

其酶活力受 pH 的影响较大。二巯基丙醇对多酚氧化酶具有较强的抑制作用,当浓度达到 1.5mmol/L 时,其酶活力值已降至 6% 以下。

3.2 过氧化物酶具有很高的耐热性,单纯提高处理温度难以达到工艺灭酶的要求,还应在进一步的实验过程中,将其他环境因素如 pH、时间等考虑在内。大豆过氧化物酶的最适作用 pH 条件为 5.5 左右,pH 值大于 6.5 或小于 5 时,其活力明显降低。大豆卵磷脂浓度达到 80mg/L 时其活力已降至原活力的 20% 左右,但进一步增加卵磷脂的量时,酶活力不再继续下降,

卵磷脂对游离态的过氧化物酶的抑制作用较弱。

### 参考文献

- 1 石彦国. 大豆制品工艺学. 中国轻工业出版社,1993.
- 2 张志良. 植物生物化学技术和方法. 农业出版社,1986.
- 3 王璋. 食品酶学. 中国轻工业出版社,1990.
- 4 [英] Alan Fersht Enzyme structure and mechanism W. H. Freeman and Company (2ed 1985).
- 5 高雯. 食品酶学原理与分析方法. 黑龙江科学技术出版社,1991.

# 海产动物蛋白的酶曲二步法酿造新型营养酱油

李卫旗 杨志坚 浙江大学生命科学院 310012

**摘要** 利用蛋白酶水解与成曲酿制相结合的方法,对以鱼粉为主要原料的底物进行充分发酵,生产口味良好、全氮与氨基酸含量高的海味营养酱油,并对相关的主要工艺条件进行了探讨。

**关键词** 酱油 全氮 氨基酸

**Abstract** By combining the proteinase hydrolysis with aspergillus to ferment, the culture medium mainly made of fish meal a kind of seafood nutritious soy sause with excellent taste and sufficient total nitrogen and amino acid nitrogen was produced. The relevant technological factors were studied.

**Key word** Soy Total nitrogen Amino acid nitrogen

国内的传统酱油生产原料主要来源于豆饼与棉籽饼,其氨基酸来源为植物蛋白,口味与营养成分较单一。水产动物中富含各类动物蛋白以及多种维生素、微量元素、钙磷质等营养因子,是生产酱油类调味品的理想原料。我国的水产资源极其丰富,水产加工中形成的小杂鱼、鱼内脏、虾头、蚌肉边角等大量下脚料,一部分被加工成鱼粉当饲料廉价出售,而大部分则作为废物被抛弃。这不仅造成了巨大的生物资源浪费,还形成了严重的污染。利用水产废弃动物蛋白生产酱油等氨基酸类调味品,已引起人们的极大兴趣。

有人曾用酸、碱水解法处理这类水产废弃物来获得氨基酸,但因强酸碱的使用,原料中营养成分受到一定的破坏,故其效果欠佳。有人使用蛋白酶水解法,但水解液中残存的肽段使水解液呈苦味,此外原料中的腥味也无法在酶解中去除,结果并不令人满意。而传统的酱油酿造菌如米曲霉、黑曲霉等菌株,大多产生能高效水解植物蛋白的蛋白酶,对鱼蛋白等动物蛋白无法

直接利用。针对以上矛盾,笔者利用蛋白酶酶解水产废弃物制成的鱼粉,并筛选了一株对动物蛋白酶解液中的多肽片段有较强水解能力的菌株米曲霉 A12,以酶解后的水解液作中间产物,代替传统工艺中的植物蛋白原料,与由 A12 培养制备的曲料混合后进行发酵,大大提高了全氮的利用率,并使酱油的复合营养水平与口味较普通酱油有了明显的改善。本文对该新型酱油的生产在工艺流程与工艺条件上作了探讨,并对试验结果进行了分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

鱼粉(杂鱼、虾头等水产下脚料)、麦麸、面粉、食盐、豆饼

### 1.2 菌种

米曲霉 A4,由米曲霉 3.042 诱变筛选获得。

### 1.3 培养基

斜面种子培养基:马铃薯 200g,葡萄糖 20g,琼脂 20g,水 1000ml, pH 自然。

种曲培养基:麦麸:面粉:水 = 4:1:4

成曲培养基:豆饼:鱼粉:麦麸:面粉 = 3:2:3:1

#### 1.4 酶制剂

中性蛋白酶:无锡酶制剂厂

### 2 仪器设备与检测方法

#### 2.1 仪器设备

YXQ 手提式高压蒸汽灭菌锅:上海核子医疗器械厂

改良式凯氏定氮仪:华东医药公司

SC-303 恒温培养箱:上海光华医仪厂

#### 2.2 检测方法

全氮测定:凯氏定氮法

氨基氮测定:甲醛滴定法。

总酸测定:以标准 NaOH 中和至 pH8.2 计算。

### 3 实验方法

#### 3.1 工艺制取流程

##### 3.1.1 酶水解鱼粉制取酱油

鱼粉→蒸熟→加 2 倍体积水→调 pH 至 6.8→加 2% 酶剂及 2.5 倍鱼粉质量盐水 (20°Be')→37℃, 酶解 10h→加热灭酶→过滤→无色海鲜酱油 (代号 A)

