

不同发酵剂对发酵牛肉品质、风味特性和安全性的影响

鄢 嫣^{1,2}, 杨明柳^{1,2}, 周迎芹^{1,2}, 黄晶晶^{1,2}, 李伟伟³, 谢宁宁^{1,2*}

(¹安徽省农业科学院农产品加工研究所 合肥 230031

²安徽省食品微生物发酵与功能应用工程实验室 合肥 230031

³南京师范大学食品与制药工程学院 南京 210023)

摘要 牛肉富含蛋白质、脂肪含量低,深受消费者喜爱,然而其难咀嚼、附加值低。为提高牛肉的口感风味,研究本单位的 3 株专利菌株——W9-3 罗伊氏乳杆菌、M3-16 副干酪乳杆菌和 MY4 马克斯克鲁维酵母制备的单菌和复配发酵剂对牛肉理化、感官品质、生物胺形成和挥发性风味的影响。结果表明,与未发酵和自然发酵的牛肉相比,添加发酵剂可降低牛肉的 pH (均小于 5.5)、水分活度(降低 0.6%~4.1%)、TBA 值和羰基值,抑制组胺、色胺、酪胺和丁二胺等生物胺的形成,提升熟化牛肉的亮度和弹性,降低硬度、黏着性、咀嚼性和黏聚性。其中复配组优于单菌组。利用 SPME-GC-MS 方法从烘烤发酵牛肉中鉴定出 86 种挥发性化合物,其相对含量和主成分分析结果表明,用发酵剂发酵的烤牛肉的风味物质与未发酵和自然发酵相比形成多种新的醇、醛和酮类。感官评价表明,使用发酵剂能在一定程度上提高牛肉的组织形态、外观色泽、气味和口感。尤其是复配发酵剂可改善发酵牛肉品质,提升风味,抑制生物胺。本文为牛肉发酵工艺优化提供理论依据。

关键词 发酵剂; 发酵牛肉; 理化品质; 生物胺; 风味

文章编号 1009-7848(2024)04-0170-16 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.04.017

发酵肉是原料肉在特定环境下经微生物长时间发酵得到的一类具有较优口感、风味丰富和贮藏期长的肉制品,以其色泽美观、风味独特、易消化、耐贮存等特点深受国内外消费者的喜爱。发酵肉的产品特性、制作工艺、发酵机制一直是研究界关注的热点。发酵肉制品的独特风味和质构,一方面来自于肉蛋白质在微生物及酶系的共同作用下产生的氨基酸和核苷酸等呈味物质;而另一方面来自于微生物自身代谢引起的水分、pH、脂肪和蛋白质的变化^[1]。

发酵肉制品的种类很多,如国内传统的干腌火腿、徽派臭鳊鱼、腊肉、酸肉等,多以猪肉和水产品作为原料。牛肉富含蛋白质、维生素和铁等矿物质,脂肪含量低,是一种绝佳的肉制品原料^[2]。然而,除生鲜牛肉外,目前市售的牛肉制品多以酱卤牛肉、牛肉干、牛肉脯、风干牛肉等形式存在,产品附加值低,存在加工后风味单一、咀嚼性差等缺点。近年来,有研究报道,将牛肉发酵后其品质和

风味可得到显著的改善^[3-5]。而利用现代微生物技术制备直投式发酵剂进行发酵可人为扩大发酵所需微生物的数量,缩短发酵周期,稳定产品品质,形成更多的风味化合物。乳酸菌和酵母菌是肉制品发酵剂中重要的菌种。近年来已有多项研究证实采用乳酸菌和酵母菌能显著改善肉制品的 pH^[6]、色泽^[7]、质构^[8]和风味^[9]。将复配发酵剂应用于发酵肉制品也已有报道。王德宝等^[10]发现使用乳杆菌和葡萄球菌复合发酵剂可改善香肠色泽,抑制香肠中亚硝酸盐残留,同时降低有害生物胺、亚硝胺含量。而采用清酒乳杆菌、戊糖片球菌及木糖葡萄球菌复合制作发酵牛肉干,也被证实可缩短发酵牛肉干加工周期,提高产品品质和安全性能^[11]。酵母菌与乳酸菌在发酵过程中的协同作用,可有效提高羊肉香肠的感官评分,增加挥发性风味成分^[12]。目前,开发适应性牛肉发酵剂的需求逐渐增大,亟待全面系统地研究不同发酵剂对牛肉理化性质、品质和风味特征以及食用安全特性的影响。

本研究选择本单位专利保藏的 2 株乳杆菌 (W9-3 罗伊氏乳杆菌和 M3-16 副干酪乳杆菌) 和 1 株酵母菌 (MY4 马克斯克鲁维酵母) 制备单菌或复配发酵剂用于发酵牛肉,探究不同发酵剂对发

收稿日期: 2023-08-02

基金项目: 安徽省自然科学基金青年项目(2108085QC145);
安徽省科技重大专项(202103b06020007)

第一作者: 鄢嫣,女,博士,副研究员

通信作者: 谢宁宁 E-mail: ningxie512@163.com

酵牛肉理化性质、色泽、质构、生物胺形成量、风味以及感官特性的影响,旨在为发酵牛肉的进一步工艺优化提供理论依据和数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌种 W9-3 罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*),中国典型培养物保藏中心 CCTCC NO:M 20221263;M3-16 副干酪乳杆菌(*Lacticaseibacillus paracasei*),中国典型培养物保藏中心 CCTCC NO:M 20231204,均为安徽省农业科学院农产品加工研究所从藏族特色食品曲拉中分离、鉴定并保藏。MY4 马克斯克鲁维酵母(*Kluyveromyces marxianus*),中国典型培养物保藏中心 CCTCC NO:M 20221052,为安徽省农业科学院农产品加工研究所从青稞酒醅中分离、鉴定并保藏。

1.1.2 培养基 MRS 培养基用于菌种的活化、扩大培养。MRS 固体培养基配方:蛋白胨 10.0 g,牛肉浸粉 8.0 g,酵母浸粉 4.0 g,葡萄糖 20.0 g,磷酸氢二钾 2.0 g,柠檬酸氢二胺 2.0 g,乙酸钠 5.0 g,硫酸镁 0.2 g,硫酸锰 0.04 g,琼脂 14.0 g,吐温 80 1.0 g,水 1 000 mL,pH 值为 6.5±0.2(25℃)。MRS 液体培养基配方:蛋白胨 10.0 g,牛肉浸粉 8.0 g,酵母浸粉 4.0 g,葡萄糖 20.0 g,磷酸氢二钾 2.0 g,柠檬酸氢二胺 2.0 g,乙酸钠 5.0 g,硫酸镁 0.2 g,硫酸锰 0.04 g,吐温 80 1.0 g,水 1 000 mL,pH 值 5.7±0.2(25℃)。

1.1.3 发酵牛肉原辅料 牛后腿肉,恒都,市售;食盐,市售。

1.2 仪器与设备

H1750R 离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;FD-1A-50 真空冷冻干燥机,上海继谱电子科技有限公司;LHP-250 型智能恒温恒湿培养箱,上海三发科学仪器有限公司;Rational AG 电子烤箱,德国 National 公司;FiveEasy Plus pH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;GYW-1WF 水分活度仪,深圳市冠亚技术科技有限公司;UV-5500 紫外/可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;CR-400 色差分析仪,柯尼卡美能达控股公司;TA.XT Plus 质构仪,英国 Stable Micro System 公司;Y55-40M 高速分散机,上海约迪机械设备有限公司有

限公司;EYELA N-1100D-W(WD)旋转蒸发仪,日本东京理化器械株式会社;QGC-12T 氮吹仪,上海泉岛公司;Waters Xbridge C18 液相色谱柱(250 mm×4.6 mm i.d.,5μm),美国 Waters 公司;岛津 LC-20A 液相色谱系统、SPD-M40 二极管阵列检测器、GC-2030 气相色谱-QP-2020 NX 四极杆质谱联用仪(GC-MS),日本株式会社岛津制作所;SPME 固相萃取手动进样器、57328-U DVB/CAR/PDMS 固相微萃取针(50/30 μm),美国 Supelco 公司;Thermo Scientific TraceGOLD TG-624SilMS 柱(60 m×250 μm×1.4 μm),美国 Thermo Scientific 公司;纯水净化系统,美国 Millipore 公司。

