

小黄鱼加工副产物发酵条件的优化及其营养评价

王舒淇, 沙 坤, 李 雪, 张泉涛, 刘春娥*

(中国农业大学烟台研究院, 烟台 264670)

摘要: 目的 探究小黄鱼加工副产物酶解液的发酵工艺, 优化发酵条件, 并对发酵液进行营养评价。**方法** 采用单因素实验和响应面分析法探究发酵时间、发酵温度、菌种添加量以及豆粕添加量对发酵液中氨基酸含量的影响, 并对发酵液中碳氮比、乳酸含量及硝态氮含量进行测定。**结果** 枯草芽孢杆菌发酵最佳条件: 发酵时间 5 d, 发酵温度 29 °C, 菌种添加量 5.3%, 豆粕添加量 10.1%, 在此条件下, 小黄鱼加工副产物酶解液发酵后所得氨基酸含量可达 39.68 mg/mL。发酵处理后, 发酵液鱼腥味较酶解液明显减轻, 且其碳氮比、乳酸、硝态氮含量显著高于酶解液($P<0.05$); 氨基酸总量较酶解液提高 27%, 其中苏氨酸、丝氨酸、脯氨酸及甘氨酸等 9 种氨基酸含量极显著提高($P<0.01$), 苦味氨基酸天冬氨酸、胱氨酸及精氨酸含量极显著降低($P<0.01$)。**结论** 对鱼类副产物酶解液进行进一步发酵处理, 不仅可提高产物的营养价值, 而且能更充分地利用水产资源, 提高水产品的附加值。

关键词: 小黄鱼加工副产物; 酶解; 发酵; 响应面分析法; 营养指标

Optimization of fermentation conditions and nutritional evaluation of processing by-products of small yellow croaker

WANG Shu-Qi, SHA Kun, LI Xue, ZHANG Quan-Tao, LIU Chun-E*

(Yantai Research Institute of China Agricultural University, Yantai 264670, China)

ABSTRACT: Objective To study the fermentation process of the enzymatic hydrolysate of the processing by-products of small yellow croaker, optimize the fermentation conditions, and carry out the nutritional evaluation of the fermentation broth. **Methods** The effects of fermentation time, fermentation temperature, strain addition and soybean meal addition on the total amino acids content in the fermentation broth were explored by single factor experiment and response surface experiment, and the carbon nitrogen ratio, lactic acid content and nitrate nitrogen content of fermentation broth were determined. **Results** The optimum fermentation conditions of *Bacillus subtilis* were as follows: fermentation time 5 d, fermentation temperature 29 °C, strain addition 5.3%, soybean meal addition 10.1%, under these conditions, the amino acid content of processing by-products of small yellow croaker enzymatic hydrolysate was 39.68 mg/mL. After fermentation, the fishy smell of fermented liquid was significantly reduced, and the carbon nitrogen ratio, lactic acid and nitrate nitrogen content were significantly higher than those of enzymatic hydrolysate ($P<0.05$); the total amount of amino acids was 27% higher than that of the enzymatic solution, and the content of 9 kinds of amino acids such as threonine, serine, proline and glycine were significantly increased ($P<0.01$).

基金项目: 中国农业大学烟台研究院教研建设项目(201901Ys、201902Yk)

Fund: Supported by the Teaching and Research Projects of Yantai Research Institute of China Agricultural University (201901Ys, 201902Yk)

*通信作者: 刘春娥, 副教授, 主要研究方向为水产品加工及安全。E-mail: lchune@126.com.

*Corresponding author: LIU Chun-E, Associate Professor, Yantai Research Institute of China Agricultural University, Yantai 264670, China. E-mail: lchune@126.com

while the content of bitter amino acids such as aspartate, cystine and arginine were significantly decreased ($P < 0.01$).

Conclusion Further fermentation treatment for fish by-product enzymatic hydrolysate can not only improve the nutritional level of the product, but also make full use of aquatic resources, and improve the added value of aquatic products.

KEY WORDS: processing by-products of small yellow croaker; enzymolysis; fermentation; response surface analysis; nutrition indicators

0 引言

鱼类加工副产物富含矿物质、蛋白质及其他生物活性物质,是优质的蛋白源。如何更高效充分地利用鱼类加工副产物已成为一个重要研究方向,而目前已有加工工艺多为从鱼类加工副产物中提取鱼油^[1]、牛磺酸^[2]、寡肽^[3]、卵磷脂^[4]等,工艺往往比较复杂、且副产物不能被充分利用。近年来利用酶解及发酵技术对水产品加工副产品进行再处理,开发饲料或肥料成为新的研究热点^[5-8]。HAMMOUMI 等^[9]将鱼类加工副产物与糖蜜混合后,通过植物乳杆菌进行发酵,发酵产物可作为肉鸡饲料配方中蛋白质替代品。YONE 等^[10]通过米曲霉、曲霉、酿酒酵母和芽孢杆菌的组合发酵,产物用作红鲷的饲料。TIWOW 等^[11]改进发酵方法,将鱼类加工副产物制成液体饲料。综合来讲,目前大部分的研究只关注于采用一种处理方法,本研究对鱼类加工副产物酶解后再进行发酵处理,以期更充分利用加工原料,进一步提高产物的营养水平。

