

《食品工业科技》网络首发论文

题目: 金鲳鱼发酵菌株筛选及其生物学特性与风味形成评价
作者: 苏伟明, 胡梦杰, 沈会连, 林琰佳, 邓旗, 刘楚祺, 钟赛意, 刘颖
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040363
网络首发日期: 2022-08-11
引用格式: 苏伟明, 胡梦杰, 沈会连, 林琰佳, 邓旗, 刘楚祺, 钟赛意, 刘颖. 金鲳鱼发酵菌株筛选及其生物学特性与风味形成评价[J/OL]. 食品工业科技, <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022040363>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

金鲳鱼发酵菌株筛选及其生物学特性与风味形成评价

苏伟明^{1,2}, 胡梦杰¹, 沈会连¹, 林琰佳¹, 邓旗¹, 刘楚祺¹, 钟赛意^{1,2}, 刘颖^{1*}

(1.广东海洋大学食品科技学院/广东省水产品加工与安全重点实验室/广东省海洋生物制品工程实验室,
广东 湛江 524088;

2.海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心 大连工业大学, 辽宁 大连 116034)

摘要: 为了有效控制发酵鱼的品质及其保质期, 从传统发酵金鲳鱼中筛选适合作为发酵剂的菌株。以过氧化氢酶阳性、耐盐性、抗菌性及不产生组胺为筛选指标, 采用稀释分离法分离目标菌株, 并对其生物学特性、发酵风味与口感进行评价。结果显示, 从发酵金鲳鱼中分离到的 38 株菌株中, 筛选出的两株潜在发酵菌株 (zh-b 和 zh-f) 经形态鉴定与 16S rRNA 分析鉴定为戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*) 和植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*), 其最适温度分别为 20 °C 与 30 °C, 最适 pH 为 5、6。两株菌对金黄色葡萄球菌与大肠杆菌均具有抗菌活性, 但植物乳杆菌抗菌活性更好, 且产酸能力明显高于戊糖片球菌。电子鼻对发酵产物进行测定, 发现戊糖片球菌产生的甲基类、硫化物、氮氧化合物、醇类或醛酮类和有机芳香硫化物响应值 (64.10、57.98、44.75、40.22 和 19.93) 高于植物乳杆菌 (5.50、34.11、10.68、0.00 和 8.95), 是香气成分的主要贡献者。电子舌测定, 发现两株菌均具有产生鲜味、鲜回味的能力, 且戊糖片球菌的味值分别为 14.32、6.64, 明显高于植物乳杆菌产生鲜味、鲜回味 (3.20 与 2.90), 但只有植物乳杆菌产生酸味。另外, 两株菌也产生非常少量的苦味。研究为两株菌作为发酵剂用于规模化生产发酵金鲳鱼提供依据。

关键词 金鲳鱼; 发酵菌株; 乳酸菌; 生物学特性, 抗菌活性, 风味

Screening of fermentation strains of *Trachinotus ovatus* and biological characteristic and flavor formation evaluation

SU Wei-ming^{1,2}, HU Meng-jie¹, SHEN Hui-lian¹, LIN Yan-jia¹, DENG Qi¹, LIU Chu-qi¹,
ZHONG Sai-yi^{1,2}, LIU Ying^{1*}

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University/Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety/Guangdong Province Engineering Laboratory for Marine Biological Products, Zhanjiang 524088, China;

2. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: To effectively control quality and shelf life of fermented fish, strains, which can be used as starter culture, were separated and screened from traditional fermented *Trachinotus ovatus*. Using catalase positive, salt tolerance, antibacterial properties and histamine-free as the valuation indexes, the target strains were isolated by dilution separation method, and strains biological characteristics, flavor and tastes of metabolites were evaluated. The experimental results showed that two potential fermented strains (zh-b and zh-f) were screened from 38 strains,

基金项目: 广东省重点领域研发计划资助 (2020B1111030004); 2019 年度广东省大学生创新创业训练计划项目 (CXXL2019047); 广东省高等学校科技创新团队项目 (2021KCXTD021); 2020 年度湛江市科技发展专项资金竞争性分配项目 (200915134541577)。

第一作者: 苏伟明 (1969-), 男, 大专, 高级实验师, 主要从事海洋食品加工方面的研究, EMAIL: hdsuwm@163.com

通信作者: 刘颖 (1966-), 女, 博士, 教授, 主要从事海洋微生物与发酵食品方面的研究, EMAIL: 406662864@qq.com

which were isolated from the fermented *Trachinotus ovatus*. According to molecular biological identification, two strains were *Pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus plantarum*, and their most appropriate temperatures were 20 °C and 30 °C, the optimal pH was 5 and 6, respectively. Both strains had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, but the *Lactobacillus plantarum* showed the better antibacterial activity, and the acid production capacity was far higher than that of *Pediococcus pentosaceus*. Fermentation products were determined by electronic nose, it was found that methyl groups, sulfides, nitrogen oxides, alcohols or aldehydes and ketones and organic aromatic sulfides produced by *Pediococcus pentosaceus* (64.10, 57.98, 44.75, 40.22 and 19.93) were higher than those of *Lactobacillus plantarum* (5.50, 34.11, 10.68, 0.00 and 8.95), which was a major contributor to aroma components. The electronic tongue test showed that both strains had the ability to produce umami and fresh aftertaste, and the taste values of *Pediococcus pentosaceus* were 14.32 and 6.64, which were significantly higher than those of *Lactobacillus plantarum*, which produced umami and fresh aftertaste (3.20 and 2.90), but only *Lactobacillus plantarum* produced a sour taste. In addition, both strains also produced a very small amount of bitterness. The research provides a basis for the large-scale production of fermented *Trachinotus ovatus* using the two strains as a mixed starter.

