



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106819106 B

(45)授权公告日 2020.10.16

(21)申请号 201611238855.3

(22)申请日 2016.12.28

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106819106 A

(43)申请公布日 2017.06.13

(73)专利权人 石家庄君乐宝乳业有限公司

地址 050299 河北省石家庄市鹿泉区石铜路36号

(72)发明人 王世杰 魏立华 朱宏 冯丽莉

荀一萍 张栋 郝红伟 薛玉玲

(74)专利代理机构 石家庄旭昌知识产权代理事

务所(特殊普通合伙) 13126

代理人 彭随丽

(51)Int.Cl.

A23C 9/13(2006.01)

(56)对比文件

CN 105123921 A,2015.12.09

CN 105532869 A,2016.05.04

CN 103222506 A,2013.07.31

CN 103461486 A,2013.12.25

CN 105285098 A,2016.02.03

审查员 罗美琪

权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,以生牛乳、海洋多糖、低聚果糖、副干酪乳杆菌N1115为原料,制备得到具有一定整肠功能和免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料,该发酵乳饮料可以增强肠上皮细胞和巨噬细胞的免疫活性,且含有具有抑菌活性的苯乳酸(PLA),防止致病菌在肠道中定植,具有一定整肠作用。

1. 一种具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,其特征在于,其原料包括生牛乳60-100重量份,副干酪乳杆菌N1115 0.2-15重量份,海洋多糖2-10重量份,低聚果糖10-50重量份;所述制备方法包括以步骤:

a、将生牛乳、海洋多糖和低聚果糖混合均匀,经过均质、杀菌工艺后添加副干酪乳杆菌N1115,发酵至凝乳;

b、摇匀破乳,在4℃温度下放置24h,杀菌,冷藏保存。

2. 根据权利要求1所述的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,其特征在于,所述副干酪乳杆菌N1115为5-10份。

3. 根据权利要求1所述的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,其特征在于,所述海洋多糖为壳聚糖、卡拉胶、海藻酸钠、羊栖菜多糖中的至少一种。

4. 根据权利要求1所述的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,其特征在于,所述海洋多糖为褐藻糖。

5. 根据权利要求1所述的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,其特征在于,步骤a中的均质、杀菌工艺参数为:

均质:均质温度为60-65℃,均质压力为17.5-20MPa;

杀菌:杀菌温度为70℃,杀菌时间30min。

6. 根据权利要求1所述的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,其特征在于,步骤a中的发酵工艺参数为:

发酵:在42℃培养箱中发酵6h。

7. 根据权利要求1所述的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,其特征在于,步骤b中的杀菌工艺参数为:

杀菌:95℃下灭菌300s。

8. 根据权利要求1所述的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,其特征在于,步骤b中的冷藏温度为2-6℃。

具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于乳制品领域,具体涉及一种具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法。

背景技术

[0002] 目前,免疫症状诸如过敏、气喘、慢性鼻炎、异位性皮肤炎或是发炎症状在发展中国家或发达国家有越来越普及的趋势。最常使用的治疗方法是口服或涂抹类固醇,然而其缺点是容易产生副作用例如使病人变胖或增加感染率,甚至有致死的风险。许多研究团队正在开发更安全的方法,尽可能在减少副作用的前提下,舒缓或是预防过敏和免疫疾病。

[0003] 肠道不仅具有消化吸收功能,还有屏障功能。完整的肠道屏障包括3个部分:机械屏障、生物屏障、免疫屏障。机械屏障是指完整的彼此紧密连接的肠黏膜上皮细胞结构,生物屏障包括生物屏障和微生物屏障,其中的微生物屏障主要由寄生在人体肠道大约500多种肠道微生物构成,这些共生菌群通过与肠黏膜粘附、结合、嵌合等相互作用形成一个完整的菌膜,构成肠道的生物屏障。

[0004] 消化道是乳酸杆菌在体内含量和种类最丰富的地方。乳酸杆菌的重要性主要是和其生理学活性密切相关,如分解糖类底物、产生各种功能性酶类以及其它一些益生菌所具有的性质。优秀的乳酸杆菌除了要具有安全性以及要最大量地抵达肠道等特性,还具有多种对健康有利的功效。目前研究表明,乳酸杆菌在许多方面为机体提供保护,比如促进营养物质的消化与吸收、改善胃肠道微环境、增强免疫功能、调节血压、控制血清胆固醇水平、减少肠内感染、消除消费者体内的有毒物质以及缓解成年人肥胖等。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料,该发酵乳饮料具有调节免疫和整肠的功能。

[0006] 一种具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料,所述发酵乳饮料由以下重量份数的原料制成:

[0007] 生牛乳60-100份,副干酪乳杆菌N1115 0.2-15份,海洋多糖2-10份,低聚果糖10-50份。

[0008] 进一步的,所述的副干酪乳杆菌N1115为5-10份。

[0009] 进一步的,所述的海洋多糖为壳聚糖、卡拉胶、海藻酸钠、羊栖菜多糖中的至少一种。

[0010] 进一步的,所述海洋多糖为褐藻糖。

[0011] 本发明所述的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料有以下有益效果:

[0012] 1、专利CN201110357058.8公开了副干酪乳杆菌N1115,它是分离自内蒙古民族传统发酵乳制品,是一种具有耐酸耐胆盐特性和免疫调节作用的益生菌,该菌菌株已于2011年3月17日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物菌种保藏中心,保藏编号:

CGMCC No.4691。

[0013] 采用副干酪乳杆菌N1115,其具有耐酸耐胆盐特性和免疫调节作用,能够分泌一种可溶性蛋白质P40,P40可以激活肠上皮细胞的表皮生长因子EGF,增强肠上皮细胞的增殖和分化,促进分泌sIgA,sIgA是存在于鼻咽、口腔、呼吸道、肠等表面黏膜上的免疫蛋白,是一种重要的免疫因子,具有阻止病原菌粘附、溶解细菌、隔离外源致敏物质等功能,有助于促进肠道发展和损伤修复,具有免疫调节功能。此外,副干酪乳杆菌N1115,能够利用牛乳中的苯丙氨酸合成、分泌具有抑菌活性的苯乳酸(PLA),PLA可以通过破坏细胞壁结构抑制多种食源性致病菌,防止致病菌在肠道中定植,具有整肠作用。

[0014] 2、当采用低聚果糖作为副干酪乳杆菌N1115的复配成分可以明显促进副干酪乳杆菌N1115的增殖效果。

[0015] 3、本发明具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料能明显提高血清溶血素半数溶血值(HC50)、NK细胞活性和小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞率($P < 0.05$),具有增强免疫力的功能。

[0016] 4、进一步的,当海洋多糖采用褐藻糖时,褐藻糖具有免疫调节活性,能够与副干酪乳杆菌N1115、低聚果糖协同作用,增强肠上皮细胞和巨噬细胞的免疫活性。

[0017] 上述具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料的制备方法,包括以下步骤:

[0018] a、将生牛乳、海洋多糖和低聚果糖混合均匀,经过均质、杀菌工艺后添加副干酪乳杆菌N1115,发酵至凝乳;

[0019] b、摇匀破乳,在4℃温度下放置24h,杀菌,冷藏保存。

[0020] 进一步的,步骤a中的均质、杀菌工艺参数如下:

[0021] 均质:均质温度为60-65℃,均质压力为17.5-20MPa;

[0022] 杀菌:杀菌温度为70℃,杀菌时间30min。

[0023] 进一步的,步骤a中的发酵工艺参数如下:

[0024] 在42℃培养箱中发酵6h。

[0025] 进一步的,步骤b中的杀菌工艺参数如下:

[0026] 杀菌:95℃下灭菌300s。

[0027] 进一步的,步骤b中的冷藏温度为2-6℃。

[0028] 步骤a中的杀菌工艺70℃杀菌30min既可以杀死原料中对健康有害的病菌又能保持乳品中营养物质风味不变,保证各配料成分结构不变。步骤b的杀菌工艺95℃下灭菌300s可以使乳清蛋白充分变性,构成酸奶的最基本的骨架单元,提供酸奶合适的质构和粘稠度。

附图说明

[0029] 图1为灭活副干酪乳杆菌N1115免疫性能测试。

[0030] 图2为灭活型发酵乳饮料整肠功能测试。

具体实施方式

[0031] 基于本发明的设计思想,下面,结合具体的实施例对本发明的具有免疫调节功能的灭活型发酵乳饮料做进一步的详细描述:

[0032] 实施例1-9

[0033] 表1原料含量表

原料成分 \ 实施例	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5
生牛乳	60	100	70	85	80
褐藻糖	2	10	5	8	7
低聚果糖	10	50	20	30	30
副干酪乳杆菌 N1115	0.2	15	4	8	11

[0035] 表2原料含量表

海洋多糖种类的影响			
实施例 6	实施例 7	实施例 8	实施例 9
海藻酸钠	壳聚糖	卡拉胶	羊栖菜多糖

[0037] 实施例6-9中用海洋多糖代替实施例4中的褐藻糖且含量不变,其他原料及含量与实施例4相同。

[0038] 对比例1-6

[0039] 表3原料含量表

益生菌种类的影响			
对比例 1	对比例 2	对比例 3	对比例 4
双歧杆菌	保加利亚乳杆菌	开菲尔乳杆菌	植物乳杆菌

[0041] 对比例1-4用其他益生菌代替实施例4中的副干酪乳杆菌N1115,其他原料及含量与实施例4相同。

[0042] 表4原料含量表

低聚果糖含量的影响		
对比例	对比例 5	对比例 6
含量	8	55

[0044] 对比例5-6改变实施例4中的低聚果糖含量,其他原料及含量与实施例4相同。

[0045] 上述灭活型发酵乳饮料的制备方法包括以下步骤：

[0046] a、将生牛乳、海洋多糖和低聚果糖混合均匀，经过60-65℃均质、均质压力为17.5-20MPa，70℃杀菌30min，后添加副干酪乳杆菌N1115，在42℃培养箱中发酵6h至凝乳；

[0047] b、摇匀破乳，在4℃温度下放置24h，95℃下灭菌300s，2℃-6℃冷藏保存。

[0048] 副干酪乳杆菌N1115免疫性能测试

[0049] 将副干酪乳杆菌N1115活化、传代培养，离心分离，收集培养液上清，采用酶联免疫法(ELISA)检测发现，培养液中含有蛋白P40，表明副干酪乳杆菌N1115在生长增殖过程中能够向外分泌可溶性蛋白P40。P40是新发现的一种来源于益生菌的可溶性蛋白，其可以明显的激活肠上皮细胞的表皮生长因子，增强肠上皮细胞的增殖和分化，促进分泌型免疫球蛋白A(sIgA)，因此，本发明制备的发酵乳可通过副干酪乳杆菌N1115发酵产生的功能蛋白P40，增强机体肠道系统的免疫能力。

[0050] 将副干酪乳杆菌N1115活化、传代培养，离心收集菌体，将菌体热灭活处理后分成2组，分别以 10^6 CFU/mL转接至肠上皮细胞Caco-2、巨噬细胞J774A.1共同孵育3h。分别提取Caco-2和J774A.1的总RNA进行荧光定量PCR检测。结果如图1所示，热灭活副干酪乳杆菌N1115菌体可促进Caco-2表达IL-8和TNF- α mRNA；促进J774A.1表达IL-6和IL-10mRNA并抑制其表达IL-12 α mRNA，证明副干酪乳杆菌N1115菌体自身成分具有调节免疫力的功能。

[0051] 灭活型发酵乳饮料免疫性能测试

[0052] 将实施例1-9和对比例1-6制备的乳酸菌饮料经口灌胃实验小鼠30d，灌胃剂量均为8g/kgBW，进行免疫力各项指标检测，每项指标均检测8只，结果如下表4所示。

[0053] 表4灭活型发酵乳饮料对小鼠血清溶血素半数溶血值(HC50)、NK细胞活性、巨噬细胞吞噬鸡红细胞率的影响

检测指标 案例	动物数	HC50	细胞存活率 (%)	吞噬率(%)
实施例 1	8	73.2	54.1	27.5
实施例 2	8	74.1	55.1	28.1
实施例 3	8	75.0	55.3	28.7
实施例 4	8	76.6	56.8	30.3
实施例 5	8	75.7	55.1	29.1
实施例 6	8	74.8	53.3	29.1
[0054] 实施例 7	8	75.1	53.1	28.3
实施例 8	8	75.3	52.2	29.2
实施例 9	8	74.7	51.0	28.5
对比例 1	8	57.9	43.1	17.3
对比例 2	8	58.1	44.2	17.7
对比例 3	8	56.8	43.0	16.1
对比例 4	8	59.1	45.5	18.1
对比例 5	8	68.1	50.2	25.7
对比例 6	8	65.8	49.0	24.1

