

新型葡萄醋酿造工艺

赵方圆,李静媛*

(青岛农业大学 食品科学与工程学院,山东 青岛,266109)

摘要 以巨峰葡萄为原料,采用酿酒酵母实现前期酒精发酵,巴氏醋杆菌进行醋酸发酵,制备葡萄醋。通过设定不同的浸渍温度、发酵温度寻找能够最大限度保留葡萄中各种营养物质并具备最佳口感的葡萄醋生产工艺。结果表明,通过高温浸渍、低温发酵工艺进行前期酒精发酵酿造而成的葡萄醋,具有最佳的口感及最为丰富的营养物质。

关键词 葡萄醋;浸渍;酒精发酵;电子鼻

葡萄醋是利用葡萄酒或者葡萄果汁等作为原料发酵酿造的食醋^[1]。葡萄醋中不仅含有白藜芦醇、花青素等多酚类抗氧化活性成分^[2],具有抗衰老、抗氧化、保护心脏等功效^[3-5],还富含氨基酸、维生素和矿物质等,具有保健功能^[6]。

传统葡萄醋发酵工艺多以固态发酵为主,但发酵周期较长,劳动强度大,占地面积广,原材料利用率低^[7]。新型葡萄醋生产工艺主要是采用液态发酵法,通过酒精发酵和醋酸发酵,最终得到的产品不但拥有果醋的营养价值,同时兼备葡萄酒的风格与特征。本研究采用巨峰葡萄为原料,以液态发酵技术,参考葡萄酒酒精发酵工艺中的相关技术来改进葡萄醋的酿造工艺,以期最大化地增加葡萄醋中的营养成分和改善风味。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

巨峰鲜食葡萄,购于青岛大润发超市;活性干酵母,购于法国莱蒙特公司;巴氏醋杆菌,购于北京豫鼎鑫捷科技有限公司。

1.1.2 试剂

酒石酸、DL-苹果酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸标准品、白藜芦醇和没食子酸标准品购自美国 Sigma 公司;乙

腈购自德国 merck 公司;果胶酶、葡萄糖、酵母膏、琼脂粉、NaOH、CaCO₃、H₂SO₃ 等常规试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

液相色谱仪,日本岛津公司;PEN3 型便携式电子鼻,德国 Airsense 公司;紫外可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司;电子分析天平,奥豪斯国际贸易(上海)有限公司;TGL-16M 高速台式冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;pH 计,奥豪斯仪器(上海)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 酿造方法

生产工艺流程:

葡萄→除梗、破碎→入罐→浸渍(12 h)→酒精发酵→分离、压榨→调整酒精度(8%)→醋酸发酵(30 ℃)→过滤、离心→灭菌→成品。

在浸渍温度、酒精发酵温度 2 个环节进行了对比试验,参数设置见表 1。

表 1 不同葡萄醋酿造工艺的参数设定

Table 1 Parameter setting of different grape vinegar brewing process

样品编号	酿造工艺	浸渍温度/ ℃	酒精发酵 温度/℃
1 号	常温浸渍,常温(酒精)发酵	20	28
2 号	高温浸渍,低温(酒精)发酵	60	20
3 号	高温浸渍,常温(酒精)发酵	60	28

葡萄破碎:称取 1 kg 巨峰葡萄,经过除梗破碎后,装入到 2.5 L 玻璃罐中,添加 30 mg/L SO₂, 20 mg/L 果胶酶。

酒精发酵:葡萄破碎浸渍结束恢复常温后,将活化后的酵母加入罐中进行发酵。每天测定其温度、比重和糖度,当比重和糖度不再变化时,发酵结束。

第一作者:博士,讲师(李静媛副教授为通讯作者,E-mail:jingyuan1985@163.com)。
基金项目:国家自然科学基金青年基金(31501458);青岛农业大学高层次人才启动基金项目(6631114334)
收稿日期:2018-05-29,改回日期:2018-07-18

