





## 內 容 介 紹

本書介紹固態無鹽發酵釀造醬油的全部操作方法，包括曲霉培養，用豆餅、麩皮制曲及制醪、發酵等各部分。用本法釀造醬油，全部生產過程只四五天，大大縮短了生產週期，而且原料利用率高，成品質量也超過舊法所釀制的。本法的試驗成功，實現了醬油工業的技術革命。在全國範圍內推廣本法，將可促進醬油工業的全面大躍進。

本書可供全國各大小醬油廠、坊的工人和技術人員學習、參考。

## 固 態 無 鹽 發 酵 釀 造 醬 油

輕工業部食品二局編

輕工業出版社出版

(北京市戶安門內白灰廠)

北京市書刊出版業營業許可證出字第099號

北京市印刷二廠印刷

新華書店發行

787×1092 公厘 1/32·1<sup>30</sup>/<sub>32</sub> 印張·38,000 字

1958年7月第1版

1958年7月北京第1次印刷

印數：1—15,000 定價：(10)0.29 元

統一書號：15042·283

# 固态無鹽發酵釀造醬油

輕工業部食品二局編

輕工業出版社

1958年·北京

## 前 言

醬油是人民生活中不可缺少的一种調味品，是柴、米、油、鹽、醬、醋、茶開門七件事之一。特別是解放以來，人民生活日益提高，對醬油的需要更為迫切。我國釀造醬油歷史雖很悠久，但是過去操作保守，技術落后，因此生產周期長，設備利用率低，成本高，原料的利用上也存在很大的浪費，不能充分滿足人民的喜好與要求，廣大的農民就吃不到價廉物美的醬油。

為了適應工農業大躍進形勢，原食品工業部在蘇聯先進經驗的啟發下，按照我國的生產條件，通過試點，試驗成功了固態無鹽發酵法制醬油，實現了醬油工業的技術革命。用固態無鹽發酵法製造醬油，生產週期短，蛋白質分解率高，滋味鮮美，顏色良好，在不增加設備的條件下，可以大大提高產量，降低成本。因此，在全國範圍內推廣固態無鹽發酵法，將可促進醬油工業全面大躍進。

為了滿足各地的要求，現將試點材料刊印出版。如有不足之處，請提出意見，以便再版時修改補充。

輕工業部食品二局

# 目 录

## 曲 霉 培 养

I. 黄曲霉的试管培养 .....	5
一、操作过程图解 .....	5
二、操作方法 .....	6
(一) 培养基的制备   (二) 接种、培养和保藏	
II. 黄曲霉的扩大培养 .....	10
一、操作过程图解 .....	10
二、操作法 .....	10
(一) 培养基制备   (二) 接种及培养	
三、黄曲霉的分离 .....	12

## 制 曲

I. 豆餅、麸皮制造种曲 .....	16
一、操作过程图解 .....	16
二、操作法 .....	16
(一) 准备工作   (二) 种曲制造	
三、質量檢查 .....	21
II. 豆餅、麸皮制曲 .....	22
一、操作过程图解 .....	22
(一) 曲盤單套制曲   (二) 竹匾循环制曲	
二、操作法 .....	22
(一) 准备工作   (二) 原料处理   (三) 接种	
(四) 曲盤的單套制曲法   (五) 竹匾循环制曲法	
三、質量檢查 .....	29

## 制 醪、發 酵

一、操作过程圖解	30	
二、制醪操作法	30	
(一) 准备工作	(二) 破碎及堆积升温	(三) 拌水
(四) 入桶	(五) 保温發酵	(六) 制稀醪
三、压榨, 配油, 加温杀菌及澄清包装	35	

### 附录

1. 关于原料利用情况的計算	45
2. 無菌箱簡圖	46
3. 种曲室的主要設備条件	47
4. 曲盤及竹匾的規格	48
5. 竹匾循环制曲温度經過实例	50
6. 在不同温度下, 水的比重及比容	50
7. 波美度、食鹽含量与比重对照表	51
8. 波美度与温度校正表	52

