

食品中益生菌的功能与安全性研究进展

田云*, 郝娟, 马永轩

(广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东广州 510610)

摘要: 益生菌在人类的食品生产和生活中有着悠久的历史, 随着对益生菌功能研究的逐步深入, 益生菌对人体的多种营养功能和健康功效也逐渐明确。现有研究表明益生菌具有调节肠道菌群、提高免疫力等功效, 甚至能够改善一些疾病的症状, 因此在食品行业中, 益生菌从传统的发酵食品中的应用到功能性食品中的添加使用变得越来越广泛。然而食品中益生菌的大规模使用也提升了潜在的安全性风险, 如感染、生物毒素和耐药性基因转移等, 益生菌在使用的过程中必须充分考虑其安全性问题。欧洲的安全资格认证 (Qualified Presumption of Safety, QPS) 和美国的公认安全 (Generally Recognized as Safe, GRAS) 体系是目前比较成熟的微生物安全性评价体系, 近年来我国也通过相关立法规范益生菌的使用从而保障食品安全。该研究综述了目前对于益生菌营养功能和食品中益生菌应用的国内外研究进展, 阐述了益生菌目前面临的安全性问题与安全性评价体系, 以为食品中益生菌的安全应用提供一定的参考。

关键词: 益生菌; 保健功能; 益生菌食品; 安全性评价

文章编号: 1673-9078(2024)08-415-427

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.0530

Research Progress on the Function and Safety of Probiotics in Food

TIAN Yun*, HAO Juan, MA Yongxuan

(Sericultural & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China)

Abstract: Probiotics have a long history of being used in human food production and life. With the gradually further research on the function of probiotics, the multiple nutritional functions and health effects of probiotics on the human body have become clear. Existing studies have shown that probiotics could exert functions such as intestinal flora-regulating and immunity-improving effects, and even ameliorate the symptoms of some diseases. Therefore, in the food industry, it has become more and more extensive that probiotics are used in traditional fermented foods or added to the functional foods. However, the large-scale use of probiotics in food also increases potential safety risks, such as infections, occurrence of biotoxins, and transfer of drug-resistant genes. The safety of probiotics must be fully considered in the process of their use. The Qualified Presumption of Safety (QPS) in Europe and the Generally Recognized as Safe (GRAS) in the United States are currently well-established systems for assessing the safety of microorganisms. In recent years, relevant legislations have also been established in China to standardize the use of probiotics to ensure food safety. In this article, the research progress on the nutritional function of probiotics and the application of probiotics in food in China and overseas is reviewed, and the current safety issues and safety evaluation system related to probiotics are described, in order to provide a certain reference for the safe application of probiotics in food.

Key words: probiotics; health care function; probiotic food; safety evaluation

引文格式:

田云, 郝娟, 马永轩. 食品中益生菌的功能与安全性研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 40(8): 415-427.

TIAN Yun, HAO Juan, MA Yongxuan. Research progress on the function and safety of probiotics in food [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 415-427.

收稿日期: 2023-05-06

作者简介: 田云 (1983-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 功能食品研究, E-mail: tyforever83@126.com

益生菌通常被定义为被宿主适量摄入时,能够对宿主的健康表现出有益的影响的可存活的微生物。食品中的益生菌在人类的生产和生活中具有悠久的历史,19世纪路易斯·巴斯德(Louis Pasteur)最早发现了在发酵过程中产生作用的细菌和酵母,但在当时没有将这些微生物与对人体的健康影响相互关联^[1]。1905年,曾与巴斯德共事的埃利·梅奇尼科夫(Elie Metchnikoff)发现保加利亚人的长寿与他们食用的酸奶密切相关,而用于发酵酸奶的乳酸菌(Lactic Acid Bacteria, LAB)以及这些乳酸菌在肠道中的存在是关键因素^[2]。随着研究不断深入,研究人员发现益生菌不仅能够影响的人体健康,还能够改善一些疾病症状,例如益生菌可以加强肠道防御的不同防线,益生菌的最佳临床应用是治疗急性腹泻^[3,4]。除此之外,益生菌对心血管疾病、阿尔兹海默症等疾病都存在积极的影响^[5-7]。

益生菌已经被广泛应用在食品工业中,尤其是发酵乳制品中。由于对人的健康的有利影响,益生菌也在逐渐作为食品补充剂用于功能性食品中^[8]。益生菌的大量应用使得人们必须考虑其安全性问题。一些在人类历史上长期使用的益生菌如乳杆菌(*Lactobacillus*)等在食品中的应用通常被认为是安全的,这些长期使用的乳酸菌也在美国属于公认安全(Generally Recognized as Safe, GRAS)的微生物菌株,GRAS菌株在美国可以不通过审查即可应用于食品中^[9]。然而即使是GRAS微生物菌株仍然存在着易位和感染的可能性,同时也有增加抗生素耐药性的风险^[10]。此外在将其他新益生菌菌株纳入可食用菌种之前,也应当应仔细评估其营养功能及安全性以保证人体的健康。本文就食品中益生菌的功能、应用与安全性评价的研究进展进行了简要阐述,以为食品中益生菌的应用提供参考。

1 益生菌的功能作用

益生菌在目前已获批的益生菌类保健食品中,对人体的营养与保健功能声称最多的是调节肠道菌群和增强免疫力^[11]。除这两类主要功能之外,益生菌还具有促进营养吸收,改善代谢等营养功能^[12,13]。

1.1 调节肠道菌群

肠道菌群在人体中起着重要作用,益生菌可以调节肠道菌群的组成进而影响人体健康,干预多种疾病的发生和发展。毛丙永等^[14]研究发现使用一

种复合益生菌制剂能够对人体肠道菌群中乳杆菌属(*Lactobacillus*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、柯林斯菌属(*Collinsella*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)、多尔氏菌属(*Dorea*)和真细菌属(*Eubacterium*)等细菌的相对丰度产生影响,证明了复合益生菌制剂能够提高肠道内一些有益菌的丰度。益生菌同样可以直接影响肠道菌群,调节肠道菌群失调。梁冰等^[15]观察及评价了复合益生菌制剂调节长航核潜艇艇员肠道菌群失调的初步效果,经过20 d水下长航作业后,服用益生菌组的志愿者肠道菌群中长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)和唾液联合乳杆菌(*Ligilactobacillus salivarius*)数量显著高于未服用组,而且致病菌显著减少,复合益生菌制剂对长航核潜艇艇员肠道菌群失调的调节有一定的效果,在改善胃肠道症状的同时,可使服役艇员肠道正常菌群保持在弱勢平衡的水平上。

一些疾病和药物使用也会影响到正常的肠道菌群,益生菌对药物影响导致的肠道菌群紊乱同样具有调节功能。如反流性食管炎(Reflux Esophagitis, RE)是一种常见的消化系统疾病,质子泵抑制剂(Proton Pump Inhibitors, PPIs)作为一线治疗药物可显著缓解RE症状,但在PPIs使用者中观察到了肠道菌群紊乱。Sun等^[16]使用益生菌调节一种PPIs埃索美拉唑使用后的肠道菌群紊乱,益生菌组的胃肠道症状评定量表(Gastrointestinal Symptom Rating Scale, GSRS)腹泻综合征评分显著降低,益生菌组的小肠细菌过度生长阴性率也显著高于安慰剂组,同时益生菌组的复发风险均低于安慰剂组,表明益生菌能够调节药物引起的肠道菌群紊乱。

1.2 改善肠道细菌移位

除肠道菌群失调外,疾病导致肠道细菌移位(Bacterial Translocation, BT),即肠道细菌或代谢产物从肠腔迁移到肠外部位会严重威胁人体健康^[17],益生菌对细菌移位同样能起到调节与预防作用。肠漏综合征(Leaky Gut Syndrome, LGS)发生时肠道通透性过高,微生物及其有毒代谢产物向胃肠道外迁移造成炎症性肠病、肝硬化和急性胰腺炎等疾病,益生菌可以调节肠道菌群促进肠壁愈合,预防细菌移位和内毒素血症^[18]。肠道细菌感染是重症急性胰腺炎患者发病和死亡的主要原因,Minnen等^[19]在研究中发现使用多种益生菌修饰肠道菌群可以减少实验性急性胰腺炎过程中的肠道细菌移位,降低发病率和死亡率。

