

Universität Zürich Irchel

Wahlfachmodul Mikrobiologie: Diversität der Mikroorganismen

In wie fern beeinflusst *Aspergillus oryzae* die Produktion von Sojasauce? (Geht es auch ohne?)

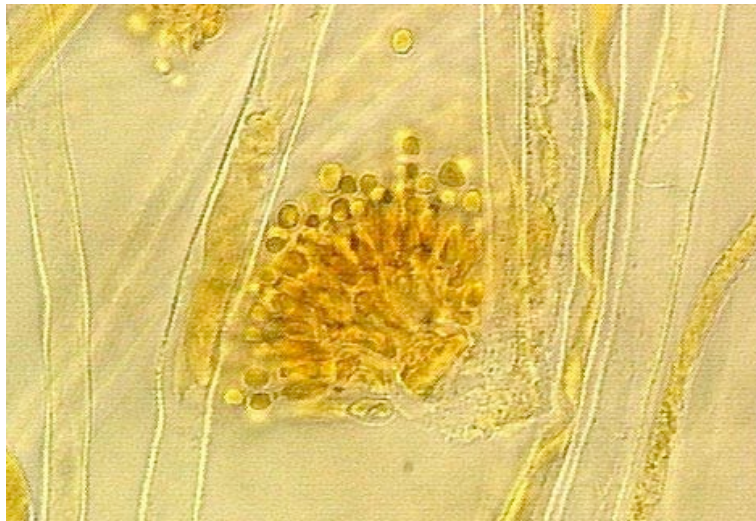


Abb.1: *A. oryzae* beim Abbau der Nährstoffen von Soja in Kohlenhydrate und Proteine, wodurch Koji gebildet wird

Claudia Bleisch, Gruppe Modul-06, Matrikelnummer: s0570737

Fallstudie, Biologie 2.Semester 2006

Inhaltsverzeichnis:

1. Zusammenfassung:	3
2. Einleitung:	3
2.1 <i>Aspergillus oryzae</i>	3
2.2 Was ist eine Sojasauce	3
3. Vorgehen:	4
3.1 Woraus besteht die Koji-Starterkultur und welchen Zweck erfüllt sie?	4
3.2 Die Herstellung	4
3.2.1 Die verschiedenen Sojasaucen-Typen	4
3.2.2 Die aktuelle Herstellungsmethode einer chinesischen Sojasauce mit <i>A. oryzae</i>	5
3.2.3 Die Herstellung einer Sojasauce ohne <i>Aspergillus oryzae</i> (chemisches Verfahren)	5
4. Ergebnis:	6
4.1 Die Eigenschaften der unterschiedlichen Saucen typen	6
5. Diskussion:	6
5.1 Für welche Geschmacksnote ist <i>Aspergillus oryzae</i> verantwortlich?	6
5.2 Schmeckt eine chemische hergestellte Sojasauce, ohne <i>Aspergillus oryzae</i> gleich gut, wie die durch Fermentation hergestellte?	6
6. Quellen:	7
6.1 Bibliographie	7
6.2 Abbildungsverzeichnis	7
7. Anhang:	7
7.1 Liste der verschiedenen Sojasaucen ⇒ Wikipedia	7

1. Zusammenfassung:

Die Sojasauce gehört zu den ältesten bekannten fermentierten Produkten im ostasiatischen Raum. Diese weltbekannte Gewürzsauce ist aus der asiatischen Küche nicht mehr wegzudenken. Für ihren einzigartigen Geschmack ist unter anderem der so genannte Edelschimmel, *Aspergillus oryzae* zuständig, der leider in der Herstellung aus Zeit- und Kostengründen kaum mehr zum Einsatz kommt. Gut 90% der Produktion wird heutzutage mittels chemischem Prozess industriell hergestellt, wodurch der typische Geschmack, der durch den Schimmelpilz produziert wird, verloren geht. Dennoch wird das alte Wissen der traditionell hergestellten Sojasauce nie ganz in Vergessenheit geraten, da sie oft zur Veredelung der chemischen Sojasaucen verwendet wird.

