



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106616856 B

(45) 授权公告日 2020.10.27

(21) 申请号 201610897462.7

(22) 申请日 2016.10.15

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 106616856 A

(43) 申请公布日 2017.05.10

(73) 专利权人 曲阜市孔膳坊食品有限公司  
地址 273100 山东省济宁市曲阜经济开发  
区西区长春路北侧

(72) 发明人 王蕾 孔蒙 晏锋

(74) 专利代理机构 北京中济纬天专利代理有限  
公司 11429

代理人 宋震

(51) Int. Cl.

A23L 27/50 (2016.01)

A23L 29/00 (2016.01)

(56) 对比文件

CN 106174405 A, 2016.12.07

CN 104172094 A, 2014.12.03

CN 103598565 A, 2014.02.26

JP S58175471 A, 1983.10.14

CN 102090614 A, 2011.06.15

CN 105901656 A, 2016.08.31

CN 102626219 A, 2012.08.08

谭周进,等.原料对纳豆品质的影响.《食品科学》.2003,第24卷(第1期),第87-90页.

于维河,李秋明.红曲和多菌种混合制曲生  
产酱油工艺试验报告.《中国调味品》.1985,(第  
11期),第1-5页.

李保英.多菌种酱油制曲工艺及其对酱油风  
味影响的研究.《中国优秀硕士学位论文全文数  
据库 工程科技I辑》.2013,(第9期),第B024-88  
页.

审查员 杨凌寒

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种纳豆酱油及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种纳豆酱油的制备方法,步骤为:(1)选豆粕、花生、糯米和麸皮为原料,混合蒸煮,得物料1;(2)将米曲霉、红曲霉接种至物料1,制曲;(3)对物料2进行第一次松曲,将黑曲霉喷洒入物料2,得物料3;(4)上述物料3,依次进行第二次制曲,第二次松曲,第三次制曲,第三次松曲,第四次制曲,得物料4;(5)向物料4中加入盐水,得到物料5;(6)发酵:第10天时,加入嗜盐乳酸菌;第25天时,加入增香酵母;第30天后,每3天用净化空气搅拌一次;第60天时,加入纳豆芽孢杆菌菌液;第80天,发酵完成,得纳豆酱油。本发明的酱油中,纳豆激酶、纳豆异黄酮含量高,维生素K2含量少,无臭氨味,感官评价好。

1. 一种纳豆酱油的制备方法,其特征在于:步骤如下:

(1) 原料处理:选豆粕、花生、糯米、麸皮为原料,重量比例为3:1:1:1.5,花生、糯米在水中浸泡6h,沥水,混合豆粕、花生、糯米、麸皮后121℃蒸煮15min,得到物料1;

(2) 多菌种制曲1:将米曲霉、红曲霉接种至物料1,接种量分别为3%、1%,接种后进行第一次制曲,制曲温度32℃~35℃,时间13h,得到物料2;

(3) 多菌种制曲2:对物料2进行第一次松曲,将黑曲霉喷洒入物料2,接种量为1%,得到物料3;

(4) 多菌种制曲3:曲室湿度保持在90%以上,32℃~35℃保持13h后进行第二次松曲,再进行第三次制曲,24h后第三次松曲,再进行第四次制曲,40h结束,得到物料4;

(5) 制备纳豆芽孢杆菌菌液:取花生和豆粕,二者重量比为1:2,用水浸泡24h,沥干水分,121℃蒸煮40min,温度降低至40℃时,接种3%的纳豆芽孢杆菌,30℃~38℃环境下发酵22h,用30-40℃温水浸泡1小时,滤去花生和豆粕渣,得到纳豆芽孢杆菌菌液;

(6) 加入盐水:向物料4中加入2.5倍的18波美度的盐水,得到物料5;

(7) 发酵:维持物料5的品温38℃~45℃,每天用净化空气搅拌一次;10天后,逐步降温至30℃并加入2%传代三次后的乳酸菌;25天后,加入5%传代三次后的增香酵母;30天后,每3天搅拌一次;60天后,加入纳豆芽孢杆菌菌液,接种3%;总发酵时间80天,发酵完成,得纳豆酱油;

所述米曲霉的商品号为“1004米曲霉”,购自济宁玉园生物科技有限公司;

所述黑曲霉的商品号为“3006黑曲霉”,购自济宁玉园生物科技有限公司;

