

利用鱼白-豆粕混合发酵制备水溶性蛋白粉

刘燕妮, 王建磊, 刘洁, 程雯, 牟海津*

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要:实验研究了以鱼白和豆粕为原料, 利用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) N-2 固态发酵制备水溶性蛋白粉的发酵工艺。通过单因素实验研究了发酵时间, 接菌量, 料水比, 发酵温度和初始 pH 对鱼白-豆粕发酵制备的蛋白粉水溶性物质溶出率、水溶蛋白提取率、酸溶蛋白提取率、游离氨基酸含量和核酸含量的影响; 在单因素实验的基础上, 应用响应面法设计, 进一步优化发酵工艺对蛋白粉中水溶蛋白提取率的影响。结果表明, 最佳发酵工艺为发酵时间 60h, 料水比 1:1.4, 发酵初始 pH7.2, 发酵温度 36℃, 接菌量 8%。在此发酵工艺下, 得到水溶性物质溶出率为 80.25%, 水溶蛋白提取率为 91.86%, 酸溶蛋白提取率为 57.25%, 游离氨基酸含量为 25.9%, 核酸含量为 11.2%。最佳工艺条件下制备的蛋白粉中人体必需氨基酸在氨基酸总量中占的比例明显增多。

关键词:鱼白, 豆粕, 混合发酵, 水溶性蛋白粉, 响应面分析

Production of water-soluble protein powder by mixed fermentation with milt and soybean meal

LIU Yan-ni, WANG Jian-lei, LIU Jie, CHENG Wen, MOU Hai-jin*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The production of water-soluble protein powder was studied by mixed fermentation of *Bacillus subtilis* N-2 with milt and soybean meal as culture medium. Five factors, including fermentation time, inoculum volume, solid-water ratio, fermentation temperature and initial pH were studied by single-factor experiments, in order to analyze the effect on water-soluble substance dissolution rate, water-soluble protein extraction rate, acid-soluble protein extraction rate, free amino acids content and nucleic acid content of protein powder. Fermentation conditions were optimized by response surface methodology based on the single-factor experiments. The optimum fermentation condition was as follows: fermentation time of 60h; solid-water ratio of 1:1.4; initial pH of 7.2, fermentation temperature of 36℃, inoculum volume of 8%. In this fermentation process, water-soluble substance dissolution rate was 80.25%, water-soluble protein extraction rate was 91.86%, acid-soluble protein extraction rate was 57.25%, free amino acids content was 25.9%, and nucleic acid content was 11.2%. The proportion of essential amino acids in total amino acids increased significantly in the protein powder which was prepared under the optimum conditions.

Key words: milt; soybean meal; mixed fermentation; water-soluble protein powder; response surface analysis

中图分类号: TS254.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)11-0197-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.031

鱼类的精巢又称为鱼白, 资源量丰富, 约占鱼体重的 7%, 由于它有独特的臭味, 常常按废弃物处理, 其它用途很少, 利用价值非常低, 不仅造成资源的浪费而且对环境造成较大污染。鱼成熟期的精巢组织含核蛋白、酶类以及多种微量元素(其中较多的微量元素有锰、锌、铜、钼等)^[1-2]。鱼白中以蛋白质为主的氮素化合物为 16%~18%^[3], 如果能将鱼白变废为宝, 对提高资源有效利用价值具有重要意义。

豆粕中蛋白质含量高达 43%~48%^[4-5], 是畜禽饲养中最常用的植物性蛋白质饲料。但其中含有 10 余种抗营养因子, 对营养成分的消化、吸收、代谢会

产生不良影响。

由于鱼白中蛋白质含量高, 且富含人体所必需的氨基酸, 是制备蛋白粉的优质原料。目前, 水产原料的蛋白粉的制备主要采取酶解的方法, 但酶解成本高、产物苦味重, 成为限制酶解水产蛋白粉开发的瓶颈问题。通过微生物发酵, 不仅可以将鱼白转化为一种优质的蛋白资源, 而且可以消除豆粕中部分抗营养因子^[6], 有效降解其中的大分子营养物质, 使营养成分含量增加、适口性得到改善、消化吸收率提高。

