



(21) 申请号 202411071194.4

(22) 申请日 2024.08.06

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 118581018 A

(43) 申请公布日 2024.09.03

(83) 生物保藏信息  
CCTCC NO: M 20241445 2024.07.01

(73) 专利权人 南京农业大学三亚研究院  
地址 572025 海南省三亚市崖州区振州路  
梧桐产业园区9栋

(72) 发明人 芮昕 付雨萌 郭欣冉 李伟  
范霞

(74) 专利代理机构 北京领果世纪知识产权代理  
有限公司 16221  
专利代理师 刘元仁

(51) Int. Cl.  
C12N 1/20 (2006.01)  
A23L 29/238 (2016.01)  
A23L 29/00 (2016.01)  
A23J 3/34 (2006.01)  
C12R 1/25 (2006.01)

(54) 发明名称

一种植物乳植杆菌及其在制备大豆蛋白微凝胶中的应用

(57) 摘要

本发明公开了一种植物乳植杆菌及其在制备大豆蛋白微凝胶中的应用,属于微生物应用技术领域,提供植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)TB-8,于2024年07月01日保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏地址为湖北省武汉市武昌区八一路299号,保藏编号为CCTCC NO:M 20241445。制备大豆蛋白微凝胶:大豆分离蛋白水溶液与胰蛋白酶混合,酶解,得发酵基质与葡萄糖溶液混合,接种植物乳植杆菌TB-8发酵得大豆蛋白微凝胶。本发明植物乳植杆菌TB-8可在大豆蛋白上生长,凝乳效

(56) 对比文件

Xiaoyu Yang et al..Physicochemical, rheological and digestive characteristics of soy protein isolate gel induced by lactic acid bacteria.Journal of Food Engineering.2020,第292卷摘要,第2页右栏第1段至第3页左栏最后一段,第4页表1,第4页左栏第一段,第9页表3,第6页左栏最后一段.

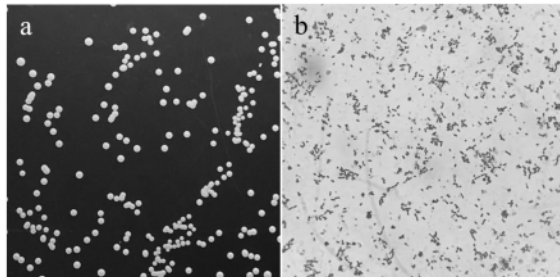
Xiaoyu Yang et al..Physicochemical, rheological and digestive characteristics of soy protein isolate gel induced by lactic acid bacteria.Journal of Food Engineering.2020,第292卷摘要,第2页右栏第1段至第3页左栏最后一段,第4页表1,第4页左栏第一段,第9页表3,第6页左栏最后一段.

侯瑶.大豆浓缩蛋白和分离蛋白限制酶解及功能性变化.中国优秀硕士学位论文全文数据库工程科技I辑.2009,(第2009年第04期),第24页第4段,第25页第4-5段,第44页最后一段至第45页第3段,图3-16.

审查员 冯小叶

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

果好,制备大豆蛋白微凝胶的方法操作简单、条件易把控、成本较低,具有良好的经济和应用价值。



1. 一种利用植物乳植杆菌TB-8制备大豆蛋白微凝胶的方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 大豆分离蛋白与水混合,搅拌,得大豆分离蛋白水溶液;大豆分离蛋白水溶液与胰蛋白酶混合,酶解,然后沸水浴灭酶,得大豆分离蛋白酶解产物;

(2) 步骤(1)所述大豆分离蛋白酶解产物,水浴灭菌,得发酵基质;所述发酵基质与葡萄糖水溶液混合,接种植物乳植杆菌TB-8菌悬液,发酵至pH为4.5,终止发酵,得大豆蛋白微凝胶;

所述植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)为植物乳植杆菌TB-8,植物乳植杆菌TB-8于2024年07月01日保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏地址为湖北省武汉市武昌区八一路299号,保藏编号为CCTCC NO:M 20241445;

步骤(1)中所述大豆分离蛋白水溶液的浓度为0.02g/mL;

步骤(1)中所述大豆分离蛋白水溶液与胰蛋白酶的混合比例为200~300mL:1g;步骤(1)中所述胰蛋白酶的酶活力为250000U/g;步骤(1)中所述酶解的时间为8~12min,所述酶解的pH为7.8~8.2,所述酶解的温度为45~55℃;

步骤(2)中所述植物乳植杆菌TB-8菌悬液中总有效菌数为 $0.5 \times 10^8$ CFU/mL~ $1.5 \times 10^8$ CFU/mL,所述植物乳植杆菌TB-8菌悬液的接种量为总发酵体积的3%。

2. 根据权利要求1所述制备大豆蛋白微凝胶的方法,其特征在于,步骤(1)中所述大豆分离蛋白的提取方法,包括以下步骤:

S1. 黄豆粉碎,得黄豆粉;

S2. 步骤S1所述黄豆粉与正己烷混合,密封条件下搅拌,第一离心,取沉淀;

S3. 取S2所述沉淀重复步骤S2三次,得脱脂大豆粉;所述脱脂大豆粉与水混合,第一水浴搅拌,第二离心,取上清液;

S4. 取S3所述上清液,第二水浴搅拌,第三离心,取沉淀物,冷冻干燥,得大豆分离蛋白。

3. 根据权利要求1所述制备大豆蛋白微凝胶的方法,其特征在于,步骤(1)中所述搅拌的转速为1000~2000r/min,所述搅拌的温度为20~30℃,所述搅拌的时间为1.5~2.5h。

4. 根据权利要求1所述制备大豆蛋白微凝胶的方法,其特征在于,步骤(1)中所述沸水浴灭酶的时间为5~15min。

5. 根据权利要求1所述制备大豆蛋白微凝胶的方法,其特征在于,步骤(2)中所述水浴灭菌的温度为80~90℃,所述水浴灭菌的时间为10~20min。

6. 根据权利要求1所述制备大豆蛋白微凝胶的方法,其特征在于,步骤(2)中所述发酵基质与葡萄糖水溶液混合的比例为100mL:2.0~3.6g;步骤(2)中所述葡萄糖水溶液的浓度为0.5mg/mL;步骤(2)中所述发酵的温度为35~39℃。

7. 如权利要求1~6任一项所述制备大豆蛋白微凝胶的方法制备所得大豆蛋白微凝胶。

## 一种植物乳植杆菌及其在制备大豆蛋白微凝胶中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于微生物应用技术领域,尤其涉及一种植物乳植杆菌及其在制备大豆蛋白微凝胶中的应用。

### 背景技术

[0002] 植物蛋白近年来因其多样化的可持续来源、低经济成本和对人类健康有益而受到了广泛关注。其中,大豆蛋白作为重要的植物源蛋白,营养价值高,并具有较强的功能特性和健康作用。目前,利用乳酸菌发酵形成大豆蛋白凝胶被广泛应用于食品生产加工中以提升大豆制品品质,改善其营养价值。然而,乳酸菌发酵大豆蛋白凝胶表现出凝胶特性较差、溶解度较低、微观结构粗糙等质地缺陷。因此,亟待引入与乳酸菌发酵相结合的附加加工方法,以提升大豆蛋白品质。有研究表明,酶水解可有效降低大豆蛋白颗粒直径,改善凝胶特性,提高蛋白质的功能,这可能成为乳酸菌发酵的潜在补充方法。但是,目前关于酶解协同乳酸菌发酵对大豆蛋白凝胶及功能特性的影响研究尚属空白。

[0003] 此外,大豆蛋白作为一种天然聚合物,具有较理想的水溶性,是常用作制备微凝胶的可生物降解聚合物。形成的大豆蛋白质微凝胶常常具有增强的物理及化学功能,可以响应各种外部刺激,并表现出增强的结构完整性、渗透性、变形性和适应性。然而,国内外对大豆蛋白质微凝胶的研究起步较晚,且研究内容主要集中于通过高速剪切和高压均质,结合多糖、植物油等方式制备复合微凝胶。专利(公开号CN118058357A,公开日2024年5月24日)公开了一种可代替代可可脂在巧克力中应用的油凝胶制备方法。即以大豆分离蛋白为原料,利用转谷氨酰胺酶进行凝胶化,经高压均质破碎获得微凝胶。并通过在微凝胶和油的悬浮液添加二次流体,使其形成具有三维网络油凝胶。但是,目前通过生物聚合物分子缔合形成大豆蛋白微凝胶颗粒的相关专利较少报道。因此,本发明提出一种新型的两步法制备大豆蛋白微凝胶工艺,即利用胰蛋白酶水解的大豆蛋白为原料,经乳酸菌发酵制备功能特性良好的大豆蛋白微凝胶。

### 发明内容

[0004] 为解决上述技术问题,本发明提出了一种植物乳植杆菌及其在制备大豆蛋白微凝胶中的应用,将胰蛋白酶水解大豆分离蛋白的产物为原料,经植物乳植杆菌TB-8的发酵,解决了现有技术中的问题,制备得到的大豆蛋白微凝胶的凝胶粒径减小,软化了大豆蛋白微凝胶的质地,增强了大豆蛋白微凝胶的稳定性。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供了一种植物乳植杆菌,所述植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)为植物乳植杆菌TB-8,植物乳植杆菌TB-8于2024年07月01日保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏地址为湖北省武汉市武昌区八一路299号,保藏编号为CCTCC NO:M 20241445。

