



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104585825 B

(45)授权公告日 2017.03.01

(21)申请号 201510025563.0

(22)申请日 2015.01.19

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104585825 A

(43)申请公布日 2015.05.06

(73)专利权人 中国食品发酵工业研究院

地址 100015 北京市朝阳区酒仙桥中路24
号院6号楼

专利权人 完美(中国)有限公司

(72)发明人 蔡木易 谷瑞增 鲁军 陆路

潘兴昌 董哲 林峰 马勇

徐亚光 马永庆 金振涛 陈亮

刘文颖 魏颖 张海欣 刘艳

马涛 曹珂璐 姜思萌 王憬

(74)专利代理机构 北京同立钧成知识产权代理
有限公司 11205

代理人 杨文娟 黄健

(51)Int.Cl.

A23L 2/38(2006.01)

A23L 33/00(2016.01)

A23L 2/84(2006.01)

审查员 杨逸

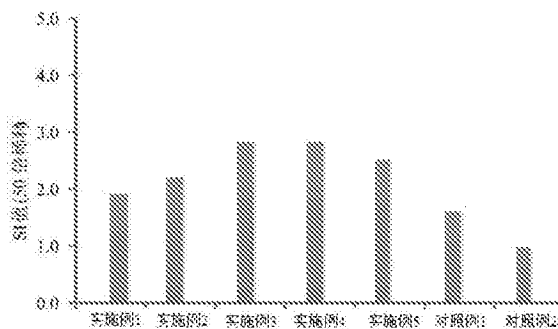
权利要求书1页 说明书9页 附图2页

(54)发明名称

一种山药发酵制品及其制备方法

(57)摘要

本发明提供一种山药发酵制品及其制备方法。该方法包括如下步骤:1)将山药破碎打浆,制得破碎浆体;2)向破碎浆体中加入培养基成分后,接入肠膜明串珠菌进行第一发酵,制得第一发酵液;3)向pH值为4.5~6的果蔬液中加入果胶酶进行酶解处理,制得酶解果蔬液;4)向酶解果蔬液中加入培养基成分后,接入复合乳酸菌进行第二发酵,制得第二发酵液;5)向第二发酵液中加入培养基成分后,接入复合酵母菌进行第三发酵,制得第三发酵液;6)将第一发酵液和第三发酵液混匀后离心,对离心上清液均质、灭菌后,制得山药发酵制品。该发酵制品口感好、风味独特,具有良好的免疫调节和抗氧化等功能,适用人群范围广泛。



1. 一种山药发酵制品的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

1)将山药破碎打浆,制得破碎浆体;

2)向所述破碎浆体中加入培养基成分后,接入肠膜明串珠菌进行第一发酵,当发酵液的pH值降低0.5以上,并且发酵液的还原糖含量低于1.5%时结束所述第一发酵,制得第一发酵液;

3)向pH值为4.5~6的果蔬液中加入果胶酶进行酶解处理,制得酶解果蔬液;

4)向所述酶解果蔬液中加入培养基成分后,接入复合乳酸菌进行第二发酵,当发酵液的pH值降低0.5以上时结束所述第二发酵,制得第二发酵液;其中,所述复合乳酸菌选自嗜热链球菌、德氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、植物乳杆菌、发酵乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、戊糖乳杆菌、瑞士乳杆菌、乳酸片球菌、戊糖片球菌中的四种以上;

5)向所述第二发酵液中加入培养基成分后,接入复合酵母菌进行第三发酵,当发酵液的总糖含量低于2%时结束所述第三发酵,制得第三发酵液;其中,所述复合酵母菌选自米酒酵母、清酒酵母、啤酒酵母、黄酒酵母和果酒与葡萄酒酵母中的两种以上;

6)将所述第一发酵液和所述第三发酵液混匀后离心,对离心上清液均质、灭菌后,制得山药发酵制品;

控制所述山药打浆至40~80目;

步骤6)中,所述第一发酵液与所述第三发酵液的重量配比为(4~6):(4~6)。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述培养基成分包括糖、肽、无机盐和表面活性剂中的一种或多种,并且所述肽中平均分子量小于1000Da的组分的总质量含量 \geq 80%。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,步骤2)中,向所述破碎浆体中加入糖、肽和无机盐,使所述糖在所述破碎浆体中的质量含量为5~10%,所述肽在所述破碎浆体中的质量含量为0.3~0.8%,所述无机盐在所述破碎浆体中的质量含量为0.1~0.3%,并且控制所述第一发酵的温度为22~28℃,转速为80~120r/min。

4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,将选自香蕉、芒果、木瓜、山竹、火龙果、胡萝卜、黄瓜和西红柿中的两种以上的果蔬原料混合后破碎至40~80目,制得pH值为4.5~6的所述果蔬液。

5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述果胶酶的用量为每克果蔬液2~3单位,并且控制所述酶解处理的温度为40~50℃,时间为2~3h。

6. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,步骤4)中,向所述酶解果蔬液中加入糖和肽,使所述糖在所述酶解果蔬液中的质量含量为3~5%,所述肽在所述酶解果蔬液中的质量含量为0.3~0.8%;所述复合乳酸菌至少包括嗜热链球菌和德氏乳杆菌,所述嗜热链球菌、德氏乳杆菌与其余乳酸菌的重量配比为3:2:(2~5),并且控制所述第二发酵的温度为18~23℃,转速为80~120r/min。

7. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,步骤5)中,向所述第二发酵液中加入糖和肽,使所述糖在所述第二发酵液中的质量含量为4~8%,所述肽在所述第二发酵液中的质量含量为0.3~0.8%;并且控制所述复合酵母菌中的两种酵母之间的重量配比为1:(0.8~1.2),所述第三发酵的温度为16~20℃,转速为40~60r/min。

