

# 老化窖池与常规窖池的窖泥特性与发酵性能比较

Comparison of fermentation performance and cellar mud characteristics between aging cellar and normal cellar

余有贵<sup>1</sup> 张文武<sup>1</sup> 曹乐<sup>1</sup>

YU You-gui<sup>1</sup> ZHANG Wen-wu<sup>1</sup> CAO Le<sup>1</sup>

徐传鸿<sup>1</sup> 马利群<sup>2</sup> 杨志龙<sup>2</sup>

XU Chuan-hong<sup>1</sup> MA Li-qun<sup>2</sup> YANG Zhi-long<sup>2</sup>

(1. 邵阳学院生物与化学工程系, 湖南 邵阳 422000; 2. 湖南湘窖酒业有限公司, 湖南 邵阳 422000)

(1. Department of Biology and Chemistry, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000, China;

2. Hunan Xiang Jiao Liquor Co. Ltd., Shaoyang, Hunan 422000, China)

**摘要:**选择湖南湘窖酒业有限公司的窖池为对象,主要研究老化窖池与常规窖池在窖泥特性、发酵酒酯理化特征、发酵新酒质量和原料出酒率方面的差异,旨在揭示两者差异的原因。结果表明:① 老化窖池与常规窖池在感观上有差异,其窖壁泥板结、退化,老化窖池的水分和 pH 值均显著低于常规窖池( $P < 0.05$ );② 老化窖池与常规窖池的发酵酒酯相比,酒精度显著降低( $P < 0.05$ ),残余淀粉显著增加( $P < 0.05$ ),水分稍有偏低( $P > 0.05$ ),而酸度略高( $P > 0.05$ );③ 老化窖池与常规窖池的所产新酒相比,总酸和总酯均显著降低( $P < 0.05$ ),己酸、 $\beta$ -苯乙醇、己酸乙酯和丁酸乙酯均极显著降低( $P < 0.01$ ),而乙酸乙酯和乳酸乙酯均极显著增加( $P < 0.01$ );④ 老化窖池与常规窖池原料出酒率之间无显著性差异( $P > 0.05$ ),但老化窖池出酒率低于常规窖池。因此,老化窖池的产酒质量和原料出酒率均低于常规窖池,研究结果为窖池的养护与合理使用提供了理论依据。

**关键词:**浓香型白酒;窖池;窖泥特性;发酵性能;酒质;出酒率

**Abstract:** In order to reveal the reason of difference between aging cellar and normal cellar, aging cellar and normal cellar from Hunan Xiangjiao liquor Co. Ltd were sampled to investigate changes in cellar mud properties, physicochemical characteristics of fermented grains, quality of new spirit and output rate of raw materials. Results indicated that there was difference of the sense between the ageing cellar

and normal cellar, cellar wall appeared phenomena of compacted mud and degraded mud in the ageing cellar. Water and pH of the ageing cellar were significantly lower than that of normal pit ( $P < 0.05$ ). Compared with fermented grains, alcohol in the ageing cellar was significantly lower than that in normal cellar ( $P < 0.05$ ), residual starch in the ageing cellar was significantly higher than that in normal cellar ( $P < 0.05$ ), water in the ageing cellar was slightly lower than that in normal cellar ( $P > 0.05$ ), acidity in the ageing cellar slightly higher than that in normal cellar ( $P > 0.05$ ). Compared with quality of new spirit, total acid and total ester in the ageing cellar were significantly lower than that in normal cellar ( $P < 0.05$ ), caproic acid,  $\beta$ -phenethyl alcohol, ethyl hexanoate and ethyl butyrate in the ageing cellar were significantly lower than that in normal cellar ( $P < 0.01$ ), ethyl acetate and ethyl lactate in the ageing cellar were significantly higher than that in normal cellar ( $P < 0.01$ ). The output rate of raw materials was no significant difference between aging cellar and normal cellar ( $P > 0.05$ ), but it was lower in the ageing cellar than that in normal cellar. Therefore, quality of new spirit and output rate of raw materials in the ageing cellar are lower than that in normal cellar, the results provide a theoretical basis for the reasonable use and maintenance of cellar.

