

胆汁酸盐和低 pH 值对乳酸菌活性的影响

顾瑞霞 谭东兴 郭久和 赵淑萍

(扬州大学农学院食品科学系, 扬州 225009)

摘要 本文比较了几种乳酸菌对胆汁酸盐的耐受性和 pH 值的残活能力。研究结果表明, 在 0.2% 的 MRS 或 BM 培养基上, 婴儿双歧杆菌的生长速率受到的抑制最小, 依次为嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌。胆汁酸盐对其生长的完全抑制浓度分别为 1.5%、1.2%、0.5% 和 0.3%。在 pH3 时, 嗜热链球菌活菌数量降低较为明显, 在 pH2 时, 在 37℃ 1h 过程中, 婴儿双歧杆菌活菌数量基本不变; 嗜酸乳杆菌在 37℃ 20min 后, 活菌数量迅速降低; 保加利亚乳杆菌数量在 37℃ 20min 时几乎为零。

关键词 胆汁酸盐, 低 pH 值, 活性, 乳酸菌

近一个世纪以来, 乳酸菌的保健作用得到了广泛而深入的研究^[1~3]。现在已确认能在人体肠道内定殖并存活乳酸菌, 对人体的健康将发挥着巨大的贡献^[1, 4]。食入的乳酸菌能否在肠道内定殖取决于三个因素: (1) 能抵御体内不良环境, 并能以活性状态到达大肠; (2) 细菌必须具有粘附力; (3) 机体必须有被粘附的场所^[1, 3]。通常从体内(粪便中)分离得到的乳酸菌, 像嗜酸乳杆菌、双歧杆菌等具有抗不良环境和粘附力, 但刚分离得到的这些乳酸菌, 特别是双歧杆菌对外界环境(如光线、氧等)较敏感, 应用于产品生产, 必须对其耐氧性等方面加以驯化, 使之更能适应粗放的工业化生产, 但菌种这些特性的改变, 是否还具备抵御体内不良环境的能力。胃肠道的杀菌作用, 主要是低 pH 值和高胆汁酸盐(人体消化道正常 pH 值范围为 2~8, 正常胆汁酸盐浓度为 0.3%~0.5%)。本试验就我们分离、筛选、驯化的一株婴儿双歧杆菌和其它几种乳酸菌抗低 pH 值和胆汁酸盐的能力, 进行了探讨, 其结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 菌种

婴儿双歧杆菌 (*Bifidobacterium infantis*), 为本室从婴儿粪便中分离、驯化、保藏菌种; 嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus* CH2)、保

加利亚乳杆菌 (*L. bulgaricus* CH2) 和嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus* CH2) 均丹麦 Chr Hansen Company 冻干菌种。

1.2 培养基

MRS 培养基用于培养嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌, BM 培养基用于培养婴儿双歧杆菌、嗜热链球菌^[5]和 MRSO 琼脂培养基用于嗜酸乳杆菌计数。

1.3 乳酸菌对胆汁酸盐的耐受测定

1.3.1 胆汁酸盐对乳酸菌生长速率的影响: 分别在 MRS 培养基和 BM 培养基中, 添加 0.2% 的牛胆酸钠 (BA), 接种 5% 的乳酸菌菌种, 测定其在 42℃、37℃ 培养过程中 (0~6h) 吸光度的变化 (MRS 为 OD_{600nm}, BM 为 OD_{660nm}), 并按下式计算生长速率^[6]:

$$\mu = \frac{\ln X_{(t)} - \ln X_{(0)}}{t}$$

式中: X(t) 和 X(0) 分别为时间 t 和开始时的细胞密度; μ 为生长速率 (h^{-1}); ln: 是自然对数。

1.3.2 胆汁酸盐对不同乳酸菌的最大抑制浓度: 分别在 MRS、BM 培养基中, 添加 0.2%、0.3%、0.5%、0.7%、1.0%、1.2%、1.5%、1.7%