8. 一种山药发酵制品,其特征在于,按照权利要求1至7任一所述的制备方法制得。

一种山药发酵制品及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种发酵制品,特别是涉及一种山药发酵制品及其制备方法。

背景技术

[0002] 山药是薯蓣科植物的干燥根茎,中国多地均有种植。山药具有多种保健功能,其能增强补脾养胃,生津益肺,提高免疫力、促进血液活力等,食用方法包括煮、炖、蒸食等。

[0003] 目前,有少量将山药加工制成饮料的相关报道。例如,公告号为CN1568830的专利公开了一种含山药的保健饮料,其是将山药蒸熟后加入纯净水、木糖醇、奶粉、甜味剂、稳定剂、防褐剂、食盐等,尽管该方法在一定程度上改善了山药的口感,但山药在高温蒸煮的过程中有效营养成分会流失,并且含有添加剂种类过多,对于人体的健康也构成隐患。

[0004] 公开号为CN101348819的专利公开了一种山药的提取方法,利用蛋白酶提取山药,离心,得到清液,用酸调清液pH值至7,最后冷冻干燥得到山药蛋白粉,但该方法采用化学类酸对山药清液进行调节,对山药的营养成分的释放会起到抑制作用,同时该提取物用于胶囊剂、粉剂、片剂等,不仅服用不便,并且成分单一、保健功能有限。

发明内容

[0005] 本发明提供一种山药发酵制品及其制备方法,用于解决现有技术中的山药类产品服用不便、成分单一、适口性差、保健功能有限等技术缺陷。

[0006] 本发明提供一种山药发酵制品的制备方法,包括如下步骤:

[0007] 1)将山药破碎打浆,制得破碎浆体;

[0008] 2)向所述破碎浆体中加入培养基成分后,接入肠膜明串珠菌进行第一发酵,当发酵液的pH值降低0.5以上,并且发酵液的还原糖含量低于1.5%时结束所述第一发酵,制得第一发酵液;

[0009] 3)向pH值为4.5~6的果蔬液中加入果胶酶进行酶解处理,制得酶解果蔬液;

[0010] 4)向所述酶解果蔬液中加入培养基成分后,接入复合乳酸菌进行第二发酵,当发酵液的pH值降低0.5以上时结束所述第二发酵,制得第二发酵液;其中,所述复合乳酸菌选自嗜热链球菌、德氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、植物乳杆菌、发酵乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、戊糖乳杆菌、瑞士乳杆菌、乳酸片球菌、戊糖片球菌中的四种以上;

[0011] 5)向所述第二发酵液中加入培养基成分后,接入复合酵母菌进行第三发酵,当发酵液的总糖含量低于2%时结束所述第三发酵,制得第三发酵液;其中,所述复合酵母菌选自米酒酵母、清酒酵母、啤酒酵母、黄酒酵母和果酒与葡萄酒酵母中的两种以上

[0012] 6)将所述第一发酵液和所述第三发酵液混匀后离心,对离心上清液均质、灭菌后,制得山药发酵制品。

[0013] 在本发明的制备方法中,所述肠膜明串珠菌可以选用肠膜明串珠菌右旋葡聚糖亚种(*L.mesenteroides subsp.dextranicum*)或肠膜明串珠菌乳脂亚种(*L.mesenteroides subsp.cremoris*),并且本发明所述各菌可以采用菌粉或菌液的方式进行使用。在采用菌粉

时,所述各乳酸菌菌粉的活菌数可以为 10^9 CFU/g左右,各酵母菌菌粉的活菌数可以为 10^{10} CFU/g左右。此外,所述肠膜明串珠菌(菌粉)的接种量可以为0.05~0.2%,例如0.1%,所述复合乳酸菌(菌粉)的接种量可以为0.05~0.2%,例如0.1%,所述复合酵母菌(菌粉)的接种量可以为0.01~0.02%。在采用菌液时,可参照上述菌粉的活菌数和接种量进行接种。各菌株在使用前可依据需要按照常规方法进行活化。

[0014] 本发明对所述山药种类不作严格限定,其可以是铁棍山药、水山药、淮山药等的任意一种。在本发明具体方案中,可以采用新鲜的淮山药作为原料。进一步地,控制所述山药破碎打浆至40~80目。所述山药破碎打浆后的破碎浆体的pH为4.5~6。

[0015] 在本发明中,所述培养基成分可以包括碳源、氮源、无机盐、微量元素等,本领域技术人员可以根据具体培养的菌株或复合菌来选择适宜的培养基成分。在本发明具体方案中,所述培养基成分包括糖、肽、无机盐和表面活性剂中的一种或多种,其中所述肽中平均分子量小于1000Da的组分的总质量含量 $\geq 80\%$ 。

[0016] 即,本发明另一方面还提供了一种用于肠膜明串珠菌发酵的液体培养基,其包括山药破碎浆体、糖、肽、无机盐和表面活性剂,其中糖在所述破碎浆体中的质量含量可以为5~10%,肽在所述破碎浆体中的质量含量可以为0.3~0.8%,无机盐在所述破碎浆体中的质量含量可以为0.1~0.3%,表面活性剂在所述破碎浆体中的质量含量可以为0.01~0.1%;该山药破碎浆体可通过将山药破碎后制得。

