

doi:10.12301/spxb202300813

文章编号:2095-6002(2024)02-0019-13

引用格式:张明,孙宇航.食品中后生元的研发和应用研究进展[J].食品科学技术学报,2024,42(2):19-31.



ZHANG Ming, SUN Yuhang. Research progress on development and application of postbiotic in foods[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 42(2): 19-31.

食品中后生元的研发和应用研究进展

张明, 孙宇航

(北京工商大学 食品与健康学院, 北京 100048)

摘要:后生元概念将原本混乱的灭活益生菌概念进行了统一,引起了更广泛的关注。目前,可制备后生元的菌株仍以传统益生菌为主,但随着下一代益生菌研究的深入,符合后生元概念的菌株也不断更新。首先,介绍了后生元最主要的健康功效是改善肠道健康,包括缓解肠道炎症、改善肠道菌群、缓解便秘等。其次,阐释了后生元还能够作用于其他组织,发挥改善代谢异常、维护口腔健康等功能。功效因子的揭示是阐明后生元多样化功能的关键。传统认为功效组分主要是细菌结构组分,如胞外多糖、肽聚糖等,然而近年来的研究证实短链脂肪酸、胞内蛋白、氨基酸代谢物等也发挥了重要的作用,后生元也被认为是多种功效组分的集合体。这也意味着它能够同时激活多类别的细胞表面受体,引发协同效应或交叉反应,从而发挥更直接、更广泛的生物活性作用。最后阐述了,从产业化角度,后生元有安全性更高、储运更方便、作用更直接等优势,在功能性膳食补充剂、食品品质改良剂、防腐剂等方面具有很好的应用前景。但是,在产业转化过程中也出现了一些问题和困难,主要集中在后生元功效循证并不充分,配套的安全评估方法、定性定量检测方法欠缺、法律法规缺乏支撑等方面。

关键词:后生元; 肠道健康; 菌群调节; 代谢异常; 健康效应

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

随着人们对益生菌研究的不断深入,学者们发现益生菌的功能活性不完全来自活菌,一些细菌的细胞膜、细胞壁以及代谢物同样具有相同或类似的功能活性。为了描述这些组分,一些学者使用副益生菌(paraprobiotics)、热灭活益生菌(heat inactivated probiotic)、代谢产物(metabolites)、无细胞上清(cell free supernatant)和细胞水解物(cell lysate)等词汇对这类活性成分进行描述,而这些描述终究没有得到学术界和产业界的一致认可和接受。2019年国际益生菌和益生元科学协会召集行业专家进行讨论和意见征集,将之前的概念进行归纳总结,于2021

年发布了关于后生元(postbiotics)的概念和共识,将后生元定义为“对宿主健康有益的无生命微生物和(或)其成分的制剂”^[1]。

后生元共识发布后迅速得到了学术界和食品产业界的关注和认可。基于Web of Science数据库的搜索数据,在2022年和2023年以postbiotic为主题词的文章发表数量均超过300篇。美国、日本、德国的益生菌公司也迅速推出了多款后生元产品。基于现有的研究报道,本文梳理后生元研究中的几个热点问题,从后生元的来源、健康功效、功效组分、食品中的应用前景及其标准法规和检测方法等几个方面进行

收稿日期:2023-12-31

基金项目:国家重点研发计划项目(2023YFF1104501);国家乳业技术创新中心项目(2022-科研公关-6);北京市教委-市自然科学基金联合资助项目(23JF0006)。

Foundation: National Key Research and Development Program of China (2023YFF1104501); Program of National Center of Technology Innovation for Dairy (2022-KYGG-6); Jointly Program of Beijing Municipal Education Commission and Municipal Natural Science Foundation (23JF0006).

第一作者:张明,男,副教授,博士,主要从事益生菌功能机制方面的研究。

论述,并对其目前存在的问题进行分析及展望,以期
为后生元在食品中的实际生产研发及应用提供参考。

1 后生元的菌株来源及其制备方法

根据国际益生菌和益生元科学协会所发布的后生元共识,后生元的菌株来源并不限于传统的益生菌,只要灭活菌体成分有助于人体的健康便可称之为“后生元”。出于生物安全和产业化生产的考虑,目前后生元的菌株来源主要以传统益生菌为主,如双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属等都是后生元的主要来源菌株。但是随着“二代益生菌”研究的深入,研究者发现灭活状态的“二代益生菌”,如黏液蛋白-阿克曼氏菌(*Akkermansia muciniphila*, Akk)、普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)、丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)等^[2],同样具有调节免疫、缓解炎症等后生元的益生功效,因此后生元的菌株来源也在不断更新变化中。

后生元是无生命的组分,其制备方法是以菌株的彻底灭活为目的,常用灭活方法为高温加热^[3]、电离、紫外辐射^[4]、高压^[5]、超声^[6]等(图1)。而具体选择制备后生元的方法,还需要考虑菌株类型、实验条件等因素,不同的处理方式对后生元的组分及

活性有着不同的影响。有研究比较了不同灭活温度下双歧杆菌和乳酸杆菌后生元化学组成和抗氧化、抗炎活性的变化,发现不同温度选择对后生元的性质有明显影响,过度的加热会导致后生元中热敏性成分降解,从而降低其抗氧化、抗炎等生物活性^[7]。因此,选择合适的制备方式是后生元制备的关键问题,然而目前后生元制备工艺的研究非常缺乏。

2 后生元的健康功效

2.1 肠道健康的改善作用

由于益生菌能够定植于肠道,进而实现改善免疫、调节菌群、改善肠道上皮屏障等多重功能。作为益生菌的衍生物,后生元的健康功效研究也主要集中于肠道健康。后生元以膳食方式摄入后,肠道是其最直接和最重要的作用靶点,后生元的各种组分可与肠道上皮细胞、固有层免疫细胞、肠道特征细菌等直接作用,产生的健康功效包括缓解肠道炎症、改善肠道菌群、缓解便秘等。

2.1.1 炎症性肠病的改善

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种典型慢性胃肠炎症性疾病,肠道细菌诱发的过度肠黏膜免疫反应是其发病因素之一,通常会引

