

投稿類別：農業類

篇 名：

資賦『優』『益』？簡易測試優酪乳之益生菌對人體之效益

作 者：

李蕙欣、景崇家。葳格高中。普通科一年甲班

指導老師：王貞文老師

壹●前言

一、研究動機

近年來在台灣飲用優酪乳、優格已成為養生的風氣，由便利商店或大賣場隨處可以購得乳酸菌相關製品。國內外一些研究認為，乳酸菌有許多好處，因此又稱為益生菌；但目前各廠牌的優酪乳所添加的菌種及數目又不太相同，讓益生菌處在不同成分的環境中，不同的添加物是否會影響益生菌的存活率是值得我們探討的。

人體消化系統中胃及小腸有不同酸鹼值的環境，當我們喝下這些優酪乳製品或口服益生菌株後，在到達腸道前需先接受胃酸及膽鹽考驗，由於菌株不同，其耐胃酸膽鹽能力亦有強弱之別。到底益生菌是否皆能堅強地抵抗這些環境，安穩地住在小腸中發揮其功效？藉由此次實驗設計來釐清我們心中的疑惑。

二、研究目的

- (一) 藉由實驗來比較市售不同廠牌的優酪乳所含的益生菌數目。
- (二) 分析市售不同廠牌的優酪乳是否會因添加物不同而影響益生菌的數目。
- (三) 模擬胃酸及膽汁的環境，觀察不同的益生菌抗酸鹼之能力。
- (四) 找出何者益生菌是其中的佼佼者，並推估如何讓這些乳酸菌在人體中能發揮最大的效益。
- (五) 比較自製優格與市售優若乳所含乳酸菌之菌數及其抗酸鹼能力。

貳●正文

一、文獻回顧

- (一) 乳酸菌：一群以糖類為能量來源，主要代謝產物為乳酸之發酵細菌之總稱。主要棲息於人類及動物之消化管，在發酵乳、乾酪、酒類、肉製品、醃製品、醬油等之製造上，擔著重要之角色。(註一)
- (二) 優酪乳最主要的成分是乳酸菌，乳酸菌為『益生菌』的一種，益生菌為某一種或複數種微生物當餵食予人類或動物時可以增進其腸內菌叢之品質的總稱(註二)
- (三) 乳酸菌的種類： A. 乳酸桿菌屬 (Lactobacillus) B. 明串球菌屬 (Leuconostoc) C. 鏈球菌屬 (Streptococcus) D. 足球菌屬 (Pediococcus) E. 有孢子乳酸菌 (Sporolactobacillus) F. 腸球菌屬 (Enterococcus) G. 乳酸球菌屬 (Lactococcus) H. 肉品桿菌屬 (Carnobacterium) I. 徘徊球菌屬 (Vagococcus) J. 四體球菌 (Tetragenococcus) K. 雙歧桿菌屬 (Bifidobacterium)

(四) 乳酸菌的功用

1. 增強免疫系統：乳酸菌可以提供免疫細胞營養，激發免疫細胞的活性，讓人體的免疫功能增強（註三）。
2. 減輕過敏反應：乳酸菌可以改變過敏原的抗原，預防過敏或減輕過敏的症狀。
3. 對胃腸道之影響：乳酸菌可促進腸蠕動，幫助排便，排出腸道中由膽酸代謝而來的致癌物，預防大腸癌及直腸癌（註四）。另外，乳酸菌會與害菌競爭吸收養分，而且通常乳酸菌較佔上風，阻止了害菌的生長；害菌減少則可減少腹瀉、脹氣、腸道感染的機會。

二、實驗設計

(一) 研究設備及材料

1. 設備：分光光度計、高溫高壓滅菌機、培養箱、養菌管、試管架、天平、桌上型離心機、蒸餾水製造機、酸鹼度測定器、顯微鏡、微量滴管、微量試管、96 孔微量
2. 藥品和材料：Terrific Broth (TB) 液體培養基(購自 BD 公司)、pH 3 Phosphate Buffered Saline (PBS) 磷酸緩衝溶液、pH 8.5 Phosphate Buffered Saline (PBS) 磷酸緩衝溶液、pH 7.2 Phosphate Buffered Saline (PBS) 磷酸緩衝溶液、市售 9 種優酪乳、鮮奶

