

## 醋酸菌对甘蔗果酒的醋酸发酵作用

郑凤锦<sup>1</sup>, 陈赶林<sup>2\*</sup>, 方晓纯<sup>1</sup>, 孙健<sup>1</sup>, 林波<sup>1</sup>, 刘国明<sup>1</sup>, 李丽<sup>1</sup>

1(广西农业科学院 农产品加工研究所, 广西 南宁, 530007)

2(广西农业科学院/中国农业科学院 甘蔗研究中心, 广西 南宁, 530007)

**摘要** 以甘蔗汁发酵制备的甘蔗果酒为原料, 通过液态深层发酵, 筛选出甘蔗果酒制备甘蔗果醋的醋酸发酵菌种。以筛选出的 LB-活性醋酸菌为发酵菌, 研究初始酒精度、接种量、发酵温度、蔗糖添加量和初始 pH 对醋酸发酵的影响, 利用响应面法(RSM)对甘蔗果酒的醋酸发酵工艺进行优化, 得到最优工艺参数为甘蔗果酒初始酒精度为 5% vol, LB-活性醋酸菌接种量为 0.5%, 蔗糖添加量为 4%, 发酵温度为 26 ℃, 在此条件下, 产酸量为 15.05 g/100mL。

**关键词** 甘蔗果酒; 甘蔗果醋; 醋酸菌; 响应面法

果醋是近些年来所开发的新型食醋, 被誉为是继碳酸饮料、饮用水、果汁和茶饮料之后的“第四代”饮料, 发展空间和市场潜力巨大<sup>[1-3]</sup>。果醋是以水果为原料, 与传统的食醋相比, 种类众多, 营养丰富, 具有多种营养保健功能<sup>[4-7]</sup>。

甘蔗在我国南方各省区均有种植, 甘蔗除了压榨制糖外, 其它利用价值也十分巨大<sup>[8]</sup>。甘蔗汁作为药用, 用于食补、调理, 在我国传统中医书中均有记载<sup>[9-10]</sup>。

目前, 国内苹果醋产品实现了批量生产, 而生产甘蔗果醋的企业则很少, 且对其生产工艺的探讨大多集中于实验室研究阶段<sup>[11-12]</sup>。甘蔗汁中含有蛋白质、脂肪、碳水化合物、蔗糖、微量元素如钙、铁、磷及多种氨基酸, 所以甘蔗汁生产饮料或者复配饮料, 具有很高的药用和保健价值<sup>[13]</sup>。本文以甘蔗汁制备的甘蔗果酒为原料, 通过液态深层发酵, 筛选出甘蔗果酒醋酸发酵最佳的醋酸菌株基础上, 开展甘蔗果醋酿造过程中醋酸菌产酸能力的单因素试验, 并利用响应面分析方法优化甘蔗果醋的最佳工艺参数, 为甘蔗深加工提供理论依据和技术指导。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料与试剂

第一作者: 讲师, 硕士(陈赶林副研究员为通讯作者, E-mail: gan-lin-chen@163.com)。

基金项目: 广西科学研究与计划开发项目(桂科合 14123001-10); 广西农业科学院基本科研业务专项(桂农科 2014YQ04、2015YZ02)

收稿日期: 2015-06-10, 改回日期: 2015-10-19

#### 1.1.1 原料

甘蔗果酒: 实验室自制; 蔗糖: 南宁糖业股份有限公司; 安琪醋发酵营养盐: 安琪酵母股份有限公司。

醋酸菌培养基: 1% 酵母膏, 0.05% 安琪醋发酵营养盐, pH 值为 4.0, 灭菌 20 min 后加入体积分数为 5% 的食用乙醇, 26 ℃、180 r/min 培养 22 h。

#### 1.1.2 菌种

LB-活性醋酸菌: 陕西鼎力生物科技有限公司; 沪酿 1.01 号活性醋酸菌: 上海佳民酿造食品有限公司; 帝伯仕果醋菌: 山东烟台帝伯仕自酿机有限公司; 沂源果醋菌: 沂源康源生物科技有限公司; 生料醋酸菌: 项城市家乐调味食品有限公司。

#### 1.1.3 仪器与试剂

JA2003 型电子天平, 上海良平仪器仪表有限公司; TU-1810 型紫外-可见分光光度计, 北京普析; 上海博讯 BIC-300 人工气候箱, 上虞艾科仪器设备有限公司; pH-3C 酸度计, 上海雷磁仪器厂; 酒精计, 北京克格仪器有限公司; 手持折光仪, 成都市青年联合光学仪器; 其他设备若干。氢氧化钠、酚酞、无水乙醇等均为分析纯。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 甘蔗果酒的制备