本研究通过预试验选取枯草芽孢杆菌作为发酵菌种,对鱼类加工副产物的酶解液再进行发酵处理,在对发酵过程的主要影响因素进行单因素试验的基础上,采用响应面法优化发酵条件,并分析发酵液营养成分,旨在探索一条高效利用鱼类加工副产物的新途径,解决鱼类加工副产物的排放污染问题,保护环境,同时提高水产品的综合利用价值,为鱼肥料的开发提供理论支撑。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

鱼类加工副产物(主要为小黄鱼头、鱼内脏)酶解液由本实验室提供^[12]。

茚三酮(分析纯,上海化学试剂总厂试剂三厂);甘氨酸标准品($\geq 99\%$,天津鼎盛鑫化工有限公司);枯草芽孢杆菌(200亿/g,潍坊益昊生物技术有限公司);豆粕(成都丰达饲料有限公司);MRS(De Man, Rogosa and Sharpe)琼脂;酵母浸出粉胨葡萄糖(yeast extract peptone dextrose, YPD)液体培养基(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司)。

TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);HH-M6 电热恒温水浴锅(上海赫田科学仪器有限公司);SW-CJ-1D 超净工作台(天津瑞洁净化科技

股份有限公司);HZQ-X500 振荡培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);BKQ-Z30I 高压灭菌锅[爱来宝(济南)医疗科技有限公司];TDL-60B 低速台式离心机(上海安亭科学仪器有限公司);L-3000 全自动氨基酸分析仪(苏州华美辰仪器设备有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种培养

将枯草芽孢杆菌菌种配成一定浓度菌悬液,吸取 200 μL 菌悬液接种在培养基上。挑选单菌落进行划线培养 24 h。向纯菌种划线平板内加入生理盐水 2 mL,将菌液移入 4 mL 接种管中,进行计数。

1.2.2 单因素试验设计

设置菌种添加量、豆粕添加量、发酵温度、发酵时间 4 个单因素试验,分别为菌种添加量($V:V$):1%、5%、10%、15%、20%;豆粕添加量($m:V$):1%、3%、5%、7%、9%、11%;发酵温度:20、24、28、32、36 $^{\circ}\text{C}$,发酵时间:1、2、3、4、5、6、7 d。在单因素试验中,其他因素固定取值为酶解液 10 mL,固液比 1:2 ($m:V$) 芽孢杆菌添加量 10% ($V:V$),豆粕添加量 5% ($m:V$),发酵时间 4 d,发酵温度 28 $^{\circ}\text{C}$,摇床培养,转速 160 r/min,各处理 3 个重复,测定发酵液氨基酸含量。

1.2.3 响应面试验设计

在单因素试验的基础上,为获得最佳工艺条件,运用 Box-Behnken 中心设计原理选择菌种添加量(A)、豆粕添加量(B)、发酵温度(C)、发酵时间(D) 4 个因素,做四因素三水平响应面试验。具体试验因素水平见表 1。

表 1 响应面试验因素水平表
Table 1 Response surface experimental factor level table

| 因素 | 水平 | | |
|--------------------------|-----|----|-----|
| | -1 | 0 | 1 |
| 菌种添加量/% | 2.5 | 5 | 7.5 |
| 豆粕添加量/% | 5 | 10 | 15 |
| 发酵温度/ $^{\circ}\text{C}$ | 24 | 28 | 32 |
| 发酵时间/d | 4 | 5 | 6 |

1.2.4 化学指标的检测

选取碳、氮、碳氮比、铵态氮、硝态氮、乳酸、氨基酸作为评价发酵液营养价值的指标。总碳、总氮依据 QB/T

2849—2007《生物发酵肥》规定的方法进行测定,碳氮比即总碳含量与总氮含量的比值;铵态氮、硝态氮的含量依据 NY 1116—2014《肥料硝态氮、铵态氮、酰胺态氮含量的测定》规定的方法进行测定;乳酸采用络合滴定法^[13]进行测定,游离氨基酸采用 NY/T 1975—2010《水溶肥料 游离氨基酸含量的测定》规定的方法进行测定。

1.3 数据处理

所有试验均重复 3 次,使用 Excel 2016 软件,对数据进行整理和分析。利用 Design-Expert 10.0 分析软件进行回归拟合,并作统计学分析, $P < 0.05$ 则认定其有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

枯草芽孢杆菌是发酵工业中常用菌种,多数芽孢杆菌可以分泌蛋白酶,这类蛋白酶可以将鱼下脚料中的蛋白质降解为小分子的肽类及氨基酸。相对于乳酸菌、酿酒酵母、丁酸梭菌,枯草芽孢杆菌发酵豆粕产生的酸溶蛋白含量明显提高^[14]。同时,芽孢杆菌可以分泌抗菌肽等活性物质,提高发酵液抗菌肽效价,起到缩短发酵时间、提高产量的作用^[15]。发酵液中,芽孢杆菌的繁殖需要营养,底物中菌种加入过多,会导致相互之间的竞争,芽孢杆菌的生长繁殖甚至是其成活也会受到影响,发酵效果下降^[16]。随着菌种添加量、豆粕添加量、发酵温度与发酵时间的增加,氨基酸含量均呈先上升后下降的趋势。菌种添加量为 5% 时,发酵液氨基酸含量达到最高值为 37.78 mg/mL。发酵液中氨基酸含量随豆粕量的增加而增加,添加量超过 10% 后,发酵液中氨基酸含量开始下降,其原因可能为过多的豆粕加入到发酵体系中,使得溶质的流动性降低,发酵物与芽孢杆菌和豆粕的接触不充分,发酵效果变差,氨基酸含量降低^[16]。发酵液中氨基酸含量随温度的升高而升高,28 °C 时氨基酸含量达到最高,超过 28 °C 后,氨基酸含量迅速降低,这可能是因为发酵温度超过芽孢杆菌的最适生长繁殖温度,同时过高的温度也影响了酶的活性^[16]。随着时间的延长,氨基酸含量升高,发酵 5 d 达到最高。选菌种添加量 5%、豆粕添加量 10%、发酵温度 28 °C、发酵时间 5 d 进行后续响应面试验。

