

Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 92 (2001)
Heft: 2

Artikel: Antimutagene Wirkung von Milchprodukten und von in der Milchwirtschaft verwendeten Bakterien. Teil 2, Milchsäurebakterien und andere Bakterien
Autor: Sieber, Robert / Boekel, Martinus A.J.S. van
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-981909>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 30.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Antimutagene Wirkung von Milchprodukten und von in der Milchwirtschaft verwendeten Bakterien

Teil 2. Milchsäurebakterien und andere Bakterien

Robert Sieber, Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM)
Liebefeld, Bern

Martinus A.J.S. van Boekel, Food Science Group, Wageningen University,
Wageningen

Eingegangen 15. November 2000, angenommen 9. März 2001

Einleitung

Im ersten Teil wurde über die antimutagene Wirkung von Milch, Milchinhaltsstoffen, Sauermilchprodukten und Käse berichtet (1). Es zeigte sich, dass die in der Milch festgestellte antimutagene Wirkung hauptsächlich dem Protein zugeschrieben werden muss. Bei den fermentierten Milchprodukten ist diese Eigenschaft teilweise auf das Protein, aber auch auf die Anwesenheit der Milchsäurebakterien zurückzuführen. Dieser zweite Teil fasst die Ergebnisse über die antimutagene Wirkung dieser Bakterien sowie von Bifidobakterien, Propionsäurebakterien und Enterokokken zusammen.

Nachweis des Bindungsverhaltens gegenüber mutagenen Substanzen

Neben dem in Teil 1 (1) beschriebenen *Salmonella typhimurium*-Mutagenitätstest nach Ames wird auch in vitro das Bindungsverhalten von Zellen gegenüber mutagenen Substanzen untersucht. Dabei werden lyophilisierte Zellen mit Wasser und einer bestimmten Menge an einer mutagenen Substanz suspendiert und bei 37°C während 15 oder 30 Minuten inkubiert. Danach wird die Lösung zentrifugiert und durch einen Mikrofilter filtriert oder ultrafiltriert. Das Filtrat wird mit der gleichen Menge an Acetonitril versetzt und dann mit HPLC aufgetrennt. Damit wird

der Anteil an mutagener Substanz, der ungebunden ist, bestimmt, woraus sich die prozentuale Bindung berechnen lässt.

Milchsäurebakterien

Milchsäurebakterien werden bei der Vergärung verschiedener Lebensmittel eingesetzt. Sie tragen wesentlich dazu bei, dass solche Produkte länger haltbar sind. Daneben werden ihrem Vorhandensein verschiedene gesundheitliche Vorteile zugesprochen (Laktoseintoleranz, Vermeidung von Diarrhö u.a.). Verschiedene Milchsäurebakterienstämme werden auch als probiotische Bakterien eingesetzt (2, 3).

Wirkungen der Milchsäurebakterien im Mutagenitätstest

Für den Nachweis einer antimutagenen Wirkung von Milchsäurebakterien wird ebenfalls der Mutagenitätstest nach Ames eingesetzt. Verschiedene Milchsäurebakterien, die aus fermentierter Milch oder Lebensmitteln isoliert wurden oder aus Kultursammlungen stammen, wiesen in diesem Test unterschiedliche antimutagene Wirkungen gegenüber verschiedenen mutagenen Substanzen¹ auf (Tabelle 1). Unter sechs *Lactobacillus* (*L.*) *acidophilus*-Stämmen hatte der Stamm Nr. 2400 eine antimutagene Wirkung von >50 % gegenüber MNNG, NF², NPD², NQO², AFB₁, AMIQ und von <30 % gegenüber AMPIP und AMPI, während der Stamm Nr. 2415 gegenüber diesen mutagenen und promutagenen Substanzen schwach antimutagen war (zum Teil deutlich unter 40 %). Wie der erste Stamm waren auch vier weitere Stämme gegenüber NF sehr wirksam (zwischen ~75 und 95 %), jedoch teilweise nicht gegenüber MNNG (Abb. 1) und NQO (12). Bei 28 *L. gasseri*-Stämmen lag die antimutagene Wirkung gegenüber Trp-P1 zwischen 43,2 und 94,2 % (13).

¹ Abkürzungen der mutagenen Substanzen:

AF2 = 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamid
AFB₁ = Aflatoxin B₁
AMIQ = 2-Amino-3-methyl-3H-imidazo-chinolin
AMPI = 2-Amino-3-methyl-9H-pyrido(3,3-6)indol
AMPIP = 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo(4,5-b)pyridin
B(a)P = Benzo(a)pyren
Glu-P1 = 2-Amino-6-methyldipyrido-[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazol
Glu-P2 = 2-Aminodipyridol-[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazol
IQ = 2-Amino-3-methylimidazo-[4,5-*f*]chinolin

MeIQ = 2-Amino-3,4-dimethylimidazo-[4,5-*f*]chinolin
MeIQx = 2-Amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-*f*]chinolin
MNNG = N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin
NF = 2-Nitrofluoren
NPD = 4-Nitro-O-phenylendiamin
NQO = 4-Nitrochinolin-N-oxid
Phe-P1 = 2-Amino-5-phenylpyridin
PhIP = 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin
Trp-P1 = 3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-[4,3-*b*]indol
Trp-P2 = 3-Amino-1-methyl-5H-pyrido-[4,3-*b*]indol
Formeln siehe teilweise Tabelle 1 in (1)

² NF, NPD und NQO sind promutagene Substanzen, die erst nach Aktivierung im Stoffwechsel antimutagen wirken.

Tabelle 1

Antimutagene Wirkung von Milchsäurebakterien gegenüber verschiedenen mutagenen Substanzen im Ames-Test

Stamm	Herkunft	mutagene Substanz	antimutagen	Lit.
<i>L. casei</i>	Kultursammlung	nitrosiertes Rindfleisch	+	4
		Rindfleischextrakt + S9-Mischung	-	
<i>L. gasseri</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Escherichia coli</i>	Omniflora = probiotisches Erzeugnis	nitrosiertes Rindfleisch	-	4
		Rindfleischextrakt + S9-Mischung	+	
<i>Lc. lactis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. agilis</i> , <i>L. coryniformis</i> , <i>Lc. lindneri</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. piscicola</i> , <i>L. confusus</i> , <i>L. sake</i>	Kultursammlung	nitrosiertes Rindfleisch	+	5
			-	
<i>Str. faecalis</i>	Kultursammlung	NF, NQO	+	6
			-	
<i>Str. thermophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. rhamnosus</i>	Kultursammlung	Nitrovin	+	7
<i>L. sp.</i> , <i>L. plantarum</i>	Kultursammlung	Nitrosin	-	7
36 von 40 Laktobazillenstämmen	Kefir und Joghurt	NF	+	8
3 Stämme von <i>Str. lactis</i> var. <i>cremoris</i>	Kefir	AF2	+	9
<i>Str. faecalis</i> , <i>Str. faecium</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. coryniformis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. confusus</i> , <i>L. cellobiosus</i> , <i>Leuconostoc paramesenteroides</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i>	natürlich fermentiertes, indisches Getreideprodukt	Gewürze, Trp-P1, Trp-P2, Aflatoxine	+	10
<i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i>	Reis	NQO	+	11
6 <i>L. acidophilus</i> -Stämme	Kultursammlung	MNNG, NF, NPD, NQO, AFB, AMIQ, AMPIP, AMPI	+	12
28 <i>L. gasseri</i> -Stämme	Kultursammlung	Trp-P1	+	13
9 <i>Str. cremoris</i> -Stämme, <i>Str. lactis</i> ssp. <i>diacetylactis</i>	chinesischer Käse	Trp-P1, Trp-P2, Glu-P2	+	14

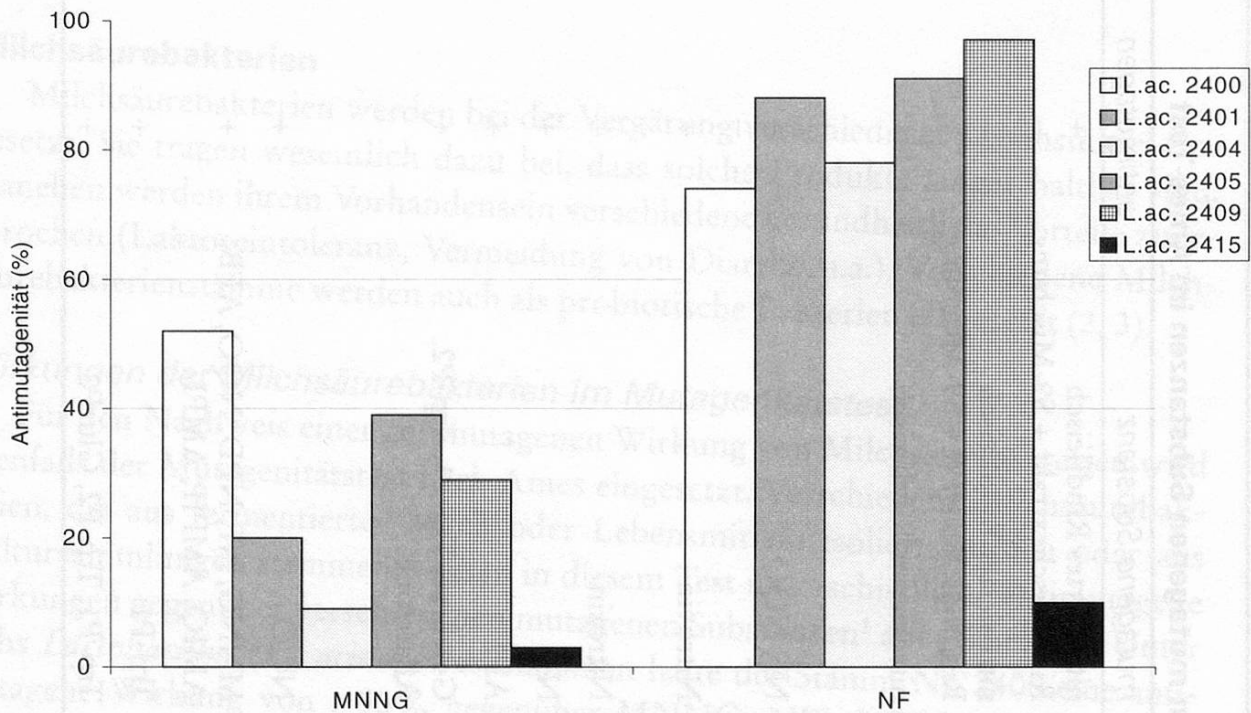


Abbildung 1 Antimutagene Wirkung von sechs *L. acidophilus*-Stämmen gegenüber MNNG und NF (zusammengestellt nach 12)