(二) 研究過程與方法

1. 實驗一（找出適當的培養條件）：
 - (1) 配置 Terrific Broth (TB) 液體培養基, 方法依照其配法, 秤取 47.6 克溶於 1000ml 水中, 再加入 4 ml 甘油(glycerol)後, 放入高溫高壓滅菌鍋殺菌, 完成後取出, 待回復至常溫, 即可使用。
 - (2) 取一知名大廠所生產的 AB 優酪乳, 成分上標明一毫升有一億個以上活性乳酸菌, 在各試管中加入 4 毫升 TB 液體培養基, 依序再加入 400、200、100、50、25、12.5 微升(μ l), 培養 37°C、24 小時後, 收集觀察, 並取出菌液用分光光度計測培養液濁度, 以利找出優酪乳適當的添加體積。
2. 實驗二（比較七種優酪乳所含的活性乳酸菌數）：

選擇七種優酪乳並取出相同體積, 加入各含有 4 毫升 TB 液體培養基的試管中, 培養 37°C、24 小時後, 收集觀察, 並取出菌液用分光光

度計測培養液濁度，比較各廠牌實際含菌數。

3.實驗三（酸性環境對不同廠牌優酪乳的影響）：

- (1) 利用先前畫出的吸光值與菌數的關係直線圖，可當作標準品，估算出七種優酪乳所含實際活性乳酸菌數。以利進一步取出相同活性乳酸菌進行耐酸鹼實驗。
- (2) 分別取出七種廠牌相同數量的菌數加入微量試管中，再等體積加入 pH 3 磷酸緩衝溶液，上下混勻後，置於室溫 30 分鐘，期間每隔五分鐘上下搖動數次，促進反應完全；模擬喝下優酪乳，進入胃，和胃液中中和的情形。之後，利用桌上型離心機離心，將乳酸菌沉澱，去除上清液，將下層沉澱的乳酸菌加入含 4 毫升 TB 液體培養基的養菌管中培養 37°C、24 小時後，收集觀察，並取出菌液用分光光度計測培養液濁度，比較各廠牌所含乳酸菌抗酸的能力。

4.實驗四（鹼性環境對不同廠牌優酪乳的影響）：

分別取出七種廠牌相同數量的菌數加入微量試管中，再等體積加入 pH 8.5 磷酸緩衝溶液，上下混勻後，置於室溫 30 分鐘，期間每隔五分鐘上下搖動數次，促進反應完全，模擬喝下優酪乳，進入小腸中，有胰液存在的情形。之後，利用桌上型離心機離心，將乳酸菌沉澱，去除上清液，將下層沉澱的乳酸菌加入含 4 毫升 TB 液體培養基的養菌管中培養 37°C、24 小時後，收集觀察，並取出菌液用分光光度計測培養液濁度，比較各廠牌所含乳酸菌在鹼性環境的適應力。

5.實驗五（不同添加物對益生菌存活率的影響）：

由七種廠牌中所脫穎而出的佼佼者，再依據業者為了迎合不同口味的民眾所推出的原味、草莓及低糖蘆薈這三種口味，但添加這些物質是否會影響益生菌的存活率，不是很清楚，因此接著比較這三種口味的活性乳酸菌生長情形，同樣也是取定量加入 TB 液體培養基的試管中，培養 37°C、24 小時後，收集觀察，並取出菌液用分光光度計測培養液濁度，比較含菌數。

6.實驗六（自製優格）：

由這多種廠牌優酪乳中，找到資賦『優』『益』的菌種，且此廠牌是尚未推出優格的產品。試著用簡單的方法來自製優格，利用隔水加熱法將鮮奶加熱至約 40~50 度，打開鮮奶倒入約 1/10 體積的優酪乳，蓋上蓋子，由於置於室溫下，溫度會隨時間降低，因此每隔四小時再加熱至 40~50 度，經過 12 小時後觀察，是否有形成黏稠的優格狀。

