

核桃黑米香菇酱油的研制

(北京林业大学生物科学与技术学院食品科学与工程系,北京 100083) 曹海丽 孙欣 卢晓蕊

摘要:在国内首次采用脱脂核桃蛋白为主要原料,首次采用核桃饼、黑米、香菇新型原料配方组合,不添加大豆,经过微生物发酵,生产出核桃黑米香菇酱油,并且采用特殊生产工艺,添加了核桃小分子多肽浓缩液,产品富含核桃多肽、香菇多糖和黑米色素等生物活性物质,能够补肾益肝、增强肌体免疫力、抗癌、降低血压,与传统酱油不同,是一种完全新型的功能型酱油。黑米中含有极具药用价值的天然黄酮类色素——黑米色素,色泽紫黑,酱油中不再添加人工合成色素。该酱油保持了酱油的传统风味,酱香浓郁,风味独特,成本低廉,为国内首创。

关键词:核桃酱油,核桃多肽,香菇多糖,黑米色素

Abstract:This paper introduced a kind of new functional fermented soy sauce, which is made from walnut cake, black rice and mushroom for the first time at home and abroad. We added concentrate of small walnut polypeptide to the soy by special technics, so it is rich in walnut polypeptide, lentinan and black rice pigment. The natural black rice pigment which is a kind of flavone pigment has great medical value so synthetic pigment is not required any more. The soy sauce has both the traditional flavor and the special flavor of walnut, black rice and mushroom. This soy sauce is an unprecedented product, and a patent has been applied.

Key words:walnut soy sauce; walnut polypeptide; lentinan; black rice pigment

中图分类号: TS264.2*1 文献标识码: B
文章编号: 1002-0306(2005)01-0132-03

长期以来,酱油仅仅是单纯作为调味品,随着科技的发展和人民生活水平的提高,要求酱油不仅具有调味品功能,还应具有功能性和保健性。

本论文作者研制成功了一种完全新型的功能型保健酱油,在国内首次采用脱脂核桃蛋白(核桃饼)为主要原料,首次采用核桃饼、黑米、香菇新型原料配方组合,不再添加大豆饼,并且采用特殊发酵生产工艺,生产中添加核桃多肽浓缩液,使产品富含核桃多肽、黑米色素、香菇多糖等生物活性物质,生产出核桃黑米香菇酱油,是一种完全新型的功能型保健酱油,系国内首创。

1 材料与方 法

收稿日期: 2004-09-23

作者简介: 曹海丽(1980-),女,硕士,研究方向:生物资源开发利用。

1.1 材料与仪器

米曲霉(*Aspergillus oryzae*) 购于中科院微生物研究所;碱性内切蛋白酶、复合风味蛋白酶 诺维信公司生产;乙二胺四乙酸铁钠,核桃饼,黑米、香菇,麸皮,玉米粉。

胶体磨 JM 85A 型胶体磨;过滤器 不锈钢双联过滤器 ZRP-H;小型绞肉机。

1.2 工艺流程

黑米蒸饭→加入核桃饼→粉碎→加入玉米粉、麦麸等混合→加水润湿→接种米曲霉→制曲(28℃,36~48h)→成曲粉碎→加入香菇浆液和盐水→稀醪发酵(后发酵)先期55℃,后期60℃→滤油→沉淀澄清→调配→装瓶→灭菌→成品

1.3 操作要点

1.3.1 原料处理 黑米蒸熟与核桃饼按比例混合,送入粉碎机粉碎,加入玉米粉和麦麸混合均匀。

1.3.2 润水 加适量水使湿度达到米曲霉最适生长湿度。

1.3.3 制曲 接种2%米曲霉分生孢子粉,控制温度在28℃,培养36~48h,中间需进行一到两次通风翻曲,成曲标准为曲料内部布满白色菌丝,尚未产生大量分生孢子,完成制曲。

