



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02144935. X

[43] 公开日 2004 年 6 月 30 日

[11] 公开号 CN 1507878A

[22] 申请日 2002. 12. 15 [21] 申请号 02144935. X

[71] 申请人 东北农业大学

地址 150030 黑龙江省哈尔滨市香坊区公滨路木材街 59 号

[72] 发明人 张兰威

[74] 专利代理机构 哈尔滨市哈科专利事务所有限
责任公司

代理人 祖玉清

权利要求书 1 页 说明书 5 页

[54] 发明名称 乳酸杆菌干粉制品的制作方法

[57] 摘要

本发明涉及的是一种乳酸杆菌干粉制品的制作方法。从商品酸奶或自然发酵食品中分离出乳酸杆菌菌株；将乳酸杆菌接种到特定增菌培养液中，用 10% - 15% 的氢氧化钠中和恒定发酵液 pH 值在 5.6 - 6.0，在 41.5 - 43.5℃ 增菌培养 4.0 - 4.7 小时；发酵液进行离心处理，得到离心沉淀物；在无菌条件下与菌体冻干保护剂均匀混合后，进行冻干前预冷处理 6 - 12 小时；最后真空冷冻干燥，并采用充氮包装制成产品。采用本发明的方法所得到的产品含活菌数在 5.4×10^{11} CFU/g，与乳酸球菌配合以 0.002% - 0.004% 的量接种到灭菌脱脂乳和鲜牛奶中，经 3.5 小时发酵 (41 - 43℃)，乳凝固并产酸 70°T，组织状态、风味良好，可以作为优质的直投式发酵剂。

1、一种乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：从商业酸奶或自然发酵食品中，分离出乳酸杆菌菌株；将菌株接种到由8%-12%的脱脂乳粉，4-6%的胰蛋白酶水解乳清粉，3-6%的番茄汁、3-6%的麦芽糖、1-3%的乳糖、0.5-0.7%的酵母膏或粉、40-80毫克/公斤的甲酸和余量的水组成的增菌培养基中，在发酵罐中控制温度在41.5-43.5℃、用10%-15%的氢氧化钠中和恒定发酵液pH值在5.6-6.0，发酵培养4.0-4.7小时；发酵液在0℃-20℃，转数为6000-15000转/分钟条件下离心处理，得到离心沉淀物；按离心沉淀物重量的1-2倍添加冻干保护剂，冻干保护剂由10%-20%的奶粉、1%-3%的甘油、1%-2%的维生素C、0.5%-1%的谷氨酸或甘氨酸、5%的蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成，冻干保护剂与菌体离心沉淀物在无菌条件下均匀混合，在0℃-10℃温度下，进行6-12小时的冻干前预冷处理，然后真空冷冻干燥。

2、根据权利要求1所述的乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：在进行发酵处理之前先对乳酸杆菌菌液进行紫外线诱变，诱变条件为：15-25W紫外线灯，菌株悬浮液距紫外光源30厘米，照射2分钟，得到诱变菌株。

3、根据权利要求1、2所述的乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：在发酵过程中补加乳糖，补加量为消耗的氢氧化钠的3-5倍。

4、根据权利要求1、2所述的乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：采用D301型树脂吸附发酵过程中产生的乳酸钠，同时添加10-15%氢氧化钠溶液或氨水作为中和剂，控制pH值恒定在5.5-6.0，将膜过滤装置与发酵罐串联对发酵过程中的发酵液进行过滤处理，并以流加法补充增菌培养液。

5、根据权利要求3所述的乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：采用D301型树脂吸附发酵过程中产生的乳酸钠，同时添加10-15%氢氧化钠溶液或氨水作为中和剂，控制pH值恒定在5.5-6.0，将膜过滤装置与发酵罐串联对发酵过程中的发酵液进行过滤处理，并以流加法补充增菌培养液。

6、根据权利要求1、2所述的乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：在离心处理的发酵液中，添加与发酵液等重量的浓度为10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液。

7、根据权利要求3所述的乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：在离心处理的发酵液中，添加与发酵液等重量的浓度为10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液。

8、根据权利要求4所述的乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：在离心处理的发酵液中，添加与发酵液等重量的浓度为10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液。

9、根据权利要求5所述的乳酸杆菌干粉制品的制作方法，其特征是：在离心处理的发酵液中，添加与发酵液等重量的浓度为10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液。

