

市售優酪乳上清液之抑菌活性研究

蔣明怡、張耀南；吳建一

E-mail: 9606893@mail.dyu.edu.tw

摘要

本研究將在4種儲存之市售四種廠牌優酪乳產品經離心處理後所得上清液進行其乳酸菌數含量、pH值、可滴定酸等測定，並利用洋菜擴散培養法進行其對*Streptococcus aureus* BCRC10451、*Salmonella typhimurium* BCRC12947、*Bacillus subtilis* BCRC11634、*E. coli* BCRC11634、*Pseudomonas aeruginosa* BCRC11633等五種菌株之抑菌效果探討。在16天儲存期間的四種廠牌優酪乳上清液所含乳酸菌數皆仍可維持在8.9~9.5 log CFU/mL之間，pH值由4.32-4.21降至約4.03，可滴定酸則由0.48%-0.58%上升至0.58%-0.63%。在抑菌活性方面，四種廠牌優酪乳上清液除了對*P. aeruginosa*無抑菌效果外，對其它菌株皆可產生23.0-36.0 mm抑菌圈之效果，其中以對*S. aureus*的抑菌效果最佳(34.5-36.0 mm)抑制圈。為了區別pH值或乳酸菌之影響，本研究將原上清液(pH 4-5)中和調整為pH 7.0，並測定其抑菌活性；其結果顯示中性pH之上清液的抑菌效果較原上清液為低。另外，本研究利用0.3%-2.0%乳酸(pH 2.58-2.22)進行其抑菌效果測定，其結果發現乳酸添加濃度較高時，其抑菌效果較佳。原上清液(pH 4.0-5.0)或中性上清液(pH 7.0)可能由於其pH值未低於2.58或其乳酸含量未高於0.3%，因此，其對*P. aeruginosa*無抑菌效果，僅對上述四種菌株*S. aureus*、*S. typhimurium*、*B. subtilis*、*E. coli*具有抑菌作用。

關鍵詞：優酪乳；抑菌活性；乳酸菌；乳酸

目錄

目錄封面內頁簽名頁授權書.....	iii	中文摘要.....	iv	英文摘要.....	v
誌謝.....	v	目錄.....	vi	圖目.....	vii
表目錄.....	xi	1. 前言.....	xii	2. 文獻回顧.....	xiii
2.1 發酵乳之簡介.....	2	2.1.1 發酵乳之分類.....	2	2.2 乳酸菌.....	5
2.2.1 乳酸菌定義.....	5	2.2.2 乳酸菌之特徵.....	5	2.2.3 乳酸菌之分類.....	6
2.2.4 乳酸菌代謝途徑.....	6	2.2.5 乳酸菌之抗菌作用.....	8	2.3 乳酸菌細菌素.....	15
2.3.1 乳酸菌細菌素定義.....	15	2.3.2 乳酸細菌素特性.....	15	2.3.3 乳酸細菌素的種類、分類.....	16
2.3.4 乳酸細菌素抗菌機制.....	16	2.3.5 乳酸細菌素對格蘭氏陰性菌與格蘭氏陽性菌細胞影響.....	17	2.4 食品中常見的病原菌及腐敗菌.....	21
2.4.1 沙門氏菌.....	21	2.4.2 大腸桿菌.....	22	2.4.3 金黃色葡萄球菌.....	23
2.4.4 綠膿桿菌.....	23	2.4.5 枯草桿菌.....	24	3. 材料與研究方法.....	26
3.1 實驗材料.....	26	3.1.1 儀器設備.....	26	3.1.2 實驗原料.....	26
3.1.3 實驗菌株.....	26	3.1.4 實驗試藥.....	27	3.2 實驗方法.....	27
3.2.1 菌種的保存.....	27	3.2.2 菌株之活化製備.....	28	3.2.3 優酪乳樣品製備.....	28
3.3 分析方法.....	29	3.3.1 乳酸菌菌數含量測定.....	29	3.3.2 測定pH值.....	29
3.3.3 可滴定酸度檢測.....	29	3.3.4 抑菌活性之測試分析.....	30	3.4 實驗設計.....	30
3.4.1 不同市售優酪乳上清液pH值、乳酸菌菌數、可滴定酸測定.....	30	3.4.2 不同市售優酪乳上清液對5株菌株之抑菌活性之測定.....	31	3.4.3 不同市售優酪乳上清液之中和液對5株菌株之抑菌活性之測定.....	31
3.4.4 不同乳酸濃度對菌株抑菌活性之測試分析.....	31	3.5 統計分析.....	32	4. 結果與討論.....	33
4.1 不同市售優酪乳上清液pH值、可滴定酸度探討.....	33	4.2 不同市售優酪乳上清液之乳酸菌菌數探討.....	33	4.3 不同市售優酪乳上清液對5株菌株之抑菌情形探討.....	34
4.4 不同乳酸濃度對菌株抑菌活性之測試分析.....	35	4.5 不同市售優酪乳上清液之中和液(pH7.0)對5株菌株之抑菌情形探討.....	36	5. 結論.....	54
參考文獻.....	54	參考文獻.....	56		

參考文獻

1. 中國國家標準CNS。2004。發酵乳。N3058。中央標準局。台北，台灣。
2. 中國國家標準CNS。1996。乳品檢驗法-酸度之測定。N3441中央標準局。台北，台灣。
3. 中國國家標準CNS。1996。乳品檢驗法(總則)。N3440。中央標準局。台北，台灣。
4. 王逢興。1996a。認識食品細菌素。雜糧與畜產。279:14-19。
5. 王吉彬。1996b。食品生物防腐劑-細菌素之介紹。食品工業。28(5):23-31。
6. 王貞懿。1995。食品微生物檢驗訓練。衛生報導。50:37-40。
7. 王慧英。1996。食品中毒之介紹。食品工業:12-13。
8. 行政院衛生署。1996。中華民國八十四年台灣地區食物中毒發生狀況。衛生署。台北，台灣。
9. 行政院衛生署。2003a。食品添加物使用範圍及用量

標準。行政院衛生署。台北，台灣。 10. 行政院衛生署。2003b。歷年食品中毒統計資料。行政院衛生署。台北，台灣。 11. 李福臨。2000。乳酸菌分類之研究近況。食品工業。32(8):36-42。 12. 吳美宜。2002。枯草桿菌rho基因轉譯訊號之鑑定。pp.1。國立陽明大學生命科學院生物化學研究所碩士學位論文。台北，台灣。 13. 張勝善。1983。牛乳與乳製品。pp.529-531。長河出版社。台北，台灣。 14. 張淑文。1995。乳酸鏈球菌於低鹽醬品及調味鯖魚片加工之應用。pp.3-21。國立臺灣海洋大學水產食品科學系碩士學位論文。基隆，台灣。 15. 陳玉真。2004。乳酸菌醱酵吳郭魚保健食品產製技術及生理活性之探討。pp.3-6。國立臺灣海洋大學水產食品科學系碩士學位論文。基隆，台灣。 16. 陳勁初。1991。以乳酸菌保存食物之機制。食品工業。23(9):17-21。 17. 陳義昌。2004。抑制幽門桿菌醱酵乳之研究。pp.3-8。國立屏東科技大學食品科學系學士論文。屏東。台灣。 18. 黃惠宇。2006。乳酸菌專輯。科學月刊。37(2):104-107。 19. 黃文鈴。2005。乳酸鏈球菌素與 EDTA 對腸炎弧菌等革蘭氏陰性菌抗菌效果之探討。pp.19-25。國立臺灣海洋大學食品科學系學士論文。基隆，台灣。 20. 黃中興。2001。以複合式聚合酵素連鎖反應及限制酵素切割分析鑑定食品媒介之致病性細菌。pp.1-4。國立中山大學生物科學系。高雄,台灣。 21. 游淑玲, 周正俊1988。漬蔬菜在不同溫度下貯藏時一些食品中毒細菌之存活。食品科學。14(4):296-305。 22. 蔡英傑。1998。乳酸菌與其應用特輯序。生物產業。9(2):95-97。 23. 蔡耀德。2002。產細菌素乳酸菌在輕度加工生菜沙拉中抑制病原菌生長的影響。pp.40-53。輔仁大學食品營養學系碩士學位論文。台北，台灣。 24. 蔡芳儒。2001。醱蠅加工品有關衛生細菌品質之安全與改進。pp.12-17。國立臺灣海洋大學食品科學系學士論文。基隆，台灣。 25. 蔡文城。1991。微生物學。pp.301-312,365-387。藝軒圖書出版社。台北，台灣。 26. 潘子明。2005。我國乳酸菌最近的研究趨勢暨通過健康食品認證之乳酸菌產品現況。農業生技產業季刊。3:19-27。 27. 潘崇良、張啟華、郭鴻均、郭俊德。1995。乳酸菌細菌素之抑菌力及對泥鰱若干菌之影響。中國農業化學會誌。33(4):444-458。 28. 劉岳鴻。2003。優酪乳市場區隔之研究。pp.2。國立屏東科技大學農企業管理系碩士學位論文。屏東，台灣。 29. 謝銘峰。2004。建構乳酸菌食品級載體。pp.10。國立清華大學生命科學系碩士學位論文。新竹，台灣。 30. 廖啟成。1998。乳酸菌之分類及應用。食品工業。30(2):1-10。 31. 廖啟成。1992。抑菌素及其應用。食品工業發展研究所菌種保存及研究簡訊。17:1-7。 32. 龍湘美。2004。乳酸菌細菌素抗菌作用及其在食品上應用之回顧。pp.24-58。國立臺灣海洋大學食品科學系碩士在職專班學士論文。基隆，台灣。 33. Abee, T., Krockel, L. and Hill, C. 1995. Bacteriocin: Modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. Int. J. Food Microbiol. 28: 169-185. 34. Allen and Wei. 1992. Gastroenteritis due to Salmonella sp.:Clinical and radiologic signs mimicking surgical peritonitis. Southern Medical Journal. 85: 45-46. 35. Axelsson, Chung, Dobrogosz and Lindgren. 1989. Production of a broad spectrum antimicrobial substance by Lactobacillus reuteri. Microb. Ecol. Health Disease. 2: 131-136. 36. Barnby-Smith, M. 1992. Bacteriocins: Applications in food. Trend. Food Sci. Technol. 3: 133-136. 37. Bean, Griffin, Goulding, and Ivey. 1990. Food borne disease out breaks, 5 year summary. 1983-1987. J. Food Protect.53: 711-728. 38. Benkerroum, Oubel and Mimoun. 2002. Behavior of Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus in yogurt fermented with a bacteriocin-producing thermophilic starter. J. Food Prot. 65: 799-805. 39. Breukink and Kruijff. 1999. The lantibiotic nisin, a special case or not? Biochim. Biophys Acta. 1462: 223-234. 40. Biswas, Ray, Johnson and Ray. 1991. Influence of growth condition on the production of a bacteriocin, pediocin AcH, by Pediococcus acidilactici H. Appl. Environ. Microbiol. 57:1265-1267. 41. Cabo, Pastoriza, Sampedro, Gonzalez and Murado. 2001. Joint effect of nisin, CO₂, and EDTA on the survival of Pseudomonas aeruginosa and Enterococcus faecium in a food model system. J. Food Prot. 64: 1943-1948. 