

李廷任, 赵金山, 臧金红, 等. 传统发酵与接种发酵酸肉安全品质特性的分析 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(15): 257-264. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100085

LI Tingren, ZHAO Jinshan, ZANG Jinhong, et al. Analysis of Safe Quality Characteristics of Traditional Fermentation and Inoculation Fermented Sour Meat[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(15): 257-264. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100085

· 食品安全 ·

传统发酵与接种发酵酸肉安全 品质特性的分析

李廷任^{1,2}, 赵金山^{2,3,*}, 臧金红^{1,2,*}, 彭传涛^{1,2}, 张 鹏^{1,2}, 赵佳怡^{1,2}

(1. 青岛农业大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266109;

2. 青岛特种食品研究院, 山东青岛 266109;

3. 青岛农业大学动物科技学院, 山东青岛 266109)

摘要: 本实验对 4 种不同地区传统发酵酸肉的食用安全性进行分析, 并进一步以植物乳杆菌 120 (Lp-120)、酿酒酵母 2018 (Sc-2018)、木糖葡萄球菌 135 (Sx-135) 为发酵剂, 研究不同发酵剂对发酵酸肉安全性的影响。采用高效液相色谱法、分光光度法、滴定法分别对酸肉生物胺、亚硝酸盐、过氧化值进行检测分析。研究结果表明: 苗家酸肉、包谷酸肉、榕江酸肉和黎平酸肉生物胺总含量分别为 961.20、4673.85、3201.97 和 4687.37 mg·kg⁻¹, 除苗家酸肉外, 其他地区生物胺含量均超过限定标准 (1000 mg·kg⁻¹)。另外, 包谷酸肉、黎平酸肉的过氧化值也较高, 分别达到 0.181、0.158 g·(100 g)⁻¹。但是, 4 种传统酸肉中亚硝酸盐残留量均在 3.3~4.4 mg·kg⁻¹ 范围内, 未超过限量标准 (30 mg·kg⁻¹)。研究发现, 接种 Lp-120、Sc-2018 以及混合发酵剂能显著 ($P<0.05$) 降低生物胺含量; 接种 Lp-120 和 Sc-2018 的酸肉过氧化值分别为 0.0377、0.0433 g·(100 g)⁻¹, 比包谷酸肉和黎平酸肉低 70% 左右; 四组接种发酵 (混合发酵组、Lp-120、Sc-2018、Sx-135) 的亚硝酸盐含量均明显低于传统发酵组, 其中, Sc-2018 组最低, 达到 2.129 mg·kg⁻¹。此外, 接种发酵和传统发酵酸肉均有较好的微生物安全性。总体来看, 不同地区的传统酸肉品质存在差异, 包谷酸肉、榕江酸肉和黎平酸肉存在生物胺安全问题。接种发酵 (混合发酵、Lp-120、Sc-2018) 可明显提高酸肉的食用安全性。

关键词: 酸肉, 接种发酵, 食品安全性, 生物胺, 亚硝酸盐

中图分类号: TS205

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)15-0257-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100085



本文网刊:

Analysis of Safe Quality Characteristics of Traditional Fermentation and Inoculation Fermented Sour Meat

LI Tingren^{1,2}, ZHAO Jinshan^{2,3,*}, ZANG Jinhong^{1,2,*}, PENG Chuantao^{1,2}, ZHANG Peng^{1,2}, ZHAO Jiayi^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China;

2. Qingdao Special Food Research Institute, Qingdao 266109, China;

3. College of Animal Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: In this study, the safety of traditional naturally fermented sour meat from four different regions was analyzed. Furthermore, *Lactobacillus plantarum* 120 (Lp-120), *Saccharomyces cerevisiae* 2018 (Sc-2018) and *Staphylococcus xylosae* 135 (Sx-135) were used as starter cultures. The effect of different starter on the safety of fermented sour meat was preliminarily investigated. The biogenic amine, nitrite and peroxide values of sour meat were detected by using HPLC, spectrophotometry and titration. The results showed that the total biogenic amine contents of Miaojia, Baogu, Rongjiang

收稿日期: 2021-10-13

基金项目: 青岛农业大学高层次人才科研基金资助项目 (6651121008)。

作者简介: 李廷任 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 1078930832@qq.com。

* 通信作者: 赵金山 (1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖, E-mail: 707589159@qq.com。

臧金红 (1991-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 水产品与肉制品保鲜及加工的应用基础与技术开发, E-mail: 15190273775@163.com。

and Liping sour meat were 961.20, 4673.85, 3201.97 and 4687.37 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. Except for Miaojia sour meat, the biogenic amine content of sour meat in other regions exceeded the limit of 1000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. In addition, the peroxide value of Baogu and Liping sour meat was up to 0.181 and 0.158 $\text{g}\cdot(100\text{ g})^{-1}$, respectively. However, the nitrite contents of four traditional sour meat were between 3.3~4.4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, which all within the limit standard. Furthermore, the contents of biogenic amine of sour meat inoculated with Lp-120, Sc-2018 and the mixture of starter cultures were significantly reduced. Moreover, the peroxide value of sour meat inoculated with Lp-120 and Sc-2018 was 0.0377 and 0.0433 $\text{g}\cdot(100\text{ g})^{-1}$, respectively, which was about 70% lower than that of Baogu and Liping sour meat. The nitrite content of the four inoculation groups (mixed starter cultures, Lp-120, Sc-2018 and Sx-135) was lower than that of the traditional fermentation group, and the Sc-2018 group was the lowest, reaching 2.129 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. In addition, both inoculated sour meat and traditional sour meat had no microbial risk. In general, there were differences in the quality of traditional sour meat in different regions. The biogenic amine in Baogu, Rongjiang and Liping sour meat exceeded the standard. However, inoculated fermentation (mixed starter cultures, Lp-120, Sc-2018) could significantly improve the edible safety of sour meat.

