

添加葡萄球菌和微球菌 对广式腊肠品质的影响

张大磊¹, 蒋爱民^{1,*}, 夏列², 栗俊广^{1,2}, 程伟伟¹

(1. 华南农业大学畜产加工与质量安全控制实验室, 广东广州 510642;

2. 广东省畜禽产品加工工程技术研究开发中心, 广东广州 510642)

摘要:本研究将从广式腊肠中依据其蛋白酶、脂肪酶和亚硝酸盐还原酶活性筛选出来的葡萄球菌和微球菌 2 株菌株应用到腊肠中, 通过色差计及紫外图谱扫描、不同蛋白组分含量、脂肪氧化、蛋白氧化和色素氧化值测定及感官评价来研究其对广式腊肠色泽、质构、风味及贮藏期氧化稳定性的影响。研究表明: 微生物的添加显著提高了 a^* 值及亚硝基肌红蛋白含量。与对照组相比, 接菌组腊肠中肌浆蛋白和肌原纤维蛋白含量显著增加, 不溶性蛋白减少, 从而引起接菌组腊肠硬度值和咀嚼性显著降低, 另外接菌组比对照组具有更低的硫代巴比妥酸 (TBARS) 值、羰基值及高铁肌红蛋白含量和更高的感官评分。因此合适发酵剂的使用有助于色泽和质构的改善, 氧化稳定性的提高, 从而提高广式腊肠品质及延长货架期。

关键词: 广式腊肠, 质构, 色泽, 氧化稳定性, 发酵剂

Effect of adding staphylococcus and micrococcus on quality of Cantonese sausage

ZHANG Da-lei¹, JIANG Ai-min^{1,*}, XIA Lie², LI Jun-guang^{1,2}, CHENG Wei-wei¹

(1. South China Agricultural University Livestock Processing and the Quality and Safety Control Laboratories,

Guangzhou 510642, China; 2. The Center of Livestock and Poultry Products Processing

and Development of Engineering Technology Research, Guangzhou 510642, China)

Abstract: In this study, a selected starter culture belonging to staphylococcus and micrococcus which isolated from Cantonese sausage, on the basis of their proteolytic, lipolytic and nitrite reduction activities were employed for the manufacture of a traditional Cantonese sausage. The UV-Vis absorbance spectra and color difference meter, different protein components, lipid, protein and pigment oxidation values were determined to evaluate the influence of starter cultures on color, texture and oxidative stability of Cantonese sausage. The experimental results showed that the starter culture inoculation improved a^* value and content of nitrosomyoglobin significantly compared to the control treatment. Cantonese sausage inoculated with starter culture proved to be with higher sarcoplasmic protein and myofibrillar protein contents in comparison with the control, accompanying by decrease of insoluble protein, thus cause less hardness and chewiness. In addition, lower TBARS value, Carbonyl and metmyoglobin contents and higher sensory scores were observed in starter culture-inoculated sausages. In conclusion, this study indicated that inoculation of suitable starter culture in Cantonese sausage can prevent rancidity properties and improved sensory quality.

Key words: Cantonese sausage; texture; color; oxidative stability; starter culture

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)11-0176-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.027

传统广式腊肠以其独特的风味而闻名于世, 其风味主要源于其配料, 通常包括酒 (2%~4%)、糖 (4%~9%) 和脂肪 (30%)^[1]。但是过高的糖和脂肪含量会加速脂肪的氧化。另一方面传统广式腊肠主

要依靠自然发酵, 既耗时又不能保证产品质量的统一, 尽管近年来已使用了一些方法, 如高温缩短加工时间, 但是这些方法又会带来硬度提高等别的缺陷。因此在肉类工业中需要寻找既能提高风味, 又能改

收稿日期: 2014-08-07

作者简介: 张大磊 (1990-), 男, 硕士, 研究方向: 畜产品加工与安全控制。

* 通讯作者: 蒋爱民 (1957-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 畜产品加工与安全控制。

基金项目: 传统腌腊肉制品生产关键技术装备研究与示范; 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303082)。

