DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2019.12.002

陕北风味香菇小米发酵醋的酿造工艺研究

赵瑞华[1],谢佳艺[1],田茜[2]

(1. 延安大学 生命科学学院,陕西 延安 716000;2. 延安大学 经济与管理学院,陕西 延安 716000)

摘　要:以香菇和陕北米脂小米为原料,在传统食醋酿造工艺的基础上开发一种新型保健醋。对香菇和小米的复合糖化醪进行酒精发酵和醋酸发酵,分别以酒精浓度和醋酸浓度为考察指标对这两种工艺进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,确定最佳酿造工艺。结果表明:酒精发酵的最佳条件是发酵温度 30 ℃,酵母液用量 7 %,发酵糖度 16 %,在此条件下,得出的酒精浓度为 7.91 %;醋酸发酵的最佳条件是发酵温度 32 ℃,醋酸菌用量 9 %,起始 pH 6.0,在此条件下,得出的醋酸浓度为 5.45 %。

关键词:香菇;小米;酒精发酵;醋酸发酵;酿造工艺

Research on the Brewing Technology of Northern Shaanxi Flavored *Lentinus edodes* Millet Fermenting Vinegar

ZHAO Rui-hua[1], XIE Jia-yi[1], TIAN Xi[2]

(1. College of Life Science, Yan´an University, Yan´an 716000, Shaanxi, China; 2. School of Economics and Management, Yan´an University, Yan´an 716000, Shaanxi, China)

Abstract: By using *Lentinus edodes* and millet produced in Mizhi County, Northern Shaanxi as raw materials, a new kind of health vinegar was developed on the basis of traditional vinegar brewing technology. Alcohol fermentation and acetic acid fermentation were carried out through the compound saccharification mash of *Lentinus edodes* and millet. The two optimal brewing processes were determined by L_9 (3^4) orthogonal tests with alcohol concentration and acetic acid concentration taken as the indexes of evaluation inspectively. The optimum conditions for alcohol fermentation were fermentation temperature 30 ℃, yeast liquid dosage of 7 %, fermentation sugar content 16 %, under these conditions, the resulting alcohol concentration was 7.91 %. The optimum conditions for acetic acid fermentation were fermentation temperature 32 ℃, acetic acid dosage 9 %, initial pH 6.0, under these conditions, the resulting acetic acid concentration was 5.45 %.

Key words: *Lentinus edodes*; millet; alcohol fermentation; acetic fermentation; brewing process

引文格式:
赵瑞华,谢佳艺,田茜.陕北风味香菇小米发酵醋的酿造工艺研究[J].食品研究与开发,2019,40(12):6-10
ZHAO Ruihua, XIE Jiayi, TIAN Xi. Research on the Brewing Technology of Northern Shaanxi Flavored *Lentinus edodes* Millet Fermenting Vinegar[J]. Food Research and Development, 2019, 40(12): 6-10

小米属于谷类作物,是人们最喜爱的粮食之一,其富含碳水化合物、蛋白质、氨基酸、脂肪、矿物质、维生素等多种营养成分,且容易被消化吸收[1-2]。而产于陕北米脂县的小米是我国“四大著名小米”之一,相较于普通小米,营养成分更加丰富,脂肪和蛋白质含量高出 1 %~3 %,含有 8 种人体必需氨基酸,营养比例协调[3]。小米醋营养保健,深受大众喜爱[4-8]。徐清萍等曾研究过液化方式对小米醋酒精发酵阶段的影响[9]。于迪等[10]则根据山西老陈醋酿造工艺酿成小米醋,并对发酵过程中总酸、总酯、氨基酸态氮等理化指标进行了测定,对小米醋的挥发性香气成分进行了分析。

基金项目:国家自然科学基金青年基金(41801008)

作者简介:赵瑞华(1978—),女(汉),讲师,博士,研究方向:食药用真菌学。

香菇[*Lentinus edodes*（Berk.）sing]又名香菌、花菇、香蕈，俗称中国蘑菇，在我国具有悠久的栽培历史，也是世界第二大食用菌。其肉质脆嫩，香气浓郁，含有蛋白质、多种矿物质和维生素，具有很高的食药用价值[11-14]。随着人们生活水平的提高，由香菇制成的食品、药品和保健品等越来越受到人们的青睐[15-16]。目前，我国有一些学者研究过香菇醋的酿造工艺[17-19]。肖玲玲等[20]以废弃香菇柄为原材料，经纤维素酶酶解处理后发酵酿制香菇醋，并通过对酶水解条件的优化，确定了最佳参数。魏登和王柳以香菇和薏米为原料，并在传统食醋酿造方法的基础上研制出一种新型保健醋[21]。

