

# 短乳杆菌发酵鲢鱼块工艺参数的优化研究

赵德畅, 宁喜斌

(上海海洋大学 食品学院, 上海 201306)

**摘要:**以鲢鱼为主要原料,短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*) X14 为发酵剂,根据对发酵液 pH 的影响,通过单因素试验,确定最适发酵参数范围(食盐添加量、蔗糖添加量、接种量和发酵温度)。在此基础上通过  $L_{16}(4^5)$  正交试验,以食盐添加量、蔗糖添加量、接种量、发酵温度和发酵时间为因素,以鱼肉 pH 和 AN 为指标确定最佳工艺参数。结果表明:乳酸菌发酵鱼肉制品最佳发酵工艺参数为,食盐添加量 2%、蔗糖添加量 2%、接种量  $1\%(1 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1})$ 、发酵时间 20 h、发酵温度为  $42^\circ\text{C}$ ;对此工艺参数下的发酵鲢鱼产品通过 9 级评分法进行感官评价,评分结果较高,可以作为最佳发酵工艺参数。

**关键词:**鱼;乳酸菌;发酵

**中图分类号:**TS251.65

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2010)11-0103-05

发酵是一种最古老的食品加工方法,用于食品加工既有效又经济。虽然发酵肉制品有着悠久的历史,但直到 20 世纪才出现人工添加微生物发酵剂用于肉品加工。日本的科研人员经对发酵食品的长期研究得知,它的真正魅力在于其有与药品媲美的奇特功效。故日本的保健医师们建议现代人应该提醒自己每天摄取一种发酵食品,这样可以维持健康、促进长寿<sup>[1-3]</sup>。

发酵鱼制品是一种新型的鱼类加工方法,它是利用乳酸菌等微生物对鱼体进行发酵,使其产生一定的风味并能在室温下保藏较长时间。由此改进鱼制品加工工艺,使其科学化,长期贮藏,方便食用,并增加商业价值<sup>[4]</sup>。传统的发酵鱼制品多采用自然发酵方法进行手工作坊式生产,存在着发酵时间长、产品质量稳定性差、安全性低的问题,并且由于其缺乏包装等商品化处理手段,难以形成商品,阻碍了发酵鱼的产业化。因此,对发酵鱼肉制品进行深入系统化的研究,实现加工技术产业化、规模化的研究迫在眉睫<sup>[5]</sup>。该文以短乳杆菌 X14 为发酵剂对鲢鱼鱼块进行发酵,并对其发酵条件进行优化,以得到最佳工艺参数。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

原料为市售新鲜鲢鱼。菌种为短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*) X14,试验室保存。

培养基为灭菌牛奶,用于菌种的活化和制备发酵剂。基础发酵液为食盐添加量 3%、蔗糖添加量 3%、种子液为  $1 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。主要设备:台式 pH 精密测试仪(德国 WTW)等。

### 1.2 方法

**1.2.1 发酵方式的选择** 将短乳杆菌 X14 在灭菌牛奶中活化 3 次后,分别取 1 mL 培养 24 h 的短乳杆菌 X14 牛奶培养液,以涂抹式(直接将培养液涂抹在鱼块上)、肌肉注射式(用一次性注射器将培养液注入鱼块内)和浸泡式(直接将培养液投入灭菌水中)对鱼体进行接种发酵,于  $150^\circ\text{C}$  烘烤 0.5 h,冷却后通过感官评定确定适合于发酵鱼生产的发酵方式。

**1.2.2 产品加工工艺** 加工工艺过程见图 1,其中原料处理是将新鲜鲢鱼进行去头、去尾、去内脏、去鱼鳞处理后,沿鱼脊骨将鱼体剖成两片,切成 7 cm 见方小块(约 50 g),待用。

接种与发酵是将蔗糖、食盐按照一定比例配制,置于 500 mL 烧杯中,烧杯口用干净纱布扎紧, $121^\circ\text{C}$  灭菌 20 min,冷却待用(挥发水分忽略不计)。蔗糖、食盐添加量以及接种量均按照水和鱼块总质量的百分数进行计算。