Key words: sour meat; inoculation fermentation; food safety; biogenic amine; nitrite

发酵是食品工业中最普遍的保藏方法之一,在发酵过程中主要利用有益微生物的作用以及过程中发生的物理、化学变化来赋予食品独特的品质,并能够延长食品保质期。发酵肉制品是其中一类重要的发酵食品,其营养丰富、风味浓郁,深受消费者喜爱^[1]。目前,国外发酵肉制品主要有西班牙火腿、土耳其 Sucuks 香肠和意大利萨米拉香肠等;国内发酵肉制品主要有金华火腿、四川腊肉以及酸肉等。由于地域、原料以及加工工艺的差异,不同发酵肉制品各具品质特色。

酸肉是我国西南地区普遍存在的发酵肉制品,距今已有两千多年的食用历史,其主要以新鲜猪肉为原料,加入大米、糯米、玉米粉、辣椒、盐和糖等调味品,利用肉表面以及发酵环境中存在的天然菌种进行厌氧发酵,利用微生物和内源酶产生的风味以及调味品的香气融合赋予酸肉独特风味^[2]。目前,大多数传统酸肉依然是根据家庭传统和当地的地理条件小规模自然发酵生产,由于季节性限制以及发酵条件难以控制等问题,导致酸肉品质差异明显,质量不稳定,存在一定的安全隐患。目前,国内外对于酸肉的研究主要集中在微生物多样性、风味物质、生物活性等方面。Zhang 等^[3]对传统发酵酸肉的微生物群落与风味进行研究,发现癸酸乙酯、丁酸乙酯等酯类物质含量在酸肉发酵过程中快速增加, *Lactobacillus*、*Weissella*、*Staphylococcus* 等是酸肉发酵过程中的核心微生物,风味物质的变化与核心微生物有关。酸性蛋白酶能够降低真菌丰度,增加酸肉中游离氨基酸和部分挥发性风味物质含量^[4]。另外,适宜的发酵温度(20、25 $^{\circ}\text{C}$)也可以增加挥发性化合物的数量和含量,并提高酸肉的可接受度^[2]。

在安全性方面,国际癌症研究机构(IARC)在2016年将加工肉制品列为“Ⅰ类”致癌物,发酵肉制品的安全性也成为限制产业发展的重要因素^[5]。目前,对于发酵肉制品安全性研究主要集中在培根^[6]、火腿^[7]、香肠^[8]等产品中,而对酸肉的安全性研究还鲜有报道。但研究发现,通过接种 *Lactobacillus curvatus* LAB26 和 *Pediococcus pentosaceus* SWU73571

可以降低酸肉中的大肠菌群数、亚硝酸盐、生物胺、总挥发性碱性氮和丙二醛的含量^[9],可以看出微生物接种发酵是提高产品安全性、稳定产品品质的有效手段^[1]。采用优良发酵剂进行发酵,是保证发酵酸肉安全性和品质的关键。本实验前期以安全特性、发酵特性、营养特性为指标从传统酸鱼样品中筛选出了多种优良菌株,发现木糖葡萄球菌 135(*Staphylococcus xylosae* 135, Sx-135)、植物乳杆菌 120(*Lactobacillus plantarum* 120, Lp-120)和酿酒酵母 2018(*Saccharomyces cerevisiae* 2018, Sc-2018)三种菌株能有效缩短发酵周期,提高酸鱼安全性^[10],可作为发酵肉制品的潜在发酵剂。但其在发酵酸肉中的应用以及对于酸肉安全性的影响尚不明确。因此,本研究选择三种发酵剂单一接种和混合接种两种方式发酵酸肉,通过高效液相色谱法、分光光度计法、滴定法对酸肉生物胺、亚硝酸盐、过氧化值进行测定,以及选择不同的培养基对有害微生物进行计数,并辅以理化指标的检测,将接种发酵酸肉与不同地区传统发酵酸肉进行安全性对比分析,以期改善传统酸肉品质,提高酸肉安全性提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜五花肉、白砂糖、食用盐、五香粉、玉米粉 购买于大润发超市,均为食品级;发酵菌株:木糖葡萄球菌 135(Sx-135)、植物乳杆菌 120(Lp-120)和酿酒酵母 2018(Sc-2018) 江南大学食品学院保藏;传统发酵酸肉:贵州苗家老坛酸肉、湖南湘西包谷酸肉、贵州榕江酸肉、贵州黎平酸肉 均购于当地农户且均在保质期内检测。详细信息见表 1。

甘露醇氯化钠琼脂培养基(MSA)、酵母浸出粉葡萄糖琼脂培养基(YPD)、乳酸菌琼脂培养基(MRS)、平板计数琼脂培养基(PCA)、结晶紫中性红胆盐琼脂(VRBA)、假单胞 CFC 选择性培养基、单核细胞增生李斯特氏菌显色培养基、沙门氏菌显色培养基、Baird-Parker 平板培养基、TCBS 平板培养基 青岛海博生物技术有限公司;色胺(Try)、腐胺(Put)、尸胺(Cad)、组胺(His)、酪胺(Tyr)、亚精胺

表 1 四种传统发酵酸肉基本信息
Table 1 Basic information of four traditional fermented sour meats

样品	地区	购买时间	发酵时间(d)	保质期(d)	原辅料	工艺
贵州苗家老坛酸肉	贵州苗族自治州	2021.4	15	30	猪肉、食盐、糯米、米酒、八角、桂皮、香叶、白糖	猪肉切片,炒制香料、糯米,将猪肉片和糯米、香料混匀后装坛密封发酵
湖南湘西包谷酸肉	湖南湘西	2021.4	30	30	猪肉、食盐、玉米粉、花椒粉、辣椒粉	将猪肉烟熏后切片,用食盐腌制5 h,与玉米粉、香料混合后装坛密封发酵
贵州榕江酸肉	贵州榕江	2021.4	60~90	90	猪肉、食盐、糯米、辣椒粉	将猪肉切块,然后与糯米粉、辣椒粉、食盐混合均匀、装坛密封发酵
贵州黎平酸肉	贵州黎平	2021.4	150~180	180	猪肉、食盐、糯米、辣椒粉	将猪肉切块,沾满盐巴后与米酒、糯米粉等辅料混合均匀,层叠于烟熏过得坛中,密封发酵