善质构,同时还能在一定程度上改善货架期的方法。

Olesen 等^[2]报道过葡萄球菌属有一些工艺学上的优势,例如具有亚硝酸盐还原酶和过氧化氢酶活力,消耗氧的特性,因此添加葡萄球菌可以提高肉制品色泽的稳定性和减少酸败产物的发生。另一方面,葡萄球菌属的使用也有利于提高风味,Wu 等^[3]研究表明葡萄球菌的使用对广式腊肠的风味有一定的促进作用。同时一些葡萄球菌属还被证实具有相当强的蛋白水解能力^[4]。除了葡萄球菌属,微球菌属在发酵香肠中同样作用明显,不仅具有蛋白水解和脂肪水解的能力,还对色泽的形成及抑制不饱和脂肪酸的氧化有一定贡献^[5]。其中蛋白水解是肉制品中一个重要的生化反应,其对产品质构、风味有一定贡献;此外蛋白的水解产物中的低分子量肽已被许多研究表明具有一定的抗氧化能力^[6]。

本研究旨在前期课题组的研究基础上,对从广式腊肠 84 株革兰氏阳性球菌中综合筛选出来的 2 株菌株(葡萄球菌和微球菌),深入研究对广式腊肠色泽和质构的影响,并探讨其是否对货架期具有一定的改良作用,以为广式腊肠中的内源微生物在广式腊肠中的应用提供一定理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

鲜猪肉 来源于广州肉联厂;味精、鸡精等 购于当地超市;2,4-二硝基苯肼(DNPH)、石油醚、乙醚、95%乙醇、丙酮等 均购置广州成硕试剂公司;葡萄球菌 H33B,微球菌 X142B 均是由华南农业大学食品学院肉品加工与质量安全控制实验室从广式腊肠中分离获得和保存。

UV-1800 型紫外可见分光光度计 岛津仪器有限公司;X-Rite SP62 型色差计 爱色丽亚太有限公司;TA-XT plus 质构仪 英国 SMS 公司;DHG-9073BS-III 型电热恒温鼓风干燥箱 上海新苗医疗器械制造有限公司;MM12 型绞肉机 广东省韶关市食品机械厂;FJ-200 型高速分散均质机 上海嘉鹏科技有限公司;FSH-2 型可调高速匀浆机 江苏省金坛市环宇科学仪器厂;5804R 型冷冻高速离心机 德国艾本德仪器公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程 主要工艺流程如下:

辅料 微生物接种
↓ ↓
选料修整→肥肉切膘丁、绞肉绞碎→拌料→灌肠→打针→扎草、束绳→发酵→烘焙→成品整理→包装(25℃贮藏期实验)

其中配方^[7]如下:瘦肉:肥肉 = 7:3,食盐 3%,汾酒 2%,味精 0.15%,鸡精 0.15%,白砂糖 13%,亚硝酸盐 0.015%,水 15% (均为质量比)。根据预实验,混合接菌(葡萄球菌与微球菌的混合比例分别为 1:1,2:1,1:2)与单独添加葡萄球菌或微球菌相比较,混合接菌组腊肠风味相对好,且混合接菌组中以葡萄球菌:微球菌 = 1:1 效果最好,所以本研究中选取葡萄球菌:微球菌 = 1:1 添加于广式腊肠中进一步深入探讨对广式腊肠品质的影响,菌株接种量为 10^7 CFU/g^[7]。烘烤参数:前 3h:50℃,后 69h:40℃。

对照组为不添加微生物的广式腊肠,其余配方和烘烤工艺与添加微生物组相同。

1.2.2 测定方法

1.2.2.1 色泽的测定 将样品绞碎,放入平皿中,铺平皿底,从不同部位进行 6 次测定,采用爱色丽 X-Rite SP62 型色差计测定腊肠明度值(L 值)、红度值(a 值)和黄度值(b 值)。

1.2.2.2 亚硝基肌红蛋白分析 参考 Gao 的测定^[8],略加修改如下:称取 10g 广式腊肠,绞碎后放入磷酸盐(pH6.0,0.02mol/L)缓冲液中,于 FJ-200 型均质机 4000r/min 均质 1min,然后放在 4℃ 的黑暗环境中 1h,离心(4000r/min,1min)取上清液,用 0.22μm 的微孔滤膜过滤,然后快速用紫外分光光度计在 350nm 到 600nm 波长范围进行紫外扫描,每 1nm 一个间隔。以吸光值大小表征亚硝基肌红蛋白含量的高低。

