

秦川牛肉在乳酸发酵过程中品质变化研究

李林强^{1,2}, 咎林森^{1,*}, 张宝珣¹

(1.西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2.陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062)

摘 要: 本实验以秦川牛肉为对象, 研究牛肉在乳酸发酵过程中品质变化。以肉样酸度、挥发性盐基氮(TVB-N)和剪切力为测定指标, 探讨了NaCl不同浓度(10、20、30、40、50g/L)对牛肉酸度和TVB-N的影响; 不同乳酸菌添加量(1、2、3g/L)和不同发酵时间(1、2、3、4h)对牛肉TVB-N、嫩度和酸度的影响。结果: 在乳酸菌2~3g/L、NaCl 30g/L、发酵2~3h的条件下, 酸牛肉品质TVB-N \leq 5.0mg/100g、剪切力 \leq 39.20N、酸度 \geq 1.0g/100g, 较为理想。结论: 乳酸发酵可极显著($p < 0.01$)改善牛肉品质。

关键词: 秦川牛肉; 乳酸菌; 发酵; 品质变化

Study on Quality Change of Qinchuan Beef in Lactic Acid Fermentation

LI Lin-qiang^{1,2}, ZAN Lin-sen^{1,*}, ZHANG Bao-xun¹

(1.College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling 712100, China;

2.College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062,China)

Abstract: Effects of different concentrations of NaCl on acidity and TVB-N of Qinchuan beef and effect of different lactic acid bacteria (*Lacidophilus* and *S.thermophilns*, at the ratio of 1:1) addition and different fermentation time on beef acidity, TVB-N and shear force in the fermentation process were investigated. The results showed that when the concentration of NaCl, lactic acid bacteria addition and fermentation time are 30 g/L, 2 to 3 g/L and 2 to 3 h, respectively, the beef quality (TVB-N no more than 5.0 mg/100 g, shear force no more than 39.20N, acidity no more than 1.0g/kg) is the best. In conclusion, lactic acid fermentation may significantly ($p < 0.01$) improve the beef quality.

Key words: Qinchuan beef; lactic acid bacteria; fermentation; quality change

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)07-0131-04

酸肉俗称“腌肉”, 是中国具有两千多年历史的乳酸菌发酵的传统肉制品。目前主要流行于我国湖南、广西、贵州、四川等地, 是侗、苗等少数民族居民生活中的重要肉食产品, 有着丰富的饮食文化内涵^[1]。牛肉经过乳酸菌发酵可克服在煮制及烘烤中硬化脱水致使产品口感坚硬, 色泽不佳等影响牛肉制品品质的现象, 并使其适口性好、易咀嚼, 具有独特的发酵香味和微酸感^[2]。但由于传统酸肉的制作是自然发酵, 发酵时间长, 腐败菌易滋生, 导致肉腐败变质; 另外, 发酵还受季节限制, 产品质量参差不齐^[3]。酸肉生产的标准化及工业化应进行系统研究。国内外鲜有对酸肉研究报道, 国内现有文献多集中于发酵过程中微生物区系的

变化与风味的关系, 对于乳酸发酵过程中肉的品质变化尚未见报道。

秦川牛是我国著名的地方良种黄牛, 因产于陕西八百里秦川而得名, 具有体躯高大、役用能力强、肉用性能好等优点^[4]; 目前, 陕西关中地区秦川牛及其改良牛的饲养量约270万头左右, 秦川牛的养殖及牛肉深加工对当地农村经济的繁荣具有重要的促进作用。本实验拟探讨秦川牛肉在乳酸发酵过程中品质变化, 旨在为秦川牛酸牛肉加工提供理论依据和技术参数。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

收稿日期: 2008-06-17

基金项目: 农业部公益性行业专项项目(nyhyzx07-035); 国家科技支撑计划-农林动物育种专项项目(2006BAD01A10-3); 陕西省“13115”科技创新工程项目(2007ZDCY-01)