[0017] 再一方面,本发明还提供了一种用于复合乳酸菌和/或复合酵母菌发酵的液体培养基,其包括酶解果蔬液、糖、肽、无机盐和表面活性剂,其中糖在所述酶解果蔬液中的质量含量可以为5~10%,肽在所述酶解果蔬液中的质量含量可以为0.3~0.8%,无机盐在所述酶解果蔬液中的质量含量可以为0.1~0.3%,表面活性剂在所述酶解果蔬液中的质量含量可以为0.01~0.1%;该酶解果蔬液可通过向pH值为4.5~6的果蔬液中加入果胶酶酶解制得。

[0018] 进一步地,所述糖可以选自葡萄糖、蔗糖和乳糖中的一种或多种,例如蔗糖;所述无机盐可以选自钠盐、钙盐、锰盐、钾盐和镁盐中的一种或多种,例如氯化钾;所述表面活性剂可以选自脂肪酸甘油酯、脂肪酸山梨坦和聚山梨酯中的一种或多种,例如司盘-60等。特别是,对本发明中所述肽的组分无特别限定,只要其中平均分子量小于1000Da的组分的总质量含量 $\geq 80\%$,进一步 $\geq 90\%$ 即可,采用所述肽作为氮源能够显著促进肠膜明串珠菌以及复合乳酸菌和复合酵母菌的生长。

[0019] 本发明具体方案的步骤2)中,向所述破碎浆体中加入糖、肽和无机盐,使所述糖在所述破碎浆体中的质量含量为5~10%,所述肽在所述破碎浆体中的质量含量为0.3~0.8%,所述无机盐在所述破碎浆体中的质量含量为0.1~0.3%,并且控制所述第一发酵的温度为22~28℃,转速为80~120r/min。在该条件下对肠膜明串珠菌进行发酵,能够改善产品的口感并促进产品保健功能的发挥。此外,控制该发酵液的pH值降低0.5以上(例如发酵液的pH值为4.5~5),并且发酵液的还原糖含量低于1.5%,不仅有利于避免产品酸味过重而影响适口性,并且低的还原糖含量能够使产品具有更加广泛的适用性,特别是可适宜糖尿病人饮用。

[0020] 在本发明中,所述果蔬液为经水果和/或蔬菜加工制成的浆液、汁液等,例如可以采用市购的果蔬汁等,特别是优选不含任何防腐剂等添加剂的果蔬原汁。进一步地,还可以

选取果蔬原料后破碎至40~80目,例如60目,制得所述果蔬液;该粒度范围既可以提高发酵的速度,还有利于保证发酵产品的口感。此外,本发明对果蔬原料的种类不作严格限制,特别是可以选取当地盛产和/或便于加工的水果和蔬菜作为原料,例如香蕉、芒果、木瓜、山竹、火龙果、萝卜、黄瓜、西红柿等;并且,在选取果蔬原料时,可以针对原料本身的特性(例如pH值)进行合理搭配,并使制成的果蔬液pH值在4.5~6的范围内,从而无需添加其它的pH调节剂来调节果蔬液的pH值,以便保证产品的原汁原味。

[0021] 本发明所述的果胶酶可以通过普通市购获得。向所述果蔬液中加入果胶酶主要用于分解果胶等,从而使果蔬原料的营养成分释放得更加彻底,以提高原料利用率。进一步地,所述果胶酶的用量为每克果蔬液2~3单位,并且控制所述酶解处理的温度为40~50℃,时间为2~3h。

[0022] 本发明步骤4)中,向所述酶解果蔬液中加入糖和肽,使所述糖在所述酶解果蔬液中的质量含量为3~5%,所述肽在所述酶解果蔬液中的质量含量为0.3~0.8%;所述复合乳酸菌至少包括嗜热链球菌和德氏乳杆菌,所述嗜热链球菌、德氏乳杆菌与其余乳酸菌的重量配比为3:2:(2~5),并且控制所述第二发酵的温度为18~23℃,转速为80~120r/min。

[0023] 进一步地,所述其余乳酸菌可为下述第一至第四组分中的一种或多种:

[0024] 第一组分:包括嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌,并且嗜酸乳杆菌与干酪乳杆菌的重量配比为(0.5~1.5):(0.5~1.5);

[0025] 第二组分:包括乳酸片球菌和戊糖片球菌,并且乳酸片球菌与戊糖片球菌的重量配比为(0.5~1.5):(0.5~1.5);

[0026] 第三组分:包括植物乳杆菌和鼠李糖乳杆菌,并且植物乳杆菌与鼠李糖乳杆菌的重量配比为(0.5~1):(0.5~1);

[0027] 第四组分:包括发酵乳杆菌、戊糖乳杆菌和瑞士乳杆菌,并且发酵乳杆菌、戊糖乳杆菌和瑞士乳杆菌之间的重量配比为(0.5~1):(0.5~1):(0.5~1)。

[0028] 本发明步骤5)中,向所述第二发酵液中加入糖和肽,使所述糖在所述第二发酵液中的质量含量为4~8%,所述肽在所述第二发酵液中的质量含量为0.3~0.8%;并且控制所述复合酵母菌中的两种酵母之间的重量配比为1:(0.8~1.2),所述第三发酵的温度为16~20℃,转速为40~60r/min。特别是在复合酵母菌中的各酵母菌均采用菌粉的情况下,复合酵母菌中各酵母重量相同时,发酵产品的风味极佳。

[0029] 进一步地,所述复合酵母菌可选自下述第一至第四组分中的任一种:

[0030] 第一组分:包括米酒酵母和果酒与葡萄酒酵母,并且米酒酵母、果酒与葡萄酒酵母之间的重量配比为1:(0.8~1.2);

[0031] 第二组分:包括啤酒酵母和果酒与葡萄酒酵母,并且啤酒酵母、果酒与葡萄酒酵母之间的重量配比为1:(0.8~1.2);

