

腊肉源酵母菌对发酵牛肉品质特性的影响

张秋会¹, 孟高歌¹, 王晗¹, 曹淑萍², 崔文明¹, 祝超智^{1*}, 赵改名¹, 李付强³

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南郑州 450002) (2. 蒙阳市市场监管综合行政执法大队, 河南蒙阳 450100) (3. 涟源综合试验站, 湖南娄底 417000)

摘要: 在发酵牛肉加工中, 添加源于河南信阳腊肉的季巴蒙毕赤酵母以及四川绵阳腊肉的汉逊德巴利酵母作为发酵菌株, 以研究特色腊肉源单菌株发酵对发酵牛肉品质的影响, 选择地方特色产品和空白作为对照, 进行产品水分含量、水分活度 (a_w)、pH 值、蛋白质含量、亚硝胺含量、质构及感官评价等特性指标的测定与分析。结果表明, 两株菌株单菌株发酵牛肉硬度适中, 弹性和咀嚼性显著高于传统产品, 其整体可接受性和传统腊肉未见显著差异, 而且水分含量, pH 值与亚硝胺含量显著低于传统腊肉制品。综合分析显示两种酵母菌均可作为发酵剂用于发酵肉制品生产, 以提升产品品质 and 安全性。

关键词: 腌腊肉制品; 发酵菌株; 牛肉; 发酵肉制品

文章编号: 1673-9078(2024)04-55-63

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.4.1589

Effects of Cured Meat-derived Yeasts on the Quality Characteristics of Fermented Beef

ZHANG Qiuhui¹, MENG Gaoge¹, WANG Han¹, CAO Shuping², CUI Wenming¹,

ZHU Chaozhi^{1*}, ZHAO Gaiming^{1*}, LI Fuqiang³

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

(2. Integrated Administrative and Enforcement Team, Market Regulatory Authority of Xinyang,

Xinyang 450100, China) (3. Comprehensive Test Station of Lianyuan, Loudi 417000, China)

Abstract: During the processing of fermented beef, *Pichia diba* from Xinyang cured meat and *Baryces hensonensis* from Sichuan cured meat were used as the fermentation strains. In order to study the effects of fermentation with a single strain on the quality of fermented beef, the local special products and blank groups without starter were used as controls, the water content, water activity (a_w), pH value, protein content, nitrosamine content, texture, sensory score and other characteristic indicators of fermented beef were analyzed. The results showed that the two types of fermented beef produced with a single strain, *Pichia diba* or *Baryces hensonensis*, had the moderate hardness, with their elasticity and chewiness being significantly higher than those of traditional products. There was no significant difference in overall acceptability compared

引文格式:

张秋会, 孟高歌, 王晗, 等. 腊肉源酵母菌对发酵牛肉品质特性的影响[J]. 现代食品科技, 2024, 40(4): 55-63.

ZHANG Qiuhui, MENG Gaoge, WANG Han, et al. Effects of cured meat-derived yeasts on the quality characteristics of fermented beef [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(4): 55-63.

收稿日期: 2022-12-17

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-37); 河南省科技攻关计划项目 (202102110131; 192102110099); 河南省科技研发计划联合基金 (应用攻关类) 项目 (222103810019)

作者简介: 张秋会 (1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 低温肉制品加工与质量安全控制, E-mail: Zhang-qiuhui@163.com

通讯作者: 祝超智 (1985-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 肉品加工与营养调控, E-mail: zhuchaozhi66@163.com; 共同通讯作者: 赵改名

(1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 肉品加工及品质控制, E-mail: gmzhao@126.com

with traditional cured meat, and the water content, pH, and nitrosamine content were significantly lower than those of traditional cured meat products. Comprehensive analysis reveals that both yeasts can be used as the starters for the production of fermented meat products to improve product quality and safety.

Key words: cured meat products; fermented strains; beef; fermented meat products

腌腊肉制品是中式传统肉制品的典型代表,是以畜禽肉及其可食副产物为原料,经腌制、干燥脱水、烟熏等工艺制作而成。传统风干类腌腊制品属于发酵类生制品,风味独特、肉色腊红、肥肉金黄、易制作、耐贮藏,广受消费者的青睐^[1,2]。

我国腌腊肉历史悠久,种类繁多,由于各地加工地理环境、配料和工艺、消费习俗等的差异,形成了不同感官和风味的产品类型^[3,4]。研究表明,长期风干发酵的产品微生物对其特性形成产生影响,而微生物多样性为肉制品发酵剂的开发及应用提供了无限的可能性。腌腊制品中微生物菌群主要为葡萄球菌、乳酸菌等细菌和酵母菌、霉菌^[5,6]。在发酵过程中,不同种类微生物的发酵性能不同,可赋予产品不同的品质特性,并对产品风味、质地、口感以及贮藏特性等产生影响^[4]。相关研究表明,乳酸菌主要是通过调节产品的 pH 值,进而抑制腐败微生物的增长以及产品在贮藏过程中自发产生的不良反应,具有改善产品色泽与风味以及达到延长货架期的作用^[7,8]。Liu 等^[9]通过比较接种不同发酵剂后发酵香肠的理化性质、微生物菌落、TBARS、脂解、蛋白水解和挥发性风味化合物,指出酵母菌在风味形成和有效抑制脂质氧化方面的表现比乳酸菌相比的贡献更大。Peromingo 等^[10]发现有些酵母菌可以防止肉制品中与赭曲霉毒素 A 存在相关的危害。有选择地将酵母发酵剂添加到原料中并控制整个发酵过程,可以在降低发酵失败的风险的同时,提高产品的安全性和稳定性,使产品的最终感官价值得到提升。