(Spd)、精胺(Spm)标准品 Sigma 试剂有限公司。

TU-1810 型可见分光光度计 普析公司; Agilent 1100 型高效液相色谱仪 安捷伦公司; Centrifuge 5810R 型冷冻离心机 Eppendorf 公司; CLC111ECO 型恒温培养箱 MMM Medcenter Einrichtungen GmbH 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵菌种活化 参考曾雪峰^[11]的方法。将植物乳杆菌 120(Lp-120)接种到 MRS 液体培养基中, 30 ℃ 培养 24 h; 酿酒酵母 2018(Sc-2018)接种到 YPD 液体培养基中, 30 ℃ 培养 24 h、木糖葡萄球菌 135(Sx-135)接种到 MSA 液体培养基中, 25 ℃ 培养 72 h。活化两次后将培养液冷冻离心(10000 r/min、15 min), 所得菌体用生理盐水洗涤、离心, 最后悬浮于生理盐水中。将 Lp-120、Sc-2018 和 Sx-135 微生物的活菌数分别控制在 10⁹、10⁹、10⁷ cfu/mL。

1.2.2 酸肉的制备 参照李文杰等^[4]的酸肉制备方法。将从超市购买的五花肉放入贮冰保温盒中, 20 min 内带回实验室, 立即用冰水将五花肉清洗干净, 吸干表面水分, 切成约 3 cm×3 cm×5 cm 肥瘦相间的肉块; 将肉块与腌料混合后置于 4 ℃ 冰箱腌制 48 h, 猪肉与腌料的比例为猪肉: 盐: 糖: 五香料= 100: 3: 2: 0.5; 腌制完成后, 将腌猪肉平铺于培养箱内(温度 50 ℃、湿度 55%)干燥 2.5 h; 将市售玉米粉称重(猪肉: 玉米粉=2: 1)后放入锅中翻炒, 直至玉米粉泛白出现香味, 添加玉米粉重量 2% 的白砂糖、3% 的食用盐搅拌均匀, 放凉; 以猪肉重量为基准, 分别接入 1% 的混合发酵剂 Lp+Sx+Sc(1: 1: 1, v/v/v)以及纯种发酵剂 Sx-135、Lp-120、Sc-2018, 以自然发酵(不接种发酵剂, 其他条件均与接种发酵组一致)为对照组, 装罐时按一层玉米粉一层猪肉的原则装满

整个发酵罐, 压实后水封, 恒温 24 ℃, 发酵 30 d, 每天观察水位并及时补水。将自然发酵组、混合发酵组、Lp-120 组、Sc-2018 组、Sx-135 组样品分别标为 A、B、C、D、E, 当地购买的贵州苗家老坛酸肉、湘西包谷酸肉、贵州榕江酸肉、贵州黎平酸肉分别标记为 F、G、H、I。

1.2.3 感官评定分析 将 9 种酸肉去除表面米粉、调料后, 蒸 15 min。蒸熟后, 分别装盘标记为 A、B、C、D、E、F、G、H、I 组, 请 8 名经专业培训过的实验室人员对酸肉进行感官评价, 如表 2 所示, 评价标准有外观、滋味、气味、口感 4 个方面, 满分 40 分, 分为 3 个等级, 最终得分以平均值的形式体现。

1.2.4 酸肉的水分含量测定 根据 GB 5009.3-2016《食品中水分的测定》中的直接干燥法测定不同组酸肉的水分含量。

1.2.5 酸肉的 pH 测定 根据 GB 5009.237-2016《食品 pH 的测定》测定不同组酸肉的 pH。

1.2.6 酸肉的过氧化值测定 根据 GB 5009.227-2016《食品中过氧化值的测定》中的滴定法测定不同组酸肉的过氧化值。

1.2.7 酸肉生物胺含量的测定 参照 Kim 等^[12]的生物胺测定方法: 称取 5 g 样品, 向样品中加入 10 mL、0.6 mol/L 的高氯酸溶液, 均质匀浆后冷冻离心 20 min(10000 r/min), 重复两次离心后合并上清液, 用 0.6 mol/L 的高氯酸溶液定容至 25 mL, 吸取 1 mL 待测液于 5 mL 棕色容量瓶中, 向容量瓶中加入 2 mol/L NaOH 溶液 200 μL、300 μL 的饱和 NaHCO₃ 溶液、10 mg/mL 丹磺酰氯丙酮溶液 1 mL, 40 ℃ 下避光 45 min, 然后加入 100 μL 浓氨水终止反应, 静置 30 min, 反应结束后用乙腈定容至 5 mL, 过 0.22 μm 的有机滤膜后取 1 mL 于棕色液相瓶待测。

表 2 酸肉感官评价评分标准
Table 2 Evaluation criteria of sour meat

项目	评分标准(分)		
	7~10	4~6	1~3
外观	质地完整,呈暗红色,有光泽	质地较完整,呈暗黄色,略有光泽	质地不完整,呈灰色,无光泽
滋味	滋味和谐,酸香味浓郁	滋味较柔和,酸香适中	酸味、咸味过重或过轻
气味	发酵味浓郁,无异味	发酵味不明显,稍有异味	发酵味不足,有明显异味(腥味、腐败味)
口感	肉质紧密柔嫩,弹性适宜	肉质较松散,弹性一般	肉质松散,弹性较差

检测条件: 高效液相色谱仪, 反向色谱柱 C₁₈-Diamondsil(25 cm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 30 ℃, 流速设为 1 mL/min, 进样量为 20 μL; 流动相为 0.1 mol/L 醋酸铵、乙腈; 梯度洗脱程序如下: 0~35 min, 50%~90% 乙腈, 35~45 min, 90%~50% 乙腈, 45~59 min, 50% 乙腈; 检测波长为 254 nm。在相同的色谱条件下测定生物胺标准品, 绘制标准曲线。