此外,一些慢性心理应激如避水应激(Water

Avoidance Stress, WAS), 可诱导肠粘膜屏障功能障碍, 并损害粘膜对管腔细菌的防御能力造成细菌移位, Zareie 等^[20]的研究中接受 WAS 刺激的大鼠通过在饮用水中摄入 7 d 的瑞士乳杆菌 (*Lactobacillus helveticus*) 和鼠李糖乳酪杆菌 (*Lactocaseibacillus rhamnosus*), 大约 70% 未使用益生菌的 WAS 刺激大鼠有肠道细菌移位至肠系膜淋巴结, 而使用益生菌的对照组没有发现细菌移位。益生菌可以诱导细菌粘附, 防止肠道中的有害菌转移到肠系膜淋巴结, 因此益生菌可以预防慢性应激引起的肠道异常, 从而在肠道发挥有益的作用。

1.3 增强免疫功能

益生菌对人体的肠道菌群具备显著的调节能力, 而肠道菌群与免疫系统的调节密不可分, 最新的研究表明肠道菌群和免疫细胞动力学之间存在一致的关联, 肠道微生物群可以直接影响机体的免疫系统^[21,22]。通常情况下, 尽管肠道不是人体中唯一重要的药理学区域, 但与基于益生菌干预的免疫细胞活动和整体免疫有关^[23]。益生菌对肠道菌群的调节能够干扰肠道的上皮细胞和免疫细胞的组成和功能, 增强机体的免疫功能, 此外还能够通过保护人体免受胃肠道病原体的侵害而增强人体对病原体的抵抗力^[23]。然而益生菌的免疫调节特性因菌种而异, 还可能同时表现出多种作用机制, 如促进抗体响应、抑制炎症和刺激吞噬作用等, 多种因素的作用使益生菌对免疫系统的影响进一步复杂化^[24]。

现有研究表明益生菌与肠道固有层的粘膜树突状细胞或粘膜上皮细胞的相互作用可以调节粘膜免疫系统的特定功能, 其中肠道的固有免疫模式识别受体 (Pattern Recognition Receptors, PRRs) 在益生菌的宿主识别中起着至关重要的作用^[25]。模式识别受体在与益生菌表面分子的相互作用过程中发挥传递信号的功能, 该类识别受体包括 Toll 样受体 (Toll-like Receptors, TLRs) 如 TLR2、TLR4 和 TLR5 受体^[26-28]、树突状细胞表面 C 型凝集素受体 (C-type Lectin Receptors, CLR) 和核苷酸结合寡聚化结构域 NOD 样受体 (Nod-like Receptors, NLRs) 等^[29]。模式识别受体通过与髓样分化因子 MyD88 激活核因子- κ B (Nuclear Factor- κ B, NF- κ B) 和丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen-activated Protein Kinase, MAPK) 等信号转导衔接蛋白将益生菌传递的信号转导至细胞核调节应答基因的表达^[30,31]。

目前的研究证明一些益生菌能够促进机体的抗

体产生, 显示出免疫增强的特性, 以提高机体对致病性入侵的防御能力。Gill 等^[32]报道了益生菌鼠李糖乳酪杆菌 HN001 (*Lcb. rhamnosus* HN001) 在小鼠口服后可刺激增强先天和获得性免疫反应, 在鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 攻击后, 益生菌喂养的小鼠的血清和肠道中能够产生更高滴度的抗沙门氏菌抗体, 显示出更高的感染总体存活率。益生菌对机体的免疫增强作用使得益生菌也可以被用作疫苗的有效佐剂^[33,34]。Davidson 等^[35]报道了乳杆菌 GG (*Lactobacillus* GG, LGG) 是提高流感疫苗免疫原性的重要佐剂, 流感减毒活疫苗通过粘膜激活免疫系统来预防流感, 对动物和成人的研究表明, 益生菌可以提高疫苗对粘膜的免疫反应。

益生菌不仅能辅助增强免疫反应, 还可以直接诱导机体产生抗体, 增加机体的抗体水平。益生菌能够以位点特异性的方式增加肠道聚合免疫球蛋白受体 (Polymeric Immunoglobulin Receptor, PIgR) 的表达, PIgR 的表达上调可以解释为益生菌通过 TLRs 对上皮细胞的直接影响所产生^[36]。Sakai 等^[37]发现口服格氏乳杆菌 SBT2055 (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) 可以诱导小鼠产生 IgA 抗体, 并增加小鼠派尔集合淋巴结和小肠粘膜固有层中 IgA+ 细胞群的比率, 益生菌通过刺激骨髓源性树突状细胞促进转化生长因子- β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β)、B 细胞活化因子 (B Cell Activating Factor, BAFF)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素-10 (Interleukin-10, IL-10) 基因的表达, TLR2 信号被激活, 这些对 B 细胞产生 IgA 抗体至关重要。刘冬等^[38]报道了益生菌可以提高患轮状病毒肠炎的婴幼儿体内分泌型 IgA 抗体水平, 显著缩短轮状病毒肠炎的病程, 缓解临床症状, 降低病毒感染的发生率。也有研究发现婴儿体内的分泌性 IgA 随摄入的母乳和含有益生菌的发酵配方奶粉的增加而增加^[39]。此外, 针对贾第虫病等胃肠道寄生虫感染, 小鼠实验表明了补充益生菌有助于恢复肠道结构并调节 IgA 反应, 增强肠屏障的防御作用^[40]。

益生菌对免疫系统的影响还会产生抗炎作用, 越来越多的早产儿使用益生菌来预防坏死性小肠结肠炎和新生儿败血症^[41]。益生菌可以通过下调炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 (Tumor Necrosis Factor, TNF)、 γ -干扰素 (Interferon- γ , IFN- γ) 和白细胞介素-12 (Interleukin-12, IL-12) 的表达, 诱导产生 IL-10 和 TGF- β 等抗炎细胞因子, 以增强粘膜免疫

反应减轻炎症^[42,43]，研究同时表明益生菌能够治疗和预防多种炎症性肠病^[43]。Mohamadzadeh 等^[44]敲除了嗜酸乳杆菌 NCFM (*Lactobacillus acidophilus* NCFM) 脂磷壁酸 (Lipoteichoic Acid, LTA) 生物合成中起关键作用的磷酸甘油转移酶基因，发现缺少 LTA 的嗜酸乳杆菌不仅下调 IL-12 和 TNF α 的表达，而且显著增强了树突状细胞中的 IL-10 表达并控制树突状细胞共刺激分子功能的调节。LTA 阴性菌可显著减轻小鼠右旋糖酐硫酸钠和 CD4⁺CD45RB^{high}T 细胞诱导的结肠炎，并通过涉及 IL-10 和 CD4⁺FoxP3⁺T 调节细胞的机制有效抑制过度的粘膜炎症。目前也有研究通过基因工程改造益生菌菌株以增强抗炎相关基因表达，Zhou 等^[45]使用基因工程改造了口服益生菌大肠杆菌 Nissle 1917 (*Escherichia coli* Nissle 1917) 基因使其过表达过氧化氢酶和超氧化物歧化酶，从而能够消除肠道中的活性氧以治疗肠道炎症。

1.4 益生菌的其他功能

益生菌能够促进人体的营养吸收、改善营养状况。Ballini 等^[46]在儿科人群中评估了预防性益生菌的有效性和安全性，以提高儿童患者营养吸收能力，从而增强其整体健康和免疫力，研究结果证实，与安慰剂相比使用益生菌可有效提高儿童患者从基线检查到治疗 10 周的血液中维生素、钙和矿物质吸收的总体生物标志物水平。重性抑郁障碍 (Major Depressive Disorder, MDD) 是一种极其复杂和异质性的疾病，Logan 等^[47]报道了 MDD 患者的促炎细胞因子水平升高，氧化应激增加，胃肠功能改变，微量营养素和 ω -3 脂肪酸状态降低，小肠细菌过度生长可能是 MDD 患者营养吸收受限的原因之一，同时精神压力会改变 MDD 患者肠道菌群，降低乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 和双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 菌群的水平。益生菌具有降低 MDD 患者全身炎症细胞因子、降低氧化应激、改善营养状况和纠正小肠细菌过度生长的潜力，益生菌对全身炎症细胞因子和氧化应激的影响可能最终导致脑源性神经营养因子 (Brain-derived Neurotrophic Factor, BDNF) 增加，能够促进神经营养作用。