Von zehn *Streptococcus* (*Str.*)-Stämmen aus einem traditionellen chinesischen Käse waren sieben *Str. cremoris*-Stämme gegenüber Trp-P1 und Trp-P2 und einer gegenüber Glu-P1 stark antimutagen (14). *Str. faecalis*-Zellen waren gegenüber NF weniger wirksam als Zellextrakte (15). Von 194 aus traditionellen fermentierten Milchprodukten isolierten Milchsäurebakterienstämmen werden 27 erwähnt, die eine antimutagene Wirkung gegenüber Trp-P1 von 10 bis 100 % aufwiesen (16). Aus Dadih isolierte Milchsäurebakterienstämmen waren in der Lage, die mutagene Wirkung von N-Nitrosodiethylamin und in geringerem Masse von N-Nitrosodimethylamin zu hemmen, nicht aber diejenige von N-Nitrosopiperidin und N-Nitrosopyrrolidin (17).

Die antimutagene Wirkung gegenüber Trp-P2 war bei Zellsuspensionen von *L. acidophilus* LA106 und *Lactococcus* (*Lc.*) *lactis* ssp. *lactis* Lll103 (18) und mit gefriergetrockneten *L. gasseri*-Zellen (19) von der Anzahl der eingesetzten Zellen abhängig und erreichte mit 15×10^8 *L. acidophilus*-Zellen/ml eine solche von über 80 % (18). Dabei spielte es keine Rolle, ob die Zellen lebend oder abgetötet waren (19). Dagegen zeigten abgetötete Zellen von *L. acidophilus* insgesamt geringere antimutagene Wirkungen als lebende (12).

Ungereinigte und trypsinbehandelte Zellwände von *Str. faecalis* verminderten im Vergleich zur Kontrolle die antimutagene Wirkung von Trp-P1, Trp-P2 und von Glu-P1 um mehr als 95 %. Dabei hatte nach diesen Autoren eine steigende $MgCl_2$ -

Konzentration nur eine geringfügige Wirkung (20). Zellen dieses Keimes waren gegenüber AF2 und NQO antimutagen, gegenüber diesen Mutagenen wie auch gegenüber Fecesextrakten von Hunden und Katzen hatten Zellwände dieselbe Wirkung (21).

L. casei wie auch *Omniflora* zeigten antiklastogene Wirkung im Chromosomen-Aberrations- und Mikronukleustest (4).

Bindung von mutagenen Substanzen durch Milchsäurebakterien

Verschiedene Milchsäurebakterien, aus Kultursammlungen (13, 22–24, 41) stammend oder aus westeuropäischem (9) und mongolischem (25) Kefir, aus Dadih, einem indonesischen fermentierten Milchprodukt (26), aus einem algerischem Käse (27) und aus einem traditionellen chinesischen Käse (14) isoliert, wurden in In-vitro-Versuchen auf ihr Bindungsverhalten gegenüber den mutagenen Substanzen Trp-P1, Trp-P2, Glu-P1, in einigen Fällen auch gegenüber Glu-P2, IQ, MeIQ, MeIQx, PhIP, AF2, AFB₁ und B(a)P (9, 13, 23, 24, 27, 41) überprüft und dabei zeigten sich je nach Stamm und nach mutagener Substanz unterschiedliche Resultate. Trp-P1 und Trp-P2 wurden meist zu mehr als 90 %, Glu-P1 dagegen in geringerem Masse und AFB₁ sehr schlecht gebunden (Tabelle 2). Auch aus einem indischen fermentierten Reis-Bohnenprodukt isolierte Milchsäurebakterien zeigten das gleiche Bindungsverhalten gegenüber Trp-P1, Trp-P2 und Glu-P1 (28).

Durch 20 µg und mehr der lyophilisierten Bakterienstämme von *L. acidophilus* NCFB 1748, *L. fermentum* KLD, *Lc. lactis* ssp. *lactis* NCFB 604, *Lc. lactis* ssp. *cremoris* NCFB 607 pro µg mutagener Substanz wurden bis zu 96 % von Trp-P2 gebunden, während die Bindung von PhIP mindestens 50 % und diejenige von IQ und MeIQx bei einer maximalen Menge von 200 µg Bakterien/µg mutagener Substanz zwischen 20 und 40 % betrug (29). Gefriergetrocknete Zellen von *Str. cremoris* Z-25 zeigten in destilliertem Wasser für Trp-P1 eine Bindungsfähigkeit von 86,6 % (30) und 97 % (22), für Trp-P2 von 83,9 % und für Glu-P1 von 18,6 % (30). Bei gefriergetrockneten Zellen von *L. casei* ssp. *casei* R-52 (31) und *Lc. lactis* ssp. *lactis* T-80 (32) wurde aus der Dosis-Wirkungs-Kurve die mittlere gebundene Menge mit 123 µg (31) und 137 µg (32) Trp-P1 sowie 110 µg (31) Trp-P2/mg Zelle ermittelt. 5 mg *L. acidophilus* IFO13951-Zellen wurden in einer Suspension von 1000 µg Trp-P1 inkubiert und dabei wurden etwas weniger als 150 µg Trp-P1/mg gebunden (33). Mit *L. casei* wurde eine maximale gebundene Menge von 40 µg Trp-P2/g gefunden (41).

L. casei- wie auch *L. gasseri*-Zellen können Trp-P1 und Trp-P2 sehr schnell binden (13, 41). Bei *Lc. lactis* ssp. *lactis* T-80-Zellen (32) wie auch bei zwei von vier *L. gasseri*-Stämmen (13) war die Bindung von Trp-P1 bereits unmittelbar nach dem Start der Inkubation maximal, während sie bei den zwei anderen *L. gasseri*-Stämmen während der ersten 30 Minuten Inkubationszeit noch signifikant anstieg. Vier *L. gasseri*-Stämme banden Trp-P1 (120 bis 141 µg) am stärksten, gefolgt von Trp-P2 (87 bis 110 µg) und IQ (54 bis 65 µg). Wurden nach der Bindung von Trp-P2,

Tabelle 2
In-vitro-Bindung von mutagenen Substanzen an Milchsäurebakterien

Mikroorganismus	n	Bindung in % an							Lit.
		Trp-P1	Trp-P2	Glu-P1	Glu-P2	IQ	MelQ	MelQx	
<i>L. gasseri</i>	28	48,5–95,4	—	—			—		(13)
<i>L. gasseri</i>	4	88,3–94,7	78,2–86,3	11,3–21,7		35,8–61,1	31,1–59,3		(13)
<i>L. acidophilus</i> YIT 0169 ¹		89	81	28	20	55	76	55	(41)
<i>L. bulgaricus</i> YIT 0046 ¹		93	90	42	32	74	86	73	(41)
<i>L. casei</i> YIT 9018 ¹		90	90	16	10	48	70	55	(41)
<i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i> ²	4	82,4–99,3	89,3–98,4	19,2–33,0					(26)
<i>L. casei</i> ssp. <i>rhamnosus</i> ²	1	98,6	98,1	40,7					(26)
<i>L. fermentum</i> YIT 0159 ¹		86	78	21	15	46	68	53	(41)
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> 2038		94,1						60,8	(23)
<i>L. plantarum</i> ⁴	1	99,5	98,7	32,6					(25)
<i>L. brevis</i> ⁴	1	99,9	99,4	55,2					(25)
<i>Str. thermophilus</i> 1131		83,2						32,2	(23)
<i>Str. lactis</i> ⁴	5	99,2–99,8	97,4–99,9	29,8–73,6					(25)
<i>Str. lactis</i> ²	1	96,6	96,6	23,6					(26)
<i>Str. lactis</i> ssp. <i>diacetylactis</i> ²	3	95,6–99,3	96,7–97,7	23,6–32,7					(26)
<i>Str. lactis</i> ssp. <i>diacetylactis</i> ⁵	1	98,4	95,0	2,4					(14)
<i>Str. cremoris</i> ³	9	97,1–98,8	94,1–97,7	0,9–25,4					(14)
<i>Str. cremoris</i> ⁴	3	99,7–99,9	98,5–99,9	44,9–69,5					(25)
<i>Str. cremoris</i> ²	4	88,0–99,3	87,9–99,3	19,2–33,0					(26)
<i>Str. faecalis</i> ⁴	1	99,6	98,9	32,4					(25)
<i>Str. faecalis</i> ssp. <i>liquefaciens</i> ²	5	94,7–98,9	92,6–97,6	22,9–36,4					(26)
<i>Str. sp.</i> ³	1	97,1	91,0	20,4					(27)
<i>Str. cremoris</i> gefriergetr. in dest. Wasser		86,6	83,9	18,6					(30)
Magensäure		65,0	53,6	13,0					(30)
<i>Leuconostoc dextranicum</i> ⁴	6	99,1–99,7	99,1–99,99	45,6–74,9					(25)
<i>Leuconostoc paramesenteroides</i> ²	18	99,1–99,7	98,3–99,7	26,0–45,2					(26)
<i>Leuconostoc</i> sp. ³	1	98,7	97,4	34,6					(27)
<i>Pediococcus</i> sp. ³	4	97,6–98,7	93,6–99,6	23,3–69,5					(27)

