

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12N 1/20

A23C 9/123 C12N 9/38

C12P 19/14



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 95194833.4

[45] 授权公告日 2003 年 11 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 1126814C

[22] 申请日 1995.8.28 [21] 申请号 95194833.4

[30] 优先权

[32] 1994.8.31 [33] FR [31] 94/10468

[86] 国际申请 PCT/FR95/01126 1995.8.28

[87] 国际公布 WO96/06924 法 1996.3.7

[85] 进入国家阶段日期 1997.2.28

[71] 专利权人 热尔韦·达诺尼公司

地址 法国勒瓦卢瓦-佩雷

[72] 发明人 J-P·布拉里奥

F·莱克罗伊克斯 B·迈尔藤

P·普罗尼尔

[56] 参考文献

CN1072820A 1993.06.09 A23C9/12

EP0323201A 1989.07.05 A23C9/12

EP0323201A2 1989.07.05 A23C9/12

审查员 李 博

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 王 杰

权利要求书 2 页 说明书 12 页

[54] 发明名称 用嗜热链球菌制备富含半乳糖-低聚糖和 β -半乳糖苷酶的发酵产品

[57] 摘要

本发明涉及富含半乳糖-低聚糖和 β -半乳糖苷酶的发酵产品的制备方法, 其中使用嗜热链球菌培养物。本发明还涉及用本发明方法得到的, 新鲜的或脱水的发酵含乳食品。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、富含半乳糖-低聚糖和 β -半乳糖苷酶的发酵产品的制备方法，其特征在于它包括一个步骤，在这个步骤中，在其中干物质浓度至少是15%（重量）、除了含有所述细菌生长所必需的营养物以外还含有以干物质重量计至少0.1%乳蛋白水解产物和以干物质重量计至少20%乳糖的介质中培养嗜热链球菌菌株。

2、权利要求1的方法，其特征在于这种介质的干物质浓度是30-50%（重量），所述介质含有以干物质重量计0.2-3%乳蛋白水解产物，以干物质计25-60%（重量）乳糖。

3、权利要求1的方法，其特征在于所述乳蛋白水解产物的水解度是15-50%。

4、权利要求3的方法，其特征在于所述乳蛋白水解产物的水解度高于20%。

5、权利要求1的方法，其特征在于在如权利要求3或4限定的介质中接种嗜热链球菌菌株，其中乳蛋白水解产物的水解度高于22%，培养4小时30分钟后培养物中这种菌株的活性高于0.9单位 β -半乳糖/克。

6、权利要求5的方法，其特征在于所述嗜热链球菌菌株选自下述菌株：
-LFL-01 菌株，于1994年8月25日寄存，寄存单位CNCM，寄存号I-1470；

-DN-001065 菌株，于1995年8月23日寄存，寄存单位CNCM，寄存号I-1620。

7、权利要求1-6中任一项的方法，其特征在于在发酵结束时对发酵产品进行干燥。

8、培养介质，其中干物质浓度至少是15%（重量），除了含有嗜热链球菌生长所必需的营养物以外还含有以干物质重量计至少0.1%乳蛋白水解产物和以干物质重量计至少20%乳糖。

9、权利要求8的介质，其特征在于这种介质的干物质浓度是30-50%（重量），所述介质含有以干物质重量计0.2-3%乳蛋白水解产物，以干物质

计 25-60% (重量)乳糖。

10、权利要求 8 的介质，其特征在于所述乳蛋白水解产物的水解度是 15-50%。

11、权利要求 10 的介质，其特征在于所述乳蛋白水解产物的水解度高于 20%。

12、富含半乳糖-低聚糖的发酵食品，其特征在于它能够通过利用权利要求 1-7 中任一项的方法得到。

13、根据权利要求 12 的食品，其特征在于它涉及新鲜的含乳食品。

14、权利要求 13 的食品，其特征在于它涉及脱水的含乳食品，这种食品具有的 β -半乳糖苷酶活性是每克干物质为 0.5-5 单位 β -半乳糖，每 100 克干物质含 0.5-5 克半乳糖-低聚糖。

