

# 菊芋低聚果糖促进双歧杆菌生长的研究

陈晋安, 刘 蓉, 郑忠辉, 苏文金

(厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 研究一种自制菊芋低聚果糖(FOS)在体内外对双歧杆菌的促生长效果。体外试验表明, 所实验的5种18株双歧杆菌菌株均能利用FOS; 在FOS浓度为0.5%时, 青春双歧杆菌和婴儿双歧杆菌的生长量分别比对照增加6.5倍和5.4倍; 培养液中添加0.2%的FOS也能显著促进双歧杆菌的生长; 竞争实验显示双歧杆菌的增殖对大肠杆菌和艰难梭菌的生长有一定的抑制作用。体内试验表明, FOS能显著提高受试动物粪便中的双歧杆菌菌数。

**关键词:** 双歧杆菌; 寡果糖; 促生作用

**中图分类号:** Q 939.9

**文献标识码:** A

寡果糖(又称低聚果糖)是在蔗糖分子的果糖残基上以 $\beta(1 \rightarrow 2)$ 糖苷键与若干个果糖分子结合而成的低聚糖。这种糖不但具有低热、稳定、安全无毒等良好的理化特性及保留了蔗糖良好的食品加工特性, 而且还能促进肠道内双歧杆菌的生长, 起到改善肠内菌群平衡, 增进人体健康的良好作用。食用级低聚果糖由于其良好的理化特性及生理功能, 已引起人们的高度关注, 目前已有不少含低聚果糖的食品或保健品上市。有关于低聚果糖对双歧杆菌的促生作用国外已有不少报道<sup>[1-6]</sup>, 国内这方面的研究相对较少, 目前尚未见菊芋低聚果糖促生作用的报道。为了检测一种自制菊芋低聚果糖的生理功能, 我们对其在体外及实验动物体内对双歧杆菌的促生长作用进行了研究。现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌 种

*Bifidobacterium infantis* (ATCC 1569, DSM 20088, DSM 20218, DSM 20223)、*B. longum* (ATCC 15707, NTCC 11818, ATCC 15708)、*B. animalis* (NCFB 2242, DSM 20105, ATCC 27694)、*B. breve* (ATCC 15700, NCFB 2257, DSM 20091, ATCC 15701)、*B. adolescentis* (ATCC 15703, CCUG 18363)、*B. bifidum* (ATCC 29521, ATCC 15696)、*Clostridium difficile* (889), 由法国M. Sebald 博士惠赠 *Escherichia coli* (DH5 $\alpha$ ), 本实验室保存菌种。

收稿日期: 2000-12-18

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(C95001)

作者简介: 陈晋安(1957- ), 男, 实验师

## 1.2 培养基及培养方法

TPY 液体培养基<sup>[2]</sup>、PYG 液体培养基<sup>[1]</sup>、BS 选择性培养基<sup>[7]</sup> (用于双歧杆菌计数)、伊红美蓝选择性培养基 (用于大肠杆菌计数, 卫生部上海生物制品研究所)、CCFA 改良琼脂培养基 (用于艰难梭菌计数, OXO D, England). 菌体培养用厌氧罐 37 °C 厌氧培养

## 1.3 菊芋低聚果糖(FOS)的制备

按本实验室建立的方法制备, 产品含寡果糖 82%、还原糖 (果糖、葡萄糖) 7%、蔗糖 9%.

## 1.4 菌体生长量的测定

液体发酵菌体生长量的测定采用浊度法, 测定发酵液在 650 nm 的 OD 值 菌落计数采用常规滴注法

## 1.5 体外竞争试验

将分别培养至对数生长期的不同菌液调到相同的菌浓度, 以同样的比例加至液体培养基中混合培养, 定时取样, 分别测定各菌株的菌落数<sup>[1]</sup>.

## 1.6 体内促生长实验

将清洁级 Balb/c 小鼠分成 3 组, 每组 10 只, 第 1 组为空白对照组, 第 2、第 3 组分别以 200 mg/kg·d 及 400 mg/kg·d 的剂量经口灌胃给予 FOS, 连续 21 d, 定期检测小鼠粪便的双歧杆菌数

## 2 结果与分析

### 2.1 不同双歧杆菌菌株对 FOS 的利用

以 0.5% 的 FOS 取代 PYG 液体培养基中的葡萄糖作为发酵培养基, 分别接种不同的双歧杆菌菌株, 置厌氧罐中 37 °C 培养 48 h 后, 分别测定各菌株的生长量和 pH 值, 结果表明, 供测试的双歧杆菌菌株均能利用 FOS, 而且大多生长良好, 83% 的菌株 OD<sub>650</sub> 大于 0.8, 且发酵液的 pH 均从 7.0 降至 4.8 以下 (表 1).

