

Probiotics  
Cultivation & Application

# 益生菌 培养与应用

闫海 尹春华 刘晓璐 编著

非外借

清华大学出版社

Probiotics  
Cultivation & Application

# 益生菌 培养与应用

闫海 尹春华 刘晓璐 编著

清华大学出版社  
北京

## 内 容 简 介

益生菌是能够提高人、动物和植物健康水平的活菌、代谢产物与酶的总称,关于人类微生物组特别是人体微生物群落结构与身心健康之间的关系是国内外研究的热点和前沿。本书从微生物的特性及益生菌的发展趋势入手,详细介绍乳酸菌、芽孢杆菌、光合微生物和真菌四大类益生菌的生理生态特性、培养及应用,最后阐述益生菌对人类、动植物以及环境的作用和作用机理。

本书可以作为微生物学、生物技术、生物医药、食品科学、动物营养和动物养殖等相关专业的高年级大学生或研究生的课程教材,也可以作为企事业单位相关研发人员的参考书。

版权所有,侵权必究。侵权举报电话: 010-62782989 13701121933

### 图书在版编目(CIP)数据

益生菌培养与应用 / 闫海, 尹春华, 刘晓璐编著. — 北京: 清华大学出版社, 2018  
ISBN 978-7-302-50495-5

I. ①益… II. ①闫… ②尹… ③刘… III. ①乳酸细菌—教材 IV. ①Q939.11

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第136950号

责任编辑: 柳 萍 赵从棉

封面设计: 常雪影

责任校对: 王淑云

责任印制: 宋 林

出版发行: 清华大学出版社

网 址: <http://www.tup.com.cn>, <http://www.wqbook.com>

地 址: 北京清华大学学研大厦A座 邮 编: 100084

社 总 机: 010-62770175 邮 购: 010-62786544

投稿与读者服务: 010-62776969, [c-service@tup.tsinghua.edu.cn](mailto:c-service@tup.tsinghua.edu.cn)

质量反馈: 010-62772015, [zhiliang@tup.tsinghua.edu.cn](mailto:zhiliang@tup.tsinghua.edu.cn)

印 装 者: 三河市金元印装有限公司

经 销: 全国新华书店

开 本: 165mm × 235mm 印 张: 18.5 彩 插: 1 字 数: 299千字

版 次: 2018年11月第1版 印 次: 2018年11月第1次印刷

定 价: 58.00元

---

产品编号: 068065-01

## 前 言

益生菌是一类对宿主有益的活性微生物，是定殖于人体肠道、生殖系统内，能产生确切健康功效从而改善宿主微生态平衡、发挥有益作用的活性的微生物、代谢产物和酶的总称。益生菌的研究属于微生物生态学的范畴，涉及的内容主要包括微生物与其周围生物与非生物环境之间的相互关系和作用机理研究。在正常情况下，人体内微生物的种类可以达到1万多种，总细胞数比人体细胞数还多10倍以上，其中细菌、真菌和寄生虫至少有100万亿，病毒数量更可以达到惊人的1000万亿以上。微生物几乎无孔不入，它们遍布在人体的所有环境暴露表面，但主要定居于消化道内，其次是呼吸道、生殖泌尿道和体表等部位。人类肠道微生物以细菌为主，正常的肠道菌群能合成维生素，促进生长发育和物质代谢，提高免疫功能，因而是维持人体身心健康的必要因素，同时也是反映人体内环境是否稳定的一面镜子。随着科学技术的发展，以及人类生活水平的不断提高，益生菌的医疗和保健功效也越来越受到科研和技术工作者的关注，对于益生菌的作用机理和重要性的研究也逐渐深入。同时，益生菌潜在的巨大经济、社会和生态效益也使得其成为目前国内外研究的前沿和热点。当今世界上功能最强大的益生菌产品是各类微生物组成的复合活性益生菌，已经广泛应用于生物医药、工农业、食品和生物健康等领域。

人才培养和技术人员培训是益生菌研发领域的一项重要任务。目前，国内缺乏益生菌的培养和应用的教材，也鲜有专业开设益生菌的课程。于是，编者根据自己多年的微生物筛选、鉴定、培养和应用研究工作，结合国内外益生菌的研发趋势，编著了本书，其目的是为对益生菌感兴趣的高年级大学生、研究生提供一本比较系统的教科书。企事业单位研发人员也可以将其作为参考书。本书主要面向具有一定微生物学基本知识的人员，首先简单概述微生物的特性、

