

荔枝果醋液态发酵工艺优化*

宋洪波 安凤平 王慧娟 王金亮 何静

(福建农林大学食品科学学院,福州 350002)

【摘要】 研究了荔枝果醋加工中的液态酒精与醋酸发酵工艺,试验表明添加 4 g/L 的多肽,可促进酒精发酵过程中菌种生长和风味成分(酯及氨基酸态氮)的生成。采用四因素二次通用旋转组合设计优化了酒精发酵工艺条件,当接种量 0.15% (安琪酵母和菌株 CICC 1312 的体积比为 2:1)、还原糖质量浓度为 18 g/(100 mL)、发酵温度为 30℃、pH 值为 4.5 时,发酵体的酒精度达 9.76%。通过 $L_9(3^4)$ 正交试验优化的醋酸发酵工艺条件为:接种量 10%、温度 33℃、酒精度 6%;此条件下,荔枝果醋总酸质量浓度为 5.99 g/(100 mL),总酯质量浓度为 0.48 g/L,氨基酸态氮质量浓度达 59.8 mg/(100 mL)。

关键词: 荔枝 果醋 液态发酵 工艺优化

中图分类号: TS264.2*2; TS201.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2010)01-0146-07

Optimization of the Liquid State Fermentation Technology of Litchi Vinegar

Song Hongbo An Fengping Wang Huijuan Wang Jinliang He Jing

(College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract

The alcoholic and acetic acid liquid state fermentation technology of Litchi vinegar were studied. Experiments showed that the suitable addition of 4 g/L polypeptide before alcoholic fermentation could promote microbial strains growth and the flavor compound formation of total esters and amino nitrogen. The alcoholic fermentation was optimized by means of quadratic general rotary unitized design. The optimized condition was 0.15% inoculation volume (the volume proportion of Anqi to CICC 1312 was 2:1), 18g/(100mL) reducing sugar, 30℃ fermentation temperature, pH value 4.5. The alcohol content was 9.76% under the optimized condition. The acetic acid fermentation was optimized by means of $L_9(3^4)$ orthogonal test. The optimized result was 10% inoculation volume of AS 1.41, 33℃ fermentation temperature and 6% alcohol content. Under the condition, Litchi vinegar had 5.99 g/(100 mL) acidity, 0.48 g/L total esters and 59.8 mg/(100 mL) amino nitrogen.

Key words Litchi, Fruit vinegar, Liquid state fermentation, Technology optimization

引言

液态发酵制备果醋具有生产周期短、加工质量易于控制的突出优点,已成为果醋加工的主要方法。但目前液态发酵制备果醋技术仍存在一些不足,主要表现为产率较低;作为调味品果醋标志性的成分——总酯、氨基酸态氮含量低,产品滋味平淡。

荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 是无患子科 (Sapindaceae) 荔枝属 (*Litchi*) 植物,肉质洁白,汁多

味甜,性平偏温^[1],是果醋加工的优质原料。

本文以荔枝为原料,研究荔枝果醋加工中的液态酒精发酵及醋酸发酵工艺,目的在于保证产率的同时,改善其风味品质。

1 材料与方法

1.1 试验材料

荔枝,品种为兰竹,购于福州农贸市场。安琪酿酒高活性干酵母,安琪酵母股份有限公司。异常汉

逊酵母, *Hansenula anomala* H. et P. Sydow, 菌株号 AS 2.300, 中科院微生物研究所微生物菌种保藏中心。异常汉逊酵母异常变种, *Hansenula anomala* var. *Anomala*, 菌株号 CICC 1312, 中国工业微生物菌种保藏中心。恶臭醋酸杆菌浑浊变种, *Acetobacter rancens* var. *turbidans* Frateur, 菌株号 AS 1.41, 中科院微生物研究所微生物菌种保藏中心。大豆多肽粉, 山东省菏泽中食肽好生物制品厂。麦芽汁, 青岛啤酒福州分公司。