1.2.8 酸肉中有害微生物的研究 参照孙颖瑛^[13]的方法用假单胞菌 CFC 选择性培养基测定假单胞菌; 根据 SB/T 10462-2008《肉与肉制品中肠出血性大肠杆菌 O157: H7 检测方法》检测肠出血型大肠杆菌; 根据 GB 4789.10-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》第二法检测金黄色葡萄球菌; 根据 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》检测沙门氏菌; 根据 GB 4789.7-2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验》检测副溶血性弧菌; 根据 GB 4789.30-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验》第一法检测单核细胞增生李斯特氏菌。

1.2.9 酸肉中亚硝酸盐含量测定 根据 GB 5009.33-2016《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》中的分光光度法测定不同组酸肉中亚硝酸盐含量。

1.3 数据处理

每组样品做 3 组平行实验, 数据处理使用 SPSS 数据处理软件, 作图使用 Origin 2017 作图软件, 使用 Excel 2013 软件绘表, 数据表现形式为“平均值±标准差”。

2 结果与分析

2.1 感官评定

对 9 种酸肉进行感官评定, 结果如图 1 所示, H 组酸肉感官评定总分分值相对较高达到 7.19 分,

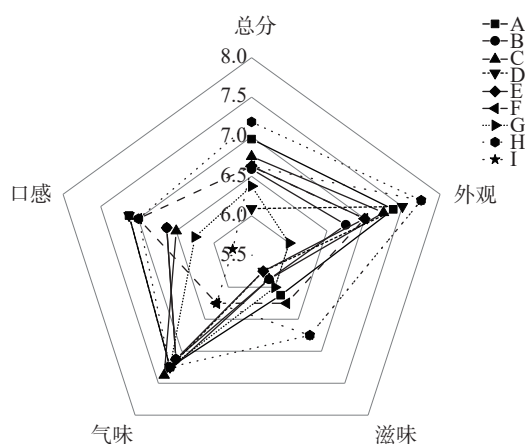


图1 接种发酵和传统自然发酵酸肉的感官评定

Fig.1 Sensory evaluation of sour meat by inoculation fermentation and traditional natural fermentation

注: A: 自然发酵组; B: 混合发酵组; C: Lp-120 组; D: Sc-2018 组; E: Sx-135 组; F: 苗家老坛酸肉; G: 湘西包谷酸肉; H: 贵州榕江酸肉; I: 贵州黎平酸肉。

自然发酵和接种发酵组(A、B、C、D、E)的总分在 6.09~6.97 之间, 而传统发酵 F、G、I 组的总分在 6.38~6.63 之间。在口感方面, 所有组别的得分在 5.75~7.13 之间, 其中, A、D 两组得分最高, 达到 7.13 分。气味方面, 所有接种发酵组(B、C、D、E)的气味得分均在 7.12 分以上, C 组得分最高, 得分为 7.38 分。滋味方面, 接种发酵组在 5.75~5.88 分之间, 得分 B=C>D=E; 传统发酵中 H、I 组滋味得分最高, 得分为 6.75 分。外观方面, 接种发酵 D 组得分达到 7.50 分, 传统发酵 H、I 组得分则为 7.75 分。总体来看, 接种发酵组与传统发酵组的大众接受度均较高。

2.2 酸肉中水分含量的测定分析

酸肉中的水分对酸肉的外观、口感、发酵剂活性等有很大影响。作为影响产品保藏的重要因素, 水分含量高会降低产品的保质期。水分含量低, 则有利于抑制腐败微生物的生长, 但同时也增加了肉的硬度和咀嚼性, 从而影响肉的口感。不同酸肉样品水分含量如图 2 所示, 结果表明, 接种不同发酵剂的酸肉水分含量在 38%~45% 的范围内, 属于半干肉制品(水分含量 30%~50%)范畴, 不同样品的水分差异不大。传统发酵酸肉 F 组(贵州苗家酸肉), 水分含量最低为 30%, 达到干肉的水分含量标准(水分含量<30%), 可能的原因在于该地区酸肉原料处理时采用火烤猪肉的方式, 使原料肉中水分含量下降, 从而影响成品酸肉的水分含量, 其他三种传统发酵酸肉水分含量较所有接种发酵的酸肉样品高, 达到 55% 左右, 可能是由于其采用不晾晒、不火烤而直接发酵的加工方式或晾晒、火烤时间较短导致的, 干燥时间的差异是各样品水分含量差异的主要原因^[14]。此外, 较低的 pH 可能会导致酸诱导的蛋白质变性, 蛋白质的持水能力下降, 从而导致水分含量的下降。这可能也是接种发酵酸肉水分更低的原因之一。中国传统发酵酸肉制品的水分含量(30%~54%)与发酵火腿(54%~55%)^[15]和发酵香肠(30%~50%)^[1]差别不大。

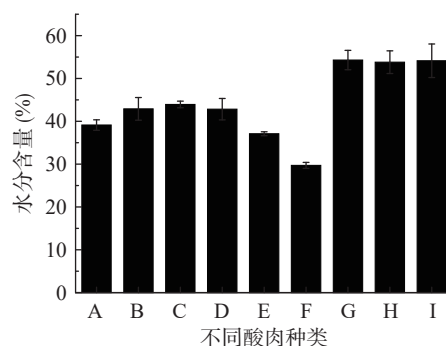


图2 接种发酵和传统自然发酵酸肉的水分含量

Fig.2 Water content of sour meat by inoculation fermentation and traditional natural fermentation

2.3 接种发酵对酸肉 pH 的影响

酸肉的口感偏酸是由于乳酸菌等微生物在发酵过程中产生有机酸^[16], 使酸肉的 pH 下降。由图 3 可知, 不同接种发酵的酸肉(B、C、D、E 组)pH 无明显

