

基于三阶段工程策略的益生菌制剂技术进展

杨雄州, 毛跃建, 韩韦韦, 刘东辉, 赵晓慧*

内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司全球研发创新中心 内蒙古呼和浩特

【摘要】本综述系统梳理益生菌制造三阶段工程策略的最新研究进展:上游工程依托基因组学与机器学习技术,实现菌株精准筛选与定向设计;中游工程基于实时传感与智能模型调控,完成发酵过程高效优化;下游工程通过陶瓷膜过滤、电喷雾干燥等新型分离干燥技术,搭配创新型微胶囊壁材,大幅提升益生菌回收率与产品稳定性。展望未来,跨学科技术深度融合将推动益生菌制造领域向数据驱动与精准调控的全新范式加速转变。

【关键词】高通量筛选;发酵过程控制;干燥技术

【收稿日期】2026年3月20日 **【出刊日期】**2026年4月15日 **【DOI】**10.12208/j.jafs.20260001

Probiotic preparations: technical advances via the three-stage engineering strategy

Xiongzhou Yang, Yuejian Mao, Weiwei Han, Donghui Liu, Xiaohui Zhao*

Global R&D Innovation Center, Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Co., Ltd., Hohhot, Inner Mongolia

【Abstract】 This review systematically summarizes the latest research advances in three-stage engineering strategies for probiotic manufacturing. In upstream engineering, genomics and machine learning enable precise screening and rational design of strains. In midstream engineering, efficient optimization of fermentation processes is realized through intelligent control based on real-time sensing and mathematical models. In downstream engineering, novel separation and drying technologies such as ceramic membrane filtration and electrospray drying, in combination with innovative microcapsule wall materials, markedly improve the recovery rate and stability of probiotics. Looking ahead, in-depth integration of interdisciplinary technologies will drive the probiotic manufacturing field to accelerate its transformation to a data-driven and precision-regulated paradigm.

【Keywords】 High-throughput screening; Fermentation process control; Drying technology

随着新一代测序技术的发展和进步,人类对肠道微生物的组成与功能解析达到前所未有的深度,这为揭示益生菌的宿主互作机制提供了科学基础^[1]。益生菌制剂作为微生物学应用成果,近几十年来在国内外取得了飞速地发展,已成为一门新型的基础学科和迅速增长的朝阳产业,广泛应用于医疗、保健、食品、农业、畜牧业和水产等领域^[2]。然而,随着全球功能性食品市场的扩张(年增长率>8%)及监管体系的完善(如EFSA健康声称审查),行业对益生菌制剂的质量控制(如活菌稳定性、功能靶向性)与生产工艺(如高密度培养、递送系统)提出了系统性升级需求。高质量的益生菌产品不仅要保证活菌数量充足且稳定,还需具备良好的功能靶

向性,确保活性成分能够有效地到达并作用于目标部位。

在此背景下,发酵工程作为工业生物技术的核心组成,通过上、中、下游发酵技术的协同创新,成为破解上述瓶颈的关键。其中上游工程主要涵盖优良菌株的筛选与改良、基因工程技术的应用以及代谢通路的优化设计,旨在构建具有高效生产能力的工程菌株;中游工程聚焦于发酵过程的工艺开发与优化,包括培养基配比、溶氧控制、温度与pH调节、补料策略等内容,以实现目标产物的高效合成;下游工程则涉及发酵产物的分离纯化与成品加工技术,如离心分离、膜过滤、浓缩干燥、微胶囊包埋等单元操作,是保障产品质量与稳定性的重要环节。

*通讯作者:赵晓慧

表 1 发酵参数对发酵过程的影响

参数	对发酵过程的影响
体积传质系数	在传质动力相同时, 较高的传质系数可以达到较高的传氧速率, 在大型生物反应器中, 较低的传质系数常常是发酵限制因素
传氧速率	对于需氧微生物, 传氧速率不足会导致细胞内氧气浓度降低, 进而抑制呼吸作用, 减少 ATP 的生成, 最终导致微生物生长缓慢甚至停滞。适当提高传氧速率可提高发酵产量
溶氧浓度	根据不同微生物特性, 所需溶氧浓度的范围不同, 在大型反应器中几乎不可能保持溶氧浓度均一, 因此一般将溶氧浓度保持在微生物可适应的范围即可
空气流量	在一定范围内, 提高通气量可以提高传质系数, 但较高的通气量可能会造成严重的能耗和发泡
搅拌速率	较高的搅拌速率可能会对细胞造成物理损伤, 较低的搅拌速率会降低传质系数
补料流量	较高的补料流量会快速提升底物浓度, 一定范围内可提高发酵速率, 但较高的底物浓度常常是发酵限制因素, 因此需适当控制补料流量及速率

