

# 不同種類乳酸菌於蜂王漿保鮮應用

張毓宸、徐泰浩；張世揚

E-mail: 9125221@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

新鮮蜂王漿為工蜂下咽腺和大顎腺所分泌的乳漿狀綜合性物質，其中所含之癸烯酸(10-HDA)具有抑菌活性，可作為其品質安定性之重要指標。由於冷凍蜂王漿粉末在低溫狀態下儲放數年仍可保持其生物活性，但新鮮蜂王漿之品質極不穩定，在儲存過程中極易受溫度、光線、空氣、金屬、細菌等因素影響而致使品質劣變。乳酸菌常是人體或動物腸內天然存在之菌，且存於食品中會自然產生代謝產物(如抗菌素)，致使乳酸菌不但能抑制多種細菌之生長，而且能更廣泛應用於食品之保存。本研究擬利用不同種類乳酸菌添加於蜂王漿中，使其防止蜂王漿的品質劣變；另外，還以蜂王漿為基質培養乳酸菌，首先篩選出高耐熱性、高耐酸性、高抗菌性及高產量之乳酸菌進而將乳酸菌添加於蜂王漿中，藉以建立蜂王漿保鮮技術，達到防止品質劣變之目的。研究結果顯示，在高耐熱性乳酸菌篩選中發現這9株不同品系之乳酸菌耐熱性大約在47左右，高耐酸性乳酸菌篩選有3株，高抗菌性乳酸菌篩選有3株菌同時對*Bacillus cereus*、*Escherichia coli*、*Pseudomonas aeruginosa*及*Staphylococcus aureus*都產生了抑菌性，高產量乳酸菌篩選有1株最好。以蜂王漿為基質培養乳酸菌時，以*L. acidophilus*產量最好，其次是*S. thermophilus*、*L. lactis*及*L. bulgaricus*，結果顯示，以蜂王漿為基質培養乳酸菌是可行的；另外，將乳酸菌添加於蜂王漿中，以短程來看，並不會有助於蜂王漿的保存，且隨儲存溫度與時間的增加，蜂王漿之顏色會逐漸加深，黏度也上升，逐漸失去流動性，10-HDA也隨儲存溫度與時間的增加而減少。

