



財團法人
食品工業發展研究所
Food Industry Research and Development Institute

生物資源保存及研究簡訊

第29卷第1期

中華民國 105 年 3 月發行

補助單位：經濟部技術處 / 執行單位：財團法人食品工業發展研究所

本期內容

研發成果 1

- ◎ 硫酸軟骨素高產菌株及其培養技術
- ◎ 利用食用菌生產微量營養素之產品開發技術
- ◎ 蟬花發酵技術
- ◎ 利用菇菌生產天然類雌激素成分之技術
- ◎ 含功能蛋白之多重乳化系統粉粒化技術
- ◎ 保健功效用菌蛋白質指紋圖譜資料庫

科技新知 11

- ◎ 知識分享角落—漁業追溯系統

硫酸軟骨素高產菌株及其培養技術

生資中心 / 副研究員 / 研究員
廖巧敏 / 陳彥霖

一、前言

1. 退化性關節炎患者日增，服用硫酸軟骨素有助改善退化性關節炎

關節組織缺損是常見之疾病，主要的症狀為關節（如踝關節、腕關節及椎間盤）的疼痛及因疼痛而引起的行動不便，常見的類型包括創傷 (trauma)、退化性關節炎 (osteoarthritis) 及剝離性軟骨炎 (osteochondritis dissecans) 等，其中退化性關節炎的發生與軟骨細胞外間質 (Extracellular matrix, ECM) 的變化存在極高的相關性 (Buckwalter *et. al.*, 1994)。隨年齡的增加，軟骨 ECM 中所含蛋白醣的分子鏈會變短，膠原蛋白的聚合度與含水率亦會下降，而且退化性關節炎的發生率亦隨之提高，因此全球退化性關節炎的問題將隨著高齡社會的來臨而日益嚴重。目前治療退化性關節炎的方式多以減輕疼痛症狀為主，常用的治療藥物如非甾體抗炎藥，有導致胃腸道損傷、抑制血小板功能等副作用，因此開發安全和有效的替代療法有其必要性。近年來硫酸軟骨素 (Chondroitin sulfate, CS)、透明質

酸 (hyaluronic acid) 以及葡萄糖胺 (glucosamine) 等素材已被發現能夠誘導 ECM 的合成、抑制 ECM 的降解，其中硫酸軟骨素對於維持軟骨細胞型態及功能均極為有效，有助於改善退化性關節炎與風濕性關節炎 (Hochberg *et. al.*, 2012)。口服硫酸軟骨素會增加透明質酸的產生和關節滑液的粘度，並可以抑制膠原酶、彈性蛋白酶和組織蛋白酶等軟骨 ECM 的分解酵素之活性，以減緩關節軟骨被分解，能有效地保護、逆轉損壞及促進修復關節軟骨。Hochberg 等人 (2015) 針對 600 餘位膝關節炎患者進行長達 6 個月的最新研究指出，同時服用葡萄糖胺鹽酸鹽 (500mg/day) 及硫酸軟骨素 (400mg/day) 可以有效降低患者的膝關節疼痛、僵硬、功能限制及關節腫脹與積液，且效果與關節炎藥物 celecoxib 相近，對關節炎患者而言是非常安全的膳食補充劑。

2. 硫酸軟骨素分為不同類型，關節軟骨中以 C 型硫酸軟骨素為主

硫酸軟骨素是帶硫酸基的多醣，屬於糖胺聚醣 (Glycosaminoglycans) 的一種，

普遍存在人體關節軟骨、角膜、心臟瓣膜、血管壁或皮膚等各種組織中，是組成細胞外間質的重要成份，具有影響細胞之貼附、生長、分化及遷移的功能 (Nieduszyński *et. al.*, 1990)、維持軟骨細胞型態及調節軟骨化的作用 (van der Kraan *et. al.*, 2002)。硫酸軟骨素由胺基半乳糖 (galactosamine) 及葡萄糖醛酸 (glucuronic acid) 組成，依硫酸根所在位置，可以區分為 A 型硫酸軟骨素 (chondroitin-4-sulfate; CSA)、B 型硫酸軟骨素 (dermatan sulfate; CSB) 及 C 型硫酸軟骨素 (chondroitin-6-sulfate; CSC) 等類型。不同組織細胞的細胞外間質中，硫酸軟骨素的成份會有差異，以軟骨細胞為例，其細胞外間質組成以 CSA 及 CSC 為主，CSA 及 CSC 之比例會隨生物之年齡 (Hickery *et. al.*, 2003) 及軟骨組織的部位 (Mourao, 1988) 而異。

3. 硫酸軟骨素市場需求大，目前主要萃取自動物副產物，衍生諸多問題

WHO 調查顯示，全球罹患關節炎的人口超過約 3.5 億，美國關節保健品年產值高達 17 億美元；台灣亦高達 12 億台幣。硫酸軟骨素目前廣泛應用於關節組織退化的預防保健，美國是硫酸軟骨素使用量最大的國家，年用量超過 600 公噸、產值高達 10 億美元；歐洲硫酸軟骨素年產值亦超過 3.4 億美元；台灣之硫酸軟骨素主要由國外進口，年產值約 2 億台幣，隨著高齡人口的增加，市場潛力驚人。整體而言，全球硫酸軟骨素的年需求量推估超過 8000 公噸，且由於硫酸軟骨素持續出現新的用途（如化妝品等），需求量仍持續成長中。硫酸軟素主要萃取自於牛豬等動物之下雜

物（如內臟、氣管及軟骨等），具有產量低、品質不穩定等缺點。狂牛症爆發後，因牛產品可能帶有致病蛋白，故牛來源之軟骨素銷售情形不佳；而豬來源的硫酸軟骨素，主要由大陸生產，因混雜各類下雜原料，污染問題嚴重，品質堪慮。因此，萃取動物軟骨生產硫酸軟骨素方法，有材料匱乏、原料收集成本高、質量不穩定、純度不好控制、萃取過程複雜、生產過程造成環境汙染、動物疾病影響（狂牛症、口蹄疫以及重金屬含量高的問題）等諸多問題，因此開發新的軟骨素來源具有產業價值。

二、技術簡介

本技術由 GRAS 微生物，經菌株篩選及改良，獲得可以產生大量硫酸軟骨素的潛力菌株，且潛力菌株在細胞毒性評估方面，皆不會抑制人類正常肺纖維母細胞 (MRC-5) 的增生，顯示微生物發酵生產之硫酸軟骨素具有生物相容性，並不具毒性。此外本技術亦包含硫酸軟骨素含量及硫酸軟骨素類型分析技術，在硫酸軟骨素含量分析技術方面，主要是利用 DMMB 及 Carbazole 兩種呈色劑建立硫酸軟骨素含量分析技術；在硫酸軟骨素類型分析技術方面，本研究建立 HPLC 及螢光電泳 (FACE) 等兩種糖胺聚醣（或硫酸軟骨素）單體的分析方法，可以用於鑑定硫酸軟骨素的類型。