1.2 试验方法

1.2.1 荔枝汁的制取

选取成熟度 90%、无虫害的新鲜荔枝, 经去皮、除果核后清洗果肉并榨汁, 出汁率 41%。原汁经离心机以 3 000 r/min、15 min 离心除杂后备用。

1.2.2 成分测定

还原糖的测定: 直接滴定法, GB/T 5009.7—2003。总糖的测定: 直接滴定法, GB/T 15038—2005。总氮的测定: GB 18186—2000。pH 值的测定: pH 计法。可溶性固形物的测定: 折光法。总果胶的测定: 称量法。酯含量的测定(乙酸乙酯): 指示剂法, GB/T 10345—2007。酵母细胞数测定: 血球计数法, GB/T 4789.15—2003。酒精度的测定: 酒精计法, GB/T 10345—2007。氨基酸态氮的测定: 甲醛值法, GB/T 5009.39—2003。总酸的测定: 酸碱滴定法, GB/T 15009.41—2003。

1.2.3 发酵菌种的制备

(1) 安琪酵母的活化

按 1 g 活性干酵母加入 10 mL 水的比例, 在超净

工作台内将安琪酵母加入到无菌水中, 水温保持 38~43℃; 静置 10 min 后进行搅拌, 保温 30 min 完成活化。将活化好的酵母液冷却至 30℃ 以下备用^[2]。

(2) 菌株 AS 2.300、CICC 1312 的活化及扩大培养
将菌液移植于已制备好的添加 2% 琼脂的 6°Be 麦芽汁斜面培养基上, 于 28℃ 培养 72 h。经过连续 5 次继代培养, 菌种才能被激活而正常生长。

一级扩大培养: 取 1 支大试管, 每支试管中加入 10 mL 荔枝汁, 于 121℃ 高压灭菌 15 min, 冷却后用接种环从斜面培养基上把菌接种至试管中, 置于恒温培养箱中, 28℃ 培养 48 h。

二级扩大培养: 取 250 mL 三角瓶, 加入 100 mL 荔枝汁, 于 121℃ 高压灭菌 15 min, 冷却后接入 2 mL 经试管培养的菌液, 置于恒温培养箱中, 28℃ 培养 48 h。

(3) 菌株 AS 1.41 的活化及扩大培养

方法同菌株 AS 2.300, 差别在于活化和扩大培养温度均为 34℃。醋酸菌斜面培养基配比为: 葡萄糖 1 g, 酵母膏 1 g, CaCO₃ 1.5 g, 酒精 2 mL(高压灭菌后加入), 琼脂 2 g, 水 100 mL。醋酸菌液体培养基配比为: 葡萄糖 1 g, 酵母膏 1 g, CaCO₃ 1.5 g, 酒精 2 mL(高压灭菌后加入), 水 100 mL。

2 结果与分析

2.1 荔枝汁主要组分测定

测定的荔枝汁主要成分如表 1 所示。

表 1 荔枝汁主要成分

Tab.1 Content of main compositions in Litchi juice

总糖质量浓度 /g·(100 mL) ⁻¹	还原糖质量浓度 /g·(100 mL) ⁻¹	可溶性固形物 含量/%	总果胶含量 /mg·(100 g) ⁻¹	总氮质量浓度 /g·(100 mL) ⁻¹	pH 值
15.75	15.21	17	8.62	0.084	5.15

从表 1 的测定结果看出, 荔枝汁的含糖质量浓度较高, 酸度适中, 适合于加工荔枝果醋。但总氮质量浓度低, 需适量添加氮源以促进酵母的生长, 并可赋予果醋丰富的风味。

2.2 酒精发酵菌株的选择

2.2.1 单菌株酒精发酵

图 1 是采用菌株 AS 2.300、CICC 1312 及安琪酵母单独进行酒精发酵时还原糖的变化曲线。采用安琪酵母发酵荔枝汁时, 在发酵的前 2 d 还原糖急剧下降, 从第 2 天到第 3 天还原糖即可降至很低的水平, 并保持稳定, 发酵周期为 3 d。采用菌株 AS 2.300、CICC 1312 进行酒精发酵时, 还原糖分别

