

# 接种葡萄球菌和微球菌提高广式腊肠贮藏期间氧化稳定性的研究

张大磊<sup>1,2</sup>, 程伟伟<sup>1</sup>, 李杰锋<sup>1</sup>, 蒋爱民<sup>1</sup>

(1. 华南农业大学畜产加工与质量安全控制实验室, 广东广州 510642)

(2. 长江师范学院生命科学与技术学院, 重庆 408003)

**摘要:** 本文旨在研究菌株接入广式腊肠延长其货架期机制。将从广式腊肠中依据其蛋白酶、脂肪酶和亚硝酸盐还原酶活性筛选出来的葡萄球菌 H33B 和微球菌 X142B 2 株菌株应用到腊肠中, 首先测定各处理组中各分子量肽段的含量, 然后用 4 种常见的抗氧化测定方法测定各处理组中小于 5 ku 肽段的抗氧化活性, 最后对贮藏期间 (25 °C) 腊肠脂肪氧化、蛋白氧化值和高铁肌红蛋白含量进行测定。结果表明接种菌株接入不仅能够增加腊肠中小分子肽的含量, 还能增强对应处理组中肽的抗氧化性能; 此外菌株的接入能够减缓广式腊肠贮藏期间氧化反应的程度, 其中以接入混合菌组效果最明显。这些结果表明选择具有一定工艺学特性的菌株应用于广式腊肠中, 能够减缓氧化反应的程度, 从而有利于货架期的延长。

**关键词:** 广式腊肠; 发酵剂; 氧化稳定性; 感官特性

文章编号: 1673-9078(2016)1-218-223

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.034

## Inoculation of *Staphylococcus* and *Micrococcus* to Improve the Oxidative Stability of Cantonese Sausages

ZHANG Da-lei<sup>1,2</sup>, CHEN Wei-wei<sup>1</sup>, LI Jie-feng<sup>1</sup>, JIANG Ai-min<sup>1</sup>

(1. South China Agricultural University Livestock Processing and the Quality and Safety Control Laboratories, Guangzhou 510642, China) (2. Department of Life Science & Technology, Yangtze Normal University, Chongqing 408003, China)

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the mechanism of extending the shelf life of Cantonese sausages by bacterial inoculation. Strains *Staphylococcus* H33B and *Micrococcus* X142B originally isolated from Cantonese sausages based on their protease, lipase, and nitrite reductase activities were used to inoculate the sausages. First, the contents of peptides with different molecular weights in each treatment group were determined. Subsequently, four common antioxidant assays were employed to determine the antioxidant activities of the peptides (<5 ku), and finally, the values for fat oxidation, protein oxidation, and metmyoglobin content were determined. The results showed that the bacterial inoculation could not only significantly increase the content of small-molecule peptides ( $M_w < 5$  ku) in the sausage but also enhance the antioxidant activities of the peptides in the treatment group. Additionally, bacterial inoculation could reduce the extent of oxidation in the Cantonese sausages during storage, and the most significant effect was observed in the product inoculated with mixed bacteria. These results indicate that the inoculation of some kinds of bacteria into Cantonese sausages can reduce the extent of oxidation, thus extending their shelf life.

**Key words:** Cantonese sausage; starter cultures; oxidative stability; sensory characteristics

广式腊肠是一种半干发酵香肠, 现已被世界上许多观众所接受。广式腊肠的独特风味源于它的高脂肪含量 (30%) 和糖含量 (13%), 并且高温烘烤也是一个影响风味的因素, 因其会促进脂肪的水解氧化。

收稿日期: 2015-04-07

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303082) 2013-2016; 广东省重大科技专项 (2011A020102001)

作者简介: 张大磊 (1990-), 男, 硕士, 研究方向为畜产品加工与安全控制

通讯作者: 蒋爱民 (1957-), 男, 教授, 研究方向为畜产品加工与安全控制

但过高的脂肪含量会加速脂肪过氧化, 并且诱导其它氧化反应, 如蛋白氧化, 色泽氧化。氧化是导致肉制品品质劣变的主要因素, 因此有很多抗氧化剂应用到肉制品中, 但这些抗氧化剂大都是化学合成的, 对人体有副作用, 所以肉类工业一直在寻找绿色的抗氧化剂。

