



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113881595 B

(45) 授权公告日 2023. 08. 25

(21) 申请号 202111178027.6

C12R 1/225 (2006.01)

(22) 申请日 2021.10.09

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 113881595 A

US 2020325439 A1, 2020.10.15

CN 111264870 A, 2020.06.12

CN 106434438 A, 2017.02.22

(43) 申请公布日 2022.01.04

CN 110037157 A, 2019.07.23

KR 102263454 B1, 2021.06.10

(73) 专利权人 湖北工业大学

地址 430068 湖北省武汉市洪山区南李路
28号

CN 1560231 A, 2005.01.05

CN 103194512 A, 2013.07.10

(72) 发明人 赵萌 郭前婉

US 4863856 A, 1989.09.05

WO 2021185728 A1, 2021.09.23

(74) 专利代理机构 济南泉城专利商标事务所

37218

专利代理师 张冉冉

高育哲; 张一凡; 徐红华; 董世荣. 胰蛋白酶
限制性修饰乳清浓缩蛋白纤维聚合物表面性质
的研究. 现代食品科技. 2017, (第01期), 99-105.

审查员 范英程

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

C12N 1/04 (2006.01)

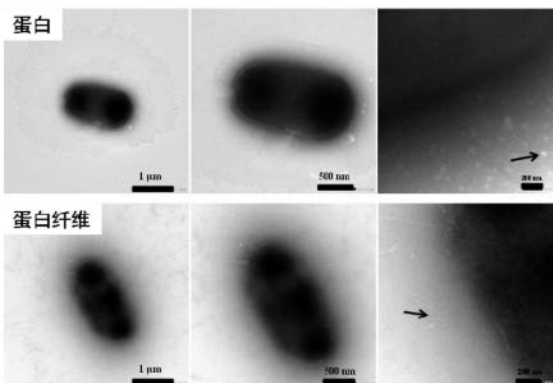
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54) 发明名称

一种包含蛋白纤维的乳酸菌发酵剂及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种包含蛋白纤维的乳酸菌发酵剂及其制备方法, 所述乳酸菌发酵剂中包括: 乳酸菌和蛋白纤维。本发明基于蛋白纤维的抗氧化性和疏水性以及蛋白纤维和乳酸菌细胞的相互吸引作用, 通过简单的物理共混干燥后即可得到粉末状乳酸菌发酵剂, 并通过对蛋白纤维的浓度、pH值等进行优选, 显著提高了乳酸菌的储藏存活率, 提高乳酸菌发酵剂的货架期; 相比于普通蛋白制备的乳酸菌发酵剂, 蛋白纤维制备的乳酸菌发酵剂具有更好的储藏稳定性。同时本发明所述的包含蛋白纤维的乳酸菌发酵剂原料来源广泛、价格低廉; 操作简便, 制作时间短, 易于工业化生产, 具有极高的生产应用价值。



1. 一种乳酸菌发酵剂在提高乳酸菌存活率中的应用,其特征在于,所述乳酸菌发酵剂中包括:乳酸菌和蛋白纤维;所述蛋白纤维选自:乳清分离蛋白纤维或大豆蛋白纤维;所述蛋白纤维的质量浓度为3%~5%;

所述乳酸菌发酵剂是通过如下制备方法得到的,所述乳酸菌发酵剂的制备方法包括如下步骤:

步骤1、将乳酸菌菌种进行活化和扩大培养,得到菌悬液;

步骤2、制备蛋白纤维溶液;

步骤3、向蛋白纤维溶液中加入冷冻保护剂和菌悬液,混匀得到湿态菌剂,预冷后进行真空冷冻干燥,得到所述乳酸菌发酵剂;

所述蛋白纤维的制备方法为:将蛋白溶液的pH值调至1-3,于75~90℃条件下水浴加热5-16小时,加热过程中持续搅拌;热处理后立即将蛋白溶液浸没在冰水混合物中静置,制备得到所述蛋白纤维溶液。

