

柑橘果渣醋酸发酵动力学参数研究

张超¹, 王玉霞¹, 曾顺德², 尹旭敏^{2,*}, 刁源², 高伦江², 张惟广³

(1.宜宾学院生命科学与食品工程学院, 发酵资源与利用四川省高校重点实验室, 四川 宜宾 644007;

2.重庆市农业科学院农产品贮藏加工研究所, 重庆 401329; 3.西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

摘要: 以柑橘果渣为原料, 经过粉碎、酶解后进行醋酸发酵, 研究柑橘果渣醋酸发酵动力学参数。结果表明: 柑橘果渣醋酸发酵最佳工艺参数为: 接种量10%、酒精度6%、温度30℃、转速180r/min、发酵时间96h, 醋酸含量达到5.29g/100mL, 醋酸转化率为85.27%。在优化工艺参数基础上, 进行了15L发酵罐放大实验, 发酵时间83h, 醋酸含量达到4.88g/100mL, 醋酸转化率为78.66%, 表明上述最佳工艺参数比较符合实际生产条件。

关键词: 柑橘果渣; 醋酸发酵; 动力学参数

Fermentation Dynamics of Acetic Acids from Citrus Pomace

ZHANG Chao¹, WANG Yu-xia¹, ZENG Shun-de², YIN Xu-min^{2,*}, DIAO Yuan², GAO Lun-jiang², ZHANG Wei-guang³

(1. Key Laboratory of Fermentation Resources and Application of Institutes of Higher Learning in Sichuan, School of Life Science and Food Engineering, Yibin University, Yibin 644007, China; 2. Agro-product Storage and Processing Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329, China; 3. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Citrus pomace was crushed, enzymatically hydrolyzed and fermented to produce acetic acid. The kinetic parameters of acetic fermentation were studied. The results revealed that the optimum parameters of acetic fermentation were 10% of inoculum size, 6% of alcoholicity, 180 r/min, 30 °C and 96 h of fermentation time. Under this condition, the concentration of acetic acid in final products was 5.29 g/100 mL, providing a conversion efficiency of 85.27%. After 83 h of scale-up fermentation in a 15-L fermentation tank, the concentration of acetic acid was 4.88 g/100 mL and the conversion efficiency to acetic acid was 78.66%, indicating that the optimization is accurate and reliable.

Key words: citrus pomace; acetic fermentation; kinetic parameters

中图分类号: Q815

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)19-0233-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201319048

柑橘果醋饮料是利用现代生物技术酿制而成的一种营养丰富、风味优良的酸味饮料, 具有消除疲劳、降低血压、预防动脉硬化和心血管病、增进食欲、促进消化、美容等作用, 是集营养、保健等功能为一体的新型饮品^[1-2]。目前, 柑橘果醋饮料的生产, 主要以柑橘果汁为原料, 而直接利用柑橘果渣生产果醋的则很少^[3-4]。柑橘果渣含有柑橘类黄酮、果胶、膳食纤维、橙皮苷、多种氨基酸、矿物质和丰富的水溶性维生素等多种具有生理活性及保健功能的营养成分, 是酿造柑橘果醋的优良原材料^[5-8]。利用柑橘果渣生产柑橘果醋, 为柑橘果渣资源化利用开辟了一条新的途径, 不仅可以提高柑橘产业的附加值, 保护土壤及水体生态环境, 也促进了农业效益的提高, 实现农业、资源、环境的可持续发展。

收稿日期: 2012-07-30

基金项目: 重庆市科技攻关计划项目(CSTC, 2008AC1115); 四川省教育厅发酵与资源利用重点实验室开放基金重点项目(2011KFZ002); 宜宾学院博士启动项目(2012B17)