细胞形态和结构，接着介绍益生菌的研发历程、益生菌与益生元的关系以及益生菌存在的问题和发展趋势，然后重点阐述乳酸菌、芽孢杆菌、酵母菌和光合细菌等四类益生菌种的生理特性、作用机理、培养条件、生产工艺及应用领域，最后介绍益生菌对人类、动植物和环境的作用及作用机理。

笔者主要负责第1、2、7、8章的撰写，尹春华副教授编写了第4章，刘晓璐副教授编写了第6章，吕乐和许倩倩两位工程师分别编写了第3章和第5章。张海洋博士负责书稿的整理、编辑和校对工作。课题组内的研究生对书稿的图片修改给予了无私的帮助，北京科技大学教务处对本书的编写也给予了巨大支持，在此向他们表达诚挚的谢意！

益生菌的培养与应用是一个发展迅速的研究领域，知识领域在不断拓宽，新的益生菌菌种也不断涌现，很多概念和内容也在不断更新，写好这样一部教材确实困难。由于编者知识水平和能力有限，书中错误之处在所难免，恳切希望得到广大师生、同行和读者的批评指正。

闫海

2018年7月

# 目 录

<b>第1章 绪 论</b>	<b>1</b>
1.1 微生物及其特性	2
1.2 微生物的细胞形态和结构	3
1.3 微生物的生态	7
本章要点	12
习题	13
参考文献	14
<b>第2章 益生菌</b>	<b>15</b>
2.1 益生菌概述	16
2.2 益生菌的研发历程	16
2.3 益生菌种	19
2.4 益生菌与益生元	25
2.5 益生菌存在的问题与发展趋势	27
本章要点	29
习题	30
参考文献	31
<b>第3章 乳酸菌</b>	<b>33</b>
3.1 乳酸菌概述	34
3.1.1 乳酸菌的发现	34
3.1.2 乳酸菌的定义和分类方法	38
3.1.3 乳酸菌的分布	40

3.2	乳酸菌的生理特性	43
3.2.1	乳酸菌的营养	43
3.2.2	乳酸菌的代谢途径	46
3.2.3	影响乳酸菌生长的因素	56
3.2.4	乳酸菌的分离和培养	59
3.2.5	乳酸菌的鉴定	66
3.3	乳酸菌微生态制剂发酵生产工艺	75
3.3.1	高密度培养	75
3.3.2	乳酸菌粉剂的制备	77
3.3.3	乳酸菌微胶囊的制备	78
3.4	乳酸菌在食品中的应用	81
3.4.1	乳酸菌在乳制品中的应用	81
3.4.2	乳酸菌在肉制品中的应用	84
3.4.3	乳酸菌在果蔬发酵中的应用	87
3.4.4	乳酸菌在酿造工业中的应用	88
3.4.5	乳酸菌在谷物制品中的应用	90
3.5	乳酸菌在畜禽养殖中的应用	92
3.6	乳酸菌在医疗保健中的应用	94
3.7	乳酸菌的其他应用	98
	本章要点	101
	习题	102
	参考文献	103

## 第4章 芽孢类益生菌 105

4.1	芽孢杆菌的由来与分类	107
4.1.1	芽孢杆菌属的由来	107
4.1.2	芽孢杆菌的分类	107
4.2	芽孢杆菌的形态特征	110
4.2.1	芽孢杆菌的菌落形态	110
4.2.2	芽孢杆菌的细胞形态与结构	111
4.2.3	芽孢杆菌的芽孢形态	113

