

固定化醋酸菌发酵制备果香型米醋

郑超群¹, 何炯灵¹, 谢广发², 蒋予箭^{1*}

(¹浙江工商大学食品与生物工程学院 杭州 310018

²浙江树人学院 生物与环境工程学院 浙江省污染暴露与健康干预重点实验室 杭州 310015)

摘要 以猕猴桃汁和黄酒为原料生产果醋,在酒精发酵阶段将猕猴桃汁发酵成猕猴桃酒后,将其与黄酒混合,同时在醋酸发酵阶段选择一种合适的天然固定化材料进行固定化发酵,并对制得的果醋进行有机酸分析和稳定性研究。结果表明:用甘蔗渣作为醋酸菌固定化载体进行醋酸发酵,产酸量较高,为 6.31 g/100 mL,且感官品质较佳。根据有机酸检测结果和感官评价结果,将醋酸发酵原料猕猴桃酒和黄酒的配比定为 1:1;同时以微生物菌落数、VC 损失率等为指标,对果醋的灭菌工艺进行研究,得到发酵结束后最适的加盐量为 2%,最佳的灭菌条件为 95 °C,30 s。在上述工艺条件下生产的复合果醋口感较佳,稳定性较好。

关键词 果醋; 黄酒; 固定化发酵; 有机酸

文章编号 1009-7848(2023)05-0184-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.05.019

我国一直以粮醋为主要食醋,而对于果醋的生产加工还处于初期阶段^[1-2]。果醋中含有的有机酸等滋味物质较多,相比于粮醋具有营养丰富、口感更加柔和多样的优点^[3-4],且水果中含有较丰富的维生素和酚类物质,使果醋具有较好的抗氧化、降胆固醇等功效^[5-7]。目前由于果醋的生产成本高于粮醋、果醋加工工艺不够成熟等因素,导致国内的果醋产品较少,且大部分以纯果汁发酵为主。基于以上原因,本试验将古越龙山加饭黄酒加到果醋的生产中,用于增加其风味和功效,同时降低果醋发酵成本。利用固定化技术提高果醋的产酸量,旨在为我国的果醋产业提供新的工艺和方法。

固定化材料的选择是进行固定化发酵的重要步骤。许朝晖等^[8]采用玉米芯为材料固定化醋酸菌发酵,使得 1 g 乙醇经固定化发酵可生成 0.98 g 的醋酸,且固定化材料可连续使用 24 个月。蒋予箭等^[9]以甘蔗渣、刨花、稻壳等为材料进行固定化发酵,发现以甘蔗渣为载体进行固定化醋酸菌发酵蓝莓醋时发酵过程稳定且产酸量较高。Kocher 等^[10]将醋酸菌液和玉米芯、甘蔗渣、软木屑混合制得固定化醋酸菌颗粒,结果表明用玉米芯固定化醋酸菌发酵效率达 99%。孙菲菲等^[11]以海藻酸钠

为载体进行固定化醋酸菌发酵,与传统发酵芒果醋相比产酸率提高了 45%。本文选取玉米芯、花生壳、甘蔗渣、秸秆、米糠 5 种吸附性较强的天然材料,对比以包埋效果稳定的海藻酸钙凝胶为醋酸菌固定化载体的发酵效果,选择一种发酵产酸率较高且发酵过程稳定的材料进行果醋的固定化发酵。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猕猴桃(江山猕猴桃,12 °Bx),购于超市;黄酒(古越龙山加饭酒,酒精度 17%vol,总糖 25 g/L,总酸 5.5 g/L),绍兴古越龙山集团提供;安琪果酒活性干酵母,湖北安琪酵母有限公司;食品级果胶酶(5 万 U/g),江苏锐阳生物科技有限公司;沪酿 1.01 醋酸菌,上海迪发生物有限公司。

磷酸二氢铵,分析纯级,上海麦林试剂有限公司;草酸、酒石酸、苹果酸、抗坏血酸、乳酸、醋酸、柠檬酸、琥珀酸标准品、甲醇,均为色谱纯级,上海阿拉丁试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

0-20 酒精计,武强县华洋仪表厂;HH-6 数显恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;ATC 手持式糖度仪,南京科航实验仪器有限公司;SPX-250B-Z 恒温培养箱,上海精密仪器仪表有限公司;LC-2010A HT 高效液相色谱,日本岛津有限公司。

收稿日期: 2022-05-11

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目(LGG19C200001)

第一作者: 郑超群,男,硕士

通信作者: 蒋予箭 E-mail: 13357180599@189.cn

1.3 方法

1.3.1 果醋发酵工艺

1.3.1.1 制作工艺 对猕猴桃剥皮、破碎、打浆后,添加果胶酶酶解,得到猕猴桃汁液,然后调节糖度至 20 °Bx, 添加活化后的酵母菌液进行酒精发酵,得到猕猴桃酒,同时加入一定比例的黄酒,添加醋酸菌进行醋酸发酵,生成果醋,加盐后熟,灭菌调配得到果醋成品。

1.3.1.2 猕猴桃汁酶解 将剥皮后的猕猴桃(1 000 g)用打浆机打成果浆,加入 0.8 g 果胶酶^[12],在水浴锅中 50 °C 水浴 2 h,后调至 80 °C,水浴 15 min,。冷却至室温,用食品级白砂糖调糖度为 20 °Bx。

