

复合发酵剂对鲜食里脊火腿品质特性的影响

刘春丽, 朱秋劲*, 潘明琼, 胡可, 汤鹏宇
(贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 以植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 和木糖葡萄球菌 (*Staphylococcus xylosus*) 为复合发酵剂, 以产品的色差、pH值、质构和感官指标为依据研究菌种接种量、菌种配比和发酵温度对发酵里脊火腿品质的影响。结果表明: 根据单因素试验结果, 采用Box-Behnken试验设计建立响应面分析模型, 确定发酵里脊火腿的最佳工艺参数为添加植物乳杆菌和木糖葡萄球菌为复合发酵剂, 菌种接种量为 10^7 CFU/g、菌种配比为1.50:1、发酵温度为30℃, 此条件下制得的发酵里脊火腿的感官评分为82.55分, 与模型理论值接近。在此条件下加工所得的发酵里脊火腿口感较佳、滋味鲜美、综合品质良好。

关键词: 发酵里脊火腿; 植物乳杆菌; 木糖葡萄球菌; 响应面法; 工艺优化

Effect of a Mixed Starter Culture on the Quality Characteristics of Raw Consumed Loin Ham

LIU Chunli, ZHU Qiuji*, PAN Mingqiong, HU Ke, TANG Pengyu

(School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: The effect of inoculum size, starter culture composition and fermentation temperature on the color difference, pH value, texture and sensory attributes of fermented loin ham with a mixed starter culture of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus*. By combined use of one-factor-at-a-time method and response surface methodology, the optimum fermentation conditions were obtained as follows: inoculum size 10^7 CFU/g, *L. plantarum*-to-*S. xylosus* ratio 1.50:1, and temperature 30℃. The product produced under these conditions scored 82.55 points in sensory evaluation, which was close to the predicted value from the developed model. The fermented loin ham had good overall quality in terms of mouthfeel and taste.

Keywords: fermented loin ham; *Lactobacillus plantarum*; *Staphylococcus xylosus*; response surface methodology; process optimization

DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20190926-229

中图分类号: TS251.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-8123 (2019) 12-0025-07

引文格式:

刘春丽, 朱秋劲, 潘明琼, 等. 复合发酵剂对鲜食里脊火腿品质特性的影响[J]. 肉类研究, 2019, 33(12): 25-31.

DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20190926-229. <http://www.rlyj.net.cn>

LIU Chunli, ZHU Qiuji, PAN Mingqiong, et al. Effect of a mixed starter culture on the quality characteristics of raw consumed loin ham[J]. Meat Research, 2019, 33(12): 25-31. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20190926-229. <http://www.rlyj.net.cn>

发酵火腿是以畜禽肉为原材料, 在自然或人工控制条件下, 通过低温腌制、发酵成熟而得到的产品, 该产品因营养丰富且具有特殊的鲜美风味、色泽和质地等感官品质深受广大消费者喜爱。传统发酵火腿通过自然发酵而成, 但自然发酵火腿在产品质量和安全性等方面仍存在较多问题, 因此国内外研究学者开始向人工接种发酵剂方向努力。发酵鲜食里脊火腿在欧美西方国家拥

收稿日期: 2019-09-26

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2019]2374); 贵州省百层次创新型人才培养项目(黔科合平台人才[2016]5662)

第一作者简介: 刘春丽(1996—)(ORCID: 0000-0002-2030-6897), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学与工程。

E-mail: 1609703246@qq.com

*通信作者简介: 朱秋劲(1969—)(ORCID: 0000-0002-0392-4992), 男, 教授, 博士, 研究方向为微生物学、食品营养与安全及畜产品加工。E-mail: ls.qjzhu@gzu.edu.cn

有广大的消费市场, 故对发酵火腿菌种的筛选^[1-2]、接种发酵与传统自然发酵品质对比^[3]、益生菌发酵肉制品^[4-5]等方面开展了大量研究, 已经有颇为成熟的生产技术。而国内有关发酵火腿的研究大多局限于传统干腌火腿、接种发酵肉制品^[6]、发酵中式香肠^[7]及腊肉^[8]等方面^[9]。目前, 国内肉类企业对鲜食型发酵肉产品的开发力度和投入不足, 国内对接种发酵鲜食里脊火腿的研究还处于

菌种筛选和理化特性^[10]等起步阶段, 研发不足制约了部分消费者对此类产品的需求。

常用于发酵肉制品的微生物主要有乳酸菌和葡萄球菌等^[11], 接种混合发酵剂有助于提升肉制品的色香味和营养价值。王德宝等^[12]研究发现, 接种植物乳杆菌与葡萄球菌复配发酵剂可降低香肠的pH值、亚硝酸盐残留量及有害生物胺含量。韩云飞等^[13]研究表明, 木糖葡萄球菌和植物乳杆菌复配发酵剂对羊肉发酵香肠的脂肪氧化和风味改善有促进作用。Casquete等^[14]研究发现, 将嗜酸链球菌和葡萄球菌接种于发酵香肠可显著改变其风味。Slima等^[15]将植物乳杆菌和嗜酸片球菌接种于发酵牛肉香肠, 香肠的感官和卫生品质提高。然而国内外有关植物乳杆菌和木糖葡萄球菌混合发酵里脊火腿的报道很少。

