



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102524742 B

(45) 授权公告日 2013. 12. 25

(21) 申请号 201210002011. 4

(22) 申请日 2012. 01. 06

(73) 专利权人 广东美味鲜调味食品有限公司

地址 528437 广东省中山市中山火炬开发区
厨邦路 1 号

(72) 发明人 董修涛 胡锋 梁亮 付红梅
杨明泉 贾爱娟

(74) 专利代理机构 广州知友专利商标代理有限公司 44104

代理人 刘小敏 马贊斋

(51) Int. Cl.

A23L 1/238 (2006. 01)

审查员 王佩兰

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

一种二抽酱油制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种二抽酱油制备方法，其特征在于，其包括以下步骤：在头油渣中加入盐水和酶制剂拌匀制成二油酱醪，所述头油渣和水构成制曲原料，然后晒露发酵1~2个月，得到二抽酱油，其中，所述的酶制剂由以下方法制备而成：
(1) 以干头油渣为培养基的主料，加水混匀，然后将菌种接种至培养基上，混合均匀成发酵原料；
(2) 发酵原料在35~39℃下发酵24~72小时，得到酶制剂。该方法在酱渣中添加酶制剂，对酱渣中剩余的蛋白质和淀粉等物质作进一步的分解，以提高二抽酱油中全氮浓度以及含糖浓度。

1. 一种二抽酱油制备方法,其特征在于,其包括以下步骤:在头油渣中加入盐水和酶制剂拌匀制成二油酱醪,所述头油渣和盐水构成制曲原料,然后晒露发酵1~2个月,得到二抽酱油,其中,所述的酶制剂由以下方法制备而成:

(1) 以干头油渣为培养基的主料,将菌种接种至培养基上,然后加水混合均匀成发酵原料,其中,所述水的添加量为培养基总重量的50~60%,菌种按培养基总重量的0.1~1%的接种量接种至培养基中,所述菌种采用黑曲霉、米曲霉和酱油曲霉中的一种或两种以上的混合,所述干头油渣为酱油酿造工艺中的酱醪抽出头油后经过脱盐干燥处理的酱渣;

(2) 发酵原料下料至厚层通风制曲池中,铺料厚度0.1~1.0m,在35~39℃下发酵24~72小时,得到酶制剂。

2. 根据权利要求1所述的二抽酱油制备方法,其特征在于,所述的酶制剂添加量为制曲原料总重量的1~5%。

3. 根据权利要求1或2所述的二抽酱油制备方法,其特征在于,所述步骤(1)所述的培养基还包括辅料。

4. 根据权利要求3所述的二抽酱油制备方法,其特征在于,所述培养基中,干头油渣的重量百分比含量为50~60%,辅料的重量百分比含量为40~50%。

5. 根据权利要求4所述的二抽酱油制备方法,其特征在于,所述的辅料为麦麸、玉米粉、土豆粉、面粉和豆饼粉中的一种或两种以上的混合。

6. 根据权利要求5所述的二抽酱油制备方法,其特征在于,当培养基中包括麦麸时,所述的步骤(1)具体操作为:麦麸与菌种搅拌均匀后,加水拌匀,然后再加入干头油渣或者干头油渣和其余辅料拌匀的发酵原料。

7. 根据权利要求3所述的二抽酱油制备方法,其特征在于,所述的步骤(2)的发酵工艺为:

①发酵的0~8h时间段,控制发酵原料的料温在37~39℃之间;

②发酵的9~20h时间段,控制料温在35~36℃之间,且在10~11h的时间段和18~20h时间段各翻曲一次;

③发酵的20~48h时间段,控制料温36~38℃,在24~48h时出曲,得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂;

或者是:

①发酵的0~8h时间段,控制发酵原料的料温在37~39℃之间;

②发酵的9~20h时间段,控制料温在35~36℃之间,且在10~11h时间段和18~20h时间段各翻曲一次;

③发酵的20~48h时间段,控制料温36~38℃;

④发酵的48~72h时间段,控制料温38~39℃,在第49~72h时出曲,得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂。

