

中國醫藥大學中西醫結合研究所碩士論文

編號：

指導教授：陳汶吉 教授
共同指導教授：林文鑫 副教授

論文題目

益生菌優酪乳改善便秘之第一二期臨床試驗
The first and second clinical trials of the
probiotic yogurt to improve bowel function and
constipation

研究生：施宜興

中華民國一〇一年七月十五日

中國醫藥大學碩士班研究生
論文指導教授推薦書

中西醫結合研究所，施宜興君所提之論文
益生菌優酪乳改善便秘之第一二期臨床試驗
，係由本人指導撰述，同意提付審查。

指導教授 陳汝吉 (簽章)

中華民國 101 年 7 月 15 日

中國醫藥大學碩士班研究生
論文口試委員審定書

中西醫結合研究所，施宜興君所提之論文
益生菌優酪乳改善便秘之第一二期臨床試驗
經本委員會審議，認為符合碩士資格標準。

論文口試委員會

委員

陳文吉

(簽章)

林文鑫
劉克福

所長

陳文吉

中華民國 101 年 7 月 15 日

目 錄

	1
第一章 前言.....	4
第二章 文獻探討.....	5
2.1 益生菌和中醫觀點.....	5
2.2 便秘診斷標準.....	5
2.3 益生菌對腸胃道近期相關的研究成果.....	7
2.4 益生菌相關生理現象的影響.....	7
2.5 益生菌對疾病研究的應用.....	8
第三章 實驗方法.....	10
3.1 實驗內容及實驗樣品之基本資料.....	10
3.2 實驗設計.....	10
3.3 試驗之主要納入與排除條件.....	11
3.4 試驗執行流程.....	12
3.5 統計方法.....	17
第四章 結果.....	19
4.1 受試者基本資料分析.....	19
4.2 受試者身體質量指數(BMI)變化.....	19
4.3 受試者便秘指數變化及排便頻率.....	20
4.4 受試者腸道菌叢變化.....	21
4.5 糞便細胞免疫激素分析.....	27
4.6 大鼠消化器官之組織收縮試驗.....	27
4.7 小鼠排便試驗.....	30
4.8 小鼠之胃腸排空率試驗.....	31
第五章 討論.....	33
第六章 結論.....	37
參考資料.....	38
附錄 1、統計分析.....	40
附錄 2、中國醫藥大學附設醫院施行人體試驗計畫同意書.....	44
附錄 3、ROMO III and IBS-C criteria.....	45
附錄 4、問卷.....	46
英文摘要.....	52
感謝辭.....	54

圖目錄

圖 3.1.....	12
圖 4.1.....	20
圖 4.2.....	22
圖 4.3.....	23
圖 4.4.....	24
圖 4.5.....	25
圖 4.6.....	25
圖 4.7.....	26
圖 4.8.....	28
圖 4.9.....	29
圖 4.10.....	29-30
圖 4.11.....	31
圖 4.12.....	32



表目錄

表 3.1.....	13
表 4.1.....	19
表 4.2.....	20
表 4.3.....	27



中文摘要

題目：益生菌優酪乳改善便秘之第一二期臨床試驗

姓名：施宜興

指導教授：陳汶吉教授

共同指導教授：林文鑫副教授

學校暨研究所名稱：中國醫藥大學中醫學院中西醫結合研究所

慢性便秘為國人常見的慢性腸道疾病之一，在美國成年人中，報告發生率範圍從 3-30%，平均約 15%。便秘的婦女發生率是男生的兩倍，便秘更是中老年人常見的疾病。文獻報告指出發酵乳 (Ferment milk) 可調節腸道蠕動時間，降低因為長時間蠕動而引起某些大腸疾病的敏感性，而人體腸道內菌叢可藉由飲食型態的改變，使有益菌及有害菌數量改變，達到改善人體腸道菌叢的目的，本研究為市售的統一原味多多活菌發酵乳對慢性便秘女性之改善胃腸蠕動，減少便秘之臨床評估，以及對改善胃腸蠕動，減少便秘之動物試驗希望藉此達到方便有效又安全的治療效果，並評估臨床生理機轉。

此計畫之人體試驗乃規畫收集 30 位受試者，採用單盲試驗，實驗共分成穩定期、安慰劑期、實驗期及排空期。穩定期為 10 天，在於調整受試者之飲食習慣，以及觀察受試者之配合度等，配合度不佳者於此期即予以排除；安慰劑期 10 天，為飲用不含乳酸菌之多多安慰劑；實驗期則飲用 20 天含乳酸菌之多多活菌發酵乳 (原味) 200ml；排空期為受試者停喝 10 天之問卷及糞便分析。

此研究目的為評估統一多多活菌發酵乳 (原味) 產品是否具有改善便秘、促進排便之效果。此外，也進行糞便的菌相分析，以評估試驗產品是否有改善腸道菌相之作用。同時，也評估糞便中 TGF-beta, IL-10, IL-6, IFN-gamma 之細胞免疫激素濃度。

動物試驗部份的實驗內容主要參考行政院衛生署公布的「健康食品之胃腸功能改善評估方法」進行試驗，試驗分為離體及體內實驗二部分進行。

第一部分為消化器官之組織收縮試驗，此為離體實驗，將 SD 大鼠的胃、小腸、結腸組織取出後，加入不同劑量之測試樣品，測試樣品包括：安慰劑、一倍（1X）多多活菌發酵乳（正常劑量）及三倍（3X）多多活菌發酵乳（高劑量），樣品加入後監控各組織的收縮情況並計算組織張力。

第二部分為體內實驗，將 ICR 小鼠隨機分成四組，每組 12 隻小鼠，分別為生理食鹽水組、安慰劑組、一倍（1X）多多活菌發酵乳（正常劑量組）及三倍（3X）多多活菌發酵乳（高劑量組）。各組小鼠皆進行餵食各樣品四週，餵食期間定時收集且觀察各組小鼠糞便之粒數、濕重、乾重及形狀，並記錄之。接著於隔日再灌餵以上四組樣品，且樣品中皆加入微量的紅色色素，經一段時間後立刻斷頭將小鼠犧牲，取出胃及腸道器官，以測量組織長度及色素前進距離，再依公式計算胃腸排空率。

根據本實驗結果證實，統一多多活菌發酵乳（原味）每日 200ml 確實可改善年輕女性便秘患者之排便情況，且可增加排便頻率、雙叉桿菌和乳酸桿菌群之數量（ $p < 0.05$ ）。因此整體而言，此統一多多活菌發酵乳（原味）產品具有相當良好之促進排便作用，且對雙叉桿菌及乳酸桿菌的菌群有顯著提升的效果存在，但並無法有效地降低壞菌的數量。在不同實驗期間之細胞激素雖有變化，但因個體間之差異變化極大，因此統計分析結果皆無顯著差異存在。

動物試驗部份實驗結果顯示，第一部份之離體試驗，SD 大鼠的胃、小腸、結腸肌肉組織在加入劑量大於 120 $\mu\text{l/ml}$ 劑量一倍的多多發酵乳樣品後，即開始出現微弱的組織收縮現象，並隨著添加多多樣品的劑量增加而增強收縮，因此有劑量依賴性，而添加三倍多多樣品的組織，其刺激效果大於一倍劑量的多多。在小鼠的體內實驗中，餵食一倍及三倍多多發酵乳二週之後，小鼠之糞便粒數及水份含量皆較餵食生理食鹽水或安慰劑組之小鼠有顯著性增加的現象（ $p < 0.05$ ）。在胃腸排空率試驗中，也證實餵食一倍及三倍多多發酵乳小鼠的胃腸道，其色素移動距離皆較生理食鹽水或安慰劑組遠，即餵食多多後小鼠之胃腸排空率在統計上有顯著性提高的現象（ $p < 0.05$ ）。

綜合以上人體實驗及離體實驗及體內試驗結果，本研究證實統一多多活菌發酵乳確實具有促進腸道蠕動及改善年輕女性便秘患者之排便情況的效果。



第一章 前言

人類的腸道中棲息了約數百種細菌，這些正常菌相的存在，除了可抑制有害病菌在腸內孳生及危害外，且可產生人體所需的物質，如維生素 B 及 K 等。在人體正常菌相中，包含了有益菌與有害菌，有益菌產生的代謝產物（如乳酸與醋酸）可抑制有害菌的增殖，對健康的維持與整腸方面有相當的幫助。一般健康人體腸道中有害細菌（如產氣莢膜梭菌 *Clostridium perfringens*）含量不高，無法危害人體，然而身體的不適，飲食及環境的變化、精神壓力、老化等都可能使有害菌增加，造成腸內菌相平衡的崩解，進而引起便秘、下痢。慢性便秘 (Chronic constipation) 為國人常見的慢性腸道疾病之一，涵蓋年齡層包括孩童至老人皆有此種症狀發生的機率。健康成人腸道菌叢居住著複雜且多種的微生物，並且與人體健康與營養息息相關。人體腸道內菌叢可藉由飲食型態的改變，使有益菌及有害菌數量改變，達到改善人體腸道菌叢的目的¹。腸道功能為慣性的改變，比如腸道蠕動緩慢便會漸漸引發大腸急躁症等症狀出現。根據文獻報告指出，發酵乳 (Ferment milk) 可調節腸道蠕動時間，降低因為長時間蠕動而引起某些大腸疾病的敏感性²。

益生菌可當作防止病原菌侵入的屏障，最常見的益生菌如乳酸桿菌 (*Lactobacillus*) 及比菲德氏菌 (*Bifidobacterium*)。在亞洲及歐洲已經有許多新上市含有比菲德氏菌的發酵乳 (Bifidus milk, BM)，近年研究也都指出食用此類產品可以改善腸道菌叢代謝情形，及降低腸胃道因為服抗生素所產生的不適症狀等³，但前提必須是益生性活菌可以通過胃部到達腸道。另外研究也指出，乳酸桿菌對人體也有改善排便頻率、增加有益菌及降低有害菌等功效。

本研究以統一企業所提供之統一多多活菌發酵乳 (原味) 產品進行人體試驗，試驗對象為未接受臨床治療之輕度至中度便秘的年輕女性，評估目標為測試此產品是否可改善胃腸道蠕動而緩解便秘的現象，同時也評估此產品是否具有改善腸道菌相的效果。

第二章 文獻探討

2.1 益生菌和中醫觀點

梅特尼卡夫 (Eli Metchnikoff) 1908 年諾貝爾醫學獎得主/俄國動物學和微生物學家。梅特尼卡夫於 1908 年提出發酵乳中的某些乳酸菌能抑制腸道內的有害細菌、促進人類的健康和長壽的研究報告，他發現了保加利亞人的平均壽命長達 87 年，更驚人的是，千分之四的保加利亞人壽命超過 100 歲，使得益生菌的重要性漸受重視。定義上又分成以下的名詞—乳酸菌 (Lactic acid bacteria)：一般指的乳酸菌是相當龐雜的菌群，是能利用碳水化合物進行發酵產生多量乳酸之細菌，均稱為乳酸菌。益生菌：(Probiotics) 學術上的用詞「probiotics」，中文譯為「益生菌」或「原生保健性菌種」。其來源衍生自希臘語，意思是『for life』(為了生命) 益生菌 1992 年被廣義定義為：凡應用至人類或其他動物，可藉由改善內生性微生物相之平衡，而有益於宿主的活菌，不論是單一或混合菌株均可視為益生菌。而乳酸菌的歷史與研究中，人類飲用發酵乳品歷史非常悠久⁷，所以，乳酸菌一直被認為是非常安全的菌種，因此美國食品藥物主管機構給予乳酸菌安全可靠的檢驗標記 GRAS (generally regarded as safe)，意思為該食品是『一般公認安全』。

根據國際科學期刊《Br.J. Nutr.》發表的醫學臨床研究⁹指出，每日至少需補充 150 至 200 億的益生菌數，對促進健康的效果才會顯著¹⁰。而在中國古代發酵奶的使用有下列的產品：1. 酸奶、優格 (yogurt)；2. 醍醐：從牛羊的乳中提煉而成，是一種精美食品；3. 紅茶菌：俗稱紅茶菇，含有大量的酵母菌、醋酸菌、乳酸菌等對人體有益的微生物活性菌；4. 米麴：把糙米利用米麴菌(*Aspergillus oryzae*)製備米麴制成糙米發酵飲品¹⁶。

2.2 便秘診斷標準

慢性便秘 (Chronic constipation) 為國人常見的慢性腸道疾病之一，涵蓋年齡層包括孩童至老人皆有此種症狀發生的機率。健康成人腸道菌叢居住著複雜且多種的微生物，並且與人體健康與營養息息相關。便秘

