

后生元的研究现状及产业应用

(中国食品科学技术学会益生菌分会 北京 100048)

摘要 随着科学家对微生物与人体健康关系研究的深入,发现有的灭活菌体、菌体成分及其代谢产物等对人体有健康作用,由此提出“后生元”的概念。目前,在我国尚未明确“后生元”的定义。本文基于国内外研究现状,提出“后生元”的术语定义,综述其健康作用机制、标准法规、产业应用中的现状与挑战等,以期对“后生元”的科学研究及产业发展提供参考。

关键词 后生元; 灭活菌体; 菌体成分; 健康作用; 代谢产物

文章编号 1009-7848(2022)08-0416-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.08.043

20 世纪初,俄罗斯科学家伊利亚·梅契尼科夫提出利用对人体有益的乳酸菌取代肠道内梭菌等微生物,可以抑制肠道的衰老与腐败,自此开启了有益微生物与人体健康关系的科学研究^[1]。“益生菌”“益生元”及“合生元”等概念相继被提出,并在学术界达成科学共识,在产业界亦得到广泛的应用。近年来,关于灭活菌体及其代谢产物与人体健康关系的研究逐年增多,国内外学术与产业界相继出现的“后生元”“类生元”“益生菌的灭活菌体”“灭活乳酸菌”“副生元(Paraprobiotics)”“通灵元(Parapsychobiotics)”“类生元(Parabiotics)”“益生菌的非活性菌体(Non-viable probiotics)”“益生菌热灭活菌体(Heat-killed probiotics)”“益生菌的间歇(廷德尔)式灭活菌体(Tyndallized probiotics)”“代谢元(Metabiotics)”等不同的名称,势必会对市场监管、科技与产业界、消费者等造成混乱和困扰,因此,亟待对这一研究领域的术语进行规范。

2013 年, Tsilingiri 等^[2]提出将益生菌产生的对宿主健康有益的代谢产物称之为“后生元”。2021 年,国际益生菌与益生元科学协会(The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics, ISAPP) 建议将灭活菌体和/或菌体成分与人体健康有益的制剂统称为“后生元”^[3]。在我国,目前以“后生元”为主题词/关键词的研究文献并不多见,在中国知网(CNKI)数据库中检索“后生元”(2000—2022 年),文献数量仅为 20 余篇,

而关于灭活乳酸菌、益生菌的灭活菌体文献有近 200 篇,乳酸菌或益生菌代谢产物的文献达 1 000 余篇(见图 1),显示出“后生元”在我国具有较好的研究基础。早在 1972 年,骆承庠等人从传统酸奶中获得嗜酸乳杆菌,再将菌种及其发酵物干燥,研制的乳酸菌素产品,也就是现在所说的“后生元”^[4]。正因如此,“后生元”并非新兴研究领域,而是对人体健康有益的灭活菌体和/或菌体成分及其代谢产物的科学界定。

本文基于国内外关于灭活菌体、菌体成分及其代谢产物等与人体健康作用关系的研究现状,明确“后生元”一词的定义,综述“后生元”在调节免疫,保护肠道屏障,改善便秘及肠易激综合征等健康作用以及产业应用方面存在的主要技术问题。目前,国内外尚未见针对“后生元”制定的标准与法规。本文通过对“后生元”的探讨及国内外相关标准与法规的论述,亦可为“后生元”的科学研究、产业发展及标准法规建设提供参考。

1 后生元的定义

在我国,关于灭活菌体及其代谢产物与宿主健康的科学研究已有近 50 余年,然而,尚未对这一研究领域的术语进行规范。从 PubMed 和 Web of Science (WOS) 数据库分别检索(时间范围:2000 年 1 月 1 日至 2022 年 4 月 8 日):“Postbiotics”“Parabiotics”“Non-viable probiotics”“Heat-killed probiotics”和“Tyndallized probiotics”,并选取 Article 和 Review 类型文献,发现以“Postbiotics”和“Heat-killed probiotics”表述的文献居多(见图 2)。

收稿日期: 2022-08-01

通信作者: 中国食品科学技术学会益生菌分会

E-mail: cifst_lab@163.com

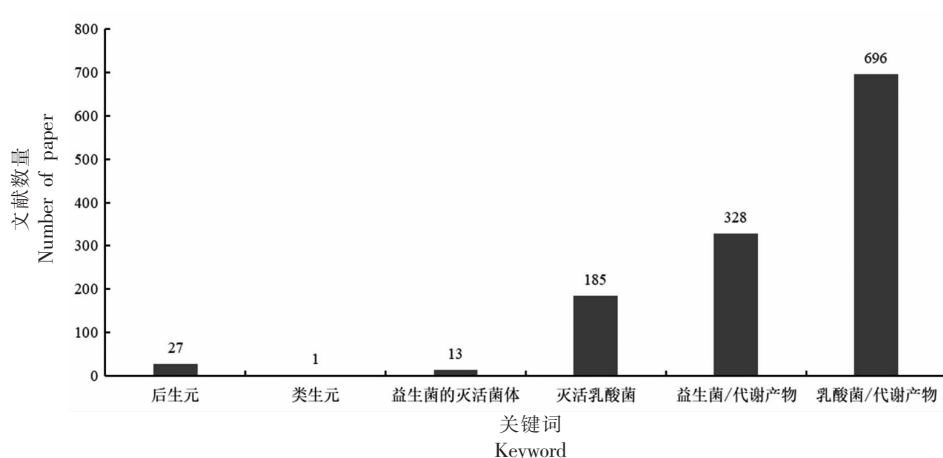


图 1 2000—2022 年间 CNKI 数据库中“后生元”相关主题词的文献数量

Fig.1 The number of papers related to 'postbiotics' in CNKI database from 2000 to 2022

