

酱油和食醋 发酵实训技术

JIANGYOU HE SHICU FAJIAO SHIXUN JISHU

吴志显 闫晓燕 编著



黑龙江朝鲜民族出版社

酱油和食醋 发酵实训技术

JIANGYOU HE SHICU FAJIAO SHIXUN JISHU

吴志显 闫晓燕 编著

江苏工业学院图书馆
藏书章



黑龙江人民出版社

图书在版编目(CIP)数据

酱油和食醋发酵实训技术 / 吴志显, 闫晓燕编著. — 哈尔滨: 黑龙江朝鲜民族出版社, 2009. 6
ISBN 978-7-5389-1617-1

I. 酱… II. ①吴…②闫… III. ①酱油—发酵②食用醋—发酵 IV. TS264.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 109085 号

书 名/ 酱油和食醋发酵实训技术
编 著 者/ 吴志显 闫晓燕
责任编辑/ 李贤吉
责任校对/ 董丽洁
封面设计/ 李光吉
出版发行/ 黑龙江朝鲜民族出版社
发行电话/ 0451-57364224
电子信箱/ hcxmz@126.com
印 刷/ 牡丹江新闻传媒印务有限公司
开 本/ 787mm×1092mm 1/16
印 张/ 14
字 数/ 330 千字
版 次/ 2009 年 6 月第 1 版
印 次/ 2009 年 6 月第 1 次印刷
书 号/ ISBN 978-7-5389-1617-1
定 价/ 30.00 元

前 言

酱油和食醋是我国人民日常生活中深受欢迎的调味品之一,是人们日常生活中不可缺少的咸、酸、鲜、甜、苦五味调和以及色香味俱备的调味佳品。我国各地的酱油和食醋加工生产源于我国周朝之前,已有 2500 多年的历史。如今,酱油和食醋代表着我国调味食品的传统发酵技术已经日臻成熟。

为了让高职高专食品加工、食品科学、生物工程、发酵工程等专业的学生能够全面、系统地学习并掌握这门加工生产工艺理论和加工生产实际操作技术,使学生的创造性、自主性、责任心等得到锻炼和发挥,使学生的吃苦耐劳精神、团队协作精神得到培养,使学生的分析解决实际操作问题的能力得到提高,我们参阅了多本酱油和食醋工厂生产技术资料编写了本书,使得师生在高校实验室运用小试或中试的方法,就可以进行实际操作训练教学。这是一本难得的酱油和食醋发酵生产高职高专实训教材,非常适合高职高专食品加工、食品科学、生物工程、发酵工程等专业师生使用。

本书内容涵盖了酱油和食醋加工原料的处理、培养基的调制、生产菌种的选择及扩大培养、发酵原理与发酵控制及产物分离、产品质量的国家标准及检验方法、实验操作技术等等。

酱油和食醋发酵实训技术是一门以实训操作为主、理论讲解为辅的专业课程,一般应在综合实训阶段进行开设,更适合作为专业实训课程长期开设,或者作为专业选修课程进行开设,学时数不应少于 60 课时。

由于编者水平有限,本书在编写过程中难免有不当之处,恳望读者批评指正。

编 者

2009 年 5 月

目 录

上篇·酱油

第一章 酱油发酵生产的基本原理	1
第一节 发酵过程中的生物化学变化	2
第二节 发酵过程中的微生物变化	8
第三节 影响发酵的因素	9
第二章 酱油发酵技术	12
第一节 原料	12
第二节 种曲的制备	17
第三节 制曲	25
第四节 制曲工艺的改进	50
第五节 液化及糖化	58
第六节 发酵	62
第三章 固态低盐发酵工艺的改进	70
第一节 先固后稀淋浇浸出法	70
第二节 分酿固稀发酵法	71
第三节 福建瑯头酱油发酵法	72
第四节 白酱油	74
第四章 高盐发酵法酿制酱油	75
第一节 天然晒露法	75
第二节 龙牌酱油酿制方法	78
第三节 洛泗座油的酿制方法	79
第四节 日本的高盐稀醪发酵法	81
第五节 高盐稀醪发酵浸出法（广东生抽酿造法）	83
第六节 高盐稀醪发酵工艺	85
第七节 稀醪淋浇浸出法（上海海鸥牌酱油酿造法）	85
第八节 固稀发酵法	86
第五章 其他几种酱油酿造方法(新工艺)	88
第一节 稀醪发酵	88
第二节 固态无盐发酵法	89
第三节 虾油（鱼露）	91

第六章 浸出	93
第一节 浸泡、滤油的基本原理	93
第二节 浸泡及滤油操作	94
第七章 加热及配制	96
第一节 加热.....	96
第二节 配制.....	98
第八章 防霉	102
第一节 酱油生霉原因	102
第二节 防腐剂及其使用法	102
第九章 贮存及包装	104
第一节 澄清.....	104
第二节 输送.....	104
第三节 贮存.....	104
第四节 包装.....	105
第十章 酱油质量规格	106
第一节 酱油质量标准	106
第二节 高盐稀态发酵酱油质量标准（ZBX66012-87）	107
第三节 低盐固态发酵酱油质量标准（ZBX66013-87）	108
第四节 酱油卫生标准（GB2717-1996）	109
第五节 关于质量管理工作的规定	111
第六节 实验室成品检验工艺操作	112
第十一章 技术经济指标与定额	113
第一节 生成率、利用率与出品率的计算	113
第二节 主要指标与定额	116
第十二章 酱油加工制品	117
第一节 花色酱油	117
第二节 忌盐酱油	117
第三节 酱油粉	118
第四节 固体酱油	119
第十三章 今后酱油生产方法的探讨	121
附录：酱油生产工艺实验实训	123