2. Einleitung:

2.1 *Aspergillus oryzae*¹:

Systematik

<i>Abteilung:</i>	Schlauchpilze (Ascomycota)
<i>Klasse:</i>	Echte Schlauchpilze (Ascomycetes)
<i>Unterklasse:</i>	Eurotiomycetidae
<i>Ordnung:</i>	Eurotiales
<i>Familie:</i>	Trichocomaceae
<i>Gattung:</i>	Gießkannenschimmel (<i>Aspergillus</i>)
<i>Art:</i>	<i>A. oryzae</i>
(Ahlb.) E. Cohn, 1884	Abb.2: Systematik von <i>A. oryzae</i>

Aspergillus oryzae, der oft auch als Edelschimmel bezeichnet wird, findet in vielen fermentierten Produkten Verwendung. Er wird zum Beispiel benutzt um Sojabohnen zu Sojasauce oder Miso zu fermentieren, wie auch den Reis zu Sake. Er ist jedoch auch eine der industriellen Hauptquellen für die Herstellung von α -Amylasen.

2.2 Was ist eine Sojasauce?

Sojasauce ist eines der ältesten bekannten fermentierten Produkte im ostasiatischen Raum. Ihre dunkelbraune Farbe und der salzige Geschmack kennzeichnen viele asiatische Gerichte. Sie verleiht ihnen einen angenehm würzigen Geschmack, der sowohl zu Fleisch wie auch zu Gemüse bestens zur Geltung kommt.

Traditionell wird sie aus Sojabohnen und/oder Weizen, die mit Schimmelpilzen zu Koji verarbeitet werden und durch mehrstufige Fermentation mittels Milchsäurebakterien und Hefe hergestellt.

¹ Referenz: www.de.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_oryzae

3. Vorgehen:

3.1 Woraus besteht die Koji-Starterkultur und welchen Zweck erfüllt sie²?

Die Koji-Starterkultur besteht unter anderem aus *Aspergillus oryzae* und/oder *Aspergillus soyae* sowie deren Mutanten, die zu poliertem Reis, der über Nacht eingeweicht und vom überschüssigen Wasser getrennt wurde, gegeben wird. Anschliessend wird sie mit gekochten Sojabohnen und/oder geröstetem Getreide beimpft und für 2-3 Tage bei 25-30°C inkubiert.

Der dabei entstandene Koji ist reich an Enzymen, die Stärke zu Zucker, Eiweiss zu Peptiden, Peptonen und Aminosäuren abbauen.

Die Kojiherstellung ist der erste Schritt zur Herstellung einer fermentierten Sojasauce, die sogenannte aerobe Stufe der Pilzvermehrung zur Produktion hydrolytischer Enzyme.

3.2 Die Herstellung:

3.2.1 Die verschiedenen Sojasaucen Typen³:

Die verschiedenen Sojasaucen Typen beruhen auf verschiedenen Prozessen, sowie geographischen Unterschieden, die sich in ihrer Zusammensetzung und ihrem Geschmack äussern. Es gibt drei verschiedene Gruppen, die auf einem unterschiedlichen Verfahren beruhen: fermentierte, chemische und halb-chemische Sojasaucen. Die traditionelle Methode ist das Fermentieren.

Je nach Herkunft variieren die Sojasaucen stark. In Japan allein existieren 5 offiziell anerkannte, fermentierte Sojasaucenarten. Die wohl bekannteste ist die so genannte *Koikuchi shoyu*, sie wird aus gleichen Teilen Sojabohnen- und Weizenkoji gewonnen. *Usukushi shoyu* ist eine helle Sojasauce, hat eine kürzere Reifezeit und wird aus mehr Weizenkoji hergestellt. Die verbleibenden 3 Arten werden für den speziellen Gebrauch produziert. *Saishikomi shoyu* wird ebenfalls mit gleichen Anteilen an Sojabohnen- und Weizenkoji hergestellt, jedoch wird während dem Prozess reine Sojasauce, anstatt Kochsalzlösung dazugegeben. Im Vergleich dazu braucht es bei der *Shiro shoyu* einen grösseren Anteil an Weizen-, als an Sojabohnenkoji abgesehen vom hohen Anteil an reduzierenden Zuckern. Der letzte japanische Sojasaucen Typ, *Tamari shoyu* braucht einen grösseren Sojabohnenkoji-Anteil (9:1), oder gar ausschliesslich Sojabohnenkoji.

