

嘉義市第 37 屆中小學科學展覽會 作品說明書

科 別：生物科

組 別：國小組

作品名稱：乳酸菌的好「食」代-乳酸菌在食物中生長之研究

關 鍵 詞：乳酸菌、MRS 培養基、十倍序列稀釋法

編 號：

摘要

研究發現，飲食對於腸道微生物菌群有很大的影響，很多家長也都會讓孩子服用益生菌保健產品，但文獻也指出孩童亂吃零食、大吃大喝都會導致腸道細菌生態受到破壞，因此，本研究想探討幾種孩童常吃的食物對於乳酸菌生長有什麼樣的影響。本研究將常見的五種市售乳酸活菌飲料添加至不同食物溶液中，生長一定時間後，再利用序列稀釋法觀察並計算菌落數，分析乳酸菌生長情形。結果發現，五種市售活菌飲料以福樂優先順優酪乳活菌生長情形最好，在不同蛋白質來源的食物中皆能生長良好。接著，將選定的食物與水混合均質成液體，過濾並高溫殺菌後製作成食物溶液，直接培養或是加入MRS培養基後再進行培養乳酸菌，比較市售活菌飲料在不同食物溶液下生長狀況。進一步分析發現，若以MRS培養基當基底培養液，添加蔬果類、蛋白質或是碳酸飲料食物皆能使乳酸菌生長良好；但若以食物溶液作為基底直接培養乳酸菌，則發現乳酸菌無法在碳酸飲料中生長，而蔬果類、蛋白質食物溶液一樣能使活菌生長，可見食用碳酸飲料不利於乳酸菌的生長。因此，選擇對的食物有助於乳酸菌的生長，也會有利於腸胃道的健康。

壹、研究動機

每次最期待的就是期末的同樂會了，因為只有這天老師才允許我們可以帶零食到學校跟同學分享。當大家興奮的分享美食的時候，突然有位同學說，家人從不讓他吃零食，因為吃零食對身體會有不好的影響。我們就十分好奇，我們平時吃的食物哪些是有益腸胃道的健康？文獻研究顯示益生菌已被證實是腸內的有益細菌，可以清除壞菌，也能改善人體免疫能力。因此，我們想要先了解乳酸菌在蛋白質食物中之生長情形，每天喝牛奶、豆漿，會幫助腸胃道益生菌生長嗎？再進而探討不同的食物對乳酸菌的生長影響，透過研究結果來幫助我們能夠選擇真正有益身體健康的食物，可以吃得開心又健康！

貳、研究目的

- 一、市售乳酸菌在蛋白質食物中之生長情形。
- 二、MRS培養基添加不同食物對乳酸菌生長的影響。
- 三、不同種類食物對乳酸菌生長的影響。
- 四、乳酸菌在不同食物中之生長曲線。

