

文章编号:1673-1689(2010)02-0206-05

枇杷果醋载体吸附式醋化技术研究

李维新^{1,2}, 何志刚^{1,2}, 林晓姿^{1,2}, 任香芸^{1,2}

(1. 福建省农科院 农产品加工研究中心,福建 福州 350013; 2. 福建省农科院 农业工程技术研究所,福建 福州 350003)

摘要:以枇杷果酒为原料,玉米芯为醋酸菌载体,分析了醋酸发酵过程中载体和发酵液内醋酸菌量与醋酸产量的变化,研究了底物、产物浓度及供气模式对枇杷酒醋化的影响。结果表明:枇杷果醋发酵基质中初始乙醇体积分数以 5%~7%较为合适;体积分数 1%的醋酸作为底酸,对醋酸发酵起到促进作用;载体具有吸附醋酸菌的作用,醋酸发酵主要是在载体上进行;采取分段供气和变频喷淋工艺,使体积分数 7%乙醇含量的枇杷酒醋酸转化率达 79.7%,比其它供气模式高约 3 个百分点,比无载体发酵高 12 个百分点。

关键词:枇杷果醋;载体吸附;醋酸发酵;工艺技术

中图分类号: TS 255.44

文献标识码: A

Study on Loquat Vinegar Acetification Technique with Carrier Adsorption

LI Wei-xin^{1,2}, HE Zhi-gang^{1,2}, LIN Xiao-zi^{1,2}, REN Xiang-yun^{1,2}

(1. Agricultural Products Process Research Centre, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350013, China; 2. Institute of Agricultural Engineering Technology, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350003, China)

Abstract: This manuscript study the relationship between acetobacter biomass and the amount of acetic acid production in a carrier adsorption fermentation with comcobs as carriers. A series of optimum process parameters were achieved and listed as follows: (1) the initial ethanol content is 5-7%; (2) the content of substrate (acetic acid) is 1%; (3) The carriers could absorb the acetobacter and it is the place of acetification; (4) The combination of phase gas-offering and alterable frequency insufflation could improve the acetic acid conversion rate 3% (compared with that of gas-offering models) and 12% (that of non-carriers fermentation), respectively.

Key words: Loquat vinegar, carriers adsorption, acetic acid fermentation, technology

水果中具有丰富的糖质资源,是酿酒和酿醋用的上等原料^[1-2],目前食醋不断向保健型转变已成为趋势,果醋作为一种具有良好风味的保健醋而倍

受消费者欢迎。

酿造食醋的工艺有固态和液体发酵法,液体发酵因具有便于机械化、发酵周期短、劳动生产率高

收稿日期:2009-04-18

基金项目:福建省科技计划重点项目(2006S0008);福建省财政专项—福建省农业科学院科技创新团队建设基金资助(STIF-Y05)。

作者简介:李维新(1970-),男,河南新县人,副研究员,主要从事农产品加工研究。Email:lwxx406@163.com。

*通信作者:何志刚(1964-),男,福建莆田人,研究员,主要从事农产品加工研究。Email:njgzzx@163.com。

等优点而发展迅速,尤其是固定化醋酸发酵工艺的应用,大大提高了醋酸发酵的效率;固定化醋酸发酵中载体吸附式是采用玉米芯等具有多孔状纤维材料来吸附醋酸菌,从而达到固定菌体细胞的目的,此方法具有菌体密度高、反应速率快、稳定性好、使用寿命长、可重复利用、便于产物的分离等优点^[3-4],但也存在容易过度氧化,果醋口感淡薄等缺点。醋酸菌是一个好氧菌,在其醋化乙醇过程中需要消耗大量的氧气,在醋酸发酵过程中必须不断通入空气,以便给醋酸菌供氧。在醋化过程,通气量过大或不足,将导致酒精损耗增加或发酵周期延长,而导致乙酸转化率下降^[5]。因此,在枇杷酒醋化过程,通过增加发酵初期的菌体数量、控制通气量、喷淋频率等工艺参数对缩短发酵周期,减少乙醇损耗,提高乙酸转化率至关重要。目前国内外对苹果醋、柑橘醋等工艺技术的研究较多^[6-7],对枇杷果醋酿造技术的研究较少^[8],采用载体吸附式醋化技术酿造枇杷果醋,并对发酵工艺技术和参数进行研究还未见相关报道;作者以枇杷果酒为原料,以玉米芯为醋酸菌细胞吸附载体,分析了载体吸附式醋酸发酵过程载体和基质中菌量与醋酸产量的变化,研究了初始底物、产物浓度及供气模式对枇杷酒醋化周期及乙酸转化率的影响,提出枇杷果醋载体吸附式醋化技术,为枇杷酒的醋化生产提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料 枇杷酒为枇杷经过破碎、榨汁、酒精发酵酿造,乙醇体积分数为5%和7%两种,酸度为0.29%(醋酸体积分数),残糖质量分数为0.25%;玉米芯,市场购买,晒干备用;无水乙醇、冰乙酸均为分析纯。

