



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105483059 A

(43) 申请公布日 2016.04.13

(21) 申请号 201610029851.8

(22) 申请日 2016.01.18

(71) 申请人 王军

地址 300000 天津市河北区金家窑大街金泽里15门508号

(72) 发明人 王军

(51) Int. Cl.

C12N 1/20(2006.01)

C12R 1/01(2006.01)

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法

(57) 摘要

本发明提供一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法,其具体操作步骤为:首先进行原种液体培养、然后进行多级菌种培养、最后进行固体培养,本发明改变了传统的培养基,利用菊粉进行培养,菊粉中含有大量的菊糖,菊糖可以预防便秘及治疗肥胖症膳食纤维减少食物在胃肠的停留时间,以及增加粪便量,有效地治疗便秘。菊糖可以提高内容物的黏度,降低食物从胃进入小肠的速度,从而降低饥饿感,减少食物的摄食量,起到减肥作用,本发明利用菊粉对双歧杆菌进行培养,双歧杆菌在培养过程中将菊糖进行吸收可以有效的提高双歧杆菌的活性和吸收效果,促进双歧杆菌在人体肠内发酵后可产生乳酸和醋酸,能提高钙、磷、铁的利用率,促进铁和维生素D的吸收。

1. 一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法,其具体操作步骤为:

首先进行原种液体培养,将双歧杆菌菌种放入厌氧培养器皿中进行培养,所述培养基内需要放置经杀菌处理的培养基,所述培养基由植物蛋白胨、胰胨、酵母浸膏、葡萄糖、盐溶液、蒸馏水构成,培养时培养器皿放置在通风处,确保培养器皿处理低温状态;

(2)然后进行多级菌种培养,所述多级培养分为一级静态培养、动态培养、二级静态培养,所述一级静态培养时将土豆、菊粉进行蒸煮,蒸煮后将其搅拌并混合在一起,然后将其放入作为培养基放入培养液中备用,再将上述步骤中的菌种接种到培养液中;动态培养时取一级静态培养液,但培养皿换为无色透明试剂瓶,将试剂瓶进行灭菌,灭菌后放入培养液,然后接种一级菌种10%后,每隔5小时晃动1分钟,培养24-96小时,当细胞达到1.0亿CFU/g时终止培养,室温下保存备用;动态培养后进行二级静态培养,取植物蛋白胨、肝提取液、玉米浆、酵母膏、肉牛浸膏、西红柿培养基放入蒸馏水中进行溶解,溶解后将菊粉进行蒸煮,蒸煮后将菊粉和上述溶解液进行混合,以此作为培养基,然后进行二级菌种接种,接种20%后静置,当细胞达到1.8亿CFU/g时终止培养,室温下保存备用;

(3)最后进行固体培养,利用玉米粉、大米粉、菊粉、全脂乳粉、肝提取液、玉米浆、酵母膏、肉牛浸膏进行固体培养基制作,然后对培养基进行冷却灭菌,然后将三级液态菌种浸入到固体培养内,然后将浸入菌种的固体培养基放入培养房内进行静置发酵培养,当细胞达到6亿CFU/g时终止培养。

2. 按照权利要求1所述的一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法,其特征在于所述西红柿浸出液的制备方法为:将新鲜西红柿洗净称重后切碎,加等量蒸馏水在100℃水浴中加热,时时搅拌,约90min,然后用绒布过滤,校正pH 7.0,分装三角瓶,115℃高压灭菌15~20min。

3. 按照权利要求1所述的一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法,其特征在于所述肝提取液的制备方法为:称取新鲜猪肝1000g,切成小块或绞碎,加蒸馏水至2000mL,混匀,置冰箱中过夜,第二天煮沸15~20min,绒布过滤,并挤压收集全部滤液,加水补足原量,分装三角瓶,115℃高压灭菌15~20min。

4. 按照权利要求1所述的一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法,其特征在于所述菊粉的制备方法为:首先将菊芋清洗粉碎,加入菊芋质量的1-2倍质量体积的水混匀后用泵打入浸提罐;然后添加纤维素酶和果胶酶进行浸提:往浸提罐里加入纤维素酶和果胶酶,得菊粉浸提液;酶加量为酶活与菊芋质量比,其中纤维素酶的加量为0.01~0.5U/g,果胶酶的加量为10~100U/g,浸提温度50℃,浸提时间为20min~60min;再进行菊粉浸提液除杂脱色:菊粉浸提液中加入石灰乳调节pH至11-13,80℃静置30min,再用磷酸调节至pH6,过滤,滤液中加入其质量0.5%~2%的活性炭,80℃搅拌20~30min,得除杂脱色的浸提液;最后进行浓缩喷雾干燥:除杂脱色的浸提液通过减压蒸馏或膜浓缩方式浓缩,得菊粉浓度20%~30%的菊粉浓缩液;对菊粉浓缩液进行喷雾干燥,得到菊粉粉末成品。

