

鱿鱼酱发酵乳酸菌选择与生产工艺优化

彭婷婷, 翁佩芳*, 吴祖芳

(宁波大学 食品与药学学院, 浙江 宁波 315832)

摘要: 以鱿鱼为原料, 通过乳酸菌发酵制造具有良好风味与营养价值的鱿鱼酱产品, 并通过快速发酵实现鱿鱼酱产品质量和风味的稳定控制. 比较前期初筛的乳酸菌蛋白酶活性, 在确定发酵乳杆菌(Lf01)和短乳杆菌(Lb-1)的活性优势后, 进一步探究其产酸、耐盐、耐香辛料和耐酒精特性, 确定发酵辅料的添加量. 采用响应面优化方法, 研究了复合菌发酵的最佳接种量、发酵时间和发酵温度, 得到了鱿鱼酱最适发酵条件为 35℃下发酵 24 h, 添加 1.0%的发酵乳杆菌和短乳杆菌复合发酵剂, 菌种比例 1:1, 接种量为 2.4×10^8 CFU·g⁻¹, 所得产品的品质、色泽和风味最佳. 研究结果可为海洋鱿鱼的发酵加工提供理论基础.

关键词: 复合乳酸菌; 鱿鱼酱; 发酵; 加工工艺

中图分类号: TS254.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2023) 01-0001-09

食品酱因其独特的口味被广泛用于家庭烹饪与食品加工行业^[1], 其中海鲜酱是以低值的鱼、虾、贝等常见海洋生物或其下脚料为主要原料, 经腌制、发酵等工艺制成的一种高营养、强风味产品^[2]. 我国海鲜酱品以传统自然发酵工艺为主, 其产品营养丰富, 具有良好的风味, 但也存在着生产周期长, 生产过程中极易受微生物污染等问题, 是影响产品质量稳定的主要障碍, 而现代发酵工艺制成的产品又往往存在风味不足的缺陷^[3]. 因此, 实现产品质量和风味的稳定控制, 酱的速酿工艺必须和微生物的食品发酵作用结合. 目前, 微生物发酵法^[4]已是食品深加工的发展趋势, 同时也是肉制品加工的必然趋势. 秘鲁鱿鱼具有高蛋白、低脂肪特点, 具备人体所需的氨基酸、DHA、钙、铁和硒等营养及微量要素, 是一种良好的海洋源食品^[5-6], 并且味道鲜美, 一直是消费者所喜好的水产品. 目前鱿鱼精深加工主要是鱿鱼肉使用和其副产物利用, 在生物技术不断进步和海洋资源深度开发与利用背景下, 鱿鱼精深加工研究也逐步深入. 目前市场上主要有鱿鱼干^[7]、调味鱿鱼丝、冷冻调理鱿鱼^[8]和鱿鱼卤制品^[9]等加工制品.

乳酸菌具有拮抗杂菌、降解有害物质、提高食品安全性并延长保藏期等优点^[10], 在食品中的应用是目前国内外微生物发酵食品研究热点之一. 在水产品原料加工历史中, 已有乳酸菌技术的实践应用, 如我国云南省德宏地区的傣家酸鱼^[11]、苗族酸鱼、臭鳊鱼^[12]等传统食品, 泰国传统食品 Som fak 以及朝鲜的发酵鱼类制品^[13]都是主要通过乳酸菌发酵制得. 目前, 食品产业还停留在单一菌种的纯种发酵, 未能充分适配菌种的功能, 将产品特质完全发挥出来; 相比单菌发酵, 复合乳酸菌发酵则更能赋予产品独特的风味和丰富的营养功能^[14-15]. 陈晓倩等^[16]研究发现, 鱿鱼糜通过乳酸菌发酵能改善凝胶性能, 此研究结果为开发以秘鲁鱿鱼为原料的乳酸菌发酵鱿鱼制品加工提供了参考依据. 此外, 高产蛋白酶乳酸菌还具有有效分解蛋白质分子, 产生多肽、氨基酸等特性, 有利于人体消化吸收^[17].

本研究将鱿鱼酱融入乳酸菌发酵有利于新产品的开发和创新. 选取安全、适合鱿鱼基质, 以及具有蛋白酶活性的乳酸菌复合菌剂用于鱿鱼酱品的发酵, 是对鱿鱼精深加工的技术创新, 研究结果

收稿日期: 2022-04-27.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 宁波大学 SRIP 项目 (2021SRIP3604).

第一作者: 彭婷婷 (1997-), 女, 浙江温州人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 食品生物技术. E-mail: 591565613@qq.com

*通信作者: 翁佩芳 (1963-), 女, 浙江普陀人, 教授, 主要研究方向: 食品生物技术与食品安全. E-mail: wzfwpf@163.com

对提高鲑鱼加工利用水平和丰富鲑鱼产品种类等具有重要意义,也将对水产品加工行业产生显著的经济与社会效益。

1 材料方法

1.1 材料与试剂

秘鲁鲑鱼(下文简称为鲑鱼): 宁波飞润海洋生物科技股份有限公司; MRS 培养基: 杭州微生物试剂有限公司; 氢氧化钠: 北京索莱宝科技有限公司; 柠檬酸钠: 上海源叶生物科技有限公司; 焦磷酸二氢二钠: 上海源叶生物科技有限公司; 香辛料: 生姜、大蒜、辣椒、花椒、八角, 购买于宁波市北仑区春晓街道益美超市; 料酒: 酒精度 10%, 广东美味鲜食品有限公司; 食盐: 山东菜央子盐场有限公司; 蔗糖: 宁波市糖业烟酒有限公司; 菌种: 发酵乳杆菌(Lf01)、短乳杆菌(Lb-1)、戊糖片球菌(PP-1)、植物乳杆菌(Lp01), 由宁波大学食品生物技术实验室保藏。