2.2 响应面试验

2.2.1 回归方程

发酵工艺各个因素之间存在一定的相互作用,在单因素试验结果的基础上进行响应面试验。选择菌种添加量(A)、豆粕添加量(B)、发酵温度(C)、发酵时间(D) 4 个因素,采用中心组合设计,建立数学模型,结果如表 2,方差分析见表 3。

由 Design-Expert 软件分析试验数据,得枯草芽孢杆菌发酵小黄鱼加工副产物酶解液的发酵产物中氨基酸含量与 4 个因素之间的函数关系。

$$Y=38.142+0.456A-0.009B+1.853C+0.518D-1.305AB+1.$$

$$348AC+0.470AD+0.893BC+0.240BD+0.038CD-3.219A^2-1.862B^2-4.627C^2-2.347D^2。$$

该方程阐明了发酵液氨基酸含量与各因素之间的变化规律。方差分析结果表明,模型 $P < 0.01$,说明模型因素水平项总体上极显著,失拟项 F 值不显著,方程拟合度良好。从各因素 P 值分析,A、B、C、D 4 个因素中只有 C 因素,即发酵时间对氨基酸含量影响极显著($P < 0.01$)。B² 对氨基酸含量影响显著($P < 0.05$),A²、C²、D² 均对氨基酸含量影响极显著($P < 0.01$)。AB、AC、AD、BC、BD、CD 6 种交互作用对氨基酸含量的影响均不显著($P > 0.05$)。由 F 值可知,4 个因素对氨基酸含量影响大小顺序为 $C > D > A > B$ 。

表 2 响应面结果
Table 2 Response surface results

| 试验号 | A 菌种 添加量/% | B 豆粕添 加量/% | C 发酵 温度/°C | D 发酵 时间/d | 氨基酸含量 /(mg/mL) |
|-----|---------------|---------------|---------------|--------------|-------------------|
| 1 | -1 | 1 | 0 | 0 | 34.26 |
| 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 33.41 |
| 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 36.03 |
| 4 | 1 | 0 | -1 | 0 | 26.96 |
| 5 | -1 | 0 | -1 | 0 | 29.69 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 37.83 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 38.42 |
| 8 | -1 | 0 | 0 | 1 | 33.46 |
| 9 | 1 | 0 | 1 | 0 | 32.70 |
| 10 | 0 | -1 | -1 | 0 | 31.66 |
| 11 | 0 | 1 | 1 | 0 | 33.24 |
| 12 | 1 | 0 | 0 | 1 | 32.79 |
| 13 | 0 | -1 | 0 | 1 | 33.85 |
| 14 | 0 | 0 | -1 | 1 | 30.30 |
| 15 | -1 | 0 | 0 | -1 | 33.11 |
| 16 | -1 | 0 | 1 | 0 | 30.04 |
| 17 | 0 | -1 | 1 | 0 | 33.67 |
| 18 | 0 | 0 | -1 | -1 | 28.85 |
| 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 39.62 |
| 20 | -1 | -1 | 0 | 0 | 28.57 |
| 21 | 0 | 0 | 1 | 1 | 34.65 |
| 22 | 0 | 1 | 0 | -1 | 32.64 |
| 23 | 1 | -1 | 0 | 0 | 35.56 |
| 24 | 0 | 0 | 1 | -1 | 33.05 |
| 25 | 0 | 1 | -1 | 0 | 27.66 |
| 26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 37.27 |
| 27 | 1 | 0 | 0 | -1 | 30.56 |
| 28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 37.57 |
| 29 | 0 | -1 | 0 | -1 | 34.04 |

表 3 方差分析结果
Table 3 Variance analysis results

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | P 值 |
|----------------|----------|-----|----------|---------|---------|
| 模型 | 250.9281 | 14 | 17.9234 | 5.7489 | 0.0012 |
| A 菌种添加量/% | 2.4934 | 1 | 2.4934 | 0.7998 | 0.3863 |
| B 豆粕添加量/% | 0.0010 | 1 | 0.0010 | 0.0003 | 0.9859 |
| C 发酵温度/°C | 41.1811 | 1 | 41.1811 | 13.2087 | 0.0027 |
| D 发酵时间/d | 3.2137 | 1 | 3.2137 | 1.0308 | 0.3272 |
| AB | 6.8121 | 1 | 6.8121 | 2.1850 | 0.1615 |
| AC | 7.2630 | 1 | 7.2630 | 2.3296 | 0.1492 |
| AD | 0.8836 | 1 | 0.8836 | 0.2834 | 0.6028 |
| BC | 3.1862 | 1 | 3.1862 | 1.0220 | 0.3292 |
| BD | 0.2304 | 1 | 0.2304 | 0.0739 | 0.7897 |
| CD | 0.0056 | 1 | 0.0056 | 0.0018 | 0.9667 |
| A ² | 67.2266 | 1 | 67.2266 | 21.5627 | 0.0004 |
| B ² | 22.4849 | 1 | 22.4849 | 7.2120 | 0.0178 |
| C ² | 138.8600 | 1 | 138.8600 | 44.5388 | <0.0001 |
| D ² | 35.7251 | 1 | 35.7251 | 11.4587 | 0.0044 |
| 残差 | 43.6482 | 14 | 3.1177 | | |
| 失拟合 | 40.2015 | 10 | 4.0202 | 4.6655 | 0.0755 |
| 纯误差 | 3.4467 | 4 | 0.8617 | | |
| 总离差 | 294.5763 | 28 | | | |

