

传统发酵海产品中产香产蛋白酶菌株的 筛选、鉴定及特性

蔡浩田¹, 陶磊², 刘宇¹, 孙迪¹, 马庆保¹, 余中节^{1*}, 姜维^{1*}

(1. 浙江海洋大学 国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 浙江 舟山 316022; 2. 浙江海洋大学 食品与药学院, 浙江 舟山 316022)

摘要: 从传统发酵海产品中筛选产香产蛋白酶菌株, 探究其生长及产酶特性。以传统发酵的鱼露、虾酱和糟鱼酱为原料, 筛选和鉴定高产蛋白酶并具备产香潜力的菌株, 探究菌株生长和产酶特性。经嗅辨法和透明圈初筛, 菌株生长活力、产蛋白酶活力、还原型辅酶 I-谷氨酸脱氢酶(nicotinamide adenine dinucleotide-glutamate dehydrogenase, NADH-GDH)活力和支链氨基酸转氨酶活力复筛, 分离得到产蛋白酶活力和产香潜力显著高于其他菌株的菌株 YL14 和 YL25 ($p < 0.05$)。经形态学观察和分子生物学鉴定, 菌株 YL14 为热带芽孢杆菌(*Bacillus tropicus*), YL25 为吉氏不动杆菌(*Acinetobacter guillouiae*)。 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 均在最适温度 35 °C、初始 pH7、低盐(0%~2%)环境下生长良好。 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 所产的蛋白酶均在温度 35 °C、初始 pH7、NaCl 含量 2% 时具有最高的产蛋白酶活力。

关键词: 发酵海产品; 菌株筛选; 产香; 产蛋白酶; 生长特性; 产酶特性

Screening, Identification and Characterization of Aroma and Protease-producing Strains from Traditional Fermented Seafoods

CAI Haotian¹, TAO Lei², LIU Yu¹, SUN Di¹, MA Qingbao¹, YU Zhongjie^{1*}, JIANG Wei^{1*}

(1. National Engineering Research Center for Marine Aquaculture, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, Zhejiang, China; 2. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, Zhejiang, China)

Abstract: This study screened out aroma and protease-producing strains from traditional fermented seafood and discussed their growth and protease-producing characteristics. With traditional fermented fish sauce, shrimp sauce and mashed fish as raw materials, strains with high protease-producing and aroma-producing potential were screened out and identified to investigate their growth and protease-producing characteristics. After preliminary screening with olfactory identification and transparent circles, the growth activity, protease-producing activity, nicotinamide adenine dinucleotide-glutamate dehydrogenase (NADH-GDH) activity, and branched-chain amino acid transaminase activity of the strains were further screened. YL14 and YL25 strains ($p < 0.05$) were isolated, with significantly higher protease-producing activity and aroma-producing potential than others. Through morphological observation and molecular biological identification, YL14 was *Bacillus tropicus* and YL25 was *Acinetobacter guillouiae*. *B. tropicus* YL14 and *A. guillouiae* YL25 grew well under an optimal temperature of 35 °C, an initial pH value of 7, and a low salt environment (0%~2%). The proteases produced by *B. tropicus* YL14 and *A. guillouiae* YL25 had the highest protease activity at 35 °C, initial pH7, and NaCl content of 2%.

Key words: fermented seafoods; strain screening; aroma-producing; protease-producing; growth characteristics; protease-producing characteristics

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD2401501); 浙江省基础公益研究计划项目(LTGN23C200013); 定海区科技计划项目(2022C31007)

作者简介: 蔡浩田(1999—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与贮藏。

*通信作者: 余中节(1990—), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向: 海洋生物资源高值化利用; 姜维(1987—), 男, 研究员, 博士, 研究方向: 食品加工与贮藏。

引文格式:

蔡浩田,陶磊,刘宇,等.传统发酵海产品中产香产蛋白酶菌株的筛选、鉴定及特性[J].食品研究与开发,2025,46(6):145-151.

CAI Haotian, TAO Lei, LIU Yu, et al. Screening, Identification and Characterization of Aroma and Protease-producing Strains from Traditional Fermented Seafoods[J]. Food Research and Development, 2025, 46(6): 145-151.

