

# 姬松茸保健酒的制备

李瑛, 吕嘉枏, 王丽红

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西西安 710021)

**摘要:** 本文以姬松茸菌丝体的深层发酵液为原料, 研究了姬松茸保健酒的制备工艺。先将姬松茸菌丝体进行深层发酵、分离, 并对分离后菌丝进行超声破碎 30 min, 然后重新将菌丝体加入到分离后的发酵液中并添加 193 g/L 蔗糖进行发酵, 其发酵参数为: 酒精发酵酵母接种量为 1.5%, 发酵温度为 26 °C, 后酵时间为 6 d。此工艺下制得的保健酒的酒精度为 8~9°, 粗多糖含量大于 3.00%, 总酸度为 0.5 g/L, 酒质柔顺爽口, 具有姬松茸独特的香气。

**关键词:** 姬松茸; 深层培养; 酒精发酵; 多糖

文章编号: 1673-9078(2010)1-92-4

## Submerged Fermentation of *Agaricus Blazei* for Wine Production

LI Ying, LV Jia-li, WANG Li-hong

(College of Life Science and Engineering, Shannxi University of Science & Technology, Xi'an 710021 China)

**Abstract:** In this paper, the fermentation technique of *Agaricus blazei* wine was studied using submerged fermentation of *Agaricus blazei* mycelium. Through liquid submerged fermentation, the mycelium was separated and treated by ultrasonic wave for 30min. Then the fragmented *Agaricus blazei* mycelium was added to the original fermentation broth added with 193 g/L sucrose. The second fermentation conditions for *Agaricus blazei* wine production were as following: yeast dosage of 1.5%, fermentation temperature of 26 °C, and fermentation time of 6 days. Under these conditions, the achieved *Agaricus blazei* wine had better clarity, with the final alcohol degree, crud polysaccharide content and total acidity of 8~9(V/V), >3.00%, and 0.5 g/L, respectively. The product had golden yellow color and showed special flavor of *Agaricus blazei*.

**Key words:** *Agaricus blazei*; submerged culture; alcohol fermentation; the polysaccharide

姬松茸又名“巴西蘑菇”, 属于担子菌亚门蘑菇属<sup>[1]</sup>, 是一种美味兼药用、含有丰富蛋白质和多糖的蘑菇<sup>[1]</sup>。研究表明姬松茸子实体中含有丰富的多糖及其它生理活性成份, 在降血脂、降血压、治疗糖尿病及维护肝功能等方面有显著的保健作用, 是一种极具开发价值的真菌<sup>[2,3]</sup>; 作为日本传统保健食品, 被广泛用于治疗癌症、糖尿病、高血脂、慢性肝炎等疾病<sup>[4]</sup>。

姬松茸多糖主要从子实体中提取, 由于子实体生长周期长, 生长条件苛刻, 相比而言, 深层发酵培养菌丝体提取多糖就具有明显的优势, 具有重要的研究意义<sup>[5]</sup>。

当前, 国内有关姬松茸的保健酒研究还较少。为此, 本实验以酒精度和多糖含量为指标, 以姬松茸的菌丝和培养液为原料发酵生产保健酒, 为进一步研究和开发姬松茸奠定基础。

## 1 材料与培养基

收稿日期: 2009-07-27

作者简介: 李瑛 (1983-), 女, 在读研究生, 研究方向为微生物应用

通讯作者: 吕嘉枏, 教授, 陕西科技大学微生物教研室

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试验菌种

姬松茸 (*Agaricus blazei* Mussill), 购于陕西省微生物研究所; 活性干酵母, 生物工程实验室提供。

#### 1.1.2 培养基的配制

##### (1) 斜面培养基

马铃薯浸汁 20%, 葡萄糖 2%, 琼脂 2%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1%

##### (2) 摇瓶种子培养基

马铃薯浸汁 20%, 葡萄糖 2%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1%,  $\text{Vb}_1$  0.1 mg/mL

##### (3) 摇瓶发酵基础培养基

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1%,  $\text{Vb}_1$  0.1 mg/mL

### 1.2 工艺流程与操作要点

#### 1.2.1 工艺流程

姬松茸菌丝体发酵液 → 发酵醪液 → 前酵 → 后酵 → 陈酿 → 过滤 → 杀菌 → 成品酒

#### 1.2.2 实验操作要点

##### 1.2.2.1 姬松茸菌丝体发酵液的制备

将经过斜面活化的菌丝体用接种铲切割成黄豆大

小的菌丝块,接种于摇瓶种子培养基中(250 mL 摇瓶装液量 50 mL),于 25 °C、150 r/min 的振荡培养箱中培养 7 d。然后以 10%接种量转接到摇瓶发酵基础培养基中进行培养(250 mL 摇瓶装液量为 50 mL),25 °C、150 r/min 的振荡培养箱中培养 5 d。