传统广式腊肠主要依靠自然发酵, 既耗时又不能保证产品质量的统一, 因此选择合适发酵剂应用于广式腊肠中已成为未来趋势。Olesen 等报道过葡萄球菌

属有具有亚硝酸盐还原酶和过氧化氢酶活力, 消耗氧的特性<sup>[1]</sup>, 因此添加葡萄球菌可以提高肉制品色泽的稳定性和减少酸败产物的发生, 同时一些葡萄球菌属还被证实具有相当强的蛋白水解能力<sup>[2]</sup>。微球菌属在发酵香肠中同样作用明显, 不仅具有蛋白水解和脂肪水解的能力, 还对色泽的形成及抑制不饱和脂肪酸的氧化有一定贡献<sup>[3]</sup>。蛋白水解是肉制品中一个重要的生化反应, 其对产品质构、风味有一定贡献; 此外蛋白的水解产物中的低分子量肽已被许多研究表明具有一定的抗氧化能力。

尽管微生物对广式腊肠的品质近年来有过一些研究, 但基本上是基于对理化指标的影响, 未深入探讨影响机制。因此本实验在广式腊肠加工过程中, 将前期筛选出来的葡萄球菌和微球菌接种于其中, 测定小分子肽的含量及抗氧化活性, 并探讨腊肠贮藏期间氧化指标的变化, 以期了解菌株提高氧化稳定性可能的机制, 从而为广式腊肠内源微生物在广式腊肠的工业化生产中提供理论指导和实践依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

#### 1.1.1 原料

鲜猪肉: 来源于广州肉联厂; 味精、鸡精、白砂糖等购于当地超市; 2,4-二硝基苯胍 (DNPH)、石油醚、乙醚、95%乙醇、丙酮等均购置广州成硕试剂公司; 二苯代苦味基胍自由基 (DPPH) 购于 Sigma 公司。

#### 1.1.2 供试菌株

葡萄球菌H33B, 微球菌X142B, 均是由华南农业大学食品学院肉品加工与质量安全控制实验室从广式腊肠中分离获得和保存。

#### 1.1.3 培养基

MRS 培养基: 丙酮 (10 g/L), 酵母提取物 (10 g/L), 葡萄糖 (2 g/L), 磷酸氢二钾 (2 g/L), 柠檬酸三胺 (2 g/L), 乙酸钠 (5 g/L), 硫酸镁 (0.2 g/L), 硫酸锰 (0.2 g/L), 吐温 80 (1 g/L), 最后将 pH 调至 6.5±0.2。

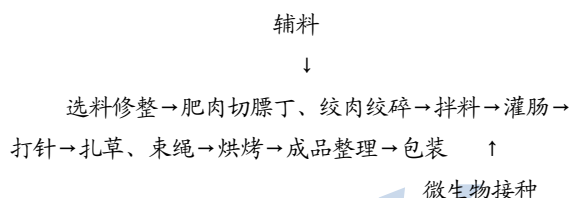
### 1.2 仪器与设备

UV-1800 型紫外可见分光光度计: 岛津仪器有限公司; DMM12 型绞肉机: 广东省韶关市食品机械厂; 电热恒温水浴锅 HH-4: 常州澳华仪器有限公司; PHS-3 精密 pH 计: 上海精密科学仪器有限公司; BPC-250F 生化培养箱: 上海一恒科学仪器有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 工艺流程

##### 1.3.1.1 流程图



此过程中原料肉的样品配料在微生物接种之前都须统一处理, 然后在分组接种微生物, 以保证试验指标测定的准确性。

##### 1.3.1.2 工艺要点

配方: 瘦肉:肥肉=7:3, 食盐 3%, 汾酒 2%, 味精 0.15%, 鸡精 0.15%, 白砂糖 13%, 亚硝酸盐 0.015%, 水 15% (均为质量比)。烘烤参数: 前 3 h: 50 °C, 后 69 h: 40 °C。

#### 1.3.2 实验设计

预实验中, 分别接种葡萄球菌和微球菌于广式腊肠中, 接种量  $10^5$  CFU/g、 $10^6$  CFU/g、 $10^7$  CFU/g, 结果均显示接种量为  $10^7$  CFU/g 风味最好, 因此本研究中以  $10^7$  CFU/g 作为接种量。另外通过预实验, 将葡萄球菌:微球菌=1:1、1:2、1:4、1:6、2:1、4:1、6:1, 接种至广式腊肠中, 通过感官评定, 由于葡萄球菌:微球菌=2:1 的处理组整体接受性最佳, 因此本实验最终确定为以下 4 组: 第 1 组为未添加菌种的对照组, 第 2 组为单独加入葡萄球菌  $10^7$  CFU/g, 第 3 组为单独加入微球菌  $10^7$  CFU/g, 第 4 组为接入葡萄球菌和微球菌 (质量比 2:1) 复合菌种  $10^7$  CFU/g。取腊肠烘烤 72 h 后的成品进行抗氧化性指标测定及贮藏期实验。