1.3.4 香菇浆液与盐水 香菇加水经胶体磨磨浆,浆液加水稀释,加入8%~10%食盐,与粉碎后的成曲混合。

1.3.5 稀醪发酵 控制发酵前期温度55℃,后期60℃,时间3~4个月。

1.3.6 调配 酱醪成熟后,滤油,添加铁营养强化剂乙二胺四乙酸铁钠,添加量为1.0mg/mL;滤油中添加8%核桃多肽浓缩液。

核桃多肽浓缩液的生产方法为采用酶解法把核桃蛋白水解为小分子多肽。核桃饼经过粉碎,加入其体积4倍的水,进入胶体磨磨浆,过滤去渣,加入复合蛋白酶水解,水解结束后立即在80℃条件下加热15min,把酶灭活,水解液经过离心,即得核桃多肽浓缩液。

该方法最关键的是严格控制核桃蛋白的水解度(DH,%),使得在该最佳水解度下,水解液中大部分为小分子肽,小部分为游离氨基酸和未水解的蛋白质。通过我们多次实验,得出最佳水解条件是蛋白

酶用量 0.5%，水解温度 50℃，水解时间 2h，底物浓度 8%，该控制条件下水解度 $DH(\%)=43\%$ 。我们采用的复合蛋白酶由内切蛋白酶和外切蛋白酶组成，控制它们之间组成的比例非常重要，我们实验得出了最佳比例，为内切蛋白酶:外切蛋白酶=0.1%:0.4%，用这种复合蛋白酶水解，基本上消除了苦味肽。

$$DH(\%) = \frac{\text{断开肽键的数目}}{\text{总肽键数}} \times 100\%$$

1.3.7 灌装灭菌 100℃、10min。

2 结果与讨论

2.1 制曲

采用正交实验方法，以成曲中所含中性蛋白酶活力为测定指标(福林法)，考察原料配比(核桃饼:黑米:玉米粉:麦麸)(A)，米曲霉分生孢子接种量(B)，物料总含水量(C)和制曲时间(D)对成曲质量的影响，实验结果见表 1。

表 1 正交实验结果

实验号	因素				中性蛋白酶活力(U/g)
	A	B(%)	C(%)	D(%)	
1	1(3.5:2.5:1.5:2.5)	1(1)	1(45~55)	1(24)	1387
2	1	2(1.5)	2(35~45)	2(36)	2023
3	1	3(2)	3(55~65)	3(30)	1746
4	2(4:2:1.5:2.5)	1	2	3	1594
5	2	2	3	1	1578
6	2	3	1	2	2416
7	3(4.5:1.5:1.5:2.5)	1	3	2	2147
8	3	2	1	3	1832
9	3	3	2	1	1334
k ₁	1718.667	1709.333	1878.333	1433.000	
k ₂	1862.667	1811.000	1650.333	2195.333	
k ₃	1771.000	1832.000	1823.667	1724.000	
R	144.000	122.667	228.000	762.333	

由表 1 可知，极差 $D>C>A>B$ ，制曲时间对成曲质量的影响最大，最佳实验方案为 $A_2B_3C_1D_2$ ，即制曲最佳原料配比(核桃饼:黑米:玉米粉:麦麸)4:2:1.5:2.5，接种量 2%，物料水分含量 45%~55%，制曲时间 36h。

2.2 发酵

本实验采用低盐稀醪发酵，对发酵条件的控制将直接影响酱油质量与原料利用率。

根据最佳制曲方案制得成曲，选择不同的温度条件进行发酵，120d 后测定各项指标。前期 55℃，后期 60℃得到的产品品质较好(见表 2)。

在发酵温度 55~60℃条件下测定发酵过程中不同时期的产品指标，发酵 120d 后，酱油获得较好品质(见表 3)。

综合考虑，得出酱油生产的最佳原料配比和生产工艺参数，即原料配比(核桃饼:黑米:玉米粉:麸皮)为 4:2:1.5:2.5，工艺参数为:接种量 2%、物料水分含量 45%~55%、制曲时间 36h、发酵温度 55℃(后期 60℃)，发酵时间 3~4 个月。

表 2 发酵温度对酱油品质的影响

指标	发酵温度(℃)(前期~后期)		
	45~50	50~55	55~60
全氮(以氮计 g/100mL)	1.77	1.82	1.89
氨基酸氮(以氮计 g/100mL)	0.87	0.93	0.98
可溶性无盐固形物(g/100mL)	18.86	19.62	20.96

