

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

腸道乳酸菌對蒟蒻及水解產物之利用性

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC-89-2313-B-040-006

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：陳曉鈴（中山醫學大學營養所）

畫參與人員：陳梅恩（中山醫學大學營養所）

執行單位：中山醫學大學營養所

中華民國九十年十月二十八日

腸道乳酸菌對蒟蒻及水解產物之利用性

計畫編號：NSC-89-2313-B-040-006

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：陳曉鈴（中山醫學大學營養所）

計畫參與人員：陳梅恩（中山醫學大學營養所）

一. 中文摘要

蒟蒻精粉富含葡萄糖及甘露糖 β 鍵結而成的水溶性膳食纖維。本實驗目的是以體外試驗比較腸道益生菌菌叢對蒟蒻及其水解產物之利用性。蒟蒻水解產物的製備是將蒟蒻精粉溶於 0.2M HCl (0.25%, w/v), 以迴流冷凝裝置加熱15分鐘後, 冷卻並調整其 pH 值至 5, 再進行冷凍乾燥。產物依序以 50%、75%、90% 酒精沉澱, 得到平均聚合度 (Degree of polymerization, DP) 各為 33、13 及 3 之 fraction 1-3。為比較蒟蒻及其水解產物對腸道益生菌菌之影響, 將蒟蒻和這三個水解產物及 Glucose、Mannose、Oligofructose 各加入 MRS broth 中 (0.05%, w/v), 觀察其對 *Lactobacillus acidophilus*、*Bifidobacteria bifidus*、*B. breve*、*B. dolescentis*、*B. longum*、*Bacteroides fragilis* 這六株菌在 6、12、24、48 小時之菌液吸光值、pH 值及產物的情形。結果發現: 這六株菌皆會產生乳酸及短鏈脂肪酸, 使培養基的 pH 值隨培養時間的增長而下降, 其中 *B. bifidus* 對各碳源的利用性無顯著性差異; *B. longum*、*B. breve*、*B. adolescentis* 對 fraction 2 蒟蒻水解產物的利用性較蒟蒻、fraction 1 及 fraction 3 佳; 而 *Bacteroides fragilis* 則對 fraction 3、glucose、mannose 的利用性較佳。因菌種對碳源之利用有其特異性, 因此本實驗建議所測試之乳酸菌對平均聚合度 (DP) 小及等於 13 之蒟蒻水解產物利用性較佳。

關鍵詞：蒟蒻精粉、*Lactobacillus acidophilus*、*Bifidobacteria bifidus*、*B. breve*、*B. dolescentis*、*B. longum*、*Bacteroides fragilis*、乳酸、短鏈脂肪酸

二. 背景及目的

蒟蒻 (*Amorphophallus konjac*) 為天南星科蛇芋屬多年生宿根性塊莖草本植物, 原產印度、錫蘭, 自古即在大陸西南地區栽植, 近年來尤在四川、貴州一帶大量生產, 台灣地區以台東地區及南投縣之埔里、魚池等地為主。當蒟蒻生長達 2-3 年時, 其地下球莖含有多量的 glucomannan (30-50%), 經乾燥磨粉與風力分級可製得蒟蒻粉 (konjac flour), 或再以熱水萃取得熱水可溶之蒟蒻膠 (konjac gum) (賴等 1999; Jacon et al. 1993; Thomas 1997)。天然蒟蒻膠主要由 D-甘露糖 (M) 和 D-葡萄糖 (G) 以 β -(1 \rightarrow 4) 糖苷鍵鍵結而成直鏈骨架, 其上衍生少許乙醯基及可能的分枝性糖基 (Maeda et al. 1980; 賴等 1999), 整體 M/G 莫耳比約 1.6 (Maeda et al. 1980; Nishinari et al. 1992)。熱水可溶之蒟蒻膠萃出物分子量自數十萬至上百萬 (賴等 1999)。傳統上, 天然蒟蒻膠可直接作食品增稠劑, 或經鹼處理去乙醯作用後 (Maekaji 1974;

Thomas 1997)以凝膠的狀態應用於食品中，例如市售的蒟蒻紅豆粉粿、蒟蒻凝膠點心以及減脂肉製品之研發(黃等 1998; 楊等 1997; Osburn and Keeton 1994)。雖然蒟蒻加工產品已普遍，然由於天然蒟蒻粉之凝膠物性隨來源而有相當之變異，大大限制了蒟蒻粉與其所含膠質之應用價值。若能利用酵素分解技術將之製成具潛在高價值之低分子量產物，並釐清其生理活性，相信極有助於提高蒟蒻原料之多樣化應用及機能性素材之研發。

