# 人工发酵剂对湘西腊肠微生物菌群和理化特性 的影响

杜莎, 李柯, 黄晴, 熊雄, 王远亮

(湖南农业大学食品科技学院,湖南长沙 410128)

摘要:本文从动态角度探讨自然发酵、戊糖片球菌发酵、木糖葡萄球菌发酵和混合菌发酵腊肠在发酵过程中五种菌相(细菌总数、乳酸菌、葡萄球菌、酵母菌和肠细菌)和理化特性的阶段性变化。微生物数据显示,四组腊肠初始肠细菌数量约 5.30 logCFU/g,而发酵结束,添加了戊糖片球菌腊肠组的肠细菌数量约 1.00 logCFU/g,没有添加该菌腊肠组的肠细菌数量约 3.30 logCFU/g,说明戊糖片球菌能有效抑制肠细菌的生长,保证了产品的安全性和稳定性;发酵初期,腊肠 pH 值迅速降 5.30 以下,到发酵中期,腊肠 pH 开始回升;在发酵过程中,戊糖片球菌腊肠组的 TBARS(硫代巴比妥酸)值显著 (p<0.05) 高于其他三组腊肠,而其它理化特性无显著差异。从数据分析可知,腊肠的发酵剂能有效改善其卫生质量,而对腊肠的 pH 值、Aw和亚硝酸盐残留量没有显著影响。

关键词: 湘西腊肠; 戊糖片球菌; 木糖葡萄球菌; 微生物; 理化指标

文章篇号: 1673-9078(2017)4-241-247

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.4.037

## Effects of Different Starter Cultures on the Microbial Flora and

# Physicochemical Characteristics of Xiangxi Sausage

DU Sha, LI Ke, HUANG Qing, XIONG Xiong, WANG Yuan-liang

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** Dynamic changes in five microbial populations (total viable counts, lactic acid bacteria, *Staphylococcus* spp., yeast, and *Enterobacteria*) and physicochemical characteristics at different fermentation stages of Xiangxi sausages prepared by natural fermentation, or fermented with *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus xylosus*, or mixed bacteria, were investigated in this study. The microbial data revealed that the initial counts of *Enterobacter* in the four types of sausages were around 5.30 log cfu/g, and the values in the sausages with and without *Pediococcus pentosaceus* culture reached about 1.00 log cfu/g and about 3.30 log cfu/g at the end of fermentation, respectively. This result indicated that *Pediococcus pentosaceus* could effectively inhibit the growth of *Enterobacter*, and ensure the safety and stability of the products. The pH values dropped below 5.30 at the beginning of fermentation, and started rising in the middle of fermentation. During the fermentation, the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) value in the sausage with *Pediococcus pentosaceus* culture was significantly (p<0.05) higher than those of other three groups; other physicochemical parameters were not affected by the use of starter cultures. Data analysis indicated that the starter cultures could effectively improve the hygiene quality of Xiangxi sausages without significantly affecting the pH value, water activity ( $A_{\rm W}$ ), and the amount of nitrite residue.

Key words: Xiangxi sausage; Pediococcus pentosaceus; Staphylococcus xylosus; microorganism; physicochemical indicators

随着生活水平的提高,人们对肉制品的要求由需求型向质量型转变,即营养丰富、品质高、风味独特且具有一定保健功能的新型肉制品。而发酵肉制品正好满足这些要求,在国外,发酵肉制品因具有营养丰

收稿日期: 2016-05-17

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目(11JJ4019);湖南农业产业技术体系加工岗位专家经费资助;湖南省研究生科创项目(CX2016B30);湖南省战略新兴产业项目(2014GK1034)

作者简介: 杜莎(1990-), 女, 硕士, 研究方向: 食品生物技术

通讯作者: 王远亮(1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术

富、口味鲜美、香味浓郁、安全性高、无需冷藏及可即食等特点,故深受消费者青睐<sup>[1]</sup>;在我国,发酵肉制品也有着悠久的历史,如金华火腿、广式腊肠、四川腊肠和湖南腊肉等,但其以传统的自然发酵为主,存在产品质量不稳定、发酵周期长及受季节制约等缺点,限制了发酵肉制品在我国的发展<sup>[2]</sup>。目前,在发酵肉制品已成为国外肉品行业中的研究热点,而我国在发酵肉制品的实际生产应用方面仍然处于初级阶段,集中在发酵剂的筛选和发酵工艺的探究。通力嘎研究不同发酵剂对羊肉发酵香肠理化特性的影响<sup>[3]</sup>。