##### 3.1.2 米曲霉制曲直接利用鱼粉制酱油

种曲培养基→接种米曲霉 A4→31℃, 96h 培养→种曲  
 A4 成曲培养基 → 润水 → 蒸料 → 冷却 → 培养  
 →成曲  
 盐水  
 鱼粉  
 →拌匀入池→45℃ 发酵 4 天→50℃ 发酵 12 天  
 →成熟酱醅→首淋→头渣→浸提→二渣→浸提  
 ↓ ↓ ↓  
 头油 中油 三油  
 调配→成品 (代号 B)

##### 3.1.3 鱼粉的酶曲二步结合法 (以下简称二步法) 酿制酱油

先期流程与成品 A 及 B 的制作工艺同, 后续流程如下:

2 倍总投入量的盐水  
 米曲霉 A4 所制成曲  
 ↓  
 →拌匀→50℃, 发酵 8 天→  
 成品 A  
 成熟酱醅→首淋→头渣→浸提→二渣→浸提  
 ↓ ↓  
 头油 二油  
 ↓  
 调配→成品酱油 (代号 C)

#### 3.1.4 操作条件说明

为利于结果的对照, 三个流程中凡有相同的操作环节, 均采用相同的工艺条件

### 4 结果与分析

#### 4.1 产品主要性能指标

将鱼粉酶解法、成曲直接利用鱼粉法、酶曲二步法所生产获得的酱油制品 A、B、C 样品作检测, 结果比较如下:

从表 1 可知, 产品 A 的总氮与氨基氮含量均超过了国家一级酱油水平 (总氮 1.30 g/100ml, 氨基氮 0.70g/100ml), 但有腥味与苦味, 因实质上它是一种蛋白质水解液, 直接食用味不佳。产品 B 的总氮与氨基氮含量很低, 不及三级酱油标准 (总氮 0.70 g/100 ml, 氨基氮 0.40 g/100ml), 这是因为米曲霉 A4 筛选自 3.042 传统菌株, 成曲中的蛋白酶难以顺利地直接利用鱼蛋白, 故目前完全利用鱼粉蛋白替代植物蛋白, 依靠传统曲料来直接生产酱油并不现实。样品 C 的总氮含量与氨基氮含量远远超过了国家一级酱油的指标, 且香味浓郁无腥, 口感醇厚鲜美, 其品质为三个样品中之最佳。样品 A 的苦味来自蛋白质酶解后形成的多肽的“苦肽味”, 米曲霉 A4 的成曲含有大量可分解多肽的肽酶, 虽其酶解蛋白质能力不强, 但可将产品 A 中的肽段充分分解为氨基酸。鱼粉中主要腥臭成分三甲胺在蛋白酶水解过程中无法去除, 而 A4 成曲则对分解三甲胺起了重要作用, 故 C 产品无不良鱼腥味。酱油中总酸主要来自有机酸 (醋酸、乳酸、琥珀酸、柠檬酸等) 和氨基酸。据有关研究表明, 随着酱油中的有机酸和氨基酸含量增大, 酱油的品质也提高,

表 1 酱油产品 A、B、C 主要性能比较

产品代号	全氮 (g/100ml)	氨基氮 (g/100ml)	总酸 (g/100ml)	感官指标		
				色泽	香气	鲜味
A	1.81	1.26	1.34	淡黄透明	淡香带腥味	单一有苦味
B	0.61	0.35	0.92	浅褐透明	淡香无腥味	平淡
C	2.14	1.34	3.81	红褐半透明	浓郁无腥味	香醇无苦味