作者简介: 李林强(1971-), 男, 博士研究生, 研究方向为畜产品及功能性食品。E-mail: lilingq@snnu.edu.cn

* 通讯作者: 咎林森(1963-), 男, 教授, 研究方向为动物生殖生理调控。E-mail: zanls@yahoo.com.cn

供试牛肉由国家肉牛改良中心提供, 为半腱肌。

乳酸菌[嗜酸乳杆菌(*L.acidophilus*):嗜热链球菌(*S.thermophilus*)=1:1] 徐州豪蓓香化有限公司; NaCl、NaOH、甲基红、次甲基蓝、盐酸、碳酸钾、硼酸、酵母、蛋白胨、琼脂、肉膏。

C-LM型肌肉嫩度计 东北农业大学; 微量滴定管; 恒温培养箱; 扩散皿。

1.2 方法

1.2.1 肉样处理

沿肌纤维方向切成5cm×5cm×5cm的肉块, 清洗后95℃杀菌30min。

1.2.2 发酵剂的制备

乳酸菌干粉以3%接种量接种于灭菌肉汤试管培养基中, 于42℃条件下培养24h。反复2~3次。

1.2.3 NaCl浓度的选择

分别配制浓度为10、20、30、40、50g/L的NaCl溶液, 加入3%葡萄糖, 按3.0g/L加入乳酸菌, 投入肉样, 于42℃恒温培养箱中进行发酵培养, 1h后测定肉样的酸度和挥发性盐基氮, 选择合适的NaCl浓度。

1.2.4 乳酸菌添加量和发酵时间的选择

分别配制1、2、3g/L的乳酸菌, 加入3%葡萄糖, 投入肉样, 于42℃恒温培养箱中进行发酵培养, 每隔1h测定肉样酸度、挥发性盐基氮和剪切力, 选择合适的乳酸菌添加量及发酵时间。

1.2.5 肉样酸度的测定

取搅碎肉样约5g, 加入10ml蒸馏水, 浸提1h过滤, 重复上述浸提一次, 滤液加入2~3滴酚酞指示剂, 用0.1mol/L NaOH标准溶液滴定至微红色, 以30s不褪色为终点, 记下消耗NaOH标准溶液的体积, 计算出酸度, 推算成乳酸含量。肉样酸度≥1.0g/100g较为理想。

$$\text{乳酸含量(g/100g)} = \frac{C \times V \times 0.009}{m} \times 100$$

式中: C为氢氧化钠标准滴定溶液浓度(mol/L); V为消耗NaOH标准溶液的毫升数(ml); m为肉样重(g); 0.009为乳酸的换算系数, 即1ml 0.1mol/L的NaOH标准溶液相当于0.009g乳酸。

1.2.6 肉样挥发性盐基氮含量的测定

半微量扩散法(GB/T 5009.44—2003)。肉样TVB-N≤5.0mg/100g较为理想。

1.2.7 肉样剪切力测定

用圆形钻孔(直径1.27cm)肌肉取样器顺肌纤维方向取样, 在嫩度计上测定其剪切力。肉样剪切力≤39.20N

较为理想。

1.2.8 数据统计分析

运用SPSS软件进行数据处理, 结果以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果与分析

2.1 NaCl添加量对牛肉酸度和挥发性盐基氮的影响

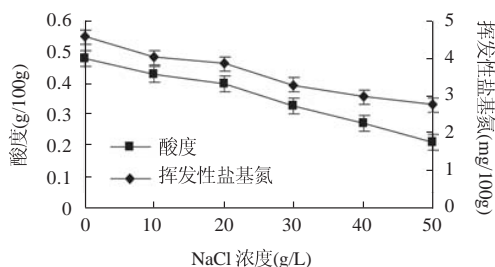


图1 不同NaCl浓度对牛肉酸度和挥发性盐基氮的影响

Fig.1 Effects of different concentrations NaCl on beef acidity and TVB-N

由图1可见, 随着NaCl浓度的增高, 肉样酸度和挥发性盐基氮均呈下降趋势, 表明随着NaCl浓度的增高, 乳酸菌和腐败菌活性均受到抑制。NaCl浓度为30~50g/L时, 二者相对空白下降均极显著($p < 0.01$), NaCl浓度为30g/L极显著($p < 0.01$)抑制了腐败菌的滋生。

2.2 乳酸菌添加量和发酵时间对牛肉品质的影响

2.2.1 乳酸菌添加量和发酵时间对牛肉TVB-N的影响

表1 乳酸菌添加量和发酵时间对牛肉挥发性盐基氮的影响

Table 1 Effects of different *Lactobacillus* amounts on beef TVB-N at different fermentation time