1.2 仪器设备

AlphaClean 1300 垂直流洁净工作台: 力康精密科技(上海)有限公司; DSX-18L-I 手提式高压蒸汽灭菌器: 上海申安医疗器械厂; 5417R 大型高速离心机: 德国 Eppendorf 公司; SL-502 电子天平: 上海民桥精密科学仪器有限公司; PB-10pH(酸度)计: 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 鲑鱼酱发酵菌种选择

活化后的受试菌通过 MRS-脱脂乳涂平板法, 挑取产生明显较大透明圈的菌种, 并对这些菌种进一步作蛋白酶活力测定以及复配。

1.3.2 复合乳酸菌的基本特性实验

复合乳酸菌发酵剂配制: 活化选定菌种, 制成菌悬液, 控制 2 种菌悬液的 OD_{600} 值在 1.5 左右(接种量在 2.4×10^8 CFU $\cdot$ g $^{-1}$), 按 1:1 比例均匀混合制成复合乳酸菌发酵剂。

复合乳酸菌发酵剂的耐香辛料实验: 生姜、花椒、大蒜、辣椒、八角各称取 10 g, 前处理清洗后, 各加入 100 mL 纯水, 放置于恒温水浴锅中水浴加热(55~65 $^{\circ}$ C, 5~6 h), 过滤浸提物, 滤液室温下冷却备用。分别取上述 4 种香辛料浸提液各 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 至试管中, 配制各香辛料体积浓

度为 0、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%, 用 MRS 液体培养基分别定容, 配制完成的试液在 121 $^{\circ}$ C 下灭菌 15 min, 再向各试液中加入体积比 1.0% 的复合乳酸菌发酵剂, 在 37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h。

复合乳酸菌发酵剂对食盐和料酒的可耐受特性: 配制不同浓度的食盐和料酒, 并向各培养基中添加复合乳酸菌发酵剂, 连续培养 24 h 后, 混匀发酵液, 测定其 pH 与 600 nm 处菌悬液吸光值。

复合乳酸菌发酵剂产酸与生长测定: 向 MRS 培养基中加入复合乳酸菌发酵剂, 在 37 $^{\circ}$ C 连续培养 24 h, 每隔 2 h 测定菌悬液 pH, 并在 600 nm 处测定菌悬液光密度值。

1.3.3 发酵鲑鱼酱的制备

工艺流程: 原料解冻 $\rightarrow$ 洗净沥干 $\rightarrow$ 除酸 $\rightarrow$ 绞碎混匀 $\rightarrow$ 辅料调配 $\rightarrow$ 接种发酵 $\rightarrow$ 装罐 $\rightarrow$ 灭菌 $\rightarrow$ 产品。

基本配方: 根据菌种单因素实验及前期预实验, 确定各种香辛料的添加量(表 1)。将花椒、辣椒、八角泡制 2 h 后熬制 3 h, 冷却过滤, 滤液冷藏备用; 生姜和大蒜去皮剁碎。

表 1 辅料配方 %

名称	添加量	名称	添加量
大蒜	5.0	食盐	2.0
生姜	2.0	蔗糖	3.0
花椒	5.0	料酒	5.0
辣椒	5.0	酱油	2.0
八角	2.0		

除酸处理: 切块并洗净后的鲑鱼中加入复合脱酸剂, 浸泡 45 min 进行脱酸处理。复合脱酸剂主要由碳酸钠、碳酸氢钠、柠檬酸钠、焦磷酸二氢二钠组成^[18], 主要作用是去除鲑鱼原有酸味, 整体上提升鲑鱼的口感。

1.3.4 单因素实验

发酵温度影响: 将前处理过的鲑鱼添加辅料和灭菌后, 接种 1.0% 的复合乳酸菌发酵剂, 在不同温度(28、32、36 $^{\circ}$ C)下进行恒温发酵, 测定相关理化指标。

发酵时间影响: 将前处理过的鲑鱼添加辅料和灭菌后, 接种 1.0% 的复合乳酸菌发酵剂, 36 $^{\circ}$ C 下恒温发酵, 分别在 12、24、36 和 48 h 下测定理化指标, 并进行感官评定。

复合乳酸菌接种量影响: 将前处理过的鱿鱼添加辅料和灭菌后, 接种 1.0%~4.0%不同剂量的复合乳酸菌发酵剂, 36 ℃下恒温发酵, 测定理化指标, 并进行感官评分。

1.3.5 响应面优化实验

通过前期预实验, 选取发酵温度、发酵时间、复合菌种接种量作为实验优化目标。采用 Design Expert 10.0.7 进行三水平三因素响应面分析^[19], 并进行实验组合的安排, 共设 17 组实验, 主要评价指标为感官评分和 pH 值。实验组安排见表 2。

表 2 复合乳酸菌发酵鱿鱼酱条件优化 B0X-Behnken 实验因素与水平

项目	因素		
	-1	0	1
X_1 (发酵温度)/℃	2	32	36
X_2 (发酵时间)/h	12	24	36
X_3 (复合菌种接种量)/%	1	2	3

1.3.6 理化指标测定

pH 值根据 GB 5009.237-2016 使用 PHS-3C 型 pH 计进行测定; 挥发性盐基氮根据 GB 5009.228-2016 采用半微量定氮法测定; 氨基态氮^[20]根据 GB 5009.235-2016 采用酸度计法测定; 蛋白酶活力根据 GB/T 23527-2009 福林法测定。

1.3.7 微生物指标测定

细菌总数根据 GB 4789.2-2016 检验测定; 乳酸菌总数根据 GB 4789.35-2016 检验测定^[21]。

1.3.8 样品的感官评分

采用描述性定量分析法, 选取 10 名训练有素的评估员(男性 5 名, 女性 5 名, 年龄 24~30 岁)组成感官评定小组。评估员在参评前均对其进行食

表 3 感官评分标准表

评分项目	评分标准	评分域/分
气味(30)	鲜香味浓厚	30~21
	鲜香味较淡	20~11
	无气味	10~0
色泽(30)	透亮有光泽	30~21
	色泽较好无光泽	20~11
	色泽灰暗	10~0
口感(40)	质地细腻, 口感好	40~31
	质地粗糙, 口感一般	30~21
	质地粗糙, 口感差	20~0