三、潛在用途

現在多醣產品的研究趨勢是以無動物成分的生產製造為主，這些非動物來源的多醣材料，應用於食品及醫療上會更安全。微生物具有合成如硫酸軟骨素的能

力，且具有生產製程容易控制、安全環保等優點，此外這些源自微生物的硫酸軟骨素可滿足素食者或哈拉族群所需，因此開發具生產硫酸軟骨素的潛力菌株極具市場價值。本技術之硫酸軟骨素生產菌為 GRAS 微生物，菌株經初步之細胞實驗證實具有促進軟骨細胞增生、增加細胞外間質產生等活性，極具開發關節保健產品之價值。此外本技術尚包括硫酸軟骨素含量分析技術、硫酸軟骨素類型分析技術，可協助業者評估自有產品之硫酸軟骨素含量及類型，以區隔自家產品與他人之差異，有助於業者產品之市場定位，開發具競爭力之硫酸軟骨素產品。

四、技術規格

1. 潛力菌株 1 株，其硫酸軟骨素產量達 1000 mg/L 以上。
2. 硫酸軟骨素含量分析方法 1 套。
3. 軟骨素單體結構分析方法 1 套。
4. 關節軟骨保健體外活性評估技術 1 套。

五、參考文獻

- Buckwalter, J. A., Roughley, P. J. and Rosenberg, L. C. 1994. Age-related changes in cartilage proteoglycans: quantitative electron microscopic studies. *Microsc. Res. Tech.* 28:398-408.
- Hickery, M. S., Bayliss, M. T., Dudhia, J., Lewthwaite, J. C., Edwards, J. C. and Pitsillides, A. A. 2003. Age-related changes in the response of human articular cartilage to IL-1 α and transforming growth factor-beta (TGF-beta): chondrocytes exhibit a diminished sensitivity to TGF-beta. *J. Biol. Chem.*

278:53063-53071.

Hochberg, M., Chevalier, X., Henrotin, Y., Hunter, D.J. and Uebelhart, D. 2012. Symptom and structure modification in osteoarthritis with pharmaceutical-grade chondroitin sulfate: what's the evidence? *Curr. Med. Res. Opin.* 27:1-35.

Hochberg, M.C., Martel-Pelletier, J., Monfort, J., Möller, I., Castillo, J.R., Arden, N., Berenbaum, F., Blanco, F.J., Conaghan, P.G., Doménech, G., Henrotin, Y., Pap, T., Richette, P., Sawitzke, A., du Souich, P., Pelletier, J.P. 2015. Combined chondroitin sulfate and glucosamine for painful knee osteoarthritis: a multicentre, randomised, double-blind, non-inferiority trial versus celecoxib. *Ann Rheum Dis* 2015:1-8.

Mourao, P. A. 1988. Distribution of chondroitin 4-sulfate and chondroitin 6-sulfate in human articular and growth cartilage. *Arthritis. Rheum.* 31:1028-1033.

Nieduszynski, I. A., Huckerby, T. N., Dickenson, J. M., Brown, G. M., Tai, G. H. and Morris, H. G. 1990. There are two major types of skeletal keratan sulphates. *Biochem. J.* 271:243-245.

van der Kraana, P.M., Bumab, P., van Kuppevelt, T., van Den Berga. W.B., 2002. Interaction of chondrocytes, extracellular matrix and growth factors: relevance for articular cartilage tissue engineering. *Osteoarthritis and Cartilage* 10(8): 631-637.

利用食用菌生產微量營養素之產品開發技術

生資中心 / 副研究員
鄭傑仁

一、前言

食用菌具食用歷史，安全性高，如以乳酸菌或麴菌等食用菌作為增加食品中微量營養素之加工手段，不僅安全，更能貼近消費者的天然訴求。同時，菌株已有食用歷史，法規限制低，可應用範圍廣泛，因此利用此技術能創造更加多元的產品。

微量營養素—維生素 B (B group-vitamins)，是一群水溶性的有機分子，其生理作用為參與及促進人體體內多項生化反應，並在其中扮演著輔酶 (co-enzyme) 的角色。人體無法自行合成這些化合物，僅能從飲食中獲得，經吸收轉化後可供人體所利用。動物性來源者如乳品、肉、內臟、蛋類等，可提供部分維生素 B，或者植物性如某些蔬菜中攝取其他類型。從攝食而來的維生素 B，能提供給人體內各項反應使其運行正常，並使組織或器官發揮較佳的功能狀態，達到身體機能的平衡，如啟動免疫反應、代謝碳水化合物、脂肪、蛋白質，製造紅血球，執行氧化 / 還原作用，協助神經系統與肌肉運作功能等。此外，水溶性的維生素 B 容易在烹調中遇熱破壞，超量攝取也會經由尿液排泄，不易存留體內。倘若三餐外食，及壓力熬夜等不正常生活習慣，消耗掉大量的維生素 B，再加上膳食營養不均衡、吸收效率低等，就易導致

維生素 B 缺乏，容易引起疾病。因此使得現代人必須額外補充維生素 B，不可輕忽。

現代人普遍需要額外補充維生素，而不同族群的需求也有差異。若缺乏維生素 B 容易出現全身倦怠、虛弱、體力不支，會影響代謝、抗氧化能力及造血和神經系統，可能帶來腸胃不適、舌炎及貧血等症狀。維生素 B 在人體內多扮演輔酶的角色，參與了人體細胞內多項生化反應，是人體重要的微量成分。且其參與細胞內 DNA 的合成，對動物體生長及與紅血球之成熟有著極重要的關係。維生素 B 群缺乏症是一種常見的營養缺乏症，出現於全球地區，如缺乏葉酸、B12 者會腸胃不適、舌炎、貧血等症狀，其中對於造血和神經系統之影響最大。成人可能會發生巨細胞型貧血，在孕婦則會造成胎兒神經管缺損。根據歷次「國民營養健康狀況變遷調查」報告資料顯示，各年齡層的國人普遍對於維生素 B 的攝取情況不理想，加上青壯年飲食習慣的西式化，成人對於穀類及深色蔬菜吃的少；或是採以素食飲食習慣的銀髮族或素食者，長期缺乏動物性食品來源，容易忽略特定種類的維生素 B 攝食。國內年輕人、育齡婦女、懷孕婦女對 B1、B2 攝取不足，營養不均，易導致神經炎、心血管與消化系統障礙等疾病，影響健康。其次，國內高齡者普遍對

B6、B12 或葉酸的補充不足。B12、葉酸及 B6 能排除同半胱氨酸 (homocysteine) 的累積，然而不易從食物中攝取到足夠建議攝取量 (RDA)，使得血漿中累積的同半胱氨酸偏高，易引起血管梗塞，提高心臟病的罹患風險。

本技術主要透過探索食用微生物的生產潛力，以及利用發酵技術進行農產素材的加值來開發微生物來源之微量營養素，如含有維生素 B 的發酵食品。

二、技術簡介

食品研究所生物資源保存及研究中心 (BCRC)，多年來自泡菜、醬菜、豆腐乳、肉品等傳統發酵食材，或自植物樣品中，分離獲得出多樣化食用微生物資源，並建立菌株庫，作為探索生產微量營養素的微生物來源。本技術建立了篩選平台以及分析方法，從食用菌中篩選出具生產微量營養素能力者，例如維生素 B 或其他營養素等，使用的食用菌，包含乳酸菌、麴菌等。此篩選平台藉由 MALDI-TOF Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) 快速鑑別微生物庫中的菌株，加以分群。其次，使用維生素 B 之篩選培養基進行篩選，以微生物法評估菌株之合成能力。更進一步建立微生物分析法，或以 HPLC 法分析由菌株來的維生素 B 分泌量及生產形式。目前已篩選超過約 300 株菌，探索分析這些食用微生物，已有可食用乳酸菌能合成維生素 B，具有開發新產品的潛力；而將麴菌搭配農產素材進行發酵，則可提升整體發酵素材之維生素 B 含量。