In China nennt sich die Sojasauce *Chaing yiu*, sie wird überwiegend aus Sojabohnenkoji hergestellt. In Korea haben die Sojasaucen allgemein den Namen *Kanjang* und werden sowohl industriell, wie auch traditionell zu Hause zubereitet. Und in Indonesien ist die Sojasauce als *Kecap* oder *Ketjap* bekannt.

(Genauere Angaben befinden sich im Anhang)

Soy sauce Product	NaCl (g/100ml)	Reducing sugar (g/100ml)	Alcohol (ml/100ml)	Color
<i>Koikuchi shoyu</i>	17.0	5.07	2.50	++
<i>Usukuchi shoyu</i>	18.0	4.00	2.00	+
Taiwan	15.6	5.95	0.86	++
Korea	17.3	2.10	0.39	++
Hong Kong	26.2	4.22	0.00	+++
Philippines	24.7	1.06	0.01	++
Singapore	24.1	4.81	0.00	+++
Malaysia	18.3	8.50	0.03	+++
USA	16.5	3.70	2.07	++

² Referenz: <http://bibd.uni-giessen.de/gdoc/1999/uni/d990021.pdf>

³ Referenz: <http://bibd.uni-giessen.de/gdoc/1999/uni/d990021.pdf> & <http://e-collection.ethbib.ethz.ch/ecol-pool/diss/fulltext/eth15113.pdf> & www.de.wikipedia.org/wiki/Sojasauce

Shoyu	NaCl	Reducing sugar	Alcohol	Color
<i>Koikuchi</i>	16.9	3.0	2.3	Deep brown
<i>Usukuchi</i>	18.9	4.2	2.1	Light brown
<i>Tamari</i>	19.0	5.3	0.1	Dark brown
<i>Saishikomi</i>	18.6	7.5	trace	Dark brown
<i>Shiro</i>	19.0	20.2	trace	Yellow-tan

Referenz beider Tabellen: „The Role of Microorganisms in Soy Sauce Production“ Desmond K. O’Tool (1997)

3.2.2 Die aktuelle Herstellungsmethode einer chinesischen Sojasauce mit *A. oryzae*:⁴

Sojabohnen und oftmals gerösteter Weizen werden im Verhältnis 60:40 (je nach gewünschtem Saucen-Typ) gemischt und in Wasser eingeweicht. Eine Schimmelpilzkultur aus 80% *Aspergillus oryzae* und 20% *Aspergillus soyae* wird hinzu gegeben und für 24h bei 30-35°C inkubiert, um die Kultur zu züchten. Somit entsteht der schon bekannte Koji, der anschliessend mit Kochsalzlösung gemischt wird, wodurch der so genannte Moromi entsteht, der einen Salzgehalt von ca. 17-19% hat. Der hohe Kochsalzgehalt soll dabei das Wachstum unerwünschter Bakterien und Pilze unterdrücken. Zu Beginn der Fermentation wird der Moromi mit Milchsäurebakterien (z.B. *Pediococcus (Pc) halophilus*, *Pc. cervisiae*, *Pc. soyae*, *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus delbrueckii*) und Hefen beimpft. All diesen Organismen sind an der Geschmacksbildung entscheidend beteiligt. Anschliessend wird die Mischung bei relativ hohen Temperaturen (40-45°C) fermentiert. Die Milchsäuregärung bewirkt, dass der pH-Wert von 6,5-7,0 auf 5,5 absinkt, was ideale Bedingungen für die Hefen (*Saccharomyces rouxii*, *Torulopsis spp. oder Candida spp.*) sind. Diese bilden dann durch Hydrolyse und Fermentation der Polysaccharide Spaltprodukte, wie Ethanol, Glycerol, Furfural, organische Säuren sowie Aroma- und Geschmacksstoffe. Bei dieser Herstellungsmethode wird nur halb so viel Kochsalzlösung und ein Drittel an Salz verwendet, wie bei der Traditionellen. Unter den Bedingungen von wenig Wasser, wenig Salz und hohen Temperaturen dauert es nur 3 Wochen, bis die Fermentation abgeschlossen ist. Beim traditionellen Verfahren würde es bis zu 6 Monate dauern. Die traditionelle Herstellung unterscheidet sich nur gering vom beschriebenen Verfahren, der einzige Unterschied ist die viel längere Fermentation, die meist in Holzfässern abläuft.

