



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111227232 A

(43)申请公布日 2020.06.05

(21)申请号 202010063995.1

(22)申请日 2020.01.20

(71)申请人 苏海锋

地址 401100 重庆市渝北区湖红路350号1幢11-3

(72)发明人 苏海锋 林家富

(74)专利代理机构 成都玖和知识产权代理事务所(普通合伙) 51238

代理人 胡琳梅

(51)Int.Cl.

A23L 33/00(2016.01)

A23L 5/30(2016.01)

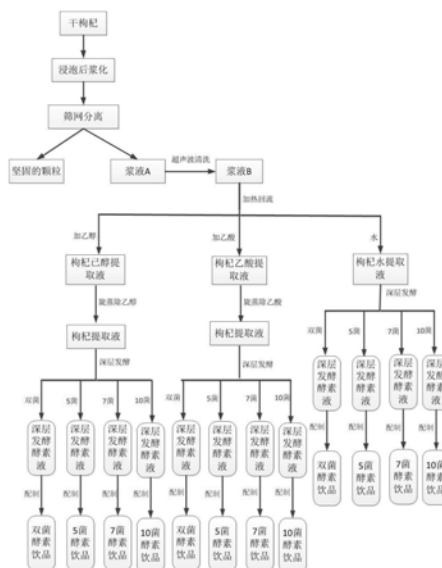
权利要求书1页 说明书12页 附图2页

(54)发明名称

一种枸杞提取物酵素液的制作方法及其产品

(57)摘要

本发明涉及酵素发酵技术领域,公开了一种枸杞提取物酵素液的制作方法及其产品,制备方法包括:干鲜枸杞和水混合后打浆,恒温条件下静置后过筛网除去颗粒,留下浆液I,将浆液I超声处理获得浆液II;在浆液II中加入乙酸制成浆液III,将浆液III在恒温条件下加热至沸腾,回流,然后蒸发除去乙酸,获得浆液IV;将浆液IV高温高压灭菌,灭菌后冷却,恒温保存,然后接种混合菌种,置于恒温震荡条件下发酵,制得枸杞提取物酵素液;本发明制得的枸杞提取物酵素液同时具有益生菌和枸杞药效双重功能。



1. 一种枸杞提取物酵素液的制作方法,其特征在于:包括以下步骤:

1) 预处理:将干鲜枸杞和水混合后打浆,室温条件下静置,然后过滤除去颗粒,留下浆液I,将浆液I超声处理20-30min得到浆液II,干鲜枸杞和水的质量比率为4-8%;

2) 提取:在浆液II中加入食品级乙酸,制得乙酸质量分数为4-8%的浆液III,将浆液III在120-200℃条件下加热至沸腾,回流2-6小时,然后蒸发除去乙酸,获得浆液IV;

3) 发酵:将浆液IV高温高压灭菌,灭菌后冷却至30-33℃恒温保存,然后接种混合菌种,置于恒温震荡条件下发酵3-4天,制得枸杞提取物酵素液。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤3)中,高温高压灭菌的条件为:压力为1.5MP,温度为115-121℃,灭菌时间为15-20分钟;发酵温度为28-33℃,震荡速度是150-250rpm。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤3)中,所述混合菌种包括枯草芽孢杆菌和粪链球菌。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤3)中,所述混合菌种包括保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌和干酪乳杆菌干酪亚种菌株。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤3)中,所述混合菌种包括保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、植物乳杆菌、干酪乳杆菌干酪亚种和乳双歧杆菌。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤3)中,所述混合菌种包括嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,婴儿双歧杆菌,乳双歧杆菌,长双歧杆菌,短双歧杆菌和两歧双歧杆菌。

7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤3)中,所述混合菌种包括保加利亚乳杆菌,嗜热链球菌,开菲儿菌,婴儿双歧杆菌,乳双歧杆菌,长双歧杆菌和短双歧杆菌。

8. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤3)中,所述混合菌种包括嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌、乳双歧杆菌、两歧双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、瑞士乳杆菌和鼠李糖乳杆菌。

9. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于:步骤3)中,所述开菲儿菌包括乳酸乳球菌乳酸亚种、乳酸乳球菌乳脂亚种、乳酸乳球菌双乙酰亚种、肠膜明串珠菌肠膜亚种和嗜酸乳杆菌中的任意四种。

