

高雅鑫, 张蒙冉, 侯丽真, 等. 纳豆不良风味的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(1): 445–450. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120159

GAO Yaxin, ZHANG Mengran, HOU Lizhen, et al. Research Progress on the Undesirable Flavor in Natto[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(1): 445–450. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120159

纳豆不良风味的研究进展

高雅鑫¹, 张蒙冉², 侯丽真¹, 高 洁¹, 王凤忠^{1,*}, 李淑英^{1,*}

(1. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193;

2. 塔里木大学生命科学学院, 新疆阿拉尔 843300)

摘要: 心血管疾病是造成我国死亡人数最多的慢性疾病, 由枯草芽孢杆菌发酵大豆制得的纳豆制品具有高效溶栓、降脂和降压等功效, 但纳豆固有的不良风味, 限制了其在中国食品行业的发展。本文主要就近年来纳豆在菌种、工艺及调味方面的风味改良研究进行综述, 并总结了纳豆的不良风味物质, 涉及游离氨、吡嗪和支链短脂肪酸, 以期为推动品质风味俱佳的纳豆开发提供科学依据。

关键词: 纳豆, 枯草芽孢杆菌, 风味改良, 不良风味物质

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)01-0445-06

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120159

本文网刊:



Research Progress on the Undesirable Flavor in Natto

GAO Yaxin¹, ZHANG Mengran², HOU Lizhen¹, GAO Jie¹, WANG Fengzhong^{1,*}, LI Shuying^{1,*}

(1. Institute of Food Science and Technology, CAAS, Beijing 100193, China;

2. College of Life Sciences, Tarim University, Alar 843300, China)

Abstract: Cardiovascular disease is the chronic disease with the most deaths in our country. And natto products, made from soybean by fermented by *Bacillus subtilis*, have high-efficiency thrombolytic, lipid-lowering, and blood pressure-lowering effects. However, the inherent undesirable flavor of natto restricts its development in the Chinese food industry. This article mainly reviews the flavor improvement methods of natto in recent years, in the aspects of strain, technology and seasoning, and summarizes the undesirable flavor substances in natto, involving in free ammonia, pyrazine and branched-chain short fatty acids. This review aims to provide scientific basis for promoting the development of natto with good quality and flavor.

Key words: natto; *Bacillus subtilis*; flavor improvement; undesirable flavor substance

心血管疾病一直是世界上发病率和死亡率最高的慢性疾病, 该趋势持续增长并趋于年轻化^[1]。《中国心血管与健康疾病报告(2019)》显示, 我国现有心血管疾病患病人数为 3.3 亿, 每 5 例死亡病例中就有 2 例由心血管疾病引起, 占比高达 40%^[2], 其中血栓是引起心血管疾病人群死亡和致残的首要原因^[3]。目前治疗血栓性心血管疾病的临床药物多以尿激酶、阿替普酶、瑞替普酶等纤溶酶原激活剂为主, 但这类药物需静脉注射, 存在半衰期短、毒副作用大、价格昂贵等缺点, 不易成为大众可普遍消费的药品^[4]。

纳豆(Natto)是由经枯草芽孢杆菌发酵蒸煮过的大豆制成的一种功能性食品, 因富含纳豆激酶而具有防治心血管疾病的功效^[5-6]。纳豆激酶具有多效溶栓功效, 主要表现为可以直接溶解血栓, 也可以激活机体的血栓溶解系统并抑制机体的凝血系统^[7]。与临床药物相比, 具有可口服、半衰期长、生产成本低廉、无毒副作用等优点^[8-9]。因此, 纳豆制品在日本一直被作为有效预防心血管疾病的最佳食品而备受推崇。日本国立癌症中心研究结果表明常吃纳豆的人群癌症死亡率比不常吃的人群降低了 10%^[10]。世界卫生组织公布的数据显示, 我国心血管疾病的发病率是日本的 75 倍。中国人的饮食追求色香味俱全,