差异且均在 4.5 以下。研究发现, pH 在 4.6 以下时, 能够抑制致病菌的生长^[17-18], 延缓食品腐败, 食品更容易保藏^[19]。pH 的降低与有机酸的积累有关, 酸肉发酵过程中接种的植物乳杆菌数量在发酵过程中迅速增加, 能够产生大量的有机酸, 从而使发酵环境的 pH 降低。发酵过程中产生的细菌素对腐败微生物也有抑制作用^[20]。另外, 之前研究发现接种的木糖葡萄糖球菌和酿酒酵母能够促进植物乳杆菌的生长, 从而进一步促进 pH 的降低^[19]。但是传统发酵酸肉 F~I 组的 pH 在 4.5~4.7 之间, 比接种发酵组 pH 高, 证实了接种的发酵剂具有较强的酸化能力。另外, Chen 等^[21] 研究发现, 肌肉中存在的内源性脂肪酶在较低的 pH 下更活跃, 而且乳酸菌代谢引起的酸化也可以激活内源性蛋白酶, 从而有助于风味前体物质的产生。因此, 有机酸的积累可能是发酵过程中酸肉独特风味产生的重要原因^[22-23]。

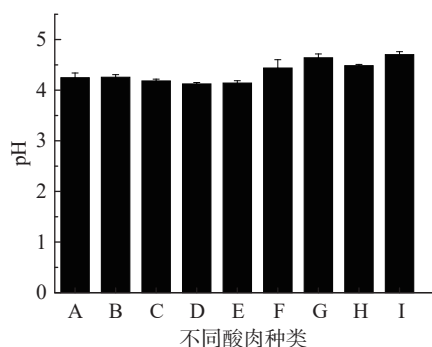


图 3 接种发酵和传统自然发酵酸肉的 pH

Fig.3 pH value of sour meat by inoculation fermentation and traditional natural fermentation

2.4 接种发酵对酸肉过氧化值的影响

由于肉制品在发酵过程中会受到光线、温度、湿度、微生物产物以及氧气的影响, 肉中含有的脂肪成分会发生一系列复杂的化学变化, 造成脂肪的过度水解和氧化, 引发酸肉酸败^[24]。过氧化值是评价脂质氧化程度的重要参数之一。如图 4 所示, 不同样品的过氧化值差异明显。C 和 D 两组酸肉的过氧化值含量分别为 0.0377、0.0433 $\text{g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, 与 H 组传统发酵酸肉的数值相近, 比传统发酵 G、I 组降低 70% 左右, 且明显低于自然发酵组和其他接种组, 原因可能是植物乳杆菌和酿酒酵母在发酵过程中促进了蛋白质分解, 而蛋白质分解产生的组氨酸有一定的生物活性, 也会抑制脂质分解^[25], 从而降低酸肉的过氧化值。接种发酵组中 E 组的过氧化值最高达到 0.145 $\text{g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, 说明 Sx-135 对酸肉脂肪的氧化水解抑制程度低; 传统发酵组中 G、I 组的过氧化值分别为 0.181、0.158 $\text{g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, 其过氧化值较高的原因可能是由于发酵过程中采用了烟熏猪肉或将猪肉放在了烟熏过得坛子中, 加速了脂质的氧化和分解^[26], 且 I 组发酵时间很长 (150~180 d), 这可能也是 I 组过氧化值较高的原因之一。另外, 传统自然发酵酸肉的微生物种类复杂, 微生物作用及其代谢产物酶促进

了饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的氧化^[27]。但接种发酵组和传统自然发酵组的过氧化值均在 GB 2730-2015《食品安全国家标准腌腊肉制品》的限制范围内 ($\leq 0.5 \text{ g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$)。脂质氧化分解有利于风味物质的产生, 但过度氧化就会产生腐臭味和哈喇味等异味, 食用后可能造成中毒, 引起身体不适^[28]。总体来看, 接种发酵可以降低酸肉的过氧化值, 促进风味物质积累, 抑制酸肉酸败。

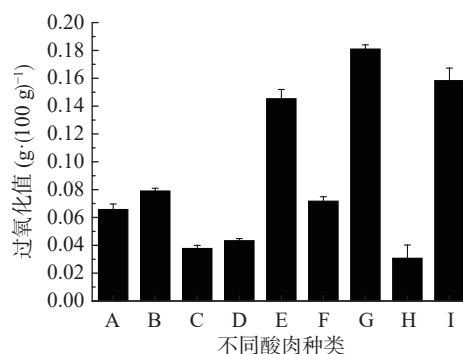


图 4 接种发酵和传统自然发酵酸肉的过氧化值

Fig.4 Peroxidation value of sour meat by inoculation fermentation and traditional natural fermentation

2.5 接种发酵对酸肉生物胺的影响

生物胺是一种低分子量的含氮化合物, 普遍存在于发酵食品中, 人体中大量积累会产生中毒症状^[19]。如表 3 所示, 不同酸肉样品中检测出的生物胺有 7 种, 包括腐胺、尸胺、组胺、色胺、酪胺、精胺和亚精胺。4 种传统发酵酸肉样品生物胺总量范围在 961.20~4687.37 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间。除了 F 组外, 其他 3 组 (G、H、I) 样品的生物胺总量均超出了生物胺总量的限量要求 (约 1000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。接种发酵组 (B、C、D、E) 的生物胺总量在 745.65~1592.84 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 较传统发酵酸肉生物胺降低了 3~4 倍。表明接种发酵很好地抑制了酸肉中生物胺的积累。其中, D 组生物胺总含量最低, 对生物胺积累的抑制效果最明显。C 组和 B 组也能有效降低酸肉中的生物胺含量。但 E 组生物胺含量较高, 有研究发现木糖葡萄糖球菌对尸胺、腐胺的降解能力较弱^[29], 这可能是导致生物胺总量高的原因。另外研究发现, 原料种类、发酵温度、以及不同微生物群落等因素均对生物胺的积累有影响^[30]。接种发酵过程中可以严格控制发酵温度、时间等因素, 而传统发酵随气候、温度等自然条件的变化不断改变发酵条件, 也会导致生物胺含量增加^[31]。

