



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116497077 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 28

(21) 申请号 202310535884.X

C12R 1/865 (2006.01)

(22) 申请日 2023.05.12

C12R 1/01 (2006.01)

(71) 申请人 广东药科大学

地址 528400 广东省中山市五桂山镇长命水大道9号

(72) 发明人 刘环宇 王温馨 卫雨菲 骆钰均 赵晓锋

(74) 专利代理机构 广州帮专高智知识产权代理
事务所(特殊普通合伙)
44674

专利代理师 颜德昊

(51) Int. Cl.

C12P 19/04 (2006.01)

C12P 39/00 (2006.01)

C08B 37/00 (2006.01)

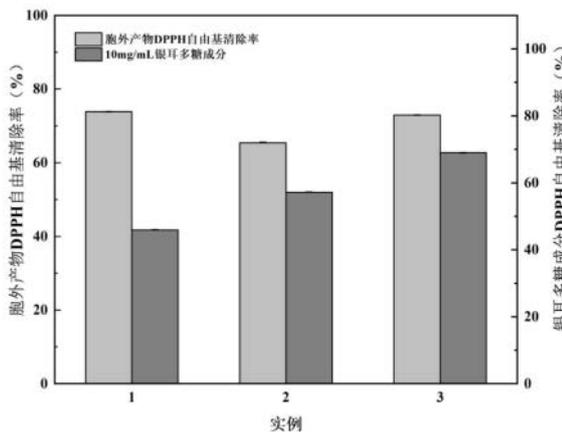
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,包括以下步骤:S1.将银耳提取液进行固液分离后,取上清液灭菌备用或带渣灭菌备用;S2.将步骤S1制备的银耳提取液作为发酵培养基,在发酵培养基中先接入酿酒酵母菌进行发酵培养后再接入嗜热栖热菌进行共同发酵培养;S3.发酵结束后,进行固液分离,分离得到的发酵液即为具有生物活性的嗜热栖热菌发酵胞外产物;S4.将步骤S3中分离得到的发酵液进行浓缩醇沉处理,醇沉后,进行固液分离,分离得到的沉淀冻干后即具有生物活性的嗜热栖热菌发酵的银耳多糖成分。本发明的方法制备得到的嗜热栖热菌发酵胞外产物抗氧化活性高,还能同时制备得到嗜热栖热菌发酵产物中的银耳多糖成分。



1. 一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,包括以下步骤:
 - S1. 将银耳提取液进行固液分离后,取上清液灭菌备用或带渣灭菌备用;
 - S2. 将步骤S1制备的银耳提取液作为发酵培养基,在发酵培养基中先接入酿酒酵母菌进行发酵培养后再接入嗜热栖热菌进行共同发酵培养;
 - S3. 发酵结束后,进行固液分离,分离得到的发酵液即为具有生物活性的嗜热栖热菌发酵胞外产物;
 - S4. 将步骤S3中分离得到的发酵液进行浓缩醇沉处理,醇沉后,进行固液分离,分离得到的沉淀冻干后即具有生物活性的嗜热栖热菌发酵的银耳多糖成分。
2. 如权利要求1所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S1中银耳提取液料液比优选为1:10~100,更优选为1:40~60。
3. 如权利要求1所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S1中银耳提取液为将银耳经过有机酸联合高压蒸煮得到。
4. 如权利要求3所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S1中银耳经过柠檬酸联合高压蒸煮处理,条件为:0.01~0.05M、0.1MPa、110~121°C、1~3h。
5. 如权利要求4所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S1中银耳经过柠檬酸联合高压蒸煮处理的条件为:0.05M、0.1MPa、121°C、2h。
6. 如权利要求1所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S2中嗜热栖热菌的接种量优选为5~10%,更优选为10%。
7. 如权利要求1所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S2中采用的酿酒酵母菌与嗜热栖热菌的用量比优选为0.5~1:1~2,更优选为1:1。
8. 如权利要求1所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S2中采用酿酒酵母菌进行共同发酵时,接入酵母菌的发酵条件为:25~35°C,150~200rpm,10~24h;再接入嗜热栖热菌后的发酵条件为:50~75°C,150~200rpm,12~48h。
9. 如权利要求8所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S2中采用酿酒酵母菌进行共同发酵时,接入酵母菌的发酵条件为:30°C,200rpm,10~14h;再接入嗜热栖热菌后的发酵条件为:60°C,150rpm,18~24h。
10. 如权利要求1所述的一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,其特征在于,所述步骤S4中浓缩处理的温度为40~50°C,醇沉处理中发酵液与乙醇用量比为1:3~5。

一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法。

背景技术

[0002] 嗜热栖热菌是一种广泛分布于地热区土壤、海底火山口、温泉等附近的耐热菌,研究表明,经过生物发酵,嗜热栖热菌能产生热稳定性的超氧化物歧化酶(SOD)和B族维生素,表现出高效的抗氧化和光保护活性,具有促进细胞生长、延缓衰老、阻挡日光对皮肤损害和修复皮肤的能力,因此能作为一种抗衰老和保湿的成分加入到化妆品中。虽然,嗜热栖热菌发酵产物具有良好的指标性能,但其生产成本较高,故限制了工业化生产及其在化妆品中的应用。