1.3.1.3 酵母菌活化 使用天平称取 10 g 干活性酿酒酵母加入到 150 mL、20 g/L 无菌葡萄糖溶液中,38 °C 水浴锅中活化 30~45 min,得到酵母菌液。

1.3.1.4 猕猴桃发酵 测算活化后酵母菌浓度^[13],计算酵母菌液量,使得接种后的发酵菌液初始浓度为 1×10^7 个/mL,加入菌液后搅匀,置于锥形瓶中封口,28 °C 培养箱发酵 5 d。还原糖质量浓度小于 10 g/L 时,发酵结束。

1.3.1.5 醋酸发酵 文献表明最适合醋酸发酵的酒精度为 6%vol^[14-15],所以将黄酒和猕猴桃酒酒精度分别调节至 6%vol,然后按不同比例混匀,接种 10%的醋酸菌(接种活化后的醋酸菌菌种,在产酸培养基中 30 °C、120 r/min 恒温振荡条件下培养 3 d),置于 30 °C 恒温培养箱静置发酵至酸度不再上升。

1.3.1.6 不同加盐量处理 向醋酸发酵结束后(即酸度达到最大值时)的果醋中分别添加 0%, 1%, 2%, 3% 的食盐抑制醋酸菌等不耐盐杂菌的生长代谢,检测果醋进入加盐后熟阶段 7 d 内总酸的变化,结合加盐量对固定化发酵果醋滋味的影响,确定最终加盐量。

1.3.1.7 不同灭菌方法处理 将陈酿后(即加盐后熟)的果醋在 3 000 r/min 离心 20 min,取上层澄清液进行抽滤处理^[16],装到锥形瓶中密封处理,在不同的条件下(95 °C, 30 s; 85 °C, 15 min; 65 °C, 30 min)进行灭菌处理,通过对比灭菌后固定发酵果醋酸度、VC 损耗量以及微生物指标,结合不同条件下灭菌后的果醋色泽形态观察,最终确定最佳

的灭菌方式。

1.3.2 醋酸菌固定化方法

1.3.2.1 固定化载体的制备 将玉米芯、花生壳、秸秆洗净烘干后剪成约 1 cm×1 cm 的小块,高压灭菌后烘干待用;将甘蔗去皮后切成小段形状,然后用剪刀剪成(切割成)约 1 cm×1 cm 的小块,压榨后水煮再压榨以除去甘蔗中本身含有的糖分,灭菌后置于烘箱中去除水分;将米糠用纱布包裹后放置在锥形瓶中,灭菌后烘干待用。

1.3.2.2 醋酸菌的固定化处理

1) 吸附法 称取经灭菌处理烘干后的玉米芯、花生壳、甘蔗渣、秸秆、米糠各 5 g 分装到 500 mL 锥形瓶中,依次加入经过活化的醋酸菌菌液,用 4 层纱布封口后,放置于 4 °C 的冰箱冷藏 12 h 进行固定。

2) 包埋法 按 10% 的接种量添加醋酸菌液,将它与同体积的 1.5% 海藻酸钠溶液混合,在 37 °C 水浴条件下,使用 10 mL 注射器(带 9# 针头)缓慢滴加到 3% 氯化钙溶液中,然后在 21 °C 的恒温水浴条件下固定 1 h 使其硬化,最后用无菌水冲洗后将固定化颗粒加入到 0.05% 氯化钙溶液中,置于 4 °C 的冰箱中 10 h,备用。

1.3.2.3 实验室简易固定化发酵装置设计 根据固定化发酵结合浇淋的原理,构思设计了一个固定化装置(图 1)。将固定化载体置于发酵液的上方,使吸附在上面的醋酸菌拥有充足的氧气量,酒液经过固定有醋酸菌的载体缓慢滴入发酵池。每隔一段时间发酵液就重新浇淋回流一次,部分醋

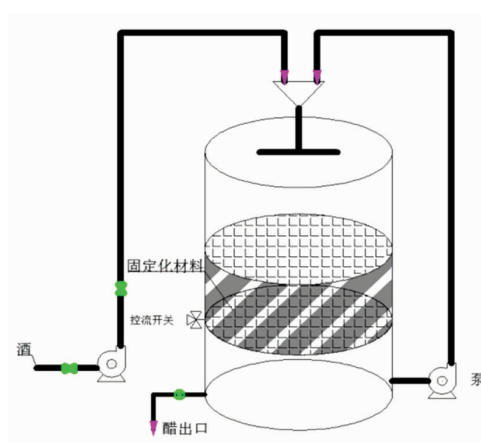


图 1 装置构思设计简易图

Fig.1 Simple drawing of the design

酸菌会进入发酵液进行发酵,可以使载体上的醋酸菌有足够的空间和营养物质来增殖产酸,同时吸附材料上的醋酸菌和底下浇淋带下去的游离醋酸菌同时产酸,能够增加产酸的速率和产量。图中的控流开关可以通过控制隔板的孔径直径来控制

发酵液的浇淋速度,泵用于发酵液循环流经载体。

1.3.3 感官评价方法 根据评定标准,对不同样品进行感官评级,感官评价人员一共10人(每个人员都经过感官品评培训),取评价员得出的分值的平均值。感官评价标准见表1。

