BCRC News

技術研發應用



ISSN1021-7932

食品工業發展研究所

127

## 生物資源保存及研究簡訊 第34卷第3期

中華民國 110 年 9 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

### 本期内容

### 技術研發應用

- ◎ 肉香風味成份與呈現條件
- ◎ 羧酸還原酶在食品風味物質 生產的應用
- ◎酸麵團乳酸菌分離及應用技 衚
- ◎以乳酸菌菌酛進行熟成肉品 之開發
- ◎特色菌種及其相關技術之專 利授權及技術移轉
- ◎ 從乳酸菌到腸道微生物組

### 肉香風味成份與呈現條件

生資中心/副研究員 陳校禎

### 一、前言

植物基食品高速成長,帶 動周邊原物料如肉香料的需求成 長。味道是肉品的重要品質與感 官參數之一,具影響消費者對肉 製品的接受性及適口性。近年植 物肉 (plant based meat) 產業蓬勃 發展,然而消費者普遍認為現有 植物肉產品的口味平淡,仍有 改善的空間; 而與此相關的最 關鍵原料,即是肉類香料 (meat flavor)。肉類香料依來源可分為 天然肉香料和合成肉香料; 按風 味類型則可以分為牛肉、雞肉、 豬肉、魚和海鮮等;而依應用範 圍可分為應用於湯和醬汁、泡 麵、即食食品、調理食品及烘焙 食品的香料。隨著植物肉熱賣, 鹹式香料的需求市場亦大幅成 長, mordor intelligence 的調查資 料指出,全球鹹式肉類香料市場 超過10億美元,其中牛肉香料 約佔30%為最大宗。

由於植物肉產品的主成分豆 類蛋白質常帶有豆腥味。因此, 風味物質、香料的添加,對植物 肉的適口性表現極為重要,但國 內在植物肉產品中使用的肉類香 料,目前仍以進口為主。隨著植 物肉產業的快速成長,用以生產 植物肉的原料需求量也持續增 加,由於國內飲食習慣的不同, 造成豆類農產資源不足,在植物 基食品所需的大宗植物蛋白質生 產上,將無法與國外競爭。然而 台灣的植物肉生產加工技術極為 先進,因此若能搭配在關鍵原 料,如肉香料、調味劑等領域開 發技術仍具有競爭的機會,特別 是以國內相當成熟的發酵工業為 基礎,將有機會成為特殊肉類香 料供應的領先者。

### 二、熱加工產牛肉香味之作 用機制

肉類通過烹飪熱反應誘導形 成特徵肉香味,如表 1 所示。熱 反應促使肉類發生脂質氧化、梅 納反應 (Maillard reactions) 及維 生素降解產生揮發性風味成分, 同時, 脂質氧化與梅納反應產物 之間也會再次相互作用,產生其 他風味成分,這些因熱加工製程 產生的風味成分,導致熟肉具有 特殊性的香氣刺激 (Khan et al.,

表 1. 熱反應促使肉類形成特徵肉香味之轉化反應及風味化合物生成。

Flavor precursor	Thermal reactions	Flavoring compounds
Sugars, nucleotides, free amino acids, peptides	Maillard's reaction	CH <sub>3</sub> CHO NH CH <sub>3</sub>
		SH ON SH
Lipids, fatty acids	Oxidation	O CHO
		СНО
Thiamine	Degradation	S-S SH

2015)。在熟肉中揮發性的風味化合物中,觀察到具有多種化學結構,包括醛類、酸類、酮類、碳氫化合物、醇類、含氮化合物和含硫化合物。脂質來源所產生的揮發性物質被認為是肉類特定風味的主要因子,在反芻動物(如豬),除了脂肪酸含量明顯不同,同時反芻動物瘤胃中有許多微生物,藉此會進一步有微生物發酵產物,苯酚和硫化氫,這兩種化合物會再作用產生苯硫酚,使得反芻動物肉類產生具有特殊肉香風味。

目前可以知道脂肪酸及脂肪醛類是肉香味的關鍵化合物。脂

肪酸在特定肉類風味扮演重要作 用,其中磷脂(phospholipids)、 三酸甘油酯 (triacylglycerols) 組成 與特定揮發物的形成,具有密切 相關。不同動物的脂肪酸組成差 異,經過不同烹調的方式會導致 脂質氧化程度的差異,進而產生 不同的香味。因此透過烹調熱處 理條件(溫度和時間)是調控脂 質氧化的重要因素,而氧化的程 度取決於磷脂的組成、多元不飽 和脂肪酸的含量以及金屬離子、 氧、鹽和其他促氧化劑的濃度。 揮發性物質隨烹飪溫度升高而增 加,再通過梅納反應和脂質氧化 等因子進而影響風味發展。脂肪 醛類廣泛存在天然香料中,其中 碳數 C10-C16 之中長碳鏈的支鍵脂肪醛,由於本身具有牛脂、雞脂香氣,分子量較大、沸點高等特點,耐高溫且香氣持久,因此視為很重要的鹹式香料成分。透過支鏈脂肪醛與其它揮發性香味成分的組合,更可以開發出應用於食品產業的各種香料。

### 三、牛肉風味成分

由前面所述,肉類風味會受到烹調方式及肉品中脂肪的組成共同影響,針對牛肉風味物質來說,Song等人研究發現,6種脂肪酸(C17:0、C18:0、C18:1、C18:2、C18:3和C20:1)對牛肉帶有強烈的肉味有關;

而 5 種 脂 肪 酸 (C12:0、C14:0、 C16:1、C17:0 和 C18:0) 則對牛 肉的氣味有較顯著的影響。進一 步了解脂肪酸氧化會生成醛類, 而醛類是眾所周知可直接或間 接提供肉香味的物質,如:硫化 氫與2,4-decadienal可能會生成 強氣味的 2-hexylthiophene, 或 是 pentanal 與梅納反應產物結合 生成特殊肉香味的 2.5-Dimethyl-3-pentylpyrazine \ 2,6-dimethyl-3-pentylpyrazine ₹□ 2,3,5-trimethyl-6-pentylpyrazine。目前已經有文 獻指出 12-methyl-tridecanoic acid (12-MTA) 氧化而成的 12-methyltridecanal(12-MT) 為牛肉風味物 質中典型化合物,且12-MT無 法在豬肉和禽類中測得,因此 12-MT 為開發牛肉風味成分關鍵 物質。