肠道微生物群的变化与代谢紊乱有关，如体重增加和血糖升高等^[48]。益生菌能够调节人体内血糖和血脂的代谢。Yadav 等^[49]研究了使用三种不同益生菌菌株制备的益生菌发酵乳的治疗潜力，包含鼠李糖乳酪杆菌 MTCC:5957 (*Lcb. rhamnosus*

MTCC:5957)、鼠李糖乳酪杆菌 MTCC:5897 (*Lcb. rhamnosus* MTCC:5897) 和发酵粘液乳杆菌 MTCC:5898 (*Limosilactobacillus fermentum* MTCC:5898)，结果表明，喂食益生菌发酵乳显著改善了糖尿病大鼠的葡萄糖代谢、血清炎症状态、氧化应激和血脂谱，每天食用益生菌发酵乳可以有效对抗 1 型糖尿病及其并发症。Laitinen 等^[50]研究了益生菌鼠李糖乳酪杆菌 GG (*Lcb. rhamnosus* GG) 和动物双歧杆菌乳亚种 Bb-12 (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12) 对血糖正常的孕妇糖代谢的影响，食用益生菌后的孕妇血糖浓度升高的风险会降低，葡萄糖耐受性更好，表明即使在血糖正常的人群中，通过益生菌饮食也可以改善血糖控制，因此可能为血糖紊乱的预防和治疗提供潜在的新方法。

益生菌还具有解毒和抑制致病菌的作用^[51,52]。益生菌能够结合许多环境毒素，尤其是重金属污染物，如铝、镉、铅或砷，并通过粪便消除它们^[53]。Zhai 等^[54]的研究表明，口服植物乳植杆菌 CCFM8610 (*Lactiplantibacillus plantarum* CCFM8610) 可以显著抑制小鼠肠道对镉的吸收，益生菌增加了镉暴露小鼠的粪便镉水平，减少了镉在组织中的积累；在体外试验中，益生菌的干预和治疗均减轻了镉在人肠细胞系 HT-29 中诱导产生的细胞毒性，并保护了细胞单层紧密连接被破坏。除重金属的解毒，益生菌还能够降解生物毒素，Elsanhoty 等^[55]研究发现酸奶中的乳酸菌具有去除酸奶中黄曲霉毒素 M1 污染的潜力。益生菌可以通过占据潜在的病原体定殖位点发挥抗菌活性来抑制宿主与病原体的接触，如动物双歧杆菌乳亚种 HN019 (*B. animalis* subsp. *lactis* HN019) 和嗜酸乳杆菌 NCFM (*Lb. acidophilus* NCFM) 能够抑制牙口腔厌氧菌的生长，减少挥发性硫化物的产生从而缓解口臭症状，同时促进牙周健康^[56]。

2 益生菌在食品中的应用

2.1 可应用于食品的菌种

在中国，根据《保健食品注册管理办法（试行）》，国家食品药品监督管理局制定了《益生菌类保健食品申报与审评规定（试行）》（国食药监注[2005]202号），其中规定了 10 中可用于保健食品的益生菌菌种。2010 年卫生部发布了《可用于食品的菌种名单》（卫办监督发[2010]65号），其中规定了双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、乳杆菌

属 (*Lactobacillus*)、链球菌属 (*Streptococcus*) 中的 21 种菌种可以被用于可食用菌种。在之后的时间里, 国家有关部门对不断在扩充可用于食品的菌种名单。2021 年 10 月国家食品安全风险评估中心对最新的《可用于食品的菌种名单》和《可用于婴幼儿食品的菌种名单》(征求意见稿) 公开征求意见, 《可用于食品的菌种名单》中包含了 38 种菌种, 《可用于婴幼儿食品的菌种名单》包含了 13 种菌种。2022 年 8 月国家卫生健康委员会正式发布了《关于〈可用于食品的菌种名单〉和〈可用于婴幼儿食品的菌种名单〉更新的公告》(2022 年第 4 号), 同时规范和调整了菌种分类和命名。正式名单与征求意见稿相比, 增加了 2022 年国家卫生健康委员会《关于莱茵衣藻等 36 种“三新食品”的公告》(2022 年第 2 号) 中可用于婴幼儿食品的长双歧杆菌长亚种 BB536 (*Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536)。目前国家批准可用于食品的益生菌菌种包括《可用于食品的菌种名单》中的 17 个属 38 种菌种、《可用于婴幼儿食品的菌种名单》中的 14 种菌种以及《益生菌类保健食品申报与审评规定(试行)》中的 10 种菌种, 表 1 列举了详细的菌种名单及规范命名。

在欧洲, 可用于食品的菌种由欧洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 定期公布安全资格认证 (Qualified Presumption of Safety, QPS) 名单。2007 年 EFSA 公布了第一版 QPS 名单, 最初包含了 72 种微生物菌种^[57]。目前 QPS 名单每六个月更新一次, 截至 2023 年 6 月最新的 QPS 名单包含了 1241 个条目^[58], 此次更新有 6 种新微生物菌株通过认定, 包括环状芽孢杆菌 (*Bacillus circulans*)、副地衣芽孢杆菌 (*Bacillus paralicheniformis*)、湖泊红球藻 (*Haematococcus lacustris*)、嗜热脱氮芽孢杆菌 (*Geobacillus thermodenitrificans*)、斯特拉斯堡乳植杆菌 (*Lactiplantibacillus argenteratensis*) 和多形汉逊酵母 (*Ogataea polymorpha*)。在美国, 可用于食品的菌种清单来源于食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 的公认安全 GRAS 物质, FDA 会根据提交备案请求的审查结果发布 GRAS 通知 (GRAS Notice) 随时更新允许的 GRAS 物质, 如 2023 年 7 月 10 日通过的短双歧杆菌 DSM 33444 (*B. breve* DSM 33444) (GRAS Notice No. GRN 001114)、2023 年 7 月 5 日通过的酿酒酵母 OYR-243 (*Saccharomyces cerevisiae* strain OYR-243) (GRAS Notice No. GRN 001096) 等。

2.2 益生菌在食品中的应用

传统食品中的益生菌应用主要为乳酸菌为主的发酵乳制品的生产, 如酸奶、乳酸菌饮品和奶酪等。日本是世界上第一个生产益生菌食品的国家^[59], 1930 年日本京都大学代田稔博士成功分离并改造了干酪乳酪杆菌代田株 (*Lcb. casei* strain Shirota), 并被日本养乐多公司用于益生菌发酵乳饮料中^[60]。90 年代起我国益生菌乳制品开始逐渐发展, 内蒙古农业大学张和平教授从传统的发酵马奶里发现了益生菌菌株干酪乳酪杆菌 Zhang (*Lcb. casei* Zhang), 成功应用于伊利集团 QQ 星益生菌乳饮料生产^[61,62]。此外戊糖片球菌 ENM104 (*P. pentosaceus* ENM104)、植物乳植杆菌 SPS109 (*Lpb. plantarum* SPS109) 以及干酪乳酪杆菌 SJRP38 (*Lcb. casei* SJRP38) 等许多益生菌菌株都具有应用于发酵乳饮料的潜力^[63,64]。在欧洲等地区, 奶酪是历史悠久的传统发酵乳制品, 其中马苏里拉奶酪在世界各地拥有极高的知名度。马苏里拉奶酪富含益生菌, 从中分离出了如干酪乳酪杆菌 SJRP35 (*Lcb. casei* SJRP35)、柠檬明串珠菌 SJRP44 (*Leuconostoc citreum* SJRP44), 德氏乳杆菌保加利亚亚种 SJRP57 (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* SJRP57) 和肠膜明串珠菌肠膜亚种 SJRP58 (*Ln. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* SJRP58) 等益生菌菌株^[65]。Mukhtar 等^[66]从酸奶样品中提取分离了益生菌嗜酸乳杆菌 S2 (*Lactobacillus acidophilus* S2) 菌株添加进马苏里拉奶酪中, 研究发现在奶酪生产中添加益生菌不仅延长了奶酪的货架期, 而且提高了奶酪的感官特性, 使奶酪成为一个良好的益生菌输送系统。

