

以植物乳杆菌和戊糖片球菌为 发酵剂的发酵香肠工艺研究

杨秀娟 王艳梅 马丽珍

(华南热带农业大学环境与植物保护学院 海南儋州 571737)

摘要: 以植物乳杆菌和片球菌混合作为发酵香肠的发酵剂,通过接种量,发酵温度,菌种配比三项指标并通过正交实验测定比较不同配比发酵剂的发酵香肠的产品质量。结果表明:接种量8%,33℃发酵,植物乳杆菌与戊糖片球菌的比例1:1为最佳比例。

关键词: 植物乳杆菌;戊糖片球菌;发酵香肠;工艺

Abstract: Mixing with *Lactobacillus plantarum* and the *Pediococcus pentosaceus* as starter culture of fermented sausage. The best result that determined by three factors orthogonal test were inoculator scale 8%, ferment tempreture 33℃, *Lactobacillus plantarum* to *Pediococcus pentosaceus* ratio 1:1.

Key words: *Lactobacillus plantarum*; *Pediococcus pentosaceus*; fermented sausages; technology

前言

发酵肉制品是指盐渍肉在自然或人工控制条件下,借助微生物发酵作用,产生具有特殊风味、色泽和质地及具有较长保存期的肉制品。肉品通过微生物的发酵,肉中蛋白质分解为氨基酸,大大提高了其消化性;同时人体必需氨基酸、维生素和双歧杆菌素增加,使营养性和保健性增强;微生物发酵分解蛋白质为氨基酸尚可进一步形成大量香味成分,从而使产品具有特有风味。肉品中大量有益微生物的存在,可起到对致病菌和腐败菌的

竞争性抑制作用,从而保证产品安全性,延长产品货架寿命;微生物的生理活动有利于减少亚硝酸盐的含量,提高产品的安全性。发酵肉制品作为传统肉制品中的一种,因其独特的风味、良好的耐贮性及乳酸菌食品的功能特性受到世界各地人民的欢迎。我国发酵肉制品的生产具有悠久的历史,如中外驰名的金华火腿、宣威火腿以及品质优良的中式香肠等与民间传统发酵肉制品,但其加工方法为自然发酵,生产周期较长,且产品质量不易控制,所以近年来,许多研究人员利用纯微生物发酵剂生产发酵香肠,以保证产品质量和安全性。由于发酵香肠中接种的微生物一般为乳酸菌、微球菌等益生菌,对于预防心血管疾病和维持肠道的正常生理功能具有重要的保健作用。近年在欧美等国的生产、消费不断增长。河南双汇集团为了提高肉制品加工水平,更好地和国际接轨,也提出了“发酵肉制品开发”这一课题,并被列为“十五”国家重大科技攻关项目。由此也预示着发酵肉制品将有着广阔的市场前景。因此,鉴于我国肉类生产现状和国内发酵肉制品的生产状况,以及人们对档次高、产品风味独特且具有保健作用的新型产品的需求,在吸收西式发酵肉制品技术的基础上,利用优良微生物发酵剂开发适合中式风味、物美价廉的发酵香肠及肉制品是一项很有经济意义的工作。

1 材料与方法

1.1 实验材料与设备

1.1.1 供试菌种:植物乳杆菌(*L. plantarum*)、戊

糖片球菌 (*P. pentosaces*) 均来自北京农业大学食品微生物实验室。

1.1.2 肉: 购自超市的新鲜羊瘦肉和猪背膘

1.1.3 肠衣: 购自石家庄华茂肠衣有限公司

1.1.4 添加剂: 低聚糖、葡萄糖酸- δ -内酯、食盐、味精、葡萄糖、白糖、白酒、香辛料等均为市售优品。

1.1.5 主要仪器设备: 高压蒸汽杀菌锅、超净工作台、恒温培养箱、冰箱、电子天平、小型绞肉机、小型灌肠机、HANNA pH211 型酸度计、温度计、滴定管、微量凯氏定氮装置等。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵香肠加工工艺流程

复合盐 肥肉丁、香辛料

↓ ↓

原料肉预处理→绞碎→腌制→拌料→接种→灌肠→培养发酵→终止发酵→真空→包装→成品

1.2.2 发酵香肠最佳发酵工艺的确定

通过前面的实验得出, 发酵温度和接种量是影响发酵工艺的两个主要因素。所以本实验采用 $L_9(3^4)$ 正交设计, 对发酵温度、接种量和菌种配比分别设定三水平, 并添加低聚糖和葡萄糖酸内酯各 0.48%, 在 86% 的相对湿度下发酵 48h, 以感官评分, 结合 pH 值作为指标, 确定三因素的最佳配比。

1.2.3 终止发酵的方法确定

香肠发酵结束后要尽快终止发酵。终止发酵的方法直接关系到香肠后熟的风味以及产品的质地、颜色^[14]。本研究采用低温 (15℃) 和烘烤 (50℃) 两种方法, 以香肠 pH 值趋于稳定为终止点, 根据感官评定选出较优的发酵终止方法。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 水分的测定

常压干燥法, 按 GB5009.3-85 执行。

1.3.2 pH 值的测定^[15]

取肉样 10g, 捣碎后加 90ml 蒸馏水, 浸提 20min 后, 滤取上清液用酸度计测定。

1.3.3 感官评定方法

由食品教研室专业教师和学生组成感官评定小组, 采用百分制对产品质量打分, 评定标准如下:

色泽	质地	切片性	风味	肠体质量
15	25	20	25	15

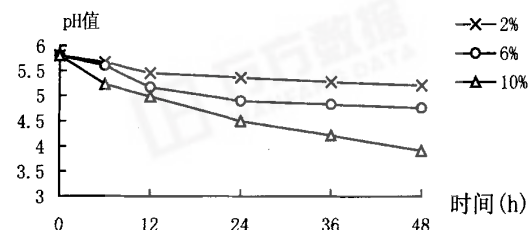
2 结果与分析

2.1 影响发酵工艺的各因素及其水平的确定

2.1.1 接种量

采用三组接种量: 2%、6%、10%, 30℃ 培养发酵, 连续测定 pH 值, 结果见图 4。

图 1 接种量对香肠 pH 值的影响



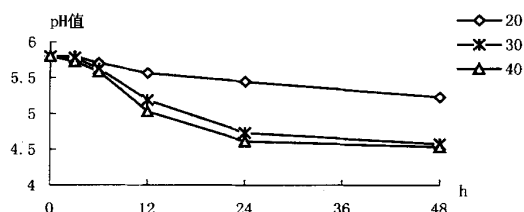
由图 1 可以看到: 接种量不同, 发酵产酸速度不同, 接种量越大, 产酸速度越快。2% 组和 6% 组分别在发酵 12h 和 6h 后, 产酸速度加快, 24h 后, 两组 pH 值分别降到 5.4 和 5.1 附近; 10% 组接种后 pH 几乎呈直线下降, 12h 后, pH 值降为 4.79。但 6% 组 pH 值下降速度较慢, 10% 组产酸速度快, 产品酸味强烈, 色泽暗。因此, 接种量应以 6% ~ 10% 为宜。

2.1.2 发酵温度

发酵条件特别是发酵温度对发酵进程起决定性影响。总的原则是较低温度 (尤其是起始温度) 发酵而又需达较快的酸化速度, 则应比较高温时选用更快速酸化的微生物发酵剂, 如果发酵温度低于 20℃ 则利于肉本身含有的耐冷菌大量生长, 这对产品的感官质量大为不利。

采用三组发酵温度: 20℃、30℃、40℃, 接种量 8%, 发酵 48h, 连续测定 pH 值, 结果见图 2。

图 2 发酵温度对香肠 pH 值的影响



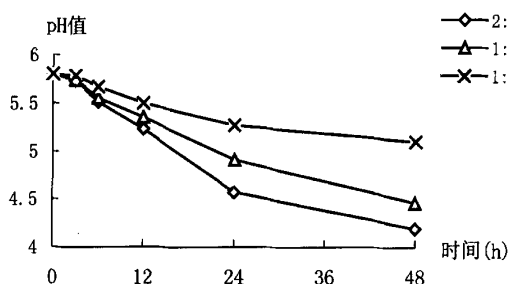
由图 2 可知: 当发酵温度为 20℃ 时, 发酵 24h 后产酸速度才开始加快, 这是因为其中的乳酸菌在低温下生长缓慢, 产酸性能低所致; 当发酵温度为 30℃ 或 40℃, 均在发酵 6h 后产酸速度加快, 且具有相同的趋势。但 40℃ 时, 由于发酵温度较高, 易引起其它杂菌的生长^{[18][17]}。所以结合本研究所用

发酵剂的特点以及发酵香肠生产工艺的要求,宜采用30℃作为发酵温度。

2.1.3 菌种配比

混合菌种的比例不仅影响产酸速度,而且对发酵香肠的感官质量有重要作用。本实验对植物乳杆菌和戊糖片球菌采用2:1、1:1和1:2三个比例,接种量8%,在30℃发酵48h,连续测定其pH值,见图3。

