

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021年6月24日 (24.06.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/120618 A1

(51) 国际专利分类号:

C12N 1/20 (2006.01) C12J 1/04 (2006.01)
C12N 9/26 (2006.01) C12R 1/225 (2006.01)
C12N 9/34 (2006.01) C12R 1/07 (2006.01)
C12N 9/44 (2006.01) C12R 1/02 (2006.01)
C12N 9/42 (2006.01) C12R 1/01 (2006.01)
C12N 9/50 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/103450

(22) 国际申请日: 2020年7月22日 (22.07.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201911291967.9 2019年12月16日 (16.12.2019) CN

(71) 申请人: 江苏恒顺醋业股份有限公司(JIANGSU HENGSHUN VINEGAR-INDUSTRY CO., LTD) [CN/CN]; 中国江苏省镇江市丹徒新城恒顺大道66号, Jiangsu 212028 (CN)。

(72) 发明人: 李国权(LI, Guoquan); 中国江苏省镇江市丹徒新城恒顺大道66号, Jiangsu 212028 (CN)。 李信(LI, Xin); 中国江苏省镇江市丹徒新城恒顺大道66号, Jiangsu 212028 (CN)。 朱胜虎(ZHU, Shenghu); 中国江苏省镇江市丹徒新城恒顺大道66号, Jiangsu 212028 (CN)。 崔鹏景(CUI, Pengjing); 中国江苏省镇江市丹徒新城恒顺大道66号, Jiangsu 212028 (CN)。 张俊红(ZHANG, Junhong); 中国江苏省镇江市丹徒新城恒顺大道66号, Jiangsu 212028 (CN)。 陆

平(LU, Ping); 中国江苏省镇江市丹徒新城恒顺大道66号, Jiangsu 212028 (CN)。 奚宽鹏(XI, Kuanpeng); 中国江苏省镇江市丹徒新城恒顺大道66号, Jiangsu 212028 (CN)。

(74) 代理人: 南京苏高专利商标事务所(普通合伙)(NANJING SUGAO PATENT AND TRADEMARK FIRM (ORDINARY PARTNERSHIP)); 中国江苏省南京市白下区中山东路198号龙台国际大厦1912室, Jiangsu 210005 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(54) Title: BINARY COMPOUND STARTER AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 二元复合发酵剂及其应用

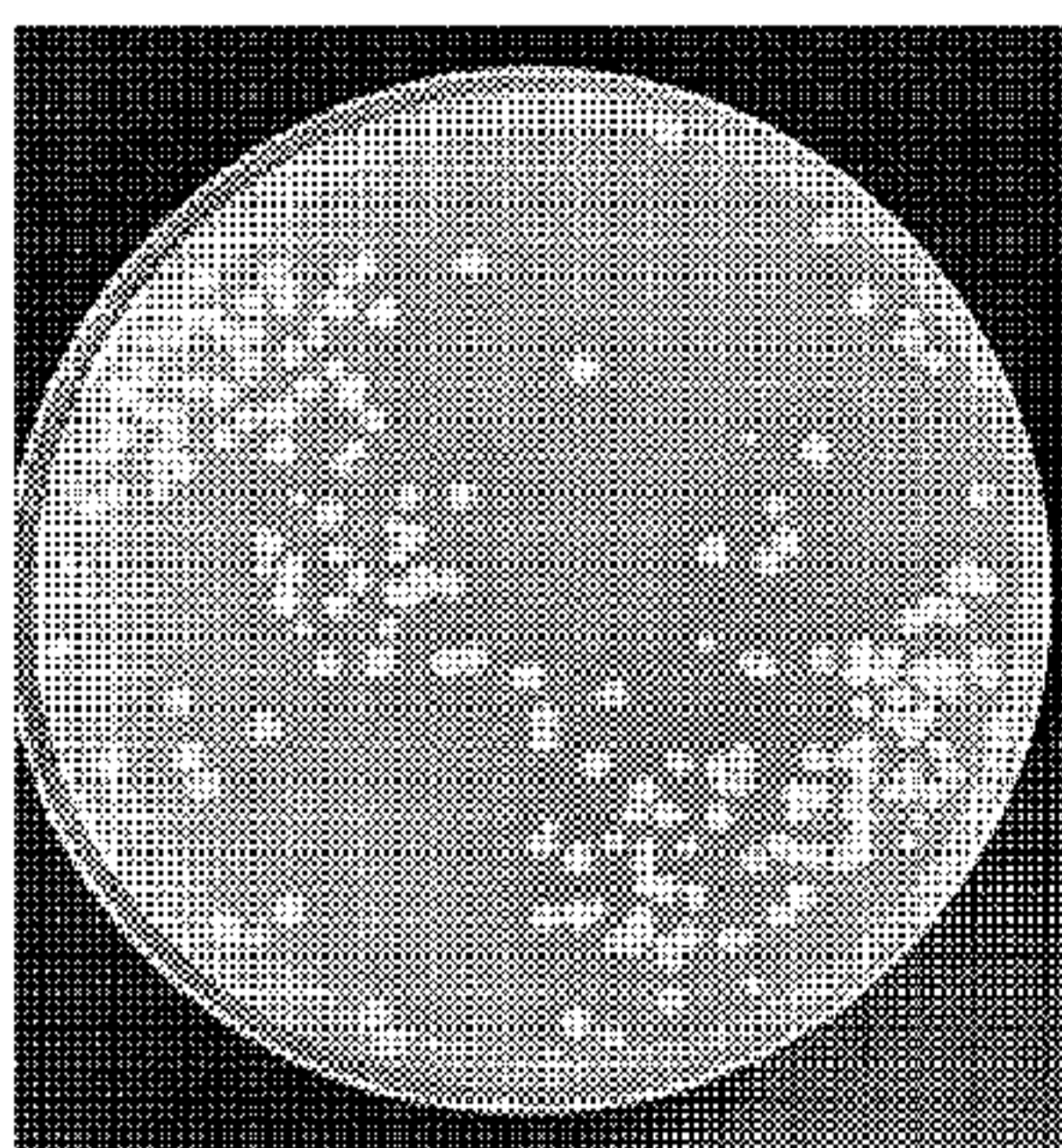


图 1

(57) Abstract: A binary compound starter, comprising a compound inoculant I and a compound inoculant II, and an application of the binary compound starter in the making of vinegar, wherein the compound inoculant I is added before acetic acid fermentation, and the compound inoculant II is added during the acetic acid fermentation stage. The binary compound starter can be used to make solid-state fermented vinegar and liquid-state fermented vinegar. The amount of the starter is small, fermentation efficiency is high, yield is high, and quality is stable. Moreover, the content of non-volatile acid, amino acid nitrogen, esters and other flavoring substances can be significantly increased, and the product has a rich flavor, a full and soft taste, and a prominent aroma.

