



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1911118 B

(45) 授权公告日 2010.04.21

(21) 申请号 200610112456.2

(22) 申请日 2006.08.18

(73) 专利权人 中国农业大学

地址 100083 北京市海淀区清华东路 17 号

(72) 发明人 李博 任雅丽 籍保平 韩辉

(74) 专利代理机构 北京众合诚成知识产权代理有限公司 11246

代理人 胡长远

(51) Int. Cl.

A23L 3/44 (2006.01)

A23C 9/127 (2006.01)

(56) 对比文件

US 4702923 A, 1987.10.27, 全文.

CN 1063051 A, 1999.10.06, 全文.

KR 20040000146 A, 2004.01.03, 摘要.

CN 1507879 A, 2004.06.30, 全文.

张英华, 霍贵成, 郭鸽. 乳酸菌冷冻干燥技术研究进展. 东北农业大学学报 36. 2005, 36(6), 参见第 802 页第 2-6 段.

姜岩. 开菲尔粒增殖工艺及其发酵乳制品生理功能特殊性的研究. 东北农业大学硕士学位论文. 2001, 参见第 6 页 2.2.1.1 实验步骤第 3 段,

第 15 页表 2-3, 第 22 页第 1 段, 表 3-12.

刘振民

骆承序

. 乳酸菌高密度培养及浓缩型发酵剂研究. 东北农业大学硕士学位论文. 2002, 全文.

高莉莉

葛春美

韩俊华

张柏林. Kefir 奶的制作工艺及标准. 中国乳品工业 31 3. 2003, 31(3), 参见第 25 页第 1 段, 图 5.

高莉莉

葛春美

韩俊华

张柏林. Kefir 奶的制作工艺及标准. 中国乳品工业 31 3. 2003, 31(3), 参见第 25 页第 1 段, 图 5.

审查员 邓爱科

权利要求书 1 页 说明书 7 页

(54) 发明名称

一种开菲尔冻干菌粉及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明提供了一种开菲尔冻干菌粉及其制备方法和应用。所说的开菲尔冻干菌粉是将开菲尔粒和冻干保护剂混合后, 经过在一定温度下放置一段时间, 然后利用冷冻干燥设备进行冻干处理后, 再经粉碎就形成了开菲尔冻干菌粉。该开菲尔冻干菌粉解决了开菲尔粒通过传统的人工世代相传所带来的问题, 可以用于大规模的工业化生产, 而且保留了传统开菲尔粒的特性, 可作为直投式菌种用于开菲尔乳品加工, 也可以作为食品添加剂用于食品和饮料加工, 还可以作为微生态制剂用于和其他食品混合后服用。

CN 1911118 B

1. 一种开菲尔冻干菌粉,该开菲尔冻干菌粉可由下述方法制备获得:将开菲尔粒浸没在冻干保护剂中;然后在4~12℃放置120~150分钟,或者在37~45℃放置20~30分钟;再利用冷冻干燥设备将开菲尔粒和冻干保护剂的混合物冷冻干燥;然后将冻干的混合物粉碎,获得开菲尔冻干菌粉。

2. 权利要求1所述的开菲尔冻干菌粉的制备方法,包括下述顺序的步骤:将开菲尔粒浸没在冻干保护剂中;然后在4~12℃放置120~150分钟,或者在37~45℃放置20~30分钟;再利用冷冻干燥设备将开菲尔粒和冻干保护剂的混合物进行冷冻干燥;然后将冻干的混合物粉碎,获得开菲尔冻干菌粉。

3. 按照权利要求2所述的制备方法,其特征在于在冷冻干燥前将开菲尔粒和冻干保护剂的混合物在-20~-80℃预冻1~3小时。

4. 按照权利要求2或3所述的制备方法,其特征在于其所所述开菲尔粒可通过增殖方法获得,其增殖方法包括下述顺序的步骤:按照5~15%的重量百分比将作为母培养物的开菲尔粒接种到新鲜纯牛乳中,然后分别添加重量百分比为0.002~1.0%的氮源和0.001~0.005%的金属元素,并混合均匀;再在20~35℃培养15~28小时,然后过滤,得增殖的开菲尔粒。

