

植物性來源乳酸菌之篩選及機能特性之探討⁽¹⁾

黃建榕⁽²⁾⁽³⁾ 郭卿雲⁽²⁾

收件日期：93 年 9 月 24 日；接受日期：94 年 10 月 6 日

摘要

本研究之目的在於從本土植物性發酵產品中篩選出乳酸菌株，並探討其各項機能特性，以期提供產業界參考利用。本研究從發酵牧草、發酵小麥草、醃漬竹筍、醃蘿蔔乾及醃鳳梨等發酵性植物材料中，進行乳酸菌之篩選，以 API 50 CHL 套組來鑑定菌株種類。目前已確定菌株種類大多屬於 *Lactobacillus pentosus*、*L. plantarum*、*L. brevis*、*Leuconostoc mesenteroides* 及 *Streptococcus faecalis*。

本研究針對所篩選之植物性來源乳酸菌，進行各項機能特性探討。(1) 在耐酸性方面，以 Lb-b 株最佳，其次為 Lb-3、Lb-c、Lc-H 及 Lb-2。(2) 在耐膽鹽性方面，則以 Lc-A 最佳，其次為 Lc-C、Lc-E 及 Lb-2。(3) 能抑制 4 株目標病原菌株者為 Lb-2、Lb-c 及 Lc-E，抑菌效果較差者為 Lc-D。(4) 以硫鐵法測定抗氧化效果中，具有較佳之抗氧化特性為 Lb-b、Lb-c、Lb-3、Lc-A 及 Lc-H。(5) 在抗致突變性效果方面，TA 98 系統中效果較佳者為 Lb-c、Lb-b、Lb-3、Lc-H 及 Lc-A，而 TA 100 系統則以 Lb-b、Lc-A、Lb-c 及 Lc-H 較佳。依據上述結果，本研究篩選出具較佳總和機能度的乳酸菌株中以 Lb-b、Lb-c 及 Lc-A 為首選，Lc-H 及 Lb-3 次之。

關鍵詞：植物性來源乳酸菌、機能特性、應用。

緒言

乳酸菌應用於乳製品或食品之製造已有長久之歷史，而且添加此類菌種於乳製品或食品中，一般均能改善製品之風味及提高其機能特性（中澤及細野，1988），並可以改善腸內菌叢。對於人體健康有顯著幫助之乳酸菌生菌食品或製劑被視為生物技術中之原生保健性菌種與益菌助生質之一環而倍受注目（光岡，1984），一般此類食品之主要機能為改善腸內菌叢平衡、防止下痢及改善便秘、降低血液膽固醇含量以及提高、活化人體免疫系統等（Fuller，1989）。

乳酸菌因其棲息環境之不同而可分為：（1）使用於酸酪乳、乳酸菌飲料及乾酪等畜產加工品之動物性來源乳酸菌（2）生長於人及動物腸內之腸內乳酸菌及（3）使用於植物性加工品如豆乳、酒粕等之植物性來源乳酸菌等三大類（熊谷等，2000；2001）。而上述之乳酸菌生菌食品或製劑，目

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 1345 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所加工組。

(3) 通訊作者。E-mail: cjhuang@mail.tlri.gov.tw

前大多採用動物性來源乳酸菌或腸內乳酸菌來研製（廣田，1990；難波等，1981；光岡，1984）。有關植物性來源乳酸菌的特性及其機能性的研究到目前為止仍屬少數。由於乳酸菌會因菌株、菌種之不同，其所具有之機能性及胺基酵素之種類、活性會有所差異（上野川，1981），因此植物性來源乳酸菌所具有之機能性是可以期待的。

近年來，有關以植物性材料為發酵基質或添加物之發酵製品如發酵豆乳、以豆乳取代部分牛乳之發酵乳品（張等，1999）、蕃茄風味酸酪乳（陳等，2000）、以馬鈴薯為發酵基質之酸酪乳（工藤及松田，2000）及以植物性來源乳酸菌為發酵菌元所製造之發酵乳（瀨野等，2000；久米村等，2001）等之研究及生理機能探討之案例逐漸地增多，不過上述個案有些是以動物性來源乳酸菌為發酵菌元（張等，1999；陳等，2000；工藤及松田，2000），有些雖是使用植物性來源乳酸菌，但是均由日本傳統食品如玄米、米糠及酒粕等分離而來（熊谷等，2000；2001；瀨野等，2000），且其探討的範圍大致僅限於植物性來源乳酸菌之抗變異特性、對排便次數之影響以及對胃液、腸液之耐性等，對於其他應用及機能特性之探討則尚付闕如。鑑此，本研究於第一年度擬從本土植物性發酵食品如酸醃菜、醃漬蔬菜或發酵豆類中篩選出具有優良特性的植物性來源乳酸菌，並在第二年度進行各項機能特性之探討以及在第三年度進行產品之研製及其應用，期能提供國內乳業界及食品界未來應用之參考。