本研究以猪里脊肉为原材料, 在前人研究的基础上, 接种预先从实验室筛选出的具有耐盐、耐亚硝酸盐、产酸等性能的优良菌种植物乳杆菌和木糖葡萄球菌进行发酵, 综合色差、pH值、质构和感官评分结果研究菌种接种量、菌种配比和发酵温度对发酵里脊火腿品质的影响, 得到发酵里脊火腿的最佳生产工艺。本研究弥补了采用单一指标判定火腿品质优劣的局限性, 以期为我国工业化生产品质优良的发酵里脊火腿提供技术支撑和理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原、辅料: 猪里脊、食盐、花椒粉、白糖、白胡椒、葡萄糖、五香粉等均购于贵阳市花溪区沃尔玛超市。

菌种: 植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) GDM 1.191、木糖葡萄球菌 (*Staphylococcus xylosus*) GDM 1.895均购于广东省微生物菌种保藏中心, 此2种菌均能耐受6 g/100 mL NaCl及150 mg/kg的亚硝酸盐并具有良好的产酸特性。

MRS肉汤培养基、TSA液体培养基、PCA琼脂培养基 上海博微生物科技有限公司; 亚硝酸钠 杭州龙山化工有限公司; 异抗坏血酸钠、三聚磷酸钠 河南万邦实业有限公司。

1.2 仪器与设备

CT3 10K质构仪 美国Brookfield公司; S2-Meter pH计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; LRH-300(F) 恒温恒湿培养箱 上海柏欣仪器设备厂; NH350色差计 上海三信仪表厂; TG16-WS高速冷冻离心机 上海卢湘仪仪器有限公司; GR-60真空滚揉机 诸城市新得利食品机械有限公司; BG2-246电热鼓风干燥箱、YXQ-LS-100S立式压力蒸汽灭菌器 上海博讯实业

有限公司医疗设备厂; DZ280/2SE真空包装机 绿叶真空机有限公司。

1.3 方法

1.3.1 发酵剂的活化与制备

将斜面保存的植物乳杆菌和木糖葡萄球菌活化传代3次, 接种至MRS和TSB液体培养基中, 37℃培养24 h, 取出置于0~4℃冰箱保存, 进行稀释涂布平板和活菌计数, 确定菌液浓度, 4℃、5 000 r/min离心3 min收集菌体, 用0.85 g/100 mL无菌生理盐水洗涤3次后重悬, 调整菌液浓度为 $10^8 \sim 10^9$ CFU/mL后备用。

1.3.2 发酵里脊火腿的制作工艺

工艺流程: 原料里脊肉→修整→腌制→注射接种→滚揉→发酵→烘烤→真空包装→成品

1.3.2.1 基本配方

腌制料配方: 以原料肉质量计, 添加食盐3%、亚硝酸钠0.01%、异抗坏血酸钠0.2%、花椒粉1%、三聚磷酸钠0.5%、白糖1%、白胡椒0.6%、葡萄糖1%、五香粉0.5%, 发酵剂按实验设计添加。

1.3.2.2 工艺要点

选择新鲜猪里脊肉, 将其表面的筋膜剔除后进行漂洗, 加入少量白酒去腥, 将猪里脊肉切成肉块, 按比例加入配制好的腌制料并将其均匀涂抹在肉表面, 0~4℃腌制24 h; 按实验设计将发酵液按5 mL/100 g注射接种, 注射好的肉块立即置于真空滚揉机中, 于4℃条件下真空滚揉30 min, 滚揉结束后将肉块置于不同温度的恒温恒湿箱中进行发酵, 发酵24 h后取出于55℃烘烤4 h结束发酵, 冷却后进行真空包装得到成品, 最后置于0~4℃条件下贮藏。

1.3.3 单因素试验设计

1.3.3.1 接种量对发酵里脊火腿品质特性的影响

按接种量分别为 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 CFU/g接种, 发酵里脊火腿, 植物乳杆菌、木糖葡萄球菌配比(菌数)为1:1、发酵温度30℃、相对湿度85%、发酵时间24 h。分别在发酵0、6、12、18、24 h测定火腿pH值, 于火腿发酵成熟后测定火腿的质构、色差, 并进行感官评分。

1.3.3.2 菌种对比对发酵里脊火腿品质特性的影响

采用发酵剂菌种配比(植物乳杆菌:木糖葡萄球菌, 下同)为1:1、1:2、1:3、2:1、3:1分别接种发酵里脊火腿, 接种量为 10^7 CFU/g、发酵温度30℃、相对湿度85%、发酵时间24 h, 于火腿发酵成熟后测定火腿的质构、色差, 并进行感官评分。

1.3.3.3 发酵温度对发酵里脊火腿品质特性的影响

分别在20、25、30、35℃条件下发酵火腿, 接种量 10^7 CFU/g, 植物乳杆菌、木糖葡萄球菌菌种配比1:1、相对湿度85%、发酵时间24 h, 于火腿发酵成熟后测定火腿的质构、色差, 并进行感官评分。

