

后生元制备技术及益生效应研究进展

王扬蕊, 史晓丹, 杨雨宁, 王昭之, 李柏良*

(东北农业大学 乳品科学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要: 2021 年国际益生菌和益生元科学协会发表共识, 将后生元定义为对宿主健康具有促进作用的无生命微生物和/或其成分的制剂。自此, 关于后生元的研究进入热潮。相较于益生菌, 后生元的益生特性不依赖于菌株活性, 使其相较于活体微生物具有更高的稳定性和安全性, 因此便于大规模生产及容易被消费者接受。作者概述了后生元制备技术, 主要包括热加工技术(巴氏杀菌、高温灭菌、欧姆加热)及非热加工技术(脉冲电场、超声波、电离辐射), 并重点综述了后生元在维持肠道健康、预防肥胖、维护皮肤健康、治疗便秘、抗糖尿病、改善口腔健康等方面的益生作用, 以期对未来后生元的工业生产及明确后生元益生效应机制提供参考。

关键词: 后生元; 益生菌; 制备技术; 益生效应; 肠道健康

中图分类号: TS 201 文章编号: 1673-1689(2024)04-0008-09 DOI: 10.12441/spyswjs.20231129001

Research Progress on Preparation Technology and Health Benefits of Postbiotics

WANG Yangrui, SHI Xiaodan, YANG Yuning, WANG Zhaozhi, LI Bailiang*

(Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In 2021, the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) issued a consensus statement defining postbiotics as a preparation of non-living microorganisms and/or their components promoting host health. Since then, the research on postbiotics has entered the upsurge. Compared with probiotics, the probiotic properties of postbiotics do not depend on strain activity, resulting in higher stability and safety, which make them more suitable for large-scale production and easier acceptance by consumers. This review summarizes postbiotics preparation technologies, mainly including thermal processing methods (pasteurization, sterilization, and ohmic heating) and non-thermal processing methods (pulse electric field, ultrasound, and ionizing radiation), and focuses on the probiotic effects of postbiotics in maintaining intestinal health, preventing obesity, preserving skin health, treating constipation, anti-diabetes, and improving oral health. This study aims to provide a reference for the future industrial production of postbiotics and clarify the mechanism of their probiotic effects.

Keywords: postbiotics, probiotics, preparation technology, probiotic effects, intestinal health

收稿日期: 2023-11-29 修回日期: 2024-02-26

基金项目: 中国博士后科学基金面上项目(2022M721071)。

* 通信作者: 李柏良(1989—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品微生物与生物技术研究。E-mail: 15846092362@163.com

近年来随着公众健康意识的提升,具有健康功能的食品或补充剂越来越受消费者的青睐。大量研究已经证实微生物在促进人类健康方面发挥着重要作用。益生菌作为可以调节肠道菌群、促进人体健康和改善疾病的有益微生物,一直备受食品、饲料、医药等领域研究人员的关注,且围绕益生菌的产品开发及技术创新一直在迅速增长^[1-3]。2001年,联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations,FAO)与世界卫生组织(World Health Organization,WHO)联合专家委员会将益生菌定义为非致病性的活微生物,当摄入足够量时,可以给宿主带来健康益处^[4]。但由于益生菌菌株普遍具有低耐热性、不稳定性及菌株可能存在内在毒力因子和产生耐药性等问题,制约了其在食品及医药等领域中的应用^[5]。

研究人员通过对灭活益生菌的研究发现,活性状态并不是益生菌实现健康益处的严格必要条件^[6]。灭活益生菌中的细胞成分如脂多糖、肽聚糖、脂磷壁酸、胞外囊泡,以及代谢产物如蛋白质、脂质、短链脂肪酸、维生素、细菌素等生物活性分子在改善人体健康中发挥着重要作用^[7]。迄今为止,文献中使用了不同的术语来指代后生元,如副益生菌、热灭活益生菌、灭活益生菌、定型化益生菌、免疫益生菌、幽灵益生菌和微生物裂解物等。2021年,国际益生菌和益生元科学协会(International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics,ISAPP)发表了一份共识,采用术语后生元表示灭活的微生物及其特定成分或产品,并将后生元定义为对宿主健康具有促进作用的无生命微生物和/或其成分的制剂^[8]。与益生菌相比,后生元具有以下优势:1)易于生产和储存;2)工业规模生产工艺简易;3)作用机制明确;4)易于获取与模式识别受体相互作用过程中的微生物相关分子模式;5)易于通过特定的配体-受体相互作用实现靶向反应^[1,9]。

以往的研究表明,后生元在拮抗致病菌、预防肥胖、调节免疫力、改善肠道健康等方面具有巨大应用潜力。从实际应用的角度来看,由于后生元的益生特性不依赖于益生菌的活性,使其相较于活体微生物具有更高的稳定性和安全性,因此便于大规模生产及更易被消费者接受^[10]。目前已有许多灭活技术用于后生元的制备,作者对后生元的制备技术及后生元对人体健康的改善作用进行了总结,以期

为未来后生元的研究及应用提供参考。

1 后生元制备技术

1.1 热加工技术

热处理是最常用的后生元制备方法,如巴氏杀菌、高温灭菌、欧姆加热、射频加热和微波加热等(见图1)。热加工技术主要是通过热效应破坏微生物的细胞膜、RNA、DNA、核糖体和酶等生物活性物质的结构,从而导致菌体死亡^[11]。

