

不同组合发酵剂对发酵鱼肠理化指标和抗氧化功能的影响

刘玉^{1,2}, 陈晓婷², 吴靖娜³, 刘智禹^{2*}, 周常义^{1*}

(¹集美大学海洋食品与生物工程学院 福建厦门 361021

²福建省水产研究所国家海水鱼类加工技术研发分中心(厦门)

福建省海洋生物增殖与高值化利用重点实验室 福建厦门 361013

³厦门医学院 福建厦门 361023)

摘要 以戊糖片球菌、植物乳杆菌和木糖葡萄球菌为发酵剂,做排列组合,探究不同的发酵剂组合对河鲀鱼肠发酵的理化指标和抗氧化功能的影响。结果显示:使用戊糖片球菌、植物乳杆菌和木糖葡萄球菌 3 种发酵剂组合制作的河鲀鱼肠,其 pH 值为 5.04,总酸度 6.02 mL/10 g,氨基酸态氮含量 0.72%,游离脂肪酸含量 147.54 $\mu\text{mol/g}$,中性蛋白酶活力 506.82 U/g,抑制羟自由基能力为 47.52 U/mg,抗超氧阴离子自由基能力为 477.16 U/g,均高于其它发酵剂组合组。使用多种发酵剂混合制作发酵河鲀鱼肠,不仅得到品质优良的发酵产品,而且比单独使用一种发酵剂更有利于发酵。

关键词 暗纹东方鲀;复合发酵剂;理化指标;抗氧化

文章编号 1009-7848(2025)01-0273-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2025.01.026

暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*) 一般体长 150~250 mm,大者可达 300 mm,肝脏、卵巢和血液均有剧毒,皮和精巢有弱毒,鱼肉无毒^[1-2]。有报道了雄性暗纹东方鲀不同部位的营养成分含量,鱼肉中蛋白质含量最高为 18.44%,肝脏中脂肪含量最高为 63.86%,常量元素含量最高为 K,微量元素含量最高为 Zn,并且鱼肉和精巢中富含 Se,鱼肉的氨基酸总量最高为 80.08 g/100g,多不饱和脂肪酸(PUFA)含量为 0.52%,不饱和脂肪酸(DHA)含量为 0.16%^[3]。也有研究人员对暗纹东方鲀、菊黄东方鲀、红鳍东方鲀的鱼肉营养成分(水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪、矿物质元素、氨基酸等)进行比较分析,结果发现这 3 种河鲀鱼肉都具有低脂、高蛋白的特点,粗蛋白含量为 17.83%~18.38%,粗脂肪含量仅为 0.73%~0.83%,氨基酸种类齐全,必需氨基酸占总氨基酸的 44.13%~49.80%^[4],从营养成分的角度为河鲀鱼的开发提

供理论支持。

食品发酵是依靠发酵微生物所产生的各种酶来催化生化反应,降解脂质蛋白质,为呈味肽和挥发性风味物质的形成提供基础^[5]。不同的发酵菌种会得到不同的发酵结果,微生物发酵通常会选择乳酸菌、微球菌和酵母菌等多种益生菌混合使用。乳酸菌通过分解糖类物质代谢产酸而降低食物的 pH 值,当发酵食品酸化后,会使得部分腐败微生物难以继续生长,同时也能产生乳酸链球菌肽(NISIN)等代谢物质抑制部分腐败微生物的繁殖,较低的 pH 值环境可以促进乳酸菌的生长,使得乳酸菌这类益生菌成为食品中的优势菌种,正向促进食品发酵^[6-7]。对于发酵肉制品,葡萄球菌对致病菌也有一定的抑制作用,同时产生的粗蛋白对癌细胞有细胞毒性,而对正常肺细胞无损伤,有潜在抗癌功能^[8]。有研究人员对腐生葡萄球菌、肉糖葡萄球菌、耳氏葡萄球菌、表皮葡萄球菌还原亚硝酸盐的能力进行研究,结果表明,当食用盐含量大于 5.5%时,还原亚硝酸盐酶活力迅速降低,腐生葡萄球菌酶活力为 320 U/mL,耳氏葡萄球菌为 300 U/mL,肉糖葡萄球菌为 280 U/mL,表皮葡萄球菌为 100 U/mL^[9]。

发酵过程中产生的有害物质会被降解掉,例如:亚硝酸盐、生物胺以及过氧化物等,还会生成许多有益人体健康的营养物质,具有保健功能,包

收稿日期: 2024-01-21

基金项目: 2020 年度福建省海洋保护与发展专项(HYBF 20200066);福建省财政厅专项资金(闽财指[2021]848 号);福建省海洋与渔业厅海洋高新项目(闽海洋高新[2015]23 号)

