



乳业科学与技术丛书
Dairy Science and Technology Series

益生菌

Probiotics

《乳业科学与技术》丛书编委会
乳业生物技术国家重点实验室

编



化学工业出版社



乳业科学与技术丛书
Dairy Science and Technology Series

益生菌



《乳业科学与技术》丛书编委会 编
乳业生物技术国家重点实验室



化学工业出版社

· 北京 ·

本书由乳业生物技术国家重点实验室、光明乳业研究院多年从事益生菌科研和应用的专家、学者编写而成,从益生菌的分类、鉴定、生物活性代谢产物及生物活性评价、肠道微生态、益生菌分子遗传学与基因工程等方面着重对近二十年来的研究成果进行了总结,也纳入了研究团队近年来在上述领域部分的研究结果。本书同时也对该领域目前最新的研究方法和动态进行了介绍,并对部分益生菌的产业化应用作了概述,具有较强的理论性和实用性。

本书可作为从事益生菌研究的科技人员、产品开发人员及有关高等院校师生的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

益生菌/《乳业科学与技术》丛书编委会,乳业生物技术国家重点实验室编. —北京:化学工业出版社, 2015.9

(乳业科学与技术丛书)

ISBN 978-7-122-24076-7

I. ①益… II. ①乳…②乳… III. ①乳酸细菌-研究 IV. ①Q939.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 111304 号

责任编辑:董琳
责任校对:宋玮

文字编辑:孙凤英
装帧设计:孙远博

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印刷:北京永鑫印刷有限责任公司

装订:三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张23 $\frac{3}{4}$ 字数633千字 2016年1月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:88.00 元

版权所有 违者必究

《益生菌》编写人员

主 编：郭本恒 刘振民

副 主 编：吴正钧 游春苹 任 婧

编写人员：郭本恒 刘振民 吴正钧 游春苹
任 婧 李 楠 陈 臣 徐晓芬
高彩霞 吴 江

近年来,居民膳食结构的调整 and 消费者喜好的变化促进了乳制品结构的巨大改变,加速了乳品工业发展成为技术设备先进、产品品种较为齐全、初具规模的现代化食品制造业。2014 年中国乳制品产量 2651.8 万吨,液体乳产量达到 2400.1 万吨。

牛乳是除母乳外营养最为均衡的全价食品,富含健康饮食所需的多种维生素和矿物质,很多研究已证实乳制品在骨骼健康、肠道调节、提高免疫力等方面具有明显作用。2014 年我国人均乳品消费量已提高至约 33 kg,仍与世界人均 118 kg 的饮用量相差甚远。随着中国城市化速度进一步加强,中国必将成为世界上乳制品消费最大的潜在市场,如今世界各大知名乳品企业纷纷落户中国,给国内乳品企业带来前所未有的机遇与挑战,迫使乳品企业和乳制品从业人员对乳品科学与技术进行更深入的探索和研究。我们曾于 2004 年出版了《现代乳品加工技术》丛书,经过十几年的发展,乳制品行业无论是技术还是科学研究都有了新的进步,非常有必要将国际科技发展的最新成果反映出来,所以修订或新编了《乳业科学与技术》丛书。

这套《乳业科学与技术》丛书包括《液态奶》、《发酵乳》、《乳粉》、《益生菌》、《乳品安全》五本,由乳业生物技术国家重点实验室、光明乳业研究院多年从事乳品科技的、有丰富经验的专家、学者编写而成。

《液态奶》全面系统地阐述了液态奶的基础理论和各种加工技术,反映了国内外乳品科学技术的最新进展。主要内容包括:乳的营养、液态奶产品分类、液态奶制品基本加工工艺和设备、液态奶制品加工中应用的高新技术、功能性液态奶制品、液态奶加工厂设计等,反映了当今液态奶制品的非热加工技术、胆固醇脱除技术等国际科技发展的最新成果,使读者能够较好地掌握液态奶产品加工的重点和难点。本书具有较强的理论性、综合性、科学性、创新性和实用性。

《发酵乳》主要介绍发酵乳科技的最新发展,涵盖内容广泛、深入,涉及发酵乳的健康功能、乳酸菌遗传学、发酵乳生产关键和新技术、规模化生产工艺、自动化控制、检测、产品开发等方面。发酵乳涵盖范围广,在世界范围内是重要的健康食品。我国酸奶科技、生产也发展迅速,尤其是生产量和消费量大幅增加,乳品企业推出高附加值产品的同时也带动了行业科技水平的不断进步。本书结合了丰富的实践内容,阐述了发酵乳生产的突破性进展,具有实用性和创造性。