如果将香菇和小米相结合，可以制得兼具二者营养和风味的香菇小米醋。目前有关于香菇枣醋、香菇桃醋、香菇薏米醋、香菇糯米醋等的报道，但还未见对香菇小米醋的研究报导。以香菇和陕北特有的米脂小米为原料进行复合醪发酵，从而提高糖度，制造出一款融合两种原料风味和特色的成品保健醋，获得符合市场需求的产品配方与生产工艺。可以提高两种农产品的综合利用价值，为相关企业开发保健醋等复合发酵饮品提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

优质陕北米脂小米和马铃薯购自延安华润万家超市；香菇菌种和沪酿 1.01 醋酸菌由延安大学生命科学学院食用菌研究室提供；液化酶（α–淀粉酶，酶活力 24 000 U/mL）、糖化酶（葡萄糖淀粉酶，酶活力 150 000 U/mL）：无锡赛德生物技术有限公司；酿酒活性干酵母：安琪酵母股份有限公司。

1.2　仪器与设备

生化培养箱（LRH–70）：苏州江东精密仪器有限公司；台式恒温振荡器（THZ–D）：海门市其林贝尔仪器制造有限公司；电热恒温干燥箱（TH70–101–2A）：北京中西远大科技有限公司；高速万能粉碎机（FS）：广州雷迈机械设备有限公司；10L 不锈钢普通发酵罐（BLBIO–10SJV）：连云港百仑生化科技有限公司；酸度计（HI8424）：南通沃特环保科技有限公司；手持式测糖仪（ZG004）：深圳市纵观百汇科技有限公司。

1.3　生产工艺流程

陕北风味香菇小米发酵醋的生产工艺流程：

香菇孢子
↓
马铃薯液态培养基→菌丝体培养→过滤→糖化
　→复合糖化醪→酒精发酵
小米→烘焙→粉碎→浸渍→液化→蒸煮→糖化
↓
成品←加盐←杀菌←过滤←澄清←醋酸发酵

1.3.1　香菇糖化醪的制备

将马铃薯液态培养基装入发酵罐中，121 ℃灭菌 20 min，降至室温（25 ℃）后接入香菇孢子，于 25 ℃，115 r/min 搅拌培养 3 d，将获得的香菇菌丝体液过滤，加糖化酶进行糖化，充分糖化后用测糖仪测得香菇糖化醪的糖度为 6 %。

1.3.2　小米糖化醪的制备

选择优质陕北米脂小米，电烤箱 150 ℃烘焙 1.5 h。用粉碎机将烘焙过的小米粉碎，加水放入恒温培养箱，再加液化酶 60 ℃保持 1 h，充分液化后放入 120 ℃，111.4 kPa 条件下的高压锅内蒸煮 30 min，冷却至室温（25 ℃）后加糖化酶进行糖化，糖化充分后用测糖仪测得小米糖化醪的糖度为 39 %。小米经过烘焙最后得到的产品醋会带有淡淡的焦香。

1.3.3　复合糖化醪的配制

按照酒精发酵所需的最适糖浓度范围 13 %~19 %，将香菇糖化醪和小米糖化醪按质量比 1∶1 进行配比，然后加水稀释至混合液糖浓度分别为 14 %、16 %、18 %，这样可以使产品醋兼具香菇和小米的营养成分，二者营养价值得到充分的利用。

1.3.4　酒精发酵

将干酵母预先在 2 %糖浓度下活化 1 h 后，加入不同稀释浓度的复合糖化醪中。在各设定的条件下进行酒精发酵 72 h，通过正交试验得出最佳因素配比，并在最佳因素配比下进行重复酒精发酵试验得出发酵后的酒精浓度。

1.3.5　醋酸发酵

将醋酸菌于 32 ℃活化 20 h 后，转入盛醋酸菌活化培养基三角烧瓶中，用纱布封口，于 32 ℃、转速 180 r/min 条件下活化培养 24 h（总酸度> 1 %）。活化后的醋酸菌液接入酒精发酵液中，并用通气泵持续通入气体，保持空气流量为 1∶0.2（发酵液与空气的体积比），在各设定条件下进行醋酸发酵 7 d 左右，通过正交试验得出醋酸发酵所需的最佳因素配比，并在最佳因素配比下进行重复醋酸发酵试验测出醋酸浓度。