是一種相當擾人卻也相當常見的的疾病，它的程度可以從很輕微到嚴重影響日常生活的地步。據估計，全世界約有百分之二到二十七的人有便秘的困擾，而全美每年約有兩百五十萬次的就診與便秘有關，瀉劑或軟便藥也是很常給予的藥物。造成便秘的原因很多，臨床醫師們在面對便秘的病人時，首重詳細的病史詢問及理學檢查，再根據可能造成便秘的原因來安排適當的檢查，以便給予正確的治療，改善症狀。便秘的定義有許多學者做出類似的看法，對大部分的人來說，排便的次數從一天三次到一周三次都算正常，根據最新的 Rome III criteria 定義為⁴：

1. 符合兩者或以上之下列症狀：
 - a. 在百分之二十五以上的解便時，需要出很大的力氣。
 - b. 在百分之二十五以上的解便時，為很硬或硬塊型的糞便。
 - c. 在百分之二十五以上的解便時，有解不乾淨的感覺。
 - d. 在百分之二十五以上的解便時，有阻塞不通的感覺。
 - e. 在百分之二十五以上的解便時，需輔以其他方式如手指輔助等。
 - f. 每週解便的次數少於3次。
2. 在不使用瀉劑藥物的情形之下很少解出鬆軟的糞便。
3. 在過去三個月內有以上症狀且持續至少超過6個月以上。

一般而言，造成病人便秘的症狀通常是兩三種原因合併的結果，諸如本身疾病腸道運動，藥物，或神經精神社交方面。通常我們將病人分成三類來討論：

1. 正常腸道運動速度（最為常見約佔百分之五十九）。
2. 肛門直腸骨盆的問題造成解便困難（其次，佔百分之二十五）。
3. 腸道運動速度較慢（佔百分之十三），或是上面2和3項混合型的病人（佔百分之三）。

人體腸道內菌叢可藉由飲食型態的改變，使有益菌及有害菌數量改變，達到改善人體腸道菌叢的目的。腸道功能為慣性的改變，比如腸道蠕動緩慢便會漸漸引發大腸急躁症等症狀出現⁴。根據文獻報告指出，發酵乳（Ferment milk）可調節腸道蠕動時間，降低因為長時間蠕動而引起某些大腸疾病的敏感性¹。

便秘程度之量化：統計結果時，將實驗期的個人每天之紀錄改以數字量化表示：(1) 該天的排便 ≥ 3 次：該天之結果不記入，且試驗期順延；1-2次：0；0次：10；(2) 該天的總排便時間 < 5分鐘：0；5-10分鐘：1；> 10分鐘：2；(3) 該天排便後覺得已完全排空：0；有點沒完全排空：1；明顯仍有糞便尚未能排出：2；(4) 所排的糞便呈水便有腹瀉現象：該天之結果不記入，且試驗期順延；濃粥樣便、軟便或正常硬度之條狀：0；有點乾硬：1；很乾硬：2；(5) 排便時無疼痛感覺：0；微痛：1；明顯痛：2。

便秘指數：每天的積分最高為 10，最低為 0，然後各別將該段實驗期之總積分除以記錄的日數，作為該受試者之平均「便秘指數」(Constipation score)，而以此指數來評估對改善便秘情形的影響。

2.3 益生菌對腸胃道近期相關的研究成果

一般健康人體腸道中有害細菌（如產氣莢膜梭菌 *Clostridium perfringens*）含量不高，無法危害人體，然而身體的不適，飲食及環境的變化、精神壓力、老化等都可能使有害菌增加，造成腸內菌相平衡的崩解，進而引起便秘或下痢。

2.4 益生菌相關生理現象的影響

1. 研究顯示果寡糖有助於促進腸道中乳酸桿菌等益生菌生長，並幫助於腸道維持良好消化機能，幫助排便順暢。建議每日攝取果寡糖約 10cc（濃度約 41%）即可，過量攝取果寡糖對增加腸道乳酸菌並無加成效果。
2. 研究發現癌症病患腸道中有害菌比例高，推測是有害菌產毒使腸道產生病變⁸。
3. 常服用益生菌（陰道特殊乳酸菌）可減少婦女同胞私密處的困擾，約有 1/12 的女性深受每年 4 次以上的反覆陰道感染之苦，女性生殖系統藉由結合乳酸菌，先天與後天免疫反應來預防病原體的入侵與生長。利用正常的陰道菌群自淨作用，其自淨作用的形成在於女性成年時，卵巢分泌的雌激素促使陰道上皮細胞發育，使含有肝糖的

上皮細胞增多，這些肝醣會被分泌到陰道流液中。而肝醣的產生，有助於一群「正常的陰道菌群」形成，約五十幾種菌類共生，其中又以「陰道特殊乳酸菌」為優勢菌、數量最多下，會分解肝醣產生乳酸，使陰道成為酸性環境(pH值在3.5~4.5)，同時會釋放出抗生物質(如：H₂O₂、Biosurfactants、Bacteriocins、Coaggregation molecules)，使得陰道中適應於弱鹼性環境中存在的致病菌(如：Gardnerella、Mycoplasma、Candida...) 在生長與附著上受到抑制，而使陰道的微生態處於平衡狀態，不受病原菌感染，我們稱這個能力為「自淨作用」。

4. 至今，益生菌保護與治療的主要機制，還不清楚。有多個假設機轉，主要是益生菌，利用細菌之間的干擾競爭，減少致病菌的效力；以及全身或腸道免疫調節及增進。例如，LGG 和 *L. plantarum* 競爭，抑制 enteropathogenic *E. coli* 0157H7 附著 HT-29 human colonic cancer cells⁸。其他包括促進維生素合成 (Vit B 群及 Vit K) 降低腸道酸鹼值、產生抗菌物質、誘發免疫反應活性、增進抗病毒的 specific antibody 產生、改變過敏原的抗原性，降低過敏反應的程度等。Mucosaassociated lactobacilli (主要 *L. paracasei*) 可以刺激活性 IL-12，增進 cell-mediated 免疫反應，調降 Th-2 免疫反應，減少 IL-4 和 IgE^{10,11}。這個發現，對於解釋益生菌在預防過敏方面有所助益¹⁶。

2.5 益生菌對疾病研究的應用

1. 益生菌在預防與治療感染性疾病和過敏性疾病的研究，已獲得不錯的成果。

應用之適應症包括有細菌性陰道炎、黴菌性陰道炎、反覆發生型泌尿生殖道感染、並提升抗生素治療成效，預防早產、恢復陰道菌叢健康、腸道健康(IBD)、免疫力提昇、降低病毒感染風險。越來越多的研究顯示：益生菌可以預防嬰兒腹瀉及發燒但無法防止呼吸道感染。益生菌治療異位性皮膚炎的角色，限制在年輕患童皮膚炎及食物過敏的改善，但在預防異位性皮膚炎發生方面，還有進一步發展的空間。對過敏性氣管疾病方面，如過敏性鼻結膜炎及氣喘，則沒

有臨床效益。雖然多篇研究已支持益生菌有預防或治療異位性皮膚炎患童的效力，可以改善患異位性皮膚炎嬰兒腸子發炎及滲透，穩定腸內微生物組成，年齡愈小效果愈好，可能可以改善緩解食物過敏及改善腸道過敏疾病，但是否有臨床意義還不很清楚。未來值得我們更進一步研究⁴。

2. 對酒精性肝損傷的治療: 益生菌治療對可代償性的酒精性肝硬化者的中性顆粒球細胞的功能和細胞因子反應有改善效果，益生菌對肝代謝酵素的恢復及重置腸道菌群以促進人類酒精性肝損傷的治療⁴。



第三章 實驗方法

3.1 材料與方法：實驗內容及實驗樣品之基本資料

統一企業委託計畫案：多多系列產品（原味多多、牛奶多多、多多 light）及 AB 菌粉之改善腸道功能評估。

該案於民國 100 年 4 月 27 日已獲中國醫藥大學附設醫院人體試驗委員會審核通過，核發同意書（DMR100-IRB-049），並報請中國醫藥大學附設醫院臨床試驗中心建檔、列管。本研究動物實驗執行經中國醫藥大學實驗動物照護及使用委員會審查同意（編號：100-178-C）。

試驗樣品名稱：統一多多活菌發酵乳（原味）、安慰劑（無乳酸菌發酵之調味多多）。

來源：統一企業公司新鮮提供，每批產品之保存期限為 14 天。

樣品日期：自實驗飲用期開始後，每週固定低溫配送新鮮製造之多多產品。

保存條件：冰箱冷藏（ $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ ）。

含菌量：經本研究室檢測其總乳酸菌濃度約為 1×10^8 CFU/ml。

3.2 實驗設計

篩選之受試者為輕度至中度便秘的年輕女性，年齡約為 19 至 23 歲之間。於實驗進行之前，將由腸胃科醫師或研究計劃主持人向受試者說明實驗目的與方法，以取得受試者之信任與安心，並於了解試驗內容後簽署「人體試驗同意書」，以免除日後不必要之糾紛。實驗前受試者需先填寫一份問卷，包括年齡、身高、體重、飲食習慣、健康狀況、是否罹患先天性疾病等，並了解近期是否有服用藥物等，每位受試者於實驗期間必須接受飲食指導，以期使實驗條件一致。實驗開始前需經 10 至 15 天之穩定期，於穩定期期間受試者需配合飲食指導，服從受試者宣傳手冊之「每日飲食指南」及「國民飲食指標」之內容，並避免暴飲暴食或其他特殊食物之攝取，且亦不可服用整腸健胃藥物、補充劑、抗生素、組織胺-2 拮抗劑、抗氧化劑、強調整腸健胃的機能性食品，亦或中草藥及其他不明藥物等。若受試者無法因嚴重便秘、感冒或其他疾病而無法

繼續進行實驗時，需由參與本研究之腸胃科醫師評估診斷後，在予以判定是否需退出本研究。本實驗根據健康食品之腸胃功能改善評估方法修正草案(2010年5月27日公佈)與腸胃功能改善方法來進行實驗設計，研究基本上劃分為前、中、後三階段實驗，細目規劃為穩定期、安慰劑期、實驗期及排空期，每階段每位受試者皆需於每次排便後進行排便問卷填寫。

3.3 試驗之主要納入與排除條件

試驗之主要納入條件：

受試者標準：

- (1) 符合 Rome III 之功能性便秘之患者。
- (2) 男女不拘，年齡從 18-40 歲。
- (3) 便秘症狀無法經由飲食或軟便劑改善者。
- (4) 實驗開始前受試者必須經 2 週之穩定期，同時受試者必須接受飲食指導，並避免暴飲暴食。

試驗之主要排除條件：

- (1) 受試者於本研究開始前 2 個月內有接受阿斯匹靈、質子幫浦抑制劑、組織胺接受器-2 拮抗劑、抗生素、非類固醇抗發炎藥物，及幽門螺旋桿菌根除治療者。
- (2) 受試者於本研究開始前 2 週內有服用整腸健胃藥物、補充劑、強調整腸健胃的機能性食品（如益生菌或酵素產品）、抗氧化劑、已知會造成便秘之藥物，亦或中草藥及其他不明藥物等。
- (3) 受試者有腸阻塞症狀者。
- (4) 女性受試者已知或疑似懷孕，或嘗試要懷孕，以及正在哺乳者。
- (5) 受試者同時合併有嚴重系統性疾病，包括癌症、肝、腎及心臟功能不全者。
- (6) 受試者先前有接受食道及胃腸手術者。
- (7) 受試者目前或在本研究開始前一個月內有參與其它研究試驗者。

