

直投式乳酸菌剂及其发酵泡菜健康功效及安全性研究

黄承钰

(四川大学华西公共卫生学院)

达能会议 2013-11-15

直投式乳酸菌剂及其发酵泡菜健康功效及安全性研究

黄承钰 李鸣 吕晓华 石磊 邹华军 景小凡 宋怡 徐家玉
(四川大学华西公共卫生学院)

陈功 余文华 张其圣 游敬刚 (四川省食品发酵设计院)

李晚群 (成都市疾控中心)

Int. J. Mol. Sci. 2010, 11, 2499-2522; doi:10.3390/ijms11062499
Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of *in Vivo* and *in Vitro* Findings

Lay-Gaik Ooi and Min-Tze Liong *

6. Conclusions

Probiotic and/or prebiotics have been widely assessed for their effects on lipid profiles such as total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides. However, not all trials have yielded conclusive results. Certain strains of probiotic and types of prebiotic have demonstrated cholesterol-lowering property while others did not. In order to justify the varying cholesterol-lowering effect exhibited by various strains of probiotics or types of prebiotics, researchers have endeavored to reveal the mechanisms of probiotics and/or prebiotics on hypocholesterolemic effect through *in vitro* and *in vivo* studies. Many of the proposed mechanisms and experimental evidence specifically targeting cholesterol-lowering effects remain controversial. Thus, more properly-designed *in vivo* trials may disclose additional understanding and knowledge to eliminate the controversies, to better understand the underlying mechanisms and for better safety assessment prior to consumption.

Dosage-response effects of different probiotic strains on lipid profiles.docx

Journal of Applied Microbiology 113, 1507-1516 © 2012 The Society for Applied Microbiology
Anti-obesity effect of kimchi fermented with *Weissella koreensis* OK1-6 as starter in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice

J.-A. Park¹, P.B. Tirunathi Pichiah¹, J.-J. Yu², S.-H. Oh², J.W. Daily III³ and Y.-S. Cha^{1,4}

Table 4. Body weight gain, feed intake and feed efficiency ratio

Groups	ND	HF	HF-KC	HF-KCO
Initial body weight (g)	18.65 ± 0.35	18.35 ± 1.63	19.55 ± 0.35	18.85 ± 0.64
Body weight gain (g)	8.12 ± 0.02 ^a	20.42 ± 2.79 ^b	16.52 ± 1.77 ^{ab}	14.65 ± 0.15 ^{ab}
Feed intake (g/day ¹)	2.71 ± 0.11 ^a	2.21 ± 0.15 ^b	2.34 ± 0.02 ^b	2.43 ± 0.02 ^b
Feed efficiency ratio	0.04 ± 0.00 ^a	0.11 ± 0.01 ^b	0.08 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.00 ^b

Table 5. Lipid concentration in serum and liver

Groups	ND	HF	HF-KC	HF-KCO
Serum (mg dL ⁻¹)				
Triglyceride	136.08 ± 21.36	144.37 ± 21.76	145.78 ± 33.73	124.66 ± 34.43
Total cholesterol	152.41 ± 12.27 ^a	201.10 ± 34.18 ^b	162.64 ± 33.99 ^b	144.92 ± 25.59 ^b
HDL-cholesterol	68.54 ± 8.66	67.83 ± 27.19	72.25 ± 23.46	80.42 ± 15.21
HDL-c/TC (%)	50.43 ± 12.80 ^a	42.98 ± 9.55 ^b	46.66 ± 7.42 ^{ab}	56.19 ± 11.25 ^{ab}
Liver (mg g ⁻¹)				
Triglyceride	42.46 ± 6.60 ^a	68.17 ± 19.18 ^b	62.30 ± 14.82 ^{ab}	45.28 ± 10.39 ^{ab}
Total cholesterol	11.22 ± 1.90	10.22 ± 1.45	11.42 ± 1.24	9.98 ± 1.30

Conclusions: These results suggested that kimchi fermented with the starter *W. koreensis* OK1-6 has anti-obesity effects in HF-induced obese mice.