關鍵詞：乳酸菌；蜂王漿；10-HDA

## 目錄

目錄封面內頁簽名頁授權書.....	iii	中文摘要.....	iv	英文摘要.....	vi
誌謝.....	xi	目錄.....	ix	圖目錄.....	xii
表目錄.....	xiv	第一章緒論	1.1	前.....	1
1.2文獻回顧.....	2	1.2.1乳酸菌之生理特性.....	2	1.2.2腸內乳酸菌群的分布.....	2
1.2.3乳酸菌的耐熱性.....	2	1.2.4乳酸菌的抗菌性.....	3	1.2.5乳酸菌的耐酸性.....	4
1.2.6乳酸菌的保存性.....	4	1.2.7乳酸菌的測定.....	5	1.2.8乳酸菌對人體的影響.....	5
1.2.9乳酸發酵的應用.....	6	1.2.10蜂王漿之生成.....	7	1.2.11蜂王漿之抑菌作用.....	7
1.2.12蜂王漿之儲存研究.....	8	1.2.13蜂王漿中之特殊成份癸烯酸.....	8	1.2.14蜂王漿之生理功能及醫療效果.....	9
第二章材料與方法	2.1	樣品來源.....	11	2.2菌種保存及活化.....	12
2.3菌株篩選.....	12	2.3.1耐熱性菌株篩選.....	12	2.3.2耐酸性菌株篩選.....	13
2.3.3高抗菌性菌株篩選.....	13	2.3.4高產量菌株篩選.....	14	2.4乳酸菌添加於蜂王漿中.....	15
2.5成分分析.....	15	2.5.1癸烯酸(10-HDA)之分析.....	15	2.5.2感官試驗.....	16
2.5.3 pH值之測定.....	16	2.5.4色澤測定.....	16	2.6貯存試驗.....	17
第三章結果與討論	3.1	耐熱性菌株篩選.....	18	3.2耐酸性菌株篩選.....	18
3.3高抑菌性菌株篩選.....	19	3.4高產量菌株篩選.....	26	3.5以蜂王漿為基質培養乳酸菌.....	27
3.6添加少量乳酸菌於蜂王漿中.....	27	3.6.1不同儲存時間溫度與顏色變化之關係.....	27	3.6.2不同儲存時間溫度與黏度變化之關係.....	28
3.7含乳酸菌之蜂王漿10-HDA含量分析.....	28	3.8不同品系乳酸菌添加於蜂王漿於儲存期間色度差?E變化情形.....	42	第四章結論.....	47
參考文獻.....	49	圖目錄	圖1.1	不同品系之乳酸菌於不同溫度下培養48小時後其發酵液pH值.....	20
圖1.2	不同品系之乳酸菌於不同溫度下培養48小時後其發酵液OD值.....	21	圖2.1	不同品系之乳酸菌於不同之起始pH值培養基中培養48小時後其發酵液pH值.....	23
圖2.2	不同品系之乳酸菌於不同之起始pH值培養基中培養48小時後其發酵液OD值.....	24	圖3.1	不同品系之乳酸菌於37 培養48小時每12小時取樣其發酵液pH值.....	30
圖3.2	不同品系之乳酸菌於37 培養48小時每12小時取樣其發酵液OD值.....	31	圖4.1	以蜂王漿為基質於37 培養48小時後乳酸菌之OD值.....	33
圖4.2	以蜂王漿為基質於37 培養48小時後乳酸菌之pH值.....	34	圖5.1	0 儲存蜂王漿於不同儲存期間(3.6.9.12.14天)之10-HDA含量變化.....	38
圖5.2	24 儲存蜂王漿於不同儲存期間(3.6.9.12.14天)之10-HDA含量變				

化.....	39	圖5.3 37	儲存蜂王漿於不同儲存期間(3.6.9.12.14天)之10-HDA 含量變
化.....	40	圖5.4 40	儲存蜂王漿於不同儲存期間(3.6.9.12.14天)之10-HDA 含量變
化.....	41	表目錄 表1	不同品系之乳酸菌於不同培養溫度下培養48小時後其 發酵液菌體
量.....	22	表2	不同品系之乳酸菌於不同之起始pH值培養基中培養48 小時後其發酵液菌體
量.....	25	表3	不同種類乳酸菌於37 培養兩天後所呈現對仙人掌 桿菌 ( Bacillus cereus )、大腸桿菌
效果.....	29	表4	不同品系之乳酸菌於37 培養48小時每12小時取樣其 發酵液菌體量.....32 表5 以蜂
王漿為基質於37 培養48小時後乳酸菌之菌體量...35 表6		表6	添加不同種類乳酸菌之蜂王漿儲存時間溫度與顏色變化 之關
係.....	36	表7	添加不同種類乳酸菌之蜂王漿儲存時間溫度與黏度變化 之關
係.....	37	表8-1	不同品系乳酸菌添加於蜂王漿於0 儲存期間色差度 ?E變化情
形.....	43	表8-2	不同品系乳酸菌添加於蜂王漿於24 儲存期間色差度 ?E變化情
形.....	44	表8-3	不同品系乳酸菌添加於蜂王漿於37 儲存期間色差度 ?E變化情
形.....	45	表8-4	不同品系乳酸菌添加於蜂王漿於40 儲存期間色差度 ?E變化情
形.....	46		

