



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102318806 B

(45) 授权公告日 2012. 11. 21

(21) 申请号 201110229316. 4

(22) 申请日 2011. 08. 11

(73) 专利权人 黑龙江顺康蔬菜加工有限公司

地址 152100 黑龙江省望奎县经济技术开发
区

(72) 发明人 翟清斌 田伟成

(51) Int. Cl.

A23L 1/212 (2006. 01)

C12N 1/20 (2006. 01)

C12R 1/225 (2006. 01)

C12R 1/245 (2006. 01)

C12R 1/46 (2006. 01)

C12R 1/01 (2006. 01)

审查员 王菲

权利要求书 2 页 说明书 6 页

(54) 发明名称

一种益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备方法

(57) 摘要

本发明提供了一种益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备方法。以鼠李糖乳杆菌、类干酪乳杆菌类干酪亚种、嗜热链球菌、乳酸乳球菌乳脂亚种四株益生菌为出发菌株,经扩大培养、制备粉末冻干菌种、冻干粉的复配,获得复合益生菌冻干粉。将洗净、去籽后的南瓜与洗净的胡萝卜按 3 : 1 的重量比取料,添加混合物料等重量的饮用水于胶体磨磨浆,配以 5% 白砂糖后,经灭菌、冷却、按 0. 01% 接种复合益生菌冻干粉,发酵 48 小时,再经离心脱水、海藻酸钠和亚麻籽胶壁材包埋,冷冻干燥后获得益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉。

1. 一种益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备方法,其特征是按下述方法制备:

1). 益生菌的选择及培养基的制备

A 菌——鼠李糖乳杆菌 CICC6160 (*Lactobacillus rhamnosus*), 培养基为: 蛋白胨 2g, 酵母提取物 1g, 大豆蛋白胨 1g, Difco 蛋白质酶解物 No. 3 1g, 5% 柠檬酸铁 2ml, 人工海水 700ml, 蒸馏水 300ml, pH 7.5, 经 121°C 灭菌 20 分钟冷却至 35°C 备用;

B 菌——类干酪乳杆菌类干酪亚种 CICC6113 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*), 培养基为: 酪蛋白胨 10g/L, 肉汤提取物 10g/L, 酵母提取物 5g/L, 葡萄糖 20g/L, 吐温 80 1g/L, K_2HPO_4 2g/L, 醋酸钠 5g/L, 柠檬酸二铵 2g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g/L, $MnSO_4 \cdot xH_2O$ 0.05g/L, pH 6.2-6.5, 经 121°C 灭菌 20 分钟冷却至 35°C 备用;

C 菌——嗜热链球菌 CICC22561 (*Streptococcus thermophilus*), 培养基为: 酵母浸膏 7.5 克, 蛋白胨 7.5 克, 葡萄糖 10 克, 磷酸二氢钾 2 克, 番茄汁 100 毫升, 吐温 80 0.5 毫升, 水 900 毫升, 琼脂 1.5 ~ 2.0%, pH7.0, 经 121°C 灭菌 20 分钟冷却至 35°C 备用;

D 菌——乳酸乳球菌乳脂亚种 CICC20408 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), 培养基为: 酵母浸膏 7.5 克, 蛋白胨 7.5 克, 葡萄糖 10 克, 磷酸二氢钾 2 克, 番茄汁 100 毫升, 吐温 80 0.5 毫升, 水 900 毫升, 琼脂 1.5 ~ 2.0%, pH7.0, 经 121°C 灭菌 20 分钟冷却至 35°C 备用;

2) 原菌种活化

分别量取 0.9% 的生理盐水 10ml 于 4 只试管内, 经 121°C 灭菌 20 分钟冷却至 30°C, 将 4 株益生菌安瓶内的冻干菌粉末在无菌状态下全部倒入 0.9% 的生理盐水中, 震荡使其溶解, 在 30°C 恒温箱中静止活化 30 分钟, 备用;

3). 母发酵剂的制备

分别量取 4 株益生菌培养基各 200ml 于 4 只 500ml 三角瓶内, 121°C 灭菌 20 分钟冷却至 30°C, 按培养基体积的 10% 接种步骤 2) 中已经活化的菌种, 在 30°C 厌氧箱内静止培养 24 小时, 作为母发酵剂;