#### 1.2.2.2 发酵醪液的制备

将发酵好的姬松茸发酵液以 4000 r/min 离心 15 min,再用蒸馏水冲洗数次,即得湿菌丝体。然后进行菌丝体破碎,将破碎后的菌丝体与原培养液混合即为发酵醪液。

#### 1.2.2.3 前酵

Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>在果酒酿造中可作为杀菌剂,同时对果酒的澄清、净化有良好的作用,还可以预防果酒被氧化。先在发酵醪液中加入 60~120 mg/kg 的 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>,4~5 h 后,当其达到既定的杀菌效果时,再将活化后的活性干酵母接入进行前发酵。前酵温度控制在 20~25 °C,当残糖含量小于 1%时结束前酵。

#### 1.2.2.4 后酵

按预制9°酒的要求添加153 g/L蔗糖(16~17 g/L产生1°酒),26 °C进行后酵,直至残糖量至5 g/L以下时进入成熟阶段。

#### 1.2.2.5 陈酿、过滤、杀菌

在7~10 °C的条件下进行自然澄清,陈酿15~30 d,当酒醪完全下沉、酒体清亮有光泽、酒香浓郁,即可进行过滤、去渣、装瓶,置于65 °C的热水中杀菌30 min后,取出冷却即得成品。

### 1.3 分析检测

#### 1.3.1 酒精度测定<sup>[6]</sup>

取 100 mL 发酵原液,再加入 100 mL 蒸馏水,加热蒸馏用酒精计测酒精含量。

#### 1.3.2 粗多糖测定

酒液中共含有蔗糖、还原糖、多糖三种糖,只要测定出其中的蔗糖和还原糖,就可以间接求得多糖的量。

(a) 总糖测定:用苯酚-硫酸法,在 490 nm 波长测定其吸光度<sup>[7]</sup>。

(b) 蔗糖水解<sup>[8]</sup>:取 50 mL 澄清酒液,加入 5 mL 6 mol/L HCl,在 68~75 °C 水浴中加热后反应 15 min 后冷却并立即调至中性。

(c) 测定还原糖:用酒石酸钾溶液直接滴定。

(d) 粗多糖计算:  $W_{\text{粗糖}} = W_{\text{总糖}} - W_{\text{还原糖}}$

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌种形态观察

该菌种为白色丝状真菌,镜检结果如图 1。由图 1 可知其菌丝呈白色透明状,有分支和横隔。



图 1 姬松茸菌丝形态(放大倍数为 10×40 倍)

Fig.1 The hyphal morphology of Agaricus Blazei

### 2.2 破碎方法对酒质量的影响

接入酵母前先分别对深层发酵培养的菌丝体进行处理,然后再在相同的条件下进行发酵,测定酒精度和粗多糖的量,结果如表 1 所示。

表 1 不同破碎方法对酒精度和多糖含量的影响

Table 1 The effect of treatment ways on alcohol degree and polysaccharide content of the fermentation broth

破碎方法	酒精度/°	多糖/%
未经任何处理	5.6	2.86
研钵破碎 30 min	6.0	2.94
超声波破碎 30 min	6.0	3.03

由表 1 可知,研钵破碎和超声波破碎后发酵所产生的酒精含量基本相同,多糖含量后者略高于前者。但采用超声破碎,能使菌丝体中的凝聚素、甾醇、核酸等其它生理活性成分充分释放到酒液中,从而使酒液具有姬松茸独特的口感和香气,并具有丰富的营养,直接影响最终产品的质量。故本实验采用超声波破碎。

### 2.3 酵母接种量对酒质量的影响

在 2.2 的基础上,按 1.2 所陈述的方法,在其它条件不变的前提下,考察酵母接种量对酒质量的影响,结果见表 2。

表 2 不同接种量对酒精度和多糖含量的影响

Table 2 Effect of inoculums size on alcohol degree and polysaccharide content of the fermentation broth

接种量/%	0.5	1	1.5	2	2.5
酒精度/°	4.9	5.2	6.8	6	6.1
多糖/%	2.34	2.78	3.37	3.34	3.32

从表 2 中可知,酵母量为 1.5% 时,酒精度最高。当酵母量过多过少,都会影响酒精度的高低,且影响了最后的成品酒的总体质量。综合各方面,本实验采用 1.5% 接种量进行发酵。