注: * $P < 0.05$ 表示显著, ** $P < 0.01$ 表示极显著。

2.2.2 响应面结果分析

将 4 因素中的 2 个因素固定, 分析另外 2 个因素相互作用对发酵水产品加工副产物得到的发酵液中氨基酸含量的影响, 通过 Design-Expert 软件绘制响应面及等高线, 可快速找到最适参数、参数之间的相互作用及最大的响应值, 结果见图 1。从图中可以看出各组等高线密集程度及形状都较为对称, 说明菌种添加量(A)、豆粕添加量(B)、发酵温度(C)、发酵时间(D)这 4 个因素对氨基酸含量的影响是独立的, 交互作用较弱。响应面图曲面程度高, 任意 2 因素水平固定在 0 水平时, 随着其中一因素水平升高, 曲面均呈现先升高后缓慢下降的趋势, 即随着因素水平升高, 氨基酸总量呈现先升高后下降趋势。

2.2.3 最佳试验条件的确定和验证

回归方程的预测结果显示最佳的发酵条件为: 枯草芽孢杆菌发酵时间 5.13 d、发酵温度 28.88 °C、菌种添加量 5.31%、豆粕添加量 10.08%, 在此条件下, 发酵水产品加工副产物所得氨基酸含量理论预测值为 39.64 mg/mL。为确定模型预测的准确性, 根据得到的最佳条件, 综合考虑实际操作的方便性, 将响应面优化得出的条件参数调整为: 发酵时间 5 d、发酵温度 29 °C、菌种添加量 5.3%、豆粕添加量 10.1%, 在此条件下, 发酵液中氨基酸含量为 39.68 mg/mL, 高于单

因素试验以及模拟优化方案中的含量试验。

2.3 营养指标检测

鱼类副产物匀浆液是灰色的膏状物, 带有鱼鳞和鱼刺的碎片, 有典型的鱼腥味。经酶解处理后为灰色的液体, 有少许油脂悬浮物, 底部仍有固体碎屑, 同样带有典型的鱼腥味; 枯草芽孢杆菌的发酵液外观与酶解液类似, 颜色微偏褐, 没有固体, 且鱼腥味有较大程度的减轻。

酶解液、发酵液的营养指标见表 4。由表 4 可以看出, 发酵液碳氮比、乳酸、硝态氮含量相较于酶解液有显著提高($P < 0.05$)。作为肥料, 碳氮比高更能促进作物根部的生长, 同时碳氮是导致微生物变化的关键性因素^[18], 其比值在 5.25~7.26 之间可提高微生物生物量和活性^[19], 本研究中经过发酵处理后, 碳氮比由 4.95 提高至 5.75。发酵液中乳酸含量可达 2.68%, 与酶解液相比, 发酵显著提高了乳酸含量, 乳酸能促进植物的生长。对玉米的试验中发现乳酸的聚合物可以增加植物约 74%的生物量^[20]。发酵液硝态氮含量显著高于酶解液, 更宜于作为植物吸收的氮源^[21]; 同一施氮量条件下, 对小麦施硝态氮肥, 作物生物及籽粒产量、含氮量均高于铵态氮肥组^[22], 且无机氮可以通过提高生物量增强植物对有机氮的利用^[23]。

