

# 柿果醋醋酸发酵工艺参数优化研究

刘月梅<sup>1,3</sup>, 白卫东<sup>2</sup>, 鲁周民<sup>1\*</sup>, 郑皓<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学林学院, 杨凌 712100; 2. 仲恺农业技术学院轻工食品学院, 广州 510225;  
3. 延安职业技术学院, 延安 716000)

**摘要:** 为了探索柿子原浆果醋的发酵规律, 给柿果醋的生产提供理论依据。以水柿为原料, 采用响应面法对柿果醋醋酸发酵过程的工艺参数(发酵温度、醋酸菌接种量和发酵时间)进行优化。结果表明, 醋酸菌接种量、发酵时间对柿果醋醋酸含量有极显著影响( $p < 0.01$ ), 发酵温度对后者影响不显著。优化出最佳工艺参数为发酵温度 33.1℃, 醋酸菌接种量 0.56%, 发酵时间 110 h, 在此工艺条件下柿果醋醋酸含量可达 4.928 g/(100 mL)。多元回归分析结果显示, 发酵温度、醋酸菌接种量、发酵时间与醋酸含量之间回归模型高度显著, 可用于实际生产预测。

**关键词:** 柿果醋; 柿果浆; 醋酸发酵; 工艺参数; 响应面法

**中图分类号:** TS255.47

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-6819(2008)-4-0257-04

刘月梅, 白卫东, 鲁周民, 等. 柿果醋醋酸发酵工艺参数优化研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(4): 257-260.

Liu Yuemei, Bai Weidong, Lu Zhoumin, et al. Optimization of acetic acid fermentation parameters for production of persimmon vinegar[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(4): 257-260.(in Chinese with English abstract)

## 0 引言

经微生物发酵酿制而成的柿果醋, 色泽鲜亮, 味道圆润, 与粮食醋相比营养更为丰富。在传统柿果醋发酵工艺的基础上, 将柿子打浆后制成柿果醋, 这种方法加工成的柿果醋溶解了柿子中的全部营养成分, 补充了粮食醋中矿物质的不足, 特别是柿子中丰富的维生素、氨基酸等成分, 大大提高了其营养价值及保健药用功能<sup>[1]</sup>。近年来对柿果醋的加工工艺和技术研究较多<sup>[2-8]</sup>, 但经检索表明尚无人以柿子原浆为原料进行果醋发酵工艺参数的优化研究。本文采用响应面法对柿果醋醋酸发酵过程的发酵温度、醋酸菌接种量和发酵时间 3 因素的最佳工艺参数进行了探讨, 旨在为柿果醋工厂化生产提供理论依据, 从而提高柿果的利用率, 丰富食醋的花色品种。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**柿子:** 水柿, 购于陕西杨凌徐西湾村, 自然软化后备用, 可溶性固形物含量 15%。

**菌种:** 活性干酵母(广东丹宝利酵母有限公司); 中科 1.41 活性醋酸菌(上海佳民酿造食品有限公司)。

收稿日期: 2007-05-31 修改日期 2007-10-17

基金项目: 广州市科技攻关项目(2005Z3-E0031)

作者简介: 刘月梅(1971-), 女, 新疆石河子人, 研究方向为植物资源加工与利用。杨凌 西北农林科技大学林学院, 712100。Email: baixiaoan@163.com

\*通讯作者: 鲁周民(1966-), 男, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事经济林产品的保鲜贮藏与加工利用研究。杨凌 西北农林科技大学林学院, 712100。Email: lzm139@nwsuaf.edu.cn

### 1.2 仪器与设备

紫外/可见分光光度计(UV-1700 pharmaSpec, 日本岛津公司); 生化培养箱(HPS-250, 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司); 电子分析天平(R200D型, A200S型, 德国 Sartorius 公司); 高速离心机(Centrifuge 5804, 德国); 发酵罐(自制); 手持糖量计(WYT-4型, 上海精密仪器仪表有限公司); 电热恒温水浴箱(S-HH-W21-600-II, 上海跃进医疗器械厂); 酒精计(值为 0.1 度, 河北武强县同辉仪表厂)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 工艺操作要点