¹ aus Feces isoliert; ² aus Dadih isoliert; ³ aus algerischem Käse isoliert; ⁴ aus mongolischem Kefir isoliert; ⁵ aus chinesischem Käse isoliert

Glu-P1, IQ, MeIQ ein *L. gasseri*-Stamm mit Trp-P1 inkubiert, wurden die gebundenen mutagenen Substanzen durch Trp-P1 teilweise ersetzt (34).

Die mit Trp-P1- und Trp-P2-gebundenen Zellen von *L. casei* ssp. *casei* R-52 zeigten in destilliertem Wasser nach 72-stündiger Inkubation keine Dissoziation, wohl aber in verschiedenen Pufferlösungen (31). Eine Inkubation von *L. acidophilus* in einem mutagenfreien Medium während 15 Minuten und 20 Stunden veränderte die an diesen Keim gebundene Fraktion von Trp-P2 nicht (29). Dagegen erhöhte sich die Dissoziationsrate in einer isotonischen Pufferlösung (pH 3,88) linear mit steigender Inkubationszeit. So war sie nach 48 h mit Trp-P1 ungefähr 50 % und mit Trp-P2 ungefähr 70 %. Bei einem pH-Wert von 2 war bereits zu Beginn der Inkubation die Dissoziation am stärksten. Pepsin in der Lösung erhöhte die Dissoziation nicht, jedoch die Inkubation mit Oxgall: Trp-P1 ungefähr 50 % und Trp-P2 > 85 % in einer 0,3 % Oxgall-Lösung (31).

Einfluss verschiedener Faktoren auf die Bindung von mutagenen Substanzen

Verschiedene Faktoren wie Salze (27, 30, 32, 41), pH-Wert (23, 24, 27, 29, 30, 32, 35, 41), Enzyme (35) und Hitzebehandlung der Zellen (14, 27, 29, 30, 33) beeinflussten die Bindung von mutagenen Substanzen. In Anwesenheit von CaCl_2 wird von *Lc. lactis* ssp. *lactis*-Zellen im pH-Bereich von 2 bis 9 weniger Trp-P1 gebunden als ohne CaCl_2 (32). Durch steigende Konzentrationen an NaCl, CaCl_2 (30, 41) und MgCl_2 (30) wurde die Bindung des Trp-P2 an *Str. cremoris*- (30) und *L. casei*-Zellen (41) gehemmt. Ebenso beeinflussten Chloride die Bindung von IQ durch Zellen und die Zellwand von *Pediococcus*, nicht aber diejenige von Trp-P2 mit Ausnahme von SeCl_4 (27).

Die pH-abhängige Bindung von mutagenen Substanzen an Zellen von Milchsäurebakterien wie *L. acidophilus* (24, 29), *L. casei* (41), *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (23), *Lc. lactis* ssp. *lactis* (32, 35), *Str. cremoris* (30) und *Pediococcus* sp. (27) zeigte je nach Keim und mutagener Substanz unterschiedliche Resultate (Tabelle 3). Wässrige Pufferlösungen von pH 3, 5 und 7 setzten kein Trp-P1 aus *Str. cremoris* Z-25 frei, wohl aber aus *L. acidophilus*: 8 % bei pH 3, 5 % bei pH 5 und 0,7 % bei pH 7 (22).

Bei gleichzeitiger Inkubation von Trp-P1 und Trp-P2 mit Pepsin bei einem pH-Wert von 2,0 (= optimale Aktivität von Pepsin) banden *Lc. lactis* ssp. *lactis*-Zellen nur wenig von diesen beiden Mutagenen. Mit steigender Konzentration von Trypsin (pH 7,5) oder Gallensäure (pH 8,0) sank die Bindung an diese mutagenen Substanzen, die anfangs zwischen 80 und 95 % lag, ab. Bei einer Trypsinkonzentration von 1 % banden diese Zellen noch etwa 80 % Trp-P1 und etwa 50 % Trp-P2 und bei einer Gallensäurekonzentration von 2 % wurden diese beiden Mutagene praktisch nicht mehr gebunden (35).

Durch Hitze abgetötete Zellen von *L. acidophilus* NCFB 1748 (29), IFO13951 (33), *Str. cremoris* Z-25 (30, 33) und *Pediococcus* sp. BK3-11 (27) hatten die gleiche

Tabelle 3

Bindung von mutagenen Substanzen durch Milchsäurebakterien in Abhängigkeit des pH-Wertes

Keim	pH	stärkste Bindung mutagene Substanz	pH	schwächste Bindung mutagene Substanz	Bemerkungen	Lit.
<i>L. acidophilus</i>	3	AFB ₁	3	Trp-P2, IQ, MeIQ, MeIQx,		(24)
	5	PhIP		PhIP		
	7	IQ, MeIQ, MeIQx	7	AFB ₁		
	8	Trp-P2				
<i>L. casei</i>	5–6	Trp-P2	4	Trp-P2		(41)
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> 2038	4	Trp-P1: > 85 %	3	MeIQx: ~ 30 %		(23)
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> T-80	5	MeIQx: ~ 60 %	8	Trp-P1: < 40 %		
	7	Trp-P1: 91 %	2	Trp-P1: 15 %	gefriergetrocknete	(35)
		Trp-P2: 89 %		Trp-P2: 21 %	Zellen mit CaCl ₂	
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> T-80	6	Trp-P1: ~ 50 %	2	Trp-P1: 15 %		(32)
			9	Trp-P1: ~ 30 %		
<i>Str. cremoris</i> Z-25			2	Trp-P2		(30)
			9	Trp-P2		
<i>Str. thermophilus</i> 1131	5–9	Trp-P1: 80–90 %	3	Trp-P1: ~ 65 %		(23)
<i>Pediococcus</i> sp. BK3–11	3–4	Trp-P2	3	IQ	Zellen	(27)
	6	IQ	9	Trp-P2, IQ		
	9	Trp-P2	3	Trp-P2	Zellwände	
<i>B. longum</i>	3	AFB ₁	3	MeIQx, Trp-P2		(24)
	5	MeIQx, MeIQ, PhIP	5	IQ		
	8	IQ, Trp-P2	7	AFB ₁		
			8	MeIQ, PhIP		

Fähigkeit, Trp-P2 (27, 29, 30) sowie Trp-P1 und Glu-P1 (33) zu binden wie lebende (29) oder gefriergetrocknete (27, 30, 33) Bakterien, dagegen war die Bindungsfähigkeit von autoklavierten *Str. cremoris*-Zellen im Vergleich zu nicht autoklavierten Zellen gegenüber Trp-P1 und Trp-P2 um bis zu 19 % (14) und von *Pediococcus* sp. BK3-11 gegenüber IQ um 28 % (27) reduziert.

Bindung von mutagenen Substanzen durch Zellbestandteile

Die Bindungsfähigkeit von Zellbestandteilen³ gegenüber mutagenen Substanzen wurde bereits in verschiedenen Untersuchungen ermittelt (27, 33, 34, 36–38) und ist unterschiedlich. Von der Zellwand von *Str. cremoris* Z-25 (36), *L. acidophilus* IFO13951 (33) und *Pediococcus* (27) wurden Trp-P1 und Trp-P2 zu 70 und 68 % (36), Trp-P1 zu 91 % (33), Trp-P2 zu 98 % und IQ zu 60 % (27) gebunden, während Cytoplasma eine geringe Wirkung aufwies (33, 36). Dabei hemmte die Zellwand von *L. acidophilus* die durch Trp-P1 und MeIQx induzierte Mutagenität zu 92 und 40 % (33). Durch die Zellwand von *L. acidophilus* und *Str. cremoris* wurden bis zu 20 µg Trp-P1/mg, 3,1 und 5,3 µg Glu-P1/mg, 5,5 und 0,8 µg Phe-P1/mg, 8,5 und 11,5 µg MeIQ/mg, 4,6 und 6,5 µg IQ/mg sowie 5,4 und 8,8 µg MeIQx/mg gebunden (36).

