

微生物发酵对罗非鱼下脚料蛋白酶解液脱腥去苦效果比较

曾少葵, 杨萍, 陈秀红

(广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524025)

摘要:以嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*)、保加利亚乳杆菌 (*Lactobacillus bulgaricus*) 和瑞士乳杆菌 (*L. helveticus*) 及2种酿酒酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 为菌种, 对罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 下脚料蛋白酶解液进行发酵, 利用感官评定法, 比较不同微生物发酵对酶解液脱腥去苦效果。试验结果表明, 乳酸菌脱腥效果优于酵母菌, 其中以嗜热链球菌脱腥效果最好, 其适宜的发酵条件为接种量10%, 发酵温度42℃, 发酵时间9 h。微生物发酵去苦效果不明显。

关键词: 罗非鱼; 蛋白酶解液; 微生物发酵; 苦味; 腥味

中图分类号: TS254.9

文献标识码: A

文章编号: 1673-2227-(2009)04-0058-06

Study on the removal of fish odour and bitter from protein hydrolysates of tilapia by-products by microorganism fermentation

ZENG Shaokui, YANG Ping, CHEN Xiuhong

(The Faculty of Food Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: This work is to compare the effects of removing fish odour and bitter in protein hydrolysates of tilapia *Oreochromis niloticus* wastes by different microorganisms fermentations, in which lactic acid bacteria such as *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *L. bulgaricus* and yeasts were used. The removal potency of fish odour and bitter was evaluated by sensory test. The results indicated that the effect of fish odour removal from protein hydrolysates by lactic acid bacteria fermentation was better than by yeasts, in which the best microorganism was *S. thermophilus*. The optimal conditions for *S. thermophilus* fermentation were 42℃ for temperature and 9 h for time with 10% inoculation volume. There was little effect to remove bitter taste from protein hydrolysates by microorganism.

Key words: tilapia; protein hydrolysates; microorganism fermentation; bitter; fish odour

罗非鱼 (*Oreochromis nilotica*) 是世界渔业的重要鱼类品种, 据报道, 2007 年中国的罗非鱼产量达 121 万 t, 除一部分鲜销外, 大部分用于加工成冻鱼片出口。在冻鱼片生产过程中产生大量的下脚料, 约占全鱼重量的 40% 以上, 这些下脚料中含有丰富的蛋白质^[1]。为了充分利用这些蛋白质资源, 采用酶法水解制备水解蛋白是行之有效的途径。酶法水解蛋白过程中易产生一些苦味与腥味物质, 苦味与苦味肽的形成有关, 腥味的主要成分是

氨、二甲胺、三甲胺、氮杂环己烷、吡啶、低分子的醛和酮等^[2]。目前, 一般采用活性炭吸附法^[3-4]、微孔膜过滤法^[5]、 β -糊精包埋法^[6]、微生物发酵法^[7-8]和乙醚萃取法^[2]等对蛋白酶解液进行处理, 以去除其中的苦腥味。任仙娥等^[7]认为瑞士乳杆菌 (*Lactobacillus helveticus*) 发酵能基本去除猪肉酶解液的苦味; 段旭昌等^[8]的研究表明, 乳酸菌 (*Lactobacillus*) 发酵对甲鱼蛋白酶解液的风味有明显改善作用; 杨萍等^[5]通过微孔膜过滤

收稿日期: 2009-02-01; 修回日期: 2009-03-02

资助项目: 广东省海洋与渔业局项目“罗非鱼鱼头鱼排高值化利用技术的研究与开发”

作者简介: 曾少葵 (1963-), 女, 副教授, 从事水产品加工与贮藏研究。E-mail: zsk1105@126.com

也可减弱罗非鱼下脚料蛋白酶解液的腥味，但会导致蛋白质含量的减少；段振华等^[6]采用酵母和 β -糊精复合脱腥方法对罗非鱼碎鱼肉酶解液也具有一定的脱腥效果。据报道，乳酸菌与酵母菌在酱油酿造中的协同作用产生风味物质酯类，起呈味作用。也有乳酸菌发酵鱼肉香肠的研究报道^[9]。但未见应用乳酸菌发酵改善罗非鱼肉酶解液风味的报道。该文以3种乳酸菌和2种酵母菌为菌种，对罗非鱼蛋白酶解液进行发酵，通过感官评定方法比较不同微生物脱腥去苦效果，旨在制备一种无苦腥味的蛋白酶解液，为充分利用罗非鱼下脚料中的蛋白质提供一条有效途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器设备

