(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105124577 B
(45)授权公告日 2018.01.02

(21)申请号 201510554447.8

(22)申请日 2015.09.01

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105124577 A

(43)申请公布日 2015.12.09

(73)专利权人 福建天斯顿生物科技有限公司
地址 350001 福建省福州市马尾区江滨东大道108号福建留学人员创业园研究试验综合楼802B室

(72)发明人 郭耀荣 郭震宇 吴松刚

(74)专利代理机构 福州元创专利商标代理有限公司 35100
代理人 蔡学俊

(51)Int.Cl.
A23L 19/00(2016.01)
A23L 29/00(2016.01)
A23L 33/00(2016.01)

审查员 陆晨

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

一种果蔬酵素的制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种果蔬酵素的制备方法，采用酿酒酵母，以多种果蔬为培养基，结合深层发酵、酶解和降酸、高压均质、超临界CO_2萃取、浓缩、低温喷雾干燥，制得果蔬酵素。培养基中碳源氮源之比合理，非常有利于酿酒酵母的生长繁殖和酵素产物的合成，所得果蔬酵素的酶活力在150万u/g以上，实现了高产率、高效率、高活力的效果，同时也缩短了生产发酵周期，减少了废水处理和能源费用，将会给生物医药和健康产业带来了显著的经济效益和生态效益。

CN 105124577 B

1.一种果蔬酵素的制备方法，其特征在于：具体步骤如下：

1）菌种制备：菌种：酿酒酵母菌种，活细胞数＞30亿个/g，用量：斜面培养基重量的0.1%；

2）斜面菌种培养：将酿酒酵母菌种接种在固体斜面培养基上，于26℃下培养5d；

斜面培养基：麦芽浆汁1000mL、脱脂奶粉30g、葡萄糖30g、琼脂30g、蛋白胨30g、酵母膏10g、硫酸镁0.2g、酸水解干酪素15g，pH 自然；120℃高压灭菌15 min，室温贮存；

3）三角瓶摇瓶培养：摇床转速80r/min，冲程7cm 往复震荡，28℃振荡培养2d；

4）配制深层发酵培养基：按重量百分数计，青梅15%、蓝莓15%、余甘子10%、木瓜10%、低聚糖5.0%、硫酸镁0.2%、氯化钠0.2%、磷酸氢二钾0.3%、酸水解干酪素1.0%、山茶油0.3%、糖化酶0.1%，余量为水，pH=6-7，120℃灭菌30min，冷却后备用；

其中青梅、蓝莓、余甘子和木瓜经清洗、破碎、去核、打浆；

5）种子罐扩大培养：接种量15%、温度28℃，连续黑暗条件，搅拌速度60r/min，无菌空气通气比为1:0.4，罐压0.04MPa，发酵培养48h，pH 降至4.5-5.0；

6）发酵罐深层发酵培养：接种量20%，温度28℃，搅拌速度30r/min，无菌空气通气比为1:0.5，罐压0.05MPa，培养72h，pH 降至4.0-4.5，残糖量降至0.2-0.3%；

7）酶解：加入果胶酶1.0wt.%、蛋白酶0.75 wt.% 和脂肪酶0.5 wt.%，55℃酶解3h；

8）降酸：加入碳酸钙1wt.%，20℃降酸2h，pH 降至3.0-3.5，总酸度为2.8-3.0；

9）高压均质：发酵液先经胶体磨均质，再经高压均质，过200 目板框过滤；

10）超临界CO2萃取：温度33℃，压力7.15MPa；

11）浓缩：将发酵液浓缩至Brix=20%；

12）低温喷雾干燥，温度≤ 70℃。

2.根据权利要求1所述的方法，其特征在于：步骤4）中糖化酶酶活力为10万u/g。

3.根据权利要求1所述的方法，其特征在于：步骤7）中果胶酶酶活力为3×10^5u/kg，蛋白酶酶活力为2×10^5u/kg，脂肪酶酶活力为1.5×10^5u/kg。