10. 根据权利要求1-9任一项所述的方法制备得到的枸杞提取物酵素液。

## 一种枸杞提取物酵素液的制作方法及其产品

### 技术领域

[0001] 本发明涉及酵素发酵技术领域,具体是一种枸杞提取物酵素液的制作方法及其产品。

### 背景技术

[0002] 枸杞是名贵的药材和滋补品,中医很早就有“枸杞养生”的说法。《本草纲目》记载:“枸杞,补肾生精,养肝明目安神,令人长寿,已被证明有降低血糖,抗脂肪肝作用,并能抗动脉粥样硬化的作用。枸杞提取物是以枸杞为原料通过一定的方法提取的复合产物,主要成分是:碳水化合物,粗纤维,粗脂肪,粗蛋白,枸杞多糖,由阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖、木糖、鼠李糖6种单糖成分组成;同时还包含一些其他药用化合物大多为多糖色素、维生素、甾醇、甙类等;例如,甜菜碱,胡萝卜素,硫胺素,核黄素,烟酸,抗坏血酸,尼克酸,玉蜀黍黄素,及多种氨基酸等;同时含有一些元素,钙,磷,铁,镁,锌,锗等。研究证实,枸杞提取物具有滋补肝肾,益精明目,调节提高免疫力的作用,可提高血睾酮水平,对造血功能有促进作用;还有抗衰老、抗突变、抗肿瘤、降血脂、保肝及抗脂肪肝、降血糖、降血压作用。

[0003] 而众所周知,益生菌是一类对宿主有益的活性微生物,涉及多种细菌和真菌包括酪酸梭菌、乳酸菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、放线菌、酵母菌等。从现代肠道微生物种群的研究表明,多种多样的益生菌的整合才能产生确切健康功效从而改善宿主微生态平衡、最终才能发挥调整微生态失调的有益作用。例如只有通过多种有益的微生物的代谢活动的共同协作才能抑制幽门螺旋杆菌的生长,预防胃溃疡,胃癌的发生。因此,从现有公开的专利看,这些专利均不能最大程度地发挥枸杞的生物活性功能,也不能最大程度地发挥基于利用枸杞作为发酵底物进行深层发酵生产酵素的调解人体肠道生理活性的功能。

[0004] 目前,对于枸杞提取物的开发利用,大多数是将其固体化制成粉末作为药用保健产品。而直接利用枸杞提取物的原液制作成药物口服液,饮料等产品也只有极少数相关的产品,大多数专利涉及的产品均是将提取的枸杞多糖制作成饮料,而单一的枸杞多糖成分并不能完全发挥枸杞的生物活性功能。因为枸杞本质是富含多糖的纤维素结构。多糖是数千个葡萄糖分子通过 $\beta$ 糖苷键连接而形成的葡聚糖,单糖含量较少。目前现有的处理工艺是直接将枸杞打碎水煮出多糖后直接发酵,这样的简单处理工艺并不能使枸杞多糖转化为微生物利用的底物量(单糖)达到最大化。由于现有的简单处理工艺供微生物(主要是乳酸菌)利用的单糖含量极少,而大多数微生物(益生菌)并不能利用多糖,因此采用现有的处理工艺主要存在两个问题。第一,枸杞的利用不能最大化,现有简单处理工艺将产生大量的枸杞废弃物。第二,由于供微生物利用的单糖含量低,直接发酵后益生菌活菌数,浓度极低,远远达不到改善肠道菌群的作用。

[0005] 综上,一种同时具有益生菌和枸杞药效双重功能的枸杞提取物酵素液的制作方法及其产品有待研究。

## 发明内容

[0006] 本发明的目的在于克服现有技术的不足,提供一种枸杞提取物酵素液的制作方法及其产品,使得枸杞提取物酵素液同时具有益生菌和枸杞药效双重功能。

[0007] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现的:一种枸杞提取物酵素液的制作方法,包括以下步骤:

[0008] 1) 预处理:将干鲜枸杞和水混合后打浆,室温条件下静置,然后过滤除去颗粒,留下浆液I,将浆液I超声处理20-30min得到浆液II,干鲜枸杞和水的质量比率为4-8%;所述干鲜枸杞为市售的干鲜枸杞即可;

[0009] 2) 提取:在浆液II中加入食品级乙酸,制得乙酸质量分数为4-8%的浆液III,将浆液III在120-200℃条件下加热至沸腾,回流2-6小时,然后蒸发除去乙酸,获得浆液IV;

[0010] 3) 发酵:将浆液IV高温高压灭菌,然后冷却至30-33℃恒温保存,最后接种混合菌种,置于恒温震荡条件下发酵3-4天,制得枸杞提取物酵素液。

[0011] 进一步的,步骤1)中,静置时间为24小时,筛网的目数为40-80目。步骤1)的参数可以根据具体被预处理的干鲜枸杞的量做适应性调整,以使浆液I中无杂质颗粒。超声处理定向破解枸杞纤维素,将枸杞中含有的大分子纤维素,多糖转化为小分子低聚糖,使枸杞定向转化为单一的单糖,例如葡萄糖,木糖,通过获得的纯单糖,进而控制后续微生物发酵过程,最终达到最大化利用枸杞,减少废弃物产生,同时使菌液浓度达到最大化的目的。

[0012] 进一步的,步骤2)中所述食品级乙酸的型号为M22624-500ML。

[0013] 进一步的,步骤3)中,高温高压灭菌的条件为:压力为1.5MP,温度为115-121℃,灭菌时间为15-20分钟;发酵温度为28-33℃,震荡速度是150-250rpm。上述高温高压灭菌步骤为后续接种菌株提供发酵环境,发酵温度和震荡速度可以根据后续接种的混合菌种种类和浆液IV的含量做适应性的调整。

