

一种新型功能性海带豆酱的制备工艺研究

杨星星¹, 崔迎雪¹, 武凌宇¹, 王亚囡¹, 刘远平², 李钰金², 魏玉西¹

(1. 青岛大学 生命科学学院, 山东 青岛 266071; 2. 荣成泰祥食品股份有限公司, 山东 荣成 264309)

摘要: 为了探究一种新型纳豆菌发酵食品的最佳工艺, 利用纳豆菌发酵大豆和海带, 以发酵物中游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活性为评价指标, 通过单因素试验和正交试验确定最佳发酵条件。结果表明, 发酵温度 42℃、发酵时间 54 h、接种量 1%、料水比(*m/v*)1:4、配料比(大豆:海带)2:1 时发酵产物中游离氨基酸态氮含量最高(0.041%); 发酵温度 40℃、发酵时间 48 h、接种量 3%、料水比(*m/v*)1:2、配料比(大豆:海带)3:1 时发酵产物中纳豆激酶活性最高(可达 1426.53IU/g)。

关键词: 海带; 大豆; 纳豆菌; 发酵; 游离氨基酸态氮; 纳豆激酶活性

中图分类号: TS254 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2017)06-0048-07

DOI: 10.11759/hyxx20170110001

纳豆作为一种最早起源于中国的传统发酵食品, 系由纳豆菌发酵大豆制得, 在日本已有 2000 年的食用历史^[1-2]。纳豆菌(*Bacillus natto*)属细菌科、芽孢杆菌属, 具有耐酸、耐碱、耐 100℃ 高温及耐挤压的特性, 在胃部酸性环境中仍能保持其稳定性^[3]。由于纳豆菌能分解蛋白质、碳水化合物、脂肪等大分子物质, 使纳豆菌发酵产品中富含氨基酸、寡聚糖等多种易被人体吸收利用的营养成分^[4]。同时, 纳豆制品中还含有丰富的纳豆激酶, 具有溶血栓、降血压、抗肿瘤、抗氧化性等作用^[5-6]。因此, 纳豆制品是一类很好的功能性食品。

海带(*Laminaria japonica* Aresch)又名昆布, 属于褐藻门(Phaeophyta)海带目(Laminariales)海带科(Laminariaceae)海带属(*Laminaria*), 因其富含褐藻多糖、褐藻多酚以及碘等人体需宜营养成分, 具有抗癌、防癌、降三高、补钙、提高免疫力、皮肤祛皱增白等功效, 还是低脂肪、低热量的保健食品^[7]。但是, 由于海带中的褐藻糖胶、褐藻淀粉及海藻酸盐等多糖不易被肠道消化, 大大限制了海带的利用领域。

如果将纳豆与海带搭配作为纳豆菌发酵原料, 一方面, 海带为纳豆菌的生长提供了充分的碳源, 另一方面, 纳豆菌的发酵过程可以将海带中褐藻胶进行降解, 可进一步提高海带的利用率。所获得的发酵产物, 不仅保留传统纳豆制品与海带原有的营养价值及药用价值, 而且有利于人体对海带的吸收^[8], 两者之间作用互补, 堪称黄金搭档。中国是农业大国, 海带与大豆资源丰富且价格低廉, 二者搭配制成的

功能性食品适合中国的大众消费。目前, 国内外尚未见纳豆菌发酵海带和黄豆制备功能性食品的报道。

本文以大豆和海带为纳豆菌发酵的原料, 探究使发酵产物中游离氨基酸态氮和纳豆激酶含量最高的功能性海带豆酱的生产工艺。研究结果可为大豆和海带的高值化利用提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

大豆 市售优质大豆, 新鲜饱满颗粒完整; 海带 市售新鲜海带; 纳豆芽孢杆菌(*Bacillus natto*)菌粉, 购于北京川秀贸易国际有限公司。

1.2 仪器与amp;设备

HC-2518 高速离心机 安徽中科中佳科学仪器有限公司; HH4 数显恒温水浴锅 常州国华电器有限公司; 721G 可见分光光度计 上海精密仪器有限公司; 88-1 型定时恒温磁力搅拌器 上海司乐仪器有限公司; Sartorius PB-10 pH 计 赛多利斯科学仪器(北