表 3 发酵时间对酱油品质的影响

指标	发酵时间(d)		
	60	90	120
全氮(以氮计 g/100mL)	1.71	1.80	1.89
氨基酸氮(以氮计 g/100mL)	0.80	0.94	0.98
可溶性无盐固形物(g/100mL)	17.88	19.62	20.96

2.3 产品质量指标

2.3.1 感官指标 色泽 黑褐色，色泽鲜艳，有光泽；香气 浓郁的酱香、酯香及香菇香味；滋味 味醇厚，鲜、咸、甜适口；体态 浓厚，澄清，无沉淀。

2.3.2 理化指标 可溶性无盐固形物 20.96g/100mL；全氮(以氮计) 1.89g/100mL；氨基酸态氮(以氮计) 0.98g/100mL；铵盐(以氮计)不大于氨基氮的 23%；核桃多肽 $\geq 1.2\text{g}/100\text{mL}$ ；黑米色素 5.72g/100mL；香菇多糖 1.15g/100mL。

全氮、氨基酸态氮、可溶性无盐固形物、铵盐测定按照 GB 18186-2000《酿造酱油标准》执行，黑米色素测定采用 JA 法，香菇多糖采用蒽酮比色法。

2.3.3 卫生指标 卫生指标测定按照 GB 2717-1996《酱油卫生标准》执行。

3 结论

3.1 本实验在国内首次采用脱脂核桃蛋白(核桃饼)为主要原料，首次采用核桃饼、黑米、香菇新型原料配方组合，发酵生产出无豆酱油，与传统酱油不同，是一种完全新型的功能型保健酱油。

3.2 本实验采用特殊发酵工艺，添加核桃多肽浓缩液，生产出的酱油含有丰富的核桃多肽等生物活性物质。

3.3 以黑米作为原料，富含黄酮类黑米色素，经发酵后酱油色泽紫黑，不需另加色素，解决了传统酱油生产中必须添加人工合成色素的难题。

3.4 本实验确定了核桃黑米香菇酱油生产的最佳原料配比(核桃饼:黑米:玉米粉:麸皮)为 4:2:1.5:2.5。

3.5 本研制酱油既保留了传统酱油风味，又增加了独特的香气，理化指标及卫生指标均符合国家酿造酱油标准。

3.6 成本分析 我国核桃产量逐年上升，核桃油含不饱和脂肪酸高达 92%以上，是一种高级营养保健油。核桃油厂近年来建了很多，因此原料核桃饼十分充足。因为核桃含油率高达 50%~60%，采用机械榨油工艺中，为避免原料被压成油浆无法生产，需要在原料中添加核桃壳或树叶等纤维原料。因此核桃饼

往往不能再作为生产食品的原料,而被用作饲料或作为肥料,然而用来发酵生产酱油却是非常合适的。因此,核桃饼并不比豆饼价格高,甚至还低些。因此核桃黑米香菇酱油的生产成本与传统酱油生产成本基本相同。

参考文献:

[1] 刘晓庚,等.黑米色素初步研究[J].粮食与饲料工业,1994(8):35~39.
 [2] 姚占芳,等.香菇多糖提取工艺条件和测定方法的研究[J].河南农业大学学报,1995(6):179~183.
 [3] 赵谋明主编.调味品[M].化学工业出版社,2001.

[4] 缪杰.影响酱油质量的主要因素的研究[J].中国调味品,1997(8).
 [5] 崔雅君.浅谈酱油产品新标准及其检验[J].中国调味品,2002(4):35~36.
 [6] 于波,霍军生,等.乙二胺四乙酸铁钠对酱油感观和理化性质及稳定性的影响[J].卫生研究,2003(7):50~53.
 [7] 黄丽莎,余小漫,等.从黑稻秆中提取黑米色素[J].韶关学院学报,2003(6):59~61.
 [8] 周峙苗,等.利用大米酒糟酿造酱油的工艺研究[J].中国酿造,2003(3):37~38.
 [9] 岳红,等.核桃、松籽营养价值的分析及保健饮品的研制[J].食品科技,1999(2):37~39.
 [10] 肖培根主编.新编中药志[M].化学工业出版社,2002.