糖料甘蔗通过压榨机压榨后, 粗过滤, 进行糖酸度调节、杀菌。用活化后的酵母菌种进行酒精发酵, 过滤得到甘蔗果酒, 具体制备方法见前期研究<sup>[8,11,14]</sup>。

#### 1.2.2 醋酸菌的筛选

将活化好的 LB-活性醋酸菌、沪酿 1.01 号活性

醋酸菌、帝伯仕果醋菌、沂源果醋菌、生料醋酸菌 5 个醋酸菌品种,分别加入到同一批次甘蔗果酒(1 000 mL)进行醋酸发酵,发酵的初始条件均一致:初始乙醇体积分数为 5%,醋酸菌接种量为 1%,30 ℃下发酵 14 d,每隔 24 h 取样测定,以醋酸质量浓度(以醋酸计,g/100mL)及感官评价得分为指标,确定适合甘蔗果醋发酵的最佳醋酸菌种。

### 1.2.3 不同初始酒精度对醋酸发酵的影响

以筛选出的最佳醋酸菌种为研究对象(下同),采用无菌水稀释甘蔗果酒的酒精度,精确调整为 3%,5%,7%,9%,11% vol 等 5 个不同初始酒精度的甘蔗果酒,醋酸菌接种量 0.5%,30 ℃发酵 15 d 后测定醋酸含量。

### 1.2.4 不同接种量对醋酸发酵的影响

选取优化醋酸菌种(LB-活性醋酸菌),不同接种量分别为 0.3%,0.4%,0.5%,0.6%,0.7%,接种量均为质量浓度,在 30 ℃,酒精度 5% vol,发酵 15 d 后测定醋酸含量。

### 1.2.5 不同温度对醋酸发酵的影响

醋酸菌耐热不强,在 60 ℃下 10 min 即失活,不同醋酸菌生长繁殖的适宜温度都有其一定的范围值。选择酒精度 5% vol, LB-活性醋酸菌接种量 0.5%,分别在 20,23,26,29,32 ℃下发酵,15 d 后测定醋酸含量,研究发酵温度对甘蔗果酒醋酸发酵的影响。

### 1.2.6 蔗糖碳源对醋酸发酵过程的影响

醋酸发酵过程中需要补给碳源,以蔗糖为主要碳源,分别添加 2%,3%,4%,5%,6% 的量,在酒精度 5% vol, LB-活性醋酸菌接种量 0.5%,发酵 15 d 后测定醋酸含量,研究不同蔗糖碳源对醋酸发酵的影响。

### 1.2.7 不同初始 pH 对醋酸发酵的影响

通过无菌碳酸钠溶液分别调节甘蔗果酒的 pH 为 3.5,4.0,4.5,5.0,5.5,在酒精度 5% vol, LB-活性醋酸菌接种量 0.5%,发酵 15 d,研究 pH 对甘蔗果酒醋酸发酵的影响。

### 1.2.8 响应面试验设计

根据 Box-Behnken 实验设计原理采用 4 因素 3 水平的响应面分析法<sup>[15-17]</sup>,在单因素试验基础上,选择初始酒精度、醋酸菌接种量、发酵温度、蔗糖添加量为自变量,产酸量为响应值,共 29 个试验点。其中 24 个为析因子,5 个为中心试验用以估计误差。试验因素和水平见表 1。确定甘蔗果酒醋酸发酵的最佳工艺参数。

表 1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiments

因素	水平		
	-1	0	1
A 初始酒精度/% vol	3	5	7
B 接种量/%	0.3	0.5	0.7
C 蔗糖添加量/%	3	4	5
D 发酵温度/℃	23	26	29

### 1.2.9 感官评定

对醋酸菌种发酵后的甘蔗果醋进行感官评定,由 11 人组成的评定小组,结合视觉、嗅觉、味觉对样品进行感官评价,具体评价得分标准见表 2。

表 2 感官评定表

Table 2 Sensory evaluation of fermented products

项目	分值	感官评分标准
形态	25	澄清透亮、醋体均匀一致,无沉淀、悬浮和浑浊现象
色泽	20	液体呈棕黄色或琥珀色
香气	20	香气浓郁,醋香纯正,带有甘蔗香气,无异味
滋味	35	酸甜可口,入口舒适、后味丰满,无刺激性

## 1.3 检测方法

酒精度测定<sup>[18]</sup>:蒸馏法;总酸测定:采用酸碱滴定法,按 GB/T 12456-2008 的方法操作,测定总酸含量,以醋酸表示;pH 值测定:pH 计法。

醋酸转化率计算如下<sup>[20]</sup>:

$$\text{醋酸转化率}/\% =$$

$$\frac{\text{产酸量(以醋酸计, g/L)} \times 100}{\text{发酵液酒精体积分数}(\%) \times 1.034(\text{g/mL}) \times 0.8}$$