大豆制成的一种功能性食品, 因富含纳豆激酶而具有防治心血管疾病的功效^[5-6]。纳豆激酶具有多效溶栓功效, 主要表现为可以直接溶解血栓, 也可以激活机体的血栓溶解系统并抑制机体的凝血系统^[7]。与临床药物相比, 具有可口服、半衰期长、生产成本低廉、无毒副作用等优点^[8-9]。因此, 纳豆制品在日本一直被作为有效预防心血管疾病的最佳食品而备受推崇。日本国立癌症中心研究结果表明常吃纳豆的人群癌症死亡率比不常吃的人群降低了 10%^[10]。世界卫生组织公布的数据显示, 我国心血管疾病的发病率是日本的 75 倍。中国人的饮食追求色香味俱全,

收稿日期: 2020-12-18

基金项目: 大豆产业体系 (CARS-04); 中国农业科学院基本科研业务费专项 (YP2020PT10); 中国农业科学院基本科研业务费专项 (CAAS-ASTIP-2020-IFST)。

作者简介: 高雅鑫 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品化学与营养, E-mail: gaoyx1997@163.com。

* 通信作者: 王凤忠 (1972-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 功能食品开发与风险评估, E-mail: wangfengzhong@sina.com。

李淑英 (1979-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品功能因子挖掘与利用, E-mail: lishuying2000@163.com。

因而,独具“氨臭味”的纳豆一直未能在中国消费市场普及。

基于纳豆在心血管疾病防治方面的优点,领域内专家也一直致力于从事相关研究,但工作重心还是侧重于挖掘优势菌种,提高纳豆激酶的活性和稳定性。同时结合中国人的饮食需求,也陆续开展了部分纳豆风味改良方面的工作。近年来随着检测分析技术的进步,领域内专家针对纳豆的不良风味开展了物质鉴定工作,以期从根本上改良纳豆风味,开发符合中国人口味且富含纳豆激酶的产品。基于此,本论文就纳豆特有不良风味“改良”和“物质鉴定”两方面的研究进展进行综述,为纳豆在我国的市场推广奠定理论基础。

1 纳豆风味改良

为提高纳豆在中国的接受度,改良其风味具有重要的研究意义。针对不良风味的产生,研究者的主要关注点在优化和改变发酵菌种、控制工艺和添加调味料三个方面,以弥补纳豆风味的不足。

1.1 菌种的选择

1.1.1 筛选优良菌株 纳豆的不良风味是在枯草芽孢杆菌发酵大豆过程中形成的,菌株之间的个体化差异会引起不良风味物质含量的不同,因而筛选一株优良的枯草芽孢杆菌是解决不良风味的重要举措。刘彦敏等^[11]从豆酱、豆豉等我国传统发酵大豆制品中筛选得到多株枯草芽孢杆菌,均具有发酵大豆制作纳豆和产纳豆激酶的能力,同时获得了多种品质风味俱佳的本地化纳豆。TAKEMURA等^[12]敲除了与支链短脂肪酸(Branched-chain short fatty acids, BCFAs)合成相关的基因,筛选培育风味优良的枯草芽孢杆菌,减缓了纳豆的不良风味。

1.1.2 添加风味菌株 在枯草芽孢杆菌的基础上,通过与其他菌株进行混菌发酵改良风味,如乳杆菌、双歧杆菌、嗜热链球菌等产酸菌及毛霉、酵母等真菌^[13-15],其产生的酶类作用于纳豆中的不良风味物质,综合提升纳豆的风味品质。JHAN等^[16]通过枯草芽孢杆菌和保加利亚乳杆菌的共培养,所得产品不仅风味良好,还含有抗氧化因子和大量潜在的益生菌。何人可等^[17]采用嗜热链球菌对纳豆进行二次发酵,并优化了二次发酵工艺,使得纳豆不良风味下降。高泽鑫等^[15]以发芽的黄豆为原料,将毛霉扩大培养后,再与枯草芽孢杆菌按照一定菌种比混合发酵,得到的豆豉产品不良风味明显减少。也有研究通过添加酿酒酵母使纳豆不良风味降低的同时,还产生淡淡的醇香^[18]。可见添加风味菌株的混合发酵可以有效提高纳豆的感官品质,改善纳豆的不良风味。