[0014] 进一步的,步骤3)中,所述混合菌种包括枯草芽孢杆菌和粪链球菌。

[0015] 进一步的,步骤3)中,所述混合菌种包括保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌和干酪乳杆菌干酪亚种菌株。

[0016] 进一步的,步骤3)中,所述混合菌种包括保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、植物乳杆菌、干酪乳杆菌干酪亚种和乳双歧杆菌。

[0017] 进一步的,步骤3)中,所述混合菌种包括嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,婴儿双歧杆菌,乳双歧杆菌,长双歧杆菌,短双歧杆菌和两歧双歧杆菌。

[0018] 进一步的,步骤3)中,所述混合菌种包括保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、开菲儿菌、婴儿双歧杆菌、乳双歧杆菌、长双歧杆菌和短双歧杆菌。

[0019] 进一步的,步骤3)中,所述混合菌种包括嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌、乳双歧杆菌、两歧双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、瑞士乳杆菌和鼠李糖乳杆菌。

[0020] 进一步的,步骤3)中,所述开菲儿菌包括乳酸乳球菌乳酸亚种、乳酸乳球菌乳脂亚种、乳酸乳球菌双乙酰亚种、肠膜明串珠菌肠膜亚种和嗜酸乳杆菌中的任意四种。

[0021] 进一步的,步骤2)的提取步骤可以采用乙醇提取,在浆液II中加入食品级的乙醇调制成含乙醇浓度为60%的乙醇枸杞悬浮液,将乙醇枸杞悬浮液在恒温200℃加热至沸腾后回流6小时,然后蒸发除去枸杞乙醇提取液中的乙醇,获得无乙醇的枸杞提取液。

[0022] 进一步的,步骤2)的提取步骤可以采用水热提取:将浆液II在恒温200℃加热至沸腾后回流6小时,从第一次获得的枸杞水热提取液中取出50ml,再加水其调配成浓度为3%的枸杞水热提取液,然后继续在恒温200℃加热至沸腾后回流6小时再次提取,获得枸杞水热提取液。

[0023] 进一步的,本方案的枸杞提取物酵素液与糖浆等混合,制得枸杞深层发酵酵素饮品。糖浆包括葡萄糖、果葡糖浆、安赛蜜、三氯蔗糖、阿斯巴甜等。葡萄糖添加量为1-5%,果葡糖浆添加量为0-10%,安赛蜜、三氯蔗糖及阿斯巴甜添加量符合GB2760规定的添加量范围内添加。糖浆中还添加有酸度调节剂,酸度调节剂的含量为2.5-4.5g/kg。添加时酸度调节剂按2%-20%的浓度调配,再经特制喷酸设备使酸液雾化后与混合料液混匀,将料液pH值调整至3.5-3.8。酸度调节剂为柠檬酸、苹果酸、乳酸、酒石酸中的一种或多种。糖浆中还添加有增稠剂,增稠剂为果胶包括下列中的一种或几种:羧甲基纤维素钠、黄原胶、卡拉胶、魔芋胶、结冷胶、瓜尔胶、大豆多糖;糖浆中还添加有乳化剂,乳化剂为单硬脂酸甘油酯、蔗糖脂肪酸酯、双乙酰酒石酸甘油酯等。添加食用香精为天然香精、天然等同香精和人工合成香精中的一种或多种,糖浆中的上述组分的具体种类和含量可以依据现有技术调整。

[0024] 本方案所使用的所有微生物除了枯草芽孢杆菌和粪链球菌外,所有菌株通常使用在酸奶发酵领域。目前,尽管已有一些益生菌被用于发酵枸杞水解物,但其复合菌未超过5种益生菌,通常大多在2-3种,而本发明通过预处理,尤其是首创使用的乙酸酸解最大化产单糖量后,最终可使复合菌菌种数达到10种益生菌。同时本发明首次使用枯草芽孢杆菌和粪链球菌作为复合菌种发酵,这两种复合菌是美国FDA认证的是改善人体肠道微生物的重要菌种,具有有效改善便秘,增加消化等作用。

[0025] 本方案解决现有技术问题的关键是前期预处理工艺,使微生物尽可能利用的主要糖类物质为一种或两种单糖,同时也最大化利用枸杞;经过预处理工艺,本方案的酸水解(乙酸提取)使得产糖量最大,然而通常的酸水解所使用的酸为稀硫酸,稀硫酸并不适合使用在食品工业中,因此本发明结合了其他预处理,首创使用了乙酸酸解,适量的乙酸广泛在食品(例如醋,酸菜等)中存在,对人体并无危害。

[0026] 因此,本发明首先利用超声波处理和乙酸水热技术定向破解枸杞纤维素,将枸杞含有的大分子纤维素,多糖转化为小分子低聚糖,使枸杞定向转化为单一的单糖,例如葡萄糖,木糖。通过获得的纯单糖,进而控制后续微生物发酵过程,最终达到最大化利用枸杞,减少废弃物产生,同时使菌液浓度达到最大化的目的。

