09±1.22 ^{bc}	15.11±1.52 ^a	3.18±0.95 ^c
总糖(%)	21.86±1.23 ^f	31.03±1.11 ^e	45.32±1.16 ^d	57.23±0.85 ^a	56.99±1.69 ^a	48.79±1.94 ^c	51.53±2.84 ^b	58.40±1.71 ^a	57.97±1.42 ^a	48.59±0.45 ^c
糖醛酸(%)	7.21±0.43 ^{bc}	8.20±0.74 ^b	4.26±0.43 ^c	5.00±0.85 ^c	4.51±0.74 ^c	4.75±1.12 ^c	4.76±0.85 ^c	6.48±1.70 ^{bc}	15.09±3.33 ^a	13.87±2.37 ^a
蛋白质(%)	3.05±0.89 ^a	3.12±0.43 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

注: %: 质量百分比; ND: 未检测到或含量过低; 同行不同字母上标表示不同纳豆中相似成分含量差异显著(P<0.05)。

制能力)显著高于 WSRP-2a($P<0.05$)。高糖醛酸含量的菜豆纳豆多糖和豇豆纳豆多糖可能具有更好的生物活性。10种纳豆多糖在脱蛋白质处理后,仅黑豆纳豆和大豆纳豆的粗多糖样品中含有少量蛋白质。沈柱英等^[39]研究发现从纳豆中提取的糖蛋白具有一定的免疫调节作用。大豆多糖和黑豆多糖可能存在糖蛋白结构,可能具有免疫调节活性。

2.4.2 纳豆多糖分子量 纳豆多糖分子量如图5所示,不同品种纳豆多糖的分子量差异较大,其分布在1.222~262.529 kDa之间。绿豆纳豆、豌豆纳豆和扁豆纳豆中多糖的分子量分布相似,分别以36.647 kDa(72.02%)、37.641 kDa(69.83%)和48.616 kDa(64.65%)的组分为主。赤小豆纳豆多糖、红豆纳豆多糖和豇豆纳豆多糖的分子量分布相似,分别以分子量为58.111 kDa(54.30%)与202.769 kDa(35.76%)、48.067 kDa(58.10%)与214.961 kDa(34.73%)、66.029 kDa(42.76%)与262.529 kDa(38.67%)的组分为主。黑豆纳豆多糖、鹰嘴豆纳豆多糖和绿豆纳豆多糖的分子量与Zhu等^[7]报道的黑豆、鹰嘴豆和绿豆多糖的分子量分别为195 kDa、768 kDa和

208 kDa有较大差异,可能是纳豆芽孢杆菌发酵过程中分泌的酶对多糖小分子修饰和重组,改变了多糖的分子量^[40]。由表3可知,不同品种的纳豆多糖的分散系数(Mw/Mn)为1.26~1.65,其中大豆纳豆多糖和黑豆纳豆多糖的分散系数接近1,表明两者均一性较好。屈雅宁等^[21]研究发现利用枯草芽孢杆菌发酵后的8种豆粉粗多糖分子量从0.45~14.80 kDa增加至18.00~56.56 kDa,抗氧化活性显著提高($P<0.5$)。Chen等^[41]研究发现利用酿酒酵母和纳豆芽孢杆菌发酵后的麦麸多糖分子量从52.02 kDa降低至21.19 kDa,对脂质过氧化和细胞死亡具有较好的保护作用。分子量是影响多糖的生物活性的重要因素,分子量过大的多糖无法进入细胞,无法发挥其活性;而分子量过小的多糖难以形成高级结构,影响生物活性^[42]。Bai等^[43]研究发现红芸豆多糖和小黑豆多糖对2型糖尿病小鼠均有缓解作用,且对肝功能障碍具有保护作用。王文韬等^[44]研究发现绿豆多糖具有较强的自由基清除能力。Zhu等^[45]研究发现鹰嘴豆多糖CWP-0.2(15.8 kDa)具有较好的体外抗氧化和免疫调节活性。不同纳豆品种的分子量分布差异,赋予了纳豆多糖不同的生物活性。

2.5 不同品种纳豆的γ-氨基丁酸结果分析

纳豆中γ-氨基丁酸的含量如图6所示,不同品种纳豆中γ-氨基丁酸含量差异显著($P<0.05$),γ-氨基丁酸含量在4.97~15.99 mg/g,γ-氨基丁酸含量最高的为豇豆纳豆,最低的为菜豆纳豆,两者相差3.22倍。Venkidasamy等^[31]研究发现菜豆中锰(20 mg/100 g)含量明显高于其他豆子。现有报道关于不同

