



不同乳酸菌对发酵草鱼品质的影响

许惠雅¹, 张强¹, 王逸鑫¹, 王锡昌¹, 施文正^{1,2*}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学, 国家淡水水产品加工技术研发分中心, 上海 201306)

摘要: 为探明不同乳酸菌对发酵草鱼微生物数量和理化性质的影响, 进一步提高发酵鱼制品的品质, 实验对草鱼背部肌肉经不同乳酸菌(植物乳杆菌、戊糖片球菌和副干酪乳杆菌)发酵后制品的微生物数量、pH、总酸、水分含量、白度、氨基酸态氮、硫代巴比妥酸和挥发性盐基氮等进行分析, 探究不同乳酸菌在草鱼发酵过程中(0~15 d)对其品质的影响。结果显示, 与自然发酵相比, 接种后乳酸菌在鱼肉中快速生长, 鱼肉 pH 值降低至 4.03 ± 0.02 , 总酸含量增加至 $(23.70 \pm 1.06) \text{ g/kg}$, 有效抑制腐败菌的繁殖; 同时提高鱼肉白度, 提高氨基酸态氮含量、降低水分含量和挥发性盐基氮的生成量。研究表明, 接种乳酸菌发酵可以减少发酵开始的滞后时间, 延缓鱼肉腐败变质, 有助于营养价值的提高和色泽的改善, 提高发酵草鱼的品质。

关键词: 草鱼; 乳酸菌; 发酵; 品质

中图分类号: TS 254.4

文献标志码: A

发酵作为一种传统的食品加工和保藏技术, 可用于改善食品口感和风味, 提高其营养价值及食用安全品质。发酵利用微生物将碳水化合物转化为乳酸, 有机酸积累引起 pH 值下降, 抑制腐败菌的生长。微生物的酶解作用促使鱼肉中蛋白质变性和降解、脂肪降解和氧化, 促进淡水鱼制品品质的改善、营养价值提高以及独特风味产生, 进而实现淡水鱼制品的增值利用^[1-3]。常见的传统发酵鱼制品有江浙地区的糟鱼^[4]、徽州地区的臭鳊鱼^[5]及黔东南地区的酸鱼^[6]等。然而, 传统发酵鱼制品制作技术依靠工人经验且受自然条件影响, 具有发酵周期长、发酵条件不易掌控、产品品质可变性高、安全性低等缺点, 难以进行工业化的大规模生产。

接种发酵是一种新型鱼类食品加工方法,

选用优良发酵剂对鱼肉进行接种发酵, 使其在室温下的保藏时间延长并产生良好的风味。目前, 所使用的发酵剂主要为乳酸菌, 其可降低产品的 pH 值, 对提高安全性和改善风味发挥重要作用。其中, 较常见的乳酸菌发酵剂有植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*, Lp)、戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*, Pp) 和副干酪乳杆菌 (*L. paracasei*, Lpsi) 等。有研究表明, 通过分离和特性研究发现植物乳杆菌、戊糖片球菌是存在于发酵鱼中的优势菌种^[7-8]。林胜利等^[9]将植物乳杆菌接种至鱼糜发酵, 能快速降低鱼糜体系中的 pH 值, 并且在酸性条件下抑制了假单胞菌等腐败菌的生长, 从而降低了低分子胺类物质的形成。李培瑜等^[10]以蓝点马鲛 (*Scomberomorus niphonius*) 鱼糜为原料, 利用戊糖片球菌进行发酵, 理化指标显示其安全

收稿日期: 2021-04-03 修回日期: 2021-05-19

资助项目: 国家重点研发计划 (2019YFD0902003)

第一作者: 许惠雅(照片), 从事水产品加工研究, E-mail: xuhuiyaxuhuiya@163.com

通信作者: 施文正, 从事水产品加工与食品风味研究, E-mail: wzshi@shou.edu.cn



性和功能活性得到改善,且在发酵过程中各类挥发性化合物含量均发生显著变化。副干酪乳杆菌具有良好的发酵特性,广泛存在于传统发酵乳制品及人体胃肠道中,也适合用于鱼肉制品的发酵^[11-12]。黄乐丹等^[11]利用副干酪乳杆菌发酵鲑鱼,可以提高呈味氨基酸和必需氨基酸含量,使其风味和营养品质得到改善。

目前,乳酸菌应用于发酵鱼制品的研究较多,但植物乳杆菌、戊糖片球菌、副干酪乳杆菌分别应用于发酵草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)并进行对比的研究鲜有报道。本实验通过比较分析接种植物乳杆菌、戊糖片球菌和副干酪乳杆菌对发酵草鱼微生物数量及理化性质的变化,研究它们对发酵草鱼品质特性的影响,旨在为发酵鱼制品的进一步加工提供依据和技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

鲜活草鱼购于上海市浦东新区南汇新城农工商超市,体质量(3.0±0.2) kg。

实验菌株:植物乳杆菌、戊糖片球菌、副干酪乳杆菌,均购于北京北纳创联生物技术研究院,编号分别为192567、192624和189800。

实验试剂:MRS肉汤、MRS培养基、平板计数琼脂购自上海吉至生化科技有限公司;食盐、白砂糖、玉米粉购自上海浦东新区南汇新城农工商超市;0.05 mol/L氢氧化钠溶液、甲醛水溶液、硼酸、0.10 mol/L酸性标准平衡溶液、硫代巴比妥酸及三氯乙酸购自国药集团化学试剂有限公司(均为分析纯)。