**酵母活化:** 活性干酵母先在 35℃ 恒温水浴中复水 20 min (活性干酵母与水的比例为 1:100, g/mL), 然后按照水质量的 4% 加入白砂糖, 搅拌均匀, 30~35℃ 条件下活化 2 h 备用(每 20 min 搅拌一次)。

将果实打浆, 在 80℃ 温度下灭菌 10 in, 冷却至 30℃, 加入 0.1% (以酵母干粉质量计) 活化后的活性干酵母和原果浆重 30% 的水, 装入发酵罐(每罐 10 kg)在 30~32℃ 发酵 96 h 终止发酵(酒精度 5.5°), 进行试验。完成酒精发酵的发酵醪分装于小发酵罐中, 每罐 1 kg, 按试验设计方案接入醋酸菌种并分别在生化培养箱中控制不同温度进行醋酸发酵, 每天搅拌 3 次, 按时测定发酵醪中醋酸含量。

#### 1.3.2 试验方案设计

在单因素试验结果基础上, 选取发酵温度、醋酸菌接种量和发酵时间 3 个主要因素, 以终止发酵时果醋中醋酸含量(Y)作为响应值, 运用 SAS9.0 软件进行响应面设计<sup>[9-13]</sup>。因素水平编码及试验方案见表 1。

表 1 试验因素水平与编码表  
Table 1 Coding of experimental factors and levels

编码	发酵温度 $x_1/^\circ\text{C}$	醋酸菌接种量 $x_2/\%$	发酵时间 $x_3/\text{h}$
-1.682	30.6	0.16	56
-1	32	0.3	72
0	34	0.5	96
1	36	0.7	120
+1.682	37.4	0.84	136
$\Delta_j$	2	0.2	24

1.4 测定指标与测定方法

总酸 (以醋酸计, g/(100 mL)): 酸碱滴定法 (0.1 mol/LNaOH); 酒度% (V/V, 20 $^\circ\text{C}$ ): 酒精蒸馏法; 可溶性固形物 (SSC): 手持糖量计; 总糖%: 蒽酮硫酸比色法<sup>[14, 15]</sup>; 还原糖%: 3,5-二硝基水杨酸比色法<sup>[14, 15]</sup>; 维生素 C: 2,6-二氯酚靛酚滴定法<sup>[15]</sup>。

2 结果与分析

按照三因素响应面设计方案, 安排了 20 组处理组合, 分别测定其醋酸含量, 结果见表 2, 试验数据采用 SAS9.0 软件进行处理<sup>[10, 16]</sup>。

表 2 响应面试验设计安排及结果

Table 2 Response surface experimental design and results			
发酵温度	醋酸菌接种量 $x_2$	发酵时间 $x_3$	醋酸含量 $Y/\text{g} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$
-1	-1	-1	3.908
-1	-1	1	4.255
-1	1	-1	4.031
-1	1	1	4.763
1	-1	-1	3.940
1	-1	1	3.800
1	1	-1	4.106
1	1	1	4.424
-1.682	0	0	4.464
1.682	0	0	4.405
0	-1.682	0	3.460
0	1.682	0	3.968
0	0	-1.682	3.363
0	0	1.682	4.613
0	0	0	4.774
0	0	0	4.768
0	0	0	4.989
0	0	0	5.091
0	0	0	4.796
0	0	0	4.869

2.1 回归模型的建立

以发酵温度  $x_1$ 、醋酸菌接种量  $x_2$ 、发酵时间  $x_3$  为自变量, 柿果醋醋酸含量为因变量  $Y$ , 建立柿果醋醋酸发酵工艺参数回归模型。初步回归方程为:

$$Y = 4.876046 - 0.05757x_1 + 0.166609x_2 + 0.245975x_3 - 0.124459x_1^2 + 0.019875x_1x_2 - 0.112625x_1x_3 - 0.379195x_2^2 + 0.105375x_2x_3 - 0.282321x_3^2 \quad (1)$$