下篇·食醋

第一章 食醋发酵的理论基础	127
第一节 酿造食醋的有关微生物	127
第二节 酿醋过程中的生物化学作用	130

第二章 食醋的成分和功能性	141
第一节 食醋的一般成分	141
第二节 食醋中的氨基酸	141
第三节 食醋中的有机酸	141
第四节 食醋中的无机物	142
第五节 食醋的糖分	143
第六节 食醋的香气成分	143
第七节 食醋的功能性	145
第三章 原料	147
第一节 制醋原料	147
第二节 主要原料的选择、分类及化学成分	148
第三节 原料处理	150
第四章 糖化发酵剂	153
第一节 糖化剂	153
第二节 酒母	168
第三节 醋酸菌	173
第五章 我国常用的制醋工艺	178
第一节 固态发酵法制醋	178
第二节 液体发酵法制醋	189
第六章 国内几种传统名特醋的酿制方法	198
第一节 山西老陈醋制法	198
第二节 镇江香醋制法	201
第三节 四川老法麸醋制法	203
第四节 上海香醋制法	205
第五节 江浙玫瑰醋制法	207
第六节 福建红曲老醋制法	208
第七章 食醋的出品率及物料衡算	210
附：实验室食醋发酵工艺操作	212
参考文献	215

上篇 · 酱油

第一章 酱油发酵生产的基本原理

我国酱油产品，按生产工艺的不同可分为酿造酱油和配制酱油两大类。

酿造酱油系指以大豆和小麦或麸皮为原料，经微生物发酵制成的液体调味料。酿造酱油还可细分为三种：

1. 高盐发酵（传统发酵工艺） 包括：高盐稀态发酵酱油、高盐固态发酵酱油、高盐固稀发酵酱油；
2. 低盐发酵（速酿工艺） 包括：低盐固态发酵酱油（广泛采用）、低盐稀态发酵酱油、低盐固稀发酵酱油；
3. 无盐发酵（速酿工艺） 包括：无盐固态发酵酱油。

配制酱油系指以酿造酱油为主体（添加量以全氮计不能少于 50%），其余为添加酸水解植物蛋白调味液（HVP）以全氮计不能超过 50%的液体调味料。

此外，按酱油的特性和用途可划分为：本色酱油、浓色酱油、花色酱油和保健酱油。按酱油的体态可划分为：液态酱油、半固态酱油和固态酱油。

酱油生产的原料分为基本原料（如蛋白质原料、淀粉质原料、食盐和水等）和辅助原料（如增色剂、助鲜剂、防腐剂等）。这些原料要经过处理，以利于米曲霉的生长繁殖和酶类的分解作用。

酱油生产工艺包括种曲制造、制曲、发酵、浸出、加热和配制、成品酱油的防腐及贮存包装等过程。种曲制备是酱油生产中的一个重要环节，目的是要获得大量纯菌种。制曲是培养米曲霉在原料中生长繁殖，利用它所分泌的多种酶，其中最重要的有蛋白酶和淀粉酶。蛋白酶分解蛋白质为氨基酸，淀粉酶把淀粉分解成糖。由于在制曲及发酵过程中，从空气落入的酵母和细菌也进行繁殖，也分泌多种酶，例如由酵母发酵成酒精，由乳酸菌发酵成乳酸，所以发酵是应用这些酶在一定的条件下的作用，分解和合成了酱油的色、香、味的成分。酱油是曲霉、酵母及细菌等微生物综合发酵的结果。制曲和发酵这两个主要工序就是繁殖和利用这些微生物。在发酵期间所发生的一系列变化是很复杂的，微生物学和生物化学有着非常密切的关系。制曲是酿造酱油的主要工序，曲子质量直接影响到原料的利用率、酱油质量以及淋油效果。要制好曲，就要创造适当的环境条件，以适应米曲霉的生理特性和生长规律，在制曲过程中，掌握好温湿度是关键。发酵在酿造酱油中也是一个重要的关键环节，发酵方法及操作环节的好坏，均会直接影响酱油的质量与原料利用率。

发酵方法有很多,但基本上可分为低盐固态发酵及高盐稀醪发酵两类,许多发酵方法实际上都是这两种方法衍生的。酱醅成熟后,利用浸出法将其可溶性物质最大限度地溶出,从而提高全氮利用率和获得良好的成品质量。浸出操作包括浸泡和滤油两个工序。加热的目的在于灭菌、调和香气、增加色泽、除去悬浮物和破坏酶的作用。配制就是将每批生产中的头油和二油或质量不等的原油,按统一的质量标准进行调配,使成品达到感官特性、理化特性要求。成品酱油最后要进行防腐、贮存和包装。

第一节 发酵过程中的生物化学变化

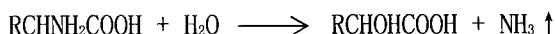
一、原料植物组织的分解

在目前的操作条件下,植物组织受物理分解的作用是有限的,大部分细胞壁还是完整无损,如果不把细胞壁破坏,使细胞内容物的蛋白质和淀粉暴露出来,则很难被酶解。酿造酱油的生物化学过程第一步是利用果胶酶的作用,把果胶降解,使各个细胞分离出来。再利用纤维素酶及半纤维素酶将构成细胞壁的纤维素及半纤维素降解。细胞壁被破坏之后,淀粉酶及蛋白酶才能使原料中的淀粉及蛋白质水解。