发酵与腌制同样是世界各地历史悠久的肉类和蔬菜加工方法, 发酵肉类制品 (如干香肠等) 与腌菜制品中在制作时会有大量益生菌的产生, 例如在中国东北的传统食品哈尔滨香肠中分离出了益生菌戊糖片球菌 R1 (*P. pentosaceus* R1)^[67], 从酸菜中分离出了短乳杆菌 SF9B (*Lactobacillus brevis* SF9B)。此外益生菌能够作为发酵肉类与蔬菜制品中的发酵剂, 还可以通过生产抗菌肽保证肉制品的安全性^[68]。来自西班牙的研究人员评价了屎肠球菌 CECT 410 (*Enterococcus faecium* CECT 410) 能够用于生产益生菌干发酵香肠^[69], 植物乳植杆菌 L4 (*Lpb. plantarum* L4) 和肠膜明串珠菌 LMG 7954 (*Ln. mesenteroides* LMG 7954) 可以用于腌制卷心菜的制作^[70]。除发酵制品外, 益生菌也正逐步

被应用于各种其他类型的食品如果汁、糖果、冰淇淋等的生产中^[71-73]，例如唐莹等^[74]将凝结魏茨曼氏菌 (*W. coagulans*, 原凝结芽孢杆菌) 用于佛手益生菌软糖的制备。

表 1 国家批准可用于食品的益生菌菌种名单

Table 1 List of probiotic strains approved for use in food in China

类别	属名	菌种
可用于食品的菌种名单 (38种)	双歧杆菌属 (<i>Bifidobacterium</i>)	青春双歧杆菌 (<i>Bifidobacterium adolescentis</i>)、动物双歧杆菌动物亚种 (<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i>)、动物双歧杆菌乳亚种 (<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>)、两歧双歧杆菌 (<i>Bifidobacterium bifidum</i>)、短双歧杆菌 (<i>Bifidobacterium breve</i>)、长双歧杆菌长亚种 (<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i>)、长双歧杆菌婴儿亚种 (<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i>)
	乳杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>)	嗜酸乳杆菌 (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)、卷曲乳杆菌 (<i>Lactobacillus crispatus</i>)、德氏乳杆菌保加利亚亚种 (<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>)、德氏乳杆菌乳亚种 (<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</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>)、马乳酒样乳杆菌马乳酒样亚种 (<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefiranofaciens</i>)
	乳酪杆菌属 (<i>Lacticaseibacillus</i>)	干酪乳酪杆菌 (<i>Lacticaseibacillus casei</i>)、副干酪乳酪杆菌 (<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>)、鼠李糖乳酪杆菌 (<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>)
	粘液乳杆菌属 (<i>Limosilactobacillus</i>)	发酵粘液乳杆菌 (<i>Limosilactobacillus fermentum</i>)、罗伊氏粘液乳杆菌 (<i>Limosilactobacillus reuteri</i>)
	乳植杆菌属 (<i>Lactiplantibacillus</i>)	植物乳植杆菌 (<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>)
	联合乳杆菌属 (<i>Ligilactobacillus</i>)	唾液联合乳杆菌 (<i>Ligilactobacillus salivarius</i>)
	广布乳杆菌属 (<i>Latilactobacillus</i>)	弯曲广布乳杆菌 (<i>Latilactobacillus curvatus</i>)、清酒广布乳杆菌 (<i>Latilactobacillus sakei</i>)
	链球菌属 (<i>Streptococcus</i>)	唾液链球菌嗜热亚种 (<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>)
	乳球菌属 (<i>Lactococcus</i>)	乳酸乳球菌乳亚种 (<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>)、乳酸乳球菌乳亚种 (双乙酰型) (<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>)、乳脂乳球菌 (<i>Lactococcus cremoris</i>)
	丙酸杆菌属 (<i>Propionibacterium</i>)	费氏丙酸杆菌谢氏亚种 (<i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>)
	丙酸菌属 (<i>Acidipropionibacterium</i>)	产丙酸丙酸菌 (<i>Acidipropionibacterium acidipropionici</i>)
	明串珠菌属 (<i>Leuconostoc</i>)	肠膜明串珠菌肠膜亚种 (<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>)
	片球菌属 (<i>Pediococcus</i>)	乳酸片球菌 (<i>Pediococcus acidilactici</i>)、戊糖片球菌 (<i>Pediococcus pentosaceus</i>)
	魏茨曼氏菌属 (<i>Weizmannia</i>)	凝结魏茨曼氏菌 (<i>Weizmannia coagulans</i>)
动物球菌属 (<i>Mammaliococcus</i>)	小牛动物球菌 (<i>Mammaliococcus vitulinus</i>)	
葡萄球菌属 (<i>Staphylococcus</i>)	木糖葡萄球菌 (<i>Staphylococcus xylosus</i>)、肉葡萄球菌 (<i>Staphylococcus carnosus</i>)	
克鲁维酵母属 (<i>Kluyveromyces</i>)	马克斯克鲁维酵母 (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	
可用于婴幼儿食品的菌种名单 (14种)	双歧杆菌属 (<i>Bifidobacterium</i>)	动物双歧杆菌乳亚种 HN019 (<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> HN019)、动物双歧杆菌乳亚种 Bi-07 (<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bi-07)、动物双歧杆菌乳亚种 Bb-12 (<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12)、短双歧杆菌 M-16V (<i>B. breve</i> M-16V)、长双歧杆菌婴儿亚种 R0033 (<i>B. longum</i> subsp. <i>infantis</i> R0033)、两歧双歧杆菌 R0071 (<i>B. bifidum</i> R0071)、长双歧杆菌长亚种 BB536 (<i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i> BB536)
	乳杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>)	嗜酸乳杆菌 NCFM (<i>Lb. acidophilus</i> NCFM)、瑞士乳杆菌 R0052 (<i>Lb. helveticus</i> R0052)、
	乳酪杆菌属 (<i>Lacticaseibacillus</i>)	鼠李糖乳酪杆菌 GG (<i>Lcb. rhamnosus</i> GG)、鼠李糖乳酪杆菌 HN001 (<i>Lcb. rhamnosus</i> HN001)、鼠李糖乳酪杆菌 MP108 (<i>Lcb. rhamnosus</i> MP108)
可用于保健食品的益生菌菌种名单 (10种)	粘液乳杆菌属 (<i>Limosilactobacillus</i>)	罗伊氏粘液乳杆菌 DSM17938 (<i>Llb. reuteri</i> DSM17938)、发酵粘液乳杆菌 CECT5716 (<i>Llb. fermentum</i> CECT5716)
	双歧杆菌属 (<i>Bifidobacterium</i>)	青春双歧杆菌 (<i>B. adolescentis</i>)、两歧双歧杆菌 (<i>B. bifidum</i>)、短双歧杆菌 (<i>B. breve</i>)、长双歧杆菌 (<i>B. longum</i>)、长双歧杆菌婴儿亚种 (<i>B. longum</i> subsp. <i>infantis</i>)、
	乳杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>)	嗜酸乳杆菌 (<i>Lb. acidophilus</i>)、德氏乳杆菌保加利亚亚种 (<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>)
	乳酪杆菌属 (<i>Lacticaseibacillus</i>)	干酪乳酪杆菌干酪亚种 (<i>Lcb. casei</i> subsp. <i>casei</i>)
	粘液乳杆菌属 (<i>Limosilactobacillus</i>)	罗伊氏粘液乳杆菌 (<i>Llb. reuteri</i>)
	链球菌属 (<i>Streptococcus</i>)	唾液链球菌嗜热亚种 (<i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>)

虽然食品中的益生菌应用已经在快速发展,但活益生菌在加工过程、产品保存和人体胃肠道消化过程中极易失活,在一定程度上限制了益生菌产品的应用。近年来,微胶囊化技术迅速发展,即利用天然的或合成的高分子材料制成具有半透性或密封囊膜,将益生菌进行包埋^[75]。微胶囊化可以有效提升益生菌对微环境的耐受性,提高益生菌的存活率,延长益生菌的贮存期^[76]。微胶囊化的益生菌也被应用于不同的食品基质中,如酸奶、奶酪、冰淇淋、发酵香肠等^[77-80]。微胶囊化极大地扩展了益生菌在食品中的应用范围,能够使益生菌充分发挥应有的功能。