Key words: *Trachinotus ovatus*; fermentation strains; lactic acid bacteria; biological characteristic; antibacterial activity; flavor

中图分类号: TS201.3 文献标识码: A

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2022040363

金鲳鱼 (*Trachinotus ovatus*) 学名卵形鲳鲹, 常生活于热带及温带海洋中, 其肉质细腻、鲜甜、口感绵延, 是一种深受消费者喜爱的海洋鱼类。近年来, 随着深海网箱、海洋牧场等技术的不断推广与应用, 金鲳鱼养殖产量逐年快速增加, 成为南方沿海规模化生产的鱼类之一^[1]。但同时由于过快地扩张, 导致金鲳鱼市场供过于求, 而且目前的市场销售以活鲜、冰鲜和冷冻鱼等产品为主^[2], 行业存在产品种类单一, 高附加值深加工产品缺乏等问题, 造成利润严重下滑, 制约了金鲳鱼产业发展的空间。湛江乌石镇地处雷州半岛西南部, 是广东省主要渔港之一, 全镇以渔业为主, 其中当地居民用传统盐制的发酵的方式, 形成具有独特湛江风味的发酵金鲳鱼, 受到消费者喜爱。

发酵是一种经济而古老的食物加工与保存方法^[3], 通过微生物与食物成分的相互作用及微生物酶的降解作用, 产生乳酸、酮类、醛类、醇、烯炔类等物质, 赋予发酵产品独特的风味、口感与色泽^[4-6], Narzary 对 18 种发酵鱼产品的营养成分、风味、滋味、益生性及微生物的组成进行了报道, 发现发酵鱼中微生物对其营养、风味有重要的影响, 同时产生的抑菌物质又延长了产品的保质期^[7]。因此, 开发以发酵金鲳鱼为代表的深加工产品有望成为解决滞销、行业低迷等问题的有效途径。但是, 利用盐制或风干方法制备的传统发酵鱼中的微生物是来自于自然富集的, 由于受到不同年份、不同季节温度与湿度的影响, 参与发酵的微生物种群不确定, 影响其产品质量的稳定性、保质期以及安全食用性^[8]。因此, 筛选具有良好特性的微生物进行人工接种, 对提高与稳定产品质量, 缩短发酵时间尤为重要。而用于接种发酵的微生物通常是从传统发酵产品中分离优质微生物这一策略获得^[9], Shubham 利用此策略从印度的发酵鱼中分离筛选到 40 株乳酸菌, 并发现其中两株菌具有较好的应用特性^[10]。近年来, 研究发现植物乳杆菌属、片球菌属、乳杆菌属等乳酸菌在鱼的发酵过程中起到了关键的作用^[11, 12]。另外, 田国军等^[13]成功地从自然发酵的腊鱼中分离到 1 株优质乳酸菌, 并接种到新鲜的腊鱼中进行发酵, 其产品的风味和质量均得到了明显的改善。Barbara 等^[14]发现, 乳杆菌属用于鱼发酵香肠生产中, 有效减少了发酵时间。总之, 随着人工接种发酵技术的不断成熟, 在食品发酵中使用发酵剂进行定向接种已成为提高加工速度和产品质量的重要手段^[15]。

针对传统方法制备的发酵鱼微生物种群结构的不确定性, 导致产品质量不稳定这一问题, 本研

究以广东湛江乌石镇传统方法制备的优质发酵金鲳鱼为材料，从中分离筛选出适合作为发酵剂的微生物菌种，并对分离菌株的生物学特性及其形成的风味进行评价，研究为实现定向接种，人工控制发酵生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜优质的传统发酵金鲳鱼来自于广东湛江乌石镇，每条 400 克左右；金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC29213)、大肠杆菌 (*Escherichia coli* ATCC35218)；MRS 肉汤、MRS 培养基、营养肉汤 (NB)、营养琼脂(NA) 青岛海博生物技术公司；Mighty Amp DNA Polymerase Ver.2 宝生物工程有限公司；16S rRNA 细菌通用引物 27 F: -AGAGTTTGATCCTGGCTCAG, 1492 R: -GGTTACCTTGTTACGACTT- 上海生工生物技术有限公司合成。

CFX96 Touch 型实时荧光定量 PCR 仪与 Gel Doc XR+型凝胶成像仪，美国 BIO-RAD 公司；PEN3 型电子鼻，德国 AIRSENSE 公司；SA402B 型电子舌，日本 INSENT 公司；Varioskan Flash 型酶标仪，美国热电公司。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵菌株的筛选