4). 生产发酵剂的制备

首先配制质量百分比浓度为 10% 的脱脂奶乳浊液, 分装于四只 500ml 三角瓶内, 每瓶 200ml, 121°C 灭菌 20 分钟冷却至 30°C, 分别按 2% 体积比例接种母发酵剂, 30°C 厌氧培养 30—36 小时, 检测 4 株益生菌发酵液活菌数, 各发酵液活菌数 $\geq 10^9$ 个 /ml, 视同为发酵成熟, 如果活菌数 $< 10^9$ 个 /ml, 继续培养, 直至达到 10^9 个 /ml;

5). 粉末冻干菌种的制备

将成熟的生产发酵剂在无菌条件下导入玻璃安瓶中, 液面高度低于 1cm, 加盖瓶塞后放入 -30°C 冰柜速冻, 冻结后将玻璃安瓶用托盘乘装, 放入冻干机进行冷冻干燥;

6). 复合益生菌冻干粉的复配

按冻干菌粉末重量, 取 A 菌粉末 2-4 份, B 菌粉末 3-5 份, C 菌粉末 1-2 份, D 菌粉末 1-3 份, 充分混匀后用于发酵南瓜、胡萝卜混合浆料, 加菌量为发酵物料固形物重量的 0.01%;

7). 发酵原料的制备

将洗净、去籽后的南瓜与洗净的胡萝卜按 3 : 1 的重量比取料, 添加混合物料等重量的饮用水于胶体磨磨浆;

8). 配料

按混合浆料重量的 5% 添加白砂糖, 边加热边搅拌, 使白砂糖充分溶解;

9). 灭菌

将配好的浆料打入发酵罐, 蒸汽加热至 121℃ 灭菌, 保持 20 分钟, 然后冷却至 30℃;

10). 复合益生菌发酵

按该浆料固形物重量的 0.01% 添加 6) 步骤制备的复合益生菌冻干粉, 充分搅拌均匀后, 30℃ 保温发酵 48 小时;

11). 离心脱水

将发酵好的浆料 10000 转 / 分钟离心 20 分钟, 弃掉上清液, 留离心沉淀物待用;

12). 壁材包埋

取 11) 步骤制备的离心沉淀物 100 克, 添加 2g 海藻酸钠和 1.5g 亚麻籽胶, 200r/min 进行搅拌 20min;

13) 冷冻干燥

将 12) 步骤处理后的物料, 摇摆机造粒后进行冷冻干燥, 获得益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉。

一种益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备方法

(一) 技术领域

[0001] 本发明涉及一种益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备方法,具体涉及一种采用复合益生菌发酵南瓜和胡萝卜混合浆料后,经壁材包埋处理、冷冻干燥而制得的南瓜、胡萝卜蔬菜粉,属生物工程领域。

(二) 背景技术

[0002] 随着现代生活节奏的加快、工作压力的加大,人类免疫系统功能显著降低,导致各类疾病的发病率呈上升趋势。通过提高机体免疫力来降低疾病的发病率,是预防和治疗疾病的有效途径之一。

[0003] 益生菌胞外多糖是干酪乳杆菌在生长代谢过程中分泌到细胞壁外常渗于培养基的一类糖类化合物,有的依附于微生物细胞壁形成荚膜,称为荚膜多糖;有的进入培养基形成粘液,称为粘液多糖,它们都是微生物适应环境的产物。胞外多糖所具有生物活性如:调节胃肠道菌群组成、预防和治疗各种腹泻、免疫调节、抗高血压、抗氧化性降低血清胆固醇,抗肿瘤活性等生理功能。也正是因为益生菌的这些有益的保健作用,掀起了广大学者对其生理功能,尤其是抗肿瘤活性研究的浓厚兴趣。

[0004] 目前除了对于传统的益生菌发酵食品:如酸乳等进一步提高其产品质量、增加花色品种外,积极拓宽可用于益生菌发酵的原料范围,力求将原材料的营养、保健成分与益生菌的独特保健功能相结合,也成为研究的热点。但目前上市的益生菌发酵食品中的益生菌活力衰减速度很快,尤其在胃肠中受到胃液和肠液的侵蚀,益生菌活力几乎完全丧失,起不到应有的保健功能。那么如何保护益生菌活性,怎样将待发酵原料与益生菌的发酵特性相结合,开发出维护人们身体健康的日常食品,是食品领域亟待解决的重要问题。