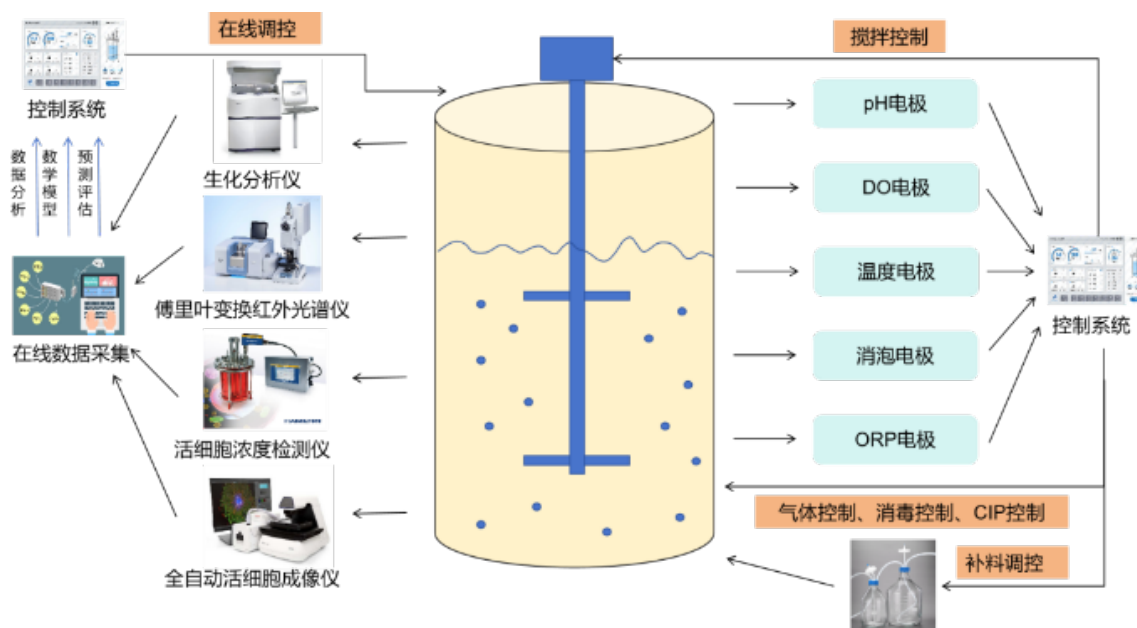


图 2 发酵过程参数检测及在线控制模型

发酵系统中溶氧量、氧化还原电位等参数检测技术已成熟, 实时检测与调控可显著提升发酵产物得率; 气相成分 (N_2 、 O_2 、 CO_2 等) 可通过在线过程质谱仪、电子鼻实现检测^[4]。底物与代谢物浓度是调控发酵细胞代谢的关键参数, 其检测方法分为离线检测与在线检测两类, 离线常用比色法、液相色谱-质谱联用法(LC-MS)、气相色谱-质谱联用(GC-MS), 但其操作存在信息滞后性, 对过程控制局限性较大。

傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)对发酵液中的底物和产物浓度进行实时测定^[15], 生化分析仪中的酶电极生物传感器检测生物参数^[16]。例如, 王路^[17]通过使用实时近红外光谱在线检测底物甘油变化量, 根据该监测数据应用于连续发酵过程中底物甘油的反馈流加控制, 从而提高发酵效率。Jin 等^[18]研制了

一种全集成、无线、3D 打印的传感器胶囊, 用于细胞生物反应器中关键质量属性(CQAs), 即 pH、葡萄糖和乳酸浓度的多重传感。针对于单位活菌数、菌体生长速度和细胞形态等在线生物参数检测方法有活细胞传感器、在线显微摄像仪等。相较于传统的细胞干重法、光密度法和活菌计数法, 采用流式细胞术和新型活细胞传感器的监测结果更加高效且稳定, 如杨展等^[19]通过流式细胞法对不同培养温度下长双歧杆菌婴儿亚种 B8762 分裂周期进行检测, 发现分裂周期及活性受温度影响显著; Feng 等^[20]将一种新型活细胞传感器和电子鼻引入乙醇发酵中, 用于活细胞量和产品含量的实时和在线监测, 检测结果与高效液相色谱离线测定结果呈现极好的一致性, 图 2 展示了发酵过程参数检测及在线控制模型。