2. 根据权利要求1所述的乳酸菌发酵剂在提高乳酸菌存活率中的应用,其特征在于,将蛋白溶液浸没在冰水混合物中静置后,调节pH值至5~7,制备得到所述蛋白纤维溶液。

3. 根据权利要求1所述的乳酸菌发酵剂在提高乳酸菌存活率中的应用,其特征在于,所述乳酸菌发酵剂中还包括质量浓度为1%~4%的冷冻保护剂。

4. 根据权利要求3所述的乳酸菌发酵剂在提高乳酸菌存活率中的应用,其特征在于,所述冷冻保护剂选自:蔗糖、菊粉、乳糖中的一种或多种。

5. 根据权利要求1所述的乳酸菌发酵剂在提高乳酸菌存活率中的应用,其特征在于,步骤1中所述乳酸菌的菌悬液浓度为 $10^8 \sim 10^{12}$ CFU/mL。

6. 根据权利要求1所述的乳酸菌发酵剂在提高乳酸菌存活率中的应用,其特征在于,步骤3中,将湿态菌剂于-20℃~-80℃条件下预冷12-24h,接着在真空冷冻干燥机中冷冻干燥24h,得到所述乳酸菌发酵剂。

一种包含蛋白纤维的乳酸菌发酵剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于微生物发酵剂技术领域,具体涉及一种包含蛋白纤维的乳酸菌发酵剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 微生物发酵剂作为新型生物制品在食品中的应用已经不再陌生,近年来,在乳制品、肉制品、鱼制品等中应用越来越普遍。然而微生物发酵剂在储藏中的活力受氧气、温度和水分等因素影响,高水分活度、储存温度及氧气的存在,会加速微生物死亡,缩短产品货架期,使得微生物发酵剂的多样化受到限制。为了方便客户和降低制造商的成本,实现干态微生物发酵剂的长时储藏具有重大意义。延长发酵剂货架期的方法主要有:筛选抗性菌株、微囊化法、抗氧化剂法、小分子糖法、包装法等。其中最有利技术是将微生物包裹在保护性基质中,保护性基质通过为微生物构建一个微环境,达到降低环境因素胁迫、提高微生物存活的目的。目前微生物的胁迫耐受性仍有待提高,微生物发酵剂还需要被不断优化和开发,如开发新的方法、采用新的壁材包裹等。

[0003] 食源性蛋白质营养丰富、无毒、易消化,然而蛋白分子结构对温度、酸碱度、离子强度等环境条件敏感,限制了其在各种食品体系和加工技术中的广泛应用。在酸性高温条件下,球形蛋白质分子经过去折叠和水解,多肽片段发生横向 β -折叠堆积可形成原型纤维,原型纤维再进一步相互缠绕可形成多股扭曲带状纤维。球形蛋白尺寸一般都是几个纳米,而蛋白纤维的长度可达几百个纳米。蛋白纤维具有高硬度、极端纵横比和集体有序等特征,可以促进与各种营养素的不同相互作用,且表面上广泛存在的官能团,具有良好的抗氧化性、疏水性、乳化性、起泡性、胶凝性等特性,蛋白纤维的形成进一步扩展、拓宽和丰富了蛋白质功能,然而目前还未见将蛋白纤维应用于微生物发酵剂,尤其是乳酸菌发酵剂中的相关报道。

发明内容

[0004] 本发明针对现有技术的空白,提供了一种包含蛋白纤维的乳酸菌发酵剂及其制备方法,本发明基于新型生物材料蛋白纤维的抗氧化性和疏水性,利用蛋白纤维与乳酸菌细胞间的引力作用,将乳酸菌细胞包裹在蛋白纤维的基质中以改善乳酸菌的存活,相比于普通蛋白可显著提高其存活时间,进而提高了常规乳酸菌发酵剂的货架期,具有较高的生产应用价值。

[0005] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案是:

[0006] 本发明提供了一种乳酸菌发酵剂,所述乳酸菌发酵剂中包括:乳酸菌和蛋白纤维。

[0007] 进一步地,所述蛋白纤维选自:乳清分离蛋白纤维和/或大豆蛋白纤维。

[0008] 进一步地,所述蛋白纤维的质量浓度为3%~5%。

[0009] 进一步地,所述蛋白纤维的制备方法为:将蛋白溶液的pH值调至1-3,于75~90℃条件下水浴加热5-16小时,加热过程中持续搅拌;热处理后立即将蛋白溶液浸没在冰水混