传统发酵海产品一般以海洋动物和盐为原料,在内源酶和微生物共同作用下,经长期自然发酵制得^[1]。发酵过程中发酵液中微生物菌群复杂,相互作用产生丰富的风味物质^[2]。传统发酵海产品因其风味独特,并富含氨基酸、有机酸、矿物质、维生素等营养物质,深受消费者喜爱^[3]。

海洋动物蛋白质含量高,储存时极易滋生腐败微生物而发生变质。发酵海产品通常采用高盐环境以抑制腐败微生物的生长,导致生产周期长和产品含盐量高,不符合现代食品工业和低盐膳食的饮食要求。近年来,缩短发酵周期、降低产品含盐量和改善产品风味是传统发酵海产品品质提升的重要目标,选择功能性发酵剂是实现该目标的关键途径。微生物产生的蛋白酶能够将复杂的蛋白质分解成小肽和氨基酸,从而改善产品风味^[4]。有研究从传统发酵虾酱中筛选出多种产蛋白酶的菌株作为发酵剂进行鱼露发酵,相对于未添加发酵剂的鱼露,更能提高营养价值并降低鱼腥味^[5]。贺晓丽等^[6]采用贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) SW5 协同外源蛋白酶发酵鳀鱼,有效提高了氨基酸态氮含量,缩短鱼露产品的发酵周期。

目前,优良功能性菌株不足,在发酵食品中筛选功能性微生物可作为优质发酵剂的重要来源。本研究从发酵鱼露、虾酱和鱼酱中筛选出具有产蛋白酶活力和产香潜力的菌株,采用形态学和分子生物学对菌株进行鉴定并评估其生长和产酶特性,以期传统发酵海产品实现现代化工业转型提供高效的功能性发酵剂。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 样品

发酵鱼露:浙江兴业集团有限公司;发酵虾酱、糟鱼酱:市售。

1.1.2 培养基

脱脂奶粉初筛培养基 A 液:蛋白胨 10 g/L、酵母粉 5 g/L、氯化钠 10 g/L、琼脂粉 20 g/L, pH 值 7.0±0.2, 蒸馏水 500 mL, 121 °C 灭菌 15 min。脱脂奶粉初筛培养基 B 液:脱脂奶粉 1 g/L, 105 °C 灭菌 10 min。A 液和 B 液混匀即为脱脂奶粉初筛培养基。

LB 液体培养基和 LB 固体培养基:青岛海博生物技术有限公司。

1.1.3 主要试剂

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠、三氯乙酸、碳酸钠、氢氧化钠、盐酸、甘油(均为分析纯)、福林酚(生物试剂):国药集团化学试剂有限公司;酪蛋白、革兰氏染色试剂、脱脂奶粉:北京索莱宝生物科技有限公司;还原型辅酶 I - 谷氨酸脱氢酶(nicotinamide adenine dinucleotide-glutamate dehydrogenase, NADH-GDH)试剂盒、支链氨基酸转氨酶(branched-chain amino acid aminotransferase, BCAT)试剂盒:上海瓦兰生物科技有限公司。

1.1.4 主要仪器

YXQ-LS-75 型立式压力蒸汽灭菌器:上海博迅实业有限公司医疗设备厂;HC-3018R 型冷冻离心机:安徽中科中佳科学仪器有限公司;DW-86L388 型超低温冰箱:青岛海尔股份有限公司;DH6000B II 型电热恒温培养箱:天津泰斯特仪器有限公司;CX21 型生物显微镜:台湾奥林巴斯股份有限公司;MD-M2 型酶标仪:美国 Molecular Devices 公司;SW-CJ-2FD 型洁净工作台:苏净集团苏州安泰空气技术有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 初筛

1.2.1.1 产蛋白酶菌株的分离

将 10 g 样品加入到 90 mL 的 LB 液体培养基中, 37 °C、180 r/min 恒温培养箱培养 24 h。富集培养液用无菌生理盐水梯度稀释,取 100 μL 稀释液涂布于脱脂奶粉初筛培养基平板,置于 37 °C 电热恒温培养箱培养 48 h,挑选有透明圈的菌落。

1.2.1.2 产香菌株的筛选

将 1.2.1.1 筛选的菌株接种于 LB 液体培养基中, 37 °C、180 r/min 恒温培养箱培养 24 h,通过感官分析、嗅辨分析筛选出具备产香能力的菌株。邀请 10 位志愿者(5 男 5 女,年龄 20~30 岁)参与感官分析,评定前需对 10 位成员进行风味培训。按一定比例接种无菌水至 LB 液体培养基作为空白对照,以+(微香)、++(较香)及+++ (香气浓郁)表征产香菌株的产香能力^[7]。

1.2.1.3 产香产蛋白酶菌株的筛选

将 1.2.1.2 筛选的菌株点种于脱脂奶粉初筛培养基上,置于 37 °C 电热恒温培养箱培养 48 h。游标卡尺测量水解圈直径(D)和菌落直径(d),选取水解圈直径与菌落直径比值(D/d)大于 2 的菌株为候选产香产蛋

白酶菌^[8],平板3次划线纯化菌株,置于-80℃保藏。

1.2.2 复筛

候选菌株按照2%的接种量接种于LB液体培养基中,37℃、180 r/min恒温摇床培养24 h,比较菌株的生长活力、产蛋白酶活力、NADH-GDH和BCAT酶活力,筛选目标菌株。