(8) 受試者有嚴重精神及智力障礙疾病，無法配合研究者。

3.4 試驗執行流程

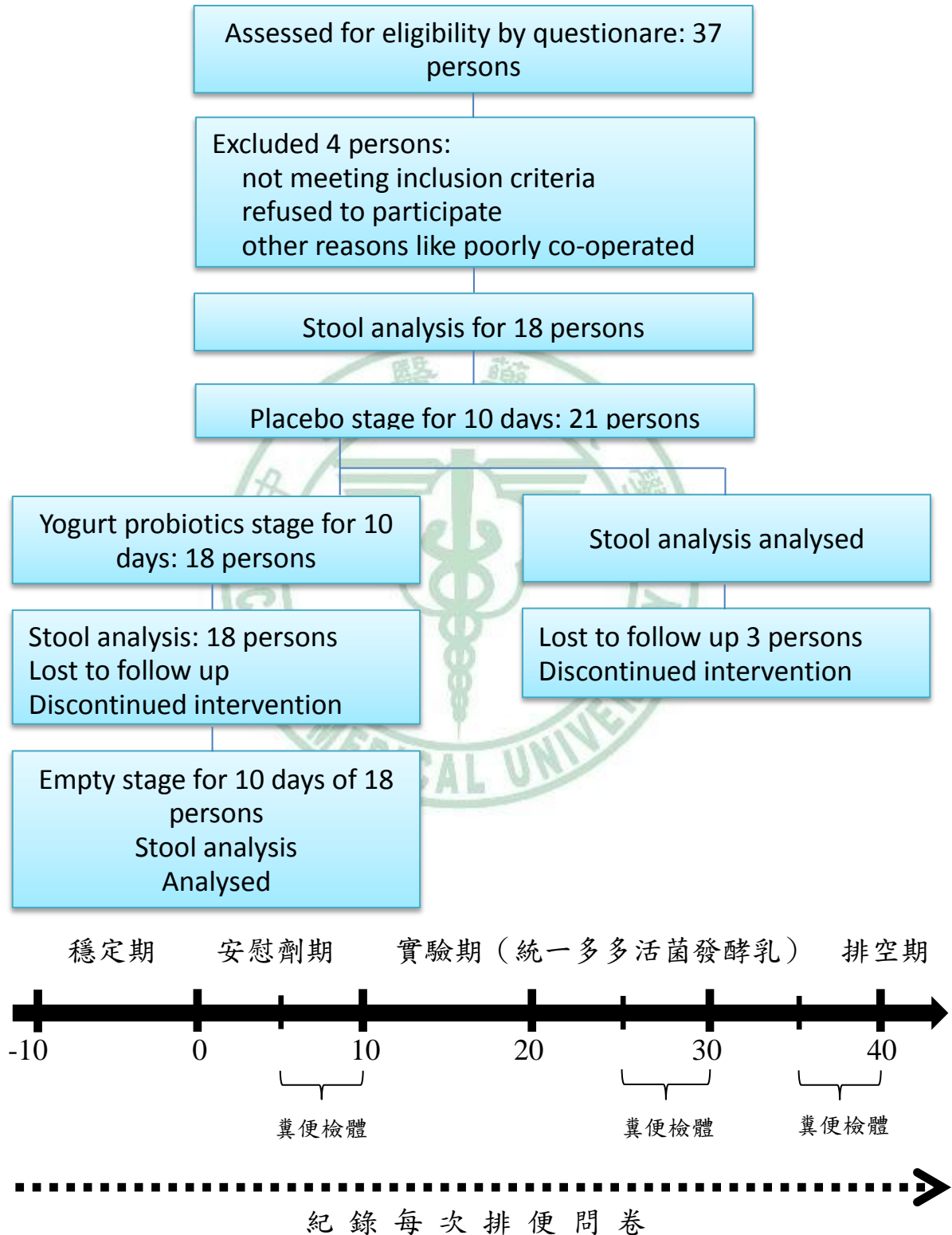


圖 3.1 本研究之實驗分期說明

詳細之實驗內容及步驟敘述如下：

1. 統一多多活菌發酵乳（原味）之人體試驗規劃為收集 30 到 40 名年輕度至中度便秘之年輕女性。實驗前受試者需先填寫一份問卷，包括年齡、身高、體重、飲食習慣、健康狀況、是否罹患先天性疾病等，並了解近期是否有服用藥物等，每位受試者於實驗期間必須接受飲食指導，以期使實驗條件一致，並於了解試驗內容後簽署「人體試驗同意書」。
2. 本實驗為單盲試驗，即受試者通過篩選後，實驗期間需配合飲食指導，實驗期程規劃為前、中、後三階段。即實驗前 10 天為穩定期，即實驗第-10~0 天，在於調整受試者之飲食習慣且不可違背說明會之飲食指導原則，以及開始填寫排便問卷藉以觀察受試者之配合度等，嚴格挑選配合度不佳者於此期即予以排除；接著為安慰劑飲用期，為期 10 天，即實驗第 0~10 天，受試者連續每日飲用 200ml 安慰劑多多，此安慰劑並無乳酸菌添加，且風味、包裝、酸度等皆與含菌的統一多多活菌發酵乳（原味）實驗品無異，配方由統一企業中央研究所設計，並由統一新市乳品廠進行生產，安慰劑組配方如下。接著為實驗期，即實驗第 11~30 天，在受試者不知道的情況下，改飲用含菌的統一多多活菌發酵乳（原味）連續每日飲用 200ml；最後為排空期，為期 10 天，實驗第 31~40 天，即停喝試驗品後繼續進行 10 天的觀察，此期亦要求受試者填寫每次排便問卷。

表 3.1 統一多多安慰劑配方

內容物	重量百分比 (w/v)	內容物	重量百分比 (w/v)
水	85.69	蔗糖	6.8
生乳	0.8	果糖	2.64
脫脂奶粉	3.1	80% 乳酸	0.6
甘氨酸	0.07	甜菊萃	0.02
酵母粉	0.02	香料	0.26

全部總計：100

3. 問卷調查：實驗的每個階段，將對受試者進行排便狀況之問卷調查。即受試者於整個實驗期間，每次排便都需要填寫問卷，記錄每次排便的情形。問卷內容為評估各期的排便頻率及排便狀況，包括排便時間、糞便形態及排便感覺等。從每周繳回問卷過程中，需隨時觀察受試者的排便情況及問卷填寫後繳回情形等，並藉以了解受試者對實驗之忠誠度及順應性，以維持實驗之正確性。此外，研究助理也需定時追蹤提醒每位受試者要記得飲用實驗品並維持其保鮮度，並積極關心受試者之飲食是否均衡、健康情況及心情等。最後以便秘指數作為量化指標。排便狀況問卷見附錄 4。
4. 從參與的受試者中再依其志願性收集 21 名的受試者，於實驗的各階段進行糞便採樣，受試者需將所收取的新鮮約 3 克的糞便樣品，放置於臨床專用之糞便檢體收集容器內，並規定需予以避光及受熱，於 1 小時內送至藥學系應用微生物實驗室之糞便檢體專用冰箱，若無法於 1 小時內送達者，需將檢體立刻置於 4°C 冰箱內，再於 8 小時內送至實驗之指定冰箱。實驗人員需於收到檢體後，於 2 小時內進行糞便菌相分析，並同時收集糞便上清液放入 -70°C 冰箱中，待所有檢體收集完畢後進行 TGF-beta, IL-10, IL-6, IFN-gamma 之細胞免疫激素¹⁵ 分析。
分析糞便檢體中的菌相乃依據健康食品法所建議的培養基及本實驗室修飾的篩選性培養基進行分析之，檢測菌屬^{12,13} 包括：
 - (1) Bifidobacterium spp. 雙叉桿菌屬，
 - (2) Lactobacillus spp. 乳酸桿菌屬，
 - (3) Clostridium perfringens 產氣莢膜梭菌，
 - (4) Coliform 大腸桿菌群，
 - (5) E. coli 大腸桿菌，
 - (6) Streptococcus spp. 鏈球菌屬。
5. 其他執行本研究時之注意事項如下：
本注意事項係參考促進排便之健康食品法草案及便秘風險評估工具^{4,5,6}：
 - (1) 將篩選年齡層相近，原有同型態胃腸蠕動困擾（應至少連

續 3 天的「便秘指數」 >5 為理想之受試者；「便秘指數」之定義參閱第 8 點），但無需由肛門使用助劑排便之受試者。完成試驗人數應 ≥ 30 人。

- (2) 原則上採用單盲試驗，得選用任何一般常用食品成分，外型與受試產品相同，受試者無法分辨之「安慰劑」；但受試產品為一般天然食品，且具有其獨特之外型，無法取得外型相同之「安慰劑」時，得使用適當相近食品作為「對照產品」。給予「受試產品」或「安慰劑產品」時，得視樣品之特質而採用「額外補充」或「取代部分飲食」之方式，但前後應一致。
- (3) 試驗劑量：同上市產品之建議劑量，但必須在安全範圍內。「功效成分」以整體產品為考量，得為某一明確化學成分為主，也得為幾項成分或食材之複方產品。
- (4) 試驗前必須給於充分之飲食教育。受試前 10 天開始至試驗結束，受試者必須維持其穩定的飲食習慣，盡量避免會影響實驗結果之因素。
- (5) 約 10 天的穩定期之後，受試者單盲攝取「安慰劑產品」10 天，然後改攝取「受試產品」（受試者不得知道更換產品；如「安慰劑產品」屬外觀不同之「對照產品」時，受試者不應知道其間有何預期的功效性差異。）連續 20 天，試驗期間詳細記錄「測試指標」。受試者於攝取「安慰劑產品」期間之「便秘指數」 <2 時，判斷認為其原就沒有排便不順暢之困擾，因此該受試者應從受試者名單中剔除（因無法再進一步改善或改善程度有限）。如果合格受試者人數 <30 人時，應再招募適當受試者，按原方法再補充合格受試者人數 ≥ 30 人。
- (6) 測試指標：試驗期間，每位受試者每天必須詳細記錄其排便情形，記錄的內容包括：(1) 每天的排便次數；(2) 每次排便的時間；(3) 排便後是否覺得已完全排空？(4) 所排糞便的硬度；(5) 排便時肛門是否有疼痛的感覺？該天無

排便時，不必記錄。一天中解便 ≥ 3 次或有腹瀉（水便）情況時，應詳述其情形與可能發生的原因，且即時告知計畫主持人。該天之結果不記入統計，且試驗期順延。

動物試驗的實驗步驟

(A) 消化器官之組織收縮試驗

1. 雄性大鼠於犧牲前停止餵食 16 小時，隨之用 CO₂ 犧牲後立刻取出胃、大腸及小腸各器官，分別切出三~五片組織，組織片段約 1 公分，立刻放進裝有 Kerb's Ringer solution 且通氣（95% O₂，5% CO₂）的培養皿中洗淨，再立刻將各組織下端勾於有針的棒子上，轉放至 37°C 盛裝 Kerb's Ringer solution 組織浴槽（organ bath）中且繼續穩定通氣，之後再將組織上端用小魚勾經張力傳感器的小勾連到可調整肌條長度的微調螺旋上。
2. 將各組織以 2 克的張力進行固定，之後每 15 分鐘換一次 5 ml 的 Kerb's Ringer solution，等一個小時組織穩定後，加入 130 μ l 的 KCl 測試組織活性。證實組織具有活性後才可進行後續實驗，若組織已無活性則需置換組織片。若證實組織具有活性後，需洗去 KCl 的殘留以免影響實驗樣品的結果，3 到 5 分鐘洗一次，直到組織回到穩定狀態。
3. 待組織穩定之後，開始加入實驗樣品或安慰劑，每隔一段時間加入實驗樣品一次，每次加入的劑量為 200 μ l，每個樣品共加入 7 次劑量。每次加入樣品後進行 4 分鐘之測試分析，測試之後需進行穩定後才可再加入下一個劑量，由記錄紙描繪組織之收縮情況。待加入 7 次劑量結束後，再對組織進行重複清洗，直到回覆穩定狀態，最後再次加入 KCl 用以測試組織是否仍具活性。

(B) 小鼠排便試驗

將 ICR 小鼠隨機分成四組，每組 12 隻小鼠，分別為生理食鹽水組、安慰劑組（配方如下表）、一倍（1X）多多活菌發酵乳（正常劑量組）

及三倍 (3X) 多多活菌發酵乳 (高劑量組)。各組小鼠皆進行餵食各樣品四週，每天餵食 2 次，時間間隔約為 8 小時，每次餵食劑量為 250 μ l，安慰劑組則餵食無乳酸菌添加之多多活菌發酵乳，生理食鹽水組則餵食滅菌的 0.9% NaCl。多多實驗樣品一天共餵食 500 μ l，一倍劑量換算成人類為每日飲用約現有試驗產品 200ml，三倍濃縮劑量則相當於每日飲用 600ml 試驗產品。實驗共進行餵食四週，在實驗正式進行之前，小鼠需進行穩定性飼養與灌食，即於實驗樣品正式餵食之前 3 天，小鼠每天以餵食針餵食無菌生理食鹽水小鼠四次，每次間隔約 8 小時，目的使小鼠適應研究人員之餵食操作，降低其緊張而影響其排便。3 天後接著開始餵食各組之樣品，並於正式實驗前 (即第 0 週) 及餵食第 1、2、3、4 週後，將每隻小鼠分別抓入代謝籠中，放置 4 個小時，之後將糞便蒐集於離心管中，並計算每隻小鼠之糞便粒數，也觀察糞便之形狀及秤取濕重，最後將糞便放入離心管中置於冰箱進行冷凍。待各組糞便收集完成後，再將之統一放入烘箱中 2 天後秤取其乾重，最後計算糞便之水分含量。

