



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108433101 A

(43)申请公布日 2018.08.24

(21)申请号 201810035455.5

(22)申请日 2018.01.15

(71)申请人 浙江科技学院

地址 310023 浙江省杭州市西湖区留和路
318号

(72)发明人 毛建卫 葛青 沙如意 方晟
毛旻晨

(74)专利代理机构 杭州浙科专利事务所(普通
合伙) 33213

代理人 沈渊琪

(51)Int.Cl.

A23L 33/00(2016.01)

A23L 2/38(2006.01)

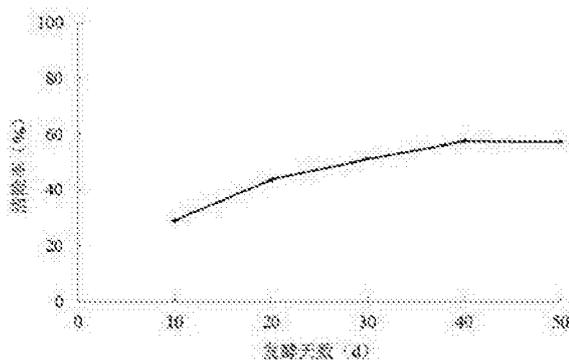
权利要求书2页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种竹叶超微粉制备竹叶酵素及竹叶酵素
饮料的方法

(57)摘要

一种竹叶超微粉制备竹叶酵素及竹叶酵素
饮料的方法,属于发酵技术工程领域。该方法包
括以下步骤:(1)原料预处理;(2)超微细粉碎;
(3)加压处理;(4)酶解;(5)物料混合;(6)微生物
发酵;(7)发酵后处理。利用本发明制备的竹叶超
微粉酵素不添加任何防腐剂和添加剂,经微生物
发酵,在乳酸菌、酵母菌等有益菌群的作用下进
行复合发酵而成的纯天然竹叶超微粉酵素。本发
明可较好地保留竹叶中的活性成分,营养丰富,
天然绿色环保,适用于工业化生产。



1. 一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于包括以下步骤:

(1) 竹叶除杂处理:新鲜竹叶用流动水反复冲洗以除去表皮污物,晾干,采用机械粉碎法对竹叶进行粗粉碎,过20目分子筛,得到竹叶粗粉;

(2) 超微细粉碎:将竹叶粗粉置于高能球磨机中进行超微细处理;

(3) 加压处理:将上述超微细竹叶粉置于螺杆机中进行加压处理,得到超微细竹叶粉;

(4) 酶解:取步骤(3)的超微细竹叶粉,加入1~4倍量水,0.01~1%纤维素酶进行酶解,控制酶解温度45~55℃,pH 4.0~5.0,酶解时间1.0~5.0小时,得竹叶超微粉酶解液;

(5) 物料混合:挑选无腐烂、无异味的水果或/和蔬菜,用流动水或臭氧反复冲洗以除去灰尘等杂物,干燥脱表面水分,破碎或切片、切块,放入已消毒的清洁干燥容器内,再加入大豆粉、花生粕、鸡蛋粉或脱脂奶粉,然后加入步骤(4)的竹叶超微粉酶解液、糖类物质,搅拌均匀备用;

(6) 微生物发酵:将上述混合物料置于经灭菌处理的酵素发酵罐中进行微生物发酵,第一阶段加入0.2%~10%的酵母菌,发酵温度为25~35℃,发酵时间5天~35天;第二阶段加入0.2%~10%的乳酸菌,发酵温度为20~30℃,发酵时间5天~35天;

(7) 发酵后处理:将步骤(6)得到的竹叶发酵液经过滤、均质后,进行熟成30~300天,得到竹叶酵素原液。

2. 如权利要求1所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(2)中高能球磨机破壁处理条件为:球料比为5~10:1,球磨温度40~50℃,球磨时间为5~15 min。

3. 如权利要求1所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(3)中螺杆机中进行加压处理条件为:含水量为10~15%,挤压温度为170~180℃,压力10~15MPa。

4. 如权利要求1所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(4)中加入0.02~0.08%纤维素酶进行酶解。