品感官相关内容的专业培训, 具备对食品的各项感官指标具有独立判断能力。根据产品特征和主要感官指标制定感官评分标准表(表 3)。

1.4 数据处理

每组实验平行测定 3 次, 所有数据采用 SAS 8.2 软件进行方差分析, 采用 Excel 2013 软件作图。响应面分析采用 Design Expert 10.0.7 进行实验设计、数据分析和作图。

2 结果与分析

2.1 鱿鱼酱发酵菌种的选择

鱿鱼是高蛋白食物, 乳酸菌蛋白酶活性大小^[22]直接决定了鱿鱼发酵过程中蛋白质降解为氨基酸和肽的能力, 也直接影响产品的质量和风味^[23]。分别对初筛保存的 4 株受试菌种进行产蛋白酶活性比较(图 1), 从图 1 结果可见, 其中 2 株乳酸菌能产生明显的溶蛋白圈, 将产生较大透明圈的 2 株菌株(图 1(a)和图 1(b))分别记为发酵乳杆菌(Lf01)和短乳杆菌(Lb-1)。于豪杰^[24]在对豆粕中大分子蛋白处理时也证明发酵乳杆菌具有较强的产蛋白酶活性。对 2 株受试菌株及其复合菌株进行产蛋白酶活性的测定, 由表 4 可知, 复合菌株的蛋白酶活性较单菌高, 且发酵乳杆菌是一种异型乳酸发酵菌种, 相对于同型乳酸发酵的发酵乳杆菌, 其代谢产物更为丰富, 能够使发酵产品独具风味^[25]; 而短乳杆菌产酸速度快^[26], 能增强发酵速度, 此外国外有研究

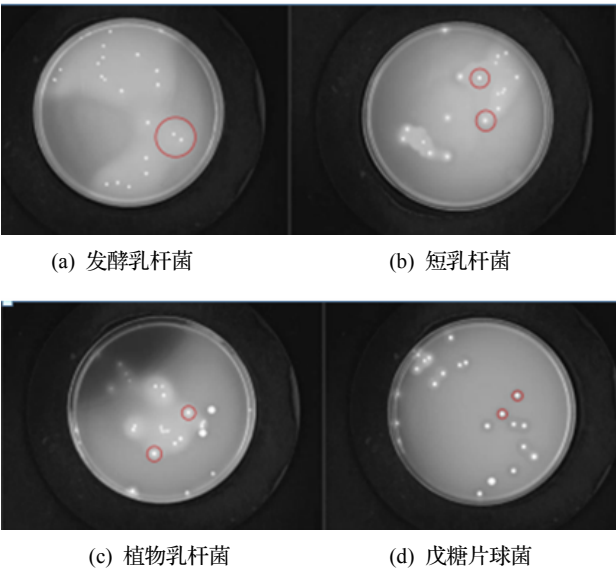


图 1 产蛋白酶活性菌株的选择

证明,短乳杆菌能产生蛋白酶,且具有丰富食品营养价值的作用^[27].因此,在后续研究中采用混合菌株(发酵乳杆菌(Lf01)-短乳杆菌(Lb-1))作为复合发酵剂,以增加发酵速度和产品的风味等.

表4 产蛋白酶菌株的酶活性测定结果 U·mL⁻¹

菌株编号	酶活性值
发酵乳杆菌(Lf01)	4.09
短乳杆菌(Lb-1)	7.70
发酵乳杆菌(Lf01)-短乳杆菌(Lb-1)	16.12

2.2 复合乳酸菌对香辛料、食盐和料酒的耐受性实验及其产酸特性

复合乳酸菌对大蒜、八角、花椒、辣椒、生姜5种常用香辛料以及食盐和料酒的可耐受性及其产酸性影响的研究结果如图2所示.从实验结果可以看出,这些香辛料对复合乳酸菌生长有一定的促进作用.

大蒜浸提液浓度在1.0%~2.0%内,菌液光密度值增加最快,当浓度超过2.0%后,其菌液光密度值不再增加,并且有下降后趋于平缓的趋势,表明

大蒜浓度在1.0%~2.0%内对复合乳酸菌生长已达最大促进作用.大蒜含量在2.0%以上杀菌力更强,有助于去除原料中杂菌,同时在后期发酵中有利于抑制杂菌生长.此外有研究表明^[28],大蒜在食品发酵中能提升产品口感,增添氨基酸含量,还能分泌多种有机酸,降低肠道pH值,间接抑制致病菌生长.鉴于大蒜浓度为2.0%~5.0%时的复合乳酸菌生长能力有所降低但趋于稳定平缓,且5.0%时香气比2.0%时香气更怡人,因此综合考虑确定大蒜最终添加量为5.0%.

八角对菌种生长有较大促进作用,实验中发现,随着复合乳酸菌接种量增加,菌液光密度值也明显增大,且增加幅度加大.八角是一种药食同源的常用香料,可能是因其具有抗菌、抗病毒和氧化的特性,在体系中能有效减少和阻止有害菌群的生长,使接种的乳酸菌生长加速^[29].

辣椒和花椒的浓度对于不同接种量的菌种均有促进生长作用,但其影响菌种生长效果不明显.生姜浸提液浓度仅在1.0%~2.0%范围内对复合乳酸菌具有促进作用.