2.3 补料发酵技术

常用的补料方式为一次性分批补料, 尽管其操作简便, 但仍存在营养物质利用效率较低以及渗透压快速上升等不足。研究者基于营养消耗曲线, 逐渐开发出了连续补料、脉冲补料、反馈控制补料、基于模型设计补料等新型补料技术^[21]。Sohoni 等^[22]利用连续补料的方法, 优化了大肠杆菌生产重组脲水解酶, 经优化后生物量提高了 8 倍, 酶的产量提高了 2.4 倍。Marques 等^[23]通过应用脉冲分批补料策略, 改善了鼠李糖乳杆菌的发酵动力学以及乳酸生产浓度, 由分批培养的 73.2 g/L 提升至 108.2 g/L。Webster 等^[24]利用葡萄糖和苯丙氨酸浓度的拉曼模型为控制算法提供信号, 建立葡萄糖与苯丙氨酸浓

度自动控制的反馈补料模型, 该自动化补料策略稳定了发酵环境, 降低了环境渗透压, 相比脉冲补料模式提升了 20% 的生产浓度。Yilmaz 等^[25]基于基本通量模式分析 (Elementary Flux Mode Analysis, EFM), 开发了一种基于 GS-CHO 细胞平台生产单克隆抗体 (Monoclonal Antibody, MAb) 的创新工艺, 构建了整合代谢通量分析与细胞生长动力学的数学模型, 可系统预测不同培养条件 (如营养供给、环境参数) 下代谢物浓度、细胞增殖与 MAb 生产速率之间的动态关联 (如表 2)。进一步通过谷氨酰胺补料分批培养实验验证模型可靠性, 结果显示模型预测值与实验观测值具有高度一致性, 为抗体生产工艺的理性优化提供了理论工具与实验范式。

表 2 动力学方程在微生物发酵研究上的应用

方程	公式	应用
Monod	$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S}$	根据实时底物浓度调整补料速率, 维持限制性底物浓度 (S) 约等于半饱和常数 (K _S) 以平衡生长速率与底物消耗效率 ^[26] 。
Logistic	$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} X \left(1 - \frac{X}{X_{\max}}\right)$	通过拟合实验数据确定 μ_{\max} 和 X_{\max} , 预测不同补料策略下的菌体生长曲线 ^[27] 。 根据方程预测的菌体生长速率, 实时调整补料速率, 维持底物浓度在临界阈值以上 ^[28] 。
Luedeking-Piret	$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X$	建立产物生成速率与菌体生长速率和菌体浓度线性关系, 通过菌体生长量推测产物生成量 (乳酸、乙酸等) ^[29] 。

注: μ - 比生长速率 (h^{-1}); μ_{\max} - 最大比生长速率 (h^{-1}); S- 限制性底物浓度 (g/L); K_S- 半饱和常数 (g/L); X- 细胞浓度 (g/L); X_{max}- 最大细胞浓度 (g/L); P- 产物浓度 (g/L); α - 生长相关产物生成系数; β - 非生长相关产物生成系数

3 发酵下游工程

3.1 分离技术

在益生菌的生产过程中, 离心机是用于分离、浓缩和纯化益生菌细胞的关键设备。碟片离心机通过多层碟片的高速旋转, 形成复杂的流道, 使液体中的不同密度成分分层, 适用于液液分离或固液分离, 尤其是含有微小颗粒的悬浮液, 因其分离精度高、自动化程度高、处理量大等优点常被应用于益生菌大规模生产分离^[30-31]。为了提高菌体回收效率, 法国颇尔公司 (Pall Corporation) 开发了一种新型陶瓷膜错流过滤技术, 以替代传统离心分离工艺, 该工艺下双歧杆菌单级浓缩总固体悬浮物含量最高可以达到 54%, 且对于产多糖菌种的菌体回收率 ($\geq 99\%$) 高于离心法 (约 90%), 经二级浓缩后, 固体悬浮物含量可进一步提升至 80%, 回收率达到 99%, 为益生菌分离技术开拓了新的思路和视野^[32]。

