

關於臺灣牛乳中乳酸菌的分佈 及其性質之研究*

(I) 就臺灣中部地區之牛乳而論

Studies on the Distribution and Properties of Lactic Acid Bacteria in Cow's Milk in Taiwan

(I) On Cow's Milk Produced in the Middle of Taiwan

施 宗 雄**

Chung-hsung Shih

一、前 言 (Introduction)

牛乳及乳製品的乳酸菌研究報告雖然很多，但却未見台灣地區牛乳中乳酸菌分佈實態及其特徵作有系統之研究報告者。

本研究之目的乃為闡明台灣牛乳中乳酸菌的實態，首先蒐集中部各地之牛乳，實行分離，並確定其中生棲之乳酸菌，調查其分佈狀態，探討分離菌株之性質，並予以分類，以期所獲結果能提供往後對本省乳酸菌研究者之參考，進而促成乳及乳製品製造之進步及酪農事業之發達。本試驗承蒙國立台灣大學畜牧研究所客座教授林慶文博士之悉心指導與校正始克完成，謹致由衷之謝悃與敬意。試驗之進行並得本系李元和、黃偉鶴、范揚廣、陳惠娥、高聰慧、阮喜文、田勝賢七位同學之協助得以順利完成，特此申謝。

二、試驗材料及方法 (Materials and Methods)

(一) 試驗材料

以台灣中部地區：台中市、台中縣、彰化縣、南投縣、苗栗縣等之牛乳生產地為採樣區。試料 (Sample) 分別採自上列採樣區之酪農戶、集乳站和牛乳加工廠之混合牛乳，試料均屬搾乳後 48 小時以內之新鮮生乳，如須長時間輸送或貯存時則予以 $4^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$. 之冷藏，以盡量維持細菌原來狀態為原則。供試試料共為 110 個。

(二) 試驗方法

1. 乳酸菌之分佈

* 本研究之完成得國家長期科學發展委員會之補助及農復會玻璃器皿之補助始克完成，謹此誌謝。

** 國立中興大學農學院畜牧獸醫學系講師。

分離方法為參照北原(1)氏，調製能更多乳酸菌種生育且易形成菌落分離之培養基。預先培養已知乳酸菌（包括 *Streptococcus cremoris* 2 菌株，*Lactobacillus bulgaricus* 3 菌株，*L. acidophilus* 2 菌株，*Str. lactis*，*Str. diacetylactis*，*Str. thermophilus*，*Str. faecalis*，*L. casei* 各一菌株）作為對照，以確認分離之菌株。培養組成如表 1 所示。

表 1：分離用培養基組成

Table 1: The Composition of Media for Isolation of Pure Cultures

材 料 Materials	比 率 (%) Percentage
酵 母 膏 (Yeast extract)	1.0
牛 肉 膏 (Beef extract)	0.5
蛋 白 胨 (Peptone)	0.5
脫 脂 乳 粉 (Skim milk powder)	1.5
葡 萄 糖 (Glucose)	1.5
碳 酸 鈣 (CaCO ₃)	0.5
洋 菜 (Agar)	1.5 ~ 2.0

分離依照北原(1)中西武雄(3)Orla-Jensen (6) Hammer(7)等諸氏的方法，分為如次三個分離區，五種培養處理方法。

(I) 低溫性 (25°C. 培養) 分離區

- A：生乳培養一日——→接種于滅菌脫脂乳中培養一日——→分離用培養基扁平培養一至二日——→將菌落接種於石蕊牛乳並穿刺及斜面培養——→純化。
- B：生乳培養一日——→接種于滅菌脫脂乳中培養 15 至 20 日——→分離用培養基扁平培養——→分離——→純化。

(II) 高溫性 (45°C. 培養) 分離區

- A：生乳培養一日——→接種于滅菌脫脂乳中培養二次——→分離用培養基扁平培養——→分離——→純化。
- B：殺菌分離區——→將生乳 63°C.，30 分鐘加熱後，接種培養一日——→接種于滅菌脫脂乳中培養一至二日——→分離用培養基扁平培養——→分離——→純化。

(III) 青黴素 (Penicillin) 添加區

生乳培養 (38°C.) 一日——→接種於青黴素添加 (0.5 I. U./cc) 脫脂乳培養一至二日——→分離用培養基扁平培養——→分離——→純化。

由以上五種培養處理方法自 (I) A 可能分離出 *Str. lactis*，*Str. cremoris* 及 *Str. faecalis* 等，在 (I) B 可能分離出 *Leuconostoc citrovorum*，*Leuc. dextranicum*，*L. Casei* 或 *L. plantarum* 等，自 (II) A 可能分離出 *L. acidophilus*，*L. bulgaricus* 或 *Str. thermophilus* 等，(II) B 可能分離出 *Str. thermophilus*，*Str. faecalis* 以及其他耐熱性細菌，III 可能分離出 *Str. faecalis* 及 *L. casei* 等菌種。

2. 乳酸菌之性質測定

(I) 依各種處理法分離出之乳酸菌，革蘭氏 (Gram's) 染色，觸酶 (Catalase) 生成

、動物膠 (Gelatin) 液化, 表面發育、石蕊 (Litmus) 牛乳變化等之試驗法, 均依照常法²⁾, 3) 實施。

(II) 細菌發育狀態, 生酸溫度試驗則將各分離出之菌株, 分別接種於六支石蕊牛乳, 於 20°C、25°C、30°C、38°C、45°C、50°C 下加以培養, 培養結果依凝固時間之長短分別予以記錄。0~12 小時呈凝固者為卅, 12~24 小時呈凝固者為卅, 24~72 小時凝固者為十, 72 小時後凝固或半凝固者為士, 而不凝固者為一。以凝固時間最短的培養溫度視作該菌之生酸最適溫度而加以判定。