罗非鱼下脚料由湛江恒兴水产公司提供，取鱼头和鱼骨经蛋白酶水解制备蛋白酶解液。嗜热链球菌（*Streptococcus thermophilus*）、保加利亚乳杆菌（*L. bulgaricus*）和瑞士乳杆菌（*L. helveticus*）购于广东省微生物研究所菌种保藏中心。高温酵母、产香酵母购于湖北安琪酵母股份有限公司。超净工作

台、YXQ-SG46 灭菌器为上海贝塔生物制品有限公司产品。PHS-3B 型 pH 计为上海精科实业有限公司产品。HPX-9162MBE 型电热恒温培养箱为上海博讯实业有限公司医疗设备厂产品。

1.2 试验方法

1.2.1 乳酸菌的活化 用脱脂牛奶培养基，在适宜的温度下培养一定时间。

1.2.2 乳酸菌种的驯化 将脱脂牛奶与蛋白酶解液按 10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8 和 0:10 比例混合，高温灭菌制成驯化培养基。冷却后接种 10% 活化菌种培养，直至得到适合在蛋白酶解液中生长的菌种。

1.2.3 发酵 在酶解液中加入适当的蔗糖，于 115℃ 灭菌 15 min，制成发酵培养基。将一定量液体种子接种于发酵培养基中，在适宜温度下恒温培养。

1.2.4 酵母菌发酵 直接将活性干酵母接种到发酵培养基中，在适宜的条件下发酵。

1.2.5 苦腥味评判 感官评定法，对发酵后蛋白酶解液的苦味和腥味按表 1 标准评分。

表 1 评分标准（5 分制）

Tab. 1 Scoring standard of sensory test

发酵液 fermentation liquid	腥味 fish odour	评分 score	苦味 bitter	评分 score	感官评价 sensory evaluation judgment
发酵前酶解蛋白（对照） protein hydrolysates（control）	很浓	0	很重	0	难以接受
发酵后与对照液比 compared with control	较浓	1	较重	1	尚可接受
发酵后与对照液比 compared with control	淡	2	轻	2	可接受
发酵后与对照液比 compared with control	较淡	3	较轻	3	容易接受
发酵后与对照液比 compared with control	很淡	4	很轻	4	乐于接受
发酵后与对照液比 compared with control	无	5	无	5	完全可接受

2 结果与讨论

2.1 乳酸菌脱腥去苦效果

2.1.1 瑞士乳杆菌的腥脱去苦效果 （1）发酵时间对脱腥去苦效果的影响。接种 10% 瑞士乳杆菌于发酵培养基中，于 37℃ 发酵不同时间。发酵后酶解液的感官评价见表 2。瑞士乳杆菌发酵 3 h 后，酶解液酸度明显升高，这是因为瑞士乳杆菌在酶解液中生长繁殖产生乳酸的缘故^[10]，pH 值在

发酵 7 h 后趋于稳定。从腥味评分值和苦味评分值来看，瑞士乳杆菌对酶解液脱腥有一定作用，去苦效果不明显，综合腥味与苦味 2 项指标，瑞士乳杆菌发酵时间对改善罗非鱼肉酶解液风味影响不显著。（2）接种量对发酵效果的影响。分别接种不同量的瑞士乳杆菌到发酵培养基中，于 37℃ 培养 7 h。由表 2 可见，不同接种量对发酵 7 h 酶解液的酸度影响不显著，但感官评价结果表明，接种 10% 瑞士乳杆菌，酶解液腥味减弱，脱腥效果最

好，苦味略有改善。（3）发酵温度对发酵效果的影响。接种 10% 的瑞士乳杆菌到发酵培养基中，分别于不同温度发酵 7 h。瑞士乳杆菌在不同温度发酵 7 h，酶解液酸度变化不大，37℃ 发酵，脱腥效果较好，苦味改善效果不明显（表 2）。综合以上试验结果，以瑞士乳杆菌为发酵菌种，接种量 10%，温度 37℃，发酵时间 7 h，对罗非鱼酶解液有一定的脱腥效果，去苦作用不明显。瑞士乳杆菌发酵能改善罗非鱼酶解液的风味和品质，这可能与瑞士乳杆菌在酶解液中的代谢作用使酶解液产生风味特征化合物有关^[7]。