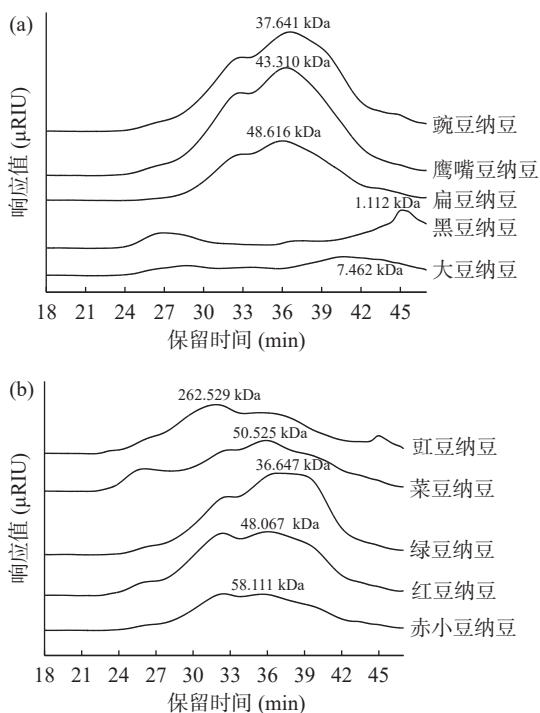


图5 10种纳豆多糖的HPGPC色谱图

Fig.5 HPGPC chromatogram of polysaccharide from ten varieties of natto

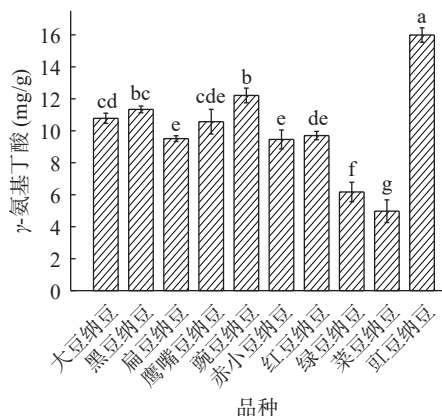


图6 10种纳豆中γ-氨基丁酸的含量

Fig.6 Contents of γ-aminobutyric acid in ten varieties of natto

表3 10种纳豆多糖的分子量

Table 3 Molecular weight of polysaccharide from ten varieties of natto

品种	大豆纳豆	黑豆纳豆	扁豆纳豆	鹰嘴豆纳豆	豌豆纳豆	赤小豆纳豆	红豆纳豆	绿豆纳豆	菜豆纳豆	豇豆纳豆				
保留时间(min)	40.642	44.467	45.105	36.02	32.777	36.651	32.498	35.58	32.354	36.048	36.717	35.925	31.861	35.365
Mw(kDa)	7.462	1.582	1.222	48.616	181.080	37.641	202.769	58.111	214.961	48.067	36.647	50.525	262.529	66.029
Mn(kDa)	5.403	1.237	0.967	32.089	112.003	25.161	124.720	38.020	131.838	31.744	24.529	33.285	159.429	42.928
Mp(kDa)	6.447	1.471	1.149	38.454	134.623	30.134	149.946	45.580	158.525	38.040	29.376	39.892	191.789	51.479
Mw/Mn	1.38	1.28	1.26	1.52	1.62	1.50	1.63	1.53	1.63	1.51	1.49	1.52	1.65	1.54

品种豆子及纳豆中 γ -氨基丁酸的较少。田璐等^[46]研究发现发芽大豆中 γ -氨基丁酸含量高达 1.24 mg/g DW, 经纳豆芽孢杆菌发酵后大豆中 γ -氨基丁酸含量升至 3.87 mg/g DW。郭小雨等^[47]研究发现以新疆卡布里鹰嘴豆作为富集 γ -氨基丁酸的发酵基质, 经短乳杆菌 30 °C 发酵 24 h 后鹰嘴豆酸面团 γ -氨基丁酸含量为 149.77 mg/100 g, 是鹰嘴豆面团(3.03 mg/100 g)的 49.43 倍。