參、研究設備及器材

一、研究器材：

			
37°C 培養箱	電鍋	微量吸管	MRS培養基
			
桌上型離心機	燒杯	酒精燈	L玻棒

二、市售乳酸菌：

				
統一AB優酪乳	福樂優酪乳	LP33機能優酪乳	多多活菌發酵乳	LP33 益敏優多







三、蛋白質類食品

		
光泉原味鮮豆漿	乳香世家純鮮乳	安佳脫脂奶粉

四、碳酸飲料：

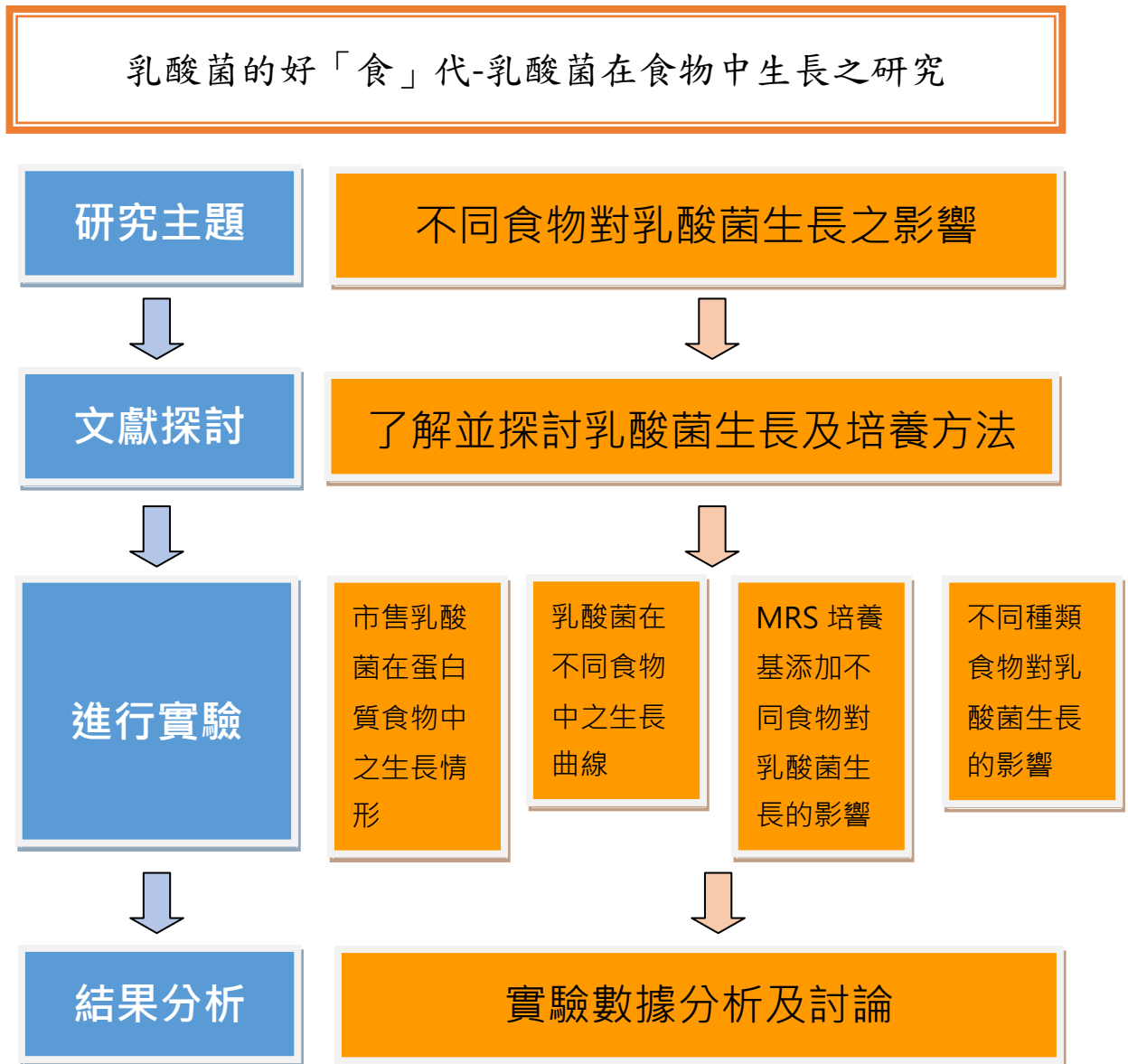
	
可口可樂	可口可樂+纖維

五、蔬果類食物

					
南瓜	茄子	馬鈴薯	羽衣甘藍	小白菜	菠菜

肆、研究過程與方法

一、研究架構



一、文獻探討

(一) 乳酸菌

「乳酸菌」是指能夠代謝糖類、產生 50%以上乳酸之細菌，具有這些功能的細菌包括了：乳酸桿菌(Lactobacillus)、鏈球菌(Streptococcus)、念球菌(Leuconostoc)等。但乳酸菌為習慣用語，並不是分類學上正式用語。我們經常講的雙歧桿菌或比菲德菌會產生乳酸及醋酸，但

乳酸不到 50%，所以嚴格說來不應稱為乳酸菌。但若由保健營養觀點而言，雙歧桿菌同樣具有安全、健康等乳酸菌所標榜之形象，將之納入乳酸菌家族亦是理所當然。人類飲用發酵乳品歷史非常悠久，所以，乳酸菌一直被認為是非常安全的菌種，是最具代表性的腸內有益菌。乳酸菌在腸道進行發酵分解糖類，產生乳酸、醋酸，使腸內環境維持酸性，因而抑制腐敗菌的增生。有些乳酸菌會分泌殺菌物質直接對付壞菌。日本養樂多公司曾經讓志願者連續五週，每天服用 100 億個的比菲德氏菌，發現他們的排泄物偏酸性，而且大腸桿菌、產氣的莢膜桿菌等壞菌數目皆大幅減少，連排泄物中的氨氣也明顯降低。證明乳酸菌確實能夠改善腸道的菌相，抑制腐敗菌的活動。

（二）乳酸菌專用的培養基

MRS培養基是培養和計算乳酸菌的培養基，科學家於1960年代開發，此培養基是用於大多數的乳酸菌，營養成分包含了蛋白胨、牛肉抽出物、酵母抽出物、胰蛋白胨及葡萄糖，硫酸鎂及硫酸錳作為生長刺激劑。在低pH下使用，檸檬酸銨可讓乳酸菌長，並抑制其他生物生長。藉由計算菌落的數目，協助了解乳酸菌菌相的現況，可用來評估市售乳酸菌菌數。

（三）序列稀釋法

微生物的生長指的為其細胞數目的增加，而一般要測定樣品中的總菌數通常以測定容量(ml)或重量(g)單位中微生物的數量來表示，但由於細菌本身數量很龐大，故通常只取一小部分的樣本，再藉由一系列的稀釋使菌落在培養基上生長數目介於25-250 菌落形成單位 (colony forming unit，縮寫為 CFU)之間，此即為利用稀釋方測定總菌數之原理所在。CFU 是菌落形成單位的縮寫，係指樣品在適當的稀釋狀態下，每一個細菌細胞在培養基上，生長繁殖所形成的單一可區別菌落，每菌落單位稱為 1 CFU，本研究所使用之單位為 CFU/mL，即為每毫升樣品中含有的細菌菌落總數。

(四) 塗抹平板法

在微生物學實驗中常用的一種菌種分離方法。平板計數的實驗原理是根據細菌在固體培養基上形成的單個菌落，即是由一個單一菌種繁殖而成，本研究中所計數之一個菌落便是代表一個乳酸菌。計數時，首先將待測樣品製成均勻的序列稀釋液，盡量使樣品中的菌種平均分散，使成單個乳酸菌存在，再取等倍稀釋且一定量的稀釋液接種到平板中，使其均勻分布于平板中的培養基內。經培養後，由單一細菌生長繁殖形成菌落，統計菌落數目，即可計算出樣品中的含菌數。此法所計算的菌數是培養基上長出來的菌落數，故又稱活菌計數。