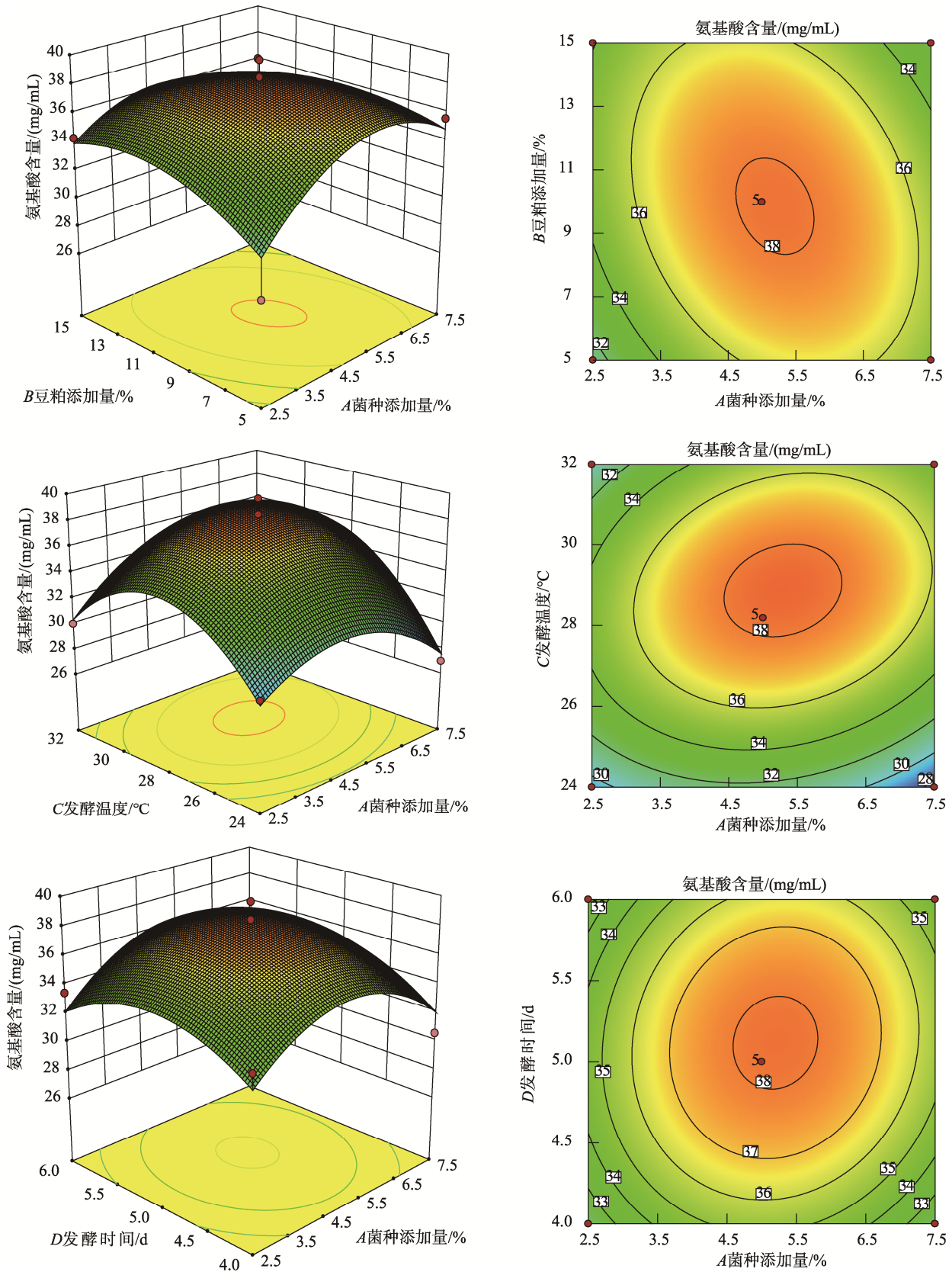


图 1 响应面设计曲线图
Fig.1 Response surface design curves

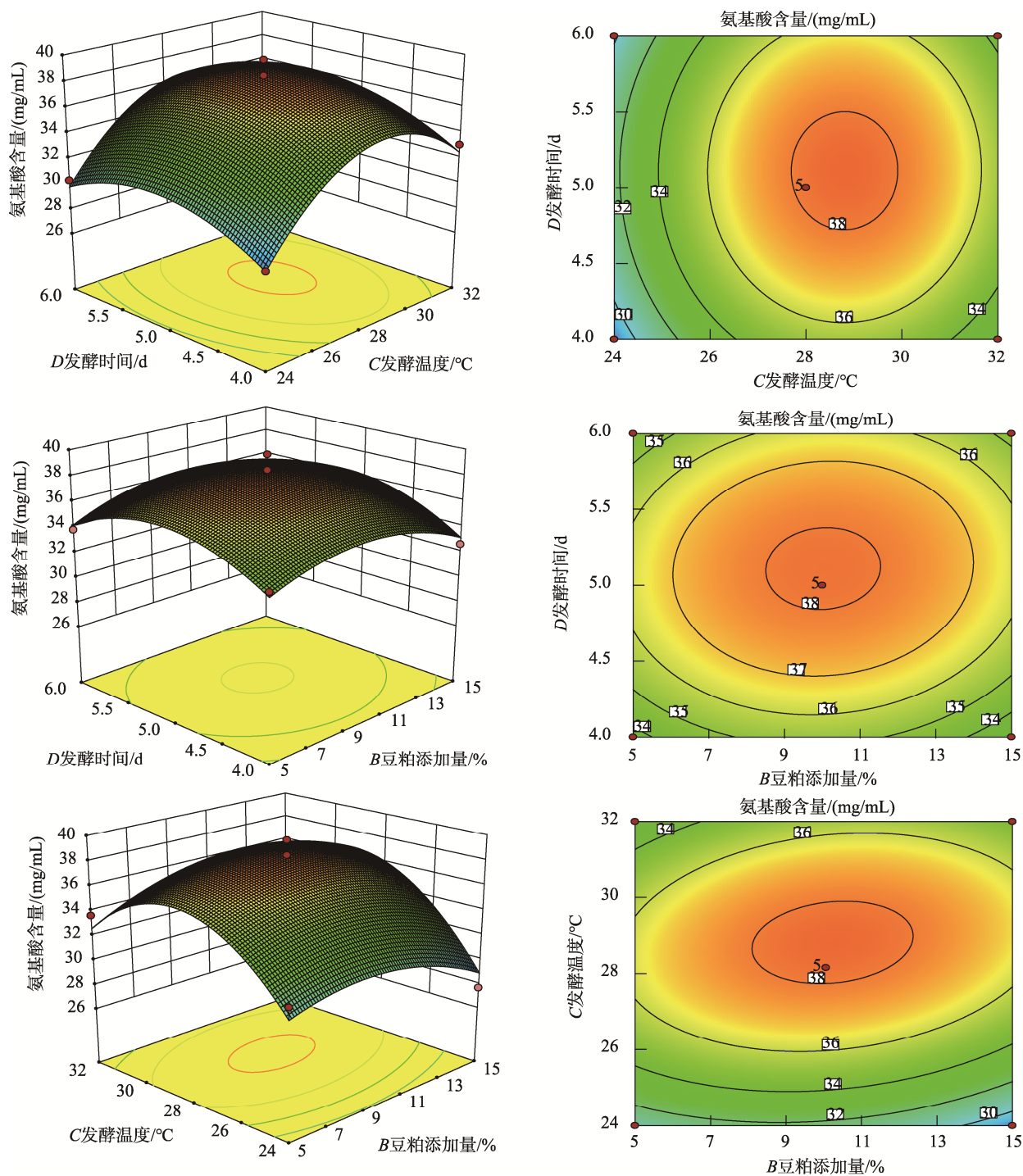


图 1(续) 响应面设计曲线图

Fig.1 Response surface design curves

蛋白质含量丰富是鱼类加工副产物能作为肥料原料开发的重要原因之一。在酶解过程中, 蛋白质大量肽键被酶水解生成肽、氨基酸等, 而酶解之后产物再进行发酵, 微生物及酶的作用进一步降解产物, 氨基酸含量显著提高($P < 0.05$)。从表 5 可以看出, 发酵液中氨基酸含量比酶解液增加了 27%左右, 其中甜味氨基酸包括苏氨酸、丝氨酸、脯氨酸及甘氨酸含量极显著提高($P < 0.01$), 苦味氨基酸天冬氨酸、胱氨酸及精

氨酸等含量极显著降低($P < 0.01$)。发酵处理极大改善了酶解液的风味, 提升了鱼类副产物作为饲料原料开发的可行性。发酵液中富含大量游离氨基酸, 作物可以直接吸收氨基酸并遵从米氏方程^[24-25]。在促进水稻干物质积累方面, 甘氨酸态的氮效果明显好于氨态氮肥和谷氨酸态的氮^[26]。脯氨酸可以减少玫瑰枯萎比率, 保证茎的健康^[27], 对营养和气体交换参数有影响^[28], 同时在植物对抗高温和高盐的胁迫过程中有重要作用^[29]。

表 4 小黄鱼副产物发酵液和酶解液的营养指标($n=3$)Table 4 Nutritional indexes of fermentation broth and enzymatic hydrolysate of small yellow croaker by-products ($n=3$)

| 待测指标 | 碳含量/% | 氮含量/% | 碳氮比 | 乳酸含量/% | 硝态氮含量/(mg/L) |
|------|------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| 发酵液 | 46.47±0.49 | 8.09±0.31 | 5.75±0.19 | 2.68±0.14 | 272±15 |
| 酶解液 | 45.87±0.27 | 9.28±0.36 | 4.95±0.17 | 1.14±0.15 | 203±12 |
| 差值 | 0.6 | -1.19* | 0.8* | 1.54* | 69* |