2.6 不同品种纳豆的纳豆芽孢杆菌活菌数结果分析

纳豆中纳豆芽孢杆菌活菌数如图 7 所示, 不同品种纳豆中纳豆芽孢杆菌活菌数差异显著($P<0.05$), 在 $10^7\sim 10^9$ CFU/g 之间, 与李宏梁等^[48]研究报道的国产与进口纳豆中纳豆芽孢杆菌活菌数结果相近。扁豆纳豆中纳豆芽孢杆菌的活菌数(6.5×10^9 CFU/g)显著高于其他品种纳豆($P<0.05$)。贾睿等^[49]研究发现红豆皮多酚含有没食子酸、绿原酸和咖啡酸等酚类物质, 对李斯特菌 ATCC19119 和沙门氏菌 ATCC14028 具有抑制作用。大豆纳豆中没食子酸的含量最高(0.132 ± 0.010 $\mu\text{g/g}$), 赤小豆纳豆中咖啡酸的含量最高(0.241 ± 0.044 $\mu\text{g/g}$), 这可能对纳豆芽孢杆菌的生长具有一定的抑制作用。González-cruz 等^[50]研究发现菜豆中含有大量的凝集素, 具有较高的抑菌活性。因此, 不同品种纳豆中大豆纳豆、赤小豆纳豆和菜豆纳豆的活菌数较低。

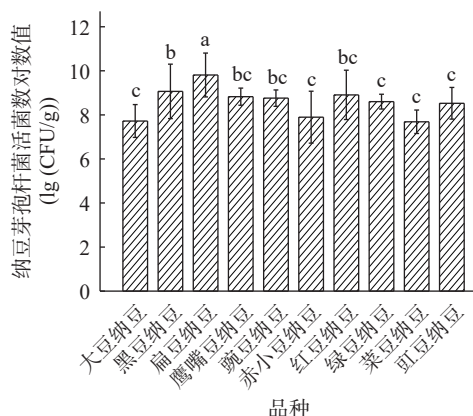


图 7 10 种纳豆中纳豆芽孢杆菌的活菌数
Fig.7 Viable count of *Bacillus subtilis* natto in ten varieties of natto

3 结论

本研究以 10 种不同豆子为原料制备纳豆, 比较分析了这些纳豆中纳豆激酶、多酚、纳豆多糖、 γ -氨基丁酸和纳豆芽孢杆菌活菌数的含量差异。10 种不同品种纳豆的纳豆激酶活力在 985.31~2453.18 U/g 之间, 鹰嘴豆纳豆的纳豆激酶活力显著高于其他品种纳豆($P<0.05$), 豇豆纳豆和绿豆纳豆的拉丝效果最好。10 种纳豆的总酚含量在 1.44~3.21 mg GAE/g, 酚酸物质总含量在 19.754~183.902 $\mu\text{g/g}$, 大豆纳豆中总酚含量和酚酸物质总含量显著高于其他品种纳豆($P<0.05$), 黑豆纳豆、绿豆纳豆和豇豆纳豆中酚类物质组成丰富, 不同品种纳豆间酚酸组成差异较大