[0003] 自古以来,银耳作为我国传统特色食用菌之一,具有“菌中之冠”的美称,根据生长环境的不同,呈菊花状或鸡冠状。银耳中多糖含量较高,其中水溶性多糖含量为19.08%,是银耳的主要活性成分,具有良好的抗氧化性、抗炎、防辐射及保湿等性能;同时具有较好的乳化性和保湿性,能有效阻止皮肤水分蒸发和空气中有害物质入侵皮肤,从银耳(纯天然植物)中制备得到的化妆品原料具有高的安全性和无毒性,对皮肤有很好的亲和性并且容易吸收,不易产生过敏,可应用于抗衰老、抗敏、防晒及保湿等类型的护肤品中。

[0004] 随着现代种植技术的快速发展,银耳产量大大提高,我国已经是世界上最大的银耳生产国,在自然资源丰富的情况下,有必要实现银耳高值化利用途径的探索。迄今为止,现有技术中也有利用银耳作为原料进行加工处理,如公开号为CN111454375A的中国专利申请提供了一种银耳多糖的提取方法;公开号为CN115595332A的中国专利申请公开了一种复合酶联合微生物发酵制备银耳发酵液的方法;还有于子健等人采用枯草芽孢杆菌枯草亚种与乳酸菌发酵制备银耳小分子多元蛋白肽的方法(于子健,银耳小分子多元蛋白肽原液及制备方法和银耳蛋白肽产品.辽宁省,大连澎立生物科技有限公司,2021-06-18.)。虽然现有技术中已有采用银耳进行高值化利用,但是,利用银耳作为原料进行提取液制备的方法途径还有待完善,现未见有利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的文献报道。

[0005] 目前,有关嗜热栖热菌发酵产物制备的研究较少,公开号为CN108517345 A的中国专利申请公开了一种嗜热栖热菌和酵母菌组合发酵的方法,采用酵母菌一次发酵,嗜热栖热菌二次发酵制备发酵产物,可提高嗜热栖热菌的一些活性成分;虽然一定程度上提高嗜热栖热菌的活性成分,但是,该方法需要严格控制发酵的酸碱条件,且发酵培养基复杂,成本较高。目前鲜有报道利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物,而针对现有技术的不足,有必要开发出简单、成本低、高生物活性的嗜热栖热菌发酵产物及其制备方法,以便应用于大规模的生产制备,同时实现银耳的综合化精细化高值化利用。

发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题是克服现有技术的缺陷和不足,提供一种银耳提取液发酵制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,有效降低嗜热栖热菌发酵产物的制备成本。

[0007] 本发明将银耳提取液作为发酵底物进行制备嗜热栖热菌发酵产物,制备得到的嗜热栖热菌发酵胞外产物及银耳多糖成分具有生物活性,经过DPPH自由基清除测试、总抗氧化能力测试及斑马鱼实验表明其具有抗氧化活性,实现嗜热栖热菌发酵产物的综合化精细化高值化利用。

[0008] 一种利用银耳提取液制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,包括以下步骤:

[0009] S1.将银耳提取液进行固液分离后,取上清液灭菌备用或带渣灭菌备用;银耳提取液为将银耳经过有机酸联合高压蒸煮得到;

[0010] S2.将步骤S1制备的银耳提取液作为发酵培养基,在发酵培养基中先接入酿酒酵母菌进行发酵培养后再接入嗜热栖热菌进行共同发酵培养;

[0011] S3.发酵结束后,进行固液分离,分离得到的发酵液即为具有生物活性的嗜热栖热菌发酵胞外产物;

[0012] S4.将步骤S3中分离得到的发酵液进行浓缩醇沉处理,醇沉后,进行固液分离,分离得到的沉淀冻干后即具有生物活性的嗜热栖热菌发酵的银耳多糖成分。

[0013] 优选地,步骤S1中银耳提取液料液比为1:10~100。

[0014] 更优选地,步骤S1中银耳提取液料液比为1:40~60。

[0015] 优选地,步骤S1中采用的银耳需经过有机酸(柠檬酸)联合高压蒸煮处理,条件为:0.01~0.05M(mol/L)、0.1MPa、110~121℃、1~3h。

[0016] 更优选地,步骤S1中有机酸(柠檬酸)联合银耳高压蒸煮处理的条件为:0.05M、0.1MPa、121℃、2h。

[0017] 优选地,步骤S1中银耳提取液带渣灭菌备用。

[0018] 优选地,步骤S2中嗜热栖热菌的接种量为5~10%。

[0019] 更优选地,步骤S2中嗜热栖热菌的接种量为10%。

[0020] 优选地,步骤S2采用的酿酒酵母菌与嗜热栖热菌的用量比为0.5~1:1~2。

[0021] 更优选地,酿酒酵母菌与嗜热栖热菌的用量比为1:1。

[0022] 优选地,步骤S2中采用酿酒酵母菌进行共同发酵时,接入酵母菌的发酵条件为:25~35℃,150~200rpm,10~24h;再接入嗜热栖热菌后的发酵条件为:50~75℃,150~200rpm,12~48h。