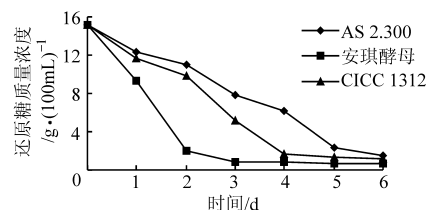


图 1 不同菌株对酒精发酵的还原糖影响曲线

Fig.1 Reducing sugar changes during alcoholic fermentation using different yeast

到第 5 天和第 4 天才降至稳定水平, 发酵周期较安琪酵母更长。图 2 反映了利用 3 种菌株进行单菌种酒精发酵时酵母数随时间的变化。3 种菌种的初始菌数基本相同。采用安琪酵母发酵时, 酵母数增长

很快,至第 4 天达到最大值;而采用菌种 AS 2.300 和菌种 CICC 1312 时,发酵前期酵母生长缓慢,此后生长加快,至第 5 天达到最大值。从总体上来看,在荔枝汁酒精发酵过程中,安琪酵母的生长速度最快,其次是菌株 CICC 1312,菌株 AS 2.300 的生长速度最慢。

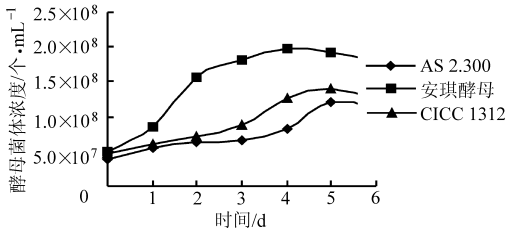


图 2 不同菌株在酒精发酵过程中数量变化曲线

Fig.2 Number changes of different yeast during alcoholic fermentation

分别采用 3 种菌株进行荔枝汁的酒精发酵,测定时间及对应的主要成分构成,并参照 GB/T 15038—2006 进行感官评价,结果如表 2 所示。

表 2 3 种菌株酒精发酵结果

Tab.2 Results of alcoholic fermentation at three different kinds of yeast

参数	AS 2.300	安琪酵母	CICC 1312
测定时间/d	5	4	5
酒精度/%	3.6	7.8	4.4
还原糖质量浓度/g·(100 mL) ⁻¹	1.50	0.73	1.25
总酯质量浓度/g·L ⁻¹	0.21	0.13	0.35
感官评定	香气较好	香气一般	香气喜人

从表 2 可以看出,采用菌株 AS 2.300 发酵荔枝汁,酒体的总酯含量较高,风味较好;但酒精含量最低,残糖最高。采用菌株 CICC 1312 发酵时,总酯含量最高,风味最好;但酒精度较低,残糖较高。利用安琪酵母发酵时,酒精度最高;但总酯含量低,香气一般。

由此可见,采用单一菌株进行酒精发酵时难以实现速度快、风味好的双重目标。因此,选择发酵速度最快的安琪酵母和产酯能力最强的菌株 CICC

1312 进行双菌株共混发酵,考察其不同配比对荔枝汁酒精发酵的影响规律,优化酒精发酵工艺。

2.2.2 双菌株共混酒精发酵

图 3 为荔枝汁中接入不同体积比的安琪酵母和菌株 CICC 1312 对酒精发酵过程中还原糖的影响。当接入的安琪酵母和菌株 CICC 1312 体积比为 1:2 和 1:1 时,荔枝汁中的还原糖下降很慢;而两菌株体积比为 2:1 和 3:1 时,还原糖下降相对较快。

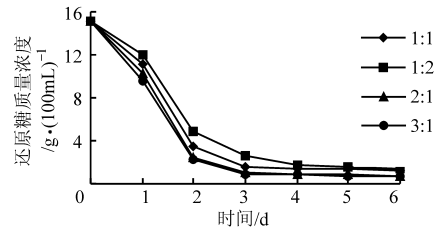


图 3 菌株体积比对酒精发酵中还原糖的影响曲线

Fig.3 Effect of yeast volume proportion on reducing sugar during alcoholic fermentation

图 4 为荔枝汁中接入不同体积比的安琪酵母和菌株 CICC 1312 的生长情况。当安琪酵母和菌株 CICC 1312 以 1:2 和 1:1 发酵时,酵母生长比较缓慢;当两菌株体积比为 2:1 和 3:1 时,酵母生长情况良好。