**Keywords:** Luzhou flavor liquor; cellar; cellar mud characteristics; fermentation performance; quality of new spirit; output rate

基金项目:湖南省教育科学“十二五”规划课题(编号: XJK014AGD015);湖南省科技计划项目(编号: 2012XK4079);邵阳市科技计划项目(编号: 2014NK06, 2013ck16, 2013ck62);邵阳学院计划项目(编号: 2014JG18)

作者简介:余有贵(1964-),男,邵阳学院教授,博士。

E-mail: yufly225@163.com

收稿日期:2014-11-26

浓香型大曲酒的酿酒过程采用续糟配料、混蒸混烧、泥窖固态发酵、固态蒸馏工艺,以泥窖窖池为基础,发酵过程是栖息在窖池糟醅、窖泥中的庞大微生物区系在糟醅固、液、气三相界面复杂的物质能量代谢过程<sup>[1,2]</sup>,原辅料、糖化发酵剂、自然生态环境、生产工艺、设备等因素影响着产品的质量<sup>[3-5]</sup>。近年来,有一些关于窖泥老化、人工老窖方面报道,窖泥制作过程中过量添加化学药品、生产过程使用铁质工

具、生产工艺水分偏小、长期发酵造成的酸度偏大、入池温度偏高等,使得窖泥有益微生物数量下降和形成乳酸亚铁、乳酸镁和乳酸铜结晶<sup>[6,7]</sup>,通过改变窖泥配方、改变窖泥功能菌的种类和数量、改变窖泥的理化特性、适当调整生产工艺等措施提高人工老窖的质量<sup>[8,9]</sup>。人工老窖使用一段时间后,窖泥老化会影响酒的品质<sup>[10,11]</sup>,但目前缺少系统的比较研究和机理探究。本研究拟以湖南湘窖酒业有限公司的窖池为对象,研究老化窖池与常规窖池在窖泥特性、发酵酒酯理化特征、发酵新酒质量和原料出酒率方面的差异,旨在揭示两者差异的原因,为窖池养护与合理使用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 主要材料

窖池来源:选自湖南湘窖酒业有限公司浓香二号酿酒车间一区,其中老化窖池和常规窖池各为6个,均为同期建窖的人工老窖窖池;

窖泥来源:窖泥从每个窖的窖壁取样;

酒酯来源:发酵结束后,去除面酯后的中上层酒酯;

高粱:新鲜、干燥,颗粒饱满,无杂质、无霉变、无虫蛀,湖南湘窖酒业有限公司。

#### 1.1.2 主要试剂

氢氧化钠、无水碳酸钠:AR级,天津市北方天医化学试剂厂;

浓硫酸:AR级,北京化工厂;

邻苯二甲酸氢钾、酒石酸钾钠:AR级,上海仕秀精细化工有限公司;

硫酸铜:AR级,天津科密欧化学试剂有限公司。

#### 1.2 主要仪器

电子分析天平:FA1204B型,上海天平仪器厂;

酸度计:pH S-3C型,上海理达仪器厂;

气相色谱仪:6890N型,安捷伦科技有限公司。

#### 1.3 方法

1.3.1 老化窖池与常规窖池的窖泥特性比较 分别从老化窖池与常规窖池的窖壁取样,从感官品质、水分和pH值等几个方面进行分析,比较两者存在的差异性。

#### 1.3.2 老化窖池与常规窖池的发酵酒酯理化特征比较

在选取的窖池中,以挖取的第一甌和第二甌酒酯样品分别测定水分、酸度、酒精度和残余淀粉,分别以6个窖池的平均值进行统计分析,比较两者存在的差异性。

#### 1.3.3 老化窖池与常规窖池发酵产新酒的主要成分比较

在选取的窖池中,以挖取的第一甌和第二甌酒酯入甌蒸馏酒操作,取已截头去尾后的中间酒混合样进行总酸、总酯、主要微量成分测定,分别以6个窖池的平均值进行统计分析,比较两者存在的差异性。

1.3.4 老化窖池与常规窖池的原料出酒率比较 按1.3.3的方法,称取每甌酒酯的出酒量,然后计算出原料出酒率,分

别以6个窖池的平均值进行统计分析,比较两者存在的差异性。

#### 1.3.5 检测方法

(1)水分的测定:参照GB/T 10345—2007标准执行,用%表示;

(2)pH值的测定:采用pH S-3C型酸度计直接测定;

(3)酒精度的测定:参照GB/T 10345—2007标准执行,用精密酒精计读取酒精体积分数值,查表进行温度校正,求得在20℃时乙醇含量的体积分,即为酒精度。

(4)总酸的测定:参照GB/T 10345—2007标准执行,总酸以乙酸计,用g/L表示;