3.2 新型干燥技术

电喷雾干燥结合了电喷雾技术和干燥技术, 其原理是通过施加高压电场, 使液体在尖端形成带电液滴并将其雾化成微小的液滴, 由于液滴非常细小 (通常直径在几微米到几十微米之间), 表面积大, 水分蒸发速度快, 因此可以在较低的温度下完成干燥, 避免了高温对生物材料的损伤^[33-34]。因电喷雾干燥时间短、干燥温度较低, 特别适用于对温度敏感的生物材料 (如蛋白质、酶、细胞等) 的干燥。喷雾冷冻干燥结合了喷雾干燥技术和冷冻干燥技术, 将含有生物材料的液体通过喷嘴雾化成微小的液滴, 液滴在低温环境中迅速冻结, 形成微小的冰晶, 冻结后的样品进入真空环境, 水分通过升华作用去除, 最终得到干燥的材料^[35-36]。微胶囊干燥法将微胶囊造粒技术与喷雾干燥或冷冻干燥结合, 其原理是将固体、液体或气体物质 (称为芯材) 包裹在一层或多层高分子材料 (称为壁材) 中, 形成微米级或纳米级的微胶囊, 再通过喷雾干燥或冷冻干燥将微胶囊中

水分去除, 得到干燥的材料(表3)。微胶囊技术可以通过创建一个物理屏障来保护益生菌免受外界环境的影响, 如胃酸、胆汁、氧气、水分等, 从而提高其在胃肠道中的存活率。

表3 新型微胶囊壁材

微胶囊壁材	功能	包埋菌株	封装存活率	参考文献
海藻酸钠-壳聚糖盐酸盐	降低胃液和胆盐对微胶囊的渗透性, 提升益生菌在肠道的粘附性, 提升益生菌在胃肠道的存活率。	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> GG	>95%	[37]
鼠李糖醛酸内酯 I 果胶	刺激益生菌形成生物膜, 具有更好的流变特性与更好的胃肠道耐受性。	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> GDMCC	65%	[38]
双乳液豌豆蛋白-纤维素纳米晶体	油相阻隔氧气和水分, 提升益生菌的贮藏性与胃肠液耐受性。	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> GG	63% ~68%	[39]
甜乳清-菊粉	乳清蛋白在酸性条件下形成凝胶网络, 延缓胃酸渗透。	<i>Bifidobacterium animalis</i> BB12	95.43%	[40]
阿拉伯树胶-直链淀粉	由阿拉伯树胶与直链淀粉构建的纳米纤维体系可形成微小直径的包覆结构, 实现对菌体的有效保护。	<i>L. rhamnosus</i> KLDS 1.0320	87.06%	[41]
明胶-阿拉伯树胶	明胶-阿拉伯树胶结合后可以形成一层连续且致密的薄膜, 将菌体包裹其中。这层薄膜能够有效阻止外界不良环境因素(如氧气、湿度、光照等)对菌体的影响, 从而提高菌体的稳定性。	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA3	95.70%	[42]
乳清蛋白-丙基甲基纤维素	乳清蛋白-丙基甲基纤维素微胶囊延长了热量、渗透压从周围环境传递到菌体内部的路径, 从而起到对外界不利环境的强耐受能力。	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> KLDS 1.0328	98.55%	[43]

4 总结与展望

在人类生活日益增长的食物需求环境下, 益生菌作为微生态学研究中具有代表性的应用成果, 正在急速地推动益生菌工业制剂技术的发展。近年来, 生物技术、人工智能、大数据与先进制造等领域的交叉融合与快速发展, 为破解益生菌精准筛选、高密度发酵工艺参数优化等传统技术瓶颈提供了全新路径。通过整合基因组学驱动的菌株功能挖掘、基于机器学习的动态补料策略优化以及高通量自动化发酵平台构建, 推动益生菌产业逐步实现从经验驱动向数据驱动的范式跃迁, 并为个性化微生态制剂的开发奠定理论与技术基础。