江苏省自然科学基金资助项目

1994-06-13 收稿

的牛胆酸钠,接种 5%的乳酸菌菌种,测定其培养 6h 后光密度的变化,并计算 $\Delta OD[\Delta OD = OD_{(6)} - OD_{(0)}]$ 。

1.4 低 pH 值对乳酸菌活性的影响

分别在 MRS 和 BM 培养基中,用 1mol/L HCl 调节 pH 为 4, 3, 2, 接入 5%的乳酸菌菌种,于 37°C 下,用活菌平皿计数法测定 0~60min 培养过程中的活菌数量。双歧杆菌、嗜热链球菌用 BM 琼脂培养基计数^[5];嗜酸乳杆菌用 MRSO 琼脂培养基计数^[7];保加利亚乳杆菌用 MRS 琼脂培养基计数^[8]。

2 结果

2.1 胆汁酸盐对乳酸菌生长速率的影响

在 0~6h 培养过程中,胆汁酸盐对乳酸菌生长速率的影响,从图 1 中可以看出,胆汁酸盐对这几种菌均具有抑制作用。其中,对婴儿双歧杆菌生长的抑制作用较小,其次为嗜酸乳杆菌,而保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌在 0.2% 胆汁酸盐浓度下已基本得到抑制。

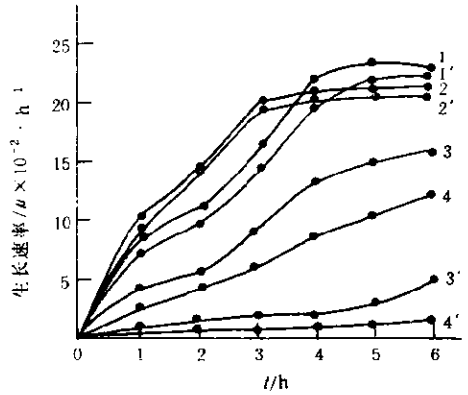


图 1 胆汁酸盐对乳酸菌生长速率的影响

1,1'嗜酸乳杆菌 (1'为添加 0.2%牛胆酸钠,下同) 2,2'婴儿双歧杆菌 3,3'保加利亚乳杆菌 4,4'嗜热链球菌

2.2 乳酸菌的胆汁酸盐最大耐受浓度

乳酸菌在不同胆汁酸盐浓度下,经 6h 培养后,培养液的吸光度变化,从表 1 中可以看出,婴儿双歧杆菌的最大胆汁酸盐抑制浓度为 1.5%,嗜酸乳杆菌则为 1.2%,而保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌则均在 0.2%~0.7% 范围内。

表 1 乳酸菌经 6h 培养后吸光度的变化

乳酸菌	不同 BA 添加量(%)的 ΔOD 值							
	0.2	0.3	0.5	0.7	1.0	1.2	1.5	1.7
婴儿双歧杆菌(37°C)	0.92	0.83	0.80	0.73	0.64	0.48	0.09	0.10
嗜酸乳杆菌(37°C)	0.73	0.64	0.56	0.48	0.32	0.11	0.10	-0.04
保加利亚乳杆菌(42°C)	0.09	0.05	0.07	-0.01	0.08			
嗜热链球菌(42°C)	0.17	0.09	0.04	0.01	-0.02			

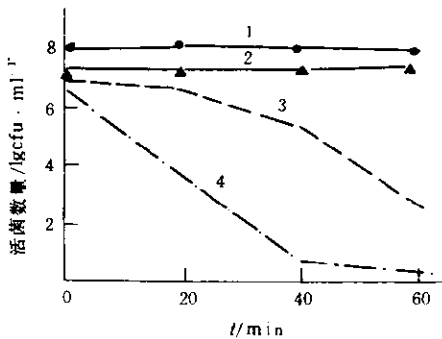


图 2 MRS 培养基(pH3)中乳酸菌活菌数量的变化(37°C)