作者简介: 张超(1972—), 男, 副研究员, 硕士, 研究方向为应用微生物及发酵工程。E-mail: zhangch8619@163.com

*通信作者: 尹旭敏(1978—), 女, 副研究员, 硕士, 研究方向为农产品加工及发酵工程。E-mail: 402067796@qq.com

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

柑橘果渣: 品种主要为锦橙, 来自于重庆市农业科学院果树研究所实验果园。

纤维素酶 宁夏和氏璧生物技术有限公司; 果胶酶(Lallzyme C、HC、EX)、EC118 法国拉曼公司; 活性干酵母(AWRI-R2) 澳大利亚Mauri酵母公司; 醋酸菌(AS 1.41) 广东省微生物种质资源库。

1.2 仪器与设备

LDZX-50KBS高温高压灭菌锅 上海申安医疗器械厂; B-250A生化培养箱 美国STIK公司; DHZ-DA恒温振荡器 江苏太仓市实验仪器设备厂; SF-CJ-2A超净

工作台 扬州三发电子有限公司; BIOTECH-2002 15L
生物发酵罐 上海保兴生物设备有限公司。

1.3 指标测定^[9-10]

总酸测定以乙酸计,采用酸碱滴定法;还原糖测定采用菲林滴定法;酒精度测定采用蒸馏法;醋酸转化率按下式计算。

$$\text{醋酸转化率}/\% = \frac{\text{产酸量}/(\text{g/L})}{\text{发酵液中酒精含量}/(\text{g/L}) \times 1.034} \times 100$$

1.4 工艺流程

柑橘果渣 → 粉碎 → 酶解 → 调整糖度 → 酒精发酵 → 醋酸发酵

1.5 单因素试验^[11-14]

1.5.1 接种量的影响

在温度30℃、转速100r/min、酒精度(酒精体积分数)5%、培养时间96h条件下,设置接种量为5%、10%、15%,考察其对产醋酸量的影响。

1.5.2 温度的影响

在转速100r/min、酒精度5%、接种量10%、培养时间96h条件下,设置温度为25、30、33、35℃,考察其对产醋酸量的影响。

1.5.3 需氧性的影响

在温度30℃、酒精度5%、接种量10%、培养时间96h条件下,设置转速为0、100、150、200r/min,考察其对产醋酸量的影响。

1.5.4 酒精度的影响

在转速100r/min、温度30℃、接种量10%、培养时间96h条件下,设置酒精度为4%、5%、6%、7%,考察其对产醋酸量的影响。

1.6 发酵曲线实验

在温度30℃、转速150r/min、酒精度5%、接种量10%条件下,每隔12h取1次样,测定醋酸含量。

1.7 正交试验

采用 $L_9(3^4)$ 正交试验,考察接种量、发酵温度、转速、酒精度共同作用对产酸量的影响,寻找柑橘果渣醋酸发酵过程最佳组合。根据单因素试验结果及发酵过程中的实际情况,拟定不同因素水平,并对接种量和酒精度进行适当调整,发酵时间为96h。

1.8 发酵罐放大实验

发酵条件设置为接种量10%、温度30℃、酒精度6%,转速分别为300r/min和500r/min,通气量 $0.1\text{m}^3/\text{h}$,罐压保持在 0.01MPa ,装液量70%,发酵时间为80h和83h。实验共进行3次。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 接种量

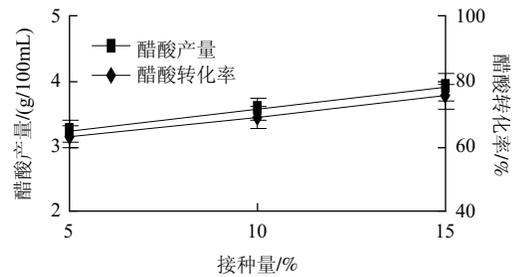


图1 接种量对柑橘果渣产酸量的影响

Fig.1 Effect of inoculums amount on acetic acid production

由图1可知,醋酸菌AS1.41的产酸量和醋酸转化率相对较高,并且随着接种量的增加而提高。接种量为15%时,醋酸含量达到 $3.91\text{g}/100\text{mL}$,醋酸转化率为75.63%。根据单因素试验结果,正交试验因素水平应该围绕最优水平上下波动来设计,但实际工作经验和参考文献[4,15]表明,接种量并不是越高越好,接种量过高或过低,都不利于发酵进程和产物风味的形成。因此,对正交试验接种量因素水平进行调整,接种量调整为8%~12%之间。