[0006] 本发明还提供了所述植物乳植杆菌TB-8在制备大豆蛋白微凝胶中的应用。

[0007] 本发明还提供了一种利用所述植物乳植杆菌TB-8制备大豆蛋白微凝胶的方法,包

括以下步骤:

[0008] (1) 大豆分离蛋白与水混合, 搅拌, 得大豆分离蛋白水溶液; 大豆分离蛋白水溶液与胰蛋白酶混合, 酶解, 然后沸水浴灭酶, 得大豆分离蛋白酶解产物;

[0009] (2) 步骤(1)所述大豆分离蛋白酶解产物, 水浴灭菌, 得发酵基质; 所述发酵基质与葡萄糖水溶液混合, 接种植物乳植杆菌TB-8菌悬液, 发酵至pH为4.5, 终止发酵, 得大豆蛋白微凝胶。

[0010] 优选的, 步骤(1)中所述大豆分离蛋白的提取方法, 包括以下步骤:

[0011] S1. 黄豆粉碎, 得黄豆粉;

[0012] S2. 步骤S1所述黄豆粉与正己烷混合, 密封条件下搅拌, 第一离心, 取沉淀;

[0013] S3. 取S2所述沉淀重复步骤S2三次, 得脱脂大豆粉; 所述脱脂大豆粉与水混合, 第一水浴搅拌, 第二离心, 取上清液;

[0014] S4. 取S3所述上清液, 第二水浴搅拌, 第三离心, 取沉淀物, 冷冻干燥, 得大豆分离蛋白。

[0015] 优选的, 步骤(1)中所述搅拌的转速为1000~2000r/min, 所述搅拌的温度为20~30℃, 所述搅拌的时间为1.5~2.5h; 步骤(1)中所述大豆分离蛋白水溶液的浓度为0.02g/mL。

[0016] 优选的, 步骤(1)中所述大豆分离蛋白水溶液与胰蛋白酶的混合比例为200~300mL:1g; 步骤(1)中所述胰蛋白酶的酶活力为250000U/g; 步骤(1)中所述酶解的时间为8~12min, 所述酶解的pH为7.8~8.2, 所述酶解的温度为45~55℃。

[0017] 优选的, 步骤(1)中所述沸水浴灭酶的时间为5~15min。

[0018] 优选的, 步骤(2)中所述水浴灭菌的温度为80~90℃, 所述水浴灭菌的时间为10~20min。

[0019] 优选的, 步骤(2)中所述发酵基质与葡萄糖水溶液混合的比例为100mL:2.0~3.6g; 步骤(2)中所述葡萄糖水溶液的浓度为0.5mg/mL; 步骤(2)中所述植物乳植杆菌TB-8菌悬液中总有效菌数为 $0.5 \times 10^8$ CFU/mL~ $1.5 \times 10^8$ CFU/mL, 所述植物乳植杆菌TB-8菌悬液的接种量为总发酵体积的3%; 步骤(2)中所述发酵的温度为35~39℃。

[0020] 本发明还提供了所述制备大豆蛋白微凝胶的方法制备所得大豆蛋白微凝胶。

[0021] 与现有技术相比, 本发明具有如下优点和技术效果:

[0022] 本发明所述的植物乳植杆菌TB-8可在大豆蛋白基质上生长, 具有产酸快、乳酸菌数高、凝乳效果好等特点。

[0023] 本发明所述的利用植物乳植杆菌TB-8制备大豆蛋白微凝胶的方法, 操作简单、条件易把控、成本较低, 具有良好的经济和应用价值。本发明在酶解10min, 酶活力1000U/g条件下, 采用胰蛋白酶结合乳酸菌发酵的方式制备的大豆蛋白微凝胶粒径更小, 各项功能特性例如持水力和乳清析出率方面更优异。

## 附图说明

[0024] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案, 下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍, 显而易见地, 下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例, 对于本领域普通技术人员来讲, 在不付出创造性劳动的前提下, 还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0025] 图1为植物乳植杆菌TB-8菌落形态及光学显微镜图,其中,a为菌落形态图,b为光学显微镜下革兰氏染色图;

[0026] 图2为植物乳植杆菌TB-8系统柜进化树分析图;

[0027] 图3为实施例2制备的大豆蛋白微凝胶和对比例1制备的大豆蛋白微凝胶的持水力对比图,a和b代表显著性分析;

[0028] 图4为实施例2制备的大豆蛋白微凝胶和对比例1制备的大豆蛋白微凝胶的乳清析出率对比图,a和b代表显著性分析。

## 具体实施方式

[0029] 现详细说明本发明的多种示例性实施方式,该详细说明不应认为是对本发明的限制,而应理解为是对本发明的某些方面、特性和实施方案的更详细的描述。

[0030] 应理解本发明中所述的术语仅仅是为描述特别的实施方式,并非用于限制本发明。另外,对于本发明中的数值范围,应理解为还具体公开了该范围的上限和下限之间的每个中间值。在任何陈述值或陈述范围内的中间值以及任何其他陈述值或在所述范围内的中间值之间的每个较小的范围也包括在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括或排除在范围内。