乳酸菌添加量(g/L)	不同时间挥发性盐基氮(mg/100g)				
	1h	2h	3h	4h	平均
对照	4.54	5.67	8.67	11.4	7.57 ± 3.09 ^{aA}
1	4.27	4.40	5.11	5.56	4.84 ± 0.61 ^{bAB}
2	3.49	3.94	4.56	4.91	4.23 ± 0.63 ^{bB}
3	2.29	2.98	3.55	3.98	3.20 ± 0.73 ^{bB}
平均	3.65 ± 1.01 ^{bA}	4.25 ± 1.12 ^{bA}	5.47 ± 2.23 ^{bA}	6.46 ± 3.35 ^{aA}	

注: 相同字母表示差异不显著; 不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$); 不同大写字母表示差异极显著($p < 0.01$)。下同。

由表1可见, 乳酸菌添加量1~3g/L时, 乳酸发酵牛肉中TVB-N与对照相比下降显著($p < 0.05$), 乳酸菌添加量2~3g/L时, TVB-N相对对照降低极显著($p < 0.01$); 乳酸发酵1~3h, 牛肉中TVB-N变化不显著($p > 0.05$), 发酵4h(相对发酵1~2h), TVB-N升高显著($p < 0.05$)。

表2 乳酸菌添加量和发酵时间对牛肉挥发性盐基氮影响方差分析
Table 2 Variance analysis on *Lactobacillus* amount and fermentation time versus beef TVB-N

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	p
乳酸菌	41.86	3	13.95	9.24	0.0041
发酵时间	19.00	3	6.33	4.20	0.041
误差	13.59	9	1.51		
总变异	74.45	15			

由表2可见,乳酸菌添加量影响发酵牛肉TVB-N产生极显著($p < 0.01$),表明随着乳酸菌添加量的增加,腐败菌活性受到抑制,产生TVB-N,致腐能力下降;发酵时间对牛肉TVB-N影响显著($p < 0.05$),表明发酵时间的延长有助于腐败菌的滋生,可能导致牛肉腐败变质。

2.2.2 乳酸菌添加量和发酵时间对牛肉嫩度的影响

表3 乳酸菌添加量和发酵时间对牛肉嫩度的影响
Table 3 Effects of different *Lactobacillus* amounts on beef tenderness at different fermentation time

乳酸菌 添加量(g/L)	不同时间牛肉剪切力(N)				
	1h	2h	3h	4h	平均
对照	62.33	61.15	61.74	58.31	60.88 ± 1.78 ^a
1	50.37	51.65	48.22	47.04	49.32 ± 2.08 ^{ab}
2	41.36	39.69	36.26	35.08	38.10 ± 2.92 ^c
3	32.63	32.63	33.03	31.75	32.51 ± 0.54 ^d
平均	46.67 ± 12.70 ^a	46.28 ± 12.64 ^a	44.81 ± 13.04 ^{ab}	43.05 ± 12.11 ^{ab}	

注:对照肉样初始剪切力是 67.23 ± 3.14N。

由表3可见,随着乳酸菌添加量增高,牛肉剪切力相对对照降低极显著($p < 0.01$);发酵1~3h,牛肉剪切力变化不显著($p > 0.05$),但相对对照,剪切力降低极显著($p < 0.01$),牛肉发酵4h相对发酵1~2h,剪切力降低显著($p < 0.05$)。

表4 乳酸菌添加量和发酵时间对牛肉嫩度影响方差分析
Table 4 Variance analysis on *Lactobacillus* amount and fermentation time versus beef tenderness

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	p
乳酸菌	193.65	3	64.55	346.40	0.0001
发酵时间	3.33	3	1.11	5.93	0.016
误差	1.67	9	0.19		
总变异	198.65	15			

由表4可见,乳酸菌添加量影响牛肉嫩度极显著($p < 0.01$),表明乳酸发酵能够极显著($p < 0.01$)降低牛肉剪切力,提高牛肉嫩度;发酵时间影响牛肉剪切力显著($p < 0.05$),表明随着乳酸发酵时间延长,牛肉嫩度提高显著($p < 0.05$)。