1.3 方法

1.3.1 直投式发酵剂的制备 将上述保藏纯菌株接种至 MRS 固体培养基上,30℃下厌氧倒置培养 36 h,挑取单菌落接种至加入 200 mL MRS 液体培养基的三角瓶中,30℃下培养 24 h,连续培养 2 次后,备用。将上述活化后的菌株按 1%的接种量接种至 MRS 液体培养基中扩大培养 36 h 后,离心(6 500 r/min,15 min)后收集沉淀(菌泥)。向菌泥中加入 10 倍量无菌生理盐水后,离心洗涤 2 次(6 500 r/min,15 min),收集沉淀。按 2:1 的质量比将保护剂(12%脱脂乳粉、6%海藻糖、3%甘油)与菌泥充分混合后,转移至一次性无菌培养皿中(倾厚度约 0.5 cm),放入-40℃冰箱中预冻 12 h 后,冻干 48 h,收集菌粉备用。

1.3.2 牛肉的发酵与熟化

1.3.2.1 发酵牛肉的制备 取牛后腿肉去除筋膜、脂肪后,分割成约 15 cm×15 cm×15 cm 左右肉块,加入灭菌后的水,牛肉和水的质量比为 1:0.5,加入肉质量 3.0%的食盐和 0.0125%的发酵剂,充分混合至所有溶质溶解。密封发酵容器置于温度为 8℃、湿度为 50%下,恒温发酵 7 d 后,取出洗净。

9 个处理组:(1)UF 组:新鲜未发酵牛肉;(2)ZR 组:仅用 3%食盐和无菌水发酵,不添加发酵剂;(3)L 组:添加 3%食盐和 0.0125% W9-3 罗伊氏乳杆菌直投式发酵剂;(4)F 组:添加 3%食盐和 0.0125% M3-16 副干酪乳杆菌直投式发酵剂;(5)M 组:添加 3%食盐和 0.0125% MY4 马克斯克鲁维酵母直投式发酵剂;(6)L+M 组:添加 3%食盐

和0.0125%的复配发酵剂(W9-3 罗伊氏乳杆菌:MY4 马克斯克鲁维酵母 = 1:1);(7)L+F 组:添加3%食盐和0.0125%的复配发酵剂(W9-3 罗伊氏乳杆菌:M3-16 副干酪乳杆菌按照 = 1:1);(8)F+M 组:添加3%食盐和0.0125%的复配发酵剂(M3-16 副干酪乳杆菌:MY4 马克斯克鲁维酵母 = 1:1);(9)L+F+M 组:添加3%食盐和0.0125%的复配发酵剂(W9-3 罗伊氏乳杆菌:M3-16 副干酪乳杆菌:MY4 马克斯克鲁维酵母 = 1:1:1)。

1.3.2.2 熟化发酵牛肉的制备 为了更直观的比较牛肉熟化后的质构和色泽差异,采用牛肉糜灌肠并蒸熟作为研究牛肉质构、色泽时的熟化方式。将发酵好的牛肉用绞肉机绞碎后,取200 g肉糜灌入直径25 mm的聚乙烯塑料肠衣中,封口得到长度约为10 cm的牛肉肠。将肉肠放入蒸锅100 °C蒸煮10 min,取出冷却后备用。

1.3.2.3 烤发酵牛肉的制备 由于焙烤牛肉风味成分更加丰富多样,更能反应发酵牛肉的风味特征,采用焙烤作为研究牛肉风味时的熟化方式。取发酵好的牛肉用绞肉机绞碎后,取40 g肉糜放入培养皿(6 cm i.d.)中,制成相同大小的肉饼,置于烤箱中以225 °C的温度烤制20 min(加热10 min时翻面)。取出冷却备用。

1.3.3 发酵后生牛肉理化性质和生物胺的测定

1.3.3.1 pH和Aw测定 参考国家标准《食品pH值的测定》(GB 5009.237-2016)的方法测定pH值^[13]。参考《食品水分活度的测定》(GB 5009.238-2016)的方法测定Aw值^[14]。每个样品重复测定6次,取平均值。

1.3.3.2 TBA值测定 参照韦诚等^[15]的方法进行测定,在532 nm和600 nm波长处测其吸光度。最终TBA值按公式(1)计算:

$$TBA(\text{mg}/100\text{ g}) = (A_1 - A_2) / 155 \times 1/10 \times 72.6 \times 100 \quad (1)$$

式中, A_1 和 A_2 ——溶液在波长532 nm和600 nm的吸光度值。

1.3.3.3 羰基含量的测定 参考李琼帅等^[16]的方法测定发酵牛肉中的羰基含量,并做适当的修改。在波长370 nm处测量反应溶液的吸光度。羰基含量按公式(2)计算:

$$\text{Carbonyl}(\text{nmol}/\text{mg protein}) = \frac{A}{\omega} \times \frac{10^6}{C} \quad (2)$$

式中, A ——吸光度; ω ——消光系数,22 400/(M·cm); C ——蛋白质质量浓度(mg/mL)。

1.3.3.4 生物胺的测定 参照《食品中生物胺的测定》(GB 5009.208-2016)^[17],测定发酵牛肉中5种生物胺(尸胺、腐胺、酪胺、组胺、色胺)含量。

1.3.4 熟化发酵牛肉色差、质构和感官的测定

1.3.4.1 色差测定 将上述蒸熟后的牛肉肠切成高为1 cm左右的圆柱体。使用手持式色差仪测定牛肉肠切面的亮度值(L^*)。每个样品在不同位置测定6次,取平均值。

1.3.4.2 质构测定 将上述制备的熟化牛肉肠在室温下平衡1 h,切成1 cm×1 cm×1 cm的立方体,放在质构仪上使用直径35 mm的圆柱形探头(p/50)测定硬度、弹性、黏聚性、胶黏性、咀嚼性。具体参数设定为:触发类型 Auto(Force)、触发力5.0 g,测试前速率1.0 mm/s,测试中速率5.0 mm/s,测试后速率5.0 mm/s,变形量10 mm。每个样品重复测定6次,取平均值。

1.3.4.3 感官评价 对发酵后的熟化牛肉进行感官评定。感官评定小组,由本单位研究人员10人组成,男女各5名。感官评定统一标准如表1所示。

表1 发酵牛肉感官评分标准

Table 1 Sensory evaluation standards of fermented beef

指标	评分标准	分值
组织状态(20分)	组织致密,富有弹性	16~20
	组织略松散,轻微粘连	10~15
	组织松散,粘连	<10
外观色泽(20分)	肉色白嫩,有光泽	16~20
	轻微灰暗,无光泽	10~15
	发黑,无光泽	<10
气味(30分)	有发酵特有气味,有肉香味,无异味	21~30
	无发酵气味,肉香较淡,稍有腥味和哈喇味	10~20
	无肉香味,有腥味和哈喇味	<10
口感(30分)	易咀嚼,软硬适中,咸淡适中	21~30
	易咀嚼,稍硬,稍咸或稍淡	10~20
	干硬,很咸或很淡	<10

1.3.5 发酵牛肉焙烤后挥发性风味物质的测定

采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用 (SPME-GC-MS) 对焙烤发酵牛肉的挥发性风味物质进行测定。由于焙烤牛肉没有氘代氯苯, 且其保留时间居中, 灵敏度适宜, 故选择氘代氯苯作为内标。精确称取 3 g 粉碎后的烤牛肉粉末置于 20 mL 具塞顶空瓶中, 加入 20 ng 的氘代氯苯后旋紧瓶盖, 用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 顶空固相微萃取头于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴下恒温萃取 55 min 后, 取出萃取头至 GC 进样口解析。进样口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$, 解析时间为 5 min。GC-MS 条件: 色谱柱: Thermo Scientific TraceGOLD TG-624SilMS 柱 (60 m \times 250 μm \times 1.4 μm); 升温程序: 40 $^{\circ}\text{C}$ (5 min), 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 上升至 240 $^{\circ}\text{C}$ (15 min), 柱流速 1 mL/min; 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$; 传输线温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 不分流。

1.4 数据分析

采用 GCSolution 软件对 GC-MS 的数据进行采集和积分, 并通过比对 NIST 20.0 数据库对所得的峰进行比对和定性。化合物的相对含量的计算公式为: 化合物的相对含量 = 化合物峰面积/内标峰面积。色差和质构每个数据点平行测定 6 次, 其余测定平行 3 次, 数据结果以“平均值 \pm 标准偏差 (SD)”表示。采用 SPSS v16.0 软件中的一般线性模型进行显著性分析 ($P < 0.05$)。采用 Origin 2021 软件中的 Principal Component Analysis v1.5 模块进行主成分分析。采用 Sigmaplot 10.0 软件绘图。

