

## 显微镜观测益生菌食品

# 显微镜观测益生菌食品

作者: 理学硕士 Ka Ian Hoi, 工学博士、大学教授 Thomas Becker  
啤酒和饮料技术教席,  
慕尼黑工业大学, 德国

Thorsten Kern 博士  
卡尔蔡司显微镜公司, 德国

日期: 2018 年 6 月

**益生菌是一种代表健康生活方式的功能性食品。从酸奶饮品、生物制剂到面包和酸奶的发酵剂培养物，超市货架上和药店中充斥着各种益生菌产品。益生菌产品能够改善健康状况、增强免疫系统或促进消化。这一说法可信吗？这种物质真的有此功效吗？**

## 关于益生菌

益生菌是指包含诸如乳酸菌或酵母菌之类活性微生物的物质。这类物质可被添加到食品和药品中[1]。

在德国，不同的益生菌剂型需遵照不同的法律和许可规定。例如若作为药品在药店中出售，则该药品必须接受联邦药物和医疗器械管理局 (BfArM) 的检测和安全性评估。若将益生菌作为食品出售，则情况更为复杂。该食品必须符合《食品和日用品法》(LMBG) 的规定，且仅在特殊情况下由德国联邦风险评估研究所 (BfR) 检测其安全性。

对此，世界卫生组织 (WHO) 和联合国粮食及农业组织 (FAO) 组建的一个专家委员会于 2002 年颁布了一份指南，在其中明确了食品益生菌的定义<sup>1</sup>。这个在当前被普遍采用的定义是这样表述的：“益生菌是活的微生物，当以足够的量使用时，可以给宿主带来健康益处”<sup>[2]</sup>。在此之前对益生菌的定义并没有体现出益生菌的多样性，即没有囊括肠道、阴道或局部益生菌。相比之下，现在的这个定义将表述缩减为“发挥‘积极作用’的‘活性微生物’”，从而扩大了囊括范围。

## 益生菌的用处

- 医疗保健
- 食品添加
- 抗过敏
- 抵抗焦虑和压力
- 减肥
- 净化肠道菌群

该指南还对益生菌食品做了规定，即满足以下标准才可被称为益生菌食品[2]：

1. 益生菌菌株的菌属和菌种必须已知。
2. 在体外实验中对这些益生菌生物的安全性进行了检测。
3. 要求确保益生菌菌株的安全性并保存其剂型的纯培养物。
4. 在动物和人体体内进行体内实验，以确定其对于健康的改善方式。

1 常常与益生菌联系在一起的词是益生元。其最初被定义为：“…一种未消化的食物成分，可通过选择性刺激结肠中一种或多种细菌的生长和/或活性来改善宿主的健康状况”[4]。国际益生菌和益生元科学协会 (ISAPP) 将益生元重新定义为“一种可使胃肠道菌群的组成和/或活性产生特定变化从而有益于宿主健康的选择性发酵成分”[5]。益生菌和益生元往往需要组合起来并相应匹配才能达到期望的效果。

