

腊鱼加工过程中微生物及理化特性的变化

曾令彬^{1,2}, 熊善柏^{1,2,*}, 王莉¹

(1.华中农业大学食品科技学院, 湖北 武汉 430070; 2.湖北省水产品加工工程技术中心, 湖北 武汉 430070)

摘要: 以白鲢为原料, 采用传统方法制作腊鱼, 研究加工过程中微生物及理化特性的变化。腊鱼加工过程中水分含量不断下降, NaCl 含量逐渐增加。腌制阶段各类微生物的生长缓慢, 且非蛋白氮和游离氨基酸含量下降。干燥的前 10d 各类微生物数量显著上升, 干燥的各阶段非蛋白氮和游离氨基酸的含量显著上升, TBA 值也显著增加。乳酸菌、微球菌、葡萄球菌和酵母菌是腊鱼中的优势微生物菌群。腌制和干燥加工改变了鱼肉中游离氨基酸的组成, 其中蛋氨酸、谷氨酸、缬氨酸、丝氨酸和苏氨酸的增加对腊鱼风味形成具有重要作用。

关键词: 腊鱼; 微生物; 理化特性

Changes in Microbe Quantity and Physico-chemical Properties during Processing of Cured Silver Carp

ZENG Ling-bin¹, XIONG Shan-bai^{1,2,*}, WANG Li¹

(1.College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2.Aquatic Product Engineering and Technology Research Center of Hubei Province, Wuhan 430070, China)

Abstract: The changes in microbe quantity and physico-chemical properties were studied during processing of cured silver carp through traditional method. Over the whole processing, moisture declines but NaCl content increases significantly. The growth of various microorganisms slows down, and the contents of non-protein nitrogen and free amino acids decrease during the curing. However, the microbe amount significantly increases in the former phase of drying, and the contents of non-protein nitrogen (NPN), free amino acids and TBA increase significantly over the whole phase of drying. The dominant microbial groups in cured fish were lactic acid bacteria, *Micrococcus*, *Staphylococcus* and yeast. Both curing and drying processes affect the composition of free amino acids in the muscle of silver carp. The contents of methionine, glutamic acid, valine, serine and threonine are higher in cured fish than those in raw muscle, and they may play an important role in flavor formation of cured silver carp.

Key words: cured fish; microorganism; physico-chemical characteristics

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)03-0054-04

腌腊制品的加工一般要经过腌制和干制两道工序, 以形成其独特的风味特征。腌制过程主要是食盐渗透的过程, 不仅赋予产品主要滋味, 而且对微生物进行选择培养。干燥则是脱除大部分水分, 使成品质量稳定、便于贮藏。发酵香肠^[1]、干腌火腿^[2]、腊肉^[3]等产品的研究表明, 干燥过程中有大量的乳酸菌、微球菌与葡萄球菌、酵母菌、霉菌生长。这些微生物可分泌一些水解酶, 将腌制原料中的蛋白质和脂质逐步水解成小肽、游离氨基酸以及游离脂肪酸等小分子物质。游离氨基酸本身是重要的呈滋味物质^[4], 而且许多游离氨基酸是挥发性风味成分的前体物质^[5], 不饱和游离脂肪

酸则易发生氧化而形成醛、酮等挥发性风味成分^[6]。

腊鱼是我国典型的传统腌腊制品之一, 已往的研究主要侧重于加工工艺的优化, 对腊鱼中的挥发性成分^[7-8]、乳酸菌^[9]也有初步研究, 但是对腊鱼品质特征形成规律仍不清楚。本实验以传统加工工艺制作腊鱼, 研究加工过程中主要微生物及理化变化, 以明确加工过程在腊鱼品质特征形成中的作用。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

尾重 1.0 ± 0.2kg 的鲜活白鲢 华中农业大学集贸市场。

收稿日期: 2008-01-28

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006BAD05A18); 科技部农业成果转化基金项目(国科农发社字[2005]380 号)

作者简介: 曾令彬(1982-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产品加工与贮藏。E-mail: 12010216@webmail.hzau.edu.cn

* 通讯作者: 熊善柏(1963-), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品大分子结构及功能特性、食品控制、食品酶学。

E-mail: xingsb@mail.hzau.edu.cn

1.2 方法

1.2.1 腊鱼制作方法

将原料鱼去鳃、鳞、内脏、脊椎骨和头，肉切成两半，清洗后沥干表面水分。鱼块中添加5%的花椒盐，混匀后于10℃腌制4d，腌制好的鱼块于10~15℃自然条件下干燥17d得到腊鱼成品。其中，花椒盐的制作采用文献[10]中的方法。

