

# 团 体 标 准

T/FDSA 0104—2025

## 益生菌与药食同源植物成分协同作用评价

The Evaluation of Synergistic Effects between Probiotics and Medicinal-Edible Plant  
Ingredients

2025-11-19 发布

2025-12-18 实施



## 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 评价原则 .....	1
5 评价指标体系 .....	1
6 评价方法 .....	2
7 评价流程 .....	6
8 结果判定及分级 .....	8
9 质量控制与保证 .....	9
10 评价报告 .....	9
参考文献 .....	10

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由无限极（中国）有限公司提出。

本文件由中国食品药品企业质量安全促进会归口。

本文件起草单位：无限极（中国）有限公司、广东正当年生物科技股份有限公司、哈尔滨工业大学、绿之韵生物工程集团有限公司、上海康识食品科技有限公司、中科埃微生物技术有限公司、三株福尔制药有限公司、固正保和中医药科技（成都）有限公司、山东国和堂制药有限公司、海南大学、微康益生菌（苏州）股份有限公司、天益空间生物科技（无锡）有限公司、湖南益百益优生物科技有限公司、上海佑今生健康科技有限公司、山东环亿生物科技有限公司、芜湖鲨鱼菲特健康科技有限公司、郑州金百合生物工程股份有限公司、上海甘泓生物医学科技有限公司、健码制药（广东）有限公司、华大精准营养（深圳）科技有限公司、浙江大医德美生物科技有限公司、宁夏普世特膳科技有限公司、甘肃集本草健康生物科技有限公司、江苏省中医药研究院、厦门元之道生物科技有限公司、江苏美济制药集团有限公司、天津创源生物技术有限公司、吉林省知遇健康股份有限公司、中国保健协会食物营养与安全委员会

本文件主要起草人：宁德山、汪涛、韩雪、贺炜、路会丽、李迎迎、吴炳新、王聚和、乔进朋、汪瑞敏、方曙光、郝学潮、吴柏峰、陈群、曹崇仁、周转、杜灵广、冯华峰、马国标、张海峰、晏永球、郭聘洋、杜红斌、宋双、黄君阳、庞中华、梁武、王海宽、李佳盈、周勇、陈则华、蒋先志、陆新军、张华、王振宇、吕晓红、张顶武、肖倩、吕美、范云飞、尤虎、李海涛、张春、朱建国、夏九学、何丽琼、陈华纲、唐毅哲、吴伟东、马睿、钟一祎、刘旭鹏、陆伟、路东旭。

# 益生菌与药食同源植物成分协同作用评价

## 1 范围

本文件规定了益生菌与药食同源植物成分协同作用评价的术语和定义、基本原则、评价指标体系、评价方法、评价流程、结果判定及分级、质量控制与保证、评价报告等。

本文件适用于益生菌与药食同源植物成分协同作用的评价。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**益生菌 probiotic**