二、研究問題

- (一) 市售乳酸菌在蛋白質食物中之生長情形。
- (二) 乳酸菌在不同食物中之生長曲線。
- (三) MRS 培養基添加不同食物對乳酸菌生長的影響。
- (四) 不同種類食物對乳酸菌生長的影響。

三、研究方法及結果

- (一) 市售乳酸菌在蛋白質食物中之生長情形

1. 實驗目的：

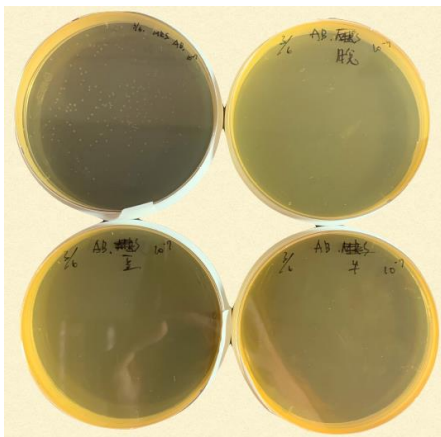
在小學階段，補充蛋白質很重要，而我們平常能接觸最好的優質蛋白質來源就是牛奶及豆漿，因此我們想知道市售乳酸菌是否能在存活並生長於常見的蛋白質食物中，先將鮮奶、奶粉沖泡的牛奶及豆漿分裝，利用電鍋殺菌，冷卻後接種乳酸菌，培養後觀察乳酸菌菌落的數量。

2. 實驗操作步驟：

- (1) 從市面上挑選五種乳酸菌飲料（AB 優酪乳、福樂優酪乳、LP33 優酪乳、LP33 益敏優多、多多發酵乳）。
- (2) 秤取脫脂奶粉 25 克，完全溶解於 200 毫升之開水中。
- (3) 將豆漿、鮮奶、脫脂奶粉分裝至培養試管中，利用電鍋殺菌 20 分鐘，置於冰上冷卻。
- (4) 以 1:50 之比例接種乳酸菌，本研究所使用之體積為抽取 20 ul 之乳酸菌加入 980 u 之培養溶液中培養 24 小時。
- (5) 培養完成後以十倍序列稀釋法稀釋至適合濃度。
- (6) 抽取 100 ul 體積之培養液，加至 MRS 培養盤中利用 L 玻棒均勻塗盤。
- (7) 放入培養箱中培養 48 小時，觀察菌落生長情形。
- (8) 取出觀察菌落數並記錄。

3. 實驗結果

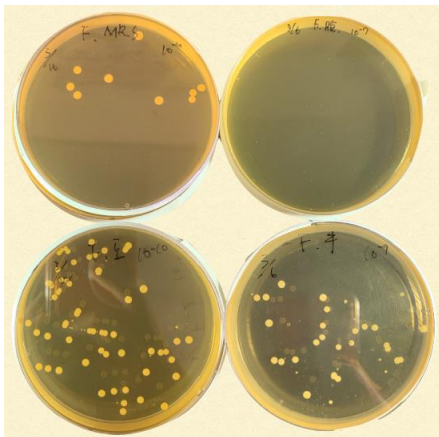
(1) AB 優酪乳



培養液	活菌菌數 (C F U / m L)
MRS	1.91×10^{10}
脫脂奶粉	0
豆漿	0
牛奶	0

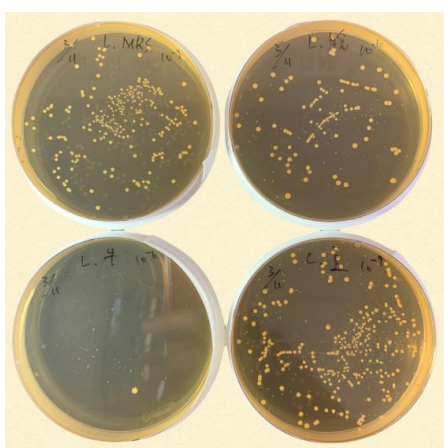
培養液	活菌菌數 (C F U / m L)
-----	----------------------

(2) 福樂優先順



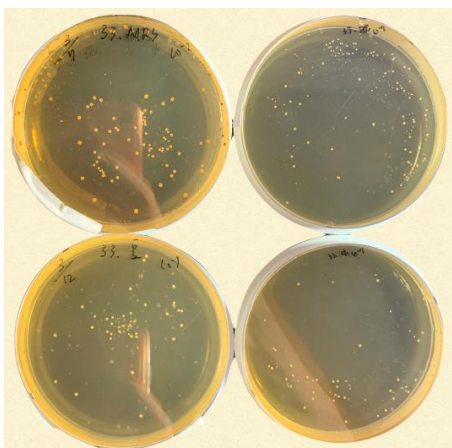
MRS	9×10^{11}
脱脂奶粉	0
豆漿	9.7×10^{12}
牛奶	7.8×10^{10}

(3) LP33 優酪乳



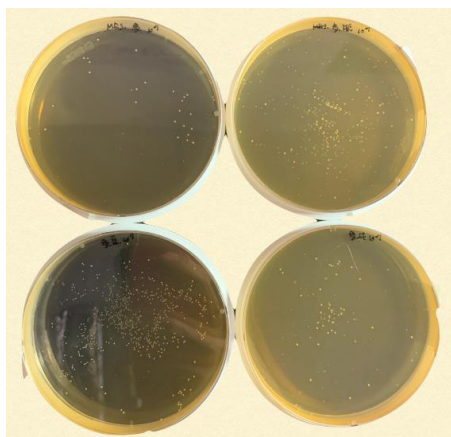
培養液	活菌菌數 (C F U / m L)
MRS	2.7×10^{10}
脱脂奶粉	2.3×10^9
豆漿	7.7×10^{10}
牛奶	1.7×10^8

(4) LP33 益敏優多

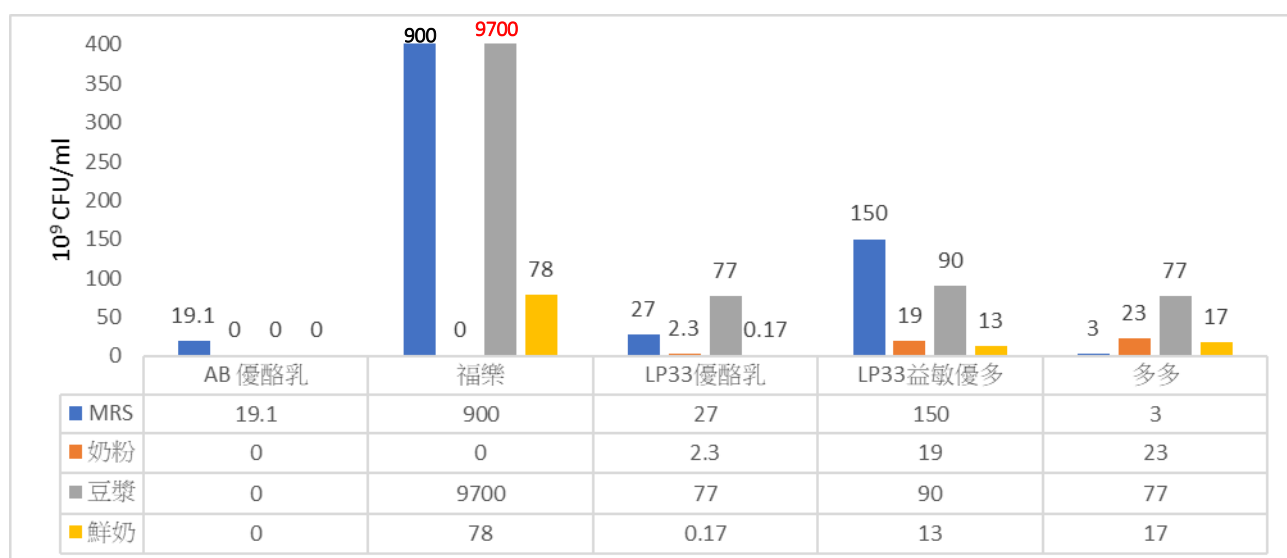


培養液	活菌菌數 (C F U / m L)
MRS	1.5×10^{11}
脱脂奶粉	1.9×10^{10}
豆漿	9×10^{10}
牛奶	1.3×10^{10}

(5) 多多養樂多



培養液	活菌菌數 (C F U / m L)
MRS	3×10^9
脫脂奶粉	2.3×10^{10}
豆漿	7.7×10^{10}
牛奶	1.7×10^{10}



4. 結論：

- (1) 培養自 AB 優酪乳中的乳酸菌無法在任何蛋白質食物中生長。
- (2) 福樂優酪乳之乳酸菌除了無法在奶粉中生長外，在豆漿之生長最為顯著，菌數可達 9.7×10^{12} CFU/ml。
- (3) LP33 優酪乳、LP33 益敏優多及多多發酵乳則可生長於所有蛋白質食物溶液中。
- (4) 除 AB 優酪乳外，其他四種乳酸菌在不同蛋白質食物中，皆以培養在豆漿中生長狀況最好。

(二) MRS 培養基添加不同食物對乳酸菌生長的影響

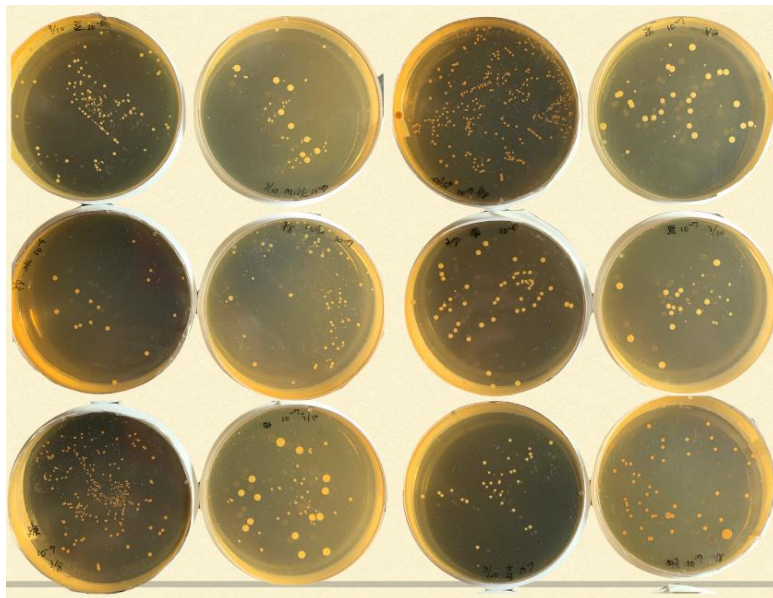
1. 實驗目的

我們在第一個實驗中發現，以生長的菌落數目來看，福樂優先順優酪乳培養後生長的菌數最高，接著我們就挑選福樂優酪乳進行後續實驗。除了鮮奶及豆漿外，我們挑選了幾種平常同學們較愛吃的食物，分為蔬果類食物及碳酸飲料，製作出食物溶液，再將食物溶液添加至 MRS 培養基中，培養乳酸菌觀察生長情形，此部分研究主要是探討若以 MRS 為基底培養基，不同食物溶液的添加是否影響乳酸菌在 MRS 培養基中之生長。

2. 實驗操作步驟：

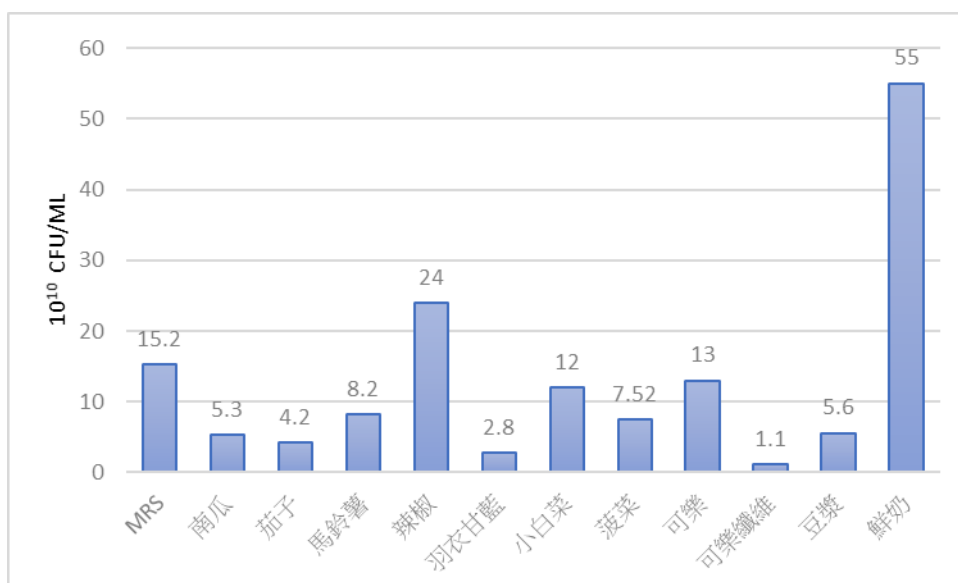
- (1) 蔬果類食物包括南瓜、茄子、馬鈴薯、辣椒、羽衣甘藍、小白菜、菠菜。
- (2) 飲料類食物包括可口可樂及可口可樂+纖維，另外 MRS 培養基、鮮奶及豆漿作為正對照組
- (3) 秤取蔬果類食物各 30 克，加入 90 毫升水中，均質絞碎後煮沸過濾，製作出不同蔬果之食物溶液。飲料類食物則直接使用。
- (3) 將蔬果類食物溶液、可樂、可樂纖維、鮮奶、豆漿以 1：4 之比例添加至 MRS 培養基中，分裝至培養試管中，利用電鍋殺菌 20 分鐘，置於冰上冷卻。
- (4) 以 1：50 之比例接種福樂乳酸菌，本研究所使用之體積為抽取 20 ul 之乳酸菌加入 980 u 之培養溶液中培養 24 小時。
- (5) 培養完成後以十倍序列稀釋法稀釋至適合濃度。
- (6) 抽取 100 ul 體積之培養液，加至 MRS 培養盤中利用 L 玻棒均勻塗盤。
- (7) 放入培養箱中培養 48 小時，觀察菌落生長情形。
- (8) 取出觀察菌落數並記錄。

3. 實驗結果



培養液	活菌數(CFU/ml)	培養液	活菌數(CFU/ml)
MRS	1.52×10^{11}	羽衣甘藍	2.8×10^{10}
南瓜	5.32×10^{10}	小白菜	1.2×10^{11}
茄子	4.24×10^{10}	菠菜	7.52×10^{10}
馬鈴薯	8.24×10^{10}	可樂	1.30×10^{11}
辣椒	2.4×10^{11}	可樂纖維	1.1×10^{10}
豆漿	5.6×10^{10}	牛奶	5.52×10^{11}

將結果以柱狀圖表示：



4. 結論

- (1) MRS 培養基中添加辣椒及鮮奶，能促進乳酸菌生長，分別增加了 1.5 倍及 3.6 倍。
- (2) 其他食物溶液及飲料添加至 MRS 培養基，皆呈現較低之生長效果，其中以可樂纖維飲料抑制效果最明顯，與 MRS 培養基比較起來抑制了 13 倍的生長。
- (3) 若添加在 MRS 培養基中，牛奶中的活菌數是豆漿的 9.8 倍。
- (4) 兩種可樂飲品中，可樂的活菌數是可樂纖維的 11.8 倍。
- (5) 蔬果類食物中以添加小白菜溶液的 MRS 培養基生長效果最好。

(三) 不同種類食物對乳酸菌生長的影響

1. 實驗目的

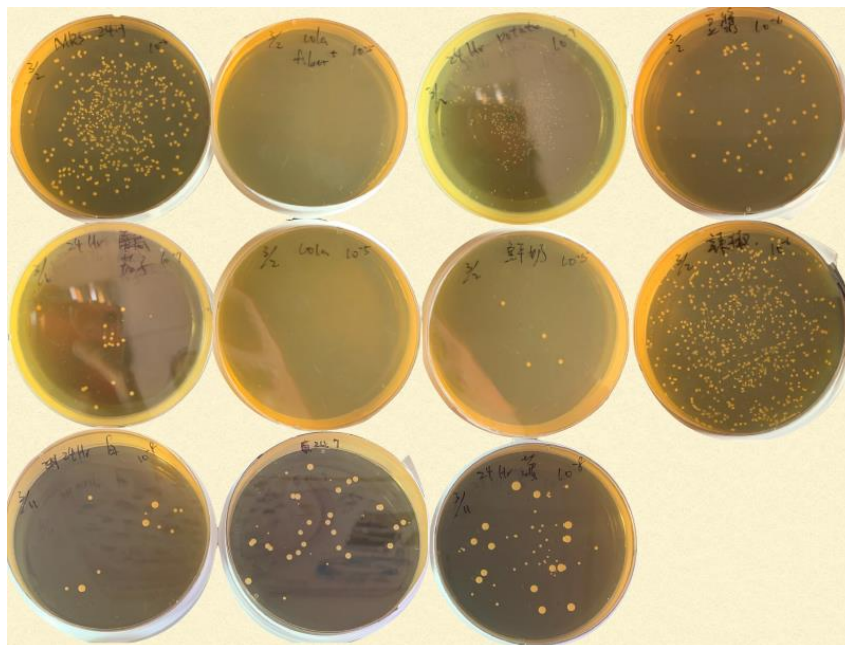
我們發現若將不同食物溶液添加至 MRS 培養基中，不論是增加或抑制生長效果，皆能使乳酸菌生長，但我們在吃的食物中並不會添加 MRS 培養基，因此，我們想看看若是以不同食物溶液直接培養乳酸菌，對於乳酸菌生長是否又有不同影響。我們同樣挑選福樂優酪乳進行第三階段實驗，延續第二階段實驗之實驗設計，培養乳酸菌並觀察生長情形，此部分研究主要是探討不同食物溶液對於乳酸菌生長之直接作用為何。

2. 實驗操作步驟：

- (1) 蔬果類食物包括南瓜、茄子、馬鈴薯、辣椒、小白菜、菠菜。
- (2) 飲料類食物包括可口可樂及可口可樂+纖維，另外 MRS 培養基、鮮奶及豆漿作為正對照組
- (3) 秤取蔬果類食物各 30 克，加入 90 毫升水中，均質絞碎後煮沸過濾，製作出不同蔬果之食物溶液。飲料類食物則直接使用。
- (3) 將蔬果類食物溶液、可樂、可樂纖維、鮮奶、豆漿直接分裝至培養試管中，利用電鍋殺菌 20 分鐘，置於冰上冷卻。

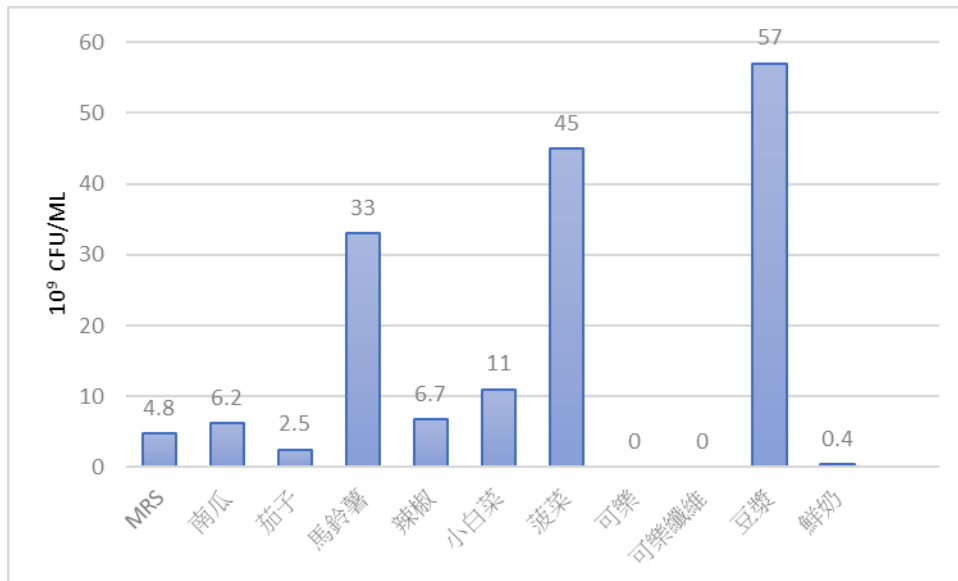
- (4) 以 1 : 50 之比例接種福樂乳酸菌，本研究所使用之體積為抽取 20 ul 之乳酸菌加入 980 u 之培養溶液中培養 24 小時。
- (5) 培養完成後以十倍序列稀釋法稀釋至適合濃度。
- (6) 抽取 100 ul 體積之培養液，加至 MRS 培養盤中利用 L 玻棒均勻塗盤。
- (7) 放入培養箱中培養 48 小時，觀察菌落生長情形。
- (8) 取出觀察菌落數並記錄。

3. 實驗結果



培養液	活菌數(CFU/ml)	培養液	活菌數(CFU/ml)
MRS	4.8×10^9	小白菜	1.1×10^{10}
南瓜	6.2×10^9	菠菜	4.5×10^{10}
茄子	2.5×10^9	可樂	0
馬鈴薯	3.3×10^{10}	可樂纖維	0
辣椒	6.7×10^9	牛奶	4×10^8
豆漿	5.7×10^{10}		

將結果以柱狀圖表示



4. 結論

- (1) 蔬果類食物溶液直接培養乳酸菌，以馬鈴薯及菠菜的生長效果最好，跟 MRS 培養基比較起來，分別是 MRS 培養基的 6.8 倍及 9.3 倍。
- (2) 豆漿仍是最適合乳酸菌生長之培養液，此結果與第一階段之結果相似，表示豆漿中之營養成分非常適合福樂乳酸菌生長。
- (3) 兩種可樂飲品中之活菌數為零，可見可樂的成分應完全不適合乳酸菌生長。

(四) 乳酸菌在不同食物中之生長曲線

1. 實驗目的

我們證實以不同食物溶液直接培養乳酸菌呈現不同之生長效果，接下來將探討乳酸菌若在這些食物溶液中生長不同時間，其生長情形為何？

2. 實驗操作步驟：

- (1) 蔬果類食物包括南瓜、茄子、馬鈴薯、辣椒、小白菜、菠菜。
- (2) 飲料類食物包括可口可樂及可口可樂+纖維，另外 MRS 培養基、鮮奶及豆漿作為正對照組

(3) 秤取蔬果類食物各 30 克，加入 90 毫升水中，均質絞碎後煮沸過濾，製作出不同蔬果之食物溶液。飲料類食物則直接使用。

(3) 將蔬果類食物溶液、可樂、可樂纖維、鮮奶、豆漿直接分裝至培養試管中，利用電鍋殺菌 20 分鐘，置於冰上冷卻。

(4) 以 1：50 之比例接種福樂乳酸菌，本研究所使用之體積為抽取 20 ul 之乳酸菌加入 980 u 之培養溶液中分別培養 24、48 及 72 小時。

(5) 培養完成後以十倍序列稀釋法稀釋至適合濃度。

(6) 抽取 100 ul 體積之培養液，加至 MRS 培養盤中利用 L 玻棒均勻塗盤。

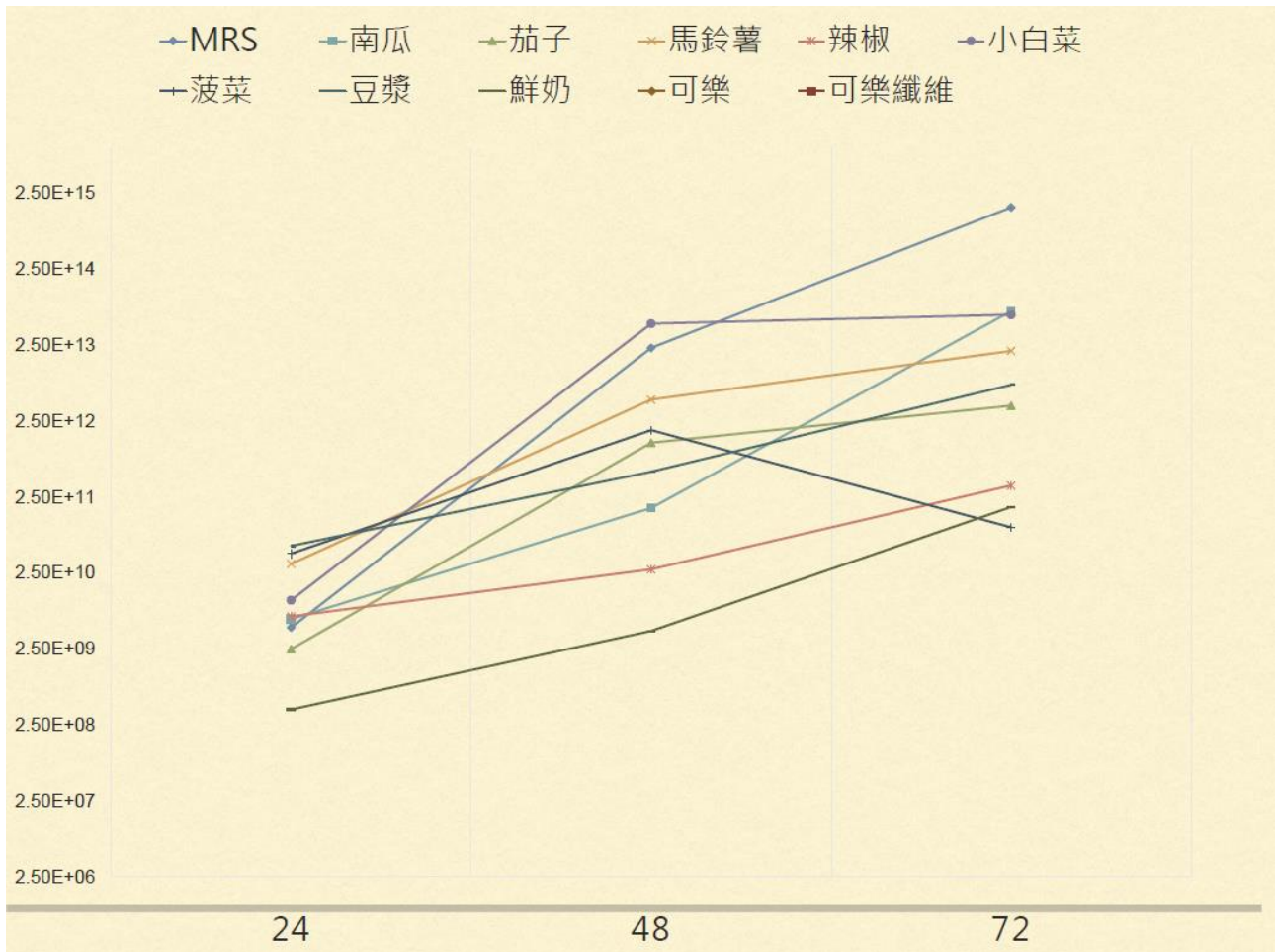
(7) 放入培養箱中培養 48 小時，觀察菌落生長情形。

(8) 取出觀察菌落數並記錄。

3. 實驗結果

	活菌菌數 (C F U / m L)		
	24 小時	48 小時	72 小時
MRS	4.8×10^9	2.3×10^{13}	1.6×10^{15}
南瓜	6.2×10^9	1.8×10^{11}	7×10^{13}
茄子	2.5×10^9	1.3×10^{12}	4×10^{12}
馬鈴薯	3.3×10^{10}	4.8×10^{12}	2.1×10^{13}
辣椒	6.7×10^9	2.8×10^{10}	3.5×10^{11}
小白菜	1.1×10^{10}	4.8×10^{13}	6.3×10^{13}
菠菜	4.5×10^{10}	1.9×10^{12}	1×10^{11}
豆漿	5.7×10^{10}	5.4×10^{11}	7.5×10^{12}
鮮奶	4×10^8	4.3×10^9	1.8×10^{11}
可樂	0	0	0
可樂纖維	0	0	0

結果以折線圖表示：



4. 結論：

- (1) MRS 培養基隨著時間增加，活菌數增加的倍數是最多的，尤其是 48 及 72 小時。
- (2) 除了可樂及可樂纖維外，所有的測試的食物溶液中，培養 48 小時之活菌數皆有增加。
- (3) 菠菜溶液培養之乳酸菌在 72 小時之後，活菌數反而比 48 小時減少。
- (4) 碳酸飲料不論培養時間多久，乳酸菌皆無法生長。

陸、討論

一、從探討市售乳酸菌在蛋白質食物中之生長情形的實驗中，我們發現 LP33 益敏優多及多多發酵乳兩種飲品的活菌生長的情形並不會比優酪乳差，甚至還比統一 AB 優酪乳與 LP33 機能優酪乳更佳。

二、在 MRS 培養基添加不同食物對乳酸菌生長影響的實驗中，較有趣之發現為辣椒竟然在 MRS 培養基中活菌生長的情形良好，或許是椒辣的某些成分非常有利搭配 MRS 促進乳酸菌生長，或許未來可探討辣椒的特殊成分，提煉作為膳食補充原料。

三、豆漿單獨培養乳酸菌效果一直很好，推測豆漿植物性蛋白質及其營養成分應最有利於乳酸菌生長，值得探討的地方是若將豆漿添加至 MRS 培養基中，效果反而沒有鮮奶好，推測 MRS 培養基之營養成分應是受到豆漿影響，而鮮奶則不影響 MRS 之效果。

四、不管是可口可樂或是有加纖維的可樂，雖然添加在 MRS 培養基裡可以讓活菌生長，但是單獨使用則完全無法使乳酸菌生長。

五、除了菠菜以外，所有測試的食物溶液隨著培養時間增加，活菌數也會隨著增加，但有趣的發現是，許多食物溶液在 24 小時之短時間培養皆能使乳酸菌生長，但培養 48 及 72 小時後，MRS 培養基則有最佳之生長效果，可以得知 MRS 培養基仍是培養乳酸菌之最佳培養基。

柒、結論

一、市面上優酪乳的品牌非常多，而且常常強調有助腸道健康，如果挑選能夠有效幫助好菌生長的優酪乳，再輔助以補充豆漿、牛奶或是蔬果類食物，將有助於活菌的生長，而且豆漿的效果較好。

二、羽衣甘藍是近年來較熱門的健康食物，纖維多、豐富又營養，蘊含多項抗氧化物質，但結果發現對於乳酸菌生長之效果有限。

三、雖然可樂在小學孩童中是很受歡迎的飲品，但是從實驗數據中顯示，可樂非常不利乳酸菌的生長，喝可樂最有可能會傷害腸胃道裡的好菌，所以還是少喝為妙。

四、本研究以食物溶液培養乳酸菌，雖能得知乳酸菌在體外食物溶液中之生長情形，但正常的情況下，食物進到消化系統中會被消化分解，因此本研究無法正確模擬食物消化後對腸胃道益生菌生長的真實作用，但本研究成果仍可提供孩童補充益生菌產品之參考。

捌、參考資料及其他

一、邱忠騰、蔣佳蓉、陳怡臻、邱茹筠，固酪金湯—優酪乳製作之研究與應用 中華民國第 51 屆中小學科學展覽會作品集。

二、康雅青、劉允元、曾德瑄、丁于晴、林詠翔、呂亞帆，起「酵」工廠--優格培養與離水性觀察的研究 中華民國第 47 屆中小學科學展覽會作品集。

三、林宏叡、李定橙、李致為、張恩愷，酵果食足—蘋果酵母液培養 中華民國第 59 屆中小學科學展覽會作品集。

四、小孩亂吃零食、大吃大喝 小心好菌離家出走！ 健康醫療網／記者蘇湘雲報導

<https://gotv.ctitv.com.tw/2017/01/343120.htm?fbclid=IwAR0k-c1xxmmgcuKLpMbyA4A2W8JaTBEUE0HbG1AEPdDqWV6uJ4vqgxskuug>

五、提升免疫力要顧腸，吃 4 大類食物替腸道養好菌 | Heho 健康

<https://heho.com.tw/archives/10529>

六、姚宗杰，健康食品，另類治療與過敏疾病～ 從益生菌談起。長庚醫訊 第 30 卷第 4 期，p124。

七、聰明補對腸內好。2012/12/10 康健雜誌 特刊 第 32 期

<https://www.commonhealth.com.tw/article/article.action?nid=73069>