(一) 蒟蒻促進乳酸桿菌,雙叉桿菌生長之機能性

健康人體之腸內菌種約含數百種(Finegold et al 1983)，菌相受到許多內在及外在因子諸如年齡、性別、氣候、飲食、生活壓力、服藥狀況、及體內菌群相互作用之影響。一般而言，腸內乳酸桿菌,雙叉桿菌為益菌，除了幫助食物消化吸收外，並可抑制病原性及腐生性細菌的菌數(Chung and Goepfert 1970, Tamura 1983, Anand et al, 1984)。因此若能提高腸內益菌使呈優勢，則達到淨化腸道的作用。此外已有實驗結果建議雙叉桿菌，乳酸菌具有抗腫瘤(Mitsuoka 1982)，減少致癌物產生(黃 1992)等之功效，更加強了雙叉桿菌對人體保健功效之潛力。大陸學者(張等 1990)之臨床研究發現每日添加 5.3 g 蒟蒻精粉，21 天後可稍微增加糞便中好氧菌及厭氧菌菌數。

(二) 蒟蒻水解物之相關研究

直至目前許多研究指出：存在天然食物之葡糖[Glu-(fru)_n](聚合度為 10-50)，及聚合度約為 3-10 之生枝寡糖類包括果寡糖 neosugar，半乳寡糖，異麥芽寡糖，及木糖皆有利於雙叉桿菌的生長或短鏈脂肪酸之產生(Dokkum et al 1999, Campbell et al 1997, Howard et al 1995)。然而目前研究並不能提供其他存在天然食物之聚糖類對雙叉桿菌及其他腸道有益菌之效果。早期研究為探討蒟蒻多糖之化學結構而利用酸或酵素分解技術取得蒟蒻寡糖(Kato and Matsuda 1969, Kato et al 1970, Shimahara et al 1975)。酸水解法雖然成本低且方便，但是酸催化低分子聚糖之速度往往大於催化大分子聚糖，因此較不易取得寡糖，而較偏向取得單糖及較大分子(Kato and Matsuda 1969)。將多糖類水解所得之寡糖受到逐漸重視及研究。例如源自於幾丁質多糖之幾丁質寡糖被證實有誘導植物殺菌素，抗腫瘤(Muraki et al 1993)有利雙叉桿菌體外生長(郭 1995)等作用。關華膠 guar gum 水解產物(主要為分子量 20,000 之多糖分子)則與未經水解處理之關華膠有類似降血脂肪及刺激盲腸內容物中乙酸丙酸及丁酸濃度之功效(Ide et al 1991)。因此，我們將針對蒟蒻小分子水解產物對促進乳酸桿菌,雙叉桿菌生長之效應進行體外評估。

三. 結果與討論

在本體外實驗，發現這六株腸內乳酸菌皆可以利用蒟蒻及其水解產物和一些單糖做為其生長所需的碳源，並可藉由測其吸光值得知這六株乳酸菌之生長情形（圖一），其中 *B. longum*、*B. adolescentis* 兩株菌不管以任何碳源添加下，生長情形皆優於其它株菌；而以 *Bacteroides fragilis* 生長情形最差。對各碳源間的利用性（圖二）發現六株乳酸菌在 48 小時時普遍對 Glucose、Mannose、Oligofructose 利用性皆較其它碳源好；而在蒟蒻及其水解產物方面，則以 *B. longum*、*B. breve*、*B. adolescentis* 三株菌對 fraction 2 的水解產物利用性佳；以 *Bacteroides fragilis* 對 fraction 3 水解產物利用性佳；而 *B. bifidus*、*L. acidolence* 這兩株菌對各碳源間的利用性較無顯著性差異。

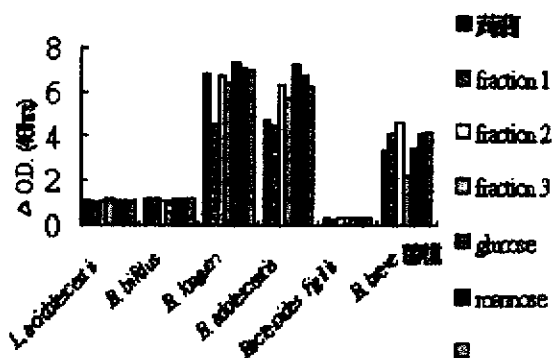


Fig 1. Effect of Konjac, Konjac hydrolysate and simple sugar on O.D. value in media inoculated with various species after 48 hrs.