[0031] 除非另有说明,否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所述领域的常规技术人员通常理解的含义。虽然本发明仅描述了优选的方法和材料,但是在本发明的实施或测试中也可以使用与本文所述相似或等同的任何方法和材料。本说明书中提到的所有文献通过引用并入,用以公开和描述与所述文献相关的方法和/或材料。在与任何并入的文献冲突时,以本说明书的内容为准。

[0032] 在不背离本发明的范围或精神的情况下,可对本发明说明书的具体实施方式做多种改进和变化,这对本领域技术人员而言是显而易见的。由本发明的说明书得到的其他实施方式对技术人员而言是显而易见的。本发明说明书和实施例仅是示例性的。

[0033] 关于本文中所使用的“包含”、“包括”、“具有”、“含有”等等,均为开放性的用语,即意指包含但不限于。

[0034] 实施例1

[0035] 植物乳植杆菌TB-8的筛选和分离过程

[0036] TB-8菌株来源:新疆维吾尔自治区阿合奇县的奶疙瘩。

[0037] 将预处理后的酸奶样品经稀释涂布、镜检的重复操作后,最终得到单菌落形态一致,且镜检中细胞形态一致的22株菌株。其中17株分离自MRS固体培养基,5株分离于虎红培养基。17株分离自MRS固体培养基的菌株,其革兰氏染色为阳性且接触酶反应为阴性的无芽孢菌株可初步判定为乳杆菌属。

[0038] 菌株分子生物学鉴定:

[0039] 将筛选出的22株菌株,通过对其DNA提取并进行PCR扩增,并进行凝胶电泳测定。乳酸菌和酵母菌分别在1500bp和750bp附近出现清晰且无杂质条带,说明其基因模板已成功提取,达到测序要求。

[0040] 如图1中a所示,TB-8菌落形态呈现圆形,白色凸起,有光泽,边缘规则;图1中b所示,菌体形态为成对短杆,其革兰氏染色为阳性(G+)。

[0041] 如图2所示, TB-8与*Lactiplantibacillus plantarum* NRRL B-14768<sup>T</sup>处于同一进化分支, 所在分支结点为100%, 说明TB-8与*Lactiplantibacillus plantarum*亲缘关系很近。因此最终确定菌株TB-8为植物乳植杆菌。

[0042] 实施例2

[0043] S1. 黄豆粉碎, 过40目标准筛, 得黄豆粉;

[0044] S2. 黄豆粉与正己烷按照100g:300mL的比例混合, 放入1L三角瓶中, 17℃封口膜密封条件下以180r/min的转速, 搅拌20min; 25℃条件下以4000r/min第一离心15min, 取沉淀;

[0045] S3. 取沉淀重复步骤S2三次, 取最后的沉淀, 通风晾晒2天, 得脱脂大豆粉; 所述脱脂大豆粉与水按照1g:15mL比例混合, 调节pH至9.0, 55℃第一水浴搅拌1h, 4℃以10000r/min第二离心15min, 取上清液;

[0046] S4. 取上清液, 调节pH至4.5, 25℃第二水浴搅拌45min, 4℃以10000r/min第三离心15min, 取沉淀物, 用少量水溶解, 调节pH至7.0, -40℃冷冻干燥48h, 得大豆分离蛋白(SPI)。

[0047] (1) SPI与水混合, 1500r/min, 25℃搅拌2h, 得浓度为0.02g/mL的大豆分离蛋白水溶液; 大豆分离蛋白水溶液与胰蛋白酶(酶活力为250000U/g)按照250mL:1g的比例混合, 在pH为8, 温度为50℃条件下, 酶解10min, 然后100℃沸水浴灭酶10min, 得大豆分离蛋白酶解产物;

[0048] (2) 大豆分离蛋白酶解产物, 85℃水浴灭菌15min, 得发酵基质;

[0049] (3) 将保藏在甘油管的植物乳植杆菌TB-8接种到MRS培养基(葡萄糖20.0g/L、蛋白胨10.0g/L、牛肉粉8.0g/L、酵母粉4.0g/L、磷酸氢二钾2.0g/L、柠檬酸氢二铵2.0g/L、吐温-80 1.0g/L、硫酸镁0.2g/L、硫酸锰0.04g/L、乙酸钠5.0g/L, pH5.7±0.2)中, 置于37℃培养箱中活化24h, 取活化后的发酵液1mL, 在4℃, 10000r/min离心30s, 去除上清液, 加等体积的生理盐水(0.85%, w/v)吹打菌体, 混合均匀, 重复操作两次, 获得植物乳植杆菌TB-8菌悬液(活菌数为10<sup>8</sup>CFU/mL);

