

乳酸菌发酵对鳙鱼肉糜菌相与品质的影响

王乃富, 李春阳*, 阎征, 蒋宁, 刘文旭

(江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014)

摘要: 以不同乳酸菌菌株发酵鳙鱼肉糜, 对其发酵过程中菌相和品质变化进行分析。结果表明: 乳酸菌发酵可显著降低鳙鱼肉糜的 pH 值, 抑制腐败菌的生长, 降低挥发性盐基氮的生成量, 同时还可增强鳙鱼肉糜的凝胶强度和白度。SDS-PAGE 分析表明, 乳酸菌发酵可促进鳙鱼肉糜蛋白质的降解。

关键词: 鳙鱼肉糜; 乳酸菌; 发酵; 微生物; 品质

Effect of Lactic Acid Fermentation on Microflora and Physico-chemical Properties of Minced Bighead Carp

WANG Nai-fu, LI Chun-yang*, YAN Zheng, JIANG Ning, LIU Wen-xu

(Institute of Farm Product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Minced bighead carp was fermented by different strains of lactic acid bacteria and the changes in its microflora and physico-chemical properties during fermentation were analyzed. The results showed that lactic acid fermentation could notably decrease the pH of minced bighead carp and inhibit the growth of other microorganisms such as spoilage bacteria. Meanwhile, the content of TVB-N in minced bighead carp was reduced and its gel strength and whiteness were enhanced. SDS-PAGE studies indicated that lactic acid fermentation could propel the decomposition of protein in the minced bighead carp.

Key words: minced bighead carp; lactic acid bacteria; fermentation; microflora; properties

中图分类号: TS254.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)07-0092-05

我国淡水渔业资源十分丰富, 其产量约占世界总产量的 2/3^[1]。在我国的淡水养殖品种结构中, 鳙鱼 (*Aristichthys nobilis*) 是养殖规模最大的品种^[2]。大量研究表明, 鳙鱼中蛋白质含量较高, 氨基酸构成模式接近人体需要, 是优质的动物蛋白资源^[3]。但由于受传统消费习惯的影响, 鳙鱼鱼身和鱼尾部分价格相对较低, 生产效益不高。因此, 采用新的加工技术, 提高鳙鱼肉的功能与品质, 增加产品的附加值, 已成为当前淡水鱼业加工亟待解决的问题。

将乳酸菌发酵应用于鱼制品加工已受到广泛的研究和关注。Aryanta 等^[4]以乌鱼为原料, 利用乳酸菌进行发酵, 抑制了腐败菌及病原菌的生长。张凤宽等^[5]利用乳酸菌发酵生产鲢鱼肉香肠, 发现发酵能促进蛋白质分解, 抑制有害菌的生长, 延长产品保藏期, 并使产品获得独特风味。廖贞如^[6]以乳酸菌发酵鲢鱼肉糜, 可抑制鲢鱼鱼糜中挥发性盐基氮(TVB-N)的生成, 促进蛋白质的降解, 并且该发酵产品具有降血压、血糖及血胆固醇等功效。但是, 这些研究主要采用海水鱼作为原

料, 对淡水鱼糜中特别是鳙鱼肉糜中乳酸菌的发酵特性, 发酵对鱼肉糜的风味、口感、凝胶强度和蛋白质的影响等方面则较少报道。因此, 本研究以乳酸菌发酵鳙鱼肉糜, 探讨乳酸菌发酵对鳙鱼肉糜菌相和品质变化的影响, 为乳酸菌发酵鳙鱼肉制品的生产提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

选取 0.5kg 以上新鲜鳙鱼, 购于南京孝陵卫菜市场, 去头尾、内脏、鳞后, 采肉, 匀浆, 备用。

1.2 菌种

植物乳杆菌 L3 (*Lactobacillus plantarum* L3, 简称 L3)、植物乳杆菌 L8 (*Lactobacillus plantarum* L8, 简称 L8)、保加利亚乳杆菌 (*Lactobacillus bulgaricus*, 简称 Lb)、嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*, 简称 St) 和干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei* Lc35, 简称 Lc35) 均由江苏省农业科学院农产品加工研究所功能食品组保藏。