(C) 胃腸排空率試驗

延續之前 ICR 小鼠之排便試驗，將實驗樣品皆添加 1% 食品用之紅色色素，以做為觀察胃腸排空的指標。樣品與色素充分混合後，吸取 250ul 之溶液進行灌食，定時十分鐘後立刻將小白鼠斷頭犧牲，隨後剪開腹腔以線綁住貴門處，將胃及小腸段完整取出後，測量小腸組織之長度及色素之距離，最後以下列公式計算胃腸道之排空率。

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

3.5 統計

本研究之人體實驗結果以 SPSS 10.0 套裝軟體於電腦中進行統計分析，均先經單向因子變方分析 (one way ANOVA, analysis of variance) 檢定處理效應是否有顯著差異，再進一步分析各組間之差異，顯著性差

異之判斷標準為 $p < 0.05$ ，實驗結果以 SigmaPlot 10.0 軟體作圖。糞便檢體之菌數分析皆進行三重複測試，再進行 ANOVA 檢定是否具有顯著性差異存在。

本研究之動物實驗結果每個分析項目皆進行三重複試驗，實驗結果以 SPSS 10.0 套裝軟體於電腦中進行統計分析，均先經單向變方分析 (one way ANOVA, analysis of variance) 檢定處理效應是否有顯著差異，再以鄧肯氏多變域測驗 (Duncan's multiple range test) 測定各組間之差異，顯著性差異之判斷標準為 $p < 0.05$ ，實驗結果以 SigmaPlot 10.0 軟體作圖。



第四章 結果

4.1 受試者基本資料分析

本實驗之受試者為中國醫藥大學之女學生，年齡為 19-23 歲之間，實驗初期收集人數為 37 人，4 人因感冒或腹瀉不止而服用抗生素或其他藥物，故終止實驗退出，3 人因配合度比較不佳難以控制飲食習慣或問卷未時繳交而予以剔除，因此最終完成試驗之受試者共 30 人進行問卷結果之統計分析。另外，初期參與糞便檢體檢測試驗之受試者為 21 人，實驗過程中因 2 人未按時繳交檢體而予以退出此項檢測，1 人因感冒服用藥物而中止，因此，共 18 位受試者完成糞便菌數及細胞激素檢驗分析。

4.2 受試者身體質量指數 (BMI) 變化

表 4.1 實驗前後之受試者體重及身體質量指數 (BMI) 變化

	實驗前	實驗後
年齡	19-23 歲	
體重 (Kg)	56.2 ± 11.1	55.7 ± 10.8
身體質量指數(BMI)	21.6 ± 4.2	21.2 ± 3.9

附註：「實驗前」為開始飲用多多安慰劑之前的數值，「實驗結束」為停喝多多產品 10 天後之數值。所有數值為平均值±標準偏差。a, b, c 字母不同表示各組在實驗不同時間點進行組內比較時有顯著差異。

本實驗開始與結束後，受試者之體重及 BMI 變化列於上，由結果可知受試者於經過 30 天飲用統一多多活菌發酵乳(原味)之後，其體重及 BMI 指數皆無明顯變化($p > 0.05$)。因此，初步證實此試驗產品經一個月每日飲用並不會影響此年齡層女性之體重。

4.3 受試者便秘指數變化及排便頻率

表 4.2 實驗期間之便秘指數變化

	數值
平均前後變化值	-1.13 ± 0.46
平均前後變化百分比	-43.59 ± 19.69
平均前後變化百分比 < -33% 之人數及比例	22 人 (73.3%)
平均前後變化百分比 > +12% 之人數及比例	0 人 (0%)

附註：「平均前後變化值」：(CS2 - CS1 值之總分) / 試驗人數

「平均前後變化百分比」：(CS2-CS1) / CS1 × 100% 之總分 / 試驗人數

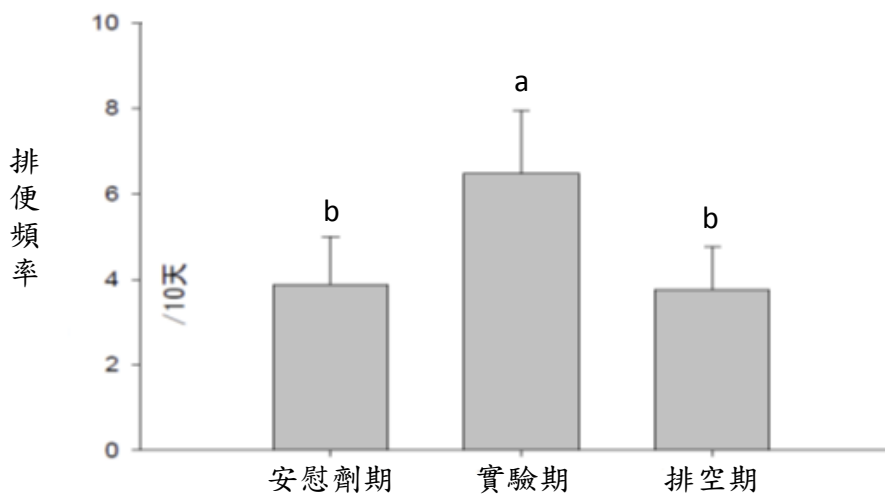


圖 4.1 受試者實驗期間排便頻率次數之變化

安慰劑期為實驗第 1-10 天期間之飲用無菌多多之排便次數；實驗期為實驗第 21-30 天期間飲用統一多多活菌發酵乳（原味）之排便次數；排空期為實驗第 31-40 天期間停止飲用多多樣品後 10 天的排便次數。所有數值為平均值±標準偏差。a, b, c 字母不同表示各組在實驗不同時間點進行比較時有顯著差異。

本實驗採用單盲試驗，即實驗在受試者未知的情況下，先飲用口感

及包裝相同的無乳酸菌添加發酵的安慰劑 10 天，之後飲用 20 天含乳酸菌的統一多多活菌發酵乳(原味)實驗品，實驗每階段皆進行排便問卷，問卷測試項目及統計方法乃參考健康食品之胃腸功能改善評估方法修訂草案，統計後結果如表二所示。

本試驗結果顯示「便秘指數」之「平均前後變化百分比」為-43.59，乃小於-33%，因此證明本試驗產品具有「明顯改善便秘現象之功效」；且小於-33%之人數為 22 人，佔總試驗人數之 73.33%，大於 60%總人數比例，因此，進一步證實此產品具有改善便秘之功效。

將受試者之排便頻率以各階段 10 天之排便次數進行統計作圖，結果如圖 4.1 所示。證實飲用安慰劑期間，受試者平均 10 天只排便 4 次，但飲用統一多多活菌發酵乳(原味)產品後排便次數提高為 6.5 次，統計上具有顯著增加的現象 ($p < 0.05$)，當停止飲用 10 天之排空期，排便次數降低回原來之排便次數 4 次，統計上也有顯著性降低 ($p < 0.05$)。由以上結果可知，受試者在飲用含統一多多活菌發酵乳(原味)產品期間，確實可增加排便次數，但停喝後隨即回復原來便秘之情況。

4.4 受試者腸道菌叢變化

此糞便檢體分析最後共 18 位受試者參與完成糞便菌數及細胞激素檢驗。

1. 雙叉桿菌(Bifidobacterium)

雙叉桿菌是新生兒腸道中的優勢益生菌種，隨著年齡增加而漸漸減少，文獻指出雙叉桿菌可維持人體腸道健康的菌相平衡，因此近年來常見雙叉桿菌應用在發酵乳等食品中。實驗結果如圖 4.2 所示，受試者於飲用統一多多原味產品後，即實驗期此菌群數量在統計上有顯著性的增加 ($p < 0.05$)，但是停喝後(排空期)之菌數與安慰劑期、實驗期無差異。

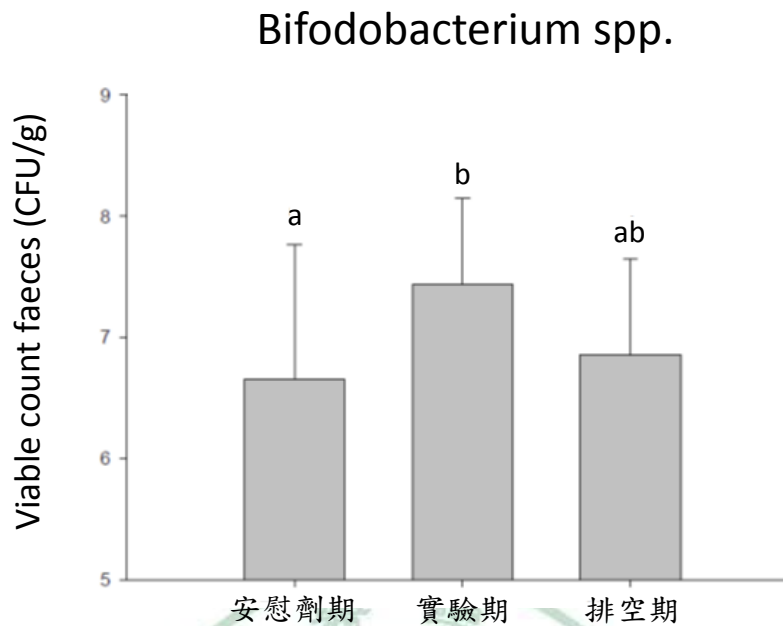


圖 4.2 受試者實驗期間之糞便中雙叉桿菌屬 (Bifidobacteria spp.) 菌數變化。

安慰劑期為實驗第 6-10 天飲用安慰劑產品之時間範圍所收集之糞便檢體；實驗期為實驗第 25-30 天乃飲用統一多多活菌發酵乳(原味)之時間範圍；排空期為實驗第 35-40 天為停止飲用多多之時間範圍。所有數值為平均值±標準偏差。

a, b, c 字母不同表示各組在實驗不同時間點進行比較時有顯著差異。

2. 乳酸桿菌 (Lactobacillus)

乳酸桿菌亦為人體腸道菌叢中主要的益生性菌叢，因此本研究亦進行分析之。實驗結果如圖 4.3 所示，顯示受試者在喝統一多多活菌發酵乳(原味)期間，乳酸桿菌菌數有大幅增加的現象，約提高 10 倍的乳酸菌菌量，且在統計上具顯著性增加 ($p < 0.05$)，此外，停喝後乳酸菌量雖有下降，但統計上與安慰劑期相較仍顯著較高 ($p < 0.05$)。

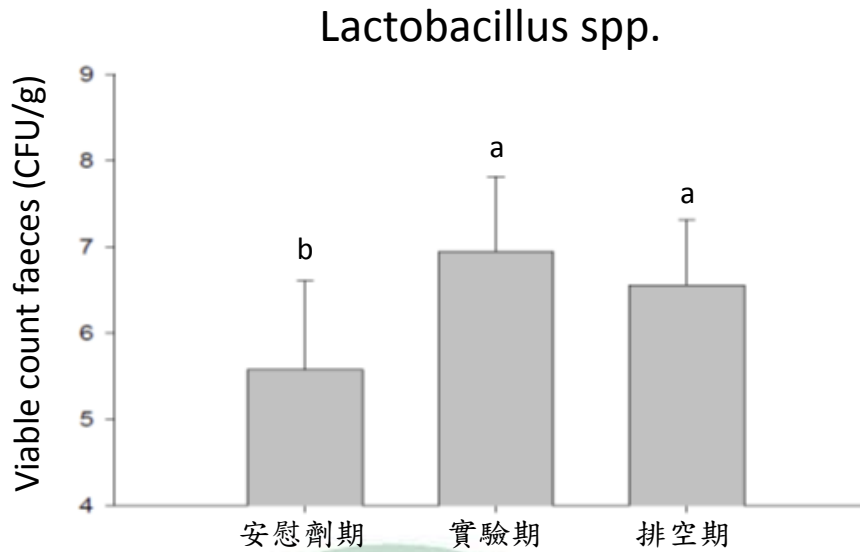


圖 4.3 受試者實驗期間之糞便中乳酸桿菌屬 (Lactobacillus spp.) 菌數變化。

安慰劑期為實驗第 6-10 天飲用安慰劑產品之時間範圍所收集之糞便檢體；實驗期為實驗第 25-30 天乃飲用統一多多活菌發酵乳(原味)之時間範圍；排空期為實驗第 35-40 天為停止飲用多多之時間範圍。所有數值為平均值±標準偏差。

a, b, c 字母不同表示各組在實驗不同時間點進行比較時有顯著差異。

3. 產氣莢膜梭菌(Clostridium perfringens)

