

辣蓼草、桑叶及何首乌对小曲质量的影响

李新社, 陆步诗, 唐美艳, 李小芳, 黄海燕

(邵阳学院生物与化学工程系, 湖南 邵阳 422000)

摘 要: 研究了辣蓼草、桑叶、何首乌 3 种中草药的不同比例、培曲时间、培曲温度对小曲中的微生物种类和数量、糖化力、液化力及发酵率的影响。正交试验获得最佳工艺条件为: 辣蓼草 桑叶 何首乌为 1 1 1 或 2 1 1 或 1 2 1, 最适培曲时间为 5 d, 最适温度为 25℃, 在最佳工艺条件下制得的小曲糖化力、液化力、发酵率分别为 480 mg/g·h、8.05 g/g·h 和 68.9 %。

关键词: 小曲; 辣蓼草; 桑叶; 何首乌; 糖化力; 液化力; 发酵力

中图分类号: TQ925.7; TS261.4; TS262.3

文献标识码: B

文章编号: 1001- 9286(2008) 01- 0065- 03

Study on the Effects of Polygonum hydropiper, Mulberry Leaf and Polygonum multiflorum thunb leaf on Xiaoqu Quality

LI Xin-she, LU Bu-shi, TANG Mei-yang, LI Xiao-fang and HUANG Hai-yan

(Department of Biology and Chemistry Engineering, Shaoyang College, Shaoyang, Hu'nan 422000, China)

Abstract: The effects of different ratio of polygonum hydropiper, mulberry leaf and polygonum multiflorum thunb leaf, culture time and culture temperature on microbial species and quantity, saccharifying power, liquefying power, and fermenting rate of Xiaoqu were studied. The optimum technical conditions were determined by orthogonal test as follows: the ratio of polygonum hydropiper, mulberry leaf and polygonum multiflorum thunb leaf was 1 1 1 or 2 1 1 or 1 2 1, the optimum culture time was 5 d, and the optimum culture temperature was at 25℃. Under the optimum technical conditions, the saccharifying power, liquefying power and fermenting rate of Xiaoqu reached 480 mg/g·h, 8.05g/g·h and 68.9 % respectively.

key words: Xiaoqu; polygonum hydropiper; mulberry leaf; polygonum multiflorum thunb; saccharifying power; liquefying power; fermenting power

酿酒小曲是以米粉或米糠为原料, 有的添加少量中草药或辣蓼草为辅料, 个别还加少量白土为填料, 按一定量的母曲, 加适量水制成坯, 在一定条件下培养而成。主要用于生产黄酒、米香型白酒、清香型白酒和豉香型白酒。由于曲块体积小, 习惯上称为小曲, 也有俗称酒药、酒饼、米曲等^[1]。

在我国有很多地方制曲常常加入中草药, 目的是促进酿酒微生物的生长繁殖, 并且增加酒的香味^[2]。本试验主要研究辣蓼草、桑叶、何首乌叶 3 种中草药对小曲质量的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料

何首乌叶: 采于校园附近, 洗净, 当日晒干后去茎根, 研碎成粉末贮于干燥箱中备用; 生米粉: 本地产籼米粉碎而成; 种曲: 本校微生物菌种室提供。

1.1.2 主要仪器

恒温干燥箱、恒温培养箱、高压蒸汽灭菌锅、超净工作台、水浴锅等。

1.1.3 培养基^[3]

肉汤蛋白胨培养基、查氏培养基、马铃薯葡萄糖培养基。

1.1.4 试剂

淀粉: 浙江菱湖淀粉厂生产; 其他试剂: 均为市售分析纯商品。

1.2 试验方法

1.2.1 小曲的制备^[4]

中草药粉 种曲
↓ ↓
大米 → 浸泡 → 粉碎 → 配料 → 接种 → 制丸 → 裹粉 → 培曲 → 干燥 → 成曲

1.2.2 成曲中主要微生物的种类和数量检测

取样 25 g 加入 225 mL 无菌水中, 制成菌悬液, 按

收稿日期: 2007- 10- 18

作者简介: 李新社(1965-), 女, 副教授, 主要从事应用微生物教学与研究工作。

10 倍稀释法进行稀释,取 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 3 个稀释度的稀释液涂布平板(每个稀释度作 3 个平行样),培养,进行菌落计数^[9]。