### 2.4 发酵温度对酒质量的影响

酵母的活性随温度的变化而变化,会影响发酵的程度,进而影响酒的质量。在上一步骤实验的基础上采取不同的温度进行发酵,结果见表3。

表3 不同发酵温度对酒精度和多糖含量的影响

Table 3 Effect of fermentation temperature on alcohol degree and polysaccharide content of the fermentation broth

发酵温度/℃	20	22	24	26	28
酒精度/°	6	6.2	8.2	7.8	7.5
多糖/%	2.38	2.89	3.56	3.41	3.38

由表3可知,在24℃和26℃进行发酵,其产品含酒精度都比较高,但后者含活性粗多糖比较高。考虑到产品所要求具备的保健功能,故本实验采用26℃进行发酵。

### 2.5 后酵时间长短的影响。

后酵时间对酒的质量起着关键性影响,在上一步骤实验的基础上分别考察不同后酵时间对酒精度和粗多糖含量的影响,结果如表4所示。

表4 不同后酵时间对酒精度和多糖含量的影响

Table 4 Effect of the time of the second fermentation on alcohol degree and polysaccharide content of the fermentation broth

后酵时间/d	4	5	6	7	8
酒精度/°	6.3	6.5	6.9	6.1	6.1
多糖/%	2.86	2.93	3.02	2.95	2.94

由表4可知,后酵5d和6d时产品含酒精度都比较高,而后酵6d和7d时产品含活性粗多糖较高。综合考虑本实验采用后酵6d方案。

### 2.6 发酵条件正交试验

表5 正交试验方差分析

Table 5 Analysis of results of orthogonal Experiment

编号	A(接种量/%)	B(发酵温度/℃)	C(后酵时间/d)	酒精度/°	多糖/%
1	1.0	24	5	5.6	2.89
2	1.0	26	6	5.9	2.91
3	1.0	28	7	5.7	2.87
4	1.5	24	6	6.3	3.21
5	1.5	26	7	5.9	3.19
6	1.5	28	5	6.2	3.34
7	2	24	7	5.9	3.42
8	2	26	5	7.4	3.49
9	2	28	6	6.5	3.43
K <sub>1</sub>	5.733	5.933	6.400		
K <sub>2</sub>	6.133	6.400	6.233		
K <sub>3</sub>	6.600	6.133	5.833		
R	0.867	0.467	0.567		

通过单因子实验,分别选定酵母接种量、发酵温度和后酵时间进行三因素三水平的正交试验,确定最优发酵条件,结果见表5。由表5可知, R<sub>A</sub>>R<sub>C</sub>>R<sub>B</sub>即:接种量对产品酒精含量多少影响最大,后酵天数次之,发酵温度对酒精含量的影响较低,菌丝体破碎程度的影响最小,最佳发酵参数为:接种量为1.5%,发酵温度为26℃,后酵时间为6d。

### 2.7 产品质量标准<sup>[9]</sup>

#### 2.7.1 感官指标

色:澄清透明,均匀,呈金黄色。

香:香气完整协调,细腻幽雅,具有姬松茸独特的香气。

味:酒质柔顺,口感香甜爽口,酸度甜度适中,清新淡雅,无其它异味。

#### 2.7.2 理化指标

总糖 4.65 g/L(以葡萄糖计),酒精度(20℃): (8.5±0.5)%(V/V),总酸(以酒石酸计): 0.5 g/L,干浸出物: ≤18 g/L,多糖(%): ≥3.00。

#### 2.7.3 卫生指标

符合GB 2757-81。

## 3 结论

采用酵母液体发酵液和经过破碎处理的菌丝体作为姬松茸酒发酵的原料,试验不同破碎方式对成品酒中多糖含量的影响,得出超声波破碎效果最佳;并通过单因素试验确定姬松茸酒发酵酵母接种量及后酵时间。最佳发酵条件为:姬松茸菌丝体超声波破碎30min后,再接1.5%的酵母进行发酵,发酵温度为25℃,后酵天数为6d。在该条件下成品酒澄清透明,呈金黄色,香气完整协调,细腻幽雅,具有姬松茸独特的香气,酒质柔顺,口感香甜爽口,酸度甜度适中,清新淡雅,无其它异味,营养丰富。

### 参考文献

[1] 史荣刚.姬松茸研究的现状与展望[J].江苏食用菌,1995,16(3):22-23  
 [2] Hirokazu Kawagishi, Ryuichi Inagaki, Teturo Kanao and Takashi Mizuno. Fractionation and antitumor activity of the water-in-soluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies, Carbohydrate Research, 1989, 186(2):267-273.  
 [3] 周选围.姬松茸液体培养基的筛选[J].中国食用菌,1994,20(2):32-34.

(下转第70页)