所述乳酸菌选自嗜盐乳酸菌,商品号为“3003嗜盐乳酸菌”,购自济宁玉园生物科技有限公司;

所述增香酵母的商品号为“3005活性酵母菌”,购自济宁玉园生物科技有限公司;

所述红曲霉的商品名称为“糖化增香红曲”,购自武汉佳成生物制品有限公司;

所述纳豆芽孢杆菌选自纳豆枯草芽孢杆菌,商品名称为“纳豆发酵粉”,购自北京川秀科技有限公司。

2. 利用权利要求1所述的纳豆酱油的制备方法制备得到的纳豆酱油。

## 一种纳豆酱油及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种多菌种混合制曲发酵制备的纳豆酱油及其制备方法,属于调味品加工技术领域。

### 背景技术

[0002] 纳豆是以黄豆(又称大豆)为原料,与纳豆菌接种后经过高温发酵等多种工序制作而成,具有溶解血栓、预防和改善心脑血管疾病;抗氧化、抗疲劳、延缓衰老、预防老年痴呆症;调节肠胃的作用。纳豆的保健功能主要与其中的纳豆激酶、纳豆异黄酮、皂青素、等功能因子有关,但纳豆有种特殊的气味,降低了大众对其接受程度,同时纳豆中含有的功能因子纳豆激酶与维生素K2之间的功能作用相反,要想达到溶解血栓、降低血压的功效,要有效的去除维生素K2,目前很多产品都无法达到,因此效果均不理想。

[0003] 目前,市场上的纳豆酱油使用豆粕、小麦粉、麸皮等混入单一米曲霉制曲,采用低盐固态和高盐稀态的发酵方法先发酵酱油,在酱油发酵的后期过程中加入纳豆菌发酵形成成熟的醪液,经过淋油、过滤、加热、包装工序进行生产。此种方法微生物种类单一,酶系单调,原料利用率不高;以小麦粉做为生产纳豆的碳源,无法产生真正意义上的纳豆,制作的纳豆酱油中纳豆激酶的含量很低,生产出来的酱油带有让人很难接收的氨臭味。

[0004] 现有技术中有多种纳豆酱油的制备方法,例如:中国发明专利200710008805.0(授权公告号CN 100574637C)介绍了一种纳豆酱油的生产方法,以黄豆和生产纳豆过程产生的纳豆汤为原料,以单一的黄豆曲霉为发酵菌种,采用低盐固态的发酵工艺制作酱油。中国专利201410023796.2(授权公告号CN103783482B)介绍了一种花生纳豆酱油的生产方法,以花生仁为原料,以复合菌种为主要发酵菌种发酵生产花生酱油。但是,现有技术中,对多种原料,多种菌种混合制曲,提升纳豆激酶减少维生素K2,改善纳豆给酱油带来不良气味等方面的研究较少。

### 发明内容

[0005] 针对上述现有技术,本发明提供了一种多菌种混合制曲发酵制备的纳豆酱油,及其制备方法。本发明通过改变原料配比,改变酱油发酵过程中的碳源,使用米曲霉、黑曲霉、红曲霉混合制曲,采用高盐稀态的发酵方法,发酵过程中接种酵母和纳豆芽孢杆菌生产纳豆酱油。采用该方法生产的酱油由于在制曲过程中多种菌种混合制曲,使成品曲中酶系丰富,提高了原料利用率,缩短了酿造时间,发酵过程中直接接种纳豆芽孢杆菌,使成品酱油中纳豆激酶、纳豆异黄酮含量增高,维生素K2含量少,感官评价好。

[0006] 本发明是通过以下技术方案实现的:

[0007] 一种纳豆酱油的制备方法,包括以下步骤:

[0008] (1)原料处理:选豆粕、花生、糯米和麸皮为原料,四者的重量比例为(3~4):(1~1.5):(1~1.5):(1.5~2);花生、糯米在水中浸泡6h,沥水,然后与豆粕、麸皮混合,121℃蒸煮15min,得物料1;

[0009] (2) 多菌种制曲1:将米曲霉、红曲霉接种至物料1,接种量分别为1%~3%、0.5%~1% (重量百分比),接种后进行第一次制曲,制曲温度32℃~35℃,时间13h~14h,得物料2;

[0010] (3) 多菌种制曲2:对物料2进行第一次松曲,将黑曲霉喷洒入物料2,接种量0.5%~1% (重量百分比),得物料3;