是一类活的微生物，当摄入足够数量时，对宿主健康有益。

### 3.2

**药食同源植物 medicinal and edible plant**

既具有中医学药用价值，又可作为普通食品食用的植物资源。其安全性高，可长期食用，兼具营养补充和身体机能调理的双重作用。

### 3.3

**协同作用 synergistic effect**

益生菌与药食同源植物成分共培养后组合物使用时，其整体功效显著高于两者单独作用时功效的简单累加效应。

## 4 评价原则

### 4.1 科学性原则

评价方法和指标基于分子生物学、代谢组学等科学理论，采用已验证的实验技术，确保评价结果真实可靠。

### 4.2 系统性原则

从微生物学、化学成分、生物学功能三个核心维度，综合考量益生菌与药食同源植物成分在不同层面的协同作用，全面系统地进行评价。

### 4.3 实用性原则

评价方法、操作流程、判定规则具备可重复性和可操作性，适用于企业实验室、第三方检测机构及监管部门。

### 4.4 协同作用判定原则

协同作用的评价应基于可重复的实验证据，并同时满足统计显著性（ $P < 0.05$ 或按预设标准）和生物学意义双重标准。

## 5 评价指标体系

5.1 益生菌与药食同源植物成分协同功效评价指标体系由微生物学指标、化学成分指标、生物学功能指标等三部分组成。

5.2 评价指标体系由一级指标 3 个、二级指标 7 个、三级指标 17 个，共三个层次构成，具体如表 1 所示。

表 1 益生菌与药食同源植物成分协同功效评价指标体系

一级指标	二级指标	三级指标
微生物学指标	益生菌增殖与活性	体外增殖率
		体内增殖率
		活性指标
	菌群结构与多样性	菌群多样性指数
		有益菌与有害菌比例
化学成分指标	药食同源植物成分变化	活性成分含量
		功效成分转化与修饰
	代谢产物分析	益生菌代谢产物种类
		益生菌代谢产物含量
		植物 - 益生菌共代谢产物
生物学功能指标	肠道功能改善	肠道屏障功能
		消化吸收功能
	免疫调节作用	免疫细胞功能
		免疫分子水平
	其他生理功能调节	辅助降血脂功能
		辅助降血糖功能
		改善睡眠

## 6 评价方法

### 6.1 样品来源

#### 6.1.1 益生菌

6.1.1.1 菌株应进行“菌株水平”鉴定，并提供拉丁学名。

6.1.1.2 菌株来源应符合国家或国际公认的安全菌株目录要求。

6.1.1.3 应通过急性经口毒性试验、遗传毒性试验等基础毒理学评价，特定菌株须评估产毒素风险。

#### 6.1.2 药食同源植物成分

6.1.2.1 基原物种应与《既是食品又是药品的物品名单》一致，并通过形态学或分子鉴定。不得使用未列入目录或来源不明的植物。

6.1.2.2 产地应符合良好农业规范，并提供土壤重金属与农药残留背景值检测报告。应明确采收部位与时间，避免使用污染物富集部位或未成熟、腐烂原料。

### 6.2 体外实验

#### 6.2.1 共培养实验

##### 6.2.1.1 实验准备

选取纯度和活性符合要求的益生菌菌株，如植物乳植杆菌、嗜酸乳杆菌等；将药食同源植物原料粉碎后，采用合适的提取方法制备提取物，用合适的方式除菌备用。

### 6.2.1.2 体系构建

设置实验组（不同比例的益生菌+药食同源植物成分提取物）、对照组（单独益生菌培养、单独植物成分提取物培养、空白培养基），每个处理设置3个生物学重复。以 MRS 培养基为基础，根据实验需求调整成分，将益生菌接种量控制在 $10^6$  CFU/mL~ $10^7$  CFU/mL，植物成分提取物添加量依据预实验确定适宜浓度梯度，以确定无细胞毒性的有效浓度范围。

### 6.2.1.3 培养与监测

6.2.1.3.1 将培养体系置于  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  温度环境中、厌氧培养组 DO 小于 0.5 mg/L，微需氧培养组 DO 5 mg/L~10 mg/L（通过厌氧工作站或通入  $\text{N}_2/\text{CO}_2$  混合气体调控），培养初期（0 h~12 h）每隔 6 h~8 h 取样，此阶段益生菌处于适应期和对数生长期前期，代谢相对缓慢；培养中后期（12 h 后）每隔 2 h~4 h 取样，以密切监测代谢产物快速生成阶段的变化。当益生菌菌落总数达到  $10^8$  CFU/mL 及以上，且连续两次取样活菌数无显著增长（通过 t 检验， $P > 0.05$ ）；pH 达到目标适口范围，且在 2h 内变化幅度处于预设的可接受区间，则说明培养结束。

6.2.1.3.2 采用平板计数法测定益生菌活菌数（批间变异系数 CV 小于 10%），绘制生长曲线。利用液相色谱-质谱联用（HPLC-MS）或者气相色谱-质谱联用（GC-MS）技术检测发酵液中药食同源植物成分活性物质和代谢物，关键成分含量批间相对标准偏差（RSD）小于 8%。