收稿日期: 2017-01-10; 修回日期: 2017-03-19

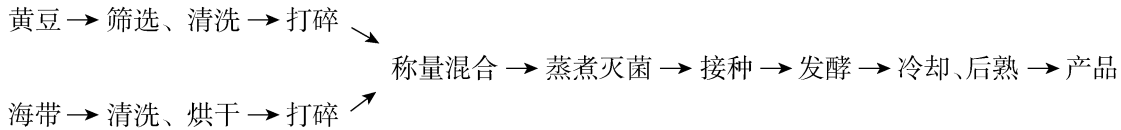
基金项目: 山东省重点研发计划(重大关键技术)(2016ZDJS06A01)

[Foundation: This study was financially supported by Shandong province key R & D projects (Key technologies)(No.2016ZDJS06A01)]

作者简介: 杨星星(1994-), 男, 甘肃庆阳人, 本科生, 研究方向: 食品科学与工程专业, 电话: 18363997324, E-mail: 1490494577@qq.com; 魏玉西(1964-), 通信作者, 教授, 博士, 研究方向: 海洋生物资源高值化利用, 电话: 0532-85953227, E-mail: yuxiw729@163.com; 李钰金(1966-), 通信作者, 研究员, 研究方向: 水产食品加工, E-mail: r.lyj@163.com

京)有限公司; 电热恒温培养箱 上海-恒科学仪器 有限公司; 电子天平 奥豪斯仪器(上海)有限公司。

1.3 工艺流程



1.4 方法

1.4.1 原料处理

大豆, 选取颗粒饱满完整的大豆浸泡 12 h 后用搅拌机打碎; 海带, 选取新鲜的海带洗净后放入烘干箱中烘干、粉碎, 过 60 目筛, 海带粉备用。

1.4.2 游离氨基酸态氮(free ammonia nitrogen, FAN)含量的测定

参照文献[9]进行, 游离氨基酸态氮含量 X 计算如下:

$$X(\%) = \frac{(V_1 - V_0) \times c \times 0.014}{m \times 20 / 100} \times N$$

其中, c : 氢氧化钠标准溶液的浓度(mol/L); m : 被测样品的质量(g); V_1 : 滴定消耗的 NaOH 标准溶液消耗的体积(mL); V_0 : 空白试验消耗的 NaOH 标准溶液消耗的体积(mL); N : 稀释倍数。

1.4.3 纳豆激酶(natto kinase, NK)活性的测定

采用 Folin-酚法^[10-14]进行, 酶活力计算公式如下:

$$X = (A_{\text{样}} - A_{\text{对}}) \times K \times \frac{V}{T} \times N$$

其中, $A_{\text{样}}$: 样品液的光吸收值 $OD_{680\text{nm}}$; $A_{\text{对}}$: 对照液的光吸收值 $OD_{680\text{nm}}$; K : 标准曲线上光吸收为 1 时的酪氨酸的质量(μg); V : 酶促反应体系的总体积(mL); T : 酶促反应的时间(min); N : 粗酶液的稀释倍数。

1.4.4 单因素试验

发酵后置于冰箱后熟 24 h, 分别用 Folin-酚法、甲醛滴定法测定发酵物中纳豆激酶活性及游离氨基酸态氮含量, 以此评价发酵效果并确定单因素试验水平。各因素试验及后续正交试验均做三组平行试验, 结果取其平均值。

1.4.4.1 接种量的选择

取 5 g 大豆(打碎后的颗粒状, 下同)、2.5 g 海带粉(干粉末, 下同), 22.5 mL 水, 121℃ 灭菌 20 min, 分别接入质量分数为 1%、2%、3%、4%、5% 的纳豆菌粉, 放入 42℃ 的恒温培养箱中发酵 48 h。

1.4.4.2 料水比(大豆、海带总质量与水的的质量的比例)的选择

取 5 g 大豆、2.5 g 海带粉, 分别加水 15 mL(1 : 2)、

22.5 mL(1 : 3)、30 mL(1 : 4)、37.5 mL(1 : 5), 121℃ 灭菌 20 min, 接入质量分数为 2% 的纳豆菌粉, 放入 42℃ 的恒温培养箱中发酵 48 h。

1.4.4.3 发酵时间的选择

取 5 g 大豆、2.5 g 海带粉, 22.5 mL 水, 121℃ 灭菌 20 min, 接入质量分数为 2% 的纳豆菌粉, 放入 42℃ 的恒温培养箱中分别发酵 24、36、42、48、54、60 h。