4.2.4 益生芽孢杆菌典型种的特征	119
4.3 芽孢杆菌的分离与鉴定	123
4.3.1 芽孢杆菌的来源	123
4.3.2 芽孢杆菌的生理生化特征分析	124
4.3.3 分子鉴定	128
4.4 芽孢杆菌的代谢与代谢产物	129
4.4.1 芽孢杆菌的代谢	129
4.4.2 芽孢杆菌的代谢产物	132
4.5 芽孢杆菌的生长特性及培养条件	139
4.5.1 芽孢杆菌的生长特性	139
4.5.2 芽孢杆菌的培养条件	140
4.6 枯草芽孢杆菌类微生态制剂生产工艺	144
4.6.1 菌种复壮和活化	144
4.6.2 种子制备	145
4.6.3 发酵工艺控制	146
4.6.4 生产中获得较高芽孢率的措施	149
4.6.5 芽孢的萌发	151
4.6.6 芽孢杆菌活菌与芽孢计数方法	151
4.7 芽孢杆菌在畜禽养殖行业中的应用及机理	153
4.7.1 我国畜禽养殖业存在的问题	153
4.7.2 芽孢杆菌在畜禽养殖行业中的应用与效果	156
4.7.3 芽孢类微生态制剂的作用机理	160
4.8 芽孢杆菌在农业生产中的应用及机理	162
4.8.1 芽孢杆菌的生防应用	162
4.8.2 芽孢杆菌的生防机理形式	163
4.8.3 新型高效微生物肥料	164
4.9 芽孢杆菌在医药卫生、酶制剂及环境保护方面的应用	165
本章要点	169
习题	170
参考文献	171



<b>第 5 章 光合微生物</b>	<b>173</b>
5.1 光合微生物简介	174
5.1.1 微藻的分类与生态	174
5.1.2 光合细菌的分类与生态	175
5.2 光合微生物的典型菌种	177
5.2.1 微藻的典型菌种	177
5.2.2 光合细菌的典型菌种	181
5.3 光合微生物的生长与培养	184
5.3.1 光合微生物的生长特性	184
5.3.2 光合微生物的培养与环境条件	184
5.3.3 光合微生物的计数方法	186
5.4 光合微生物的作用机理与应用	187
5.4.1 光合微生物的作用机理	187
5.4.2 光合微生物的应用	192
本章要点	196
习题	197
参考文献	198
<b>第 6 章 真菌益生菌</b>	<b>201</b>
6.1 酵母菌	203
6.1.1 酵母菌概述	203
6.1.2 酵母菌的培养特性和发酵工艺	210
6.1.3 酵母菌在人类生活中的应用	214
6.1.4 酵母菌在动物生产中的应用	217
6.1.5 酵母菌在其他方面的应用	223
6.2 其他类真菌益生菌	229
6.2.1 有益霉菌	229
6.2.2 蕈菌	231
本章要点	234
习题	235
参考文献	236

<b>第7章 益生菌对人类的作用及作用机理</b>	<b>241</b>
7.1 人体微生物	242
7.2 益生菌与人老龄化	245
7.3 调节肠道微生态平衡, 防治腹泻和便秘	247
7.4 缓解乳糖不耐症状	251
7.5 防治阴道炎	252
7.6 改善睡眠、增强人体免疫力	253
7.7 防治骨质疏松和过敏	255
7.8 降低血清胆固醇、减肥	258
7.9 预防癌症和抑制肿瘤生长	262
本章要点	264
习题	265
参考文献	266
<b>第8章 益生菌对动植物和环境的作用及作用机理</b>	<b>267</b>
8.1 益生菌对植物的作用及作用机理	268
8.2 益生菌对动物的作用及作用机理	271
8.3 益生菌对养殖环境的作用及作用机理	279
本章要点	282
习题	283
参考文献	284

## 第1章

# 绪 论

## 1.1 微生物及其特性

自荷兰商人列文·虎克 (Antonie van Leeuwenhoek, 1632—1723) 用自制显微镜首次观察到微生物 (microorganisms) 以来, 人们对微生物的认识也就 300 多年的历史。作为一门独立的微生物学科, 远比动物学和植物学晚得多, 只有 100 多年的历史。虽然微生物学科诞生与发展的时间短暂且经历了艰难曲折的历程, 但微生物作为地球上最小的生命体, 在有机物的生物降解尤其是人类的生存发展和身心健康方面发挥着越来越巨大且不可替代的作用。

微生物是用肉眼难以看清的个体微小、结构简单的低等生物 (organisms too small to be seen clearly by the unaided eye) 的总称, 其范畴包括病毒 (virus)、细菌 (bacteria)、真菌 (fungi)、微藻 (microalgae) 和微型原生动物 (protozoan)。在 1969 年美国生物学家魏泰克 (R.H. Whittaker, 1924—1980) 进行的原核生物界 (monera)、原生生物界 (protista)、真菌界 (fungi)、植物界 (plantae) 和动物界 (animalia) 的生物 5 界划分中, 微生物占据了 4 界。另外, 微生物在 1977 年卡尔·沃斯 (Carl Woese) 依据 16S rRNA 序列差别提出的细菌域 (bacteria)、古生菌域 (archaea) 和真核生物域 (eukarya) 的生物 3 域中占据 2 域多。