## 6.2.2 细胞实验

### 6.2.2.1 细胞培养

将细胞置于含 10% 胎牛血清、1% 双抗（青霉素 - 链霉素）的适宜培养基中，在  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养。待细胞生长至对数生长期时，进行传代或实验处理。

### 6.2.2.2 实验分组

设置空白对照组、益生菌处理组、药食同源植物成分提取物处理组、益生菌与植物成分协同处理组（不同比例组合）、阳性对照组（根据实验目的选择已知具有活性的物质）。每组设置 3 个复孔，实验重复 3 次。

### 6.2.2.3 炎症模型构建

#### 6.2.2.3.1 预实验设计

对于 RAW 264.7 细胞，采用脂多糖（LPS）诱导炎症模型。设置 LPS 浓度梯度（0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ），分别作用 4 h、6 h、8 h、12 h，检测上清液中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平，选择能使炎症因子显著升高（与空白组相比  $P < 0.05$ ）且细胞存活率不低于 80% 的最低浓度与时间作为造模参数。

#### 6.2.2.3.2 模型验证

造模后，通过 ELISA 法检测细胞上清液中 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、ISG15 含量，应均显著高于空白对照组（ $P < 0.05$ ），且炎症因子浓度达到空白组的 2~5 倍（如 IL-6  $\geq 500$  pg/mL，TNF- $\alpha$   $\geq 300$  pg/mL），则模型构建成功。

### 6.2.2.4 处理与检测

将细胞以  $5 \times 10^5$  个/孔密度接种于 6 孔板中，待细胞贴壁后，向各孔加入不同处理组样品（空白对照组加入等体积培养基），培养一定时间。采用 MTT 法检测细胞增殖能力。通过酶联免疫吸附测定法（ELISA）测定细胞培养上清液中炎症因子（如 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、ISG15）含量。利用 Western blot 技术检测细胞内相关蛋白的表达水平。

## 6.3 动物实验

### 6.3.1 动物模型选择

#### 6.3.1.1 肠道菌群失调模型

采用抗生素灌胃法构建，选用正常小鼠，通过灌胃给予广谱抗生素（如氨苄青霉素、甲硝唑等混合溶液），连续5~7天，破坏肠道正常菌群结构。与空白对照组相比，粪便中肠道菌群多样性（Shannon 指数、Simpson 指数）显著降低（ $P < 0.05$ ），有益菌丰度显著下降，有害菌丰度显著升高（ $P < 0.05$ ），则判定模型构建成功。

#### 6.3.1.2 免疫低下模型

##### 6.3.1.2.1 免疫抑制动物模型

采用环磷酰胺腹腔注射法，对实验动物注射适宜剂量的环磷酰胺，连续3~5天，诱导免疫抑制状态。与空白对照组相比，实验动物脾脏指数、胸腺指数显著降低（ $P < 0.05$ ），外周血淋巴细胞总数及CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 细胞比例显著下降（ $P < 0.05$ ），血清免疫球蛋白（IgG、IgA、IgM）水平显著降低（ $P < 0.05$ ），则判定模型构建成功。

##### 6.3.1.2.2 睡眠剥夺免疫低下模型

选取小鼠/大鼠等实验动物，先适应性饲养以稳定生理状态；随后将其置于含声（如80 dB~100 dB、2000 Hz~4000 Hz间歇性噪音）和光（如100 lux~300 lux间歇性强光）装置中，通过随机交替的声光刺激打断动物睡眠（急性剥夺24h~72h，慢性剥夺1~4周）；与空白对照组相比，模型对照组小鼠血清皮质酮水平显著升高（ $P < 0.05$ ），且脾脏自然杀伤（NK）细胞活性或T淋巴细胞增殖能力显著降低（ $P < 0.05$ ），则判定模型构建成功。

