

发酵肉制品中常用微生物发酵剂

张雪梅, 杨 勇

(四川农业大学 食品学院, 四川 雅安 625014)

摘 要: 对微生物发酵剂的起源及发展, 以及发酵肉制品中常用的微生物发酵剂进行了介绍, 并综述了国内外微生物发酵剂菌种的研究现状, 提出了其发展前景与展望。

关键词: 发酵肉制品; 微生物发酵剂; 研究进展

Microbial Culture Starters in Fermented Meat Products

ZHANG Xuemei, YANG Yong

(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: The article introduced the origin, development and types of the microbial culture starters in fermented meat products. And the research status of microbial culture starters at home and abroad was also reviewed. In the end, the prospect was raised.

Key words: fermented meat products; microbial culture starters; research status

中图分类号: TS201.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-8123(2009)08-0037-05

发酵肉制品指盐渍肉在自然或人工控制条件下, 借微生物发酵作用, 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^[1]。发酵肉制品目前主要分为发酵香肠和发酵火腿两大类。在欧美等国, 发酵肉制品主要指干或半干香肠。在我国, 传统的发酵肉制品具有悠久的历史, 如驰名中外的金华火腿、宣威火腿、如皋火腿, 但其发酵作用主要是自然发酵, 靠原料肉自身微生物菌群中的乳酸菌与杂菌的竞争作用, 生长周期长, 产品质量难以控制。为了确保产品的风味特色、质量, 缩短生产周期, 早期的自然发酵已经被人工接种所取代, 目前世界上许多国家如意大利、美国、西班牙已进行了发酵肉制品的人工发酵工业化生产, 并具有相当的规模^[2]。从发酵和腌制肉品中分离出的微生物来看, 常用的微生物^[3, 4]主要有: 乳杆菌属、链球菌属、片球菌属、微球菌属、青霉菌属和酵母菌属等。筛选优良肉制品发酵微生物是接种发酵的基础, 其中乳酸菌、微球菌和非致病性葡萄球菌是接种发酵最常使用的菌种。

1 微生物发酵剂的起源及发展

Hammes (1995)对发酵剂作了如下定义: 是指含有活的或休眠微生物的制品, 并能够在发酵基质中进行理想的新陈代谢活动。发酵剂的种类及其作用过程决定着发酵肉制品的最终品质。不同品种的发酵剂, 其微生物发酵特性各异。微生物作用所产生的代谢产物也影响着成品的特性。

在20世纪50年代后期, 发酵香肠的生产采用自然发酵的方法, 将一小块已经发酵过的产品作为发酵引子用于下次的发酵生产中。自然发酵法主要是靠原料肉微生物区系中的乳酸菌与杂菌的竞争作用, 当原料配方及制作中各种条件适宜乳酸菌生长时, 乳酸菌占优势, 产品则具有良好的风味; 而当杂菌生长占优势时, 则质量下降, 甚至完全腐败变质^[5]。由于自然发酵过程的可控性较差, 现代加工工艺开始采用微生物纯培养物, 即发酵剂来实现对发酵过程的有效控制, 缩短了生产时间, 产品的安全性和产品质量的稳定性也得到保证^[6]。

收稿日期: 2009-06-22

时至今日, 发酵剂的发展可以分为两代: 第一代发酵剂是由植物中分离的乳酸菌构成, 主要包括 *Lactobacillus plantarum* 和 *Pediococcus pentosaceus*; 第二代是由肉中分离纯化的乳杆菌 (*L. sake*, *L. curvatus* 等) 构成的, 更符合肉类发酵的生物学特征^[7]。

2 发酵肉制品中常用的微生物发酵剂

在肉制品的自然发酵过程中, 起发酵作用的微生物主要有3类, 细菌、霉菌和酵母。随着商业化肉品发酵剂的发展, 用于肉类发酵的发酵剂培养物的品种日益丰富。目前, 商业化肉品发酵剂培养物主要包括乳杆菌属、微球菌、葡萄球菌、酵母及霉菌等^[8]。

2.1 乳杆菌

乳杆菌为革兰氏阳性菌, 是最早从发酵肉制品中分离出来的微生物, 而且在目前的自然发酵过程中它仍占主导地位。用乳杆菌^[9, 10]作发酵剂制作发酵香肠, 其主要作用是将发酵肉中的碳水化合物(如发酵肉生产所添加的葡萄糖等)分解成乳酸而使pH值降低, 抑制一些制腐微生物的生长, 减少腐败, 改善肉制品的组织结构, 促进发色, 降低亚硝酸盐残留量。同时还可以减少亚硝胺的形成, 抑制病原微生物的生长和毒素的产生, 提高制品的营养价值, 促进良好风味的形成等。