5. 按照权利要求4所述的制备方法,其特征在于其作为母培养物的开菲尔粒可通过对传统开菲尔粒进行活化获得,其活化方法包括下述顺序步骤:按照5~10%的重量百分比将传统开菲尔粒接种到新鲜纯牛乳中;在20~35℃培养15~28小时;然后过滤,得开菲尔粒;再重复上述培养步骤二次,得可作为母培养物的开菲尔粒。

6. 按照权利要求2或3所述的的制备方法,其特征在于所述的冻干保护剂由灭菌脱脂乳,或灭菌脱脂乳和糖醇类物质组成。

7. 按照权利要求4的制备方法,其特征在于所述的氮源可以是L-蛋氨酸,胰蛋白胨,酵母浸提物之一或者它们的组合。

8. 按照权利要求4的制备方法,其特征在于所述的微量元素可以是锰盐、镁盐和钾盐之一或者它们的组合。

9. 按照权利要求6的制备方法,其特征在于所述的糖醇类物质可以是葡萄糖、蔗糖、海藻糖、山梨醇之一或者它们的组合。

10. 权利要求1所述的开菲尔冻干菌粉在开菲尔乳品加工中的应用和在食品和饮料加工中的应用以及作为微生态制剂的应用。

一种开菲尔冻干菌粉及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种开菲尔产品,具体地说涉及到一种开菲尔冻干菌粉。同时,本发明还涉及所述的开菲尔冻干菌粉的制备方法和应用。

背景技术

[0002] 开菲尔粒(kefir grains)是一种菌相极为复杂,外型不规则的椰菜花状颗粒(也有薄片状、纸卷样等形状),大小为0.3~2cm或更大,多为白色或浅黄色,具有一定的弹性和特殊酸味。传统的开菲尔发酵乳,是以牛奶、羊奶为原料,由开菲尔粒或由开菲尔粒中必需菌相作发酵剂,发酵制得的一种含酸、乙醇及少量CO₂的发酵乳,又称牛奶酒或酸乳酒,在当地称为开菲尔(也译作克菲尔)(Kefir),有“发酵乳制品中的香槟”、“奇异的发酵乳”、“开菲尔一大自然的惊异”之美称。

[0003] 开菲尔粒是通过人工世代相传保存的自然产物,对其产生的时间和原因以及作用机理现在还不是很清楚。

[0004] 开菲尔粒是由特有的粘多糖类物质形成的网络,分有很多片层,不同片层分布有不同的菌相。科学家在这种物质中发现了许多微生物,比如专门能够利用乳糖的酵母菌,还有乳酸菌(主要包括乳酸球菌、乳酸链球菌、乳酸杆菌)、醋酸菌,此外也有报道称发现过双歧杆菌。这些菌经过长期的相互适应和协同作用形成了复杂的菌相,由于开菲尔在发酵过程中产生酒精、乳酸、醋酸,使制品具有独特的发酵风味和清爽的沙口感,深受许多国家人们的喜爱。开菲尔粒最大的特点是对环境的适应能力强和抗污染力。开菲尔粒中的复杂菌相经长期的相互适应和协同使开菲尔粒形成了整体“战斗力”,能够抑制杂菌和致病菌的滋生。特有的粘多糖能够保护开菲尔不受外界微生物的侵染,像霉菌,侵染不到开菲尔粒内层,它释放的酶也不能把片层分解破坏。如果我们将开菲尔冲洗干净,自然干燥,半年后再使用,它仍然有活性。

