

HbNO 在发酵灌肠制品中的应用研究

蒋云升, 薛党辰, 董 杰, 刘 莎, 郭本功
(扬州大学旅游烹饪学院, 江苏 扬州 225001)

摘 要: 使用猪血和 NaNO_2 制备亚硝基血红蛋白(HbNO), 将其代替助色剂 NaNO_2 应用于香肠中, 能有效降低香肠中 NO_2^- 残留量, 并提高其铁的含量。进一步添加产香发酵菌和天然抗氧化剂, 在增进香肠风味, 消除肉毒中毒隐患及抗氧化保质方面起控制作用, 从而实现其低硝、高铁、增香、保质、安全的目标。

关键词: H b N O ; 灌肠; 低硝; 高铁; 抗氧化; 增香

Study on Application of Nitrosohemoglobin in Sausage Products

JIANG Yun-sheng, XUE Dang-chen, DONG Jie, LIU Sha, GUO Ben-gong
(College of Tourism and Culinary Science, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China)

Abstract: Using pig blood and NaNO_2 , we conducted the experiment of the synthesis of nitrosohemoglobin (HbNO) and put it into sausage instead of the color additives NaNO_2 . The result shows obvious reduction of the amount of residual NO_2^- and enhancement of the inclusion of iron. The addition of natural antioxidant and microbe which made sausage ferment to meat improved the sausage flavor and played a controlling role in removing hidden peril and enduring preservation and antibotulinum. All mentioned above help achieve the aim to lower the nitrite content and increase the amount of iron, improve the flavor, ensure safety of sausage.

Key words: HbNO; sausage; nitrite-low; iron improvement; antioxidation; flavor creasing

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0166-05

传统香肠生产中使用 NaNO_2 、 KNO_2 、VC 等发色剂和发色助剂, 以获得理想的色泽, 增强产品的防腐性, 赋予产品独特的风味。但是亚硝酸盐的直接投入使用会导致残留较高的 NO_2^- , 残留的 NO_2^- 会与蛋白质代谢产物结合, 生成致癌物质 N-亚硝基化合物, 构成食品安全隐患。

为解决肉制品中 NO_2^- 残留的问题, 国内外学者从上世纪八十年代起就曾利用其它物质代替亚硝酸盐进行了大量的研究和实验, 如麦芽酚、柠檬酸铁、葡萄糖酸铁等^[1]。但在发色、呈味、防腐等方面效果均不理想。本研究利用猪血中血红蛋白(Hb)与 NaNO_2 中的亚硝基(NO_2)人工合成的亚硝基血红蛋白(HbNO), 作为助色剂添加到香肠中, 并同时添加产香发酵菌和天然抗氧化剂, 以实现香肠优质安全和营养保健的目标。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜猪血、肠衣、猪瘦肉、肥膘、白糖、精盐、

50%曲酒 市售。

发酵菌 C₁₄₁ 和 R₀₄ 课题组自行分离筛选^[2]。

实验用水为蒸馏水, 试剂不加说明为分析纯试剂。

柠檬酸钠、 NaHSO_3 、乳酸、 NaHCO_3 、 NaNO_2 、VC、葡萄糖、NaCl, 制HbNO色素用; HCl、氨水、 ZnSO_4 、NaOH、对氨基苯磺酸钠、冰乙酸、盐酸萘乙二胺、乙酸、 NaNO_2 , 测 NO_2^- 残留用; 盐酸羟胺、HCl、醋酸钠、邻菲罗啉、还原性铁粉, 测铁含量用。

培养基: 普通营养琼脂、营养肉汤、APT 培养基, 按文献[3]配制。

食品添加剂: VE、 NaNO_2 , 均为食用级。

1.2 仪器与设备

HH-4S数显控温水浴锅 常州国华电器有限公司; JA200型电子天平 北京塞多利斯天平有限公司; 722光栅分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; pHs-3C精密pH计 上海雷磁仪器厂; DCF30-IIAB电热鼓风干燥箱 南京实验仪器厂; 箱式电阻炉、SX2自动恒温控制台 上海锦昱科学仪器有限公司; 电炉 上海华联环境实验