### 四、微生物生產風味成分

在目前國際上已有應用微 生物於鹹式香料開發,如微生物 (含菇類)萃取物可以提供組成鹹 式香料所需的脂肪酸、胺基酸、 核苷酸及特殊風味成分。此外, 合成肉類香料所需的含硫化合 物 (如 thiamine hydrochloride、 L-cysteine hydrochloride 或 植 物蛋白水解物)及羧酸(如 glutamic acid , acetic acid , lactic acid 及 tartaric acid), 亦 是鹹式香料重要的來源之一。同 時有專利揭露說明利用微生物代 謝物 α-mercaptoacetophenone 及 其衍生物,可以增強香料的肉香 味。另外以微生物發酵生產或酵 母萃取物的胺基酸與還原糖、花 生四烯酸、三酸甘油脂等成分 進行反應,而可以生產雞肉風 味香料。由於真菌的代謝與高 等生物相近,其產生的脂肪族 化合物 (1-octen-3-ol)、芳香族 化合物包括香草醛 (vanillin)、 苯甲醛 (benzaldehyde)、苯乙 醛 (phenyl- acetaldehyde)、 乙酮 (1-phenylethanone)、苯甲 酸甲酯 (methyl benzoate)、萜類 化合物 (terpenoids),如香茅醇 (citronellol) 和芳樟醇(linalool) 等,亦是風味化合物的重要來 源。Lotfya 等 (2015) 應 用 洋 菇 蛋白質水解物製作牛肉香料,並 發現該香料在經過微波加熱處 理後仍可維持其良好風味。法 國 Springer North America Corp (Lesaffre 子公司) 則應用酵母菌 及其萃取物於非動物性的各式肉 味香料開發。

### 五、本所研發成果

應用生物法生產天然香味的 技術備受業界矚目,以食品所生 物資源中心 (BCRC) 收存的本土 生物資源為基楚,開發肉香味前 驅物(如微生物油脂或脂肪酸) 生產菌。經過資料收集,並選 擇 GRAS (Generally recognized as safe) 微生物中,篩選 15 種菌種 共112株菌株,結果發現5株具 有潛力生成支鏈脂肪酸之菌株, 且這5株潛力菌株的支鏈脂肪酸 集中於特定碳鏈長度。未來將進 一步透過改良優化和發酵製程增 加產量,並利用生物轉化開發肉 香風味香料。期許強化國內產業 生產技術自主化,並提升國內香 料產品的自主率,增強植物基食 品之風味、優化植物基食品產業 鏈的競爭力。

### 六、參考文獻

Ba, H.V., Oliveros, M.C., Ryu, K. S. and Hwang, I.H. 2010.

Development of analysis condition and detection of volatile compounds from cooked beef by SPME-GC/MS analysis. Korean Journal for Food Science of Animal Resources 30:73–86.

Calkins, C.R. and Hodgen, J.M. 2007. A fresh look atmeat flavour. Meat Science 77:63–80.

Khan, M.I., Jo, C. and Tariq, M.R. 2015. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors—A systematic review. Meat Science 110:278–284.

Lorenzo, J.M. and Domínguez, R. 2014. Cooking losses, lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat as affected by cooking procedure. Flavour and Fragrance Journal 29:240–248.

Lotfya, S. N., Fadela, H. H. M., El-Ghorabab, A. H., and Shaheen, S. M. 2015. Stability of encapsulated beef-like flavourings prepared from enzymatically hydrolysed mushroom proteins with other precursors under conventional and microwave heating. Food Chem. 187:7-13.

Song, S., Tang, Q., Hayat, K., Karangwa, E., Zhang, X. and Xiao, Z. 2014. Effect of enzymatic hydrolysis with subsequent mild thermal oxidation of tallow on precursor formation and sensory profiles of beef flavours assessed by partial least squares regression. Meat Science 96:1191-1200.

### 羧酸還原酶在食品風味物質生產的應用

生資中心 / 研究員 梁克明

### 一、前言

食品風味是指當食物攝入口 腔咀嚼時,感受所產生味道(taste) 與氣味 (odor) 的整體感受,然而 食品香氣 (aroma) 讓人對於食物 的感受度影響甚具,當食品產生 香氣不同於一般時,會使人產生 有吃到不同食物的錯覺, 甚至覺 得食物品質發生變異。此外,涌 常食品香氣成分存在於食品的濃 度相當低(ppm或ppb),同時也 只需要很低的濃度即可讓人感受 (低嗅覺閥值)。常見食物香氣 成分為揮發性化合物,包含了有 機酸/脂肪酸化合物、醇類、醛 類、酮類、酯類、內酯、環狀化 合物、萜烯及含硫化合物等,其 中醛類化合物在水果香氣成分或 肉類食品香氣呈現,具有重要的 角色,這些醛類化合物可藉由生 物體生理代謝的參與酵素轉化生 成,或是經由食品加工過程的化 學反應產生。因現今人們追求天 然、健康訴求的食品,因此,以 生物轉化生產天然的食品風味物 質為主要研究方向。羧酸還原酶 (Carboxylic acid reductase, CAR) 是近年來受到關注的重要酵素, 因為此類酵素對於許多不同結構 的酸類化合物 (acid),皆可以進 行催化反應,將酸類轉變生成醛 類化合物 (aldehyde),應用於各種 化合物、藥物前驅物及食品風味 化合物的生產。