一种二抽酱油制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种二抽酱油制备方法。

背景技术

[0002] 在广式酱油的行业内的现行酿造工艺里，酱油都是采用晒露发酵生产的，通常产出的生酱油分为头抽酱油（又称头油）和二抽酱油（又称二油）。其中，头油为由酱油大曲和盐水的稀态混合物，即酱醪，经晒露发酵半年后所直接抽出的生酱油，故名为头抽酱油，简称头抽或头油，由于酱油大曲中含有大量可分解黄豆和面粉等大曲原料的酶系，该酶系在酱醪中继续发挥分解作用，将大豆蛋白质分解成小分子氨基酸，将面粉中的淀粉分解成糖类，从而赋予头油的鲜味和甜味。而酱醪抽出头油后剩下的酱渣，又称头油渣，用于二油的制备。现有工艺中都是在头油渣中补加盐水或者三油，然后继续晒露发酵1至2个月后抽出的生酱油，故名为二抽酱油，简称二抽或二油。

[0003] 然而，盐水对于可分解酱油大曲原料的酶系有着抑制作用，且随浸泡时间的延长酶系的酶活力衰退，故虽经过半年以上的晒露发酵，酱油大曲原料的分解是有限。而且头油渣的粗蛋白指标含量的检测结果一般为干基干重的29~37%，大曲原料中的中性蛋白酶和酸性蛋白酶却已衰退殆尽，已不能再分解酱渣中的蛋白质，可见酱油大曲原料的蛋白质利用率仍然存在大幅度提升的空间。不过，酱渣的含盐量较高，氯化钠含量为18g/100g湿酱渣，因而酱渣的渗透压过高，而曲霉菌等菌种不耐盐，在酱渣中是无法生长繁殖的，因此现有酱油的二抽酱油制备工艺仅仅是使用盐水或三油对头油渣进行浸提，但只能将酱渣中残存的氨基酸和还原糖等营养物和风味物质浸提出来，而酱油大曲中仍有大量不能被浸提出来的蛋白质未分解，因而现有工艺所得的二抽酱油中全氮浓度较低，在0.95~1.02g/100ml，因此，目前的酿造工艺难以在原料利用率上有着质的提升，而市面上也无相应用途的酶制剂。

[0004] 大豆中的蛋白质种类较多，易被大曲中的酶系所分解的蛋白质已在头油的浸泡阶段中被降解成为头油中的氨基酸态氮。而在头油渣中残存的蛋白质为难以被原大曲中的酶系所分解的部分。

发明内容

[0005] 本发明的目的旨在一种二抽酱油制备方法，该方法在酱渣中添加酶制剂，对酱渣中剩余的蛋白质和淀粉等物质作进一步的分解，以提高二抽酱油中全氮浓度以及含糖浓度。

[0006] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现的：一种二抽酱油制备方法，其包括以下步骤：在头油渣中加入盐水和酶制剂拌匀制成二抽酱油酱醪，所述头油渣和盐水构成制曲原料，然后晒露发酵1~2个月，得到二抽酱油，其中，所述的酶制剂由以下方法制备而成：

[0007] (1) 以干头油渣为培养基主料，加水混匀，然后将菌种接种至培养基上，混合均匀成发酵原料；

[0008] (2) 发酵原料在35~39℃下发酵24~72小时，得到酶制剂。

[0009] 微生物产酶的主要目的为将其所处环境中的大分子营养物质降解成小分子,而后才能将营养吸收和利用,达到自身生长和繁殖的终极目的。故在不同环境下,同种微生物所产出的酶系及比例是不同的。例如单以面粉为培养基,其主要成分为淀粉,另含少量蛋白质,则菌种主要分泌用于分解淀粉的液化酶和糖化酶,因环境中蛋白质较少而致蛋白酶产量低;若单以豆粕为培养基,主要成分为蛋白质,另含少量碳水化合物,则菌种主要分泌用于分解蛋白质的蛋白酶,因环境中淀粉较少而致液化酶和糖化酶产量低。同理,在不同的蛋白质环境下,菌种所分泌的蛋白酶系的种类和比例也将依据所处环境中蛋白质的特性而在一定范围内自行调整。由于在头油发酵制备中蛋白质的利用率仅为 29~37%,则头油渣中还含有丰富的未被利用的蛋白质,且均是酱油大曲原料的酶系难以分解的蛋白质。以干头油渣为主要原料制备酶制剂,则因菌种所接触的蛋白质为酱油大曲蛋白酶系难以分解的部分,故菌种将分泌能较好地分解头油渣残存蛋白质的酶系,该酶系更加适合用于头油渣发酵制备二抽酱油,可以充分地分解头油渣中的蛋白质,提高了二抽酱油中的全氮浓度,提高了制备酱油的原材料利用率。