三、潛在用途

目前已探索並挑選出數株潛

力食用菌，初步評估具有生產潛力。這些菌株可供各類發酵食品或保健食品開發使用。此外，本技術亦可協助業界，依挑選菌株之代謝特性搭配臺灣農產素材，並配合發酵調控技術，開發天然含微量營養素之產品。可達產品精緻化、加值農產素材之目標。

四、技術規格

本技術已建立相關研發能量及菌株資料庫，可供產業界作為

客製化的服務平台：

1. 微量營養素生產篩選平台，能探索不同微生物生產微量營養素之能力。
2. 潛力食用菌株資料庫，包含乳酸菌、麴菌等。
3. 已獲得具生產微量營養素能力之食用潛力菌數株。
4. 利用食用菌進行農產素材之生物轉化作用，以提升素材中維生素 B 之含量。

蟬花發酵技術

生資中心 / 研究員
黃學聰

一、前言

蟬花 (Cicadae flower) 顧名思義寄生感染於半翅目蟬科幼蟲，待利用幼蟲養分生長菌絲後，由死亡後幼蟲頭部形成花序狀真菌繁殖構造稱之為蟬花。廣義蟬花有許多種類包括小蟬花 (Ophiocordyceps sobolifera)、大蟬花 (Cordyceps cicadae) 及蟬生蟲草 (O. cicadicola) 等，然而，中國大陸學者則認為蟬花為無性型的 *Isaria cicadae*。關於蟬花的名稱與學名等爭議或許尚待科學研究做更進一步釐清，然而就蟬花的應用卻可推估早在 1,500 年前，公元五世紀中國南北朝時期雷斅在雷公炮炙論已有記載，中醫典籍記載蟬花，味甘寒、可治驚癇、夜啼心悸、可明目、治眼疾；此外，蟬花還具有改善腎功能、改善睡眠及抗疲勞等療效。中醫臨床研究顯示，蟬花主要有明目及固腎效果，可治療目赤腫痛、目赤流淚、退翳障，是珍貴的治療

眼疾之用藥；此外在延緩腎衰竭的臨床實驗，對於腎小管功能不全之病患，經蟬花治療後腎小管具有明顯改善效果。蟬花具有許多機能性成分，這些機能性成分也有其功效訴求：1. 核苷類 (腺苷及蟲草素等)，腺苷為生物體內能量代謝主要成分組成 (ATP)，其亦可調控中樞神經系統，擴張周邊血管調整血壓。2. 蟲草酸 (甘露醇)，具有提高血漿滲透壓，抗氧化等作用。3. 多球殼菌素 (myriocin)，其重要的化學修飾衍生物為 Fingolimod (FTY720)，為器官移植與多發性硬化症等自體免疫疾病之重要用藥。4. 麥角固醇類 (ergosterol)，為維生素 D 之前趨物，其具有抗發炎、抗病毒及抑制腫瘤生長等功效。5. 環肽化合物，白僵菌素等化合物，為血小板凝集抑制劑，臨床上具有抗腫瘤鎮靜等效果。6. 多醣，多醣為蟬花中另一類具有抗腫瘤、抗病毒及調節免疫等功效之活性物質，深具開發應用的潛力。

蟲草多醣為一龐大且複雜的結構化合物，蟲草多醣本存在於細胞壁與細胞質間組織架構物質，不同蟲草種類與不同的基質供給會有不同的多醣組成比例，不同的萃取方式亦會萃出不同組織結構。研究顯示不同的多醣成分與結構會影響其生物活性功能，且這些異構多醣為蟲草的主要活性成分，有許多關於蟲草多醣的生理活性功能研究結果，綜合文獻研究其功效主要包括下列9項：1. 腎臟保護功能、2. 免疫調節、3. 抗癌、4. 抗氧化、5. 保護肝臟、6. 降血糖功能、7. 延緩老化、8. 抗疲勞及9. 抗突變等。在中國傳統中醫應用蟲草即有保護腎臟之功用，學者萃取冬蟲夏草多醣 CPS2，進行小鼠試驗測試，研究結果顯示受損的腎臟有明顯恢復功能。此外更有研究針對萃取冬蟲夏草多醣 CPS1 等進行試驗，針對 gentamicin 以及 adenine 所誘導大鼠腎臟功能失調，結果顯示蟲草多醣的治療均有助於受損傷的腎臟恢復其機能。進一步研究針對萃取蟲草多醣 CP 進行以冷凍誘導大鼠腎臟誘發功能失調試驗，研究顯示經 CP 多醣治療後，血液中 BUN、SCr、Na 離子與 MAD 值有明顯降低，同時血液中 ALB 與 T-SOD 值明顯回升，顯示蟲草多醣治療具有顯著恢復腎臟功能。研究指出蟲草多醣對於抗癌有其功效，針對以不同的癌症鼠進行研究，對於 ICR/JCL 腫瘤小鼠、肝癌 H22 tumor-bearing 小鼠以及黑色素瘤 B16 melanoma tumor-bearing 小鼠進行試驗，研究顯示蟲草多醣具有抑制腫瘤細胞生長、減緩腫瘤細胞擴散、並誘發腫瘤細胞自身凋亡等抑癌效果，此外學者亦於蟬花中分離出半乳甘露聚

糖，實驗以 20mg/kg 劑量測試，結果顯示對小鼠 S-180 肉瘤抑制率為 47%。蟲草多醣對於免疫調節與抗氧化之功能相關研究甚多，多數萃取多醣均顯示具有抗氧化或免疫調節的功效。研究顯示蟲草多醣具有保護脂質、多醣甚至低密度脂蛋白 low-density lipoprotein (LDL) 對抗氧化壓力。進一步，蟲草多醣具有很強的清除自由基能力，包括 DPPH、氫氧自由基及超氧陰離子等的清除能力，研究亦顯示蟲草多醣具有很強還原能力以及螯合亞鐵離子能力，此外蟲草多醣亦具有抑制亞麻油酸氧化能力，研究亦顯示純化後的蟲草多醣對於抗氧化能力可提高 10-30 倍。進一步研究顯示蟲草多醣有助於提升肝臟、腦部與血清中 SOD 與 glutathione peroxidase (GSH-Px) 的活性，並顯著降低 MDA 的值。若以萃取蟬花多醣進行小鼠淋巴轉化試驗、巨噬細胞吞噬試驗等，試驗結果顯示蟬花多醣具有明顯提升免疫能力之作用。

二、技術簡介

本所生物資源保存及研究中心，由蒐集之本土蟬花菌株資源，進行具有開發潛力之菌株篩選，以多醣為初步篩選指標，進行菌

株突變篩選出高量多醣潛力菌株，並進行多醣分離純化方法建立。利用傳統突變、培養基設計及發酵技術，進行小蟬花多醣機能性配料提升。此外，本所亦對其他蟬花進行篩選開發，目前已建立固態栽培蟬花子實體技術。

