

乳酸菌发酵牛肉的工艺条件优化

王雅舒千, 秦可欣, 徐静雯, 范亚雄, 张亚楠, 张根生*
(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要: 通过单因素试验和响应面方法优化乳酸菌发酵牛肉的工艺, 采用乳酸菌(内含保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌)对新鲜牛肉进行发酵, 对所得牛肉的pH值进行测定。结果表明: 乳酸菌发酵牛肉的最佳发酵条件为葡萄糖添加量2.5%、食盐添加量0.3%、乳酸菌添加量2.5%, 在酸性环境下进行乳酸菌发酵牛肉, 能够有效的抑制微生物生长繁殖, 能延长新鲜牛肉的保质期。

关键词: 牛肉发酵; 乳酸菌; 工艺条件

Optimization of Conditions for Lactic Acid Bacterial Fermentation of Beef

WANG Ya-shu-qian, QIN Ke-xin, XU Jing-wen, FAN Ya-xiong, ZHANG Ya-nan, ZHANG Gen-sheng*
(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: The purpose of the present study was to optimize conditions for the inoculated fermentation of beef by lactic acid bacteria (LAB) using response surface methodology. Fresh beef was inoculated with a LAB starter culture consisting of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* and fermented. During the fermentation process, pH was measured. The optimum conditions for LAB fermentation of beef were determined as 2.5% of glucose, 0.3% of NaCl and 2.5% of inoculum size. The growth of harmful microorganisms in beef was effectively inhibited during LAB fermentation in an acidic environment, resulting in a prolonged shelf life.

Key words: beef fermentation; lactic acid bacteria; processing

中图分类号: TS251.52

文献标识码: A

文章编号: 1001-8123(2012)11-0012-04

发酵肉类在欧美国家已广为发展, 市场潜力巨大, 国外研究发酵肉制品主要集中在两个方面: 1)改进生产工艺; 2)筛选和构建具有优良性状的微生物菌种^[1]。而在我国微生物接种的发酵肉的研究和开发还属于一个新的领域。发酵肉是利用微生物发酵技术, 使原料肉在发酵菌的作用下, 产生酸或醇, 降低肉的pH值^[2], 随着人们对发酵肉的认识, 逐渐将发酵肉利用于生产肉制品, 如: 牛肉干、牛肉粒等。经发酵的肉颜色红嫩, 更加具有弹性, 且肉质柔软。发酵肉在熟制过程中要比未发酵的肉所用时间短, 可减少耗能^[3]。发酵过程中乳酸菌的添加不仅可以有效降低产品的pH值, 改善制品的组织结构和风味, 还可以降低产品中的亚硝酸盐残留、减少亚硝胺的形成, 产生乳酸和细菌素等起抑菌作用的代谢产物, 能够减少添加剂的使用量, 有效地延长肉的保质期^[4]。

发酵肉制品关键是发酵剂, 采用市售乳酸菌(内含保加利亚乳杆菌^[5]和嗜热链球菌^[5])对牛肉进行发酵, 改善牛

肉品质, 使其物化特性发生改变, 经过发酵的牛肉可以减少添加剂的使用, 消除了大众消费者对食品添加剂使用的疑心, 真正的做到了保证营养以及健康。

1 材料与方法

1.1 材料、菌种与试剂

市售新鲜牛肩肉, 无异味, 色泽红润, 不发黏^[6], 购于哈尔滨新阳路家乐福超市。

川秀乳酸菌1L型(原菌种内含: 保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌) 丹麦进口。

酚酞指示剂 天津化学试剂一厂; NaOH、葡萄糖 天津市天新精细化工开发中心。

1.2 仪器与设备

ESJ180-4型电子天平 上海恒平科学仪器有限公司; PHS-25型酸度计 上海伟业仪器厂; HHB11.360型电热恒温培养箱。

收稿日期: 2012-10-01

基金项目: 哈尔滨商业大学大学生创新创业训练计划项目(AX20120022)

作者简介: 王雅舒千(1989—), 女, 本科生, 研究方向为食品科学与工程。E-mail: wangyashuqian@163.com

*通信作者: 张根生(1964—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为畜产品贮藏与加工。E-mail: zhanggsh@163.com