但在作坊式传统手工腊肉制作过程中,由于生产条件的局限性,无法对产品中的微生物生长进行有效控制,导致产品菌落结构不同,不能保证产品的生物安全性,最终引起产品质量的下降,以及风味的改变^[11,12]。而微生物发酵剂可以引起产品 pH 快速下降、水分活度降低,同时与本土的非发酵微生物参与竞争,从而预防发酵肉制品中 N-亚硝胺积累过多。Liao 等^[13]在发酵鱼制品中接种植物乳杆菌 120、酿酒酵母 2018 和木质葡萄球菌 135,降低了发酵液中的 N-亚硝基二甲胺 (NDMA)。因此通过适宜的肉制品发酵剂的开发应用提升传统腌腊制品

品质和安全性越来越受到关注。

通过前期实验发现^[14],从四川绵阳腊肉、湖南腊肉、信阳腊肉中分离筛选纯化出多种优势酵母菌株,将菌株进行活化后进行条件筛选,发现季巴蒙毕赤酵母和汉逊德巴利酵母具有较高耐盐性、耐亚硝酸盐性、耐酸性,能够作为具有优良发酵性能的菌株应用到发酵肉制品的生产中。本实验进一步将这两种菌株作为发酵剂,接种到牛肉中,并制成发酵牛肉产品。通过对产品水分含量、水分活度、pH 值、蛋白质含量、质构及感官评价等指标的测定,对比分析发酵菌株发酵、空白组无菌株发酵腊肉和农家购买的腊肉品质,探寻各菌种对腊肉品质及安全特性的影响,筛选适合发酵牛肉制品生产加工,并且具有良好发酵特性的菌株,为腌腊肉制品微生物发酵剂开发及其应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

材料:牛腩(牛腹部肋条),购于河南伊赛公司;四川绵阳腊肉、湖南腊肉、信阳腊肉(均取自农家自制产品), -20°C 冻结贮藏待测;河南信阳腊肉的季巴蒙毕赤酵母以及四川绵阳腊肉的汉逊德巴利酵母中提取的菌液(前期试验提取)。

1.2 主要试剂

盐酸萘乙二胺、亚铁氰化钾、冰乙酸、硼酸钠、对氨基苯磺酸、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、硼酸、甲基红、溴甲酚绿、氢氧化钠, $\varphi=95\%$ 乙醇(均为分析纯)NAs 混合标准溶液购自 Sigma 公司。

1.3 仪器设备

BYXX-50 型烟熏炉:嘉兴艾博公司;AIRTECH-SW-CJ-2FD 超净工作台;BINDER 可编程低温培养箱;HI 99163 便携 pH 计:德国 Hanna 公司;AL104 电子天平梅特勒:托利多仪器(上海)有限公司;AQUALAB 水分活度仪;DMART System5,美国 CEM 公司。

1.4 产品加工工艺

1.4.1 发酵牛肉制作基础配方

本实验设置处理组和对照组，腊肉基础配方见表1，其中高度酒为牛栏山二锅头（42°）：

表1 发酵牛肉加工配方（以1 kg原料肉计）

名称	含量/g	名称	含量/g
花椒	0.1	高度酒	10
八角	0.05	姜粉	0.5
小茴香粉	2	亚硝酸钠	0.1
白胡椒粉	0.5	白砂糖	20
食盐	50	大蒜粉	2

1.4.2 发酵牛肉加工工艺流程

发酵牛肉的工艺参考高伟^[15]，并加以修改：

牛腩→修整（切条大小均一）→初腌→复腌→发酵→风干→包装

1.4.3 操作要点

（1）原料修整：将牛肉切成30 cm×20 cm×2 cm的块条。

（2）初腌：将食盐5%和花椒0.01%，八角0.005%混匀，放入锅内炒制；牛肉条放入无菌盆里，炒制的盐5%撒在牛肉条上，揉搓均匀，盖上盖子，腌制1 d（4℃）（以质量分数计）。

（3）复腌：加入高度白酒1%、白砂糖2%、小茴香粉0.2%、姜粉0.05%、大蒜粉0.2%、白胡椒粉0.05%、亚硝酸钠0.01%。每隔半天翻倒一次，使其腌透（4℃）（以质量分数计）。

（4）发酵：腌制好的肉放入新的无菌盆里，将前期实验所得菌液^[14]离心（4 500 r/min）后倒出培养基，并用生理盐水进行洗涤，直至培养基洗涤干净，取离心管菌体沉淀，接种量为10⁶ CFU/g，30℃发酵48 h。