#### 6.3.1.3 高脂血症模型

选用SPF级SD大鼠或C57BL/6小鼠（6~8周龄，雌雄可根据实验需求选择，实验前适应普通饲料喂养3天）为实验对象；给予定制高脂饲料喂养，饲料中含胆固醇、猪油、胆酸钠等关键成分（典型配方如1%胆固醇+10%猪油+0.2%胆酸钠，其余为基础饲料），持续喂养4~8周以诱导机体血脂异常；对照组应设置普通饲料对照组（仅饲喂基础饲料，其他饲养条件一致）以排除基础饮食影响；造模后，与普通饲料对照组相比，模型对照组小鼠血清TC、TG和LDL-C水平均显著升高（ $P < 0.05$ ），肝脏组织油红O染色显示脂质沉积明显（ $P < 0.05$ ），则判定模型构建成功。

#### 6.3.1.4 糖尿病模型

选用SPF级SD大鼠、Wistar 大鼠或 C57BL/6 小鼠（6~10周龄，雄性为主，避免雌性激素对血糖的潜在影响，实验前适应环境3天）为实验对象；采用链脲佐菌素（STZ）诱导法，构建I型糖尿病模型。先将STZ用柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液（pH4.2~4.5）新鲜配制为适宜浓度，再根据动物种类（大鼠常用剂量40 mg/kg~60 mg/kg，小鼠常用剂量100 mg/kg~150 mg/kg）及模型类型，选择腹腔注射或尾静脉注射方式给药；对照组应设置溶剂对照组（注射等量柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液）以排除缓冲液对机体的影响；建模后应动态监测动物空腹血糖（FBG），通常以连续3天FBG $\geq$ 11.1 mmol/L作为糖尿病模型成功的判定标准，同时可结合检测糖耐量（OGTT）、胰岛素水平、糖化血红蛋白（HbA1c）含量，观察动物多饮、多食、多尿及体重减轻等“三多一少”典型症状，综合评估模型稳定性及糖尿病病理状态。

#### 6.3.1.5 焦虑模型

该模型常用SPF级SD大鼠或 C57BL/6 小鼠（多选择雄性，实验前适应环境不少于3天），主要通过慢性不可预知温和应激（CUMS，21~28天内随机施加禁水禁食、倾斜笼具等多种应激源）、束缚应激（每日束缚2h~6h，连续7天~14天）等方式造模，辅以高架十字迷宫（EPM）验证焦虑样行为；造模后，高架十字迷宫测试中，实验动物开放臂进入次数占比低于20%、开放臂停留时间占比低于15%（ $P < 0.05$ ）；旷场实验中中央区域活动时间显著减少（ $P < 0.05$ ）；血清皮质酮水平显著升高（ $P < 0.05$ ），脑内5-羟色胺水平显著降低（ $P < 0.05$ ），则判定模型构建成功。

### 6.3.2 实验设计

#### 6.3.2.1 实验分组

针对每种动物模型，均设置以下分组，且益生菌与药食同源植物协同给药组分别设置高、中、低剂量梯度组（高剂量按体表面积换算的3倍或按体重换算后的2~5倍，中剂量为1倍，低剂量为0.2~0.3倍），以验证协同效应与剂量的关系：