1.2.2 取样方法

腊鱼加工过程中，分别于原料、腌制1d、腌制3d、腌制结束(腌制4d)、干燥3d、干燥10d、成品(干燥17d)7个阶段取样。

1.2.3 微生物分析方法

无菌操作取10.0g鱼背肌肉，在超净工作台中用无菌研钵磨碎后转移到90ml无菌生理盐水中，混匀，然后10倍稀释至适当浓度，取3~5个稀释度，每个稀释度均用不同的培养基倒3个φ90mm的平皿。于30℃培养48h，选取合适稀释度的平皿计数。其中，细菌总数用PCA培养基，乳酸菌采用MRS琼脂培养基，微球菌与葡萄球菌采用MSA培养基，肠杆菌采用VRBD琼脂培养基^[6]。

1.2.4 理化特性分析方法

样品用小型绞肉机绞碎后，称取一定量样品采用下述方法测定理化指标：水分含量：105℃常压干燥法^[11]；pH值：pH计法^[11]；NaCl含量：硝酸银滴定法^[11]；粗蛋白含量：微量凯氏定氮法^[11]；粗脂肪含量：索氏提取法^[11]；2-硫代巴比妥酸(TBA)值：比色法^[11]；非蛋白氮含量：微量凯氏定氮法^[12]；游离氨基酸含量：高效液相色谱法^[12]。其中，粗蛋白含量、非蛋白氮含量、游离氨基酸含量以及粗脂肪含量均以干基计，实验结果为三次测量平均值±标准差($\bar{x} \pm s$, n=3)。

1.3 数据分析方法

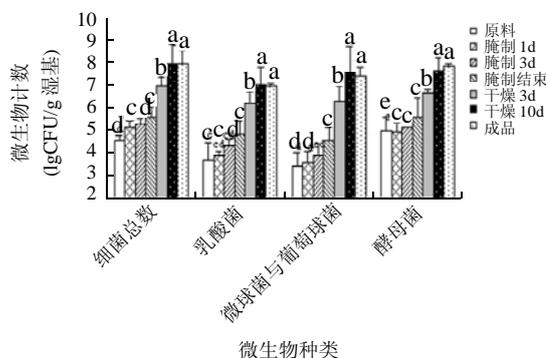
所有数据采用Excel与SAS软件及其相关方法进行处理和分析，其中显著性分析采用Duncan检验，p>0.05说明变化不显著，p<0.05说明变化显著^[13]。

2 结果与分析

2.1 腊鱼加工过程中主要微生物菌群的变化

由图1可知，腊鱼加工过程中各类微生物数量均有增长，但特点不同。腌制过程中由于受食盐和低温的作用，鱼肉中的细菌总数、乳酸菌、微球菌与葡萄球菌、酵母菌的数量呈现缓慢增长的趋势。干燥前10d微生物的数量增加显著，原因是一方面鱼肉暴露于空气中且肌肉水分含量较高而易于微生物生长，另一方面干燥脱水可导致微生物的相对数量增加。干燥后期由于鱼肉

中水分含量的降低导致水分活度下降，抑制了微生物的生长，各类微生物数量不再增长。



同组柱形图上字母不同者表示差异显著。

图1 腊鱼加工过程中主要微生物数量变化

Fig.1 Changes in counts of main microorganism during processing of cured fish

腊鱼加工过程中有大量的乳酸菌、微球菌与葡萄球菌和酵母菌生长，其数量级与细菌总数一致，说明腊鱼品质的形成是多类微生物共同作用的结果，且乳酸菌、微球菌与葡萄球菌和酵母菌是腊鱼加工中的优势菌群。酵母菌主要生长在腌腊制品的表面，可以显著提高制品的香气^[14]。乳酸菌能发酵糖类产生乳酸和一些特殊的多肽物质，对腌腊制品的品质形成和食品安全均具有重要意义^[15]。许多微球菌与葡萄球菌具有明显的蛋白酶和脂肪酶活性，对腌腊制品风味的形成具有重要作用^[16]。

