



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117757584 A

(43) 申请公布日 2024. 03. 26

(21) 申请号 202311660921.6

C12N 1/20 (2006.01)

(22) 申请日 2023.12.05

C12R 1/01 (2006.01)

(71) 申请人 江南大学

地址 214122 江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道1800号

申请人 江南大学(绍兴)产业技术研究院

(72) 发明人 毛健 刘双平 刘甜甜 王庆祥
王城

(74) 专利代理机构 南京禹为知识产权代理事务
所(特殊普通合伙) 32272

专利代理师 王晓东

(51) Int. Cl.

C12G 3/026 (2019.01)

C12J 1/00 (2006.01)

C12C 11/00 (2006.01)

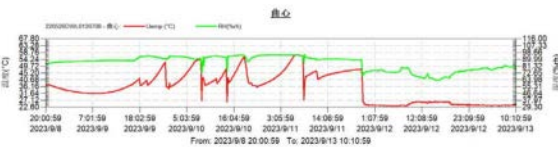
权利要求书2页 说明书20页 附图2页

(54) 发明名称

一种用于酿造食品的糖多孢菌药曲工业制
作方法及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种用于酿造食品的糖多孢菌药曲工业制作方法及应用,属于酿造技术领域。本发明以实验室保存的玫瑰糖多孢菌作为功能强化菌株,以粉碎红皮小麦为载体,添加辣蓼草、甘草、党参、薄荷等中草药成分,比例接入玫瑰糖多孢菌菌液搅拌均匀,于温度45-50℃、湿度80-90%培养箱中培养13-15h,固态发酵箱中培养60-96h制备强化玫瑰糖多孢菌药曲。最终得到的药曲糖化力可达到 $1801.41 \pm 62.15 \text{U/g}$ 绝干麦曲,液化力可达到 $1.67 \pm 0.06 \text{U/g}$ 绝干麦曲,均高于原始生麦曲,药曲的稳定性也得到进一步提高。



1. 一种药曲,其特征在于,所述药曲是按照下述方法制备得到的:

(1) 准备原料

小麦为基准、辣蓼草0.8-1% (w/w)、黄精0.8-1% (w/w)、黄芪0.8-1% (w/w)、党参0.8-1% (w/w)、桑叶0.8-1% (w/w)、甘草0.5-0.7% (w/w)、肉苁蓉0.5-0.7% (w/w)、肉桂0.2-0.3% (w/w)、薄荷0.3-0.5% (w/w)、强化菌剂8-12% (v/w)、清水13-16% (v/w);所述强化菌剂为玫瑰糖多孢菌(*Saccharopolyspora rosea*) CCTCC NO:M 2020952菌液;

(2) 将步骤(1)的原料经前处理后,混合,进行搅拌,自然发酵后得到药曲。

2. 根据权利要求1所述的药曲,其特征在于,所述自然发酵为:

第0~12h:将原料堆积至13-18cm自然发酵;

第12~20h:自然发酵,每隔4h通风;

第20~64h:自然发酵,温度控制在40~50℃,湿度控制在80%-95%;

第64-72h:自然发酵,温度控制在40~45℃,湿度控制在80%-95%。

3. 根据权利要求2所述的药曲,其特征在于,步骤(1)中,所述清水的温度为:65-75℃。

4. 根据权利要求1~3任一所述的药曲,其特征在于,步骤(2)中,所述原料前处理为:将辣蓼草、黄精、黄芪、党参、桑叶、甘草、肉苁蓉、肉桂、薄荷经水煮1.5-2h后收集中药水,同时中药渣放入干燥箱进行烘干后磨碎,待发酵结束倒入曲中混匀;小麦粉碎后筛掉淀粉。

5. 根据权利要求1~4任一所述的药曲,其特征在于,所述强化菌剂的制备方法为:挑取单菌落接种至种子培养基中,35-37℃,140-180r/min,48-72h作为一级种子液;再按照1-3%的接种量转接至种子培养基中,35-37℃,140-180r/min,培养48-72h作为强化菌剂菌液。

6. 一种药曲的制备方法,其特征在于,所述方法为:

(1) 准备原料

小麦为基准、辣蓼草0.8-1% (w/w)、黄精0.8-1% (w/w)、黄芪0.8-1% (w/w)、党参0.8-1% (w/w)、桑叶0.8-1% (w/w)、甘草0.5-0.7% (w/w)、肉苁蓉0.5-0.7% (w/w)、肉桂0.2-0.3% (w/w)、薄荷0.3-0.5% (w/w)、强化菌剂8-12% (v/w)、清水13-16% (v/w);所述强化菌剂为玫瑰糖多孢菌CCTCC NO:M 2020952菌液;

(2) 将步骤(1)的原料前处理后混合,进行搅拌,自然发酵后得到药曲。

7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,所述自然发酵为:

第0~12h:将原料堆积至13-18cm自然发酵;

第12~20h:自然发酵,每隔4h通风;

第20~64h:自然发酵,温度控制在40~50℃,湿度控制在80%-95%;

第64-72h:自然发酵,温度控制在40~45℃,湿度控制在80%-95%。

8. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于,步骤(1)中,所述清水的温度为:65-75℃。

9. 根据权利要求6~8任一所述的方法,其特征在于,步骤(2)中,所述原料前处理为:将辣蓼草、黄精、黄芪、党参、桑叶、甘草、肉苁蓉、肉桂、薄荷经水煮1.5-2h后收集中药水,同时中药渣放入干燥箱进行烘干后磨碎,待发酵结束倒入曲中混匀;小麦粉碎。

10. 根据权利要求6~9任一所述的方法,其特征在于,所述强化菌剂的制备方法为:挑取单菌落接种至种子培养基中,35-37℃,140-180r/min,48-72h作为一级种子液;再按照1-3%的接种量转接至种子培养基中,35-37℃,140-180r/min,培养48-72h作为强化菌剂菌液。

液。

11. 权利要求1~5任一所述的药曲或权利要求6~10任一所述的方法在制备酒精饮料或发酵制品中的应用,其特征在于,所述应用为,在发酵饮品或发酵制品的酿造原料中添加所述药曲进行发酵后制备得到。

12. 根据权利要求11所述的应用,其特征在于,所述发酵饮品为发酵酒精饮料或发酵醋。

13. 根据权利要求12所述的应用,其特征在于,所述发酵酒精饮料包括不限于黄酒、甜酒酿、米酒、清酒、果酒、保健酒、啤酒、白酒;所述发酵醋包括不限于果醋、食醋。

14. 根据权利要求11所述的应用,其特征在于,所述发酵制品为发酵食品。

一种用于酿造食品的糖多孢菌药曲工业制作方法及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于酿造食品的糖多孢菌药曲工业制作方法及应用,属于酿造技术领域。

背景技术

[0002] 生麦曲是我国传统发酵食品中最常见的糖化剂之一,不仅起到提供糖化酶与液化酶的作用,对发酵酒的风味特征也有显著影响。生麦曲为酿造食品提供各种酶类,主要是淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶等,促使原料所含的淀粉、蛋白质、脂肪等高分子物质的液化、分解,同时在制曲过程中形成的各种代谢物,以及由这些代谢产物相互作用产生的色泽、香味等物质,赋予发酵食品独特的风格。因此,生麦曲质量的好坏是影响酿造食品的决定性影响因素之一。

[0003] 机械化黄酒生产目前用的熟麦曲菌株su16、酵母菌苏85等主要菌株仍来自于上世纪60-80年代。虽然具有较好的酒精发酵能力和淀粉降解能力,但其杂醇较高、风味形成能力与传统手工黄酒黄酒的风味形成有较大的差异。课题组基于高通量测序技术及宏基因组解析了黄酒生麦曲及酒药酿造微生物的群落结构。证实糖多孢菌是黄酒麦曲和发酵过程中的核心微生物,尤其麦曲中的披发糖多孢菌、霍氏糖多孢菌、玫瑰糖多孢菌和江西糖多孢菌在放线菌属中占有主要的丰度。功能预测也表明糖多孢菌属与食品发酵过程中的风味物质联系紧密,主要与氨基酸(天冬氨酸、苏氨酸或甲硫氨酸)脂肪酸的来源(辛酸、癸酸、月桂酸),和醇类、酯类物质合成有关。对其进行接种生麦曲的制作,将其应用于黄酒酿造,风味更接近于传统手工黄酒,在已有自动化的基础上实现群落结构的回归。因此提高麦曲中糖多孢菌属的丰度对于改进发酵食品的风味和质量具有重要的意义。

[0004] 目前,国内外研究中尚未有关于将糖多孢菌接种到小麦中进行生麦曲的强化,并应用于酿造食品方面的报道。现有生麦曲的生产主要利用环境种的微生物,属于开放培养,曲中优良菌种少,酶活力较低,导致酿造时用曲量大,增加企业生产成本;另外,生产中麦曲用量过大,容易导致酿造食品风味变差,色泽偏暗,进而影响酿造食品品质。利用现代生物技术,在生产糖多孢菌麦曲时,加入中药成分,不仅可以抑制部分细菌及霉菌生长,还能赋予麦曲独特的风味和功效,相较于普通药曲,糖多孢菌药曲中检测出了香茅醇、依兰油烯、苜蓿烯、荜澄茄油烯等数十种风味物质;同时,还在糖多孢菌药曲所酿黄酒中检测到优葛缕酮、依兰油烯、异龙脑、胡薄荷酮、丁子香酚等多种功能风味物质,这对于生产风味独特的酿造食品,以及提高酿造食品的创新性具有重要意义。

发明内容

[0005] 基于现有技术问题与工艺问题,本发明旨在提供一种糖多孢菌药曲的生产工艺,该生产工艺将传统工艺与现代生物技术相结合,以玫瑰糖多孢菌为强化菌剂,辅以多种中草药,使生麦曲中含有中草药的活性成分与风味,同时提高了麦曲的糖化力和液化力。