注: *显著性水平为 $P<0.05$ 。

表 5 小黄鱼副产物发酵液和酶解液中游离氨基酸含量($n=3$)Table 5 Content of free amino acids in fermentation broth and enzymatic hydrolysate of small yellow croaker by-products ($n=3$)

| 含量 | 发酵液游离氨基酸/($\mu\text{mol/L}$) | 酶解液游离氨基酸/($\mu\text{mol/L}$) | 差值/($\mu\text{mol/L}$) |
|------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| 天冬氨酸 | 348.4±0.62 | 485.9±2.36 | -137.5** |
| 胱氨酸 | 22.6±0.66 | 27.3±0.44 | -4.7** |
| 丝氨酸 | 2546.3±11.10 | 1367.9±6.68 | 1174.8** |
| 甘氨酸 | 1221.4±6.96 | 849.9±5.28 | 371.5** |
| 组氨酸 | 85.9±1.47 | 67.8±1.01 | 18.1** |
| 精氨酸 | 1141.5±8.38 | 1877.7±6.57 | -738.2** |
| 苏氨酸 | 2276.8±9.85 | 2247.2±2.08 | 29.6** |
| 丙氨酸 | 2.72±0.03 | 3.53±0.05 | -0.81** |
| 脯氨酸 | 20327.9±16.54 | 14296.2±10.10 | 6031.7** |
| 酪氨酸 | 6724.5±7.00 | 6970.2±7.28 | -245.7** |
| 缬氨酸 | 126.5±1.08 | 95.4±0.66 | 31.1** |
| 蛋氨酸 | 184.5±1.50 | 255.5±2.43 | -71** |
| 异亮氨酸 | 257.9±1.55 | 206.4±1.34 | 51.5** |
| 苯丙氨酸 | 1663.7±7.76 | 336.7±3.20 | 1327** |
| 赖氨酸 | 1350.7±4.11 | 1122±3.77 | 228.7** |
| 合计 | 38281.3 | 30209.6 | 8071.7 |

