



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103555552 B

(45) 授权公告日 2016. 02. 10

(21) 申请号 201310583624. 6

(22) 申请日 2013. 11. 20

(73) 专利权人 中国科学院北京基因组研究所

地址 100101 北京市朝阳区北辰西路 1 号院
7 号楼中国科学院北京基因组研究所

(72) 发明人 刘贵明 王绪敏

(51) Int. Cl.

C12J 1/04(2006. 01)

C12R 1/685(2006. 01)

C12R 1/645(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 103305396 A, 2013. 09. 18,

CN 103305396 A, 2013. 09. 18,

CN 103305396 A, 2013. 09. 18,

房天琪. 北冬虫夏草的人工培养及虫草素的
提纯研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库
医药卫生科技辑》. 2013, (第 01 期),

房天琪. 北冬虫夏草的人工培养及虫草素的

提纯研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库
医药卫生科技辑》. 2013, (第 01 期),

审查员 张芙婧

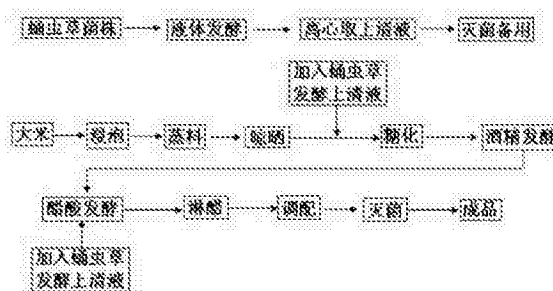
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

一种蛹虫草二次发酵保健食醋的制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种保健食醋及其制备方法。属于调味品技术领域。它是由蛹虫草经过液体发酵、离心取上清液、灭菌、大米淘洗浸泡、经蒸料、(加入蛹虫草发酵液)糖化、酒精发酵、再进行醋酸发酵、淋醋、调配灭菌,获得蛹虫草保健食醋,从而为食醋家族添加了新成员,同时也为蛹虫草提供了新的使用方法。通过本发明方法获得的蛹虫草保健醋既具有传统食醋的功能,又具有蛹虫草所具有的增强免疫和免疫调节功能、降血脂、抗脂肪肝、抗肿瘤、抗衰老、补肾等功效。



1. 一种保健食醋的制备工艺,其特征在于,蛹虫草经过液体发酵培养、离心取上清液为蛹虫草发酵液、高压灭菌备用;大米淘洗浸泡后、经蒸料、加入蛹虫草发酵液糖化、酒精发酵、再进行醋酸发酵、淋醋、调配灭菌,获得蛹虫草保健食醋;

蛹虫草液体发酵培养基配方为:葡萄糖 3%,蛋白胨 0.3%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%, VB_1 0.01%;培养基 pH 为 6.5;液体发酵培养包括如下步骤:

(1) 无菌条件下,接种至液体培养基中;

(2) 静置;

(3) 置于恒温振荡器中培养;

接种量按照体积比 10% 接种至 500mL 锥形瓶液体培养基中, $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 静置 1 天,然后置于恒温振荡器中培养,温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 振荡速度为 150-180rpm;振荡培养 7-10 天后,4000rpm 离心 20 分钟,得蛹虫草发酵液;

蒸熟后的大米,在通风良好的阴凉处晾晒至室温,后添加蛹虫草培养物的量为原料大米重量的 100-150%;

糖化工序中利用添加的红曲霉菌(*Monascus* spp.)、黑曲霉菌(*Aspergillus niger*)制成的糖化曲的量为原料大米用量的 1-5% 进行糖化;

醋酸发酵工序为:酒精发酵结束后接入醋酸菌种,并按大米原料重量的 50-100% 添加蛹虫草发酵上清液,按固态分层发酵法进行醋酸发酵;控制品温 40°C , 发酵时间 21 天,成熟醋封存 7-10 天。

一种蛹虫草二次发酵保健食醋的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种食醋及其制备方法,具体而言本发明涉及一种保健食醋及其制备方法,属于调味品技术领域。