2.2.3 乳酸菌添加量和发酵时间对肉样酸度的影响

表5 不同乳酸菌添加量和发酵时间对肉样酸度的影响
Table 5 Effects of different *Lactobacillus* amounts on beef acidity at different fermentation time

乳酸菌 添加量(g/L)	不同时间肉样酸度(g/100g)				
	1h	2h	3h	4h	平均
对照	0.20	0.31	0.44	0.67	0.41 ± 0.20 ^c
1	0.36	0.51	0.89	1.35	0.78 ± 0.44 ^{ab}
2	0.64	0.79	0.96	1.41	0.95 ± 0.33 ^{ab}
3	0.94	0.99	1.06	1.54	1.13 ± 0.28 ^a
平均	0.54 ± 0.33 ^c	0.65 ± 0.30 ^{bc}	0.84 ± 0.27 ^{ab}	1.24 ± 0.39 ^a	

注:空白样起始酸度为 0.18 ± 0.015g/100g。

由表5可见,乳酸菌添加量为1~3g/L时,肉样酸度相对对照均升高极显著($p < 0.01$);发酵1~2h肉样酸度变化不显著($p > 0.05$),但相对肉样起始酸度升高极显著($p < 0.01$),肉样发酵3~4h相对发酵1h,酸度增高极显著($p < 0.01$)。

表6 乳酸菌添加量和发酵时间对牛肉酸度影响方差分析
Table 6 Variance analysis on *Lactobacillus* amount and fermentation time versus beef acidity

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	p
乳酸菌	1.15	3	0.38	30.02	0.0001
发酵时间	1.16	3	0.39	30.06	0.0001
误差	0.12	9	0.013		
总变异	2.43	15			

由表6可见,乳酸菌添加量影响牛肉酸度极显著($p < 0.01$);发酵时间影响牛肉酸度极显著($p < 0.01$)。结果表明,乳酸菌添加量和发酵时间均对肉样酸度影响极显著($p < 0.01$)。

3 讨论

3.1 乳酸菌发酵产酸与抑制腐败菌

乳酸菌是发酵糖类主要产物为乳酸的一类无芽孢、革兰氏染色阳性细菌的总称。凡是能从葡萄糖或乳糖的发酵过程中产生乳酸的细菌统称为乳酸菌。这是一群相当庞杂的细菌,目前至少可分为18个属,共有200多种。除极少数外,其中绝大部分都是人体内必不可少的且具有重要生理功能的菌群,其广泛存在于人体的肠道中^[5]。

乳酸菌在酸肉制品中有重要作用。中国传统酸肉制品中微生物菌系主要由乳酸杆菌、片球菌、葡萄球菌和德巴利氏酵母等构成。在发酵过程中当乳酸细菌数量达到最高点时,乳酸细菌数量超过其他微生物,其产生的细菌素对自身的消长有一定的调节作用并对各类微生物有一定的影响^[1]。

在我国传统酸肉发酵过程中, 发酵前期微生物构成复杂, 从环境中污染的各类微生物都有一定的适应能力, 因此, 乳酸细菌的快速增殖, 其发酵产物抑制腐败菌及有害菌的滋生是影响牛肉品质的关键环节。本实验探讨了在乳酸菌最佳发酵温度 42℃ 的条件下乳酸菌、NaCl 不同添加量及不同发酵时间对牛肉品质的影响, 试图在短时间内建立乳酸菌优势菌群的地位, 随着发酵的进行, pH 值的下降, 不耐酸的微生物得到抑制, 乳酸杆菌迅速崛起, 以其产物细菌素、乳酸和适当浓度的 NaCl 抑制腐败菌及有害菌的繁殖, 比如, 可能使肠细菌及其它一些革兰氏阴性的腐败和病原微生物得到抑制。实验结果表明, 乳酸菌 2~3g/L、NaCl 30g/L、发酵 2~3h 的发酵条件对牛肉品质有显著的改善作用($p < 0.01$), 并显著的抑制了腐败菌的滋生($p < 0.01$)。与传统的自然乳酸菌发酵相比克服了发酵时间长、产品质量不稳定、易腐败变质等缺点, 有利于标准化、工业化生产。乳酸菌发酵应考虑配以其它具有付香及良好风味的有益菌, 并使他们之间形成互惠共生生态关系, 这也正是优质生物发酵剂所应具备的条件之一, 这还需进一步研究。