1.2 工艺的控制

1.2.1 调整原料碳氮比 发酵原料中含氮量是影响纳豆风味的决定因素,所以有学者尝试通过改变豆类品种或添加外来碳源的方式来改良纳豆的风味^[19]。

有研究表明蚕豆中淀粉含量较高,不需要添加碳源,便能实现高效发酵,其口感和风味均得到了改善^[20],故而,蚕豆、芸豆、红豆、鹰嘴豆等豆类逐渐被开发为新型纳豆^[20-21]。张杰等^[22]将糯米和小黄豆按2:8的比例混合发酵,有效减少了游离氨的过度产生,改良了纳豆风味。董岳峰等^[23]选择薏米与大豆搭配发酵薏米纳豆,薏米糖质含量比大豆高,调整了含氮比例,降低了游离氨的同时也改善了产品口感。因此,采用不同品种的豆类或添加其它富含碳水化合物的杂粮,可实现高效发酵,同时改善其原有风味和口感。

1.2.2 优化发酵条件 纳豆的营养品质和感官风味与发酵工艺直接相关,在不同工艺条件下可产生极为不同的质地与风味。工艺优化多从大豆前处理、发酵和后熟三个阶段展开研究,涉及到的工艺环节包括原料浸泡时间、料液比、蒸煮方式及温度和时间、接菌温度、接菌量、发酵及后熟时间、储存温度和时间等^[19,24]。关茵等^[25]对原料浸泡的料液比、蒸煮温度、接菌量及发酵时间等进行了优化,以氨气味为衡量指标,获得了不良风味最少的发酵工艺。也有研究通过增加大豆含水量为60%,调整大豆厚度为3 cm等条件,降低了纳豆中游离氨的产生^[26]。通过优化上述条件,使菌种保持最佳的生长状态,调控微生物与大豆的互作过程,进而影响不良风味物质的形成,以制作风味及纳豆激酶等营养功能指标均良好的纳豆。

1.3 调味品的添加

1.3.1 鲜食纳豆的调味 为了满足消费者对口感风味以及营养健康的双重需求,现有纳豆主要是通过添加调味剂和香料等缓和其不良风味。主要有两种添加辅料的方式:一种是在发酵过程中加入不同的调味料,如用花椒、十三香、咖喱粉等调料水浸泡大豆,或者在后熟阶段加入食盐、辣椒、茴香等调料,不仅有效掩盖了纳豆的不良风味,也赋予了其易被消费者接受的独特风味^[27];一种是以新鲜纳豆为基础,附带粉包或酱包一起销售,涉及调味品(芥末、咖喱、孜然等)、调味酱(芝麻酱、糖豆酱、辣椒酱等)以及果酱(芒果、蓝莓、草莓等),食用时搅拌均匀即可^[26,28],按自己喜好调制口味各异的风味鲜食纳豆。

1.3.2 鲜食纳豆的深加工 随着冷藏时间的延长,鲜食纳豆的活菌数及部分生物活性物质均有所降低,口感和风味也会逐渐下降,有研究证明冷藏3 d是其最佳食用时间^[29],冷藏时间较短,严重影响了产品的接受度和市场的销售。因此,衍生出经过干燥、粉碎深加工后制得的纳豆系列产品,以纳豆烘干粉和纳豆冻干粉为主,既能避免其在冷藏过程中由于菌株代谢出现不良风味加重的现象,又能延长保质期^[30],纳豆粉可以用合适温度的热水直接冲调饮用^[31];也可以结合胶囊和压片工艺,复配木糖醇、甘露醇、奶粉等多种辅料,开发不同系列的纳豆胶囊和纳豆糖果、奶片等咀嚼片^[32-33];又或者研制成中国人喜爱的糕点,搭配

的情况下就能呈现优良风味,含量过高可能会呈现“霉味、泥土味”等不良风味^[53],因而,极可能由于2,5-二甲基吡嗪在纳豆中合成量过多,远远超过其阈值而引起纳豆制品产生不愉快气味。CHRISTIAN等^[45]已明确枯草芽孢杆菌中2,5-二甲基吡嗪和四甲基吡嗪的主要合成途径,主要涉及苏氨酸的合成与降解(图1)。天冬氨酸代谢合成苏氨酸,经L-苏氨酸-3-脱氢酶(TDH)催化产生氨基丙酮,通过氧化、环化等非酶促反应生成2,5-二甲基吡嗪,而氨基丙酮还可以代谢生成丙酮酸,通过缩合生成 α -乙酰乳酸,再脱羧产生乙偶姻,进而被分泌到胞外,和游离氨发生非酶促反应,生成四甲基吡嗪^[54]。整个发酵体系在不添加任何前体物质(苏氨酸、乙酰丙酮)的前提下,主要存在2,5-二甲基吡嗪和2,3,5-三甲基吡嗪,几乎没有四甲基吡嗪,2,3,5-三甲基吡嗪的合成机制与2,5-二甲基吡嗪类似^[55];此外,氧气的有效利用,会引起吡嗪类化合物的过量合成^[34],枯草芽孢杆菌是一种好氧菌,发酵体系内氧气充足的时候代谢加速,可能引起了纳豆中吡嗪类化合物大量聚集,进而使纳豆产生风味劣变。