《乳粉》结构体系完整,充分考虑目前行业热点和技术发展情况。随着生活水平的提高以及大家对营养和健康的重视,越来越多的粉状乳制品作为配料被广泛应用于普通食品、营养保健品、甚至特殊配方产品。国际、国内相关部门和组织针对婴幼儿配方食品制定多个相关法规和管理办法等。本书详细介绍粉状乳制品的分类、组成、生产设备、工艺、配方设计、营养研究、法规、工厂设计和管理、质量评价方法等内容,具有较强的理论性和实用性。

《益生菌》从益生菌的分类、鉴定、作用机理、生物活性代谢产物以及生物活性评价等方面对近二十年来的研究成果进行了总结,也纳入了研究团队近年来在上述领域部分的研究结果。近十年来,随着研究方法的提高和研究的深入,对益生菌的认识取得重大进展,尤其

是对益生菌健康促进作用的机理逐渐清晰。通过大量的动物实验和临床干预/治疗试验,获得了对益生菌更全面、客观的认识,益生菌对代谢综合征如高血脂、糖尿病、肥胖、肠易综合征(IBS)、炎症肠炎(IBD)等作用以及在改善和预防过敏方面的作用积累了大量的证据,对益生菌相关健康促进作用的作用机理和生物效应分子等进行了阐述,并从总体的角度阐述了益生菌与机体的行为、认知能力和心情的关系,提出了“脑-肠轴”的概念,从单一菌的作用发展到免疫、激素分泌、神经活动和心因性活动等多角度进行综合评价。本书同时也对该领域目前最新的研究方法和动态进行了介绍,并对部分益生菌的产业化应用作了概述。

《乳品安全》立足于乳品安全的最新发展态势,系统介绍影响乳品安全的主要危害因素及其目前最新的检测方法,深入客观地描述了引起乳品安全的各种难以避免和预知的因素,并针对每一因素列出现有的最有效的检测方法,简要介绍该方法的理论依据。根据不同乳品的生产工艺流程,深入全面剖析将来可能影响到乳品安全的因素并进行风险评估,做到未雨绸缪,防患于未然。本书详细叙述了各类乳制品的安全生产过程,在科学规范的质量管理和溯源体系的理论和方法的正确引导下,对乳品安全进行更加有效合理的控制,使乳品工业的发展走上可持续健康发展的轨道。

本丛书得到科技部“十二五”科技支撑项目(2012BAD12B08、2013BAD18B01、2013BAD18B02)、科技部农转项目(2013GB2C000153)、上海市人才基金项目(201343)、上海市优秀技术带头人项目(14XD1420300、15XD1520300)、乳业生物技术国家重点实验室、光明乳业股份有限公司资助出版。

本书编写过程中查阅了大量的国内外书籍和文献,理论和实践并重,希望可以帮助乳品研究人员、教师、学生和生产工作者详细了解和系统学习乳品相关的知识、生产技术、质量管理及相关法律法规,同时希望有助于中国乳制品行业的健康持续发展。

在此,衷心感谢为本书写作付出大量心血和汗水的的朋友和同事们。限于编者的水平和能力,书中难免有不妥之处,敬请读者批评指正。

编委会

2015年8月

第一章 益生菌概述	1
第一节 益生菌的分类	4
一、益生菌及其相关种属	4
二、益生菌常用的菌种	4
第二节 益生菌的分离保存	12
一、益生菌的分离	12
二、益生菌的筛选	12
三、益生菌的保存	15
第三节 益生菌分类鉴定的技术与方法	15
一、用于细菌分类鉴定的特征	15
二、生理生化试验方法	16
三、化学分类特征的分析方法	23
四、基于遗传信息的分子生物学鉴定方法	27
参考文献	29
第二章 益生菌的生理功能及应用	33
第一节 益生菌与胃肠道健康	33
一、益生菌与胃肠道健康的关系	33
二、益生菌治疗各种胃肠道疾病的研究进展	34
三、益生菌促进胃肠道健康的机制	45
四、展望	49
第二节 益生菌与免疫	49
一、益生菌的定义及种类	50
二、免疫应答的主要类型	51
三、益生菌对免疫系统的刺激作用	52
四、益生菌免疫调节作用的途径	61
五、益生菌的免疫调节作用具有菌株特异性	64
六、益生菌免疫调节作用的应用	67
第三节 益生菌的抗血压作用	69
一、益生菌通过调节血脂代谢发挥抗高血压作用	70
二、益生菌通过改善糖尿病症状,减少糖尿病共生性高血压的发生	71
三、益生菌对肾素-血管紧张素系统的调节作用	75
四、益生菌和体内食物来源植物雌激素的代谢	78
第四节 益生菌及高胆固醇血症	81
一、益生菌降胆固醇机制	82