# 曲 霉 培 养

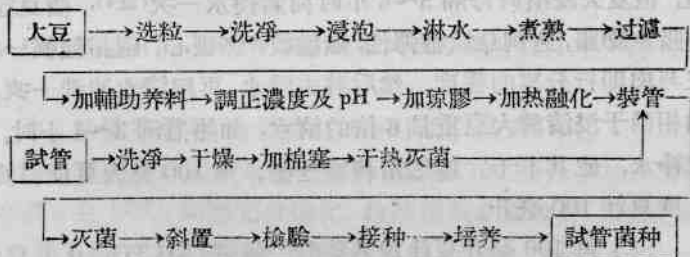
## I. 黃曲霉的試管培养

制造种曲所用的黃曲霉，應該是純粹而不是混雜的菌種。為了保證質量，黃曲霉培养及擴大培养工作必須在無菌狀態下進行，因此要有培养室及無菌箱。培养室要干燥並通風良好，牆壁和桌子上不應放置雜物，儘可能的把這些東西保藏在桌中、櫃中和罩下，隨時保持環境的清潔。空氣中灰塵飛揚，會顯著地增加空氣中微生物的含量，因此，工作時應隨時注意關閉門窗，儘量減少空氣流動，並做好培养室的整理及清潔工作（可在每天工作結束時進行）。

工作人員自身的清潔也很重要，除經常保持工作服的清潔外，工作前後還得用肥皂洗手及用酒精擦手以滅菌。

因為黃曲霉的純粹培养工作是保證醬油工廠正常生產的第一個關鍵，所以提出這些要求。

### 一、操作過程圖解



## 二、操作 方 法

### (一) 培养基的制备

#### 1、 試管准备:

(1) 裝培养基的試管以長 15 厘米、口徑 1.5 厘米者較适用。

(2) 將試管置于清水中,用肥皂洗刷清潔,並用水冲洗至試管透明,無污点,然后倒置瀝干。

(3) 再塞上棉塞,棉塞塞入管內約 3 厘米,無隙縫,塞棉塞时不要旋轉,也不要塞得太紧或太松,一般以兩指捏住棉塞向上提时,裝有培养基的試管不脫落为合适(註<sup>1</sup>)。棉塞用普通清潔棉花,不宜用脫脂棉(註<sup>2</sup>)。

(4) 加棉塞的試管置于干热灭菌器內(可利用烘箱),加热到 160°C 1 小时,或 150°C 处理 2 小时灭菌,俟逐漸冷却到 50°C 后取出使用(註<sup>3</sup>)。

#### 2、 配制培养基:

(1) 选用顆粒完整,無虫蛀及未变質的新鮮大豆为原料。

(2) 將选好的大豆用清水洗淨,加相当于大豆重量 4 倍的水,在室温中浸漬 10~15 小时。浸漬时间,冬天宜長,夏天可縮短,但夏天浸漬时每隔 5~6 小时尚需換水一次(註<sup>4</sup>),使豆粒充分吸水膨脹,达到豆粒帶彈性,無皺紋,無硬心,兩指輕輕一捏,皮与肉即行分离的程度。然后淋去浸水,再用清水冲洗一次,另加相当于浸漬前大豆重量 6 倍的水,加热煮沸 3~4 小时,經常补水,使其不干。趁热用藥棉過濾。每 100 克大豆能得波美 5 度豆汁 100 毫升。

(3) 每 100 毫升豆汁加入磷酸二氫鉀( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0.1 克、硫



酸鎂( $MgSO_4$ ) 0.05克、硫酸銨 $(NH_4)_2(SO_4)$  0.05克、葡萄糖 2克。加熱使其溶化，得棕黃色透明液體。用蔗糖調整濃度至波美6~7度(註5)。