注: 显著性水平为 $P<0.01$ 。

3 结论与讨论

在单因素试验的基础上, 本研究选择对发酵工艺影响较大的 4 个因素, 用四因素三水平的响应面分析法对水产品副产物酶解液发酵工艺进行优化。最佳发酵条件为发酵时间 5 d, 发酵温度 29 °C, 菌种添加量 5.3%, 豆粕添加量 10.1%, 在此条件下, 发酵水产品加工副产物所得氨基酸含量为 39.68 mg/mL。相比酶解液, 发酵显著提高了水解物的碳氮比、氨基酸及乳酸含量。梁月钦^[30]对金枪鱼副产物最优发酵条件进行正交试验优化, 枯草芽孢杆菌菌种添加量为 30%, 发酵 3 d, 最终所得产物含氮量为 4.16%。本研究结果与之相比, 极大减少了菌种添加量, 延长了发酵时间, 含氮量可达 8.09%。在发酵之前, 先经过酶解处理, 蛋白质大量肽键被酶水解, 水解产物再进行发酵, 不仅降低了菌种的使用量, 而且提高了产物的营养成分。综上, 对鱼副产物进行酶解和发酵 2 步处理相较于单独一步处理, 不仅产物的外观有极大的改善, 而且在营养成分和产品风味上更具优势。今后将通过发酵和酶解条件的进一步深入研究, 进而调节

发酵产物的营养成分配比, 开发具有精准营养需求的鱼肥产品, 进一步提高鱼类加工副产物的附加值。

参考文献

- [1] 朱迎春, 张坤生, 霍乃蕊, 等. 鲶鱼下脚料中鱼油的提取及贮藏稳定性研究[J]. 天津科技大学学报, 2015, 30(3): 29-33.
ZHU YC, ZHANG KS, HUO NR, *et al.* Extraction and storage stability of fish oil from catfish leftover [J]. J Tianjin Univ Sci Technol, 2015, 30(3): 29-33.
- [2] 贾茹, 陈静. 从章鱼下脚料中提取牛磺酸工艺的研究[J]. 食品工业, 2012, 33(12): 9-11.
JIA R, CHEN J. Research on extraction of taurine from octopus waste [J]. Food Ind, 2012, 33(12): 9-11.
- [3] 杜帅. 金枪鱼下脚料制备高 F 值寡肽的工艺及活性研究[D]. 舟山: 浙江海洋学院, 2014.
DU S. The optimization technology and activity of high Fischer ratio oligo-peptide from tuna meat [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2014.
- [4] 林慧敏, 赵君. 鲛鳃鱼加工下脚料中卵磷脂的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(1): 51-53.
LIN HM, ZHAO J. The optimum conditions for abstraction of lecithin from the *Lophomus setigerus* processing scrap [J]. Food Res Dev, 2012, 33(1): 51-53.
- [5] GAO R, YU Q, SHEN Y, *et al.* Production, bioactive properties, and potential applications of fish protein hydrolysates: Developments and challenges [J]. Trends Food Sci Technol, 2021, 110: 687-699.
- [6] GÜLSÜN Ö, YESİM O, ESERAY KB, *et al.* The effects of fermentation process with acid and lactic acid bacteria strains on the biogenic amine formation of wet and spray-dried fish silages of discards [J]. J Aquat Food Prod T, 2019, 28(3): 314-328.
- [7] RAJENDRAN SRCK, MOHAN A, KHIARI Z, *et al.* Yield, physicochemical, and antioxidant properties of atlantic salmon visceral hydrolysate: Comparison of lactic acid bacterial fermentation with flavourzyme proteolysis and formic acid treatment [J]. J Food Process Pres, 2018, 42(6). DOI: 10.1111/jfpp.13620
- [8] LI L, QING W, WANG J, *et al.* Production of a water-soluble protein powder from anchovy and soybean meal by endogenous enzymatic hydrolysis and solid-state fermentation [J]. J Food Process Pres, 2019, 43(1): e13854.
- [9] HAMMOUMI A, FAID A, AMAROUC H. Use of fermented fish waste as a poultry feed ingredient [J]. Cahiers Detudes Et De Res Fran Agric, 1999, 8(3): 207-209.
- [10] YONE Y, HOSSAIN MA, FURUICHI M, *et al.* Studies on utilization of fish waste. I. Effect of fermented and fermented-resteamed scrap meals on growth and feed efficiency of red sea bream [J]. Nsugaf, 1986, 52(3): 549-552.