(上接第 166 页)

吸附后的聚集作用,但可以保持乳酸链球菌素的稳定,使之不易失活,能保持较长时间的抑菌效果。

表3 金黄色葡萄球菌在 10℃、pH5.0 的条件下不同浓度乳酸链球菌素的活菌数随时间的变化

取样时间 (h)	乳酸链球菌素浓度(mg/kg)			
	空白	50	100	250
0	5.1×10 ⁶	4.8×10 ⁶	5.6×10 ⁶	5.8×10 ⁶
6	2×10 ⁷	2×10 ⁶	6×10 ⁵	2×10 ³
96	2×10 ⁹	1×10 ⁹	1×10 ⁴	2×10 ²

3 结论

通过乳酸链球菌素对金黄色葡萄球菌抑制条件的研究发现,乳酸链球菌素浓度达到 500mg/kg 时,可以完全杀死培养基中 5.5×10⁶ 的金黄色葡萄球菌;在温度为 10℃、pH5.0 的条件下,100、250mg/kg 浓度的乳酸链球菌素在 96h 内可以完全抑制培养基中 5.5×10⁶ 的金黄色葡萄球菌的生长,但并不能将菌完全杀死,这证明低 pH 和低温并不能提高乳酸链球菌素的杀菌能力,但可以保持乳酸链球菌素的稳定,使之不易失活,能保持较长时间的抑菌效果。此外,通过乳酸链球菌素对沙门氏菌抑制条件的研究还发现(结果略),与有关文献报道的一致,乳酸链球菌素对革兰氏阴性菌没有抑制作用。本实验研究了温度、pH 等因素对乳酸链球菌素抑制金黄色葡萄球菌活性的影响,结果表明,温度、pH 会显著影响乳酸链球菌素的活性,

(上接第 174 页)

[14] Arnold F H, Volkov A A. Directed evolution of biocatalysts[J]. Curr Opin Chem Biol,1999(3):54~59.
 [15] Brenner S, Lewitter F, et al. Trends Guide to Informatics Elsevier Cambridge,UK,1998.
 [16] Henrissat B, Davies G. Structural and sequence-based classification of glycoside hydrolases[J]. Curr Opin Struct Biol,1997(7):637~644.
 [17] Ames B N, Mccann J. et al. Methods for detecting

在酸性条件下,乳酸链球菌素对温度较稳定,随着 pH、温度的增高,乳酸链球菌素活性下降越显著。该点提示,在食品生产实践中,应注意乳酸链球菌素的使用条件,在低温制品、pH 较低的食品中使用时,乳酸链球菌素不易受到破坏,活性较强,能更好地发挥保鲜效果,即使在偏中性环境中,经过短时间高温灭菌后,乳酸链球菌素仍会保留一定活性,在食品贮藏过程中可继续发挥抑制金黄色葡萄球菌的作用^[1]。

参考文献:

[1] 宁喜赋.乳酸菌素的性质及应用[J].上海水产大学学报,2002(9):21~26.
 [2] Liu W,J N Hansen. Some chemical and physical and physical properties of Nisin,a small-protein antibiotic produced by lactococcus lactis[J].appl Environ Microbiol,1990,25:57~66.
 [3] Huan L D,Chen X Z,Jia S F. The biosynthesis of Nisin and Expression of Nisin Gene in lactococcus[J].Lactis,2001(3):218~231.
 [4] 罗雪云,刘宏道.食品卫生微生物检验标准手册[M].中国标准出版社,1997,7.148~150.
 [5] 汤凤霞,蔡慧农.微生物防腐剂 Nisin 的研究与应用[J].食品科技,2002(11):46~48.
 [6] 徐景野,傅小红,张思敏,等.棒冰中金黄色葡萄球菌存活观察[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [7] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [8] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [9] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [10] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [11] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [12] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [13] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [14] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [15] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [16] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [17] 李德发,等.金黄色葡萄球菌产生耐热肠毒素的分子生物学特性[J].中国卫生检验杂志,1998(5):239.
 [18] Ford C. Improving operating performance of glucoamylase by mutagenesis. Curr Opin Biotechnol,1999(10):353~393.
 [19] Shaw A, Bott R, Day A G. Protein engineering of α-amylase for low pH performance [J]. Curr Opin Biotechnol,1999(10):349~352.