对回归方程进行检验, 决定系数  $R^2=0.9293, p<0.01$ 。

从表 3 可以看出一次项和二次项具有极高的显著性 ( $P<0.01$ )。交互项的  $F=1.90$ , 说明因素间的交互作用不大。失拟项检验不显著, 说明回归方程与试验结果拟合很好。对回归系数进行检验 (表 4) 表明发酵温度的二次项对醋酸含量  $Y$  有显著影响, 为负效应, 而醋酸菌接种量  $x_2$ 、发酵时间  $x_3$  以及它们的二次项对醋酸含量  $Y$  均有极显著影响, 其中醋酸菌接种量  $x_2$  和发酵时间  $x_3$  为正效应, 而它们的二次项为负效应, 其他变量的影响均不显著 ( $p>0.05$ )。经优化后回归模型为:

$$Y = 4.876046 + 0.166609x_2 + 0.245975x_3 - 0.124459x_1^2 - 0.379195x_2^2 - 0.282321x_3^2 \quad (2)$$

经显著性检验, 决定系数为  $R^2=87.94\%, P<0.01$ 。表明自变量和因变量之间有极显著的回归关系, 说明模型可用于柿果醋生产中醋酸含量的预测, 具有实际应用意义。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance of regression equation						
方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P	显著性
一次项	3	1.250643	0.416881	12.31	<0.001	**
二次项	3	3.004909	1.001636	29.58	<0.001	**
交互项	3	0.193466	0.064489	1.90	0.193	
失拟项	5	0.251255	0.050251	2.88	0.136	
误差	5	0.087351	0.01747			

注: \*\* $p<0.01$  水平显著, \* $p<0.05$  水平显著。

表 4 回归方程各项回归系数显著性检验

Table 4 Test of significance for every regression coefficient				
回归各项	回归系数	T 检验	P	显著性
常数项	4.876046	64.97	<0.001	
$x_1$	-0.05757	-1.15617	0.274	
$x_2$	0.166609	3.346006	0.007	**
$x_3$	0.2459751	4.939908	<0.001	**
$x_1x_1$	-0.124459	-2.56761	0.0280	*
$x_2x_2$	-0.379195	-7.82286	<0.001	**
$x_3x_3$	-0.282321	-5.82433	<0.001	**
$x_1x_2$	0.019875	0.305495	0.766	
$x_1x_3$	-0.112625	-1.73114	0.114	
$x_2x_3$	0.105375	1.619702	0.136	

注: \*\* $p<0.01$  水平显著, \* $p<0.05$  水平显著。

2.2 醋酸发酵工艺参数分析

由表 4 可以看出, 醋酸菌接种量和发酵时间对柿果醋醋酸含量有极显著的影响 ( $p<0.01$ ), 而发酵温度对试验结果影响不显著, 这可能是因为此优化方案是在前期预试验的基础上设计的, 在每个温度相差只有 2 $^\circ\text{C}$  这一较窄的范围内, 对产酸的影响变化相对于其他因素而言较弱。

固定其他两个因素于零水平, 求第三个因素与醋酸含量的回归方程, 根据这些方程得到 3 个因子对醋酸含量影响的关系曲线, 如图 1。

由图 1 可以看出，随着发酵温度的升高，醋酸含量呈现先微弱上升后下降的趋势，在-0.5 和+0.5 水平之间醋酸含量较高；随着醋酸菌接种量的增加和发酵时间的加长，醋酸含量也呈先上升后下降趋势，变化趋势基本一致，相对于发酵温度对柿果醋醋酸含量的影响较大些，醋酸含量最高水平分别在-0.5~+0.5 和-0.5~+1 之间。

