



通過健康食品認證之 乳酸菌產品

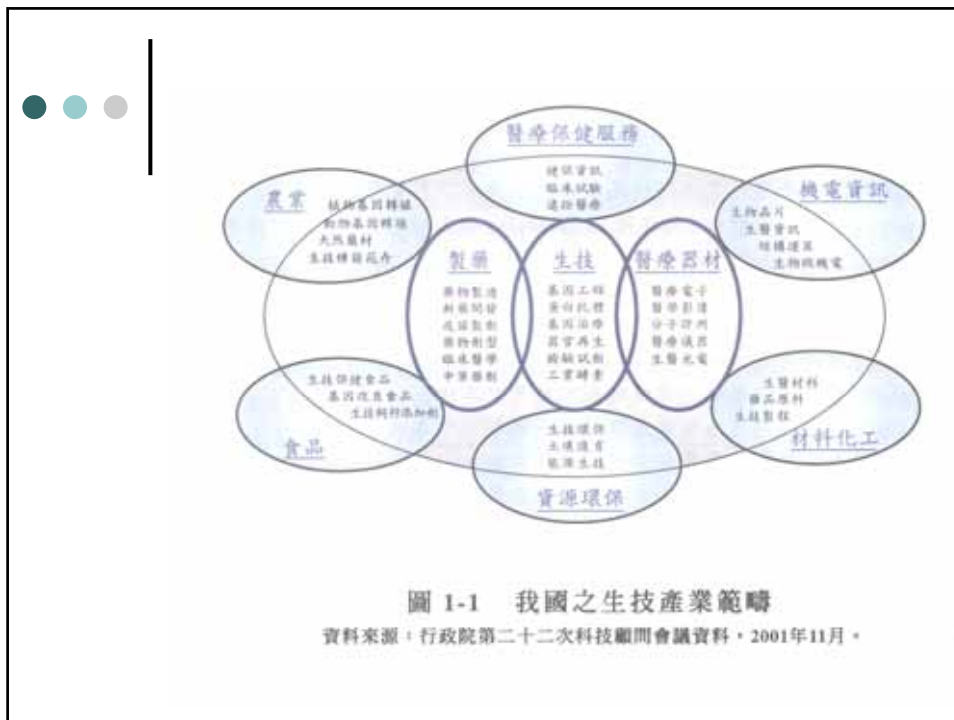
國立台灣大學生命科學院
微生物與生化學研究所教授兼所長

潘子明

2005.09.30



健康食品之重要性與定義



- ## 一般用名詞
- **保健食品 (Health Food)**
 - 可以促進健康狀況的食物或食品。其包括範圍相當廣泛，舉凡：強化或富化的食品，有機農產品，低油、低膽固醇食品，富含膳食纖維食品以及目前風行的各類具「功能性食品」。
 - **機能性食品 (Functional Food)**
 - 含有非屬傳統營養素但具生理活性成份之食品，目的在促進健康，達到人類對健康品質的高標準要求：除了消極的不生病外，更要積極的追求體適能，活力充沛，青春永駐及長壽，更重要的是希望對各種疾病有更強之抗性，也就是避免各種疾病的發生。

● ● ● | 一般用名詞

○ 膳食補充劑 (Diet Supplement)

- 為補充膳食以促進健康的產品，其含有一或多種下列飲食成份：維生素、礦物質、胺基酸、草藥或其他植物成份，或是一種用於增加攝取量的飲食成份，其係以膠囊粉末，軟膠囊等型式而非以傳統食物型態攝入者。

○ 營養製劑 (Nutraceuticals)

- 一種可以輸送來自食物高濃度生物活性物質之膳食補充劑，其非以食物型態呈現，且推薦以超過食物可獲取劑量，用於促進健康。

● ● ● | 機能性食品 (保健食品) 基本概念

- 機能性食品 (Functional Food) 也稱保健機能性食品 (Functional Health Food) 或稱保健食品 (Health Food)，係指具有調節人體生理功能，適宜特定人群食用，**不以治療疾病為目的**的一類食品。
- 這類食品“除了具有一般食品皆具備的**營養功能**和**感官功能** (色、香、味、形) 外，還具有一般食品所沒有或不強調的**調節人體生理活動的功能**”。
- 由於這類食品強調食品的第三種功能，故稱之『機能性食品』。此即為我國法律上所謂的『健康食品』。



食品之三種功能

- 第一種功能：營養功能 (吃飽)
- 第二種功能：感官功能 (吃風味)
- 第三種功能：調節人體生理活動的功能 (吃健康)



第三態或稱誘發病態觀念

—Breckman教授

- 在人體健康態和疾病態之間存在第三態 (the third State) 或稱誘發病態 (Elicit Illness State)。
- 當機體第三態累積到一定程度時，就會發生疾病。
- 保健 (機能) 食品作用人體第三態，促使它向健康態轉化，達到增進健康的目的。

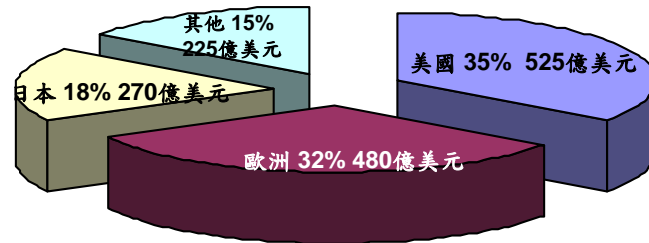


食品藥物與機能性食品

- **一般食品**：健康人所攝取，人體從中獲取各類營養素，並滿足色、香、味、形等感官需求。
- **藥物**：病人所服用，達到治療疾病的目的
- **保健(機能)食品**：第三態人體所設計，不僅滿足人體對食品營養和感官的需求，更主要的它將作用於人體第三態，促使機體向健康態轉化，達到增進健康的目的。



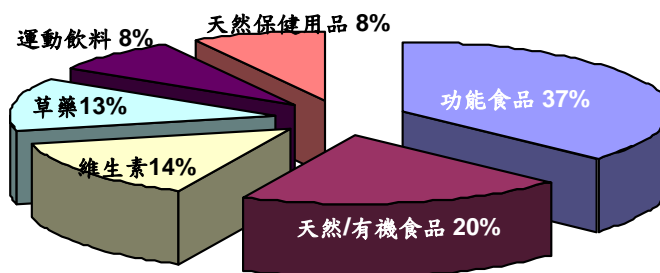
保健食品產業現況與趨勢



營養品產業市場總計 1,500 億美元

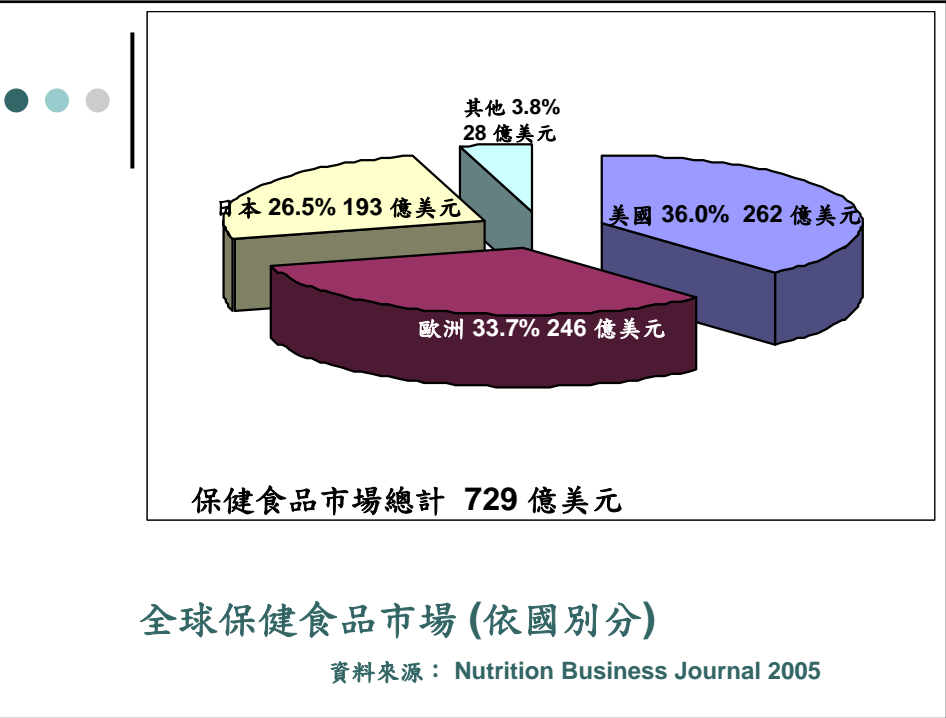
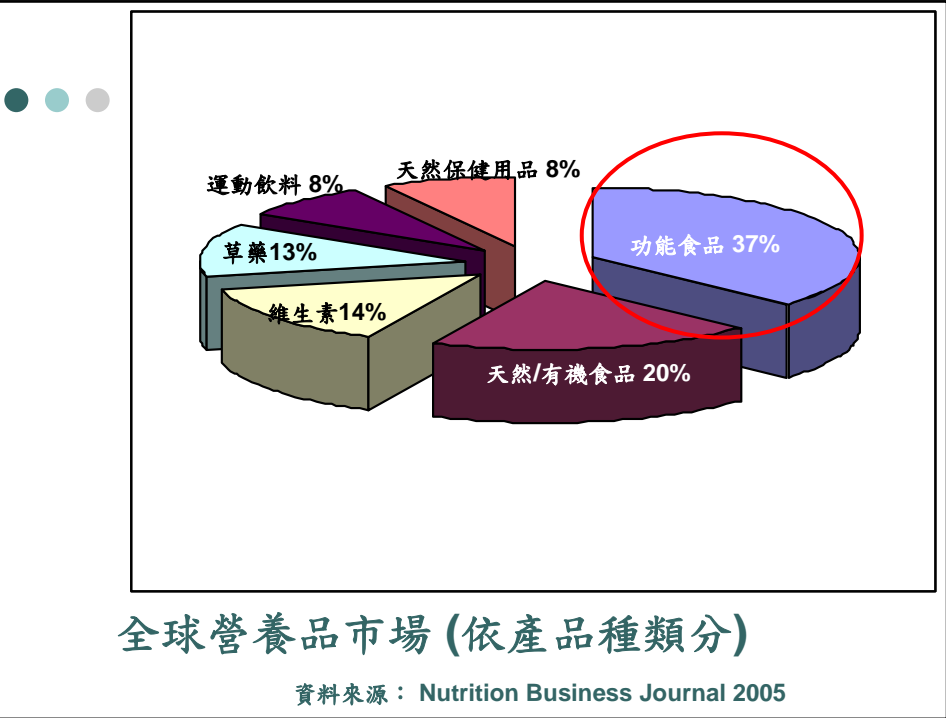
全球營養品市場 (依國別分)

資料來源：Nutrition Business Journal 2005



全球營養品市場 (依產品種類分)

資料來源：Nutrition Business Journal 2005





國外主要保健食品市場現況

		美國	歐洲	日本
市場規模 (美金)		262億	246億	193億
趨勢	流行保健功效	心臟健康、減重	免疫、消化	免疫、消化
	熱門素材或商品	維生素、礦物質、植物萃取物	益生菌、膳食纖維	膳食纖維、特定蛋白質
	產品型態	Bar, Cereal, Beverage	Dairy, Beverage	Speciality oils

資料來源：Nutrition Business Journal, 2005
Food Technology, Vol. 59, No. 5, May, 2005



保健食品市場成長之主因



資料來源：食品與開發, Vol. 35, No.3, p.19



國內保健食品概況



台灣地區機能性食品管理現況

—法規

- **健康食品管理法**：該法共有七章三十一條。
 - 民國八十八年二月三日公布
 - 民國八十九年十一月八日第一次修正
 - 民國九十一年一月三十日第二次修正。
 - 民國九十一年三月二十八日刪除第五及第六條（修正移列於健康食品管理法第七條第二項及第三項）。
- **健康食品管理法施行細則**：民國八十八年八月一日公佈，共十三條。
- **健康食品工廠良好作業規範**：民國八十八年八月一日公佈，共十四項四十八條。

台灣地區機能性食品管理現況

—委員會

- 「**保健食品安全評審委員會**」：
 - 八十七年六月十七日成立
- 「**保健食品功能評審委員會**」：
 - 八十七年六月十七日成立
 - 所有參與起草委員均為無給職，其目的為研訂安全及功能評估方法，以提供產官學界參考依據。
- 「**健康食品審議委員會**」：
 - 八十七年八月四日召開第一次會議，訂定評審原則
 - 九月九日召開第二次會議，審查第一件健康食品申請案件，該申請案後來已順利通過。