## 參考文獻

- 參考文獻 1.方紹威。1988。乳酸菌在遺傳學上最近之發展。食品工業20 ( 8 ) :42-48。 2.方繼及楊媛綸。1995。Lactococcus lactis DY11212類細菌素之生產及其特性探討。食品科學22 ( 5 ) :479-493。 3.方繼及楊媛綸。1995。由Streptococcus lactis 所分泌類細菌素之初步純化及抑菌機制探討。中農化誌 33 ( 6 ) :782-792。 4.方繼。1998。固定化乳酸鏈球菌素於提升食品安全之應用。食品資訊149:28-33。 5.朱文深。1994。乳酸菌之遺傳工程研究。食品工業 26(3):13-23。 5. 李錦楓。2002。蜂產品的保健功能(二)蜂王漿。健康世界187:25-26。 7.李福臨。1998。乳酸菌之保存。食品工業30(2):54-63。 8.李福臨。1989。食品加工上乳酸菌之利用。食品工業21 ( 12 ) :32-38。 9.金安兒、蘇照堂及黃守潔。1993。香蕉泥的添加對嗜酸菌乳中Lactobacillus acidophilus噴霧乾燥後存活率之影響。中農化誌31 ( 1 ) :68-77。 10.林美吟。1995。乳酸菌對促進人體健康的影響。中華民國營養學會雜誌 20 ( 4 ) :367-380。 11.林美吟。1994。乳酸桿菌對乳糖利用之影響。嘉南學報 20:21-31。 12.洪玉梅。1995。蜂王漿在儲存過程中物化性質的變化與品質分級之評估。私立大葉工學院食品工程研究所碩士論文。1-119頁。 13.施宗雄。1994。乳酸菌的保存法。東海畜產學報2:1-4。 14.施宗雄。1992。乳酸菌之定義及對人類生活上之貢獻。東海畜產學報15:1-4。 15.徐冠裕及郭俊欽。1995。包裝及儲藏溫度對絞碎豬肉中李斯特單胞菌及乳酸菌存活之影響。東海學報36 ( 6 ) :39-49。 16.徐泰浩、曾耀銘、張慈蘭。1992。蜂王漿中癸烯酸成分高效液相層析分析標準化。大葉學報1 ( 1 ) :81-91。 17.張世揚。1993。蜂王漿的生產與食用方法。台灣省蠶蜂業改良場1-25頁。 18.黃加成及林慶文。1994。發酵香腸肉中乳酸菌對糖的利用性。中國畜牧會誌23 ( 2 ) :209-220。 19.黃加成及林慶文。1992。乳酸菌發酵香腸肉發酵期間品質之變化。食品科學19 ( 3 ) :417-425。 20.黃加成、朱賢斌及林慶文。1992。應用於中式香腸乳酸菌生長性狀之探討。中農化誌 30 ( 3 ) :432-440。 21.黃忠村、邱致廣、李洪潮。1993。乳酸菌及酵母於芥菜汁中之混合發酵。中農化誌31 ( 5 ) :673-687。 22.黃錦城。1999。利用乳酸菌生產細菌素抑制冷藏即食食品病原菌之生長。食品工業 31 ( 2 ) :27-33。 23.陳秀瑩。1994。市售蜂王漿儲存安定性及品質指標建立之研究。國立中興大學食品科學研究所碩士論文。1-123。 24.陳俊成。2000。發酵乳常用乳酸菌之生理。食品資訊171:52-59。 25.陳俊兒。1998。可食膜基質微粒被覆技術在蜂王漿保存之應用。私立大葉大學食品工程研究所碩士論文。1-102頁。 26.陳昭華。1995。蜂王漿抗生特性在其品質管制上之應用。私立大葉工學院食品工程研究所碩士論文。1-108頁。 27.陳勁初。1991。以乳酸菌保存食品之機制。食品工業23 ( 9 ) :17-21。 28.陳雪娥及陳瑜芬。1992。乳酸發酵胡蘿蔔汁之製造。食品科學19 ( 4 ) :476-485。 29.彭瑞森。1994。乳酸菌應用於冷藏食品腐敗之抑制。食品工業26 ( 12 ) :46-52。 30.溫惠美、黃文瑛。1994。市售蜂王漿食品知品質調查。藥物食品分析2(3):225-234。 31.彭耀寰、楊重光、王惠娥、林豔貞及郭婷勻。1997。乳酸發酵之數學模式---Leudeking ' s Model之修正。中農化誌35 ( 5 ) :485-494。 32.楊媛綸。1996。Lactobacillus acidophilus 之降膽固醇及抗癌性。食品工業月刊 9月:39-45。 33.詹達生。1996。酸度分析鮮蜂王漿中10-基-癸烯酸。中國養蜂132 ( 1 ) :17。 34.廖啟成。1998。乳酸菌之分類及應用。食品工業 30 ( 2 ) :1-10。 35.廖啟成。1994。細說乳酸菌。健康世界52-61。 36.鄭穹翔。1989。蜂王乳化學成分及儲存過程中品質改變。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。1-88頁。 37.潘崇良、張啟華及郭鴻均。1995。乳酸菌細菌素之抑菌力及對泥鰱若干菌群之影響。中農化誌33 ( 4 ) :444-458。 38.關崇智。1977。皇漿之研究。昆蟲學會會報12(1):17-24。 39.謝尤敏及蔡珊珊。1990。利用固定化乳酸菌進行蘋果酸乳酸發酵。中國農業化學會誌 28 ( 3 ) :246-257。 40.戴金華及張長泉。1994。以電導法快速測定酸酪乳中之乳酸菌數。食品科學 21 ( 5 ) :407-411。 41.顏聰榮、陳建先及高炳煌。1996。乳酸菌質體DNA之研究。中國農業化學會誌 34 ( 6 ) :723-731。 42.顏聰榮及李宗憲。1995。電衝在Lactococcus lactis subsp.lactis CCRC 12267基因轉移之應用。中農化誌33 (2):157-165。 43.蘇新元及林惠虹。1996。蜂王漿10-基-2-癸烯酸紫外光簡易測定法。食品科學 23 ( 3 ) :463-467。 44.蘇和平及林慶文。1988。乳酸菌中天然抗菌物質之研究2.分泌天然抗菌物質乳酸菌培養條件及抗菌物質分離。中農化誌26 ( 2 ) :197-203。 45.山本泰、東和男、掛川一、好井久雄及高雄龍宏。1991。乳酸菌在白醬油釀造之應用。食工會誌38(8):663-667。 46.加納哲、土井梅幸、橋本信宏、丹羽樂二及伊藤芳直。1992。利用乳酸菌發酵製造魚糕。食工會誌39(6):519-523。 47.園元謙二、松崎弘美及石崎文彬。1996。乳酸菌生產的抑菌素。54 ( 7 ) :492-496。 48.Blum, M. S., Novak, A. F. and Taber, S. 1959. 10-hydroxy-2-decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly. Sci. 130:452-453. 49.Blazeka, B., Suskovic, J. and Matosic, S. 1991. Antimicrobial Activity of Lactobacilli and Streptococci. World J. Microbiol. Biotech. 7:533-536. 50. Bloodworth, B. C., Hock, C. T. and Boon, T. O. 1995. Liquid