表1 自制果醋的感官评定标准

Table 1 Sensory evaluation standard of self-made fruit vinegar

类别	评分标准	分值/分
色泽	清亮,琥珀色,色泽较好,有光鲜感	15
	清凉,光泽略差,或颜色过深过浅	11~13
	略微浑浊,失去光泽	8~10
	浑浊,缺乏果醋应有色泽	≤6
香气	具有猕猴桃果香和酿造食醋特有香味,醋香柔和,有少许酯香,无不良气味	30
	有果醋特有香味,香味柔和,酯香不明显	22~26
	果醋香味较少,无异味	16~20
	无果醋特有香味,存在异味刺激性气味	≤12
滋味	口感清爽,酸味协调、厚重,略带甘甜,诸味协调、口味醇和绵长无异味	40
	口感清爽,酸味尚协调,口味尚醇和	30~34
	果醋酸味较淡,口感不柔和	22~26
	无果醋酸味,异味,酸败味	≤16
形态	澄清,无浑浊现象,无沉淀、悬浮物	15
	有少许沉淀	11~13
	有沉淀,有少许悬浮物	8~10
	沉淀物较多	≤6

1.3.4 有机酸含量的测定方法 将不同有机酸加入到100 mL容量瓶中,溶解混匀,制成混合标样储备液,各有机酸质量浓度为:草酸0.4 mg/mL、抗坏血酸0.3 mg/mL、酒石酸和苹果酸均为2 mg/mL、醋酸60 mg/mL、乳酸5 mg/mL、柠檬酸7 mg/mL、琥珀酸1.8 mg/mL,从储备液中取样1,3,5,7,9 mL到10 mL容量瓶中,超纯水定容,制成不同梯度的混合标样,0.45 μm有机滤膜过滤后,绘制标准曲线。液相色谱条件为:色谱柱:Inertsil ODS-3(4.6 mm×250 mm,5 μm);流速:0.5 mL/min;柱温:25℃;检测波长:210 nm;进样体积:5 μL;流动相:5 g/L磷酸二氢铵(磷酸调pH值至2.5)。

将发酵好的样品在15 000 r/min的条件下离心20 min,后0.45 μm微孔滤膜过滤,进行HPLC测定,每个样品测定3次取平均值。

1.3.5 理化指标测定 酒精度参考国家标准GB/T 13662-2008《黄酒》中的蒸馏法进行测定,总酸含量参考国家标准GB/T 13662-200《黄酒》中的8

酸碱中和滴定法进行测定。

微生物指标采用平板菌落计数法,依据国标GB 4789.2-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》和GB 4789.3-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》,培养48 h后进行菌落总数和大肠杆菌数测定;依据国标GB 4789.15-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》培养5 d后进行霉菌和酵母计数。

2 结果与分析

2.1 载体对醋酸菌固定化发酵的影响

将吸附醋酸菌的玉米芯、花生壳、甘蔗渣、秸秆、米糠这5种天然固定化材料和包埋有醋酸菌的海藻酸钠材料进行固定化发酵,每种材料各设3组平行,发酵7 d,每天定时检测各发酵液总酸含量,将其与游离发酵的发酵液进行对比,结果如图2所示。对用不同的固定化材料进行固定化发

酵的果醋进行感官评价,结果见表 2。

由图 2 可以看出,随着固定化发酵的进行,发酵液的总酸含量越来越高,第 2~5 天产酸速率较快,5~7 d 趋于平稳,这可能是醋酸发酵后期发酵液的总酸过高对醋酸菌的生长有一定的抑制作用所致。发酵第 7 天,部分固定化发酵液总酸含量略有下降,这是因为醋酸菌在营养物质较低的情况下会分解部分醋酸获得能量。从图 2 中可以看出,用不同的固定化材料进行发酵其产酸速率有所差别,总酸含量依次为:甘蔗渣(6.31 g/100 mL)>玉米芯(6.23 g/100 mL)>花生壳(5.85 g/100 mL)>米糠(5.80 g/100 mL)>秸秆(5.67 g/100 mL)>海藻酸钠(5.11 g/100 mL)>游离发酵(4.76 g/100 mL)。本次研究表明,游离发酵的总酸含量最低,用吸附法固定发酵的总酸含量较高,包埋法固定发酵的总酸含量在两者之间。各种固定化材料吸附性和结构的不同使其产生的最高总酸含量也有差异,以甘蔗渣和玉米芯作为固定化材料的产酸总量较高,秸秆作为固定化材料的产酸总量较低。

由表 2 可以看出,使用不同的固定化材料进行固定化醋酸菌发酵产生的果醋在风味上有所不同。从色泽来看,花生壳为固定化材料发酵的果醋颜色较深,明亮度比较好;从香气上看,由于甘蔗渣和玉米芯本身带有一点果香,因此这两种材料