4.根据权利要求1所述的方法，其特征在于：步骤8）中碳酸钙细度为100目。

一种果蔬酵素的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于液体发酵生产技术及生物医药领域，具体涉及一种果蔬酵素的制备方法。

背景技术

[0002] 果蔬酵素，简称酵素(ferment nutrition)，指通过微生物对水果蔬菜发酵，分解增效，提取的一种含生物活性成分的物质。其生物活性成分包括酶(enzyme)但是不限于酶，来自发酵参与菌和用于发酵的食材。酵素合理选择食材和发酵工艺，可分别形成一种或多种功效。包括：调整免疫功能、抗癌、降血压、整肠、消除便秘、抵御痛风、防治糖尿病、减肥、抗过敏，作为具有生命活力的独特健康产品，酵素有着巨大的市场前景。

[0003] 酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae Hansen)是一种非常安全、营养丰富、均衡的食用微生物，酿酒酵母中几乎不含脂肪、淀粉和糖，而含有绝佳的蛋白质、完整的B族维生素、多种生物态矿物质及优质膳食纤维。“三低四优”是对其营养特点的高度概括：低脂、低糖、低热量(不含胆固醇)，优质完全蛋白质(含人体必需的8种氨基酸)、完整的B族维生素群、14种生命结合态的优质矿物质、优质功能性膳食纤维。啤酒酵母中富含多种独特的生物活性物质，麦角固醇含量为0.5％-0.8％，核酸含量为3％-5％，谷胱甘肽含量为0.5％-0.9％。酵母的特点是均衡营养，其营养成分的构成特别适合人体的需求，能够平衡由于饮食结构不合理而带来的营养失衡和消除缓解由此而引发的健康问题。通过运用现代生物技术把酵母加工成纯天然的营养食品，可以直接食用。啤酒酵母现广泛应用于瘦身、糖尿病、脂肪肝、维生素b缺乏等健康领域。

[0004] 青梅(Vatica mangachapoi Blanco)，含有大量的蛋白质、脂肪(脂肪油)、碳水化合物和多种无机盐、有机酸。青梅果实中有机酸含量一般在3.0%-6.5%，远远高于一般水果。青梅所含的有机酸主要是柠檬酸、苹果酸、单宁酸、苦叶酸、琥珀酸、酒石酸等，具有生津解渴、刺激食欲、消除疲劳等功效，尤其是柠檬酸含量在各种水果中含量最多，柠檬酸是人体细胞物质代谢不可缺少的重要酸类，它能促进乳酸分解为二氧化碳和水排出体外，恢复疲劳，且有益于钙的吸收。青梅营养丰富，低糖高酸，其T值(糖酸比)仅为0.2，是梨的1/70，杏的1/8，比柠檬的T值还低。其次，它具有合理的钙磷比，其Ca/P≈1:1，是开发女性、儿童和老年保健食品的最佳食物。

[0005] 蓝莓(Blueberry)，果实中除了常规的糖、酸和Vc外，富含VE、VA、VB、SOD、熊果苷、蛋白质、花青苷、食用纤维以及丰富的K、Fe、Zn、Ca等矿物质元素。据蓝莓果实分析测定，每百克蓝莓鲜果中花青苷色素含量高达163mg，蛋白质400-700毫克、脂肪500-600毫克、碳水化合物12.3-15.3毫克，维生素A高达81-100国际单位、维生素E 2.7-9.5微克、SOD5.39国际单位，维生素都高于其他水果。微量元素也很高，每克鲜果中钙220-920微克，磷98-274微克，镁114-249微克，锌2.1-4.3微克，铁7.6-30.0微克，锗0.8-1.2微克，铜2.0-3.2微克。蓝莓果实中含有丰富的高锌、高钙、高铁、高铜、高维生素营养成分，不仅具有良好的营养保健作用，还具有防止脑神经老化、强心、抗癌软化血管、增强人机体免疫等功能，能够延缓记忆