图3 菌种比对香肠pH值的影响



由图3可知,1:2比例的实验组,香肠pH值下降缓慢,发酵结束时,pH值仍在5.0以上。而2:1的实验组,由于杆菌比例太大,导致pH值下降速度较快,最终产品会出现强烈的酸味,而掩盖其它风味。1:1的实验组,pH值下降比较平稳,且在24h内,降到5.0左右,可起到抑制杂菌的作用,所以可认为是较好的比例。

2.2 发酵工艺的研究

发酵工艺是发酵香肠生产的关键工艺,决定了整个生产过程的成败和产品质量。所以本实验利用植物乳杆菌和戊糖片球菌为发酵剂,添加低聚糖和葡萄糖酸- δ -内酯各0.48%,在86%的相对湿度下,选择对香肠pH值影响较大的接种量、发酵温度和菌种配比3个因素,根据 $L_9(3^4)$ 正交表(表1)进行正交实验,以感官评定作为考察指标,对其k值作图(图4)分析,选出最优组合,即最佳发酵工艺。

表1的极差分析及图4表明,各因素对发酵产酸的影响大小顺序为:接种量>温度>菌种配比,理论上最佳组合为A2B2C1,这与实际得出的最佳配比A2B2C3不一致。但通过验证实验得出,A2B2C1组的总体感官质量优于A2B2C3组,

且A2B2C1组产品pH值为4.69,符合要求范围(4.6~4.8)。因此选择A2B2C1即接种量8%,33℃发酵,植物乳杆菌与戊糖片球菌的比例1:1作为最佳组合。据此工艺生产的香肠,颜色红、酸味柔和、无膻味、肠体饱满、质地致密。

因素 实验号	接种量(%) A	温度(℃) B	组合菌种配比 C	感官 评分	pH 值
1	1(6)	1(30)	1(1:1)	65	5.19
2	1	2(33)	2(1:2)	75	5.23
3	1	3(36)	3(2:3)	70	5.17
4	2(8)	1	2	78	4.94
5	2	2	3	95	4.71
6	2	3	1	88	4.68
7	3(10)	1	3	70	4.68
8	3	2	1	85	4.75
9	3	3	2	80	4.74
K_{1j}	210	213	238		
K_{2j}	261	255	233		
K_{3j}	235	238	235		
$\bar{K}_{1j}$	70	71	79		
$\bar{K}_{2j}$	87	85	77		
$\bar{K}_{3j}$	78	79	78		
R	17	14	2		

表1 正交实验结果

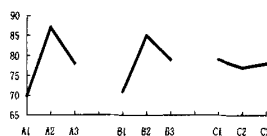


图4 三因素不同水平与实验指标的关系图

2.3 终止发酵的方法

香肠发酵结束后要尽快终止发酵。终止发酵的方法直接关系到香肠后熟的风味以及产品的质地、颜色。本研究采用低温(15℃)和烘烤(50℃)两种方法(表2),以香肠pH值趋于稳定为终止点。

方法	低温(15℃)	烘烤(50℃)
终止时间	24h	6h
终止前水分(%)	73.8	73.8
终止后水分(%)	58.3	57.4
最终pH值	4.68	4.75
感官质量	肠体饱满,颜色鲜艳,有酸味,无羊膻味,切片性好,有弹性	肠衣有皱缩,颜色深红,无羊膻味,香味浓,有酸味,质地较硬

表2 终止发酵的方法对产品品质的影响

由表2可以看出,高温烘烤6h,pH值已趋于稳定,而低温需要24h。但低温终止发酵,水分下降缓慢,肠体饱满,有酸味,且保持了发酵肠原有的色泽和风味;采用烘烤方法,水分下降迅速,肠衣有轻微皱缩,颜色深红,且会使部分乳酸菌灭活,因而导致产品耐藏性差。因此,本实验采用低温(15℃),24h终止发酵。

3 结论

3.1 以植物乳杆菌和戊糖片球菌的混合菌为发酵剂制作发酵香肠的最佳发酵工艺为：低聚糖添加量 0.48%，葡萄糖酸- δ -内酯添加量 0.48%，接种量 8%，发酵温度 33℃，相对湿度 86.3%，植物乳杆菌与戊糖片球菌的最佳比例为 1:1，发酵 48h。

3.2 终止发酵宜采用低温终止方法，即在 15℃下，24h 终止发酵。

4 讨论

我国是一个肉类产销大国，在吸收西式发酵肉制品技术的基础上，结合我国传统发酵的加工工艺，利用优良的微生物发酵剂开发出适合中式风味的发酵香肠，是国内肉制品的发展重要途径。本次实验结合我国传统发酵技术，从菌种、工艺优化方面开发研究乳酸菌发酵制作具有独特风味，符合中国人饮食文化的发酵香肠制作具有较大的市场发展前景。

4.1 乳酸的生成即 pH 值的降低对发酵香肠的感官特性有特殊的重要意义。因为乳酸的酸味能够掩盖其它风味，有时可用于提高产品的咸味，降低氯化钠的用量；另外，较低的 pH 值会限制肉中蛋白质和脂肪水解酶类的活性，并改变产品的最终风味^[6]。影响发酵香肠 pH 值有很多因素，如原料中的碳水化合物、发酵剂的产酸能力、发酵温度、水分含量等。本实验主要研究了发酵温度、接种量及菌种配比对香肠 pH 值的影响。

4.2 此试验中的发酵剂使用的菌种为植物乳杆菌和戊糖片球菌。植物乳杆菌 (LP) 是典型的兼性厌氧菌，最佳生长温度是 30~35℃，耐盐，能发酵各种碳水化合物，并具有与其他乳酸菌配合使用制作发酵香肠的特点，产酸能力强，不能还原硝酸盐，pH3.5 时还能生长，完全符合作为香肠发酵剂的各项要求，是一种理想的肉用乳酸菌。片球菌属于乳酸菌属，显微镜观察呈四连球菌或链对存在。此菌是兼性厌氧菌，但对氧的耐受性变化很大，片球菌通过 EMP 途径发酵葡萄糖，产生 L-型和 DL-型乳酸，发酵的最终产物大部分是乳酸。而在实验中，可以看到 pH 随发酵时间的延长而不断下降，得出结论：乳酸菌的大量生长不仅夺取了其它不利菌繁殖所需的营养源和场地，而且代谢所产生的乳杆菌素和乳酸，可直接有效抑制各种腐败菌

和病原菌，微生物发酵产酸所致的酸化，使 pH 成为防腐保质的重要栅栏^[13]。

4.3 有研究发现，只有乳酸菌在整个发酵和成熟过程中占有绝对优势，才能抑制有害菌生长。要保证乳酸菌自始至终成为优势菌，首先要解决生产过程中杂菌的污染情况。众多研究发现^[16]，原料中污染金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 浓度在 10^4 cfu/g 以下，添加乳酸菌能阻止 *S. aureus* 增殖，但当浓度超过 10^5 cfu/g 时，添加乳酸菌就不能阻止其增殖；还有研究发现，一般原料肉中污染的各种微生物数约 $10^4 \sim 10^6$ cfu/g，若在允许时间内 pH 值降到 5.3 以下，就能完全抑制各种杂菌的生长。本实验选择了 2%、6% 和 10% 三组接种量生产发酵香肠。其中 6% 组和 10% 组的 pH 值均能在允许时间内降到 5.3 以下。从产品感官质量分析发现，接种 10% 产生的酸味强；6% 组产品风味柔和，但没有明显的酸味。所以，宜采用的接种量在 6%~10% 之间。

4.4 实验发现，发酵温度控制在 30℃左右时，对发酵剂中乳酸菌在香肠中的生长繁殖均有利，并能抑制腐败菌和致病菌的生长，这一结果与加藤文雄 (1991) 的实验结果相符。在一定温度范围内发酵时间与温度成反比。美国肉类行业 1982 年颁布的发酵香肠生产的 GMP 指南中规定了发酵香肠在一定温度下 pH 值达到 5.30 所需要的极限时间。比如，38℃ 时产品 pH 值达到 5.3 的极限时间是 1d；30℃ 时极限时间是 2d；20℃ 时的极限时间是 4d，否则产品的安全性就难以保证。另外，美国肉类行业在干香肠加工过程中发现当 pH 值小于 5.3 时，金黄色葡萄球菌生长受到抑制，所以，必须控制从香肠发酵到 pH 值降为 5.3 的时间^[7]。本实验条件下，发酵温度为 30℃ 时，在 24h 之内 pH 值降为 5.3 以下，产品完全达到了质量要求并很好地控制了腐败菌的生长。

4.5 在发酵香肠中，许多乳杆菌可产生硝酸还原酶和亚硝酸还原酶，亚硝酸还原酶可分为两种，一种是依赖于血红蛋白的亚硝酸还原酶，其中产物是 NH_3 ，另一种是不依赖于血红蛋白的亚硝酸还原酶，其终产物是 N_2O 和 NO ，有助于颜色的形成。实践表明，若仅仅依靠乳杆菌的亚硝酸还原酶的作用，颜色的形成缓慢而且不充分，造成颜色的缺陷^{[13][6]}。虽然我国发酵肉制品有着悠久的历史，但普遍存在着设备简陋，手工作坊式生产，卫生条件差，无