1.3.4 响应面试验设计

在各单因素最适作用条件的基础上,以菌种接种量、菌种配比和发酵温度为因素,设计响应面试验。根据Box-Behnken试验设计原理,采用Design-Expert 8.0.6软件,以感官评分为响应值,进行3因素3水平共17个试验点的响应面试验,其中12个为析因点,5个为零点。因素水平设计如表1所示。

表1 响应面试验因素与水平

Table 1 Coded and corresponding actual levels of independent variables used in Box-Behnken design

水平	因素		
	菌种接种量/(CFU/g)	菌种配比	发酵温度/°C
-1	10 ⁶	0.50:1	25
0	10 ⁷	1.25:1	30
1	10 ⁸	2.00:1	35

1.3.5 指标测定

1.3.5.1 pH值测定

取10 g肉样剁碎后置于100 mL蒸馏水中,用搅拌机搅拌10 min后浸提20 min,过滤后取上清液,用pH计测定^[16]。

1.3.5.2 色差值测定

使用色差计进行测定,测定前先对仪器进行校准。去除火腿表面调味料,将火腿切成长宽均为3 cm、厚1 cm的肉片,每批样品取3个不同的切面,每个切面取6个点,测定亮度值(L*)、红度值(a*)和黄度值(b*),得平均值。由于b*会对样品红色造成较大的影响,因此引用色差值(E*)^[17]评价香肠色泽,以减少误差。E*按下式计算。

$$E^* = \frac{a^*}{b^*} + \frac{a^*}{L^*}$$

1.3.5.3 质构测定

参考Gimeno等^[18]的方法,并稍作修改。将火腿表面部分切除,取火腿中间部位切成1 cm见方的立方体,使用TA11/1000探头,参数设定为:测前速率2 mm/s,测试速率1 mm/s,测后速率5 mm/s,压缩率50%。测定火腿硬度、内聚性、弹性、咀嚼性4个指标。

1.3.5.4 感官评价

表2 发酵火腿感官评分标准^[19]

Table 2 Criteria for sensory evaluation of fermented ham^[19]

项目	评分标准		
	19~25分	9~18分	8分及以下
组织状态 (25分)	组织结构致密、硬度及咀嚼性良好	组织结构相对致密,咀嚼性较好	组织松散,咀嚼性差,不成形
滋味 (25分)	酸度适中,滋味鲜美,后味纯正	酸咸度稍过,食后略有香味	酸咸过度不能接受,滋味寡淡
气味 (25分)	发酵味浓郁,具有火腿特有的香味	发酵肉香味较淡,稍有异味	无发酵香味,有异味或刺激味
色泽 (25分)	色泽均匀,呈鲜艳的玫瑰红色	色泽均匀,呈淡粉红色	色泽不均匀,呈黑褐色或颜色偏淡

感官评定由10名食品专业人员组成的感官评定小组完成。评分内容包括色泽、气味、组织状态和滋味,所占权重均为25%,计分采用100分制,感官评分标准如表2所示。

1.4 数据处理

每个处理设置3个平行样,采用Design-Expert 8.0.6软件进行响应面试验设计与分析,数据用SPSS 20.0软件进行数理统计分析,采用Origin 2018软件绘图;结果以平均值±标准差表示,以显著性水平为0.05进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 接种量对发酵里脊火腿品质特性的影响

2.1.1.1 接种量对发酵里脊火腿pH值的影响

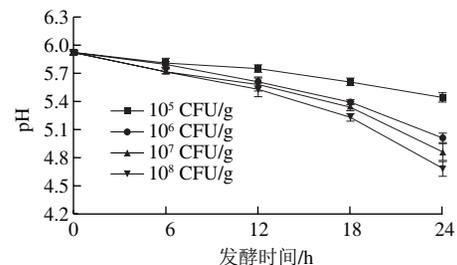


图1 接种量对发酵里脊火腿pH值的影响

Fig. 1 Effect of inoculum amount on pH value of fermented ham

乳酸菌可利用肉中的碳源发酵而产生乳酸,达到降低产品pH值和延长保质期的目的。由图1可知,随着接种量和发酵时间的增加,发酵里脊火腿pH值的下降速率亦有增加的趋势。当菌种接种量为10⁵ CFU/g时,发酵24 h后火腿pH值为5.44,这是由于接种量小、发酵速率慢,pH值未降至5.3以下,无法较好地保证发酵火腿安全性要求^[10],因此该接种量不适合发酵火腿的生产;当菌种接种量为10⁶、10⁷、10⁸ CFU/g时,24 h发酵结束后火腿pH值分别为5.01、4.86、4.68,均达到发酵生食火腿安全性要求,但10⁸ CFU/g接种量过大,导致产品过酸而难以接受,考虑到产品后熟时pH值会有轻微上升,从酸度的角度考虑接种量以10⁷ CFU/g较为适宜,这与Chen Xi等^[20]的研究结果相吻合。

2.1.1.2 接种量对发酵里脊火腿色差、质构和感官评分的影响

由表3可知,随着接种量的增加,发酵里脊火腿的L*和b*总体上没有显著性变化,但a*有增大趋势,原因可能是发酵剂中的微生物代谢产生的亚硝酸还原酶可将亚硝酸盐还原,生成NO,NO再与肌红蛋白结合形成亚硝基肌红蛋白,而赋予产品鲜艳的红色^[21],接种量越大,发色效果越好。此外,接种量为10⁷ CFU/g时,发酵里脊