力衰退和预防心脏病的发生，因此被人们视为超级水果。

[0006] 余甘子(Phyllanthus emblica)，果实中含维生素C，维生素B1，维生素B2，胡萝卜素，维生素A，维生素pp 等，尤其富含维生素C，其含量可达 0.6%~0.92%，春季果实含量最高，有时甚至可达 1.82%，该含量是苹果维C 含量的 160 倍，同时也是柑橘含量的100倍。余甘子果实中含 17 种氨基酸，包括了人体所需的 8 种氨基酸，其氨基酸总含量达185mg/100g，主要有谷氨酸，脯氨酸，天冬氨酸，丙氨酸 赖氨酸。余甘子果实味酸微涩，清热凉血，消食健脾，生津止渴。主治血热血瘀，消化不良，腹胀，咳嗽，喉痛，口干及维生素C 缺乏症。在藏药中，余甘子主治培根病、赤巴病、血病、高血压病等，具有抗炎，抗氧化，抗衰老，保肝等作用。

[0007] 木瓜(ChaenomelessinensisKoehne)，果实含有丰富木瓜酶，维生素C、B及钙、磷及矿物质，营养丰富，果实含大量丰富的胡萝卜素、蛋白质、钙盐、蛋白酶、柠檬酶等，具有防治高血压、肾炎、便秘和助消化、治胃病，对人体有促进新陈代谢和抗衰老的作用、抗肿瘤作用、抗菌和抗寄生虫作用、蛋白酶的作用，以及具有美容护肤养颜的功效。

发明内容

[0008] 本发明的目的在于提供一种果蔬酵素的制备方法，所得果蔬酵素的酶活力在150万u/g以上，实现了高产率、高效率、高活力的效果，同时也缩短了生产发酵周期，减少了废水处理和能源费用，将会给生物医药和健康产业带来了显著的经济效益和生态效益。

[0009] 为实现上述目的，本发明采用如下技术方案：

[0010] 一种果蔬酵素的制备方法：采用酿酒酵母，以多种果蔬为培养基，结合深层发酵、酶解和降酸、高压均质、超临界CO_2萃取、浓缩、低温喷雾干燥，制得果蔬酵素。

[0011] 具体步骤如下：

[0012] 1)菌种制备：菌种：酿酒酵母菌种，活细胞数＞30亿个/g，用量：斜面培养基重量的0.1%；

[0013] 2)斜面菌种培养：将酿酒酵母菌种接种在固体斜面培养基上，于26-28℃下培养5-7d；

[0014] 斜面培养基：麦芽浆汁1000mL、脱脂奶粉30g、葡萄糖30g、琼脂30g、蛋白胨30g、酵母膏10g、硫酸镁0.2g、酸水解干酪素15g，pH自然；120℃高压灭菌15 min，室温贮存；

[0015] 3)三角瓶摇瓶培养：摇床转速80-100r/min，冲程7-8cm往复震荡，28-32℃振荡培养2-3d；

[0016] 4)配制深层发酵培养基：按重量百分数计，青梅15%、蓝莓15%、余甘子10%、木瓜10%、低聚糖5.0%、硫酸镁0.2%、氯化钠0.2%、磷酸氢二钾0.3%、酸水解干酪素1.0%、山茶油0.3%、糖化酶0.1%，余量为水，pH=6-7，120-125℃灭菌30min，冷却后备用；

[0017] 其中青梅、蓝莓、余甘子和木瓜经清洗、破碎、去核、打浆；

[0018] 5)种子罐扩大培养：接种量15%-20%、温度28-32℃，连续黑暗条件，搅拌速度60-100r/min，无菌空气通气量为每分钟1:0.4m^3v/v，min，罐压0.04MPa，发酵培养48-72h，pH降至4.5-5.0；

[0019] 6)发酵罐深层发酵培养：接种量20-25%，温度28-32℃，搅拌速度30-60r/min，无菌空气通气量为每分钟1:0.5m^3v/v，min，罐压0.05MPa，培养72-78h，pH降至4.0-4.5，残糖量