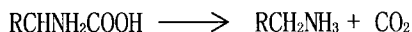
二、蛋白酶的分解作用

米曲霉所分泌的蛋白酶有三种,其中以中性和碱性为主。因此在发酵期间,要防止酱醅酸败。如果 pH 过低,就会影响到蛋白质的分解作用,与原料蛋白质利用率及产品质量关系极大。在蛋白质的分解中,必须注意蛋白质水解作用终止之后再发生氧化作用。原因是由于有时曲的质量不好,污染其他不良的细菌后所产生的异常发酵,会使蛋白质腐败。腐败时最初也生成中间产物,更进一步生成氨基酸,但细菌作用并不停止,氨基酸受进一步的作用,发生下列几种变化,致使酱油中游离氨及胺类增多,影响到产品质量。

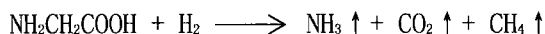
1. 破坏氨基,生成简单的羧基酸,放出游离氨。



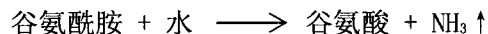
2. 破坏羧基,变成碱性物质胺类,失去二氧化碳。



3. 因氢气作用而直接还原,生成氨、沼气、二氧化碳气体等。



蛋白酶系中的谷氨酰胺酶能将蛋白质代谢过程中的谷氨酰胺转化为谷氨酸,提高酱油中的谷氨酸含量。



酱醅中的蛋白水解酶、淀粉水解酶系由米曲霉在制曲时产生而积累于曲中。酱醅中的蛋白酶以中性和碱性蛋白酶为主,酸性蛋白酶较弱,在发酵初期,酱醅的 pH 在 6.5~6.8,醅温 42℃~45℃。在这种条件下,中性蛋白酶、碱性蛋白酶和谷氨酰胺酶能充分发挥作用,使蛋白质逐渐转化为多肽和氨基酸,谷氨酰胺转化为谷氨酸。随着发酵的进行,耐盐乳酸菌繁殖,酱醅的 pH 逐渐下降,蛋白质的水解作用逐渐变弱。因而在发酵过程中要防止 pH 过低。由于各种因素的影响,原料蛋白质在发酵过程中并不能完全分解为氨基酸,成熟酱醅除含氨基酸外,还存在着肽和多肽等。成品酱油中氨基氮的含量应达到全氮的 50%以上。

蛋白质是由许多氨基酸组成的。豆粕(或豆饼)与辅料中的蛋白质,经蛋白酶的分解

逐步变成氨基酸类。有些氨基酸是呈味的，就变成了酱油的调味成分，如谷氨酸和天门冬氨酸具有鲜味；甘氨酸、丙氨酸和色氨酸具有甜味；酪氨酸却呈苦味。据上海市酱油中氨基酸成分分析，其含量如表 1—1 所示。在蛋白质酶系中还存在有谷氨酰胺酶，酱油中的谷氨酸一部分来自原料中的游离，另一部分由原料蛋白质游离的谷氨酰胺受谷氨酰胺酶作用而得到。

表 1—1 酱油中的各种氨基酸含量 单位：g/100mL

名 称	含量	名 称	含量	名 称	含量
丙氨酸	0.31	脯氨酸	0.47	酪氨酸	0.13
赖氨酸	0.37	基氨酸	0.17	苯丙氨酸	0.29
组氨酸	0.18	色氨酸	0.11	缬氨酸	0.46
精氨酸	0.19	蛋氨酸	0.07	苏氨酸	0.26
半胱氨酸	—	异亮氨酸	0.33	丝氨酸	0.34
天门冬氨酸	0.62	亮氨酸	0.50	谷氨酸	0.76

蛋白质水解作用是酱油酿造中提高原料利用率及产品质量最重要的环节，近年来随着酶化学研究的进展，已有应用蛋白酶制剂制造酱油的，据报道原料蛋白质利用率可高达 82.88%，氨基酸生成率达 57.48%。

三、淀粉的糖化作用

酱醅中的淀粉在曲霉的淀粉酶系作用下，被水解为糊精和葡萄糖，这是酱醅发酵中的糖化作用。生成的单糖构成酱油的甜味，有部分单糖被耐盐酵母及乳酸菌发酵生成醇和有机酸，成为酱油的风味成分。

在制曲后的原料以及经糖化的糖浆中，还留有部分碳水化合物尚未彻底糖化，在发酵过程中，继续利用微生物所分泌的淀粉酶，将残留的碳水化合物糖化分解成葡萄糖、糊精及麦芽糖等。由于曲霉菌中有其他水解酶存在，糖化作用生成的单糖，除葡萄糖外还有果糖及五碳糖。果糖主要来源于豆粕中的蔗糖水解，五碳糖来源于麸皮中的多缩戊糖。这些糖类对酱油成分中色、香、味、体有着重要作用。酱油色泽主要由于糖分与氨基酸结合而成，称为氨基-羰基反应，又叫美拉德反应。酒精发酵也需要糖分。此外糖化作用完全，酱油的黏稠度及甜味好，骨分（体态）浓厚，无盐固形物高，这些都与提高酱油质量有重要的关系。

