第 35卷第 2期东北农业大学学报
2004年 4月 JournalofNortheastAgriculturalUniversity
文章编号 1005-9369(2004)02-0208-04
嗜酸乳杆菌和婴儿双歧杆菌对肠道致病菌的抑制性
张英春，张兰威，李妍
(东北农业大学食品学院黑龙江哈尔滨 150030)
摘要：通过实验菌株发酵液对三种肠道致病菌生长抑制的研究，得出嗜酸乳杆菌 PB1、A878和婴儿双歧杆菌 PBa对
致病菌的抑制性较强，形成明显的抑茵圈。PB1、A878、PBa的抑茵机理主要是有机酸，其他抗茵类物质作用不明显。
关键词：乳杆菌；双歧杆菌；致病菌；抑制性
中图分类号：Q939．11 7；Q939．1；R378 文献标识码 A
益生菌是指能通过改善其寄主肠道微生物平衡
而有益于寄主的一类微生物。目前研究最多的是
乳酸菌，双歧杆菌等。研究表明，双歧杆菌和乳酸菌
作为人体内最多、最常见的生理性细菌，对人体生理
功能的调节是通过生物屏障与化学屏障来阻止和抑
制各种致病菌与条件致病菌在肠道的定植、入侵和
生长繁殖。对于乳酸菌和双歧杆菌的生理功能研
究很多，其中促进润肠通便，改善肠道菌群失调，调
节肠道微生态平衡是其最直接和最根本的保健作
用。本实验对分离的 3株益生菌在体外对 3种肠道
致病菌的抑制性和抑制机理进行了研究。
1 材料与方法
1．1 实验材料
1．1．1 实验菌株嗜酸乳杆菌 PB1、A878；双歧杆
菌 Pba，均由本实验室分离。
1．1．2 致病菌副伤寒甲沙门氏菌 2005；志贺氏
痢疾杆菌 2002— 2；埃希氏大肠杆菌 ATCC25922。
均购于黑龙江省临床检测中心。
1．1．3 培养基 TPY 培养基；MRS培养基；普通
营养琼脂培养基。
收稿日期：2003一O6一O3
基金项目：黑龙江省教育厅重大项目功能性乳酸菌发酵剂 (含微生态
制剂)及相应发酵食品产业化开发。2002—2004 项目
号：10511Z003
作者简介：张英春 (1975一)，女，东北农业大学食品学院 2000级研究
生，硕士。
*通讯作者
1．2 实验方法
1．2．1 乳杆菌和双歧杆菌发酵液的制备将 PB1、
A878、Pba活化 2～ 3代后，按 2 的接菌量接至各
培养基中，37【C恒温培养 24h(Pba厌氧培养 )，测定
其抑菌活性。
1．2．2 致病菌悬液的制备无菌条件下挑取活化
好的菌种接至普通肉汤蛋白胨试管中，37℃恒温培
养 18h，使其菌浓度达到 10 cfu·mL 左右备用。
1．2．3 嗜酸乳杆菌和婴儿双歧杆菌对 3种致病菌
的抑制性
牛津小杯法。将三种致病菌悬液分别用无菌吸
管吸取 0．10mI于凝固的营养琼脂平板涂布，平衡
30min。在无菌条件下将无菌的牛津小杯 (外径 8
ram)放在平板上，然后吸取 200laI 发酵液于杯中，
对照组加未接菌的培养基。平放 37|C恒温培养 24
h，测定 PB1、A878、Pba对 3种致病菌形成的抑菌
圈大小，照相记录。
1．2．4 PB1、A878、Pba上清液对致病菌的抑制作
用将实验菌株按 2 的接菌量接至 TPY 或 MRS
培养基中至对数生长期末期 (24h左右 )取出培养
物，在 17000g，离心 30min，取 1／2保持原 pH，另
1／2用高浓度的 NaOH 调至中性备用，5mL的上清
液加到 10mL 的 MRS或 TPY 培养基中，然后将 1
mL 的致病菌悬液加入到上述培养基中，37℃培养
24h，每隔 2h测其 OD 。，以不加上清液的 TPY 或
MRS培养基作为对照。同时测上清液对致病菌产生
抑菌圈大小“。
Î¬ÆÕ×ÊÑ¶ http://www.cqvip.com