(III) 最高產酸度試驗, 是將各菌株接種於脫脂乳培養基, 於上項試驗所求出之適溫培養二週, 結果將培養液以 0.1N NaOH 滴定, 求出酸度。

$$\text{乳酸}\% = \frac{0.1\text{ N NaOH 滴定 cc 數} \times 0.009}{\text{檢體重量}} \times 100$$

(IV) 死滅溫度之試驗, 是將各菌株鈎取一白金耳培養於石蕊牛乳培養基各二支, 分別於 63°C, 30 分鐘和 75°C, 15 分鐘加熱後, 急速冷卻並予以培養, 其結果依 (一) (II) 項之方法判定其生存即耐熱性之有無, 並以 +、- 表示之。

(V) 美藍 (Methylene blue) 還原試驗, 乃接種一白金耳於含美藍 0.1% 之脫脂乳培養基 10cc 中, 觀察其還原時間之快慢而判定之, 並以 24 小時以內還原 (卅), 24~72 小時還原 (卅), 72 小時還原 (十), 而部分還原 (士) 及不還原者 (-), 分別予以表示。

(VI) 耐鹽性試驗, 是將各菌株分別接種於添有加糖肉羹 (Bouillon), 並含有 4% 及 6.4% 兩種食鹽的酵母液中, 培養於發育適溫一週, 然後觀察其混濁度變化而判定之。培養液呈混濁且酸度增加者, 顯示該菌具耐鹽性, 以 (+) 表示, 呈混濁而酸度不變者以 (士) 表示, 而全不改變者以 (-) 表示之。

(VII) 耐酸及鹼性試驗, 是將各菌株分別接種於調有 pH 4.0, 9.2, 9.6 三種含有酵母膏之肉羹培養基中, 置於生酸發育適溫培養一週後, 依其混濁度及 pH 值變化而判定其耐酸及鹼性, 並予以記載 (+、士、-)。

(VIII) 硝酸鹽還原試驗, 將供試菌於含 0.1% KNO₃ 之蛋白胨溶液 (蛋白胨 10g, 食鹽 5g, 蒸餾水 1000cc) 培養後, 採取適量, 滴加 α -Naphthylamine 溶液 (α -Naphthylamine 1g 溶解於蒸餾水 20cc 後, 濾過, 再加入比重 1.04 之醋酸 180cc) 及 Sulflnilic acid (Sulflnilic acid 0.5g 溶解於比重 1.04 之醋酸 15cc) 各 1cc, 使混合均勻, 若於 30 分鐘內呈紅色者即示有亞硝酸存在, 以 (+) 表示之, 否則以 (-) 表示之。

(IX) 醣類發酵性試驗, 是於蛋白胨水中添加 Starch、Dextrin、Inulin、Raffinose、Maltose、Sucrose、Lactose、Glucose、Mannose、Galactose、Arabinose、Xylose、Mannit 及 Glycerin 各 0.5%, pH 調整為 6.8, 然後將各菌株鈎取一個白金耳量於上項各種醣類中, 於適溫培養一週後, 測定 pH 值, 倘 pH 在 5.0 以下者以 (卅) 表示, pH 5.0~5.5 為 (卅), pH 5.5~6.3 為 (+), pH 6.3~6.6 為 (士), pH 6.6 以上則以 (-) 表示。

三、結果及討論 (Results and Discussion)

由台灣中部地區 66 處 (包括工廠、集乳站、酪農戶) 蒐集新鮮生牛乳試樣 110 個 (包括台中縣市 26 個, 彰化縣 32 個, 南投縣 22 個, 苗栗縣 30 個), 以五種不同處理方法分離出 502 菌株, 其詳情列於表 2:

表 2 台灣中部地區鮮乳中乳酸菌株分離統計表

Table 2 The Number of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fresh Raw Milk in the Middle of Taiwan

試樣來源 Source of Sample		分離株數 Strains	處理別 Treatments	I A	I B	II A	II B	III
台中縣市 Tai Chung	酪農 (TD) *			12	21	24	20	28
	集乳站 (TD) *			—	2	2	2	2
	工廠 (TF) *			7	11	12	7	13
彰化縣 Chang Hua	酪農 (CD) *			21	58	16	14	30
	集乳站 (CC) *			—	—	—	—	—
	工廠 (CF) *			7	11	3	2	9
苗栗縣 Miao Li	酪農 (MD) *			16	20	1	1	16
	集乳站 (MC) *			7	6	4	2	8
	工廠 (MF) *			3	3	2	—	3
南投縣 Nan Tou	酪農 (ND) *			13	19	4	6	24
	集乳站 (NC) *			5	2	1	—	2
	工廠 (NF) *			—	—	—	—	—
小計 Sub-total				91	153	69	54	135
合計 Total				244		123		135
總計 Total				502				

註：* 第一個代號

T：台中縣市，M：苗栗縣，C：彰化縣，N：南投縣。

第二個代號

D：酪農戶，C：集乳站，F：工廠。

菌株之鑑定是依形態、生理及生化試驗所得的性質加以整理，而分類是照 Orla - Jensen⁽⁶⁾ 氏之方法和 Bergey⁽⁸⁾ 氏的分類表，再參照 Shermann⁽⁹⁾ 北原⁽¹⁾ Briggs⁽¹⁰⁾ 諸氏的方法而整理分類者。

茲將各個處理方法所分離出之菌株結果及性質分別論述之。

(I) 低溫性培養分離區

本區分 A、B 兩處理組，(共計為 244 菌株)，A 組分離出 91 菌株，B 組分離出 153 菌株，其詳情列於表 3。

表 3、低溫分離區分類後之菌種及菌株數 (25°C.)