2.3 支链短脂肪酸

支链短脂肪酸(BCFAs)一般是碳原子数小于6的有机脂肪酸,主要包括异丁酸、异戊酸、异己酸、2-甲基丁酸等。GC-O嗅闻分析中对异戊酸等BCFAs的风味描述为“银杏果臭味、酸味、刺激的酸败味”^[56],佐证了BCFAs与纳豆的不良风味有关。BCFAs主要通过支链氨基酸的分解代谢产生,即亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸,该代谢通路涉及的合成基因和关键酶在不同种属微生物中差异较大。在枯草芽孢杆菌内, β -酮酰基-酰基载体蛋白合酶III(FabH)是合成BCFAs的关键酶^[57],此外,支链 α -酮脱氢酶复合物(BCKDC)也被证实为BCFAs合成代谢途径的一种关键限速酶^[58]。但在不同的枯草芽孢杆菌中其合成的关键基因和表达差异极为显著,因此支链氨基酸对不良风味的贡献与菌株本身有一定的相关性。

3 应用与展望

目前预防和治疗心血管疾病的纳豆产品越来越受到关注,但由于其特有的不良风味,仍然不能被我国人群广泛接受。因此,采用合适的风味改良方式暂时缓解纳豆风味问题,如改变发酵菌种、优化工艺等,以初步满足中国人食用纳豆的基本需求,是纳豆进入我国市场的重要举措。但是,从根本上明确纳豆不良风味的物质基础及其产生途径,是有效控制和消除纳豆不良风味的根本所在。随着多组学分析技术及遗传操作手段的发展,使得解决上述问题并通过靶向控制发酵过程中不良风味物质合成相关基因的表达和调控成为可能。可见,纳豆产品中风味的定向改良具有很好的发展前景。

参考文献

- [1] AGUIAR L M, BICAS J L, FUENTES E, et al. Non-nutrients and nutrients from Latin American fruits for the prevention of cardiovascular diseases[J]. *Food Research International*, 2021, 139(4): 109844.
- [2] 中国心血管健康与疾病报告2019概要[J]. 中国循环杂志, 2020, 35(9): 833-854. [Report on cardiovascular health and diseases in China 2019: An updated summary[J]. *Chinese Circulation Journal*, 2020, 35(9): 833-854.]
- [3] DELLUC A, LACUT K, RODGER M A. Arterial and venous thrombosis: What's the link? A narrative review[J]. *Thrombosis Research*, 2020, 191: 97-102.
- [4] AKHTAR T M, GOODCHILD C S, BOYLAN M K. Reversal of streptokinase-induced bleeding with aprotinin for emergency cardiac surgery[J]. *Anaesthesia*, 2010, 47(3): 226-228.
- [5] 杨亚平. 纳豆成分的保健功效[J]. 大豆科技, 2015(6): 26-28. [YANG Y P. Health benefits of natto ingredients[J]. *Soybean Science & Technology*, 2015(6): 26-28.]
- [6] YUNQI W, JIAN Y, SAWYER S, et al. Nattokinase: An oral antithrombotic agent for the prevention of cardiovascular disease[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(3): 523.
- [7] 刘玉猛, 刘英华. 纳豆激酶在血管性疾病防治中的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2020, 26(12): 41-44. [LIU Y M, LIU Y H. Research progress on prevention and treatment on vascular diseases of nattokinase[J]. *Food and Nutrition in China*, 2020, 26(12): 41-44.]
- [8] 赵福永, 严寒, 任广旭, 等. 重组纳豆激酶的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2019, 25(7): 41-45. [ZHAO F Y, YAN H, REN G X, et al. Research advancement on recombinant nattokinase[J]. *Food and Nutrition in China*, 2019, 25(7): 41-45.]
- [9] 李静, 宋艳志, 王梦静, 等. 纳豆激酶与尿激酶的对比性研究[J]. 中国药理学杂志, 2016, 14(4): 125-134. [LI J, SONG Y Z, WANG M J, et al. The comparative study of nattokinase and urokinase[J]. *Chinese Journal of Pharmaceutics*, 2016, 14(4): 125-134.]
- [10] 研究: 每天吃50克大豆发酵食品, 死亡率或降低[J]. 中国食品学报, 2020, 20(2): 102. [Study: Eating 50 grams of fermented soybeans a day may reduce the mortality rate[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(2): 102.]
- [11] 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.]
- [12] TAKEMURA H, ANDO N, TSUKAMOTO Y. Breeding of branched short-chain fatty acids non-producing natto bacteria and its application to production of natto with light smells[J]. *Journal of Japanese Society for Food Science and Technology(Japan)*, 2000, 47: 773-779.
- [13] 杨野, 李佳莹, 张曼, 等. 混菌发酵纳豆的工艺研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(6): 49-53. [YANG Y, LI J Y, ZHANG M, et al. Fermentation process of natto with mixed starters[J]. *China Brewing*, 2019, 38(6): 49-53.]
- [14] 兰光群. 混菌发酵对纳豆感官特性的影响及功能性研究