用无菌水冲洗掉发酵金鲳鱼表面的杂质，沥干水之后，用灭菌剪子剪碎，称取 25 g 加到无菌均质袋中，再加入 pH 为 7.2 灭菌的 PBS 225 mL，均质 30 s 后，吸取 0.1 mL 均匀涂布于 MRS 培养基中，30 °C 培养 48~72 h。挑取不同形态特征的菌落，反复纯化，直至获得纯的分离株。

参照文献[16]，筛选具备过氧化氢酶实验呈阳性、发酵葡萄糖产酸，但不产生生物胺、不产气，具有一定的耐盐性，并有良好的抗菌活性菌株作为潜在发酵菌株。抗菌活性测定采用牛津杯法^[17]，其它指标测定采用《常见细菌系统鉴定手册》描述方法^[18]。

1.2.2 发酵菌株的 16S rRNA 鉴定

分别以 27F、1492R 为正、反向引物，使用 MightyAmp DNA 聚合酶对发酵菌株进行菌落 PCR，PCR 体系与反应条件按照 Lu Qingfang 等^[19]的方法。再将目的 PCR 产物寄送生工生物工程（上海）股份有限公司进行测序。根据测得的 16S rRNA 基因序列，从 EzBioCloud 数据库进行同源性搜索，下载相似性高的模式菌株的相应基因序列^[20]，并用 MEGA5.1 建立系统发育树。

1.2.3 温度对发酵菌株生长的影响

挑取两环发酵菌株，接种于 50 mL MRS 液体中，30 °C 静置培养 18 h，作为发酵菌株的种子液，再将种子液按 3% 接至 MRS 液体中，混匀后分别置于 20、25、30 °C 培养 28 h，且每间隔 2 h 测定发酵液的 OD_{600 nm}^[21]，绘制生长曲线，评价温度对两株发酵菌的影响。

1.2.4 pH对发酵菌株生长的影响

将 1.2.3 中的发酵菌株的种子液按 3%的接种量分别接种于 pH 为 3.0、4.0、5.0、6.0 和 7.0 的 MRS 液体中，30 °C 静置培养 24 h 后，测定发酵液 OD_{600 nm} 值^[22]，绘制生长曲线，评价 pH 对两株发酵菌的影响。

1.2.5 发酵菌株产酸能力测定

按 3%接种量将种子液接种于 100mL 的 MRS 液体中，30 °C 静置培养 24h，每间隔 4h 取样，测定发酵液的 pH^[23]。

1.2.6 发酵菌株抗菌活性的测定

挑取两环 *S. aureus* 与 *E. coli* 分别接种于 NB 中，37 °C 摇床中培养 16-20h，然后将两种指示菌的菌液浓度稀释至 10⁶ CFU/mL，再将指示菌的稀释液按 1：100 的比例加到 55 °C 的 NB 中，混匀后趁未凝固前快速倒入摆放有灭过菌的牛津杯培养皿中，待凝固后拔出牛津杯。接着吸取 200 μ L 发酵菌上清液加到杯孔中，37 °C 静止培养 18h，观察是否出现抑菌圈，并测量抑菌圈的直径^[24]。同时，以生理盐水代替发酵上清液做空白对照。

1.2.7 发酵菌株发酵液电子鼻测定

将 1.2.3 中发酵菌的种子液按 3%的接种量接于 MRS 液体中，30 °C 静止培养 24 h，再量取发酵液 20 mL 于顶空瓶中，静置 30 min 后进行电子鼻检测，测定条件为：顶空时间 20 min，样品及载气流速均为 300 mL/min，传感器自清洗时间 60 s，样品测试时间 60 s，数据采集间隔为 1 s，PEN3 电子鼻传感器对不同成份敏感性描述见表 1。

表 1 PEN3 型电子鼻传感器描述

Table 1 Description of PEN3 electronic nose sensor performance

阵列序号	传感器名称	敏感性描述
1 号	W1C	芳香成分与苯类
2 号	W5S	氮氧化合物
3 号	W3C	芳香成分与氨类
4 号	W6S	对氢化物有选择性
5 号	W5C	短链烷烃芳香成分
6 号	W1S	甲基类
7 号	W1W	硫化物
8 号	W2S	醇类、醛酮类
9 号	W2W	芳香成分与有机硫化物
10 号	W3S	长链烷烃类

1.2.8 发酵菌株发酵液电子舌测定

将发酵菌株 1.2.7 的发酵液稀释 5 倍，在 4 °C 下，以 3000 r/min 离心 20 min，收集上清液过滤，吸收 100 mL 上清滤液装入专用烧杯中，进行电子舌的检测。电子舌 AAE、CT0、CA0、C00 和 AE1 传感器的响应特性分别为鲜味、咸味、酸味、苦味和涩味。在测定前，所有传感器先放在参比溶液（0.30 mmol/L 酒石酸和 30.00 mmol/L 氯化钾混合溶液）中活化 24 h，再装机进行自检至信号稳定，每个样品做 4 次循环，取后 3 次结果，并对味觉特征进行分析。