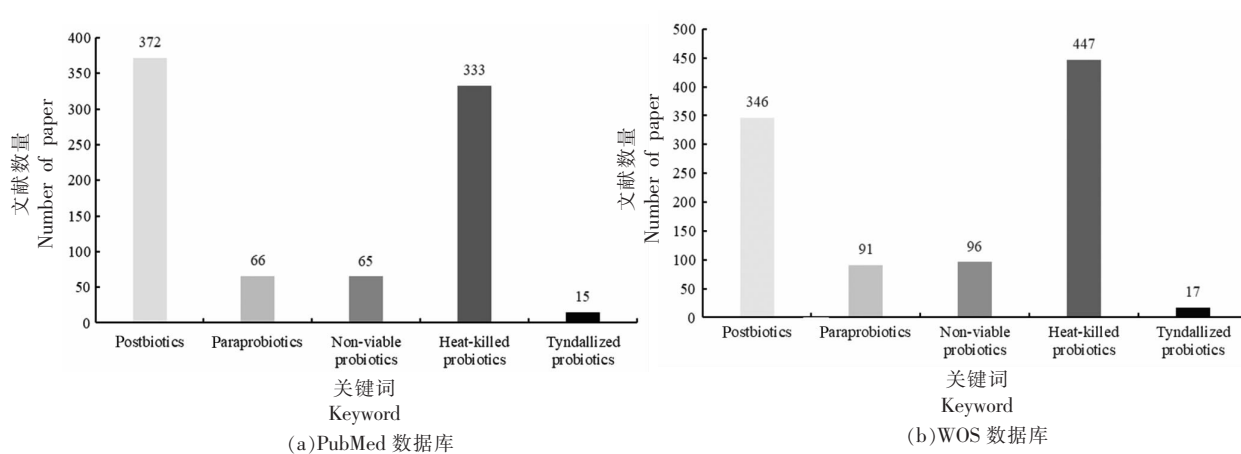


图 2 PubMed 和 WOS 数据库 2000—2022 年不同关键词的文献数量

Fig.2 The number of papers by different keywords in PubMed and Web of Science databases from 2000 to 2022

综合国内外研究及产业化实践现状, 本文将“后生元”定义为: 对宿主健康有益的遗传背景明确的灭活微生物和/或菌体成分, 包括或不包括其代谢产物。

本定义主要内涵:

1) 后生元的首要条件是对宿主健康有益, 且健康作用需经科学循证;

2) 后生元选用的微生物应是公认安全性且遗传背景和生物学特性明确的菌株, 灭活微生物、菌体成分以及代谢产物等健康作用的成分明确;

3) 后生元包括对宿主健康有益的灭活的菌体、菌体成分(包括菌体裂解物)及其代谢产物等; 不包括疫苗、病毒(包括噬菌体)、纯化后的菌株代

谢产物, 具有不确定菌群组成的传统发酵产品等。

2 后生元健康作用及机制研究

目前, 研究发现后生元发挥健康作用的场所主要是肠道, 具有改善肠炎, 缓解便秘, 改善肠易激综合征等作用, 也可通过肠道发挥肠外的缓解过敏、压力等作用, 其作用机制主要包括调节机体免疫反应, 重塑肠道菌群组成, 保护肠道上皮屏障, 影响机体代谢和神经信号的发出等^[5-7]。

2.1 后生元健康作用的体外试验研究

研究表明, 在肠细胞模型中后生元具有抗氧化、抗炎、抗黏附的作用, 在肿瘤细胞中具有抑制细胞增殖的作用。罗伊氏乳杆菌 (*Lactobacillus*

reuteri)EFEL6901 灭活菌株在 HT-29 细胞和 RAW264.7 细胞系中具有良好的抗氧化活性,并在 RAW264.7 细胞系中通过促进 IL-10 的产生,

抑制 LPS 诱导的炎症反应^[8]。菌体裂解物、菌体组分在体外同样具有抗炎功效(见表 1)。

表 1 后生元体外免疫调节作用

Table 1 The role of postbiotics in regulating immunity *in vitro*

后生元来源	功能成分	模型	作用机制	参考文献
植物乳杆菌(<i>Lactobacillus plantarum</i>)K8 裂解物	细胞壁组分	THP-1 细胞系、MDA-MB-231 细胞系	通过抑制 TNF- α 和 IL-6 表达,减轻脂多糖诱导的细胞过度炎症反应	[6]
植物乳杆菌 KCTC10887BP 裂解物	细胞壁组分	IPEC-J2 细胞系	缓解聚肌胞苷酸诱导的炎症反应,减少 IL-8 的产生	[9]
植物乳杆菌 KCTC 10887BP 裂解物	细胞壁组分	Caco-2 细胞系	缓解由 TLR2 激动剂诱导的 IL-8 表达的增加	[10]
鼠李糖乳杆菌(<i>Lactobacillus rhamnosus</i>)GG 的菌体成分	菌毛组分	Caco-2 细胞系	抑制细胞 IL-8 的产生和 IL-8 基因的表达	[11]