2.3 益生菌功能性食品的研究

随着食品工业的不断发展,益生菌的应用范围不只局限于传统食品的加工。由于能够调节肠道菌群、增强免疫功能等,将益生菌食品作为功能性食品,发挥营养与保健功效的研究也逐渐被重视。目前国内外以普通食品形态应用的益生菌功能性食品主要为益生菌发酵乳制品如奶酪、酸奶和乳饮料等,还有一些营养棒,糖果类等益生菌功能性食品;以药品形态为主的益生菌制剂保健品包括粉剂、硬胶囊、软胶囊、颗粒、口服液、微胶囊和片剂等^[81]。此外功能性植物茶饮料也可以作为益生菌的载体,如 Polo 等^[82]报道了功能性草药茶能够作为益生菌凝结魏茨曼氏菌 GanedenBC³⁰ (*W. coagulans* GanedenBC³⁰) 的载体,康普茶 (Kombucha) 同样适合用于益生菌植物乳杆菌植物亚种 Dad-13 (*Lpb. plantarum* subsp. *plantarum* Dad-13) 的递送^[83]。

益生菌乳制品能够通过选择性刺激肠道中一种或少数促进健康的细菌的生长或激活其分解代谢,对宿主产生有益影响,改善胃肠道的微生物平衡^[84]。Liu 等^[85]研究发现了慢性肝病患者在餐后 2 h 内服用含有两歧双歧杆菌 (*B. bifidum*)、嗜酸乳杆菌 (*Lb. acidophilus*)、德氏乳杆菌保加利亚亚种 (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) 和唾液链球菌嗜热亚种 (*S. salivarius* subsp. *thermophilus*) 的益生菌酸奶,干预后大肠杆菌计数降低,肠道菌群失调减少,益生菌食品可降低肠道菌群失衡水平,对慢性肝病患者具有额外的治疗效果。同时,含益生菌的功能性食品对肠道菌群的调节有助于辅助改善一些疾病的症状,如含有动物双歧杆菌乳亚种 DN-173010 (*B. animalis* subsp. *lactis* DN-173010) 的发酵乳制品能够缓解肠易激综合征

(Irritable Bowel Syndrome, IBS)^[86]。

含益生菌的功能性食品也具有其他方面的改善人体健康的应用潜力,例如功能性食品中能够添加益生菌实现解毒作用, Vicas 等^[87]报道了益生菌干酪乳酪杆菌 (*Lcb. casei*) 能够进行绿色合成获得一种硒纳米颗粒 (Selenium Nanoparticles, SeNPs), 含益生菌和 SeNPs 的功能性食品可成功用于消除镉诱导的肝毒性,并提高食品的营养价值和健康效益。此外益生菌还能够实现人体中有害微生物的抑制, Angarita 等^[88]研究发现市售的含益生菌的功能性食品能够影响学龄儿童的龋齿相关的细菌生长,这些功能性食品被证明能抑制影响龋齿病变的微生物变形链球菌 ATCC 25175 (*Streptococcus mutans* ATCC 25175) 的生长,并降低液体培养基中的 pH 值,使其成为临床研究的理想候选。

3 益生菌的安全性

3.1 益生菌的安全性风险

到目前为止,食品中最常用的益生菌,如乳酸菌已被证明对人体是安全的,然而目前有研究发现益生菌与临床感染、抗生素耐药性的转移相关^[10]。2002 年联合国粮农组织 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 和世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 联合委员会发布了 FAO/WHO 《食品益生菌评价指南》。该指南指出益生菌理论上存在 4 种副作用,包括系统感染、有害的代谢活性、对易感个体的过分免疫刺激和基因转移^[89]:(1) 关于益生菌的系统感染问题,一些益生菌菌株如鼠李糖乳酪杆菌 (*Lcb. rhamnosus*) 和副干酪乳酪杆菌 (*Lcb. paracasei*) 等被发现是造成多种疾病的病原菌,如感染性心内膜炎、脑膜炎和龋齿等^[90];(2) 益生菌可能分泌或代谢产生一些有害的物质,例如乳酸乳球菌 QU5 (*Lc. Lactis* QU5) 可以产生一种未经修饰的线性细菌素乳霉素 Q (Lacticin Q, LnqQ), Iwatani 等^[91]的研究首次揭示了 LnqQ 具有细胞内毒性;(3) 益生菌同样可能对免疫功能低下或重病患者可能带来巨大的健康风险^[92],如 Besselink 等^[93]评估了益生菌对重症急性胰腺炎患者的影响,在预估为重症急性胰腺炎的患者中,使用益生菌制剂进行预防并不能降低感染并发症的风险,并且与患者死亡率增加相关;(4) 益生菌同样有可能造成耐药性传播和基因转移。肠球菌属 (*Enterococcus*) 中的一些菌株被

作为益生菌使用^[94,95]。在中国,农业部发布的《饲料添加剂品种目录(2013)》规定肠球菌属中的粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)和屎肠球菌(*E. faecium*)可以作为动物饲料添加剂使用。肠球菌在地中海国家的奶酪的成熟过程中起着重要作用,形成其典型的味道和风味,然而肠球菌属细菌也是目前应用中最具争议的乳酸菌群^[96]。肠球菌是一种院感病原菌,极易获得对一些抗生素的耐药性,耐万古霉素肠球菌(Vancomycin-Resistant *Enterococcus*, VRE)是一种多重耐药性超级细菌^[97],同时VRE能够将万古霉素耐药性基因传播给其他多重耐药性致病菌株如金黄色葡萄球菌^[98]。

3.2 益生菌的安全性评价体系

由于益生菌的使用存在安全性上的风险,需要有健全的机制对食品中益生菌的应用进行评价。FAO/WHO《食品益生菌评价指南》中指出,即使对一般认为安全的菌株如GRAS菌株也应该针对抗生素耐药性、代谢活性、对人体的副作用、流行病学监测、产毒能力、溶血活性等方面进行进一步的实验评估^[89]。国际益生菌和益生元科学协会(The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics, ISAPP)在最新召开的会议中就益生菌应用潜在的急性和长期风险、对弱势群体的风险、益生菌产品质量与弱势群体需求相匹配的重要性以及与益生菌使用相关的不良事件报告的必要性等问题进行讨论并提出了循证建议^[99];针对患者群体的益生菌使用应经过严格测试以达到适合该人群的质量标准,测试最好由独立的第三方开展;对于没有安全使用历史的益生菌必须根据具体情况考虑其安全性,例如评估活微生物的安全性、抗生素耐药基因转移的可能性、益生菌引起的微生物组变化、与药物的相互作用以及益生菌定植的潜在影响。同时ISAPP也强调了全基因组测序的重要性,因为能够确定菌株的毒力、毒素和抗生素抗性基因,同时可以明确菌株的物种身份。

2010年卫生部办公厅发布《可用于食品的菌种名单》(卫办监督发[2010]65号)中规定传统上用于食品生产加工的菌种允许继续使用,名单以外的菌种、新菌种按照《新资源食品管理办法》执行。卫生部在2001年印发了《益生菌类保健食品评审规定》(卫法监发[2001]84号),其中公布了第一版《可用于保健食品的益生菌菌种名单》,并规定使用

名单之外的益生菌菌种研制、开发和生产保健食品的,应先申请菌种审查,并提供菌种食用的国内外安全性资料,组织专家评审后,决定是否将该益生菌菌种列入《可用于保健食品的益生菌菌种名单》。国家食品药品监督管理局2005年颁布了《益生菌类保健食品申报与审评规定(试行)》(国食药监注[2005]202号),其中规定申请益生菌类保健食品需要提供菌种来源及国内外安全使用资料、国家食品药品监督管理局确定的鉴定机构出具的菌种鉴定报告、菌种的安全性评价资料(包括毒力试验)等安全性评价相关的材料。在2019年,国家市场监督管理总局组织起草了《益生菌类保健食品申报与审评规定(征求意见稿)》并对公开征求意见进行了反馈,将进一步规范和完善我国益生菌类保健食品的申报与审评体系,强化安全监管。

在欧洲EFSA负责评估微生物的安全性,将QPS体系用于对指定的微生物群进行上市前的安全评估^[57]。QPS本质上可以基于四个分类(分类学地位、知识体系、可能的致病性和最终用途)对定义的分类群(Taxonomic Group)进行安全性评价。如果分类群没有安全问题,或者如果菌株存在安全问题但可控,则会被限定使用范围授予QPS认证。能够确定其身份并列入在QPS名单的任何微生物菌株将不需要进行进一步的安全性评价,而不属于QPS名单的微生物菌株仍需接受全面的安全性评价。EFSA会对列入QPS名单内的微生物菌株每年进行复核、重新认定并更新名单,例如2023年的QPS名单撤销了贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)没有生产氨基糖苷产物能力的认定^[58]。