Nutrition Research 31 (2011) 436-443

Fermented kimchi reduces body weight and improves metabolic parameters in overweight and obese patients

Eun Kyoung Kim^{a,1}, So-Yeon An^{a,1}, Min-Seok Lee^{a,1}, Tae Ho Kim^b, Hye-Kyoung Lee^c, Won Sun Hwang^c, Sun Jung Choe^c, Tae-Young Kim^d, Seung Jin Han^d, Hae Jin Kim^d,

Table 4. Changes in clinical and anthropometric parameters

	Baseline ^a	Fresh kimchi (n = 22)		Fermented kimchi (n = 22)	
	(n = 22)	Initial ^b	Final ^c	Initial ^b	Final ^c
Body weight (kg)	73.6 ± 9.9	72.9 ± 9.6	71.2 ± 9.4 ^{**}	73 ± 10.1	71.6 ± 9.2 ^{**}
BMI (kg/m ²)	27.7 ± 2.0	27.4 ± 2.2	27.0 ± 2.2 [*]	27.5 ± 2.2	26.9 ± 2.2 [*]
WHR	0.87 ± 0.53	0.86 ± 0.05	0.85 ± 0.06	0.86 ± 0.06	0.84 ± 0.06 [*]
Body fat (%)	32.7 ± 3.9	31.9 ± 4.0	31.6 ± 4.0 [*]	32.1 ± 4.3	31.4 ± 4.4 ^{**}
Systolic BP (mm Hg)	128.7 ± 11.7	125.8 ± 10.7	122.1 ± 7.9	126.1 ± 12.1	121.3 ± 6.4 ^{**}
Diastolic BP (mm Hg)	78.6 ± 10.4	76.1 ± 9.9	74.7 ± 8.5	76.9 ± 9.7	72.7 ± 7.4 ^{**}

Table 6. Changes in lipid panel and inflammatory biomarkers

	Baseline ^a	Fresh kimchi (n = 22)		Fermented kimchi (n = 22)	
	(n = 22)	Initial ^b	Final ^c	Initial ^b	Final ^c
Total cholesterol (mg/dL)	177 ± 25.7	176 ± 29.3	172 ± 31.6	171 ± 25.7	161 ± 29.0 ^{**}
LDL (mg/dL)	104 ± 56	116 ± 46.2	83.3 ± 31.8 [*]	119 ± 111	71 ± 28
HDL cholesterol (mg/dL)	49.4 ± 9.1	46.9 ± 9.5	48.7 ± 9.6	48.2 ± 9.8	46.9 ± 9.3
LDL cholesterol (mg/dL)	106 ± 21.7	104 ± 23	106 ± 27.5	99.1 ± 27.5	100 ± 27.1

从上述文献可知,从体内实验到体外实验,从动物实验到人体试验的结果显示,只有一些益生菌或益生元具有降低胆固醇、甘油三酯和控制体重的效应。

有关本研究使用的直投式乳酸菌及其发酵泡菜的安全性及健康功效,迄今未见报道。

直投式乳酸菌剂 (direct vat set lactobacillus, DVSL) 是从四川传统泡菜中提取出来的一组益生菌,主要含植物乳杆菌和短乳杆菌。

乳酸菌发酵泡菜是以新鲜蔬菜为原料经直投式乳酸菌剂发酵的浸渍泡菜食品,与传统泡菜不同。

因此DVSL是四川发酵泡菜的重要组成部分,也是四川发酵泡菜制作的关键技术和重要环节。



内容

第一部分:

- 1 直投式乳酸菌剂毒理学安全性评价
- 2 调查市售泡菜亚硝酸盐和硝酸盐含量
- 3 分析泡菜中亚硝酸盐和硝酸盐动态变化规律

第二部分

- 4 直投式乳酸菌剂对大鼠脂肪代谢的影响
- 5 直投式乳酸菌剂对便秘模型小鼠肠道功能的影响
- 6 发酵泡菜对高脂血症大鼠的干预效果观察

第一部分 直投式乳酸菌剂安全性评价

1 直投式乳酸菌剂毒理学安全性评价

- 急性毒性试验:** 小鼠经口最大耐受剂量 (MTD) $>15.0\text{g/kg.bw}$, $LD_{50}>15.0\text{g/kg.bw}$ ——**无毒级别**
- 30天喂养试验:** 一般情况, 尸检、血液学指标、血液生化学指标、脏器系数、组织病理学检查结果未发现有意义的病理改变——对大鼠各组织脏器**无明显的亚急性毒性**
- 微核试验:** 对小鼠体细胞**没有致突变作用**
- 结论:** 毒理学评价结果表明直投式乳酸菌剂**安全无毒**