產氣莢膜梭菌為人體腸道有害菌的指標，新生兒斷乳後，益生菌數量維持穩定，隨著年齡增長至老年期，有害菌如 C. perfringens 及 E. coli 等漸漸會上升，推測有害菌上升與腸道生理老化具有相關性。由圖 4.4 顯示此實驗期間，腸道中產氣莢膜梭菌數量皆無顯著變化 ($p > 0.05$)，即喝統一多多活菌發酵乳(原味)不會造成產氣莢膜梭菌的增加或減少。

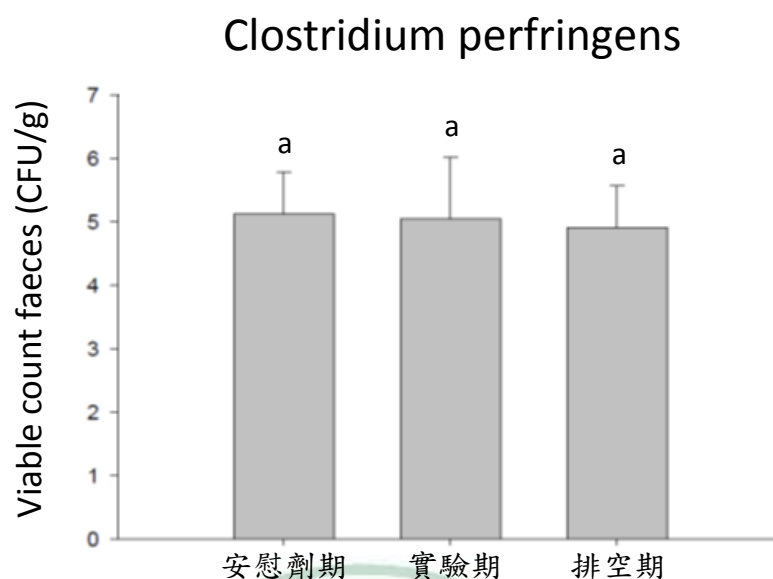


圖 4.4 受試者實驗期間之糞便中產氣莢膜梭菌 (*C. perfringens*) 菌數變化。

安慰劑期為實驗第 6-10 天飲用安慰劑產品之時間範圍所收集之糞便檢體；實驗期為實驗第 25-30 天乃飲用統一多多活菌發酵乳(原味)之時間範圍；排空期為實驗第 35-40 天為停止飲用多多之時間範圍。所有數值為平均值±標準偏差。

a, b, c 字母不同表示各組在實驗不同時間點進行比較時有顯著差異。

4. 大腸桿菌群及大腸桿菌 (Coliform 及 *E. coli*)

本實驗也同時測定大腸桿菌群及大腸桿菌，此亦為腸道中有害菌的指標。結果於圖 4.5 及圖 4.6 所示，可知飲用統一多多活菌發酵乳(原味)實驗期間腸道中的大腸桿菌群及大腸桿菌也皆無顯著變化 ($p > 0.05$)，即喝多多產品期間並不會造成此兩類菌群的增加或減少，且停喝後大腸桿菌群及大腸桿菌相較於實驗期無顯著性差異 ($p > 0.05$)。

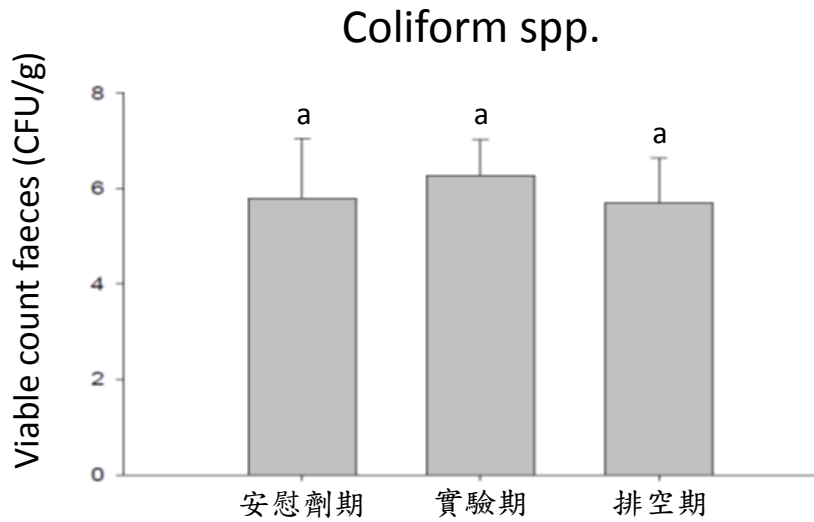


圖 4.5 受試者實驗期間之糞便中大腸桿菌群 (Coliform spp.) 菌數變化。

安慰劑期為實驗第 6-10 天飲用安慰劑產品之時間範圍所收集之糞便檢體；實驗期為實驗第 25-30 天乃飲用統一多多活菌發酵乳(原味)之時間範圍；排空期為實驗第 35-40 天為停止飲用多多之時間範圍。所有數值為平均值±標準偏差。

a, b, c 字母不同表示各組在實驗不同時間點進行比較時有顯著差異。

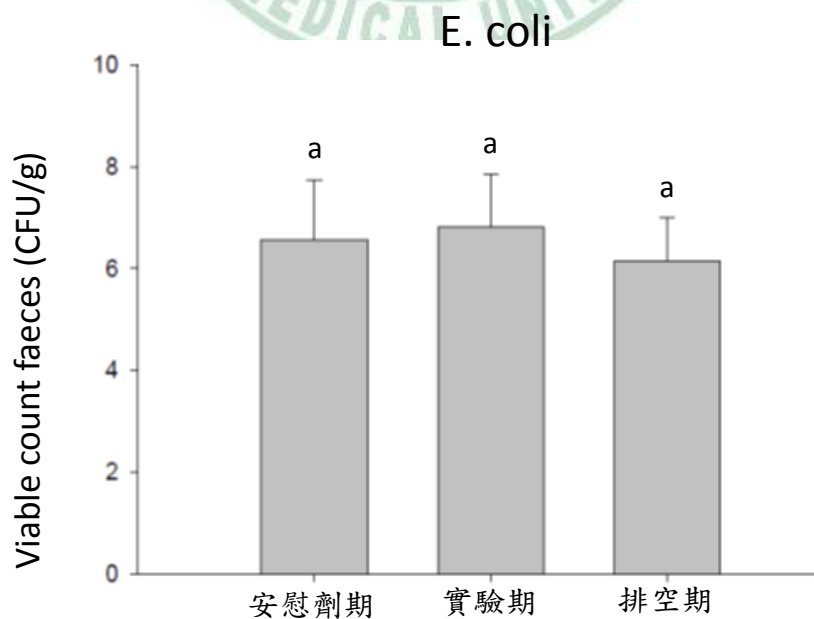


圖 4.6 受試者實驗期間之糞便中大腸桿菌 (E. coli) 菌數變化。

安慰劑期為實驗第 6-10 天飲用安慰劑產品之時間範圍所收集之糞便檢體；實驗期為實驗第 25-30 天乃飲用統一多多活菌發酵乳（原味）之時間範圍；排空期為實驗第 35-40 天為停止飲用多多之時間範圍。所有數值為平均值±標準偏差。

a, b, c 字母不同表示各組在實驗不同時間點進行比較時有顯著差異。

5. 鏈球菌屬 (Streptococcus spp.)

本實驗也測定人體腸道中有害的鏈球菌屬，結果如圖 4.7 所示，發現飲用統一多多活菌發酵乳（原味）實驗期間腸道中的鏈球菌屬並無顯著變化 ($p > 0.05$)，即喝多多產品期間並不會造成此類菌群的增加或減少，且在停喝後鏈球菌屬相較於飲用安慰劑期無顯著性降低的現象 ($p > 0.05$)。

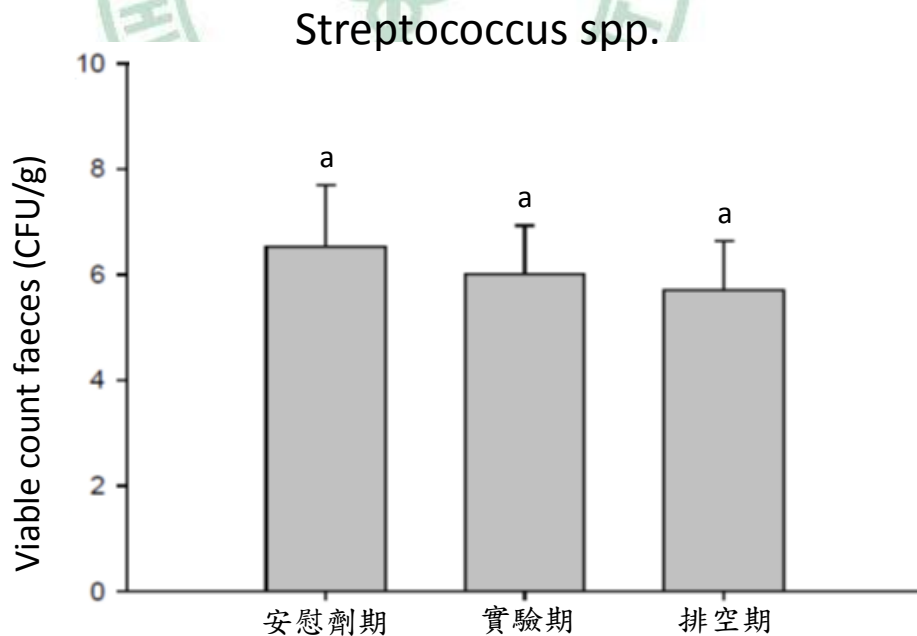


圖 4.7 受試者實驗期間之糞便中鏈球菌屬 (Streptococcus spp.) 菌數變化。

安慰劑期為實驗第 6-10 天飲用安慰劑產品之時間範圍所收集之糞便檢體；實驗期為實驗第 25-30 天乃飲用統一多多活菌發酵乳（原味）之時間範圍；排空期為實驗第 35-40 天為停止飲用多多之時間範圍。所有數值為平均值±標準偏差。

a, b, c 字母不同表示各組在實驗不同時間點進行比較時有顯著差異。

4.5 糞便細胞免疫激素分析

檢驗受試者之糞便中 TGF-beta, IL-10, IL-6, IFN-gamma 之免疫激素濃度，結果顯示於表 4.3。結果發現，受試者在不同實驗期間之細胞激素雖有變化，但因個體間之差異變化極大，因此統計分析結果皆無顯著差異存在 ($p > 0.05$)。

表 4.3 糞便檢體之細胞免疫激素分析 (n=18)

pg/ml	安慰劑期	實驗期	P value
IFN-r	407±217	439±140	0.71
TGF-beta	677±372	720±366	0.76
IL-10	396±214	429±202	0.69
IL-6	189±162	163±133	0.60

4.6 大鼠消化器官之組織收縮試驗

胃 (stomach)、小腸 (intestine)、結腸 (colon) 的肌肉組織經小心切下後，分別置於組織浴槽 (organ bath) 中，然後加入不同濃度的統一多多活菌發酵乳及安慰劑樣品，並逐漸增加劑量後記錄張力的改變。實驗結果如圖一、二、三所示，三個部位之組織均在加入 120 μ l/ml 的多多樣品後，才開始出現些微的組織肌肉張力收縮現象，並且隨著劑量的增加而增強收縮現象，因此有劑量相關性。相較於安慰劑的加入，當多

多樣品劑量加入胃、小腸、結腸的肌肉組織至 200 μ l/ml 後，才有些微刺激收縮現象，但加至 280 μ l/ml 後仍僅呈現些微的刺激效果。因此，三個器官組織經一倍（1X）或三倍（3X）的多多發酵乳刺激收縮之結果，相較於同劑量添加之安慰劑組時，統計上皆有顯著性差異存在（ $P < 0.05$ ），顯示多多發酵乳可刺激離體胃腸道器官之收縮，其中又以對小腸的刺激力最強，結腸次之。