#### 1.3.3 发酵剂的制备

葡萄球菌 H33B 和微球菌 X142B 先在 MRS 琼脂固体培养基上于生化培养箱中 30 °C 培养 48 h, 然后挑取单个菌落于 100 mL MRS 液体培养基扩大培养 36 h, 离心 (9000 r/min, 10 min, 4 °C) 收集菌体, 用无菌生理盐水洗涤菌体两次后重新溶解于灭菌生理盐水中, 最后根据事先用平板计数法做好的菌株的 OD 值和其菌落总数的曲线关系图将菌体浓度调整到  $10^7$  CFU/mL。

#### 1.3.4 测定方法

##### 1.3.4.1 肽的提取

参照孙为正的方法<sup>[4]</sup>。将烘烤 72 h 后的腊肠先冷却至室温, 然后去除肥丁, 绞碎, 称 40 g 左右 (精确到 0.001 g), 加入 140 mL 缓冲液 (50 mmol/L, 柠檬

酸-柠檬酸钠缓冲溶液, pH 6.0), 在冰浴中用高速匀浆 3 次 (22000 r/min, 每次 10 s, 间隔 10 s), 于 4 °C 下放置 2 h 后, 再于 4 °C 下 12000×g 离心 15 min, 快速滤纸过滤后, 用缓冲液定容至 200 mL。然后滤液过 0.22 μm 微孔滤膜, 之后利用赛多利斯膜分离包 (5 ku, 德国) 进行膜分离, 获得广式腊肠超滤产物 (PFCS)。

#### 1.3.4.2 清除 DPPH 自由基

参照孙为正的方法<sup>[4]</sup>。将样品配置成一定的质量浓度 (4 mg/mL), 向 2 mL 样品溶液中加入 2 mL 0.16 mM 的 DPPH 溶液, 于 25 °C 水域中放置 15 min 后, 在 517 nm 下测得试样吸光度 ( $A_i$ ), 取 2 mL 蒸馏水代替样品测得空白吸光度 ( $A_0$ ), 以 2 mL 样品中加入 2 mL 蒸馏水测得样品本底吸光度 ( $A_j$ ), 其中每个样品质量浓度做三个平行, 取平均值。以 Vc (0.1 mg/ml) 作阳性对照, 按下列公式计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = [A_0 - (A_i - A_j)] / A_0 \times 100\%$$

#### 1.3.4.3 清除羟基自由基

采用 Fenton 反应, 利用  $H_2O_2$  与  $Fe^{2+}$  混合产生羟基自由基, 在该体系中加入水杨酸捕捉羟基自由基并产生有色物质, 该物质在 510 nm 处有最大吸收。将样品配制成一定的质量浓度 (4 mg/mL), 加入一定浓度样品 4 mL, 9 mmol/L  $FeSO_4$  0.5 mL, 9 mmol/L 水杨酸 0.5 mL, 8.8 mmol/L  $H_2O_2$  0.5 mL, 混匀, 37 °C 水浴中加热 30 min, 于 510 nm 处测定样品吸光度 ( $A_i$ ), 将体系中的样品改为加入 4 mL 蒸馏水, 测定得空白对照吸光度 ( $A_0$ ), 向体系中加入 0.5 mL 蒸馏水代替 8.8 mmol/L  $H_2O_2$  时, 测定得样品本底吸光度 ( $A_j$ ), 其中每个质量样品浓度做 3 个平行, 以维生素 C (0.1 mg/mL) 作阳性对照, 计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = [A_0 - (A_i - A_j)] / A_0 \times 100\%$$

#### 1.3.4.4 $Fe^{3+}$ 还原能力测定

向 2 mL 样品 (4 mg/mL) 加入到 2 mL 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 6.6) 和 2 mL 1% 的铁氰化钾溶液, 50 °C 保温 20 min 后再加入 2 mL 10% 的三氯乙酸溶液, 混合后以 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2 mL, 加入 2 mL 蒸馏水以及 0.4 mL 0.1% 三氯化铁溶液, 室温反应 10 min 后, 测定其在 700 nm 处的吸光值。