三、潛在用途

文獻記載蟬花多醣在調節免疫及提高肝、腎、脾的免疫功能，進一步更可達到抗衰老的功效。此外，大蟬花被中國大陸認為可食用菇類，本所已有潛力菌株與完整栽培技術，因此不論發展為新穎性保健配料或作為傳統的蟲草入藥膳均有極大的開發潛力。

四、技術規格

本技術已開始建立蟬花新穎性產品相關開發技術，並已完成下列技術建立：

1. 已初步篩選具有生產蟬花多醣潛力菌株 4 株。
2. 經突變後蟬花多醣產量提升 20%，菌絲體胞內多醣含量可達 23 mg/ g 以上。篩選具有生產潛力的大蟬花菌株 2 株。
3. 開發大蟬花固態栽培技術，目前已建立大蟬花培育技術（如下圖）。



圖 1、大蟬花進行固態栽培技術

利用菇菌生產天然類雌激素成分之技術

生資中心 / 副研究員
吳淑芬

一、前言

雌激素參與了許多人體體內的生理作用，是人體極重要的荷爾蒙。雖然可以協助調節女性生理機能，若長時間暴露在旺盛的雌激素刺激下，乳房及子宮等具有雌激素受體 (estrogen receptor, ER) 的器官，可能會因此引發副作用，甚至產生癌症病變。這意味著因更年期不適或骨質疏鬆等各種因素，需長期接受雌激素治療的女性，可能因此暴露在罹患癌症的高風險之下。

人體中的 ER 受體主要有 ER α 及 ER β 兩種亞型，此兩種亞型廣泛地表現在不同的組織中，且其表達的分布模式亦有顯著差異。ER α 受體常見於子宮內膜、乳腺癌細胞、卵巢間質細胞和丘腦；而 ER β 受體則分布在腦、腎、骨骼、心臟、腸黏膜、肺部上皮細胞、前列腺細胞等處。由於雌激素對這兩種雌激素受體的親和力都很強，過去在使用雌激素治療相關疾病，如緩解更年期症狀、更年期後的骨質疏鬆等疾病時，雖可以明顯地改善患者不適，卻也同時增加罹患乳癌與子宮頸癌的風險。由於雌激素受體在不同組織中造成差異化的表現，表現量亦隨細胞、組織而有所不同。因此，若能開發特定的類雌激素成分 (estrogen-like compound)，使其可以區別 ER α 、ER β ，且與兩種受體亞型

有不同的結合能力，則可以達到改善患者不適症狀，卻不會有引發副作用的疑慮。

選擇性雌激素受體調節劑 (Selective Estrogen Receptor Modulator, SERMs) 是一種作用於 ER 受體的藥物，目前常見應用在乳癌的治療，以及骨質疏鬆之臨床治療。諾瓦得士錠 (Tamoxifen, Nolvadex®)，鈣穩 (Raloxifene, Evista®) 即為 SERMs 類藥物，目前已獲得 FDA 批准實際應用於停經後婦女預防及治療骨質疏鬆。在骨骼中所表現的 ER 受體以 ER β 為主，因此，SERMs 類藥物可透過高選擇性對於 ER β 產生較強結合活性，進而改善骨質疏鬆症狀。

骨質疏鬆症為全球僅次於心血管疾病的第二大重大疾病，在美國每年大約有 2 千萬人受骨質疏鬆症所影響，其中 130 萬人曾因此造成骨折，而在台灣的骨折發生率更居全亞洲第一。根據骨質密度檢測結果發現，全台近 700 萬人口有骨質疏鬆的問題，高達近半數的民眾骨質密度不足，顯示台灣國民骨質疏鬆的問題正逐年攀升。目前多家藥廠公司所提出與類雌激素或骨質疏鬆症治療相關的專利申請案，雖大都著眼於醫藥組合物之應用，其顯示在類雌激素或骨質疏鬆症治療等市場，極具有開發其保健應用商品的價值。紐西蘭大型乳品業公司也提出了以食品用途之專

利申請，足見類雌激素產品除可當藥品用外，在食品方面的保健開發也備受矚目。藉由類雌激素物質改善婦女更年期症狀、預防骨質疏鬆、降低罹患乳腺癌及心臟病的風險，對於雌激素低下的症狀提供改善效果，可作為預防或緩解更年期症狀的保健品或醫藥品之開發標的。

本技術主要透過 SERMs 篩選平台結合對 ER α 及 ER β 區別的分析技術，探索食用菇菌生產類雌激素產物的潛力，並利用發酵技術來開發類雌激素相關的保健產品。

二、技術簡介

現有常使用的類雌激素相關產品其來源成分多屬化學合成。本技術整合類雌激素與荷爾蒙調節相關的研發成果，從本土菌種 (菇菌、特殊菌種)，及從富含異黃酮等植物雌激素的穀豆類中著手，透過不同受體之 SERMs 平台篩選具生產活性物質之潛力菌株，探索可與雌激素受體結合的成分物質，發展由天然來源之類雌激素保健原料的潛力，並將類雌激素概念導入應用於骨質保健食品開發上。已完成類雌激素生產菌株的菌種鑑定，培養基優化與菌株培養之生產製程技術建立。

三、潛在用途

類雌激素產品的產業應用範圍極廣，凡與雌激素相關之症狀，如改善更年期症狀、預防骨質疏鬆等。本技術生產之類雌激素成分對 ER 結合活性高，可替代雌激素應用於保健及醫藥產品。現階段國內市場雌激素相關醫藥保健品產值高達 30 億元以上，以天然來源之類雌激素成分作為產品

開發標的，具有極佳的未來應用性及開拓新興市場的潛力。

4. 技術規格

本技術平台已建立之技術內容，包括：

1. 高 ER 促進活性類雌激素成分生產之食用菇菌。
2. 利用特殊菌種進行穀豆類的生物轉化，可提高其類雌激素的

活性。

3. 已建立試驗工廠級發酵槽生產技術，可作為未來大量生產之基礎，協助業者建立工業化生產製程。
4. ER α 及 ER β 兩種亞型之 ER 活性細胞分析平台與菌株篩選平台，可提供學界、研發單位及業界作為研究或產品開發之使用。

5. 利用生物資訊手段分析類雌激素之化學結構，透過電腦輔助模擬技術，計算 ER α 及 ER β 與類雌激素間的作用模式，可提供產學研各界作為研究或產品開發之用。
6. 樣品誘導成骨分化能力之細胞株模式評估平台。

含功能蛋白之多重乳化系統粉粒化技術

生資中心 / 副研究員
徐葭蓁

一、前言

蛋白質是由胺基酸經由肽鍵連接而成的大分子，在生物系統中扮演重要的腳色，過去在營養學的觀念認為蛋白質主要提供人體必需胺基酸，並且測量食物中粗蛋白的含量而不考慮蛋白質的結構完整性，認為經過胃酸以及酵素的消化後，蛋白質會在腸道被分解成胺基酸，接著被人體吸收後再合成蛋白質。然而，越來越多的證據顯示蛋白質具有許多生理活性，這些蛋白質被視為功能蛋白 (Functional proteins)，一般由飲食中獲得，例如：免疫球蛋白 G、乳鐵蛋白、鳳梨酵素，這些功能蛋白的性質和蛋白質結構以及其他物化性質相關，當蛋白質立體結構被破壞時則無法維持其原始活性，成為失活狀態，蛋白質的失活和許多因素相關，包含：熱、壓力、界面張力、pH 值、消化酵素等，透過適當配方技術，將功能蛋白進行產品加

