

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2019年3月7日 (07.03.2019)



(10) 国际公布号
WO 2019/041409 A1

(51) 国际专利分类号:
A23L 17/00 (2016.01) A22C 25/02 (2006.01)
A23L 33/16 (2016.01) A22C 25/20 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/103073

(22) 国际申请日: 2017年9月25日 (25.09.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201710760348.4 2017年8月30日 (30.08.2017) CN

(71) 申请人: 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所 (SERICULTURE & AGRI-FOOD RESEARCH INSTITUTE GUANGDONG ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES) [CN/CN]; 中国广东省广州市天河区东莞庄一横路133号, Guangdong 510610 (CN)。

(72) 发明人: 张友胜 (ZHANG, Yousheng); 中国广东省广州市天河区东莞庄一横路133号, Guangdong 510610 (CN)。 张业辉 (ZHANG, Yehui); 中国广东省广州市天河区东莞庄一横路133号, Guangdong 510610 (CN)。 汪婧瑜 (WANG, Jingyu); 中国广东省广州市天河区东莞庄一横路133号, Guangdong 510610 (CN)。 程镜蓉 (CHENG, Jingrong); 中国广东省广州市天河区东

莞庄一横路133号, Guangdong 510610 (CN)。 刘学铭 (LIU, Xueming); 中国广东省广州市天河区东莞庄一横路133号, Guangdong 510610 (CN)。 王旭莘 (WANG, Xuping); 中国广东省广州市天河区东莞庄一横路133号, Guangdong 510610 (CN)。

(74) 代理人: 广州市华学知识产权代理有限公司 (GUANGZHOU HUAXUE INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国广东省广州市天河区五山路381号物资大楼首层, Guangdong 510640 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,

(54) **Title:** METHOD FOR PRODUCING HIGH-ACTIVITY CALCIUM CONTAINING SURIMI BY MEANS OF WET SUPERFINE PULVERIZATION AND CONTROLLED FERMENTATION TECHNIQUES

(54) 发明名称: 利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法

(57) **Abstract:** A method for producing high-activity calcium containing surimi by means of wet superfine pulverization and controlled fermentation techniques. The method comprises: cleaning a raw fish material at an ambient temperature of 5-10 ° C; shredding the raw fish material into a required size suitable for a feed inlet of a wet superfine pulverization machine; rinsing the fish shreds, and adding a single probiotic or compound probiotics; adding lactic acid; pulverizing the fish shreds using the wet superfine pulverization machine, placing the surimi and an ice-water mixture into a fermenter, adjusting the temperature of the fermenter to 10-25°C, carrying out fermentation under anaerobic conditions for 2-24 hours, and then removing impurities; and dehydrating the resultant product to obtain a high-activity calcium containing surimi. The present invention ensures the surimi retains rich nutrients and active ingredients beneficial to the human body such as inorganic calcareous elements and collagen proteins present in small fish and fish waste, thereby improving the quality of surimi products. Controlled fermentation of the surimi transforms the inorganic calcareous elements therein into active calcium ingredients such as calcium lactate, so as to increase the absorption rate of calcium.

(57) 摘要: 一种利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法; 该方法先在5-10℃环境温度下清洗鱼原料; 切碎成适合湿法超微粉碎机器的进料口要求大小; 漂洗, 添加单一益生菌或复合益生菌; 添加乳酸; 利用湿法超微粉碎机粉碎, 将鱼糜和冰水混合物置于发酵罐中, 调节发酵罐温度到10-25℃, 厌氧条件下发酵2-24小时后停止发酵, 除杂; 脱水得高活性钙鱼糜; 同时将小杂鱼和鱼下脚料中含有丰富的无机钙质元素和骨胶原蛋白等对人体有益的营养和活性成分全部保留在鱼糜中, 提高了鱼糜产品的质量; 应用鱼糜可控发酵, 将其中的无机钙质元素转化为乳酸钙等活性钙成分, 提高钙的吸收率。

WO 2019/041409 A1

AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法

技术领域

本发明涉及一种高活性钙鱼糜，特别是涉及一种同时利用湿法超微粉碎小杂鱼及鱼下脚料和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法；属于水产品加工技术领域。

背景技术

目前，水产行业中的小杂鱼和鱼下脚料主要用来生产鱼粉或者作为废物直接丢弃，导致资源综合利用程度低，同时严重污染环境。实际上，小杂鱼和鱼下脚料中含有丰富的钙质元素和骨胶原蛋白等许多对人体有益的营养和活性成分。根据世界卫生组织的统计，目前我国钙缺乏人群已经超过 1.5 亿人，其中有明显症状的人数达到 5000 万人以上，通过饮食补钙是一个简单且效果明显的解决办法。鱼糜及其相关产品一直是我国鱼加工产品的一个重要品类，占有所有加工产品份额的 35% 以上，在鱼养殖和捕捞产业中对于稳定鱼的市场价格起着重要的作用，如果在鱼糜生产过程中能全部利用小杂鱼和鱼下脚料，这对于资源综合利用、保护环境、降低产品生产成本以及通过饮食的方法补充钙质含量等大有益处。