台灣地區機能性食品管理現況

—評估辦法

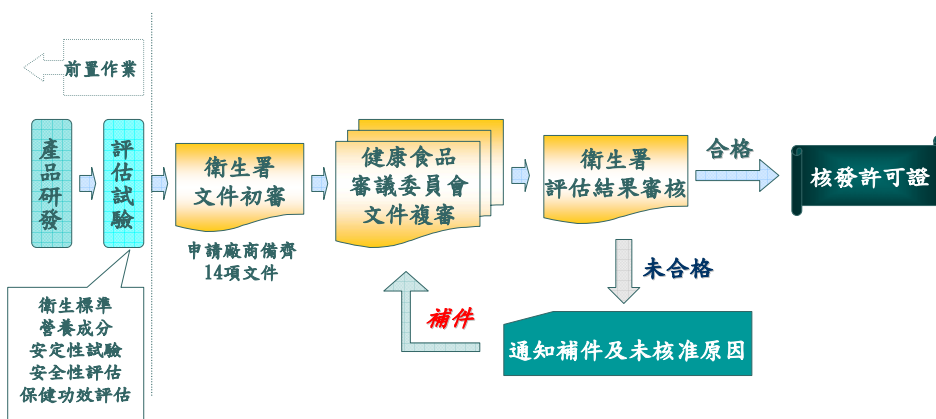
- 民國八十八年八月二日第一次公佈：
 - 健康食品安全性評估方法
 - **調整血脂功能**
 - **改善骨質疏鬆功能**
 - 調節免疫機能功能
 - 腸胃道功能改善
 - 牙齒保健功能
 - 民國八十九年七月三十一日第二次公佈：
 - 調節血糖
 - **護肝功能**
 - 民國九十二年八月二十九日修訂：
 - 「**健康食品之調節血脂功能評估方法**」
 - 「**健康食品之腸胃功能改善評估方法**」
 - 「**健康食品之改善骨質疏鬆功能評估方法**」
 - 「**健康食品之護肝功能評估方法**」
- 並增訂
- 「**健康食品之抗疲勞功能評估方法**」
 - 「**健康食品之延緩衰老功能評估方法**」

台灣地區機能性食品管理現況

—評估辦法草案

- 降低癌症發生率功能
- 減輕腫瘤放療、化療毒副作用
- 促進鐵吸收功能
- 調節血壓功能
- 輔助改善過敏體質
- 不易形成體脂肪

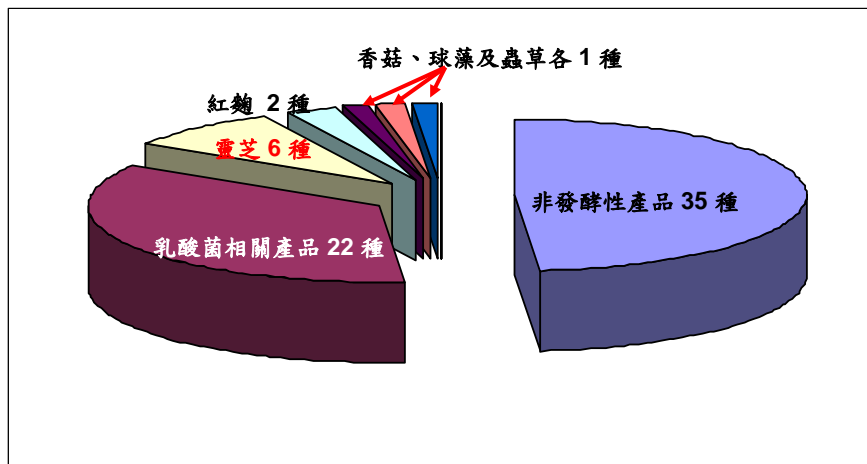
健康食品申請許可流程簡圖





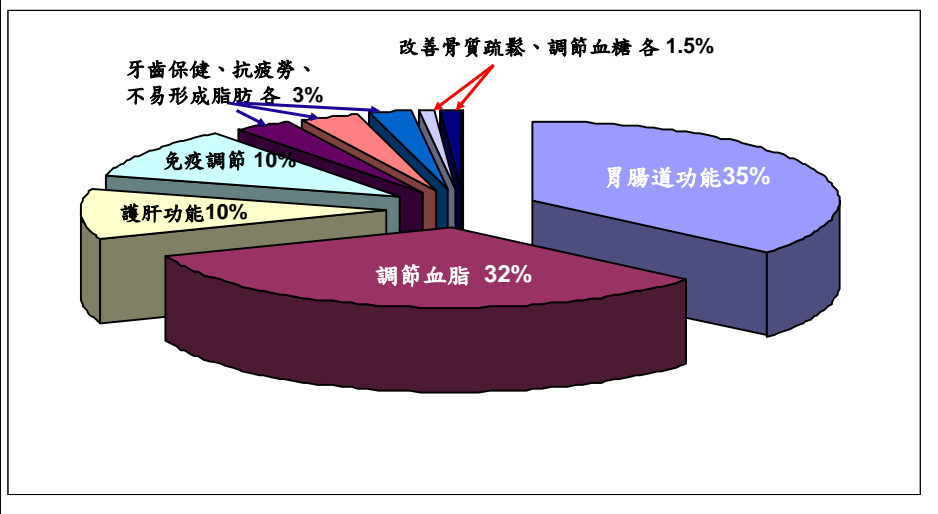
健康食品保健功效通過概況

(94.8.22, 共68件)



健康食品保健功效通過概況

(94.8.22, 共68件)





各國「健康食品」法規比較



日本保健食品概況



日本特定保健用食品市場規模

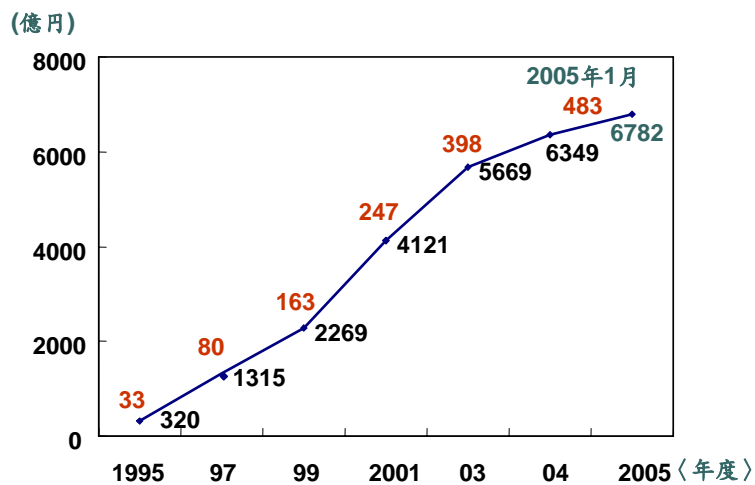
2004年達 6,439 億日圓

- 整腸相關產品 (包含寡糖、乳酸菌、食物纖維) 佔 81.4%
- 預防齲齒 (4.5%)、降血糖 (4.5%)、降低中性脂肪 (3.7%)、礦物質強化 (2.8%)、血壓調節 (2.4%)、降低膽固醇 (0.7%) 等。

--日本健康營養食品協會

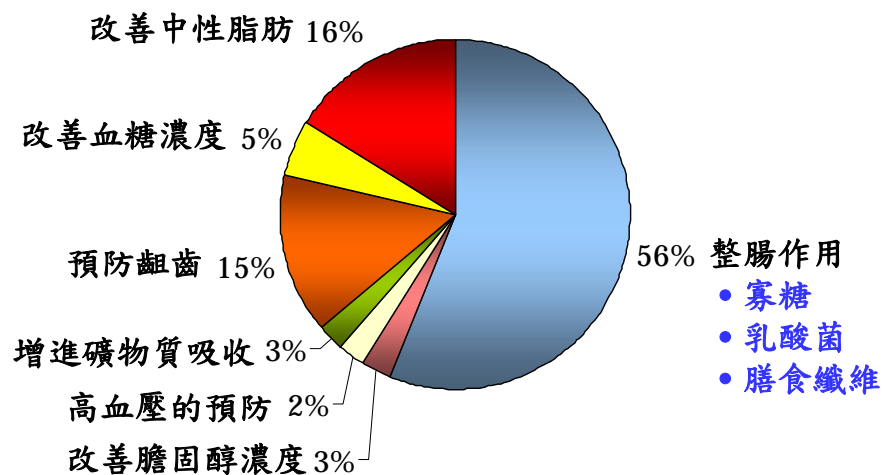


日本特定保健用食品的市場規模

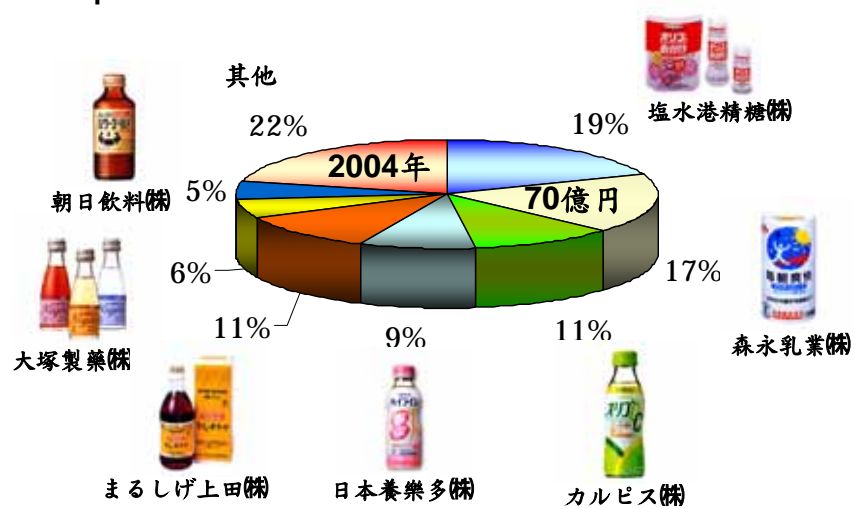


資料來源：日本健康營養食品協會、富士經濟

日本特定保健用食品的市場動向

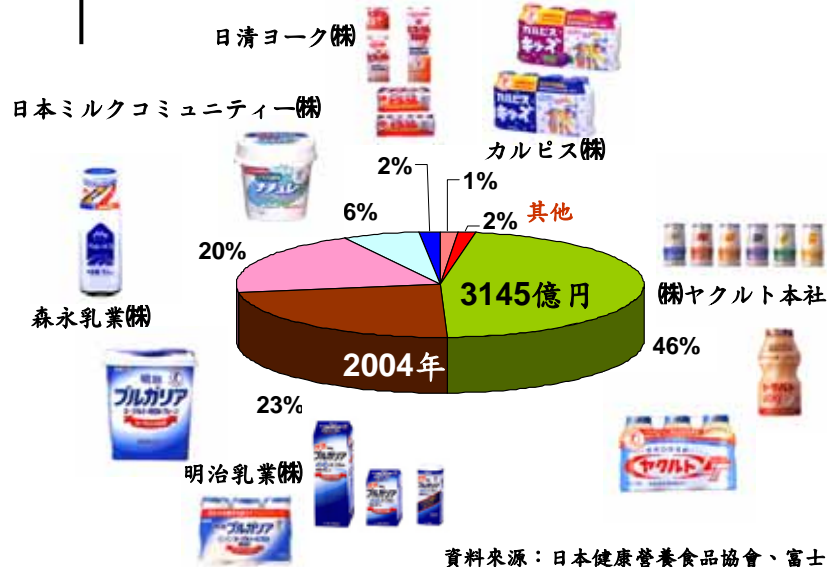


具有整腸作用的特保食品市場佔有率 (寡糖-prebiotics)

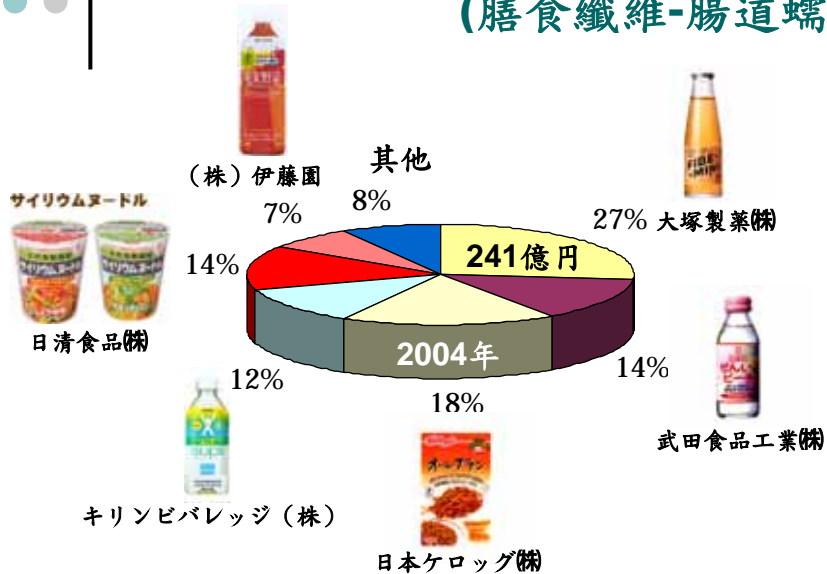


資料來源：日本健康營養食品協會、富士經濟

具有整腸作用的特保食品市場佔有率 (乳酸菌-probiotics)



具有整腸作用的特保食品市場佔有率 (膳食纖維-腸道蠕動)





日本特定保健用食品市場現況與預測

保健用途		市場規模 (億日圓)					年平均成長率 (%)	
		1997	1999	2001	2005	2010	2001-2005	2005-2010
整腸	寡糖	104	91	56	100	144	16	8
	乳酸菌	979	1863	3171	4479	5787	9	5
	食物纖維	119	116	128	140	153	2	2
	合計	1202	2070	3355	4719	6084	9	5
膽固醇相關		0.34	4	28	146	532	51	30
血壓相關		14	72	134	249	466	17	13
礦物質相關		92	45	114	182	342	12	13
牙齒相關		0	4	187	300	581	13	14
血糖值相關		7	5	184	552	1104	32	15
中性脂肪相關		0	70	152	330	717	21	17
其他		0	0	0	300	500	-	11
合計		1315	2269	4154	6779	10325	13	9