Table 3. The Numbers and Kinds of Lactic Acid Bacteria Isolated at 25°C. Treatment.

Treatments 處理別 菌 株 Numbers of Strains Bacterial Species	A 組		B 組	
	91 菌株中所含 菌 株 數 No. of Strains in 91 Strains Isolated	A Group 所佔百分比 (%) Percentage	153 菌株中所含 菌 株 數 No. of Strains in 153 Strains Isolated	B Group 所佔百分比 (%) Percentage
Str. lactis type	42	46	74	48.3
Str. cremoris type	3	3	6	3.9
Str. faecalis type	33	36	37	24
Micrococcus type	5	5	4	2.6
Staphylococcus type	—	—	1	0.6
L. casei type	2	2	28	18.1
不明菌種 Unknow Bacteria	6	6	3	2.4

如表所示，在低溫培養分離區 244 菌株中，Str. lactis type 為 116 株 (47.5%)，Str. Cremoris type 9 株 (3.7%)，Str faecalis type 70 株 (28.6%)，Micrococcus type 9 株 (3.7%)，Staphylococcus type 1 株 (0.5%)，L. casei type 30 株 (12.3%)，而不明菌種為 9 株 (3.7%)。

(I) Str. lactis type 菌體直徑約為 0.5~1.0 μ 之雙球菌或短鏈球菌，是革蘭氏陽性，不能液化動物膠。觸酶，表面發育及硝酸鹽還原試驗均呈陰性。生酸適溫為 30~38°C。石蕊牛乳中會很快還原凝固。大部份不能耐 63°C，30 分鐘加熱。能耐 4% 食鹽，大多數能耐 pH 9.2，但於 6.5% 食鹽及 pH 9.6 幾不能生育。其最高產酸度平均為 0.8~1.0%，但亦有超過 1.0% 者。根據一般記載典型的 Str. lactis 是對 Starch、Inulin、Sucrose 及 Glycerin 不能醱酵^(3,4)，但本試驗中發現部份菌株能對 Starch 及 Sucrose 醱酵，且醱酵狀況佳良，該類乳酸菌菌株倘將來應用於醱酵乳製品上仍須進一步之探討。茲將各種分離所得之 Str. lactis type 主要性質列於表 4。代表菌株之顯微鏡觀察 (2000 倍) 如圖(1)所示。

表4、各種 *Str. lactis* type 之主要性質

Table 4. The Main properties of Various Strains of *Str. Lactis* Type.

型別	代表菌株 Type Representative Strains	生酸適溫(°C.) Optimum Temp. for Producing Lactic Acid.						最高酸度 Max. Acidity %	耐熱性 Heat Tolerance		pH發育性 Growth State at pH.					耐鹽性 Salt Tolerance		醣類發酵性 Fermenting Properties of Saccharides											
		20	25	30	38	45	50		60°C	75°C	4.0	9.2	9.6	4.0	6.5	starch	dextrin	inulin	raffinose	maltose	sucrose	lactose	glucose	mannose	galactose	arabinose	xylose	mannit	glycerin
		30'	15'	+	+	-	+		-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
I	ND20	++	+++	+++	+++	-	-	0.8	-	-	±	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	
II	CD16	++	+++	+++	+++	+	-	1.0	±	-	+	+	-	+	-	++	+	±	±	++	+	+	+	+	+	+	+	-	
III	CF 1	++	+++	+++	+++	++	-	1.0	+	-	+	+	±	+	±	-	+	±	+	++	+	+	+	+	+	+	+	-	
IV	MD14	+	++	++	+++	-	-	0.9	-	-	±	+	-	+	-	-	-	-	-	±	±	+	+	+	+	+	+	-	

(II) *Str. cremoris* type 本菌型 9 菌株中 5 株是在南投縣獲得。大部呈雙球及短鏈狀，耐熱性低，生酸適溫在 20°~30°C 之間，最高產酸度約在 0.6~0.8%，化學抗性弱，含 4% 食塩及 pH.9.2 以下不能發育，無硝酸塩還原性，其主要性質如表 5，其代表菌株之顯微觀察如圖(2)所示。

表5、*Str. cremoris* type 之主要性質

Table 5. The Main Properties of Various Strains of *Str. Cremoris* Type.

型別	代表菌株 Type Representative Strains	生酸適溫(°C.) Optimum Temp. for Producing Lactic Acid						最高酸度 Max. Acidity %	耐熱性 Heat Tolerance		pH發育性 Growth State at pH.					耐鹽性 Salt Tolerance		醣類發酵性 Fermenting Properties of Saccharides											
		20	25	30	38	45	50		63°C	75°C	4.2	9.2	9.6	4.0	6.5	starch	dextrin	inulin	raffinose	maltose	sucrose	lactose	glucose	mannose	galactose	arabinose	xylose	mannit	glycerin
		30'	15'	+	+	-	-		+	-	± <td>±</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>±</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td>	±	-	+	-	-	-	-	-	±	-	+	+	+	+	+	+	+	-
I	ND 2	++	+++	+++	+	-	-	0.85	-	-	±	±	-	±	-	-	-	-	-	±	+	-	+	+	+	+	-	-	
II	ND 8	+	++	++	-	-	-	0.65	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	+	+	-	-	-	

