

## (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  
2015年4月2日 (02.04.2015)



(10) 国际公布号  
WO 2015/043326 A1

- (51) 国际专利分类号:  
A23L 2/38 (2006.01) A23L 1/09 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2014/084347
- (22) 国际申请日: 2014年8月14日 (14.08.2014)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
201310443498.4 2013年9月25日 (25.09.2013) CN
- (71) 申请人: 光明乳业股份有限公司 (BRIGHT DAIRY & FOOD CO., LTD) [CN/CN]; 中国上海市闵行区吴中路 578 号, Shanghai 201103 (CN)。
- (72) 发明人: 韩璿 (HAN, Jin); 中国上海市闵行区吴中路 578 号, Shanghai 201103 (CN)。 郭本恒 (GUO, Benheng); 中国上海市闵行区吴中路 578 号, Shanghai 201103 (CN)。 吴正钧 (WU, Zhengjun); 中国上海市闵行区吴中路 578 号, Shanghai 201103 (CN)。 杭锋 (HANG, Feng); 中国上海市闵行区吴中路 578 号, Shanghai 201103 (CN)。 吴江 (WU, Jiang); 中国上海市闵行区吴中路 578 号, Shanghai 201103 (CN)。 马成杰 (MA, Chengjie); 中国上海市闵行区吴中路 578 号, Shanghai 201103 (CN)。
- (74) 代理人: 上海弼兴律师事务所 (SHANGHAI BE-SHINING LAW OFFICE); 中国上海市小木桥路 681 号外经大厦 21 楼, Shanghai 200032 (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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, 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)。

### 根据细则 4.17 的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则 4.17(iii))
- 发明人资格(细则 4.17(iv))

### 本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: GLUCAN BEVERAGE AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 发明名称: 葡聚糖饮料及其制备方法

(57) Abstract: Disclosed is a method for preparing a glucan beverage, comprising the following steps: (1) inoculating leuconostoc mesenteroides into a fermentation medium, and carrying out aerobic cultivation to obtain a fermentation broth; (2) uniformly mixing the fermentation broth and a blending liquid containing a sweetener and an acidulant, and homogenizing and sterilizing, wherein the fermentation medium contains an aqueous solution of sucrose and tomato juice; the concentration of the tomato juice in the tomato juice aqueous solution is 40%-100% volume percent; the pH of the fermentation medium is adjusted to 6.0-8.0 with a base; and the volume percent of the content of the fermentation broth in the total amount of the glucan beverage is 15.5%-66.6%.

(57) 摘要: 一种葡聚糖饮料的制备方法, 包括如下步骤: (1) 将肠膜明串珠菌接种于发酵培养基中, 好氧培养, 得发酵液; (2) 将发酵液与含有甜味剂和酸味剂的勾兑液混合均匀, 均质、灭菌; 其中, 所述的发酵培养基包括蔗糖和番茄汁水溶液; 所述的番茄汁水溶液中番茄汁的体积百分比浓度为 40%~100%; 所述的发酵培养基的 pH 用碱调为 6.0~8.0; 所述发酵液的含量占所述的葡聚糖饮料总量的体积百分比为 15.5%~66.6%。



WO 2015/043326 A1

## 葡聚糖饮料及其制备方法

本申请要求申请日为 2013 年 9 月 25 日的中国专利申请 CN201310443498.4 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

### 技术领域

本发明公开了一种葡聚糖饮料及其制备方法。

### 背景技术

多糖（polysaccharide）是一种由单糖以糖苷键键合而成大分子聚合物，研究表明，多糖具有免疫调节、抗病毒、抗癌、降血糖、降血压等益生功能。自然界中的多糖主要分布于微生物、高等植物、动物、地衣以及藻类中，其中，微生物来源的多糖尤指其胞外多糖，为某些特定微生物（如乳酸菌、土壤杆菌、根瘤菌等）在生长代谢过程中分泌到细胞壁外的一类糖类化合物，其中，依附于微生物细胞壁外的多糖被称为荚膜多糖，而粘液多糖则以渗透于生长环境中的形式存在。

众所周知，明串珠菌是一类高产胞外多糖的乳酸菌，其中，肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）可以合成多种类型的葡聚糖（一种以葡萄糖为单糖组成单位，由  $\alpha$ -1,3、 $\alpha$ -1,4 或  $\alpha$ -1,6 糖苷键键合而成的葡萄糖高分子聚合物），相关研究证实，由肠膜明串珠菌合成的葡聚糖具有调节免疫、抗癌等临床功效。