Gereinigte Zellwände von vier *L. gasseri*-Stämmen banden mehr Trp-P1, Trp-P2 und IQ als isoliertes Peptidoglykan (total zwischen 363 und 416 im Vergleich zu 46 bis 110 µg) (34). Demgegenüber wurde Trp-P1 zu 100 % an das Peptidoglykan von *L. acidophilus* gebunden (33). Aus der Zellwand von *Leuc. mesenteroides* ssp. *dextranicum* wurde ein Peptidoglykan gewonnen, das in destilliertem Wasser mit dem Mutagen Trp-P1 inkubiert wurde. Ungefähr 90 % des Trp-P1 wurde bei einer Peptidoglykanmenge von 2 mg gebunden. Die Inkubationszeit beeinflusste das Bindungsvermögen nicht. Die Bindung war maximal bei einer Inkubationstemperatur von 25 bis 50 °C und im pH-Bereich von 7,0 bis 9,0, während verschiedene Kationen wie Calcium, Magnesium, Mangan und Eisen die Bindung hemmten (38).

Sreekumar und Hosono (37) unterwarfen *L. gasseri*-Zellen verschiedenen chemischen und enzymatischen Behandlungen und studierten sodann die Bindung von Trp-P1 (Tabelle 4). Erhitzen der Zellen und Zellwandsuspensionen allein oder in Gegenwart von Alkali oder Natriumdodecylsulfat (SDS) wie auch deren Behandlung mit proteolytischen Enzymen und auch mit Lectinen mit Ausnahme des Concanavalins A veränderten die Bindung nicht. Dagegen verursachte die Erhitzung der Zellen mit Trichloressigsäure (TCA) oder starker Säure (1N HCl) eine praktisch vollständige und mit Natriummetaperiodat (NaIO₄) eine deutliche Reduktion der Bindung von Trp-P1. Bei der Behandlung der Zellwände mit diesen Substanzen war die Wirkung nicht so ausgeprägt. Zugleich war dadurch der Gehalt der Zellen wie auch der Zellwände an Kohlenhydraten reduziert.

³ Die Zellen werden dazu mit Ultraschall aufgebrochen.

Tabelle 4

Prozentuale Bindung von Trp-P1 an Zellen und Zellwände von *L. gasseri*-Stämmen nach chemischen und enzymatischen Behandlungen (37)

Behandlung	Prozentuale Bindung der			
	Zellen von <i>L. gasseri</i>		Zellwände von <i>L. gasseri</i>	
	SBT10239	SBT10241	SBT10239	SBT10241
Kontrolle	100	100	100	93
Wasser 100°C, 15'	84	80	86	87
50 mM NaIO ₄ , 4°C, 15'	40	48	15	17
10% TCA, 100°C, 15'	4	1	8	18
1N bzw. 0,1 HCl, 100°C, 15'	5	1	43	38
1N NaOH, 100°C, 15'	78	82	86	92
2% SDS, 100°C, 15'	99	93	84	86
Kontrolle	100	100	100	93
Concanavalin A	56	59	—	—
Concanavalin A + Inhibitor	83	98	—	—
verschiedene Lectine	100	100	—	—
Mutanolysin	83	93	89	90
Lysozym	99	87	86	90
Trypsin	100	89	91	80
Proteinase K	100	95	100	99

In-vivo-Versuche

Da Bakterien in der Lage sind, mutagene Substanzen zu binden, kann erwartet werden, dass damit die Absorption dieser Substanzen im Darm reduziert wird. Bei sechs gesunden Versuchspersonen, die über drei Wochen *Lb. casei* erhielten, sank die durch gebratenes Hackfleisch hervorgerufene Mutagenität im Urin um 48%. Als mögliche Erklärung für dieses Resultat wurden Änderungen in der Darmmikroflora herbeigezogen (39). Aus den Feces von Probanden, die mit *L. acidophilus* LA-2 gesäuerte Milch verzehrten, wurden 24 Laktobazillen-Stämme isoliert. Mit *Salmonella typhimurium* TA98 als Indikatororganismus lag die antimutagene Wirkung dieser Stämme gegenüber Trp-P2 zwischen 0,5 und 82,0% und gegenüber IQ zwischen 0,4 und 63,9%, wobei *L. fermentum*, *L. rhamnosus* und *L. salivarius* die stärkste Wirkung aufwiesen (40). Auch *L. casei* YIT 9018 isoliert aus Feces reduzierte die mutagene Wirkung von Trp-P2 (41).

Mit Hilfe einer *in situ*-Loop-Technik wurde im Darm von Ratten die Absorption von Trp-P1 in Gegenwart von Zellen des *Str. thermophilus* 1131-Stammes untersucht. Dabei wurde im Jejunum und Ileum weniger Trp-P1 absorbiert als in Abwesenheit dieses Stammes, während Zellen des *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*-Stammes 2038 keine Wirkung auf die Trp-P1- und MeIQx-Absorption hatten (23). Bei Ratten, denen Trp-1 mit *Str. thermophilus* verabreicht wurde, war die Trp-P1-Konzentration im Pfortaderblut tiefer als ohne Verabreichung dieses Mikroorganismus (42). Nach Verabreichung von Trp-P1 und gefriergetrockneten Bakterien wie *L. acidophilus* IFO 13951 oder *Str. cremoris* Z-25 war im Blut von Ratten, die

während vier Tagen hungerten, die Menge an dieser mutagenen Substanz im Vergleich zur Kontrolle um 51,4 oder 64,7 % reduziert (22). Dem widersprechen jedoch die Resultate von *Bolognani et al.* (24), die nach der Verabreichung von *L. acidophilus*- und *Bifidobacterium (B.) longum*-Suspensionen an Mäuse in der Leber keine signifikante hemmende Wirkung auf die Aktivität von MeIQx, MeIQ oder Trp-P2 im Vergleich zur Kontrolle feststellten. Die Unterschiede zwischen diesen beiden Studien wird durch die Form der Bakterien (gefriergetrocknet oder frisch) und durch den Ernährungszustand der Tiere erklärt.

Ratten wurden vor der oralen Verabreichung einer genotoxischen, krebserzeugenden Substanz (5 mg MNNG/kg Körpermasse) lebensfähige *L. casei*-Zellen (10^{10} Zellen in 10 ml 0,9 % NaCl/kg Körpermasse) gegeben. Dabei wurde die induzierte DNA-Schädigung in den Magen- und Dickdarm-Mukosazellen reduziert. Wurden den Tieren am Morgen Joghurt oder Milchsäurebakterien, 8 Stunden später MNNG verabreicht und weitere 16 Stunden später die Dickdarmzellen isoliert, war die Anzahl der intakten Zellen bei der *L. casei*- und Joghurtgruppe deutlich höher als in der Gruppe mit MNNG (43). Auch *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. confusus* und *Str. thermophilus* verhinderten eine durch MNNG verursachte Induktion der DNA-Schädigung. Diese Mikroorganismen (bei *Str. thermophilus* und *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* nur einer von vier resp. drei Stämmen) waren ebenfalls antigenotoxisch gegenüber 1,2-Dimethylhydrazin (44). Auch *L. bulgaricus* 191R war in der Lage, die durch 1,2-Dimethylhydrazin-verursachte DNA-Schädigung im Dickdarm von Ratten zu verhüten, nicht aber *Str. thermophilus* CH3 (45).

Bifidobakterien

Bifidobakterien stellen einen gewichtigen Anteil der menschlichen Mikroflora dar und werden auch zur Herstellung von probiotischen Produkten eingesetzt (46).

Bifidobakterienstämme weisen unterschiedliche antimutagene Aktivitäten im Ames-Test gegenüber acht mutagenen Substanzen auf. Gegenüber NF betrug diese bei sieben Stämmen mehr als 90 % und gegenüber MNNG bei den fünf Stämmen mehr als 40 % (Abb. 2). Auf 100°C während 15 min erhitzte Zellen zeigten meist eine geringere Wirkung (12). Gegenüber B(a)p stieg die antimutagene Wirkung mit dem erhöhten Einsatz von koloniebildenden Einheiten (kbE) von *Bifidobacterium sp. Bio* (Stamm Danone 173010) an: bei 3×10^7 kbE betrug die Hemmung 15 % und bei 5×10^{10} kbE 46 % (47).

Auch Bifidobakterien können wie die Milchsäurebakterien mutagene Substanzen in unterschiedlicher Konzentration binden (Tabelle 5). Sieben Bifidobakterienstämme, aus den Feces von Probanden nach dem Verzehr von fermentierter Milch isoliert, banden Trp-P2 zwischen 2,0 und 27,2 % und IQ zwischen 5,4 und 19,7 % (40). Lyophilisierte Zellen von drei *B. longum*-Stämmen können heterozyklische Amine mit Ausnahme von Glu-P1 effizient binden, doch war der Bindungsgrad stammabhängig. Der Stamm, der kein Polysaccharid bildete – als PS⁻ bezeichnet –, wies eine stärkere Wirkung auf als derjenige, der Polysaccharide bildete (PS⁺)