1.2.2.1 生长活力测定

取0.2 mL培养液置于96孔板,在600 nm处测定吸光度,生物量以培养液的OD_{600 nm}表示。

1.2.2.2 产蛋白酶活力测定

将培养液4℃、8 000 r/min离心10 min,收集上清液即为粗酶液,采用SB/T 10317—1999《蛋白酶活力测定法》测定粗酶液的蛋白酶活力。

1.2.2.3 NADH-GDH活力和BCAT活力的测定

按照还原型辅酶I-谷氨酸脱氢酶试剂盒和支链氨基酸转氨酶试剂盒说明书操作,测定菌株的NADH-GDH和BCAT活力,每分钟生成1 nmol的谷氨酸定义为一个NADH-GDH活力单位,每小时生成1 nmol NADH定义为一个BCAT活力单位。

1.2.3 分类学鉴定

1.2.3.1 形态学分析

单菌落接种于LB固体培养基,置于电热恒温培养箱中37℃培养24 h,观察菌落的大小、形状以及颜色等形态特征,并进行革兰氏染色。

1.2.3.2 分子生物学鉴定

提取菌株的DNA,以27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')、1492R(5'-GGTTACCTT GTTACGACTT-3')为引物进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增。扩增体系25 μL,包括正向和反向引物各1 μL,模板DNA 2 μL, Taq MasterMix 12.5 μL, ddH₂O 9.5 μL。PCR反应过程变化如下。首先升温94℃预变性5 min,经过94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸1 min后,重复35个此过程的循环,最后扩增产物于72℃保温10 min。经纯化后的样品送至上海赛恒生物科技有限公司测序,将菌株的16S rRNA序列与美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库进行对比,并采用MEGA 11软件构建系统发育树^[9]。

1.2.4 生长曲线的测定

菌株按照2%的接种量接种于LB液体培养基中,35℃、180 r/min恒温摇床培养,每隔2 h取样,培养液稀释5倍测定OD_{600 nm},以培养时间为横坐标,OD_{600 nm}为纵坐标,绘制生长曲线。

1.2.5 生长特性及产酶特性研究

菌株按照2%的接种量接种于LB液体培养基中,180 r/min恒温摇床中培养24 h,分别考察温度(20、25、30、35、40℃)、初始pH值(5、6、7、8、9)和NaCl含

量(0%、2%、4%、6%、8%、10%)对生长活力及产蛋白酶活力的影响。

1.3 数据分析

每组试验重复测定3次。使用SPSS 20.0对试验数据进行单因素方差分析,采用Excel 2010软件处理数据,采用Origin 2021软件绘图,结果以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 产香产蛋白酶菌株的初筛

脱脂奶粉初筛培养基上挑选出38株产蛋白酶的菌株,经嗅辨分析筛选出10株产香菌,见表1。按照D/d值大于2的规则初筛出5株产香产蛋白酶候选菌株,编号依次为X51、Y12、YL2-4、YL14和YL25。

表1 产香产蛋白酶菌株的初筛

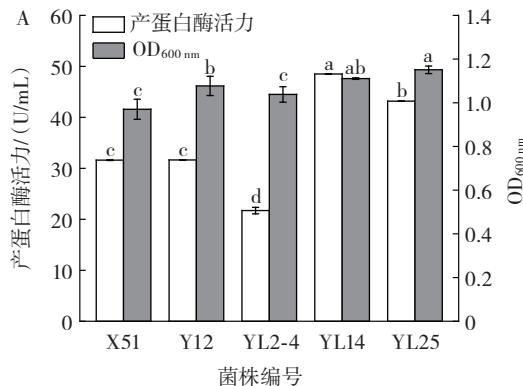
Table 1 Preliminary screening of aroma and protease-producing strains

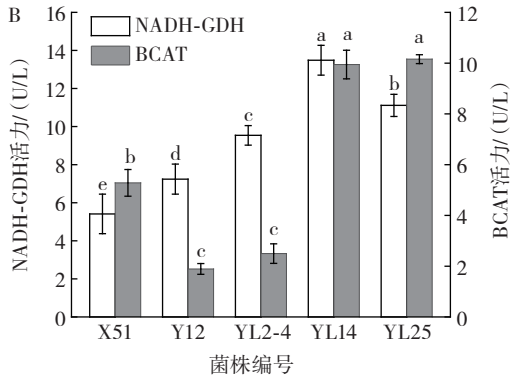
菌株编号	来源	香气浓度	透明圈直径/mm	菌落直径/mm	D/d
X43	虾酱	+	17.0	11.0	1.55
X46	虾酱	+	21.3	11.8	1.81
X51	虾酱	++	29.4	13.8	2.13
Y9	鱼酱	+	20.5	11.9	1.72
Y12	鱼酱	++	32.4	15.5	2.09
YL2-4	鱼露	+++	29.7	12.8	2.32
YL10	鱼露	+	23.9	13.9	1.72
YL13	鱼露	+	21.0	11.0	1.90
YL14	鱼露	+++	33.3	13.2	2.52
YL25	鱼露	+++	34.7	14.0	2.48