收稿日期:2010-08-10

基金项目:上海市教育委员会重点学科建设资助项目(J50704)

第一作者简介:赵德畅(1986-),女,黑龙江省伊春市人,在读硕士,从事食品安全研究。E-mail:chang\_0719@yahoo.com.cn。

通讯作者:宁喜斌(1964-),男,博士,教授,从事微生物学、食品安全研究。E-mail:xbning@shou.edu.cn。

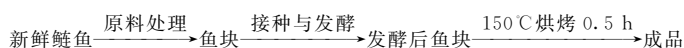


图1 加工工艺流程

1.2.3 单因素试验设计 根据感官评价评分,采用浸泡方式进行发酵。将处理好的鲢鱼块加入发酵液中,基础发酵条件为食盐添加量3%、蔗糖添加量3%、种子液为 $10^7\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。每次取一个变量,控制其它因素不变,分别考察发酵温度、盐添加量、糖添加量和接种量对发酵液pH的影响,各因素水平取值见表1。

表1 短乳杆菌发酵鲢鱼工艺单因素试验设计

因素	水平					
发酵温度/ $^{\circ}\text{C}$	25	30	34	37	40	45
盐添加量/%	1	2	3	4	5	6
糖添加量/%	1	2	3	4	5	6
接种量/%	1	2	3	4	5	6

1.2.4 正交试验 为确定发酵鱼生产的最佳工艺条件,结合对单因素试验结果的分析,以食盐添加量、蔗糖添加量、乳酸菌接种量、发酵时间和发酵温度为因素设计 $L_{16}(4^5)$ 正交试验(见表2),通过正交试验得到最佳工艺参数,并在最佳工艺参数条件下制得鱼块,同时制作未添加乳酸菌的鱼块,对两者进行感官评定,通过比较判断乳酸菌发酵鱼工艺的可接受性。

表2 短乳杆菌发酵鲢鱼工艺正交试验设计

水平	因素				
	A 盐添加量/%	B 糖添加量/%	C 接种量/%	D 发酵时间/h	E 发酵温度/ $^{\circ}\text{C}$
1	0	1	1	12	34
2	1	2	2	16	37
3	2	3	3	20	40
4	3	4	4	24	42

1.2.5 测定方法 pH的测定:正交试验采用GB/T 9695.5-2008中pH的测定方法<sup>[6]</sup>;单因素试验:用pH计测量其发酵液pH。氨基酸氮含量的测定参考文献<sup>[7]</sup>的方法;产品感官评定:由经过感官分析优选评价员培训选拔出的10名专业人员组成感官评价小组,分别从色泽、组织形态、风味方面对产品进行打分,然后计算该产品的平均得分,作为该产品感官评价的最终得分。评定采用Williams等的9级评分法<sup>[8]</sup>进行,即9级极好、8级很好、7级好、6级次好、5级一般、4级一般以下、3级差、2级很差、1级极差。评分 $>5$ 为可接受。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵方式的确定

利用涂抹式、肌肉注射式、浸泡式3种发酵方式分别发酵鲢鱼,经烘烤制得3种鱼块,通过感官评价对样品进行打分(见表3)。从评分结果可以看出,通过浸泡方式生产的产品从颜色、味道、酸度、质构方面都明显优于其它发酵方式,因此该试验采用浸泡方式进行发酵。浸泡方式是添加以牛奶为培养基的发酵剂到灭菌发酵液中,让鱼块浸泡在充满乳酸菌的发酵液中,发酵剂与鱼块充分接触,提高发酵效果。

表3 不同发酵方式产品品质评价

发酵方式	产品品质感官特性描述	打分
涂抹式	色泽香味一般,酸味适中,组织紧密	6.9
肌肉注射式	色泽香味淡,酸味淡,组织疏松,有腥味	6.2
浸泡式	色泽香味浓厚,酸味适中,组织紧密	7.7