### 2.2 不同浓度的 FOS 对双歧杆菌及艰难梭菌生长的影响

分别以不同浓度的两种 FOS 为发酵培养基的唯一碳源 培养不同的肠道菌株 (接种量 1%), 37 °C 厌氧培养 48 h 后测定其生长量 结果表明, 在一定浓度范围内, 随着自制 FOS 浓度的升高, 双歧杆菌的生

表 1 FOS 对不同双歧杆菌菌株生长的影响

Tab 1 The effect of FOS on growth of bifidobacteria

| 菌株                     | 生长量 (OD <sub>650</sub> ) | pH  |
|------------------------|--------------------------|-----|
| <i>B. animalis</i>     |                          |     |
| NCFB 2242              | 1.00                     | 4.1 |
| DSM 20105              | 1.08                     | 4.4 |
| ATCC 27694             | 0.85                     | 4.6 |
| <i>B. infantis</i>     |                          |     |
| ATCC 15697             | 1.32                     | 3.8 |
| DSM 20088              | 1.30                     | 3.8 |
| DSM 20218              | 0.88                     | 4.4 |
| DSM 20223              | 1.24                     | 3.9 |
| <i>B. longum</i>       |                          |     |
| ATCC 15707             | 0.79                     | 4.1 |
| NTCC 11818             | 0.81                     | 4.5 |
| ATCC 15708             | 0.70                     | 4.0 |
| <i>B. breve</i>        |                          |     |
| ATCC 15700             | 0.96                     | 4.4 |
| NCFB 2257              | 0.71                     | 4.2 |
| DSM 20091              | 0.81                     | 4.4 |
| ATCC 15701             | 1.10                     | 4.1 |
| <i>B. adolescentis</i> |                          |     |
| ATCC 15703             | 1.50                     | 3.8 |
| CCUG 18363             | 0.92                     | 3.5 |
| <i>B. bifidum</i>      |                          |     |
| ATCC 29521             | 0.82                     | 4.8 |
| ATCC 15696             | 1.27                     | 4.6 |

长量也显著增加,在 FOS 的浓度为 0.5% 时,所试的两株双歧杆菌的生长量分别比对照增加 5.4 倍和 6.5 倍(表 2)。不同浓度的纯 FOS(表 2 中的 B)对双歧杆菌生长的作用效果与自制的 FOS 相似,只是在相同的浓度下其促生效果不如自制的 FOS。不同浓度的纯 FOS 对艰难梭菌的生长影响较小,生长量增加不明显。

表 2 不同浓度的 FOS 对不同肠道菌株生长的影响

Tab 2 The effect of FOS concentration on growth of some colonic bacteria

| 菌 株                                    |   | 生长量( $OD_{650}$ ) |       |       |       |      |      |
|--|---|-------------------|-------|-------|-------|------|------|
|  |   | 0%                | 0.25% | 0.50% | 0.75% | 1.0% | 1.5% |
| <i>B. infantis</i><br>(A TCC15697)     | A | 0.25              | 0.58  | 1.36  | 1.30  | 1.23 | 1.12 |
|  | B | 0.24              | 0.28  | 0.47  | 0.67  | 0.70 | 0.76 |
| <i>B. adolescentis</i><br>(A TCC15703) | A | 0.24              | 1.11  | 1.56  | 1.58  | 1.48 | 1.28 |
|  | B | 0.18              | 0.39  | 0.42  | 0.81  | 0.83 | 0.97 |
| <i>C. difficile</i><br>(899)           | A | 0.22              | 0.34  | 0.40  | 0.44  | 0.49 | 0.50 |
|  | B | 0.21              | 0.25  | 0.31  | 0.34  | 0.37 | 0.40 |