材料與方法

I. 材料：

- (i) 植物性發酵產品：發酵牧草及小麥草由本所飼作組供應，而醃蘿蔔乾、醃漬竹筍、醃鳳梨及芒果青則直接從市面上購置。
- (ii) 目標病原菌：大腸桿菌—*E. coli* CCRC 10450、沙門氏桿菌—*Salmo. typhimurium* CCRC 10747、金黃色葡萄球菌—*Staph. aureus* CCRC 10451 以及螢光假單胞菌—*P. fluorescens* CCRC 11028 等 4 株，以及抗致突變性試驗指標菌株—*Salmo. typhimurium* TA 98 及 TA 100 均由中興大學畜產系張勝善教授研究室提供。

II. 試驗方法

- (i) 耐酸性試驗：參考 Zavaglia *et al.* (1998) 法行之。將活化之乳酸菌液分別加入不同 pH 值 (2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 7.0) 之磷酸鹽緩衝液，置於 37°C 培養箱，行振盪培養 3 小時後測其菌數。
- (ii) 耐膽鹽性試驗：參考 Toit *et al.* (1998) 法行之。取活化之乳酸菌液，加入含 0.3% 牛膽鹽之 MRS broth 中，於 37°C 下培養，並以 OD 650 nm 於各時間帶測定吸光值。
- (iii) 抑菌性之評估：依 Rammelsberg and Radler (1990) 法進行之。將經活化 16 小時的目標病原菌液 0.1 ml 塗抹於 nutrition agar 培養皿上，取出經活化、離心後之乳酸菌上清液，再將直徑 8 mm 之抗生素測試濾紙浸於其中，以滅菌之鑷子夾出濾紙片，平舖於培養皿上，37°C 培養 14 小時，測其抑菌圈直徑大小。本研究所使用的目標病原菌有 4 株，如 (I) 試驗材料中 (ii) 目標病原菌所列。
- (iv) 抗氧化性之測定：參考 Lingnert *et al.* (1979) 法行之。取亞麻油酸乳化液 5 ml 加入乳酸菌試液 0.1 ml 與 1/30 M 磷酸緩衝液 5 ml，混合後於 37°C 培養 120 小時，每隔 24 小時取出，測其過氧化物。取上述樣品 0.1 ml 依序加入 75% 乙醇溶液 4.7 ml、30% ammonium thio-

cyanate 0.1 ml 及 0.02M iron (II) chloride tetrahydrate 溶液 0.1 ml，振盪 3 分鐘後，以分光光度計測其於 500 nm 之吸光值。

- (v) 抗致突變性試驗：參考 Maron and Ames (1983) 法，各取乳酸菌體溶液 0.1 ml、標準致突變劑及 *Salmo. typhimurium* TA 98 及 TA100 菌株於試管中，加入磷酸緩衝液 0.5ml，於 37℃ 預培養 20 min，再加入 molten top agar 2 ml 混勻後，倒入 glucose minimal agar plate，於 37℃ 下培養 48 小時，測其菌落數。
- (vi) 毒性試驗：各取 0.1 ml 乳酸菌液、磷酸緩衝液及 *Salmo. typhimurium* TA98 及 TA100 菌株於試管中，再加入 0.5ml 磷酸緩衝液，於 37℃ 下預培養 20min，將混合物稀釋至 $2-3 \times 10^3$ CFU/ml，取 1 ml 稀釋液於培養皿中，加入 nutrient agar 搖勻，於 37℃ 下培養 48 小時後測其菌數。

結果與討論

本研究從數批發酵牧草、發酵小麥草、醃蘿蔔乾、醃漬竹筍、醃鳳梨及芒果青等發酵性植物材料中，進行植物性乳酸菌株之篩選作業。即秤取一定量之材料，以攪碎機攪碎均質後，先移至 BL 或 BS 培養基上培養，再將分離後之菌落移至 MRS 培養基上培養後，以 API 50 CHL 微生物鑑定套組進行菌株 49 種不同醣類之發酵測試。經鑑定檢索電腦軟體判斷，從發酵牧草及小麥草篩選出的大多屬乳酸桿菌屬微生物，如 *Lactobacillus pentosus* 及 *Lactobacillus plantarum*；從其他材料篩選出的則大多屬 *L. brevis* 及乳酸球菌屬微生物，如 *Leuconostoc mesenteroides* 及 *Streptococcus faecalis*。部分篩選微生物之 API 50 CHL 鑑定圖譜如圖 1-a 及圖 1-b 所示。