王立梅等以嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌为发酵剂,探讨了发酵工艺<sup>[4]</sup>。徐为民和徐幸莲等用 5 种乳酸菌(植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、弯曲乳杆菌、干酪乳杆菌和戊糖片球菌)分别与葡萄球菌混合作为干发酵香肠的发酵剂,比较不同发酵剂的干发酵香肠的产品质量<sup>[5]</sup>。

微生物(发酵剂)在肉制品发酵过程中,能够使产品产生特殊的风味、色泽和质地;使肉中蛋白质被分解为更易被人体吸收的多肽和氨基酸,脂肪被分解为短链的游离脂肪酸和酯类等小分子物质;肉制品残存活性益生菌及其产生的益生素,进一步提高了发酵肉制品的营养性和保健性;发酵可以使肉品中形成低pH、低 Aw和低氧的"三低"环境,能有效抑制致病菌和腐败菌的生长,保证产品的稳定性和安全性<sup>[6,7]</sup>。因此,微生物对提高发酵肉制品的营养、安全、品质及风味起着至关重要的作用。

湘西腊肠是利用当地的原材料和本地辣椒、花椒和胡椒作为辅料,采用木材烟熏技术,生产出的腊肠风味独特,口感鲜美。但由于受气候限制,传统湘西腊肉的制作只能在冬季进行,且以家庭手工式作坊和自然发酵为主,存在产品质量不稳定、含盐量高和易受微生物污染等缺点。本实验直接将纯微生物发酵剂接种到传统湘西腊肠中,研究不同发酵剂对湘西腊肠中的微生物和理化的影响,为生产出安全、稳定、营养丰富的标准化湘西腊肠提供理论依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料与试剂

原辅料:猪背最长肌和背膘、食盐、味精、蔗糖、葡萄糖、黑胡椒、辣椒粉、花椒粉和亚硝酸盐,长沙市售。

猪背膘→切丁 发酵剂

操作要点:

- (1)原料肉的预处理:将原料肉的筋腱和淤血去除干净后,可放入-20 ℃的冰箱预冷半个小时,降低原料肉的中心温度,肥瘦比为 2:8。
- (2) 腌制:将处理好的原料肉与食盐和亚硝酸盐 充分混合后,在4℃的条件下腌制 24 h。
- (3) 拌料: 将已活化好的浓度为 10<sup>8</sup> CFU/g 的发酵剂菌液按照肉重的 1%添加到原料肉中并与其他辅

发酵剂: 戊糖片球菌 (Pedicoccus pentosaceus), 中科院微生物保藏中心; 木糖葡萄球菌 (Staphylococcus xylosus), 从湘西腊肉中分离获取。

生物试剂: MRS 培养基、平板计数培养基、MSA 培养基、孟加拉红培养基和结晶紫中性胆碱盐培养基, 广东环凯微生物科技有限公司。

化学试剂: 乙醚、三氯乙酸、硫代巴比妥酸、氯仿、盐酸、氢氧化钠、硼砂、亚铁氰化钾、对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺、亚硝酸钠、乙酸锌和氨水,北京鼎国生物技术有限责任公司。

## 1.2 仪器设备

YG-30 灌肠机(诸城市华联钢铁机械公有限司); CP114 分析天平(奥豪斯仪器有限公司); testo 250 pH 计(Lenzkirh); LabTech 分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司); D2S2-LJ080 高压灭菌锅(山东新医疗器械股份有限公司); GZ-250-HSII 恒温恒湿箱(韶关市广智科技设备有限公司); SPX-250B5-II恒温培养箱(上海新苗医疗器械制造有限公司); 101-3HB干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司); XMTD-7000水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司); TG16-WS离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); SKY-2102C摇床(上海浦东生物光学仪器厂); SW-CJ-IFD 工作超净台(苏州净化设备有限公司)。

#### 1.3 实验方法

## 1.3.1 湘西腊肠生产工艺流程及操作要点

四组发酵香肠的制作过程中,辅料的添加种类和添加量均相同,即:亚硝酸钠 0.008%、食盐 2%、白糖 0.7%,葡萄糖 0.8%,味精 0.3%,辣椒 0.7%、黑胡椒 0.1%和花椒 0.1%。发酵香肠的工艺流程如下所示:

料充分混合。

原料肉预处理→瘦肉绞碎→腌制→混合拌料→接种→灌肠→发酵→后熟→真空包装→成品

(4)发酵: 20 ℃,湿度为84%,初发酵 3 d→15 ℃,湿度为75%,发酵 32 d→封口袋包装,4 ℃,后熟 10 d

#### 1.3.2 微生物及理化指标检测方法

选 6 个阶段: 0 d、3(7) d、15 d、25 d、35 d 和 45 d 检测四组湘西腊肠的微生物菌群和理化指标(见表 1)。

#### 表 1 湘西腊肠的检测指标及方法

Table 1 Detection indices and methods used to identify microbes in Xiangxi sausages

		, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,			
检测指标		检测方法			
	细菌菌落总数	(PCA) 平板计数,30℃,48 h			
	葡萄球菌	MSA 培养基,37 ℃,72 h			
微生物菌指标	乳酸菌	MRS (在加入 100 mL/L 的放线菌酮 ), 37 ℃, 48 h			
	肠杆菌 VRBL 培养基 37 ℃, 24 h, 28 ℃, 72 h				
	酵母菌	马丁孟加拉红-链霉菌琼脂培养基			
	 pH 值的测定	直接插入式精密 pH 计(testo)测定			
	水分含量	参照 GB 5009.3-2010 的直接干燥法			
理化指标	水活度	参照 GB 23490-2009 的扩散法			
	亚硝酸钠残留量	参照 GB 5009.33-2010 的盐酸萘乙二胺法			
	TBARS 值	参照韩衍青博士论文《应用超高压技术延长低温火腿的货架期 <sup>[8]</sup> 》			

#### 1.3.3 实验设计

#### (1) 发酵菌剂及活化

挑取单一菌落 $\rightarrow$ 于 10 mL 液体培养基中培养 18~24 h $\rightarrow$ 取 1 mL 于 10 mL 液体培养基中培养 18~24 h $\rightarrow$ 取 1 mL 于 10 mL 液体培养基中培养 18~24 h,温度: 30  $^{\circ}$ C。

发酵剂的制备

将已活化的戊糖片球菌和木糖葡萄球菌分别接种于 MRS 肉汤培养基和 MSA 液体培养基中,培养 24 h,通过对比标准曲线,将发酵剂的液体浓度配制为约  $10^8$  CFU/g (分光光度法)。

- (2)制备四种湘西腊肠:自然发酵腊肠(N)、戊糖片球菌发酵腊肠(P)、木糖葡萄球菌发酵腊肠(S)、戊糖片球菌+木糖葡萄球菌混合菌发酵腊肠(P+S)。
- (3)湘西腊肠中微生物菌群在发酵过程中的动态变化。
  - (4) 不同发酵剂对湘西腊肠的理化特性的影响。

## 1.4 数据分析

所有数据统计分析采用 SPSS 14.0 和 Origin 8.0 完成,显著性差异(p<0.05)通过 Turkey test 程序进行。

## 2 结果与分析

## 2.1 发酵过程中微生物的变化及分析

在传统发酵肉制品加工过程中,发酵微生物主要来源于原料肉和环境中,主要是乳酸菌、葡萄球菌及酵母菌等<sup>[9]</sup>。本实验通过微生物的定量分析可知,四种腊肠的菌落总数、乳酸菌总数、葡萄球菌、酵母菌和肠细菌在发酵过程中存在显著差异(*p*<0.05)。在发酵 0 d,不同腊肠组的乳酸菌和葡萄球菌数量的差异主

要是由人工添加发酵剂导致。

2.1.1 细菌总数和乳酸菌的变化及分析

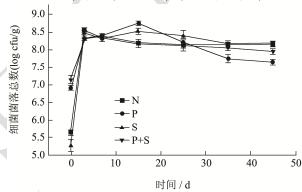


图 1 不同发酵湘西腊肠种细菌总数的变化

Fig.1 Changes in total viable counts (bacteria) in Xiangxi sausages with different starter cultures during the entire

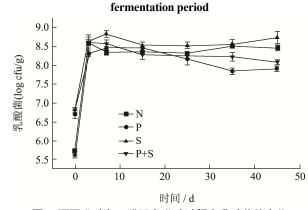


图 2 不同发酵湘西腊肠在发酵过程中乳酸菌的变化

Fig.2 Changes in the count of lactic acid bacteria in Xiangxi sausages with different starter cultures during the entire fermentation period