体外研究还表明后生元在预防癌症中具有潜在作用。Motevaseli 等^[12]报道了用卷曲乳杆菌(*Lactobacillus crispatus*)和格氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)制备的后生元(全灭活菌体、细胞壁和细胞质提取物)对宫颈肿瘤细胞的选择性抗增殖作用。Wang 等^[13]和 Wang 等^[14]则报道了副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)M5 和植物乳杆菌 YW32 的裂解物都具有降低结肠癌 HT-29 细胞系的活性、抑制增殖的作用。Tukenmez 等^[15]探究了 4 株乳杆菌混合胞外多糖对 HT-29 细胞凋亡的影响,发现乳杆菌混合胞外多糖能够以时间依赖性方式抑制 HT-29 细胞的增殖,并通过增加 Bax、Caspase3 和 9 的表达同时降低 Bcl-2 的方式来诱导细胞的凋亡。

后生元在体外试验中显示出抑制致病微生物感染和腐败微生物增殖的作用。OM-85 是一种人类呼吸道细菌的裂解物,具有很强的免疫调节特性,被广泛用于预防反复呼吸道感染。Pivniouk 等^[16]发现在肾上皮细胞系(Vero E6)、肺上皮细胞系(Calu-3)、肠道上皮细胞系(Caco-2)及原代人支气管上皮细胞中,OM-85 可显著抑制新冠病毒与上皮细胞的结合,减少病毒进入上皮细胞的量,降低新冠病毒对上皮细胞的感染。据报道,副干酪乳杆菌的 HL32 代谢产物能够杀死牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)^[17]。

虽然后生元在体外试验中表明具有多方面有益健康的作用,但是仍需进行体内或者临床试验来进一步评估不同形式的后生元的安全性和健康作用。

2.2 后生元健康作用的动物试验研究

后生元保护肠道屏障和免疫调节的作用在动物模型研究中得到验证。宿主和肠道微生物群落之间的相互作用受饮食调节,并在免疫稳态和健康中发挥关键作用。后生元作为一种饮食成分,摄入会影响机体肠道菌群的组成。

研究发现一种非机体共生菌荚膜甲基球菌(*Methylococcus capsulatus* Bath)的细胞裂解物能够逆转高脂饮食引起的小鼠肠道微生物群变化,同时可改善小鼠葡萄糖稳态,减轻体重和肝脏脂肪积累,减少肝脏免疫浸润,上调小肠和大肠中的调节性 T 细胞(Foxp3⁺ ROR γ t⁺ IL-17⁺)的数量^[18]。后生元可显著缓解由病毒感染、药物诱导、衰老等引起的炎症反应(见表 2)。

研究表明后生元能够竞争肠道上皮细胞上的黏附位点,进而显示出针对各种肠道病原体的抗黏附能力。瑞士乳杆菌(*Lactobacillus helveticus*)R0052 的细胞壁组分阻碍了大肠杆菌 O157:H7 的黏附性,并增强了因大肠杆菌感染而降低的跨膜电阻^[24]。肠道屏障将机体与肠腔内复杂环境隔离,肠屏障的完整性对机体的健康具有重要影响。

表 2 后生元动物实验中的免疫调节作用

Table 2 The role of postbiotics in regulating immunity in animal experiments

后生元	动物模型	主要研究结论	参考文献
植物乳杆菌 K8 来源的细胞壁组分	诱导的全身性炎症	调节 Th1 和 Th2 反应之间的平衡	[5]
副干酪乳杆菌 D3-5 细胞壁组分	线虫和小鼠衰老模型	通过调节 TLR-2/p38-MAPK/NF- κ B 通路,减少由衰老导致的炎症反应	[7]
唾液乳杆菌 (<i>Lactobacillus salivarius</i>)Ls33 的裂解物	三硝基苯磺酸诱导的小鼠结肠炎	唾液乳杆菌中纯化的肽聚糖通过诱导 IL-10 产生而发挥抗炎特性。此外,肽聚糖被核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2 识别后激活树突状细胞和 T 细胞	[19]
脆弱拟杆菌 (<i>Bacteroides fragilis</i>) 细胞壁组分	无菌小鼠	通过 TLR2 直接影响 Foxp3 ⁺ 调节性 T 细胞上反应,以促进免疫耐受。缺乏 PSA 的脆弱拟杆菌无法抑制 Th17 细胞反应	[20]
粪肠球菌 (<i>Enterococcus faecium</i>)KH2 菌株热灭活菌体	DSS 和偶氮甲烷诱导的结肠炎相关的结直肠癌小鼠模型	减少 caspase-1 活化和 IL-1 β 的成熟,进而减少 NLRP3 炎性小体的激活	[21]
罗伊氏乳杆菌 MM2-3 热灭活菌体	胶原蛋白 II 诱导的关节炎小鼠模型	通过增加血清中 IL-10 和降低模型早期 IL-6 的含量,降低小鼠关节炎的炎症程度和发病率	[22]
短乳杆菌 (<i>Lactobacillus brevis</i>)SBC8803 热灭活菌体	DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型	调节肿瘤坏死因子 α 、IL-1 β 和 IL-12 的表达,改善肠上皮细胞的屏障功能	[23]

后生元可以通过促进紧密连接蛋白 (Claudin-1、Occludin、JAM-1 和 ZO-1) 的表达,恢复肠道上皮屏障的完整性^[25-26]。

2.3 后生元健康作用的临床研究

临床试验是研究后生元健康作用的有效途径,目前关于后生元临床研究较少。副干酪乳杆菌 MCC1849 灭活菌体在临床试验中具有免疫调节作用,与安慰剂组相比,摄入灭活菌体提高了老年人免疫力并增强老年人对流感疫苗接种的反应^[27-28],在动物模型中验证其机制,发现灭活菌体的处理增强了小鼠 B 细胞分化为 IgA 阳性 B 细胞的能力^[29]。一项纳入 443 名肠易激综合征 (IBS) 患者的临床研究发现,摄入灭活的两歧双歧杆菌 MIMBb75 后,患者腹痛改善至少 30%,且 IBS 症状得到充分缓解^[30]。一项针对儿童的临床研究发现,在摄入添加灭活副干酪乳杆菌 CBAL74 发酵物的奶粉后,受试者的肠道菌群的组成发生改变,*Blautia*、*Roseburia* 和 *Faecalibacterium* 得到富集,呼吸道和胃肠道感染的发生率显著降低^[31]。酿酒酵母来源的后生元也被证明具有免疫调节作用,