合物中静置,制备得到所述蛋白纤维溶液。

[0010] 进一步地,将蛋白溶液浸没在冰水混合物中静置后,调节pH值至5~7,制备得到所述蛋白纤维溶液。

[0011] 进一步地,所述乳酸菌发酵剂中还包括质量浓度为1%~4%的冷冻保护剂。

[0012] 进一步地,所述冷冻保护剂选自:蔗糖、菊粉、乳糖中的一种或多种。

[0013] 本发明还提供了上述乳酸菌发酵剂的制备方法,包括:

[0014] 步骤1、将乳酸菌菌种进行活化和扩大培养,得到菌悬液;

[0015] 步骤2、制备蛋白纤维溶液;

[0016] 步骤3、向蛋白纤维溶液中加入冷冻保护剂和菌悬液,混匀得到湿态菌剂,预冷后进行真空冷冻干燥,得到所述乳酸菌发酵剂。

[0017] 进一步地,步骤1中所述乳酸菌的菌悬液浓度为 $10^8 \sim 10^{12}$ CFU/mL。

[0018] 进一步地,步骤3中,将湿态菌剂于 $-20^\circ\text{C} \sim -80^\circ\text{C}$ 条件下预冷12-24h,接着在真空冷冻干燥机中冷冻干燥24h,得到所述乳酸菌发酵剂。

[0019] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:本发明提供了一种包含蛋白纤维的乳酸菌发酵剂及其制备方法,基于蛋白纤维的抗氧化性和疏水性,以及蛋白纤维和乳酸菌细胞的相互吸引作用,通过简单的物理共混干燥后即可得到粉末状乳酸菌发酵剂,并通过对蛋白纤维的浓度、pH值等进行优选,从而显著提高了乳酸菌储藏存活率,提高乳酸菌发酵剂的货架期;相比于普通蛋白制备的乳酸菌发酵剂,蛋白纤维制备的乳酸菌发酵剂具有更好的储藏稳定性。同时本发明所述的包含蛋白纤维的乳酸菌发酵剂原料来源广泛、价格低廉;操作简便,制作时间短,易于工业化生产,具有极高的生产应用价值。

附图说明

[0020] 图1为本发明实施例1和对比例13的透射电镜表征结果图;

[0021] 图2为本发明实施例1和对比例13中,乳清分离蛋白和乳清分离蛋白纤维与菌体相互作用的石英晶体微天平QCMD表征结果图。

具体实施方式

[0022] 下面将结合本发明中的实施例,对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动条件下所获得的所有其它实施例,都属于本发明保护的范围。

[0023] 实施例1

[0024] 本实施例提供了一种利用乳清分离蛋白纤维制备的乳酸菌发酵剂及其制备方法,具体如下:

[0025] 步骤1、将冷冻保藏的*Lactobacillus reuteri* TMW 1.656(来源于阿尔伯塔大学食品微生物学实验室)接种于mMRS液体培养基中活化,37℃静置培养24小时;再以4%(v/v)的接种量转接到新的100mL的mMRS液体培养基中,37℃静置培养24小时后;在4℃、10000rpm条件下冷冻离心15分钟,收集菌体,用蛋白胨溶液洗涤两次后,重悬于5mL蛋白胨水溶液中,制成浓度为 10^9 CFU/mL的菌悬液,备用;

[0026] 步骤2、称取一定质量的乳清分离蛋白粉末溶解于无菌水中,充分溶解,制备浓度为3% (w/w)的乳清分离蛋白溶液;

[0027] 步骤3、将步骤2中的乳清分离蛋白的pH调为2,在80℃条件下水浴加热10小时,加热过程中持续磁力搅拌,热处理之后,立即将溶液浸没在冰水混合物中,静置20分钟,制备得到浓度为3% (w/w)的乳清分离蛋白纤维;

[0028] 步骤4、将步骤3制备的乳清分离蛋白纤维溶液调pH至6.5,加入冷冻保护剂,即2% (w/w)的蔗糖,完全溶解后再加入2% (w/w)的步骤1中制得的菌悬液;混匀后放入-80℃冰箱冷冻;然后放入真空冷冻干燥机中冷冻干燥24h,得到所述乳酸菌发酵剂。