二、益生菌降胆固醇的动物试验与临床研究	86
三、益生菌给药新方法	86
四、展望	87
第五节 益生菌与糖尿病、肥胖	88
一、糖尿病与肥胖的概念、分类及常规的防控治疗手段	88
二、糖尿病、肥胖的发病机制	91
三、肠道微生物与糖尿病、肥胖	95
四、益生菌用于糖尿病、肥胖的改善和防治	102
五、功能性益生菌的筛选	116
第六节 益生菌与衰老	117
一、衰老的概念、分类及表现	117
二、关于衰老及延缓衰老的研究的意义	121
三、衰老的机制	121
四、衰老研究的方法	138
五、益生菌对宿主机体衰老的延缓作用	138
六、功能性益生菌的预筛选	150
七、结语	151
第七节 益生菌与益生元	152
一、益生元效果的研究方法	153
二、益生元及具有益生元潜质的化合物	155
三、聚半乳糖和果聚糖	156
参考文献	157
第三章 益生菌的代谢产物及其生理活性	170
第一节 短链脂肪酸	170
一、SCFA 的产生及影响因素	170
二、SCFA 的吸收	173
三、SCFA 的代谢	173
四、SCFA 的生理功能	174
第二节 细菌素	177
一、细菌素的分类	178
二、细菌素的合成及分泌	180
三、细菌素的作用机制	182
四、细菌素的免疫性	184
五、细菌素的抗性机制	185
六、Ⅱa 类细菌素	185
第三节 胞外多糖	188
一、产 EPS 的菌株	189
二、EPS 的种类和结构	189

三、EPS 的生物合成及遗传调控	193
四、EPS 的发酵生产及分离纯化	197
五、EPS 的结构分析	201
六、EPS 的理化性质	204
七、EPS 的生物活性	206
第四节 维生素	211
一、乳酸菌发酵生产叶酸	211
二、乳酸菌发酵生产维生素 B ₁₂	212
三、维生素 K 类	213
四、维生素 B ₁ 和维生素 B ₂	213
参考文献	213
第四章 肠道微生态	227
第一节 肠道菌群的结构	227
一、人肠道菌群的结构组成	227
二、人体肠道核心菌群	230
三、肠道菌群中有重要生理意义的细菌	231
四、人肠道菌群的功能	233
第二节 影响健康人肠道菌群结构的因素	236
一、宿主的基因型	236
二、年龄因素	237
三、饮食因素	239
四、城乡生活方式	240
五、宿主的性别	240
六、运动情况	241
七、抗生素	241
八、疾病	241
第三节 肠道菌群结构与功能的研究方法	244
一、基于分离培养的方法	245
二、分子生态学研究方法	245
三、展望	250
参考文献	250
第五章 益生菌分子遗传学与基因工程	254
第一节 LAB 遗传分析——基因转移	255
一、转化	255
二、接合	256
三、转导	257
第二节 LAB 遗传工程	257

一、食品级载体系统的基本要素	257
二、食品级的选择标记	258
三、食品级克隆系统	261
四、食品级基因表达系统	262
五、代谢工程	264
六、过量生产风味物质	265
七、异源基因表达	265
第三节 转座子	265
一、IS 序列与转座子	266
二、II 型内含子	267
三、转座子与假基因	268
第四节 CRISPR/Cas 系统	268
一、CRISPR/Cas 系统的发现	268
二、CRISPR 基本结构	269
三、CRISPR 介导的防御过程	270
四、CRISPR 的应用	272
第五节 分子生物学在益生菌鉴定中的应用	274
一、基于 rRNA/rDNA 的序列分析	274
二、指纹图谱分型技术	276
三、DNA 芯片技术	279
参考文献	280
第六章 益生菌系统生物学——从序列到功能	282
第一节 乳酸菌基因组研究进展	282
一、微生物基因组学简介	282
二、乳酸菌基因组学发展现状	284
三、乳酸菌基因组特点	286
四、乳酸菌重要功能基因	288
第二节 乳酸菌蛋白质组学研究进展	294
一、蛋白质组概念	294
二、蛋白质组学原理及研究的基本流程	294
三、蛋白质组学主要技术	295
四、乳酸菌蛋白质组学	297
第三节 乳酸菌转录组学研究进展	302
一、转录组概念	302
二、转录组学研究方法	302
三、乳酸菌转录组学	303
第四节 乳酸菌代谢组学研究进展	305
一、代谢组概念	305