（5）风干：将发酵好的肉放入烟熏炉中，40℃烘干48 h，55℃烘干12 h。

1.5 测定指标及方法

1.5.1 理化指标

发酵牛肉理化指标的检测见表2所示。

1.5.2 质构

将发酵牛肉切成1 cm×1 cm×1 cm大小的方块，

使用P50探头进行测定，TPA参数为：初始力5 N，压缩比50%，测试速度：60 mm/min。测定项目：硬度(N)；内聚性(Ratio)；弹性(mm)；咀嚼性(mJ)。

表2 发酵牛肉理化指标的检测及方法

Table 2 Determination and method of physicochemical indexes of fermented beef

检测指标	检测方法 & 主要设备仪器
pH值	使用 HI 99163 便携 pH 计测定
水分含量	用水分含量仪进行测定
水分活度 (a_w)	使用 AQUALAB 水分活度仪进行测定
蛋白质含量	参照国标《GB 5009.5-2016》中凯氏定氮法测定
亚硝酸盐含量	参照国标《GB 5009.33-2016》中盐酸萘乙二胺法测定
颜色的测定	使用色差仪进行测量

1.5.3 N-亚硝胺类物质含量

N-亚硝胺类物质含量的测定参考国标中分散固相萃取(dSPE)-GC-MS/MS方法进行。

GC条件如下：进样量为10 μL；色谱柱为DB-WAX（60 m×0.25 mm×0.25 μm）；进样口温度为250℃；升温程序：初始40℃，保持3 min，首先以10℃/min从40℃升至110℃，随后以15℃/min从110℃升至200℃，最后以40℃/min从200℃升至240℃。载气为高纯度氦气（99.999%），流速为25 mL/min；质谱连接线路温度为250℃。

MS/MS条件如下：扫描模式为多反应检测扫描(MRM)；离子源为EI源，电子能量为70 eV；离子源温度为230℃。各NAs的保留时间、定量及定性指标如表3所示。

表3 8种N-亚硝胺的保留时间、定量和定性离子

Table 3 Parameters of eight VNAs and two internal standards determined by GC-MS

化合物	保留时间/min	定量离子	定性离子
NDMA	9.233	74	42, 43
NMEA	10.349	42	88, 43
NDEA	11.048	102	42, 44
NDPA	15.082	70	43, 42
NDBA	19.026	84	57, 41
NPPI	19.302	42	114, 56
NPYR	19.763	100	41, 42
NMOR	20.418	56	86, 116

1.5.4 感官评价

邀请具有感官评价经验且经过发酵肉制品感官评定培训的食品专业 20 名学生（男女各半），组成评定小组，在参与感官评价之前，先讲述本次感官评价标准及评价要点，从发酵牛肉中的滋味，色泽，风味，咀嚼性和总体可接受度进行评估。在感官评价过程中要求，每品尝一个样品，进行漱口，以免样品之间进行干扰，评定小组成员在评定过程禁止交流。具体评定标准如下，见表 4 所示。

表 4 发酵牛肉感官评分标准

指标	评价标准	分值/分
肉色 (20)	脂肪透明，瘦肉呈粉红色，皮呈现金黄色	18~20
	脂肪较透明，瘦肉较红，皮较金黄色	16~18
	脂肪透明度一般，瘦肉浅红，皮呈现暗黄色	14~16
	脂肪透明度较暗，瘦肉呈暗红，皮呈现暗灰色	12~14
	脂肪浅黄色，瘦肉呈暗灰色，皮发白	<12
口感 (20)	鲜嫩爽口，硬度适中，有弹性	18~20
	鲜嫩较爽口，硬度较适口，弹性良好	16~18
	鲜嫩爽口性、弹性一般，硬度稍大	14~16
	鲜嫩爽口性、弹性较差，硬度较大	12~14
	入口较柴，较硬，无弹性	<12
气味 (20)	腊香味浓郁	18~20
	腊香味较浓郁	16~18
	腊香味一般	14~16
	腊香味较淡	12~14
	无腊香味	<12
滋味 (20)	无哈喇味，咸味、鲜味适口，无鞣味	18~20
	无哈喇味，咸味、鲜味较适口，无鞣味	16~18
	无哈喇味，咸味较重，鲜味较淡，无鞣味	14~16
	轻微哈喇味，咸味较重，鲜味较淡，轻微鞣味	12~14
	哈喇味较重，有鞣味	<12
组织 状态 (20)	组织紧密，肌丝保持原有状态	18~20
	组织较紧密，肌丝保持原有状态	16~18
	组织紧密度一般，肌丝保持原有状态一般	14~16
	组织紧密度、肌丝保持原有状态较差	12~14
	组织疏松，成型性差	<12

1.6 数据分析

实验组设置四川绵阳腊肉、湖南腊肉、信阳腊

肉三种自然发酵腊肉为对照组；实验室发酵工艺制作添加发酵菌株实验组以菌株命名，未添加菌株为空白组。所有实验组均做 3 组平行，实验结果用平均数 ± 标准差表示。采用 SPSS 22 统计软件进行统计学分析，数据间的分析采用单因素方差分析，显著性水平均设定为 $P < 0.05$ 。实验结果使用 Origin 2018 进行作图。