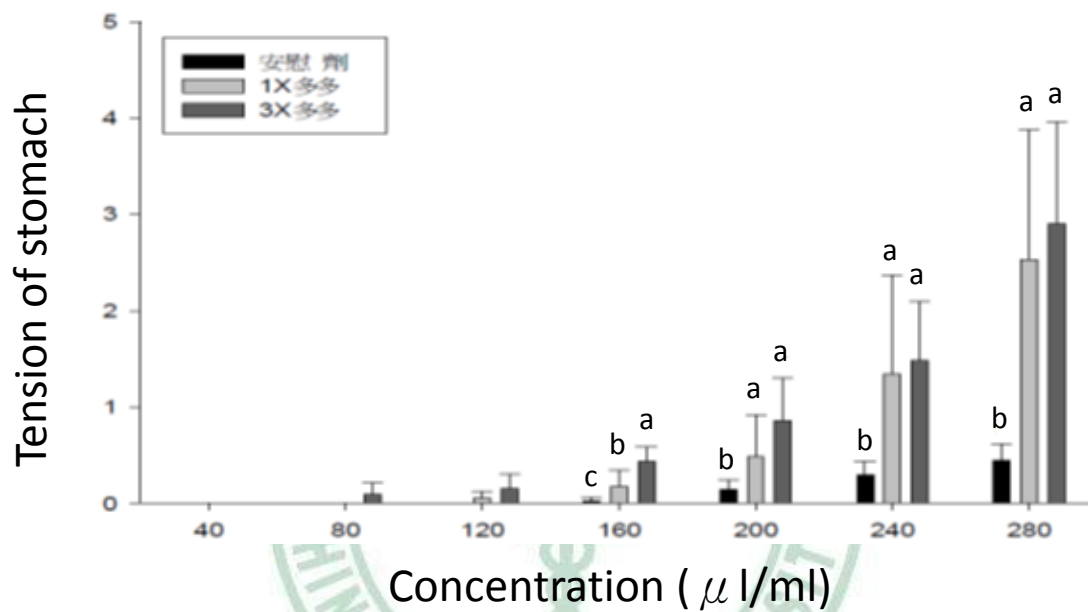


圖 4.8 胃 (stomach) 的肌肉加入不同劑量實驗樣品之張力變化加入不同劑量 (40~280 μ l/ml) 的實驗樣品後，在同一劑量下分別進行三組間之比較，以不同英文字母代表組間有顯著性差異存在 ($P < 0.05$)。

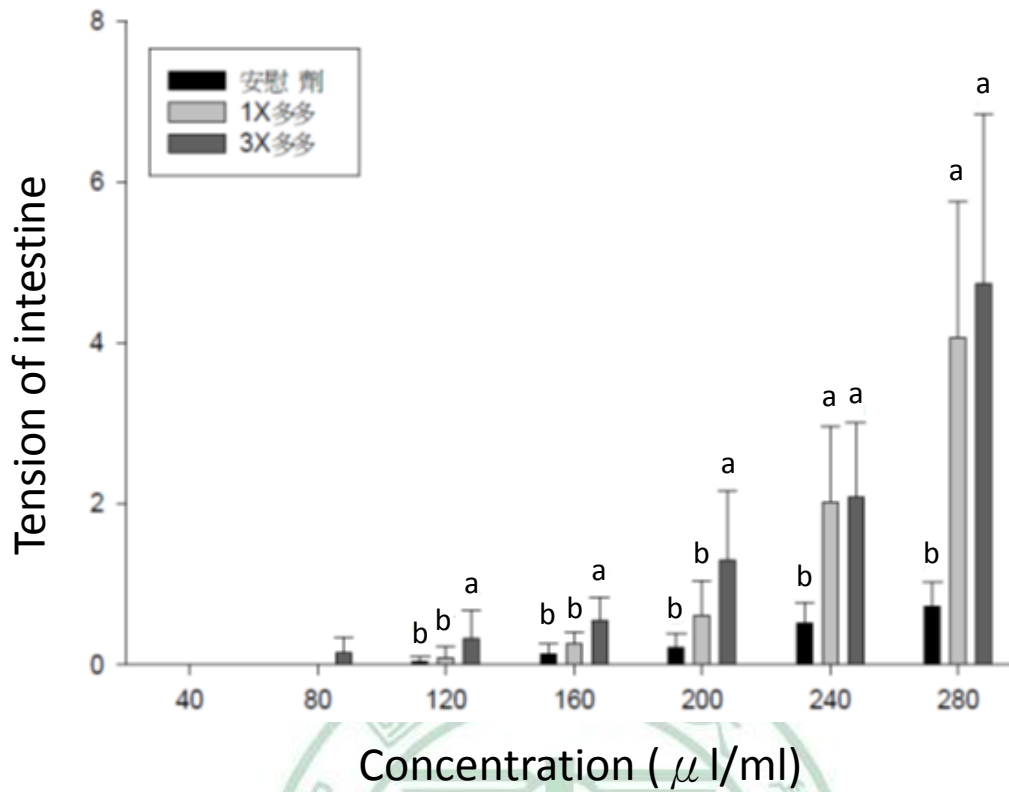


圖 4.9 小腸(intestine)的肌肉加入不同劑量實驗樣品之張力變化
加入不同劑量 (40~280 μ l/ml) 的實驗樣品後，在同一劑量下分別進行三組間之比較，以不同英文字母代表組間有顯著性差異存在($P < 0.05$)。

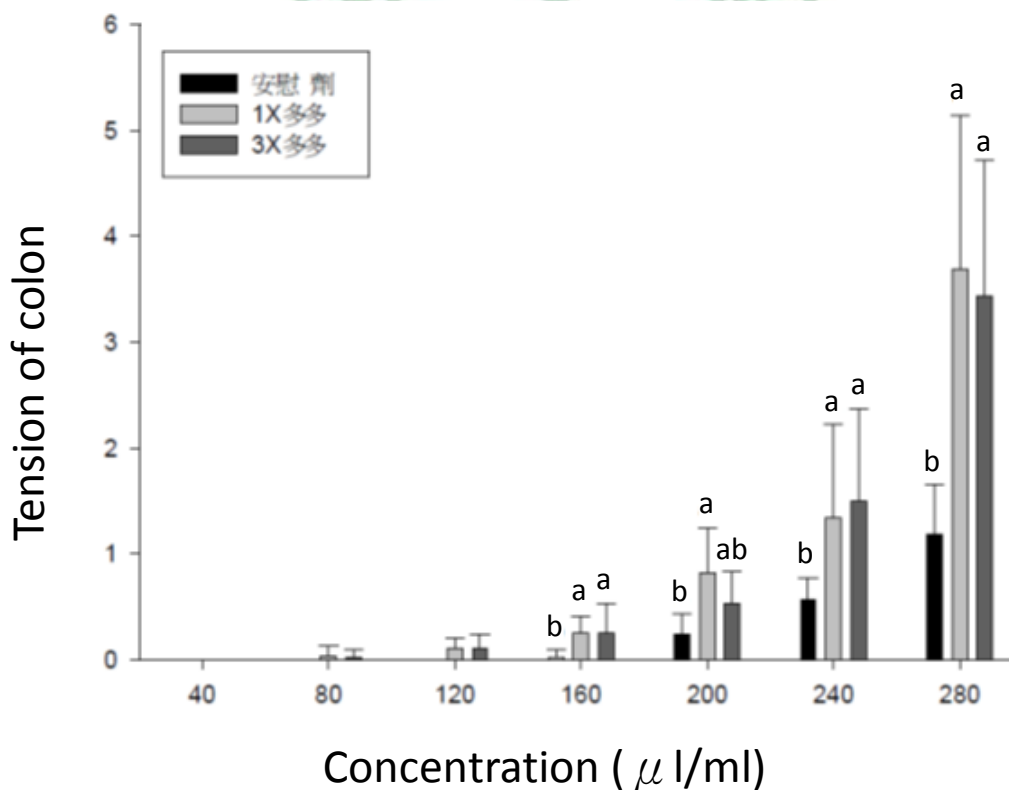


圖 4.10 結腸 (colon) 的肌肉加入不同劑量實驗樣品之張力變化加入不同劑量 (40~280 μ l/ml) 的實驗樣品後，在同一劑量下分別進行三組間之比較，以不同英文字母代表組間有顯著性差異存在 ($P < 0.05$)。

4.7 小鼠排便試驗

小鼠餵食四週不同的實驗樣品，餵食期間記錄並收集小鼠之糞便數量及重量，最後計算糞便之水份含量，實驗結果如圖四及圖五所示。小鼠餵食一倍 (1X) 或三倍 (3X) 的多多發酵乳，於餵食一週後皆呈現排便數量增加的現象。小鼠餵食三倍多多發酵乳期間，相較於餵食生理食鹽水或安慰劑組的小鼠皆有顯著性增加排便的統計差異 ($p < 0.05$)，而餵食一倍多多活菌發酵乳之小鼠，在第 1、3、4 週其排便數量相較於餵食生理食鹽水或安慰劑組，也皆有顯著性增加的效果 ($p < 0.05$)，在餵食第 2 週相較於食理食鹽水組也有顯著差異 ($p < 0.05$)。以放大鏡目視觀察糞便之型態，四組餵食不同樣品之小鼠，其糞便外觀形狀皆相似，但餵食高劑量三倍 (3X) 的多多發酵乳小鼠，其糞便平均看來確實有較濕潤且也有較小顆的現象。

另外，將每隻小鼠所收集之糞便秤量其濕重及乾重後，計算其水分含量，結果如圖五所示，發現各組之小鼠糞便水分含量範圍約在 50~80% 之間，個體差異相當大，以平均值而言，餵食多多發酵乳組的小鼠，其水分含量有較高的趨勢，但統計只有在第 1、4 週餵食一倍多多劑量的小鼠相較於餵食生理食鹽水組有顯著增加的現象 ($p < 0.05$)，在餵食第 4 週後有顯著高於安慰劑組 ($p < 0.05$)；而在第 1、2、4 週餵食三倍多多劑量的小鼠，相較於餵食生理食鹽水組，糞便水分含量有顯著增加的現象 ($p < 0.05$)，而相較於安慰劑組，在餵食第 1、3、4 週後，也有顯著性差異存在 ($p < 0.05$)。