第一作者: 刘玉,女,硕士生

通信作者: 周常义 E-mail: chyizhou@163.com

刘智禹 E-mail: 13906008638@163.com

括抑菌、防腐、抗氧化、抗高血压、高血脂^[10-11]。目前,研究发酵食品的抗氧化能力主要测定以下指标,分别为总酚含量、DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力、铁离子还原能力、超氧阴离子自由基清除能力和羟基自由基清除能力^[12]。张香美等^[13]研究发酵产品中分离得到的植物乳杆菌的抗氧化活性,以大肠杆菌和乳酸菌为抗氧化标准对照,研究其 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子的清除率,结果表明,植物乳杆菌具有抗菌、抗氧化的活性。利用发酵乳杆菌 CQPC04 对葡萄果皮进行发酵,通过 HPLC 检测发现其主要抗氧化成分为白藜芦醇和表儿茶素^[14]。有研究人员从鱼露中分离提取抗氧化肽,通过 HPLC 分析得到多肽的氨基酸组成,在多肽序列中存在疏水氨基酸(Ile、Leu)、酸性氨基酸(Asp)、碱性氨基酸(His),是多肽具有高抗氧化活性的原因^[15]。

本研究以暗纹东方鲀为原料,探究戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*, pedi)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, lact)和木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*, stap)发酵剂的不同组合对发酵鱼肠理化指标与抗氧化能力的影响,检测发酵前、后鱼肠的 pH 值、总酸度、氨基酸态氮含量、游离脂肪酸含量、中性蛋白酶活力,抑制羟自由基和抗超氧阴离子能力的变化。研究发酵剂种类与发酵剂组合对食品发酵的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

暗纹东方鲀,福建省鲀之鲜水产有限公司;冻干菌种(CICC 22227 戊糖片球菌,CICC 21803 植物乳杆菌,CICC 21445 木糖葡萄球菌),中国工业微生物菌种保藏管理中心;MRS 肉汤培养基、MRS 琼脂培养基、营养肉汤培养基、营养琼脂培养基,青岛海博生物技术有限公司;游离脂肪酸测定试剂盒、抗超氧阴离子自由基及产生超氧阴离子自由基测定试剂盒、羟自由基测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;L-酪氨酸、酪蛋白、三氯乙酸、碳酸钠、福林试剂、甲醛,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

50 mL 碱式滴定管,扬州市葵花玻璃仪器厂;

FE28 pH 计,瑞士 METTLER TOLEDO;56PC 紫外-可见分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;LC-10N-50C BS124S 真空冷冻干燥机,上海力辰仪器科技有限公司;电子分析天平,德国赛多利斯;VT-840K-U 洁净工作台,苏净集团苏州安泰空气技术有限公司;GI54DWS 高压灭菌器,美国 ZEALWAY;5810R 高速冷冻离心机,德国 eppendorf;SHKE6000-8CE 低温可叠放摇床,美国 Thermo Scientific;BSP-100 生化培养箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;SZ-18 小型高速斩拌机,广州旭众食品机械有限公司;HWS-28 电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司;IMS-25 雪花制冰机,常熟市雪科电器有限公司;DW-86L388A 立式超低温保存箱,青岛海尔特种电器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 发酵鱼肠的制备工艺流程 暗纹东方鲀活杀后采肉清洗,4℃沥干水分,冰水浴条件下添加马铃薯淀粉 10%、蔗糖 4%、葡萄糖 3%、食用盐 2%、菌悬液 3.5%(菌悬液浓度为 10⁷ CFU/mL),为发酵鱼肠基础配方。按照 3.5%的质量比加入等比例混合的不同组合的发酵菌种(pedi,lact,stap,pedi+stap,lact+stap,pedi+lact+stap),其余辅料添加量不变。同时制作不添加任何发酵菌种的 CK 组和新鲜的空白鱼肉 fresh 组。斩拌 3 min 使其混合均匀,灌制鱼肠,放入生化培养箱中 35℃发酵 10 h。发酵结束后采用二段式加热方式加热鱼肠,先低温 45℃加热 1 h,再高温 95℃加热 30 min,然后用冰水迅速冷却,放入 4℃平衡 12 h 备用^[16-17]。

1.3.2 发酵鱼肠 pH 值的测定 发酵鱼肠与对照组经二段加热 4℃平衡后按照《食品 pH 值的测定》(GB 5009.237-2016)方法测定其 pH 值^[18]。