5. 如权利要求1所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(5)中竹叶超微粉酶解液:大豆粉、花生粕、鸡蛋粉或脱脂奶粉:水果或/和蔬菜:糖类物质的重量比为1:0.01~0.2:1~5: 0.8~5。

6. 如权利要求1所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(6)中乳酸菌为双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌中的一种或多种。

7. 如权利要求1所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(6)中酵母菌为鲁氏接合酵母CGMCC No.12131或安琪干酵母。

8. 如权利要求1所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(7)分离发酵液后的剩余固体部分可干燥得到竹叶固体酵素产品。

9. 如权利要求1所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于将步骤(7)得到的竹叶酵素原液通过以下步骤制成竹叶酵素饮料:

a按竹叶酵素原液0.5~20%,竹叶提取物0.5~50%,白砂糖0.1~5%,低聚糖0.1%~0.2%,维生素C 0.1~1%,余量为纯净水,调配搅拌均匀;

b膜过滤:将调配好的竹叶酵素饮料经过滤机进行过滤;

c灭菌、灌装：过滤好的饮料经巴氏杀菌后立即灌装，得到所述的竹叶酵素饮料。

10. 如权利要求9所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法，其特征在于所述的竹叶提取物通过以下步骤得到：选取无腐烂、无异味的淡竹叶，清洗，干燥脱表面水分，粉碎，过60目筛，得到竹叶粗粉；取竹叶粗粉进行热水提取，过滤得到竹叶提取物，备用。

一种竹叶超微粉制备竹叶酵素及竹叶酵素饮料的方法

技术领域

[0001] 本发明属于发酵技术工程领域,具体涉及一种竹叶超微粉制备竹叶酵素及竹叶酵素饮料的方法。

背景技术

[0002] 竹子是禾本科竹亚科多年生常绿植物,广泛分布于热带、亚热带和暖温带地区,是当今世界最具有使用价值的植物之一。全世界约有70多属、1200多种,竹林面积约2100万公顷,我国现有竹林面积520万公顷,占世界竹林总面积近1/4,主要分布于福建、江西、浙江等省。

[0003] 竹叶在中国民间广为使用,具有悠久的药用和食用历史,是很好的清热解毒药。据我国文献记载,竹叶性淡、微涩、寒、味甘苦,具有清热利尿、明目解毒和止血的功能。国内外的许多研究表明,竹叶中含有大量的黄酮类化合物、生物活性多糖、酚酸类化合物、萜醌类化合物、萜类、内酯、特种氨基酸及其衍生物、活性肽、叶绿素、锰、锌、硒及一些挥发性成分等。竹叶提取物具有优良的抑菌、抗自由基、抗氧化、杀虫、抗肿瘤、抗衰老、降血脂等诸多生物活性作用,同时还赋予食品独特的竹叶清香,而且无毒,容易为消费者接受,可满足人们对天然食品、绿色食品、健康食品的需要,在食品防腐、抗氧化和有害生物防治的应用,前景十分广阔。

[0004] 食用植物酵素(Edible Plant Source Jiaosu)是以一种或多种新鲜蔬菜、水果和谷豆类、海藻类、食药两用本草类、菌菇类等食材为原料,加(或不加)糖类物质,在较低温度下,经多种有益菌通过较长时间发酵而生产的功能性微生物发酵产品。食用植物酵素含有天然植物提供的和发酵生成的各种生理活性成分,拥有丰富的次生代谢产物和益生菌等功能成分,特别是富含小分子功能成分;现代研究表明,研究表明该类产品具有抗衰老、抗菌、消炎、净化血液、增强机体免疫能力和解毒、抗癌等多种保健功能。

[0005] 公开号为CN106923328A的中国发明,公开了一种竹叶酵素及其制备方法,其具体包括以下步骤:1)将竹叶打浆;2)向竹叶浆中加入还原糖、菊芋粉、豆粕粉、紫苏叶浆和蔬菜浆,得到混合浆;3)调节所述混合浆的pH至4.0~4.5;4)将混合浆装入发酵容器进行超声波处理后立即水封,依次进行无氧发酵和有氧发酵,待混合浆中还原糖含量小于5g/L时有氧发酵结束,无氧发酵分为两个阶段,第一阶段于40℃~45℃下发酵5~10天;第二阶段于35℃~40℃和3.8~4.2的pH下发酵6~8天;有氧发酵于25℃~30℃和3.3~3.8的pH下发酵30~40天,压榨分离得发酵液;5)将所述发酵液于低温下存放1个月,期间每隔15天进行一次超声波处理;6)将后熟处理的发酵液加入L-阿拉伯糖或菊糖调节口感,得到竹叶酵素。