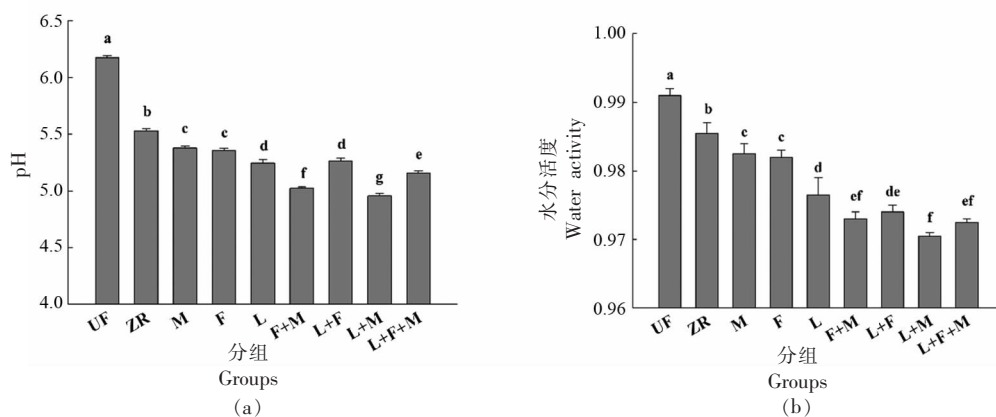
2 结果与分析

2.1 发酵剂对发酵牛肉 pH 和水分活度 (A_w) 的影响

不同发酵剂发酵后牛肉的 pH 值如图 1a 所示。未发酵的新鲜牛肉的 pH 值高于 6.0, 自然发酵后, ZR 组的 pH 值显著降低 ($P < 0.05$)。而添加发酵剂发酵后, pH 值均显著低于 ZR 组 ($P < 0.05$)。除双乳酸菌的 L+F 组外, 复配发酵剂组的 pH 值均低于单菌发酵剂组。其中 L+M 组具有最低的 pH 值。说明接种发酵剂能够有效降低发酵牛肉的酸性。

不同发酵剂发酵后牛肉的 A_w 值如图 1b 所示。经自然发酵后, ZR 组牛肉的 A_w 显著降低 ($P < 0.05$), 仍高于添加发酵剂的各组。在 3 种单菌发酵剂组中, L 组发酵后 A_w 更低。较单菌发酵组, 复配发酵组发酵后牛肉的 A_w 更低。与 pH 一致, L+M 组发酵后的牛肉 A_w 最低。

肉制品在发酵过程中由于微生物产酸作用, pH 值降低, 蛋白质持水能力下降, 导致 A_w 下降。pH 值降低产生的酸性环境 ($\text{pH} < 5.3$), 可以抑制肉制品中有害微生物的生长, 延长产品的货架期。适宜的 pH 值可以保持牛肉的口感、色泽, 改善产品的品质特性^[18]。发酵过程中 A_w 的下降, 同样可以抑制腐败菌, 延长货架期^[19]。采用乳酸菌发酵剂对牛肉进行接种发酵后, 乳酸菌作为优势菌株, 其优异的产酸特性使得发酵牛肉获得更低的 pH 和 A_w 。在同一体系中乳酸菌和酵母存在一定的共生关系, 乳酸菌代谢产酸降低了 pH 和 A_w , 为酵母



注: 不同字母表示不同发酵组所得 pH 值或水分活度值有显著性差异 ($P < 0.05$)。

图 1 不同发酵剂对发酵牛肉 pH(a) 和 A_w (b) 的影响

Fig.1 Effects of different starter cultures on the pH (a) and A_w (b) of the fermented beef

提供较为适宜的生长环境,而酵母达到一定浓度产生的二氧化碳、丙酮酸、丙酸、琥珀酸刺激乳酸菌的生长代谢^[20-21]。因此,较其它发酵剂,采用酵母和乳酸菌复配后发酵的肉制品具有更低的 pH 和 A_w 。

2.2 发酵剂对发酵牛肉 TBA 值和羰基含量的影响

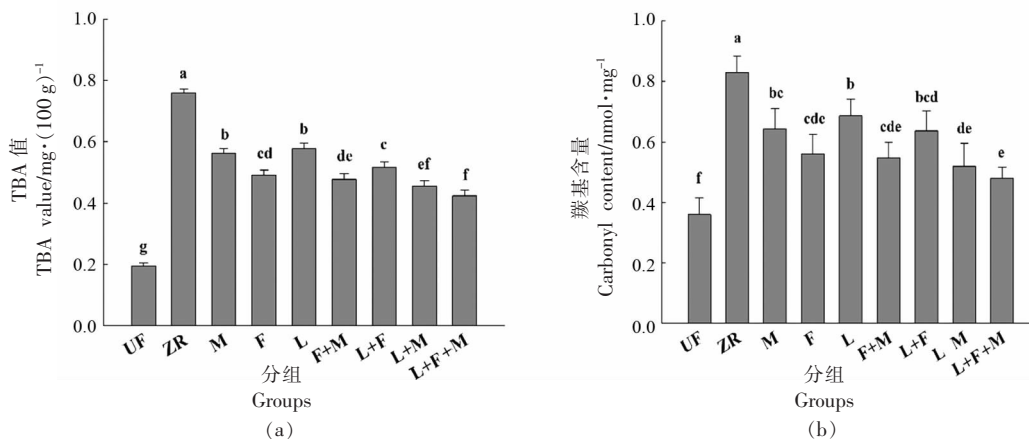
牛肉在长时间的发酵过程中,可能存在一定程度的脂肪和蛋白质氧化,进而比较了不同发酵剂对发酵牛肉的 TBA 值和羰基含量的影响,所得的结果如图 2 所示。由图 2a 可见,相比于未发酵的新鲜牛肉,发酵使得牛肉中的 TBA 值成倍上升。通过对比,添加发酵剂发酵后的牛肉的 TBA 值均显著小于 ZR 组 ($P<0.05$)。单菌发酵和复配菌发酵后 TBA 值相差不大。L+F+M 组所得的 TBA 值显著低于其它组别 ($P<0.05$)。

发酵过程中脂肪氧化产生的次级产物促使 TBA 值不断上升。发酵后发酵剂组的 TBA 值显著低于自然发酵组。造成这一结果的原因可能是来自于乳酸菌和酵母菌的抗氧化作用。早期研究发现,酵母菌可通过促进脂肪分解、抑制脂肪氧化、延缓酸败和产生醇、酮等风味物质赋予发酵食品特殊的风味^[22-23]。此外多项研究表明,乳酸菌具有清除体内自由基、产生 SOD 酶、CAT 酶等抗氧化酶的抗氧化作用^[24-25]。张江魏等^[26]发现 30 株乳酸

菌均具有不同程度的抗亚油酸过氧化和 DPPH 自由基清除作用。而由于其共生关系,将酵母和乳酸菌复配后更有利于降低牛肉的 TBA 值,延缓牛肉中脂肪的氧化。

如图 2b 所示,与 TBA 值的结果类似,发酵后,牛肉中的羰基含量显著上升,利用发酵剂发酵的牛肉羰基含量较自然发酵更低,且乳酸菌和酵母混合的发酵剂较单菌发酵和 2 种乳酸菌混合发酵具有更低的羰基值 ($P<0.05$)。同样 L+F+M 组发酵牛肉的羰基含量最低。

在蛋白的氧化过程中,还原糖及其衍生物会与赖氨酸反应生成活性羰基衍生物^[27]。因此可以利用蛋白中羰基含量来表征发酵前、后蛋白质受到的氧化损伤程度^[28]。在牛肉腌制过程中,羰基的上升是由于牛肉中蛋白质受到自由基攻击,转变成了羰基衍生物^[29]。采用发酵剂发酵可明显降低牛肉发酵后羰基的含量,抑制发酵过程中蛋白的氧化。有研究报道,酵母中的蛋白酶可以降解蛋白质成具有抗氧化作用的肽,抑制蛋白质的氧化^[30]。一些乳酸菌(如清酒乳杆菌、嗜酸乳杆菌等)会通过产生具有抗氧化能力的酶或细胞分泌物等,抑制蛋白质的氧化^[31-32]。采用乳酸菌和酵母菌复配制得的发酵剂可更为有效的抑制牛肉发酵过程中的蛋白氧化损伤,因此具有更低的羰基值。



注:不同字母表示不同发酵组所得 TBA 值或羰基含量有显著性差异 ($P<0.05$)。

图 2 不同发酵剂对发酵牛肉 TBA 值(a)和羰基含量(b)的影响

Fig.2 Effects of different starter cultures on the TBA values (a) and carbonyl contents (b) of the fermented beef

