

文章编号: 1673-1689(2011)02-0302-04

北冬虫夏草米固态发酵最佳工艺

朴美子¹, 巴媛媛¹, 王永显², 王莹¹, 张洁¹

(1. 青岛农业大学 食品科学与工程学院, 山东 青岛 266109; 2. 青岛市食用菌工作站, 山东 青岛 266032)

摘要: 以大米为原料, 利用北冬虫夏草菌种经固态发酵制备北冬虫夏草米, 以产品中虫草酸质量分数为指标, 通过单因素试验和正交试验寻求北冬虫夏草米的最佳固态发酵工艺。结果表明: 在料水比为 1: 0.6 (g/mL), 液体种子接种体积分数为 10% (以大米干重为基准), 温度 22 °C 的条件下制得的北冬虫夏草米中虫草酸的质量分数为 6.04 mg/g。米粒呈均匀的金黄色, 色泽怡人, 感官良好。

关键词: 北冬虫夏草; 发酵; 虫草酸; 米

中图分类号: TQ 920.1

文献标识码: A

Study on the Optimum Solid State Fermentation Processing for *Cordyceps militaris* Rice

PIAO Mei-zi¹, BA Yuan-yuan¹, WANG Yong-xian², WANG Ying¹, ZHANG Jie¹

(1. College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. Mushroom Workstation of Qingdao, Qingdao 266032, China)

Abstract: In this study, rice was used as a raw material in the preparation of cordycepic rice by solid state fermentation, and the cordycepic acid contents of *Cordyceps militaris* rice were determined. Single factor test and orthogonal test results showed that the optimum conditions were as follows: rice as raw material, material/water ratio 1: 0.6 (g/mL), the amount of inoculum 10% (with rice dry weight as basis), the temperature 22 °C. Under the optimal conditions the cordycepic acid content was achieved at 6.04 mg/g. Cordycepic rice was bright with uniform golden yellow colour.

Key words: *Cordyceps militaris*, fermentation, cordycepic acid, rice

北冬虫夏草又名蛹虫草 (*Cordyceps militaris* (L) Link), 属于囊菌门、子囊菌纲、肉座菌目、麦角菌科、虫草属^[1]。目前世界上已发现冬虫夏草属真菌 350 多种, 其中我国记录有 61 种, 主要分布在吉林、辽宁、陕西等地。北冬虫夏草含有虫草酸、虫草素、虫草多糖、蛋白质、超氧化物歧化酶、氨基酸、维

生素及多种微量元素等化学成分, 其成分与冬虫夏草基本相同^[2-3], 其中虫草酸是北冬虫夏草功能性的重要成分之一, 它在北冬虫夏草中的质量分数最高可达 8.73%^[4]。关于北冬虫夏草的药理作用, 通过近年来的研究认为, 与冬虫夏草相似, 北冬虫夏草具有增强细胞免疫^[5]、改善肾脏功能^[6]、抗肿

收稿日期: 2010-04-22

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目 (J10LC05)。

* 通信作者: 朴美子 (1966-), 女, 朝鲜族, 吉林延吉人, 理学博士, 副教授, 主要从事功能食品开发方面的研究。

Email: piaomeizi2009@126.com

瘤^[7]、延缓衰老^[8]等作用。迄今为止,关于北冬虫夏草的产品有很多,如蛹虫草保健茶饮料^[9]、蛹虫草保健黄酒^[10]、蛹虫草功能型酱油^[11]、蛹虫草营养保健醋^[12]等,但是利用北冬虫夏草菌种生产北冬虫夏草米尚未见报道。大米是人们日常生活中的主食之一,作者以大米为载体,将北冬虫夏草的功能性赋予大米中,将有益于人类的健康。因此以大米为培养基,经北冬虫夏草菌种固态发酵制备北冬虫夏草米,不仅具有北冬虫夏草的功能性,而且具有很大的经济效益和社会效益。作者研究了以大米为原料制备北冬虫夏草米固态发酵的最佳工艺过程。

1 材料与方 法

1.1 实验菌株

北冬虫夏草(*Cordyceps militaris* (L) Link):由青岛市食用菌工作站提供。

1.2 培养基及培养方法

1.2.1 固体斜面培养基(g/dL) 马铃薯 20,葡萄糖 2,蛋白胨 0.5, KH₂PO₄ 0.3, MgSO₄·7H₂O 0.25, VB₁ 0.1, 琼脂 2。