### 二、羧酸還原酶的特性與作 用

羧酸還原酶進行催化反應時,需要能量分子 ATP 及輔脢 NADPH 參與,才能將酸類轉化還原生成醛類。因此,蛋白結構依酵素催化功能可區分成 3 個區域,包含了腺苷酸化區域 (adenylation domain, A domain)、還原反應區域 (reductase domain, R-domain) 以及連結 A 區域與 R 區域的 肽基 攜帶蛋白 (peptidyl

carrier protein, PCP) (圖 1), 首先 羧酸還原酶與帶有羧基 (COOH) 反應物結合於腺苷酸化區(A domain),藉由消耗ATP分子, 獲得能量以活化反應基質的羧 基,接著利用肽基攜帶蛋白,將 已活化基質之中間化合物由腺 苷酸化區域傳遞到還原反應區 域,然後再利用輔胸 NADPH 提 供的電子,進行還原反應生成醛 基 (Derrington et al., 2019)。 經 過系統發生學及生物資訊分析羧 酸還原酶基因序列後,可分成5 大型,然而這些羧酸還原酶之催 化區域的基因序列,都保有高度 的相似性;最令人感興趣,則是 這類酵素對於廣泛不同結構的酸 類化合物,或多或少都有催化反 應,一般而言之芳香族 (aromatic compound) 帶有可提供電子官能 基 (electron-donating groups) 如 羧酸根,是這類酵素催化作用最 好的反應基質,因此常會以苯甲 酸 (benzoic acid) 為反應基質, 進行酵素活性測定。反之若反應 物為芳香族化合物帶有拉電子基 (electron withdrawing groups), 或是鄰位 (ortho-position) 位置有 官能基,所測得的活性,通常會 低於苯甲酸基質測定的活性。羧 酸還原酶對於胺基酸則是沒有

圖 1. 羧酸還原酶催化反應機制。

(Derrington et al., 2019)

催化反應,但對於直鏈碳碳數 為 C4~ C18 的脂族酸 (aliphatic acid),具有部分的催化能力,但 過短碳數的脂族酸 (如乙酸、丙酸),就沒有催化能力 (Butler & Kunjapur, 2020),目前科學家利用 蛋白質工程,對於羧酸還原酶與 反應基質結合的催化區域,進行 修飾改質,讓酵素能夠專一與特 定反應物結合以提高催化效率。

## 三、體外 (in vitro) 與體內 (in vivo) 之酵素轉化生產

利用羧酸還原酶生產醛類化 合物,可分成體外或體內環境條 件生產。在體外生產策略,將微 生物表現羧酸還原酶,經破菌純 化後,於容器(如玻璃試管或玻 璃瓶)內加入反應基質、酵素、 ATP 及輔脢 NADPH 以進行轉化 反應,此方法優點是轉化反應快 速,反應後生成產物種類單純, 沒有過多副產物產生,可以降低 產物回收純化的成本,但缺點為 獲得酵素,需要有繁瑣的純化步 驟,且酵素不易於長時間保有高 活性。因此,目前有以酵素固定 化策略,增加酵素活性的穩定性, 以延長酵素使用時間 (Thompson et al., 2019)。此外, 反應所需額 外添加ATP及NADPH的售價 高,亦會增加生產成本,針對此 一問題,則是希望外加其他酵素 與反應物,藉由產生其他酵素催 化反應,讓被轉化消耗 ATP 及 NADPH能夠再生生成,而重新參 與羧酸還原酶轉化反應,無須持 續外加 (Derrington et al., 2019)。 另一生產方式是利用微生物以全 細胞 (whole cell) 轉化 (Lin & Tao, 2017),以微生物表現羧酸還原 酶後,無須破壁萃取酵素步驟, 直接在菌液添加反應基質,並可 以利用菌體內 ATP 及 NADPH,

進行轉化生成醛類產物,轉化消 耗的 ATP 與 NADPH, 亦可藉由 **菌體內源生理代謝作用,能夠再** 循環被羧酸還原酶使用,但這轉 化方式依有一些問題需要克服, 包括會有許多不同代謝副產物生 成,增加目標產物純化回收的難 度;轉化生成的醛類產物,通常 對微生物具有毒性,影響菌株生 長,此外,微生物也會將有毒性 產物,快速代謝成其他化合物以 避免影響菌株生存,因此導致不 能有累積高濃度產物產出。目前 改善方式是利用剔除基因策略, 減少醛類產物繼續代謝成其他化 合物,以提高目標物產量。

### 四、羧酸還原酶應用實例

香草醛在食品加工業是很 重要的香料,以香草豆夾萃取出 的天然香草醛,不但需求量大, 販售價格也高。科學家以香草酸 (vanillic acid) 為原料,在試管添 加羧酸還原酶進行轉化作用,成 功產出香草醛;後續研發則利用 微生物的芳香胺基酸代謝途徑, 並額外表現2種酵素(3-dehydroshikimate dehydrogenase, O-methyl transferase),將胺基酸代謝物轉 變生成香草酸,最後再表現羧酸 還原酶以生產香草醛,意即能以 添加葡萄糖為原料,使微生物 生產香草醛,這視為極具競爭 力之非化學合成生產香草醛的方 法。之後再將生產菌株剔除部分 的內源性醛類還原酶 (aldehyde reductases),以減少香草醛產物 過度還原成香草醇,並強化表現 甲基化修飾以生成香草酸的代謝 途徑,可得 420 mg/L 香草醛產量 (Kunjapur et al., 2016) •

### 五、本所研發成果

本所生資中心研發團隊選定

不同菌株來源之羧酸還原酶,利用構築質體方式,於大腸桿菌表現羧酸還原酶,經酵素活性測試定,皆能有良好活性表現。目前應用於生產肉香風味物質生產開發,以體外轉化生產方式,將純化羧酸還原酶,添加於脂肪酸類之原物料,轉化生成具肉香風味的脂肪醛類;同時正開發全細胞轉化生產,為了減少酵素純化步驟並提高目標產物產量,將表現羧酸還原酶菌株體內之部分基因剔除,可避免轉化生成醛類產物,繼續轉化成其他化合物。

### 六、參考文獻

Butler, N., Kunjapur, A.M. 2020. Carboxylic acid reductases in metabolic engineering. *J Biotechnol*, 307, 1-14.

Derrington, S.R., Turner, N.J., France, S.P. 2019. Carboxylic acid reductases (CARs): An industrial perspective. *J Biotechnol*, 304, 78-88.