## 一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及双歧杆菌培养领域,尤其涉及一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法。

### 背景技术

[0002] 双歧杆菌具有抗肿瘤、抗衰老、降血压等多重功效,尤其是对肠胃病效果神奇,它能有效阻断胃肠病源,快速杀灭致病菌,并增强胃肠功能,提高胃肠免疫力。此后100多年,双歧杆菌得到广泛运用,但双歧杆菌含量低、活性差、难保存。

### 发明内容

[0003] 根据以上技术问题,本发明提供一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法,其具体操作步骤为:

(1)首先进行原种液体培养,将双歧杆菌菌种放入厌氧培养器皿中进行培养,所述培养基内需要放置经杀菌处理的培养基,所述培养基由植物蛋白胨、胰胨、酵母浸膏、葡萄糖、盐溶液、蒸馏水构成,培养时培养器皿放置在通风处,确保培养器皿处理低温状态;

(2)然后进行多级菌种培养,所述多级培养分为一级静态培养、动态培养、二级静态培养,所述一级静态培养时将土豆、菊粉进行蒸煮,蒸煮后将其搅拌并混合在一起,然后将其放入作为培养基放入培养液中备用,再将上述步骤中的菌种接种到培养液中;动态培养时取一级静态培养液,但培养皿换为无色透明试剂瓶,将试剂瓶进行灭菌,灭菌后放入培养液,然后接种一级菌种10%后,每隔5小时晃动1分钟,培养24-96小时,当细胞达到1.0亿CFU/g时终止培养,室温下保存备用;动态培养后进行二级静态培养,取植物蛋白胨、肝提取液、玉米浆、酵母膏、肉牛浸膏、西红柿培养基放入蒸馏水中进行溶解,溶解后将菊粉进行蒸煮,蒸煮后将菊粉和上述溶解液进行混合,以此作为培养基,然后进行二级菌种接种,接种20%后静置,当细胞达到1.8亿CFU/g时终止培养,室温下保存备用;

(3)最后进行固体培养,利用玉米粉、大米粉、菊粉、全脂乳粉、肝提取液、玉米浆、酵母膏、肉牛浸膏进行固体培养基制作,然后对培养基进行冷却灭菌,然后将三级液态菌种浸入到固体培养内,然后将浸入菌种的固体培养基放入培养房内进行静置发酵培养,当细胞达到6亿CFU/g时终止培养。

[0004] 所述西红柿浸出液的制备方法为:将新鲜西红柿洗净称重后切碎,加等量蒸馏水在100°C水浴中加热,时时搅拌,约90min,然后用绒布过滤,校正pH 7.0,分装三角瓶,115°C高压灭菌15~20min。

[0005] 所述肝提取液的制备方法为:称取新鲜猪肝1000g,切成小块或绞碎,加蒸馏水至2000mL,混匀,置冰箱中过夜,第二天煮沸15~20min,绒布过滤,并挤压收集全部滤液,加水补足原量,分装三角瓶,115°C高压灭菌15~20min。

[0006] 所述菊粉的制备方法为:首先将菊芋清洗粉碎,加入菊芋质量的1-2倍质量体积的水混匀后用泵打入浸提罐;然后添加纤维素酶和果胶酶进行浸提;往浸提罐里加入纤维素

酶和果胶酶,得菊粉浸提液;酶加量为酶活与菊芋质量比,其中纤维素酶的加量为 0.01~0.5U/g,果胶酶的加量为 10~100U/g,浸提温度 50℃,浸提时间为 20min~60min;再进行菊粉浸提液除杂脱色:菊粉浸提液中加入石灰乳调节pH至11-13,80℃静置30min,再用磷酸调节至 pH6,过滤,滤液中加入其质量 0.5%~2% 的活性炭,80℃搅拌 20~30min,得除杂脱色的浸提液;最后进行浓缩喷雾干燥:除杂脱色的浸提液通过减压蒸馏或膜浓缩方式浓缩,得菊粉浓度 20%~30% 的菊粉浓缩液;对菊粉浓缩液进行喷雾干燥,得到菊粉粉末成品。