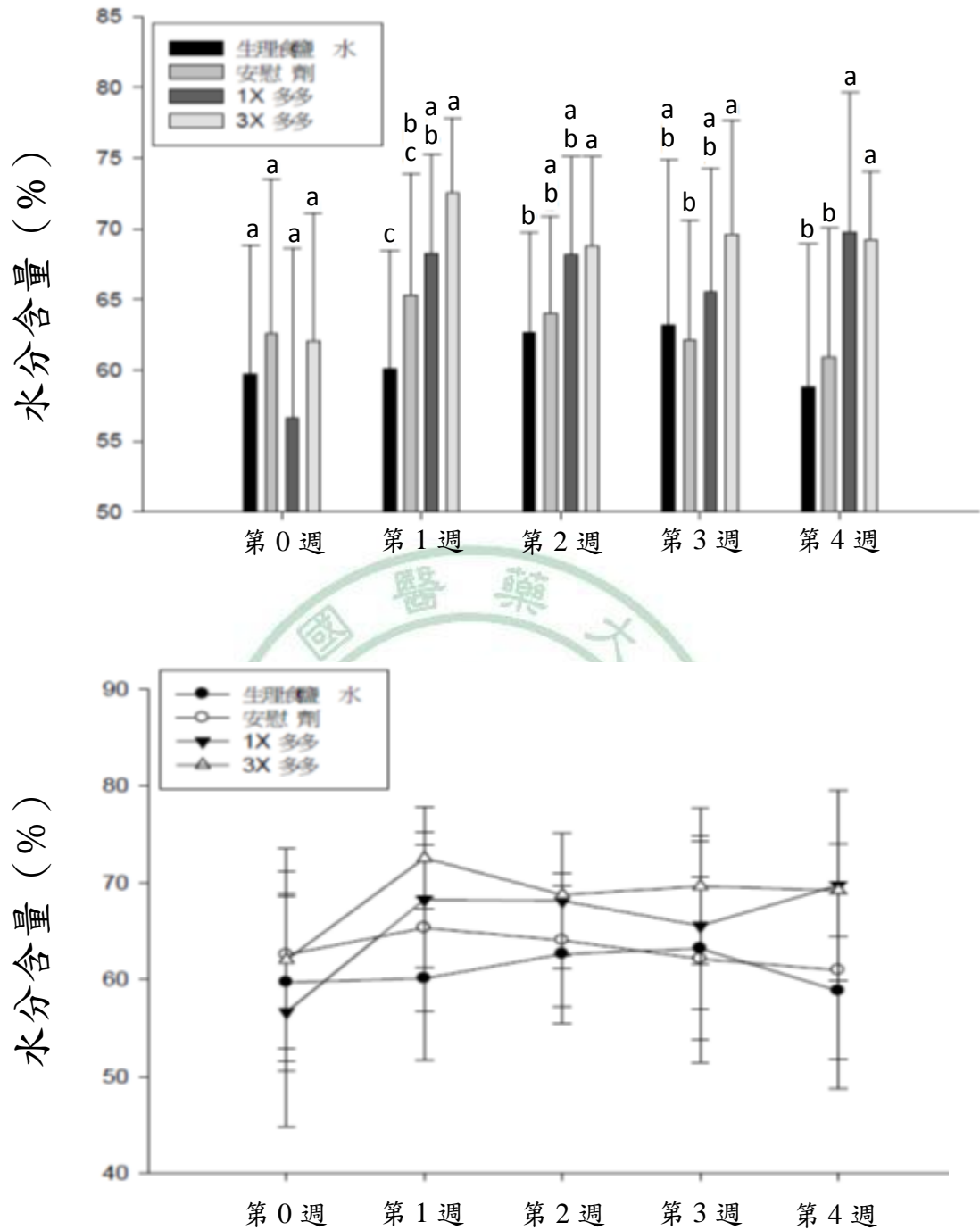


圖 4.11 小鼠餵食實驗樣品後糞便之水分含量

小鼠餵食不同實驗樣品期間，每週定時收集每隻小鼠糞便，再經烘乾後計算其水分含量。

4.8 小鼠之胃腸排空率試驗

觀察計算小鼠之胃腸排空率試驗，結果如圖 4.12 所示，實驗證實餵食一倍或三倍多多發酵乳的小鼠，其排空率經計算統計後，發現較生理

食鹽水或安慰劑組高，且具有顯著性差異存在 ($p < 0.05$)，因此證實多多發酵乳也有促進胃腸排空的作用。

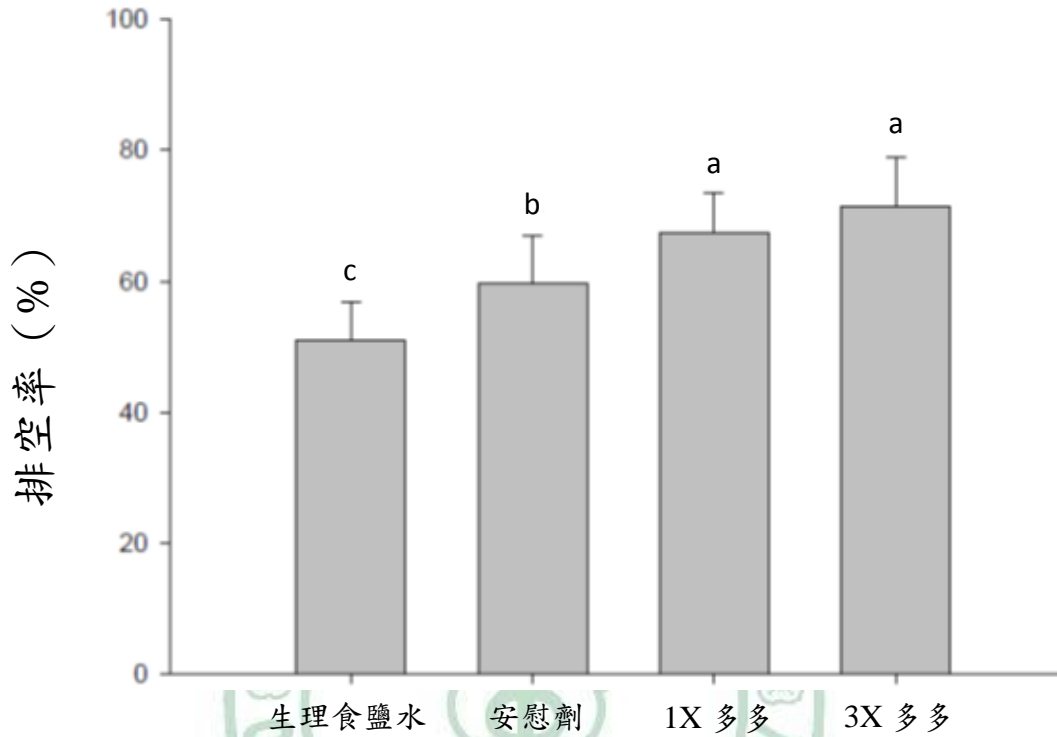


圖 4.12 小鼠胃腸之排空率試驗。

a, b, c 字母不同表示各組間進行統計比較時有顯著差異存在 ($p < 0.05$)。

第五章 討論

目前益生菌的研究，因為益生菌株的品種、給予的劑量及途徑、研究病患之間的差異，不同菌株的效力還未建立，並非每一株益生菌皆具有效力，需要分別進行臨床實驗，所以評估困難。對於益生菌作用機制也尚未明瞭。

本研究為統一企業 AB 益生菌對輕度便秘者之改善胃腸蠕動，減少便秘之臨床評估試驗」。實驗內容主要參考行政院衛生署公布的「健康食品之胃腸功能改善評估方法」進行試驗。

此計畫規畫收集 37 位受試者，採用單盲試驗，實驗共分成穩定期、安慰劑期及實驗期。穩定期為 14 天，在於調整受試者之飲食習慣，以及觀察受試者之配合度等，配合度不佳者於此期即予以排除；安慰劑期 7 天，為服用不含乳酸菌之 AB 發酵乳安慰劑；實驗期則服用 14 天含乳酸菌之 AB 發酵乳。整個實驗期受試者皆需進行每次排便的問卷，最終完成試驗之受試者共 30 人進行問卷結果之統計分析以及部分 18 位受試者配合進行糞便分析。

在使用多多系列產品可能產生之副作用、發生率及處理方法上，我們知道多多系列產品為一種稀釋之之優酪乳，為歷史悠久之傳統食品，對促進人體健康有益，且安全性高。

研究顯示若有乳糖不耐症者將會引起腹瀉，發生率以東方人發生機率較西方人高。此外，少數人對牛奶製品（包括優酪乳）會有過敏反應，其處理方法一般為少量多餐即可避免乳糖不耐症之發生或者停止飲用。

若嚴重者可至中國醫藥大學附設醫院肝膽腸胃科之周仁偉或施宜興醫師門診進行檢查。

這項實驗結果表明，在慢性便秘的受試者連續服用兩週 AB 發酵乳是安全的，並無任何不良事件發生。

實驗結果發現，受試者連續服用兩週 AB 發酵乳後，糞便中的乳酸桿菌（Lactobacilli）數有明顯增加的現象（ $P < 0.05$ ），但雙叉桿菌（Bifidobacteria）數則無明顯變化。產氣夾膜梭菌、大腸桿菌、腸球菌

群及鏈球菌屬也皆無明顯變化 ($P > 0.05$)。而這結果也和我們在另一個子實驗 AB 菌粉的結果類似。

受試者在飲用含統一多多活菌發酵乳 (原味) 產品期間，確實可增加排便次數，但停喝後隨即回復原來便秘之情況。

根據以上離體及體內的動物實驗結果也可知，一倍低劑量或三倍高劑量的多多活菌發酵乳 (原味)，可刺激胃、小腸及結腸的肌肉組織張力收縮，而以小鼠體內試驗也證實餵食多多的小鼠，其排便數量有顯著性增加的現象，糞便之平均水分含量也有增加的趨勢。再以胃腸排空率進行分析後，也進一步證實餵食原倍 (1X) 與三倍 (3X) 濃縮之統一多多活菌發酵乳 (原味) 的小鼠，其排空率有顯著性較生理實驗水或安慰劑組高。因此整體而言，此多多發酵乳產品確實對小鼠具有良好之促進胃腸蠕動之作用，因此有促進排便之功效存在。

所以在多多活菌發酵乳 (原味) 產品做為改善胃腸蠕動的健康食品的檢測上是具有相當良好之促進排便作用。

根據文獻報告指出，發酵乳 (Ferment milk) 可調節腸道蠕動時間，降低因為長時間蠕動而引起某些大腸疾病的敏感性，理論上，腸道功能為慣性的改變，比如腸道蠕動緩慢便會漸漸引發大腸急躁症等症狀出現，而若人體腸道內菌叢可藉由飲食型態的改變，使有益菌及有害菌數量改變，達到改善人體腸道菌叢的目的。而腸道菌叢其實是和人體的腸道蠕動是有息息相關的。

而本實驗進一步討論腸道菌叢也可看到此現象在對雙叉桿菌及乳酸桿菌的益生菌群有顯著提升，但相對上並無法有效地降低壞菌的數量。推測上是否和所服的菌量數不足有關。若在糖量上能有效控制下，增加服用菌量數，理想上希望大於 10^{10} ，或許能有效地降低壞菌的數量。

而在我們的另一個子實驗上是服用 AB 菌種的菌粉，但在受試者問卷評估的結果卻顯示服用 AB 菌粉後排便頻率有增加現象，但在統計上無顯著差異 ($P > 0.05$)，便秘指數也有下降現象但無統計上之顯著差異 ($P > 0.05$)。在 AB 菌粉及發酵乳上的胃腸功能改善上有明顯的差異。但主要是在 AB 發酵乳上的胃腸功能改善有顯著差異 ($P > 0.05$)。

受試者開始服用發酵乳，多數人皆表示在 30 分鐘內有腸道快速蠕

動的現象，且相對上是否和東方人的乳糖不耐症是否有關，仍需進一步追蹤。並且再進一步探討是否和發酵乳內的其他成份有關，例如乳酸或是益生質的部份。

而在我們的另一個子實驗是作發酵乳的動物實驗測試，實驗內容上進行試驗分兩部份，離體試驗部分進行在 SD 大鼠的胃、小腸、結腸肌肉組織上，在加入劑量大於 120 μ l/ml 劑量一倍的多多發酵乳樣品後，即開始出現微弱的組織收縮現象，隨著添加多多樣品的劑量增加而增強收縮，因此有劑量依賴性，而添加三倍多多樣品的組織，其刺激效果大於一倍劑量的多多。

而在活體小鼠排便試驗上將 ICR 小鼠隨機分成四組，每組 12 隻小鼠，分別為生理食鹽水組、安慰劑組、一倍 (1X) 多多活菌發酵乳 (正常劑量組) 及三倍 (3X) 多多活菌發酵乳 (高劑量組)。最後再做胃腸排空率試驗。

實驗結果:三個部位之組織均在加入 120 μ l/ml 的多多樣品後，才開始出現些微的組織肌肉張力收縮現象，並且隨著劑量的增加而增強收縮現象，因此有劑量相關性。相較於安慰劑的加入，當多多樣品劑量加入胃、小腸、結腸的肌肉組織至 200 μ l/ml 後，才有些微刺激收縮現象，但加至 280 μ l/ml 後仍僅呈現些微的刺激效果。因此，三個器官組織經一倍(1X)或三倍(3X)的多多發酵乳刺激收縮之結果，相較於同劑量添加之安慰劑組時，統計上皆有顯著性差異存在 ($P < 0.05$)，顯示多多發酵乳可刺激離體胃腸道器官之收縮，其中又以對小腸的刺激力最強，結腸次之。

從上所知是否可因此解釋多多的成分使得腸道的蠕動隨劑量增加，例如益生菌或益生質，但並無明顯的長期益生菌腸道附著效果，所以受試者在停藥後即回復原來便秘，這仍需更深入的機轉研究。

糞便細胞免疫激素分析糞便中 TGF-beta, IL-10, IL-6, IFN-gamma 之免疫激素濃度，受試者在不同實驗期間之細胞激素雖有變化，但因個體間之差異變化極大，因此統計分析結果皆無顯著差異存在 ($p > 0.05$)。

在文獻上可見益生菌對恢復肝硬化患者的中性粒細胞的吞噬能力，可能通過改變 IL10 分泌和 TLR4 的表達，而且在免疫功能上，可往更深

入的檢測著手，因為在之前的研究測定上，也曾有看到在益生菌對肝炎患者的 TNF a 的下降表現趨勢而恢復肝功能。

而在此研究限制上，因為有數量上，時限性及抽血項目上的要求，所以在抽血的免疫數據上無法見到顯著差異存在 ($p > 0.05$)。但以此作為之後的相關腸胃功能測試包括人體測試以及動物試驗是可行的，且可藉由菌量的使用量提高而見到更好的人體測試結果。



第六章 結論

根據本實驗結果證實，統一多多活菌發酵乳（原味）每日 200ml 確實可改善年輕女性便秘患者之排便情況，且可增加排便頻率、雙叉桿菌和乳酸桿菌群之數量 ($p < 0.05$)。因此整體而言，此統一多多活菌發酵乳（原味）產品具有相當良好之促進排便作用，且對雙叉桿菌及乳酸桿菌的菌群有顯著提升的效果存在，但並無法有效地降低壞菌的數量，而在不同實驗期間之細胞激素雖有變化，但因個體間之差異變化極大，因此統計分析結果皆無顯著差異存在。