在前期研究中发现, 枯草芽孢杆菌(*Bacillus*

收稿日期: 2014-09-03

作者简介: 刘燕妮(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物工程

* 通讯作者: 牟海津(1973-), 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物、微生物天然产物及海洋微生物工程。

subtilis) N-2 对豆粕原料的蛋白质溶出和降解能力优良,但对鱼白单独发酵的能力较弱。基于这一问题,为有效开发鱼白原料的水溶性蛋白粉,本研究采取将鱼白和豆粕混合进行固态发酵的工艺,以期有效提高原料中水溶性蛋白质和酸溶蛋白等成分的提取率,从而建立一种具有良好市场前景和能够满足工业化生产需求的高值化发酵工艺,开发出具有良好营养价值的水溶性蛋白粉,进而为鱼类副产物的综合利用和高值化开发打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲑鱼鱼白 青岛龙和有限公司提供;豆粕 青岛渤海实业有限公司提供;枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) N-2 由中国海洋大学应用微生物实验室保藏并提供;液体种子培养基配方:蛋白胨 10g/L,牛肉膏 3g/L,氯化钠 5g/L,pH7.2;氯化钠、蛋白胨、牛肉膏、碳酸钠、酒石酸钾钠、磷酸二氢钾、抗坏血酸、钼酸铵、硫酸、甲醛、三氯乙酸、过氧化氢 均为分析纯。

DNP-9052 型电热恒温培养箱 上海精宏设备有限公司;无菌操作台 北京东联哈尔仪器制造有限公司;LDZX-40B 型立式蒸汽灭菌锅 上海申安医疗器械厂;电子精密天平 奥赛斯国际贸易(上海)有限公司;搅拌机 九阳股份有限公司;722S 可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;TDL-5-A 离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 鱼白和豆粕预处理 除尽附着在精巢上面的其它腺体、脂肪、结缔组织、血块和污物,然后将鱼白于 105℃ 条件下烘干至恒重,粉碎(80~100 目),置于干燥的环境下密封备用。豆粕于 105℃ 烘干至恒重,颗粒大小为 0.9~2.5mm。

1.2.2 液体种子培养 每 100mL 三角瓶装量 40mL 液体种子培养基,在 121℃ 条件下灭菌 20min。待冷却后从活化的枯草芽孢杆菌斜面接一环菌种至液体种子培养基,置于 32℃ 控温摇床,170r/min 下培养 24h,待用。

1.2.3 蛋白粉制备单因素实验 将豆粕和鱼白按照 1.5:1(干重)的比例混合,装入 250mL 的三角瓶中,向其中添加 2% 的蔗糖和 0.1% 的 KH_2PO_4 ,在 115℃ 的条件下灭菌 30min。以发酵时间、接菌量、料水比、发酵温度和发酵初始 pH 作为优化条件,以水溶性物质溶出率、水溶蛋白提取率、酸溶蛋白提取率、游离氨基酸含量和核酸含量为测定指标,对混合发酵后制备的水溶性蛋白粉的各培养参数进行测定和优化。

1.2.3.1 发酵时间的选择 在料水比 1:1.5,初始 pH6.0,接菌量 6%,发酵温度 32℃ 的条件下,考察 0、24、48、72、96、120h 的发酵时间对各项指标的影响。

1.2.3.2 接菌量的选择 在料水比 1:1.5,初始 pH6.0,培养温度 32℃,发酵时间 48h 的条件下,考察 2%、4%、6%、8%、10% 的接菌量对各项指标的影响。

1.2.3.3 料水比的选择 在初始 pH6.0,接菌量 8%,

培养温度 32℃,发酵时间 48h 的条件下,考察 1:0.5、1:1、1:1.5、1:2、1:2.5 的料水比对各项指标的影响。

1.2.3.4 发酵温度的选择 在料水比 1:1.5,初始 pH6.0,接菌量 8%,发酵时间 48h 的条件下,考察 24、28、32、36、40℃ 发酵温度对各项指标的影响。

1.2.3.5 初始 pH 的选择 在料水比 1:1.5,接菌量 8%,发酵温度 36℃,发酵时间 48h 的条件下,考察发酵初始 pH5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 对各项指标的影响。

1.2.4 蛋白粉的制备 称取一定质量的发酵产物,向其中加入 20 倍体积的水,充分搅拌 1h,4000r/min 离心 15min,反复提取三次,弃去沉淀。将三次离心后的上清液合并浓缩后冷冻干燥制备水溶性蛋白粉,称重。