乳酸杆菌干粉制品的制作方法

(一) 技术领域

本发明涉及的是一种发酵剂的制作方法，具体地说是一种用于酸奶制作的发酵剂的制作方法。

(二) 背景技术

发酵乳制品的传统工艺是采用一部分发酵乳制品作鲜奶的发酵剂，以少量高质量的发酵乳制品生产为代表的天然菌株目前仍然应用于作坊式生产中，例如，保加利亚的‘Podkvasa’就是原始菌株的最好来源 (Korolev 和 Kondratenko, 1978)。自天然发酵以后，将微生物从天然栖息地分离出来，通过培养、增殖以及混合具有不同生理和代谢特征的菌种而获得不同的发酵乳制品的发酵剂。这种发酵剂就可以用于发酵乳制品工业化生产之中，是形成标准化发酵乳制品的前提。性状优良的发酵剂是保证发酵乳产品质量稳定和高品质的关键因素。Grigoroff 在 1905 年首次对酸奶细菌学的研究，标志着人们利用自然环境中的“天然乳酸菌”的时代的结束。其中，Orla-Jensen 在 1919 (Brian, 2001) 的研究奠定了发酵剂技术的基础，并在菌种的分离、鉴定和稳定性方面做了许多改进性的工作。19 世纪末，丹麦的汉森 (Chr. Hansen) 实验室首先制备出了商品化的发酵剂。

乳制品发酵剂可分为两类，一类是成分、种属特征和噬菌体敏感性未知的发酵剂，可按要求再生，如开菲尔粒 (Kefir Grain)；另一类是已知微生物的纯发酵剂，通过纯菌种得以保存，后者为发酵乳制品的主要发酵剂。目前生产酸奶等乳制品的发酵剂使用量为原料乳的 3%-5%，用量大需要连续扩繁几代，期间工作繁杂易污染。用本发明技术生产的保加利亚杆菌 5.4×10^{11} CFU/g，取 0.002%-0.004% 与嗜热链球菌配合使用即可满足发酵乳生产的需求，达到直接使用目的。

(三) 发明内容

本发明的目的在于提供一种活菌含量高、用量小、发酵效果好的乳酸杆菌干粉制品的制作方法。本发明的目的是这样实现的：从商业酸奶或自然发酵食品中，分离出乳酸杆菌菌株；将菌株接种到由 5%-12% 的脱脂乳粉，4%-6% 的胰蛋白酶水解血清粉，3%-6% 的番茄汁、3%-6% 的麦芽糖、1%-3% 的乳糖、0.5%-0.7% 的酵母膏或粉、40-80 毫克/公斤的甲酸和余量的水组成的增菌培养基中，在发酵罐中控制温度在 41.5-43.5℃、用 10%-15% 的氢氧化钠中和恒定发酵液 pH 值在 5.6-6.0，发酵培养 4.0-4.7 小时；发酵液在 0℃-20℃，转数为 6000-15000 转/分钟的条件离心处理，得到离心沉淀物；按离心沉淀物重量的 1-2 倍添加冻干保护剂，冻干保护剂由 10%-20% 的奶粉、1%-3% 的甘油、1%-2% 的维生素 C、0.5%-1% 的谷氨酸或甘氨酸、5% 的蔗糖、1% 的海藻糖和余量的水组成。冻干保护剂与菌体离心沉淀物在无菌条件下均匀混合；在 0℃-10℃ 温度下，进行 6-12 小时的冻干前预冷处理，然后真空冷冻干燥。本发明还可以包括如下特征：1、在进行发酵处理之前先对乳酸杆菌菌株进行紫外线诱变，诱变条件为：15-25W 紫外线灯，菌株悬浮液距紫外光源 30 厘米，照射 2 分钟。2、在发酵过程中补加乳糖，补加量为消耗的氢氧化钠的 3-5 倍。3、采用 D301 型树脂吸附发酵过程中产生的乳酸钠，同时添加 10-15% 氢氧化钠溶液或氨水作为中和剂，控制 PH 值恒定在 5.5-6.0，将膜过滤装置与发酵罐串联对发酵过程中的发酵液进行过滤处理，同时补加增菌液。4、在离心处理的发酵液中，添加与发酵液等重量的浓度为 10% 的柠檬酸钠或磷酸钠溶液。