醋酸发酵:将部分原酒酒度调至 8% ,接入 5% 醋酸发酵种子液,于 30 ℃ 恒温培养箱中静止培养,随时测定醋酸含量的变化,直至醋酸含量不再增加。

后处理:将发酵完成的原醋于 70 ℃ 下灭菌 10 min,离心(6 000 r/min, 10 min)得到澄清葡萄醋样品。

1.3.2 检测方法

电子鼻检测:准确量取 10 mL 不同样品,注入进样瓶中密封 30 min 后,在室温(20 ℃)条件下使用电子鼻进行检测。电子鼻检测条件:采样时间为 3 s/组,检测时间为 60 s,传感器自清洗时间为 180 s。电子鼻传感器所对应的香气类型见表 2。

表 2 电子鼻传感器对应的香气类型

Table 2 Aroma types corresponding to sensors of E-nose		
序号	传感器名称	性能描述
1	W1C	芳香成分苯类
2	W5S	灵敏度大,对氮氧化合物灵敏
3	W3C	氨类,对芳香成分灵敏
4	W6S	主要对氢气有选择性
5	W5C	烷烃类芳香成分
6	W1S	对甲烷灵敏
7	W1W	对硫化物灵敏
8	W2S	对醇类灵敏
9	W2W	芳香成分,对有机硫化物灵敏

色度的测定:参考陈孜铜等^[8]方法测定色度。
总酸的测定:参考国标 GB/T 15038—2006^[9]。
酒精度的测定:参考国标 GB/T 10345—2007^[10]。
可溶性固形物的测定:使用手持折光仪进行测定。
总酚的测定:采用福林-肖卡试剂比色法^[11]测定。
有机酸的测定:利用高效液相色谱,参考陆燕等^[12]方法。色谱条件:色谱柱为 C₁₈ 柱,流动相为乙腈-0.01 mol/L NH₄H₂PO₄ (2:98) 溶液,用磷酸调 pH 值至 2.70。流速:1.0 mL/min,进样量为 30 μL,检测波长 210 nm,柱温 25 ℃,流动相使用前用 0.45 μm 滤膜过滤,超声脱气。

白藜芦醇的测定:利用高效液相色谱,参考刘庆等^[13]方法。色谱条件:色谱柱为 C₁₈ 柱,流动相为乙腈:水=70:30。流速:1.0 mL/min,进样量为 10 μL,检测波长 306 nm,柱温 30 ℃,流动相使用前超声脱气。

感官评价:选取 10 名有经验的品尝员对不同工艺酿造得到的葡萄醋产品进行感官评价得分,感官评定标准如表 3 所示。

表 3 感官评定标准

Table 3 The standard of sensory assessment		
项目	评定内容	得分
口感 (50 分)	纯正柔和、酸甜可口、细腻爽口	40 ~ 50
	酸甜较适宜,口感略粗糙	26 ~ 40
	酸甜不协调,醋味较浓,口感粗糙	≤25
香气 (30 分)	具有浓郁醋香、淡淡的果香	21 ~ 30
	香气不浓郁,气味欠协调	16 ~ 20
	气味不协调	≤15
外观 (20 分)	宝石红,透明澄清,无悬浮物	16 ~ 20
	胭脂红,色泽稍暗,稍有悬浮物	11 ~ 15
	欠透明,分层明显	≤10

1.3.3 数据分析

每组设置 3 个平行,使用 Microsoft Excel、WinMuster 等软件处理实验数据。

2 结果与分析

2.1 不同酿造工艺对于酒精发酵和醋酸发酵的影响

按照 1.3.1 设定的 3 种酿造工艺发酵葡萄醋,获得酒精发酵和醋酸发酵的相关数据如表 4 所示。

表 4 不同酿造工艺对酒精发酵和醋酸发酵的影响

Table 4 Effects of different fermentation processes on alcohol fermentation and acetic acid fermentation				
样品	酒精发酵 时间/d	最终 酒度/%	醋酸发酵 时间/d	醋酸 含量/%
1	3	13.8	7	2.13
2	5	14.0	9	3.54
3	3	13.9	10	3.72

