

# 富含 GABA 的纳豆咀嚼片生产技术研究

田璐, 杨润强, 沈昌, 顾振新\*

(南京农业大学食品科技学院, 江苏南京 210095)

**摘要:**本研究在大豆发芽富集  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)的基础上,接种纳豆芽孢杆菌,37 °C 下发酵 24 h,经干燥、粉碎后,制作富含 GABA 和纳豆激酶(NK)的纳豆咀嚼片。结果表明:采用柠檬酸低氧发芽后再经低温冷冻与回温处理,发芽大豆中 GABA 含量高达 1.24 mg/g DW;经纳豆芽孢杆菌发酵后大豆中 GABA 含量升至 3.87 mg/g DW,同时 NK 活力升至每克鲜纳豆 0.06 个 TAME 单位;以 45% 的纳豆粉为原料制作的咀嚼片中 GABA 含量达到 2.07 mg/片,纳豆激酶(NK)活力为 0.063 TAME 单位/片。通过该生产技术,可生产富含 GABA 和 NK 活力的功能性纳豆咀嚼片。

**关键词:**纳豆,纳豆激酶, $\gamma$ -氨基丁酸,咀嚼片

## Research of production technology of GABA-riched Natto chewable tablet

TIAN Lu, YANG Run-qiang, SHEN Chang, GU Zhen-xin\*

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** *Bacillus natto* was vaccinated to soybean which was rich in  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) after germination and germinated soybean was fermented at 37 °C for 24 h. Natto chewable tablets rich in GABA and nattokinase (NK) activity was produced after being dried and crushed. Results showed that GABA content in germinated soybean reached 1.24 mg/g DW after being soaked in citric acid, along with hypoxia, freezing and thawing treatments. The content of GABA was up to 3.87 mg/g DW and NK activity was up to 0.06 TAME units in per gram fresh natto after being fermented by *Bacillus natto*. Each pill of natto chewable tablet had 2.07 mg GABA and 0.063 TAME units NK when 45% of natto powder was added. Based on this conditions above in this paper, the Natto chewable tablet which was rich in  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) and also had high nattokinase (NK) activity could be prepared.

**Key words:** Natto; Nattokinase;  $\gamma$ -aminobutyric acid; chewable tablets

中图分类号: TS218

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)23-0162-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.23.025

近年来,随着人们生活方式的改变、人口老龄化、环境不断变化等,高血压、心脑血管疾病等成为危害人类健康的严重疾病之一<sup>[1]</sup>。血压水平与心血管病之间存在密切的关系,国外 Framingham 心脏研究发现,高血压会增加冠心病、心血管病的危险<sup>[2]</sup>。

$\gamma$ -氨基丁酸(GABA)和纳豆激酶(Nattokinase, NK)对人体心血管疾病的预防作用已被越来越多的消费者所认识。GABA 是哺乳动物中枢神经系统的抑制性神经递质,具有降低血压、改善脑机能、抗惊厥、预防和治疗癫痫、活化肾肝等作用<sup>[3]</sup>。随着年龄的增大,人体自身合成的 GABA 不足,需要从食物中摄取。正常条件下,植物体内 GABA 含量较低,在 0.03~2.00  $\mu\text{mol/g}$  FW 之间<sup>[4]</sup>,但受到逆境胁迫时 GABA 含量迅速增加<sup>[5]</sup>,热激、缺氧、低温、盐胁迫等逆境均可使 GABA 在植物中积累<sup>[6-7]</sup>。纳豆是一种历史悠久的传统大豆发酵产品,含有蛋白酶、多种维生素、 $\gamma$ -谷氨酰基转氨酶、 $\alpha$ -多聚谷氨酸等多种物

质,具有降血压、抗肿瘤、抗氧化等功效<sup>[8]</sup>。NK 是纳豆芽孢杆菌在纳豆中发酵而产生的,是纳豆最主要的功能性物质,NK 能激活血液中的血纤溶酶原,从而溶解血栓,预防和治疗心脑血管疾病,具有高效安全、价格低廉、无任何副作用等特点。