[0006] 该方法能够提供一种较好的竹叶酵素,但是其存在以下不足:普通竹叶浆为原料,活性成分不易溶出。

发明内容

[0007] 为了弥补现有技术的不足,本发明所要解决的技术问题是提供一种竹叶超微粉制

备竹叶酵素及竹叶酵素饮料的方法,利用本发明制备的竹叶超微粉酵素不添加任何防腐剂和添加剂,经微生物发酵,在乳酸菌、酵母菌等有益菌群的作用下进行复合发酵而成的纯天然竹叶超微粉酵素。本发明可较好地保留竹叶中的活性成分,营养丰富,天然绿色环保,适用于工业化生产。

[0008] 为解决上述技术问题,本发明包括以下步骤:

所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于包括以下步骤:

(1) 竹叶除杂处理:新鲜竹叶用流动水反复冲洗以除去表皮污物,晾干,采用机械粉碎法对竹叶进行粗粉碎,过20目分子筛,得到竹叶粗粉;

(2) 超微细粉碎:将竹叶粗粉置于高能球磨机中进行超微细处理;

(3) 加压处理:将上述超微细竹叶粉置于螺杆机中进行加压处理,得到超微细竹叶粉;

(4) 酶解:取步骤(3)的超微细竹叶粉,加入1~4倍量水,0.01~1%纤维素酶进行酶解,控制酶解温度45~55℃,pH 4.0~5.0,酶解时间1.0~5.0小时,得竹叶超微粉酶解液;

(5) 物料混合:挑选无腐烂、无异味的水果或/和蔬菜,用流动水或臭氧反复冲洗以除去灰尘等杂物,干燥脱表面水分,破碎或切片、切块,放入已消毒的清洁干燥容器内,再加入大豆粉、花生粕、鸡蛋粉或脱脂奶粉,然后加入步骤(4)的竹叶超微粉酶解液、糖类物质,搅拌均匀备用;

(6) 微生物发酵:将上述混合物料置于经灭菌处理的酵素发酵罐中进行微生物发酵,第一阶段加入0.2%~10%的酵母菌,发酵温度为25~35℃,发酵时间5天~35天;第二阶段加入0.2%~10%的乳酸菌,发酵温度为20~30℃,发酵时间5天~35天;

(7) 发酵后处理:将步骤(6)得到的竹叶发酵液经过滤、均质后,进行熟成30~300天,得到竹叶酵素原液。

[0009] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(2)中高能球磨机破壁处理条件为:球料比为5~10:1,球磨温度40~50℃,球磨时间为5~15 min。

[0010] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(3)中螺杆机中进行加压处理条件为:含水量为10~15%,挤压温度为170~180℃,压力10~15MPa。

[0011] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(4)中加入0.02~0.08%纤维素酶进行酶解。

[0012] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(5)中竹叶超微粉酶解液:大豆粉、花生粕、鸡蛋粉或脱脂奶粉:水果或/和蔬菜:糖类物质的重量比为1:0.01~0.2:1~5:0.8~5。

[0013] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(6)中乳酸菌为双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌中的一种或多种。

[0014] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(6)中酵母菌为鲁氏接合酵母CGMCC No.12131(所述的菌已保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC),保藏号为CGMCC12131,其基因序列已上传到GenBank数据库,编号为KT956240)或安琪干酵母。

[0015] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于所述的步骤(7)分离发酵液后的剩余固体部分可干燥得到竹叶固体酵素产品。