[0006] 本发明提供了一种药曲,所述药曲是按照下述方法制备得到的:

[0007] (1) 准备原料

[0008] 小麦为基准、辣蓼草0.8-1% (w/w)、黄精0.8-1% (w/w)、黄芪0.8-1% (w/w)、党参0.8-1% (w/w)、桑叶0.8-1% (w/w)、甘草0.5-0.7% (w/w)、肉苁蓉0.5-0.7% (w/w)、肉桂0.2-0.3% (w/w)、薄荷0.3-0.5% (w/w)、强化菌剂8-12% (v/w)、清水13-16% (v/w);所述强化菌剂为玫瑰糖多孢菌(*Saccharopolyspora rosea*) CCTCC NO:M 2020952菌液;

[0009] (2) 将步骤(1)的原料前处理后混合,进行搅拌,自然发酵后得到药曲。

[0010] 在本发明的一种实施方式中,所述玫瑰糖多孢菌(*Saccharopolyspora rosea*) A22记载于公开号为CN113249268A的中国发明专利申请文本中。玫瑰糖多孢菌(*Saccharopolyspora rosea*) A22,已于2020年12月21日保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏地址为中国,武汉,武汉大学,保藏编号为CCTCC NO:M 2020952。

[0011] 在本发明的一种实施方式中,根据权利要求1所述的药曲,其特征在于,所述自然发酵为:

[0012] 第0~12h:将原料堆积至13-18cm自然发酵;

[0013] 第12~20h:自然发酵,每隔4h通风;

[0014] 第20~64h:自然发酵,温度控制在40~50℃,湿度控制在80%-95%。

[0015] 第64-72h:自然发酵,温度控制在40~45℃,湿度控制在80%-95%。

[0016] 在本发明的一种实施方式中,步骤(1)中,所述清水的温度为:65-75℃。

[0017] 在本发明的一种实施方式中,步骤(2)中,所述原料前处理为:将辣蓼草、黄精、黄芪、党参、桑叶、甘草、肉苁蓉、肉桂、薄荷经水煮1.5-2h后收集中药水,同时中药渣放入干燥箱进行烘干后磨碎,待发酵结束倒入曲中混匀;小麦粉碎。

[0018] 在本发明的一种实施方式中,所述强化菌剂的制备方法为:挑取单菌落接种至种子培养基中,35-37℃,140-180r/min,48-72h作为一级种子液;再按照1-3%的接种量转接至种子培养基中,35-37℃,140-180r/min,培养48-72h作为强化菌剂菌液。

[0019] 在本发明的一种实施方式中,所述方法为:

[0020] 步骤一,选用优质小麦:选取当年的优质红皮小麦制作麦曲,红皮小麦淀粉含量适宜,适合糖多孢菌的生长,同时麦粒应保持干燥;

[0021] 步骤二,将清理过的小麦,通过轧麦机轧碎至每粒小麦2-3瓣,使麦皮破裂,这样可使小麦的表皮组织破裂,麦粒中的淀粉外露,易于吸收水分;

[0022] 步骤三,将65-75℃中药水加入粉碎小麦中制得培养基质,并加入65-70℃热水使整体含水量在15%,将玫瑰糖多孢菌菌液直接添加至培养基质中,进行搅拌后整体温度达到43-45℃,输送至固态发酵箱培养进行培养,经过堆积阶段、缓慢自升温发酵阶段、快速自升温发酵阶段、缓慢升温发酵阶段、降温降湿阶段后得到的散曲即为强化糖多孢菌药曲。

[0023] 在本发明的一种实施方式中,步骤一中原料小麦为当年产的小麦,必须符合软质小麦的要求,其含水量不得超过12%。

[0024] 在本发明的一种实施方式中,步骤二中每粒小麦轧碎成2-3瓣,呈梅花形,使麦粒中的淀粉外露,易于吸收水分膨胀,利用玫瑰糖多孢菌A22的生长繁殖产糖化酶和液化酶。

[0025] 在本发明的一种实施方式中,步骤三中,中草药经水煮1.5-2h后收集中药水,同时中药渣放入干燥箱进行烘干后磨碎备用。

[0026] 在本发明的一种实施方式中,步骤三中玫瑰糖多孢菌菌液的制备方法如下:

[0027] 菌种活化:将玫瑰糖多孢菌A22接种到放线菌培养基中,37℃恒温培养96h,然后从平板上挑取菌落接种到放线菌液体培养基中,在37℃,150r/min摇床培养48h制得种子液;

[0028] 随后将种子液按照3% (v/v) 的接种量再转接到放线菌液体培养基中,在37℃,150r/min摇床培养60h,获得玫瑰糖多孢菌A22菌液。

[0029] 放线菌液体培养基:硝酸钾1.0g/L、磷酸二氢钾0.5g/L,硫酸镁0.5g/L,硫酸亚铁0.01g/L,氯化钠0.5g/L,可溶性淀粉20.0g/L,pH值7.2-7.4(25℃)。

[0030] 放线菌培养基:硝酸钾1.0g/L、磷酸二氢钾0.5g/L,硫酸镁0.5g/L,硫酸亚铁0.01g/L,氯化钠0.5g/L,可溶性淀粉20.0g/L,琼脂15.0g/L,pH值7.2-7.4(25℃)。

[0031] 在本发明的一种实施方式中,所述强化药曲发酵的具体方法如下:将培养基质与菌液混合均匀后,移入发酵曲箱进行自然发酵,堆积厚度为15cm,箱盖打开5cm保持空气流通,具体流程如下:

[0032] (1) 第0-12h,堆积阶段。此过程曲心的温度从40-45℃缓慢降至30-33℃,然后开始缓慢自升温。

[0033] (2) 第12-20h,缓慢自升温发酵阶段。此过程曲块温度从30-33℃缓慢上升至37-40℃,期间隔4h通风,防止缺氧。。

[0034] (3) 第20-64h,快速自升温发酵阶段。曲心的温度从37-40℃升至46-50℃。此时糖多孢菌生长旺盛,自生温速率较快。当温度超过50℃或者湿度超过95%时,要及时翻拌通风。湿度控制在80-95%,湿度低于80%时及时使用喷雾进行补水。

[0035] (4) 第64-72h,缓慢升温发酵阶段。曲块中糖多孢菌的生长速率降低并趋于稳定,曲块整体温度维持在40-45℃。

[0036] (5) 72h后,降温降湿阶段。曲块发酵基本结束,打开风机进行通风降湿,同时倒入烘干后的中药渣搅拌均匀。

[0037] 本发明提供了一种药曲的制备方法,所述方法为:

[0038] (1) 准备原料

[0039] 小麦为基准、辣蓼草0.8-1% (w/w)、黄精0.8-1% (w/w)、黄芪0.8-1% (w/w)、党参0.8-1% (w/w)、桑叶0.8-1% (w/w)、甘草0.5-0.7% (w/w)、肉苁蓉0.5-0.7% (w/w)、肉桂0.2-0.3% (w/w)、薄荷0.3-0.5% (w/w)、强化菌剂8-12% (v/w)、清水13-16% (v/w);所述强化菌剂为玫瑰糖多孢菌(*Saccharopolyspora rosea*) CCTCC NO:M 2020952菌液;

[0040] (2) 将步骤(1)的原料前处理后混合,进行搅拌,自然发酵后得到药曲。

[0041] 在本发明的一种实施方式中,所述自然发酵为:

[0042] 第0~12h:将原料堆积至13-18cm自然发酵;

[0043] 第12~20h:自然发酵,每隔4h通风;

[0044] 第20~64h:自然发酵,温度控制在40~50℃,湿度控制在80%-95%。

[0045] 第64-72h:自然发酵,温度控制在40~45℃,湿度控制在80%-95%。

[0046] 在本发明的一种实施方式中,步骤(1)中,所述清水的温度为:65-75℃。

[0047] 在本发明的一种实施方式中,步骤(2)中,所述原料前处理为:将辣蓼草、黄精、黄芪、党参、桑叶、甘草、肉苁蓉、肉桂、薄荷经水煮1.5-2h后收集中药水,同时中药渣放入干燥箱进行烘干后磨碎,待发酵结束倒入曲中混匀;小麦粉碎。

[0048] 在本发明的一种实施方式中,所述强化菌剂的制备方法为:挑取单菌落接种至种

子培养基中,35-37℃,140-180r/min,48-72h作为一级种子液;再按照1-3%的接种量转接至种子培养基中,35-37℃,140-180r/min,培养48-72h作为强化菌剂菌液。

[0049] 本发明还提供了上述药曲在制备酒精饮料或发酵制品中的应用,所述应用为,在发酵饮品或发酵制品的酿造原料中添加所述药曲进行发酵后制备得到。

[0050] 在本发明的一种实施方式中,所述发酵饮品为发酵酒精饮料或发酵醋。

[0051] 在本发明的一种实施方式中,所述发酵酒精饮料包括但不限于黄酒、甜酒酿、米酒、清酒、果酒、保健酒、啤酒、白酒。

[0052] 在本发明的一种实施方式中,所述发酵醋包括但不限于果醋、食醋。

[0053] 在本发明的一种实施方式中,所述发酵制品为发酵食品。

[0054] 有益效果

[0055] 1、采用本发明的技术方案,制备得到的新型玫瑰糖多孢菌药曲,是对普通生麦曲的一种功能微生物强化,具有比普通生麦曲更高的糖化力和液化力。本发明工艺是对传统制曲工艺的一种创新,改变工厂熟麦曲和生麦曲搭配使用传统机械化生产黄酒的工艺,完全用强化药曲生产黄酒,可使手工黄酒生产用曲量从16-17%减少到12-13%,并且理化指标满足黄酒的国标要求。由于麦曲用量的减少,所酿黄酒的风味及外观得到改善和提高,色泽黄亮透明,风味优雅细腻,节约酿酒生产成本,提高企业经济效益。