富含 GABA 的产品开发<sup>[9]</sup>始于日本,目前已趋于成熟。1987 年津志田藤二郎等<sup>[10]</sup>首次用低氧处理茶叶得到  $\gamma$ -氨基丁酸茶,片桐充昭和清水纯夫<sup>[11]</sup>用  $\text{CO}_2$  处理大豆芽,早川洁等<sup>[12]</sup>用乳酸菌发酵饮料,大坪贞视<sup>[13]</sup>浸泡处理含米胚芽的米糠,这些方法都使得原料中富集了 GABA。纳豆起源于中国发展于日本,目前其生产也逐渐工业化,但是同时富含 GABA 和 NK 的产品未见报道,且在纳豆口味的改良上具有极大的研究意义。

本研究以富含 GABA 的大豆为原料<sup>[14]</sup>,接种纳豆枯草杆菌(*Bacillus subtilis*),生产富含 GABA 的纳豆,并制作咀嚼片,旨在为开发富含 GABA 的纳豆制

收稿日期:2015-01-28

作者简介:田璐(1992-),女,硕士研究生,研究方向为食品功能性物质的富集,E-mail:2014108022@njau.edu.cn。

\*通讯作者:顾振新(1956-),男,博士,教授,研究方向:生物技术与功能食品,E-mail:guzx@njau.edu.cn。

基金项目:国家自然科学基金青年项目(31071581);江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。

表1 纳豆咀嚼片评分标准

Table 1 The sensory evaluation standards of natto chewable tablet

制粒效果(20%)	压片效果(20%)	风味(30%)	口感(30%)	评分
能成粒, 细粉多	片子成型, 有松片现象	纳豆味淡, 口味正常	酸甜可口, 口感细腻	8~10
能成粒, 颗粒均匀	片子成型, 表面光滑	有纳豆味, 稍苦	酸甜适中, 略有糊口感	6~8
能成粒, 颗粒大	片型完整, 硬度大	纳豆味较重, 苦味淡	偏酸或偏甜, 糊口感较重	4~6
能成粒, 有结团现象	片子成型, 有斑点	纳豆味重, 味苦	很酸或很甜, 糊口感严重	2~4

品提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

大豆(品种:云鹤 YH-NJ)产自东北吉林省;纳豆芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)本实验室保存。

GABA 标准品(≥99%)、对二甲氨基苯磺酰氯(≥99%)均购自 Sigma 公司;甲基苯磺酰-L-精氨酸甲酯(98%)、变色酸 购自阿拉丁公司;牛血清白蛋白、考马斯亮蓝 G-250 均购自索莱宝公司,三氯醋酸、高锰酸钾、硫酸、亚硫酸钠、大豆蛋白胨 均购自国药集团上海化学试剂公司。

安捷伦液相色谱仪 Agilent 1200 美国安捷伦公司;UV-2802 型紫外可见分光光度计 上海尤尼科仪器有限公司;Orion818 型 pH 测试仪 Orion Research 有限公司;PYX-9030A 型隔水电热恒温发芽箱 上海跃进医疗器械厂;多功能活氧机 BG-LJ300A 北理国科臭氧应用技术有限公司;LDZX-30KBS 立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂。

### 1.2 实验方法

1.2.1 富含 GABA 的纳豆制作流程 大豆→消毒→30℃浸泡6h→低氧发芽18h,通气量1.0 L/min→20℃低温胁迫12h→25℃回温6h→去皮→121℃蒸煮15min→冷却→接种纳豆芽孢杆菌→37℃发酵24h→后熟<sup>[15]</sup>。

1.2.2 不同处理方式对大豆 GABA 富集的影响 方式一:30℃下清水浸泡6h;方式二:以清水为培养液低氧发芽18h,通气量1.0 L/min;方式三:采用10 mmol/L的柠檬酸缓冲液(pH5)低氧培养18h,低氧通气量为1.0 L/min;方式四:-20℃下冷冻12h,25℃下回温6h。