1.2.2.3 质构的测定 采用质构剖面分析方法(Texture Profile Analysis, TPA),选择圆柱形探头 P0.5。测前速度:2.0mms⁻¹,测中速度:1.0mms⁻¹,测后速度:5.0mms⁻¹,压缩比:50%,两次下压间隔时间:5.0s,负载类型(Trigger Type):Auto-20g。样品规格:直径 1.3cm、高 2cm 的圆柱体,测定环境温度为室温,每组十次重复。其中主要指标的定义如下:硬度:是第一次压缩时的最大峰值,单位 g;咀嚼性:将固体或半固体食品咀嚼成吞咽时的稳定状态所需的能量,数值上用胶粘性和弹性的乘积表示,单位 g;弹性:样品经过第一次压缩以后能够再恢复的程度,是用第二次压缩中所检测到的样品恢复高度和第一次的压缩变形量之比值来表示;粘聚性:表示测试样品经过第一次压缩变形后所表现出来的第二次压缩的相对抵抗能力,在曲线上表现为两次压缩所做正功之比。

1.2.2.4 蛋白质不同组分含量的测定 参照孙为正的方法测定^[9]。

1.2.2.5 表征脂肪氧化的硫代巴比妥酸(TBA)值的测定 参照孙为正的方法测定^[9]。

1.2.2.6 肌原纤维蛋白羰基值的测定 参照孙为正的方法测定^[9]。

1.2.2.7 高铁肌红蛋白含量的测定 参考 Krzywicki 方法^[10],并加以改进。称取 5g 广式腊肠于 25mL 浓度为 40mmol/L 的冷磷酸盐缓冲液中(pH6.8),用高压均质机均质 10s,4℃ 下放置 1h,然后于 5804R 型高速冷冻离心机离心(9000r/min,4℃,30min),上清液用 Whatman No.1 滤纸过滤,然后用紫外分光光度计在 525,545,565,572nm 波长下进行测定,高铁肌红蛋白含量如下式:

$$\text{MetMb}(\%) = (-2.541R_1 + 0.777R_2 + 0.800R_3 + 1.098) \times 100 \quad \text{式(1)}$$

$$\text{式(1)中 } R_1 = A_{572}/A_{525}, R_2 = A_{565}/A_{525}, R_3 = A_{545}/A_{525}$$

1.2.2.8 感官评价 参照 Li 的方法^[11]如下:腊肠烘烤结束后,在 100℃ 煮制 20min,厚度切成 4mm 左右,然后盛放到白色盘中,请 20 位经过培训过的老师和学生进行感官评价,采用 9 分制。不同处理组间感官评价时要用开水漱口以保持评价的准确性。

表1 广式腊肠外表面色泽参数的测定

Table 1 Color parameters evolution measured on external surface of Cantonese sausages

处理	L*	a*	b*	b*/a*
对照组	42.35 ± 0.73 ^a	11.71 ± 0.90 ^a	12.01 ± 0.12 ^a	1.10 ± 0.07 ^a
接菌组	43.19 ± 1.14 ^a	13.40 ± 0.63 ^b	11.66 ± 0.33 ^a	0.80 ± 0.10 ^b

注:同一栏数字上不同字母标识代表差异显著($p < 0.05$),表2~表3同。

表2 接菌组与对照组腊肠中质构测定

Table 2 Determination of texture characteristic with or without starter cultures

处理	硬度(g)	咀嚼性(g)	弹性	粘聚性
对照组	2586.2 ± 154.97 ^a	1374.4 ± 101.93 ^a	0.863 ± 0.043 ^a	0.502 ± 0.018 ^a
接菌组	1897.9 ± 113.63 ^b	1077.2 ± 135.03 ^b	0.871 ± 0.034 ^a	0.498 ± 0.025 ^a

1.2.3 数据处理与统计分析 数据以均数 ± 标准差(mean ± SD)表示。运用 Origin8(美国 OriginLab 公司)软件进行数据作图处理,用统计学软件 SPSS16.0(IBM 公司)的 ANOVA 进行分析,用 S-N-K 多重比较数列间的差异显著性($p < 0.05$ 表示差异显著)。

2 结果与分析

2.1 广式腊肠色泽的测定

由表1可以看出接菌组 L* 值高于对照组,这与 Gao 的研究结果类似^[8],其研究表明清酒乳杆菌的应用会同时提高红度值和亮度值,接菌组的 b* 值略低于对照组,吴燕涛^[12]研究表明 b* 值的变化与氧合肌红蛋白正相关,由于微生物在对数生长期消耗了肉制品内部的大量氧气,导致氧合肌红蛋白减少,致使 b* 值的下降,但接菌组与对照组之间亮度值和黄度值差异都不显著($p > 0.05$)。b*/a* 代表着肉色的有色度值,有色度值越小,表明肉的颜色越鲜红。对于 a* 值而言,接菌组显著高于对照组($p < 0.05$),另外接菌组的有色度值显著低于对照组,这些都表明接菌组的腊肠具有更高的红色度。