1.2.5 响应面分析法优化工艺条件 根据单因素的实验结果,以蛋白粉中水溶蛋白提取率为评价指标,选择发酵时间、料水比和发酵初始 pH 三个因素为响应变量,在固定发酵温度 36℃,接菌量 8% 的条件下,进行 Box-Behnken 实验设计,优化鱼白-豆粕发酵制备水溶性蛋白粉的工艺,因素水平设计见表 1。

表 1 响应面分析实验设计因素与水平表

Table 1 Variables and levels in response surface design

因素	水平		
	-1	0	1
A 发酵时间(h)	24	48	72
B 料水比	1:1	1:1.5	1:2
C 初始 pH	6.0	7.0	8.0

1.2.6 蛋白粉的各项指标的测定方法

1.2.6.1 水溶性物质溶出率 称取重量为 A_1 的发酵产物(以干物质计),按照 1.2.4 的方法制备蛋白粉,称重 A_2 。

$$\text{溶出率}(\%) = \frac{A_2}{A_1} \times 100$$

将制备的蛋白粉溶于 20 倍水中,充分搅拌 1h,测定以下指标。

1.2.6.2 水溶性蛋白的测定 采用 Folin-酚试剂法^[7]测定蛋白粉中水溶性蛋白质的含量,蛋白粉中水溶性蛋白质总量为 B_1 。制备蛋白粉的原料中蛋白质总量为 A_3 ,通过豆粕中蛋白质含量(凯氏定氮法)和鱼白中氨基酸组分含量相加得到(鱼白中含有核酸,不宜用凯氏定氮法测定蛋白质含量)。

$$\text{水溶蛋白提取率}(\%) = \frac{B_1}{A_3} \times 100$$

1.2.6.3 酸溶蛋白的测定 利用三氯乙酸(TCA)沉淀的方法除去不溶性的蛋白质和长链肽,然后采用 Folin-酚试剂法测定蛋白粉中的酸溶蛋白含量,计算蛋白粉中酸溶蛋白总量为 B_2 。

$$\text{酸溶蛋白提取率}(\%) = \frac{B_2}{A_3} \times 100$$

1.2.6.4 游离氨基酸的测定 采用甲醛滴定法^[8]测定游离氨基酸的含量。计算蛋白粉中游离氨基酸总量为 B_3 。

$$\text{游离氨基酸的含量}(\%) = \frac{B_3}{A_1} \times 100$$

1.2.6.5 核酸的测定 采用定磷法^[8]测定核酸的含量。计算蛋白粉中的核酸总量为 B₄。

核酸含量(%) = $\frac{B_4}{A_1} \times 100$

1.2.6.6 氨基酸组成的测定 将鱼白、豆粕和最佳发酵工艺制备的蛋白粉,用氨基酸自动分析仪法测定氨基酸组分^[9]。

1.3 数据处理

所有数据均为 3 次重复实验的平均值,运用 Excel 数据处理软件和 Design expert V8.0.6 统计软件进行数据分析,同时采用 SPSS 13 软件对数据进行统计分析,通过 ANOVA 对单因素各水平值进行显著性分析,显著水平设置为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 发酵时间对蛋白粉制备的单因素实验结果 发酵时间是影响鱼白-豆粕发酵制备蛋白粉的一个非常重要的因素。由图 1 可知,随着发酵时间的延长,蛋白粉水溶性物质的溶出率不断增加,在 0h 时为 13.28%,在 48h 时达到 77.15%,但在发酵 48h 之后变化不大。发酵 48h 时,水溶蛋白提取率、酸溶蛋白提取率、游离氨基酸含量和核酸含量,均达到最大值,再延长发酵时间,各指标含量将会下降。其中发酵 0h 时水溶蛋白提取率和酸溶蛋白提取率分别为 15.67% 和 8.76%,发酵 48h 时分别达到 90.16% 和 53.90%。故发酵时间以 48h 左右为宜。