不过，小杂鱼和鱼下脚料中尽管含有大量的钙元素，但其一般以羟基磷灰石结晶形式存在，且骨中羟基磷灰石钙与胶原纤维有机结合，导致钙自然溶出量甚微，还必需通过胃酸分解后才能被人体吸收；也就是说，直接食用小杂鱼和鱼下脚料中的钙元素的利用率低。

中国发明专利 201110050666.4 公开了一种鲍鱼壳制备生物活性钙的方法，该方法包括：将鲍鱼壳洗净除杂，沥干后置于鼓风干燥箱中干燥；将干燥后的鲍鱼壳加入马弗炉中进行煅烧，制备鲍鱼壳灰分；将鲍鱼壳灰分加入粉碎设备中进行粗粉碎，制得鲍鱼壳灰分粉；将鲍鱼壳灰分粉与水混合调制成石灰乳；将鲍鱼壳石灰乳加入超声波设备中，加入乳酸溶液，超声波处理加速反应；将反应后的混合液加热到 60~70℃，趁热过滤除去杂质得到乳酸钙母液；加热浓缩乳酸钙母液、静置结晶，过滤分离乳酸钙晶体；加入无水乙醇洗涤乳酸钙晶体，过滤，得纯乳酸钙晶体。

中国发明专利 201210143648.5 公开了利用硬骨鱼类鱼脊骨制取活性钙粉的方法；以鱼脊骨为原料，采用脂肪酶水解脱脂，利用植物中药脱腥，粉碎后再对鱼骨粉中蛋白质用混合酶催化水解，最后喷雾干燥。通过把鱼脊骨中的蛋白质酶解，从而从鱼脊骨中水解出钙离子，而钙离子大部分以氨基酸钙形式存在，少部分以磷酸氢钙的形成存在，还有少部分形成了磷酸钙沉淀。

中国发明专利 201210179180.5 公开了一种富含生物活性钙等矿物质的肉制品的加工方法；该方法将畜禽骨或鱼骨依次经碱处理→油炸→酸处理→超微粉碎→酶解后制得骨泥，再将骨泥在原料肉斩拌时加入制得肉馅，最后将肉馅灌入肠衣或放入肉饼模具中成形制得富含活性钙等矿物质的肉制品。

上述现有的对活性钙的转化技术主要包括煅烧、酶解、碱处理等方法对无机钙进行处理，使其转变为活性钙；使用的原料均为畜禽骨或鱼骨原料，对原料有严格的选择性，同时生产工艺也比较复杂，更主要的且这些方法都不能直接应用到鱼肉和鱼骨混合原料之中。

中国发明专利 201310620364.5 公开了一种高钙复合虾饼及其制作方法，以新鲜的毛虾为原料，利用高精湿法粉碎技术制成的全毛虾虾浆，与鱼糜、鸡胸肉、盐、谷朊粉、肥肉丁、马铃薯淀粉、味精、5'-呈味核糖核苷酸二钠、糖、水分保持剂、品质改良剂，经低温斩拌均匀制得饼芯料，通过成型机将饼芯料制成圆型或椭圆型，然后在饼芯外表面沾裹一层面包粉，将虾饼速冻定型后，油炸熟至外表金黄，制得虾饼。该专利实际上是通过湿法粉碎技术将所有原料混合在一起，从而产生高钙含量产品，但其中的钙为无机钙，难以被人体直接利用。

中国发明专利申请 2016111544554 公开了一种鱼糜制品的快速发酵法，对鱼糜先进行酶解，酶解后利用复合发酵剂进行分阶段发酵；复合发酵剂为乳酸菌、酵母菌、双歧杆菌；分阶段发酵为普通发酵阶段和厌氧发酵阶段。该申请将酶解与发酵相结合，并将发酵分阶段进行，常规发酵方法为接种后灌肠一步发酵，分两步分别控制发酵条件，提升发酵速度。该申请制备的鱼糜发酵制品风味、质地、色泽、外观良好，具有良好的凝胶特性，将鱼糜制品发酵缩短至 6-8h。但该申请只是应用现有的通过鱼肉生产而来的鱼糜作原料，利用酶解和发酵等技术措施，达到改进鱼糜