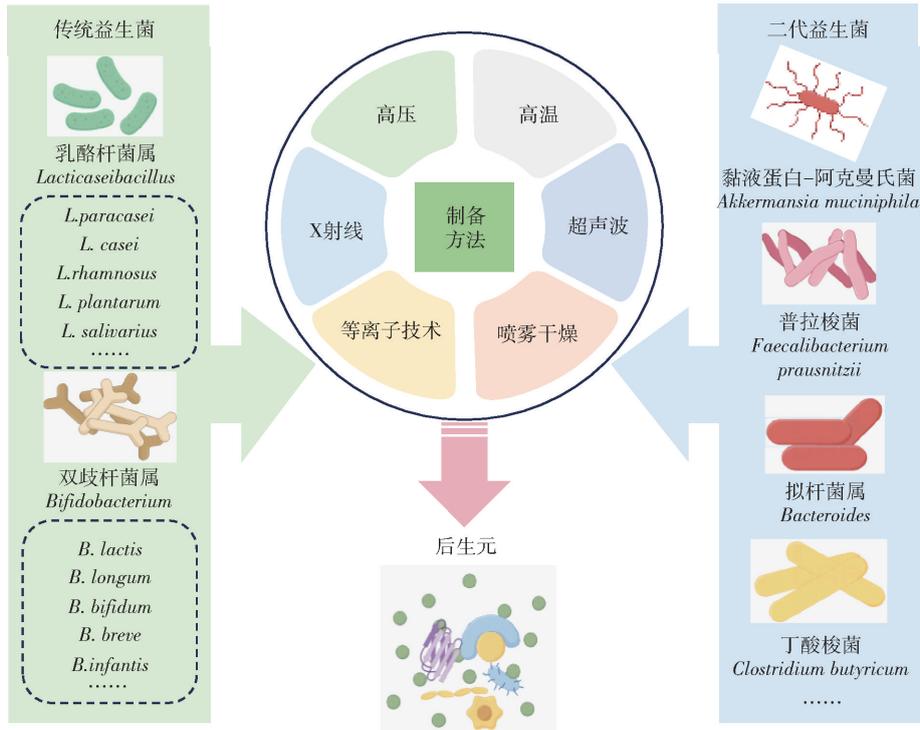


图1 后生元的菌株来源及其制备方法

Fig. 1 Derivative strains of postbiotic and methods for their preparation

反复的腹痛和腹泻。近期,越来越多的证据表明后生元对IBD的防治有显著的作用。研究发现,*Bifidobacterium adolescentis* B8598活菌和后生元在改善小鼠结肠炎疾病表型方面具有相似的能力^[8]; *Lactobacillus plantarum* Zhang的活菌、无细胞上清和热灭活菌体具有相同的改善IBD的能力^[9]。由于类似的研究结果不断出现,一项对热灭活菌体和活菌缓解IBD能力比较的Meta分析,纳入了43篇小鼠结肠炎干预研究,结果证明后生元与活菌对比,二者对于疾病小鼠结肠长度、疾病评分等结局指标的缓解作用并无显著差异^[10]。因此,后生元可以作为缓解IBD的潜在干预手段之一。

后生元作为多种活性物质的集合体,相比益生菌可能会更快、更直接地被肠道吸收。研究表明罗伊氏乳杆菌DS0384的无细胞上清能促进肠道类器官的成熟和分化,加快幼龄小鼠肠道上皮的形成和黏液的分泌,更快地构建肠道屏障。其中,无细胞上清中N-氨基甲酰-谷氨酸快速吸收和抗炎特性在预防婴幼儿肠道炎症反应中发挥了重要作用^[11]。

2.1.2 改善肠道菌群

肠道菌群在维持肠道稳态中起着重要的作用,包括营养物质的代谢、免疫调节及维持肠道屏障完整性等。益生菌能够定植于肠道并抵抗有害菌、增强有益菌的生长繁殖,改善肠道菌群的组成。由于后生元不具备类似的生态优势,因此后生元能否改变肠道菌群存在疑问。研究表明*Bifidobacterium adolescentis*不仅改善肠道炎症,其后生元在调节IBD小鼠的肠道菌群方面比活菌有更明显的调节作用^[8],可提升结肠中*Bacteroides intestinalis*和*Lactobacillus animalis*的相对丰度。对高脂模型小鼠施用热灭活的短乳杆菌KB290,可恢复小鼠肠道中拟杆菌门、脱铁杆菌门、厚壁菌门及疣微杆菌门的相对丰度,更加接近于正常小鼠的肠道微生物组成^[12]。研究指出,热灭活的植物乳杆菌TWK10可以显著促进产醋酸盐及丁酸盐的细菌丰度的提高,如双歧杆菌属、丁酸梭菌属、厚壁菌门^[13]。

结果表明,尽管后生元不能定植于肠道,但后生元的活性成分中可能含有一些具有抑菌或菌群调节功效的物质。丁酸盐是后生元的活性组分之一,它是由丁酸梭菌或其他肠道菌群产生的。研究发现,对小鼠施用丁酸盐后,调节了发炎的远端结肠的菌群组成,提高了产丁酸盐的细菌的丰度^[14]。研究指出丁酸盐可以改善高脂饮食小鼠的肠道菌群失衡,

同时提高乳杆菌属、经黏液真杆菌属等有益菌的丰度^[15]。此外,细菌分泌的细菌素、有机酸、肽聚糖等能够改善肠道微生态组成。

2.1.3 肠道黏膜免疫调节

肠道黏膜免疫系统是免疫器官中免疫反应最为活跃的部位,承受着肠道中各类致病菌、共生菌及膳食抗原的刺激。研究者很早就发现,一些益生菌的无细胞上清中含有抗炎组分。2004年,Grangette等^[16]的研究发现植物乳杆菌能够显著提升单核细胞抗炎因子IL-10的表达量,这种抗炎效应与菌体中磷壁酸的含量直接相关;作为重要的后生元组分,磷壁酸能够结合细胞TLR-2受体,抑制炎症反应的发生。研究发现植物乳杆菌与*Bacillus velezensis*联合的后生元能够提升小鼠体内自然杀伤细胞的活性,降低巨噬细胞的炎症反应^[17]。有研究使用4种不同的热处理方式杀灭乳酸菌,在免疫调节和对Caco-2细胞的黏附方面进行了比较,指出热灭活的粪肠杆菌YM-73和唾液乳杆菌AP-32可以改善Th1/Th2细胞因子失衡的现象^[18]。目前,后生元对肠道免疫调节的研究主要集中于炎症反应的抑制、辅助型T细胞的分化调控等方面。

后生元对肠道黏膜免疫的调节不仅影响肠道健康,还可能影响着全身各处的免疫应答和炎症反应。一项人群试验结果表明热灭活的副干酪乳杆菌MCC1849可以增强85岁老年人对流感疫苗(甲型H1N1、甲型H2N2和乙型)接种后的抗体反应,MCC1849组老年人血液中疫苗抗原数量显著增加^[19]。研究指出口服热灭活的副干酪乳杆菌MCC1849通过Tfh细胞诱导IgA的产生,证明了该乳酸菌具有增强肠道免疫反应的能力^[20]。由于后生元已被证实的功能活性不限于肠道,后生元对肠道黏膜局部免疫和全身性免疫的调节作用是揭示这些功能的重要机制之一,也是目前诸多“肠-X-轴”研究中的热点问题。

2.1.4 改善便秘

便秘是一种全球性的消化系统疾病,肠道微生物组在便秘的发病机制中起着重要的作用,肠道微生物群通过调节肠道功能和与中枢神经系统的沟通来影响便秘的发展^[21]。既然后生元能够改善肠道菌群的结构,它能否改善宿主便秘成为引人关注的问题。研究对便秘超过两周的人群进行热灭活长双歧杆菌CLA8013干预,研究指出和对照组相比,后生元干预组人群的排便频率增加,粪便稠度、排便痛感明显改

善^[22];另有研究同样对排便频率较低的人群进行热灭活干酪乳酪杆菌 327 的干预,与安慰剂组对比,后生元的摄入显著改善了便秘人群的排便频率^[23]。

2.2 改善机体代谢紊乱

肠道菌群与人体代谢紊乱之间的关系是过去十年的研究热点,菌群对人体代谢紊乱的调控很大程度上依赖微生物产生的各类代谢物,以及它们与宿主细胞上的受体之间的相互作用^[24],这些代谢物包括短链脂肪酸(SCFAs)、胆汁酸、多肽、色氨酸代谢物等。后生元作为多种益生菌代谢物的集合体,在调控代谢紊乱方面具有一定的天然优势。Cavallari 等^[25]首次发现细菌细胞壁来源的胞壁二肽(muramyl dipeptide,MDP)可降低肥胖小鼠的脂肪炎症和葡萄糖耐量,模式识别受体 NOD2 和干扰素调节因子 4 介导了 MDP 的调节作用。研究发现,丁酸能够降低肥胖小鼠的胰岛素抵抗,原因在于丁酸能够激活 AMPK、促进能量消耗并且诱导线粒体的能量代谢^[26]。作为下一代益生菌的典型代表,热灭活 Akk 菌可提高胰岛素抵抗患者约 30% 的胰岛素敏感性,降低受试者的体重和体脂含量,而活菌却没有上述功效^[27]。随后的研究进一步证实灭活 Akk 菌中含有的外膜蛋白 P9、Amuc-1100 能够起到促进 GLP-1 分泌的作用,具有很好的改善代谢紊乱的活性^[28]。由于代谢紊乱一直是学术界最关注的公共健康问题,后生元调节代谢紊乱作用机制解析也比较深入,逐步由完整的灭活菌体到后生元中某一种特定的功能组分。