1.2 仪器与设备

DSX-280KB24手提式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂);BCM垂直双人标准净化工作台(苏州安泰空气技术有限公司);THZ-300恒温培养摇床(上海一恒科技有限公司);LHS-250SCN恒温恒湿培养箱(上海慧泰仪器制造有限公司);H-2050R型高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);FE28型pH计(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);Metrohm 888专业型Titrand智能电位滴定仪(瑞士万通中国有限公司);HD-3A型水分活度测定仪(无锡市华科仪器仪表有限公司);CR-400色差计(Minolta,日本);UV-1800PC紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);

Kjeltec2300全自动凯氏定氮仪(FOSS,丹麦)。

1.3 实验方法

发酵剂的制备 首先将菌种冻干粉在MRS肉汤活化后,在4℃条件下保存于斜面。然后分别挑取Lp、Pp和Lpsi的单菌落于MRS肉汤中,37℃摇床培养24h,分别取0.1 mL菌悬液接种于10 mL MRS肉汤中,37℃摇床培养16h。培养后在4℃、9 700 r/min条件下冷冻离心10 min,分别去除上清液收集菌体,加入等体积生理盐水洗2次后重悬于生理盐水中,调整终浓度为8 lg(CFU/mL)~9 lg(CFU/mL)。

草鱼发酵工艺流程 鲜活草鱼,致死后去除头部和内脏,冲洗后取背部肌肉,切成约3 cm×2 cm×2 cm的小块,无菌蒸馏水洗净并沥水。添加鱼块质量2%的白糖、3%的食盐,搅拌均匀,在4℃条件下腌制24h。腌制后的鱼块和已炒熟的玉米粉(20%鱼肉,质量分数)以及菌液(1%鱼肉,体积质量比)按比例混匀。加盖水封,在25℃培养箱中发酵15 d,分别在0、5、10和15 d时取样分析。共设计4组鱼肉,分别为NF组(不接种菌的自然发酵)、Lp组(接种植物乳杆菌)、Pp组(接种戊糖片球菌)和Lpsi组(接种副干酪乳杆菌)。

微生物分析 参考Xu等^[13]的方法并略作修改。称取2.00 g鱼肉,加入18 mL生理盐水(0.85%,质量分数)进行无菌均质3 min后,用生理盐水进行10倍稀释。取1 mL的样液倾注在不同的培养基上分别培养,以测定不同的微生物数量。菌落总数用平板计数琼脂,(30±1)℃培养(72±3)h;乳酸菌数用MRS培养基,(36±1)℃下培养(72±2)h。每个样液2个平行,测定菌落数表示为lg(CFU/g)。

pH值的测定 参考Yang等^[14]的方法并略作修改。称取2.00 g鱼肉与18 mL去离子水均质1 min后,在4℃、10 000 r/min条件下冷冻离心10 min,过滤。取滤液进行pH值测定,平行测定3次。

总酸含量(TA)的测定 取5.00 g鱼肉,装入100 mL烧杯中,加水100 mL后均质1 min。过滤并收集滤液,移取20 mL滤液,与60 mL蒸馏水混合于100 mL烧杯中,用0.05 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定至pH值为8.2,记录碱液消耗量。总酸含量(g/kg)计算公式(以乳酸表示):

$$\text{总酸(g/kg)} = \frac{(V_2 - V_1) \times c \times 0.09}{m \times \frac{20}{100}} \times 1000 \quad (1)$$

式中, c 为氢氧化钠标准溶液的浓度 (mol/L); V_1 为试样稀释液使用的氢氧化钠标准溶液的体积 (mL); V_2 为试剂空白实验使用的氢氧化钠标准溶液的体积 (mL); m 为测定用鱼肉溶液相当于鱼肉的质量 (g); 0.09 为乳酸的换算系数。

水分含量的测定 根据 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准食品中水分的测定》^[15] 中的直接干燥法进行测定。

白度的测定 取鱼块横截面, 采用色差仪分别测定 L^* 值 (亮度)、 a^* 值 (红绿值) 和 b^* 值 (黄蓝值), 每组测定 6 个样品。白度计算公式^[16]:

$$\text{白度} = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (2)$$

氨基酸态氮含量 (AAN) 的测定 参考 Li 等^[17] 的方法并略作修改。取研钵研碎后的鱼肉 5.00 g 装入 100 mL 烧杯中, 加水至 100 mL 后均质 1 min, 过滤并收集滤液备用。移取滤液 20 mL, 与 60 mL 蒸馏水混合于 100 mL 烧杯中, 用 0.05 mol/L NaOH 标准溶液滴定至 pH 值为 8.2。加入 10 mL 的 37% 甲醛溶液, 混匀, 再用 NaOH 标准溶液继续滴定至 pH 值为 9.2, 记录碱液消耗量。氨基酸态氮含量计算公式:

$$\text{氨基酸态氮(g/100 g)} = \frac{(V_2 - V_1) \times c \times 0.014}{m \times \frac{20}{100}} \times 1000 \quad (3)$$

式中, 0.014 为氮的摩尔质量 (g/mol)。

硫代巴比妥酸值 (TBARS) 的测定 参考姜晴晴等^[18] 的方法并略作修改。取鱼肉 1.00 g 加入 10 mL 三氯乙酸 (7.5%, 质量分数), 均质 1 min 后于冰上静置 10 min。经滤纸过滤后取 3 mL 滤液与 0.02 mol/L 2-硫代巴比妥酸混匀, 沸水浴 40 min, 流水冷却至室温后于 532 nm 处测定吸光度。以 1,1,3,3-四乙氧基丙烷做标准曲线, TBARS 值表示为 mg MDA/kg 鱼肉 (MDA 为丙二醛)。

挥发性盐基氮含量 (TVB-N) 的测定 根据 GB 5009.228—2016《食品安全国家标准食品中挥发性盐基氮的测定》^[19] 中的自动凯氏定氮仪法进行测定。