15、权利要求 14 的食品，其特征在于其 β -半乳糖苷酶活性是每克干物质为 1.5-3 单位 β -半乳糖，每 100 克干物质含 0.8-2.5 克半乳糖-低聚糖。

16、权利要求 12 的食品，其特征在于它还含有至少一种双歧杆菌。

17、权利要求 16 的食品，其特征在于所述双歧杆菌选自短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、长双歧杆菌、两歧双歧杆菌。

18、权利要求 16 的食品，其特征在于所述双歧杆菌呈冻干制剂状。

19、权利要求 12-18 中任一项的食品，其特征在于所述食品涉及幼儿食用的食品。

用嗜热链球菌制备富含半乳糖-低聚糖和 β -半乳糖苷酶的发酵产品

本发明涉及特别适合婴儿食用的发酵乳制品的制备方法。

人们知道，酸乳酪类的发酵乳制品对幼儿食用具有很大的好处。事实上，生产这些产品通常所使用的这些乳酸菌具有相对高的 β -半乳糖苷酶活性，这样能够改善乳糖的消化性，因此能够改善食品的耐受性。

β -半乳糖苷酶能够将乳糖水解成葡萄糖和半乳糖。 β -半乳糖苷酶制剂活性的研究表明，由乳糖某些浓度开始，在导致生成葡萄糖和半乳糖的乳糖水解的同时，这种酶还催化转半乳糖苷化反应，这种反应导致生成称之为半乳糖-低聚糖的一组低聚糖(二聚糖至六聚糖)[例如参见 SMART, *Appl.Microbiol.Biotechnol.*,34,495-501(1991)]。

然而，曾证明半乳糖-低聚糖构成刺激双歧杆菌生长的因子，因此使双歧杆菌在肠内微生物区系富集，有损于其他微生物，特别是病原菌[TANAKA 等人, *Bifidobacteria Microflora*,Vol.2(1),17-24,(1983)]。

为了制备半乳糖-低聚糖，例如为了制备半乳糖-低聚糖含量高的乳产品，曾提出使用不同来源的 β -半乳糖苷酶。

曾描述两种可达到这种方法：

1)第一种方法使用由不同微生物纯化得到的 β -半乳糖苷酶制剂处理含乳糖的基质，例如乳。

由 YAKULT HONSHA KK，欧洲专利申请号 323201 知道，该方法在于用从嗜热链球菌或保加利亚乳杆菌提取的 β -半乳糖苷酶制剂处理动物乳，其目的在于将这种乳中含有的至少 15%乳糖转化成半乳糖-低聚糖。

还曾提出[Z.MOZAFFAR 等人, *Journal of Food Science*,50,p.1602-1606,(1985)]，使用由环状芽孢杆菌提取的 β -半乳糖苷酶，由乳生产半乳糖-低聚糖。

这些方法的缺陷是必需预先纯化 β -半乳糖苷酶，因此这些方法都出现一般使用任何纯化酶制剂存在的酶活性稳定性的问题。

2)第二种方法提出不预先提取酶,使用具有 β -半乳糖苷酶活性的细菌。不过,这时出现了产生 β -半乳糖苷酶的问题,这种酶是胞内质的,易受基质的影响。

为此,或者应溶解细菌,或者至少例如用有机溶剂或表面活性剂进行透化作用。这种透化作用尽管没有所述溶解剧烈,但是对细菌生存力是有害的,还影响 β -半乳糖苷酶的活性;因此,曾提出处理已透化的细菌,为的是延长这些细菌的生存力,保护 β -半乳糖苷酶的活性。

为此目的,例如曾建议用甘油或山梨醇处理。另外一类处理,如于1991年6月28日公开的、其公开号为3151875的YANKULT HONSHA KK日本专利申请描述的,使用一种用半乳糖-低聚糖处理已透化的细菌,保护 β -半乳糖苷酶活性位点的方法。这样能够延缓在保存这些细菌过程中,和在半乳糖-低聚糖的生成反应期间这种酶的失活。