(5)总酯的测定:参照GB/T 10345—2007标准执行,总酯以乙酸乙酯计,用g/L表示;

(6)酒样微量成分测定:采用气相色谱—内标法,含量用mg/100 mL表示。安捷伦6890N气相色谱(GC)条件:色谱柱为毛细管柱Agilent 19091N-133(30 m×0.25 mm×0.25 μm)载气为高纯氮气(>99.999%),流速0.7 mL/min;进样口温度250℃;进样方式为手动分流进样(分流比为37:1)。色谱柱升温程序:初始温度40℃,保持2 min,以3℃/min升至61℃,保持0.5 min,以5℃/min升至91℃,保持5 min,最后以10℃/min升至220℃,保持7 min,运行时间为40.4 min;FID检测器温度:250℃。

#### 1.4 数据分析

采用SAS9.0软件进行数据处理和分析。两组间比较采用t检验,结果用“平均值±标准差”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 老化窖池与常规窖池的窖泥特性比较

由表1可知:老化窖池与常规窖池在感官上有差异,老化窖池的窖壁泥板结、退化;理化指标中分别在水分和pH值两个指标上存在显著差异( $P < 0.05$ ),其中老化窖池的水分和pH值均显著低于常规窖池。

窖池老化是一个不断积累的过程,引起窖池老化的原因主要有水分过低、酒酯酸度过大、窖泥配料不合理、管理养窖不当、生产工艺调节失控、窖泥发酵不平衡等,这些因素导致生成的乳酸亚铁、乳酸钙、乳酸镁和乳酸铜在窖壁上沉积<sup>[7]</sup>,当窖内有机酸对该结晶物的淋溶速度低于其生成速度时便会引起窖泥板结,而板结后的窖泥呈砂粒状或粉末状白色晶体,其保水能力明显低于正常窖泥,故老化窖池的水分明显低于常规窖池。浓香型白酒的发酵容器是泥窖,在长期的酿酒生产环境中,窖泥富集了有机质、N、P、K、Zn、Mn、Fe、Cu等微生物生命活动的重要营养素,为窖泥功能菌的生长繁殖提供了物质基础,酿酒过程中发酵产生的黄水将窖泥与糟醅之间的代谢产物及时的转运、迁移,不断改善着窖泥微生态环境,有利于窖泥功能菌的富集和纯化,从而促进了窖泥老熟,也有利于酒质的提高<sup>[1,2]</sup>。

表 1 老化窖池与常规窖池窖泥特性的比较<sup>†</sup>

Table 1 Comparison of cellar mud characteristics between aging cellar and normal cellar

窖池类别	感官评价	水分/%	pH 值
老化窖池	窖壁泥板结发硬,有白色颗粒状或针状结晶体,刺手感强,缺少窖泥香	36.0±1.2	5.1±0.3
常规窖池	窖壁泥乌黑、湿润,手感细软,浓郁窖泥香	42.0±1.5*	6.7±0.5*

† \*\* . P<0.01 水平极显著, \* . P<0.05 水平显著。

## 2.2 老化窖池与常规窖池的发酵酒醅理化特征比较

由表 2 可知:老化窖池与常规窖池发酵酒醅分别在酒精度和残余淀粉两个指标之间有显著性差异(P<0.05),其中老化窖池与常规窖池的发酵酒醅相比,酒精度降低了 14.9%、残余淀粉增加了 14.5%;另外,两者分别在水分和酸度两个指标之间无显著性差异(P>0.05),但老化窖池与常规窖池的发酵酒醅相比,水分稍有偏低而酸度略高。

大曲是大曲酒生产的糖化发酵剂,在大曲中的微生物类群中,霉菌是糖化的动力,酵母是发酵的动力,细菌是产香的动力<sup>[12]</sup>。浓香型白酒的生产以泥窖窖池为基础,发酵过程有大曲微生物和窖泥中微生物共同参与,实现糟醅在固、液、气三相界面复杂的物质能量代谢过程,即处于发酵窖池中的

表 2 老化窖池与常规窖池发酵酒醅理化特征比较<sup>†</sup>

Table 2 Comparison of physicochemical characteristics of fermented grains between aging cellar and normal cellar

窖池类别	酒精 (V/V)/%	水分/ %	酸度/ (g·L <sup>-1</sup> )	残余 淀粉/%
老化窖池	2.36±0.22	63.12±1.11	3.78±0.24	11.46±0.39*
常规窖池	2.64±0.12*	63.73±1.18	3.65±0.21	10.16±0.15