(57) 摘要: 一种二元复合发酵剂, 包含复合菌剂I和复合菌剂II, 所述二元复合发酵剂在食醋酿造中的应用, 其中复合菌剂I在醋酸发酵前加入, 复合菌剂II在醋酸发酵阶段加入。所述二元复合发酵剂可用于酿造固态发酵食醋和液态发酵食醋, 发酵剂用量少、发酵效率高、出率高、品质稳定, 可显著提高不挥发酸、氨基酸态氮、酯类等风味物质的含量, 产品风味丰富、口感饱满柔和、香气突出。

WO 2021/120618 A1

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括按细则13之二规定在说明书以外提交的关于生物材料保藏的说明(细则13之二.4(d)(i)和48.2(a)(viii))。
- 包括说明书序列列表部分(细则5.2(a))。

二元复合发酵剂及其应用

技术领域

本发明涉及一种二元复合发酵剂，本发明还涉及所述二元复合发酵剂在食醋酿造中的应用。

背景技术

食醋是单独或混合使用各种含有淀粉、糖的物料、食用酒精，经微生物发酵酿制而成的液体酸性调味品。欧美国家普遍采用单一菌种的发酵技术酿制食醋，中国及其他东南亚国家主要采用多菌发酵工艺酿制食醋。单菌种发酵主要以纯种的醋酸菌为主，风味单一，口感差。传统多菌种发酵过程多采用天然多菌种开放式发酵模式，发酵菌种的来源多由上一代以种醅（或种子液）的形式带入，即将上一代醋醅或醋酸发酵液以一定的量接入下一代，并以此方式代代传递。传统接种方式易出现核心菌种衰退，微生物群落结构变化，变化后的菌群结构难以调控和恢复，对产品的质量和稳定性带来巨大的挑战。同时具有带种量大，不易储存和运输，使用条件受到多方面限制，极大限制了食醋酿造工艺的发展。

现有技术已有直投式发酵剂及其应用，如直投式发酵剂在制备酸奶、发面团、泡菜等部分发酵食品中已进入工业化应用阶段，但适用于传统食醋酿造特殊环境和要求（高酸、高醇、寡营养、好养与厌氧微生物共存、上下层协同发酵等）的发酵剂研究极少。

发明内容

发明目的：本发明旨在提供一种用量少、发酵效率高、产品出率高、产品品质稳定的二元复合发酵剂，本发明的另一目的是提供所述二元发酵剂在食醋酿造中的应用。

技术方案：本发明的二元复合发酵剂，包含复合菌剂 I 和复合菌剂 II，其特征在于，复合菌剂 I 包含瑞士乳杆菌 CGMCC12225、发酵乳杆菌 CGMCC12226、耐酸乳杆菌 CGMCC16938、索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、耐酸中温 α -淀粉酶、普鲁兰酶、糖化酶、纤维素酶和酸性蛋白酶；复合菌剂 II 包含巴氏醋杆菌 CGMCC17802、欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和葡萄糖。

所述瑞士乳杆菌 (*Lactobacillus helveticus*) CGMCC12225，发酵乳杆菌 (*Lactobacillus fermentum*) CGMCC12226，耐酸乳杆菌 (*Lactobacillus acetotolerans*) CGMCC16938，索诺拉沙漠芽孢杆菌 (*Bacillus sonorensis*) CGMCC15824，凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) CGMCC17801，巴氏醋杆菌 (*Acetobacter pasteurianus*) CGMCC17802，欧

洲驹形杆菌 (*Komagataeibacter europaeus*) CGMCC16345, 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏地点为北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所, 保藏登记入册的编号分别为 CGMCC No.12225, CGMCC No.12226, CGMCC No.16938, CGMCC No.15824, CGMCC No.17801, CGMCC No.17802, CGMCC No.16345, 保藏日期分别为 2016年03月18日, 2016年03月18日, 2018年12月13日, 2018年05月30日, 2019年05月13日, 2019年05月13日, 2018年08月27日。

优选, 所述复合菌剂 I 按重量份包含 10~25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、5~15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、5~20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、3~15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、2~10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、5~13 份耐酸中温 α -淀粉酶、1~3 份普鲁兰酶、2~5 份糖化酶、3~9 份纤维素酶和 1~5 份酸性蛋白酶; 复合菌剂 II 按重量份包含 35~55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、2~10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 40~60 份葡萄糖。

优选, 所述复合菌剂 I 中瑞士乳杆菌 CGMCC12225、发酵乳杆菌 CGMCC12226、耐酸乳杆菌 CGMCC16938、索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824 和凝结芽孢杆菌 CGMCC17801 的活菌数均为 $1.0 \times 10^8 \sim 1.0 \times 10^{10}$ CFU/g, 耐酸中温 α -淀粉酶、普鲁兰酶、糖化酶、纤维素酶和酸性蛋白酶的酶活力均为 2~10 万 U/g。

优选, 所述复合菌剂 II 中巴氏醋杆菌 CGMCC17802 和欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 的活菌数 $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$ CFU/g。

本发明的二元复合发酵剂在食醋酿造中的应用。

优选, 所述复合菌剂 I 在醋酸发酵前加入, 所述复合菌剂 II 在醋酸发酵阶段加入。

优选, 所述二元复合发酵剂还可与种子醪联合使用。

优选, 所述食醋酿造为固态食醋发酵或液态食醋发酵。

优选, 所述二元复合发酵剂采用直投方式加入。

优选, 所述食醋为镇江香醋、山西老陈醋、米醋或苹果醋。

研究发现, 微生物多样性是实现酿造食醋风味丰富, 口感饱满柔和的重要基础。在保持并提高风味丰富, 口感饱满柔和的前提下, 本发明的二元复合发酵剂, 解决了单一发酵剂生产食醋产品风味单一、口感刺激、不柔和饱满和出率低等问题; 避免了传统带种过程中易出现的核心菌种衰退, 微生物群落结构变化, 变化后的菌群结构难以调控和恢复, 对产品的质量和稳定性带来不良影响等问题; 同时解决了传统带种量大, 不易储存与运输的问题。

本发明的二元复合发酵剂, 适宜食醋酿造的特殊环境, 效果突出, 应用场景广泛, 既可以在不带入传统种子的条件下直接使用, 也可以在带入传统种子后作为强化发酵剂

使用。

在不带入传统种子的条件下直接使用本发明的二元发酵剂或在正常带入传统种子的条件下作为强化发酵剂使用后，发酵效率高、出率高、品质稳定，可显著提高不挥发酸、氨基酸态氮、酯类等风味物质的含量，产品风味丰富、口感饱满柔和、香气突出，是单一或普通复配发酵剂所无法比拟的。

有益效果：与现有技术相比，本发明具有如下显著优点：

(1) 本发明的二元复合发酵剂可作为固态食醋发酵剂或液态食醋发酵剂，可单独使用或与种子醪联合使用；

(2) 本发明的二元复合发酵剂应用于固态食醋发酵中，可显著提高不挥发酸、氨基酸态氮、酯类等风味物质的含量；应用于液态食醋发酵中，可显著提高不挥发酸和酯类风味物质的含量。