[0029] 其中蛋白胨溶液为:1g/L蛋白胨,8.5g/LNaCl,调pH至6.8;

[0030] mMRS液体培养基包括:麦芽糖10g/L,蛋白胨10g/L,麦芽提取物10g/L,果糖5g/L,葡萄糖5g/L,酵母提取物5g/L,牛肉提取物5g/L,磷酸二氢钾2.6g/L,磷酸氢二钾4g/L,氯化铵3g/L,吐温80 1g/L,L-半胱氨酸-HCl 0.5g/L,七合水硫酸镁0.1g/L和四合水硫酸锰0.05g/L,pH 6.8~7.0。

[0031] 实施例2

[0032] 本实施例与实施例1的不同之处在于:步骤3中制备得到浓度为4% (w/w)的乳清分离蛋白纤维。

[0033] 实施例3

[0034] 本实施例与实施例1的不同之处在于:步骤3中制备得到浓度为5% (w/w)的乳清分离蛋白纤维。

[0035] 实施例4

[0036] 本实施例与实施例1的不同之处在于:步骤4中加入1% (w/w)的蔗糖作为冷冻保护剂。

[0037] 实施例5

[0038] 本实施例与实施例1的不同之处在于:步骤4中加入4% (w/w)的蔗糖作为冷冻保护剂。

[0039] 实施例6

[0040] 本实施例与实施例1的不同之处在于:步骤4中将乳清分离蛋白纤维溶液调pH至5.0。

[0041] 实施例7

[0042] 本实施例与实施例1的不同之处在于:步骤4中将乳清分离蛋白纤维溶液调pH至6.0。

[0043] 实施例8

[0044] 本实施例与实施例1的不同之处在于:步骤4中将乳清分离蛋白纤维溶液调pH至7.0。

[0045] 实施例9

[0046] 本实施例与实施例1的不同之处在于:步骤2中将乳清分离蛋白粉末替换为大豆蛋白粉末,即步骤3中制备得到是大豆蛋白纤维。

[0047] 实施例10

[0048] 本实施例与实施例9的不同之处在于:步骤3中制备得到浓度为4% (w/w)的大豆蛋

白纤维。

[0049] 实施例11

[0050] 本实施例与实施例9的不同之处在于：步骤3中制备得到浓度为5% (w/w) 的大豆蛋白纤维。

[0051] 实施例12

[0052] 本实施例与实施例9的不同之处在于：步骤4中加入1% (w/w) 的蔗糖作为冷冻保护剂。

[0053] 实施例13

[0054] 本实施例与实施例9的不同之处在于：步骤4中加入4% (w/w) 的蔗糖作为冷冻保护剂。

[0055] 实施例14

[0056] 本实施例与实施例9的不同之处在于：步骤4中将大豆蛋白纤维溶液调pH至5.0。

[0057] 实施例15

[0058] 本实施例与实施例9的不同之处在于：步骤4中将大豆蛋白纤维溶液调pH至6.0。

[0059] 实施例16

[0060] 本实施例与实施例9的不同之处在于：步骤4中将大豆蛋白纤维溶液调pH至7.0。

[0061] 对比例1

[0062] 本对比例与实施例1的不同之处在于：步骤3中制备得到浓度为1% (w/w) 的乳清分离蛋白纤维。

[0063] 对比例2

[0064] 本对比例与实施例1的不同之处在于：步骤3中制备得到浓度为10% (w/w) 的乳清分离蛋白纤维。

[0065] 对比例3

[0066] 本对比例与实施例1的不同之处在于：步骤4中加入7% (w/w) 的蔗糖作为冷冻保护剂。

[0067] 对比例4

[0068] 本对比例与实施例1的不同之处在于：步骤4中加入10% (w/w) 的蔗糖作为冷冻保护剂。

[0069] 对比例5

[0070] 本对比例与实施例1的不同之处在于：步骤4中将乳清分离蛋白纤维溶液调pH至4.0。

[0071] 对比例6

[0072] 本对比例与实施例1的不同之处在于：步骤4中将乳清分离蛋白纤维溶液调pH至9.0。

[0073] 对比例7

[0074] 本对比例与实施例9的不同之处在于：步骤3中制备得到浓度为1% (w/w) 的大豆蛋白纤维。