发酵制品风味、质地、色泽以及良好的凝胶特性的目的，对原料有很强的选择性，而且该申请也不涉及无机钙转化的问题。

发明内容

为了解决上述现有技术中存在的不足之处，本发明的目的在于提供一种活性钙质量含量可达 1.0-7.0%的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法。

本发明基于目前水产资源利用率低、下脚料污染环境和钙缺乏人群日渐增多的现实问题以及无机钙难以吸收、钙消化利用率低的难题，通过湿法超微粉碎小杂鱼或鱼下脚料，在全部利用小杂鱼或鱼下脚料的基础上，同时利用微生物技术将其中的无机钙转化为活性钙，开发兼具新型风味和高活性钙的鱼糜基料。

湿法超微粉碎是采用受控切割技术理念开发的专门针对含水率高、具有流动性的农副产品（如果蔬皮渣、谷物皮渣、水产物料皮骨等）韧性或胶性物料的超细粉碎，解决了传统湿法粉碎设备（如砂轮磨、胶体磨和高压均质机）无法对纤维类、皮质类韧性或胶性物料进行湿法微细粉碎的难题。利用湿法超微粉碎果蔬、果蔬皮渣以及粮食类原料有公开的方法报道；如中国发明专利“一种麸皮细胞湿法粉碎破壁方法”（专利号 201010230142.9）公开了将麸皮、水、降解麸皮细胞壁的酶混合后进行湿法球磨粉碎，得到超细破壁粉体；中国发明专利“一种超细粉碎桑果酱及其生产方法”（专利号 201310278816.6）公开了一种超细粉碎桑果酱的方法；申请号为 201610529465.5 的中国发明专利申请公开了一种茶叶的超微粉碎方法。但上述现有技术都是都针对果蔬和茶叶；对水产资源尚未见利用湿法超微粉碎方法直接粉碎水产原料的方法报道，其主要原因一是由于前期制造的切割设备硬度不够，难以将骨头粉碎；二是本领域技术人员认为粉碎过程中有摩擦生热而引起蛋白变性，从而影响蛋白含量较高的水产品加工质量；三是因为产品中含有大量的钙质元素，有可能影响口感，另外产品中的钙为无机钙，难以吸收利用。

本发明目的通过如下技术方案实现：

利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，包括以下步骤：

1) 原料清洗：在 5-10℃环境温度下清洗鱼原料；所述鱼原料为新鲜或冷冻的

小杂鱼或鱼下脚料；

2) 原料切碎：在 5-10℃环境温度下，将鱼原料切碎成适合湿法超微粉碎机器的进料口要求大小；

3) 原料漂洗：将切碎后的原料用稀盐碱水漂洗；

4) 菌种添加：按与鱼原料质量比为 1:100-1000 的比例，将活化后的单一益生菌或复合益生菌添加到漂洗干净的原料中并混合均匀；所述单一益生菌或复合益生菌为能在 10-25℃温度下正常生长的益生菌种；

5) 乳酸添加：按与鱼原料质量比为 1:500-2000，将食用乳酸添加到漂洗干净并添加了菌种的原料中并混合均匀；

6) 鱼糜降温生产：在 5-10℃环境温度下，按湿法超微粉碎机器的要求，在出料口装配 10-60 目的过滤筛网，将步骤 5) 所得鱼原料和冰水送入机器进料口，利用湿法超微粉碎机器粉碎，冰水与鱼糜从出料口流出；

7) 鱼糜可控发酵：在 5-10℃环境温度下，将从出料口自动流出的鱼糜和冰水混合物置于发酵罐中，调节发酵罐温度到 10-25℃，厌氧条件下发酵 2-24 小时后停止发酵，

8) 鱼糜过滤除杂：在 5-10℃环境温度下除杂；

9) 鱼糜脱水：在 5-10℃环境温度下，将过滤除杂之后的鱼糜脱水；脱水后鱼糜水分质量含量小于 80%；冻库保存备用。

为进一步实现本发明目的，优选地，所述的新鲜或冷冻的小杂鱼去掉了内脏、血污和不能食用的部分，并用 0℃冰水清洗 2-3 次；所述鱼下脚料包括鱼头、鱼尾和鱼骨。

优选地，步骤 2) 所述的鱼原料切碎成长×宽为 3-4cm×1-2cm 大小。

优选地，所述漂洗的温度控制在 5-10℃，次数为 4-5 次；所述稀盐碱水由质量百分比 0.1%~0.15% 食盐水溶液和 0.2%~0.5% 碳酸氢钠溶液按 1:1 的比例混合而成；切碎后的原料与稀盐碱水的质量比为 1:4~6。

优选地，所述的益生菌种为嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌和婴儿双歧杆菌中的一种或多种。