1.3 方法

1.3.1 工艺流程

原料肉→切条→漂烫→放入烧杯→加葡萄糖、食盐、乳酸菌→密封→发酵→测定酸度

1.3.2 工艺要点^[7-9]

原料预处理：原料以新鲜牛肩肉为主，将牛肉剔除骨头、筋膜、脂肪后，切成约200g的块状待用。切条：将肉块切成5cm×2.5cm×0.5cm条状，保证肉片形状整齐，薄厚均匀一致，以利于发酵。漂烫：将切好的肉块放入水中煮制10min。在漂烫过程中，随时撇去汤中的血沫、油花等杂质，不断翻动肉块，保证受热均匀，漂烫时间不可过长，尽量避免影响发酵效果。煮制肉汤：称取300g新鲜牛肩肉放入电磁炉中，加入1500mL水，煮制约40min，再量取400mL水加入锅中，继续煮制20min，煮制完成后，将其冷却至40℃待用。发酵：量取100mL煮好的牛肉汤放入烧杯中，接着把已切好的牛肉浸入肉汤，加入3g乳酸菌、3g葡萄糖、0.3g食盐，盖上保鲜膜在恒温培养箱(40℃)中培养24h。测定酸度：用0.1mol/L的NaOH溶液滴定发酵液，并用酸度计测量发酵液的pH值。

1.3.3 指标测定^[10-11]

pH值测定：使用PHS-25型酸度计，发酵完成后测定发酵液的pH值，观察pH值的变化，确定发酵最佳条件，每个样品测定3次，取其平均值。

1.3.4 乳酸菌发酵牛肉单因素试验^[12]

1.3.4.1 葡萄糖的添加量对乳酸菌发酵牛肉的影响

在培养液中加入3%发酵剂、0.3%食盐，分别做葡萄糖添加量为0、1%、2%、3%、4%、5%的不同水平，在40℃恒温培养箱中培养24h。将培养后的发酵液冷却至室温，用酸度计测定pH值。

1.3.4.2 食盐的添加量对乳酸菌发酵牛肉的影响

在培养液中加入已确定的葡萄糖最适添加量2%、发酵剂3%，分别做食盐添加量为0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%的不同水平，在40℃恒温培养箱中培养24h。将培养后的发酵液冷却至室温，用酸度计测定pH值。

1.3.4.3 乳酸菌的添加量对乳酸菌发酵牛肉的影响

在培养液中加入已确定的葡萄糖最适添加量2%、食盐最适添加量0.3%，分别作菌种添加量为0、1%、2%、3%、4%、5%的不同水平，在40℃恒温培养箱中培养24h。将培养后的发酵液冷却至室温，用酸度计测定pH值。

1.3.4.4 发酵温度对乳酸菌发酵牛肉的影响

在培养液中加入已确定的葡萄糖最适添加量2%、食盐最适添加量0.3%、乳酸菌添加量3%，分别作发酵温度为37、38、39、40、41℃的不同水平，在培养箱中培养24h。将培养后的发酵液冷却至室温，用酸度计测定pH值。

1.3.4.5 发酵时间对乳酸菌发酵牛肉的影响

在培养液中加入已确定的葡萄糖最适添加量2%、食

盐最适添加量0.3%、乳酸菌添加量3%，在40℃条件下，分别做发酵4、8、12、16、20、24h的不同水平，在40℃恒温培养箱中培养。将培养后的发酵液冷却至室温，用酸度计测定pH值。

1.3.5 响应面法优化乳酸菌发酵牛肉的工艺

通过单因素试验，得出各因素最优水平范围，以pH值作为响应值，对葡萄糖添加量、食盐添加量、乳酸菌添加量3个因素设计试验，使用Design Expert 8.05软件进行三因素三水平的响应面试验。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌发酵牛肉单因素试验结果