数据分析 数据使用 Origin 2018 软件作图, 利用 IBM SPSS Statistics 23.0 软件进行单因素方差分析, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 草鱼发酵过程中微生物数量的变化

草鱼发酵过程中乳酸菌数量呈现先上升后趋于平缓并略有下降的趋势 (图 1)。在草鱼发酵初期, NF 组和接菌组的乳酸菌数量变化趋势一致, 但由于接菌组添加了乳酸菌, 其乳酸菌数量在第 5 天达到 $(8.83 \pm 0.78) \sim (9.70 \pm 0.06)$ lg(CFU/g), 显著高于未添加乳酸菌的 NF 组 ($P < 0.05$)。在第 5 天后, 4 组发酵草鱼乳酸菌数增长趋于缓慢, 甚至产生下降的趋势。在发酵 15 d 时, Lp 组、Pp 组和 Lpsi 组的乳酸菌数量分别为 (8.97 ± 0.16) lg(CFU/g)、 (9.21 ± 0.08) lg(CFU/g) 和 (9.66 ± 0.03) lg(CFU/g), 乳酸菌数量依旧保持较高的值。

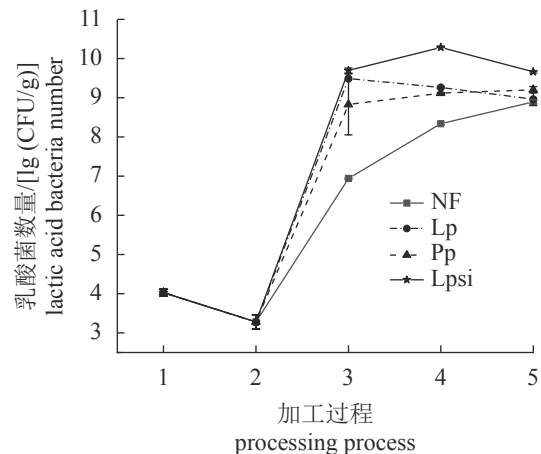


图 1 不同乳酸菌对草鱼发酵过程中乳酸菌数量变化的影响

1. 鲜样, 2. 腌制样, 3. 发酵 5 d, 4. 发酵 10 d, 5. 发酵 15 d; NF. 不接菌的自然发酵, Lp. 接种植物乳杆菌, Pp. 接种戊糖片球菌, Lpsi. 接种副干酪乳杆菌; 下同

Fig. 1 Effects of different lactic acid bacteria on the changes of lactic acid bacteria number during the fermentation of *C. idella*

1. fresh sample, 2. pickled sample, 3. fermentation for 5 days, 4. fermentation for 10 days, 5. fermentation for 15 days; NF. natural fermentation Lp. inoculation of *L. plantarum*, Pp. inoculation of *P. pentosus*, Lpsi. inoculation of *L. paracasei*; the same below

菌落总数与乳酸菌数量变化趋势相似, 新鲜鱼肉菌落总数为 (5.65 ± 0.06) lg(CFU/g), 腌制后微生物生长受到抑制, 腌制样菌落总数略有下降 (图 2)。发酵前 5 天, 各组样品菌落总数均快速增加。Lp 组和 Pp 组的菌落总数都在第 5 天时达到最大值, 分别为 (9.57 ± 0.02) lg(CFU/g) 和 (9.36 ± 0.01) lg(CFU/g); Lpsi 组菌落总数在第 10 天达到最大值, 达到 (10.28 ± 0.02) lg(CFU/g), 随后下降。

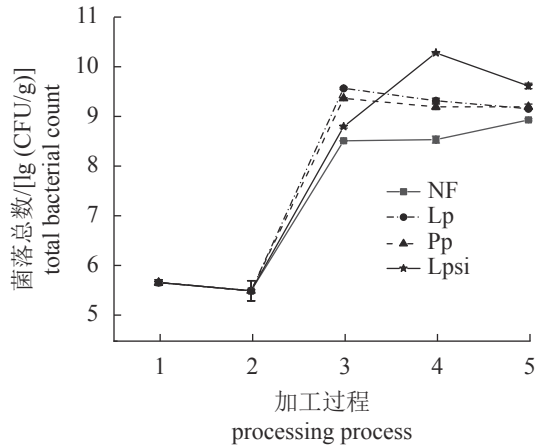


图2 不同乳酸菌对草鱼发酵过程中菌落总数变化的影响

Fig. 2 Effects of different total bacterial counts on the changes of total bacterial count during the fermentation of *C. idella*

发酵 15 d 时菌落总数仍较大, 可能与乳酸菌数较多有一定关系。

2.2 草鱼发酵过程中 pH 值和 TA 的变化

随着发酵时间的增加, 发酵草鱼 pH 值不断下降。发酵第 5 天时, 3 个接种组 pH 值均下降至 4.9 以下, 下降幅度明显大于 NF 组 ($P < 0.05$) (图 3)。由于不同的乳酸菌产酸能力有所差异, 在发酵过程中, Lp 组 pH 值下降更迅速, 在第 5 天下降至 4.51 ± 0.08 , 明显低于另外 2 个接种组 ($P < 0.05$)。在发酵第 15 天时, NF 组 pH 值为 5.08 ± 0.03 , 而接种组的 pH 值下降至 $(4.03 \pm 0.02) \sim (4.07 \pm 0.03)$, 接种组之间 pH 值无显著差异 ($P > 0.05$)。