降至0.2-0.3%；

[0020] 7)酶解：加入果胶酶1.0wt.%、蛋白酶0.75 wt.%和脂肪酶0.5 wt.%，55-60℃酶解3-4h；

[0021] 8)降酸：加入碳酸钙1wt.%，20-30℃降酸2-3h，pH降至3.0-3.5，总酸度为2.8-3.0；

[0022] 9)高压均质：发酵液先经胶体磨均质，再经高压均质，过200目板框过滤；

[0023] 10)超临界CO_2萃取：温度33℃，压力7.15MPa；

[0024] 11)浓缩：将发酵液浓缩至浓度Brix=20-25%；

[0025] 12)低温喷雾干燥，温度≤70℃。

[0026] 步骤4)中糖化酶酶活力为10万u/g。

[0027] 步骤7)中果胶酶酶活力为3×10^5u/kg，蛋白酶酶活力为2×10^5u/kg，脂肪酶酶活力为1.5×10^5u/kg。

[0028] 步骤8)中碳酸钙细度为100目。

[0029] 本发明的显著优点在于：培养基中碳源氮源之比合理，非常有利于酿酒酵母的生长繁殖和酵素产物的合成，所得果蔬酵素的酶活力在150万u/g以上，实现了高产率、高效率、高活力的效果，同时也缩短了生产发酵周期，减少了废水处理和能源费用，将会给生物医药和健康产业带来了显著的经济效益和生态效益。

具体实施方式

[0030] 果蔬酵素的深层发酵和发酵产物干粉提取制备方法：

[0031] 1、菌种制备：菌种：酿酒酵母菌种。活细胞数＞30亿个/g，用量：按重量比的0.1%。酿酒酵母菌种斜面培养基：麦芽浆汁1000mL、脱脂奶粉30g、葡萄糖30g、琼脂30g、蛋白胨30g、酵母膏10g、硫酸镁0.2g、酸水解干酪素15g，pH自然。120℃高压灭菌15 min，室温贮存。

[0032] 2、斜面菌种培养：将优质菌种接种在固体斜面培养基上，放于26-28℃下培养5-7d，菌丝体长满斜面，微带白色，菌种生长旺盛。

[0033] 3、三角瓶摇瓶培养：将斜面菌种移入盛200ml液体培养基的三角瓶中，采用摇床转速80-100r/min，冲程7-8cm往复震荡，28-32℃振荡培养2-3d，长满白色的菌丝，制成种子悬浮液。

[0034] 4、配制深层发酵培养基。按以下重量百分比配制液体培养基： 深层发酵培养基(按重量百分比)：青梅15%、蓝莓15%、余甘子10%、木瓜10%、低聚糖5.0%、硫酸镁0.2%、氯化钠0.2%、磷酸氢二钾0.3%、酸水解干酪素1.0%、山茶油0.3%，糖化酶(10万u/g)0.1%。余量：水，pH:6-7，青梅蓝莓余甘子木瓜果粒经清洗、破碎、去核、打浆，配制液体培养基。培养基在120-125℃条件下灭菌30min，冷却后备用。

[0035] 按上述重量百分比，取青梅300kg、蓝莓300kg、余甘子200kg、木瓜200kg，果粒经清洗、破粹、去核、打浆，低聚糖100kg、硫酸镁4kg、氯化钠4kg、磷酸氢二钾6kg、酸水解干酪素20kg、山茶油6kg，糖化酶(10万u/g)2kg。余量：水，pH:6-7。配制液体培养基，在120-125℃条件下灭菌30min，冷却后备用。

[0036] 5、种子罐种子扩大培养：种子罐采用500L不锈钢罐，投料300L。将种子悬浮液移入种子罐，进行种子扩大培养，按种量17.5%、温度28-32℃，光照条件：连续黑暗条件，搅拌速度60-100r/min，无菌空气通气量为每分钟1:0.4m^3v/v，min，罐压0.04MPa，发酵培养56h；pH

降至4.7，种子罐菌种培养成熟。

[0037] 6、发酵罐深层发酵培养：发酵罐采用5000L不锈钢罐，投料3000L。按种量22.5%、温度28-32℃，光照条件：连续黑暗条件，搅拌速度30-60r/min，无菌空气通气量为每分钟1:0.4m^3v/v，min，罐压0.04MPa，发酵培养72h；pH降至3.3，残糖量降至0.25%，发酵结束，形成深层发酵菌丝液。