在美国,FDA负责管理益生菌的安全性评价。FDA规定经过了安全性审查或者长期使用被认为没有安全性问题的物质可以被称作GRAS物质。对于GRAS物质,包括GRAS益生菌菌株的使用无需经过FDA的强制上市准入审批,生产商可以向FDA提交GRAS备案以获得官方对该物质安全性的确认,也可以自己成立专家组审查GRAS物质的安全性而不提交到FDA^[100]。除GRAS以外的益生菌还可以通过膳食补充剂和食品添加剂进行申报与使用,由FDA官方判定膳食补充剂和食品添加剂成分的安全性,膳食补充剂上市前不需要进行批准,但必须在FDA备案,而食品添加剂需要上市前通过FDA批准^[100]。

4 展望

Albayrak 等^[101]对 1993~2021 年期间发表的 1 301 篇科学文献进行了分析,以分析食品科学领域中益生菌相关研究的趋势,其中“乳酸菌”、“乳杆菌 (*Lactobacillus*)”、“植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*, 现为植物乳植杆菌)”、“活力”、“功能性食品”和“微胶囊化”是表明主要新兴领域的顶级关键词,这些关键词很好地概括了益生菌在食品中应用的发展趋势。由于益生菌具有多种对人体有益的营养和保健功能,其在功能性食品中的研究逐渐成为热点。然而乳酸菌类益生菌和发酵乳制品仍是目前功能性食品应用的主要类型,未来仍需拓展能够承载活性益生菌的食品载体,让消费者接触到更多种类的益生菌食品,才能更好的发挥益生菌的营养保健功效。

除了食品载体,菌株种类也是影响益生菌食品发展的因素。一些新型益生菌菌株存在应用的需求,需要健全的审批制度对新型菌株进行风险评估。乳酸菌等具有悠久使用历史 GRAS 菌株能够在极大程度上保证安全性,但现有研究表明仍可能存在一定程度上的安全风险,定期评价已上市益生菌菌株的安全性对保障消费者的健康至关重要。欧洲的益生菌使用起步较早,应用较为成熟,具有规范的菌株安全性评价体系。随着消费者健康意识的提高,我国对益生菌安全性评价与审批的相关法规也在不断完善,2019 年国家市场监督管理总局起草的《益生菌类保健食品申报与审评规定(征求意见稿)》、2022 年国家卫生健康委员会发布的最新《可用于食品的菌种名单》和《可用于婴幼儿食品的菌种名单》释放了对益生菌安全使用管理的积极信号。将新菌株国内外的安全性评价结果纳入评估范围能够提高审批速度,例如我国 2022 列入《可用于婴幼儿食品的菌种名单》的长双歧杆菌长亚种 BB536 (*B. longum* subsp. *longum* BB536),在 1969 年被日本森永乳业株式会社分离获得并广泛应用于食品中^[102],2009 年获得 GRAS 认证 (GRAS Notice No. GRN 000268),2019 年已经获得婴幼儿食品 GRAS 认证 (GRAS Notice No. GRN 000877),被认为是研究透彻的安全菌株。

随着益生菌行业的快速发展,目前我国的菌种名单的管理仍存在一定局限性,缺乏类似欧洲 QPS 体系的定期更新制度以及美国 GRAS 体系“一事

一议”的效率。但我们也有中国特色菌株应用的优势,如我国首次分离、具有自主知识产权马乳酒样乳杆菌马乳酒样亚种 (*Lb. kefirnofaciens* subsp. *kefirnofaciens*) 在 2020 年加入了《可用于食品的菌种名单》。保证安全性的同时加快食品用菌株的评估流程,完善菌种名单的管理制度,加速具有自主知识产权的新益生菌菌株的研发与审批,能够更好地促进我国益生菌食品行业的发展。

参考文献

- [1] BARNETT J A. A history of research on yeasts 2: Louis Pasteur and his contemporaries, 1850-1880 [J]. *Yeast*, 2000, 16(8): 755-771.
- [2] MCFARLAND LV. From yaks to yogurt: the history, development, and current use of probiotics [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2015, 60 (suppl 2): S85-S90.
- [3] ISOLAURI E. Probiotics in human disease [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2001, 73(6): 1142S-1146S.
- [4] GOTTLIEB M, MOGNI B, RAMSAY N. What is the efficacy of probiotics for the treatment of acute infectious diarrhea? [J]. *Annals of Emergency Medicine*, 2021, 78(4): 515-516.
- [5] NAOMI R, EMBONGH, OTHMAN F, et al. Probiotics for Alzheimer's disease: a systematic review [J]. *Nutrients*, 2022, 14(1): 20.
- [6] DIXON A, ROBERTSON K, YUNGA, et al. Efficacy of probiotics in patients of cardiovascular disease risk: a systematic review and meta-analysis [J]. *Current Hypertension Reports*, 2020, 22(9):74.
- [7] BONFILIL, CUCCIOLONIM, GONGC, et al. Gut microbiota modulation in Alzheimer's disease: focus on lipid metabolism [J]. *Clinical Nutrition*, 2022, 41(3): 698-708.
- [8] LIN D C. Probiotics as functional foods [J]. *Nutrition in Clinical Practice*, 2003, 18(6): 497-506.
- [9] SALMINEN S, VON WRIGHT A, MORELLI L, et al. Demonstration of safety of probiotics-a review [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1998, 44(1): 93-106.
- [10] LIONG M T. Safety of probiotics: translocation and infection [J]. *Nutrition Reviews*, 2008, 66(4): 192-202.
- [11] 段昊,吕燕妮,闫文杰.益生菌在我国保健食品中的应用进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(3): 384-394.
- [12] WALKER W A, GOULET O, MORELLI L, et al. Progress in the science of probiotics: from cellular microbiology and applied immunology to clinical nutrition [J]. *European Journal of Nutrition*, 2006, 45(1): 1-18.
- [13] CUI Y, QU X. Genetic mechanisms of prebiotic carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria: emphasis on *Lactocaseibacillus casei* and *Lactocaseibacillus paracasei*