\* A: 自制 FOS; B: 纯低聚果糖(CP 北京化工厂)。

### 2.3 流加 FOS 对双歧杆菌生长的影响

双歧杆菌在含 0.05% 葡萄糖的 PYG 培养基中培养 7 h 后,流加 0.2% (终浓度)的自制 FOS,继续再培养至 18 h,定时取样测定生长量。结果(表 3)表明,流加 FOS 对双歧杆菌的促生作用十分明显,与流加前(6 h)相比,两株菌株  $OD_{650}$  分别增加 0.58 和 0.42。

表 3 流加 FOS 对双歧杆菌生长的影响

Tab 3 The effect of additional FOS on growth of bifidobacteria

| 菌 株                               | 生长量( $OD_{650}$ ) |      |      |      |      |      |      |      |
|-----------------------------------|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|
|                                   | 0 h               | 2 h  | 4 h  | 6 h  | 8 h  | 10 h | 12 h | 18 h |
| <i>B. adolescentis</i> A TCC15703 | 0.12              | 0.17 | 0.32 | 0.28 | 0.45 | 0.53 | 0.78 | 0.86 |
| <i>B. infantis</i> A TCC15697     | 0.15              | 0.33 | 0.45 | 0.36 | 0.47 | 0.50 | 0.63 | 0.78 |

### 2.4 体外竞争试验

将不同的 3 种肠道细菌菌株接种于同一瓶含 FOS 为碳源的液体发酵培养基中,混合培养 72 h。培养过程中定时取样分别测定各菌株的菌落数。结果表明,双歧杆菌在整个培养过程中生长都占优势,培养至 60 h,培养液中双歧杆菌的菌落数仍然比大肠杆菌和艰难梭菌分别高出  $10^{3.8}$  和  $10^{4.2}$ (表 4),这说明 FOS 可选择性促进双歧杆菌的生长,双歧杆菌的增殖又可对大肠杆菌和艰难梭菌的生长起一定的抑制作用,实验结果与 Wang 等人报道的结果类似<sup>[1]</sup>。

### 2.5 体内促生试验

FOS 在体内促进双歧杆菌生长试验结果如表 5。从表 5 可以看出,高剂量组给予 FOS 14 d 后,小鼠粪便中双歧杆菌数明显高于对照组,具有显著差异,结果提示 FOS 在体内也具有较强烈的促进双歧杆菌生长的作用。

表 4 混合培养中 3 株不同菌株的生长情况

Tab 4 The growth of *B. adolescentis*, *E. coli* and *C. difficile* in batch co-culture with FOS

| 菌 株                               | 活菌数(CFU/mL, 以 $\lg_{10}$ 计) |      |       |       |      |      |
|-----------------------------------|-----------------------------|------|-------|-------|------|------|
|                                   | 0 h                         | 12 h | 24 h  | 36 h  | 48 h | 60 h |
| <i>B. adolescentis</i> A TCC15703 | 5.03                        | 9.33 | 11.18 | 10.87 | 9.52 | 8.11 |
| <i>C. difficile</i> 889           | 4.40                        | 6.00 | 8.20  | 8.50  | 5.82 | 3.83 |
| <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$       | 4.55                        | 7.35 | 8.62  | 6.87  | 5.57 | 4.30 |

表 5 FOS 对试验小鼠粪便中双歧杆菌菌数的影响

Tab 5 The effect of FOS on the number of bifidobacteria in the feces of the tested mice

| 组 别 | 剂 量<br>(mg/kg·d) | 双歧杆菌数(CFU/g, 以 $\lg_{10}$ 计) |                 |                 |                  |
|-----|------------------|------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
|     |                  | 0 d                          | 7 d             | 14 d            | 21 d             |
| 1   | 0                | 8.60 $\pm$ 0.37              | 8.93 $\pm$ 0.40 | 8.60 $\pm$ 0.32 | 8.78 $\pm$ 0.65  |
| 2   | 200              | 8.83 $\pm$ 0.24              | 8.87 $\pm$ 0.76 | 8.97 $\pm$ 0.26 | 8.92 $\pm$ 0.65  |
| 3   | 400              | 8.75 $\pm$ 0.11              | 8.99 $\pm$ 1.20 | 9.74 $\pm$ 0.33 | 10.36 $\pm$ 0.83 |