然而在目前由明串珠菌制备葡聚糖的工艺中，发酵基料的组成复杂、部分成分来源紧缺，导致发酵基料成本高昂；采用这些基料发酵后，在提取制备多糖的过程中，通常为了去除蛋白质等干扰物质而加入氯仿、正丁醇、三氟三氯乙烷、三氯乙酸等有机溶剂，这些因素对商业化生产的成本、多糖的品质以及多糖在食品、医疗领域应用的安全性均存在不良影响。

纵观国内饮料市场，尽管各类功能性饮料丛生，如红牛（补充能量）、脉动（补充维生素）等，但以多糖为主要功能成分的饮料几乎没有。而且，现有的含多糖饮料的相关研究报道，其涉及的多糖来源多为植物多糖，应用方式也都是人为添加于饮料中，狭隘的多糖来源与人为添加的应用方式使这类产品渐渐缺乏创新性与安全性。

因此，寻找一种以微生物自身代谢产生的多糖为功能性成分的发酵型饮料，将是未来新型功能性饮料发展的趋势之一。该问题亟待解决。

## **发明内容**

本发明所要解决的技术问题在于克服了现有多糖饮料中多糖来源多为植物，来源狭隘，还需经过特定处理方式提取之后，再人为添加得到产品的应用方式缺乏安全性，特别对于现有市场以葡聚糖为主要功能成分的饮料存在空白的缺陷，提供了一种生产成本低、工艺简洁并能广泛工业应用的葡聚糖饮料及其制备方法。

本发明是通过下述技术方案来解决上述技术问题：

本发明的葡聚糖饮料的制备方法包括如下步骤：

（1）将肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）发酵菌种接种于发酵培养基中，好氧培养，得发酵液；

（2）将发酵液与含有甜味料和酸味剂的勾兑液混合均匀，均质、灭菌即可；

其中，所述的发酵培养基包括蔗糖和番茄汁水溶液；所述的番茄汁水溶液中番茄汁的体积百分比浓度为40%~100%；所述的发酵培养基的pH用碱调pH为6.0~8.0；所述发酵液的含量占所述的葡聚糖饮料总量的体积百分比为15.5%~66.6%。

本发明中，所述的蔗糖与所述的番茄汁水溶液的质量体积比较佳地为1g:20mL~1g:5mL，更佳地为1g:10mL~1g:5mL，尤其更佳地为3g:20mL。

本发明中，所述的番茄汁水溶液中番茄汁的体积百分比浓度较佳地为100%。

本发明中，所述的发酵培养基的 pH 较佳的用碱调至 7.0。其中，所述的碱为本领域常规，一般为食品级碱，较佳地为  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$  和  $\text{NaOH}$  中的一种或多种。

本发明中，所述的番茄汁水溶液中的番茄汁采用本领域常规制备方法制得，一般包括如下步骤：将成熟番茄洗净、去皮后，进行机械破碎，分离，取上清液，即可。按照该方法制得的番茄汁的主要理化指标为：固形物含量 3.28g/100mL~4.04g/100mL，灰分 0.46g/100mL~0.59g/100mL，蛋白质 0.39g/100mL~0.52g/100mL，脂肪 0.014g/100mL~0.020g/100mL，碳水化合物 2.42g/100mL~2.88g/100mL。

其中，所述的分离为本领域常规分离技术，较佳地为过滤、抽滤和离心中的一种或多种。所述的过滤的介质为本领域常规，较佳地为多层纱布或无纺布。所述的离心为本领域常规操作，较佳地为 2000g~3000g, 10min~20min 离心。

本发明中，所述的发酵培养基按本领域常规方法制备，较佳的由下述方法制得：将所述的蔗糖与所述的番茄汁水溶液均匀混合溶解后，在 95℃~125℃ 灭菌 5min~30min，更佳的灭菌的时间为 20min~30min。

步骤（1）中，所述的发酵菌种为常规的肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*），较佳地为肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LM 57、肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LM 79、肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LD 106 和保藏号为 CGMCC NO.6432 的肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）BD 1710 中的一种或多种，更佳地为保藏号为 CGMCC NO.6432 的肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）BD 1710。

步骤（1）中，在所述的接种时，所述的发酵菌种一般以种子液的形式

接种，其中活菌数一般为  $1.0 \times 10^9 \sim 3.0 \times 10^9$  CFU/mL。

步骤（1）中，所述的接种为本领域常规操作，所述的发酵菌种的接种量较佳地为 0.5%~4.0%，更佳地为 2.0%~4.0%，尤其更佳地为 2.0%，所述的百分比为种子液占发酵培养基的体积百分比。

