



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102174450 A

(43) 申请公布日 2011.09.07

(21) 申请号 201110059827.6 *A23K 1/16* (2006.01)

(22) 申请日 2011.03.11 *A23L 1/29* (2006.01)

(83) 生物保藏信息 *C12R 1/25* (2006.01)

CGMCC NO. 4286 2010.11.01

(71) 申请人 江南大学

地址 214122 江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道
1800 号

(72) 发明人 陈卫 田丰伟 陈晓华 赵建新

张灏 刘小鸣 张秋香

(74) 专利代理机构 北京君智知识产权代理事务
所 11305

代理人 田燕

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

A61K 35/74 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A23C 9/12 (2006.01)

A23C 19/032 (2006.01)

A23L 1/20 (2006.01)

A23L 1/212 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 9 页 附图 3 页

(54) 发明名称

一种抗幽门螺杆菌感染的植物乳杆菌及其用途

(57) 摘要

本发明涉及一种乳杆菌 CN2018, CGMCC No. 4286 及其用途。该乳杆菌 CN2018 具有耐酸性, 对幽门螺杆菌 (以 *H. pylori* SS1 为例) 生长和尿素酶活性有抑制作用, 对幽门螺杆菌粘附人胃上皮细胞 SGC7901 有较强的抑制作用, 对小鼠感染幽门螺杆菌具有预防或减轻感染程度的作用。

1. 一种植物乳杆菌,其特征在于所述的植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) CN2018 于 2010 年 11 月 1 日送交北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心的保藏号为 CGMCC No. 4286。

2. 根据权利要求 1 所述的植物乳杆菌,其特征在于它具有下述特性:

- (1) 在 pH 2.5 环境下生长良好;
- (2) 抑制幽门螺杆菌生长,降低其尿素酶活性;
- (3) 抑制幽门螺杆菌粘附在胃上皮细胞上;
- (4) 预防或减轻幽门螺杆菌感染。

3. 根据权利要求 1 所述植物乳杆菌的用途,其特征在于它用于制备抑制幽门螺杆菌的药物组合物。

4. 根据权利要求 3 所述的用途,其特征在于所述的组合物是由根据权利要求 1 所述的植物乳杆菌与在医用上可接受的载体组成的。

5. 根据权利要求 3 所述的用途,其特征在于所述的组合物是颗粒剂、胶囊剂、片剂、丸剂或口服液。

6. 根据权利要求 1 所述植物乳杆菌的用途,其特征在于它用于生产乳制品、豆制品以及果蔬制品的发酵剂。

7. 根据权利要求 1 所述植物乳杆菌的用途,其特征在于它用于生产动物饲料的添加剂。

8. 根据权利要求 1 所述植物乳杆菌的用途,其特征在于所述的植物乳杆菌 CN2018 发酵液与益生元组合发酵制成液体、散剂、片剂或胶囊。

一种抗幽门螺杆菌感染的植物乳杆菌及其用途

【技术领域】

[0001] 本发明属于微生物技术领域。更具体地,本发明涉及一种能够干预幽门螺杆菌感染的植物乳杆菌,还涉及所述植物乳杆菌的用途。

【背景技术】

[0002] 幽门螺杆菌 (*H. pylori*) 作为慢性胃炎、消化性溃疡,甚至胃癌的主要致病因素,一直困扰着全世界。幽门螺杆菌作为胃中的原籍菌,能够在强酸性的条件下生存并定殖下来,它主要有两个特性,第一个特性是幽门螺杆菌在代谢过程中能够产生大量的尿素酶,而尿素酶可以将尿素分解产生氨,因此,在幽门螺杆菌周围形成“氨云”的微环境,从而能够上调 pH,使其免受强酸的侵蚀。第二个特性是幽门螺杆菌有鞭毛可以游动,因而游到粘膜层,并且粘附到胃上皮细胞中,从而定殖下来。定殖后的幽门螺杆菌就会分泌毒素,造成机体的损伤、病变,引起疾病。虽然随着三联疗法,即 PPI(质子泵抑制剂)加两种抗生素治疗法的应用,幽门螺杆菌治愈率得到很大的提高,但是仍然存在幽门螺杆菌感染复发率高,分布广,危害性极大,药物治疗费用高,并且幽门螺杆菌耐药率的增加、长期不合理应用抗生素可引起胃肠功能紊乱及胃肠道菌群失调等不良反应的问题。

[0003] 微生态疗法恰是以一个崭新的手段解决了传统疗法存在的多种问题。乳酸菌是一类能够使碳水化合物发酵产生大量乳酸的细菌的统称,广泛存在于自然发酵乳制品、发酵植物食品如泡菜、酸菜、青贮饲料以及人肠道中。乳杆菌是食品工业上的常用菌种,与人类关系密切。乳杆菌具有耐酸性,定殖胃肠道的能力,并且乳杆菌能够调节机体胃肠道正常菌群、保持微生态平衡,提高食物消化率和生物价,降低血清胆固醇水平,控制内毒素,抑制肠道内腐败菌生长繁殖和腐败产物的产生,从而对机体的营养状态、生理功能、细胞感染、药物效应、毒性反应、免疫反应、肿瘤发生、衰老过程和突然的应激反应等产生有益的影响。因此探索利用乳杆菌作为食疗性食品预防幽门螺杆菌感染具有重大的意义。