2.2 腊鱼加工过程中理化特性的变化

腌制过程中鱼肉中的水分由于食盐的渗透作用而析出，水分含量下降，且腌制前期下降速度明显，腌制中后期下降速度缓慢。干燥过程中水分含量一直呈明显下降趋势。鱼肉中的NaCl含量在腌制阶段由于食盐渗透而显著增加，干燥阶段由于水分蒸发而进一步增加。由于乳酸菌的产酸以及酶促水解产生了游离氨基酸和游离脂肪酸^[15]，腊鱼的pH值在整个加工过程中呈下降趋势，其中在腌制初期和干燥过程中下降最多。鱼肉中的粗蛋白含量变化不大，仅干燥后期有明显下降，原因可能是干燥后期生成了许多含氮挥发性成分。非蛋白氮在腌制过程中下降，在干燥过程中显著增加，这主要是在微生物和内源酶的作用下，蛋白质发生降解而生成小肽和游离氨基酸等物质，但在腌制阶段这些小分子物质一方面易随腌渍液流失，另一方面也易被微生物利用消耗。粗脂肪含量在加工过程中变化不大。醛类化合物是脂肪酸降解的重要产物，TBA值可反映样品中醛类物质的含量。腊鱼加工中的TBA值在腌制阶段变化不大，干燥阶段呈显著增长趋势，说明鱼肉中脂肪的分解与氧化主要是在干燥过程进行的。

游离氨基酸是非蛋白氮的重要组成部分，其变化趋

表 1 腊鱼加工过程中理化成分含量
Table 1 Changes in physico-chemical parameters during processing of cured fish

工艺过程	理化指标						
	水分 (%, 湿基)	NaCl 含量 (%, 湿基)	pH	粗蛋白含量 (%, 干基)	非蛋白氮含量 (%, 干基)	粗脂肪含量 (%, 干基)	TBA 值 (MAD mg/kg)
原料	79.65 ± 0.14 ^a	0.12 ± 0.02 ^e	6.60 ± 0.01 ^a	84.3 ± 0.6 ^a	1.29 ± 0.03 ^c	5.40 ± 0.35 ^a	1.44 ± 0.04 ^d
腌制 1d	71.94 ± 0.62 ^b	2.79 ± 0.11 ^f	6.54 ± 0.01 ^b	84.8 ± 2.1 ^a	1.02 ± 0.02 ^{cd}	5.42 ± 0.40 ^a	1.30 ± 0.05 ^d
腌制 3d	71.05 ± 0.33 ^{cb}	3.79 ± 0.03 ^c	6.52 ± 0.01 ^c	83.7 ± 2.3 ^a	1.04 ± 0.02 ^d	5.34 ± 0.09 ^a	1.66 ± 0.06 ^d
腌制结束	70.24 ± 0.32 ^c	4.14 ± 0.09 ^d	6.52 ± 0.03 ^c	82.0 ± 2.0 ^{ab}	0.98 ± 0.03 ^e	5.39 ± 0.06 ^a	1.42 ± 0.01 ^d
干燥 3d	61.87 ± 0.54 ^d	5.70 ± 0.41 ^c	6.53 ± 0.01 ^c	83.8 ± 2.0 ^a	1.35 ± 0.04 ^b	5.20 ± 0.27 ^a	10.24 ± 0.02 ^c
干燥 10d	53.59 ± 0.80 ^e	6.99 ± 0.09 ^b	6.50 ± 0.02 ^d	84.9 ± 1.4 ^a	1.70 ± 0.02 ^a	5.42 ± 0.08 ^a	27.59 ± 0.09 ^b
成品	33.52 ± 0.44 ^f	9.92 ± 0.06 ^a	6.44 ± 0.01 ^e	80.9 ± 0.8 ^b	1.74 ± 0.03 ^a	5.13 ± 0.57 ^a	38.74 ± 0.51 ^a

注: 同列数据上标字母不同表示彼此差异显著($p < 0.05$)。下同。

表 2 腊鱼加工过程中游离氨基酸的含量及相对变化量
Table 2 Contents of free amino acids and their relative changes during processing of cured fish