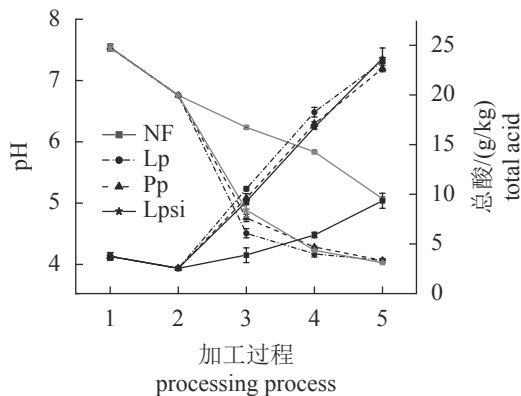


图3 不同乳酸菌对草鱼发酵过程中 pH 值和总酸变化的影响

Fig. 3 Effects of different lactic acid bacteria on the changes of pH and total acid during the fermentation of *C. idella*

TA 含量的变化趋势与 pH 值相反, 在草鱼发酵过程中, 其 TA 含量随 pH 值的降低呈现逐渐上升的趋势。在发酵过程中, 接种组的 TA 含量均明显高于自然发酵 ($P < 0.05$)。发酵前期, Lp 组的变化更加迅速, 但在发酵第 15 天时 3 个接种组结果无显著差异 ($P > 0.05$), 其 TA 为 $(22.71 \pm 0.32) \sim (23.70 \pm 1.06) \text{g/kg}$ 。

2.3 草鱼发酵过程中水分含量的变化

4 组发酵草鱼水分含量整体呈下降趋势。发酵 15 d, 各组水分含量为 $(62.13\% \pm 1.21\%) \sim (67.10\% \pm 0.26\%)$, 与鲜样的 $76.90\% \pm 0.17\%$ 相比, 下降了 10%~15%。其中, 各个接种组水分含量均低于 NF 组, 但接种不同乳酸菌对发酵过程中水分含量的变化有一定影响, 在第 15 天接种组水分含量的排序为 Lp 组 > Lpsi 组 > Pp 组, Pp 组水分含量显著低于另外 2 组 ($P < 0.05$), 推测接种戊糖片球菌能更好地降低草鱼发酵过程中的水分含量 (图 4)。

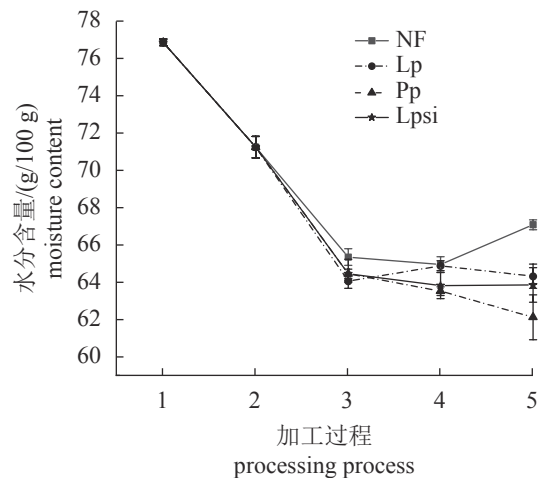


图4 不同乳酸菌对草鱼发酵过程中水分含量变化的影响

Fig. 4 Effects of different lactic acid bacteria on the changes of moisture content during the fermentation of *C. idella*

2.4 草鱼发酵过程中白度的变化

随发酵时间增加, 各组白度不断上升, 尤其是 3 个接种组的发酵草鱼上升更迅速, 在发酵 15 d 达到 $(67.1 \pm 0.5) \sim (68.5 \pm 1.0)$ (图 5)。在发酵前期, Lp 组和 Pp 组白度上升迅速, 在第 5 天明显高于 NF 组和 Lpsi 组 ($P < 0.05$)。发酵 15 d, 各组白度大小为 Lp 组 > Pp 组 > Lpsi 组 > NF 组, 接种组的白度比 NF 组提高了 28%~30%。

2.5 草鱼发酵过程中 AAN 的变化

随着发酵时间的延长, 发酵草鱼的 AAN 含

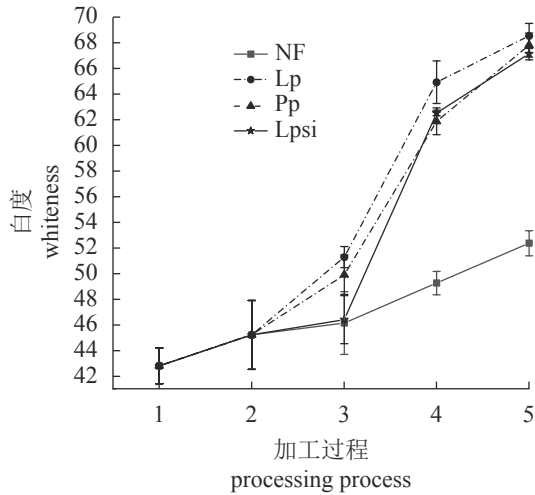


图5 不同乳酸菌对草鱼发酵过程中白度变化的影响

Fig. 5 Effects of different lactic acid bacteria on the changes of whiteness during the fermentation of *C. idella*

量呈现不断上升的趋势(图6)。发酵前期, NF组的AAN含量快速增加, 在第5天, 其AAN含量显著高于接菌组($P < 0.05$), 从第5天开始AAN含量增加速率变快, 尤其是Pp组和Lpsi组。在发酵15 d, Lpsi组AAN含量最高, 其次为Pp组, 其AAN含量分别为 (0.30 ± 0.03) 和 (0.29 ± 0.01) g/100 g, 二者AAN含量明显大于NF组和Lp组($P < 0.05$), 说明副干酪乳杆菌、戊糖片球菌的添加更有利于发酵草鱼中蛋白质的水解。