1.2.3 咀嚼片制作流程 富含 GABA 的纳豆→冻干→打粉→配料(综合咀嚼片的功能效果和压片效果,添加45%纳豆冻干粉),辅料(山梨糖醇、木糖醇、乳糖等)、粘合剂(60%乙醇)、香精(草莓、香橙、牛奶香精)→制软材→制粒→整粒→压片→成品(成品规格是1.5 g/片)。

### 1.3 测定指标与方法

1.3.1 GABA 含量 采用 HPLC 法<sup>[16]</sup>测定,样品经过

前期处理得到用碳酸钠缓冲液溶解的提取液,用4-二甲氨基偶氮苯磺酰氯丙酮溶液对其衍生,样品直接用来测定色谱下的吸收峰。

1.3.2 NK 活性测定 采用 TAME 法<sup>[17]</sup>测定,取成熟纳豆0.5 g,粉碎后加灭菌水5 mL,搅拌,静置过夜,在4000 r/min 离心30 min,收集上清液冷冻保存。取0.1 mL 样品液,用变色酸法测定574 nm 的吸光值。NK 活力以 TAME 单位来表示,即每分钟每克纳豆中 NK 水解1 μmol TAME 的量为一个活力单位。

$$\text{TAME 单位/g} \cdot \text{DW} = \frac{\text{甲醇的量} \times V_T}{\text{样品量} \times \text{时间} \times V_s}$$

样品量是指纳豆样品的质量(g DW); $V_T$ 为磨样体积(mL); $V_s$ 为测定时的取样量(mL),每次取样品浸提液0.1 mL 反应;时间是指 NK 与 TAME 底物反应的时间(min);甲醇的量单位为 μmol。

1.3.3 感官评价 根据 GB/T 15682-2008 方法评定。选定10人进行感官评价的专业培训,并采用10人品尝法对纳豆咀嚼片制粒效果(ZL)、压片效果(YP)、风味(FW)和口感(KG)等方面进行感官评定,评分标准见表1,每项满分为10分,每一项得分的均值乘以权重得到综合评分。评定的咀嚼片有原味、奶香味、香橙味和草莓味四种。

$$\text{总分} = \text{ZL} \times 20\% + \text{YP} \times 20\% + \text{FW} \times 30\% + \text{KG} \times 30\%$$

式1

1.3.4 统计分析 实验设3次生物学重复,各指标测定设3次技术重复,结果以平均值±标准偏差表示。实验数据采用 SAS9.0 软件(SASInstituteInc., NC, USA)进行方差分析,在0.05水平上进行显著检验( $p < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理阶段对发芽大豆中 GABA 含量的影响

不同的上标字母表示在0.05的水平下有显著性差异,图2~图4、表2、表3同。

由图1可知,采用柠檬酸低氧发芽后低温保存并回温处理时,发芽大豆中 GABA 含量最高,为1.24 mg/g DW,而浸泡处理仅为0.21 mg/g DW。由

表2 市售产品与咀嚼片中 GABA 含量

Table 2 GABA content in commercial products and natto chewable tablet

项目	市售纳豆	市售纳豆激酶咀嚼片	咀嚼片
GABA 含量(mg/g DW)	0.47 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.05 <sup>c</sup>	1.38 ± 0.09 <sup>a</sup>

表3 市售产品与咀嚼片中 NK 活力

Table 3 The NK activity in commercial products and natto chewable tablet

活力(TAME 单位/g DW)	市售纳豆	市售纳豆激酶咀嚼片	咀嚼片
NK 活力	0.0367 ± 0.003 <sup>c</sup>	0.077 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.042 ± 0.003 <sup>b</sup>

由此可见,柠檬酸低氧发芽后低温保存并回温的处理方式能使大豆中 GABA 含量提高约 6 倍。

## 2.2 纳豆生产不同阶段大豆中 GABA 含量变化

蒸煮对 GABA 含量的影响不显著,由此可知 GABA 具有较好的热稳定性,且对高温有一定的耐受能力。发酵后 GABA 的含量是 3.87 mg/g DW,为发芽后的 3.9 倍,蒸煮后的 6.4 倍,冻干和打粉对纳豆中 GABA 的含量无显著影响。咀嚼片中含有 45% 的纳豆粉,纳豆咀嚼片中 GABA 的含量为 1.38 mg/g,即咀嚼片中 GABA 含量为 2.07 mg/片,本方法生产的咀嚼片中的 GABA 含量是市售纳豆及 NK 咀嚼片中 GABA 含量的 4~8 倍。