产醋速率计算如下:

$$\text{产醋速率}/[\text{g} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}] = \frac{\text{产酸量(以醋酸计, g/L)}}{\text{发酵时间(h)}}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 醋酸菌的筛选

由图 1 可知,5 种醋酸菌在相同的条件下进行醋酸发酵,仅生料醋酸菌种产酸能力显现较为平缓外,其他 4 种醋酸菌对甘蔗果酒醋酸发酵过程中产酸作用均呈现显著递增趋势。在发酵 0~3 d 时,5 种醋酸菌的产酸量增加均表现不明显,原因是菌种处于醋酸菌为生长适应期(迟滞期),醋酸菌消耗营养生长繁殖,从第 4 天时,各醋酸菌种陆续进入对数期,沂源果醋菌种产酸能力显著强于其他 4 个醋酸菌种,达到 2.32 g/100 mL,在稳定期发酵中,仍表现出较强的产酸能力,显著强于其他 4 种醋酸菌种,达到 7.56 g/

100 mL。LB-活性醋酸菌、沪酿 1.01 号活性醋酸菌、帝伯仕果醋菌 3 种醋酸菌的产酸趋势相差不大,均能产酸达到 6.80 g/100 mL 以上。

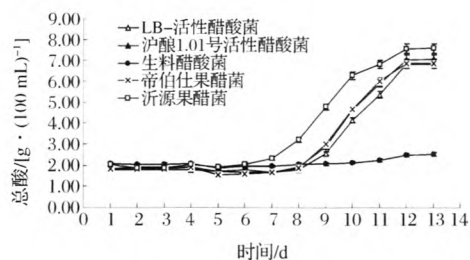


图1 不同醋酸菌发酵产酸含量变化图

Fig.1 Change of total acid content with different acetic bacteria fermentation

对 5 种醋酸菌种发酵后的甘蔗果醋进行感官评定,根据感官评定标准进行评分,结果如图 2。经感官评价:LB-活性醋酸菌发酵的果醋具有酸甜可口,香味突出且颜色透亮的特点,感官评分最高。沂源果醋菌虽产酸能力强,但发酵的甘蔗果醋酸味过重,香味不突出且醋体颜色不均一;帝伯仕果醋菌发酵的甘蔗果醋香味不足,入口刺激;沪酿 1.01 号活性醋酸菌发酵的甘蔗果醋味道单一,缺乏甘蔗醋应有的香味且醋体颜色较深;产酸能力弱的生料醋酸菌发酵的甘蔗果醋酸度不够,没有醋香味。综合产酸能力及感官评价最终选定:LB-活性醋酸菌作为适合甘蔗果酒发酵果醋的最佳醋酸菌。

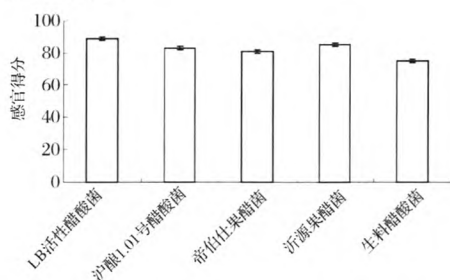


图2 不同醋酸菌发酵后的果醋感官评价

Fig.2 Sensory evaluation of sugarcane vinegar with different acetic bacteria fermentation

### 2.1.2 不同初始酒精度对醋酸发酵的影响

在不同初始酒精度的条件下对 LB-活性醋酸菌进行醋酸发酵,结果见图 3。酒精度对醋酸发酵的影响比较大,表现为不同酒精度的发酵转化率和产酸速率之间的差值较大。当初始酒精度 3%~5% vol 时,其产酸速率和转化率逐渐升高,当初始酒精度为 5% vol 时达到最高值,产酸速率和转化率分别为 0.401 g/(L·h),92.57%。但当初始酒精含量大于

5% vol 时,其产酸速率和转化率有明显的下降趋势,故过低或过高的酒精含量都不利于醋酸发酵产酸,最适合 LB-活性醋酸菌发酵的初始酒精含量为 5% vol。

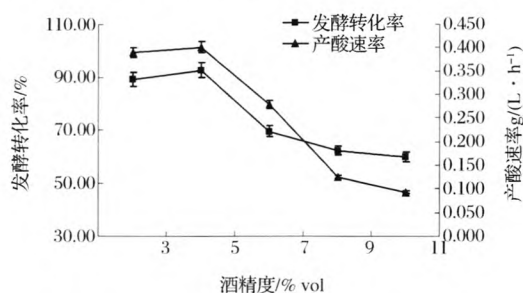


图3 不同酒精度对甘蔗果醋发酵作用的影响

Fig.3 Effect on fermentation of sugarcane vinegar with different alcoholic degree