1.4.4.4 配料比(大豆和海带质量的比例)的选择

取编号分别为 1、2、3、4、5 的 5 个锥形瓶, 1 号瓶中加入 5 g 大豆、10 g 海带粉(1 : 2); 2 号瓶中加入 5 g 大豆、15 g 海带粉(1 : 3); 3 号瓶中加入 5 g 大豆、2.5 g 海带粉(2 : 1); 4 号瓶中加入 5 g 大豆、1.67 g 海带粉(3 : 1); 5 号瓶中加入 5 g 大豆、5 g 海带粉(1 : 1)。以料水比 1 : 3, 分别加水 45、60、22.5、20.1、30 mL, 121℃ 灭菌 20 min, 接入质量分数为 2% 的纳豆菌粉, 放入 42℃ 的恒温培养箱中发酵 48 h。

1.4.4.5 发酵温度的选择

取 5 g 大豆、2.5 g 海带粉, 22.5 mL 水, 121℃ 灭菌 20 min, 接入质量分数为 2% 的纳豆菌粉, 分别放入 38、40、42、44、46℃ 的恒温培养箱中发酵 48 h。

1.4.5 正交试验方案设计

根据上述单因素试验结果, 按照 $L_{18}(3^7)$ 方案设计正交试验。

1.5 数据处理

本试验数据采用 SPSS 19.0 软件分析。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 接种量的选择

接种量是影响发酵的主要因素之一。一般来说, 采用大的接种量会缩短发酵时间, 同时也会减少杂菌的污染。但是, 由于纳豆菌是需氧菌, 接种量过大不但会造成菌种浪费、生产成本增加, 也会引起溶氧不足影响菌体生长和产物的合成。而且, 菌种繁殖过快, 也会造成菌体生长的营养物质不足, 产生的游离氨基酸可能被菌体重新利用, 从而导致游离氨基

酸态氮含量降低^[15-16]。本试验研究了不同接种量对发酵大豆和海带的的影响,分别取样测定了纳豆激酶活力和游离氨基酸态氮含量,纳豆激酶活力和游离氨基酸态氮含量随接种量不同而变化的趋势见图 1。

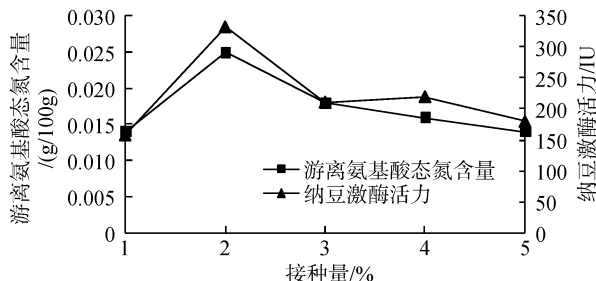


图 1 接种量对游离氨基酸态氮含量及纳豆激酶活性的影响
Fig. 1 Effect of inoculum quantity on free amino nitrogen concentration and natto kinase activity

从图 1 中可知, 48 h 发酵时间内, 游离氨基酸态氮含量在接种量为 2% 时达到峰值(0.025%), 当接种量超过 2% 时, 游离氨基酸态氮含量逐渐降低; 纳豆激酶活力和游离氨基酸态氮的变化趋势基本一致, 在接种量为 2% 时达到峰值(332.12 IU)。

2.1.2 料水比的选择

料水比也是影响发酵的主要因素之一。本试验研究了不同的料水比对发酵大豆和海带的的影响。各样品中游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力变化趋势如图 2 所示。

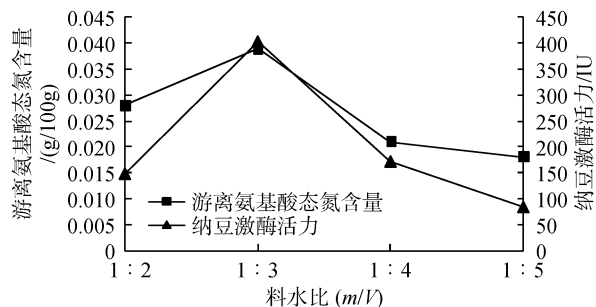


图 2 料水比对游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活性的影响
Fig. 2 Effect of solid-to-water ratio on free amino nitrogen concentration and natto kinase activity

从图 2 可以看出, 当料水比为 1 : 3 时游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力达到峰值, 分别为 0.038% 和 404.27IU; 此后, 游离氨基酸态氮含量与纳豆激酶活力逐渐降低。