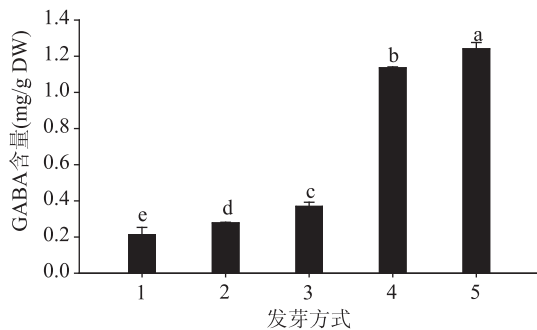


图1 不同处理阶段对发芽大豆中 GABA 含量的影响

Fig.1 Influence of different treatment period on the GABA content in sprout soybean

注:1-方式一;2-方式一和二;3-方式一和三;  
4-方式一、二和四;5-方式一、三和四。

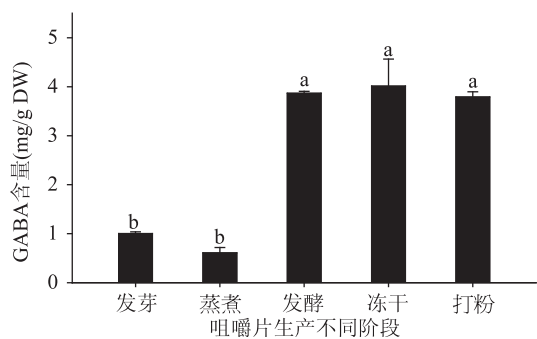


图2 纳豆咀嚼片不同生产阶段 GABA 含量

Fig.2 GABA content in different natto chewable tablet production stages

## 2.3 发酵及后熟对纳豆中可溶性蛋白含量和 NK 活力的影响

发酵后大豆中可溶性蛋白的含量显著降低,而 NK 的活力升至每克鲜纳豆 0.06 个 TAME 单位。由此可知,发酵过程中纳豆菌利用大豆中的蛋白质作为氮源,产生次级代谢产物-NK,在此过程中蛋白质被水解,形成更利于人体吸收的氨基酸,使纳豆的营养价值得到提高。结果亦显示,发酵显著降低纳豆中蛋白质含量,但是显著提高 NK 活力(图 3),后熟使蛋白质含量有所下降,但 NK 活力无显著变化。

## 2.4 纳豆咀嚼片不同生产阶段 NK 活力

纳豆发酵完成后保存在  $-20^{\circ}\text{C}$  下,低温条件下 NK 比较稳定,即使经过冷冻干燥和高速粉碎,NK 的

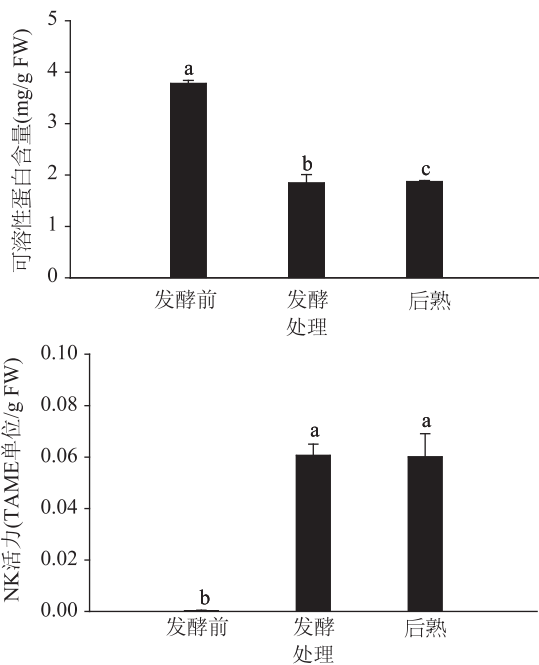


图3 发酵及后熟对纳豆中可溶性蛋白含量和 NK 活力的影响

Fig.3 Influence of fermentation and postripeness on soluble protein content and NK activity in natto