发酵乳制品生产过程中，发酵剂质量是至关重要的，而发酵剂菌株的特性起着决定作用，为了得到产酸能力强、粘度高、风味好的菌株，我们从商业酸奶和自然

发酵食品,进行乳酸杆菌菌株分离。筛选出了增菌培养基、培养条件。确定了菌株选育技术。培育出的菌株具有优良的产酸、产粘、产香性能。符合直投式酸奶发酵剂生产的工艺。为了使本研究达到可开发目的,从降低发酵剂成本、提高活力、直接投入使用目标入手,采用了正交设计优选增菌培养基配方,并采用 D-最优二次饱和设计优化发酵过程的控制条件、培养时间,使最终发酵菌数提高 10 倍以上。同时用大量实验研究了培养过程中培养基的营养物质及代谢产物对菌体生长的影响,确定在发酵过程中乳糖的消耗、产生的乳酸、多肽均具有抑制菌体生长作用。为此,研究了补加乳糖;采用具有特异吸附乳酸(或钠盐)的 D301 型树脂吸附发酵过程中产生的乳酸钠,同时配合缓冲溶液或中和剂;将过滤装置与发酵罐串联对发酵过程中的发酵液进行超滤处理,并补加增菌培养液。为了便于贮藏、邮寄,采用离心处理发酵液,同时添加与发酵液等重的 10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液,以除去过剩的蛋白质。根据实验要求采用二次旋转正交组合设计优化发酵剂菌种冻干保护剂配方。经过真空冻干得到的保加利亚杆菌粉状物含活菌数在 5.4×10^{11} CFU/g,与乳酸球菌配合以 0.002%-0.004%的量接种到灭菌脱脂乳和鲜牛奶中,经 3.5 小时发酵(41-43℃),乳凝固并产酸 70 °T,组织状态、风味良好,可以作为优质的直投式发酵剂。

本发明的方法可以适合于保加利亚杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌等乳酸杆菌。

(四) 具体实施方案

下面举例对本发明作更详细的描述:

实施例一:

从商业酸奶或自然发酵食品中,分离出乳酸杆菌菌株;将菌株接种到由 5%-6%的脱脂乳粉,4%-6%的胰蛋白酶水解乳清粉,3%-6%的番茄汁、3%-6%的麦芽糖、1%-3%的乳糖、0.5%-0.7%的酵母膏或粉、40-80 毫克/公斤的甲酸和余量的水组成的增菌培养基中,在发酵过程中控制温度 41.5-43.5℃、用 15%的氢氧化钠中和恒定发酵液 pH 值在 5.6-6.0,发酵培养 4.0-4.7 小时后,添加与发酵液等重量的浓度为 10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液,在 0℃-20℃,转数为 6000-15000 转/分钟条件下离心处理,得到离心沉淀物为浓缩菌液;按离心沉淀物重量的 1-2 倍添加冻干保护剂,冻干保护剂由 10%-20%的奶粉、1%-3%的甘油、1%-2%的维生素 C、0.5%-1%的谷氨酸或甘氨酸、5%的蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成;冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合,在 0℃-10℃温度下,进行 6-12 小时的冻干前预冷处理,经真空冷冻干燥制成产品。

实施例二:

在实施例一的基础上,在进行发酵处理之前先对保加利亚杆菌菌株进行紫外线诱变,诱变条件为:15-25W 紫外线灯,菌株悬浮液距紫外光源 30 厘米,照射 2 分钟。选育出的菌株接种到由 5%-6%的脱脂乳粉,4%-6%的胰蛋白酶水解乳清粉,3%-6%的番茄汁、3%-6%的麦芽糖、1%-3%的乳糖、0.5%-0.7%的酵母膏或粉、40-80 毫克/公斤的甲酸和余量的水组成的增菌培养基中,在发酵过程中控制温度 41.5-43.5℃、用 10%-15%的氢氧化钠中和恒定发酵液 pH 值在 5.6-6.0,发酵培养 4.0-4.7 小时后,添加与发酵液等重量的浓度为 10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液。在 0℃-20℃,转数为 6000-15000 转/分钟条件下离心处理,得到离心沉淀物为浓缩菌液;按离心沉淀物重量的 1-2 倍添加冻干保护剂,冻干保护剂由 10%-20%的奶粉、1%-3%的甘油、1%-2%的维生素 C、0.5%-1%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成;冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合,在 0℃-10℃温度下,进行 6-12 小时的冻干前预冷处理,经真空冷冻干燥制成产品。