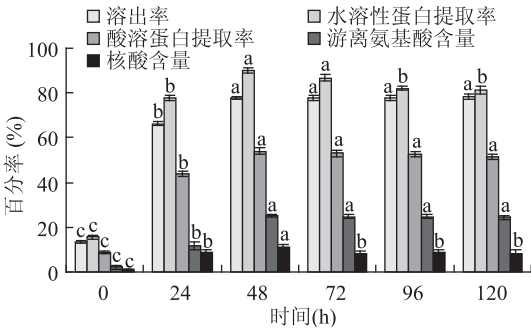


图1 发酵时间对蛋白粉中各种成分的影响
Fig.1 Effects of fermentation time on the components of protein powder
注:图表上方相同字母表示差异性不显著,不同字母表示差异性显著,图2~图5同。

2.1.2 接菌量对蛋白粉制备的单因素实验结果 接菌量对固态发酵培养基中菌株的生长情况会产生一定的影响。在接菌量较小情况下,菌种需要较长时间才能繁殖^[10]。随着接菌量的增加,各项指标呈现逐渐增大的趋势,当接菌量为 8% 时,各项指标均达到最大值,其中水溶蛋白提取率为 91.23%。然而随着接菌量的增加,水溶蛋白提取率变化趋势不大,因而不作为响应面实验设计的因素选择。

2.1.3 料水比对蛋白粉制备的单因素实验结果 实验发现,适宜的含水量有提高鱼白-豆粕发酵制备的蛋白粉各项指标的趋势。由图 3 可知,当料水比为 1:0.5 时,水溶物质溶出率、水溶蛋白提取率和酸溶蛋

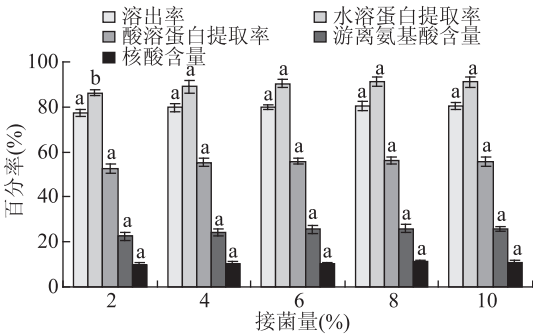


图2 接菌量对蛋白粉中各种成分的影响

Fig.2 Effects of inoculum on the components of protein powder 白提取率分别为 48.58%, 39.36% 和 20.5%,随着物料含水量的增加,各项指标逐渐增加,当料水比为 1:1.5,各项指标均达到最大值,其中水溶物质溶出率、水溶蛋白提取率和酸溶蛋白提取率分别为 82.3%, 89.5% 和 55.63%。说明此含水量的培养基最适宜微生物生长繁殖,然而随着料水比的进一步加大,导致发酵基质中的溶氧量减少,不利于菌种的大量繁殖与增长^[10],从而导致溶出率不但没有增加反而略有下降。因此选择最佳料水比为 1:1.5。

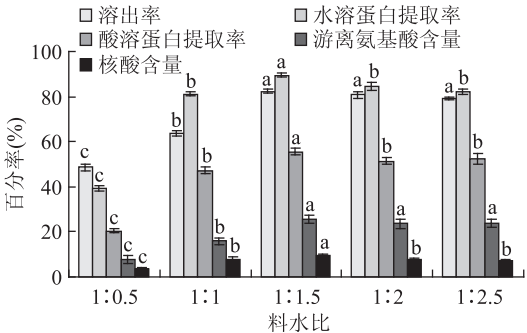


图3 料水比对蛋白粉中各种成分的影响
Fig.3 Effects of solid-water ratio on the components of protein powder

2.1.4 发酵温度对蛋白粉制备的单因素实验结果 由图 4 可知,随着发酵温度的增高,水溶性物质的溶出率等指标都有一定的上升趋势,且在 36℃ 各项值达到最大。温度对微生物的代谢有一定的作用,随着温度上升, N-2 的代谢分解能力增强,致使大量物质被分解溶出,但变化趋势不是很明显,初步确定 36℃ 为 N-2 发酵的最适温度,但温度不作为响应面实验设计的因素选择。

2.1.5 初始 pH 对蛋白粉制备的单因素实验结果 由图 5 可知,发酵 pH 对鱼白-豆粕混合发酵制备蛋白粉有一定影响,当初始 pH 调整为 7.0 时,蛋白粉中各项指标均达到最大值,其中水溶性物质溶出率和水溶蛋白提取率分别达到 82.66% 和 91.23%,当 pH 调整为 6.0 或 8.0 时,水溶性物质溶出率和水溶蛋白提取率有所减少。所以确定鱼白-豆粕混合发酵的最佳初始 pH 为 7.0。