由于 2 号酒精发酵温度低,酵母启动酒精发酵的时间长,其酒精发酵的时间也较长,但从表 4 来看,3 种样品在最终酒度上无明显差异。在醋酸发酵方面,可以明显看出,进行过高温浸渍的 2 和 3 号样品,虽然醋酸发酵时间略长于常温浸渍的 1 号样品,但最终产酸量却明显高于 1 号样品。分析原因可能是高温浸渍样品中较高浓度的酚类物质抑制了醋酸菌的活动,使其发酵时间延长,但较长的发酵时间提高了醋酸的产量。

2.2 不同酿造工艺的葡萄醋样品的电子鼻检测分析

2.2.1 电子鼻对不同葡萄醋样品中香气成分的特征响应

利用电子鼻对 1~3 号葡萄醋样品进行检测。检测结果如图 1 所示。

由图 1 可以看出,1~3 葡萄醋样品的传感器响应谱图曲线形态分布很接近,说明不同的酿造工艺并没有根本改变葡萄醋的香气类型。3 种葡萄醋中香气

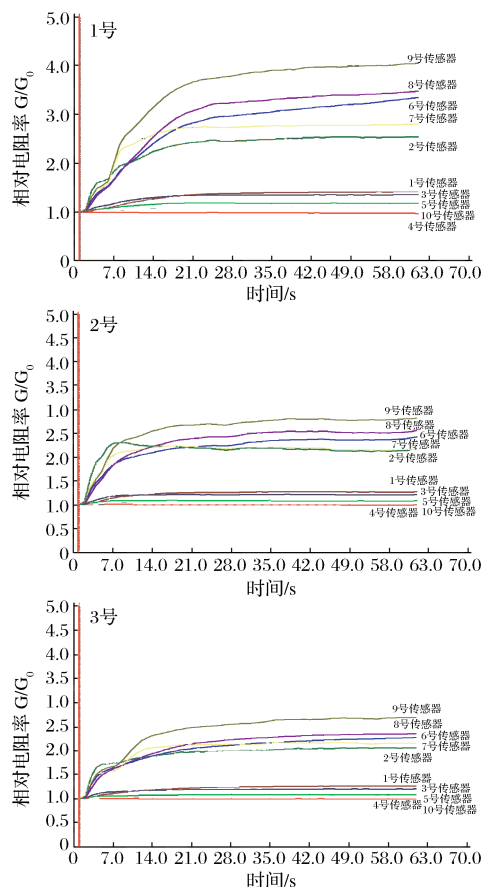


图1 1~3号葡萄醋样品传感器响应图

Fig.1 Graphs of response of 10 sensors to aroma of 1~3 grape vinegar sample

成分较明显的,依次为芳香成分、有机硫化物(9号传感器)、醇类(8号传感器)、甲烷(6号传感器)、硫化物(7号传感器)和氮化合物(2号传感器)。从信号强度来看,常温浸渍、常温发酵的1号样品的香气浓度明显高于其他两种高温浸渍工艺发酵的2号和3号样品。由此可知高温浸渍的酿造工艺,会导致葡萄汁香气成分散失较多,从而降低了葡萄醋的香气。

2.2.2 不同葡萄醋样品的 PCA 主成分分析

图2为不同酿造工艺的葡萄醋香气的主成分分析(principal component analysis, PCA)图中不同颜色的椭圆分别代表3种酿造工艺的葡萄醋样品的数据采集点。通过PCA分析知,第一主成分区分贡献率为99.77%,第二主成分区分贡献率为0.23%,第一、第二主成分总的区分贡献率为100.00%,则这两个主成分基本代表了样品的主要特征信息。通过图2主成分 PC_1 和 PC_2 两个主轴上看,3种食醋分布在不同区域,能很好地被区分开。说明不同的酿造工艺对葡萄醋香气产生明显影响。

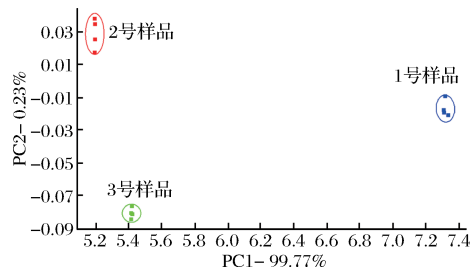


图2 不同酿造工艺的葡萄醋香气的 PCA 主成分分析图

Fig.2 PCA analysis for aroma of different brewing process of grape vinegar

2.2.3 不同葡萄醋样品的 LDA 线性判别分析

由图3发现,按照线性判别分析法(linear discrimination analysis, LDA),第一主成分区分贡献率高达100.00%,基本代表了样品的主要特征信息。通过LDA分析,3种食醋非常集中地分布在3个不同区域,说明不同的酿造工艺酿出的葡萄醋具有明显差异,能够被明显区分。