42. Daeschel, M. A. 1989 Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. Food Technol. 43: 164-167. 43. Dixon and Kell. 1989. The inhibition by CO₂ of the growth and metabolism of microorganism. J. Appl. Bacteriol. 67: 109-136. 44. Fooks, L. J. and Gibson, G. R. 2002. Probiotics as modulators of the gut flora. Br. J. Nutr. 88:39s-49s. 45. Griffard, Dodd, Horn, Ladha, Mackie, Parr, Gasson and Sanders. 1997. Structure-function relations of variant and fragment nisins studied with model membrane systems. Biochemistry. 36: 3802-3810. 46. Hur, J. W., Hyun, T. H., Pyun, Y. R., Kim, T. S., Yeo, I. H. and Paik, H. D. 2000. Identification and partial characterization of lacticin BH5, a bacteriocin produced by Lactococcus lactis BH5 isolated from kimchi. J. Food Prot. 63(12): 1707-1712. 47. Helander, I. M. and Mattila-Sandholm, T. 2000. Permeability barrier of the Gram-negative bacterial outer membrane with special reference to nisin. Int. J. Food Microbiol. 60: 153-161. 48. Hoffmann, A., U. Pag, I. Wiedemann, and H.-G. Sahl. 2002. Combination of antibiotic mechanisms in lantibiotics. Il Farmaco. 57: 685-691. 49. Jennes, Dicks and Verwoerd. 2000. Enterocin 012, a bacteriocin produced by Enterococcus gallinarum isolated from the intestinal tract of ostrich. J. Appl. Microbiol. 88: 349-357. 50. Johnson T, Case L. 1995. Laboratory experiments in microbiology. 4 nd edition. The Benjamin/Cummings Publishing Co Inc. 51. Klaenhammer, T. R. 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 12: 39-86. 52. Labuza, Fu, Taoukis. 1992. Prediction for shelf life and safety of minimally processed CAP/ MAP chilled foods. J Food Prot. 55: 741-750. 53. Lin, Moon, Doyle and McWatters. 2002. Inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella enterica serotype Enteritidis, and Listeria monocytogenes on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. J. Food Prot. 65(8): 1215-1220. 54. Lin, Moon, Doyle and McWatters. 2002. Inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella enterica serotype Enteritidis, and Listeria monocytogenes on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. J. Food Prot. 65: 1215-1220. 55. Marugg, J. D. 1991. Bacteriocins, their role in developing natural products. Food Biotechnol. 5: 305-312. 56. Magnusson, J., H. Jonsson, J. Schnurer and S. Roos. 2002. Weissella soli sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52: 831-834. 57. Matsuzaki and Chin. 2002. Modulating immune responses with probiotic bacteria. Immunol. Cell Biol. 78:67-73. 58. McAuliffe, O., Hill, C. and Ross, R. P. 1999 Inhibition of Listeria monocytogenes in cottage cheese manufactured with a lacticin 3147-producing starter culture. J. Appl. Microbiol. 86(2): 251-256. 59. Motlagh, A. M., M. C. Johnson and B. Ray. 1991. Viability loss of food-borne pathogens by starter culture metabolites. J. Food Prot. 54:873-878. 60. Marahiel, M. A., Nakano. M. M., and Zuber, P. 1993. Regulation of peptide antibiotic production in Bacillus. Mol. Microbiol. 76:31-36. 61. Piddock, L. J. V. 1990 Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. J. Appl. Bacteriol. 68: 307-318. 62. Pirhonen,

