



基于模糊数学感官评价的发酵河鲀鱼肠工艺优化

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,

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: 河鲀肉质鲜美、营养丰富, 多以鲜食为主, 为延长河鲀产品货架期, 丰富河鲀产品种类, 实验以暗纹东方鲀为原料, 利用发酵技术研制河鲀鱼肠。采用戊糖片球菌、植物乳杆菌、木糖葡萄球菌作为发酵剂, 利用单因素实验和模糊数学综合评价法确定辅料配方, 通过正交试验设计对发酵条件进行优化。结果显示, 发酵河鲀鱼肠的最优辅料配方按葡萄糖 3%、食用盐 2%、马铃薯淀粉 10% (均为质量分数), 最佳发酵条件为接种量 3.5%、发酵时间 10 h、发酵温度 35 °C, 最优发酵条件下的感官评价得分为 79.70 分。本研究建立了基于模糊数学的感官综合评价方法, 确定了发酵河鲀鱼肠的最佳配方和发酵条件, 为开发发酵河鲀产品提供了一定的理论依据。

关键词: 暗纹东方鲀; 发酵; 模糊数学评价法; 工艺优化

中图分类号: O 159; TS 254.4

文献标志码: A

暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*) 为四齿鲀科 (Tetraodontidae) 东方鲀属的鱼类, 主要分布在我国近海 (东海、黄海和渤海) 和长江中下游, 属于海淡水洄游鱼类。其肝脏、卵巢和血液均有剧毒, 皮和精巢有弱毒, 鱼肉无毒^[1]。有研究分析了 3 个地区的 3 种不同养殖模式下红鳍东方鲀 (*T. rubripes*) 的肌肉营养组成、风味物质含量等特性, 结果显示 3 种养殖模式下, 其水分、粗蛋白和粗脂肪之间都不存在显著差异, 同时肌肉中检测到 18 种常见氨基酸, 氨基酸总量平均达肌肉湿样的 (15.65%±0.95%), 或占肌肉比重 79.13 g/100.00 g~83.19 g/100.00 g (干重)^[2]。养殖雄性暗纹东方鲀肌肉中多不饱和脂肪酸 (PUFA) 含量为 0.52%, DHA 含量为 0.16%, 氨基酸总量为 80.08 g/100.00 g (干重), 并且鱼肉和精巢中富含 Se, 其氨基酸种

类齐全, 必需氨基酸占总氨基酸的比例为 44.13%~49.80%, 属于食源性优质蛋白^[3]。

以暗纹东方鲀为代表, 其体内含有优质蛋白质、脂肪, 同时富含鱼油 (DHA、EPA) 和人体必需的 8 种氨基酸及多种微量元素, 营养丰富, 食用价值高^[4], 因此河鲀深受广大消费者的喜爱, 是一类经济价值高、开发潜力巨大的水产珍品^[5-6]。但是河鲀肉不易贮藏, 在 4 °C 条件下冷藏, 仅有约 4 d 的货架期, 因此延长河鲀的货架期成为亟待解决的问题^[7]。

近年来, 将微生物用于鱼肉制品的加工受到国内外众多学者的关注。随着时代的发展, 缓慢不可控的传统发酵方式已经无法满足生产消费需求, 人为添加发酵剂, 控制发酵条件加快发酵食

收稿日期: 2021-04-30 修回日期: 2021-10-05

资助项目: 2020 年度福建省海洋保护与发展专项 (HYBF20200066); 福建省财政厅专项 (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 (照片), 从事食品微生物研究, E-mail: 1711428534@qq.com

通信作者: 刘智禹, 从事水产品加工与综合利用研究, E-mail: 13906008638@163.com;

周常义, 从事食品安全和应用微生物学研究, E-mail: chyizhou@163.com



品的成熟是现代发酵制品生产的普遍方式^[8-9]。微生物发酵通常会混合使用乳酸菌、微球菌和酵母菌等多种益生菌, 微球菌科 (*Micrococcaceae*) 中的葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 常见于发酵食品中。葡萄球菌在与乳酸菌的生存竞争中, 不会因为 pH 的降低而受到影响, 在发酵期和成熟期的最初主要依靠乳酸菌的作用, 最终发酵制品的风味、口感和颜色等感官品质还依靠葡萄球菌和酵母菌的共同作用, 使用混合发酵剂不仅可以抑制腐败微生物的生长繁殖, 还能降低硝酸盐、亚硝酸盐、生物胺、过氧化氢等不良发酵代谢产物的含量^[10], 从而得到色泽稳定、风味独特、口感优良、营养丰富的肉类发酵制品。

在生产工作与科学实验中, 人们经常会遇到模糊概念或现象, 随着科学技术的发展, 各学科领域对于这些模糊概念有关的实际问题都需要给出定量的分析, 模糊数学就是研究和处理具有不确定性和模糊性的量的变化规律的一种数学方法^[11]。食品感官评价是对食品品质综合质量判断的重要实验方法, 但是感官评价主要使用等级评分, 同时需要评价者通过多种感知渠道对食品的综合属性进行评定, 易受评价者主观想法的影响, 因此使用模糊数学综合评价法能得到更为客观而准确的结果^[12]。