2 市售泡菜亚硝酸盐和硝酸盐含量分析

采用随机抽样的方法在成都市5个行政区中选择人口密度较大社区附近的**10家农贸市场**和**5家超市**, 抽取居民食用频率较高的共**190份**泡菜样品。

按照**GB5009.33—2008**用盐酸萘乙二胺分光光度法测定亚硝酸盐含量, 用离子色谱法测定硝酸盐含量。

市售泡菜亚硝酸盐和硝酸盐含量

190份泡菜样品**亚硝酸盐含量均小于20mg/kg**, 按GB合格率为**100%**; 按照DB合格率为**98.4%**。

发酵泡菜合格率为**100%**, 调味泡菜合格率为**96.7%**。

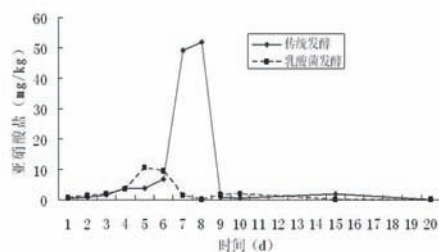
木耳合格率最低 (81.8%); **芽菜类**的硝酸盐含量约为调味泡菜的**3倍**, 约为泡渍泡菜的**2倍**。

市售样品中硝酸盐含量较高的情况应引起重视!

3 泡菜亚硝酸盐和硝酸盐含量动态分析

观察传统发酵泡菜及直投乳酸菌剂发酵泡菜中亚硝酸盐及硝酸盐的**动态变化情况**;

探索亚硝酸盐含量峰值及下降至较**安全水平**的时间点, 为指导合理加工制作及食用泡菜提供科学依据。



无论是传统自然发酵还是乳酸菌剂发酵在**第5-10天出现亚硝峰**，前者约为后者的5倍；

与传统自然发酵的泡菜相比，**直投式乳酸菌剂能有效降低泡菜中亚硝酸盐含量**，使亚硝峰出现的时间提前，且使亚硝峰值大大降低，缩短泡菜制作时间。



第二部分

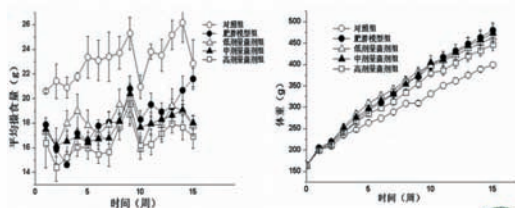
直投式乳酸菌剂健康功效研究



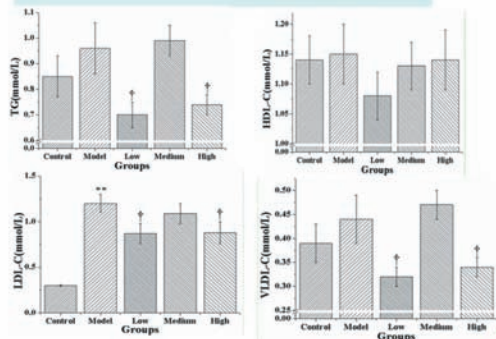
4 直投式乳酸菌剂对大鼠脂肪代谢的影响

分组：**60只雄性SD大鼠**，体重(180±20g)，按照体重随机分为5组，每组12只，即：

1. 基础对照组：基础饲料+灌喂蒸馏水
2. 肥胖模型组：高脂饲料+灌喂蒸馏水
3. 低剂量组：高脂饲料+灌喂 1.05×10^9 cfu/kg/d菌悬液
4. 中剂量组：高脂饲料+灌喂 2.10×10^9 cfu/kg/d菌悬液
5. 高剂量组：高脂饲料+灌喂 4.20×10^9 cfu/kg/d菌悬液



直投式乳酸菌对大鼠血脂的影响



直投式乳酸菌对大鼠肝脏脂肪和胆固醇含量的影响

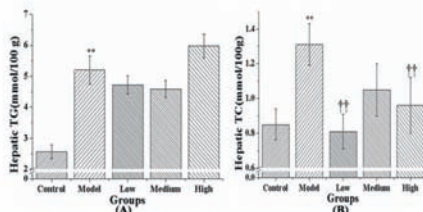
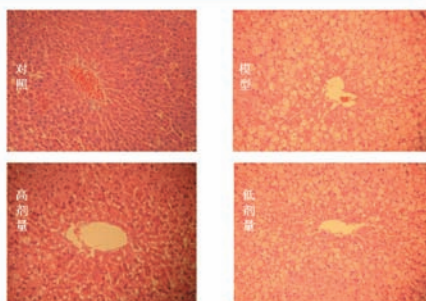