[0023] 更优选地,步骤S2中采用酿酒酵母菌进行共同发酵时,接入酵母菌的发酵条件为:30℃,200rpm,10~14h;再接入嗜热栖热菌后的发酵条件为:60℃,150rpm,18~24h。

[0024] 优选地,步骤S1、步骤S3和步骤S4中所述固液分离采用离心或抽滤。

[0025] 优选地,步骤S4中浓缩处理的温度为40~50℃,醇沉处理中发酵液与乙醇用量比为1:3~5。

[0026] 本发明提供一种银耳提取液发酵制备嗜热栖热菌发酵产物的方法,通过有机酸联合高压蒸煮的方法,使银耳中的活性成分进一步溶出,为微生物创造良好的生长环境。将银耳提取液直接作为发酵底物,采用嗜热栖热菌与酿酒酵母菌进行共同发酵,现有技术中,嗜热栖热菌发酵培养基成分复杂,需购置多种营养成分,而我国银耳资源总量大,市面银耳一斤售价35~50元左右,因此,本发明能有效降低嗜热栖热菌发酵产物的制备成本。将酵母菌和嗜热栖热菌共同发酵,制备得到的嗜热栖热菌发酵产物不仅多糖、还原糖、氨基酸含量高,还能提高DPPH自由基清除率和总抗氧化能力,表明本发明制备得到的嗜热栖热菌发酵

产物具有良好的抗氧化性能。且通过发酵所得的银耳多糖成分,其分子量达到十万级、万级、千级道尔顿,可应用于食品、药品、化妆品等方面,进一步实现了银耳的综合化精细化高值化利用。

[0027] 本发明的方法制备得到的嗜热栖热菌发酵胞外产物抗氧化活性高,还能同时制备得到嗜热栖热菌发酵产物中的银耳多糖成分,该方法便捷快速,控制的发酵条件简单易操作,实现了嗜热栖热菌功能成分的综合化精细化高值化利用,能大规模地应用于嗜热栖热菌发酵产物的制备中,可进一步促进嗜热栖热菌发酵产物的产业化进程。

附图说明

[0028] 图1为胞外产物、银耳多糖成分对DPPH自由基的清除能力。

[0029] 图2为胞外产物、银耳多糖成分的总抗氧化能力。

[0030] 图3斑马鱼胚胎活性氧(ROS)测试流程图。

[0031] 图4斑马鱼胚胎失水抑制测试流程图。

具体实施方式

[0032] 以下结合具体实施例来进一步说明本发明,但实施例并不对本发明做任何形式的限定。除非特别说明,本发明采用的试剂、方法和设备为本技术领域常规试剂、方法和设备。

[0033] 除非特别说明,以下实施例所用试剂和材料均为市购。

[0034] 以下实施例中对酵母菌和嗜热栖热菌进行活化采用的培养基如下所示:

[0035] 嗜热栖热菌活化培养基g/L:蛋白胨3,葡萄糖2,无水硫酸镁0.35,磷酸二氢钾0.12,硫酸铵2,三氯化铁0.05,氯化钠0.25,pH7.8,封口灭菌(每瓶50mL);

[0036] 酵母活化培养基g/L:蛋白胨3,葡萄糖2,无水硫酸镁0.35,磷酸二氢钾0.12,硫酸铵2,三氯化铁0.05,氯化钠0.25,pH4.8,封口灭菌(每瓶50mL)。

[0037] 以下实例采用的银耳多糖提取液为银耳经过有机酸(柠檬酸)水解联合高压蒸煮后获得。

[0038] 以下实施例采用DPPH自由基清除率测试方法为:按1:1的比例取待测样品与0.1mmol/L的DPPH 70%乙醇溶液混合摇匀,室温下避光静置30min后,于517nm下测吸光值。

[0039] $DPPH清除率(\%) = 1 - (A_1 - A_2) / A_0 * 100\%$

[0040] 式中: A_1 为待测样品加DPPH乙醇溶液的吸光值;

[0041] A_2 为样品加溶剂的吸光值;

[0042] A_0 为DPPH乙醇溶液加溶剂的吸光值。

[0043] 以下实例采用总抗氧化能力测试方法为:按1:1:1:1的比例取待测样品与28mmol/L的磷酸钠、4mmol/L的钼酸铵、0.6mmol/L的硫酸混合摇匀,95℃水浴90min后,冷却至室温,于695nm下测吸光值。需先做一条BHT浓度与吸光度关系的标曲,样品总抗氧化能力以BHT当量表示。

[0044] 以下实例中斑马鱼实验测试包括两方面,一方面通过斑马鱼胚胎活性氧(ROS)清除测试,对抗皱、紧致功效进行评价;另一方面通过斑马鱼胚胎失水抑制测试,对保湿功效进行评价。