[0005] 由于开菲尔粒中乳酸菌和醋酸菌的代谢作用,使开菲尔饮品的营养作用比原乳有了很大提高,不仅富含蛋白质、L(+)乳酸,适于乳糖不耐症患者饮用,而且其代谢活性物质和抗菌物质对胃肠道疾病,代谢异常疾病,高血压、贫血、心脏病、过敏症、肥胖症等均有一定的疗效。开菲尔粒中的活菌对结核杆菌、大肠杆菌、志贺氏菌,沙门氏菌等病原菌均有强烈的抑制作用,经常食用开菲尔制品可在人体胃肠道中保持有益菌群的优势作用,刺激肠道,加强胃肠蠕动,加速唾液、胃酸和胰酶的分泌。由于酵母菌和醋酸菌的作用使开菲尔奶中的B族维生素含量较普通酸奶多,同时开菲尔奶中一定量的CO₂可使凝乳呈精细薄片状而更易于消化;食用开菲尔奶后,由于CO₂和钙盐的作用可加速人体尿的排出,导致尿液稀释缓解尿毒症等。

[0006] 开菲尔饮品中含有抑制癌细胞增殖的荚膜多糖,可降低癌症的发病率。开菲尔中因有中等量的四碳双羧酸而具有溶解生物体内癌细胞的作用。最近则对于其有疗效作用的活性物质成分以及微生物所形成的抑制致病菌的抗菌性物质和抑制癌症的发生和抑制癌细胞增殖的物质成分进行研究,认为开菲尔确实是具有使人长寿、祛病延年功效的神奇饮

料。开菲尔对成人、老人便秘具改善作用,有整肠作用,对血液成分有影响,使早产婴儿血清脂肪酸组分稳定,促进婴儿钙吸收,优良的母乳辅助品。开菲尔饮品可降低血清胆固醇,还可增加人体免疫力、抗衰老,具有较好的降血脂和降血糖的功效。

[0007] 近来,世界各国都在研究开菲尔工业化发酵剂,以便使传统的功能性食品开菲尔在各国真正实现大规模工业化生产。但是由于传统的开菲尔工作发酵剂使用开菲尔粒,只能小规模的生产,否则容易出现发酵不均匀的现象;若采用增殖后的开菲尔粒的滤液制备工作发酵剂,不仅连续传代时活力不稳定,而且也易发生杂菌污染或因开菲尔粒共生菌群失衡,而使发酵乳制品的风味等品质性能下降,从而限制了传统开菲尔发酵乳制品的工业化生产。

[0008] 发明专利申请《一种用于生产泡菜的直投式复合菌粉产品及其生产方法》(专利申请号:200410088476.1)对植物乳杆菌、醋酸杆菌、干酪乳杆菌、酿酒酵母菌种进行单独培养,经历新后收集菌体,利用常规微生物制剂的生产方法制备各菌的粉状微生物菌粉;然后将制备的菌粉进行混合调配,复合菌粉经真空封口包装即为泡菜生产用直投式复合菌粉产品。但是用这种方法单独培养开菲尔粒中的微生物,然后用分别作用的方法不能达到开菲尔粒发酵具有的效果,因此,如何找到一种使开菲尔粒能够进行大规模的工业化生产,同时又使开菲尔粒的特性得到保持不变的方法是一个亟待解决的问题。

发明内容

[0009] 本发明的目的在于提供一种适于大规模工业化生产、保存并能保留传统开菲尔粒特性的开菲尔冻干菌粉;本发明还提供了开菲尔粒的增殖方法和开菲尔冻干菌粉的制备方法;此外,本发明还提供了开菲尔冻干菌粉在制作开菲尔发酵乳,在食品和饮料加工以及作为微生态制剂的应用。

[0010] 本发明是通过以下技术方案实现的:

[0011] 一种开菲尔冻干菌粉,该开菲尔冻干菌粉可由下述方法制备获得:将开菲尔粒浸没在冻干保护剂中,然后在4~12℃放置120~150分钟,或者在37~45℃放置20~30分钟;再利用冷冻干燥设备将开菲尔粒和冻干保护剂的混合物进行冷冻干燥,然后将冻干后的混合物粉碎,获得开菲尔冻干菌粉。