参考文献

- [1] Seo H, Yoon Y, Kim S, et al. Anti-tuberculosis effect of microbiome therapeutic PMC205 in extensively drug-resistant pulmonary tuberculosis in vivo[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2024, 64(3): 107274.
- [2] 阿热爱·巴合提, 谭春明, 李平兰. 益生菌的分类及其多领域应用研究现状[J]. *生物加工过程*, 2022, 20(1): 88-94.
- [3] Chen S, He X, Qin Z, et al. Loss in the antibacterial ability of a *pyrR* gene regulating pyrimidine biosynthesis after using CRISPR/Cas9-mediated knockout for metabolic engineering in *Lactobacillus casei*[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(10): 2371.
- [4] Liu Z Z, Chen S, Wu J. Advances in ultrahigh-throughput screening technologies for protein evolution[J]. *Trends in Biotechnology*, 2023, 41(9): 1168-1181.
- [5] Hu L, Luo R, Wang D, et al. Corrigendum: SERS-based microdroplet platform for high-throughput screening of *Escherichia coli* strains for the efficient biosynthesis of D-phenyllactic acid[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2024, 12: 1527255-1527255.
- [6] Sufdar N A, Huang F, Qin W S, et al. A high throughput screening process and quick isolation of novel lignin-

- degrading microbes from large number of natural biomasses[J]. *Biotechnology Reports*, 2023, 39: 00809-00809.
- [7] Zhang P J, Li L M, Ren L D, et al. High-throughput screening of probiotics in fermented foods and their potential application in alleviating alcohol-induced damage[J]. *Food & Function*, 2025, 16(6): 2564-1576.
- [8] Sun Y, Li H C, Zheng L, et al. Iprobiotics: a machine learning platform for rapid identification of probiotic properties from whole-genome primary sequences[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, 23(1): 477.
- [9] 江洪, 李晓南, 高倩. 合成生物学领域技术发展态势与研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2024, 44(05): 118-133.
- [10] 李勤, 余彩霞, 邓林. 微生物培养基的设计优化探讨[J]. *轻工科技*, 2020, 36(04): 5-6.
- [11] Gherab E R Z F, Hassaine O, Zadi-karam H, et al. Statistical optimization for the development of a culture medium based on the juice of waste-dates for growth of *Lactococcus lactis* LCL strain by using the Plackett-Burman and response surface methodology[J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2019, 10(10): 2943-2957.
- [12] Yawalkar A A, Pangarkar V G, Beenackers A A C M. Gas hold - up in stirred tank reactors[J]. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 2002, 80(1): 158-166.
- [13] Wang L, Feng E. An improved nonlinear multistage switch system of microbial fermentation process in fed-batch culture[J]. *Journal of Systems Science and Complexity*, 2015, 28(3): 580-591.
- [14] 田锡炜, 王冠, 张嗣良, 等. 工业生物过程智能控制原理和方法进展[J]. *生物工程学报*, 2019, 35(10): 2014-2024.
- [15] 李翔宇. 基于中红外光谱的厌氧反应器中挥发性脂肪酸的在线监测[D]. 济南: 山东大学, 2020.
- [16] Liu H, Chen G X, Wu L, et al. Development of the online automatic measuring system for total sugar content in chlortetracycline fermenter[J]. *Advanced Materials Research*, 2013, 760: 1067-1070.
- [17] 王路. 基于近红外光谱检测的微生物发酵监测与建模[D]. 大连: 大连理工大学, 2017.
- [18] Jin S D, Zhu X Y, Brightbill E L, et al. Chemical and biological sensor capsules for real-time measurement of cell properties in bioreactors[J]. *Electrochemical Society Meeting Abstracts*, 2021, 55: 1338-1338.
- [19] 杨展, 姚国强, 刘凯龙, 等. 培养温度对长双歧杆菌婴儿亚种 B8762 分裂周期的影响[J/OL]. *食品与发酵工业*, 1-10[2024-12-11].
- [20] Feng Y, Tian X W, Chen Y, et al. Real-time and on-line monitoring of ethanol fermentation process by viable cell sensor and electronic nose[J]. *Bioresources and Bioprocessing*, 2021, 8(1): 37-37.
- [21] Konishi M. High cell density cultivation of *Corynebacterium glutamicum* by deep learning-assisted medium design and the subsequent feeding strategy[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2024, 137(5): 396-402.
- [22] Sohoni V S, Nelapati D, Sathe S, et al. Optimization of high cell density fermentation process for recombinant nitrilase production in *E. coli*[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 188: 202-208.
- [23] Marques S, Girio M F, Santos L A J, et al. Pulsed fed-batch strategy towards intensified process for lactic acid production using recycled paper sludge[J]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2017, 7(2): 127-137.
- [24] Webster T A, Hadley B C, Dickson M, et al. Automated raman feed-back control of multiple supplemental feeds to enable an intensified high inoculation density fed-batch platform process[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2023, 46(10): 1457-1470.
- [25] Yilmaz D, Parulekar J S, Cinar A. A dynamic EFM-based model for antibody producing cell lines and model based evaluation of fed-batch processes[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2020, 156: 107494-107494.
- [26] Zhang A, Huang S, Zhuang X, et al. A novel kinetic model to describe 1,3 - propanediol production fermentation by *Clostridium butyricum*[J]. *AIChE Journal*, 2019, 65(6): 10.
- [27] 冯志伟. *Pediococcus acidilactici* IMAU95219 增殖培养基及高密度培养工艺优化[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.