1.2.3 小曲糖化力测定

斐林氏法^[9]。以 1 g 绝干曲在 30℃、pH4.6、1 h 内酶解可溶性淀粉产生 1 mg 葡萄糖为 1 个糖化力单位(mg/g·h)。

1.2.4 小曲液化力测定

碘量法^[9]。以 1 g 绝干曲在 30℃、pH4.6、1 h 内液化淀粉的克数定义为 1 个液化力单位(g/g·h)。

1.2.5 发酵力测定

CO₂ 重量法^[9]。发酵力以 CO₂ 重量计(g/100 g)。
公式: 发酵力 = [(W₁- W₂)/W] ×100
式中: W₁——发酵前发酵瓶加内容物重(g);
W₂——发酵后发酵瓶内容物重(g);
W——取样量(g)。

1.2.6 最佳培曲条件的确定

确定 3 种中草药的添加比例(辣蓼草 桑叶 何首乌)、培曲时间、培曲温度为 3 个变量,进行 3 因子 3 水平的 L₉(3³) 正交实验^[7](见表 1、表 2)。通过微生物的种类、数量以及糖化力、液化力、发酵力的测定来确定最佳的培曲条件。

表 1 L ₉ (3 ³) 正交试验设计			
水平	A: 中草药的比例	B: 培曲时间(d)	C: 培曲温度(℃)
1	1:1:1	4	25
2	2:1:1	5	28
3	1:2:1	6	31

表 2 正交试验方案			
实验组号	中草药比例	培曲时间(d)	培曲温度(℃)
1	1:1:1(1)	4(1)	25(1)
2	2:1:1(2)	5(2)	28(2)
3	1:2:1(3)	6(3)	31(3)
4	1:1:1(1)	5(2)	31(3)
5	2:1:1(2)	6(3)	25(1)
6	1:2:1(3)	4(1)	28(2)
7	1:1:1(1)	6(3)	28(2)
8	2:1:1(2)	4(1)	31(3)
9	1:2:1(3)	5(2)	25(1)

2 结果与分析

2.1 中草药对小曲中微生物数量的影响

不同的培养条件对小曲中的霉菌、酵母、细菌有着不同的影响,通过检测不同培养条件下霉菌、酵母、细菌的数量,结果见表 3。

表 3 结果表明,不同的中草药添加比例、不同的培养条件对微生物数量有着不同的影响。以 2 号实验组的

表 3 中草药对小曲中微生物数量的影响			
实验组号	霉菌数(个/g 干曲)	酵母数(个/g 干曲)	细菌数(个/g 干曲)
1	3.68×10 ⁴	3.52×10 ³	1.72×10 ³
2	8.64×10 ⁴	5.92×10 ³	1.52×10 ³
3	7.44×10 ⁴	3.94×10 ³	1.53×10 ³
4	7.81×10 ⁴	4.67×10 ³	1.55×10 ³
5	6.92×10 ⁴	5.22×10 ³	1.45×10 ³
6	6.37×10 ⁴	3.92×10 ³	1.57×10 ³
7	7.84×10 ⁴	5.25×10 ³	1.49×10 ³
8	5.04×10 ⁴	3.04×10 ³	1.55×10 ³
9	7.28×10 ⁴	4.90×10 ³	1.53×10 ³

小曲霉菌和酵母数最多,分别为 8.64×10⁴ 和 5.92×10³,与此对应的 3 种中草药配比为 2 1 1,培曲时间为 5 d,培曲温度为 28℃。

2.2 中草药对小曲糖化力的影响

中草药对小曲糖化力的影响结果见表 4 和表 5。

表 4 正交试验结果及数据处理					
实验组	A	B	C	糖化力	
	1	2	3	4	(mg/g·h)
1	1	1	1	1	427
2	2	2	2	1	480
3	3	3	3	1	452
4	1	2	3	2	452
5	2	3	1	2	444
6	3	1	2	2	437
7	1	3	2	3	453
8	2	1	3	3	433
9	3	2	1	3	448
k1	1332	1297	1319	1359	T=4026
k2	1357	1380	1370	1333	
k3	1337	1349	1337	1334	
R	25	83	51	26	
k ₁ ²	1774224	1682209	1739761	1846881	
K ₂ ²	1841449	1904400	1876900	1776889	
K ₃ ²	1787569	1819801	1787569	1779556	