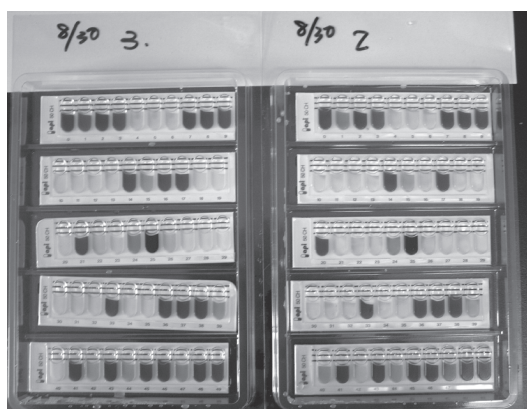


圖 1-a. Lb-2 (右) 與 Lb-3 (左) 之 API 50 CHL 鑑定圖譜。

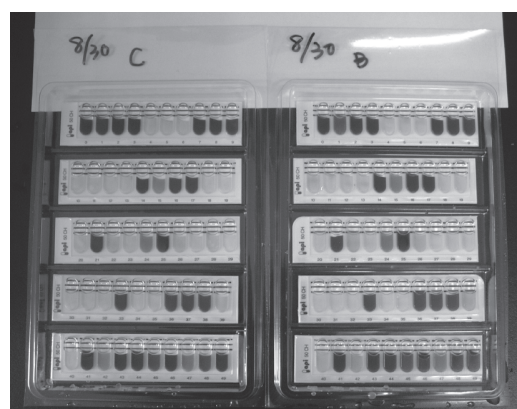


圖 1-b. Lb-b (右) 與 Lb-c (左) 之 API 50 CHL 鑑定圖譜。

Fig. 1-a. API 50 CHL pattern of Lb-2 (right) and Lb-3 (left) strains.

Fig. 1-b. API 50 CHL pattern of Lb-b (right) and Lb-c (left) strains.

表 1-a. Lb-2 菌株於 API 50 CHL 鑑定試驗中之碳源利用情形

Table 1-a. Utilization of carbon source of Lb-2 strain in API 50 CHL test

Profile :

0 - GLY ? ERY - DARA- LARA+ RIB + DXYL+ LXYL- ADO- MDX- GAL +
 GLU + FRU + MNE + SBE - RHA + DUL+ INO - MAN + SOR+ MDM- MDG +
 NAG + AMY + ARB + ESC + SAL + CEL+ MAL + LAC + MEL+ SAC + TRE +
 INU - MLZ + RAF + AMD - GLYG- XLT- GEN + TUR ? LYX- TAG + DFUC-
 LFUC+ DARL- LARL- GNT ? 2KG - SKG-

表 1-b. Lb-3 菌株於 API 50 CHL 鑑定試驗中之碳源利用情形

Table 1-b. Utilization of carbon source of Lb-3 strain in API 50 CHL test

Profile :

0 - GLY - ERY - DARA- LARA+ RIB + DXYL+ LXYL- ADO- MDX- GAL +
 GLU + FRU + MNE + SBE - RHA + DUL- INO - MAN + SOR+ MDM+ MDG -
 NAG + AMY + ARB + ESC + SAL + CEL+ MAL + LAC + MEL+ SAC + TRE +
 INU - MLZ + RAF + AMD - GLYG- XLT- GEN ? TUR + LYX- TAG + DFUC-
 LFUC? DARL- LARL- GNT ? 2KG - SKG-

表 1-c. Lb-b 菌株於 API 50 CHL 鑑定試驗中之碳源利用情形

Table 1-c. Utilization of carbon source of Lb-c strain in API 50 CHL test

Profile :

0 - GLY - ERY - DARA- LARA+ RIB + DXYL+ LXYL- ADO- MDX- GAL +
 GLU + FRU + MNE + SBE - RHA ? DUL- INO - MAN + SOR+ MDM+ MDG -
 NAG + AMY + ARB + ESC + SAL + CEL+ MAL + LAC + MEL+ SAC + TRE +
 INU - MLZ + RAF + AMD - GLYG- XLT- GEN + TUR + LYX- TAG ? DFUC-
 LFUC- DARL- LARL- GNT ? 2KG - SKG-

表 1-d. Lb-c 菌株於 API 50 CHL 鑑定試驗中之碳源利用情形

Table 1-d. Utilization of carbon source of Lb-c strain in API 50 CHL test

Profile :

0 - GLY - ERY - DARA- LARA+ RIB + DXYL+ LXYL- ADO- MDX- GAL +
 GLU + FRU + MNE + SBE - RHA + DUL- INO - MAN + SOR+ MDM+ MDG -
 NAG + AMY + ARB + ESC + SAL + CEL+ MAL + LAC + MEL? SAC + TRE +
 INU - MLZ + RAF + AMD - GLYG- XLT- GEN + TUR + LYX- TAG + DFUC-
 LFUC- DARL- LARL- GNT + 2KG - SKG-

由API 50 CHL之鑑定結果(如表1-a, 1-b, 1-c及1-d)可推測Lb-2可能是*Lactobacillus pentosus*, 而Lb-3、Lb-b及Lb-c三株可能為*Lactobacillus plantarum*。