[0032] 第三组分:包括米酒酵母和清酒酵母,并且米酒酵母和清酒酵母之间的重量配比为1:(0.8~1.2);

[0033] 第四组分:包括米酒酵母、黄酒酵母和果酒与葡萄酒酵母,并且米酒酵母、黄酒酵母和果酒与葡萄酒酵母之间的重量配比为1:(0.8~1.2):(0.8~1.2)。

[0034] 本发明步骤6)中,所述第一发酵液与所述第三发酵液的重配比为(4~6):(4~6)。并且,在所述均质前,可视需要对离心上清液进行调配,例如可以添加适量的糖、肽等来

改善产品的口感、提高产品的保健功能等,其中所述糖在离心上清液中的质量含量可以为8~16%,所述肽在离心上清液中的质量含量可以为0.5~2%。

[0035] 进一步地,所述糖可以包括白糖和红糖,并且所述白糖与红糖在所述糖中的质量配比可以为1:0.5~2。此外,所述肽可以为胶原肽,并且该胶原肽中平均分子量小于1000Da的组分的总质量含量 $\geq 80\%$,进一步 $\geq 90\%$ 。

[0036] 本发明还提供一种山药发酵制品,按照上述任一所述的制备方法制得。

[0037] 本发明方案的实施,至少具有以下优势:

[0038] 1、本发明采用肠膜明串珠菌对山药破碎浆体进行发酵,不仅更加有效释放了山药的活性和营养成分,提高了山药的利用率,此外还增加了发酵液的保健功能;同时,本发明依次采用复合乳酸菌和复合酵母菌对果蔬液进行发酵,不仅保证了发酵产品中的营养成分的全面和均衡,此外还改善了发酵产品的口感并提升了发酵产品的风味。

[0039] 2、本发明对发酵工艺的条件进行了优化,不仅提高了发酵速度、缩短了发酵时间,此外发酵产品的口感、风味以及免疫调节和抗氧化等功能得到显著提高。

[0040] 3、本发明制备的山药发酵制品口感好、风味独特、营养成分全面均衡、食用方便,该发酵制品不含任何添加剂,绿色健康;此外,其还具有良好的免疫调节和抗氧化等功能,适用人群范围广泛。

附图说明

[0041] 图1为本发明实施例和对照例的发酵制品对ConA诱导的小鼠T淋巴细胞增殖能力的评价结果;

[0042] 图2为本发明实施例和对照例的发酵制品对LPS诱导的小鼠T淋巴细胞增殖能力的评价结果;

[0043] 图3为本发明实施例和对照例的发酵制品的抗氧化功能评价结果。

具体实施方式

[0044] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本发明的实施例,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0045] 本发明各实施例所采用的各乳酸菌均来自工业微生物菌种保藏管理中心(CICC),各乳酸菌分别为:肠膜明串珠菌乳脂亚种(CICC 22181)、嗜热链球菌(CICC 6218)、德氏乳杆菌乳酸亚种(CICC 6077)、嗜酸乳杆菌(CICC 6085)、干酪乳杆菌(CICC 6114)、植物乳杆菌(CICC 22134)、发酵乳杆菌(CICC 22551)、鼠李糖乳杆菌(CICC 6154)、戊糖乳杆菌(CICC 21811)、瑞士乳杆菌(CICC 22550)、乳酸片球菌(CICC 10344)、戊糖片球菌(CICC 23187),各乳酸菌的活菌数约为 10^9 CFU/g;

[0046] 各酵母菌均来自安琪酵母股份有限公司,各酵母菌的活菌数均约为 10^{10} CFU/g;

[0047] 乌鸡肽和胶原肽,购自北京中食海氏生物技术有限公司,两种肽中平均分子量小于1000Da的组分的总质量含量均 $\geq 80\%$;

[0048] 果胶酶:购自南宁庞博生物工程有限公司。

[0049] 实施例1

[0050] 1、第一发酵

[0051] 将新鲜的淮山药破碎打浆至60目,制得pH值约为5.5的破碎浆体;

[0052] 向上述破碎浆体中加入蔗糖、乌鸡肽和氯化钾,使蔗糖在破碎浆体中的质量含量约为8%,乌鸡肽在破碎浆体中的质量含量约为0.5%,氯化钾在破碎浆体中的质量含量约为0.18%,搅拌混匀后,按照0.1%左右的接种量向破碎浆体中接入肠膜明串珠菌进行第一发酵,控制第一发酵的温度为25℃左右,搅拌转速为100r/min左右,当发酵液的pH值降低0.5以上,并且发酵液的还原糖含量低于1.5%时结束第一发酵,制得第一发酵液(pH值为4.8~5)。

[0053] 采用分光光度法测定第一发酵液的菌体浓度,结果见表1。

[0054] 2、酶解处理

[0055] 将新鲜的去皮香蕉和火龙果按照重量配比为2:1混合后,破碎至60目,制得pH值约为5.2的果蔬液;

[0056] 向上述果蔬液中加入果胶酶进行酶解处理,其中果胶酶的用量为每克果蔬液2.5单位左右,并且控制酶解处理的温度为45℃左右,时间为3h左右,制得酶解果蔬液。

[0057] 3、第二发酵

[0058] 向所述酶解果蔬液中加入葡萄糖和乌鸡肽,使葡萄糖在酶解果蔬液中的质量含量约为4%,乌鸡肽在酶解果蔬液中的质量含量约为0.5%,搅拌混匀后,按照0.1%左右的接种量向酶解果蔬液中接入复合乳酸菌进行第二发酵,复合乳酸菌由嗜热链球菌、德氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌组成,其中嗜热链球菌、德氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌之间的重量配比为3:2:1.5:1.5,并且控制第二发酵的温度为20℃左右,搅拌转速为100r/min左右,当发酵液的pH值降低0.5以上时结束第二发酵,制得第二发酵液(pH值为4.5~4.7)。