近年来, 研究人员对肉制品乳酸发酵的理化特性变化研究表明, 蛋白酶、脂酶的存在是风味产生的前提。据国外的研究, 主要的蛋白酶活性实际上是来自肉自身的蛋白酶, 而乳杆菌中所富含的脂酶, 则对风味的产生有直接影响。进一步研究发现, 乳酸菌中清酒乳杆菌和弯曲乳杆菌可产生乳杆菌素, 抑制许多有害菌生长, 提高产品安全性。

2.2 球菌

球菌^[11, 12]是应用于发酵肉制品中主要的细菌之一。其中片球菌的主要作用是抑制污染的杂菌生长, 每克原料肉中添加 $10^6 \sim 10^7$ cfu/g片球菌就可以保证生产出的发酵肠质地和风味一致, 无异味、无腐败, 提高产品保藏性和食用安全性。另外片球菌在发酵过程中代谢产物可使肉蛋白质发生特有变化, 并使肠具有独特风味, 这种风味不能用化学试剂调制出来。

微球菌和葡萄球菌对发酵香肠的生产环境有较好的适应性, 能耐受高浓度的盐及亚硝酸盐, 对腌熏和干制等处理工艺有较强抗性。作为肉品发酵剂的微球菌和葡萄球菌应具有还原硝酸盐和分解蛋白质、脂肪及 H_2O_2 的能力, 从而确保发酵成品的良好色泽和风味。

葡萄球菌和微球菌在发酵香肠的生产过程中, 会产生硝酸盐和亚硝酸盐降解酶。硝酸盐在硝酸盐降

解酶的作用下, 最终产生NO, 赋予产品亮红色。研究中发现, 在香肠中添加的肉糖葡萄球菌浓度为 10^7 个/g时, 产生的硝酸盐降解酶可还原200mg/kg的硝酸盐^[13]。在发酵过程中, 部分乳酸菌产生 H_2O_2 。 H_2O_2 会导致高铁血红素及胆绿素的形成, 从而影响香肠的风味及品质。而对 H_2O_2 酶呈阳性的葡萄球菌能还原 H_2O_2 , 阻断了过氧化物的形成, 避免了香肠品质的下降。

微球菌和葡萄球菌在发酵和成熟过程中具有降解蛋白质和脂肪的能力, 降解产物在干发酵香肠的特征风味形成中起了重要作用。改变葡萄球菌或微球菌培养物的接种量, 能完善发酵香肠的风味特征。Stahnke 等(2002)在研究中发现, 接种葡萄球菌 *Staph. carnosus* 833的香肠的成熟时间比对照组提前两周。同时成品具有较高的醇、醛及甲基酮含量^[14]。Garcia-Varona, M(2000)也发现, 木糖葡萄球菌和肉糖葡萄球菌能产生酯和其他来自氨基酸的重要风味成分^[15]。

2.3 酵母菌

酵母菌^[4, 9, 16, 17]在发酵肉的生产制备中, 主要是应用于干发酵香肠的加工。汉逊氏德巴利酵母菌是最常用的种类, 其主要作用是生长时逐渐耗尽肠馅空间中残存的氧, 从而降低pH值, 抑制酸败以及有利于发色的稳定性, 也具有分解脂肪和蛋白质, 形成过氧化氢酶并使产品产生酵母味, 同时酵母菌分解碳水化合物产生的醇与乳酸菌作用产生的酸反应生成酯, 具有酯香味。因此对改善产品风味, 延缓酸败有益。法国有一种发酵香肠, 将酵母接种于香肠表面生长, 使产品外表披上一层“白衣”, 是深受当地人喜爱的地方风味产品^[18]。

Olesen & Stahnke (2000)发现酵母可分解支链氨基酸产生数种风味物质, 如酯和醇^[19]。但由于发酵香肠中所添加的大蒜及其他发酵微生物对其有抑制作用, 酵母在发酵成熟阶段对香肠感官品质的影响较小^[19]。