### 2.1.3 不同接种量对醋酸发酵的影响

在不同接种量的条件下研究 LB-活性醋酸菌对甘蔗果酒的醋酸发酵作用,结果如图 4 所示。当接种量小于 0.5% 时,发酵转化率和产酸速率偏低;当接种量为 0.5% 时,其发酵转化率和产酸速率达到最高值,分别为 92.59%、0.224 g/(L·h);而接种量为 0.6%、0.7% 和 0.5% 的转化率和产酸速率趋势相差不大,但发酵转化率和产酸速率均有下降的趋势。从节约成本考虑,最适合 LB-活性醋酸菌发酵的接种量为 0.5%。

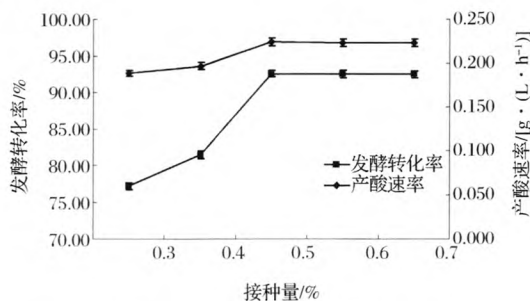


图4 不同接种量对甘蔗果醋发酵作用的影响

Fig.4 Effect on fermentation of sugarcane vinegar with different inoculum dose

### 2.1.4 不同温度对醋酸发酵的影响

在不同的发酵温度条件下进行醋酸发酵,结果如图 5 所示,不同的发酵温度对产酸速率变化影响显著。当发酵温度由 20~26℃ 时,其发酵速率和转化率逐渐升高,发酵温度为 26℃ 时达到最高值;但当温度大于 26℃ 时,其发酵速率和转化率有下降的趋势;温度大于 29℃ 时急剧下降。因为温度过低,LB-醋酸菌活力不足,产酸能力下降,当温度过高时,LB-醋酸

菌活力丧失,产酸能力同样下降。所以最适合 LB-活性醋酸菌发酵的温度为 26 ℃。

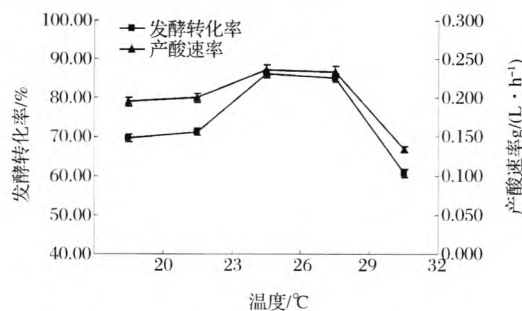


图5 不同温度对甘蔗果醋发酵作用的影响

Fig. 5 Effect on fermentation of sugarcane vinegar with different temperature

### 2.1.5 不同碳源添加量对醋酸发酵的影响

在添加不同蔗糖量的条件下进行醋酸发酵,其结果如图6所示。在蔗糖添加量2%~4%范围内,添加量越低,产酸速率就越低;在添加量4%~6%范围内,随着蔗糖添加量的升高,产酸速率有下降的趋势。甘蔗果酒本身含有酒精度,也是一种主要的碳源,但在发酵甘蔗果醋的情况下,醋酸菌需要消耗更多的营养物质进行生长繁殖,在发酵前期补充碳源可以提供醋酸菌大量繁殖所需要的碳源,当添加蔗糖量较低时,不能满足醋酸菌的生长繁殖,因此发酵转化率和产酸速率就会降低;但当添加蔗糖量较高时,会产生较大的渗透压,反而会抑制了醋酸菌正常的生长产酸,所以产酸速率会有下降的趋势。由图6可以看出最适合的蔗糖添加量为4%。

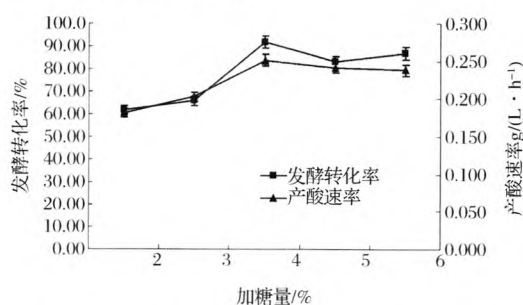


图6 不同加糖量对甘蔗果醋发酵作用的影响

Fig. 6 Effect on fermentation of sugarcane vinegar with different sugar addition

### 2.1.6 不同初始 pH 对醋酸发酵过程的影响

不同初始 pH 对产酸速率变化有显著影响,结果如图7所示。随着 pH 的增加,其发酵速率和转化率均递减,pH 为 3.6 时其发酵转化率和产酸速率达到最高值,分别为 40.99%、0.110g/(L·h),所以最适