- as flexible, diverse and outstanding prebiotic carbohydrate starters [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 115: 486-499.
- [14] 毛丙永,崔树茂,潘明罗,等.复合益生菌制剂对人体肠道菌群组成的调节作用[J].*现代食品科技*,2021,37(11):8-13,113.
- [15] 梁冰,吴力克,房芳,等.复合益生菌制剂纠正长航核潜艇艇员肠道菌群失调的效果[J].*解放军预防医学杂志*, 2003,21(1):19-22.
- [16] SUN Q H, WANG H Y, SUN SD, et al. Beneficial effect of probiotics supplements in reflux esophagitis treated with esomeprazole: a randomized controlled trial [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2019, 25(17): 2110-2121.
- [17] ZHANG W, GU Y, CHEN Y, et al. Intestinal flora imbalance results in altered bacterial translocation and liver function in rats with experimental cirrhosis [J]. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2010, 22(12): 1481-1486.
- [18] TWARDOWSKA A, MAKARO A, BINIENDA A, et al. Preventing bacterial translocation in patients with leaky gut syndrome: nutrition and pharmacological treatment options [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(6): 3204.
- [19] VAN MINNEN L P, TIMMERMAN H M, LUTGENDORFF F, et al. Modification of intestinal flora with multispecies probiotics reduces bacterial translocation and improves clinical course in a rat model of acute pancreatitis [J]. *Surgery*, 2007, 141(4): 470-480.
- [20] ZAREIE M, JOHNSON-HENRY K, JURY J, et al. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress [J]. *Gut*, 2006, 55(11): 1553-1560.
- [21] SCHLUTER J, PELED J U, TAYLOR B P, et al. The gut microbiota is associated with immune cell dynamics in humans [J]. *Nature*, 2020, 588(7837): 303-307.
- [22] JIANG Z, LI M, MCCLEMENTSD J, et al. Recent advances in the design and fabrication of probiotic delivery systems to target intestinal inflammation [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 125: 107438.
- [23] ASHAOLU T J. Immune boosting functional foods and their mechanisms: a critical evaluation of probiotics and prebiotics [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 130: 110625.
- [24] SANDERSM E, MERENSTEIN D J, REID G, et al. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 16(10): 605-616.
- [25] MEIJERINK M, WELLS J M. Probiotic modulation of dendritic cells and T cell responses in the intestine [J]. *Beneficial Microbes*, 2010, 1(4): 317-326.
- [26] PAVELJŠEK D, IVIČAK-KOCJAN K, TREVEN P, et al. Distinctive probiotic features share common TLR2-dependent signalling in intestinal epithelial cells [J]. *Cellular Microbiology*, 2021, 23(1): e13264.
- [27] ALBUQUERQUE-SOUZA E, BALZARINI D, ANDO-SUGUIMOTO E S, et al. Probiotics alter the immune response of gingival epithelial cells challenged by porphyromonas gingivalis [J]. *Journal of Periodontal Research*, 2019, 54(2): 115-127.
- [28] BAMBOU J C, GIRAUD A, MENARD S, et al. *In vitro* and *ex vivo* activation of the TLR5 signaling pathway in intestinal epithelial cells by a commensal *Escherichia coli* strain [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(41): 42984-42992.
- [29] ZHAO K J, YU L M, WANG X, et al. Clostridium butyricum regulates visceral hypersensitivity of irritable bowel syndrome by inhibiting colonic mucous low grade inflammation through its action on NLRP6 [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2018, 50(2): 216-223.
- [30] GRINGHUIS S I, DEN DUNNEN J, LITJENS M, et al. C-type lectin DC-SIGN modulates toll-like receptor signaling via Raf-1 kinase-dependent acetylation of transcription factor NF- κ B [J]. *Immunity*, 2007, 26(5): 605-616.
- [31] JUSTINO P F C, FRANCO A X, PONTIER-BRES R, et al. Modulation of 5-fluorouracil activation of toll-like/MyD88/NF- κ B/MAPK pathway by *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 probiotic [J]. *Cytokine*, 2020, 125: 154791.
- [32] GILL H S, SHU Q, LIN H, et al. Protection against translocating *Salmonella typhimurium* infection in mice by feeding the immuno-enhancing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* strain HN001 [J]. *Medical Microbiology and Immunology*, 2001, 190(3): 97-104.
- [33] HSIEH M H. The microbiome and probiotics in childhood [J]. *Seminars in Reproductive Medicine*, 2014, 32(1): 23-27.
- [34] RITZI M M, ABDELRAHMAN W, VAN-HEERDEN K, et al. Combination of probiotics and coccidiosis vaccine enhances protection against an *Eimeria* challenge [J]. *Veterinary Research*, 2016, 47(1): 111.
- [35] DAVIDSON L E, FIORINO A M, SNYDMAN D R, et al. *Lactobacillus* GG as an immune adjuvant for live-attenuated influenza vaccine in healthy adults:a randomized double-blind placebo-controlled trial [J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2011, 65(4): 501-507.
- [36] NAKAMURA Y, TERAHARA M, IWAMOTO T, et al. Upregulation of polymeric immunoglobulin receptor expression by the heat-inactivated potential probiotic *Bifidobacterium bifidum* OLB6378 in a mouse intestinal explant model [J]. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2012, 75(2): 176-183.
- [37] SAKAI F, HOSOYA T, ONO-OHMACHI A, et al. *Lactobacillus gasseri* SBT2055 induces TGF- β expression in

- dendritic cells and activates TLR2 signal to produce IgA in the small intestine [J]. PLOS ONE, 2014, 9(8): e105370.
- [38] 刘冬,王金珠.免疫球蛋白辅助益生菌对轮状病毒肠炎婴幼儿病程、细菌感染率及SIgA水平的影响[J].世界华人消化杂志,2017,25(27):2486-2490.
- [39] CAMPEOTTO F, SUAUA A, KAPEL N, et al. A fermented formula in pre-term infants: clinical tolerance, gut microbiota, down-regulation of faecal calprotectin and up-regulation of faecal secretory IgA [J]. British Journal of Nutrition, 2011, 105(12): 1843-1851.
- [40] HASSAN Z R, SALAMA D E A, IBRAHIM H F, et al. Ultrastructural changes and IgA modulatory effect of commercial prebiotic and probiotic in murine giardiasis [J]. Journal of Parasitic Diseases, 2023, 47(2): 224-237.
- [41] SAMARA J, MOOSSAVI S, ALSHAIKH B, et al. Supplementation with a probiotic mixture accelerates gut microbiome maturation and reduces intestinal inflammation in extremely preterm infants [J]. Cell Host & Microbe, 2022, 30(5): 696-711.
- [42] LEBEER S, CLAES I J J, VANDERLEYDEN J. Anti-inflammatory potential of probiotics: lipoteichoic acid makes a difference [J]. Trends in Microbiology, 2012, 20(1): 5-10.
- [43] DI GIACINTO C, MARINARO M, SANCHEZ M, et al. Probiotics ameliorate recurrent Th1-mediated murine colitis by inducing IL-10 and IL-10-dependent TGF- β -bearing regulatory cells [J]. The Journal of Immunology, 2005, 174(6): 3237-3246.
- [44] MOHAMADZADEH M, ERIKA A P, JEFFREY B B, et al. Regulation of induced colonic inflammation by *Lactobacillus acidophilus* deficient in lipoteichoic acid [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(supplement 1): 4623-4630.
- [45] ZHOU J, LI M, CHEN Q, et al. Programmable probiotics modulate inflammation and gut microbiota for inflammatory bowel disease treatment after effective oral delivery [J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 3432.
- [46] BALLINIA, GNONIA, DE VITO D, et al. Effect of probiotics on the occurrence of nutrition absorption capacities in healthy children: a randomized double-blinded placebo-controlled pilot study [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2019, 23(19): 8645-8657.
- [47] LOGAN A C, KATZMAN M. Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy [J]. Medical Hypotheses, 2005, 64(3): 533-538.
- [48] STENMAN L K, BURCELIN R, LAHTINEN S. Establishing a causal link between gut microbes, body weight gain and glucose metabolism in humans-towards treatment with probiotics [J]. Beneficial Microbes, 2016, 7(1): 11-22.
- [49] YADAV R, DEY D K, VIJ R, et al. Evaluation of anti-diabetic attributes of *Lactobacillus rhamnosus* MTCC: 5957, *Lactobacillus rhamnosus* MTCC: 5897 and *Lactobacillus fermentum* MTCC: 5898 in streptozotocin induced diabetic rats [J]. Microbial Pathogenesis, 2018, 125: 454-462.
- [50] LAITINEN K, POUSSA T, ISOLAURI E. Probiotics and dietary counselling contribute to glucose regulation during and after pregnancy: a randomised controlled trial [J]. British Journal of Nutrition, 2008, 101(11): 1679-1687.
- [51] BRUDNAK M A. Probiotics as an adjuvant to detoxification protocols [J]. Medical Hypotheses, 2002, 58(5): 382-385.
- [52] 张英春,韩雪,单毓娟,等.益生菌抑制致病菌作用的机制研究进展[J].微生物学通报,2012,39(9):1306-1313.
- [53] ABDEL-MEGEED R M. Probiotics: a promising generation of heavy metal detoxification [J]. Biological Trace Element Research, 2021, 199(6): 2406-2413.
- [54] ZHAI Q X, TIAN F W, ZHAO J X, et al. Oral administration of probiotics inhibits absorption of the heavy metal cadmium by protecting the intestinal barrier [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82(14): 4429-4440.
- [55] ELSANHOTY R M, SALAM S A, RAMADAN M F, et al. Detoxification of aflatoxin M1 in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria [J]. Food Control, 2014, 43: 129-134.
- [56] HUANG P, YUAN S, XU X, et al. Effects of *Bifidobacterium lactis* HN019 and *Lactobacillus acidophilus* NCFM on volatile sulfur compounds produced by oral anaerobes [J]. Journal of Breath Research, 2023, 17(1): 016002.
- [57] EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA - Opinion of the Scientific Committee [J]. EFSA Journal, 2007, 587: 1-16.
- [58] EFSA PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ), KOUTSOUMANIS K, ALLENDE A, et al. Update of the list of Qualified Presumption of Safety (QPS) recommended microorganisms intentionally added to food or feed as notified to EFSA [J]. EFSA Journal, 2023, 21(1): e07747.
- [59] 倪伟超.探讨国内外益生菌产品的发展情况[J].现代食品,2020,9:38-39.
- [60] 赵景阳.乳酸杆菌代田株的生理作用及21世纪益生菌研究的新动向[J].食品工业科技,2007,6:237-239.
- [61] WU R, WANG W, YU D, et al. Proteomics analysis of *Lactobacillus casei* Zhang, a new probiotic bacterium isolated from traditional home-made koumiss in Inner Mongolia of China [J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2009, 8(10): 2321-2338.
- [62] 张和平.益生菌乳酸菌*Lactobacillus casei* Zhang从基础研究到产业化开发[J].中国乳品工业,2011,39(10):32-36.
- [63] JITPAKDEE J, KANTACHOTE D, KANZAKI H, et al. Potential of lactic acid bacteria to produce functional fermented

