

利用汾酒酒糟生产冬虫夏草的工艺条件研究

张 鑫¹,李志强²,相里加雄¹,闫少杰¹

(1.山西杏花村汾酒集团有限责任公司技术中心,山西 汾阳 032205;2.山西杏花村汾酒集团益汾酒厂,山西 汾阳 032205)

摘 要: 为提高汾酒酒糟的附加值,以汾酒酒糟为主要原料,采用液态深层培养法生产冬虫夏草,以菌丝体干重、胞内多糖产量为质量控制指标,通过单因素试验确定了冬虫夏草的最佳培养条件为 培养温度 26℃,发酵时间 5 d,接种量 8%。在此条件下,冬虫夏草的菌丝体干重达到 17.52 g/L,胞内多糖占菌丝体干重的 19.13%。

关键词: 综合利用; 汾酒酒糟; 冬虫夏草; 工艺条件

中图分类号: TS262.3; TS261.4; X797

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2010)05-0095-03

Research on the Technical Conditions of *Cordyceps sinensis* Cultivation by Distiller's Grains of Fen Liquor

ZHANG Xin¹, LI Zhi-qiang², XIANGLI Jiaxiong¹ and YAN Shao-jie¹

(1.Technical Center of Fen Liquor Group Co. Ltd., Fenyang, Shanxi 032205;

2.Yifen Distillery of Fen Liquor Group, Fenyang, Shanxi 032205, China)

Abstract: In order to improve the added value of distiller's grains of Fen liquor, it was used as main raw materials to cultivate *Cordyceps sinensis* by liquid submerged culture. The dry weight of mycelium and endocellular polysaccharide were used as quality control indicators. The optimum culture conditions were determined as follows by single factor test: culture temperature was at 26℃, fermentation time was 5 d, and inoculating quantity was 8%. Under the above conditions, the dry weight of mycelium was 17.52 g/L, and the content of endocellular polysaccharide in the dry weight of mycelium was up to 19.13%.

Key words: comprehensive application; distiller's grains of Fen liquor; *Cordyceps sinensis*; technical conditions

随着我国白酒行业的快速发展,白酒的副产品酒糟的利用已成为白酒企业的工作重点。酒糟的有效利用关系着企业的发展,酒糟本身含有大量的营养物质,如蛋白质、氨基酸、脂肪、矿物质及菌体自溶产生的嘌呤、嘧啶、类脂化合物、各种维生素和酶类等生物活性物质,具有较高的营养价值,这是一般谷物所不可比拟的^[1]。尽管酒糟的营养价值很高,但由于技术开发和开发成本等方面的原因,长期以来酒糟没有很好地被利用,大多直接作为饲料来使用,这样做不仅浪费资源,降低酒糟的附加值,且酒糟存放时间过长也对周边环境造成一定程度的污染。

冬虫夏草为麦角菌科虫草属的药用真菌,为中国特产的名贵中药材,传统的滋补强壮药。冬虫夏草含有丰富的生理活性物质,具有独特的药用价值和广泛的药理作用,是值得努力挖掘的一大生物宝库^[2]。

以汾酒酒糟为基质发酵生产冬虫夏草菌,不但可以提供冬虫夏草发酵所需的氮源,而且还可以起到诱导冬虫夏草生长的作用。本研究发现汾酒酒糟对冬虫夏草的生长非常有利,且培养基简单,成本较低,冬虫夏草多糖

的产量也较高。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌种:冬虫夏草(*Cordyceps sinensis* Berkeley),菌种购自广东省微生物菌种保藏中心(GIMCC)。

汾酒酒糟:汾酒二茬发酵产酒后的扔糟。预处理:将酒糟放入匀浆机中粉碎 30 s,使酒糟各成分均匀混合。

培养基:①斜面培养基:PDA(马铃薯琼脂)培养基;②种子培养基:鲜酒糟(含水量 60%)6%,KH₂PO₄ 0.1%,MgSO₄ 0.2%,蔗糖 3%,自来水,pH 自然;③发酵培养基:鲜酒糟(含水量 60%)8%,KH₂PO₄ 0.1%,MgSO₄ 0.2%,蔗糖 4%,自来水,pH 自然。