- a) 空白对照组：不做任何处理，给予正常饲料及生理盐水灌胃；
- b) 空白对照组+溶剂对照组：根据阳性对照组或干预组的给药途径，对应给予等量溶剂（如腹腔注射等），其余处理与空白对照组一致；
- c) 模型对照组：仅构建相应模型，给予正常饲料及生理盐水灌胃；
- d) 模型对照+溶剂对照组：构建相应模型，根据阳性对照组或干预组的给药途径，对应给予等量溶剂，其余处理与模型对照组一致；
- e) 阳性对照组：构建模型后，给予临床认可的标准药物/标准干预手段，具体如下：
  - 1) 肠道菌群失调模型：选择布拉氏酵母菌散（小鼠 200 mg/kg~400 mg/kg 体重/天）或乳果糖口服液（小鼠 1 mL/kg~2 mL/kg 体重/天），以生理盐水溶解/稀释后灌胃；
  - 2) 免疫抑制动物模型（环磷酰胺法）：选用左旋咪唑片（小鼠 25mg/kg~50mg/kg 体重/天，生理盐水溶解后灌胃）或重组人粒细胞集落刺激因子（rhG-CSF，小鼠 5 μg/kg~10 μg/kg 体重/天，腹腔注射）；
  - 3) 睡眠剥夺免疫低下模型：选择褪黑素（小鼠 10 mg/kg~20 mg/kg 体重/天）或酸枣仁提取物（小鼠 200 mg/kg~400 mg/kg 体重/天），均以生理盐水处理后灌胃；
  - 4) 高脂血症模型：选择辛伐他汀片（大鼠 10mg/kg~20mg/kg 体重/天、小鼠 20mg/kg~40 mg/kg 体重/天）或非诺贝特胶囊（大鼠 50 mg/kg~100 mg/kg 体重/天，玉米油稀释），均灌胃给药；
  - 5) 糖尿病模型（STZ 诱导法）：选用二甲双胍片（大鼠 200 mg/kg~400 mg/kg 体重/天、小鼠 300mg/kg~600mg/kg 体重/天，生理盐水溶解后灌胃）或胰岛素注射液（小鼠 1U/kg~2 U/kg 体重/天，皮下分 2 次注射）；
  - 6) 焦虑模型（CUMS/束缚应激法）：选用地西洋片（大鼠 0.5mg/kg~1mg/kg 体重/天、小鼠 1mg/kg~2 mg/kg 体重/天，生理盐水溶解后灌胃，行为学检测前 30min 给药）或氟西汀胶囊（大鼠 5 mg/kg~10 mg/kg 体重/天，灌胃，应激开始同步给药）。
- f) 药食同源植物单独给药组：构建模型后，给予药食同源植物灌胃；
- g) 益生菌单独给药组：构建模型后，给予相应剂量益生菌灌胃；
- h) 益生菌与药食同源植物协同给药高剂量组；
- i) 益生菌与药食同源植物协同给药中剂量组；
- j) 益生菌与药食同源植物协同给药低剂量组。

### 6.3.2.2 动物分组与处理

选取健康、体重相近的实验动物（如SD大鼠、C57BL/6小鼠），随机分为上述各组，每组8~10只。益生菌给药剂量通常为 $10^8$ ~ $10^{10}$  CFU/天/只，制成活菌悬液后灌胃给予。药食同源植物提取物剂量按体表面积法进行种间换算，确保小鼠摄入有效成分总量与人类推荐量匹配，结合预实验确定合适剂量后灌胃给药。协同给药组同时给予相应剂量的益生菌和植物提取物，给药频率为每天1次，持续时长由动物模型所需时间而定。所有组别的饲养环境、饮食、操作频率等条件保持一致，仅干预因素不同。

### 6.3.2.3 样本采集与指标检测

实验结束后，对动物进行麻醉，分别采集血液、粪便、组织（如肠道、肝脏、脾脏等）样本。血液样本用于检测生化指标（如血脂、血糖、肝功能、炎症因子与免疫球蛋白等）。粪便样本用于肠道菌群分析，包括但不限于采用 16SrRNA 基因测序技术进行肠道菌群群落结构与多样性分析，采用 HP LC-MS 进行代谢组学分析。组织样本用于病理切片观察、免疫组化分析及相关蛋白和基因表达检测，采用如 Western blot 技术或者 RT-PCR 技术。

## 6.4 人体实验

### 6.4.1 人体试食设计

#### 6.4.1.1 实验原则

遵循伦理学原则，严格按照《保健食品功能检验与评价技术指导原则》开展。

#### 6.4.1.2 受试人群选择

制定明确的纳入和排除标准，招募健康志愿者或特定疾病患者。受试人群年龄、性别、体重指数等应具有代表性，且签署知情同意书。

#### 6.4.1.3 分组与干预

采用组间对照设计。根据随机盲法的要求进行分组。分为空白对照组、安慰剂组、益生菌单独干预组、药食同源植物单独干预组、益生菌与药食同源植物协同干预组。尽可能考虑影响结果的主要因素如年龄、性别、饮食等，进行均衡性检验，以保证组间的可比性。每组受试者不少于50例。安慰剂采用外观、口感与受试产品相似但无活性成分的制剂。干预周期根据产品特性和研究目的确定，干预期间要求受试者保持正常饮食和生活习惯，记录饮食和运动情况。