[0055] 由表4可知，副干酪乳杆菌N1115制备的发酵乳饮料可以显著提高血清溶血素半数溶血值(HC50)、NK细胞活性和小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞率($P < 0.05$)，具有增强免疫

力的功能,副干酪乳杆菌N1115与低聚果糖、褐藻糖协同配合可以进一步增强机体免疫力。

[0056] 副干酪乳杆菌N1115整肠功能测试

[0057] 将N1115活化、传代培养于添加有0.2%苯丙氨酸的MRS液体培养基中,置于37℃培养48h后离心收集培养液上清。上清液用0.2 μ m的膜过滤后,采用高效液相色谱法检测其中的PLA含量。检测结果显示,N1115能够以生牛乳中含有的苯丙氨酸为关键底物合成PLA,产量约为0.1232mg/mL。

[0058] 灭活型发酵乳饮料整肠功能测试

[0059] 招募受试人员20人,分为两组,每组10人,实验时间共计5周(其中,3周饮用发酵乳,前后各1周仅为观察期)。受试人员一组饮用实施例4灭活型副干酪乳杆菌N1115发酵乳,一组饮用对比例1发酵乳对照,其他饮食均相同,两组人员均每天根据实际情况记录其排便次数、粪便颜色和粪便硬度。

[0060] 随着灭活型N1115发酵乳的饮用,受试人员的排便次数较饮用前有所增加,且增加幅度高于对照组;排便颜色较饮用前更趋于健康的黄色/黄褐色;排便硬度也较饮用前有所降低,但效果不明显。由图2可以看出饮用灭活型N1115发酵乳可以改善受试人员的排便次数和排便颜色,具有一定整肠作用。

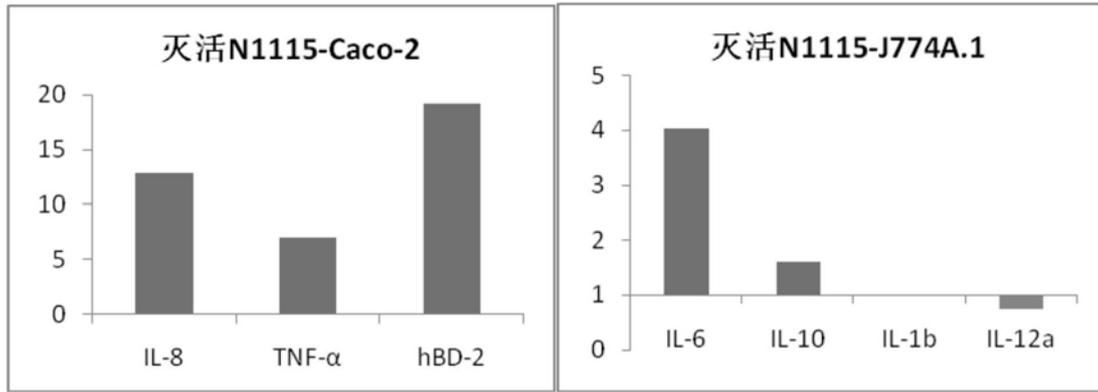


图1

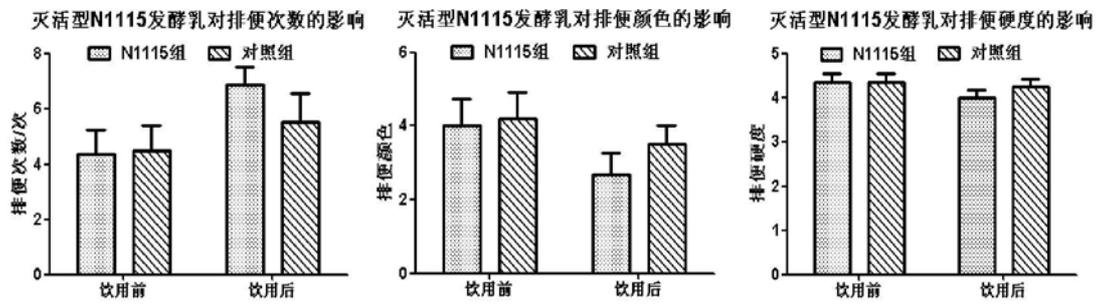


图2