酪胺和组胺是发酵产品中最主要的生物胺, 美国食品药品监督管理局 (FDA) 中对水产品中酪胺和组胺的最大限量值分别为 100 和 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[5], 高于限量值将对人体产生毒性。实验结果如表 3 所示, 接种发酵组的组胺含量在 5.10~7.59 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 酪胺含量在 27.35~51.41 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 两种生物胺均在限量范围内 (组胺 $\leq 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、酪胺 $\leq 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 且低于传统发酵 G、H、I 组, 说明接种发酵有抑制酪

表 3 接种发酵和传统自然发酵酸肉生物胺含量(mg/kg)

Table 3 Content of biogenic amine in sour meat by inoculation fermentation and traditional natural fermentation (mg/kg)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
组胺	6.54±0.16 ^a	7.59±0.04 ^a	6.87±0.23 ^a	6.73±0.13 ^a	5.10±0.75 ^a	—	22.86±3.90 ^b	74.25±2.39 ^c	83.30±3.84 ^d
色胺	11.94±0.92 ^b	—	—	—	5.72±0.97 ^a	—	—	—	—
酪胺	149.99±0.66 ^f	45.63±0.82 ^c	33.54±2.26 ^{bc}	27.35±0.45 ^b	51.41±8.69 ^d	6.08±0.17 ^a	74.89±0.49 ^d	106.25±2.71 ^e	110.33±3.02 ^e
尸胺	91.59±2.83 ^c	14.71±2.20 ^a	38.33±1.32 ^b	21.33±1.39 ^a	104.78±6.24 ^f	53.17±3.06 ^c	72.23±1.12 ^d	66.19±5.91 ^d	112.19±5.45 ^f
腐胺	1002.44±22.85 ^h	107.70±15.49 ^a	173.68±2.39 ^b	118.32±16.00 ^a	707.51±11.52 ^g	588.06±0.44 ^f	411.08±8.22 ^e	341.45±35.24 ^d	265.63±0.98 ^c
精胺	574.54±14.26 ^{bc}	605.02±6.65 ^{bc}	630.54±10.69 ^c	512.04±3.92 ^b	614.72±12.07 ^{bc}	158.90±52.98 ^a	3355.78±95.51 ^e	1544.76±64.37 ^d	3543.27±29.62 ^f
亚精胺	101.74±4.91 ^{ab}	77.04±3.07 ^{ab}	100.50±8.08 ^{ab}	59.88±5.94 ^a	102.03±15.84 ^{ab}	154.99±18.43 ^b	737.00±59.10 ^d	1069.08±84.60 ^e	572.65±30.23 ^c
总量	1938.68±46.59 ^d	857.69±28.27 ^{ab}	983.45±24.96 ^b	745.65±27.82 ^a	1592.84±56.08 ^c	961.20±75.08 ^b	4673.85±168.34 ^f	3201.97±195.22 ^e	4687.37±73.14 ^f

注: —表示未检出;同行不同小写字母表示显著性差异($P<0.05$)。

胺和组胺积累的作用。色胺、尸胺、腐胺、精胺、亚精胺也被有效抑制,可能是因为发酵菌株能够产生生物胺氧化酶,从而降低生物胺含量^[32-33]。Dapkevicius等^[34]也发现乳酸菌菌株对发酵鱼中的组胺有降解作用。

传统发酵组中 H、I 组的酪胺数值 $>100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 超过限量,说明传统发酵酸肉可能存在酪胺中毒的风险。F 组的酸肉酪胺数值为 $6.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 在限定范围内且未检测出组胺。可能的原因在于发酵时间短,含有组氨酸脱羧酶和酪氨酸脱羧酶的微生物尚未发挥作用,或受到抑制,酪胺和组胺没有富集^[8]。

与传统发酵酸肉相比,接种发酵组也显著($P<0.05$)降低了尸胺、腐胺、精胺、亚精胺的积累。尸胺、腐胺含量比传统发酵组降低了 2~3 倍,精胺含量也降低了 3~5 倍,亚精胺含量降低了 5~10 倍,目前虽然没有这几种生物胺的限定值,但有研究报告,尸胺、腐胺的积累能够抑制二级胺代谢酶(如胺氧化酶)的活性从而增强酪胺和组胺的毒性。

2.6 不同酸肉样品中有害微生物分析

有害微生物的生长繁殖是酸肉腐败变质的重要原因,发酵肉制品的保质期比普通肉制品的保质期长,一部分原因是发酵能够抑制肉制品中有害微生物的增长^[35]。摄入有害微生物超标的食品会影响人体健康,医学发现:大肠杆菌和副溶血性弧菌超标会引起恶心呕吐等症状;沙门氏菌超标会导致食物中毒,诱发急性肠胃炎等;李斯特菌超标后,发病率为十万分之一但致死率高达 12.5%;假单胞菌会产生外毒素 A(PEA),这种物质可以阻碍蛋白合成,造成组织坏死;金黄色葡萄球菌感染会导致肺炎、败血症、脓毒症等。研究结果表明,六种致病菌在接种发酵组和保质期内的传统发酵组酸肉中均未检出,在 $\text{pH}<4.6$ 的酸性环境中,致病菌的生长繁殖被有效抑制。Chen 等^[36]也研究发现,传统发酵酸肉中的植物乳杆菌和葡萄球菌能够抑制肠杆菌和单核增生李斯特菌的生长繁殖。通过发酵技术对肉制品进行加工后的一定时间内,酸肉具有良好的微生物安全性。