背景技术

[0002] 食醋,在我国传统上作为调味品。我国传统医学发现食醋具有较好的药用价值,明代李时珍在《本草纲目》中记载:醋能治诸疮肿积块,痰水血病,心腹疼痛,杀鱼肉菜及诸虫毒气,又具有解毒散淤之功。现代医学也证实食醋具有降血压、降血脂、软化血管、杀菌、助消化、抗疲劳、通便和治疗感冒等多种药用功能。随着生活水平的不断提高,单纯以治疗医学为目的模式已逐步被预防、治疗、康复三者统一的医学模式所代替,欧美、日本、等地区掀起了一股强劲的饮醋之风。日本目前市场上已经有粮食醋(如大米、豆制品,海带)、果醋、糖醋及各种功能醋等系列产品,其人均食醋消耗量高于我国的数十倍,大大促进了食醋行业的快速发展。目前我国食醋的研发主要是从不同的原材料角度进行,包括各类粮食醋、水果醋、中药醋、蔬菜醋等,此外还有以蜂蜜、茶等作为天然的特色饮料醋。这些新品种大大丰富了食醋品种,也满足了人们对营养健康的需求。

[0003] 蛹虫草 (*Cordyceps militaris*),又名北冬虫夏草,寄生于鳞翅目昆虫幼虫体上。蛹虫草的药用价值可与传统的冬虫夏草相媲美,它与传统冬虫夏草在药效成分种类上极其相近,能大量产生虫草素,因此它与传统冬虫夏草一样,具有提高人体免疫力、抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、消炎、降血糖、抗疲劳等功能,是传统冬虫夏草的最理想替代品,但野生的蛹虫草与传统的冬虫夏草一样,在自然界中稀少,价格昂贵。2009 年卫生部发布第 3 号公告,批准蛹虫草为新资源食品,使用范围为:直接食用、酒类、罐头、调味品、饮料,使得蛹虫草可以作为一种普通食品而非保健食品,进入人们的日常饮食,食品生产加工企业也可以在许可的范围内开发出蛹虫草新产品。

[0004] 本发明是蛹虫草二次发酵保健食醋的制备工艺方法,通过一次液体发酵获得蛹虫草发酵液,以此一次发酵液为保健食醋的液体成分进行二次发酵,得到具有一定保健作用的蛹虫草保健食醋,以大米为主要原料,采用镇江香醋的固态分层发酵工艺,通过采用红曲菌和黑曲霉菌生产制备糖化曲,采用蛹虫草发酵液主动浸米工艺,并在醋酸发酵过程中添加蛹虫草发酵液,提高醋产品中保健功能因子虫草素和虫草多糖的含量。虫草素具有较强的保健功能,主要有滋肺补肾、止血化痰、扩张气管、镇静、防癌抗癌、平喘等功效,而虫草多糖具有提高免疫力、抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、消炎、降血糖、抗疲劳等功效,因而由此生产工艺生产而得的保健食醋,是一种具有明确降脂降压功能因子的功能性保健醋产品,有利于大幅提升我国食醋产品的发展水平,同时也具有广阔的国内外市场前景,能满足消费者养生保健的新需求,提高生活质量。

发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是提供一种食醋的生产工艺,生产具有提高免疫力、滋

肺补肾、抗肿瘤等效果的功能性保健食醋产品,通过该生产工艺生产的食醋产品,具有高含量草素和虫草多糖,同时该生产工艺简便,生产成本较低,便于大规模生产。

[0006] 本发明蛹虫草二次发酵保健食醋生产工艺通过以下酿造方法实现:

[0007] 一种保健食醋的制备工艺,其特征在于,蛹虫草经过液体发酵培养、离心取上清液为蛹虫草发酵液、高压灭菌备用、大米淘洗浸泡后、经蒸料、加入蛹虫草发酵液糖化、酒精发酵、再进行醋酸发酵、淋醋、调配灭菌,获得蛹虫草保健食醋。

[0008] 优选,蛹虫草液体发酵培养基配方为:葡萄糖 3%,蛋白胨 0.3%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%, VB_1 0.01%。

[0009] 优选,培养基 pH 为 6.5。

[0010] 优选,液体发酵培养包括如下步骤:

[0011] (1) 无菌条件下,接种至液体培养基中;

[0012] (2) 静置;

[0013] (3) 置于恒温振荡器中培养。

[0014] 优选,接种量按照体积比 10% 接种至 500mL 锥形瓶液体培养基中,24±1℃ 静置 1 天,然后置于恒温振荡器中培养,温度 25±1℃,振荡速度为 150-180rpm。振荡培养 7-10 天后,4000rpm 离心 20 分钟,得蛹虫草发酵液。

[0015] 优选,蒸熟后的大米,在通风良好的阴凉处晾晒至室温,后添加蛹虫草培养物的量为原料大米重量的 100-150%

[0016] 优选,糖化工序中利用添加的红曲霉菌(*Monascus* spp.)、黑曲霉菌(*Aspergillus niger*)制成的糖化曲的量为原料大米用量的 1-5% 进行糖化。

[0017] 优选,在醋酸发酵工序中添加蛹虫草发酵上清液的量为原料大米用量的 50-100%。

[0018] 本发明所得的保健食醋经检测,所含的 2 种提高免疫力、滋肺补肾、抗肿瘤等重要功能因子,含量指标如下:

[0019] 在食醋总酸为 5.3 g /100mL 时,滋肺补肾、止血化痰、扩张气管、镇静、防癌抗癌、平喘等功能因子蛹虫草虫草素含量达到 375.04 mg/L,具有提高免疫力、抗肿瘤、抗氧化功能因子蛹虫草多糖含量达到 1.73 g/L。

附图说明

[0020] 图 1 为本发明的工艺流程简图

[0021] 本发明的有益效果:

[0022] 通过本制备生产工艺酿造的保健食醋,具有明确的国际公认的虫草素和多糖含量高,口感好,提高免疫力、滋肺补肾、抗肿瘤功能因子,同时生产成本低,能大规模生产,迅速满足消费者养生保健的新需求,因而具有重要的食醋行业的发展意义和广阔的市场前景。

具体实施方式

[0023] 下面结合实施例来更详细的说明本发明,但本发明并不受这些实施例的限制。

[0024] 实施例一、蛹虫草发酵上清液制备工艺:

[0025] 在超净工作台无菌条件下,等量定量接种至装有 200mL 一级液体培养基的锥形瓶(500mL)中,24±1℃,静置 1 天,然后置于恒温振荡器中培养,温度 25±1℃,振荡速度为

150-180rpm。振荡培养 7-10 天,发酵结束后,从摇床中取出三角瓶,4000rpm 离心 20 分钟的发酵上清液,制备的发酵上清液,在 115℃,20min 条件下灭菌后备用;

[0026] 实施例二:蛹虫草二次发酵保健食醋浸泡工艺

[0027] 1、把大米放到泡米槽中,加水淘洗,再加水浸泡,水面高出米面 10-20cm,,浸泡 20-35℃,浸泡时间 8-16 小时,具体根据温度调整浸泡时间;浸泡后的大米粒应保持完整,手捻易碎,内无白心即可。

[0028] 实施例三:蛹虫草二次发酵保健食醋蒸料工艺

[0029] 1、在蒸饭锅内对浸泡后的大米进行蒸饭,米层厚度控制在 5-6cm 左右(米层过厚易出现夹生、过薄浪费空间),蒸饭时间 1 小时,要求蒸出的饭粒外硬内软、内无白心、不糊不烂。

[0030] 2、采用摊晾法,将蒸好的米饭于无菌条件下摊开,冷却到 30℃左右。按大米原料重量的 100-150% 添加蛹虫草(*Cordyceps militaris*) 发酵上清液,加入利用红曲霉菌(*Monascus spp.*)、黑曲霉菌(*Aspergillus niger*) 制成的糖化曲,使用量为大米原料的 1-5%,加入根霉菌和酵母酿酒发酵剂,使用量分别为大米重量的 0.1-1%, 0.1-0.2%;搅匀进行发酵