† \*\* . P<0.01 水平极显著, \* . P<0.05 水平显著。

表 3 老化窖池与常规窖池所产新酒的主要成分比较<sup>†</sup>

Table 3 Comparison of the main compounds of new spirit between aging cellar and normal cellar

微量成分	总酸/ (g·L <sup>-1</sup> )	总酯/ (g·L <sup>-1</sup> )	己酸/ (mg· mL <sup>-1</sup> )	β-苯乙醇/ (10 <sup>-2</sup> mg· mL <sup>-1</sup> )	己酸乙酯/ (10 <sup>-2</sup> mg· mL <sup>-1</sup> )	乙酸乙酯/ (10 <sup>-2</sup> mg· mL <sup>-1</sup> )	乳酸乙酯/ (10 <sup>-2</sup> mg· mL <sup>-1</sup> )	丁酸乙酯/ (10 <sup>-2</sup> mg· mL <sup>-1</sup> )
老化窖池	0.646±0.07	4.976±0.24	23.65±0.82	0.20±0.00	189.73±1.69	179.81±1.77**	142.87±2.35**	41.30±0.98
常规窖池	0.872±0.11	5.682±0.32*	29.82±1.07**	0.36±0.00**	228.02±1.31**	163.09±2.72	124.60±2.57	55.52±1.31**

† \*\* . P<0.01 水平极显著, \* . P<0.05 水平显著。

酸类是形成白酒香味的主要物质,酸类赋予白酒丰满和酸刺激感,适量的酸在酒中起到缓冲作用,可消除饮酒后上头和口味不协调,促进酒的甜味感,大曲白酒的总酸在 0.6 g/L 以上(一般在 0.1% 左右)<sup>[13,14]</sup>。若酒中含酸量少,则酒味寡淡、不柔和、香味短;若酒中含酸量大,则酒粗糙、邪杂味重。白酒中的有机酸种类多,如甲酸、乙酸、丁酸、己酸、乳

糟醅,在庞大微生物区系共同作用下,将淀粉质原料中的淀粉、蛋白质等大分子物质转化成酒精、水及醛、酸、酯等微量风味物质。发酵糟醅中淀粉的动态变化不仅间接反应窖池中乙醇的生成情况和发酵状况,而且可以特征反映窖池中微生物的生命活动状况。与常规窖池相比,老化窖池窖壁与窖池中糟醅的交流受阻,糟醅在微生物代谢过程中,来自大曲的乳酸菌和醋酸菌代谢相对活跃,产生的酸高而黄水少,代谢产物不能有效地转运与迁移,形成的局部微生态环境使淀粉转化成酒精的速率变慢,由于发酵周期是一定的,这样导致发酵能力下降,从而引起老化窖池残余淀粉偏高而产酒能力偏低。

## 2.3 老化窖池与常规窖池发酵产新酒的主要成分比较

由表 3 可知:① 老化窖池与常规窖池所产新酒分别在总酸和总酯两个指标之间有显著性差异(P<0.05),其中老化窖池与常规窖池的所产新酒相比,总酸降低了 25.92%、总酯降低了 12.43%;② 两者分别在己酸和 β-苯乙醇两个指标之间有极显著性差异(P<0.01),其中老化窖池与常规窖池的所产新酒相比,己酸降低了 20.69%、β-苯乙醇降低了 44.90%;③ 两者分别在浓香型主体香成分四大酯之间有极显著性差异(P<0.01),其中老化窖池与常规窖池的所产新酒相比,己酸乙酯和丁酸乙酯分别降低了 16.79% 和 25.61%,而乙酸乙酯和乳酸乙酯分别增加了 10.25% 和 14.66%。

酸、戊酸、琥珀酸等,大多有机酸是由细菌经生物化学反应生成的,低级的酸可逐步合成较高级的酸,醇和醛可氧化物为相应的有机酸,其中浓香型大曲酒的己酸是由己酸菌发酵作用生成的,己酸菌则主要来源于窖池中的窖泥。

酯类是白酒的主要呈香物质,一般名优白酒的酯含量均较高,其中己酸乙酯、丁酸乙酯、乙酸乙酯和乳酸乙酯是白酒

中的四大酯类。己酸乙酯具有窖香气,浓香型白酒是以己酸乙酯为主体香的一种复合香气;乙酸乙酯具有水果香气;乳酸乙酯适量时能烘托主体香和使酒体完美,过多会造成酒的生涩味和抑制主体香,名优浓香型白酒的乳酸乙酯和己酸乙酯的比值都在1以下,否则会影响风格;丁酸乙酯较浓时呈臭味,稀薄时呈水果味,在浓香型白酒中含量不能过多,否则会使酒带上臭味,影响酒的质量,一般浓香型白酒要求己酸乙酯为丁酸乙酯含量的8~15倍<sup>[13]</sup>。白酒中酯的生成有两种途径:①由微生物体内酯酶的生化反应生成酯,这是主要途径,其中丁酸乙酯和己酸乙酯合成相关联,丁酸是合成丁酸乙酯的前驱物质,丁酸乙酯又是合成己酸乙酯的前驱物质;②通过有机化学反应生成酯,这种反应一般进行得极缓慢。

决定白酒风味的六大因素为原辅料、糖化发酵剂、自然生态环境、工艺、设备、饮食文化,在本研究中决定新酒风味物质差异主要来源于发酵窖池。浓香型白酒发酵用的泥窖有两大作用:①作为发酵容器,为酒糟提供发酵产酒的场所;②为酿酒微生物的生长繁殖提供良好的环境,窖泥中的微生物以厌氧菌为主,包括己酸菌、丁酸菌、甲烷菌、甲烷氧化菌、丙酸菌和嗜热芽孢杆菌等微生物,这些窖泥中栖息的微生物参与了酿酒发酵。与常规窖池相比,老化窖池因土壤板结,阻碍了糟醅与窖泥之间正常的物质能量交换,一方面使窖泥微生态不断恶化,不利于窖泥功能菌的生长繁殖;另一方面,窖泥功能菌产生的风味代谢产物不能通过载体黄水有效地进入糟醅中,糟醅中的主要风味成分积累逐渐减少<sup>[15]</sup>。因此,常规窖池较老化窖池的产酒质量高。

#### 2.4 老化窖池与常规窖池的原料出酒率比较

由表4可知:老化窖池与常规窖池原料出酒率之间无显著性差异( $P>0.05$ ),但老化窖池与常规窖池的发酵酒醅相比,原料出酒率下降了4.05%。

浓香型大曲白酒酿酒原理是利用大曲中的米曲霉、黑曲霉、根霉等霉菌作为糖化剂,将高粱、小麦等原料中淀粉分解成糖类,同时由酵母菌再将葡萄糖发酵产生酒精,粮糟通过边糖化边发酵生产含一定浓度酒精的过程,存在于固态酒醅中的酒精和香味成分经甑桶固态蒸馏得到新酒。原料出酒率是计算淀粉出酒率的参考指标,表示100 kg原料产酒精体积分数为65%的合格原酒的千克数。一般来说,影响出酒

表4 老化窖池与常规窖池原料出酒率的比较<sup>†</sup>

Table 4 Comparison of output rate of raw materials between aging cellar and normal cellar

窖池类别	实测酒度 (V/V)/%	单甑产量/ kg	折65%酒度 重量/kg	原料出 酒率/%
老化窖池	68.2±2.1	41.2±1.5	43.2±1.8	20.6±1.7
常规窖池	67.5±3.3	43.4±2.1	44.9±2.3	21.4±1.4

† \*\* $P<0.01$ 水平极显著,\* $P<0.05$ 水平显著。

率的主要因素包括酿酒原料质量、酒曲质量、入窖条件(淀粉浓度、酸度、温度、水分、用曲量)、蒸馏操作等<sup>[12,15]</sup>,所以老化窖池与常规窖池之间的原料出酒率无显著差异。然而,本研究出酒率差异主要来源于发酵环境,主要是窖池窖泥和代谢产生的黄水,由于老化窖池发酵酒醅含水量较常规窖池偏低,代谢产物不能较好地被黄水稀释和运输,造成老化窖池局部环境不利于糖化的霉菌和发酵的酵母菌充分发挥双边发酵作用,因而酒醅中含酒精浓度偏低,最终老化窖池原料出酒率稍低于常规窖池。当然,浓香型大曲酒采用续糟配料、混蒸混烧的特殊工艺,白酒生产企业一般以月、季、年为周期计算原料出酒率,而本研究取窖池中某一甑进行原料出酒率计算,两类窖池出酒率均低于常规统计的数据。