[0038] 7、酶解：按重量百分比，加入果胶酶1.0%，蛋白酶0.75%，脂肪酶0.5%，果胶酶酶活力为3×10^5u/kg，蛋白酶酶活力为2×10^5u/kg，脂肪酶酶活力为1.5×10^5u/kg。温度保持在55-60℃，酶解时间3-4h。

[0039] 8 降酸：按重量百分比，加入碳酸钙1%，温度保持在20-30℃，降酸时间2-3h，pH降至3.0-3.5。总酸度为2.8-3.0。碳酸钙细度100目。

[0040] 9、高压均质处理：经酶解处理的发酵液先经胶体磨均质，旋转磨转速800-1000r/min。使菌丝体等物料颗粒崩解，达到均质，再经高压均质机(40MPa-60MPa)，使发酵液在高压作用下通过200目板框过滤。

[0041] 10、超临界CO_2萃取，温度33℃，压力7.15MPa，利用超临界二氧化碳的溶解能力与其密度的关系，在超临界状态下，将超临界二氧化碳与待分离的物质接触，使其有选择性地把沸点高低和分子量大小不同的成分依次萃取析出有效活性物质。

[0042] 11、发酵液浓缩，采用双效浓缩器，蒸发温度55-70℃，蒸汽压力0.25MPa，将发酵液液体浓缩至浓度Brix=20-25%。

[0043] 12、采用低温喷雾干燥，温度≤70℃，获得发酵产物果蔬酵素等活性物质干粉制品。

[0044] 实施例1

[0045] 一种果蔬酵素的制备方法：采用酿酒酵母，以多种果蔬为培养基，结合深层发酵、酶解和降酸、高压均质、超临界CO_2萃取、浓缩、低温喷雾干燥，制得果蔬酵素。

[0046] 具体步骤如下：

[0047] 1)菌种制备：菌种：酿酒酵母菌种，活细胞数＞30亿个/g，用量：斜面培养基重量的0.1%；

[0048] 2)斜面菌种培养：将酿酒酵母菌种接种在固体斜面培养基上，于26℃下培养5d；

[0049] 斜面培养基：麦芽浆汁1000mL、脱脂奶粉30g、葡萄糖30g、琼脂30g、蛋白胨30g、酵母膏10g、硫酸镁0.2g、酸水解干酪素15g，pH自然；120℃高压灭菌15 min，室温贮存；

[0050] 3)三角瓶摇瓶培养：摇床转速80r/min，冲程7cm往复震荡，28℃振荡培养2d；

[0051] 4)配制深层发酵培养基：按重量百分数计，青梅15%、蓝莓15%、余甘子10%、木瓜10%、低聚糖5.0%、硫酸镁0.2%、氯化钠0.2%、磷酸氢二钾0.3%、酸水解干酪素1.0%、山茶油0.3%、糖化酶0.1%，余量为水，pH=6-7，120℃灭菌30min，冷却后备用；

[0052] 其中青梅、蓝莓、余甘子和木瓜经清洗、破碎、去核、打浆；

[0053] 5)种子罐扩大培养：接种量15%、温度28℃，连续黑暗条件，搅拌速度60r/min，无菌空气通气量为每分钟1:0.4m^3v/v，min，罐压0.04MPa，发酵培养48h，pH降至4.5-5.0；

[0054] 6)发酵罐深层发酵培养：接种量20%，温度28℃，搅拌速度30r/min，无菌空气通气量为每分钟1:0.5m^3v/v，min，罐压0.05MPa，培养72h，pH降至4.0-4.5，残糖量降至0.2-0.3%；

[0055] 7)酶解:加入果胶酶1.0wt.%、蛋白酶0.75 wt.%和脂肪酶0.5 wt.%,55℃酶解3h;

[0056] 8)降酸:加入碳酸钙1wt.%,20℃降酸2h,pH降至3.0-3.5,总酸度为2.8-3.0;