无论使用这两类方法中任何一类方法,即使在转半乳糖苷化反应之后产品中仍有 β -半乳糖苷酶活性,但在待消费的成品中没有保持这种活性。事实上,无论已纯化的酶,还是已透化细菌中存在的这种酶,都不能承受要得到成品的各种不同的处理。 β -半乳糖苷酶活性更加不能承受消费者摄食后消化液的作用。

尽管人们希望,尤其是儿童和婴儿食用更希望使用同时富含 β -半乳糖苷酶和半乳糖-低聚糖的乳制品,但直到现在还没有提出使用能够达到这双重目的的同一种微生物。

本发明的目的在于制备同时富含 β -半乳糖苷酶和半乳糖-低聚糖的乳制品。

这种制备方法涉及一种具有 β -半乳糖苷酶活性的微生物,所述微生物在第一阶段在这种微生物依然是未受损伤的条件下用于生产半乳糖-低聚糖,这样能够在第二阶段,首先在得到待消费产品的各种制备过程中,然后是在消费者吃了之后,直到肠道的消化液的作用过程中都能够保护 β -半乳糖苷酶活性。

为此目的,本发明人选择使用嗜热链球菌。

嗜热链球菌是一种可供选择的需氧-厌氧的革兰氏阳性细菌。这种细菌进行单纯乳酸发酵。

这种细菌具有各种不同的特性，这些特性允许其直接被加入可以新鲜状态保存的产品中，还允许将其直接加入可经受各种处理(例如脱水)的产品中，这些产品尤其可给婴儿食用。

具体地，嗜热链球菌：

-与产生不被婴儿代谢的 D(-)乳酸的乳杆菌类微生物不同，嗜热链球菌仅产生 L(+)乳酸，而且量少；

-极耐高温下干燥，得到粉末状的乳要进行这种干燥；

-只具有非常低的蛋白分解活性，这样限制了在成品储存过程中有令人不愉快味道的化合物的形成。

嗜热链球菌在正常的培养条件下具有细胞外的 β -半乳糖苷酶，这样出现了上面提到的受基质影响的问题。

与其他大多数人所得到的观察结果不同，MOLOTOV 等人[Biotekhnologiya,2,33-37,(1991)]报道在某些培养条件下，存在着由这些细菌分泌的 β -半乳糖苷酶活性。这种分泌不过只是表现出一种边缘现象，在老的培养物中，或者在代替乳糖的葡萄糖存在下的培养物中，可观察到这种现象。

然而，为了希望使用嗜热链球菌制备富含 β -半乳糖苷酶和半乳糖-低聚糖的发酵乳制品，应该让细菌获得良好的生长，以便一方面允许基质发酵，另一方面保证在发酵过程中有足以能够使发酵产品始终富集半乳糖-低聚糖的 β -半乳糖苷酶活性。MOLOTOV 等人得到这些观察结果的条件不太有利于这些细菌良好生长，也不太有利于得到高的 β -半乳糖苷酶活性，还不利于能够得到半乳糖-低聚糖的转半乳糖苷化反应。

然而，本发明人现在发现，有可能用含乳糖的介质，特别是用以乳浓缩物为主要成分的介质培养某些嗜热链球菌菌株，以便达到介质发酵，同时伴随高产出半乳糖-低聚糖，其半乳糖-低聚糖的量是培养介质中开始存在的乳糖的 2-6 %，同时保持这些细胞完好无损。

本发明的目的在于一种富含半乳糖-低聚糖的发酵产品的制备方法，这种方法的特征在于它包括一个步骤，在这个步骤中，在干物质重量浓度至少是 15 %，还含有嗜热链球菌生长所必需的一些营养物，至少 0.1%(以干物质重量计)乳蛋白水解产物和至少 20 % (以干物质重量计)乳糖的介质中培