2.1.2 温度

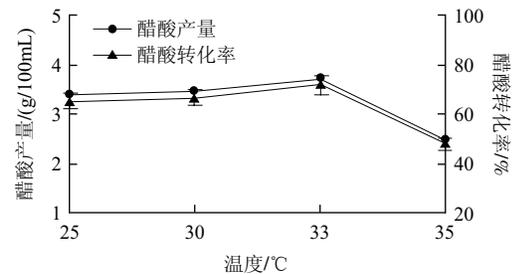


图2 温度对柑橘果渣产酸量的影响

Fig.2 Effect of temperature on acetic acid production

由图2可知,醋酸菌AS1.41产酸量和醋酸转化率在25~33℃之间,随温度升高而增加;在33~35℃之间,产酸量和醋酸转化率随温度升高而降低;在33℃时,产酸量和醋酸转化率较高,分别达到了 $3.71\text{g}/100\text{mL}$ 和71.76%。在试验范围内,33℃发酵温度比较适宜。

2.1.3 需氧性

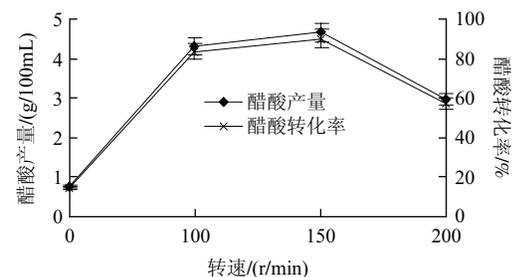


图3 氧气对柑橘果渣产酸量的影响

Fig.3 Effect of oxygen on acetic acid production

摇瓶实验的需氧量不易直接测定,一般以装液量或者转速来间接衡量菌株对氧气的需求情况,本实验以转速的改变和产酸量来表征菌株对氧的需求情况。需氧量试验结果见图3。醋酸菌AS1.41属于好氧细菌,在有氧条件下,将酒精转化为醋酸。结果表明,在150r/min条件下,醋酸菌AS1.41的产酸量和醋酸转化率都较高,达到了4.66g/100mL和90.14%,而且其产量明显优于其他单因素试验的结果,静置培养的产酸量和转化率远远低于振荡培养的水平,说明氧气供给情况对此菌株产酸影响较大。

2.1.4 酒精度

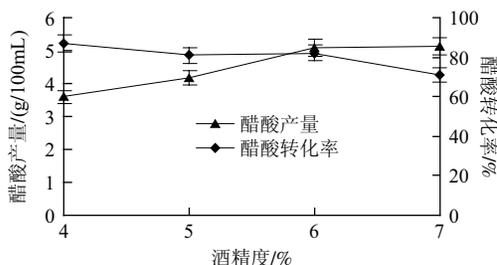


图4 酒精度对柑橘果渣产酸量的影响

Fig.4 Effect of alcoholicity on acetic acid production

由图4可知,在一定酒精度范围内,醋酸菌AS1.41产酸量随着酒精度的提高而增加,而酒精的转化率则没有明显的规律。在酒精度由6%提高到7%时,醋酸的增加量很少,仅为0.04g/100mL,而醋酸转化率却有较明显的下降,说明单纯地增加酒精度,并不能显著提高醋酸的产量。在实验范围内,6%酒精度是比较适宜酒精体积分数,能够保证较高的醋酸产量和较高的转化率。