[0027] 本发明的有益效果是:

[0028] 1. 本方案首次采用枯草芽孢杆菌和粪链球菌的混合菌,以枸杞果的提取液为发酵底物,除枸杞本身带来的含有丰富的枸杞多糖,丰富的矿质元素及氨基酸外,由于采用了此二联菌作为发酵酵素,该酵素可直接补充正常人体生理菌丛,抑制致病菌,促进营养物质的消化,吸收,抑制肠源性毒素的产生和吸收,达到调整肠道内菌群失调的目的;有效解除消化不良、食欲不振、营养不良,肠道菌群紊乱引起的腹泻、便秘、腹胀;可抑制肠道内异常菌的不正常发酵造成的人体的不适;

[0029] 2. 本发明中对于枸杞提取物的提取除了常规的水热提取法和乙醇沉淀法外,我们首次采用乙酸提取法,该方法提升了枸杞汁的内含物及果香味,使得更多的多糖能被分解成单糖供微生物利用,同时保持了枸杞汁的新鲜度;

[0030] 3. 本发明采用多种微生物种类的混合型进行发酵,包括5-10种不同的类型的微生物,获得更多有益的微生物酵素,有益的微生物种群越多,在人体中易于形成相对稳固的微生物群落,因此对疾病有更强的抵抗力;

[0031] 4. 本发明采用枸杞提取物进行发酵,在保证使益生菌能够生长的前提下,枸杞提取物本身的含有药效的一些化学成分并没有损失,因此该产品同时具有益生菌和枸杞药效的双重功能。

### 附图说明

[0032] 图1为本发明的流程示意图;

[0033] 图2为实施例1的氨基酸含量分析的色谱图谱;

[0034] 图3为对比例1的实验数据图。

### 具体实施方式

[0035] 下面进一步详细描述本发明的技术方案,但本发明的保护范围不局限于以下所述。

[0036] 实施例1枸杞乙醇提取物的提取及双菌发酵

[0037] 预处理:从市场中采购的200g干鲜枸杞果按果水质量比率6%混合,打浆(浆化)后恒温35度浸提24小时,然后用40-80目的筛网除去较大的颗粒,留下浆液I,用50W的超声波仪器超声波处理浆液I 30分钟获得浆液II。

[0038] 提取:浆液II被调配至含乙醇质量分数为60%的浆液III中,将浆液III置于带旋转的电热炉上,在恒温200℃加热至沸腾后回流6小时,然后用旋转蒸发仪除去乙醇获得浆液IV。提取物的多糖含量经高效液相色谱法检测后如下表1所示。

[0039] 表1枸杞经乙醇提取后的多糖成分

糖含量 (g/L)	重复次数		
	1	2	3
葡萄糖	70.73±2.19	75.11±1.25	76.31±1.06
[0040] 木糖	9.27±1.29	10.22±2.48	6.12±1.79
阿拉伯糖	3.54±1.49	4.44±0.26	5.16±0.51
纤维二糖	7.16±1.24	7.28±0.47	8.67±0.29
半乳糖	3.49±0.15	2.41±0.34	3.11±0.21

[0041] 发酵:将浆液IV放入微型发酵罐中,然后全自动高压灭菌锅中灭菌,灭菌条件是1.5MP,杀菌温度为115℃,20分钟;灭菌结束后,将浆液IV置于恒温水浴锅中保持恒温30℃不变约10分钟左右;将事先已活化,复壮,扩大培养好的枯草芽孢杆菌和粪链球菌混合菌种接种到已灭菌的浆液IV中;最后将接种好的浆液IV置于恒温震荡培养箱中,整个发酵过程中严格控制发酵温度和震荡速度,发酵温度为30℃,振荡速度是220rpm;3天后结束发酵,发酵罐内形成的产物即为富含2种微生物酵素的枸杞提取物酵素液。

[0042] 枸杞提取物酵素液中的氨基酸成分的含量和氨基酸分析的图谱如表2和图2所示。

[0043] 表2发酵后的氨基酸成分的含量

	氨基酸 mg/100ml				
		水	1	2	3
	天门冬氨酸	0.126	31.815	32.729	31.003
	苏氨酸	0.000	15.542	19.378	15.032
[0044]	丝氨酸	0.069	23.907	31.895	15.440
	谷氨酸	0.097	2.050	3.120	2.890
	甘氨酸	0.000	0.440	0.927	1.877
	丙氨酸	0.000	27.634	31.492	26.512
	半胱氨酸	0.000	0.656	1.073	0.405
	缬氨酸	0.000	12.666	14.377	12.663
	蛋氨酸	0.000	1.555	0.000	0.757
	异亮氨酸	0.000	1.614	1.398	1.680
	亮氨酸	0.000	3.777	2.946	3.452
[0045]	酪氨酸	0.000	9.999	9.900	9.665
	苯丙氨酸	0.116	1.184	3.628	2.611
	赖氨酸	0.000	5.573	5.013	5.988
	组氨酸	0.000	6.930	6.558	6.372
	精氨酸	0.000	10.044	9.351	11.196
	脯氨酸	0.000	124.122	141.161	132.307