1.3.6　成熟加盐

为提高发酵醋的风味及色泽，在醋酸发酵完全的发酵液中加入质量分数 1.0 %食盐以抑制醋酸菌活性

和防止其它细菌滋生，静置 1 d 澄清后过滤，将上清液用巴氏消毒法进行灭菌后，即制得香菇小米发酵醋成品。

1.4　生产工艺的确定

1.4.1　酒精发酵正交试验设计

选取影响复合糖化醪酒精发酵的 3 个主要因素发酵温度、酵母液添加量、发酵糖度及设置空列，进行四因素三水平的正交试验设计，因素和水平见表 1。发酵 72 h 后测量酒精浓度。

表 1　酒精发酵正交试验因素水平表

Table 1　Orthogonal experiment factor level table of alcohol fermentation

水平	A 发酵温度/℃	B 酵母液添加量/%	C 发酵糖度/%	D 空列
1	27	5	14	
2	30	7	16	
3	33	9	18	

1.4.2　醋酸发酵正交试验设计

通风发酵可缩短发酵时间，以转速 150 r/min 为通气条件，以酒精发酵阶段产生的酒精量为前提，选取影响醋酸发酵的 3 个主要因素发酵温度、醋酸菌使用量和起始 pH 值及设置空列，进行四因素三水平的正交试验设计，因素和水平见表 2。发酵 7 d 后测量醋酸浓度。

表 2　醋酸发酵正交试验因素水平表

Table 2　Orthogonal experiment factor level table of acetic fermentation

水平	A 发酵温度/℃	B 醋酸菌使用量/%	C 起始 pH 值	D 空列
1	30	5	5.5	
2	32	7	6.0	
3	34	9	6.5	

1.5　品质检测

根据酒精发酵和醋酸发酵正交试验结果确定的香菇小米醋的最佳工艺参数进行酿造，对最终成品醋进行品质检测。

1.5.1　理化指标检测

还原糖（以葡萄糖计）：斐林氏法；总酸（以醋酸计）：滴定法；氨基酸态氮：甲醛法[22]。

1.5.2　微生物指标检测

采用多管发酵法检测成品中大肠菌群的数量，采用固体平板划线法检测成品中的细菌总数。

1.5.3　感官质量评定标准

挑选 20 岁~70 岁不同年龄段 50 位受试者对香菇小米醋进行感官鉴定，感官指标评定标准见表 3。

表 3　香菇小米醋感官质量评定标准

Table 3　Standard for sensory quality evaluation of *Lentinus edodes* millet vinegar

项目	标准	分值
色泽	棕褐色	20
气味	有小米和香菇特有的香味及浓郁的醋香	20
口感	酸味柔和、微甜、味美质鲜	40
体态	晶莹透明、有光泽、无悬浮、无浑浊、无沉淀	20
综合评价	色泽清亮、香味和谐、质地均匀、酸味柔和纯正、无异味	100

2　结果与分析

2.1　酒精发酵正交试验结果

酒精发酵正交试验结果见表 4。

表 4　酒精发酵正交试验表

Table 4　Orthogonal experiment table of alcohol fermentation

试验号	因素				酒精浓度/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	4.1
2	1	2	2	2	7.0
3	1	3	3	3	5.9
4	2	1	2	3	6.5
5	2	2	3	1	7.8
6	2	3	1	2	6.1
7	3	1	3	2	4.5
8	3	2	1	3	5.2
9	3	3	2	1	6.4
K_1	17.0	15.1	15.4	18.3	
K_2	20.4	20.0	19.9	17.6	
K_3	16.1	18.4	18.2	17.6	
k_1	5.67	5.03	5.13	6.1	
k_2	6.8	6.67	6.63	5.87	
k_3	5.37	6.13	6.07	5.87	
R	1.43	1.64	1.5	0.23	
最优水平	A_2	B_2	C_2		

由表 4 可知，酒精发酵的发酵温度、酵母液用量和发酵糖度的不同，对发酵液的影响很大。从极差 R 值的大小看，酵母液用量的极差最大，其次是发酵糖度，发酵温度的极差最小，但都与空列有很大差异，说明酵母液用量是影响酒精发酵的主要因素，发酵糖度是影响酒精发酵的次要因素，而发酵温度对其影响最小。依据正交试验结果得出的最佳酒精发酵条件为 $A_2B_2C_2$，即发酵温度为 30 ℃，酵母液用量为 7 %，发酵糖度为 16 %，而从设计的 9 组试验得出的最佳条件是