合 LB-活性醋酸菌发酵的初始 pH 为 3.6。

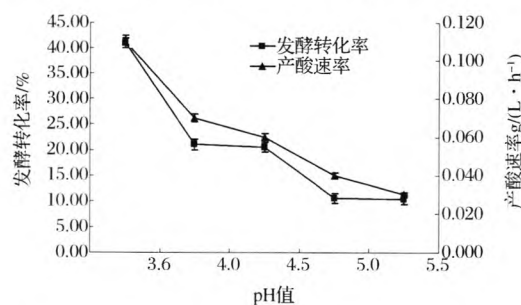


图7 不同 pH 值对甘蔗果醋发酵作用的影响

Fig. 7 Effect on fermentation of sugarcane vinegar with different pH value

## 2.2 响应面优化试验

### 2.2.1 响应面试验设计及结果

通过单因素实验得出与 pH 相比,初始酒精度、接种量、蔗糖添加量和温度对醋酸发酵过程的影响显著,利用 Design-Expert8.05b 软件对 LB-醋酸菌发酵制备甘蔗果醋工艺中的初始酒精度、接种量、蔗糖加量和温度这四个关键因素进行优化,根据软件里面的 Box-Behnken 中心组合试验设计原理,以产酸量为响应值,设计了响应面分析试验。响应面试验设计与结果见表3。

### 2.2.2 方差分析

以果醋的产酸量为考察指标,通过运用 Design Expert 8.0.5b 数据分析软件对表3中的产酸量实验数据进行分析处理(见表4),得到初始酒精含量(A)、接种量(B)、蔗糖添加量(C)、温度(D)四因素与产酸量之间的回归方程如下:

$$Y = 14.72 - 0.99A + 0.45B + 0.68C + 2.47D - 1.21AB + 0.60AC - 1.19AD + 0.41BC - 0.20BD + 0.33CD - 3.94A^2 - 1.17B^2 - 1.81C^2 - 2.88D^2$$

所选取的4因素水平范围内,F值的大小代表了各因素对产酸量影响的强弱,F值越大,说明影响作用越强<sup>[20]</sup>。两回归模型中实现了多项交互作用,其中作用显著的是:A、C、D、AB、AD、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>、D<sup>2</sup>。回归项中A、D、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>、D<sup>2</sup>的P值<0.01,说明其对产酸量的影响是极显著。则C、AB、AD的P值均<0.05,说明C、AB、AD对产酸量均有显著影响。而因素B接种量的P值=0.1249,大于0.05,所以因素B接种量对产酸量没有显著影响。从表4中由F值的大小均可以判断,影响产酸量的各个因素影响大小排序依次为:温度(D)>初始酒精度(A)>蔗糖添加量(C)>接种量(B)。

表 3 响应面实验设计及结果

Table 3 Experimental results of response surface analysis

试验号	A 初始 酒精度 %	B 接种量 %	C 蔗糖 添加量/ %	D 温度 /℃	产酸量/ g/100 mL
1	-1	-1	0	0	8.56
2	1	-1	0	0	8.35
3	-1	1	0	0	12.88
4	1	1	0	0	7.84
5	0	0	-1	-1	7.03
6	0	0	1	-1	7.5
7	0	0	-1	1	11.52
8	0	0	1	1	13.31
9	-1	0	0	-1	6.57
10	1	0	0	-1	6.42
11	-1	0	0	1	13.13
12	1	0	0	1	8.23
13	0	-1	-1	0	11.39
14	0	1	-1	0	11.52
15	0	-1	1	0	12.51
16	0	1	1	0	14.27
17	-1	0	-1	0	8.97
18	1	0	-1	0	7.01
19	-1	0	1	0	8.78
20	1	0	1	0	9.21
21	0	-1	0	-1	7.33
22	0	1	0	-1	7.56
23	0	-1	0	1	13.22
24	0	1	0	1	12.66
25	0	0	0	0	13.85
26	0	0	0	0	15.05
27	0	0	0	0	14.91
28	0	0	0	0	14.95
29	0	0	0	0	14.86