- [D]. 贵阳: 贵州大学, 2020. [LAN G Q. Effects of mixed fermentation on sensory characteristics and functional properties of natto[D]. Guiyang: Guizhou University, 2020.]
- [15] 高泽鑫, 王常苏, 黄勋, 等. 双菌混合发酵生产豆豉的条件优化[J]. 中国酿造, 2014, 33(9): 49-52. [GAO Z X, WANG C S, HUANG X, et al. Optimization of Douchi processing by two strains fermentation[J]. China Brewing, 2014, 33(9): 49-52.]
- [16] 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 & Technology, 2015, 63(2): 1281-1287.
- [17] 何人可, 宋莲军, 黄现青, 等. 嗜热链球菌发酵改良纳豆工艺优化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(6): 161-166. [HE R K, SONG L J, HUANG X Q, et al. Optimization of fermentation process for *Streptococcus thermophilus* improved natto[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(6): 161-166.]
- [18] 耿晓然, 徐慧, 卢鑫, 等. 响应面法优化纳豆混合发酵工艺的研究[J]. 河北农业大学学报, 2020, 43(1): 96-103. [GENG X R, XU H, LU X, et al. Optimization of mixed fermentation of natto with response surface methodology[J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2020, 43(1): 96-103.]
- [19] 张树明, 唐伟林. 降低纳豆氨味研究进展[J]. 黑龙江中医药, 2016, 45(5): 75-76. [ZHANG S M, TANG W L. Research progress on reducing the ammonia flavor of natto[J]. Heilongjiang Journal of Traditional Chinese Medicine, 2016, 45(5): 75-76.]
- [20] 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): 205-201. [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): 205-201.]
- [21] LIN N N, LEE Y F, CHI Y J, et al. *Bacillus subtilis*-fermented red bean(red bean natto) reduces hyperlipidemia levels in hamsters fed an atherogenic diet[J]. Journal of Food Biochemistry, 2017, 47(1): 1-11.
- [22] 张杰, 赵志峰, 靳岳, 等. 改善纳豆风味与营养特性工艺的对比研究[J]. 中国调味品, 2019, 44(4): 11-15, 22. [ZHANG J, ZHAO Z F, JIN Y, et al. Contrastive study on the technology of improving the flavor and nutrition characteristics of natto[J]. China Condiment, 2019, 44(4): 11-15, 22.]
- [23] 董岳峰, 麻秀芳, 李晓艳, 等. 薏米纳豆发酵工艺及其营养成分分析[J]. 中国酿造, 2014, 33(12): 142-145. [DONG Y F, MA X F, LI X Y, et al. Fermentation process and nutritional components of coixseed-natto[J]. China Brewing, 2014, 33(12): 142-145.]
- [24] 张捷, 牟建楼, 张伟, 等. 传统纳豆发酵条件的优化[J]. 食品工业, 2019, 40(6): 118-122. [ZHANG J, MU J L, ZHANG W, et al. Optimization of traditional natto fermentation conditions[J]. The Food Industry, 2019, 40(6): 118-122.]
- [25] 关茵, 肖然, 李春. 从工艺角度改善纳豆风味的研究[J]. 中国酿造, 2010(6): 75-77. [GUAN Y, XIAO R, LI C, et al. Effect of processing on change of natto flavor[J]. China Brewing, 2010(6): 75-77.]
- [26] 耿晓然. 纳豆菌种选育及新型风味纳豆食品的开发[D]. 保定: 河北农业大学, 2019. [GENG X R. Screening of natto strain and the developing of a new flavor natto food[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2019.]