### 2.2 单因素试验结果

发酵液pH是反应发酵过程的一个主要因素,掌握发酵过程中pH的变化规律,有利于对发酵过程进行合理有效地控制。因此,单因素试验以发酵液pH为指标,测定各因素中最适合乳酸菌生长产酸的范围。

2.2.1 发酵温度对发酵液pH的影响 发酵温度通过影响乳酸菌的生长和产酸等来影响产品发酵效果。图2是发酵温度对发酵液pH的影响,结果表明,发酵温度的升高,会缩短发酵液达到最低pH的时间。从图2还可看出当发酵温度在34~45 $^{\circ}\text{C}$ 时经过20h的发酵,发酵液pH降到4.5左右,并且不再随着时间的延长而降低。

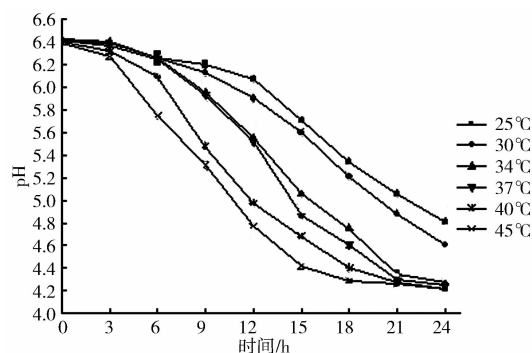


图2 发酵温度对发酵液pH的影响

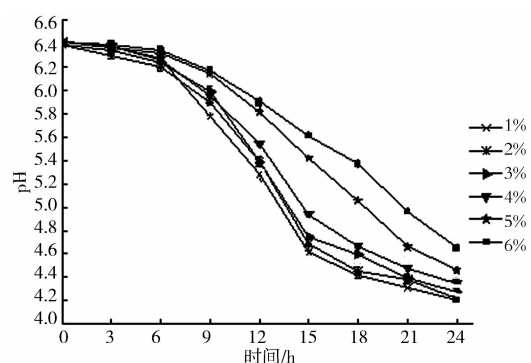


图3 盐添加量对发酵液 pH 的影响

2.2.2 盐添加量对发酵液 pH 的影响 盐的添加对于肉制品风味的形成和肉质的嫩化起到积极的作用,但是盐能降低肉的水分活度,影响微生物的渗透压,对其生长繁殖产生抑制作用。因此盐的添加量既要满足产品品质要求又要将对乳酸菌的抑制作用降到最低。图3是盐添加量对发酵液 pH 的影响,可以看出,随着盐添加量的增加,发酵液 pH 下降速度减慢,终 pH 增高;当盐浓度为 1%~3% 时对乳酸菌产酸抑制作用影响最小。因此,选择 1%~3% 的盐添加量为最佳参数范围。

2.2.3 糖添加量对发酵液 pH 的影响 蔗糖的添加是为了满足乳酸菌所需要的碳水化合物(见图4),在糖添加量为 1%~4% 时, pH 的下降速度以及终 pH 均高于 5% 和 6% 的添加量,并且蔗糖添加量在 1%~4%, 随着添加量的增高 pH 下降速度增快。作为微生物生长所必须的碳源需要向发酵液中大量投入,因此,选择成本较低的蔗糖有利于降低产品工业化生产的成本。