2.2 产香产蛋白酶菌株复筛

菌株的生长活力、产蛋白酶活力及NADH-GDH、BCAT的酶活力见图1。

由图1A可知,5株候选菌株的生长活力由高到低依次为YL25>YL14>Y12>YL2-4>X51,其中YL14菌株和YL25菌株的OD_{600 nm}分别为1.11±0.01和1.15±0.02。产蛋白酶活力由高到低依次为YL14>YL25>X51>Y12>





A. 生长活力、产蛋白酶活力;B. 酶活力。同一指标不同字母表示具有显著性差异($p<0.05$)。

图1 菌株的生长活力、产蛋白酶活力和 NADH-GDH 活力、BCAT 活力

Fig.1 Growth activity, protease-producing activity, and NADH-GDH activity and BCAT activity of strains

YL2-4, 其中 YL14 菌株和 YL25 菌株的产蛋白酶活力分别为(49.50±0.06) U/mL 和(44.17±0.05) U/mL, 显著高于其他菌株($p<0.05$)。

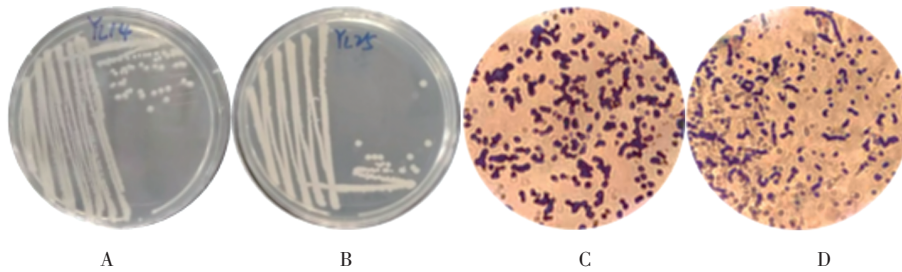
谷氨酸脱氢酶在氨同化和转化成有机氮化合物的代谢中起到重要作用,其辅酶是还原型辅酶 I 或还原型辅酶 II,以还原型辅酶 I -谷氨酸脱氢酶为主,能够催化谷氨酸和 α -酮戊二酸间的转化, α -酮戊二酸的含量是氨基酸代谢为挥发性风味代谢产物的限制性因素^[10]。BCAT 以磷酸吡哆醛作为催化辅助因子,能催化 L-型氨基酸氨基转移到 α -酮戊二酸,形成相应的支链 α -酮酸和谷氨酸,支链氨基酸代谢产物对食品的整体风味起到关键作用^[11]。图 1B 显示了 5 株候选菌株的 NADH-GDH 活力和 BCAT 活力, YL14 和 YL25 的 NADH-GDH 活力分别为(13.48±0.78) U/L 和(11.11±0.58) U/L, 显著高于其他菌株($p<0.05$); YL14 和 YL25 的 BCAT 活力分别为(9.94±0.56) U/L 和(10.16±0.17) U/L, 显著高于其他菌株($p<0.05$)。

