

# 传统湘西酸肉发酵动态与 Nisin 保鲜试验\*

黄 群, 麻成金, 欧阳玉祝, 张永康

(吉首大学食品科学研究所, 湖南吉首, 416000)

**摘 要** 对传统湘西酸肉发酵过程中 pH 值、酸度、氨基态氮、氨基酸总量、细菌总数等变化动态进行分析, 并初步探索酸肉 Nisin 保鲜。结果表明, pH 值与总酸变化趋势基本一致, 发酵后游离氨基酸总量增加 61.4%, 细菌总数基本呈 S 型曲线; Nisin 能有效抑制 TVB-N 值、TBA 值上升与细菌总数增加, 添加量以 0.15% 较好。

**关键词** 传统湘西酸肉, 自然发酵, 动态变化, Nisin, 保鲜

湘西少数民族世居深山峻岭之中, 交通不便, 平时难以吃上鲜肉, 为了满足日常生活需要, 家家户户便设置酸坛, 制作酸肉、酸鱼。酸肉属侗族、苗族和土家族的民间发酵肉制品, 味道鲜美, 肥而不腻, 酸味爽口, 保存期长。传统酸肉做法简单, 把五花猪肉切成大小适中的块, 一层肉一层盐囤积于坛内, 层层压实; 待盐溶化后, 取出肉均匀地拌上糯米粉、辣椒面、香料等辅料, 然后入坛盖严, 放置 3~4 个月即可。酸肉已成为湘西旅游业的一个亮点, 但没有实现产业化大规模生产, 以家庭作坊为主, 随着人民生活水平的提高, 受当地旅游业的发展带动, 酸肉具有巨大的市场潜力。为使传统酸肉适应现代化工业生产的要求, 保证民族特色食品的质量与安全, 文中对传统酸肉自然发酵过程中酸度、pH 值、氨基态氮、细菌总数等指标变化进行分析, 并探索生物防腐剂 Nisin 在酸肉保鲜中的应用。

## 1 材料与方法

### 1.1 原 料

新鲜猪肉、糯米粉, 市售。

### 1.2 主要试剂

葡萄糖, 乙酸钠, 柠檬酸二胺, NaCl, NaOH, 甲醛, 乳糖,  $\alpha$ -硫代巴比妥酸等, 均为分析纯试剂; Nisin, 华健生物工程有限公司。

### 1.3 仪器与设备

pHS-3C 型精密 pH 计, HP-920 超净工作台, SHA-C 型水浴恒温振荡器, YXQ-SG46.280 型高压蒸汽灭菌器, 250B 型恒温生化培养箱, 101-2 型干燥箱, HB-2 切片机, ZD 型自动滴定仪, 722 型分光光度计。

第一作者: 硕士, 讲师。

\* 湖南省社科联重大项目 (No. 05042001), 湘西自治州科技富民强企兴州专项

收稿日期: 2007-10-17

## 1.4 生产工艺

盐(4%)及其他配料↓

原料肉(1 000 g)→切片(3 cm 厚)→腌制→拌糯米粉(250 g)→入坛(坛口覆盖稻草)→发酵(25℃)→产品

## 1.5 测定方法

### 1.5.1 pH 值测定

称取 10 g 样品研磨捣碎, 加入 90 mL 蒸馏水浸提 20 min, 过滤, 取上清液用 pH 计测定。

### 1.5.2 总酸测定

称取 10g 样品研磨捣碎, 于 100 mL 容量瓶中定容, 浸提 1 h 后过滤, 取 20 mL 上清液置于烧杯中, 加 50 mL 蒸馏水, 用 0.1 mol/L NaOH 标准溶液滴定至 pH 8.20, 记下所消耗碱液体积( $V_1$ ), 同时做空白试验。按式(1)计算(以乳酸计):

$$\text{总酸}/\% = \frac{(V_1 - V_0) \times 0.096 \times 0.09}{m \times (20/100)} \times 100 \quad (1)$$

### 1.5.3 氨基态氮测定

在总酸滴定终点的基础上, 加入 10 mL 中性甲醒溶液混匀, 继续滴定至 pH 9.20, 碱液耗量  $V_2$ 。按式(2)计算(以氮计):

$$\text{AN}(\text{mg}/100\text{g}) = \frac{V_2 \times 0.096 \times 14}{m \times (20/100)} \times 100 \quad (2)$$