能够显著降低受试人群中季节性流感和普通感冒的发生率,并显著缩短症状持续时间^[32-34],并对过敏性鼻炎有缓解作用^[35]。在针对成年人的临床研究中发现,摄入含有热处理灭活加氏乳杆菌 (*Lactobacillus gasseri*)CP2305 的饮料,可缓解受试者的便秘^[36]和压力导致的睡眠质量下降^[37],减轻运动员的疲劳感^[38]。

临床研究还表明后生元具有调控机体能量代谢的作用。一项针对肥胖患者的随机双盲安慰剂对照试验显示,口服嗜黏蛋白阿克曼菌 (*Akkermansia muciniphila*) 灭活菌株,3 个月后,患者胰岛素水平、胰岛素抵抗程度和血浆总胆固醇水平降低,体重、脂肪量和臀围也有轻微地降低^[39]。

3 国内外后生元管理现状

标准与法规体系的建立和完善是“后生元”研究和产业化的必要前提,也是规范行业健康发展的重要保障。虽然目前国内外尚未发布明确针对后生元的标准与法规,但是各国相关法规中有一些符合后生元定义的产品管理要求。

3.1 我国相关法规管理

我国对可用于食品的菌种以“名单制”进行管理。用于制备后生元的微生物来源可参考国家卫生行政部门发布的可用于食品的菌种(株)。GB/T 32099-2015《酵母产品分类导则》^[40]与GB/T 20886.1-2021《酵母产品质量要求 第1部分:食品加工用酵母》^[41]中提出“非活性食用酵母”这一概念,然而目前我国监管层面尚未发布针对后生元及其产品的标准与法规。

3.2 欧盟相关法规管理

欧盟食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)通过QPS(Qualified Presumption as Safety)程序评估食品用菌种的安全性,可适用于评估制备后生元的微生物。若使用未列入QPS名单的微生物生产食品,需根据欧盟新资源食品管理条例Regulation (EU) 2015/2283^[42]相关要求申报新资源食品审批。例如,2021年7月,EFSA认证巴氏杀菌灭活的嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)可作为新资源食品原料^[43]。欧洲药品管理局EMA(The European Medicines Agency)根据Directive 2004/27/EC人用医药产品法规指令要求来评估和监管灭活菌种在医药产品中的应用^[44]。

3.3 美国相关法规管理

美国食品药品监督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)通过GRAS(Generally Recognized As Safe)管理食品用菌种及食品添加剂等成分,采用“企业自我认可,FDA备案制度”评价物质的安全性并形成GRAS清单。目前FDA对灭活菌种在食品中的应用可通过申报GRAS的形式对产品进行备案。例如,自2010年起,FDA通过GRAS公告形式陆续批准了热灭活费氏丙酸杆菌(*Propionibacterium freudenreichii*)ET-3^[45]、热灭活解木聚糖拟杆菌(*Bacteroides xylanisolvens*)DSM 23964^[46]、热灭活凝结芽胞杆菌(*Bacillus coagulans*)GBI-30^[47-48]和由酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)为原料生产的食用非活性酵母^[49]等成分在饮料、乳制品等食品中应用。

3.4 日本相关法规管理

目前,日本可通过3种监管渠道申请对食品的健康声称,分别是特定健康用途食品(Foods for

Specified Health Uses, FOSHU)、具有营养功能声明的食品(Foods with nutrient function claims, FNFC)和具有功能声称的食品(Foods with function claims, FFC)^[50]。目前没有含灭活微生物的相关产品获批FOSHU^[3]。FFC无需审批,但需在上市前60d向消费者厅提交其安全性、功效性评价与科学依据、生产与质量管理方法等必要材料,政府不提供许可标签^[51]。目前仅有少数灭活乳酸菌产品申报获得了FFC许可,如由热灭活副干酪乳酪杆菌(*Lactocaseibacillus paracasei*)KW3110^[52]、噬淀粉乳杆菌(*Lactobacillus amylovorus*)CP1563^[53]和加氏乳杆菌CP2305制备的乳酸菌饮料^[54]等产品。

3.5 澳大利亚相关法规管理

澳大利亚新西兰食品标准局(Food Standards Australia New Zealand, FSANZ)和澳大利亚卫生部(Department of Health, Australia)尚未颁布后生元相关的标准法规。《食品标准法典》中的“营养,健康及其相关声称”规定,若食品需申报健康声称,则企业需自主开展系统性审查以证实食品和健康声称之间的关系^[55],并将评估结果告知澳大利亚政府。

3.6 加拿大相关法规管理

目前,在加拿大司法部(Department of Justice, Canada)发布的《天然健康食品条例(Natural Health Product Regulations (NHPR)SOR/2003-196)》中,细菌、真菌及其分子结构未改变的提取物或分离物均可视为“天然健康食品”(Natural Health Product, NHP)^[56]。基于此,部分灭活微生物产品可向加拿大卫生部提交申请作为天然健康食品,由卫生部审查产品成分及健康作用。目前,已有相关灭活酿酒酵母产品在加拿大获得了“有助于降低感冒和流感症状的发生率(Helps reduce incidence of cold and flu symptoms)”的健康声称。

