

文章编号:1673-1689(2010)06-0911-05

高酸度醋发酵工艺研究

亓正良¹, 杨海麟¹, 张玲¹, 冷云伟², 权武³, 王武^{*1}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 中国矿业大学, 江苏 徐州 221008; 3. 徐州恒顺万通食品酿造公司, 江苏 徐州 221003)

摘要: 采用分段变量式发酵启动工艺, 有效地防止了醋酸生产菌老化, 缩短了启动时间; 通过对酒醪清混液发酵方式实验比较, 证实混液中的固形物对醋酸发酵传氧效率起到一定的负面作用; 研究结合科学的分割发酵工艺设计和连续分割发酵实验, 结果表明: 醋酸平均发酵强度由原来 0.12 g/dL·h 提高到 0.19 g/dL·h, 发酵时间平均缩短 4 h, 高酸度醋连续发酵酸度达到 9 g/dL 食醋, 平均生产强度为 0.18 g/dL·h, 比国内现有生产水平提高 20%。

关键词: 醋酸杆菌; 发酵启动; 清液发酵; 连续分割法; 高酸度醋

中图分类号: Q 815

文献标识码: A

Study on the Technology of High-Acidity Rice Vinegar Submerged Fermentation

QI Zheng-liang¹, YANG Hai-lin¹, ZHANG Ling¹, LENG Yun-wei²,
QUAN Wu³, WANG Wu^{*1}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. China University of Mining and Technology, Xuzhou 221008, China; 3. Xuzhou Hengshun Wantong Food Brewing Company, Xuzhou 221003, China)

Abstract: In this manuscript, a novel step-start protocol of fermentation process was developed to inhibit the bacteria aged and to short the fermentation starting-up time. By compared with the oxygen transfer efficiency in the clear solution and unfiltered solution, it was found that the mash-solid of unfiltered solution exhibit a negative effect on the oxygen transfer efficiency. By combinatorial of multi-stage fermentation process and semi-continuous fermentation, a serial of results were achieved: the acetic acid productivity increased from 0.12 g/dL·h to 0.19 g/dL·h; The fermentation time reduced 4 hours; The final acidity of high-acidity vinegar semi-continuous fermentation was more than 9 g/dL, the productivity reached at 0.18 g/dL·h, higher 20% than that of the similar studies.

Key words: acetobacter, production starting-up, fermentation of filtered mash, semi-continuous operation, high acidity vinegar

收稿日期: 2009-10-30

基金项目: 国家 863 计划项目(2006AA10Z314); 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2008BAI63B06)。

* 通信作者: 王武(1952—), 女, 福建福州人, 教授、博士生导师, 主要从事发酵、遗传工程方面的研究。Email: wangwu@jingnan.edu.cn

食醋是世界多数人日常生活需要消耗的调味品。在中国,食醋生产历史已超过 3 000 多年,传统的食醋生产多采用较为复杂的多菌种混合固态发酵工艺,所酿食醋香气浓郁、酸味醇厚,但发酵周期长,原料利用率低,劳动强度大,生产能力低^[1-2]。液体深层醋酸发酵采用纯种发酵,周期短,产酸高,生产能力强,具有显著优势而逐渐被国内生产厂家所采用^[3-4],但相对于欧美食醋生产先进国家发酵强度偏低、能耗高。

欧美食醋以食用酒精为主要底物配以一定量营养盐进行清液发酵,发酵液中难溶固形物极少,平均生产强度达到 0.2 g/dL·h,并能生产高酸度醋^[5]。高酸度醋与普通醋相比具有杀菌力强、保鲜效果好、节约运输费用和降低成本等优点^[6]。我国现有食醋液态深层发酵工艺是以米酒发酵醪为主要原料,在生产过程中带渣发酵(不除去米渣)^[7-8],难溶固形物含量多,平均醋酸发酵强度低且不能连续发酵高酸度醋。针对此问题本文研究比较了米酒醪过滤前后进行小型发酵罐清混液发酵的效果,对发酵启动和高酸度醋的连续发酵工艺进行了改进和实验研究。