本研究針對從各種植物性發酵原料中所篩選出之乳酸菌, 進行體外機能特性之測試, 分別探討耐酸性、耐膽鹽性、抑菌性及抗氧化性等試驗。在耐酸性試驗結果如圖2所示。在pH 3.0之磷酸緩衝溶液培養3小時, 菌數可達 10^7 CFU/ml左右者有Lb-b, 而Lb-3、Lb-c及Lc-H等3株菌數可達 10^6 CFU/ml以上, 且Lb-b在pH 2.0及2.5環境下培養3小時, 菌數仍能達到 $10^4 \sim 10^5$ CFU/ml左右。一般而言, 隨著pH的降低, 乳酸菌株的存活率有下降的情形, 大部份的乳酸菌株無法忍受pH 2.0及2.5的環境。一般人空腹時的胃內因胃酸的存在下, 其pH大約維持在1-2左右(武滕, 1988)。但是胃內的pH會依所攝取食物的種類或量而受到影響, 特別是攝取之食物進入胃內的最初30分鐘, 胃內的pH值會上升接近所攝取食物之pH值(中山, 1984; 武滕, 1988)。瀧口等(1997)也指出空腹攝食酸酪乳等發酵乳製品, 預測胃內pH值可以上升至3-4左右, 因此, 耐酸性在pH3左右的乳酸菌應是頗具發展潛力的菌株。

膽鹽具有降低腸內之表面張力以利脂肪等物質消化之功能, 然而高濃度的膽鹽對乳酸菌等微生物具有抑制作用。本研究膽鹽耐受性的試驗結果如圖3所示。在測試的9株乳酸菌株中, 其膽鹽耐受度大致在50-100%之間, 而以Lc-A為最高, 達94%, Lc-C(76%)、Lc-E(74%)及Lb-2(68%)之膽鹽耐受性也頗佳, 其它菌株也大致有50%左右的耐受性。Toit *et al.*(1998)指出, 有些乳酸菌

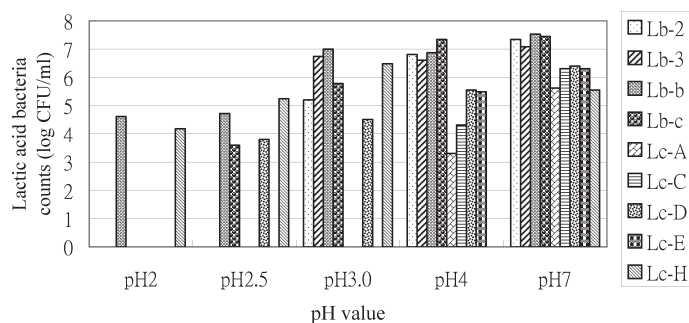


圖2. 植物性來源乳酸菌之耐酸性。

Fig. 2. Acid tolerance of lactic acid bacteria from the plant origin fermented foods.

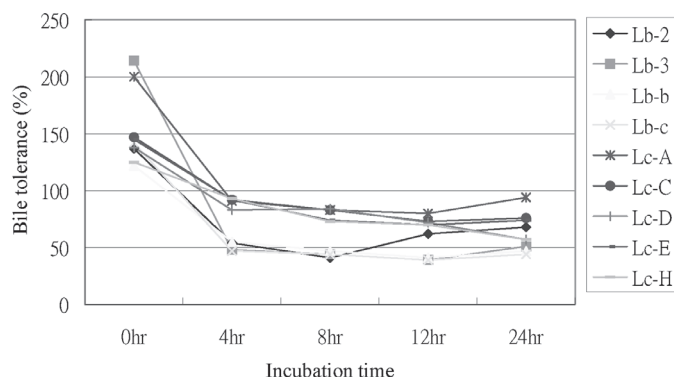


圖3. 植物性來源乳酸菌對膽鹽之耐受性。

Fig. 3. Bile tolerance of lactic acid bacteria from the plant origin fermented foods.

*Bile tolerance (%) = (O.D. in MRS plus broth with 0.3% oxgall / O.D. in MRS plus broth without oxgall) \times 100%。

株可能因具有膽鹽水解活性，能代謝膽鹽並釋放出去結合型膽酸或降低膽固醇合成酵素活性，故對膽鹽具有耐受性，可存活於腸內。

一般乳酸菌的抑菌作用機制包括產酸降低環境 pH 值、生成抑菌物質、產生過氧化氫及降低氧化還原電位等 (Zavaglia *et al.*, 1998)。Darmadji *et al.* (1990) 添加 *L. plantarum* 於發酵肉乾，能抑制 *E. coli*, *Staphylococcus* 及 *Micrococcus* 等有害菌之生長，Rubin and Vaughan (1979) 以 *S. thermophilus* 及 *L. bulgaricus* 組合成混合菌元來研製發酵乳品，發現對於產品中之 *Salmo. typhimurium* 的生長有顯著的抑制效果。在探討對腸道有害菌的抑制方面，本研究所使用的目標病原菌株包括大腸桿菌－*E. coli* CCRC 10450、沙門氏桿菌－*Salmo. typhimurium* CCRC 10747、金黃色葡萄球菌－*Staph. aureus* CCRC 10451 以及螢光假單胞菌－*P. fluorescens* CCRC 11028 等 4 株，所篩選的植物性乳酸菌株對這 4 株目標病原菌之抑菌效果如圖 4，抑制效果的判定依菌圈大小而定，抑菌圈愈大表示抑菌效果愈強。