2.2 响应面分析法优化工艺条件

2.2.1 响应面设计方案 根据单因素实验结果,选取发酵时间(h)、料水比、发酵初始 pH 对水溶蛋白提取

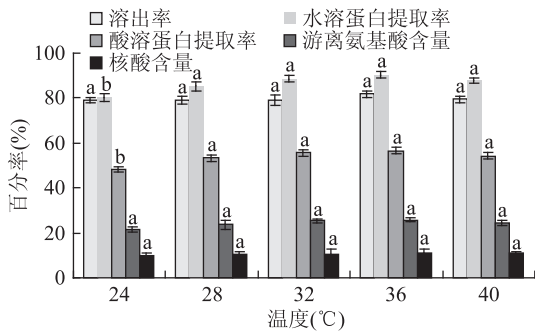


图4 发酵温度对蛋白粉中各种成分的影响

Fig.4 Effects of fermentation temperature on the components of protein powder

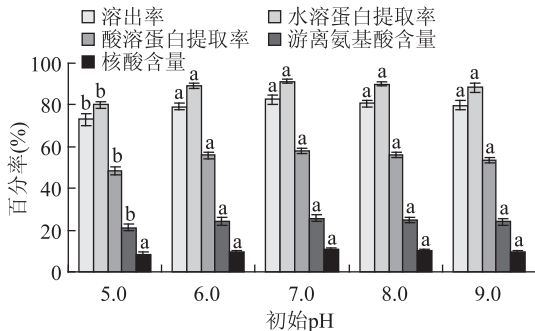


图5 初始 pH 对蛋白粉中各种成分的影响

Fig.5 Effects of the initial pH

on the components of protein powder

率影响比较显著的三个因素,作为 Box-Behnken 中心组合设计的因素来考察这三个因素对蛋白粉中水溶蛋白提取率的影响,实验设计及实验结果见表 2。

利用 Design expert V8.0.6 统计软件对表 2 中实验数据进行回归拟合,得到水溶蛋白提取率对所选 3 个因素的二次多项回归模型为:

$$Y = +90.46 + 4.53A + 0.76B + 0.96C - 5.17AB - 0.38AC + 0.86BC - 5.26A^2 - 4.63B^2 - 2.19C^2$$

表3 回归模型的方差分析结果

Table 3 Analysis of variance for quadric regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	536.04	9	59.56	138.34	<0.0001	**
A	163.81	1	163.81	380.47	<0.0001	**
B	4.62	1	4.62	10.73	0.0136	*
C	7.37	1	7.37	17.12	0.0044	**
AB	106.92	1	106.92	248.33	<0.0001	**
AC	0.59	1	0.59	1.38	0.279	
BC	2.92	1	2.92	6.79	0.0351	*
A ²	116.36	1	116.36	270.28	<0.0001	**
B ²	90.34	1	90.34	209.83	<0.0001	**
C ²	20.14	1	20.14	46.78	0.0002	**
残差	3.01	7	0.43			
失拟项	2.49	3	0.83	6.38	0.0527	N
纯误差	0.52	4	0.13			
总离差	539.06	16				

注: ** 代表极显著, $p < 0.01$; * 代表显著, $p < 0.05$; N 代表不显著。

表2 Box-Behnken 实验设计及结果

Table 2 Box-Behnken design matrix and experimental results

实验号	A	B	C	水溶蛋白提取率(%)
1	0	0	0	90.26
2	-1	0	-1	77.15
3	0	-1	1	82.35
4	0	0	0	90.27
5	0	1	1	86.66
6	-1	-1	0	70.56
7	1	0	1	88.12
8	0	0	0	90.99
9	0	0	0	90.12
10	-1	1	0	81.34
11	1	0	-1	86.77
12	1	1	0	80.25
13	-1	0	1	80.04
14	0	1	-1	83.23
15	0	0	0	90.68
16	0	-1	-1	82.34
17	1	-1	0	90.15

对该模型进行显著性检验,得方差分析表(表3)。

从表中可以看出该模型的影响因子 A、C、AB、A²、B²、C² 对蛋白粉中水溶蛋白提取率的影响极显著 ($p < 0.01$),影响因子 B 以及交互项 BC 对水溶蛋白提取率的影响显著 ($0.01 < p < 0.05$),表明各因素对蛋白粉中水溶蛋白提取率的影响不是简单的线性关系,而是非线性关系^[11]。