chromatographic determination of trans 10-hydroxy-2-decenoic acid content of commercial products containing royal jelly. *Food Comp. Add.* 78 (4):1019-1023.

51. Caldwell, S. L., McMahon, D. J., Oberg, C. J. and Broadbent, J. R. 1996. Development and characterization of lactose-positive *Pediococcus* species to milk fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (3):936-941.

52. Collins, J. L., Ebah, C. B., Mount, J. R., Draughon, F. A. and Demott, B. J. 1991. Proximate, nutritional and microbiological analyses of milk-sweet potato mixtures fermented with yogurt bacteria. *J. Food Sci.* 56 (3):682-684.

53. Cutter, C. N. and Siragusa, G. R. 1996. Reduction of *Listeria innocua* and *Brochothrix therosphacta* on beef following nisin spray treatments and vacuum packaging. *Food Microbiol.* 13 (1):23-33.

54. Daeschel, M. A. 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol. Jan.* :164-167.

55. Decallonne, J., Delmee, M., Wauthoz, P., Lioui, M. EL and Lambert, R. 1991. A rapid procedure for the identification of lactic acid bacteria based on the gas chromatographic analysis of the cellular fatty acids. *J. Food Prot.* 54 (3):217-224.

56. Duszkiwicz-Reinhard, W., Khan, K. and Gujska, E. 1994. Reduction of stachyose in legume flours by lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* 59 (1):115-117.