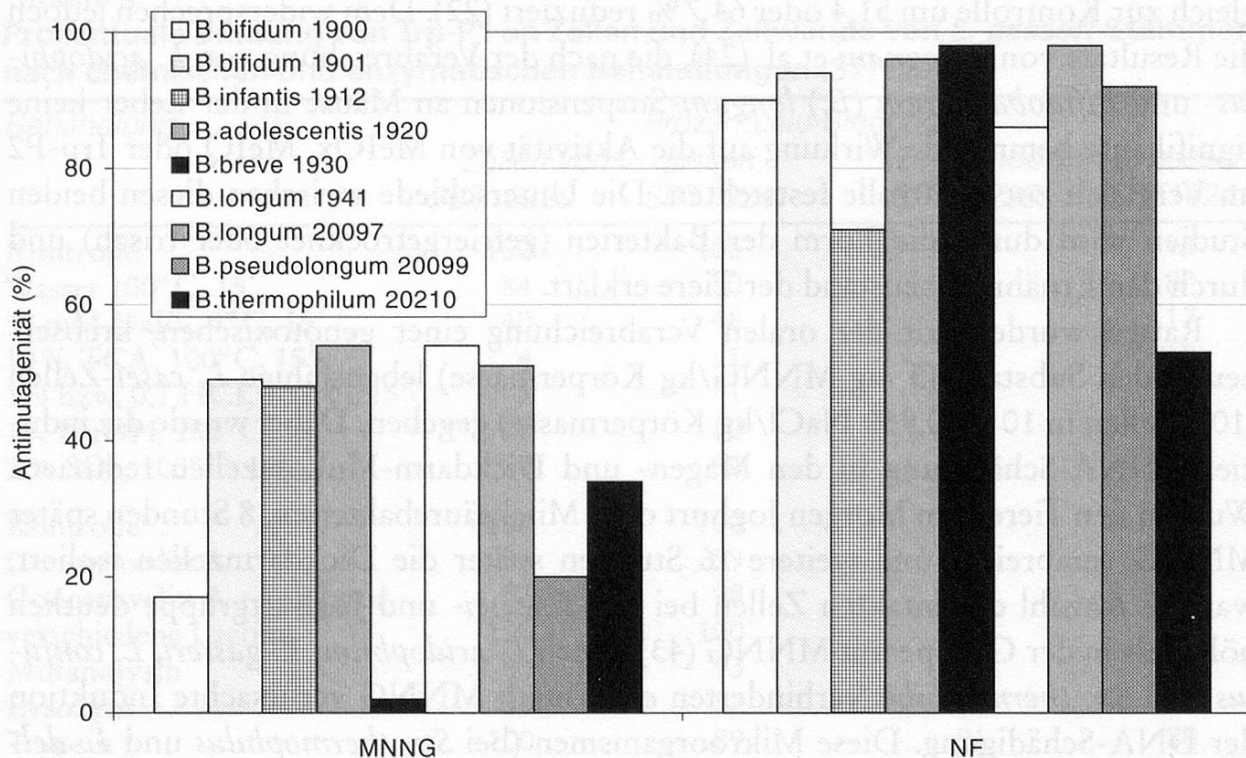


Abbildung 2 **Antimutagene Wirkung von neun *Bifidobacterium*-Stämmen gegenüber MNNG und NF** (zusammengestellt nach 12)

(Tabelle 5). Im Falle des Trp-P1 zeigte sich eine Dosisabhängigkeit dieser drei Stämme (48). Auch in einer anderen Studie betrug die Bindung von *B. longum* BB536 gegenüber Trp-P2 mehr als 90 %, während sie gegenüber PhIP, MeIQx und IQ dosisabhängig war (29). *B. bifidum* IFO3301 band etwa 150 µg Trp-P1/mg (33) und IFO14252 in Magensäure oder Phosphatpuffer etwa gleich viel Trp-P2 (30). *B. bifidum* IFO14252-Zellen, die durch Erhitzen bei 100 oder 120°C während 15 Minuten abgetötet wurden, unterschieden sich nicht in ihrer Bindung von Trp-P1 und Glu-P1 im Vergleich zu gefriergetrockneten Zellen (33). *B. bifidum* IFO14252 band pro mg 19,5 µg Trp-P1, 3,7 µg Glu-P1, 5,5 µg Phe-P1, 6,0 µg MeIQ sowie je 1,7 µg IQ und MeIQx (36). Die verschiedenen mutagenen Substanzen zeigten eine pH-abhängige Bindung an *B. longum* (Tabelle 5), was auch für PhIP und AFB₁ gilt (24).

Bei zehn gesunden Versuchspersonen verminderte sich die mutagene Wirkung des Urins nach dem gleichzeitigen Verzehr von gekochtem Hackfleisch und einer mit Bifidobakterien fermentierten Milch. Dabei waren im Darm die Anzahl der Laktobazillen erhöht und diejenige der Enterobacteriaceen erniedrigt (49). Bei Ratten waren *B. breve* und *B. longum* antigenotoxisch gegenüber MNNG (44).

Tabelle 5
In-vitro-Bindung von mutagenen Substanzen an Bifidobakterien

Mikroorganismus	Bindung in % an										Lit.
	Trp-P1	Trp-P2	Glu-P1	Glu-P2	AFB ₁	B(a)P	PhIP	IQ	MeIQ	MeIQx	
<i>B. longum</i> SBT2928-S	82,6										(13)
<i>B. longum</i> SBT2928	88,8	74,2	12,3					43,9	39,4		(13)
<i>B. longum</i> pH3		25,1			12,4	95,1	18,2	20,8	11,6	17,0	(24)
<i>B. longum</i> pH 5		77,5			7,7	91,8	34,5	53,1	67,2	58,0	(24)
<i>B. longum</i> pH 7		79,7			1,2	88,8	7,0	14,0	22,0	28,6	(24)
<i>B. longum</i> pH 8		81,5			7,2	87,7	6,2	4,2	9,6	17,3	(24)
<i>B. longum</i>	95,5	91,8	14,0					85,8	77,1		(48)
<i>B. longum</i> PS ⁻	87,7	76,1	10,9					65,8	58,0		(48)
<i>B. longum</i> PS ⁺	75,2	64,1	11,3					58,1	46,0		(48)
<i>B. breve</i> YIT 4006*	94	91	14	7				61	36	41	(41)
<i>B. adolescentis</i> E194a	90	91	20	10				39	69	56	(41)
<i>B. bifidum</i> YIT 4007*	94	93	27	19				51	69	55	(41)

PS⁺ = polysaccharidbildender Stamm; PS⁻ = keine Polysaccharidbildung

* aus Feces isoliert

Propionsäurebakterien

Die Propionsäurebakterien kommen vor allem bei der Fabrikation von Emmentaler zur Anwendung und werden auch zu den Probiotika gezählt (50).

Zellextrakte von *Propionibacterium (P.) shermanii* VKM-103 wirkten gegenüber Natriumazid und MNNG (51), 9-Aminoacridin (52) wie auch NQO (53–55) antimutagen. Auch andere Propionsäurebakterien wie *P. shermanii* KM-82, *P. pentosaceum*, *P. acne* wiesen die gleiche Wirkung gegenüber Natriumazid auf, nicht aber *P. coccoides*. Die antimutagene Wirkung der Extrakte wurde durch das Erhitzen auf 70°C teilweise und auf 100°C vollständig vermindert. Nach einer Auftrennung der Proteine des Extraktes konnten zwei Proteine (Molekulargewicht >70 kDa und 35 bis 70 kDa) mit einer antimutagenen Aktivität nachgewiesen werden (51, 52).

Enterokokken

Die Möglichkeit, Enterokokken als probiotische Keime zur Herstellung von Käse zu verwenden, wurde bereits untersucht (56), doch werden hinter deren Anwendung gewisse Fragezeichen gesetzt (57, 58).

Im Ames-Test reduzierten *Enterococcus faecalis* und *faecium* die mutagene Wirkung von Nitrovin um 49 und 47%; letzterer wirkte auch gegenüber 2-Aminofluoren antimutagen. Hitzebehandelte (100°C während 15 Minuten) Zellen zeigten keine Wirkung (7). Autoklavierte *Enterococcus faecalis* FK23-Zellen waren ebenfalls in der Lage, verschiedene Mutagene wie Trp-P1, Trp-P2, Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂ zu binden. Dabei hängt das Bindungsvermögen von der eingesetzten Menge an Bakterien ab. Bei Trp-P1 und Trp-P2 (jeweils 100 µg) lag das maximale Bindungsvermögen bei 1 mg Zellen, während bei den Aflatoxinen B₁, B₂, G₁ und G₂ das Bindungsvermögen von 15 mg gefriergetrockneten Zellen bei 60, 49, 46 und 34 % lag. Nach Behandlung von *Enterococcus faecalis* FK-23-Zellen mit SDS, wodurch Protein denaturiert wird, war die Bindung von Trp-P1 signifikant reduziert (59). Drei *Enterococcus faecalis*- und zwei *Enterococcus faecium*-Stämme banden im Mittel 98,2 % Trp-P1, 96,7 % Trp-P2 und 37,0 % IQ (27).

Erklärung der antimutagenen Wirkung der Milchsäurebakterien

Mutagene Substanzen werden unterschiedlich von den Milchsäurebakterien gebunden. Je mehr heterozyklische Amine gebunden werden, desto mehr wurde die mutagene Wirkung reduziert (29). Wie sich mutagene Substanzen an Milchsäurebakterien binden, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Aufgrund der Bindung von Trp-P2 an gefriergetrockneten Feces, Bakterienzellen und Nahrungsfasern nehmen Morotomi und Mutai (41) an, dass es sich dabei um einen Kationenaustausch-Mechanismus handeln könnte. Tanabe et al. (32) wie auch Hosono und Hisamatsu (59) diskutieren aufgrund der Bindungsweise von Trp-P1, Aminosäurepyrolysaten und Aflatoxinen an die Zellwand von *Enterococcus faecalis* FK-23- und *Lc. lactis* ssp. *lactis* T80-Zellen die Möglichkeit, dass sich diese mutagenen Substanzen an ein Protein binden, das durch SDS denaturiert wurde. Es muss

sich also um hydrophobe Bindungen handeln. Nach der Arbeitsgruppe von Hosono (20, 21, 38), die aus verschiedenen fermentierten Milchprodukten Milchsäurebakterien mit einem Bindungsvermögen gegenüber mutagenen Substanzen isolierten (25, 26, 35), war das Peptidoglykan der Zellwand die stärkste Komponente, die eine Kapazität aufwies, karzinogene Trp-Pyrolysate zu binden.