Kunjapur, A.M., Hyun, J.C., Prather, K.L.J. 2016. Deregulation of S-adenosylmethionine biosynthesis and regeneration improves methylation in the E. coli de novo vanillin biosynthesis pathway. *Microbial Cell Factories*, 15(1), 61.

Lin, B., Tao, Y. 2017. Whole-cell biocatalysts by design. *Microbial Cell Factories*, 16(1), 106.

Thompson, M.P., Derrington, S.R., Heath, R.S., Porter, J.L., Mangas-Sanchez, J., Devine, P.N., Truppo, M.D., Turner, N.J. 2019. A generic platform for the immobilisation of engineered biocatalysts. *Tetrahedron*, 75(3), 327-334.

### 酸麵團乳酸菌分離及應用技術

生資中心/副研究員 鄭傑仁

### 一、前言

味道和氣味,組合成風味, 無疑是決定麵包或烘焙穀物品 品質的關鍵之一。儘管麵粉是所 有麵包食譜主要的共通成分,但 不同配方、作法、甚至不同麵包 師,都可以造就出種類繁多且具 有不同香氣的麵包。除了烘焙過 程是影響麵包典型香氣的重要因 素之一外,麵團發酵也是具有高 度影響力的步驟。這與發酵過程 中使用的起種物、起種方法、原 料配方、發酵條件(溫度、時 間、pH 值等)都有所關連,但 各項因素的背後,都是連結到麵 團中微生物的作用,所帶來的綜 效。例如研究指出,酸麵團的 pH 值、麵包風味都與麵團中微生物 的組成有關連,尤其是乳酸菌中 的乳桿菌 (Lactobacillales) (Reese, et al., 2020)。因為乳酸菌在麵團 中,不僅可以產生種類眾多的有 機酸,亦可生成或影響各式各樣 的揮發性羰基化合物 (carbonyl compounds),如酯類 (esters)、醇 類 (alcohols)、醛類 (aldehyde)等, 來塑造出酸麵團迷人的氣味。

# 二、酸麵團的微生物組組成 及來源

酸麵團內存在著天然的微生物群落,環境、原料、配料和麵包師都是微生物的潛在來源。麵團中存在的細菌和真菌群,被認為有影響麵包的味道、香氣、質地、保存性,甚至營養的可能

性 (Reese, et al., 2020)。 酸 麵 團 的起始都是從一組簡單的組合開 始,通常只要將麵粉和水混合, 置於適當地環境溫度下,就會 開始發酵。發酵過程中,微生物 群的典型組成通常是酵母菌和 產酸的乳酸菌為主,酵母菌主 要提供發酵力及氣味成分,乳 酸菌則提供酸味物質及風味成 分 (Weckx, et al., 2019)。 一般 狀 況下,酸麵團中乳酸菌存在的種 類遠高於酵母菌,數量上乳酸 菌也為酵母菌的10倍至100倍 之多。酸麵團中常見的酵母菌 包含了 Kazachstania humilis、 Saccharomyces cerevisiae \ Pichia spp.、Candida spp. 等; 乳酸菌則包含了Fructilactobacillus sanfranciscensis > Lactiplantibacillus plantarum > Levilactobacillus brevis \ Pediococcus pentosaceus · Companilactobacillus paralimentarius > Limosilactobacillus reuteri > Furfurilactobacillus rossiae > Leuconostoc spp. \( \text{Weissella spp. } \); 此外在某些麵團中也會發現醋 酸菌的存在,如Acetobacter spp.、Gluconobacter spp. 及 Komagataeibacter spp.( Reese, et al., 2020; Weckx, et al., 2019) 等。 而在近期的研究指出,雖然麵粉、 水及環境中的微生物是酸麵團微 生物重要的來源,但有趣的是, 酸麵團中出現的酵母菌與細菌 們,多數也可以在麵包師的手上 找到 (Reese, et al., 2020)。這也或

許是不同麵包師雖然使用相同的 原物料,但卻能造就出不同風味 麵包的原因之一。

## 三、乳酸菌於麵團內的作用 及風味生成

在酸麵團發酵渦程中,微生 物能透過影響風味、質地和顏色 來塑造最終產品的感官特性。這 主要是來自於微生物們(主要是 酵母菌和乳酸菌) 會在麵團中利 用麵團中的糖進行生長和代謝, 酵母菌有助於麵團膨發和廣泛的 香氣形成,而乳酸菌則進行酸 化, 帶來酸及風味形成。乳酸菌 的代謝過程會產生各類有機酸, 如乳酸和乙酸等,導致麵團的 pH 值下降,此舉將會抑制麵粉中的 α- 澱粉酶活性,將使酵母菌產生 的氣體容易留在麵包結構中,造 就具有彈性的麵包。而酸麵團帶 來的誘人香氣,經研究主要是由 發酵過程中的微生物所產生的代 謝物貢獻 (Hansen, and Schieberle, 2005),包含了多種酸、醇、醛、 酮和酯等。同時也發現,當麵團 中乳酸菌和酵母菌的種類組合存 在差異時,兩者間的交互作用會 影響發酵過程中揮發性化合物的 形成 (Calvert, et al., 2021), 也會 帶來不同的香氣。其中乳酸菌於 麵團中生成風味的方式,主要會 來自於醣類及蛋白質的代謝。醣 類代謝方面,如:麵團中的乳酸 菌、依其代謝特性可分為兩種類 型,同質發酵型乳酸菌和異質發 酵型乳酸菌。同質發酵型乳酸菌 會將己糖轉化為乳酸,而異質發 酵型除了生成乳酸外,還會產生 如乙酸、乙醇、二氧化碳和酯類 等其他物質。蛋白質的代謝則大 致分為以下兩種,乳酸菌能透過 蛋白酶/胜肽酶,釋出游離胺基 酸,可作為香氣物質的前驅物,