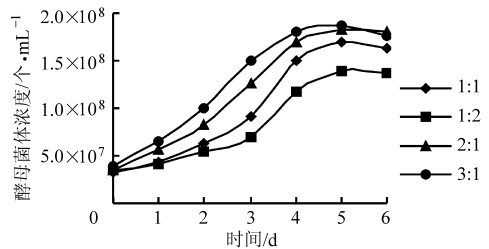


图 4 菌株体积比对酒精发酵中酵母数的影响曲线

Fig.4 Effect of yeast volume proportion on the number of yeast during alcoholic fermentation

采用不同配比的安琪酵母和菌株 CICC 1312 发酵荔枝汁,至发酵结束时,测定相应指标并进行感官评定,结果列于表 3 中。

由表 3 可见,当采用安琪酵母和菌株 CICC 1312 的双菌株共混发酵时,安琪酵母所占比例越大,相应发酵酒的残糖量越低,酒精度越高,但总酯

表 3 不同酵母配比的酒精发酵结果

Tab.3 Results of alcoholic fermentation at different yeast proportion

	安琪酵母与 CICC 1312 的体积比			
	1:1	1:2	2:1	3:1
酒精度/%	6.3	5.5	7.3	7.5
还原糖质量浓度/g·(100 mL) ⁻¹	1.24	1.41	0.78	0.75
总酯质量浓度/g·L ⁻¹	0.28	0.30	0.29	0.19
感官评定	酒质欠柔顺	酒香不足,果香浓郁	酒质柔顺,果香、酒香浓郁	香气不足

含量越低,风味越差。相反地,菌种中菌株 CICC 1312 的比例越高,相应的发酵酒总酯含量越高,风味得以改善,但酒精度明显降低。

综合以上分析可知,当安琪酵母和菌株 CICC 1312 以 2:1 体积比进行酒精发酵时,发酵酒的总酯含量和酒精度均达到高的水平,残糖量较低,酒香和果香浓郁,总体品质好,因此确定安琪酵母和菌株 CICC 1312 的最佳体积比为 2:1。

2.3 多肽对酒精发酵的影响

大豆多肽是指大豆蛋白经过水解后制得的低肽化合物,其通常由 3~6 个氨基酸组成^[3]。大豆多肽能促进微生物生长发育和代谢,在发酵工业可以提高生产效率、稳定品质并增强风味^[4]。因此,在荔枝汁酒精发酵过程中,添加大豆多肽粉作为氮源,以弥补荔枝汁中氮源不足的缺陷。多肽添加量与荔枝汁酒精发酵过程中还原糖的关系如图 5 所示。随着多肽添加量的增加,荔枝汁中的还原糖减少速度加快,特别表现在发酵的前 2 d,说明添加多肽有利于提高酒精发酵前期的速度。2 d 后,还原糖的减少速度明显减慢,且多肽添加量对其影响不大。

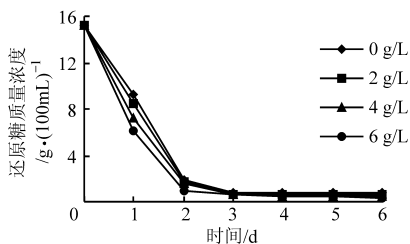


图 5 多肽添加量对酒精发酵过程中还原糖的影响曲线

Fig. 5 Effect of polypeptide addition on reducing sugar during alcoholic fermentation

图 6 反映了多肽添加量对荔枝汁酒精发酵过程中酵母生长的影响。氮源是构成细胞中所含蛋白质、核酸和酶等成分,是发酵体系中重要的营养物质^[5],因此添加多肽有利于酵母的生长。随着多肽添加量的增加,酵母的生长速度亦加快。

