

液体曲制作酱油试验简报

(湖北省宜昌市三峡粉厂, 宜昌)

酱油是我国劳动人民发明的著名调味品, 早在周朝(大约在 3000 年前)就有制酱的记载。它含有丰富的氨基酸、维生素以及糖和酯类等, 用于烹调能赋予菜餚以优异的色香味。

迄今为止, 酿造酱油都采用固体曲发酵工艺, 尽管在菌种、工艺和机械设备等方面做了许多改进, 提出了一些速酿法, 提高了酱油的产量和质量, 但都是围绕着固体曲发酵工艺。该工艺冗长繁杂, 劳动强度大, 生产周期长, 原料利用率不高。

为了探讨酱油酿造新工艺, 我厂“三结合”实验小组, 于 1972 年开始进行深层培养生产蛋白酶, 用于水解粉丝废水和豆饼粉原料, 制作酱油的研究。经过小型和中型试验, 现已正式投入生产。新工艺的优点是整个生产连续化, 工艺路线简化, 生产周期缩短, 设备和原料利用率提高, 但是在酱油色泽、香味等方面目前还不如固体曲发酵。兹将试验结果简报如下。

一、菌种选择

试验菌株: 3042*和青岛一号, 分别为上海实验酿造工场和青岛酿造一厂提供, 以及本厂生产菌株。

培养基: 麸皮 3%, 黄豆粉 1.5%, 玉米粉 0.5%, 磷酸氢二钠 0.5%, 磷酸二氢钾 0.01%, pH7.0。

培养条件: 每 500 毫升三角瓶装液量 100 毫升, 往复式摇床(频率 100 次/分, 振幅 7 厘米)培养, 温度 32℃, 培养 72 小时。

表 1 菌株酶活力的比较

酶活	菌株		
	3042	青 岛 一 号	本 厂
1. 蛋白酶(微克酪氨酸/毫升·分钟)	157.5	46	85.3
2. 糖化酶(毫克葡萄糖/毫升·小时)	99.1	81.1	81.1
3. 液化酶(克淀粉/毫升·分钟)	级微	级微	级微

1. 用 Folin-phenol 法测定, 下同。
2. 用次亚碘酸法测定。
3. 用 Wohlgemuth 改良法测定。

结果: 对几个生产上常用优良菌株比较的结果指出, 3042 产蛋白酶和糖化型淀粉酶能力均较高, 确定为试验和生产菌株。该菌系由米曲霉(*Asp. oryzae* AS 3.863) 变异而来。另外, 很多研究者指出米曲霉产生液化型淀粉酶, 而在我们的条件下, 所试验的三株菌用 Wohlgemuth 改良法很难测出这种酶的活力(表 1)。

二、培养条件

(一)起始 pH 对蛋白酶产生的影响: 以筛选用培养基为基础, 测定起始 pH 对产生酶的影响。结果指出, 起始 pH 5.5—8.0, 蛋白酶活力均在 91—108 单位, 终 pH 为 7.1 或 7.2。可见培养基起始 pH 对蛋白酶的产生影响不大。

(二)碳源对蛋白酶产生的影响: 表 2 结果说明, 3042 菌株对所试验的几种碳源都可以利用, 但从酶活力和酶液颜色比较则以麸皮最好。10% 的湿粉渣也可以代替 3% 麸皮, 其酶液呈深红色, 有利于提高酱油色泽。

表 2 碳源对 3042 产生蛋白酶的影响

测定项目 碳源 ¹⁾	用量 (%)	终 pH	酶活力 (单位)	菌体干重 (克/100 毫升)	酶液 颜色
玉 米 粉	3	6.3	215.8	2.096	淡黄
米 糠	3	6.6	203.4	1.753	淡黄
湿 粉 渣 ²⁾	10	6.3	253.2	1.288	深红
湿 粉 渣	20	6.3	153.6	1.631	深红

- 1) 基础培养基: 黄豆粉 1.5%, Na_2HPO_4 0.5%, KH_2PO_4 0.01%。
- 2) 湿粉渣含干物质 11%, 其中淀粉占干物质 9.8%, 纤维素占 32.4%, 蛋白质占 14.6%。

改变麸皮用量的试验证明, 在 1—5% 之间麸皮用量, 以 2% 较为适宜。

(三)有机氮源对蛋白酶产生的影响: 表 3 结果说明: 豆饼粉较适宜 3042 产生蛋白酶。生产粉丝的废水——浓粉水和从粉水榨取的黄浆干,

* 中国科学院统一编号为 AS 3.951。
本文 1973 年 5 月 21 日收到。

都含有较丰富的蛋白质和淀粉,所得酶液呈红色,适宜酱油酿造,拟进一步试验以代替豆饼粉。

表 3 氮源对 3042 产蛋白酶的影响

测定项目 *氮源	用量 (%)	终 pH	酶活力 (单位)	菌体湿重 (克/100 毫升)	酶液 外观
黄豆粉	1.5	6.5	190.9	17.0	混浊
豆饼粉	1.5	6.6	232.4	18.5	清亮
**浓粉水	20	6.6	124.5	17.5	红色
浓粉水	15	6.9	124.5	17.5	红色
***黄浆干	2.5	6.8	141.1	17.0	红色