這些胺基酸隨後可透過如艾利涂 徑 (Ehrlich pathway),將其轉化為 醛類和相應的高級醇類,常見的 如帶有青草味的己醛 (hexanal)、果 香味的2-戊基呋喃(2-pentylfuran)、 辛酸乙酯(ethyl octanoate)、 3- 甲基乙酸丁酯 (3-methylbutyl acetate)、空靈感 (ethereal) 的己醇 (1-hexanol)、奶油香的 2,3- 丁二酮 (2,3- butanedione)、焦糖香的乳酸 乙酯 (ethyl lactate) 及過熟水果味 的 2- 甲基乙酸丁酯 (2-methylbutyl acetate)等。另外,乳酸菌代謝胺 基酸,如鳥胺酸(ornithine),是麥 類麵包皮特徵風味 2- 乙酰基 -1-吡咯啉 (2-acetyl-1-pyrroline)的前 驅物,可由著名的舊金山乳酸菌 (Fructilactobacillus sanfranciscensis) 透過精胺酸脫亞胺酶 (argininedeiminase, ADI) 代謝精胺酸 (arginine) 而來。此外,如 L. sakei 或 L. plantarum, 則可將亮胺酸 (leucine)和苯丙胺酸 (phenylalanine) 經過一連串反應,生成帶甜味 的 3- 甲基丁醛 (3-methylbutanal) 及帶有蜂蜜甜花香的苯乙醛 (phenylacetaldehyde) 等 (Gänzle, et al., 2007) •

### 四、本所研究成果

解析與獲得麵團或酸麵團中 微生物組成,是將麵包師傅手藝 與菌種傳承下去的重要關鍵。因 此,本所透過結合微生物組分析 及培養體學的方式,進行多種樣 品的微生物分析、分離及純化, 除可了解麵團中的微生物組成外, 也可取得於麵團中具有重要功能 貢獻的菌株。本所蒐集的各式分 離來源,透過特殊培養基和培養 條件之設計,進行烘焙用乳酸菌 的分離與純化,並結合 MALDI-TOF 蛋白質分子指紋分析技術, 鑑別乳酸菌的學名,分離出之乳

酸菌菌種包含了 Fructilactobacillus sanfranciscensis · Furfurilactobacillus rossiae · Lacticaseibacillus paracasei · Lactiplantibacillus pentosus \ Levilactobacillus brevis \ Lactiplantibacillus plantarum > Latilactobacillus curvatus > Limosilactobacillus fermentum > Latilactobacillus sakei \ Lactobacillus delbruecki · Lactobacillus acidophilus · Lacticaseibacillus rhamnosus · Lactobacillus iohnsonii · Lactobacillus helveticus · Leuconostoc mesenteroides > Lactococcus lactis 等,並構築成烘 焙用乳酸菌菌庫。接續建立了一 系列烘焙用菌株的篩選平台,包 含烘焙用乳酸菌分離流程、自動 化菌株生長特性測定技術、菌株 醣類利用測定系統、菌株耐受性 篩選系統(糖類、酒精、鹽類等)、 菌株產酸特性分析技術、菌株多 醣分泌篩選技術、菌株抗菌特性 分析技術、液態麵團篩選系統(低 糖麵團、高糖麵團)、液態酸麵 團篩選系統 (synthetic sour-dough medium, SSM)、風味分析技術 (SPME-GC-MS + HPLC) 等。透過 這一系列的技術,能將野生菌株 經過特性分析與功能篩選後,建 構成具有完整特性資料,且具商 業化潛力之本土商用菌 庫。這 套菌配庫及技術可協助台灣本土 烘焙或蒸炊業者,從解析具特色 的麵團菌組開頭,開發具有獨特 性之專屬菌酛,或提供改進酸麵 團生產製程之菌種及流程,將傳 統以經驗控管的方式,轉向數據 化、科學化、標準化的模式,甚 是可達到規模化,進而拓展商機。 此商用菌酛庫亦能提供國內相關 企業發展具特色的差異化產品所 需,不僅可用於烘焙業外,釀酒、 釀造、乳品加工等產業也都能受

益。亦可推動產業鏈之垂直延伸, 發展上游菌 
藍素 
,拓展各類應 用。此外,此套技術流程不僅限 於使用於烘焙產業,也可以應用 在各式發酵及釀造產業,尤其是 由多菌種參與的產品中,包含了 酒品、康普茶、咖啡、可可等, 可從菌相之解析開始,透過結合 次世代定序技術、資訊探勘技術、 蛋白質分子指紋分析技術、菌種 共培技術、風味分析技術等,一 步步經過分離、純化、篩選、組 合、測試、品評等步驟,創造屬 於廠商自身特色的風味產品。

### 五、參考文獻

Calvert, M. D., Madden, A. A., Nichols, L. M., Haddad, N. M., Lahne, J., Dunn, R. R., and McKenney, E. A. 2021. A review of sourdough starters: ecology, practices, and sensory quality with applications for baking and recommendations for future research. In *PeerJ* (Vol. 9, p. e11389). PeerJ Inc.

Gänzle, M. G., Vermeulen, N., andVogel, R. F. 2007. Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. Food Microbiology, 24, 128-138.

Hansen, A., and Schieberle, P. 2005. Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: Applied and fundamental aspects. Trends in Food Science and Technology, 16, 85-94.

Reese, A. T., Madden, A. A., Joossens, M., Lacaze, G., and Dunn, R. R. 2020. Influences of Ingredients and Bakers on the Bacteria and Fungi in Sourdough Starters and Bread. MSphere, 5.

Weckx, S., VanKerrebroeck, S., and De Vuyst, L. 2019. Omics approaches to understand sourdough fermentation processes. International Journal of Food Microbiology, 302, 90-102.