[0010] 本发明中,盐水和头油渣之间的比例按照已有工艺的配比即可,而所述的酶制剂添加量为制曲原料总重量的 1~5%。所述的酶制剂应先添加至生产二抽酱油的盐水中拌匀后再加至头油渣中,以使酶制剂均匀分布在头油渣中。

[0011] 本发明所述步骤(1)中的干头油渣为酱油酿造工艺中的酱醪抽出头油后经过脱盐干燥处理的酱渣。该干头油渣中含有 12~15wt% 的水分,8~10g/100g 的盐分。

[0012] 本发明的步骤(1)中所述的菌种的接种量为培养基总重量的 0.1~1%。

[0013] 尽管干头油渣虽经过脱盐处理,但其中仍含有少量的盐,盐分过高抑制菌种的生长,菌种无法正常代谢产酶,而且会对菌种的发酵所得的酶产生抑制作用,降低酶活力,故所述步骤(1)所述的培养基还包括辅料,而所述水的添加量为培养基总重量的 50~60%,使干头油渣中的盐分降低于 5g/100g,让菌种能够正常代谢产酶,且所得的酶的活性较高。

[0014] 作为本发明的实施方式,所述的辅料包括麦麸、玉米粉、土豆粉、面粉和豆饼粉中的一种或两种以上的混合,可以为菌种的发酵提供更加充足的碳源、氮源以及其他养分。

[0015] 本发明中,当培养基中包括辅料时,所述的干头油渣的重量百分比含量为 50~60%,辅料的重量百分比含量为 40~50%。

[0016] 而作为本发明的其中一种实施方式:当培养基中包括麦麸时,所述的步骤(1)具体操作如下:麦麸与菌种搅拌均匀后,加水拌匀,然后再加入干头油渣或者干头油渣和其余辅料,拌匀得到发酵原料。由于麦麸在吸水后仍可保持较好的松散程度,故最先将麦麸和菌种拌匀可让用量较少的菌种得到均匀的分布。而干头油渣和其它辅料直接与水接触后将形成大量团块,水分不均匀现象严重,菌种会分布不均匀,故干头油渣和其它辅料需最后添加。

[0017] 本发明所述的步骤(1)中所述的菌种采用黑曲霉、米曲霉、酱油曲霉以及适用于酱油生产的其他霉菌中的一种或两种以上的混合。头油渣的 pH 偏酸性,即本发明的酶制剂是将要添加到酸性环境中的,黑曲霉所分泌的蛋白酶系以酸性蛋白酶为主,米曲霉和酱油曲霉所分泌的蛋白酶系以中性蛋白酶为主,因此,所述菌种优选至少要包括黑曲霉,这样所制备的酶制剂在头油渣中的使用效果更佳。

[0018] 本发明所述的步骤(2)的发酵在厚层通风制曲池进行,发酵原料在制曲池中的铺

料厚度在 0.1~1.0m 范围之间,在此厚度下,不仅培养基的透风性合适,在发酵期间能为发酵提供充足的氧气,而且还能将培养基的热量控制在合适的菌种生长的温度范围内。

[0019] 本发明所述的发酵采用常规发酵工艺即可达到发明目的。但是,本发明还可以采用以下发酵工艺进行处理:

[0020] 若发酵时间是 24~48h,则所述的步骤(2)的发酵工艺为:

[0021] ①发酵的 0~8h 时间段,控制发酵原料的料温在 37~39℃之间;

[0022] ②发酵的 9~20h 时间段,控制料温在 35~36℃之间,且在 10~11h 的时间段和 18~20h 时间段各翻曲一次;

[0023] ③发酵的 20~48h 时间段,控制料温在 36~38℃之间,在 24~48h 时出曲,得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂。采用该工艺耗能低,但所得的酶制剂水分较高,但不利于存放,需要立即使用或在 2 天内使用。

[0024] 若发酵时间在 49~72h 范围内,则所述的步骤(2)的发酵工艺为:

[0025] ①发酵的 0~8h 时间段,控制发酵原料的料温在 37~39℃之间;

[0026] ②发酵的 9~20h 时间段,控制料温在 35~36℃之间,且在 10~11h 时间段和 18~20h 时间段各翻曲一次;

[0027] ③发酵的 20~48h 时间段,控制料温在 36~38℃之间;