表 4 回归模型方差分析

Table 4 AVOV for response surface quadratic regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Model	241.98	14	17.28	19.16	<0.000 1	**
A 初始酒精度	11.66	1	11.66	12.93	0.002 9	**
B 接种量	2.40	1	2.40	2.66	0.124 9	
C 蔗糖添加量	5.52	1	5.52	6.12	0.026 8	*
D 温度	73.31	1	73.31	81.28	<0.000 1	**
AB	5.83	1	5.83	6.47	0.023 4	*
AC	1.43	1	1.43	1.58	0.228 9	
AD	5.64	1	5.64	6.25	0.025 4	*
BC	0.66	1	0.66	0.74	0.405 3	
BD	0.16	1	0.16	0.17	0.683 8	
CD	0.44	1	0.44	0.48	0.498 5	
A <sup>2</sup>	100.80	1	100.80	111.76	<0.000 1	**
B <sup>2</sup>	8.95	1	8.95	9.92	0.007 1	**
C <sup>2</sup>	21.21	1	21.21	23.52	0.000 3	**
D <sup>2</sup>	53.64	1	53.64	59.48	<0.000 1	**
残差	12.63	14	0.90			
失拟项	11.65	10	1.17	4.78	0.072 5	
纯误差	0.97	4	0.24			
总和	254.61	28				

注: \* 代表显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 表示极显著 ( $P < 0.01$ )。

对回归方程进行方差分析,从表 4 可知,模型的  $F = 19.16, P < 0.0001$ , 表明实验所采用的二次模型是极显著的水平,在统计学上是有意义的。失拟项用来表示所用模型与实验拟合的程度,即二者差异的程度。本实验失拟项  $P = 0.0725 > 0.05$  (不显著),说明无失拟因素存在,回归方程与实际情况能较好的吻合,实验误差小,确定模型选择正确,因此可以使用该回归方程代替实验真实点对结果进行分析。回归模型进行方差分析可知,  $Y$  方程的回归系数  $R^2 = 0.9504$ ,校正回归系数  $R_{Adj} = 0.9008$ ; 回归系数值在接受范围内,回归方程拟合度高,在实验允许误差范围之内,且模型预测性良好,可以有效的分析和预测该工艺条件下产酸量变化的效果。

### 2.2.3 响应面图形分析及工艺优化

根据 Design Expert 8.0.5b 软件分析得到各因素交互作用对产酸量影响的响应面图(图 8)。等高线的形状可以反映出交互作用的强弱,从图 8 可以直观看出两两因素交互作用对产酸量的影响,椭圆形表示量因素交互作用显著,而圆形则与之相反<sup>[21]</sup>。响应面值随着各因素的增大而增大,当响应值增大到极值后,随着各因素的增大,响应值逐渐减小。

图 8 直观的反映了各因素交互作用对响应值的影响,比较两两因素交互作用的响应曲面图可知,发酵温度对甘蔗果醋产酸量的影响最为显著,其表现为随着温度的增加,响应值变化最大。初始酒精度和蔗糖添加量次之;而接种量的影响最小,不显著,随着其数值的增大或减小,响应值变化较小。接种量和初始酒精度二者交互作用对产酸量的影响较强,二者比较接种量对产酸量的影响较大,表现为等高线坡度较陡。初始酒精度和蔗糖添加量交互作用对产酸量的影响较强,二者相比,蔗糖添加量对产酸量的影响较大,表现为等高线坡度较陡。温度和初始酒精度交互作用对产酸量的影响较强,温度的等高线坡度较陡,所以相对于初始酒精度其对产酸量的影响较大。接种量和蔗糖添加量交互作用对产酸量的影响比较弱,表现为等高线为椭圆形。温度和接种量交互作用对产酸量的影响较强,二者相比,温度的等高线坡度较陡,所以对产酸量的影响比接种量大。温度和蔗糖添加量二者交互作用对产酸量的影响较弱,表现为等高线为椭圆形,二者相对,温度的等高线坡度较陡,所以温度相对于蔗糖添加量对产酸量的影响较大。