### 以乳酸菌菌酛進行熟成肉品之開發

生資中心 / 研究員 林錫杰

### 一、前言

肉類發酵藉由微生物發酵 而具有獨特風味、色澤及質地, 並能延長其保存時間。發酵熟成 過程中,會生產游離胺基酸及核 酸等呈味物質,這些風味物質與 熟成時微生物的發酵作用息息相 關。因乳酸菌除能於低溫 20℃ 下生長外,對於食鹽及亞硝酸鹽 也具有很好的耐性,因此很適合 肉類發酵加工之應用。且乳酸菌 在肉類發酵中,可抑制雜菌生長 及毒素產生,同時可降低亞硝酸 鹽殘留量,促進發色及風味, 改善製品品質,並縮短熟成時 間。消費者對食肉的嗜好性,其 中肉質物性佔很大比重,如硬度 過高,接受度會因而下降。尤其 國內面臨高齡化社會同時,攝取 具營養且良質之動物蛋白質殊為 重要。除直接利用酵素處理軟化 外,利用乳酸菌發酵處理也能有 效解決。再者,乳酸菌發酵肉品 所產生的機能性成分,對人體健 康之助益也漸獲重視(竹田等, 2018)。以優格中之乳酸菌,經發 酵及低温乾燥後, 開發新型發酵 肉品也因應而起,其主要訴求為 提供活的益生菌來源。

### 二、市場現況與分析

近年德國、丹麥、義大利、 美國、日本和泰國等國家,已 利用發酵技術大規模生產熟成肉 類,其製品也廣為全球消費者所 接受。美國的熟成肉品以牛肉居

多,根據 Allied Market Research 報告指出,在2015年,美國乾 式熟成牛肉市場值已達 104.46 億美元,至2020年達到111.76 億美元,2016至2020年的複 合年均增長率為1.3% (Sinha & Prasannan, 2017)。 台灣大約自 2007年起首次出現「乾式熟成 牛排 | 名詞,目前台灣以熟成牛 肉為訴求的餐廳如雨後春筍般興 起,產品類型分為高級牛排、燒 肉和火鍋肉等。除了牛肉和豬肉 外,台灣也有訴求其他熟成肉製 品,如羊肋排、鴨胸肉、鵝肉及 其他水產品等。目前台灣熟成豬 肉產品主要依賴進口供應,國內 肉品加工業「乾熟工場」也因應 而起,主要以B2B方式進行銷 售,專營高端餐飲市場。

#### 三、肉類熟成技術之介紹

#### (一)發酵肉品之種類

歐洲是發酵肉品的主要產地,其發酵肉製品大約可以分成三大類:(1)生火腿:以伊比利火腿為代表。(2)半乾式發酵香腸:製造時間較短,大約只需要一個月的熟成時間,水分含量較高,大約在30-40%之間。種類包括酸味香腸(Summer)等。(3)乾式發酵香腸:經過大約3個月的長時間熟成,水分含量較低,大約在20-30%之間。產品以薩拉米香腸(Salami)最為臺灣人所熟知。

#### (二)熟成技術之應用

1. 肉品熟成一般分乾式、濕式、 風乾及乳酸菌熟成四種。乾 式熟成之產品風味佳,但耗時 且製成率低;濕式熟成以肉品 保存目的為優先,產品收率 高,雖風味強度稍弱於乾式熟 成,但方便於管理則是它最大 利基。風乾熟成是將動物屠體 切半後,垂吊後經吹風進行熟 成,但由於收率太低,現已不 太使用。至於,乳酸菌熟成則 將乳酸菌噴於肉品表面後,再 進行熟成的工藝。

- 2. 乾式熟成屬於較傳統的加工方式,熟成時間長(3週至2年), 含水量大幅減少;濕式則是近年因為低溫保存及包裝技術發展,演化出的新式熟成方式, 熟成時間短(2~5天),肉品耗損率也較低。
- 3. 肉品熟成後,其風味的變化及 品質改善,與熟成時温度、濕 度及時間等因素息息相關。在 發酵與熟成的過程中,微生物 於生長同時,也會分解肉品裡 面中的蛋白質、脂肪等,產生 很多很複雜的小分子代謝物, 如胺基酸、胜肽、脂肪酸、有 機酸等,讓發酵肉品產生與眾 不同的風味。

#### (三)熟成肉之技術改良

為解決加工時,若濕度太低會造成肉品過度乾燥,歐美等國會採用低溫高濕的熟成方式,來改善整式熟成的肉品乾耗問題。目前有業者已出品冰鮮恆溫熟成櫃,採用低溫高濕熟成的熟成原理,在此熟成過程中,透過肉質本身的鎂與水份和空氣中的氧氣結合,這時能夠把蛋白質轉換為胺基酸並軟化肉質,游離胺基酸的量會增加,有助於美味的產生。

## 四、乳酸菌菌 面接種技術開發及應用

肉製品加工上使用的菌 包

括有細菌、黴菌及酵母等。添加菌 有助於改善製品的衛生安全性、感官性,提高品質及保存性。因黴菌會產生毒素,使用時在安全面上較有顧慮,因此,乳酸菌菌 的利用則廣被接受。

#### (一)使用乳酸菌菌酛之優點

- 1. 抑制雜菌:乳酸菌會產生乳酸並降低 pH 值,能有抑制腐敗菌的生長功效。乳酸菌亦可產生抗菌性物質如乳酸鏈球菌素(nisin)、過氧化氫、有機酸等,能抑制腐敗菌生長及毒素產生。
- 2. 降低亞硝酸鹽殘留量:藉乳酸 菌的發酵產酸,能促進亞硝酸 鹽的還原作用,而降低亞硝酸 鹽殘留量。
- 3. 促進發色:因 pH 值的降低, 促進亞硝酸鹽的分解,產生 一氧化氮,並與會肌紅色素 作用,產生亞硝基肌紅蛋白 (nitrosomyoglobin),以促進醃 漬肉色的形成。
- 4. 形成良好風味:發酵過程形成酸類、醇類、醋類、醋類、碳氫化合物、內脂 (lactone)、雜環化合物 (heterocyclic compound)、游離胺基酸及核苷酸等風味物質。
- 5. 軟化肉質:乳酸菌在肉品熟成的過程中,會分泌的蛋白酵素並逐漸崩解肉類的膠原組織及肌肉纖維,使肉品軟化。
- 6. 促成熟成作用:可大幅縮短肉 品熟成的時間。