本研究结果与葡萄球菌和微球菌具有的亚硝酸盐还原酶和过氧化氢酶有关。由于亚硝酸盐还原酶的作用,促进了更多亚硝基肌红蛋白的形成,从而导致红度值增加。另外葡萄球菌和微球菌会产生过氧化氢酶,从而分解乳酸菌产生的 H₂O₂,有利于色泽稳定。同时 H₂O₂ 会攻击血红素色素导致卟啉环分解,引起血红素色素中央的 Fe²⁺ 释放,进而被氧化成 Fe³⁺,从而引起色泽劣变^[13]。

2.2 广式腊肠色素提取物紫外扫描吸收光谱

由图1可以看出不同处理组的腊肠色素提取物紫外扫描曲线轮廓基本相同,只是峰值有所差别。接菌组的峰值大于对照组,这表明接种葡萄球菌和微球菌的广式腊肠中亚硝基肌红蛋白含量高于对照组。

肉制品中肌红蛋白的存在形式主要是脱氧肌红蛋白、氧合肌红蛋白、高铁肌红蛋白和亚硝基肌红蛋白。每种肌红蛋白都有其典型的吸收峰,其中 421、540nm 和 579nm 是亚硝基肌红蛋白的典型吸收峰,可以通过其峰值的高低来反应其含量的高低。微生物的添加会使得 540nm 和 579nm 处的吸光值显著增加,因此葡萄球菌和微球菌应用于广式腊肠中有利

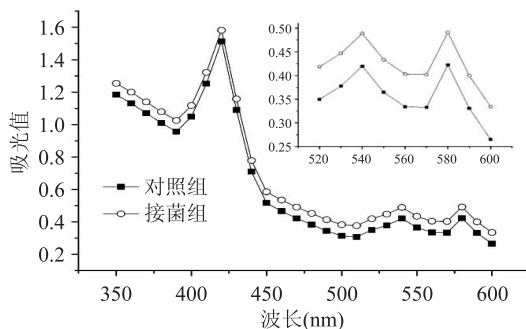


图1 接菌组与对照组中广式腊肠色素提取物的紫外扫描吸收光谱

Fig.1 UV-Vis absorbance spectra of pigment extracts from Cantonese sausages with or without addition of starter cultures

于亚硝基肌红蛋白含量的增加。这与此筛选出的这两株菌具有亚硝酸盐还原酶有关。由于亚硝酸盐还原酶的作用,亚硝酸盐会更多的被还原成 NO,从而与肌红蛋白反应生成更多的亚硝基肌红蛋白,这一结果与 Gao 结果类似^[8]。其紫外扫描图谱结果也与测得的接菌组腊肠红度值高于对照组相吻合。

2.3 广式腊肠中质构分析

由表2可见,微生物的添加显著降低了广式腊肠的硬度和咀嚼性($p < 0.05$),不过微生物的添加对弹性和粘聚性无显著影响。质构是决定肉品总体可接受性的重要原因,前人多有类似研究结果:Rocho 在研究微生物对伊比利亚发酵肠的影响时,发现接种菌株会使得腊肠硬度值降低^[14]。吴燕涛同样也研究发现葡萄球菌应用于广式腊肠中会显著降低腊肠硬度^[12]。

2.4 广式腊肠中蛋白质不同组分含量测定

由表3所见,微生物的添加使得水溶性蛋白、盐溶性蛋白和非蛋白氮含量增加,不溶性蛋白含量减少,这一结果与 Li 报道的一致^[11]。同时 Li 也发现蛋白酶的添加会减少腊肠的硬度^[11]。另外接菌显著增加了非蛋白氮的含量($p < 0.05$),这些物质的大量增加主要就是因为肌肉中蛋白质发生了更加强烈的降解所引起的。

蛋白质按照其溶解性可分为四种蛋白,水溶性蛋白(肌浆蛋白)、盐溶性蛋白(肌原纤维蛋白)、不溶性蛋白和非蛋白氮。广式腊肠加工过程中蛋白质水

表3 接菌组与对照组腊肠中蛋白质不同组分的测定

Table 3 Determination of different components of protein in Cantonese sausages with or without starter cultures