#### 1.3.4.5 抑制亚油酸氧化能力

参考 Ajibola 方法<sup>[5]</sup>, 略加变动。1 毫升肽液 (4 mg/mL) 与 1.5 mL 的磷酸缓冲液 (pH 7.0) 及 1 mL 亚油酸 (50 mM/L) 混合, 然后溶解在无水乙醇中, 装在用硅橡胶帽紧塞的玻璃试管里, 在 60 °C 黑暗环境下反应 4 天。100 μL 的样品与 4.7 mL 75% 的乙醇, 0.1 mL 的硫氰酸铵 (300 g/L), 0.1 mL (0.02 M/L 氯化亚铁溶解在 1 M/L HCL)。3 min 后, 颜色发生变化

标志着亚油酸发生氧化, 在 500 nm 下测得吸光度。BHA 在相同的浓度下测定进行比较, 用蒸馏水代替样品作为阴性对照。

#### 1.3.4.6 表征脂肪氧化的硫代巴比妥酸 (TBA) 值的测定

参照孙为正的方法测定<sup>[4]</sup>。

#### 1.3.4.7 肌原纤维蛋白羰基值的测定

参照孙为正的方法测定<sup>[4]</sup>。

#### 1.3.4.8 高铁肌红蛋白含量的测定

参考 Krzywicki 方法<sup>[6]</sup>, 并加以改进。称取 5 g 广式腊肠于 25 mL 浓度为 40 mmol/L 的冷磷酸盐缓冲液中 (pH 6.8), 用高压均质机均质 10 s, 4 °C 下放置 1 h, 然后于 5804R 型高速冷冻离心机离心 (9000 r/min, 4 °C, 30 min), 上清液用 Whatman No.1 滤纸过滤, 然后用紫外分光光度计在 525、545、565、572 nm 波长下进行测定, 高铁肌红蛋白含量如下式:

$$\text{MetMb}(\%) = (-2.541R_1 + 0.777R_2 + 0.800R_3 + 1.098) \times 100 \quad (1)$$

式 (1) 中  $R_1 = A_{572}/A_{525}$ ,  $R_2 = A_{565}/A_{525}$ ,  $R_3 = A_{545}/A_{525}$ 。

## 1.4 数据处理

所得数据为 3 次重复试验的平均值。采用 Origin 8.6 和 SPSS16.0 软件及相关方法进行数据处理和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 接种菌株对广式腊肠不同分子量肽段含量影响

表 1 不同处理腊肠中不同分子量肽段占总肽量的比值

Table 1 The molecular weight distribution of peptide with and

组别	不同分子量段的百分含量/%		
	<5 ku	5~10 ku	>10 ku
对照组	56.64±1.01 <sup>a</sup>	2.54±0.04 <sup>a</sup>	40.63±1.11 <sup>a</sup>
微	57.86±0.54 <sup>a</sup>	2.79±0.09 <sup>b</sup>	38.72±1.27 <sup>b</sup>
葡	59.78±0.96 <sup>bc</sup>	3.04±0.07 <sup>c</sup>	36.34±1.19 <sup>bc</sup>
葡:微=2:1	61.72±0.83 <sup>c</sup>	3.19±0.15 <sup>c</sup>	35.17±1.82 <sup>c</sup>

注: 同一列数字上不同字母标识代表差异显著 ( $p < 0.05$ )。

据报道小分子肽相对于大分子肽具有更高的抗氧化能力, 可以更有效地与游离自由基反应从而阻止自由基参与链式反应<sup>[8]</sup>。此外, 分子量较大的肽对呈味影响较小, 而分子量较小的肽对食品的风味则有重要的贡献。根据前期实验对广式腊肠中不同分子量肽



段进行抗氧化测定结果表明, 小于 5 ku 的肽在抗氧化能力上都显示最高。因此, 广式腊肠中小分子肽含量越多, 不仅能够增强腊肠体系本身的抗氧化特性, 还能够增强风味。

烘烤结束时四组腊肠成品不同分子量肽段占总肽比例见表 1。由表 1 可知, 接种微生物后均增加了腊肠中小分子肽的含量, 其中混合接菌组小于 5 ku 的肽占总肽比例与对照组相比增加了 8.97%, 高于单菌处理组, 这表明葡萄球菌与微球菌能很好的共生, 发生了协同作用, 促进腊肠中蛋白质的降解, 增加小分子物质的含量。

