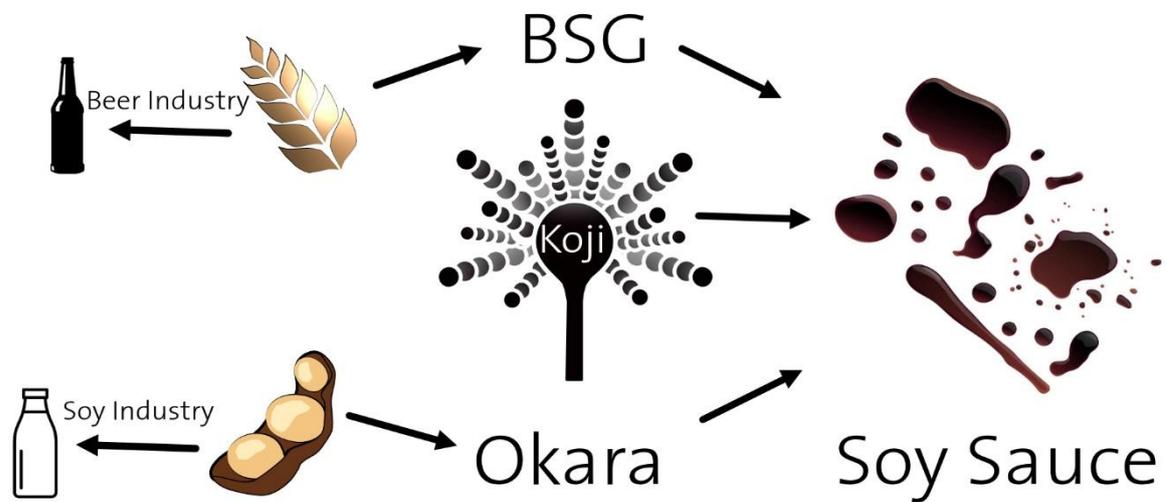


Koji-Power: From Waste to delicious soy sauce

Sachbericht



Inhaltsverzeichnis

Ablauf des Projektes.....	3
Bauen eines Koji-Inkubators.....	3
Zusammensetzung und Herstellung der Substrate.....	4
Inokulation und Inkubation.....	5
Herstellung des Moromis.....	5
Abpressen und Sterilisation des Moromis.....	6
Degustation der Soja Sauce.....	6
Massnahmen, besondere Erfolge, Probleme.....	7
Leistungen und Wirkungen des Projektes.....	8
Lehren und Erfahrungen aus dem Projekt.....	8
Hinweis auf Folgeprojekte bzw. Massnahmen, die den Projekterfolg fortsetzen/sichern könnten.....	9
Einschätzung zur Zusammenarbeit mit der Avina Stiftung.....	9

Ablauf des Projektes

Sojasauce wird durch ein komplexes Verfahren gemäss Abb.1 hergestellt. Die Sojabohnen werden in Wasser über Nacht eingelegt (nicht dargestellt) und anschliessend dampfgegart oder gekocht, bis sie zwischen Daumen und Zeigefinger zerdrückbar sind, aber nicht von alleine zerfallen. Der Weizen oder Roggen wird ohne Spelzen als Ganzes Korn geröstet und danach geschrotet. Die Sojabohnen und die geschrotete Röstgerste werden im Verhältnis von ca. 2:1 gemischt (= Substrat) und in ein geeignetes Gefäss gegeben, das luftdurchlässig und wenn möglich mit einem feuchten Küchentuch ausgekleidet ist. Sobald das Substrat auf 30°C abgekühlt ist, werden die Koji Sporen darüber gestreut. Das inokulierte Substrat zwischen 27-32°C und einer relativen Luftfeuchte (RH) zwischen 70 und 90% in einem Fermenter inkubiert. Nach 24h sind die ersten Myzele sichtbar und das Substrat wird durchmischt und gefurcht. Nach 48h wird das durchwachsene Substrat in einen Behälter gegeben und im Verhältnis 1:2.5 mit Salzlake übergossen. Der so entstandene Moromi wird periodisch gerührt und frühestens nach 4 Monaten abgepresst. Die erhaltene Flüssigkeit wird pasteurisiert und als Sojasauce abgefüllt.