处理	SP(mg/g)	WP(mg/g)	IP(mg/g)	NPN(mg/g)
对照组	2.29 ± 0.18 ^a	4.47 ± 0.22 ^a	24.77 ± 0.81 ^a	5.51 ± 0.17 ^a
接菌组	2.91 ± 0.16 ^b	5.51 ± 0.19 ^b	21.50 ± 0.83 ^b	6.49 ± 0.11 ^b

注:SP:盐溶性蛋白 WP:水溶性蛋白 IP:不溶性蛋白 NPN:非蛋白氮。

解和蛋白质聚集在不断进行着,因此水解速率和聚集速率的相对快慢决定着各种蛋白成分含量的差异。其原因是由于微生物蛋白酶的作用促进了广式腊肠蛋白质的水解,这会导致下面两个现象的出现:其一,更多的水溶性蛋白和盐溶性蛋白在其聚集前先发生水解,其二,一些基质蛋白会被水解成小分子部分。从而使得接菌组腊肠有更多的可溶性蛋白溶出,同时伴随着不溶性蛋白的减少。这在一定程度上解释了表2中接菌组腊肠硬度低于对照组这种现象的出现。

2.5 广式腊肠贮藏过程中TBA的测定

从图2可以看出,在贮藏期开始的一个星期内,接菌组的TBA值高于对照组,尤其是贮藏期0d时,接菌组显著高于对照组($p < 0.05$),但此后随着贮藏时间的延长,接菌组的TBA值反而逐渐低于对照组,且21d以后差异显著($p < 0.05$)。

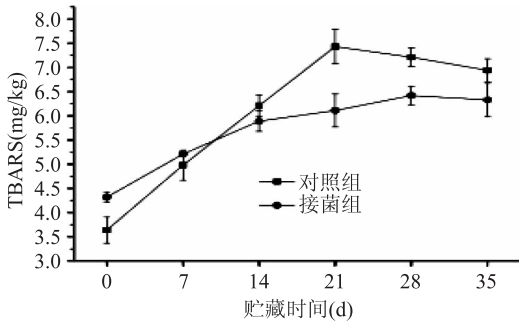


图2 接菌组与对照组腊肠中脂肪氧化二级产物的测定
Fig.2 Formation of secondary lipid oxidation products in Cantonese sausages with or without addition of starter culture

TBA值是动物性油脂中不饱和脂肪酸氧化分解所生成的衍生物如丙二醛等物质的含量,其也是反映脂肪氧化的一个判定指标(二级氧化产物)。一定程度上的脂肪氧化有助于风味的形成,但过度的氧化则会导致酸败的出现。接菌组腊肠在烘烤结束即贮藏初期时TBA值高于对照组的原因可能与所应用菌株具有脂肪酶活性有关,由于脂肪酶的作用会加速脂肪的水解氧化,从而引起TBA值升高^[15]。贮藏后期接菌组TBA值增加缓慢,且逐渐低于对照组,这或许与所使用菌株具有高蛋白酶活性有关。本课题组研究发现葡萄球菌和微球菌的添加显著增加了腊肠中小分子肽的含量(>5ku),且接菌组中小分子肽的抗氧化能力也高于对照组,这是引起贮藏期后期接菌组腊肠中脂肪氧化程度降低的一个原因。Broncano研究商业蛋白酶对西班牙发酵肠货架期的影响时得出过类似的结论^[16]。另外一方面葡萄球菌和微球菌具有一定的过氧化氢酶活性,过氧化氢酶

会分解氧化反应过程中产生的H₂O₂, H₂O₂是一种强氧化剂会加速脂肪的氧化,这是引起贮藏期后期接菌组腊肠中脂肪氧化程度降低的另一个原因。

2.6 广式腊肠贮藏过程中蛋白氧化的测定

由图3显示,贮藏期刚开始时,接菌组的羰基值含量略高于对照组,但是随着贮藏期的延长,到21d后,接菌组的羰基值含量显著低于对照组($p < 0.05$),到贮藏期结束时,对照组与接菌组的羰基值含量分别为7.75nmole/mg和5.89nmole/mg,大约下降了24%。这一结果与脂肪氧化的测定结果相似,这意味着脂肪氧化与蛋白氧化之间可能存在一定的相关性。

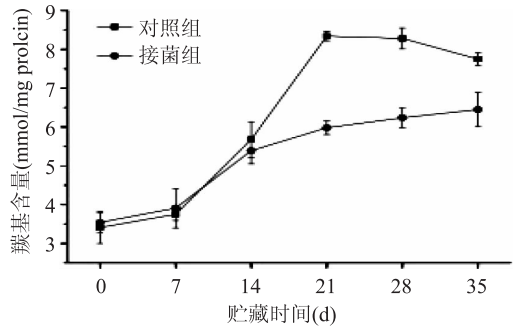


图3 接菌组与对照组腊肠中蛋白氧化羰基值的测定
Fig.3 Protein oxidation determined by Carbonsyls assay in Cantonese sausage with or without starter cultures