### 3 结论

(1)老化窖池与常规窖池的比较结果表明:在感观上老化窖池的窖壁泥板结、退化,其水分和pH值均显著低于常规窖池( $P<0.05$ );老化窖池与常规窖池的发酵酒醅相比,酒精度显著降低( $P<0.05$ ),残余淀粉显著增加( $P<0.05$ ),水分稍有偏低( $P>0.05$ ),而酸度略高( $P>0.05$ );老化窖池与常规窖池的所产新酒相比,总酸和总酯均显著降低( $P<0.05$ ),己酸、 $\beta$ -苯乙醇、己酸乙酯和丁酸乙酯均极显著降低( $P<0.01$ ),而乙酸乙酯和乳酸乙酯均极显著增加( $P<0.01$ );老化窖池与常规窖池粮糟发酵出酒率之间无显著性差异( $P>0.05$ ),但老化窖池出酒率低于常规窖池。

(2)从老化窖池与常规窖池的窖泥特性、老化窖池与常规窖池发酵酒醅理化特征和发酵新酒质量的比较研究结果来看,老化窖池的窖泥因理化指标的变化,直接影响微生物的正常代谢,导致酒质降低和产酒量下降,研究结果为窖泥退化的原因提供了数据支撑,为窖池合理养护和使用提供了一定的理论依据。

(3)人工老窖是提高浓香型大曲酒质量的一项重要举措,人工窖泥的培养、建窖、合理使用与维护是一项系统工程,需要全面系统的研究,探索出各因素对窖泥品质的影响规律,从而有效地指导酿酒企业制定合理的生产工艺、达到提高酒质的目的。

#### 参考文献

- 1 余有贵,李侦,熊翔,等.窖泥微生态的主要特征研究[J].食品科学,2009(21):258~261.
- 2 张文学,乔宗伟,向文良,等.中国浓香型白酒窖池微生态研究进展[J].酿酒,2004(2):31~35.
- 3 沈怡方.白酒风味质量形成的主要因素[J].酿酒科技,2005(11):30~34.
- 4 余有贵,熊翔.回糟酿酒新工艺的探讨[J].食品工业科技,2005(12):103~105.
- 5 康文怀,徐岩.中国白酒风味分析及其影响机制的研究[J].北京工商大学学报(自然科学版),2012(3):53~57.

(下转第193页)

2.3 验证实验

由表 5 可知,利用最优配方(A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>)、菌丝体生物量最高配方(A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>)和黄酮产量最高配方(A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>)进行液体培养后,最优配方获得的菌丝体生物量和黄酮产量最高,对三者进行方差分析,3 种配方对菌丝体生物量和黄酮产量的影响差距显著。综合两项指标,A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>为最优配方,即:玉米粉 3% + 麸皮 7%,蛋白胨 2.0%,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.10%,MgSO<sub>4</sub> 0.15%。用这个配方进行桑黄生产,可以同时获得菌丝体生物量高产及黄酮高产。

表 5 验证实验结果

Table 5 Results of the verification test (n=3)  
(mg · L<sup>-1</sup>)

工艺组合	菌丝体生物量	黄酮产量
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	24 620.67	212.35
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	19 776.33	201.40
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub>	22 503.00	185.73

本试验菌丝体黄酮产量为 212.35 mg/L,远远高于赵子高等<sup>[11]</sup>试验所得(12.805 6 mg/100 mL)及刘凡等<sup>[12]</sup>试验所得(186.75 mg/L)。造成这种差距可能有以下几个原因:① 培养基成分差异造成了菌丝体黄酮产量的较高差异,其中文献[11]和[12]中没有用到的蛋白胨成分是主要原因,另外本试验中麦麸的添加也是一个不可忽视的因素;② 较高转速有利于好氧型桑黄菌丝体的生长及菌丝体黄酮的生产,文献[11]和[12]中液体培养桑黄所用转速为 150 r/min,本试验所用摇床转速为 160 r/min;③ 较大的培养基装入量适宜于菌种活性的长时间维持,为提高菌丝体产量和黄酮产量提供了物质基础,提高了生产效率,文献[11]和[12]中液体培养桑黄所用培养基装入量为容器的 2/5,本试验所用的液体培养基装入量为容器的 3/5。