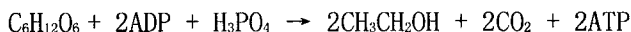
四、脂肪水解作用

原料豆饼残存的油脂在 3%左右，麸皮含有的脂肪也在 3%左右，这些脂肪要通过脂肪酶、解脂酶的作用水解成甘油和脂肪酸，其中软脂酸、亚油酸与乙醇结合生成软脂酸乙酯和亚油酸乙酯，是酱油的部分香气成分。

五、酒精和有机酸发酵作用

酱醅中的酒精发酵主要是由于酵母菌的作用。在生产时，虽然未曾人工接种酵母，但在制曲或发酵过程中，从空气中落入了酵母繁殖而成。成曲下池后，酵母繁殖的状况，视发酵温度而定，一般在 10℃时，酵母仅能繁殖而不能发酵；30℃时最适于繁殖及发酵；40℃以上，酵母就自行消失。因此如采用高温发酵法，酵母菌就无法生存，不会产生酒精发酵作用。在中温和低温发酵条件下，酵母菌便会将糖分分解成为酒精和二氧化碳。所生成的酒精，一部分被氧化成有机酸类，一部分挥发散失，一部分与氨基酸及有机酸等化合成为

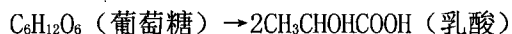
酯,还有微量酒精则残留在酱醅中,这与酱油香气的形成有极大关系。高温速酿的酱油所以缺少酱油香气,原因就是发酵温度高、时间短、酒精发酵微弱。因此,有条件的工厂应尽量考虑到后熟发酵中酵母菌的作用。酵母菌通过其酒化酶系将酱醅中的部分葡萄糖转化为酒精和二氧化碳。在此过程中,葡萄糖经 EMP 途径生成丙酮酸,后者在丙酮酸脱羧酶催化下脱羧生成乙醛,乙醛再在乙醇脱氢酶及其辅酶 NADH_2 催化下还原为乙醇。总反应式为:



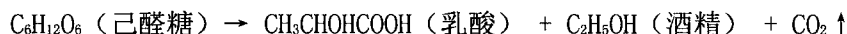
在酵母的酒精发酵中,除主要产物酒精外,还有少量副产物生成,如甘油、杂醇油、有机酸等。酱醅中的酒精,一部分被氧化成有机酸类,一部分挥发散失,一部分与有机酸化合成酯,还有少量则残留在酱醅中,这些物质对酱油香气的形成十分必要。适量的有机酸存在于酱油中可增加酱油的风味,当总酸含量在 $1.5\text{g}/100\text{mL}$ 左右时,酱油的风味柔和。乳酸是酱油中的重要呈味物质,对形成酱油风味起着重要作用。通过酱醅中乳酸菌的发酵作用,可以使糖类转变为乳酸。在同型乳酸发酵中,葡萄糖经 EMP 途径生成丙酮酸,丙酮酸在乳酸脱氢酶和 NADH_2 作用下还原成乳酸;如果是异型乳酸发酵,由醋酸菌脱氢酶系催化的葡萄糖和乙醇的氧化反应生成。米曲霉分泌的解脂酶能将油脂水解成脂肪酸和甘油。

当乳酸、酒石酸、柠檬酸、醋酸、蚁酸等含酸量超过 $1\%\sim 2\%$ 以上时,均能阻止酵母菌的繁殖和发育,但极微量酸的存在反而能促进其繁殖。此外,当氯化钠含量在 $5\%\sim 7\%$ 时,适宜酵母繁殖;当食盐中氯化钠的含量高达 15% 以上时,酵母繁殖与酒精发酵的速度均显著减退。发酵期间适当的酵母繁殖及产生酒精发酵作用是十分重要的,但如管理不当,酵母使酱醅形成涌涨,就不是好现象。

有机酸是酱油风味的有效成分。如果含量过多,就会使酱油呈酸味而影响质量。制曲时自空气中落下的一部分细菌,在发酵过程中能使部分糖类变成乳酸、醋酸、琥珀酸等。例如由正常乳酸菌产生的乳酸发酵,使糖类变为乳酸:



又如由异型乳酸菌引起乳酸酒精混合发酵,分解己醛糖,生成乳酸和酒精,同时产生二氧化碳。



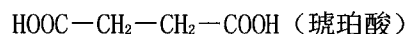
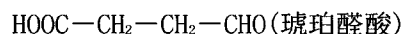
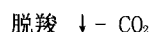
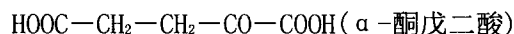
此外还有假乳酸菌会引起乳酸气体混合发酵,发生如下反应:



酱醅中的醋酸菌能将葡萄糖变成葡萄糖酸及将酒精氧化成醋酸:



酱醅中琥珀酸产生的途径,除酱油中存在的谷氨酸外,被认为是由于酵母自行消化后会生成谷氨酸,进一步变成琥珀酸,其反应如下:



经过微生物酶的作用，如三羧酸循环反应中，由延胡索酸加氢而变成琥珀酸，在发酵过程中，米曲霉分泌的解酯酶，能将油脂水解成脂肪酸与甘油。此外，米曲霉本身也能在发酵代谢中产生部分曲酸。

以上所产生的这些酸与酒精结合能增加酱油的香气和具有独特风味。但酸度过高，在发酵期间既影响蛋白酶和淀粉酶的分解作用，又使产品质量降低。由于在制曲与发酵过程中自然落入的微生物种类各不相同，繁殖后状况也不同，所以使酱醅中酸类发酵作用形成极为复杂的变化，因此在发酵管理上必须特别注意。

