

乳酸菌降胆固醇作用研究现状

剧 柠¹ 王晓兰² 李 泽¹ 靳 烨^{1*}

(1. 内蒙古农业大学食品科学与工程学院 内蒙古 呼和浩特 010018)

(2. 内蒙古工业大学 内蒙古 呼和浩特 010051)

摘 要: 本文综述了国内外关于乳酸菌在体内及体外降低胆固醇的研究进展, 并对乳酸菌降胆固醇的作用机制进行了探讨, 提出目前在研究中存在的一些问题, 以期对乳酸菌的进一步开发和利用提供帮助。

关键词: 乳酸菌, 降胆固醇, 作用机制

The State of the Art on the Mechanisms of Lactic Acid Bacteria in Reducing Cholesterol

JU Ning¹ WANG Xiao-Lan² LI Ze¹ JIN Ye^{1*}

(1. Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

(2. Inner Mongolia University of Technology, Hohhot, Inner Mongolia 010051, China)

Abstract: This paper reviewed the research progression in lactic acid bacteria which can reduce the cholesterol in vivo and in vitro. It also approached the function and the mechanism of lactic acid bacteria in decreasing serum cholesterol, proposed some problems existing in the research. All these will be useful to the exploitation and utilization of lactic acid bacteria.

Keywords: Lactic acid bacteria, Assimilation cholesterol, Mechanism

血清胆固醇水平直接关系到人们的健康。血清中胆固醇含量过高容易引发高血压, 冠心病等心血管疾病。以正常胆固醇水平为基础, 血清胆固醇每升高 1 mmol, 机体患冠心病的危险大约增加 35%, 冠心病死亡的危险增加 45%。血清胆固醇每减少 1%, 患冠心病的危险性就降低 2%~3%^[1]。研究表明, 乳酸菌(主要是乳杆菌和双歧杆菌)具有减少血清中的胆固醇含量, 降低心血管疾病发病率的功效。因此, 研究人员开展了一系列乳酸菌降低胆固醇的实验, 旨在发现其作用机理, 开发功能性乳酸菌制品, 以满足人们的需要。

1 体外试验研究进展

1984 年, Gilliland 等报道, 分离自猪粪便的嗜酸乳杆菌在实验条件下生长能够吸收培养基中的胆固醇^[2]。该方法被作为体外初筛的基本条件广泛应用。随着人们不断的深入研究, 发现乳酸菌吸收胆固醇受多方面因素的影响。

1.1 不同菌株及其生长情况对吸收胆固醇的影响

研究者对不同菌株的降胆固醇效果进行研究, 发现菌株不同降胆固醇效果不同。目前研究过的具有降胆固醇的效果的乳杆菌很多(表 1), 其中以对长

* 通讯作者: Tel: 86-471-4309230; E: jinyeyc@yahoo.com.cn
收稿日期: 2008-06-05; 接受日期: 2008-08-25

双歧杆菌, 两歧双歧杆菌, 嗜酸乳杆菌降胆固醇效果研究最多。

对于同一菌株, 其生长情况不同降胆固醇效果也不相同。Pereira 等^[3]对 37 °C 下厌氧培养 12 h 的菌株进行胆固醇吸收的测试, 发现即使是相同菌株在不同的实验批次中都存在巨大差异。在每一批次的 3 个平行实验中菌株的生长和吸收胆固醇的比例也存在微小差异。这说明菌株对胆固醇的吸收能力与菌体生长情况有关。Liong MT 和 Shah NP^[4]在对嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌 37 °C, 20 h 厌氧培养过程中胆固醇的变化研究中也发现, 胆固醇的移除与菌体的生长情况密切相关。

表 1 部分具有降胆固醇作用的乳酸菌 ^[30,31] Table 1 Part of the lactic acid bacteria which have the effect of reducing cholesterol		
<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Bifidobacterium</i> sp.	Other microbes
<i>L. fermentum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. longum</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>L. pentosus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Enterococcus durans</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>B. animalis</i>	<i>E. gallinarum</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. thermophilum</i>	<i>E. faecalis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. indicum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. coryneform</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	
<i>L. crispatus</i>		
<i>L. johnsonii</i>		
<i>L. gasseri</i>		