火腿的 E^* 显著大于其他组 ($P < 0.05$)，故此接种量最为合适。

表3 接种量对发酵里脊火腿色差、质构和感官评分的影响
Table 3 Effects of inoculum amount on color difference, texture and sensory score of fermented ham

指标	接种量/ (CFU/g)			
	10^5	10^6	10^7	10^8
L^*	43.31±0.33 ^a	42.71±0.11 ^a	40.83±0.01 ^a	41.70±0.25 ^a
a^*	15.42±0.19 ^d	16.30±0.06 ^c	17.43±0.09 ^b	18.73±0.30 ^a
b^*	2.82±0.14 ^a	2.78±0.05 ^a	2.27±0.01 ^b	2.84±0.01 ^b
E^*	5.83±0.35 ^d	6.25±0.13 ^c	8.12±0.07 ^a	7.06±0.13 ^b
硬度/g	3 398.00±104.65 ^a	2 393.50±23.33 ^c	2 380.50±36.06 ^d	2 638.50±62.93 ^b
弹性/mm	3.13±0.04 ^a	2.42±0.04 ^c	2.56±0.07 ^b	2.31±0.06 ^d
内聚性	0.36±0.04 ^b	0.37±0.02 ^{ab}	0.38±0.04 ^a	0.36±0.03 ^b
咀嚼性/mJ	34.20±0.99 ^a	24.15±0.92 ^d	27.10±0.85 ^c	28.25±0.78 ^b
感官评分	65.70±1.00 ^d	73.55±1.20 ^c	82.00±1.05 ^a	77.10±1.15 ^b

注：同行小写字母不同，表示差异显著 ($P < 0.05$)。表4~5同。

接种量对产品的内聚性无显著影响，发酵里脊火腿的硬度和咀嚼性与菌种接种量大致呈负相关关系，且不同接种量组间存在显著差异 ($P < 0.05$)，这可能是由于接种量增加加快了火腿的成熟而使肉的组织更加松软，从而导致肉硬度和咀嚼性降低，但当接种量为 10^8 CFU/g时，由于火腿的过度发酵营造了较低的pH值环境，从而使火腿硬度开始增大^[22]。此外，随着接种量的增大，发酵里脊火腿的弹性大致呈下降趋势，当接种量为 10^5 CFU/g时其弹性最佳，接种量为 10^7 CFU/g时次之，因此当接种量为 10^7 CFU/g时火腿的软硬适中，口感最佳。

接种量与发酵里脊火腿感官评分的关系为随着接种量的增加，火腿的各项感官评分逐渐升高，但当接种量过大时，由于过度发酵导致产品的感官评分开始降低，当接种量为 10^7 CFU/g时火腿的各项感官评分指标均到达峰值，与其他接种量组有显著性差异 ($P < 0.05$)。接种量为 10^8 CFU/g时，接种量过高，产品发酵过度，接种量为 10^5 CFU/g时，发酵缓慢，无法形成发酵火腿特有的风味，因此导致火腿可接受度降低。

由上述结果可知，发酵里脊火腿的感官评分和质构、色差的相关性较高，变化趋势大致相同，结合pH值、色差、质构和感官评分4项指标结果可得出， 10^7 CFU/g为发酵里脊火腿的最佳菌种接种量，接种量为 10^5 CFU/g时发酵里脊火腿品质最差且无法生产出可安全食用的火腿。

2.1.2 菌种对比对发酵里脊火腿品质特性的影响

2.1.2.1 菌种对比对发酵里脊火腿pH值的影响

由图2可知，不同菌种配比的发酵里脊火腿pH值变化趋势相似，均表现为随着发酵时间的延长pH值先缓慢降低然后再加速下降，主要原因可能是初期腌制液中的多种香辛料有一定的抑菌作用，导致发酵前12 h微生物数量较少，发酵12 h后微生物数量迅速增长，从而导致发酵速

率加快^[23]。此外，当植物乳杆菌、木糖葡萄球菌配比为1:1、1:2、1:3、2:1、3:1时，发酵24 h后发酵里脊火腿pH值分别达到4.89、5.06、5.13、4.80、4.71，结合安全性和可接受度考虑，得出1:1为最佳菌种配比。

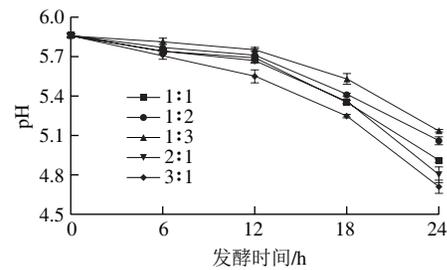


图2 菌种对比对发酵里脊火腿pH值的影响
Fig. 2 Effect of culture composition on pH value of fermented ham

2.1.2.2 菌种对比对发酵里脊火腿色差、质构和感官评分的影响

表4 菌种对比对发酵里脊火腿色差、质构和感官评分的影响
Table 4 Effect of culture composition on color difference, texture and sensory score of fermented ham