($P<0.05$)。10 种纳豆多糖的得率在 1.03%~15.11%, 总糖含量在 21.86%~58.40%, 糖醛酸含量在 4.26%~15.09%, 菜豆纳豆多糖得率、总糖和糖醛酸含量显著高于其他品种纳豆多糖($P<0.05$), 不同纳豆多糖分子量差异较大, 在 1.222~262.529 kDa 之间。 γ -氨基丁酸含量在 4.97~15.99 mg/g, 豇豆纳豆中 γ -氨基丁酸含量显著高于其他品种纳豆($P<0.05$)。纳豆芽孢杆菌活菌数在 $10^7\sim 10^9$ CFU/g 之间, 扁豆纳豆中纳豆芽孢杆菌的活菌数显著高于其他品种纳豆($P<0.05$)。通过对 10 种纳豆的 4 种活性成分比较分析, 综合评价解析了不同品种纳豆的功能特性及适宜的用途。菜豆、黑豆和豇豆是开发新品纳豆的理想原料。以纳豆激酶、多酚、纳豆多糖、 γ -氨基丁酸和纳豆芽孢杆菌的含量作为纳豆质量的新评价标准更全面, 可根据不同豆子的生物活性成分的差异, 筛选不同品种的纳豆的, 为我国豆类资源的开发利用提供科学的依据。但纳豆中活性成分与生物学功能的关系尚不明确, 需在后续研究中进一步探索, 阐明不同豆子发酵纳豆活性物质形成机制和与功能活性的关系。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] HUGHES J, PEARSON E, GRAFENAUER S. Legumes—A comprehensive exploration of global food-based dietary guidelines and consumption[J]. *Nutrients*, 2022, 14(15): 3080.
- [2] 何磊, 于宁, 陈颖. 杂豆营养成分和抗营养因子及其生物学功能研究进展[J]. *粮食与油脂*, 2023, 36(5): 34–39. [HE L, YU N, CHEN Y. Research progress on the nutritional components antinutritional factors and their biological functions in miscellaneous beans[J]. *Cereal & Oils*, 2023, 36(5): 34–39.]
- [3] WANG C, CHEN C, TIAN W, et al. Natto: A medicinal and edible food with health function[J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2023, 15(3): 349–359.
- [4] CAO Z H, GREEN-JOHNSON J M, BUCKLEY N D, et al. Bioactivity of soy-based fermented foods: A review[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(1): 223–238.
- [5] 赵谋明, 邹颖, 林恋竹, 等. 纳豆菌液态发酵荞麦产纳豆激酶及其代谢特性分析[J]. *食品科学*, 2019, 40(4): 178–185. [ZHAO M M, ZOU Y, LIN L Z, et al. Nattokinase production and metabolic characteristics during submerged fermentation of buckwheat using *Bacillus subtilis* natto[J]. *Food Science*, 2019, 40(4): 178–185.]
- [6] 李旋, 毕金峰, 刘璇, 等. 苹果多酚的组成和功能特性研究现状与展望[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(11): 328–340. [LI X, BI J F, LIU X, et al. Research status and prospect on the composition and functional characteristics of apple polyphenols[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(11): 328–340.]
- [7] ZHU Y, FENG X, GUO J, et al. A review of extraction, purification, structural properties and biological activities of legumes polysaccharides[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 1021448.
- [8] 王红波, 魏蜜, 徐媛, 等. 富含 γ -氨基丁酸豆类功能食品的研究进展[J]. *中国调味品*, 2019, 44(6): 190–192. [WANG H B, WEI M, XU Y, et al. Research progress of beans functional food be-