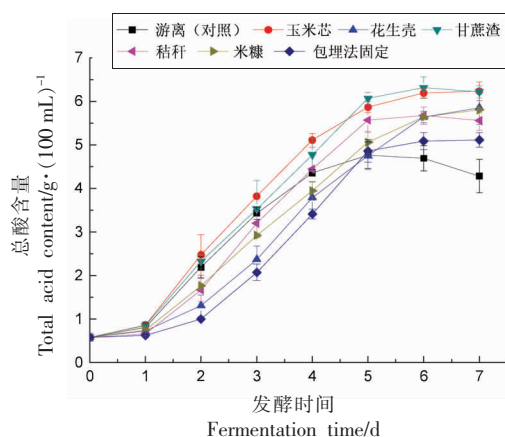


图 2 不同载体醋酸菌固定化发酵过程总酸含量变化

Fig.2 Changes in total acid content during fermentation of different immobilized acetic acid bacteria

作固定化载体发酵产生的果醋带有少量的水果清香,有利于增加香气;从滋味来说,甘蔗渣作为固定化材料发酵产生的果醋在品尝时会带有甘蔗的甘甜味,滋味较佳;从外形上看,海藻酸钠包埋的醋酸菌由于包埋材料的结构使得制作的果醋澄清度较好;从感官综合评分看,以甘蔗渣为固定化材料发酵而成的果醋综合评分最高,口感香气外形等方面较好。综合产酸性能和感官风味值,选择甘蔗作为固定化材料。

表 2 不同固定化载体发酵的果醋感官评价结果

Table 2 Results of sensory evaluation of fruit vinegar fermented by different immobilized carriers

固定化材料	感官评价/分					备注
	色泽	香气	滋味	形态	分值	
游离	13.1 ± 0.98	26.8 ± 0.34	36.2 ± 0.63	13.1 ± 0.56	89.2	无
玉米芯	13.0 ± 0.52	28.4 ± 0.68	36.8 ± 0.42	13.8 ± 0.73	92.0	无
花生壳	13.9 ± 0.46	23.1 ± 1.21	30.1 ± 0.88	12.1 ± 0.68	79.2	少许涩味,色泽相对较深
甘蔗渣	12.9 ± 0.62	28.9 ± 0.46	38.1 ± 0.67	12.3 ± 0.77	92.2	有少许甘蔗清香,味甘甜
秸秆	12.2 ± 0.73	20.2 ± 1.08	32.2 ± 1.08	12.5 ± 0.84	77.1	有少许秸秆的青草气味
米糠	12.7 ± 0.82	26.2 ± 0.66	34.4 ± 0.99	12.1 ± 0.68	85.4	无
海藻酸钠包埋	12.1 ± 0.56	25.4 ± 1.05	36.1 ± 1.20	14.1 ± 0.42	87.7	澄清度相对较好

2.2 果汁(酒)含量对固定化发酵米醋发酵过程及风味的影响

将调配的不同比例的混合果醋分别进样,检测其特征性有机酸含量,发酵曲线见图 3, HPLC 分析图谱见图 4,有机酸含量如图 5 所示。对不同比例混合的果醋进行感官品评,总分以各项分值累

计而计,感官雷达图见图 6。

图 3 可以看出,黄酒和猕猴桃酒的调配比例不同导致其发酵过程中产生的总酸含量也存在差异。果酒发酵后的最高总酸含量依次为:纯猕猴桃醋>(猕猴桃酒:黄酒=3:1>1:1>1:2>2:1>1:3)>纯黄酒醋。由此可见,纯猕猴桃酒发酵的总酸含量最

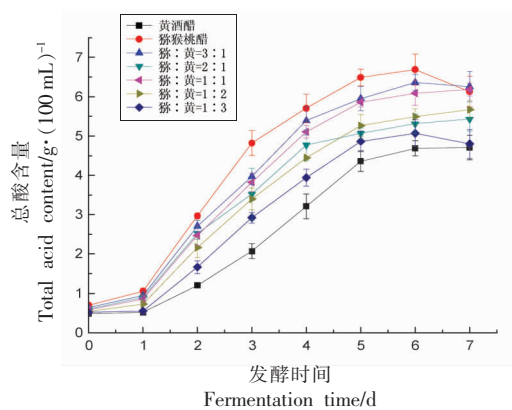


图3 不同配比混合发酵过程总酸含量变化

Fig.3 Changes of total acidity during acetic acid fermentation with different proportion of kiwi wine and Huangjiu

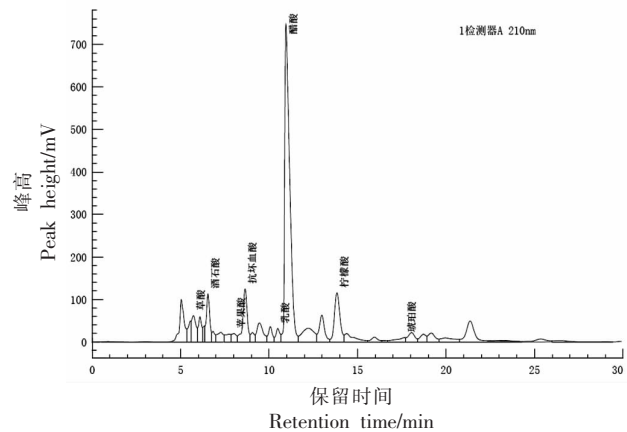


图4 等比例混合发酵果醋中有机酸 HPLC 分析色谱图

Fig.4 HPLC chromatogram of fruit vinegar fermented by equal amount of kiwi wine and Huangjiu