本研究以暗纹东方鲀为原料, 用戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*)、植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)、木糖葡萄球菌 (*Staphylococcus xylosus*) 作为发酵剂, 利用模糊数学综合评价法确定辅料配方, 通过正交试验设计对发酵条件进行优化, 旨在为开发发酵河鲀鱼肠提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

暗纹东方鲀取自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) 来自中国工业微生物菌种保藏管理中心。马铃薯淀粉, 安徽山河药用辅料股份有限公司。食用盐, 福建省盐业集团有限公司。葡萄糖, 山东祥瑞药业有限公司。蔗糖, 厦门市新兴贸易有限公司。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。

1.2 仪器与设备

BSAB201 电子天平 (德国赛多利斯)。BS124S

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)。BGZ-140 电热鼓风干燥箱 (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)。BCD-569W 冷藏冷冻冰箱 (德国西门子)。FE28 pH 计 (瑞士 METTLER TOLEDO)。

1.3 发酵河鲀鱼肠制备

以戊糖片球菌、植物乳杆菌、木糖葡萄球菌为发酵剂, 按照购买菌种机构提供的说明书, 将冻干粉末用液体培养基溶解后, 在平板内划线培养, 再将单个菌落接种到液体培养基中扩大培养 12 h。培养结束后, 菌落计数调整菌悬液浓度至 10^7 CFU/mL, 按照菌悬液体积比 1:1:1 混合菌悬液后, 放入 4 °C 冰箱待用^[13]。按鱼肉质量分数添加马铃薯淀粉 10%、蔗糖 4%、葡萄糖 3%、食用盐 2%、菌悬液 3%, 为发酵鱼肠基础配方。

暗纹东方鲀鲜活宰杀后采肉清洗, 4 °C 下沥干水分, 低温条件下添加辅料与发酵剂, 斩拌 3 min 使其混合均匀, 灌制鱼肠, 放入生化培养箱中 35 °C 发酵 8 h。发酵结束后采用二段式加热的方式对鱼肠进行加热, 先低温 45 °C 加热 1 h, 再高温 95 °C 加热 30 min, 然后用冰水迅速冷却, 放入 4 °C 平衡 12 h 备用^[14-15]。本研究实验过程中操作人员严格遵守集美大学动物实验伦理规范, 并按照国家质量监督检验检疫总局制定的实验动物福利伦理审查标准执行。

1.4 采用模糊数学综合评价法优化辅料添加量

辅料添加量单因素实验条件设置 葡萄糖添加量组加入不同质量比 (2.0%、2.5%、3.0%、3.5%、4.0%) 的葡萄糖; 食用盐添加量组加入不同质量比 (0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%) 的食用盐; 马铃薯淀粉添加量组加入不同质量比 (6%、8%、10%、12%) 的马铃薯淀粉, 其余辅料添加量不变, 总共设置 14 个辅料添加量优化样品。

模糊数学模型建立 请 10 位经过专业培

训, 具有食品感官评价经验的专业人员对发酵后的样品进行感官评价, 感官评价标准见表 1。利

用模糊数学综合评价法得出葡萄糖、食用盐和马铃薯淀粉的最佳添加量。

表 1 感官评价表

Tab. 1 Sensory evaluation rules

指标 indicator	优 excellent	良 good	中 middle	一般 common	差 bad
口感 texture	口感弹脆, 细腻, 不黏牙	口感适中, 稍有颗粒感, 稍微黏牙	咀嚼性差, 有粗糙颗粒, 黏牙	口感无弹性, 很粗糙	口感黏糯, 非常黏牙
风味 flavour	具有发酵特殊香味, 酒精香气浓郁, 无不良气味	具有发酵特殊香味, 酒精香气较淡, 无不良气味	发酵香味较淡, 没有酒精香气, 无不良气味	发酵香味较淡, 味道平淡, 有轻微异味	没有明显的发酵香味, 有异味
色泽 colour	颜色亮白, 色泽均匀	颜色亮白, 色泽轻微不匀	颜色部分亮白, 轻微发黄, 色泽不匀	颜色灰白, 部分发黄, 色泽不匀	颜色发黄, 色泽暗淡
组织状态 tissue	组织结构紧密, 无明显气孔, 切面平整	组织结构紧密, 有少数细小气孔, 切面平整	组织结构较为紧密, 有些许气孔, 切面平整, 边缘有裂痕	组织结构稍微松散, 有气孔, 切面不平整, 边缘有裂痕和软化	组织结构松散, 有较多气孔, 切面不平整, 边缘软化严重
外观 appearance					

根据感官评价标准设定感官指标评定论域 $U=\{\text{口感}(u_1), \text{风味}(u_2), \text{色泽}(u_3), \text{组织状态}(u_4)\}$; 感官评语评定论域 $V=\{\text{优}, \text{良}, \text{中}, \text{一般}, \text{差}\}$ 。根据发酵鱼肠中口感、风味、色泽与组织状态在整体感官质量中所占据的重要性, 可以将其权重域设定为 $A=\{0.20, 0.40, 0.20, 0.20\}$ 。

Y 是 U 到 V 上的一个模糊映射集, 综合评判的结果集 Y 就是由模糊关系矩阵 R 与各指标因素权重域 A 计算而得, 具体公式可表达为 $Y=R \cdot A^{[16]}$ 。