2.3 发酵剂对发酵牛肉熟化后 L^* 值的影响

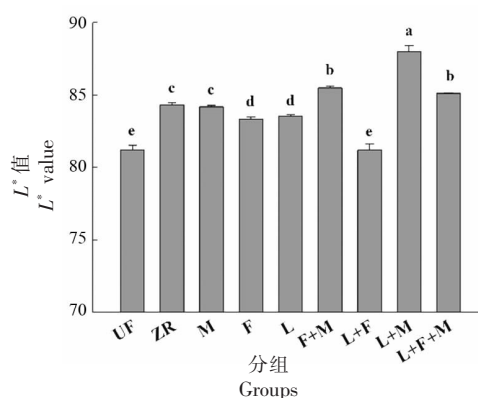
比较不同发酵剂发酵并熟化后牛肉的 L^* 值

的差异。由于蒸熟后的牛肉呈白色, a 值和 b 值分别反应红绿色度和黄蓝色度。经测定各组别中 a

值和 b 值均较低,且无差别。因此本研究仅考察了牛肉 L^* 值的变化情况(图 3)。由图 3 可知,较新鲜牛肉,发酵后的牛肉的亮度明显提升($P<0.05$)。且 M 组和 ZR 组的牛肉亮度值差异不大。乳酸菌组无论是单菌组还是双乳酸菌复配组都显著降低熟化牛肉的亮度,含有酵母的复配组的牛肉亮度则显著提升($P<0.05$)。其中 L+M 组的牛肉亮度值最高。牛肉熟化后颜色变白、变亮与牛肉中的蛋白质在熟化过程中蛋白质变性、脂肪氧化和水分流失有关^[33-34]。发酵后熟化牛肉的亮度增加可能与其失水率和蛋白脂肪氧化程度降低有关。

2.4 发酵剂对发酵牛肉熟化后质构的影响

熟化牛肉的硬度、弹性、咀嚼性、胶着性和黏聚性如表 1 所示。结果表明,各组别,硬度、黏着性和咀嚼性的差异比较相似。除 L+M 组,发酵后牛肉的硬度和黏着性都有显著下降($P<0.05$)。其中 L+F+M 组的硬度、黏着性和咀嚼性下降的最为明显,这可能是由于乳酸菌和酵母存在协同共生作用,加速蛋白的消耗,从而降低了上述质构特征^[10]。L+M 组的硬度提升,可能与该发酵剂产酸能力强有关。低 pH 值使牛肉的 A_w 降低,更加速了蛋白质的凝固。发酵后的牛肉有效提升了熟化后



注:不同字母表示不同发酵组所得 L^* 值有显著性差异 ($P<0.05$)。

图 3 不同发酵剂对发酵牛肉 L^* 值的影响

Fig.3 Effects of different starter cultures on the L^* value of the fermented beef

牛肉的弹性,其中复配发酵剂发酵后,牛肉的弹性较单菌和自然发酵组有所提高。其中 L+F+M 组具有最高的弹性。黏聚性方面,除 M 组外,ZR 组和其余发酵剂组的黏聚性均显著降低 ($P<0.05$),与微生物作用加速蛋白质的降解,破坏肉纤维组织结构和凝胶性有关^[35]。

表 2 不同发酵剂对发酵牛肉质构的影响

Table 2 Effects of different starter cultures on the texture of the fermented beef

质构参数	UF	ZR	M	F	L	F+M	L+F	L+M	L+F+M
硬度	10 122.56 ± 1 075.68 ^b	8 934.83 ± 440.93 ^{cd}	7 945.83 ± 423.55 ^{ef}	9 938.49 ± 273.79 ^b	8 138.81 ± 702.10 ^{def}	9 833.16 ± 123.16 ^{bc}	8 581.72 ± 81.61 ^{de}	12 558.72 ± 91.75 ^a	7 211.46 ± 80.66 ^f
	0.82 ± 0.03 ^d	0.83 ± 0.01 ^{cd}	0.85 ± 0.05 ^{bcd}	0.87 ± 0.01 ^{abc}	0.85 ± 0.02 ^{bcd}	0.89 ± 0.01 ^{ab}	0.89 ± 0.01 ^{ab}	0.88 ± 0.01 ^{abc}	0.91 ± 0.01 ^a
弹性	4 108.97 ± 591.82 ^b	3 167.15 ± 320.41 ^{bcd}	3 361.48 ± 454.44 ^{bc}	3 347.28 ± 147.88 ^{bc}	2 677.04 ± 263.61 ^{de}	3 736.82 ± 29.48 ^{ab}	2 840.93 ± 28.26 ^{cde}	4 207.49 ± 25.45 ^a	2 386.53 ± 28.69 ^e
	咀嚼性	4 901.98 ± 511.98 ^a	3 774.29 ± 397.95 ^b	3 917.83 ± 322.24 ^b	3 832.35 ± 225.31 ^b	3 120.81 ± 306.58 ^c	3 828.21 ± 9.77 ^b	3 132.66 ± 18.47 ^c	4 729.15 ± 1.41 ^a
胶着性	0.49 ± 0.03 ^{ab}	0.42 ± 0.04 ^c	0.49 ± 0.06 ^a	0.38 ± 0.01 ^c	0.38 ± 0.02 ^c	0.42 ± 0.01 ^c	0.43 ± 0.01 ^{bc}	0.40 ± 0.01 ^c	0.39 ± 0.01 ^c
	黏聚性								

注:不同字母表示不同发酵组别所得各质构参数有显著性差异($P<0.05$)。

2.5 发酵剂对牛肉发酵后生物胺形成的影响

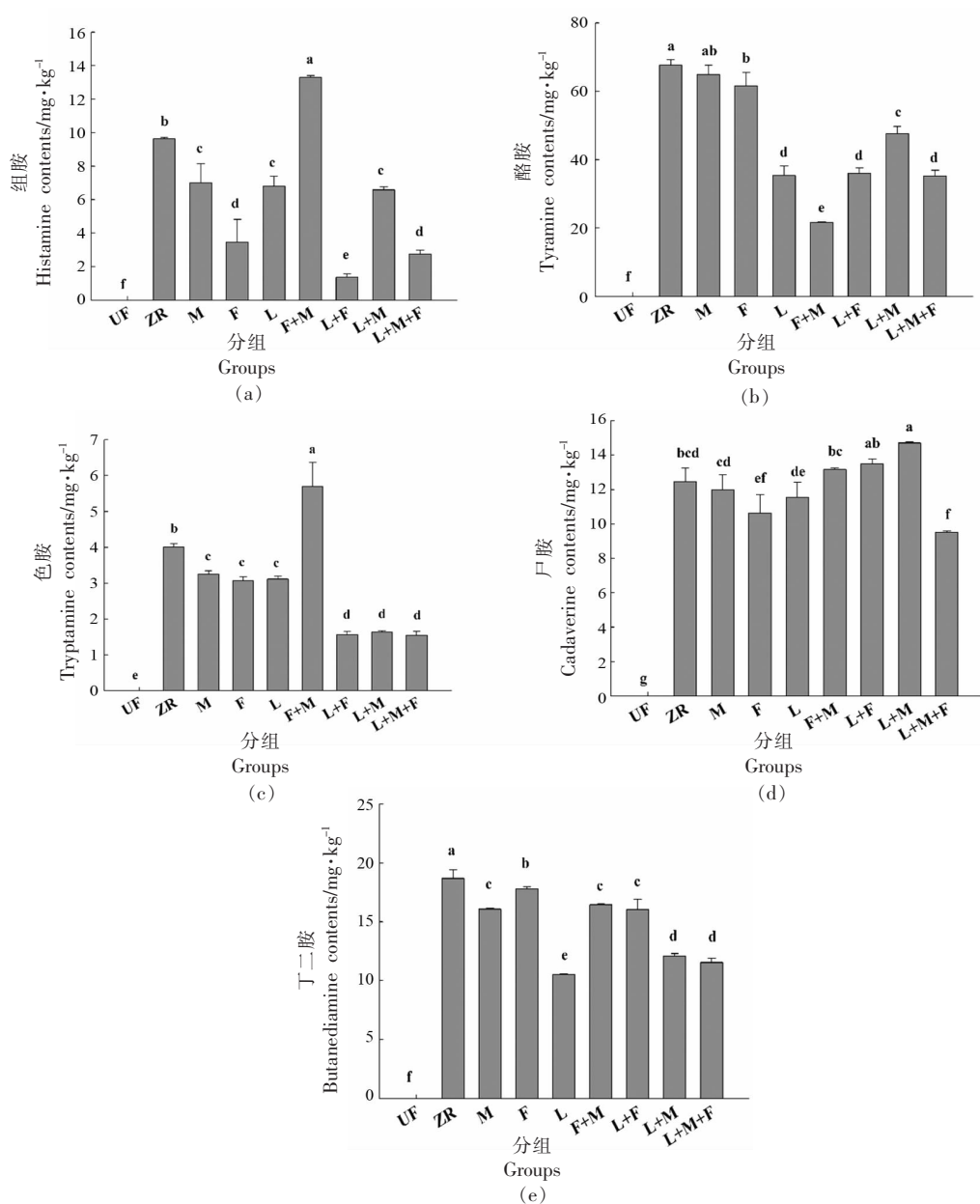
本文考察了添加不同发酵剂后,发酵牛肉中 5 种危害性较大的生物胺(组胺、酪胺、色胺、尸胺和丁二胺)的形成量的变化(图 4)。由图 4a 和 4c 可见,除 F+M 组外,各发酵剂组的组胺和色胺的