[0050] (4) 发酵基质与葡萄糖水溶液(浓度为0.5mg/mL)按照100mL:2.8g混合, 接种植物乳植杆菌TB-8菌悬液(接种量为总发酵体积的3%), 37℃发酵至pH为4.5, 终止发酵, 得大豆蛋白微凝胶。

[0051] 实施例3

[0052] S1. 黄豆粉碎, 过40目标准筛, 得黄豆粉;

[0053] S2. 黄豆粉与正己烷按照100g:300mL的比例混合, 放入1L三角瓶中, 17℃封口膜密封条件下以180r/min的转速, 搅拌20min; 25℃条件下以4000r/min第一离心15min, 取沉淀;

[0054] S3. 取沉淀重复步骤S2三次, 取最后的沉淀, 通风晾晒2天, 得脱脂大豆粉; 所述脱脂大豆粉与水按照1g:15mL比例混合, 调节pH至9.0, 55℃第一水浴搅拌1h, 4℃以10000r/min第二离心15min, 取上清液;

[0055] S4. 取上清液, 调节pH至4.5, 25℃第二水浴搅拌45min, 4℃以10000r/min第三离心15min, 取沉淀物, 用少量水溶解, 调节pH至7.0, -40℃冷冻干燥48h, 得大豆分离蛋白(SPI)。

[0056] (1) SPI与水混合, 1000r/min, 20℃搅拌1.5h, 得浓度为0.02g/mL的大豆分离蛋白水溶液; 大豆分离蛋白水溶液与胰蛋白酶(酶活力为250000U/g)按照300mL:1g的比例混合, 在pH为7.8, 温度为45℃条件下, 酶解8min, 然后100℃沸水浴灭酶5min, 得大豆分离蛋白酶解产物;

[0057] (2) 大豆分离蛋白酶解产物, 80℃水浴灭菌10min, 得发酵基质;

[0058] (3) 将保藏在甘油管的植物乳植杆菌TB-8接种到MRS培养基(葡萄糖20.0g/L、蛋白胨10.0g/L、牛肉粉8.0g/L、酵母粉4.0g/L、磷酸氢二钾2.0g/L、柠檬酸氢二铵2.0g/L、吐温-80 1.0g/L、硫酸镁0.2g/L、硫酸锰0.04g/L、乙酸钠5.0g/L, pH5.7±0.2)中, 置于37℃培养箱中活化24h, 取活化后的发酵液1mL, 在4℃, 10000r/min离心30s, 去除上清液, 加等体积的生理盐水(0.85%, w/v)吹打菌体, 混合均匀, 重复操作两次, 获得植物乳植杆菌TB-8菌悬液(活菌数为 $0.5 \times 10^8$ CFU/mL);

[0059] (4) 发酵基质与葡萄糖水溶液(浓度为0.5mg/mL)按照100mL:2.0g混合, 接种植物乳植杆菌TB-8菌悬液(接种量为总发酵体积的3%), 37℃发酵至pH为4.5, 终止发酵, 得大豆蛋白微凝胶。

[0060] 实施例4

[0061] S1. 黄豆粉碎, 过40目标准筛, 得黄豆粉;

[0062] S2. 黄豆粉与正己烷按照100g:300mL的比例混合, 放入1L三角瓶中, 17℃封口膜密封条件下以180r/min的转速, 搅拌20min; 25℃条件下以4000r/min第一离心15min, 取沉淀;

[0063] S3. 取沉淀重复步骤S2三次, 取最后的沉淀, 通风晾晒2天, 得脱脂大豆粉; 所述脱脂大豆粉与水按照1g:15mL比例混合, 调节pH至9.0, 55℃第一水浴搅拌1h, 4℃以10000r/min第二离心15min, 取上清液;

[0064] S4. 取上清液, 调节pH至4.5, 25℃第二水浴搅拌45min, 4℃以10000r/min第三离心15min, 取沉淀物, 用少量水溶解, 调节pH至7.0, -40℃冷冻干燥48h, 得大豆分离蛋白(SPI)。

[0065] (1) SPI与水混合, 2000r/min, 30℃搅拌2.5hmin, 得浓度为0.02g/mL的大豆分离蛋白水溶液; 大豆分离蛋白水溶液与胰蛋白酶(酶活力为250000U/g)按照200mL:1g的比例混合, 在pH为8.2, 温度为55℃条件下, 酶解12min, 然后100℃沸水浴灭酶15min, 得大豆分离蛋白酶解产物;

[0066] (2) 大豆分离蛋白酶解产物, 90℃水浴灭菌20min, 得发酵基质;