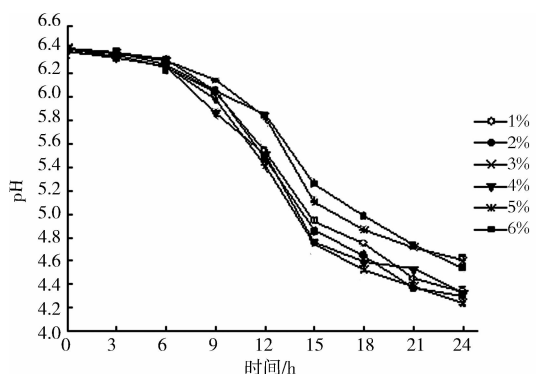


图4 糖添加量对发酵液 pH 的影响

2.2.4 接种量对发酵液 pH 的影响 由图5看出,随着发酵时间的延长,发酵液 pH 呈下降趋

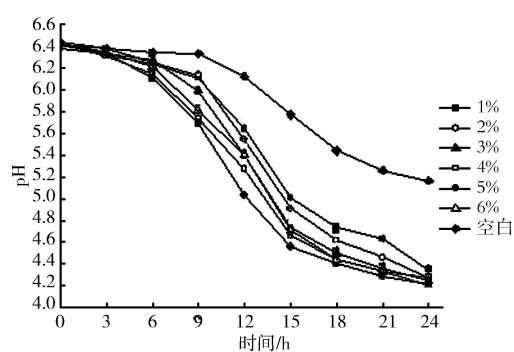


图5 接种量对发酵液 pH 的影响

势,随着发酵剂添加量的增大,发酵液 pH 下降速度加快。不添加发酵剂的空白对照组 pH 也随着发酵时间的推进有下降趋势,说明鲢鱼体本身就含有一定量的乳酸菌,所配制发酵液为乳酸菌的生长提供充足的营养,使其大量繁殖。但是为了使乳酸菌成为发酵优势菌,必须使其初始浓度达到  $1 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$  以上,因此,需要添加发酵剂以保证乳酸菌在发酵初期成为优势菌。

### 2.3 正交试验结果与分析

从盐浓度、糖浓度、接种量、发酵温度、发酵时间 5 个因素的不同水平综合考虑对发酵鱼的 pH 和 AN 值的变化(见表4)。

2.3.1 发酵条件对产品 pH 的影响 pH 是氢离子浓度的负对数,它表示了氢离子的实际浓度。pH 是反应发酵过程的一个主要因素,鱼体 pH 是乳酸菌在代谢活动的综合指标,是一项重要的发酵参数,对菌体的生长和代谢产物的积累有很大的影响,所以正交试验采用 pH 作为检验产品品质的一项重要指标。表4是发酵条件对产品 pH 的影响,从中可以看出,各因素对产品 pH 影响的主次顺序为  $E > D > C > A > B$ ,即发酵温度、发酵时间、接种量、盐浓度、糖浓度。研究表明,在工艺条件  $A_4 B_2 C_1 D_2 E_4$  时,即盐浓度为 3%、糖浓度 2%、接种量 1%、发酵时间 16 h、发酵温度  $42^\circ\text{C}$  时,最有利于产品 pH 的降低。

### 2.3.2 发酵条件对产品氨基酸态氮 AN 的影响

氨基酸态氮指的是以氨基酸形式存在的氮元素含量。该指标越高,说明肉制品中的氨基酸含量越高,鲜味越好。从表4可知对于影响发酵鱼肉制品氨基酸态氮的因素主次顺序为  $D > E > C > A > B$ ,即发酵时间、发酵温度、接种量、盐浓度、糖

浓度。在试验范围内,随着发酵时间的延长,氨基酸态氮的值升高,但是发酵时间的延长,会导致肉质松散,肌肉蛋白析出,影响产品品质。在工艺条

件  $A_3B_4C_4D_3E_1$  时,即盐浓度 2%、糖浓度 4%、接种量 4%、发酵时间 20 h、发酵温度 34℃ 时,有利于产品氨基酸态氮的提高。