[0005] 南瓜果肉营养成分丰富而且全面,含有多种氨基酸,包括8种必须氨基酸和儿童必须的组氨酸,另外,还含有葫芦巴碱、戊聚糖、果胶、甘露醇、可溶性纤维素、 β -胡萝卜素。 β -胡萝卜素分子在人体内可转化成2分子的维生素A,维生素A对保护视力,预防眼疾有重要作用,还具有减肥美容之功效。 β -胡萝卜素还是一种有效的生物抗氧化剂,它能清除体内自由基,具有较高的免疫能力,可阻断致癌物质亚硝胺在体内合成,抑制癌细胞增生,阻止肿瘤生成,而且南瓜中含有的某些酶,也能催化分解亚硝胺和食品中某些农药残留的有毒物。南瓜中含有的甘露醇,有通大便的作用,可以减少粪便中的毒素对人体的危害,有防止结肠癌发生的功效。因此,南瓜已被公认为“防癌食物”。

[0006] 本项发明以南瓜和胡萝卜为原料,经过多种益生菌复合菌种共同发酵,再经过益生菌保护壁材的适当包埋,使其微胶囊化,冷冻干燥后制得一种益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉。

(三) 发明内容

[0007] 本发明目的在于提供一种益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备方法。

[0008] 本发明的目的是这样实现的:本发明中所涉及的百分比除另有注明之外为重量

比,本发明的产品采用这样的方法来制备的:

[0009] 1. 益生菌的选择及培养基的制备

[0010] A 菌——鼠李糖乳杆菌 CICC6160 (*Lactobacillus rhamnosus*), 培养基为: 蛋白胨 2g, 酵母提取物 1g, 大豆蛋白胨 1g, 蛋白质酶解物 No. 3 (Difco) 1g, 5% 柠檬酸铁 2ml, 人工海水 700ml, 蒸馏水 300ml, pH 7.5, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0011] B 菌——类干酪乳杆菌类干酪亚种 CICC6113 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*), 培养基为: 酪蛋白胨 10g/L, 肉汤提取物 10g/L, 酵母提取物 5g/L, 葡萄糖 20g/L, 吐温 80 1g/L, K_2HPO_4 2g/L, 醋酸钠 5g/L, 柠檬酸二铵 2g/L, $MgSO_4 \times 7H_2O$ 0.2g/L, $MnSO_4 \times H_2O$ 0.05g/L, pH 6.2-6.5, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0012] C 菌——嗜热链球菌 CICC22561 (*Streptococcus thermophilus*) 培养基为: 酵母浸膏 7.5 克, 蛋白胨 7.5 克, 葡萄糖 10 克, 磷酸二氢钾 2 克, 番茄汁 100 毫升, 吐温 800.5 毫升, 水 900 毫升, 琼脂 1.5 ~ 2.0%, pH7.0, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0013] D 菌——乳酸乳球菌乳脂亚种 CICC20408 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) 培养基为: 酵母浸膏 7.5 克, 蛋白胨 7.5 克, 葡萄糖 10 克, 磷酸二氢钾 2 克, 番茄汁 100 毫升, 吐温 800.5 毫升, 水 900 毫升, 琼脂 1.5 ~ 2.0%, pH7.0, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0014] 2. 复合益生菌冻干粉的制备过程

[0015] 2.1 原菌种活化

[0016] 分别量取 0.9% 的生理盐水 10ml 于 4 只试管内, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 30℃, 将 4 株益生菌安瓶内的冻干菌粉末在无菌状态下全部倒入 0.9% 的生理盐水中, 震荡使其溶解, 在 30℃ 恒温箱中静止活化 30 分钟, 备用。

[0017] 2.2 益生菌扩大培养

[0018] 2.2.1 母发酵剂的制备

[0019] 分别量取 4 株益生菌培养基各 200ml 于 4 只 500ml 三角瓶内, 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 30℃, 按培养基体积的 10% 接种 2.1 步骤中已经活化的菌种, 在 30℃ 厌氧箱内静止培养 24 小时, 作为母发酵剂。

[0020] 2.2.2 生产发酵剂的制备

[0021] 首先配制质量百分比浓度为 10% 的脱脂奶乳浊液, 分装于四只 500ml 三角瓶内, 每瓶 200ml, 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 30℃, 分别按 2% 体积比例接种母发酵剂, 30℃ 厌氧培养 30—36 小时, 检测 4 株益生菌发酵液活菌数, 各发酵液活菌数 $\geq 10^9$ 个 /ml, 视同为发酵成熟, 如果活菌数 $< 10^9$ 个 /ml, 继续培养, 直至达到 10^9 个 /ml。

