

双歧杆菌的功能特性及其应用前景

闫磊¹, 王巍¹, 曾庆祝², 郭恒斌¹

(1. 大连水产学院食品工程系, 辽宁 大连 116023) (2. 广州大学食品工程系, 广东 广州 510006)

摘要: 双歧杆菌作为肠道有益菌群之一, 正越来越多地被应用到食品工业中。本文介绍了双歧杆菌的生物与保健功能特性, 以及双歧杆菌的开发应用前景。

关键词: 双歧杆菌; 功能; 益生菌

中图分类号: TS201.3; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)03-0086-04

Function and Application of Bifidobacterium(BFB)

YAN Lei¹, WANG Cui¹, ZENG Qing-zhu², GUO Heng-bin¹

(1. Department of Food Engineering, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China)

(2. Department of Food Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510640, China)

Abstract: As one of the most important probiotics, bifidobacterium has been widely used in food industry. Its biologic and healthy functions and the application prospects were discussed in this article.

Key words: bifidobacterium; function; salubrious bacterias

1 双歧杆菌的生物特性及分类

双歧杆菌(bifidobacterium, BFB)是一种专性厌氧、不运动、无芽孢的杆菌;属革兰氏阳性,其染色不规则,过氧化氢酶呈阴性,一般有2~3个颗粒;形态多变,常因种、龄及生长环境不同而呈现弯曲杆形、L或Y形等多种形态;菌落光滑,凸圆,边缘完整,乳脂呈白色,闪光并有柔软质地。根据DNA的同源性和糖发酵研究发现,双歧杆菌属共分为24个种,而人类来源的只有12个种,其中能在人体肠道内定植并能用于制备保健食品的双歧杆菌主要有两歧双歧杆菌(Bifidobacterium bifidum)、青春双歧杆菌(Bifido. adolescentis)、婴儿双歧杆菌(Bifido. infantis)、短双歧杆菌(Bifido. breve)和长双歧杆菌(Bifido. longum)5种^[1]。

2 双歧杆菌的保健功能

2.1 调节免疫功能

双歧杆菌的免疫研究表明^[2],其细胞壁上的肽聚糖可刺激肠道的免疫细胞,激发机体产生免疫抗体,提

收稿日期: 2006-12-21

基金项目: 大连市优秀青年基金项目(2005J22JH049)

作者简介: 闫磊(1981-),男,在读硕士研究生,研究方向:水产品质量与安全控制

通讯作者: 曾庆祝(1965-),男,教授

高巨噬细胞活性,增强机体抗病力。

Sekine等^[3]报道婴儿型双歧杆菌的完整肽聚糖(whole peptidoglycan, WPG)能激活小鼠腹腔巨噬细胞,使其IL-1、IL-12以及TNF- α 的mRNA的表达增强。Hatcher等^[4]证实长双歧杆菌能增强小鼠巨噬细胞吞噬沙门氏菌的能力。Ishihara等^[5]将青春双歧杆菌的WPG注射于恶性黑色素瘤患者的皮肤转移灶内,发现它能使转移灶体积明显缩小,效果与IFN- γ 相当。

蓝景刚等^[6]给小鼠腹腔注射BFB后,发现动物脾脏LAK、NK细胞活性,以及腹腔局部巨噬细胞来源的IL-1、IL-6和TNF等细胞因子活性增强,从而提高了宿主机体的特异性和非特异性免疫功能。给健康儿童食用含单双歧杆菌的食品21 d,其粪便中IgA水平显著增加,提高了胃肠道黏膜的免疫和抗感染能力。

双歧杆菌还能增强小肠上皮内淋巴细胞的杀伤活性,加强其在肠道内的免疫监视作用,由此提高宿主机体的特异性和非特异性免疫功能。李平兰等^[7]通过长双歧杆菌TTF活菌、菌体破碎物和发酵上清液3种处理物灌胃正常小鼠和免疫功能低下小鼠的试验发现,长双歧杆菌TTF的3种受试物对环磷酰胺(Cy)造成的免疫功能低下小鼠模型(IDMM)3项免疫指标均有显著($p < 0.05$)或极显著($p < 0.01$)影响,且在此试验选取的3个剂量范围内基本呈量效关系。

2.2 抗癌功能

分叉双歧杆菌的完整肽聚糖可促进巨噬细胞对

IL-1, TNF- α 及NO的分泌,从而提高对肿瘤细胞的杀伤力,降低肿瘤细胞的增殖活性,或通过巨噬细胞产生的免疫活性因子而间接发挥抑瘤作用,有的则是通过增强机体的自然杀伤细胞(NK)发挥抗肿瘤作用。