六、酱醅成熟作用

经过保温发酵，促使各种酶在适宜的温度下加速其化学变化。把上面所说的各种变化所产生的鲜味、甜味、酒味、酸味与盐水的咸味混合，变成酱油特有的色、香、味、体。也就是说酱醅的成熟作用是各种变化总的调和作用。

酱油色素的形成主要是酱醅中的氨基酸和糖类，受外界温度、空气和酶的作用，在一定条件下结合成酱色。氨基酸中以酪氨酸、色氨酸及苯氨酸对酱油产色效果比较显著。各种糖类的比较，以戊糖为好。甲基戊糖类及戊糖与氨基酸共存时，氨基酸夺取戊糖类分子内的氧而受到氧化作用，构成了酱油的色素。

酱油的香气，是多种香气成分的综合。它的来源有：由原料成分而生成的，由曲霉的代谢产物所构成的，由耐盐性乳酸菌类和酵母菌类的代谢产物所生成的以及由化学所生成的等等。根据分析：酱油香气成分中有酯类、醇类、羰基化合物、缩醛类及酚类等，其组成十分复杂，例如酯类经气相色谱法分析测定有九种，其含量如表 1-2 所示。

表 1-2 酱油中酯类的含量

酯 类	酱油中含量 (μg/mL)		酯 类	酱油中含量 (μg/mL)	
	甲	乙		甲	乙
醋酸己酯	1.03	1.80	乳酸乙酯	3.60	3.90
丙酸己酯	0.14	—	乙酸丙酯	3.36	1.30
异戊酸乙酯	0.08	—	苯甲酸乙酯	3.00	0.99
醋酸丁酯	0.31	痕量	琥珀酸乙酯	1.89	0.34
丙二酸乙酯	0.06	痕量			

酿造酱油中最难控制的是酱油的香气。一般认为酱油香气越浓，品质也越优良。而香气的浓淡，则与发酵时间成正比，因此它与保温速酿之间的矛盾需要加以解决。

酱油中的鲜味，主要由氨基酸钠盐（特别是谷氨酸钠）构成，而其他的氨基酸及琥珀酸也赋予了酱油一定的味道。

酱油的浓稠度，俗称为酱油的体态或身骨，多以波美度来表示，它由各种可溶性物质所构成。无机物中以食盐为主要成分；有机物中以蛋白质、氨基酸、糊精、糖分及有机酸等为主要成分。酱油发酵越完全，其浓稠度也越好。当酱醅的色、香、味、体具备时，酱醅的成熟作用即告完成。

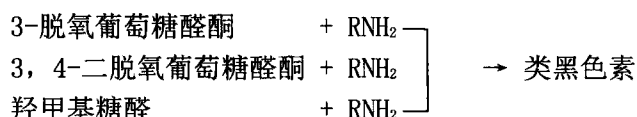
七、酱油色香味体的形成

1. 色素的形成

酱油色素形成的主要途径是美拉德反应和酶褐变反应。美拉德反应是氨基化合物和羰基化合物间发生的非酶促反应，反应过程比较复杂，最后生成褐色的类黑色素。参与反应

的氨基化合物包括氨基酸、肽、蛋白质、胺类等，羰基化合物有：单糖、醛、酮及多糖分解产物等。反应过程如下所示：

葡萄糖 $\rightleftharpoons$ N-葡萄糖胺 $\rightarrow$ 酮式果糖胺 $\rightarrow$ 双果糖胺 $\rightarrow$ 单果糖胺 + 3-脱氧葡萄糖醛酮 $\rightarrow$ 3, 4-二脱氧葡萄糖醛酮 $\rightarrow$ 羟甲基糖醛



该反应的速度与参与反应的物质有关：羰基化合物中，五碳糖的反应性最强，是六碳糖的 10 倍；双糖类反应速度缓慢；氨基化合物的反应速度顺序为胺类>氨基酸>蛋白质。氨基酸中碱性氨基酸及含苯环、杂环的氨基酸反应速度较快。美拉德反应与温度的关系是：20℃ 以下，反应缓慢；30℃ 以上，反应速度较快，随温度的升高，反应速度显著加快。物料含水量也影响到反应速度，反应需在有水的条件下发生，当物料含水量在 10%~15% 时，最有利于反应的进行，但水分过高，反应反而慢。物料的 pH 对美拉德反应的影响是：pH>3 时，随 pH 升高反应速度加快。影响美拉德反应的因素很多，有基质、水分和温度。基质中以五碳糖褐变条件最好，其次为六碳糖。酱油原料中麸皮含有较多的缩戊糖（五碳糖），故适量配用麸皮可提高酱油色泽。氨基酸中色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸的增色效果较好。水分少时，反应速度快。水分过多时，反应阶段一部分会出现逆反应，使褐变缓慢。温度每增加 10℃，褐变速度加快 3~5 倍。所以，高温低水分发酵能促使色泽增加。但经过高温褐变后的氨基酸损失较多，其中人体必需的 8 种氨基酸及决定鲜味的谷氨酸都在高温增色中受到不同程度的破坏。据测定，发酵酱油的色率从 1.4 用加热方法升至 3.0 时，还原糖损失 15%，氨基酸损失 4%。所以，为增色而加热是不可取的。

与美拉德反应相比，通过酶褐变反应生成的色素量则要少得多。酶褐变是氨基酸在有氧条件下发生的，所生成的黑色素的颜色比非酶褐变生成的色素颜色要深。酪氨酸经酶促氧化而生成黑色素的反应为：