[0012] 上述开菲尔冻干菌粉,其制备中所用的开菲尔粒可通过增殖方法获得:按照5~15%重量百分比将作为母培养物的开菲尔粒接种到牛乳中,然后分别添加重量百分比为0.002~1.0%的氮源和0.001~0.002%的金属元素,并混合均匀;再在20~35℃培养15~28小时,然后过滤,得增殖的开菲尔粒。

[0013] 上述开菲尔冻干菌粉,其制备中作为母培养物的开菲尔粒可以通过对传统开菲尔粒的活化获得:按照5~10%重量百分比将传统开菲尔粒接种到牛乳中,在20~35℃培养15~28小时,然后过滤,得菲尔粒;再重复进行上述培养步骤二次;得可作为母培养物的开菲尔粒。

[0014] 本发明还提供了一种开菲尔冻干菌粉的制备方法,该制备方法包括下述顺序的步骤:将开菲尔粒浸没在冻干保护剂中,然后在4~12℃放置120~150分钟,或者37~45℃放置20~30分钟;再利用冷冻干燥设备将开菲尔粒和冻干保护剂的混合物冷冻干燥;然后将冻干后的混合物粉碎,得开菲尔冻干菌粉。

[0015] 上述制备方法还可以在冷冻干燥前将开菲尔粒和冻干保护剂的混合物在 $-20 \sim -80^{\circ}\text{C}$ 预冻 1 ~ 3 小时。

[0016] 上述制备方法中所述的开菲尔粒可通过增殖方法获得,其增殖方法包括下述顺序的步骤:按照 5 ~ 15% 重量百分比将作为母培养物的开菲尔粒接种到牛乳中,然后分别添加重量百分比为 0.002 ~ 1.0% 的氮源和 0.001 ~ 0.002% 的金属元素,并混合均匀;再在 $20 \sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养 15 ~ 28 小时,然后过滤,得增殖的开菲尔粒。

[0017] 上述制备方法中所述的作为母培养物的开菲尔粒可以通过对传统开菲尔粒的活化获得,其活化方法包括下述顺序步骤:按照 5 ~ 10% 的重量百分比将保存的传统开菲尔粒接种到新鲜纯牛乳中;在 $20 \sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养 15 ~ 28 小时;然后过滤,得开菲尔粒;再重复进行上述培养步骤二次,得可作为母培养物的开菲尔粒。

[0018] 上述开菲尔冻干菌粉的制备方法,还可以包括下述顺序步骤:

[0019] (1) 按照 5 ~ 10% 的重量百分比将传统开菲尔粒接种到新鲜纯牛乳中;在 $20 \sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养 15 ~ 28 小时;然后过滤,得开菲尔粒;再重复进行上述培养步骤二次,得可作为母培养物的开菲尔粒;

[0020] (2) 按照 5 ~ 15% 重量百分比将步骤 (1) 所得的开菲尔粒接种到牛乳中,然后分别添加重量百分比为 0.002 ~ 1.0% 的氮源和 0.001 ~ 0.002% 的金属元素,并混合均匀;再在 $20 \sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养 15 ~ 28 小时;然后过滤,得增殖的开菲尔粒;

[0021] (3) 将步骤 (2) 所得开菲尔粒浸没在冻干保护剂中,然后在 $4 \sim 12^{\circ}\text{C}$ 放置 120 ~ 150 分钟,或者 $37 \sim 45^{\circ}\text{C}$ 放置 20 ~ 30 分钟;