二、代谢组学的研究流程	305
三、乳酸菌代谢组学	306
四、展望	308
参考文献	308
第七章 益生菌在乳品中的应用	312
第一节 乳品用益生菌的种类及选择	312
一、菌株的筛选	314
二、益生菌的安全性	316
三、益生菌在临床和配方食品中的应用	319
第二节 益生菌的制备技术	320
一、乳酸菌的规模生产	320
二、双歧杆菌发酵菌种和发酵剂	324
三、乳杆菌发酵剂浓缩物	327
第三节 益生菌的产品稳定性	330
一、益生菌的活力、消费量和货架期	330
二、益生菌的存活	331
三、益生菌的微胶囊包埋	332
四、乳酸菌在发酵乳中的稳定性	333
第四节 益生菌乳制品	338
一、乳制品作为益生菌载体的优势	338
二、双歧杆菌及其制品	339
三、嗜酸乳杆菌和嗜酸乳杆菌乳	346
四、其他益生菌乳品	349
参考文献	351
第八章 益生菌在其他方面的应用	353
第一节 益生菌在养殖业中的应用	353
一、青贮饲料	354
二、益生菌在反刍动物生产上的应用	356
三、益生菌在猪生产上的应用	359
四、益生菌在家禽生产上的应用	361
五、益生菌在水产养殖上的应用	362
第二节 益生菌在非乳制品中的应用	364
一、益生菌在发酵肉制品中的应用	364
二、益生菌在植物性发酵食品中的应用	366
参考文献	367

第一章 益生菌概述

益生菌（probiotics），亦称益生素、活菌制剂、促生素、微生态制剂等。英文 probiotics 一词由希腊语“for live”派生而来，译为“为了生命”，与 antibiotics 相对立。益生菌的现代定义最初由 Lilley 和 Stillwell 在 1965 年提出，定义为“由一种微生物分泌的可以刺激其他微生物生长的物质，是与抗生素作用相反的物质”。此后，随着对益生菌研究的不断深入，益生菌的定义也屡经修订。1989 年，益生菌的概念被 Fuller 进一步明确，仅仅局限在活的微生物制剂的范围内，其主要功能在于能改善肠道内的菌群生态平衡。这一定义在 1992 年被 Havenaar 等进一步扩展为“通过改善肠道内源性微生物，对动物或人类施加有益影响的单一或混合的活微生物”。世界粮农组织（FAO）和世界卫生组织（WHO）于 2001 年 10 月联合专家委员会就食品益生菌营养与生理功能召开第一次会议，并制订了一套评价食品用益生菌的系统方法指南。FAO/WHO《食品益生菌评价指南》明确规定，食品用益生菌是指“当摄取适当数量后，对宿主健康有益的活的微生物”。欧洲权威机构欧洲食品与饲料菌种协会（EFFCA）于 2002 年给出最新定义：益生菌是活的微生物，摄入充足的数量后，对宿主产生一种或多种特殊且经论证的健康益处。近年来，随着生物技术的发展，益生菌的研究越来越引起微生物学家、免疫学家、营养学家的关注和重视，益生菌的定义日趋完善，形成了目前较为共识的定义，即：益生菌是含有生理活性的活菌，当被机体经过口服或其他给药方式摄入适当数量后，能够定植于宿主并改善宿主微生态平衡，从而发挥有益作用。

美国食品与药物管理局（FDA）及饲料监察协会（AAFCO）1989 年公布的直接可以饲喂且安全的菌种已有四十多种，在欧洲市场上销售的益生菌品种不下于五十种。2001 年，我国卫生部公布的可用于保健食品的益生菌菌种有：婴儿双歧杆菌、两歧双歧杆菌、青春双歧杆菌、长双歧杆菌、短双歧杆菌、嗜热链球菌等，而目前在畜禽和水产养殖生产上较多应用的益生菌有四类：乳酸菌类（如嗜酸乳杆菌、双歧杆菌等）、芽孢杆菌类（如枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、粪链球菌等）、酵母菌类（如酿酒酵母、石油酵母等）和光合细菌类。表 1-1 列举了我国卫生部规定的可用于食品的益生菌种类。

表 1-1 我国卫生部办公厅颁发的可用于食品的益生菌种类

产品名称	拉丁学名/英文名称
双歧杆菌属	<i>Bifidobacterium</i>
青春双歧杆菌	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
动物双歧杆菌(乳双歧杆菌)	<i>Bifidobacterium animalis</i> (<i>Bifidobacterium lactis</i>)
两歧双歧杆菌	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
短双歧杆菌	<i>Bifidobacterium breve</i>
婴儿双歧杆菌	<i>Bifidobacterium infantis</i>
长双歧杆菌	<i>Bifidobacterium longum</i>