[0059] 4、第三发酵

[0060] 向上述第二发酵液中加入葡萄糖和乌鸡肽,使葡萄糖在第二发酵液中的质量含量约为6%,乌鸡肽在第二发酵液中的质量含量约为0.5%,搅拌混匀后,按照0.01%左右的接种量接入复合酵母菌进行第三发酵,所述复合酵母菌由米酒酵母和果酒与葡萄酒酵母组成,其中米酒酵母和果酒与葡萄酒酵母的重量配比为1:0.8;并且控制第三发酵的温度为18℃左右,搅拌转速为50r/min左右,当发酵液的总糖含量低于2%时结束第三发酵,制得第三发酵液。

[0061] 5、配制山药发酵制品

[0062] 将上述第一发酵液和第三发酵液按照重量配比1:1进行混合后,在4000r/min下离心15min左右,对离心上清液进行均质、灭菌,制得山药发酵制品(pH值为4.6~4.9)。

[0063] 使年龄阶段分布在20岁~80岁的50名受试者食用上述制备的山药发酵制品,并依据如下标准分别对该山药发酵制品进行口感和风味打分:

[0064] 口感打分标准:满分10分,其中甜味及持续长度总分计3.5分,酸味及持续长度总分计3.5分,爽滑程度总分计1.5分,口中残留味道总分计1.5分;

[0065] 风味打分标准:满分10分,其中原料特有香味总分计3分,发酵特有香味总分计3分,香味混合程度总分计3分,其他杂味总分计1分;

[0066] 对山药发酵制品的平均打分结果见表1。

[0067] 实施例2

[0068] 1、第一发酵

[0069] 将新鲜的淮山药破碎打浆至40目,制得pH值约为5.2的破碎浆体;

[0070] 向上述破碎浆体中加入乳糖、乌鸡肽和硫酸钙,使乳糖在破碎浆体中的质量含量约为6%,乌鸡肽在破碎浆体中的质量含量约为0.3%,硫酸钙在破碎浆体中的质量含量约为0.12%,搅拌混匀后,按照0.05%左右的接种量向破碎浆体中接入肠膜明串珠菌进行第一发酵,控制第一发酵的温度为26℃左右,搅拌转速为80r/min左右,当发酵液的pH值降低0.5以上,并且发酵液的还原糖含量低于1.5%时结束第一发酵,制得第一发酵液(pH值为4.5~4.7);第一发酵液的菌体浓度见表1。

[0071] 2、酶解处理

[0072] 将新鲜的木瓜和胡萝卜按照重量配比为1:1混合后,破碎至40目,制得pH值约为5.5的果蔬液;

[0073] 向上述果蔬液中加入果胶酶进行酶解处理,其中果胶酶的用量为每克果蔬液2单位左右,并且控制酶解处理的温度为50℃左右,时间为2h左右,制得酶解果蔬液。

[0074] 3、第二发酵

[0075] 向所述酶解果蔬液中加入葡萄糖和乌鸡肽,使葡萄糖在酶解果蔬液中的质量含量约为3.5%,乌鸡肽在酶解果蔬液中的质量含量约为0.7%,搅拌混匀后,按照0.15%左右的接种量向酶解果蔬液中接入复合乳酸菌进行第二发酵,复合乳酸菌由嗜热链球菌、德氏乳杆菌、植物乳杆菌和鼠李糖乳杆菌组成,其中嗜热链球菌、德氏乳杆菌、植物乳杆菌与鼠李糖乳杆菌之间的重量配比为3:2:1:1,并且控制第二发酵的温度为22℃左右,搅拌转速为80r/min左右,当发酵液的pH值降低0.5以上时结束第二发酵,制得第二发酵液(pH值为4.8~5)。

[0076] 4、第三发酵

[0077] 向上述第二发酵液中加入葡萄糖和乌鸡肽,使葡萄糖在第二发酵液中的质量含量约为5%,乌鸡肽在第二发酵液中的质量含量约为0.7%,搅拌混匀后,按照0.02%左右的接种量向接入复合酵母菌进行第三发酵,所述复合酵母菌由米酒酵母和清酒酵母组成,其中米酒酵母、清酒酵母之间的重量配比为1:1.2:0.8,并且控制第三发酵的温度为16℃左右,搅拌转速为50r/min左右,当发酵液的总糖含量低于2%时结束第三发酵,制得第三发酵液。

[0078] 5、配制山药发酵制品

[0079] 将上述第一发酵液和第三发酵液按照重量配比2:3混合离心后,向离心上清液中加入白糖、红糖和胶原肽,使白糖和红糖在离心上清液中的质量含量均为6%左右,胶原肽在离心上清液中的质量含量为1%左右,随后进行均质、灭菌,制得山药发酵制品(pH值为4.7~5)。该山药发酵制品的口感和风味打分结果见表1。

[0080] 实施例3

[0081] 1、第一发酵

[0082] 将新鲜的淮山药破碎打浆至80目,制得pH值约为5.8的破碎浆体;

[0083] 向上述破碎浆体中加入蔗糖、乌鸡肽、碳酸钾和司盘-60,使蔗糖在破碎浆体中的质量含量约为5%,乌鸡肽在破碎浆体中的质量含量约为0.6%,碳酸钾在破碎浆体中的质