### 2.2.4 LB-醋酸菌发酵甘蔗果醋工艺的优化及验证结果



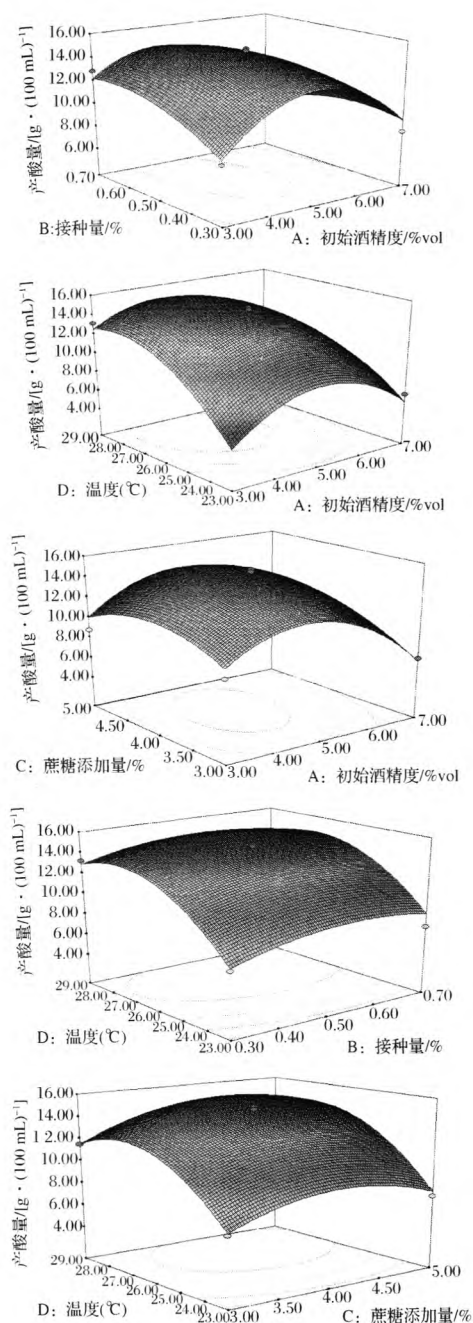


图8 两两因素交互作用对产酸量影响的响应曲面

Fig. 8 Response surface of interactive effects for every two factors on acid amount

为进一步确定工艺最佳点,利用 Design-Expert 8.05b 软件对试验数据进行优化预测,得到预测最佳工艺条件,经分析,最佳条件值为初始酒精含量 4.55% vol,接种量 0.56%,蔗糖添加量 4.23%,发酵温度 27.44 ℃,预测得到的产酸量为 15.57 g/100 mL。但考虑到实验的可操作性,将工艺条件调整为

初始酒精含量 5% vol,接种量 0.5%,蔗糖添加量 4%,发酵温度为 26 ℃,在此条件下,发酵液的产酸量为 15.05 g/100 mL,与预测值相差不大,证实了该方程的准确性和实用性。

### 3 结论

选择 LB-活性醋酸菌、沪酿 1.01 号活性醋酸菌、帝伯仕果醋菌、沂源果醋菌、生料醋酸菌 5 个醋酸菌品种,在相同的条件下进行醋酸发酵,得出发酵甘蔗果醋产酸量最高的为沂源果醋菌,较高的为沪酿 1.01 号活性醋酸菌、帝伯仕果醋菌、LB-活性醋酸菌,这 3 种醋酸菌的产酸趋势相差不大。结合感官评定方面来评价,LB-活性醋酸菌发酵的甘蔗果醋得分最高为 89 分,其发酵液有醋味不刺激,醇香无异味,醋体颜色透亮等优点,因此确定发酵甘蔗果醋最佳的醋酸菌为 LB-活性醋酸菌。通过单因素实验和 Box-Behnken 实验设计原理及响应面分析法对 LB-活性醋酸菌发酵甘蔗果醋工艺中的初始酒精度、接种量、蔗糖添加量和温度这 4 个关键因素进行优化,得到了回归方程。并进一步对回归方程进行方差分析,结果显示该回归模型极显著 ( $P < 0.01$ ),而失拟项不显著 ( $P > 0.05$ ),表明 Y 能比较好地预测产酸量随着各因素变化的规律。据各因素的 F 值可知,不同因素条件对产酸量影响大小排序依次为:温度(D) > 初始酒精含量(A) > 蔗糖添加量(C) > 接种量(B)。在两两因素交互作用中,初始酒精度与接种量的交互作用对产酸量影响最显著。通过回归分析,结合实际操作方便性进行修正,确定 LB-活性醋酸菌发酵甘蔗果醋加工工艺条件为:甘蔗果酒初始酒精含量为 5% vol, LB-活性醋酸菌接种量为 0.5%,蔗糖添加量为 4%,发酵温度为 26 ℃,调整为可操作试验条件产酸量为 15.05 g/100 mL。理论值和预测值 15.57 g/100 mL 相比相差不大,试验结果良好,说明用响应面分析法优化发酵甘蔗果醋的工艺条件是可行的。通过该工艺发酵的甘蔗果醋呈琥珀色,色泽晶莹剔透,具有甘蔗清香味,酸甜爽口。试验结果为甘蔗果醋的中试和扩大生产提供了技术参数。

### 参考文献

- [1] 唐卿雁,林奇,李永平.野生番石榴果醋加工工艺条件的优化[J].食品工业科技,2012,33(7):211-215.
- [2] 罗威,罗立新.荔枝保健果醋酿造工艺研究[J].食品工业科技,2012,31(4):176-177;388.