2 结果与分析

2.1 发酵牛肉产品指标

2.1.1 水分活度 a_w 和水分含量

a_w 是对试样中的水的组成的测量，可以表征水与非水成分缔合强度， a_w 与微生物的生长率有好的相关性，低的水分活度会抑制微生物生长，有效抑制肉制品的腐败变质，是发酵肉制品的安全指标之一。

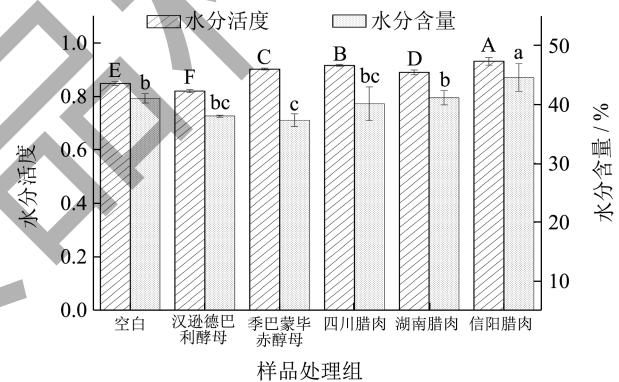


图 1 发酵牛肉及农家腊肉的水分活度和水分含量

Fig.1 Water activity and water content of fermented beef and farm cured meat

注：平均值 ± 标准差；大写字母表示为不同组产品 a_w 的差异性，小写字母表示为不同组产品水分含量的差异性；同列均值有共同上标字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)；同列均值有不同上标字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 是发酵牛肉产品的 a_w 和水分含量结果。从图 1 可知，空白组发酵牛肉的 a_w 显著低于腊肉组 ($P < 0.05$)，有研究证明，不同的加工工艺与加工参数，会影响香肠的水分含量^[16]。说明完善产品加工工艺以及产品加工环境，实现发酵肉制品的工业化生产，可以有效阻止细菌生长，延长产品的保质期。季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉的 a_w 显著高于汉逊德巴利酵母组 ($P < 0.05$)，但两种菌株发酵组的水分含量没有显著性差异，但均显著低于信阳腊肉 ($P < 0.05$)。并且菌株发酵组牛肉的水分含量低于

其他所有对照组,其中季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉的水分含量,显著低于空白、湖南腊肉以及河南信阳腊肉组牛肉 ($P<0.05$)。两株菌株均在一定程度上降低了发酵牛肉的 a_w 和水分含量,从而使发酵牛肉在贮藏过程中更不易因为微生物引起腐败变质,从而拥有更长的保质期,说明两株菌株均可以作为发酵剂应用于发酵牛肉的工业生产中。

2.1.2 pH 值

由表 5 可知,季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉和汉逊德巴利酵母组发酵牛肉的 pH 显著低于空白组牛肉 ($P<0.05$),这是由于季巴蒙毕赤酵母和汉逊德巴利酵母菌株在发酵过程中产酸造成的;季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉和汉逊德巴利酵母组发酵牛肉的 pH 显著高于信阳腊肉、湖南腊肉 ($P<0.05$),猜测是由于自然发酵腊肉中存在的产酸微生物不止一种,可能还存在乳酸菌等产酸能力强的菌种,产品在生产时受菌株影响,故信阳腊肉的 pH 较其他实验组最低。较低的 pH 有利于提高产品的微生物安全性,两种酵母菌在发酵牛肉的 pH 方面影响相差不大,均可以作为发酵剂应用到发酵肉制品的生产中。

2.1.3 蛋白质含量

由表 5 所示,季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉和汉逊德巴利酵母组发酵牛肉的蛋白质含量显著低于空白组牛肉和自然发酵腊肉 ($P<0.05$),添加汉逊德巴利酵母菌株发酵牛肉的蛋白质含量显著低于季巴蒙毕赤酵母组 ($P<0.05$),证明两株菌株均具有较强降解蛋白质的能力,且汉逊德巴利酵母菌作为发酵剂降解蛋白质的能力较季巴蒙毕赤酵母更强。而菌株发酵组牛肉蛋白质被降解,是由于在发酵过程中季巴蒙毕赤酵母和汉逊德巴利酵母会产生蛋白酶,从而催化蛋白质分解成小分子的多肽和游离氨基酸^[17],产生独特的风味物质,使发酵牛肉的蛋白质含量降低。但购买的市售河南信阳腊肉中蛋白质含

量较高的原因可能是在自然发酵时有益菌需要与杂菌进行竞争,数目较少,活性较低。

2.1.4 亚硝酸盐的测定

随着人们对健康生活的追求,现在越来越排斥亚硝酸盐含量过高的肉制品,因为其可能形成能够致癌的亚硝胺,对人体造成损害,甚至死亡。但目前也有研究认为硝酸盐的摄入对人体健康会产生有益影响^[18]。而发酵肉制品中亚硝酸盐有人为添加与生产产生两个来源^[19]。如表 5 所示,季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉、汉逊德巴利酵母组发酵牛肉和空白组牛肉的亚硝酸盐含量不具有显著差异性 ($P>0.05$),但显著高于自然发酵腊肉 ($P<0.05$)。这可能是由于农家腊肉的生产中并没有添加亚硝酸盐,而季巴蒙毕赤酵母、汉逊德巴利酵母和空白组牛肉添加了亚硝酸盐造成的。