添加不同量的多肽,测定酒精发酵终止时酒体的主要成分并做感官评定,结果列于表 4 中。

表 4 不同多肽添加量的酒精发酵结果

Tab. 4 Results of alcoholic fermentation at different polypeptide addition

参数	多肽添加量/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$			
	0	2	4	6
酒精度/%	7.8	8.0	8.3	8.4
还原糖质量浓度/ $\text{g} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$	0.74	0.58	0.40	0.38
总酯质量浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	0.13	0.23	0.27	0.19
氨基酸态氮质量浓度/ $\text{mg} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$	76.5	94.2	108.6	104.3
感官评定	酒质欠柔顺	酒香不足,果香浓郁	酒质柔顺,果香、酒香浓郁	香气不足、微苦

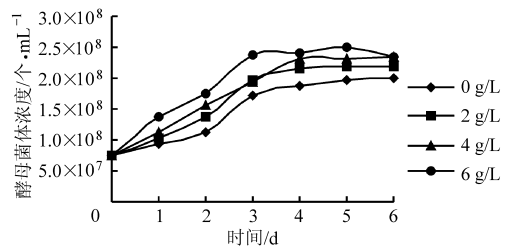


图 6 多肽添加量对酒精发酵过程中酵母数的影响曲线

Fig. 6 Effect of polypeptide addition on the number of yeast during alcoholic fermentation

综合分析图 5、6 和表 4 可知,随着多肽添加量增加,酵母生长速度加快,发酵速度加快。多肽添加量为 0~2 g/L 时,所提供氮源不能完全支持酵母生长,菌体生长和产物生成都因氮源不足受到影响,总酯及氨基酸态氮含量不足,酒体风味淡薄。当多肽添加量为 4 g/L 时,酒精度逐渐趋于恒定(约为 8.3%),氨基酸态氮含量达到 108.6 mg/(100 mL),说明此时菌种很快适应环境,缩短生长延迟期,氮源浓度已不成为限制酵母生长的因素;总酯及氨基酸态氮含量达到最高值,酒体风味好。当多肽添加量为 6 g/L 时,菌体的生长速度和产酒速度都较快,但氨基酸态氮含量有所降低,香气不足、微苦。说明多肽添加过量时,菌体生长过剩,导致发酵液黏度增加,溶氧不足,培养条件恶化,至发酵中后期菌体提前衰老。因此,多肽添加量以 4 g/L 为宜。

2.4 酒精发酵条件的优化

醋酸发酵就是乙醇在醋酸菌的作用下氧化为醋酸的过程,因此酒精发酵结束时的酒精度高低直接影响果醋的产率。选取接种量(x_1)、安琪酵母和菌株 CICC 1312 的体积比为 2:1、还原糖质量浓度(x_2)、温度(x_3)和 pH 值(x_4)4 个因素,以最终发酵酒精度 y 为目标,采用四因素二次通用旋转组合设计优化酒精发酵工艺条件。

理论上,还原糖含量越高发酵最终的酒精度越高,但高浓度酒精对酵母生长有抑制作用,当酒精度超过 10% 时,酵母生长就会受阻存活率大大下降^[6]。按照 1.7 g 糖可以产生 1 mL 酒精,再把酒精

挥发而损失的部分计算在内,糖度不能超过 18%。根据 GB 18187—2000 食醋酿造的国家标准,总酸质量浓度不能够低于 3.5 g/(100 mL),所以酒精发酵的糖度应该控制在 10% ~ 18% 之间。试验设计各因素水平编码值见表 5,结果如表 6 所示。

表 5 四元二次通用旋转组合设计因素水平编码值

Tab. 5 Levels and factors of four factors quadratic currency rotational composite design

编码	因素				pH 值 x_4
	接种量 x_1	还原糖含量 x_2	温度 x_3		
	/%	/g·(100 mL) ⁻¹	/°C		
2	0.25	18	34		5.0
1	0.20	16	32		4.5
0	0.15	14	30		4.0
-1	0.10	12	28		3.5
-2	0.05	10	26		3.0

表 6 四元二次通用旋转组合试验结果

Tab. 6 Results of four factors quadratic currency rotational composite experiment