收稿日期: 2010-07-14

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目(cx(08)143)

作者简介: 王乃富(1977—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: naifuwang@163.com

* 通信作者: 李春阳(1966—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为功能食品。E-mail: lichunyang968@126.com

1.3 仪器与设备

TGL-16C型高速离心机 上海安亭科学仪器厂; S20型 pH 计 瑞士 Merrler-Toledo 公司; TMS-Pro 质构仪 美国 FTC 公司; T25 basic 匀浆机 德国 KIA 公司; SPX-250B-Z 型生化培养箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; Mini-protein 电泳系统 美国 Bio-Rad 公司。

1.4 发酵剂的制备

将已活化乳酸菌菌液以体积分数 3% 接种量接种于 MRS 液体培养基中, 37℃ 培养至对数生长期末期, 4℃、8000 × g 离心 20min, 收集菌体。将菌体悬浮于已灭菌的 0.85g/100mL 生理盐水中, 离心收集沉淀, 再悬浮于已灭菌的生理盐水中, 备用。

1.5 乳酸菌发酵鳙鱼肉糜的制备

将制备好的鳙鱼肉糜以 3mL/100g 的接种量接种乳酸菌发酵剂, 搅拌均匀后, 置于 100mL 烧杯中, 37℃ 密闭发酵至 40h, 每隔 8h 取样, 进行菌相和品质分析。

1.6 指标测定

1.6.1 菌相测定

菌相测定参照鲁长豪^[7]的方法: 细菌总数用 PCA 平板计数培养基, 30℃ 培养 48h; 乳酸菌采用 MRS 培养基, 37℃ 培养 48h; 假单胞菌采用 PAS 琼脂培养基, 30℃ 培养 72h; 肠杆菌用 EC 培养基, 37℃ 培养 24h。

1.6.2 pH 值测定

取 10g 样品在研钵中研细后加入 90mL 蒸馏水, 浸提 20min, 过滤后取滤液用 pH 计测定。

1.6.3 一般成分分析

水分含量测定: GB5497—85《粮食、油料检验 水分测定法》中的 105℃ 恒质量法; 粗蛋白含量测定: GB5511—1985《粮食、油料检验 粗蛋白质测定法》中的微量凯氏定氮法; 粗脂肪含量测定: GB5512—1985《粮食、油料检验 粗脂肪测定法》中的索氏抽提法; 灰分含量测定: GB5505—85《粮食、油料检验 灰分测定法》中的 550℃ 灼烧法。

1.6.4 品质指标测定

TVB-N 的测定: 采用微量扩散法^[7]。

凝胶强度的测定: 参照邵懿^[8]的方法, 将发酵鱼糜切为高度为 3.0cm 的小段, 采用质构仪测量凝胶强度。记录破断强度和凹陷度, 测定条件为: 探头为直径 5mm 的球形探头, 下压速率为 60mm/min。

凝胶强度 $I(g \cdot cm) = \text{破断强度} / g \times \text{凹陷度} / cm$

白度的测定: 参照 Benjakul 等^[9]方法, 测定鱼糜凝胶的 L^* 、 a^* 、 b^* 值, 白度 $= 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$, 式中: 明度 L^* 为暗黑色(0)到明亮色(100), a^* 为红色(60)到绿色(-60), b^* 为黄色(60)到蓝色(-60)。

1.6.5 乳酸菌发酵对鳙鱼肉糜蛋白质的影响

氨基酸态氮(ANN)测定: 采用甲醛滴定法^[7]。

水溶性和盐溶性蛋白的制备^[10]: 取 10g 发酵鳙鱼肉糜与 90mL 4℃ 预冷水混合, 均质机均质 2min 后, 于 5000 × g 离心 20min, 收集上清液即为水溶性蛋白。上述所得沉淀加入 5 倍质量 4℃ 冷却的磷酸缓冲液(pH7.2, 含 0.6mol/L KCl), 于 4℃ 搅拌 15min 使其溶解后, 以 5000 × g 离心 20min, 收集上清液即为盐溶性蛋白。