收稿日期: 2007-05-20

基金项目: 江苏省“十五”科技攻关项目(BE2005331); 扬州大学自然科学基金项目(2006XJJ17)

作者简介: 蒋云升(1962-), 男, 副教授, 研究方向为肉品卫生与烹饪学。

表1 HbNO色素制取
Table 1 Conditions of HbNO synthesis

实验号	猪血量(ml)	pH 值	NaNO ₂ (g)	VC 量(g)	添加NaNO ₂ 与VC的时间间隔(min)	反应温度(℃)
I组	500	6.2	2.6	1	2	50
II组	500	5.6	2.6	1	0.25	50
III组	500	6.2	2.6	1	0.25	50

设备公司恒昌仪器厂; 提式高压灭菌锅 上海华线医用核子仪器有限公司; 恒温培养箱 上海市跃进医疗器械一厂; 粉碎机 江苏省姜堰市分析仪器厂; 布氏漏斗; 抽滤装置; 冷藏柜。

1.3 方法

1.3.1 HbNO 的制取

HbNO 的制取流程为:

采血→加NaHSO₃→破胞→加NaNO₂→加热反应→干燥粉碎→HbNO^[4]

制取时, 采集新鲜猪血, 迅速加入浓度为15%的柠檬酸钠溶液, 在-5~0℃环境中冷藏10~24h。加入0.14%的NaHSO₃助红细胞的破碎, 并置于55~60℃的控温水浴锅中加热, 有冷热破胞的效果, 并灭活有关酶类, 强力搅拌15~20min, 加速红细胞的破碎^[5]。将破胞后的血液分I、II、III三组(见表1)。

按实验设计要求, 分别用乳酸和NaHCO₃调pH值。

每组分别按0.52g/100ml亚硝酸钠, 0.2g/100ml VC, 0.4%葡萄糖和2% NaCl的顺序添加。

将三组均置于55℃的控温水浴锅中恒温反应, 定时搅拌, 直到每组变为鲜红色的浆体为止, 记录变色反应的时间、颜色稳定性、组织状况等。

将制取的HbNO浆体置于40℃条件下烘干、粉碎, 观察粉末的颜色、稳定性、溶解性, 溶液的色泽及变化等。

感官检验评价HbNO的色泽、稳定性及水溶性。NO₂残留量检验采用N-1-萘基乙二胺比色法^[5]、含铁量测定采用邻菲罗啉比色法^[6]。

1.3.2 发酵剂的制备

将发酵菌菌株接种于营养肉汤中30℃培养48h。无菌移液管吸取1ml营养肉汤培养物作1:10稀释及平板计数。将剩余的发酵菌营养肉汤培养物进行离心分离, 浓缩菌体作为发酵剂供制备发酵香肠使用^[2]。

1.3.3 香肠的制作与品质评价方法

香肠制作其工艺流程为: 原料整理→拌馅(腌制剂和发酵剂等)→灌肠→发酵→风干→成品^[5]

将选好的猪肉切成1~1.2cm³的小方丁, 按肥瘦比例1:4混合; 将切好的瘦肉和肥肉丁放入容器内, 将精盐(35g/kg)撒在肉表面上, 充分拌匀后静置30min, 再放入糖(白糖60g/kg、葡萄糖10g/kg)、酱油及香肠腌制

剂、发酵剂等其他辅料, 拌匀后即可灌肠。香肠腌制剂、发酵剂配方设计见表2。

表2 香肠腌制剂、发酵剂配方设计
Table 2 Composition design of HbNO and fermental bacteria in sausage

组别	腌制剂及用量		发酵剂及用量	
	腌制剂	用量(g/kg)	发酵剂	用量(ml)
①	NaNO ₂	0.15	—	—
②	NaNO ₂	0.15	C ₁₄₁	1
③	HbNO	9	—	—
④	HbNO	9	—	—
⑤	HbNO	9	C ₁₄₁	1
⑥	HbNO	9	C ₁₄₁	1
⑦	HbNO	9	R ₀₄	1
⑧	HbNO	9	R ₀₄	1
⑨	HbNO	9	C ₁₄₁	0.5
⑩	HbNO	9	R ₀₄	0.5
			C ₁₄₁	0.5