近年研究表明, 金华火腿中也存在酵母($10^3 \sim 10^5$ cfu/g), 但尚未进行具体的分类研究。今后应加强这方面的研究和应用工作, 分离筛选出适宜的酵母新菌株, 应用于肉制品发酵剂生产中。

2.4 霉菌

霉菌^[20, 21]是好氧菌, 在发酵肉制品中主要分布在表面和紧接表面的下层部分, 它可在生长中消耗掉 O_2 , 抑制其它好氧腐败菌的生长, 在肉制品的表面形成很好的一层“保护膜”, 而且霉菌发酵还可以赋予产品特有的外观, 所产生的蛋白酶、脂酶能分解蛋白质和氨基酸及脂肪而利于产品形成特有的风味。

国外对用于干香肠的霉菌发酵剂的制作进行了研究,将肉制品中分离出的166种霉菌进行形态学和毒理学研究,筛选出7种产黄青霉和2种纳地青霉。用产黄青霉制作的菌种表现出较佳的抑制其它微生物的性能和较强的抗擦性能,对香肠感官质量的改善作用也较大。我国传统的名、优、特产金华火腿就属于霉菌发酵肉制品。

3 微生物发酵剂菌种的国外研究现状

为了挑选合适的菌株作为发酵剂,国外研究人员对传统发酵制品中的主要微生物的特性作了大量研究。E. H. Drosinos^[22]等人从一种希腊发酵香肠中分离107株植物乳杆菌、21株弯曲乳杆菌、12株清酒乳杆菌,所有菌可以在4℃下生长,但是不能在45℃下生长;清酒乳杆菌、弯曲乳杆菌和植物乳杆菌可以在8%NaCl中生长,只有清酒乳杆菌可以在10%NaCl中生长;清酒乳杆菌可以水解精氨酸。

E. Papamanoli^[23]等人从发酵香肠分离出49株清酒乳杆菌、24株弯曲乳杆菌和7株植物乳杆菌,所有菌都可以在15℃下生长,大部分菌可以在6.5%NaCl、3%的胆汁盐溶液中生长,所有的清酒乳杆菌、大部分植物乳杆菌和弯曲乳杆菌表现出对单细胞增生性李斯特菌(*L.monocytogenes*)、金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)有抑制性。

Eleftherios H. Drosinos^[24]等人从希腊一种传统的发酵香肠中分离出1株鼠李糖乳杆菌,不具有水解脂肪的能力,但是可以水解肌原纤维和蛋白质的小片段,对单细胞增生性李斯特菌(*L.monocytogenes*)有抑制性。

Joo-Yeon Lee^[25]等人从希腊的发酵香肠中分离出10株短乳杆菌,能忍受10%和15%NaCl,可以在15℃下生长,对革兰氏阴性菌有一定的抑制作用,但是短乳杆菌不能在短时间产生大量的酸,不能降低pH。

葡萄球菌和微球菌通常具有还原硝酸盐和分解蛋白质、脂肪的能力。但由于其产酸少,一般与乳酸菌混合使用。Coppola. R^[26]等人从一种南方意大利发酵香肠中分离出138株葡萄球菌和微球菌,其中58株是克氏微球菌,80株是木糖葡萄球菌。所有菌株均能在10%NaCl中生长,大部分能在30℃和18℃降解硝酸盐,可以还原过氧化氢。

Monica Gareia-varona^[27]等人从一种传统西班牙发酵香肠菌种中分离了426株葡萄球菌,95%为木糖葡萄球菌,研究者认为其中一株木糖葡萄球菌,具有硝酸盐降解酶和脲酶活性,低中等的蛋白酶和脂肪酶活性,适合作为肉品发酵剂。

E. H. Drosinos^[22]等人从一种希腊发酵香肠中分

离出219株葡萄球菌和微球菌,经鉴定后,其中包括31.1%的腐生葡萄球菌、19.2%的木糖葡萄球菌和11.4%的模仿葡萄球菌。所有菌株都可以在红霉素中生长。

Monika Simonova^[28]等从一种斯洛伐克传统发酵香肠中分离出187株葡萄球菌,包括119株木糖葡萄球菌、20株肉葡萄球菌,木糖葡萄球菌产乳酸量0.4-1.03mmol/L、肉糖葡萄球菌产乳酸量0.51-0.79mmol/L;可以还原H₂O₂,大部分葡萄球菌都可以在1%的胆汁盐溶液中生长,71%木糖葡萄球菌对抗生素敏感,不产生生物胺;5%的葡萄球菌对单细胞增生性假单胞菌属(*L.monocytogenes*)有一定的抑制作用。