2.2 发酵时间曲线

发酵时间也是影响醋酸产量和醋酸转化率的重要因素,测定发酵时间曲线,可以了解发酵过程进行状况,确定发酵终止时间,节约生产成本。以醋酸转化率及醋酸产量来衡量发酵状况,确定发酵结束时间。醋酸转化率曲线及醋酸产量曲线测定结果见图5、6,发酵96h后,醋酸积累和醋酸转化率都达到了最大值,醋酸产量达到4.79g/100mL,醋酸转化率达到96.25%。发酵96h后,醋酸的含量基本达到了稳定,随着时间的延长,产酸量不再增加,因此,96h后可以结束发酵。

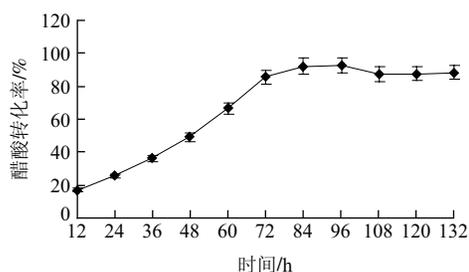


图5 柑橘果渣醋酸转化率曲线

Fig.5 Time course of acetic acid conversion

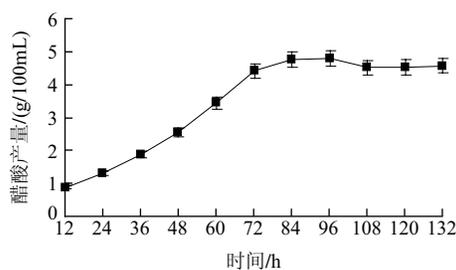


图6 柑橘果渣醋酸产量曲线

Fig.6 Time course of acetic acid production

2.3 正交试验设计及结果

表1 柑橘果渣醋酸发酵正交试验结果

Table 1 Orthogonal array design and corresponding results for the optimization of acetic acid production

试验号	A接种量/%	B发酵温度/°C	C转速/(r/min)	D酒精度/%	醋酸产量/(g/100mL)
1	1(8)	1(30)	1(120)	1(4)	3.89
2	1	2(33)	2(150)	2(5)	3.74
3	1	3(35)	3(180)	3(6)	4.75
4	2(10)	1	2	3	5.26
5	2	2	3	1	3.97
6	2	3	1	2	4.44
7	3(12)	1	3	2	4.82
8	3	2	1	3	5.06
9	3	3	2	1	3.56
K_1	12.38	13.97	13.39	11.42	
K_2	13.67	12.77	12.56	13.00	
K_3	13.44	12.75	13.54	15.07	
k_1	4.13	4.66	4.46	3.81	
k_2	4.56	4.26	4.19	4.33	
k_3	4.48	4.25	4.51	5.02	
R	1.29	1.22	0.98	3.65	
因素主次	D>A>B>C				
最优组合	A ₂ B ₁ C ₃ D ₃				

由表1可知,经极差分析,对醋酸产量的影响因素大小顺序为 $R_D > R_A > R_B > R_C$,说明酒精度是影响柑橘果渣醋酸发酵的主要因素,其次为接种量、温度和转速。正交试验得出的最优组合为 $A_2B_1C_3D_3$,即接种量10%、温度30°C、转速180r/min、酒精度6%。

最优组合不在试验表内,因此进行了验证实验。按照最优组合,最后测得醋酸平均含量为5.29g/100mL,醋酸转化率为85.27%,优于正交表中的组合。正交试验结果也表明,在多种因素影响下,接种量并不是越高越好。

2.4 发酵罐放大实验结果

在单因素试验和正交试验基础上,在15L发酵罐上进行了3次放大实验,转速设定为300r/min,温度设为30°C。发酵80h时,发酵液pH值达到最低的3.15,此后pH值基本稳定保持在3.16;在83h时,溶解氧值为46.7%,此后溶解氧值基本保持稳定趋势。因此,在发酵83h时可以结束发酵过程。经测定,醋酸含量为4.88g/100mL,醋酸转化率为78.66%。