- whey beverage with putative health promoting attributes [J]. LWT - Food Science and Technology, 2022, 160: 113269.
- [64] BORGONOVİ T F, CASAROTTI S N, PENNA A L B. *Lactocaseibacillus casei* SJRP38 and buriti pulp increased bioactive compounds and probiotic potential of fermented milk [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 143: 111124.
- [65] JERONYMO-CENEVIVA A B, DE PAULA A T, SILVA L F, et al. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from water-buffalo Mozzarella cheese [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2014, 6(3): 141-156.
- [66] MUKHTAR H, YAQUB S, HAQ I U. Production of probiotic Mozzarella cheese by incorporating locally isolated *Lactobacillus acidophilus* [J]. Annals of Microbiology, 2020, 70(1): 56.
- [67] ZHANG H, LIU J, WEN R, et al. Metabolomics profiling reveals defense strategies of *Pediococcus pentosaceus* R1 isolated from Harbin dry sausages under oxidative stress [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 135: 110041.
- [68] TYÖPÖNEN S, PETÄJÄ E, MATTILA-SANDHOLM T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 83(3): 233-244.
- [69] CAVALHEIRO C P, RUIZ-CAPILLAS C, HERRERO A M, et al. Dry-fermented sausages inoculated with *Enterococcus faecium* CECT 410 as free cells or in alginate beads [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 139: 110561.
- [70] BEGANOVIĆ J, PAVUNC A L, GJURAČIĆ K, et al. Improved sauerkraut production with probiotic strain *Lactobacillus plantarum* L4 and *Leuconostoc mesenteroides* LMG 7954 [J]. Journal of Food Science, 2011, 76(2): M124-M129.
- [71] WANG J, XIE B, SUN Z. Quality parameters and bioactive compound bioaccessibility changes in probiotics fermented mango juice using ultraviolet-assisted ultrasonic pre-treatment during cold storage [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 137: 110438.
- [72] 王祯,何志勇,陈洁,等.凝结芽孢杆菌在益生菌糖果中应用的可能性[J].食品与发酵工业,2012,38(6):66-69.
- [73] TURGUT T, CAKMAKCI S. Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture [J]. International Journal of Dairy Technology, 2009, 62(3): 444-451.
- [74] 唐莹,邹波,余元善,等.佛手益生菌软糖的制备及其体外消化耐受性分析[J].现代食品科技,2022,38(7):256-263.
- [75] 郝佳,贾丽娜.微胶囊技术在食品工业中的最新应用[J].农产品加工,2017,438(16):62-63.
- [76] YING D, SANGUANSRI L, WEERAKKODY R, et al. Effect of encapsulant matrix on stability of microencapsulated probiotics [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 25: 447-458.
- [77] MOGHADDAS KIA E, GHASEMPOUR Z, GHANBARI S, et al. Development of probiotic yogurt by incorporation of milk protein concentrate (MPC) and microencapsulated *Lactobacillus paracasei* in gellan-caseinate mixture [J]. British Food Journal, 2018, 120(7): 1516-1528.
- [78] ORTAKCI F, BROADBENT J R, MCMANUS W R, et al. Survival of microencapsulated probiotic *Lactobacillus paracasei* LBC-1e during manufacture of Mozzarella cheese and simulated gastric digestion [J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95(11): 6274-6281.
- [79] 田文静,赵东瑞,孙玉清,等.微胶囊技术在益生菌CICC 6075冰淇淋中的应用[J].食品工业科技,2020,41(21):67-74.
- [80] TURHAN E U, ERGINKAYA Z, SELLI S. The effect of microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* and storage period on aroma properties of Turkish dry-fermented sausage (sucuk) [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2017, 11(4): 2131-2141.
- [81] 孙庆申,周丽楠.益生菌类保健食品研究进展[J].食品科学技术学报,2018,36(2):21-26, 34.
- [82] POLO A, CAPPELLO C, CARAFA I, et al. A novel functional herbal tea containing probiotic *Bacillus coagulans* GanedenBC³⁰: an *in vitro* study using the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME) [J]. Journal of Functional Foods, 2022, 88: 104873.
- [83] MAJID A A, SUROTO D A, UTAMI T, et al. Probiotic potential of kombucha drink from butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) flower with the addition of *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* Dad-13 [J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2023, 51: 102776.
- [84] NAGPAL R, KUMAR A, KUMAR M, et al. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review [J]. FEMS Microbiology Letters, 2012, 334(1): 1-15.
- [85] LIU J E, ZHANG Y, ZHANG J, et al. Probiotic yogurt effects on intestinal flora of patients with chronic liver disease [J]. Nursing Research, 2010, 59(6): 426-432.
- [86] AGRAWAL A, HOUGHTON L A, MORRIS J, et al. Clinical trial: the effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation [J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2009, 29(1): 104-114.
- [87] VICAS S I, LASLO V, TIMAR A V, et al. Nano selenium-enriched probiotics as functional food products against cadmium liver toxicity [J]. Materials, 2021, 14(9): 2257.
- [88] ANGARITA-DÍAZ M D P, ARIAS J C, BEDOYA-CORREA C, et al. The effect of commercial functional food with probiotics on microorganisms from early carious lesions [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 10732.
- [89] 吴蜀豫,冉陆.FAO/WHO《食品益生菌评价指南》[J].中国食品卫生杂志,2003,15(4):377-379.

- [90] CHEN Z, WILKINS M R, HUNTER N, et al. Draft genome sequences of two clinical isolates of *Lactobacillus rhamnosus* from initial stages of dental pulp infection [J]. Genome Announcements, 2013, 1(1): e00073-12.
- [91] IWATANI S, YONEYAMA F, MIYASHITA S, et al. Identification of the genes involved in the secretion and self-immunity of lactacin Q, an unmodified leaderless bacteriocin from *Lactococcus lactis* QU 5 [J]. Microbiology, 2012, 158(12): 2927-2935.
- [92] SHARP R R, ACHKAR J P, BRINICH M A, et al. Helping patients make informed choices about probiotics: a need for research [J]. American Journal of Gastroenterology, 2009, 104(4): 809-813.
- [93] BESSELINK M G H, VAN SANTVOORT H C, BUSKENS E, et al. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. The Lancet, 2008, 371(9613): 651-659.
- [94] BOTES M, Van REENEN C A, DICKS L M T. Evaluation of *Enterococcus mundtii* ST4SA and *Lactobacillus plantarum* 423 as probiotics by using a gastro-intestinal model with infant milk formulations as substrate [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 128(2): 362-370.
- [95] ŽUGIĆ PETROVIĆ T D, ILIĆ P D, GRUJOVIĆ M Ž, et al. Assessment of safety aspect and probiotic potential of autochthonous *Enterococcus faecium* strains isolated from spontaneous fermented sausage [J]. Biotechnology Letters, 2020, 42(8): 1513-1525.
- [96] FOULQUIÉ MORENO M R, SARANTINOPOULOS P, TSAKALIDOU E, et al. The role and application of enterococci in food and health [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 106(1): 1-24.
- [97] COURVALIN P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci [J]. Clinical Infectious Diseases, 2006, 42(Supplement 1): S25-S34.
- [98] LINDA M W, DON B C, STEVEN R G, et al. Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus* [J]. Science, 2003, 302(5650): 1569-1571.
- [99] MERENSTEIN D, POT B, LEYER G, et al. Emerging issues in probiotic safety: 2023 perspectives [J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2185034.
- [100] 方荣, 覃先武, 陈晖, 等. 美国GRAS (“公认安全”) 自愿性通告法规浅析及对我国“三新食品”申报的启示 [J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(10): 169-178.
- [101] ALBAYRAK Ç B, DURAN M. Worldwide research tendencies on probiotics in food science: 1993 to 2021 [J]. British Food Journal, 2022, 124(3): 679-700.
- [102] 王崇民, 王翠竹. 可用于婴幼儿食品的“新食品原料”再添新成员——长双歧杆菌长亚种BB536 [J]. 食品安全导刊, 2022, 22: 110-111.