优选地,所述活化将菌种置于 MRS 液体培养基中,37℃条件下摇床,200 转/min 培养 24-40 小时。

优选地,所述过滤筛网为 10-20 目筛网;所述冰水与鱼原料的质量比为 1:5-10。

优选地,所述发酵罐温度为 10-20℃,厌氧条件下发酵的时间为 5-8 小时。

优选地,所述除杂是用精滤机将发酵结束的鱼糜中的少量细碎鱼皮、碎骨头等杂质除去;精滤机上的过滤网孔直径为 0.5~1.2 毫米。

优选地,所述脱水是将过滤除杂之后的鱼糜放入螺旋压榨机中压榨脱水或者离心机中离心脱水;或者所述脱水是将少量鱼肉放在布袋里绞干脱水;所述冻库的温度控制在-20℃以下。

本发明根据湿法超微粉碎机器的生产能力和出料速度,调整原料的进料速度和进料数量,保证进料速度与数量和出料速度、数量基本平衡;本发明鱼糜中的无机钙大部分转化为活性钙(乳酸钙);脱水后鱼糜水分含量要求小于 80%;鱼糜可经进一步的擂溃、斩拌后生产鱼丸、鱼香肠等鱼糜制品。根据生产原料的不同,按本发明生产的鱼糜产品中无机钙(总钙)含量可达 5.0-20.0%、活性钙质量含量可达 1.0-7.0%。

本发明的原理:应用湿法超微粉碎技术,将小杂鱼和鱼下脚料全部利用起来,降价了产品成本,同时将小杂鱼和鱼下脚料中含有丰富的无机钙质元素和骨胶原蛋白等对人体有益的营养和活性成分全部保留在鱼糜中,提高了鱼糜产品的质量;应用鱼糜可控发酵,将其中的无机钙质元素转化为乳酸钙等活性钙成分,提高钙的吸收率;同时利用可控发酵过程中产生新的风味物质,开发兼具新型风味和高活性钙的鱼糜基料。

本发明相对现有技术,具有如下的优点及有益效果:

(1) 充分利用了资源中含有的丰富钙质元素和骨胶原蛋白等对人体有益的营养和活性成分,降低了鱼糜生产成本,提高了资源综合利用程度,减少了环境污染;

(2) 应用可控发酵,将鱼糜中的无机钙质转化为乳酸钙等活性钙成分,提高了钙的吸收率;

(3) 利用可控发酵过程中产生新的风味物质,可以开发兼具具有新型风味和

高活性钙的鱼糜基料，为下一步开发具有新型风味的高活性钙鱼糜制品奠定了基础。

具体实施方式

为更好地支持本发明，下面结合实施例对本发明作进一步的描述，但本发明的实施方式不限于此。以下实施例所使用的各原料和设备来源以及检测方法如下：

1、小杂鱼购买于本地农贸市场；鱼下脚料为生产罗非鱼片后余下的罗非鱼鱼头、鱼尾和鱼骨以及附着的鱼肉，来源于广州鹏润食品有限公司。

2、实验进行时实验室的环境温度为 8-10℃。

3、漂洗鱼块所用的稀盐碱水由质量百分比 0.1% 的食盐水溶液和 0.25% 碳酸氢钠溶液按 1:1 的质量比例混合而成。

4、湿法超微粉碎机为无锡赫普轻工设备技术有限公司生产的 HOP-03 切割型湿法超微粉碎机，生产量为 50 公斤/小时，配套有不同目数的由钛钢制造的出料筛网。

5、精滤机为赣州市赣云食品机械厂生产的“GY-JL-200 赣云牌鱼肉精滤机”；

6、离心机为湖南恒诺仪器设备有限公司生产的“3-5N 低速常温离心机”。

7、菌种和乳酸来源于广东省微生物研究所。

8、菌种活化方法：取 0.5-1.0 ml 经甘油保存的菌种，置于 1 L MRS 液体培养基中，37℃ 条件下摇床（200 转/min）培养 24-40 小时。

9、钙含量测定方法按照食品安全国家标准“食品中钙的测定”（GB 5009.92-2016）进行；其中，无机钙含量为样品经过“试样消解”后测定的钙含量，活性钙含量为样品不经过“试样消解”直接测定的钙含量。

10、鱼糜凝胶强度按中华人民共和国水产行业标准“冷冻鱼糜”（SC/T3702-2014）进行；水分按食品安全国家标准“食品中水分的测定”（GB 5009.3-2016）进行。