[0028] ④发酵的 48~72h 时间段,控制料温在 38~39℃之间,在 49~72h 时出曲,得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂。采用该工艺虽能耗高,但是所得的酶制剂不仅酶活力高,且存放时间较长,室温下可存放 3 天,最多 5 天。

[0029] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0030] (1) 本发明中采用的酶制剂具有较强的酶活力,其中酸性蛋白酶活 750~1000U/g 干基,中性蛋白酶活 90~130U/g 干基,可以分解头油渣中的剩余的大豆蛋白质,提高酱油制备原料的蛋白质的利用率,同样也提高了淀粉质原料的利用率。

[0031] (2) 本发明针对头油渣中所含成分的种类及其偏酸性的性质,选择既可以产酶,又可以在头油渣环境中生长的菌种进行酶制剂的制备,使之在头油渣中的使用效果更佳,能分解头油渣中难以被酱油大曲分解的蛋白质,提高酱油制备原料的蛋白质的利用率。

[0032] (3) 本发明的酶制剂的制备中,接种时采用分步混合,使菌种能够均匀地分布,培养基得以充分地利用。

[0033] (4) 采用本发明的酶制剂制备二抽酱油,可以分解头油渣中剩余的蛋白质,使二抽酱油的生产亦如头抽酱油一样进行了酶解过程,从而提高了二抽酱油中的全氮含量和糖浓度,也提高了原料中的蛋白质和淀粉利用率。

具体实施方式

[0034] 以下结合具体实施例对本发明作进一步描述,但不作为对本发明的限定。

[0035] 实施例一

[0036] (1) 以干头油渣为培养基,将酱油曲霉 As. 3495 按干头油渣重量的 0.6% 进行添加,拌匀后加水,加水量为干头油渣重量的 55%,混匀成发酵原料;

[0037] (2) 发酵原料下料至厚层通风制曲池中,铺料厚度 0.2m,在 37℃下发酵 55 小时,得到酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂,所得的酶制剂的水分 25%,酸性蛋白酶活 750U/

g 干基, 中性蛋白酶活 130U/g 干基。

[0038] 酶制剂添加至生产二抽酱油的盐水中, 拌匀后, 再加至头油渣中拌匀制成二抽酱油酱醪, 盐水和头油渣构成制曲原料, 盐水与头油渣按已有工艺的比例配制, 酶制剂添加量为制曲原料总重量的 5%, 然后晒露发酵 1~2 个月, 得到二抽酱油。所得的二抽酱油中全氮浓度为 1.28g/100mL。

[0039] 实施例二

[0040] (1) 发酵原料制备 :

[0041] ①培养基配方 : 干头油渣 50%, 麦麸 50%, 菌种采用黑曲霉 AS. 3350。

[0042] ②麦麸和黑曲霉拌匀, 黑曲霉 AS. 3350 的接种量为干头油渣和麸皮总重的 0.5%。

[0043] ③在麦麸和的混合料中加水拌匀, 水的用量为干头油渣和麸皮总重的 60%。

[0044] ④麸皮、黑曲霉和水的混合料与干头油渣拌匀成发酵原料。

[0045] (2) 发酵 : 发酵原料下料至厚层通风制曲池中, 铺料厚度 1.0m。按以下发酵工艺进行发酵 :

[0046] ①发酵的 0 ~ 8h, 控制发酵原料的料温在 37~39℃之间 ;

[0047] ②发酵的 9 ~ 20h, 控制料温在 35~36℃之间, 且在 10~11h 和 18~20h 各翻曲一次 ;

[0048] ③发酵的 20~48h, 控制料温在 36~38℃之间, 在第 48h 时出曲, 得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂, 所得的酶制剂的水分 25%, 酸性蛋白酶活 900U/g 干基, 中性蛋白酶活 90U/g 干基。

[0049] 酶制剂添加至生产二抽酱油的盐水中, 拌匀后, 再加至头油渣中拌匀制成二抽酱油酱醪, 盐水和头油渣构成制曲原料, 盐水与头油渣按已有工艺的比例配制, 酶制剂添加量为制曲原料总重量的 2%, 然后晒露发酵 1~2 个月, 得到二抽酱油。所得的二抽酱油中全氮浓度为 1.33g/100mL。

[0050] 实施例三

[0051] (1) 发酵原料制备 :