香肠发酵剂营养肉汤培养物中含菌数为2×10⁷CFU/ml, 离心后得发酵剂, 无菌水稀释, 香肠发酵剂的使用量为2×10⁷CFU/100g馅重。

将肠衣盐干制品使用前用清水漂洗除盐, 将拌匀的肠馅灌入肠衣内, 戳孔排气, 挤抹肠身使其粗细均匀、肠馅结实, 两头用棉线扎紧, 串于晾架上挂晾。

将灌肠置于30℃发酵24h后, 自然风干, 香肠间保持一定距离, 以利通风透气。

对添加HbNO、细菌发酵剂、VE后制成的香肠进行重量、亚硝酸盐残留量、含铁量测定, 对色泽、风味、组织状态、色泽稳定性、保存性进行序时观察及综合评价。

2 结果与分析

2.1 HbNO 制取效果

2.1.1 HbNO 制取条件

根据HbNO色素合成制取条件, 在适宜温度下观察, 记录各组加热反应的情况; 根据HbNO色素合成制取条件, 对各组制成品进行色泽、稳定性、水溶性、水溶液色泽稳定性等进行感官指标比较(见表3)。

在NaNO₂用量相同的条件下, 不同pH值, 不同的添加NaNO₂和VC的时间间隔对HbNO的色泽、稳定

表3 HbNO色素粉制取效果
Table 3 Test results of HbNO color products

指标	实验结果		
	I组	II组	III组
干燥前黏度	稍有增加	增加明显	增加最大
干燥前颜色	变化不明显	鲜红	鲜红
加热反应时间(min)	23	23	20
色素粉色泽	暗红	褐红	褐红
色素粉在空气中的稳定性	较稳定	较稳定	稳定
色素粉的水溶性	难溶	微溶	微溶

注：猪血NaNO₂添加量为0.52%。

性、溶解性、合成时间等方面有影响。经综合比较，合成制取HbNO色素效果最好的为III组，其条件为pH值6.2，加入NaNO₂后迅速加入VC搅拌均匀。经干燥粉碎后，500ml猪血制得HbNO色素约160g，得率为32%。

2.1.2 HbNO中NO₂⁻残留量与含铁量

称取HbNO样品10.0g配制成水溶液，经过滤后得样液，于波长550nm处进行比色测定^[6]。结果0.1ml HbNO样液的吸光度平均值为0.518，得HbNO的NO₂⁻残留量为5800mg/kg。

称取HbNO样品10.0g经灰化后配制成样液，于波长510nm处进行比色测定^[7]。结果10ml HbNO样液的吸光度平均值为0.356，计算得HbNO中铁的含量为86.6mg/kg。

2.2 香肠发酵剂的使用效果

2.2.1 香肠发酵过程中pH值的变化

香肠灌制好后，肉馅中的pH值下降幅度随时间先快后慢(见表4)。

由表4看出，①组和③组未加入发酵菌的香肠，发酵初期pH值下降速度快，幅度大。②、⑤、⑦、⑨

表4 香肠产品的pH值变化
Table 4 Changes of pH values of sausage during fermentation period

组别	风干时间(d)			
	0	1	2	5
①	6.6	5.3	5.5	5.8
②	6.6	6.0	6.2	6.2
③	6.6	5.4	5.5	5.8
⑤	6.6	6.0	6.2	6.2
⑦	6.6	5.5	5.8	5.9
⑨	6.6	5.9	6.1	6.2