#### 6.4.1.4 监测指标与频率

在试验开始前、干预期间和试验结束后，采集受试者血液、粪便样本。检测指标包括微生物学指标（如粪便中益生菌数量、肠道菌群多样性）、化学成分指标（如血液中相关代谢产物含量）、生物学功能指标（如血脂、血糖、免疫功能指标）。同时，定期收集受试者的主观感受（如消化情况、疲劳感等）和不良反应信息。

### 6.4.2 样本采集与分析

#### 6.4.2.1 样本采集

血液样本采集采用真空采血管，采集后分离血清或血浆备用。粪便样本采集后置于无菌容器中，尽快低温保存或送检。采集过程遵循无菌操作原则，确保样本无污染。

#### 6.4.2.2 样本分析

运用相应的检测技术分析微生物学、化学成分和生物学功能指标。微生物学指标检测按照有关国家相关标准的要求进行。化学成分指标采用 HP LC、GC-MS、LC-MS、HP LC-MS等仪器进行分析。生物学功能指标依据相关临床检验标准进行检测。同时，采用问卷调查等方式收集受试人群的主观感受和不良反应信息，并进行详细记录和统计分析。

## 7 评价流程

### 7.1 前期准备

#### 7.1.1 明确评价目标和范围

明确待评价的益生菌与药食同源植物成分组合，划定评价范围，包括适用人群（如健康人群、特定疾病患者）、产品剂型（粉剂、片剂、口服液等）。若产品宣称具有特定保健功能，应按照《保健食品功能评价程序和检验方法》的要求进行检验，确保评价方向的准确性。

#### 7.1.2 制定评价方案

结合评价目标，确定实验类型及组合。科学计算样本数量，同时明确样本纳入和排除标准，确保样本的代表性和一致性。依据评价指标体系，选择对应的检测方法和技术。

### 7.2 实验设计

根据评价目标，选择合适的实验模型，如体外实验、动物实验、人体试验。合理设置对照组，包括空白对照、阳性对照组、益生菌单独作用对照、药食同源植物成分单独作用对照等。确定实验样本数量、处理方式和观察周期等参数。

### 7.3 样本采集与检测

在实验过程中，按照预定时间节点采集样本，如细胞培养液、动物组织、人体血液和排泄物等。运用合适的检测技术和方法，对样本进行检测分析，获取各项指标数据。

## 7.4 数据分析与评价

### 7.4.1 数据收集与整理

7.4.1.1 数据的记录应符合 GB/T 8170 的要求，确保数据精度与有效性。对于微生物学指标数据（如菌落计数），按 CFU/mL 单位精准记录，同时标注检测过程中的稀释倍数、培养条件等关键信息，为后续效应量计算提供基础数据支撑；化学成分数据（如活性成分含量）应采用国际单位制（如 mg/mL、g/kg 等），并保留足够的有效数字，避免因数据精度不足影响效应量估算结果。实验时间、样本编号、检测人员、仪器型号等信息应完整标注，确保数据可追溯。

7.4.1.2 建立电子表格模板，除包含样本编号、处理组、检测指标、检测值、检测日期等基础字段外，应额外增设“效应量关联字段”，具体包括：每组样本量（ $n$ ）、标准差（SD）或标准误（SE）、均值（Mean）等核心统计量。其中，均值与标准差（或标准误）对应每一项检测指标、目标功效指标，确保数据结构清晰，可直接用于后续效应量计算，避免数据二次处理过程中产生误差。