[0022] 2.3 粉末冻干菌种的制备

[0023] 将成熟的生产发酵剂在无菌条件下导入玻璃安瓶中, 液面高度低于 1cm, 加盖瓶塞后放入 -30℃ 冰柜速冻, 冻结后将玻璃安瓶用托盘乘装, 放入冻干机进行冷冻干燥。

[0024] 2.4 复合益生菌冻干粉的复配

[0025] 按冻干菌粉末重量, 取 A 菌粉末 2-4 份, B 菌粉末 3-5 份, C 菌粉末 1-2 份, D 菌粉末 1-3 份, 充分混匀后用于发酵南瓜、胡萝卜混合浆料, 加菌量为发酵物料固形物重量的 0.01%。

[0026] 3. 益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备

[0027] 3.1 发酵原料的制备

[0028] 将洗净、去籽后的南瓜与洗净的胡萝卜按 3 : 1 的重量比取料,添加混合物料等重量的饮用水于胶体磨磨浆。

[0029] 3.2 配料

[0030] 按混合浆料重量的 5% 添加白砂糖,边加热边搅拌,使白砂糖充分溶解。

[0031] 3.3 灭菌

[0032] 将配好的浆料打入发酵罐,蒸汽加热至 121℃ 灭菌,保持 20 分钟,然后冷却至 30℃。

[0033] 3.4 复合益生菌发酵

[0034] 按该浆料固形物重量的 0.01% 添加 2.4 步骤制备的复合益生菌冻干粉,充分搅拌均匀后,30℃ 保温发酵 48 小时。

[0035] 3.5 离心脱水

[0036] 将发酵好的浆料 10000 转 / 分钟离心 20 分钟,弃掉上清液,留离心沉淀物待用。

[0037] 3.6 壁材包埋

[0038] 取 3.5 步骤制备的离心沉淀物 100 克,添加 2g 海藻酸钠和 1.5g 亚麻籽胶,200r/min 进行搅拌 20min。

[0039] 3.7 冷冻干燥

[0040] 将 3.6 步骤处理后的物料,摇摆机造粒后进行冷冻干燥,获得益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉。

(四) 具体实施方式

[0041] 下面结合具体实施例对本发明作更详细的描述:

[0042] 实施例一:

[0043] 本发明采用的 4 株益生菌均采购于中国工业微生物菌种保藏中心,分别为:鼠李糖乳杆菌 CICC6160,类干酪乳杆菌类干酪亚种 CICC6113,嗜热链球菌 CICC22561,乳酸乳球菌乳脂亚种 CICC20408,本发明中将上述菌株简称为 A 菌、B 菌、C 菌、D 菌。

[0044] 1. 益生菌的选择及培养基的制备

[0045] A 菌——鼠李糖乳杆菌 CICC6160 (*Lactobacillus rhamnosus*),培养基为:蛋白胨 2g,酵母提取物 1g,大豆蛋白胨 1g,蛋白酶解物 No. 3 (Difco) 1g,5% 柠檬酸铁 2ml,人工海水 700ml,蒸馏水 300ml, pH 7.5,经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0046] B 菌——类干酪乳杆菌类干酪亚种 CICC6113 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*),培养基为:酪蛋白胨 10g/L,肉汤提取物 10g/L,酵母提取物 5g/L,葡萄糖 20g/L,吐温 80 1g/L, K_2HPO_4 2g/L,醋酸钠 5g/L,柠檬酸二铵 2g/L, $MgSO_4 \times 7H_2O$ 0.2g/L, $MnSO_4 \times H_2O$ 0.05g/L, pH 6.2-6.5,经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0047] C 菌——嗜热链球菌 CICC22561 (*Streptococcus thermophilus*) 培养基为:酵母浸膏 7.5 克,蛋白胨 7.5 克,葡萄糖 10 克,磷酸二氢钾 2 克,番茄汁 100 毫升,吐温 800.5 毫升,水 900 毫升,琼脂 1.5 ~ 2.0%, pH7.0,经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0048] D 菌——乳酸乳球菌乳脂亚种 CICC20408 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) 培养基为:酵母浸膏 7.5 克,蛋白胨 7.5 克,葡萄糖 10 克,磷酸二氢钾 2 克,番茄汁 100 毫