[0075] 对比例8

[0076] 本对比例与实施例9的不同之处在于：步骤3中制备得到浓度为10% (w/w) 的大豆

蛋白纤维。

[0077] 对比例9

[0078] 本对比例与实施例9的不同之处在于：步骤4中加入7% (w/w) 的蔗糖作为冷冻保护剂。

[0079] 对比例10

[0080] 本对比例与实施例9的不同之处在于：步骤4中加入10% (w/w) 的蔗糖作为冷冻保护剂。

[0081] 对比例11

[0082] 本对比例与实施例9的不同之处在于：步骤4中将大豆蛋白纤维溶液调pH至4.0。

[0083] 对比例12

[0084] 本对比例与实施例9的不同之处在于：步骤4中将大豆蛋白纤维溶液调pH至9.0。

[0085] 对比例13

[0086] 本对比例与实施例1的不同之处在于：省略步骤3，即不制备乳清分离蛋白纤维，直接以乳清分离蛋白溶液包埋菌体，用以制备乳酸菌发酵剂。

[0087] 对比例14

[0088] 本对比例与实施例9的不同之处在于：省略步骤3，即不制备大豆蛋白纤维，直接以大豆蛋白溶液包埋菌体，用以制备乳酸菌发酵剂。

[0089] 评价方案

[0090] 1、贮藏30天菌体死亡率

[0091] 取实施例1-16和对比例1-12共28组乳酸菌发酵剂，于相对湿度为33%、温度30℃条件下贮藏30天，测定贮藏前后菌体的对数减少值(\log CFU/g)，测定结果如表1和表2所示，其中表1为含乳清分离蛋白纤维的乳酸菌发酵剂在贮藏30天前后的菌体对数减少值，表2为含大豆蛋白纤维的乳酸菌发酵剂在贮藏30天前后的菌体对数减少值。

[0092] 表1包含乳清分离蛋白纤维的发酵剂贮藏前后菌体对数减少值

	乳清分离蛋白纤维浓度	乳清分离蛋白纤维 pH 值	冷冻保护剂蔗糖浓度	贮藏 30 天对数减少值 (log CFU/g)
实施例 1	3%	6.5	2%	2.13±0.09
实施例 2	4%	6.5	2%	2.28±0.11
实施例 3	5%	6.5	2%	2.20±0.02
对比例 1	1%	6.5	2%	3.56±0.12
对比例 2	10%	6.5	2%	3.53±0.18
实施例 4	3%	6.5	1%	2.30±0.05
实施例 5	3%	6.5	4%	2.23±0.09
对比例 3	3%	6.5	7%	3.34±0.06
对比例 4	3%	6.5	10%	3.94±0.15
实施例 6	3%	5.0	2%	2.35±0.14
实施例 7	3%	6.0	2%	2.25±0.11
实施例 8	3%	7.0	2%	2.30±0.22
对比例 5	3%	4.0	2%	3.58±0.18
对比例 6	3%	9.0	2%	3.95±0.04

[0094] 表2包含大豆蛋白纤维的发酵剂贮藏前后菌体对数减少值

	大豆蛋白纤维浓度	大豆分离蛋白纤维 pH 值	冷冻保护剂蔗糖浓度	贮藏 30 天对数减少值 (log CFU/g)
实施例 9	3%	6.5	2%	2.22±0.05
实施例 10	4%	6.5	2%	2.36±0.14
实施例 11	5%	6.5	2%	2.39±0.12
对比例 7	1%	6.5	2%	3.06±0.18
对比例 8	10%	6.5	2%	3.23±0.26
实施例 12	3%	6.5	1%	2.45±0.09
实施例 13	3%	6.5	4%	2.33±0.07
对比例 9	3%	6.5	7%	3.34±0.16
对比例 10	3%	6.5	10%	3.44±0.08
实施例 14	3%	5.0	2%	2.36±0.14
实施例 15	3%	6.0	2%	2.25±0.15
实施例 16	3%	7.0	2%	2.38±0.12
对比例 11	3%	4.0	2%	3.29±0.14
对比例 12	3%	9.0	2%	3.85±0.09