### 1.5.4 TBA 值测定

称取 10g 肉样, 匀浆后置于 500 mL 凯氏烧瓶内, 加 200 mL 蒸馏水和 1 mL HCl 水溶液 [ $V(\text{HCl}) : V(\text{水}) = 1 : 2$ ], 调节 pH 值至 1.5, 再加 2 mL 液体石蜡, 然后连接水蒸气蒸馏。吸取 5 mL 蒸馏液置于 15 mL 具塞试管中, 加 5 mL TBA 试剂, 混匀, 水浴加热 30 min, 取出置冷水中冷浴 10 min, 然后用分光光度计于 535 nm 处测吸光值 A, 按公式(3)计算:

$$\text{TBA}(\text{mg}/100\text{g}) = A \times 0.78 \quad (3)$$

### 1.5.5 细菌总数测定

稀释平板计数法。

### 1.6 保鲜试验

成熟酸肉分别添加不同浓度的 Nisin, 空白对照样不添加任何防腐剂, 定期取样测定 TVB-N 值、TBA 值、细菌总数等, 考察酸肉 Nisin 保鲜效果。

## 2 结果与分析

### 2.1 pH 值变化动态

由图 1 分析可知, 酸肉自然发酵 4 d 内 pH 值变化缓慢, 4~18 d 产酸速度大大加快, pH 值迅速下降, 18 d 后 pH 值波动较小。酸肉自然发酵仅靠环境带入少数乳酸菌进行乳酸发酵, 所以在发酵初期产酸速度慢; 随发酵时间延长, 微酸性且厌氧环境符合乳酸菌生长要求, 乳酸菌占优势, 产酸速度也随之加快。糯米粉为乳酸菌生长提供碳源, 且产酸速度大于原料肉, 故在传统工艺中选择糯米粉为辅料。

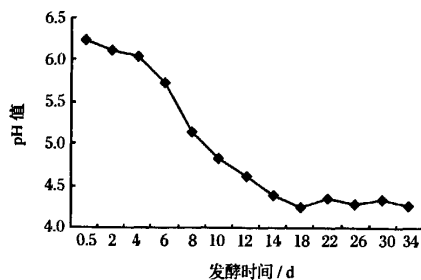


图 1 pH 值变化

### 2.2 总酸变化动态

由图 2 分析可知, 酸肉在自然发酵 4 d 内总酸变化缓慢, 4~14 d 以较快速度上升并达到最大值 0.76%, 此后稍有波动。与图 1 中 pH 值变化趋势基本一致, 总酸随 pH 值的降低而上升, 说明 pH 值在一定程度上反映总酸含量的高低。但两者并非一一对应, 有时 pH 值增大而总酸含量增加, 因为 pH 值仅表示酸肉中游离  $H^+$  的多少, 而总酸为各种酸性物质的总和, 包括乳酸和其它酸性物质。

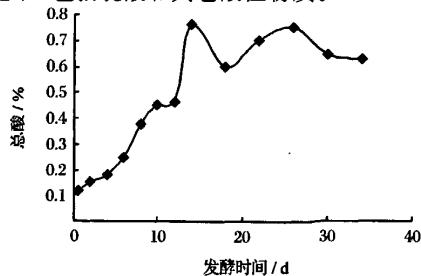


图 2 总酸变化

### 2.3 氨基态氮变化动态

由图 3 分析可知, 酸肉在自然发酵 4 d 内氨基态氮含量变化缓慢, 4~14 d 以较快速度上升并达最大值 (117.3 mg/100 g)。在 18 d 时出现低谷, 而后又继续上升并呈现波动性, 这是由于部分氨基酸脱羧、脱氨或进一步代谢生成醛、酮及其他小分子化合物。蛋白质在发酵微环境及肌肉蛋白酶的共同作用下降解产生游离氨基酸和多肽, 既能促进风味形成, 也是进一步产生风味物质的底物, 发酵后酸肉氨基态氮含量增加显著, 发酵能提高肉制品的营养价值与风味。

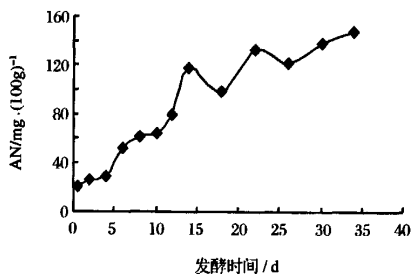


图 3 氨基酸变化

### 2.4 游离氨基酸变化

表 1 酸肉发酵后游离氨基酸变化

氨基酸种类	发酵前/ $\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$	发酵 30d 后/ $\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$
天门冬氨酸	172	228
谷氨酸	108	503
丝氨酸	46	98
甘氨酸	70	92
苏氨酸	131	236
脯氨酸	325	384
丙氨酸	493	525
精氨酸	52	174
缬氨酸	236	451
蛋氨酸	81	107
组氨酸	23	151
赖氨酸	36	91
酪氨酸	90	189
胱氨酸	38	25
亮氨酸	381	467
异亮氨酸	197	229
苯丙氨酸	143	282
总计	2 622	4 232