1.1.2 菌种 醋酸菌为巴氏醋杆菌巴氏亚种(*Acetobacter pasteurianus* subsp. *Pasteurianus*) (沪酿1.01),由上海迪发酿造生物制品有限公司提供。

1.1.3 种子培养基 葡萄糖1g,酵母膏1.5g,磷酸二氢钾0.05g,硫酸镁0.05g,水100mL,pH6.5,灭菌后冷至60℃以下加入无水乙醇3.5mL。

1.1.4 仪器与试剂 BIOTECH-5BG:上海保兴生物设备工程有限公司产品,pH100生物显微镜:凤凰光学控股有限公司产品;载体吸附式醋酸发酵罐,80L(自制),可自动控温和喷淋,自吸泵的流量为10L/min;HZP-250全温振荡培养箱:上海精宏实验仪器有限公司产品;250mL三角瓶,烧杯等。

NaOH,乙酸等均为分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 醋酸菌种子培养 将沪酿1.01接种于种子培养基,置于全温振荡培养箱中,32℃、150r/min,培养30h,醋酸菌种子菌量为 2×10^8 个/mL。种子培养后,继续接种于乙醇体积分数5%的枇杷酒中,于自动玻璃发酵罐中扩大培养,待醋酸菌量达到 10^8 级别后,作为载体发酵的种子备用。

1.2.2 初始底物、产物浓度对醋化的影响 经巴氏杀菌含乙醇体积分数5%的枇杷果酒,用无水乙醇分别调配成乙醇体积分数5%~10%的发酵基料,每瓶100mL,共6个处理;乙醇为体积分数5%的枇杷果酒,分别添加0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%的冰乙酸,每瓶100mL,共7个处理;上述13个处理分别装于250mL的三角瓶中,接入10mL已培养好的醋酸菌液,单层纱布封口,置于全温振荡培养箱,32℃,150r/min培养,每24h测定总酸,计算酸的净增量,实验设3次重复。

1.2.3 载体和基质中菌量与乙酸产量的关系 初发酵与载体菌体细胞富集:在醋酸发酵罐的上部,分3层装入载体(玉米芯)10kg,下部装入30kg体积分数7%的枇杷酒;接入3L经过预先扩大培养的醋酸菌液,设定发酵温度为30~32℃,通气量为0.8L/(min·kg),喷淋周期设为停20min淋20min;循环喷淋30min后开始计时,每3h测定一次发酵液的总酸,12h测定一次发酵液及载体中的醋酸菌个数。

第二批次发酵:经初发酵完毕、完成载体菌体细胞富集后,重新接入新的枇杷酒液50L,发酵条件不变,循环喷淋30min后开始计时,每3h测定一次发酵液的总酸,12h测定一次发酵液及载体中的醋酸菌个数。

1.2.4 供气喷淋模式研究 采用以下A、B、C3种供气模式进行载体吸附式醋化枇杷酒,发酵开始时载体已经经过醋酸菌的富集。枇杷酒的体积分数7%,酸度为体积分数0.29%,发酵温度控制在30~32℃,每12h测定一次基质总酸体积分数,发酵结束后,统计乙酸转化率,以无载体恒定供气和连续喷淋液体发酵作为对照。

处理A:分段供气和变频喷淋 供气分为3段:0~12h,12~48h,48h以后,其通气量分别为0.2、0.8、0.2L/(min·kg),变频喷淋周期分别为停20min淋5min、停5min淋20min、停20min淋5min;处理B:恒定供气和间歇喷淋 通气量为0.8