Nach der Fermentation wird der Maromi in einen anderen Tank gegeben und mit weiterer Kochsalzlösung gemischt und auf fast 80°C erhitzt. Die nach der Filtration entstehende Flüssigkeit, die zuerst ausgepresst werden muss, ist reine Sojasauce. Sie wird anschliessend pasteurisiert und mit Natriumhydroxidbenzonat haltbar gemacht, bevor sie in Flaschen abgefüllt werden kann.

3.2.3 Die Herstellung einer Sojasauce ohne *Aspergillus oryzae* (chemisches Verfahren)⁵:

Beim chemischen Verfahren wird das Ausgangsprodukt (meistens entfettetes Sojaöl) mit Salzsäure hydrolysiert. Das heisst das Ausgangsprodukt wird in 18-20%iger Salzsäure für 20-72 Stunden gekocht, wobei die Proteine, Öle und Kohlenhydrate abgebaut werden. Mit Milchsäurebakterien und Hefen wird der Fermentationsprozess fortgesetzt. Das Gemisch wird filtriert und anschliessend mittels Natronlauge auf den pH 4,0-4,5 eingestellt. Nun wird solange Salz zugegeben, bis ein Gehalt von 18% erreicht ist und schon ist die Sojasauce fertig. Häufig werden noch Zucker, Aromen und Karamel für die Farbe untergerührt. Meist hat die chemisch hergestellte Sojasauce kaum Aroma und Geschmack und wird deshalb oft mit hochwertigen Originalsaucen vermischt. Die auf dieser Vermischung beruhenden Sojasaucen bezeichnet man als halb-chemisch hergestellt.

⁴ Referenz: <http://e-collection.ethbib.ethz.ch/ecol-pool/diss/fulltext/eth15113.pdf> & <http://bibd.uni-giessen.de/gdoc/1999/uni/d990021.pdf>

⁵ Refernz: <http://bibd.uni-giessen.de/gdoc/1999/uni/d990021.pdf> & www.naturkost.de/produkt/p11107.htm

4. Ergebnisse:

4.1 Die Eigenschaften der unterschiedlichen Saucentypen⁶:

Die gewöhnlichen *Shoyu*, die Sojasaucen aus Japan, sind dünnflüssig, haben eine dunkelbraune Farbe und ein mildes Aroma. Die Sojasauce aus China (*Chaing yiu*) hingegen ist im Aroma und Geschmack etwas stärker, die Farbe ist ebenfalls dunkler und sie ist dickflüssiger.

Die indonesische Sojasauce ist ebenfalls dickflüssig, aber sie ist eher süsslich. (genauere Angaben ebenfalls im Anhang)

5. Diskussion:

5.1 Für welche Geschmacksnote ist *Aspergillus oryzae* verantwortlich?

Welches Aroma dieser Schimmelpilz der Sojasauce verleiht, ist nicht ganz klar. Da die Herstellung ohne *Aspergillus oryzae* aber eine nicht gleich gut schmeckende Sauce ergibt, liegt es nahe, dass dieser Edelschimmel einen guten Einfluss auf das Aroma hat. Vermutlich ist auch die Zeit ein wichtiger Faktor, denn je kürzer die Fermentierzeit, umso weniger Aroma und Geschmack kann gebildet werden. Somit muss einer, der eine gut schmeckende Sojasauce möchte, ein wenig mehr Geld und sehr viel mehr Zeit investieren.

5.2 Schmeckt eine chemisch hergestellte Sojasauce, ohne *Aspergillus oryzae* gleich gut, wie die durch Fermentation hergestellte?