1.2.9 数据处理

实验重复 3 次，采用平均值±标准差($\bar{x}\pm SD$)表示，用 SPSS 22.0 和 Origin 2018 软件对数据进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 发酵菌株的确定

从传统发酵金鲳鱼中分离纯化到 38 株菌，通过发酵菌株筛选实验，菌株 zh-b 与菌株 zh-f 符合发酵菌株筛选标准^[16]，确定为潜在发酵菌。在 MRS 培养基上，菌株 zh-f 菌落呈圆形，色白，细密，显微形态为杆状（图 1 A 与 B）；菌株 zh-b 在 MRS 培养基的菌落呈圆形，乳白色，凸起，边缘整齐，不透明，显微形态为球状（图 1 C 与 D）。Samarjit 等也从印度曼尼普人制备的传统发酵鱼中分离到 46 株形态不同的菌株^[12]，传统发酵鱼已成为分离用于发酵微生物的重要来源。

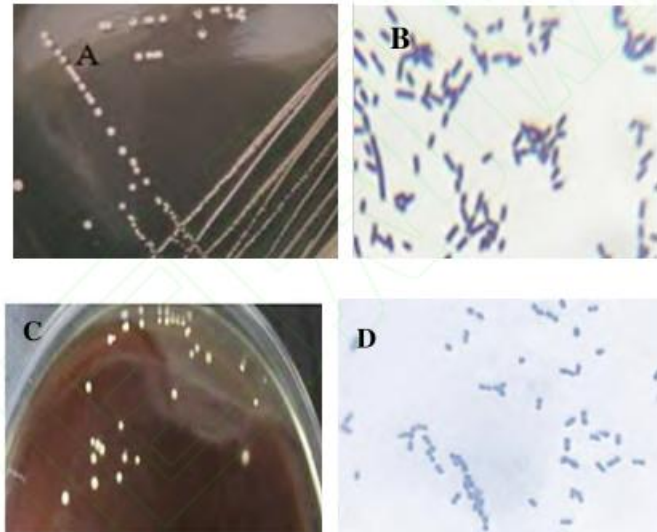


图 1 两株菌菌落与显微形态图 (100×16)

Fig. 1 Colony and micromorphology of the two strains

注：A 与 B 分别菌株 zh-f 菌落与显微形态，C 与 D 分别为菌株 zh-b 菌落与显微形态

2.2 发酵菌株的 16S rDNA 鉴定

将菌株 zh-b 与菌株 zh-f 的 16S rRNA 序列与标准菌株进行比对分析，发现菌株 zh-b 与模式菌株 *Pediococcus pentosaceus* DSM 20336 相似性最高，相似率为 99.26%，而菌株 zh-f 与模式菌株 *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 相似性最高，相似率为 99.11%，并用 MEGA 5.1 软件构建系统发育树(图 2)。结合形态鉴定及 16S rRNA 序列分析，菌株 zh-b 与 zh-f 分别鉴定为戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*) 与植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)。从印尼的发酵鱼中也分离到了 *L. plantarum* 与 *P. pentosaceus*^[25]，而谭汝城等不仅从自然发酵鱼鲑中分离到 *L. plantarum* 与 *P. pentosaceus*，而且又将其接种于新鲜鱼中进行发酵，并与自然发酵鱼的化学指标和感官品质进行比较，结果表明，接种发酵可以改善鱼鲑游离氨基酸的组成，并有效提高了鱼鲑的感官品质^[21]。