量含量约为0.3%，span-60在破碎浆体中的质量含量约为0.05%，搅拌混匀后，按照0.2%左右的接种量向破碎浆体中接入肠膜明串珠菌进行第一发酵，控制第一发酵的温度为22℃左右，搅拌转速为100r/min左右，当发酵液的pH值降低0.5以上，并且发酵液的还原糖含量低于1.5%时结束第一发酵，制得第一发酵液(pH值为5~5.3)；第一发酵液的菌体浓度见表1。

[0084] 2、酶解处理

[0085] 将新鲜的芒果、黄瓜、胡萝卜按照重量配比为1:1:1混合后，破碎至60目，制得pH值约为5的果蔬液；

[0086] 向上述果蔬液中加入果胶酶进行酶解处理，其中果胶酶的用量为每克果蔬液3单位左右，并且控制酶解处理的温度为40℃左右，时间为3h左右，制得酶解果蔬液。

[0087] 3、第二发酵

[0088] 向所述酶解果蔬液中加入葡萄糖和乌鸡肽，使葡萄糖在酶解果蔬液中的质量含量约为5%，乌鸡肽在酶解果蔬液中的质量含量约为0.55%，搅拌混匀后，按照0.2%左右的接种量向酶解果蔬液中接入复合乳酸菌进行第二发酵，复合乳酸菌由嗜热链球菌、德氏乳杆菌、发酵乳杆菌、戊糖乳杆菌和瑞士乳杆菌组成，其中嗜热链球菌、德氏乳杆菌、发酵乳杆菌、戊糖乳杆菌和瑞士乳杆菌之间的重量配比为3:2:1.5:1.5:1.5，并且控制第二发酵的温度为20℃左右，搅拌转速为100r/min左右，当发酵液的pH值降低0.5以上时结束第二发酵，制得第二发酵液(pH值为4.3~4.5)。

[0089] 4、第三发酵

[0090] 向上述第二发酵液中加入葡萄糖和乌鸡肽，使葡萄糖在第二发酵液中的质量含量约为4%，乌鸡肽在第二发酵液中的质量含量约为0.55%，搅拌混匀后，按照0.01%左右的接种量向接入复合酵母菌进行第三发酵，所述复合酵母菌由啤酒酵母和果酒与葡萄酒酵母组成，其中啤酒酵母、果酒与葡萄酒酵母之间的重量配比为1:1，并且控制第三发酵的温度为18℃左右，搅拌转速为60r/min左右，当发酵液的总糖含量低于2%时结束第三发酵，制得第三发酵液。

[0091] 5、配制山药发酵制品

[0092] 将上述第一发酵液和第三发酵液按照重量配比2:3混合离心后，对离心上清液进行均质、灭菌，制得山药发酵制品(pH值为4.5~5)。该山药发酵制品的口感和风味打分结果见表1。

[0093] 实施例4

[0094] 除第二发酵步骤中，复合乳酸菌由嗜热链球菌、德氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、乳酸片球菌和戊糖片球菌组成，其中嗜热链球菌、德氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、乳酸片球菌和戊糖片球菌之间的重量配比为3:2:1:1:1:1；第三发酵步骤中，复合酵母菌由重量配比为1:1:1的米酒酵母、黄酒酵母和果酒与葡萄酒酵母组成之外，其余与实施例1相同，各测定结果见表1。

[0095] 实施例5

[0096] 除第二发酵步骤中，复合乳酸菌由嗜热链球菌、德氏乳杆菌、植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、发酵乳杆菌、戊糖乳杆菌和瑞士乳杆菌组成，其中嗜热链球菌、德氏乳杆菌、植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、发酵乳杆菌、戊糖乳杆菌和瑞士乳杆菌之间的重量配比为3:2:1:1:

0.5:0.5:0.5之外,其余与实施例2相同,各测定结果见表1。

[0097] 对照例1

[0098] 除第一发酵步骤中,向上述破碎浆体中加入MRS培养基成分后接入肠膜明串珠菌进行第一发酵外,其余与实施例1相同,各测定结果见表1。

[0099] 对照例2

[0100] 本对照例仅实施实施例1的第一发酵,并且采用由重量配比为1:1的嗜热链球菌和德氏乳杆菌组成的复合乳酸菌对实施例1的破碎浆体进行发酵,发酵工艺参数与实施例1的第一发酵相同,发酵后的发酵液在4000r/min下离心15min左右后,对离心上清液进行均质、灭菌,制得发酵制品,各测定结果见表1。

[0101] 表1发酵过程参数测定及发酵制品打分结果

试验例	第一发酵液的菌体浓度 (吸光度值)	发酵制品的口 感打分	发酵制品 的风味打 分
实施例 1	1.146	9.5	9
实施例 2	1.136	9	8.5
实施例 3	1.104	9	8.5
实施例 4	1.165	9	9
实施例 5	1.184	9	9
对照例 1	0.687	6	6
对照例 2	-	6.5	6

[0102] 备注:“-”表示未检测。

[0103] 由表1结果可知:

[0104] 相对于常规的MRS培养基,采用乌鸡肽作为氮源可以显著促进肠膜明串珠菌的生长;此外,只有采用同时包括嗜热链球菌、德氏乳杆菌以及其它两种以上乳酸菌的复合乳酸菌以及同时包括两种以上酵母的复合酵母菌依次对果蔬原料进行发酵,才能够使发酵制品同时具有较佳的口感和风味。