表 2 瑞干乳杆菌发酵时间、接种量和发酵温度对酶解液腥味及苦味的影响

Tab. 2 The effect of *L. helveticus* fermentation time, inoculation volume and fermentation temperature on fish odour and bitter of hydrolyzates

		pH	腥味 fish odour	腥味评分 score of fish odour	苦味 bitter	苦味评分 score of bitter	感官评价 sensory evaluation judgment
发酵时间/h fermentation time	0	6.53	很浓	0	很重	0	难以接受
	3	4.52	较浓	1	较重	1	尚可接受
	5	4.29	淡	2	较重	1	尚可接受
	7	4.06	淡	2	较重	1	尚可接受
	9	4.07	淡	2	较重	1	尚可接受
接种量/% inoculation volume	0	6.53	很浓	0	很重	0	难以接受
	6	4.33	较浓	2	较重	1	尚可接受
	8	4.27	淡	2	较重	1	尚可接受
	10	4.06	较淡	3	较重	1	尚可接受
	12	4.18	淡	2	较重	1	尚可接受
发酵温度℃ fermentation temperature	32	4.83	淡	2	较重	1	尚可接受
	37	4.06	较淡	3	较重	1	尚可接受
	42	4.80	淡	2	较重	1	尚可接受

2.1.2 嗜热链球菌的脱腥去苦效果 （1）发酵时间对去除酶解液腥苦味效果的影响。接种 10% 驯化的嗜热链球菌，分别在 42℃ 恒温发酵 7、9、11 和 13 h，酶解液的感官评价见表 3。酶解液发酵 7 h 后，酸度基本保持不变，但从感官评分值看，嗜热链球菌发酵 9 h 脱腥去苦效果良好，随着时间进一步延长，苦味反而增加，这可能与菌种的蛋白酶活力高而肽酶活力低有关^[11]。（2）接种量对脱腥去苦效果的影响。分别按 6%、8%、10% 和 12% 接种嗜热链球菌到发酵培养基中，于 42℃ 发酵 9 h。接种量对发酵 9 h 后的酶解液酸度没有显著影响，但脱腥效果不同，接种量达到 10% 时，脱腥去苦的效果最好（表 3）。（3）发酵温度对脱腥去苦效果的影响。以嗜热链球菌为发酵菌种，接种量为 10%，在不同温度下发酵 9 h。在相同的接

种量及相同的发酵时间条件下，酶解液的酸度差别不大，但发酵温度为 42℃ 或 47℃ 时，酶解液的腥味得到很大改善（表 3），这可能与该菌为嗜热菌，其最适生长温度较高有关。嗜热链球菌对苦味的去除效果不如脱腥效果。

2.1.3 保加利亚乳杆菌的脱腥去苦效果 （1）发酵时间对酶解液腥苦味的去除效果。接种 10% 保加利亚乳杆菌到发酵培养基中，在 42℃ 分别发酵 7、9、11 和 13 h，酶解液的感官评价见表 4。保加利亚乳杆菌发酵 9 h，酶解液腥苦味得到改善。（2）接种量对酶解液脱腥去苦效果的影响。接种 6%、8%、10% 和 12% 的保加利亚乳杆菌到发酵培养基中，于 42℃ 发酵 9 h，酶解液的感官评价见表 4。保加利亚乳杆菌接种量为 10% 的脱腥去苦效果较好。（3）发酵温度对酶解液脱腥去苦效果的影响。