[0004] 国内外学者对乳杆菌干预幽门螺杆菌感染进行大量的临床研究,研究结果表明益生菌具有抗感染,调节机体免疫机能,平衡胃肠道正常菌群,降低抗生素副作用等多种功能。CN 1796540A 公开了一种具有抗肠道致病菌和抗氧化特性的双歧杆菌及其用途,用于制备食品组合物或药物组合物,杀死或抑制幽门螺杆菌或大肠杆菌,治疗由其引起的各种疾病。CN 1982437A 公开了一种新颖的耐酸耐胆盐、抗肠道致病菌和抗氧化能力鼠李糖乳杆菌株及其代谢产物与用途,用于制备抑制幽门螺杆菌、大肠杆菌或其它肠道致病菌的食品或药品。

[0005] 但是,这些文献没有筛选抗幽门螺杆菌的乳杆菌的有效方法。因此,需要筛选一种抗幽门螺杆菌的乳杆菌,并且证明它们在体内外都具有良好的抗幽门螺杆菌的效果,同时研制这些乳杆菌实际的用途。

【发明内容】

[0006] [要解决的技术问题]

[0007] 本发明的目的是提供一种抗幽门螺杆菌感染的植物乳杆菌。

[0008] 本发明的另一个目的是提供所述的抗幽门螺杆菌感染的植物乳杆菌在制备药物组合物、发酵剂、动物饲料添加剂和保健品中的用途。

[0009] [技术方案]

[0010] 本发明是通过下述技术方案实现的。

[0011] 本发明涉及一种植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) CN2018。

[0012] 所述的植物乳杆菌在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心的保藏号为 CGMCC No. 4286。

[0013] 所述的植物乳杆菌具有下述特性：

[0014] (1) 在 pH 2.5 环境下生长良好；

[0015] (2) 体外抑制幽门螺杆菌生长，降低其尿素酶活性；

[0016] (3) 体外抑制幽门螺杆菌粘附在胃上皮细胞上；

[0017] (4) 体内预防或减轻幽门螺杆菌感染。

[0018] 本发明还涉及所述植物乳杆菌的用途，其特征在于它用于制备抑制幽门螺杆菌的药物组合物。

[0019] 根据本发明的一种优选实施方式，所述的组合物是由所述的植物乳杆菌 CN2018 与在药学上可接受的载体组成的。

[0020] 根据本发明的一种优选实施方式，所述的组合物是胶囊、片剂、丸剂或口服液。

[0021] 根据本发明的一种优选实施方式，所述的植物乳杆菌 CN2018 用于生产乳制品、豆制品以及果蔬制品的发酵剂。

[0022] 根据本发明的一种优选实施方式，所述植物乳杆菌 CN2018 用于生产动物饲料的添加剂。

[0023] 根据本发明的一种优选实施方式，所述的植物乳杆菌的用途，其特征在于所述的植物乳杆菌 CN2018 发酵液与益生元组合发酵制成液体、散剂、片剂或胶囊。

[0024] 下面将更详细地描述本发明。

[0025] 本发明涉及一种植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) CN2018。

[0026] 所述的植物乳杆菌在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心的保藏号为 CGMCC No. 4286。

[0027] 本发明的目的是解决上述问题。本发明人设立了下述标准筛选所需要的乳杆菌。更具体地，本发明人通过大量实验从传统食品和人肠道及粪便中筛选出一种具有下述性质的乳杆菌，即本发明的植物乳杆菌 CN2018：

[0028] 1、具有耐酸性，在低 pH 下可以生长；

[0029] 2、混合物培养时对幽门螺杆菌（以 *H. pylori* SS1 为例）生长和尿素酶活性有抑制作用；

[0030] 3、对幽门螺杆菌粘附人胃上皮细胞 SGC7901 有抑制作用；

[0031] 4、对未感染幽门螺杆菌的小鼠具有预防或减轻幽门螺杆菌感染的作用。

[0032] 下面将对这些性质进行详细描述。

[0033] 1、具有耐酸性，在低 pH 下可以生长

[0034] 将冷冻保存的本发明植物乳杆菌 CN2018 分别接种于 MRS 培养基（例如青岛海博

的产品)中,在温度 37°C 下培养 24h,再经 MRS 培养液传代培养 2~3 次后,取 1mL 植物乳杆菌 CN2018 培养液,接种于 19mL pH3.0 的 MRS 液体培养基,在温度 37°C 下培养 24h,测定初始和培养结束后的 OD600 值。OD600 值是在 600nm 波长处的吸光值,利用这个值来测量细菌培养液的浓度,从而估计细菌的生长情况,所以通常用来指菌体细胞密度。