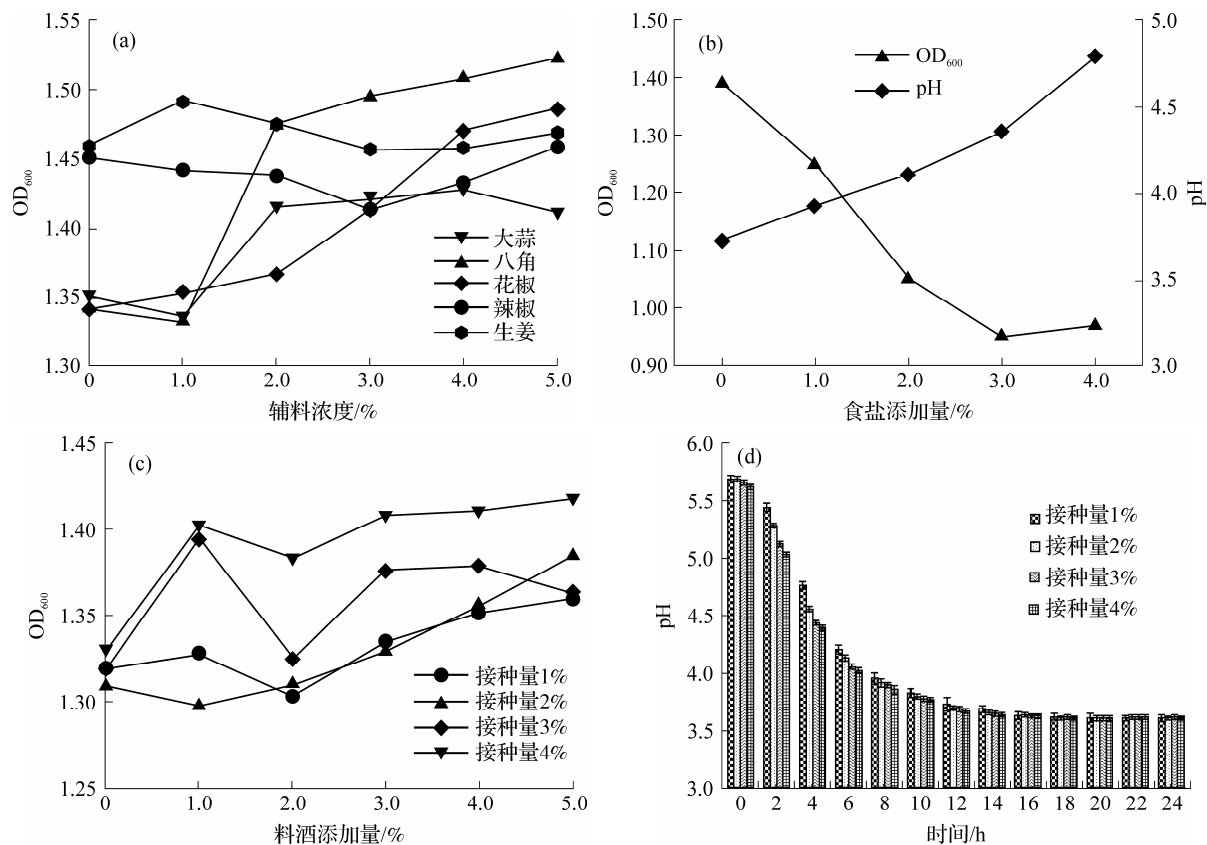


图2 香辛料添加量(a)、食盐(b)和料酒(c)的耐受性和产酸特性(d)受复合菌种的影响

由此最终确定不同香辛料添加量分别如下: 生姜和八角添加量为 2.0%, 大蒜、花椒和辣椒的添加量为 5.0%。

通过观察细胞光密度值的变化(图 2), 可以看到食盐浓度和酒精含量均对复合菌生长产生一定影响。适当浓度食盐既能提供菌体生长所需的钠源, 又不会产生过高渗透压^[30]。综合复合乳酸菌的接种量和食盐浓度对产酸以及菌种生长量的影响结果, 食盐浓度控制在 2.0% 左右更为适宜。同样, 料酒添加量对于复合乳酸菌生长也会产生一定影响, 添加 2.0%~5.0% 的料酒有利于复合乳酸菌的生长繁殖, 同时低浓度酒精不会抑制乳酸菌的生长, 且料酒中含有各种调料的浸提液可以为复合乳酸菌提供一定的营养作用^[31]。由图 2(d) 可见, 接种量能影响产酸效果, 但效果并不显著。在发酵初期, 接种量对酸度影响较大, 酸度的提高有利于控制有害微生物生长, 从而对腐败菌和病原菌产生抑制或杀灭作用, 有利于产品保存与质量安全性。