[0056] 2、本发明采用单因素试验和响应面试验对新型玫瑰糖多孢菌接种药曲的制曲工艺进行了优化,确定了最佳的制曲工艺参数,在减少制曲时间的同时,制备出酶活高、品质好的糖多孢菌药曲,用来满足曲法酿造食品的用曲需求。采用本发明的方法,优化后的工艺制备的药曲糖化力为 $1801.41 \pm 62.15\text{U/g}$,较优化之前($1119.53 \pm 58.38\text{U/g}$)提高了61%,液化力优化之后为 $1.67 \pm 0.06\text{U/g}$,较优化之前($1.39 \pm 0.01\text{U/g}$)提高了20%。

[0057] 3、本发明将生麦曲传统发酵工艺与现代生物技术有机结合形成的自升温发酵方法,利用微生物代谢产生的生物热去维持发酵的进行,明显降低能耗,减少碳排放;由于发酵温度较高,可以抑制杂菌的生长,同时减少了后续药曲干燥的时间,因此也缩短了药曲的整个发酵时间,提高了药曲的生产效率。

[0058] 4、本发明所涉及到的自升温发酵系统十分简便,有利于进行生产整合与工业实现,其作用机制是在模拟的适宜发酵环境中进行自动化生产,进而达到提高生产效率的作用;同时利用曲房中的温度湿度控制装置来制曲,可以有效避免接种麦曲生产中的季节依赖性问题,新型(散)药曲可以现制现用,从而大大利用贮曲场地,同时减少贮曲的损失。

[0059] 5、本发明工艺添加了多种中草药,将本发明工艺所述药曲应用于酿造黄酒,可在成品酒中检测出优葛缕酮、依兰油烯、异龙脑、胡薄荷酮、丁子香酚等多种活性成分,赋予黄酒独特的风味以及保健功能。

[0060] 6、本发明所生产的新型强化药曲,不仅可以应用到黄酒,还可以应用到用于米酒、药酒、白酒等曲法酿造食品的生产中,具有广泛的应用前景。

附图说明

[0061] 图1:玫瑰糖多孢菌在接种生麦曲中自升温过程中曲心和曲表的温度变化规律(红色为曲心,绿色为曲表)。

[0062] 图2:玫瑰糖多孢菌麦曲形态

[0063] 图3:不同糖多胞菌接种药曲生长情况(a:F2006;b:F2009;c:F2017;d:F1909)

具体实施方式

[0064] 下述实施例中所涉及的红皮或黄皮软质小麦购买自无锡汇聚通粮贸、酵母菌保藏于江南大学传统酿造食品研究中心。

[0065] 本发明所述的“糖化力”是指糖化酶的酶活,“液化力”是指淀粉酶的酶活。

[0066] 下述实施例中所涉及的玫瑰糖多孢菌(*Saccharopolyspora rosea*) CCTCC NO:M 2020952记载于公开号为CN113249268A的中国发明专利申请文本中,命名为玫瑰糖多孢菌(*Saccharopolyspora rosea*)A22。

[0067] 下述实施例中所涉及的培养基如下:

[0068] 放线菌固体培养基:硝酸钾1.0g,磷酸二氢钾0.5g,硫酸镁0.5g,硫酸亚铁0.01g,氯化钠0.5g,可溶性淀粉20.0g,加蒸馏水1000mL,琼脂15g,pH 7.2-7.4,115℃灭菌20min。

[0069] 放线菌液体培养基:硝酸钾1.0g,磷酸二氢钾0.5g,硫酸镁0.5g,硫酸亚铁0.01g,氯化钠0.5g,可溶性淀粉20.0g,加蒸馏水1000mL,121℃高压灭菌20min。

[0070] 下述实施例中所涉及的中药材辣蓼草、黄精、黄芪、党参、桑叶、甘草、肉苁蓉、肉桂、薄荷、均购自利辛县玖硕农业发展有限公司;所有中药材信息如下:

[0071] 黄精:性味,甘,平;功能主治,补气养阴,健脾,润肺,益肾;用于脾胃虚弱,体倦乏力,口干食少,肺虚燥咳,精血不足,内热消渴。

[0072] 辣蓼草:性味,辛,温;归肺、肝、大肠经;功能主治,主解毒,祛湿,散瘀,止血。用于痢疾,泄泻,乳蛾,疟疾,风湿痹痛,跌打肿痛,崩漏,痈肿疔疮,瘰癧,毒蛇咬伤,湿疹,脚癣,外伤出血。

[0073] 黄芪:味甘,性微温;归脾、肺经;功能主治,主补气升阳,固表止汗,利水消肿,生津养血,行滞通痹,托毒排脓,敛疮生肌;用于气虚乏力,食少便溏,中气下陷,久泻脱肛,便血崩漏,表虚自汗,气虚水肿,内热消渴,血虚萎黄,半身不遂,痹痛麻木,痈疽难溃,久溃不敛。

[0074] 党参:性味,甘,平;功能主治,主补中,益气,生津。治脾胃虚弱,气血两亏,体倦无力,食少,口渴,久泻,脱肛。

[0075] 桑叶:味甘苦,性寒;归肝、肺经;主疏散风热,清肺润燥,清肝明目。用于风热感冒,肺热燥咳,头晕头痛,目赤昏花。

[0076] 甘草:性味,甘,平;归心、肺、脾、胃经;功能主治,补脾益气,清热解毒,祛痰止咳,缓急止痛,调和诸药。用于脾胃虚弱,倦怠乏力,心悸气短,咳嗽痰多,脘腹、四肢挛急疼痛,痈肿疮毒,缓解药物毒性、烈性。

[0077] 肉苁蓉:药性甘、咸,温,归肾、大肠经;功能主治,肉苁蓉味咸入肾,甘温补润,药力较缓,不甚燥热。入肾经,能补肾阳、益精血,入大肠经,能润肠燥、缓通便。

[0078] 肉桂:药性辛、甘,大热;归肾、脾、心、肝经;功能主治,肉桂辛甘而热,温补行散,气厚纯阳。入肾经,缓补肾阳而补火助阳或引火归元。入肝、心、脾经,消沉寒商冷而散寒止痛,温通经脉而活血散瘀。助阳不及附子,回阳救逆一般不用。既长于益阳消阴、缓补肾阳与引火归元,为补火助阳之要药;又入血分,善温通经脉,改善微循环,血瘀有寒者宜用。

[0079] 薄荷:药性辛,凉,归肺、肝经;功能主治,薄荷辛疏散,香辟秽,凉能清。入肺、肝经,既疏散风热而清利头目与咽喉、透疹,又疏肝解郁、辟秽。发汗力较强,尤善清利头目。治风

热袭表或上攻者最宜,治肝郁化热可投。

[0080] 下述实施例中所涉及的检测方法如下:

[0081] 酶活力检测:

[0082] 参考国标GB1886.174-2016中的方法对自升温糖多孢菌药曲中的 α -淀粉酶、糖化酶、蛋白酶进行检测。

[0083] 温度、湿度采用温湿度计进行测定。

[0084] 黄酒理化指标检测:

[0085] 酒精度按照国标GB13662-2018,还原糖测定采用3,5-二硝基水杨酸法进行测定,总酸参考GB 12456-2021,氨基酸态氮参考GB/T 34532-2017进行测定。

[0086] 风味物质检测:

[0087] 采用全二维气相色谱与飞行时间质谱联用(GC×GC-TOFMS)来检测药曲中风味物质。

[0088] 下述实施例中所涉及的风味物质的检测:

[0089] (1) 检测方法

[0090] 采用全二维气相色谱与飞行时间质谱联用(GC×GC-TOFMS)来检测药曲中风味物质

[0091] (2)HS-SPME提取药曲中的挥发性化合物

[0092] 取2g药曲样品与5m L超纯水于20mL顶空瓶中,加入3g氯化钠和10 μ L内标(82mg/L 2-辛醇溶液)后迅速旋上瓶盖。样品由PAL RTC系统自动进样,平衡15min后吸附30min,萃取温度50℃,解吸时间5min。

[0093] (3)HS-SPME提取黄酒中的挥发性化合物

[0094] 取3m L黄酒样品与3m L超纯水于20mL顶空瓶中,加入3g氯化钠和10 μ L内标(82mg/L 2-辛醇溶液)后迅速旋上瓶盖。样品由PAL RTC系统自动进样,平衡15min后吸附30min,萃取温度50℃,解吸时间5min。

[0095] (4)GC×GC-TOFMS仪器条件

[0096] GC×GC条件:一维色谱柱TR-FFAP,二维色谱柱Rxi-17sil MS。进样口温度250℃,不分流进样。以高纯氦气作为载气,恒流模式流量1mL/min。初始温度40℃保持2min,然后以5℃/min的速率升温至230℃并保持7min。调制器调制时间4s,热脉冲时间1.2s。二维柱温箱的温度全程比一维柱温箱高5℃。

[0097] TOFMS条件:采用EI离子源,电离能量70eV,离子源温度280℃,传输线温度240℃,检测器电压1400eV,采集质量数范围(m/z)为33-400amu,采集频率100spectrum/s。

[0098] (5)GC×GC-TOFMS定性及半定量分析

[0099] 使用LECO ChormaTOF软件采集和处理GC×GC-TOFMS数据。将一维和二维的峰宽分别设置为1和0.06s进行自动积分解卷积,与NIST 2017和Wiley 9数据库进行谱库比对,识别相似度>700的色谱峰。C7~C30正构烷烃与样品在相同条件下进样以计算每种化合物的保留指数(retention index, RI),并与NIST在线数据库(<https://webbook.nist.gov/>)中RI参考值比对,取RI相差50以内的化合物。最后取每组样品中出现率在50%以上的化合物作为定性结果。定性后的化合物使用内标法进行半定量分析。