[0046] 说明:0.000表示此浓度下未检出

[0047] 实施例2枸杞乙酸提取物的提取及5菌混合发酵

[0048] 浆液II的制备过程与实施例1一致。

[0049] 乙酸提取:将食品级的乙酸加入到浆液II中,配制成含乙酸浓度为6%的浆液III,将浆液III于恒温200℃加热至沸腾后,回流6小时,用旋转蒸发器除去乙酸获得浆液IV,其多糖成分含量如表3所示。

[0050] 表3枸杞乙酸提取物的多糖成分含量

糖含量 (g/L)	重复次数		
	1	2	3
葡萄糖	96.33±3.12	87.13±1.15	95.21±1.56
[0051] 木糖	12.37±1.59	18.24±2.58	11.42±2.89
阿拉伯糖	4.34±1.09	4.34±0.86	5.46±0.21
纤维二糖	8.36±1.44	7.18±0.37	8.27±0.59
半乳糖	6.41±0.35	5.51±0.64	5.11±0.51

[0052] 5种菌混合发酵:按实施例1的步骤将浆液IV灭菌,灭菌结束后,将浆液IV置于恒温水浴锅中降温至32℃,恒温保持20分钟;在超净工作台中,将已活化,复壮,扩大培养好的保加利亚乳杆菌,嗜热链球菌,嗜酸乳杆菌,植物乳杆菌,干酪乳杆菌干酪亚种菌株的混合菌种接种到已灭菌的浆液IV中;最后将接种好的浆液IV置于恒温震荡培养箱中,发酵过程中,严格控制发酵温度为32℃,振荡速度为220rpm;4天后结束发酵,发酵罐内形成的产物即为富含5种益生菌酵素的枸杞提取物酵素液。枸杞提取物酵素液中的氨基酸成分的含量如表4所示。

[0053] 表4经5种混合菌发酵后枸杞乙酸提取液的的氨基酸成分含量



	氨基酸 mg/100ml				
		水	1	2	3
	天门冬氨酸	0.126	43.65	43.329	41.113
	苏氨酸	0.000	16.342	17.38	20.132
	丝氨酸	0.069	33.107	37.395	40.240
	谷氨酸	0.097	3.350	4.620	4.570
	甘氨酸	0.000	2.340	2.947	2.457
	丙氨酸	0.000	34.134	31.22	34.62
	半胱氨酸	0.000	2.36	2.83	2.55
[0054]	缬氨酸	0.000	17.26	18.37	17.53
	蛋氨酸	0.000	1.25	1.02	1.67
	异亮氨酸	0.000	2.34	2.48	2.42
	亮氨酸	0.000	5.27	5.92	6.22
	酪氨酸	0.000	6.19	7.03	7.46
	苯丙氨酸	0.116	1.24	2.61	2.11
	赖氨酸	0.000	6.53	6.013	6.98
	组氨酸	0.000	8.130	8.68	8.39
	精氨酸	0.000	7.14	8.21	7.14
	脯氨酸	0.000	11.22	15.19	14.37

[0055] 说明:0.000表示此浓度下未检出

[0056] 实施例3枸杞乙酸提取物的7菌混合发酵

[0057] 本实施案例使用7种菌的混合菌对枸杞乙酸提取物进行深层发酵。这7种菌包含两种不同的菌株组合。即保加利亚乳杆菌,嗜热链球菌,嗜酸乳杆菌,鼠李糖乳杆菌,植物乳杆菌,干酪乳杆菌干酪亚种,乳双歧杆菌的混合菌种,或者,嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,婴儿双歧杆菌,乳双歧杆菌,长双歧杆菌,短双歧杆菌,两歧双歧杆菌的两种类型的混合菌种。本实施例的浆液IV与实施例2的制备过程一致,浆液IV按实施例2的步骤灭菌处理,然后冷却至恒温33℃,然后将已活化,复壮,扩大培养好的两种类型的7种菌的混合菌液分别接种到两组浆液IV中;接种结束后,将培养物置于恒温震荡培养箱中,严格控制发酵温度为33℃,振荡速度为250rpm;3天后结束发酵,发酵罐内形成的产物即为分别富含两种类型的7种益生菌酵素的两组枸杞提取物酵素液。枸杞提取物酵素液中的氨基酸成分的含量如表5所示。