形成量均显著小于 ZR 组($P<0.05$),且复配发酵剂产生组胺和色胺的含量较单菌发酵组更低。如图 4b 和 4e 所示,所有发酵剂组形成的酪胺和尸胺量均低于 ZR 组($P<0.05$)。采用乳酸菌与酵母复配以后,牛肉中产生的酪胺含量远低于单菌发酵组。而

对于丁二胺来说,单独添加罗伊氏乳杆菌可以显著抑制牛肉中丁二胺的形成($P<0.05$)。如图4d所示,除F组和L+M+F组外,发酵剂组的尸胺形成量较自然发酵稍有升高或无显著变化。

生物胺是发酵食品中常见的危害物。如今,发酵肉制品的安全性引起高度关注,生物胺的含量是发酵肉制品食用安全性的重要指标^[36]。肉制品在发酵过程中,微生物分泌产生的蛋白酶会分解

蛋白质产生氨基酸,后经微生物分泌的氨基酸脱羧酶作用形成小分子生物胺。过量摄入生物胺会引发人体中毒等严重的毒理学反应^[37]。如:组胺可引发头晕、呕吐、腹泻等中毒症状。酪胺可致偏头痛,而尸胺和腐胺的存在会显著增强组胺的毒性,同时致癌^[23]。因此,如何控制生物胺的产生是提高发酵肉制品食用安全性最为关注的问题之一。由本研究结果可见,较自然发酵,接种发酵剂



注:不同字母表示不同发酵组所得各生物胺含量有显著性差异($P<0.05$)。

图4 不同发酵剂对发酵牛肉中生物胺形成量的影响

Fig.4 Effects of different starter cultures on the biogenic amine contents in the fermented beef

发酵牛肉可以显著降低牛肉中绝大多数生物胺的形成。与前人报道的发酵剂发酵后牛肉的 pH 和 A_w 降低对氨基酸脱羧酶活性的抑制作用密切相关^[38]。除此之外,复配发酵剂可以有效抑制牛肉中一些具有快速产胺能力的杂菌的生长,从而抑制生物胺的形成^[39-40]。由此可见,接种发酵剂发酵,尤其是采用乳酸菌和酵母菌复配发酵可有效抑制发酵牛肉中组胺、酪胺、色胺和丁二胺的积累,显著提高牛肉发酵后的食用安全性。本研究结果与 Tsai 等^[41]的报道一致。

2.6 不同发酵剂对发酵牛肉中挥发性风味物质的影响

为研究发酵后牛肉的风味特征,采用 SPME-GC-MS 从焙烤发酵牛肉中共鉴定出挥发性风味物质 87 种(含 1 种内标氘代氯苯),主要由烯烃类(10 种)、醇类(15 种)、醛类(22 种)、酮类(12 种)、吡嗪类(11 种)、酸类(5 种)、酯类(5 种)和其它类(6 种)组成,根据内标氘代氯苯计算所得的相对含量如表 3 所示。

发酵牛肉经焙烤后,相较于未发酵牛肉,其烯烃和吡嗪类化合物的总量变少。而复配发酵剂的烯烃类含量最高,且吡嗪类的含量也高于单菌发酵和自然发酵组。

通过对比可见,发酵后,烤牛肉中醇含量较未发酵明显提高,其中 L+F 组的醇类含量最高。发酵后产生很多未发酵烤牛肉中未发现的醇类物质,如乙醇、1-十二烷醇、1-癸烷基-1H-咪唑-2-甲醇、3-甲基丁醇、1-庚醇、1-辛醇和 7-十四醇等。酵母和乳酸菌代谢均会产生大量醇类物质^[42],因此,添加发酵剂组后产生的醇类的种类和含量均高于自然发酵,而复配组则优于单菌组。其中乙醇仅在 L+M 组存在,1-十二烷醇仅在含有马克斯克鲁维酵母的复配组中存在,而 1-癸烷基-1H-咪唑-2-甲醇仅在含有副干酪乳杆菌的复配组中被检测到。

烤牛肉中发现最多的风味化合物是醛类。通过对比发现,自然发酵后烤牛肉中的醛类物质明显变少,其中十二醛在发酵后的烤牛肉中未被检出。然而采用发酵剂发酵后,醛类含量高于 UF 组。且对比复配发酵剂和单菌发酵剂,复配组的醛类含量明显更高,其中复配组中十五醛和 13-甲

基十四醛的含量远高于单菌组。

发酵处理使得烤牛肉中的酮类总含量明显下降,同时产生了几类新的酮类风味物质,如 1-乙酰氧基-p-薄荷-3-酮、2-十一烷酮和 4-甲基-(5H)呋喃酮。除此之外,对比未发酵牛肉,发酵后的烤牛肉中检测出 2-乙基-3-羟基己酸、三氯乙酸三烷基酯、叔丁基氨基甲酸苄酯、3,4-二羟基-5-甲基二氢呋喃、1-乙酰氧基-1H-吡啶和 2,4-二叔丁基酚等赋予烤牛肉发酵后特殊风味的新的风味化合物。

本研究发现,牛肉发酵焙烤后许多风味化合物的含量均显著上升,同时产生新的风味化合物。这些化合物多来源于微生物降解蛋白产生的氨基酸代谢、微生物酯化作用,脂肪氧化、碳水化合物发酵等多个途径,或者是化合物之间次级反应的产物^[33]。而采用发酵剂发酵后,由于乳酸菌或酵母菌的代谢会产生更多风味物质或风味物质前体,极大程度丰富了烤牛肉的风味。复配发酵剂组中乳酸菌和酵母菌的共生作用代谢出更多新的化合物,又更进一步丰富了烤牛肉的风味。

采用不同发酵剂发酵后,烤牛肉的风味化合物的 GC-MS 测定结果,以烤牛肉中测定得到的 86 个化合物的相对含量建立焙烤发酵牛肉风味特征谱,并以此为变量,采用主成分分析法(PCA)分析未发酵、自然发酵和添加不同发酵剂组烤牛肉的风味特征谱的异同,解析各风味化合物对此异同的贡献,所得的 PCA 得分图和载荷图如图 5 所示。

由散点图图 5a 可见,未发酵牛肉与发酵后的牛肉的风味谱差别很大,在 PC2 方向可明显分离。通过分析烤牛肉中各风味化合物载荷情况(图 5b)发现,在 PC2 方向各风味化合物对差异的贡献差别很大,其中对未发酵牛肉和发酵牛肉的差异贡献最大分别为 7-十四醇、辛醛、1-乙酰氧基-p-薄荷-3-酮、十四醛和 13-甲基十四醛,说明这 5 种化合物是使发酵后烤牛肉区别于未发酵烤牛肉最为关键的风味物质。其中,十四醇具有轻微蜡质气味,辛醛和十四醛具有水果香味,由此可见,发酵后的牛肉焙烤后风味更加丰富。7-十四醇、1-乙酰氧基-p-薄荷-3-酮和 13-甲基十四醛是发酵后烤牛肉中产生的新的风味化合物。

表3 不同发酵剂发酵烤牛肉挥发性风味物质分析
Table 3 Analysis of volatile substances in roasted beef fermented by different starter cultures