L/(min·kg),喷淋周期为停20 min淋20 min;处理C:恒定供气和连续喷淋 通气量为0.8 L/(min·kg)。

1.2.5 测定方法 总酸:0.05 mol/L 标准氢氧化钠滴定法,以醋酸表示;酒度:按 GB10345.3—89 标准测定;基质中醋酸菌计数:血球计数法;载体中醋酸菌计数:从发酵载体的上、中、下不同部位取3~5 g的玉米芯,剪碎置于100 mL的无菌水中在摇床振荡30分钟,取样计数,换算成玉米芯所含菌数(个/g)。乙酸转化率的计算参考文献[6]进行。

2 结果与分析

2.1 初始底物浓度与产酸量的关系

沪酿1.01醋酸菌对乙醇体积分数在10%以内的枇杷酒样都能起醋化,但随着乙醇体积分数提高,低产酸量维持的时间变长,醋酸菌生长的延滞期延长。乙醇体积分数在5%~7%时,各处理之间产酸量变化差异不明显,但都高于乙醇体积分数大于8%的各处理(图1)。分析醋化168 h后总产酸量(Y)与初始乙醇含量(X)间的关系为: $Y = 4.474 - 0.221X$ ($P < 0.01$),随着初始乙醇体积分数的增大,总产酸量反而降低,这表明高乙醇体积分数对醋酸菌的生长具有抑制作用,使得醋酸菌的延滞期延长。这种结果必然导致高体积分数的乙醇醋化的周期延长,乙醇损耗增加,乙酸转化率下降,因此试验认为:枇杷酒的醋化应以乙醇体积分数为5%~7%较为合适。

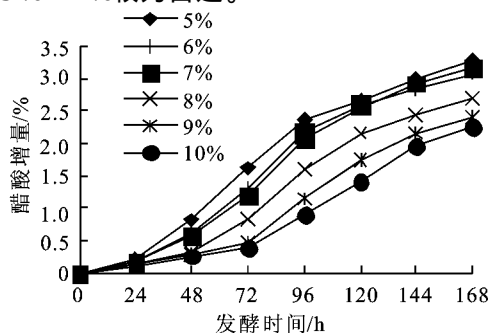


图1 底物体积分数对醋酸发酵的影响

Fig.1 Effect of substrate concentration on acetic acid fermentation

2.2 初始产物体积分数与产酸量的关系

由图2可知,当初添加的乙酸体积分数为1.0%时,接种后72 h内的产酸量呈直线上升,产酸率高于含对照组在内的各处理组;初始乙酸体积分数为0.5%和1.5%的处理与对照组间无明显差异,当乙酸添体积分数大于1.5%时,表现出抑制作用,接种初期不产酸,且初始乙酸体积分数越高,醋化