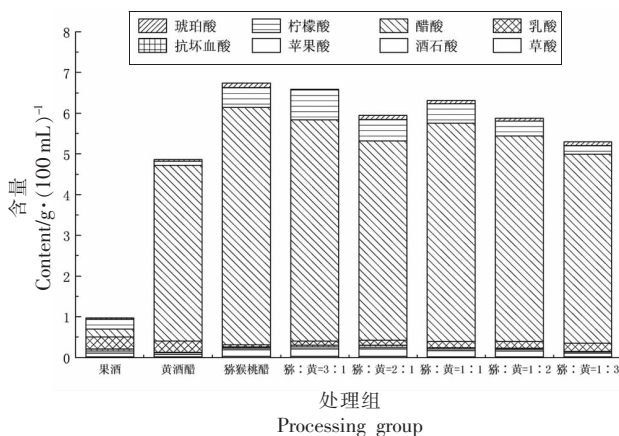


图5 不同样品中有机酸含量

Fig.5 Organic acid content in different samples

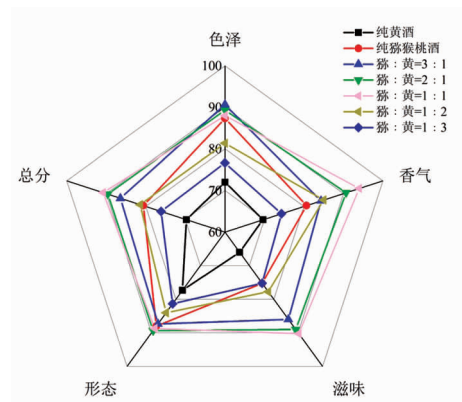


图6 不同比例混合发酵的果醋感官评价结果

Fig.6 Results of sensory evaluation of fruit vinegar fermented by different immobilized carriers

高,纯黄酒发酵产生的总酸含量最低,等比例混合的发酵果醋在发酵过程中产生的总酸仅次于猕猴桃=3:1 发酵果醋和纯猕猴桃发酵果醋。

果醋发酵过程中除产生较多的醋酸外,也会形成一定量的乳酸、酒石酸、柠檬酸等非挥发性有机酸。试验中对果醋中存在的醋酸、乳酸、草酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸、抗坏血酸这8种特征性有机酸进行了测定分析,结果表明(见图5)不同比例黄酒和猕猴桃酒混合发酵果醋中的特征性有机酸含量存在差异,特征性有机酸含量顺序为:纯猕猴桃醋>(猕猴桃酒:黄酒=3:1>1:1>2:1>1:2>1:3 发酵果醋)>纯黄酒醋。由于发酵产生的醋酸含量大小为:纯猕猴桃醋>(猕猴桃酒:黄酒=3:1>1:

1>1:2>2:1>1:3 发酵果醋)>纯黄酒醋,所以纯猕猴桃酒酿制的果醋的刺鼻性(主要由挥发性较大的醋酸产生)较大。乳酸的含量随着配料中黄酒成分的增加而有所上升,原因是在黄酒生产的浸米、发酵等环节会形成较多的乳酸,适量的乳酸可以很好地缓解醋酸产生的刺鼻味。苹果酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸这几种有机酸是TCA循环上面的有机酸,一般是猕猴桃酒发酵、或黄酒发酵过程中的副产物,在果醋中的含量多少跟参与发酵的酵母菌种类、醋酸菌种类密切相关。复合发酵果醋中的草酸、抗坏血酸主要来源于猕猴桃汁或者是猕猴桃酒。当猕猴桃酒和黄酒的配比为3:1或者1:1时,发酵果醋中上述8种特征性总酸的含量较高。

图 6 可以看出,当猕猴桃酒和黄酒的调配比例不同时,采用固定化发酵方式产生出的果醋风味也有所不同。从色泽和外观形态来看,纯猕猴桃汁固定化发酵制得的果醋呈浅黄色、亮度较好;加入适量黄酒混合发酵制得的果醋的色泽呈现较明快的琥珀色;当黄酒添加过量时会使得果醋的颜色变得较为暗淡。香气方面,纯猕猴桃酒发酵制得的果醋果香味较好,略带醋酸产生的刺鼻味;黄酒的添加增加了果醋的醇香气味与酯香气味,且使得醋酸带来的刺鼻味明显降低,使香气成分更加的柔和、协调。滋味方面,跟纯的猕猴桃果酒醋相比,适当加入黄酒发酵制得的果醋中乳酸等非挥发性有机酸的比例略呈提高,发酵果醋酸味较柔和协调,酸中略带甘甜,滋味评分值较高。从综合评分可知,猕猴桃酒和黄酒以 1:1、2:1 混合发酵时产生的果醋风味最佳。结合原料成本等因素,最后确定固定化发酵的原料调配比例为猕猴桃酒:黄酒=1:1。

2.3 果香型米醋灭菌方式的确定

2.3.1 加盐量的确定 果醋发酵结束(即酸度不再上升)后要进行一段时间的陈酿,在陈酿过程中经过氧化、醋化、水解等反应,使得醋酸的刺激性变小,不饱和脂肪酸氧化,形成果醋独特风味^[17]。