综合生长活力、产蛋白酶活力和产香潜力,选取 YL14 和 YL25 为本研究的产香产蛋白酶目标菌株。

2.3 YL14 和 YL25 的分类学鉴定

2.3.1 菌落形态观察

YL14 和 YL25 的菌落形态和革兰染色结果见图 2。



A. YL14 菌落形态;B. YL25 菌落形态;C. YL14 革兰氏染色;D. YL25 革兰氏染色。

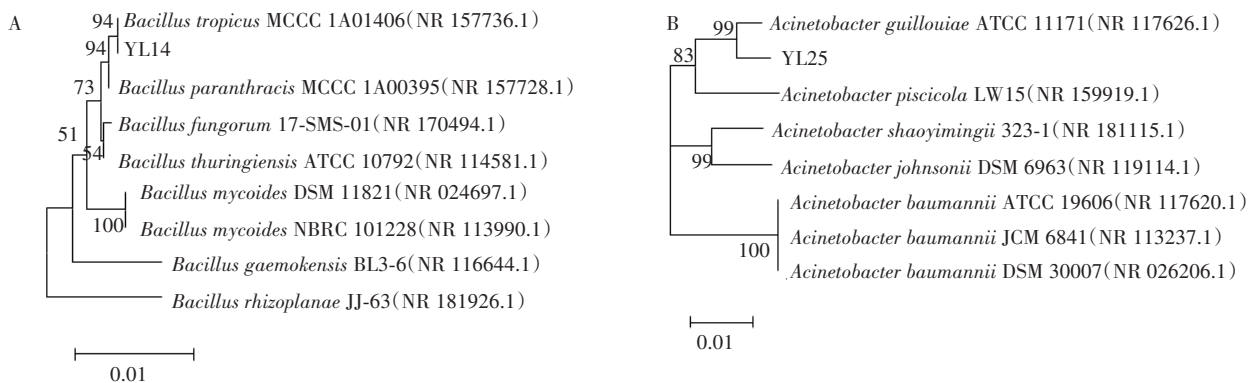
图2 YL14 和 YL25 菌落形态和革兰氏染色

Fig.2 Colony morphology and gram-staining of YL14 and YL25

由图 2 可知,从菌落形态上看, YL14 的菌落呈圆形,隆起,表面光滑湿润,不透明,白色; YL25 的菌落呈扁平,表面光滑,不透明,乳白色。YL14 和 YL25 菌株的革兰氏染色结果表明,染色为紫色,细胞呈短杆状,为革兰氏阳性菌。

2.3.2 菌株生物学鉴定

对 YL14 和 YL25 2 株菌进行 16S rRNA 序列测定,将菌株的 16S rRNA 基因序列在 NCBI 官网中使用 Nucleotide BLAST 比对,分别使用 MEGA 11 软件构建系统发育树,结果如图 3 所示。



A. YL14 发育树;B. YL25 发育树。

图3 菌株 YL14 和 YL25 的发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of strains YL14 and YL25

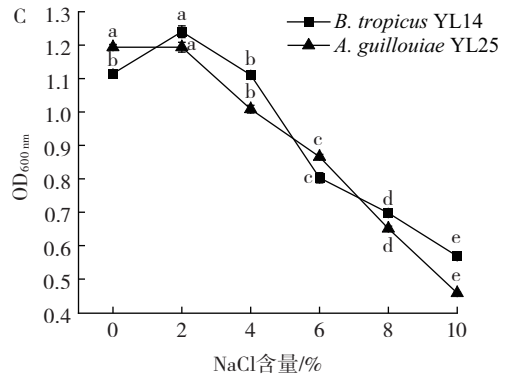
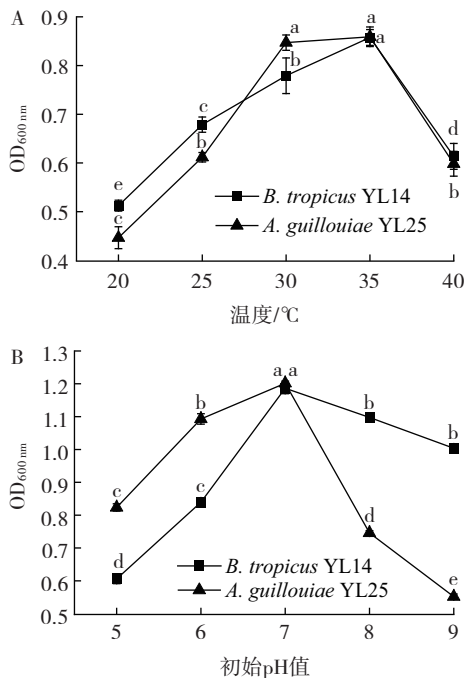
由图3可知, YL14与热带芽孢杆菌(*Bacillus tropicus*) MCCC 1A01406的相似度最高(94.80%), 与 *Bacillus tropicus* MCCC 聚为一支, 并且明显区别于其他菌, 从分子生物学上可将菌株 YL14 归类为 *Bacillus tropicus*。Liya 等^[12]从土壤中分离出的热带芽孢杆菌(*Bacillus tropicus* LS2)具有蛋白水解活性。Wang 等^[13]从传统发酵金鲳鱼中分离出的耐盐产蛋白酶热带芽孢杆菌产生的蛋白酶可有效降解肌肉蛋白。YL25 与吉氏不动杆菌(*Acinetobacter guillouiae*) ATCC 11171 的相似度最高(99.28%), 与 *Acinetobacter guillouiae* ATCC 聚为一支, 并且明显区别于其他菌, 从分子生物学上可将菌株 YL25 归类为 *Acinetobacter guillouiae*。研究报道吉氏不动杆菌最初是从皮革业的受污染沉积物中分离出来的, 能够降解酚类和有机物^[14]。达林等^[15]在鲜牛乳的制作工艺阶段中检测到吉氏不动杆菌。

2.4 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的生长特性

B. tropicus YL14 和 *A. guillouiae* YL25 在不同温度、初始 pH 值和 NaCl 含量下的 OD_{600 nm} 如图 4 所示。

温度是影响微生物生长的重要参数, 由图 4A 可知, *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 均能在 20~40 °C 下生长, 随着温度的升高, *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的 OD_{600 nm} 呈先上升后降低的趋势, 均在 35 °C 时达到最大值, 均为 0.86±0.02。