延滞越长,乙酸的体积分数达到3%时,醋化延滞期达96 h。结果表明:在醋酸发酵过程中,保留适量的乙酸作为底酸,对醋酸发酵起到促进作用,其最佳含量为1%。

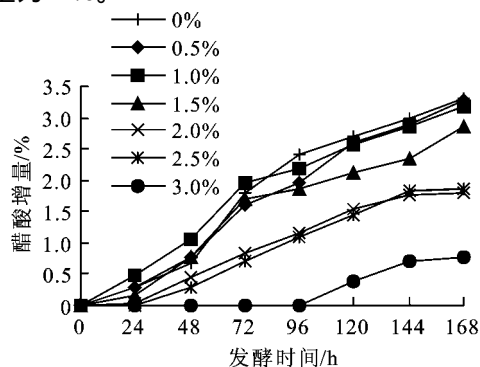


图2 乙酸体积分数对醋酸发酵的影响

Fig.2 Effect of acetic acid concentration on acetic acid fermentation

2.3 载体和基质中菌量与醋酸产量的变化

从菌量看,初次发酵载体与发酵液中的菌量都有一个缓慢增长期,作为载体的玉米芯中含有大量的醋酸菌(含量用c表示,单位为个/g),12 h后就达到在 10^8 个/g以上,而液体中的醋酸菌含量较少,仅在 10^7 个/g水平上;醋酸菌富集后的固定化发酵(第2批),载体中因初次发酵的富集作用而始终保持在高菌量水平上,远远高于液体中的含量,说明载体具有富集醋酸菌的作用,醋酸发酵主要是在载体上进行的(图3、5)。从醋酸总量变化看,初次发酵的醋化缓冲期较长(24 h),在此期间,醋酸增量只有0.21%;之后才进入快速产酸期,整个发酵周期为72 h(图4);在醋酸菌富集后的第二批发酵中,通过初次发酵后载体中的菌量已达到高菌量水平,从而缩短了低菌量的醋酸菌繁殖期;发酵开始后,经喷淋交换使基质中含有1.0%左右醋酸作为底酸,也能促进了醋化作用的进行;因此,第二批醋化缓冲期不明显,接种后即开始产酸,12 h内醋酸增量达到0.9%,产酸高峰期为12~48 h,发酵周期为57 h(图6)。实验结果表明,载体具有吸附醋酸菌的作用,醋化主要在载体上进行;载体富集醋酸菌后能迅速启动醋酸发酵,从而缩短发酵周期,提高产酸率。

2.4 供气喷淋模式对醋酸发酵的影响

载体吸附式醋酸发酵,具有有较高的产酸率,发酵周期短(57 h),乙酸转化率高,均达76%以上;而无载体液体发酵工艺(CK)接种后,低产酸期长达24 h,整个发酵过程中产酸率低,发酵周期长(96 h),因长时间的喷淋和通气,致使乙醇的损耗量大,最终其乙酸转化率较低,只有67.24%(图7、表1)。

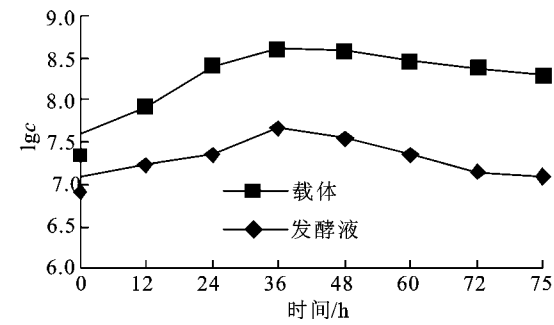


图 3 初次发酵载体与发酵液中菌量的变化

Fig. 3 Acetobacter quantity change in carriers and liquid during first fermentation

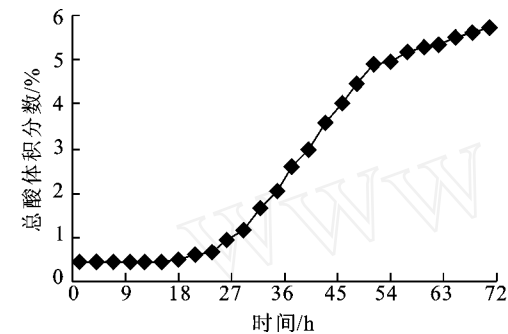


图 4 初次载体发酵中总酸的变化

Fig. 4 Total acid change during first carrier fermentation

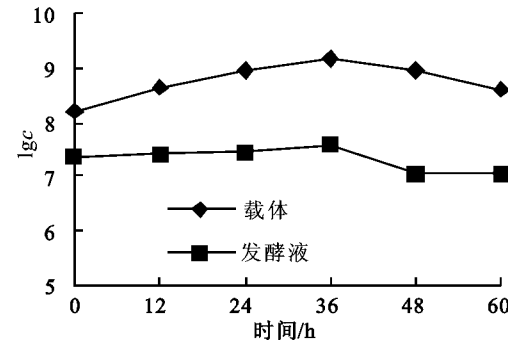


图 5 第二批发酵载体及发酵液菌量变化

Fig. 5 Acetobacter quantity change in carriers and liquid during next fermentation