(4) 將調整濃度的豆汁用市售 pH 比色測定器測定 pH(酸礆值)(註6)。測定方法參照 pH 比色測定器的使用說明。將豆汁冷卻至 18~20°C 時，此豆汁的 pH 值要求在 5.5~6.5 的範圍。制成的豆汁 pH 超過 6.5 不可能，若小於 5.5，則需要用氫氧化鈉(NaOH)液調整，方法如下：

① 取 10 毫升豆汁用 0.05 N NaOH 液滴定，假定用 0.2 毫升就達到 pH 6。

② 量出余下豆汁毫升數，假定為 500 毫升。

③ 計算出 500 毫升豆汁中，須加入 0.05 N NaOH 液毫升數(x)為：

$$x = \frac{0.2 \times 500}{10} = 10 \text{ 毫升}$$

④ 因為 0.05 N NaOH 液濃度很低，必須加入多量，會影響培養基濃度及成分，所以實際上校正時用 1N 的 NaOH 液，它比 0.05 N 液大 20 倍，故：

$$\frac{10}{20} = 0.5 \text{ 毫升}$$

用 0.5 毫升的 1N NaOH 液加入 500 毫升豆汁中，即得到 pH 6。

⑤ 為慎重起見，將調整好的豆汁重新測定一次。

(5) 在調正好濃度及 pH 值的豆汁每 100 毫升中加入剪碎的琼膠 2 克(註7)，加熱充分溶化，趁熱用漏斗或吸管(口部磨粗些)分裝入經干熱滅菌的試管中，每管約 4 毫升，在 1.5×15 厘米

的規格下，管口玻壁不要沾有培养基。裝培养基时，棉塞头部捏在手里，不要任意擱置，以免沾染杂菌。塞好棉塞后，置于鉄絲網籃中，用防水紙包紮。

(6) 常压灭菌每天蒸 1 小时，連續 3 天（每天灭菌后置于 30°C 培养箱中）(註8)。或加压灭菌 15 磅/英寸<sup>2</sup> 30 分鐘，以杀灭所有微生物(註9)。

(7) 趁热將此培养基各管斜置，使培养基尖端在試管的中部冷凝成斜面。

(8) 將此斜面固体培养基置于温度为 25~30°C 的培养箱中，一方面使冷凝水逐漸蒸發；一方面就能檢查出培养基灭菌是否完全，以無杂菌污染者才适用。

## (二) 接种、培养和保藏

### 1、 接种:

#### (1) 無菌箱的准备:

①無菌箱必須經常保持清潔。

②接种前 1 小时，开紫外綫灯灭菌半小时，在灭菌时，無菌箱外边須用黑布遮掩。

③若無紫外綫灭菌設備，可用葯剂灭菌。簡單的方法是將过錳酸鉀 5 克，先用 2 毫升水溶化，再加入市售工業用甲醛 10 毫升，使發生甲醛蒸汽灭菌。务使無菌箱不漏气，密閉 20 小时以上。每星期可用本法灭菌一次(註10)。