1.2 益生元的影响

在培养基中添加不同益生元对乳酸菌降胆固醇具有促进作用。Pereira^[5]的实验表明, 半乳寡聚糖(GOS)促进发酵乳杆菌生长的同时也可以提高其降胆固醇的效果。同样, Liong MT 和 Shah NP^[6]利用表面反应法对 6 种益生元进行分析, 选出干酪乳杆菌、低聚果糖和糊精-麦芽糖复合剂的最佳配比, 可以有效提高降胆固醇效果。此外, 实验证明添加 0.05% Tween 80 能提高嗜酸乳杆菌的降胆固醇能力。然而, 当添加量变为 1.0%时会抑制其吸收能力。

1.3 pH 值对吸收胆固醇的影响。

Klaver^[7]、Noh^[8]、Brashtears^[9]等的实验表明, 菌体吸收胆固醇与培养基的 pH 相关。实验发现嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和两歧双歧杆菌, 在控制培养基 pH 在 6.0 以上情况下生长比不控制 pH 时吸收更

多的胆固醇。并推测其中原因可能是由于胆盐水解酶(BSH)水解共轭胆盐为游离胆盐, 当 pH<6.0 时, 游离胆盐与胆固醇形成共沉淀, 使得培养基中胆固醇显著下降。Tahri K 等^[10]分析了在含有胆盐和胆固醇培养基中生长下的菌体, 发现培养基中的胆固醇含量与菌体生长时 pH 相关。吸收量随 pH 降低而增加。究其原因, 一方面随 pH 降低, 菌体密度增大, 其吸收胆固醇的能力也增强; 另一方面, 随 pH 降低, 胆固醇和胆盐形成共沉淀, 使培养基中胆固醇下降。

1.4 胆盐浓度及种类的影响

双歧杆菌在有 0.3% oxgall 存在下, 生长受到抑制, 但其降胆固醇能力却大大增加^[10]。0~4 g/L 的范围内, 随着浓度的增大, 培养基中的胆固醇含量呈下降趋势, 但胆盐质量浓度超过 4 g/L 以后, 培养基中的胆固醇含量却有所上升^[11]。一些实验证明^[12,13]乳酸菌在一定浓度的胆盐存在的条件下能更好的吸收胆固醇。因此, 能够耐受一定浓度胆盐的乳酸菌成为筛选益生菌的一个条件。不同菌株对胆盐的耐受性不同, 但耐受胆盐的菌株并不一定能够吸收更多的胆固醇。

不同种类胆盐对乳酸菌的生长及降胆固醇效果也存在着不同程度的影响。Tahri K 等^[10]认为脱结合胆盐与结合胆盐相比, 在抑制菌体生长方面作用更明显。菌体对胆固醇的吸收在结合胆盐存在时比在脱结合胆盐存在时效果明显。这主要是由于一方面, 菌体生长的好坏影响到吸收胆固醇的程度, 另一方面, 结合胆盐被胆盐水解酶分解, 改变胆固醇代谢, 以减少胆固醇。

1.5 胆盐水解酶与胆固醇的作用

胆盐水解酶(BSH)作为肝肠循环中水解结合胆盐(主要是甘氨酸胆盐和牛磺胆盐)为游离胆盐的物质已经在一些乳酸菌中发现。由于没有脱结合胆盐作用的菌体并未表现出明显移除胆固醇的性质, 所以胆盐水解酶被普遍认为是衡量脱结合胆盐能力, 筛选益生菌降胆固醇的一个条件。目前用于测定和比较胆盐水解酶活性的方法有沉淀圈法^[14]、HPLC 法^[15]和薄层层析法。在结合胆盐中, 甘氨酸胆盐更容易被胆盐水解酶水解。胆盐水解酶活性与 pH 值、温度、金属离子、巯基抑制剂有关^[16]。

1.6 其它因素对降胆固醇的影响

Nakajima 等^[17]报道饲喂大鼠产胞外多糖的乳酸菌发酵的酸乳能够显著降低血胆固醇水平, 而不产

胞外多糖的乳酸菌不具备这一性质。据体外实验证明,产胞外多糖的德氏乳杆菌、嗜热链球菌能够结合游离胆酸,通过改变胆固醇代谢平衡来降低胆固醇。

2 动物和人体实验研究进展

大量的实验使人们对乳酸菌在体外能够降胆固醇的作用表示认同。然而人们对体外的研究最终是希望筛选出的菌株能够运用到体内,发挥其降胆固醇的作用。研究者用不同动物做了一系列试验,证明乳酸菌在体内的作用。

Gilliland^[18]通过给猪喂饲含有嗜酸乳杆菌的脱脂乳能显著抑制血清中胆固醇的增高。De Rodas等^[19]给用高脂饲料的饲喂过的猪喂饲 2.5×10^{11} CFU/mL 嗜酸乳杆菌,结果发现食用嗜酸乳杆菌组猪血清中总胆固醇比未饲菌组降低 11.8%,血清中胆汁酸含量降低了 23.9%。推测饮食中的嗜酸乳杆菌通过改变胆酸的肝肠循环来降低胆固醇。De Smet等^[20] (1998)选用胆盐水解酶活性较高的罗伊氏乳杆菌降猪血清中胆固醇,总胆固醇和低密度值降低,但高密度脂没有显著变化。Akalin 的实验证明,嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌可以显著降低鼠血清总胆固醇和低密度脂的含量。Taranto等^[21]证实,罗伊氏乳杆菌可显著降低鼠的胆固醇。Usman 和 Hosono^[22]、Hendriks等^[23]、Xiao等^[24]分别用加氏乳杆菌、干酪乳杆菌和双歧杆菌进行动物实验,验证了它们降胆固醇的效果。肖琳琳^[25]用从西藏传统发酵乳中分离的乳酸菌,饲喂高脂血小鼠模型,结果表明,实验组小鼠血清中 TC、TG 浓度较对照组显著降低。孙立国等^[26]在对大鼠的实验中发现植物乳杆菌 ST- 可有效降低大鼠中的血清胆固醇水平。高剂量的 ST- 还可以显著提高大鼠血清的高密度脂蛋白。周雨霞^[27]对出自内蒙古牧区的传统乳制品的乳酸菌的研究发现一株植物乳杆菌对大鼠血脂有一定的调节作用,但作用只在短时间内有效。

研究者也开展了一些人体试验。Xiao等^[24]用一种双歧杆菌发酵牛奶制品给人服用,实验证明人的血浆胆固醇浓度明显下降。Kiebling等^[28]在对 29 名不同年龄的女性的研究中发现,长期饮用发酵乳制品可以提高高密度脂蛋白,从而使低密度脂蛋白与高密度脂蛋白的比率下降。研究中也发现有些菌株

对人体并不起作用。De Roos等^[29]在对 78 名健康男女的研究中发现服用含 *L. acidophilus* L1 的酸乳酪并没有降低志愿者的血浆胆固醇浓度。

3 机理探讨

针对乳酸菌降低胆固醇作用的机理,国内外研究者们最近 20 年间开展了广泛的科学研究。但目前依然有几种观点并存,其中以吸收同化作用和共沉淀作用为主要作用。

3.1 吸收同化作用

体外研究表明,在厌氧条件下培养的乳酸菌可以吸收介质中的胆固醇。Gilliland^[2]、王立平等^[32]在培养基中添加胆固醇,分别对嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌进行研究,发现这些乳杆菌厌氧培养后,培养基中的胆固醇含量降低。破碎细胞后发现细胞内胆固醇含量增加。说明菌体细胞吸收了胆固醇。虽然菌体细胞吸收胆固醇的机制尚未经过动物及人体实验证实,但是可以因此推测,细菌细胞可以吸收肠道中的胆固醇,从而减少机体对胆固醇的吸收,导致体内血清中胆固醇的含量降低。

此外,还有研究报道,乳酸菌吸收胆固醇到菌体的细胞壁或细胞膜上,变为细胞壁或细胞膜的一部分。Gilliland等通过测定 ATPase 活性证明,不控制 pH 时细胞膜中的胆固醇浓度高于全细胞的浓度,也高于控制 pH 6.0 时菌体细胞膜中的浓度。实验表明,细胞膜中也存在少量胆固醇。Noh DO^[8]、肖琳琳^[25]分别对加胆固醇和不加胆固醇的培养基下生长的乳酸菌进行超声处理后发现,前者更耐超声处理。原因可能是吸收到细胞壁(膜)中的胆固醇改变了细胞的组成,增加了膜的韧性,从而使菌体抗性增强。

3.2 共沉淀作用

研究表明,乳酸菌的胆盐水解酶能水解结合胆盐为游离胆酸,与胆固醇形成共沉淀。Tahri等在不同 pH 的培养基中添加胆固醇和不同胆盐(包括结合胆盐和非结合胆盐),结果发现酸性条件下游离胆盐与胆固醇共沉淀的量要高于 pH 6.0 以上的量,这说明胆固醇只与游离胆盐发生共沉淀,结合胆盐不具备这一性质。菌体能够在含结合胆盐的培养基中与胆固醇发生共沉淀,其主要原因是菌体中的胆盐水解酶水解结合胆盐为游离胆盐,后者与胆固醇形成

共沉淀。体内,胆盐水解酶在降胆固醇过程中起如下作用:(1)胆盐水解酶作用后产生的游离胆酸在肠道内不被重复吸收而由粪便排出,导致其在肠肝系统循环次数减少,从而增加了胆酸的生物合成。而胆固醇是形成胆酸的前体物,部分胆固醇需要转化为胆酸弥补被分解后排出体外的部分,这样就加速了胆固醇的分解代谢,从而导致胆固醇浓度的降低。(2)胆盐水解酶水解结合胆盐变为游离胆酸,从而使胆盐溶解度降低,与胆固醇一起沉淀下来,不被利用排出体外。胆盐和胆固醇共沉淀的作用受胆盐浓度,胆盐种类,培养基的 pH 值,菌种及菌体密度的影响。适当浓度的胆盐,较低的 pH 值和较高的菌体密度有利于胆固醇的沉淀。

4 存在的问题

虽然大量的实验证明乳酸菌能够降低胆固醇,但是在一些方面仍然存在诸多问题。主要表现在:

(1) 实验证明胆盐水解酶在降低胆固醇时起着重要作用,但仍有个别相反例证证明含有高胆盐水解酶的菌株不具备降低胆固醇的效果。这就告诉人们在筛选降胆固醇的乳酸菌时,胆盐水解酶的高低不能作为唯一标准,从而增加了筛选难度。

(2) 被分解的胆盐虽然不会被人吸收,但有可能被微生物降解为次生胆盐,而后者是公认的致癌物,对人体健康产生潜在危害。如果乳酸菌作为益生菌体被人体食用,其这方面的安全性必须加以考虑。

(3) 不同的菌株降血脂的功效不同,即使同一具有降血脂功效的菌株,不同的实验人群服用后也效果也会截然不同。并且有的服用后随时间的延长功效会有降低的现象出现。

参 考 文 献

- [1] Manson JE, Tosteson H, Ridker PM, *et al.* The primary prevention of myocardial infarction. *New England Journal of Medicine*, 1992, **326**: 1406–1416.
- [2] Gilliland SE, Nelson CR, Maxwell C. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 1985, **49**: 377–381.
- [3] Pereira DIA, Gibson GR. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**: 4689–4693.
- [4] Liong MT, Shah NP. Acid and bile tolerance and chole-

sterol removal ability of *Lactobacilli* strains. *J Dairy Sci*, 2005, **88**: 55–66.

- [5] Dora IA Pereira, Anne L McCartney, Glenn R Gibson. An *in vitro* study of the probiotic potential of a Bile-Salt-Hydrolyzing *Lactobacillus fermentum* strain, and determination of its cholesterol-lowering properties. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 4743–4752.
- [6] Liong MT, Shah NP. Optimization of cholesterol removal by probiotics in the presence of prebiotics by using a response surface method. *Appl Environ Microbiol*, 2005, **71**: 1745–1753.
- [7] Frank AM, Klaver Roelof Van Deer Meer. The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating Activity. *Appl Environ Microbiol*, 1993, **59**: 1120–1124.
- [8] Noh DO, Kim SH, Gilliland SE. Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *J Dairy Sci*, 1997, **80**: 3107–3113.
- [9] Brashears MM, Gilliland SE, Buck LM. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus casei*. *J Dairy Sci*, 1998, **81**: 2103–2110.
- [10] Khalid Tahri, Jean Pierre Grill, Francois Schneide. Involvement of trihydroxyconjugated Bile salts in cholesterol assimilation by *Bifidobacteria*. *Current microbiology*, 1997, **34**: 79–84.
- [11] Lu Bing, Xia Wen Shui, Zhang GuoNong. Study of the *in vitro* cholesterol reducing effects of *Lactobacillus plantarum* isolated from Kefir. *China Dairy Industry*, 2004, **32**: 3–5.
- [12] Dambekodi PC, Gilliland SE. Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Bifidobacterium longum*. *J Dairy Sci*, 1998, **81**: 1818–1824.
- [13] Min Zhang, Xiaomin Hang, Xiaobing Fan, *et al.* Characterization and selection of *Lactobacillus* strains for their effect on bile tolerance, taurocholate deconjugation and cholesterol removal. *World J Microbiol Biotechnol*, 2008, **24**(1): 7–14.
- [14] 韩俊华. 嗜酸乳杆菌的益生特性及其在乳品中的应用. 河北农业大学硕士毕业论文, 2003.
- [15] Corzo G, Gilliland SE. Measurement of bile salt hydrolase activity from *Lactobacillus acidophilus* based on disappearance of conjugated of bile salts. *J Dairy Sci*, 1999, **82**: 466–471.
- [16] Grill J, Schneider F, Crociani J, *et al.* Purification and characterization of conjugated BSH from *Bifidobacterium longum* BB536. *Appl Environ Microbiol*, 1995, **61**(7): 2577–2582.
- [17] Nakajima H, Suzuki Y, Kaizu H, *et al.* Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk. *J Food Sci*, 1992, **57**(6): 1327–1329.
- [18] Gilliland SE, Nelson CR, Maxwell C. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ*