1.2.2 种子培养基(g/dL) 马铃薯 20,葡萄糖 2,蛋白胨 0.2, KH₂PO₄ 0.05, MgSO₄·7H₂O 0.1; pH 自然。

1.2.3 大米固态培养基 称取一定量的大米装入三角瓶中,加水浸泡 50 min, 115 °C 灭菌 15 min, 冷却。

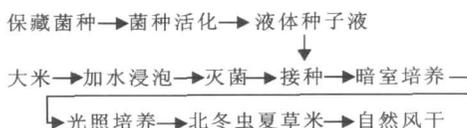
液体种子液于 22 °C 培养 3 d。大米固态培养基在 22 °C 暗室培养 6 d, 当菌丝长满大米培养基后,再光照培养 4 d。

1.3 主要仪器

DU-800 紫外分光光度计:美国 Beckman 公司制造;分析天平:奥豪斯公司制造;电热恒温水浴锅:龙口市先科仪器公司制造;旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂制造;TGL-20C 型高速台式冷冻离心机:上海安亭科学仪器厂制造;DHG-9246A 型电热恒温鼓风干燥箱:上海精弘试验设备有限公司制造。

1.4 实验方法

1.4.1 北冬虫夏草米制备工艺流程



1.4.2 虫草酸含量的测定

1) 试剂配制: Nash 试剂为 150 g 醋酸铵、2 mL

冰醋酸和 2 mL 乙酰丙酮,用蒸馏水定容至 1 L(现用现配)。

2) 虫草酸标准品溶液的制备:精密称取虫草酸标准品 50 mg,定容至 5 mL,配制成质量浓度为 1.0 mg/mL 的虫草酸标准溶液,然后分别吸取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 置于 10 mL 容量瓶中定容,得到质量浓度为 10、20、30、40、50 mg/L 的虫草酸标准品溶液。

3) 标准曲线的绘制:分别精密吸取 1.0 mL 质量浓度为 10、20、30、40、50 mg/L 的虫草酸标准品于 10 mL 试管中,加入 1.0 mL 高碘酸钾溶液,混匀,室温反应 10 min,再依次加入 2.0 mL、0.1 g/dL 的 L-鼠李糖溶液和 4.0 mL Nash 试剂,53 °C 水浴 15 min,然后冷却至室温,在 412 nm 波长处测定吸光度。以质量浓度 c (mg/L) 为横坐标,吸光度 A 为纵坐标绘制标准曲线。以蒸馏水作为空白对照。

4) 样品液中虫草酸的测定:称取一定量的北冬虫夏草米粉末,沸水浴提取 2 h,过滤,用蒸馏水洗残渣 3 次,将滤液、洗液合并于 100 mL 容量瓶中,加蒸馏水定容。精密吸取供试品样液 1.0 mL,测其吸光度。

2 结果与讨论

2.1 培养温度对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响

以大米为原料,料水比 1:0.6(g/mL),液体种子接种体积分数 10%(以大米干重为基准),在培养温度分别为 17、22、27、32 °C 的条件下,进行大米固态发酵,以产品中虫草酸的质量分数为指标,考察不同培养温度对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响,结果见图 1。

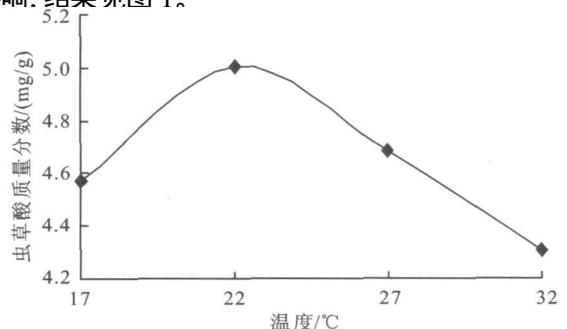


图 1 培养温度对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响

Fig. 1 Effect of temperature on the cordycepic acid content in *Cordyceps militaris* rice

从图1可以看出,温度对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数有明显影响。当温度低于22℃时,虫草酸质量分数随温度的升高而升高;当温度高于22℃时,虫草酸质量分数随温度的升高而降低,这与北冬虫夏草产生虫草酸需要适宜的温度有关。最终确定最佳培养温度为22℃。

2.2 料水比对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响

以大米为原料,培养温度22℃,液体种子接种体积分数10%,在料水比分别为1:0.4、1:0.5、1:0.6、1:0.7的条件下,按照1.3.1的工艺进行大米固态发酵,以产品中虫草酸的质量分数为指标,考察不同料水比对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响,结果见图2。