组加入了发酵菌的香肠，其pH值虽有下降，但是不如①组和③组显著，这可能由于添加的发酵菌对天然菌生长产生抑制所致。

2.2.2 发酵剂对NO₂⁻的降解作用

称取香肠样品10.0g配制成溶液经处理过滤后得样液，于波长550nm处进行比色，记录其吸光度，从标准曲线上查找出对应的NO₂⁻浓度，结果见表5。

从表5看出，①组与②组比较：②组为既加硝又加C₁₄₁的香肠，其NO₂⁻残留量低于只加硝的①组；③组与⑤组、⑦组、⑨组比较：⑤组、⑦组、⑨组为既添加HbNO色素又添加发酵菌的香肠，其NO₂⁻残留量低于只添加HbNO色素的③组；⑤组与⑦组比较：添加C₁₄₁的⑤组其NO₂⁻残留量低于添加R₀₄的⑦组；可见，发酵菌可以起到降低NO₂⁻残留量的作用；C₁₄₁降低NO₂⁻残留量的作用优于R₀₄。

2.3 香肠制作结果

2.3.1 香肠使用HbNO的效果

HbNO色素应用于香肠的试验组，在香肠的成色效果、风味、组织状态、稳定性、保存性等进行多次感官评价比较，结果见表6。

表5 香肠产品中NO₂⁻残留量测定结果
Table 5 Residue of NO₂⁻ in sausage fermental products

项目	香肠组号					
	①	②	③	⑤	⑦	⑨
NO ₂ ⁻ 残留量(mg/kg)	28.75±0.26	20.3±0.13	6.88±0.09	2.94±0.05	5.00±0.06	2.94±0.01

表6 不同风干日期香肠的品质比较
Table 6 Comparison of sausage quality at different dates of windpower drying

项目	组别	风干日期(d)			
		0	5	10	15
色泽	①~②	浅红	粉红	玫瑰红	玫瑰红
	③~⑩	粉红	玫瑰红	玫瑰红	暗红
色泽稳定性	③~⑩	良好	良好	良好	较好
风味特性	①~②	后熟风味	后熟风味	后熟风味	后熟风味
	③~⑩	后熟风味	后熟风味	后熟风味	后熟风味
结构紧密性	①~②	良好	良好	良好	良好
	③~⑩	良好	良好	良好	良好
耐保存性	①~②	良好	良好	良好	良好
	③~⑩	良好	良好	良好	良好

从表 6 看出, HbNO 色素添加到香肠中对产品的感官指标没有影响, 各项感官指标同加硝香肠差别不大, 可以代替硝直接应用于香肠中作为发色剂。

2.3.2 香肠中 NO_2^- 残留量、含铁量测定结果

称取香肠样品 10.0g 配制成溶液经处理过滤后得样液, 于波长 550nm 处进行比色, 测定 NO_2^- 残留量; 称取香肠样品 10.0g 经灰化后配制成样液, 于波长 510nm 处进行比色, 测定含铁量残留量, 结果见表 7。

表 7 香肠中 NO_2^- 残留量、含铁量测定结果
Table 7 Amount of NO_2^- and iron in sausage products

项目	组 别	
	①	③
NO_2^- 残留量 (mg/kg)	28.75 ± 0.13	6.88 ± 0.08
铁含量 (mg/kg)	20.4 ± 0.09	28 ± 0.12

从表 7 看出, ①组加硝的香肠 NO_2^- 残留量为 28.75mg/kg , 符合国家标准; ③组添加了 HbNO 的香肠 NO_2^- 残留量为 6.88mg/kg , 可见其 NO_2^- 残留量低于①组, 且只有灌肠类肉制品中 NO_2^- 残留规定量的 1/4。

①组加硝的香肠铁含量为 20.4mg/kg ; ③组添加了 HbNO 的香肠铁含量为 28mg/kg 。由此可见, 添加了 HbNO 色素的香肠③组其铁含量高于未添加 HbNO 色素而添加硝的香肠①组。HbNO 色素粉末的铁含量为 86.6mg/kg , ③组肠添加了 0.9g HbNO 色素粉末, 即添加了铁 0.7794mg , ③组肠高出①组肠的铁含量基本归属于添加的 HbNO 色素粉末中的铁含量。因此, 采用 HbNO 色素制作的香肠可以提高香肠中铁含量的 37.3%。