[0035] 选择在上述条件下生长良好的菌株进行下一步实验。采用同样培养方式,取 1.0mL 用 PBS(磷酸盐缓冲液)清洗两次后,并用 PBS 重悬的乳杆菌菌体,与 9.0mL pH 2.5 的人工胃液混合后,在温度 37°C 下进行培养,分别在开始(0h)和 3h 后,取样用 MRS 琼脂培养基倾注培养,测定活菌数并计算其存活率(存活率用对数比值换算,%)。筛选出存活率在 80% 以上的菌株进行下步研究。

[0036] 2、混合物培养时对 *H. pylori* SS1 生长和尿素酶活性有抑制作用

[0037] 用琼脂扩散法检测乳杆菌的 MRS 18h 混合培养物抑制 *H. pylori* SS1 生长情况,本发明植物乳杆菌 CN2018 能够很强抑制 *H. pylori* SS1 生长。所述植物乳杆菌 CN2018 的上清液可以明显抑制 *H. pylori* SS1 的尿素酶活性。

[0038] 3、对 *H. pylori* SS1 幽门螺杆菌粘附人胃上皮细胞 SGC7901 有高抑制作用

[0039] 本发明植物乳杆菌 CN2018 的上清液和活菌体可以通过竞争、替代和排阻三种方式降低 *H. pylori* SS1 粘附人胃上皮细胞 SGC7901 的粘附力。

[0040] 4、对未感染 *H. pylori* SS1 的小鼠具有预防或是减轻 *H. pylori* SS1 感染的作用

[0041] 通过先灌胃本发明植物乳杆菌 CN2018 十天,再灌胃 *H. pylori* SS1 感染小鼠,一周五次,最后再灌胃本发明植物乳杆菌 CN2018 三个月,对照组为灌生理盐水十天,接着灌胃 *H. pylori* SS1,从感染小鼠的模型比较发现,通过本发明植物乳杆菌 CN2018 预防的小鼠炎症较轻,并且胃组织的尿素酶活力和血清中的抗 *H. pylori* SS1 的 Ig-G 抗体降低。

[0042] 本发明植物乳杆菌 CN2018 的其它生物学特性:

[0043] 对植物乳杆菌 CN2018 的生长特性的研究结果显示:该菌株的最低生长温度为 20°C,最高生长温度为 40°C,该菌株以 30-37°C 的生长温度为佳,最高和最低初始生长 pH 为 9.0 和 3.0,最适生长初始 pH 为 6.0;本发明植物乳杆菌 CN2018 菌株的延迟期相对较短,4h 左右开始进入对数生长期,12h 就达到稳定期。

[0044] 本发明植物乳杆菌的培养方法与培养条件:

[0045] 所述植物乳杆菌 CN2018 原始菌种在温度 -75°C 下以 30 重量%甘油悬液形式保存,或者在温度 4°C 下以冷冻干燥菌粉的形式保存备用。培养时,本发明植物乳杆菌 CN2018 可以在 MRS 培养基中在兼性厌氧条件、于温度 37°C 下培养 18-36h 即可使用。

[0046] 本发明还涉及所述植物乳杆菌的用途,其特征在于它用于制备抑制幽门螺杆菌的药物组合物。

[0047] 根据本发明的一种优选实施方式,所述的组合物是由所述的植物乳杆菌剂与在药学上可接受的载体或赋形剂组成的。

[0048] 所述的植物乳杆菌剂是将含有所述的植物乳杆菌 CN2018 的菌液通过冻干处理所得到的冻干粉剂,或采用其它方法处理得到的粉剂。得到的粉剂可以与在药学上可接受的载体或赋形剂组合制成各种剂型,例如颗粒剂、胶囊剂、片剂、丸剂或口服液,其中在药学上可接受的载体或赋形剂可以根据不同剂型进行选择,所使用的这些载体或赋形剂对于制药技术领域的普通技术人员都是容易确定的,也是显而易见的。

[0049] 根据本发明,在药学上可接受的载体应该是指在药学领域中的常规药物载体,在药学上可接受的载体是一种或多种选自在药学上通常使用的填充剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、吸收促进剂、表面活性剂、吸附载体、润滑剂或矫味剂的载体,例如填充剂如淀粉、蔗糖、乳糖、微晶纤维素等;粘合剂如纤维素衍生物、藻酸盐、明胶和聚乙烯吡咯烷酮;润湿剂如甘油;崩解剂如羧甲基淀粉钠、羟丙纤维素、交联羧甲基纤维素、琼脂、碳酸钙和碳酸氢钠;吸收促进剂如季铵化合物;表面活性剂如十六烷醇、十二烷基硫酸钠;吸附载体如高龄土和皂粘土;润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙和镁、微粉硅胶和聚乙二醇;其它辅剂如香味剂、甜味剂等。