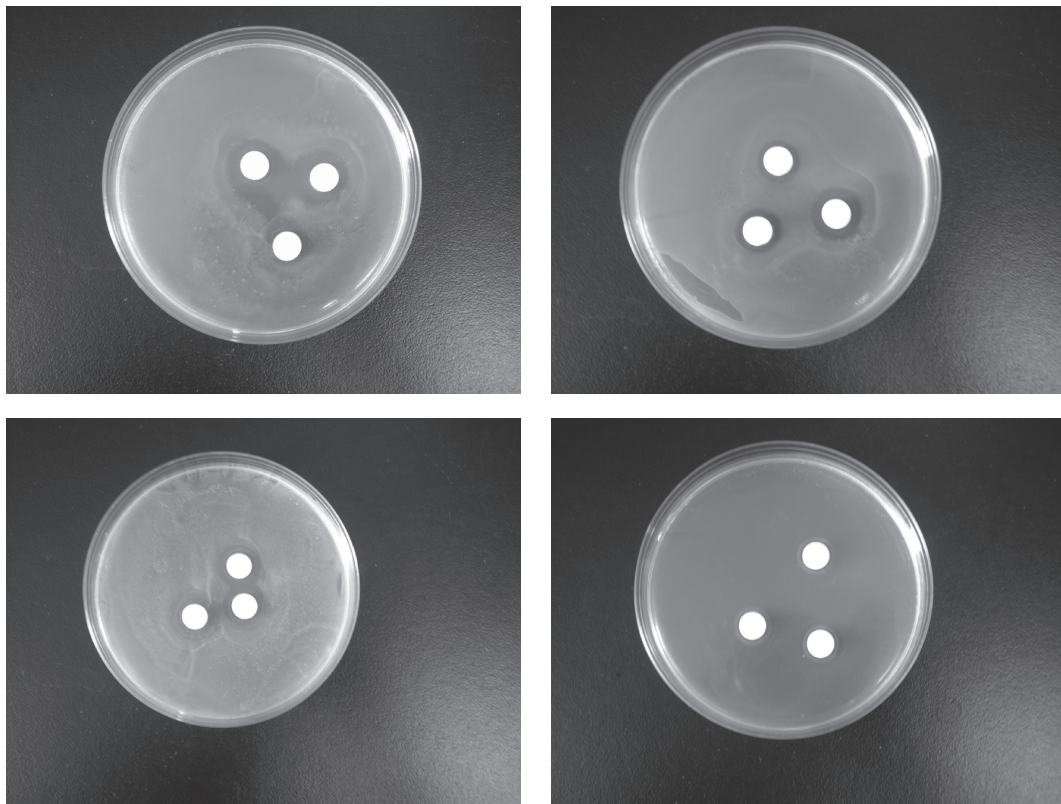


圖 4. 植物性來源乳酸菌對目標菌株之抗菌活性。

左上：Lb-b 對 *E. coli* CCRC 10450 之抗菌活性。

右上：Lb-c 對 *Salmo. typhimurium* CCRC 10747 之抗菌活性。

左下：Lb-2 對 *Staph. aureus* CCRC 10451 之抗菌活性。

右下：Lb-2 對 *P. fluorescens* CCRC 11028 之抗菌活性。

Fig. 4. The antibacterial activities of lactic acid bacteria from the plant origin fermented foods to target strains.

由結果顯示，Lb-2 顯著地抑制 4 株目標病原菌株，Lb-3 及 Lb-b 對 *P. fluorescens* 之抑菌效果較差，對其它目標病原菌株則有較顯著之抑制性，而 Lb-c 對 4 株目標病原菌株均有抑制性，且可顯著抑制 *E. coli*、*Salmo. typhimurium* 及 *Staph. aureus*。

另外，Lc-E 對目標菌株均有抑制性，而且顯著的抑制 *Salmo. typhimurium*、*Staph. aureus* 及 *P. fluorescens*，Lc-C 對目標菌株也均有抑制性，對 *P. fluorescens* 有顯著抑菌效果，Lc-A 對 *E. coli*、*Salmo. typhimurium* 及 *Staph. aureus* 有抑菌性，但對 *P. fluorescens* 之抑菌性不佳。Lc-H 對 *E. coli* 抑菌效果不佳，對其它目標菌株則呈現抑菌性，而 Lc-D 則對 *Staph. aureus* 及 *Salmo. typhimurium* 有較佳之抑菌效果，對其它二種目標菌株之抑菌效果則較差。

由於人體本身會產生活性氧和自由基，且人體的抗氧化系統會隨著年齡的增長而下降，導致體內氧化還原平衡失調，形成氧化壓力。在此情況下，可由飲食中攝取含抗氧化性物質以補充生物體防禦系統之不足。Kaizu *et al.* (1993) 之報告指出一般乳酸菌細胞內容物具有抗氧化性質，而 Ishikawa *et al.* (1992) 亦發現在微生物代謝過程中，可能會產生一些抑制氧化作用之物質。本研究以亞麻油酸作為氧化基質，探討加入不同來源之植物性乳酸菌對脂質氧化之抑制效果，其結果如表 2 所示。各菌株於培養期間，吸光值均隨著培養時間之增加而上升，培養 24 小時後，可能具有抗氧化性之菌株有 7 株，培養至 48 小時後則減為 6 株，而培養至 96 小時，仍有 Lb-3、Lb-b、Lb-c、Lc-A 及 Lc-H 等 5 株具有抗氧化性。