2.1.3 发酵时间的选择

发酵时间是控制发酵效果的又一主要因素。一般来说, 发酵时间过长, 可能导致菌体死亡、自溶,

对发酵产物可能产生不良影响; 发酵时间过短, 则可能导致发酵不完全, 产品品质低下, 增加产品生产成本^[17]。本试验研究了不同发酵时间对发酵产物的影响, 分别取样测定了游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力, 其变化趋势如图 3 所示。

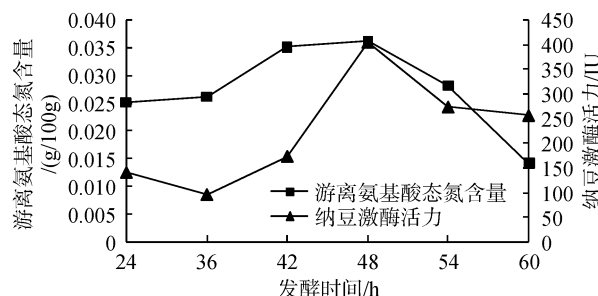


图 3 发酵时间对游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活性的影响
Fig. 3 Effect of fermentation time on free amino nitrogen concentration and natto kinase activity

在 60 h 发酵时间内, 游离氨基酸态氮含量先呈上升趋势并在 48 h 达到峰值(0.036%), 之后随发酵时间延长其含量逐渐降低。同时, 纳豆激酶活力也在 48 h 时达到峰值(为 404.27IU)。

在 60 h 发酵时间内, 游离氨基酸态氮含量先呈上升趋势并在 48 h 达到峰值(0.036%), 之后随发酵时间延长其含量逐渐降低。同时, 纳豆激酶活力也在 48 h 时达到峰值(为 404.27IU)。

2.1.4 配料比的选择

与大豆相比, 海带中蛋白质含量较低, 但含有大量活性海藻多糖等活性成分, 可为纳豆菌生长提供碳源。碳源按照利用快慢又分为迅速利用的碳源和缓慢利用的碳源。前者能够较快速地参与代谢, 提供菌体生长所需要的能量, 因此有利于菌体生长, 但是碳源代谢产生的某些分解产物有可能对某些发酵产物的合成产生阻遏作用; 缓慢利用的碳源, 被菌体缓慢利用, 有利于延长代谢产物的合成。因此, 一方面大豆与海带搭配给纳豆菌提供了新型碳源, 另一方面二者的对比对发酵效果可能会有影响。本试验研究了不同配料比对游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力的影响, 游离氨基酸态氮和纳豆激酶活力的变化趋势如图 4 所示。

由图 4 可见, 当大豆与海带的比例为 3 : 1 时, 游离氨基酸态氮含量达到峰值(0.032%), 纳豆激酶活力也达到峰值(745.24IU)。

2.1.5 发酵温度的选择

纳豆菌虽然对环境适应性较强, 但不同的温度对纳豆菌的生长繁殖都有不同的影响^[18]。本试验研究了不同的温度对游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力的影响, 各样品中游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力的变化趋势如图 5。

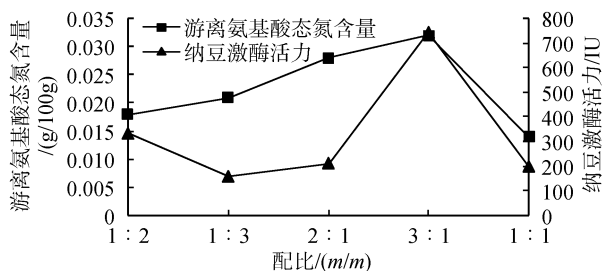


图 4 大豆与海带配料比对游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力的影响

Fig. 4 Effect of mixing ratio on free amino nitrogen concentration and nattokinase activity

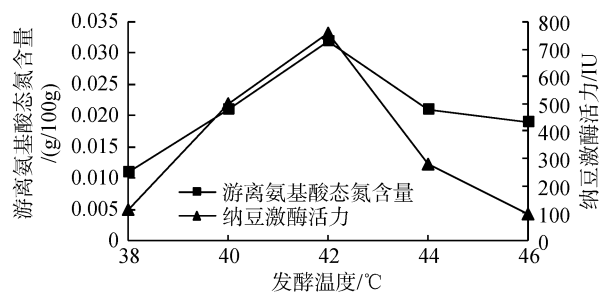


图 5 发酵温度对游离氨基酸态氮含量及纳豆激酶活力活性的影响

Fig. 5 Effect of fermentation temperature on free amino nitrogen concentration and nattokinase activity