由圖三則是可以看出六株乳酸菌在利用不同碳源生長時，培養液中 pH 值之變

化情形，而發現隨著培養時間的增長，六株菌培養液的 pH 值皆漸次的降低，其中以 *B. longum* 在任何碳源下 pH 值降低皆最多；其次為 *B. adolescentis*；另外則以 *Bacteroides fragilis* 在任何碳源下 pH 值降低最少。

造成 pH 值下降的原因可能為六株乳酸菌利用我們所加入的碳源，代謝產牛乳酸及短鏈脂肪酸所致，因此六株乳酸菌在培養 48 小時後之培養液乳酸含量值中（圖四），可發現 *B. adolescentis* 在以任碳源培養下產生乳酸的量皆較其它株菌多；其次為 *B. longum*；再次之為 *L. acidolence*；而以 *Bacteroides fragilis* 最少。另外，在各碳源間的比較則可看出 *B. breve*、*B. bifidus* 和 *B. longum* 這三株菌在以 fraction 2 之蒟蒻水解產物為碳源時，所產生的乳酸含量較其它 fraction 多，同時在 *B. breve* 和 *B. Longum* 及 *L. acidolence* 三株菌中則可發現其利用蒟蒻及其水解產物產生乳酸的量皆多於 Glucose、Mannose 及 Oligofructose。

由前面結果得知，六株腸內菌所測得的 O.D. 值與 pH 值會成反比，因為菌利用了我們所加入的碳源代謝產生乳酸及短鏈脂肪酸，因此隨著培養時間的增加，其 pH 也會跟著下降；然而在 *L. acidolence* 這株菌中發現其所測得的 O.D. 值較 *B. longum* 低，但其 pH 值卻和 *B. longum* 差不多，可能的原因為 *L. acidolence* 這株菌本身在分泌酸的能力就較佳，所以所測得的 O.D. 值並沒有完全反在 pH 值上；另一方面在此實驗中也發現每株菌對各碳源的利用具特异性，因此在蒟蒻及其水解產物方面則以 fraction 2 效果較佳。

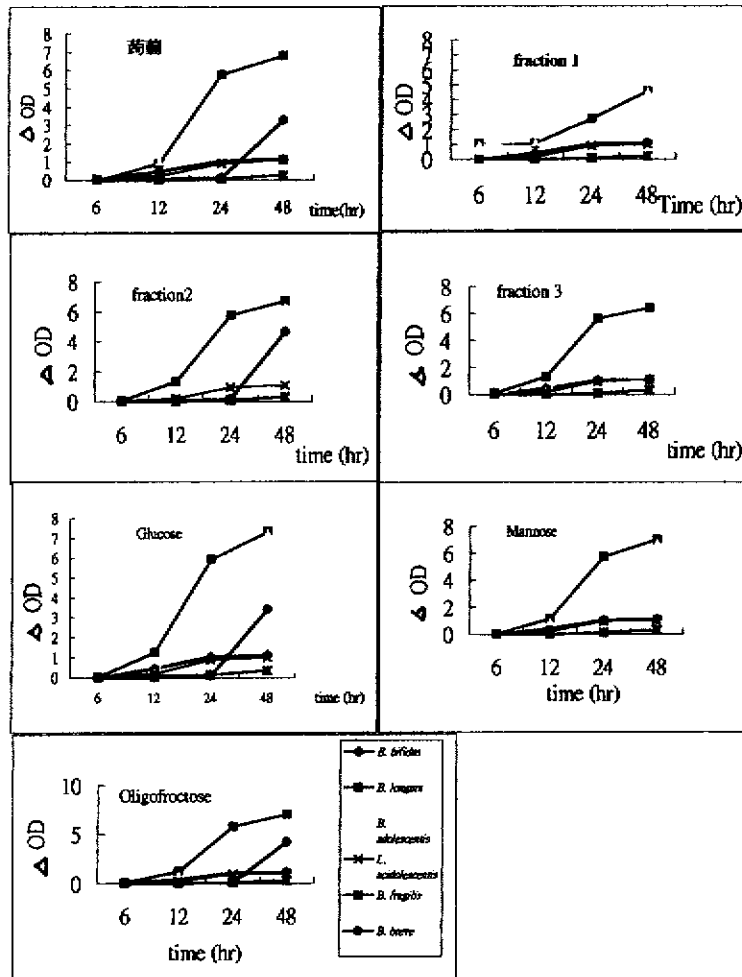


Fig 2. Effects of 0.05%(w/v) Konjac,Konjac hydrolysates and simple sugar on O.D. of media at 6.12.24 and48 hrs for (A)*L. acidolenscentis* (B)*B. bifidus* (C)*B. longum* (D)*B. adolescentis* (E)*Bacteroides fragilis* (F)*B. breve*