表 2. 以硫鐵法測定植物性來源乳酸菌之抗氧化性

Table 2. Antioxidant activity of lactic acid bacteria from the plant origin fermented foods as measured by the thiocyanate method

Strain	OD ₅₀₀					
	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
Control	0.032 ^{bcF}	0.078 ^{cE}	0.152 ^{dD}	0.278 ^{dC}	0.585 ^{cB}	0.587 ^{bcA}
Lb-2	0.029 ^{efEF}	0.048 ^{hD}	0.094 ^{hC}	0.232 ^{eB}	0.587 ^{abA}	0.588 ^{bA}
Lb-3	0.031 ^{cdF}	0.050 ^{gE}	0.085 ^{iD}	0.136 ^{hC}	0.250 ^{eB}	0.285 ^{fA}
Lb-b	0.028 ^{fF}	0.037 ^{iE}	0.078 ^{iD}	0.092 ^{iC}	0.125 ^{hB}	0.178 ^{hA}
Lb-c	0.030 ^{deF}	0.062 ^{eE}	0.105 ^{fd}	0.132 ^{iC}	0.198 ^{gB}	0.242 ^{gA}
Lc-A	0.033 ^{bF}	0.057 ^{fE}	0.099 ^{gD}	0.147 ^{gC}	0.268 ^{dB}	0.352 ^{dA}
Lc-C	0.035 ^{aF}	0.062 ^{eE}	0.195 ^{bD}	0.297 ^{cC}	0.588 ^{aB}	0.590 ^{aA}
Lc-D	0.030 ^{deE}	0.085 ^{bD}	0.181 ^{cC}	0.312 ^{bB}	0.586 ^{bcA}	0.586 ^{cA}
Lc-E	0.032 ^{bcD}	0.108 ^{aC}	0.255 ^{aB}	0.586 ^{aA}	0.587 ^{abA}	0.587 ^{bcA}
Lc-H	0.031 ^{cdF}	0.065 ^{dE}	0.118 ^{ed}	0.210 ^{fC}	0.243 ^{fB}	0.315 ^{eA}

a-j: Means within the same column without the same superscripts are significantly different (P<0.05)。

A-F: Means within the same row without the same superscripts are significantly different (P<0.05)。

由試驗中也可觀察到有些菌株似乎具有自氧化性，例如 Lc-E，在 72 小時即達到氧化極限。

一般在進行抗致突變性試驗前，需先測試所篩選之乳酸菌株對指標菌株是否具有毒性或致變性，才能正確掌握抗致突變性試驗結果之準確度，否則會產生誤判。本研究所採用的指標菌株為 *Salmo. typhimurium* TA 98 及 TA100 二株。表 3 為所篩選之 9 株植物性來源之乳酸菌株對 *Salmo. typhimurium* TA 98 及 TA100 菌株 (Maron and Ames, 1983) 之毒性試驗結果。

表 3. 植物性來源乳酸菌對 *Salmo. typhimurium* TA 98 和 TA100 菌株之毒性試驗

Table 3. Toxicity of lactic acid bacteria from the plant origin fermented foods toward *Salmo. typhimurium* TA 98 and TA100

Strain	TA98	TA100
	(%)*	(%)
Control	100.0	100
Lb-2	98.2	102.2
Lb-3	116.0	109.0
Lb-b	104.0	115.0
Lb-c	93.5	110.0
Lc-A	108.0	106.2
Lc-C	101.0	74.8
Lc-D	98.8	82.5
Lc-E	89.4	105.2
Lc-H	113.2	118.5

The numbers of control was determined without lactic acid bacteria.

* Percentage (%) = values are percentages relative to control value (100%)。

由表中可明顯看出，所篩選乳酸菌株大致對 *Salmo. typhimurium* TA 98 和 TA100 不具有毒性，且某些菌株似乎反而有促進目標菌株微幅生長的現象。因此，均可使用於抗致突變性試驗之測試上。

近年來，在我們日常生活中存在於飲食中的致突變劑及致癌物質因對人體的健康有著密切之關連而日益受到注目，一些天然的抗致突變劑的成分，如葉綠素、維生素 A、E 及生育酚等，經常被使用作為防禦系統物質。由於發酵乳具有抗致突變性已被驗證 (Cassand *et al.*, 1994)，且 Hosono *et al.* (1990) 指出發酵乳具有抗致突變性是由於乳酸菌存在之故。因此，本研究以 NQNO 作為乳酸菌株之測試致突變劑，其抗致突變性之結果如表 4 所示。篩選之菌株均呈現強弱不一的抗致突變性，在 TA 98 系統，以 Lb-b、Lb-c 及 Lc-A 較佳，抑制比例達 70% 以上，而抗致突變性達 50% 以上者尚有 Lb-2、Lb-3、Lc-C 及 Lc-H。在 TA 100 系統中，抗致突變性最佳的為 Lb-b，達 90% 以上，Lb-c、Lc-A 及 Lc-H 也達 70% 以上。一般認為致突變劑及致癌劑之產生與活性氧或具有活性之自由基存在有關，有些研究也指出抗致突變性和抗氧化活性間似乎有正相關存在，因此飲用食品中之成分若含有具抗氧化活性之成分或物質時，應可具有防禦抗致突變或抗癌之效應。