1.1.1 巴氏杀菌技术 巴氏杀菌(62~90℃保持10~30 min)是一种相对温和的热处理方法,也是目前应用最广泛的后生元制备技术。可通过该技术用乳杆菌属(*Lactobacillus*)、双歧杆菌(*Bifidobacterium*)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)、嗜黏蛋白-阿克曼氏菌(*Akkermansia muciniphila*)、格氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)CP2305和粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)KH2等益生菌制备后生元^[12-16]。

1.1.2 高温灭菌技术 高温灭菌(100~121℃下放置5~30 min)是采用高温进行杀菌的过程,需要对微生物进行短时高温灭菌,可采用乳杆菌、粪肠球菌和双歧杆菌等益生菌制备后生元^[17-19]。

1.1.3 欧姆加热技术 欧姆加热的原理是利用电阻产生的交流电通过微生物,并将电能转化为热能,对微生物进行均匀快速加热,导致细胞死亡。此外,由于在欧姆加热中电荷在微生物细胞膜中积聚造成细胞膜形成孔洞,细胞中的内容物会发生泄漏。电场强度的选定在欧姆加热灭活微生物中尤为重要,Barros等研究发现在4、8、12 V/cm,95℃,60 Hz,5~7 min的欧姆加热条件下会导致嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)和动物双歧杆菌(*Bifidobacterium animalis*)培养物完全灭活^[20]。但是通过流式细胞仪和扫描电镜发现,相较于4 V/cm和12 V/cm的电场强度,8 V/cm的处理对益生菌的细胞损伤最小。这一结果表明,活菌计数不是制备后生元的唯一检测指标,未来的研究应该更侧重于不同处理条件对益生菌益生功能的影响。目前如微波加热、射频加热和红外加热等热加工技术在后生元制备中的应用潜力还没有被评估。未来应该对这些新兴的热加工技术在后生元制备中的应用进行系统研究与评估。

1.2 非热加工技术

虽然热加工技术具有操作简单、成本低廉等优势,但是热处理可能会使微生物中蛋白质和多肽等热敏感性生物活性分子发生不可逆的损伤,因此,为了保护产品的功能活性,高压脉冲电场、超声波、电离辐射、超临界二氧化碳处理和极端 pH 处理等非热加工技术已被用于后生元的制备(见图 1)。

1.2.1 高压脉冲电场技术 高压脉冲电场是一种利用脉冲电压对微生物进行灭活的非热杀菌技术。研究表明 5~40 kV/cm 的脉冲电压可使微生物细胞膜发生电穿孔,导致细胞膜破裂,通透性改变,造成细胞死亡。且脉冲电压处理会引起微生物的应激反应,刺激细胞产生一些复杂的次级代谢物^[21]。有研究者探究了间歇式和连续式脉冲电场对具有高产乳酸特性的鼠李糖乳酪杆菌(*Lactocaseibacillus rhamnosus*)和副干酪乳酪杆菌(*Lactocaseibacillus paracasei*)的通透性影响和失活曲线^[22]。结果表明,在高压脉冲电场处理过程中,益生菌活菌数的降低和通透性改变与比能量输入和电流之间存在显著的线性相关性。亚致死的脉冲电场(以 1 Hz 的频率施加 8 个持续时间为 1 ms、场强为 5 kV/cm 的电脉冲)显著增加了鼠李糖乳酪杆菌和副干酪乳酪杆菌的蛋白质释放率,并使鼠李糖乳酪杆菌的乳酸产量增加了 10%。且抗生素敏感性实验表明,亚致死的脉冲电场可降低副干酪乳酪杆菌对氯霉素、红霉素和四环素等抗生素的敏感性,但对于鼠李糖乳酪杆菌,仅降低了其对氯霉素的敏感性。上述研究表明,同一灭活技术对不同菌株的处理效果存在显著差异。因此,益生菌的菌株特异性是选取后生元制备技术时需要考虑的一个关键因素。

1.2.2 超声波技术 超声波是频率在 20 kHz 以上,高于人类正常听力频率的声波。超声波可以通过微泡在微生物细胞膜上形成开口,引起超声穿孔,从而破坏微生物的细胞膜及形成自由基损伤细胞,造成微生物死亡^[23-25]。超声波技术因具有在灭菌的同时还能保持食品的味道、质地和营养成分等优势而被广泛应用于延长食品的保质期^[26-27]。目前对于使用超声波制备后生元的研究还相对匮乏。Brandao 等通过高脂饮食大鼠模型发现,超声波灭活的干酪乳杆菌可以调节高脂饮食大鼠的肠道菌群,减轻大鼠的心血管损伤^[28]。Shin 等的研究也表明,超声波灭

活的长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)SPM1207 可以降低胆固醇喂养大鼠的胆固醇含量,减轻其体质量,并改善大鼠的便秘情况^[29]。以上研究均表明,采用超声波技术制备的后生元具有改善机体健康的益生作用。但上述研究并未详细探讨超声波技术对后生元的益生特性是否存在消极影响。Almada 等利用低频超声波(20 kHz, 792 W/cm²)制备嗜酸乳杆菌、动物双歧杆菌和干酪乳杆菌后生元时发现,菌株、超声功率、超声频率、设备等都是影响超声波制备后生元的重要参数^[30]。