将发酵罐转速提高到500r/min或者更高时,液面形成漩涡,泡沫丰富,发酵过程逃液严重,醋酸产量和转化率则没有明显提高;在发酵过程中,为了提高溶氧,单纯加大通气量,随之产生大量泡沫,泡沫随气体排放而逃逸,发酵液损失量大。因此发酵罐放大及实际生产中,转速不能过高,通气量也不能太大,具体情况应该根据实验结果来确定。

3 结论

柑橘果渣醋酸发酵动力学实验结果表明,最佳工艺条件为接种量10%、温度30℃、转速180r/min、酒精度6%、发酵时间96h,醋酸含量达到5.29g/100mL,醋酸转化率为85.27%。发酵罐放大实验表明,发酵时间83h,醋酸产量达到4.88g/100mL,醋酸转化率为78.66%。上述工艺条件比较接近实际生产条件。

目前,柑橘加工主要以橙汁生产为主,而橙汁只占整个柑橘全果的50%左右,剩余的约占50%的柑橘果渣则作为废弃物被抛弃^[16-17]。国内对柑橘果渣的利用,由于种种原因,在产业化方面还没有实质性的突破。生产上迫切需要开发具有高附加值的柑橘果渣新产品,有效解决柑橘果渣环境污染问题,同时通过加强对柑橘果渣等副产物的综合利用来提高柑橘产业综合效益。利用柑橘果渣发酵生产柑橘果醋,是对柑橘果渣利用的一个有益尝试,具有显著经济效益和社会效益潜力。

参考文献:

- [1] 曹雪丹,方修贵.柑橘果醋研究进展[J].浙江柑橘,2009,26(1):32-35.
- [2] 王同阳.果醋的功能性[J].中国调味品,2006(6):10-12.
- [3] 吴竹青,黄群,傅伟昌,等.椴柑果醋生产工艺研究[J].食品科学,2008,29(9):696-699.
- [4] 蒋和体,杨阳.锦橙果醋酿造工艺研究[J].食品科学,2008,29(10):235-238.
- [5] 赵义斌,邓昭华,风雷,等.柑桔皮粉的制备及其营养成分测定和利用[J].青海畜牧兽医杂志,2004,34(3):3-6.
- [6] 张石蕊,陈铁壁,金宏.柑橘加工副产品中饲料营养物质的测定[J].饲料研究,2004(1):28-29.
- [7] 张登辉.亟待开发的饲料资源:果渣[J].饲料博览,1991(3):39-41.
- [8] 钟良琴,刘作华,王永才,等.柑橘渣的饲用价值研究[J].饲料研究,2010(1):74-77.
- [9] GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S].2006.
- [10] 周帼萍,汪芳安,王秀艳,等.橘皮果醋的研制[J].中国酿造,2006(3):72-74.
- [11] 郑宝东,陈绍军,王登飞,等.柑桔保健果醋酿制工艺的研究[J].农业工程学报,2004,20(1):238-241.
- [12] 周帼萍,汪芳安,王秀艳,等.双酶水解酿制柑桔果醋的研究[J].食品科学,2007,28(1):215-218.
- [13] 白卫东,赵文红,陈颖茵,等.新会柑果醋的研究[J].中国调味品,2006(8):12-15.
- [14] TRIPODO M M, LANUZZA F, MICALI G, et al. Citrus waste recovery: a new environmentally friendly procedure to obtain animal feed[J]. Bioresource Technology, 2004, 91: 111-115.
- [15] 单杨,李高阳.温州蜜桔果醋加工工艺优化研究[J].中国食品学报,2005,5(2):85-89.
- [16] 张超,曾顺德,尹旭敏,等.柑橘皮渣酶解条件研究[J].南方农业,2010(7):49-52.
- [17] 张超,曾顺德,尹旭敏,等.柑橘皮渣降解酶的筛选[J].农产品加工:创新版,2010(3):12-15.