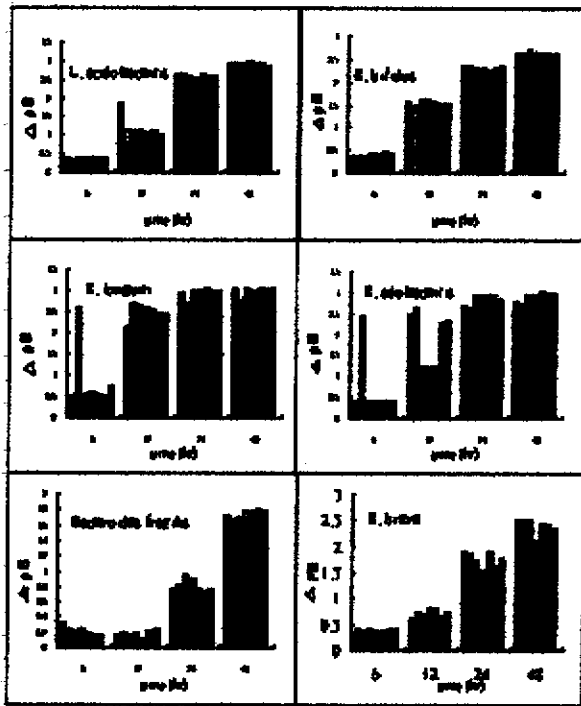


Fig 3. Effects of 0.05% (w/v) Konjac, Konjac hydrolysates and simple sugar on pH of media at 6, 12, 24 and 48 hr for (A) *L. acidolescens* (B) *B. bifidus* (C) *B. longum* (D) *B. adolescentis* (E) *Bacteroides fragilis* (F) *B. breve*.

■ Glucose ■ Mannose
 ■ Fructo-oligosaccharide ■ Xylo-oligosaccharide
 ■ Gum Arabic

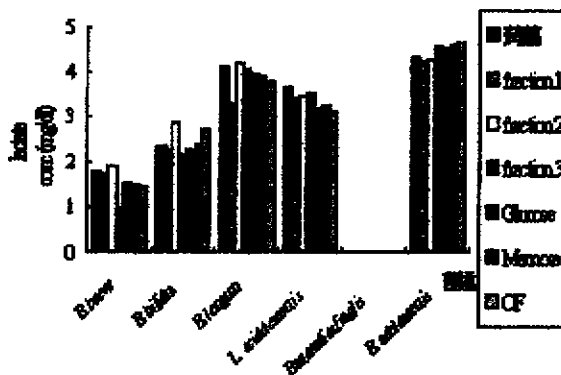


Fig 4. Effect of Konjac, Konjac hydrolysate and simple sugar on lactate concentration in media inoculated with various bacteria species after 48 hr.

四. 参考文献

- Anand SK, Srinivasan RA, Rao LK. 1984. Antibacterial activity associated with *Bifidobacterium bifidum*. *Cultured Dairy Products J. Nov.*: 6-8.
- Campbell JM, Fahey GC, Wolf BW. 1997. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J. Nutr.* 127:130-136.
- Chung KC and Goepfert JM. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. *J. Food Sci.* 35:326-328.
- Howard MD, Gordon DT, Garleb KA, Kerley MS. 1995. Dietary fructooligosaccharide, xylooligosaccharide and gum arabic have variable effects on cecal and colonic proliferation in mice and rats. *J. Nutr.* 125(10):2604-9.
- Jacon SA, Rao MA, Cooley HJ, Walter RH. 1993. The isolation and characterization of a water extract of konjac flour gum. *Carbohydr. Polym.* 20: 35-41.
- Maeda M, Shimahara H, Sugiyama N. 1980. Detail examination of the branched structure of konjac glucomannan. *Agric. Biol. Chem.* 44:245-252.
- Mitsuoka T. 1982. Recent trends in

research on intestinal flora.

Bifidobact. Microflora 1:3

賴鳴鳳、廖樹杰、呂政義 1999 水溶性蒟
蒻膠萃取與分子性質之探討。食品
科學 26:456-467

Nishinari K, Williams PA, Phillips GO. 1992.

Review of the physico-chemical
characteristics and properties of
konjac mannan. Food Hydrocoll. 6,
199-222.

Osburn WN., Keeton JT. 1994. Konjac flour

gel as fat substitute in low-fat
preigor fresh pork sausage. J. Food
Sci. 59, 484-489.

Tamura Z. 1983. Nutriology of

bifidobacteria. Bifidobacteria
Microflora 2(1):3-16.

41. Thomas MG, Owen RW, Alexander B,

Williamson R. 1993. Effect of
enteral feeding on intestinal
epithelial proliferation and fecal bile
acid profiles in the rat. J. Parent. Ent
Nutr. 17: 210-213.

42. Thomas WR. 1997. Konjac gum. In

Thickening and Gelling Agents for
Food, 2nd ed. Ed. A. Imeson. Blackie
Academic & Professional, London.
Pp.169-179.

黃加成、蘇和平、林慶文 1998 蒟蒻在低

脂肪中式香腸之利用 食品科學
25:437-445。

黃瓊瑩 1992 雙叉桿菌之特性及其利用

食品工業 24(12):35