(III) *Str. faecalis* type 本菌是 *Enterococcus* 之代表菌。其分離出來之所佔百分比較高，菌形及菌落和 *Str. lactis* 類似，生酸溫度範圍廣(20°~50°C.)，對動物膠之液化大部分為(-)，但偶有(+)及(±)出現，硝酸塩呈陽性反應，耐熱性強。於 63°C，30 分鐘可發育；75°C，15 分鐘發育不顯著，最高產酸量約在 0.6~1.2% 間；可在 pH.4.0 及 9.2 中發育，耐鹽性亦強，對 14 種醣類除 Inulin 外幾全可發酵，尤對 Lactose 及 Glucose 強。茲將其主要性質列於表 6，代表菌株之顯微觀察如圖(3)所示。

6.5%食塩，觸酶呈陽性反應，對 Glucose，Lactose 呈卅，Sucrose 呈+，而 Mannit 則爲—，本菌型代表菌株顯微鏡觀察如圖6所示。

(II) 高溫培養分離區

本區亦分A、B兩處理組別，由A組分離出69菌株，B組分離得54菌株，共計得123菌株。茲將A、B兩組菌株分類整理後所得的結果列于表8。

表8、 高溫分離區分類後之菌種及菌株數 (45°C.)
Table 8. The Numbers and Kinds of Lactic Acid Bacteria
Isolated at 45°C. Treatment.

處理別 Numbers of Strains 菌種 Bacterial Species	A 組 A Group		B 組 B Group	
	69菌株中所含菌株數 No. of Strains in 69 Strains Isolated*	所佔百分比(%) Percentage	54菌株中所含菌株數 No. of Strains in 54 Strains Isolated	所佔百分比(%) Percentage
Str. lactis type	16	23.1	5	9.2
Str. faecalis type	8	11.5	14	25.9
Str. thermophilus type	34	49.2	34	63
Staphylococcus type	1	1.4	—	—
L. acidophilus type	1	1.4	1	1.9
L. bulgaricus type	3	4.5	—	—
L. lactis type	3	4.5	—	—
L. thermophilus type	2	3.0	—	—

如表所示，在高溫培養分離區123菌株(A組，69株；B組，54株)中，Str. lactis type 21菌株(佔17%)，Str. faecalis type 22菌株(17.8%)，Str. thermophilus type 70菌株(佔56.9%)，Staphylococcus type 1菌株(佔0.3%)，L. acidophilus type 2菌株(佔1.6%)，L. bulgaricus type 3菌株(佔2.4%)，L. lactis type 3菌株(佔2.4%)，L. thermophilus type 2菌株(佔1.6%)。

(I) 由本區所得之 Str. thermolactis type，Str. faecalis type 及 Staphylococcus type 性質和由低溫培養分離所得之菌株大致相同，不再贅述。

(II) Str. thermophilus type 爲本分離區所得株數最多之菌型，雖然找不出典型之 thermophilus type，但一切性質多相近似，其形態屬連鎖狀之大型球菌，菌徑接近 1μ ，生酸適溫大部在 $38^{\circ}\sim 50^{\circ}\text{C}$., 並且絕大多數可耐 63°C ., 30分鐘加熱，不能耐4%食塩及pH. 9.2以上，並且對美藍還原力很弱，動物膠液化及硝酸塩還原均呈陰性反應，對 Dextrin，Maltose，Mannit 幾不呈作用，而對 Lactose，Glucose，Galactose，Sucrose 則可醱酵。茲將其主要性質列于表9，代表菌株之顯微鏡觀察，如圖7所示。

表 9 Str. thermophilus type 之主要性質
Table 9 The Main Properties of Various Strains of Str. Thermophilus Type.

型別	代表菌株 Representative Strains	生酸適溫 (°C) Optimum Temp. for Producing Lactic Acid						耐熱性 Heat Tolerance		pH發育性 Growth State at pH.			耐鹽性 Salt Tolerance		醣類發酵性 Fermenting Properties of Saccharides												
		20	25	30	38	45	50	63°C	75°C	4.0	9.2	9.6	4.0	6.5	starch	dextrin	inulin	raffinose	maltose	sucrose	lactose	glucose	mannose	galactose	arabinose	xylose	mannit
I	TD1	-	-	+	+++	++	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	++	++	+	-	-	-	-	-
II	MC1	-	+	+	+++	+++	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	++	+++	++	-	+	-	-	+	-

(III) *L. acidophilus* type 本菌型之菌形為長桿狀，大約在 $0.6 \sim 0.8 \times 3-6 \mu$ ，由殺菌分離區及 45°C 。培養區各獲得 1 株，生酸適溫在 $38^\circ\text{C} \sim 45^\circ\text{C}$ 。不能耐 63°C 。30 分鐘加熱，最高產酸度為 $0.87 \sim 1.0\%$ ，菌株中 CD20 能耐 pH4.0 及 pH9.2，而 CD25 則不能耐過。耐鹽性強，茲將其主要性質列于表 10，代表菌株之顯微鏡觀察，如圖 8 所示。

表 10、*L. acidophilus* type 之主要性質
Table 10. The Main Properties of Various Strains of *L. Acidophilus* Type.