- [3] KOCHER G S, SINGH R M, Kalra KL. Preparation of value added vinegar using apple juice[J]. Food Sci Technol, 2007, 44: 226 - 227.
- [4] 刘凤珠, 牛小明. 水果醋的营养研究分析[J]. 中国调味品, 2011, 36(6): 93 - 96.
- [5] 王春霞, 王敏, 鲁梅芳, 等. 新一代健康饮品: 果醋[J]. 食品工业科技, 2002, 23(4): 78 - 79.
- [6] 姚玉静, 黄国平, 龚慧雯, 等. 果醋发酵工艺研究进展[J]. 粮食与食品工业, 2010, 17(6): 28 - 30.
- [7] 李南薇, 刘长海, 黄进明. 菠萝发酵果醋生产工艺的研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(4): 76 - 78.
- [8] 陈赶林, 林波, 孙健, 等. 果酒酵母对甘蔗汁的酒精发酵作用[J]. 食品发酵与工业, 2011, 37(05): 32 - 34.
- [9] 黄美娥, 高中松, 张羽, 等. 白茅根 - 甘蔗饮料的研制[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(2): 141 - 143.
- [10] 付满. 蔗稍汁发酵酿酒酵母的筛选[J]. 农业工程技术(农产品加工业), 2009(4): 38 - 39.
- [11] CHEN Gan-Lin, ZHENG Feng-jin, LIN Bo, et al. Preparation and characteristics of sugarcane low alcoholic drink by submerged alcoholic[J]. Fermentation Sugar Tech, 2013, 15(4): 412 - 416.
- [12] CHEN Gan-lin, ZHENG Feng-jin, SUN Jian, et al. Production and characteristics of high quality vinegar from sugarcane juice[J]. Sugar Tech, 2015, 17(1): 89 - 93.
- [13] 郑凤锦, 陈赶林, 蒙艳红, 等. 甘蔗汁发酵产物的体外抗氧化能力分析[J]. 南方农业学报, 2015, 46(3): 457 - 479.
- [14] CHEN Gan-Lin, ZHENG Feng-jin, LIN Bo, et al. Alcoholic fermentation of sugarcane juice using three different kinds of yeast [C]// Balancing Sugar and Energy Production in Developing Countries: Sustainable Technologies and Marketing Strategies. Lucknow, India: Army Printing Press, 2011: 805 - 808.
- [15] 王永非, 王成国. 响应面法的理论与应用[J]. 中央民族大学学报, 2005, 14(3): 236 - 240.
- [16] 杨文雄, 高彦祥. 响应面法及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2005, (2): 68 - 71.
- [17] 李亚娜, 林永成, 余志刚. 响应面分析法优化羊栖菜多糖的提取工艺[J]. 华南理工大学学报, 2004, 32(11): 28 - 32.
- [18] 邓红梅, 周天, 马超, 等. 香蕉醋醋酸发酵工艺及其澄清效果的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(22): 316 - 318; 322.
- [19] 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.
- [20] 顾英, 韩凤丽, 王洪洋. 响应面法优化红薯叶类黄酮提取工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 286 - 289; 333.
- [21] 张乔会, 逢锦慧, 崔洁, 等. 响应面法优化闪式提取杜香熊果酸及熊果酸性质研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(6): 251 - 256.

## Acetic acid fermentation of sugarcane wine by acetic acid bacteria

ZHENG Feng-jin<sup>1</sup>, CHEN Gan-lin<sup>2\*</sup>, FANG Xiao-chun<sup>2</sup>,  
SUN Jian<sup>1</sup>, LIN Bo<sup>1</sup>, LIU Guo-ming<sup>1</sup>, LI Li<sup>1</sup>

1 (Agro-food Science and Technology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

2 (Guangxi Academy of Agricultural Sciences/ Sugarcane Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

**ABSTRACT** In the present study, sugarcane wine prepared by sugarcane juice fermentation was used as raw material. By submerged fermentation, acetic acid bacteria suitable for acetic acid fermentation of sugarcane wine were screened out. Using LB-activated acetic acid bacteria as fermentation bacteria, the influence of initial alcohol, inoculation quantity, fermentation temperature, sugar content and initial pH on acetic acid fermentation was studied. Sugarcane wine acetic acid fermentation process was optimized using four factors at three levels of response surface method (RSM). The optimal process parameters were as follows: initial alcohol sugarcane wine of 5% for volume, LB-acetic acid bacteria inoculation quantity of 0.5%, sucrose content of 4%, fermentation temperature of 26 °C. Under this condition, acid content was 15.05 g/100 mL. The results provided the technical parameters for pilot-scale production of sugarcane vinegar from sugarcane wine by acetic acid fermentation.

**Key words** sugarcane wine; sugarcane vinegar; acetic acid bacteria; response surface methodology (RSM)