环境 pH 值会影响微生物对营养物质的解离与吸收^[5]。由图 4B 可知, 随着初始 pH 值从 5 上升到 9, *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的 OD_{600 nm} 均先增加后下降, 当初始 pH 值为 7 时 OD_{600 nm} 最高, 分别达到 1.19±0.02 和 1.20±0.01, 表明 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 属于中性菌。



A. 温度; B. 初始 pH 值; C. NaCl 含量。同一菌株不同小写字母表示差异显著 (p < 0.05)。

图 4 温度、初始 pH 值和 NaCl 含量对 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 生长的影响

Fig.4 Effects of temperature, initial pH, and NaCl concentration on the growth of *B. tropicus* YL14 and *A. guillouiae* YL25

NaCl 含量与细胞渗透压密切相关, 直接影响微生物的生长繁殖^[16]。由图 4C 可知, *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 在低盐环境 (NaCl 含量 0%~2%) 下生长良好, *B. tropicus* YL14 的 OD_{600 nm} 在 NaCl 含量为 2% 时达到最大值, 为 1.24±0.02, *A. guillouiae* YL25 的 OD_{600 nm} 在 NaCl 含量为 0% 最高, 为 1.19±0.01, 过高的 NaCl 浓度显著抑制 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的生长。

2.5 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的生长曲线

微生物的生长曲线是评价微生物增长情况的重要指标, 微生物生长繁殖越快, 浑浊度越高^[17]。在温度 35 °C、初始 pH7、NaCl 含量 2% 的条件下, 测定菌株 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的生长曲线, 结果如图 5 所示。

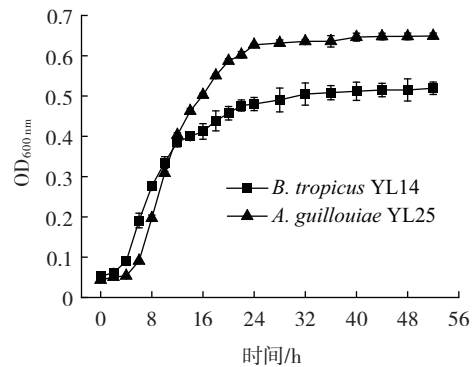


图 5 YL14 和 YL25 菌株生长曲线

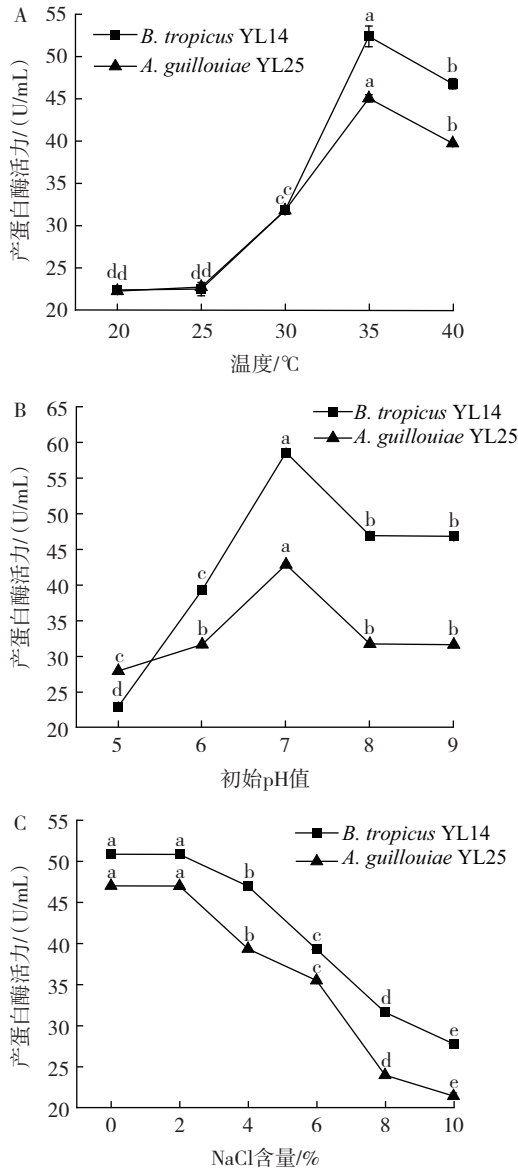
Fig.5 Growth curves of YL14 and YL25

由图 5 可知, *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 生长曲线的变化趋势相似, 0~4 h 菌体数量增长缓慢, 处于延滞期; 6~24 h 菌体数量迅速增长, 处于对数生长期; 后期由于之后营养物质不足或菌体代谢物质积累过多^[18], 数量趋于平稳, 处于稳定期。因此, *B. tropicus*