电泳分析: 依据汪家政等^[11]方法进行, 胶体厚度为 1.0mm, 浓缩胶 4%, 分离胶 10%。采用考马斯亮蓝染色法, 进行固定、染色和脱色。

2 结果与分析

2.1 发酵过程中 pH 值的变化

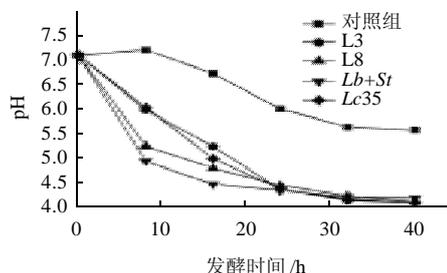
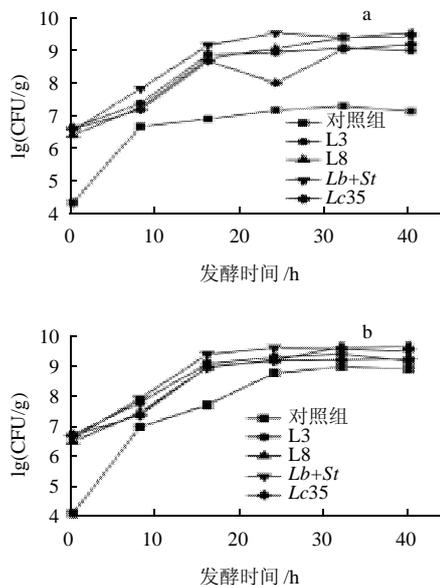


图 1 不同乳酸菌对鳙鱼肉糜发酵过程中 pH 值变化的影响
Fig.1 Change in pH of minced bighead carp during fermentation

如图 1 所示, 鳙鱼肉糜添加乳酸菌发酵剂, 随着发酵时间的延长, pH 值迅速下降, 发酵 40h 时, pH 值下降至 4.07~4.35。而未添加发酵剂的对照组 pH 值则略有下降, 发酵 40h 时 pH 值为 5.57。上述结果表明, 乳酸菌可利用鳙鱼肉糜为基质进行发酵, 乳酸菌迅速增殖, 分解糖后产酸, 使得 pH 值迅速下降, 从而有可能抑制鳙鱼肉糜中腐败菌和致病菌的生长。

2.2 发酵过程中菌相的变化



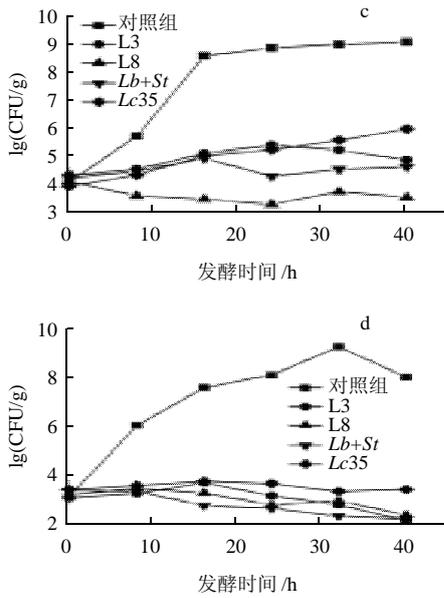


图2 不同乳酸菌对鲮鱼肉糜发酵过程中菌相变化的影响
Fig.2 Change in microflora of minced bighead carp during fermentation

如图2所示,随着发酵时间的延长,对照组与实验组的细菌总数均显著增加,但实验组增加更为迅速。发酵36h时,对照组细菌总数为 10^8 CFU/g,而实验组均达到 10^9 CFU/g以上。与对照组相比,添加发酵剂的实验组乳酸菌数迅速增加,发酵24h后,乳酸菌均可达到 10^9 CFU/g,而对照组仅为 10^7 CFU/g。与此同时,添加乳酸菌发酵剂可有效抑制鲮鱼肉糜肠杆菌和假单胞菌的增长,而对照组两者却增加迅速。类似的结果也见于乳酸菌发酵猪肉或牛肉香肠中。于长青等^[12]以植物乳杆菌和啤酒酵母发酵牛肉香肠,发现添加发酵剂可显著增加香肠中的乳酸菌数,同时可有效抑制其中肠杆菌的数量。Huang等^[13]在中式猪肉香肠中接种 10^6 CFU/g的乳酸菌于 30°C 条件下发酵24h,发现香肠中的乳酸菌数会迅速地由 10^6 CFU/g增加到 10^8 CFU/g,而假单胞菌、革兰氏阴性菌以及肠杆菌的生长明显地受到抑制。