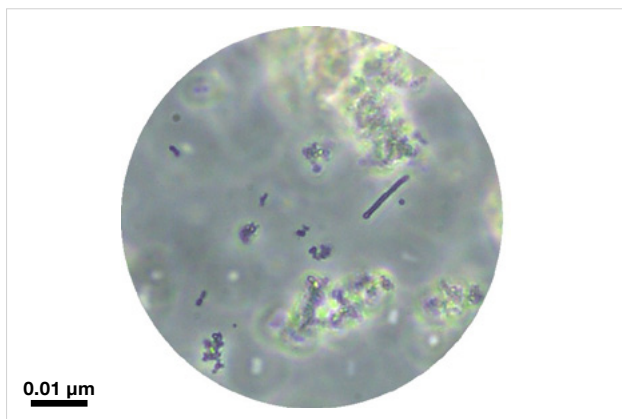


图 1 酸奶中的杆菌

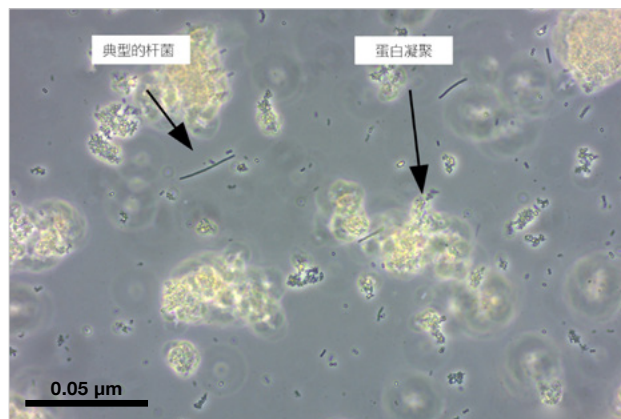


图 2 益生菌酸奶，概览

### 益生菌历史上的里程碑

- 2001 年** 联合国粮食及农业组织和世界卫生组织 (FAO/WHO) 引入了沿用至今的益生菌定义：“益生菌是活的微生物，当以足够的量使用时，可以给宿主带来健康益处”
- 20 世纪 80 年代** 第一款益生菌酸奶在欧洲问世
- 1965 年** “益生菌”的概念被提出并首次得到应用
- 1935 年** 第一款含有乳酸菌的商业产品在亚洲问世
- 1908 年** 出生于乌克兰的动物学家、微生物学家和诺贝尔奖获得者伊里奇·梅契尼科夫 (1845 年 – 1916 年) 提出，乳酸菌能够发挥出有益的作用，有可能“改变我们体内的菌群并将有害微生物替换为有益微生物”<sup>1</sup>
- 1857 年** 法国化学家和微生物学家路易斯·巴斯德 (1822 年 – 1895 年) 发现了乳酸菌

### 益生菌

益生菌是通过菌属、菌种和菌株来加以定义的。例如，发酵乳杆菌是一种乳杆菌属的革兰氏阳性菌（菌种）。ME-3 菌株是一种抗菌且抗氧化的益生菌。最广为人知的益生菌是双歧杆菌、乳酸杆菌和大肠杆菌。益生乳酸菌拥有最庞大的群体，其次是双歧杆菌属。它们在 19 世纪通过科学研究被发现。乳杆菌属的菌种被认为可安全应用于食品领域，因此广泛用于食品的发酵。它可产生 50% 以上的乳酸作为发酵产物。代谢途径各异导致发酵物的组成有所不同，从而对产生的食品安全性和最终产品的感官感觉有不同的影响。

2 伊里奇·梅契尼科夫，《乐观研究》(Optimistic studies), New York: Putman's Sons, 1908 年, 161–183 页。

3 乳酸菌的细胞质膜被肽聚糖层包裹。肽聚糖 (“Murein”) 是一种由通过  $\beta$ -1,4 糖苷键交替连接的 N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 和 N-乙酰胞壁酸 (MurNAc) 残基组成的聚合物。通常，肽聚糖层用作其他细胞膜分子的锚定表面，例如磷酸、多糖或蛋白质。肽聚糖层中的多糖会影响革兰氏+乳酸菌的细胞壁的形态，从而对细菌的生理产生各种不同的影响。例如，在发酵乳杆菌中对 GlcNAc 和/或 MurNAc 进行 N-脱乙酰化和在干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌及发酵乳杆菌中对 MurNAc 进行 6-O-乙酰化会使得这些乳杆菌不再那么容易受到由于溶菌酶而产生的自溶作用的影响。（这种酶存在于人体内的很多分泌物中（唾液、泪液、羊水等）并直接侵蚀革兰氏阳性菌的肽聚糖细胞壁）。经过 N-乙酰化的还原后，有更多的乳酸菌能够活着到达消化道 [3、6]。