YL14 和 *A. guillouiae* YL25 均选择培养 24 h 作为种子的接种时间,从而加快发酵速率。

2.6 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的产酶特性

B. tropicus YL14 和 *A. guillouiae* YL25 在不同温度、初始 pH 值和 NaCl 含量下的产蛋白酶活力如图 6 所示。



A. 温度; B. 初始 pH 值; C. NaCl 含量。同一菌株不同小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

图 6 温度、初始 pH 值和 NaCl 含量对 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 产酶特性的影响

Fig.6 Effects of temperature, initial pH, and NaCl concentration on protease-producing characteristics of *B. tropicus* YL14 and *A. guillouiae* YL25

温度、初始 pH 值和 NaCl 含量对微生物的产蛋白酶活力起到关键作用^[19]。由图 6A 可知,随着温度的不断升高,*B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的产蛋白酶活力呈先升高后降低的趋势,均在 35 °C 时测得

最大酶活力[(52.38±1.22)、(45.06±0.43)U/mL],选择适宜的温度可使微生物的酶变得活跃,从而增加蛋白酶活力^[20]。

pH 值能够改变蛋白酶结构,从而影响蛋白酶活性^[21]。由图 6B 可知,随着初始 pH 值的增加,*B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的产蛋白酶活力均呈先升高后降低的趋势,当初始 pH 值为 7 时,产蛋白酶活力最高,分别达到(58.59±0.31)U/mL 和(42.87±0.23)U/mL。

由图 6C 可知,随着 NaCl 含量的增加,*B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的产蛋白酶活力逐渐降低。在 NaCl 含量为 2% 时均有较高的产蛋白酶活力。

3 结论

本研究采用嗅辨法和透明圈初筛,结合产蛋白酶活力、还原型辅酶 I-谷氨酸脱氢酶活力和谷氨酸脱氢酶活力复筛,从发酵鱼露、虾酱和糟鱼酱中筛选和分离出 2 株具有产蛋白酶活力和产香潜力的菌株 YL14 和 YL25。经过形态学观察和分子生物学鉴定,YL14 菌株为热带芽孢杆菌(*Bacillus tropicus*)、YL25 菌株为吉氏不动杆菌(*Acinetobacter guillouiae*)。*B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 的最适生长条件均为温度 35 °C、初始 pH7、低盐环境(0%~2%)。*B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 所产蛋白酶的最适温度均为 35 °C,最适初始 pH 值均为 7,并且在 NaCl 含量为 2% 时有最高的酶活力。本研究筛选出的 *B. tropicus* YL14 和 *A. guillouiae* YL25 具备产蛋白酶活力和产香潜力,有潜力作为功能发酵剂应用于高品质发酵海产品的快速生产。

参考文献:

- 罗美燕,刘唤明,香江,等. 虾酱中风味菌株的筛选及其发酵性能分析[J]. 广东海洋大学学报, 2022, 42(2): 79-87.
LUO Meiyuan, LIU Huanming, XIANG Jiang, et al. Isolation of flavor strains in shrimp paste and analysis of fermentation characteristic[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2022, 42(2): 79-87.
- 周袁璐,师苑,陆跃乐,等. 传统发酵过程微生物互作研究进展[J]. 中国食品学报, 2021, 21(11): 349-358.
ZHOU Yuanlu, SHI Yuan, LU Yuele, et al. Research progress on microbial interaction in traditional fermentation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(11): 349-358.
- JUNG J Y, LEE S H, LEE H J, et al. Microbial succession and metabolite changes during fermentation of saeu-jeot: Traditional Korean salted seafood[J]. Food Microbiology, 2013, 34(2): 360-368.
- JAYASHREE S, ANNAPURNA B, JAYAKUMAR R, et al. Screening and characterization of alkaline protease produced by a pink pigmented facultative methylotrophic (PPFM) strain, MSF 46[J]. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 2014, 12(2): 111-120.
- 周晶,袁丽,高瑞昌. 产低温蛋白酶动性球菌的筛选及其在低盐鱼露发酵中的应用[J]. 食品科学, 2021, 42(8): 122-128.
ZHOU Jing, YUAN Li, GAO Ruichang. Screening of low-tempera-