### 7.4.2 统计方法

#### 7.4.2.1 统计类别

根据数据类型（计量资料/计数资料）、实验设计（完全随机设计、配对设计、析因设计等）及数据分布特征（正态分布/非正态分布），选择合适的统计分析方法，同时应结合研究目的明确效应量的计算类型与方法，实现“统计显著性”与“实际效应大小”的双重分析。

#### 7.4.2.2 组间差异比较类

7.4.2.2.1 若数据符合正态分布且方差齐性，采用  $t$  检验（两组比较）或方差分析（ANOVA，多组比较），此时应计算标准化均数差（SMD）作为效应量指标，并报告 95% 置信区间（95% CI），用于量化两组/多组间指标差异的实际大小。

7.4.2.2.2 若数据不符合正态分布或方差不齐，采用非参数检验（如 Wilcoxon 秩和检验、Kruskal-Wallis  $H$  检验），此时应计算秩相关效应量（ $r$ ）或 Cliff's delta， $r$  的绝对值越大，表明组间差异的实际效应越显著；若为计数资料（如阳性率、合格率），采用卡方检验，此时应计算风险比（RR）、比值比（OR）或绝对风险差（ARD）作为效应量指标，更直观反映干预措施对结局指标的实际影响程度。

#### 7.4.2.3 指标相关性分析类

采用 Pearson 相关分析（正态分布数据）或 Spearman 秩相关分析（非正态分布数据）时，应将相关系数（ $r$ ）作为效应量指标，结合统计显著性（ $P$  值）判断相关性的强度与可靠性： $|r| < 0.3$  为弱相关， $0.3 \leq |r| < 0.7$  为中等相关， $|r| \geq 0.7$  为强相关，同时报告 95% CI，避免仅依据  $P$  值忽略“弱相关但有实际意义”或“强相关但无统计显著性”的情况。

#### 7.4.2.4 效应量的异质性检验

若涉及多组数据合并分析（如 Meta 分析思路的局部应用），应采用  $I^2$  检验进行效应量的异质性分析， $I^2$  值越小（通常  $I^2 < 25\%$  为低异质性， $25\% \leq I^2 < 50\%$  为中低异质性， $50\% \leq I^2 < 75\%$  为中高异质性， $I^2 \geq 75\%$  为高异质性），表明不同组/批次数据的效应量一致性越好，结果的可靠性越高；若存在高异质性，应进一步分析异质性来源（如样本差异、检测条件差异等），并通过亚组分析或敏感性分析降低异质性影响。

### 7.4.3 结果评价

依据统计分析结果（ $P$  值）与效应量指标（SMD、 $r$ 、RR、ARD 等），结合预先设定的评价指标体系，对益生菌与药食同源植物成分的协同功效进行“统计显著性 + 实际效应大小”的双重综合评价，避免仅依据  $P$  值判定协同作用，忽略“统计显著但效应量小（无实际意义）”或“效应量大但统计不显著（样本量不足）”的情况。

## 8 结果判定及分级

## 8.1 协同效果判定

## 8.1.1 微生物学指标

微生物学协同效果判定标准见表2。

表2 微生物学协同效果判定标准

序号	二级指标	三级指标	协同效果判定
1	益生菌增殖与活性	体外增殖率	显著高于益生菌单独组 ( $P < 0.05$ ), 且效应量 $d \geq 0.8$
		体内增殖率	动物/人体实验中, 粪便益生菌数量显著高于单独组 ( $P < 0.05$ ), 且持续稳定定植
		活性指标	代谢活性(如酶活性、抗氧化能力)显著提升 ( $P < 0.05$ )
2	菌群结构与多样性	菌群多样性指数	肠道菌群 $\alpha$ 多样性(如Shannon指数)显著高于模型组及单独组 ( $P < 0.05$ )
		有益菌与有害菌比例	有益菌(如双歧杆菌、乳杆菌)比例显著升高, 有害菌(如肠球菌)比例显著降低 ( $P < 0.05$ )