1.5 采用正交试验设计法对发酵条件优化

采用单因素轮换实验依次优化发酵剂接种量 (1%、2%、3%、4%、5%); 发酵时间 (8、12、16、20、24、28、32、36、40、44 和 48 h); 发酵温度 (25、35、45 和 55 °C)。

请 10 位经过专业培训, 具有食品感官评价经验的专业人员对发酵后的鱼肠进行感官评价, 感官评价细则见表 1。在单因素实验的基础上, 以感官评分为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表 (表 2), 利用正交试验设计法得出发酵剂接种量、发酵时间、发酵温度的最优发酵条件组合^[17]。

1.6 数据分析

使用正交设计助手 IIV 3.1 以及 GraphPad prism 8.02 软件进行数据分析。

$$R_1 = \begin{pmatrix} 0.2 & 0.1 & 0.2 & 0.5 & 0.0 \\ 0.5 & 0.5 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.6 & 0.2 & 0.0 \\ 0.1 & 0.3 & 0.1 & 0.4 & 0.1 \end{pmatrix} \quad R_2 = \begin{pmatrix} 0.2 & 0.0 & 0.2 & 0.6 & 0.0 \\ 0.5 & 0.2 & 0.3 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.4 & 0.4 & 0.0 \\ 0.1 & 0.3 & 0.2 & 0.4 & 0.0 \end{pmatrix}$$

$$R_3 = \begin{pmatrix} 0.3 & 0.2 & 0.4 & 0.1 & 0.0 \\ 0.5 & 0.5 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.8 & 0.0 & 0.0 \\ 0.1 & 0.3 & 0.1 & 0.5 & 0.0 \end{pmatrix} \quad R_4 = \begin{pmatrix} 0.1 & 0.3 & 0.2 & 0.4 & 0.0 \\ 0.2 & 0.8 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.7 & 0.1 & 0.0 \\ 0.1 & 0.2 & 0.2 & 0.5 & 0.0 \end{pmatrix}$$

表 2 正交因素水平设计

Tab. 2 Orthogonal of factors and levels design

水平 level	因素 factor		
	接种量(A)% inoculation amount	发酵时间(B)/h fermentation time	发酵温度(C)/°C fermentation temperature
1	2.5	10	30
2	3.0	12	35
3	3.5	14	40

2 结果

2.1 模糊数学模型建立

汇总整理辅料添加量感官评价实验结果, 得出模糊关系综合评判集 (表 3)。根据“采用模糊数学综合评价法优化辅料添加量”中的方法设置葡萄糖、食用盐和马铃薯淀粉这 3 种辅料的 14 个不同添加量的样品 (表 4)。

样品 1 的口感官评分: 选择优的 2 人, 选择良的 1 人, 选择中的 2 人, 选择一般的 5 人, 选择差的 0 人。将上述评价人数除以总参与人数 10 人, 得到模糊矩阵 R_1 第 1 行, 同理, 样品 1 风味、色泽、组织状态的感官评分分别为模糊矩阵 R_1 第 2 行、第 3 行、第 4 行。由此可得所有样品的模糊矩阵 R , 即:

$$\begin{aligned}
 R_5 &= \begin{pmatrix} 0.1 & 0.3 & 0.3 & 0.1 & 0.2 \\ 0.4 & 0.6 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.5 & 0.3 & 0.0 \\ 0.1 & 0.2 & 0.2 & 0.5 & 0.0 \end{pmatrix} & R_6 &= \begin{pmatrix} 0.1 & 0.0 & 0.1 & 0.5 & 0.3 \\ 0.3 & 0.7 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.5 & 0.0 & 0.5 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.1 & 0.6 & 0.1 \end{pmatrix} \\
 R_7 &= \begin{pmatrix} 0.2 & 0.0 & 0.2 & 0.6 & 0.0 \\ 0.2 & 0.6 & 0.2 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.4 & 0.2 & 0.4 & 0.0 \\ 0.0 & 0.3 & 0.2 & 0.5 & 0.0 \end{pmatrix} & R_8 &= \begin{pmatrix} 0.1 & 0.1 & 0.4 & 0.4 & 0.0 \\ 0.5 & 0.3 & 0.2 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.5 & 0.3 & 0.0 \\ 0.0 & 0.1 & 0.1 & 0.8 & 0.0 \end{pmatrix} \\
 R_9 &= \begin{pmatrix} 0.3 & 0.4 & 0.2 & 0.0 & 0.1 \\ 0.5 & 0.5 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.4 & 0.4 & 0.0 \\ 0.0 & 0.4 & 0.4 & 0.2 & 0.0 \end{pmatrix} & R_{10} &= \begin{pmatrix} 0.2 & 0.2 & 0.3 & 0.1 & 0.2 \\ 0.4 & 0.6 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.4 & 0.4 & 0.0 \\ 0.0 & 0.5 & 0.1 & 0.4 & 0.0 \end{pmatrix} \\
 R_{11} &= \begin{pmatrix} 0.2 & 0.1 & 0.5 & 0.2 & 0.0 \\ 0.0 & 0.5 & 0.4 & 0.1 & 0.0 \\ 0.0 & 0.0 & 0.5 & 0.5 & 0.0 \\ 0.0 & 0.0 & 0.4 & 0.1 & 0.5 \end{pmatrix} & R_{12} &= \begin{pmatrix} 0.1 & 0.5 & 0.4 & 0.0 & 0.0 \\ 0.5 & 0.2 & 0.1 & 0.2 & 0.0 \\ 0.0 & 0.0 & 0.2 & 0.8 & 0.0 \\ 0.0 & 0.1 & 0.3 & 0.6 & 0.0 \end{pmatrix} \\
 R_{13} &= \begin{pmatrix} 0.3 & 0.7 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.7 & 0.1 & 0.1 & 0.1 & 0.0 \\ 0.0 & 0.1 & 0.2 & 0.7 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.8 & 0.0 & 0.0 \end{pmatrix} & R_{14} &= \begin{pmatrix} 0.5 & 0.2 & 0.1 & 0.2 & 0.0 \\ 0.5 & 0.5 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.1 & 0.2 & 0.5 & 0.2 \\ 0.2 & 0.1 & 0.7 & 0.0 & 0.0 \end{pmatrix}
 \end{aligned}$$