优质发酵剂,无统一加工技术标准等问题,有关于发酵香肠的工艺配方还有待于我们进一步研究,相信在不久的将来,消费者即将得到既保持良好风味又符合食品卫生要求、更营养美味、适口的发酵香肠。

参考文献

- [1] 罗欣等.发酵剂微生物及其代谢与发酵香肠的工艺控制[J].食品发酵工业,2002,(3):67~71.
- [2] 刘云鹤,何煜波.肉品发酵剂增殖培养及培养条件的研究[J].湖南农业大学学报,2002,(3):234~236.
- [3] 郭锡铎.我国发酵肉制品研究进展与未来[J].市场分析与前景,2004,(5):1~4.
- [4] 李宗军,江汉湖.肉品微生态系统与肉类发酵及研究[J].食品与发酵工业,2001,(28):54~59.
- [5] 何煜波.乳杆菌属发酵过程中变化的研究[J].肉类工业,2002,(5):23~28.
- [6] 杨宁.发酵剂在发酵肉制品加工中的应用[J].肉类工业,2004,(6):7~9.
- [7] 周传云,聂明,万佳蓉.发酵肉制品的研究进展[J].食品与机械,2004,(2)27~30.
- [8] 徐光域,王卫,郭晓强.发酵香肠加工中的发酵剂及其应用进展[J].食品科学,2002,(8):306~310.
- [9] 刘军昌,李峰.发酵香肠生产的微生物及其进

展情况[J].肉类专题,2004,(10):18~20.

- [10] 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.
- [11] 王永霞,牛天贵,郝华昆.肉品发酵剂葡萄球菌合围球菌的筛选[J].食品发酵工业,2004,(9):41~44.
- [12] 吴祖兴.乳酸菌在发酵香肠中的应用研究[J].工艺技术,2002,(8):55~57.
- [13] [英]Brian J.B.Wood 主编.徐岩译.发酵食品微生物学[M].中国轻工业出版社,2001,(1):344~345.
- [14] Sorensen,B.B.and Jakobsen,M.The Combined effects of environmental conditions related to meat fermentation on growth Lipase production by the starter culture staphylococcus xylosum [J].Food Micro.,1996,(13):265~274.
- [15] 朱俊晨.中式发酵香肠用发酵剂混合菌种的研究[J].食品与发酵工业,2002,(5):17~19.
- [16] Silvana Barbuti and Giovanni Parolari.Validation of manufacturing process to control pathogenic bacteria in typical dry fermented products[J].Meat Sci.,2002,(62):3
- [17] Hammes,W.P.,Bantleon,A.Lactic acid bacteria in meat fermentation[J].Food Micro.,1990,(87):165~174.
- [18] Friedrich-Karl Lucke.Utilization of microbes to process and preserve meat[J].Meat Sci.,2000,(56):105~115.

(上接第13页)

类),机械去骨肉易受氧化变质。在我们的研究中,由于取样和分析的周期短,我们测得TBA值未受去骨方法的影响。

机械去骨致使牛肉中L值较低。HDB样本较MDB样本高。因为含有较多的骨髓成分使MDT样本a*值较高。MDT较其他的肉样本亮(b*值较低)。Field报道骨髓中原血红素的混入和结缔组织的剔除是MDM比HDM具有更加明亮红色的原因。Demos和Mandigo发现机械去骨牛颈部具有较高a*值的类似结果。

因受使用特定畜体部位的影响,去骨肉样本中的脂肪酸成分种类广泛。对牛和火鸡样本来讲,

机械去骨方法导致了单不饱和酸的增加,但对多不饱和酸的比例则没有影响。据Baggio报道,鸡翅、腿和胸的总脂质水平没有明显区别,但鸡皮脂肪酸成分含量最高,尤其是单不饱和脂肪酸。机械去骨火鸡肉样本中的多不饱和脂肪酸(PUFA)比例和Wong所报道的碾碎火鸡肉的相似(24.6到32.5%)。从所获的结果可得出这样的结论:机械去骨和人工去骨牛肉和火鸡肉的化学成分有明显区别,MDB中的骨含量也要较MDT中高。作为鲜肉加工的副产物,机械去骨火鸡肉是低廉、未被充分使用的,并具有高的营养价值和蛋白质功能。MDT和MDB可以用于肉制品的商业加工。

来源: Turk J Vet Anim Sci 29 (2005) 797-802