1 材料与方法

1.1 菌种

沪酿 1.01(*Acetobacter pasteurianus*):由徐州恒顺万通食品酿造有限公司提供。

1.2 培养基

1.2.1 试管斜面培养基(组分 g/L) 葡萄糖 10 g,酵母浸出粉 10 g,无水 CaCO_3 15 g,琼脂 20 g, pH 值 6.5,灭菌冷却至 60 ℃ 以下再加无水乙醇 35 mL。

1.2.2 液体种子培养基(组分 g/L) 葡萄糖 10 g,酵母浸出粉 10 g, pH 值 6.5,灭菌冷却至 60 ℃ 以下再加入无水乙醇 40 mL。

1.2.3 发酵培养基 取自米酒发酵车间酒精质量浓度 9 g/dL 的酒醪,发酵时稀释为 6.5 g/dL 后转入发酵罐。

1.3 主要设备

10 L 自吸式发酵罐:徐州恒顺万通食品酿造有限公司提供。

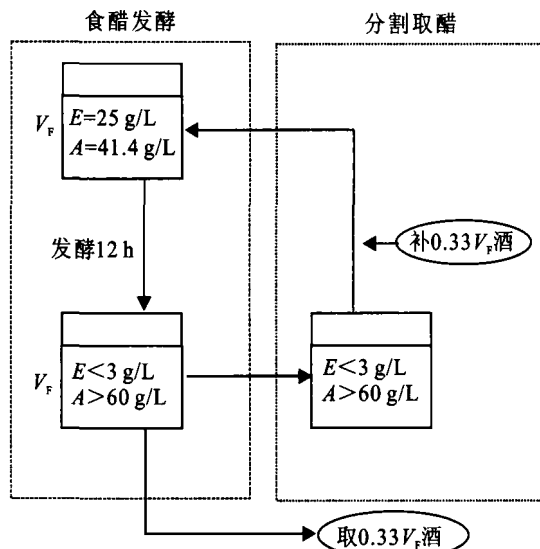
1.4 培养方法

1.4.1 种子活化 将 2~4 ℃ 下保藏的醋酸菌,在无菌条件下接入试管斜面,于 30 ℃ 保温培养 48 h,备用。

1.4.2 液体种子培养 取斜面生长良好的菌种接

入装有种子培养基的三角瓶中,装量 250 mL 三角瓶中装 50 mL 在 30 ℃、150 r/min 振荡培养,培养 24 h。

1.4.3 分割发酵 当醋酸发酵成熟时取出一定量成熟醋醪,再补加等量的酒醪继续发酵,如此重复发酵。具体操作①罐温维持在 30 ℃,通气量为 1.2 L/min。②酸度 5 g/dL(质量浓度)以下 3 h 测酸一次,5%以上时 1 h 测定一次。③当发酵酸度超过 6%取出总发酵体积 33%的成熟醋醪后再补入等体积酒醪进行发酵。分割模型如图 1。



注: V_F 为罐工作体积; E 为醪中酒精质量浓度; A 为醪中醋酸质量浓度

图 1 食醋分割发酵模型

Fig. 1 Scheme of the vinegar fermentation

1.5 清液与混液发酵

清液发酵:将质量浓度为 6.5 g/dL 酒醪经过小型板框过滤机过滤后在罐中连续进行批次分割发酵;混液发酵:酒醪不过滤直接转入罐中连续进行批次分割发酵。

1.6 高酸度醋发酵

在清液发酵实验基础上,分割量不变但每次补入酒度为质量浓度 9 g/dL 的米酒醪,经过几个批次的分割后逐渐提高发酵终点酸度。

1.7 分析方法

1.7.1 醋酸检测 酸碱滴定法^[9]。

1.7.2 酒精检测 Frings 酒精在线自动检测仪。

2 结果与讨论

2.1 分段变量式醋酸发酵启动

工业化醋酸发酵一般不采用一次性加料至最大发酵体积的方法,因为一次性发酵种子投放工艺往往容易引起菌种老化,导致发酵时间拉长,对生产造成不利影响,所以一般是往发酵罐中先加入一