模糊矩阵结果与权重因素集通过模糊变换得到模糊综合评价值, 以第一组为例:

$$Y_1 = R_1 \cdot A = \begin{pmatrix} 0.2 & 0.1 & 0.2 & 0.5 & 0.0 \\ 0.5 & 0.5 & 0.0 & 0.0 & 0.0 \\ 0.0 & 0.2 & 0.6 & 0.2 & 0.0 \\ 0.1 & 0.3 & 0.1 & 0.4 & 0.1 \end{pmatrix} \cdot (0.20, 0.40, 0.20, 0.20)$$

式中, $Y_{1-1}=0.2 \times 0.20 + 0.5 \times 0.40 + 0.0 \times 0.20 + 0.1 \times 0.20 = 0.26$, 以此类推可得 $Y_{1-2}=0.32$, $Y_{1-3}=0.18$, $Y_{1-4}=0.22$, $Y_{1-5}=0.02$, 由此可得到 $Y_1=(0.26, 0.32, 0.18, 0.22, 0.02)$, 同理:

$$\begin{aligned}
 Y_2 &= (0.26, 0.18, 0.28, 0.28, 0.00), & Y_3 &= (0.28, 0.34, 0.26, 0.12, 0.00), \\
 Y_6 &= (0.14, 0.42, 0.04, 0.32, 0.08), & Y_7 &= (0.12, 0.38, 0.20, 0.30, 0.00), \\
 Y_8 &= (0.22, 0.20, 0.28, 0.30, 0.00), & Y_9 &= (0.26, 0.40, 0.20, 0.12, 0.02), \\
 Y_{10} &= (0.20, 0.42, 0.16, 0.18, 0.04), & Y_{11} &= (0.04, 0.12, 0.44, 0.20, 0.10), \\
 Y_{12} &= (0.22, 0.20, 0.22, 0.36, 0.00), & Y_{13} &= (0.34, 0.24, 0.24, 0.18, 0.00), \\
 Y_{14} &= (0.34, 0.28, 0.20, 0.14, 0.04)
 \end{aligned}$$

将感官评价等级设置为优(100分)、较好(80分)、中等(60分)、一般(40分)、差(20分), 即评价等级集 $K=(100, 80, 60, 40, 20)$, 将矩阵结果和评价集经过计算得出感官评分(表4)。

根据感官评价结果得出辅料最佳添加量: 葡萄糖添加量 3%、食用盐添加量 2%、马铃薯淀粉添加量 10%、感官评价得分分别为 78.00、75.20 和 74.80。

2.2 发酵条件单因素实验感官评价结果

对发酵条件单因素实验样品进行感官评价, 同时, 发酵 36 h 后鱼肠变质, 因此发酵时间感官评价实验在 36 h 结束。结果见图 1, 图 2, 图 3, 发酵剂接种量感官评分最高为 66.40, 发酵时间感官评分最高为 63.80, 发酵温度感官评分最高为

64.40。选择每组评分最高的发酵条件参数: 发酵菌悬液接种量 3%、发酵时间 12 h、发酵温度 35 °C, 做为正交试验的基础。

2.3 发酵条件正交试验优化

在单因素实验基础上进行正交实验设计, 根据表 2 设计的因素水平来考察接种量(A)、发酵时间(B)、发酵温度(C)这 3 个因素对感官评价结果的影响, 分别设置 3 个水平, 为接种量 2.5%、3.0% 和 3.5%, 发酵时间 10、12 和 14 h, 发酵温度 30、35 和 40 °C, 以上数据为表 5 中括号内数字, 根据正交性从全面试验中选择 9 个最具代表性的实验组合, 以感官评分为考察指标, 确定发酵工艺条件。正交试验结果见表 5。