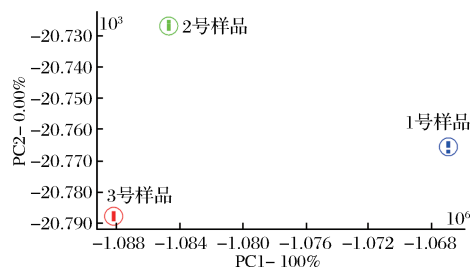


图3 不同酿造工艺的葡萄醋的 LDA 线性判别分析

Fig.3 LDA analysis for aroma components of different brewing process of grape vinegar

2.3 不同酿造工艺对葡萄醋样品营养成分的影响

2.3.1 对可溶性固形物含量的影响

对1~3号葡萄醋样品中可溶性固形物进行测定,结果如图4所示。

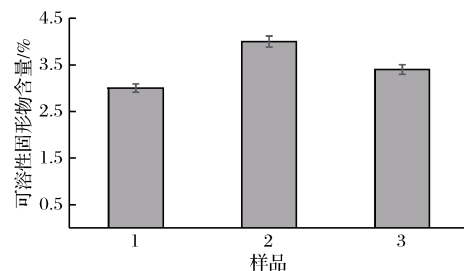


图4 不同酿造工艺对葡萄醋中可溶性固形物含量的影响

Fig.4 Effects of different brewing processes on the content of soluble solids in grape vinegar

由图4可知,使用低温发酵高温浸渍工艺的2号样品中可溶性固形物含量明显高于其他2组常温发

酵样品。由此推测:较低的发酵温度,可能降低了酵母菌代谢消耗所需能量,从而减少可溶性固形物(如葡萄糖或果糖)的损失。此外,同样是常温发酵的1号样品和3号样品,高温浸渍的3号样品中可溶性固形物的含量较高。由此得出:较高的浸提温度可以从葡萄汁中浸提出更多可溶性物质,从而最终葡萄醋产品中的可溶物含量也更高。

2.3.2 对色度、多酚、白藜芦醇含量的影响

利用紫外分光光度仪、高效液相色谱仪对1~3号葡萄醋样品的色度、多酚、白藜芦醇含量进行测定,结果见表5。

表5 不同酿造工艺中的葡萄醋色度、多酚和白藜芦醇含量
Table 5 Effects of different brewing processes on chromaticity, polyphenol and resveratrol content in grape vinegar

样品	色度	多酚含量/(mg·mL ⁻¹)	白藜芦醇含量/(μg·mL ⁻¹)
1	0.68	2.27	9.41
2	1.11	3.37	13.18
3	0.95	2.88	9.83

葡萄醋色度值的大小,主要是由葡萄醋中的酚类物质如花色素苷、单宁等决定,酚类物质含量越高,葡萄醋的色度也就越高。通过表5可以看出:对于色度来说,高温浸渍、低温发酵样品(2号)>常温浸渍、常温发酵样品(1号)>高温浸渍、常温发酵样品(3号),因此高温浸渍、低温发酵最有利于葡萄醋色度的提高。由图2还可以看出,多酚和白藜芦醇的含量由多到少依次是:高温浸渍、低温发酵样品(2号)>高温浸渍、常温发酵样品(3号)>常温浸渍、常温发酵样品(1号)。这与色度结果的规律基本吻合,可以得出结论:酒精发酵过程中,使用高温浸渍的方法可以更多地融入葡萄皮中的酚类物质,色度也越深;而较低发酵的温度,延长了酒精发酵的时间,这可能导致酚类物质含量的明显增加。