附图说明

图 1 为本发明的巴氏醋杆菌的菌落形态。

具体实施方式

下面结合实施例对本发明的技术方案作进一步说明。

本发明的复合菌剂 I 和复合菌剂 II 制备方法如下：单独将每种菌按照其相应的培养基进行三级扩培并进行发酵，待发酵结束后采用中空纤维膜浓缩发酵液至原发酵液体积的 1/5，然后将无菌脱脂奶粉 20g/100ml、谷氨酸钠 12g/100ml、山梨醇 4g/100ml 与浓缩发酵液混匀，放入-80℃超低温冰箱中进行预冻 2~5h，最后将样品盘至于冷冻干燥机上进行 24~48h 的冻干处理，采用平板计数法检测活菌数符合要求（活菌数均为 $1.0 \times 10^8 \sim 1.0 \times 10^{10}$ CFU/g）后备用；购买市售活力单位符合要求的相关酶制剂（酶活力为 2~10 万 U/g）和食品级葡萄糖，在洁净室按照本发明的二元复合发酵剂配比将其混匀，最后分装于真空包装袋中；分装后的产品于 4℃ 保存。

实施例中各项指标检测方法如下：总酸和不挥发酸参照《GB18187-2000》方法进行测定，总酸以乙酸计，不挥发酸以乳酸计；氨基酸态氮参照《GB18186-2000》方法进行测定；总酯参照《GB/T19777-2013》方法进行测定。

本发明的二元复合发酵剂不仅可应用于下述食醋的酿造，也适用于其它固态和液态发酵食醋的酿造。

实施例 1：菌株巴氏醋杆菌的分离与鉴定

本实施例中碳酸钙、葡萄糖、琼脂粉、无水乙醇、乙酸和氢氧化钠均购自国药集团化学试剂有限公司，酵母提取物购自英国 OXOID 公司。

1、菌株分离

取镇江香醋醅样 10g，加入 90ml 已灭菌生理盐水中，于摇床摇匀，后取 100 μ l 样品加入到 900 μ l 生理盐水中，于漩涡振荡器混匀，之后进行梯度稀释。混匀依次涂布到添加 20g 碳酸钙的固体培养基（每 1L 含葡萄糖 20g、酵母提取物 10g、琼脂粉 15g，121 $^{\circ}$ C 灭菌 20min 后冷却，加入 3%乙醇）上，30 $^{\circ}$ C 培养 3 天。观察平板上有无透明圈，挑取相应菌株。

2、菌株复筛

将初筛出的菌株接种到复筛固体平板（葡萄糖 20g、酵母提取物 10g、乙酸 30ml 和乙醇 30ml，添加琼脂粉 15g/L）上，30 $^{\circ}$ C 培养 3 天后选出透明圈最大的菌株。

将筛选出的菌株接种到复筛液体培养基（葡萄糖 20g、酵母提取物 10g、乙酸 30ml、乙醇 50ml 和蒸馏水 1L）中，30 $^{\circ}$ C 转速 200rpm 培养 20h，以氢氧化钠滴定总酸（以醋酸计）含量，每隔 24h 进行一次测定，记录产酸变化情况。

经过两轮复筛，最终得到一株产酸性能优良的巴氏醋杆菌 HSCY1085 菌株，其菌落形态见图 1。

3、菌株鉴定

测得的 16S rDNA 序列在 NCBI 数据库中进行比对分析，并结合生理生化特征，将本发明菌株命名为巴氏醋杆菌 HSCY1085 (*Acetobacter pasteurianus*)，16S rDNA 序列见 SEQ ID No.1。

该菌株保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心，保藏地点为北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所，保藏日期为 2019 年 5 月 13 日，保藏编号为 CGMCC No.17802，其分类命名为 *Acetobacter pasteurianus*。

实施例 2：在镇江香醋酿造中的应用

本实施例提供了一种免用传统种子醅和接种方式，仅使用本发明的二元复合发酵剂在镇江香醋酿造中的应用。

1、试验组

(1) 取 9 个 400kg 大缸，各取糯米 50kg 加水浸泡过夜。利用蒸汽将糯米蒸熟，以冷水淋饭至温度约 40 $^{\circ}$ C 加入酒药 0.3kg，拌匀后入缸搭窝成喇叭状。

(2) 待窝中有一定的酒液出现时，每缸加入麦曲 2.5kg，然后加水 150kg，搅拌均匀。

(3) 酒精发酵过程中，定期搅拌，温度控制在 30 $^{\circ}$ C 左右，约发酵 5~7d 结束。

(4) 取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸，每个缸中加入酒醪 200kg，加入本发明的复合菌剂 I（25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、10 份凝结芽孢

杆菌 CGMCC17801、13 份耐酸中温 α -淀粉酶、3 份普鲁兰酶、5 份糖化酶、9 份纤维素酶和 5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的 0.15% (w/w), 搅拌均匀后加入麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 60 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1% (w/w), 加入 30℃ 酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部, 然后用手向下深入约 10cm 拌匀, 最后在顶部盖上大糠保温。

(5) 按照镇江香醋酿造工艺进行逐层翻醅, 待醋醅发酵至总酸不在增加, 即发酵结束。加盐封醅 15d, 然后加入炒米色进行淋醋。经煎醋、陈酿、杀菌灌装, 即得成品。

2、对比试验

(1) 对照组 1

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸, 每个缸中加入酒醪 200kg, 麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。每缸取市售光明牌酿醋醋酸菌剂, 添加量为酒醪质量的 0.5% (w/w), 加入 30℃ 酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在醋醅的上部, 然后用手向下深入约 10cm 拌匀, 最后在顶部盖上大糠保温, 后续步骤同上述步骤 (5)。

(2) 对照组 2

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸, 每个缸中加入酒醪 200kg, 麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取传统种子醅 26kg 于醋醅的上部, 盖上大糠保温, 后续步骤同上述步骤 (5)。

表 1 醋卤主要指标对比 (g/100ml)

组别 \ 指标	总酸	不挥发酸	氨基酸态氮	总酯
试验组	8.41 ± 0.05	2.45 ± 0.01	0.37 ± 0.02	4.86 ± 0.05
对照组 1	7.33 ± 0.08	1.34 ± 0.03	0.18 ± 0.01	2.15 ± 0.11
对照组 2	7.63 ± 0.13	2.01 ± 0.03	0.21 ± 0.01	2.63 ± 0.13

与对照组 1 相比使用本发明的二元复合发酵剂的试验组, 提热速度快 (首次温度达到 40℃ 以上时间由 38h 缩短至 20h, 缩短 18h); 发酵时间由 22d 缩短至 15d, 缩短 7d; 封醅结束后醋卤中总酸含量提高 14.73%, 不挥发酸含量提高 82.84%, 氨基酸态氮含量提高 105.56%, 总酯含量提高 126.05%; 产品出率提高 17.01%; 获得的产品香气明显, 风味丰富, 口感柔和饱满, 感官评分较高。

与对照组 2 相比使用本发明的二元复合发酵剂的试验组, 发酵时间由 19d 缩短至 15d, 缩短 4d; 封醅结束后醋卤中总酸含量提高 10.22%, 不挥发酸含量提高 21.89%, 氨基酸态氮含量提高 76.19%, 总酯含量提高 84.79%; 产品出率提高 11.95%; 获得产品的整体

风味和口感具有典型的镇江香醋特点，且香气更明显，口感更柔和、更丰富、更饱满。

实施例 3：在镇江香醋酿造中的强化应用

本实施例提供了一种保持采用传统种子醪和接种方式，本发明的二元复合发酵剂于镇江香醋酿造的强化应用。

1、试验组

(1) 取 9 个 400kg 大缸，各取糯米 50kg 加水浸泡过夜。利用蒸汽将糯米蒸熟，以冷水淋饭至温度约 40℃ 加入酒药 0.3kg，拌匀后入缸搭窝成喇叭状。