L-酪氨酸 $\rightarrow$ 3, 4-二羟基苯丙氨酸 $\rightarrow$ 5, 6-二酮基吲哚 $\rightarrow$ 2-羧酸 $\rightarrow$ 5, 6-二酮基吲哚 $\rightarrow$ 黑色素

色素的形成，与原料的种类、配比、制曲和发酵温度、酱醅含水量等条件有关。例如：因为戊糖的褐变比己糖快 10 倍多，而麸皮中多聚戊糖含量高，所以增大麸皮用量，酱油的颜色就深；高温制曲、高温发酵或减小酱醅含水量均会促使色素形成；加热生酱油，也会使色素生成量增加。优质酱油色泽应为红褐色，其中红色素含量要高。为制得色泽好的酱油应做到：原料中应含一定量淀粉，其水解出的六碳糖经美拉德反应生成棕红色色素；酱醅发酵和酱油灭菌温度不能过高，以防黑色素的过多生成；添加焦糖酱色应选用红色指数高的着色剂。

色素是酱油中不可缺少的成分，但色素的生成消耗氨基酸、葡萄糖，使原料利用率下降，使酱油中风味成分含量减少，因此，色素的生成量是应该控制的。高温制曲、高温发酵、减少酱醅含量等措施虽能增加色素的生成量，但由此引起的副作用不可忽视，例如抑制酵母菌、乳酸菌的增殖和发酵，水分的缺少影响蛋白质的酶解等。所以，在酱油生产中不能片面追求提高酱油色素而不考虑这些措施给酱油风味和营养带来的影响。

除酱油酿制过程中产生的色素外，酱油生产原料也带入部分色素。对于颜色过浅的酱油，必要时可添加酱色。

2. 香气的形成

香气是评价酱油成品质量的主要指标之一。酱油应具有酱香及酯香气，无不良气味。酱油香气成分是由原料中的蛋白质、碳水化合物、脂肪等成分经米曲霉酶系及耐盐酵母菌、耐盐乳酸菌等微生物的发酵作用和化学反应生成的，其组成十分复杂，多达 200 余种化学物质，其中起主要作用的有 20 多种，它们分别属于醇、有机酸、酯、醛、缩醛、酚基化合物和呋喃酮等。

(1)醇类物质有：乙醇、丙醇、丁醇、异戊醇、苯乙醇、甲醇等。醇类物质主要是由酵母菌发酵产生的，而甲醇则来源于原料中果胶质的分解。

(2)有机酸类有：乳酸、醋酸、琥珀酸、葡萄糖酸、高级脂肪酸、甲酸、丙酸、丁酸、异戊酸和香草酸等。其中，乳酸由乳酸菌发酵产生；醋酸菌发酵产生醋酸和葡萄糖；琥珀酸是酵母菌的代谢产物。米曲霉的解脂酶分解原料中油脂生成高级脂肪酸，而甲酸、丙酸、丁酸、异戊酸、香草酸等是由相应的醛类物质氧化生成的。

(3)酯类物质是酱油香气中的主体，其形成途径有：a. 发酵过程中由酵母酯化酶催化生成；b. 由有机酸和醇通过非酶催化的酯化反应生成。酱油中高沸点酯的量多，而低沸点酯的含量少。挥发性低级脂肪酸酯有：乙酸乙酯、己酸乙酯、异戊酸乙酸、辛酸乙酯等。不挥发性酯有：乳酸乙酯、琥珀酸乙酯、丙二酸乙酯、草酸乙酯、马来酸乙酯、香草酸乙酯、苯甲酸乙酯、亚油酸乙酯、油酸乙酯、软脂酸乙酯等。

(4)酱油香气成分中的羰基化合物种类很多，但含量甚微，其来源多为加热时由化学反应生成，或由相应的醇、酚氧化生成，如甲醛、异戊醛有： α -羟基-异乙基-二乙缩醛、异戊醛-二乙缩醛，它们是酵母菌以氨基酸为底物的发酵产物，在酱油加热过程中由它们生成重要的芳香成分。

(5)酚类物质中的 4-乙基愈创木酚、4-乙基苯酚、4-丙烯酸愈创木酚，它们是酱香的重要组分，是由小麦中的配糖体、木质素等为前体经曲霉菌、球拟酵母的发酵作用生成的，虽然含量极微，仅 1~3mg/kg，但人为香气成分作用十分明显，含量达到 0.5mg/kg 时就能为感官察觉。4-乙基愈创木酚和 4-乙基苯酚形成过程如下：

木质素骨架→4-丙烯酸愈创木酚→4-乙烯愈创木酚→4-乙基愈创木酚→香草酸→4-乙烯苯酚→4-乙基苯酚

酱油在加热过程中酚类和醛类物质会有所增加，因此，加热对改善酱油的香味也有好处。

(6)呋喃酮类化合物主要有 4-羟基-2,5-二甲基-3-呋喃酮、4-羟基-5-甲基-3-呋喃酮、4-羟基-2-乙基-5-甲基-3-呋喃酮，它们由非酶褐变反应或酵母代谢产生，在酱油中含量为 2mg/kg 左右，是酱油的重要香气成分。