升,吐温 80 0.5 毫升,水 900 毫升,琼脂 1.5 ~ 2.0%, pH7.0,经 121℃灭菌 20 分钟冷却至 35℃备用。

[0049] 2. 复合益生菌冻干粉的制备过程

[0050] 2.1 原菌种活化

[0051] 分别量取 0.9%的生理盐水 10ml 于 4 只试管内,经 121℃灭菌 20 分钟冷却至 30℃,将 4 株益生菌安瓶内的冻干菌粉末在无菌状态下全部倒入 0.9%的生理盐水中,震荡使其溶解,在 30℃恒温箱中静止活化 30 分钟,备用。

[0052] 2.2 益生菌扩大培养

[0053] 2.2.1 母发酵剂的制备

[0054] 分别量取 4 株益生菌培养基各 200ml 于 4 只 500ml 三角瓶内,121℃灭菌 20 分钟冷却至 30℃,按培养基体积的 10%接种 2.1 步骤中已经活化的菌种,在 30℃厌氧箱内静止培养 24 小时,作为母发酵剂。

[0055] 2.2.2 生产发酵剂的制备

[0056] 首先配制质量百分比浓度为 10%的脱脂奶乳浊液,分装于四只 500mL 三角瓶内,每瓶 200mL,121℃灭菌 20 分钟冷却至 30℃,分别按 2%体积比例接种母发酵剂,30℃厌氧培养 30——36 小时,检测 4 株益生菌发酵液活菌数,各发酵液活菌数 $\geq 10^9$ 个 /ml,视同为发酵成熟,如果活菌数 $< 10^9$ 个 /ml,继续培养,直至达到 10^9 个 /ml。

[0057] 2.3 粉末冻干菌种的制备

[0058] 将成熟的生产发酵剂在无菌条件下导入玻璃安瓶中,液面高度低于 1cm,加盖瓶塞后放入 -30℃冰柜速冻,冻结后将玻璃安瓶用托盘乘装,放入冻干机进行冷冻干燥。

[0059] 2.4 复合益生菌冻干粉的复配

[0060] 按冻干菌粉末重量,取 A 菌粉末 2 份,B 菌粉末 3 份,C 菌粉末 1 份,D 菌粉末 1 份,充分混匀后用于发酵南瓜、胡萝卜混合浆料,加菌量为发酵物料固形物重量的 0.01%。

[0061] 3. 益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备

[0062] 3.1 发酵原料的制备

[0063] 将洗净、去籽后的南瓜与洗净的胡萝卜按 3 : 1 的重量比取料,添加混合物料等重量的饮用水于胶体磨磨浆。

[0064] 3.2 配料

[0065] 按混合浆料重量的 5%添加白砂糖,边加热边搅拌,使白砂糖充分溶解。

[0066] 3.3 灭菌

[0067] 将配好的浆料打入发酵罐,蒸汽加热至 121℃灭菌,保持 20 分钟,然后冷却至 30℃。

[0068] 3.4 复合益生菌发酵

[0069] 按该浆料固形物重量的 0.01%添加 2.4 步骤制备的复合益生菌冻干粉,充分搅拌均匀后,30℃保温发酵 48 小时。

[0070] 3.5 离心脱水

[0071] 将发酵好的浆料 10000 转 / 分钟离心 20 分钟,弃掉上清液,留离心沉淀物待用。

[0072] 3.6 壁材包埋

[0073] 取 3.5 步骤制备的离心沉淀物 100 克,添加 2g 海藻酸钠和 1.5g 亚麻籽胶,200r/

min 进行搅拌 20min。

[0074] 3.7 冷冻干燥

[0075] 将 3.6 步骤处理后的物料, 摇摆机造粒后进行冷冻干燥, 获得益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉。

[0076] 实施例二:

[0077] 1. 益生菌的选择及培养基的制备

[0078] A 菌——鼠李糖乳杆菌 CICC6160 (*Lactobacillus rhamnosus*), 培养基为: 蛋白胨 2g, 酵母提取物 1g, 大豆蛋白胨 1g, 蛋白质酶解物 No. 3 (Difco) 1g, 5% 柠檬酸铁 2ml, 人工海水 700ml, 蒸馏水 300ml, pH 7.5, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0079] B 菌——类干酪乳杆菌类干酪亚种 CICC6113 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*), 培养基为: 酪蛋白胨 10g/L, 肉汤提取物 10g/L, 酵母提取物 5g/L, 葡萄糖 20g/L, 吐温 80 1g/L, K_2HPO_4 2g/L, 醋酸钠 5g/L, 柠檬酸二铵 2g/L, $MgSO_4 \times 7H_2O$ 0.2g/L, $MnSO_4 \times H_2O$ 0.05g/L, pH 6.2-6.5, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0080] C 菌——嗜热链球菌 CICC22561 (*Streptococcus thermophilus*) 培养基为: 酵母浸膏 7.5 克, 蛋白胨 7.5 克, 葡萄糖 10 克, 磷酸二氢钾 2 克, 番茄汁 100 毫升, 吐温 80 0.5 毫升, 水 900 毫升, 琼脂 1.5 ~ 2.0%, pH7.0, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0081] D 菌——乳酸乳球菌乳脂亚种 CICC20408 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) 培养基为: 酵母浸膏 7.5 克, 蛋白胨 7.5 克, 葡萄糖 10 克, 磷酸二氢钾 2 克, 番茄汁 100 毫升, 吐温 800.5 毫升, 水 900 毫升, 琼脂 1.5 ~ 2.0%, pH7.0, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 35℃ 备用。