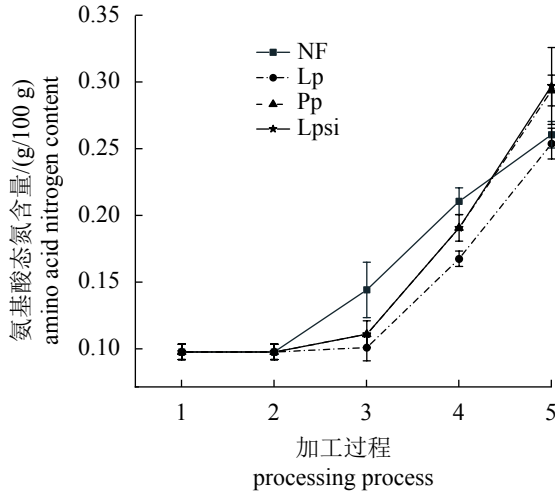


图6 不同乳酸菌对草鱼发酵过程中氨基酸态氮变化的影响

Fig. 6 Effects of different lactic acid bacteria on the changes of amino acid nitrogen during the fermentation of *C. idella*

2.6 草鱼发酵过程中TBARS的变化

各组发酵草鱼的TBARS值呈先迅速上升后逐

渐稳定的趋势(图7)。样品初始TBARS值为 (0.029 ± 0.005) mg/kg, 腌制后上升至 (0.098 ± 0.017) mg/kg。各组发酵草鱼在第5天TBARS值达 (0.195 ± 0.008) ~ (0.208 ± 0.006) mg/kg, 分别达到各组最大值。发酵15 d, 各组发酵草鱼TBARS值为 (0.166 ± 0.001) ~ (0.188 ± 0.025) mg/kg, 无显著差异($P > 0.05$)。

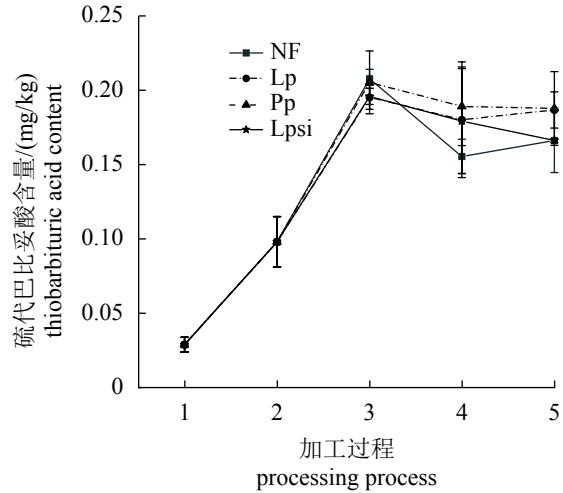


图7 不同乳酸菌对草鱼发酵过程中硫代巴比妥酸值变化的影响

Fig. 7 Effects of different lactic acid bacteria on the changes of thiobarbituric acid during the fermentation of *C. idella*

2.7 草鱼发酵过程中TVB-N的变化

草鱼发酵过程中, 初始TVB-N值为 (9.92 ± 1.37) mg/100 g, 各组发酵草鱼TVB-N值都是持续上升的。在发酵15 d, NF组的TVB-N值达到 (59.20 ± 3.18) mg/100 g, 相比之下, 接菌组TVB-N值上升速率较小(图8)。在发酵5 d后, Lp组TVB-N值的上升速率逐渐变得缓慢, 发酵15 d时, Lp组TVB-N值为 (23.20 ± 2.01) mg/100 g, 显著低于其他样品($P < 0.05$), 说明接种植物乳杆菌能更好地降低草鱼发酵过程中产生的挥发性盐基氮。

3 讨论

本实验以草鱼为原料, 通过比较未添加菌种(NF组)、添加植物乳杆菌(Lp组)、添加戊糖片球菌(Pp组)及添加副干酪乳杆菌(Lpsi组)4组发酵鱼肉的微生物指标及理化指标, 探究不同乳酸菌对鱼肉发酵过程中品质的影响。

乳酸菌可以产生酸和抗菌代谢物, 具有酸化和保护作用。在本研究中, 4组发酵鱼肉的乳酸菌数和菌落总数在发酵初期均迅速增加, 随后可

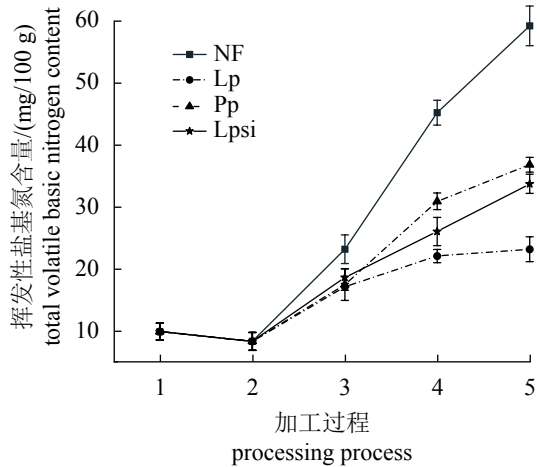


图8 不同乳酸菌对草鱼发酵过程中挥发性盐基氮变化的影响

Fig. 8 Effects of different lactic acid bacteria on the changes of total volatile basic nitrogen during the fermentation of *C. idella*