试验序号	X_1	X_2	X_3	X_4	y/%
1	1	1	1	1	8.5
2	1	1	1	-1	8.2
3	1	1	-1	1	8.9
4	1	1	-1	-1	8.4
5	1	-1	1	1	5.9
6	1	-1	1	-1	5.7
7	1	-1	-1	1	6.0
8	1	-1	-1	-1	5.9
9	-1	1	1	1	8.6
10	-1	1	1	-1	8.3
11	-1	1	-1	1	8.8
12	-1	1	-1	-1	8.6
13	-1	-1	1	1	5.9
14	-1	-1	1	-1	5.7
15	-1	-1	-1	1	6.1
16	-1	-1	-1	-1	5.8
17	-2	0	0	0	7.1
18	2	0	0	0	7.2
19	0	-2	0	0	4.6
20	0	2	0	0	9.4
21	0	0	-2	0	6.9
22	0	0	2	0	6.8
23	0	0	0	-2	6.9
24	0	0	0	2	7.2
25	0	0	0	0	7.3
26	0	0	0	0	7.4
27	0	0	0	0	7.4
28	0	0	0	0	7.3
29	0	0	0	0	7.5
30	0	0	0	0	7.4
31	0	0	0	0	7.5

采用 DPS 7.55 软件对表 6 中的试验结果进行方差分析,结果列于表 7 中。

表 7 方差分析

Tab. 7 Analysis of variance

变异来源	平方和	自由度	均方	方差	显著水平
X_1	0.001 7	1	0.001 7	0.062 50	0.805 77
X_2	159.445 8	1	159.445 8	5 967.562 36	0.000 00 **
X_3	0.602 8	1	0.602 8	22.562 50	0.000 22 **
X_4	1.217 4	1	1.217 4	45.562 50	0.000 00 **
X_1^2	0.104 6	1	0.104 6	3.914 23	0.065 36
X_2^2	0.525 4	1	0.525 4	19.664 23	0.000 42 **
X_3^2	1.268 6	1	1.268 6	47.478 06	0.000 00 **
X_4^2	0.349 3	1	0.349 3	13.073 80	0.002 32 **
X_1X_2	0.022 5	1	0.022 5	0.843 75	0.371 97
X_1X_3	0.002 5	1	0.002 5	0.093 75	0.763 41
X_1X_4	0.002 5	1	0.002 5	0.093 75	0.763 41
X_2X_3	0.062 6	1	0.062 6	2.343 75	0.145 32
X_2X_4	0.062 6	1	0.062 6	2.343 75	0.145 32
X_3X_4	0.002 5	1	0.002 5	0.093 75	0.763 41
回归	40.732 5	14	2.909 5	$F_2 = 108.892$	0.000 00 **
剩余	0.427 5	16	0.026 7		
失拟	0.387 5	10	0.038 8	$F_1 = 2.812$	0.059 02
误差	0.040 0	6	0.006 7		
总和	41.160 0	30			

注: $F_{0.05}(1,16) = 4.49$, $F_{0.01}(1,16) = 8.53$, $F_{0.01}(14,16) = 3.45$, $F_{0.05}(10,6) = 4.06$; ** 表示差异极显著。

表 7 中各试验因子的偏回归系数检验结果表明: X_2 、 X_3 和 X_4 的偏回归系数在 $p = 0.01$ 水平都达到极显著,说明 X_2 、 X_3 和 X_4 对酒精度 y 有极显著的影响。3 个因素对应的各二次项在 $p = 0.01$ 水平上都达到了极显著水平, X_1 和各交互作用均对酒精度无显著影响。

经计算,在 $p = 0.10$ 显著水平下,可得简化回归方程为

$$y = 7.400 + 1.287X_2 - 0.079X_3 + 0.113X_4 - 0.030X_1^2 - 0.068X_2^2 - 0.105X_3^2 - 0.055X_4^2 \quad (1)$$

由于式(1)中各因子的回归系数均已标准化,所以直接比较其绝对值的大小即可判断各因子对酒精度作用的大小,顺序依次为:还原糖质量浓度、pH 值、温度、接种量。

通过对式(1)解逆矩阵,可预测出酒精发酵的最优组合为: X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 分别取 0、2、0、1,即当接种量为 0.15%,还原糖质量浓度为 18 g/(100 mL),温度为 30°C, pH 值为 4.5 时,所得的酒精度最高,为 9.76%。