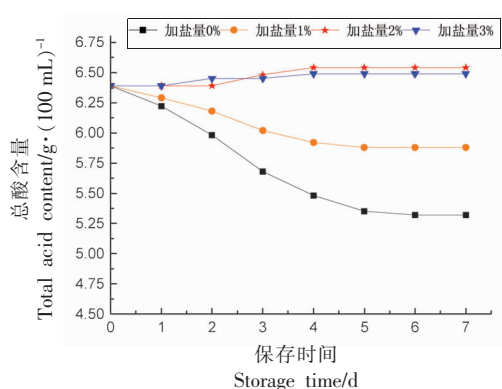


图 7 加盐量对果醋陈酿过程中总酸含量的影响

Fig.7 Effect of salt addition on total acid content during fruit vinegar aging

此时需要加入 1%~3% 的盐来抑制醋酸菌等不耐盐菌的生长代谢,防止醋酸菌在缺少营养物质的情况下分解醋酸,使果醋酸度下降或者出现变质等问题,而加盐量又会影响果醋的口感,因此确定加盐量是果醋后期的重要一步,加盐量对醋酸发酵结束后 1 周内总酸的影响见图 7。加盐量主要影响感官评定中的滋味这一项,故对滋味进行感官评定,总分 40 分,其评定结果见表 3。将做好的果醋用 3 种不同的温度时间组合进行灭菌,不同灭菌方式的效果比较见表 4。

表 3 加盐量对果醋滋味的影响

Table 3 Effect of salt addition on taste of fruit vinegar

加盐量	0%	1%	2%	3%
滋味评分/分	36.2 ± 0.67	37.5 ± 0.42	38.2 ± 0.31	30.7 ± 0.98

2.3.2 杀菌条件的确定 从表 4 可以看出,经过这 3 种灭菌方式处理的果醋其微生物检验结果均符合 NY/T 2987-2016《绿色食品 果醋饮料》中规定的菌落总数 ≤100 CFU/mL、大肠杆菌 <0.033 (MPN/mL)、霉菌和酵母 ≤20 CFU/mL、致病菌不得检出的规定。从灭菌后样品的外观来看,经过高温短时灭菌(95 °C, 30 s)的果醋色泽较鲜亮,且醋液澄清透明无沉淀,而经过低温长时灭菌(65 °C, 30 min)的样品相对色泽比较暗淡,醋味稍淡,且底部有少许浑浊,这可能是由于灭菌不彻底微生物因素引起的,也可能是由于灭菌时间较长造成果醋中发生一些酶促反应等非微生物因素导致的^[18];从酸度和 VC 的损耗率来看,未灭菌前经过加盐

后熟后总酸含量为 6.54 g/100 mL,VC 含量为 35.2 mg/100 mL,经过短时高温灭菌后总酸挥发和 VC 的损耗率最少,而在 60 °C 的条件下恒温灭菌 30 min,尽管是封口后灭菌的,但长时间的相对高温还是使得总酸含量降低了 0.46 g/100 mL,VC 损失了 31%。因此,果醋的灭菌方式应该选择高温短时即 95 °C 灭菌 30 s 的方法,采用该方法灭菌不仅使得果醋能够较好保持原有的鲜亮色泽,VC 的损失率相对较低,且杀菌效果也优于其它 2 种灭菌方式,有利于后期保藏和维持产品稳定性。

由图 5 可以看出,当不加盐时,在醋酸发酵结束后 4 d 总酸含量由于醋酸菌等杂菌的生长代谢作用而不断下降;当加入 1% 的盐后,总酸含量下

表4 3种杀菌方式效果比较

Table 4 Comparison of the three ways of sterilization

指标	杀菌方式		
	65 °C, 30 min	85 °C, 15 min	95 °C, 30 s
菌落总数/CFU·mL ⁻¹	8	2	未检出
霉菌和酵母/CFU·mL ⁻¹	2	未检出	未检出
大肠菌群/MPN·mL ⁻¹	未检出	未检出	未检出
致病菌	未检出	未检出	未检出
总酸含量/g·(100 mL) ⁻¹	6.08	6.21	6.41
VC含量/mg·(100 mL) ⁻¹	24.3	28.9	32.6
果醋外观	果醋呈暗黄色, 果香及醋香较淡, 醋液澄清透明, 底部有少许浑浊	果醋呈琥珀色, 光泽较淡, 果香和醋香适中, 醋液澄清透明, 无沉淀	果醋呈琥珀色, 光泽好, 醋香味适中柔和, 醋液澄清透明, 无沉淀

降量减少;当加盐量达到2%及以上,大部分醋酸菌等不耐盐杂菌死亡,使得果醋在陈酿(即后熟)的过程中总酸含量保持稳定,且略有所上升。综合考虑果醋口感,1%~2%的加盐量是适合增加果醋风味的作用,而3%的加盐量会影响果醋的口感,故将醋酸发酵结束后的加盐量定为2%。

2.4 果香型米醋的稳定性试验

将经过加盐后熟及高温短时灭菌的果醋置于38 °C恒温培养箱中放置8周,每周取样测定总酸含量、pH值、VC含量、可溶性固形物含量、微生物菌落数等指标,跟踪测定结果见表5。