* 基础培养基: 麸皮 3%, 玉米粉 0.5%, Na_2HPO_4 0.5%, KH_2PO_4 0.01%。

** 浓粉水含干物质 9.6—10%。

*** 黄浆干: 从浓粉水榨取出的湿物质, 约含水 50%, 蛋白质为干物重的 55—60%, 淀粉为 13.8%, 粗纤维为 2.6%。

改变豆饼粉的用量分别为 1.5%、2.0%、3.0% 和 5.0%, 试验说明, 豆饼粉用量为 1.5% 较为适宜。

(四) 无机盐对蛋白酶产生的影响: 对 Na_2HPO_4 、 NaCl 、 MgSO_4 、 CaCl_2 和 CaCO_3 的试验证明, 0.1% CaCO_3 和 MgSO_4 对酶形成有利(表 4)。

表 4 无机盐对 3042 蛋白酶形成的影响

项目	无乳盐 对照*	Na_2HPO_4 (0.1%)	NaCl (0.1%)	MgSO_4 (0.1%)	CaCl_2 (0.1%)	CaCO_3 (0.1%)
终 pH	7.1	7.0	6.8	6.5	7.0	7.2
酶活力	116.2	91.3	87.2	166	112	186.8

* 培养基为: 麸皮 3%, 豆饼粉 1.5%, KH_2PO_4 0.01%。

(五) 培养时间: 按筛选菌种的培养基和条件进行试验, 结果(表 5)说明, 蛋白酶形成高峰在第 4 天, 第七天菌体开始自溶, 酶活力显著下降。

表 5 培养时间对蛋白酶产生的影响

项目	时间(天)	3	4	5	6	7
pH		6.6	7.6	7.4	—	8.0
酶活力(单位)		128.7	186.8	149.4	141.1	58.1

综上所述, 3042 菌深层培养产生蛋白酶的条件为: 培养基组分是麸皮 2%, 豆饼粉 1.5%, KH_2PO_4 0.01%, CaCO_3 0.1%, Na_2HPO_4 0.1%,

pH 中性; 培养温度为 32℃; 培养时间, 摇瓶为 3—4 天, 发酵罐为 36—48 小时。

三、液体曲(酶)对原料的水解

(一) 最适温度: 试验证明, 3042 蛋白酶作用的最适温度是 45℃(图 1), 实际操作可控制在 40—50℃ 范围。

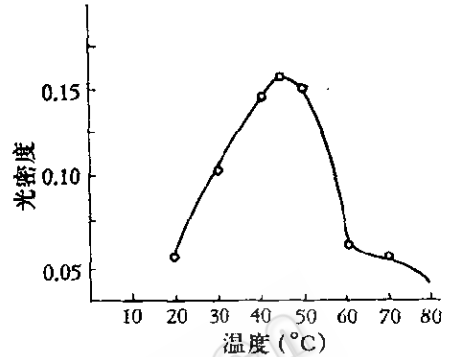


图 1 温度对 3042 蛋白酶的影响

(二) 最适 pH: 试验证明, 3042 蛋白酶作用的最适 pH 为 6.7—7.0(图 2)。

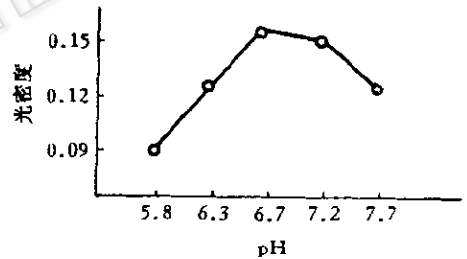


图 2 pH 对 3042 蛋白酶的影响

(三) 菌体的利用: 将 3042 菌株的深层培养液过滤, 除去菌丝体即为酶液。但是试验发现, 用带菌丝的发酵醪一起水解, 氨基氮提高 50% 以上。用破碎菌体和未破碎菌体对照试验, 效果基本相同。从而进一步指出, 发酵醪可直接用于水解制造酱油。

(四) 食盐的作用: 在酶水解过程中, 由于水解系统营养物质丰富, 温度和 pH 合适, 很易招致酸败和腐败。为此我们在水解过程中加入食盐, 以提高其渗透压抑制杂菌生长繁殖, 保证水解顺利进行。试验证明, 加入 4—5% 的食盐量为宜(表 6)。无疑, 食盐对蛋白酶活力有影响(表 4), 且含量越高酶活力损失越大。但是试验证明, 加入 4—5% 的食盐对酶的影响与杂菌污染造成的损失相比, 在经济上还是合算的。今后拟选择既不

表 6 在酶水解液中添加食盐的效果

结果	底物 NaCl (%)	总 氮 1.59%			
		0	3	4	5
氨基氮(%)		0.63	0.57	0.52	0.52
蛋白分解率(%)		39.6	35.8	32.7	32.7
污染情况		发臭	微臭	无异味	无异味

影响酶活力又能抑制杂菌的添加物。

(五)水解: 我厂是利用粉丝废水——粉水和豆饼粉为制酱油原料。试验证明,底物总氮0.7%左右,酶液的酶活力200单位左右,底物与酶液比为1:0.3,在45℃,pH中性,经24—28小时,蛋白质水解率可达45%以上,酱油出品率较固体曲工艺提高60%左右。

水解液经加温、压滤、浓缩、加入酱色及食盐,然后静置,除去沉淀,根据产品质量要求配制成酱油。