[0096] 综合表1和表2的测定结果,其中当蛋白纤维浓度为3%~5%时,即实施例1-3和实施例9-11贮藏30天的对数减少值均在2.2logCFU/g左右,均呈现较好的存活率,而当蛋白纤维浓度降低为1%(对比例1和7)时,由于蛋白纤维含量过低,不能将乳酸菌完全包埋,造成了菌体的失活,对数减少值增加;而当蛋白纤维浓度升高至10%时(对比例2和8),蛋白纤维的荷载量不足,并且由于蛋白纤维本身具有一定的增稠性,因此浓度过高会导致其粘度增

大,不利于冷冻干燥和菌体的分散,导致了菌体死亡率增加,因此蛋白纤维浓度3%~5%是优选的浓度。

[0097] 小分子糖是冷冻保存和冻干中使用的一种经典的保护剂,主要通过形成玻璃态,使细胞固定化,防止细胞内冰晶的形成,维持细胞组分构象等作用达到保护菌体的效果。当冷冻保护剂蔗糖的浓度为1~4% (实施例4-5和12-13) 时,贮藏30天的对数减少值在2.31logCFU/g左右,均能呈现较好的存活率,而当蔗糖浓度进一步升高至7%或10%时 (对比例3-4和9-10),反而会影晌菌体生长,导致菌体死亡率显著增加,因此保护剂蔗糖浓度1~4%是优选的浓度。

[0098] 同样的,蛋白纤维的pH值对于菌体的保护效果也是有影响的,其中当蛋白纤维的pH为5~7 (实施例6-8和14-16) 时,贮藏30天的对数减少值在2.31logCFU/g左右,而当pH降低至4 (对比例5、11) 或升高至9 (对比例6、12) 时,均会影响细胞质和细胞内的pH,从而对菌株产生影响,增加了菌体死亡率。因此蛋白纤维的pH值5~7是优选。

[0099] 2、储藏60天菌体存活率测定

[0100] 将实施例1,实施例9和对比例13以及对比例14制备得到的乳酸菌发酵剂于相对湿度为33%、30℃的密封玻璃容器(900mL)中,由100mL氯化镁饱和盐溶液控制相对湿度进行储藏。每隔一段时间取出样品,平板计数样品中存活细胞。其中发酵剂活菌计数方法具体为:将0.01g冷干菌粉加入到0.99g蛋白胨溶液中,37℃温育10min,用旋涡振荡器分散30秒至完全溶解。使用生理盐水(9g/L NaCl)通过10倍连续稀释溶液,将稀释液涂布于MRS固体培养基上,并在37℃厌氧培养48小时后计数菌落数。

[0101] 菌体失活情况表示为相对存活率分数的对数值(ΔN):

$$[0102] \quad \Delta N = \log \frac{N_0}{N_t}$$

[0103] 其中 N_0 是微囊化前活细胞数, N_t 为贮藏t天时菌粉中的活细胞数。

[0104] 统计蛋白和蛋白纤维乳酸菌制剂的60天储藏失活情况,结果如表3所示。

[0105] 表3蛋白和蛋白纤维乳酸菌制剂的60天储藏对数减少值

储藏天数	对数减少值			
	乳清分离蛋白	乳清分离蛋白纤维	大豆蛋白	大豆蛋白纤维
0	0.63±0.09	0.54±0.05	0.67±0.1	0.58±0.11
2	1.76±0.06	0.70±0.16	1.88±0.12	0.77±0.23
4	2.60±0.22	0.72±0.22	2.79±0.10	0.92±0.25
8	3.41±0.06	1.38±0.10	3.51±0.06	1.46±0.33
12	3.57±0.16	1.43±0.02	3.68±0.06	1.77±0.11
16	3.64±0.06	1.47±0.19	3.87±0.21	1.97±0.09
20		1.94±0.09		2.01±0.10
30		2.13±0.09		2.22±0.05
36		2.26±0.04		2.45±0.15
44		2.36±0.02		2.66±0.09
52		2.58±0.02		2.90±0.10
60		2.67±0.10		3.01±0.10

