

製備bifidobacterium longum 保健性菌種之噴霧乾燥方法之開發

江捷峰、陳鴻章；李範亞

E-mail: 9008940@mail.dyu.edu.tw

摘要

本研究主要利用噴霧乾燥方式對人體腸胃系統有益之促生菌-雙歧桿菌(Bifidobacterium longum, CCRC 11847) 進行加工處理, 期能獲得良好的保存方法以供商業應用。首先以一次只改變一個變因之方式探討菌齡、進料速度、出口溫度、乳化劑種類、乳化劑濃度、抗氧化劑種類和抗氧化劑濃度等因子對菌體存活率之影響, 而後將各因子之最適化條件予以組合進行噴霧乾燥, 以期求得最佳之菌體存活率。將菌體接種至 MRS broth 中, 並在 37 °C 厭氧狀態下培養不同時間後進行噴霧乾燥測試以探討最佳菌齡, 結果發現培養36 小時後之菌數可達 3.0×10^8 CFU/mL, 菌種之生長狀態為最佳。而進行噴霧乾燥時出、入口溫度分別設定為 90 °C 及 37 °C 所達到的效果為最佳。以不同種類之乳化劑如glycerol monostearate、sorbitan monostearate 及 stearic acid 作為菌種保護劑進行噴霧乾燥, 發現 glycerol monostearate 對 Bifidobacterium longum 的保護效果最好, 存活菌數可達 9×10^5 CFU/g。而在乳化劑濃度方面, 使用1%、2%、3% 三種不同濃度, 其保存效果隨著乳化劑的濃度的提高而有增加的趨勢。不同種類抗氧化劑如 butyl hydroxyanisol (BHA)、dibutyl hydroxy toluene (BHT) 及抗壞血酸進行噴霧乾燥後, 發現, BHA 對菌體的保護效果最佳。當改變抗氧化劑濃度為 1,000 ppm、2,000 ppm、3,000 ppm 進行菌體存活率試驗時, 發現高濃度的抗氧化劑保護效果略佳於低濃度的抗氧化劑。將以上之最適條件因子組合後進行噴霧乾燥, 結果發現 Bifidobacterium longum 此菌株於噴霧乾燥後及室溫下保存 30 天後之菌體存活率均高於使用基本條件之菌體存活率。當初始菌數為 3.0×10^8 CFU/g 時, 以基本條件進行噴霧乾燥後之存活菌數 420 CFU/g, 貯存30 天後菌株之存活率為零。若以最適條件進行噴霧乾燥, 則存活之菌數為 9.0×10^5 CFU/g, 於室溫下保存 30 天後菌體之存活數為 4.4×10^5 CFU/g, 其存活率可達到 49% 左右。

關鍵詞：雙歧桿菌；噴霧乾燥；乳化劑；抗氧化劑

目錄

封面內頁 簽名頁 授權書.....	iii	中文摘要.....	iii
.....v Abstract.....	vvii 誌謝.....	vii
.....ix 目錄.....	ixx 圖目錄.....	x
.....xiii 表目錄.....	xiiixiv 第一章	xiv
緒言.....	1	1.1 研究背景.....	1
1.2 研究之重要性.....	3	1.3 研究目的.....	3
.....3 第二章 文獻回顧.....	5	2.1 促生菌定義.....	5
.....5 2.2 促生菌的有益效果.....	6	2.3 雙歧桿菌.....	6
.....10 2.3.1 雙歧桿菌之生理特性及臨床功用.....	10	2.3.2 雙歧桿菌環境耐性株之相關研究.....	10
.....11 2.3.3 雙歧桿菌在台灣食品產業上之應用型式.....	15	2.4 乳酸菌與人體健康之關係.....	15
...16 2.4.1 乳酸菌的分類與定義.....	16	2.4.2 乳酸菌的促生效果.....	17
2.4.3 乳酸菌在食品領域之應用.....	18	2.4.4 乳酸菌在動物飼料添加劑上之運用.....	19
2.4.5 乳酸菌未來研究之動向.....	21	2.5 菌體活性保存之方式.....	22
.....24 2.6 影響活性菌體儲藏期間安定性之因素.....	24	2.7 生產保健性菌種須注意的問題.....	25
.....26 2.7 生產保健性菌種須注意的問題.....	26	2.8 一般研究室中常用之菌種保存方法.....	26
.....31 2.9 噴霧乾燥.....	29	第三章 實驗材料與方法.....	31
.....31 3.1 實驗設備.....	31	3.1 實驗設備.....	31
.....32 3.2 實驗材料.....	32	3.2.1 菌種.....	32
.....32 3.2.3 藥品與試劑.....	33	3.2.2 培養基.....	32
.....34 3.3.1 培養基配製.....	34	3.2.3 藥品與試劑.....	33
.....34 3.3.2 菌種活化.....	34	3.3 實驗方法.....	33
.....35 3.3.3 菌體培養.....	35	3.3.1 培養基配製.....	34
.....35 3.3.5 乳化劑及抗氧化劑溶液之製備.....	35	3.3.2 菌種活化.....	34
.....36 3.3.7 噴霧乾燥試驗.....	38	3.3.3 菌體培養.....	35
.....38 3.4 分析方法.....	38	3.3.5 乳化劑及抗氧化劑溶液之製備.....	35
.....38 3.4.1 菌體濁度之測定.....	38	3.3.6 噴霧乾燥機的介紹.....	35
.....39 3.4.2 菌體數之測定.....	39	3.3.7 噴霧乾燥試驗.....	38
.....39 3.4.3 活菌數測定.....	39	3.4 分析方法.....	38
.....40 3.4.4 含水率之測定.....	40	3.4.1 菌體濁度之測定.....	38
.....40 3.5 計算公式.....	40	3.4.2 菌體數之測定.....	39
.....40 3.6 實驗設計.....	40	3.4.3 活菌數測定.....	39
.....40 3.6 實驗設計.....	40	3.4.4 含水率之測定.....	40
.....40 3.6 實驗設計.....	40	3.5 計算公式.....	40
.....40 3.6 實驗設計.....	40	3.6 實驗設計.....	40