[0100] 下述实施例中所涉及的曲安全性评价及功能分析如下

[0101] (1) 药曲安全性评价

[0102] 参照药食同源(食药物质)目录大全(2023年1月31日修订),党参、黄芪、肉苁蓉位于可用于保健食品的中药名单,肉桂、黄精、薄荷、陈皮、桑叶、甘草位于既是食品又是药品的中药名单,在限定使用范围和剂量内可以食药两用。

[0103] (2) 药曲功能分析

[0104] 使用所述配方制得的糖多孢菌药曲,提高了原曲的活性,丰富了曲中的营养物质;使用糖多孢菌药曲来酿酒,不仅可以促进酿制过程中酵母菌等有益菌生长,还能增加药香味,使酒的风味更加独特,酒的品质也可以得到保证。

[0105] 实施例1:玫瑰糖多孢菌药曲(散曲)制作(中药磨碎拌入)

[0106] (1) 玫瑰糖多孢菌菌液的制备

[0107] 将玫瑰糖多孢菌A22接种到放线菌培养基中,37℃恒温培养96h,然后从平板上挑取菌落接种到放线菌液体培养基中,在37℃,150r/min摇床培养48h制得种子液。

[0108] 将种子液按3%(v/v)接种量接种到6L放线菌液体培养基中,37℃,150r/min摇床培养48h得到糖多孢菌菌液,并留小瓶作为新的种子液。

[0109] (2) 培养基质的制备

[0110] 1) 从无锡汇聚通粮贸购买红皮或黄皮软质小麦,小麦磨碎过筛,粉碎时确保每粒小麦粉碎至3-5片,呈梅花形,然后准确称取50kg备用。

[0111] 2) 中药的前处理:

[0112] 将采用的中药掰成小块,分别放入锅中炒干,使用粉碎机磨成粉装入密封袋中备用。

[0113] 称取处理后的500g辣蓼草(1%)、500g黄精(1%)、500g黄芪(1%)、500g党参(1%)、500g桑叶(1%)、300g甘草(0.6%)、300g肉苁蓉(0.6%)、150g肉桂(0.3%)、250g薄荷(0.5%),加入步骤1)得到的50kg粉碎小麦中,然后添加65℃去离子水7.5L,拌匀后整体温度达到45℃,即得培养基质,无需降温,直接做接种菌株的基质。

[0114] (3) 将步骤(1)中的糖多孢菌液按10%(v/v)的接种量(5L)接种到步骤(2)得到的培养基质中,然后移入发酵曲箱,堆积至13cm左右,箱盖打开5cm保持空气流通,进行自然发酵72h,具体流程如下:

[0115] 第0-12h,堆积阶段(不做处理)。此过程中,由于自然发酵,曲心的温度从40-45℃缓慢降至30-33℃,然后开始缓慢自升温。

[0116] 第12-20h,每隔4h通风,防止缺氧。此阶段仅做通风处理,由于自然发酵,药曲进行缓慢自升温发酵,曲块温度从30-33℃缓慢上升至37-40℃。

[0117] 第20-64h,箱盖完全打开,控制温度和湿度:当温度超过50℃或者湿度超过95%时,要及时翻拌通风;湿度控制在80-95%,湿度低于80%时及时使用喷雾进行补水;此阶段为快速升温发酵阶段,该阶段自然发酵过程中曲心的温度从37-40℃升至46-50℃。此时糖多孢菌生长旺盛,自生温速率较快。

[0118] 第64-72h,自然发酵(不做处理)。此阶段的曲块中糖多孢菌的生长速率降低并趋于稳定,曲块整体温度维持在40-45℃。

[0119] 72h后,降温降湿阶段。曲块发酵基本结束,打开风机进行通风降湿,同时倒入烘干后的中药渣搅拌均匀。

[0120] 从第20~72h的发酵期间,实时监测温度湿度,及时进行调整,使温度保持在45℃左右,超过50℃需要及时打开风机通风;湿度控制在80%-95%,湿度超过95%及时通风排湿,湿度低于80%使用喷雾进行增湿。待发酵结束后,分批次放进烘箱烘干,得到糖多孢菌药曲(图1~图2)。

[0121] (5) 酶活测定

[0122] 称取1.00g上述制备得到的糖多孢菌药曲(计算时换算成绝干曲),精确至0.001g,置于10mL经过高压蒸汽灭菌的离心管中,加入10mL乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH 4.6,0.2M),于30℃浸提1h,将浸提液经10000r/min,4℃下离心10min,取上清液即为粗酶液,分别测定糖化酶和液化酶活力,结果分别为:1282.86±102.29U/g绝干麦曲、1.49±0.12U/g绝干麦曲;其蛋白酶活力:88.52±1.42U/g绝干麦曲(如表1所示)。

[0123] 对比例1:未添加中草药糖多孢菌生麦曲制作

[0124] 一种糖多孢菌麦曲的制作,包括以下原料:小麦50kg、强化菌剂5L、清水7.5L。

[0125] 具体工艺步骤为:

[0126] (1) 玫瑰糖多孢菌菌液的制备

[0127] 将玫瑰糖多孢菌A22接种到放线菌培养基中,37℃恒温培养96h,然后从平板上挑取菌落接种到放线菌液体培养基中,在37℃,150r/min摇床培养48h制得种子液。

[0128] 将种子液按3%(v/v)接种量接种到6L放线菌液体培养基中,37℃,150r/min摇床培养48h得到糖多孢菌菌液,并留小瓶作为新的种子液。

[0129] (2) 培养基质的制备

[0130] 从无锡汇聚通粮贸购买红皮或黄皮软质小麦,小麦磨碎过筛,粉碎时确保每粒小麦粉碎至3-5片,呈梅花形,然后准确称取50kg备用。

[0131] 将去离子水煮至温度65℃左右,按15%(v/v)的量(7.5L)倒入称量好的粉碎小麦中,拌匀即得培养基质。

[0132] (3) 将步骤(1)中的糖多孢菌液按10%(v/v)的接种量(5L)接种到步骤(2)得到的培养基质中,然后移入发酵曲箱,堆积至13cm左右,箱盖打开5cm保持空气流通,进行自然发酵72h,具体流程如下:

[0133] 第0-12h,堆积阶段(不做处理)。此过程中,由于自然发酵,曲心的温度从40-45℃缓慢降至30-33℃,然后开始缓慢自升温。

[0134] 第12-20h,每隔4h通风,防止缺氧。此阶段仅做通风处理,由于自然发酵,药曲进行缓慢自升温发酵,曲块温度从30-33℃缓慢上升至37-40℃。

[0135] 第20-64h,箱盖完全打开,控制温度和湿度:当温度超过50℃或者湿度超过95%时,要及时翻拌通风;湿度控制在80-95%,湿度低于80%时及时使用喷雾进行补水;此阶段为快速升温发酵阶段,该阶段自然发酵过程中曲心的温度从37-40℃升至46-50℃。此时糖多孢菌生长旺盛,自生温速率较快。

[0136] 第64-72h,自然发酵(不做处理)。此阶段的曲块中糖多孢菌的生长速率降低并趋于稳定,曲块整体温度维持在40-45℃。

[0137] 72h后,降温降湿阶段。曲块发酵基本结束,打开风机进行通风降湿,同时倒入烘干后的中药渣搅拌均匀。

[0138] 从第20~72h的发酵期间,实时监测温度湿度,及时进行调整,使温度保持在45℃

左右,超过50℃需要及时打开风机通风;湿度控制在80%-95%,湿度超过95%及时通风排湿,湿度低于80%使用喷雾进行增湿。待发酵结束后,分批次放进烘箱烘干,得到糖多孢菌麦曲。

[0139] (2) 酶活测定

[0140] 称取1.00g麦曲(计算时换算成绝干曲),精确至0.001g,置于10mL经过高压蒸汽灭菌的离心管中,加入10mL乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH4.6,0.2M),于30℃浸提1h,将浸提液经10000r/min,4℃下离心10min,取上清液即为粗酶液,测定糖化酶和液化酶活力,分别为:1119.53±58.38U/g绝干麦曲、1.39±0.01U/g绝干麦曲(如表1所示)。

[0141] 实施例2:玫瑰糖多孢菌药曲(散曲)制作

[0142] (1) 玫瑰糖多孢菌菌液的制备

[0143] 将玫瑰糖多孢菌A22接种到放线菌培养基中,37℃恒温培养96h,然后从平板上挑取菌落接种到放线菌液体培养基中,在37℃,150r/min摇床培养48h制得种子液。

[0144] 取种子液按3%(v/v)接种量接种到8L放线菌液体培养基中,37℃,140r/min摇床培养48h得到糖多孢菌菌液,并留小瓶作为新的种子液。

[0145] (2) 培养基质的制备

[0146] 1) 从无锡汇聚通粮贸购买红皮或黄皮软质小麦,小麦磨碎过筛,粉碎时确保每粒小麦粉碎至3-5片,呈梅花形,然后准确称取70kg备用。

[0147] 2) 中药的前处理:

[0148] 分别称取700g辣蓼草(1%)、700g黄精(1%)、700g黄芪(1%)、700g党参(1%)、700g桑叶(1%)、420g甘草(0.6%)、420g肉苁蓉(0.6%)、210g肉桂(0.3%)、350g薄荷(0.5%),拌匀,用纱布包裹后置于10.5L去离子水中煮1.5h,得到煮好的中药水;