步骤（1）中，所述的好氧培养为本领域常规操作。所述的好氧培养的温度较佳地为 25℃~34℃，更佳地为 25℃~31℃，尤其更佳地为 28℃。所述的好氧培养的时间较佳地为 12h~54h，更佳地为 30h~54h，尤其更佳地为 48h。所述的好氧培养的方式较佳地为摇床培养或发酵罐通气培养。

步骤（2）中，所述的含有甜味料和酸味剂的勾兑液为本领域常规，为甜味料、酸味剂与水混合后得到的溶液。

步骤（2）中，所述的甜味料为本领域常规使用，较佳的为白砂糖、糖浆和甜味剂中的一种或多种；其中，所述的甜味剂为本领域常规使用，较佳的为阿斯巴甜、甜蜜素和安赛密中的一种或多种。所述的甜味剂的用量为本领域常规使用，较佳的为使所述的葡聚糖饮料的甜度为折合成蔗糖甜度 5%~10%。

步骤（2）中，所述的酸味剂为一般使用的常规饮料用酸味剂，较佳的为柠檬酸、苹果酸、酒石酸、乳酸和醋酸中的一种或多种。所述的酸味剂的用量为本领域常规使用，较佳的为使所述的葡聚糖饮料的滴定酸度  $70^\circ\text{T} \sim 80^\circ\text{T}$ 。

步骤（2）中，所述的均质为本领域常规操作，较佳的为 15~30MPa 压力下均质。

步骤（2）中，所述的灭菌为本领域常规操作，较佳的条件为温度 95℃~125℃；时间为 5min~30min。

本发明还提供前述葡聚糖饮料制备方法制得的葡聚糖饮料。该葡聚糖饮料中葡聚糖的质量体积比含量一般  $\geq 0.5\%$ 。

在符合本领域常识的基础上，上述各优选条件，可任意组合，即得本发

明各较佳实例。

本发明所用试剂和原料均市售可得。

本发明的积极进步效果在于：

1、本发明提供的葡聚糖饮料，制备过程采用的发酵培养基的来源广泛、成本低廉、天然安全，经肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）发酵菌种发酵后获得的葡聚糖，在稀释、调味后可直接作为功能性饮料来食用，打破现有市场上稀缺以葡聚糖作为功能性成分饮料的现状。

2、本发明饮料中葡聚糖来自于微生物，本身存在于发酵基料，相比现有的含多糖饮料的相关研究报道的多糖大多来源于植物，且均人工添加入饮料，本发明所涉及的多糖来源以及简化的制作工艺提高了相关产品的创新性与安全性，应用前景十分广阔。

## 附图说明

图 1 为实施例 1 中葡聚糖饮料中多糖样品糖基组成的色谱图。

## 具体实施方式

下面通过实施例的方式进一步说明本发明，但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，按照常规方法和条件，或按照商品说明书选择。

本发明中所述的室温是指进行试验的操作间的温度，一般为 25℃。下述实施例中发酵菌种为保藏号为 CGMCC NO.6432 的肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）BD 1710，或丹尼克斯（中国）有限公司提供的肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LM 57、肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LM 79、肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LD 106。

下述实施例中：

番茄汁 X1、X2、X3、X4 的制备：将成熟番茄清洗、去皮后，进行机械破碎，分别通过过滤、抽滤、分离、3000g 离心 10min、或者 2000g 离心 20min 取上清液，即可。

发酵培养基 S1、S2、S3 和 S4 的制备：将蔗糖与番茄汁水溶液按质量体积比 3g:20mL、1g:5mL、1g:10mL、1g:20mL 分别混合，加热至蔗糖溶解后冷却至室温，分别以碱  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{NaOH}$ 、 $\text{NaOH}$  调节 pH 分别至 7.0、6.0、7.5、8.0，分别在 121℃ 下灭菌 20 min、95℃ 下灭菌 30 min、125℃ 下灭菌 5 min、100℃ 下灭菌 15min 即可。其中，所述的番茄汁水溶液中番茄汁的浓度分别为 100%、40%、80%、60%，所述的番茄汁分别为番茄汁 X1、X2、X3、X4。

发酵菌种（种子液）Z1 的制备：将肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）BD 1710 的冻干粉以少量无菌蒸馏水溶解，用接种环挑取一环划线于 M17 蔗糖培养基（以 5.0%（w/v）蔗糖取代 M17 培养基中 0.5%（w/v）的乳糖，OXOIDLTD.，英国）上，28℃ 好氧培养 24h 后取出，用接种环挑取单菌落放入 1mL M17 蔗糖培养基中，运用涡旋震荡器将菌落均匀分散于该液体培养基内，28℃、180rpm 摇床培养 24h 后取出，以 2.0%（v/v）接种量接种于 50mL 上述 M17 蔗糖培养基中，再置于 28℃、180rpm 摇床培养 24h，培养物 10,000 g 离心 10 分钟，弃去上清，菌体用无菌蒸馏水洗涤 2 次后，用原培养体积的无菌蒸馏水悬浮，即可；活菌数约  $2.0 \times 10^9$  CFU/mL。

发酵菌种（种子液）Z2、Z3、Z4 分别以下述微生物菌制备，肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LM 57、肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LM 79、肠膜明串珠菌（*Leuconostocmesenteroides*）LD 106 的种子液的制备过程同上；活菌数分别约  $1.0 \times 10^9$  CFU/mL、 $2.0 \times 10^9$  CFU/mL、 $3.0 \times 10^9$  CFU/mL。

**效果验证时，发酵液中葡聚糖的提取：**取发酵液以 4 倍于发酵液体积的

无菌水稀释，15,000 g 离心 10 min，取上清液，加入 3 倍体积于上清液体积的无水乙醇，静置过夜，15,000 g 离心 10 min，收集沉淀物并溶于水，得葡聚糖的水溶液，真空冷冻干燥后即得葡聚糖。

**效果验证时，葡聚糖饮料中葡聚糖的提取：**取乳酸菌饮料 15,000 g 离心 10 min，取上清液（去除灭活的死菌体），加入 3 倍体积的无水乙醇，静置过夜，15,000 g 离心 10 min，收集沉淀物并溶于水，得葡聚糖的水溶液，真空冷冻干燥后即得葡聚糖。

## 实施例 1

### 1、制备葡聚糖饮料

(1) 将发酵菌种肠膜明串珠菌 BD 1710 种子液 Z1 以 2.0% (v/v) 的接种量接入上述方法制备的发酵培养基中，所述的发酵培养基 S1，其中蔗糖与番茄汁水溶液的质量体积比为 3g:20mL，所述的番茄汁水溶液的浓度为 100%，pH 为 7.0，28℃、180rpm 摇床培养 48h，发酵结束后取发酵液，经测定，该发酵液中葡聚糖含量为 3.22% (w/v)。

(2) 将白砂糖、柠檬酸完全溶解于 50℃ 的水中，即得勾兑液。将上述发酵液与勾兑液以 1:5.44(v/v) 充分混合均匀后在 15MPa 压力下进行均质，并于 95℃ 灭菌 30 min，灌装，得本实施例的乳酸菌饮料产品。

经检测，本实施例生产的富含葡聚糖的乳酸菌饮料中葡聚糖含量 0.50%，甜度为含有 10% 的蔗糖甜度，酸度 80°T，所述发酵液的含量占饮料总量的体积百分比为 15.5%。

### 2、成分检测

#### (1) 标准样品配置：

多糖水解：吸取 100μL 浓度为 4mg/mL~5mg/mL 的多糖样品溶液于 5mL 的具塞刻度试管中，加入 100μL 的 4mol/L TFA，充 N<sub>2</sub> 封管，110℃ 烘箱中水解 2h；冷却后打开盖，加 200μL 甲醇后用 N<sub>2</sub> 吹干，如此重复加甲醇并用 N<sub>2</sub> 吹 3 次，去除 TFA，将其残渣用水溶解定容至 5mL，用 0.45μm 微孔膜过

滤后供进样分析。

## (2) 色谱条件

色谱柱：CarboPacPA203mmi.d.×150mm；

流动相：A、H<sub>2</sub>O；B、250mmol/LNaOH；C、1mol/LNaAc；

三元梯度洗脱：流速：0.5mL/min；积分脉冲安培检测器；

Au 工作电极：Ag/AgCl 参比电极；

进样体积：20μL；柱温：30℃。

(3) 按前述方法提取制备葡聚糖饮料的步骤(1)发酵液中的葡聚糖样品，并以高效阴离子色谱法测定多糖的单糖组成。

肠膜明串珠菌 BD 1710 多糖样品糖基组成的色谱分析结果见图 1，该多糖在 10.450min 有单一吸收峰，且该吸收峰的保留时间与葡萄糖标品保留时间一致。可见，肠膜明串珠菌所产多糖是由葡萄糖单一糖基组成的，即为葡聚糖。