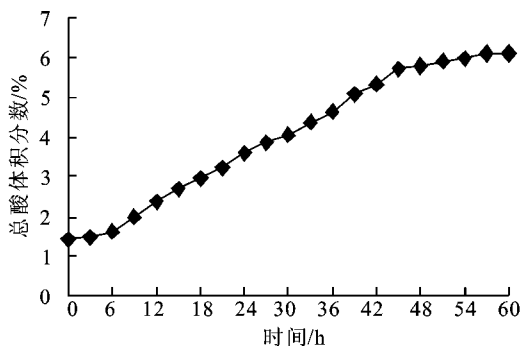


图 6 第二批发酵中总酸的变化

Fig. 6 Total acid change during next fermentation

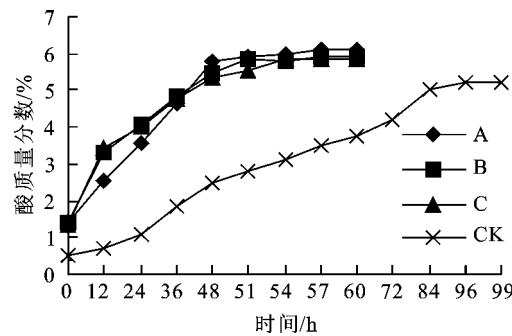


图 7 发酵方式对产酸量的影响

Fig. 7 Effect of fermentation model on the yield of acetic acid

表 1 通气量及喷淋频率对醋酸发酵的影响

Tab. 1 Effects of ventilation quantity and insufflation frequency on acetic acid fermentation

项 目	载体吸附式发酵供气方式			
	CK	A	B	C
发酵周期/h	96	57	57	57
乙酸转化率/%	67.24	79.70	76.41	76.28

载体吸附式醋酸发酵前期,醋酸菌产酸率较低,耗氧水平也低;但此时期发酵液中乙醇浓度高,高通气和连续喷淋会加大乙醇的损耗。分段供气和变频喷淋工艺(A)同另两种供气方式(B、C)相比,因其前期通气量小,乙醇的损耗也相应减少;接种后 12 h 内产酸少,但其高产酸期(12 ~ 48 h)产酸速率高,最终的产酸量也高(图 7);3 种供气方式的发酵周期均为 57 h,但 A 方式的乙酸的转化率比 B、C 提高了约 3 个百分点(表 2)。同时因通气和喷淋得到控制,A 方式能缩短了电机的工作时间,既延长了机器的使用寿命,又节约了能源,因此生产上应采取控制通气及喷淋的方法,既能提高产品的转化率,又可降低生产成本。

3 讨论与结论

1) 在醋酸发酵中,醋酸菌要经历利用发酵基质中的营养成分繁殖生长,同时将乙醇氧化成醋酸两个过程。醋酸发酵过程存在高浓度乙醇的底物抑制和高浓度醋酸的产物抑制效应^[9]。高浓度的乙醇对醋酸菌的繁殖具有显著的抑制作用,发酵基质中乙醇含量越高,其抑制作用越明显;同时乙醇浓度过高,抑制醋酸菌的生长,致使其发酵时间延长,乙醇的挥发损失加大,产酸率会降低。综合考虑认为枇杷果醋发酵时,乙醇体积分数以 5 % ~ 7 % 较为合适。

乙酸是醋酸发酵的产物,在载体吸附式醋酸发酵的连续生产中,因载体的吸附作用,下批次的发

酵液中会滞留有一定量的乙酸,其含量的高低会对醋酸的发酵作用造成一定的影响。王丽丽等在醋酸菌生长的营养需求及产酸的促进作用研究中发现,发酵培养基外加体积分数1%~2%的醋酸作为底酸对沪酿1.01的产酸速率有促进作用^[10]。作者研究表明,在枇杷果醋发酵中,高浓度的乙酸对醋酸发酵有明显的抑制作用,但一定含量的乙酸作为底酸,可对发酵起到促进作用,醋酸发酵时其体积分数以1%较为合适,此结论与王丽丽等的研究基本一致。

2) 载体吸附式醋酸发酵中,玉米芯载体中含有大量的醋酸菌,而液体中的醋酸菌含量较少,表明载体具有富集醋酸菌的作用,醋酸发酵主要是在载体上进行的,而液体中几乎没有发酵作用,因为醋酸菌具有产酸能力时液体菌数必须达到 10^8 级以上。在第二批次的醋酸发酵中,通过初次发酵后载体中的菌量已达到高菌量水平,从而缩短了低菌量的醋酸菌繁殖期,从而可缩短发酵周期,提高醋酸转化率。