[0057] 9)高压均质:发酵液先经胶体磨均质,再经高压均质,过200目板框过滤;

[0058] 10)超临界CO_2萃取:温度33℃,压力7.15MPa;

[0059] 11)浓缩:将发酵液浓缩至浓度Brix=20%;

[0060] 12)低温喷雾干燥,温度≤70℃。

[0061] 步骤4)中糖化酶酶活力为10万u/g。

[0062] 步骤7)中果胶酶酶活力为3×10^5u/kg,蛋白酶酶活力为2×10^5u/kg,脂肪酶酶活力为1.5×10^5u/kg。

[0063] 步骤8)中碳酸钙细度为100目。

[0064] 实施例2

[0065] 一种果蔬酵素的制备方法:采用酿酒酵母,以多种果蔬为培养基,结合深层发酵、酶解和降酸、高压均质、超临界CO_2萃取、浓缩、低温喷雾干燥,制得果蔬酵素。

[0066] 具体步骤如下:

[0067] 1)菌种制备:菌种:酿酒酵母菌种,活细胞数>30亿个/g,用量:斜面培养基重量的0.1%;

[0068] 2)斜面菌种培养:将酿酒酵母菌种接种在固体斜面培养基上,于28℃下培养7d;

[0069] 斜面培养基:麦芽浆汁1000mL、脱脂奶粉30g、葡萄糖30g、琼脂30g、蛋白胨30g、酵母膏10g、硫酸镁0.2g、酸水解干酪素15g,pH自然;120℃高压灭菌15 min,室温贮存;

[0070] 3)三角瓶摇瓶培养:摇床转速100r/min,冲程8cm往复震荡,32℃振荡培养3d;

[0071] 4)配制深层发酵培养基:按重量百分数计,青梅15%、蓝莓15%、余甘子10%、木瓜10%、低聚糖5.0%、硫酸镁0.2%、氯化钠0.2%、磷酸氢二钾0.3%、酸水解干酪素1.0%、山茶油0.3%、糖化酶0.1%,余量为水,pH=6-7,125℃灭菌30min,冷却后备用;

[0072] 其中青梅、蓝莓、余甘子和木瓜经清洗、破碎、去核、打浆;

[0073] 5)种子罐扩大培养:接种量20%、温度32℃,连续黑暗条件,搅拌速度100r/min,无菌空气通气量为每分钟1:0.4m^3v/v,min,罐压0.04MPa,发酵培养72h,pH降至4.5-5.0;

[0074] 6)发酵罐深层发酵培养:接种量25%,温度32℃,搅拌速度60r/min,无菌空气通气量为每分钟1:0.5m^3v/v,min,罐压0.05MPa,培养78h,pH降至4.0-4.5,残糖量降至0.2-0.3%;

[0075] 7)酶解:加入果胶酶1.0wt.%、蛋白酶0.75 wt.%和脂肪酶0.5 wt.%,60℃酶解4h;

[0076] 8)降酸:加入碳酸钙1wt.%,30℃降酸3h,pH降至3.0-3.5,总酸度为2.8-3.0;

[0077] 9)高压均质:发酵液先经胶体磨均质,再经高压均质,过200目板框过滤;

[0078] 10)超临界CO_2萃取:温度33℃,压力7.15MPa;

[0079] 11)浓缩:将发酵液浓缩至浓度Brix=25%;

[0080] 12)低温喷雾干燥,温度≤70℃。

[0081] 步骤4)中糖化酶酶活力为10万u/g。

[0082] 步骤7)中果胶酶酶活力为3×10^5u/kg,蛋白酶酶活力为2×10^5u/kg,脂肪酶酶活力为1.5×10^5u/kg。

[0083] 步骤8)中碳酸钙细度为100目。

[0084] 实施例3

[0085] 一种果蔬酵素的制备方法：采用酿酒酵母，以多种果蔬为培养基，结合深层发酵、酶解和降酸、高压均质、超临界CO_2萃取、浓缩、低温喷雾干燥，制得果蔬酵素。

