

機能性民族風味發酵乳之開發(3/3)

執行期間：90 年 08 月 01 日至 91 年 07 月 31 日

執行單位：國立台灣大學畜產學研究所

中 華 民 國 91 年 09 月 08 日

# 機能性民族風味發酵乳之開發

## Development of national flavor fermented milk with physiological functionality

計畫編號：NSC 90-2313-B-002-299

執行期限：90 年 8 月 1 日至 91 年 7 月 31 日

主持人：林慶文 國立台灣大學畜產學研究所

### 一、中文摘要

酒釀為中國傳統的米發酵製品，味酸甜且帶有水果香氣，含多量之葡萄糖及少量之酒精，富含消化酵素，營養價值頗高。本研究篩選黴菌 *Rhizopus javanicus* 與酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 發酵蒸米生產酒釀萃並結合已廣泛使用於乳品工業且具保健功效之 *Lactobacillus acidophilus* CCRC 14079 及 *Bifidobacterium longum* CCRC 14605 原生菌株，可製成兼具乳香、酒味且具原生菌保健功效之機能性民族風味發酵乳。

應用噴霧乾燥法之微膠囊製備技術具備操作方法簡便，能包覆酒釀萃之特殊風味亦可保護原生菌，以阿拉伯膠與麥芽糊精配合為囊壁包覆物質，噴霧乾燥的溫度愈高，微膠囊的乾燥效果愈好。經噴霧乾燥後菌數皆有顯著性減少( $p < 0.05$ )，隨出口溫度增高到 60°C，試驗所用原生菌株每毫升菌落數相較於噴霧乾燥前會減少約二對數值，為維持製品較高原生菌數宜採用低溫噴霧乾燥。由掃描式電子顯微鏡觀察添加 6、8、10、12% 酒釀萃微膠囊組之凝乳微細構造，以添加 10 及 12% 酒釀萃微膠囊之凝乳所形成之三度空間蛛網結構較為明顯且孔洞較大，可表現較高之凝乳堅實度。本研究選擇之原生菌固定方法，配合冷藏處理，使製品維持相當之活菌數，配合風味增進，期能提供國人可普遍接受之具機能性凝乳製品，增進國人在牛乳的消費。

關鍵詞：酒釀、微膠囊、噴霧乾燥、原生菌。

### Abstract

Chiu-niang is a traditional Chinese fermented product of rice with a sweet taste and fruity flavor. Attempts of selecting pure culture were made, *Rhizopus javanicus* and *Saccharomyces cerevisiae* were chosen as a mold and yeast starter for production of chiu-niang. Two probiotic strains, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum* were applied to the product. This objective was to combine the physiological functionality of probiotics and the unique flavor and milk-clotting activity of culture filtrate from chiu-niang for the development of a new dairy product so different from the commercial yogurt. Microencapsulation is a technique with the objective of offering protection to the sensitive core material. The wall materials of the microencapsulation system were gum arabic and maltodextrin. The higher outlet temperature of spray-drying, the stronger effect of drying. The counts of probiotics decrease about 2 log CFU/ml after spray-drying process at 60°C outlet temperature. The counts of probiotics significantly decrease when the outlet temperature getting higher. Therefore, when the spray-drying outlet temperature cooled down, the survival percentage of probiotics increased. In order to increase the probiotic counts of fermented milk, it is suggested to choose the lower temperature of microencapsulation. The effect of lao-chao culture filtrate microcapsules added on the microstructure of curd was studied. In the same time, the product quality and storage period could be effected due to the spray-drying process. As a result, it is achievable to develop the national flavor fermented milk with physiological functionality. Therefore, with the emergence

of a more health-conscious society, the development of dairy products was considered valuable and potential.

**Keywords:** chiu-niang, microencapsulation, probiotics, spray-drying.

## 二、緣由與目的

發酵乳為具有極高營養價值與消化性之乳製品，因其製造方法多沿襲西方國家，對國人而言口味無法本土化，故接受性仍有待推廣。茲為開發適合國人之發酵乳，本研究企以原生菌(probiotics)配合酒釀苳開發機能性民族風味發酵乳，以增進國人在牛乳的消費及舒緩冬季剩餘乳之壓力。

本研究室針對酒釀苳發酵乳做一系列之探討，篩選黴菌 *Rhizopus javanicus* 與酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 發酵蒸米生產酒釀苳，作為牛乳的凝固劑與風味劑，配合適當培養條件，可製成兼具乳香、酒味與水果香氣的酒釀苳發酵乳。夏季冰涼食用，香氣舒爽、口感圓潤；冬季溫熱食用，微量的酒精更可促進身體血液循環，為極具特色之民族風味發酵乳。

近年來，隨腸內菌研究的突飛猛進，原生菌製品的保健功效更因國人健康意識的抬頭而倍受矚目。原生菌為經由改善宿主腸道均衡而有益於宿主的活菌補充物。在食品工業上，常用於乳製品的原生菌有乳酸桿菌屬(如 *Lactobacillus acidophilus*)及雙叉乳桿菌屬(如 *Bifidobacterium bifidum*)。經由人體食入之原生菌必須克服胃腸道之化學性抑制物質及物理性抑制效果，並定殖於腸壁細胞上生長，成為腸道的優勢菌群，抑制病原菌而改善腸道菌相。此外，原生菌更具有抑制腫瘤、活化免疫系統、降低血膽固醇及改善乳糖不耐症等生理功效。有鑑於此，結合原生菌的保健功效與酒釀苳發酵乳的特殊風味，開發機能性民族風味發酵乳，為極具研究價值與商業應用潛力的課題。

由於原生菌活性決定其於人體腸道之機能性表現，如何維持原生菌於製品發酵、貯藏過程的活性即成為重要的製作關鍵。影響原生菌活性的因子很多，例如：

活性氧、酸鹼值、氧化還原電位、膽鹽等。此外酒釀苳含有酒精、有機酸、雜醇油及多種酵素，更增添原生菌生長環境的複雜性，而成為維持原生菌活性的一大挑戰。

微膠囊化(microencapsulation)技術可經由選擇不同之材質來包覆核心物質(core material)，保持產品香味品質穩定、減少氧化作用、維持產品營養價值與保護敏感性成分。食品工業有許多微膠囊製備方法，製成之微膠囊粒徑大小、形狀與囊壁結構緻密性皆有所不同，本研究期能選擇適當之原生菌固定方法，配合冷藏處理，使製品維持相當之活菌數，期能開發國人普遍可接受之具機能性凝乳製品，為乳品市場增添嶄新的生力軍。

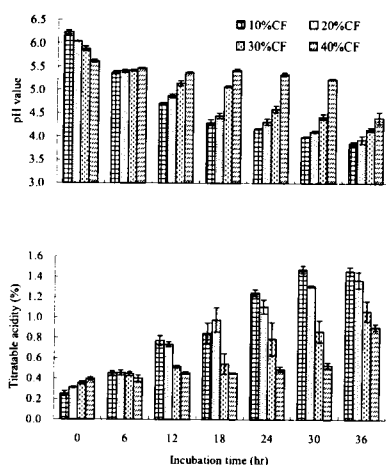
## 三、結果與討論

### (一)

本研究以黴菌 *Rhi. javanicus* 與酵母菌 *Sac. cerevisiae* 發酵蒸米進行酒釀之製備，配合適當培養條件，可製成兼具乳香、酒味與水果香氣之酒釀苳發酵乳。在原生菌選擇方面，嗜酸乳桿菌為桿狀、不產氣、不產孢、不具移動性的格蘭氏陽性菌，乳酸發酵形式屬同質發酵，可從人體口腔、陰道、腸道及動物腸道分離得之(Kandler and Weiss, 1986)。雙叉乳桿菌為不產孢、不產氣、不具移動性、產酸慢的格蘭氏陽性菌，為兼性厭氧或絕對厭氧菌，其乳酸發酵形式非屬於同質或異質發酵(Scardovi, 1986)，存在人體口腔、胃、腸、生殖道及糞便中。本研究經篩選使用已廣泛使用於乳品工業且具保健功效之 *L. acidophilus* CCRC 14079 及 *B. longum* CCRC 14605 為原生菌株。

### (二)

以不同比例酒釀苳製成發酵乳，培養期間產品 pH 值與滴定酸度之變化如圖一所示。隨培養時間增加，原生菌增殖而使 pH 值逐漸下降及滴定酸度提高；而酒釀苳含量增加時會抑制原生菌生長，故隨酒釀苳含量提高而使酸度增加幅度降低，40% 酒釀苳組酸度幾乎維持不變，但於培養第 30-36 小時酸度有上升之現象。



圖一、培養期間酒釀萃對發酵乳中 pH 值與滴定酸度之影響。

Fig.1. Effects of culture filtrate on pH value and titratable acidity in fermented milk during incubation period.  
\*CF : culture filtrate.

### (三)

微膠囊製備方法有許多種，噴霧乾燥法(spray-drying)因操作方法簡便、成本低、經濟效益高，且能包覆酒釀萃之特殊風味亦可保護原生菌，降低活性氧、酸鹼、氧化還原電位、消化道酵素與酒釀萃中酒精、有機酸、雜醇油等環境因子對其活性之影響，故選擇其為機能性發酵乳中原生菌固定方法。

以阿拉伯膠與麥芽糊精配合為囊壁包覆物質，在不同入口溫度製備之微膠囊一般性質如表一所示。水分含量方面，隨著噴霧乾燥溫度的增加，微膠囊的水分含量漸減，顯示噴霧乾燥的溫度愈高，微膠囊的乾燥效果愈好。微膠囊的水活性介於 0.17-0.21 之間，依 Rockland and Nishi (1980) 研究顯示，當食品的水活性介於 0.2-0.3 時，不易受微生物污染，且酵素性與非酵素性褐變反應不會進行，氧化作用不易發生。因此，微膠囊化技術造成之低水活性有助於產品品質的穩定。保留率隨噴霧乾燥溫度的增加而上升，自 58.28% 提高至 76.23%，因溫度的升高促進噴出液滴表面膜的形成，可保留較多的風味物質，但若噴霧乾燥溫度太高，則可能造成液滴表面膜尚未形成，而揮發性風味物質卻已先行逸失的情況，亦會造成原生菌數減少。產率會隨噴霧乾燥溫度之增加而自 40.63% 上升至 54.18%，由於噴霧槽(spray cylinder)

內壁遭噴出微膠囊附着的情況嚴重，造成產率大約只有五成左右，其中以入口溫度 70℃ 組之產率 40.63% 最低，因噴出微膠囊重覆打擊壁面，使彼此逐漸相互黏著。孔隙率與粉體密度方面，各組的孔隙率介於 0.22-0.24 之間，彼此皆無顯著差異 ( $p>0.05$ )，粉體密度則介於 1.63-1.69 g/cm<sup>3</sup> 之間，亦無顯著差異 ( $p>0.05$ )。

表一、以不同出入口溫度製備酒釀萃微膠囊之一般性質

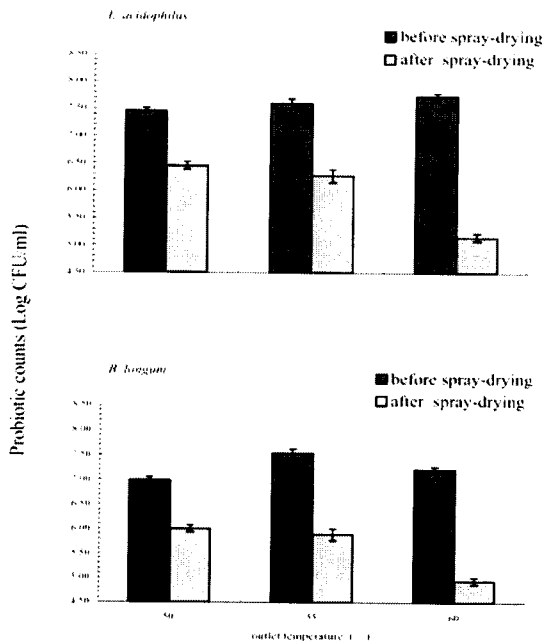
Table 1. Properties of culture filtrate microcapsules prepared with various inlet/outlet temperatures

| Inlet/outlet temp. (°C) | Moisture (%)       | Water activity    | Retention (%)      | Yield (%)          | Porosity          | Particle density (g/cm <sup>3</sup> ) |
|-------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|---------------------------------------|
| 70/50                   | 4.12 <sup>a</sup>  | 0.21 <sup>a</sup> | 58.28 <sup>a</sup> | 40.63 <sup>a</sup> | 0.24 <sup>a</sup> | 1.63 <sup>a</sup>                     |
| 80/55                   | 4.07 <sup>ab</sup> | 0.18 <sup>a</sup> | 63.26 <sup>b</sup> | 48.71 <sup>b</sup> | 0.24 <sup>a</sup> | 1.66 <sup>a</sup>                     |
| 90/65                   | 4.04 <sup>ab</sup> | 0.20 <sup>a</sup> | 71.55 <sup>c</sup> | 53.22 <sup>c</sup> | 0.23 <sup>a</sup> | 1.65 <sup>a</sup>                     |
| 100/70                  | 4.03 <sup>ab</sup> | 0.17 <sup>a</sup> | 74.49 <sup>c</sup> | 52.65 <sup>c</sup> | 0.22 <sup>a</sup> | 1.68 <sup>a</sup>                     |
| 110/75                  | 3.98 <sup>b</sup>  | 0.17 <sup>a</sup> | 76.23 <sup>c</sup> | 54.18 <sup>c</sup> | 0.23 <sup>a</sup> | 1.69 <sup>a</sup>                     |

<sup>a,b</sup> Symbols bearing different letters in the same column are significantly different ( $p<0.05$ ).

### (四)

噴霧乾燥時設定不同出口溫度對原生菌數之影響頗大(圖二)，以出口溫度分別為 50、55、60℃ 之試驗組結果，不論 *L. acidophilus* CCRC 14079 或 *B. longum* CCRC 14605 試驗菌株，經噴霧乾燥後菌數皆有顯著性減少 ( $p<0.05$ )，隨出口溫度增高到 60℃，試驗所用原生菌株每毫升菌落數相較於噴霧乾燥前會減少約二對數值。因此考慮於機能性發酵乳製品中維持較高原生菌數，則需使用低溫噴霧乾燥。



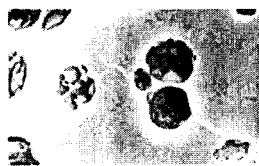
圖二、不同出口溫度噴霧乾燥對原生菌數之影響。

Fig.2. Effect of outlet temperature on probiotic counts during the spray-drying (n = 4 ; error bars indicate 95% confidence intervals).

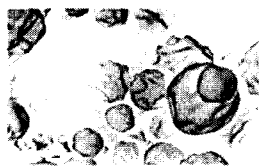
A. 0 days



B. 4°C +desiccant, 10 days



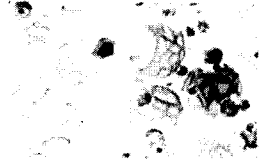
C. 4°C, 10 days



D. 4°C +desiccant, 20 days



E. 4°C, 20 days



圖三、微膠囊於 4°C 儲存 0、10、20 天之掃描式電子顯微鏡圖。

Fig.3. Scanning electron microscope photographs of microcapsules during storage 0, 10, 20 days at 4°C.

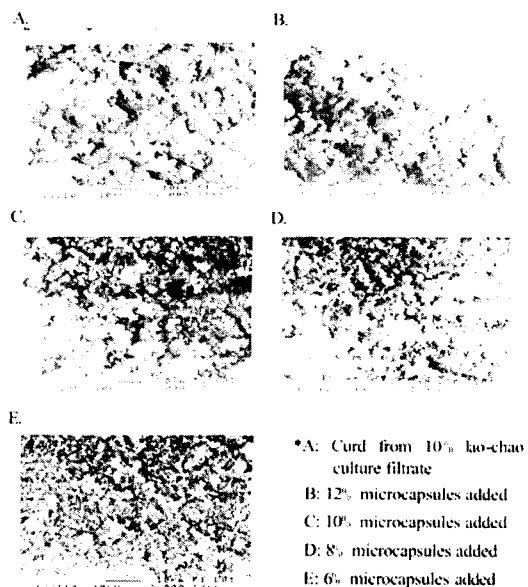
(五)

圖三為微膠囊於 4°C 儲存 0、10、20

天之掃描式電子顯微鏡圖，剛噴霧完成的微膠囊粉末表面形態大致為光滑的球形。經儲存 10、20 天後可發現不論有無添加乾燥劑，各組微膠囊表面皆佈滿因乾燥而收縮之凹陷，表面凹陷的大小不一。添加乾燥劑之試驗組，由於乾燥劑吸濕的影響，其表面皺縮的程度比未添加乾燥劑的二組嚴重。

(六)

由掃描式電子顯微鏡觀察添加 6、8、10、12% 酒釀萃微膠囊組之凝乳微細構造，並以添加 10% 液態酒釀萃產製之凝乳為對照組(圖四)，其中添加 10 及 12% 酒釀萃微膠囊之凝乳所形成之三度空間蛛網結構較為明顯且孔洞較大，三度空間蛛網結構愈明顯、完整，則可表現較高之凝乳堅實度。添加 8% 酒釀萃微膠囊之凝乳微細構造則與添加 10% 液態酒釀萃產製之凝乳較為相似，而添加 6% 酒釀萃微膠囊組之三度空間蛛網結構較不明顯且孔洞較小，其凝乳堅實度也較差。



圖四、酒釀萃微膠囊添加量對凝乳微細構造之影響。

Fig.4. Effect of culture filtrate microcapsules added on the microstructure of curd.

#### 四、結論

(一)使用黴菌 *Rhi. javanicus* 與酵母菌 *Sac. cerevisiae* 發酵蒸米生產酒釀萃，並結合已廣泛使用於乳品工業且具保健功效之 *L. acidophilus* CCRC 14079 及 *B. longum* CCRC 14605 原生菌株，可製成兼具乳香、酒味且具原生菌保健功效之機能性民族風味發酵乳。

(二)應用噴霧乾燥法之微膠囊製備技術具備操作方法簡便，能包覆酒釀萃之特殊風味亦可保護原生菌，但為維持製品較高原生菌數宜採用低溫噴霧乾燥。

(三)低溫噴霧乾燥會造成製品產率降低，此需由噴霧乾燥設備改進、選擇包覆材質並調整適當噴霧條件來改善。

(四)本研究選擇之原生菌固定方法，配合冷藏處理，使製品維持相當之活菌數，未來配合風味增進，突顯產品特色，期能提供國人可普遍接受之具機能性凝乳製品，為乳品市場增添嶄新的生力軍。

#### 五、參考文獻

- Gibbs, B. F., S. Kermasha, I. Alli, and N. Mulligan. 1999. Encapsulation in the food industry : a review. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 50:213-224.
- Gomes A. M. P. and F. X. Malcata. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus* : biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci. Technol.* 10:139-157.
- Kandler, O. and N. Weiss. 1986. Genus *Lactobacillus*. In : P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (Eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. pp. 1209-1234. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Kuo, C. Y., F. S. Wang , and C. W. Lin. 1996. Factors affecting milk clotting activity of sweet leavening extract involved in coagulation of a yoghurt-like product. *Food Chem.* 55:129-131.
- Lin, C. W. and H. L. Chen. 1996. Screening and characterization of fungal cultures for a milk-clotting enzyme for use in an oriented style dairy product. *J. Dairy Res.* 63:459-466.
- McNamee, B. F., E. D. O'Riordan, and M. O'Sullivan. 1998. Emulsification and microencapsulation properties of gum arabic. *J. Agri. Food Chem.* 46:4551-4555.
- Rockland, L. B. and S. K. Nishi. 1980. Influence of water activity on food product and stability. *Food Technol.* 34(4): 42-59.
- Scardovi, V. 1986. Genus *Bifidobacterium*. In : P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (Eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. pp. 1418- 1434. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Shahidi, F. and X. Q. Han. 1993. Encapsulation of the food ingredients. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33:501-547.