[0149] 将煮好的中药水按照15%(v/v)的质量体积比,称量体积后加入步骤1)得到的70kg粉碎小麦中,然后添加65℃去离子水至水的总量为10.5L,拌匀即得培养基质,无需降温,直接做接种菌株的基质。

[0150] (3) 将步骤(1)中的糖多孢菌液按10%的接种量(7L)接种到步骤(2)得到的培养基质中,整体温度达到43-46℃,随后放入发酵曲箱中堆积至15cm左右,箱盖打开5cm保持空气流通,自然发酵72h。具体流程如下:

[0151] 第0-12h,堆积阶段(不做处理)。此过程中,由于自然发酵,曲心的温度从40-45℃缓慢降至30-33℃,然后开始缓慢自升温。

[0152] 第12-20h,每隔4h通风,防止缺氧。此阶段仅做通风处理,由于自然发酵,药曲进行缓慢自升温发酵,曲块温度从30-33℃缓慢上升至37-40℃。

[0153] 第20-64h,箱盖完全打开,控制温度和湿度:当温度超过50℃或者湿度超过95%时,要及时翻拌通风;湿度控制在80-95%,湿度低于80%时及时使用喷雾进行补水;此阶段为快速升温发酵阶段,该阶段自然发酵过程中曲心的温度从37-40℃升至46-50℃。此时糖多孢菌生长旺盛,自生温速率较快。

[0154] 第64-72h,自然发酵(不做处理)。此阶段的曲块中糖多孢菌的生长速率降低并趋于稳定,曲块整体温度维持在40-45℃。

[0155] 72h后,降温降湿阶段,曲块发酵基本结束,打开风机进行通风降湿,同时倒入烘干后的中药渣搅拌均匀。

[0156] 从第20~72h的发酵期间实时监测温度湿度,及时进行调整,使温度保持在45℃左右,超过50℃需要及时打开风机通风;湿度控制在80%-95%,湿度超过95%及时通风排湿,湿度低于80%使用喷雾进行增湿。待发酵结束后,分批次放进烘箱烘干,得到糖多孢菌药曲。

[0157] (5) 酶活测定

[0158] 称取1.00g上述制备得到的糖多孢菌(计算时换算成绝干曲),精确至0.001g,置于10mL经过高压蒸汽灭菌的离心管中,加入10mL乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH4.6,0.2M),于30℃浸提1h,将浸提液经10000r/min,4℃下离心10min,取上清液即为粗酶液,测定待测产酶菌株的糖化酶和液化酶活力,分别为 1801.41 ± 62.15 U/g绝干麦曲、 1.67 ± 0.06 U/g绝干麦曲,其蛋白酶活力: 84.28 ± 3.69 U/g绝干麦曲(如表1所示)。

[0159] 表1:实施例1、对比例1和实施例2的糖化酶和液化酶活力对比

	项目	糖化力 (U/g 绝干麦曲)	液化力 (U/g 绝干麦曲)	蛋白酶活力 (U/g 绝干麦曲)
[0160]	对比例 1	1119.53±58.38	1.39±0.01	-
	实施例 1	1282.86±102.29	1.49±0.12	88.52±1.42
	实施例 2	1801.41±62.15	1.67±0.06	84.28±3.69

[0161] 实施例3:玫瑰糖多孢菌麦曲工业化扩培

[0162] (1) 玫瑰糖多孢菌菌液的制备

[0163] 将玫瑰糖多孢菌A22接种到放线菌培养基中,37℃恒温培养96h,然后从平板上挑取菌落接种到放线菌液体培养基中,在37℃,150r/min摇床培养48h制得种子液。

[0164] 取种子液按3% (v/v) 接种量接种到放线菌液体培养基中,37℃,180r/min摇床培养48h得到糖多孢菌菌液,并留两小瓶作为新的种子液。

[0165] (2) 菌液在发酵罐中的培养

[0166] 所用发酵罐为30-3000L发酵罐。发酵罐经设备排空、空消后倒入15L高氏一号液体培养基,120℃进行实消。实消结束后,待罐内温度降至37℃后,按5%的接种量(750mL)接种步骤(1)得到的糖多孢菌菌液。接种时在进料口放置火圈,慢慢将糖多孢菌菌液倒入发酵罐内。于37℃恒温培养60-72h,培养过程中每隔24h取样进行镜检,并控制溶氧在3.0以上。

[0167] (3) 发酵曲箱培养基质的制备

[0168] 1) 小麦处理:选取当年的优质红皮小麦制作麦曲,将清理过的小麦,通过轧麦机轧碎至每粒小麦2-3瓣,使麦皮破裂,麦粒中的淀粉外露。筛去粉碎过程中掉落的淀粉,称取50kg备用。

[0169] 2) 润料:向小麦中加入质量分数35% (以生麦子量计算,下同) 的水(17.5L,温度60-65℃),混合均匀,润料2h使麦粒充分吸水。

[0170] 3) 蒸料:使用蒸饭柜将步骤2)得到的麦子蒸熟,控制时间在40-45min。蒸好后待料温降至40-45℃备用。

[0171] (4) 发酵

[0172] 1) 接种:将步骤(2)培养好的玫瑰糖多孢菌菌液接种至步骤(3)得到的发酵曲箱培养基质中,接种量为5% (w/v),搅拌均匀。

[0173] 2) 发酵:拌匀后将其装袋移入发酵曲箱进行自然发酵72h,厚度为13cm,箱盖打开

保持空气流通。具体流程如下:

[0174] 第0-12h,堆积阶段(不做处理)。此过程中,由于自然发酵,曲心的温度从40-45℃缓慢降至30-33℃,然后开始缓慢自升温。

[0175] 第12-20h,每隔4h通风,防止缺氧。此阶段仅做通风处理,由于自然发酵,药曲进行缓慢自升温发酵,曲块温度从30-33℃缓慢上升至37-40℃。

[0176] 第20-64h,控制温度和湿度:当温度超过50℃或者湿度超过95%时,要及时翻拌通风;湿度控制在80-95%,湿度低于80%时及时使用喷雾进行补水。此阶段为快速升温发酵阶段,该阶段自然发酵过程中曲心的温度从37-40℃升至46-50℃。此时糖多孢菌生长旺盛,自生温速率较快。

[0177] 第64-72h,自然发酵(不做处理)。此阶段的曲块中糖多孢菌的生长速率降低并趋于稳定,曲块整体温度维持在40-45℃。

[0178] 72h后,降温降湿阶段,曲块发酵基本结束,打开风机进行通风降湿,同时倒入烘干后的中药渣搅拌均匀。

[0179] 从第20~72h的发酵期间实时监测温度湿度,及时进行调整,使温度保持在45℃左右,超过50℃需要及时打开风机通风;湿度控制在80%-95%,湿度超过95%及时通风排湿,湿度低于80%使用喷雾进行增湿。待发酵结束后,分批次放进烘箱烘干,得到糖多孢菌熟麦曲。

[0180] 此实施例主要用于糖多孢菌麦曲的工业化扩培。

[0181] 实施例4:不同配方的中药酒曲的制备

[0182] 具体实施方式同实施例2,区别在于,调整步骤(2)中的中药配方分别为:配方1~3,同时调整小麦用量为5kg;具体如下:

[0183] (1) 配方1:

[0184] 辣蓼草1%,黄精1%,黄芪1%,党参1%,桑叶1%,甘草0.6%,迷迭香0.3%,肉桂0.3%。

[0185] 发酵72h结果:药曲温度没有明显上涨,区块中夹杂着少量的霉菌菌丝,曲块表面只有少量白色菌丝,说明该配方会抑制糖多孢菌生长。配方1得到的药曲糖化力、液化力分别为 794.30 ± 41.08 、 0.93 ± 0.03 U/g绝干麦曲(如表2所示)。

[0186] (2) 配方2:

[0187] 辣蓼草1%,黄精1%,黄芪1%,党参1%,桑叶1%,甘草0.6%,迷迭香0.3%,薄荷0.5%。

[0188] 发酵72h结果:曲块表面只有少量白色菌丝,说明该配方会抑制糖多孢菌生长。配方2得到的药曲糖化力、液化力分别为 748.53 ± 10.83 、 0.32 ± 0.10 U/g绝干麦曲(如表2所示)。

[0189] (3) 配方3:

[0190] 辣蓼草1%,黄精1%,黄芪1%,党参1%,桑叶1%,甘草0.6%,肉桂0.3%,薄荷0.5%。

[0191] 发酵72h结果:曲块升温较慢,12h后温度达到45℃,最高可达到50℃,且曲块中心较白,且曲块中心较白,说明在该配方下糖多孢菌可以大量生长。配方3得到的药曲糖化力、液化力分别为 1345.58 ± 12.30 、 1.37 ± 0.06 U/g绝干麦曲(如表2所示)。

[0192] 表2:不同配方药曲糖化力、液化力对比

	项目	糖化力(U/g 绝干麦曲)	液化力(U/g 绝干麦曲)
[0193]	配方 1	794.30±41.08	0.93±0.03
	配方 2	748.53±10.83	0.32±0.10
	配方 3	1345.58±12.30	1.37±0.06

[0194] 实施例5:不同中药添加量的中药酒曲的制备

[0195] 具体实施方式同实施例2,区别在于,调整步骤(2)中的中药配方分别为:配方1~4,具体如下:

[0196] (1) 配方1:

[0197] 420g辣蓼草(0.6%)、420g黄精(0.6%)、420g黄芪(0.6%)、420g党参(0.6%)、420g桑叶(0.6%)、210g甘草(0.5%)、210g肉苁蓉(0.5%)、210g肉桂(0.5%)、210g薄荷(0.5%)。