:  $p < 0.05$ 

### 3 讨 论

不同肠道菌对各种糖的利用能力有所不同, 就大多数寡糖而言, 除双歧杆菌等有益菌外, 其他细菌较少能发酵利用它; 人及动物体消化道中因缺少相关水解酶, 也不能消化利用大多数寡糖。因此, 许多寡糖可被用作双歧杆菌生长促进因子<sup>[8]</sup>。目前已发现异构乳糖、寡果糖、大豆低聚糖等许多寡糖都能促进双歧杆菌的生长, 其中寡果糖被认为是一种高效的促生物质<sup>[5]</sup>。从体外实验结果看, 我们自制的菊芋低聚果糖无论是作为唯一的碳源或是添加到含限量葡萄糖的培养基中均能显著地促进双歧杆菌的生长, 竞争试验结果显示, FOS 可显著地促进双歧杆菌的生长, 双歧杆菌的增殖又可对其他肠道菌的生长产生抑制作用。因此, 可以认为自制的菊芋低聚果糖也是一种良好的双歧因子。

动物实验表明, 自制菊芋低聚果糖尽管纯度较低, 仍含有少量的葡萄糖、果糖和蔗糖等杂糖, 但这并不影响其在体内对双歧杆菌的促生作用。追究其原因, 主要是由于动物体内富含能降解这些杂糖的有关酶, 当这种纯度较低的 FOS 进入动物体内后, 其中的杂糖在上消化道很快会被相关的酶降解并被吸收利用, 而余下的 FOS 则可进入结肠内发挥其生理作用。因此, 只需要适当提高这种纯度较低的低聚果糖的用量, 就可望达到与高纯度的低聚果糖类似的促生长效果。

与高纯度低聚果糖相比较, 自制的菊芋低聚果糖除了有较好的促进双歧杆菌生长的作用外, 还具有生产原料资源丰富, 生产工艺简单, 生产成本较低廉等优点, 因此, 这种低聚糖具有较好的开发应用前景。

### 参考文献:

- [1] Wang X, Gibson G R. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine[J]. *J. Appl. Bacteriol.*, 1993, 75: 373- 380

- [2] Mckellar R C, Modler H W. Metabolism of fructo-oligosaccharides by bifidobacterium spp [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1989, 31: 537- 541.
- [3] Bouhnik Y, Fburie B, Rittot M, et al Effects of fructo-oligosaccharides ingestion on fecal bifidobacteria and selected metabolic indexes of colon carcinogenesis in healthy humans[J]. Nutr Cancer, 1996, 26: 21 - 29.
- [4] Campbell JM, Fahey GCJ, Wolf BW. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats[J]. J. Nutr, 1997, 127: 130- 136.
- [5] Marcel B R. Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract[J]. Nutrition, 2000, 16: 677- 679.
- [6] Martin J K, Jinno K, Francis F. Carbohydrate source and bifidobacteria influence the growth of *Clostridium perfringens* in vivo and in vitro[J]. Nutrition Research, 1998, 18: 1 889- 1 897.
- [7] 熊德鑫 厌氧体菌分离和鉴定方法[M]. 南昌: 江西科技出版社, 1986.
- [8] 刘蓉, 郑忠辉 双歧杆菌糖苷酶的研究[J]. 中国微生态学杂志, 1996, 8(6): 42- 45.

## The Growth-Promoting Effect on Bifidobacteria of a Jerusalem Artichoke Fructo-Oligosaccharides

CHEN Jin-an, LU Rong, ZHENG Zhong-hui, SU Wen-jin  
(School of Life Sci., Xiamen Univ., Xiamen 361005, China)

**Abstract** The growth-promoting effect of a Jerusalem artichoke fructo-oligosaccharides preparation (FOS) on bifidobacteria was studied by *in vitro* and *in vivo* assay. Eighteen strains of *Bifidobacterium* grew well in FOS-containing media. With 0.5% FOS as the carbohydrate source, the growth of *B. infantis* and *B. adolescentis* were 6.5 times and 5.4 times respectively higher than that of the controls. Addition of 0.2% FOS into the medium remarkably promoted the bifidobacterial growth. Batch co-culture experiments demonstrated that the growth of *B. adolescentis* had an inhibitory effect towards *E. coli* and *C. difficile*. *In vivo* experiment showed that ingestion of 400 mg/kg · d for 21 d effectively increased the number of bifidobacteria in the feces of the tested mice.

**Key words** bifidobacteria; fructo-oligosaccharides; growth-promoting