Pool等^[8]采用50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 双歧杆菌LTA作用于LoVo细胞3 d后,淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)对LoVo细胞的粘附率由9.62%增加到24.42%,并使表达细胞间粘附分子-1(ICAM-1)的细胞数由2.42%增加到27.9%,LoVo细胞上ICAM-1的表达量增加了10倍,表明LTA增强了LoVo细胞对LAK杀伤的敏感性。同时,双歧杆菌能分泌一种降解N-亚硝酸胺的酶,使亚硝酸胺致癌物降解,降低了肠癌的发病率。

动物实验证实双歧杆菌能抑制MathA纤维肉瘤、肝癌、结肠癌、黑色素瘤、肾细胞癌、乳头状甲状腺癌、乳腺癌以及艾氏腹水瘤等肿瘤的生长和成瘤^[9]。

2.3 抗菌消炎功能

双歧杆菌抗菌消炎作用机制在于其能通过细胞磷壁酸与肠黏膜上皮细胞相互作用、密切结合,并与其它厌氧菌形成特异性微生态效应,共同占据肠黏膜表面,构成一个生物学屏障,表现为肠道定植能力,阻止了致病菌与条件致病菌的定植和入侵^[10];双歧杆菌所特有的F6 PPK酶将葡萄糖分解为乙酸和乳酸,降低肠道内的pH值和氧化还原电势(Eh),产生抗菌消炎活性。加之双歧杆菌胆盐水解酶能将胆盐水解成游离胆酸,增强抗菌活性,抑制腐生菌及其它致病菌繁殖^[11]。双歧杆菌产生胞外核苷酶可降解肠黏膜上皮细胞的杂多糖,这些杂多糖是潜在致病菌及其内毒素的受体,因而抑制了致病菌和内毒素在肠黏膜上的粘附^[12]。

涂家珍等^[13]报告,20 μL 3×10^{11} 的BFB DM8504对牙龈卟啉单细胞菌、具核梭杆菌、伴放线菌、放线杆菌和中间普氏菌4种牙周病原菌的抑制率分别为57.21%、49.36%、43.00%和48.21%,故可用于防治牙周炎。此外,BFB对婴儿轮状病毒肠炎也有一定的治疗作用。BFB作为抗原,还能诱导和激发肠粘膜特有的免疫系统,而发挥抗菌消炎作用^[14]。

2.4 营养功能

BFB本身就是人体必不可少的营养源,它能自身合成人体所必需的维生素B1、B2、B6、B12、叶酸、烟酸等多种维生素、氨基酸和蛋白质类,直接向宿主提供营养物质。BFB还能通过抑制机体内某些维生素分解代谢酶类,以保障机体维生素免遭酶解破坏损失。BFB在肠道内产生的乙酸和乳酸,能明显提高钙、磷、铁等微量元素的利用率及促进维生素D的吸收。双歧杆菌产生的磷蛋白磷酸酶可将乳中酪蛋白降解,有益于酪

蛋白的吸收。它可以作为宿主氮的来源,1997年德国Rostock大学的Heine教授用¹⁵N同位素证明,75%以上的双歧杆菌菌体的氮进入婴儿血液流的蛋白池中^[15]。澳大利亚科学家Hipsley通过实验证实了克雷白氏菌和双歧杆菌是有固氮作用的细菌,可以利用尿素或氨作为氮源合成蛋白质,当人体蛋白质摄入在质和量不足时,肠道菌群的固氮作用就体现出来了。

2.5 改善乳糖不耐症

所有双歧杆菌都含 α 、 β -半乳糖苷酶,且活力明显高于其它肠道菌^[16]。 β -半乳糖苷酶能降解特殊糖类 α -D-半乳糖苷寡糖,这种多糖不能被机体利用但可被双歧杆菌所消化。 β -半乳糖苷酶能分解乳糖,用于乳制品加工中,提高“乳糖不耐症”患者对乳制品的利用率^[17]。此酶活力高,且对不良环境抗性强,故常将双歧杆菌及其培养基添加到食品中,发挥此菌保健功效。