由图 1 和图 2 可知,细菌总数和乳酸菌的的含量及变化趋势很相似。N 种腊肠在发酵第 3 d,乳酸菌数量达到最高为 8.62 logCFU/g;而 P、S 和 P+S 组在发酵第 7 d,乳酸菌数量达到最高分别是 8.45 logCFU/g、

8.83 logCFU/g、8.59 logCFU/g;在发酵7d至25d,四组香肠的乳酸菌数量没有明显变化,这与Ruiz-Moyano<sup>[10]</sup>和 Arief<sup>[11]</sup>等研究结果类似。在发酵后期,由于营养物质的减少、水活度的降低和NaCl浓度的上升,乳酸菌的生长受到抑制,其数量开始缓慢下降。在整个发酵过程中,乳酸菌在微生物中一直占主导地位,成为优势菌与腐败菌和致病菌竞争,从而抑制腐败菌和致病菌的生长。从乳酸菌的变化程度看,N和S组中的乳酸菌(原料肉和环境中的乳酸菌)比P和P+S组的乳酸菌(主要是戊糖片球菌)生长速度更快。

## 2.1.2 葡萄球菌的变化及分析

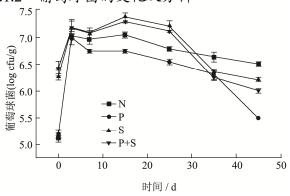


图 3 不同发酵湘西腊肠在发酵过程中葡萄球菌的变化 Fig.3 Changes in the count of *Staphylococcus* sp. in Xiangxi

## sausages with different starter cultures during the entire fermentation period

在发酵过程中,四种腊肠的葡萄球菌的变化趋势与乳酸菌类似(增加→稳定→下降),如图 3 所示,但其数量远低于乳酸菌的数量。在发酵前 3 d,N、P、S 和 P+S 组香肠的葡萄球菌生长速度最快,分别达到了 7.12 logCFU/g、6.98 logCFU/g、7.18 logCFU/g和7.16 logCFU/g;发酵中期,由于乳酸菌的快速生长及乳酸的形成,葡萄球菌的数量开始下降;而在发酵结束后,四组腊肠的葡萄球菌数量分别是 6.50 logCFU/g、5.50 logCFU/g、6.12 logCFU/g 和 6.00 logCFU/g。P组腊肠的葡萄球菌一直显著(p<0.005)低于其他三组,其原因可能是P组的葡萄球菌的起始竞争力不如乳酸菌;又由于葡萄球菌为酸敏感细菌,故乳酸菌发酵糖产生有机酸(P组 pH值最低)可进一步降低其竞争力,使其更快走向死亡。

#### 2.1.3 肠细菌的变化及分析

在发酵 0 d,四组腊肠的肠细菌数据基本一致(5.30 logCFU/g),这个数值的大小主要取决于原料肉的卫生质量和香肠加工条件。从图 4 可知,接种戊糖片球菌的 P和 P+S 组在整个发酵过程中,肠细菌一直呈下降趋势,发酵结束后,两组香肠的肠细菌数量分别为 0.92 logCFU/g 和 1.08 logCFU/g,因此,戊糖片球菌能有效

抑制肠细菌的生长,尤其是在发酵 15 d,肠细菌数量急剧下降(p<0.001);而 N 和 P 两组香肠在发酵过程中呈先增加后缓慢下降的趋势,其最终数量分别为3.32 logCFU/g 和 3.41 logCFU/g,这与 Loverzo<sup>[12]</sup>和Siminon<sup>[13]</sup>的研究结果类似。Nieto-Lozano<sup>[14]</sup>等研究表明乳酸片球菌(Pediococcus acidilactici)也能抑制李斯特氏菌和产气夹膜杆菌。发酵肉制品中的腐败菌和致病菌都属于肠细菌,并在发酵过程中,形成生物胺,降低产品的安全性,故肠细菌被认为是有害微生物,而国外已有多位研究者证明了戊糖片球菌能产生抑制革兰氏阴性菌生长的细菌素,提高产品的安全性<sup>[15,16]</sup>。本实验也进一步证实这个结果。

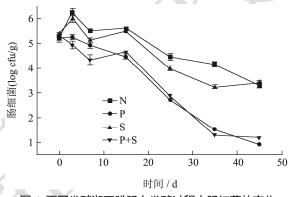


图 4 不同发酵湘西腊肠在发酵过程中肠细菌的变化 Fig.4 Changes in the count of *Enterobacteria* in Xiangxi sausages with different starter cultures during the entire