- ture protease-producing *Planococcus* and its application in low-salt fish sauce fermentation[J]. Food Science, 2021, 42(8): 122-128.
- [6] 贺晓丽, 翁佩芳, 沈飏, 等. 贝莱斯芽孢杆菌 SW5 菌株与外源蛋白酶协同发酵对鲮鱼鱼露品质的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2023, 36(2): 15-22.
HE Xiaoli, WENG Peifang, SHEN Biao, et al. Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* SW5 and exogenous protease on the quality of fermented anchovy fish sauce[J]. Journal of Ningbo University (Natural Science & Engineering Edition), 2023, 36(2): 15-22.
- [7] 袁英豪, 何梦娇, 唐春麟, 等. 醋源生香酵母的筛选及其特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(15): 63-71.
YUAN Yinghao, HE Mingjiao, TANG Chunlin, et al. Screening and characterization of vinegar-derived aroma-producing yeast[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(15): 63-71.
- [8] 曹红, 王秀娟, 翁佩芳, 等. 海洋源蛋白酶产生菌筛选及酶学特性的初步研究[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(2): 93-100.
CAO Hong, WANG Xiujuan, WENG Peifang, et al. Preliminary study on screening of high protease production strain from marine and its enzymology characteristics[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2019, 38(2): 93-100.
- [9] SUN L N, GUO W R, ZHAI Y J, et al. Screening and the ability of biogenic amine-degrading strains from traditional meat products in Inner Mongolia[J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 176: 114533.
- [10] 刘栓英, 刘会灵, 龙梦飞, 等. γ -谷氨酰转肽酶高效表达及其催化合成 γ -谷氨酰苯丙氨酸[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(18): 23-29.
LIU Shuanying, LIU Huiling, LONG Mengfei, et al. Optimized expression of γ -glutamyltranspeptidase for efficient biosynthesis of γ -glutamylphenylalanine[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(18): 23-29.
- [11] 王晶, 李江华, 房峻, 等. 转氨酶产生菌的筛选鉴定及其摇瓶发酵条件的优化[J]. 微生物学通报, 2008, 35(9): 1341-1347.
WANG Jing, LI Jianghua, FANG Jun, et al. Screening, identification and fermentation optimization of aminotransferase-producing strain[J]. Microbiology China, 2008, 35(9): 1341-1347.
- [12] LIYA S M, UMESH M, NAG A, et al. Optimized production of keratinolytic proteases from *Bacillus tropicus* LS27 and its application as a sustainable alternative for dehairing, destaining and metal recovery[J]. Environmental Research, 2023, 221: 115283.
- [13] WANG H F, QIU Y J, CHEN S J, et al. Whole-genome sequencing of a protease-producing strain isolated from fermented golden pompano and molecular docking of the protease to fish proteins[J]. Food Bioscience, 2024, 57: 103598.
- [14] FERNANDEZ M, CALLEGARI E A, PAEZ M D, et al. Functional response of *Acinetobacter guillouiae* SFC 500-1A to tannery wastewater as revealed by a complementary proteomic approach[J]. Journal of Environmental Management, 2023, 342: 118333.
- [15] 达林, 苏馨, 刘文俊, 等. 奶豆腐制作过程中细菌多样性与风味物质研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(14): 168-174.
DA Lin, SU Xin, LIU Wenjun, et al. Bacterial diversity and flavor compounds in hurood production process[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(14): 168-174.
- [16] 李文静, 李春生, 李来好, 等. 鱼露中高产蛋白酶耐盐菌株的筛选、鉴定及产酶条件优化[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(23): 134-142.
LI Wenjing, LI Chunsheng, LI Laihao, et al. Isolation, identification and enzyme-producing condition of a salt-tolerant strain with high protease production[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(23): 134-142.
- [17] 陈秋旭, 卫春会, 吴玲, 等. 浓香型酒酿中一株高产蛋白酶菌株的鉴定及产酶条件的优化[J]. 食品科技, 2023, 48(2): 7-13.
CHEN Qiuxu, WEI Chunhui, WU Ling, et al. Identification of a strain with high protease production in Luzhou flavor fermented grains and optimization of enzyme production conditions[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(2): 7-13.
- [18] 周婉婷, 侯宏伟, 贺瑞琦, 等. 豆豉中产蛋白酶菌株的酶学性质及风味酶基因挖掘[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(24): 181-188.
ZHOU Wanting, HOU Hongwei, HE Ruiqi, et al. Enzymatic properties of protease-producing strains in Douchi and mining of flavor enzyme genes[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(24): 181-188.
- [19] AWAD G E A, GHANEM A F, ABDEL WAHAB W A, et al. Functionalized κ -carrageenan/hyperbranched poly(amidoamine) for protease immobilization: Thermodynamics and stability studies[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 148: 1140-1155.
- [20] 李娜, 附俊杰, 刘军, 等. 一株产中性蛋白酶菌株的筛选及其发酵产酶条件优化[J]. 食品工业科技, 2023, 44(1): 189-199.
LI Na, FU Junjie, LIU Jun, et al. Screening of a neutral protease-producing strain and optimization of fermentation conditions[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(1): 189-199.
- [21] BUCHHOLZ I, NAGEL F, KLEIN A, et al. The impact of physiological stress conditions on protein structure and trypsin inhibition of serine protease inhibitor Kazal type I (SPINK1) and its N34S variant[J]. Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics, 2020, 1868(1): 140281.

责任编辑:张璐

收稿日期:2024-04-19