第 2期 张英春等 ：嗜酸乳杆菌和婴儿双歧杆菌对肠道致病菌的抑制性

2 结果与讨论

2．1 三株实验菌株对致病菌的抑制作用

PB1、A878、Pba对大肠杆菌、痢疾杆菌、沙门氏
菌的形成的抑菌圈见表1和图 1～3。

表 1 实验菌株对三种致病菌的抑制作用(z士5mm)
Table 1 Thegrowthinhibitionofthreepathogensbythefermentedliquorofprobioticbacteria( 土 mm)

*大写表示PB1、A878、Pba分别对三种致病菌的抑制性比较 ；小写为PB1、A878、Pba对同一种致病菌抑制性的比较。
* A ，B，C meansthe com parison ofthegrowth inhibitionofthreepathogensby thefermented liquidofPB1、A 878andPba：a，b，Cm eansthe comparison ofthesame pathogens inhibition by PB1、A 878 and Pba

圈 1 PB1(1)、A878(2)、PBa(3)
对痢疾杆菌形成的抑菌圈
Fig．1 Thegrowth inhibitionofShlgellosls
by PB1(1)、A878(2)、Pba(3)

圈 3 PB1(1)、A878(2)、PBa(3)
对大肠杆菌形成的抑菌圈
Fig．3 Thegrowth inhibition ofEscherichiacoli
by PB1(1)、A878(2)、Pba(3)

从表 1的统计分析表明PB1、A878、Pba对3种

圈 2 PB1(1)、A878(2)、PBa(3)
对沙门氏菌形成的抑菌圈
Fig．2 The growth inhibition ofSalmonella
by PB1(1)、A878(2)、Pba(3)

致菌的抑制能力不同，差异极显著(P d0．01)，其中对沙门氏菌的抑菌能力最强，其次为痢疾杆菌和大肠杆菌。PB1、A878、Pba的发酵液对同一致病菌的抑制能力也不同(Pd0．05)，其中PB1的抑菌能力最强，对沙门氏菌形成的抑菌圈直径在20mm左右，而且清晰，对大肠杆菌和痢疾杆菌形成抑菌圈的直径超过 l1mm。其次为A878和Pba。但是PB1、 A878、Pba都能对这 3种致病菌产生不同程度的抑制性，从图1～3也可看出PB1、A878、Pba对三种致病菌的抑菌效果。乳酸菌 PB1、A878和双歧杆菌 PBa发酵碳水化合物产生大量的乙酸和醋酸使培养基中pH大大降低，是其发挥抑菌作用的主要原因。当发酵至 24h时，PB1、A878、Pba分别为 3．75， 3．9O，4．02；而肠道致病菌的最适pH6．8～7．0，显然在较强的酸性环境下，对这些致病菌的生长是不利的，抑制其生长是不可避免的。同时可见因为他们产

Î¬ÆÕ×ÊÑ¶ http://www.cqvip.co

· 21O· 东 北 农 业 大 学 学 报 第 35卷

酸能力的不同而导致他们抑菌能力的差异。
2．2 PB1、A878、PBa上清液对致病菌的抑制作用
乳酸菌和双歧杆菌的抑菌活性是多方面的，不
同的乳酸菌产生的原因不同，其主要机制是利用碳
水化合物产生乳酸和醋酸、分泌细菌素、产生 H O
等∞ 。益生菌产生的有机酸使肠道内pH及Eh下降，造成肠内酸性环境，对肠道致病菌如大肠杆菌、

0 4 8 12 16 20 24h

时I ：Time
图 4 A878上清液对大肠杆菌的抑菌效果
Fig．4 Inhibitory effect of supernatant fluid of
A878on the growth ofEscherichia coli