[0011] (4) 多菌种制曲3:上述物料3,进行第二次制曲,湿度保持在90% (重量百分比) 以上,制曲温度32℃~35℃,时间13h~14h;然后进行第二次松曲(方法同步骤3),再进行第三次制曲,制曲温度32℃~35℃,时间11h~12h;然后进行第三次松曲(方法同步骤3),再进行第四次制曲,制曲温度32℃~35℃,时间12h~22h,得物料4;

[0012] (5) 加入盐水:向物料4中加入2~4倍(重量倍数)的18~20波美度的盐水,得到物料5;

[0013] (6) 发酵:维持物料5的品温38℃~45℃,每天用净化空气搅拌一次;第10天时,降温至30℃并加入嗜盐乳酸菌(接种量2%,重量百分比;优选接种传代三次后的嗜盐乳酸菌);第25天时,加入增香酵母(接种量5%,重量百分比;优选传代三次后的增香酵母);第30天后,每3天用净化空气搅拌一次;第60天时,加入纳豆芽孢杆菌菌液,接种重量比3%~5%;第80天,发酵完成,得纳豆酱油;

[0014] 所述纳豆芽孢杆菌菌液,是通过以下方法制备得到的:取花生和豆粕,二者的重量比例为(1~1.5):(3~4),混合,用水浸泡24h,沥干水分,121℃蒸煮30min~45min,温度降至35℃~45℃,接种3~5% (重量百分比)的纳豆枯草芽孢杆菌,30℃~38℃下发酵22h~26h,滤去花生和豆粕渣,得纳豆芽孢杆菌菌液。

[0015] 利用上述方法制备得到的纳豆酱油。

[0016] 本发明的纳豆酱油,在制备过程中使用豆粕、花生、糯米、麸皮、米曲霉、红曲霉、黑曲霉、嗜盐乳酸菌、增香酵母、纳豆枯草芽孢杆菌等,其有益效果如下:

[0017] 1、在原料中加入了糯米代替淀粉做为微生物发酵的碳源,提升酱油口感的同时可以有效的消除纳豆酱油的臭氨味。

[0018] 2、使用米曲霉、黑曲霉、红曲霉三种曲霉混合制曲,多菌种制曲,加入黑曲霉弥补了米曲霉在发酵过程中产酸蛋白酶低的缺点,使氨基酸态氮含量增加,提升香味;加入红曲霉弥补了米曲霉酯化酶缺乏,同时代谢出天然有防腐功效的成分,提高原料利用率产生红润的光泽。

[0019] 3、根据不同曲种发酵过程中产酶种类的不同,明确了多种曲霉混合制曲的先后顺序,使不同菌种达到最佳生产环境,丰富酶的种类,最大限度的提升原料利用率,提升酱油的色泽、口感。

[0020] 4、发酵过程中直接将纳豆芽孢杆菌菌液加入稀醪,解决了加入的乳酸菌产生乳酸使稀醪pH值降低抑制霉菌生长,原料利用率低的问题,同时增强多菌种的协同作用,产生比直接加入纳豆更多的纳豆激酶、纳豆异黄酮。

## 具体实施方式

[0021] 下面结合实施例对本发明作进一步的说明。

[0022] 下述实施例中所涉及的仪器、试剂、材料等,若无特别说明,均为现有技术中已有的常规仪器、试剂、材料等,可通过正规商业途径获得。下述实施例中所涉及的实验方法,检

测方法等,若无特别说明,均为现有技术中已有的常规实验方法,检测方法等。

[0023] 本发明中,所用的米曲霉、红曲霉、黑曲霉、嗜盐乳酸菌、增香酵母、纳豆枯草芽孢杆菌等,均为现有技术中的常规菌种,可常规市场购买得到,下述实施例中,所用的米曲霉、黑曲霉、嗜盐乳酸菌、增香酵母、购买自济宁玉园生物科技有限公司,商品号为:“1004米曲霉”“3006黑曲霉”“3003嗜盐乳酸菌”“3005活性酵母菌”。红曲菌种购自武汉佳成生物制品有限公司,商品名称为“糖化增香红曲”,纳豆枯草芽孢杆菌购自北京川秀科技有限公司,商品名称为“纳豆发酵粉”。

[0024] 实施例1

[0025] (1)原料处理:选豆粕、花生、糯米、麸皮为原料,重量比例为3:1:1:1.5,花生、糯米在水中浸泡6h,沥水,混合豆粕、花生、糯米、麸皮后121℃蒸煮15min,得到物料1;