氨基酸	游离氨基酸含量(mg/100g 干基)			相对变化量(%)		
	原料	腌制结束	成品	$\Delta 1$	$\Delta 2$	$\Delta 3$
天冬氨酸	45.06 ± 1.61 ^a	50.13 ± 1.41 ^a	43.01 ± 7.89 ^a	11.29 ± 2.34	-14.27 ± 15.11	-4.28 ± 14.99
谷氨酸	46.74 ± 3.18 ^b	42.70 ± 2.73 ^b	70.43 ± 18.27 ^a	-8.32 ± 9.23	64.12 ± 34.95	50.04 ± 32.64
丝氨酸	53.57 ± 10.78 ^b	54.22 ± 3.54 ^b	70.63 ± 5.84 ^a	3.96 ± 20.82	30.78 ± 15.85	34.58 ± 21.71
组氨酸	989.12 ± 23.94 ^a	682.51 ± 38.81 ^c	895.79 ± 12.59 ^b	-30.91 ± 5.53	31.61 ± 9.49	-9.42 ± 1.03
甘氨酸	712.44 ± 8.52 ^a	597.02 ± 45.99 ^b	582.33 ± 32.90 ^b	-16.15 ± 7.16	-1.80 ± 13.17	-18.29 ± 3.66
苏氨酸	94.75 ± 5.98 ^b	55.49 ± 3.86 ^c	130.05 ± 9.25 ^a	-41.10 ± 7.92	134.96 ± 21.44	37.70 ± 14.45
精氨酸	554.77 ± 24.14 ^a	386.79 ± 7.40 ^b	354.75 ± 107.33 ^b	-30.21 ± 2.69	-8.68 ± 25.74	-36.34 ± 17.39
丙氨酸	502.99 ± 6.92 ^a	296.26 ± 6.54 ^b	300.64 ± 46.66 ^b	-41.10 ± 1.00	1.73 ± 18.05	-40.15 ± 10.08
酪氨酸	32.66 ± 1.21 ^b	31.61 ± 5.69 ^b	45.36 ± 8.15 ^a	-3.16 ± 17.60	43.57 ± 4.80	39.08 ± 25.85
半胱氨酸	27.46 ± 22.32 ^a	18.22 ± 3.05 ^a	11.94 ± 4.58 ^a	22.06 ± 121.58	-35.88 ± 14.08	-27.49 ± 66.89
缬氨酸	50.21 ± 6.98 ^b	39.19 ± 2.84 ^b	73.34 ± 11.01 ^a	-20.62 ± 15.24	89.22 ± 43.48	47.57 ± 25.31
蛋氨酸	31.81 ± 2.61 ^b	31.77 ± 4.28 ^b	95.98 ± 4.53 ^a	-0.03 ± 12.22	206.46 ± 50.40	203.79 ± 37.06
苯丙氨酸	49.95 ± 3.84 ^a	49.54 ± 12.68 ^a	53.82 ± 9.35 ^a	-1.69 ± 17.35	10.41 ± 13.71	7.26 ± 10.60
异亮氨酸	26.20 ± 2.87 ^a	25.81 ± 6.63 ^a	35.58 ± 7.43 ^a	-0.28 ± 29.01	46.17 ± 58.24	34.91 ± 13.71
亮氨酸	87.42 ± 7.00 ^a	70.96 ± 4.49 ^a	74.17 ± 12.50 ^a	-18.24 ± 11.12	5.55 ± 24.93	-15.55 ± 7.32
赖氨酸	116.88 ± 7.15 ^a	96.63 ± 6.46 ^b	116.71 ± 10.31 ^a	-16.99 ± 9.42	21.39 ± 16.65	-0.25 ± 2.82
脯氨酸	90.26 ± 16.46 ^b	56.27 ± 2.29 ^c	110.35 ± 5.02 ^a	-36.63 ± 8.45	96.23 ± 9.15	24.75 ± 20.98
总量	3512.30 ± 53.55 ^a	2585.14 ± 94.40 ^c	3064.91 ± 271.29 ^b	-26.36 ± 3.69	18.93 ± 15.16	-12.79 ± 6.54

注: 总量为所测各种氨基酸含量之和; 相对变化量 $\Delta 1 = (\text{腌制结束含量} - \text{原料含量}) / \text{原料含量}$; $\Delta 2 = (\text{成品含量} - \text{腌制结束含量}) / \text{腌制结束含量}$; $\Delta 3 = (\text{成品含量} - \text{原料含量}) / \text{原料含量}$ 。

势与非蛋白氮一致。如表 2 所示, 在腌制阶段, 游离氨基酸易随腌渍液流失而导致总游离氨基酸含量显著下降。其中, 游离的组氨酸、苏氨酸、精氨酸、丙氨酸和脯氨酸含量下降了 30.21%~41.10%, 其次甘氨酸和赖氨酸也分别下降了 16.12% 和 16.99%, 其他氨基酸含量变化不显著。

干燥阶段鱼肉中的游离氨基酸含量有所增加。与腌制结束时相比, 腊鱼成品中的蛋氨酸含量增加最多(206.46%), 其次是苏氨酸(134.96%)、脯氨酸(96.23%)和谷氨酸(64.12%)。游离氨基酸含量的增加可能是鱼肉中的内源蛋白酶及微生物蛋白酶作用的结果, 而各种氨基酸增加的比例不同可能是由于不同来源蛋白酶的特性不同所引起的。