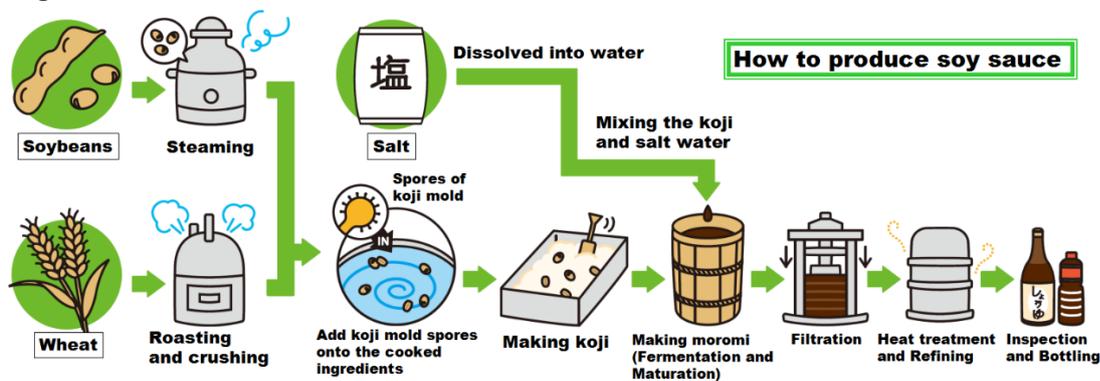


Abbildung 1: Prozessschema zur Herstellung von Sojasauce aus Sojabohnen und Weizen

Das Projekt setzte sich zum Ziel den Einfluss des Substrates und des Koji-Stammes auf die Herstellung von Sojasauce zu untersuchen und wurde deshalb in 4 Phasen gegliedert: (i) Bauen eines Koji-Inkubators, (ii) inkubieren unterschiedlicher Substrate, (iii) fermentieren der Substrate in Salzlösung zu Sojasaucen und (iv) Fest-Flüssig Trennung von Sojasauce und Substrat mit anschliessender Pasteurisation.

Bauen eines Koji-Inkubators

Der Inkubator wurde aus einem Kühlschranks mit deckenseitiger Kühlung gefertigt. Damit die Temperatur geregelt werden konnte und eine Belüftung des Substrates stattfand, wurde ein Heizventilator eingesetzt. Die Kühlschrankskühlung und der Heizventilator wurden an einen Regler mit einer Pt-100 Temperatursonde angeschlossen. Die relative Luftfeuchte (RH) wurde durch einen Ultraschall-Dampferzeuger erhöht. Der Dampferzeuger wurde über einen Regler mit Luftfeuchtesonde gesteuert, sodass im Inkubator eine RH von 80-90% eingestellt werden konnte.