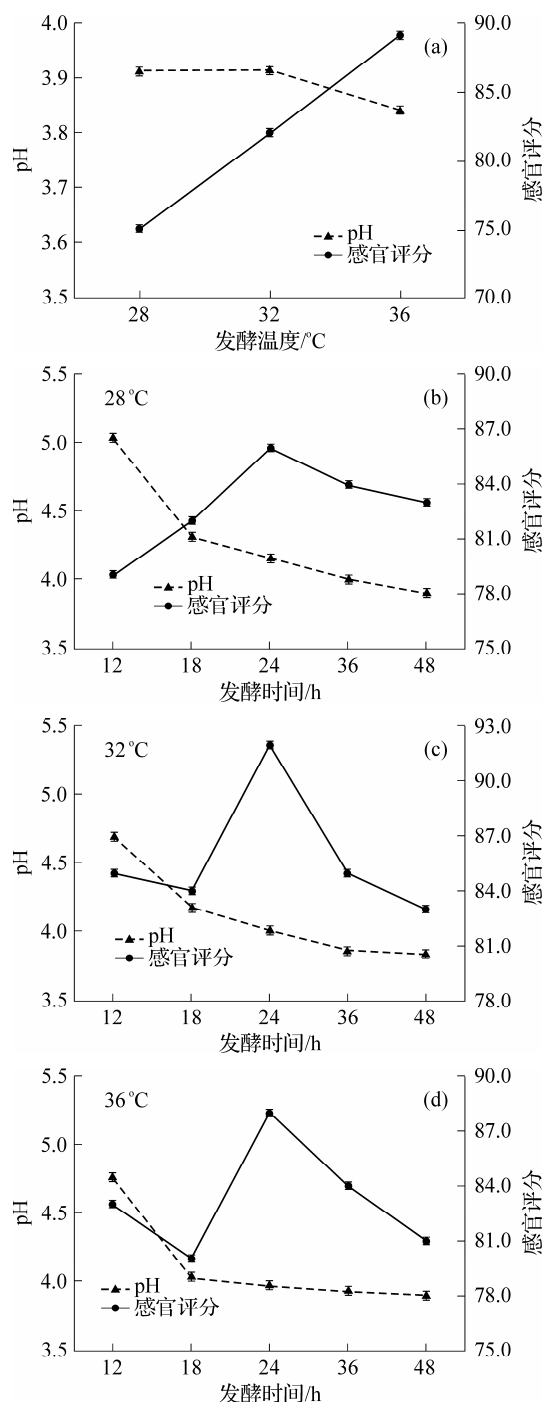
2.3 单因素的影响分析

发酵温度确定: 由图 3(a) 可知, 在 36℃ 时, 产品组织结构良好, 整体风味的感官得分较高。28℃ 和 32℃ 下的产酸强度弱于 36℃, 且散发香气较淡, 感官评分下降, 可能是因为接种乳酸菌的最适生长温度在 37℃ 左右, 在此条件下, 其能够充分发挥菌种特性对产品发酵的最佳作用, 产生较好风味。因此在温度单因素实验中, 得出最适发酵温度为 36℃。

发酵时间确定: 由图 3(b)~(d) 可知, 在相同条件的不同发酵温度下, 随着发酵时间的增加, 产酸总量有所增加。前期产酸速率较快, 后期趋于平缓, 且后期随着发酵时间的增加, 鱿鱼酱整体感官评分有所下降。原因是随着后期发酵时间的延长, 开始散发出酸腐味, 且肉质松软无弹性, 颜色发白。前期测定复合乳酸菌在 0~12 h 内生长速率最大, 14 h 之后进入稳定期, 随后的光密度值有所增加, 但增幅有限。在考虑到产品成熟、菌种发酵效能且保证发酵品质的前提下, 选择发酵时间为 24 h, 并且此条件下的整体感官评分最高(图 3(b)~(d)), 且 pH 值在预期值内(pH 4.0~4.5)。

复合乳酸菌接种量的确定: 由图 3(e) 可知, 随着接种量的增加, 产品 pH 值下降速度也有所差异,

接种量在 1.0%~2.0% 时的 pH 值下降速度最快, 但在 2.0% 之后, pH 值下降速度有所缓慢, 且 pH 值低于 4.1 时, 感官分显著下降, 这可能是菌的生长环境已达到其最大的承载限度。接种量在 1.0% 与 2.0% 下进行的发酵效果相当, 说明不能盲目增加接种量以提高发酵速度, 应考虑不同加菌量的发酵效率及感官变化。因此综合考虑发酵时间和感官得分, 最后选取复合乳酸菌的添加量为 1.0%。



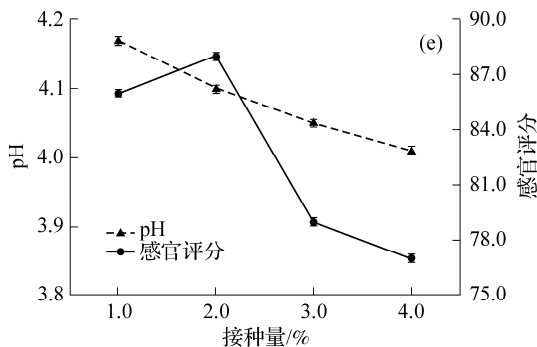


图 3 发酵温度(a)、发酵时间(b、c、d)、复合乳酸菌接种量(e)对鱿鱼酱发酵的影响

2.4 响应面优化分析

2.4.1 响应面优化复合乳酸菌发酵鱿鱼酱参数

根据制作的鱿鱼酱的 pH 值、感官(组织感官和基础味道感官)综合评分评判最佳发酵条件(表 5).

表 5 响应面优化复合乳酸菌发酵鱿鱼酱参数分析

组别	发酵温度/℃	发酵时间/h	接种量/%	感官分	pH 值
1	28	24	3.0	90.01	4.51
2	36	24	3.0	93.98	4.15
3	32	24	2.0	90.23	4.54
4	32	12	3.0	83.26	4.85
5	32	36	3.0	87.23	4.29
6	28	12	2.0	84.32	4.99
7	32	24	2.0	91.23	4.52
8	28	36	2.0	84.36	4.25
9	32	12	1.0	85.02	4.98
10	32	24	2.0	91.05	4.51
11	36	12	2.0	85.65	4.52
12	28	24	1.0	90.98	4.71
13	32	24	2.0	91.58	4.55
14	36	36	2.0	86.25	4.03
15	32	24	2.0	91.32	4.50
16	36	24	1.0	94.63	4.31
17	32	36	1.0	86.25	4.28

2.4.2 回归模型与方差分析

从表 6 复合乳酸菌发酵鱿鱼酱响应面回归模型方差分析可以看出^[32], 回归线模型 $P<0.001$, 表明建立的方程模型具有高度显著性; 感官评价和 pH 的失拟值均大于 0.05, 表明失拟并不显著, 证实该回归模型具有极高的拟合性, 即模型可信度较高. 同时由表 6 可知, 回归模型的多元相关系数 R^2 (感官评价)为 0.931 0 和 R^2 (pH)为 0.981 3, 说明响

应面拟合程度高, 实验因素相关性高. 通过感官评价对鱿鱼酱发酵条件所建立的回归模型分析(表 7), 模型信噪比大于 4, 而且失拟值并不显著, 决定系数大于 0.9, 这些都说明利用科学感官评价体系建立的回归模型是可靠的.