2.1.5 质构的测定

发酵牛肉的质构特性与口感息息相关。由表 6 所示,接种季巴蒙毕赤酵母和汉逊德巴利酵母的两组发酵牛肉的质构在硬度和咀嚼性两个方面具有显著性差异 ($P<0.05$),而在内聚力和弹性方面差异性不显著 ($P>0.05$)。与空白组牛肉相比,季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉和汉逊德巴利酵母组发酵牛肉的硬度显著升高、内聚力显著下降、咀嚼性降低 ($P<0.05$),这可能是在发酵过程中产酸降低了产品的 pH,使蛋白质变性,导致产品的保水性降低,从而使结构更加紧密、咀嚼性降低。其中,季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉的硬度为 18 476.37 N,内聚力为 0.62 Ratio,弹性为 0.67 mm,咀嚼性为 6 928.53 mJ。与自然发酵腊肉相比,季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉的硬度降低、弹性增大,汉逊德巴利酵母组腊肉的內聚力更大、弹性更大,这代表着季巴蒙毕赤酵母菌株、汉逊德巴利酵母菌株用于发酵肉制品会带来更好的嚼劲,满足消费者对口感的需求。

表 5 不同发酵菌株处理组及农家腊肉的理化数据

Table 5 Physical and chemical data of different fermentation strains and farm bacon

组别	蛋白质含量/%	pH 值	亚硝酸盐含量/(mg/kg)
汉逊德巴利酵母	18.09 ± 0.56 ^d	5.51 ± 0.01 ^{bc}	25.21 ± 0.43 ^a
季巴蒙毕赤酵母	22.19 ± 1.02 ^c	5.41 ± 0.02 ^c	25.33 ± 0.26 ^a
空白	25.42 ± 0.11 ^b	5.69 ± 0.01 ^a	28.61 ± 0.15 ^a
四川腊肉	25.11 ± 1.35 ^b	5.44 ± 0.02 ^c	5.44 ± 0.22 ^b
信阳腊肉	29.89 ± 0.17 ^a	4.80 ± 0.02 ^d	4.76 ± 0.37 ^b
湖南腊肉	25.72 ± 0.59 ^b	4.89 ± 0.01 ^d	4.89 ± 0.43 ^b

注:表中数据为平均差 ± 标准差,同列小写字母不同,表示差异显著 ($P<0.05$),字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$)。下表同。

表 6 不同发酵菌株对牛肉质地影响及农家腊肉的质地

Table 6 Effects of different fermentation strains on the texture of beef and farm cured meat

组别	硬度/N	内聚力/Ratio	弹性/mm	咀嚼性/mJ
汉逊德巴利酵母	20 227.33 ± 210.38 ^b	0.66 ± 0.02 ^{bc}	0.63 ± 0.06 ^{ab}	7 551.40 ± 98.31 ^b
季巴蒙毕赤酵母	18 476.37 ± 122.98 ^d	0.62 ± 0.01 ^{cd}	0.67 ± 0.02 ^a	6 928.53 ± 133.28 ^c
空白	17 043.89 ± 186.31 ^c	0.69 ± 0.03 ^a	0.63 ± 0.03 ^{ab}	8 381.52 ± 141.28 ^a
四川腊肉	21 932.43 ± 144.95 ^a	0.53 ± 0.02 ^c	0.58 ± 0.01 ^{bc}	6 187.94 ± 175.28 ^d
湖南腊肉	17 310.55 ± 189.61 ^c	0.58 ± 0.01 ^{dc}	0.45 ± 0.04 ^d	5 183.12 ± 92.17 ^c
信阳腊肉	19 499.63 ± 173.48 ^c	0.58 ± 0.05 ^{dc}	0.56 ± 0.02 ^c	7 050.87 ± 134.35 ^c

2.1.6 色泽的测定

肉制品色泽是消费者对肉色质量的第一印象，也是消费者对肉品质量进行评价的主要依据，红润的颜色会极大的增强消费者的购买欲^[20]。相关研究证明，酵母菌具有脂解和蛋白质水解活性，有助于发酵肉制品颜色的稳定^[21,22]。

表 7 不同发酵菌株对牛肉色泽影响及农家腊肉的色泽

Table 7 Effects of different fermentation strains on the color of beef and the color of farm cured meat

组别	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *
汉逊德巴利酵母	46.84 ± 0.76 ^b	9.93 ± 0.56 ^a	8.41 ± 0.24 ^b
季巴蒙毕赤酵母	44.35 ± 0.34 ^{cd}	9.25 ± 0.39 ^b	8.71 ± 0.15 ^b
空白	47.01 ± 0.41 ^a	9.56 ± 0.22 ^{ab}	8.54 ± 0.13 ^b
四川腊肉	43.87 ± 0.55 ^d	8.54 ± 0.21 ^c	9.24 ± 0.20 ^a
湖南腊肉	44.92 ± 0.66 ^{bc}	8.38 ± 0.09 ^c	8.61 ± 0.14 ^b
信阳腊肉	40.57 ± 0.14 ^c	9.69 ± 0.11 ^{ab}	8.76 ± 0.23 ^b