物质名称	UF	ZR	M	F	L	F+M	L+F	L+M	L+M+F
烯烃类									
2,4-二甲基己烷	0.05	0.03	0.04	0.03	0.02	0.05	0.06	0.07	0.05
苯乙烯	1.90	0.98	0.21	0.19	0.14	1.72	1.77	1.02	1.02
十二烷	2.38	1.58	2.44	2.37	0.79	3.63	2.13	3.49	2.89
4,6-二甲基十二烷	3.84	1.95	2.29	2.21	1.21	3.67	2.72	3.56	3.78
十一烷	8.09	7.33	7.45	7.42	6.68	11.05	16.24	9.75	9.40
2,3,5,8-四甲基癸烷	1.33	1.05	1.77	1.45	1.32	2.11	1.25	1.64	1.46
1-乙氧基-4,4-二甲基戊烯	2.62	0.35	2.15	1.78	1.32	2.57	1.05	1.97	1.16
二环(7,2-0)十一碳-4-烯	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00
十五烷	0.06	0.02	0.03	0.04	0.03	0.09	0.05	0.05	0.06
甲苯	1.95	0.54	0.49	0.44	0.37	2.28	1.91	1.85	1.62
合计	22.22	13.83	16.87	15.94	11.89	27.16	27.19	23.41	21.44
醇类									
乙醇	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3-甲基丁醇	0.00	0.44	0.48	0.89	0.45	3.82	0.39	19.72	2.47
3-甲基-1-丁醇	6.86	3.97	4.56	3.45	4.38	2.82	6.07	3.51	3.74
1-己醇	0.01	0.00	0.03	0.04	0.06	0.01	0.02	0.01	0.01
1-庚醇	0.00	1.58	1.54	1.80	2.70	1.09	2.80	3.44	2.67
1-辛醇-3-醇	10.48	11.19	12.46	16.99	14.35	8.90	20.66	11.86	11.98
2-乙基-1-己醇	13.04	32.14	38.24	25.76	11.92	16.84	27.02	27.52	25.27
1-辛醇	0.00	14.63	15.77	18.49	19.98	13.77	12.74	17.16	17.58
1-十二烷醇	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.05	0.00	0.03	0.04
2-乙基-1-辛醇	4.31	3.66	3.76	3.84	4.52	7.58	5.33	5.45	6.09
7-十四醇	0.00	0.44	0.62	0.83	0.52	0.52	0.75	0.63	0.70
1-癸烷基-1H-咪唑-2-甲醇	0.00	0.00	0.00	0.92	0.00	0.70	1.86	0.00	0.00
13-甲基十四醇	11.35	5.72	18.82	14.71	11.44	53.26	41.98	21.36	28.51
2-十六醇	6.47	10.43	4.32	7.27	10.11	9.65	15.01	7.83	6.02
1H-咪唑-2-甲醇	7.24	6.27	11.92	7.78	8.32	19.17	13.70	8.69	9.00
合计	59.76	90.47	112.59	102.77	88.75	138.19	148.34	134.02	114.07
醛类									
2-甲基-丙醛	1.35	0.20	1.02	0.74	0.89	0.76	1.10	1.23	0.77
3-甲基-正丁醛	0.23	0.05	0.12	0.13	0.14	0.29	0.52	0.36	0.26
2-甲基正丁醛	0.61	0.11	0.20	0.43	0.34	0.58	0.75	0.77	0.59
己醛	0.01	0.01	0.02	0.04	0.02	0.00	0.01	0.00	0.01

(续表 3)

物质名称	UF	ZR	M	F	L	F+M	L+F	L+M	L+M+F
酸类									
乙酸	1.21	0.49	0.21	0.15	0.16	2.58	4.02	1.06	1.65
十二烯酸	6.36	2.06	4.98	6.74	5.75	10.77	4.53	6.88	9.85
壬酸	0.69	0.65	0.32	0.84	0.18	0.82	1.46	0.91	1.08
十一烯酸	1.42	1.41	0.05	1.48	1.52	1.47	1.83	1.48	3.10
2-乙基-3-羟基己酸	0.00	0.04	0.04	0.04	0.04	0.45	2.04	0.45	0.00
合计	9.68	4.66	5.60	9.25	7.65	16.09	13.89	10.78	15.68
酯类									
乙酸乙酯	0.26	0.23	0.04	0.33	0.41	0.38	0.50	0.01	0.08
丁内酯	0.50	0.08	0.45	0.21	0.31	0.17	0.45	0.22	0.32
三氯乙酸三烷基酯	0.00	0.16	0.01	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
十三烷基异丙基酯	2.25	1.11	1.88	1.12	1.32	2.48	0.80	1.90	1.54
叔丁基氨基甲酸苄酯	0.00	0.00	0.78	1.49	1.38	2.26	2.35	0.97	0.50
合计	3.01	1.58	3.16	3.17	3.43	5.29	4.11	3.10	2.43
吡嗪类									
甲基吡嗪	6.43	0.17	0.09	0.15	0.12	1.27	1.20	2.25	1.16
2,5-二甲基吡嗪	25.95	0.41	0.16	0.26	0.26	6.87	4.67	8.87	5.49
乙基吡嗪	0.62	0.03	0.15	0.13	0.11	0.15	0.14	0.26	0.14
2,3-二甲基吡嗪	1.49	0.05	0.21	0.29	0.23	0.47	0.26	0.40	0.33
三甲基吡嗪	19.37	0.56	0.24	0.40	0.38	10.11	4.87	9.76	6.14
3-乙基-2,5-二甲基吡嗪	11.46	0.38	4.78	3.71	4.12	4.00	2.45	4.28	3.10
2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	2.42	0.08	1.15	0.83	0.96	0.96	0.62	1.43	0.90
四甲基吡嗪	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00	0.64	0.00	0.00	0.00
2,3-二乙基-5-甲基吡嗪	0.68	0.04	0.23	0.14	0.11	0.29	0.19	0.39	0.21
3,5-二乙基-2-甲基吡嗪	0.69	0.07	0.52	0.34	0.25	0.65	0.18	0.37	0.39
2-(3-甲基丁基)-3,5-二甲基吡嗪	0.74	0.00	0.33	0.19	0.02	0.86	0.00	0.78	0.00
合计	69.86	1.79	7.98	6.44	6.56	26.26	14.59	28.79	17.87
其它									
3,4-二羟基-5-甲基二氢吡喃	0.00	0.00	0.07	0.05	0.05	0.00	0.07	0.00	0.07
氘代氯苯(内标)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
甲氧基苯基脲	4.44	1.31	0.68	1.17	1.10	1.85	0.84	1.45	2.27
2-戊烷基咪喃	0.18	0.20	0.27	0.44	0.20	0.31	0.37	0.45	0.48
二烯基硫醚	1.07	0.02	0.21	0.44	0.38	0.88	0.30	0.19	0.20
1-乙酰氧基-1H-吡啶	0.00	0.00	0.04	0.29	0.04	0.00	0.65	0.39	0.00
2,4-二叔丁基酚	0.00	0.07	0.04	0.03	0.09	2.79	0.21	0.00	0.03
合计	6.69	2.60	2.31	3.42	2.86	6.84	3.44	3.48	4.04

在 PC1 方向可见,自然发酵、单菌发酵与复配发酵剂发酵的样本差异很大,分别落在 2 个不同的象限中。而通过分析载荷图发现,导致复配发酵剂与单菌发酵和自然发酵风味上显著差异的风味化合物为甲苯、十六醛、1-(1H-吡咯-2-基)乙烯酮、十五烷和 4,6-二甲基十六烷等。其中,十六醛有花和蜡的弱香气,更加丰富了牛肉的风味。

本研究采用 PCA 法,将发酵前、后烤牛肉的 86 种风味化合物转化成风味谱进行直观比较,可

以很清晰地看出未发酵、自然发酵、单菌发酵和复配发酵剂发酵后烤牛肉风味存在显著差异,分析得出造成此差异的特定风味化合物均为发酵新增的化合物或含量差异显著的化合物,为分析发酵牛肉烤后特有的风味特征提供依据。目前,发酵剂发酵后牛肉质构、风味的成因尚不明确,与微生物在牛肉发酵过程中的代谢及其代谢产物在熟化过程中的相互作用息息相关,有待进一步研究。

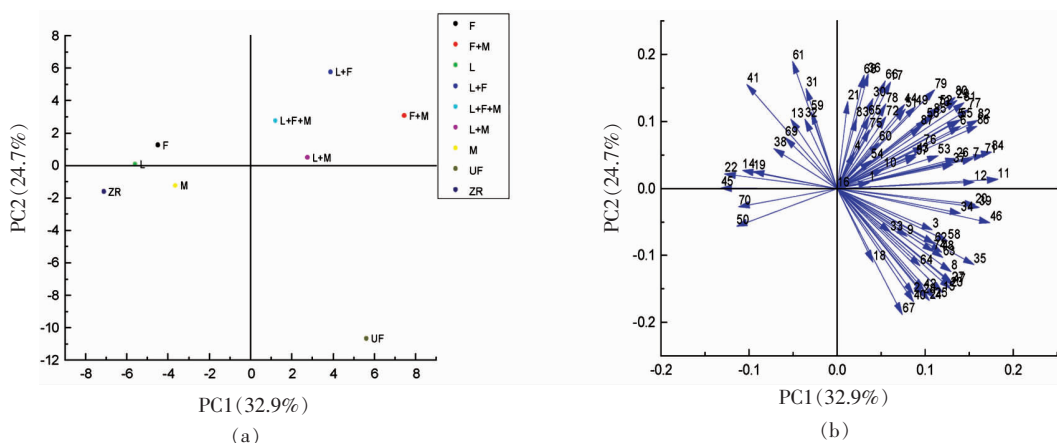


图 5 不同发酵剂发酵烤牛肉挥发性风味物质主成分分析

Fig.5 Principal component analysis of volatile substances in roasted beef fermented by different starter cultures