通过验证试验得出酒精度为 9.52%,相应地,总酯质量浓度为 0.24 g/L,氨基酸态氮的质量浓度为 103.8 mg/(100 mL)。

2.5 醋酸发酵

酒精发酵后酒体中的酵母活力很弱,不再生长,此时向酒体中接入醋酸杆菌,即开始醋酸发酵,在此过程中将酒精转化为醋酸。总酸含量是代表果醋产率和产品质量主要指标。

菌株 AS 1.41 耐受酒精度为 8%,因此将发酵的酒体适当稀释后进行醋酸发酵。在醋酸发酵单因素试验基础上,以果醋总酸质量浓度为优化目标,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验优化醋酸发酵工艺,各因素水平安排如表 8 所示。

表 8 醋酸发酵条件优化正交试验因素水平

Tab.8 Factors and levels of orthogonal experiment for acetic acid fermentation

水平	因素		
	接种量 A/%	温度 B/°C	酒精度 C/%
1	7	31	5.0
2	10	33	6.0
3	13	35	7.0

从表 9 的试验结果,结合方差分析表 10 可见:3 个因素的主次关系依次为:温度、酒精度、接种量。显著性检验表明,温度、酒精度对产酸量的影响达到

表 9 醋酸发酵条件优化正交试验结果

Tab.9 Results of orthogonal test of the acetic acid fermentation

试验序号	A	B	C	空列	总酸质量浓度 /g·(100 mL) ⁻¹
1	1	1	1	1	4.93
2	1	2	2	2	5.96
3	1	3	3	3	4.03
4	2	1	2	3	5.67
5	2	2	3	1	5.35
6	2	3	1	2	4.37
7	3	1	3	2	4.23
8	3	2	1	3	5.36
9	3	3	2	1	4.88
k_1	4.973	4.943	4.887	5.053	
k_2	5.130	5.557	5.503	4.853	
k_3	4.823	4.427	4.537	5.020	
R	0.307	1.130	0.966	0.200	

显著水平($p < 0.05$),接种量对产酸量影响不显著。最优处理组合为 $A_2B_2C_2$,即菌株 AS 1.41 接种量 10%、醋酸发酵温度 33°C、酒体的酒精度 6%。经验证,在此条件下发酵 10 d,制取的荔枝果醋总酸质量浓度可达 5.99 g/(100 mL);相应地总酯质量浓度为 0.48 g/L,氨基酸态氮质量浓度达 59.8 mg/(100 mL)。该荔枝果醋的总酸含量符合 GB 18187—2000 的规定(≥ 3.5 g/(100 mL))。在醋酸发酵过程中,芳香酯中的一部分是由微生物代谢产生的,大部分则是由有机酸和醇经酯化反应生成的,从而使得荔枝果醋香气得以明显改善。

表 10 正交试验方差分析

Tab.10 Analysis of variance on the orthogonal experiment

变异来源	平方和	自由度	均方	方差	显著水平
接种量	0.141	2	0.070 5	2.043 5	
温度	1.920	2	0.960 0	27.826 1	*
酒精度	1.437	2	0.718 5	20.826 1	*
空列	0.069	2	0.034 5	1.000 0	
总和	3.567				

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$; $F_{0.01}(2,2) = 99$; * 表示差异显著。

3 结论

(1) 采用安琪酵母和菌株 CICC 1312 进行双菌共混酒精发酵时,共混菌中安琪酵母主要影响发酵速率和产酒率,菌株 CICC 1312 主要影响产酯量;当安琪酵母和菌株 CICC 1312 体积比为 2:1 时,酯含量和产酒率都较高。

(2) 以多肽作为荔枝果醋加工的酒精发酵氮源,多肽添加量对菌体生长和风味形成有着重要的作用,多肽添加量以 4 g/L 为宜。

(3) 各因子对酒精度影响的主次顺序依次为:还原糖质量浓度、pH 值、温度、接种量,最优组合为:接种量 0.15% (安琪酵母和菌株 CICC 1312 的体积比为 2:1),还原糖质量浓度为 18 g/(100 mL),发酵温度为 30°C, pH 值为 4.5 时,发酵酒的酒精度达 9.76%。