接菌组腊肠小分子肽所占比例上升, 这与菌株具有蛋白酶活性有关, 蛋白酶将多肽分解成小肽和氨基

酸。

## 2.2 接种菌株对广式腊肠小分子肽 (<5 ku)

清除 DPPH 和羟基自由基及 Fe<sup>3+</sup>还原力影响

各处理组肽提取物对几种常见自由基的清除率由表 2 所见, 混合接菌处理组提取出的肽清除 DPPH 自由基率最高, 其次为葡萄球菌处理组、微球菌处理组, 但都显著高于对照组; 对于羟基自由基和 Fe<sup>3+</sup>还原力而言, 其各处理组的清除趋势与对 DPPH 自由基清除效果几乎一致。通过表 2 与表 1 比较, 小分子量肽含量越多的处理组其抗氧化性能也越高, 这预示着两者之间可能存在某种相关性。

表 2 接菌组与对照组腊肠小分子肽清除 DPPH 和羟基自由基及 Fe<sup>3+</sup>还原力测定

Table 2 The capacity of scavenging DPPH radical, Hydroxyl radicals and RP with and without starter culture

组别	DPPH 自由基清除率	羟基自由基清除率	Fe <sup>3+</sup> 还原力(700 nm)
对照组	78.19±0.79 <sup>a</sup>	83.45±0.69 <sup>a</sup>	0.648±0.04 <sup>a</sup>
微	82.35±1.20 <sup>b</sup>	83.90±0.95 <sup>a</sup>	0.893±0.04 <sup>b</sup>
葡	84.78±0.85 <sup>c</sup>	86.94±1.24 <sup>b</sup>	0.913±0.05 <sup>b</sup>
葡:微=2:1	86.26±1.31 <sup>c</sup>	90.58±1.39 <sup>c</sup>	0.953±0.07 <sup>b</sup>
Vc	99.12±0.69	98.96±1.14	1.216±0.07

注: 同一列数字上不同字母标识代表差异显著 (p<0.05)。

Broncano 在对伊比利亚干腌香肠研究时证实过有类似的趋势, 其将几种商业蛋白酶添加到伊比利亚干腌香肠中不仅会增加香肠小分子物质的含量, 对应的蛋白酶处理组中自由基清除率也相应提高<sup>[8]</sup>。Li 将风味蛋白酶添加到广式腊肠中同样发现蛋白酶处理组中所提取的小分子肽抗氧化性能得到提高<sup>[9]</sup>。此外 Sah 将益生菌接种到酸奶中发现蛋白水解程度在加深的同时, 其对应的水解物抗氧化性能也相应提高<sup>[10]</sup>。

因此本研究中接菌处理组与对照组相比自由基清除率提高与接种微生物产生的蛋白酶有关, 其诱导蛋白质降解生成更多的小分子物质。此外肽的抗氧化能力还与氨基酸组成有关, 一般而言, 组氨酸残基越高, 抗氧化能力也越高, 因此菌株的接入对相应氨基酸组成是否改变还需要进一步研究, 以更好了解菌株接入腊肠提高抗氧化能力实质。

## 2.3 接种菌株对广式腊肠小分子肽亚油酸氧化抑制效果影响

众所周知脂肪过氧化是一种自由基链式反应, 其过程是一个脂肪分子遇到另一个脂肪分子, 然后最大程度的发生氧化反应, 从而形成脂质过氧化物。广式腊肠中含有大量的不饱和脂肪酸, 这些不饱和脂肪酸

对氧化损伤极其敏感, 尤其是亚油酸和花生四烯酸, 结构中含有不饱和的双键, 它们是脂质过氧化的重要目标。亚油酸分子中含有两个双键, 这两个双键极易受到自由基的攻击而发生断裂, 生成大量的脂质过氧化物, 因此考察抗氧化剂对亚油酸自氧化的抑制是评价抗氧化剂在食品中抗氧化能力强弱的最常用方法。

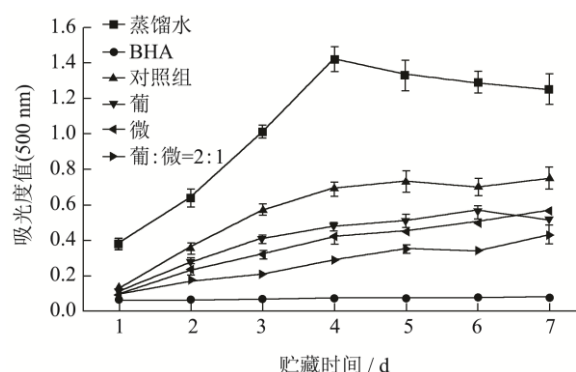


图 1 不同处理组腊肠肽提取物亚油酸氧化抑制测定

Fig.1 Time-dependent inhibition of linoleic acid oxidation by sausage extracts with and without starter culture during 7 days