2.1.1 葡萄糖添加量

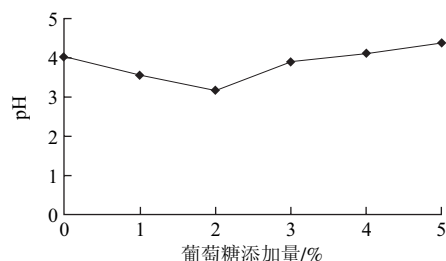


图1 葡萄糖添加量对乳酸菌发酵牛肉的影响

Fig.1 Effect of the amount of glucose added to fresh beef on the pH of fermented beef

由图1可知，当葡萄糖添加量为2%时乳酸菌的效果最佳，选择2%为葡萄糖的最优添加量。乳酸菌发酵所必需的碳源由葡萄糖来提供，葡萄糖的多少对乳酸菌有一定的影响^[13]。随着葡萄糖添加量的递增，pH值减小。当葡萄糖添加量超过2%之后，碳源过量，乳酸菌不再消耗碳源，导致pH值增大，NaOH消耗量减少。当葡萄糖添加到5%时，肉出现异味，且表面发黏。

2.1.2 食盐添加量

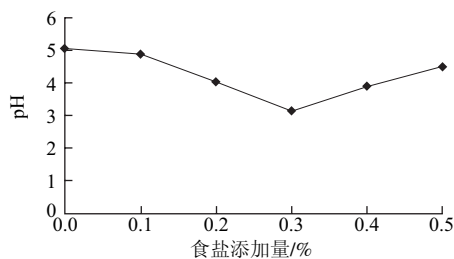


图2 食盐添加量对乳酸菌发酵牛肉的影响

Fig.2 Effect of the amount of NaCl added to fresh beef on the pH of fermented beef

由图2可知，当食盐添加量为0.3%时乳酸菌的产酸效果最佳，乳酸菌生长需要适宜的渗透压，利用食盐的用量来调节环境的渗透压。当食盐过少时，发酵缓慢，

甚至不进行发酵,随着添加量的递增,产酸量也在增加,添加量超过0.3%时,发酵环境中的渗透压过高,导致抑制发酵,产酸明显下降,并且肉质也不呈现红嫩的色泽。

2.1.3 乳酸菌添加量

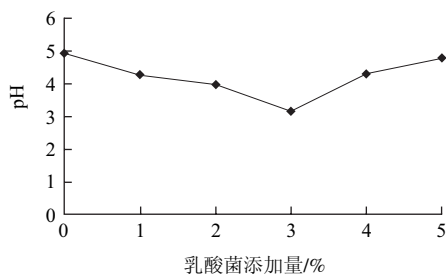


图3 乳酸菌添加量对乳酸菌发酵牛肉的影响

Fig.3 Effect of inoculum size on the pH of fermented beef

由图3可知,当乳酸菌添加量为3%时其发酵过程产酸效果最佳。在发酵过程中,对产酸量、产酸速度都有影响^[14]。乳酸菌添加量直接影响到肉的品质,过多或过少都会使肉发生非正常变化,产生不良气味,肉质发黏,肉丝易破裂。

2.1.4 发酵温度

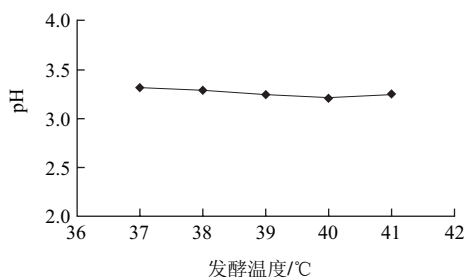


图4 发酵温度对乳酸菌发酵牛肉的影响

Fig.4 Effect of fermentation temperature on the pH of fermented beef

乳酸菌发酵对温度有严格要求,只有在适宜温度下产酸才会达到最佳。由于实验所用的为市售乳酸菌,在其使用说明中对发酵温度有详细说明,由图4可知,在适宜温度范围,pH值无明显变化,但是在40℃时,发酵出的牛肉pH值相对较低,且肉质较好,所以选40℃为最适发酵温度。由于影响不明显,所以在该因素不作为重要因素。