定体积米酒醪发酵一段时间,然后每隔一段时间补入定量的酒醪直达到达到生产要求,时间大都在 2 d 以上。

为了缩短启动时间,本实验采用分阶段变量加料启动策略,通过控制补料时机和补料量而优化启动过程,具体操作方法:①罐温维持在 30℃,通气量 1.2 L/min,将成熟的种子以 10%的接种量接入初始醪体积为 3 L 米酒质量浓度为 3 g/dL 的罐中进行发酵。②10 h 时酒质量浓度降到 0.5 g/dL 补入 3 L 酒质量浓度为 6.5 g/dL 的酒醪继续发酵。③30 h 时酒质量浓度降到 0.3 g/dL 时补入 2 L 酒质量浓度为 9 g/dL 的酒醪达到工作体积 8 L,此后进入正式发酵阶段,过程如图 2-1 所示。

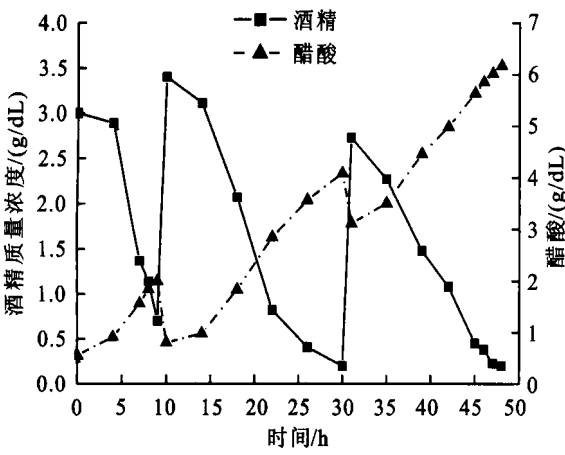


图 2-1 发酵启动过程

Fig. 2-1 Starting-up protocol of fermentation

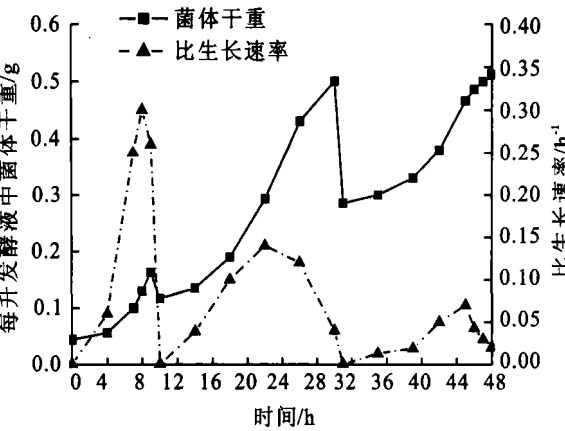


图 2-2 发酵启动中菌体生长情况

Fig. 2-2 Growth of bacteria in the fermentation starting-up

由图 2-1 可知分阶段变量加料启动法仅用 48 h,相对于目前常用启动方法时间大大缩短。醋酸发酵启动目的是在短时间内获得一定量有活力的菌体,本方法在预实验研究菌体生长的基础上确定最优补料时机并计算得到相应补料量。从图 2-2 看到每次补料时机都选择菌体生长对数后期,此时菌体活力高,利于减少延滞期,从而减少启动耗时。

2.2 清混液醋酸发酵比较

醋酸菌是严格好氧菌,发酵过程中对氧气供给量很敏感,发酵液的溶氧是醋酸发酵过程中的一个主要限制性因素。为了使醋酸发酵顺利地进行必须保证稳定持续有效的供氧。以米酒为底物的发酵液其固形物质量分数为 2%,醪液中固形物很可能是影响氧的传递,同时固形物存在还可能造成菌体分布不均而使局部底物缺乏,相应的发酵效率也会降低。为此分别进行清混液分批发酵实验,结果如图 3 所示。