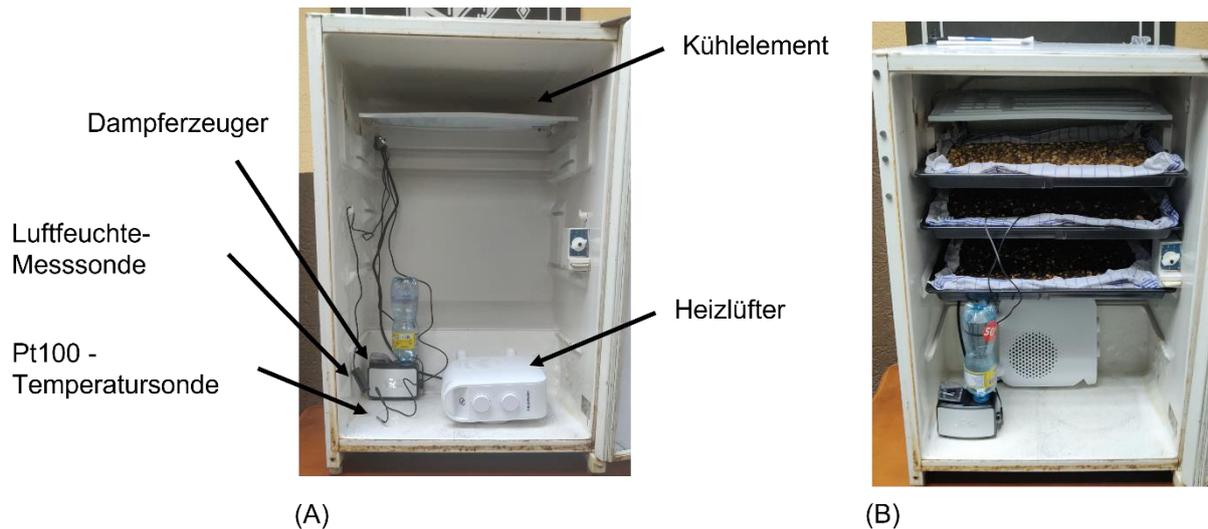


Abbildung 2: Der Koji-Inkubator Aufbau in ungefülltem Zustand (A) und mit 3 Substratblechen (B). Während der Fermentation wurde die Kühlelemente mit einem 0.5 cm breiten Spalt and den Kühlelementrahmen angelehnt, um die Luftzirkulation zu gewährleisten.

Zusammensetzung und Herstellung der Substrate

Die Substrate wurden aus unterschiedlichen Gewichtsanteilen von Röstgerste, gekochten Sojabohnen, Malztreber und Okara, wie in Tabelle 1 ersichtlich, zusammengestellt. Die Sojabohnen wurden in Bioqualität aus Italien (W. Kündig & Cie AG, Ernte 2021) bezogen. Das Okara wurde aus denselben Sojabohnen von der Tofurei Engel geliefert. Die Röstgerste wurde aus zweizeiliger Sommergerste von Weyermann hergestellt (EBC 1100 – 1200). Der Malztreber wurde von der Brauerei Brewdaz geliefert. Der Malztreber und das Okara wurden im Dampfkochtopf für 20 Minuten sterilisiert. Die Sojabohnen wurden über Nacht im doppelten Volumen Hahnenwasser eingeweicht. Danach wurde das Wasser im gleichen Verhältnis ausgewechselt und die Sojabohnen gekocht bis sie mit dem Daumen und dem Zeigefinger zerquetscht werden konnten, aber nicht von alleine auseinander fielen. Die Röstgerste wurde nicht Hitzebehandelt vor der Inokulation. Die einzelnen Bestandteile des Substrates wurden heiss vermengt und auf ein gelochtes Blech, das mit einem feuchten und sterilisiertem Küchentuch ausgekleidet war, verteilt.

Tabelle 1: Die Zusammensetzung der verwendeten Substrate zur Herstellung der Sojasaucen in Gewichtsprozenten

Rezeptname	Sojabohnen gekocht [%]	Okara [%]	Röstgerste[%]	Malztreber [%]
Referenz	65		35	
Probe1	32.5	32.5	17.5	17.5
Probe2	65			35
Probe3		65	35	
Probe4		50		50

Inokulation und Inkubation

Die Substrate wurden mit 0.3 g/Kg Substrat inokuliert. Es wurde *Aspergillus Sojae* (A. Sojae Spores, LUVI Fermente KG, Lenzing AU), *Aspergillus Oryzae* (Soy Koji Spores, LUVI Fermente KG, Lenzing AU) und *Aspergillus Luchuensis* (A. Luchuensis Spores, LUVI Fermente KG, Lenzing AU). Die Sporen wurden mit einem Teesieb über das Substrat gestreut. Die Substrate wurden bei einer relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 80 und 90 % und einer Temperatur zwischen 27 und 30 °C für 48 h inkubiert. Das Pilzwachstum wurde visuell beurteilt und ist für die unterschiedlichen Substrate und Stämme in Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Visuell beurteiltes Pilzwachstum für die unterschiedlichen Substrate und Pilzstämme. (+) = gutes Wachstum mit flächendeckendem Myzel (0) = genügendes Wachstum mit vereinzeltem Myzelwachstum (-) ungenügendes Myzelwachstum mit kaum sichtbarem Myzel.

	Referenz	Probe1	Probe2	Probe3	Probe4
A. Sojae	(0)	(+)	(0)	(+)	(+)
A. Oryzae	(-)	(+)	(0)	(+)	(-)
A. Luchuensis	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Herstellung des Moromis

Nach der Inkubation wurde das Substrat in ein sterilisiertes Glasgefäß gegeben. Das Substrat wurde mit einer 16 gew% NaCl Lösung übergossen. Es wurden 1.3 L NaCl Lösung pro kg Substrat verwendet. Das Glasgefäß wurde mit einem Deckel und einer drucklosen Gummidichtung verschlossen wie in Abbildung 3 ersichtlich. Während den ersten 7 Tagen wurde der Moromi täglich umgerührt. Danach wöchentlich. Die Fermentation dauerte 6 Monate.