1.2 实验设备

JY0707 电子天平:上海民桥精密科学仪器有限公司;721 分光光度计:上海精密科学仪器有限公司;Seven-Multi 型 pH/电导率/离子综合测试仪:上海梅特勒-托利多仪器有限公司;BS-1E 全温培养摇床:苏州威尔实

收稿日期:2010-03-09

作者简介 张鑫(1982-),男,硕士,山西太原人,从事白酒生产工艺研究和保健酒产品开发。

验用品有限公司;电热恒温培养箱:上海森信实验仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 酒糟成分分析

水分的测定:烘干称重法;淀粉含量测定:按 GB/T 5009.9—2003 操作;蛋白质含量的测定:凯氏定氮法。

1.3.2 菌丝体干重的测定

采用烘干称重法。发酵液中加入 1/2 体积的蒸馏水,4000 r/min 离心 20 min,重复 3 次,合并上清液。将沉淀于 60 ℃烘至恒重,称量。

$$\text{菌丝体干重(g/L)} = \frac{\text{菌丝体干重(g)}}{\text{发酵液取样体积(mL)} \times 1000 \text{ mL/L}}$$

1.3.3 胞内多糖的测定

取 20 mg 菌丝体干粉按 1:25 比例加入蒸馏水,85 ℃浸提 2.5 h,定容到 100 mL,取上清液作为待测液。胞内多糖 = 胞内总糖 - 胞内还原糖。胞内还原糖采用铁氰化钾法^[3],胞内总糖采用苯酚-硫酸法^[4]。

2 结果与分析

2.1 汾酒酒糟成分分析结果(见表 1)

表 1 酒糟成分分析结果

项目	水分	淀粉	蛋白质	其他
湿酒糟含量(%)	60.89	7.70	14.84	16.57
干酒糟含量(%)	9.98	13.26	21.67	55.09

从表 1 可以看出,以每 100 mL 培养基中加入 8 g 鲜糟,则其中粗淀粉含量约为 0.5%,粗蛋白含量约为 1.2%,因此还需在培养基中补充一些碳源(蔗糖),以满足冬虫夏草菌生长的碳氮比要求。

鲜糟中含有 10%左右的粗纤维,干糟含有 20%左右的粗纤维,对于一些生物来说,似乎难以利用,然而对于冬虫夏草菌(高等真菌)来说,由于其含有丰富且功能强大的酶系,实验证明,此菌能较好地利用酒糟。

另外,酒糟中含有丰富的氨基酸、维生素和矿物质,他们对于冬虫夏草菌的生长和代谢,尤其对于功能性成分(胞内多糖)的生成,有着极为重要的作用。

2.2 培养基 pH 随发酵时间的变化

冬虫夏草菌本身具有一定的调整环境 pH 的能力,所以实验选择初始培养基 pH 为自然,菌种在一定温度及通气条件下对培养基碳源、氮源等的利用,各种代谢产物的积累,会使 pH 产生一定的变化。在发酵过程中,每隔 1 d 取样测定培养基的 pH,结果见图 1。

通过测定发现,加入鲜糟的培养基的初始 pH 在 4.0~5.0 之间,从图 1 可以看出,在冬虫夏草菌整个发酵过程中,培养基 pH 波动并不大,基本稳定在 5 左右,而