#### fermentation period

#### 2.1.4 酵母菌的变化及分析

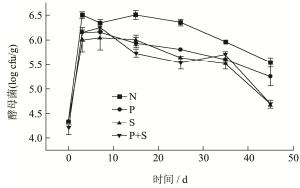


图 5 不同发酵湘西腊肠在发酵过程中酵母菌的变化 Fig.5 Changes in the yeast count in Xiangxi sausages with different starter cultures during the entire fermentation period

酵母菌为好氧菌,能消耗肉馅中残存的氧气,同时产生的蛋白酶和脂肪酶,能改善产品的风味。由图5可知,在发酵前中期,呈先增加(增加约2个对数期)后轻微的下降趋势,发酵结束后,四组香肠的酵母菌均略高于初始数量。与乳酸菌和葡萄球菌相比,酵母菌在后期的下降幅度偏大,且下降的起始时间稍晚,表明酵母具有更强的抗逆能力,即抗低水分活性,

耐酸和耐厌氧。

## 2.2 发酵过程中理化指标的变化及分析

## 2.2.1 pH 值的变化及分析

由表 2 可知, N、S、P 和 P+S 组发酵腊肠在发酵前期, pH 值显著(p<0.005)下降,达到最低,分别为5.2、5.16、5.01 和 5.08,主要是因为乳酸菌能利用腊肠中添加的糖类物质,形成大量的有机酸(主要是乳酸),从而导致腊肠 pH 的下降, Zhao<sup>[17]</sup>等研究也获得类似的结果。在发酵中期,由于蛋白酶的作用,形成

一些碱性多肽和氨基酸等物质,使得 pH 值开始回升。发酵结束后,N、P、S 和 P+S 组腊肠的 pH 值分别是 5.47、5.33、5.44 和 5.49。总体而言,在发酵初期,腊肠组的 pH 值快速降低至 5.30 以下,可抑制腐败菌和致病菌的生长,确保产品的安全性;相比其他研究者 (Wang<sup>[18]</sup>和 Rubio<sup>[19]</sup>)的结果(发酵腊肠的最终 pH 值 5 左右),这四组腊肠的 pH 回升的起始时间较早,且产品的最终 pH 值较高 (5.4),这与添加的发酵剂和发酵温度(低温发酵)有关。

表 2 不同发酵湘西腊肠在发酵过程中 pH、水分含量和 Aw 的变化

Table 2 Changes in pH, moisture content, and water activity in Xiangxi sausages with different starter cultures during the entire fermentation period