[0058] 表5经7种混合菌深层发酵后枸杞乙酸提取液的氨基酸成分含量

	氨基酸 mg/100ml				
		水	1	2	3
	天门冬氨酸	0.126	47.15	46.19	40.33
	苏氨酸	0.000	17.12	15.84	16.52
	丝氨酸	0.069	35.17	35.32	33.43
	谷氨酸	0.097	4.23	4.22	3.372
	甘氨酸	0.000	3.43	2.21	2.54
[0059]	丙氨酸	0.000	42.11	36.12	37.32
	半胱氨酸	0.000	2.43	3.32	3.25
	缬氨酸	0.000	21.32	22.01	19.24
	蛋氨酸	0.000	0.23	1.12	0.98
	异亮氨酸	0.000	3.14	3.41	3.32
	亮氨酸	0.000	6.32	5.97	6.46
	酪氨酸	0.000	7.09	6.87	6.26
	苯丙氨酸	0.116	0.45	0.54	1.05
	赖氨酸	0.000	4.56	3.04	4.67
	组氨酸	0.000	7.97	7.23	7.12
[0060]	精氨酸	0.000	8.45	9.34	8.11
	脯氨酸	0.000	8.21	8.34	9.03

[0061] 说明:0.000表示此浓度下未检出

[0062] 实施例4枸杞水热提取物的提取及7菌混合发酵

[0063] 浆液II的制备过程与实施例1一致。

[0064] 水热提取获得枸杞提取物:将浆液II置于电热炉上,在恒温200℃加热至沸腾,使用回流管回流6小时,从中取出50ml,加水其调配成浓度为3%的枸杞水热提取液,在电热炉上再次加热至恒温200℃加热,回流6小时获得新的浆液IV。提取物的多糖含量经高效液相色谱法检测后如下表6所示。

[0065] 表6枸杞乙酸提取物的多糖成分含量

糖含量 (g/L)	重复次数		
	1	2	3
葡萄糖	123.24±2.56	132.32±2.12	113.45±2.52
[0066] 木糖	14.23±1.47	16.32±2.36	13.29±1.23
阿拉伯糖	6.57±1.11	6.37±0.98	7.78±0.78
纤维二糖	12.76±1.28	12.83±0.28	13.54±1.12
半乳糖	14.63±1.54	15.32±1.35	14.53±1.57

[0067] 7种菌混合发酵:按实施例1的步骤将浆液IV灭菌,灭菌结束后,将提取液冷却至恒温33℃。在超净工作台中将已活化,复壮,扩大培养好的两种类型的7种菌混合菌液分别接种到已灭菌的两组浆液IV中,最后将接种好的浆液IV置于恒温震荡培养箱中,发酵过程中,严格控制发酵温度为33℃,振荡速度为250rpm,3天后结束发酵,发酵罐内形成的产物即为分别富含两种类型的7种益生菌酵素的两组枸杞提取物酵素液。枸杞提取物酵素液中的氨基酸营养含量如表7所示。

[0068] 表7经7种混合菌深层发酵后枸杞水热提取液的氨基酸成分含量

	氨基酸 mg/100ml				
		水	1	2	3
	天门冬氨酸	0.126	53.32	52.43	54.12
	苏氨酸	0.000	20.32	20.87	19.12
	丝氨酸	0.069	38.23	39.56	39.23
	谷氨酸	0.097	5.21	4.89	5.13
	甘氨酸	0.000	4.03	4.21	5.32
	丙氨酸	0.000	43.32	43.56	41.46
	半胱氨酸	0.000	4.23	4.12	4.35
[0069]	缬氨酸	0.000	25.13	26.11	26.97
	蛋氨酸	0.000	1.32	2.32	1.93
	异亮氨酸	0.000	4.32	4.21	5.01
	亮氨酸	0.000	8.23	8.46	8.17
	酪氨酸	0.000	9.23	9.46	9.37
	苯丙氨酸	0.116	1.34	1.32	2.02
	赖氨酸	0.000	6.32	6.53	6.17
	组氨酸	0.000	8.34	9.34	9.12
	精氨酸	0.000	7.23	9.26	9.43
	脯氨酸	0.000	10.23	10.46	10.11

[0070] 说明:0.000表示此浓度下未检出

[0071] 实施案例5枸杞水热提取物的10菌混合发酵

[0072] 浆液IV制备过程与实施例4一致。

[0073] 按实施例1的步骤将浆液IV进行灭菌,结束后将浆液IV置于恒温水浴锅中冷却至32℃保持30分钟不变,在超净工作台中将已活化,复壮,扩大培养好的两种类型的10种复合混合菌接种到已灭菌的浆液IV中;最后将接种好的提取物置于恒温震荡培养箱中,严格控制发酵温度为32℃左右,振荡速度为250rpm;3.5天后结束发酵,发酵罐内形成的产物即为富含10种复合益生菌混合菌酵素的枸杞提取物酵素液。枸杞提取物酵素液中的氨基酸成分的含量如表8所示。