57. EL-Nezami, H., Ahokas, J. and Salminen, S. J. 1996. Biologic control of food carcinogens with use of *Lactobacillus GG*. *Nutri. Today* 31 (6S):41-42.

58. Fernandes, C. F. and Shahani, K. M. 1990. Anticarcinogenic and immunological properties of dietary *Lactobacilli*. *J. Food Prot.* 53(8):704-710.

59. Fernandes, L. and Steele, J. L. 1993. Glutathione content of lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 76 (5):1233-1242.

60. Fujiwara, S., Imai, J., Fujiwara, M., Yaeshima, T., Kawashima, T. and Kobayashi, K. 1990. A potent antibacterial protein in royal jelly. *J. Biol. Chem.* 265(19):11333-11337.

61. Gilliland, S. E. and Walker, D. K. 1990. Factors to consider when selecting a culture of *L. acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *J. Dairy Sci.* 73:905-911.

62. Gorbach, S. L. 1996. Efficacy of *Lactobacillus* in treatment of acute diarrhea. *Nutri. Today* 31 (6):19-23.

63. Gouzalez, S. N., Romero, N. C., Oliver, G., Apella, M. C. and De Macias, M. E. N. 1993. Inhibition of enteropathogens by *Lactobacilli* strains used in fermented milk. *J. Food Prot.* 56 (9):773-776.

64. Guerrero, I., Mendiola, R., Ponce, E. and Prado, A. 1995. Inoculation of lactic acid bacteria on meat surfaces as a means of decontamination in semitropical conditions. *Meat Sci.* 40 (3):397-411.

65. Halin, M. B., Kalchayanand, N., Ray, P. and Ray, B. 1993. Bacteriocins of lactic acid bacteria in combination have greater antibacterial activity. *J. Food Prot.* 56 (3):252-255.

66. Hassan, A. N., Frank, J. F., Farmer, M. A., Schmidt, K. A. and Shalabi, S. I. 1995. Observation of encapsulated lactic acid bacteria using confocal scanning laser microscopy. *J. Dairy Sci.* 78 (12):2624-2628.

67. Hove, H., Nordgaard-Andersen, I. and Mortensen, P. B. 1994. Effect of lactic acid bacteria on the intestinal production of lactate and short-chain fatty acids, and the absorption of lactose. *Am. J. Clin. Nutri.* 59 (1):74-79.

68. Khedkar, J. N., Dave, J. M. and Sannabadi, S. 1996. Preparation of bifidobacter fermented milk with and without lactic bacteria. *J. Food Sci. Tech nol.* 33 (1):63-65.

69. Kociubinski, G. L., Perez, P. F., Anon, M. C. and Antoni, G. L. DE. 1996. A method of screening for highly inhibitory lactic acid bacteria. *J. Food Prot.* 59 (7):739-745.

70. Ludbrook, K. A., Russell, C. M. and Greig, R. I. 1997. Exopolysaccharide production from lactic acid bacteria isolated from fermented foods. *J. Food Sci.* 62 (3):597-600.

71. Marklinder, I. and Lonner, C. 1992. Fermentation properties of intestinal strains of *Lactobacillus*, of a sour dough and of a yoghurt starter culture in an oat-based nutritive solution. *Food Microbiol.* 9 (3):197-205.

72. McCleskey, C. S. and Melampy, R. M. 1938. Bactericidal properties of royal jelly of the honeybee. *J. Econ. Entomol.* 32:581-587.

73. McDonald, L. C., Hassan, H. M. and Fleming, H. P., et al. 1991. Use of continuous culture for internal pH determination of lactic acid bacteria. *Food Microbiol.* 8:137-142.

74. McGregor, J. U., Gough, R. H., Bird, K., Traylor, S. M. and Hazlett, S. 1995. Recovery of lactic acid bacteria on petrifilm SM under various incubation atmospheres. *J. Food Prot.* 57 (3):316-318.

75. Moilanen, E., Korpela, R., Saxelin, M. and Vapaatalo, H. 1996. Effect of *Lactobacillus GG* on platelet aggregation. *Nutri. Today* 31 (6):43S-44S.