指标	菌种配比				
	1:1	1:2	1:3	2:1	3:1
L^*	51.08±0.73 ^b	56.29±0.68 ^a	57.55±1.37 ^a	56.09±0.72 ^a	57.52±1.09 ^a
a^*	9.39±0.45 ^d	8.81±0.49 ^{ab}	8.23±0.51 ^b	8.98±0.30 ^{ab}	8.93±0.56 ^{ab}
b^*	1.06±0.03 ^c	1.45±0.19 ^a	1.38±0.10 ^a	1.24±0.04 ^b	1.47±0.14 ^a
E^*	9.01±0.20 ^a	6.23±0.08 ^d	6.11±0.34 ^d	7.42±0.38 ^b	6.25±0.22 ^d
硬度/g	1 442.50±23.33 ^c	1 476.50±16.26 ^c	2 443.50±43.18 ^b	1 476.00±11.31 ^c	2 591.00±82.02 ^a
弹性/mm	3.95±0.03 ^b	4.07±0.01 ^a	4.25±0.15 ^a	4.08±0.06 ^a	3.92±0.08 ^b
内聚性	0.43±0.05 ^{bc}	0.43±0.01 ^{bc}	0.48±0.01 ^{bc}	0.42±0.01 ^c	0.44±0.01 ^b
咀嚼性	24.60±2.12 ^d	29.30±0.28 ^c	51.80±0.85 ^a	24.35±0.78 ^d	41.85±1.06 ^b
感官评分	81.50±1.50 ^a	74.13±1.35 ^b	71.75±1.00 ^c	73.88±0.95 ^b	70.88±1.15 ^c

由表4可知，除菌种配比1:1和1:3时发酵里脊火腿 a^* 差异显著外 ($P < 0.05$)，其余组发酵里脊火腿 a^* 均无显著差异，且菌种对比对发酵里脊火腿 L^* 和 b^* 的影响整体表现为随着木糖葡萄球菌比例增大， L^* 和 b^* 呈增加趋势，这主要是由于葡萄球菌能产生过氧化氢酶，防止肉制品因氧化而变色^[24]，表明葡萄球菌对肉制品色泽形成具有重要作用。此外，当菌种配比为1:1时，发酵里脊火腿 E^* 显著大于其他组 ($P < 0.05$)，其次为2:1组，故可得菌种配比1:1为最佳比例。

从质构方面来看，菌种对比对发酵里脊火腿弹性和内聚性影响较小，当木糖葡萄球菌所占比例增加时，发酵里脊火腿的硬度和咀嚼性有增加趋势，当植物乳杆菌所占比例增大时，火腿的弹性呈先增加再减小的趋势，且产品硬度增加。段艳^[25]也报道了乳酸菌的添加能增加香肠硬度，降低其弹性。综合各项质构指标确定，当菌种配比为1:1时发酵里脊火腿的品质最佳，当菌种配比为1:3或3:1时火腿的品质最差。

从感官评分来看, 菌种对比对发酵里脊火腿品质的影响虽差异较小, 但当植物乳杆菌、木糖葡萄球菌配比为1:1时, 发酵里脊火腿的感官评分最高且显著高于其他组 ($P < 0.05$), 菌种配比为1:3和3:1时火腿品质较差。植物乳杆菌所占比例和感官评分中的香气和滋味2项指标得分大致呈反比的关系, 这在一定程度上证明了起产香作用的微生物主要是葡萄球菌, 而非乳酸菌^[26]。López等^[27]研究发现, 添加含葡萄球菌发酵剂的香肠具有更强烈的蛋白质水解能力, 能促进香肠风味的形成。

综合pH值、色差、质构和感官评分4个指标可以得出, 发酵里脊火腿的最优菌种配比为1:1, 此时发酵里脊火腿品质最优, 当菌种配比为3:1和1:3时发酵里脊火腿综合品质较差。

2.1.3 发酵温度对发酵里脊火腿品质特性的影响

2.1.3.1 发酵温度对发酵里脊火腿pH值的影响

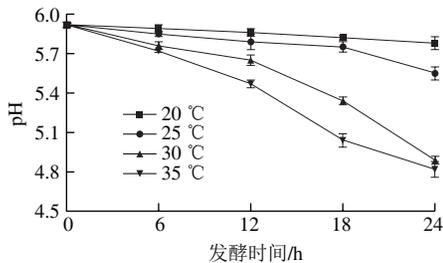


图3 发酵温度对发酵里脊火腿pH值的影响

Fig. 3 Effect of fermentation temperature on pH value of fermented ham

由图3可知, 发酵温度较低时, 发酵里脊火腿pH值的下降速率较缓, 发酵温度较高时pH值下降速率较快, 这主要是由于菌株在不同温度下的生长速率差异显著。30 °C时, 大部分菌株的生长速率最快, 其生长速率由大到小的温度依次为30 °C > 35 °C > 40 °C > 25 °C > 45 °C > 20 °C > 15 °C^[28]。当发酵温度为20 °C和25 °C时, 24 h发酵结束后发酵里脊火腿pH值分别为5.78和5.55, 无法满足发酵火腿的安全要求, 且不能产生产品独特的发酵风味; 当发酵温度为30 °C和35 °C时, 发酵结束后火腿pH值分别为4.89和4.82, 差异不显著 ($P > 0.05$), 故均适用于生产发酵火腿。