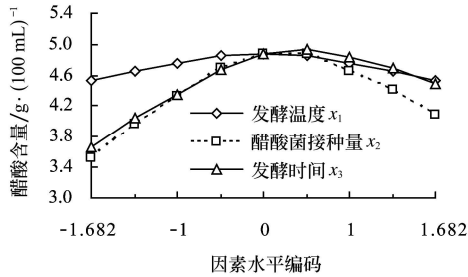


图 1 单因素与醋酸含量关系图

Fig.1 Relationship between the three single factors and acetic acid content

在式 (2) 中，固定一个因素在零水平上，研究另两

个因素间的交互效应。用 SAS9.0 编程制作出响应面图(图 2)。

可以看出：当把发酵时间固定于零水平时，随着发酵温度的升高，醋酸含量呈先微弱上升后下降的趋势，在-0.5 和+0.5 水平（实际值 33~35℃）之间醋酸含量较高；随着醋酸菌接种量的增加，醋酸含量也呈先上升后下降趋势，但只有在温度偏低和醋酸菌接种量偏高时醋酸含量才达到最大值（图 2a）。当把醋酸菌接种量固定于零水平时，随着发酵时间的增长，醋酸含量大幅度上升，在接近 1.682 水平时又有所下降，说明发酵时间对醋酸含量有极显著的影响（图 2b）。当把发酵温度固定于零水平时，随着醋酸菌接种量的加大和发酵时间的延长，醋酸含量都呈先迅速上升又迅速下降的趋势，说明二者对醋酸含量有极显著的影响，但最大值与只考虑发酵时间这一单因子时(最大值在-0.5~+1 水平之间)有所不同，最大值在-0.5~+0.5 水平之间，说明醋酸菌接种量与发酵时间存在着交互作用，对响应值存在一定程度的影响，二者交互作用形成的曲面为抛物面（图 2c）。

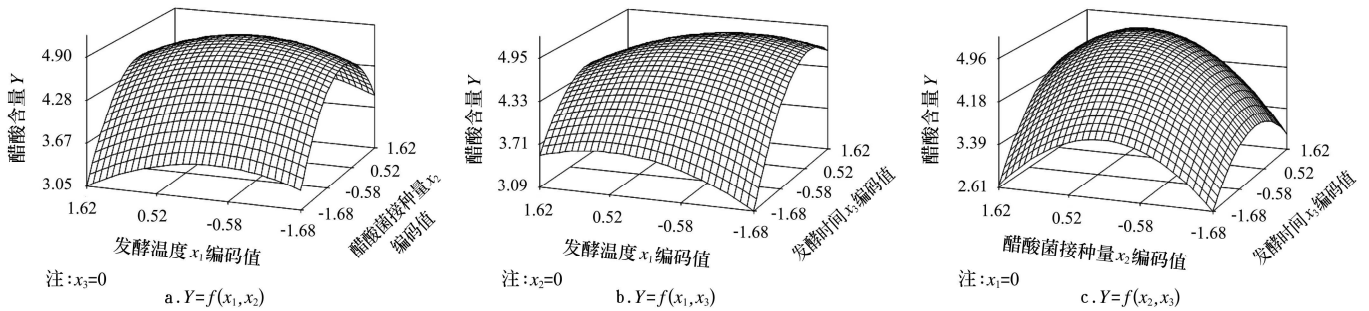


图 2 响应面图

Fig.2 Response surface stereogram

### 2.3 醋酸发酵优化工艺参数的验证

利用 SAS9.0 确定各因素水平的最佳取值为  $x_1=-0.47234$ ,  $x_2=0.28841$ ,  $x_3=0.58367$ , 代入式 (2) 中得最大值  $Y=4.985$ 。即最佳组合为：温度 33.1℃，醋酸菌接种量 0.56%，发酵时间 110 h。其对应的醋酸含量的响应值为 4.985 g/(100 mL)。从理论求得的最佳组合未包含在所设计的 20 个试验处理中，为了进一步对该工艺参数进行验证，在 33.1℃，醋酸菌接种量 0.56%，发酵时间 110h 条件下做了 3 次重复试验，结果柿果醋醋酸含量平均为 4.928 g/(100 mL)，误差为 1.16%，与模拟值非常接近，进一步验证了模型的实用性。

### 3 结论

1) 通过响应面分析建立的柿果醋醋酸发酵过程中发酵温度、醋酸菌接种量和发酵时间对柿果醋醋酸含量之间的回归模型高度显著，可用于生产预测。

2) 醋酸菌接种量和发酵时间对柿果醋醋酸含量存在极显著的影响，发酵温度对柿果醋醋酸含量影响不显著。

发酵温度、醋酸菌接种量、发酵时间三因素交互作用对醋酸含量的影响不显著，其中醋酸菌接种量与发酵时间的交互作用较其他两者之间的相互作用大。

3) 柿果醋醋酸发酵最佳工艺参数为发酵温度 33.1℃，醋酸菌接种量 0.56%，发酵时间 110 h，采用该工艺参数进行生产试验，柿果醋醋酸含量达 4.928 g/(100 mL)。