[0016] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法,其特征在于将步骤(4)得到的竹叶

酵素原液通过以下步骤制成竹叶酵素饮料：

a按竹叶酵素原液0.5~20%，竹叶提取物0.5~50%，白砂糖0.1~5%，低聚糖0.1%~0.2%，维生素C 0.1~1%，余量为纯净水，调配搅拌均匀；

b膜过滤：将调配好的竹叶酵素饮料经过滤机进行过滤；

c灭菌、灌装：过滤好的饮料经巴氏杀菌后立即灌装，得到所述的竹叶酵素饮料。

[0017] 所述的一种竹叶超微粉制备竹叶酵素的方法，其特征在于所述的竹叶提取物通过以下步骤得到：选取无腐烂、无异味的淡竹叶，清洗，干燥脱表面水分，粉碎，过60目筛，得到竹叶粗粉；取竹叶粗粉进行热水提取，过滤得到竹叶提取物，备用。

[0018] 本发明的有益效果：

(1) 本发明的制备方法所得到的竹叶超微粉酵素有效保证了竹叶的活性成分，具有良好的抗氧化活性，最终获得的成分或风味得到改善的具有特殊营养和保健功能的食用产品。

[0019] (2) 本发明接入了益生菌，通过益生菌的发酵改善了产品的风味，发酵后具有竹叶清香的发酵风味。

附图说明

[0020] 图1为竹叶酵素发酵过程中 DPPH 自由基清除能力的变化；

图2为竹叶酵素发酵过程中ABTS自由基清除能力的变化。

具体实施方式

[0021] 下面将结合具体实施例对本发明进行进一步的解释，但并不用于限制本发明。

[0022] 实施例1

(1) 竹叶除杂处理：挑选新鲜嫩淡竹叶4kg，用流动水反复冲洗以除去表皮污物等，晾干，采用机械粉碎法对竹叶进行粗粉碎，过20目分子筛，得到竹叶粗粉；

(2) 超微细粉碎：将竹叶粗粉置于高能球磨机中，球料比为8:1，球磨温度45℃，球磨时间10min；

(3) 加压处理：将上述超微细淡竹叶粉置于螺杆机中进行超微细处理，含水量为12%，挤压温度为175℃，压力10MPa；

(4) 酶解：取步骤(3)的超微细淡竹叶粉2kg，加入4L水，2g纤维素酶，控制酶解温度50℃，pH 4.5，酶解时间3小时，得竹叶超微粉酶解液；

(5) 取竹叶超微粉酶解液1kg，再在竹叶超微粉酶解液再加入葡萄2kg、火龙果2kg、萝卜1kg，蜂蜜5kg，大豆粉0.2kg，适当搅拌；

(6) 将上述混合物料置于经灭菌处理的酵素罐中进行微生物发酵。微生物发酵可分为两个阶段，第一阶段加入100g鲁氏接合酵母，搅拌均匀后在发酵温度30℃下发酵25天，第二阶段加入嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌各15g，发酵温度为25℃，发酵25天；

(7) 发酵后处理：将步骤(6)得到的竹叶发酵液经过滤、均质后，进行熟成30~300天，得到竹叶酵素原液。

[0023] 实施例2

(1) 竹叶除杂处理：挑选新鲜嫩毛竹叶3kg，用流动水反复冲洗以除去表皮污物等，晾

干,采用机械粉碎法对竹叶进行粗粉碎,过20目分子筛,得到竹叶粗粉;

(2)超微细粉碎:将竹叶粗粉置于高能球磨机中,球料比为7:1,球磨温度50℃,球磨时间15min;

(3)加压处理:将上述超微细淡竹叶粉置于螺杆机中进行超微细处理,含水量为15%,挤压温度为180℃,压力15MPa;

(4)酶解:取步骤(3)的超微细毛竹叶粉2kg,加入5L水,纤维素酶2.5g,控制酶解温度55℃,pH 4.5,酶解时间2小时,得竹叶超微粉酶解液;

(5)取竹叶超微粉酶解液1kg,再加入柘果1kg、木瓜1kg、百合1kg、蔗糖0.8kg、花生粕0.2kg,适当搅拌;

(6)将上述混合物料置于经灭菌处理的酵素罐中进行微生物发酵,微生物发酵可分为两个阶段,第一阶段加入120g安琪干酵母,搅拌均匀后在发酵温度35℃下发酵20天,第二阶段加入嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌各25g,发酵温度为30℃,发酵20天;