2.6 抗衰老功能

BFB能明显增加血液中超氧化物歧化酶(SOD)的含量及其生物活性,有效促进机体内超氧化自由基发生歧化、封闭和降解,加速体内自由基的清除。10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的BFB对亚油酸过氧化抑制率为28%~48%,对 α 、 α -diphenyl-beta-picrylhydrazyl(DPPH)自由基的清除率为21%~52%,将4-硝基喹啉-N-氧化物对细胞的毒性降低90%,抑制血浆脂质过氧化反应,延缓机体衰老^[18]。

2.7 降血脂功能

双歧杆菌通过影响 β -羟基- β -甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶的活性,控制胆固醇的合成^[17],能将胆固醇氧化还原为类固醇排出体外,减少胆酸和胆固醇的再吸收,使血液及肝脏的胆固醇降低,改善脂质代谢紊乱。Chen等^[19]报道,给高胆固醇大鼠模型喂饲青春BFB与低聚糖组成的微生态调节剂,14 d后,动物血清总胆固醇和甘油三酯的含量基本降到正常水平。张颖等^[20]给临床30例老年原发性高血脂病的患者口服BFB活菌片剂(每片含活菌 5×10^7 个),每次4片,每日3次,疗程4周,结果给药组血液中总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白胆固醇含量均显著低于对照组($p<0.05$),表明双歧杆菌可用于预防动脉粥样硬化和心脑血管疾病。

2.8 护肝功能

肝硬化、慢性肝炎患者长期服用双歧杆菌,则血液中的氨、酚等和尿中的尿兰母含量降低,粪便中双歧杆菌增多,患者食欲增强,体重增加,蛋白质代谢趋于正常,肝功能得到改善。Bermndes等^[21]报道用BFB活菌制剂治疗26例临床肝硬化患者,每次2粒胶囊(每粒含活菌1亿个),每日3次,疗程4周;结果治疗组患者症状改善率70.18%,对照组48.53%。治疗组患者谷

丙转氨酶、血清总胆红素、门静脉压和血氨水平等指标均明显地低于对照组,表明BFB具改善肝功能作用。

2.9 治疗肠道菌群失调性疾病功能

双歧杆菌可促进机体对营养物质的消化吸收,减少氨与其它腐败物质的产生。同时双歧杆菌与其它益生菌一起在机体肠道内通过细胞壁磷壁酸与肠道粘膜上皮细胞相互作用,占据肠粘膜表面,抑制了致病菌的入侵^[22]。腐败菌在机体内产生许多代谢产物如吲哚、甲酚、胺等有害物质,对机体产生损害作用^[23]。双歧杆菌能抑制有害细菌的生长,故能抑制这些物质的产生,同时双歧杆菌还能利用这些物质作为营养源,防止其有害作用。双歧杆菌是肠道内的优势菌,它们在代谢过程中造成厌氧环境,大大抑制那些需氧致病菌的生长繁殖。试验证实,双歧杆菌细胞代谢产生的有机酸使肠道pH值降低^[24],对抑制病原菌的生长繁殖有重要的作用。其中,乙酸的抑菌作用最强,乳酸次之。另外,双歧杆菌将结合胆酸水解为游离胆酸。游离态胆酸抑菌作用较结合态胆酸强,这对维持肠道内微生态平衡非常有益。有些双歧杆菌的种可产生抗菌物质。Anard等^[25]从双歧杆菌(*B.bifidum*)的代谢物中分离出Bifidin的抗菌物质,可抑制黄色微球菌与金黄色葡萄球菌的繁殖。Kang等^[26]从长双歧杆菌(*B.longum*)的代谢物中分离纯化出称为“Bifilong”的抗菌物质,对大肠杆菌、沙门氏菌、粪链球菌与金黄色葡萄球菌表现出抑制活性。双歧杆菌产生的胞外糖苷酶,可降解肠粘膜上皮细胞的杂多糖,由于这些糖是潜在致病的受体,也是结合细菌毒素的受体,因而可抑制潜在的致病菌及其毒素在肠粘膜的粘附,对宿主起保护作用。

2.10 控制内毒素血症功能

BFB代谢产生的有机酸能明显改善肠道的pH值,竞争性结合肠粘膜位点,防止了致病菌在肠道的定植、入侵和易位,抑制了有害菌的生长,缩小了内毒素池,根绝了内毒素源,使血中内毒素水平显著下降^[27]。张宝元等^[28]报道用肺炎杆菌、绿脓杆菌和普通变形杆菌混合菌液灌服大鼠诱发内毒素血症,再用BFB DM 8504活菌液灌胃治疗,结果治疗组动物试验证明,其内毒素转为阴性。