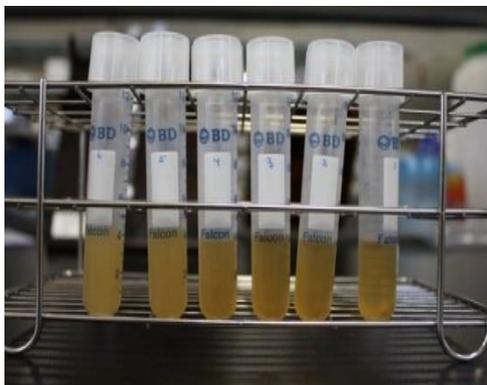
7. 實驗七（比較自製優格所含乳酸菌抗酸鹼能力）

將自製成功的優格及原優酪乳，各取出 0.5 毫升 3 管，分別處理同體積中性(pH 7.2)、酸性(pH 3)、鹼性(pH 8.5)磷酸緩衝溶液，分別當作對照組、模擬胃酸組、膽汁組，上下混勻後，置於室溫 30 分鐘，期間每隔五分鐘上下搖動數次，促進反應完全，之後離心，將乳酸菌沉澱，去除上清液，將下層沉澱的乳酸菌加入含 4 毫升 TB 液體培養基的養菌管中培養 37°C、24 小時後，取出菌液用分光光度計測培養液濁度，比較自製優格所含乳酸菌抗酸鹼能力。

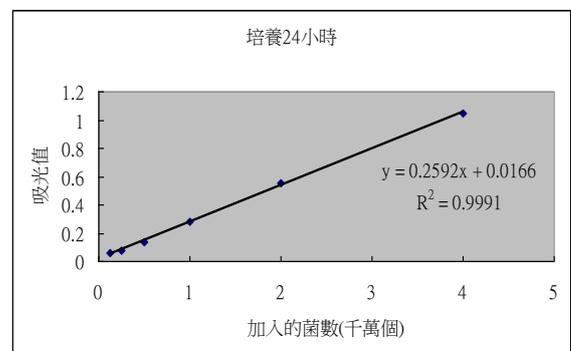
（三）實驗結果與討論

1. 找出適當的培養條件：

由圖一顯示編號 1 至 6 號（由右至左）濁度逐漸增加。取出菌液用分光光度計測培養液濁度，結果與肉眼觀察結果是一致的。由圖二發現，加入這樣的優酪乳的量，皆在線性範圍內，適合用來比較菌數的多寡。



圖一：適當的培養條件



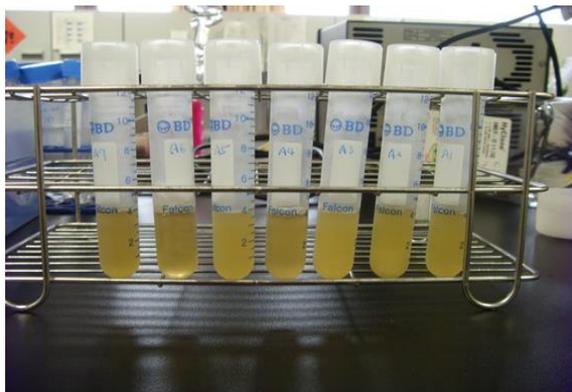
圖二 培養液濁度線性圖

（資料來源：圖表自製）

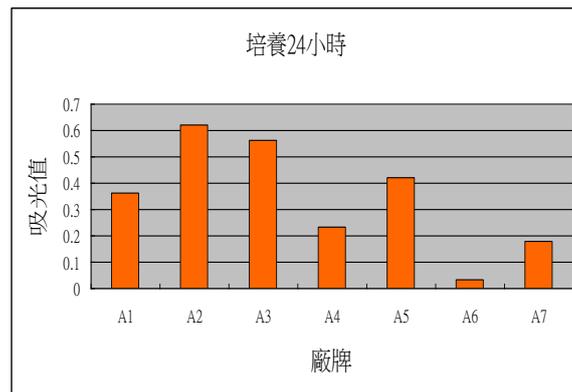
（資料來源：圖表自製）

2. 比較七種優酪乳所含的活性乳酸菌數:

七種優酪乳分別給予 A1~A7 代號表示。由圖三顯示 A2 的濁度最濁。取出菌液用分光光度計測培養液濁度，A2 廠牌活性乳酸菌數最多，而 A6 活性乳酸菌數最少（圖四）。



圖三 不同廠牌培養液濁度
(資料來源：圖表自製)



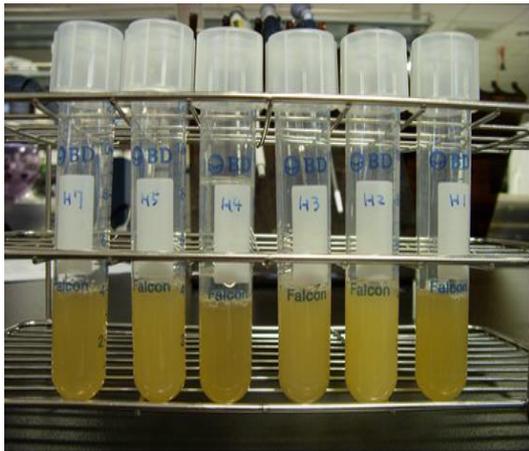
圖四 不同廠牌活性乳酸菌之數量
(資料來源：圖表自製)