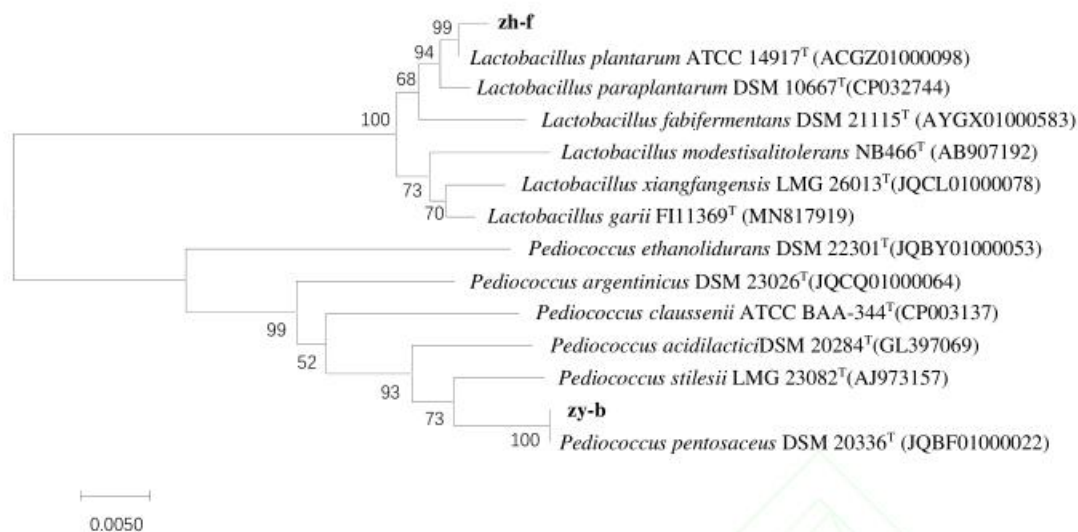


图 2 两株发酵的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of two strain

2.3 温度对发酵菌株生长的影响

图 3 (A、B) 为两株发酵菌株在 20 °C、25 °C 和 30 °C 的生长曲线，从图中可以看出，在 30 h 内两株菌的 OD₆₀₀ 随着培养时间的延长而不断升高，并逐渐趋于平稳，说明菌数随着培养时间的延长而不断提高，并达到稳定期。其中，菌株戊糖片球菌 zh-b (A) 菌液浓度在同一培养时间 20 °C 生长最好，依次是 30 °C 与 25 °C。而植物乳杆菌 zh-f (B) 是 30 °C 菌液浓度最高，其次是 25 °C 与 20 °C。

通过比较分析，两株菌混合发酵液的最适发酵温度确定为 30 °C，从生长曲线出现平稳时间分析，确定两株最适发酵时间为 16 h。

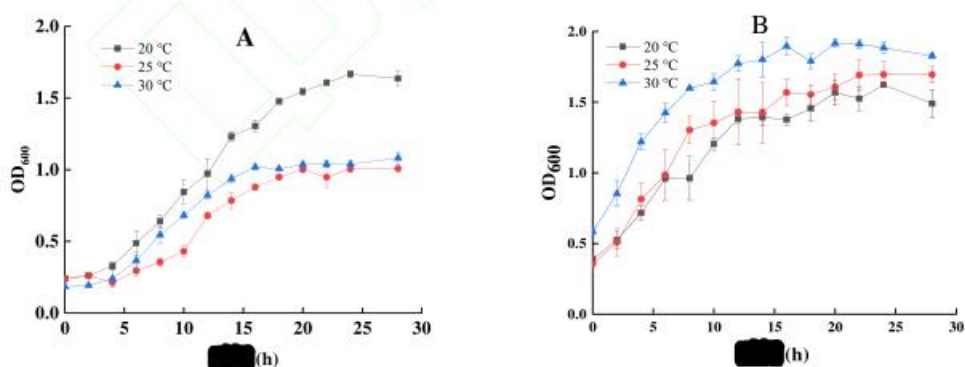


图 3 两株发酵菌在不同温度下的生长曲线

Fig. 3 Growth curve of two strains at different temperatures

注：A：植物乳杆菌 zh-f

B：戊糖片球菌 zh-b

2.4 pH 对发酵菌株的生长影响

图 4 为两株菌在不同 pH 培养条件下的生长曲线，其中戊糖片球菌的 OD_{600} 曲线在 pH 3-5 区间的 OD_{600} 值呈上升趋势，并在 pH=5 时达到最大值 0.45，但在 pH=6 时， OD_{600} 出现微小低谷。 OD_{600} 值总体变化幅度小于 0.4，即戊糖片球菌 zh-b 的生长受 pH 影响不大。而植物乳杆菌 zh-f 的生长随着 pH 的增高，出现了先增大再减小的现象，pH 在 3-6 区间其 OD_{600} 值随着 pH 的增大而增大，且增幅明显，并在 pH=6 时， OD_{600} 达到最大值 1.60 后，接着 OD_{600} 开始下降。

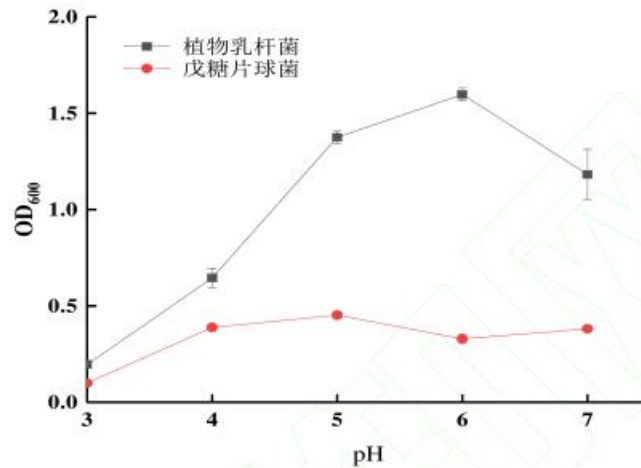


图 4 pH 对两株发酵菌的生长影响

Fig. 4 Effect of pH on the growth of two strains

2.5 发酵菌株产酸能力测定

不同乳酸菌产酸能力存在一定的差异，由图 5 可知，zh-b 在 24 h 内产酸能力较弱，仅在前 13 h pH 有微小的降低后又开始上升。而 zh-f 在 24 h 内一直在产酸，尤其在 4-13 h pH 下降较快，产酸速率最大，说明该阶段产酸能力最强，20 h 后 pH 达到 3.775 趋于平缓，说明植物乳杆菌 zh-f 将是发酵金鲳鱼中产酸的主要贡献者。