Appl Microbiol Biotechnol
DOI 10.1007/s00253-005-0145-0

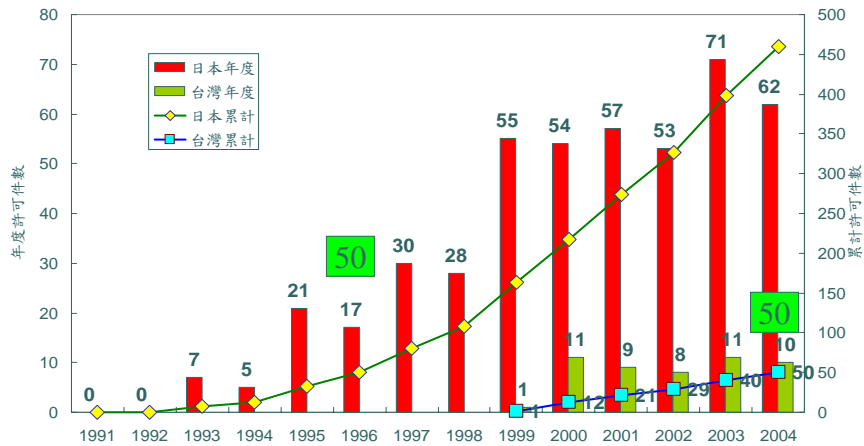
APPLIED MICROBIAL AND CELL PHYSIOLOGY

Chiu-Hsia Chiu · Tzu-Yu Lu · Yun-Yu Tseng ·
Tzu-Ming Pan

The effects of *Lactobacillus*-fermented milk on lipid metabolism in hamsters fed on high-cholesterol diet

Received: 28 June 2005 / Revised: 13 August 2005 / Accepted: 18 August 2005
© Springer-Verlag 2005

台灣與日本健康食品許可比較 (日本1991年法規通過, 台灣1999年法規通過)



資料來源: 日本健康.營養協會, 中華民國衛生署, 2004

日台的保健功效與形態比較

- 日本 (至2003年12月)
 - 整腸 193 (48.5%)
 - 降血脂 69 (17.4%)
 - 調節血壓 38 (9.5%)
 - 調節血糖 49 (12.3%)
 - 骨質疏鬆 23 (5.8%)
 - 牙齒保健 26 (6.5%)
- 產品形態
 - 一般食品 340 (92.7%)
 - 膠囊錠狀 29 (7.3%)
- 台灣 (至2005年8月22日)
 - 腸胃道調節 24 (35%)
 - 降血脂 22 (32%)
 - 護肝 7 (10%)
 - 調節免疫 7 (10%)
 - 牙齒保健 2 (3%)
 - 抗疲勞 2 (3%)
 - 不易形成體脂肪 2 (3%)
 - 骨質疏鬆 1 (1.5%)
 - 調節血糖 1 (1.5%)
- 產品形態
 - 一般食品 34 (50%)
 - 膠囊錠狀 34 (50%)

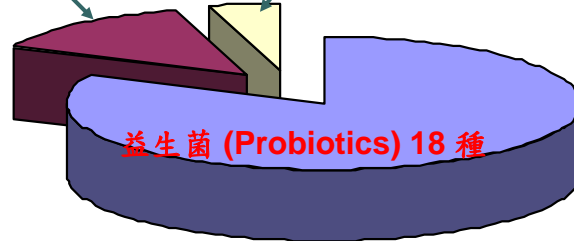
資料來源: 日本健康.營養協會, 中華民國衛生署, 2005

台灣地區通過健康食品
認證之乳酸菌產品種類

台灣地區通過健康食品認證之
乳酸菌產品性質分析

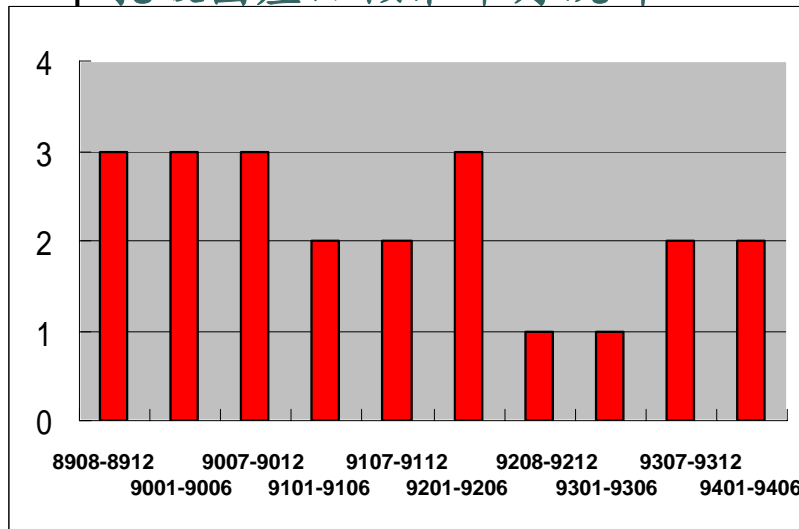
益生菌 + 益生物質 (Probiotics
+ Prebiotics) 3 種

益生物質 (Prebiotics) 1 種

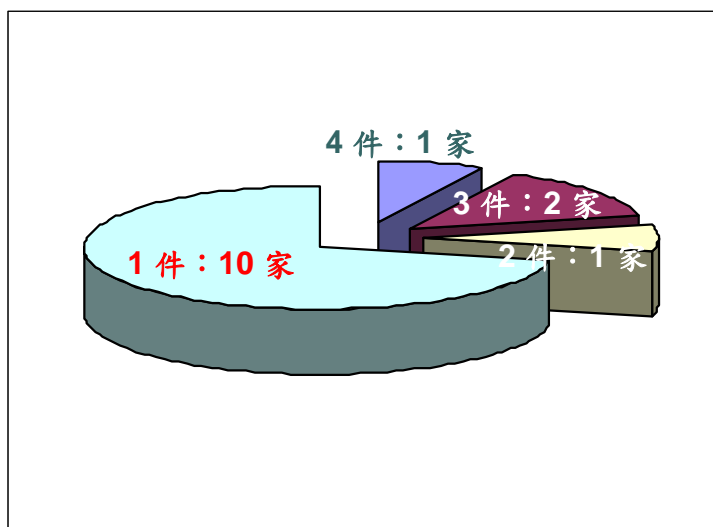




台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品核准年月統計



核准案件數與公司數





台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效

中文品名	使用菌株 (或成分)	保健功效	申請商號
統一 AB 優酪乳	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (La-5) <i>Bifidobacterium lactis</i> (Bb-12)	能通過胃酸及膽酸考驗，有助於增加腸內益生菌 有助於降低胃幽門螺旋桿菌之數量	統一公司
雙歧桿菌	<i>Bifidobacterium longum</i> BB536	有助於增加腸內益生菌。	味全公司
奧利多碳酸飲料	寡糖 (異麥芽寡糖+半乳糖寡糖)、高果糖糖漿	有助於：改善腸內細菌菌相，增加腸 <i>Bifidus</i> 菌菌數。	金車公司



台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效

中文品名	使用菌株 (或成分)	保健功效	申請商號
味全優酪乳	<i>Bifidobacterium longum</i> 、 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	有助於增加腸內益生菌。	味全公司
豐力富高鈣低脂奶粉	<i>Bifidobacterium lactis</i> HN019 (DR10TM)	有助於增加腸內益生菌。	安佳公司
複合益生菌	<i>Bifidobacterium longum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12 <i>Lactobacillus casei</i> <i>Enterococcus faecium</i>	有助於增加腸內益生菌。	味全公司



台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效

中文品名	使用菌株 (或成分)	保健功效	申請商號
優沛蓄低脂原味活性醱酵乳	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i>)	有助於增加腸內益生菌。	佳乳公司
優沛蓄活菌球低脂原味活性醱酵乳	微膠囊化雙叉桿菌 (龍根菌®) <i>Encapsulated Bifidobacterium longum</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	有助於增加腸內益生菌。	佳乳公司



台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效

中文品名	使用菌株 (或成分)	保健功效	申請商號
優沛蓄ABC三益菌原味/草莓優酪乳	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Lactobacillus paracasei</i>	有助於增加腸內益生菌。	佳乳公司
光泉晶球優酪乳—低脂	<i>Bifidobacterium longum</i>	有助於增加腸內益生菌。	光泉公司
桂格成長奶粉健康三益菌配方	<i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i>	增加腸內益菌。減少腸內害菌。改善腸內細菌菌相。	佳格公司



台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效

中文品名	使用菌株 (或成分)	保健功效	申請商號
金車乳酸活菌	<i>Bifidobacterium lactis</i> 、 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 、 <i>Enterococcus faecium</i> 、 <i>Lactobacillus paracasei</i>	本產品有助於增加腸內 Bifidus菌。	金車公司
康貝兒乳酸菌	<i>Lactobacillus casei</i> <i>sp.rhamnosus GG</i>	有助於增加腸內乳酸菌菌 數。	葡萄王公司
桂格高鈣脫脂 奶粉健康三益 菌配方	<i>Bifidobacterium lactis</i> 、 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 、 <i>Lactobacillus casei</i>	增加腸內益菌。減少腸內害 菌。 改善腸內細菌菌相。	佳格公司



台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效

中文品名	使用菌株 (或成分)	保健功效	申請商號
養樂多活菌發 酵乳	<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	能通過胃酸及膽鹽考驗，讓 腸內有益菌增加。	養樂多公司
林鳳營優酪乳	<i>Bifidobacterium longum</i> 、 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	增加腸內益生菌。減少腸內 害菌。	味全公司
桂格高鈣低脂 三益菌全家奶 粉	<i>Bifidobacterium lactis</i> 、 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 、 <i>Lactobacillus casei</i>	增加腸內益菌。減少腸內害 菌。 改善腸內細菌菌相。	佳格公司

 台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效			
中文品名	使用菌株 (或成分)	保健功效	申請商號
TCELL-1乳 酸菌粉	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> Tcell-1	增加腸內益生菌。	鼎健公司
暢樂有益菌顆 粒	<i>Lactobacillus sporogenes</i> (<i>Bacillus coagulans</i>) powder、 <i>Bifidobacterium longum</i> powder、Oligo saccharide	增加腸內益生菌。	生達公司

 台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效			
中文品名	使用菌株 (或成分)	保健功效	申請商號
威望常寶寧 (飲品)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> 黃豆蛋白、釀酒酵母	增加腸內益生菌。	維達公司
LGG優酪乳 (原味)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i>	有助於增加腸內益生 菌。	黑松股份 有限公司

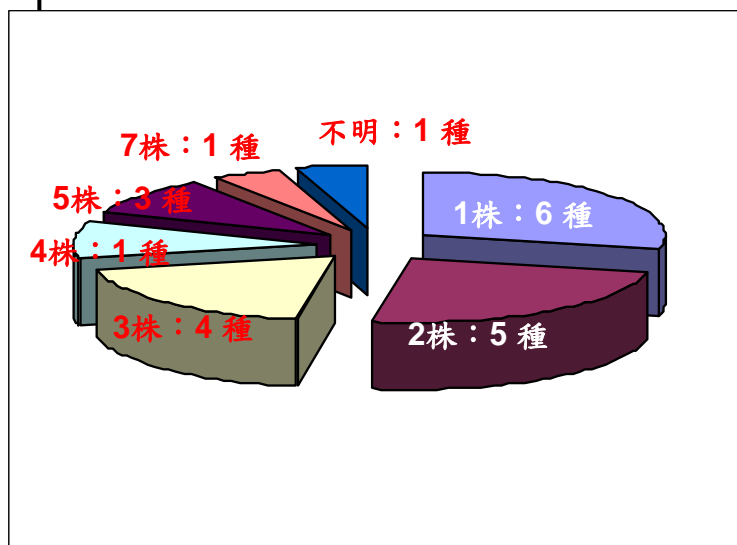


台灣地區通過健康食品認證之 乳酸菌產品使用菌株及保健功效

中文品名	使用菌株(或成分)	保健功效	申請商號
田中寶養生液	大豆發酵液 (Daidzein及果寡糖 nystose)	有助於增加腸內益生菌	中天公司



使用菌株數





黑松股份有限公司LGG優酪乳使用菌株 (7 株)

- *Lactobacillus bulgaricus*
- *Lactobacillus rhamnosus* GG
- *Lactobacillus bulgaricus*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Bifidobacterium bifidum*
- *Streptococcus thermophilus*



佳乳公司優沛蓄ABC三益菌原味/草莓優酪乳 (5 株)
維達公司威望常寶寧(飲品) (5 株)

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ○ <i>Lactobacillus delbrueckii</i> | ○ <i>Lactobacillus acidophilus</i> |
| ○ <i>Lactobacillus acidophilus</i> | ○ <i>Lactobacillus bulgaricus</i> |
| ○ <i>Lactobacillus paracasei</i> | ○ <i>Bifidobacterium bifidum</i> |
| ○ <i>Bifidobacterium longum</i> | ○ <i>Bifidobacterium longum</i> |
| ○ <i>Streptococcus thermophilus</i> | ○ <i>Streptococcus thermophilus</i> |



味全公司複合益生菌 (5 株)

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Bifidobacterium lactis Bb-12*
- *Bifidobacterium longum*
- *Enterococcus faecium*



金車公司金車乳酸活菌 (4 株)

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus paracasei*
- *Bifidobacterium lactis*
- *Enterococcus faecium*



佳乳公司優沛蓄活菌球低脂原味活性醱酵乳
佳格公司桂格成長奶粉健康三益菌配方(3株)

- *Lactobacillus delbrueckii*
- *Bifidobacterium longum*
- *Streptococcus thermophilus*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Bifidobacterium lactis*



佳格公司桂格高鈣脫脂奶粉健康三益菌配方
佳格公司桂格高鈣低脂三益菌全家奶粉(3株)

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Bifidobacterium lactis*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Bifidobacterium lactis*



統一公司統一AB優酪乳
味全公司味全優酪乳 (2 株)

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Bifidobacterium lactis*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Bifidobacterium longum*