发酵剂使香肠口感酸甜适口, 有酒香味, 发酵剂的使用增强了香肠所特有的风味。

3 讨 论

3.1 香肠腌制剂

制作香肠的配方中调味料和香辛料的使用量相对稳定, 如能把这些配料干制成粉, 配以 HbNO 色素粉末、发酵剂和食品添加剂, 分袋包装, 整合成香肠制作的方便包出售, 将有利于生产过程中的操作和质量控制。

3.2 香肠的色香味

传统的加硝香肠其发色机理是肌肉中肌红蛋白 (Mb) 分子易与 NO_2^- 结合形成稳定的 MbNO, 外加发色助剂 VC 在 NaNO_2 发色过程发挥抗氧化的重要作用, 使肉制品呈现鲜亮的玫瑰红色。而添加了 HbNO 色素制作的香肠是利用血液中 Hb 分子和肌肉中 Mb 分子对 NO_2^- 均具有较强的结合力, 且 Mb 对 NO_2^- 的吸引力大于 Hb。采用 NaNO_2 在一定条件下先同血液中 Hb 结合, 生成 HbNO。经干燥粉碎制得 HbNO 色素粉末添加到香肠中, 再与 Mb 接触, HbNO 色素中的 NO_2^- 立即被 Mb 吸引, 形成稳定的

MbNO, 使肉制品呈现鲜艳明亮的玫瑰红色。由于采用了低硝方法制作香肠, 为避免低硝导致香肠的风味不佳等现象的出现, 我们添加了产香的发酵菌, 对香肠采取增香处理。对酸敏感的球菌活性高了, 脂类物质在这些球菌的作用下, 分解成醛、酮、短链脂肪酸等多种挥发性化合物, 其中多数具有香气特征, 从而赋予香肠以特有的香味。蛋白质在微生物酶的作用下分解为氨基酸、核苷酸、次黄嘌呤等, 是香肠鲜味的主要来源。

3.3 香肠的安全与营养

实验表明, 采用 HbNO 色素添加到香肠中发色的方法能有效降低香肠中的 NO_2^- 残留量。传统的加硝香肠由于不能准确掌握肌肉中 Mb 分子与 NO_2^- 的结合率, 因此难于判定未反应的 NO_2^- 量。而 HbNO 色素中的 NaNO_2 添加量是经过准确计算而得的, 即使 HbNO 色素中存在有未反应的 NO_2^- , 它还能同肌肉中的 Hb 结合。此外, 发酵菌对 NaNO_2 也有降解作用。 NaNO_2 在适宜条件下可同肉中的胺及氨基酸发生反应, 生成亚硝胺和亚硝酰胺, 均属致癌因子, 而且 NO_2^- 还是致畸剂, 进入体内的 NO_2^- 能同血中 Hb 结合, 影响人体中 Hb 同氧的结合^[8]。国际食品界广泛关注亚硝酸盐问题, 因此采用 HbNO 色素制作香肠实现了肉制品低硝, 作为发酵剂的细菌生长繁殖亦可降低肉毒梭菌生长的风险, 保证了肉制品的安全性。

人体膳食中铁的吸收受膳食成分的影响^[9], 血红素铁的吸收率比非血红素铁高 2~3 倍, 肉类大部分铁是以血红素铁的形式存在的。血红素的基本结构是中间带有一个铁原子的原卟啉-9 分子, Mb 分子仅有一个血红素亚单位和一个球蛋白链相连; Hb 分子由四个血红素亚单位组成, 每个亚单位由一个多肽链和球蛋白相连。干燥粉碎后不对 HbNO 提纯, 可以保证血液中的其他具有较高营养价值的有机物随同 HbNO 添加到香肠中。采用 HbNO 色素制作香肠不仅可提高膳食铁的数量, 而且对提高铁的消化吸收率也起到极其重要的作用, 符合营养学理论要求。

4 结 论

猪血合成制取 HbNO 色素的 pH 值为 6.2, 加入 NaNO_2 后迅速加入 VC 搅拌均匀及干燥粉碎, 500ml 猪血可制得 HbNO 色素 160g, 得率 32%。采用 HbNO 色素制作的香肠可以提高香肠中铁含量的 37.3%, NO_2^- 残留量只有国家规定允许残留量的 1/4。使用 HbNO 色素配合 VE 和产香菌发酵剂制成的香肠具有低硝、高铁、抗氧化、增香、保质、安全的特点, 是符合现代食品安全理念的优质食品。