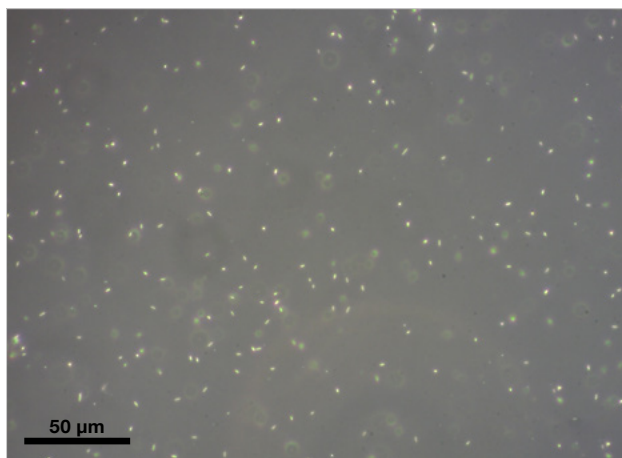


图 3 暗场观测中含有乳酸杆菌的发酵乳饮品

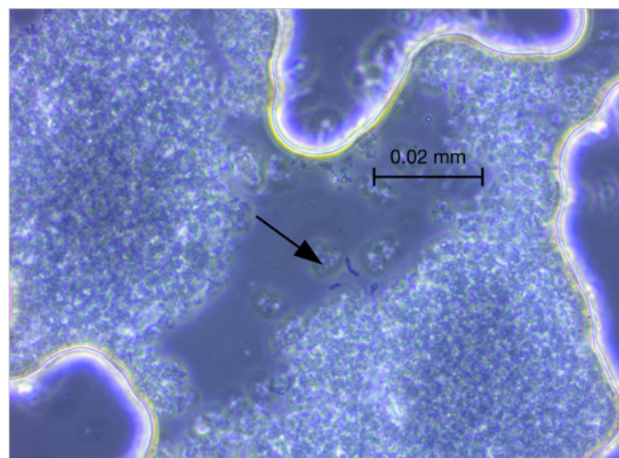


图 4 100x Ph3 下观察到的微小细菌

微生物的益生菌功能<sup>2</sup>可以通过分泌物质或细胞膜表面与宿主之间的相互作用得以实现。或许这就是为什么在消化系统中也能发现乳酸菌的原因。到目前为止，在超过 200 个益生菌菌种中 (<http://www.bacterio.net/lactobacillus.html>), 只有少数经过了益生菌特性的检测。

例如，科汉森牛奶培养物系列中的嗜酸乳杆菌 LA-5<sup>®</sup> 菌株是研究时间最长的乳酸杆菌菌株之一，它从 1979 年以来一直作为益生菌应用于食品和营养补充剂中。自 2007 年起该菌种还通过了欧洲

食品安全局 EFSA 的安全资格认证 QPS。LA-5<sup>®</sup> 在消化道中存活下来，一直抵达肠粘膜，表现出对于胃酸、胆汁酸和消化酶的抗性。嗜酸乳杆菌属于革兰氏阳性非孢子型兼性或厌氧杆菌。它的自然栖息地是肠道。葡萄糖发酵产物是乳酸、乙酸和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。这些代谢产物降低了病原菌的生长潜力[3]。

在过去的几十年里，为了护肤、减重、抗焦虑，为了过上更健康美好的生活，人们对很多益生乳酸菌进行了研究，生产出很多相关产品，目前还有不少处于研发阶段。

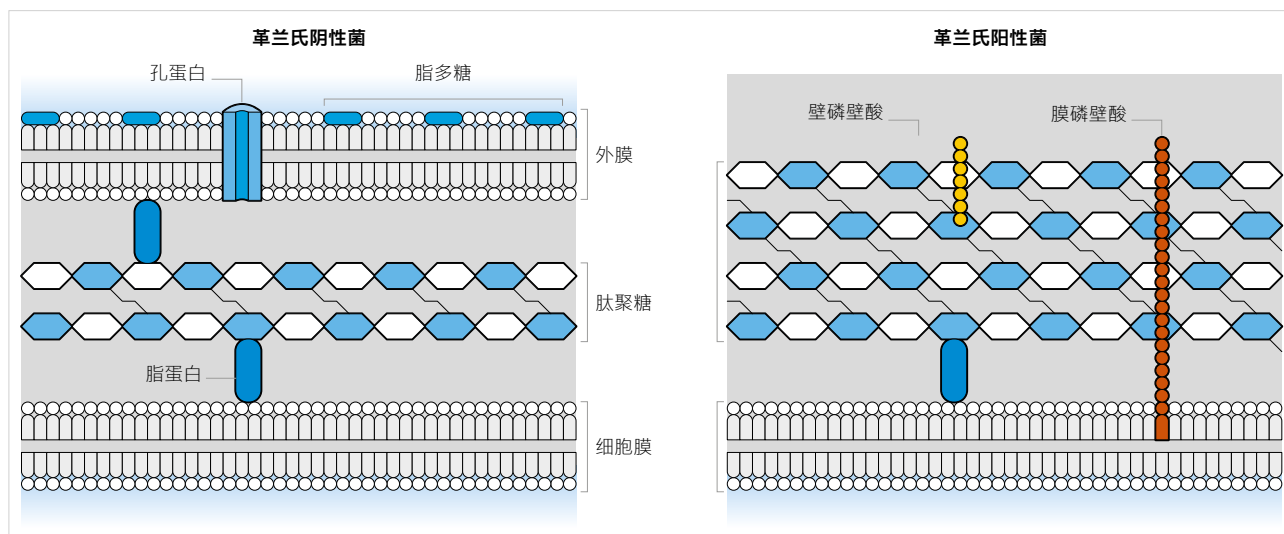


图 5 细菌细胞壁的示意图。用作锚定表面的肽聚糖层嵌入了各种功能性分子[7]。

### 推荐的显微镜配置

通常将市面上的产品（酸奶/发酵饮料）用生理盐水进行稀释（例如 1:5）。将约 10  $\mu$ l 置于载玻片上并盖上盖玻片 (0.17 mm)。将多余的液体从边缘小心地吸去。理想情况下，应将标本静置适当的时间。

若想要尽可能全面地观察到细菌变体，推荐采用直立式透射光显微镜，如蔡司 Axio Lab.A1。显微镜应配置暗场和相差功能。例如借助于蔡司消色差消球差聚光镜，不仅可以进行明场观测，还可以进行暗场观测并获得相差图像。

因为观察的是活的生物体，需使用品质较佳的相差物镜。视细菌的不同可以采用蔡司 N-Achroplan 40 $\times$  / 0.65 Ph2 或蔡司 N-Achroplan 100 $\times$  / 1.25 Ph3 油镜。若还需为图像存档，应选择一款具有优异的动态性能和适当的图像分辨率的摄像头（例如蔡司 AxioCam 305 color），以便更好地显示细菌。

### 参考文献:

- [1] <https://de.wikipedia.org/wiki/Probiotikum>。
- [2] FAO/WHO, 《食品益生菌评价指南》(Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food): FAO/WHO 联合工作组会议, 2002 年: 加拿大安大略省伦敦市。
- [3] Lee, Y.K. 和 S. Salminen, 《益生菌和益生元手册》(Handbook of probiotics and prebiotics), 2009 年第二版。
- [4] Gibson, G.R. 和 M.B. Roberfroid, 《人类结肠微生物群的膳食调节: 益生元简介》(Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics), 美国营养学会, 1995 年, 125(6): 1401–1412 页。
- [5] Blatchford, P., et al., 《益生元机制、功能和应用 - 综述》(Prebiotic mechanisms, functions and applications – a review), 国际益生菌和益生元杂志, 2013 年, 8(4): 109–132 页。
- [6] Venema, K. 和 A.P. do Carmo, 《益生菌与益生元: 最新研究与未来趋势》(Probiotics and Prebiotics: Current Research and Future Trends), 2015 年, 英国诺福克: Caister 学术出版社。
- [7] <http://docplayer.org/docs-images/27/10710454/images/2-0.jpg>。



蔡司显微镜



**Carl Zeiss Microscopy GmbH**  
07745 Jena, Germany  
microscopy@zeiss.com  
www.zeiss.com/axiolab

卡尔蔡司（上海）管理有限公司  
200131 上海，中国  
E-mail: info.microscopy.cn@zeiss.com  
全国免费服务热线: 4006800720

上海办: (021) 20821188  
北京办: (010) 85174188  
广州办: (020) 37197688  
成都办: (028) 62726777