[0026] (2)多菌种制曲1:将米曲霉、红曲霉接种至物料1,接种量分别为3%、1%,接种后进行第一次制曲,制曲温度32℃~35℃,时间13h,得到物料2;

[0027] (3)多菌种制曲2:对物料2进行第一次松曲,将黑曲霉喷洒入物料2,接种量为1%,得到物料3;

[0028] (4)多菌种制曲3:曲室湿度保持在90%以上,32℃~35℃保持13h后进行第二次松曲,再进行第三次制曲,24h后第三次松曲,再进行第四次制曲,40h结束,得到物料4;

[0029] (5)制备纳豆芽孢杆菌菌液:取花生和豆粕,二者重量比为1:2,用水浸泡24h,沥干水分,121℃蒸煮40min,温度降低至40℃时,接种3%的纳豆芽孢杆菌,30℃~38℃环境下发酵22h,用30~40℃温水浸泡1小时,滤去花生和豆粕渣,得到纳豆芽孢杆菌菌液;

[0030] (6)加入盐水:向物料4中加入2.5倍的18波美度的盐水,得到物料5;

[0031] (7)发酵:维持物料5的品温38℃~45℃,每天用净化空气搅拌一次;10天后,逐步降温至30℃并加入2%乳酸菌(传代三次后);25天后,加入5%增香酵母(传代三次后);30天后,每3天搅拌一次;60天后,加入纳豆芽孢杆菌菌液,接种3%;总发酵时间80天,发酵完成,得纳豆酱油。

[0032] 对比例1:与实施例1相比,步骤(7)中,第60天时,直接接入3%的纳豆枯草芽孢杆菌,其它相同。

[0033] 对比例2:与实施例1相比,将糯米替换为小麦粉,其它相同。

[0034] 实施例2

[0035] (1)原料处理:选豆粕、花生、糯米、麸皮为原料,重量比例为4:1:1:1.2,花生、糯米在水中浸泡6h,沥水,混合豆粕、花生、糯米、麸皮后121℃蒸煮15min,得到物料1;

[0036] (2)多菌种制曲1:将米曲霉、红曲霉接种至物料1,接种量分别为3%、0.5%,接种后进行第一次制曲,制曲温度32℃~35℃,时间13h,得到物料2;

[0037] (3)多菌种制曲2:对物料2进行第一次松曲,将黑曲霉喷洒入物料2,接种量为0.5%,得到物料3;

[0038] (4)多菌种制曲3:曲室湿度保持在90%以上,32℃~35℃保持13h后进行第二次松曲,再进行第三次制曲,24h后第三次松曲,再进行第四次制曲,40h结束,得到物料4;

[0039] (5)纳豆芽孢杆菌菌液:取花生和豆粕按1:2比例,用水浸泡24h,沥干水分,121℃蒸煮30min,温度降低至35℃时,接种4%的纳豆芽孢杆菌,30℃~38℃环境下发酵22h,滤去花生和豆粕渣,得到纳豆芽孢杆菌菌液;

[0040] (6) 加入盐水:向物料4中加入3倍的20波美度的盐水,得到物料5;

[0041] (7) 发酵:维持物料5的品温38℃~45℃,每天用净化空气搅拌一次;10天后,逐步降温至30℃并加入乳酸菌1%(传代三次后);25天后,加入增香酵母4%(传代三次后);30天后,每3天搅拌一次;60天后,加入纳豆芽孢杆菌菌液,接种4%;总发酵时间85天,发酵完成,得纳豆酱油。

[0042] 实施例3

[0043] (1) 原料处理:选豆粕、花生、糯米、麸皮为原料,重量比例为4:1:1:1.5,花生、糯米在水中浸泡6h,沥水,混合豆粕、花生、糯米、麸皮后121℃蒸煮15min,得到物料1;

[0044] (2) 多菌种制曲1:将米曲霉、红曲霉接种至物料1,接种量分别为2%、1%,接种后进行第一次制曲,制曲温度32℃~35℃,时间13h,得到物料2;

[0045] (3) 多菌种制曲2:对物料2进行第一次松曲,将黑曲霉喷洒入物料2,接种量为1%,得到物料3;

[0046] (4) 多菌种制曲3:曲室湿度保持在90%以上,32℃~35℃保持13h后进行第二次松曲,再进行第三次制曲,24h后第三次松曲,再进行第四次制曲,40h结束,得到物料4;