Die Sojasauce ohne *Aspergillus oryzae*, also eine chemisch hergestellte, schmeckt nicht annähernd so gut wie eine durch Fermentation hergestellte. Es ist beinahe unmöglich, chemisch die Geschmacksnoten hinzubekommen, die der Natur eigen sind. So werden die chemisch hergestellten Sojasaucen meist mit fermentierter Sojasauce vermischt um den typischen Geschmack der Sojasauce annähernd zu erreichen.

Künstlich hergestellte Saucen schmecken meist immer ein wenig „chemisch“, wie zum Beispiel auch die chemisch hergestellten Fruchtessenzen, die nie so schmecken werden, wie die natürlichen Früchte. Die Natur bleibt nun mal immer der Sieger. Was auch der Grund dafür ist, dass viele Mikroorganismen in der Nahrungsmittelindustrie eingesetzt werden.

⁶ Referenz: <http://bibd.uni-giessen.de/gdoc/1999/uni/d990021.pdf>

6. Quellen:

6.1 Bibliographie

- <http://e-collection.ethbib.ethz.ch/ecol-pool/diss/fulltext/eth15113.pdf>
- <http://bibd.uni-giessen.de/gdoc/1999/uni/d990021.pdf>
- www.de.wikipedia.org/wiki/Sojasauce
- www.de.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_oryzae
- www.naturkost.de/produkt/p11107.htm
- Desmond K. O'Toole: „The Role of Microorganisms in Soy Sauce Production“ / Advances in Applied Microbiology, Volume 45 / Seiten von 89 bis 91 / 1997

6.2 Abbildungsverzeichnis:

- Abb.1: www.foodprocessing-technology.com/projects/kikkoman/index.htm#kikkoman2
- Abb.2: www.de.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_oryzae

7. Anhang:

7.1 Liste der verschiedenen Sojasaucen ⇒ Wikipedia:

In **China** sind drei Typen Sojasauce verbreitet:

- *Shēngchōu* (生抽), eine helle, salzige Sojasauce. Sie wird zum Kochen verwendet.
- *Lǎochōu* (老抽), eine dunkle, süßliche Sojasauce. Sie wird länger gereift und mit Melasse gesüßt.
- *Sojapaste* (醬油膏 oder 蔭油膏), eine starke, dicke Sojasauce aus lǎochō, Zucker, MSG, und Stärke. Sie wird gerne zu Jiaozi oder Tofu gereicht.

In **Japan** werden sechs Typen Shōyu produziert:

- *Koikuchi shōyu*, die Standardsojasauce aus 50% Sojabohnen und 50% Getreide (2,2%vol. Alc.)
- *Usukuchi shōyu*, helle Sojasauce, salziger, kürzere Reifezeit (0,6%vol. Alc.)
- *Tamari*, dunkle Sojasauce aus 100% Soja, harmonisiert gut mit Sashimi (0,1%vol. Alc.)
- *Saishikomi shōyu*, zweifach verarbeitete Sojasauce, sehr stark, vor allem für Sushi und Sashimi
- *Shiro shōyu*, 'weiße' Sojasauce, süßlich, mit hohem Getreideanteil
- *Kanro shōyu*, in Yanai in der Provinz Yamaguchi traditionell hergestellte Sojasaucen.

In **Indonesien** ist die Sojasauce als *kecap* oder *ketjap* bekannt (ein Oberbegriff für fermentierte Saucen). Von diesem Namen leitet sich nach einer Theorie sogar das englische Wort "Ketchup" ab. In Indonesien gibt es hauptsächlich zwei verschiedene Varianten:

- *Ketjap asin*, eine salzige Sojasauce, die der hellen chinesischen Sojasauce sehr ähnlich, aber üblicherweise etwas dickflüssiger und stärker im Geschmack ist; sie kann in Kochrezepten auch durch helle chinesische Sojasauce ersetzt werden.
- *Ketjap manis*, eine süße Sojasauce, die eine dicke, beinahe sirupartige Konsistenz und einen ausgeprägten süßen Geschmack besitzt.
- *Kecap inggris* ("Englische fermentierte Sauce") ist die indonesische Bezeichnung für Worcestershiresauce.
- *Kecap Ikan* ist indonesische Fischsauce.