续表

产品名称	拉丁学名/英文名称
乳杆菌属	<i>Lactobacillus</i>
嗜酸乳杆菌	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
干酪乳杆菌	<i>Lactobacillus casei</i>
卷曲乳杆菌	<i>Lactobacillus crispatus</i>
德氏乳杆菌保加利亚亚种(保加利亚乳杆菌)	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (<i>Lactobacillus bulgaricus</i>)
德氏乳杆菌乳亚种	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>
发酵乳杆菌	<i>Lactobacillus fermentium</i>
格氏乳杆菌	<i>Lactobacillus gasseri</i>
瑞士乳杆菌	<i>Lactobacillus helveticus</i>
约氏乳杆菌	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
副干酪乳杆菌	<i>Lactobacillus paracasei</i>
植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>
罗伊氏乳杆菌	<i>Lactobacillus reuteri</i>
鼠李糖乳杆菌	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
唾液乳杆菌	<i>Lactobacillus salivarius</i>
链球菌属	<i>Streptococcus</i>
嗜热链球菌	<i>Streptococcus thermophilus</i>
新增	
乳酸乳球菌乳酸亚种	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
乳酸乳球菌乳脂亚种	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
乳酸乳球菌双乙酰亚种	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>
肠膜明串珠菌肠膜亚种	<i>Leuconostoc. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>

益生菌的研究越来越受到重视。近年来，大量临床及实验室的研究报道为益生菌的抗致病特性奠定了科学基础。由于益生菌作为纯生物产品，不含任何化学合成成分，具有无耐药性、无残留等特点，因此，作为绿色安全饲料添加剂受到了前所未有的关注。益生菌对人体临床研究的影响见表 1-2。

表 1-2 益生菌对人体临床研究的影响

病种	报道的临床影响	益生菌菌株	相关文献
乳糖不耐	改善乳糖的吸收,减缓/消除症状	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>L. bulgaricus</i>	Kolars, Levitt, Mostafa Aouji and Savaiano (1984); Marteau, Flourie, Pochart, Chastang, Desjeux and Raumbaud (1990); Vesa, Marteau, Zidi, Briet, Pochart and Rambaud (1996)
轮状病毒腹泻	减少腹泻的持续时间,增强免疫力,减少病毒的传播	<i>Lactobacillus</i> GG, <i>L. reuteri</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>S. thermophilus</i>	Isolauri, Juntunen, Rautanen, Sillanaukee and Koivula (1991); Shornikova et al. (1997); Saavedra, Bauman, Oung, Perman and Yolken (1994)
旅游性腹泻	减少腹泻的发病率	<i>L. acidophilus</i> La-5, <i>B. lactis</i> Bb-12, <i>Lactobacillus</i> GG	Black et al. (1989); Oksanen et al. (1990); Hilton et al. (1997)

国内外研制的益生菌制剂，主要是运用动物机体内正常的微生物菌群，特别是优势种群，经分离、鉴定、选种后利用不同生产工艺加工制成的活菌制剂，以不同方式进入机体消化道，发挥生理功能。表 1-3 为一些常见益生菌的建议使用剂量。