#### (二)乳酸菌菌酛之開發

從傳統的發酵香腸或起司原 物料及人體腸道分離出之益生菌 菌株為菌酛,以篩選優良肉類發 酵菌株。

1. Nadia 等人利用市售產品或 由地方大學所分離共 8 株乳 酸菌株,進行乾式香腸發 酵之研究,並以生長情形 及生理活性測定,進行其潛力菌株之篩選。結果發酵現 Lactobacillus rhamnosus R0011、L. rhamnosus Lr-32、L. paracasei Lpc-37、L. casei Shirota 與 Enterococcus faecium MXVK29,共5株菌株為發酵香腸熟成之有力候選者 (Nadia et al., 2020)。

- 2. 從不同發酵肉品可分離出不同 種類之乳酸菌株。Wen 等人從 牛肉乾中分離出 L. sakei BL6、 Pediococcus acidilactici BP2 與 L. fermentum BL11 等 乳 酸 菌 株,並以它們為發酵菌翫,發 現會代謝產生揮發性物質,產 生很好風味 (Wen et al., 2021)。
- 3. 在肉類熟成過程中,使用生資中心乳酸菌庫之菌株進行測試,發現多數菌株,在肉品發酵會產出不良的氣味。所以,需經科學化研發及策略,才能挑選出合適在肉品發酵的安全菌株。由於熟成肉品的風味,也會受到肉品來源、不同部位、熟成條件、冷藏、冷凍方式或烹飪方式等因素影響,可利用針對篩選肉品發酵優良菌株,以開發多樣性的熟成肉製品。

### (三)以乳酸菌發酵液浸漬加工

竹田等人利用 L. sakei LS-23 發酵培養液浸漬豬肉,發現除肉 類質地變軟,使 100 KDa 的蛋 白質消失外,pH 值明顯降低, 生菌數變少,同時也增加產品保 存時間。再者,L. sakei LS-23 也 具有抗氧化,及抑制血管收縮 素轉化酶 (angiotensin-converting enzyme,ACE) 活性之功效,可 提高產品之機能性(竹田等, 2018)。

#### 五、本所研發成果

食品所生資中心從傳統發酵 食品中,篩選發酵力佳、具特殊 風味等優良特性的本土特色乳酸 菌菌酛,已開發以濕式熟成技術 進行豬隻裡肌肉之熟成與改質。 再者則從中挑選幾株優良乳酸菌 菌株,並進行肉品乾式熟成技術 之研發。目前已建立良好的處理 調控技術,搭配發酵技術及科學 化分析,建構兼具安全、美味及 科學化之肉品熟成技術,希望能 提供國內肉品消費更多元的選 擇。

### 六、參考文獻

竹田志郎,和賀正洋,坂田亮一。 2018。食肉製品由来乳酸菌培養液を用いた浸漬処理による 豚肉の物性と微生物への影響。日本畜産學會報,89(4): 451-458。

Nadia d. L. Agüero L. S. Frizzo A. C. O., Gonzalo A. and Marcelo R. R. 2020. Technological characterisation of probiotic Lactic Acid Bacteria as starter cultures for dry fermented sausages. Foods 9, 596; doi:10.3390/foods9050596

Sinha B. & Prasannan A. 2017. U.S. Dry aging beef marketopportunity analysis and industry forecast, 2014-2020. Allied Market Research.

Wen R., Sun F., Wang Y., Chen Q. and Kong B. 2021. Evaluation the potential of lactic acid bacteria isolates from traditional beef jerky as starter cultures and their effects on flavor formation during fermentation • LWT - Food Science and Technology 142: 1-12.

### 特色菌種及其相關技術之專利授權及技術移轉

生資中心 / 管理師 呂文鈴

食品所生物資源保存及研究 中心(以下簡稱生資中心)除提 供國內外生物材料寄存、多種委 託試驗等服務外,歷年來透過承 接政府各部會科研計畫以及自有 經費投入,也積極進行生物資源 有關之創新技術研發。秉持生物 資源中心對於生物材料研發之專 業,生資中心近年來研發成果包 括多樣具有產業利用潛力之特色 菌株,以及其篩選平台、生產製 程和新穎用涂等技術。前述成果 分別以專利和/或營業秘密進行 保護,後續將透過專利授權或技 術移轉方式,優先提供予國內有 需求之業者或廠商。

酵母菌為生資中心近年來重 點研發之特色菌種之一,除針對 可用於烘焙產品或啤酒釀造等目 的之特殊風味酵母菌進行收集, 並建立可長期保存之菌酛配方外, 也開發利用酵母菌生產 γ- 麩胺醯 半胱胺酸等機能性成分之生產製 程。相關特色酵母菌種及技術之 專利和可移轉技術摘列如下。

### 《特色酵母菌種及相關技術》

#### ※可埒權重利

小 門 1又惟守们		
專利號	專利名稱	技術提要
TWI308592 CNZL200610057669.X JP4307456 US7,371,557	用於高產麩胱甘肽與 γ- 麩 胺醯半胱胺酸之麵包酵母菌 株及其應用方法	提供可產生麩胱甘肽及 γ- 麩胺醯半胱胺酸之麵包酵母 菌株
TWI519642 TWI486452	新穎之布魯塞爾德克酵母菌	利用德克酵母屬 (Dekkera) 之酵母菌生產白藜蘆醇的方法
TWI623616 TWI712689 US9,938,550 US10,260,080	黑酵母菌、生產 β- 葡聚糖 之培養基與方法、黑酵母菌 培養物與含其組成物	提供黑酵母菌 ( $Aureobasidium pullulans$ ) 菌株,以及其用於生產 $\beta$ - 葡聚糖的培養基組成
※可移軸は結		

※ 可移轉技術		
技術編號	技術名稱	技術提要
BT10903	啤酒特殊酵母菌酛技術	建立一種逆境刺激製程,用於酵母菌菌酛之製備與開發
BT10905	本土複合酵母菌組及天然風 味劑	提供本土複合酵母菌組,用於開發食品天然風味劑
B11002	抗凍酵母	提供耐凍特色酵母菌株,凍後存活力>90%,可用於 烘培製品之應用
BT10803	烘焙酵母菌及其生產技術	提供具有耐糖、產氣佳、風味特殊等適合應用於烘焙 及釀造產業的本土分離酵母菌菌株
BT10802	特殊風味與機能性啤酒酵母 菌株篩選技術	提供具有花香風味、低酒精及低嘌呤特性之酵母菌菌 株,可用於精釀啤酒之開發。並提供前述特色酵母菌 之篩選平台