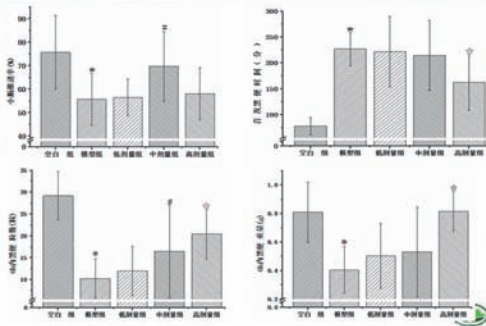
Fig.5 The effect of DVSL on hepatic fat in rats with hyperlipidemia (n=12)



直投式乳酸菌剂对肥胖大鼠肝脏组织形态的影响



5 直投式乳酸菌剂对便秘模型小鼠肠道功能研究结果



6 发酵泡菜对高脂血症大鼠的干预效果研究

60只SPF级雄性SD大鼠按体重并平衡血脂后随机分为5组，每组12只，即：

基础组：基础饲料；

模型组：高脂饲料；

低、中、高剂量泡菜组：含3%、6%、12%泡菜的高脂饲料。

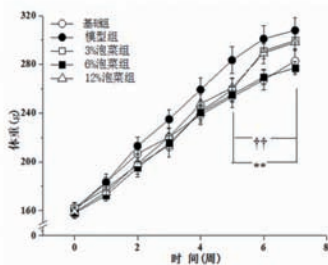
四川泡菜由四川省食品发酵工业研究院制作

主料：白萝卜、白菜、胡萝卜(1:2:1)；

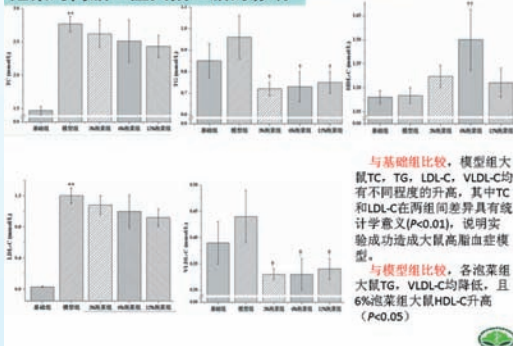
配料：青椒、红甜椒、仔姜、青花椒、八角、丁香；

直投式乳酸菌剂：5%的食盐水。

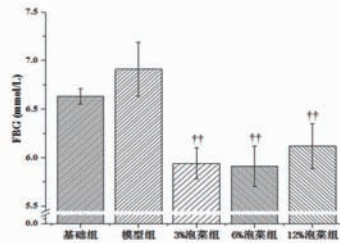
泡菜对高脂血症大鼠体重的影响



泡菜对高脂血症大鼠血脂的影响



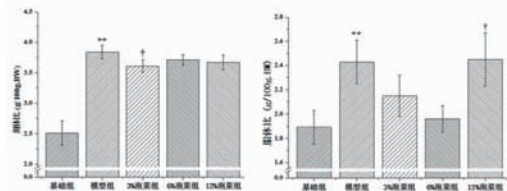
泡菜对高脂血症大鼠空腹血糖的影响



泡菜对高脂血症大鼠脏器系数的影响

与基础组比较，模型组大鼠肝体比和脂体比均升高 ($P < 0.01$)；

与模型组比较，3%泡菜组大鼠肝体比及6%泡菜组大鼠脂体比均降低 (均 $P < 0.05$)。



研究总结

新型泡菜直投式乳酸菌剂安全无毒，无明显的亚急性毒性，对小鼠体细胞未见致突变作用。

190份市售泡菜样品亚硝酸盐含量均小于20mg/kg，合格率分别为100% (GB)和98.4% (DB)，发酵泡菜均为100%；乳酸菌剂发酵可提高泡菜食用的安全性；传统自然发酵泡菜以腌制10天后食用为宜。

直投式乳酸菌剂可显著减少肥胖大鼠肝脏脂肪蓄积，具有一定抗脂肪肝作用。

根据《保健食品检验与评价技术规范(2003版)》结果判定标准，直投式乳酸菌剂对便秘模型小鼠具有润肠通便作用，发酵泡菜对大鼠具有辅助降血脂作用。

需要进一步用人体试食试验证实其健康功效。





**Thank you
For your attention !**