(2) 待窝中有一定的酒液出现时，每缸加入麦曲 2.5kg，然后加水 150kg，搅拌均匀。

(3) 酒精发酵过程中，定期搅拌，温度控制在 30℃ 左右，约发酵 5~7d 结束。

(4) 取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸，每个缸中加入酒醪 200kg，加入本发明的复合菌剂 I (10 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、5 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、5 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、3 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、2 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、5 份耐酸中温 α -淀粉酶、1 份普鲁兰酶、2 份糖化酶、3 份纤维素酶和 1 份酸性蛋白酶)，添加量为酒醪质量的 0.1‰ (w/w)，搅拌均匀后加入麸皮 80kg，大糠 45kg，将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取种子醪 26kg 于醋醅的上部，每缸取本发明的复合菌剂 II (35 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、2 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 40 份葡萄糖)，添加量为酒醪质量的 0.05‰ (w/w)，均匀拌入种子醪后盖上大糠保温。

(5) 按照镇江香醋酿造工艺进行逐层翻醅，待醋醅发酵至总酸不在增加，即发酵结束。加盐封醅 15d，然后加入炒米色进行淋醋。经煎醋、陈酿、杀菌灌装，即得成品。

2、对比试验

(1) 对照组 1

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸，每个缸中加入酒醪 200kg，麸皮 80kg，大糠 45kg，将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取种子醪 26kg 于醋醅的上部，盖上大糠保温，后续步骤同上述步骤 (5)。

(2) 对照组 2

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸，每个缸中加入酒醪 200kg，麸皮 80kg，大糠 45kg，将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取种子醪 26kg 于醋醅的上部，每缸取市售光明牌酿醋醋酸菌剂均匀拌入种子醪后盖上大糠保温，添加量为酒醪质量的 0.3‰ (w/w)，后续步骤同上述步骤 (5)。

表 2 醅卤主要指标对比 (g/100ml)

指标	总酸	不挥发酸	氨基酸态氮	总酯
----	----	------	-------	----

组别				
试验组	8.53±0.06	2.56±0.02	0.39±0.01	5.03±0.05
对照组 1	7.63±0.13	2.01±0.03	0.21±0.01	2.63±0.13
对照组 2	7.86±0.03	2.16±0.04	0.23±0.02	2.73±0.10

与对照组 1 相比使用本发明的二元复合发酵剂强化的试验组，发酵时间由 19d 缩短至 13d，缩短 6d；封醅结束后醅卤中总酸含量提高 11.80%，不挥发酸含量提高 27.36%，氨基酸态氮含量提高 85.71%，总酯含量提高 91.25%；产品出率提高 14.15%；获得的产品香气更突出，口感柔和性更强，感官评分更高。

与对照组 2 相比使用本发明的二元复合发酵剂强化的试验组，发酵时间由 18d 缩短至 13d，缩短 5d；封醅结束后醅卤中总酸含量提高 8.52%，不挥发酸含量提高 18.52%，氨基酸态氮含量提高 69.57%，总酯含量提高 84.25%；产品出率提高 10.03%；获得的产品香气明显，口感柔和，感官评分较高。

实施例 4：在山西老陈醋酿造中的应用

本实施例提供了一种免用传统种子醅和接种方式，仅使用本发明的复合发酵剂在山西老陈醋酿造中的应用。

1、试验组

(1) 将高粱粉碎为 5~10 瓣后，加入温水，煮料 1~2h 后，每 100kg 高粱加入 62.5kg 大曲粉混匀。

(2) 将上述原料放入 6 个大缸中进行酒精发酵，入缸初始温度约 25℃，后期保持 18~25℃。前 4 天敞口发酵，后 8 天封口发酵，共约 12~15 天结束。

(3) 取上述步骤 (2) 中的 3 个 400kg 大缸，每个缸中加入酒醪 200kg，加入本发明的复合菌剂 I (20 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、8 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、15 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、7 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、6 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、10 份耐酸中温 α -淀粉酶、1.5 份普鲁兰酶、3 份糖化酶、6 份纤维素酶和 2 份酸性蛋白酶)，添加量为酒醪质量的 0.15% (w/w)，搅拌均匀后加入麸皮 90kg，谷糠 100kg，将酒醪和谷物混合均匀。取本发明的复合菌剂 II (40 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、8 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 45 份葡萄糖)，添加量为酒醪质量的 0.1% (w/w)，加入 30℃ 酒醪约 2000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部拌匀，按照山西老陈醋的工艺进行翻醅操作。

(4) 待醋醅发酵至总酸不在增加，即发酵结束。加盐后封醅 10d，然后经过熏醅、淋醋，最后经煎醋、陈酿、杀菌灌装，即得成品。

2、对比试验

(1) 对照组

取上述步骤(2)中的3个400kg大缸,每个缸中加入酒醪200kg,麸皮90kg,谷糠100kg,将酒醪和谷物混合均匀。取市售光明牌酿醋醋酸菌剂40g,添加量为酒醪质量的0.5‰(w/w),加入30℃酒醪约2000g于小桶内搅拌均匀后洒在1缸醋醅的上部拌匀,按照山西老陈醋的工艺进行翻醅操作,后续步骤同上述步骤(4)。

表3 醋醅主要指标对比(g/100g)

组别 \ 指标	总酸	不挥发酸	氨基酸态氮	总酯
试验组	5.57±0.04	2.34±0.02	0.35±0.01	5.47±0.03
对照组	4.71±0.11	1.47±0.03	0.18±0.02	3.76±0.01

与对照组相比使用本发明的二元复合发酵剂强化的试验组,发酵时间由9d缩短至7d,缩短2d;熏醅结束后醋醅中总酸含量提高18.26%,不挥发酸含量提高59.18%,氨基酸态氮含量提高94.44%,总酯含量提高45.48%;产品出率提高19.35%;获得产品的风味丰富,口感柔和饱满,感官评分较高。

实施例5:在米醋酿造中的应用

本实施例提供了一种使用发明的二元复合发酵剂在米醋酿造中的应用。

1、试验组

(1)挑选颗粒饱满、无霉变的糯米,除尘后经过粉碎机将糯米粉碎成70~80目的细粉。将粉碎的糯米粉和水,按照糯米粉:水=1:5(w/w)的比例加入糊化罐中。加入2.5万U/ml高温 α -淀粉酶,添加量为每吨糯米加入0.4~0.5L。同时升温至90~95℃,保温30~40min。

(2)利用螺旋式冷却器将醪液温度降至55~60℃,同时转入糖化罐中。加入10万U/g糖化酶,添加量为每吨糯米加入40~50g。温度控为55~60℃,保温30~60min。保温结束后,利用螺旋式冷却器将温度降至25~35℃,同时转入酒精发酵罐。