[0086] 具体步骤如下：

[0087] 1)菌种制备：菌种：酿酒酵母菌种，活细胞数＞30亿个/g，用量：斜面培养基重量的0.1%；

[0088] 2)斜面菌种培养：将酿酒酵母菌种接种在固体斜面培养基上，于27℃下培养6d；

[0089] 斜面培养基：麦芽浆汁1000mL、脱脂奶粉30g、葡萄糖30g、琼脂30g、蛋白胨30g、酵母膏10g、硫酸镁0.2g、酸水解干酪素15g，pH自然；120℃高压灭菌15 min，室温贮存；

[0090] 3)三角瓶摇瓶培养：摇床转速90r/min，冲程7.5cm往复震荡，30℃振荡培养2.5d；

[0091] 4)配制深层发酵培养基：按重量百分数计，青梅15%、蓝莓15%、余甘子10%、木瓜10%、低聚糖5.0%、硫酸镁0.2%、氯化钠0.2%、磷酸氢二钾0.3%、酸水解干酪素1.0%、山茶油0.3%、糖化酶0.1%，余量为水，pH=6-7，122℃灭菌30min，冷却后备用；

[0092] 其中青梅、蓝莓、余甘子和木瓜经清洗、破碎、去核、打浆；

[0093] 5)种子罐扩大培养：接种量18%、温度30℃，连续黑暗条件，搅拌速度80r/min，无菌空气通气量为每分钟1:0.4m^3v/v，min，罐压0.04MPa，发酵培养60h，pH降至4.5-5.0；

[0094] 6)发酵罐深层发酵培养：接种量22%，温度30℃，搅拌速度45r/min，无菌空气通气量为每分钟1:0.5m^3v/v，min，罐压0.05MPa，培养75h，pH降至4.0-4.5，残糖量降至0.2-0.3%；

[0095] 7)酶解：加入果胶酶1.0wt.%、蛋白酶0.75 wt.%和脂肪酶0.5 wt.%，58℃酶解3.5h；

[0096] 8)降酸：加入碳酸钙1wt.%，25℃降酸2.5h，pH降至3.0-3.5，总酸度为2.8-3.0；

[0097] 9)高压均质：发酵液先经胶体磨均质，再经高压均质，过200目板框过滤；

[0098] 10)超临界CO_2萃取：温度33℃，压力7.15MPa；

[0099] 11)浓缩：将发酵液浓缩至浓度Brix=22%；

[0100] 12)低温喷雾干燥，温度≤70℃。

[0101] 步骤4)中糖化酶酶活力为10万u/g。

[0102] 步骤7)中果胶酶酶活力为3×10^5u/kg，蛋白酶酶活力为2×10^5u/kg，脂肪酶酶活力为1.5×10^5u/kg。

[0103] 步骤8)中碳酸钙细度为100目。

[0104] 表1 果蔬酵素发酵干粉主要成分含量表 （干粉实测含水量为5.0%）

[0105]

成分 / 实施例	果蔬酵素干粉重量	提取得率	酶活力	氨基酸总量	维生素总量
实施例1果蔬酵素干粉	186.0kg	16.43%	165万u/g	1300mg/100g	780mg/100g
实施例2果蔬酵素干粉	191.5kg	16.91%	160万u/g	1270mg/100g	810mg/100g
实施例3果蔬酵素干粉	187.8kg	16.59%	163万u/g	1280mg/100g	790mg/100g

[0106] 上述主要成分检测标准与方法：

[0107] 1、酶活力：参照中华人民共和国专业标准SB/T10317-1999蛋白酶活力测定方法。

[0108] 2、氨基酸：采用 GB/T 5009.124-2003氨基酸自动分析仪测定食物中氨基酸的方法。

[0109] 3、维生素：采用 HPLC法和比色法对食物中维生素A维生素E维生素C进行测定。

[0110] 以上所述仅为本发明的较佳实施例，凡依本发明申请专利范围所做的均等变化与修饰，皆应属本发明的涵盖范围。