表5 稳定性跟踪结果

Table 5 Results of stability tracking

时间	总酸含量/g·(100 mL) ⁻¹	pH值	VC含量/mg·(100 mL) ⁻¹	可溶性固形物含量/°Bx	还原糖含量/g·L ⁻¹	有无沉淀	菌落总数/CFU·mL ⁻¹	大肠杆菌及致病菌
第0天	6.41	2.81	32.6	6.1	6.02	无	≤10	未检出
第7天	6.41	2.81	32.6	6.3	6.02	无	≤10	未检出
第14天	6.41	2.83	32.1	6.3	6.02	无	≤10	未检出
第21天	6.37	2.83	32.1	6.5	6.10	无	≤10	未检出
第28天	6.37	2.84	30.4	6.5	6.10	无	≤10	未检出
第35天	6.33	2.86	30.4	6.8	6.17	无	≤10	未检出
第42天	6.24	2.84	29.2	6.8	6.08	无	≤10	未检出
第49天	6.24	2.87	27.3	6.8	6.08	无	≤10	未检出
第56天	6.24	2.86	27.3	6.8	6.10	无	≤10	未检出

由表5可以看到在果醋灭菌后保藏的56 d时间内各理化指标和微生物数量的变化情况。总酸含量在保藏过程中前3周保持稳定,后几周虽略有下降,但下降幅度不大,可能是在取样的过程中有部分醋酸挥发导致的。pH值和还原糖含量基本不变,VC含量有略有下降,可能是受到光照而使得VC被少量破坏,可溶性固形物含量开始虽有微量的增加,但后期基本处于稳定状态。菌落总

数在56 d内都小于等于10 CFU/mL,致病菌和大肠杆菌均未检出,且在保藏期间均没有出现沉淀和浑浊,说明自制果醋的稳定性较好,货架期至少在2个月以上。

3 结论

本文以猕猴桃和黄酒为原料进行果醋的发酵,改变了以纯果汁或者果品下脚料为原料生产

果醋的传统思维,创新了果醋加工工艺和风味,不仅丰富了果醋的品种,也为黄酒的利用开发提供了新的途径,希望能够为果醋未来的研发提供一种新的思路。

采用玉米芯、花生壳、甘蔗渣、秸秆、米糠作为材料对醋酸菌进行固定化发酵,与游离和用海藻酸钠包埋法进行固定发酵的效果进行比较,结果表明:发酵结束时,游离醋酸菌发酵的总酸含量为4.76 g/100 mL,用其它材料固定醋酸菌发酵后总酸含量依次为:甘蔗渣(6.31 g/100 mL)>玉米芯(6.23 g/100 mL)>花生壳(5.85 g/100 mL)>米糠(5.80 g/100 mL)>秸秆(5.67 g/100 mL)>海藻酸钠(5.11 g/100 mL)。再结合感官评价结果,最终选择甘蔗渣为醋酸菌固定化载体。

用高效液相色谱(HPLC)检测分析了纯猕猴桃果醋、黄酒发酵醋及果酒-黄酒混合发酵果醋的各特征性有机酸含量,研究表明当加入的黄酒所占比例低于果酒时,混合发酵果醋8种特征性有机酸中的草酸、酒石酸、苹果酸、抗坏血酸、柠檬酸、乳酸等有机酸含量均高于纯果汁发酵果醋,能够改善果醋品质,结合感官评价结果,将果醋醋酸发酵原料猕猴桃酒和黄酒的配比定为1:1。

以微生物菌落数、VC损失率等为指标,对果醋的灭菌工艺进行初步研究,得到发酵结束后最佳的加盐量为2%,最佳的灭菌条件为温度95℃、时间30 s,在此条件下灭完菌的果醋在38℃恒温培养箱内放置8周后,各理化指标均无明显变化,微生物菌落数符合标准。

参 考 文 献

- [1] 董玉新,郭德智. 果醋开发及果醋工艺研究[J]. 中国酿造, 2000, 19(2): 25-27.
DONG Y X, GUO D Z. Development and technology of fruit vinegar[J]. China Brewing, 2000, 19(2): 25-27.
- [2] 雷玛莎. 果醋的产生和研制[J]. 中国调味品, 2001, 26(5): 6-8.
LEI M S. Production and development of fruit vinegar[J]. Chinese Condiments, 2001, 26(5): 6-8.
- [3] REN M M, WANG X Y, TIAN C R, et al. Characterization of organic acids and phenolic compounds of cereal vinegars and fruit vinegars in China[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(3): 1-8.
- [4] 刘耀玺. 果醋的营养价值与保健功能[J]. 中国调味品, 2014, 39(10): 136-140.
LIU Y X. Nutritional value and health function of fruit vinegar[J]. Chinese Flavoring, 2014, 39(10): 136-140.
- [5] 王同阳. 果醋的功能性[J]. 中国调味品, 2006, 31(6): 10-12.
WANG T Y. The functionality of fruit vinegar[J]. Chinese Condiments, 2006, 31(6): 10-12.
- [6] 刑志利. 果醋的保健功效及加工工艺研究进展[J]. 中国调味品, 2005, 30(4): 42-44.
XING Z L. The health protection of fruit vinegar and the research progress of its process[J]. Chinese Condiments, 2005, 30(4): 42-44.
- [7] 樊艳丽, 刘耀玺, 李志西, 等. 仁用杏果醋的抗氧化性研究[J]. 中国酿造, 2007, 176(11): 7-9.
FAN Y L, LIU Y X, LI Z X, et al. Study on antioxidant activity of almond-apricot vinegar[J]. China Brewing, 2007, 176(11): 7-9.
- [8] 许朝辉, 王吉瑛. DF生物反应器快速酿醋的应用技术[J]. 江苏调味副食品, 2004, 21(5): 17-20.
XU Z H, WANG J Y. Application of DF biological reaction devices in speeding up vinegar production [J]. Jiangsu Seasoning Non -Food, 2004, 21(5): 17-20.
- [9] 蒋予箭, 荣智新, 严婷婷. 蓝莓醋固定化发酵载体的选择及工艺条件优化[J]. 中国食品学报, 2015, 15(9): 150-157.
JIANG Y J, RONG Z X, YAN T T. The selection of immobilized carrier of blueberry vinegar fermentation and the optimization of processing conditions[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(9): 150-157.
- [10] KOCHER G S, KALRA K L, PHUTELA R P. Comparative production of sugarcane vinegar by different immobilization techniques[J]. Asymmetric Michael Addition of an Alanine Derivative, 2006, 112(3): 264-266.
- [11] 孙菲菲, 秦艳, 韦星明, 等. 固定化细胞技术应用于芒果醋的研究[J]. 中国酿造, 2008, 27(17): 56-58.
SUN F F, QIN Y, WEI X M, et al. Study on production of mango vinegar by cells immobilization