养嗜热链球菌菌株。

嗜热链球菌的一般培养条件及其生长所必需的营养物是本领域技术人员所熟知的：通常是例如用 M₁₇ 培养介质或由 10 % 干物质构成的，还补充 0.1 % 酵母提取物的除去奶脂的乳培养这种细菌。

根据本发明方法的一种优选实施方式，这种介质中干物质的浓度是 30-50 %，所述的介质含有 0.2-3% 乳蛋白水解产物和以干物质计 25-60 % (重量) 乳糖。

“乳蛋白水解产物”理解为干酪素水解产物、乳的超过滤滞留物水解产物，或乳的完全蛋白水解产物。若希望的话，可以使用由超过滤前述水解产物所得到的纯化肽部分。在这种情况下，选择肽的平均分子量小于 5000Da, 优选的是小于 2000Da 的部分。

根据本发明的另一种优选实施方式，所述的乳蛋白水解产物的水解度是 15-50 %，优选的是高于 20 %。

这种水解度(DH)定义为以总氮计的氨基氮的百分数。

优选地，这种水解产物是由酶水解乳蛋白制剂得到的。例如胰蛋白酶(EC3.4.21.4)、胰凝乳蛋白酶(EC 3.4.21.1)之类许多蛋白酶，或如催化酶、胰酶等之类的蛋白酶混合物都可能适合得到这种水解产物。要选择这些水解条件，以便达到上述的 DH。

本发明还有一个目的是能够使用本发明方法的培养介质。

为了使用本发明的方法，可以由以乳为主要成分的溶液出发，除能够使用本发明方法的组分外，在这种溶液中添加要制成待消费产品所必需的组分。例如如果希望制成婴儿的含乳食品，应当添加乳糖、麦芽糊精、矿物质、维生素、脂肪、能够构建母乳组合物的组分。如果希望制备这种食品的话，先添加这些脂肪，然后与这种溶液均质化，以便得到稳定的乳液。

这时，在冷却到 35-55 °C，优选的是 37-45 °C 之前，将这种溶液浓缩到干提取物为 15-50 % 干物质，优选的是 30-45 % 干物质，再用含 10⁷ 至 10⁹ 细菌/毫升的嗜热链球菌培养物接种。最佳培养温度是 40-45 °C。

通过用本发明培养介质进行预选择，可选择能获得最佳结果的嗜热链球菌菌株；希望待使用产品中 β-半乳糖苷酶活性高于 0.15 单位 β-半乳糖/毫升，优选的是 0.2-0.4 单位 β-半乳糖/毫升，将选择一种菌株，用本发明

的介质在培养 4 小时 30 分钟后，这种菌株在培养物中的活性高于 0.9 单位 β -半乳糖/毫升。 β -半乳糖苷酶单位相应于在 pH7.3 和在 37 °C 下每分钟水解的 ONPG 微摩尔数。

作为实例，在市场上可自由购到的、还特别适合使用本发明方法的嗜热链球菌菌株是由 BOLL 公司销售的 ST12 和 ST13 菌株(Le Moulin d' Aulnay;BP64;Saint Germain les-Arpajon 91292 Arpajon Cedex France)。

另一方面，也适合本发明使用的这些嗜热链球菌菌株已由在巴黎 Docteur Roux 街 25 号 Pasteur 研究所寄存在 CNCM(Collection Nationale de Cultures de Microorganismes): 1994 年 8 月 25 日寄存了名称为 LFL-01 的菌株，寄存号是 I-1470，1995 年 8 月 23 日寄存了名称为 DN-001065 菌株，寄存号是 I-1620。

当使用本发明方法由嗜热链球菌使基质发酵时， β -半乳糖苷酶活性与酸度同时变化。因此，测定在这些培养条件下和所限定的介质组成的情况下的 pH，能够相继确定是否达到所要求的 β -半乳糖苷酶活性。这时将这种产品冷却到 10-25 °C，以便中断其发酵。

还可以用如短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、长双歧杆菌、两歧双歧杆菌之类的双歧杆菌接种发酵介质。