与动物和植物相比, 微生物虽然个体微小, 但具有如下基本特性: ①个体小、比表面积大。最小的纳米细菌只有 50 nm, 最大的纳米比亚硫珍珠菌也仅有 100~750  $\mu\text{m}$ 。②生长繁殖快。在条件适宜时细菌每 20 min 即可分裂一次, 生物量增加 1 倍, 在细胞生物界有无以伦比的生长繁殖速度。③代谢转化快。500 kg 公牛对食物的消化速率为 0.5 kg/h, 而 500 kg 酵母利用有机物的速率却高达 50000 kg/h, 微生物的代谢强度是高等动物的成千上万倍。④营养范围广。微生物不仅可以代谢转化蛋白质、脂肪、糖类和无机盐, 而且对于动植物难以利用的物质如纤维素、石油和塑料及有毒有害有机物也能综合利用, 变废为宝。

⑤种类多,分布广。微生物在自然界中的分布极广泛,几乎无处不在,无处不有,上至几万米高空,下至几千米深的海底,热达 $100^{\circ}\text{C}$ 以上的温泉,冷至 $-80^{\circ}\text{C}$ 的极地,都可以找到它们的踪迹。⑥容易培养。微生物对营养要求不高,农副产品、有机废弃物和有机废水等都可以用来培养微生物。⑦容易变异。微生物突变频率虽不高,但因繁殖快、数量多,因而在短时间内可产生大量变异的后代,扩大了其代谢范围与能力。

## 1.2 微生物的细胞形态和结构

病毒(virus)是超显微、没有细胞结构、独立于其宿主进化史的专性绝对活细胞内寄生的生物,其DNA或RNA基因组被其所编码的蛋白质壳体化。病毒在活细胞外具有一般化学大分子特征,而一旦进入宿主细胞又具有生命特征。病毒的主要特点有:①无细胞结构,专性活细胞内寄生;②没有酶或酶系统极不完全,不能进行独立的代谢活动;③个体极微小,能通过 $0.22\ \mu\text{m}$ 细菌滤器;④对抗生素不敏感,而对干扰素敏感。存在于细胞外的病毒毒粒主要表现为球形(20面体)、杆状和复杂形状3种主要形态(图1-1)。能够侵染原核微生物的病毒叫噬菌体,主要表现为复杂形态,其繁殖过程可分为吸附、侵入、脱壳、核酸复制与生物大分子合成和装配与裂解释放5个阶段。

病毒是一种非细胞生命形态,是由核酸分子(DNA或RNA)与蛋白质构成的靠寄生生活的生命体。病毒的基本结构为核酸核心和蛋白衣壳,有些复杂的病毒在衣壳的外面包裹着一层由脂类和多糖组成的包膜,有的包膜上还长有刺突(图1-2)。