酱油的香气是各种香气成分的综合。采用不同的酿造原料、不同的酿造工艺，都会影响成品中香味的成分的种类和比例，从而造成感官上的差异。例如：以大豆为原料时，由于大豆的油脂含量高，油脂水解产物与醇生成的高级脂肪酸酯就多，因而制成的酱油香味浓，其香气优于脱脂大豆为原料的酱油；小麦的淀粉含量高，有利于生成足够的葡萄糖进行酒精发酵，而酒精及发酵副产物的生成为香味物质的形成创造了条件，用麸皮为原料时，由于淀粉量少而使酱油的香味不足。发酵工艺中的温度控制、酱醅含水量等因素对微生物

的增殖和发酵有很大影响，而微生物发酵产物是香气成分的主要来源，所以发酵工艺与成品香气的优劣有直接关系。

3. 酱油的风味

酱油是一种滋味醇厚、调和、鲜美的咸味调味品。酱油的咸味来自所含的食盐，其含量一般为18%左右。由于酱油中的肽、氨基酸和糖类缓和了食盐的咸味，从而使酱油的咸味变得柔和。酱油的鲜味来源于原料中蛋白质分解形成的氨基酸和肽类，以谷氨酸为代表物质。有小部分谷氨酸是在酱醅发酵过程中由微生物生成的。而大部分则来源于蛋白质的分解。另外，微生物细胞内的核酸经水解后产生的鸟苷酸和肌苷酸钠盐也是强鲜味物质。为了使酱醅含有足够量的谷氨酸，既要防止酿造过程中因为焦氨酸的生成而使谷氨酸含量下降，又要防止产膜酵母污染，避免谷氨酸被产膜酵母分解。酱油的甜味主要来源于糖类，一般含糖量达到3~4g/100mL，常见的糖有葡萄糖、果糖、麦芽糖等。另外，甘氨酸、丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、脯氨酸等甜味氨基酸和甘油，环己六醇等多元醇也赋予酱油甜味。使用淀粉含量丰富的原料，可提高酱油的甜味。酱油应在感官上不能感觉到酸味，否则将影响质量。酱油中的酸类物质，以乳酸为代表，另外还有乙酸、丙酮酸、琥珀酸、柠檬酸、 α -酮戊二酸、乙酰丙酸、异丁酸等，这些有机酸的少量存在，起到了助消化、增食欲、防腐、调味、增香等功用，并使酱油的强咸味变得柔和爽口。酱油总酸含量在1.5g/100mL左右，如果超过2g/100mL，会产生不良口感。所以，在制曲和酱醅发酵时，均要防止生酸细菌的过度繁殖。酱油中还有微量苦味物质存在，因为量少而感觉不到。这些微量苦味物质能增加酱油的醇厚感。苦味物质有：酪氨酸和缬氨酸等苦味氨基酸及部分二肽，发酵过程中产生的乙醛，食盐中带入的 $MgCl_2$ 、 $CaCl_2$ 等杂质。酱油酿造过程中，要防止产生异味，如发酵前期温度过低或酱醅含盐量过低时，容易造成成品酸味过重；制曲时污染枯草芽孢杆菌，会使氨基酸分解而产生出氨臭味，这些都会影响酱油味的调和。

(4) 体态

酱油的浓稠度，俗称为酱油的体态。它是由各种可溶性固形物构成的。酱油固形物是指酱油水分蒸发后留下的不挥发性固体物质，主要有：可溶性蛋白质、氨基酸、维生素、矿物质、糊精、糖类、色素、食盐等成分。除食盐外，其余固形物称为无盐固形物。无盐固形物的含量高低也是酱油质量指标之一，优质酱油无盐固形物含量要达到20g/100mL以上。

第二节 发酵过程中的微生物变化

发酵是曲霉、酵母及细菌的综合作用，在发酵过程中，菌群数量会随发酵期的不同而减少或增多的。由曲子带到酱醅中的菌，往往受食盐浓度及嫌气环境的影响而被淘汰：如好气而不耐高盐的小球菌会很快死亡，枯草杆菌也不能繁殖，只有芽孢菌留存着。与此相反的是，耐盐性乳酸菌最初迅速繁殖，接着又下降，嗜盐足球菌和鲁氏酵母在酱醅中也会繁殖。

1. 细菌变化情况

细菌(主要是乳酸菌群)在酱醅发酵过程中的变化情况如表1-3所示。表明酱醅发酵的中期乳酸菌减少，到后期又增多。

2. 酵母菌变化情况

据中国科学院微生物研究所介绍,从酱醅中分离出酵母 7 个属 23 个种,这 23 种酵母在酱醅中鲁氏酵母占总数的 45%,说明它是酱油酿造中的主要酵母菌,它同细菌中的嗜盐足球菌综合作用,赋予了酱油特殊的香气。

还有易变球拟酵母和埃契氏球拟酵母也是酱油酿造中形成香气——乙基苯酚的酵母菌,它们与鲁氏酵母菌有所不同,是在酱醅发酵的后期才出现。

为了提高酱油的质量及缩短发酵期,可以在酱醅中添加嗜盐足球菌和鲁氏酵母菌。

表 1-3 酱醅发酵过程中细菌的变化

发酵时间 (d)	酱醅中的细菌数 (个/g)		
	表层	中层	下层
3	1.3×10^5	1.1×10^5	4.9×10^4
8	6.1×10^4	3×10^4	3.6×10^4
11	1.9×10^6	1.7×10^6	1.6×10^6

第三节 影响发酵的因素

一、食盐水浓度对酶的抑制作用

食盐能抑制杂菌繁殖,防止酱醅腐败;但另一方面却抑制了酶的活性,致使分解速度缓慢。有盐发酵周期长,分解率也较低,原料不能在短时间内得到充分的分解。在发酵中,食盐含量逐渐增加,酶的分解速度则逐渐下降。一般食盐含量在 10%以下时,对酶的活力没有多大的影响,在 10%以上时,酶活力就相对地降低。现将测定结果列于表 1-4 中。