3.2 乳酸菌发酵与肉嫩化

在酸液(如醋酸或乳酸)中浸渍, 是传统的嫩化及增加风味的方法。Berge 等^[6]研究了宰后不同时间注射乳酸嫩化牛肉的方法, 实验表明注射乳酸可以降低不溶性胶原蛋白的含量, 显著提高牛肉嫩度, 但是, 由于外源酸的渗透缓慢, 达到充分浸渍所需时间长, 并且肉的风味欠佳, 使这一方法的应用受到了限制^[7]。本实验研究表明, 乳酸菌添加量和发酵时间均对肉样酸度影响均极显著($p < 0.01$), 显著改善牛肉嫩度 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$), 这与上文文献报道相一致。

乳酸发酵提高牛肉嫩度机理可能是由于在发酵过程中, 肌原纤维在微生物及其酶的作用下, 结构发生变化。由于腌制脱除了部分水分, 有利于微生物深入到原料肉的内部, 并在肌纤维表面大量生长繁殖^[8-9]。所产生的多种酶类物质及肌肉内源性酶, 会对肌纤维间的结合脂类及构成肌丝的蛋白质分子进行分解, 从而在深层次上改变肌肉的组织结构及理化特性, 改善牛肉嫩

度, 不同的微生物会发挥不同的作用^[10-11], 这也可能是自然发酵制品的风味要优于纯菌种发酵制品的原因^[12]。另外, 乳酸发酵可考虑外源性蛋白酶及其他有益菌的加入以进一步改善肉的嫩度和风味。

4 结 论

乳酸发酵可极显著($p < 0.01$)改善牛肉品质, 通过乳酸发酵能显著提高牛肉嫩度, 并极显著($p < 0.01$)抑制牛肉腐败。在乳酸菌 2~3g/L、NaCl 30g/L、发酵 2~3h 的条件下, 酸牛肉品质 TVB-N $\leq 5.0\text{mg}/100\text{g}$ 、剪切力 $\leq 39.20\text{N}$ 、酸度 $\geq 1.0\text{g}/100\text{g}$, 较为理想。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 张根生, 沈春燕, 岳晓燕. 乳酸发酵香辣牛肉干的研制[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 623-627.
- [3] 董全, 穆建稳, 李洪军. 腊牛肉腌制过程中酶对蛋白质变化影响[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(7): 116-120.
- [4] 邹荣婕, 咎林森, 梁宏伟. 秦川牛智能化专家系统的研制[J]. 中国农业通报, 2005, 21(3): 303-305.
- [5] 孙志宏, 孟和, 孙天松. 分子标记技术用于乳酸菌分类鉴定研究进展[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(5): 35-38.
- [6] BERGE P, ERTBJERG P, LARSEN L M, et al. Tenderization of beef by lactic acid injected at different times post mortem[J]. Meat Science, 2001, 57(4): 347-357.
- [7] KOTULA K L, THELAPPURATH R. Microbiological and sensory attributes of retail cuts of beef treated with acetic and lactic acid solutions [J]. Journal of Food Protection, 1994, 57(5): 665-670.
- [8] KENNEALLY P M. Effects of environmental conditions on microbial proteolysis in a pork myofibril model system[J]. Appl Microb, 1999, 87: 794-803.
- [9] ETLINGER J D, ZAK R, FISCHMAN D A. Compositional studies of myofibrils from rabbit striated muscle[J]. Cell Biology, 1976, 68: 123-141.
- [10] WANG K. Purification of titin and nebulin[J]. Methods in Enzymology, 1982, 85: 264-274.
- [11] FRANSEN N G, O'CONNELL M B, ARENDT E K. A modified agar medium for the screening of proteolytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes intern[J]. Food Microb, 1997, 36: 235-239.
- [12] NAES H, HOLCK A L, BLOM H. Accelerated ripening of dry fermented sausage by the addition of a *Lactobacillus* proteinase intern[J]. Food Sci and Tech, 1995, 29: 651-659.