1.2.3 超临界二氧化碳杀菌技术 超临界二氧化碳杀菌技术是一种新型的灭菌方法。其处理过程中产生的 HCO₃⁻通过干扰细胞中电解质的平衡改变细胞内的 pH,从而引起与细胞代谢相关的酶失活,破坏细胞膜的正常新陈代谢和完整性,造成细胞失活^[31-32]。Almada 等采用超临界二氧化碳杀菌技术制备后生元的过程中发现,嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌在 30 MPa 处理 2 h 均可灭活,而动物双歧杆菌对超临界二氧化碳处理的抵抗力更强,需在 30 MPa 处理 3 h 才可灭活^[30]。

1.2.4 pH 调控技术 益生菌的灭活也可以通过调节 pH 来实现。在极端 pH 胁迫下微生物细胞膜被破坏,造成质子外排及 DNA 和 ATP 等物质的损伤^[33]。在后生元的制备中,Almada 等观察到不同菌株对极端 pH 的耐受性也具有显著差异,在低 pH (pH 为 1)条件下作用 1 h,嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌和动物双歧杆菌均失活^[30]。但在高 pH 条件下,不同菌株之间表现出明显的差异性,其中干酪乳杆菌对碱性条件的抵抗力最强,在 pH 12.75 环境中暴露 80 min 失活;其次为嗜酸乳杆菌,pH 12.50 条件下处理 80 min 失活;最为敏感的是动物双歧杆菌,在 pH 12.50 条件下处理 60 min 即可失活。

1.2.5 电离辐射技术 电离辐射技术是通过放射性同位素 Ce¹³⁷ 或 Co⁶⁰ 发出的电离辐射造成细胞的核酸损伤和氧化损伤。目前认为由 Co⁶⁰ 发射的 10 kGy 以下的 γ 辐射是安全的,不会对食品产生毒副作用和造成显著营养损失。在后生元的制备中,Almada 等发现辐照抗性取决于益生菌菌株,在研究的 3 株益生菌中,干酪乳杆菌辐照抗性最强,为 3.5 kGy,其次是嗜酸乳杆菌(3.0 kGy)和动物双歧杆菌(2.5 kGy)^[30]。

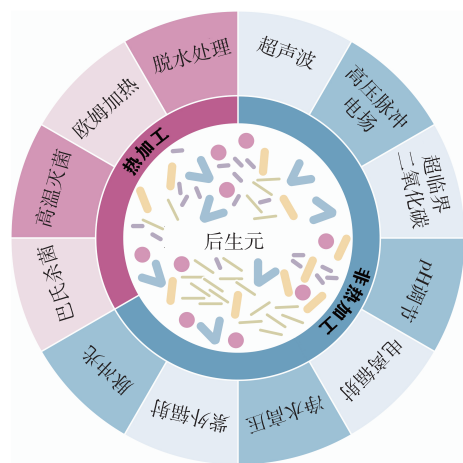


图1 后生元制备方法示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the method for preparing the postbiotics

2 后生元益生功能

越来越多的研究表明,后生元在改善人体健康方面发挥着积极作用。如调节肠道菌群、抑制炎症、增强肠道屏障功能、治疗癌症、增强皮肤保湿、改善心血管疾病、促进脂质代谢和提高机体免疫力等^[34-38]。

2.1 维持肠道健康

胃肠道是人的主要免疫器官,约占人体免疫系统的70%^[39]。是一个由大量微生物(细菌、真菌和病毒等)组成的复杂生态系统。这些微生物构成了人体肠道菌群,参与人体的营养消化与吸收、能量的生成、维生素的合成和病原体的防御等^[40-42],与宿主健康密切相关。致病菌和有毒代谢物的存在及益生菌的减少会打破健康肠道内菌群的平衡状态,造成肠道菌群失调及肠道代谢物紊乱,进而使宿主容易感染各种传染性及非传染性疾病^[43]。益生菌疗法是目前改善肠道失调的主要方法之一,但在炎症性胃肠道疾病中,活菌的使用可能会由于微生物相关分子模式的存在而激活宿主的先天免疫系统,进一步加重炎症反应。因此,研究者建议将后生元作为食品补充剂来代替益生菌,以促进肠道内环境的稳定^[44]。Zagato等研究表明,由副干酪乳杆菌(*Lactocaseibacillus paracasei*)CBAL74的发酵产物所制成的配方奶粉,可以通过抑制促炎细胞因子的释放来改善由DSS诱导的小鼠结肠炎的症状及预防鼠伤寒沙门氏菌的感染^[45]。也有研究者探究了鲍氏梭菌(*Clostridium bolteae*)源后生元对小鼠的止泻作用,发现其可以增加腹泻小鼠结肠中杯状细胞和黏

蛋白数量,降低腹泻评分,显著改善小鼠结肠炎^[46]。He等证明鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)GG培养上清液(简称LCS)可通过上调黏蛋白的产生和维持肠道完整性来阻断大肠杆菌(*Escherichia coli*)K1对Caco-2细胞模型的黏附、侵袭和易位^[47]。体内实验表明LCS预处理可显著降低新生大鼠对口服大肠杆菌K1的易感性。此外LCS可通过增加杯状细胞MUC2、增殖细胞Ki67、紧密连接蛋白ZO-1和免疫球蛋白A在肠道中的表达促进仔鼠肠道屏障的成熟。Chung等研究发现,热灭活的粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)具有改善大鼠肠道炎症和预防结肠炎的作用^[35]。Warda等发现热灭活的发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)和德氏乳杆菌德氏亚种(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*)主要通过降低肠道菌群中梭菌属(*Clostridium*)和苏黎世杆菌属(*Turicibacter*)丰度来改善肠道病理损伤,起到改善结肠炎的作用^[48]。Arai等发现口服热灭活的副干酪乳杆菌MCC1849可上调与Tfh细胞分化相关的*IL-10*、*IL-12p40*、*IL-21*、*Bcl-6*和*STAT4*基因的表达,提高大鼠小肠中免疫球蛋白A的水平^[49]。