(3)添加酿酒酵母(购自CICC,菌株保藏编号为CICC 1001),接种量为5%(v/v)。控制温度为25~35℃,发酵至酒精度约为5%vol。然后添加本发明的复合菌剂I(20份瑞士乳杆菌CGMCC12225、10份发酵乳杆菌CGMCC12226、9份耐酸乳杆菌CGMCC16938、5份索诺拉沙漠芽孢杆菌CGMCC15824、6份凝结芽孢杆菌CGMCC17801、8份耐酸中温 α -淀粉酶、3份普鲁兰酶、5份糖化酶、6份纤维素酶和2份酸性蛋白酶),添加量为酒醪质量的0.2‰(w/w),继续发酵至酒精度为8%vol。

(4)选取上述步骤(3)中的1个500L发酵罐,加入200L经过压滤机过滤的澄清酒液,加入本发明的复合菌剂II(35份巴氏醋杆菌CGMCC17802、10份欧洲驹形杆菌CGMCC16345和55份葡萄糖),添加量为酒醪质量的0.15‰(w/w),调整通气量为0.3~0.4vvm,搅拌速度为250r/min进行醋酸发酵。

(5) 发酵结束的醋液采用 0.01 μ m 陶瓷膜过滤后, 调配酸度, 灌装即得成品。

2、对比试验

(1) 对照组

选取上述步骤(3)中的 1 个 500L 发酵罐, 加入 200L 经过压滤机过滤的澄清酒液, 加入市售光明牌酿醋醋酸菌剂, 添加量为酒醪质量的 0.7‰ (w/w), 调整通气量为 0.3~0.4vvm, 搅拌速度为 250r/min 进行醋酸发酵, 后续步骤通上述步骤(5)。

表 4 发酵结束后醋液主要指标对比 (g/100ml)

组别 \ 指标	总酸	不挥发酸	总酯
试验组	7.94 \pm 0.08	1.22 \pm 0.03	0.85 \pm 0.03
对照组	7.12 \pm 0.03	0.09 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01

与对照组相比, 试验组的启动速度快, 试验组发酵周期缩短 23.75%, 总酸含量提高 11.52%, 不挥发酸含量提高 12.5 倍以上, 总酯含量提高 14 倍以上。试验组制得的苹果醋刺激性显著降低、口感绵柔, 具有显著的综合性香气, 品质得到显著提升。

实施例 6: 在苹果醋酿造中的应用

本实施例提供了一种使用本发明的复合发酵剂在苹果醋酿造中的应用。

1、试验组

(1) 在 2 个 500L 发酵罐中分别加入 200L 经过调配, 糖含量为 16~18% (w/w), pH 值为 4.5~5.0 的苹果汁, 接种酵母菌 (购自 CICC, 菌株保藏编号为 CICC 1001), 接种量为 5% (v/v), 28~30 $^{\circ}$ C 发酵至酒精度约为 4% vol。

(2) 选取上述步骤(1)中的 1 个发酵罐, 加入本发明的复合菌剂 I (15 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、10 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、3 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、2 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、5 份耐酸中温 α -淀粉酶、1 份普鲁兰酶、2 份糖化酶、8 份纤维素酶和 5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的 0.15‰ (w/w), 保持发酵罐温度为 30 $^{\circ}$ C, 压力 0.05Mpa, 搅拌速度为 60r/min, 发酵至酒精度约 7% vol。

(3) 在发酵罐中加入本发明的复合菌剂 II (50 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、8 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 45 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1‰ (w/w)。

(4) 发酵结束的醋液采用陶瓷膜过滤后, 调配酸度, 灌装即得成品。

2、对比试验

(1) 对照组

选取上述步骤(1)中的 1 个发酵罐, 保持发酵罐温度为 30 $^{\circ}$ C, 压力 0.05Mpa, 搅拌速度为 60r/min, 发酵至酒精度约 7% vol; 然后加入市售光明牌酿醋醋酸菌剂, 添加

量为酒醪质量的 0.5‰ (w/w)，调整通气量为 0.3~0.4vvm，搅拌速度为 250r/min 进行醋酸发酵，后续步骤同上述步骤 (4)。

表 5 发酵结束后醋液主要指标对比 (g/100ml)

组别 \ 指标	总酸	不挥发酸	总酯
试验组	7.05 ± 0.05	1.27 ± 0.04	0.59 ± 0.02
对照组	6.14 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.03 ± 0.01

与对照组相比，试验组的启动速度快，试验组发酵周期缩短 18.89%，总酸含量提高 14.82%，不挥发酸含量提高 10.5 倍以上，总酯含量提高 19 倍以上。试验组制得的苹果醋刺激性显著降低、口感更加绵柔，具有显著的综合性香气，品质得到显著提升。

实施例 7：二元复合发酵剂配方及添加方式的对比

本实施例提供了本发明的二元复合发酵剂配方及添加方式的对比，进一步说明本发明的二元复合发酵剂配方组成及其添加方式对应用效果的重要性。

1、试验组

(1) 取 24 个 400kg 大缸，各取糯米 50kg 加水浸泡过夜。利用蒸汽将糯米蒸熟，以冷水淋饭至温度约 40℃ 加入酒药 0.3kg，拌匀后入缸搭窝成喇叭状。

(2) 待窝中有一定的酒液出现时，每缸加入麦曲 2.5kg，然后加水 150kg，搅拌均匀。

(3) 酒精发酵过程中，定期搅拌，温度控制在 30℃ 左右，约发酵 5~7d 结束。

(4) 取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸，每个缸中加入酒醪 200kg，加入本发明的复合菌剂 I (25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、13 份耐酸中温 α -淀粉酶、3 份普鲁兰酶、5 份糖化酶、9 份纤维素酶和 5 份酸性蛋白酶)，添加量为酒醪质量的 0.15‰ (w/w)，搅拌均匀后加入麸皮 80kg，大糠 45kg，将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 60 份葡萄糖)，添加量为酒醪质量的 0.1‰ (w/w)，加入 30℃ 酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部，然后用手向下深入约 10cm 拌匀，最后在顶部盖上大糠保温。

(5) 按照镇江香醋酿造工艺进行逐层翻醅，待醋醅发酵至总酸不在增加，即发酵结束。加盐封醅 15d，然后加入炒米色进行淋醋。经煎醋、陈酿、杀菌灌装，即得成品。

2、对比试验

(1) 对照组 A

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸，每个缸中加入酒醪 200kg，加入本发明的复

合菌剂 I (15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、13 份耐酸中温 α -淀粉酶、3 份普鲁兰酶、5 份糖化酶、9 份纤维素酶和 5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的 0.15% (w/w), 搅拌均匀后加入麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 60 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1% (w/w), 加入 30°C 酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部, 然后用手向下深入约 10cm 拌匀, 最后在顶部盖上大糠保温, 后续步骤同上述步骤 (5)。

(2) 对照组 B

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸, 每个缸中加入酒醪 200kg, 加入本发明的复合菌剂 I (25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、13 份耐酸中温 α -淀粉酶、3 份普鲁兰酶、5 份糖化酶、9 份纤维素酶和 5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的 0.15% (w/w), 搅拌均匀后加入麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 60 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1% (w/w), 加入 30°C 酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部, 然后用手向下深入约 10cm 拌匀, 最后在顶部盖上大糠保温。