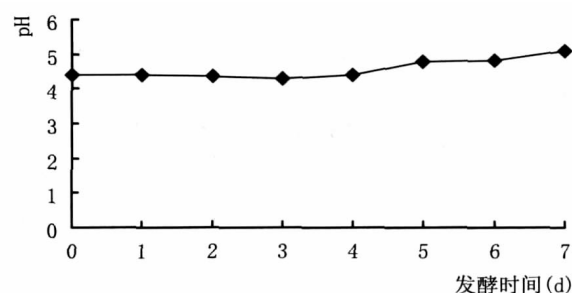


图 1 pH 随发酵时间的变化

用全合成物培养基培养冬虫夏草菌,pH 会出现急剧波动,较强的 pH 变化会引起各种酶活力的改变,影响菌丝体对基质的利用速度和细胞的结构,以致影响菌丝体的生长和产物的合成,这或许是利用酒糟培养冬虫夏草菌,其生物量和多糖产量高的原因之一。

2.3 最适培养温度的确定

温度是发酵过程中重要的影响因素之一,因此在发酵系统中,必须保证稳定而合适的温度环境。本实验在 24 ℃、26 ℃、28 ℃、30 ℃、32 ℃ 5 个温度条件下,研究温度对冬虫夏草液体发酵的影响,结果见表 2。

表 2 发酵温度对冬虫夏草液体发酵的影响

温度(℃)	菌体干重(g/L)	胞内多糖产率(g/L)
24	14.18	18.55
26	16.09	20.50
28	17.52	19.11
30	16.12	18.34
32	15.53	15.01

从表 2 中可以看出,在一定温度范围内,随着温度的升高,菌丝体量增加,菌丝体在 28 ℃时生长最好,胞内多糖在 26 ℃时产率最大。当温度过高或过低,均会使菌丝体量及胞内多糖的产率降低。温度对菌体生长和多糖积累的影响并不完全相同,可能是因为生长和产物积累是两个不同的生物化学过程,而每个过程中的酶系所需的最适反应温度不同所致。

因此,可尝试在种子培养阶段和发酵前期采用较高温度,而以产胞内多糖为目的的发酵,后期不需要菌体过多生长,则采用较低温度,即采用变温发酵。

2.4 最适培养时间的确定

在上面的摇瓶发酵工艺条件优化的基础上,用装液量 100 mL/250 mL 的优化培养基,在 26 ℃、150 r/min 条件下培养 8 d,测定不同时间的菌体量、胞内多糖产率、还原糖和 pH,以确定最适发酵周期。其实验结果见图 2。

从图 2 中可以看出,在发酵过程中,随着培养时间的延长,菌丝体量不断增加,到第 4 天时达到最大值,再继续培养,则因溶氧量降低,菌体老化自溶,导致菌丝体干重下降。随着发酵过程的延长,多糖不断积累,在第 5 天

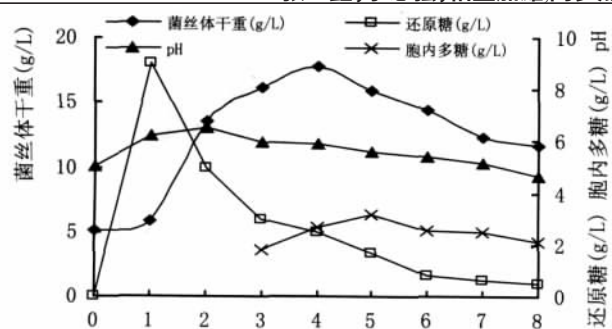


图2 冬虫夏草摇瓶发酵周期曲线

达到最大值,此后产量呈下降趋势。还原糖含量随着发酵进程呈不断下降,下降幅度很大,在第6天时还原糖达到很低,进一步培养则变化幅度不大。发酵液的pH一开始有缓慢上升趋势,从第4天起基本维持不变。因此,发酵时间达5d时,可结束发酵,以获得较高的菌丝体和胞内多糖产率。

2.5 最适接种量的确定

适宜的接种量是微生物生长和产物积累的前提。为确定最佳的接种量,选取4%、6%、8%、10%和12%的接种量进行实验,其结果见表3。

表3 接种量对冬虫夏草液体发酵的影响

接种量 (%)	菌体干重 (g/L)	胞内多糖产率 (g/L)
4	14.53	18.08
6	16.68	18.99
8	17.49	20.09
10	18.36	16.53
12	20.67	15.18