表 5 方差分析结果					
方差来源	偏差平方和	自由度	平均偏差平方和	F 比	显著性
A	S _A =S ₁ =116.6	2	58.3		
B	S _B =S ₂ =1172.6	2	586.3	8.98	※
C	S _C =S ₃ =446.0	2	223.0	3.42	
E	Se=S ₄ =144.6	2	72.3		
S	S _{B×C} =261.2	4	65.3		

注: ※表示 P<0.05。

由表 4 的糖化力看,2 号实验组最大,并与霉菌呈现出一定的对应关系,这是由于小曲的糖化力来源于霉菌代谢产生的糖化酶所致。表 4 结果表明,较优水平为 A₂B₂C₂,各因素的主次影响因素为 B>C>A。

由于 FB=8.98> F_{2,4,0.05}(6.944),差异显著因子是 B,

因子 A 与 C 的任何水平间的差异没有达到显著差异水平。因此, 从小曲的糖化力看, 最优的条件是 $A_0B_2C_0$, 即辣蓼草、桑叶及何首乌 3 种中草药之间的比例及培曲温度可以任意选取, 培曲时间为 5 d。

2.3 中草药对小曲液化力的影响

中草药对小曲液化力的影响见表 6 和表 7。

表 6 正交试验结果及数据处理

实验组	A	B	C	液化力	
	1	2	3	4	(g/g·h)
1	1	1	1	1	6.55
2	2	2	2	1	8.05
3	3	3	3	1	7.12
4	1	2	3	2	7.24
5	2	3	1	2	7.08
6	3	1	2	2	6.77
7	1	3	2	3	7.15
8	2	1	3	3	6.89
9	3	2	1	3	7.01
k1	20.94	20.21	20.64	21.72	T=63.86
k2	22.02	22.30	21.97	21.09	
k3	20.90	21.35	21.25	21.05	
R	1.12	2.09	1.33	0.67	
k_1^2	438.48	408.44	426.00	471.76	
K_2^2	484.88	497.29	482.68	444.79	
K_3^2	436.81	455.82	451.56	443.10	

由表 6 可知, 2 号实验组的液化力最大, 也与霉菌呈现出一定的对应关系。由表 6 中的 K 值可知, 较优水平为 $A_2B_2C_2$; 从 R 值看 $R_B > R_C > R_A$, 各因素的主次因素为 $B > C > A$ 。

表 7 方差分析结果

方差来源	偏差平方和	自由度	平均偏差平方和	F 比	显著性
A	$S_A=S_1=0.27$	2	0.135	2.70	
B	$S_B=S_2=0.73$	2	0.365	7.30	
C	$S_C=S_3=0.29$	2	0.145	2.90	
E	$S_E=S_4=0.10$	2	0.050		

由于各因子的 F 值均小于 $F_{2,2,0.05}(19.00)$, 各因子的任何水平间的差异均没有达到显著差异水平。因此, 从小曲的液化力看, 辣蓼草、桑叶及何首乌 3 种中草药之间的比例及培曲温度及培曲时间可以任意选取。

2.4 中草药对小曲发酵力的影响

发酵力即淀粉的利用率。不同条件下培养的小曲发酵力检测结果见表 8 和表 9。

由表 8 可知, 2 号实验组的发酵力最大。小曲的发酵主要是依靠霉菌所产生的酶的糖化和液化作用, 及酵母酒化酶的酒化作用。由表 8 中的 K 值可知, 较优水平为 $A_2B_2C_2$; 从 R 值可知, 各因素主次影响因素为 $B > C > A$ 。