## 实施例 2

(1) 将发酵菌种(种子液) Z2 以 0.5% (v/v) 的接种量接入上述方法制备的发酵培养基中，所述的发酵培养基 S2，其中蔗糖与番茄汁水溶液的质量体积比为 4g:20mL，所述的番茄汁水溶液的浓度为 40%，pH 为 6.0，34℃、发酵罐通气培养 54h，发酵结束后取发酵液，经测定，该发酵液中葡聚糖含量为 1.05% (w/v)。

(2) 将白砂糖、柠檬酸、乳酸完全溶解于 50℃的水中，即得勾兑液。将上述发酵液与勾兑液以 1: 1 (v/v) 充分混合均匀后在 30MPa 压力下进行均质，并于 100℃灭菌 20 min，灌装，得本实施例的乳酸菌饮料产品。

经检测，本实施例生产的富含葡聚糖的乳酸菌饮料中葡聚糖含量 0.53%，甜度为含有 5%的蔗糖甜度，酸度 70°T，发酵液含量占饮料总量的体积百分比为 50%。

## 实施例 3

(1) 将发酵菌种(种子液) Z3 以 1.0% (v/v) 的接种量接入上述方法制备的发酵培养基中, 所述的发酵培养基 S3, 其中蔗糖与番茄汁水溶液的质量体积比为 1g:10mL, 所述的番茄汁水溶液的浓度为 80%, pH 为 7.5, 31℃、180rpm 摇床培养 30h, 发酵结束后取发酵液, 经测定, 该发酵液中葡聚糖含量为 1.68% (w/v)。

(2) 将白砂糖、柠檬酸、醋酸完全溶解于 50℃ 的水中, 即得勾兑液。将上述发酵液与勾兑液以 1: 2 (v/v) 充分混合均匀后在 20MPa 压力下进行均质, 并于 110℃ 灭菌 15 min, 灌装, 得本实施例的乳酸菌饮料产品。

经检测, 本实施例生产的富含葡聚糖的乳酸菌饮料中葡聚糖含量 0.56%, 甜度为含有 6.8% 的蔗糖甜度, 酸度 73<sup>o</sup>T, 发酵液含量占饮料总量的体积百分比为 33.3%。

#### 实施例 4

(1) 将发酵菌种(种子液) Z4 以 4.0% (v/v) 的接种量接入上述方法制备的发酵培养基中, 所述的发酵培养基 S4, 其中蔗糖与番茄汁水溶液的质量体积比为 1g:20mL, 所述的番茄汁水溶液的浓度为 60%, pH 为 8.0, 25℃、发酵罐通气培养 12h, 发酵结束后取发酵液, 经测定, 该发酵液中葡聚糖含量为 0.81% (w/v)。

(2) 将白砂糖、柠檬酸、酒石酸完全溶解于 50℃ 的水中, 即得勾兑液。将上述发酵液与勾兑液以 1: 0.5 (v/v) 充分混合均匀后在 25MPa 压力下进行均质, 并于 125℃ 灭菌 5 min, 灌装, 得本实施例的乳酸菌饮料产品。

经检测, 本实施例生产的富含葡聚糖的乳酸菌饮料中葡聚糖含量 0.54%, 甜度为含有 8.5% 的蔗糖甜度, 酸度 77<sup>o</sup>T, 发酵液含量占饮料总量的体积百分比为 66.6%。

#### 效果实施例 1 产品口味与喜好程度测试

以实施例 1~4 的产品为实验对象, 进行产品的口味测试。测试人数 50 人。品尝方式: 采用不记名打分的方式进行品尝; 分别对实施例 1~4 的产

品的色泽、酸甜比、风味、口感、营养项进行单独打分，每一项满分是 20 分，计算平均分及其总分，统计结果记录于表 1。

同时，根据对产品的整体喜好程度给出的意见，统计对每个单品的喜好人数，统计结果记录于表 2。

**表 1 产品口味测试结果数据统计表**

指标	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4
色泽	19	17	18	16
酸甜比	19	18	18	19
风味	19	20	19	20
口感	20	20	20	20
营养	19	20	19	20
总分	96	95	94	95

**表 2 产品喜好程度测试结果数据统计表**

喜好程度	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4
喜欢	45	43	40	42
良好	4	4	5	4
一般	1	3	5	4
不喜欢	—	—	—	—