2.3 其他益生活性

口腔菌群是人体三大菌群之一,口腔微生物群的失调是口腔疾病发展的首要前提^[29]。正常口腔放线菌门、变形菌门、梭杆菌门、拟杆菌门和厚壁菌门等细菌占口腔总体微生物群的 80%~95%^[30-31],当它们之间的动态平衡被破坏,有益菌的主导地位丧失,便会致病菌的增殖,并最终引发牙周炎、龋齿、口臭等疾病。Wuri 等^[32]招募了 68 名口臭患者,分别给予副干酪乳杆菌 ET-22 活菌和热灭活菌群的干预,证实灭活菌干预下挥发性硫化物、吲哚等挥发性物质显著下降,口腔中潜在口臭致病菌的丰度也明显下降。随后 Guo 等^[33]的研究发现:副干酪乳杆菌 ET-22 灭活菌的能够抑制口腔致病菌生物膜的形成,抑制黏附基因、耐酸基因的表达,降低其在口腔中的致病性^[33]。另一项类似的研究指出:乳酸链球菌代谢物中含有的抗菌肽有效改善了口

腔中的微生物组成^[34],降低了口腔疾病的发病风险。

皮肤菌群是人体另一个重要的微生态系统,皮肤菌群的失衡与痤疮、湿疹、特异性皮炎等多种皮肤疾病相关^[35]。相关研究指出健康的皮肤菌群特征可以改变皮肤免疫、维持皮肤健康屏障及提高病原体的防护作用等^[36-37]。研究指出热灭活的春江乳球菌 CAU 1447 调节了细胞因子(IL-4、IL-6、IL-10 和 TNF- α)、生长因子(TGF- β 1、VEGF、PDGF 和 FGF)及趋化因子(CCL2 和 CXCL4)的表达情况,从而促进了小鼠的皮肤伤口愈合^[38]。特异性皮炎的特征是皮肤屏障功能紊乱,炎症及皮肤菌群的失调^[39]。研究将后生元制剂与护肤品一同涂抹于皮肤上,改善了屏障功能,并促进了健康皮肤微生物组的恢复^[40]。

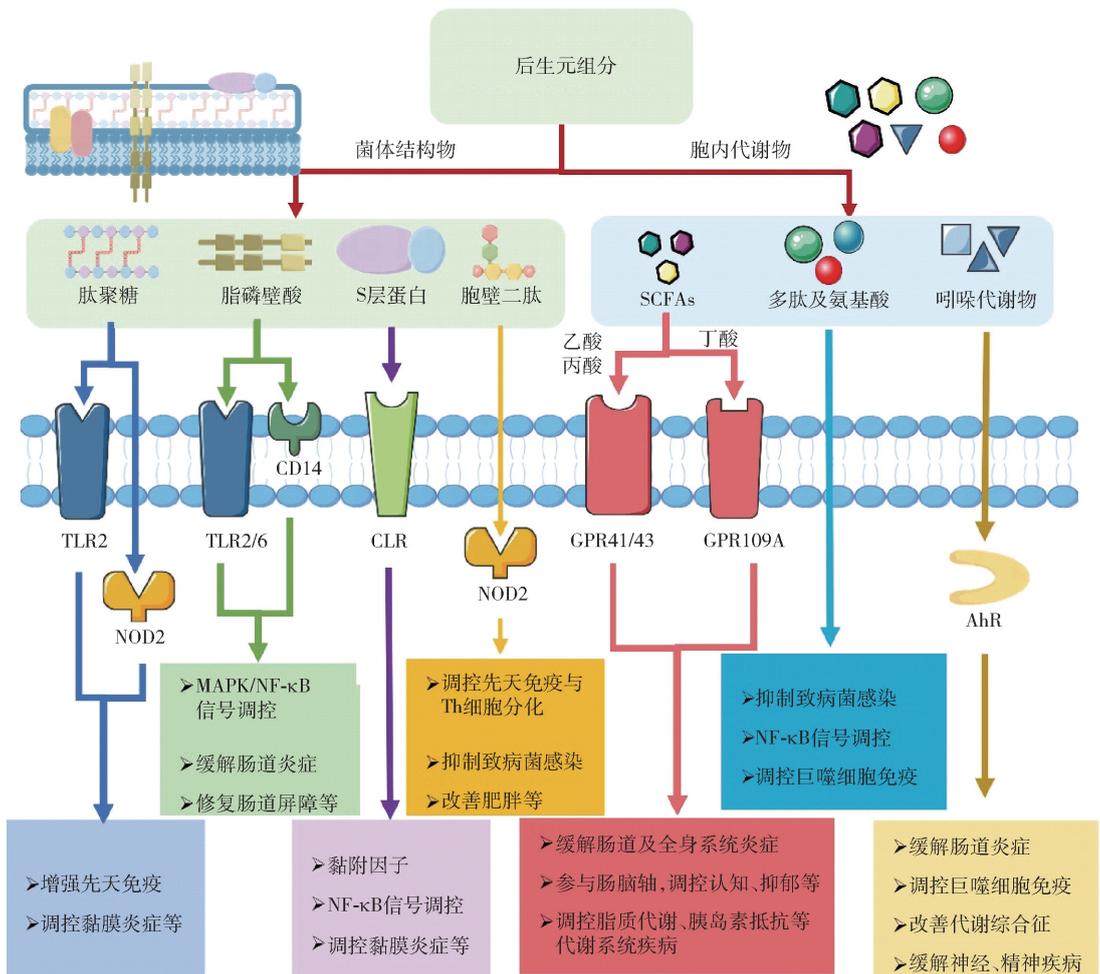
3 后生元的功效分子

作为灭活后菌体的统称,后生元组分主要分为两类,一类是细菌原本的结构组分如细胞壁及细胞膜及其附属的结构物,包括胞外多糖、肽聚糖、S 层蛋白、脂磷壁酸等,这部分物质已经有了较长的研究历史;另一部分是存在于细胞液中的活性分子,包括短链脂肪酸、胞内蛋白、氨基酸及多肽、氨基酸代谢物等诸多组分^[41-42]。近年来,益生菌和后生元的生理功能的多样性被逐步挖掘,结构相对保守的细胞壁及细胞膜结构组分不具备如此多样化的功能,这就意味着细胞液中的活性物质中含有大量的潜在活性组分。利用代谢组学、基因组学技术,学者们也对这部分活性成分及作用机制进行了深入挖掘。图 2 总结了目前已知后生元功效组分的细胞表面结合受体及作用机制。

3.1 菌体结构物

3.1.1 脂磷壁酸

脂磷壁酸(lipoteichoic acid,LTA)是一种与脂质共价结合的磷酸二酯连接的甘油磷酸酯的线性聚合物,是革兰氏阳性细菌细胞壁的特征结构成分^[43]。LTA 最早被认为是细菌表面重要的黏附素,帮助细菌在宿主肠道中定植。之后发现 LTA 具有很强的抗原性,可以刺激免疫应答和细胞信号传导途径。尤其是乳酸杆菌和双歧杆菌 LTA 具有很好的免疫调节和抑制炎症的作用。研究利用细菌肽聚糖对单核细胞过度诱导,激活 NF- κ B 的过度表达,随后采用植物乳杆菌的 LTA 干预,发现 LTA 抑制了 NF- κ B 的过表达,TNF- α 及白细胞介素 IL-8 表达量降



CD 为簇分化抗原 (cluster of differentiation), 也称为白细胞表面抗原或细胞标记物; CLR 为 C 型凝集素受体 (C-type lectin receptor), 是一类参与免疫应答的蛋白质, 能够识别并结合特定的糖结构; NOD 为核苷酸结合寡聚化域 (nucleotide-binding oligomerization domain), 是一种存在于许多免疫相关蛋白中的结构域, 参与信号转导过程; TLR 为 Toll 样受体 (Toll-like receptor), 是一类重要的免疫模式识别受体, 能够识别并结合病原体产生的特定分子模式, 从而启动免疫应答; GPR 为 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor), 是一类通过与 G 蛋白相互作用来传递信号的膜蛋白受体; AhR 为芳香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor), 是一种核受体, 参与调节多种生物学过程, 包括免疫应答; MAPK/NF- κ B 为丝裂原活化蛋白激酶/核因子 κ B (mitogen-activated protein kinase/nuclear factor- κ B), 是两个在免疫应答中起关键作用的信号通路。

图 2 后生元功效组分的细胞结合受体及作用机制

Fig. 2 Cell binding receptor and action mechanism of postbiotic bioactive components

低^[44]。有研究指出副干酪乳杆菌 D3-5 的 LTA 能够调节宿主 TLR2/p38-MAPK/NF- κ B 信号通路, 增强粘蛋白 (Muc2) 的表达, 抑制炎症标志物 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的表达, 进而缓解肠道炎症症状^[45]。此外, 双歧杆菌 BPL1 的 LTA 可以作为一种新的脂质调节剂, 减少脂肪的过度沉积^[46]。

LTA 的诸多生理功效都与 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLR) 介导的免疫调节作用密不可分。其中, TLR 家族的 TLR2 通常认为是 LTA 的特异性受体, LTA 通过 TLR2 介导的 NF- κ B 通路/丝裂原活化

蛋白激酶 (MAPKs) 信号转导通路发挥作用, 进而调节宿主相关免疫功能、调节免疫细胞抗炎、促炎细胞因子的表达^[47]。也有研究表明, 乳酸菌 LTA 的模式识别受体可能不只 TLR2, 共受体 CD14 和 CD36 以及 TLR2/TLR6 异源二聚体也可能参与其中^[48]。

3.1.2 肽聚糖

肽聚糖是由糖链、四肽尾及肽桥聚合而成的多层网状结构, 是乳酸菌中较为保守的结构, 仅在四肽尾和肽桥的氨基酸组成结构上有一定的多样性。但是, 作为乳酸菌外层结构含量最丰富的微生物相

关保守分子,肽聚糖对宿主免疫反应有一定的调节能力^[49]。研究灭活鼠李糖乳杆菌 CRL1505 的肽聚糖对营养不良小鼠呼吸系统黏膜免疫的影响发现,与营养不良小鼠相比,补充肽聚糖可提高小鼠呼吸道黏膜 IL-10 的表达水平,降低了炎症应答反应^[50]。研究发现肽聚糖的干预缓解了 LPS 诱导的炎症因子 TNF- α 、IFN- γ 表达,表明肽聚糖能够诱导炎症耐受性和增强先天免疫功能^[51]。而肽聚糖进一步降解的产物,胞壁酰二肽 MDP 不仅能够缓解肥胖等代谢紊乱,还能够缓解 DSS 诱导的小鼠结肠炎症,修复肠道上皮的紧密连接损伤,改善 Th17 细胞极化及抑制牙龈卟啉单胞菌等致病菌^[52]。

乳酸菌细胞壁中的肽聚糖可以被多种受体感知,包括 TLR2、NOD 受体家族以及肽聚糖识别蛋白 1 (PGLYRP1) 等,激活机体抗原递呈细胞,同时刺激机体分泌细胞因子和趋化因子,进而引发机体全身免疫反应和非免疫细胞的炎症反应^[49]。而胞壁酰二肽 MDP 只能在被 *N*-乙酰葡萄糖胺激酶磷酸化后,才能够被细胞质中的 NOD2 感知^[53]。

3.1.3 S 层蛋白

S 层蛋白存在于细菌菌体表面,以非共价键的方式结合于细胞膜上。S 层蛋白因其黏附功能最早被人们所熟知,大量研究证实乳酸菌与宿主肠道上皮细胞的黏附特性与 S 层蛋白关系密切。随后,S 层蛋白的功能被逐步拓展,包括抵御病原菌的侵袭、调节肠道免疫、抑制肠道炎症等^[54]。研究发现,嗜酸乳杆菌 CICC6074 的 S 层蛋白可以降低受感染小鼠血清中的 IFN- γ 、TNF- α 及 IL-1 β 水平,而提高 IL-10 的含量^[55];对分离的瑞士乳杆菌 MIMLh5 中 S 层蛋白进行研究,发现其通过减少肠上皮 Caco-2 细胞的 NF- κ B 活性进而发挥抗炎作用^[56]。

与肽聚糖类似,S 层蛋白作为另外一种微生物相关保守分子,能够被宿主的多个受体感知,而不同的感知受体可能会产生诱发炎症和抑制炎症两种截然不同的结果。S 层蛋白能够与 TLR 家族和 C-型凝集素受体家族 (CLP) 结合,与 TLR 家族尤其是 TLR2 的结合导致 NF- κ B 的激活和促炎因子上升,而与 C-型凝集素受体家族结合往往产生相反的效果^[57]。

3.2 胞内代谢物

3.2.1 短链脂肪酸

SCFAs 是链长为 2 至 6 个碳原子的饱和脂肪酸,是由肠道细菌发酵产生的主要代谢物^[58];细菌在肠道发酵后产生乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐等^[59],

它们是肠道中含量最高的短链脂肪酸,对维持肠道健康非常重要。Engerik 等^[60]研究乙酸盐的功能,发现齿双歧杆菌代谢的乙酸盐能够调节宿主组织血清素能系统中的 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT),通过肠脑轴减少焦虑。研究大脑动脉闭塞诱导的缺血性脑卒中小鼠模型,发现普拉梭杆菌、长双歧杆菌、共生梭菌代谢产生的 SCFAs 有效缓解了老年中风小鼠的神经功能缺陷和炎症,并提高了肠道、大脑及血浆中的短链脂肪酸浓度^[61]。研究结果表明,丁酸盐可以作为 ATP 合成的营养底物来调节细胞能量状态,增加紧密蛋白的合成来保护肠道上皮细胞免受脂多糖诱导的损害^[62]。研究发现丁酸盐可以通过白细胞介素-10 受体 α -亚基 (IL-10RA) 的依赖性机制抑制促进肠道通透性的紧密连接蛋白 (Cldn2) 表达,进而维持肠道屏障健康^[63]。Hamed 等^[64]的研究指出,丁酸盐作用于 SCFAs 受体 (FFAR3/GPR41),保护肠道上皮细胞线粒体免受大肠杆菌的侵袭,有助于改善肠道屏障功能。可见 SCFAs 作为后生元重要组成成分之一,对肠道屏障、免疫调节有益。

G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor, GPCRs) 是 SCFAs 最重要的传感器,在人体肠道和免疫细胞中广泛表达,这些受体调节下游信号通路,如 ERK/MAPK, JNK, p38 或 Akt/PI3K 等,控制机体的炎症、分化等。不同 SCFAs 激活的 GPCRs 种类不同^[65],丙酸盐、乙酸盐、己酸盐、丁酸盐和戊酸盐可激活 GPR41;GPR43 则由丙酸盐、乙酸盐激活,并调控下游炎症反应、抑制胰岛素介导的脂肪积累;GPR109A 是羧基酸类的重要受体,可特异性结合丁酸盐及其衍生物,但不能被乙酸和丙酸激活^[66]。因此,GPR109A 下游的调控途径可能是解释丁酸特殊作用的关键因素。其中,GPR43 在多种细胞类型中表达,如胰腺 β 细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、B 淋巴细胞和外周血单核细胞^[67],而 GPR41 最常见于交感神经系统。它们都可以在脂肪细胞和肠上皮细胞中找到。GPR109A 在肠上皮细胞、巨噬细胞、单核细胞和中性粒细胞上表达最高^[68]。

3.2.2 多肽

细菌代谢产生的肽作为后生元重要组分之一,以抗菌肽 (antimicrobial peptides, AMP) 最为知名。AMP 能在细菌膜上形成孔隙或抑制细菌壁的合成^[69],有着广谱抗菌特性。目前已有大量研究指出 AMP 在炎症性疾病、自身免疫和癌症等多种疾病中

发挥作用。LL-37被认为是人体中具有多种免疫调节功能的AMP,有研究指出LL-37可以抑制LPS诱导的NF- κ B中p50/65的表达,减少LPS诱导的TREM-1细胞受体的表达上调^[70]。LL-37还可以抑制IL-32诱导的炎性单核巨噬细胞的IL-1 β 、THF- α 、IL-6的表达^[71]。

抗菌肽能够作用于NF- κ B通路进行炎症调节,抑制炎症因子的表达。AMP不仅作为抗菌物质发挥作用,还具有较强的细胞膜活性,可以作为载体运输药物成分,和一些抗生素之间存在协同作用,在一定程度上减少抗生素的使用;另外,抗菌肽还能够进入细胞内,作用于细胞基因组,进而导致细菌结构破坏而发挥抗菌功效。

3.2.3 吡啶代谢物

吡啶衍生物是色氨酸在结肠中代谢产生的一类小分子物质,在芳香族氨基酸氨基转移酶和吡啶乳酸脱氢酶等多种酶的作用下,产生3-吡啶乙酸、3-吡啶丙烯酸、3-吡啶丙酸等多种组分,它们是芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)的激动剂,能够作用于AhR受体刺激下游信号的表达。有研究人员考察了3-吡啶丙酸对巨噬细胞细菌吞噬作用的影响,指出在体内和体外模型中,3-吡啶丙酸通过增强AhR的表达促进巨噬细胞的吞噬作用来控制宿主的感染情况^[72];有研究人员使用IL-1 β 构造体外大鼠软骨细胞炎症模型,检测3-吡啶丙酸对细胞毒性的影响,发现在3-吡啶丙酸的干预下,IL-1 β 诱导的炎症因子(NO、PGE2、TNF- α 、IL-6、iNOS、COX-2)的表达显著下降,通过AhR/NF- κ B轴缓解了软骨细胞的炎症表达^[73]。此外,吡啶代谢物还具有改善代谢综合征、缓解神经精神疾病及抵抗感染等功能。

4 后生元在食品中的应用

相比益生菌,后生元在应用的过程中有其独特的优势。1)安全性更高。后生元不会对某些疾病、易感人群造成感染,也没有抗生素耐药基因转移的风险;2)流通更方便。益生菌活菌极易失活,因此在流通过程中需考虑温度、水分、氧气的影响,相比而言后生元产品流通更方便、保存期更长;3)健康功效的独特性。后生元含有的多种活性成分益生作用更为直接,因此会产生类似益生菌活菌甚至更好更健康的功效^[74]。目前,后生元在功能性膳食补充剂、食品品质改良剂、防腐剂等

方面具有很好的应用前景。

4.1 功能性膳食补充剂

后生元具有改善宿主肠道菌群、调节免疫、改善代谢异常等作用,因此可作为功能性膳食补充剂应用到食品中^[75]。研究指出含有多株热灭活益生菌的混合型酸奶能够预防炎症因子诱导的肠道上皮屏障功能损坏^[76];含有后生元成分的口含片能够有效增强口腔免疫功能,抑制口腔中病原菌的生长,增加有益菌的数量^[77];研究使用添加有热灭活的加氏乳杆菌CP2305的饮料,对便秘人群进行干预,发现含后生元的饮料促进了受试者肠道中SCFAs浓度的增加,改变了肠道微生物组成,有效改善受试者的便秘症状^[78];研究同时使用鼠李糖乳杆菌LGG、嗜酸乳杆菌LA-5和乳歧杆菌BB-12活菌混合发酵饮料及后生元混合发酵饮料对抗生素相关腹泻患者进行干预,发现两组均有缓解抗生素相关腹泻的功效^[79]。目前,添加后生元的食品功能宣称主要集中于改善肠道健康方面,少数研究涉及口腔健康等。

4.2 食品品质改良剂

后生元除了具有健康功效,某些代谢物如胞外多糖等还可用于食品物化性质的改良。作为微生物合成并分泌到细胞壁外的一种次级代谢产物,多种乳酸菌具有极强的胞外多糖分泌能力。胞外多糖可以作为稳定剂、乳化剂、胶凝剂、增黏剂等,进而改变食品的乳化、凝胶和流变特性^[80]。研究指出,将骆驼奶中植物乳杆菌分离出的胞外多糖添加到奶酪中后,提高了奶酪的外观及整体品质,弥补了传统奶酪的感官缺陷^[81];将植物乳杆菌胞外多糖添加到酸面包和小麦面包中,可改善面包的硬度、色泽及含水率等特性^[82];自开菲尔籽粒中分离出的植物乳杆菌YW11代谢产生的胞外多糖添加到脱脂牛奶中,可显著提高产品在低温和酸性pH值下的黏度和热稳定性^[83]。

4.3 防腐剂及防腐包装材料

后生元组分中的有机酸、胞外多糖、多肽等具有良好的抗菌、抗氧化的功能,且相比于单一防腐剂具有制备简单、安全、抑菌谱广的优势。因此,有学者开始探讨后生元作为食品防腐剂或开发后生元防腐材料的可能性。研究将粪肠球菌发酵乳清获得的细菌素与明胶或甘油混合,发现制成抗菌薄膜材料能够有效控制奶酪中李斯特菌的生长^[84];研究还发现热灭活的嗜酸乳杆菌LA5、动物双歧杆菌BB-12后生元对嗜冷腐败菌具有较好的拮抗作用,可有效延长高水分马苏里拉奶酪的保质期^[85];有研究将副干

酪乳杆菌 ZX1231 的无细胞上清与细菌纳米纤维素混合,制备抗菌薄膜显著抑制了面包、牛奶、奶酪及酱油中真菌的生长^[86]。

5 后生元在食品中应用存在的问题

5.1 基础研究支撑不足

后生元是一个复杂的体系,尽管近几年的研究让我们对后生元有了一定认知,但从食品应用的角度来说,一些基础研究的支撑还有不足之处。

1) 来源菌株的范围和要求不明确。后生元选用的微生物必须是公认安全的,且拥有明确的遗传背景和生物学特性。后生元的来源菌株除了传统的益生菌,还有下一代的益生菌,如 Akk、普拉梭菌等,安全性尚未得到充分认证。而且,能否根据其原始微生物的安全性推断后生元的安全性也是存在争议的。

2) 功效的真实性和可靠性需要谨慎甄别。目前,后生元功效结果以细胞实验和动物实验结果居多,人群实验的证据较少,设计和组织完善的随机对照临床试验的证据更是少之又少,这直接导致很多学者对后生元的有效性持怀疑态度。

3) 对后生元组分的认知不足,无法准确量化后生元有效剂量和代谢过程。后生元是一个混合体系,其中含有种类丰富的组分,虽然研究者们已经探索出了部分组分的功效,但未知物质仍占大多数。后续研究应明确后生元中的关键组分,建立检测方法,如此才能量化后生元在宿主体内代谢、吸收的方式以及每日摄入量等关键信息。

4) 菌株灭活方式需深入研究。不同的灭活方式会产生不同的细胞裂解成分及活性物质,产生的后生元组分及其健康作用也存在差异,并且菌株灭活方式是否会引入新的食品安全风险也需要谨慎评估。

5.2 法规和标准不健全

后生元概念的出现,对于全球各国的食品监管系统都是一个很大的挑战。目前,国内外监管机构均未建立专门针对后生元食品或膳食补充剂的法规或标准管理框架,对后生元的使用及相关要求尚未建立共识。尽管各国已经出现了标称“后生元”的产品,但目前均以普通食品、保健食品的方式进行监管,并未建立专门的检测标准或评估规范。中国生物发酵产业协会于2023年2月发布《益生菌制品 乳酸菌类 后生元》的团体标准,该标准规定了益生菌制品乳酸菌类后生元的术语定

义、分类等要求,在理化指标方面,仅从游离氨基酸含量和有机酸含量的最低限值;在安全指标方面,也仅从重金属、致病菌的角度进行了安全限量的要求。同时要求后生元所用的菌种应符合《可用于食品的菌种名单》,有明确的分离来源、全基因组信息、分类鉴定和安全性评价。但是对于功能宣称范围、量化检测、加工方法等关键问题均未提及。从全球范围来看,后生元的检测、功能评估、安全监管等都是一个棘手的问题。但由于基础研究的欠缺,目前,相关部门和行业协会也无法得到足够的参考和依据来制定法律法规。

6 结论与展望

科学家很早就发现,灭活益生菌的组分具有与益生菌活菌类似的生理功效,由此产生了多个灭活菌体的概念。国际益生菌和益生元科学协会2021年发布的共识文章对之前的很多概念进行了统一,并且迅速得到学术界和产业界广泛认可。基于现有的研究报道,本文从后生元的来源菌株、健康功效、功效组分、食品中的应用及其标准法规等方面对现有研究结论进行了梳理和论述,以期为后生元在食品中的实际生产、研发及应用提供参考。

当前,后生元的菌株来源主要以传统益生菌为主,但随着下一代益生菌研究的深入,符合后生元概念的菌株列表也在不断更新。作为益生菌的衍生物,后生元的健康功效研究也主要将肠道作为其最重要的作用靶点,后生元的各种组分可与肠道上皮细胞、免疫细胞、肠道菌群等直接作用,起到缓解肠道炎症、改善肠道菌群、缓解便秘等作用。此外,与益生菌类似,后生元功效组分还可通过直接或间接的方式作用于口腔、大脑、胰岛等其他组织,还能够改善代谢异常、口腔健康、神经退行性疾病等。

传统认为,后生元中的功效组分主要是细菌的结构组分,如胞外多糖、肽聚糖、S层蛋白、脂磷壁酸等细胞膜和细胞壁的结构组分,然而随着后生元功能研究的深入,越来越多的功效分子被逐步揭示,包括短链脂肪酸、大分子胞内蛋白、氨基酸及多肽、氨基酸代谢物等诸多组分,这些组分在宿主中有不同的结合受体和作用方式。因此,后生元作为众多功效组分的集合体,能够同时激活多类别的细胞表面受体,引发协同效应或交叉反应,从而发挥更直接、更广泛的生物活性作用。

从产业应用的角度看,相比益生菌,后生元有安全性更高、流通更方便、作用更直接等独特优势,在功能性膳食补充剂、食品品质改良剂、防腐剂及防腐包装材料等方面具有很好的应用前景。但是,在产业应用的过程中,也出现了一些问题和困难,主要集中在后生元功效循证并不充分,配套的安全评估方法、定性定量检测方法欠缺,法律法规缺乏支撑等方面。需要在今后的研究中,更加强化后生元功效研究的权威性和可靠性,并建立全面可靠的后生元的定性、定量检测方法和安全评估方法,为国家和行业相关法律法规标准的制定提供参考和依据。

参考文献:

- [1] 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: 649 - 667.
- [2] KAZMIERCZAK-SIEDLECKA K, SKONIECZNA-ŻYDECKA K, HUPP T, et al. Next-generation probiotics: do they open new therapeutic strategies for cancer patients? [J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2035659.
- [3] BEN OTHMAN M, SAKAMOTO K. Effect of inactivated *Bifidobacterium longum* intake on obese diabetes model mice (TSOD) [J]. *Food Research International*, 2020, 129: 108792.
- [4] VAN HOFFEN E, KORTHAGEN N M, DE KIVIT S, et al. Exposure of intestinal epithelial cells to UV-killed *Lactobacillus GG* but not *Bifidobacterium breve* enhances the effector immune response *in vitro* [J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2010, 152(2): 159 - 168.
- [5] DINIĆ M, LUKIĆ J, DJOKIĆ J, et al. *Lactobacillus fermentum* postbiotic-induced autophagy as potential approach for treatment of acetaminophen hepatotoxicity [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 594.
- [6] NAKAMURA F, ISHIDA Y, SAWADA D, et al. Fragmented lactic acid bacterial cells activate peroxisome proliferator-activated receptors and ameliorate dyslipidemia in obese mice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(12): 2549 - 2559.
- [7] SUN Z, ZHAO Z, FANG B, et al. Effect of thermal inactivation on antioxidant, anti-inflammatory activities and chemical profile of postbiotics [J]. *Foods*, 2023, 12(19): 3579.
- [8] ZHANG T, ZHANG W Q, FENG C J, et al. Stronger gut microbiome modulatory effects by postbiotics than probiotics in a mouse colitis model [J]. *NPJ Science of Food*, 2022, 6: 53.
- [9] JIN J H, WU S Q, XIE Y H, et al. Live and heat-killed cells of *Lactobacillus plantarum* Zhang-LL ease symptoms of chronic ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium in rats [J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 71: 103994.
- [10] POATY DITENGOU J I C, AHN S I, CHAE B, et al. Are heat-killed probiotics more effective than live ones on colon length shortness, disease activity index, and the histological score of an inflammatory bowel disease-induced murine model? A meta-analysis [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2023, 134(3): lxad008.
- [11] LEE H N, JUNG K B, KWON O, et al. *Limosilactobacillus reuteri* DS0384 promotes intestinal epithelial maturation via the postbiotic effect in human intestinal organoids and infant mice [J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2121580.
- [12] 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.
- [13] LEE C C, LIAO Y C, LEE M C, et al. Different impacts of heat-killed and viable *Lactiplantibacillus plantarum* TWK10 on exercise performance, fatigue, body composition, and gut microbiota in humans [J]. *Microorganisms*, 2022, 10(11): 2181.
- [14] JIMINEZ J A, UWIERA T C, ABBOTT D W, et al. Butyrate supplementation at high concentrations alters enteric bacterial communities and reduces intestinal inflammation in mice infected with *Citrobacter rodentium* [J]. *mSphere*, 2017, 2(4): e00243 - e00217.
- [15] ZHOU D, PAN Q, XIN F Z, et al. Sodium butyrate attenuates high-fat diet-induced steatohepatitis in mice by improving gut microbiota and gastrointestinal barrier [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2017, 23(1): 60 - 75.
- [16] GRANGETTE C, NUTTEN S, PALUMBO E, et al. Enhanced antiinflammatory capacity of a *Lactobacillus plantarum* mutant synthesizing modified teichoic acids [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(29): 10321 - 10326.
- [17] JUNG Y J, KIM H S, JAYGAL G, et al. Postbiotics enhance NK cell activation in stress-induced mice through gut microbiome regulation [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2022, 32(5): 612 - 620.

- [18] OU C C, LIN S L, TSAI J J, et al. Heat-killed lactic acid bacteria enhance immunomodulatory potential by skewing the immune response toward Th1 polarization [J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(5): 260 – 267.
- [19] MARUYAMA M, ABE R, SHIMONO T, et al. The effects of non-viable *Lactobacillus* on immune function in the elderly: a randomised, double-blind, placebo-controlled study[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2016, 67(1): 67 – 73.
- [20] 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]. *PLoS One*, 2018, 13(6): e0199018.
- [21] SIMON E, CÁLINOIU L F, MITREA L, et al. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: implications and beneficial effects against irritable bowel syndrome[J]. *Nutrients*, 2021, 13(6): 2112.
- [22] OKADA K, TAKAMI D, MAKIZAKI Y, et al. Effects of *Bifidobacterium longum* CLA8013 on bowel movement improvement: a placebo-controlled, randomized, double-blind study[J]. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 2023, 42(3): 213 – 221.
- [23] SAITO Y, MIHARA T, MARUYAMA K, et al. Effects of intake of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 327 on skin conditions: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study in women[J]. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 2017, 36(3): 111 – 120.
- [24] DE VOS W D, TILG H, VAN HUL M, et al. Gut microbiome and health: mechanistic insights [J]. *Gut*, 2022, 71: 1020 – 1032.
- [25] CAVALLARI J F, FULLERTON M D, DUGGAN B M, et al. Muramyl dipeptide-based postbiotics mitigate obesity-induced insulin resistance via IRF4 [J]. *Cell Metabolism*, 2017, 25(5): 1063 – 1074.
- [26] GAO Z G, YIN J, ZHANG J, et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice[J]. *Diabetes*, 2009, 58(7): 1509 – 1517.
- [27] 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: 1096 – 1103.
- [28] YOON H S, CHO C H, YUN M S, et al. *Akkermansia muciniphila* secretes a glucagon-like peptide-1-inducing protein that improves glucose homeostasis and ameliorates metabolic disease in mice [J]. *Nature Microbiology*, 2021, 6: 563 – 573.
- [29] ABDUL-HUSSAIN Y, JUMA' A Z, FADHIL R. Correlation between caries related microorganisms in the dental plaque and saliva with dental caries level in the upper and lower jaws in 5 – 9 years old children in Baghdad city[J]. *Journal of Baghdad College of Dentistry*, 2016, 28(3): 132 – 136.
- [30] BIK E M, LONG C D, ARMITAGE G C, et al. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals [J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(8): 962 – 974.
- [31] AHN J, YANG L Y, PASTER B J, et al. Oral microbiome profiles: 16S rRNA pyrosequencing and microarray assay comparison [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22788.
- [32] WURI G N, LIU F D, SUN Z, et al. *Lactobacillus paracasei* ET-22 and derived postbiotics reduce halitosis and modulate oral microbiome dysregulation: a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial[J]. *Food & Function*, 2023, 14(16): 7335 – 7346.
- [33] GUO M, WU J M, HUNG W, et al. *Lactobacillus paracasei* ET-22 suppresses dental caries by regulating microbiota of dental plaques and inhibiting biofilm formation [J]. *Nutrients*, 2023, 15(15): 3316.
- [34] RADAIC A, YE C C, PARKS B, et al. Modulation of pathogenic oral biofilms towards health with nisin probiotic[J]. *Journal of Oral Microbiology*, 2020, 12(1): 1809302.
- [35] PAETZOLD B, WILLIS J R, PEREIRA DE LIMA J, et al. Skin microbiome modulation induced by probiotic solutions[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 95.
- [36] DE PESSEMIER B, GRINE L, DEBAERE M, et al. Gut-skin axis: current knowledge of the interrelationship between microbial dysbiosis and skin conditions [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 353.
- [37] NAVARRO-LÓPEZ V, MARTÍNEZ-ANDRÉS A, RAMÍREZ-BOSCA A, et al. Efficacy and safety of oral administration of a mixture of probiotic strains in patients with psoriasis: a randomized controlled clinical trial [J]. *Acta Dermato-Venereologica*, 2019, 99(12): 1078 – 1084.
- [38] NAM Y, KIM J, BAEK J, et al. Improvement of cutaneous wound healing via topical application of heat-killed *Lactococcus chungangensis* CAU 1447 on diabetic mice [J]. *Nutrients*, 2021, 13(8): 2666.
- [39] BALDWIN H, ALEXIS A F, ANDRIESEN A, et al. Evidence of barrier deficiency in Rosacea and the importance of integrating OTC skincare products into treatment regimens[J]. *Journal of Drugs in Dermatology*, 2021, 20(4): 384 – 392.

- [40] BALDWIN H, AGUH C, ANDRIESEN A, et al. Atopic dermatitis and the role of the skin microbiome in choosing prevention, treatment, and maintenance options[J]. *Journal of Drugs in Dermatology*, 2020, 19(10): 935–940.
- [41] JASTRZAB R, GRACZYK D, SIEDLECKI P. Molecular and cellular mechanisms influenced by postbiotics [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(24): 13475.
- [42] HERNÁNDEZ-GRANADOS M J, FRANCO-ROBLES E. Postbiotics in human health: possible new functional ingredients? [J]. *Food Research International*, 2020, 137: 109660.
- [43] HAN N N, JIA L, SU Y Y, et al. *Lactobacillus reuteri* extracts promoted wound healing via PI3K/AKT/ β -catenin/TGFB1 pathway [J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019, 10(1): 243.
- [44] KIM H G, LEE S Y, KIM N R, et al. *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid down-regulated *Shigella flexneri* peptidoglycan-induced inflammation[J]. *Molecular Immunology*, 2011, 48(4): 382–391.
- [45] WANG S H, 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.
- [46] BALAGUER F, ENRIQUE M, LLOPIS S, et al. Lipoteichoic acid from *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BPL1: a novel postbiotic that reduces fat deposition via IGF–1 pathway [J]. *Microbial Biotechnology*, 2022, 15(3): 805–816.
- [47] GINSBURG I. Role of lipoteichoic acid in infection and inflammation [J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2002, 2(3): 171–179.
- [48] NILSEN N J, DEININGER S, NONSTAD U, et al. Cellular trafficking of lipoteichoic acid and Toll-like receptor 2 in relation to signaling: role of CD14 and CD36 [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2008, 84(1): 280–291.
- [49] WOLF A J, UNDERHILL D M. Peptidoglycan recognition by the innate immune system[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18: 243–254.
- [50] KOLLING Y, SALVA S, VILLENA J, et al. Non-viable immunobiotic *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 and its peptidoglycan improve systemic and respiratory innate immune response during recovery of immunocompromised-malnourished mice [J]. *International Immunopharmacology*, 2015, 25(2): 474–484.
- [51] MURPHEY E D, SHERWOOD E R. Pretreatment with the Gram-positive bacterial cell wall molecule peptidoglycan improves bacterial clearance and decreases inflammation and mortality in mice challenged with *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Microbes and Infection*, 2008, 10(12/13): 1244–1250.
- [52] YOU Y Y, XIAO Y T, LU Y, et al. Postbiotic muramyl dipeptide alleviates colitis via activating autophagy in intestinal epithelial cells [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 1052644.
- [53] STAFFORD C A, GASSAUER A M, DE OLIVEIRA M C C, et al. Phosphorylation of muramyl peptides by NAGK is required for NOD2 activation [J]. *Nature*, 2022, 609(7927): 590–596.
- [54] KAJIKAWA A, ZHANG L, LAVOY A, et al. Mucosal immunogenicity of genetically modified *Lactobacillus acidophilus* expressing an HIV–1 epitope within the surface layer protein [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0141713.
- [55] ZHANG T, PAN D D, YANG Y J, et al. Effect of *Lactobacillus acidophilus* CICC 6074 S-layer protein on colon cancer HT–29 cell proliferation and apoptosis [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(9): 2639–2647.
- [56] TAVERNITI V, STUKNYTE M, MINUZZO M, et al. S-layer protein mediates the stimulatory effect of *Lactobacillus helveticus* MIMLh5 on innate immunity [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(4): 1221–1231.
- [57] ASSANDRI M H, MALAMUD M, TREJO F M, et al. S-layer proteins as immune players: tales from pathogenic and non-pathogenic bacteria [J]. *Current Research in Microbial Sciences*, 2023, 4: 100187.
- [58] KIM M, FRIESEN L, PARK J, et al. Microbial metabolites, short-chain fatty acids, restrain tissue bacterial load, chronic inflammation, and associated cancer in the colon of mice [J]. *European Journal of Immunology*, 2018, 48(7): 1235–1247.
- [59] GILL P A, VAN ZELM M C, MUIR J G, et al. Review article: short chain fatty acids as potential therapeutic agents in human gastrointestinal and inflammatory disorders [J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2018, 48(1): 15–34.
- [60] ENGEVIK M A, LUCK B, VISUTHRANUKUL C, et al. Human-derived *Bifidobacterium dentium* modulates the mammalian serotonergic system and gut-brain axis [J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2021, 11(1): 221–248.
- [61] LEE J, D’AIGLE J, ATADJA L, et al. Gut microbiota-

- derived short-chain fatty acids promote poststroke recovery in aged mice [J]. *Circulation Research*, 2020, 127(4): 453 – 465.
- [62] YAN H, AJUWON K M. Butyrate modifies intestinal barrier function in IPEC-J2 cells through a selective up-regulation of tight junction proteins and activation of the Akt signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179586.
- [63] ZHENG L, KELLY C J, BATTISTA K D, et al. Microbial-derived butyrate promotes epithelial barrier function through IL-10 receptor-dependent repression of claudin-2 [J]. *Journal of Immunology*, 2017, 199(8): 2976 – 2984.
- [64] HAMED S A, MOHAN A, NAVANEETHA K S, et al. Butyrate reduces adherent-invasive *E. coli*-evoked disruption of epithelial mitochondrial morphology and barrier function; involvement of free fatty acid receptor 3 [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(2): 2281011.
- [65] MELHEM H, KAYA B, AYATA C K, et al. Metabolite-sensing G protein-coupled receptors connect the diet-microbiota-metabolites axis to inflammatory bowel disease [J]. *Cells*, 2019, 8(5): 450.
- [66] MAO C Y, GAO M R, ZANG S K, et al. Orthosteric and allosteric modulation of human HCAR2 signaling complex [J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 7620.
- [67] KARAKI S I, TAZOE H, HAYASHI H, et al. Expression of the short-chain fatty acid receptor, GPR43, in the human colon [J]. *Journal of Molecular Histology*, 2008, 39(2): 135 – 142.
- [68] AHMED K, TUNARU S, OFFERMANN S. GPR109A, GPR109B and GPR81, a family of hydroxycarboxylic acid receptors [J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2009, 30(11): 557 – 562.
- [69] SCOCCHI M, MARDIROSSIAN M, RUNTI G, et al. Non-membrane permeabilizing modes of action of antimicrobial peptides on bacteria [J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2016, 16(1): 76 – 88.
- [70] AMATNGALIM G D, NIJNIK A, HIEMSTRA P S, et al. Cathelicidin peptide LL-37 modulates TREM-1 expression and inflammatory responses to microbial compounds [J]. *Inflammation*, 2011, 34(5): 412 – 425.
- [71] CHOI K Y G, NAPPER S, MOOKHERJEE N. Human cathelicidin LL-37 and its derivative IG-19 regulate interleukin-32-induced inflammation [J]. *Immunology*, 2014, 143(1): 68 – 80.
- [72] HUANG Z B, HU Z, LU C X, et al. Gut microbiota-derived indole 3-propionic acid partially activates aryl hydrocarbon receptor to promote macrophage phagocytosis and attenuate septic injury [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, 12: 1015386.
- [73] ZHUANG H M, REN X S, JIANG F Z, et al. Indole-3-propionic acid alleviates chondrocytes inflammation and osteoarthritis via the AhR/NF- κ B axis [J]. *Molecular Medicine*, 2023, 29(1): 17.
- [74] SANDERS M 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.
- [75] ZHONG Y J, WANG T, LUO R L, et al. Recent advances and potentiality of postbiotics in the food industry: composition, inactivation methods, current applications in metabolic syndrome, and future trends [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022: 1 – 25.
- [76] ZENG J, JIANG J J, ZHU W Y, et al. Heat-killed yogurt-containing lactic acid bacteria prevent cytokine-induced barrier disruption in human intestinal Caco-2 cells [J]. *Annals of Microbiology*, 2016, 66(1): 171 – 178.
- [77] LIN C W, CHEN Y T, HO H H, et al. Impact of the food grade heat-killed probiotic and postbiotic oral lozenges in oral hygiene [J]. *Aging*, 2022, 14(5): 2221 – 2238.
- [78] SAWADA D, SUGAWARA T, ISHIDA Y, et al. Effect of continuous ingestion of a beverage prepared with *Lactobacillus gasseri* CP2305 inactivated by heat treatment on the regulation of intestinal function [J]. *Food Research International*, 2016, 79: 33 – 39.
- [79] WENUS C, GOLL R, LOKEN E B, et al. Prevention of antibiotic-associated diarrhoea by a fermented probiotic milk drink [J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2008, 62(2): 299 – 301.
- [80] POURJAFAR H, ANSARI F, SADEGHI A, et al. Functional and health-promoting properties of probiotics' exopolysaccharides; isolation, characterization, and applications in the food industry [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(26): 8194 – 8225.
- [81] AYYASH M, ABU-JDAYIL B, HAMED F, et al. Rheological, textural, microstructural and sensory impact of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus plantarum* isolated from camel milk on low-fat akawi cheese [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 87: 423 – 431.
- [82] GEZGINC Y, KARA. The effect of exopolysaccharide producing *Lactobacillus plantarum* strain addition on

- sourdough and wheat bread quality[J]. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2019, 11(1): 95 – 106.
- [83] WANG J, ZHAO X, TIAN Z, et al. Characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 isolated from Tibet Kefir[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 125: 16 – 25.
- [84] SILVA S P M, TEIXEIRA J A, SILVA C C G. Application of enterocin- whey films to reduce *Listeria monocytogenes* contamination on ripened cheese[J]. *Food Microbiology*, 2023, 109: 104134.
- [85] SHARAFI H, MORADI M, AMIRI S. Application of cheese whey containing postbiotics of *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Bifidobacterium animalis* BB12 as a preserving liquid in high-moisture mozzarella [J]. *Foods*, 2022, 11(21): 3387.
- [86] ZHENG X, NIE W X, XU J, et al. Characterization of antifungal cyclic dipeptides of *Lactocaseibacillus paracasei* ZX1231 and active packaging film prepared with its cell-free supernatant and bacterial nanocellulose [J]. *Food Research International*, 2022, 162 (Pt A): 112024.

Research Progress on Development and Application of Postbiotic in Foods

ZHANG Ming, SUN Yuhang

(School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: The postbiotic concept had unified the original confusing concept of inactivated probiotics and attracted wider attention. Currently, postbiotics were mainly prepared by traditional probiotics, but as the research on next-generation probiotics intensifies, the strains that fit the postbiotic concept are constantly being updated. First of all, improving intestinal health was the most important health effect of postbiotics, including relieving intestinal inflammation, modulating intestinal microbiome, and relieving constipation. Secondly, this paper explained that postbiotics could also act on other tissues to improve metabolic abnormalities, maintain oral health and play other functions. The revelation of bioactive components was the key to elucidating the diverse functions of postbiotics. Traditionally, it was believed that the bioactive components were mainly bacterial structural components, such as extracellular polysaccharides and peptidoglycan, and etc.. However, recent studies had confirmed that short-chain fatty acids, intracellular proteins, amino acid metabolites, and etc., also played an important role, and that postbiotics were also considered to be a collection of multiple efficacy components. This also meant that it could activate multiple cell surface receptors at the same time, triggering synergistic effects or cross-reactions, thus exerting a more direct and wider range of bioactive effects. Finally, from the perspective of industrialization, postbiotic had unique advantages such as higher safety, more convenient storage and transportation, more direct action, and etc., and had a very good application prospect in functional dietary supplements, food quality improvers, preservatives, and etc.. There were some problems and difficulties in the process of industrialization, such as the insufficient evidence for efficacy of postbiotic, the lack of supporting safety assessment methods, qualitative and quantitative testing methods, and the lack of legal and regulatory support.

Keywords: postbiotic; gut health; microbiome modulation; metabolic dysbiosis; health benefit

(责任编辑:李 宁)