表 8 正交试验结果及数据处理

实验组	A	B	C	E	发酵率 (%)
1	1	1	1	1	64.9
2	2	2	2	1	68.9
3	3	3	3	1	66.7
4	1	2	3	2	67.8
5	2	3	1	2	65.9
6	3	1	2	2	65.1
7	1	3	2	3	67.2
8	2	1	3	3	66.1
9	3	2	1	3	67.7
k1	199.9	196.1	198.5	200.5	T=600.3
k2	200.9	204.4	201.2	198.8	
k3	199.5	199.8	200.6	201.0	
R	1.40	8.30	2.70	2.20	
k_1^2	39960.01	38455.21	39402.25	40200.25	
K_2^2	40360.81	41779.36	40481.44	39521.44	
K_3^2	39800.25	39920.04	40240.36	40401.00	

表 9 方差分析结果

方差来源	偏差平方和	自由度	平均偏差平方和	F 比	显著性
A	$S_A=S_1=0.346$	2	0.173		
B	$S_B=S_2=11.526$	2	5.763	9.36	※
C	$S_C=S_3=1.340$	2	0.670	1.09	
E	$S_E=S_4=0.886$	2	0.443		
S	$S_{B \times C}=1.232$	4	0.616		

注: ※表示 $P < 0.05$ 。

由于 $FB=9.36 > F_{2,4,0.05}(6.944)$, 差异显著因子是 B, 因子 A 与 C 的任何水平间的差异均没有达到显著差异水平。因此, 从小曲的发酵力看, 最优条件为 $A_0B_2C_0$, 即辣蓼草、桑叶及何首乌 3 种中草药之间的比例可以任意选取, 培曲时间为 5 d, 培曲温度可以任意选取。

根据表 4~表 9 的数据分析, 当添加辣蓼草、桑叶、何首乌叶 3 种中草药制备小曲时, 3 种中草药之间的比例及培养温度对小曲质量的影响是最小的, 影响力最大的是培曲的时间。综合考虑对小曲的糖化力、液化力及发酵力的影响, 得出的最优条件为 $A_0B_2C_0$, 即辣蓼草、桑叶、何首乌叶 3 种中草药之间的比例可以任意选取 1 1 1 或 2 1 1 或 1 2 1, 小曲生产最佳的培曲时间为 5 d, 从降低成本的角度出发, 培曲温度选择 25。

2.5 药曲与传统小曲的比较

在最佳水平条件下获得的小曲与同等条件下制得的传统米糠小曲各随机取 3 个平行样, 进行糖化力、液化力和发酵力比较, 平均结果见表 10。

从表 10 可知, 草药曲的糖化力、液化力、发酵力均高于传统米糠曲。

3 结论

在小曲中添加辣蓼草、桑叶、何首乌传统中草药, 既

(下转第 71 页)

冷清洗省略了碱液清洗后用热水冲洗的过程,可降低用水量及清洗时间。一般冷清洗 1 个 200 m³ 的发酵罐需要耗水 10 t 左右,用时 90 min;热清洗 1 个 200 m³ 的发酵罐需要耗水 15 t 左右,用时 105 min。

6.4 两种 CIP 技术清洗后微生物检测结果对比 (表 3)

表 3 两种 CIP 技术清洗后微生物检测结果对比

项目	取样地点	大肠菌群 (个/100mL)	细菌总数 (个/100mL)	厌氧菌 (个/100mL)
冷 清 洗	发 最高值	<3	5	10
	酵 最低值	0	0	0
	液 合格率 (%)	>95	>90	>90
热 清 洗	发 最高值	<3	3	7
	酵 最低值	0	0	0
	液 合格率 (%)	>95	>95	>95

6.5 两种 CIP 技术清洗后对发酵罐壁的影响比较 (表 4)

表 4 两种 CIP 技术清洗后对发酵罐壁影响的比较

项目	罐顶泡盖	罐壁内涂层	锥底
冷清洗	清洁光亮,有 轻微白色痕迹	清洁光亮	清洁光亮,有轻微 白色颗粒沉淀
热清洗	清洁光亮,有 白色痕迹	清洁光亮, 有轻微起泡	清洁光亮,有少许 白色颗粒沉淀