Eingehende Untersuchungen zur Bindung von Trp-P1 an *L. gasseri* SBT10239 und SBT10241-Zellen haben Sreekumar und Hosono (37) vorgenommen. Sie haben dabei Zellen und Zellwandsuspensionen allein oder in Gegenwart von Alkali oder SDS erhitzt oder mit proteolytischen Enzymen behandelt (Tabelle 4). Die Behandlung der Zellen mit TCA wie auch mit 1 N HCl, die den Zellgehalt an Kohlenhydraten verminderte, reduzierte die Bindung von Trp-P1 praktisch vollständig. Mit dieser Behandlung wurde hingegen der Proteingehalt nicht verändert, auch die Anwendung von proteolytischen Enzymen wie Lysozym, Proteinase K, Trypsin und Mutanolysin hatte keine Wirkung auf die Bindung. Werden Zellen und Zellwände mit Natriummetaperjodat, das OH-Gruppen in der cis-Position zu Aldehyden und Carboxylsäuregruppen oxidiert, behandelt, verminderte sich wie mit den Säuren die Bindungsfähigkeit. Isolierte Polysaccharide der Zellwand, die über Phosphodiester an das Peptidoglykan gebunden sind, zeigten bei An- oder Abwesenheit von Peptidoglykanen keine Wirkung auf die Trp-P1-Bindung. Aufgrund dieser Resultate wird ersichtlich, dass die Bindungsrezeptoren für heterozyklische Amine am membrangebundenen Polysaccharid der Zellwände lokalisiert sind. Diese Autoren spekulierten deshalb, dass dafür kovalente Bindungen zwischen den CHO-Resten der Glukose und -NH₂-Resten der heterozyklischen Amine in Frage kommen könnten.

Bedeutung für die menschliche Gesundheit

Wie eine Vielzahl anderer Nahrungsbestandteile können auch mutagene Substanzen in der Nahrung beim Menschen nach dem Verzehr über die Feces ausgeschieden (60) wie auch von der Mukosa des Ileums (61) und des Kolons (62) absorbiert und im Blut transportiert werden. Aus Rattenversuchen ist bekannt, dass Trp-P2 im Dünndarm sehr rasch absorbiert wird, womit diese Substanz nicht in den Dickdarm mit seiner Flora gelangt (63). Aber die mutagenen Substanzen können dorthin über die enterohepatische Zirkulation gelangen, da der wichtigste Ausscheidungsweg für Trp-P1 (64), Trp-P2 (63) und sowie IQ und MeIQ (65, 66) über die Galle erfolgt. Dabei wird beispielsweise Trp-P1 in der ursprünglichen Form ausgeschieden (41). Zudem zeigte sich nach der gleichzeitigen Verabreichung von Trp-P1 und *Str. thermophilus* an Ratten eine geringere Trp-P1-Konzentration in der Pfortader als ohne diesen Keim (67). Im Urin wurden bereits verschiedentlich mutagene Wirkungen nachgewiesen (68–73), wobei diese in Form der Glucuronide und der Sulfamate entgiftet werden können (74).

Milchsäurebakterien, die auch Bewohner des Darmtraktes sind, können heterozyklische Amine binden und damit die Absorption und somit auch die Ausschei-

dung von mutagenen Substanzen beeinflussen, wie dies verschiedentlich beim Menschen gezeigt werden konnte (39, 49, 75). Eine nicht zu unterschätzende Rolle der Milchsäurebakterien in Bezug auf ihre antimutagene Wirkung dürfte in folgender Möglichkeit liegen. Wenn antimutagene Substanzen gemeinsam mit einem fermentierten Lebensmittel verzehrt werden, besteht im Magen durchaus die Möglichkeit, dass im Chymus die Milchsäurebakterien die mutagenen Substanzen binden können, womit diese im Dünndarm nicht absorbiert werden können. Hinzu kommt, dass gerade im Dünndarm Bifidobakterien, Laktobazillen und Streptokokken dominieren (76) und somit auch dort mutagene Substanzen abfangen können.

Da antimutagene Substanzen als gegenüber Krebs präventiv angesehen werden (77), dürfte dem Verzehr von Milchsäurebakterien und der mit diesen Bakterien fermentierten Milchprodukten eine präventive Rolle bei der Entstehung von Dickdarmkrebs zugesprochen werden (78, 79). So konnte beispielsweise in Versuchen an Ratten, denen lyophilisierte *B. longum*-Zellen verabreicht wurden, eine IQ- und Azoxymethan-induzierte Kanzerogenese im Dickdarm wie auch in der Leber signifikant gehemmt werden (80, 81). Doch ist nach epidemiologischen Studien ein Beweis für eine Beziehung zwischen Dickdarmkrebs und dem Verzehr von Milchprodukten inkonsistent (82).

Schlussfolgerung

Die verschiedenen, hier diskutierten Untersuchungen zeigen, dass Milchsäurebakterien über antimutagene Eigenschaften verfügen. Dabei scheint es, dass sich die antimutagenen Substanzen, vor allem heterozyklische Amine, an Zellbestandteile der Milchsäurebakterien binden. Doch zeigte sich, dass die antimutagenen Eigenschaften der Milchsäurebakterien stark stammabhängig sind. Diese Forschungsarbeiten haben bereits dazu geführt, dass unter 194 Milchsäurebakterien-Stämmen deren sechs (*Lc. lactis* ssp. *cremoris* R-14, 80 und 111, *Lc. lactis* ssp. *lactis* 12, *L. casei* ssp. *casei* R-12 und 26) mit einem guten Wachstum in Joghurt und einer hohen antimutagenen Wirkung gegenüber Trp-P1 selektioniert wurden (16). Für einen Einsatz von Milchsäurebakterien mit der Anpreisung einer antimutagenen Wirkung sind deshalb von der Milchwirtschaft nur gut definierte Stämme zu verwenden. Dank dieser Eigenschaft sind die Sauermilchprodukte als wertvolle Lebensmittel für die menschliche Ernährung anzusehen. Bei ihnen kommt noch zusätzlich hinzu, dass auch das Kasein eine antimutagene Wirkung aufweist (1).

Zusammenfassung

Milchsäurebakterien werden zur Fermentierung von Milch und auch anderen Lebensmitteln eingesetzt. Eingehende Untersuchungen haben nun gezeigt, dass diese Bakterien wie auch Bifidobakterien und Propionsäurebakterien in der Lage sind, verschiedene mutagene Substanzen wie beispielsweise 3-Amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indol (Trp-P1), 3-Amino-1-methyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indol (Trp-P2), 2-Amino-6-methyldipyrido[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazol (Glu-P1) zu binden. Doch

ist diese Eigenschaft stammspezifisch, da die einzelnen Milchsäurebakterienstämme in unterschiedlichem Masse auf die verschiedenen mutagenen Substanzen reagieren. Das antimutagene Prinzip muss wahrscheinlich dem Vorhandensein von Kohlenhydraten in der Zellwand der Milchsäurebakterien zugeschrieben werden, doch ist der Bindungsmechanismus noch nicht ganz klar.

Résumé

Les bactéries lactiques sont utilisées pour la fermentation du lait et d'autres denrées alimentaires. Des études approfondies ont montré que ces bactéries de même que les bactéries Bifidus et les propioniques sont capables de lier différentes substances mutagènes telles que 3-amino-1,4-diméthyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P1), 3-amino-1-méthyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P2), 2-amino-6-méthyldipyrido[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazole (Glu-P1). Toutefois, cette propriété est spécifique de la souche, les différentes souches de bactéries lactiques réagissant différemment en présence des diverses substances mutagènes. Le principe antimutagène est probablement dû à la présence d'hydrates de carbone dans la paroi cellulaire des bactéries lactiques, cependant le mécanisme de fixation reste inexpliqué.

Summary "Antimutagenic Activity of Dairy Products and of Bacteria Used in Dairy Industry. Part 2. Lactic Acid Bacteria and other Bacteria"

Lactic acid bacteria are used to ferment milk as well as other foods. Detailed studies have shown that these bacteria as well as bifidobacteria and propionic acid bacteria are able to fix various mutagenic substances, for instance 3-amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P1), 3-amino-1-methyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P2), 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazole (Glu-P1). However, this property is strain specific since different lactic acid bacteria strains react differently depending on the mutagenic substances. The antimutagenic principle is probably due to the presence of carbohydrates in the lactic acid bacteria cell wall, however, the fixation mechanism has not yet been explained.

Key words

Antimutagenicity, Lactic acid bacteria, Bifidobacterium, Propionibacterium, Fermented milk

Literatur

- 1 Sieber, R. und van Boekel, M.A.J.S.: Antimutagene Wirkung von Milchprodukten und in der Milchwirtschaft verwendeten Bakterien. 1. Teil: Milch, Milchbestandteile und Sauermilchprodukte. Mitt. Lebensm. 92, 68–89 (2000).
- 2 Naidu, A.S., Bidlack, W.R. and Clemens, R.A.: Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 39, 13–126 (1999).
- 3 Sanders, M.E. and Huis in't Veld, J.: Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. Antonie Leeuwenhoek 76, 293–315 (1999).