不同组的腊肉的 *L** 值 (亮度), *a** 值 (红度), *b** 值 (黄度) 值如表 7 所示: 汉斯德巴氏酵母组发酵牛肉和季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉的 *a** 显著高于四川腊肉、湖南腊肉 ($P < 0.05$), 这是由于两种菌株含有亚硝酸盐还原酶, 将产品中 NO_3^- 还原为 NO_2^- , 进而分解为 NO , 并与肉中的肌红蛋白结合转化为亚硝基肌红蛋白, 使肉制品呈现鲜亮的红色; *L** 显著高于信阳腊肉 ($P < 0.05$), 这可能是由于两株菌株在发酵过程中引起发酵肉的水分含量与水分活度减小, 导致发酵肉变得干燥, 从而使发酵肉亮度降低、色泽消失。而四川腊肉和湖南腊肉的 *a** 显著低于其他组, 四川腊肉的黄蓝值 (*b**) 显著高于其他组, 可能是因为所使用原料、发酵以及干燥方式的不同造成的。与农家腊肉相比,

单一菌株发酵组发酵牛肉的色泽显著接近空白组牛肉, 说明汉斯德巴氏酵母菌和季巴蒙毕赤酵母菌作为发酵剂用于发酵肉制品拥有更接近鲜牛肉的色泽, 因此两株菌株作为发酵剂应用于发酵肉制品工业生产中, 可以使发酵牛肉具有更加优异的色泽。

2.1.7 N-亚硝胺含量测定

亚硝胺具有较强的致癌性^[23], 其中常见的有如 N-二甲基亚硝胺 (NDMA) 和 N-二乙基亚硝胺 (NDEA)^[24]。有研究指出, 大约有 300 种不同的 N-亚硝胺类化合物拥有直接或间接的致癌性并在整个人类环境中广泛存在^[25]。尤其是 N-亚硝胺类物质: N-亚硝基二甲胺 (N-Nitrosodimethylamine, NDMA)、N-亚硝基甲乙胺 (N-Nitrosomethylethylamine, NMEA)、N-亚硝基二乙胺 (N-Nitrosodiethylamine, NDEA)、N-亚硝基吡咯烷 (N-Nitrosopyrrolidine, NPYR)、N-亚硝基吗啉 (N-Nitrosomorpholine, NMOR)、N-亚硝基二丙胺 (N-Nitrosodi-n-propylamine, NDPA)、N-亚硝基哌啶 (N-Nitrosopiperidine, NPIP)、N-亚硝基二丁胺 (N-Nitrosodibutylamine)^[26]。N-亚硝胺的形成机理主要有两种, 一是亚硝酸盐在酸性环境下转化为极不稳定的亚硝酸, 然后快速转化为 N-亚硝胺前体物 N_2O_3 , 而 N_2O_3 与二级胺结合最终生成 N-亚硝胺^[27]。二则是在近中性条件下由一些微生物分泌出的细菌亚硝胺合成酶催化亚硝酸盐合成亚硝胺。研究发现, NDMA 生成量最高时发酵肉产品的 pH 值为 3.0 左右, pH 值过高或过低都将抑制 NDMA 的生成^[28]。较低的 pH 值可使亚硝酸盐分解产酸^[29], 也可促进有分解 N-亚硝胺能力的乳酸菌生长。并且较低的 pH 值可以使蛋白质氧化速率变慢, 从而减少 N-亚硝胺的生成量^[30]。

表 8 不同发酵牛肉的N-亚硝胺化合物含量
Table 8 Content of N-nitrosamine compounds in different fermented beef

组别	NDEA/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
汉逊德巴利酵母	39.70 ± 0.80^d
季巴蒙毕赤酵母	40.60 ± 1.21^d
空白	49.00 ± 0.09^e
四川腊肉	49.15 ± 4.95^e
湖南腊肉	65.55 ± 0.75^b
信阳腊肉	72.60 ± 1.80^a

注：八种 N-亚硝胺化合物仅检出 NDEA，其余均为检出 (<0.3)。

不同的发酵牛肉制品的 N-亚硝胺化合物含量如表 8 所示，所有样品中 NDMA、NMEA、NPYR、NMOR、NDPA、NPIP、NDBA 均未发现，只检测出 NDEA。如表 8 所示，单一菌株发酵组发酵牛肉中 NDEA 含量显著低于空白组发酵牛肉及农家腊肉中 NDEA 含量 ($P < 0.05$)。有研究证明，酵母菌在发酵过程中降解亚硝酸盐^[31]，减少了 NDEA 的前体物质产生，从而抑制了 NDEA 的生成，这可能是季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉和汉逊德巴利酵母组发酵牛肉产品的 NDEA 含量显著小于对照组牛肉的原因。湖南腊肉和信阳腊肉中的 NDEA 的含量明显高于实验制作的发酵牛肉，归因于传统的热烟加工过程中进行的热处理 ($60\sim 80\text{ }^\circ\text{C}$)，以及在腌制和干制过程中操作不当，从而使 NDEA