后生元制剂改善肠道健康的主要机制为:1)阻止病原体对肠道的黏附;2)通过肠上皮屏障进行免疫调节;3)减少活性氧引起的组织损伤;4)降低癌细胞的增殖能力;5)调节细胞代谢的转录因子表达;6)恢复肠上皮完整性、隐窝结构和肠道绒毛,改善黏膜炎症;7)增强机体免疫系统功能^[45,50]。目前已有多种针对调节肠道健康的后生元产品上市,如由大肠杆菌、粪链球菌(*Streptococcus faecalis*)、嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌(*Lactobacillus helveticus*)代谢物组成的后生元制剂Hylak Forte,其具有预防婴儿沙门氏菌感染、改善慢性胃炎患者的肠道菌群失调和治疗肿瘤患者因辐射引起的腹泻等作用^[51-53]。Cyto Flora是由多种微生物的细胞壁裂解物所组成的后生元制剂,有助于改善肠道菌群失调。MATRIX® LINE是一系列有助于增强免疫力并恢复肠道菌群的后生元制剂^[46],由Smart D3 Matrix(维生素D₃和后生元补充剂)、Idra Matrix(矿物盐和后生元补充剂)和Polivit Matrix(含后生元的多种维生素补充剂)组成。该系列产品均采用创新发酵工艺Pbtech®生产,即采用益生菌对果寡糖进行多次发酵,获取多种果寡糖衍生物以及与人血液和体液相似渗透压的发酵上清液。

2.2 预防肥胖及控制脂质代谢

肥胖是由于身体脂肪组织的能量代谢失衡导致的脂肪异常堆积,其定义为身体质量指数(body mass index, BMI) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$,目前肥胖已成为一个日益严重的全球公共健康问题^[54]。研究表明,肥胖会增加2型糖尿病、非酒精性脂肪肝、肌肉骨骼疾病、心血管疾病和某些癌症等疾病的发病率^[55-56]。2019年,全球肥胖人数为6.5亿,其中成年人1.9亿^[57]。据估计,到2025年,全球将有五分之一的成年人超重,其中男性和女性的肥胖患病率将分别为18%和21%^[58]。目前多项体内外实验均表明益生元制剂可通过多种机制发挥抗肥胖作用,如增加能量消耗、减少脂肪生成和脂肪细胞分化、抑制摄食、抑制脂肪吸收、调节脂质代谢和调节肠道菌群失调。Kim等评估了灭活的植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*) K8的抗脂作用,发现益生元LAB-P通过调节早期脂肪生成因子、脂肪细胞分化JAK-STAT信号通路及参与脂肪氧化和促进葡萄糖摄取的AMPK α 信号通路来减少3T3-L1细胞中脂肪的积累,具体为下调早期脂肪生成过程中KLF4、KROX20、C/EBP β 、KLF5等转录因子和脂激活基因(C/EBP α 、PPAR γ)的表达,上调早期抗成脂因子DLK1的表达^[59]。Yoon等也发现热灭活的弯曲乳杆菌(*Lactobacillus curvatus*) HKLC和植物乳植杆菌HKLP可通过下调3T3-L1细胞成脂基因FABP4和PPAR γ 的表达来抑制脂质积累,并通过下调抗凋亡基因BCL-2的表达和上调促凋亡基因caspase 3的表达诱导细胞凋亡^[60]。益生元的抗肥胖作用在动物实验中也得到了证实,热灭活的克菲利豆乳杆菌(*Lentilactobacillus kefir*) DH5可降低高脂饮食小鼠脂肪组织质量和体质量的增加,其机制可能与脂肪酸合成相关基因表达降低有关。益生元与益生元葡萄糖籽粉并用后,显著降低了内脏脂肪和血浆中甘油三酯含量^[61]。热灭活的短乳杆菌(*Levilactobacillus brevis*) KB290显著降低了肥胖大鼠的组织脂肪含量,减少附睾部脂肪细胞面积,并增加了肠道菌群中乳杆菌属、颤螺菌属(*Oscillospira*)和拟杆菌属(*Bacteroides*)的丰度^[62]。Osman等通过高脂饮食大鼠模型证明了来自副干酪乳杆菌的无细胞上清液可显著降低血清甘油三酯、总血脂和总胆固醇水平,且治疗效果优于阿托伐他汀^[63]。