[0031] 实施例四、蛹虫草二次发酵保健食醋酒精发酵工艺

[0032] 1、酒精发酵过程控制品温 25-28℃,发酵时间 5-8 天,制成酒醪;

[0033] 2、酒醪酒精度 6.5-9 %v/v,酸度 0.1 -0.7g/ 100mL ;

[0034] 实施例五、蛹虫草二次发酵保健食醋醋酸发酵工序

[0035] 1、酒精发酵结束后接入醋酸菌种,并按大米原料重量的 50-100% 添加蛹虫草(*Cordyceps militaris*) 发酵上清液,按固态分层发酵法进行醋酸发酵;

[0036] 2、控制品温 40℃左右,发酵时间 21 天,成熟醋封存 7-10 天;

[0037] 实施例六、蛹虫草二次发酵保健食醋淋醋、调配灭菌工序

[0038] 1、将封存醋进行套淋法淋醋,得到原醋;

[0039] 2、醋醅浸泡时间不小于 6 小时,根据成品总酸要求,调节好原醋酸度;

[0040] 3、将原醋经调配、灭菌后即为本发明的蛹虫草二次发酵保健食醋

[0041] 效果例一 培养基配方的考察

[0042] 对比例 1:葡萄糖 2%,蛋白胨 0.4%,磷酸二氢钾 0.3%,MgSO₄ 0.15%;

[0043] 对比例 2:葡萄糖 3%,蛋白胨 0.3%,酵母膏 0.5%;KH₂PO₄ 0.1%,MgSO₄ 0.05%;

[0044] 本发明培养基配方:葡萄糖 3%,蛋白胨 0.3%,KH₂PO₄ 0.1%,MgSO₄ 0.05%,VB₁ 0.01%。

[0045] 按照上述配方进行液体发酵培养,振荡培养 4d 后,将发酵液在 4000r/min,20min 的条件下离心,取其上清液,测定各方案的虫草素、多糖含量。

[0046] 1、发酵液虫草素含量的测定:

[0047] 1.1 样品标准液的制备及标准曲线绘制

[0048] 精密称取 10mg 虫草素标准品,用超纯水溶解,稀释定容至 100mL,制备成 100mg/L 标准储备液。利用 100mg/L 的虫草素母液,分别配制 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mg/L 的虫草素溶液,紫外分光光度计全波段扫描 1.0mg/L 的虫草素标准品,在 259nm 波长处有最大吸收峰。以虫草素质量浓度 (mg/L) 为横坐标 X,吸光度为纵坐标 Y 制作虫草素标准曲线。

[0049] 1.2 虫草素含量计算

[0050] 将提取好的样品测定其吸光度,根据标准曲线,计算虫草素的质量浓度。

[0051] 虫草素质量浓度(X) = (吸光度(Y) - 0.0128) / 0.0668

[0052] 虫草素含量 (mg/L) = 虫草素质量浓度 × 稀释倍数

[0053] 2、发酵液多糖含量的测定:

[0054] 2.1 蒽酮比色法测定总糖的标准曲线

[0055] 称取 2g 蒽酮溶于 1000ml 85% 的硫酸中,即为蒽酮试剂。准确称取干燥恒重的葡萄糖 20mg,加少量蒸馏水溶解后,以蒸馏水定容到 100ml,即为 0.2mg/ml 的葡萄糖标准液。

[0056] 取 6 支试管按表 1 加入试剂后冰浴 5min,每管加入 4ml 蒽酮试剂,沸水浴 10min,流水冷却,静置 10min,在 620nm 波长下测定吸光度,以葡萄糖含量为横坐标,OD 值为纵坐标,制作标准曲线。

[0057]