蛋白氧化会导致其结构与功能的显著变化,如发生交联聚合、降解及氨基酸侧链的改变等。这些氧化效应会造成肉品色泽、口感劣变,保水、保油性降低,从而影响肉品的可接受性,缩短产品的货架期。因此控制腌腊肉制品中蛋白氧化也是非常重要的一个方面。Estévez就曾报道过更强烈脂肪氧化现象的发生会引起更强的蛋白氧化现象出现^[13],因为一些脂质自由基和一些早期的脂肪氧化产物会对一些特定氨基酸残基的降解施加一定的影响,从而引起蛋白氧化的发生。因此脂肪氧化的抑制在一定程度上也可以抑制蛋白氧化,这或许是本研究中接菌组蛋白氧化值低于对照组的原因。

2.7 广式腊肠贮藏过程中高铁肌红蛋白含量的测定

由图4可以看出,贮藏期刚开始时,接菌组的高铁肌红蛋白含量就显著低于对照组($p < 0.05$),这可能与接菌组腊肠中具有更多的亚硝基肌红蛋白含量有关,因为亚硝基肌红蛋白被证实具有一定的抗氧化活性^[17]。此后随着贮藏时间的推移,接菌组与对照组之间高铁肌红蛋白含量的差异越来越大,到贮藏期结束时,混合接菌组相比于对照组大约下降了22.9%。

肉品色泽对于消费者是否购买而言是一个至关

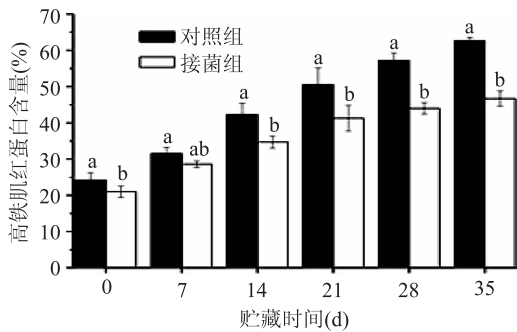


图4 接菌组与对照组腊肠中高铁肌红蛋白含量的测定

Fig.4 Determination of metmyoglobin content in Cantonese sausage with or without starter cultures

重要的因素,消费者常常将其作为肉品品质劣变的一个标志。因此保持肉制品的色泽稳定性是一个很关键的问题,而其中最关键的是减少高铁肌红蛋白的含量,高铁肌红蛋白在肉制品表面的积累被认为是影响色泽劣变的一个主要因素。接菌组腊肠贮藏期后期高铁肌红蛋白含量显著减少或许与接菌组腊肠脂肪氧化程度低于对照组有关,因为脂肪氧化是色素氧化的促进剂,脂肪氧化和色素氧化产物之间可以相互促进对方氧化反应的发生^[18]。因此减缓脂肪氧化反应在一定程度上也可以减少高铁肌红蛋白含量的形成。

2.8 广式腊肠的感官评定

由图5所见,接种菌株后腊肠的感官评分(硬度,红度值,整体风味和品尝后味道)与对照组相比明显增加。由于葡萄球菌和微球菌蛋白酶和脂肪酶的作用,加工过程中脂肪水解氧化增加,蛋白质被分解成更多的小分子肽和氨基酸,有利于风味的形成^[19]。接种菌株后硬度评分显著高于对照组($p < 0.05$),这与上面的质构测定相吻合。另外由于亚硝酸盐还原酶的作用,亚硝酸钠被分解成更多的NO,有利于形成更多的亚硝基肌红蛋白,从而使得红度值感官评分提高。

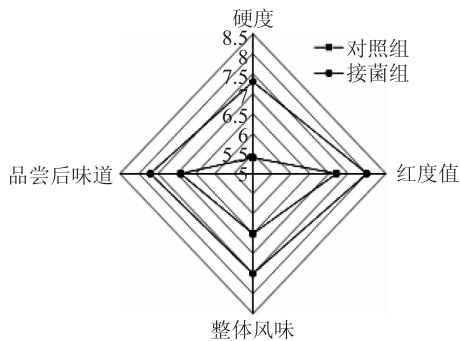


图5 接菌组与对照组腊肠感官评价

Fig.5 Sensory quality evaluation in Cantonese sausage with or without starter cultures