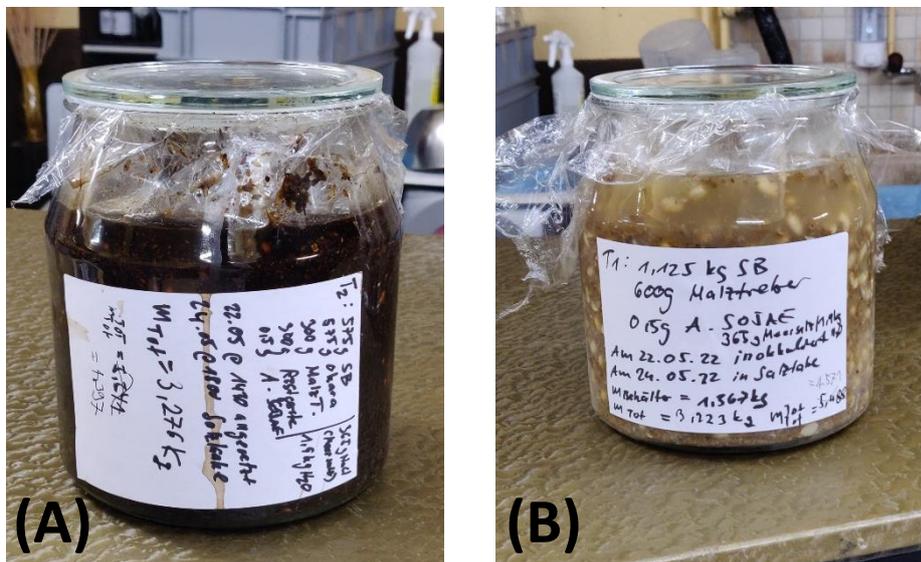


Abbildung 3: Die fermentierten Substrate aus (A) Probe1 und (B) Probe4 in den Glasgefäßen mit Salzlösung übergossen (=Moromi).

Abpressen und Sterilisation des Moromis

Der Moromi wurde von Hand abgepresst. Hierfür wurde ein Sieb mit einem Küchentuch ausgekleidet und der Moromi hineingegossen. Anschliessend wurde das Küchentuch zusammengepresst, sodass die Sojasauce aus dem Moromi austreten konnte. Die aufgefangene Sojasauce wurde danach durch einen Kaffeefilter nochmals gefiltert. Die Sojasauce wurde anschliessend in einen Vakuumbbeutel gegossen, vakuumiert und versiegelt, bevor sie in einem Dampfkochtopf für 30 Minuten bei ca. 120°C sterilisiert wurde.

Degustation der Soja Sauce

Tabelle 3: Sensorische Beurteilung der Sojasaucen

	Referenz	Probe1	Probe2	Probe3	Probe4
A. Sojae	Neutral, salzig, umami, leicht bitter	Neutral, salzig, umami, leicht bitter, etwas rau	Käse, alte Socken, gekochte Bohnen	Sehr bitter, schleimig, Röstaromen, alter Kaffee	Käse, schleimig, salzig
A. Oryzae	Neutral, salzig, umami, leicht bitter	Neutral, salzig, umami, leicht bitter	Fischig, Käse, Bohnen	Neutral, viel Röstaromen	Käse, schleimig, salzig
A. Luchuensis	Sauer, frisch	Verfault, Kompost	Verfault, fermentierte Bohnen	Verfault, schleimig, bitter	Verfault, Käse