(3) 对照组 C

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸, 每个缸中加入酒醪 200kg, 加入本发明的复合菌剂 I (25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、13 份耐酸中温 α -淀粉酶、3 份普鲁兰酶、5 份糖化酶、9 份纤维素酶、5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的 0.15% (w/w), 搅拌均匀后加入麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802 和 60 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1% (w/w), 加入 30°C 酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部, 然后用手向下深入约 10cm 拌匀, 最后在顶部盖上大糠保温, 后续步骤同上述步骤 (5)。

(4) 对照组 D

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸, 每个缸中加入酒醪 200kg, 加入本发明的复合菌剂 I (25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、3 份普鲁兰酶、9 份纤维素酶和 5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的

0.15‰ (w/w), 搅拌均匀后加入麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 60 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1‰ (w/w), 加入 30℃酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部, 然后用手向下深入约 10cm 拌匀, 最后在顶部盖上大糠保温, 后续步骤同上述步骤 (5)。

(5) 对照组 E

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸, 每个缸中加入酒醪 200kg, 加入本发明的复合菌剂 I (25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、13 份耐酸中温 α -淀粉酶、3 份普鲁兰酶、5 份糖化酶和 5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的 0.15‰ (w/w), 搅拌均匀后加入麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 60 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1‰ (w/w), 加入 30℃酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部, 然后用手向下深入约 10cm 拌匀, 最后在顶部盖上大糠保温, 后续步骤同上述步骤 (5)。

(6) 对照组 1

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸, 每个缸中加入酒醪 200kg, 加入本发明的复合菌剂 I (25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、13 份耐酸中温 α -淀粉酶、3 份普鲁兰酶、5 份糖化酶、9 份纤维素酶和 5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的 0.15‰ (w/w), 及本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 60 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1‰ (w/w), 麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅), 最后在顶部盖上大糠保温, 后续步骤同上述步骤 (5)。

(7) 对照组 2

取上述步骤 (3) 中的 3 个 400kg 大缸, 每个缸中加入酒醪 200kg, 麸皮 80kg, 大糠 45kg, 将酒醪和谷物混合均匀 (即醋醅)。取本发明的复合菌剂 I (25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、13 份耐酸中温 α -淀粉酶、3 份普鲁兰酶、5 份糖化酶、9 份纤维素酶和 5 份酸性蛋白酶), 添加量为酒醪质量的 0.15‰ (w/w), 及本发明的复合菌剂 II (55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 60 份葡萄糖), 添加量为酒醪质量的 0.1‰ (w/w),

加入 30℃酒醪约 1000g 于小桶内搅拌均匀后洒在 1 缸醋醅的上部,然后用手向下深入约 10cm 拌匀,最后在顶部盖上大糠保温,后续步骤同上述步骤 (5)。

表 6 醋卤主要指标对比 (g/100ml)

组别 \ 指标	总酸	不挥发酸	氨基酸态氮	总酯
试验组	8.41 ± 0.05	2.45 ± 0.01	0.37 ± 0.02	4.86 ± 0.05
对照组 A	8.01 ± 0.07	2.05 ± 0.02	0.31 ± 0.04	4.73 ± 0.06
对照组 B	8.04 ± 0.05	2.13 ± 0.01	0.35 ± 0.02	4.46 ± 0.05
对照组 C	7.93 ± 0.06	2.47 ± 0.02	0.36 ± 0.03	4.80 ± 0.02
对照组 D	8.01 ± 0.03	2.25 ± 0.03	0.30 ± 0.01	4.66 ± 0.04
对照组 E	8.10 ± 0.05	2.39 ± 0.01	0.37 ± 0.03	4.71 ± 0.02
对照组 1	7.96 ± 0.03	2.30 ± 0.10	0.31 ± 0.01	4.55 ± 0.16
对照组 2	8.13 ± 0.10	1.51 ± 0.05	0.28 ± 0.01	3.93 ± 0.21

与试验组相比,对照组 A~E 中的总酸、不挥发酸、氨基酸态氮和总酯指标均未达到对照组的效果,说明本发明的二元复合发酵剂配方对确保达到良好的效果具有重要作用。

与试验组相比,对照组 1 提热速度慢,首次温度达到 40℃以上时间由 20h 延长至 103h,延长 83h;发酵时间由 15d 延长至 21d,延长 6d。对照组 2 不挥发酸含量显著降低,总酯含量显著降低。

本发明的二元复合发酵剂的配方组成及其添加方式对产生突出的应用效果具有重要影响。

权利要求书

1、一种二元复合发酵剂，包含复合菌剂 I 和复合菌剂 II，其特征在于，复合菌剂 I 包含瑞士乳杆菌 CGMCC12225、发酵乳杆菌 CGMCC12226、耐酸乳杆菌 CGMCC16938、索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、耐酸中温 α -淀粉酶、普鲁兰酶、糖化酶、纤维素酶和酸性蛋白酶；复合菌剂 II 包含巴氏醋杆菌 CGMCC17802、欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和葡萄糖。

2、根据权利要求 1 所述的二元复合发酵剂，其特征在于，所述复合菌剂 I 按重量份包含 10~25 份瑞士乳杆菌 CGMCC12225、5~15 份发酵乳杆菌 CGMCC12226、5~20 份耐酸乳杆菌 CGMCC16938、3~15 份索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824、2~10 份凝结芽孢杆菌 CGMCC17801、5~13 份耐酸中温 α -淀粉酶、1~3 份普鲁兰酶、2~5 份糖化酶、3~9 份纤维素酶和 1~5 份酸性蛋白酶；复合菌剂 II 按重量份包含 35~55 份巴氏醋杆菌 CGMCC17802、2~10 份欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 和 40~60 份葡萄糖。

3、根据权利要求 1 所述的二元复合发酵剂，其特征在于，所述复合菌剂 I 中瑞士乳杆菌 CGMCC12225、发酵乳杆菌 CGMCC12226、耐酸乳杆菌 CGMCC16938、索诺拉沙漠芽孢杆菌 CGMCC15824 和凝结芽孢杆菌 CGMCC17801 的活菌数均为 $1.0 \times 10^8 \sim 1.0 \times 10^{10}$ CFU/g，耐酸中温 α -淀粉酶、普鲁兰酶、糖化酶、纤维素酶和酸性蛋白酶的酶活力均为 2~10 万 U/g。

4、根据权利要求 1 所述的二元复合发酵剂，其特征在于，所述复合菌剂 II 中巴氏醋杆菌 CGMCC17802 和欧洲驹形杆菌 CGMCC16345 的活菌数 $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$ CFU/g。

5、权利要求 1 至 4 任一所述的二元复合发酵剂在食醋酿造中的应用。

6、根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，所述复合菌剂 I 在醋酸发酵前加入，所述复合菌剂 II 在醋酸发酵阶段加入。

7、根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，所述二元复合发酵剂与种子醪联合使用。

8、根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，所述食醋酿造为固态食醋发酵或液态食醋发酵。

9、根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，所述二元复合发酵剂采用直投方式加入。

10、根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，所述食醋为镇江香醋、山西老陈醋、米醋或苹果醋。