2.1.3.2 发酵温度对发酵里脊火腿色差、质构和感官评分的影响

由表5可知, 发酵温度对发酵里脊火腿的各色差值影响不大, 发酵温度为30 °C时其 E^* 显著大于其他组 ($P < 0.05$), 故可得出30 °C为最佳发酵温度, 本研究结果与曹辰辰等^[29]的研究结果一致。

从质构方面看, 随着发酵温度的增大, 菌种快速发酵导致发酵里脊火腿pH值和蛋白质水合能力降低, 从而增加了产品硬度, 35 °C发酵时硬度降低可能是由于发酵过快从而导致产品组织结构变松软。当发酵温度为30 °C

时, 发酵里脊火腿弹性和内聚性最大, 咀嚼性和硬度适中, 故可作为最佳发酵温度。

表5 发酵温度对发酵里脊火腿色差、质构和感官评分的影响
Table 5 Effect of fermentation temperature on color difference, texture and sensory score of fermented ham

指标	发酵温度/°C			
	20	25	30	35
L^*	38.15±0.21 ^b	39.92±0.42 ^b	43.02±0.10 ^a	42.53±0.21 ^a
a^*	13.31±0.27 ^{ab}	13.28±0.41 ^a	13.88±0.15 ^a	12.33±0.18 ^b
b^*	1.29±0.03 ^a	1.12±0.04 ^a	0.74±0.01 ^b	1.04±0.03 ^a
E^*	10.64±0.11 ^c	12.65±0.47 ^b	18.39±0.37 ^a	12.14±0.15 ^b
硬度/g	1 882.00±72.12 ^c	2 085.00±38.18 ^b	2 436.50±70.00 ^a	1 850.50±70.00 ^c
弹性/mm	2.26±0.02 ^b	2.82±0.06 ^a	3.14±0.01 ^a	3.04±0.11 ^a
内聚性	0.42±0.01 ^a	0.31±0.01 ^b	0.42±0.01 ^a	0.36±0.07 ^a
咀嚼性	25.95±0.78 ^b	25.90±0.71 ^b	31.81±0.01 ^a	32.75±0.35 ^a
感官评分	67.25±1.25 ^d	70.30±0.85 ^c	83.50±0.95 ^a	81.25±1.02 ^b

从感官评分来看, 发酵温度为30 °C时, 发酵里脊火腿的感官评分显著高于其他组 ($P < 0.05$), 发酵温度为35 °C时次之, 其余2组感官品质均较差, 感官评分的实验结果与色差和质构结果趋势大致相同, 主要是由于感官评分是色泽、组织状态、滋味和气味的综合指标, 组织状态和质构高度相关, 色差值是色泽的数字化体现, 且已有众多学者将其作为火腿品质的判断指标^[30], 因此, 用质构和色差判别火腿品质具有一定的科学性, 本研究设计具有相当的可靠性。

综合pH值、色差、质构和感官评分4个指标可以得出, 发酵温度为30 °C时发酵里脊火腿的品质最佳, 发酵温度为20 °C时火腿品质最差。

2.2 响应面优化试验结果与分析

采用Design-Expert V8.0.6软件中的Box-Behnken原理设计试验, 响应面优化试验组合和结果如表6所示。

表6 发酵里脊火腿工艺优化响应面试验设计方案及结果
Table 6 Box-Behnken design with experimental results

试验号	A菌种配比	B接种量	C发酵温度	pH	感官评分
1	0	0	0	4.74	85.63
2	1	0	-1	5.03	70.95
3	0	0	0	4.75	84.38
4	-1	1	0	5.00	74.65
5	0	0	0	4.69	83.50
6	-1	-1	0	4.98	72.88
7	1	1	0	4.47	71.50
8	1	0	1	4.53	72.50
9	0	1	1	4.60	77.80
10	-1	0	1	4.83	75.13
11	0	0	0	4.79	86.75
12	0	-1	1	4.86	75.38
13	-1	0	-1	5.11	73.30
14	0	-1	-1	5.51	72.75
15	0	1	-1	5.02	77.75
16	1	-1	0	4.97	71.05
17	0	0	0	4.74	85.00

以菌种配比 (A)、接种量 (B) 和发酵温度 (C) 为自变量, 以感官评分 (Y) 为因变量 (pH值只作为辅助指标), 得到的二次多项方程为 $Y = -370.03078 + 36.38444A + 72.69900B + 11.49623C - 0.44000AB - 0.01867AC - 0.12900BC - 13.76178A^2 - 4.79100B^2 - 0.17364C^2$, $R^2 = 0.8744$, 校正系数 $R_{Adj}^2 = 0.9577$ 。

表7 感官评分结果方差分析

Table 7 Analysis of variance for the effect of fermentation conditions on sensory score of fermented ham

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	504.60	9	56.07	41.22	<0.0001**
A	12.40	1	12.40	9.12	0.0194*
B	11.62	1	11.62	8.54	0.0223*
C	4.59	1	4.59	3.37	0.1088
AB	0.44	1	0.44	0.32	0.5891
AC	0.02	1	0.02	0.01	0.9078
BC	1.66	1	1.66	1.22	0.3053
A ²	252.31	1	252.31	185.49	<0.0001**
B ²	96.65	1	96.65	71.05	<0.0001**
C ²	79.34	1	79.34	58.33	0.0001**
残差	9.52	7	1.36		
失拟项	3.44	3	1.15	0.75	0.5746
纯误差	6.08	4	1.52		
总差	514.12	16			