[0022] (4) 利用冷冻干燥设备将步骤 (3) 所得混合物冷冻干燥,然后将冻干后的混合物粉碎,获得开菲尔冻干菌粉。

[0023] 上述制备方法中所述的氮源可以是 L- 蛋氨酸,胰蛋白胨,酵母浸提物等氮源之一或者它们的组合。

[0024] L- 蛋氨酸,胰蛋白胨和酵母浸提物等氮源均可在市场上买到。

[0025] 上述制备方法中所述的微量金属元素可以是锰盐、镁盐,钾盐等微量金属元素之一或者它们的组合。

[0026] 锰盐、镁盐和钾盐等微量金属元素均可在市场上买到。

[0027] 上述制备方法中所述的冻干保护剂由灭菌脱脂乳或由灭菌脱脂乳和糖醇类物质组成。

[0028] 上述冻干保护剂的制备方法,包括下述顺序步骤:将脱脂奶粉和水配成为重量百分比为 7 ~ 15% 的脱脂乳,再在 $115\text{--}121^{\circ}\text{C}$ 灭菌 15 ~ 20 分钟,然后向其中加入重量百分比为 3 ~ 10% 的糖醇类物质,混合均匀,即得冻干保护剂。

[0029] 上述制备方法中所述的糖醇类物质可以是葡萄糖、蔗糖、海藻糖、山梨醇等糖醇类物质之一或者它们的组合。

[0030] 上述葡萄糖、蔗糖、海藻糖、山梨醇等糖醇类物质均可在市场上买到。

[0031] 上述制备方法中所述的牛乳,可以是全脂牛乳或脱脂牛乳;也可以是巴氏消毒乳或灭菌牛乳。

[0032] 上述制备方法中所述的在 $20 \sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养 15 ~ 28 小时,可以采用静置、搅拌或摇床等培养方式,其中以搅拌培养或摇床培养为佳。

[0033] 上述制备方法中所述的传统开菲尔粒是指由人工世代相传保存的,具有开菲尔粒结构和特性的开菲尔粒。通常情况下可在 4℃ 的低温牛乳中保存,但是其活性会有所降低,经过活化后可用于大规模的生产。

[0034] 采用上述方法制得的开菲尔冻干菌粉,含有开菲尔多糖和开菲尔共生菌群,即由乳酸菌、醋酸菌和酵母菌组成。其中开菲尔冻干菌粉中各菌种活菌数量范围如下:含乳酸菌 $0.1 \sim 8.0 \times 10^9$ cfu/g, 醋酸菌 $0.1 \sim 1.2 \times 10^7$ cfu/g, 酵母菌 $0.05 \sim 8.0 \times 10^7$ 个/g。水分含量小于 5%。

[0035] cfu(colony of forming units 的缩写)表示菌落数目。

[0036] 本发明提供了一种开菲尔冻干菌粉在开菲尔乳品加工中的应用。

[0037] 本发明还提供了一种开菲尔冻干菌粉作为微生态制剂的应用。

[0038] 本发明还提供了一种开菲尔冻干菌粉在食品和饮料加工中的应用。

[0039] 本发明开菲尔冻干菌粉可以作为直投式菌种生产各种开菲尔发酵产品;也可以作为微生态制剂单独或与饮料等同时食用;或者作为食品添加剂应用于食品或饮料生产中。

[0040] 作为直投式菌种生产各种开菲尔发酵产品,是指作为直投式菌种,按照 0.02%~1.0% 的重量百分比将开菲尔冻干菌粉加入到原料乳或豆乳中,按照酸乳或者酸豆乳生产工艺进行生产。

[0041] 作为微生态制剂,可以与温水(37℃以下),或者与牛乳、豆乳或果汁等混合后服用,用于调节胃肠道内的菌群。

[0042] 作为食品添加剂应用于食品或饮料生产,是指可以与豆粉、米粉、奶粉、花粉、药粉等可食用品粉末按比例直接混合作为保健食品。或者与蔬菜汁或果汁等液体饮料按比例混合,并根据需要添加适量甜味剂等添加剂,搅拌均匀后罐装做成含活性益生菌的饮料。也可以罐装后进行保温发酵(25~35℃)一段时间(5~25h),制作含活性益生菌的饮料。

[0043] 本发明所具有的优点:(1) 本发明适于大规模工业化生产,并且保存和保留了传统开菲尔粒的特性;(2) 本发明产品可长期保存,可以根据需要随时取用;(3) 本发明生产工艺简单,缩短了发酵周期;(4)、本发明以固体保存,使用方便;(5) 本发明提高了发酵乳的均匀性和稳定性,可用于生产高品质的开菲尔发酵乳;(6) 本发明扩大了开菲尔粒的使用范围,即可以用于生产传统的开菲尔发酵乳,也可以作为微生态制剂和作为食品和饮料的添加剂而直接食用,具有良好的市场前景和经济效益。