表3 嗜热链球菌发酵时间、接种量和发酵温度对酶解液腥味及苦味的影响

Tab. 3 The effect of *S. thermophilus* fermentation time, inoculation volume and fermentation temperature on fish odour and bitter of hydrolyzates

		pH	腥味 fish odour	腥味评分 score of fish odour	苦味 bitter	苦味评分 score of bitter	感官评价 sensory evaluation judgment
发酵时间/h fermentation time	0	6.85	很浓	0	很重	0	难以接受
	7	4.78	淡	2	较重	1	尚可接受
	9	4.67	很淡	4	轻	2	容易接受
	11	4.56	很淡	4	较重	1	尚可接受
	13	4.52	淡	3	较重	1	尚可接受
接种量/% inoculation volume	6	4.33	较淡	3	较重	1	尚可接受
	8	4.27	较淡	3	较重	1	尚可接受
	10	4.06	很淡	4	轻	2	容易接受
	12	4.18	很淡	4	轻	2	容易接受
发酵温度/℃ fermentation temperature	37	4.83	较淡	3	较重	1	尚可接受
	42	4.67	很淡	4	轻	2	容易接受
	47	4.80	很淡	4	轻	2	容易接受

表4 保加利亚乳杆菌发酵时间、接种量和发酵温度对酶解液腥味及苦味的影响

Tab. 4 The effect of *L. bulgaricus* fermentation time, inoculation volume and fermentation temperature on fish odour and bitter of hydrolyzates

		pH	腥味 fish odour	腥味评分 score of fish odour	苦味 bitter	苦味评分 score of bitter	感官评价 sensory evaluation judgment
发酵时间/h fermentation time	0	6.85	很浓	0	很重	0	难以接受
	7	4.54	淡	2	较重	1	尚可接受
	9	4.50	较淡	3	轻	2	可接受
	11	4.42	较淡	3	较重	1	尚可接受
	13	4.27	较淡	3	较重	1	尚可接受
接种量/% inoculation volume	6	4.62	淡	2	较重	1	尚可接受
	8	4.65	较淡	3	较重	1	尚可接受
	10	4.50	较淡	3	轻	2	可接受
	12	4.57	较淡	3	轻	2	可接受
发酵温度/℃ fermentation temperature	37	4.61	淡	2	较重	1	尚可接受
	42	4.50	较淡	3	轻	2	可接受
	47	4.52	较淡	3	轻	2	可接受

接种 10% 保加利亚乳杆菌到发酵培养基中, 分别在 37、42 和 47℃ 下发酵, 时间为 9 h。从表 4 可知, 发酵温度对酶解液的酸度影响不显著, 但在 42℃ 发酵, 酶解液风味最好。

2.1.4 不同乳酸菌脱腥去苦效果比较 分别接

种 10% 的瑞士乳杆菌、嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌到发酵培养基, 在各自的最适条件下对酶解液进行发酵, 感官评定结果见表 5。可见, 3 种乳酸菌对罗非鱼酶解液发酵都能起到脱腥去苦作用, 这可能与酶解液中的苦味氨基酸被转化, 增加了酶解

液中的其他风味物质有关^[8]。其中以嗜热链球菌效果最好，其适宜的发酵条件为接种量 10%，发酵时间 9 h，发酵温度 42℃。

2.2 酵母菌脱腥去苦效果

2.2.1 产香酵母脱腥去苦效果 分别添加 1%、1.5%、2% 和 2.5% 产香活性干酵母于发酵培养基，分别在 30℃ 发酵 1 h，对其进行感官评定，结

果见表 6。试验过程中观察到发酵液有大量泡沫形成，感官评定结果表明，产香酵母对罗非鱼酶解液的腥苦味没有改良的作用。

2.2.2 高温酵母脱腥去苦效果 按 2.2.1 方法添加不同量的高温活性干酵母于发酵培养基中，并在 35℃ 培养 1~2.5 h。感官评定结果表明，高温酵母对罗非鱼酶解液的苦腥味没有改良的作用。

表 5 不同乳酸菌脱腥去苦效果比较
Tab. 5 Comparison of the removal effect of fish odour and bitter from hydrolyzates by different lactic acid bacteria fermentation

菌种名称 species	发酵时间/h fermentation time	发酵温度/℃ fermentation temperature	pH	腥味评分 score of fish odour	苦味评分 score of bitter	感官评价 sensory evaluation judgment
瑞士乳杆菌 <i>L. helveticus</i>	7	37	4.06	3	1	尚可接受
嗜热链球菌 <i>S. thermophilus</i>	9	42	4.67	4	2	容易接受
保加利亚乳杆菌 <i>L. bulgaricus</i>	9	42	4.50	3	2	可接受