3) 乙醇和乙酸作为醋酸发酵底物和产物具有很强的挥发性,通气量及通气时间均会影响乙醇和乙酸的损耗速度。在载体吸附式醋酸发酵过程中由于发酵液的喷淋作用,增大了乙醇、乙酸与空气的接触面积,其因通气的损耗量会增加;在发酵前期,基质中乙醇浓度高,高通气和连续喷淋会加大乙醇的损耗,此时期醋酸菌处于繁殖阶段,耗氧较低,因此前期应减少通气量;在中期,醋酸菌处于高产酸期,发酵速度快,耗氧量大,此时应加大通气量;发酵后期如通入的氧气过量,在乙醇含量不足的情况下,会发生过氧化反应,醋酸菌将乙酸进一步氧化成水和二氧化碳,使酸度迅速下降,吸附醋酸载体物质的温度就会迅速上升,为杂菌的大量繁殖创造了条件,大量杂菌生长就会使醋汁产生异味、变混浊,故在发酵的后期也应减少通气量。因此,采取分段供气及变频喷淋的方法,能提高产品的转化率,7%乙醇体积分数的枇杷酒醋酸转化率可达到79.7%,比其它供气模式高出约3个百分点,比无载体发酵高出12个百分点。

参考文献(References):

- [1] FUSHIMI T, TAYAMA K, FUKAYA M, et al. Acetic acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats[J]. *J Nutr*, 2001, 131(7): 1973 - 1977.
- [2] 高兆建. 菠萝果酒发酵的工艺[J]. *食品与生物技术学报*, 2006, 25(3): 98 - 103.
GAO Zhao-jian. Studies on the pineapple wine fermentation technology[J]. *Journal of Food science and Biotechnology*, 2006, 25(3): 98 - 103. (in Chinese)
- [3] 周秀琴. 固定化醋酸菌的调制与连续发酵食醋[J]. *江苏调味副食品*, 2004, (6): 23 - 24.
ZHOU Xiu-qin. The production of fixed acetic acid bacteria and the successively fermented vinegar[J]. *Jiangsu Condiment and Subsidiary Food*, 2004, (6): 23 - 24. (in Chinese)
- [4] 戴明辉. 论液态深层发酵制醋的研究及发展方向[J]. *江苏调味副食品*, 2003, (2): 5 - 7.
DAI MIN-HUI. Submerged fermentation of vinegar in the direction of research and development[J]. *Jiangsu Condiment and Subsidiary Food*, 2003, (2): 5 - 7. (in Chinese)
- [5] 穆国春, 葛玲, 张铭锋. 液体深层发酵法生产苹果醋酸型饮料的工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2000, 21(4): 17 - 18.
MU Guo-chun, GE Ling, ZHANG Min-feng. A technical research of apple acetified drink by liquor deep fermentation[J]. *Food research and development*, 2000, 21(4): 17 - 18. (in Chinese)
- [6] 杨萍芳, 蔺毅峰. 苹果营养醋的生产工艺研究[J]. *中国食品学报*, 2006, vol6, No5: 81 - 84.
YANG Ping-fang, LIN Yi-feng. Studies on the Production Technology of Apple Nutritious Vinegar[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2006, vol6, No5: 81 - 84. (in Chinese)
- [7] 鲁海波, 姚跃飞, 伍伟青, 等. 柑桔醋醋酸菌的筛选研究[J]. *中国酿造*, 2004, (6): 10 - 12.
LU Hai-bo, YAO Yue-fei, WU Wei-qing, et al. Research on screening acetobacter spp. for Citrus vinegar fermentation[J]. *Chian Brewing*, 2004, (6): 10 - 12. (in Chinese)
- [8] 麻成金, 黄群, 欧阳玉祝, 等. 枇杷果醋及其饮料的研制[J]. *中国酿造*, 2006, (6): 71 - 74.
MA Cheng-jin, HUANG Qun, OUYANG Yu-zhu, et al. Development of loquat vinegar and its beverage[J]. *Chian Brewing*, 2006, (6): 71 - 74. (in Chinese)
- [9] 郭养浩, 康小红, 李斌, 等. 醋酸发酵过程中的底物抑制和产物抑制效应[J]. *中国酿造*, 1992, (3): 22 - 25.
GUO Yang-hao, ZHOU Xiao-hong, LI Bing, et al. Substrate and product inhibition effects during acetic fermentation[J]. *Chian Brewing*, 1992, (3): 22 - 25. (in Chinese)
- [10] 王丽丽, 仪宏, 沙惠琴, 等. 醋酸菌生长的营养需求及产酸的促进作用研究[J]. *中国调味品*, 2004, (6): 4 - 6.
WANG Li-li, YI Hong, SHA Hui-qin, et al. Studies on the nutritional properties of Acetobacter and the factors promoting acid production[J]. *Chinese Condiment*, 2004, (6): 4 - 6. (in Chinese)

(责任编辑:朱明)