从产品口味测试和喜好程度统计结果可以看出，总体而言，本发明的葡聚糖饮料在产品风味、口感、营养方面可被大部分消费者所接受。

### **效果实施例 2 产品体系稳定性实验**

以实施例 1~4 的产品为观察对象，在常温条件下放置，观察不同放置时间内产品的体系稳定性，观察结果见表 3。

**表 3 实施例产品体系稳定性统计结果**

放置时间	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4
1 天	状态良好	状态良好	状态良好	状态良好
15 天	状态良好	状态良好	状态良好	状态良好
30 天	状态良好	状态良好	状态良好	状态良好
45 天	状态良好	状态良好	状态良好	状态良好
60 天	上层有 0.1mm	状态良好	状态良好	状态良好

	水析层, 下层无沉淀析出			
75 天	上层有 0.2mm 水析层, 下层无沉淀析出	上层有 0.1mm 水析层, 下层无沉淀析出	状态良好	上层有 0.1mm 水析层, 下层无沉淀析出
90 天	上层有 0.3mm 水析层, 下层无沉淀析出	上层有 0.2mm 水析层, 下层无沉淀析出	上层有 0.1mm 水析层, 下层无沉淀析出	上层有 0.1mm 水析层, 下层无沉淀析出

由上表结果可以看出, 本发明的葡聚糖饮料在常温保存 90 天期间内, 体系稳定性优良, 没有不可接受的分层与蛋白沉淀现象。

虽然以上描述了本发明的具体实施方式, 但是本领域的技术人员应当理解, 这些仅是举例说明, 在不背离本发明的原理和实质的前提下, 可以对这些实施方式做出多种变更或修改。因此, 本发明的保护范围由所附权利要求书限定。

## 权利要求

1、一种葡聚糖饮料的制备方法，其特征在于，其包括如下步骤：

(1) 将肠膜明串珠菌 (*Leuconostocmesenteroides*) 发酵菌种接种于发酵培养基中，好氧培养，得发酵液；

(2) 将发酵液与含有甜味料和酸味剂的勾兑液混合均匀，均质、灭菌即可；

其中，所述的发酵培养基包括蔗糖和番茄汁水溶液；所述的番茄汁水溶液中番茄汁的体积百分比浓度为 40%~100%；所述的发酵培养基的 pH 用碱调 pH 为 6.0~8.0；所述发酵液的含量占所述的葡聚糖饮料总量的体积百分比为 15.5%~66.6%。

2、如权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述的蔗糖与所述的番茄汁水溶液的质量体积比为 1g:20mL~1g:5mL。

3、如权利要求 2 所述的制备方法，其特征在于，所述的蔗糖与所述的番茄汁水溶液的质量体积比为 1g:10mL~1g:5mL。

4、如权利要求 3 所述的制备方法，其特征在于，所述的蔗糖与所述的番茄汁水溶液的质量体积比为 3g:20mL。

5、如权利要求 1~4 中至少一项所述的制备方法，其特征在于，所述的番茄汁水溶液中番茄汁的体积百分比浓度为 100%。

6、如权利要求 1~5 中至少一项所述的制备方法，其特征在于，所述的发酵培养基的 pH 用碱调至 7.0。

7、如权利要求 6 所述的制备方法，其特征在于，所述的碱为  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$  和  $\text{NaOH}$  中的一种或多种。

8、如权利要求 1~7 中至少一项所述的制备方法，其特征在于，所述的番茄汁水溶液中的番茄汁采用下述方法制得：将成熟番茄洗净、去皮后，进行机械破碎，分离，取上清液，即可；其中，所述的分离为过滤、抽滤和离心中的一种或多种；所述的过滤的介质为纱布或无纺布；所述的离心为

2000g~3000g, 10min~20min 离心。

9、如权利要求 1~8 中至少一项所述的制备方法,其特征在于,所述的发酵培养基由下述方法制得:将所述的蔗糖与所述的番茄汁水溶液均匀混合溶解后,在 95~125℃下灭菌 5min~30 min 即可。

10、如权利要求 9 所述的制备方法,其特征在于,所述的灭菌的时间为 20min~30min。

11、如权利要求 1~10 中至少一项所述的制备方法,其特征在于,步骤(1)中,所述的发酵菌种为肠膜明串珠菌(*Leuconostocmesenteroides*)LM 57、肠膜明串珠菌(*Leuconostocmesenteroides*)LM 79、肠膜明串珠菌(*Leuconostocmesenteroides*)LD 106 和保藏号为 CGMCC NO.6432 的肠膜明串珠菌(*Leuconostocmesenteroides*)BD 1710 中的一种或多种。