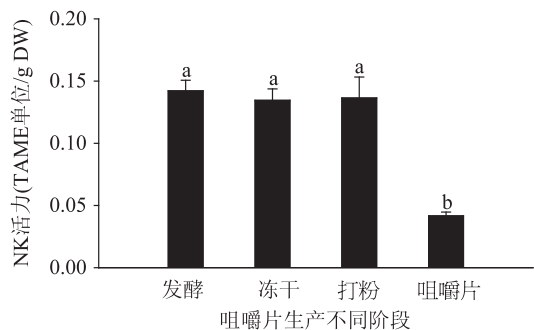


图4 产品不同阶段 NK 活力

Fig.4 The NK activity in different production stages of natto chewable tablet

活力仍无显著下降。但咀嚼片中 NK 活力有所降低,原因是在长期保存和制作过程中纳豆粉中的 NK 活性有所降低,导致生产出的咀嚼片 NK 活力相对减少,但该咀嚼片中 NK 活力仍有 0.042 TAME 单位/gDW,每片咀嚼片 1.5 g,即每片咀嚼片中酶活为 0.063 TAME 单位,虽略低于上述市购纳豆激酶咀嚼片中 NK 活力,但仍具有较高的酶活性,具有较强的溶血栓能力。

## 2.5 不同风味的纳豆咀嚼片产品中 GABA 含量及 NK 活力

四种不同口味的纳豆咀嚼片,在 GABA 含量以及 NK 活力上都没有显著性差异,表明 GABA 含量和 NK 活力都只与咀嚼片中纳豆粉的含量有关,而与辅料、调味剂、粘合剂、香精等添加剂的含量无关(图 5)。

## 2.6 不同风味的纳豆咀嚼片感官评定结果及分析

纳豆冻干粉的含量会直接影响咀嚼片的制粒效果,咀嚼片中冻干粉的含量过多会导致制片松散甚至不能成形。而从纳豆咀嚼片的功能来分析,其中含有

表4 产品感官评定值

Table 4 The sensory evaluation results of natto chewable tablet

口味	制粒效果	压片效果	风味	口感	总分
原味	9.32 ± 0.33 <sup>a</sup>	9.22 ± 0.29 <sup>a</sup>	8.24 ± 0.26 <sup>b</sup>	8.28 ± 0.28 <sup>b</sup>	8.67
奶香味	9.14 ± 0.38 <sup>a</sup>	9.10 ± 0.32 <sup>a</sup>	9.26 ± 0.27 <sup>a</sup>	9.06 ± 0.32 <sup>a</sup>	9.14
香橙味	9.26 ± 0.17 <sup>a</sup>	9.24 ± 0.23 <sup>a</sup>	9.06 ± 0.30 <sup>a</sup>	9.02 ± 0.19 <sup>a</sup>	9.12
草莓味	9.20 ± 0.27 <sup>a</sup>	9.14 ± 0.27 <sup>a</sup>	9.12 ± 0.24 <sup>a</sup>	8.98 ± 0.23 <sup>a</sup>	9.10

注:英文字母 a、b 表示在 0.05 水平上有显著性差异。

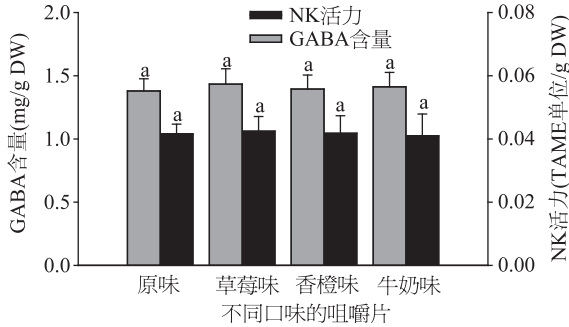


图5 不同口味的纳豆咀嚼片中的 GABA 含量及 NK 活力  
Fig.5 GABA content and the NK activity in different natto chewable tablets