实施例1

1、购买20公斤每条重量不超过0.25公斤重量的新鲜小鲫鱼，在8-10℃的环境下，去掉原料鱼的内脏、血污和其它不能食用的部分并用0℃冰水清洗2次；

2、将原料切碎成长×宽为3-4cm×1-2cm的鱼条；

3、将鱼条置于稀盐碱水中漂洗4次并沥干水分，鱼条与稀盐碱水的质量比为1:4；

4、沥干碎鱼块水分，将菌种按质量比为1:100（活化后的菌种：原料鱼）的比例，将0.2公斤活化后的嗜酸乳杆菌添加到漂洗干净的原料之中并混合均匀；嗜酸乳杆菌活化方法：取1.0 ml经甘油保存的菌种，置于1 L MRS液体培养基中，37℃条件下摇床（200转/min）培养24小时。

5、将食用乳酸按质量比为1:500（乳酸：原料鱼）的比例将0.04公斤乳酸添加到漂洗干净的原料之中并混合均匀；

6、设置湿法超微粉碎机器的出料筛网为20目，打开湿法超微粉碎机器开关，将切碎的鱼条依次送入机器进料口，在送料的同时陆续从进料口加入5公斤 0℃冰水，使冰水和粉碎的鱼糜从出料口一起混合流出，以此降低鱼条粉碎过程中鱼糜的温度；

7、将从出料口自动流出的鱼糜和冰水混合物置于发酵罐中，调节发酵罐温度到20℃，厌氧条件下发酵5小时后停止发酵；

8、设置精滤机上的过滤网孔直径为1.0毫米，将粉碎的鲫鱼鱼糜过精滤机1次；

9、将过精滤机后的鲫鱼鱼糜置于离心机中离心脱水（转速为2000转/次）10min；脱水后鱼糜水分含量为77.1%；

10、将脱水后的鱼糜用干净的塑料袋包装好置于-20℃冻库保存备用，即得高活性钙的鲫鱼鱼糜产品；

11、经检测，鲫鱼鱼糜产品中无机钙（总钙）含量为9.71%、活性钙含量为1.97%，鱼糜凝胶强度为320g.cm，水分含量为77.1%，按“冷冻鱼糜”（SC/T3702-2014）标准，产品属于AA级水平。

本实施例利用湿法超微粉碎对新鲜小鲫鱼进行了全部粉碎，充分利用了小鲫鱼资源，生产了目前市场上没有的鲫鱼鱼糜产品（由于小鲫鱼肉少，按传统鱼糜生产方法难以生产出鲫鱼鱼糜），另外产品中含有1.97%的活性钙，有利于消费者在享受鲫鱼鱼糜美食的同时得到了钙的补充。

实施例2

1、购买50公斤罗非鱼生产厂家生产罗非鱼片后余下的罗非鱼下脚料，在10℃环境温度下，去掉原料鱼的内脏、血污和其它不能食用的部分并用0℃冰水清洗2

次；

2、将原料切碎成长×宽为3-4cm×1-2cm的碎鱼块；

3、将碎鱼块置于稀盐碱水中漂洗3次并沥干水分，鱼条与稀盐碱水的质量比为1:5；

4、沥干碎鱼块水分，将菌种按质量比为1:1000（活化后的菌种：原料鱼）的比例，将0.025公斤活化后的嗜酸乳杆菌和0.025公斤婴儿双歧杆菌添加到漂洗干净的碎鱼块之中并混合均匀；嗜酸乳杆菌的活化方法：取1.0 ml经甘油保存的菌种，置于1 L MRS液体培养基中，37℃条件下摇床（200转/min）培养40小时。婴儿双歧杆菌的活化方法：取1.0 ml经甘油保存的菌种，置于1 L MRS液体培养基中，37℃条件下摇床（200转/min）培养24小时。

5、将食用乳酸按质量比为1:2000（乳酸：原料鱼）的比例，将0.025公斤乳酸添加到漂洗干净的碎鱼块之中并混合均匀；

6、设置湿法超微粉碎机器的出料筛网为20目，打开机器开关，将碎鱼块依次送入机器进料口，在送料的同时陆续从进料口加入5公斤℃冰水，使冰水和粉碎的鱼糜从出料口一起混合流出，以此降低碎鱼块粉碎过程中生成的鱼糜中的温度；

7、将从出料口自动流出的鱼糜和冰水混合物置于发酵罐中，调节发酵罐温度到20℃，厌氧条件下发酵10小时后停止发酵；

8、设置精滤机上的过滤网孔直径为1.0毫米，将粉碎的罗非鱼下脚料鱼糜过精滤机1次；

9、过精滤机后的罗非鱼下脚料鱼糜置于离心机中离心脱水（转速为2000转/次）10min；脱水后鱼糜水分含量为77.1%。

10、将脱水后的鱼糜用干净的塑料袋包装好置于-20℃冻库保存备用，即得高活性钙的罗非鱼下脚料鱼糜产品；

11、经检测，罗非鱼下脚料鱼糜产品中无机钙（总钙）含量为16.71%、活性钙含量为3.97%，鱼糜凝胶强度为110g.cm，水分含量为77.1%，按“冷冻鱼糜”（SC/T3702-2014）标准，产品属于AB级水平。