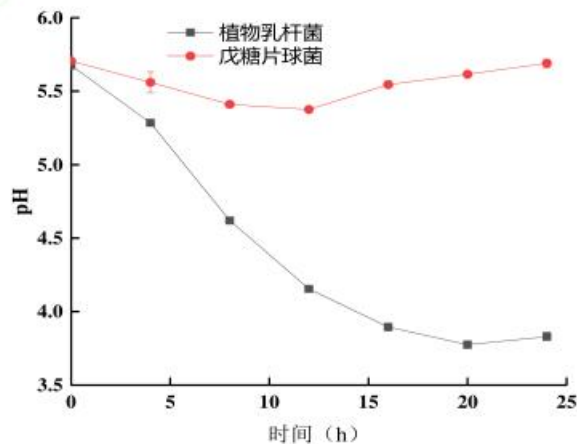


图 5 两株发酵菌产酸能力的比较

Fig. 5 Acid production capacity of two strains in 24 hours

2.6 两株发酵菌的抗菌活性

由表可知，两株发酵菌对 *E. coli* 和 *S. aureus* 均有抗菌活性，其中植物乳杆菌 zh-f 对两种指标菌表现出较强的抗菌活性；而戊糖片球菌 zh-b 对 *E. coli* 和 *S. aureus* 虽然也对两株菌有抑菌效果，但不及 zh-f 的抗菌效果，这可能与植物乳杆菌产酸能力或产生其它抗菌物质有关。

表 2 两株发酵菌株抗菌活性
Table 2 Antibacterial activity of fermentation strains

菌种名称	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
戊糖片球菌 zh-b	++	+
植物乳杆菌 zh-f	+++	+++

注：抑制效果：≤8 mm，-（没有抑菌效果）；8~10 mm，+；10~15 mm，++；15~20 mm，+++

2.7 发酵菌株的电子鼻测定

用 AIRSENSE PEN3 型电子鼻对两株菌发酵液的气味成分进行测定，根据响应值绘制雷达图（图 6）。通过比较发现，zh-b 和 zh-f 发酵液均含有甲基类（W1S）、硫化物（W1W）、氮氧化合物（W5S）和有机芳香硫化物（W2W）4 种相同的香气成分，但 zh-b 的响应值明显高于 zh-f，另外还产生了醇类或醛酮类（W2S）成分。其中，戊糖片球菌发酵液中的主要香气成分 W1S、W1W、W5S、W2S、W2W 的响应值依次是 64.10、57.98、44.75、40.22 和 19.93，其他传感器测得的响应值均低于 2，香气成分不明显。而 zh-f 发酵液中主要香气成分硫化物（W1W）、氮氧化合物（W5S）、有机芳香硫化物（W2W）、甲基类（W1S）的响应值分别为 34.11、10.68、8.96 和 5.50，其他传感器 W2S、W3S、W6S、W5S、W3C 和 W1C，响应值均低于 2，香气成分不明显。分析表明，戊糖片球菌 zh-b 是发酵金鲳鱼香气成分的主要贡献者。Shen 采用相关网络模型预测了关键微生物与风味形成存在明显的关系^[26]，采用美国 isenso 公司的 iNose 电子鼻检测植物乳杆菌、干酪乳杆菌及戊糖片球菌混合菌制备的发酵带鱼，发现发酵过程中形成了氮氧化合物、有机硫化物、萜类、酯类、甲基类以及无机硫化物风味物质^[27]。