纳豆冻干粉的原料越多效果就越好。综合两方面,纳豆咀嚼片中以添加 45% 的纳豆冻干粉为宜,其余添加辅料<sup>[18]</sup>,包括山梨糖醇、乳糖、甘露醇、柠檬酸、蔗糖、粉末香精以及每种口味所特有的香味成分。

由实验结果可知,四种不同口味的纳豆制颗粒效果和压片效果均无显著差异,在口感和风味上,奶香味、香橙味、草莓味无显著差异,但显著优于原味。说明添加奶粉、香橙、草莓添加剂均能有效改善纳豆的口味,掩盖纳豆不易被人接受的特殊气味。

### 3 讨论

NK 的酶学性质比较稳定,反复融冻对其活力影响较小,且 NK 在 40 °C 下保温 30 min 活力无变化<sup>[19]</sup>,这就保证了纳豆咀嚼片在制片过程中冻干以及在 35~45 °C 烘干不会使 NK 失活。据报道<sup>[20]</sup>,当 NK 与煮沸过的小麦或大米提取液混合后,NK 的稳定性显著增加,明胶、海藻酸钠、糊精、甘露醇等在高温环境下能起到稳定 NK 的作用<sup>[21-22]</sup>。本研究中 NK 附着在蒸煮过的大豆上,添加了糊精和甘露醇作为辅料,确保了 NK 的活性。

与发芽富集 GABA 的大豆相比,纳豆中 GABA 的含量显著升高,表明 GABA 在大豆发酵过程中得到进一步富集,该结果与渠岩等<sup>[23]</sup>的报道一致。GABA 是由谷氨酸经谷氨酸脱羧酶(GAD)催化转化而来的<sup>[24]</sup>,微生物发酵过程中 GAD 大量表达,以合成 GABA<sup>[25]</sup>。

蒋立文等<sup>[26]</sup>测定了几种不同发酵制品中 GABA 的含量,其中阳豆豉中的含量为 3.45 mg/g(干基),腊八豆为 0.2 mg/g(干基),永川豆豉为 0.15 mg/g(干基),都显著少于本技术生产的纳豆中 GABA 的含量。日本政府已明确规定天然原料发酵产制的 GABA 产品可作为营养辅助食品,规定 GABA 的摄入量通常为每日 20~30 mg,分 2 次食用,最高日摄入量应低于 100 mg,是极安全的物质<sup>[27]</sup>。本研究中市购

的 NK 咀嚼片经过行业认证的 NK 活力为 1750 FU,推荐每日服用量为 3000~7000 FU,用本研究中的方法测定该市购 NK 咀嚼片的 NK 活力,用 TAME 单位表示,其活力为 0.077 TAME 单位。而本研究生产的纳豆咀嚼片中 NK 酶活为 0.063 TAME 单位。因此,每日服用本纳豆咀嚼片 5 片即可达到效果。

### 4 结论

以富集 GABA 的大豆为原料,生产纳豆并制作咀嚼片完全可行。以 45% 纳豆粉为原料,添加矫味剂、辅料和粘合剂,生产的纳豆咀嚼片中 GABA 含量为 2.07 mg/片,纳豆激酶(NK)活力为 0.063 TAME 单位/片,具有很高的营养价值和保健功能。