4 后生元在产业应用中的现状与挑战

后生元是灭活的微生物,在生产和贮运过程中具有较好的稳定性、预期生物安全性以及易于对菌株知识产权的保护等优势,拓宽了产品的应用范围,受到产业界的广泛关注^[57]。此外,添加后生元可改善产品的感官和物理化学特性,如乳酸

菌代谢产物胞外多糖具有改善产品质构、稳定性和口感等作用^[58]。目前,已研发、应用并初具产业规模的是灭活微生物原料产品,而后生元在产业化生产应用中还存在亟待解决的关键问题。

4.1 基于菌株特性和后生元健康作用的微生物灭活技术

微生物的灭活方式有多种,如热灭活处理、高压处理、紫外线灭活、超声波、辐照、超临界 CO₂、脉冲电场等。不同灭活方式会产生不同的细胞裂解成分和活性物质,生产的后生元成分组成及其健康作用也存在差异。Almada 等^[59]评估了超声、加热、酸、辐照、超临界 CO₂ 等方式处理菌体,发现菌体经不同的灭活方法及同一灭活方法的不同条件处理后,菌体细胞组分及其比例不同。目前,热灭活法制备后生元的研究报道较多。有研究^[60]表明,嗜酸乳杆菌 CBT LA1 在不同温度下处理 10 min,菌体细胞对 HT-29 细胞表现出不同的黏附活性,热灭活菌体与嗜酸乳杆菌 CBT LA1 活菌相比,热灭活菌体的脂多糖结合、细胞表面疏水性、自聚集性、HT-29 黏附性和对 IL-8 表达抑制水平更高。

鉴于微生物菌体灭活方式的多样性,依据菌株特性和后生元健康作用,探索快速、可控、经济的灭活技术,有利于进一步规范、保障后生元产业的健康发展。

4.2 后生元的安全性及其健康作用评价

后生元是灭活微生物,不能根据原始菌株的安全性推断后生元的安全性,在产业应用前需对后生元进行安全性评价。如何科学评价后生元的安全性,是目前科学界与产业界共同面临的问题。

后生元对宿主具有健康作用是其首要条件,评价后生元的健康作用,并明确量效关系是后生元研究领域需要解决的问题。基于目前研究现状,首先需对制备后生元的原始菌株进行安全性评价;其次对制备的后生元进行成分分析,明确生物活性物质及生产加工过程中可能产生的有毒有害物质;最后,进行毒理学分析,研究后生元在宿主吸收、分布、代谢、排泄等方面的毒代动力学,以及急性毒性、(亚)慢性毒性、遗传毒性、致畸性、致癌性和生殖发育毒性等,并以人群食用的每日允许摄入量(ADI)、每日耐受摄入量(TDI)、急性参考

剂量(ARfD)等健康指导值为依据,进一步确定后生元的摄入量。目前,国内外关于后生元的安全性评价尚未形成共识,有待进一步完善。建议优先选择已完成安全性评价、公认安全的微生物生产后生元。

4.3 后生元产品质量的定性和定量分析技术

后生元不仅有灭活菌体,还可能有细菌裂解物、细胞壁成分以及代谢产物(如肽聚糖、磷壁酸、表面蛋白、酶、有机酸、短链脂肪酸等),并不是单一的物质成分,其健康作用机制也可能是多组分多靶点,对制定相关标准与法规及健康作用剂量造成一定的困难。目前,主要通过细胞计数板和流式细胞仪对灭活后菌体计数,作为后生元定量的方法^[61],然而,如果灭活后,菌体发生裂解,计数的准确性就会受到影响。对可能具有健康作用的细胞壁成分、代谢产物等较难进行量化。建立后生元定性和定量分析法是控制终产品的质量,实现产品市场科学监管的基本保障。

5 总结与展望

本文通过对“后生元”的定义、健康作用及机制的探讨,以及目前“后生元”的研究进展和产业应用现状,凝练出以下主要观点:

1) 后生元的定义和范畴仍在不断完善和拓展。本文提及的后生元是对宿主健康有益的、遗传背景明确的灭活微生物和/或菌体成分,包括或不包括其代谢产物。目前已有研究者关注胞外多糖、囊泡等无细胞代谢产物成为后生元的可能性。

2) 后生元的安全性是其产业应用的必要条件。基于目前研究现状,建议优先选择已完成安全性评价、公认安全的微生物研究开发后生元。同步对制备的后生元进行成分分析及安全性评价,不能仅依据制备后生元原始菌株的安全性来推断后生元的安全性。

3) 后生元健康作用需经过科学循证。研究发现,肠道是后生元发挥作用的主要部位,具有调节免疫,改善便秘、肠易激综合征等多方面健康作用,然而,其作用机制尚需进一步研究。同时,建议借鉴益生菌健康作用的研究方法,构建基于科学循证的后生元健康作用的量效关系评价方法,为后生元产业健康持续发展提供理论支撑。

4) 后生元的健康作用具有菌株特异性。制备后生元的微生物来源不局限于益生菌, 而生产所用微生物需是遗传背景和生物学特性明确且公认安全的菌株。由于不同菌株培养后的菌体及代谢产物差异性较大, 且同一菌株以不同灭活方式生产的后生元产品其健康作用存在差异性, 因此导致其健康作用具有菌株特异性。