能由于鱼肉中营养物质不断被消耗而导致不足,且微生物代谢产生某种产物不利于其生长,从而致使其数量逐渐下降^[20]。高沛^[21]以单一菌株[酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、植物乳杆菌、木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*)]分别接种酸鱼鱼肉发酵也得出相似结果。由于人为添加了乳酸菌,接菌组的乳酸菌数和菌落总数在发酵初期显著高于未添加乳酸菌的NF组($P<0.05$),且具有相同的变化趋势,推测乳酸菌为草鱼发酵过程中的优势菌^[22]。正是因为大量的乳酸菌可以不断代谢碳水化合物,产生的有机酸逐渐积累,从而导致TA含量快速上升,pH值急剧下降,这与Zeng等^[23]研究接种发酵剂的酸鱼的结果变化趋势一致。研究表明,发酵食品的pH值 <4.4 时,大部分致病菌和腐败菌的生长受到抑制,能够保障其安全性^[24]。在整个发酵过程中,接菌组pH值均低于NF组,且在发酵第10天时pH值已降低至4.4以下,说明乳酸菌的接种可有效降低发酵草鱼的pH值,提高发酵草鱼的安全性。与此同时,由于接菌组pH值较低可能会诱导蛋白质变性,从而导致蛋白质持水能力降低^[25],因此各个接菌组水分含量均低于NF组。

发酵草鱼的白度在一定程度上影响消费者的可接受性。随发酵时间增加,各组白度不断上升,这可能与水溶性蛋白、盐溶性蛋白和色素蛋白水解有关^[26]。发酵15d,各组白度大小排序为Lp组、Pp组、Lpsi组和NF组,接菌组的白度显著高于NF组($P<0.05$),说明接种乳酸菌可以明显提高发

酵草鱼白度,且接种植物乳杆菌效果更好。Yin等^[27]对发酵鲐(*Pneumatophorus japonicus*)的研究也有相似的结果,接种乳酸菌发酵剂的样品白度要显著高于自然发酵和未发酵样品($P<0.05$)。AAN是指存在于氨基酸状态的氮元素,可以表示发酵鱼肉中游离氨基酸含量的变化情况,在一定程度上可以反映发酵水产品的发酵程度。发酵前期,NF组的AAN含量快速增加,在第5天其AAN含量显著高于接菌组($P<0.05$),可能是因为接菌组的微生物数量太多,导致氮源供应不足,从而AAN含量相对较低^[11]。随着发酵时间的增加,微生物逐渐进入组织内部并大量繁殖,其产生多种酶类物质,这些酶有助于发酵过程中鱼肉蛋白质的降解,从而使得AAN含量也随之增加^[28]。鱼类中高度不饱和脂类容易被氧化,导致气味、颜色、营养等品质变差,而TBARS值是衡量油脂氧化的常用指标。样品在腌制后TBARS值上升,可能因为NaCl会对细胞膜结构造成破坏,使脂质基质更容易被接触,从而导致脂肪氧化^[29]。各组发酵草鱼在第5天TBARS值达到各组最大值,表明发酵过程中,鱼肉产生了次级脂质氧化产物,随后TBARS值可能由于脂质的氧化和一级氧化产物的降解而改变。发酵15d,各组发酵草鱼TBARS值无显著差异($P>0.05$),这与Cao等^[30]的研究结果相似。有研究表明,鱼肉TBARS值 <0.5 mg/kg,鱼肉品质良好^[31],在整个发酵实验中,鱼肉TBARS值均低于0.5 mg/kg。TVB-N是反映水产品腐败变质的一个重要指标,其含量的增加表明发酵鱼肉中挥发性氨和三甲胺等低级氨类化合物含量增多,从而影响其气味等品质变化。因此,通过观察TVB-N值的变化,可大致了解草鱼在发酵过程中风味的变化。在整个发酵过程中各组发酵草鱼TVB-N值都是持续上升的,且NF组的TVB-N值比接菌组上升速率大,这与Bao等^[32]的研究结果相似,该研究将乳酸菌接种至中国传统发酵鱼制品臭鳃鱼中,发现乳酸菌M10在控制TVB-N的生成中起着重要作用。这是由于在发酵肉制品中添加乳酸菌可以通过其产生的乳酸和细菌素来中和挥发性碱性含氮物质,从而抑制TVB-N的积累^[27]。

综上所述,研究发现与自然发酵相比,不同乳酸菌均能在鱼肉中迅速增殖,明显降低鱼肉的pH值,增加TA含量,其中Lp组在发酵前期产酸速率较快,发酵结束时,Lpsi组的乳酸菌数量最高($P<0.05$)。接种乳酸菌能明显降低鱼肉中水