表 6 复合乳酸菌发酵鱿鱼酱响应面回归模型方差分析

变异来源	感官评价	pH
Prob>F	<0.001	<0.001
失拟值	14.975	0.079 24
纯误差	1.05	0.001 72
标准偏差	1.54	0.037 11
调整后 R^2	0.931 0	0.981 3
CV/%	1.06	0.824 9

表 7 复合乳酸菌发酵鱿鱼酱回归模型结果与分析

变异来源	标准误差		Prob>F	
	感官	pH	感官	pH
A- X_1 温度	0.331 6	0.013 11	0.004 7	2.463×10^{-6}
B- X_2 发酵	0.331 6	0.013 11	0.063 6	6.021×10^{-8}
C- X_3 接种量	0.331 6	0.013 11	0.395 8	0.002 568
AB	0.469 0	0.018 55	0.774 0	0.011 96
AC	0.469 0	0.018 55	0.869 4	0.606 7
BC	0.469 0	0.018 55	0.187 5	0.101 2
A^2	0.457 1	0.018 08	0.300 1	0.000 195 4
B^2	0.457 1	0.018 08	2.135×10^{-6}	0.024 31
C^2	0.457 1	0.018 08	0.121 0	0.221 9

由上述各项参数和三维响应曲面图(图 4), 运用 Design Expert 10.0.7 分析计算出鱿鱼酱发酵条件的最佳点. 根据感官回归方程优化后, 实际所对应的工艺参数分别是发酵温度为 36 ℃, 发酵时间为 24 h, 复合乳酸菌发酵剂添加量为 1.0%, 最佳感官得分理论值为 94. 以 pH 值回归方程优化后, 实际所对应的工艺参数分别是发酵温度为 33 ℃, 发酵时间为 22 h, 复合乳酸菌发酵剂添加量为 1.0%, 理论 pH 值为 4.6. 并且结合工厂化生产操作实践, 对发酵条件进行适当调整, 最后参数分别为发酵温度 35 ℃, 发酵时间 24 h, 复合乳酸菌发酵剂添加量为 1.0%.

2.4.3 响应面优化条件的验证

根据优化条件来验证模型可靠性, 在以上得到的最适条件下, 通过对比接种复合乳酸菌发酵鱿鱼酱组和自然发酵鱿鱼酱组的理化指标(图 5(a)~

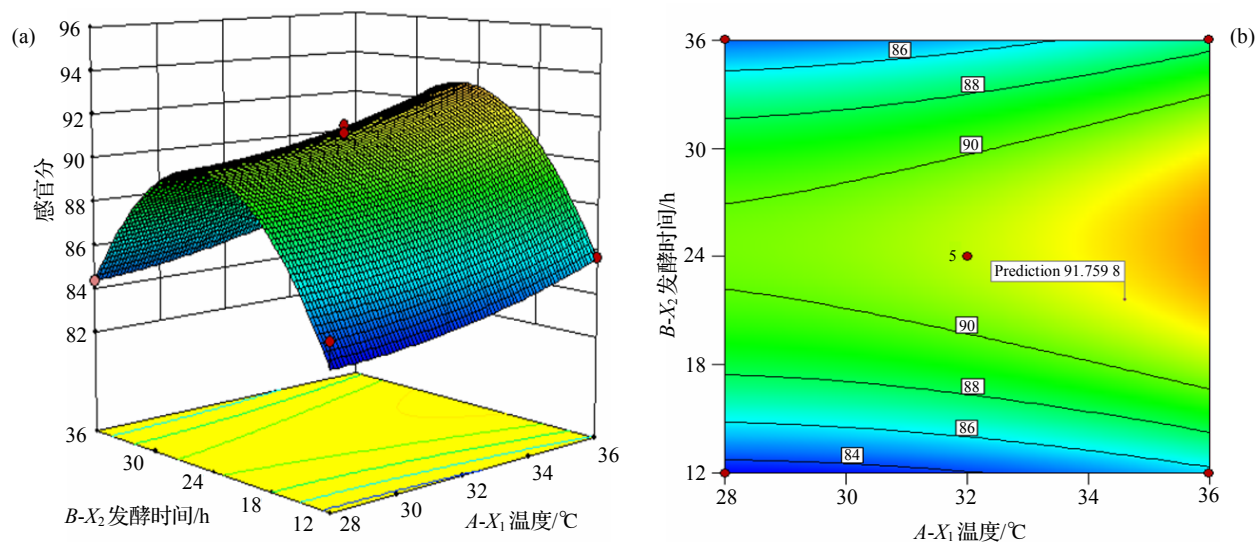


图4 发酵时间和发酵温度对感官得分影响的响应面(a)及等高线(b)