5) 需明确后生元健康作用的特征性物质成分。后生元是灭活菌体、菌体成分等多组分组成的混合物, 只有明确对其健康作用的特征性成分并建立定性和定量分析方法, 才能实现对后生元的质量控制和监管。后生元具有较好贮运稳定性与加工适用性, 添加后生元可直接影响产品的感官和物理化学特性, 在使用过程中需综合考虑后生元与食品成分的相互作用。

项目组专家(按姓氏汉语笔画排序):

云战友 内蒙古伊利实业集团股份有限公司
艾连中 上海理工大学
刘晓军 北京科拓恒通生物技术股份有限公司
李 灵 嘉吉投资(中国)有限公司
何国庆 浙江大学
张和平 内蒙古农业大学
陈 卫 中国工程院院士、江南大学
邵 薇 中国食品科学技术学会
金 苏 IFF 健康与生物科技
周世伟 乐斯福管理(上海)有限公司
姚 粟 中国食品发酵工业研究院
顾 青 浙江工商大学
徐 进 国家食品安全风险评估中心
董 英 江苏大学

共同执笔人(按姓氏汉语笔画排序):

刘艺茹 中国食品发酵工业研究院
孙志宏 内蒙古农业大学
张国华 山西大学
陈 铮 中国食品科学技术学会
易华西 中国海洋大学
罗江钊 中国食品科学技术学会
高 洁 河北农业大学
翟齐啸 江南大学

参 考 文 献

- [1] GORDON S. Elie Metchnikoff: Father of natural immunity[J]. *European Journal of Immunology*, 2008, 38(12): 3257–3264.
- [2] TSILINGIRI K, RESCIGNO M. Postbiotics: What else?[J]. *Beneficial Microbes*, 2013, 4(1): 101–107.
- [3] SALMINEN S, COLLADO M C, ENDO A, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2021, 18(9): 649–667.
- [4] 佚名. 乳酸菌素片的作用和功效是什么? 能帮肠道杀菌 [EB/OL]. (2022-04-26)[2022-07-01]. <https://m.tech.china.com/digi/digi/20220426/202204261056742.html>.
ANON. What is the role and efficacy of *Lactobacillus* tablets? Can help intestinal bacteria [EB/OL]. (2022-04-26) [2022-07-01]. <https://m.tech.china.com/digi/digi/20220426/202204261056742.html>.
- [5] ŻÓŁKIEWICZ J, MARZEC A, RUSZCZYŃSKI M, et al. Postbiotics—a step beyond pre- and probiotics [J]. *Nutrients*, 2020, 12(8): 2189.
- [6] AHN J E, KIM H, CHUNG D K. Lipoteichoic acid isolated from *Lactobacillus plantarum* maintains inflammatory homeostasis through regulation of Th1- and Th2-induced cytokines[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, 29(1): 151–159.
- [7] WANG S, AHMADI S, NAGPAL R, et al. Lipoteichoic acid from the cell wall of a heat killed *Lactobacillus paracasei* D3-5 ameliorates aging-related leaky gut, inflammation and improves physical and cognitive functions: From *C. elegans* to mice [J]. *Geroscience*, 2020, 42(1): 333–352.
- [8] SEO H, SEONG H, KIM G Y, et al. Development of anti-inflammatory probiotic *Limosilactobacillus reuteri* EFEL6901 as kimchi starter: *In vitro* and *in vivo* evidence [J/OL]. *Frontiers in Microbiology*, (2021-11-25)[2022-07-01]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.760476/full>.
- [9] KIM K W, KANG S S, WOO S J, et al. Lipoteichoic acid of probiotic *Lactobacillus plantarum* attenuates poly I: C-induced IL-8 production in porcine intestinal epithelial cells[J/OL]. *Frontiers in*

- Microbiology, (2017-09-21) [2022-07-01]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01827/full>.
- [10] NOH S Y, KANG S S, YUN C H, et al. Lipoteichoic acid from *Lactobacillus plantarum* inhibits Pam2CSK4-induced IL-8 production in human intestinal epithelial cells [J]. Molecular Immunology, 2015, 64(1): 183-189.
- [11] LEBEER S, CLAES I, TYTGAT H L P, et al. Functional analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG pili in relation to adhesion and immunomodulatory interactions with intestinal epithelial cells[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(1): 185-193.
- [12] MOTEVASELI E, SHIRZAD M, AKRAMI S M, et al. Normal and tumour cervical cells respond differently to vaginal *Lactobacilli*, independent of pH and lactate [J]. Journal of Medical Microbiology, 2013, 62(7): 1065-1072.
- [13] WANG J, ZHAO X, YANG Y W, et al. Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 74: 119-126.
- [14] WANG S M, HAN X, ZHANG L W, et al. Whole peptidoglycan extracts from the *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* M5 strain exert anticancer activity *in vitro*[J]. BioMed Research International, (2018-02-07) [2022-07-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5820549/>.
- [15] TUKENMEZ U, AKTAS B, ASLIM B, et al. The relationship between the structural characteristics of *Lactobacilli*-EPS and its ability to induce apoptosis in colon cancer cells *in vitro*[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 1-14.
- [16] PIVNIOUK V, PIVNIOUK O, DEVRIES A, et al. The OM-85 bacterial lysate inhibits SARS-CoV-2 infection of epithelial cells by downregulating SARS-CoV-2 receptor expression[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2022, 149(3): 923-933.
- [17] PANGSOMBOON K, KAEWNOPPARAT S, PITAKPORNPREECHA T, et al. Antibacterial activity of a bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* HL32 against *Porphyromonas gingivalis*[J]. Archives of Oral Biology, 2006, 51(9): 784-793.
- [18] JENSEN B A H, HOLM J B, LARSEN I S, et al. Lysates of *Methylococcus capsulatus* Bath induce a lean-like microbiota, intestinal FoxP3⁺ RORγt⁺ IL-17⁺ Tregs and improve metabolism[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 1-19.
- [19] FERNANDEZ E M, VALENTI V, ROCKEL C, et al. Anti-inflammatory capacity of selected *Lactobacilli* in experimental colitis is driven by NOD2-mediated recognition of a specific peptidoglycan-derived muropeptide[J]. Gut, 2011, 60(8): 1050-1059.
- [20] ROUND J L, LEE S M, LI J, et al. The toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota [J]. Science, 2011, 332(6032): 974-977.
- [21] 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): 1-16.
- [22] JIA H, REN S P, WANG X. Heat-killed probiotic regulates the body's regulatory immunity to attenuate subsequent experimental autoimmune arthritis[J]. Immunology Letters, 2019, 216: 89-96.
- [23] UENO N, FUJIYA M, SEGAWA S, et al. Heat-killed body of *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2011, 17(11): 2235-2250.
- [24] JOHNSON - HENRY K C, HAGEN K E, GORDONPOUR M, et al. Surface - layer protein extracts from *Lactobacillus helveticus* inhibit enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 adhesion to epithelial cells[J]. Cellular Microbiology, 2007, 9(2): 356-367.
- [25] GAO J, LI Y B, WAN Y, et al. A novel postbiotic from *Lactobacillus rhamnosus* GG with a beneficial effect on intestinal barrier function[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 477.
- [26] QIN H L, ZHANG Z W, HANG X M, et al. *L. plantarum* prevents enteroinvasive *Escherichia coli*-induced tight junction proteins changes in intestinal epithelial cells[J]. BMC Microbiology, 2009, 9(1): 63.
- [27] MARUYAMA M, ABE R, SHIMONO T, et al. The effects of non-viable *Lactobacillus* on immune func-

- tion in the elderly: A randomised, double-blind, placebo-controlled study[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2016, 67(1): 67-73.
- [28] MURATA M, KONDO J, IWABUCHI N, et al. Effects of paraprobiotic *Lactobacillus paracasei* MCC1849 supplementation on symptoms of the common cold and mood states in healthy adults[J]. *Beneficial Microbes*, 2018, 9(6): 855-864.
- [29] MAEHATA H, ARAI S, IWABUCHI N, et al. Immuno-modulation by heat-killed *Lactocaseibacillus paraca sei* MCC1849 and its application to food products[J]. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 2021, 35: 1-9.
- [30] ANDRESEN V, GSCHOSMANN J, LAYER P. Heat-inactivated *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 (SYN-HI-001) in the treatment of irritable bowel syndrome: A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial[J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2020, 5(7): 658-666.
- [31] BERNI CANANI R, DE FILIPPIS F, NOCERINO R, et al. Specific signatures of the gut microbiota and increased levels of butyrate in children treated with fermented cow's milk containing heat-killed *Lactobacillus paracasei* CBA L74 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(19): e01206-17.
- [32] JENSEN G S, REDMAN K A, BENSON K F, et al. Antioxidant bioavailability and rapid immune-modulating effects after consumption of a single acute dose of a high-metabolite yeast immunogen: Results of a placebo-controlled double-blinded crossover pilot study[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2011, 14(9): 1002-1010.
- [33] MOYAD M A, ROBINSON L E, ZAWADA JR E T, et al. Immunogenic yeast-based fermentate for cold/flu-like symptoms in nonvaccinated individuals [J]. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 2010, 16(2): 213-218.
- [34] MOYAD M A, ROBINSON L E, ZAWADA JR E T, et al. Effects of a modified yeast supplement on cold/flu symptoms[J]. *Urol Nurs*, 2008, 28(1): 50-55.
- [35] MOYAD M A, ROBINSON L E, KITTELSRUD J M, et al. Immunogenic yeast-based fermentation product reduces allergic rhinitis-induced nasal congestion: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Advances in Therapy*, 2009, 26(8): 795-804.
- [36] SAWADA D, SUGAWARA T, ISHIDA Y, et al. Effect of continuous ingestion of a beverage prepared with *Lactobacillus gasserii* CP2305 inactivated by heat treatment on the regulation of intestinal function [J]. *Food Research International*, 2016, 79: 33-39.
- [37] NISHIDA K, SAWADA D, KAWAI T, et al. Para- psychobiotic *Lactobacillus gasserii* CP 2305 ameliorates stress-related symptoms and sleep quality[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2017, 123(6): 1561-1570.
- [38] SAWADA D, KUWANO Y, TANAKA H, et al. Daily intake of *Lactobacillus gasserii* CP2305 relieves fatigue and stress-related symptoms in male university Ekiden runners: A double-blind, randomized, and placebo-controlled clinical trial [J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 57: 465-476.
- [39] DEPOMMIER C, EVERARD A, DRUART C, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: A proof-of-concept exploratory study[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(7): 1096-1103.
- [40] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 酵母产品分类导则: GB/T 32099-2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015: 1-6.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Guideline for yeast products classification: GB/T 32099-2015[S]. Beijing: Standards Press of China, 2015: 1-6.
- [41] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 酵母产品质量要求 第1部分: 食品加工用酵母: GB/T 20886.1-2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021: 1-21.
- State Administration for Market Regulation, Standardization Administration. Quality requirements for yeast products - Part 1: Yeast for food processing: GB/T 20886.1-2021[S]. Beijing: Standards Press of China, 2021: 1-21.
- [42] TURCK D, JEAN-LOUIS B, BURLINGAME B, et al. Guidance on the preparation and presentation of an application for authorisation of a novel food in