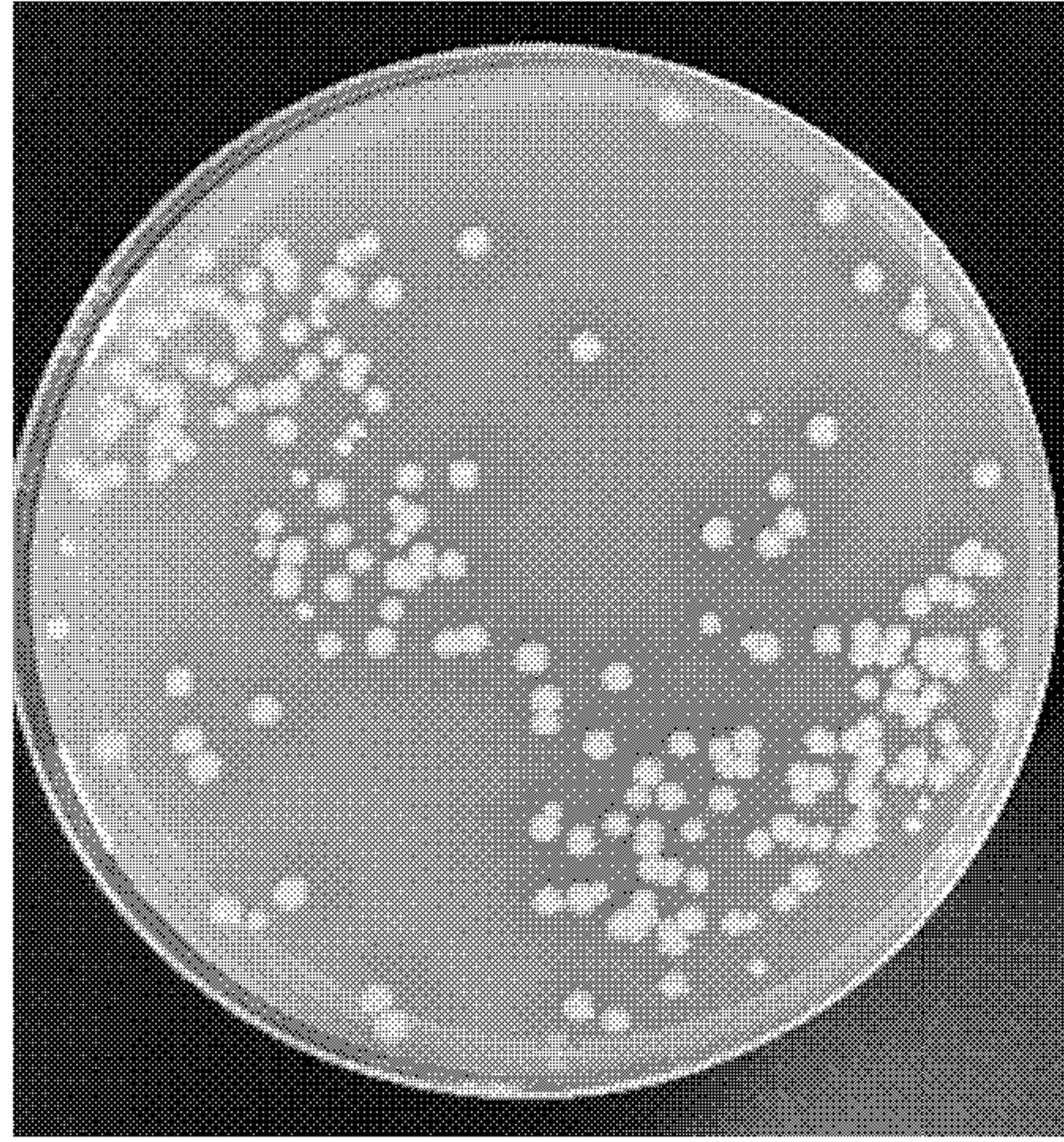


图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/103450

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C12N 1/20(2006.01)i; C12N 9/26(2006.01)i; C12N 9/34(2006.01)i; C12N 9/44(2006.01)i; C12N 9/42(2006.01)i; C12N 9/50(2006.01)i; C12J 1/04(2006.01)i; C12R 1/225(2006.01)i; C12R 1/07(2006.01)i; C12R 1/02(2006.01)i; C12R 1/01(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N,C12J,C12R		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) VEN; CNABS; CNTXT; CNKI; 万方; 读秀; 百度; Elsevier Science; ISI_Web of Science: 江苏恒顺醋业股份有限公司, 李国权, 李信, 余永建, 朱胜虎, 崔鹏景, 张俊红, 陆平, 奚宽鹏, 醋, 发酵, 发酵剂, 瑞士乳杆菌, 发酵乳杆菌, 耐酸乳杆菌, 索诺拉沙漠芽孢杆菌, 凝结芽孢杆菌, 耐酸中温 α -淀粉酶, 普鲁兰酶, 糖化酶, 纤维素酶, 酸性蛋白酶, 巴氏醋杆菌, 欧洲驹形杆菌, 葡萄糖, vinegar, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus acetotolerans, Bacillus sonorensis, Bacillus coagulans, Acetobacter pasteurianus, Komagataeibacter europaeus, amylase, glucose, pullulanase, cellulase, protease		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 110819576 A (JIANGSU HENGSHUN VINEGAR INDUSTRY CO., LTD.) 21 February 2020 (2020-02-21) claims 1-10	1-10
A	沈咪娜 (SHEN, Mina). "镇江香醋微生物群落乳酸代谢途径研究 (Lactic Acid Metabolism in the Microbial Community of Zhenjiang Aromatic Vinegar)" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技辑》 (Chinese Master's Theses Full-text Database, Engineering Science), 15 December 2019 (2019-12-15), pages D024-258	1-10
A	CN 110408571 A (JIANGSU HENGSHUN VINEGAR INDUSTRY CO., LTD. et al.) 05 November 2019 (2019-11-05) entire document	1-10
A	CN 108913628 A (JIANGSU HENGSHUN VINEGAR INDUSTRY CO., LTD.) 30 November 2018 (2018-11-30) entire document	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 28 September 2020		Date of mailing of the international search report 28 October 2020
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China		Authorized officer
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/103450

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 109749915 A (SHANXI AGRICULTURAL UNIVERSITY) 14 May 2019 (2019-05-14) entire document	1-10
A	CN 109652347 A (SHANXI AGRICULTURAL UNIVERSITY) 19 April 2019 (2019-04-19) entire document	1-10
A	CN 107418909 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 01 December 2017 (2017-12-01) entire document	1-10
A	CN 107034087 A (JIANGSU HENGSHUN VINEGAR INDUSTRY CO., LTD.) 11 August 2017 (2017-08-11) entire document	1-10
A	CN 107653175 A (YONGCHUN COUNTY GUSHAN TOWN JINYUAN SAUCE & VINEGAR CO., LTD.) 02 February 2018 (2018-02-02) entire document	1-10
A	CN 109486643 A (SHANXI ZILIN VINEGAR INDUSTRY CO., LTD.) 19 March 2019 (2019-03-19) entire document	1-10
A	CN 101857883 A (GUANGXI UNIVERSITY) 13 October 2010 (2010-10-13) entire document	1-10
A	CN 106434264 A (TIANJIN UNIVERSITY OF SCIENCE & TECHNOLOGY) 22 February 2017 (2017-02-22) entire document	1-10
A	JP 2010227055 A (MITSUKAN GROUP HONSHA K.K.) 14 October 2010 (2010-10-14) entire document	1-10
A	黄继红 等 (HUANG, Jihong et al.). "异普鲁兰酶 (Isopullulanase)" 《抗性淀粉生产技术及其应用》 (Non-official translation: <i>Production Technology and Application of Resistant Starch</i>), 31 January 2017 (2017-01-31), p. 128	1-10
A	姜锡瑞 等 (JIANG, Xirui et al.). "食醋 (Non-official translation: Edible Vinegar)" 《生物发酵产业技术》 (Technology of Biotech Fermentation Industry), 31 May 2016 (2016-05-31), p. 391	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/103450