[0198] 发酵72h结果:曲块中有少量霉菌生长,可能是由于辣蓼草添加不足,辣蓼草可以为糖多孢菌提供丰富的营养素,尤其是黄酮类物质,而且对于其他杂菌也有一定的抑制作用。发酵完成后整体药香味很淡,应考虑适当增加中药量,提升药曲整体风味。

[0199] (2) 配方2:

[0200] 560g辣蓼草(0.8%)、560g黄精(0.8%)、560g黄芪(0.8%)、560g党参(0.8%)、560g桑叶(0.8%)、560g甘草(0.8%)、560g肉苁蓉(0.8%)、560g肉桂(0.8%)、560g薄荷(0.8%)。

[0201] 发酵72h结果:曲块中白色菌丝明显,但肉桂与薄荷风味明显胜过其他中草药风味,推测是肉桂醛、薄荷醇以及乙酸薄荷酯等挥发性物质含量较高,掩盖了其他中草药风味,考虑可以适当减少三者的用量,使药曲风味更加协调。

[0202] (3) 配方3:

[0203] 700g辣蓼草(1%)、700g黄精(1%)、700g黄芪(1%)、700g党参(1%)、700g桑叶(1%)、420g甘草(0.6%)、700g肉苁蓉(1%)、350g肉桂(0.5%)、350g薄荷(0.5%)。

[0204] 发酵72h结果:曲块中白色菌丝较多,肉桂风味明显,考虑继续减少肉桂用量;肉苁蓉一般呈块状,且黏度较高,营养成分难以浸出,因此用剪刀剪成小条状,减少用量,提高其利用率,节约成本。

[0205] (4) 配方4:

[0206] 700g辣蓼草(1%)、700g黄精(1%)、700g黄芪(1%)、700g党参(1%)、700g桑叶(1%)、420g甘草(0.6%)、420g肉苁蓉(0.6%)、210g肉桂(0.3%)、350g薄荷(0.5%)。

[0207] 发酵72h结果:曲块中白色菌丝较多,没有肉眼可见的霉菌,整体风味较好。风味物质检测结果如表3所示。

[0208] 表3:糖多孢菌药曲风味物质检测结果

[0209]

糖多孢菌生药曲		黍米黄酒	
风味物质	含量 (μg/kg)	风味物质	含量 (μg/L)
DL-薄荷醇	419.55±20.74	2-甲基十六烷酸甲酯	292.40
2-甲基戊酸甲酯	271.87±13.00	薄荷酮	249.55
左旋薄荷酮	149.08±68.19	9-氧代壬酸异丙酯	242.45
氯甲酸正己酯	139.46±59.53	壬二酸二乙酯	238.44±53.50
邻羟基肉桂酸(邻香豆酸)	295.18±120.48	DL-薄荷醇	209.84±33.20
异薄荷酮	90.74±31.73	丙酸 4-乙基苯酯	186.64±5.88
顺式肉桂酸甲酯	133.93±14.06	2-氯壬酯乙酸酯	170.27
1-环丙基戊烷	87.21 ±17.43	8-丙氧基柏木烷	119.06±23.01
愈创奥	64.97±6.78	9-十五烯酸乙酯	114.24
异香兰素	23.36±8.80	氯甲酸正己酯	110.67±4.68

[0210]

2-乙基环丁醇	21.59±1.94	2-羟基-4-甲基戊酸	106.52±11.38
4-异丙基苯酚	25.74±12.90	(+)-异薄荷酮	101.11±107.68
5-(羟基甲基)二氢呋喃-2(3H)-酮	9.57±2.62	2-(1-氧代丙基)苯甲酸甲酯	90.36
五甘醇	2.74±1.11	4-羟基苯丙醛	82.03±23.65
三甘醇	5.25±2.72	氯甲酸正庚酯	76.15
2,5-二甲基-3-(1-甲基)丁基吡嗪	479.05±174.33	8-壬烯酸乙酯	75.64±17.58
α -依兰油烯	285.68±1.28	异胡薄荷醇	57.03
乙酰水杨酸甲酯	114.10±89.36	8-甲基壬酸	43.75±33.75
丁子香酚	209.72±23.21	甲基 4-羟基丁酸酯	37.49
4-甲氧基-3-甲基苯酚	186.84±7.86	胡薄荷酮	33.24±17.21
顺式-1,2-二甲基环戊烷	102.70±18.87	优葛缕酮	31.71
9-十五烯酸乙酯	110.60±3.56	5-甲基壬酸乙酯	30.01±5.01
苯丙二醇	113.07±2.10	左旋香芹酮	29.24±28.95
烟味糖酯	89.05±5.00	马鞭草烯酮	28.17
1,3-二甲基环己烯	94.59±12.82	5-(羟基甲基)二氢呋喃-2(3H)-酮	21.62
2,4-二甲基己酸甲酯	70.89±6.24	10-十一烯酸乙酯	20.37±8.50
4-(羟基甲基)苯乙酮	60.14	2-甲基-3-丁烯酸十六烷基酯	19.54
甘菊蓝	51.50±8.00	异龙脑	17.66±8.55
3-羟基苯乙酮	33.27±14.01	2-溴-4'-甲基苯乙酮	17.35
苯基丁二酸	35.48±5.66	5-甲基己酸乙酯	12.04±6.77
4-甲基-3-庚醇	40.43±1.24	4-羟基丁酸乙酰酯	11.92±2.60
3-乙基-1,4-己二烯	30.11±1.93	愈创奥	11.89±7.71
2-乙基 4-甲基 1-戊醇	34.53±5.26	4(15),5,10(14)-大根香叶三烯-1-醇	11.66
丙二酰胺	28.82	2-甲基-6-(3-甲基丁基)吡嗪	9.33±6.38
1-十二炔	27.60±2.47	2,5-二甲基-4-己烯-3-醇	7.68±3.64
4,3-二甲基-6-辛酮	15.36±9.43	己二酸二异丙酯	7.32±5.60
原甲酸三异丁酯	23.24±0.86	甲酸正癸酯	7.12±0.76
4-仲丁基苯酚	13.71	仲丁基醚	7.02
甲酸正癸酯	15.25±2.34	癸酸乙酯	6.50±5.99
α -D-吡喃半乳糖苷	7.71±3.11	5H-环戊并吡啶	6.46±0.38
2,4-二甲基戊酸甲酯	10.55	3-乙基-1,4-己二烯	6.30
α -荜澄茄油烯	10.10±0.01	4-叔丁基苯丙酮	5.46±4.16
3,3-二甲基-2-戊醇	7.23	2-乙基庚酸	5.29
2,8-二甲基癸酸甲酯	6.06	甲基肉桂醛	5.18
3-乙酰基吡咯	6.40±0.60	苯甲酸-2-氯乙酯	4.97±4.58
2,1-二甲基吡啶酮	5.72	司莫司汀	4.94±2.02
9-羟基-2-壬酮	7.36±2.91	原甲酸三异丁酯	4.86
4-乙酰基-2-丁酮	4.23	3-甲基-2,5-二酮	4.69
环庚三烯酮	4.33±0.17	3-(溴甲基)环己烯	4.38

[0211]

2,3-二氢呋喃	3.54±0.01	香芹醇	4.21
4-甲基-GAMMA-丁内酯	3.32	3-羟基苜蓿	4.20
3-溴-2-戊醇	4.27±1.13	4-羟基-2-丁酮	3.99±2.76
3-(乙硫基)吡啶	3.34±0.23	顺式菊醇	3.48
2-苯基丙烯腈	6.75±3.75	4-甲氧基-3-甲基苯酚	3.16±0.92
异榄香脂素	2.79±0.14	3,5-辛二烯-2-醇	3.13±1.43
D-木糖	2.65	苯丙氨酯	3.11±0.72
苯甲酰胺	2.85±0.43	D-异薄荷醇	3.05
山梨酸乙烯酯(含对羟基苯甲醚阻聚剂)	1.99	α -依兰油烯	2.98
苯甲酸-2-氯乙酯	4.22±2.54	4-甲基辛酸乙酯	2.46±1.02
2-甲酰氨基苯甲酸甲酯	1.61	A, B-二甲基联苄	2.22±0.52
巴豆酸乙烯酯	1.18	2-甲氧基己酯乙酸	2.08±0.59
4-羟基丁酸乙酯	1.77	4-异丙基苯酚	2.03±0.47
		O-丁子香酚	1.63±0.04
		2-丙基四氢呋喃	1.62
		乙烯二乙酯	1.46
		4-甲基-1,5-庚二烯	1.37
		3-乙基-2,2-二甲基环丙烷羧酸	1.35
		异香兰素	1.17±0.27
		2,2-二甲基-1,3-二氢茚	1.16
		2-甲基己酸甲酯	1.14
		2-氯-2-苯基苯乙酮	1.08
		2-(1E)-1-戊烯-1-基呋喃	1.02±0.28
		2-呋喃辛酸甲酯	1.00±0.50
		5-乙酰基-2-甲基吡啶	0.95±0.19
		3,3-二甲基-1,6-庚二烯	0.89
		磷酸三辛酯	0.85
		1-乙基环己醇	0.83
		2-甲基-3-己炔	0.69±0.16
		1-[(4-甲氧基苯基) 甲基]-3,3-二甲基二噻啉	0.68
		3-亚甲基环戊烯	0.64
		1H-咪唑-5-乙酸丁酯	0.61
		甲基-邻(2-甲基丙基)酯硫代磷酸酯	0.56
		5,10-十五碳二烯酸	0.54
		1-亚甲基-3-异丙基环己烷	0.54
		美夫西特	0.49
		3-甲基庚烷-2-醇	0.47±0.12
		四氢-5-氧代-2-呋喃羧酸	0.33

[0212]