[0047] (5) 纳豆芽孢杆菌菌液:取花生和豆粕按1:2比例,用水浸泡24h,沥干水分,121℃蒸煮45min,温度降低至45℃时,接种3%的纳豆芽孢杆菌,30℃~38℃环境下发酵26h,滤去花生和豆粕渣,得到纳豆芽孢杆菌菌液;

[0048] (6) 加入盐水:向物料4中加入2倍的22波美度的盐水,得到物料5;

[0049] (7) 发酵:维持物料5的品温38℃~45℃,每天用净化空气搅拌一次;10天后,逐步降温至30℃加入乳酸菌1%(传代三次后);25天后,加入增香酵母5%(传代三次后);30天后,每3天搅拌一次;60天后,加入纳豆芽孢杆菌菌液,接种5%;总发酵时间80天,发酵完成,得纳豆酱油。

[0050] 实验 本发明制备的纳豆酱油的品质对比

[0051] 评价方式:选取5名专家分别将传统单一菌种制曲工艺(中国发明专利200710008805.0,授权公告号CN 100574637C中实施例公开的方法)、本发明多菌种制曲工艺(实施例1)、工艺1(直接添加纳豆,与实施例1相比,步骤7中,第60天时,直接接入3%的纳豆枯草芽孢杆菌,其它相同)、工艺2(使用小麦粉做为碳源,与实施例1相比,将糯米替换为小麦粉,其它相同)的酱油感官从色泽、澄清度、滋味、气味4个方面特性进行感官评价(评分),利用下述评价基准进行判定。

[0052] 评分标准:好:5分;一般:4分;差:3分;非常差:2分。

[0053] 以总得分做为评价依据,总分:15~20为优秀,10~15为一般,1~10为差。结果如表1所示。

[0054] 表1不同工艺酱油感官对比情况

工艺类别	色泽	澄清度	滋味	气味	总得分
传统单一菌种制曲工艺	3	3	2	3	11
本发明多菌种制曲工艺	5	5	5	4	19
工艺1	5	4	4	4	17
工艺2	5	4	4	2	15

[0056] 由表1可知,本发明的酱油,采用多菌种混合制曲,米曲霉与红曲霉混合接种12h松

曲后喷洒黑曲霉孢子,增加多菌种的协同作用,米曲霉、红曲霉、黑曲霉代谢的酶系互相补充,使原料利用率提高,酱油过滤时间缩短,澄清度提高;使用糯米代替面粉做为微生物生产的碳源,有效缓解了纳豆芽孢杆菌产生的氨臭味。

[0057] 将本发明工艺、工艺1、工艺2和市售纳豆酱油(孔膳坊食品有限公司“纳豆酱油20150517”)理化指标进行比较,结果见表2。

[0058] 表2 不同工艺对酱油理化指标的影响

	氨基酸态氮 g/100ml	全氮 g/100ml	还原糖 g/100ml	无盐固形物 g/100ml
[0059] 本发明工艺	1.04	1.69	10.24	18.33
工艺1	0.88	1.44	9.75	15.97
工艺2	0.85	1.49	9.31	15.65
市售酱油	0.72	1.31	7.06	13.48

[0060] 由表2可知,工艺1和工艺2的氨基酸态氮含量较低,本发明酱油的氨基酸含量较高,且全氮明显高于其他工艺。

[0061] 将本发明工艺的酱油与普通市售纳豆酱油中含有的纳豆激酶、维生素K2、纳豆异黄酮进行对比,结果见表3。

[0062] 表3本发明工艺酱油与市售纳豆酱油有益成分的对比

	纳豆激酶	维生素K2	纳豆异黄酮
[0063] 本发明工艺的酱油	0.27mg/100ml	0.31 $\mu$ g/100ml	0.62 $\mu$ g/100ml
普通市售纳豆酱油	0.19mg/100ml	0.41 $\mu$ g/100ml	0.45 $\mu$ g/100ml

[0064] 由表3可知,本发明工艺的酱油纳豆激酶、纳豆异黄酮的含量比普通市售纳豆酱油含量分别高42.1%、37.8%,普通市售纳豆酱油的维生素K2比本发明酱油高32.3%。本发明工艺的酱油含有降血压、清理血栓、保护心脏等功能,维生素k2有良好的凝血功能,本发明工艺的酱油维生素k2的含量明显低于普通市售酱油,保健效果更好。