(4) 各因子对总酸影响的主次顺序依次为:温度、酒精度、接种量,最优组合为:接种量 10%、温度 33°C、酒精度 6%。此条件下,荔枝果醋总酸质量浓度为 5.99 g/(100 mL),总酯质量浓度为 0.48 g/L,氨基酸态氮质量浓度达 59.8 mg/(100 mL)。

参 考 文 献

- 倪耀源, 吴素芳. 荔枝栽培[M]. 北京: 农业出版社, 1990.
- Carl Lachat, 马兆瑞. 苹果酒酿造技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004.
- 刘媛媛, 段玉峰, 李小平. 大豆多肽及开发利用进展[J]. 江西农业学报, 2006, 18(6): 145~147.

- Liu Yuanyuan, Duan Yufeng, Li Xiaoping. Advance in exploitation and utilization of soybean polypeptides [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2006, 18(6): 145 ~ 147. (in Chinese)
- 4 包媛媛, 林奇, 谢启军, 等. 大豆多肽的生理功能及在食品工业中的应用前景探讨[J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(2): 141 ~ 144.
- Bao Yuanyuan, Lin Qi, Xie Qijun, et al. Study on the physiological function of soybean peptides and its applied prospect in the food industry [J]. *Food Research and Development*, 2006, 27(2): 141 ~ 144. (in Chinese)
- 5 孙海翔, 尹卓容, 苗延林. 氮源对苹果酒发酵的影响[J]. *食品工业*, 2002(4): 17 ~ 19.
- Sun Haixiang, Yin Zhuorong, Miao Yanlin. Effect of nitrogen source to cider brewing [J]. *The Food Industry*, 2002(4): 17 ~ 19. (in Chinese)
- 6 路玲玲, 檀建新, 张伟, 等. 高温和高酒精浓度下的酵母特性[J]. *中国酿造*, 2004(9): 5 ~ 7.
- Lu Lingling, Tan Jianxin, Zhang Wei, et al. Characteristics of yeast at higher temperature and higher ethanol concentration [J]. *China Brewing*, 2004(9): 5 ~ 7. (in Chinese)
- 7 彭帮柱, 岳田利, 龙明华, 等. 一株酵母菌酿造柿子酒的发酵特性及其序列鉴定[J]. *农业机械学报*, 2007, 38(3): 90 ~ 94.
- Peng Bangzhu, Yue Tianli, Long Minghua, et al. Fermentation characterization of a strain on making persimmon wine and sequence identification [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2007, 38(3): 90 ~ 94. (in Chinese)
- 8 蒋益虹. 青梅果醋醋酸发酵工艺的优化[J]. *农业机械学报*, 2005, 36(7): 85 ~ 88.
- Jiang Yihong. Technology optimization of acetic acid fermentation of greengage vinegar [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2005, 36(7): 85 ~ 88. (in Chinese)
- 9 Izawa S, Ikeda K, Kita T, et al. Asr1, an alcohol-responsive factor of *Saccharomyces cerevisiae*, is dispensable for alcoholic fermentation [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 72(3): 560 ~ 565.
- 10 Yumi S, Yoshitaka T, Yoshimasa N, et al. Isolation and identification of DPPH radical scavenging compounds in kurosu (Japanese unpolished rice vinegar) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(22): 6501 ~ 6503.
- 11 Dengru L, Yang Z, Rik B, et al. Chinese vinegar and its solid-state fermentation process [J]. *Food Reviews International*, 2004, 20(4): 407 ~ 424.
- 12 Amornrut M, Wasu P A. Isolation of thermotolerant acetic acid bacteria from fruits for vinegar production [J]. *Research Journal of Microbiology*, 2008, 3(3): 209 ~ 212.
- 13 鲁周民, 郑皓, 赵文红, 等. 发酵方法对柿果醋中香气成分的影响[J]. *农业机械学报*, 2009, 40(9): 148 ~ 154.
- Lu Zhoumin, Zheng Hao, Zhao Wenhong, et al. Effect on aroma components in persimmon vinegar of various fermentation ways [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2009, 40(9): 148 ~ 154. (in Chinese)