实施例三:

在实施例一和实施例二的基础上,在发酵过程中补加乳糖,补加量为消耗的氢

氧化钠的 3-5 倍。在发酵过程中控制温度 41.5-43.5℃、用 15%的氢氧化钠中和恒定发酵液 pH 值在 5.6-6.0，发酵培养 4.0-4.7 小时后，在 0℃-20℃，转数为 6000-15000 转/分钟的条件离心处理，得到离心沉淀物为浓缩菌液；按离心沉淀物重量的 1-2 倍添加冻干保护剂，冻干保护剂由 10%-20%的奶粉、1%-3%的甘油、1%-2%的维生素 C、0.5%-1%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成；冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合，在 0℃-10℃温度下，进行 6-12 小时的冻干前预冷处理，经真空冷冻干燥制成产品。

实施例四：

在实施例一至三的基础上，采用 D301 型树脂吸附发酵过程中产生的乳酸钠，同时添加 10-15%氢氧化钠溶液或氨水作为中和剂，控制 pH 值恒定在 5.5-6.0。发酵培养 4.0-4.7 小时后，在离心处理的发酵液中，添加与发酵液等重量的浓度为 10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液，在 0℃-20℃转数为 6000-15000 转/分钟的条件离心处理，得到离心沉淀物为浓缩菌液；按离心沉淀物重量的 1-2 倍添加冻干保护剂，冻干保护剂由 10%-20%的奶粉、1%-3%的甘油、1%-2%的维生素 C、0.5%-1%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成；冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合，在 0℃-10℃温度下，进行 6-12 小时的冻干前预冷处理，经真空冷冻干燥制成产品。

实施例五：

在实施例一至三的基础上，在发酵过程中补加乳糖，补加量为消耗的氢氧化钠的 4 倍，控制 pH 值恒定在 5.5-6.0。发酵培养 4.0-4.7 小时后，添加与发酵液等重量的浓度为 10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液，在 0℃-20℃转数为 6000-15000 转/分钟的条件离心处理，得到离心沉淀物为浓缩菌液；按离心沉淀物重量的 1-2 倍添加冻干保护剂，冻干保护剂由 10%-20%的奶粉、1%-3%的甘油、1%-2%的维生素 C、0.5%-1%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成；冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合，在 0℃-10℃温度下，进行 6-12 小时的冻干前预冷处理，经真空冷冻干燥制成产品。

实施例六：

在实施例一至三的基础上，将膜过滤装置与发酵罐串联对发酵过程中的发酵液进行过滤处理，同时以流加法补充增菌培养基。发酵培养 4.0-4.7 小时后，在离心处理的发酵液中，添加与发酵液等重量的浓度为 10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液，在 0℃-20℃转数为 6000-15000 转/分钟的条件离心处理，得到离心沉淀物为浓缩菌液；按离心沉淀物重量的 1-2 倍添加冻干保护剂，冻干保护剂由 10%-20%的奶粉、1%-3%的甘油、1%-2%的维生素 C、0.5%-1%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成；冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合，在 0℃-10℃温度下，进行 6-12 小时的冻干前预冷处理，经真空冷冻干燥制成产品。

实施例七：

从商业酸奶或自然发酵食品中，分离出乳酸杆菌菌株。乳酸杆菌菌株可以包括保加利亚杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌等。将经活化的上述菌株按增菌培养液重量 1%-2%的比例接种到由 10%的脱脂乳粉，4%的胰蛋白酶水解乳清粉，3%的番茄汁、3%的麦芽糖、1%乳糖、0.5%的酵母膏或粉、40 毫克/公斤的甲酸和余量的水组成的增菌培养基中，在发酵罐中控制温度 41.5℃、用 15%的氢氧化钠中和恒定发酵液 pH 值在 5.7，发酵培养 4.0-4.7 小时。在发酵过程中补加乳糖，补加量为消耗的氢氧化钠的 4 倍。采用 D301 型树脂吸附发酵过程中产生的乳酸钠。在发酵液中，添加与发酵液等重量的浓度为 10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液，在 0℃-20℃的温度下，用转数为 6000-15000 转/分钟的高速管式离心机进行连续离心处理，或采用普通离心机间歇式