[0052] ①培养基配方 : 干头油渣 60%, 麦麸 40%, 菌种采用黑曲霉 AS. 3350。

[0053] ②麦麸和黑曲霉拌匀, 黑曲霉 AS. 3350 的接种量为干头油渣和麸皮总重的 0.4%。

[0054] ③在麦麸和黑曲霉的混合料中加水拌匀, 水的用量为干头油渣和麸皮总重的 57%。

[0055] ④麸皮、黑曲霉和水的混合料与干头油渣拌匀成发酵原料。

[0056] (2) 发酵 : 发酵原料下料至厚层通风制曲池中, 铺料厚度 0.6m。按以下发酵工艺进行发酵 :

[0057] ①发酵的 0 ~ 8h, 控制发酵原料的料温在 37~39℃之间 ;

[0058] ②发酵的 9 ~ 20h, 控制料温在 35~36℃之间, 且在 10~11h 和 18~20h 各翻曲一次 ;

[0059] ③发酵的 20~48h, 控制料温在 36~38℃之间, 在第 48h 时出曲, 得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂, 所得的酶制剂的水分 24%, 酸性蛋白酶活 1000U/g 干基, 中性蛋白酶活 90U/g 干基。

[0060] 酶制剂添加至生产二抽酱油的盐水中, 拌匀后, 再加至头油渣中拌匀制成二抽酱油酱醪, 盐水和头油渣构成制曲原料, 盐水与头油渣按已有工艺的比例配制, 酶制剂添加量为制曲原料总重量的 2%, 然后晒露发酵 1~2 个月, 得到二抽酱油。所得的二抽酱油中全氮浓度为 1.45g/100mL。

[0061] 实施例四

[0062] (1) 发酵原料制备：

[0063] ①培养基配方：干头油渣 55%，麦麸 45%，菌种采用黑曲霉 AS. 3350。

[0064] ②麦麸和黑曲霉拌匀，黑曲霉 AS. 3350 的接种量为干头油渣和麸皮总重的 0.3%。

[0065] ③在麦麸和黑曲霉的混合料中加水拌匀，水的用量为干头油渣和麸皮总重的 50%。

[0066] ④麸皮、黑曲霉和水的混合料与干头油渣拌匀成发酵原料。

[0067] (2) 发酵：发酵原料下料至厚层通风制曲池中，铺料厚度 0.9m。按以下发酵工艺进行发酵：

[0068] ①发酵的第 0 ~ 8h，控制发酵原料的料温在 37~39℃之间；

[0069] ②发酵的第 9 ~ 20h，控制料温在 35~36℃之间，且在第 10~11h 和第 18~20h 各翻曲一次；

[0070] ③发酵的第 20~48h，控制料温在 36~38℃之间；

[0071] ④发酵的第 48~72h，控制料温 39℃；

[0072] 在第 72h 时出曲，得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂，所得的酶制剂的水分 18%，酸性蛋白酶活 900U/g 干基，中性蛋白酶活 95U/g 干基。

[0073] 酶制剂添加至生产二抽酱油的盐水中，拌匀后，再加至头油渣中拌匀制成二抽酱油酱醪，盐水和头油渣构成制曲原料，盐水与头油渣按已有工艺的比例配制，酶制剂添加量为制曲原料总重量的 2.5%，然后晒露发酵 1~2 个月，得到二抽酱油。所得的二抽酱油中全氮浓度为 1.49g/100mL。

[0074] 实施例五

[0075] (1) 发酵原料制备：

[0076] ①培养基配方：干头油渣 53%，麦麸 47%，菌种采用黑曲霉 AS. 3350。

[0077] ②麦麸和黑曲霉拌匀，黑曲霉 AS. 3350 的接种量为干头油渣和麸皮总重的 0.35%。

[0078] ③在麦麸和黑曲霉的混合料中加水拌匀，水的用量为干头油渣和麸皮总重的 60%。

[0079] ④麸皮、黑曲霉和水的混合料与干头油渣拌匀成发酵原料。

[0080] (2) 发酵：发酵原料下料至厚层通风制曲池中，铺料厚度 0.85m。按以下发酵工艺进行发酵，

[0081] ①发酵的 0 ~ 8h，控制发酵原料的料温在 37~39℃之间；

[0082] ②发酵的 9 ~ 20h，控制料温在 35~36℃之间，且在 10~11h 和 18~20h 各翻曲一次；

[0083] ③发酵的 20~48h，控制料温在 36~38℃之间，在第 48h 时出曲，得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂，所得的酶制剂的水分 25%，酸性蛋白酶活 930U/g 干基，中性蛋白酶活 90U/g 干基。