所以为了了解所分离的小分子肽抑制脂质过氧化的效率, 我们用亚油酸体外模型来进行探究, 其中 BHA 作为阳性对照。吸光值越高表明抑制脂质过氧化的能力越弱。

由图 1 所见,在整个培养期间, BHA 处理组吸光值几乎未发生任何变化,然而,蒸馏水处理组在前 4 d 过程中吸光值显著增加,第 4 d 时吸光值达到最大值 1.42,从第 5 d 到第 7 d 过程中吸光值有缓慢下降,吸光值下降可能与过氧化物的分解有关<sup>[11]</sup>。相比之下,广式腊肠各处理组中提取出来的小分子肽都能在一定程度上抑制亚油酸氧化,在前 4 d 培养过程中吸光值平稳上升,后 3 d 吸光值基本保持不变,各处理组以葡萄球菌和微球菌混合添加时效果最好,与对照组比较差异明显 ( $p<0.05$ )。

## 2.4 接种菌株对广式腊肠贮藏期间 TBA 的影响

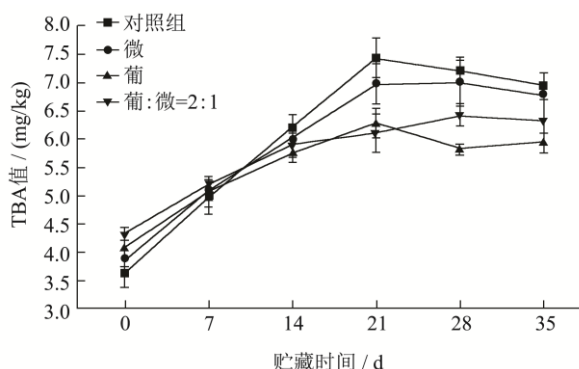


图 2 接种组与对照组腊肠中脂肪氧化二级产物的测定

Fig.2 Formation of secondary lipid oxidation products in Cantonese sausages with or without addition of starter culture

TBA 值是动物性油脂中不饱和脂肪酸氧化分解所生成的衍生物如丙二醛等物质的含量,其是反映脂肪氧化的一个判定指标。一定程度上的脂肪氧化有助于风味的形成,但过度的氧化则会导致酸败的出现,因此必须防止过度氧化的发生。

从图 2 中我们发现接种组腊肠在烘烤结束即贮藏初期时 TBA 值高于对照组,其原因与所应用菌株具有脂肪酶活性有关,由于脂肪酶的作用会加速脂肪的水解氧化,从而引起 TBA 值升高。贮藏过程中各处理组 TBA 值均逐渐升高,其中对照组在前 21 d 过程中快速上升,达到最大值 7.432 mg/kg,随后其值有所下降。Fernandez 指出脂肪氧化的中间产物丙二醛会进一步氧化成有机酸和醇,它们能够和 TBA 之间发生反应,从而引起 TBARS 的降低<sup>[12]</sup>。从图 2 中我们可以看出贮藏后期接种组 TBA 值增加缓慢,且逐渐低于对照组,这或许与所使用菌株具有高蛋白酶活性有关。上文研究表明葡萄球菌和微球菌的添加显著增加了腊肠中小分子肽的含量 (<5 ku),且接种组中小分子肽的抗氧化能力也高于对照组,这是引起贮藏期后

期接种组腊肠中脂肪氧化程度降低的一个原因。Broncano 研究商业蛋白酶对伊比利亚干腌香肠货架期的影响时得出过类似结论<sup>[8]</sup>。另外一方面葡萄球菌和微球菌具有一定的过氧化氢酶活性,过氧化氢酶会分解氧化反应过程中产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是一种强氧化剂会加速脂肪的氧化,这是引起贮藏后期接种组腊肠中脂肪氧化程度降低的另一个原因。从图中还可看出混合接种组的 TBA 值要高于葡萄球菌处理组,这应该与微球菌具有较高的脂肪酶活力有关,其会在一定程度上削弱蛋白酶引起小分子肽增多所带来的影响,但无论是葡萄球菌处理组还是混合接种组 TBA 值都显著低于对照组 ( $p<0.05$ )。