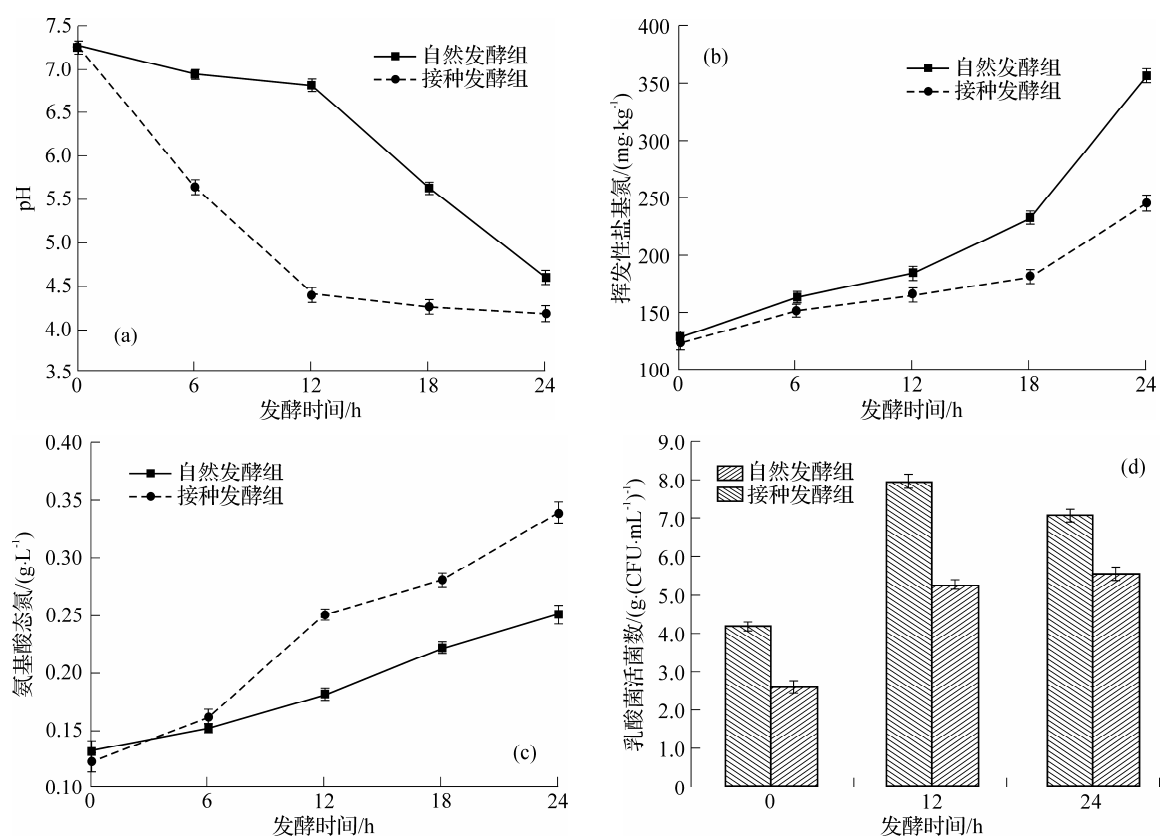


图5 自然发酵组与接种发酵组 pH(a)、挥发性盐基氮(b)、氨基酸态氮(c)、乳酸菌活菌数(d)变化

(c), 可以看出, 相比于自然发酵组, 接种复合乳酸菌发酵鱿鱼组的氨基酸态氮含量明显增加, 提高量达 36.0%, 而挥发性盐基氮减少了 31.18%, pH 值下降至 4.0 左右, 表明在此优化条件下的产品品质较好^[33]. 通常在发酵制品加工中, 产品质地、风

味和营养等品质与微生物密切相关^[34], 而发酵过程中微生物的种类及变化规律又受到发酵样品环境等条件的影响, 从而使产品的质量(包括感官品质与理化甚至营养等指标)产生差异. 由图 5(d)可见, 在发酵初期, 两种条件下的乳酸菌活菌总数都

有所增加,在进入主发酵阶段后,接种发酵组中的乳酸菌起到抑制细菌生长的作用,在发酵过程中起主导作用,而自然发酵组细菌也呈上升趋势,发酵后期,两者的增长均趋于平缓,但乳酸菌活菌数方面,接种发酵组始终多于自然发酵组。以上结果也反映出条件优化的可靠性。

3 结论

通过选择具有产蛋白酶活性的发酵乳杆菌和短乳杆菌并进行复合,作为鱿鱼酱发酵用乳酸菌,复合乳酸菌在短时间内可以快速生长增殖,有较好的产酸特性,鱿鱼酱发酵体系 pH 值快速降低。添加辅料(辣椒、大蒜、花椒、生姜和八角)的浸提液能够促进复合乳酸菌的增长,添加食盐、料酒、蔗糖对发酵产品起到调味作用,最终确定配方:大蒜、花椒、辣椒添加量为 5.0%,生姜、八角、食盐及酱油添加量为 2.0%,蔗糖添加量为 3.0%,料酒添加量为 5.0%。采用响应面优化法最后确定优化的发酵工艺条件为 35℃下接种 1.0%复合菌剂(发酵乳杆菌和短乳杆菌菌种比例 1:1,接种量为 2.4×10^8 CFU·g⁻¹),发酵 24 h,最后鱿鱼酱发酵产品的氨基酸态氮可达 0.36 g·L⁻¹,呈现出较好的品质, pH 值在 4.0 左右,感官评分较高。

参考文献:

- [1] 魏艳丽,鲁绯. 中国传统发酵酱的演变[J]. 中国酿造, 2019, 38(2):7-10.
- [2] 郑瑞生,林雅萍,孙秋琼,等. 酶解马鲛鱼下脚料制备海鲜酱工艺优化[J]. 食品与机械, 2021, 37(6):201-206; 212.
- [3] 于靖,杨锡洪,梁晨,等. 嗜盐微生物对发酵海鲜调味品风味影响研究进展[J]. 食品与机械, 2020, 36(6):203-207; 234.
- [4] 崔莹莹,李明燕,翟兴伟,等. 微生物发酵法制备鲜辣沙蟹汁工艺研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(3):140-145.
- [5] Geng J, Takahashi K, Kaido T, et al. The effect of organic salts on the browning of dried squid products processed by air-drying[J]. Food Chemistry, 2018, 269:212-219.
- [6] 杨宪时,王丽丽,李学英,等. 秘鲁鱿鱼和日本海鲑鱼营养成分分析与评价[J]. 现代食品科技, 2013, 29(9): 2247-2251; 2293.
- [7] Singh A, Mittal A, Benjakul S. Chitosan, chitooligosaccharides and their polyphenol conjugates: Preparation, bioactivities, functionalities and applications in food systems[J]. Food Reviews International, 2021, DOI: 10.1080/87559129.2021.1950176.
- [8] 沈虹力,邓尚贵,方国宏,等. 响应面法优化冷冻即食鱿鱼的加工工艺研究[J]. 食品工业, 2018, 39(10):132-136.
- [9] 沈虹力. 鱿鱼卤制品的研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2018.
- [10] Zapaśnik A, Sokołowska B, Bryła M. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety[J]. Foods, 2022, 11(9):1283.
- [11] 张振宇,李忠孝,袁明龙,等. 倭家酸鱼中乳酸菌的分离鉴定及乳酸发酵的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(11):41-45.
- [12] 周迎芹,孙子怡,黄晶晶,等. 臭鳃鱼源清酒乳杆菌的分离鉴定及其在臭鳃鱼发酵中的应用[J]. 食品科学, 2022, 43(12):194-202.
- [13] Kim H J, Kim M J, Turner T L, et al. Pyrosequencing analysis of microbiota reveals that lactic acid bacteria are dominant in Korean flat fish fermented food, gajamisikhae[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2014, 78(9):1611-1618.
- [14] Zhang Y, Gao Y, Wang M, et al. The fermented soy whey produced by a combined lactic acid bacteria starter shows improved flavor and the function in alleviating dextran sulphate sodium induced colitis in mice[J]. Food Biotechnology, 2022, 36(2):113-132.
- [15] 王馨. 用于发酵工程的乳酸菌筛选及复配菌剂研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2021.
- [16] 陈晓倩,吴祖芳,翁佩芳. 棒状乳杆菌发酵秘鲁鱿鱼糜凝胶特性的变化及其形成机理[J]. 食品科学, 2019, 40(4):186-191.
- [17] 康慎敏,徐睿,武瑞赟. 乳酸菌在发酵鱼制品中的应用[J]. 中国水产, 2021(7):84-87.
- [18] 胡艺. 秘鲁鱿鱼皮调味罐头的研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2016.
- [19] 邵良伟,邹强,张弛松,等. 基于模糊数学评定与响应面法优化毛霉型豆豉制曲工艺[J]. 中国调味品, 2021, 46(3):18-23; 28.
- [20] 班雨函,王利文,杨兵兵,等. 商品化低盐虾酱发酵过程中的微生物群落演替和品质变化[J/OL]. [2022-01-12]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20211221.1316.033.html>.
- [21] 马群飞. GB 4789.35-2016《乳酸菌检验》解读[J]. 中国卫生标准管理, 2017, 8(16):1-3.
- [22] Kieliszek M, Pobiega K, Piwowarek K, et al. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by

- lactic acid bacteria[J]. *Molecules*, 2021, 26(7):1858.
- [23] Yuan L, Zhang Q Q, Zheng Z Y, et al. Isolation of protease-producing bacteria from shrimp paste and the characteristics of fermenting catfish paste[J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2022, 31(4):332-343.
- [24] 于豪杰. 产蛋白酶乳酸菌的筛选及其应用于豆粕发酵初探[D]. 郑州: 郑州大学, 2020.
- [25] 敖晓琳, 蒲彪, 蔡义民, 等. 发酵乳杆菌及其益生特性研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2015, 34(2):121-127.
- [26] 张秀洁, 郭全友, 杨絮, 等. 源自香糟大黄鱼的红酒糟优势菌特性及发酵能力研究[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(11):50-57.
- [27] Izaguirre J K, Dietrich T, Villarán M C, et al. Protein hydrolysate from organic fraction of municipal solid waste compost as nitrogen source to produce lactic acid by *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 and *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826[J]. *Process Biochemistry*, 2020, 88:15-21.
- [28] 蒲仕文, 徐雯, 杨燕, 等. 大蒜活性物质提取方法及其在肉制品中的应用研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(3):193-198.
- [29] 黄丹娜, 陈路. 八角茴香挥发油防治新型冠状病毒肺炎的潜在作用机制[J]. *广西医学*, 2021, 43(6):738-743; 753.
- [30] 李军波. 盐浓度对传统泡菜和强化发酵泡菜的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.
- [31] 王妍. 料酒的调味增香机理[J]. *中国调味品*, 2005, 30(7): 32-34.
- [32] Huang Z R, He W Y, Zhao L Z, et al. Processing technology optimization for tofu curd by fermented yellow whey using response surface methodology[J]. *Food Science & Nutrition*, 2021, 9(7):3701-3711.
- [33] Bekhit A E D A, Holman B W B, Giteru S G, et al. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 109:280-302.
- [34] Zang J H, Yu D W, Li T R, et al. Identification of characteristic flavor and microorganisms related to flavor formation in fermented common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *Food Research International*, 2022, 155:111128.

A selection of lactic acid bacteria and optimization of process in squid sauce fermentation

PENG Tingting, WENG Peifang*, WU Zufang

(College of Food and Pharmaceutical Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China)

Abstract: Squid was used as raw material to manufacture squid paste products with good flavor and nutritional value through lactic acid bacteria fermentation. In order to achieve the product quality and flavor of squid paste through rapid fermentation, two strains of *Lactobacillus fermentum* (Lf01) and *Lactobacillus breris* (Lb-1) were obtained by comparing the protease producing activities of the pre-screened Lactobacillus. Their acid production, salt tolerance, spice tolerance and wine tolerance characteristics were further explored to determine the addition amount of fermentation auxiliaries. By using response surface optimization method, the optimal inoculum amount and fermentation time and fermentation temperature of the composite bacteria fermentation were investigated. The optimal fermentation conditions of squid paste were obtained. The best quality, color and flavor of the resulting products were obtained by fermenting at 35 °C for 24 h with the addition of 1.0% of the mixed starter of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus breris* at a ratio of 1:1 and an inoculum amount of 2.4×10^8 CFU·g⁻¹. The results of the study provide a theoretical basis for the fermentation and processing of marine squid.

Key words: mixed lactic acid bacteria; squid sauce; fermentation; processing technology

(责任编辑 章践立)