				ici incitation	periou			
	DH DZ AD	发酵时间					4	
	腊肠组	0	7	15	25	35	45	– sign
рН	N	5.86±0.01 <sup>a</sup>	5.20±0.06 <sup>c1</sup>	5.34±0.08 <sup>bc1</sup>	5.43±0.06 <sup>bc1</sup>	5.39±0.0 <sup>bc1</sup>	5.47±0.06 <sup>b1</sup>	***
	P	$5.87 \pm 0.01^a$	$5.08\pm0.01^{de2}$	$5.01\pm0.04^{e3}$	5.14±0.04 <sup>d2</sup>	5.37±0.04 <sup>c1</sup>	5.33±0.028 <sup>b1</sup>	***
	S	$5.86\pm0.04^{a}$	$5.16\pm0.04^{c1}$	$5.14\pm0.07^{c2}$	$5.16\pm0.04^{c2}$	$5.38 \pm 0.05^{b1}$	$5.44\pm0.03^{b1}$	***
	P+S	$5.86\pm0.01^{a}$	$5.08\pm0.01^{bc2}$	$5.14\pm0.05^{bc2}$	$5.21\pm0.01^{bc12}$	5.38±0.06 <sup>c1</sup>	$5.49\pm0.03^{abc1}$	***
	sign	n.s	**	**	*	n.s	n.s	n.s
水分含量	N	0.95±0.003 <sup>a1</sup>	0.93±0004 <sup>a2</sup>	0.87±0.018 <sup>b2</sup>	$0.76\pm0.019^{c12}$	$0.69\pm0.035^{d12}$	$0.69\pm0.006^{d12}$	***
	P	$0.95 \pm 0.006^{a1}$	$0.93 \pm 0.004^{a2}$	$0.94\pm0.001^{a1}$	$0.78\pm0.015^{b12}$	$0.75\pm0.017^{c1}$	$0.71 \pm 0.013^{d1}$	***
	S	$0.95 \pm 0.006^{a1}$	$0.93\pm0.002^{a2}$	$0.92\pm0.048^{a1}$	$0.79\pm0.040^{b1}$	$0.70{\pm}0.073^{c12}$	$0.77\pm0.024^{c23}$	***
	P+S	$0.96\pm0.013^{a1}$	$0.94\pm0.012^{a1}$	$0.92\pm0.531^{a12}$	$0.72\pm0.044^{b2}$	$0.74\pm0.043^{c2}$	$0.74\pm0.011^{c3}$	***
	sign	n.s	n.s	*	*	*	**	
Aw	N	51.21%±0.004 <sup>a2</sup>	49.46%±0.024 <sup>b1</sup>	38.05%±0.007 <sup>c2</sup>	31.34%±0.005 <sup>d2</sup>	28.12%±0.011 <sup>e2</sup>	27.34%±0.004 <sup>e12</sup>	***
	P	56.26%±0.004 <sup>a1</sup>	$46.25\% \pm 0.008^{b1}$	$38.43\% \pm 0.022^{b1}$	$32.03\% \pm 0.012^{c2}$	24.51%±0.003 <sup>e3</sup>	$25.38\% {\pm} 0.002^{\rm d1}$	***
	S	57.32%±0.006 <sup>a1</sup>	$48.09\% \pm 0.036^{b1}$	$39.46\% \pm 0.007^{c1}$	$36.64\% \pm 0.011^{d1}$	$30.48\% \pm 0.012^{e1}$	$26.74\% {\pm} 0.004^{f12}$	***
	P+S	$55.35\% \pm 0.031^{a1}$	48.41%±0.083 <sup>b1</sup>	35.61%±0.005 <sup>c2</sup>	$31.18\% \pm 0.006^{d2}$	$27.34\% \pm 0.004^{d2}$	$25.75\% \pm 0.016^{d2}$	***
	sign	n.s	n.s	**	n.s	***	n.s	

注: a、b、c 和 d 代表纵向比较,p<0.005; 1、2 和 3 代表横向比较,p<0.005; n.s 代表不显著; \*和\*\*表示显著; \*\*\*表示极显著。

## 2.2.2 水分和 Aw 的变化及分析

从发酵开始到结束,四种腊肠的水活度的平均值从 0.95 降到 0.73,含水量平均值从 55%降到 25% (p<0.001),水分散失了 30%,从其水分含量可认定 其为干发酵香肠。由表 2 可知,在发酵前中期,四组 腊肠的水分散失速度很快,其原因主要是肠馅中含有 大量的游离水,且 pH 值降低到接近蛋白的等电点 (pI=5.2),使肌肉蛋白的保水力减弱,从而加快了腊肠的干燥速度。在发酵中后期,腊肠表面有一定程度的变硬,且内部的水分转移到表面需要一定时间,使 得腊肠水分散失的速度变慢。

在发酵前期,散失的水分主要来源于生产过程中添加的水,故这段时间 Aw 的变化较小;到发酵中期

Aw 的变化幅度开始增大,这对发酵前期微生物的生长繁殖有着较大的影响。Aw 是发酵肉制品腐败变质和产品货架期的关键指标,Aw 越低,越不利于微生物的繁殖,有利于产品的安全性。四组香肠的最终 Aw 在 0.73 左右,可有效抑制各种杂菌,产品具有较高的安全性和可贮性。

## 2.2.3 亚硝酸盐的变化及分析

本实验组亚硝酸盐的添加量为80 mg/kg,而发酵0 d,四种腊肠的亚硝酸盐含量为25 mg/kg,减少了55 mg/kg,主要原因是发酵前,食盐、亚硝酸盐与肉馅在腌制过程中,亚硝酸盐与肉成分发生各种反应,导致亚硝酸盐含量降低。因此,腌制工序可充分利用亚硝酸盐的发色和抑菌作用并降低亚硝胺的形成(亚

硝酸盐被分解为 NO<sup>2</sup>能与二级胺反应生成亚硝胺)。 由图 6 可知,在发酵前 7 d,亚硝酸盐含量迅速下降, 后阶段没有明显变化;发酵结束后,四种腊肠中的亚 硝酸盐含量都较低(1.20 mg/kg)。这与 Wang 的结果 相似,而与 Essid<sup>[20]</sup>的结果正好相反(在发酵过程中, 亚硝酸盐的含量呈上升趋势)。从本实验结果可以得 出,亚硝酸盐主要是作用于发酵前期,对色泽的形成 和抑菌作用起着重要作用,有效提高了产品的安全性。