O 4 8 l2 l6 2O 24h

时间：Time
图 6 PBI上清液对大肠杆菌的抑菌效果
Fig．6 Inhibitory effectofsupernatantfluid of
PBIoiltilegrowthofEscherichiacoli

l．5
1．2

皇0．9 0
昌0．6

O．3
O
0 4 8 12 16 20 24h

u,tl'ul：Time
图 8 PBa上清液对大肠杆菌的抑菌效果
Fig．8 Inhibitory e

第 2期 张英春等 ：嗜酸乳杆菌和婴儿双歧杆菌对肠道致病菌的抑制性

结果表明，PBI、A878和 Pba的上清液对大肠杆菌、痢疾杆菌还有沙门氏菌(未列出)都具有很强的抑制作用，在监测的24h内OD 。几乎没有发生
变化，而中和液组中致病菌都有长势，但与对照组相
比致病菌的长势也受到了一定的抑制，尤其是 PB1
和 A878，这可推断出，除有机酸外益生菌也会产生其他的抑菌物质如细菌素，但其抑制作用不够强，因此可认为这3种益生菌产生的抑菌物质主要是酸类物质，其次是细菌素和H O 等，但这些抑菌物质的抑菌活性较弱，不能完全抑制致病菌的生长，假如细菌素类物质发挥主要作用，则中和液的实验结构应与上清液的结果是一致的“，但本实验未能得出这种结果，并且当用上清液和中和液分别对致病菌做抑菌实验时发现中和液不能形成明显的抑菌圈，更进一步证明本研究所筛选的菌株产生抑菌物质主要是酸类物质。方祥等。报道乳酸菌随着pH值的升高，抑菌活性呈现下降趋势，乳酸菌的抗菌物质在酸性条件下较稳定 ；而Cai等 认为乳酸菌的抑菌物质为乳酸，而不是细菌素，这与本实验的结果是一致的。

3 结 论

本实验所研究的3种潜在益生菌，嗜酸乳杆菌

PB1、A878和双歧杆菌 Pba具有较强的抑菌活性，对 3种致病菌能够形成明显的抑菌圈，其抑菌机理主要是产生酸类物质发挥主要作用。

参 考 文 献

1] 杜震字．刘永坚 ．水产动物益生菌进展[J]．中国微生态杂志，
2002．14(1)：56— 6O．
[2]’藤白 ．双歧杆菌[M]．大连 ：大连海事大学出版社 ．1998：l2．
[3] 韩文瑜 ．病原细菌检验技术 M]．长春 ：吉林出版社．1992：

58，78．85．
[4] Gibson G R．W ang X．Regulatory effects of bifidobacteria on
tile growth ofothercolonic Bacteria[J]．journalofApplied Bacteriology．1994，(77)：412— 420．
[5] Sorrels K M ，Speck M L．Inhibition ofSalmonella gallinarum
by culture filtratesofLeuconostorclrtrovorum [J]．JDairry Sci．1970，(53)：237— 343．
[6] FullerP．Probioticsin man and animalr2J]．JA ppliBacteri，
l989．(6)：365— 378．
C73 方祥 ．胡文锋 ．乳酸菌的分离、鉴定及生长特性[J]．中国微生
态学杂志，2000．12(5)：262— 264．
8] CaiY．Benno Y．Specific probiotic characterization oflUeissella
hellenicaDS一12isolatedfrom flounderintestine[J]．JGeneral
and ApptM icrobio1．1998，44(5)：31l一316．

Study on the growth inhibition of som e pathogens

bytheL．acidophilusandB．infantis

ZH AN G Ying—Chun，ZHA NG Lan—W ei，LIYan

(CollegeofFood．NortheastAgriculturalUniverslty，HarbinHeilongjiang l50030，PRC)

Abstract：Thegowth inhibitionofsomepathogensbythefermented liquorofprobioticbacteria were tested．Theresultsindicated thatgrowthofthreepathogenswerestronglyinhibited byL．acidophilusPB1， A878andB．infantisPBa．Thediameterofinhibitionzonewasclear．TheinhibitionmechanismsofPB1， A878，PBaweresomeorganicacidsand antibacterialsubstanceinfermented liquorwasnotimportant．

Keywords：lactobacillus；bifidobacteria；pathogens；growth inhibition

编辑 ：姜 爽

Î¬ÆÕ×ÊÑ¶ http://www.cqvip.co