表 6 产香酵母对酶解液脱腥去苦效果的影响
Tab. 6 The removal effect of aroma-producing yeast fermentation of fish odour and bitter from hydrolyzates

接种量/% inoculation volume	腥味 fish odour	腥味评分 score of fish odour	苦味 bitter	苦味评分 score of bitter	感官评价 sensory evaluation judgment
1.0	很浓	0	很重	0	难以接受
1.5	很浓	0	很重	0	难以接受
2.0	很浓	0	很重	0	难以接受
2.5	很浓	0	很重	0	难以接受

由此可见，2 种酵母菌发酵对罗非鱼蛋白酶解液的腥苦味无改善作用，这与胡文婷等^[12]和施文正等^[13]认为酵母菌发酵对鱼蛋白酶解液起脱腥去苦作用的研究结果不同，这是否与鱼的种类及酶解程度有关，还有待进一步探讨。

3 结论

该试验利用几种微生物发酵对罗非鱼下脚料蛋白酶解液进行脱腥去苦，结果表明：

(1) 乳酸菌发酵能减弱酶解液的腥味及苦味，脱腥效果好于去苦效果；

(2) 单因素试验表明，乳酸菌发酵脱腥去苦效果与发酵温度、发酵时间及接种量有关。嗜热链

球菌和保加利亚乳杆菌脱腥去苦效果最好的发酵条件为接种量 10%，发酵温度 42℃，发酵时间 9 h，发酵后的酶解液腥味较淡，苦味轻。而瑞士乳杆菌适宜的发酵条件为接种量 10%，发酵时间 7 h，发酵温度 37℃；

(3) 3 种乳酸菌发酵，以嗜热链球菌的脱腥去苦效果最好；

(4) 试验中所用的 2 种酿酒酵母——产香酵母和高温酵母，对罗非鱼下脚料酶解液没有表现出脱腥去苦作用。

乳酸菌发酵对罗非鱼下脚料蛋白酶解液的脱腥去苦机理及发酵后酶解液化学成分的改变，还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 孔美兰, 吉宏武, 章超桦. 罗非鱼下脚料自溶条件的初步探讨 [J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25 (4): 27-31.
- [2] 赵梅, 吴成业. 鱼蛋白水解及脱苦方法研究进展 [J]. 福建水产, 2006 (2): 52-55.
- [3] 裘迪红, 周涛, 戴志远, 等. 鲇鱼蛋白水解液脱苦脱腥的研究 [J]. 北京水产, 2002 (6): 46-48.
- [4] 韦保耀, 曾世祥, 滕建文, 等. 罗非鱼下脚料水解蛋白脱腥脱苦的研究 [J]. 食品科技, 2007 (3): 255-258.
- [5] 杨萍, 洪鹏志, 陈丹. 微孔膜过滤罗非鱼下脚料蛋白酶解液的效果研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 29 (5): 161-164.
- [6] 段振华, 易美华, 汪菊兰, 等. 罗非鱼碎鱼肉酶解液的脱腥技术及其机理探讨 [J]. 食品工业科技, 2007, 28 (2): 65-67.
- [7] 任仙娥, 杨锋, 张水华, 等. 瑞士乳杆菌发酵对猪肉酶解液风味和品质的影响 [J]. 中国调味品, 2006 (12): 40-43.
- [8] 段旭昌, 徐怀德, 李志成, 等. 乳酸菌发酵法改良甲鱼蛋白酶解液风味研究 [J]. 中国食品学报, 2004, 4 (4): 39-42.
- [9] 张刚. 乳酸细菌——基础、技术和应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 265.
- [10] 李继伦, 张伟心, 杨启端, 等. 微生物生理学 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993.
- [11] 吕加平, 骆承庠, 刘凤民. 乳酸菌蛋白水解力的测定及研究 [J]. 东北农业大学学报, 1999, 30 (1): 68-74.
- [12] 胡文婷, 张凯, 刘海青. 鲑鱼碎肉酶解液脱腥脱苦的研究 [J]. 生物加工过程, 2007, 5 (1): 56-59.
- [13] 施文正, 汪之和, 林争艳, 等. 白鲢鱼蛋白水解液脱腥脱苦的研究 [J]. 海洋水产研究, 2004, 25 (3): 28-32.