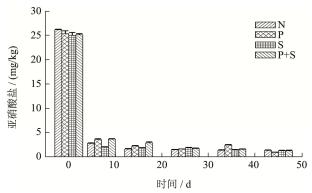


图 6 不同发酵湘西腊肠在发酵过程中亚硝酸盐含量的变化 Fig.6 Changes in nitrite content in Xiangxi sausages with different starter cultures during the entire fermentation period 2.2.4 TBARS 的变化及分析

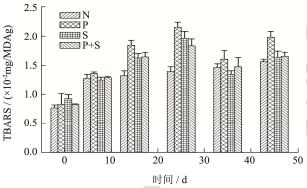


图 7 不同发酵湘西腊肠在发酵过程中的 TBARS 值的变化 Fig.7 Changes in TBARS values in Xiangxi sausages with different starter cultures during the entire fermentation period

从生猪被屠宰进超市到购买、修整、斩碎、腌制(24 h),这段时间原料肉暴露在空气中,发生了一定程度的氧化,使得发酵 0 d 腊肠的 TBARS 值为 0.84 mg/kg 大于零。在发酵前期,乳酸菌快速生长繁殖,消耗部分氧,产生大量的乳酸,形成缺氧的低酸环境,从而降低了饱和脂肪酸氧化反应速度,分解出的醛、酸之类的化合物较少,因此 TBARS 值上升较慢;发酵前中期,随着 pH 值的缓慢回升和亚硝酸钠的减少,脂肪氧化速度增加,TBARS 值快速上升;在发酵后期,可能由于腊肠内部环境的改变(如 pH 值回升,微生物分布的改变),脂肪氧化产生的醛类物质发生了其他的化学反应,从而导致 TBARS 值的下降;随着发酵

的继续,脂肪仍在被氧化,TBARS 值再次上升。四种湘西腊肠中,N种湘西腊肠的 TBARS 值一直低于其他三中湘西腊肠,这可能与腊肠中酵母菌的数量有关(N种湘西腊肠中的酵母菌最高),它抑制了脂肪过氧化物的产生,从而降低了 TBARS 值,Paulo 等人<sup>[21]</sup>也证实这一说法。

## 3 结论

在湘西腊肠发酵过程中, 无论是自然发酵、单菌 发酵,还是混合菌发酵都能迅速降低湘西腊肠的 pH 值、Aw 和水分含量,且P和P+S组的pH下降速度 快于其他两组; pH 值的快速降低和较低的 Aw 保证了 湘西腊肠的稳定性和安全性,而且适宜的低 pH 值可 增加腊肠的硬度并提高产品的品质; P和P+S组中的 戊糖片球菌具有产酸和细菌素的能力,能有效抑制肠 细菌的生长繁殖,进一步保证了湘西腊肠的安全性; 在发酵过程中, 四种湘西腊肠的亚硝酸盐含量均显著 (p<0.001) 下降, 且产品中残留量(1.30 mg/kg) 在 国标限定范围内;四种湘西腊肠的 TBARS 值均呈上 升趋势,且P组的TBARS值高于其他3组。因此, 人工添加微生物发酵剂可从有效抑制肠细菌的生长和 快速降低 pH 值来提高湘西腊肠的微生物安全性,同 时通过选择适合的发酵剂并结合混合发酵技术,将其 运用到湘西腊肠的生产中,有望生产高品质高安全的 发酵湘西腊肠。

## 参考文献

- Rantsiou K, Cocolin L. Fermented meat products [J]. Food Microbiology & Food Safety, 2008, 27(94): 91-118
- [2] 张玉倩,王成忠.国内发酵肉制品进展的研究[J].江西食品 工业,2010,2:46-48 ZHANG Yu-qian, WANG Cheng-zhong. Research on
- fermented meat products of domestic progress [J]. Jiangxi Food Industry, 2010, 2: 46-48
  [3] 通力嘎,段艳,靳志敏.不同发酵剂对羊肉发酵香肠理化特
- 性的影响[J].食品与发酵工业,2012,38(12):87-90
  TONG Li-ga, DUAN Yan, JIN Zhi-min. The effects of different starter culture on physichemical properities of fermented mutton sausage [J] Food and Fermentation Industries, 2012, 38(12): 87-90
- [4] 王立梅,胡耀辉,刘清河.发酵香肠的工艺研究[J].吉林农业 大学学报,1999,21(3):104-107 WANG Li-mei, HU Yao-hui, LIU Qing-he. Study on the technology of fermented sausage [J]. Journal of Jilin