表 4. 植物性來源乳酸菌對 NQNO 誘導 *Salmo. typhimurium* TA 98 及 TA100 菌株抗致突變性之抑制效果
 Table 4. Inhibitory effect of lactic acid bacteria from the plant origin fermented foods on the mutagenicity of NQNO to *Salmo. typhimurium* TA 98 and TA100

Strain	TA98	TA100
	Inhibition (%)	Inhibition (%)
Control	100	100
Lb-2	53.5	48.2
Lb-3	67.4	58.1
Lb-b	78.5	92.8
Lb-c	79.3	78.4
Lc-A	75.2	82.4
Lc-C	61.4	47.8
Lc-D	31.5	58.9
Lc-E	35.4	38.5
Lc-H	62.5	69.8

The numbers of control was determined without lactic acid bacteria.

本研究雖已篩選出總合機能度較佳之5株植物性乳酸菌，未來仍將繼續進行有關其生理活性（如菌體酵素活性等）及其應用在發酵乳品研製方面各項特性等之探討，以期提供產業界作參考利用。

致謝

本研究承蒙行政院農業委員會九十三年度農業科技計畫（93 農科 -3.1.3- 畜 -L1（3））經費補助及中興大學畜產系張勝善教授提供目標病原菌、本所飼料作物組許福星組長及成游貴博士提供試樣品，特此致謝。

參考文獻

- 陳明汝、W. J. Harper、林慶文。2000。蕃茄風味凝酪之製造研究。農化與食料 38（2）: 133-140。
 張勝善、楊昆霖、洪連欉、郭令錚。1999。以豆乳取代部分牛乳對酸酪乳中嗜酸桿菌與雙叉乳桿菌生長之影響。食品科學 26（1）: 89-96。
 工藤康文、松田茂樹。2000。サツマイモヨーグルトの色調及びアントシアン含量に及ぼす乳酸菌の影響。日本食工學會誌 47（8）: 619-625。
 上野川修一。1981。蛋白分解酵素によるカゼイン分解の機構。日畜會報 52（9）: 627-638。
 久米村惠、戸羽正道、曾川方郎、清水精一、川口信山。2001。 *Lactobacillus plantarum* 用いて調製した發酵乳の生理機能。腸内細菌學雜誌 15: 15-20。

- 中山沃。1984。胃のはたらき。日本評論社，東京，日本。pp. 60-62。
- 中澤勇二、細野明義。1988。發酵乳類の機能—科學健康の探索。食品資料研究會，東京，日本。pp. 1-45。
- 光岡知足。1984。乳酸菌の效用と新しい利用分野。日本食工學會誌 31 (4): 285-296。
- 光岡知足。1990。腸道フロ - ラと健康。New Food Industry. 32 (10): 1-8。
- 武藤泰敏。1988。消化・吸収。第一出版社，東京，日本。pp.129-137。
- 熊谷武久、瀨野公子、渡邊紀之、岡田早苗。2000。米及び米加工品より分離した植物性乳酸菌の抗變異原性。日本食工學會誌 47 (7): 551-554。
- 熊谷武久、瀨野公子、川村博幸、渡邊紀之、岡田早苗。2001。植物性乳酸菌の食品發酵と食餌モデル培地における生育。日本食工學會誌 48 (9): 677-683。
- 廣田哲二。1990。乳業用乳酸菌の期待される保健效果。New Food Industry 32 (10): 9-17。
- 難波佑三郎、守本富昭、光岡知足。1981。腸内フロ - ラと發癌。學會出版センター，東京，日本。pp. 110-139。
- 瀨野公子、熊谷武久、渡邊紀之、岡田早苗。2000。植物性乳酸菌を含む發酵乳の便通に及ぼす影響。日本食工學會誌 47 (7): 555-559。
- 瀧口隆一、望月英輔、鈴木 豊、中島一郎、辦野義己。1997。 *Lactobacillus acidophilus* SBT 2062 および *Bifidobacterium longum* SBT 2928 による腸内有害菌の抑制效果。腸内細菌學雜誌 11: 11-17。
- Aduet, P., C. Paquin and Lacroix. 1990. Batch fermentation with a mixed culture of lactic acid bacteria immobilized separately in Kappa-carrageenan locust bean gum gel beads. Appl. Microbiol. Biotech. 32 (6): 662-668.
- Bottazzi, V. and F. Bianchi. 1980. A note on scanning electron microscopy of micro-organisms associated with Kefir granule. J. Appl. Bacteriol. 48: 265-268.
- Cassand, P., H. Abdelali, C. Bouley, G. Denariaz and J. F. Narbonne. 1994. Inhibitory effect of dairy products on the mutagenicities of chemicals and dietary mutagens. J. Dairy Res. 61: 545-552.
- Darmadji, P., M. Izumino, T. Miyamoto and K. Katoaka. 1990. Lactic fermentation effects on preservative qualities of dendeny giling. J. Food Sci. 55 (6): 1523-1527.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.
- Hardie, J. M. 1986. Genus Streptococcus. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol.2, pp. 1043-1071.
- Hosono, A., R. Wardozo and H. Otani. 1990. Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines. Agric. Biol. Chem. 54: 1639-1643.
- Ishikawa, Y., K. Morimoto, T. Sada and T. Fujiwara. 1992. Aurantione produced by *Pinicillium aurantio-virens* and its antioxidant activity. J. Jap. Oil Chem. Soc. 41: 7-10.
- Kaizu, H., M. Sasaki, H. Nakajima and Y. Suzuki. 1993. Effect of antioxidative lactic acid bacteria on rats fed a diet deficient vitamin. Eur. J. Dairy Sci. 75: 2493-2499.
- Kandler, O. N. and D. Weiss, 1986. Genus Lactobacillus. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol.2, pp.1209-1234.
- Lingnert, H., K. Vallentin and C. E. Eriksson. 1979. Measurement of antioxidant effect in model system. J. Food Proc. Presv. 3: 87-103.