3. 探討酸性環境對不同廠牌優酪乳的影響

利用內插法，將吸光值代入線性方程式，可估算菌數，進而算出取各廠牌同數目菌數所需的體積。A6 因所含之活性乳酸菌數太少，因此淘汰不進行以下模擬胃中存活情形之實驗（表一）。取出菌液用分光光度計測培養液濁度，由圖五顯示 A2 廠牌濁度最濁。由圖六顯示 A2 乳酸菌耐酸能力最強，而 A7 活性乳酸菌耐酸能力最弱。

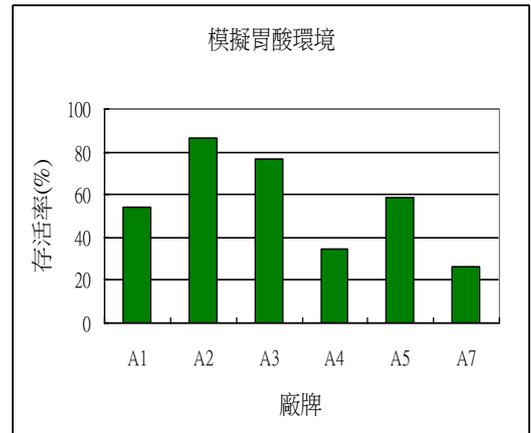
表一：探討酸性環境對不同廠牌優酪乳的影響 (資料來源：圖表自製)

廠牌	吸光值	千萬個 /毫升	4000 萬個菌 所需體積 (微升)
A1	0.364	13.401016	299
A2	0.621	23.306824	172
A3	0.561	20.994184	191
A4	0.235	8.42884	475
A5	0.421	15.598024	257
A6	0.032	0.604408	6619
A7	0.178	6.231832	642



圖五酸性環境對不同廠牌優酪乳的影響

(資料來源：圖表自製)

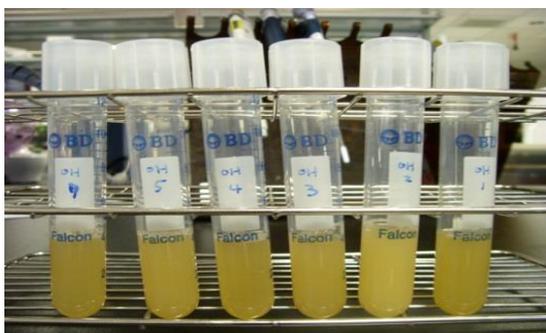


圖六 不同廠牌耐酸能力

(資料來源：圖表自製)

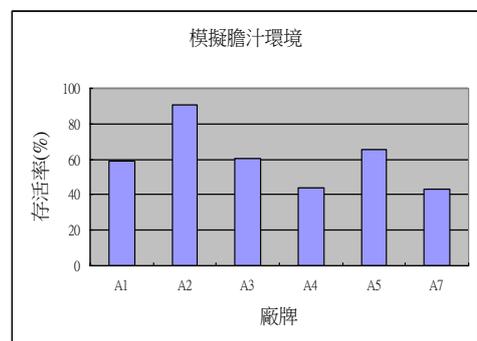
(4) 探討鹼性環境對不同廠牌優酪乳的影響

取各廠牌同數目菌數,進行鹼性環境測試,模擬腸中膽汁存活情形,取各廠牌同數目菌數所需的體積,因 A6 所含的活性乳酸菌數太少,因此淘汰不進行模擬腸中存活情形實驗,由圖六顯示 A2 濁度最濁;取出菌液用分光光度計測培養液濁度,由圖七顯示 A2 廠牌乳酸菌耐鹼能力最強,而 A4、A7 活性乳酸菌耐鹼能力最弱。



圖六 鹼性環境對不同廠牌優酪乳的影響

(資料來源：圖表自製)



圖七 不同廠牌耐鹼能力

(資料來源：圖表自製)

(5)比較不同添加物對益生菌存活率的影響

由以上實驗脫穎而出的佼佼者，是使用原味，此廠牌另外還有兩種口味：草莓及低糖蘆薈優酪乳；其中的添加物是否會影響益生菌的存活率，則在此實驗進行比較。由表二顯示三種口味的添加物對於此益生菌生長似乎沒有影響。