## 8.1.2 化学成分指标

化学成分协同效果判定标准见表3。

表3 化学成分协同效果判定标准

序号	二级指标	三级指标	协同效果判定
1	药食同源植物成分变化	活性成分含量	药食同源植物活性成分在发酵后含量显著增加 ( $P < 0.05$ )
		功效成分转化与修饰	检测到新的共代谢产物, 且含量 $\geq 0.1 \mu\text{g/mL}$
2	代谢产物分析	益生菌代谢产物种类	代谢产物种类(如短链脂肪酸、细菌素)比单独组增加 $\geq 2$ 种
		益生菌代谢产物含量	关键代谢产物含量显著高于单独组 ( $P < 0.05$ ), 且效应量 $d \geq 0.8$
		植物-益生菌共代谢产物	检测到特异性共代谢产物(如植物多糖降解产物与益生菌代谢产物的结合物)

## 8.1.3 生物学指标

生物学协同效果判定标准见表4。

表4 生物学协同效果判定标准

序号	二级指标	三级指标	协同效果判定
1	肠道功能改善	肠道屏障功能	肠道紧密连接蛋白(如ZO-1、Occludin)表达显著上调 ( $P < 0.05$ ), 肠通透性降低
		消化吸收功能	消化酶活性(如淀粉酶、脂肪酶)显著提高, 或营养吸收指标(如钙、铁吸收率)提升 ( $P < 0.05$ )
2	免疫调节作用	免疫细胞功能	免疫细胞(如CD4+ T细胞、NK细胞)活性或比例显著升高 ( $P < 0.05$ )
		免疫分子水平	免疫因子(如IgA、IL-10)水平显著升高, 或炎症因子(如TNF- $\alpha$ 、IL-6)显著降低 ( $P < 0.05$ )
3	其他生理功能调节	降血脂功能	总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)降低幅度显著大于单独组 ( $P < 0.05$ )
		降血糖功能	空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)降低幅度显著大于单独组 ( $P < 0.05$ )
		改善睡眠与情绪	焦虑模型中, 高架十字迷宫开放臂停留时间延长, 血清皮质酮水平降低 ( $P < 0.05$ )

## 8.2 协同作用等级划分

评价结果按照协同效果划分为三级，具体分级结果及判定条件见表5。

表5 协同作用等级划分

等级	判定条件
显著协同	三个一级指标均满足协同组要求，且至少60%三级指标效应量 $d \geq 1.2$ 或 $\eta^2 \geq 0.2$
一般协同	两个一级指标满足协同组要求，或一个一级指标满足且其它两个一级指标中 $\geq 40\%$ 三级指标效应量达标
无协同	仅一个一级指标满足协同组要求，或所有一级指标均不满足但无拮抗现象
拮抗作用	协同组功效显著低于单独组（ $P < 0.05$ ），或出现毒性/致敏反应

## 9 质量控制与保证

### 9.1 实验材料质量控制

应确保实验用益生菌菌株的纯度、活力和稳定性，对药食同源植物原料的来源、产地、采收季节、炮制方法等进行严格把控，保证其质量一致性。

### 9.2 实验过程质量保证

规范实验操作流程，定期校准实验仪器设备，进行人员培训和技术考核，确保实验数据的可靠性和可重复性。

### 9.3 数据质量审核

建立数据审核机制，对实验数据进行多级审核，包括实验操作人员自查、项目负责人审核、具备CMA资质的实验室等，确保数据真实有效。

## 10 评价报告

评价报告内容包括：

- a) 封面：标题、编号、日期及参与单位；
- b) 摘要：简述评价目的、方法、主要结果及结论；
- c) 正文：
  - 1) 引言：背景、意义及评价目标；
  - 2) 试验起止时间；
  - 3) 方法：详细描述评价流程、指标及方法；
  - 4) 结果：数据表格、图表及统计分析结果；
  - 5) 讨论：结果解读、局限性及改进建议；
  - 6) 结论：明确结论；
  - 7) 试验者、校核人和技术负责人分别的签字以及试验单位公章。

参 考 文 献

- [1] 保健食品功能检验与评价技术指导原则
  - [2] 保健食品功能评价程序和检验方法
-