发酵期间蛋白质降解产生的游离氨基酸、多肽和核苷酸等对酸肉品质形成至关重要, 游离氨基酸含量变化情况为产品成熟度的重要指标。由表 1 分析可知, 发酵前后游离氨基酸总量变化显著, 增加幅度达 61.4%; 除胱氨酸稍有下降外, 其余氨基酸均有不同程度增加。谷氨酸、天门冬氨酸等鲜味氨基酸以及缬

氨酸、苯丙氨酸等必须氨基酸增加显著,尤其是谷氨酸为发酵前的4.66倍,极大提高了酸肉营养价值并赋予特有风味。具有较强抗氧化活性的组氨酸增加6.57倍,对防止肉中脂质氧化、延长货架期有重要作用。

## 2.5 细菌总数变化动态

由图4分析可知,酸肉自然发酵细菌总数基本呈S型曲线,在发酵初期较少,因为新鲜肉中不得超过 $10^4$  cfu/g;此后,在适宜发酵条件下,细菌总数呈直线增加并于第10天达最大值 $0.47 \times 10^6$  cfu/g;10~22d细菌总数呈直线下降,可能由于酸性、缺氧环境造成杂菌死亡,而且优势乳酸菌对一些微生物生长有抑制作用。只有整个发酵期间乳酸菌占绝对优势,才能抑制有害菌生长并促进酸肉发酵进行,实现酸肉生产现代化必须纯种发酵。

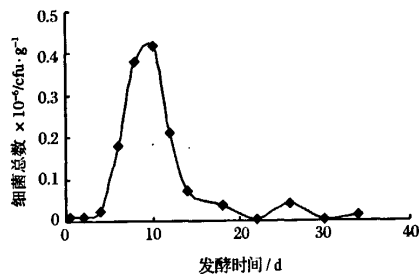


图4 细菌总数变化

## 2.6 Nisin 保鲜试验

### 2.6.1 Nisin 对酸肉 TVB-N 值的影响

TVB-N 值为肉制品受细菌污染程度及蛋白质分解产生氨和胺类等碱性含氮物质量的指标,卫生标准中规定,当肉制品 TVB-N 值超过 25.0 mg/100g 时被视为腐败。

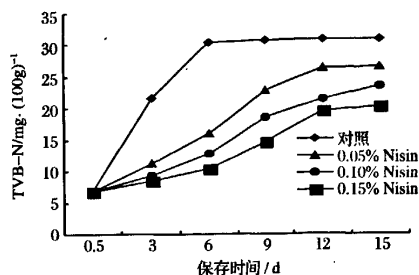


图5 Nisin 对酸肉 TVB-N 的影响

由图5分析可知,加入 Nisin 产品的 TVB-N 值显著低于对照空白样,且随 Nisin 浓度增大而降低。对照空白样 TVB-N 值呈直线增加,在保存 6 d 后迅速腐败;添加 Nisin 产品的 TVB-N 值增加缓慢,添加

0.05% Nisin 的产品保存 12 d 时已接近腐败,而添加 0.15% 的产品保存 12 d 后 TVB-N 值基本维持不变。Nisin 溶解度随 pH 值下降而提高,在中性和碱性条件下几乎不溶解,而酸肉提供了良好的酸性溶解环境。

### 2.6.2 Nisin 对酸肉 TBA 值的影响

TBA 值大小反映样品脂肪最终氧化积累的程度,是衡量脂肪氧化程度的标准。由图6分析可知,TBA 值随贮藏时间延长而增加,而试验组 TBA 值明显小于空白对照组,Nisin 抑制脂肪氧化效果随浓度增加而增强。有研究报道,TBA 值大于 0.65 时表明油脂氧化较严重,开始呈现油哈味,而酸肉只有 TBA 值大于 0.73 时才呈现不愉悦的油哈味。发酵肉制品的脂肪分解主要来自 2 方面:脂肪分解菌的活动、亚硝酸盐氧化引起,而传统发酵酸肉中不添加任何亚硝酸盐,低 pH 值、厌氧环境可抑制脂肪分解菌生长,因此酸肉本身保质期就长,若添加 Nisin 效果更为显著。

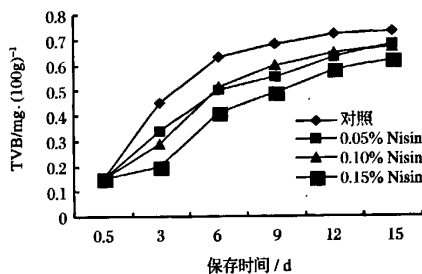


图6 Nisin 对酸肉 TBA 的影响

### 2.6.3 Nisin 对酸肉细菌总数的影响

由图7分析可知,空白对照样细菌总数快速上升并维持稳定,而添加 Nisin 的试验组细菌总数明显低于空白对照样,首先降低然后上升,因为初期低酸环境抑制杂菌生长。但随时间延长腐败微生物不断生长,同时 Nisin 只能抑制革兰氏阳性菌,对革兰氏阴性菌几乎无作用,导致一些腐败微生物生长繁殖,产生碱性物质导致产品 pH 值上升。