通过对二次回归方程进行方差分析,方程决定系数 $R^2 = 0.9949$,大于 Joglekar 和 May 对模型决定系数至少为 0.8 的建议标准^[12],表明该模型的预测值与

实际值之间有较好的相关性。可用该模型对水溶蛋白提取率进行分析和预测。回归模型 $p < 0.0001$, 说明此回归模型极显著, 该实验方法可靠。该模型的校正系数 $R^2_{adj} = 0.9872$, 表明该模型能够解释 98.72% 的响应值变化, 失拟项的 $F = 6.38, p = 0.0527 > 0.05$, 即失拟项不显著, 说明该方程能充分反映实际情况。

以上数据都说明该模型的拟合程度教好, 因此可以用此模型来分析和预测发酵时间、料水比、初始 pH 对蛋白粉的水溶蛋白提取率的影响。

选定的因素对蛋白粉中水溶蛋白提取率的影响大小依次为发酵时间 > 初始 pH > 料水比, 即发酵时间对水溶蛋白提取率的影响最大。

2.2.2 响应曲面图分析与优化 响应面图是响应值对各实验因素所构成的三维空间曲面图, 可直观的反映各实验因素的交互作用^[13-14]。图 6 直观地展现出各因子交互作用的响应曲面 3D 分析图, 从响应面分析图上可以找到它们之间的相互作用, 等高线图表示在同一椭圆型的曲线上, 水溶蛋白提取率是相同的, 而中心的提取率最高。等高线的形状可反映出交互效应的强弱, 椭圆形表示两因素交互作用显著, 若趋向于圆形则表示交互作用较弱^[15]。此外, 如

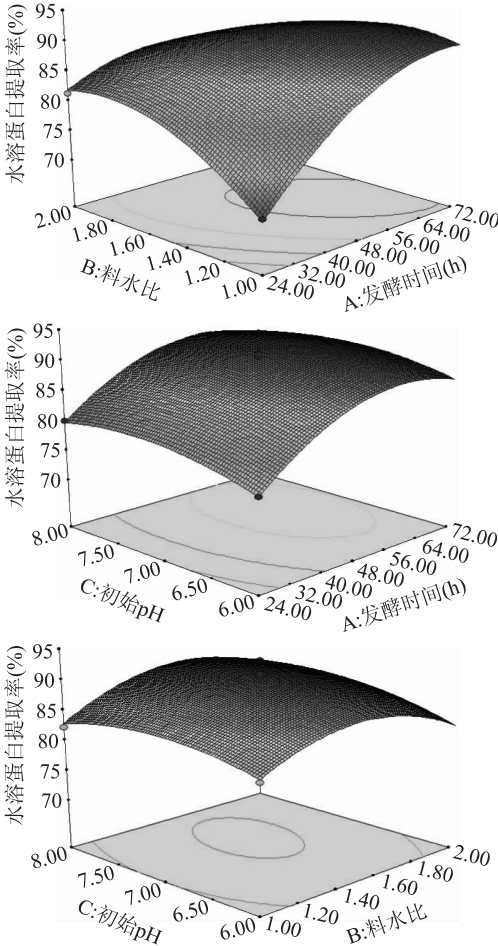


图 6 发酵时间(A),料水比(B)和初始 pH(C)对鱼白-豆粕混合发酵制备蛋白粉水溶蛋白提取率的影响
Fig.6 Effects of fermentation time(A),solid-water ratio(B) and initial pH(C)on protein extraction rate of protein powder by mixed fermentation with milt and soybean meal

果一个响应面的坡度趋于陡峭(即等高线排列紧密),表明响应值受操作条件的变化而影响较大,反之,操作条件的改变对响应值影响较小^[16]。

2.2.3 最优工艺条件求取与模型验证 通过单因素实验优化条件,根据 Box-Behnken 设计,通过 Design-Expert 8.0.6 软件求得预测的蛋白粉中水溶蛋白提取率的最优工艺条件为:发酵时间为 60.53h,料水比为 1:1.4,发酵初始 pH 为 7.14,蛋白质的提取率最高,可达到 91.64%。但为了验证模型的有效性,并考虑到实验室实际情况和实验仪器的局限性,发酵时间为 60h,料水比为 1:1.4,发酵初始 pH 为 7.2。按照此修正条件,进行三次平行验证实验,得到水溶蛋白提取率为 91.86%,与理论预测值基本吻合,同时在此条件下酸溶蛋白提取率为 57.25%,游离氨基酸含量为 25.9%,核酸含量为 11.2%。因此利用响应面分析法优化得到的工艺条件真实可靠,具有实用价值。