2.3 维护皮肤健康

益生元制剂具有补水和改善皮肤健康的作用。经高压灭活的植物乳植杆菌K8可通过上调HaCaT细胞中水通道蛋白-3和透明质酸合成酶-2的表达产生透明质酸,使皮肤具有保湿活性^[37]。热灭活的植物乳植杆菌GMNL-6和副干酪乳杆菌GMNL-653具有促进伤口愈合的作用。Tsai等将含有热灭活的GMNL-6或GMNL-653的凝胶敷于小鼠尾部受伤部位,发现在伤口愈合初期,热灭活的GMNL-6和GMNL-653主要通过促进金属蛋白酶-1的表达来达到促进伤口愈合的作用^[64]。在伤口恢复后期,GMNL-6和GMNL-653可减少小鼠皮肤过度的纤维化积累和沉积。Hs68成纤维细胞模型分析表明,来自GMNL-6和GMNL-653的细胞壁成分(脂磷壁酸)可促进Hs68成纤维细胞胶原蛋白合成,防止其纤维化。且 $1 \times 10^{10} \text{ CFU/g}$ (灭菌前)的剂量可以治愈病变。以上研究表明,益生元制剂在护肤产品及医疗产品中具有巨大开发潜力,但后期需要更多的动物及临床研究来验证其作用效果,探明其作用机制及评价其安全性。

2.4 改善便秘

便秘是常见的消化系统疾病,近年来便秘发病率持续升高,并呈现年轻化趋势,对患者的身体和心理均造成了严重的负担^[65]。Park等通过小鼠实验评价了植物乳植杆菌源益生元的抗便秘作用,采用 $1 \times 10^{10} \text{ CFU/mL}$ 和 $1 \times 10^{11} \text{ CFU/mL}$ (灭活前)的益生元对便秘小鼠治疗5周后发现,在益生元干预组中,粪便的水分含量、转运长度、质量等参数均有所改善,表明其有显著的改善便秘效果。此外,肠黏膜层厚度增加,产黏蛋白细胞数量增加。炎症细胞数量减少^[66]。另一项对干酪乳杆菌改善便秘和粪便参数的人体研究中也获得了类似结果,并且干酪乳杆菌益生元对排便频率较低的个体排便情况也有所改善^[67]。

2.5 抗糖尿病

α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶通过分解碳水化合物并促进机体吸收率提高来升高餐后血糖水平。Barros等采用欧姆加热技术(8 V/cm、60 Hz、95 $^{\circ}\text{C}$ 、7 min)对类干酪乳杆菌类干酪亚种(*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*) 01进行灭活处理并探究了其对抗 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用。研究发现,热灭活的类干酪乳杆菌类干酪亚种01可

以显著抑制这两种酶的活性,且抑制效果与活菌相似^[10]。此研究结果表明,后生元制剂可能在预防糖尿病等慢性疾病方面发挥重要作用。

2.6 改善口腔健康

后生元制剂也可改善口腔健康,Lin 等在人体研究中发现,唾液乳杆菌水杨素亚种(*Ligilactobacillus salivarius* subsp. *salicinius*)AP-32 和类干酪乳杆菌类干酪亚种 ET-66 通过提高口腔中 *IgA*、*TGF-β* 和 *IL-10* 基因的表达水平,减少口腔病原菌变形链球菌(*Streptococcus mutans*)数量,增强口腔健康和免疫力^[68]。

2.7 治疗阴道念珠菌病

不仅来自细菌的后生元对健康有改善作用,Pericolini 等验证了灭活酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)对大鼠阴道念珠菌病的治疗效果。结果表明,灭活酿酒酵母可诱导感染组织中白色念珠菌(*Monilia albican*)共聚集,并抑制其与上皮细胞的黏附^[69]。然而灭活酿酒酵母因其灭活状态失去了表达天冬氨酸蛋白酶和从酵母转换为菌丝体的能力,阻

碍了其对白色念珠菌毒力因子的抑制作用。这一结果表明某些疾病的治疗效果可能需要菌株具有生存能力。

3 展望

越来越多的研究表明后生元在改善肠道健康、预防和控制肥胖、提高皮肤水分和健康状态及预防糖尿病等方面具有重要作用。然而,目前对后生元健康益处的研究大多仍处于细胞或者动物实验水平的效果验证阶段,对后生元剂量效应及作用机制的研究还不够深入,未来需要更多的临床报告来证明后生元对人体健康的调节作用,明确其剂量效应及具体的作用机制。此外,后生元制备技术对于促进后生元的工业化发展及确保后生元制剂存储期间的稳定性至关重要,而目前所研究的灭活技术仅适用于后生元的实验室规模生产。未来需要进一步创新后生元的制备技术,确保在维持后生元功能效应的同时具有成本效益和时间效率,以扩大后生元的工业生产规模。

参考文献:

- [1] AGUILAR-TOALÁ J E, GARCIA-VARELA R, GARCIA H S, et al. Postbiotics; an evolving term within the functional foods field[J]. **Trends in Food Science and Technology**, 2018, 75: 105-114.
- [2] 王慕华, 宫俊峰, 张国柱, 等. 益生菌制剂在肠道菌群失调患者中的应用研究[J]. 中国乳品工业, 2023, 51(1): 15-18.
WANG M H, GONG J F, ZHANG G Z, et al. Application of probiotics in patients with intestinal dysbiosis[J]. **China Dairy Industry**, 2023, 51(1): 15-18. (in Chinese)
- [3] 赵雯, 刘伟贤, 张海斌, 等. 乳双歧杆菌 BL-99 以及副干酪乳酪杆菌 ET-22 增强小鼠免疫功能的研究[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(11): 13-18.
ZHAO W, LIU W X, ZHANG H B, et al. Effects of *Bifidobacterium lactis* BL-99 and *Lactobacillus paracasei* (*lacticasei* *Bacillus paracasei*) ET-22 on regulating immune function in mice[J]. **China Dairy Industry**, 2021, 49(11): 13-18. (in Chinese)
- [4] 黄治国, 蒲领平, 任志强, 等. 6 种益生菌及其添加方式对发酵米酒品质的影响[J]. 食品与机械, 2023, 39(2): 170-175.
HUANG Z G, PU L P, REN Z Q, et al. Comparison of fermentation effects of six kinds of probiotics on rice wine[J]. **Food & Machinery**, 2023, 39(2): 170-175. (in Chinese)
- [5] MARCIAL-COBA M S, PJACA A S, ANDERSEN C J, et al. Dried date paste as carrier of the proposed probiotic *Bacillus coagulans* BC4 and viability assessment during storage and simulated gastric passage[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2019, 99: 197-201.
- [6] RAD A H, ABBASI A, KAFIL H S, et al. Potential pharmaceutical and food applications of postbiotics; a review[J]. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, 2020, 21(15): 1576-1587.
- [7] MEHTA J P, AYAKA R S, SINGHAL R S. The potential of paraprobiotics and postbiotics to modulate the immune system; a review[J]. **Microbiological Research**, 2023, 275: 127449.
- [8] SALMINEN S, COLLADO M C, ENDO A, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics[J]. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, 2022, 19(8): 649-667.
- [9] NATARAJ B H, ALI S A, BEHARE P V, et al. Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional

- foods[J]. **Microbial Cell Factories**, 2020, 19(1): 1-22.
- [10] BARROS C P, GUIMARES J T, ESMERINO E A, et al. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products[J]. **Current Opinion in Food Science**, 2020, 32: 1-8.
- [11] MÜLLER W A, FERREIRA M L D, SARKIS J R, et al. Microbial inactivation by ohmic heating: literature review and influence of different process variables[J]. **Trends in Food Science and Technology**, 2020, 99: 650-659.
- [12] YOSHITAKE R, HIROSE Y, MUROSAKI S, et al. Heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 attenuates obesity and associated metabolic abnormalities in C57BL/6J mice on a high-fat diet[J]. **Bioscience of Microbiota Food and Health**, 2020, 40(2): 84-91.
- [13] SUGAHARA H, YAO R, ODAMAKI T, et al. Differences between live and heat-killed *Bifidobacteria* in the regulation of immune function and the intestinal environment[J]. **Beneficial Microbes**, 2017, 8(3): 463-472.
- [14] KANG X, LIANG H, LUO Y, et al. Anti-adipogenesis and metabolism-regulating effects of heat-inactivated *Streptococcus thermophilus* MN-ZLW-002[J]. **Letters in Applied Microbiology**, 2021, 72(6): 677-687.
- [15] SUGAWARA T, SAWADA D, ISHIDA Y, et al. Regulatory effect of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 on gut environment and function[J]. **Microbial Ecology in Health and Disease**, 2016, 27: 30259.
- [16] CHEN M F, WENG K F, HUANG S Y, et al. Pretreatment with a heat-killed probiotic modulates monocyte chemoattractant protein-1 and reduces the pathogenicity of influenza and enterovirus 71 infections[J]. **Mucosal Immunology**, 2017, 10(1): 215-227.
- [17] HSIEH F C, LAN C C E, HUANG T Y, et al. Heat-killed and live *Lactobacillus reuteri* GMNL-263 exhibit similar effects on improving metabolic functions in high-fat diet-induced obese rats[J]. **Food & Function**, 2016, 7(5): 2374-2388.
- [18] POPOVIC N, DJOKIC J, BRDARIC E, et al. The influence of heat-killed *Enterococcus faecium* BGPAS1-3 on the tight junction protein expression and immune function in differentiated Caco-2 cells infected with *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 [J]. **Frontiers in Microbiology**, 2019, 10: 412.
- [19] MARTORELL P, ALVAREZ B, LLOPIS S, et al. Heat-treated *Bifidobacterium longum* CECT-7347: a whole-cell postbiotic with antioxidant, anti-inflammatory, and gut-barrier protection properties[J]. **Antioxidants**, 2021, 10(4): 536.
- [20] BARROS C P, PIRES R P S, GUIMARAES J T, et al. Ohmic heating as a method of obtaining paraprobiotics: impacts on cell structure and viability by flow cytometry[J]. **Food Research International**, 2021, 140: 110061.
- [21] NAVEED A R, ZULKURNAIN A M, UME R, et al. Pulsed electric field: a potential alternative towards a sustainable food processing[J]. **Trends in Food Science and Technology**, 2021, 111: 43-54.
- [22] DJUKIC-VUKOVIC A, MEGLIC S H, FLISAR K, et al. Pulsed electric field treatment of *Lactocaseibacillus rhamnosus* and *Lactocaseibacillus paracasei*, bacteria with probiotic potential[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2021, 152: 112304.
- [23] MOHIDEEN F W, SOLVAL K M, LI J, et al. Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2015, 60(1): 563-570.
- [24] SALEEM R, AHMAD R. Effect of low frequency ultrasonication on biochemical and structural properties of chicken actomyosin [J]. **Food Chemistry**, 2016, 205: 43-51.
- [25] KRZENDRFER A, SCHFER J, HINRICHS J, et al. Power ultrasound as a tool to improve the processability of protein-enriched fermented milk gels for Greek yogurt manufacture[J]. **Journal of Dairy Science**, 2019, 102(9): 7826-7837.
- [26] BHARGAVA N, MOR R S, KUMAR K, et al. Advances in application of ultrasound in food processing: a review[J]. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2021, 70: 105293.
- [27] CHANDRAPALA J, OLIVER C, KENTISH S, et al. Ultrasonics in food processing-food quality assurance and food safety[J]. **Trends in Food Science and Technology**, 2012, 26(2): 88-98.
- [28] BRANDAO L R, ALVES J L D, DA COSTA W K A, et al. Live and ultrasound-inactivated *Lactocaseibacillus casei* modulate the intestinal microbiota and improve biochemical and cardiovascular parameters in male rats fed a high-fat diet [J]. **Food & Function**, 2021, 12(12): 5287-5300.
- [29] SHIN H S, PARK S Y, LEE D K, et al. Hypocholesterolemic effect of sonication-killed *Bifidobacterium longum* isolated from healthy adult Koreans in high cholesterol fed rats[J]. **Archives of Pharmacal Research**, 2010, 33(9): 1425-1431.
- [30] ALMADA C N, ALMADA-RIX C N, BONATTO M S, et al. Obtaining paraprobiotics from *Lactobacillus acidophilus*, *Lactocaseibacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* using six inactivation methods: impacts on the cultivability, integrity,