可以在嗜热链球菌发酵开始、嗜热链球菌发酵中或嗜热链球菌发酵后加入这些细菌。

然后让发酵产物经过不同的处理，其处理性质可根据希望得到的待消费产品进行改变。例如可以加结构(texture)剂、味道添加剂、维生素或矿物质的补充物、脂肪等，条件是在发酵前未预先加入这些物质。

在希望得到脱水产品的情况下，这时应该进行干燥。可以采用任何一种常见的方法进行这种干燥，例如喷雾干燥或冻干干燥。

在喷雾干燥过程中，尽管嗜热链球菌的 β -半乳糖苷酶特别能耐受，但是如果希望保持最大的 β -半乳糖苷酶活性，更可取的是出口空气温度应该低于90℃。

本发明还涉及富含半乳糖-低聚糖和/或 β -半乳糖苷酶的含乳食品，其特征在于使用本发明的方法能够得到这种食品。

在这个范围内，本发明具体包括：

- 新鲜的含乳食品；
- 脱水的含乳食品；
- 往本发明脱水的含乳食品加水构成的含乳食品。

根据本发明脱水含乳食品的一种优选实施方式，所述食品具有的 β -半乳糖苷酶活性是每克干物质为0.5-5单位 β -半乳糖，优选的是1.5-3单位 β -半乳糖，这种食品还含有每100克干物质为0.5-5克半乳糖-低聚糖，优选的是0.8-2.5克半乳糖-低聚糖。

根据本发明脱水含乳食品的另一优选实施方式，所述食品还具有双歧杆菌冻干制剂。有利地，这些双歧杆菌选自短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、长双歧杆菌、两歧双歧杆菌。

本发明的含乳产品比已知的含乳产品更具有耐受特别是缺少 β -半乳糖苷酶的对象的能力，因为这些产品含有活乳酸菌的 β -半乳糖苷酶，这种酶保证它们含有的乳糖更好的可消化性；另外，本发明的富含半乳糖-低聚糖的含乳产品有利于肠内微生物区系原地双歧杆菌发育。这些含乳产品特别适合幼儿食用。

除了上述这些安排之外，本发明还包括由下面说明得出的其他安排，这些说明是指本发明产品的制备实施例，具体的是幼儿食用产品的制备实施例。

实施例1：制备能够使用本发明方法的发酵介质

在加热到 75 °C 的去脂牛乳中，加入植物脂肪和卵磷脂。在同一温度下分两步均质化，第一步在 200 公斤/厘米²下均质化，第二步在 50 公斤/厘米²下均质化。

加入由含维生素的溶液构成的第三部分。

其最后混合物在 115 °C 下进行巴氏杀菌法处理，然后蒸发浓缩到 43 % 干物质。该浓缩物具有下述组成(表 1)，其组成用每 100 克干物质的克数表示。

表 1

植物脂肪	24 克
其中卵磷脂	0.25 克
乳中的蛋白(其中 80 % 干酪素和 20 % 血清蛋白)	12.85 克
乳糖	40 克
麦芽糊精	20.4 克
无机盐	2.6 克
维生素	0.15 克

实施例 2：嗜热链球菌菌株的选择

试验过不同的嗜热链球菌菌株。

首先用灭菌的富含酵母提取物(1 克/升)的去脂乳培养这些菌株，直到得到含约 10⁸ 细菌/毫升的培养物为止。

如实施例 1 所描述的那样制备的幼儿乳浓缩物，用这种培养物按照 5 % (体积/体积)接种，然后在 44 °C 培育。

测定酸度，在约 110 ° D 停止这种发酵，或如果不能达到 110 ° D 酸度，则在发酵 6 小时后停止这种发酵。这时测定 β-半乳糖苷酶活性。

这些结果汇集于下表 2 中：酸度以 Dornic 度表示(° D):Dornic 度相应于 1 毫克乳酸/10 毫升乳；β-半乳糖苷酶活性是以单位 β-半乳糖/每克浓缩物表示的。