2.7 发酵剂对牛肉感官品质的影响

由感官评价的结果(表 4)可以看出,牛肉发酵后期的组织形态、外观色泽、气味和口感都有明显的改善。相对于自然发酵,发酵剂发酵能在一定程度上提高牛肉的感官品质。各组发酵牛肉的组

织形态和外观色泽上差异不大,除 L+F+M 组在评分上显著高于未发酵组外($P<0.05$),其余组差异不大。然而在气味和口感方面,各组差异明显。其中 L+M 组的气味最佳,L+F 组的口感最佳。感官评价的结果与色泽、质构和风味的数据基本一致。

表 4 不同发酵剂对发酵熟化牛肉感官评价的影响

Table 4 Effects of different starter cultures on the sensory evaluation of the fermented cooked beef

分组	组织状态	外观色泽	气味	口感
UF	14.8 ± 1.3 ^b	15.1 ± 0.7 ^c	22.1 ± 0.6 ^f	22.5 ± 0.9 ^e
ZR	16.1 ± 1.3 ^{ab}	16.4 ± 1.1 ^{bc}	24.1 ± 0.7 ^e	25.4 ± 0.7 ^{bc}
M	16.3 ± 2.1 ^{ab}	18.3 ± 0.9 ^{ab}	25.1 ± 0.9 ^{ede}	25.9 ± 1.1 ^{bc}
F	17.2 ± 2.0 ^{ab}	17.7 ± 0.7 ^{ab}	24.5 ± 1.1 ^{de}	24.2 ± 1.1 ^{ede}
L	16.0 ± 1.9 ^{ab}	18.2 ± 1.3 ^{ab}	24.3 ± 0.8 ^{de}	26.4 ± 0.6 ^{ab}
F+M	17.4 ± 2.1 ^{ab}	18.4 ± 1.2 ^{ab}	26.1 ± 0.4 ^{abc}	24.7 ± 0.8 ^{bcd}
L+F	17.3 ± 2.6 ^{ab}	17.1 ± 2.1 ^{abc}	25.8 ± 0.7 ^{bcd}	27.8 ± 0.9 ^a
L+M	17.4 ± 1.3 ^{ab}	18.2 ± 1.9 ^{ab}	27.4 ± 1.0 ^a	23.4 ± 0.8 ^{de}
L+F+M	19.2 ± 0.8 ^a	19.5 ± 0.4 ^a	26.9 ± 0.5 ^{ab}	25.2 ± 1.2 ^{bcd}

注:不同字母表示不同发酵组别所得各感官评价特性有显著性差异($P<0.05$)。

3 结论

采用本单位专利保藏的3株专利菌株(W9-3罗伊氏乳杆菌、M3-16副干酪乳杆菌和MY4马克斯克鲁维酵母)制备单菌或复配发酵剂,并应用在牛肉发酵中。与未发酵和自然发酵的牛肉相比,发酵剂发酵可促进牛肉的pH、水分活度、TBA值和羰基含量的降低,使发酵熟化后牛肉的亮度和弹性上升,硬度、黏着性、咀嚼性和黏聚性下降。发酵剂发酵可显著抑制组胺、色胺、酪胺和丁二胺的形成,产生多种新的醇、醛和酮类等风味化合物,同时提高牛肉的组织形态、外观色泽、气味和口感的感官评分。由此可见,发酵剂尤其是复配发酵剂可以改善发酵牛肉品质,提升发酵牛肉的风味和安全性。

参 考 文 献

- [1] SANLIER N, GOKCEN B B, SEZGIN A C. Health benefits offermented foods [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(3): 506-527.
- [2] 李云龙, 赵月亮, 范大明, 等. 表儿茶素对牛肉汤营养成分和风味的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(16): 125-132.
LI Y L, ZHAO Y L, FAN D M, et al. Effect of epicatechin on nutrient composition and flavor of beef soup[J]. *Food Science*, 2021, 42(16): 125-132.
- [3] 张丽, 孙宝忠, 魏晋梅, 等. 牦牛肉发酵过程中的品质变化分析[J]. *肉类研究*, 2014(5): 20-24.
ZHANG L, SUN B Z, WEI J M, et al. Analysis of quality change of yak meat during fermentation[J]. *Meat Research*, 2014(5): 20-24.
- [4] 贾娜, 马宏慧, 刘登勇, 等. 直投式发酵剂对发酵牛肉干品质的影响[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(12): 106-112.
JIA N, MA H H, LIU D Y, et al. Effect of direct cast starter on quality of fermented beef jerky [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(12): 106-112.
- [5] 刘梦, 陈松, 张顺亮, 等. 微发酵对牛肉干风味的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(14): 232-239.
LIU M, CHEN S, ZHANG S L, et al. Effect of micro-fermentation on the flavor of beef jerky [J]. *Food Science*, 2021, 42(14): 232-239.
- [6] ZHANG Y L, HU P, XIE Y Y, et al. Co-fermentation with *Lactobacillus curvatus* LAB26 and *Pedococcus pentosaceus* SWU73571 for improving quality and safety of sour meat [J]. *Meat Science*, 2020, 170: 108240.
- [7] ZHANG Y M, ZHU L X, DONG P C, et al. Bio-protective potential of lactic acid bacteria: Effect of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* on changes of the microbial community in vacuum-packaged chilled beef [J]. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 31(4): 31-41.
- [8] ARIEF I I, WULANDARI Z, ADITIA E L, et al. Physicochemical and microbiological properties of fermented lamb sausages using probiotic *Lactobacillus plantarum* IIA-2C12 as starter culture [J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2014, 20: 352-356.
- [9] 刘英丽, 于青林, 万真, 等. 发酵剂抗氧化活性对发酵肉制品品质的影响研究进展 [J]. *食品科学*, 2021, 42(1): 302-312.
LIU Y L, YU Q L, WAN Z, et al. Research progress on effect of antioxidant activity of starter culture on quality of fermented meat products [J]. *Food Science*, 2021, 42(1): 302-312.
- [10] 王德宝, 孙学颖, 王柏辉, 等. 复合发酵剂对羊肉香肠发酵成熟过程中理化品质及安全性能的影响 [J]. *中国食品学报*, 2020, 20(6): 137-145.
WANG D B, SUN X Y, WANG B H, et al. Effects of compound starter on physicochemical quality and safety of mutton sausage during fermentation and ripening [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(6): 137-145.
- [11] 梁蕊芳, 张邦建, 高丽霞, 等. 复合发酵剂对发酵牛肉干理化品质及安全性能的影响 [J]. *食品工业科技*, 2021, 42(7): 43-49.
LIANG R F, ZHANG B J, GAO L X, et al. Effects of compound starter on physicochemical quality and safety of fermented beef jerky [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(7): 43-49.
- [12] 兰沁洁, 宋杰, 陈沫, 等. 乳酸菌和酵母菌复配发酵对羊肉香肠食用品质的影响 [J/OL]. *食品与发酵工业*. (2023-06-28) [2023-07-03]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.036037>.
LAN Q J, SONG J, CHEN M, et al. Effects of combined fermentation of lactic acid bacteria and yeast on the quality of mutton sausage [J/OL]. *Food and Fermentation Industries*. (2023-06-28) [2023-07-03]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.036037>.