型別	代表菌株 Representative Strain	生酸適溫 (°C) Optimum Temp. for Producing Lactic Acid						耐熱性 Heat Tolerance		最高酸度 Max. Acidity %	pH發育性 Growth State at pH.			耐鹽性 Salt Tolerance		醣類發酵性 Fermenting Properties of Saccharides											
		20	25	30	38	45	50	63°C	75°C		4.0	9.2	9.6	4.0	6.5	starch	dextrin	inulin	raffinose	maltose	sucrose	lactose	glucose	mannose	galactose	arabinose	xylose
I	CD20	-	±	+	++	++	±	-	-	1.0	+	+	-	+	±	-	-	+	++	++	++	+	+	-	±	±	-
II	CD25	-	±	+	++	++	-	-	-	0.87	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+++	+++	+	+	-	+	+	-

(IV) *L. bulgaricus* type 本菌型 3 株全由 45°C 。分離區獲得，呈桿菌狀，亦偶具顆粒者，生酸範圍 ($25^\circ\text{C} \sim 50^\circ\text{C}$)，但以 $38^\circ\text{C} \sim 45^\circ\text{C}$ 。較佳，最高產酸度為 $1.8 \sim 2.4\%$ ，不能耐于 63°C 。30 分鐘加熱，對於 Sucrose 及 Maltose 不能醱酵，在石蕊牛乳中赤變及凝固速度均快，茲將其主要性質列於表 11，代表菌株之顯微鏡觀察如圖 9 所示。

表 II、L. bulgaricus type 之主要性質

Table II. The Main Properties of L. Bulgaricus Type.

代 表 菌 株	生酸適溫 (°C.) Optimum Temp. for Producing Lactic Acid						耐熱性 Heat Toler- ance		最 高 酸 度 Max. Acidity %	pH發育性 Gr /th State at pH.			耐鹽性 Salt Toler- ance		醣類 酸 酵 性 Fermenting Properties of Saccharides														
	20	25	30	38	45	50	63°C	75°C		4.0	9.2	9.6	4.0	6.5	starch	dextrin	inulin	raffinose	maltose	sucrose	lactose	glucose	mannose	galactose	arabinose	xylose	mannit	glycerin	
																													+
MD 18	±	+	++	+++	+++	+	-	-	1.76	+	-	-	+	+	±	-	-	±	-	-	+++	+++	+++	+++	±	-	+	-	-

(V) L. thermophilus type 本菌型性質與 L. bulgaricus 相類似，但較具耐熱性，能耐 63°C.，30 分鐘加熱，生酸適溫為 45~50°C.，產酸度較低，約在 0.8% 左右，對 Maltose，Arabinose，Mannit 不能醱酵，對 Sucrose 則可。茲將其主要性質列于表 12，代表菌株之顯微鏡觀察列於圖 10 所示。

表 12、L. thermophilus type 之主要性質

Table 12. The Main Properties of Various Strains of L. Thermophilus Type.

型 別	代 表 菌 株	生酸適溫 (°C.) Optimum Temp. for Producing Lactic Acid						耐熱性 Heat Toler- ance		最 高 酸 度 Max. Acidity %	pH發育性 Growth State at pH.			耐鹽性 Salt Toler- ance		醣類 酸 酵 性 Fermenting Properties of Saccharides													
		20	25	30	38	45	50	30'	15'		4.0	9.2	9.6	4.0	6.5	starch	dextrin	inulin	raffinose	maltose	sucrose	lactose	glucose	mannose	galactose	arabinose	xylose	mannit	glycerin
I	CD 15	-	±	+	++	+++	++	+	-	0.8	±	-	-	+	±	+	-	±	-	+	+++	+++	+++	+++	-	+	-	-	
II	CD 17	-	-	+	+	+++	+++	+	±	0.8	±	±	-	+	-	+	-	+	+	+	+++	+++	+++	+	-	±	-	-	

(VI) L. lactis type 本菌型呈長桿狀單獨或連鎖狀，生酸適溫為 38~50°C.，耐熱性低，不能耐于 63°C.，30 分鐘加熱，觸酶生成呈陰性，而硝酸鹽還原則呈陽性，對 4% 食鹽濃度有耐性，醣類醱酵中 Lactose，Glucose，及 Maltose 呈+++，Raffinose 呈+，而 Arabinose 及 Mannit 則否，茲將其主要性質列于表 13，代表菌株之顯微鏡觀察如圖 11 所示。

表 13、L. lactis type 之主要性質：
Table 13. The Main Properties of L. Lactis Type.

代 表 菌 絲 Representative Strains	生酸適溫 (°C.) Optimum Temp. for Producing Lactic Acid						耐熱性 Heat Tolerance		最 高 酸 度 Max. Acidity %	pH發育性 Growth State at pH.			耐鹽性 Salt Tolerance		糖 類 發 酵 性 Fermenting Properties of Saccharides												
	20	25	30	38	45	50	30'	15'		4.0	9.2	9.6	40	6.5	starch	dextrin	inulin	raffinose	maltose	sucrose	lactose	glucose	mannose	galactose	arabinose	xylose	mannit
MD16	-	-	+	++	+++	+	-	-	0.8	+	+	-	+	-	+	-	+	++	++	++	+	+	-	+	-	-	-

(II) 青黴素添加區

本區共分離出 135 個菌株，經分類整理後所得之結果列于表 14。

表 14、青黴素添加區之菌種及其菌株數
Table 14. The Numbers and Kinds of Lactic Acid Bacteria Isolated from Added Penicillin Treatment.