表 1-3 一些常见益生菌建议使用剂量

婴幼儿急性腹泻	
<i>Lb. rhamnosus</i> GG (LGG)	250mL 的至少 10^{10} CFU 口服补水溶液, 一天 2 次, 2~5d
<i>Lactobacillus reuteri</i>	每天 $10^{10} \sim 10^{11}$ CFU, 连续 5d
抗生素引起的腹泻	
<i>Saccharomyces boulardii</i>	一天 $4 \times 10^9 \sim 2 \times 10^{10}$ CFU, 服用 1~4 星期
LGG	一天 $6 \times 10^9 \sim 4 \times 10^{10}$ CFU, 服用 1~2 星期
<i>L. acidophilus</i> 与 <i>L. bulgaricus</i>	每天 2×10^9 CFU, 连续 5~10d
<i>L. acidophilus</i> 与 <i>Bifidobacterium longum</i>	每天 5×10^9 CFU, 连续 7d
<i>L. acidophilus</i> 与 <i>Bifid. lactis</i>	每天 1×10^{11} CFU, 连续 21d
梭菌感染	
<i>S. boulardii</i>	每天 2×10^{10} CFU, 连续 4 周, 配合万古霉素或者甲硝唑
旅行性腹泻	
LGG	每天 2×10^9 CFU, 出发前 2d 开始, 旅途中继续服用
<i>S. boulardii</i>	每天 $5 \times 10^9 \sim 2 \times 10^{10}$ CFU, 出发前 5d 开始, 旅途中继续服用
急性肠道综合征	
VSL#3	每天 9×10^{11} CFU, 连续 8 周
<i>Bifid. infantis</i> 35624	每天 $10^6 \sim 10^{10}$ CFU, 连续 4 周
LGG 与其他微生物	每天 $(8 \sim 9) \times 10^9$ CFU, 连续 6 个月
溃疡性结肠炎(UC)	
<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	实质性 UC: 5×10^{10} CFU, 一天 2 次, 直到缓解(最多 12 周), 接下来每天 5×10^{10} CFU, 最多 12 个月; 预防 UC: 每天 5×10^{10} CFU(研究中的服用时间是 12 周)
<i>S. boulardii</i>	实质性 UC: 250mg, 每天 3 次, 连续 4 周, 配合美塞拉明
VSL#3	实质性 UC: 1.8×10^{12} CFU(2 粒 3g 的胶囊), 每天 2 次, 持续 6 周, 配合传统治疗
克罗恩病	
<i>S. boulardii</i>	巩固治疗: 每天 1g, 持续 6 个月, 配合美塞拉明
结肠炎	
VSL#3	巩固治疗: 每天 1.8×10^{12} CFU, 每次 1 粒 3g 胶囊, 每天 2 次(研究中的服用时间是 9 个月); 巩固治疗: 每天 1.8×10^{12} CFU, 每次 1 粒 3g 胶囊, 每天 2 次(研究中的服用时间是 12 个月)
预防免疫性疾病	
LGG	孕妇预产期前 2~4 周, 每天 10^{10} CFU, 婴儿出生后给药 6 个月
外阴阴道假丝酵母菌病	
LGG	每个栓剂 10^9 CFU, 每天塞 2 粒, 连续 7d
<i>L. rhamnosus</i> GR-1 与 <i>L. fermentum</i> RC-14	每天至少 10^{10} CFU 悬浮在脱脂乳中, 分 2 次口服, 14d
<i>L. acidophilus</i>	含 10^8 CFU/mL 的酸奶, 每天 8OZ(1OZ=0.028kg), 6 个月
免疫调节	
LGG	一天 $4 \times 10^9 \sim 2 \times 10^{10}$ CFU, 服用 1~4 星期
<i>L. acidophilus</i> 与 <i>L. bulgaricus</i>	一天 $6 \times 10^9 \sim 4 \times 10^{10}$ CFU, 服用 1~2 星期
<i>L. acidophilus</i> 与 <i>Bifidobacterium longum</i>	每天 2×10^9 CFU, 连续 5~10d 每天 5×10^9 CFU, 连续 7d

第一节 益生菌的分类

一、益生菌及其相关种属

益生菌，根据近些年的描述，总体上可以总结为：活的微生物，当有足够的数量到达人体或动物肠道内仍然保持活性并能发挥对宿主有益健康的作用。2001 年，FAO/WHO 对益生菌的概述进行了规范，“益生菌（Probiotics）是一类活的微生物，当有足够量的活菌体到达宿主肠道、定殖从而改变宿主肠道菌落平衡，进而对宿主起着健康效应”。益生菌的定义包含着两个重要属性：①活的微生物，②能为宿主提供改善健康的功效。

益生菌主要来源于乳酸菌（*Lactobacilli*）属和双歧杆菌（*Bifidobacteria*）属，另外，也包括一些具有益生作用的酵母菌等。见表 1-4。乳酸菌和双歧杆菌都是革兰氏阳性菌，都可经发酵产生乳酸，都是人体和动物肠道内的正常微生物生态菌落的组成。在制剂中，有的是单一菌种，有的是多种菌联合使用，几种菌种联合使用有增多的趋势。

二、益生菌常用的菌种

一种微生物是否可用作益生菌的选择标准应该包括如下几个方面：①安全，该菌体不能为致病菌以及对宿主产生毒效应；②来源于健康人体的肠道，这一类微生物通常被认为对人体不构成危害，并且能够更好地适应机体肠道内的微生态环境；③对胃酸、胆汁有较好的耐受性，并且当其通过胃和大肠时，对消化酶也有较好的耐受性，能够起着改善宿主健康的功效；④具有可检测性，如对吸附在肠道上皮细胞的菌落的影响、存活能力、对人体大肠功能的影响、产生抑菌物质。

鉴于上述各个特征，益生菌主要包括来源于健康人体肠道的乳酸菌（*Lactobacilli*）属和双歧杆菌（*Bifidobacteria*）属，另外，也包括一些具有益生作用的酵母菌等。具体分类见表 1-4。

表 1-4 用作益生菌的微生物

<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Bifidobacterium</i> spp.	其他
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Escherichia coli</i> Nissle
<i>L. fermentum</i>	<i>B. lactis</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	
<i>L. johnsonii</i>		
<i>L. lactis</i>	<i>Streptococcus</i>	
<i>L. plantarum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. reuteri</i>	Yeast	
<i>L. rhamnosus</i> GG	<i>Saccharomyces boulardi</i>	