[0108] 根据表3的结果,其中菌体的失活对数随储藏时间的增加而增加,菌体对数减少值越小,菌体失活率越低,储藏稳定性则越好。上述结果显示,与蛋白基质中的菌体存活率相比,蛋白纤维基质中的乳酸菌失活数显著低于蛋白基质,说明采用蛋白纤维基质极大的改善了菌体存活率,提升了乳酸菌的储藏稳定性。

[0109] 3、透射电镜表征

[0110] 将实施例1和对比例13的乳酸菌剂进行透射电镜表征,结果如图1所示,由图可知,其中黑色圆柱形部分为菌体,箭头标识处分别是乳清分离蛋白和乳清分离蛋白纤维,通过放大倍数的图片可以发现,普通蛋白稀疏的分布在菌体周围,而蛋白纤维是缠绕在菌体周围,给菌体提供一层严实的保护层,这可能是蛋白纤维基质中菌体存活率较高的重要原因。

[0111] 4、QCMD表征

[0112] 将实施例1和对比例13的乳酸菌剂,进行石英晶体微天平(QCM-D)表征。具体为:在低温条件下,先通入乳酸菌菌悬液达到平衡后再通入0.05%蛋白或蛋白纤维,观察蛋白或蛋白纤维与菌体之间相互作用强度的QCMD图。乳清分离蛋白和乳清分离蛋白纤维与菌体存在相互作用的石英晶体微天平(QCM-D)结果如图2所示。

[0113] 其中 t_1 代表通入菌悬液的时间, t_2 代表在菌悬液达到平衡后用水冲洗的时间, t_3 代表通入蛋白溶液或蛋白纤维溶液的时间, t_4 代表在蛋白吸附达到平衡后用水冲洗的时间。图2显示了乳清分离蛋白和乳清分离蛋白纤维吸附到菌体表面上的频率(ΔF)偏移, ΔF 与吸附厚度密切相关, ΔF 越大,吸附越厚,两个物质之间相互作用越强。随着菌体吸附到金芯片表面, ΔF 数值发生变化。由图中虚线和实线箭头的差距可知,乳清分离蛋白纤维吸附到菌体表面的厚度比乳清分离蛋白吸附得更厚。这可能是因为乳清分离蛋白纤维表面存在多种官能团,在制备过程中的高温导致蛋白分子的部分展开,使得蛋白表面的疏水等多种功能基团的暴露增加,进而增加了蛋白纤维分子与菌体的结合因此蛋白纤维与菌体之间存在更强的相互作用,从而起到更好的菌体保护作用。

[0114] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到的变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