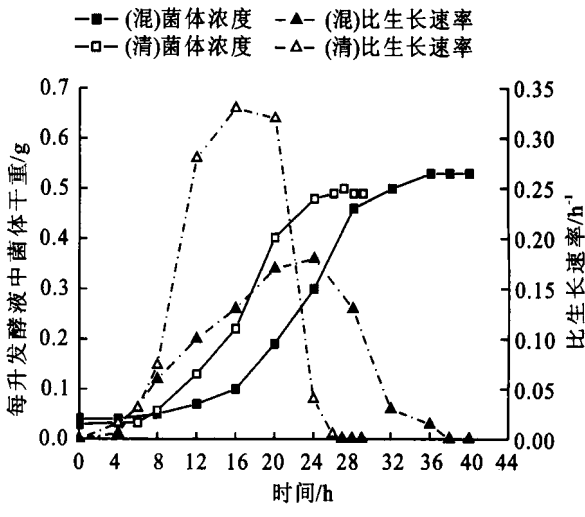


图 3 清、混液分批发酵对比

Fig. 3 Comparison of the filtered and unfiltered mash batch fermentation

从图 3 可知清液发酵过程中菌体生长迅速,25 h 时进入稳定期,最大比生长速率为 0.33/h⁻¹。混液条件下菌的延滞期较长,最大比生长速率为 0.17/h⁻¹,在 38 h 进入稳定期。因为其它操作条件一致,发酵液的溶氧很可能是主要限制性因素。

为进一步证明清混液对生产过程的影响,根据上述分割发酵法将米酒发酵液先经过滤后进行 3 个批次发酵实验,之后又进行了米酒醪不过滤直接发酵的 3 个批次实验。具体过程如图 4 所示。

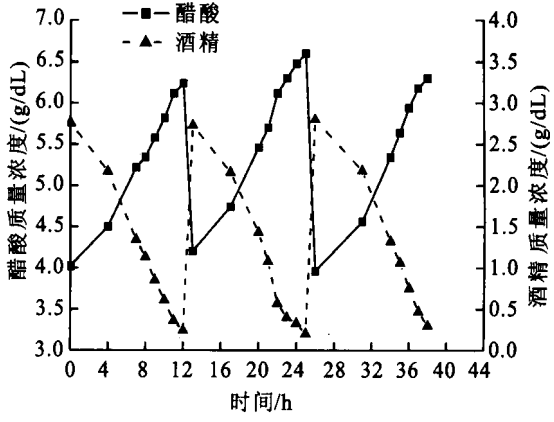


图 4-1 清液分割发酵过程

Fig. 4-1 Fermentation process of the filtered mash

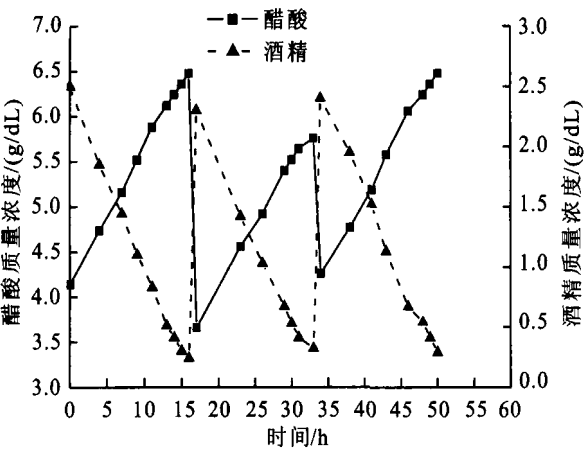


图 4-2 混液分割发酵过程

Fig. 4-2 Fermentation process of unfiltered mash

通过对比图 4-1 和 4-2 可知清液发酵 3 个批次总共需要 38 h, 每批维持在 12 h, 醋酸平均生产强度在 0.2 g/dL · h 左右; 混液发酵需要 50 h, 每批发酵时间 17 h, 平均生产强度在 0.12 g/dL · h 左右。由此进一步证明初始发酵醪中的难溶固形物对发酵过程氧传递有明显影响。具体发酵数据分析结果见表 1。