(7)发酵液经过过滤、离心、均质、熟化,得到竹叶超微粉酵素。

[0024] 实施例3

(1)竹叶除杂处理:挑选新鲜嫩淡竹叶3kg,用流动水反复冲洗以除去表皮污物等,晾干,采用机械粉碎法对竹叶进行粗粉碎,过20目分子筛,得到竹叶粗粉;

(2)超微细粉碎:将竹叶粗粉置于高能球磨机中,球料比为6:1,球磨温度40℃,球磨时间10min;

(3)加压处理:将上述超微细淡竹叶粉置于螺杆机中进行超微细处理,含水量为15%,挤压温度为170℃,压力15MPa;

(4)酶解:取步骤(3)的超微细淡竹叶粉2kg,加入6L水,纤维素酶3g,控制酶解温度50℃,pH 5.0,酶解时间1.5小时,得竹叶超微粉酶解液;

(5)取竹叶超微粉酶解液1kg,再加入青梅0.2kg、沙果0.2kg、竹笋0.4kg、紫苏叶0.2kg、蔗糖4kg、花生粕0.2kg,适当搅拌;

(6)将上述混合物料置于经灭菌处理的酵素罐中进行微生物发酵。微生物发酵可分为两个阶段,第一阶段加入300g鲁氏结合酵母,搅拌均匀后在发酵温度25℃下发酵15天,第二阶段加入嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌各15g,发酵温度为28℃,发酵10天;

(7)发酵液经过过滤、离心、均质、熟化,得到竹叶超微粉酵素。

[0025] 实施例4

(1)按实施例1制得的竹叶酵素原液0.5~20%,竹叶提取物0.5~50%,白砂糖0.1~5%,低聚糖0.1%~0.2%,维生素C 0.1~1%,余量为纯净水,调配搅拌均匀,所述的竹叶提取物通过以下步骤得到:选取无腐烂、无异味的淡竹叶,清洗,干燥脱表面水分,粉碎,过60目筛,得到竹叶粗粉;取竹叶粗粉进行热水提取,过滤得到竹叶提取物,备用;

(2)膜过滤:将调配好的竹叶酵素饮料经过滤机进行过滤;

(3)灭菌、灌装:过滤好的饮料经巴氏杀菌后立即灌装,得到所述的竹叶酵素饮料。

[0026]

试验例1:

下面以清除DPPH、ABTS自由基的能力,进一步说明本发明中竹叶超微粉酵素的抗氧化作用。

[0027] 1 材料和方法

1.1 材料

本发明实施例1中的竹叶超微粉酵素。

[0028] 1.2 方法

1.2.1 DPPH清除率的测定

取不同发酵时间(10, 20, 30, 40, 50天)竹叶超微粉酵素液80 μL , 加水至2mL, 分别加入到4 mL 0.1mmol/L DPPH-甲醇溶液中, 再加入450 μL 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液(pH 7.4), 25 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温水浴反应30min。以去离子水为参比溶液, 在517nm下测定吸光度。实验平行三组。

$$[0029] \quad \text{DPPH自由基清除能力}(\%) = [(A_0 - (A_1 - A_2)) / A_0] \times 100\% \quad \text{式(1)}$$

式(1)中:

A_0 —空白对照液; A_1 —样品测定管; A_2 —样品本底管;

1.2.2 ABTS清除率的测定

取不同发酵时间(10, 20, 30, 40, 50天)竹叶酵素液15 μL , 用5mmol/L磷酸缓冲液(pH 7.4)补至300 μL , 再加入5 mL ABTS溶液(734nm下吸光度 0.7 ± 0.02), 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴反应1h。以去离子水为参比溶液, 以Vc为对照, 在734nm下测定吸光度。实验平行三组。

$$[0030] \quad \text{ABTS自由基清除能力}(\%) = [(A_0 - (A_1 - A_2)) / A_0] \times 100\% \quad \text{式(2)}$$

式(2)中:

A_0 —空白对照液; A_1 —样品测定管; A_2 —样品本底管。

[0031] 2 结果与分析

2.1 DPPH自由基清除能力

竹叶酵素在发酵过程中DPPH自由基清除能力的变化如图1所示。由图1可知, 竹叶酵素DPPH自由基清除能力在前50天内从29.09%上升到了57.62%, 第50天为57.29%, 略有下降, 40天时达到最高, 清除率为57.62%, 说明本发明的竹叶酵素具有良好的DPPH自由基消除能力。而采用CN106923328A公开的方法制得的竹叶酵素在发酵40天时DPPH自由基清除率仅为35.52%。

[0032] 2.2 ABTS 自由基清除能力

竹叶酵素在发酵过程中ABTS自由基清除能力的变化如图2所示。由图2可知, 在发酵过程中, 竹叶酵素对ABTS自由基清除能力在前50天一直在增加, 在50天时, 对ABTS自由基清除能力达到55.13%, 与发酵第10d相比增加了22.58%。说明本发明的竹叶酵素具有良好的ABTS自由基消除能力。而采用CN106923328A公开的方法制得的竹叶酵素DPPH在发酵40天对ABTS自由基清除率仅为38.25%。

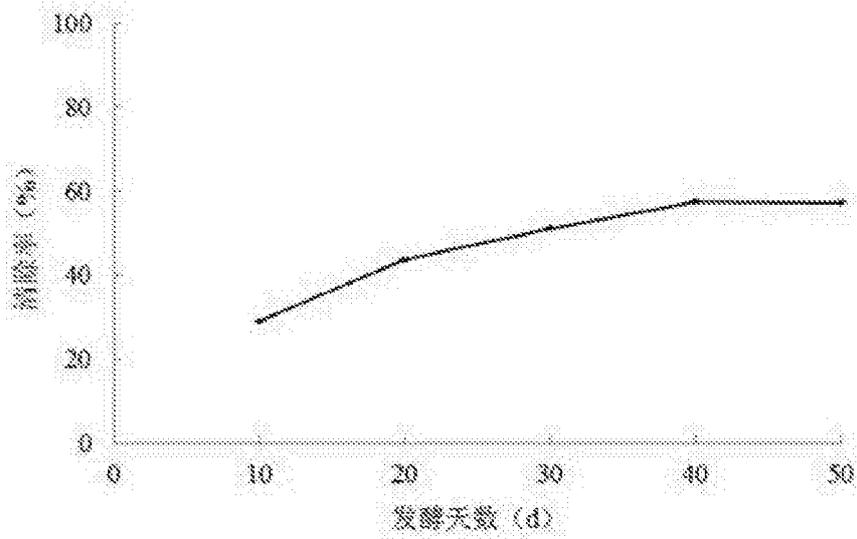


图1

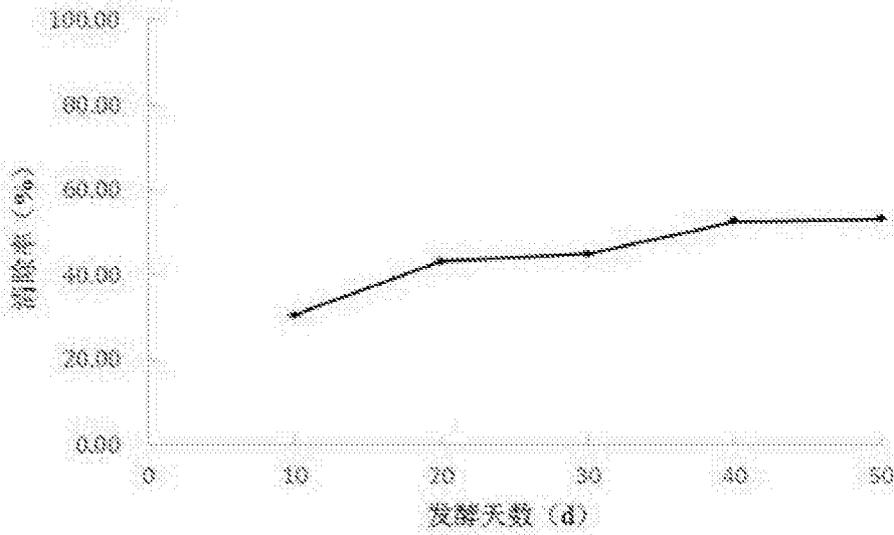


图2