- [13] 国家卫生和计划生育委员会. 食品 pH 值的测定: GB 5009.237-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-4.
China Health and Family Planning Commission. Determination of pH value of food: GB 5009.237-2016 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 1-4.
- [14] 国家卫生和计划生育委员会. 食品水分活度的测定: GB 5009.238-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 5-6.
China Health and Family Planning Commission. Determination of water activity of food: GB 5009.238-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 5-6.
- [15] 韦诚, 常荣, 段珍珍, 等. 发酵时长对酸肉物理特性及食用安全性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(8): 86-92.
WEI C, CHANG R, DUAN Z Z, et al. Effects of fermentation time on physical characteristics and edible safety of sour meat[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(8): 86-92.
- [16] 李琼帅, 唐善虎, 李思宁, 等. 石榴皮提取物对牦牛肉糜制品贮藏期间理化特性及流变特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(6): 90-97.
LI Q S, TANG S H, LI S N, et al. Effects of pomegranate peel extract on physicochemical and rheological properties of yak mince products during storage[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(6): 90-97.
- [17] 国家食品药品监督管理总局. 食品中生物胺的测定: GB 5009.208-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-5, 9.
China Food and Drug Administration. Determination of biogenic amines in food: GB 5009.208-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 1-5, 9.
- [18] 周建中, 高蕾, 严宏孟, 等. 不同发酵方式对发酵马肉肠贮藏期品质劣变及食用安全性的影响[J]. 肉类研究, 2022, 36(10): 29-34.
ZHOU J Z, GAO L, YAN H M, et al. Effects of different fermentation methods on quality deterioration and edible safety of fermented horse sausage during storage[J]. Meat Research, 2022, 36(10): 29-34.
- [19] 杨慧轩, 罗欣, 梁荣蓉, 等. 乳酸菌作为生物抑菌剂在肉与肉制品中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(7): 317-325.
YANG H X, LUO X, LIANG R R, et al. Research progress on the application of lactic acid bacteria as bioinhibitory agents in meat and meat products[J]. Food Science, 2022, 43(7): 317-325.
- [20] 李路. 马克思克鲁维酵母对发酵乳中脂类代谢的影响[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2015.
LI L. Effects of *Marxian kluyveromyces* on lipid metabolism in fermented milk[D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2015.
- [21] LEROI F, PIDOUX M. Detection of interactions between yeasts and lactic acid bacteria isolated from sugary kefir grains[J]. Journal of Applied Microbiology, 1993, 74(1): 48-53.
- [22] 龙强, 聂乾忠, 刘成国. 发酵香肠研究进展及展望[J]. 食品科学, 2017, 38(13): 291-298.
LONG Q, NIE Q Z, LIU C G. Research progress and prospect of fermented sausage[J]. Food Science, 2017, 38(13): 291-298.
- [23] PEREA-SANZ L, LÓPEZ-DÍEZ J J, BELLOCH C, et al. Counteracting the effect of reducing nitrate/nitrite levels on dry fermented sausage aroma by *Debaryomyces hansenii* inoculation [J]. Meat Science, 2020, 164(6): 108-103.
- [24] 张江巍, 曹郁生. 乳酸菌抗氧化活性的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(1): 34-37.
ZHANG J W, CAO Y S. Research progress on antioxidant activity of lactic acid bacteria[J]. China Dairy Industry, 2005, 33(1): 34-37.
- [25] LIN M Y, CHANG F J. Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2000, 45(8): 1617-1622.
- [26] 张江巍, 曹郁生, 李海星, 等. 乳酸菌抗氧化活性及检测方法[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(9): 53-56.
ZHANG J W, CAO Y S, LI H X, et al. Antioxidant activity of lactic acid bacteria and its detection method[J]. China Dairy Industry, 2005, 33(9): 53-56.
- [27] ADEYEMI K D, SABOW A B, SHITTU R M, et al. Impact of chill storage on antioxidant status, lipid and protein oxidation, color, drip loss and fatty acids of semimembranosus muscle in goats[J]. CyTA-Journal of Food, 2016, 14(3): 405-414.
- [28] ZHANG W G, XIAO S, AHN D U. Protein oxidation: Basic principles and implications for meat

- quality[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2013, 53: 1191–1201.
- [29] 任锐, 颜铃, 王浩东, 等. 肉及肉制品蛋白质氧化机理及其抑制途径的研究进展[J]. *肉类工业*, 2020(8): 50–53, 56.
- REN R, YAN L, WANG H D, et al. Research progress of protein oxidation mechanism and inhibition pathway of meat and meat products[J]. *Meat Industry*, 2020(8): 50–53, 56.
- [30] PETRON M J, BRONCANO J M, OTTE J, et al. Effect of commercial proteases on shelf-life extension of Iberian dry-cured sausage[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2013, 53(1): 191–197.
- [31] CHEN Q, KONG B H, SUN Q X, et al. Antioxidant potential of a unique lab culture isolated from Harbin dry sausage: *in vitro* and in a sausage model[J]. *Meat Science*, 2015, 110: 180–188.
- [32] CHEN Q, KONG B H, HAN Q, et al. The role of bacterial fermentation in lipolysis and lipid oxidation in Harbin dry sausages and its flavour development [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 77: 389–396.
- [33] 陈曦, 许随根, 周彤, 等. 贵州酸肉中的植物乳杆菌对发酵香肠风味和品质特性的影响[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(6): 174–182.
- CHEN X, XU S G, ZHOU T, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* in Guizhou sour meat on flavor and quality characteristics of fermented sausage[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(6): 174–182.
- [34] MARIANA U, DAVID M, MARIO E. Fat content has a significant impact on protein oxidation occurred during frozen storage of beef patties[J]. *Food Science and Technology*, 2014, 56(1): 62–68.
- [35] 陈俊宏, 王洋, 李芹, 等. 乳酸菌发酵工艺对肉糜理化性质及品质的影响[J]. *中国调味品*, 2021, 46(6): 5–10.
- CHEN J H, WANG Y, LI Q, et al. Effect of lactic acid bacteria fermentation technology on physico-chemical properties and quality of meat mince [J]. *China Condiment*, 2021, 46(6): 5–10.
- [36] LU S L, JI H, WANG Q L, et al. The effects of starter cultures and plant extracts on the biogenic amine accumulation in traditional Chinese smoked horsemeat sausages[J]. *Food Control*, 2015, 50: 869–875.
- [37] RUIZ-CAPILLAS C, HERRERO A M. Impact of biogenic amines on food quality and safety [J]. *Foods*, 2019, 8(2): 62.
- [38] 田甜, 张雅琳, 潘攀, 等. 微生物复合发酵剂对香肠的食用安全性分析[J]. *食品工业*, 2020, 41(6): 329–333.
- TIAN T, ZHANG Y L, PAN P, et al. Analysis of edible safety of sausage with microbial composite starter[J]. *Food Industry*, 2020, 41(6): 329–333.
- [39] 戴莹, 宋海勇, 吴曦, 等. 肉制品中生物胺的形成、检测和控制研究进展[J]. *肉类研究*, 2020, 34(11): 89–97.
- DAI Y, SONG H Y, WU X, et al. Research progress on the formation, detection and control of biogenic amines in meat products[J]. *Meat Research*, 2020, 34(11): 89–97.
- [40] 高芳, 包亚莉, 华晓青, 等. 乳酸菌对发酵肉制品抑菌作用及风味特征的影响研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(9): 194–201.
- GAO F, BAO Y L, HUA X Q, et al. Research progress on the effects of lactic acid bacteria on bacteriostasis and flavor characteristics of fermented meat products[J]. *Food Science*, 2023, 44(9): 194–201.
- [41] TSAI Y H, CHANG S C, KUNG H F. Histamine contents and histamine-forming bacteria in natto products in Taiwan[J]. *Food Control*, 2007, 18(9): 1026–1030.
- [42] 刘超, 毕玉平, 马德源, 等. 乳酸菌与酵母菌共发酵芦笋汁工艺优化及其风味成分分析[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(9): 128–134.
- LIU C, BI Y P, MA D Y, et al. Optimization of co-fermentation process and analysis of flavor components of *Asparagus* juice by lactic acid bacteria and yeast [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2023, 49(9): 128–134.

Effects of Different Starter Cultures on the Quality, Flavor Characteristics and Safety of Fermented Beef

Yan Yan^{1,2}, Yang Mingliu^{1,2}, Zhou Yingqin^{1,2}, Huang Jingjing^{1,2}, Li Weiwei³, Xie Ningning^{1,2*}

(¹Institute of Agro-products Processing, Anhui Academy of Agricultural Science, Hefei 230031

²Anhui Engineering Laboratory of Food Microbial Fermentation and Functional Application, Hefei 230031

³School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023)

Abstract Beef is rich in protein and low in fat, which is liked by consumers. It is difficult to chew and has low added value. In order to improve the taste and flavor of beef, the effects of single or combination patented strains, including W9-3 *Lactobacillus reuteri*, M3-16 *Lactobacillus paracasei* and MY4 *Kluyveromyces marxianus*, on the physicochemicals and sensory qualities, biogenic amine formations and volatile flavor of beef were investigated. The results showed that the addition of starter cultures could significantly decreased the pH (below 5.5), the water activities (decreased by 0.6%–4.1%), TBA values and carbonyl values of beef compared with unfermented or naturally fermented beef. The addition of starter cultures could inhibit the formations of histamine, tryptamine, tyramine and butylenediamine, and at the same times, make the brightness and springiness of cooked beef increase, while the hardness, gumminess, chewiness and cohesiveness decrease. And the results of the combination groups were higher than single strain groups. Eighty-six volatile substances have been identified from roasted fermented beef by using SPME-GC-MS. The results of these flavor compounds relative contents and PCA analysis showed that the flavor of roasted beef after fermentation with starter cultures are different from that of unfermented and naturally fermented beef, with the formation of new alcohols, aldehydes and ketones. The sensory evaluations showed that the texture, color, odor and taste of beef could be improved by fermentation with starter culture. The starter, especially the compound starter, can improve the quality and the flavor, while inhibit the biogenic amine formation of fermented beef. This paper could offer the theoretical foundation to the beef fermentation technology optimization.

Keywords starter culture; fermented beef; physical and chemical quality; biological amine; flavor