[0050] 根据本发明的一种优选实施方式,所述的植物乳杆菌用于生产乳制品、豆制品以及果蔬制品的发酵剂。

[0051] 根据本发明,所述的发酵剂应该理解是含有用于生产乳制品、豆制品以及果蔬制品的本发明植物乳杆菌 CN2018 的活体培养物。在本发明中,所述的乳制品例如是牛奶、酸奶油和干酪等。所述的豆制品例如是豆腐乳、豆豉、豆酱和酱油等。所述的果蔬制品例如是黄瓜、红萝卜、甜菜、芹菜和圆白菜等。通常,把所述的发酵剂接种到待处理的原料中,通常使本发明植物乳杆菌 CN2018 浓度达到 10^6 CFU/mL 以上,在一定条件下让所述植物乳杆菌 CN2018 繁殖,其代谢产物使发酵制品具有一定的酸度、香味等优异特性,同时使产品增加了保藏时间,改善了营养价值和消化性。

[0052] 根据本发明的一种优选实施方式,所述植物乳杆菌用于制备生产动物饲料的添加剂。

[0053] 根据本发明的一种优选实施方式,所述的植物乳杆菌的用途,其特征在于所述的植物乳杆菌 CN2018 发酵液与益生元组合发酵制成液体、散剂、片剂或胶囊剂。根据本发明,所述的益生元应该理解为通过选择性的刺激一种或少数种菌落中的细菌的生长与活性而对寄主产生有益的影响从而改善寄主健康的不可被消化的食品成分,例如低聚果糖、大豆低聚糖等。添加益生元可以给肠道益生菌补充“食物”,激活与增殖人体内的益生菌群,以达到促进微生态平衡,改善健康的目的。人们知道,在人体结肠中有约 100 万亿个、400 至 500 种细菌,这些细菌可分为三类:有害菌、条件致病菌和益生菌。在益生菌中,以双歧杆菌和乳杆菌为代表,它们作为微生态调节剂,具有促进人体对营养物质的吸收,提高免疫力,预防和治疗便秘及腹泻,降低血脂,抑制肠道病原和腐败微生物的生长,分解致癌物质等作用,而益生元则通过调节体内微生态环境,强化肠道益生菌的功能。

[0054] [有益效果]

[0055] 本发明的植物乳杆菌 CN2018 具有耐酸性,对幽门螺杆菌生长和尿素酶活性有抑制作用,对幽门螺杆菌粘附人胃上皮细胞 SGC7901 有高抑制作用,对未感染幽门螺杆菌的小鼠具有预防或是减轻感染的作用。所述植物乳杆菌 CN2018 可以用于制备抑制幽门螺杆菌的药物组合物;制备生产乳制品、豆制品以及果蔬制品的发酵剂;制备生产动物饲料的添加剂;所述的植物乳杆菌 CN2018 发酵液与益生元组合发酵制成液体、散剂、片剂或胶囊剂。

[0056] 植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 于 2010 年 11 月 1 日送交北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏,保藏编号为 CGMCC No. 4286

[0070] ZOI 是抑菌圈直径大小 ;SEM 是标准偏差 ;

[0071] 表 1 的试验结果表明,本发明植物乳杆菌 CN2018 对这几株幽门螺杆菌菌均有抑制作用。但由于菌株的特异性,本发明植物乳杆菌 CN2018 的抑菌能力还有有所差别。

[0072] 实施例 3 :分析乳杆菌发酵上清液中有机酸的含量

[0073] 本发明植物乳杆菌 CN2018 用 MRS 培养基活化两代后,再培养 18h。得到的发酵液在温度 4℃ 与 5000r/min 条件下离心 5min,得到的上清液使用孔径 0.22 μ m 膜进行过滤,滤液再用无菌水稀释 10 倍,然后采用高效液相色谱法在下述条件下检测其乳酸含量和其他有机酸含量。

[0074] 色谱条件 :仪器 :Agilent 1100 ;色谱柱 :Ecosil, C18, 46×250mm, 50cm ;流动相 :甲醇 /H₃PO₄/ 水 = 5/0.05/95 ;流速 :1mL/min ;柱温 :30℃ ;检测 :UV 210nm ;进样量 :5 μ L。

[0075] 其检测结果列于表 2 中。

[0076] 表 2 :在本发明植物乳杆菌 CN2018 发酵上清液中有机酸含量分析

	乳酸	乙酸	丁二酸
[0077]			
植物乳杆菌 CN2018	21.97	4.65	ND

[0078] 表 2 的试验结果表明,在这些发酵液中有机酸主要为浓度较高的乳酸和浓度较低的乙酸。

[0079] 实施例 4 :抗 H. pylori SS1 的乳杆菌成分分析

[0080] 按照与实施例 2 同样的方式进行,利用琼脂扩散试验检测本发明植物乳杆菌 CN2018 发酵液、上清液和 PBS 重悬的活菌和死菌的抑制 H. pylori SS1 生长情况。试验结果表明 (见图 3),乳杆菌的发酵液和无细胞上清液具有显著的抑制 H. pylori SS1 生长的能力,并且发酵液比无细胞上清液表现出的更强的抑菌作用。这个结果说明,除了上清液中具有抑菌物质外,活菌也有一定的抑菌效果,这可能与竞争性生长有关。