值，將可有效延長功能蛋白之穩定性。

食品所生物資源中心過去在包埋機能性成分之配方技術累積多年能量，針對不同標的物開發一系列之新穎性配方技術，以建立一整合型配方技術平台。目前已開發技術包含：微乳化技術、固態脂質奈米顆粒技術、奈米結構脂質載體技術、膠質載體微膠囊技術、複方膠質載體技術、遮味與香味包埋技術，產品設計第一步為針對機能性成分進行技術

需求評估，例如：需要將機能性成分隔離保護不受環境因素破壞、提高產品穩定性延長貨架期、導入遮味配方提高產品適口性等，接著配合水溶性和油溶性成分特性以及產品型態篩選適當技術，進行客製化製程設計，最後評估產品穩定性以及機能性成分安定性，完成產品開發。

食品所開發多重乳化系統是 W/O 型和 O/W 型共存的系統，依照分散相和連續相的性質可分為 W/O/W 型和 O/W/O 型，W/O/W 型乳液分散油滴的連續相為外水相，油滴內的分散相為內水相，又稱為水包油包水型多重乳液，其應用範圍較廣，是本中心目前研發之重點，由於兩層界面活性劑薄膜包圍油相造成空間上的區隔，多重乳化可以同時作為親水性和疏水性機能性物質的載體，

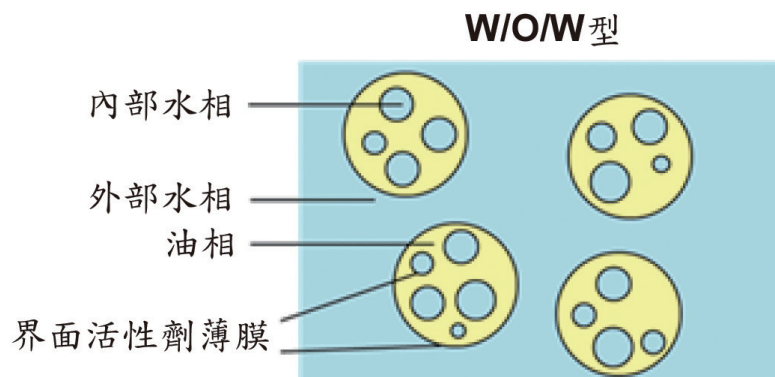


圖 1、多重乳化系統示意圖

防止機能性成分受到外在環境中物理、化學因子的影響，以及避免機能性成分間的交互作用，提供隔離保護的效果，而由於多層膜的系統，和一般乳液相比，內水相物質需通過兩個界面傳遞至外水相，具有延緩釋放的效果。另外，食品中導入多重乳化系統以內水相取代油相，在保留原始油滴表面積大小的情況下，能夠減少油脂攝取量。本技術以乳鐵蛋白 (Lactoferrin) 為做為功能蛋白標的，乳鐵蛋白是食品添加物第 (八) 類營養添加劑，可作為胺基酸以及鐵的營養補充來源，另一方面，具有抗微生物、抗發炎、抗癌和免疫調節等多種生理活性，具有產品開發價值。

二、技術簡介

為強化配方技術平台完整性，持續進行新穎性配方技術開發，103 年建立「包埋機能性物質之多重乳化技術」，開發液態多重乳化系統，液態多重乳化系統可以應用於機能性飲品的開發，具有食用的方便性，104 年延續過往研發能量，導入功能蛋白為標的以多重乳化系統包覆，使用二步法製備多重乳液，先將含有乳鐵蛋白的內水相在剪切條件下分散於含有親油性界面活性

劑的油相，得到初級 W/O 型乳液後，再將初級乳液於較弱剪切條件下分散於含有親水性界面活性劑的水相，完成液態多重乳化系統後，搭配賦形劑配方設計以及乾燥製程探討，完成「含功能蛋白之多重乳化系統粉粒化技術」之建立。

三、潛在用途

隨著生活水平的提高，如何從食品中獲得額外的保健功能逐漸被重視，功能蛋白要在人體發揮功效避免受到消化道環境的破壞，必需透過適當之包埋配方技術保護。根據 MarketsandMarkets 報告預測，全球食品包埋配方技術市場預估 2015 年起年均複合成長率為 6.1%，於 2020 年達 395 億美元，顯示新穎性包埋配方技術之開發有其利基。多重乳化系統具有多相系統、隔離保護作用以及延緩釋放等特性，透過多重乳化配方技術的建立，可應用於食品原料以及保健食品的產品開發，目前試製產品為含有乳鐵蛋白之液態保健飲品，以及含有乳鐵蛋白之粉態機能性原料。

四、技術規格

1. 可食用系統

針對親水性功能蛋白進行多

重乳化系統之開發，利用二步法製備多重乳液，篩選食品可使用之界面活性劑與油，調整油、水、界面活性劑之配方組成，建立應用於食品的乳鐵蛋白包埋技術。

2. 最適化製程與配方設計

以正交試驗法進行多重乳化配方設計，探討內水相離子濃度、油相界面活性劑濃度與外水相界面活性劑濃度，並分析其穩定性，得到最佳配方比例，液態多重乳液系統產品，乳鐵蛋白包埋率達 80%，放置一個月穩定性佳，分層率為 4.1%。

3. 賦形劑設計與乾燥參數評估

選擇適當醣類或是蛋白質作為賦形劑，提高多重乳化產品系統穩定度，並評估噴霧乾燥製程參數對於粉粒化之影響，提高噴霧乾燥粉體之回收率，含有乳鐵蛋白之多重乳化粉體回收率達 68%。