菌 種 Bacterial Species	菌 株 數 Numbers of Strains	135 菌株中所含菌株數 No. of Strains in 135 Strains Isolated	所 佔 百 分 比 (%) Percentage
L. bulgaricus type		6	4.4
L. lactis type		2	1.4
L. acidophilus type		7	5.2
L. thermophilus type		1	0.5
L. casei type		2	1.4
Str. thermophilus type		53	40
Str. lactis type		55	40.5
Str. faecalis type		9	6.6

本區所分離出之菌株，其形態及一般性質與前二區所分離出者相近似，僅有部分化學的耐性和耐熱性較強。恕未再將各菌型一一列表詳述。

四、結 論 (Conclusions)

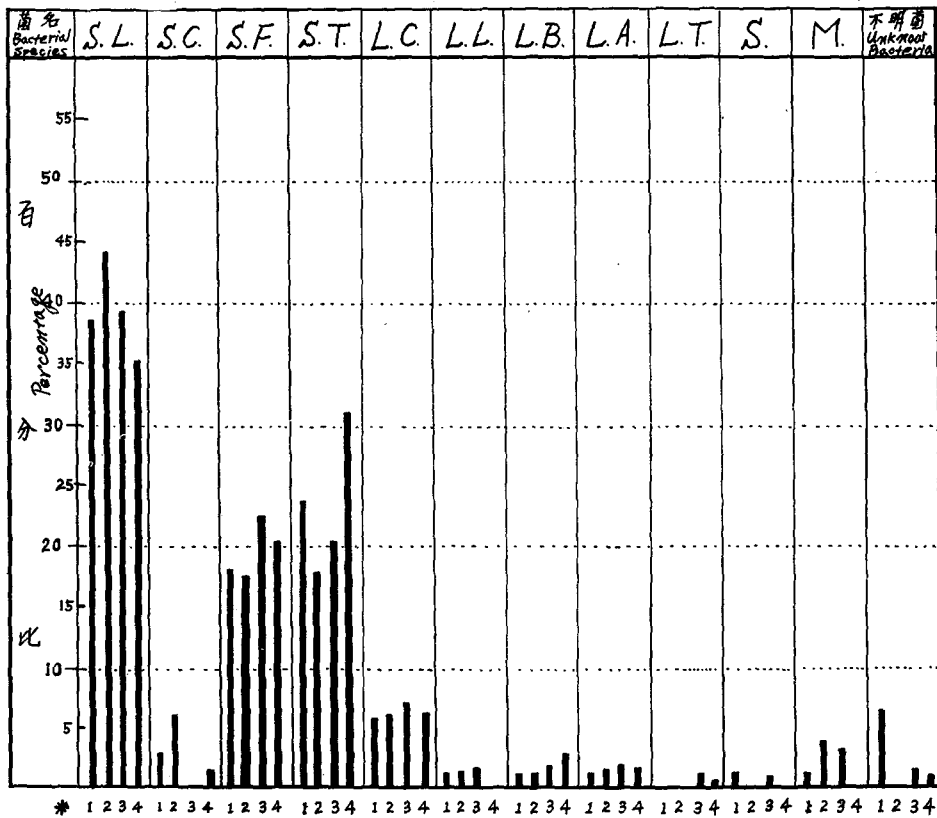
由以上三個分離區所得之 502 株乳酸菌群，依其型別分類時，可得下列結果：

1. Streptococcus type 佔有 85%，其中以 Lactic group 為最多，約佔 39.9%。

2. *Lactobacillus* type 佔 11.6 %。
3. *Micrococcus* type 佔 1.8 %。
4. *Staphylococcus* type 佔 0.45 %。
5. 不明菌種佔 1.8 %，大部屬革蘭氏陽性，且呈桿狀較多，化學性質複雜，無法分類整理。
6. 綜觀台灣中部地區新鮮生牛乳中，乳酸菌群在地理上幾呈相同分佈狀態，各縣市各類型所佔比例幾乎相類似，如表 15 所示。但與寒冷地帶之分佈實態不相同(5)，而台灣中部地區以 *Streptococcus* 類較多，其中以 *Lactic group* 所佔比例最高，為 39.9 %。

表 15、台灣中部四縣市乳酸菌分佈實態

Table 15. The Distribution of Lactic Acid Bacteria in Cow's Milk Produced in the Central Part of Taiwan.



※ 註 ※ 1 表苗栗 S. L. = *Str. lactis* L. C. = *L. casei* L. T. = *L. thermophilus*
 2 表南投 S. C. = *Str. cremoris* L. L. = *L. lactis* S. = *Staphylococcus*
 3 表彰化 S. F. = *Str. faecalis* L. B. = *L. bulgaricus* M. = *Micrococcus*
 4 表台中 S. T. = *Str. thermophilus* L. A. = *L. acidophilus*

五、摘要 (Summary)

1. 自台灣中部四縣市 66 個處所採取新鮮生牛乳試樣 110 個，分別分離出 25°C 低溫性，45°C 高溫性，加熱後高溫性等乳酸菌，其結果共分離出 502 菌株，依其形態及生理和生化之性質加以分類，確定結果如下：

Str. lactis	38%	Str. cremoris	1.9%	Str. faecalis	20.1%
Str. thermophilus	24.3%	L. casei	6.3%	L. lactis	1.0%
L. bulgaricus	1.8%	L. acidophilus	1.8%	L. thermophilus	0.75%
Staphylococcus	0.45%	Micrococcus	1.8%	不明菌種	1.8%

2. 台灣中部四縣市乳酸菌群分佈實態大略相同。
3. 分離出之乳酸菌群中 Streptococcus type 較多約佔 85%，其中以 Lactic group 所佔比例高達 39.9%。

六、參考文獻 (References)

1. 北原覺雄 日本農葯化學會誌 14:144 (1938)
2. 東京大學農葯化學教室編 實驗農葯化學 上卷 P.238~243 朝倉書店 東京 (1952).
3. 中西武雄 牛乳と乳製品の微生物 P.282 地球出版社 東京 (1967).
4. 北原覺雄 乳酸菌の研究 P.29~71 東京大學出版會 東京 (1969).
5. 佐佐木林治郎・中江利孝 日畜會報 29:6 (1959).
6. Orla-Jensen: The lactic acid bacteria (Sec. Ed.), Kobenhavn, I Kommission Hos Einar Munksgard (1942).
7. Hammer, B.W. Dairy Bacteriology 4th Ed. P.373 John Wiley and Sons, Inc., (1957).
8. Breed, R. S., Marry, E. G. O., Smith, N. R.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed., P.529, Baltimore (1957).
9. Shermann, J. M. J. Bact. 35:81 (1938).
10. Briggs, M. Gen. Microbiol 9:234 (1953).