乳杆菌不产生芽孢，菌体形态呈杆状。它们是一类都有复杂的营养需求而且为严格发酵性、耐氧或严格厌氧、耐酸或嗜酸的细菌。乳酸菌大多生长在营养丰富、并富含糖类的基质中，如：人和动物黏膜细胞、植物体或以植物为原料的基质、污水、乳制品以及腐败了的食品。

双歧杆菌为人类的整个生命过程中正常人体肠道内主要的微生物菌群组成。在新生儿出生后的几天里，粪便里便能检测出有双歧杆菌的存在，之后，在数量上便不断地增加。成

年人体内的双歧杆菌数量高达 $10^{10} \sim 10^{11}$ CFU/g,但在成年后,这一数量随着年龄的增长而减少。双歧杆菌不运动,不产生孢子,具有多种外形,大部分菌种为严格厌氧型。同传统的发酵起始物一样,益生菌不但要具有技术上的可靠性和可检测的一系列属性,而且还要求具有在酸乳中培养的稳定性、菌株广泛来源于乳酸菌和其他具有促进宿主健康作用的微生物等一系列特征。

酵母菌 *Saccharomyces boulardii* 被应用在一些相关的医药中,临床上对腹泻显示有较好的疗效。含有 *Enterococcus* 的药品常常用于儿科疾病的治疗。益生菌的应用必须伴随着相关技术的应用,一种益生菌产品推向市场还必须考虑其货架期。

1. 乳杆菌属

乳杆菌属内种之间的差异比较大,由一系列在表型性状、生化反应和生理特征方面具有明显差异的种组成。该属细菌(G+C)的范围为 32%~53%,几乎超过了作为单一属可接受范围的 2 倍。乳杆菌属用于益生菌的种如下。

(1) 嗜酸乳杆菌

嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*) 是乳杆菌属的一种,革兰氏阳性,不产芽孢,无鞭毛,不运动,同型发酵乳糖,不液化明胶,接触酶阴性,最适生长温度为 30~38℃,最适 pH 为 5.5~6.0, G+C 含量为 36.0%~37.4%,是一类厌氧或兼性厌氧的微生物。嗜酸乳杆菌是宿主(人和动物)肠道内的主要微生物之一,当存在一定数量时,能够调整和改善肠道内的有益微生物和有害微生物之间的平衡,进而起到增进宿主健康的效果,是目前极为重视研究开发的益生菌。

长期以来,国外对嗜酸乳杆菌的健康促进作用作了较多的研究,而国内在这方面的研究报道非常有限。体外和宿主(人和动物)体内试验以及长期的实践观察表明,服用含有嗜酸乳杆菌的制品具有众多的生理作用,例如能够促进乳糖的消化吸收,缓解乳糖不耐症,提高蛋白质、维生素等的吸收。此外,有研究表明,嗜酸乳杆菌具有降低血清胆固醇、提高机体免疫力和抑制肿瘤发生的能力。

嗜酸乳杆菌具有抵御胃酸和高胆汁酸等极端条件的能力,同时具有加工和储藏中的稳定性,因而在益生菌产品中得到广泛的应用。目前,含有嗜酸乳杆菌的产品种类很多,如嗜酸乳杆菌发酵乳、嗜酸乳杆菌与普通酸奶发酵剂混合发酵的乳制品、甜性嗜酸乳杆菌乳、嗜酸乳杆菌胶囊、片剂等。因此,嗜酸乳杆菌受到众多研究者的广泛关注,开发含有嗜酸乳杆菌的益生菌制品正成为当前研究的热点之一。

(2) 德氏乳杆菌

德氏乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii*) 是由 Beijerinck 于 1901 年分离得来,并用德国细菌学家 M. Delbruck 的名字来命名的一种革兰氏阳性菌。菌体呈杆状,无芽孢,菌落圆形,接触酶阴性,兼性厌氧,15℃不生长,45℃生长。利用葡萄糖、半乳糖、麦芽糖、蔗糖、果糖、糊精,不利用牛奶、乳糖。同型发酵时利用葡萄糖产生的主要产物为乳酸。

由于此菌不能合成大部分的氨基酸,所以需要从培养基中获得。德氏乳杆菌在发酵工业中得以广泛应用,如乳制品的发酵、肉制品发酵和啤酒发酵,而德氏乳杆菌保加利亚亚种是乳制品发酵中最为常用的菌种之一,是最具有经济价值的发酵乳酸菌之一。

保加利亚乳杆菌在细菌分类学上的位置是属于裂殖菌纲真细菌目(Eubacteriales)、乳杆菌科(Lactobacillaceae)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、德氏乳杆菌种(*Lactobacillus delbrueckii*)中的德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)。