4. 多元產品型態

同時發展多重乳化系統以及粉粒化製程，開發液體與粉體產品型態，液體型態可應用於飲品，粉體型態便於儲藏與運輸，可應用於原料加值開發。

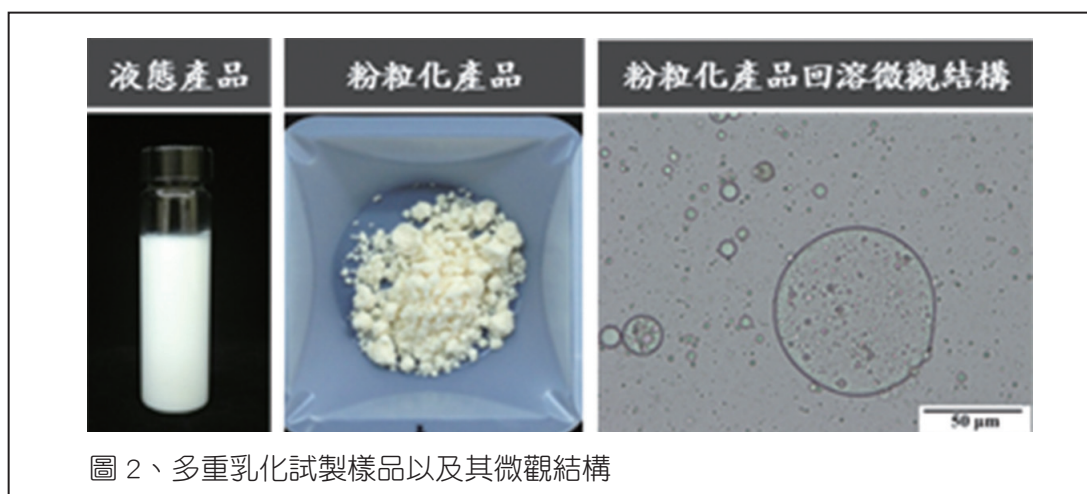


圖 2、多重乳化試製樣品以及其微觀結構

保健功效用菌蛋白質指紋圖譜資料庫

生資中心 / 研究員
黃建勳 / 黃麗娜

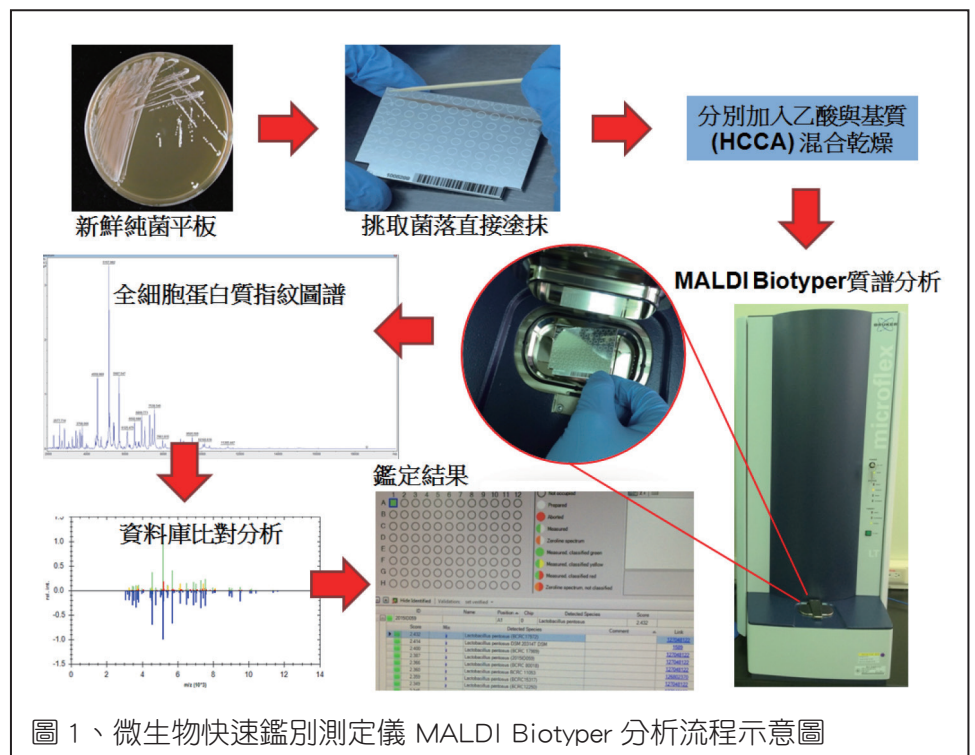
一、前言

微生物一直為機能性保健配料的主要使用原料來源，相關的發酵生產產業也十分蓬勃發展，以乳酸菌為例：根據 MarketsandMarkets 的研究指出，2013 年全球益生菌產品市場規模約 281 億美元，其中亞太市場佔全球市場比重約四成。而受健康飲食和人口老齡化的影響，消費者對機能食品飲料的需求不斷增加，益生菌市場持續看好，預估至 2019 年全球益生菌市場成長率仍有近 7%。常見的市售保健食品微生物為乳酸菌 (*Lactobacillus* spp.)、紅麴 (*Monascus* spp.) 與靈芝 (*Ganoderma* spp.) 等，分別具有整腸健胃、免疫調節、降血壓、血糖和膽固醇、保肝等，其他如醋酸菌 (*Acetobacter* spp.)、釀酒酵母菌 (*Saccharomyces* spp.) 和黑酵母 (*Aureobasidium* spp.) 亦具有特定之保健功效。

菌種鑑定科技為確認微生物身分的關鍵技術，其攸關產品價值之評估，並可提供作為產品安全性以及相關法規符合性要求之佐證。現行菌種鑑定是採取多相分類學概念 (polyphasic taxonomy)，即結合型態學、生理生化特性與分子生物學數據加以判定，雖具備技術多樣性，但卻無法同時兼顧分析速度與準確度，則影響微生物品管及菌種開發時效，因此生物科技產業對於菌

種鑑定的正確性及時效性之提昇需求殷切。利用基質輔助雷射脫附游離飛行時間式質譜儀 (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight, MALDI-TOF MS) 進行微生物蛋白質指紋分析，是近年發展的新興菌種鑑定技術；藉由測定菌株全細胞的蛋白質指紋圖譜，並與資料庫中已知菌種身分的質譜訊號比對，從而對未知菌種進行學名鑑定（操作流程簡示如圖 1）。一般而言，使用直接塗抹法 (direct-smear) 進行樣本處理，每個樣品盤放置 96 個樣品點，約在 2 小時內可完成所有分析，相較於市售的微生物鑑定套組 (API) 與微生物鑑定系統 (BIOLOG、VITEK 2、MIDI)，在操作上更為簡便且

能節省試劑成本，因此非常適用於大量樣品之初步快速分群鑑別分析。基於此技術具有分析時間短、成本低、解析度佳、高通量及可自行擴建質譜指紋比對資料庫等優點，目前已廣被國際知名菌種中心 (如美國 ATCC、德國 DSM、日本 NBRC、荷蘭 CBS 等) 運用於微生物複核品管、分類鑑定和大量菌株的快速篩選鑑別等，故利用蛋白質質譜指紋分析已漸成為國際趨勢，將可作為微生物快速鑑別之利器。食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心積極接續國際趨勢發展，於 103 年引進由德國 Bruker Daltonics 公司所開發的 MALDI Biotyper 微生物鑑定系統，目前儀器內建菌種資料庫含有 5627 株微生物蛋白質指紋資料 (涵蓋 380 菌屬及 2290 菌種別)，其中主要以臨床微生物居多，此平台已獲得歐盟、美國 FDA 及台灣 TFDA 體外診斷醫療器材 (IVD) 之驗證，可用於臨床病原菌之快速檢測。然而，相較於完備的臨



床微生物比對資料庫，有關產業用菌株資料部分則尚未齊備，有待加強。因此，本所生資中心將特別針對重要食品及生技產業用菌，如保健功效、品管監控、酵素生產與綠能環保等用途，建立相關參考菌株標準蛋白質質譜指紋資料庫，透過加強產業用微生物蛋白質指紋資料庫之建置與方法驗證，本中心已於 105 年新增細菌快速鑑別服務，其可應用在益生菌產品之成分菌快速鑑別及計數、生產製程中微生物品管、食品汙染病原菌檢測及生技製藥廠環境微生物監控等領域。

二、技術簡介

運用新興菌種鑑定技術，以基質輔助雷射脫附游離飛行時間式質譜儀進行微生物全細胞蛋白質質譜指紋分析，並建立保健功效用菌之標準菌株及重要本土分離株之標準蛋白質指紋圖譜資料庫，可擴充 MALDI Biotyper 微生物鑑定系統比對資料庫之多樣