7 冷清洗的技术优势

7.1 大型发酵罐适宜冷清洗

发酵罐滤空后,罐体温度很低,当用热清洗工艺清洗时,罐体温度变化可达 50℃ 以上,这样急剧频繁地对发酵罐进行急速升温、降温,可引起大罐变形。大罐降温时,内部必将产生负压,一旦发酵罐真空呼吸阀出现故障,也可引起大罐变形。而大罐在设计安装时大都没有考虑忽冷忽热所引起的温度应力,也极易引起发酵罐失

稳变形。由于发酵罐的罐体及内涂层的膨胀系数不同,从而也极易造成内涂层的脱落,而影响发酵大罐的使用寿命。冷清洗工艺则可避免以上现象的发生。

7.2 减轻碱与 CO₂ 反应造成的管道堵塞

不论采用何种清洗技术,如果使用碱性清洗剂,必须先回收 CO₂ 后,再进行清洗。发酵罐滤空后,罐内存有浓度极高的 CO₂ 气体,如果不排空或回收,可造成碱液的大量消耗。有资料表明,发酵罐内每 1 m³ 的 CO₂ 可消耗碱 4 kg,可见 CO₂ 对清洗的影响程度,同时碱与 CO₂ 反应,可形成非溶性的小苏打,堵塞管道。而单独使用酸清洗时,则可避免以上现象的发生。

7.3 减少对罐体的腐蚀

含氯的清洗剂或消毒剂都能对不锈钢产生腐蚀,使用不锈钢材质的发酵罐时更应注意。另外,使用强氧化剂作为消毒剂,也可对发酵罐内涂层 T-541 产生破坏作用,使内涂层 T-541 发生粉化、褪色、起泡等。热清洗能加速对罐体的腐蚀程度。使用冷清洗可减少对罐体的腐蚀。

7.4 减轻大罐变形

要保证发酵罐真空呼吸阀正常工作。防止热清洗时,大罐内产生负压,使大罐变形。冷清洗可避免以上现象的发生。

7.5 经济成本低

CIP 冷清洗工艺比 CIP 热清洗工艺,可明显降低清洗成本。

正确选择和使用 CIP 清洗技术,不仅可大大提高发酵罐的清洗效率,改善操作安全性,而对于降低生产成本、改善啤酒风味、延长啤酒保质期等方面,也起着重要的作用。●

(上接第 67 页)

表 10 草药曲与传统米糠曲的比较

项目	糖化力 (mg/g · h)	液化力 (g/g · h)	发酵力 (%)
草药曲	480	8.05	67.2
米糠曲	468	8.01	68.9

可作制曲疏松材料,也可微生物生长提供生长因子和一定的抑制病原微生物的作用^[6],从而对小曲的质量有促进作用。不同的中草药添加比例对小曲的菌量、糖化力、液化力及发酵力影响结果不一样。初步研究结果表明,当添加辣蓼草、桑叶、何首乌叶 3 种中草药制备小曲时,其比例可以任意选取 1 1 1 或 2 1 1 或 1 2 1,小曲生产的最佳培曲时间为 5 d,最佳培曲温度为 25℃。

参考文献:

- [1] 徐成勇,郭波,周莲,等.酿酒小曲研究进展[J].食品与工业发酵,2002,28(2): 72.
- [2] 章克昌.酒精与蒸馏酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2005.422-423.
- [3] 黄秀梨,夏立秋.微生物学实验指导[M].北京:高等教育出版社,德国:施普林格出版社,1996.69-71.
- [4] 华南工学院,无锡轻工业学院,天津轻工业学院,等.酒精与白酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,1983.
- [5] 蔡定域.酿酒工业分析手册[M].北京:中国轻工业出版社,1988.261-271.
- [6] 国家中药管理局《中华本草》编委会.中华本草(精选本)[M].上海:上海科技出版社,1997.302-353.
- [7] 杜荣攀.生物统计学[M].北京:高等教育出版,2003.241-251.