[0082] 2. 复合益生菌冻干粉的制备过程

[0083] 2.1 原菌种活化

[0084] 分别量取 0.9% 的生理盐水 10ml 于 4 只试管内, 经 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 30℃, 将 4 株益生菌安瓶内的冻干菌粉末在无菌状态下全部倒入 0.9% 的生理盐水中, 震荡使其溶解, 在 30℃ 恒温箱中静止活化 30 分钟, 备用。

[0085] 2.2 益生菌扩大培养

[0086] 2.2.1 母发酵剂的制备

[0087] 分别量取 4 株益生菌培养基各 200ml 于 4 只 500ml 三角瓶内, 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 30℃, 按培养基体积的 10% 接种 2.1 步骤中已经活化的菌种, 在 30℃ 厌氧箱内静止培养 24 小时, 作为母发酵剂。

[0088] 2.2.2 生产发酵剂的制备

[0089] 首先配制质量百分比浓度为 10% 的脱脂奶乳浊液, 分装于四只 500ml 三角瓶内, 每瓶 200ml, 121℃ 灭菌 20 分钟冷却至 30℃, 分别按 2% 体积比例接种母发酵剂, 30℃ 厌氧培养 30—36 小时, 检测 4 株益生菌发酵液活菌数, 各发酵液活菌数 $\geq 10^9$ 个 /ml, 视同为发酵成熟, 如果活菌数 $< 10^9$ 个 /ml, 继续培养, 直至达到 10^9 个 /ml。

[0090] 2.3 粉末冻干菌种的制备

[0091] 将成熟的生产发酵剂在无菌条件下导入玻璃安瓶中, 液面高度低于 1cm, 加盖瓶塞后放入 -30℃ 冰柜速冻, 冻结后将玻璃安瓶用托盘乘装, 放入冻干机进行冷冻干燥。

[0092] 2.4 复合益生菌冻干粉的复配

[0093] 按冻干菌粉末重量,取 A 菌粉末 4 份,B 菌粉末 5 份,C 菌粉末 2 份,D 菌粉末 3 份,充分混匀后用于发酵南瓜、胡萝卜混合浆料,加菌量为发酵物料固形物重量的 0.01%。

[0094] 3. 益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉的制备

[0095] 3.1 发酵原料的制备

[0096] 将洗净、去籽后的南瓜与洗净的胡萝卜按 3 : 1 的重量比取料,添加混合物料等重量的饮用水于胶体磨磨浆。

[0097] 3.2 配料

[0098] 按混合浆料重量的 5% 添加白砂糖,边加热边搅拌,使白砂糖充分溶解。

[0099] 3.3 灭菌

[0100] 将配好的浆料打入发酵罐,蒸汽加热至 121℃ 灭菌,保持 20 分钟,然后冷却至 30℃。

[0101] 3.4 复合益生菌发酵

[0102] 按该浆料固形物重量的 0.01% 添加 2.4 步骤制备的复合益生菌冻干粉,充分搅拌均匀后,30℃ 保温发酵 48 小时。

[0103] 3.5 离心脱水

[0104] 将发酵好的浆料 10000 转 / 分钟离心 20 分钟,弃掉上清液,留离心沉淀物待用。

[0105] 3.6 壁材包埋

[0106] 取 3.5 步骤制备的离心沉淀物 100 克,添加 2g 海藻酸钠和 1.5g 亚麻籽胶,200r/min 进行搅拌 20min。

[0107] 3.7 冷冻干燥

[0108] 将 3.6 步骤处理后的物料,摇摆机造粒后进行冷冻干燥,获得益生菌发酵南瓜、胡萝卜蔬菜粉。