[0084] 酶制剂添加至生产二抽酱油的盐水中，拌匀后，再加至头油渣中拌匀制成二抽酱油酱醪，盐水和头油渣构成制曲原料，盐水与头油渣按已有工艺的比例配制，酶制剂添加量为制曲原料总重量的 2%，然后晒露发酵 1~2 个月，得到二抽酱油。所得的二抽酱油中全氮浓度为 1.40g/100mL。

[0085] 实施例六

[0086] (1) 发酵原料制备：

[0087] ①培养基配方：干头油渣 53%，麦麸 47%，菌种采用米曲霉 As. 3951。

[0088] ②麦麸和米曲霉 As. 3951 拌匀，米曲霉 As. 3951 的接种量为干头油渣和麸皮总重的 0.3%。

[0089] ③在麦麸和米曲霉 As. 3951 的混合料中加水拌匀，水的用量为干头油渣和麸皮总重的 60%。

[0090] ④麸皮、米曲霉 As. 3951 和水的混合料与干头油渣拌匀成发酵原料。

[0091] (2) 发酵：发酵原料下料至厚层通风制曲池中，铺料厚度 0.4m。按以下发酵工艺进行发酵，

[0092] ①发酵的 0 ~ 8h，控制发酵原料的料温在 37~39℃之间；

[0093] ②发酵的 9 ~ 20h，控制料温在 35~36℃之间，且第 10~11h 和 18~20h 各翻曲一次；

[0094] ③发酵的第 20~48h，控制料温在 36~38℃之间，在第 48h 时出曲，得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂，所得的酶制剂的水分 24%，酸性蛋白酶活 750U/g 干基，中性蛋白酶活 130U/g 干基。

[0095] 酶制剂添加至生产二抽酱油的盐水中，拌匀后，再加至头油渣中拌匀制成二抽酱油酱醪，盐水和头油渣构成制曲原料，盐水与头油渣按已有工艺的比例配制，酶制剂添加量为制曲原料总重量的 4%，然后晒露发酵 1~2 个月，得到二抽酱油。所得的二抽酱油中全氮浓度为 1.36g/100mL。

[0096] 实施例七

[0097] (1) 发酵原料制备：

[0098] ①培养基配方：干头油渣 50%，麦麸 35%，豆饼粉 5%，面粉 10%，菌种采用米曲霉 As. 3951。

[0099] ②麦麸和米曲霉 As. 3951 拌匀，米曲霉 As. 3951 的接种量为干头油渣和麸皮总重的 0.3%。

[0100] ③在麦麸和米曲霉 As. 3951 的混合料中加水拌匀，水的用量为干头油渣、麸皮、豆饼粉和面粉总重的 60%。

[0101] ④麸皮、米曲霉 As. 3951 和水的混合料与干头油渣、豆饼粉及面粉拌匀成发酵原料。

[0102] (2) 发酵：发酵原料下料至厚层通风制曲池中，铺料厚度 0.3m。按以下发酵工艺进行发酵，

[0103] ①发酵的 0 ~ 8h，控制发酵原料的料温在 32~34℃之间；

[0104] ②发酵的 8 ~ 16h，控制料温在 34~36℃之间，且在 10~11h 和 18~20h 各翻曲一次；

[0105] ③发酵的 16~24h，控制料温在 36~37℃之间，在第 25h 时出曲，得到用于酱油酿造中二抽酱油制备用的酶制剂，所得的酶制剂的水分 25%，酸性蛋白酶活 760U/g 干基，中性蛋白酶活 130U/g 干基。

[0106] 酶制剂添加至生产二抽酱油的盐水中，拌匀后，再加至头油渣中拌匀制成二抽酱油酱醪，盐水和头油渣构成制曲原料，盐水与头油渣按已有工艺的比例配制，酶制剂添加量为制曲原料总重量的 2.5%，然后晒露发酵 1~2 个月，得到二抽酱油。所得的二抽酱油中全氮浓度为 1.38g/100mL。

[0107] 本发明可用其他的不违背本发明的精神或主要特征的具体形式来概述。本发明的

上述实施例都只能认为是对本发明的说明而不是限制,因此凡是依据本发明的实质技术对以上实施例所作的任何细微修改、等同变化与修饰,均属于本发明技术方案的范围内。