[0074] 表8经10种混合菌深层发酵后枸杞水热提取液的氨基酸成分的含量

氨基酸 mg/100ml	水	1	2	3
天门冬氨酸	0.126	67.11	67.23	65.43
苏氨酸	0.000	25.34	25.25	24.67
丝氨酸	0.069	42.12	41.32	39.65
谷氨酸	0.097	6.24	6.25	5.65
甘氨酸	0.000	5.14	5.53	4.79
丙氨酸	0.000	47.11	47.21	46.64
半胱氨酸	0.000	5.12	5.27	5.02
[0075] 缬氨酸	0.000	31.45	30.42	29.31
蛋氨酸	0.000	2.25	2.12	2.78
异亮氨酸	0.000	5.11	4.32	5.56
亮氨酸	0.000	9.11	9.25	8.86
酪氨酸	0.000	11.26	11.43	11.59
苯丙氨酸	0.116	2.27	2.57	2.48
赖氨酸	0.000	8.11	9.02	9.12
组氨酸	0.000	10.24	11.25	12.04
精氨酸	0.000	8.34	8.12	9.05
脯氨酸	0.000	12.37	11.97	12.69

[0076] 说明:0.000表示此浓度下未检出

[0077] 对比例1三种水解提取方法发酵后的最终菌种浓度比较

[0078] 如说明书中的三种预处理所获得的枸杞水热提取物,如实施例1条件,将浆液IV进行灭菌,灭菌结束后,将浆液IV冷却至32℃保持30分钟不变;在超净工作台中将已活化,复壮,扩大培养好的菌群,然后如前所述的5种,7种,10种不同的益生菌菌群接种到已灭菌的浆液IV中,最后将接种好的浆液IV置于恒温震荡培养箱中,严格控制发酵温度为32℃左右,振荡速度为250rpm;3.5天后结束发酵,通过测量其吸光度OD600值,考察菌种浓度。如图3所示,结果表明通过乙酸提取,分别使用5种菌种,7种菌种,10种菌种发酵,最终均是乙酸提取后发酵制得的枸杞提取物酵素液中的菌种浓度最佳,达到改善肠道微生物种群所需的菌种数量。

[0079] 以上所述仅是本发明的优选实施方式、应当理解本发明并非局限于本文所披露的形式、不应看作是对其他实施例的排除、而可用于各种其他组合、修改和环境、并能够在本