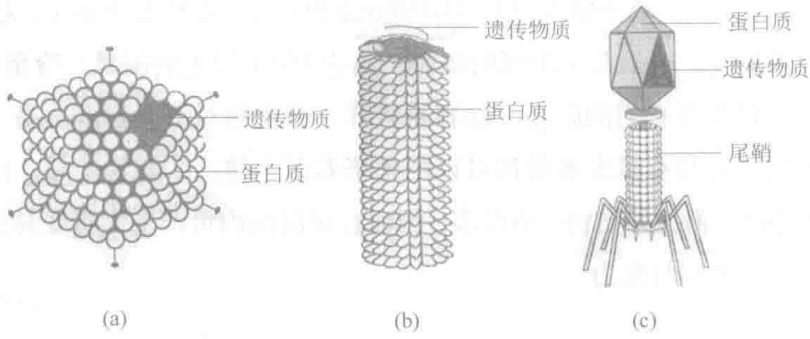


图 1-1 病毒毒粒的形态  
(a) 球形 (20 面体); (b) 杆状; (c) 复杂形状

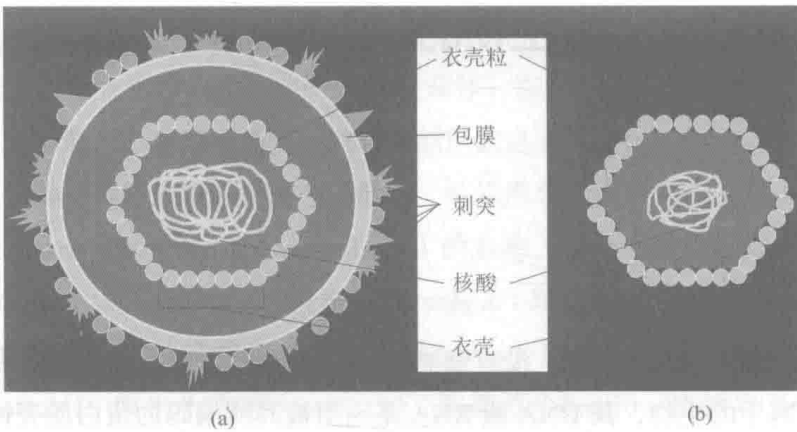


图 1-2 病毒的基本结构  
(a) 包膜病毒; (b) 裸露病毒

病毒缺乏自己的独立代谢机构和酶系统，因此离开了宿主细胞，就成为没有任何生命活动且不能独立自我繁殖的化学物质。一旦进入宿主活体细胞后，病毒就可以利用细胞中的物质和能量以及复制、转录和转译等系统，按照它自己的核酸所包含的遗传信息产生和它一样的新一代病毒。

原核微生物 (prokaryotic microorganism) 是一大类细胞微小、细胞核无核膜包裹的原始单细胞生物。它与真核微生物的主要区别是：①基因组由无核膜包裹的双链环状 DNA 组成；②缺乏由单位膜分隔、包围的细胞器；③核糖体为 70 S 型。

在显微镜下观察原核微生物细胞，发现其形态主要有球形、杆状和螺旋状三种类型 (图 1-3)。原核微生物细胞的构造包括所有细胞都具有的一般构造和

部分种类才有或一般种类在特定环境下才具有的特殊构造（图 1-4）。细菌是一类细胞细短、结构简单、胞壁坚韧，多以二分裂方式繁殖和水生性较强的原核生物。根据细胞壁组成成分和等电点的不同，可以通过染色将细菌分为革兰氏阴性（ $G^-$ ）和阳性（ $G^+$ ）两大类。

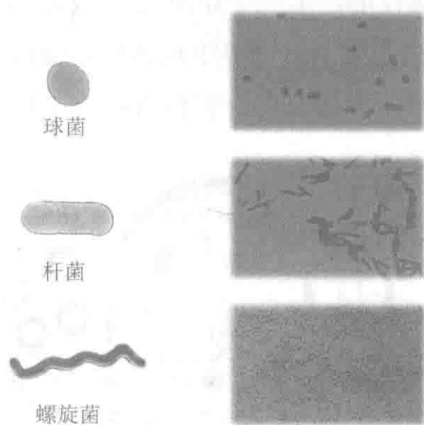


图 1-3 原核微生物的细胞形态

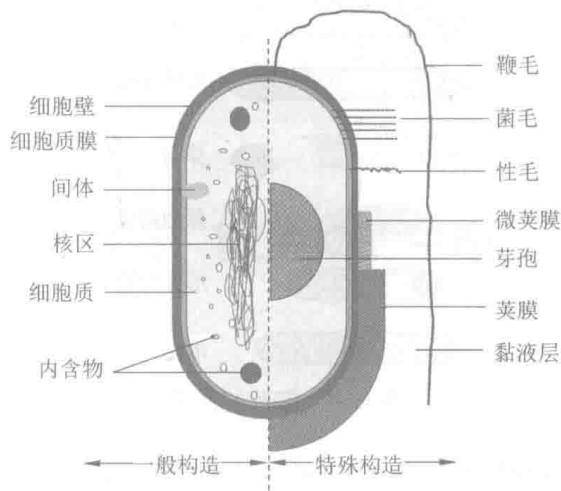


图 1-4 原核微生物细胞的构造

支原体（细胞直径  $0.2 \mu\text{m}$  左右）是自由生活的最小原核微生物，无细胞壁，只有细胞质膜，细胞形态多样。因支原体的细胞膜中含有一般原核生物所没有的甾醇，所以即使缺乏细胞壁，其细胞膜仍有较高的机械强度。质粒（plasmid）是独立于细菌染色体外，能够独立复制，通常以共价闭合环状的超螺旋双链