含量高^[32]，规范化操作和良好的生产环境会影响产品的品质。

对比表 5 发现，农家自制的自然发酵腊肉中，其亚硝酸盐含量明显低于空白组及单一菌株发酵组发酵牛肉的亚硝酸盐含量，但亚硝胺含量明显高于空白组及单一菌株发酵组发酵牛肉，这是可能因为在发酵过程中，发酵菌株发酵可以直接抑制亚硝胺的生成，并抑制亚硝酸盐分解，生成前体物质，从而提高产品的安全性。

2.2 感官评价

有研究报道，酵母具有出色的脂肪分解和蛋白水解能力，有助于发酵食品的香气化合物产生和感官质量改善^[33,34]；由表 9 可知，各组发酵肉产品在肉色、口感和气味方面具有显著性差异 ($P < 0.05$)，而在滋味和组织状态方面不具有显著性差异 ($P > 0.05$)。季巴蒙毕赤酵母组发酵牛肉在肉色、口感和气味显著优于空白组牛肉 ($P > 0.05$)，在肉色与气味方面显著优于汉逊德巴利酵母组发酵牛肉 ($P < 0.05$)，在口感方面显著优于信阳腊肉 ($P < 0.05$)，在肉色、口感、气味等方面与四川腊肉、湖南腊肉不具有显著性差异 ($P > 0.05$)。所以季巴蒙毕赤酵母菌作为发酵剂可使发酵肉制品的感官更加优异，达到与农家自制四川腊肉、湖南腊肉的优良感官性质相似的效果，有望作为发酵剂投入发酵肉制品生产。

表 9 不同发酵牛肉的感官评价

Table 9 Sensory evaluation of different fermented beef

组别	肉色	口感	气味	滋味	组织状态	总体可接受性
汉逊德巴利酵母	14.55 ± 0.51^{cd}	14.93 ± 0.65^{ab}	15.31 ± 0.42^{cd}	17.31 ± 0.65	17.34 ± 0.45	79.44 ± 0.48^{bc}
季巴蒙毕赤酵母	15.34 ± 0.34^{adc}	15.21 ± 0.52^{ab}	15.91 ± 0.22^{abc}	16.99 ± 0.32	17.45 ± 0.56	80.90 ± 0.88^{ab}
空白	14.28 ± 0.39^d	14.12 ± 0.50^b	14.89 ± 0.14^d	17.12 ± 0.67	17.46 ± 0.34	77.87 ± 0.36^d
四川腊肉	15.73 ± 0.67^a	15.21 ± 0.74^{ab}	16.21 ± 0.61^{abc}	17.32 ± 0.57	17.63 ± 0.64	82.10 ± 0.41^a
湖南腊肉	15.64 ± 0.52^{ab}	15.31 ± 0.52^a	16.33 ± 0.51^{bc}	17.53 ± 0.47	17.21 ± 0.61	82.02 ± 1.6^a
信阳腊肉	15.57 ± 0.72^{abc}	14.33 ± 0.49^{ab}	15.94 ± 0.27^{abc}	17.04 ± 0.48	17.64 ± 0.48	80.52 ± 0.59^{abc}

3 结论

本研究以季巴蒙毕赤酵母和汉逊德巴利酵母为发酵菌株，用于牛肉发酵中。设置空白对照组在口感、色泽、质构、安全性方面进行对比分析。试验结果两株菌株单菌株发酵产品口感、质构明显高于

传统产品；产品整体可接受性和传统腊肉相近；产品水分含量，pH 值与亚硝胺含量显著低于传统腊肉制品。结果显示两株菌株均作为牛肉发酵的发酵剂使用，用于提升发酵牛肉的品质、产品安全性。下一步继续探究其他菌株进行复配之后在发酵肉制品中的效果。