表 2

菌株	酸 度 (° D)				β-半乳糖
	2 小时	3 小时 30 分	4 小时 30 分	6 小时	发酵结束
STB01*	60	95	115	-	0.53
STB05*	58	96	115	-	0.52
TH3*	59	93	110	-	0.42
ST9*	43	50	58	63	未凝结
Dpch	61	100	115	-	0.93
ST37*	47	60	86	114	0.55
LFL-01	61	96	112	-	1
DN-001065	43	53	63	92	1.30

*:由 BOLL 公司销售的菌株

在同样的条件下试验了 ST12 和 ST13 菌株(BOLL), 在培育 4 小时 30 分钟后这些菌株分别能够达到 0.97 单位 β-半乳糖/每克浓缩物和 0.94 单位 β-半乳糖/每克浓缩物。

DPch、LFL-01、DN-001065 菌株以及 ST12 和 ST13 菌株都具有能够使用本发明方法的活性。

实施例 3: 蛋白水解产物的性质对 β-半乳糖苷酶活性的影响

为了研究蛋白水解产物类型和水解度对 β-半乳糖苷酶活性的影响, 将如实施例 1 所描述的那样得到的, 并浓缩到 40 % 的起始介质等分成数份, 以同工蛋白(isoproteique)比率(这相应于 1.1 克蛋白/每升浓缩溶液) 加入不同的水解产物。

用富含酵母提取物的乳, 以 5 % (体积/体积)嗜热链球菌(LFL-01 菌株) 培养物接种这些浓缩物。

培育温度是 44 °C。

在培育 4 小时后测定了酸度和 β-半乳糖苷酶活性。这些结果汇集在下

表 3 中:

表 3

水解产物类型	酸度	β -半乳糖
无	84° D	0.11 单位 β -半乳糖/克
干酪素	121° D	0.95 单位 β -半乳糖/克
乳清蛋白	113° D	0.45 单位 β -半乳糖/克
大豆	115° D	0.58 单位 β -半乳糖/克
雌火鸡肉	111° D	0.36 单位 β -半乳糖/克
乳白蛋白	118° D	0.71 单位 β -半乳糖/克

实施例 4: 在幼儿乳的浓缩物中加入的水解产物类型(干酪素、乳或乳的滞留物)对 β -半乳糖苷酶活性的影响

如实施例 3 所说明的那样, 进行了嗜热链球菌多次培养(LFL-01 菌株)和测定。

对于每种水解产物, 试验了三种用量: 每公斤 40% 浓缩物为 0.9 克、1.5 克和 3.6 克水解产物。

这些结果如下表 4 所示。

表 4

水解产物类型	用量 (克/公斤)	3 小时		4 小时	
		β -半乳糖活性		酸度(° D)	
干酪素	0.9	77	0.62	102	1.15
	1.5	79	0.67	104	1.09
	3.6	82	0.67	103	1.24
乳的滞留物	0.9	80	0.63	107	0.95
	1.5	85	0.56	110	1.15
	3.6	93	0.57	112	1.31

乳	0.9	88	0.59	107	0.93
	1.5	92	0.67	114	0.98
	3.6	95	0.71	114	1.06

这些结果彼此足够接近；不过，干酪素水解产物在最少蛋白添加剂时能够达到最高的 β -半乳糖苷酶活性，和最小的酸度。

实施例 5：干酪素水解产物的水解度对 β -半乳糖苷酶活性的影响

如实施例 3 那样进行了多次嗜热链球菌(LFL-01 菌株)培养和测定。

将酪蛋白酸钾制成 100 克/升水溶液，在 92 °C 进行了巴氏灭菌法处理，冷却到 50 °C。

将这种溶液转移到配置 pH 和温度调节的发酵器中。这时往该溶液加 1 克/升 3NF 胰酶制剂(Laboratoire Industriel de Biologie, Soisy-sous-Montmorency, France)。将这种溶液的温度调节到 50 °C，用石灰将其溶液的 pH 调节到 7.3。