## 3 结论

传统酸肉在自然发酵 4 d 内 pH 值变化缓慢,4~18 d 产酸速度加快、pH 值迅速下降,18 d 后 pH 值起伏波动较小。总酸与 pH 值变化趋势基本一致,4 d 内变化缓慢,4~14 d 以较快速度上升并达 0.76,此后稍有波动。发酵 4 d 内氨基酸含量变化缓慢,4~14 d 以较快速度上升并达到高峰值 117.3 mg/100g,

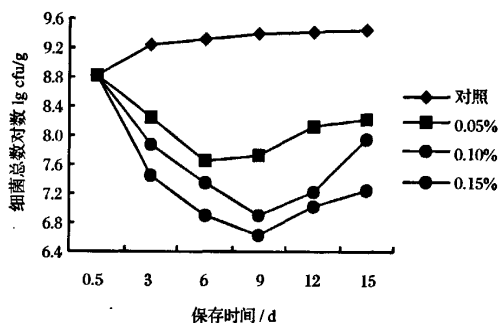


图7 Nisin对酸肉细菌总数的影响

在18d时出现低谷,而后呈现波动性。细菌总数基本呈S型曲线,发酵初期较少,在适宜条件下呈直线增加并于10d达最大值 $0.47 \times 10^6$  cfu/g,10~22d呈直线下降。发酵后游离氨基酸总量增加61.4%,谷氨酸、天门冬氨酸等鲜味氨基酸以及缬氨酸、苯丙氨酸等必需氨基酸增加显著,极大提高了酸肉营养价值并赋予特有风味,组氨酸增加6.57倍,对防止肉中脂质的氧化、延长货架期有重要作用。添加Nisin产品

的TVB-N值、TBA值和细菌总数增加缓慢,且保鲜效果随浓度增大而增强,添加量以0.15%适宜。

#### 参考文献

- 1 李宗军,江汉湖,李红琼,等.湘西侗族传统发酵肉的产品特征[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2002,28(1):61~63
- 2 李香春,李洪军.我国肉制品工业现状及发展趋势[J].肉类工业,2004,(3):5~7
- 3 李华丽,何煜波.酸肉生产前期发酵条件的确定[J].肉类工业,2005,(2):24~29
- 4 李宗军,江汉湖.中国传统酸肉发酵过程中微生物的消长变化[J].微生物学通报,2004,31(4):9~13
- 5 李华丽,何煜波.酸肉生产主发酵条件的确定[J].中国食物与营养,2005,(4):40~43
- 6 杨瑞.乳酸链球菌素在即食腊肉制品保藏应用中的研究[J].食品工业科技,2000,21(2):48~50
- 7 薛慧文.肉品卫生监督与检验手册[M].北京:金盾出版社,2003

## Studies on Fermentation State of Traditional Xiangxi Sour Meat and Effect of Nisin on It's Preservation

Huang Qun, Ma Chengjin, Ouyang Yuzhu, Zhang Yongkang

(Institute of Food Science of Jishou University, Jishou 416000, China)

**ABSTRACT** In this paper, a set of dynamic index were analyzed including pH value, acidity, amino nitrogen, total bacteria count and content of total amino, and primary preservation effect of Nisin on traditional Xiangxi Sour Meat was obtained. The result showed that the changing trend of pH and total acidity presented coincident and the curve of total bacteria count showed S shape, and the content of total free amino increased by 61.4% after fermentation. Nisin could inhibit effectively the increasing of TVB-N, TBA and total bacteria count, preservation effect was enhanced with the increasing of Nisin concentration, and the best concentration was 0.15%.

**Key words** traditional Xiangxi Sour Meat, natural fermentation, dynamic change, Nisin, preservation

#### 行业动态

### “863计划”推动我国食品工业健康和可持续发展

国家“863计划”现代农业技术领域在现代食品生物工程技术方面,重点开展了食品酶工程技术、发酵工程技术和食品基因工程技术领域内的前沿技术,以及功能性蛋白质、多糖、寡糖、寡肽等重要生理活性食品的生物加工技术研究,在大宗低值蛋白资源酶法改性及食品配料制备、功能性低聚糖转化用酶的创制及低聚糖纯化技术、具有自主知识产权的发酵剂菌株筛选及遗传改造等方面取得阶段性的重大进展和成效,显著增强了食品工业的原始创新能力,为推动我国未来食品工业的健康和可持续发展奠定了基础。

目前已申请国内发明专利51项,授权专利3项;发表科技论文175篇,其中SCI/EI收录论文50篇;培养博士研究生37名,培养硕士研究生99名;出版专著4部,科研成果获奖励3项,已实现成果转让4项。参与合作研究的企业(包括转制为企业的科研院所)44个。