### 参考文献

- [1]姚震,陈林.我国心血管疾病现状与展望[J].海南医学,2013,24(13):1873-1876.
- [2]Moran A, Gu D, Zhao D, et al. Future cardiovascular disease in China markov model and risk factor scenario projections from the coronary heart disease policy Model - China [J]. Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes, 2010, 3(3):243-252.
- [3]杨胜远,陆兆新,吕凤霞,等.γ-氨基丁酸的生理功能和研究开发进展[J].食品科学,2005,26(9):546-551.
- [4]Rhodes D, Handa S, Bressan R A. Metabolic changes associated with adaptation of plant cells to water stress [J]. Plant Physiol, 1986, 82(4):890-903.
- [5]田小磊,吴晓岚.γ-氨基丁酸在高等植物逆境反应中的作用[J].生命科学,2002,14(4):215-219.
- [6]Kimmersley A M, Turano F J. Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress [J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2000, 19(6):479-509.
- [7]Van Der Luit A H, Olivari C, Haley A, et al. Distinct calcium signaling pathways regulate calmodulin gene expression in tobacco [J]. Plant Physiol, 1999, 121(3):705-714.
- [8]江晓,董明盛.纳豆,纳豆激酶与人体保健[J].中国酿造,2001,(4):1-3.
- [9]顾振新,蒋振晖.食品原料中γ-氨基丁酸(GABA)形成机理及富集技术[J].食品与发酵工业,2002,28(10):65-69.
- [10]津志田藤二郎,村井敏信,大森正司,等.[J].日本农芸化学会志,1987,61(7):817-822.
- [11]片桐充昭,清水纯夫.[J].日本食品工业学会志,1989,36(11):916-919.
- [12]早川浩,上野义英,河村真也,等.[J].生物工学会志:seibutsu-kogaku kaishi,1997,75(4):239-244.
- [13]大坪贞视.[J].北陆农业的新技术,2000,(13):66-68.
- [14]张晖,姚惠源.富含γ-氨基丁酸保健食品的研究与开发

(下转第 172 页)

害作用,所以对硫的耐受能力成为筛选酿酒菌株的重要指标之一。本研究通过生物信息学分析的知识初步预测了贝酵母 *FZF1* 基因所编码的蛋白质,并对该蛋白质的基本理化性质和结构做出了详细的预测,为贝酵母 *FZF1* 基因的进一步研究和贝酵母硫耐受性的更深层次探索做出了一定的参考。

### 参考文献

- [1] 陈叶福,沈世超,王艳,等. SSU1 多拷贝表达对酿酒酵母二硫化硫生成量的影响[J]. 微生物学报, 2008, 48(12): 1609-1615.
- [2] Taylor S L, Higley N A, Bush R. Sulfites in food: uses, analytical methods, residues, fate, exposure assessment, metabolism, toxicity, and hypersensitivity [J]. Adv. Food Res, 1986, 30: 1-7.
- [3] Avram D, Leid M, Bakalinsky A T. Fz1p of *Saccharomyces cerevisiae* is a positive regulator of SSU1 transcription and its first zinc finger region is required for DNA binding [J]. Yeast, 1999, 15: 473-480.
- [4] Divol B, du Toit M, Duckitt E. Surviving in presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 95(3): 601-613.
- [5] Hinze H, Holzer H. Analysis of the energy metabolism after incubation of *Saccharomyces cerevisiae* with sulfite or nitrite [J]. Arch Microbiol, 1986, 145(1): 27-31.
- [6] Hinze H, Holzer H. Effect of sulfite or nitrite on the ATP content and the carbohydrate metabolism in yeast [J]. Z Lebensm Unters Forsch, 1985, 181(2): 87-91.
- [7] Schimz KL, Holzer H. Rapid decrease of ATP content in intact cells of *Saccharomyces cerevisiae* after incubation with low concentrations of sulfite [J]. Arch Microbiol, 1979, 121(3): 225-229.
- [8] Rankine B C, Pocock K F. Influence of yeast strain on binding of sulphur dioxide in wines, and on its formation during fermentation [J]. J Sci Food Agric, 1962, 20(2): 104-109.
- [9] Park H, Bakalinsky. SSU1 mediates sulphite efflux in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Yeast, 2000(16): 881-888.
- [10] Tiziana N, Viviana C, Alessio G, et al. A sulphite-inducible

form of the sulphite efflux gene SSU1 in a *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast [J]. Microbiology, 2010, 156(6): 1686-1696.