- Microbiol*, 1985, **49**: 377–381.
- [19] De Rodas BZ, Gilliland SE, Maxwell CV. Hypocholesterolemic action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and calcium in swine with hypercholesterolemia induced by diet. *J Dairy Sci*, 1996, **79**: 2121–2128.
- [20] De Smet I, Van Hoorde L, et al. *In vitro* study of bile salt hydrolase(BSH) activity of BSH isogenic *Lactobacillus plantarum* 80 strains and estimation of cholesterol lowering through enhanced BSH activity. *Microb Ecol Health Dis*, 1994, **7**: 315–329.
- [21] Taranto MP, Medici M, Perdigon G, et al. Evidence for hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus reuteri* in hypercholesterolemic mice. *J Dairy Sci*, 1998, **81**: 2336–2340.
- [22] Usman, Hosono A. Effect of administration of *Lactobacillus gasseri* on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic rats. *J Dairy Sci*, 2000, **83**: 1705–1711.
- [23] Hendriks, Franco Dellaglio. Assessment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. *International Dairy Journal*, 2004, **14**: 723–736.
- [24] Xiao J Z, Kondo S, Takahashi N, et al. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *J Dairy Sci*, 2003, **86**: 2452–246.
- [25] 肖琳琳, 董明盛. 西藏干酪乳酸菌降胆固醇特性研究. *食品科学*, 2003, **24**: 142–145.
- [26] 孙立国. 植物乳杆菌 ST- 对实验性动物高胆固醇血症影响的研究. *乳业科学与技术*, 2004, **4**: 150–152.
- [27] 周雨霞. 内蒙古牧区传统乳制品中乳杆菌生物学特性及其益生作用的研究. 内蒙古农业大学博士毕业论文, 2006.
- [28] Kiebling G, Schneider J, Jahreis G. Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2002, **56**: 843–849.
- [29] De Roos NM, Schouten G, Katan MB. Yoghurt enriched with *Lactobacillus acidophilus* does not lower blood lipids in healthy men and women with normal to borderline high serum cholesterol levels. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1999, **53**: 277–280.
- [30] 韩俊华, 盛晓甘, 董彩凤, 等. 乳酸菌降胆固醇作用研究现状. *中国乳品工业*, 2002, **30**(31): 6–20.
- [31] 赵佳锐, 杨虹. 益生菌降解胆固醇的作用及机理研究进展. *微生物学报*, 2005, **45**(2): 315–319.

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于1974年,是中国微生物学会和中国科学院微生物研究所主办,国内外公开发行人,以微生物学应用基础研究及高新技术创新、应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:基础微生物学研究;农业微生物学研究;工业微生物学研究;医学微生物学研究;食品微生物学研究;环境微生物学研究;微生物功能基因组研究;微生物蛋白组学研究;微生物模式菌株研究;微生物工程与药物研究;微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国生物科学类核心期刊。曾获国家级优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,2000年再获中国科学院优秀期刊三等奖,2001年被选入新闻出版署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自2008年本刊已经全新改版,由双月刊改为月刊,更换了彩色封面,纸张改用铜版纸,由原来的小16开本改为标准大16开本(210×297),发表周期缩短,内容更加丰富详实。欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买,2009年的每册定价为48元,全年576元,我们将按期免费邮寄。

另,本刊编辑部现存有少量过期期刊,如有需要者可直接与编辑部联系,款到即免费寄上。(请事先与编辑部联系,获悉每册售价。敬请在汇款单上注明所购刊物的年代、卷、期和数量)

邮购地址:(100101)北京朝阳区大屯路中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel:(010)64807511; E-mail:tongbao@im.ac.cn; bjb@im.ac.cn; Http://journals.im.ac.cn

国内邮发代号:2-817; 国外发行代号:BM413