2.11 抗突变机制

关于双歧杆菌的抗突变机制,目前没有明确结论,许多说法只能处于推测阶段。Sreekumar等通过研究双歧杆菌发酵牛奶抗氨基酸热解引起的基因突变后推测,双歧杆菌发酵制品的抗突变能力很可能源于其产生的低聚糖。不同的菌株对引起突变的物质的结合能力有差异,如双歧杆菌对黄曲霉毒素的吸附就与金黄

色葡萄球菌和大肠杆菌有差异。此外,双歧杆菌对肠毒素也有很强的降解能力,而肠毒素也是诱发机体多种细胞突变的因素之一,但其降解机制尚不明确。

除以上功能外,双歧杆菌还可缓解便秘。BFB代谢产生的有机酸类物质可促进肠管蠕动及增加肠管内渗透压,使水分分泌亢进,由于粪便中水分的增高而产生了通便功效,从而缓解了便秘。

3 双歧杆菌的开发应用

3.1 双歧杆菌胶囊

微胶囊技术是近50年才发展起来的新型技术。日本在80年代中期开始对双歧杆菌微囊化进行探索后取得很多专利,如丸山哲彦等将双歧杆菌菌液及淀粉等保护剂与海藻酸钠混合,通过喷嘴喷入CaCl₂固化液中,干燥后再用熔点高于体温的油脂喷涂于颗粒表面,制得的产品室温保存6个月后存活率在50%以上。横田丰一等在1992年采用喷雾冷却法加工双歧杆菌微胶囊,得粒径40~60 μm的胶囊,产品在胃液中(pH=3)存活率90%以上。我国相对起步较晚,李武明^[29]等使用不同的壁材对双歧杆菌微胶囊技术进行了研究。利用微胶囊技术可在很大程度上提高和延长双歧杆菌活菌的保存期、改变双歧杆菌剂产品的形态、提高产品的稳定性,将禁忌的各种成分在同一产品中分离开,使各种不同极性的物质均匀、稳定地分散在一起。

3.2 双歧杆菌药品

双歧杆菌药品常选用婴儿双歧杆菌、青春双歧杆菌、两歧双歧杆菌、长双歧杆菌或短双歧杆菌而制成的单株或双株(与其它益生菌搭配)的活菌制剂,如丽珠肠乐、培菲康、金双歧等。许多中药成分对双歧杆菌具有促生作用,如人参、党参、枸杞、大黄等提取物是良好的促双歧因子。日本富山医科药科大学的小桥先生研究了大黄对双歧杆菌的关系,目前人参提取液与其它寡糖配合的产品已问世。

3.3 双歧杆菌保健食品

双歧杆菌与寡糖、葡萄糖酸、精氨酸配合,对青春双歧杆菌有选择的增殖作用,发挥特有的免疫赋活功能,如昂立一号。双歧杆菌与保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌为生产发酵剂,以牛乳、豆乳为载体或用牛乳、大豆搭配作载体混合发酵制成营养丰富的仿生食品和饮料,对特定人群有非常重要的生理功能。

4 结语

对于双歧杆菌的生理活性及其生物学效应机理仍需深入研究。随着微生物学、分子生物学、医学和药

学等学科新技术的飞速发展,人们必将把粘附定植能力强、菌株稳定、耐氧、耐酸、耐抗生素的BFB新优良品种的选育、其新生理功能的发现、抗病机制的深入研究探索和再认知、新型药物制剂、高层次保健食品的开发利用等方面的研究推向一个崭新的阶段,使BFB为促进人类的身体健康发挥更大作用。