$A_2B_2C_3$，即发酵温度为 30 ℃，酵母液用量为 7 %，发酵糖度为 18 %。为避免试验结果的偶然误差，对 $A_2B_2C_2$ 和 $A_2B_2C_3$ 进行了重复试验，得出两种条件下酒精浓度分别为 7.91 %和 7.75 %。因此，酒精发酵阶段的最佳条件是 $A_2B_2C_2$，即发酵温度为 30 ℃，酵母液用量为 7 %，发酵糖度为 16 %，得出的酒精浓度最大为 7.91 %。

2.2　醋酸发酵正交试验结果

醋酸发酵正交试验结果见表 5。

表 5　醋酸发酵正交试验表

Table 5　Orthogonal experiment table of acetic fermentation

试验号	因素				醋酸浓度/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	3.99
2	1	2	2	2	4.97
3	1	3	3	3	4.74
4	2	1	2	3	5.12
5	2	2	3	1	5.43
6	2	3	1	2	5.27
7	3	1	3	2	4.16
8	3	2	1	3	4.20
9	3	3	2	1	5.23
K_1	13.7	13.27	13.46	14.65	
K_2	15.82	14.6	15.32	14.4	
K_3	13.59	15.24	14.33	14.06	
k_1	4.57	4.42	4.49	4.88	
k_2	5.27	4.87	5.11	4.8	
k_3	4.53	5.08	4.78	4.69	
R	0.74	0.66	0.54	0.19	
最优水平	A_2	B_3	C_2		

由表 5 可知，醋酸发酵的发酵温度、醋酸菌用量和起始 pH 值的不同，对发酵液的影响很大。从极差 R 值的大小看，发酵温度的极差最大，其次是醋酸菌用量，起始 pH 值的极差最小，但都与空列有很大差异，说明发酵温度是影响醋酸发酵的主要因素，醋酸菌用量是影响醋酸发酵的次要因素，而起始 pH 值对其影响最小。依据正交试验结果得出的最佳醋酸发酵条件为 $A_2B_3C_2$，即发酵温度为 32 ℃，醋酸菌用量为 9 %，起始 pH 值为 6.0，而从设计的 9 组试验得出的最佳条件是 $A_2B_2C_3$，即发酵温度为 32 ℃，醋酸菌用量为 7 %，起始 pH 值为 6.5。为避免试验结果的偶然误差，对 $A_2B_3C_2$ 和 $A_2B_2C_3$ 进行了重复试验，得出两种条件下醋酸浓度分别为 5.45 %和 5.36 %。因此，醋酸发酵阶段的最佳条件是 $A_2B_3C_2$，即发酵温度为 32 ℃，醋酸菌用量为 9 %，起始 pH 值为 6.0，得出的醋酸浓度最大为 5.45 %。

2.3　产品品质检测结果

2.3.1　理化指标

经检测，香菇小米醋成品中还原糖的含量是 1.4 g/100 mL，还原糖主要来源于原料的糖化，后在多种酶的作用下转化为酒精其含量会逐渐降低；总酸达到 5.9 g/ 100 mL，虽未经陈酿，但和普通酿造食醋总酸含量 3.5 g/100 mL 相比，产品的酸度提高了 40.68 %，酸度较高可抑制醋中微生物的生长，防止其腐败变质；氨基酸态氮的含量是 0.15 g/100 mL，氨基酸的存在增加了醋的营养，同时对醋的提鲜增香也有较明显的效果。

2.3.2　卫生指标

香菇小米醋成品中微生物检测结果为大肠菌群 2.1 MPN/g，菌落总数 42 CFU/g；未检出沙门氏菌属、志贺氏菌属、链球菌、葡萄球菌等致病菌。微生物指标检测符合国家相关规定。

2.3.3　感官评价

对 50 位受试感官评价者的各项打分进行平均：色泽 18 分、气味 19 分、口感 36 分、体态 18 分，综合评价为 91 分。90 %以上的评价者认为香菇小米醋成品口感纯正，风味独特，适应市场和消费者的需求。

3　结论与讨论

食醋是日常生活中的一种重要调味品，随着人们健康意识的增强，开发具有保健功能的醋已成为主流趋势。而香菇是具有较高营养及药用价值的真菌，将其引入小米醋，既充分利用了我国的香菇资源，又迎合了营养保健的饮食理念。相较于普通小米酒，试验采用了陕北特有的米脂小米，使制备的香菇小米醋具有独特的陕北风味。