本实施例利用湿法超微粉碎对罗非鱼下脚料进行了全部粉碎，充分利用了罗非

鱼下脚料资源，提高了罗非鱼综合利用程度，产品中含有3.97%的活性钙，有利于消费者在享受罗非鱼鱼糜美食的同时得到了钙的补充。

实施例3

1、购买20公斤每条重量不超过0.25公斤重量的新鲜小杂鱼，在10℃的环境温度下，去掉原料鱼的内脏、血污和其它不能食用的部分并用0℃冰水清洗3次；

2、将原料切碎成长×宽为3-4cm×1-2cm的鱼条；

3、将鱼条置于稀盐碱水中漂洗3次，鱼条与稀盐碱水的质量比为1:4；

4、沥干鱼条水分，将菌种按质量比为1:500（活化后的菌种：原料鱼）的比例，将0.02公斤活化后的保加利亚乳杆菌和0.02公斤婴儿双歧杆菌添加到漂洗干净的碎鱼块之中并混合均匀；保加利亚乳杆菌的活化方法：取0.5ml经甘油保存的菌种，置于1 L MRS液体培养基中，37℃条件下摇床（200转/min）培养30小时。婴儿双歧杆菌的活化方法：取0.5ml经甘油保存的菌种，置于1 L MRS液体培养基中，37℃条件下摇床（200转/min）培养40小时。

5、将食用乳酸按质量比为1:1000（乳酸：原料鱼）的比例，将0.02公斤乳酸添加到漂洗干净的鱼条之中并混合均匀；

6、设置湿法超微粉碎机器的出料筛网为20目，打开机器开关，将碎鱼块依次送入机器进料口，在送料的同时陆续从进料口加入5公斤℃冰水，使冰水和粉碎的鱼糜从出料口一起混合流出，以此降低碎鱼块粉碎过程中生成的鱼糜中的温度；

7、将从出料口自动流出的鱼糜和冰水混合物置于发酵罐中，调节发酵罐温度到18℃，厌氧条件下发酵10小时后停止发酵；

8、设置精滤机上的过滤网孔直径为1.2毫米，将粉碎的鲫鱼鱼糜过精滤机1次；

9、将过精滤机后的小杂鱼鱼糜置于离心机中离心脱水（转速为2000转/次）10min；脱水后小杂鱼鱼糜水分含量为78.1%。

10、将脱水后的小杂鱼鱼糜用干净的塑料袋包装好置于-20℃冻库保存备用，即得高活性钙的小杂鱼鱼糜产品。

11、经检测，小杂鱼鱼糜产品中无机钙（总钙）含量为8.89%、活性钙含量为2.01%，鱼糜凝胶强度为310g.cm，水分含量为78.1%，按“冷冻鱼糜”（SC/T3702-2014）

标准，产品属于AA级水平。

本实施例全部利用新鲜小杂鱼作为原料，填补了小杂鱼鱼糜产品的市场空白，原料成本低，且产品中含有2.01%的活性钙，产品具有较大的市场竞争力。

本发明的实施方式不受上述实施例的限制，其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化，均应为等效的置换方式，都包含在本发明的保护范围之内。

权利要求书

1、利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于包括以下步骤：

1) 原料清洗：在 5-10℃环境温度下清洗鱼原料；所述鱼原料为新鲜或冷冻的小杂鱼或鱼下脚料；

2) 原料切碎：在 5-10℃环境温度下，将鱼原料切碎成适合湿法超微粉碎机器的进料口要求大小；

3) 原料漂洗：将切碎后的原料用稀盐碱水漂洗；

4) 菌种添加：按与鱼原料质量比为 1:100-1000 的比例，将活化后的单一益生菌或复合益生菌添加到漂洗干净的原料中并混合均匀；所述单一益生菌或复合益生菌为能在 10-25℃温度下正常生长的益生菌种；

5) 乳酸添加：按与鱼原料质量比为 1:500-2000，将食用乳酸添加到漂洗干净并添加了菌种的原料中并混合均匀；

6) 鱼糜降温生产：在 5-10℃环境温度下，按湿法超微粉碎机器的要求，在出料口装配 10-60 目的过滤筛网，将步骤 5) 所得鱼原料和冰水送入机器进料口，利用湿法超微粉碎机器粉碎，冰水与鱼糜从出料口流出；