[0067] (3) 将保藏在甘油管的植物乳植杆菌TB-8接种到MRS培养基(葡萄糖20.0g/L、蛋白胨10.0g/L、牛肉粉8.0g/L、酵母粉4.0g/L、磷酸氢二钾2.0g/L、柠檬酸氢二铵2.0g/L、吐温-80 1.0g/L、硫酸镁0.2g/L、硫酸锰0.04g/L、乙酸钠5.0g/L, pH5.7±0.2)中, 置于37℃培养箱中活化24h, 取活化后的发酵液1mL, 在4℃, 10000r/min离心30s, 去除上清液, 加等体积的生理盐水(0.85%, w/v)吹打菌体, 混合均匀, 重复操作两次, 获得植物乳植杆菌TB-8菌悬液(活菌数为 $1.5 \times 10^8$ CFU/mL);

[0068] (4) 发酵基质与葡萄糖水溶液(浓度为0.5mg/mL)按照100mL:3.6g混合, 接种植物乳植杆菌TB-8菌悬液(接种量为总发酵体积的3%), 37℃发酵至pH为4.5, 终止发酵, 得大豆蛋白微凝胶。

[0069] 对比例1

[0070] S1. 黄豆粉碎, 过40目标准筛, 得黄豆粉;

[0071] S2. 黄豆粉与正己烷按照100g:300mL的比例混合, 放入1L三角瓶中, 17℃封口膜密封条件下以180r/min的转速, 搅拌20min; 25℃条件下以4000r/min第一离心15min, 取沉淀;

[0072] S3. 取沉淀重复步骤S2三次, 取最后的沉淀, 通风晾晒2天, 得脱脂大豆粉; 所述脱脂大豆粉与水按照1g:15mL比例混合, 调节pH至9.0, 55℃第一水浴搅拌1h, 4℃以10000r/



min第二离心15min,取上清液;

[0073] S4.取上清液,调节pH至4.5,25℃第二水浴搅拌45min,4℃以10000r/min第三离心15min,取沉淀物,用少量水溶解,调节pH至7.0,-40℃冷冻干燥48h,得大豆分离蛋白(SPI)。

[0074] (1) SPI与水混合,1500r/min,25℃搅拌2h,得浓度为0.02g/mL的大豆分离蛋白水溶液,85℃水浴灭菌15min,得发酵基质;

[0075] (3) 将保藏在甘油管的植物乳植杆菌TB-8接种到MRS培养基(葡萄糖20.0g/L、蛋白胨10.0g/L、牛肉粉8.0g/L、酵母粉4.0g/L、磷酸氢二钾2.0g/L、柠檬酸氢二铵2.0g/L、吐温-80 1.0g/L、硫酸镁0.2g/L、硫酸锰0.04g/L、乙酸钠5.0g/L,pH5.7±0.2)中,置于37℃培养箱中活化24h,取活化后的发酵液1mL,在4℃,10000r/min离心30s,去除上清液,加等体积的生理盐水(0.85%,w/v)吹打菌体,混合均匀,重复操作两次,获得植物乳植杆菌TB-8菌悬液(活菌数为 $10^8$ CFU/mL);

[0076] (4) 发酵基质与葡萄糖水溶液(浓度为0.5mg/mL)按照100mL:2.8g混合,接种植物乳植杆菌TB-8菌悬液(接种量为总发酵体积的3%),37℃发酵至pH为4.5,终止发酵,得大豆蛋白微凝胶。

[0077] 实验例1

[0078] 粒径测定:采用英国马尔文Zetasizer Nano ZS90纳米粒度电位仪,使用PBS缓冲液(0.01M,pH 7.0)将实施例2制备的大豆蛋白微凝胶和对比例1制备额大豆蛋白微凝胶分别稀释至0.5mg/mL,并在室温下进行测定。水和蛋白质的折射率分别设置为1.330和1.450。

[0079] 持水力测定:取部分实施例2制备的大豆蛋白微凝胶和对比例1制备额大豆蛋白微凝胶,分别离心(2000r/min,4℃,10min)后测定。根据以下公式计算:

$$[0080] \quad \text{WHC}(\%) = \frac{W_1}{W} \times 100\%;$$

[0081] 式中: $W_1$ (g)为除去水后的凝胶重量; $W$ (g)为经发酵诱导的凝胶重量。

[0082] 乳清析出率测定:将实施例2制备的大豆蛋白微凝胶和对比例1制备额大豆蛋白微凝胶分别于4℃冰箱静置48h后,吸出乳清称重,并通过以下公式计算:

$$[0083] \quad \text{乳清析出率}(\%) = \frac{W - W_1}{W} \times 100\%;$$

[0084] 式中: $W_1$ (g)为除去乳清后的凝胶重量; $W$ (g)为经发酵诱导的凝胶重量。

[0085] 表1 大豆蛋白为凝胶的粒径比较

组别	粒径 (nm)
[0086] 对比例1	2789.00±52.61 <sup>a</sup>
实施例2	2161.50±80.96 <sup>b</sup>