76. Murinda, S. E., Doores, S. and Roberts, R. F. 1995. Evaluation of lactic-acid producing bacillus and sporolactobacillus for antilisterial activity. *J. Food Prot.* 58 (5):570-572.

77. Nannen, N. L. and Hutkins, R. W. 1991. Intracellular pH effects in lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 74 (3):741-746.

78. Oda, T. and Hashiba, H. 1994. Effects of skim milk and its fermented product by *Lactobacillus acidophilus* on plasma and liver lipid levels in diet-induced hypertiglyceridemic rats. *J. Nutri. Sci. Vitamin.* 40(6):617-621.

79. Okereke, A. and Montrille, T. J. 1991. Bacteriocin inhibition of *Clostridium botulinum* spores by lactic acid bacteria. *J. Food Prot.* 54 (5):349-353.

80. Ordonez, G. O. and Jeon, I. J. 1995. Evaluation of .beta-Galactosidase activities associated with probiotic lactic acid bacteria by high performance liquid chromatography. *Cultured Dairy Products J.* 30(4):29-32.

81. Patidar, S. K. and Prajapati, J. B. 1997. Methods for assessing the immunostimulating properties of dietary lactobacilli: A critical appraisal. *J. Food Sci.* 34 (3):181-194.

82. Sakamoto, M. and Komapata, K. 1996. Aerobic growth of and activities of NADH oxidase and NADH Peroxidase in lactic acid bacteria. *J. Ferment. Bioeng.* 28 (3):210-216.

83. Salama, M. S., Giovannoni, S. J. and Sandine, W. E. 1995. A milk-based method for detecting antimicrobial substance produced by lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 78:1219-1223.

84. Salminen, S. J. and Donohue, D. C. 1996. Safety assessment of *Lactobacillus* strain GG. *Nutri. Today* 31 (6s):12-15.

85. Schaack, M. M., Marth, E. H. 1988. Survival of *Listeria monocytogenes* in refrigerated cultured milks and yogurt. *J. Food Prot.* 51(11):848-852.

86. Schiffrin, E. J., Brassart, D., Servin, A. L., Rochat, F. and Donnet- Hughes, A. 1997. Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: Criteria for strain selection. *Am. J. Clin. Nutri.* 66 (2):515S-520S.

87. Schiffrin, E. J., Rochat, F., Link-Amster, H., Aeschlimann, J. M. and Donnet- Hughes, A. 1995. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 78 (3):491-497.

88. Schleifer, K. H., Beimfohr, C., Ludwig, W., Ehrmann, M., Brockman, E. and Amann, R. 1995. Application of molecular methods for the classification and identification of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 5 (8):1081-1094.

89. Sinha, R. P. 1991. Effect of carbohydrate on the viability of *S. thermophilus*. *J. Food Prot.* 54 (7):537-541.

90. Subramonian, B. S., Kumar, C. N., Narasimhan, R., Shanmugam, A. M. and Khan, M. M. 1997. Selection of level and type of "LAB" starter in the preparation of dietetic shrikhand. *J. Food Sci. Technol.* 34 (4):340-342.

91. Thuault, D., Beliard, E. and Guern, J. L. et al. 1991. Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* by bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 74 (4):1145-1150.

92. Van den Berg, D. J. C., Pot, B., Kersters, K., Smits, A., Ledebøer,

A. M. , Verbakel, J. M. A. and Verrips, E. T. 1993. Isolation screening and identification of lactic acid bacteria from traditional food fermentation processes and culture collections. *Food Biotech.* 7 (3):189-205. 93. Vittek, J. Slomiany, B. L. 1984. Testosterone in royal jelly. *Experientia.* 40:104-106. 94. Yang, R. and Ray, B. 1994. Factors influencing production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *Food Microbiol.* 11 (4):281-291. 95. Zommara, M. Takagi, H. , Sakono, M. , Suzuki, Y. and Imaizumi, K. 1994. Effect of milk whey and its fermentation products by lactic acid bacteria on mitochondrial lipid peroxide and hepatic injury in bile duct-ligated rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58 (7):1213-1217.