- [11] Avram D, Bakalinsky A T. SSU1 encodes a plasma membrane protein with a central role in a network of proteins conferring sulfite tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Bacteriol, 1997, 179(18): 5971-5974.
- [12] Donalies U E B, Stahl U. Increasing sulphite formation in *Saccharomyces cerevisiae* by overexpression of MET14 and SSU1 [J]. Yeast, 2002, 19: 475-484.
- [13] Breitwieser W, Price C, Schuster T. Identification of a gene encoding a novel zinc finger protein in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Yeast, 1993(9): 551-556.
- [14] 王庆国, 刘天明. 酵母菌分类学方法研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2007, 27(3): 96-101.
- [15] Ciani M E, Kerala (India), Sipiczki M. Taxonomic and physiological diversity of *Saccharomyces bayanus*, in biodiversity and biotechnology of wine yeasts [M]. Research Signpost, 2002, 53-69.
- [16] Naumov G I, Naumova E S, Martynenko N N and Masneuf-Pomarède I. Taxonomy, ecology, and genetics of the yeast *Saccharomyces bayanus*: a new object for science and practice [J]. Mikrobiologiya, 2011, 80(6): 723-730.
- [17] 张太奎, 朱方明, 刘小珍, 等. 贝酵母 SSU1 基因的克隆与分析 [J]. 中国食品学报, 2014, 14(9): 195-199.
- [18] 阎隆飞, 孙之荣. 蛋白质分子结构 [M]. 北京: 清华大学出版社, 1999: 17-18.
- [19] 刘雅婷, 李正跃, 朱有勇, 等. 植物病原菌 *Pseudomonas syringae* pv. tomato 基因组中的信号肽分析 [J]. 遗传, 2005, 27(6): 959-964.
- [20] 魏香, 曾宪纲, 周海梦. 蛋白质结构中卷曲螺旋的研究进展 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2004, 20(5): 565-571.
- [21] Tomoko F. Functional analysis of SSU1 genes in lager brewing yeast [J]. Bioscience & Industry, 2003, 61(12): 809-810.
- [22] Iijima K, Ogata T. Construction and evaluation of self-cloning bottom-fermenting yeast with high SSU1 expression [J]. Journal of Appl Microbiology, 2010, 109(6): 1906-1913.

(上接第 165 页)

- [J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(9): 69-72.
- [15] 余南静. 大豆籽粒中  $\gamma$ -氨基丁酸富集技术及其胚芽豆乳开发研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [16] Nyitrai G., Kekesi K A, Juhász G. Extracellular level of GABA and Glu; *in vivo* microdialysis-HPLC measurements [J]. Current topics in medicinal Chemistry, 2006, 6(10): 935-940.
- [17] 熊迎新, 尹宗宁, 杨超, 等. 纳豆激酶活性测定方法的研究 [J]. 药物生物技术, 2006, 13(2): 140-143.
- [18] 蒋志勤, 邹金华, 熊为艳. 纳豆咀嚼片的工艺研究 [J]. 食品研究与开发, 2007, 28(4): 128-130.
- [19] Sumi H, Hamada H, Tsushima H, et al. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet [J]. Experientia, 1987, 43(10): 1110-1111.
- [20] 董明盛, 江晓, 刘诚, 等. 纳豆激酶稳定性的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2001, 4: 004.

[21] Hsieh C W, Lu W C, Hsieh W C, et al. Improvement of the stability of nattokinase using  $\gamma$ -polyglutamic acid as a coating material for microencapsulation [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42(1): 144-149.

- [22] Forgaty W, Kelly C. Topics in enzyme and fermentation [J]. Biotechnology Chichester: G Howood-J Wiley & Sons, 1979,
- [23] 渠岩, 王夫杰, 李平兰, 等.  $\gamma$ -氨基丁酸及其在大豆发酵食品中的研究进展 [J]. 中国酿造, 2010, 29(3): 1-4.
- [24] 蒋振辉, 顾振新. 高等植物体内  $\gamma$ -氨基丁酸合成, 代谢及其生理作用 [J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 249-254.
- [25] 金红星, 田楠, 成文玉, 等. 微生物发酵合成  $\gamma$ -氨基丁酸的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(11): 6385-6386.
- [26] 蒋立文, 周传云, 夏菠, 等. 几种发酵豆制品中  $\gamma$ -氨基丁酸含量的初步测定 [J]. 中国酿造, 2007, 26(4): 62-64.
- [27] 萧凤岐. 积极开发 GABA 食品 [J]. 中国酿造, 2004, 23(12): 22-24.