表 4 短乳杆菌发酵鲢鱼工艺正交试验的结果与分析

序号	A 盐浓度 /%	B 糖浓度 /%	C 接种量 /%	D 发酵时间 /h	E 发酵温度 /℃	pH	AN /mg•(100 g) <sup>-1</sup>
1	0	1	1	12	34	4.64	40.86
2	0	2	2	16	37	4.65	54.92
3	0	3	3	20	40	4.42	55.89
4	0	4	4	24	42	4.21	57.35
5	1	1	2	20	42	4.40	45.22
6	1	2	1	24	40	4.30	50.07
7	1	3	4	12	37	4.49	41.58
8	1	4	3	16	34	4.49	55.16
9	2	1	3	24	37	4.54	51.04
10	2	2	4	20	34	4.51	68.50
11	2	3	1	16	42	4.16	53.47
12	2	4	2	12	40	4.48	46.43
13	3	1	4	16	40	4.44	53.71
14	3	2	3	12	42	4.29	45.46
15	3	3	2	24	34	4.50	56.33
16	3	4	1	20	37	4.43	53.47
对产品发酵液 pH 的分析:							
k1	4.4800	4.4475	4.3825	4.4750	4.5350		
k2	4.4200	4.4375	4.5075	4.3775	4.5275		
k3	4.4225	4.4575	4.5000	4.5050	4.4175		
k4	4.4150	4.4600	4.4125	4.4450	4.3225		
R	0.0650	0.0225	0.1250	0.1275	0.2125		
因素次序					E>D>C>A>B		
					A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub> E <sub>4</sub>		
对产品 AN 的分析:							
k1	49.755	50.2075	49.4675	43.5825	55.2125		
k2	50.5075	52.2375	50.725	51.815	47.7525		
k3	54.86	51.8175	51.8875	58.27	51.525		
k4	52.2425	53.1025	55.285	53.6975	52.875		
R	5.105	2.895	5.8175	14.6875	7.460		
因素次序					D>E>C>A>B		
					A <sub>3</sub> B <sub>4</sub> C <sub>4</sub> D <sub>3</sub> E <sub>1</sub>		

2.3.3 工艺参数的综合确定 通过对正交试验结果进行分析可知,对发酵液 pH 影响最大的是发酵温度,其对应温度为 42℃,而 42℃ 时产品 AN 值在可接受范围内;当发酵时间为 20 h 时,产品 AN 会得到较高参数;盐添加量对 AN 和 pH 影响不大;糖添加量对 3 个指标的影响都不大,为保证乳酸菌碳源充足,蔗糖添加量为 2% 时,产品 pH 降低较快;而 1% 的接种量完全可以令乳酸菌成为发酵过程中的优势菌。因此,综合

试验结果认为乳酸菌发酵鱼制品的最佳工艺条件为:盐浓度 2%、糖浓度 2%、接种量 1%、发酵时间 20 h、发酵温度为 42℃。

## 2.4 感官评定

根据最佳工艺条件对鲢鱼块进行发酵后蒸熟,同时以未发酵鲢鱼块为对照进行感官评定(见表 5)。从评定结果可以看出,发酵后的鲢鱼无论从颜色、味道、形态上都优于未发酵鲢鱼,此发酵参数制作出的发酵鲢鱼品质较好。

表 5 短乳杆菌发酵鲢鱼感官评价

品名	各产品品质感官特性描述	打分
发酵鲢鱼	色泽香味浓厚,酸味适中,组织紧密,无明显腥味。	8.2
未发酵鲢鱼	色泽香味一般,无酸味,组织紧密,有腥味。	7.5

3 结论与讨论

根据单因素试验得到的最佳发酵条件范围设计  $L_{16}(4^5)$  正交试验,以食盐添加量、蔗糖添加量、接种量、发酵温度和发酵时间为因素,以 pH 和 AN 为指标确定乳酸菌发酵鲢鱼块的最佳工艺参数为盐浓度 2%、糖浓度 2%、接种量 1%、发酵时间 20 h、发酵温度为 42℃。