文所述构想范围内、通过上述教导或相关领域的技术或知识进行改动。而本领域人员所进行的改动和变化不脱离本发明的精神和范围、则都应在本发明所附权利要求的保护范围内。

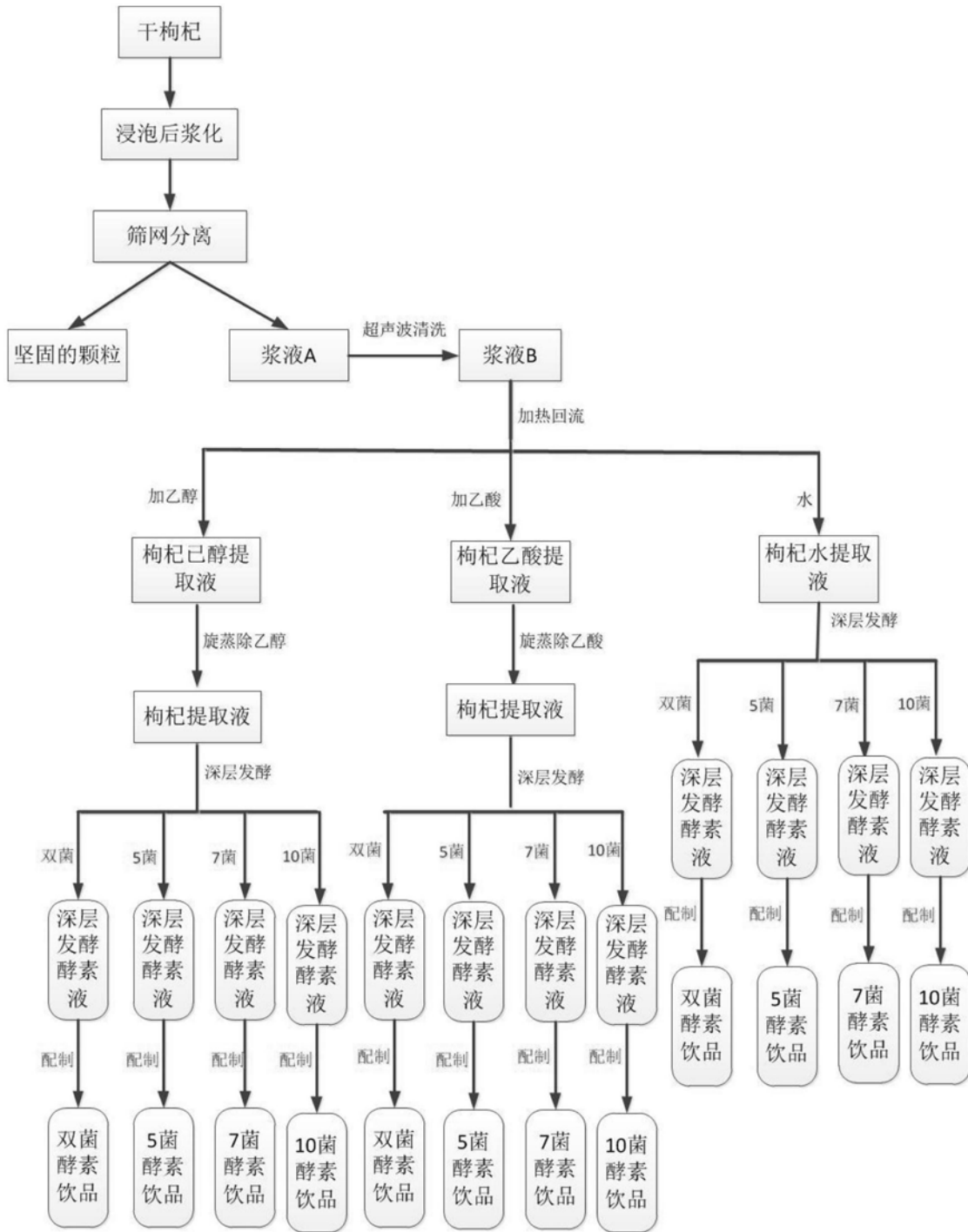


图1

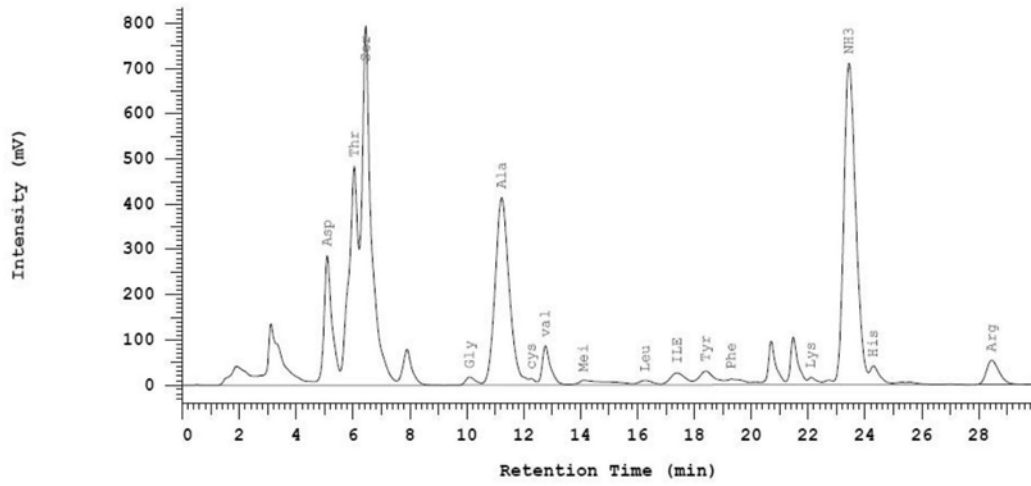


图2

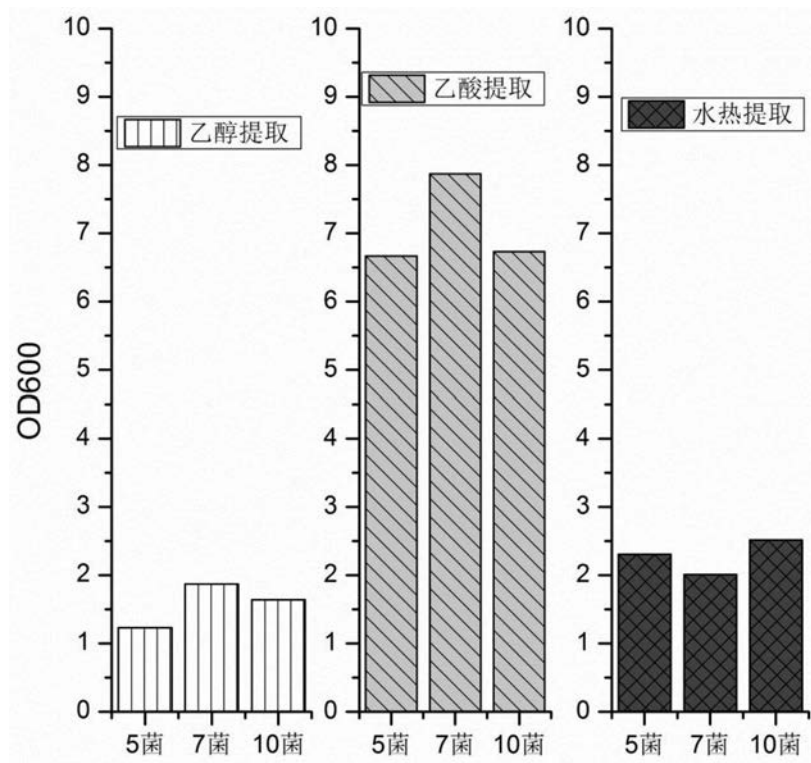


图3