佳乳公司優沛蕾低脂原味活性醱酵乳
味全公司林鳳營優酪乳 (2 株)

- *Lactobacillus delbrueckii*
- *Streptococcus thermophilus*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Bifidobacterium longum*



生達公司暢樂有益菌顆粒 (2 株)

- *Lactobacillus sporogenes* (*Bacillus coagulans*) powder
- *Bifidobacterium longum* powder



味全雙歧桿菌
安佳豐力富高鈣低脂奶粉 (1 株)

- *Bifidobacterium longum* BB536
- *Bifidobacterium lactis* HN019 (DR10TM)



光泉光泉晶球優酪乳—低脂
葡萄王康貝兒乳酸菌 (1 株)

○ *Bifidobacterium longum*

○ *Lactobacillus casei*
sp. *ramnosus* GG



養樂多活菌發酵乳
鼎健TCELL-1乳酸菌粉 (1 株)

○ *Lactobacillus casei*
Shirota

○ *Lactobacillus rhamnosus* Tcell-1



益生物質 (Prebiotic)

產品名稱	益生物質
金車奧利多碳酸飲料	寡糖 (異麥芽寡糖+半乳糖寡糖) 高果糖糖漿

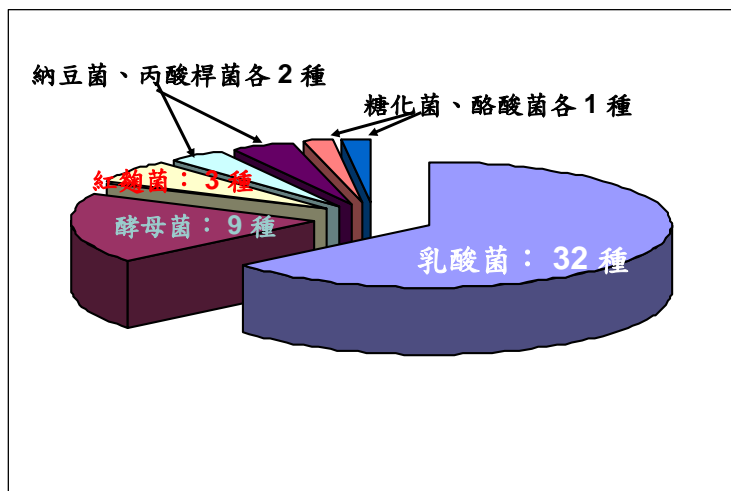


益生菌+益生物質 (Synbiotic)

產品名稱	菌株	益生物質
生達公司暢樂有益菌顆粒	<i>Lactobacillus sporogenes</i> (<i>Bacillus coagulans</i>) powder <i>Bifidobacterium longum</i> powder	Oligo saccharide
維達公司威望常寶寧(飲品)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	黃豆蛋白、釀酒酵母
中天公司田中寶養生液	不明	大豆發酵液 (Daidzein及果寡糖 nystose)

台灣地區通過健康食品認證之乳酸菌產品安全評估

可供食品使用微生物





可供食品使用乳酸菌

Lactobacillus 屬 20 種：

- *L. acidophilus*,
- *L. bifidus*,
- *L. brevis*,
- *L. bulgaricus*,
- *L. casei* subsp. *rhamnosus*,
- *L. cremoris*,
- *L. delbrueckii*,
- *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*,
- *L. fermentum*,
- *L. gasseri*,
- *L. helveticus*,
- *L. kefir*,
- *L. lactis*,
- *L. lactis* subsp. *lactis*,
- *L. paracasei*,
- *L. plantarum*,
- *L. reuteri*,
- *L. rhamnosus*,
- *L. salivarius*,
- *L. sporogenes*



可供食品使用乳酸菌

- *Bacillus* 屬 1 種：
 - *Bacillus coagulans*
- *Bifidobacterium* 屬 5 種：
 - *B. bifidum*,
 - *B. breve*,
 - *B. infantis*,
 - *B. lactis*,
 - *B. longum*
- *Enterococcus* 屬 2 種：
 - *E. faecalis*,
 - *E. faecium*
- *Sporolactobacillus* 屬 1 種：
 - *S. inulinus*
- *Streptococcus* 屬 3 種：
 - *S. lactis*,
 - *S. salivarius* subsp. *thermophilus*,
 - *S. thermophilus*



安全性評估

- **第一類**：產品之原料為傳統食用，且以通常加工食品形式供應者或產品具有完整之毒理學安全性學術文獻報告及曾供食用之紀錄，且其原料組成分及製造過程與所提供之學術文獻報告完全相符者。
- **第二類**：產品之原料為傳統食用而非以通常加工食品形式供應者。
- **第三類**：產品之原料非屬傳統食用者。
- **第四類**：產品之原料非屬傳統食用且含有致癌物之類似物者。



第一類產品之安全評估

- **第一類**：屬下列二種情形之一者，得免再進行毒性測試
 - 產品之原料為傳統食用，且以通常加工食品形式供應者。
 - 產品具有完整之毒理學安全性學術文獻報告及曾供食用之紀錄，且其原料組成分及製造過程與所提供之學術文獻報告完全相符者。



第二類產品之安全評估

- 第二類：產品之原料為傳統食用而非以通常加工食品形式供應者，應檢具下列毒性測試資料
 - 基因毒性試驗
 - 28天餵食毒性試驗



第三類產品之安全評估

- 第三類：產品之原料非屬傳統食用者，應檢具下列毒性測試資料
 - 基因毒性試驗
 - 90天餵食毒性試驗
 - 致畸試驗



第四類產品之安全評估

- 第四類：產品之原料非屬傳統食用且含有致癌物之類似物者，應檢具下列項目之毒性測試資料
 - 基因毒性試驗
 - 90天餵食毒性試驗
 - 致畸試驗
 - 致癌性試驗
 - 繁殖試驗



安全評估

除下列一種產品外，皆歸屬於安全性評估分類中的第一類，故不需要進行毒性測試

- 中天田中寶養生液

鼎健TCELL-1乳酸菌粉雖為安全性評估分類中的第一類，但亦進行毒性測試



鼎健TCELL-1乳酸菌粉人體安全試驗

- 試驗對象：篩選在本實驗前兩週無服用任何與乳酸菌有關的消費性產品、抗生素或酗酒之健康成人 38 人
- 調整期：本實驗前兩週為調整期，且實驗進行過程中不可服用任何抗生素、酗酒、或服食其他乳酸菌相關產品。
- 劑量：實驗組每日依低、中、高劑量分別食用 *Lactobacillus rhamnosus* Tcell-1 乳酸菌菌粉 4、8、12 克，對照組(安慰劑組)每日食用無菌粉之異麥芽酮糖醇 4 克。



鼎健TCELL-1乳酸菌粉人體安全試驗結果

- 無論是在體重、腰圍、臀圍、體脂肪、肝功能 (AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、ALK-P、BMI 及 Total Bilirubin (T-bil))、血液血清生化 (RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、MCHC、PLT 及 WBC) 及尿液檢測 (外觀、酸鹼度、尿蛋白、尿糖、膽紅素、尿液紅血球及尿液白血球) 等各方面，無論安慰劑組與服用低中高劑量之乳酸菌組在服用前用與各組間並無顯著差異，意即服用乳酸菌不會影響人體各項功能。



鼎健TCELL-1乳酸菌粉人體安全試驗結果

- 無論安慰劑組與服用低中高劑量之乳酸菌組在服用前後，無過敏症狀及其他不良反應產生，即服用TCELL-1乳酸菌不會引起人體過敏症狀及其他不良反應。
- 結果發現無論是單純食用異麥芽酮糖醇的安慰劑組或是服用低中高劑量之TCELL-1乳酸菌組，均不會影響人體各項功能。
- 意即該TCELL-1乳酸菌產品的人體食用安全性是值得肯定的。



鼎健TCELL-1乳酸菌粉安全性評估試驗 --28天餵食毒性試驗

- 台大醫學院實驗動物中心生產之近似無特定病原菌SPF大鼠(SD, Sprague-Dawley)，6週齡每組20隻，公母各10隻，分四組(對照組，低劑量組，中劑量組，高劑量組)，共80隻以管餵飼養方式，依體重換算法計算，低、中、高劑量每日每公斤體重餵予 7×10^{10} CFU、 3.5×10^{11} CFU及 7×10^{11} CFU(相當於人體建議攝取量16、83、166倍)之*L. rhamnosus* Tcell-1乳酸菌，對照組餵予等量之純水，每日一次，每週六日，連續四週。
- 在28天餵食毒性試驗之實驗動物方面，不同劑量的乳酸菌粉不會造成公母鼠身體不適所引起的體重變化，且觀察到對照組及低、中、高三種劑量的公母鼠的血液學及血液生化學檢驗分析、解剖觀察及組織病理學觀察，均發現不會因給予乳酸菌而有明顯的變化。
- 其安全性是值得肯定的。



鼎健TCELL-1乳酸菌粉安全性評估試驗

--毒性研究

- 動物體內微核分析：雄性Wistar大鼠，七週大，購自台大醫院動物中心，待成長至八週20隻，隨機分配成高劑量、中劑量、低劑量及對照組四組以管餵方式餵食測試濃度分別為1 g/kg (7×10^{11} CFU)、0.5 g/kg (3.5×10^{11})、0.1 g/kg (7×10^{10} CFU)，並以水為陰性對照組。
- 每一測試濃度分別投與五隻老鼠，並在處理後1、2、3、4星期採血。*L. rhamnosus* TCELL-1乳酸菌處理的結果與溶劑對照組及陰性對照組比較，並未有顯著之差異。
- 由處理之測試結果顯示，*L. rhamnosus* TCELL-1乳酸菌對啮齒類動物所引發之染色體變異頻率並無顯著之增加。由於無任一濃度組比溶劑對照組有顯著之增加，因此無須進行濃度反應趨勢分析，也可判定結果為陰性反應。



中天田中寶養生液安全性評估試驗

- HPRT基因突變分析
- 動物體內小核分析
- 體外染色體結構異常分析
- 大鼠口服急性毒性測試
- 大鼠28天口服重複劑量（亞急性）毒性測試

中天田中寶養生液安全性評估試驗

-HPRT基因突變分析

- 中國倉鼠卵巢細胞，在含有或不含有代謝活化系統（S9）環境下，分別有陰陽對照組及6組試驗組不含有代謝活化系統（S9）濃度包括3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 (μ L/mL)及陰陽對照組，陽性對照組為0.1 μ L/mL methanesulfonic acid, ethyl ester。培養18~24小時。
- 含有代謝活化系統（S9）的培養濃度包括1.5625, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 (μ L/mL)及陰陽對照組，陽性對照組為100 μ g/mL N-nitroso-dimethylamine。培養18~24小時。
- 由中國倉鼠卵巢細胞之HPRT基因突變測試結果顯示，在本試驗條件下，所有濃度之產品在含有或不含有代謝活化系統實驗之突變率，均未引發陽性反應，因此可判定此試驗之結果為陰性反應。

中天田中寶養生液安全性評估試驗

-動物體內小核分析

- ICR雄性老鼠25隻，除陰性及陽性對照組外，實驗組共3組，每組5隻老鼠。
- 25%, 50%, 100%的產品溶液以20 mL/kg之比率，二次經口投予。陽性對照組則以單次腹腔注射投予 mitomycin C 1 mg/kg。
- 在投予後36~48小時進行尾巴採血，以觀察小核試驗結果。無論哪一種濃度，小核出現頻率(MN/1000RETS)與陰性對照組比較並沒有差異。且不會造成小鼠骨髓毒性試驗。
- 由ICR小鼠之小核分析顯示，在本實驗條件下，產品對小鼠周邊血液之小核分析結果為陰性反應。

中天田中寶養生液安全性評估試驗

-體外染色體結構異常分析

- 中國倉鼠卵巢細胞，分三種處理方式：含有或不含有S9處理3小時，及不含S9連續處理20小時。每種處理皆進行5種濃度組及陰陽對照組三種處理方式與時間分別為：-S9, 3小時、+S9, 3小時、-S9, 20小時。每種處理方式皆進行5種濃度測試 ($\mu\text{L/mL}$)：6.25, 12.5, 25, 50, 100，再加入陰陽對照組。
- -S9之陽性對照組為 mitomycin C $1 \mu\text{M}$ 。
- +S9之陽性對照組為 cyclophosphamide $40 \mu\text{M}$ 。
- 由三種不同處理之測試結果顯示，產品在代謝活化前後及不同時間處理下，對中國倉鼠卵巢細胞所引發之染色體異常頻率並無顯著增加，顯示產品對細胞體外染色體變異分析結果為陰性反應。

中天田中寶養生液安全性評估試驗

-大鼠口服急性毒性測試

- SD雄性及雌性大鼠共 48 隻大鼠分成四組，每組雌雄各 6 隻。
- 分別投予5、10、20 mL/kg之產品原液，對照組投予注射用水(20 mL/kg)。
- 各組分成兩次投予，並進行臨床觀察14天。
- 本試驗結果顯示，SD大鼠經口服投予本產品最高劑量之原液後，在十四天觀察期間並未顯現任何臨床毒性症狀及肉眼可觀察到的內臟組織病變。


中天田中寶養生液安全性評估試驗

-大鼠28天口服重複劑量（亞急性）毒性測試

- SD雄性及雌性大鼠共 80 隻大鼠分成四組，每組雌雄各10隻。
- 分別投予1.5、5、15 mL/kg/day之產品原液，對照組投予注射用水 (15 mL/kg/day)。進行臨床觀察28天。
- 本試驗所有劑量組在試驗觀察期間無任何臨床毒性症狀顯現、不影響體重成長、未發現眼睛異常現象、尿液（外觀、分析數值、尿渣）無異常變化、血液分析及血清生化數值無明顯變化、器官重量及腦重量比值無差異並對主要組織器官不會造成傷害。