处理得到离心沉淀物。采用高速管式分离机,可以使得离心处理过程连续运行,提高分离效率。在0℃-10℃温度下,对离心沉淀物进行6-12小时的冻干前预冷处理;按离心沉淀物相等重量添加冻干保护剂,冻干保护剂由10%奶粉、1%的甘油、1%的维生素C、0.5%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成,冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合制成产品。

实施例八:

从商业酸奶或自然发酵食品中,分离出乳酸杆菌菌株。乳酸杆菌菌株可以包括保加利亚杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌等。将上述菌株活化后以1%-2%接种到由10%的脱脂乳粉,6%的胰蛋白酶水解乳清粉,5%的番茄汁、5%的麦芽糖、3%乳糖、0.7%的酵母膏或粉、80毫克/公斤的甲酸和余量的水组成的增菌培养基中,在发酵罐中控制温度43.5℃、用10%-15%的氢氧化钠中和恒定发酵液pH值在5.9,发酵培养4.0-4.7小时。在发酵液中,添加与发酵液等重量的浓度为10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液,在0℃-20℃的温度下,用转数为6000-15000转/分钟的高速管式分离机进行离心处理,得到离心沉淀物;也可以选用普通溶剂离心机进行离心处理。采用高速管式分离机,可以使得离心处理过程连续运行,提高分离效率。按离心沉淀物相等重量添加冻干保护剂,冻干保护剂由20%奶粉、3%的甘油、2%的维生素C、1%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成,冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合,在0℃-6℃温度下,对离心沉淀物进行6-12小时的冻干前预冷处理,而后经真空冻干制成干粉状产品。

实施例九:

从商业酸奶或自然发酵食品中,分离出保加利亚杆菌菌株。将上述菌株活化后以1%-2%接种到由10%的脱脂乳粉,6%的胰蛋白酶水解乳清粉,5%的番茄汁、5%的麦芽糖、3%乳糖、0.7%的酵母膏或粉、80毫克/公斤的甲酸和余量的水组成的增菌培养基中,在发酵罐中控制温度43.5℃、用10%-15%的氢氧化钠中和恒定发酵液pH值在5.8-5.9,发酵培养4.0-4.7小时。在发酵液中,添加与发酵液等重量的浓度为10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液,在0℃-20℃的温度下,用转数为6000-15000转/分钟的高速管式分离机进行离心处理,得到离心沉淀物;也可以选用普通溶剂离心机进行离心处理。采用高速管式分离机,可以使得离心处理过程连续运行,提高分离效率。按离心沉淀物相等重量添加冻干保护剂,冻干保护剂由20%奶粉、3%的甘油、2%的维生素C、1%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成,冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合,在0℃-6℃温度下,对离心沉淀物进行6-12小时的冻干前预冷处理,而后经真空冻干制成干粉状产品。

实施例十:

从商业酸奶或自然发酵食品中,分离出保加利亚杆菌菌株。将上述菌株活化后以1%-2%接种到由10%的脱脂乳粉,6%的胰蛋白酶水解乳清粉,5%的番茄汁、5%的麦芽糖、3%乳糖、0.7%的酵母膏或粉、80毫克/公斤的甲酸和余量的水组成的增菌培养基中,在发酵罐中控制温度43.5℃、用10%-15%的氢氧化钠中和恒定发酵液pH值在5.9。在发酵过程中将膜过滤装置与发酵罐串联对发酵过程中的发酵液进行过滤处理,同时以流加法补充增菌培养基。发酵培养4.0-4.7小时。在发酵液中,添加与发酵液等重量的浓度为10%的柠檬酸钠或磷酸钠溶液,在0℃-20℃的温度下,用转数为6000-15000转/分钟的高速管式分离机进行离心处理,得到离心沉淀物;也可以选用普通溶剂离心机进行离心处理。采用高速管式分离机,可以使得离心处理过程连续运行,提高分离效率。按离心沉淀物相等重量添加冻干保护剂,冻干保护剂由20%奶粉、3%的甘油、2%的维生素C、1%的谷氨酸或甘氨酸、5%蔗糖、1%的海藻糖和余量的水组成,冻干保护剂与菌浓缩液在无菌条件下均匀混合,在0℃-6℃温

度下，对离心沉淀物进行6-12小时的冻干前预冷处理，而后经真空冻干制成干粉状产品。