[0105] 试验例1免疫调节功能评价

[0106] 1、小鼠脾细胞悬液的制备

[0107] 将Balb/c小鼠拉颈处死,于75%乙醇中浸泡5min进行消毒处理,无菌分离完整脾脏,用PBS冲去浮血,剥除结缔组织及脂肪成分。采用注射器吸取约5mLPBS,轻轻插入脾内吹出细胞,重复操作数次至脾外膜透明,剩余脾组织剪成大小1mm³小块,剪碎后置于小烧杯上的200目不锈钢滤网上,用注射器针芯研磨,PBS液洗涤,收集冲洗液至离心管,1200rpm离心5min,弃上清液,加入3mL红细胞裂解液,静置2min,加入10mL PBS终止反应,1200rpm离心5min,弃上清,用PBS液洗两次,1200rpm离心5min,用RPMI-1640不完全培养基洗一次,1200rpm离心5min,弃上清,加适量RPMI-1640完全培养基(含10%胎牛血清、100U/mL青霉

素、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素和10mM HEPES),调整细胞浓度至 2×10^6 个细胞/mL,台盼蓝染色检测细胞存活率大于95%。

[0109] 2、各发酵制品对淋巴细胞增殖的影响

[0110] 将实施例1、对照例1和对照例2制备的发酵制品用纯净水分别进行梯度稀释,制得各自的梯度稀释液。

[0111] 将上述脾细胞悬液按100 $\mu\text{L}/$ 孔加入到96孔培养板中,再分别添加10 μL ConA(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、10 μL LPS(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、10 μL 上述各发酵制品的梯度稀释液,每个梯度做6次重复,将培养板置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中培养72h;同时设置空白对照(即添加10 μL 纯净水)。

[0112] 采用CCK-8试剂盒测定各发酵制品对脾淋巴细胞增殖能力的影响(用刺激指数(SI)表示),结果如图1和图2所示。由图1和图2可知:相对于对照例1和对照例2的发酵制品,本发明实施例制备的山药发酵制品能够显著增加小鼠T淋巴细胞活性,具有更优异的免疫调节功能。

[0113] 试验例2抗氧化功能评价

[0114] 将实施例1、对照例1和对照例2的发酵制品分别用无血清的DMEM培养基进行梯度稀释,制得梯度稀释液;

[0115] 将HepG2细胞以细胞密度 2×10^5 接种至细胞培养板,每孔2ml,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中培养24h,随后小心吸走孔中的细胞上清液,用HBSS清洗一次,分别加入上述各发酵制品的梯度稀释液2ml,于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中培养3.5h,然后加入荧光染料2',7'-二氢二氯荧光黄双乙酸钠(2',7'-dichlorofluorescein diacetate,DCFH-DA,终浓度为10 μM),用HBSS小心清洗三次,最后加入抗氧损伤剂600 μM AAPH;同时设置空白对照(即添加2ml无血清的DMEM培养基)。

[0116] 采用流式细胞仪检测细胞内ROS含量,各样品的抗氧化能力选用EC50值表示,EC50即为抑制细胞内50%ROS的生成所需要的抗氧化剂的量,其中,EC50越小,则表示该抗氧化剂的抗氧化性越好。结果如图3所示。由图3可知:相对于对照例1和对照例2的发酵制品,本发明制备的山药发酵制品具有更加优异的抗氧化功能。

[0117] 最后应说明的是:以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述各实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分或者全部技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的范围。