12、如权利要求 1~11 中至少一项所述的制备方法,其特征在于,步骤(1)中,在所述的接种时,所述的发酵菌种以种子液的形式接种,其中活菌数为  $1.0 \times 10^9 \sim 3.0 \times 10^9$  CFU/mL。

13、如权利要求 1~12 中至少一项所述的制备方法,其特征在于,步骤(1)中,所述的发酵菌种的接种量为 0.5%~4.0%,所述的百分比为种子液占发酵培养基的体积百分比;

步骤(1)中,所述的好氧培养的温度为 25℃~34℃;所述的好氧培养的时间为 12h~54h;所述的好氧培养的方式为摇床培养或发酵罐通气培养。

14、如权利要求 13 所述的制备方法,其特征在于,步骤(1)中,所述的发酵菌种的接种量为 2.0%~4.0%,所述的百分比为种子液占发酵培养基的体积百分比;

步骤(1)中,所述的好氧培养的温度为 25℃~31℃;所述的好氧培养的时间为 30h~54h。

15、如权利要求 14 所述的制备方法,其特征在于,步骤(1)中所述的好氧培养的温度为 28℃;所述的好氧培养的时间为 48h。

16、如权利要求 1~15 中至少一项所述的制备方法，其特征在于，步骤（2）中，所述的甜味料为白砂糖、糖浆和甜味剂中的一种或多种；其中，所述的甜味剂为阿斯巴甜、甜蜜素和安赛密中的一种或多种；所述的甜味剂的用量为使所述的葡聚糖饮料的甜度为折合成蔗糖甜度 5%~10%；所述的酸味剂为柠檬酸、苹果酸、酒石酸、乳酸和醋酸中的一种或多种；所述的酸味剂的用量为使所述的葡聚糖饮料的滴定酸度  $70^{\circ}\text{T} \sim 80^{\circ}\text{T}$ ；

步骤（2）中，所述的均质为 15~30MPa 压力下均质；所述的灭菌的条件为温度  $95^{\circ}\text{C} \sim 125^{\circ}\text{C}$ ；时间为 5min~30min。

17、一种如权利要求 1~16 中至少一项所述的葡聚糖饮料的制备方法制得的葡聚糖饮料。

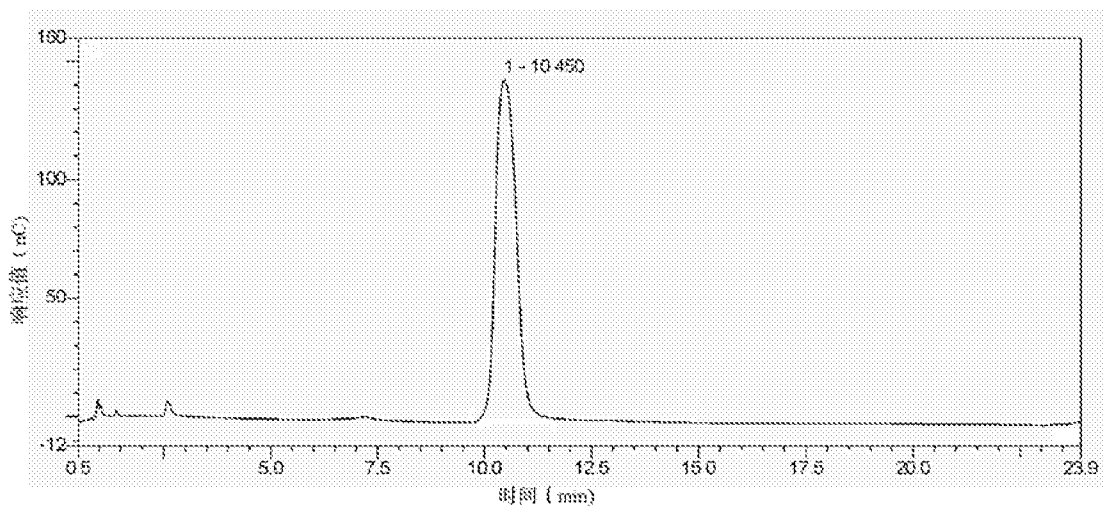


图 1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN2014/084347

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23L 2/38 (2006.01) i; A23L 1/09 (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)

A23L

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)

CNABS, CPRSABS, CNTXT, DWPI, SIPOABS, CNKI, ENGINEERING VILLAGE, leuconostoc mesenteroid, tomato, juice, glucan, dextran, beverage, ferment