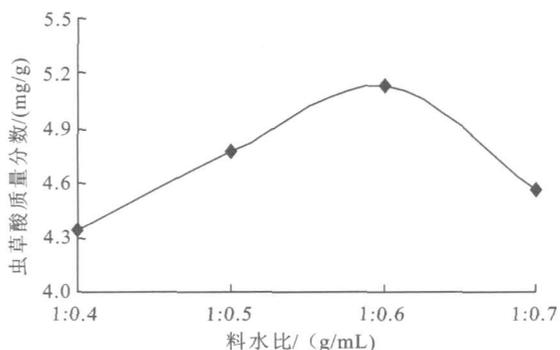


图2 料水比对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响

Fig. 2 Effect of material/water ratio on the cordycepic acid content in *Cordyceps militaris* rice

从图2可以看出,随料水比的增大,北冬虫夏草米中虫草酸的质量分数增加;当料水比为1:0.6时,虫草酸质量分数最高;以后随着料水比的增大,虫草酸质量分数反而下降。可见,料水比过高或者过低,均不利于北冬虫夏草产生虫草酸。最终确定最佳料水比为1:0.6。

2.3 接种体积分数对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响

以大米为原料,料水比1:0.6,培养温度22℃,在液体种子接种体积分数分别为5%、10%、15%、20%、25%、30%的条件下,按照1.3.1的工艺进行大米固态发酵,以产品中虫草酸的质量分数为指标,考察不同接种体积分数对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响,结果见图3。

从图3可以看出,随着液体种子接种体积分数的增加,北冬虫夏草米中虫草酸质量分数增加,当接种体积分数为5%~10%时,虫草酸质量分数增加与接种体积分数几乎成正比关系;液体种子接种

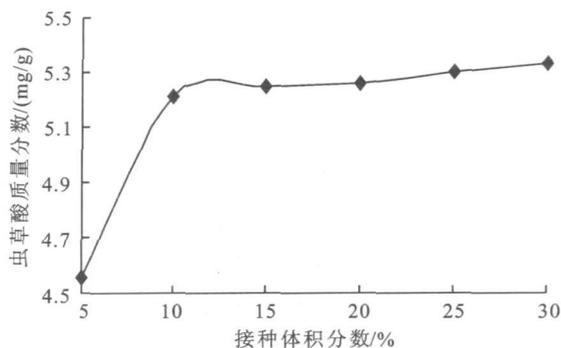


图3 接种体积分数对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响

Fig. 3 Effect of inoculum size on the cordycepic acid content in *Cordyceps militaris* rice

体积分数高于10%时,虫草酸质量分数增加明显减缓。最终确定最佳接种体积分数为10%。

2.4 正交试验

实验中以虫草酸质量分数为指标,温度为A因素,料水比为B因素,接种量为C因素,每个因素取3个水平设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,结果见表1、2。

表1 正交试验结果

Tab. 1 Results of orthogonal experiment

编号	A 料水比/ (g/mL)	B 接种体积 分数/%	C 温度/ ℃	D 空列	虫草酸 质量分数/ (mg/g)
1	1:0.55	7	20		3.86
2	1:0.55	10	22		5.53
3	1:0.55	13	24		4.06
4	1:0.6	7	22		5.33
5	1:0.6	10	24		4.87
6	1:0.6	13	20		4.56
7	1:0.65	7	24		3.43
8	1:0.65	10	20		4.67
9	1:0.65	13	22		4.98
K_1	4.483	4.207	4.363	4.570	
K_2	4.920	5.023	5.280	4.507	
K_3	4.360	4.533	4.120	4.687	
k_1	1.494	1.402	1.454	1.523	
k_2	1.640	1.674	1.760	1.502	
k_3	1.453	1.511	1.373	1.562	
R	0.560	0.816	1.160	0.180	

由表1可知,各个因素对北冬虫夏草米中虫草酸质量分数的影响顺序为:温度>接种量>料水比。以优化的工艺条件组合作验证实验,北冬虫夏草米中虫草酸质量分数为6.04 mg/g。

表 2 北冬虫夏草米研制正交实验结果的方差分析表
Tab. 2 Statistical analysis for results of orthogonal test in preparation for cordycepic rice

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值 ($\alpha=0.05$)	显著性
料水比/ (g/mL)	0.519	2	10.380	19.000	
接种体积分 数/%	1.014	2	20.280	19.000	*
温度/℃	2.245	2	44.900	19.000	*
空列	0.050	2	1.000	19.000	
误差	0.05	2			

2.5 成品检验指标

2.5.1 感官指标 色泽: 具有北冬虫夏草的金黄色, 有光泽; 气味: 有北冬虫夏草特有的香气, 无异味; 组织状态: 米粒饱满, 无霉变。

2.5.2 理化指标 色值为 26.25 u/g, 水分 $\leq 10.0\%$

2.5.3 微生物指标 大肠杆菌小于 30 个/100 g; 致病菌不得检出。

3 结 语

北冬虫夏草米固态发酵的最佳条件为料水比为 1:0.6(g/mL), 液体种子接种体积分数为 10% (以大米干重为基准), 培养温度为 22℃, 在最适条件下研制的北冬虫夏草米用比色法测定其中虫草酸的质量分数为 6.04 mg/g。北冬虫夏草米中因含有在北冬虫夏草中起药理作用的虫草酸而具有一定的功能性, 这种功能性北冬虫夏草米一经投向市场必然会受到广大消费者的喜爱。

参考文献(References):

- [1] Kirk P M, Cannon P F, David J C, et al Dictionary of the fungi[M]. Great Britain: CABI Publishing, 2001: 1- 655.
- [2] 李楠, 宋健国, 刘金云, 等. 蛹虫草与冬虫夏草化学成分比较[J]. 吉林农业大学学报, 1995, 17(增刊): 80- 83.
LI Nan, SONG Jian guo, LIU Jin yun, Zhang Hong. Compared of chemical composition between *Cordyceps militaris* and *Cordyceps sinensis*[J]. **Journal of Jilin Agricultural University**, 1995, 17: 80- 83. (in Chinese)
- [3] 朱雅红, 桂仲争. 蛹虫草液体菌种通气发酵培养及其营养成分分析[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(5): 699- 704.
ZHU Ya hong, GUI Zhong zheng. Liquid Fermentation with ventilation of *Cordyceps militaris* and its components analysis [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(5): 699- 704. (in Chinese)
- [4] 刘春泉, 郑安俭, 李大婧, 等. 北冬虫夏草超微粉对小鼠免疫功能的增强作用[J]. 江苏农业学报, 2007, 23(1): 63- 66.
LIU Chun quan, ZHENG An jian, LI Da jing, et al. Improvement of immunity in mice by ultrafine pulverization of *Cordyceps militaris*[J]. **Jiangsu Journal of Agricultural Sciences**, 2007, 23(1): 63- 66. (in Chinese)
- [5] 伍小燕, 黄权芳. 柞蚕蛹虫草提取物对模型大鼠膜性肾炎的保护作用研究[J]. 中国药房, 2009, 33(20): 2579- 2581.
WU Xiao yan, HUANG Quan fang. Therapeutic effect of extracts from *Cordyceps militaris* on membranous nephritis model rats[J]. **China Pharmacy**, 2009, 33(20): 2579- 2581. (in Chinese)
- [6] 刘洁, 陈正, 杨旭, 等. 蚕蛹虫草抗肿瘤作用的研究[J]. 吉林大学学报: 医学版, 1992, 18(5): 423- 425.
LIU Jie, CHEN Zheng, YANG Xu, et al. Anticarcinogenic effect of cordyceps militaris link[J]. **Journal of Jilin University: Medicine Edition**, 1992, 18(5): 423- 425. (in Chinese)
- [7] 王宝贵, 张桂英, 赵琳伊, 等. 柞蚕蛹虫草对黑腹果蝇寿命的影响[J]. 中国老年学杂志, 2002, 22(2): 148- 150.
WANG Bao gui, ZHANG Gui ying, ZHAO Lin yi, et al. The effect of cordyceps on drosophilamelarogaster longevit y[J]. **Chinese Journal of Gerontology**, 2002, 22(2): 148- 150. (in Chinese)
- [8] 岳春. 蛹虫草保健茶饮料的研制[J]. 中国酿造, 2008, 195(18): 86- 89.
YUE Chun. Development of cordyceps militaris healthy tea beverage[J]. **China Brewing**, 2008, 195(18): 86- 89. (in Chinese)
- [9] 岳春, 葛中巧, 何际芳, 等. 蛹虫草菌保健黄酒的研究[J]. 酿酒科技, 2006, 148(10): 70- 72.
YUE Chun, GE Zhong qiao, HE Ji fang, et al. Study on *Cordyceps militaris* health yellow rice wine[J]. **Liquor making Science & Technology**, 2006, 148(10): 70- 72. (in Chinese)
- [11] 车振明. 利用人工蛹虫草培养基酿制功能型酱油的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(3): 67- 69.
CHE Zhen ming. Quality study on functional soysauce added with culture medium dregs of artificial cordyceps militaris[J]. **Food Science**, 2003, 24(3): 67- 69. (in Chinese)
- [12] 曾宏彬, 李泰辉, 钟月金, 等. 蛹虫草营养保健醋的研制[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 289- 291.
ZENG Hong bin, LI Tai hui, ZHONG Yue jin, et al. Study on development of *Cordyceps militaris* health vinegar[J]. **Food Science**, 2009, 30(2): 289- 291. (in Chinese)