注: *, 差异显著 ($P < 0.05$); **, 差异极显著 ($P < 0.01$)。

由表7可知, 模型极显著 ($P < 0.01$), 失拟项不显著, 因此模型有效。影响发酵里脊火腿感官品质的因素主次顺序为菌种配比 > 接种量 > 发酵温度, 其中菌种对比对火腿的感官评分影响最大, 主要原因可能是植物乳杆菌所占比例较大时会导致产品过酸, 反之火腿安全性又无法保障, 且无法形成发酵火腿特有香气, 从而导致感官接受度较低。此外, 接种量增大, 火腿发酵趋于成熟, 产品的可接受性提高, 但当接种量过大时, 产品发酵过度, 从而产品可接受性降低, 发酵温度亦有相同趋势, 但对发酵里脊火腿感官评分的影响相对较小。对各因素之间的交互作用进行分析可得, 菌种接种量、菌种配比和发酵温度的两两交互作用均不显著。综合上述分析可得, 生产发酵里脊火腿的最佳工艺条件为以植物乳杆菌、木糖葡萄球菌为复合发酵剂, 菌种配比1.59:1、接种量7.11 (lg (CFU/g))、发酵温度30.38 °C, 此时发酵里脊火腿的感官评分为82.99分。

2.3 验证实验结果

考虑到实际可操作性, 将经响应面优化得到的工艺参数修正为以植物乳杆菌、木糖葡萄球菌为复合发酵剂, 菌种配比1.50:1、接种量 10^7 CFU/g、发酵温度30 °C进行验证实验, 进行3次重复实验, 所得发酵里脊火腿感官评分为82.55分, 与理论值的相对误差为0.53%, 且重复性较好, 证明该工艺优化模型具有可靠性。

3 结论

研究以植物乳杆菌、木糖葡萄球菌为复合发酵剂, 菌种接种量、菌种配比和发酵温度对发酵里脊火腿pH值、色差、质构和感官品质的综合影响, 弥补单一指标判定的局限性。结果表明: 菌种接种量对发酵里脊火腿的色泽、pH值和硬度影响较大, 各实验组间存在显著差异, 综合得出最佳菌种接种量为 10^7 CFU/g; 菌种对比对发酵里脊火腿的咀嚼性影响较大, 对其余指标的影响则相对较小, 总体表现为当菌种配比接近1:1时所得火腿的食用品质最优; 发酵温度对发酵里脊火腿pH值影响较大, 当发酵温度为20 °C和25 °C时, 发酵里脊火腿pH值均大于5.3, 感官品质和安全性均较低, 不符合鲜食发酵火腿的安全性要求, 发酵温度为30 °C和35 °C时, 发酵里脊火腿的感官评分差异不显著, 但结合其他指标比较得到30 °C为最佳发酵温度。基于单因素试验结果, 结合响应面分析得出以植物乳杆菌、木糖葡萄球菌为复合发酵剂, 菌种接种量、菌种配比、发酵温度的最优参数分别为 10^7 CFU/g、1.50:1、30 °C, 经验证实验得出此时发酵里脊火腿的感官评分为82.55分, 证明本实验的模型有效, 工艺可行性较高, 采用此优化工艺生产的发酵里脊火腿具有发酵火腿的独特味道, 滋味鲜美, 口感细腻, 符合大众口味, 本研究对我国发酵里脊火腿的工艺生产具有一定的指导意义。

参考文献:

- [1] GE Qingfeng, PEI Huijie, LIU Rui, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* NJAU-01 from Jinhua ham on the quality of dry-cured fermented sausage[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 101: 513-518. DOI:10.1016/j.lwt.2018.11.081.
- [2] DI GIOIA D, MAZZOLA G, NIKODINOSKA I, et al. Lactic acid bacteria as protective cultures in fermented pork meat to prevent *Clostridium* spp. growth[J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 235: 53-59. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.019.
- [3] GALLEGO M, MORA L, ESCUDERO E, et al. Bioactive peptides and free amino acids profiles in different types of European dry-fermented sausages[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 276: 71-78. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.009.
- [4] KIM Y J, PARK S Y, LEE H C, et al. Evaluation of fermented sausages manufactured with reduced-fat and functional starter cultures on physicochemical, functional and flavor characteristics[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2014, 34(3): 346-354. DOI:10.5851/kosfa.2014.34.5.725.
- [5] KIM Y J, PARK S Y, LEE H C, et al. Evaluation of mixed probiotic starter cultures isolated from kimchi on physicochemical and functional properties, and volatile compounds of fermented hams[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2016, 36(1): 122-130. DOI:10.5851/kosfa.2016.36.1.122.
- [6] 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. DOI:10.16429/j.1009-7848.2018.06.023.