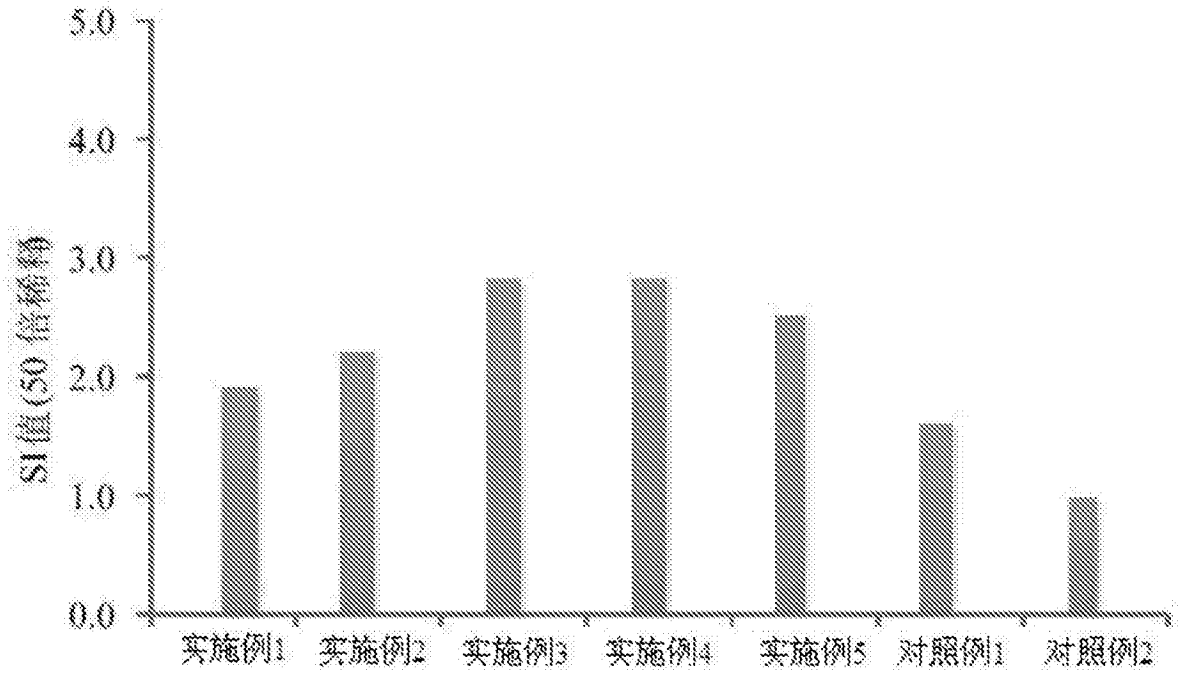


图1

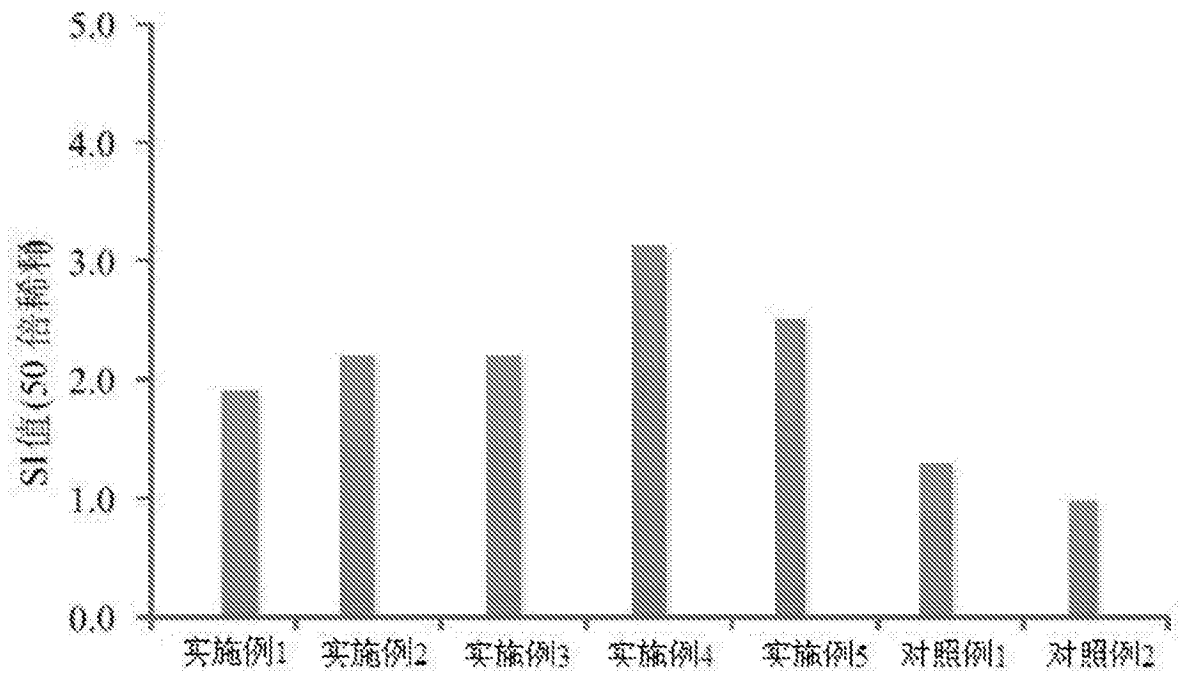


图2

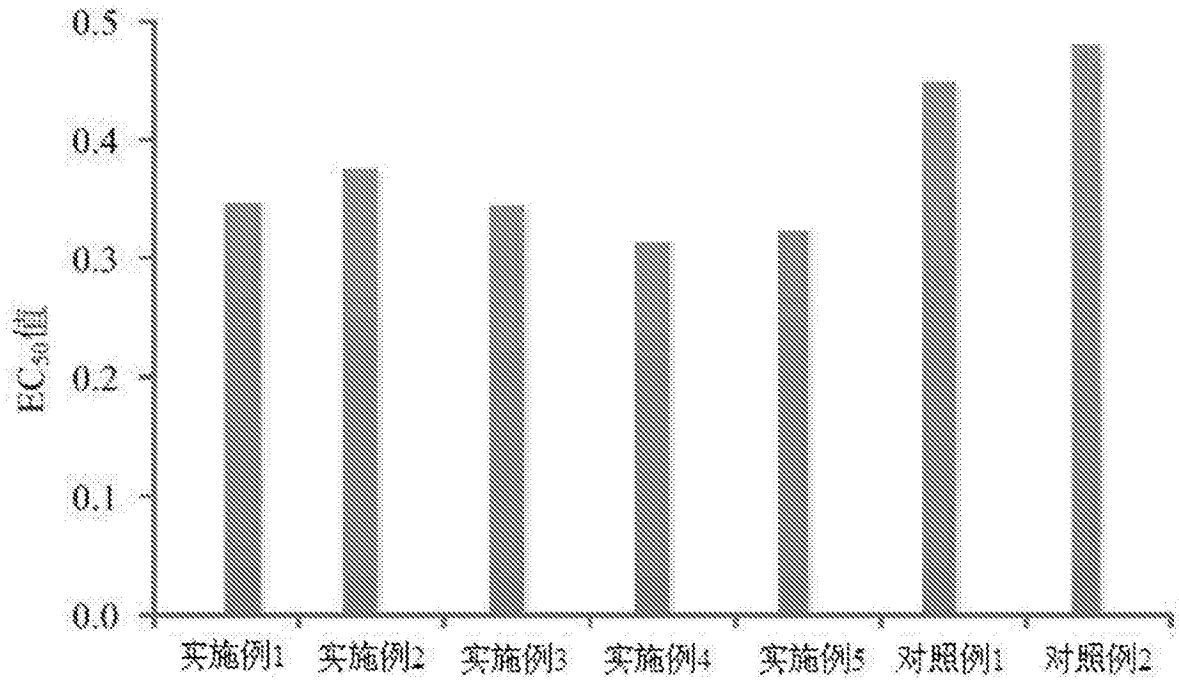


图3