2.3.3 对有机酸种类和含量的测定及分析

通过液相色谱仪对酒石酸、DL-苹果酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸5种有机酸标准品进行色谱分析获得图5。色谱图中存在6个主峰,从左至右依次为酒石酸、L-苹果酸、乳酸、柠檬酸、D-苹果酸、琥珀酸。由于葡萄醋中存在的苹果酸主要为L-苹果酸,所以本次研究只对L-苹果酸进行分析。通过对图5的分析,确定5种有机酸的出峰时间。将1~3号样品进行色谱分析,以样品3的色谱图(图6)为例,根据出峰时间,可知图6中峰1为酒石酸、峰2为L-苹果酸、峰3为乳酸、峰4为柠檬酸、峰5为琥珀酸。

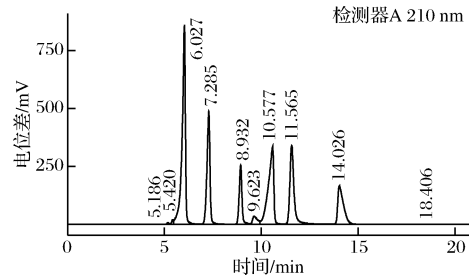


图5 5种有机酸标准品色谱图

Fig. 5 The chromatograms of 5 kinds of organic acid standard

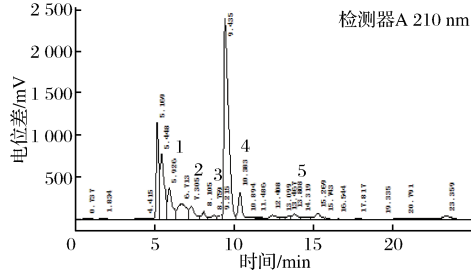


图6 3号样品中有机酸色谱图

Fig. 6 The organic acid chromatogram of No. 3 sample

通过对1~3号样品的色谱图分析,根据5种有机酸标准品的出峰时间及线性回归方程($R^2 = 0.996 \sim 0.999$),计算出3种葡萄醋样品中5种有机酸的含量如图7所示。高温浸渍的2号和3号样品各项有机酸含量明显高于常温浸渍的1号样品。分析原因可能是高温浸渍使更多有机酸溶解到葡萄汁中,从而最终葡萄醋样品中有机酸含量较高。

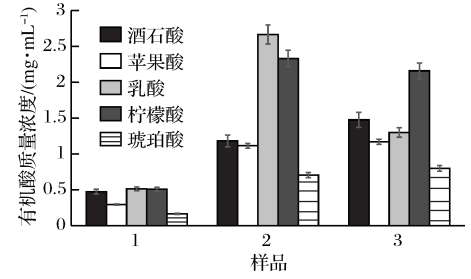


图7 不同酿造工艺对葡萄醋中5种有机酸浓度的影响

Fig. 7 Effects of different brewing processes on the concentration of five organic acids in vinegar

此外,低温发酵、高温浸渍的2号样品中乳酸和柠檬酸含量均高于常温发酵、高温浸渍的3号样品,酒石酸和苹果酸低于3号样品,琥珀酸差异不明显。分析原因可能是低温发酵过程中,一部分酸如酒石酸等,会由于发酵温度较低导致溶解度下降。由于酒石酸和苹果酸同属于二元酸,在口感上显得尖酸刺口,过多的苹果酸和酒石酸会导致葡萄醋口感粗糙,不够柔

和。由此推测,2号样品在口感上会优于3号样品。

2.4 不同酿造工艺的葡萄醋样品的质量感官评定

对3种葡萄醋样品的质量感官评价见表6。常温浸渍、常温发酵的1号样品的香气最浓郁、厚重,但酸感较弱、较平淡。通过高温浸渍的2号和3号样品

风味口感较常温浸渍(1号)样品更丰富,多样。但3号样品的口感略显酸涩、较粗糙,且色泽较暗淡。而低温发酵的2号样品在口感的柔和度和协调性上要优于常温发酵的1号和3号样品。因此2号葡萄醋样品的感官评价得分最高,质量最好。

表 6 不同酿造工艺葡萄醋样品质量感官评定表

Table 6 The quality sensory evaluation table of different brewing process grape vinegar samples