2.1.5 发酵时间

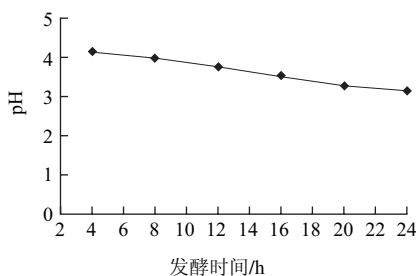


图5 发酵时间对乳酸菌发酵牛肉的影响

Fig.5 Effect of fermentation time on the pH of fermented beef

由图5可知,随着时间的延长,pH值不断减小,产酸量增加,当发酵超过24h后,肉散发异味,则发酵24h为最佳。此单因素影响不大,不作为重要因素。

2.2 发酵过程响应曲面试验^[15]

通过单因素试验,确定出葡萄糖添加量、食盐添加量及乳酸菌添加量3个因素的最佳水平分别为2%、0.3%、3%。根据单因素试验所得发酵条件进行响应曲面试验,在40℃恒温箱中培养24h,以pH值作为评定指标。响应面试验设计及结果见表1,方差分析结果见表2。

表1 响应曲面试验设计及结果

Table 1 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	A葡萄糖添加量/%	B食盐添加量/%	C乳酸菌添加量/%	pH
1	5.0	0.0	2.5	4.51
2	2.5	0.3	2.5	3.67
3	2.5	0.0	0.0	5.09
4	2.5	0.3	2.5	4.06
5	5.0	0.3	0.0	4.15
6	2.0	0.3	5.0	3.63
7	0.0	0.3	0.0	4.91
8	2.5	0.6	5.0	4.68
9	0.0	0.0	2.5	5.11
10	2.5	0.3	2.5	3.16
11	2.5	0.3	2.5	3.29
12	2.5	0.6	0.0	4.21
13	2.5	0.3	2.5	3.67
14	0.0	0.3	5.0	4.72
15	2.5	0.0	5.0	4.56
16	5.0	0.6	2.5	4.89
17	0.0	0.6	2.5	5.23

表2 响应面试验结果方差分析

Table 2 Analysis of variance for the fitted regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	6.08	9	0.68	5.49	0.0177	显著
A	0.97	1	0.97	7.91	0.0261	
B	8.450×10^{-3}	1	8.450×10^{-3}	0.069	0.8008	
C	0.074	1	0.074	0.60	0.4631	
AB	0.017	1	0.017	0.14	0.7219	
AC	0.027	1	0.027	0.22	0.6524	
BC	0.25	1	0.25	2.03	0.1971	
A ²	1.23	1	1.23	10.02	0.0158	
B ²	2.86	1	2.86	23.22	0.0019	
C ²	0.25	1	0.25	1.99	0.2011	
残差	0.86	7	0.12			
失拟项	0.35	3	0.12	0.93	0.5025	
纯误差	0.51	4	0.13			
总离差	6.94	16				

由表1、2可知,葡萄糖添加量 $P < 0.05$,乳酸菌添加量 $P > 0.05$,食盐添加量 $P > 0.05$,说明葡萄糖对pH值影响显著,而食盐与乳酸菌的影响相对较小,则各因素影响pH值的大小顺序为:葡萄糖>乳酸菌>食盐。失拟项不显著即该模型在整个研究回归区域拟合的较好。

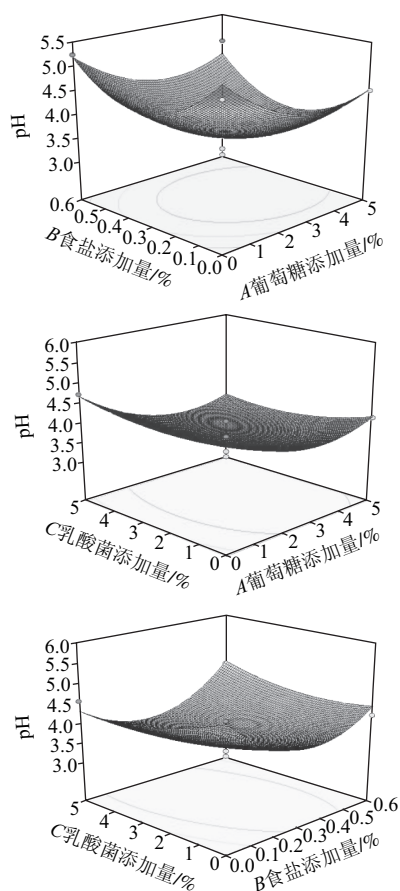


图6 因素交互作用对pH值影响的响应面图
Fig.6 Response surface plots showing the effects of fermentation conditions on the pH of fermented beef