2.3 氨基酸组成分析

豆粕和鱼白这两种原料中的蛋白质含量均较高,且氨基酸种类丰富,必需氨基酸含量占总氨基酸含量的比值分别为 35.75g/100g 和 35.16g/100g(表 4)。混合发酵后制备的蛋白粉,人体必需氨基酸在氨基酸总量中占的比例明显增多,为 37.06g/100g,尤其是赖氨酸增加比较明显。赖氨酸是人体必需氨基酸之一,其对促进人体发育、增强免疫功能,提高中枢神经组织功能有重要作用。蛋白粉中氨基酸含量为 49.22g/100g,可以作为一种高品质的蛋白产品。

表 4 豆粕、鱼白及蛋白粉的氨基酸组成
Table 4 Amino acid composition of soybean meal,milt and protein powder

氨基酸		含量(g/100g)		
		豆粕	鱼白	蛋白粉
天冬氨酸	Asp	5.90	3.92	4.13
苏氨酸	Thr *	2.26	2.13	1.40
丝氨酸	Ser	2.73	2.19	1.37
谷氨酸	Glu	9.09	6.42	10.51
甘氨酸	Gly	1.91	3.89	2.58
丙氨酸	Ala	1.98	4.15	2.32
缬氨酸	Val *	3.07	3.39	2.67
异亮氨酸	Ile *	1.91	2.24	2.07
亮氨酸	Leu *	3.10	4.22	3.89
酪氨酸	Tyr	2.04	1.43	2.05
苯丙氨酸	Phe *	2.36	1.90	2.44
赖氨酸	Lys *	3.18	3.76	4.69
组氨酸	His	1.43	1.44	1.71
精氨酸	Arg	3.59	7.62	2.27
脯氨酸	Pro	1.81	2.35	2.78
蛋氨酸	Met *	1.09	0.85	1.08
半胱氨酸	Cys	0	0.69	1.26
氨基酸总量		47.44	52.59	49.22
必需氨基酸量		16.96	18.49	18.24
必需氨基酸量/氨基酸总量		35.75	35.16	37.06

注: * 为人体所必需的氨基酸。

structural properties of durum wheat spaghetti [J]. Food Chemistry, 2012, 132(2): 993-1002.

[12] Manno D, Filippo E, Serra A, et al. The influence of inulin addition on the morphological and structural properties of durum wheat pasta [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2009, 44(11): 2218-2224.

[13] 李丹丹, 周杰, 张静, 等. 菊糖对馒头品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(32): 20047-20049.

[14] 范明顺, 张崇玉, 张琴, 等. 双波长分光光度法测定高粱中的直链淀粉和支链淀粉[J]. 中国酿造, 2008, 21: 85-87.

[15] 戴双, 程敦公, 李豪圣, 等. 小麦直支链淀粉和总淀粉含量的比色快速测定研究[J]. 麦类作物学报, 2008, 28(3): 442-447.

[16] 纪莹. 传统米制松糕的货架期预测模型研究[D]. 无锡: 江南大学, 2007: 20-21.

[17] 唐敏敏. 黄原胶对大米淀粉回生性质的影响及其机理初

探[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 17-18.

[18] 袁博. 冷冻冷藏糯性粉团米制品抗老化特性的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008: 13-14.

[19] 陈能, 罗玉坤, 朱智伟, 等. 优质食用稻米品质的理化指标与食味相关性研究[J]. 中国水稻科学, 1997, 11(2): 70-76.

[20] 马越, 谢国莉, 陈红梅, 等. 菊粉对苦荞麦流变学特性改善作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(7): 40-41, 49.

[21] 罗登林, 许威, 陈瑞红, 等. 菊粉溶解性能与凝胶质构特性实验[J]. 农业机械学报, 2012(3): 118-122.