发酵鱼制品种类繁多,有鱼露、鱼香肠等,但是采用鲢鱼作为原材料加工成鱼块形式的文献却未见报道。该文采用价格较低的鲢鱼为原材料,降低成品,增加产品附加值,有利于将加工技术进行产业化和规模化推广;采用高温发酵的方式进行发酵,培养温度不仅影响乳酸菌的生长,还影响代谢产物的产量和质量,以及产品的酸度、风味和组织状态<sup>[9]</sup>。我国传统发酵肉制品多采用低温发酵的方式,但是存在着发酵周期长、安全性低等问题。采用高温发酵的方式进行发酵缩短了发酵时间,提高生产效益,适应现代化工业生产需要;浸泡方式发酵,将待发酵鱼块放入充满发酵剂的发酵液中进行发酵,鱼块与发酵剂充分接触,提高发酵效果;低盐发酵,我国传统的发酵性腌制食品一般都采用高盐分(15%)长时间的腌渍工艺,但是食盐添加量过多会影响产品的风味和口味,也会对人的健康造成影响<sup>[10]</sup>。因此利用乳酸菌低盐发酵既加快了发酵速度,抑制了有害微生物,又降

低了盐的过量食用对人体造成的伤害,符合现代人的健康饮食观;短乳杆菌为发酵剂可以去除亚硝酸盐<sup>[11]</sup>。该试验未添加硝酸盐和亚硝酸盐作为发色剂,但是鱼肉中本身含有一定量的硝酸盐,为防止发酵过程中转化为亚硝酸盐,采用短乳杆菌为发酵剂,可以减少亚硝酸盐的残留。

参考文献:

[1] 霍贵成. 乳酸菌的研究与应用[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007.

[2] 张滨,陈红梅,马美湖. HACCP 在传统发酵鱼生产中的应用研究[J]. 中国食物与营养,2008(3):24-27.

[3] 蔡敬敬,徐宝才. 乳酸菌发酵鱼的研制[J]. 肉类工业,2008(11):22-24.

[4] 张刚. 乳酸细菌——基础、技术和应用[M]. 北京:化学工业出版社,2006.

[5] Achinewhu S C, Oboh C A. Chemical, microbiological and sensory properties of fermented fish products from *Sardinella* sp. in Nigeria [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2002, 11(2):53-59.

[6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准(GB/T 9695.5-2008,肉与肉制品 pH 测定)[S]. 北京:中国标准出版社,2008.

[7] 薛慧文. 肉品卫生监督与检验手册[M]. 北京:金盾出版社,2003.

[8] Williams S K, Rodrick G E, West R L. Sodium Lactate Affects Shelf Life and Consumer Acceptance of Fresh Catfish(*Ictalurus nebulosus*, *marmoratus*) Fillets under Simulated Retail Conditions [J]. Journal of Food Science, 1995, 60(3):636-639.

[9] 熊素玉,姚新奎,谭小海,等. 不同温度及 pH 条件对乳酸菌生长影响的研究[J]. 新疆农业科学,2006,43(6):533-538.

[10] 陈惠音,杨汝德. 超低盐多菌种快速发酵腌菜技术[J]. 食品科学,1994(5):18-21.

[11] 张庆芳,迟乃玉,郑学仿,等. 短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)去除亚硝酸盐的研究[J]. 微生物学通报,2004,31(2):12-15.

Optimization of Process Parameters of the Fermented Fish with Lactic Acid

ZHAO De-chang, NING Xi-bin

(Food Science and Technology College of Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

**Abstract:** The process of fermented chub was studied by using *Lactobacillus brevis* X14 as fermentation. The optimum salt addition, sugar addition, fermentation addition, temperature and time were defined by the single factors test and the  $L_{16}(4^5)$  orthogonal experiment. According to the effect on pH of fermentation liquor, the optimum formula was carried out according to the pH and AN to the fermented fish. The results showed that the optimum conditions were as follows: salt 2%, sugar 2%, fermentation 1% ( $1 \times 10^6$  CFU·mL<sup>-1</sup>), fermented time 20 h, fermented temperature 42℃. Sensory evaluation under this optimum conditions could gain high scores.

**Key words:** fish; lactic acid bacteria; ferment