这是由于米曲霉在制曲过程中微生物复杂的代谢活动的结果,而这一效果单凭对蛋白质进行酶解是办不到的。

#### 4.2 二步法的主要发酵条件对酱油中全氮与氨基氮的影响

酱油中全氮与氨基氮含量是决定产品营养水平与口味的主要因素,现从四个发酵条件因素看对其的影响。

##### 4.2.1 液曲比的影响

在二步法中,经蛋白酶水解的水解液与成曲充分混合后继续发酵,水解液与成曲的用量比(液曲比)是重要的因子,其影响规律见图1

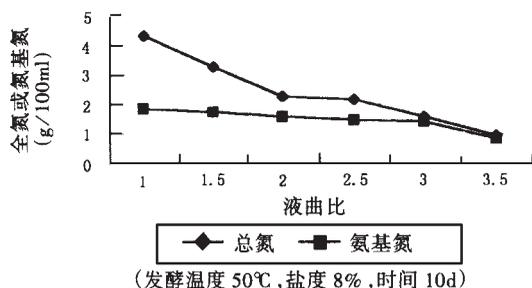


图1 液曲比对酱油中全氮及氨基氮的影响

图1表明,酱油中全氮与氨基氮随液曲比的增加而下降,但在2.0与2.5间下降不明显,2.5之后下降明显。这说明在此前曲中的蛋白酶与肽酶对酱醅底物分解充分,此后则曲料不能充分水解过量的多肽。故可选用液曲比为2.5为最适条件,这样既可最大限度发挥曲料水解能力,减少用曲量,又能保证酱油中的氨基氮及总氮含量。

##### 4.2.2 发酵时间的影响

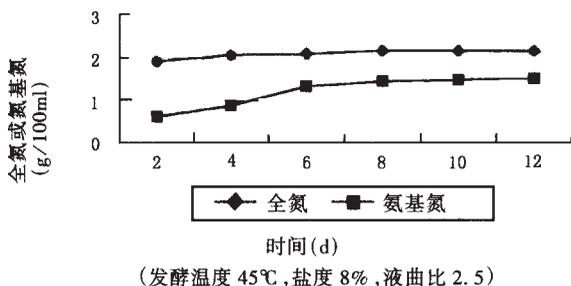
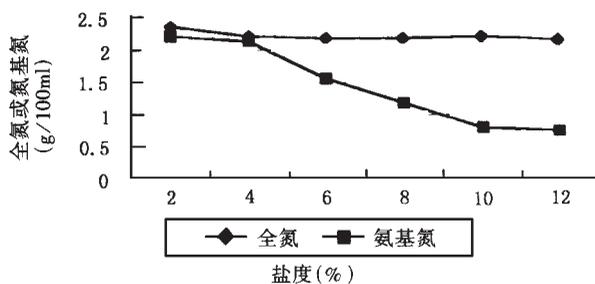


图2 后熟发酵时间对全氮与氨基氮的影响

图2表明,酱油中全氮在总体上随酱醅发酵时间变化而变化不大,而氨基氮在进入8天之后变化很少,这说明在起始阶段发酵液中已溶入了较多的多肽,总氮含量丰富,而8天后多肽则已充分分解为氨基酸,酱醅已趋成熟,故可选定8天为酱醅发酵周期,这与传统的15天以上制醅周期相比要短得多,利于提高生产效率。

##### 4.2.3 酱醅中盐度的影响

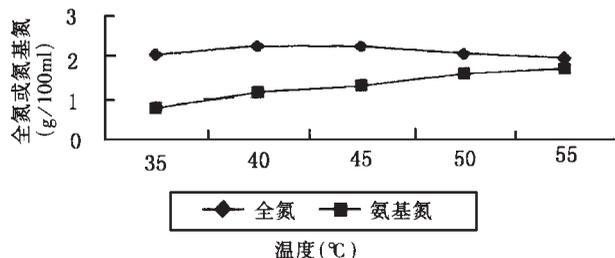


(50℃, 10天发酵, 液比2.0)

图3 酱醅盐度与全氮及氨基氮的关系

图3反映出氨基氮随盐度增大而下降的速度要比全氮的大,这说明了较高的盐度是抑制曲中酶活性的重要因素,但过低的盐度又无法保证食盐对酱油的防腐作用。在图3中可见,当盐度为8%时,氨基氮含量仍较高,故可取8%作为发酵盐度。至于产品终盐度要达到12%,可在淋油调配阶段后续加盐水来达到目的。有研究证明,酱醅中食盐含量在10%以下对酶活力没有影响,这在图3中也得到了证明。

##### 4.2.4 发酵温度的影响



(盐度8%, 液曲比2.5 发酵时间10d)

图4 酱醅发酵温度对酱油全氮及氨基氮的影响

图4反映出发酵温度直接影响到酶的活力,同时也影响到蛋白质的可溶性。在50℃时氨基氮含量最高,可确定其为制酱醅的最适温度。

#### 4.3 二步法的最适工艺条件及结果

由以上试验可知二步法鱼粉发酵生产酱油的最适工艺条件为:液曲比2.5,制醅温度50℃,酱醅盐度8%,醅熟周期8天。在此条件下所得终产品的氮含量指标与国家高盐稀醪酱油标准比较如下:

表2 二步法鱼酱油与国家高盐稀醪酱油指标的比较

酱油样品	三级	二级	一级	二步法鱼酱油
全氮 (g/100 ml)	0.7	1.0	1.3	2.18
氨基氮 (g/100 ml)	0.4	0.5	0.7	1.49

可见二步法鱼酱油的总氮与氨基氮含量已远远

超出了国家一级酱油标准。这使得产品中氮含量有充分保证。当然,为提高产品产量,可在后续淋油调配工艺中对其浓度加以调整。此外,鱼酱油中还富含传统酱油较缺乏的钙磷质、肌苷酸、有机酸等多种营养呈味物质,加上其丰富多样的氨基酸成份,故它是一种十分富有开发价值的新型调味品。

#### 参考文献

1 迟玉森等. 鱼鲜酱油制作工艺研究. 中国调味品, 1996, 5.

- 2 周涛等, 酶解鲑鱼废弃物制取鱼蛋白水解物的研究, 浙江水产学院学报, 17, 2.
- 3 H. Umetsu, Ddedittering Mechanism of Bitter Peptides from milk casein by what Carboxypeptidase, J. Agr. Food Chem. 1983, 31.
- 4 上海酿造科学研究所, 发酵调味品生产技术, 中国轻工业出版社, 1999.
- 5 杨东等. 水解鱼蛋白及其功能特性的研究. 食品科学, 1999, 11.

# 利用芦笋弃料制作饮料的工艺研究

顾振新 吕凤霞 曹刚合 南京农业大学食品科技学院 210095

**摘要** 以芦笋弃料为原料,经加热软化、榨汁后,用 $\beta$ -环状糊精( $\beta$ -CD)掩盖苦味,研制成芦笋饮料。研究表明,芦笋弃料在温度为85℃、柠檬酸含量为0.2%的热烫液中软化7min,出汁率高,色泽淡。原汁中添加1.0%~1.5%的 $\beta$ -CD可有效地掩盖芦笋的苦味,而风味不受影响。芦笋原汁60%、 $\beta$ -CD1.2%、甜味剂(蔗糖:阿斯巴甜为100:1)2.5%、柠檬酸0.15%加水至100%制成的饮料具有芦笋的清香味,甜酸适口。

**关键词** 芦笋 弃料 榨汁 褐变 脱苦

**Abstract** A rich and light asparagus juice was obtained when discarded stem bottoms of asparagus was softened in 85℃ hot water containing 0.20% citric acid for 7 min. The bitterness in the juice was covered effectively and asparagus flavor remained when 1.0% ~ 1.5%  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) was added in the juice. The mixture of 60% juice, 1.2%  $\beta$ -CD, 2.5% sweet additive (sugar: aspartame = 100:1) and 1.5% citric acid and water added in the asparagus beverage offered delicious flavor.

**Key words** Asparagus officinalis Discarded stem bottoms Squeezing Browning Bitterness shielding

芦笋(*Asparagus officinalis*)为百合科,天门冬属,宿根性多年生植物,是世界名贵蔬菜。其嫩茎富含芸香苷(芦丁)、叶酸、核酸、天门冬素等多种营养成分,具有消肿、利尿、降血压、防癌等作用<sup>[1]</sup>。目前,国内生产的芦笋主要用于罐头加工。在加工过程中,削下的笋皮和笋基部等弃料占原料重的30%左右。这此弃料中的营养成分种类与罐装的去皮笋相同,并且大多数营养成分的含量超过去皮笋<sup>[2]</sup>。但是,芦笋弃料因含有呋甾烷皂角苷等苦味物质<sup>[3]</sup>而限制了利用。本研究利用 $\beta$ -环状糊精包埋芦笋汁中的苦味物质,并从色、香、味等方面探讨了芦笋饮料的加工工艺。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

江苏丰县产白芦笋,品种为UC-72。芦笋清晨采收后,于当日下午运至实验室,按照制罐要求削去笋皮和切去笋基部。新鲜笋基部用于本试验,笋基部长3~4cm。

白砂糖、柠檬酸、 $\beta$ -环状糊精( $\beta$ -CD)、阿斯巴甜(Aspartame)等添加剂均为食用级。

### 1.2 主要仪器设备

XLJ64-01离心机、UV-754分光光度计、螺旋榨汁机、GT-702卧式高压杀菌锅。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 榨汁预处理

木质化程度较高的芦笋基部提汁前,先在热水中软化。在单因子试验的基础上,采用温度、时间、柠檬酸含量三因素三水平试验(表1),试验重复2次。试验