[0081] pH 对上清液的抑菌效果的影响进行了研究。使用稀氢氧化钠溶液或稀硫酸溶液将本发明植物乳杆菌 CN2018 上清液调节到 pH 值 3.5、4.0 或 6.5,再进行抑菌试验,并将这些抑菌试验结果与使用原液进行抑菌试验得到的试验结果进行比较。

[0082] 这些试验结果列于表 3 中。

[0083] 表 3 pH 对上清液的抑菌能力的影响

[0084]

	平均 ZOI±SEM (mm)			
pH	6.5	4.0	3.5	上清液原液
植物乳杆菌 CN2018	10.60±0.14	10.65±0.21	12.05±0.21	11.37±0.18

[0085] ZOI 是抑菌圈直径大小 ;SEM 是标准偏差 ;

[0086] 从表 3 的结果可以看出,本发明植物乳杆菌 CN2018 的上清液原液的 pH 是 3.5-4.0 时,3 株乳杆菌上清液都有一定的抑菌效果。当上清液原液的 pH 调节到 3.5 时抑菌效果开始有所增强 ;但是,当上清液原液的 pH 调整为 4.0,抑菌效果大幅减小 ;当上清液原液的 pH 调整为 6.5 时,抑菌效果几乎消失。说明上清液中的抑菌成分可能仅在酸环境中显示抑菌作用。

[0087] **实施例 5** :本发明植物乳杆菌 CN2018 抑制 *H. pylori* SS1 粘附在胃上皮细胞上的分析

[0088] (1) 排斥试验 (预培养) :将培养至单层的 SGC7901 细胞用 PBS 液洗 3 次,加入 1mL 乳杆菌悬液 (浓度为 3×10^8 CFU/mL),在温度 37°C 与 5% CO₂ 培养箱的条件下培养 1h,然后用 PBS 液洗涤 2 次,将未吸附的乳杆菌除去,再加入 1mL *H. pylori* (3×10^8 CFU/mL),继续在温度 37°C 与 5% CO₂ 培养箱的条件下培养 1h ;*H. pylori* 用 PBS 清洗 3 次,然后调节到 10^8 CFU/mL,离心后用培养液 RPMI 1640 重悬。取 0.2mL 加入到乳杆菌处理过的细胞中,培养 2h。用 PBS 清洗 3 次后,加入尿素酶培养基 (0.9% NaCl, PBS 7.2, 尿素 20mM 和苯酚红 14 μ g/mL) 培养 1h 后,用酶标仪在波长 550nm 处测定其吸光值,以 *H. pylori* SS1 的尿素酶活力表征乳杆菌的粘附力大小。

[0089] (2) 竞争试验 (共培养) :将 1mL 乳杆菌悬液 (3×10^8 CFU/mL) 和 1mL *H. pylori* (3×10^8 CFU/mL) 一起加入到 SGC7901 细胞中,在温度 37°C 与 5% CO₂ 培养箱的条件下培养 2h ;用 PBS 清洗 3 次后,加入尿素酶培养基 (0.9% NaCl, PBS 7.2, 尿素 20mM 和苯酚红 14 μ g/mL) 培养 1h 后,用酶标仪在波长 550nm 处测定吸光值,以 *H. pylori* SS1 的尿素酶活力表征乳杆菌的粘附力大小。

[0090] (3) 替代试验 (后培养) :先将 1mL *H. pylori* 与 SGC7901 细胞一起培养 1h 后,用 PBS 液洗涤 2 次,除去未吸附的病原菌,再加入 1mL 乳杆菌 (3×10^8 CFU/mL) 继续在温度 37°C 与 5% CO₂ 培养箱的条件下培养 1h。用 PBS 清洗 3 次后,加入尿素酶培养基 (0.9% NaCl, PBS 7.2, 尿素 20mM 和苯酚红 14 μ g/mL) 培养 1h 后,用酶标仪在波长 550nm 测定吸光值,以 *H. pylori* SS1 的尿素酶活力表征乳杆菌的粘附力大小。。

[0091] 这些试验结果列于图 4。

[0092] 从图 4 可以看出 :竞争试验结果表明本发明植物乳杆菌 CN2018 活菌和上清液具有竞争 *H. pylori* SS1 粘附细胞能力,但死菌无竞争性抑制 *H. pylori* SS1 粘附细胞能力。替代试验结果表明,本发明植物乳杆菌 CN2018 活菌和上清液表现出相近的替代 HP 粘附细胞,但

死菌无替代 *H. pylori* SS1 粘附细胞能力。排阻试验结果表明,本发明植物乳杆菌 CN2018 的发酵上清液、活菌和死菌都有一定排阻作用。

[0093] 所有这些结果清楚地说明,本发明植物乳杆菌 CN2018 在抑制 *H. pylori* SS1 粘附胃上皮细胞有作用,并且其不同的处理方法导致抑制效果存在差异性。

[0094] 实施例 6:对未感染 *H. pylori* SS1 的小鼠具有预防或是缓解 *H. pylori* SS1 感染的作用

[0095] 为了检测本发明植物乳杆菌 CN2018 在小鼠体内的预防或是缓解 *H. pylori* SS1 感染的作用,先用 CN2018 分别灌胃 SPF 级的 C67BL/6j 小鼠十天,接着再灌胃 *H. pylori* SS1 一周 5 次,然后再分别灌胃植物乳杆菌 CN2018 三个月,最后检测胃组织尿素酶活性和血清中的抗 *H. pylori* SS1-IgG 抗体含量。其结果列于表 4 中。

[0096] 表 4:小鼠血清抗 *H. pylori* SS1-IgG 水平检测和

[0097] 胃组织尿素酶活性检测

实验小鼠组别	抗 <i>H. pylori</i> -IgG 水平 (OD450)	尿素酶活性
[0098] 空白组	0.144±0.024	-
对照组	0.707±0.074	+++
植物乳杆菌 CN2018 干预组	0.553±0.133	+

[0099] 其中:“-”表示没有尿素酶活性;“+”表示有尿素酶活性;“+++”表示尿素酶活性强。

[0100] 试验结果表明,本发明植物乳杆菌 CN2018 可以降低尿素酶活性和抗 *H. pylori* SS1-IgG 抗体水平,通过胃组织切片的 HE 染色可以看出(见图 5),炎症有所减缓。

[0101] 应用实施例 1:利用本发明植物乳杆菌 CN2018 制造乳杆菌奶饮料

[0102] 将原料乳脱脂奶在 95℃ 热杀菌 20min,然后冷却至 4℃,再加入本发明的植物乳杆菌 CN2018 工作发酵剂,使其浓度达到 10⁶CFU/ml 以上,在 4℃ 冷藏保存即得到含植物乳杆菌 CN2018 活菌的全菌奶饮料。

[0103] 应用实施例 2:利用植物乳杆菌 CN2018 制造豆奶

[0104] 采用软水浸泡大豆,水量为原大豆量三倍体积,在温度 80℃ 下浸泡 1-2h,再去除大豆皮。接着,沥去浸泡水,另加沸水磨浆,并在温度高于 80℃ 的条件下保温 10-15min。浆体用 150 目滤膜过滤后接着进行离心,得到的离心液即为粗豆奶,再将它加热到温度 140-150℃,然后将热粗豆奶迅速导入真空冷却室进行抽真空,所述粗豆奶中的异味物质随着水蒸汽迅速排出。经过真空脱气后,将其温度降至 37℃ 左右,再接入本发明的植物乳杆菌 CN2018 工作发酵剂,使其浓度达到 10⁶CFU/ml 以上,在 4℃ 冷藏保存即得到含植物乳杆菌 CN2018 活菌的豆奶。

[0105] 应用实施例 3:利用植物乳杆菌 CN2018 制造果蔬饮料

[0106] 选用新鲜蔬菜洗净后榨汁,接着进行高温瞬间灭菌,在温度 140℃下高温热杀菌 2s 后,立即降温到 37℃左右,再接入本发明的植物乳杆菌 CN2018 发酵剂,使其浓度达到 10^6 CFU/mL 以上,在 4℃冷藏保存即得到含植物乳杆菌 CN2018 活菌的果蔬饮料。

[0107] 应用实施例 4:利用本发明植物乳杆菌 CN2018 制胶囊制品

[0108] 本发明的植物乳杆菌 CN2018 在 MRS 培养基上培养 24h,在温度 4℃与 4000r/min 的条件下离心 20min,用 PBS 冲洗两次,再加入以最后得到含植物乳杆菌 CN2018 的粉剂重量计 4%脱脂奶粉和 6%乳糖混合 10min,再加入无菌 2%氯化钙和 3%海藻酸钠,同时以 150r/min 搅拌 10min,再静止固化 30min,最后清洗过滤,得到的滤液进行冷冻干燥 20h,得到含植物乳杆菌 CN2018 的粉剂,把这种粉剂装入目前市场上销售的药用微胶囊,得到所述的胶囊制品。