7) 鱼糜可控发酵：在 5-10℃环境温度下，将从出料口自动流出的鱼糜和冰水混合物置于发酵罐中，调节发酵罐温度到 10-25℃，厌氧条件下发酵 2-24 小时后停止发酵，

8) 鱼糜过滤除杂：在 5-10℃环境温度下除杂；

9) 鱼糜脱水：在 5-10℃环境温度下，将过滤除杂之后的鱼糜脱水；脱水后鱼糜水分质量含量小于 80%；冻库保存备用。

2、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于，所述的新鲜或冷冻的小杂鱼去掉了内脏、血污和不能食用的部分，并用 0℃冰水清洗 2-3 次；所述鱼下脚料包括鱼头、鱼尾和鱼骨。

3、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼

糜的方法，其特征在于，步骤 2) 所述的鱼原料切碎成长×宽为 3-4cm×1-2cm 大小。

4、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于，所述漂洗的温度控制在 5-10℃，次数为 4-5 次；所述稀盐碱水由质量百分比 0.1%~0.15% 食盐水溶液和 0.2%~0.5% 碳酸氢钠溶液按 1:1 的比例混合而成；切碎后的原料与稀盐碱水的质量比为 1:4~6。

5、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于，所述的益生菌种为嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌和婴儿双歧杆菌中的一种或多种。

6、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于，所述活化将菌种置于 MRS 液体培养基中，37℃ 条件下摇床，200 转/min 培养 24-40 小时。

7、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于，所述过滤筛网为 10-20 目筛网；所述冰水与鱼原料的质量比为 1:5-10。

8、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于，所述发酵罐温度为 10-20℃，厌氧条件下发酵的时间为 5-8 小时。

9、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于，所述除杂是用精滤机将发酵结束的鱼糜中的少量细碎鱼皮、碎骨头等杂质除去；精滤机上的过滤网孔直径为 0.5~1.2 毫米。

10、根据权利要求 1 所述的利用湿法超微粉碎和可控发酵技术生产高活性钙鱼糜的方法，其特征在于，所述脱水是将过滤除杂之后的鱼糜放入螺旋压榨机中压榨脱水或者离心机中离心脱水；或者所述脱水是将少量鱼肉放在布袋里绞干脱水；所述冻库的温度控制在-20℃以下。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/103073

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23L 17/00 (2016.01) i; A23L 33/16 (2016.01) i; A22C 25/02 (2006.01) i; A22C 25/20 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23L A22C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CJFD; CNKI; WPI; EPODOC; VEN; GOOGLE SCHOLAR; Baidu Xueshu, DUXIU: 鱼糜, 金针菇, 湿法超微粉碎, 乳酸菌, 益生菌, 乳杆菌, 发酵, 钙, surimi, fermenta+, chopping, fish, calcium, ultrafine w grinder, ultramicro

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 101940342 A (KUNSHAN ZHOUZHUANG LUERKANG FOOD CO., LTD. et al.) 12 January 2011 (12.01.2011), description, paragraphs [0006]-[0015]	1-10
Y	李学鹏等. 鱼骨泥残留肌原纤维蛋白在加工过程中结构及性质的变化. 食品科学. 31 July 2017 (31.07.2017), 38(7), pp. 77-81. (LI, Xuepeng et al. Changes in Structural Properties of Myofibrillar Proteins during the Processing of Fish Bone Paste. Food Science.)	1-10
A	CN 106579056 A (ZHAI, Jun) 26 April 2017 (26.04.2017), entire document	1-10
A	CN 105942299 A (UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND FORESTRY IN FUJIAN) 21 September 2016 (21.09.2016), entire document	1-10
A	CN 101972001 A (ZHEJIANG UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 16 February 2011 (16.02.2011), entire document	1-10

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search
23 April 2018

Date of mailing of the international search report
30 May 2018

Name and mailing address of the ISA
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No. (86-10) 62019451

Authorized officer
WANG, Zhifei
Telephone No. (86-10) 53962060

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/103073

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 101073416 A (WUHAN POLYTECHNIC UNIVERSITY) 21 November 2007 (21.11.2007), entire document	1-10
A	CN 103610132 A (BOHAI UNIVERSITY) 05 March 2014 (05.03.2014), entire document	1-10
A	WO 2015027388 A1 (FUJIAN ANJOY FOODS CO., LTD. et al.) 05 March 2015 (05.03.2015), entire document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/103073