## 2.5 接种菌株对广式腊肠贮藏期间蛋白氧化影响

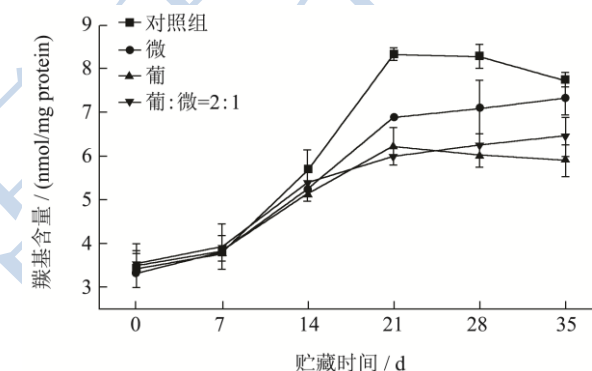


图 3 接种组与对照组腊肠蛋白氧化羰基值测定

Fig.3 Protein oxidation determined by Carbonyls assay in Cantonese sausage with or without starter cultures

蛋白氧化会导致其结构与功能的显著变化,如发生交联聚合、降解及氨基酸侧链的改变等。这些氧化效应会造成肉品色泽、口感劣变,保水、保油性降低,从而影响肉品的可接受性,缩短产品的货架期。因此控制腌腊肉制品中蛋白氧化也是非常重要的一个方面。

从图 3 中我们看出在前两个星期各处理组之间羰基含量差距不明显,从 21 d 开始接种组的腊肠羰基值均低于对照组,且葡萄球菌处理组与混合接种组显著低于对照组 ( $p<0.05$ ),其整体变化趋势变化趋势与脂肪氧化的测定结果基本相同。

蛋白氧化的出现被证实是由自由基链式反应引起的,这与脂肪氧化是相似的,同样包括起始传递终止三个阶段。此外 Est évez 研究发现在法兰克福香肠冷藏过程中蛋白质羰基值与脂质氧化的羰基值显著相关,相关系数达到 0.75<sup>[13]</sup>。因为一些脂质自由基和一些早期的脂肪氧化产物会对一些特定氨基酸残基的降

解施加一定的影响,从而引起蛋白氧化的发生。

因此脂肪氧化的抑制在一定程度上也间接降低蛋白氧化程度,这应该是本研究中接菌组蛋白氧化值低于对照组的原因。从图3中还可看到对照组在贮藏后期羰基值含量有下降趋势,这可能是因为高度氧化条件下蛋白质羰基会发生进一步的反应,例如蛋白质羰基氧化成酸类物质,蛋白质羰基与氨基酸之间形成甲亚胺等<sup>[14]</sup>。

## 2.6 接种菌株对广式腊肠贮藏期间高铁肌红蛋白含量影响

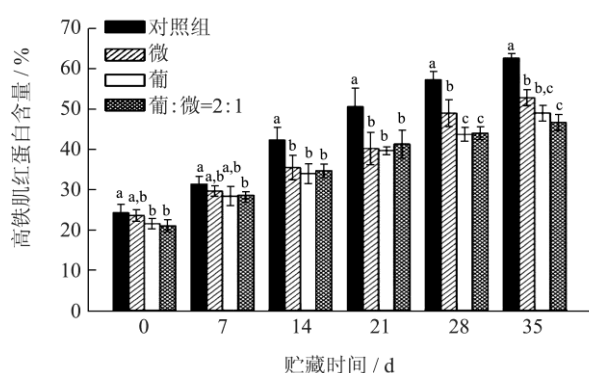


图4 接菌组与对照组贮藏期间高铁肌红蛋白含量测定

Fig.4 Determination of metmyoglobin content in Cantonese sausage with or without starter cultures

注:不同字母标识代表差异显著 ( $p < 0.05$ )。

肉品色泽对于消费者是否购买而言是一个至关重要的因素,消费者常常将其作为肉品品质劣变的一个标志。因此保持肉制品的色泽稳定性是一个很关键的问题,而其中最关键的是减少高铁肌红蛋白的含量,高铁肌红蛋白在肉制品表面的积累被认为是影响色泽劣变的一个主要因素。由图4可以看出,在整个贮藏过程中,随着贮藏时间的推移,接菌组与对照组之间高铁肌红蛋白含量的差异越来越大,到贮藏期结束时,单菌组与混合接菌组腊肠中高铁肌红蛋白含量都显著低于对照组 ( $p < 0.05$ ),其中混合接菌组相比于对照组大约下降了22.9%。