		辛酸糠酯	0.24
--	--	------	------

[0213] 实施例6:不同菌株发酵得到的中药酒曲

[0214] 具体实施例同实施例2,区别在于,步骤(1)中的玫瑰糖多孢菌A22替换为其他几株淀粉酶与蛋白酶活力相对较高的菌株,分别为F2006、F2009、F2017、F1909,均公开于:论文

《优良玫瑰糖多孢菌的选育及在黄酒应用上促进发酵机理解析》中。

[0215] 结果如下(具体发酵情况见附图3)表4所示:

[0216] 表4:不同菌株发酵情况对比

	菌株	接种药曲发酵完成结果
	F2006	发酵结束白色菌丝很少,发酵过程易染霉菌,整体质量较差
[0217]	F2009	自生温能力低,长势较差
	F2017	发酵结束白色菌丝很少,发酵过程易染霉菌
	F1909	温度上升缓慢,轻微染霉现象

[0218] 实施例7:不同的发酵条件得到的酒曲

[0219] (1) 发酵条件1

[0220] 具体实施例同实施例2,区别在于,步骤(2)中所用麦子质量为30kg,中药水与糖多孢菌菌液比例不变,在发酵曲箱中堆积厚度为8cm。

[0221] 结果:由于堆积厚度过薄,堆积过程药曲温度升不上来,导致整个发酵过程药曲温度在28℃-33℃,糖多孢菌生长受到抑制,药曲表面与四周均有霉菌产生。

[0222] (2) 发酵条件2

[0223] 具体实施例同实施例2,区别在于,步骤(2)中所用麦子质量为30kg,中药水与糖多孢菌菌液比例不变;步骤(3)中糖多孢菌接种到培养基质后,直接装袋放入恒温恒湿培养箱进行辅助升温、控温(培养箱设定条件:温度45℃,湿度80%),培养72h,期间实时监测药曲内部温度与湿度。

[0224] 结果:由于在培养箱中较难翻动,导致药曲内部温度过高,最高可达63℃,糖多孢菌生长受到抑制,酶活较低;且培养箱内部湿度过大,内壁易产生冷凝水,冷凝水与袋子接触后使局部湿度过大导致霉菌生长。

[0225] (3) 发酵条件3

[0226] 具体实施例同实施例2,区别在于,步骤(2)中所用麦子质量为45kg,中药水与糖多孢菌菌液比例不变,并在步骤(3)中糖多孢菌接种到培养基质后,直接装入袋子中放入恒温恒湿培养箱(培养箱设定条件:温度45℃,湿度80%)培养12h进行辅助升温,待药曲温度升至50℃后,移入发酵曲箱培养60h,堆积厚度为12cm,并在药曲表面铺上草席保温。

[0227] 具体流程如下:

[0228] 第0-12h,辅助升温阶段。此过程在恒温恒湿培养箱内进行辅助升温,待曲心的温度从35-40℃升至50℃,并迅速将曲块移入发酵曲箱中堆积自然发酵,表面铺上草席保温。

[0229] 第12-64h,自升温发酵阶段。此过程曲块温度生长较快,开始进行自升温发酵。当温度超过50℃或者湿度超过95%时,要及时翻拌通风,温度低于37℃时打开加热装置辅助升温,控制整体温度在37-45℃。湿度控制在80-95%,湿度低于80%时及时使用喷雾进行补水。

[0230] 第64-72h,缓慢升温发酵阶段。这个阶段,曲块中糖多孢菌的生长速率降低并趋于稳定,曲块整体温度维持在35-40℃。

[0231] 72h后,降温降湿阶段。曲块发酵基本结束,打开风机进行通风降湿,同时倒入烘干

后的中药渣搅拌均匀。

[0232] 结果:药曲可以正常升温,但药曲在经过几次翻动之后,温度降至37℃以下并且难以上升,需要辅以加热装置协助升温;另外,使用恒温恒湿培养箱生产药曲难以应用在工业生产中,发酵条件需要进一步改进。

[0233] (4) 发酵条件4

[0234] 具体实施例同实施例2,区别在于,步骤(2)中所用麦子质量为90kg,中药水与糖多孢菌菌液比例不变,在发酵曲箱中堆积厚度为20cm。

[0235] 结果:药曲升温较快,但堆积厚度太高导致曲块内部温度太高,最高可达60℃以上,温度难以控制,需要经常翻动来降低温度,不适合人工作曲,发酵条件需要进一步改进。

[0236] (5) 发酵条件5

[0237] 具体实施例同实施例2。

[0238] 结果:药曲升温曲线正常,发酵结束时杂菌很少,药曲质量好,且发酵过程温度易控制,可应用于工业生产中。

[0239] 实施例8:糖多孢菌药曲在黄酒中的应用

[0240] 其中下述强化药曲为实施例4制备得到的。

[0241] (1) 酵母活化:将甘油管中的酵母菌,在无菌室内进行平板划线,在28℃培养箱中恒温培养48h。在无菌室内将平板上的酵母菌单菌落接入YPD培养基中,接种在无菌状态中进行,在30℃中恒温培养36-48h,温度控制在28-30℃,不超过30℃。即可作为YPD菌液投料。

[0242] (2) 酒母制备:首先制备糖化液,将糯米放入浸米罐中浸米30min,将米浆水倒掉后蒸饭30-40min,将蒸好的米饭冷却至温度为60℃备用,加入2‰糖化酶和1‰液化酶,搅拌均匀后放入水浴锅60℃恒温糖化约4h以上,每隔1h左右搅拌一次,使其糖化均匀。将糖化液用纱布过滤得到糖液后加水稀释至13±0.5°Bx(20℃)。灌入瓶中加封口膜,放入灭菌锅121℃杀菌20min,取出冷却待用。将经培养后的酵母菌液,按照5%的接种比例转接到大米糖化液中,再恒温培养36-48h,即可用于投料。

[0243] (3) 黄酒发酵:按照表5黄酒酿造配料表进行落料。总发酵时间为20天左右。发酵过程注意开耙,前发酵温度控制在33℃以下,后发酵温度控制15±2℃左右。前发酵的温度为28℃,总共发酵5d;每天开耙两次;后发酵的发酵温度为15℃,发酵15d;5d开耙一次。发酵后的黄酒前酵指标如表4所示、后酵理化指标如表5所示,风味物质如表3所示。

[0244] 表5:黄酒酿造配料表

	名称	质量	比例%(糯米为基准)
	糯米	1000 g	基准
	米饭	1500 g	150
[0245]	酿造用水	1100 mL	110
	药曲	50 g	5
	山西大曲	110 g	11
	酒母	106.6 mL	10.66

[0246] (4) 前酵指标

[0247] 表6: 黍米酒前酵指标

	项目	酒精度/Vol	总酸/g/L	氨氮/g/L	总糖/g/L
[0248]	50 kg	13.75±0.23	5.02±0.43	0.33±0.013	49.68±1.46
	70 kg	14.08±0.67	5.42±0.12	0.43±0.007	46.3±0.86

[0249] (5) 后酵指标

[0250] 表7: 黍米酒后酵指标

	项目	酒精度/Vol	总酸/g/L	氨氮/g/L	总糖/g/L
[0251]	50 kg	15.83±1.70	6.21±1.57	0.53±0.023	33.4±0.85
	70 kg	15.17±0.47	6.59±0.03	0.57±0.018	31.4±1.18

[0252] 实施例9: 玫瑰糖多孢菌药曲在酱油酿造上的应用

[0253] 挑选饱满干净的大豆,洗净后加水浸泡5-10h,等豆粒完全吸水膨胀后沥水后加压蒸熟;热豆出锅后,冷却至70-80℃左右,加入面粉30-40% (按照大豆质量计),搅拌均匀,继续冷却至30-40℃,然后加入2%-5%的玫瑰糖多孢菌药曲 (所述玫瑰糖多孢菌药曲为采用实施例4最优工艺条件制备得到的),翻拌均匀,保持品温28-30℃左右进行发酵,发酵中间由于微生物代谢产热,需要不间断翻曲通风降温,经72-96h后获得酱油曲;将制好的酱油曲按照1:1.5(m/v)加入盐水,搅拌均匀进行制醅,发酵3-6个月,每15天翻酱一次;发酵结束后压榨酱油醅,过滤除杂及灭菌就可以得到成品酱油。

[0254] 实施例10: 玫瑰糖多孢菌药曲在食醋酿造上的应用

[0255] 选料处理:选择优质糯米100kg,加水200kg浸米15-24h,然后淋米至无白浆后沥干,蒸熟淋水冷却至25-30℃;

[0256] 拌料入缸:糯米入缸前先拌入酒药1.5-2kg,低温糖化72-96h;

[0257] 酒精发酵:糖化结束后加水30kg,加入玫瑰糖多孢菌药曲 (所述玫瑰糖多孢菌药曲为采用实施例4最优工艺条件制备得到的)6kg,28℃下发酵144-168h,即得成熟酒醅;

[0258] 制醅:在发酵池内投入麸皮150kg,摊平,将发酵成熟的酒醅打入池内并搅拌均匀,取稻壳5kg均匀摊于池内上层,再取发酵成熟的醋醅5kg,搅拌均匀,覆盖5kg稻壳,撒匀即完成制醅;

[0259] 醋酸发酵:每发酵24h后进行翻醅,每次翻醅完都加稻壳进行保温保湿,发酵第11天起不再添加稻壳,翻醅使品温冷却,18-20天后检测酸度不再上升时,加盐4kg,密封30-45天;

[0260] 淋醋与煎醋:取陈酿结束的醋醅,按比例加入炒米色,浸泡数小时后,采用套淋法循环泡淋,得到的醋汁加入食糖调配,澄清后进行煎醋,等品温降至75-80℃后罐装密封保存。