- [27] 吴雪娇, 王旭旭, 张伟, 等. 纳豆风味改良技术的研究[J]. 中国调味品, 2018, 43(12): 94-98. [WU X J, WANG X X, ZHANG W, et al. Research on the improvement technology of natto flavor[J]. China Condiment, 2018, 43(12): 94-98.]
- [28] 王丽娜, 付华峰. 风味纳豆的研制[J]. 中国调味品, 2014, 39(5): 94-96. [WANG L N, FU H F. Preparation of flavor natto[J]. China Condiment, 2014, 39(5): 94-96.]
- [29] 牛红红, 苗欣宇, 郑丽, 等. 纳豆生产及冷藏过程中营养成分和生物活性物质变化[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(4): 48-54. [NIU H H, MIAO X Y, ZHENG L, et al. Changes in nutrient contents and active substances during natto production and cold storage[J]. Food Research and Development, 2021, 42(4): 48-54.]
- [30] 杜磊. 影响纳豆粉品质关键因素的研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2019. [DU L. Study on the key factors influencing the quality of natto powder[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2019.]
- [31] 高霄. 不同冲调温度对纳豆粉感官及活菌数的影响[J]. 食品安全导刊, 2020(21): 113-115, 117. [GAO X. Effect of different brewing temperature on sensory organs and viable bacteria count of natto powder[J]. China Food Safety Magazine, 2020(21): 113-115, 117.]
- [32] 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, 172. [TIAN L, YANG R Q, SHEN Q, et al. Research of production technology of GABA-riched natto chewable tablet[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(23): 162-165, 172.]
- [33] 慕琦, 向凌云, 赵艳岭, 等. 纳豆红曲胶囊活性成分及其保健功能研究进展[J]. 河南科学, 2018, 36(10): 1562-1568. [MU Q, XIANG L Y, ZHAO Y L, et al. The active constituents and health function of natto monascus capsules[J]. Henan Science, 2018, 36(10): 1562-1568.]
- [34] 赵倩楠. 四种豆子纳豆发酵工艺条件的研究及产品开发[D]. 西安: 陕西科技大学, 2014. [ZHAO Q N. Fermentation conditions for four kinds of legumes natto and product development[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2014.]
- [35] WANG J, KUANG H, ZHANG Z, et al. Generation of seed lipoxigenase-free soybean using CRISPR-Cas9[J]. The Crop Journal, 2020, 8(3): 432-439.
- [36] XU M W, ZHAO J, GU Z X, et al. Changes in odor characteristics of pulse protein isolates from germinated chickpea, lentil, and yellow pea: Role of lipoxigenase and free radicals[J]. Food Chemistry, 2020, 314: 126184.
- [37] PARK M K, KIM Y S. Comparative metabolic expressions of fermented soybeans according to different microbial starters[J]. Food Chemistry, 2019, 305: 125461.
- [38] ESTELLE F, RÉMY C, NATHALIE C. Pisum sativum vs glycine max, a comparative review of nutritional, physicochemical, and sensory properties for food uses[J]. Trends in Food Science &