[0045] (1) 斑马鱼胚胎活性氧(ROS)清除测试方法为:将24尾48h大斑马鱼胚胎暴露于

0.5%配方添加浓度银耳多糖样品0.1M 3h样品溶液中,同时设置空白对照组,暴露24h后对鱼胚胎进行H2DCFDA染色,荧光拍照测量ROS信号强度并进行统计分析。

[0046] 活性氧(ROS)清除率 = $(C-T)/C*100\%$

[0047] 式中:T—受试物处理组鱼胚胎ROS“平均信号强度”的平均值;

[0048] C—空白对照组鱼胚胎ROS“平均信号强度”的平均值;

[0049] 对受试物处理组鱼胚胎ROS信号强度和空白对照组ROS信号强度进行双尾T检验,取得p值。

[0050] (2)斑马鱼胚胎失水抑制测试方法为:通过增加鱼胚胎培养液渗透压诱导失水模型进行测试。将24尾3天大斑马鱼胚胎暴露于15g/L NaCl和0.5%配方添加浓度银耳多糖样品0.1M 3h样品溶液中,同时设置模型对照组(15g/L NaCl)和空白对照组(鱼胚胎培养液),暴露3h后对鱼胚胎进行显微镜拍照以测量尾部面积并进行统计分析。

[0051] 尾巴面积缩小抑制率 = $(T-M)/(C-M)*100\%$

[0052] 式中:T—受试物处理组鱼胚胎尾巴面积的平均值;

[0053] C—空白对照组鱼胚胎尾巴面积的平均值;

[0054] M—模型对照组鱼胚胎尾巴面积的平均值。

[0055] 对受试物处理组鱼胚胎尾巴面积和模型对照组尾巴面积进行双尾T检验,取得p值。

[0056] 如图1所示,本发明用DPPH自由基清除率测试,对发酵所获胞外产物与银耳多糖成分进行评价,结果表明DPPH自由基清除率越大,则抗氧化能力越强。

[0057] 如图2所示,本发明用磷钼络合物法,对总抗氧化能力进行评价,总抗氧化能力以BHT当量表示,BHT浓度越高,其总抗氧化能力越强。

[0058] 如图3所示,本发明用斑马鱼胚胎活性氧(ROS)清除测试对发酵所获银耳多糖成分的抗氧化能力进行了评价,属体内实验,进一步佐证抗氧化功效。

[0059] 如图4所示,本发明用斑马鱼斑马鱼胚胎失水抑制测试对发酵所获银耳多糖成分的保湿能力进行评价,属体内实验,证明其具有保湿功效。

[0060] 实例1

[0061] 将银耳经0.01M有机酸(柠檬酸)联合0.1MPa、121℃、2h高压蒸煮后,得到银耳提取液,将银耳提取液抽滤后,取上清液蒸汽灭菌备用。分别把酵母菌和嗜热栖热菌活化后,先以10%的接种量把酵母菌接入银耳提取液中(pH 4.8),进行发酵培养,在30℃下、200rpm的条件下培养14小时,将发酵液pH调至7.8后;再以10%的接种量接入嗜热栖热菌,继续发酵培养,在60℃、150rpm的条件下培养18小时。发酵结束后进行固液分离,获得发酵液。

[0062] 发酵结束后,经过离心进行固液分离,收集发酵液,其发酵液为嗜热栖热菌发酵胞外产物。DPPH自由基清除率测试结果表明,发酵液嗜热栖热菌发酵胞外产物DPPH自由基清除率达73.84%,总抗氧化能力以2.77g/L BHT当量表示,表明嗜热栖热菌发酵胞外产物具有较好的抗氧化能力。

[0063] 把上述部分发酵液经浓缩醇沉处理后,进行固液分离,分离得到的沉淀经冻干即为嗜热栖热菌发酵的银耳多糖成分。用去离子水重新溶解后,即为银耳多糖溶液,再经过DPPH自由基清除率测定,10mg/mL银耳多糖溶液的DPPH自由基清除率为45.91%,8mg/mL银耳多糖溶液总抗氧化能力以0.71g/L BHT当量表示,表明嗜热栖热菌发酵得到的银耳多糖

成分具有抗氧化能力。经乌式粘度法测得其分子量为59.10万道尔顿。

[0064] 取上述发酵液进行测定,结果表明,总糖含量为14.52g/L,还原糖含量为1.75g/L,多糖含量为12.77g/L,氨基酸含量为0.69g/L,糖醛酸含量为1.40g/L。

[0065] 实例2

[0066] 将银耳经0.01M有机酸(柠檬酸)联合0.1MPa、121℃、3h高压蒸煮后,得到银耳提取液,将银耳提取液抽滤后,取上清液蒸汽灭菌备用。分别把酵母菌和嗜热栖热菌活化后,先以10%的接种量把酵母菌接入银耳多糖提取液中(pH 4.8),进行发酵培养,在30℃下、200rpm的条件下培养14小时,将发酵液pH调至7.8后;再以10%的接种量接入嗜热栖热菌,继续发酵培养,在60℃、150rpm的条件下培养18小时。发酵结束后进行固液分离,获得发酵液。

[0067] 发酵结束后,经过离心进行固液分离,收集发酵液,其发酵液为嗜热栖热菌发酵胞外产物。DPPH自由基清除率测试结果表明,发酵液嗜热栖热菌发酵胞外产物DPPH自由基清除率达65.42%,总抗氧化能力以3.33g/L BHT当量表示,表明嗜热栖热菌发酵胞外产物的抗氧化能力得到提升。

[0068] 把上述部分发酵液经浓缩醇沉处理后,进行固液分离,分离得到的沉淀经冻干即为嗜热栖热菌发酵的银耳多糖成分。用去离子水重新溶解后,即为银耳多糖溶液,再经DPPH自由基清除率测定,10mg/mL银耳多糖溶液的DPPH自由基清除率为57.18%,8mg/mL银耳多糖溶液总抗氧化能力以0.55g/L BHT当量表示,表明嗜热栖热菌发酵得到的银耳多糖成分具有较好的抗氧化性能。经乌式粘度法测得其分子量为12.11万道尔顿。

[0069] 取上述发酵液进行测定,结果表明,总糖含量为11.61g/L,还原糖含量为1.98g/L,多糖含量为9.63g/L,氨基酸含量为0.65g/L,糖醛酸含量为1.21g/L。

[0070] 实例3

[0071] 将银耳经0.05M有机酸(柠檬酸)联合0.1MPa、121℃、2h高压蒸煮后,得到银耳多糖提取液,直接带渣蒸汽灭菌备用。分别把酵母菌和嗜热栖热菌活化后,先以10%的接种量把酵母菌接入银耳多糖提取液中(pH 4.8),进行发酵培养,在30℃下、200rpm的条件下培养14小时,将发酵液pH调至7.8后;再以10%的接种量接入嗜热栖热菌,继续发酵培养,在60℃、150rpm的条件下培养18小时。发酵结束后进行固液分离,获得发酵液。

[0072] 发酵结束后,经过离心进行固液分离,收集发酵液,其发酵液为嗜热栖热菌发酵胞外产物。DPPH自由基清除率测试结果表明,发酵液嗜热栖热菌发酵胞外产物DPPH自由基清除率达72.94%,总抗氧化能力以5.70g/L BHT当量表示,表明嗜热栖热菌发酵胞外产物具有较好的抗氧化能力。

[0073] 把上述部分发酵液经浓缩醇沉处理后,进行固液分离,分离得到的沉淀经冻干即为嗜热栖热菌发酵的银耳多糖成分。用去离子水重新溶解后,即为银耳多糖溶液,再经DPPH自由基清除率测定,10mg/mL银耳多糖溶液的DPPH自由基清除率为69.01%,8mg/mL银耳多糖溶液总抗氧化能力以0.53g/L BHT当量表示,表明嗜热栖热菌发酵得到的银耳多糖成分具有显著的抗氧化能力。经乌式粘度法测得其分子量为1.77万道尔顿。

[0074] 取上述发酵液进行测定,结果表明,总糖含量为12.68g/L,还原糖含量为2.85g/L,多糖含量为9.83g/L,氨基酸含量为0.74g/L,糖醛酸含量为1.47g/L。

[0075] 本发明实例1与实例2分别为采用高压蒸煮2h、3h银耳多糖提取液进行组合发酵,

结果表明,相同浓度,增加蒸煮时间得到的嗜热栖热菌发酵胞外产物DPPH自由基清除率降低了12.87%,但其总抗氧化能力提高了20.22%。总糖含量一定程度上降低,但还原糖含量增加了13.14%,可知,提高高压蒸煮时间后,银耳提取液中的大分子营养物质降解为中、小分子营养物质,更易被微生物进行质能转化,所以在消耗碳源的同时,胞外发酵产物中的还原糖含量依旧增多。发酵所获的银耳多糖成分,由于提高高压蒸煮时间,分子量有效降低,其抗氧化特性有了进一步提高。

[0076] 本发明实例3改变了有机酸(柠檬酸)的浓度并带渣发酵,与实例1相比胞外产物还原糖含量提升了62.86%,氨基酸含量提高了7.25%,表明改变提取时的酸浓度对混菌发酵并无影响,同时带渣发酵,底物中除了原有的水溶性营养成分外,增加了非水溶性营养成分,银耳原料被充分利用,发酵产物中的活性物含量进一步增多,且抗氧化性能也显著提高;对比实例1制得的银耳多糖成分,其DPPH自由基清除率提高了50.32%,查阅文献可知,小分子量银耳多糖具有良好的抗氧化特性,这与发酵所获银耳多糖成分的抗氧化能力相佐证。由此可知,采用本发明的银耳提取液进行发酵不仅可以提高活性物含量,还能提高抗氧化性能。

[0077] 各实例功效评价:

[0078] 本发明实例1、实例2、实例3所获银耳多糖成分进行体内与体外实验,测试其抗氧化与保湿性能,结果如表1所示。

[0079] 表1斑马鱼体内抗氧化及保湿实验结果

实例	平均分子量 (万道尔顿)	保湿			抗氧化		
		尾巴面积减小 抑制率 (%)	p 值	保湿功效	ROS 清除率 (%)	p 值	抗氧化 功效
1	59.10	73	0.00000035	显著	44	0.000000000000011	显著
2	12.11	61	0.0000057	显著	50	0.000000000000010	显著
3	1.77	52	0.00024	显著	47	0.000000000000012	显著

[0081] 结果表明,银耳多糖成分具有优异的保湿性能,分子量越大保湿能力越好,其原因可能为银耳多糖分子量高,结构更复杂,所吸收的水分不易被释放,从而起到保湿的作用,故大分子量银耳多糖保湿功效较小分子量银耳多糖更好。而分子量较小的银耳多糖,其结构较为疏松,水分容易流失,其原因可能为银耳多糖进行降解后,银耳多糖链的结构发生变化,水溶解度增加,银耳多糖分子量越小,DPPH自由基上孤对电子与多糖配对的空间位阻越小,两者配对使得紫外吸收逐渐消失,从而抗氧化活性越大。

[0082] 各实例有效活性物质含量:

[0083] 表2胞外产物有效活性物质含量

实例	总糖含量 (g/L)	还原糖含量 (g/L)	多糖含量 (g/L)	糖醛酸含量 (g/L)	氨基酸含量 (g/L)
[0084] 1	14.52	1.75	12.77	1.40	0.69
2	11.61	1.98	9.63	1.21	0.65
3	12.68	2.85	9.83	1.47	0.74

[0085] 表3银耳多糖成分有效活性物质含量

实例	平均分子量 (万道尔顿)	总糖含量 (g/L)	还原糖含量 (g/L)	多糖含量 (g/L)	糖醛酸含量 (g/L)
[0086] 1	59.10	15.85	0.42	15.43	1.40
[0087] 2	12.11	15.23	0.62	14.62	1.21
3	1.77	9.16	1.39	7.76	3.28

[0088] 综上所述,采用不同发酵培养基经嗜热栖热菌组合发酵得到的发酵产物活性有所差异,嗜热栖热菌发酵的胞外产物比发酵得到的银耳多糖成分更具有生物活性,其抗氧化特性显著;嗜热栖热菌的胞外产物比发酵所得的银耳多糖成分的DPPH自由基清除率更高,表明经嗜热栖热菌和酵母菌组合发酵所获胞外产物具有良好的抗氧化能力。银耳提取液中富含丰富的营养物质,是一种天然优质的发酵底物,如本发明提供银耳提取液发酵制备嗜热栖热菌发酵产物的方法不仅能够得到活性更高的胞外发酵物,还能通过醇沉获得一定分子量的银耳多糖成分,以上发酵产物的两种形式均具有良好的抗氧化与保湿性能,可应用于食品、药品、化妆品等领域。该方法中的发酵培养基,制作便捷快速,控制的发酵条件简单易操作,还实现了对银耳的综合化精细化高值化利用,能大规模地应用于嗜热栖热菌发酵产物的制备中。

[0089] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

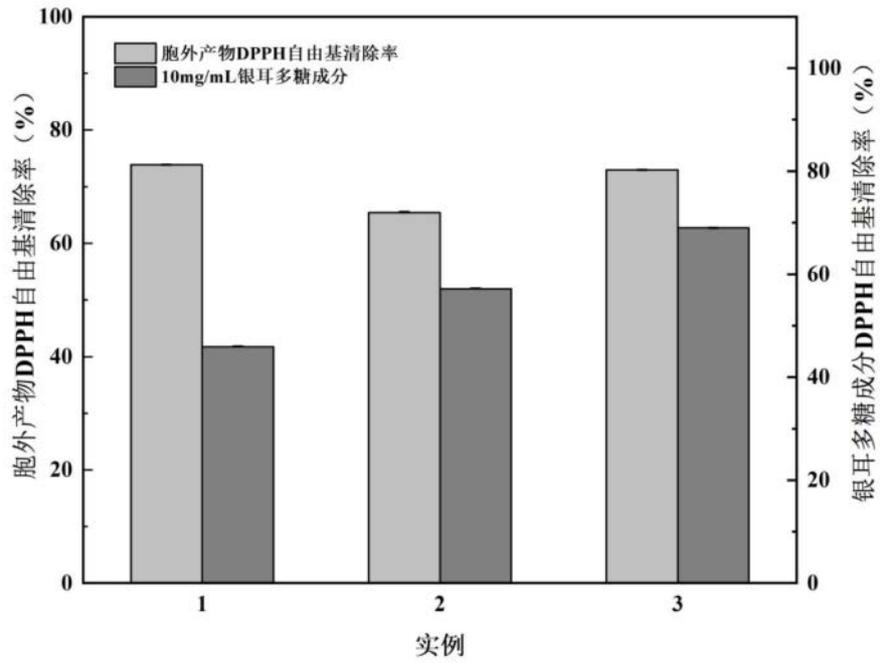


图1

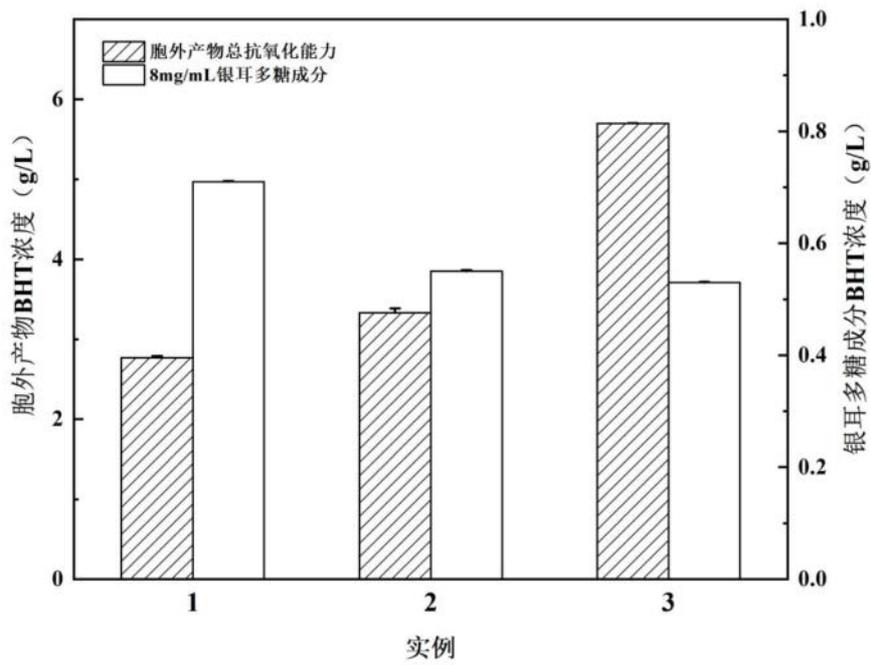


图2

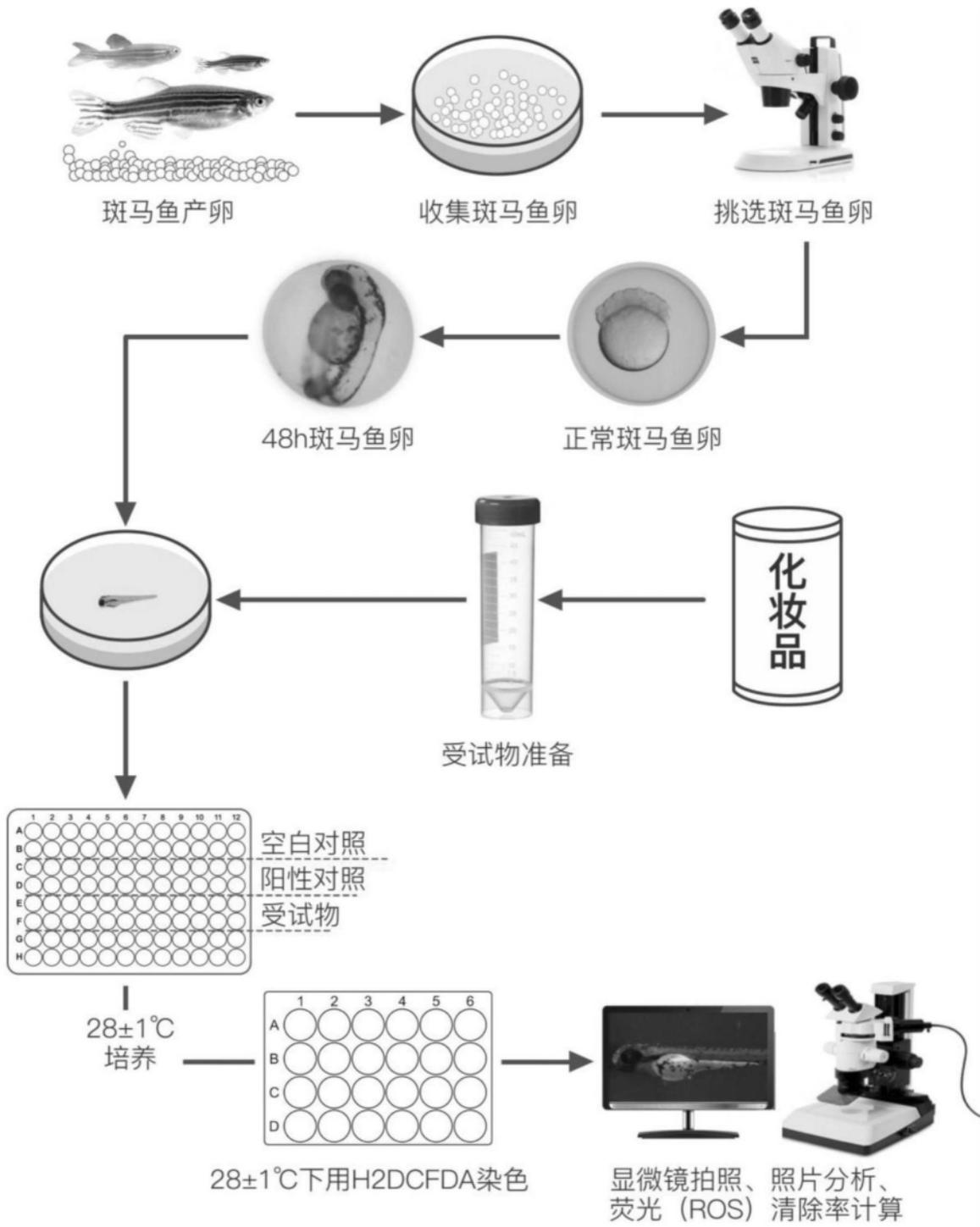


图3

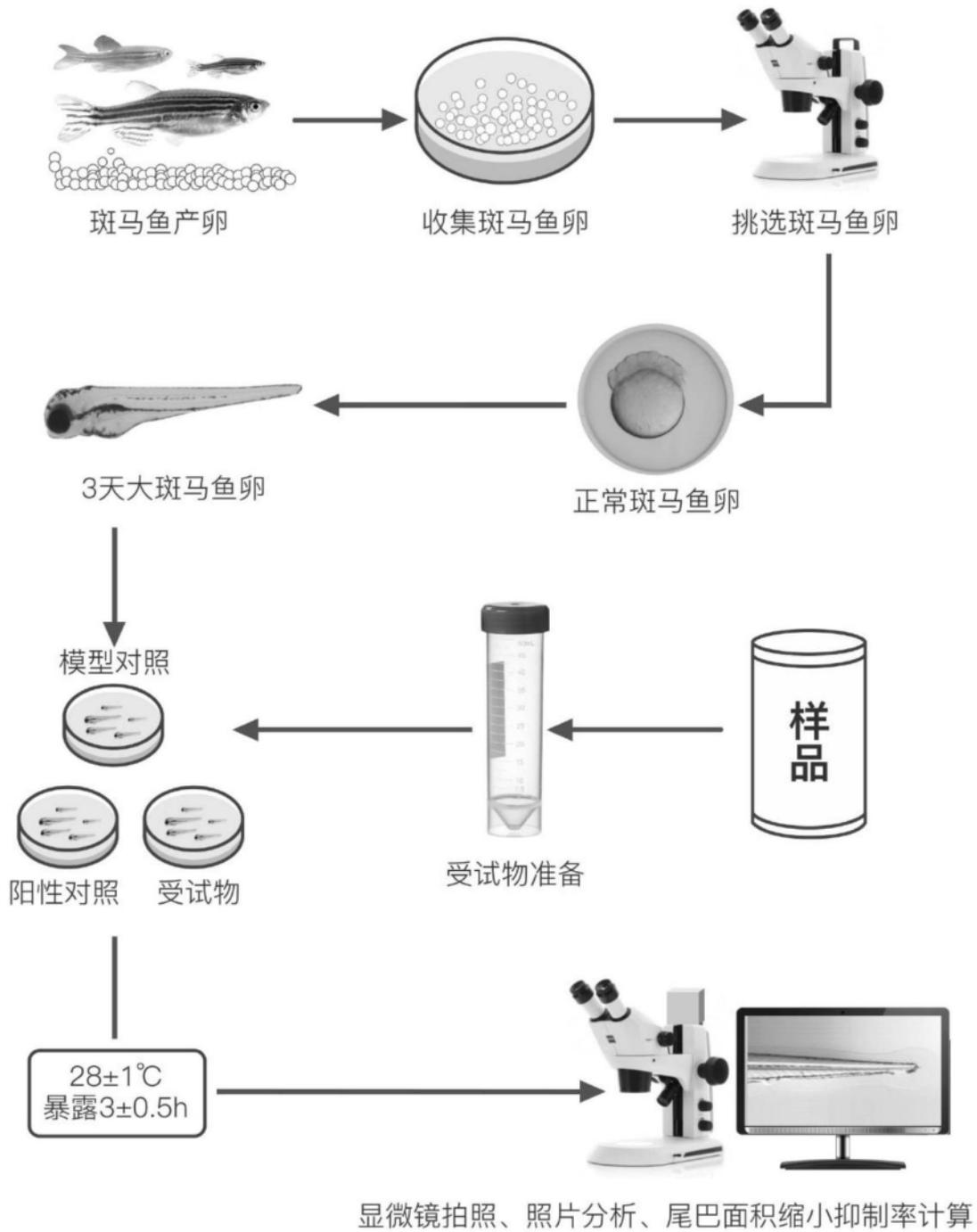


图4