3 结论

本研究表明,经过筛选具有一定工艺学特性的葡萄球菌和微球菌添加到广式腊肠中有助于广式腊肠品质的改善和货架期的延长。当接种菌株于广式腊肠中,广式腊肠具有更低的硬度值和咀嚼性,且具

有更高的红色度值,风味也得到提高,这些品质特性有利于广式腊肠被广大的消费群体所接受。另外葡萄球菌和微球菌的添加提高了氧化稳定性,呈现出更低的脂肪氧化、蛋白氧化和色素氧化值,有利于货架期的延长。

参考文献

- [1] Qi S J, Zhou D L. Lotus seed epicarp extract as potential antioxidant and anti-obesity additive in Chinese Cantonese Sausage[J]. Meat Science, 2013, 93(2): 257-262.
- [2] Olesen P T, Meyer A S, Stahnke L H. Generation of flavour compounds in fermented sausages - the influence of curing ingredients, Staphylococcus starter culture and ripening time[J]. Meat Science, 2004, 66(3): 675-687.
- [3] Wu Y T, Cui C, Zhao M M, et al. Effects of staphylococcus condimenti and micrococcus caseolyticus on the volatile compounds of Cantonese sausage [J]. Journal of Food Process Engineering, 2009, 32(6): 844-854.
- [4] Casaburi A, Monaco R D, Cavella S, et al. Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits[J]. Food Microbiology, 2008, 25(2): 335-347.
- [5] Baka A M, Papavergou E J, Pragalaki T, et al. Effect of selected autochthonous starter cultures on processing and quality characteristics of Greek fermented sausages[J]. Food Science and Technology, 2011, 44(1): 54-61.
- [6] Petróna M J, Broncano J M, Otte J, et al. Effect of commercial proteases on shelf-life extension of Iberian dry-cured sausage [J]. Food Science and Technology, 2013, 53(1): 191-197.
- [7] 符小燕, 郭善广, 蒋爱民, 等. 葡萄球菌和乳酸菌对广式腊肠风味的影响[J]. 肉类研究, 2009(9): 19-24.
- [8] Gao Y R, Li D P, Liu X Y. Bacteriocin-producing Lactobacillus sakei C2 as starter culture in fermented sausages [J]. Food Control, 2014, 35(1): 1-6.
- [9] 孙为正. 广式腊肠加工过程中脂质水解、蛋白质降解及风味成分变化研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011.
- [10] Krzywicki K. The determination of ham pigment in meat[J]. Meat Science, 1982, 7(1): 29-36.
- [11] Li F, Qiao Y, Zhou G H, et al. Effect of Flavourzyme on proteolysis, antioxidant capacity and sensory attributes of Chinese sausage[J]. Meat Science, 2014, 98(1): 34-40.
- [12] 吴燕涛. 广式腊肠加工过程中葡萄球菌变化及作用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2008.
- [13] Estévez M, Ventanas S, Cava R. Effect of natural and synthetic antioxidants on protein Oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver Patés [J]. Meat Science, 2006, 74(2): 396-403.
- [14] Rocío C, María J B, Alberto M, et al. Effect of autochthonous starter cultures in the production of "salchichón", a traditional Iberian dry-fermented sausage, with different ripening processes [J]. Food Science and Technology, 2011, 44(7): 1562-1571.
- [15] Kaban G, Kaya M. Effects of Lactobacillus plantarum and

(下转第187页)

对误差较小,这说明优化后的回归方程非常适合对大肠杆菌产海藻糖合酶的预测分析。

3 结论

本实验在基础发酵培养基上,采用 Plackett-Burman 设计从 8 种影响菌株产量的培养及成分中确定葡萄糖,酵母浸粉和 K_2HPO_4 为影响海藻糖合酶产量的主要因素;通过最陡爬坡实验确定中心点,并进一步采用 Box-Behnken Design 响应面分析法得出回归模型的最优结果为海藻糖合酶酶活由优化前的 34U/mg 提高到 65U/mg,提高了 91.2%,具有显著效果。优化后的培养基方案用 5L 发酵罐进行中试实验验证,测得海藻糖合酶平均酶活为 115.7U/mg,这对实现工业化生产有很大的帮助。目前海藻糖合酶大多都是胞内酶,破碎条件繁琐,且对酶活有一定的破坏,所以海藻糖合酶的诱导条件、破碎条件、破碎方式等均需进一步研究。