[0007] 本发明的有益效果为:现代人生活节奏加快,工作压力增大,由此而引发的各种肠胃疾病尤其普遍,高活性的长型双歧杆菌更能直接补充有益菌,调整人体微生态平衡。本发明改变了传统的培养基,利用菊粉进行培养,菊粉中含有大量的菊糖,菊糖可以预防便秘及治疗肥胖症膳食纤维减少食物在胃肠的停留时间,以及增加粪便量,有效地治疗便秘。菊糖可以提高内容物的黏度,降低食物从胃进入小肠的速度,从而降低饥饿感,减少食物的摄食量,起到减肥作用,本发明利用菊粉对双歧杆菌进行培养,双歧杆菌在培养过程中将菊糖进行吸收可以有效的提高双歧杆菌的活性和吸收效果,促进双歧杆菌在人体肠内发酵后可产生乳酸和醋酸,能提高钙、磷、铁的利用率,促进铁和维生素D的吸收。

### 具体实施方式

[0008] 根据实施例所示,对本发明进行进一步说明:

#### 实施例1

一种利用菊粉进行双歧杆菌培养的方法,其具体操作步骤为:首先进行原种液体培养,将双歧杆菌菌种放入厌氧培养器皿中进行培养,所述培养基内需要放置经杀菌处理的培养基,所述培养基由植物蛋白胨、胰胨、酵母浸膏、葡萄糖、盐溶液、蒸馏水构成,培养时培养器皿放置在通风处,确保培养器皿处理低温状态;然后进行多级菌种培养,所述多级培养分为一级静态培养、动态培养、二级静态培养,所述一级静态培养时将土豆、菊粉进行蒸煮,蒸煮后将其搅拌并混合在一起,然后将其放入作为培养基放入培养液中备用,再将上述步骤中的菌种接种到培养液中;动态培养时取一级静态培养液,但培养皿换为无色透明试剂瓶,将试剂瓶进行灭菌,灭菌后放入培养液,然后接种一级菌种10%后,每隔5小时晃动1分钟,培养24-96小时,当细胞达到1.0亿CFU/g时终止培养,室温下保存备用;动态培养后进行二级静态培养,取植物蛋白胨、肝提取液、玉米浆、酵母膏、肉牛浸膏、西红柿培养基放入蒸馏水中进行溶解,溶解后将菊粉进行蒸煮,蒸煮后将菊粉和上述溶解液进行混合,以此作为培养基,然后进行二级菌种接种,接种20%后静置,当细胞达到1.8亿CFU/g时终止培养,室温下保存备用;最后进行固体培养,利用玉米粉、大米粉、菊粉、全脂乳粉、肝提取液、玉米浆、酵母膏、肉牛浸膏进行固体培养基制作,然后对培养基进行冷却灭菌,然后将三级液态菌种浸入到固体培养内,然后将浸入菌种的固体培养基放入培养房内进行静置发酵培养,当细胞达到6亿CFU/g时终止培养。

[0009] 所述西红柿浸出液的制备方法为:将新鲜西红柿洗净称重后切碎,加等量蒸馏水在 100℃水浴中加热,时时搅拌,约90min,然后用绒布过滤,校正pH 7.0,分装三角瓶,115℃高压灭菌15~20min。

[0010] 所述肝提取液的制备方法为:称取新鲜猪肝1000g,切成小块或绞碎,加蒸馏水至2000mL,混匀,置冰箱中过夜,第二天煮沸15~20min,绒布过滤,并挤压收集全部滤液,加水

补足原量,分装三角瓶,115℃高压灭菌15~20min。

[0011] 所述菊粉的制备方法为:首先将菊芋清洗粉碎,加入菊芋质量的1-2倍质量体积的水混匀后用泵打入浸提罐;然后添加纤维素酶和果胶酶进行浸提:往浸提罐里加入纤维素酶和果胶酶,得菊粉浸提液;酶加量为酶活与菊芋质量比,其中纤维素酶的加量为 0.01~0.5U/g,果胶酶的加量为 10~100U/g,浸提温度 50℃,浸提时间为 20min~60min;再进行菊粉浸提液除杂脱色:菊粉浸提液中加入石灰乳调节pH至11-13,80℃静置30min,再用磷酸调节至 pH6,过滤,滤液中加入其质量 0.5%~2% 的活性炭,80℃搅拌 20~30min,得除杂脱色的浸提液;最后进行浓缩喷雾干燥:除杂脱色的浸提液通过减压蒸馏或膜浓缩方式浓缩,得菊粉浓度 20%~30% 的菊粉浓缩液;对菊粉浓缩液进行喷雾干燥,得到菊粉粉末成品。

[0012] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出的是,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进,这些改进也应视为本发明的保护范围。