具体实施方式

[0044] 通过下面的具体实施例可以进一步清楚地理解本发明。但它们不是对本发明的限定。

[0045] 除非另有说明,本发明中所采用的百分数均为重量百分数。

[0046] 实施例 1

[0047] 将 4℃ 保存在纯牛乳中的开菲尔粒按照 5% 的重量百分比接种到装有 1000ml 灭菌纯牛乳的玻璃瓶中,30℃ 培养 18h,用滤勺把开菲尔粒过滤出来,并无菌水清洗,再接入纯牛乳中,连续活化三代,所得开菲尔粒作为母培养物。

[0048] 将母培养物以 5% 的重量比接种到装有 1000ml 新鲜灭菌纯牛乳的玻璃瓶中,在牛乳中添加外源营养素 0.002% L- 蛋氨酸,和 0.001% MnSO_4 、0.002% MgCl_2 、0.001% K_2HPO_4 ;

在 30℃ 搅拌培养 18h, 用滤勺把开菲尔粒过滤出来, 再按 5g/100ml 的接种比例接种到纯牛乳中, 如此连续培养 7d。增殖后开菲尔粒的重量是增殖前的 5.4 倍。

[0049] 实施例 2

[0050] 将 4℃ 保存在纯牛乳中的开菲尔粒 5g 接种到装有 100ml 灭菌纯牛乳的玻璃瓶中, 30℃ 培养 18h, 用滤勺把开菲尔粒过滤出来, 再接入纯牛乳中, 连续活化三代, 作为母培养物。

[0051] 将母培养物 7g 接种到装有 100ml 灭菌纯牛乳的玻璃瓶中, 在牛乳中分别添加外源营养素 0.002% L- 蛋氨酸、0.5% 胰蛋白胍、0.3% 酵母浸提物、0.001% MnCl_2 和 0.002% MgSO_4 ; 在 25℃ 摇床培养 24h, 用滤勺把开菲尔粒过滤出来, 再按 7g/100ml 的接种比例接种到灭菌牛乳中, 如此连续培养 7d; 增殖后开菲尔粒的重量是增殖前的 6.5 倍。

[0052] 实施例 3

[0053] 将 4℃ 保存在纯牛乳中的开菲尔粒 10g 接种到装有 100ml 灭菌纯牛乳的玻璃瓶中, 25℃ 培养 15h, 用滤勺把开菲尔粒过滤出来, 再接入灭菌牛乳中, 连续活化三代, 作为母培养物。

[0054] 将母培养物以 10g/100ml 接种量接种到装有 100ml 新鲜灭菌纯牛乳的玻璃瓶中, 在纯牛乳中分别添加外源营养素 0.002% L- 蛋氨酸、0.5% 胰蛋白胍和 0.001% MnCl_2 、0.001% K_2HPO_4 ; 在 20℃ 搅拌培养 24h, 用滤勺把开菲尔粒过滤出来, 再按 10g/100ml 的接种比例接种到新鲜灭菌纯牛乳中, 如此连续培养 7d。增殖后开菲尔粒的重量是增殖前的 6.1 倍。

[0055] 实施例 4

[0056] 将 4℃ 保存在纯牛乳中的开菲尔粒 10g 接种到装有 100ml 灭菌纯牛乳的玻璃瓶中, 28℃ 培养 20h, 用滤勺把开菲尔粒过滤出来, 再接入灭菌牛乳中, 连续活化三代, 作为母培养物。