参考文献

- [1] Newman YM, Ring SG, Colaco C. The role of trehalose and other carbohydrates in biopreservation [J]. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1993, 11: 263-357.
- [2] 聂凌鸿, 宁正祥. 海藻糖的生物保护作用[J]. *生命的化学*, 2001, 21(3): 206-209.
- [3] 袁勤生. 海藻糖的应用研究进展[J]. *食品与药品*, 2005, 7(4): 1-3.
- [4] Silva Z, Alarico S, Nobre A, et al. Osmotic adaptation of *Thermus thermophilus* RQ-1: a lesson from a mutant deficient in the synthesis of trehalose [J]. *Bacteriol*, 2003, 185(20): 5943-5952.
- [5] Kaushik J K, Bhat R. Why is trehalose an exceptional protein stabilizer An analysis of the thermal stability of proteins in the presence of the compatible osmolyte trehalose [J]. *Biol chem*, 2003, 278(29): 26458-26465.
- [6] KOH S, KIM J, SHIN J H, et al. Mechanistic study of the intramolecular conversion of maltose to trehalose by *Thermophilus* GK24 trehalose synthase [J]. *Carbo Res*, 2003, 338(12): 1339-1343.
- [7] Yan Zhoua, Qi peng Yuan, Hui Ling Gaoa, et al. Production of trehalose by permeabilized *Micrococcus* QS412 cells [J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2006, 43(4): 137-141.
- [8] Ying Maa, Lu Xuea, Da - Wen Sunb. Characteristics of trehalose synthase from permeabilized *Pseudomonas putida* cells and its application in converting maltose into trehalose [J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 77(2): 342-347.
- [9] Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, 67(4): 491-502.
- [10] 汪晨, 李莎, 徐虹, 等. 响应面法优化重组大肠杆菌产蔗糖异构酶发酵培养基 [J]. *中国生物工程杂志*, 2011, 31(4): 92-97.
- [11] Sarah J, Eric J. Generation and Characterization of a New Solid Form of Trehalose [J]. *Mol Pharmaceutics*, 2013, 10(9): 3323-3332.
- [12] Crowe JH, Crowe LM, Chapman D. Preservation of Membranes in Anhydrobiotic Organism; The Role of Trehalose [J]. *Science*, 1984, 223(4637): 701-703.
- [13] Muller J, Wiemken A, Aeschbacher R. Trehalose metabolism in sugar sensing and plant development [J]. *Plant Science*, 1999, 147(1): 37-47.
- [14] 李瑞瑞, 刘佃磊, 杨晴, 等. 响应面法优化黑曲霉产葡萄糖氧化酶的发酵条件 [J]. *中国生物工程杂志*, 2013, 33(10): 111-116.
- [15] -catalyzed oxidation of aqueous methyl linoleate emulsions [J]. *Food Chemistry*, 2002, 1570(2): 129-134.
- [16] Broncano J M, Timón M L, Petrón M J, et al. Use of proteases to improve oxidative stability of fermented sausages by increasing low molecular weight compounds with antioxidant activity [J]. *Food Research International*, 2011, 44(9): 2655-2659.
- [17] Møller K S, Sosniecki L, Skibsted L H. Effect of nitrosylmyoglobin and saturated fatty acid anions on metmyoglobin

(上接第 180 页)

Staphylococcus xylosus on the Quality Characteristics of Dry Fermented Sausage "Sucuk" [J]. *Food Science and Technology*, 2009, 74(1): 58-63.

[16] Broncano J M, Timón M L, Petrón M J, et al. Use of proteases to improve oxidative stability of fermented sausages by increasing low molecular weight compounds with antioxidant activity [J]. *Food Research International*, 2011, 44(9): 2655-2659.

[17] Møller K S, Sosniecki L, Skibsted L H. Effect of nitrosylmyoglobin and saturated fatty acid anions on metmyoglobin

-catalyzed oxidation of aqueous methyl linoleate emulsions [J]. *Food Chemistry*, 2002, 1570(2): 129-134.

[18] Faustman C, Sun Q, Mancini R, et al. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control [J]. *Meat Science*, 2010, 86(1): 86-94.

[19] Simion A M C, Vizireanu C, Carballo J, et al. Effect of the use of selected starter cultures on some quality, safety and sensorial properties of Dacia sausage, a traditional Romanian dry-sausage variety [J]. *Food Control*, 2014, 35(1): 123-131.