- physiology, and morphology[J]. **Journal of Functional Foods**, 2021, 87: 104826.
- [31] SILVA E K, ALVARENGA V N O, BARGAS M A, et al. Non-thermal microbial inactivation by using supercritical carbon dioxide: synergic effect of process parameters[J]. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2018, 139: 97-104.
- [32] AMARAL G V, SILVA E K, CAVALCANTI R N, et al. Dairy processing using supercritical carbon dioxide technology: theoretical fundamentals, quality and safety aspects[J]. **Trends in Food Science and Technology**, 2017, 64: 94-101.
- [33] ARONSSON K, RONNER U. Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields[J]. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2001, 2(2): 105-112.
- [34] 黄莉莉, 颜克旭, 李玖玖, 等. 益生菌制剂对抗生素诱导腹泻模型小鼠肠道菌群的调节作用[J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 1-8.
- HUANG L L, YAN K X, LI W W, et al. Regulation effect of probiotics on the intestinal bacteria in mice with antibiotic-associated diarrhea[J]. **Modern Food Science and Technology**, 2024, 40(2): 1-8. (in Chinese)
- [35] CHUNG I C, OUYANG C N, YUAN S N, et al. Pretreatment with a heat-killed probiotic modulates the NLRP3 inflammasome and attenuates colitis-associated colorectal cancer in mice[J]. **Nutrients**, 2019, 11(3): 516.
- [36] GU Y H, CHOI H, YAMASHITA T, et al. Pharmaceutical production of anti-tumor and immune-potentiating *Enterococcus faecalis*-2001 β -glucans: enhanced activity of macrophage and lymphocytes in tumor-implanted mice[J]. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, 2017, 18(8): 653-661.
- [37] KIM H, JEON B, KIM W J, et al. Effect of paraprobiotic prepared from Kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 on skin moisturizing activity in human keratinocyte[J]. **Journal of Functional Foods**, 2020, 75: 104244.
- [38] 汪家琦, 康文丽, 吴忠坤, 等. 益生菌复合配方对小鼠肠道功能的影响[J]. 食品与机械, 2022, 38(8): 7-13.
- WANG J Q, KANG W L, WU Z K, et al. Effects of composite probiotics on the intestinal function in mice[J]. **Food & Machinery**, 2022, 38(8): 7-13. (in Chinese)
- [39] DENEV P, KRATCHANOVA M, CIZ M, et al. Biological activities of selected polyphenol-rich fruits related to immunity and gastrointestinal health[J]. **Food Chemistry**, 2014, 157: 37-44.
- [40] LAVELLE A, SOKOL H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease[J]. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, 2020, 17(4): 223-237.
- [41] GOTO Y. Epithelial cells as a transmitter of signals from commensal bacteria and host immune cells[J]. **Frontiers in Immunology**, 2019, 10: 2057.
- [42] 翟齐啸, 储传奇, 贺盼弟, 等. 膳食、肠道微生物与人体健康[J]. 食品与生物技术学报, 2020, 39(6): 1-9.
- ZHAI Q X, CHU C Q, HE P D, et al. Diet, gut microbiota and human health[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2020, 39(6): 1-9. (in Chinese)
- [43] MOLUDI J, ALIZADEH M, LOTFI Y N, et al. New insights on atherosclerosis: a cross-talk between endocannabinoid systems with gut microbiota[J]. **Journal of Cardiovascular and Thoracic Research**, 2018, 10(3): 129-137.
- [44] TSILINGIRI K, BARBOSA T, PENNA G, et al. Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised *ex-vivo* organ culture model[J]. **Gut**, 2012, 61(7): 1007-1015.
- [45] ZAGATO E, MILETI E, MASSIMILIANO L, et al. *Lactobacillus paracasei* CBA L74 metabolic products and fermented milk for infant formula have anti-inflammatory activity on dendritic cells *in vitro* and protective effects against colitis and an enteric pathogen *in vivo*[J]. **PIOS One**, 2014, 9(2): e87615.
- [46] MAYORGAS A, DOTTI I, SALAS A. Microbial metabolites, postbiotics, and intestinal epithelial function [J]. **Molecular Nutrition and Food Research**, 2021, 65(5): 2000188.
- [47] HE X L, ZENG Q, PUTHIYAKUNNON S, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG supernatant enhance neonatal resistance to systemic *Escherichia coli* K1 infection by accelerating development of intestinal defense [J]. **Scientific Reports**, 2017, 7(1): 43305.
- [48] WARDA A K, BETTIO P D H, HUESTON C M, et al. Oral administration of heat-treated *Lactobacilli* modifies the murine microbiome and reduces *Citrobacter* induced colitis[J]. **Frontiers in Microbiology**, 2020, 11: 69.
- [49] ARAI S, IWABUCHI N, TAKAHASHI S, et al. Orally administered heat-killed *Lactobacillus paracasei* MCC1849 enhances antigen-specific IgA secretion and induces follicular helper T cells in mice[J]. **PIOS One**, 2018, 13(6): e0199018.