其他產品之安全評估

- 未做實驗而搜尋學術文獻
- 味全公司雙歧桿菌
 - 以BB536雙歧桿菌粉末原料進行的毒性試驗結果證明是安全的。
 - 口服急毒：LD₅₀ 超過50 g/kg。
 - 腹腔注射：LD₅₀為雄性0.53 g/kg，雌性為0.56 g/kg。
 - 慢性毒性：餵食一年後，血液及病理檢查結果，試驗組與未吃的控制組沒有不一樣。
 - 10名男性、10名女性每日服用1顆膠囊（內含 9×10^9 *L. acidophilus*活菌），食用7日，在整個的試驗過程中，受試者間皆沒有什麼不利的反應。

- 
- 葡萄王公司康貝兒乳酸菌
 - Male adult swiss mice每組五隻。
 - *L. casei* strain GG (1.5×10^{11} CFU), *S. thermophilus* (4×10^{10} CFU), *L. helveticus* 230 (2×10^{10} CFU)，每組分蒸餾水，1, 2, 4, 6 g bacteria /kg b.w. 餵食，連續七天，每天觀察兩次，七天後屠宰並做檢驗。
 - 初期體重有稍減現象，但在24小時後，即恢復正常；餵食七天後，老鼠之盲腸、胃及肝等器官與對照組並無顯著差異；也沒有毒性徵兆產生。
 - 三組乳酸菌對male swiss mice七天急性口服LD₅₀值皆大於6 g/kg body weight
 - 急性測試 *L. casei* strain GG、*S. thermophilus* 及 *L. helveticus* 230 是不具毒性的。



台灣地區通過健康食品認證之乳酸菌產品功效評估

人體腸道棲息之細菌

- 人體的腸道中棲息細菌，以一個成年人而言，約有 400 種，100 兆個以上細菌。
- 人體的腸中雖然有許多細菌，但是這些細菌大致可分好菌與壞菌兩種，此兩種菌一直處於競爭狀態，以一位健康的人而言，腸中的好菌應該是處於比較多或比較佔優勢的狀態。
- 然而當身體不適、飲食、環境的改變、壓力或老化等因子就可能破壞此種狀態，而使好菌減少，壞菌增加，進而影響腸道生理。

人體腸道棲息之好菌與壞菌

- 好菌是以 **Bifidobacterium** 為代表，它除了會產生乳酸與醋酸外，也具有抑制壞菌的功能。因此近幾年來科學家對於 **Bifidobacterium** 的生理功能非常注意。
- 壞菌大致以大腸桿菌與 **Clostridium perfringens** 為代表，不過由於有一些大腸菌具有一些生理功能，因此直接把大腸菌當作害菌代表，在學理的嚴密性上可能會出現一些爭議，而 **Clostridium perfringens** 對於人體腸道的危害則爭議性較少，因此決議以 **Clostridium perfringens** 作為腸道壞菌的代表。
- **Clostridium perfringens** 會分解蛋白質成 NH_3 、胺類、indoles、硫化氫等而引起身體的不適。



改善腸胃機能之重要性

- 由於老化可能會導致腸內 **Bifidobacterium** 的下降及的 **Clostridium perfringens** 上升。因此，有些學者提出以改善腸道相來延緩老化的學說。
- 以國內目前人口分佈言，已面臨老人化社會的來臨，因此改善腸胃機能在未來將越形重要。



好菌指標之改變

- 乳酸菌視為好菌的代表可能會引起許多爭議性的問題
 - 喝牛奶後腸內乳酸菌就可能上升，則牛奶可視為健康食品？
 - 隨著年齡的上升，腸內乳酸菌也會上升，如果在作人體實驗時，此種變異因子如何排除？
- 幾經討論後，決定把乳酸菌排除。
- 日本特定用保健食品的保健功能，也是強調以腸道 **Bifidobacterium** 上升為改善腸道菌相之訴求。



促進腸胃道蠕動之修正

- 「促進腸胃道蠕動」此名詞與營養學上的食物纖維 (dietary fiber) 的功能相似，因此如果促進腸道蠕動為健康食品之法定使用名詞，則食物纖維有關此項之營養功能就不能使用。
- 考量食物纖維對於腸胃道蠕動的促進長期以來已是大家所接受的觀念，所以幾經討論後，決定建議衛生署以「促進腸胃道運動」、「潤腸通便」、「有助於排便」等名詞來取代原有的名詞。



保護胃黏膜之修正

- 「保護胃黏膜」項目，則有醫學界的先進提出此名詞似乎與藥效太接近之意見。
- 在藥品裡確實有一些藥物之功效是可以保護胃黏膜，但是也可以在食品中發現有些食品也具有這方面的功效，例如日本明治乳業所出品的 LG21 乳酸菌經實驗證明可以保護胃黏膜不受幽門桿菌 (*Helicobacter pylori*) 的感染。
- 考量以上因素，最後建議衛生署以「有助於胃黏膜之保護作用」來取代原有的名詞，以避免與一般藥效混淆。



評估對胃腸道功能改善之要點

- 改善胃腸功能必須明確具有以下四種功能指標之一。
 - 促進消化吸收
 - 改善腸內細菌菌相
 - 幫助（改善）胃腸運動
 - 有助於胃黏膜之保護作用



實驗對象

- 所進行的實驗可分為
 - 動物實驗
 - 人體實驗兩者可擇一施行。
- 若廠商所提產品的相關科學研究證據不明確或不足時，須同時進行「人體實驗」和「動物實驗」，以加強證據之可信度。

實驗時間與數量

- 時間：
 - 動物實驗進行時間至少需 **4 星期** 以上
 - 人體實驗至少需進行 **2 星期** 以上。
- 數量與品質：
 - 動物：
 - 所使用的實驗動物以 **哺乳類動物** 為原則。
 - 動物隻數每組至少為 **8 隻**，小白鼠隻數每組至少為 **10 隻**。
 - 實驗動物必須來自各大實驗動物中心。
 - 人體：
 - 實驗每組人數至少為 **8 人**，且必須有控制組。
 - 人體實驗必須由大學食品、營養、醫藥等相關系所、研究機構、醫學中心執行，需有醫師參與，並遵循衛生單位對人體實驗有關之相關規定。

飼料飲食與實驗方法

- 飼料與飲食：
 - 動物實驗進行時，飼料的內容與比例必須符合 **AIN (American Institute of Nutrition)** 之規範。
 - 進行人體實驗的飲食內容與比例必須符合衛生署所公佈之飲食指南。
- 實驗方法：
 - 評估對胃腸道功能所採用的實驗方法，必須是學術界或醫學單位所採用或普遍認可之方法，亦可使用市售的生化試劑 (**test kit**) 直接測定之。

促進消化吸收

○ 動物實驗

- 動物體重的測定及消化吸收率的測定
- 消化酵素活性的測定：
 - Trypsin
 - Chymotrypsin
 - Amylase
 - Lipase
 - Leucine amino peptidase
 - Disaccharidase

○ 人體實驗：

- 有關改善食慾不佳方面，觀察食慾、食量、體重、血紅素等指標的變化。
- 有關改善消化吸收不良方面，觀察食慾、食量、胃腸腹脹感、糞便形狀及次數、胃腸運動及小腸吸收等指標變化。

促進消化吸收

—結果判定

- 動物實驗中必須至少一項指標為實驗組明顯優於控制組 ($p < 0.05$)。
- 人體實驗方面，如果是針對改善兒童食慾方面，以食慾、食量的改善為觀察重點。體重及血紅素的變化則作為輔助指標。
- 針對消化吸收不良者，除了有明顯改善食慾、食量，胃腸腹脹感及糞便形狀等消化不良症狀外，在小腸吸收指標中至少有一項指標為實驗組明顯優於控制組 ($p < 0.05$)。



促進消化吸收

—測定方法

- 消化酵素活性測定
 - 雙醣酵素 (disaccharidase) 活性測定
 - 脂解酵素 (lipase) 活性測定
 - 白胺酸胺基酵素 (leucine aminopeptidase, LAP) 活性測定
- 改善胃腸功能之參考指標
 - Lundh 測試 (主要為胰臟功能)
 - Schilling 測試 (主要為胃腸功能)
 - 脂肪之吸收判定
 - D-xylose 耐受測試 (主要為小腸功能)
 - 核子醫學檢查
 - 放射線科檢查



消化酵素活性測定

—樣品製備

- 截取實驗老鼠 (Sprague-Dawley 或 Wistar 品系) 小腸片段，刮下腸黏膜 (脂解酵素活性測定不必刮下腸黏膜)
- 取 0.2 g 加入 2 mL 含 protease 抑制劑 (1 μ M phenylmethylsulfonylfluoride 及 2.2 mM iodoacetic acid) 之 4 $^{\circ}$ C、0.9% NaCl 溶液，以均質機均質化。

雙醣酵素活性測定方法

- **前處理**：取 30 μL 的腸黏膜均質液加入 15 μL 的 56 mM 雙醣溶液 (乳糖、麥芽糖或蔗糖) 於 37 $^{\circ}\text{C}$ 下作用 30 分鐘，再加入 100 μL 的 0.6 N NaOH 溶液溶解細胞，另以 10 μL 的 6 N HCl 溶液中和之。
- **反應**：
 - 取 45 μL 處理過後之腸黏膜液或葡萄糖標準液 (0-40 mg/mL)
 - 625 μL 反應緩衝液 (50 mM Tris-malate、33 mM sodium potassium phosphate 與 30 mM MgCl_2 ，pH 6.8)
 - 150 μL 的 1 mM ATP
 - 150 μL 的 1 mM NADP
 - 15 μL 的 330 IU/mL hexokinase
 - 15 μL 的 170 IU/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase 於 37 $^{\circ}\text{C}$ 下作用 30 分鐘，最後將樣品置於冰浴上以終止其反應。
- **測定**：葡萄糖產物含量則以分光光度計於 340 nm 波長下測定減少的 NADPH，並以改良的 Lowry 方法測定樣品中蛋白質含量，而雙醣酵素活性以 μM 葡萄糖/分鐘/ μg 蛋白質表示之。

脂解酵素活性測定方法

- 用市售試劑組 (Sigma Lipase-PS™) 測定之。
- 將 900 μL 受質溶液 (1.1 mM 1,2-diglyceride、2 mM sodium N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-m-toluidine、0.66 mM ATP、860 U/L monoglyceride lipase、1340 U/L glycerol kinase、40,000 U/L glycerol-3-phosphate oxidase、1340 U/L horseradish peroxidase、40,000 U/L co-lipase 與緩衝液) 加至 15 μL 之腸均質液或標準液 (附於試劑組) 中，於 37 $^{\circ}\text{C}$ 下作用 3-5 分鐘
- 再加入 300 μL 活化劑 (36 mM deoxycholate、6 mM 4-aminoantipyrine、0.05% sodium azide 與緩衝液)，於 37 $^{\circ}\text{C}$ 下作用 3 分鐘
- 以分光光度計於 550 nm 波長下測定 2 分鐘，並以改良的 Lowry 方法測定樣品中蛋白質含量，而脂解酵素活性以 unit/ μg 蛋白質表示之。

白胺酸胺基酵素活性測定方法

- 用市售試劑組 (Sigma Diagnostics® LAP) 測定之。
- 取 0.5 mL 腸黏膜均質液，混合 0.5 mL LAP 受質溶液 (20 mg/dL L-leucyl- β -naphthylamine 溶於 phosphate 緩衝液，pH 7.1)，於 37 °C 下作用 1 小時，再加入 0.5 mL 的 2 N HCl，1.5 mL 處理過後之腸黏膜液或 1.5 mL 標準液 (0-12 Sigma unit/mL) 與 0.5 mL sodium nitrite 溶液，於室溫下作用 3 分鐘後，混合 1.0 mL 0.5% (w/v) ammonium sulfamate，於室溫下作用 3 分鐘，再加入 2.0 mL N-1-naphthylethylenediamine 酒精溶液，於室溫下作用 45 分鐘後，以分光光度計於 580 nm 波長下測定吸光值，並以改良的 Lowry 方法測定樣品中蛋白質含量，而白胺酸胺基之酵素活性以 Sigma unit/ μ g 蛋白質表示之。
- 1 Sigma unit 定義為於 37 °C、pH 7.1 下，每 1 小時生成 1 μ mole β -naphthylamine 的酵素量。