参考文献

- [1] KOUTI EIRINI, TSIASIOTI APOSTOLIA, ZACHARIS CONSTANTINOS K. et al. Specific determination of histamine in cheese and cured meat products by ion chromatography coupled to fluorimetric detection [J]. *Microchemical Journal*, 2021, 168: 106513.
- [2] 穷达.藏香猪低盐腊肉工艺研究[J].*安徽农业科学*,2011, 39(30):18777-18778,18817.
- [3] 孔保华.肉制品品质及质量控制[M].北京:科学出版社, 2015.
- [4] 王正莉,王卫,陈林,等.传统腌腊肉制品中微生物多样性研究进展[J].*食品研究与开发*,2021,42(8):202-206.
- [5] 张乐.微生物发酵剂对发酵肉制品安全性的影响[J].*中国食品*,2021,21:110-112.
- [6] PERRONE G, RODRIGUEZ A, MAGISTÀ, D et al. The use of starter cultures in traditional meat products: insights into existing and future fungal and mycotoxin contamination of cured meats [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2019, 29: 20-27.
- [7] 陈亚杰,张香美,卢涵,等.有益葡萄球菌对发酵肉制品品质影响[J].*肉类工业*,2019,2:40-43.
- [8] AQUILANTI L, GAROFALO C, OSIMANI A, et al. Mini review ecology of lactic acid bacteria and coagulase negative cocci in fermented dry sausages manufactured in Italy and other mediterranean countries: an overview [J]. *International Food Research Journal (Malaysia)*, 2016, 23(2): 429-445.
- [9] LIU Y, WAN Z, YOHANNES K W, et al. Functional characteristics of *Lactobacillus* and yeast single starter cultures in the ripening process of dry fermented sausage [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 11: 611260.
- [10] PEROMINGO B, Núñez F, Rodríguez A, et al. Potential of yeasts isolated from dry-cured ham to control ochratoxin A production in meat models [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, 268: 73-80.
- [11] HOA VAN BA, HYUNWOO SEO, JINH YOUNG KIM, et al. The effects of starter culture types on the technological quality, lipid oxidation and biogenic amines in fermented sausages [J]. *Food Science and Technology*, 2016, 74: 191-198.
- [12] ABARQUERO D, RENES E, COMBARROS F, et al. Evaluation of technological properties and selection of wild lactic acid bacteria for starter culture development [J]. *LWT*, 2022,171(15): 114121.
- [13] LIAO E, XU Y, JIANG Q, et al. Effects of inoculating autochthonous starter cultures on N-nitrosodimethylamine and its precursors formation during fermentation of Chinese traditional fermented fish [J]. *Food Chemistry*, 2019, 271: 174-181.
- [14] 张秋会,王晗,祝超智,等.自然发酵腊肉中酵母菌的分离鉴定及其发酵特性研究[J].*食品与发酵工业*,2022, 48(14):113-117.
- [15] 高伟.牛肉干发酵香肠加工工艺优化及贮藏特性研究[D].北京:中国农业科学院,2012.
- [16] 黄晓燕,刘铖珺,李长城,等.低水分活度食品微生物控制技术研究现状[J].*食品与发酵工业*,2020,46(23):286-292.
- [17] 田媛,吕重阳,张玲玲,等.发酵肉制品中葡萄球菌的分离、鉴定及其对肉蛋白的降解能力[J].*中国食品学报*, 2021,21(7):300-306.
- [18] SAID ABASSE KASSIM, ESSIEN ENO E, ABBAS MUHAMMAD, et al. Association between dietary nitrate, nitrite intake, and site-specific cancer risk: a systematic review and meta-analysis [J]. *Nutrients*, 2022, 14(3): 666.
- [19] 王流国,王雪蒙.减少食品中亚硝酸盐危害的研究进展[J].*食品安全质量检测学报*,2016,7(4):1593-1598.
- [20] 李明杨,牛希跃,许倩,等.新疆传统腌制对烤羊肉食用品质及杂环胺含量的影响[J].*食品科学*,2021,42(1):115-123.
- [21] DURÁ M, FLORES M, TOLDRÁ F. Effect of *Debaryomyces* spp. on the proteolysis of dry-fermented sausages [J]. *Meat Science*, 2004, 68(2): 319-328.
- [22] FOURNAUD J, MOCQUOT G. Study of the reduction of the nitrite ion by certain lactobacilli [J]. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences Serie D: Sciences Naturelles*, 1966, 262(1): 230-232.
- [23] 魏延玲,刘洪岩,赵彦华.鱼肉制品中N-亚硝胺类化合物检测研究进展[J].*水产养殖*,2021,42(11):35-39.
- [24] 倪松,崔颖,姜涛,等.食品中N-亚硝胺类化合物检测方法研究进展[J].*食品研究与开发*,2018,39(6):215-219.
- [25] BEARD J C, SWAGER T M. An organic chemist's guide to N-nitrosamines: Their structure, reactivity, and role as contaminants [J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2021, 86(3): 2037-2057.
- [26] MÓNICA F, LETICIA M, MILAGRO R, et al. Risk assessment of chemical substances of safety concern generated in processed meats [J]. *Food Science and Human Wellness*, 2019, 8(3): 244-251.
- [27] 邓思杨,石硕,董依迪,等.肉制品中亚硝胺形成机制及植物源提取物对其阻断效果的研究进展[J].*食品科学*, 2019,40(3):317-322.

- [28] 尹立辉,马俪珍.反应条件对N-亚硝基二甲胺生成影响的研究[J].中国农学通报,2011,27(7):457-460.
- [29] 尹利端.几种泡菜的安全性研究与优良乳酸菌的分离、鉴定[D].北京:中国农业大学,2005.
- [30] BERARDO A, CLAEYS E, VOSSEN E, et al. Protein oxidation affects proteolysis in a meat model system [J]. *Meat Science*, 2015, 106: 78-84.
- [31] 张彪燕,吕嘉枋,郑欣欣.发酵蔬菜中酵母菌的特性及其发酵果渣性能初探[J].中国调味品,2015,40(1):9-13.
- [32] JANZOWSKI C, EISENBRAND G, PREUSSMANN R. Occurrence of N-nitrosamino acids in cured meat products and their effect on formation of N-nitrosamines during heating [J]. *Food and Cosmetics Toxicology*, 1978, 16(4): 343-348.
- [33] JEONG D W, HAN S W, LEE J H. Safety and technological characterization of *Staphylococcus equorum* isolates from jeotgal, a Korean high-salt-fermented seafood, for starter development [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 188: 108-115.
- [34] LI W W, FAN G S, FU Z L, et al. Effects of fortification of Daqu with various yeasts on microbial community structure and flavor metabolism [J]. *Food Research International*, 2020, 129(C): 108837.

现代食品科技