通过对陕北风味香菇小米醋的酿造工艺路线进行探索，采用对酒精发酵和醋酸发酵两阶段的 $L_9(3^4)$ 正交试验确定了最佳的原料配比及生产条件。得出在酒精发酵过程最佳的发酵温度为 30 ℃，酵母液用量为 7 %，发酵糖度为 16 %；在醋酸发酵过程中最佳的发酵温度为 32 ℃，醋酸菌用量为 9 %，起始 pH 值为6.0。在最佳条件下对原料进行发酵试验得出酒精度为 7.91 %，醋酸浓度为 5.45 %的香菇小米醋。由于香菇糖化醪是以香菇菌种为原料进行液态深层发酵，相较于子实体更能获得大量具有生理活性的真菌多糖发酵醪，再经酒精发酵和醋酸发酵而成，又融合了小米发酵所得的醋酸，所以产品营养价值均高于单纯的香菇醋和小米醋。

在进行感官品评时，选取了 50 位具代表性的不同

年龄段受试者的品评意见,能够在一定程度上说明人们对陕北风味香菇小米发酵醋的接受程度,但产品若想走向市场还需进行更加充足的试验性数据检测与产品工艺筛选,以进一步提高产品的品质。该研究结果可为保健醋的开发提供参考。

参考文献:

[1] 徐向波,尤香玲,田俊才,等. 小米营养价值及其烘焙产品开发[J]. 晋城职业技术学院学报, 2017, 10(5): 26-28

[2] 王海滨, 夏建新. 小米的营养成分及产品研究开发进展[J]. 粮食科技与经济, 2010, 35(4): 36-38

[3] 李暮男, 兰凤英. 小米的营养成分及保健功能研究进展[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2017, 33(7): 56-60

[4] 李暮男, 兰凤英. 小米的营养保健功能及产品开发[J]. 农业工程, 2017, 7(2): 84-90

[5] 王军锋, 周显青, 张玉荣. 小米的营养特性与保健功能及产品开发[J]. 粮食加工, 2012, 37(3): 60-63

[6] 罗素芳, 韩葆颖. 三盛合——中国小米醋酿造专家[J]. 农产品加工, 2013(10): 8-9

[7] 三盛合. 小米醋奇妙的保健功效[J]. 农产品加工, 2013(10): 62-63

[8] 董飞, 陈和平, 邓树元. 传承醯文化发展小米醋[J]. 农产品加工, 2012(1): 62

[9] 徐清萍, 尧俊英. 液化方式对小米醋酒精发酵阶段的影响[J]. 中国调味品, 2014, 39(2): 47-50

[10] 于迪, 乔羽, 李江涌, 等. 小米醋的制作工艺及理化指标分析[J]. 中国调味品, 2018, 43(2): 48-57

[11] KALAC P. Chemical composition and nutritional value of european species of wild growing mushrooms: A review[J]. Food chemistry, 2009, 113(1): 9-16

[12] HASHIMOTO T, NONAKA Y, MINATO K, et al. Suppressive effect of polysaccharids from the edible and medicinal mushroom, Lentinus edodes and Agaricus blazei on the expression of cytochrome P450s in mice[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2002, 66(7): 1610-1614

[13] 项忠明, 刘俊杰, 申秀芳, 等. 食用菌在立体农业中的作用和地位[J]. 中国食用菌, 1997, 15(4): 37-40

[14] 李月梅. 香菇的研究现状及发展前景[J]. 微生物学通报, 2005(4): 149-152

[15] GUERRERO E D, MARIN R N, MWJIAS R C, et al. Stir bar sorptive compounds in vinegar: validation study and comparison with solid phase microextraction[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1167(1): 18-26

[16] VEGAS C, MATEO E, GONZAIEZ A, et al. Population dynamics of acetic acid bacteria during traditional wine vinegar production[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 138(12): 130-136

[17] 褚维元. 香菇糯米发酵醋生产工艺及其饮料研制[J]. 四川食品与发酵, 2000(1/2): 19-21

[18] 邵伟,熊泽,黎姝华,等. 保健香菇醋的研制[J]. 食品工业, 2001(5): 27-28

[19] 杨威, 樊建, 代妮娅. 苹果香菇醋饮料研究[J]. 广西轻工业, 2011, 27(12): 12-13

[20] 肖玲玲, 王华利, 尹兆泽, 等. 新型香菇醋酿造工艺研究[J]. 江苏调味副食品, 2008(1): 36-38

[21] 魏登, 王柳. 营养保健型香菇薏米烹调醋的开发[J]. 中国调味品, 2017, 42(12): 131-137

[22] 姚云游. 新型营养保健醋酿造工艺研究[J]. 江苏调味副食品, 2005, 22(2): 35-37

收稿日期:2018-10-06