B. Martin^[29]等人从一种细发酵香肠中分离出240株菌,包括80.8%的木糖葡萄球菌、8.3%的沃氏葡萄球菌、5.8%的表皮葡萄球菌和4.6%的肉葡萄球菌。进一步研究发现,14.6%的菌株(主要是木糖葡萄球菌和沃氏葡萄球菌)可以使1种或多种氨基酸脱胺,产酪氨酸能力最强,最高能达到100mg/L,大部分菌株对青霉素、氨比西林和磺胺类药物表现出了很强的抗性。

4 微生物发酵剂菌种的国内研究现状

我国对发酵剂菌种的研究起步较晚,对发酵剂的菌种的选择和筛选进行了一定的研究。在开始阶段多是从现有的发酵剂中筛选出菌种直接应用于发酵香肠实验。我国传统发酵肉制品中存在着很多优良的自然菌株。近来,我国研究者对我国传统发酵肉制品中微生物进行了较多的研究,分离出大量的优良菌株并分析了其微生物特性。

王立梅等以嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌为发酵剂发酵香肠,对工艺进行了探讨。结果表明:嗜酸乳杆菌单一菌株发酵最佳工艺为30℃,10⁸cfu/g,24~48h;嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌,以1:1组合时最佳工艺为30℃,10⁷cfu/g,18~24h^[30]。徐为民等研究表明葡萄糖浓度、盐浓度、发酵温度、肠衣直径大小对发酵香肠的发酵剂产酸性能均有较显著的影响^[31]。王海燕等从传统湖南腊肉中分离筛选出一株产香葡萄球菌(模仿葡萄球菌)^[32]。

李凤彩等探讨了发酵香肠菌种筛选标准^[33]。曾志刚等从香肠中分离筛选得到1株产细菌素的乳酸片球菌。该细菌素对许多革兰氏阳性菌有较强的抑制作用,而对革兰氏阴性菌、酵母和霉菌没有作用^[34]。王永霞等从20多种传统发酵肉制品中筛选出两株过氧化氢酶阳性球菌,经过初步鉴定为肉糖葡萄球菌S15和S113,并初步确定了戊糖片球菌P20与肉糖葡萄球菌S15作为肉品混合发酵剂^[35]。卢士玲等从发酵香肠、腊肠、火腿中分离筛选得到2株德氏乳杆菌,并建立了一

套发酵肉制品中乳酸菌的分离鉴定方法^[36]。

5 前景与展望

发酵肉制品是一种档次较高、风味独特，并且具有一定保健作用的肉制品。随着我国人民生活水平的日益提高，生产高质量的发酵肉制品，对促进我国畜牧业及肉制品深加工的发展和满足人们的消费需要，有着重要的意义。我国存在着丰富的优良自然发酵菌种资源。今后应在西式发酵香肠的基础上，结合我国传统发酵加工技术，利用筛选出的优良菌株制作出适合我国消费者口味的发酵香肠及肉制品。同时，未来发酵剂的研究将集中在提供良好的风味成分，产生抗氧化剂和微生物抑制剂等功能性物质方面。另外，可利用基因工程技术筛选出具有优良性状的发酵剂菌株。