分含量, 提高鱼肉白度, 增加 AAN 含量, 同时抑制 TVB-N 的形成, 但接菌组和自然发酵组的 TBARS 值无显著差异 ($P < 0.05$)。其中, 在发酵结束时, 戊糖片球菌对水分含量的下降影响最大, Lp 组与其他 2 组接菌组相比具有更高的白度和更低的 TVB-N 值, 但其 AAN 含量明显较低, 植物乳杆菌分解蛋白质能力较差。因此, 乳酸菌发酵是提高发酵草鱼品质的一种有效方式, 本研究为水产发酵制品的加工提供了理论支持。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Kasankala L M, Xiong Y L, Chen J. Enzymatic activity and flavor compound production in fermented silver carp fish paste inoculated with Douchi starter culture[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(1): 226-233.
- [2] Melini F, Melini V, Luziatelli F, *et al.* Health-promoting components in fermented foods: an up-to-date systematic review[J]. *Nutrients*, 2019, 11(5): 1189.
- [3] Anil K A. Quality ingredients and safety concerns for traditional fermented foods and beverages from Asia: a review[J]. *Fermentation*, 2019, 5(1): 8.
- [4] 李改燕. 糟鱼发酵过程中微生物菌群和风味变化的研究 [D]. 宁波: 宁波大学, 2009.
Li G Y. Study on the microorganism flora and flavor compounds from vinasse fish[D]. Ningbo: Ningbo University, 2009 (in Chinese).
- [5] 吴永祥, 俞昌浩, 王婷婷, 等. 传统发酵臭鳊鱼的研究概述[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(19): 299-306.
Wu Y X, Yu C H, Wang T T, *et al.* Research progress on traditional fermentation of stinky mandarin fish[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(19): 299-306 (in Chinese).
- [6] 李林. 微生物在发酵酸鱼中对脂质变化和风味组成的影响 [D]. 无锡: 江南大学, 2019.
Li L. The contribution of microorganisms on lipid changes and flavor formation in fermented fish[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019 (in Chinese).
- [7] 曾雪峰, 夏文水. 湘西传统酸鱼中乳酸菌的分离及特性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(12): 40-44.
Zeng X F, Xia W S. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Xiangxi traditional low salt fermented fish (Suan yu)[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2012, 38(12): 40-44 (in Chinese).
- [8] 卢晓莉. 鱼鲞制品中乳酸菌的分离、筛选及应用 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
Lu X L. Isolation, screening and application of lactic acid bacteria from fermented fish products[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007 (in Chinese).
- [9] 林胜利, 张琦琳, 聂小华. 发酵鱼制品中乳酸菌的筛选鉴定及其初步应用[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(2): 61-65.
Lin S L, Zhang Q L, Nie X H. Screening and application from fermented of lactic acid bacteria fish products[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2012, 38(2): 61-65 (in Chinese).
- [10] 李培瑜, 刘弈彤, 李思源, 等. 鲮鱼糜发酵过程中理化特性及挥发性风味成分变化[J]. *肉类研究*, 2020, 34(5): 59-63.
Li P Y, Liu Y T, Li S Y, *et al.* Changes in physicochemical properties and volatile flavor compounds of *Scomberomorus niphonius* surimi during fermentation[J]. *Meat Research*, 2020, 34(5): 59-63 (in Chinese).
- [11] 黄乐丹, 吴祖芳, 张林楠, 等. 利用副干酪乳杆菌发酵风味鱿鱼制品条件研究[J]. *宁波大学学报(理工版)*, 2017, 30(3): 6-11.
Huang L D, Wu Z F, Zhang L N, *et al.* Study on fermentation conditions of flavor squid products by *Lactobacillus paracasei*[J]. *Journal of Ningbo University (Natural Science and Engineering Edition)*, 2017, 30(3): 6-11 (in Chinese).
- [12] 巨晓英, 寇晓虹. 副干酪乳杆菌的功能及其在食品工业中的应用研究进展[J]. *中国乳品工业*, 2009, 37(8): 48-50.
Ju X Y, Kou X H. Review on the functions of *Lactobacillus paracasei* and application in food industry[J]. *China Dairy Industry*, 2009, 37(8): 48-50 (in Chinese).
- [13] Xu Y S, Li L, Xia W S, *et al.* The role of microbes in free fatty acids release and oxidation in fermented fish paste[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 101: 323-330.
- [14] Yang W X, Shi W Z, Qu Y H, *et al.* Research on the quality changes of grass carp during brine salting[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8(6): 2968-2983.
- [15] GB 5009.3—2016 食品安全国家标准食品中水分的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
GB 5009.3—2016 National food safety standard determination of moisture content[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).
- [16] 石硕, 邓思杨, 王浩, 等. 发酵镜鲤鱼糜肠在低温贮藏过程中的品质及氧化反应的比较[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(16): 266-271.
Shi S, Deng S Y, Wang H, *et al.* Quality change and oxidation reaction of the mirror carp surimi sausage during the storage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(16): 266-271 (in Chinese).
- [17] Li W Y, Lu H Q, He Z H, *et al.* Quality characteristics and bacterial community of a Chinese salt-fermented shrimp paste[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 136: 110358.