改善胃腸功能之參考指標

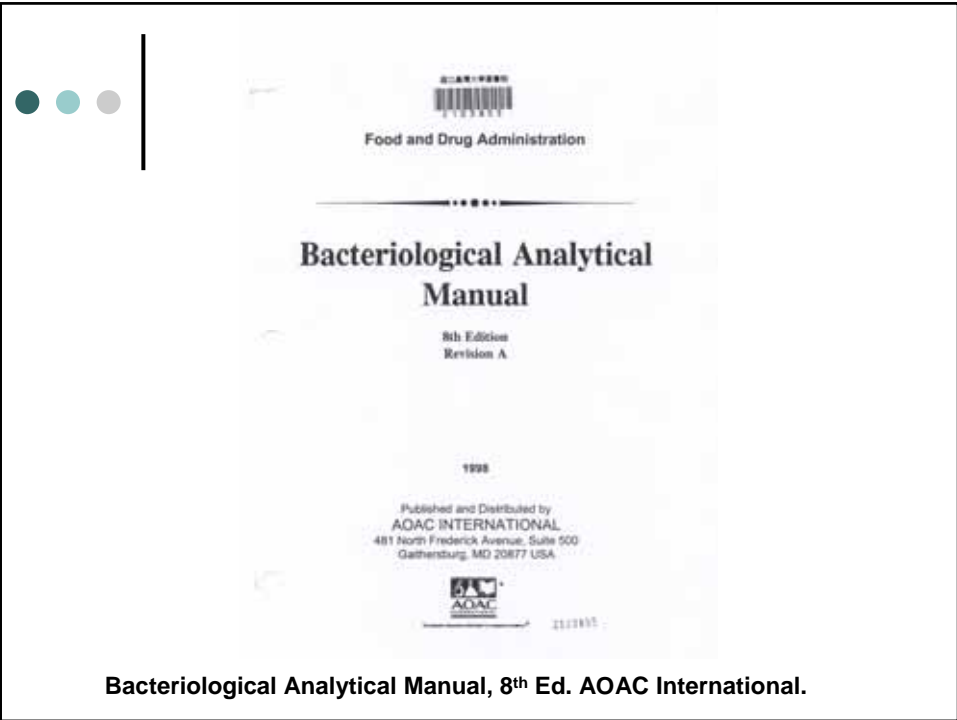
- Lundh 測試 (主要為胰臟功能)
- Schilling 測試 (主要為胃腸功能)
- 脂肪之吸收判定
- D-xylose 耐受測試 (主要為小腸功能)
- 核子醫學檢查
- 放射線科檢查

改善腸內細菌菌相

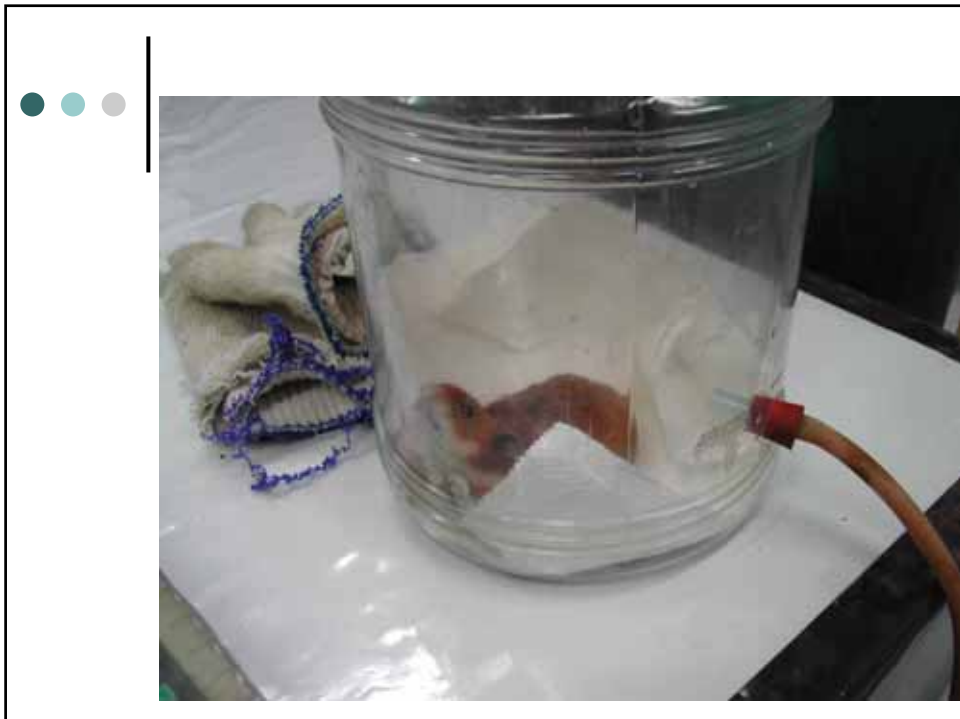
- 動物實驗：
 - 檢測 1 種益生菌：*Bifidobacterium*
 - 檢測 1 種有害（或無益）菌：*Clostridium perfringens*
- 人體實驗：
 - 檢測 1 種益生菌：*Bifidobacterium*
 - 檢測 1 種有害（或無益）菌：*Clostridium perfringens*
- 結果判定：
 - 若發現 *bifidobacteria* 明顯增加，而 *Clostridium perfringens* 減少或無明顯變化者，則可認定此測試物質具有明顯改善腸道細菌菌相的功效。

取樣及均質

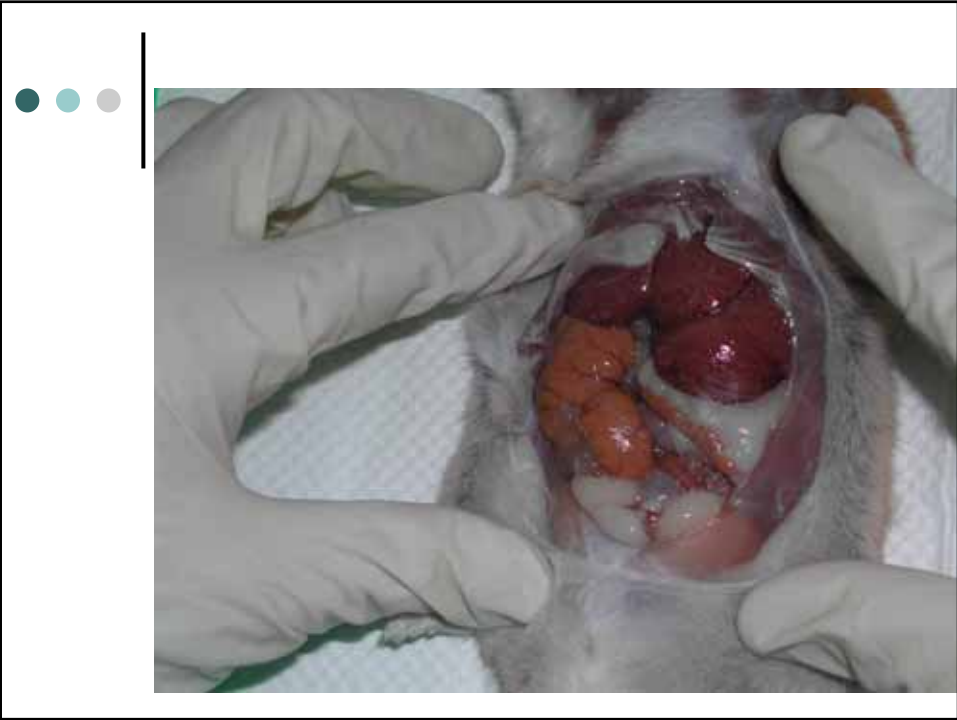
- 動物實驗：
 - 以按摩方式收集糞便於密閉容器內（維持厭氧狀態），再於厭氧操作箱內稱取約 0.5 g，加入含 4.5 mL 無菌厭氧稀釋液之試管中（內含 5 粒玻璃珠），以試管震盪器混合。
 - 大白鼠經餵養試驗後，麻醉、解剖，在厭氧狀況取出盲腸（cecum）內容物，稱取約 1 g，加入含 9 mL 無菌厭氧稀釋液之試管中（內含 5 粒玻璃珠），以試管震盪器混合。
- 人體試驗：
 - 收集糞便於密閉容器內（維持厭氧狀態），再於厭氧操作箱內，進行如同上述大白鼠樣品之稱重及均質操作。
- 稀釋及微生物平板分析請依照 (BAM)。















測定方法

- 大白鼠：6 週大雄性 **Sprague Dawley (SD)** 或 **Wistar** 系統大白鼠。
- 培養基
 - 雙叉桿菌 (**Bifidobacteria**) 參考培養基：
 - **Bifidobacteria iodoacetate medium -25 (BIM-25)**
 - **MPN medium**
 - 產氣莢膜梭菌 (**Clostridium perfringens**) 參考培養基
 - **Tryptose-sulfite-D-cycloserine (TSC) agar**
- 有關操作請參考美國 **FDA** 發行的 **Bacteriological Analytical Manual (BAM)**。

Bifidobacterium 培養使用培養基—

Bifidobacteria iodoacetate medium -25 (BIM-25)

Reinforced clostridial agar (基礎培養基)	
BBL Microbiology systems, Cockeysville, MD)	51 g
Nalidixic acid	20 mg
Polymyxin B sulfate	8.5 mg
Kanamycin sulfate	50 mg
Iodoacetic acid (sodium salt)	25 mg
2,3,5-triphenyltetrazolium chloride	25 mg
Distilled water	1 L

基礎培養基先在殺菌釜殺菌，冷卻至50 °C，再加入薄膜過濾之上述各抗生素及藥品。





產氣莢膜梭菌參考培養基一

Tryptose-sulfite-cycloserine (TSC) agar

○ 基礎培養基：

Tryptose	15 g
Yeast extract	5 g
Soytone	5 g
Ferric ammonium citrate	1 g
Sodium metabisulfite	1 g
Agar	20 g
Distilled water	1 L

上述基礎培養基加熱溶解後，在121 °C殺菌15 min，冷卻至50°C，備用。



- **D-cycloserine solution :**

溶解1 g D-cycloserine (Sigma) 於 200 mL distilled water，以濾膜過濾法除菌，存於 4°C 備用。

- **50% egg yolk emulsion :**

新鮮蛋刷洗後，浸泡於 70% (v/v) 酒精中 1 小時，取出，以無菌技術將蛋打破，取出蛋黃，加入等量無菌生理食鹽水 (0.85% NaCl) 混合，存於 4°C 備用。

- **最終TSC medium :**

將 250 mL TSC 之基礎培養基，加入 20 mL D-cycloserine solution，以及 20 mL 50% egg yolk emulsion，混合，倒入培養皿中。



厭氧稀釋液

Gelatin (Difco)	0.2 g
Distilled water	50 mL
Salts solution	50 mL
Resazurin solution (25 mg/100 mL H₂O)	0.4 mL

將各成分混合，煮沸，冷卻，再加入 0.05 g cysteine，以厭氧操作分裝入試管中，每一試管裝 9 mL，以 121 °C 殺菌 15 min，殺菌完成或實驗過程呈粉紅色，請勿使用。

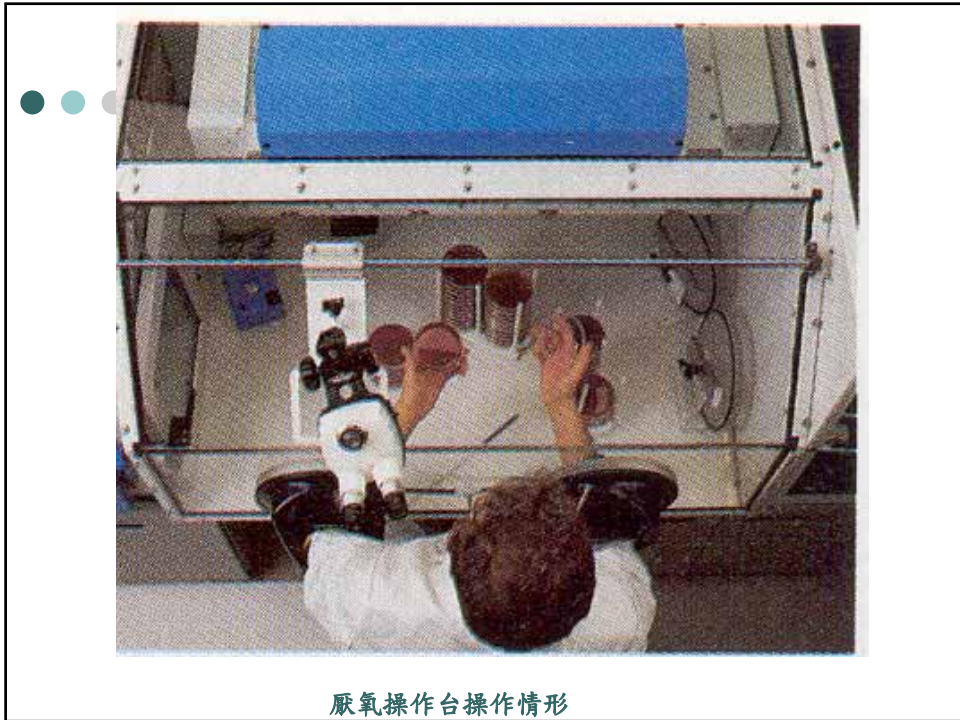


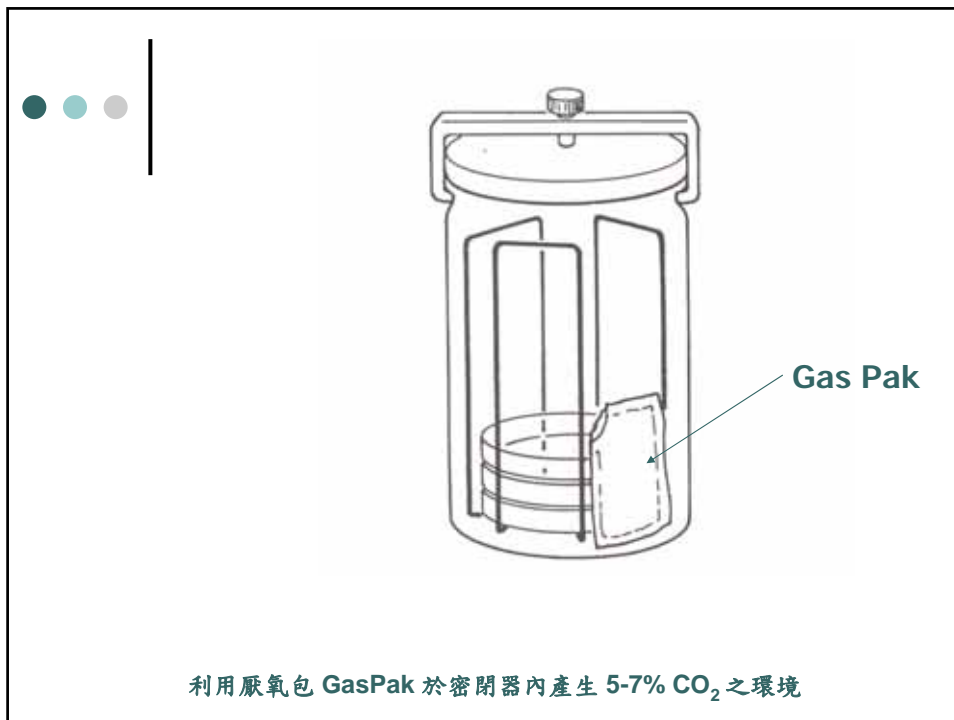
其他厭氧操作設備

- 厭氧操作箱
- 厭氧罐 (anaerobic jar)
- 厭氧包 (gas generating kit : anaerobic system)