Technology, 2020, 95: 196–204.

[39] TANAKA T, MURAMATSU K, KIM H R, et al. Comparison of volatile compounds from Chungkuk-jang and Itohiki-natto[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1998, 62(7): 1440–1444.

[40] LEEJEERAJUMNEAN A, DUCKHAM S C, OWENS J D, et al. Volatile compounds in bacillus-fermented soybean[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2001, 81(5): 525–529.

[41] LIU Y, SONG H L, LUO H Z. Correlation between the key aroma compounds and gDNA copies of bacillus during fermentation and maturation of natto[J]. *Food Research International*, 2018, 112: 175–183.

[42] KEITAROU, KIMURA, SATOSHI YOKOYAMA. Trends in the application of bacillus in fermented foods[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 56: 36–42.

[43] HONG C, CHEN Y, LI L, et al. Identification of a key gene involved in branched-chain short fatty acids formation in natto by transcriptional analysis and enzymatic characterization in *Bacillus subtilis*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(8): 1592–1597.

[44] KURGANOV B I. Analysis of negative cooperativity for glutamate dehydrogenase[J]. *Biophysical Chemistry*, 2000, 87(2-3): 185–199.

[45] LARROCHE C, BESSON I, GROS J B. High pyrazine production by *Bacillus subtilis* in solid substrate fermentation on ground soybeans[J]. *Process Biochemistry*, 1999, 34(6-7): 667–674.

[46] LEE K E, LEE S M, CHOI Y H, et al. Comparative volatile profiles in soy sauce according to inoculated microorganisms[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2013, 77(11): 2192–2200.

[47] 张建华, 沈翔, 于湘莉. 纳豆发酵过程中的生物胺[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2007, 25(1): 1–6. [ZHANG J H, SHEN X, YU X L, et al. Biogenic amines during the fermentation in natto[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University(Agricultural Science)*, 2007, 25(1): 1–6.]

[48] 黄蓓. 纳豆芽孢杆菌 *rocG* 和 *ure* 基因分析及敲除载体的构建[D]. 上海: 上海交通大学, 2013. [HUANG B. Analysis and construction of knock-out vectors for *rocG* gene and *ure* gene in *Bacillus subtilis* natto[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2013.]

[49] KADA S, YABUSAKI M, KAGA T, et al. Identification of two major ammonia-releasing reactions involved in secondary natto fermentation[J]. *Bioence Biotechnology and Biochemistry*, 2008, 72(7): 1869–1876.

[50] TIAN G, WANG Q, WEI X, et al. Glutamate dehydrogenase (RocG) in *Bacillus licheniformis* WX-02: Enzymatic properties and specific functions in glutamic acid synthesis for poly- γ -glutamic acid production[J]. *Enzyme & Microbial Technology*, 2017, 99: 9–15.

[51] HASHIM P, SELAMAT J, ALI A, et al. Pyrazines formation in cocoa beans: Changes during fermentation[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 1997, 34: 483–487.

[52] SCALONE G L L, IOANNIDIS A G, LAMICHHANE P, et al. Impact of whey protein hydrolysates on the formation of 2, 5-dimethylpyrazine in baked food products[J]. *Food Research International*, 2020, 132: 109089.

[53] CERNY C. The aroma side of the maillard reaction[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2008, 1126(1): 66–71.

[54] 徐岩, 吴群, 范文来, 等. 中国白酒中四甲基吡嗪的微生物产生途径的发现与证实[J]. 酿酒科技, 2011, 7: 37–40. [XU Y, WU Q, FAN W L, et al. The discovery & verification of the production pathway of Tetramethylpyrazine(TTMP) in Chiese liquor[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2011, 7: 37–40.]

[55] ZHANG L, CAO Y, TONG J, et al. An alkylpyrazine synthesis mechanism involving l-threonine-3-dehydrogenase describes the production of 2, 5-dimethylpyrazine and 2, 3, 5-trimethylpyrazine by *Bacillus subtilis*[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2019, 85(24): e01807–19.

[56] 张玉玉, 田红玉, 黄明泉, 等. 传统小麦酱挥发性香气成分的 GC-MS 与 GC-O 分析[J]. 食品科学, 2012(18): 138–142.

[ZHANG Y Y, TIAN H Y, HUANG M Q, et al. GC-MS/GC-O analysis for aroma compounds in traditionally fermented wheat paste[J]. *Food Science*, 2012(18): 138–142.]

[57] CHOI K H, HEATH R J, ROCK C O. β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase III (FabH) is a determining factor in branched-chain fatty acid biosynthesis[J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(2): 365–370.

[58] MATSUMOTO H, AKITA K, SAKAI R, SHIMOMURA Y. Analysis of branched-chain α -keto acid dehydrogenase complex activity in rat tissues using α -keto[1- ^{13}C] isocaproate as substrate[J]. *Analytical Biochemistry*, 2010, 399(1): 1–6.