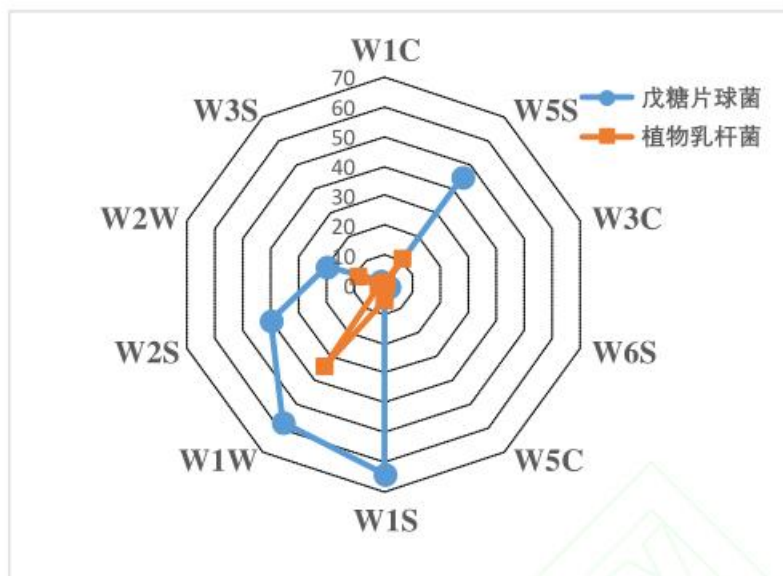


图 6 两株发酵菌的电子鼻雷达图

Fig. 6 Electronic nose radar map of two strains

2.8 发酵菌株的电子舌测定

SA402B 电子舌传感器酸味和咸味对应传感器的无味点下限分别为-13 和-6，其他味觉指标对应传感器的无味点下限均为 0，按该电子舌的规定大于无味点的味觉指标，即可作为评价对象。根据电子舌对两株菌味觉响应值的测定，绘制滋味雷达图（图 6）。从图中可以看出，两株菌的咸味、涩味、苦回味及涩回味的测定值均不大于无味点下限值，表明两株不产生对应的味道。对于酸味，戊糖片球菌酸味值为-29.5，小于-13，说明该菌不产生酸味，而植物乳酸菌的酸味值为-3.58，明显大于-13，说明该菌具有较强的产酸能力，这与 2.5 的结果一致。对于鲜味、鲜回味两株菌的响应值均大于无味点下限，具有产生鲜味、鲜回味的能力，其中戊糖片球菌的味值分别为 14.32、6.64，高于植物乳杆菌产生鲜味、鲜回味（3.20、2.90）。另外，两株菌也产生非常少量的苦味（4.74 与 1.58）。不同的微生物发酵产品的味觉也存在差异，将清酒乳杆菌接种到鳊鱼中进行固态发酵，采用法国阿尔法莫斯公司的 ASTREE II 电子舌对味道进行测定，检测到发酵鳊鱼中的酸味、复合味 1、复合味 2 及鲜味比未接种的对照组显著^[28]，说明微生物在发酵过程中对味觉的形成影响较大。



图 7 两株菌的电子舌雷达图

Fig.7 Electronic tongue radar map of two strains

3 结论

本研究以过氧化氢酶呈阳性、耐盐性、抗菌性及不产生组胺为评价指标，从湛江传统发酵金鲳鱼中分离筛选出两株潜在发酵菌株 (zh-b 和 zh-f)，经分子生物学鉴定为戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*) 和植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)，且最适温度分别为 20、30 ℃，最适 pH 为 5、6。两株菌均具有抗菌活性，但植物乳杆菌 zh-f 的抗菌活性更好，且产酸能力明显高于戊糖片球菌 zh-b。但 zh-b 产生的甲基类、硫化物、氮氧化合物、醇类或醛酮类和有机芳香硫化物高于 zh-f，而且 zh-b 产生的鲜味、鲜回味也高于 zh-f。本研究从传统发酵鱼中筛选到的两株发酵菌株，由于具有良好的特性，且风味与滋味有较好的互补性，因此，两株菌在发酵鱼应用中的潜力不容忽视。

参考文献

- [1] 张大为, 张洁, 田永航. 发酵金鲳鱼糜制品工艺条件的优化及发酵过程中品质变化分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(9): 211-218+244.
ZHANG Dawei, ZHANG Jie, TIAN Yonghang. Optimization of process conditions of fermented golden pomfret surimi production and analysis of quality changes in fermentation in process[J]. Modern Food Science and Technology 2020,36(9): 211-218
- [2] 王琦, 岳大鹏, 王然然, 等. 风干金鲳鱼制品加工过程中脂质氧化和挥发性成分的变化[J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 54-60.
WANG Qi, YUE Dapeng, WANG Ranran, et al. Changes of lipid-oxidation and volatile compounds of air-dried golden pomfret during processing[J]. Science and Technology of Food Industry. 2021, 42(1): 54-60.
- [3] Tamang J P, Watanabe K, Holzapfel W H. Review: diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7(5): 1-28.