.....41 3.6.1 平行式一次一因子試驗.....42 3.6.2 最適化之噴霧條件.....
.....43 第四章 結果與討論.....44 4.1 最佳菌齡之選擇.....
.....44 4.2 進料速度之影響.....47 4.3 噴霧乾燥溫度之影響.....
.....50 4.4 乳化劑種類之影響.....53 4.5 乳化劑濃度之影響.....
.....55 4.6 抗氧化劑種類之影響.....59 4.7 抗氧化劑濃度之影響.....
.....60 4.8 各因子最適條件之組合.....63 第五章 結論.....
.....68 第六章 參考文獻.....	

參考文獻

1. Alih, K., and Esam, H. M. (1998) Alginate encapsulated bifidobacteria survival in mayonnaise. *J. Food Sci.*, 63, 3-4.
2. Ariga, H., Vrashima. T., Michihata, E., Ito. M., Morizono, N., Kimura. T., and Takahashi, S. (1992) Extracellular polysaccharide from encapsulated *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* or 901 isolated from commercial yogurt. *J. Food Sci.*, 57, 625-628.
3. Bateup, J. M., McConnell, M. A., Jenkinson, H. F., and Tannock. G. W. (1995) Comparison of *Lactobacillus* strains with respect to bile salt hydrolase activity, colonization of the gastrointestinal tract, and growth rate of the murine host. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 1147-1149.
4. Berrada, N., Lemel, J. F., Laroche, O., Thovenot, P., and Piaia, M. (1991) Bifidobacterium from fermented milks: survival during gastric transit. *J. Dairy Sci.*, 74, 409-413.
5. Cerning, J., Bonillanne, C., Desmazeaud, M. J., and Landon, M. (1986) Isolation and characterization of exocellular polysaccharide produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnol. Lett.*, 8, 625-628.
6. Cheah, P. Y. (1990) Hypotheses for the etiology of colorectal cancer-an overview. *Nutr. Cancer*, 14, 5-6.
7. Clark, P. A. and Martin, J. H. (1994) Selection of bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods. Tolerance to simulated bile concentrations of human small intestines. *Cult. Dairy Prod. J.*, 29(8), 18- 21.
8. Conway, P. L., Gorbach, S. L., and Goldin. B. R. (1987) Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *J. Dairy Sci.*, 70, 1-12.
9. Hughes, D. B. and Hoover, D. G. (1995) Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. *J. Dairy. Sci.*, 78, 268-276.
10. Edwin, N. F. (1996) Antioxidants in foods and their impact on food quality. *Food Chem.*, 57(1), 51-55.
11. Faldt, P. and Bergenstahl, B. (1996) Changes in surface composition of spray-dried food powder due to lactose crystallization. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 29(5), 438-446.
12. Fernandes, C. F. and Shahani, K. M. (1988) Effect of nutrient media and bile salts on growth and antimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, 71, 3222-3229.
13. Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals. *J. of Appl. Bact.*, 66, 365-378.
14. Fuller, R. and Cole, C.B. (1986) Theory and application in probiotics. *Chalcombe*, 1-14.
15. Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B. (1994) Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of probiotics. *Journal of Nutrition*, 125 (6), 1401-1412.
16. Gilliland, S. E. and Walker, D. K. (1990) Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemia effect in humans. *J. Dairy Sci.*, 73, 903-911.
17. Goldin, B. R., Gorbach, S. L., and Salminen. S. (1992) Survival of *Lactobacillus* strain GG species in human gastrointestinal tract. *Dig. Dis. Sci.*, 37, 121-128.
18. Abu-Taraboush, H. M. Al., Dagal, M. M., and Al-Royli, M. A. (1998) Growth, viability, and proteolytic activity of bifidobacteria in whole camel milk. *J. Dairy Sci.*, 81, 354-361.
19. Hull, R. R., Conway, P. L. and Evans, A. J. (1992) Probiotic food a new opportunity, *Food Australia*, 44 (3), 112-113.
20. John, W. and Sons, I. (1970) Engineering factors in single-cell protein production. *Biotechnology and Bioengineering*, 12(1), 135-140.
21. Jos, H. J., Huis, I. V. and Havenaar, R. (1992) Probiotics and health in man and animal. *European Journal of Chemical Nutrition*, 1, 29-31.
22. Judie, D. D. (1986) Antioxidant. *Food Technol.*, 40, 94-103.
23. Kanawjia, S. K., Pathania. V., and Singh, S. (1992) Micro-encapsulation of enzymes. *Microorganism and flavours and their applications in foods. Indian Dairyman*, 44, 280-287.
24. Kitazawa, H., Itoh, T., and Yamaguchi, J. (1991) Induction of macrophage cytotoxicity by slime products produced by encapsulated *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*. *Anim. Sci. Technol.*, 62, 861-865.
25. Kim, I. S., Kamara. B. J., Good, I. C., and Enders. G. (1988) Method for the preparation of stabile microencapsutated lactic acid bacteria. *J. Ind. Microbiol.*, 3, 253-257.
26. Klaenhammer, T. R. (1993) *FEMS Microbiol. Rev.*, 12, 39-85.
27. Klaver, F. A. M. and vander Meer, R. (1993) The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt deconjugating activity. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 1120-1124.
1. Lee, Y. K. and Salminen, S. (1995) The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, (67), 241-245.
2. Lin, M. Y. and Yen, C. L. (1999) Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1460-1466.
3. Lilly, D. M. and Stillwell, R. H. (1965) Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147, 747-748.
4. Ludbrook, K. A., Russel, C. M., and Greig, R. I. (1997) Exopolysaccharide production from lactic acid bacteria isolated from fermented foods. *J. Food Sci.*, 62(3), 597-604.
5. Martcau, P., Pochart. P., Flourie. B., Pellier, P., Santos, L., Desjeux. J. F., and Rambaud, J. C. (1990) Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 685-688.
6. Marteau, P. (1992) Effect of probiotics on intestinal metabolism. *European Journal of Clinical Nutrition*, 3, 35-37.
7. McKay, L. L. and Baldwin, K. A. (1990) *FEMS Microbiol. Rev.*, 87, 3-14.
8. Mitsuoka, T. (1984) Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microbiol.*, 3, 11-28.
9. Moura, T. F., Jacob, M. Pauvert, B., Gaudy, Terol, A., and Chauvet A. (1996) Vitamin C spray drying: Study of the thermal constraint. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 25(3), 393-400.
10. Nil (1994) Establishing a scientific basis for probiotic R&D. *Trends in Biotechnology*, 12(1), 6-8.
11. O'Sullivan, M. G., Thornton, G., O'Sullivan, G. C., and Collins, J. K. (1992) Probiotic bacteria: myth or reality, *Trends in Food Science & Technology*, 3, 309-314.
12. Rasic, J. L. and Kurmann, J. A. (1983) *Bifidobacteria and Their Role*. Birkhaus Verlag, Boston. MA ,USA.
13. Roberts. C., M., Fett, W. F., Osman, S. F., Wijcy, C.,

O'Connor, J. V., and Hoover, D. G. (1995). Exopolysaccharide production by *Bifidobacterium longum* BB-79. *J. Appl. Bacteriol.*, 78, 463-468.