1. 婴儿双歧杆菌 2. 嗜酸乳杆菌 3. 保加利亚乳杆菌
4. 嗜热链球菌

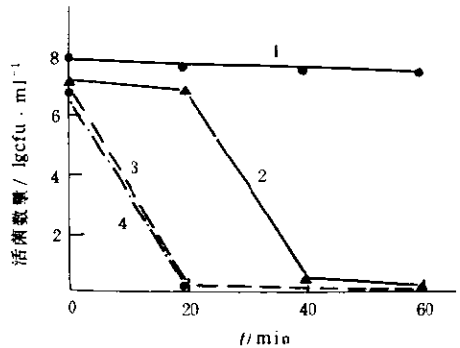


图 3 MRS 培养基(pH2)中乳酸菌活菌数量的变化(37°C)

(图中,1~4 注释同图 2)

2.3 低 pH 值对乳酸菌存活的影响

四种乳酸菌在 pH4 时,活菌数量未发生多大变化;而在 pH2 和 pH3 时,其活菌数量的变化从图 2,图 3 中可以看出,pH3 时,婴儿双歧杆菌和嗜酸乳杆菌的数量在 1h 内未发生多大变化,而嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的数量明显降低。在 pH2 时,婴儿双歧杆菌活菌数量仍然保持不变,而嗜酸乳杆菌数量在 20min 后迅速降低。

3 结论

通过本试验发现婴儿双歧杆菌和嗜酸乳杆菌比嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌具有更强的抗胆汁酸盐能力,同时在低 pH 值 (pH2) 环境下,亦具有较高的存活率,尤其是婴儿双歧杆菌,经驯化后在厌氧、兼性厌氧条件下均生长良好,同时对光亦不敏感,具有较强的抗胆汁酸盐能力和在低 pH 值下存活能力,活体试验表明该菌能抵御胃肠道区域环境影响,因此采用双歧杆菌和嗜酸乳杆菌发酵制成摄生生物食品

(含有活性有益微生物的食品),将对人体保健具有更为明显的食疗价值,因此应用于发酵食品的生产,具有巨大潜力。

参 考 文 献

- [1] 顾瑞霞,谢继志. 乳酸菌与人体保健,北京:科学出版社,1995,49~137.
- [2] 顾瑞霞. 微生物学通报,1992,19(3):183~185.
- [3] Bniam J, B Wood. The Lactic Acid Bacteria, Vol.1. London and New York, 1992, 151~331.
- [4] Robinson R K. Therapeutic Properties of Fermented Milk. London and New York, 1990, 23~155.
- [5] Rasic J Li, J A Kumann. Bifidobacteria and Their Role Switzerland, 1983, 87~105.
- [6] Marie-Line Desjardins, Denis Roy. J of Dairy Sci. 1990, 73: 299~307.
- [7] 顾瑞霞,罗珍兰. 食品科学,1992,(5):10~13.
- [8] 顾瑞霞,许泉法,陆贵平译. 发酵乳科学与技术,南京:东南大学出版社,1991.

EFFECT OF BILE AND LOW pH ON THE ABILITY OF LACTIC ACID BACTERIUM TO SURVIVE

Gu Ruixia Tan Dongxin Guo Jiuhuo Zhao Shuping

(Department of Food Sci, Agriculture College of Yangzhou University, Yangzhou 225009)

Abstract Lactic acid bacterium were evaluated to determine the bile tolerance and low pH on the ability to survive in broth. Various lactic acid bacterium varied in their ability to grow in MRS or BM broth containing 0.2% oxgall compared with control broth. Bile tolerance concentration of *B. infantis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* were 1.5%, 1.2%, 0.5% and 0.3%, respectively. They were suspended in MRS broth at pH 2,3 and 4 incubated 37°C for 1h. At pH 4 in broth, the number of cells were no signifucaty reduced in 1 h. At pH 3, viable cells of *S. thermophilus* was reduced rapidly after 20 min. At pH2, no viable cells were recovered after 30min except *B. infantis*.

Key words Bile tolerance, Low pH, Activity, lactic acid bacteria