[0109] 应用实施例 5:利用本发明植物乳杆菌 CN2018 制备乳制品、豆制品以及果蔬制品的发酵剂

[0110] 把本发明植物乳杆菌 CN2018 接种到在温度 115℃下灭菌 10min 的培养基中,所述的培养基组成是由以该培养基总重量计 10%的酶水解脱脂乳、0.5%葡萄糖、1.5%的胰蛋白胨、0.3%酵母浸膏和余量水组成的, pH6.8,然后在温度 37℃下培养 18h,用 PBS 清洗两次,用保护剂重悬达到浓度 10^{10} CFU/ml。所述的保护剂含有 100g/L 脱脂奶粉、30mL/L 甘油、100g/L 麦芽糊精、150g/L 海藻糖、10g/L L-谷氨酸钠。接着,让该悬浮液在温度 37℃下预培养 60min,再采用冻干法制成所述的乳制品、豆制品以及果蔬制品的发酵剂。

[0111] 应用实施例 6:利用本发明植物乳杆菌 CN2018 制备发酵乳

[0112] 鲜奶加糖溶解后,在温度 65℃与 20MPa 条件下进行均质,然后在 95℃保温杀菌 5min,再将温度降到 35℃,加入本发明植物乳杆菌 CN2018、保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的混合菌液,它们的比例以体积 / 体积表示为 1 : 1 : 1,接种量为鲜奶体积的 3%,混匀,在温度 35℃下保温发酵,凝乳后,在温度 4℃冷藏 24h,得到所述的发酵乳。