M., D. Flego, R. Heikinheimo, and E. T. and Palva. 1993. A small diffusible signal molecule is responsible for the global control of virulence and exoenzyme production in the plant pathogen *Erwinia carotovora*. *Embo J.* 12:2467-2476. 63. Scannell, Hill, Buckley and Arendt. 1997. Determination of the influence of organic acid and nisin on shelf-life and microbiological safety aspects of fresh pork sausage. *J. Appl. Microbiol.* 83: 407-412. 64. Schiffrin E, Rochat F, Link-Amster H, Aeschlimann J, Donnet-Hughes A. 1995. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 78: 491-7. 65. Shin, K., Hayasawa, H. and Lonnerdal, B. 2001. Inhibition of *Escherichia coli* respiratory enzymes by the lactoperoxidase- hydrogen peroxide-thiocyanate antimicrobial system. *J. Appl. Microbiol.* 90(4): 489-493. 66. Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamker, L. W. 1976. Bacteriocin of Gram-positive bacteria. *Bacteriol. Rev.* 40: 722-756. 67. Twomey, D., Ross, R. P., Ryan, M., Meaney, B. and Hill, C. 2002. Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: Structure, function and applications. *Antonie van Leeuwenhoek* .82(1-4): 165-185. 68. Verluyten, Messens and Vuyst. 2003. The curing agent sodium nitrite, used in the production of fermented sausages, is less inhibiting to the bacteriocin-producing meat starter culture *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 under anaerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 3833-3839. 69. Yam, Chan, Bella, Tam, Cathie and Lee. 1999. Abundance of clinical enteric bacterial pathogens in coastal waters and shellfish. *Wat. Res.* 34: 51-56.