[0261] 实施例11: 玫瑰糖多孢菌药曲在清酒酿造上的应用

[0262] 下述玫瑰糖多孢菌药曲为采用实施例4最优工艺条件制备得到的。

[0263] (1) 抛光:利用抛光机除去原料米质量的20%-30%。碎米粒要尽可能的少,精白米与

糙米形状相似,原料米的胚芽和沟完全去除;

[0264] (2) 浸米:浸米水温为室温,吸水率在28-30%左右,浸米时间为9-12h;

[0265] (3) 蒸饭:米饭颗粒分明,外硬内软,内无白心,疏松不糊,熟而不烂,均匀一致,糯米出饭率一般在140%-150%左右;

[0266] (4) 落料:落料时米饭温度冷却到25-30℃,其中米饭、米曲、酒母、水组成如表8所示。

[0267] 表8:300L清酒发酵体系配料表

	原料	用量	比例
	米	100 (Kg)	100%
	米饭	140	140%
[0268]	水	120 L	120%
	玫瑰糖多孢菌药曲 (按原料米用量)	20	20%
	酒母(按原料米用量)	3	3%

[0269] (5) 发酵:起始发酵温度控制在28-30℃,时间为3天,之后在20℃左右发酵,时间为22天,总发酵时间为25天。

[0270] 实施例12:玫瑰糖多孢菌药曲在白酒酿造上的应用

[0271] 下述玫瑰糖多孢菌药曲为采用实施例4最优工艺条件制备得到的。

[0272] (1) 将高粱(40-50%),小麦(6-10%),玉米(5-10%),糯米(10-12%)和大米(15-20%)按照比例称好,热水(55-65℃)浸泡24-32h,稻糠(按照粮食总重量20-35%) 在90-100℃蒸30-40min,摊凉备用;

[0273] (2) 初蒸:将泡好的玉米、高粱小麦等控干表面水分,进行原粮的初蒸,时间为30-60min;

[0274] (3) 焖水:初蒸结束后,加入40-50℃的温水,水面高出粮面15cm以上,闷粮10-30min,之后将水沥干;

[0275] (4) 复蒸:初蒸完的原粮,加入步骤(1) 润好水的大米、糯米,充分拌匀后入蒸粮锅进行复蒸,时间为60-70min;

[0276] (5) 降温下曲:复蒸糟醅冷却到30-35℃,加入步骤(1) 处理后的稻糠和加入18-28%白酒大曲,加入5%-10%的玫瑰糖多孢菌药曲(按照粮食重量计算),搅拌均匀进行入窖发酵;

[0277] (6) 封窖发酵:糟醅入窖池后进行盖糟,盖糟高于地面至少40cm,窖泥封窖,窖泥厚度为15-20cm,发酵45-70d;

[0278] (7) 出池摘酒:将发酵好的糟醅出窖,利用装甑锅进行蒸馏出酒,流酒速度为1.5-2.5kg/min,流酒温度25-30℃。

[0279] 糖多孢菌药曲应用上述工艺制备的白酒出酒率28%-33%,优质品率88-91%,所酿造的白酒无色或微黄透明,酯香、焦糊香突出,入口净爽、甜糯柔润,多粮膨化香氤氲,多香自然融合,酒体较醇厚,具有糯、雅、融典型风格,所得陶融型白酒到达了一级酒标准。

[0280] 实施例13:玫瑰糖多孢菌药曲在料酒酿造上的应用

[0281] 下述玫瑰糖多孢菌药曲为采用实施例4最优工艺条件制备得到的。

[0282] 将干净的糯米加水浸米9-12h,然后进行蒸饭,要求米粒无白心,冷却至30-35℃进行落料,落料时以生米为基准,米饭按照140%-150%,水按照125%,酒母按照11%-12%,加入实例2制备的12%-14%的玫瑰糖多孢菌药曲。

[0283] 发前酵28(±2)℃发酵120h,发酵开始10-12h后开始开头耙,头耙后每8h开一次耙;后酵15(±2)℃发酵15-360h,后酵开始后每48h开一次耙。发酵结束后经压榨、煎酒、陈酿,添加食用盐,添加或不添加植物香辛料加工而成,供烹饪用的液体调味料。

[0284] 应用糖多孢菌药曲发酵的料酒具有黄酒特有的醇香或植物香辛料特有香味,诸香协调、和谐,氨基态氮的含量在0.4-0.8g/L,酒精度14%vol-16%vol,总酸4-5g/L,符合酿造料酒的标准。

[0285] 实施例14:玫瑰糖多孢菌药曲在甜米酿的应用

[0286] 下述玫瑰糖多孢菌药曲为采用实施例4最优工艺条件制备得到的。

[0287] 以大米为主要原料按比例称取后,在常温下浸泡8-12h左右至充分吸水;将浸泡后的米粒水分沥干,常压下蒸煮30-40min左右至米饭内无白心;米饭蒸熟后用冷开水淋饭至25-28℃左右,转移至发酵罐内,按比例添加0.4%-0.8%玫瑰糖多孢菌药曲,接种0.5%-1.5%酿酒酵母,搅拌均匀,加入生米质量1-1.5倍的饮用水,在28-30℃条件下的恒温发酵48-72h。所得甜米酿酒精度2-4%(v/v),香气协调、浓郁、质地均匀,口感酸甜适口。

[0288] 实施例15:玫瑰糖多孢菌药曲在米酒中的应用

[0289] 下述玫瑰糖多孢菌药曲为采用实施例4最优工艺条件制备得到的。

[0290] 以大米为主要原料按比例称取后,在常温下浸泡8-12h左右至充分吸水,要求浸后手捏易碎,无硬米芯为止;将浸泡后的米粒水分沥干,常压下蒸煮30-40min左右至米饭内无白心;米饭蒸熟后用冷开水淋冷至25-28℃左右,按比例添加5%-10%玫瑰糖多孢菌药曲进行糖化,糖化结束后补加米饭,接种5%-10%接种酿酒酵母,搅拌均匀,加入原米质量1-1.5倍的饮用水,在28-30℃条件下的发酵3-5天,降低温度至10-15℃范围发酵10-15天,发酵结束后,压榨、过滤得到米酒。米酒酒精度5-10%(v/v),富含米香果香、香气协调、浓郁、质地均匀。

[0291] 虽然本发明已以较佳实施例公开如上,但其并非用以限定本发明,任何熟悉此技术的人,在不脱离本发明的精神和范围内,都可做各种的改动与修饰,因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

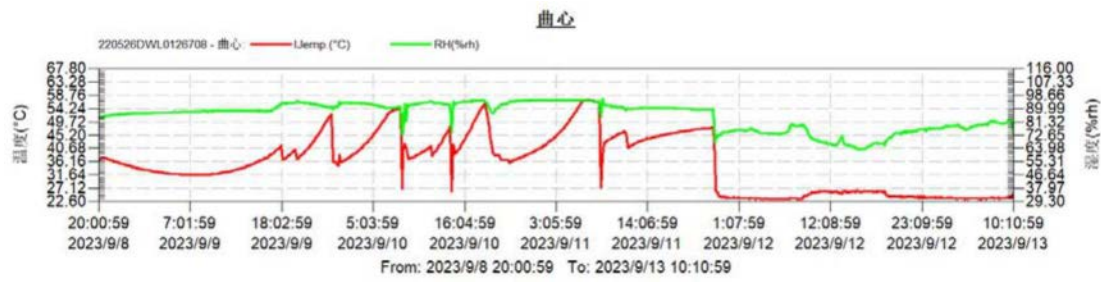


图1



图2

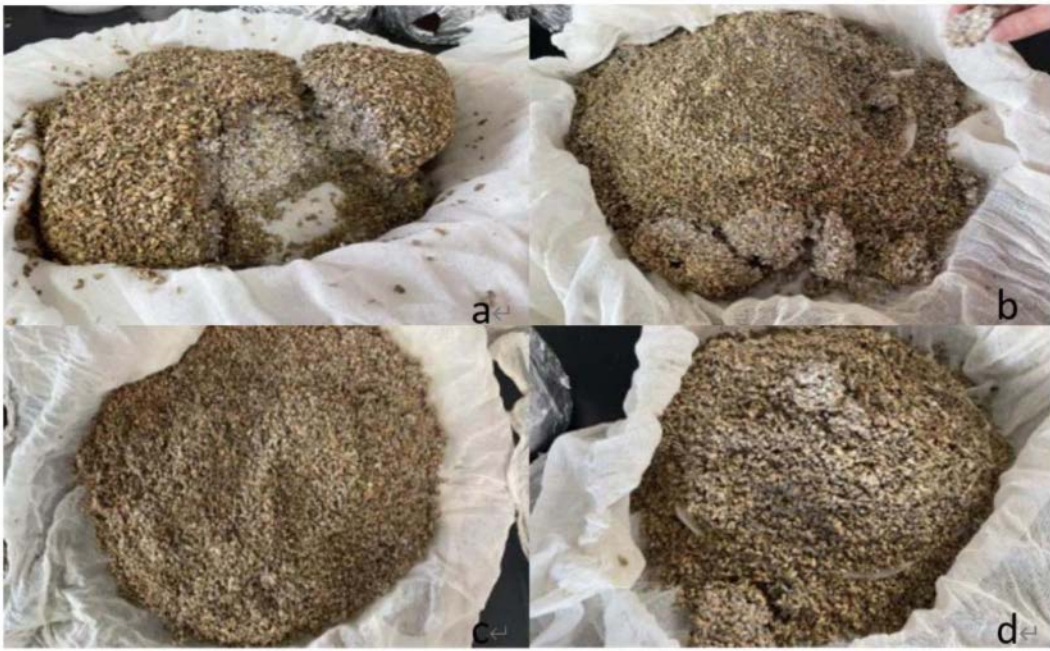


图3