表 3 模糊关系综合评判集

Tab. 3 Fuzzy relational comprehensive evaluation set

样品 sample	口感 texture					风味 flavour					色泽 colour					组织状态 tissue appearance				
	优	良	中	一般	差	优	良	中	一般	差	优	良	中	一般	差	优	良	中	一般	差
1	2	1	2	5	0	5	5	0	0	0	0	2	6	2	0	1	3	1	4	1
2	2	0	2	6	0	5	2	3	0	0	0	2	4	4	0	1	3	2	4	0
3	3	2	4	1	0	5	5	0	0	0	0	2	8	0	0	1	3	1	5	0
4	1	3	2	4	0	2	8	0	0	0	0	2	7	1	0	1	2	2	5	0
5	1	3	3	1	2	4	6	0	0	0	0	2	5	3	0	1	2	2	5	0
6	1	0	1	5	3	3	7	0	0	0	0	5	0	5	0	0	2	1	6	1
7	2	0	2	6	0	2	6	2	0	0	0	4	2	4	0	0	3	2	5	0
8	1	1	4	4	0	5	3	2	0	0	0	2	5	3	0	0	1	1	8	0
9	3	4	2	0	1	5	5	0	0	0	0	2	4	4	0	0	4	4	2	0
10	2	2	3	1	2	4	6	0	0	0	0	2	4	4	0	0	5	1	4	0
11	2	1	5	2	0	0	5	4	1	0	0	0	5	5	0	0	0	4	1	5
12	1	5	4	0	0	5	2	1	2	0	0	0	2	8	0	0	1	3	6	0
13	3	7	0	0	0	7	1	1	1	0	0	1	2	7	0	0	2	8	0	0
14	5	2	1	2	0	5	5	0	0	0	0	1	2	5	2	2	1	7	0	0

表 4 感官评价结果

Tab. 4 Results of the sensory evaluation

编号 number	葡萄糖 添加量/% glucose content	食用盐 添加量/% dietary salt content	马铃薯淀粉 添加量/% potato starch content	感官评分/分 sensory score
1	2.0	2.0	10	71.60
2	2.5	2.0	10	68.40
3	3.0	2.0	10	78.00
4	3.5	2.0	10	70.00
5	4.0	2.0	10	70.40
6	3.0	0.5	10	52.88
7	3.0	1.0	10	66.40
8	3.0	1.5	10	66.80
9	3.0	2.0	10	75.20
10	3.0	2.5	10	64.72
11	3.0	2.0	6	50.00
12	3.0	2.0	8	65.60
13	3.0	2.0	10	74.80
14	3.0	2.0	12	74.80

根据正交试验直观分析结果可以得知, 接种量的 k_1 为接种量 2.5% 的考察指标, 即感官评分结果: $(66.50+59.60+56.80)/3$, 同理接种量的 k_2 和 k_3 为接种量 3.0% 和 3.5% 的感官评分结果, R 值

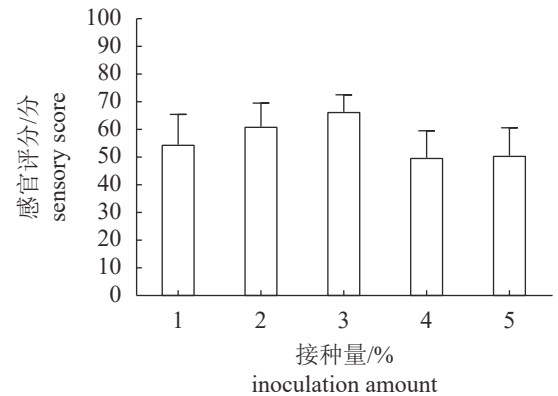


图 1 发酵鱼肠发酵剂接种量感官评价结果

Fig. 1 Results of sensory evaluation for incubation amount in fermented pufferfish sausage

为对应的每列 k 值的最大值减去最小值, 发酵时间与发酵温度的结果以此类推。发酵条件选择由 k 值决定, 最佳发酵工艺条件: 接种量 3.5%、发酵时间 10 h、发酵温度 35 °C。对感官评价结果的影响主次因素由 R 值大小决定, 即发酵时间 > 接种量 > 发酵温度。

2.4 最佳发酵工艺条件验证

按照最佳发酵条件制作发酵鱼肠, 实验组感

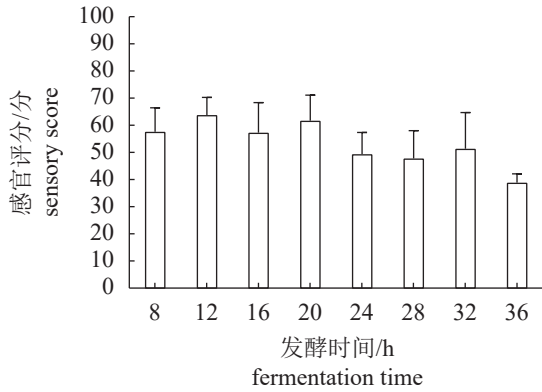


图2 发酵鱼肠发酵时间感官评价结果

Fig. 2 Results of sensory evaluation for fermentation time in fermented pufferfish sausage