表 1 发酵数据分析

Tab. 1 Analysis of fermentation data

实验号	醋酸/(g/dL)		每批 时间/h	醋酸平均 生产强度/ (g/dL · h)
	初始 质量浓度	最终 质量浓度		
清 1	4.02	6.26	13	0.185
清 2	4.2	6.6	12	0.2
清 3	3.96	6.3	12	0.195
混 1	4.14	6.48	16	0.146
混 2	3.66	5.76	17	0.123
混 3	4.26	6.48	17	0.13

虽然(混)1 号实验平均生产强度相对后两次实验稍微偏高, 但是相对前 3 次实验平均值下降了 36.8%, 发酵时间延长了 4 h。又因为(混)1 号实验是在清液发酵实验后直接补入没有过滤的酒醪发酵, 其中固形物有一定稀释。因此(混)1 号实验也反映出难溶固形物对醋酸发酵溶氧的影响。

2.3 高酸度醋酸发酵

发酵液中的溶氧是醋酸发酵过程中一个重要影响因素, 随着总酸提高对其要求更为苛刻, 它往往决定高酸发酵的成败。清混液对比实验证实发酵液中难溶固形物影响氧气传质, 因此在清液基础上研究高酸发酵工艺。

前面实验中每次补入的酒醪都是用一定量醋酸稀释的, 在高酸度醋发酵实验中采用补加非稀

过的酒醪逐渐提高分割补醪后的起始酸度及延长发酵时间的方法进行发酵研究, 经过批次分割后能连续发酵酸度 9 g/dL 的醋, 结果如图 5 所示。

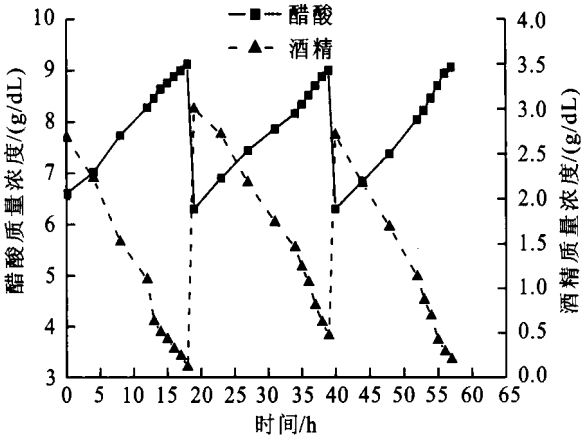


图 5 高酸度食醋发酵实验

Fig. 5 Fermentation of high acidity vinegar

由图 5 可知通过逐渐提高分割补醪后的起始酸度和延长发酵时间的方法发酵酸度为 9 g/dL 的醋是可行的。此次实验的 3 个批次发酵总共用 58 h, 每批 17 h, 醋酸平均生产强度在 0.14 g/dL · h 左右, 比低酸发酵过程多出 20 h, 平均生产强度降低 26%。虽然醋酸菌对一定量的醋酸有耐受力, 但是在其耐酸范围之内随着发酵液中的醋酸含量的升高醋酸菌的比生长速率和活力都将下降, 同时醋酸发酵又是一个生长偶联的发酵过程, 因此高酸发酵的平均生产强度也随之下降。

为了优化高酸度醋发酵平均生产强度, 对不同分割体积比做了初步研究, 实验结果如表 2 所示。

表 2 不同分割体积发酵实验

Tab. 2 Volume of fermentation experiments in different partition

分割 体积比/%	醋酸/(g/dL)		每批 时间/h	醋酸平均 生产强度/ (g/dL · h)
	初始 质量浓度	最终 质量浓度		
33	6.02	8.96	21	0.14
30	6.42	9.05	15	0.175
25	6.8	9.12	18	0.129

由表 2 看到分割体积比为 30% 时醋酸平均生产强度达到 0.175 g/dL · h, 相对于 33% 和 25% 效果较好。每次分割后罐中剩余发酵液相当于种子液, 当分割体积比为 33% 时只有 67% 体积种子, 可能种子量恢复需要耗费一定时间, 所以平均生产强度相对 30% 分割体积时较低; 当分割体积比为 25% 时虽然有 75% 体积种子, 但是补入的营养物质少, 原发酵液中菌体量相对较多而存在竞争作用导致总体生产强度下降。