表 1、BCRC 自建保健功效用菌蛋白質指紋圖譜資料庫

菌種類別	菌屬名稱	菌種數	菌株數
乳酸菌	<i>Lactobacillus</i>	51	51
醋酸菌	<i>Acetobacter</i>	23	23
釀酒酵母菌	<i>Saccharomyces</i>	8	58
紅麴菌	<i>Monascus</i>	8	27
黑酵母	<i>Aureobasidium</i>	6	28
靈芝菇菌	<i>Ganoderma</i>	15	50
總計		101	237

性，以供快速比對鑑別未知菌株之學名。

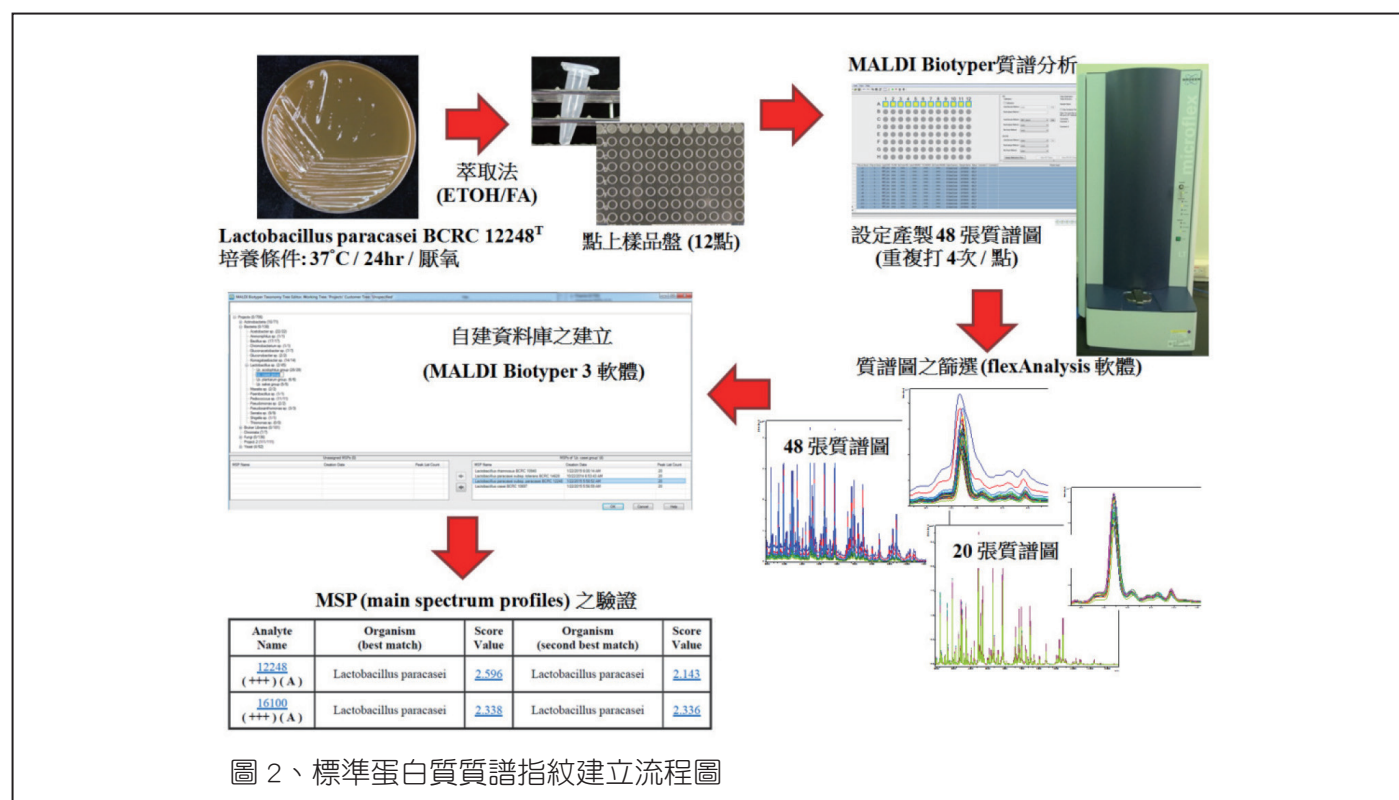
三、潛在用途

菌株專屬 MALDI-TOF 蛋白質質譜圖譜，做為菌種身分鑑別之蛋白質指紋條碼，可運用於複合益生菌產品之成分菌株鑑別與計數，及生產菌株品管與追蹤追溯，確立品質穩定性與優質品保，有效解決產業界對菌種鑑定正確性及時效性的需求，輔助製程品

保之確效追蹤，提升產品研發時程。

4. 技術規格

自建保健功效用菌蛋白質指紋圖譜資料庫，包含乳酸菌、醋酸菌、釀酒酵母菌，以及紅麴菌、黑色酵母及靈芝菇菌等，共計 237 株 (表 1)。標準蛋白質質譜指紋 (main spectrum profile, MSP) 建立流程如圖 2 所示。



知識分享角落—漁業追溯系統

生資中心

生物資訊單元責任編輯

漁業相關追溯系統，整體概念起源於約 15 年前。隨著國際貿易市場的複雜度與日俱增，消費者食品安全意識抬頭，管理者在保護人民食品安全的前提下，歐盟意識到整體食物的安全風險管理，需自食品原料的源頭開始追溯，涵蓋整個製造供應鏈，直到尾端消費者手中，也就是所謂的【從農場到餐桌】的概念。一個產品的來源物種，產地，養殖過程，加工狀態，倉儲運輸環境條件等等資訊，均要求要公開透明。

雖然現在 HACCP 的概念在食品業中非常普及，但此系統主要是以安全風險控管為主，但追溯系統所包含的，則不僅是安全風險控管，還包括了更前端的原料來源狀態，以及產品出廠後運送上架貯存的風險管理，以及必要時的召回計畫，更有效的為業主保障了自己的品牌的聲譽。追溯系統還可再分為內部追溯系統，以及外部（產業鏈）追溯系統。內部追溯系統的核心就是 HACCP，但在擴及到該廠除製程之外的原料管理以及後端倉儲運輸上架回收等整個流程；而外部追溯系統，則是包含了整個產業鏈上中下游之間的環節，從原料物種來源等到消費者手中的全部記錄。

漁業中的追溯系統，是從漁船上開始。現在台灣已利用【漁船監控系統 (Vessel Monitoring System; VMS)¹】² 以及全球衛星

即時定位系統，全程監控遠洋漁船的作業狀況。境內養殖產業，如石斑魚場，也因應國際貿易市場國要求，進行養殖場登錄制度³。農委會亦於 2016 年 3 月 31 日公告【臺灣水產品生產追溯管理作業規範】⁴，強化生產者之產品自主管理責任，即日起生效。然而歐盟執委會（European Commission）於 2015 年 10 月 1 日依據其於 2008 年制定之第 1005/2008 號「防止、遏止及消除非法、未報告、不受規範漁業」規範，因我方無法履行國際法所要求之船旗國、港口國、沿海國或市場國責任，採取適當行動防止、制止及消除 IUU 捕魚行為，宣布將我國列為打擊「非法、未報告、不受規範 (Illegal, Unreported, Unregulated, IUU) 漁業」不合作第三國警告名單（黃牌名單）。為此，漁業署也於當日便發布新聞稿，進行回覆溝通，以其我國能如同韓國一般，盡速從名單中刪除⁵。