[0087] 如表1所示,实施例2制备的大豆蛋白凝胶的粒径(2161.50±80.96nm)显著低于对比例1制备的大豆蛋白凝胶的粒径(2789.00±52.61nm)。

[0088] 如图3所示,实施例2制备的大豆蛋白微凝胶的持水力为81%相比于对比例1制备的大豆蛋白微凝胶的持水力75%显著上升( $P < 0.05$ )。

[0089] 如图4所示,实施例2制备的大豆蛋白微凝胶的乳清析出率为3%相比于对比例1制



备的大豆蛋白微凝胶的乳清析出率为9%,显著下降 ( $P < 0.05$ )。

[0090] 以上所述的实施例仅是对本发明的优选方式进行描述,并非对本发明的范围进行限定,在不脱离本发明设计精神的前提下,本领域普通技术人员对本发明的技术方案做出的各种变形和改进,均应落入本发明权利要求书确定的保护范围内。

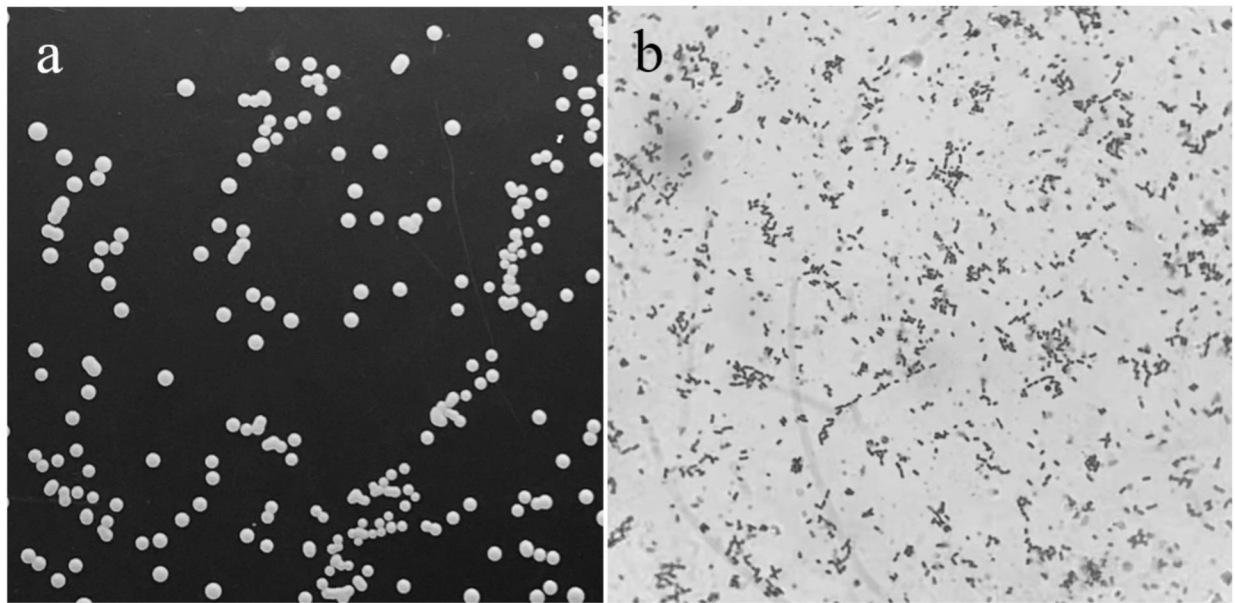


图1

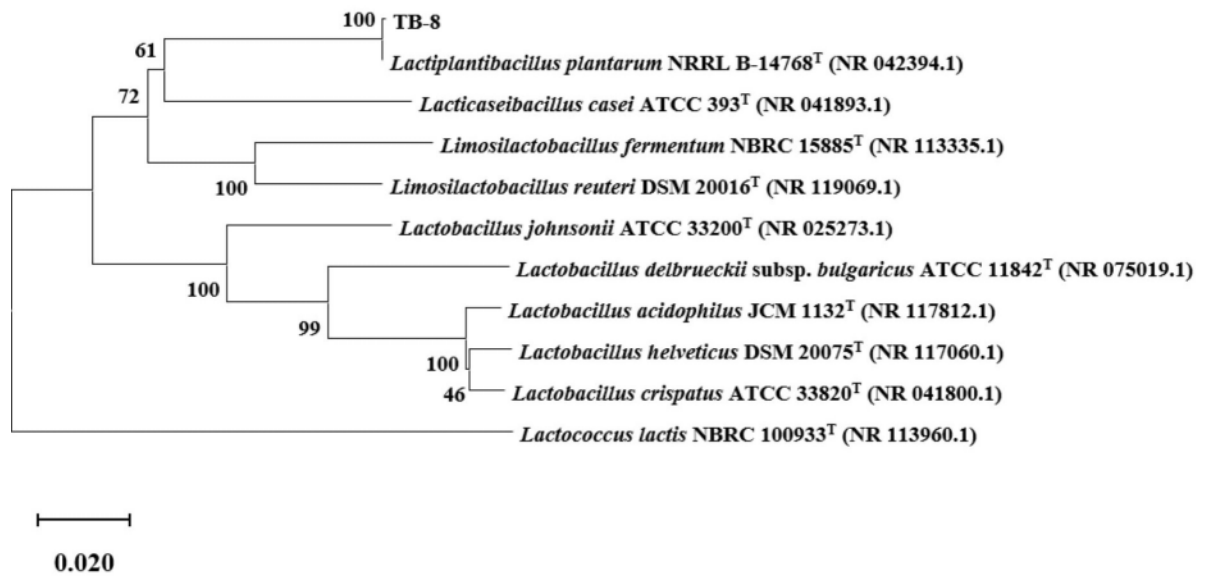


图2

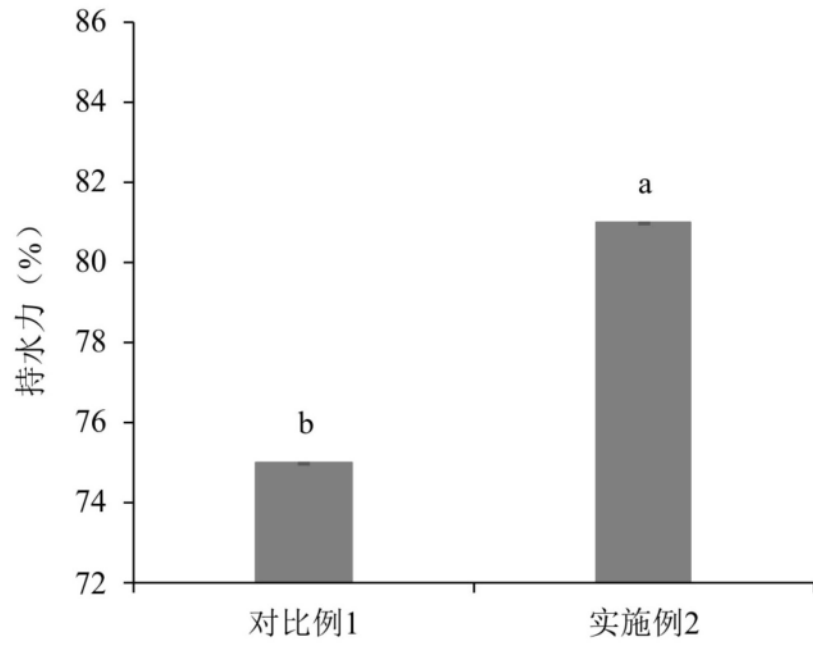


图3

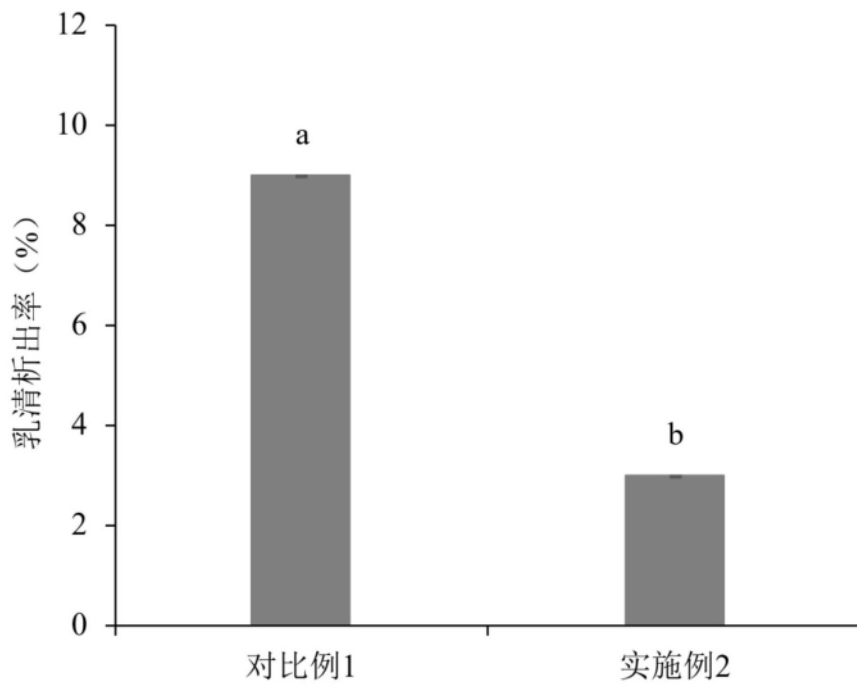


图4