- ing rich in γ -aminobutyric acid[J]. *China Condiment*, 2019, 44(6): 190–192.]
- [9] 付文静, 王家林, 张杰. 赤小豆纳豆发酵工艺的研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(2): 109–113. [FU W J, WANG J J, ZHANG J. The study on the fermentation process of *Phaseolus angularis* natto[J]. *Food Research and Development*, 2018, 39(2): 109–113.]
- [10] 王琳, 高辰哲, 刘丹怡, 等. 响应面法优化红豆纳豆的发酵工艺[J]. *中国酿造*, 2018, 37(1): 190–194. [WANG L, GAO C Z, LIU D Y, et al. Optimization of fermentation process of red bean natto by response surface methodology[J]. *China Brewing*, 2018, 37(1): 190–194.]
- [11] 于江森, 王家林, 张海粟. 黑纳豆固态发酵工艺优化的研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(3): 101–106. [YU J M, WANG J L, ZHANG H L. Study on optimization of solid-state fermentation technology of black natto[J]. *China Condiment*, 2020, 45(3): 101–106.]
- [12] 张俊杰, 郭晨, 尚益民, 等. 鹰嘴豆纳豆优良发酵菌株的筛选与初步鉴定[J]. *中国酿造*, 2018, 37(7): 88–92. [ZHANG J J, GUO C, SHANG Y M, et al. Screening and preliminary identification of superior fermentation strains for chickpea natto[J]. *China Brewing*, 2018, 37(7): 88–92.]
- [13] 卓怡云, 吕婧, 刘颖, 等. 纳豆激酶对大鼠酒精性肝损伤的改善效果及免疫调节作用[J]. *食品科学*, 2019, 40(7): 156–162. [ZHUO Y Y, LÜ J, LIU Y, et al. Nattokinase alleviates alcoholic liver injury and modulates immune function in rats[J]. *Food Science*, 2019, 40(7): 156–162.]
- [14] 殷凯欣, 梁宝静, 王家林, 等. 田菁纳豆多酚提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. *食品研究与开发*, 2024, 45(3): 156–162. [YIN K X, LIANG B J, WANG J L, et al. Extraction technology optimization and antioxidant activity of polyphenols from *Sesbania* natto[J]. *Food Research and Development*, 2024, 45(3): 156–162.]
- [15] LI C, XU T, LIU X W, et al. The expression of β -glucosidase during natto fermentation increased the active isoflavone content[J]. *Food Bioscience*, 2021, 43: 101286.]
- [16] 杨文丽, 杨波, 杨光. 纳豆多糖的理化性质及结构分析[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(20): 132–137. [YNAG W L, YNAG B, YANG G. Physicochemical properties and structural analysis of natto polysaccharides[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(20): 132–137.]
- [17] 刘彦敏, 沈璐, 王康, 等. 传统大豆发酵食品中纳豆芽孢杆菌的分离及纳豆发酵[J]. *食品科学*, 2020, 41(2): 208–214. [LIU Y M, SHEN L, WANG K, et al. Isolation of *Bacillus subtilis* natto from chinese traditional fermented soybean foods and their use in fermentation of natto[J]. *Food Science*, 2020, 41(2): 208–214.]
- [18] ASTRUP T, MÜLLERTZ S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1952, 40(2): 346–351.]
- [19] 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.]
- [20] ZHUANG J, DAI X, ZHU M, et al. Evaluation of astringent taste of green tea through mass spectrometry-based targeted metabolic profiling of polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2020, 305: 125507.]
- [21] 屈雅宁, 许梦粤, 唐双庆, 等. 枯草芽孢杆菌发酵对豆类粗多糖结构与抗氧化活性的影响[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(17): 129–138. [QU Y N, XU M Y, TANG S Q, et al. Effects of the structure and antioxidant activity of legume crude polysaccharides after *Bacillus subtilis* fermentation[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(17): 129–138.]
- [22] DUBIOS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28: 250–256.]
- [23] BLUMENKRANTZ N, ASBOE-HANSEN G. New method for quantitative determination of uronic acids[J]. *Analytical Biochemistry*, 1973, 54(2): 484–489.]
- [24] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1): 248–254.]
- [25] LIU D, SHI Z, WANG S, et al. Anti-oxidant and anti-fatigue properties of polysaccharides from black soybean hull[J]. *International Journal of Food Properties*, 2022, 25(1): 1683–1696.]
- [26] 李朔, 李潇, 张晓黎, 等. 基于高产 γ -氨基丁酸的植物乳杆菌培养基优化[J]. *中国酿造*, 2022, 41(10): 183–188. [LI S, LI X, ZHANG X L, et al. Optimization of medium of *Lactobacillus plantarum* based on high yield γ -aminobutyric acid[J]. *China Brewing*, 2022, 41(10): 183–188.]
- [27] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. GB 4789.2-2022 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定[S]. 北京: 中国标准出版, 2022. [National Health Commission, State Administration for Market Regulation. GB 4789.2-2022 National standards for food safety Microbial examination of food-determination of total number of colonies[S]. Beijing: China Standard Publishing, 2022.]
- [28] 董平, 赵彩霖, 刘阳, 等. 燕麦纳豆制作工艺优化及其抗氧化性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(8): 205–213. [DONG P, ZHAO C L, LIU Y, et al. Optimization of fermentation process of oats-natto and its antioxidant activity[J]. *China Food Additives*, 2023, 34(8): 205–213.]
- [29] 孙娜, 朱秀娟, 何九军, 等. 核桃粕纳豆发酵工艺优化及其品质分析[J]. *中国酿造*, 2023, 42(9): 156–162. [SUN N, ZHU X J, HE J J, et al. Optimization of fermentation process and quality analysis of walnut meal natto[J]. *China Brewing*, 2023, 42(9): 156–162.]
- [30] 张杰, 杨希娟, 党斌, 等. 蚕豆纳豆发酵工艺优化及其酶学性质[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(6): 205–210. [ZHANG J, YANG X J, DANG B, et al. Optimization of fermentation process of natto by broad bean and its enzymatic properties[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(6): 205–210.]
- [31] VENKIDASAMY B, SELVARAJ D, NILE A S, et al. Indian pulses: A review on nutritional, functional and biochemical properties with future perspectives[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 88: 228–242.]
- [32] LIU D, HAN Z, HU Z, et al. Comparative analysis of the transcriptome of *Bacillus subtilis* natto incubated in different substrates for nattokinase production[J]. *Process Biochemistry*, 2023, 129: 30–43.]
- [33] KDAMAR S, PANDEY G. Biofortification of pulses and legumes to enhance nutrition[J]. *Heliyon*, 2020, 6(3): e03682.]
- [34] 刘仙俊, 张慧珍, 王潇潇, 等. 5种豆类中总多酚、总黄酮含量及抗氧化活性比较研究[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(7): 52–57. [LIU X J, ZHANG H Z, WANG X X, et al. Comparative study on total polyphenols, total flavonoids and antioxidant activity in five kinds of legumes[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(7): 52–57.]