④平时在接种前后可噴入 5% 濃度的石炭酸溶液灭菌。

(2) 接种工作必須在無菌箱內进行(註11)。

(3) 將接种工具如接种針、酒精灯、菌种及試管培养基（棉栓上包紮防水紙）等放入無菌箱內，噴入濃度为 5% 的石炭酸溶液，使無菌箱內成霧狀，待霧滴沉降，即可接种。

(4) 接种前应洗净双手，并用 70% 浓度的酒精擦手灭菌后，才可伸入无菌箱内(註12)。

(5) 点燃酒精灯，检查火焰，必须光度强烈。

(6) 接种时，在左手的食指、中指及无名指之间，平放着二枝试管(食指与中指间放置菌种浸管，中指与无名指间放置培养基管)，大拇指压于上使不移动。右手大拇指、食指及中指拿住接种针柄的上端(接霉菌时可將接种针尖端弯成小钩状)。先将接种针尖端在火焰上灭菌，使其红热，然后渐渐移动右手，使接种针全部红热，再缓慢的使接种针柄在火焰上灭菌，如此反复 3~5 次，以保证全部微生物杀灭。再用右手小指及无名指將试管棉塞擦住，移至火焰旁，一面拔去棉塞，一面迅速將试管口封在火焰上。这时右手將接种针再灭菌一次，通过火焰渐渐伸入盛有菌种的试管内，先将接种针的尖端在菌种旁边刺一下，待冷，再挑取较多的健壮孢子，渐渐將右手接种针移出，使带孢子的尖端移到离火焰外围约 3 厘米的无菌地带处，左手迅速移开一点，而使接种针立刻移入待接种的培养基管内，將接种针輕輕在培地上抹一次，最后移出接种针，棉塞底端在火焰上輕燒，迅速塞入试管内，接种工作即告完成。

(7) 若連續接种，右手的接种针不宜放置在台面上。以左手换上菌种或培养基的试管，依上法接种。但接种针的火焰灭菌工作只需往返一次已够。

(8) 連續接种可將菌种与培养基试管排列在无菌箱内台面上。

(9) 事先在标籤上写好菌名或菌号及日期，貼于培养基试管中。接种完畢，經過核對無誤后，才可放入培养箱中。

## 2. 培 养:

(1) 培养箱内必須經常保持清潔。

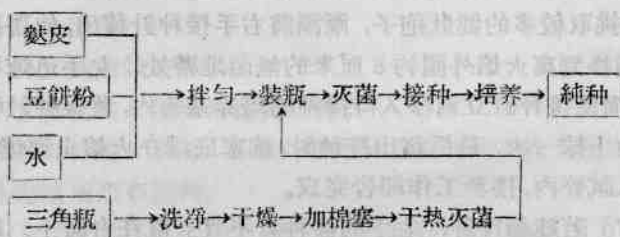
- (2) 調整培养箱温度在  $28\sim 30^{\circ}\text{C}$ ，不可忽高忽低。
- (3) 將接种完畢的試管培养基放入培养箱口內。
- (4) 培养 72~96 小时，待菌株發育成熟，即可使用或貯藏。

### 3、保 藏:

- (1) 將發育成熟的菌株，放置于环境干燥、清潔及冷暗处(註13)。因在室温中保藏，培养基容易干，必須每隔 1~2 月接种一次，把它移植到新培养基上。
- (2) 若將發育成熟的菌株貯藏在冰箱內，則保存時間能持久。

## II. 黃曲霉的扩大培养

### 一、操作过程圖解



### 二、操 作 法

#### (一) 培养基制备

##### 1、三角瓶准备(註14):

- (1) 用容量为 500 毫升的三角瓶作扩大培养。先將三角瓶置于清水中，用肥皂洗刷清潔，並用水冲洗至三角瓶透明，無污点，然后倒置瀝干。

(2) 再塞上棉塞，棉塞用普通清潔棉花。棉塞塞入瓶頸約 4 厘米，無隙縫。塞棉塞時不要旋轉，也不要塞得太緊或太松，一般以兩指捏住棉塞向上提時，三角瓶培養基不脫落為合適。

(3) 加棉塞的三角瓶置於干熱滅菌器內（可利用烘箱），加熱到  $160^{\circ}\text{C}$  處理 1 小時或  $150^{\circ}\text{C}$  處理 2 小時滅菌。滅菌完畢，俟逐漸冷卻到  $50^{\circ}\text{C}$  後取出使用。