腊鱼成品中的总游离氨基酸含量为 3064.91mg/100g

(干基), 比原料中的下降了 12.79%, 而且游离氨基酸的组成也存在较大差异。其中, 蛋氨酸的含量增长了 203.79%, 其次是谷氨酸(50.04%)、缬氨酸(47.57%), 此外丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸和异亮氨酸也均增长了 30% 以上。这些氨基酸中蛋氨酸、缬氨酸和异亮氨酸是呈苦味氨基酸, 丝氨酸和苏氨酸具有甜味, 谷氨酸是典型的鲜味氨基酸, 另外腊鱼中的 NaCl 含量较高, 是良好的助鲜剂。可见, 腊鱼滋味的形成是多种氨基酸共同作用的结果, 包括苦味氨基酸对腊鱼滋味的形成可能起到重要作用。

3 结论

腊鱼加工过程中水分含量不断下降, NaCl 含量逐渐增加, 从而形成特有的微生物区系和理化品质。腊

鱼加工中有大量的乳酸菌、微球菌与葡萄球菌和酵母菌生长,且在干燥的中前期其数量增加最明显。腊鱼的干燥阶段发生了明显的蛋白质降解和脂肪氧化反应,非蛋白氮和游离氨基酸,尤其是蛋氨酸、谷氨酸、缬氨酸、丝氨酸和苏氨酸的含量显著上升, TBA 值也显著增加。这些变化对腊鱼风味的形成起到重要作用。

参考文献:

- [1] GARCIA-FONTAN M C, LORENZO J M, PARADA A, et al. Microbiological characteristics of "androlla", a Spanish traditional pork sausage[J]. *Food Microbiology*, 2007, 24: 52-58.
- [2] WANG X H, MA P, JIANG D F, et al. The natural microflora of Xuanwei ham and the no-mouldy ham production[J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 77: 103-111.
- [3] 刘洋, 崔建云, 任发政, 等. 低盐腊肉在加工过程中的菌相变化初探[J]. *食品工业科技*, 2005, 26(8): 49-50.
- [4] OTTINGER H, SOLDI T, HOFMANN T. Discovery and structure determination of a novel Maillard-derived sweetness enhancer by application of the comparative taste dilution analysis (cTDA)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51: 1035-1041.
- [5] JURADO A, GARCIA C, TIMON M L, et al. Effect of ripening time and rearing system on amino acid-related flavor compounds of Iberian ham [J]. *Meat Science*, 2007, 75(4): 585-594.
- [6] VESTERGAARD C S, SCHIVAZAPPA C, VIRGILI R. Lipolysis in drycured ham maturation[J]. *Meat Science*, 2000, 55: 1-5.
- [7] 谭汝成, 刘敬科, 熊善柏, 等. 应用固相微萃取与 GC/MS 分析腊鱼中的挥发性成分[J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(6): 118-186.
- [8] 谭汝成, 熊善柏, 鲁长新, 等. 加工工艺对腌腊鱼中挥发性成分的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2006, 25(2): 203-207.
- [9] 曾令彬, 谭汝成, 熊善柏, 等. 腌腊鱼加工中优势乳酸菌的分离鉴定[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(1): 115-119.
- [10] 谭汝成, 曾令彬, 熊善柏, 等. 外源脂肪酶对腌腊鱼品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2007, 33(5): 68-71.
- [11] 黄伟坤. *食品检验与分析*[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1989.
- [12] 赵改名, 周光宏, 柳艳霞. 肌肉非蛋白氮和游离氨基酸在金华火腿加工过程中的变化[J]. *食品科学*, 2006, 27(2): 33-37.
- [13] 赵思明. *食品科学与工程中的计算机应用*[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 46-47.
- [14] 李开雄, 唐明翔, 蒋彩虹, 等. 酵母菌在发酵香肠中的应用[J]. *肉类工业*, 2002(8): 4-16.
- [15] 吴丽红, 贺稚非. 发酵香肠中的微生物发酵剂的研究发展[J]. *四川食品与发酵*, 2005(1): 31-35.
- [16] 王永霞, 牛天贵, 郝华昆. 肉品发酵剂葡萄球菌和微球菌的筛选[J]. *食品与发酵工业*, 2004, 30(9): 5-9.