- [50] YODA K, MIYAZAWA K, N HOSODA M, et al. *Lactobacillus* GG-fermented milk prevents DSS-induced colitis and regulates intestinal epithelial homeostasis through activation of epidermal growth factor receptor[J]. **European Journal of Nutrition**, 2014, 53(1):105-115.
- [51] TIMKO J. Probiotics as prevention of radiation-induced diarrhoea[J]. **Journal of Radiotherapy in Practice**, 2010, 9(4):201-208.
- [52] OMAROV T R, OMAROVA L A, OMAROVA V A, et al. The chronic gastritis, the dysbacteriosis and the use of Hylak forte at the treatment[J]. **Wiadomosci Lekarskie**, 2014, 67(2):365-367.
- [53] RUDKOWSKI Z, BROMIRSKA J J P U P. Reduction of the duration of *Salmonella* excretion in infants with Hylak forte[J]. **Padiatrie Und Padologie**, 1991, 26(2):111-114.
- [54] ASHKAN A, MOHAMMAD H F, MARISSA B R, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years [J]. **New England Journal of Medicine**, 2017, 377(1):13-27.
- [55] HRUBY A, HU F B. The epidemiology of obesity: a big picture[J]. **Pharmacoeconomics**, 2015, 33(7):673-689.
- [56] MÜLLER T D, BLÜHER M, TSCHOP M H, et al. Anti-obesity drug discovery: advances and challenges[J]. **Nature Reviews Drug Discovery**, 2022, 21(3):201-223.
- [57] AHIRWAR R, MONDAL P R. Prevalence of obesity in India: a systematic review[J]. **Diabetes and Metabolic Syndrome—Clinical Research and Reviews**, 2019, 13(1):318-321.
- [58] ABDEEN Z, ABDUL H Z, ABURMEILEH N, et al. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1 698 population-based measurement studies with 19.2 million participants[J]. **The Lancet**, 2016, 387(10026):1377-1396.
- [59] KIM H, LIM J J, SHIN H Y, et al. *Lactobacillus plantarum* K8-based paraprobiotics suppress lipid accumulation during adipogenesis by the regulation of JAK/STAT and AMPK signaling pathways[J]. **Journal of Functional Foods**, 2021, 87:104824.
- [60] YOON D, KIM J Y, KEON H, et al. The anti-adipogenic effects of postbiotics derived from plant-based lactic acid bacteria[J]. 2024, 15:1-8.
- [61] SEO K H, JEONG J, KIM H. Synergistic effects of heat-killed kefir paraprobiotics and flavonoid-rich prebiotics on western diet-induced obesity[J]. **Nutrients**, 2020, 12(8):2465.
- [62] WATANABE J, HASHIMOTO N, YIN T, et al. Heat-killed *Lactobacillus brevis* KB290 attenuates visceral fat accumulation induced by high-fat diet in mice[J]. **Journal of Applied Microbiology**, 2021, 131(4):1998-2009.
- [63] OSMAN A, EL-GAZZAR N, ALMANAA T N, et al. Lipolytic postbiotic from *Lactobacillus paracasei* manages metabolic syndrome in albino wistar rats[J]. **Molecules**, 2021, 26(2):472.
- [64] TSAI W H, CHOU C H, HUANG T Y, et al. Heat-killed *Lactobacilli* preparations promote healing in the experimental cutaneous wounds[J]. **Cells**, 2021, 10(11):3264.
- [65] KOPPEN I J N, LAMMERS L A, BENNINGA M A, et al. Management of functional constipation in children: therapy in practice [J]. **Pediatric Drugs**, 2015, 17(5):349-360.
- [66] PARK S A, LEE G H, HOANG T H, et al. Heat-inactivated *Lactobacillus plantarum* nF1 promotes intestinal health in Loperamide-induced constipation rats[J]. **PIOS One**, 2021, 16(4):e0250354.
- [67] SAITO Y, MIHARA T, OKI M, et al. Effects of heat-killed *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 327 intake on defecation in healthy volunteers: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study[J]. **Bioscience of Microbiota Food and Health**, 2018, 37(3):59-65.
- [68] LIN W Y, KUO Y W, CHEN C W, et al. Viable and heat-killed probiotic strains improve oral immunity by elevating the IgA concentration in the oral mucosa[J]. **Current Microbiology**, 2021, 78(9):3541-3549.
- [69] PERICOLINI E, GABRIELLI E, BALLETT N, et al. Therapeutic activity of a *Saccharomyces cerevisiae*-based probiotic and inactivated whole yeast on vaginal candidiasis[J]. **Virulence**, 2017, 8(1):74-90.