[22] 李丹丹, 李汴生, 阮征. 凝胶软糖质构特性的感官评定与仪器分析研究[J]. 食品工业, 2011(7): 47-49.

[23] 李雪琴, 葛静静, 谢沁, 等. 饺子皮感官品质和质构品质关系的研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2012, 33(4): 1-4.

[24] 邓曼莉, 徐学明. 比萨饼皮的感官评定与质构分析[J]. 食品工业科技, 2008, 29(4): 137-140.

(上接第 201 页)

3 结论

本文研究了以鱼白和豆粕混合进行固态发酵制备蛋白粉的工艺研究, 不仅为水溶性蛋白粉的制备提供了新的思路, 而且为鱼类副产物的综合利用和高值化开发打下基础。通过此方法制备的蛋白粉, 为色泽均一的淡黄色粉末, 无结块和杂质, 且无鱼腥味和异味, 具有很好的利用价值。

制备的蛋白粉中水溶性蛋白质和酸溶蛋白含量均较高, 其中水溶蛋白提取率可以达到 91.86%, 酸溶蛋白提取率可以达到 57.25%。蛋白粉中氨基酸含量为 49.22g/100g, 人体必需氨基酸尤其是赖氨酸含量有所增加, 可见所制备的水溶性蛋白粉是一种高品质蛋白丰富的产品, 可以作为一种蛋白肽用于水产养殖饲料添加剂, 并在工艺成熟的条件下开发人体营养补充剂, 使市场现有的蛋白粉种类更加丰富。

参考文献

[1] 俞加林. 鱼精: 值得开发的药用新资源[J]. 中国海洋药物, 1994, 13(2): 51-52.

[2] 上官新晨, 蒋艳, 沈勇根, 等. 鱼精的研究与开发[J]. 江西农业大学学报: 自然科学版, 2003, 25(5): 742-746.

[3] 王梦鹤, 刘凤之, 刘宇峰. 鱼精核蛋白的开发利用[J]. 食品科学, 1992, 10(10): 18-20.

[4] 肖玲, 龚月生. 热处理对豆粕品质的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2000(4): 23-25.

[5] 春林陈, 喜斌, 于炎湖, 等. 大豆中抗营养因子及其处理方法[J]. 饲料工业, 2000, 9: 12-14.

[6] Ito M, Kato T, Matsuda T. Rice allergenic proteins, 14-16 kDa Albumin and alpha-globulin, remain insoluble in rice grains recovered from rice miso (Rice-containing fermented soybean

Paste)[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2005, 69(6): 1137-1144.

[7] 陈钧辉. 生物化学实验(第四版)[M]. 北京: 科学出版社, 2008.

[8] 汪东风. 食品化学实验和习题[M]. 北京: 北京工业大学出版社, 2008.

[9] Zhang H, Wang Z Y, Yang X, et al. Determination of free amino acids and 18 elements in freeze-dried strawberry and blueberry fruit using an Amino Acid Analyzer and ICP-MS with micro-wave digestion[J]. Food Chemistry, 2014, 147: 189-194.

[10] 刘雪花, 欧阳裕文, 杨博, 等. 多菌株固态发酵豆粕生产高蛋白饲料的工艺优化[J]. 广东农业科学, 2011(5): 125-127, 144.

[11] 吴现芳, 赵成爱, 余梅燕, 等. 响应面法优化八宝景天叶总黄酮的超声提取工艺[J]. 食品工业科技, 2013(1): 224-228.

[12] Joglekar A M, May A T. Product excellence through design of experiments[J]. Cereal Foods World, 1987, 32(12): 857.

[13] Wang X, Wu Q, Wu Y, et al. Response surface optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from Sparganii rhizoma and evaluation of their *in vitro* antioxidant activities[J]. Molecules, 2012, 17(6): 6769-6783.

[14] 李富华, 夏春燕, 刘燕妮, 等. 响应面法优化蜂胶黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 20: 226-230.

[15] 徐秀泉, 许源, 汤建, 等. 响应面法优化金莲花总黄酮的超声提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 14: 35-38.

[16] 刘奉强, 肖鉴谋, 刘太泽. 应用响应面法优化超声波提取荆芥中总黄酮的工艺[J]. 南昌大学学报: 工科版, 2011, 33(2): 149-155.