- 4 Renner, H.W. and Münzner, R.: The possible role of probiotics as dietary antimutagens. *Mutat. Res.* **262**, 239 (1991).
- 5 Pool-Zobel, B.L., Münzner, R. and Holzapfel, W.H.: Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria in the *S. typhimurium* mutagenicity assay. *Nutr. Cancer* **20**, 261–270 (1993).
- 6 Vorob'eva, L.I., Cherdyntseva, T.A. and Abilev, S.K.: Bioantimutagenic effect of the culture liquid of *Streptococcus faecalis* on mutagenesis induced by 2-nitrofluorene in *Salmonella typhimurium* TA 1538 and TA 98. *Microbiology* **65**, 69–73 (1996).
- 7 Ebringer, L., Ferencik, M., Labitova, N., Kacani, L. and Michalkova, D.: Anti-mutagenic and immuno-stimulatory properties of lactic acid bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **11**, 294–298 (1995).
- 8 Yoon, Y.H., Cho, J.K., Baek, Y.J. and Huh, C.S.: (Antimutagenic activity of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir and yoghurt and non-starter strains). *Korean J. Anim. Sci.* **41**, 39–44 (1999), zitiert nach *Dairy Sci. Abstr.* **61**, 549 (1999).
- 9 Miyamoto, T., Morita, H., Nishioka, K., Kataoka, K., Izumimoto, M. and Kuyama, T.: (Constituent species of lactic acid bacteria from kefir and their desmutagenic properties). *Jap. J. Dairy Food Sci.* **40**, A-111-A-120 (1991).
- 10 Thyagaraja, N. and Hosono, A.: Antimutagenicity of lactic acid bacteria from "Idly" against food-related mutagens. *J. Food Protect.* **56**, 1061–1066 (1993).
- 11 Kumagai, T., Seno, K., Watanabe, T. and Okada, S.: Antimutagenicity of plant origin lactic acid bacteria isolated from rice and processed rice products. *J. Jap. Soc. Food Sci. Tech.* **47**, 551–554 (2000).
- 12 Lankaputhra, W.E.V. and Shah, N.P.: Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids. *Mutat. Res.* **397**, 169–182 (1998).
- 13 Sreekumar, O. and Hosono, A.: Antimutagenicity and the influence of physical factors in binding *Lactobacillus gasseri* and *Bifidobacterium longum* cells to amino acid pyrolysates. *J. Dairy Sci.* **81**, 1508–1516 (1998).
- 14 Zhang, X.B., Ohta, Y. and Hosono, A.: Antimutagenicity and binding of lactic acid bacteria from a Chinese cheese to mutagenic pyrolyzates. *J. Dairy Sci.* **73**, 2702–2710 (1990).
- 15 Vorob'eva L.I., Cherdyntseva T.A. and Abilev S.K.: (Antimutagenic activity of bacterial cell extracts on mutagenesis induced by 2-nitrofluorene in strains of *Salmonella typhimurium*). *Genetika* **31**, 901–907 (1995).
- 16 Hashimoto, H., Oneda, K., Nakamura, S. and Hosono, A.: (Studies on the selection of lactic acid bacteria for the manufacture of fermented milk with high desmutagenic activity). *Milk Sci.* **47**, 101–110 (1998).
- 17 Hosono, A., Wardojo, R. and Otani, H.: Inhibitory effect of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicity of volatile nitrosamines. *Agr. Biol. Chem.* **54**, 1639–1643 (1990).
- 18 Hosoda, M., Hashimoto, H., Morita, H., Chiba, M. and Hosono, A.: Studies on antimutagenic effect of milk cultured with lactic acid bacteria on the Trp-P2-induced mutagenicity to TA98 strain of *Salmonella typhimurium*. *J. Dairy Res.* **59**, 543–549 (1992).
- 19 Usman and Hosono, A.: Viability of *Lactobacillus gasseri* and its cholesterol-binding and antimutagenic activities during subsequent refrigerated storage in nonfermented milk. *J. Dairy Sci.* **82**, 2536–2542 (1999).
- 20 Hosono, A., Yoshimura, A. and Otani, H.: Desmutagenic property of cell walls of *Streptococcus faecalis* on the mutagenicities induced by amino acid pyrolysates. *Milchwissenschaft* **43**, 168–170 (1988).
- 21 Hosono, A., Yoshimura, A. and Otani, H.: Antimutagenic activity of cellular component of *Streptococcus faecalis* IFO 12695. *Neth. Milk Dairy J.* **41**, 239–245 (1987).
- 22 Zhang, X.B. and Ohta, Y.: Microorganisms in the gastrointestinal tract of the rat prevent absorption of the mutagen-carcinogen 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido(4,3-b)indole. *Can. J. Microbiol.* **39**, 841–845 (1993).

- 23 Terahara, M., Meguro, S. and Kaneko, T.: Effects of lactic acid bacteria on binding and absorption of mutagenic heterocyclic amines. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 197–200 (1998).
- 24 Bolognani, F., Rumney, C.J. and Rowland, I.R.: Influence of carcinogen binding by lactic acid-producing bacteria on tissue distribution and in vivo mutagenicity of dietary carcinogens. *Food Chem. Toxicol.* **35**, 535–545 (1997).
- 25 Hosono, A., Tanabe, T. and Otani, H.: Binding properties of lactic acid bacteria isolated from kefir milk with mutagenic amino acid pyrolyzates. *Milchwissenschaft* **45**, 647–651 (1990).
- 26 Hosono, A., Wardojo, R. and Otani, H.: Binding of amino acid pyrolyzates by lactic acid bacteria isolated from 'Dadih'. *Lebensm.-Wiss.-Technol.* **23**, 149–153 (1990).
- 27 Boubekri, K. and Ohta, Y.: Antimutagenicity of lactic acid bacteria from El-Klila cheese. *J. Sci. Food Agric.* **72**, 397–402 (1996).
- 28 Thyagaraja, N. and Hosono, A.: Binding properties of lactic acid bacteria from "idly" towards food-borne mutagens. *Food Chem. Toxicol.* **32**, 805–809 (1994).
- 29 Orrhage, K., Sillerström, E., Gustafsson, J.-A., Nord, C.E. and Rafter, J.: Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutat. Res.* **311**, 239–248 (1994).
- 30 Zhang, X.B. and Ohta, Y.: In vitro binding of mutagenic pyrolyzates to lactic acid bacterial cells in human gastric juice. *J. Dairy Sci.* **74**, 752–757 (1991).
- 31 Kawase M. and Hosono A.: Binding stability of lactic acid bacteria cells with mutagenic tryptophan pyrolysates. *Anim. Sci. Technol.* **66**, 430–435 (1995).
- 32 Tanabe, T., Suyama, K. and Hosono, A.: Effect of sodium dodecylsulphate on the binding of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* T-80 cells with Trp-P1. *J. Dairy Res.* **61**, 311–315 (1994).
- 33 Zhang, X.B. and Ohta, Y.: Antimutagenicity of cell fractions of microorganisms on potent mutagenic pyrolysates. *Mutat. Res.* **298**, 247–253 (1993).
- 34 Sreekumar, O. and Hosono, A.: Amino acid pyrolysates competitive and combination binding with *Lactobacillus gasseri* cells. *Milchwissenschaft* **53**, 73–76 (1998).
- 35 Tanabe, T., Suyama, K. and Hosono, A.: Effect of pepsin, trypsin or bile acid on the binding of tryptophane pyrolysates by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* T-80. *Milchwissenschaft* **49**, 438–441 (1994).
- 36 Zhang, X.B. and Ohta, Y.: Binding of mutagens by fractions of the cell wall skeleton of lactic acid bacteria on mutagens. *J. Dairy Sci.* **74**, 1477–1481 (1991).
- 37 Sreekumar, O. and Hosono, A.: The heterocyclic amine binding receptors of *Lactobacillus gasseri* cells. *Mutat. Res.* **421**, 65–72 (1998).
- 38 Tanabe, T., Otani, H. and Hosono, A.: Binding of mutagens with cell wall peptidoglycan of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* T-180. *Milchwissenschaft* **46**, 622–625 (1991).
- 39 Hayatsu, H. and Hayatsu, T.: Suppressing effect of *Lactobacillus casei* administration on the urinary mutagenicity arising from ingestion of fried ground beef in the human. *Cancer Letters* **73**, 173–179 (1993).
- 40 Hosoda, M., Hashimoto, H., He, F., Yamazaki, K. and Hosono, A.: Inhibitory effects of fecal lactobacilli and bifidobacteria on the mutagenicities of Trp-P-2 and IQ. *Milchwissenschaft* **53**, 309–313 (1998).
- 41 Morotomi, M. and Mutai, M.: In vitro binding of potent mutagenic pyrolyzates to intestinal bacteria. *J. Natl. Cancer Inst.* **77**, 195–201 (1986).
- 42 Terahara, M., Nishide, S. and Kaneko, T.: Effect of *Streptococcus thermophilus* on the Trp-P-1 level in the blood. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**, 1531–1533 (2000).
- 43 Pool-Zobel, B.L., Bertram, B., Knoll, M., Lambertz, R., Neudecker, C., Schillinger, U., Schmezer, P. and Holzapfel, W.H.: Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria *in vivo* in the gastrointestinal tract of rats. *Nutr. Cancer* **20**, 271–281 (1993).