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102100252 A (GUANGMING DAIRY IND CO LTD) 22 June 2011 (22.06.2011) claims 1-14	1-17
X	CN 103190665 A (CHINA NAT ACAD FOOD & FERMENTATION IND) 10 July 2013 (10.07.2013) , claims 1-7; embodiment 1	1-17
X	Talita Lopes Honorato et al. "Fermentation of cashew apple juice to produce high added value products" World J Microbiol Biotechnol, vol.23, 07 April 2007 (07.04.2007), pages 1409-1415	1-17
PX	CN 103478839 A (GUANGMING DAIRY IND CO LTD) 01 January 2014 (01.01.2014) claims 1-10	1-17
PX	CN 103468611 A (GUANGMING DAIRY IND CO LTD) 25 December 2013 (25.12.2013) claims 1-8	1-17

Further documents are listed in the continuation of Box C.

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>"&amp;"document member of the same patent family</p>
---	--

Date of the actual completion of the international search  
23 October 2014

Date of mailing of the international search report  
04 November 2014

Name and mailing address of the ISA  
State Intellectual Property Office of the P. R. China  
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao  
Haidian District, Beijing 100088, China  
Facsimile No. (86-10) 62019451

Authorized officer  
  
LIU, Yang  
Telephone No. (86-10) 62089985

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**International application No.  
PCT/CN2014/084347

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 1161175 A (FUXIN CITY NATURAL FOOD & BEVERAGE FACTO) 08 October 1997 (08.10.1997) the whole document	1-17
A	CN 103013891 A (GUANGMING DAIRY IND CO LTD) 03 April 2013 (03.04.2013) the whole document	1-17

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN2014/084347

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102100252 A	22 June 2011	None	
CN 103190665 A	10 July 2013	CN 103190665 B	02 July 2014
CN 103478839 A	01 January 2014	None	
CN 103468611 A	25 December 2013	None	
CN 1161175 A	08 October 1997	CN 1079213 C	20 February 2002
CN 103013891 A	03 April 2013	CN 103013891 B	09 July 2014

A. 主题的分类 A23L 2/38(2006.01)i; A23L 1/09(2006.01)i 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		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) A23L 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
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)) CNABS, CPRSABS, CNTXT, DWPI, SIPOABS, CNKI, ENGINEERING VILLAGE, 肠膜明串珠菌, 番茄, 西红柿, 果汁, 果蔬汁, 汁, 葡聚糖, 聚葡萄糖, 右旋糖酐, 右旋糖苷, 饮料, 发酵, leuconostoc mesenteroid, tomato, juice, glucan, dextran, beverage, ferment		
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
X	CN 102100252 A (光明乳业股份有限公司) 2011年 6月 22日 (2011 - 06 - 22) 权利要求1-14	1-17
X	CN 103190665 A (中国食品发酵工业研究院) 2013年 7月 10日 (2013 - 07 - 10) 权利要求1-7, 实施例1	1-17
X	Talita Lopes Honorato et al. "Fermentation of cashew apple juice to produce high added value products" World J Microbiol Biotechnol, 第23卷, 2007年 4月 07日 (2007 - 04 - 07), 1409-1415	1-17
PX	CN 103478839 A (光明乳业股份有限公司) 2014年 1月 01日 (2014 - 01 - 01) 权利要求1-10	1-17
PX	CN 103468611 A (光明乳业股份有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 权利要求1-8	1-17
A	CN 1161175 A (阜新市天然食品饮料厂) 1997年 10月 08日 (1997 - 10 - 08) 全文	1-17
<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。		
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "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) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "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 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "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 "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 "&" 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2014年 10月 23日		国际检索报告邮寄日期 2014年 11月 04日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 中国 传真号 (86-10)62019451		受权官员 刘洋 电话号码 (86-10)62089985

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 103013891 A (光明乳业股份有限公司) 2013年 4月 03日 (2013 - 04 - 03) 全文	1-17

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2014/084347

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	102100252	A	2011年 6月 22日	无	
CN	103190665	A	2013年 7月 10日	CN 103190665	B 2014年 7月 02日
CN	103478839	A	2014年 1月 01日	无	
CN	103468611	A	2013年 12月 25日	无	
CN	1161175	A	1997年 10月 08日	CN 1079213	C 2002年 2月 20日
CN	103013891	A	2013年 4月 03日	CN 103013891	B 2014年 7月 09日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)