東南亞國家聯盟 (ASEAN) 於 2016 年 3 月也發表一份漁業及魚類產品追溯相關的文件⁶，因 ASEAN 多國均被歐盟列為 IUU 警告名單，但其中提到多國實際現況以及要符合歐盟規範所面臨的到一些困難，其中【對追溯系統重要性的普遍認知】是我方與 ASEAN 共通的問題。但我國的優勢在於我們資源與技術面上以及法規面與歐盟的差距較小，在未來的推行上是較為有利的。

Food authenticity 是指一種查驗食品真實性的技術，可以確保消費者所買到的產品身分符合包裝上所標示的。目前這種查驗技術所用查驗標的 (marker) 可分為物理性、化學性、生物性等三類。在物理性和化學性檢測方面，依據食品所檢驗中心主任傅偉光資深研究員於科技報導所發表的“食品安全風險溝通與摻假鑑別”文章中指出，目前常見的檢測技術有光譜法 (Spectroscopy)、層析法 (Chromatography)、同位素分析法 (Isotopic analysis)、電子鼻法 (Electronic nose)、酵素免疫分析法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 及化學統計法 (Chemometric techniques) 等。其中光譜法又涵蓋核磁共振光譜法 (NMR)、紅外線光譜法 (IR) 及拉曼 (Raman) 光譜法等，其原理大多是利用光譜分析技術對於物質組成分子數目與結構的解析，來作為食物本質的比對與判斷。目前中國大陸已對外宣稱，可藉由近紅外線 (NIR) 光譜法來測定基因改造玉米，基因改造可能造成植物纖維組織之改變，而其蛋白質與脂肪之含量無明顯改變，因此可用近紅外線光譜法檢測。同位素分析是屬於物理性檢測法，主要是應用氫 (H)、碳 (C)、氮 (N)、氧 (O) 等四個在生命物質中最常見的元素，由於這四個元素在自然界都有一對穩定存在的同位素如 $^2\text{H}/^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 及 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ，這四組穩定性同位素的比值 (Stable isotope ratio) 可用來追蹤產品的生產地⁷。

利用分子方法進行魚類食品之追溯應用

美國藥物食品管理局 (FDA)

運用 DNA 鑑定技術 (生物條碼) 進行海鮮類產品的產地來源及加工製造過程的來源追溯, 發展緣由是美國的海鮮多數來源是進口, 因此相當重視公共衛生安全的議題, 主要是因為摻偽、不符合標示及安全之議題, 最常見於魚類經過加工後會造成型態特徵辨識上的困難, 以低經濟價值魚種取代高經濟價值魚種之摻假情形以及包裝上標示不實之案例, 加上全世界共同發展生物條碼及其資料庫的建立, 而目前魚類生物條碼 (粒線體細胞色素 c 氧化酶 I, COI, 片段基因序列) 最為完整, 而利用魚的生物條碼來進行種的鑑定系統已經可以被接受。目前發展魚類 DNA 條碼標準化方法並進行方法確效, 發表在 AOAC (國際公定分析化學家協會) 的期刊中, 也獲得 AOAC 認可, 作為行政管理之依據⁸。

台灣食品藥物管理署運用現代分子生物遺傳學知識, 以 DNA 複製增幅技術 (PCR) 結合尖端分子生物檢測儀器, 開發魚種專一性 Real-time PCR 檢驗方法, 同時導入先進魚種粒線體 COI 基因生物條碼 (DNA Barcode) 分析技術, 藉由比對食品中魚類基因序列可快速鑑別魚類物種, 適用於檢測各種魚類原料及其加工製品, 檢測能力與美國食品藥品管理局 (US FDA) 同步⁹。

參考文獻

- ¹ 漁船監控系統 (VMS) <https://www.ofdc.org.tw/webs/list.aspx?main=27> (最後審閱日期: 2016/06/14)。
- ² 漁業署於 89 年首度實施赴西南大西洋作業之魷釣漁船、運搬船及在大西洋作業之鮪延繩釣漁船, 必須裝設漁船監控系統, 並規定漁船出海期間。該系統須全程維持開機狀態且須每天透過衛星, 將船位自動傳回對外漁協一次。
- ³ 因應國際貿易趨勢建立石斑魚養殖場登錄制度, 以拓展外銷市場 <http://www.fa.gov.tw/cht/NewsPaper/content.aspx?id=1328&chk=2444878d-d4f9-46a2-9cad-e6d67c228403¶m=pn%3d1%26yy%3d2016%26mm%3d> 發布日期: 2016-05-20 (最後審閱日期: 2016/06/14)
- ⁴ 中華民國 105 年 3 月 31 日行政院農業委員會農漁字第 1051346325A 號令訂定共 10 點, 並自即日生效。 <http://www.fa.gov.tw/cht/LawsRuleFisheries/content.aspx?id=533&chk=5c23c4a8-4be1-4ed8-ba50-1ce2b1dc790c¶m=> (最後審閱日期: 2016/06/14)。
- ⁵ 歐盟將我國列為打擊非法、未報告、不受規範 (IUU) 漁業不合作第三國警告名單, 漁業署將積極與歐盟溝通 發布日期: 2015-10-01 <http://www.fa.gov.tw/cht/NewsPaper/content.aspx?id=1247&chk=a710b607-68f2-43d8-b178-11efba33d8fa> (最後審閱日期: 2016/06/14)。
- ⁶ ASEAN, 02/03/2016, Traceability of fish and fishery products: capture fishery products https://www.google.com.tw/url?sa=t&ct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwj6zLvEyKbNAhXHXaYKHUyfBcoQFggaMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.seafdec.org%2Fdocuments%2Fsc16_wp10.pdf&usg=AFQjCNF_gCBTGgtYOsM5rE-mhdZiOJt3aQ&sig2=fZnZ9QjOY-ARY8vCLLSBRA (最後審閱日期: 0216/06/14)。
- ⁷ 傅偉光, 2015/01, 食品安全風險溝通與摻假鑑別, http://scitechreports.blogspot.tw/2015/04/blog-post_8.html (最後審閱日期: 2016/06/14)。
- ⁸ DNA-based Seafood Identification <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/dnaseafoodidentification/default.htm#r3> (最後審閱日期: 2016/06/14)。
- ⁹ 食藥署食品檢驗技術再升級 - 研發魚類物種分子生物鑑別新技術, 強化市售魚類製品標示之符合性【發布日期: 2016-01-29】(最後審閱日期: 2016/06/14)

生物資源保存及研究簡訊 第105期

發行者: 財團法人 食品工業發展研究所

發行人: 廖啟成所長

主編: 陳倩琪

編輯: 王俐婷、吳柏宏、許璦文、黃學聰

本著作權依補助契約歸屬財團法人 食品工業發展研究所

地址: 新竹市食品路 331 號

電話: (03)5223191-6

傳真: (03)5224171-2

承印: 國大打字行

電話: (03)5264220

ISSN: 1021-7932

GPN: 2009001214

中華郵政新竹誌字第0030號

交寄登記證登記為雜誌交寄