由表3可以看出,当接种量小于4%时,最终菌体干

重明显偏低,胞内多糖产率也较低,这与大多数高等真菌深层发酵的情况相似;当接种量加大时,菌体干重和胞内多糖产率同时上升;当接种量超过8%后,菌体干重继续上升,而胞内多糖产率开始下降。因此,考虑到种子液的需要量、菌体干重和胞内多糖的产率等因素,本实验采用8%的接种量。

3 结论

以汾酒酒糟为基质,研究温度、培养时间、接种量对冬虫夏草生长和多糖产量的影响。实验结果表明,最佳培养条件为:培养温度26℃,发酵时间5d,接种量为8%。在优化条件下冬虫夏草的菌丝体干重可达17.52g/L,胞内多糖占菌丝体干重的19.13%。该结果为提高酒糟附加值、生产冬虫夏草菌制剂及冬虫夏草保健酒提供了一定的参考价值。

通过实验证明,冬虫夏草菌可以较好地利用酒糟生成功能性物质,在实验中,仅仅测了生物量和多糖含量,诸如虫草腺苷和虫草素等未测定。冬虫夏草菌利用酒糟产生的代谢产物和常规培养基相比有何区别,有待进一步进行色谱分析和药理实验。

参考文献:

- [1] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,2007.
- [2] 阴健.中药现代研究与临床运用[M].北京:学苑出版社,1993.
- [3] GB/T13662—2000,黄酒[S].
- [4] Wu J, Zhang KC. Application of pH controlled strategy for enhancing exopolysaccharide production by *Auricularia auricular* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2006, 12 (6): 783-787.

ALCOHOTECH 2010 报名情况如火如荼

本刊讯:由中国酿酒工业协主办的ALCOHOTECH 2010(中国国际制酒设备、原辅料及包装展)自2009年10月开始筹备以来,在行业内引起了广泛关注。目前,我国白酒、葡萄酒行业迎来快速发展期,各企业都在引进先进设备以扩大产能、占领市场。伴随着行业的利好消息,重庆轻机、广东广富、潍坊现代、上海远安、中德包装、德隆包装等国内知名企业早就先期预定了展位。其他各相关制酒设备、原辅料及包装设备等企业紧随其后纷纷前来报名参展,都欲凭借此次平台进一步与行业内的朋友加强交流、促进自身的发展。

在此次展会中还将现身大量来自海外的企业,与国内企业同台竞技。自活动筹备前期,主办方就本着立足中国,着眼全球的眼光,为了打造一个有国际影响的展会,专门组织人员前赴海外宣传推广,并与多家海外行业组织建立了协作关系。我们可以预见本次展会将是一个中西合璧、各展风采的行业盛会。

主办方除了利用自身会员系统的信息传播外,还广泛利用国内外行业媒体的新闻渠道对展览进行持续的宣传报道。《酒》杂志、《酒·饮料技术装备》杂志、慧聪商情广告公司、《现代包装》杂志、《亚洲食品与饮料》杂志、《中国食品工业》杂志、《中国酒》杂志、《食品工业科技》杂志、《食品安全导刊》杂志、《今日啤酒》杂志、《华夏酒报》等20多家中外媒体积极倾力助推此次展会。

为了使参展企业收到良好的参展效果,主办方除了组织相关六大酒种的企业代表前来参观、洽谈外,还将举办一系列论坛、会议活动,与参展企业进行互动交流,共同促进酿酒工业整体的进步与发展。

ALCOHOTECH 2010展会将是一次中国酿酒行业发展趋势和总体水平的集体展示,数百家参展企业将在此展示他们的最新技术、最新创意和最优秀产品。展品涵盖酿酒工业完整的产业链技术和装备以及配套服务,能够满足专业用户一站式采购的需要。我们在此可以预见,ALCOHOTECH展会必将是一次影响广泛、效果显著的成功展会。在此,我们欢迎各界朋友在美丽的7月共聚首北京,一同来见证2010ALCOHOTECH展会的成功举办!