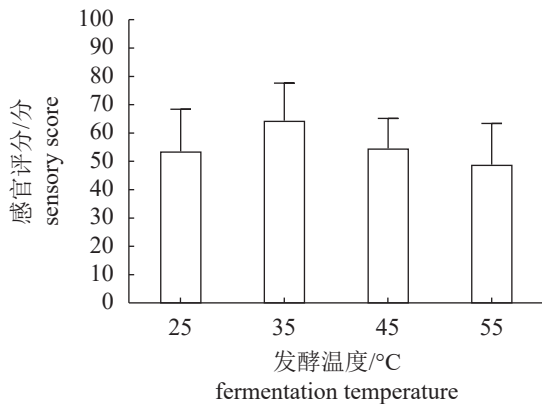


图3 发酵鱼肠发酵温度感官评价结果

Fig. 3 Results of sensory evaluation for the fermentation temperature in fermented pufferfish sausage

表5 发酵鱼肠工艺条件优化正交试验结果

Tab. 5 Results of orthogonal experiment for fermented pufferfish sausage technology optimization

序列 sequence	接种量(A)/% inoculation amount	发酵时间(B)/h fermentation time	发酵温度(C)/°C fermentation temperature	感官评分/分 sensory score
1	1 (2.5)	1 (10)	1 (30)	66.50±4.32
2	1 (2.5)	2 (12)	2 (35)	59.60±8.80
3	1 (2.5)	3 (14)	3 (40)	56.80±12.01
4	2 (3.0)	1 (10)	2 (30)	59.10±15.35
5	2 (3.0)	2 (12)	3 (35)	65.50±8.69
6	2 (3.0)	3 (14)	1 (30)	61.90±10.94
7	3 (3.5)	1 (10)	3 (35)	62.30±9.96
8	3 (3.5)	2 (12)	1 (30)	57.50±14.54
9	3 (3.5)	3 (14)	2 (30)	68.00±13.31
k ₁	60.967	62.633	61.967	
k ₂	62.167	60.867	62.233	
k ₃	62.600	62.233	61.533	
R	1.633	1.766	0.700	

官评分为 79.70 分。对照组发酵温度为 0 °C，其余条件与实验组一致，其感官评分为 72.50 分。与对照组相比，发酵后的鱼肠口感得到明显改善。

3 讨论

发酵制品中常用的微生物主要有乳酸菌、微球菌、霉菌和酵母菌等^[18]。根据 2010 年我国原卫生部发布的《可用于食品的菌种名单》和新资源食品公告，其中戊糖片球菌、植物乳杆菌、木糖葡萄球菌均为可用于食品加工的微生物，同时木糖葡萄球菌用于肉类生产的时间已超过 30 年。因此，本研究采用戊糖片球菌、植物乳杆菌、木糖葡萄球菌作为发酵剂，制备发酵河鲀鱼肠制品。

有研究表明，葡萄球菌能产生硝酸盐还原酶，可以将硝酸盐还原成亚硝酸盐，在 pH 值较低的环境下亚硝酸盐被分解成 NO，同时产生的过氧化氢酶能够消除乳酸菌代谢所产生的过氧化氢，过氧化氢作为强氧化剂，会对肉类发酵制品的风味产生负面的影响^[19]。此外，蛋白酶和脂肪酶对肉类发酵制品后期成熟时呈色、呈味与独特口感的形成有重要影响^[20]。也有国外研究人员发现，发酵肉类制品中分离出的凝血酶阴性的葡萄球菌可能是帮助降解硝酸盐和亚硝酸盐的主要菌种^[21]。此外，采用包含清酒乳杆菌 (*L. sakei*)、弯曲乳杆菌 (*L. curvatus*) 和戊糖乳酸菌 (*L. pentosus*) 的混合发酵剂制作香肠，结果显著降低了干发酵香肠中酪胺、尸胺和腐胺的含量^[22]。曾雪峰^[23]发现，接种了混合菌发酵剂的酸鱼在发酵过程中酪胺、尸胺和腐胺的积累受到显著抑制。因此，使用混合发酵剂不仅可以抑制腐败微生物的生长繁殖，还能降低硝酸盐、亚硝酸盐、生物胺和过氧化氢等不良的发酵代谢产物的含量，增加鱼肉的安全性、保藏性和功能性^[24]。

Kopermsub 等^[25]使用盐水腌制鱼肉，在添加大米和蒜末后得到泰国的传统发酵鱼制品 plaasom。有研究人员采用 16S rRNA 高通量测序技术研究鱼露发酵过程中细菌群落演替的规律，结果显示，在发酵 6 个月时细菌种数达到最大 (312 种)，发酵 12 个月时菌群多样性有所下降，菌群间的差异变小，厚壁菌门 (Firmicutes) 和变形菌门 (Proteobacteria) 为整个发酵过程中的主要菌种类型，联合 GC-MS 检测其挥发性成分，筛选得到 9 种呈香风味化合物^[26]。有研究测定了日本传统食物 Narezushi 的抗氧化能力和对超氧阴离子自由基的

清除能力, 鉴定得出 5 株乳酸菌能够发酵乳糖, 在培养基中生长能清除 DPPH 和超氧阴离子, 在发酵牛奶时, 也表现出同样的协同效应^[27]。对鱼露发酵过程中的挥发性风味成分和脂肪酸组分变化进行研究, 采用 GC-MS 在 5 个不同的发酵时间点进行检测, 得到了 7 大类 56 种挥发性化合物, 以香气活力值 (OVA) 为依据筛选出 12 种对鱼露风味贡献显著的主体呈香化合物, 鱼露中的脂肪酸主要为 C15~C26, 不饱和脂肪酸 (UFA) 相对含量高达 67.23%^[28]。后续研究发酵河鲀鱼肠还可通过选择优良发酵菌种、比较发酵产物对产品风味品质形成的影响等方面开展探讨。