参考文献

- [1] 李先保, 李兴民, 南庆贤, 等. 乳酸菌发酵剂在肉制品中的应用[J]. 肉类研究, 1997, (1): 19-22.
- [2] 焦玉, 薛当辰, 蒋云升等. 发酵肉制品中的细菌发酵剂的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2007(6): 21-23.
- [3] 黄黎慧. 发酵肉制品研究进展[J]. 江苏调味副食品, 2005, 22(4): 22-26.
- [4] 葛长荣, 马美湖. 肉与肉制品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002, 211-240.
- [5] 杨洁彬, 郭兴华等. 乳酸菌——生物学基础及应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996. 2.
- [6] Everson C. W. , Danner W. E. Improved starter culture for semir-dry sausage [J]. Food Technology, 1970, 24: 42-44.
- [7] Hammes W. P. , Knauf H. J. Starters in the processing of meat products[J]. Meat Science, 1994, 36: 155-168.
- [8] Hammes W. P. , Hertel C. New developments in meat starter cultures [J]. Meat Science, 1999, 49: 125-138.
- [9] 王卫. 发酵香肠的加工工艺及微生物特性[J]. 肉类研究, 2002, (3): 10-17.
- [10] 宋照军, 马汉军, 等. 发酵肉制品发酵剂的研究和应用[J]. 食品工业科技, 1998, (5): 68-70.
- [11] 张兰威. 片球菌在发酵肉制品中的应用[J]. 肉类工业, 1991, (1): 25-27.
- [12] 宋照军, 马汉军, 等. 发酵剂在肉制品生产中的应用[J]. 肉类工业, 1998, (7): 30-32.
- [13] 王海燕, 张春江, 等. 发酵香肠中微生物产生的酶及其作用[J]. 肉类研究, 2001, (1): 15-17.
- [14] Stahnke L. H. , Holck A. , Jensen A. , et al. Maturity acceleration of Italian dried sausage by *Staphylococcus carnosus* relationship between maturity and flavor compounds [J]. Journal of Food Science, 2002, 67: 1914-1921.
- [15] Garcia - Varona M. , Santos E. M. Characterization of micrococcaeae isolated from different varieties of chorizo [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 54: 189-195.
- [16] 马长伟, 王雪青. 发酵香肠及微生物发酵剂(二)[J]. 食品与发酵工业, 1998, 24(5): 77-80.
- [17] 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.
- [18] 鄯晋晓, 盛占武. 发酵肉制品中微生物的作用[J]. 肉类工业, 2007, (2): 15-18.
- [19] Olsen P. T. , Stahnke L. H. The influence of *Debaryomyces hansenii* and *Candida utilis* on the aroma formation in garlic spiced fermented sausages and model minces[J]. Meat Science, 2000, 56: 357-368.
- [20] 卢士玲, 吴桂春, 李开雄. 发酵肉制品优势菌研究现状[J]. 中国食物与营养, 2006(3): 22-24.
- [21] 吴祖兴, 张华. 发酵肉制品乳酸菌菌种筛选研究[J]. 食品科学, 2002, (23): 47-49.
- [22] E.H.Drosinos. Characterization of the microflora from a traditional Greek fermented sausage. Meat Science, 2005, 69: 307-317.
- [23] E.PaPamanoli. characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. Meat science, 2003, 65: 859-867.
- [24] Eleftherios H.Drosinos. Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in southern Greece. Food Microbiology, 2006, 24: 1-11.
- [25] Joo-Yeon Lee, Cheon-Jei Kim, Beno Kunz. Identification of lactic acid bacteria isolated from kimchi and studies on their suitability for application as starter culture in the production of fermented sausages. Meat Science, 2006: 437-445.
- [26] Coppola.R.and Lorizzo.M. Characterization of micrococci and staphylococci isolated from soppressata molisana, a Southern Italy fermented sausage, Food

- Microbiology, 1997, 14: 47-53.
- [27] Monica Garcia-Varona. Characterization of micrococccae isolated from different varieties of chorizo. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 54: 189-195.
- [28] Monika Simonova. Characterization of staphylococcus xylosus and Staphylococcus carnosus isolated from Slovak meat products. *Meat science*, 2006, 73: 559-564.
- [29] B.Martin. Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive Catalase-positive cocci from slight fermented sausage. *International journal of Food Microbiology*, 2006, 107: 148-158.
- [30] 王立梅, 等. 发酵香肠的工艺研究[J]. *吉林农业大学学报*, 1999, 21 (3): 104-107.
- [31] 徐为民, 等. 发酵香肠中影响发酵剂产酸性能因素的研究[J]. *食品科学*, 2001, 22 (10): 56-59.
- [32] 王海燕等. 传统湖南腊肉中产香葡萄球菌的筛选及鉴定. *食品与发酵工业*, 2006, 1: 45-49.
- [33] 李凤彩, 等. 发酵香肠菌种筛选标准探讨[J]. *食品工业科技*, 2002, 23 (6): 78-79.
- [34] 曾志刚, 等. 细菌素产生菌的筛选及其细菌素的分离纯化[J]. *中国抗生素杂志*, 2005, 28 (5): 257-259.
- [35] 王永霞, 等. 肉品发酵剂葡萄球菌和微球菌的分离筛选及其与乳酸菌混合培养的研究[J]. *肉类工业*, 2004, (4): 41-44.
- [36] 卢士玲, 等. 发酵肉制品中乳酸菌的分离鉴定技术的研究[J]. *肉类工业*, 2005, (11): 16-21.