- 44 Pool-Zobel, B.L., Neudecker, C., Domizlaff, I., Ji, S., Schillinger, U., Rumney, C., Moretti, M., Vilarini, I., Scassellati-Sforzolini, R. and Rowland, I.: *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-mediated antigenotoxicity in the colon of rats. *Nutr. Cancer* **26**, 365–380 (1996).
- 45 Wollowski, I., Ji, S.T., Bakalinsky, A.T., Neudecker, C. and Pool-Zobel, B.L.: Bacteria used for the production of yogurt inactivate carcinogens and prevent DNA damage in the colon of rats. *J. Nutr.* **129**, 77–82 (1999).
- 46 Arunachalam, K.D.: Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. *Nutr. Res.* **19**, 1559–1597 (1999).
- 47 Abdelali, H., Cassand, P., Soussotte, V., Koch-Bocabeille, B. and Narbonne, J.F.: Antimutagenicity of components of dairy products. *Mutat. Res.* **331**, 133–141 (1995).
- 48 Sreekumar, O. and Hosono, A.: The antimutagenic of a properties of a polysaccharide produced by *Bifidobacterium longum* and its cultured milk against some heterocyclic amines. *Can. J. Microbiol.* **44**, 1029–1036 (1998).
- 49 Asahara, T., Shimizu, K., Ohashi, Y., Matsuki, T., Matsumoto, K., Takada, T., Yuki, N., Takayama, H. and Tanaka, R.: (The effects of Bifidobacteria-fermented milk on human urinary mutagenicity, which increases following ingestion of cooked ground beef). *J. Intestinal Microbiol.* **12**, 89–96 (1998), zitiert nach *Dairy Sci. Abstr.* **61**, 538 (1999).
- 50 Mantere-Alhonen, S.: Propionibacteria used as probiotics – a review. *Lait* **75**, 447–452 (1995).
- 51 Vorob'eva, L.I., Cherdyntseva, T.A., Vorob'eva, N.V. and Abilev, S.K.: Anti-mutagenic agents from propionibacteria. *Microbiol. Engl. Tr.* **60**, 726–731 (1991).
- 52 Vorobjeva, L.I., Cherdinceva, T.A., Abilev, S.K. and Vorobjeva, N.V.: Antimutagenicity of propionic acid bacteria. *Mutat. Res.* **251**, 233–239 (1991).
- 53 Vorob'eva, L.I., Cherdyntseva, T.A. and Abilev, S.K.: Antimutagenic action of bacteria on mutagenesis induced by 4- nitroquinoline-1-oxide in *Salmonella typhimurium*. *Microbiology* **64**, 187–192 (1995).
- 54 Vorobjeva, L.I., Khodjaev, E.Y. and Cherdinceva, T.A.: Antimutagenic and reactivative activities of dairy propionibacteria. *Lait* **75**, 473–487 (1995).
- 55 Vorobjeva, L.I., Khodjaev, E.Y. and Cherdinceva, T.A.: The study of induced antimutagenesis of propionic acid bacteria. *J. Microbiolog. Methods* **24**, 249–258 (1996).
- 56 Gardiner, G.E., Ross, R.P., Wallace, J.M., Scanlan, F.P., Jagers, P.P.J.M., Fitzgerald, G.F., Collins, J.K. and Stanton, C.: Influence of a probiotic adjunct culture of *Enterococcus faecium* on the quality of cheddar cheese. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 4907–4916 (1999).
- 57 Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H. and Stiles, M.E.: Enterococci at the crossroads of food safety? *Int. J. Food Microbiol.* **47**, 1–24 (1999).
- 58 Hamilton-Miller, J.M., Shah, S. and Winkler, J.T.: Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. *Public Health Nutr.* **2**, 223–229 (1999).
- 59 Hosono, A. and Hisamatsu, S.: Binding of amino acid pyrolysates and aflatoxins to autoclaved cells of *Enterococcus faecalis* FK-23. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **59**, 940–942 (1995).
- 60 Hayatsu, H., Hayatsu, T., Wataya, Y. and Mower, H.F.: Fecal mutagenicity arising from ingestion of fried ground beef in the human. *Mutat. Res.* **143**, 207–211 (1985).
- 61 Venitt, S.: Mutagens in human faeces and cancer of the large bowel. In: Rowland, I.R., *Role of the gut flora in toxicity and cancer*, 399–460. Academic Press, London 1988.
- 62 Fang, W.F. and Strobel, H.W.: Activation of carcinogens and mutagens by rat colon mucosa. *Cancer Res.* **38**, 2939–2944 (1978).
- 63 Kimura, T., Nakayama, T., Kurosaki, Y., Suzuki, Y., Arimoto, S. and Hayatsu, H.: Absorption of 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole, a mutagen-carcinogen present in tryptophan pyrolysate, from the gastro-intestinal tract in the rat. *Jpn. J. Cancer Res.* **76**, 272–277 (1985).
- 64 Brandt, I., Gustafsson, J.A. and Rafter, J.: Distribution of the carcinogenic tryptophan pyrolysis product Trp-P-1 in control, 9-hydroxyellipticine and beta-naphthoflavone pretreated mice. *Carcinogenesis* **4**, 1291–1296 (1983).

- 65 Sjödin, P. and Jägerstad, M.: A balance study of ^{14}C -labelled 3H-imidazo[4,5-f]quinolin-2-amines (IQ and MeIQ) in rats. *Food Chem. Toxicol.* **22**, 207–210 (1984).
- 66 Bergman, K.: Autoradiographic distribution of ^{14}C -labeled 3H-imidazo[4,5-f]quinoline-2-amines in mice. *Cancer Res.* **45**, 1351–1356 (1985).
- 67 Terahara, M., Nishide, S. and Kaneko, T.: Effect of *Streptococcus thermophilus* on the Trp-P-1 level in the blood. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**, 1531–1533 (2000).
- 68 Baker, R., Arlauskas, A., Bonin, A. and Angus, D.: Detection of mutagenic activity in human urine following fried pork or bacon meals. *Cancer Lett.* **16**, 81–89 (1982).
- 69 Dolara, P., Caderni, G., Salvadori, M., Tringale, L. and Lodovici, M.: Urinary mutagens in humans after fried pork and bacon meals. *Cancer Lett.* **22**, 275–280 (1984).
- 70 Doolittle, D.J., Rahn, C.A., Burger, G.T., Lee, C.K., Reed, B., Riccio, E., Howard, G., Passananti, G.T., Vesell, E.S. and Hayes, A.W.: Effect of cooking methods on the mutagenicity of food and on urinary mutagenicity of human consumers. *Food Chem. Toxicol.* **27**, 657–666 (1989).
- 71 Ohshima, S., Inamasu, T., Ishizawa, M., Ishinishi, N. and Matsuura, K.: Mutagenicity of human urine after the consumption of fried salted salmon. *Food Chem. Toxicol.* **25**, 147–153 (1987).
- 72 Ji, H., Yu, M.C., Stillwell, W.G., Skipper, P.L., Ross, R.K., Henderson, B.E. and Tannenbaum, S.R.: Urinary excretion of 2-amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-f]quinoxaline in white, black, and Asian men in Los Angeles County. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **3**, 407–411 (1994).
- 73 Reistad, R., Rossland, O.J., Latva-Kala, K.J., Rasmussen, T., Vikse, R., Becher, G. and Alexander, J.: Heterocyclic aromatic amines in human urine following a fried meat meal. *Food Chem. Toxicol.* **35**, 945–955 (1997).
- 74 Stillwell, W.G., Turesky, R.J., Gross, G.A., Skipper, P.L. and Tannenbaum, S.R.: Human urinary excretion of sulfamate and glucuronide conjugates of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx). *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **3**, 399–405 (1994).
- 75 Lidbeck, A., Övervik, E., Rafter, J., Nord, C.E. and Gustafsson, J.-A.: Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplements on mutagen excretion in faeces and urine in humans. *Microb. Ecol. Health Dis.* **5**, 59–67 (1992).
- 76 Mitsuoka, T.: The human gastrointestinal tract. In: Wood, B.J.B., *The lactic acid bacteria: volume 1. The lactic acid bacteria in health and disease*, 69–114. Elsevier Appl. Sci., London 1992.
- 77 Ferguson, L.R.: Antimutagens as cancer chemopreventive agents in the diet. *Mutat. Res.* **307**, 395–410 (1994).
- 78 de Kok, T.M.C.M. and van Maanen, J.M.S.: Evaluation of fecal mutagenicity and colorectal cancer risk. *Mutat. Res.-Rev. Mutat. Res.* **463**, 53–101 (2000).
- 79 Rafter, J.: The role of lactobacilli in colon cancer prevention. 24th Int. Dairy Congress (1994).
- 80 Reddy, B.S. and Rivenson, A.: Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary, and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, a food mutagen. *Cancer Res.* **53**, 3914–3918 (1993).
- 81 Singh, J., Rivenson, A., Tomita, M., Shimamura, S., Ishibashi, N. and Reddy, B.S.: *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* **18**, 833–841 (1997).
- 82 Anonymous: Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, 1997.

Korrespondenzadresse: Dr. Robert Sieber, Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM), Liebefeld, CH-3003 Bern