当食盐添加量和乳酸菌添加量不变时,牛肉发酵后的pH值随着葡萄糖添加量的增加呈现出先减小后增大的趋势,当葡萄糖添加量为2.5%时,pH值达到最小;当乳酸菌添加量与葡萄糖添加量不变时,随着食盐添加量的递增pH值呈现下降趋势,当食盐添加量超过0.3%时,pH值逐渐上升,说明食盐添加量为0.3%时为最佳;当葡萄糖添加量和食盐添加量不变时,随着乳酸菌添加量的增加,pH值的变化与之前相同,先增加后减小,当乳酸菌添加量为2.5%时,pH值最低。因此,确定出最佳发酵条件,葡萄糖添加量2.5%、食盐添加量0.3%、乳酸菌添加量2.5%。

3 结论

采用乳酸菌对牛肉进行发酵,从而改善肉的颜色、质地等,实验所用的乳酸菌包含保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌两种,通过葡萄糖添加量、食盐添加量、乳酸菌添加量、发酵温度、发酵时间5个单因素进行试验,得出其最佳添加量分别为2%、0.3%、3%。由于实验选取市售乳酸菌,发酵温度与时间较为固定,超出其范围牛肉会发生腐败,产生异味,所以在响应曲面试验中只选取了葡萄糖、食盐、乳酸菌的添加量作为因素,通过试验确定出最佳发酵条件,葡萄糖添加量2.5%、食盐添加量0.3%、乳酸菌添加量2.5%。

参考文献:

- [1] 李疆,李开雄. 发酵牛肉干生产技术的研[D]. 石河子: 石河子大学, 2008: 3-4.
- [2] 刘会平,成文生. 发酵肉制品的生产[J]. 肉类工业, 1999(4): 16-18
- [3] 张倩,江平,秦礼康,等. 发酵牛肉干的研制[J]. 食品研究与开发, 2002, 23(5): 28-30.
- [4] 褚福娟,孔保华,黄永. 发酵肉制品常见乳酸菌的发酵性能研究[J]. 肉类研究, 2009, 23(6): 16-20.
- [5] 李志成,闫美亚,张连斌,等. 保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌产酸产黏特性研究[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(5): 8-10.
- [6] 朱艳利. 肉品新鲜度的常用感官检验方法[J]. 北方牧业, 2003(19): 28.
- [7] 刘笑笑,华晶忠,王海丽,等. 泡菜发酵牛肉干与传统牛肉干贮藏期间品质研究[J]. 食品科技, 2009, 34(7): 95-98.
- [8] 李疆,杨艳彬,周红,等. 发酵牛肉干生产工艺技术的研究[J]. 肉类研究, 2009(5): 32-38.
- [9] 华晶忠,刘笑笑,王海力,等. 延(边)黄牛泡菜发酵牛肉干的研制[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(2): 76-78.
- [10] 褚福娟,孔保华,黄永. 乳酸菌对发酵牛肉干品质影响的研究[J]. 食品与发酵工业, 2008(8): 168-172.
- [11] 杨新磊,丁武. 紫外处理对冷却猪肉制品的影响[J]. 肉类研究, 2012, 26(4): 8-11.
- [12] 张根生,沈春燕,岳晓霞. 乳酸发酵香辣牛肉干的研制[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 623-626.
- [13] 郭清泉,张兰威,王艳梅. 酸奶发酵机理及后发酵控制措施[J]. 中国乳品工业, 2001, 26(2): 17-19.
- [14] 郜洪涛,吕嘉彬,闫肃,等. 嗜热链球菌对酸奶发酵的影响及应用前景[J]. 中国酿造, 2010(11): 5-8.
- [15] 彭晓蓓,游远,杨玉玲,等. 肌原纤维蛋白与脂肪代替品混合样品流变学特性研究[J]. 肉类研究, 2012, 26(6): 9-13.