参考文献:

超声波辅助提取茶多糖及其分子量变化的研究

黄永春, 马月飞, 谢清若, 黄晓燕, 黄映娜
(广西工学院生物与化学工程系, 广西 柳州 545006)

摘 要: 为了解超声波强化茶多糖提取的效果及其对茶多糖分子量的影响, 本实验研究了茶多糖提取过程中温度、液料比、时间、pH 值及超声功率等因素对提取率的影响。实验结果表明, 传统提取方法的最优条件为: 温度 60℃, 液料比 20:1, 时间 120min, pH 值 6.0, 在最优条件下茶多糖的得率为 4.26%; 超声波辅助提取法的最优条件为: 超声功率 150W, 液料比 30:1, 时间 40min, 温度 60℃, pH 值 7.0, 在此条件下茶多糖的得率为 5.15%。提取得到的茶多糖样品通过 GPC 测定, 传统提取法得到的茶多糖样品平均相对分子质量为 66439, 而超声波提取得到的样品的平均相对分子质量为 47447。超声波辅助提取可明显提高茶多糖的得率, 但同时茶多糖产生降解作用。

关键词: 茶多糖; 超声波; 正交试验; 提取; 相对分子质量

Study on Effects of Ultrasonic on Extracion of Tea Polysaccharide and Changes of Molecular Weight

HUANG Yong-chun, MA Yue-fei, XIE Qing-ruo, HUANG Xiao-yan, HUANG Ying-na
(Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou 545006, China)

Abstract: In order to find out the effects of ultrasonic on the extraction and relative molecular weight of tea polysaccharide, the factors including temperature, material to liquid ratio, time, pH and ultrasonic power, which affect the extraction rate of tea polysaccharide were studied. The test was arrange by orthogonal design. The results showed that the optimum conditions of the traditional preparation method are: 60℃, 20:1 of the material to liquid ratio, 120min, pH 6.0; under these conditions, the extraction yield of tea polysaccharide is 4.26%. The optimum conditions of ultrasonic-assisted extraction are: 150W, 30:1 of the material to liquid ratio, 40min, 60℃, pH 7.0, and the extraction yield of tea polysaccharide is 5.15%. Through the GPC determining, relative molecular weight of tea polysaccharide obtained from conventional extraction is 66439, and that of tea polysaccharide obtained from ultrasonic-assisted extraction is 47447. The results showed that ultrasonic-assisted extraction could increase the extraction yield of tea polysaccharide, but tea polysaccharide was depolymerized.

Key words tea polysaccharide; ultrasonic-assisted extraction; orthogonal design; extraction; relative molecular weight
中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2007)07-0170-04

收稿日期: 2007-05-26

基金项目: 广西科学基金资助项目(桂科青 0447009)

作者简介: 黄永春(1974-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为碳水化合物科学与工程。

- [1] 蒋云升. 腌制肉新工艺[J]. 美食, 1991(1): 28-29.
- [2] 蒋云升, 汪志君, 潘明. 火腿中微生物的分离、筛选及其生物学特性的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(1): 13-15.
- [3] 卫生部. GB4789.1~4789.31-94 食品卫生检验方法微生物学部分[S]. 北京: 中国标准出版社, 1994: 134-177.
- [4] 耿欣, 孔保华. 无硝或低硝肉腌制系统[J]. 肉类研究, 1999(3): 13-15.
- [5] 南庆贤. 肉类工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003: 368.

- [6] 杨惠芬, 李明元, 沈文. GB/T5009.33-1996 食品卫生理化检验标准手册[S]. 北京: 中国标准出版社, 1998: 371-372.
- [7] 王秉栋. 动物性食品卫生理化检验[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 87-89.
- [8] 蒋云升. 烹饪卫生与安全学[M]. 2版. 北京: 中国轻工业出版社, 2004: 84-85.
- [9] 何志谦. 人类营养学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 276-291.