- [35] 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.]
- [36] OH D R, CHOI C, KIM M J, et al. Antidepressant effects of p-coumaric acid isolated from *Vaccinium bracteatum* leaves extract on chronic restraint stress mouse model and antagonism of serotonin 6 receptor *in vitro*[J]. *Phytomedicine*, 2023, 116: 154871.
- [37] LOU Y, GAO Q, FAN M, et al. Ferulic acid ameliorates hyperuricemia by regulating xanthine oxidase[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253: 126542.
- [38] WU M, LI W, ZHANG Y, et al. Structure characteristics, hypoglycemic and immunomodulatory activities of pectic polysaccharides from *Rosa setata* x *Rosa rugosa* waste[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 253: 117190.
- [39] 沈柱英,黄占旺,肖建辉,等.纳豆糖蛋白的分离纯化、结构表征及其免疫活性研究[J].食品科学,2015,36(13):215-222. [SHENG Z Y, HUANG Z W, XIAO J H, et al. Purification, structural characterization and immunomodulatory activity of natto polysaccharide-protein complexes[J]. Food Science, 2015, 36(13): 215-222.]
- [40] XU L, LU Y, CONG Y, et al. Polysaccharide produced by *Bacillus subtilis* using burdock oligofructose as carbon source[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 206: 811-819.
- [41] CHEN Y, WANG R F, WANG Y, et al. Characterization and antioxidant activity of wheat bran polysaccharides modified by *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus subtilis* fermentation[J]. *Journal of Cereal Science*, 2021, 97: 103157.
- [42] WANG L, ZHANG P, SHEN J, et al. Physicochemical properties and bioactivities of original and Se-enriched polysaccharides with different molecular weights extracted from *Pleurotus ostreatus*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 141: 150-160.
- [43] BAI Z, HUANG X, WU G, et al. Hepatic metabolism-related effects of polysaccharides from red kidney bean and small black soybean on type 2 diabetes[J]. *Food Chemistry*, 2023, 403: 134334.
- [44] 王文韬,徐慧,张蕴哲,等.绿豆多糖提取工艺优化及其功能特性[J].食品研究与开发,2023,44(6):65-71. [WANG W T, XU H, ZHANG Y Z, et al. Optimization of extraction process and functional characteristics of mung bean polysaccharides[J]. Food Research and Development, 2023, 44(6): 65-71.]
- [45] ZHU Y, DUN B, SHI Z, et al. Structural characterization and bioactivity evaluation of water-extractable polysaccharides from chickpeas (*Cicer arietinum* L.) seeds[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 946736.
- [46] 田璐,杨润强,沈昌,等.富含GABA的纳豆咀嚼片生产技术研究[J].食品工业科技,2015,36(23):162-165. [TIAN L, YANG R Q, SHEN C, et al. Research of production technology of GABA-riched natto chewable tablet[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(23): 162-165.]
- [47] 郭小雨,张涛.富集 γ -氨基丁酸鹰嘴豆酸面团的工艺及其流变特性[J].食品与发酵工业,2023,49(15):215-220. [GUO X Y, ZHANG T. Process of enriching γ -aminobutyric acid chickpea sourdough and its rheological properties[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(15): 215-220.]
- [48] 李宏梁,尉璐杰,王欢,等.国产与进口鲜纳豆活菌数、感官品质及酶活的分析比较[J].中国酿造,2018,37(11):26-29. [LI H L, WEI L J, WANG H, et al. Analysis and comparison of viable count, sensory quality and nattokinase activity of domestic and imported fresh natto[J]. China Brewing, 2018, 37(11): 26-29.]
- [49] 贾睿,蔡丹,葛思彤,等.红豆皮多酚提取物对两种致病菌的抑菌活性及作用机理[J].食品科学,2021,42(23):64-71. [JIA R, CAI D, GE S T, et al. Antibacterial activity and mechanism of polyphenol extracts from adzuki bean seed coat against two pathogens[J]. Food Science, 2021, 42(23): 64-71.]
- [50] GONZÁLEZ-CRUZ L, VALADEZ-VEGA C, JUÁREZ-GOIZ J M S, et al. Partial purification and characterization of the lectins of two varieties of *Phaseolus coccineus* (Ayocote Bean)[J]. *Agronomy*, 2022, 12(3): 716.