接菌组腊肠贮藏期后期高铁肌红蛋白含量显著减少可能与两个因素有关。其一由于接菌组腊肠脂肪氧化程度低于对照组,而脂肪氧化是色素氧化的促进剂<sup>[15]</sup>,因此减缓脂肪氧化反应在一定程度上也可以减少高铁肌红蛋白含量的形成;另一原因前期研究表明葡萄球菌 H33B 具有还原高铁肌红蛋白能力,同时这是葡萄球菌处理组高铁肌红蛋白含量低于微球菌处理组的原因。整体而言,混合接菌组高铁肌红蛋白含量略低于葡萄球菌处理组,但无显著差异 ( $p > 0.05$ )。

## 3 结论

3.1 具有一定蛋白酶活性的菌株加入广式腊肠中不仅能够增加广式腊肠中小分子肽的含量,还能够提高腊肠体系的抗氧化活性,从而提高贮藏期间腊肠的氧化稳定性,延长货架期。

3.2 整体而言,葡萄球菌与微球菌混合添加好于单菌处理组,为复合发酵剂在广式腊肠中的应用提供了依据。

## 参考文献

- [1] Olesen P T, Meyer A S, Stahnke L H. Generation of flavour compounds in fermented sausages—the influence of curing ingredients, Staphylococcus starter culture and ripening time [J]. Meat Science, 2004, 66(3): 675-687
- [2] Casaburi A, Monaco R D, Cavella S, et al. Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits [J]. Food Microbiology, 2008, 25(2): 335-347
- [3] Baka A M, Papavergou E J, Pragalaki T, et al. Effect of selected autochthonous starter cultures on processing and quality characteristics of Greek fermented sausages [J]. Food Science and Technology, 2011, 44(1): 54-61
- [4] 孙为正.广式腊肠加工过程中脂类水解、蛋白质降解及风味成分变化研究[D]. 华南理工大学, 2011  
SUN Wei-zheng. Studies on lipolysis, proteolysis and flavor compounds during processing of Cantonese sausage [D]. South China University of Technology, 2011
- [5] Ajibola C F, Fashakin J B, Fagbemi T N, et al. Renin and angiotensin converting enzyme inhibition with antioxidant properties of African yam bean protein hydrolysate and reverse-phase HPLC-separated peptide fractions [J]. Food Research International, 2013, 52(2): 437-444
- [6] Krzywicki K. The determination of ham pigment in meat [J]. Meat Science, 1982, 7(1): 29-36
- [7] Wang J S, Zhao M M, Zhao Q Z, et al. Antioxidant properties of papain hydrolysates of wheat gluten in different oxidation systems [J]. Food Chemistry, 2007, 101: 1658-1663
- [8] Broncano J M, Timón M L, Parra V, et al. Use of proteases to improve oxidative stability of fermented sausages by increasing low molecular weight compounds with antioxidant activity [J]. Food Research International, 2011, 44: 2655-2659

- [9] Li F, Qiao Y, Zhou G H, et al. Effect of Flavourzyme on proteolysis, antioxidant capacity and sensory attributes of Chinese sausage [J]. *Meat Science*, 2014, 98(1): 34-40
- [10] Sah B N P, Vasiljevic T, McKechnie S, et al. Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt [J]. *Food Chemistry*, 2014, 156(1): 264-270
- [11] Jayaprakasha G K, Singh R P, Sakariah K K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro [J]. *Food Chemistry*, 2001, 73(3): 285-290
- [12] Fernandez J, Jose A. Pérez-Álvarez, et al. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat [J]. *Food Chemistry*, 1997, 59: 345-353
- [13] Estévez M, Ventanas S, Cava R. Effect of natural and synthetic antioxidants on protein Oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver Pâté [J]. *Meat Science*, 2006, 74(2): 396-403
- [14] 吴雪燕. 中式香肠中蛋白氧化对蛋白功能性质和香肠品质的影响[D]. 扬州大学, 2014  
WU Xue-yan. Effect of protein oxidation on protein functional properties and quality of Chinese sausage [D]. Yangzhou University, 2014
- [15] Faustman C, Sun Q, Mancini R, et al. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control [J]. *Meat Science*, 2010, 86(1): 86-94