DNA 分子 (图 1-5)。每个细胞可以含有一个或多个质粒, 可编码细菌的非必需遗传信息, 赋予细菌抗药性等功能。某些细菌在其生长发育后期, 在细胞内形成一个圆形或椭圆形、厚壁、含水量极低、抗逆性极强的休眠体, 称为芽孢 (spore, 图 1-6), 是细菌的三大特殊构造 (芽孢、荚膜、鞭毛) 之一, 主要由  $G^+$  杆菌形成。每个细菌细胞营养体仅能产生一个芽孢, 其萌芽后仍生成一个细胞营养体, 故芽孢无繁殖能力。芽孢是整个生物界中抗逆性最强的生命体, 具备抗热、抗化学药物、抗辐射、抗静水压等能力。有报道显示, 3000 万年前的芽孢仍然可以萌发。



图 1-5 原核微生物细胞内的质粒

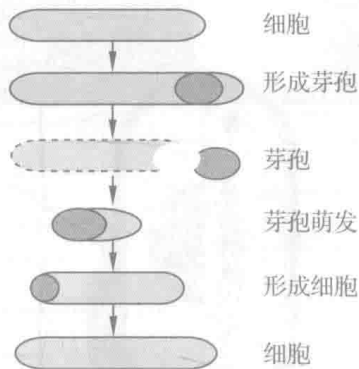


图 1-6 细菌的芽孢

真核微生物 (eukaryotic microorganism) 是细胞核由核膜包裹, 能够通过有丝分裂进行繁殖, 细胞质中存在线粒体或同时存在叶绿体等细胞器的一系列微小生物的总称。与原核微生物相比, 虽然真核微生物在数量上并不占据优势, 但真核微生物的种类占微生物总数的 95% 以上。从个体形态、群体形态、营养吸收、代谢类型、代谢产物、遗传特性和生态分布诸方面, 真核微生物都展现出一幅多样化的画面 (图 1-7)。图 1-8 显示了酵母菌 (yeast) 的细胞构造, 它包括细胞壁、细胞膜、细胞质和细胞核及细胞器等部分。



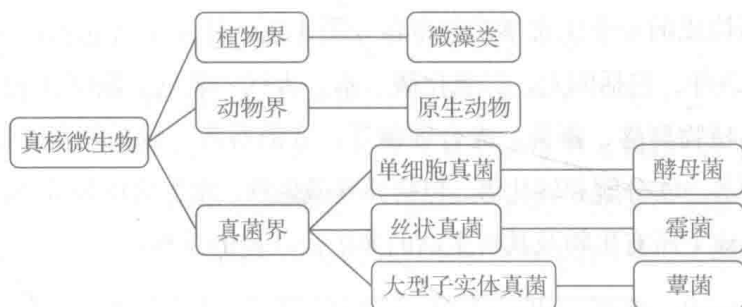


图 1-7 真核微生物的主要生物类群

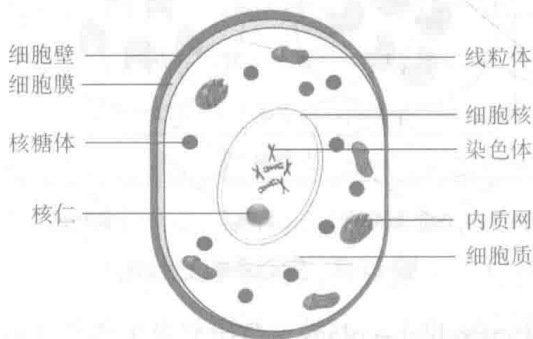


图 1-8 酵母菌的细胞构造

### 1.3 微生物的生态

种 (species) 是形态、结构、功能、发育特征和生态分布基本相同的一群生物，属于生物基本的分类单元。种群 (population) 是生活在同一环境中的同种个体组成的能繁殖集团。群落 (community) 为同一环境中两个以上种群由于生活繁殖上的连锁而构成的相互依赖、相互制约的生物集团。生态系统 (ecosystem) 指在一定的空间内，生物成分和非生物成分通过物质循环和能量流动相互作用、