参考文献

- [1] Requena T, et al. Identification, detection, and enumeration of human bifidobacterium species by PCR targeting the transaldolase gene[J]. Appl Environ Microbiol, 2002,68:2420-2427.
- [2] Kang K H, et al. Studies on acetabacterial substances produced by lactic acid bacteria: Purification and some properties of acetabacterial substances "BiEilong" produced by Bifidobacterium longum [J]. Korea J Bacty Sei, 1989,11 (3): 204-216
- [3] Sekine K, Ohta J, et al. Mysis of an tumor properties of effector cells stimulated with a cell wall preparation (WPG) of bifidobacterium infantis[J]. Biol Pharm Bull, 1995,18:148-153.
- [4] Hatcher GE, Lambrecht GS. Augmentation of macrophage phagocytic activity by cell free extract of selected lactic acid-producing bacterium[J]. J Dairy Sci, 1993, 76(16): 2485-2492.
- [5] Ishihara K, Hayasaka K, et al. Current status of melanoma treatment with interferon, cytokines and other biological response modifiers in Japan [J]. J Invest Dermatol, 1989,92:326-328.
- [6] 蓝景刚,胡宏.双歧杆菌的免疫调节作用研究进展(上)[J].中国微生态学杂志, 2002, 14(2): 122.
- [7] 李平兰,马长伟,等.戴蕴青长双歧杆菌TTF菌株增强机体免疫活性研究[J].微生物学通报, 2006,33(2):1-5
- [8] Pool-Zobel B, et al. Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer[J]. Br J Nutr, 2002, 87(2): 273.
- [9] Kirjavainen PV, Apostdou E, Salminen SJ. New aspects of probiotics a novel approach in the management of food allergy[J]. Allergy, 1999, 54(9): 909-915.
- [10] Reddy BS, Renson A. Inhibitory effect of Bifidobacterium longum on colon, mammary, and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo quindine. a food mutagen[J]. Cancer Res, 1993, 53: 3914-3918.
- [11] Usui N, Masushima K, Pilam AM, et al. Antitumor effects of human recombinant interleukin-1 alpha and etoposide against human tumor cells: mechanism for synergism in vitro and activity in vivo[J]. Biotherapy. 1996. 14: 199-208.
- [12] Bermudes D, Zheng LM, King IC. Live bacteria as anticancer agents and tumor-selective protein delivery vectors[J]. Curr Opin Drug Discov Devel, 2002, 5(2): 194.
- [13] 涂家珍,张和光,陈罕,等.牙周病原菌的体外抗生作用[J]. 中山医科大学学报, 2000, 21(4): 274.
- [14] Kim WS, Tanaka T, Kumura H, et al. Lactoferrin-binding proteins in Bifidobacterium bifidum [J]. Biochem Cell Biol, 2002, 80(1): 91.
- [15] 康白.双歧杆菌[M].大连:大连海事大学出版社,1998
- [16] Hughes D B, D G Hoover. Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk[J]. J Dairy Science, 1995, 78(2): 268-276
- [17] 扬桂萍.双歧杆菌的有关酶系[J].微生物学通报.1999(1):56.
- [18] Yamazaki S, et al. 2-Amino-3-carboxy-1,4-naphthoquinone affects the end-product profile of bifidobacteria through the mediated oxidation of NAD(P)H[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002,59(1):72.
- [19] Chen HC, et al. Evaluation of N-acetyl-chitooligosaccharides as the main carbon sources for the growth of intestinal bacteria[J]. FEMS Microbiol Lett, 2002, 209(1): 53.
- [20] 张颖,尹小玲,席黔.双歧杆菌对老年人脂质代谢的影响[J]. 陕西医学杂志, 2001, 30(11): 680.
- [21] Bermudes D, Zheng LM, King IC. Live bacteria as anticancer agents and tumor-selective protein delivery vectors[J]. Curr Opin Drug Discov Devel, 2002, 5(2): 194.
- [22] 李德发. 益生菌的研究进展及应用[M].北京: 中国农业出版社, 1994, 248-255
- [23] Mizutani T. T Mitsuoka—Inhibitory effect of some intestinal bacteria on liver tumorigenesis in gnotobiotic C3H / He male mice[J]. Cancer Letters. 1980. 11 (2): 89-95
- [24] Yuli Nakazavva, et al. Functions of Fermented Milk Challenges for the Health Sciences[M]. Eisecier Applied sciences, London and New York. 1992
- [25] Anand S K, et al. Antibacterial activity associated with Bifidobacterium bifidum-I[J]. Cultured Dairy Products J., 1984:6-8.
- [26] Kang K H, et al. Studies on acetabacterial substances produced by lactic acid bacteria: Purification and some properties of acetabacterial substances "BiEilong" produced by Bifidobacterium longum [J]. Korea J Bacty Sei, 1989. 11 (3): 204-216
- [27] Olano ME, Gibson GR, Rastell RA. Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides [J]. J Appl Microbiol, 2002, 93(3): 505.
- [28] 张宝元,柳军,马晓红.双歧杆菌在儿科临床及保健中的应用[J].北京医学,2001,23(1): 63.
- [29] 李武明,张玲华,杨汝德.双歧杆菌的微囊化研究[J].广东药学院学报,1997,13,(4):222-225.