Studies on the Distribution and Properties of Lactic Acid Bacteria in Cow's Milk in Taiwan

(I) On Cow's Milk Produced in the Middle of Taiwan

Chung-hsung Shih*

SUMMARY

In the investigation of the distribution and properties of lactic acid bacteria in cow's milk, various strains of Lactobacteriaceae were isolated from raw-milk samples collected in the central part of Taiwan. There were 502 strains isolated and selected for physiological tests and then identified.

The 502 strains were classified into the following species with per cent frequency: *Str. lactis* type 38%, *Str. cremoris* type 1.9%, *Staphylococcus* type 0.45%, *Str. faecalis* type 20.1%, *Str. thermophilus* type 24.3%, *L. casei* type 6.3%, *L. lactis* type 1.0%, *L. bulgaricus* type 1.8%, *L. acidophilus* type 1.8%, *L. thermophilus* type 0.75%, *Micrococcus* type 1.8%, and others 1.8%.

From the point of view of bacteria distribution, there were few geographical differences in species isolated from the raw milk samples. And, of the lactic acid bacteria isolated, Lactic group was detected in a remarkable percentage (39.9%).

國立中興大學 
National Chung Hsing University

* Instructor, Department of Animal Husbandry and Veterinary, College of Agriculture, National Chung-Hsing University.

乳酸菌之顯微鏡觀察 (×200)