#### [参 考 文 献]

- [1] 刘月梅, 白卫东, 鲁周民, 等. 我国柿子加工研究进展[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(2): 152-155.
- [2] 王同阳. 液态发酵柿子醋的工艺研究[J]. 食品科技, 2007, (7): 103-106.
- [3] 栾丽杰, 张宝善. 柿醋发酵工艺研究[J]. 现代生物医学进展, 2006, 6(5): 52-53.
- [4] 孙俊良, 高 晗, 宋志强. 利用固态发酵法生产营养型柿果醋的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 246-248.
- [5] 王同阳, 苏瑞荣. 固液发酵法生产柿子醋的技术研究[J]. 农产品加工·学刊, 2006, (1): 38-39.
- [6] 吴嘉新, 孔治辉. 洛阳花果山柿子醋的生产技术[J]. 中国

- 调味品, 2004, (4): 32—33.
- [7] 杨文斌, 滕小玲. 柿果醋生产技术[J]. 中国调味品, 2002, (3): 34—35.
- [8] 周文凤. 柿子醋生产工艺研究[J]. 中国酿造, 2002, (3): 21—23.
- [9] 惠大丰, 姜长鉴. 统计分析系统 SAS 软件实用教程[M]. 北京: 北京航空航天大学出版社, 1996: 180.
- [10] 吴有炜. SAS 操作入门[M]. 无锡: 江南大学理学院出版, 2003: 26—33.
- [11] 姚立华, 何国庆, 陈启和. 以马铃薯为辅料的黄酒发酵条件优化[J]. 农业工程学报, 2006, 22(12): 228—233.
- [12] 赵志华, 岳田利, 王燕妮, 等. 苹果酒酵母融合子 W1 发酵工艺参数的优化研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(2): 233—238.
- [13] 高年发, 晋明芬, 张健. 玉米粉细菌发酵生产 L-乳酸的研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(6): 233—236.
- [14] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [15] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 世界图书出版公司, 2000: 145—148.
- [16] 汪兴平, 谢笔均, 潘思轶, 等. 葛仙米藻胆蛋白提取工艺的优化研究 [J]. 农业工程学报, 2006, 22(4): 227—229.

## Optimization of acetic acid fermentation parameters for production of persimmon vinegar

Liu Yuemei<sup>1,3</sup>, Bai Weidong<sup>2</sup>, Lu Zhoumin<sup>1\*</sup>, Zheng Hao<sup>1</sup>

(1. College of Forestry, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China;

2. College of Light Industry and Food, Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou 510225, China;

3. Yan'an Vocational and Technical College, Yan'an 716000, China )

**Abstract:** In order to study the variation regularity of fruit vinegar production with persimmon pulp and provide theoretical foundation for persimmon processing, response surface methodology was applied to optimize the technical parameters of acetic acid fermentation for producing persimmon vinegar with *Diospyros kaki L.* as the raw material. The results show that both acetic acid bacillus inoculation quantity and fermentation time have noticeably significant effects on acetic acid content ( $p < 0.01$ ), but fermentation temperature has no significant effect on acetic acid content. The optimal fermentation parameters are as follows: fermentation temperature 33.1°C, acetic acid bacillus inoculation quantity 0.56‰ and fermentation time 110 h. Under these optimized conditions, the acetic acid content of persimmon vinegar is 4.928 g/(100 mL). The results of multivariate regression analysis show that the model for regressing fermentation temperature, acetic acid bacillus inoculation quantity, fermentation time and acetic acid content is remarkable. Practical production of acetic acid content of persimmon vinegar can be forecasted by applying the model.

**Key words:** persimmon vinegar; persimmon pulp; acetic acid fermentation; technique parameter; response surface methodology