表 1-4 不同浓度盐水的发酵结果

盐水 浓度	酱油成分					氨基酸氮/ 全氮
	全氮(g/100mL)	氨基酸氮(g/100mL)	糖分(g/100mL)	pH	°Bé	
6°Bé	0.9487	0.51	微量	4.6	17.9	53.4
8°Bé	1.0195	0.48	微量	4.7	18.7	47.0
10°Bé	1.0260	0.43	0.92	4.7	19.1	41.9
12°Bé	1.0400	0.43	2.11	5.1	20.9	41.3

注: 1. 原料配比: 豆饼 100 : 麸皮 20 : 面粉 20。2. 发酵条件: (1) 酱醅发酵温度为 42℃~45℃。(2) 发酵时间为 15d。(3) 发酵期间采用淋浇的方法。3. 浸出滤油得到相等的数量后进行成品分析。

盐水浓度 6°Bé 和 8°Bé 试号,发酵第三天后,酱醅就有异味产生,镜检发现有大量双球及四联球菌;盐水浓度在 10 °Bé 以上的情况均属正常。因此,目前一般采用 12~13°Bé 的盐水,与糖浆混合后为 17°Bé 左右,酱醅中的含量在 6%~8%之间,即能够发挥食盐的防腐作用,同时又不影响酶的作用。

二、成曲拌盐水量对发酵的影响

制酱时成曲拌盐水的量是酱醅发酵中关键问题之一。它不但对成品质量、原料分解率有重大影响,而且对生产周期的长短也有一定的影响。拌盐水量少,酱油色泽深,但会影响氨基酸生成率和酱油的滋味;拌入的盐水量过大,会使酱油色泽淡,浸出滤油的速度也

缓慢。现将成曲拌入不同盐水量的试验结果列表 1-5。

从表 1-5 看出，成曲拌入盐水的数量以试号 2 及 3 较好，成品经感官鉴定，也以试号 3 为最好。但决定拌盐水量的多少，首先要视原料及其配比来决定，例如以豆饼、麸皮为原料，应较豆饼、小麦粉为原料者要大些；即使是同样原料，因配比的不同，也需有些差异；由于麸皮吸水性能强，因此配料中麸皮占比例愈大，则成曲拌入盐水量也需加大。总之要因地制宜，从实际情况出发来选定成曲拌入盐水量。

表 1-5 成曲拌入不同盐水量的结果

试号	成曲拌盐水之比（总原料）	酱油成分分析（g/100mL）					
		全氮	氨基酸氮	糖分	氯化物	固形物	°Bè
1	1 : 1.0	1.218	0.575	4.05	19.14	35.62	23.8
2	1 : 1.5	1.369	0.625	4.14	19.54	35.74	24.2
3	1 : 2.0	1.400	0.640	4.52	18.54	35.34	24.0
4	1 : 2.5	1.307	0.586	4.59	18.75	35.54	23.8

注：1. 原料配比：豆饼 100：麸皮 20：面粉 20。2. 发酵条件：(1)酱醋发酵温度为 42℃～45℃。(2)发酵时间为 15d。(3)发酵采用淋浇的办法。3. 浸出滤油得到相等的数量后进行成品分析。

三、温度与酶活力的关系

一般在低盐情况下进行发酵，蛋白酶分解的最适温度为 40℃～45℃，糖化最适温度为 50℃～55℃，而酒精发酵与酸发酵的最适温度应在 40℃以下。现在所采用的固态低盐发酵是以蛋白质的分解为主。现将固态低盐发酵酱醋的酶活力与浸出的酱汁成分测定结果列表 1-6。

表 1-6 固态低盐发酵酱醋的酶活力与酱汁成分

发酵天数	酶活力*		酱汁成分分析（g/100mL）				
	蛋白酶	淀粉酶	全氮	氨基酸氮	糖分	比重（°Bè）	游离氮
2	67.86	64.01	1.300	0.550	6.24	22.0	0.109
3	29.02	47.60	2.030	0.844	9.64	21.2	0.167
4	6.43	33.90	2.039	0.864	8.94	21.6	0.180
5	6.43	32.30	2.039	0.875	9.32	21.5	0.197
6	3.61	16.56	2.079	0.881	8.18	21.5	0.198
8	0.904	10.20	2.177	0.912	8.74	21.5	0.207
10	0	7.14	2.224	0.948	8.94	21.5	0.211
12	0	6.92	2.282	0.944	8.42	21.5	0.197
14	0	6.56	2.142	0.867	7.74	20.7	0.197

注：酶活力*测定：糖化力为林德纳氏法 Lintner's Process，蛋白酶为日本松岛钦一法（明胶法）。

说明在发酵初期 48h 内，蛋白酶和淀粉酶溶出量很大，酶的活力特别强。3d 以后酶活力下降，但酱汁中的成分却继续增加，经过 8～10d，分解已基本完成。发酵温度对制好酱油是极其重要的，发酵温度对发酵时间的长短及酱油质量的好坏有着密切的关系。

为了摸索出发酵的最适温度，既可使酱醋提前成熟，又能使酱油风味优美，把发酵温度 50℃～55℃定为高温，40℃～45℃定为中温，26℃～35℃定为低温。将成曲拌入 12 °Bè