- [11] TIWOW VMA, ADRIANTON, ABRAM PH, *et al.* Bakasang fermentation of Tilapia fish (*Oreochromis mossambicus*) waste for production of liquid organic fertilizer (LOF) [J]. *J Phys Conf Ser*, 2019, 1242(1). DOI: 10.1088/1742-6596/1242/1/012018
- [12] 孙一玮, 李雪, 刘春娥, 等. 响应面法优化双酶复合水解鳊鱼加工副产物的加工工艺 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(07): 2768–2773.
SUN YW, LI X, LIU CE, *et al.* Optimization of processing technology of double enzymatic hydrolysis of cod processing by-products by response surface methodology [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(7): 2768–2773.
- [13] 明恒磊, 于颖, 刘杰, 等. 发酵液乳酸含量测定法中 EDTA 络合滴定钙指示剂的改进 [J]. *食品工业科技*, 2012, 33(09): 387–389, 397.
MING HL, YU Y, LIU J, *et al.* Improved indicators in EDTA titration analysis of lactic acid in fermented broth [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(9): 387–389, 397.
- [14] 刘星, 赵荣, 李波, 等. 几种不同菌种发酵豆粕发酵过程指标对比 [J]. *饲料博览*, 2020, (1): 20–23.
LIU X, ZHAO R, LI B, *et al.* Physical and chemical parameters comparison between several fermentative soybean by several different dtrains during fermentation process [J]. *Feed Rev*, 2020, (1): 20–23.
- [15] 张志焱, 赵倩, 于佳民, 等. 一株枯草芽孢杆菌产抗菌肽培养基筛选及发酵工艺优化的研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2019, 46(4): 1217–1226.
ZHANG ZY, ZHAO Q, YU JM, *et al.* Selection of culture medium and optimization of fermentation conditions for bacillus subtilis producing antimicrobial peptides [J]. *Chin Anim Husb Vet Med*, 2019, 46(4): 1217–1226.
- [16] 刘春娥, 郑昭君, 刘峰, 等. 微生物发酵鱼类加工下脚料营养特性研究 [J]. *天津农业科学*, 2013, 19(10): 28–32.
LIU CE, ZHENG ZJ, LIU F, *et al.* Studies on nutrient characteristics of fish processing waste fermented by microorganism [J]. *Tianjin Agric Sci*, 2013, 19(10): 28–32.
- [17] YIMAMU A., REHEMUJIANG H, HANADA M. Effect of addition of dried beet-pulp on silage fermentation quality of fish waste inoculated with lactic acid bacteria [J]. *Anim Husb Feed Sci*, 2013, 5(4): 175–178.
- [18] 李光宇. 短期耕地休养的不同管理方式对土壤性质与微生物的影响及其实践意义 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
LI GY. Effects of different short-term farmland set-aside managements on soil properties and microbiota and its practical significance: A case study of the Yellow river delta [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.
- [19] 侯贤清, 李荣, 吴鹏年, 等. 秸秆还田配施氮肥对土壤碳氮含量与玉米生长的影响 [J]. *农业机械学报*, 2018, 49(9): 238–246.
HOU XQ, LI R, WU PN, *et al.* Effects of straw returning with nitrogen application on soil carbon, nitrogen content and maize growth [J]. *Trans Chin Soc Agric Mach*, 2018, 49(9): 238–246.
- [20] KINNERLSEY AM, III TCS, YOPP JH, *et al.* Promotion of plant growth by polymers of lactic acid [J]. *Plant Growth Regul*, 1990, 9(2): 137–146.
- [21] 田霄鸿, 李生秀. 几种蔬菜对硝态氮、铵态氮的相对吸收能力 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2000, 6(2): 194–201.
TIAN XH, LI SX. Relative absorption capacity of several vegetables to nitrate and ammonium nitrogen [J]. *Plant Nut Fert Sci*, 2000, 6(2): 194–201.
- [22] 代新俊, 杨珍平, 陆梅, 等. 不同形态氮肥及其用量对强筋小麦氮素转运、产量和品质的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(5): 710–720.
DAI XJ, YANG ZP, LU M, *et al.* Effects of nitrogen forms and amounts on nitrogen translocation, yield and quality of strong-gluten wheat [J]. *J Plant Nutr Fert*, 2019, 25(5): 710–720.
- [23] 马庆旭. 植物对氨基酸的吸收及 pH 和 Cd 胁迫对其吸收的影响机制 [D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
MA QX. The uptake of amino acids and the effects of pH and Cd stress on plants absorption [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
- [24] 张夫道, 孙羲. 氨基酸对水稻营养作用的研究 [J]. *中国农业科学*, 1984, 17(5): 61–66.
ZAHNG FD, SUN X. Study on the nutritional effect of amino acids on rice [J]. *China Agri Sci*, 1984, 17(5): 61–66.
- [25] 刘德辉, 田蕾, 邵建华, 等. 氨基酸螯合微量元素肥料在小麦和后作水稻上的效果 [J]. *土壤通报*, 2005, 36(6): 917–920.
LIU DH, TIAN L, SHAO JH, *et al.* Effects of amino acid chelate microelement fertilizer on wheat and rice [J]. *Chin J Soil Sci*, 2005, 36(6): 917–920.
- [26] 吴良欢, 陶勤南. 植物有机营养无菌培养试验方法的研究与应用 [J]. *土壤学报*, 1999, 36(4): 551–558.
WU LH, TAO QN. The research and application of plant organic nutrition aseptic culture test method [J]. *Acta Ped Sin*, 1999, 36(4): 551–558.
- [27] AKHTAR G, JASKANI MJ, SAJJAD Y, *et al.* Effect of antioxidants, amino acids and plant growth regulators on, *in vitro* propagation of *Rosa centifolia* [J]. *Iran J Biotechnol*, 2016, 14(1): 51–55.
- [28] ÖDEMİŞ B, BÜYÜKTAŞ Ç, ÇALIŞKAN ME. Effects of saline irrigation water and proline applications on yield, vegetative and physiological characteristics of potato crop (*Solanum tuberosum* L.) [J]. *Derim*, 2019, 36(1): 54–63.
- [29] 朱虹, 祖元刚, 王文杰, 等. 逆境胁迫条件下脯氨酸对植物生长的影响 [J]. *东北林业大学学报*, 2009, 37(4): 86–89.
ZHU H, ZU YG, WANG WJ, *et al.* Effects of proline on plant growth under stress [J]. *J Northeast Forest Univ*, 2009, 37(4): 86–89.
- [30] 梁月钦. 基于几种海产品下脚料的生物制品工艺研究 [D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019.
LIANG YQ. Research on biological products based on several seafood scraps [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2019.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



王舒淇, 主要研究方向为水产养殖学。
E-mail: 1304976094@qq.com



刘春娥, 副教授, 主要研究方向为水产品加工及安全。
E-mail: lchune@126.com