3 结 语

发酵食醋具有天然酿造、营养丰富、无毒副作用等优点,广泛应用于烹调、食品加工、医药等行业^[10]。相对于普通食醋,高酸度醋具有杀菌力强、保鲜效果好、节约运费、降低成本等优势,随着应用面的扩展市场需求将不断增加,发展潜力日趋明显。

本实验优化发酵启动时间为48 h,减少了非生

产时间,对发酵过程中溶氧问题进行研究,探索了高酸度醋发酵方法,在分割体积优化基础上实现了酸度90 g/L的高酸度醋连续发酵,发酵实验平均生产强度达到0.18 g/dL·h,比国内现有生产水平提高20%,为下一步研究提供了基础。今后工作将在继续提高发酵终酸、高酸发酵过程启动策略、发酵过程变温控制和溶氧反馈控制方面进行深入研究,以期早日实现我国高酸度醋的工业化生产。

参考文献(References):

- [1] 赵良启,李 丽. 我国食醋生产技术的历史、现状与发展趋势[J]. 中国调味品,2005,7(1):3-6.
ZHAO Liang-qi, LI li. The history, present status, development trend of the production technology of Chinese vinegar [J]. **China Condiment**, 2005,7(1):3-6. (in Chinese)
- [2] 蔡美珠. 食醋工业科技进步回顾与展望[J]. 中国调味品,2001,2(1):3-6.
CAI Mei-zhu. Review and prospect of vinegar industry's scientific and technology[J]. **China Condiment**, 2001,2(1):3-6. (in Chinese)
- [3] 宫名字. 对液态深层发酵制醋工艺过程中问题的研究[J]. 中国调味品,1997, (8):7-11.
GONG Ming-yu. Study on the question of submerged fermentation process of vinegar[J]. **China Condiment**, 1997, (8):7-11. (in Chinese)
- [4] 解欣伟. 产高醋酸菌的筛选及小型醋酸发酵实验[J]. 中国调味品,2002, (7):24-25.
XIE Xin-wei. Screening and fermentation experiment of high acetic acid producing bacteria[J]. **China Condiment**, 2002, (7):24-25. (in Chinese)
- [5] 王 琳,胡 平,杨立苹. 浅谈高浓度醋的应用及市场前景[J]. 江苏调味副食品,2004,21(5):5-8.
WANG Lin, HU Ping, YANG Li-ping. The application and market prospect of high concentration vinegar [J]. **Jiangsu Condiment and Subsidiary Food**, 2004,21(5):5-8. (in Chinese)
- [6] 徐 玲,王文凤,周广田. 高酸度酿造醋的生产方法及研究现状[J]. 食品与药品,2007,9(12):57-59.
XU Ling, WANG Wen-feng, ZHOU Guang-tian. Production and present situation of highly sour fermented vinegar[J]. **Food and Drug**, 2007,9(12):57-59. (in Chinese)
- [7] 陈蔚青,程长平. 30M³标准型通风发酵罐进行液态深层米醋发酵的应用研究[J]. 中国调味品,2001,10(10):30-32.
CHEN Wei-qing, CHENG Chang-ping. Applied research on 30M³ standard submerged fermentation tank of rice vinegar production [J]. **China Condiment**, 2001,10(10):30-32. (in Chinese)
- [8] 戴明辉. 液态深层发酵制醋新工艺的探索[J]. 中国酿造,2005(10):8-11.
DAI Ming-hui. Research on the new technique of vinegar production by submerged fermentation[J]. **China Brewing**, 2005,(10):8-11. (in Chinese)
- [9] 上海酿造科学研究所编著. 发酵调味品生产技术[M]. 北京:轻工出版社,1992.
- [10] 徐清萍,陶文沂,敖宗华. 食醋醇沉上清液的生物活性[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24:76-80.
XU Qing-ping, TAO Wen-yi, AO Zong-hua. Bioactivity of ethanol supernate of vinegar[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24: 76-80. (in Chinese)

(责任编辑:杨萌)