- Maron, D. M. and B. N. Ames. 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.* 113: 173-215.
- Marteau, P., M. Minekus, R. Havenaar and J. H. J. Huis In't veld. 1997. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine ; Validation and the effect of bile. *J. Dairy Sci.* 80: 1031-1037.
- Mital, B. K., K. H. Steinkraus and H. B. Naylor. 1974. Growth of lactic acid bacteria in soymilks. *J. Food Sci.* 39: 1018-1026.
- Murti, T. W., C. Bouillanne, M. Landon and M. J. Desmazeaud. 1992. Bacterial growth and volatile compounds in yoghurt-type products from soy milk containing *Bifidobacterium* ssp. *J. Food Sci.* 1: 153-157.
- Rammelsberg, M. and F. Radler. 1990. Antibacterial polypeptides of *Lactobacillus* species. *J. Appl. Bact.* 69:177-184.
- Rubin, H. E., and F. Vaughan. 1979. Elucidation of the inhibitory factors of yogurt against *Salmonella typhimurium*. *J. Dairy Sci.* 62 (12): 1873-1879.
- Sheu, T. Y., R. T. Marshall and H. Heymann. 1993. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. *J. Dairy Sci.* 76: 1902-1907.
- Toit, M., C. M. A. P. Franz, L. M. T. Dicks, U. Schillinger and W. H. Holzapfel. 1998. Characterization and selection of probiotic *Lactobacilli* for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. *Int. J. Food Microbiol.* 40: 93-104.
- Yu, B. and H. Y. Tsen. 1993. *Lactobacillus* cells in the rabbit digestive tract and factors affecting their distribution. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 269-275.
- Zavaglia, A. G., G. Kociubinski, P. Perez and G. de Antoni. 1998. Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. *J. Food Prot.* 61 (7): 865-873.

Studies on the screening, characteristics and application of dairy products with plant origin lactic acid bacteria ⁽¹⁾

Chien-Jung Huang ^{(2) (3)} and Ching-Yun Kuo ⁽²⁾

Received : Sept. 24, 2004 ; Accepted : Oct. 6, 2005

Abstract

The objectives of this study were to screen lactic acid bacteria isolated from native plant-origin fermented foods, and to evaluate various functional properties of them for the application in dairies and food industries. Strains of bacteria were isolated from fermented materials of plant origin which included fermented wheat grass, herbage and sauerkraut etc., and identified to be *Lactobacillus pentosus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Streptococcus faecalis* for the most part by API 50 CHL kit.

Lactic acid bacteria screened from plant origin were investigated for the strains based on various functional properties. (1) The strain of Lb-b had the largest tolerance to acid, followed by Lb-3, Lb-c, Lc-H and Lb-2. (2) The strain of Lc-A had the largest tolerance on bile salts, followed by Lc-C, Lc-E and Lb-2. (3) The strains of Lb-2, Lb-c and Lc-E had the highest inhibition capacity for pathogenic bacteria, but Lc-D was the least. (4) There were 5 strains of Lb-b, Lb-c, Lb-3, Lc-A and Lc-H which had higher antioxidative activity as determined by the thiocyanate method. (5) In the experiment of antimutagenic activity, the results showed that the strains of Lb-c, Lb-b, Lb-3, Lc-H and Lc-A had a higher antimutagenic activity for TA 98 system, and Lb-b, Lc-A, Lb-c and Lc-H for TA 100 system, respectively. In conclusion, the strains of Lb-b, Lb-c and Lc-A had the highest functional properties, followed by Lc-H and Lb-3.

Key words: Plant origin lactic acid bacteria, Functional property, Application.

(1) Contribution No.1345 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Animal Products Processing Division, COA-LRI, Hsinhua 712, Tainan, Taiwan, R.O.C.

(3) Corresponding author, E-mail: cjhuang@mail.tlri.gov.tw