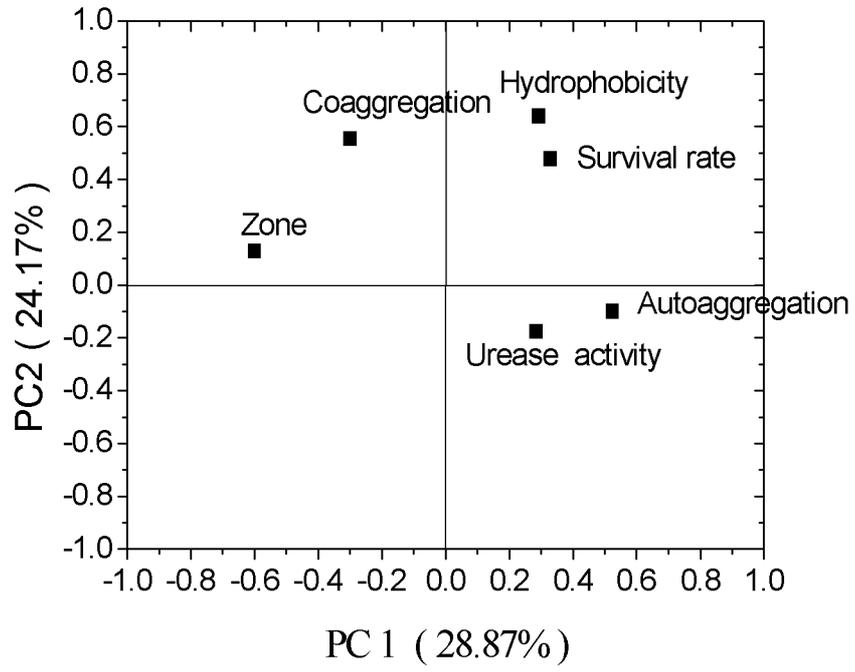


图 1

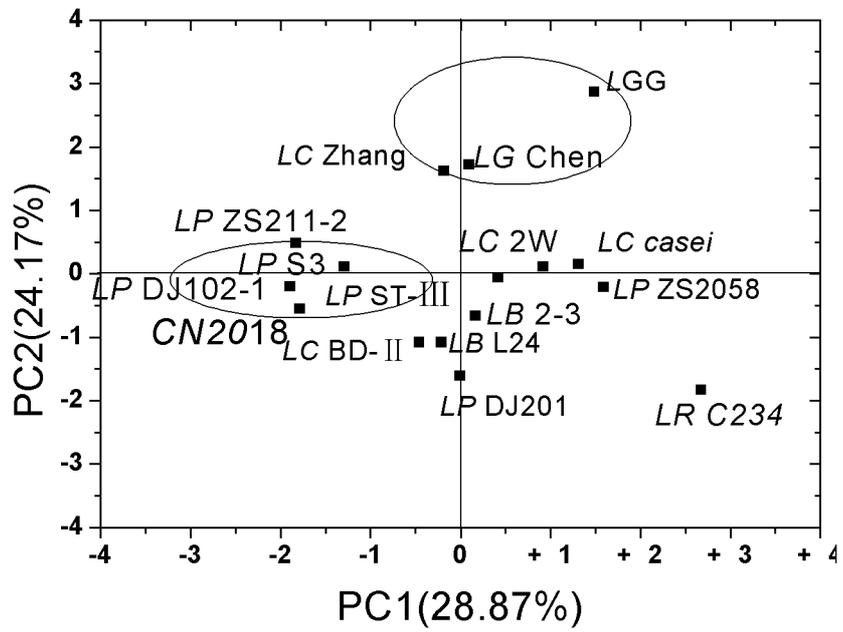


图 2

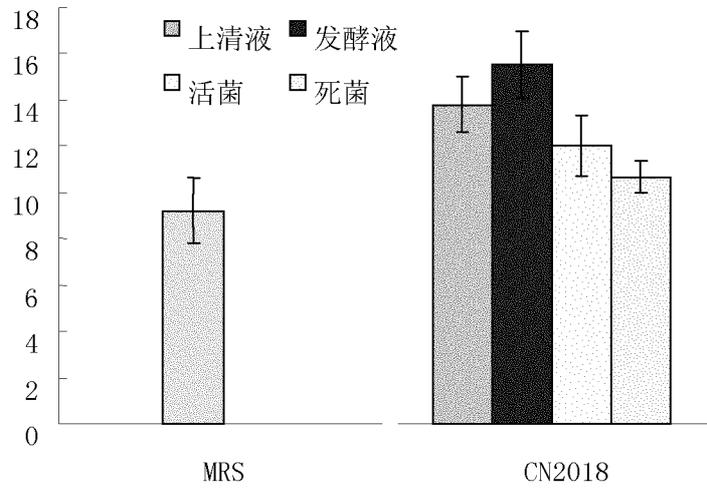


图 3

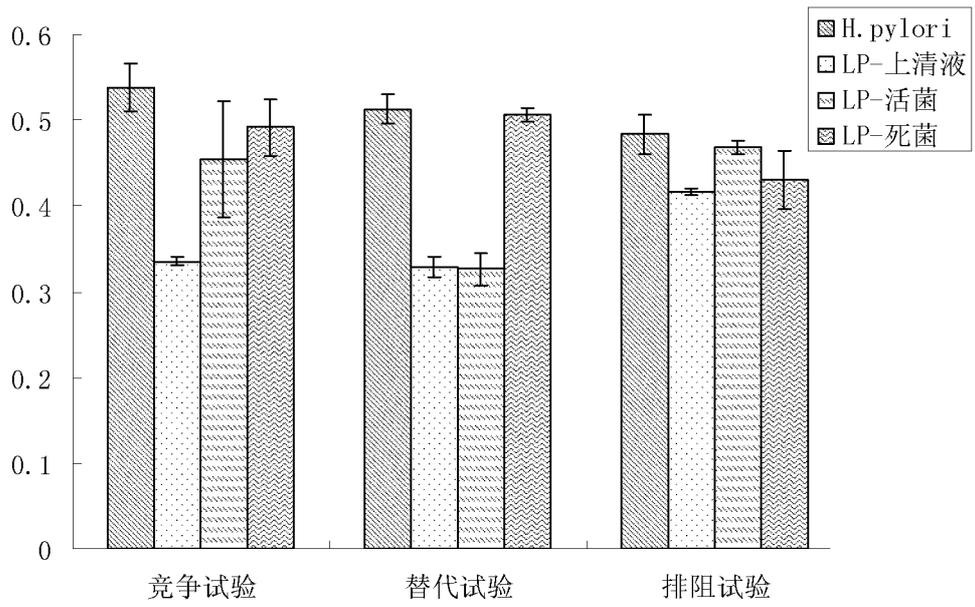
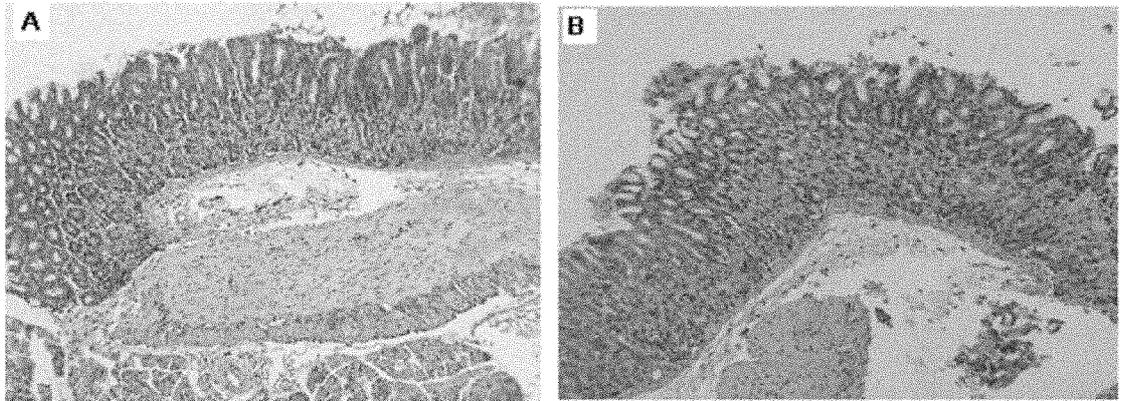


图 4



A: *H. pylori* SS1 感染组

B: CN2018 干预组

图 5