[0057] 将母培养物以 5g/100ml 接种量接种到装有 100ml 新鲜灭菌纯牛乳的玻璃瓶中, 在纯牛乳中分别添加外源营养素 0.5% 胰蛋白胍和 0.001% MnCl_2 。在 25℃ 搅拌培养 24h, 用滤勺把开菲尔粒过滤出来, 再按 5g/100ml 的接种比例接种到新鲜灭菌纯牛乳中, 如此连续培养 7d。增殖后开菲尔粒的重量是增殖前的 5.6 倍。

[0058] 实施例 5

[0059] 将 5g 开菲尔粒浸没在 15ml 冻干保护剂中; 冻干保护剂配方为 100ml 蒸馏水中添加 10g 脱脂奶粉后灭菌, 灭菌条件 115℃, 15min。然后在 10℃ 放置 120 分钟; 在 -80℃ 预冻 2h, 然后放在冻干机中冻干; 冻干机的工作条件为: 在真空度 17Pa, 冷冻温度 -40℃, 冻干时间 48h 的条件下冻干; 把冻干后的开菲尔粒连同冻干保护剂一同研磨成粉, 即可获得开菲尔冻干菌粉。

[0060] 实施例 6

[0061] 将 10g 开菲尔粒浸没在 25ml 冻干保护剂中。冻干保护剂配方为 100ml 蒸馏水中添加 7g 脱脂奶粉和 5g 海藻糖后灭菌; 灭菌条件 115℃, 15min。在 40℃ 放置 20 分钟, 然后在 -40℃ 预冻 3h; 然后放在冷冻温度 -30℃ 的冻干机中冻干, 把冻干后的开菲尔粒与冻干保护剂一同用家用切碎机打碎, 即可获得开菲尔冻干菌粉。

[0062] 实施例 7

[0063] 将 5g 开菲尔粒浸没在 15ml 冻干保护剂中,冻干保护剂为 100ml 蒸馏水中添加 15g 脱脂奶粉和 7g 蔗糖;混合均匀后灭菌;然后在 10℃ 放置 120 分钟;在 -80℃ 预冻 2h,然后放在冻干机中冻干;冻干机的工作条件为:在真空度 17Pa,冷冻温度 -40℃,冻干时间 48h 的条件下冻干,把冻干后的开菲尔粒连同冻干保护剂一同研磨成粉,即可获得开菲尔冻干菌粉。

[0064] 实施例 8

[0065] 将 5g 开菲尔粒刚刚浸没在冻干保护剂中。冻干保护剂的配方为 100ml 蒸馏水中添加 8g 脱脂奶粉和 3g 葡萄糖和 5g 海藻糖,混合均匀后灭菌;在 -20℃ 预冻 4h,然后放在冻干机中冻干;冻干机的工作条件为:在真空度 17Pa,冷冻温度 -40℃,冻干时间 48h。把冻干后的开菲尔粒连同保护剂一同研磨成粉,即可获得开菲尔冻干菌粉。

[0066] 实施例 9

[0067] (1) 菌种活化:选用传统开菲尔粒,将低温保存的菌种以 5g/100ml 的接种比例,接种到新鲜纯牛乳中,30℃ 培养 18h,用虑勺把开菲尔粒过滤出来,用无菌水清洗,再用滤纸吸干开菲尔粒表面水分,再接入新鲜纯牛乳中,连续活化三代,作为母培养物;其中低温保存的菌种是在 4℃ 保存在纯牛乳中的开菲尔粒;

[0068] (2) 增菌培养:将母培养物以 5g/100ml 接种量接种到 100ml 牛乳中,在牛乳中添加 2mg L-蛋氨酸、1mg $MnSO_4$ 、2mg $MgSO_4$ 、1mg K_2HPO_4 ;在 25℃ 搅拌培养 24h 后把开菲尔粒过滤出来;

[0069] (3) 添加冻干保护剂进行预处理:将开菲尔粒浸没在冻干保护剂中,在 10℃ 放置 2h,然后在 -80℃ 预冻 3h;冻干保护剂为 10% 的灭菌脱脂乳中添加 6% 的蔗糖和 3% 的海藻糖。