除酵母菌種以外,生資中心 研發成果也包括具有改善代謝症 候群潛力功效之醋酸桿菌、雷曼 式乳桿菌等特色菌株;具抗發炎

潛力之桑黃屬桑黃特色菌株、蛹 蟲草子實體、蟬花子實體和沉香 植菌等藥用真菌培養技術,以及 利用微生物生產胜肽、CoQ10等

機能性成分之製程技術。相關可 授權專利和可移轉技術摘列如 下。

### 《其他特色菌種及相關技術》

※可授權專利				
專利號	專利名稱	技術提要		
TWI719947 US9,867,857	新穎的醋酸桿菌菌株及葡糖酸 醋酸桿菌菌株與其等用於抑制 黃嘌呤氧化酶之代謝產物	提供巴氏醋桿菌 (Acetobacter pasteurianus) 菌株,可用於抑制黃嘌呤氧化酶及降低尿酸含量		
TWI678208 CNZL201510519096.7 US9,636,368	新穎的雷曼式乳桿菌菌株與其 用於抑制黃嘌呤氧化酶及治療 痛風之代謝產物	提供雷曼氏乳桿菌 (Lactobacillus rhamnosus) 菌株,可用於抑制黃嘌呤氧化酶及降低尿酸含量		
TW I415942 JP5022478 US9,873,899	生產胞外多醣的方法以及一新 穎的乳酸小球菌分離株	提供乳酸小球菌 (Pediococcus acidilactici) 菌株,可用於生產胞外多醣		
TWI664287 CNZL201710907350.X	具有治療結腸直腸癌能力的戊糖 乳桿菌 05B0100 分離株及其用途	提供戊糖乳桿菌 (Lactobacillus pentosus) 分離株, 其發酵培養物可被用來治療結腸直腸癌。		
TWI676684	乳酸桿菌、使用其製備色素之 方法、乳酸桿菌培養物與包括 其之色素組成物	利用短乳酸桿菌於含梔子萃取物之培養基質中發 酵,以製備黃色、綠色、藍色色素或其組合		
TWI714918 JP6696675	桑黄屬桑黄株及其產物、萃取 物及應用	提供桑黃屬桑黃 (Sanghuangporus sanghuang) 菌 株和其發酵物,具有用於預防或治療雌激素依賴 性病狀之潛力		
TWI676682	枯草芽孢桿菌分離株及其用途	提供枯草芽孢桿菌 (Bacillus subtilis) 菌株和其發酵萃取物,具有促進軟骨細胞再生、增加軟骨細胞外間質分泌及/或治療關節炎之潛力		
TWI645034 CNZL201710786999.0 U10,455,778S	蛹蟲草子實體的培養方法	提供可使蛹蟲草子實體形態較粗大的培養方法		
※可移轉技術				
技術編號	技術名稱	技術提要		
BT10902	嗜高鹽海洋微生物培養技術	建立可耐 15% 鹽濃度之嗜極端高鹽海洋微生物之培養技術		
BT10901	微生物發酵生產胜肽之技術	提供脂胜肽生產潛力菌株,可生產對大腸桿菌和 金黃色葡萄球菌具抗菌效果之胜肽		
IT10902	光合菌於不照光環境生產 CoQ10之技術	提供可於不照光環境下,發酵生產高抗氧化物質 CoQ10 之光合菌		
IT10905	牛肉風味香料之生產菌開發	提供生物轉化生產脂肪醛類牛肉風味香料潛力之 菌株,及其生物轉化技術		
AT10901	沉香植菌技術與結香分析技術	提供具誘導結香能力的菌種庫,以及具穩定結香 且具效益的植菌技術		
AT10906	應用乳酸菌於乾式熟成肉品之 技術	提供具特殊風味乳酸菌菌株,發酵後能使肉品具 有熟成的風味及質地		
TT10803	農用菌酛應用技術	提供堆肥用和具高效除臭複合菌酛,及其菌酛製 備技術		
BT10704	蟬花原料生產技術	提供大蟬花 (Cordyceps cicadae) 子實體量化生產 技術,及蟬花多醣生產技術		
BT10304	本土蟲草之開發與應用技術	提供具抗氧化或具抗菌潛力之本土蟲草潛力菌株		

聯 絡 資 訊:賴進此資深研究員兼副主任:電話 03-5223191 轉 517; 電子郵件 jtl@firdi.org.tw

陳彥霖資深研究員:電話 03-5223191 轉 746; 電子郵件 alc@firdi.org.tw

技術資訊網站:生技產業服務平台 https://starter.bcrc.firdi.org.tw/

## 從乳酸菌到腸道微生物組(產業化研發平台)

❷ 菌源

② 探索

😘 發酵製程

商品化

Microbes

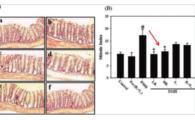
Screening

**Processing** 

**Products** 













多樣性乳酸菌庫 超過 14 屬、1600 株以上 GRAS 的菌株、活菌生醫產品 特色發酵食品-豆類,咖啡,肉品

安全 / 功能篩選平台 菌種鑑定、基因評估、專案設計 國際鑑定技術、抗藥基因分析 免疫代謝調節、功能性代謝物

試量產發酵製造 培養設計、菌種改良、試量產建立 食品級培養基、菌種改良菌株 噸級發酵製程、專案產品設計

**腸道微生物組產業化平台** 培養體學、基因體學、體外評估

絕對厭氧菌種、全基因體分析次世代益生菌、菌相定向食品

技術聯絡窗口:陳慶源資深研究員 連絡電話 03-5223191 轉 546, 534 電子郵件 chy50@firdi.org.tw

### 生物資源保存及研究簡訊 第127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、許瓈文、黃學聰、梁克明

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