14. Robinson, R. K. (1983) Starter culture for milk and meat processing. *Biotechnolog.*, 3, 191-202. 15. Scardovi, V. (1986) Genus *Bifidobacterium* in *Bergey's manual of Systematic Bacteriol.* MD, USA., Vol 2, 1418-1434. 16. Tannock, G. W., Tangerman, A., Schaik, A., V., and McConnel, M, A. (1994) Deconjugation of bile acids by *Lactobacilli* in the mouse small bowel. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 3419-3420. 17. 王有忠 (1993) 食品添加物。華香園出版社第二版，台北市。 18. 朱文深 (1997) 雙歧桿菌屬之分類與應用。菌種保存及研究簡訊，10 (4)，1-8。 19. 佐佐木隆 (1998) 乳酸菌生物技術之進展。生物產業，9 (4)，227-233. 20. 李國鏞，游若荻 (1992) 微生物學。華香園出版社第四版，台北市。 21. 金安兒，蘇照堂，黃守潔 (1993) 香蕉泥的添加對嗜酸桿菌乳中 *Lactobacillus acidophilus* 噴霧乾燥後存活率之影響。中國農業化學會誌，31 (1)，68-77。 22. 林慧生 (1994) 脂肪氧化與抗氧化劑。雜糧與畜產，249 (1)，14-19。 23. 吳淳美 (1979) 食品中之氧化-還原系統及食品抗氧化劑。食品工業，11(5)，42-49. 24. 施宗雄 (1998) 台灣乳酸菌類研究之介紹及在動物添加劑上之應用。生物產業，9 (4)，239-245。 25. 拱玉郎 (1997) 天然抗氧化劑發展近況。食品工業，29 (3)，29-37。 26. 務台方彥 (1978) 使用發酵乳雙歧桿菌之特性。New Food Industry，20(8)，17-23. 27. 財團法人食品工業發展研究所 (1997) 雙歧桿菌屬之分類與應用。菌種保存及研究簡訊，10 (4)，1-8。 28. 許文浩 (1994) 菌元介紹。食品工業，26 (12)，39-45。 29. 許夏芬 (1996) 天然抗氧化劑之添加對花生油安定性之探討。食品科學，23 (6)，788-800。 30. 陳茂元，吳俊忠 (1999) 食用優酪乳可增加腸道比菲德菌並壓抑腸桿菌。乳酸菌與人體健康研討會，5月1日台北市，統一企業主辦。 31. 陳厚基 (1990) 併用生菌劑及 Isomalt oligo 糖於子豬之效果試驗。飼料營養雜誌，2，3-7。 32. 淺野行藏，修司吉川，吉史田村 (1998) 乳酸菌流動層乾燥技術及其應用。生物產業，9 (4)，234-238。 33. 郭明潔 (1993) 以反應曲面法探討添加維生素 C、單棕櫚酸山梨糖酯和氯化鈉對濕酵母冷藏期產氣活性之影響。東海大學食品科學研究所碩士論文。 34. 楊基礎，劉佳 (1996) 雙歧桿菌固定化的研究。微生物學通報，23 (1)，35-36 (大陸)。 35. 趙承琛，陳純純，吳忠能 (1983) 乳化劑之化學構造和用量對乳態的影響。界面科學，6 (4)，2-15. 36. 戴乃倫 (1981) 酪多精對仔豬飼養效果之研究。台灣糖業公司畜牧研究所 69-70 年期研究試驗報告 (1981年12月)。 37. 蔡英傑 (1998a) 乳酸菌與益生菌。生物產業，9 (2)，98-104. 38. 蔡英傑 (1998b) 乳酸菌應用綜論。生物產業，9 (4)，258-264. 39. 廖啟成 (1998) 台灣雙歧桿菌研究介紹及食品產業上之應用。食品工業研究所乳酸菌研究及應用研討會，3月29日新竹市。 40. 楊媛綸 (1998a) 原生保健性菌種與益菌助生質之應用。食品工業，30 (2)，11-22。 41. 楊媛綸 (1998b) 雙歧桿菌環境耐性菌株之相關研究及專利。食品工業，30 (2)，32-47。 42. 劉英俊，汪金追 (1982) 微生物應用工業。中央圖書出版社，台北市。 43. 賴滋漢，金安兒，柯文慶 (1993) 食品加工學(方法篇)。精華出版社，台中市。 44. 謝旻峰 (1993) 包覆抗氧化劑及乳化劑對即溶活性乾酵母儲藏安定性之影響。東海大學食品科學研究所碩士論文。