- [28] 毛亚玲, 李俊娥, 于静, 等. 酒酒球菌和酿酒酵母共接种发酵动力学模型建立[J]. 食品科学, 2023, 44(02): 156-164.
- [29] 杨清清, 雷霜江, 包善思, 等. 鼠李糖乳杆菌产胞外多糖发酵条件优化及发酵动力学模型构建[J]. 中国酿造, 2023, 42(05): 206-211.
- [30] 郝泽基. 碟式离心机流场特性研究与结构优化[D]. 天津: 天津大学, 2022.
- [31] 宫俊峰, 张国柱, 赵玉明, 等. 植物乳杆菌真空冷冻干燥工艺的优化[J]. 食品工业, 2022, 43(09): 71-74.
- [32] 周天, 顾亦昂, 赵晓庆. 陶瓷膜过滤应用于益生菌浓缩工艺可行性研究[J]. 饮料工业, 2025, 28(01): 29-32.
- [33] Laina T K, Drosou C, Krokida M. Comparative assessment of encapsulated essential oils through the innovative electrohydrodynamic processing and the conventional spray drying, and freeze-drying techniques[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2024, 95: 103720.
- [34] Gui X C, Shang B Y, Yu Y D. Applications of electrostatic spray technology in food preservation[J]. *LWT*, 2023, 190: 115568.
- [35] Geraldine B, Shari K, Katarina J, et al. Effects of initial cell concentration, growth phase, and process parameters on the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG after spray drying[J]. *Drying Technology*, 2020, 38(11): 1474-1492.
- [36] 张娜, 周悦, 朱维红, 等. 母乳婴儿源植物乳杆菌高密度培养与冻干保护剂优化[J/OL]. 现代食品科技, 1-14.
- [37] Araujo S A, Paula D Z N, Lima D B A M, et al. Influence of the addition of gum arabic and xanthan gum in the preparation of sodium alginate microcapsules coated with chitosan hydrochloride on the survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 294: 139388.
- [38] Chen P, Tian J, Ren Y, et al. Enhance the resistance of probiotics by microencapsulation and biofilm construction based on rhamnogalacturonan I rich pectin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 258: 128777.
- [39] Vanare P S, Singh K R, Chen J, et al. Double emulsion microencapsulation system for *Lactobacillus rhamnosus* GG using pea protein and cellulose nanocrystals[J]. *Foods*, 2025, 14(5): 831-831.
- [40] Pinto S S, Verruck S, Vieira R C, et al. Influence of microencapsulation with sweet whey and prebiotics on the survival of *Bifidobacterium*-BB-12 under simulated gastrointestinal conditions and heat treatments[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 64(2): 1004-1009.
- [41] Ma J, Xu C, Yu H, et al. Electro-encapsulation of probiotics in gum arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 111: 106381.
- [42] Silva P M, Tulinil F, Matos E F, et al. Application of spray chilling and electrostatic interaction to produce lipid microparticles loaded with probiotics as an alternative to improve resistance under stress conditions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 83: 109-117.
- [43] Ma J G, Tan Z, Wei X, et al. Electrospray whey protein-polysaccharide microcapsules co-encapsulating *Lactiplantibacillus plantarum* and EGCG: enhanced probiotic viability and antioxidant activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 290: 138734.

版权声明: ©2026 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS