

# 多种微生物复合的微生物生态制剂研究进展\*

刘秀梅 聂俊华

王庆仁

(山东农业大学资源与环境学院 泰安 271018) (中国科学院生态环境研究中心 北京 100085)

**摘要** 综述了国内外多种微生物复合的微生物生态制剂研究进展,阐述了菌种组成、代表产品、作用机制、农业应用及生产工艺最新技术,并指出其发展方向。

**关键词** 多种微生物 微生物生态制剂 进展

**Research progress in the probiotics of compound microorganisms.** LIU Xiu-Mei, NIE Jun-Hua (College of Resource and Environmental Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018), WANG Qing-Ren (Research Center for Eco-environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085), *CJEA*, 2002, 10(4): 80~83

**Abstract** In this paper, the research progress in the probiotics of compound microorganisms is briefly overviewed and the bacterial strains of probiotics, representative products, its mechanism, agricultural applications and the latest technology of production are discussed also. Additionally, some ideas for further studies on probiotics are proposed.

**Key words** Compound microorganisms, Probiotics, Progress

1974年美国学者 Parker R. E. 首次用 Probiotics 一词来描述“有助于肠道微生物达到平衡的微生物和物质”。1989年 Fuller 又提出一个新的定义“一种可通过改善肠道菌群平衡,而对宿主施加有利影响的活微生物制剂”。刘群(1988)最早将“Probiotics”一词介绍到我国,后来李文立(1990)、金立志(1990)、吴锦国、王世荣(1990)等相继把“Probiotics”译为益生菌、促生素、生菌素、增生素、促菌生、生菌制剂、活菌制剂、微生物生态制剂等,1990年全国微生物学会学术研讨会正式提出“微生物生态制剂”一词,其定义是“根据微生物生态学原理而制成的含有大量有益菌的活菌制剂,有的还含有它们的代谢产物或(和)添加有益的生长促进因子,具有维持动物、植物体和人类及其内、外环境的微生物生态平衡(或调整其微生物生态失调),提高他们健康水平和保护环境的功能”<sup>[1,2]</sup>。多种微生物复合的微生物生态制剂即指由细菌、放线菌类的多种微生物复合制成生菌制剂。

## 1 微生物生态制剂的代表产品及其菌种组成

微生物生态制剂的生命力依赖于其菌种的组成和配比,当今微生物生态制剂中的益生菌主要选用生产抗生素的放线菌类和细菌类,放线菌类用于微生物生态制剂的主要有链霉菌属、卡诺氏菌属和小单孢菌属;严格厌氧的双歧杆菌属,该属现有 32 个种,其中已被用于制造微生物生态制剂者主要有 5 种,即长双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、青

表 1 国外常见的微生物生态制剂产品

Tab.1 The common probiotics made in the foreigners

商品名 Commodity name	成分 Main bacterial strains	产品形式 Forms of products	生产厂家 Production firms	商品名 Commodity name	成分 Main bacterial strains	产品形式 Forms of products	生产厂家 Production firms
Probios	多种乳酸杆菌	干活菌	Nulabs, Division Pioneer	Strain 40	嗜酸乳杆菌	活菌液体	Milwaukee, WI
Culdac	嗜酸乳杆菌	失活液体	Trans. Agra. Corp., Memphis, TN	Baciferm	乳酸杆菌发酵物	失活干菌	Commercid Solvents Corp
Feed-mate 68	粪链球菌、嗜酸乳杆菌 植物乳杆菌	干活菌	Anchor labs St, Joseph, MO	Primalac	嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌 双歧杆菌、球拟酵母米曲霉	失活菌	Star Labs St. Joseph, MO
Biomax 40TM	乳酸杆菌(种类不详)	活菌液体	不详	Lactiferm	粪链球菌 M 74	活菌液	AB Medipharma Sweden
Fernacto 500	链球菌、发酵残渣、乳清 玉米提取液、玉米渣、失活杆菌	失活杆菌	Borden Chemical CO. Norfolk, VA	Toyocorin	芽孢杆菌	干活芽孢	Toyo Joso CO. Ltd. Tokyo
Biofac	链球菌、啤酒酵母、发酵残渣	失活杆菌	Peter Hand, Inc. Wonckegan, IL	EMI~5	乳酸菌、酵母菌、放线菌等	活菌液	日本

\* 山东省青年科学基金资助项目

收稿日期:2001-11-26 改回日期:2001-12-31

春双歧杆菌、两叉双歧杆菌和短双歧杆菌;一般厌氧即耐氧的乳杆菌属,至今已报道的有56种<sup>[1]</sup>,常用于微生物生态制剂的有10种,如嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、短乳杆菌、干酪乳杆菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种等;还有若干兼性厌氧球菌,如属于乳球菌属的乳酸乳球菌乳亚种和乳酸乳球菌乳脂亚种等以及属于链球菌属的唾液链球菌嗜热亚种和中间链球菌等。自70年代以来随着微生物生态学的蓬勃发展,国内外对微生物生态制剂的研究取得较大的进展,研制成功的微生物生态制剂国外以复合菌剂为主,常见的微生物生态制剂产品见表1。目前我国生产的菌剂多为单一菌株,且多数作为防止畜禽下痢的治疗剂(据1994年统计,国内的双歧杆菌微生物生态制剂约有60余种),也有少数研制成复合剂,主要用作饲料添加剂和医疗保健,常见的微生物生态制剂产品见表2。

表2 国内常见的微生物生态制剂产品

Tab.2 The common probiotics made in China

商品名 Commodity name	主要菌种 Main bacterial strains	生产厂家 Production firms	商品名 Commodity name	主要菌种 Main bacterial strains	生产厂家 Production firms
促菌生	蜡样芽孢杆菌 DM423	大连医学院研制	三株口服液	双歧杆菌	济南市三株公司
调痢生	蜡样芽孢杆菌 SA38	四川农业大学研制	增产菌	蜡样芽孢杆菌	中国农业大学研制
促康生	需氧芽孢杆菌 N42	南京农业大学研制	生态宝	双歧杆菌(含双歧因子)	北京天地大科技有限责任公司
丽珠肠乐	乳酸菌 K.P 株	珠海丽珠肠乐 药业有限公司	有益活菌液剂	乳酸菌、芽孢杆菌	贵阳市生物工程研究所
	双歧杆菌		双歧杆菌		
益微 SOD	芽孢杆菌	中国农业大学研制	增生素	不详	北京营养研究所
培菲康	双歧杆菌、粪链球菌、 嗜酸乳酸菌	上海医科大学研制 (上海信谊药业有限公司生产)	乳酸菌复合剂	不详	杭州商学院

## 2 微生物生态制剂的作用机制

微生物生态制剂中的活菌为环境微生物群落中的成员,具有定植性、分解性、排他性和繁殖性,进入微生物生态区系能够参与到自然的生态系统中,对非正常菌群产生拮抗作用或分解(降解)有机物(毒物)大分子。微生物生态制剂的作用机制理论一是优势种群理论<sup>[5]</sup>,在正常微生物群及其宿主和环境所构成的微生物生态系统内,少数优势种群对整个种群起控制作用,一旦失去了优势种群,则导致微生物生态失调,使用微生物生态制剂可补充或恢复优势种群,使失调的微生物生态达到新的平衡。二是“三流运转”理论,微生物生态制剂可成为非特异性免疫调节因子,增加吞噬细胞的吞噬能力和B细胞产生拮抗的能力,此外还可抑制腐败微生物的过度生长和毒性物质产生,促进肠蠕动,维持粘膜结构完整,从而保证了微生物生态系统中基因流、能量流和物质流的正常运转。三是生物拮抗理论,又称屏障作用理论,正常微生物群构成机体防御屏障(包括化学屏障和生物屏障两部分),微生物的代谢产物如乙酸、丙酸、乳酸、抗生素和其他活性物质如酶等共同组成化学屏障;微生物群有序的定植于粘膜、皮肤等表面或细胞之间形成生物膜,即为生物屏障,这些屏障可以阻止病原微生物的定植。四是正常微生物群与营养关系论,近10年来通过无菌动物与悉生动物的试验表明,肠道内的正常微生物可帮助食物的消化吸收,且可合成微生物生态制剂和维生素。另外微生物生态制剂中的PGPR(Plant Growth Promoting Rhizobacteria)如自生供N菌、联合固N菌(包括细菌、放线菌)可产生促生物质,提供(激活)无机营养,提高土壤养分的有效性,表明正常微生物群与营养之间确有密切关系。五是生物降解理论<sup>[9]</sup>,有益微生物在代谢过程中产生的某些酶催化、氧化毒性大分子物质,破坏其不饱和共轭键,毒性物质通过微生物细胞壁进入质膜,其次是在膜上的传递并通过微生物的生命活动,如氧化、还原、合成等过程使其有害物质降解成无毒、无害的无机物或转化为微生物自身所需的营养物质,组成新的原生质。六是食物链理论,微生物生态制剂中的各种有益微生物形成1条复杂有序的食物链,它们之间和睦共处,相互依赖,组成一个高效、存活能力强的微生物生态系统。

## 3 多种微生物复合的微生物生态制剂分类及其农业应用

微生物生态制剂可应用于药品、食品、饮料、饲料、化工生产、湿法冶金、土壤肥料、生物防治、环境处理、化妆品、生产发酵、贮藏发酵等领域,各行业类别划分所依据的标准不同,其类别归属也不相同,同1种微生物生态制剂可归属于多种类别。微生物生态制剂按剂型可分作液剂、粉剂和粒剂。根据微生物生态制剂的含菌成分和组合,可分为1种菌制成的单一菌剂(如乳杆菌制剂、双歧杆菌制剂、芽孢杆菌制剂等)和由2种(或2种以上)菌种组成的复合制剂。根据宿主的不同和应用范围可分为医用微生物生态制剂,直接饲用微生物生态制剂,微生物生态食品和饮料,发酵用微生物生态制剂,湿法冶金用微生物生态制剂,化妆品微生物生态制剂,化工生产用微生物生态制剂和农业用微生物生态制剂8种。农业用多种微生物复合的微生物生态制剂主要有土壤施肥用微生物生态制剂、植物用微生物生态制剂、生物

防治用生态制剂等。土壤施肥用生态制剂<sup>[3]</sup>可改善土壤化学和生物特性,生态制剂施入土壤后形成合理的微生物群落,而微生物活动可改善土壤的物化条件,提高土壤供肥保肥能力,与其他肥料相比,可加速土壤有机质的降解,增加土壤总孔隙度和毛管孔隙度,增加土壤的入渗率,从而更有利于土壤盐分的淋洗。生态制剂施入土壤后使土壤中微生物数量明显增加,进而使那些以微生物为食的土壤中微型动物数量增加,降低土壤容重。生态制剂施入土壤后可活化土壤营养成分,使土壤中营养物质及微量元素转化为可利用状态,解除植物生理缺乏症状,保证植物在盐碱地上正常出苗,促进其生长,改良盐碱地<sup>[6]</sup>。植物用生态制剂即用生态制剂的稀释液浸泡种子,能促进种子萌发,基肥和追肥生态制剂中的 PGPR(Plant Growth Promoting Rhizobacteria)由于其自身的特性在根际竞争中具有优势,能成功地在根际定植,固定空气中的 N,供给植物体,合成铁载体溶解并结合土壤中的 Fe 供植物体利用。生态制剂能合成植物激素,在不同的发育阶段促进植物生长,它们也具有各种机制溶解矿物质,如使 P 更易被植物吸收,还能合成一些小分子的化合物或酶,调节植物的生长发育<sup>[11]</sup>,提高植物体的新陈代谢能力、增加产量和改善品质。生物防治生态制剂,特别是生态制剂中的芽孢杆菌和放线菌产生的抗生素对多种土传病原微生物、茎、叶病原微生物有拮抗作用,它们在与病原菌竞争生长位点的过程中占优势,从而减少病原真菌和病原细菌的数量,在代谢过程中还产生 HCN,诱导某些植物的系统抗性,能有效地抑制病原菌,其中芽孢杆菌中苏云金杆菌对 150 种昆虫有不同的致病力和毒性,某些放线菌如小单孢杆菌产生庆大霉素,金色链丝菌产生金霉素和四环素,能有效地抑制致病的细菌和真菌。目前世界上报道的抗生素有 8000 种左右,其中 80% 是放线菌产生的。净化污水和保护环境作用,生态制剂中的有益微生物能吸附、富集垃圾污水(如印染业、造纸业排放的废水)中的毒性大分子,在代谢过程中产生的某些酶催化、氧化毒性大分子物质,破坏其不饱和共轭键,毒性物质通过微生物细胞壁进入质膜,其次是在膜上的传递并通过微生物的生命活动,如氧化、还原、合成等过程使其有害物质降解成无毒、无害的无机物或转化为微生物自身所需的营养物质,组成新的原生质。某些芽孢杆菌能把酚类物质转变成醋酸作为营养物质吸收利用,除酚效率可达 99%。假单孢杆菌能降解硝基芳香烃<sup>[9]</sup>,转化 TNT。枯草杆菌、马铃薯杆菌能消除己内酰胺,溶胶假单孢杆菌可以氧化剧毒的氰化物,红色酵母菌和蛇皮癣菌类对聚氯联苯有分解能力。因此生态制剂能够净化被污染的环境,在环境保护中起着非常重要作用。

#### 4 生态制剂生产工艺的最新技术

目前生态制剂生产工艺最新技术一是采用包被(微囊)技术,美国 Alltech 生物技术中心采用微胶囊化措施,可提高菌种生存能力。我国沧州市生物技术研究所以 1999 年采取液固结合工艺生产生态制剂,经瞬时高温挤压或添加微囊处理即可获得微囊制品,此制品在耐高温、抗氧、抗杂菌方面均具优势,保存期一般延长 36%~120%<sup>[7]</sup>。二是加入双歧因子(Bifidus factor, BF),将双歧杆菌的生长促进物质——双歧因子与生态制剂相结合,能促使微生态环境内暂时处于劣势的原籍有益菌得到迅速增殖,补充微生态环境的优势种群,优化微生态平衡,为提高生态制剂质量提供了强有力的物质保障,且使生态制剂获得升级换代。三是进行正交实验,对多种微生物分别培养后按比例混合。多种微生物接种于同一培养基中进行培养时,各种微生物所占比例的确定是很重要的,正交实验正是解决这一问题的捷径,一般将 1 个菌株设 3 个比例:0、中等比例、高比例,然后按正交实验表进行组合,用实验检验效果。四是采用细胞生物量的检测,目前国外许多生态制剂已广泛采用快速菌检技术——生物发光分析<sup>[4,8,12,13]</sup>,利用菌种体内 ATP 与荧光素酶反应发光,其光强与 ATP 含量成比例,通过光强测定来确定菌种数量,再借助于分离技术如过滤、抗体分析可测定单一菌种的含量。五是对菌种快速鉴定,每个菌种的 DNA 均有特定的 G+Cmol%,不同菌种的 G+C 含量有所差异,每个菌种 G+Cmol% 通常是恒定的,不受菌龄、生长条件等各种外界因素的影响,通常收获 2~3g 湿菌所制备的 DNA 即可满足 G+Cmol% 测定的需要。

#### 5 多种微生物复合的生态制剂研究方向

未来多种微生物复合的生态制剂研究将向高产量、高技术、高质量方向发展。一是向高产量发展,随着人们对环境保护及食品安全的日益关注,应用绿色食品、绿色饲料,实现绿色环境,强化生态文明,而大力研制推广应用生态制剂正是实现这一目的的有效措施,生态制剂在未来工、农业生产中将有巨大的应用前景。美国从 70 年代开始使用饲用微生物,日本、西欧一些发达国家相继开发研制新型的抗生素替代产品,使生态制剂得到较快的发展。1989 年全球生态制剂总销售额为 7500 万美元,1993 年为 1.22 亿美元,今后几年发展更为迅速,估计销售额达 5 亿美元。现实要求生态制剂向高产量发展。二是向高技术发展,

目前微生物生态学尚处于创始阶段,故应用其理论研制的微生物生态制剂也处于“初级阶段”。微生物生态制剂的研究是新技术,而新技术不等于高技术,但高技术一定是新技术,在当今高技术发展的时代,微生物生态制剂研究与生产应向高科技水平发展。关于有益菌群作用机理的研究,由于其研究时间极短,现研究多数处于细胞水平,今后应与免疫学、分子生物学相结合。三是向高质量发展,微生物生态制剂所具备的质量标准,是推动微生物生态制剂正确发展的极其重要保障。目前国内外生产的微生物生态制剂名目繁多,仅国内年销售额已逾百亿人民币,而国内众多的产品中未有1种产品进行较深入的微生物生态机理研究,也未有1种产品拿得出1整套足以说明其产品在微生态环境中的具体部位能真正定植、繁育,提高微生态环境中相应活菌含量和发挥各种作用的令人信服的科学数据。我国学者周德庆(1998)提出8项条件作为理想的微生物生态制剂标准,即含一至几种高质量的有效菌种(株);活菌含量高,至少应达 $10^8$ 个/g;保质期较长,在此期限内不应低于原初1/2的活菌剂;具有良好的生态调节或(和)其他保健功能;制剂具有较强的抗胃酸和抗胆汁酸功能;尽可能添加双歧因子类可促进外源性和内源性有益菌增殖的物质;稳定,安全,可靠;质优价廉。微生物生态制剂工程是现代生命科学的重要组成部分,其主要任务是设计和研究不同的微生物生态制剂,用于改造健康人类的内外环境,在新的情况下达到新的平衡,以实现提高人民生活水平,减少环境污染,改善生态环境的最终目的。

### 参 考 文 献

- 1 周德庆,郭杰炎. 我国微生物生态制剂的现状和发展设想. 工业微生物,1999,29(1):34~43
- 2 王兴龙. 微生物生态学与微生物生态制剂的研究进展. 中国兽医学报,1997,17(1):101~103
- 3 徐丽华,姜成林. 微生物资源学. 北京:科学出版社,1996. 16~17
- 4 夏北成,Zhou J. Z., Tiedje J. M. 分子生物学方法在微生物生态学中的应用. 中山大学学报(自然科学版),1998,37(2):97~101
- 5 熊德鑫,祝小枫,盛志勇. 烧伤猪肠道膜菌群的微生物生态失控研究. 中国微生物学杂志,1996,8(3):1~4
- 6 邹金环,杨益民,吴伟. 酵素菌肥改良滨海盐化潮土作用的初探. 土壤肥料,1998(4):35~37
- 7 王厚德. 微生物生态制剂最新研究进展. 中国畜牧业通讯,1999(6):48~49
- 8 Akihiko M., Michinari S. Simultaneous direct counting of total and specific microbial cells in seawater, using a deep-sea microbe as target. Applied and Environmental Microbiology,2000,66(5):2211~2215
- 9 Sudarat Boonchan, Margaret L. Britz. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. Applied and Environmental Microbiology,2000,66(3):1007~1019
- 10 Liu Jinqi *et al.* Environ. Pollut.,1992,75:273
- 11 March B. Structure of ferric pseudobactin, a siderophore from a plant growth promoting pseudomonas. Biochemistry,1981,20:6446~6457
- 12 Micheller. Rondon, Aland. Bettermann. Cloning the soil metagenome: a strategy of assessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. Applied and Environmental Microbiology,2000,66(6):2541~2547
- 13 Julia Bruggemann, Sarah J. Macnaughton. *Bifidobacterium* as a microecological preparation. Journal of Microbiological Methods,2000,40:111