表二：不同口味的添加與益生菌之生長情形（資料來源：圖表自製）

A2 廠牌	吸光值	吸光值	吸光值	吸光值
原味	0.619	0.627	0.623	0.63
草莓	0.62	0.611	0.628	0.621
低糖蘆薈	0.632	0.638	0.627	0.641

(6) 自製優格：我們利用鍋子隔水加熱法將鮮奶加熱至 40~50 度，打開鮮奶倒入約 1/10 體積的優酪乳，蓋上蓋子，每隔四小時再加熱至 40~50 度，經過 12 小時後，黏稠的優格狀形成後置於冰箱中冷藏，待冰涼後取出食用。



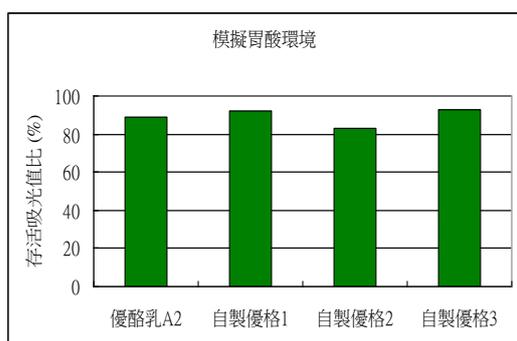
圖八 自製之優格圖（資料來源：自製圖表）

(7)比較自製優格所含乳酸菌抗酸鹼能力

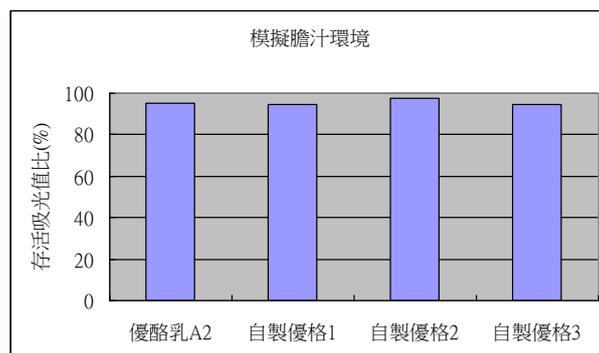
由成功自製的優格和原優酪乳進行培養於不同 pH 值處理後培養，由表三的吸光值數據結果顯示，自製優格裏含菌數較優酪乳少一些。進一步以經過酸處理(或鹼處理)組別除以對照組，得到存活吸光值比，由圖九及圖十顯示在模擬胃酸及膽汁的環境下，因所含益生菌種相同，其存活率並沒有差別，證明自製優格中仍存在著這些活性的益生菌。

表三：比較自製優格所含乳酸菌抗酸鹼能力 (資料來源：圖表自製)

	對照組(pH 7.2)	酸性環境(pH 3)	鹼性環境(pH 8.5)
優酪乳 A2	1.216	1.079	1.157
自製優格 1	0.971	0.892	0.916
自製優格 2	0.879	0.732	0.858
自製優格 3	0.981	0.912	0.926



圖九 自製優格酸性環境益生菌存活率 (資料來源：圖表自製)



圖十 自製優格酸性環境益生菌存活率 (資料來源：圖表自製)

參●結論

一、晶球優酪乳及 AB 優酪乳抗酸鹼之能力

(一) 某廠商推出晶球優酪乳，主要是將乳酸菌包埋在專利的晶球中，根據其過去的實驗認為有更好對抗胃酸和膽汁的能力。但在本實驗中，晶球優酪乳為實驗編號 A1，效果沒特別突出，能力平平，推測此包埋過程中可能是用乾燥凍乾的菌，在這短短 24 小時的實驗中，甦醒的速度比較慢，因此用此實驗方法測試生長情形沒看到很好的表現。

(二) 一般常聽到的 AB 優酪乳，AB 分別是指 *Lactobacillus acidophilus*，*Bifidobacterium longum*，仔細看各廠牌所含的菌種，皆有 *Bifidobacterium longum*。探討實驗編號為 A2 者能有較好的抗酸鹼反應，實驗編號 A2 裡面除了有 AB 兩菌外，還多了 *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* 這兩株菌，因此推測這兩株菌應該有較好的抗酸及抗鹼能力。