4 结论

本研究以暗纹东方鲀为主要原料, 以戊糖片球菌、植物乳杆菌、木糖葡萄球菌为发酵剂, 建立了基于模糊数学综合评价法进行感官评价的方法, 发酵河鲀鱼肠的最优辅料配方为葡萄糖添加量 3%、食用盐添加量 2%、马铃薯淀粉添加量 10% (均为质量分数), 最佳发酵条件为接种量 3.5%、发酵时间 10 h、发酵温度 35 °C, 感官评分为 79.70 分。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 王兴龙, 蔡强, 桂文锋, 等. 河鲀毒素及其检测技术研究进展[J]. 水产科学, 2020, 39(3): 447-457.
Wang X L, Cai Q, Gui W F, *et al.* Research advances on tetrodotoxin and detection: a review[J]. *Fisheries Science*, 2020, 39(3): 447-457 (in Chinese).
- [2] 高露姣, 黄艳青, 夏连军, 等. 不同养殖模式下红鳍东方鲀的品质比较[J]. 水产学报, 2011, 35(11): 1668-1676.
Gao L J, Huang Y Q, Xia L J, *et al.* Comparison of flesh quality of farmed fugu, *Takifugu rubripes* from different culture models[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(11): 1668-1676 (in Chinese).
- [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 pufferfish (*Takifugu obscurus*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013 (in Chinese).

- [4] 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 (in Chinese).
- [5] Men L, Li Y Z, Wang X L, *et al.* Protein biomarkers associated with frozen Japanese puffer fish (*Takifugu rubripes*) quality traits[J]. *Food Chemistry*, 2020, 327: 127002.
- [6] 吴容. 养殖暗纹东方鲀肉中特征性气味物质鉴定研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2013.
Wu R. Identification of characteristic aroma-active compounds in meat of cultured puffer fish (*Takifugu obscurus*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013 (in Chinese).
- [7] 郭芮, 张晓梅, 苏红, 等. 河鲀鱼的营养价值及副产物可利用性的研究现状[J]. 食品科技, 2018, 43(3): 113-116.
Guo R, Zhang X M, Su H, *et al.* The research status of nutrition value and by-products utilization of puffer fish[J]. *Food Science and Technology*, 2018, 43(3): 113-116 (in Chinese).
- [8] Speranza B, Racioppo A, Beneduce L, *et al.* Autochthonous lactic acid bacteria with probiotic aptitudes as starter cultures for fish-based products[J]. *Food Microbiology*, 2017, 65: 244-253.
- [9] 刘延峰, 李雪良, 张晓龙, 等. 发酵过程多尺度解析与调控的研究进展[J]. 生物工程学报, 2019, 35(10): 2003-2013.
Liu Y F, Li X L, Zhang X L, *et al.* Advances in multi-scale analysis and regulation for fermentation process[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2019, 35(10): 2003-2013 (in Chinese).
- [10] Molognoni L, Dagher H, de Sá Ploêncio L A, *et al.* A multi-purpose tool for food inspection: simultaneous determination of various classes of preservatives and biogenic amines in meat and fish products by LC-MS[J]. *Talanta*, 2018, 178: 1053-1066.
- [11] 刘美迎, 李小龙, 梁茁, 等. 基于模糊数学和聚类分析的鲜食葡萄品种综合品质评价[J]. 食品科学, 2015, 36(13): 57-64.
Liu M Y, Li X L, Liang Z, *et al.* Comprehensive quality