Massnahmen, besondere Erfolge, Probleme

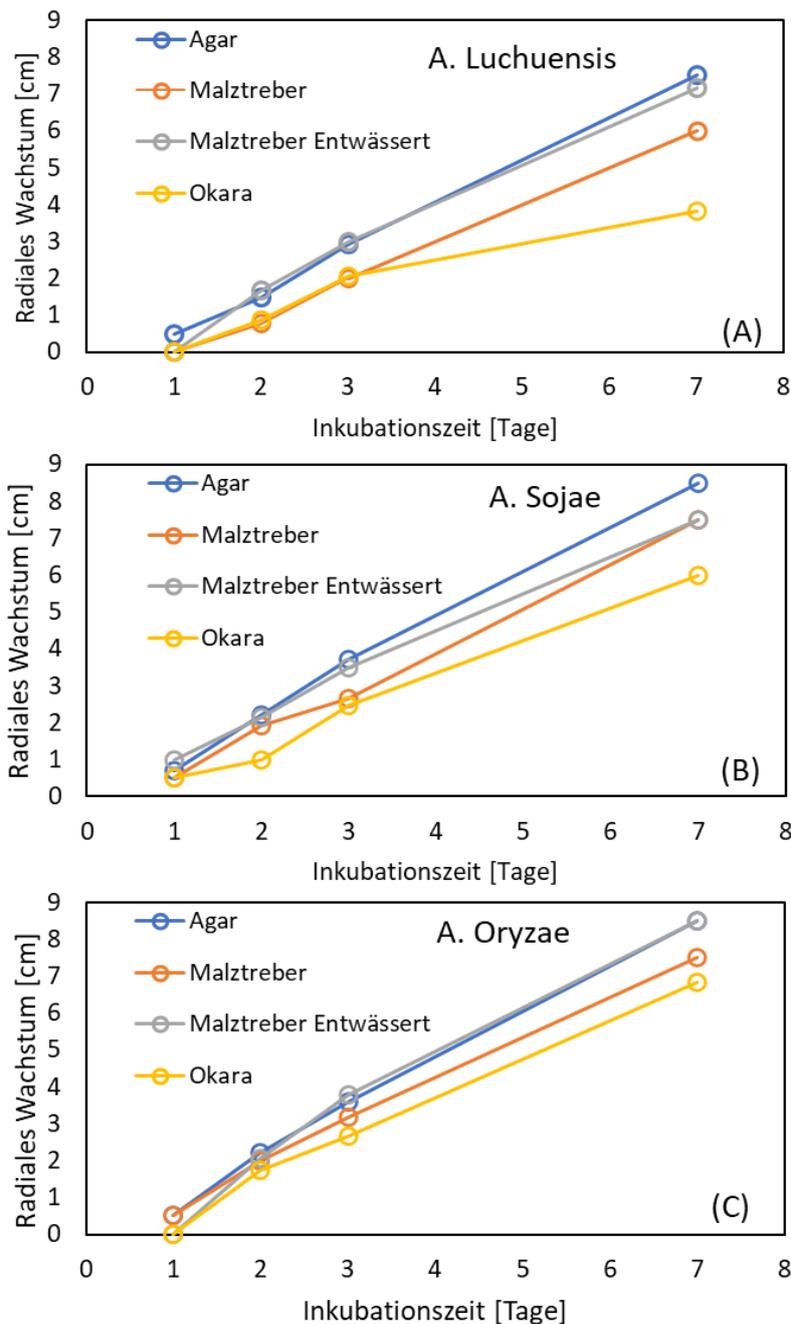


Abbildung 4: Das radiale Wachstum von (A) *Aspergillus Luchuensis*, (B) *Aspergillus Sojaj* und (C) *Aspergillus Oryzaj* nach einer Punktinokkulation auf den Substraten Agar, Maltztreber, entwässertem Maltztreber und Okara.

Eine grosse Herausforderung im Projekt bestand darin, die «Feuchte» der Substrate für ein optimales Pilzwachstum zu regulieren. Vor allem der Maltztreber verfügte über zu viel Feuchte durch die verbleibende Bierwürze im Treber. Zudem war unklar, welcher *Aspergillus* Stamm auf welchem Substrat gut gedeihen würden. Folglich wurde in Zusammenarbeit mit der ETHZ ein Experiment durchgeführt, das (i) die Affinität der unterschiedlichen *Aspergillus* Stämme auf die verschiedenen Substrate und (ii) den Einfluss von «feuchtem» und entwässertem Maltztreber auf die Wachstumskinetik der *Aspergillus* Stämme untersuchen soll.