二氧化碳厭氧培養器





● ● ● | **BBL GasPak 厭氧系統之組成**

- 每一**厭氧包**包含:
 - 濾紙
 - 硼氫化鈉 (sodium borohydride, NaBH₄), 顆粒
 - 碳酸氫鈉 (sodium bicarbonate, NaHCO₃) 顆粒
 - 檸檬酸 (citric acid) 顆粒



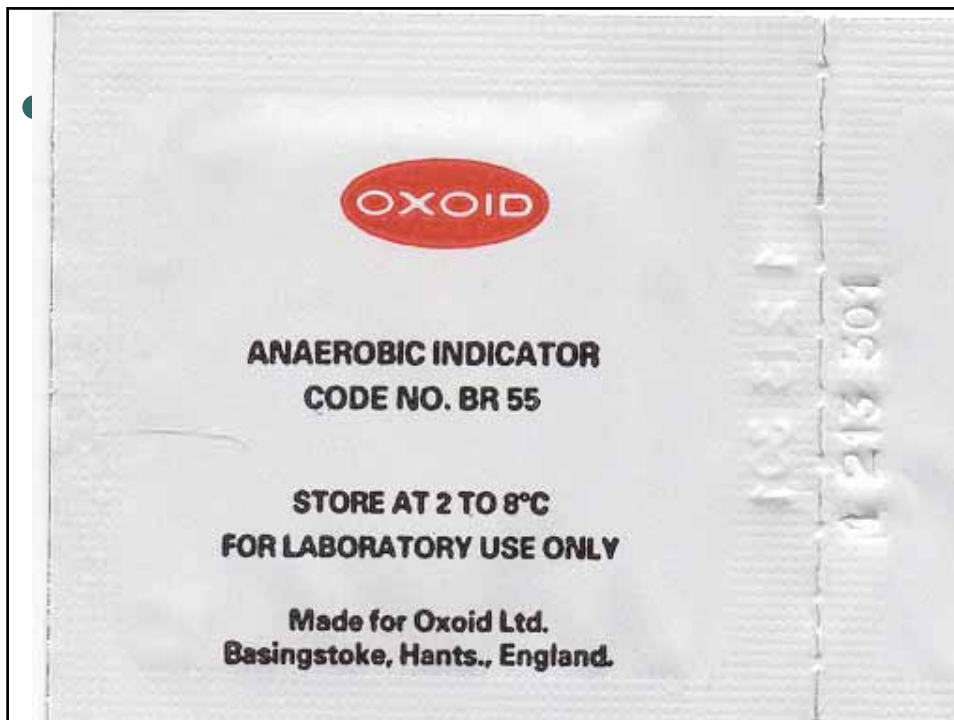
BBL GasPak 厭氧包使用說明

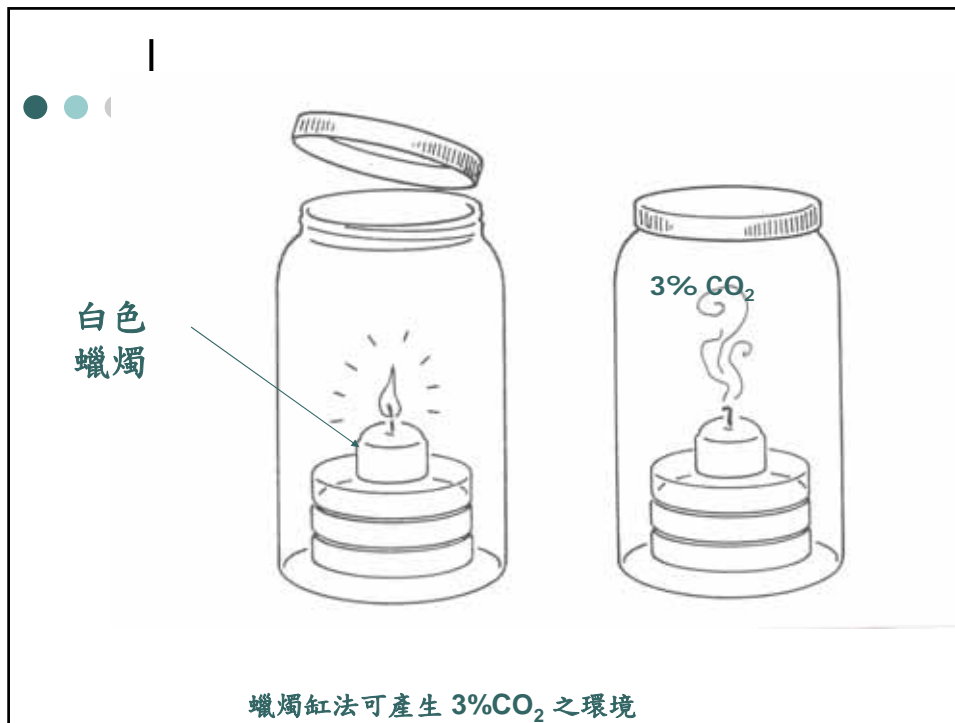
- 未使用前應於 2 到 30°C 乾燥處貯存。
- 將厭氧包沿點線剪開，置於厭氧缸內，有字一面朝外。
- 以吸管或針筒吸取 10 mL 自來水、蒸餾水或去離子水，將其加入厭氧包中。
- 馬上將厭氧缸密封。此厭氧包只適用於密閉性良好之密閉系統。



BBL GasPak 厭氧指示劑使用方法

- **厭氧指示劑**使用前確認其為潮濕且為白色，當暴露於空氣中後會變為藍色。
- 如指示劑打開時為乾燥或呈藍色則勿使用。
- 指示劑在厭氧條件下應呈白色。





稀釋及微生物平板分析—

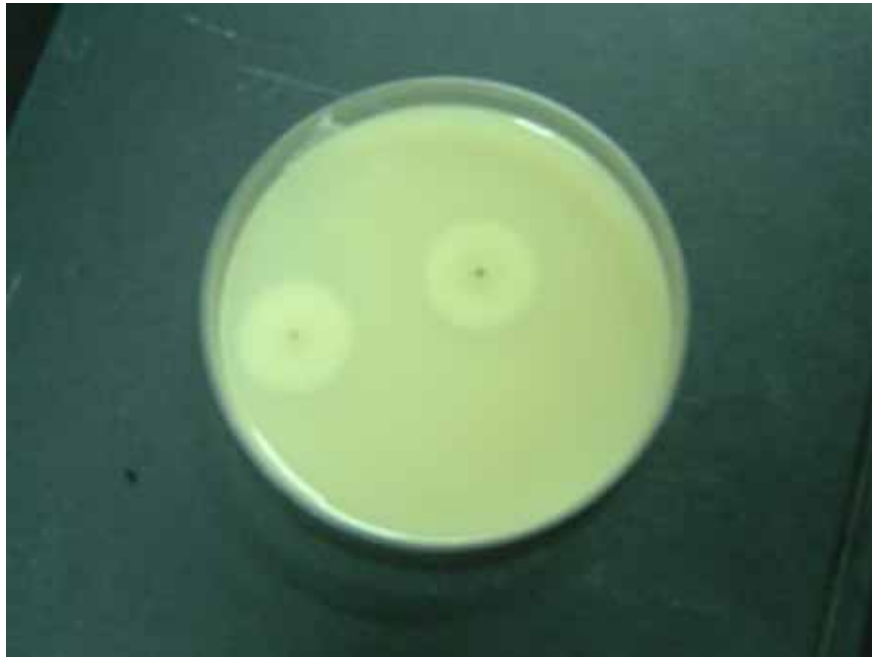
雙叉桿菌

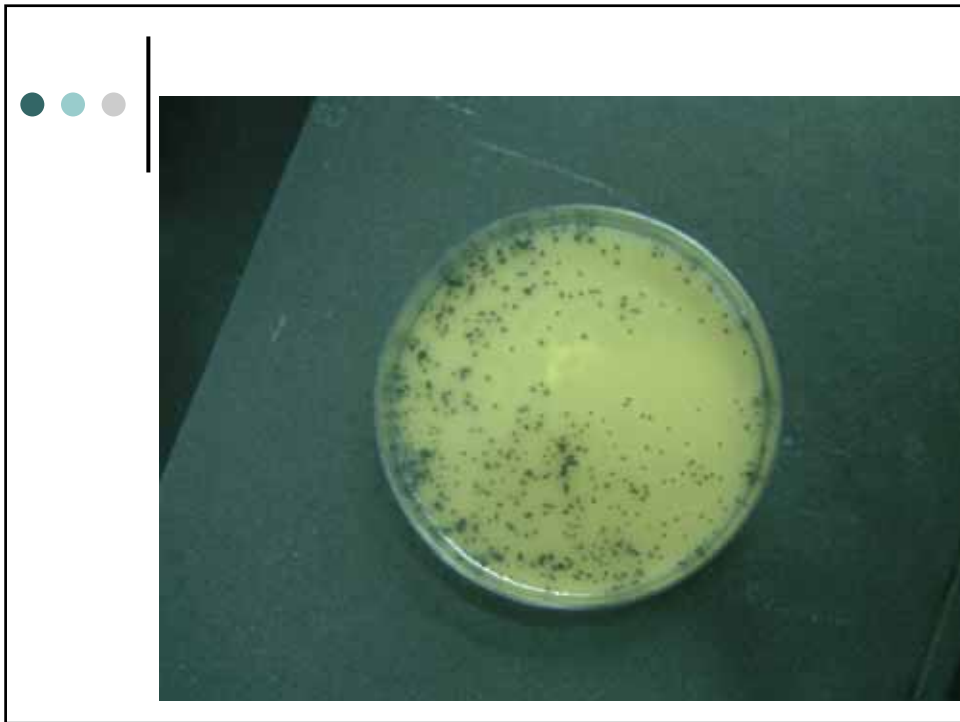
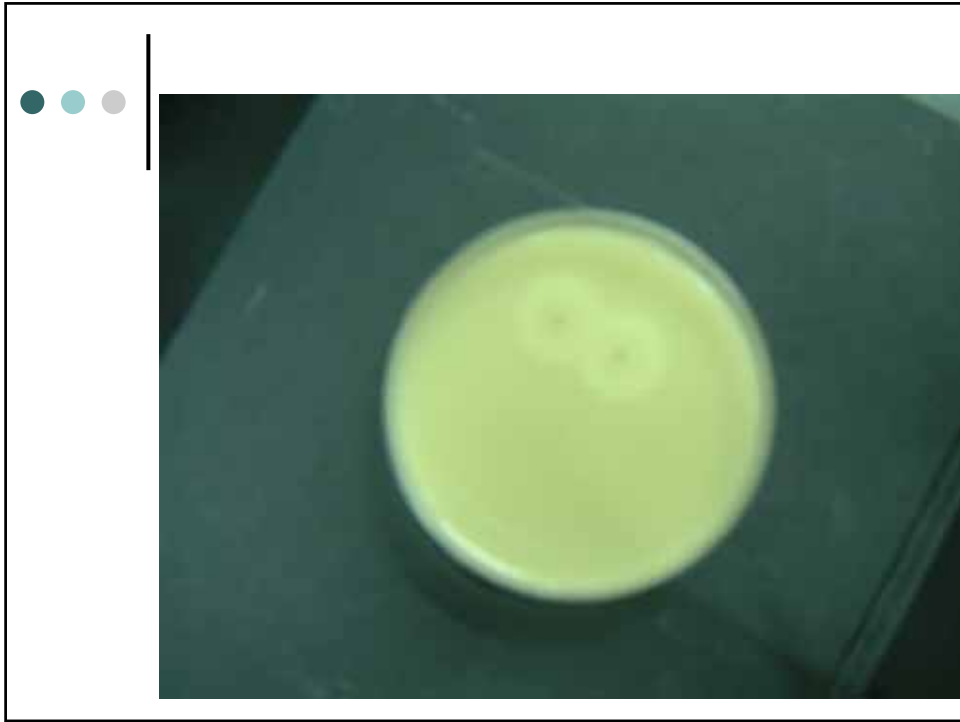
- 於厭氧狀況下，取 1 mL 均質液，加入含 9 mL 厭氧稀釋液之試管中，進行一系列十倍稀釋。
- 取適當稀釋倍數，以表面塗抹法 (spread plate method) 或混稀平板法 (pour plate method) 加入雙叉桿菌培養基中，置於厭氧操作箱或厭氧缸中 (內含厭氧包，或抽氣維持厭氧狀態)，於 35~37°C 培養，計數菌落數。