2.3 鲮鱼肉糜中一般成分的变化

表1 鲮鱼肉糜一般成分的变化

Table 1 Effect of fermentation with different lactic acid bacteria on proximate composition of minced bighead carp

组别	水分含量/%	粗蛋白含量/%	粗脂肪含量/%	灰分含量/%
鲮鱼肉糜	80.12 ± 0.15	18.01 ± 0.21	5.04 ± 0.13	1.05 ± 0.07
L3	77.09 ± 0.21	18.54 ± 0.30	6.11 ± 0.42	1.12 ± 0.03
L8	75.95 ± 0.32	19.15 ± 0.14	6.64 ± 0.38	1.09 ± 0.05
Lb+St	76.36 ± 0.09	19.12 ± 0.18	6.08 ± 0.26	1.14 ± 0.12
Lc35	78.64 ± 0.17	18.54 ± 0.23	5.97 ± 0.17	1.08 ± 0.02
对照组	75.73 ± 0.22	19.68 ± 0.19	6.71 ± 0.29	1.09 ± 0.08

表1显示,乳酸菌发酵对鲮鱼肉糜水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分的含量影响不大,这与胡永金等^[14]以乳酸菌发酵鲮鱼肉浆的结果是一致的。

2.4 乳酸菌发酵对鲮鱼肉糜品质的影响

2.4.1 TVB-N值的变化

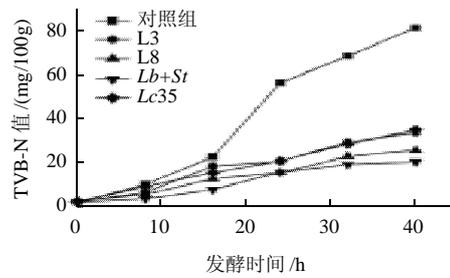


图3 不同乳酸菌对鲮鱼肉糜发酵过程中TVB-N值变化的影响
Fig.3 Change in TVB-N of minced bighead carp during fermentation

TVB-N是指动物性食品在腐败过程中,由于细菌和酶的作用,蛋白质分解而形成的氨以及胺类等碱性含氮物质。此类物质具有挥发性,与动物性食品腐败程度之间有明确的对应关系,是衡量肉类腐败变质的重要指标^[15]。发酵过程中TVB-N值的变化见图3,实验组的TVB-N值远低于对照组的水平。说明由于乳酸菌的迅速增殖,鲮鱼肉糜的pH值降低,抑制了肠杆菌和假单胞菌等腐败菌的生长,而它们能利用游离氨基酸等含氮化合物产生挥发性含氮成分,从而降低了产品的TVB-N值。

2.4.2 凝胶强度和白度的变化

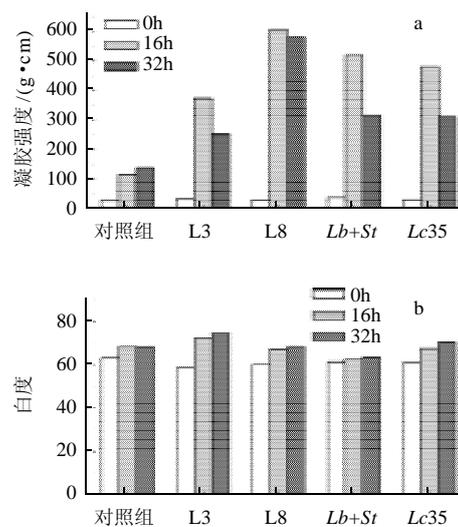


图4 不同乳酸菌对鲮鱼肉糜发酵过程中凝胶强度(a)和白度(b)变化的影响
Fig.4 Changes in gel strength and whiteness of minced bighead carp during fermentation

鱼糜制品凝胶性的强弱是衡量其质量优劣的一个最重要的指标。图4所示为乳酸菌发酵对鳙鱼肉糜凝胶强度的影响,接种乳酸菌发酵剂可增强鳙鱼肉糜的凝胶强度,发酵24h后,其凝胶强度为374.1~482.8g·cm,而对照组仅为115.8g·cm。类似的结果见于乳酸菌发酵吴郭鱼糜中^[10]。不同加工条件或加工方式凝胶的形成机制有所不同,其中pH值是影响凝胶形成的一个重要因素。Riebroy等^[16]和Fretheim等^[17]报道鱼肉香肠的逐渐酸化是其形成优良凝胶的主要原因。发酵过程中,乳酸菌分解糖等碳水化合物获得自身生长繁殖的碳源,并经过EMP酵解途径将碳水化合物降解为乳酸等产物,乳酸的产生会造成鱼肉糜蛋白质的pH值接近等电点,降低了蛋白质保水性,水分减少,水作为蛋白质隔离物的作用下降,蛋白质絮凝和肉颗粒互相接近使纺锤型蛋白质结构发生一系列变化,分子之间相互作用,产生新的连接,最终形成三维网状凝胶结构。此外,詹淑云^[18]报道乳酸菌所产胞外黏性物质亦可加强鱼肉香肠的凝胶强度。与凝胶强度的增强相类似,乳酸菌发酵亦可增加鳙鱼肉糜的白度。Yin等^[19]推测鱼肉白度的增加是因为蛋白质被乳酸菌蛋白酶水解,且因乳酸菌代谢生成乳酸等有机酸造成pH值下降,诱发鱼肉蛋白质凝胶所致。

2.5 乳酸菌发酵对鳙鱼肉糜蛋白质的影响

2.5.1 氨基酸态氮(AAN)含量变化

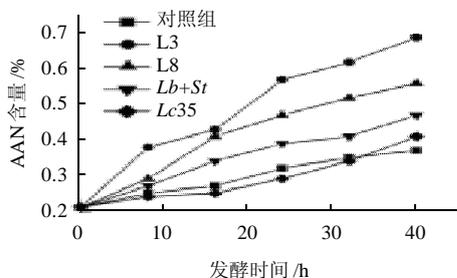


图5 不同乳酸菌对鳙鱼肉糜发酵过程中AAN含量变化的影响
Fig.5 Change in AAN in minced bighead carp during fermentation

乳酸菌发酵肉制品在成熟期间,蛋白质发生降解生产多肽、游离氨基酸等物质,从而使肉制品中AAN含量提高,氨基酸与寡肽等成分协同作用,能有效地促进发酵肉制品风味的形成。如图5所示,发酵40h时与对照组相比,添加发酵剂组的AAN含量都有不同程度的增加,表明发酵剂的添加更有利于鳙鱼肉糜中蛋白质降解为肽或氨基酸,从而有助于产品最终风味的形成和营养价值的改善。

2.5.2 SDS-PAGE分析

鳙鱼肉糜发酵40h后,分别提取其水溶性和盐溶性

蛋白,进行SDS-PAGE电泳,结果如图6所示。

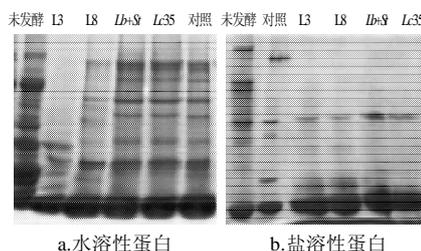


图6 不同乳酸菌发酵鳙鱼肉糜中水溶性蛋白(a)和盐溶性蛋白(b)的SDS-PAGE电泳图

Fig.6 SDS-PAGE profile of water-soluble protein and salt soluble protein in minced bighead carp

图6表明,水溶性蛋白或盐溶性蛋白在未发酵时均存在高分子蛋白质,发酵40h后,水溶性和盐溶性蛋白均存在不同程度的降解。与对照组相比,添加发酵剂的实验组蛋白降解更为明显。李平兰等^[20]研究表明,发酵香肠中蛋白质的水解反应主要由肉中本身的蛋白酶催化,这些酶包括钙激活酶和组织蛋白酶。尽管微生物酶具有一定水解蛋白质的能力,但相对于肉组织酶来说,微生物酶的活性要小得多。Kato等^[21]指出乳酸菌蛋白分解活性非常差,发酵香肠成熟期间蛋白质分解主要源自肉品本身的蛋白酶,添加乳酸菌之所以促进蛋白质的降解,可能是因为乳酸菌的添加,降低了肌肉pH值,从而提高肉中酸性蛋白酶的活性所致。

3 结论

以乳酸菌发酵鳙鱼肉糜,乳酸菌在鳙鱼肉糜中可得到迅速增殖,显著降低鳙鱼肉糜的pH值,抑制其中假单胞菌、肠杆菌等腐败菌的生长,抑制TVB-N的生产量,增加AAN的含量,同时还可增强鳙鱼肉糜的凝胶强度和白度。SDS-PAGE凝胶电泳显示,鳙鱼肉糜水溶性和盐溶性蛋白均存在不同程度的降解。综上所述,乳酸菌发酵是改善鳙鱼肉糜品质的一种有效方式。

参考文献:

- [1] 王锡昌. 中国水产品加工的当代思考[J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 10-15.
- [2] 李琳, 赵谋明, 吴敏芝. 鳙鱼抗氧化肽延缓衰老的研究[J]. 中国食品学报, 2007, 7(1): 43-47.
- [3] 袁晓晴, 戴志远, 叶婧, 等. 鳙鱼鱼肉蛋白的酶解工艺研究[J]. 食品科技, 2009, 34(2): 136-139.
- [4] ARYANTA R W, FLEET G H, BUCKLE K A. The occurrence and growth of microorganisms during the fermentation of fish sausage[J]. International Journal of Food Microbiology, 1991, 13(2): 143-155.
- [5] 张风宽, 王立哲. 发酵鱼肉香肠的研制[J]. 肉类研究, 1999, 13(2): 20-22.
- [6] 廖贞如. 利用乳酸菌发酵改善鱼肉特性[D]. 基隆: 国立台湾海洋大学, 2000.

- [7] 鲁长豪. 食品理化检验学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995.
- [8] 邵懿. 冷冻竹荚鱼(*Trachurus trachurus*)凝胶特性的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- [9] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, SRIVILAI C. Porcine plasma protein as proteinase inhibitor in bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) muscle and surimi[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2001, 81(10): 1039-1046.
- [10] 陈玉真. 乳酸菌发酵吴郭鱼保健食品产制技术及生理活性之探讨[D]. 基隆: 国立台湾海洋大学, 2005.
- [11] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [12] 于长青, 张丽娜. 发酵牛肉香肠中菌相变化和理化特性的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(3): 58-61.
- [13] HUANG C C, LIN C W. Change in quality of Chinese-style sausage inoculated with lactic acid bacteria during storage at 30 °C and 25 °C[J]. Journal of Food Protection, 1995, 58(11): 1227-1233.
- [14] 胡永金, 夏文水, 刘晓永. 不同微生物发酵剂对鲢鱼肉发酵香肠品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(6): 1790-1791.
- [15] 马德功. 发酵香肠中乳酸菌的分离、筛选及其应用[D]. 济南: 山东轻工业学院, 2008.
- [16] RIEBROY S, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, et al. Physical properties and microstructure of commercial Som-fug, a fermented fish sausage[J]. European Food Research and Technology, 2005, 220(5/6): 520-525.
- [17] FRETHEIM K, EGELANDSDAL B, HARBITZ O, et al. Slow lowering of pH induces gel formation of myosin[J]. Food Chemistry, 1985, 18(3): 169-178.
- [18] 詹淑云. 乳酸菌生产胞外黏性物质以及鱼与鱼肉浆乳酸菌发酵食品之探[D]. 基隆: 国立台湾海洋大学, 2001.
- [19] YIN L J, JIANG S T. *Pediococcus pentosaceus* L and S utilization in fermentation and storage of mackerel sausage[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(5): 742-746.
- [20] 李平兰, 沈清武, 孙成虎. 微生物酶与肉组织酶对干发酵香肠中游离氨基酸的影响[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(5): 134-138.
- [21] KATO T, TAHARA T, SUGIMOTO M, et al. Proteolysis in semi-dry fermented sausage[J]. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 1990, 7(9): 715-721.