保加利亚乳杆菌呈杆状，一般呈长杆状、大链，不运动，无芽孢，革兰氏阳性，专性同型发酵，通过糖酵解途径产生乳酸，且 80% 以上为 D(+) 型乳酸，不发酵乳酸盐，不液化明胶，不分解酪素，不产生吲哚和硫化氢，接触酶阴性，无细胞色素，联苯胺反应阴性，能发酵的糖有乳糖、葡萄糖、果糖、甘露糖、山梨醇等。保加利亚乳杆菌的营养要求复杂，需要氨基酸、肽、盐类、脂肪酸或可发酵的糖类，典型的需要泛酸和烟酸。保加利亚乳杆菌的最适生长温度是 37~42℃，最低生长温度为 22℃，最高生长温度为 52.5℃，耐酸，通常生长所需的 pH 为 5.5~6.2，一般在 pH 为 5 或更低的情况下可生长，在碱性条件下生长不良或不能生长。

保加利亚乳杆菌是典型的来自乳的乳酸菌，菌体长 2~9μm，宽 0.5~0.8μm，单个体呈长杆状或成链，两端钝圆，不具运动性，也不会产生孢子。保加利亚乳杆菌的发现已有一百多年的历史了。1905 年，保加利亚科学家斯塔门·戈里戈罗夫第一次发现并从酸奶中分离了“保加利亚乳酸杆菌”，同时向世界宣传保加利亚酸奶。俄国科学家、诺贝尔奖获得者伊力亚·梅契尼科夫发现长寿人群有着经常饮用含有益生菌的发酵牛奶的传统，并于 1908 年正式提出了“酸奶长寿”理论。保加利亚乳杆菌繁衍至今已经遍布全世界。其效能优异，助人健康长寿，作为发酵剂在食品工业中被广泛应用在酸奶的生产中。由于保加利亚乳杆菌具有调节胃肠道健康、促进消化吸收、增加免疫功能、抗癌抗肿瘤等重要的生理功能，因此，被规定为可用于保健食品的益生菌菌种之一，在食品发酵、工业乳酸发酵、饲料行业和医疗保健领域均有着比较广泛的应用。

德氏乳杆菌保加利亚亚种与嗜热链球菌在乳中共同培养时其产酸能力及菌种数量都比单独在乳中培养时高，表明这两种菌存在着协同作用。这两种菌各自的代谢机制可利用彼此释放的物质满足自己代谢的需要。嗜热链球菌可以提供甲酸盐及二氧化碳刺激保加利亚乳杆菌的生长，而保加利亚乳杆菌能够合成胞外蛋白酶降解原料中的蛋白质，从而为缺少该种酶的嗜热链球菌提供生长所需的氨基酸及小肽类物质。

(3) 发酵乳杆菌

发酵乳杆菌 (*Lactobacillus fermentum*)，革兰氏阳性，兼性厌氧，发酵核糖、半乳糖、葡萄糖、果糖、甘露糖、麦芽糖、乳糖、蜜二糖、蔗糖、海藻糖、棉子糖、L-阿拉伯糖及甘露醇，广泛分布于人和动物的胃肠道中，是肠道、口腔和阴道的正常菌群。许多报道指出，发酵乳杆菌具有水解胆盐、降胆固醇的功能，它能够调节宿主体内微生物菌群的平衡，可以通过口服而到达肠道，很好地吸附在小肠的上皮细胞，并产生表面活性成分而阻止有害菌对肠道的黏附，从而改善宿主体内系统环境，对宿主健康具有促进作用。

Strompfova 等人把发酵乳杆菌 (*Lb. fermentum*) 菌株 AD1 口服作用于日本鹌鹑时，发现连续服用 4d 后，日本鹌鹑的粪便和盲肠中的乳酸菌数目明显增加，而粪便中大肠杆菌数目明显减少，同时服用 AD1 的日本鹌鹑的体重增加量也比对照组提高了 14%，表明发酵乳杆菌菌株 AD1 有明显的益生作用。

(4) 格氏乳杆菌

格氏乳杆菌 (*L. gasseri*) 是革兰氏染色阳性杆菌，不生成孢子，不具触酶、氧化酶及运动性，在好氧及厌氧环境中均能生长，属于兼性异质发酵性菌株，葡糖代谢时不产气体，无芽孢，无荚膜，不运动，发酵产物以 L(+) 乳酸为主，不产气，最适生长温度为 30℃，可在 10℃ 生长。

(5) 约氏乳杆菌

约氏乳杆菌 (*Lactobacillus johnsonii*, *L. johnsonii*) 是乳酸杆菌的一种，能够防治家