3 结论

本试验在前期单因素试验的基础上,利用正交设计确定液体培养基配方,研究各配方对菌丝体生物量及黄酮产量的影响,最终通过验证实验确定了优化的液体培养基配方为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>(玉米粉 3% + 麦麸 7%,蛋白胨 2.0%,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.10%,MgSO<sub>4</sub> 0.15%),菌丝体黄酮产量为 212.35 mg/L,远远高于赵子高<sup>[11]</sup>、刘凡<sup>[12]</sup>等的试验结果。而且本试验直接将平板活化的菌种定量接种在液体培养基里进行正交分析试验,较文献[11]和[12]增加了试验定量的准确性,并简化了一次接种工作。

本试验结果表明,利用液体培养技术能够在较短时间内生产大量桑黄菌丝体及菌丝体黄酮,不受季节和环境的限制,可以大幅度降低桑黄黄酮作为新药开发的成本。试验所确定的优化液体培养基将对工业化生产桑黄菌丝体黄酮具有一定的指导意义,应用前景广阔。

参考文献

- 弓建国. 食用菌栽培技术[M]. 北京:化学工业出版社,2011.
- 刘波. 中国药用真菌[M]. 太原:山西人民出版社,1974.
- 刘春辉,陈体强,林跃鑫. 药用真菌桑黄的研究进展[J]. 菌物研究,2004,2(2):53~59.
- 刘艳芳,杨焱,贾薇,等. 药用真菌桑黄总黄酮测定方法研究[J]. 食用菌学报,2006,13(2):45~48.
- 尹秀莲,游庆红. 超声辅助复合酶法提取桑黄多糖[J]. 食品与机械,2011,27(4):58~60.
- 夏国华. 桑黄黄酮类成分及制剂研究[D]. 镇江:江苏大学,2010.
- 王钦博. 桑黄抗氧化活性成分的筛选及其分离纯化[D]. 上海:上海师范大学,2011.
- 孙锦秀. 大孔吸附树脂纯化桑黄总黄酮工艺[J]. 实用药物与临床,2012,15(11):744~746.
- 陈晓平,于翠翠. 响应面法优化微波辅助乙醇提取桑黄黄酮工艺的研究[J]. 食品与发酵科技,2013,49(4):31~36.
- 夏国华,戈延茹,傅海珍,等. 超声法提取桑黄总黄酮的工艺研究[J]. 江苏大学学报(医学版),2010,20(1):40~41,55.
- 赵子高,杨焱,刘艳芳,等. 桑黄黄酮高产菌株深层发酵条件的优化[J]. 中国酿造,2007(9):22~25.
- 刘凡,庞道睿,沈维治,等. 有利于桑黄胞内黄酮的液体发酵培养基的配方优化[J]. 蚕业科学,2013,39(6):1160~1165.
- 雷萍,张文隽,吴亚召,等. 桑树桑黄子实体和发酵菌粉有效成分分析[J]. 中国食用菌,2010,29(4):40~42.
- 宋铂. 桑黄黄酮的提取制备与生物活性初步研究[D]. 上海:上海水产大学,2006.

(上接第 5 页)

- 文成兵,李光辉,邱声强,等. 提高窖泥质量的研究[J]. 酿酒科技,2009(4):68~70.
- 张家庆,宋瑞滨,曹敬华,等. 人工老窖窖泥结晶初步分析[J]. 中国酿造,2014(3):21~23.
- 任道群,唐玉明,姚万春,等. 多菌株共酵培养优质窖泥的研究[J]. 中国酿造,2013(6):65~68.
- 李海峰,沈才洪,卢中明,等. 人工窖泥的研究进展[J]. 酿酒,2012(2):96~99.
- 姚万春,唐玉明,任道群,等. 液体窖泥培养过程微生物和香气成分变化趋势[J]. 中国酿造,2013(2):45~48.
- 孙夏冰,王松涛,陆震鸣,等. 浓香型大曲酒窖泥中挥发性化合物的测定与分析[J]. 食品与机械,2013,29(6):54~58.
- 沈怡方. 白酒生产技术全书[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998.
- 陈益钊. 中国白酒的嗅觉味觉科学及实践[M]. 四川:四川大学出版社,1996.
- 范文来,徐岩. 白酒 79 个风味化合物嗅觉阈值测定[J]. 酿酒,2011,38(4):80~84.
- 余有贵,罗俊,熊翔,等. 浓香型白酒主要发酵产物生成与微生物类群的动态变化[J]. 食品科学,2012(1):170~173.