样品	口感(50分)	香气(30分)	外观(20分)	总评
1	酸感弱,较平淡	香气浓郁,厚重	胭脂红,澄清透明	85
2	酸爽,柔和	果香怡人,优雅协调	深宝石红,清澈透明	90
3	略显酸涩,较粗糙	香气淡雅,清香	深宝石红,澄清,色泽稍暗	80

3 结论

本研究以巨峰葡萄为原料,参考葡萄酒酒精发酵工艺中的相关技术,采用不同的浸渍温度和酒精发酵温度的酿造方法来改进葡萄醋的发酵工艺。结果表明:采用电子鼻系统中的PCA和LDA分析,发现这2种方法均能准确区分开3种不同酿造工艺的葡萄醋样品,由此说明不同的酿造工艺确实对葡萄醋的香气产生了较大的影响。对葡萄醋样品中各成分的进一步分析、品评获得采用高温浸渍、低温发酵的葡萄醋样品:含有最多的可溶性固形物及酚类物质,具有较高的营养价值;各类有机酸含量适宜——口感较柔和的乳酸含量较高,而口感较尖锐的苹果酸、酒石酸含量较低;具有最柔和的口感和酸爽的口味,且香气宜人。由此得出,与常温浸渍和常温酒精发酵工艺相比,高温浸渍、低温酒精发酵的葡萄醋酿造工艺可以较好地实现葡萄醋中的营养成分的增加和风味的改善。

参 考 文 献

[1] 武运,周建中,李凯君,等. 葡萄果醋酒精发酵过程工艺的研究[J]. 中国酿造,2010, 29(3): 113-115.
[2] YUMI S, YOSHITAKA T, YOSHIMASA N. Isolation and i-

dentification of DPPH radical scavenging compounds in kurusu (Japanese Unpolished Rice Vinegar) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 6 501-6 503.
[3] SHINGO I, KAYO I, TAKEOMI K, et al. Asrl, an alcohol-responsive factor of *Saccharomyces cerevisiae*, is dispensable for alcoholic fermentation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 72(3): 560-565.
[4] KONDO S, TAYAMA K, TSUKAMOTO Y, et al. Antihypertensive effects of acetic acid and vinegar on spontaneously hypertensive rats [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2001, 65(12): 2 690-2 694.
[5] 陆胜民,刘欠欠,杨颖,等. 胡柚果醋的研究现状及其进展[J]. 食品与发酵科技,2009, 45(4): 19-21, 31.
[6] 李华,张予林,袁春龙,等. 葡萄与葡萄酒中白藜芦醇分析方法的 research 现状[J]. 中国食品学报,2005, 5(1): 104-108.
[7] 诸亮. 发酵调味品生产技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999.
[8] 陈孜铜,李静媛. 浸渍方法对葡萄酒功能物质及品质的影响[J]. 中国酿造, 2017, 36(5): 132-135.
[9] GB/T 15038—2006, 葡萄酒、果酒通用分析方法[S].
[10] GB/T 10345—2007, 白酒分析方法[S].
[11] 朱宝堃. 葡萄酒工业手册[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1995: 21-35.
[12] 陆燕,曾霞,曹建平. 固相萃取-高效液相色谱测定果酒中的有机酸[J]. 广东石油化工学院学报, 2016, 26(6): 15-19.
[13] 刘庆,曹福成,孙英鸿. 高效液相色谱法测定葡萄酒中白藜芦醇的含量[J]. 生命科学仪器, 2013, 11(Z1): 9-11.

Research on brewing process of new grape vinegar

ZHAO Fangyuan, LI Jingyuan *

(College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

ABSTRACT To prepare the grape vinegar, *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter pasteurianus* were used for ethanol fermentation and acetate fermentation, respectively, using Kyoho grapes as raw materials. By controlling different soaking temperatures and fermentation temperatures, the optimal vinegar production process was developed, in which the phenolic substances, aroma and color extracted from grapes were maximally retained. The grape vinegar prepared by macerated at high temperature and alcoholically fermented at low temperature performed the best color, the richest aroma and the most abundant phenolic substances.

Key words grape vinegar; maceration process; alcoholic fermentation; electronic nose