- [18] 姜晴晴, 吴春华, 董开成, 等. 解冻方式对带鱼蛋白性质及肌肉品质的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(11): 17-27.
Jiang Q Q, Wu C H, Dong K C, *et al.* Effect of thawing methods on the characteristics of protein and the quality of muscle in hairtail (*Trichiurus haumela*)[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(11): 17-27 (in Chinese).
- [19] GB 5009.228—2016 食品安全国家标准食品中挥发性盐基氮的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
GB 5009.228 —2016 National food safety standard determination of total volatile basic nitrogen[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).
- [20] 伍蓉莉, 欧阳信, 段杉, 等. 鱼露中耐盐菌的分离鉴定及发酵性能比较[J]. 中国酿造, 2018, 37(5): 108-113.
Wu R L, Ouyang X, Duan S, *et al.* Isolation, identification and fermentation characteristics of salt-tolerant bacteria in fish sauce[J]. *China Brewing*, 2018, 37(5): 108-113 (in Chinese).
- [21] 高沛. 酸鱼发酵过程中微生物的产酯增香机制研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2017.
Gao P. Study on mechanism of flavor esters formation by microorganisms during the fermentation of Suan-yu[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017 (in Chinese).
- [22] 石建喜, 许艳顺, 姜启兴, 等. 混合菌种和盐含量对发酵鲢鱼肉品质的影响研究[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(11): 1219-1224.
Shi J X, Xu Y S, Jiang Q X, *et al.* Study on the fermented silver carp quality induced by mixed starter cultures and salt content[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2018, 37(11): 1219-1224 (in Chinese).
- [23] Zeng X F, Xia W S, Jiang Q X, *et al.* Effect of autochthonous starter cultures on microbiological and physicochemical characteristics of Suan Yu, a traditional Chinese low salt fermented fish[J]. *Food Control*, 2013, 33(2): 344-351.
- [24] Paukatong K V, Kunawasen S. The hazard analysis and critical control points (HACCP) generic model for the production of Thai fermented pork sausage (Nham)[J]. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 2001, 114(9-10): 327-330.
- [25] Xiao Y Q, Liu Y N, Chen C G, *et al.* Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosum* on flavour development and bacterial communities in Chinese dry fermented sausages[J]. *Food Research International*, 2020, 135: 109247.
- [26] Hu Y J, Xia W S, Ge C R. Characterization of fermented silver carp sausages inoculated with mixed starter culture[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2008, 41(4): 730-738.
- [27] Yin L J, Pan C L, Jiang S T. Effect of lactic acid bacterial fermentation on the characteristics of minced mackerel[J]. *Journal of Food Science*, 2002, 67(2): 786-792.
- [28] 王华娟. 酸鱼中乳酸菌的分离鉴定及其可控发酵工艺研究 [D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2016.
Wang H J. Isolation and identification of lactobacillus and controlled fermentation technology researching of sour fish[D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2016 (in Chinese).
- [29] 陈实, 柳琳, 王逸鑫, 等. 不同盐水浓度腌制下青鱼品质变化 [J]. 上海海洋大学学报, 2021: 30(6)1153-1163.
Chen S, Liu L, Wang Y X, *et al.* The quality change of *Mylopharyngodon piceus* in different salt content[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021: 1-14 [2021-04-03] (in Chinese).
- [30] Cao S M, Wu Y Y, Li L H, *et al.* Activities of endogenous lipase and lipolysis oxidation of low-salt lactic acid-fermented fish (*Decapterus maruadsi*)[J]. *Journal of Oleo Science*, 2018, 67(4): 445-453.
- [31] 江杨阳, 杨水兵, 余海霞, 等. 不同冻结方式对红虾肌肉品质的影响[J]. 现代食品科技, 2017, 33(10): 142-148,116.
Jiang Y Y, Yang S B, Yu H X, *et al.* Effects of different freezing methods on the quality of red shrimp[J]. *Modern Food Science & Technology*, 2017, 33(10): 142-148,116 (in Chinese).
- [32] Bao R Q, Liu S S, Ji C F, *et al.* Shortening fermentation period and quality improvement of fermented fish, *Chouguiyu*, by Co-inoculation of *Lactococcus lactis* M10 and *Weissella cibaria* M3[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 3003.

Effects of different lactic acid bacteria on the quality of fermented grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

XU Huiya¹, ZHANG Qiang¹, WANG Yixin¹, WANG Xichang¹, SHI Wenzheng^{1,2*}

(1. College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. National Research and Development Center for Processing Technology of Freshwater Aquatic Products, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: There is large catch of fishery in China, due to the rich nutrients, high moisture content, and protease activity in fish meat, fresh fish meat is more inclined to spoilage and deterioration after death than other meats, which reduces its utilization rate. Therefore, it is necessary to take effective preservation measures. Fermentation, as a traditional food processing and preservation skill, can be used to improve the taste and flavor of food, increase its nutritional value and edible safety quality. Fermentation uses microorganisms to convert carbohydrates into lactic acid. The accumulation of organic acids causes pH value to drop and inhibits the growth of spoilage bacteria. The enzymatic hydrolysis of microorganisms promotes protein denaturation and degradation, fat degradation and oxidation in fish meat, promotes texture improvement, nutritional value enhancement, and unique flavor generation of freshwater fish products, thereby realizing the value-added utilization of freshwater fish products. Fermented fish is a fish product that uses various enzymes in the fish and environmental microorganisms to form inhibitory metabolites through microorganisms based on pickling, reducing water activity, and preventing spoilage. Fermented food has a long history in China. Traditional fermented fish products have a simple production process and can be completed under ordinary household conditions. The process is mostly natural fermentation and manual operation, so there are more family-style workshops. The fish meat is inoculated and fermented with a good starter to prolong the storage time at room temperature and produce a good flavor. As one of the most common starters, lactic acid bacteria play an important role in the fermentation of various fish products. At present, there are many studies on the application of lactic acid bacteria in the fermentation of fish products, but there are few reports on the application of *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosus* and *L. paracasei* in the fermentation of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), respectively. In this study, the number of microorganisms and physicochemical properties of fermented *C. idella* were determined in order to investigate the effects of different lactic acid bacteria during fermentation of *C. idella* and to further improve the quality of fermented fish products. In order to investigate the effect of different lactic acid bacteria on the quality of *C. idella* during fermentation, the microorganism, pH value, total acid, moisture content, whiteness, amino acid nitrogen, thiobarbituric acid, and volatile base nitrogen of *C. idella* dorsal meat were analyzed with different fermentation time (0-15 d). The results showed that compared with the natural fermentation, lactic acid bacteria grew rapidly in *C. idella* meat after inoculation, so the pH value decreased to 4.03 ± 0.02 and the total acid content increased to (23.70 ± 1.06) g/kg, which could effectively inhibit the reproduction of spoilage bacteria. At the same time, the whiteness of *C. idella* meat was improved. The content of amino acid nitrogen in *C. idella* meat was increased. The moisture content and the production of volatile basic nitrogen were reduced. Among them, at the end of fermentation, *P. pentosaceus* had the greatest impact on the decline of moisture content. Compared with the other two groups, LP group had higher whiteness and lower TVB-N value, but its ANN content was significantly lower than the other two groups, and *L. plantarum* had poor ability to degrade protein. In conclusion, inoculating lactic acid bacteria fermentation can reduce the lag time of fermentation start, delay the deterioration of *C. idella* meat, improve the nutritional value and color, and improve the quality of fermented *C. idella*.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; lactic acid bacteria; fermentation; quality

Corresponding author: SHI Wenzheng. E-mail: wzshi@shou.edu.cn

Funding project: National Key R & D Program of China (2019YFD0902003)