2.7 接种发酵对酸肉中亚硝酸盐含量的影响

发酵腌制产品中会出现亚硝酸盐含量超标现

象,发酵过程中食物中部分硝酸盐会在微生物作用下还原为亚硝酸盐,亚硝酸盐在人体中在会转化成亚硝胺类化合物,这类化合物有强致癌性,食用过多含有亚硝酸盐的食物会严重影响人体健康。结果如图 5 所示,所有酸肉均明显低于 GB 2760-2014《腌腊肉制品卫生标准》规定的食品中亚硝酸盐限量值($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[37]。这表明传统发酵酸肉残留的亚硝酸盐没有食用安全风险。中国传统发酵酸肉样品中的亚硝酸盐含量在 $3.3\sim 4.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间,其中, G 组亚硝酸盐含量最高, F 组最低。与传统发酵酸肉相比可知,接种发酵能够抑制亚硝酸盐的积累, B、C、D、E 组的亚硝酸盐含量均小于 $3.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。接种的发酵剂可能抑制了还原型细菌的生长繁殖,降低了硝酸盐还原酶活性,从而减少了亚硝酸盐的形成且接种发酵组的水分含量偏低也不利于还原细菌的生长。另外,接种发酵过程中由于产生了足够的 H^+ 与 NO_2^- 反应,使亚硝酸盐还原,导致接种组的亚硝酸盐含量较低^[38]。其中,接种酵母菌的 D 组亚硝酸盐含量最低,达到 $2.129 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,可能是因为酿酒酵母发酵过程中更易产生被还原的醇,还原型微生物无法作用在硝酸盐上,从而使亚硝酸盐含量降低,并且也能抑制亚硝胺类化合物的累积^[39]。总体来看,接种发酵酸肉有更好的亚硝酸盐安全性。

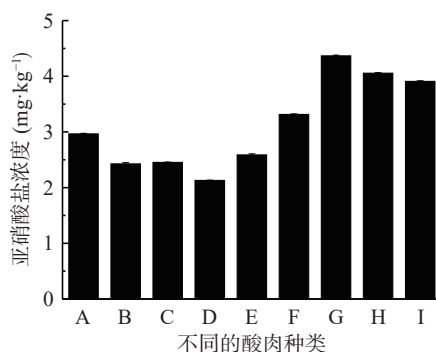


图 5 接种发酵和传统自然发酵酸肉中亚硝酸盐含量
Fig.5 Nitrite content of sour meat by inoculation fermentation and traditional natural fermentation

3 结论

4 种不同地区的传统发酵酸肉过氧化值、致病菌以及亚硝酸盐含量远远低于限量标准,但是湘西包

谷酸肉、贵州榕江酸肉以及贵州黎平酸肉存在生物胺积累的问题。接种发酵酸肉(混合接种、Lp-120 和 Sc-2018)在亚硝酸盐、生物胺、过氧化值等安全性方面均表现出一定的优越性,可以通过接种发酵提高酸肉的食用安全性,为后续酸肉的安全性研究提供理论依据,为工业化生产提供实践经验。考虑到单一接种发酵可能带来的风味和感官上的缺失,下一步可通过对其风味物质、营养指标等进行研究并辅以感官评定,进一步探究接种发酵酸肉品质的变化。

参考文献

- [1] KUMAR P, CHATLI M K, VERMA A K, et al. Quality, functionality, and shelf life of fermented meat and meat products: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(13): 2844–2856.
- [2] LYU J, YANG Z, XU W, et al. Relationships between bacterial community and metabolites of sour meat at different temperature during the fermentation[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2019, 307: 108286.
- [3] ZHANG A A, CHEN W, DUAN Y F, et al. The potential correlation between microbial communities and flavors in traditional fermented sour meat[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 149: 111873.
- [4] 李文杰, 白艳红, 陈曦, 等. 酸性蛋白酶对酸肉发酵过程中菌群结构和风味品质的影响[J]. *食品科学*, 2021: 1–18. [LI W J, BAI Y H, CHEN X, et al. Effects of acidic protease on bacterial community structure and flavor quality during sour meat fermentation[J]. *Food Science*, 2021: 1–18.]
- [5] 廖鄂. 淡水鱼发酵过程中 N-亚硝胺的形成及控制机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019. [LIAO E. Study on the formation and control mechanism of N-nitrosamine in the process of freshwater fish fermentation[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.]
- [6] WANG Y L, LI F, ZHUANG H, et al. Effects of plant polyphenols and α -tocopherol on lipid oxidation, residual nitrites, biogenic amines, and N-nitrosamines formation during ripening and storage of dry-cured bacon[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 60(1): 199–206.
- [7] DE M E, DE K K, DE M H, et al. The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation[J]. *Meat Science*, 2014, 96(2): 821–828.
- [8] WANG X H, REN H Y, WANG W, et al. Effects of a starter culture on histamine reduction, nitrite depletion and oxidative stability of fermented sausages[J]. *Journal of Food Safety*, 2016, 36(2): 195–202.
- [9] ZHANG Y, HU P, XIE Y, et al. Co-fermentation with *Lactobacillus curvatus* LAB26 and *Pediococcus pentosaceus* SWU73571 for improving quality and safety of sour meat[J]. *Meat Science*, 2020, 170: 108240.
- [10] 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.
- [11] 曾雪峰. 淡水鱼发酵对酸鱼品质影响的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013. [ZENG X F. Study on the effect of freshwater fish fermentation on sour fish quality[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.]
- [12] KIM J Y, KIM D, PARK P, et al. Effects of storage temperature and time on the biogenic amine content and microflora in Korean turbid rice wine, makgeolli[J]. *Food Chemistry*, 2011, 128(1): 87–92.
- [13] 孙颖璞. 发酵酸鱼贮藏过程中品质变化及控制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020. [SUN Y Y. Study on quality change and control of fermented sour fish during storage[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020.]
- [14] 尚永彪, 夏杨毅, 吴金凤. 传统腊肉低温熏烤过程中脂质氧化及物理化学、感官品质指标的变化[J]. *食品科学*, 2010, 31(7): 33–36. [SHANG Y B, XIA Y Y, WU J F. Lipid oxidation and physicochemical and sensory quality of traditional cured meat during low temperature smoking[J]. *Food Science*, 2010, 31(7): 33–36.]
- [15] GABRIELLA G, SUSANNA B, MONICA L, et al. Evolution of physicochemical, morphological and aromatic characteristics of Italian PDO dry-cured hams during processing[J]. *European Food Research and Technology*, 2015, 242(7): 1117–1127.
- [16] NIE X H, ZHANG Q L, LIN S L. Biogenic amine accumulation in silver carp sausage inoculated with *Lactobacillus plantarum* plus *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Food Chemistry*, 2014, 153: 432–436.
- [17] CHEN X, LI J, ZHOU T, et al. Two efficient nitrite-reducing lactobacillus strains isolated from traditional fermented pork (Nanx Wudl) as competitive starter cultures for Chinese fermented dry sausage[J]. *Meat Science*, 2016, 121: 302–309.
- [18] 高慢慢, 焦新雅, 张志胜, 等. 侗族传统发酵酸肉中乳酸菌的筛选、发酵特性及安全性分析[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(12): 94–99. [GAO M M, JIAO X Y, ZHANG Z H, et al. Screening, fermentation characteristics and safety analysis of Lactic acid bacteria in Dong traditional fermented sour meat[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(12): 94–99.]
- [19] ZENG X F, XIA W S, JIANG Q X, et al. Chemical and microbial properties of Chinese traditional low-salt fermented whole fish product Suan yu[J]. *Food Control*, 2013, 30(2): 590–595.
- [20] GIELLO M, LA S A, DE F F, et al. Impact of *Lactobacillus curvatus* 54M16 on microbiota composition and growth of *Listeria monocytogenes* in fermented sausages[J]. *Food Microbiology*, 2018, 72: 1–15.
- [21] CHEN Q, KONG B, HAN Q, et al. The role of bacterial fermentation in the hydrolysis and oxidation of sarcoplasmic and myofibrillar proteins in Harbin dry sausages[J]. *Meat Science*, 2016, 121: 196–206.
- [22] 陈曦, 许随根, 周彤, 等. 贵州酸肉中的植物乳杆菌对发酵香肠风味和品质特性的影响[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(6): 174–182. [CHEN X, XU S G, ZHOU T, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* from Guizhou sour meat on flavor and quality characteristics of fermented sausage[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2018, 18(6): 174–182.]
- [23] 杨滔, 张晓东, 刘红梅, 等. 不同发酵剂对发酵猪肉香肠品质的影响[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(1): 101–109. [YANG T,