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	110819576	A	21 February 2020	CN	110819576	B	11 August 2020
CN	110408571	A	05 November 2019	None			
CN	108913628	A	30 November 2018	None			
CN	109749915	A	14 May 2019	None			
CN	109652347	A	19 April 2019	None			
CN	107418909	A	01 December 2017	CN	107418909	B	26 November 2019
CN	107034087	A	11 August 2017	None			
CN	107653175	A	02 February 2018	None			
CN	109486643	A	19 March 2019	None			
CN	101857883	A	13 October 2010	None			
CN	106434264	A	22 February 2017	CN	106434264	B	06 December 2019
JP	2010227055	A	14 October 2010	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/103450

<p>A. 主题的分类</p> <p>C12N 1/20(2006.01)i; C12N 9/26(2006.01)i; C12N 9/34(2006.01)i; C12N 9/44(2006.01)i; C12N 9/42(2006.01)i; C12N 9/50(2006.01)i; C12J 1/04(2006.01)i; C12R 1/225(2006.01)i; C12R 1/07(2006.01)i; C12R 1/02(2006.01)i; C12R 1/01(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C12N, C12J, C12R</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>VEN;CNABS;CNTXT;CNKI;万方;读秀;百度;Elsevier Science;ISI_Web of Science: 江苏恒顺醋业股份有限公司, 李国权, 李信, 余永建, 朱胜虎, 崔鹏景, 张俊红, 陆平, 奚宽鹏, 醋, 发酵, 发酵剂, 瑞士乳杆菌, 发酵乳杆菌, 耐酸乳杆菌, 索诺拉沙漠芽孢杆菌, 凝结芽孢杆菌, 耐酸中温α-淀粉酶, 普鲁兰酶, 糖化酶, 纤维素酶, 酸性蛋白酶, 巴氏醋杆菌, 欧洲驹形杆菌, 葡萄糖, vinegar, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus acetotolerans, Bacillus sonorensis, Bacillus coagulans, Acetobacter pasteurianus, Komagataei-bacter europaeus, amylase, glucose, pullulanase, cellulase, protease</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 110819576 A (江苏恒顺醋业股份有限公司) 2020年 2月 21日 (2020 - 02 - 21) 权利要求1-10</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>沈咪娜. "镇江香醋微生物群落乳酸代谢途径研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技辑》, 2019年 12月 15日 (2019 - 12 - 15), 第D024-258页</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 110408571 A (江苏恒顺醋业股份有限公司等) 2019年 11月 5日 (2019 - 11 - 05) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 108913628 A (江苏恒顺醋业股份有限公司) 2018年 11月 30日 (2018 - 11 - 30) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109749915 A (山西农业大学) 2019年 5月 14日 (2019 - 05 - 14) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 110819576 A (江苏恒顺醋业股份有限公司) 2020年 2月 21日 (2020 - 02 - 21) 权利要求1-10	1-10	A	沈咪娜. "镇江香醋微生物群落乳酸代谢途径研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技辑》, 2019年 12月 15日 (2019 - 12 - 15), 第D024-258页	1-10	A	CN 110408571 A (江苏恒顺醋业股份有限公司等) 2019年 11月 5日 (2019 - 11 - 05) 全文	1-10	A	CN 108913628 A (江苏恒顺醋业股份有限公司) 2018年 11月 30日 (2018 - 11 - 30) 全文	1-10	A	CN 109749915 A (山西农业大学) 2019年 5月 14日 (2019 - 05 - 14) 全文	1-10
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	CN 110819576 A (江苏恒顺醋业股份有限公司) 2020年 2月 21日 (2020 - 02 - 21) 权利要求1-10	1-10																		
A	沈咪娜. "镇江香醋微生物群落乳酸代谢途径研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技辑》, 2019年 12月 15日 (2019 - 12 - 15), 第D024-258页	1-10																		
A	CN 110408571 A (江苏恒顺醋业股份有限公司等) 2019年 11月 5日 (2019 - 11 - 05) 全文	1-10																		
A	CN 108913628 A (江苏恒顺醋业股份有限公司) 2018年 11月 30日 (2018 - 11 - 30) 全文	1-10																		
A	CN 109749915 A (山西农业大学) 2019年 5月 14日 (2019 - 05 - 14) 全文	1-10																		
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																				
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>"&" 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2020年 9月 28日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2020年 10月 28日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>孙跃辉</p> <p>电话号码 86-(10)-53962057</p>																		

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 109652347 A (山西农业大学) 2019年 4月 19日 (2019 - 04 - 19) 全文	1-10
A	CN 107418909 A (江南大学) 2017年 12月 1日 (2017 - 12 - 01) 全文	1-10
A	CN 107034087 A (江苏恒顺醋业股份有限公司) 2017年 8月 11日 (2017 - 08 - 11) 全文	1-10
A	CN 107653175 A (永春县岢山津源酱醋厂有限公司) 2018年 2月 2日 (2018 - 02 - 02) 全文	1-10
A	CN 109486643 A (山西紫林醋业股份有限公司) 2019年 3月 19日 (2019 - 03 - 19) 全文	1-10
A	CN 101857883 A (广西大学) 2010年 10月 13日 (2010 - 10 - 13) 全文	1-10
A	CN 106434264 A (天津科技大学) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 全文	1-10
A	JP 2010227055 A (MITSUKAN GROUP HONSHA K.K.) 2010年 10月 14日 (2010 - 10 - 14) 全文	1-10
A	黄继红等. “异普鲁兰酶” 《抗性淀粉生产技术及其应用》, 2017年 1月 31日 (2017 - 01 - 31), 第128页	1-10
A	姜锡瑞等. “食醋” 《生物发酵产业技术》, 2016年 5月 31日 (2016 - 05 - 31), 第391页	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2020/103450

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	110819576	A	2020年 2月 21日	CN	110819576	B	2020年 8月 11日
CN	110408571	A	2019年 11月 5日	无			
CN	108913628	A	2018年 11月 30日	无			
CN	109749915	A	2019年 5月 14日	无			
CN	109652347	A	2019年 4月 19日	无			
CN	107418909	A	2017年 12月 1日	CN	107418909	B	2019年 11月 26日
CN	107034087	A	2017年 8月 11日	无			
CN	107653175	A	2018年 2月 2日	无			
CN	109486643	A	2019年 3月 19日	无			
CN	101857883	A	2010年 10月 13日	无			
CN	106434264	A	2017年 2月 22日	CN	106434264	B	2019年 12月 6日
JP	2010227055	A	2010年 10月 14日	无			