-
- [4] Dominguez R, Agregan R, Lorenzo J M. Role of commercial starter cultures on microbiological, physicochemical characteristics, volatile compounds and sensory properties of dry-cured foal sausage[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2016, 6(5): 396-403.
- [5] Dzikunoo J, Letsyo E, Adams Z, Asante-Donyinah D, Dzah CS. Ghana's indigenous food technology: a review of the processing, safety, packaging techniques and advances in food science and technology[J]. Food Control. 2021;127: 108116
- [6] Xu Y, Zang J, Regenstein J M, et al. Technological roles of microorganisms in fish fermentation: a review[J]. Crit Rev Food Sci Nutr. 2021, 61:1000–12.
- [7] Narzary Y, Das S, Goyal A K, et al. Fermented fish products in South and Southeast Asian cuisine: indigenous technology processes, nutrient composition, and cultural significance[J]. Journal of Ethnic Foods, 2021, 8:1-9.
- [8] Hua Q, Gao P, Xu Y S, et al. Effect of commercial starter cultures on the quality characteristics of fermented fish-chili paste[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 122(1): 109016.
- [9] 张巧云. 豆酱中微生物多样性及人工接种多菌种发酵豆酱的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013
ZHANG Qiaoyun. Microbial Diversity Analysis on Soybean Paste and Research on Fermentation Using Multi-Strains via Artificial Inoculation[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013
- [10] Shubham G, Upasana M, Ranendra K, et al. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented fish product Shidal of India with reference to their probiotic potential[J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 146: 111641.
- [11] 林城杏, 黄瑶, 周迎春, 等. 传统淡水鱼发酵制品中乳酸菌的分离筛选及发酵特性[J]. 肉类研究, 2019, 33(5): 13-18.
LIN Chengxing, HUANG Yao, ZHOU Yingchun, et al. Isolation and fermentation characteristics of lactic acid bacteria from traditional fermented freshwater fish in China[J]. Meat Research, 2019, (5): 13-18.
- [12] Samarjit S, Surajit D M, Esther L, et al. Antimicrobial, antioxidant and probiotics characterization of dominant bacterial isolates from traditional fermented fish of Manipur, North-East India[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 55(5): 1870-1879.
- [13] 田国军, 尚艳艳, 黄泽元. 腊鱼中优势乳酸菌的分离, 纯化及性质鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(6): 78-81.
TIAN Guojun, SHANG Yanyan, HUANG Zeyuan. Isolation, purification and identification of dominant lactic acid bacteria from cured fish[J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(6): 78-81
- [14] Barbara S, Angela R, Luciano B, et al. Autochthonous lactic acid bacteria with probiotic aptitudes as starter cultures for fish-based products[J]. Food Microbiology, 2017, 65(8): 244-253.
- [15] 康慎敏, 徐睿, 武瑞赟. 乳酸菌在发酵鱼制品中的应用. 中国水产. 2021, 07:84-87.
KANG Shenmin, XU Rui, WU Ruiyun. Application of lactic acid bacteria in fermented fish products[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2021, 07:84-87
- [16] 朱雯娟, 安俊莹, 张雪梅, 等. 梅香鱼发酵菌株的筛选及对品质的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(23): 165-169.
ZHU Wenjuan, AN Junying Y, ZHANG Xuemei M, et al. Selection of starter culture from traditional fermented Meixiang fish and its effect on quality[J]. Food Science, 2015, 36(23): 165-169
- [17] 罗怡, 张瀛, 刘颖, 等. 华贵栉孔扇贝肠道产细菌素乳酸菌的分离筛选[J]. 食品科技, 2019, 44(2): 27-32.
LUO Yi, ZHANG Ying, LIU Ying, et al. Isolation and screening of bacteriocin *Lactobacillus* from the intestinal tract of *Chlamys nobilis*[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(2): 27-32
- [18] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
DONG Xiuzhu, CAI Miaoying. Handbook of systematic identification of common bacteria[M]. Beijing: Science Press, 2001

-
- [19] Lu Q F, Hu H Q, Mo J J, et al. Enhanced amplification of bacterial and fungal DNA using a new type of DNA polymerase[J]. *Australasian Plant Pathology*, 2012, 41(6): 661-663.
- [20] Zhang W, Sun Z R. Random local neighbor joining: a new method for reconstructing phylogenetic trees[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2008, 47(1): 117-128.
- [21] 谭汝城, 欧阳加敏, 卢晓莉, 等. 接种植物乳杆菌和戊糖片球菌发酵对鱼鲑品质的影响[J]. *食品科学*, 2007, 28(12): 268-272.
- TAN Rucheng, OUYANG Jiamin, LU Xiaoli, et al. Fermentation Conditions of Yuzha by Inoculated *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*[J]. *Food Science*, 2007, 28(12): 268-272
- [22] 韩庆功, 崔艳红, 王元元, 等. 植物乳杆菌的生理特性及体外益生效果研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2018, (3):4 2-46.
- HAN Qinggong, CUI Yanhong, WANG Yuanyuan, et al. Physiological characteristics of *Lactobacillus plantarum* and its beneficial effects in vitro[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2018, (3): 42-46.
- [23] 汤水平, 朱泽瑞, 谢伟岸, 等. 腌制藜头发酵过程中乳酸菌的鉴定及生物学特性比较研究[J]. *食品工业科技*, 2008, 29(5): 128-130.
- TANG Shuiping, ZHU Zerui, XIE Weian, et al. Identification and biological characteristics of lactic acid bacteria from the natural fermentation of *Allium bakei*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2008,29(5):128-130
- [24] Zhang Y, Yang J M, Liu Y, et al. A novel bacteriocin PE-ZYB1 produced by *Pediococcus pentosaceus* zy-B isolated from intestine of *Mimachlamys nobilis*: purification, identification and its anti-listerial action[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 118(1): 108760.
- [25] Karyantina M, Anggrahini S, Utami T, et al. Moderate halophilic lactic acid bacteria from Jambal roti: a traditional fermented fish of central Java, Indonesia[J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2020, 29(1):1-11.
- [26] Shen Y, Wu Y, Wang Y, et al. Contribution of autochthonous microbiota succession to flavor formation during Chinese fermented mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)[J]. *Food Chemistry*, 2021, 348(2):129107.
- [27] 吴燕燕, 王悦齐, 李来好, 等. 基于电子鼻与 HS-SPME-GC-MS 技术分析不同处理方式腌干带鱼挥发性风味成分[J]. *水产学报*, 2016, 40(12): 1931-1940.
- WU Yanyan, WANG Yueqi, LI Laihao, et al. Analysis of volatile components in various cured hairtail by electronic nose and HS-SPME-GC-MS[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(12): 1931-1940.
- [28] 庞一扬, 余远江, 袁桃静, 等. 腌鱼腌制过程中挥发性成分的变化分析[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(8): 281-289.
- PANG Yi-yang, YU Yuan-jiang, YUAN Tao-jing, et al. Analysis of volatile compounds changes of cured fish during the curing Process[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(8): 281-289.