由图 5 可见, 随温度升高, 游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力均呈上升趋势, 在 42℃ 时两者同时达到峰值, 游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力的峰值分别为 0.032% 和 758.30IU。42℃ 之后随温度升高, 发酵物中游离氨基酸态氮含量和纳豆激酶活力均逐渐下降。推测这是因为高温使得纳豆菌发酵过程中酶部分失活, 影响发酵效果。

2.2 正交试验结果

在上述单因素筛选基础上, 确定的因素与水平排列见表 1。

2.2.1 以纳豆激酶活力为评价指标

正交试验方案与结果见表 2。根据极差结果 R 分析可知, $C > B > A > D > E$, 即发酵温度对发酵产物中纳豆激酶活力的影响最大, 其次依次为发酵时间、接种量、料水比、配料比, 根据均值结果 k_1 、 k_2 、 k_3 , 分析可知, 最优组合为 $A_3B_2C_1D_1E_3$, 因此纳豆菌发酵大豆和海带产高活力纳豆激酶的最适宜条件为: 发酵温度 40℃、发酵时间 48 h、接种量 3%、料水比 1:2, 大豆与海带配料比 3:1。按此最佳工艺制备的功能性海带豆酱中, 纳豆激酶活力为 1426.53IU/g。

表 1 因素与水平排列表

Tab. 1 Factors and levels

因素	A 接种量(%)	B 发酵时间(h)	C 发酵温度(°C)	D 料水比(m/v)	E 配料比(m/m)
水平	1	42	40	1:2	1:2
	2	48	42	1:3	2:1
	3	54	44	1:4	3:1

表 2 以纳豆激酶活力为评价指标的正交试验方案及结果

Tab. 2 Orthogonal array design with experimental values of nattokinase activity as evaluation item

试验号	A 接种量(%)	B 发酵时间(h)	C 发酵温度(°C)	D 料水比(m/V)	E 配料比(m/m)	纳豆激酶活力(IU)
1	1	1	1	1	1	510.79
2	1	2	2	2	2	357.98
3	1	3	3	3	3	204.97
4	2	1	1	2	2	1111.08
5	2	2	2	3	3	278.24
6	2	3	3	1	1	379.65
7	3	1	2	1	3	1026.93
8	3	2	3	2	1	1188.75
9	3	3	1	3	2	426.74
10	1	1	3	3	2	423.09
11	1	2	1	1	3	1172.99
12	1	3	2	2	1	205.72
13	2	1	3	3	1	426.74

续表

试验号	A 接种量(%)	B 发酵时间(h)	C 发酵温度(°C)	D 料水比(m/V)	E 配料比(m/m)	纳豆激酶活力(IU)
14	2	2	1	1	2	947.29
15	2	3	2	2	3	1197.76
16	3	1	2	2	3	247.38
17	3	2	3	3	1	1292.88
18	3	3	1	1	2	550.47
k_1	479.257	624.335	952.040	764.687	667.422	
k_2	723.460	873.022	474.347	718.112	636.108	
k_3	788.858	494.218	565.188	508.777	688.045	
R	309.601	378.804	477.693	255.910	51.937	

2.2.2 以游离氨基酸态氮含量为评价指标

正交试验方案与结果见表3, 根据极差R分析可知, $C>A>E>B=D$, 发酵温度对游离氨基酸态氮含量的影响最大, 其余影响因子的影响顺序依次为接种量、配料比、发酵时间和料水比; 根据均值结果 k_1 、 k_2 、 k_3 分析可知, 最优方案为 $A_1B_3C_1D_3E_2$, 因此纳豆菌发酵大豆和海带产生游离氨基酸态氮含量的最优方案为: 发酵温度 44°C、发酵时间 54 h、接种量

1%、料水比 1 : 4、配料比 2 : 1。按此最佳工艺制备的功能性海带豆酱中, 游离氨基酸态氮的含量 0.041%。

因此, 最高纳豆激酶酶活的发酵条件与最高游离氨基酸态氮的发酵条件并不完全一致, 实际生产时可根据对产品鲜度或纳豆激酶活性的需要灵活选用发酵条件。如优先考虑功能, 则选前者; 如优先考虑风味, 则选后者。