[0070] (4) 冻干和粉碎:采用真空冷冻干燥机进行冻干,条件为真空度 17Pa,冷冻温度 -40℃,冻干时间 48h,粉碎后即可获得开菲尔冻干菌粉。

[0071] 实施例 10

[0072] 将实施例 1 制备的开菲尔冻干菌粉,按 1% 的比例接种到新鲜纯牛乳中,在 30℃ 发酵 18h,然后在 4℃ 后酵 2h,即可获得开菲尔酸奶。

[0073] 实施例 11

[0074] 按豆水比为 1 : 8 制得的新鲜豆乳中添加 5% 的蔗糖。将实施例 1 制备的开菲尔冻干菌粉,按 1.2% 的比例接种到豆乳中,在 30℃ 发酵 20h;然后在 4℃ 后酵 10h,即可获得开菲尔酸豆乳。

[0075] 实施例 12

[0076] 将实施例 1 制备开菲尔冻干菌粉,与奶粉按重量 1 : 50 的比例混合均匀,添加适量硬脂酸镁,称量后压片做成含开菲尔复合活性益生菌的奶片,包装形式可以是药片或胶囊型。

[0077] 实施例 13

[0078] 将实施例 1 制备的开菲尔冻干菌粉,与奶粉按重量 1 : 5000 的比例混合均匀,称量后分装做成含开菲尔复合活性益生菌的奶粉,奶粉的包装形式可以是袋装、盒装或罐装。

[0079] 实施例 14

[0080] 将实施例 1 制备的开菲尔冻干菌粉,与蔬菜汁按照 1 : 6000 比例混合,添加适量

的甜味剂,搅拌均匀即为含开菲尔复合活性益生菌的饮料。

[0081] 实验实施例 1:

[0082] 活菌计数实验样品:1g 按实施例 5-9 制备的开菲尔冻干菌粉。

[0083] 活菌计数实验方法:将上述样品用稀释液进行 10 倍梯度递减稀释,取适宜稀释液分别倾倒在 MRS 和麦芽汁平板,涂布醋酸菌平板,MRS 平板在 CO₂ 培养箱 37℃ 培养 48h,麦芽汁平板在 30℃ 培养 24h,醋酸菌平板在 30℃ 培养 48h,活菌计数,再换算为原始菌数,结果见表 1。

[0084] 其中稀释液由生理盐水在 121℃ 下灭菌 15min 制得;

[0085] MRS 培养基由蛋白胨 10.0g、牛肉膏 10.0g、酵母浸提物 5.0g、K₂HPO₄ 2.0g、柠檬酸二胺 2.0g、乙酸钠 5.0g、葡萄糖 20.0g、吐温 -80 1ml、MgSO₄·7H₂O 0.58g、MnSO₄·4H₂O 0.25g、琼脂 15.0 ~ 20.0g 组成,加蒸馏水 1000ml 溶解后调 pH 6.2 ~ 6.4。麦芽汁培养基由固形物含量为 12.5° Brix 的麦芽汁和 1.5% 的琼脂组成。醋酸菌培养基由葡萄糖 10%,酵母浸提物 1%,碳酸钙 2%,琼脂 1.5% 组成,pH 值调到 6.8。在 121℃ 下灭菌 15min 制得。

[0086] 表 1 活菌计数实验结果

[0087]

实施例	菌名	活菌计数实验结果 (cfu/g)
实施例 5	乳酸菌	2.8×10^9
	醋酸菌	5.2×10^6
	酵母菌	7.0×10^5
实施例 6	乳酸菌	4.5×10^8
	醋酸菌	3.6×10^6
	酵母菌	5.0×10^6
实施例 7	乳酸菌	7.5×10^8
	醋酸菌	2.8×10^6
	酵母菌	7.5×10^6
实施例 8	乳酸菌	3.7×10^8
	醋酸菌	1.5×10^6
	酵母菌	3.6×10^7
实施例 9	乳酸菌	8.0×10^8

[0088]

	醋酸菌	7.1×10^6
	酵母菌	6.3×10^6