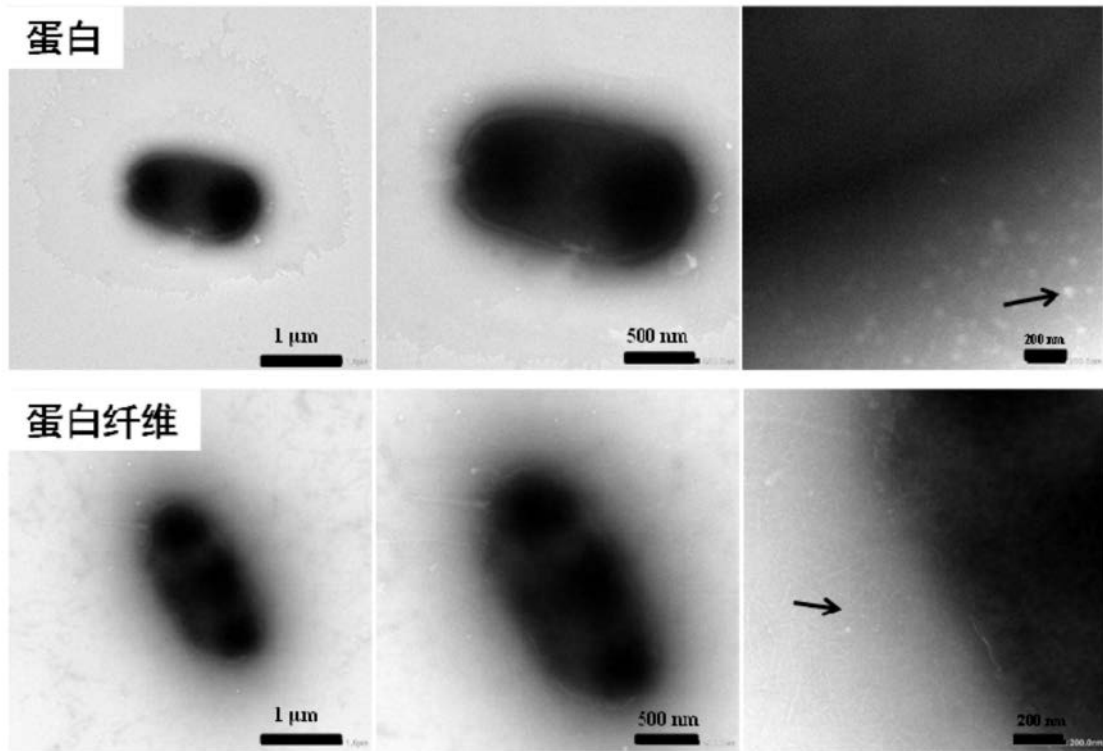


图1

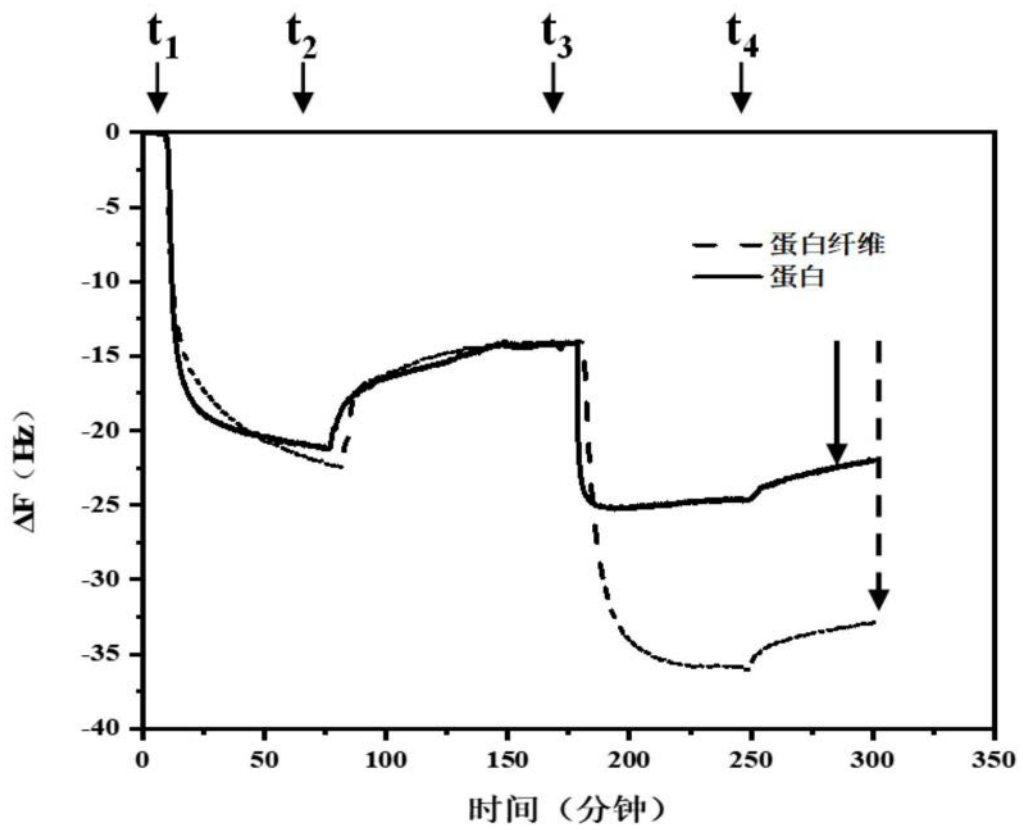


图2