## 2、 配制培养基:

### (1) 原料准备:

① 選用新鮮的未變質的麩皮及豆餅為原料。

② 用熱榨豆餅，先將豆餅磨碎，再用 50 號細篩篩出粉末（註 15）。

### (2) 原料处理:

① 將原料以豆餅 2、麩皮 8 的重量比充分混合。

② 再以原料 1、水 1 的重量比加水，讓它吸足水分，攪勻並搓碎。

### (3) 裝瓶及滅菌:

① 在經干熱滅菌的三角瓶內，裝入已搓碎的濕料，裝料時棉塞頭部捏在手里，不宜任意擱置。每瓶裝入濕料的量為 15 克。

② 用防水紙包裹瓶口棉塞。

③ 滅菌：若用常壓滅菌，則須每天蒸 1 小時，連續 3 天（每天滅菌後尚須置於  $30^{\circ}\text{C}$  恆溫箱中）。若採用加壓滅菌，則在 15 磅/英寸<sup>2</sup>維持 1 小時。滅菌以加壓為佳。

④ 三角瓶培養基滅菌完畢後，抽取一瓶置於  $30^{\circ}\text{C}$  恆溫箱中三天，檢驗肯定滅菌徹底，培養基無雜菌污染才適用。

## (二) 接种及培养

## 1. 接 种:

(1) 接种要求及接种手續基本上和試管培养基接种方法相同。

(2) 不同的是左手大姆指、食指及中指間夾着一枝試管培养的純种。用接种針挑取多量純种后, 先將試管塞上棉塞, 擱置于無菌箱內木条上。左手迅速換上三角瓶, 右手小指及無名指在火焰旁將棉塞拔出, 將黃曲霉接入, 最后再塞好棉塞。每瓶只要接入黃曲霉一針。

(3) 接种完畢, 充分搖瓶一次, 使孢子分佈均匀。

## 2. 培 养:

(1) 培养箱必須保持清潔。

(2) 調整培养箱的温度在  $28\sim 30^{\circ}\text{C}$ , 將接种的三角瓶放入培养箱內。

(3) 在培养  $20\sim 24$  小时后, 当菌絲已佈滿培地, 应搖瓶一次, 將結塊搖碎变松。

(4) 每天观察黃曲霉的生長与繁殖情况。

(5) 培养 72 小时后, 黃曲霉已發育成熟, 即可供制种曲使用。

(6) 供制种曲用的三角瓶扩大培养純种, 也是愈新鮮愈好, 保存時間最好不超过一星期。

(7) 若有冰箱, 三角瓶扩大培养純种可貯藏于冰箱內, 保存時間能持久。

(8) 供制种曲用的三角瓶扩大培养菌种, 在制种曲接种以前, 切忌將棉塞啟开(註16)。

## 三、黃曲霉的分离

黃曲霉的分离就是將我們所需要的黃曲霉与其他杂菌分

开, 供給它們适宜的环境, 使它們能繁殖成为純种。因此分离及培养的器皿, 均須事先保持無菌状态, 所以都要灭菌。

分离的方法虽有多种, 但黃曲霉的分离常采用盤皿分离法(即稀釋法), 因黃曲霉孢子很多, 而且聚集在一起, 分离时必须注意使其分散成單个体。

試管中純粹培养的菌种, 因培养基及培养条件始終未变, 接种时也不易使菌种感染杂菌, 基本上不需要进行分离培养。但在大生产中, 虽使用同一种种曲, 由于生产过程中环境常有变化, 黃曲霉适应环境的情况显著不同, 往往發生变异。倘使在制曲过程中, 發現生長特别旺盛的黃曲霉, 則应进行分离, 將此优良菌种分离出来。

但分离所得之純种, 一定要进行选择, 並多次测定其蛋白分解酶活性、糖化酶活性及黃曲霉繁殖等情况, 进行比較, 必須超过原有菌种, 才可投入生产。

茲將黃曲霉的分离方法介紹于下:

(一) 第一种盤皿分离法: 在無菌箱內操作。

1. 准备工作:

(1) 將直徑 9 厘米的二重皿洗淨、瀝干, 用白紙包裹, 經干热灭菌( $150^{\circ}\text{C}$ 、2 小时)后备用, 每次需要三套。

(2) 豆汁琼膠培养基三管, 每管盛培养基 10 毫升(已灭菌)。

(3) 無菌水兩管, 每管盛水 10 毫升(已灭菌)。

(4) 酒精灯、接种环、鑷子。

(5) 燒杯一个、溫度計一支。

(6) 准备分离的曲霉。

2. 分离法:

(1) 用灭菌的鑷子夾取准备分离的曲霉 1 小塊于無菌水管中, 仍塞上棉塞。置管于双手掌中充分搓动, 使黃曲霉孢子分散

成悬浮液。

(2) 再如試管培养接种的方法，將接种环在火焰上徹底灭菌后从悬浮液中蘸取一滴，滴入另一無菌水管中，塞上棉塞，充分搖匀，成稀釋液。

(3) 燒杯中放入冷水，置三管豆汁琼膠培养基于其中(分別標上1、2、3等號碼)，加热融化，放入溫度計一支，使漸漸冷却至 $50^{\circ}\text{C}$ 。

(4) 此时，可將培养基的管口进行灭菌。將棉塞拔出，右手捏着，左手置培养管口于酒精灯火焰上，旋轉之，使各处都受高热，杀灭其上的微生物，然后將棉塞底端燒一次，再行塞上，还置于杯中。

(5) 將二重皿平置，打开包紙，標上1、2、3號碼。

(6) 当琼膠培养基冷至 $45^{\circ}\text{C}$ 时，取出1号管，用接种环移入稀釋液一滴于此培养基內，搓动旋轉使液均匀。再自杯中取出2号管用接种环移1号管培养基一滴于2号管，塞上棉塞。將1号管还置于杯中。然后取3号管，用接种环自搖匀的2号管內移一滴于3号管。分別將1号管培养基傾倒于1号二重皿內，將2号管培养基傾倒于2号二重皿內，將3号管培养基傾倒于3号二重皿內。同时立即搖平靜置。

(7) 凝固后用紙包好，倒置于 $30^{\circ}\text{C}$ 培养箱中。

(8) 約40小时开紙檢視，二重皿內已長成菌苔。从2号及3号的皿中，選擇較优良的菌苔，用灭菌接种針挑取一針，接入斜面培养基上，在溫度 $30^{\circ}\text{C}$ 时培养之。

若一次不能达到純种，应將此种重行分离。

(二) 第二种盤皿分离法：在清潔而空气比較靜止的房間中进行操作。



## 1. 准备工作:

- (1) 工作台应擦洗干净。
- (2) 工作时在台上铺一块沾湿的白布(已灭菌)。
- (3) 工作前将所需用的物品都放在工作台上, 避免工作时多走动, 不但浪费时间, 而且容易带来杂菌。
- (4) 无菌水 5 管, 每管 10 毫升。
- (5) 1 毫升吸管 5 支(经干热灭菌)。
- (6) 无菌二重皿 3 套。
- (7) 豆汁琼胶培养基 3 管, 每管盛培养基 10 毫升(已灭菌)。
- (8) 酒精灯、镊子各一个。
- (9) 烧杯一个、温度计一支。
- (10) 准备分离的曲霉。

## 2. 分离法:

- (1) 将无菌水管编为 01、02、1、2、3 等号管。把二重皿纸包打开, 编为 1、2、3 号。
- (2) 用灭菌的镊子夹取准备分离的曲霉一小块于 01 号无菌水管中, 仍塞上棉塞, 置管于双手掌中, 充分搓动, 使孢子分散成悬浮液。
- (3) 用无菌 1 毫升吸管吸悬浮液 1 毫升于 02 号无菌水管中, 成稀释液。
- (4) 将 02 号管内孢子摇和均匀, 用另一无菌吸管, 移 1 毫升稀释液于第 1 号管中。
- (5) 第 1 号管摇匀, 用另一无菌吸管移 1 毫升于第 2 号管, 又 1 毫升于 1 号皿中。
- (6) 第 2 号管摇匀, 用另一无菌吸管移 1 毫升于第 3 号管, 又 1 毫升于 2 号皿中。