表3 以游离氨基酸态氮含量为评价指标的正交试验方案及结果

Tab. 3 Orthogonal array design with experimental values of free amino nitrogen concentration as evaluation item

试验号	A 接种量(%)	B 发酵时间(h)	C 发酵温度(°C)	D 料水比(m/v)	E 配料比(m/m)	游离氨基酸态氮含量(g/100g)
1	1	1	1	1	1	0.035
2	1	2	2	2	2	0.021
3	1	3	3	3	3	0.011
4	2	1	1	2	2	0.032
5	2	2	2	3	3	0.026
6	2	3	3	1	1	0.035
7	3	1	2	1	3	0.031
8	3	2	3	2	1	0.018
9	3	3	1	3	2	0.011
10	1	1	3	3	2	0.011
11	1	2	1	1	3	0.018
12	1	3	2	2	1	0.012
13	2	1	3	3	1	0.021
14	2	2	1	1	2	0.011
15	2	3	2	2	3	0.015
16	3	1	2	2	3	0.015
17	3	2	3	3	1	0.017
18	3	3	1	1	2	0.016
k_1	0.034	0.024	0.037	0.024	0.023	
k_2	0.023	0.019	0.021	0.019	0.033	
k_3	0.018	0.032	0.017	0.032	0.019	
R	0.016	0.013	0.020	0.013	0.014	

3 结论

纳豆作为一种传统的功能性食品,深受消费者喜爱。本文在其原有营养价值和保健功效的基础上,尝试在大豆中加入营养和医用价值丰富的海带共同作为发酵原料,制作一种新型的功能性海带豆酱。正交试验结果显示:以纳豆激酶为评价指标的最优发酵条件为:发酵温度 40℃、发酵时间 48 h、接种量 3%、料水比 1:2,大豆与海带配料比 3:1,按此最佳工艺制备的功能性海带豆酱中,纳豆激酶活力为 1426.53IU/g;以游离氨基酸态氮含量为评价指标的最优发酵条件为:发酵温度 44℃、发酵时间 54 h、接种量 1%、料水比 1:4、配料比 2:1,按此最佳工艺制备的功能性海带豆酱中,游离氨基酸态氮的含量 0.041%。

本文确定了纳豆菌发酵大豆和海带的最佳工艺条件,产品既保留了纳豆食品原有的功效,又增加了海带的营养和活性成分。

参考文献:

- [1] Sumi H. Antibacterial activity of *Bacillus natto* — growth inhibition against *Escherichia coli* O-157 [J]. *Bioindustry*, 1997, 14: 47-50.
- [2] Sumi H. Accumulation of vitamin K (menaquinone-7) in plasma after indigestion of natto and natto bacilli (*B. subtilis natto*) [J]. *Food Science and Technology Research*, 1999, 5(1): 48-50.
- [3] Garrity G M. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* [M]. 2nd ed. Vol 1. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2002.
- [4] Esaki H, Onozaki H, Osawa T. Antioxidative activity of fermented soybean products [M]. Washington D C: American Chemical Society, 1994: 353-360.
- [5] 王丽娜. 纳豆芽孢杆菌液体发酵条件的优化[J]. *中国调味品*, 2014, 39(9): 28-30.
Wang Lina. Optimization of liquid fermentation conditions of *Bacillus natto* [J]. *China Condiment*, 2014, 39(9): 28-30.
- [6] Murooka Y, Yamshita M. Traditional healthful fermented products of Japan [J]. *J Ind Microbiol*, 2008, 35(8): 791-798.
- [7] 姚海芹, 王飞久, 刘福利, 等. 食用海带品系营养成分分析与评价[J]. *食品科学*, 2016, 37(12): 95-98.
Yao Haiqin, Wang Feijiu, Liu Fuli, et al. Chemical analysis and nutritional assessment of new varieties of *Saccharina japonica* [J]. *Food Science*, 2016, 37(12): 95-98.
- [8] 仇哲, 孙跃春, 吴海歌. 酶解海带产物的营养成分分析[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2016, 02: 60-63, 69.
Qiu Zhe, Sun Yuechun, Wu Haige. Nutritional components analysis of degraded *Laminaria japonica* by sodium alginate lyase [J]. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University*, 2016, 02: 60-63, 69.
- [9] 王永华, 张水华. 食品分析 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002: 139-140.
Wang Yonghua, Zhang Shuihua. *Food Analysis* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2002: 139-140.
- [10] 张岸平, 李会荣, 吕伟, 等. 纳豆激酶液体发酵条件的优化[J]. *河北师范大学学报(自然科学版)*, 2011, 35(6): 615-620.
Zhang Anping, Li Huirong, Lv Wei, et al. Nattokinase liquid fermentation condition optimizes [J]. *Journal of Hebei Normal University (Natural Science Edition)*, 2011, 35(6): 615-620.
- [11] 胡静. 纳豆激酶的活性测定 [J]. *海峡药学*, 2013, 25(5): 47-48.
Hu Jing. Detection of nattokinase activity [J]. *Strait Pharmaceutical Journal*, 2013, 25(5): 47-48.
- [12] Fujita M, Nomura K, Hong K, et al. Purification and characterization of a strong fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese natto, a popular soybean fermented food in Japan [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 197(3): 1340-1347.
- [13] 陈晓飞, 周伏忠, 陈国参, 等. 纳豆激酶酶学性质研究[J]. *河南科学*, 2010, 28(1): 41-43.
Chen Xiaofei, Zhou Fuzhong, Chen Guocan, et al. Characterization of nattokinase [J]. *Henan Science*, 2010, 28(1): 41-43.
- [14] 赵正涛, 李全阳, 赵红玲, 等. 酪蛋白在不同 pH 值下特性的研究[J]. *乳业科学与技术*, 2009, 01: 26-29.
Zhao Zhengtao, Li Quanyang, Zhao Hongling, et al. Research on the characteristic of caseins at different pH [J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 2009, 01: 26-29.
- [15] 王文秀, 于佳, 李钊, 等. 不同条件对纳豆菌发酵蛤蜊产物中游离氨基酸态氮含量及纳豆激酶活性的影响[J]. *食品科学*, 2015, 36(9): 113-116.
Wang Wenxiu, Yu Jia, Li Shan, et al. Effects of different conditions on free amino nitrogen content and nattokinase activity in *Bacillus natto*-fermented clam [J]. *Food Science*, 2015, 36(9): 113-116.
- [16] Kubo Y, Inaka T, Hachiya T, et al. Development of a rifampicin-resistant *Bacillus subtilis* strain for natto fermentation showing enhanced exoenzyme production [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2013, 115(6): 654-657.
- [17] 王刚. 纳豆激酶的固体发酵、分离纯化及应用研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2005.
Wang gang. The solid ferment separation and application of nattokinase [D]. Changchun: Jilin Agriculture

University, 2005.

[18] 黄婷, 刘良忠, 曹宇翔, 等. 纳豆固态发酵工艺优化[J]. 中国酿造, 2016, 35(1): 141-144.

Huang Ting, Liu Liangzhong, Cao Yuxiang, et al. Optimization of solid-state fermentation technology of natto[J]. China Brewing, 2016, 35(1): 141-144.

Study on the optimal fermentation technology for a new type of bean sauce with kelp using *Bacillus natto*

YANG Xing-xing¹, CUI Ying-xue¹, WU Ling-yu¹, WANG Ya-nan¹, LIU Yuan-ping², LI Yu-jin², WEI Yu-xi¹

(1. College of Life Sciences, Qingdao University, Qingdao 266071, China; 2. Rongcheng Taixiang Food Co. Ltd., Rongcheng 264309, China)

Received: Jan. 10, 2017

Key words: kelp; soybean sauce; *Bacillus natto*; fermentation; free amino nitrogen; nattokinase activity

Abstract: This study investigated the optimal fermentation technology for a new type of food using *Bacillus natto*. [Method] After fermentation of kelp and soybean by *Bacillus natto*, the concentration of free amino nitrogen and nattokinase activity were determined, and then the optimum conditions were confirmed by single factor analysis and orthogonal test. [Result] The maximum concentration of free amino nitrogen reached 0.041% when the fermentation was performed at 44°C for 54 h with an inoculation amount of 1%, a solid-to-water ratio of 1 : 4 (*m/V*), and a mixing ratio of 2 : 1. Meanwhile, the maximum activity of nattokinase reached 1426.53 IU/g after 48 h of fermentation at 40°C with an inoculation amount of 3%, a solid-to-water ratio of 1 : 2 (*m/V*), and a mixing ratio of 3 : 1.

(本文编辑: 康亦兼)