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101940342 A	12 January 2011	None	
CN 106579056 A	26 April 2017	None	
CN 105942299 A	21 September 2016	None	
CN 101972001 A	16 February 2011	CN 101972001 B	27 June 2012
CN 101073416 A	21 November 2007	CN 100563468 C	02 December 2009
CN 103610132 A	05 March 2014	CN 103610132 B	08 April 2015
WO 2015027388 A1	05 March 2015	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/103073

<p>A. 主题的分类</p> <p>A23L 17/00(2016.01)i; A23L 33/16(2016.01)i; A22C 25/02(2006.01)i; A22C 25/20(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																										
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A23L A22C</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS;CJFD;CNKI;WPI;EPODOC;VEN;GOOGLE SCHOLAR;百度学术, 读秀:鱼糜, 金针菇, 湿法超微粉碎, 乳酸菌, 益生菌, 乳杆菌, 发酵, 钙, surimi, fermenta+, chopping, fish, calcium, ultrafine w grinder, ultramicro</p>																										
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>CN 101940342 A (昆山市周庄绿尔康食品有限公司等) 2011年 1月 12日 (2011 - 01 - 12) 说明书第6-15段</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>李学鹏等. "鱼骨泥残留肌原纤维蛋白在加工过程中结构及性质的变化" 食品科学, 第38卷, 第7期, 2017年 7月 31日 (2017 - 07 - 31), 77-81</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 106579056 A (翟珺) 2017年 4月 26日 (2017 - 04 - 26) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 105942299 A (福建农林大学) 2016年 9月 21日 (2016 - 09 - 21) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 101972001 A (浙江工业大学) 2011年 2月 16日 (2011 - 02 - 16) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 101073416 A (武汉工业学院) 2007年 11月 21日 (2007 - 11 - 21) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103610132 A (渤海大学) 2014年 3月 5日 (2014 - 03 - 05) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	CN 101940342 A (昆山市周庄绿尔康食品有限公司等) 2011年 1月 12日 (2011 - 01 - 12) 说明书第6-15段	1-10	Y	李学鹏等. "鱼骨泥残留肌原纤维蛋白在加工过程中结构及性质的变化" 食品科学, 第38卷, 第7期, 2017年 7月 31日 (2017 - 07 - 31), 77-81	1-10	A	CN 106579056 A (翟珺) 2017年 4月 26日 (2017 - 04 - 26) 全文	1-10	A	CN 105942299 A (福建农林大学) 2016年 9月 21日 (2016 - 09 - 21) 全文	1-10	A	CN 101972001 A (浙江工业大学) 2011年 2月 16日 (2011 - 02 - 16) 全文	1-10	A	CN 101073416 A (武汉工业学院) 2007年 11月 21日 (2007 - 11 - 21) 全文	1-10	A	CN 103610132 A (渤海大学) 2014年 3月 5日 (2014 - 03 - 05) 全文	1-10
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																								
Y	CN 101940342 A (昆山市周庄绿尔康食品有限公司等) 2011年 1月 12日 (2011 - 01 - 12) 说明书第6-15段	1-10																								
Y	李学鹏等. "鱼骨泥残留肌原纤维蛋白在加工过程中结构及性质的变化" 食品科学, 第38卷, 第7期, 2017年 7月 31日 (2017 - 07 - 31), 77-81	1-10																								
A	CN 106579056 A (翟珺) 2017年 4月 26日 (2017 - 04 - 26) 全文	1-10																								
A	CN 105942299 A (福建农林大学) 2016年 9月 21日 (2016 - 09 - 21) 全文	1-10																								
A	CN 101972001 A (浙江工业大学) 2011年 2月 16日 (2011 - 02 - 16) 全文	1-10																								
A	CN 101073416 A (武汉工业学院) 2007年 11月 21日 (2007 - 11 - 21) 全文	1-10																								
A	CN 103610132 A (渤海大学) 2014年 3月 5日 (2014 - 03 - 05) 全文	1-10																								
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																										
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>"&" 同族专利的文件</p>																										
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2018年 4月 23日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2018年 5月 30日</p>																								
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>受权官员</p> <p>王知非</p> <p>电话号码 86-(10)-53962060</p>																								

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	WO 2015027388 A1 (福建安井食品股份有限公司等) 2015年 3月 5日 (2015 - 03 - 05) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/103073

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	101940342	A	2011年 1月 12日	无	
CN	106579056	A	2017年 4月 26日	无	
CN	105942299	A	2016年 9月 21日	无	
CN	101972001	A	2011年 2月 16日	CN	101972001 B 2012年 6月 27日
CN	101073416	A	2007年 11月 21日	CN	100563468 C 2009年 12月 2日
CN	103610132	A	2014年 3月 5日	CN	103610132 B 2015年 4月 8日
WO	2015027388	A1	2015年 3月 5日	无	

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)