Agricultural University, 1999, 21(3): 104-107

- [5] 徐为民,徐幸莲,周光宏.干发酵香肠中乳酸菌发酵剂的选择[J].江苏农业学报,2002,2:111-116 XU Wei-min, XU Xing-lian, ZHOU Guang-hong. Selection of *Lactobacillus* starters in dry fermented sausage [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2002, 2: 111-116
- [6] Alicia O, José Luis N, Mónica F. Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages [J]. Meat Science, 2011, 87(3): 264-73
- [7] Lihua Z, Ye J, Changwei M, et al. Physico-chemical characteristics and free fatty acid composition of dry fermented mutton sausages as affected by the use of various combinations of starter cultures and spices [J]. Meat Science, 2011, 88(4): 761-6
- [8] 韩衍青.应用超高压技术延长低温火腿的货架期[D].南京:南京农业大学,2011

  HAN Yan-qing. Application of high pressure treatment to improve the preservation of cooked ham [D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2011
- [9] 周光宏.发酵肉制品加工技术[M].北京.中国农业出版社, 2014 ZHOU Guang-hong. The technology of fermented meat products [M]. Beijin: China Agricultural Press, 2014
- [10] Santiago R M, Alberto M, María José B, et al. Application of Lactobacillus fermentum HL57 and Pediococcus acidilactici SP979 as potential probiotics in the manufacture of traditional Iberian dry-fermented sausages [J]. Food Microbiology, 2011, 28(5): 839-47
- [11] Arief I I, Wulandari Z, Aditia E L, et al. Physicochemical and microbiological properties of fermented lamb sausages using probiotic *Lactobacillus plantarum* IIA-2C12 as starter culture [J]. Procedia Environmental Sciences, 2014, 20: 352-356
- [12] Lorenzo J M, Gómez M, Fonseca S. Effect of commercial starter cultures on physicochemical characteristics, microbial counts and free fatty acid composition of dry-cured foal sausage [J]. Food Control, 2014, 46: 382-389
- [13] Simion A M C, Vizireanu C, Alexe P, et al. Effect of the use

- of selected starter cultures on some quality, safety and sensorial properties of Dacia sausage, a traditional Romanian dry-sausage variety [J]. Food Control, 2014, 35(1): 123-131
- [14] Fontana C, Cocconcelli P S, Vignolo G, et al. Occurrence of antilisterial structural bacteriocins genes in meat borne lactic acid bacteria [J]. Food Control, 2015, 47: 53-59
- [15] Casaburi A, Di Martino V, Ferranti P, et al. Technological properties and bacteriocins production by Lactobacillus curvatus 54M16 and its use as starter culture for fermented sausage manufacture [J]. Food Control, 2016, 59: 31-45
- [16] Nieto-Lozano J C, Reguera-Useros J I. The effect of the pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* in Spanish dry-fermented sausages and frankfurters [J]. Food Control, 2010, 21(5): 679-685
- [17] Lihua Z, Ye J, Changwei M, et al. Physico-chemical characteristics and free fatty acid composition of dry fermented mutton sausages as affected by the use of various combinations of starter cultures and spices [J]. Meat Science, 2011, 88(4): 761-6
- [18] Wang X H, Ren H Y, Liu D Y, et al. Effects of inoculating *Lactobacillus sakei* starter cultures on the microbiological quality and nitrite depletion of Chinese fermented sausages [J]. Food Control, 2013, 32(2): 591-596
- [19] Michael S, Claudia V, Dieleman L A, et al. *Lactobacillus plantarum* 299V in the treatment and prevention of spontaneous colitis in interleukin-10-deficient mice [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2002, 8(2): 71-80
- [20] Essid I, Hassouna M. Effect of inoculation of selected Staphylococcus xylosus and Lactobacillus plantarum strains on biochemical, microbiological and textural characteristics of a Tunisian dry fermented sausage [J]. Food Control, 2013, 32(2): 707-714
- [21] Pcb C, dos Santos B A, Wagner R, et al. The effect of yeast extract addition on quality of fermented sausages at low NaCl content [J]. Meat Science, 2011, 87(3): 290-8