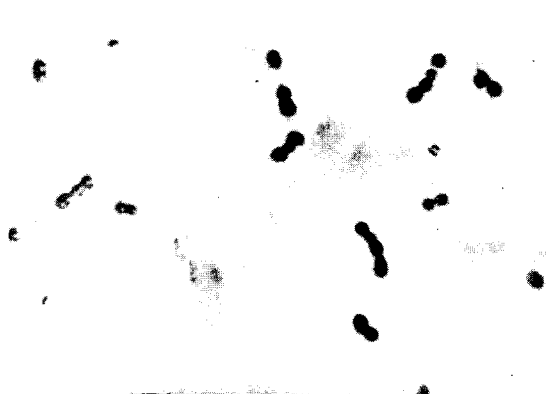


圖 1 : 乳鏈球菌
Fig 1 : *Str. lactis*

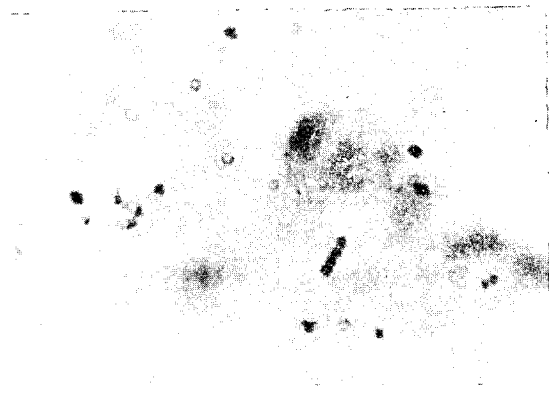


圖 2 : 乳酪鏈球菌
Fig 2 : *cremoris*

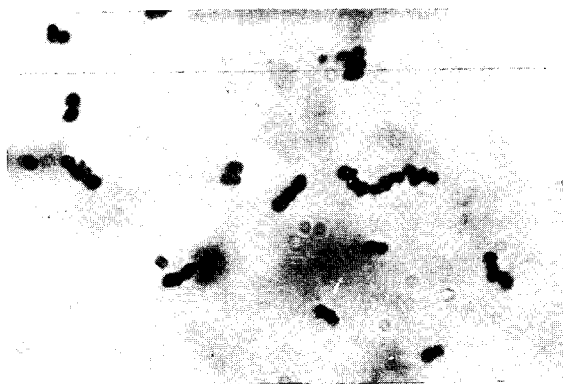


圖 3 : 糞鏈球菌
Fig 3 : *Str. faecalis*

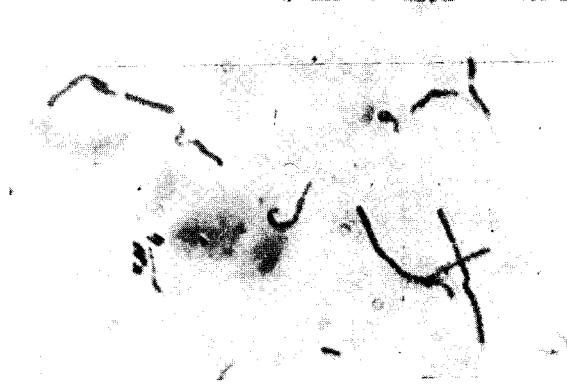


圖 4 : 乾酪乳桿菌
Fig 4 : *L. casei*

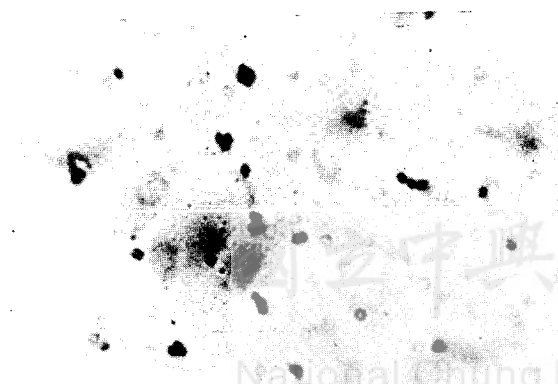


圖 5 : 細球菌屬
Fig 5 : *Micrococcus*

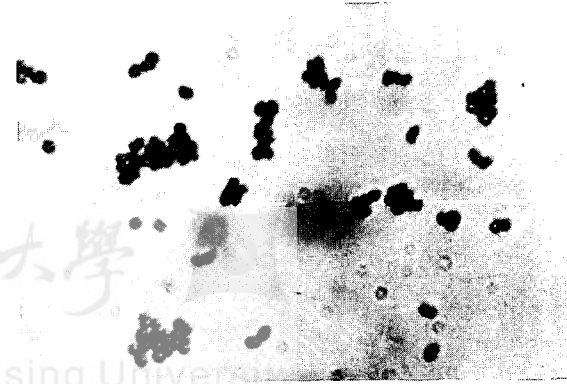


圖 6 : 葡萄球菌屬
Fig 6 : *Staphylococcus*

國立中興大學
National Chung Hsing University

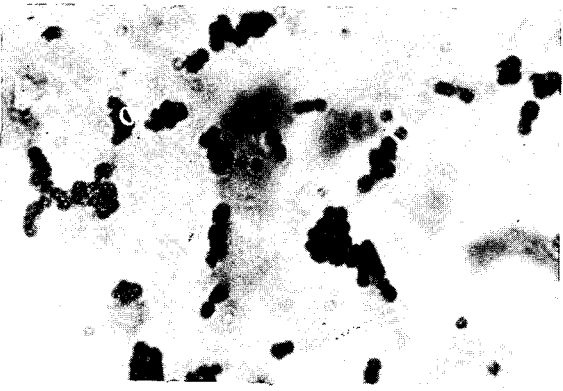


圖 7 : 嗜熱鏈球菌
Fig 7 : *Str. thermophilus*

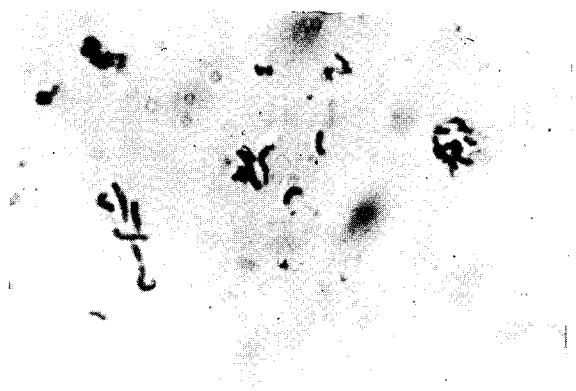


圖 8 : 嗜酸乳桿菌
Fig 8 : *L. acidophilus*

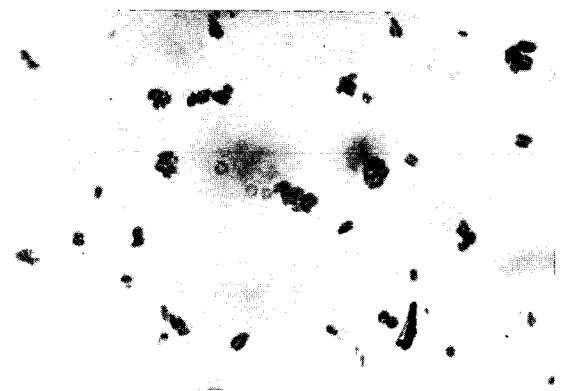


圖 9 : 保加利亞乳桿菌
Fig 9 : *L. bulgaricus*

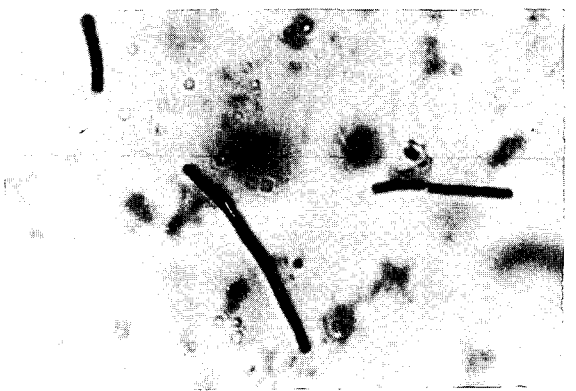


圖 10 : 嗜熱乳桿菌
Fig 10 : *L. thermophilus*

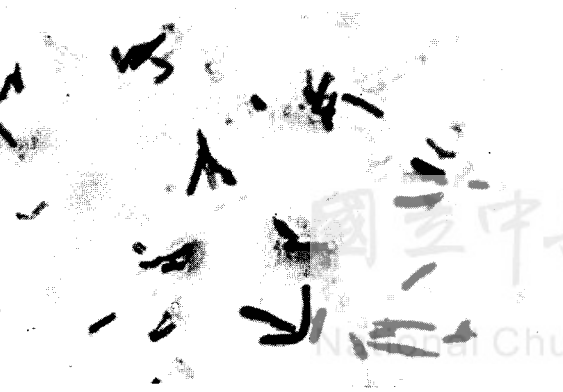


圖 11 : 乳酸乳桿菌
Fig 11 : *L. lactis*