有规律地取样，在 20 分钟将这些试样升到 85 °C 以便破坏这种酶，然后冷却到 5 °C。

用这些试样测定总氮和氨基氮。氨基氮/总氮相对百分数给出了蛋白水解度。

为了研究水解度的影响，将表 1 的幼儿乳的配方浓缩物等分成数份，加入相同量(以总氮计)的不同水解产物试样，这相应于不断增加的水解度。

将这些结果汇集在下表 5 中。

水解度高于 22 % 的干酪素水解产物达到所要求的 β -半乳糖苷酶活性(>0.90 单位 β -半乳糖/克)。

表 5

水解度 NH ₂ /NT	发酵 3 小时		发酵 4 小时 30 分钟	
	酸度, °D	β-半乳糖 单位 β-半乳糖/克	酸度, °D	β-半乳糖 单位 β-半乳糖/克
9 %	55	0.16	71	0.24
17.6%	82	0.60	107	0.70
22.1%	85	0.70	109	0.96
25%	85	0.77	110	0.97
29.3%	88	0.86	110	1.10
32.3%	88	0.86	110	1.10
34.9%	94	0.83	108	1.03

实施例 6: 在幼儿乳浓缩物发酵过程中, β-半乳糖苷酶和半乳糖-低聚糖产率的变化

如实施例 1 描述的那样制备乳浓缩物, 并按照 5 % (体积/体积) 接种嗜热链球菌(LFL-01 菌株), 然后在 44 °C 培养。

测定 β-半乳糖苷酶活性(单位 β-半乳糖/每克浓缩物)、半乳糖-低聚糖产率(每 100 克浓缩物的克数)和酸度(°D)随时间(小时)变化的关系。

这些结果汇集于下表 6:

表 6

时间	酸度	低聚糖	β-半乳糖
0	38		
1	42	0.03	0.06
2	50	0.07	0.20
3	77	0.30	0.62
4	103	0.40	1.15
4.5	107	0.42	1.16

所有这些值平行变化，在发酵 4 小时 30 分钟后达到一平台。

采用喷雾干燥这种浓缩溶液，为了得到一种含 14 % 干物质的产品，再制备这种浓缩溶液。

在这种浓缩物中、在这种粉末中，然后在重制备的产品中的 β -半乳糖苷酶活性值和半乳糖-低聚糖的浓度列于下表 7 中：这种浓缩物和粉末的 β -半乳糖苷酶活性以单位 β -半乳糖/克表示，重制备的产品以单位 β -半乳糖/毫升表示；这种浓缩物和粉末的半乳糖-低聚糖浓度以每 100 克的克数表示，重制备的产品的半乳糖-低聚糖浓度以克/升表示。

表 7

	浓缩物	粉末	重制备产品
β -半乳糖	1.16	2.40	0.33 单位
低聚糖	0.42 克%克	0.90 克%克	1.26 克/升

实施例 7：制备待消费的产品

在如实施例 1 所描述的那样制备的浓缩溶液中，接种 5 % (体积) 含约 10^8 细菌/毫升 LFL-01 嗜热链球菌的培养物。

让这种浓缩溶液在 30-44 °C 发酵约 5 小时，直到酸度为 106 ° D， β -半乳糖苷酶活性为 1 单位 β -半乳糖/克浓缩物为止。

这时将这种发酵的浓缩溶液冷却到 20 °C。

然后在塔的进口温度为 165 °C、塔的出口温度低于 90 °C 的条件下喷雾干燥这种制剂。得到的粉末具有 β -半乳糖苷酶活性为 2.4 单位/克粉末，残余水含量约 2-3 %，这种粉末可以在 20 °C 保存 13 个月，其损失至多为其 β -半乳糖苷酶含量的 10-15 %。按照每约 900 毫升水存在 140 克这种粉末这一比率，这种粉末能够重制备尤其适用于婴儿的酸化乳。