表 1 蒽酮比色法测定总糖的标准曲线

管号	0	1	2	3	4	5
0.2mg/ml 葡萄糖标准液 (ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
蒸馏水 (ml)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0

[0058] 2.2 3,5-二硝基水杨酸法测定还原糖标准曲线

[0059] 取 6.5g DNS 溶于少量热的蒸馏水中,溶解后移入 1000ml 容量瓶中,加入 2mol/L 氢氧化钠溶液 325ml,再加入 45g 丙三醇,摇匀,冷却后定容至 1000ml,即为 3,5-二硝基水杨酸(DNS)试剂。准确称取干燥恒重的葡萄糖 20mg,加少量蒸馏水溶解后,以蒸馏水定容到 100ml,即为 0.2mg/ml 的葡萄糖标准液。

[0060] 取 6 支试管按表 2 加入试剂,在各试管中分别加入 DNS 试剂 2.0ml,沸水浴加热 2min 显色,流水迅速冷却后摇匀,在 540nm 波长处测定吸光度,以葡萄糖含量为横坐标,OD 值为纵坐标,制作标准曲线。

[0061] 表 2 3,5-二硝基水杨酸法测定还原糖的标准曲线

[0062] Tab.3 Determinates the standard curve of Reducing sugar by the 3,5-dinitrosalicylic acid way

[0063]

管号	0	1	2	3	4	5
1mg/ml 葡萄糖标准液 (ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
蒸馏水 (ml)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0

[0064] 2.3 发酵液中多糖含量的测定

[0065] 总糖的含量采用硫酸-蒽酮比色法测得,还原糖的含量采用 3,5-二硝基水杨酸法测得,根据测得的总糖和还原糖计算可得多糖的含量。

[0066] 2.3.1 蒽酮比色法测定发酵液总糖的含量

[0067] 取粗多糖沉淀,加入蒸馏水稀释到一定的倍数,制成样液。按表 3 加入试剂,以 1 号试管作为对照管,2、3、4 号管在波长 620nm 条件下比色测得 OD 值后,从标准曲线上查出样品液相应的总糖含量。

[0068] 表 3 蒽酮比色法测定样品中的总糖

[0069]

试管号	1	2	3	4
样液 (ml)	0	1.0	1.0	1.0
蒸馏水 (ml)	1.0	0	0	0
蒽酮 (ml)	4.0	4.0	4.0	4.0

[0070] 2.3.2 3,5-二硝基水杨酸法测定发酵液还原糖的含量

[0071] 取粗多糖沉淀,加入蒸馏水稀释到一定的倍数,制成样液。按表 4 加入试剂,以 1 号试管作为对照管,2、3、4 号管在波长 540nm 条件下比色测得 OD 值后,从标准曲线上查出样品液相应的还原糖的含量。

[0072] 表 4 3,5-二硝基水杨酸法测定样品中的还原糖

[0073]

试管号	1	2	3	4
样液 (ml)	0	1.0	1.0	1.0
蒸馏水 (ml)	1.0	0	0	0
DNS 试剂 (ml)	2.0	2.0	2.0	2.0

[0074] 2.3.3 发酵液中多糖含量

[0075] 多糖的含量=总糖-还原糖。

[0076] 3、指标测定结果如下：

[0077] 表 5 不同配方虫草素和多糖含量比较

[0078]

项目	对比例 1	对比例 2	本发明配方
虫草素含量 (mg/L)	634.332	645.281	651.373
多糖含量 (mg/ml)	14.166	14.589	14.675

[0079] 效果例二 不同 pH 值对虫草素含量的影响

[0080] 表 6 不同 pH 值的虫草素和多糖含量比较

[0081]

项目	pH6.0	pH6.5	pH7.0
虫草素含量 (mg/L)	614.332	651.373	625.281
多糖含量 (mg/ml)	12.166	14.675	13.589