二、植物性乳酸菌的功效

購買市面上販售的優酪乳，仔細看了一下，瓶子上寫著「植物性乳酸菌」。唔？頓時還思考一下菌有「植物性」、「動物性」的分別嗎？除了平常吃的奶製品是動物性乳酸菌的來源外，一些如味噌，或者泡菜、豆腐乳、醬油等醃漬品，以及德國配豬腳的酸菜，裡頭就含有大量的植物性乳酸菌，只是因為這類的食品含鹽量高，不適合天天吃。另外也有研究指出植物性乳酸菌，生命力很強，反而比動物性乳酸菌還厲害，更能夠通過肝膽腸胃的強酸強鹼存活下來。

而這標榜植物性乳酸菌的優酪乳為實驗編號 A3，由結果並沒有看到比其他株動物性乳酸菌有最好的耐酸鹼能力，但也分居二、三名，算是有不錯的表現，當然這是因為各廠牌優酪乳所添加的益生菌種不同而有不同能力。

三、添加物對益生菌之影響

在一些廣告詞中常提到“益生菌喜歡高纖的環境”、“益生菌的食物有纖維、乳糖、澱粉、寡糖，益生菌的醱酵產物等成分；所以在補充益生菌的同時多吃蔬果等益生菌喜歡的食物，就等於在腸子裏布置一個它們喜歡生長的环境”。但在此實驗中並沒看到添加物對於益生菌的生長有促進的作用，可能是跟產品本身添加物添加的量的不夠多有關，或添加的成分本身對那益生菌沒幫助。

四、自製優格的省思

在製作過程中，有一次沒有成功，推測隔水加熱時溫度過高，把益生菌都殺死了，因此經過 12 小時，無法將鮮奶發酵成優格。在坊間有販售製作優格的機器，主要是一個恆溫的機器，將牛奶放入其中並加入益生菌粉，過一段時間即可完成。但一台販售的價格不便宜，藉這實驗讓我們體驗不需特殊的機器及購買特殊的菌粉，則可以做出手工限量的優格，嘗起來特別美味。但製作過程中要留意要蓋蓋子，若暴露自然環境中，很容易受到其他壞菌影響，吃了會有腹瀉的情形，因此可以觀察其表現是否平滑光澤，若被壞菌污染，表面通常會有許多皺摺，有時顏色也會改變。

五、益生菌需常常補充

由此次的實驗，觀察到我們喝下了優酪乳，益生菌要經過漫長的消化系統，途中會受到胃酸和膽汁的影響而降低存活率，只有部分資賦『優』『益』才能成功的棲息在腸道中，並且也會受到其他食物或抗生素的影響，因此要增加腸道好菌群的比例，是需要常常補充的。

六、未來展望與建議

- (一) 仔細觀察各廠牌優酪乳在標示含活性乳酸菌的菌名、數目都不一致，有的僅僅寫著含活性菌，但實際上是添加什麼菌並沒有明白標示。數目的部分大多是每毫升有一億個以上，有的沒標示數量，而單位方面也不是很統一。因此成分的標示希望將來各廠商能更清楚，人們食用的才會更安心。
- (二) 在選購上，可多加留意；因為廠牌不同所添加的菌種也不相同，不同的菌種會有不同的抗酸鹼能力；如同吃飯不應該偏食，不然會造成營養缺乏，所以我們可以多喝不同的好菌，對腸道菌叢平衡應該有助益。
- (三) 將來可以進一步研究不同的添加物，如纖維、乳糖、澱粉、寡糖...等，利用這樣的簡單實驗平台，找出何種物質對於益生菌的存活、生長有幫助，就可應用於優酪乳、優格的添加，或與這類食品一起服用，對於健康應該有更多的助益。

肆●引註資料

一、網路資源

《註一》健康的維護者-乳酸菌，(2015年1月20)，取自網址

<http://www.cblue.com.tw/chinese/cs037.htm>

《註二》長壽食品優酪乳，(2015年1月20)，取自網址

http://public.ptl.edu.tw/publish/sci_knog/46/text83.htm

《註三》神奇的體內環保奇兵—乳酸菌，(2015年1月20)，取自網址

<http://www.wedar.com/library4/yesdiet/yes000915.htm>

《註四》「乳酸菌答客問」，(2015年1月20)，取自網址

<http://forum.frontier.org.tw/women/viewtopic.php?topic=835&forum=7>

二、參考書籍

《註五》楊美桂編著。1984。普通微生物學實驗。台北市：藝軒圖書出版社

《註六》王進琦編著。1996。基礎微生物。p486-488。台北市：藝軒圖書出版社

《註七》江晃榮編著。2001。微生物菌種保存法。p56-59。台北市：華香園出版社