- assessment of table grapes varieties using fuzzy mathematics and cluster analysis[J]. *Food Science*, 2015, 36(13): 57-64 (in Chinese).
- [12] 康莉, 李敏, 龙银晴. 模糊数学在食品感官分析中的应用现状分析[J]. *农产品加工*, 2019(10): 89-91.
- Kang L, Li M, Long Y Q. Application of fuzzy mathematics in food sensory analysis[J]. *Farm Products Processing*, 2019(10): 89-91 (in Chinese).
- [13] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 4789.2-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of PRC, China Food and Drug Administration. GB 4789.2-2016 National food safety standard food microbiology inspection, determination of total number of colonies[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017 (in Chinese).
- [14] 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 (in Chinese).
- [15] 中华人民共和国农业农村部. GB/T 36187-2018 冷冻鱼糜 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs of PRC. GB/T 36187-2018 Frozen surimi[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018 (in Chinese).
- [16] 吴靖娜, 路海霞, 蔡水淋, 等. 基于模糊数学感官评价法优化液熏鲍生产工艺[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(12): 4932-4941.
- Wu J N, Lu H X, Cai S L, *et al.* Optimization on processing of liquid-smoked abalone based on fuzzy mathematics sensory evaluation[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2015, 6(12): 4932-4941 (in Chinese).
- [17] 阮一凡, 潘道东, 孙杨赢, 等. 混菌发酵鸭腿工艺优化及其贮藏品质特性[J]. *食品科学*, 2020, 41(10): 101-109.
- Ruan Y F, Pan D D, Sun Y Y, *et al.* Optimization of production of fermented duck thigh with a mixed starter culture of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* and changes in its quality characteristics during storage[J]. *Food Science*, 2020, 41(10): 101-109 (in Chinese).
- [18] 密更, 李婷婷, 仪淑敏, 等. 人工接种乳酸菌发酵鱼糜的研究进展[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(5): 302-312.
- Mi G, Li T T, Yi S M, *et al.* The research advance of fermented surimi inoculated with lactic acid bacteria[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(5): 302-312 (in Chinese).
- [19] Wang Y Q, Li C S, Li L H, *et al.* Effect of bacterial community and free amino acids on the content of biogenic amines during fermentation of Yu-lu, a Chinese fermented fish sauce[J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2018, 27(4): 496-507.
- [20] 李微. 基于鱼蛋白多肽开发的低钠盐及其在广式腊肠中的应用研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- Li W. Low-sodium salt based on fish protein polypeptide and its application in Cantonese sausage[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019 (in Chinese).
- [21] Perea-Sanz L, Montero R, Belloch C, *et al.* Nitrate reduction in the fermentation process of salt reduced dry sausages: impact on microbial and physicochemical parameters and aroma profile[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, 282: 84-91.
- [22] Sun F D, Kong B H, Chen Q, *et al.* N-nitrosoamine inhibition and quality preservation of Harbin dry sausages by inoculated with *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*[J]. *Food Control*, 2017, 73: 1514-1521.
- [23] 曾雪峰. 淡水鱼发酵对酸鱼品质影响的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- Zeng X F. Study on the effect of Suan Yu property of fermented freshwater fish[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013 (in Chinese).
- [24] Zang J H, Xu Y S, Xia W S, *et al.* Correlations between microbiota succession and flavor formation during fermentation of Chinese low-salt fermented common carp (*Cyprinus Carpio* L.) inoculated with mixed starter cultures[J]. *Food Microbiology*, 2020, 90: 103487.
- [25] Kopermsub P, Yunchalard S. Identification of lactic acid bacteria associated with the production of *plaa-som*, a traditional fermented fish product of Thailand[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 138(3): 200-204.
- [26] 李春生, 王悦齐, 李来好, 等. 传统鱼露发酵过程中细菌群落演替及其挥发性风味形成的影响分析[J]. *食*

- 品科学, 2018, 39(24): 85-92.
- Li C S, Wang Y Q, Li L H, *et al.* Bacterial community succession during fermentation of Chinese fish sauce and its effect on formation of volatile flavor components[J]. *Food Science*, 2018, 39(24): 85-92 (in Chinese).
- [27] Kanno T, Kuda T, An C, *et al.* Radical scavenging capacities of *saba-narezushi*, Japanese fermented chub mackerel, and its lactic acid bacteria[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2012, 47(1): 25-30.
- [28] 王悦齐, 李春生, 李来好, 等. 基于GC-MS联用技术分析传统鱼露发酵过程中挥发性风味成分和脂肪酸组分变化[J]. 水产学报, 2018, 42(6): 984-995.
- Wang Y Q, Li C S, Li L H, *et al.* Analysis of volatile flavor components and fatty acids in fish sauces during fermentation by GC-MS[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(6): 984-995 (in Chinese).

Optimization of pufferfish sausage fermentation process based on fuzzy mathematics sensory evaluation

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

(1. College of Ocean Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Fisheries Research Institute of Fujian,

National Research and Development Center for Marine Fish Processing, Xiamen 361013, China;

3. Xiamen Medical College, Xiamen 361023, China)

Abstract: Pufferfish meat is delicious, nutritious and mostly cooked fresh. In order to prolong the shelf life and enrich pufferfish products, *Takifugu obscurus* was used as raw material in this study to develop a type of pufferfish sausage. *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* were used as fermenting agents fermentation conditions were optimized by orthogonal experimental design, and the formula was determined by single factor experiment and fuzzy mathematics comprehensive evaluation. The results showed that the optimal supplementary ingredients compoIn conclusion glucose 3%, edible salt 2% and potato starch 10%, and the optimal fermentation conditions were inoculation amount 3.5%, fermentation time 10 h and fermentation temperature 35 °C. The sensory evaluation score of the optimal fermentation conditions was 79.70. In conclusion, a comprehensive sensory evaluation method based on fuzzy mathematics was established, and the optimal formula and fermentation conditions for fermented pufferfish sausage were determined, which provided a theoretical basis for the development of fermented pufferfish products.

Key words: *Takifugu obscurus*; ferment; fuzzy mathematical evaluation; process optimization

Corresponding authors: LIU Zhiyu. E-mail: 13906008638@163.com;

ZHOU Changyi. E-mail: chyizhou@163.com

Funding projects: Special Project of Ocean Protection and Development of Fujian Province in 2020 (HYBF20200066); Special Fund of Fujian Provincial Department of Finance (MCZ [2021] 848); Ocean High Technology Project of Fujian Provincial Department of Oceans and Fisheries (MHYGX [2015] 23)