- the context of Regulation (EU) 2015/2283[J]. EFSA Journal, 2016, 14(11): 4594.
- [43] TURCK D, BOHN T, CASTENMILLER J, et al. Safety of pasteurised *Akkermansia muciniphila* as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283 [J]. EFSA Journal, 2021, 19(9): 6780.
- [44] Council of Europe. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use [EB/OL]. (2001-11-28) [2022-07-01]. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2001/83/oj>.
- [45] U.S. Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notices: Heat-killed *Propionibacterium freudenreichii* ET-3 culture (powder): GRN NO.415 [EB/OL]. (2012-01-19)[2022-07-01]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=415>.
- [46] U.S. Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notices: *Bacteroides xylanisolvens* strain DSM 23964: GRN NO.457 [EB/OL]. (2013-12-16)[2022-07-01]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=457>.
- [47] U.S. Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notices: Inactivated *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086: GRN NO.670 [EB/OL]. (2017-03-15)[2022-07-01]. <https://www.fda.gov/media/100803/download>.
- [48] U.S. Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notices: Inactivated *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086: GRN NO.725 [EB/OL]. (2018-02-12)[2022-07-01]. <https://www.fda.gov/media/111306/download>.
- [49] U.S. Food and Drug Administration. Agency Response Letter GRAS Notices: Dried *Saccharomyces cerevisiae* yeast fermentate: GRN NO.928 [EB/OL]. (2021-05-14)[2022-07-01]. <https://www.fda.gov/media/142858/download>.
- [50] MAEDA-YAMAMOTO M, OHTANI T. Development of functional agricultural products utilizing the new health claim labeling system in Japan[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2018, 82(4): 554-563.
- [51] 马于巽, 段昊, 刘宏宇, 等. 日本健康相关食品的分类与管理[J]. 食品工业科技, 2019, 40(7): 269-272.
- MA Y X, DUAN H, LIU H Y, et al. Classification and management of health related foods in Japan[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(7): 269-272.
- [52] MORITA Y, JOUNAI K, MIYAKE M, et al. Effect of heat-killed *Lactobacillus paracasei* KW3110 ingestion on ocular disorders caused by visual display terminal (VDT) loads: A randomized, double-blind, placebo-controlled parallel-group study [J]. Nutrients, 2018, 10: 1058.
- [53] NAKAMURA F, ISHIDA Y, AIHARA K, et al. Effect of fragmented *Lactobacillus amylovorus* CP1563 on lipid metabolism in overweight and mildly obese individuals: A randomized controlled trial [J]. Microbial Ecology in Health & Disease, 2016, 27: 30312.
- [54] NISHIDA K, SAWADA D, KAWAI T, et al. Parapsychobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 ameliorates stress-related symptoms and sleep quality[J]. Journal of Applied Microbiology, 2017, 123(6): 1561-1570.
- [55] Food Standards Australia New Zealand. Australia New Zealand Food Standards Code Standard 1.2.7 Nutrition, health and related claims[EB/OL]. (2018-12-20)[2022-07-01]. <https://www.legislation.gov.au/Details/F2018C00942>.
- [56] Minister of Justice. SOR /2003-196. Natural health products regulations[EB/OL]. (2022-07-13) [2022-07-30]. <https://laws-lois.justice.gc.ca/>.
- [57] CUEVAS-GONZÁLEZ P F, LICEAGA A M, AGUILAR-TOALÁ J E. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications[J]. Food Research International, 2020, 136: 109502.
- [58] BIBI A, XIONG Y, RAJOKA M S R, et al. Recent advances in the production of exopolysaccharide (EPS) from *Lactobacillus* spp. and its application in the food industry: A review[J]. Sustainability, 2021, 13(22): 12429.
- [59] ALMADA C N, ALMADA-ERIX C N, ROQUETTO A R, et al. Paraprobiotics obtained by six different inactivation processes: Impacts on the biochemical parameters and intestinal microbiota of Wistar male rats[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2021, 72(8): 1057-1070.

- [60] SHIN J H, LEE J S, SEO J G. Assessment of cell adhesion, cell surface hydrophobicity, autoaggregation, and lipopolysaccharide-binding properties of live and heat-killed *Lactobacillus acidophilus* CBT LA1[J]. Korean Journal of Microbiology, 2015, 51 (3): 241-248.
- [61] MICHELUTTI L, BULFONI M, NENCIONI E. A novel pharmaceutical approach for the analytical validation of probiotic bacterial count by flow cytometry [J]. Journal of Microbiological Methods, 2020, 170: 105834.

Research of Postbiotics and Industrial Application

(*Probiotics Society of the Chinese Institute of Food Science and Technology, Beijing 100048*)

Abstract With the deepening of the research on the relationship between microorganisms and health benefit on the host, scientists have found that some inanimate microorganisms, microorganisms' components, with or without their metabolites is benefit on the hosts. 'Postbiotics' is widely used in the scientific literature, but lacks a clear definition in domestic and foreign. In this review, the term of 'postbiotics' was defined based on the scientific research and commercial application. The health benefit of postbiotics, standard regulations at home and abroad and technical problems of postbiotics in industrial application were summarized in this paper. It will be helpful for the scientific research and industrial development of 'postbiotics'.

Keywords postbiotics; inanimate microorganisms; microorganisms' components; health benefit; metabolites