- technology[J]. *China Brewing*, 2008, 27(17): 56–58.
- [12] 安玉红, 任廷远. 果胶酶解木瓜榨汁工艺的研究[J]. *食品与发酵科技*, 2010, 46(1): 69–72.
AN Y H, REN T Y. Research on squeezing process of *Chaenomeles sinensis* with pectinase enzymolysis[J]. *Food and Fermentation Science and Technology*, 2010, 46(1): 69–72.
- [13] 谭楠华, 周建弟. 利用固定化酵母进行黄酒主发酵的初步研究[J]. *中国酿造*, 2012, 31(1): 162–166.
TAN L H, ZHOU J D. Study on rice wine primary fermentation with immobilized yeast[J]. *China Brewing*, 2012, 31(1): 162–166.
- [14] 关莹, 张冬雪, 张军. 黑加仑、蓝莓复合果醋饮料的研发[J]. *食品与发酵科技*, 2011, 47(2): 90–93.
GUAN Y, ZHANG D X, ZHANG J. Study on composite fruit vinegar beverage of blackcurrants and blueberry[J]. *Food and Fermentation Science and Technology*, 2011, 47(2): 90–93.
- [15] 刘金艳, 曾清平, 司振军, 等. 一种猕猴桃醋酸发酵饮料的研制[J]. *山东轻工业学院学报*, 2010, 24(3): 29–32.
LIU J Y, ZENG Q P, SI Z J, et al. The develop-
- ment of kivi–fruit acetic acid drink[J]. *Journal of Shandong Institute of Light Industry*, 2010, 24(3): 29–32.
- [16] 姚忱, 由涛. 果醋澄清工艺的研究进展[J]. *中国调味品*, 2011, 36(1): 68–70.
YAO C, YOU T. Research progress of clarification technology of fruit vinegar[J]. *Chinese Condiment*, 2011, 36(1): 68–70.
- [17] 张霁红, 张永茂, 康三红, 等. 果醋中主要风味物质的研究进展[J]. *农产品加工·创新版*, 2012(11): 47–51.
ZHANG J H, ZHANG Y M, KANG S H, et al. Research progress of flavor substances from vinegar[J]. *Agricultural Product Processing & Innovation Edition*, 2012(11): 47–51.
- [18] 林秀敏, 陈楷, 蒋佳希, 等. 食醋浑浊现象的微生物因素分析与探讨[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(4): 1293–1297.
LIN X M, CHEN K, JIANG J X, et al. Analysis and discussion on microbial factors of turbidity of vinegar[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2017, 8(4): 1293–1297.

Preparation of Fruity Rice Vinegar by Immobilized Acetic Acid Bacteria Fermentation

Zheng Chaoqun¹, He Jionglings¹, Xie Guangfa², Jiang Yujian^{1*}

⁽¹⁾School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018

²Key Laboratory of Pollution Exposure and Health Intervention of Zhejiang Province, College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015)

Abstract Kiwi fruit juice and huangjiu were considered as raw materials to produce fruit vinegar in this paper. At the stage of alcohol fermentation, kiwi juice was fermented into kiwi wine, then mixed it with huangjiu. In the acetic acid fermentation stage, a suitable natural immobilized material was selected for immobilized fermentation. Finally, the organic acid and stability of the self-made fruit vinegar were studied. The main results of the study are as follows: The fruit vinegar with using bagasse as acetic acid bacteria immobilized carrier was the high acidity of 6.31 g/100 mL and had better sensory quality. Taking organic acids content and sensory evaluation results into consideration, the ratio of kiwi wine and huangjiu was determined as 1:1. The sterilization process of fruit vinegar was studied with microbial colony count, VC loss rate and so on as the indexes. The results showed the optimum amount of salt was 2%, and the optimum sterilization condition was 95 °C, 30 s. Under these conditions, the compound fruit vinegar produced was good in taste and good in stability.

Keywords fruit vinegar; huangjiu; immobilized fermentation; organic acids