1.3.3 发酵鱼肠总酸度的测定 参考《食品中氨基酸态氮的测定》(GB 5009.235-2016)方法^[19],用烧杯称取 5 g 搅碎后的发酵样品,用 80℃左右的超纯水分数次洗入 100 mL 烧杯中,待冷却至室温后转移到 100 mL 容量瓶内,加入新煮沸的超纯水定容至 100 mL 混匀。静置 3 min 后,吸取 10 mL 上清液到 200 mL 烧杯中,并加入 60 mL 新煮沸的超纯水,置于磁力搅拌器上,插入 pH 计探头,用标定过的 NaOH 标准溶液(0.0565 mol/L)滴定至

pH 值为 8.2, 记录消耗的 NaOH 体积。按公式(1)计算:

$$X = \frac{c \times (V_1 - V_2) \times K \times n}{m} \quad (1)$$

式中: c 为 NaOH 标准溶液浓度, mol/L; V_1 为滴定试验消耗的 NaOH 标准溶液体积, mL; V_2 为空白试验消耗的 NaOH 标准溶液体积, mL; K 为酸的换算系数, 以乳酸为准 0.090; n 为试样稀释倍数; m 为样品的质量, g。

1.3.4 发酵鱼肠氨基酸态氮含量的测定 在 1.3.3 节的基础上, 加入 10 mL 甲醛溶液, 用 NaOH 标准溶液继续滴定至 pH 值为 9.2, 记录消耗的 NaOH 体积。空白试验, 取新煮沸的超纯水 80 mL, 用 NaOH 标准溶液滴定至 pH 值为 8.2, 再加入 10 mL 甲醛溶液, 继续滴定至 pH 值为 9.2, 记录消耗的 NaOH 体积。按公式(2)计算:

$$X = \frac{c \times (V_1 - V_2) \times 0.014}{m \times V_3 / V_4} \times 100 \quad (2)$$

式中: c 为 NaOH 标准溶液浓度, mol/L; V_1 为加入甲醛后滴定试验消耗的 NaOH 标准溶液体积, mL; V_2 为空白试验消耗的 NaOH 标准溶液体积, mL; V_3 为试样稀释液取用体积, mL; V_4 为试样稀释液定容体积, mL; 0.014 为与 NaOH 标准溶液相当的氮的质量, g; m 为样品的质量, g。

1.3.5 发酵鱼肠游离脂肪酸含量的测定 发酵后鱼肠用料理机搅碎, 均匀的平铺于玻璃平皿内, 厚度不超过 5 mm, 表面覆盖一层扎过孔的锡箔纸, 放入真空冷冻干燥机, 72 h 后取出样品, 搅碎待用。在 100 mL 离心管中分别称取 5 g 样品, 加入 45 mL 磷酸缓冲液 (pH 7.2) 用涡旋振荡仪混合均匀, 再离心 (4 °C, 4 000 r/min, 5 min) 取上清备用。按照试剂盒说明书步骤进行试验, 使用分光光度计于波长 440 nm 处得到各组吸光度, 独立重复 3 次。计算公式:

$$X = \frac{OD_{\text{测定}} - OD_{\text{空白}}}{OD_{\text{标准}} - OD_{\text{空白}}} \times \text{标准品浓度} \div \text{样本蛋白浓度} \quad (3)$$

1.3.6 发酵鱼肠中性蛋白酶活力的测定 中性蛋白酶活力的测定按照《蛋白酶制剂》(GB/T 23527-2009)^[20]方法并做部分改动。

1.3.6.1 L -酪氨酸标准曲线的绘制 配制 L -酪氨酸标准溶液, 见表 1, 分别取上述溶液各 1 mL, 各

加入 0.4 mol/L 碳酸钠溶液 5 mL, 福林试剂 1 mL, 振荡混匀, 放入 40 °C 恒温水浴显色 20 min, 使用分光光度计于波长 680 nm 处得到各组吸光度, 不含酪氨酸的 0 管为空白, 独立重复 3 次。以吸光值 y 为纵坐标, 酪氨酸浓度为横坐标, 绘制 L -酪氨酸标准曲线, 计算回归方程。

1.3.6.2 中性蛋白酶活力的测定 在 100 mL 离心管中分别称取 5 g 冷冻干燥搅碎后的样品, 加入 45 mL 磷酸缓冲液 (pH 7.2) 用涡旋振荡仪混合均匀, 冰水浴超声处理 10 min, 再离心 (4 °C, 4 000 r/min, 5 min) 取上清备用。在 15 mL 离心管内加入 1 mL 上清溶液, 放入 30 °C 恒温水浴中预热 2 min。加入 10 g/L 酪蛋白溶液 1 mL, 涡旋混匀, 放入 30 °C 恒温水浴反应 10 min, 加入 0.4 mol/L 三氯乙酸溶液 2 mL 终止反应, 静置 10 min 后, 吸取 1 mL 上清溶液到另一个 15 mL 离心管中, 加入 5 mL 碳酸钠溶液再加入 1 mL 福林试剂, 涡旋混匀, 放入 30 °C 恒温水浴显色 20 min, 使用分光光度计于波长 680 nm 处得到各组吸光度, 独立重复 3 次。空白对照组其酪蛋白溶液和三氯乙酸的添加顺序相反, 其余步骤相同。按公式(4)计算:

$$X = \frac{A \times V \times 4 \times n}{m \times 10} \quad (4)$$

式中: A 为由 L -酪氨酸标准曲线得出的样品浓度, U/mL; V 为样品溶解的溶液体积, mL; n 为样品稀释倍数; m 为样品的质量, g。

表 1 L -酪氨酸标准溶液

管号	酪氨酸标准溶液的质量浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	酪氨酸标准储备溶液 (100 $\mu\text{g/mL}$) 的 体积/mL	ddH ₂ O 体积/mL
0	0	0	10
1	10	1	9
2	20	2	8
3	30	3	7
4	40	4	6
5	50	5	5

1.3.7 发酵鱼肠抑制羟自由基能力的测定 按照 1.3.5 节样品制备方法得到样品。按照试剂盒说明书步骤进行试验, 使用分光光度计于波长 550 nm 处得到各组吸光度, 独立重复 3 次。按公式(5)计算:

$$X = \frac{OD_{\text{对照}} - OD_{\text{测定}}}{OD_{\text{标准}} - OD_{\text{空白}}} \times \text{标准品浓度} \div [\text{样本蛋白}$$

浓度×取样量] (5)

1.3.8 发酵鱼肠抗超氧阴离子自由基能力的测定

按照 1.3.5 节样品制备方法得到样品。根据试剂盒说明书步骤进行试验,使用分光光度计于波长 550 nm 处得到各组吸光度,独立重复 3 次。按公式 (6) 计算:

$$X = \frac{OD_{\text{对照}} - OD_{\text{测定}}}{OD_{\text{对照}} - OD_{\text{标准}}} \times \text{标准品浓度} \times 1000 \div \text{样本}$$

蛋白浓度 (6)

2 结果与分析

2.1 发酵鱼肠的 pH 值

添加发酵剂的鱼肠经过 10 h 恒温发酵后, pH 值均降低至 5.5 以下,且明显比对照组更低,其中混合发酵剂组 pedi+lact+stap 的 pH 值为 5.04,如图 1 所示。由于乳酸菌产乳酸,使得发酵后鱼肠的 pH 值降低,同时在高盐、低 pH 值 (pH<5.5) 的环境下,为葡萄球菌提供了适宜生存的条件,有更好的竞争优势,乳酸菌与葡萄球菌协同作用,加快了发酵鱼肠的成熟^[21]。

2.2 发酵鱼肠的总酸度

发酵后鱼肠的总酸度明显高于发酵前,如图 2 所示。添加发酵剂的试验组比 CK 和 fresh 组的总酸度高,其中发酵后 pedi+lact+stap 组的总酸度为 6.02 mL/10 g,与 CK 相比增加了 43.74%,明显高于其它试验组。乳酸菌发酵碳水化合物产生乳酸,同时葡萄球菌也可代谢碳水化合物产生有机酸^[22],说明复合发酵剂其丰富的菌种组成使得产酸能力更强。

2.3 发酵鱼肠的氨基酸态氮含量

氨基酸态氮是指以氨基酸形式存在的氮元素含量,主要由游离氨基酸和小分子低聚肽中的氮元素构成,氨基酸态氮含量越高,其氨基酸含量也越高,鲜味更浓,氨基酸态氮含量是判定发酵产品其发酵程度的特性指标^[23-24]。发酵后的鱼肠其氨基酸态氮含量明显高于发酵之前,如图 3 所示。试验组发酵后的氨基酸态氮含量明显高于对照组,其中 pedi+lact+stap 组的氨基酸态氮含量为 0.72%,略高于其它试验组,比 CK 组含量高出了 19.45%。

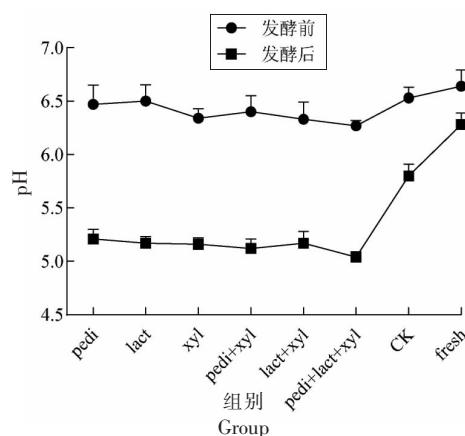


图 1 鱼肠发酵前、后的 pH 值

Fig.1 The pH value of fish sausages before and after fermentation

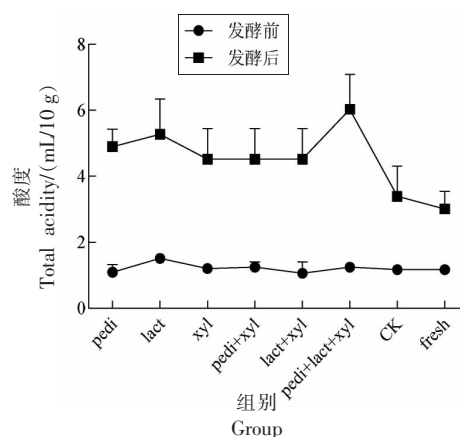


图 2 发酵前、后鱼肠的总酸度值

Fig.2 The total acidity of fish sausages before and after fermentation

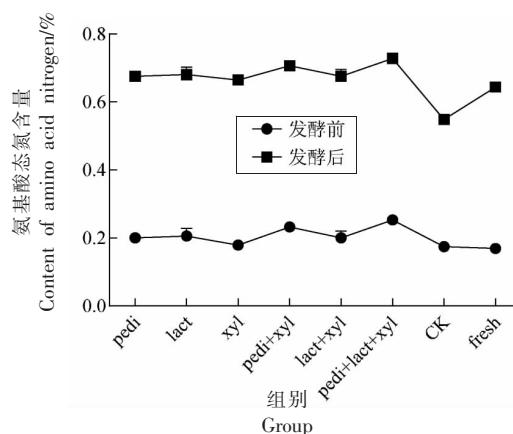


图 3 发酵前、后鱼肠的氨基酸态氮含量

Fig.3 The content of amino acid nitrogen of fish sausages before and after fermentation

说明 pedi+lact+stap 组的鲜味物质更丰富,蛋白质降解更完全。

2.4 发酵鱼肠的游离脂肪酸含量

游离脂肪酸作为芳香化合物前体物质,对食品的挥发性风味形成起重要作用^[25],如图 4 所示,试验组与对照组在发酵后的游离脂肪酸含量均有所增加,其中 pedi+lact+stap 组发酵后的游离脂肪酸含量为 147.54 $\mu\text{mol/g}$,明显高于其它组,与 CK 组相比增加了 54.43%,说明添加复合发酵剂对脂类的降解更完全。

2.5 发酵鱼肠的中性蛋白酶活力

由图 5 可知, L -酪氨酸标准曲线为 $y = 0.0105x - 0.0005 (R^2 = 0.9999)$, y 为吸光值, x 为 L -酪氨酸质量浓度,当吸光度为 1 时,计算吸光常数 $K = 95.28$,其范围在 95~100 以内,符合要求。

发酵前、后鱼肠的中性蛋白酶活力检测结果

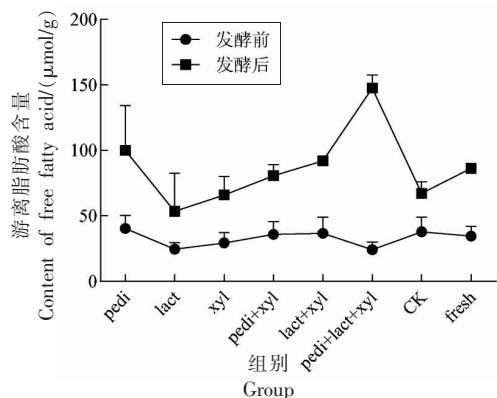


图 4 发酵前、后鱼肠游离脂肪酸的含量

Fig.4 The content of free fatty acid of fish sausages before and after fermentation

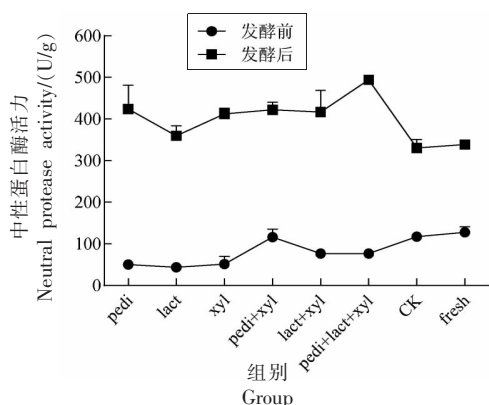


图 6 发酵前、后鱼肠中性蛋白酶活力

Fig.6 The neutral protease activity of fish sausages before and after fermentation

如图 6 所示,可以看出发酵后的鱼肠其蛋白酶活力明显高于发酵前,添加发酵剂的试验组其蛋白酶活力明显高于对照组。发酵后 pedi+lact+stap 组蛋白酶活力为 506.82 U/g,对比 CK 组增强了 54.62%,高于所有发酵后鱼肠的酶活力值,说明复合发酵剂组的酶活力比单一菌种发酵更强。有研究使用 4 株丝状真菌菌株分别进行单独发酵和混合发酵糯米,分析其产液化酶活力与整个发酵体系中蛋白酶的活力,结果显示混合发酵明显优于单独发酵^[26]。发酵剂组合有效利用了微生物酶系之间的协同效应,克服单独发酵产生的次级代谢产物带来的影响,有效提高了发酵生产效率^[27]。

2.6 发酵鱼肠的抑制羟自由基能力

如图 7 所示,试验组发酵后抑制羟自由基的能力明显增强,而对照组发酵后与发酵前相比没有明显变化,说明加入发酵剂有助于提高鱼肠抑

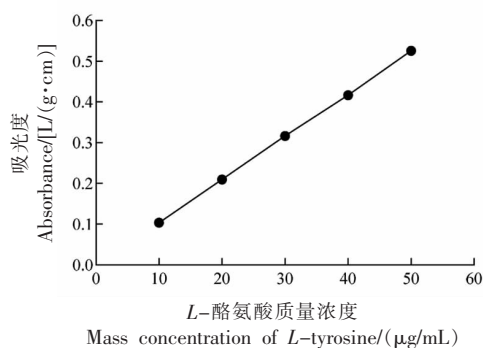


图 5 L -酪氨酸标准曲线

Fig.5 The standard curve of L -tyrosine determination

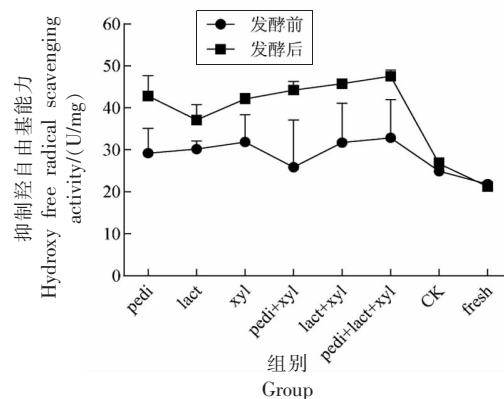


图 7 发酵前、后鱼肠的抑制羟自由基能力

Fig.7 The hydroxy free radical scavenging activity of fish sausages before and after fermentation

制羟自由基的能力,同时发酵后 pedi+lact+stap 组的抗羟自由基能力在试验组中最高,为 47.52 U/mg,比 CK 组高 43.73%。

2.7 发酵鱼肠的抗超氧阴离子自由基能力

试验组鱼肠发酵后其抗超氧阴离子的活力明显增强,如图 8 所示。对照组发酵前、后的抗超氧阴离子能力没有明显变化,说明添加发酵剂的鱼肠其抗超氧阴离子的活力得到明显提高,同时 pedi+lact+stap 组发酵后的抗超氧阴离子的活力为 477.16 U/g,明显高于其它试验组,比 CK 组高 75.57%,说明添加复合发酵剂对于鱼肠抗超氧阴离子活力有正向作用。

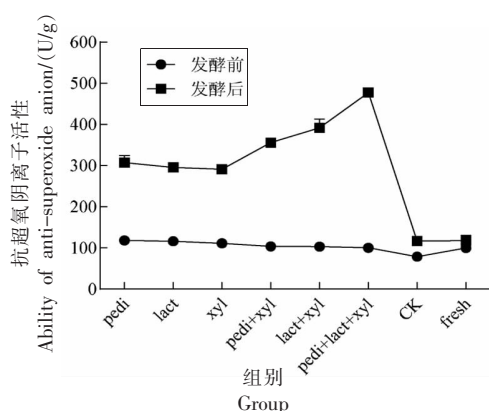


图 8 发酵前、后鱼肠的抑制超氧阴离子能力

Fig.8 The ability of anti-superoxide anion of fish sausages before and after fermentation

3 结论

研究使用戊糖片球菌、植物乳杆菌和木糖葡萄糖球菌组合发酵河鲀鱼肉,可以显著降低鱼肠的 pH 值,其 pH 值为 5.04,总酸度为 6.02 mL/10 g,对比 CK 组增加了 43.74%。并且,发酵后其氨基酸态氮含量为 0.72%,对比 CK 组增加了 19.45%,游离脂肪酸含量也明显增多,含量为 147.54 $\mu\text{mol/g}$,游离脂肪酸含量与 CK 组相比增加了 54.43%。中性蛋白酶活力与清除羟自由基和超氧阴离子能力也有增强,分别为 506.82 U/g,47.52 U/mg,477.16 U/g,与 CK 组相比分别增强了 54.62%,43.73%,75.57%。结果表明,使用复合发酵剂会显著提升发酵鱼肠的产品品质,得到营养丰富、活性成分多的优质发酵产品。

参 考 文 献

- [1] 刘智禹. 南海常见河豚鱼品种及其毒素含量的研究[J]. 福建水产, 2011, 33(1): 40-44.
LIU Z Y. Study on common species and toxicity of fugu from the South China Sea[J]. Journal of Fujian Fisheries, 2011, 33(1): 40-44.
- [2] 陈晓婷, 吴靖娜, 许旻, 等. 四种河鲀鱼皮和鱼肉的营养成分分析与评价[J]. 现代食品科技, 2020, 36(1): 69-77.
CHEN X T, WU J N, XU M, et al. Analysis and evaluation of the nutritional components in fish skin and fish meat of four species of puffer fish[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(1): 69-77.
- [3] 王丽雅. 养殖雄性暗纹东方鲀营养品质研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013.
WANG L Y. Analysis and evaluation of the nutritional composition of farmed male puffer fish (*Takifugu obscurus*) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013.
- [4] 龚玺. 养殖河豚鱼肉营养品质研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
GONG X. Evaluation of nutritional quality of bred puffer fish muscle [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011.
- [5] QIAN F, ZHANG J, HOU K R, et al. *In vitro* study of the antioxidative and antiproliferative capabilities of *Lactobacillus casei* 16-fermented soymilk [J]. Food Science and Nutrients, 2020, 8(1): 48-57.
- [6] 司淼菲. 植物乳杆菌直投式发酵剂制备及在发酵鱼中应用[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2015.
SI M F. Preparation of the *Lactobacillus plantarum* of direct-vat-set starter and application in fermented fish [D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2015.
- [7] 吴石金, 张嘉琳, 陈彦霖, 等. 发酵食品中抗氧化乳酸菌的筛选与鉴定[J]. 浙江工业大学学报, 2019, 47(6): 685-691.
WU S J, ZHANG J L, CHEN Y L, et al. Screening and identification of lactic acid bacteria strains with antioxidant activities in fermented food [J]. Journal of Zhejiang University of Technology, 2019, 47(6): 685-691.

- [8] SATHISHKUMAR R, ANANTHAN G, SENTHIL S L, et al. Structural characterization and anticancer activity of extracellular polysaccharides from ascidian symbiotic bacterium *Bacillus thuringiensis*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 190(15): 113-120.
- [9] 王敏. 四株葡萄球菌的产酶能力及蛋白降解机制研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2013.
WANG M. Study on enzyme production capacity and protein degradation mechanism of four strains *Staphylococcus*[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2013.
- [10] 李苗云, 吴慧琳, 朱瑶迪, 等. 不同加热处理发酵酸肉多肽的体外抗氧化活性比较[J]. 现代食品科技, 2020, 36(2): 38-45.
LI M Y, WU H L, ZHU Y D, et al. Comparison of *in vitro* antioxidant activities of fermented meat polypeptides extracted with different methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(2): 38-45.
- [11] 侯星, 易弋, 张兴猛, 等. 发酵食品中微生物的功能特性[J]. 中国调味品, 2019, 44(1): 191-194.
HOU X, YI Y, ZHANG X M, et al. Functional characteristics of microorganisms in fermented food [J]. China Condiment, 2019, 44(1): 191-194.
- [12] YANG J, WU X B, CHEN H L, et al. A value-added approach to improve the nutritional quality of soybean meal byproduct: Enhancing its antioxidant activity through fermentation by *Bacillus amyloliquefaciens* SWJS22 [J]. Food Chemistry, 2018, 272: 396-403.
- [13] 张香美, 赵玉星, 闫晓晶, 等. 1株具抑菌和抗氧化活性乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 93-98.
ZHANG X M, ZHAO Y X, YAN X J, et al. Screening and identification of lactic acid bacterium with antimicrobial and antioxidant activity [J]. Food Science, 2018, 39(2): 93-98.
- [14] LIU J, TAN F, LIU X H, et al. Grape skin fermentation by *Lactobacillus fermentum* CQPC04 has anti-oxidative effects on human embryonic kidney cells and apoptosis-promoting effects on human hepatoma cells[J]. RSC Advances, 2020, 10(8): 4607-4620.
- [15] NAJAFIAN L, BABJI A S. Purification and identification of antioxidant peptides from fermented fish sauce (Budu)[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2019, 28(1): 14-24.
- [16] 国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. 冷冻鱼糜: GB/T 36187-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 6.
State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of the People's Republic of China. Frozen surimi: GB/T 36187-2018[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018: 6.
- [17] 沈会玲, 曾磊, 江锋, 等. 鱼腐乳前发酵过程中蛋白质的降解及工艺的优化[J]. 中国酿造, 2018, 37(6): 46-50.
SHEN H L, ZENG L, JIANG F, et al. Protein degradation and technology optimization during pre-fermentation process of fish sufu[J]. China Brewing, 2018, 37(6): 46-50.
- [18] 国家卫生和计划生育委员会. 食品 pH 值的测定: GB 5009.237-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 2-3.
Ministry of Health and Family Planning of the People's Republic of China. Determination of pH value of food: GB 5009.237-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 2-3.
- [19] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中氨基酸态氮的测定: GB 5009.235-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 2-3.
Ministry of Health and Family Planning of the People's Republic of China. Determination of amino acid nitrogen in food: GB 5009.235-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 2-3.
- [20] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 蛋白酶制剂: GB/T 23527-2009[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009: 6-8.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Protease preparation: GB/T 23527-2009[S]. Beijing: Standards Press of China, 2009: 6-8.
- [21] STAV ROPOULOU D A, VAN RECKEM E, DE SMET S, et al. The narrowing down of inoculated communities of coagulase-negative *Staphylococci* in fermented meat models is modulated by temperature and pH[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 274: 52-59.
- [22] STAV ROPOULOU D A, FILIPPOU P, DE SMET S, et al. Effect of temperature and pH on the com-

- munity dynamics of coagulase-negative *Staphylococci* during spontaneous meat fermentation in a model system[J]. *Food Microbiology*, 2018, 76: 180–188.
- [23] 方冠宇, 姜佳丽, 蒋予箭. 多菌混合发酵对酱油的风味物质形成及感官指标的影响[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(9): 154–163.
- FANG G Y, JIANG J L, JIANG Y J. The influence of multi-strain fermentation on the flavor substances and sensory evaluation in soy sauce[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(9): 154–163.
- [24] 刘英丽, 杨梓妍, 万真, 等. 发酵剂对发酵香肠挥发性风味物质形成的作用及影响机制研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(11): 284–296.
- LIU Y L, YANG Z Y, WAN Z, et al. Progress in understanding the effect and mechanism of starter cultures on the formation of volatile flavor compounds in fermented sausage [J]. *Food Science*, 2021, 42(11): 284–296.
- [25] FLORES M. Understanding the implications of current health trends on the aroma of wet and dry cured meat products[J]. *Meat Science*, 2018, 144: 53–61.
- [26] WU P G, CAI C G, SHEN X H, et al. Formation of ethyl carbamate and changes during fermentation and storage of yellow rice wine[J]. *Food Chemistry*, 2014, 152(6): 108–112.
- [27] 邓加聪, 郭伟灵, 周文斌, 等. 不同类型丝状真菌发酵产酶性能比较及其混菌发酵性能研究[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(1): 101–108.
- DENG J C, GUO W L, ZHOU W B, et al. Comparison of enzymes production of different types of *Filamentous fungi* and studies on the fermentation characteristics of mixed cultures based on glutinous rice[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(1): 101–108.

Effects of Different Combinations of Starters on Physicochemical Indexes and Antioxidant Function of Fermented Pufferfish Sausage

LIU Yu^{1,2}, CHEN Xiaoting², WU Jingna³, LIU Zhiyu^{2*}, ZHOU Changyi^{1*}

(¹College of Ocean Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, Fujian

²Fisheries Research Institute of Fujian, National Research and Development Center for Marine Fish Processing (Xiamen), Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Xiamen 361013, Fujian

³Xiamen Medical College, Xiamen 361023, Fujian)

Abstract Study the effects of different combinations of fermentation agents on the changes of physicochemical indexes and antioxidant function of fermented pufferfish. *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* were used as fermenting agents to ferment pufferfish. Comparative analysis of different combination fermenting agents before and after fermented. Results showed that used a combination of three kinds of starter was superior to other starter groups. The pH value was 5.04, total acidity was 6.02 mL/10 g and amino acid nitrogen content was 0.72%, free fatty acid content was 147.54 μmol/g, neutral protease activity was 506.82 U/g and hydroxy free radical scavenging activity was 47.52 U/mg, and Anti-superoxide anion activity was 477.16 U/g. The fermentation of pufferfish sausage with different kinds of fermentation agents can not only get high quality fermentation product, but also promote the development of fermentation process.

Keywords *Takifugu obscurus*; compound starter; physical and chemical indexes; antioxidant