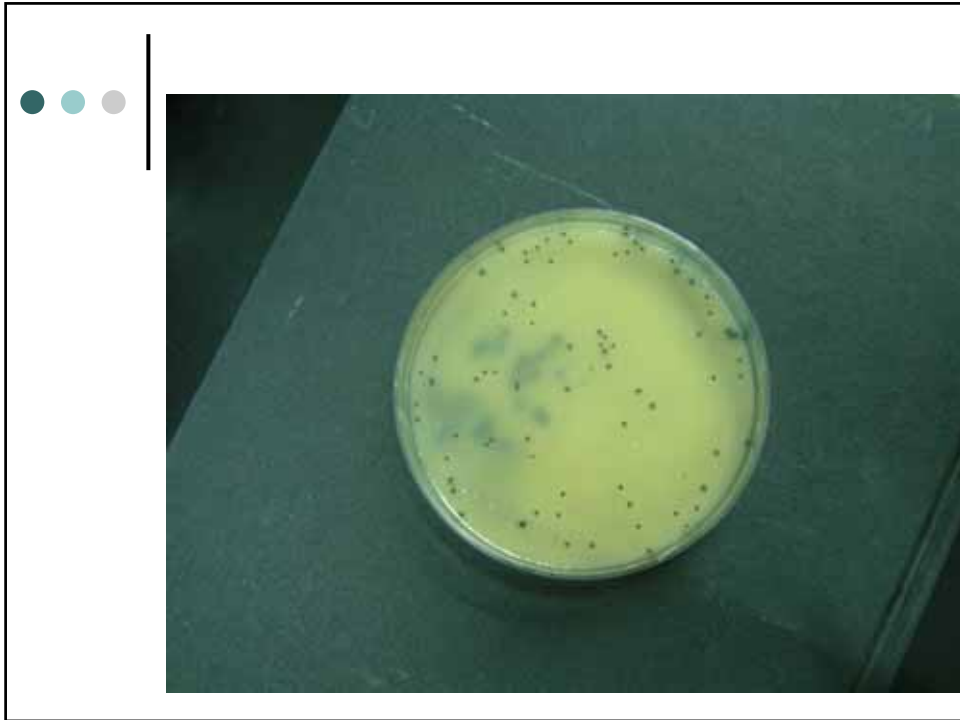
稀釋及微生物平板分析—

產氣莢膜梭菌

- 取適當稀釋倍數樣品 0.1 mL，塗抹於含 egg-yolk 之 TSC 培養基上，待乾後，再倒入不含 egg-yolk 之 TSC medium (約 5-10 mL)，待固化後，將培養皿朝上培養，置於厭氧操作箱或厭氧缸中 (內含厭氧包，或抽氣維持厭氧狀態)，於 35~37°C (培養 18-22 小時)
- 計數中心呈黑色且周圍有環之菌落，即為產氣莢膜梭菌數。







統計分析

- 實驗數據經統計變異數分析 (Analysis of variance ANOVA) 測試各實驗組間是否有差異
- 若有差異再以鄧肯氏多變試驗(Duncan's multiple range test) 作進一步分析，以決定各實驗組在95%可信度內是否有差異。



結果判定

- 動物實驗：若盲腸或糞便的 *bifidobacteria* 明顯增加，以及 *Clostridium perfringens* 減少或無明顯變化者，則稱之具改善腸內細菌相功能。
- 人體試驗：若 *bifidobacteria* 明顯增加，以及 *Clostridium perfringens* 減少或無明顯變化者，則稱之具改善腸內細菌相功能。



幫助(改善)胃腸運動，促進腸道正常機能之維持

- 動物實驗：
 - 胃腸運動 (活性碳、腸鉞計檢查或核子醫學檢查)
 - 胃黏膜保護
 - 觀察糞便之乾重、粒數、水分及形狀
- 人體實驗：
 - 腸運動 (腸鉞計檢查或核子醫學檢查)
 - 觀察排便時間，糞便重量、水分及形狀及排便感覺之變化。



檢查方法—胃腸運動測定(動物實驗)

- 離體實驗：擷取絕食老鼠之胃或腸片段約 1-2 cm，放於組織浴 (organ bath) 中並通氣之 (95%O₂，5%CO₂)，放置 2 hr 使其穩定而後做等長收縮 (0.5-1 gm)，視測試食品對於胃或腸片段之收縮情況
- 若實驗組明顯優於控制組 (p<0.05)，即可判定測試食品具有改善胃腸運動之功能。



檢查方法—胃腸運動測定(動物實驗)

- 活體實驗：動物配置的灌胃溶液灌食 (含有 10% 活性碳及測試物)。
- 追蹤計算排空率，活性碳則以黑色易觀察之特性作為胃腸排空之另一指標。
- 30 分鐘後，大白鼠去頭犧牲，隨後剪開腹腔以線綁住賁門處，將胃、小腸完整取出，計算胃腸排空率，方法如下：

$$\text{Charcoal Transit} = \frac{\text{Charcoal marker}}{\text{Intestinal length}} \times 100\%$$




檢查方法—胃腸運動測定(人體實驗)

- 核子醫學檢查:目前只使用於 **gastric emptying study**
 - 讓病人服下含有放射源 (Tc-99m and In-111) 的固體及液體食物
 - 測量病人**90** 分後的胃排空率
- 放射線科檢查:小腸排空速度檢測
 - 請病人喝下**600 cc** 鋇鹽 (barium salt) 後，隔 **15** 分透視一次，
 - 直到鋇鹽完全排出迴腸瓣 (ileocecal valve)。



結果判定

- 糞便重量或粒數明顯增加，再加上胃腸運動實驗或排便時間中有任何一項結果為實驗組明顯優於控制組 ($p < 0.05$)，即可判定測試食品具有潤腸通便之功能。



有助於胃黏膜之保護作用維持腸道正常機能 (實驗內容)

- 離體實驗：培養鼠胃黏膜細胞，先將測試物置於胃黏膜細胞內，培養 2 小時，而後置入酸性培養液 (pH=4) 或含 indomethacin 之培養液下。測定胃黏膜細胞之存活率 (viability) 的變化 (MTT assay)，若實驗組明顯優於控制組 ($p < 0.05$)，即可判定測試食品具有保護作用之功能。



有助於胃黏膜之保護作用維持腸道正常機能 (實驗內容)

- 活體實驗：胃酸的分泌測定：Shay 潰瘍法 (Shay's ulcer)
 - 雄性實驗絕食老鼠 (24小時)，胃部幽門結紮，再予以縫合復原，俟4小時後，將其犧牲取出胃部，收集胃液並定量胃液體積，並以 0.1 N NaOH 溶液滴定，求其實驗組及控制組之總酸度之變化若 $p < 0.05$ ，即可判定測試食品具有胃黏膜保護作用之功能。



結果判定

- 任何一項結果為實驗組明顯優於控制組 ($p < 0.05$)，即可判定測試食品具有幫助胃黏膜保護之功能。



金車公司奧利多碳酸飲料

- Oligo組鼠盲腸內容物中雙叉桿菌與乳酸桿菌菌數均顯著高於其他二組 ($p < 0.05$)，而產氣夾膜梭菌菌數則顯著低於對照組 ($p < 0.05$)。
- Mix組盲腸內容物中雙叉桿菌與乳酸桿菌菌數亦均顯著增加 ($p < 0.05$)，但增加程度又顯著低於 Oligo組 ($p < 0.05$)。
- M組腸內容物中產氣夾膜梭菌菌數與對照組沒有顯著差異。

● ● ● 養樂多活菌發酵乳

- 健康男性及女性成人36名受測者。分A B兩組進行雙盲交叉擬似組控制設計，實驗時程共10週，分為四期，1-2週為實驗前期，3-5週為飲用I期，5-7週為實驗間期，7-10週為飲用II期。
- 於飲用I期，A組每天飲用兩瓶100 mL裝養樂多活菌發酵乳，B組每天飲用兩瓶擬似品。於飲用II期，A組每天飲用兩瓶擬似品，B組每天飲用兩瓶100 mL裝養樂多活菌發酵乳。
- 於第2、5、7、10週之最後一天採集糞便檢體，進行檢測。
- 本雙盲交叉擬似組控制人體試驗結果分析，無論A組或B組受測者之糞便檢體，在飲用*L. casei* Shirota菌發酵之養樂多活菌發酵乳後，檢體所含之雙歧桿菌 (*Bifidobacterium*) 菌數，皆較飲用前有顯著性提高 ($P<0.05$)，同時，糞便檢體測得之*L. casei* Shirota菌數達 10^7 CFU/g faeces以上，其高量殘存顯示*L. casei* Shirota菌 (代田菌) 可通過人體胃酸及膽鹽考驗。

● ● ● 鼎健公司TCELL-1乳酸菌粉

-有助增加腸道益生菌

- 篩選在本實驗前兩週無服用任何與乳酸菌有關的消費性產品、抗生素或酗酒之健康成人38人。本實驗前兩週為調整期，且實驗進行過程中不可服用任何抗生素、酗酒、或服食其他乳酸菌相關產品。實驗組每日依低、中、高劑量分別食用*Lactobacillus rhamnosus* T cell-1乳酸菌菌粉4、8、12克，對照組(安慰劑組)每日食用無菌粉之異麥芽酮糖醇4克。
- 在益生菌 *Bifidobacterium* 部份，服用低劑量之乳酸菌在服用十五天與三十天時，可顯著增加腸道中益生菌 *Bifidobacterium* 之生長 ($p<0.05$)。然而停止服用後七天與未服用前無顯著差異。而在中高劑量組也有增加腸道益生菌 *Bifidobacterium* 生長之趨勢。
- 由以上實驗結果顯示，服用「TCELL-1乳酸菌粉」可以增加腸道中益生菌 *Bifidobacterium* 之生長，意即服用「TCELL-1乳酸菌粉」有助於增加腸內益生菌。

鼎健公司TCELL-1乳酸菌粉

■能通過人體胃酸及膽鹽考驗，到達腸道發揮作用

- 篩選過之健康成人，男性4人，女性4人。每日食用 *Lactobacillus rhamnosus* Tcell-1 乳酸菌菌粉 4 公克。實驗結果顯示停止服用 *Lactobacillus rhamnosus* TCELL-1 乳酸菌一週後，仍可在受試者糞便中發現 *Lactobacillus rhamnosus* TCELL-1 乳酸菌，並且有 50% 的受試者糞便在兩週後仍可發現，12.5% 的受試者在三周後仍可被發現。
- 此實驗結果說明 *Lactobacillus rhamnosus* TCELL-1 乳酸菌可通過人體胃酸及膽鹽的考驗，並吸附存活在人體腸道中一週以上。

鼎健公司TCELL-1乳酸菌粉

■*Lactobacillus rhamnosus* TCELL-1 乳酸菌能有助於增加腸道益生菌

- 行政院國科會實驗動物繁殖及研究中心之 SD, Sqrague-Dawley 大鼠，雄性，六週齡。分異麥芽酮糖醇三組(高、中、低劑量)及菌粉組、對照組共五組，每組 8 隻，共 40 隻。異麥芽酮糖醇高劑量組為 2.625 g /kg 大鼠體重，中劑量組為 0.84 g /kg 大鼠體重，低劑量組為 0.42 g /kg 大鼠體重(相當於人體實驗之 4 克、8 克、25 克)，而菌粉組則為 0.42 g /kg 大鼠體重(相當於人體實驗之 4 克)，並達成 4.2×10^9 CFU/kg 大鼠體重。
- 由餵食第五週採樣的大鼠糞便及第七週採樣的盲腸內容物進行菌相分析，結果單純餵食異麥芽酮糖醇的實驗組(低、中、高劑量組)的菌相顯示乳酸桿菌群、雙叉桿菌群及腸內桿菌群並未有明顯的差異，而餵食乳酸菌粉組的大鼠糞便及盲腸內容物的菌相顯示乳酸桿菌群及雙叉桿菌群菌數較對照組高，腸內桿菌群的菌數則降低。
- 服用「TCELL-1 乳酸菌粉」有助於增加腸內益生菌。

鼎健公司TCELL-1乳酸菌粉

-有助增加腸道益生菌

- Sprague-Dawley(SD)大鼠，雄性，6週齡每組10隻，分四組(對照組，低劑量組，中劑量組，高劑量組)，共40隻以管餵飼養方式，依體重換算法計算，每日餵予相當於人體之1、2、5倍建議攝取量之「Tcell-1純乳酸菌粉」，連續七週。
- 餵食七週後，取大鼠盲腸內容物分析菌相，結果三組實驗組大鼠盲腸中之腸內桿菌群菌數都低於對照組，且都有統計上明顯差異(高、中劑量組 $P<0.01$ ；低劑量組 $P<0.05$)；實驗組之雙叉桿菌群菌數都高於對照組，且高、中劑量組與對照組都有統計上明顯差異(高、中劑量組 $P<0.01$)；而高劑量和中劑量實驗組乳酸桿菌群菌數高於對照組，且高劑量與對照組在統計上有顯著差異($P<0.05$)。
- 綜合結果顯示餵食鼎健公司之TCELL-1乳酸菌粉，可增加腸內益生菌。
- 由採自實驗組大鼠的糞便做多鏈聚合酶連鎖反應以鑑定 *Lactobacillus rhamnosus* Tcell-1的存在。結果顯示 *L. rhamnosus* Tcell-1確實可colonize在腸道中。

佳乳公司優沛蓄低脂原味活性醃酪乳

- 健康成年人(4男4女)實驗進行9週，前3週為飲食調整期，第4週起受試者每日飲用460克之優酪乳。
- 飲用優沛蓄低脂原味優酪乳三週，可增加糞便中雙叉桿菌的菌數由食用前的 $(0.52\pm 0.37) \times 10^8$ 增加到 $(4.59\pm 3.53) \times 10^8$ ($P<0.05$)；雙叉桿菌和大腸桿菌菌落數的比值，亦有顯著的增加。
- 證實實驗期間飲用低脂原味活性醃酪乳有助於增加腸內益生菌。