- [7] 潘晓倩, 成晓瑜, 张顺亮, 等. 不同发酵剂对北方风干香肠色泽和风味品质的改良作用[J]. 食品科学, 2015, 36(14): 81-86. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201514016.
- [8] 周慧敏, 张顺亮, 赵冰, 等. 木糖葡萄糖菌和肉葡萄糖菌混合发酵剂对腊肉品质的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(22): 32-38. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201822006.
- [9] 许艳丰, 陈瑶, 刘艳, 等. 发酵肉用耐高温酵母菌的筛选与鉴定[J]. 肉类工业, 2019(5): 32-35.
- [10] 于立梅. 发酵里脊火腿的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2003: 15-42.
- [11] LARANJO M, POTES M E, ELIAS M. Role of starter cultures on the safety of fermented meat products[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019(10): 853-860. DOI:10.3389/fmicb.2019.00853.
- [12] 王德宝, 赵丽华, 田建军, 等. 不同发酵剂对发酵香肠中风味物质释放及有害生物胺控制的影响[J]. 中国食品学报, 2019, 19(8): 89-96. DOI:10.16429/j.1009-7848.2019.08.010.
- [13] 韩云飞, 翟钰佳, 郭骏飞, 等. 复配发酵剂对羊肉发酵香肠脂肪氧化及脂肪酸组成的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(11): 99-105. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.019937.
- [14] CASQUETE R, MARTIN A, JOSE BENITO M, et al. Impact of pre-selected autochthonous starter cultures on the flavor quality of iberian dry-fermented "Salchichón" sausage with different ripening processes[J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(9): S535-S544. DOI:10.1111/j.1750-3841.2011.02425.x.
- [15] SLIMA S, KTARI N, TRIKI M, et al. Effects of probiotic strains, *Lactobacillus plantarum* TN8 and *Pediococcus acidilactici*, on microbiological and physico-chemical characteristics of beef sausages[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 92: 195-203. DOI:10.1016/j.lwt.2018.02.038.
- [16] 叶劲松, 李洪军, 廖洪波. 菌种配比对发酵猪耳西式火腿品质的影响[J]. 中国食品学报, 2007(2): 75-80. DOI:10.16429/j.1009-7848.2007.02.015.
- [17] SAVADKOOHI S, HOOGENKAMP H, SHAMSI K, et al. Color, sensory and textural attributes of beef frankfurter, beef ham and meatfree sausage containing tomato pomace[J]. *Meat Science*, 2014, 97(4): 410-418. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.03.017.
- [18] GIMENO O, ASTIASARAN I, BELLO J. Calcium ascorbate as a potential partial substitute for NaCl in dry fermented sausages: effect on colour, texture and hygienic quality at different concentrations[J]. *Meat Science*, 2001, 57(1): 23-29. DOI:10.1016/S0309-1740(00)00070-X.
- [19] 黄梅香, 张建林, 王海滨. 降低食盐添加量对火腿肠的感官、质构及保水特性的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(7): 125-128.
- [20] CHEN Xi, LI Jiapeng, ZHOU Tong, et al. Two efficient nitrite-reducing *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented pork (Nanx Wu) as competitive starter cultures for Chinese fermented dry sausage[J]. *Meat Science*, 2016, 121: 302-309. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.06.007.
- [21] GOTTERUP J, OLSEN K, KNOCHEL S, et al. Colour formation in fermented sausages by meat-associated *Staphylococci* with different nitrite- and nitrate-reductase activities[J]. *Meat Science*, 2008, 78(4): 492-501. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.07.023.
- [22] MELODY J L, LONERGAN S M, ROWE L J, et al. Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles[J]. *Journal of Animal Science*, 2004, 82(4): 1195-1205. DOI:10.2527/2004.8241195x.
- [23] 于立梅, 刘学军, 白卫东, 等. 发酵里脊火腿微生物特性和理化特性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(5): 50-54.
- [24] HAMMES W P. Metabolism of nitrate in fermented meats: the characteristic feature of a specific group of fermented foods[J]. *Food Microbiology*, 2012, 29(2): 151-156. DOI:10.1016/j.fm.2011.06.016.
- [25] 段艳. 乳酸菌的筛选及其对羊肉干发酵香肠品质特性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2013: 63-87.
- [26] BERDAGUE J L, MONTEIL P, MONTEL M C, et al. Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausage[J]. *Meat Science*, 1993, 35(3): 275-287. DOI:10.1016/0309-1740(93)90033-E.
- [27] LÓPEZ C M, SENTANDREU M A, VIGNOLO G M, et al. Low molecular weight peptides derived from sarcoplasmic proteins produced by an autochthonous starter culture in a beaker sausage mode[J]. *EuPA Open Proteomics*, 2015(7): 54-63. DOI:10.1016/j.euprot.2015.05.001.
- [28] 王海燕. 发酵香肠的菌种分离、筛选及在发酵香肠中的应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2002: 12-22.
- [29] 曹辰辰, 冯美琴, 孙健, 等. 响应面法优化益生发酵剂接种发酵香肠工艺[J]. 食品科学, 2019, 40(6): 69-76. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181009-069.
- [30] 邹小波, 赵号, 石吉勇, 等. 基于超声成像技术的火腿肠质构分析与等级判别[J]. 农业工程学报, 2017, 33(23): 284-290. DOI:10.11975/j.issn.1002-6819.2017.23.037.