- ZHANG X D, LIU H M, et al. Effect of different starter on quality of fermented pork sausage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(1): 101–109.]
- [24] 赵延宁, 王玉, 王睿迪, 等. 市售咸干鲛鱼的安全性分析[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(14): 215–220. [ZHAO Y N, WANG Y, WANG R D, et al. Safety analysis of salt-dried Spanish mackerel in market[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(14): 215–220.]
- [25] 卫飞, 赵海伊, 余文书. 酸肉的营养价值及安全性研究[J]. *粮食科技与经济*, 2011, 36(4): 54–56. [WEI F, ZHAO H Y, YU W S. Study on nutritional value and safety of sour meat[J]. *Grain Science and Technology and Economy*, 2011, 36(4): 54–56.]
- [26] 廖杰, 陈康, 宋恭帅, 等. 不同温度处理对烟熏鲟鱼片品质的影响[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(5): 92–99. [LIAO J, CHEN K, SONG G S, et al. Effects of different temperatures on quality of smoked sturgeon fillet[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(5): 92–99.]
- [27] 刘英丽, 于青林, 万真, 等. 发酵剂抗氧化活性对发酵肉制品品质的影响研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(1): 302–312. [LIU Y L, YU Q L, WAN Z, et al. Research progress on effects of antioxidant activity of starter on quality of fermented meat[J]. *Food Science*, 2021, 42(1): 302–312.]
- [28] 王新惠, 张莹, 王卫, 等. 四川腌腊肉制品食用安全性分析[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(24): 49–52. [WANG X H, ZHANG Y, WANG W, et al. Food safety analysis of preserved meat products in Sichuan[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(24): 49–52.]
- [29] KIM H S, HUR S J. Effect of six different starter cultures on the concentration of residual nitrite in fermented sausages during *in vitro* human digestion[J]. *Food Chemistry*, 2018, 239: 556–560.
- [30] SIMION A 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.
- [31] 王丹, 孙学颖, 刘建林, 等. 发酵肉制品中微生物对生物胺形成机理的影响研究[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(8): 218–224. [WANG D, SUN X Y, LIU J L, et al. Study on the effect of microorganisms in fermented meat products on the mechanism of biogenic amine formation[J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(8): 218–224.]
- [32] 段君雅, 刘傲兵, 吕蒙, 等. 功能性发酵剂在发酵香肠中的应用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(3): 456–462. [DUAN J Y, LIU A B, LYU M, et al. Research progress on the application of functional starter in fermented sausage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(3): 456–462.]
- [33] GARDINI M, MARTUSCELLI I, CRUDELE M A, et al. Biogenic amine formation and oxidation by *Staphylococcus xylosus* strains from artisanal fermented sausages[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2000, 31: 228–232.
- [34] DAPKEVICIUS M L E, SGARDIOLI B, CAMARA S P A, et al. Current trends of enterococci in dairy products: A comprehensive review of their multiple roles[J]. *Foods*, 2021, 10(4): 821.
- [35] 马健聪. 有害微生物在植物发酵食品中存在的食品安全性研究[J]. *食品安全导刊*, 2020, 24: 7. [MA J C. Research on food safety of harmful microorganisms in plant fermented food[J]. *Food Safety Guide*, 2020, 24: 7.]
- [36] CHEN X, MI R, QI B, et al. Effect of proteolytic starter culture isolated from Chinese Dong fermented pork (Nanx Wudl) on microbiological, biochemical and organoleptic attributes in dry fermented sausages[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2021, 10(1): 13–22.
- [37] XIA Y J, LIU X F, WANG G Q, et al. Characterization and selection of *Lactobacillus brevis* starter for nitrite degradation of Chinese pickle[J]. *Food Control*, 2017, 78: 126–131.
- [38] XIONG T, LI J B, LIANG F, et al. Effects of salt concentration on Chinese sauerkraut fermentation[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 69: 169–174.
- [39] DONG H, LI H, LIANG M, et al. Rapid determination of nine N-nitrosamines in dry-cured mackerel (*Scomberomorus niphonius*) using salting out homogeneous phase extraction with acetonitrile followed by GC-MS/MS[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 130: 109716.