Abbildung 4(A-C) zeigt das radiale Wachstum der unterschiedlichen Stämme auf Agar, Malztreber, entwässertem Malztreber und Okara. Die Entwässerung des Trebers wurde in zwei Schritten durchgeführt: (i) Nassvermahlen des Trebers mit einer kreuz gezahnten Kolloidmühle und (ii) Zentrifugation bei 5000 g mit anschliessendem Ableeren des Überstandes. Somit konnte der Feuchtegehalt von ca. 80% auf etwa 60% reduziert werden. Alle 3 Stämme wuchsen am langsamsten auf Okara und am schnellsten auf Agar wie in Abbildung 4(A-C) ersichtlich. Malztreber induzierte vor allem bei *A. Luchuensis* und teilweise bei *A. Sojæ* ein verlangsamtes Wachstum. Das Entwässern des Malztrebers führte bei allen Stämmen zu einem schnelleren Wachstum. *A. Oryzæ* wuchs am schnellsten und mit der geringsten Substratspezifität. Die Resultate der Punktinokkulation aus Abbildung 4 decken sich mit den Resultaten aus Tabelle 2. *A. Oryzæ* oder *A. Sojæ* eignen sich besser als *A. Luchuensis* zur Fermentierung der Substrate.

Leistungen und Wirkungen des Projektes

Das Projekt *“Feed humans not animals - Upcycling of brewers spent grain and okara into low salt, high umami, high fibre soy sauce by precision fermentation”* zeigt, dass *A. Sojæ* und *A. Oryzæ* problemlos auf Okara und Malztreber wachsen können. Beide Stämme wachsen bevorzugt auf entwässertem Malztreber. Aus den Degustationen der Sojasaucen geht hervor, dass auf die Sojabohnen und die Röstgerste nicht gänzlich verzichtet werden kann. Die Sojabohnen werden benötigt, um der Sauce genügend *umami* zu geben. Die Röstgerste wird benötigt, um die Feuchte des Substrates zu verringern und somit das Pilzwachstum zu begünstigen. Zudem konnte beobachtet werden, dass die Restwürze im normalen Malztreber durch die vorhandene Maltose das Wachstum von Kam Hefen auf dem Moromi begünstigt. Das Projekt hat somit gezeigt, dass die Hälfte der Sojabohnen und der Röstgerste mit Malztreber und Okara ersetzt werden können, ohne das Pilzwachstum negativ zu beeinflussen und das Wachsen von Kam Hefen auf dem Moromi zu begünstigen.

Lehren und Erfahrungen aus dem Projekt

Das Projekt hat gezeigt, dass es für Brauereien und/oder Tofuproduzenten durchaus möglich ist ihre Malztreber und/oder Okara Seitenströme durch Fermentation in sojasaucenähnliche Produkte zu verarbeiten. Leider haben weder Brauereien noch Tofuproduzenten die Vorrichtungen zur Herstellung dieser fermentierten Sauce. Zudem ist bei Brauereien und Tofuproduzenten das Arbeiten mit *Aspergillus* Stämmen heikel, da Kreuzkontaminationen vermieden werden müssen. Somit ist es realistischer, dass ein zentraler Hersteller die Rohstoffe der umliegenden Brauereien und Tofu Hersteller bezieht und ausschliesslich Sojasauce produziert. Da die traditionelle Herstellung von Sojasauce sehr Arbeits- und Platzintensiv ist, müssten Lösungen zur automatisierten Umrührung des Moromis angedacht werden. Damit sich die Herstellung der Sauce rechnet, müsste eine Marktstudie zur Zahlungsbereitschaft und ein Businessplan erstellt werden.

Hinweis auf Folgeprojekte bzw. Massnahmen, die den Projekterfolg fortsetzen/sichern könnten

Damit das Projekt zu einem kommerziellen Produkt reifen kann, müssten folgende Fragestellungen geklärt werden: (i) Was wäre die Zahlungsbereitschaft in unterschiedlichen Absatzkanälen und wie gross wäre die Absatzmenge? (ii) Wie würde die Koordination der Okara und Malztreber Lieferungen and den zentralen Hersteller aussehen? (iii) Welche Skalierungsmöglichkeiten existieren für die Fest-Fermentation? (iv) Welche Skalierungs- und Automationsmöglichkeiten wären für die Reifung des Moromis relevant?

Einschätzung zur Zusammenarbeit mit der Avina Stiftung

Die Projekteingabe war intuitiv und das Webinterface funktionierte. Eine Kopie der effektiven Anmeldung als .pdf wäre wünschenswert gewesen. Der Projekt Pitch und die Evaluierungskriterien waren nachvollziehbar und klar. Nach Annahme des Projektes hat die Avina Stiftung hat das Projekt mit den Förderbeiträgen unkompliziert und schnell unterstützt. Die Betreuung durch Stephan Zacke verlief reibungslos.