[0082] 由上表可以看出, pH 分别为 6.0、6.5 和 7.0 等几个条件,在 pH6.5 条件下虫草素含量最高。

[0083] 效果例三 蛹虫草培养物的添加量考察

[0084] 酿制的虫草食醋按照口感,香气,色泽进行评分。每 10 人为 1 组,共 3 组,每组去掉一个最高分和一个最低分。取每组平均值再平均得分,满分为 100 分。虫草食醋的感官评价标准见下表。

[0085] 表 7 虫草食醋的感官评价标准

[0086] 糖化用水量分别作了 1:0.5、1:1、1:1.5、1:2、1:2.5 等几项对比,通过感官指标分析,得到最佳的方案在 1:1 至 1:1.5 之间口感最好。

[0087]

项目	评分				评判标准
	优良	稍好	一般	次级	
色泽	20-25	15-20	10-15	5-10	优良:呈琥珀色、红棕色,红亮;一般:稍显暗淡;劣质:色泽发乌,无光泽。
体态	20-25	15-20	10-15	5-10	优良:体态澄清,无悬浮或沉淀物,无霉花浮膜;次级:液态稍浑浊,有少量沉淀;劣质:液态浑浊,有大量沉淀,有片状白浮膜。
香气	20-25	15-20	10-15	5-10	优良:具有食醋固有的醇香和悠长的醋酸乙酯香味,无其他异味;次级:醇香不足,刺鼻酸味,微有甜酸酒味;劣质:无醇香,有刺鼻酸臭味,霉味或其他不良气味。
滋味	20-25	15-20	10-15	5-10	优良:酸味柔和协调,微带甜口,无不良异味;次级:滋味不纯正,酸味欠柔和和冲鼻;劣质:刺激性酸味,有涩味、霉味或其他不良口味。

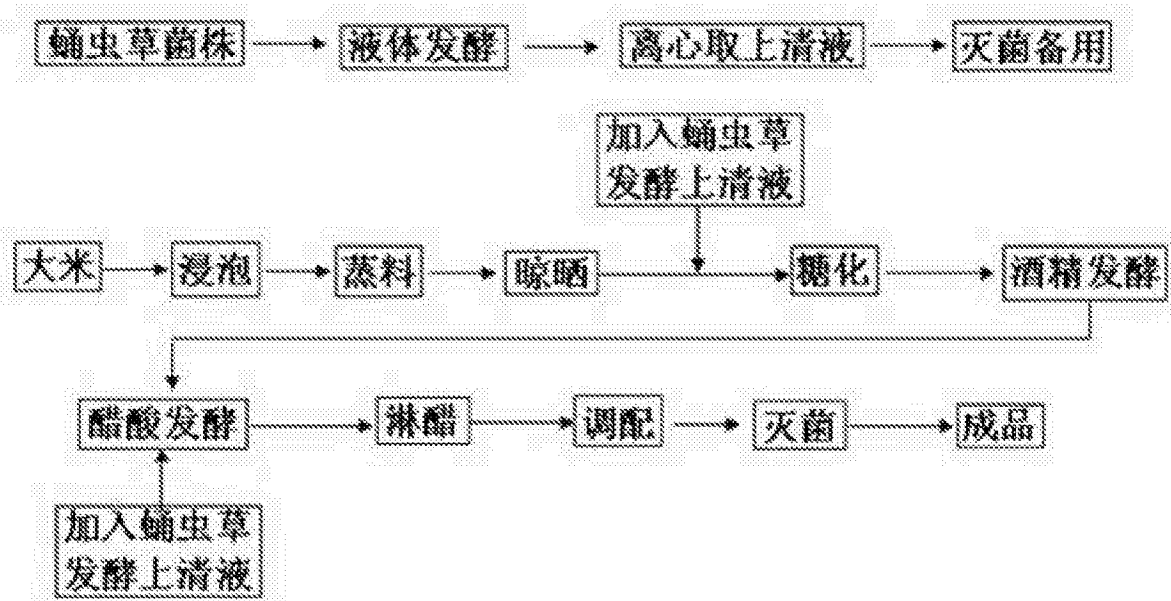


图 1