在未來的展望上希望能看到更多的受試個體量，以及更大量的菌數服用而且在免疫這方面值得更大的隨機對照和更深入的機轉研究⁴是下一次研究的目標。



參考文獻

英文：

1. Fuller R, Gibson GR. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1997; 222:28-31.
2. Cleusix V, Lacroix C, Vollenweider S, Le Blay G. Glycerol induces reuterin production and decreases *Escherichia coli* population in an in vitro model of colonic fermentation with immobilized human feces. *FEMS Microbiol Ecol.* 2008;63(1):56-54.
3. Pochart P, Marteau P, Bouhnik Y, Goderel I, Bourlioux P, Rambaud JC. Survival of bifidobacteria ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion. *Am J Clin Nutr.* 1992;55:78-80.
4. Agachan F, Chen T, Pfeifer J, Reissman P, Wexner SD. A constipation scoring system to simplify evaluation and management of constipated patients. *Dis Colon Rectum.* 1999; 39(6):681-685.
5. Knowles CH, Eccersley AJ, Scott MS. Linear discriminant analysis of symptoms in patients with chronic constipation. *Dis Colon Rectum.* 2000;43(10):1419-1426.
6. Clinical PRACTICE DEVELOPMENT. Developing a constipation risk assessment tool. *Continence UK.* 2007;1(1).
7. Mastumoto K, Toshihiko T, Shimizu K, Kado Y, Kawakami K, Makino I, Yamaoka Y, Hirano K, Nishimura A, Kajimoto O, Nomoto K. The effect of a probiotic milk product containing *Lactobacillus casei* Shirota on the defecation frequency and the intestinal microflora of sub-optimal health state volunteers: a randomized placebo-controlled cross-over study. *Bioscience Microflora.* 2006;25:39-48.
8. Moore W, Moore L. Intestinal flora of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl Environ Microbiol.* 1995;61(9): 3202-3207.
9. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruaut C, Cummings JH, Franck A,

- Ginbson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr.* 1998;80:s147-s171.
10. Shang HF, Liu JF, Tesen CC, Wang CY, Lee LW, Yeh PL, Kao HY, Chung MY, Lu HC, Shieh MJ. Effect of yogurt administration on human intestinal bacterial flora and biochemical analysis of blood. *Nutr. Sci J.* 2000;25(3): 159-169.
11. Spanhaak S, Havenaar R, Schaafama G. The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Eur J Clin Nutr.* 1998;52(12):899-907.
12. Muñoz FJ, Pares R. Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998;54:1715-1718.
13. Beerens H. An elective and selective isolation medium for *Bifidobacterium* spp. *Letters in Applied Microbiology.* 1990; 11:155-157.
14. Vanessa S, Rajeshwar P, Mooker J, Stephen H, Gavin AK, Wright NA, Davies RJ. Effect of probiotic treatment on deranged neutrophil function and cytokine responses in patients with compensated alcoholic cirrhosis. *J Hepatol.* 2008;48(6):945-951.

中文：

15. 陳建甫、徐美菁、謝昌成、吳克恭：益生菌的臨床應用現況。基層醫學 1996;22(8):290-293.
16. 吳國豪：糙米發酵飲品之製造與抗氧化性質研究。中興大學食品暨應用生物科技學系碩士論文 2007.

附錄

附錄 1、統計分析

◆ 單因子

ANOVA		平方和	自由度	平均 平方和	F 檢定	顯著性
雙叉桿菌	組間	5.930	2	2.965	3.755	0.030
	組內	40.269	51	0.790		
	總和	46.199	53			
乳酸桿菌	組間	17.786	2	8.893	11.058	0.000
	組內	41.014	51	0.804		
	總和	58.800	53			
產氣夾膜梭菌	組間	0.442	2	0.221	0.361	0.699
	組內	31.182	51	0.611		
	總和	31.624	53			
大腸桿菌群	組間	3.220	2	1.610	1.609	0.210
	組內	51.018	51	1.000		
	總和	54.239	53			
大腸桿菌	組間	3.901	2	1.951	1.858	0.166
	組內	53.544	51	1.050		
	總和	57.446	53			
鏈球菌	組間	6.621	2	3.130	3.071	0.055
	組內	51.978	51	1.019		
	總和	58.239	53			

◆ Post Hoc 檢定

同質子集

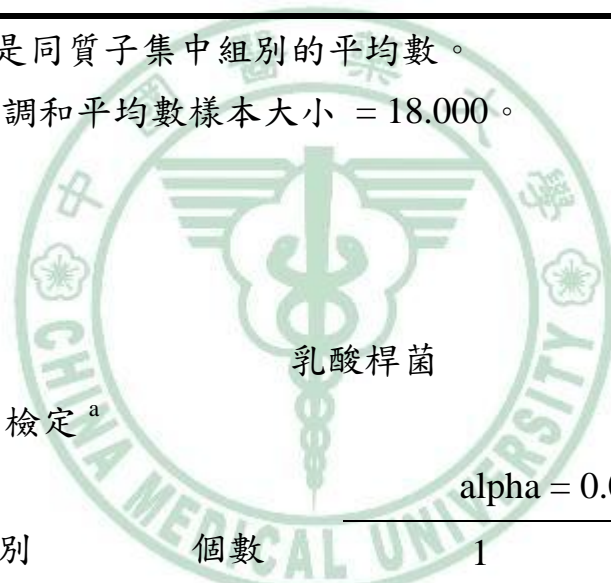
雙叉桿菌

Duncan 檢定^a

組別	個數	alpha = 0.05 的子集	
		1	2
安慰劑期	18	6.652606	
排空期	18	6.856111	6.856111
實驗期	18		7.434894
顯著性		0.495	0.056

顯示的是同質子集中組別的平均數。

a. 使用調和平均數樣本大小 = 18.000。



Duncan 檢定^a

組別	個數	alpha = 0.05 的子集	
		1	2
安慰劑期	18	5.5805	
排空期	18		6.5573
實驗期	18		6.9444
顯著性		1.000	0.201

顯示的是同質子集中組別的平均數。

a. 使用調和平均數樣本大小 = 18.000。

產氣夾膜梭菌

Duncan 檢定^a

組別	個數	Alpha = 0.05 的子集	
		1	
安慰劑期	18		4.9005
排空期	18		5.0396
實驗期	18		5.1194
顯著性			0.435

顯示的是同質子集中組別的平均數。

a. 使用調和平均數樣本大小 = 18.000。

Duncan 檢定^a

組別	個數	Alpha = 0.05 的子集	
		1	
安慰劑期	18		5.707039
排空期	18		5.794139
實驗期	18		6.263083
顯著性			0.121

顯示的是同質子集中組別的平均數。

a. 使用調和平均數樣本大小 = 18.000。

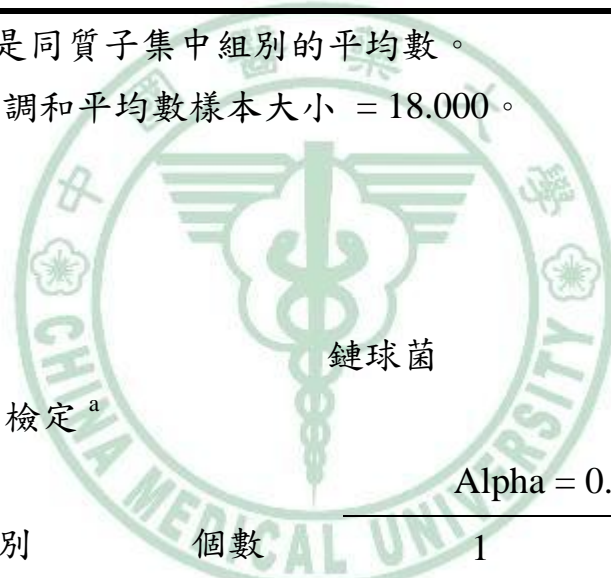
大腸桿菌

Duncan 檢定^a

組別	個數	Alpha = 0.05 的子集	
		1	
安慰劑期	18		6.1584
排空期	18		6.5712
實驗期	18		6.8090
顯著性			0.077

顯示的是同質子集中組別的平均數。

a. 使用調和平均數樣本大小 = 18.000。



鏈球菌

Duncan 檢定^a

組別	個數	Alpha = 0.05 的子集	
		1	2
安慰劑期	18	5.7070	
排空期	18	6.0094	6.0094
實驗期	18		6.5314
顯著性		0.373	0.127

顯示的是同質子集中組別的平均數。

a. 使用調和平均數樣本大小 = 18.000。

附錄 2、中國醫藥大學附設醫院施行人體試驗計畫同意書 (計畫編號：
DMR-100-IRB-049)



中國醫藥大學附設醫院
CHINA MEDICAL UNIVERSITY HOSPITAL
台灣省台中市北區育德路 2 號
No.2 Yuh Der Road Taichung Taiwan R.O.C.
TEL:(04)22052121

中國醫藥大學附設醫院人體試驗委員會
Tel: 886-4-22052121 ext: 1925 Fax: 886-4-2207-1478 台中市北區育德路 2 號

人體試驗計畫同意書

試驗名稱：多多系列產品(原味多多、牛奶多多、多多 light)及 AB 菌粉之改善腸道功能評估。

本院編號：DMR100-IRB-049

本院試驗主持人：臨床免疫中心林清淵主任


通過日期：2011 年 04 月 27 日


計畫有效日期：2012 年 04 月 26 日

Informed Consent Form：Apr. 12, 2011 (Adult); Apr. 12, 2011 (Children)

依照衛生署及 ICH-GCP 規範的規定，臨床試驗每屆滿一年，人體試驗委員會必須定期重新審查。請於有效期限到期二個月前檢送期中報告至本會進行審查。

該計畫任何部分若欲更改，需向人體試驗委員會重新提出申請。計畫主持人對受試者任何具有危險而且未能預期之問題，例如：對藥物、放射性元素或對醫療器材產生不良反應等，需立即向人體試驗委員會主任委員提出書面報告。



主任委員 

中 華 民 國 一 百 年 四 月 二 十 九 日

附錄 3、ROMO III criteria and IBS-C

- Symptoms \geq 3 mo; onset \geq mo prior to diagnosis

Functional Constipation	IBS-C
<ul style="list-style-type: none"> • Must include \geq 2 of the following: <ul style="list-style-type: none"> — Straining — Lumpy or hard stools* — Sensation of incomplete evacuation* — Sensation of anorectal obstruction/blockage* — Manual maneuvers to facilitate defecation (eg, digital evacuation, support of the pelvic floor)* — < 3 defecations/wk • Loose stool rarely present w/o use of laxatives • Insufficient criteria for IBS-C 	<ul style="list-style-type: none"> • IBS: Recurrent abdominal pain/discomfort \geq 3 d/o for the past 3 mo, associated with \geq 2 of the following: <ul style="list-style-type: none"> — Improvement with defecation — Onset associated with change in stool frequency — Onset associated with change in stool form • IBS is subtyped by predominant stool pattern <ul style="list-style-type: none"> — IBS-C: hard or lumpy stools[†] \geq 25 % of defecations; loose or watery stools[‡] < 25 % of defecations[§]

* \geq 25 % of defecations. [†]Bristol Stool Form Scale 1-2: separate, hard lumps like nuts (difficult to pass); or lumpy, sausage-shaped stool. [‡]Bristol Stool Form Scale 6-7: fluffy pieces of stool with ragged edges; mushy stool; or watery w/out solid pieces (entirely liquid). [§]In the absence of use of antidiarrheals or laxatives.

Based on: Longstreth GF et al. *Gastroenterology*, 2006; 130:1480-1491.

附錄 4、問卷

【吃乳酸菌產品前問卷】

編號：_____

性別？ 男 女 年齡：_____ 身高：_____ cm 體重：_____ Kg

※有無疾病史？ 糖尿病 B 型肝炎 過敏 高血壓 腸胃道疾病_____

其他_____

一、平常的排便習慣

1. 通常的排便頻率為何？ 1 天 2 次以上 1 天 1~2 次 2 天一次 3 天一次
4~7 天一次 兩週一次 一個月一次
2. 通常何時排便？ 剛起床 三餐飯前 三餐飯後 不定時 睡覺前
3. 是否有便秘情況？ 有(嚴重) 有一點(輕微) 無(正常)
4. 過去有沒有使用某些方法改善便秘？ 無 有：(1) 灌腸劑 (2) 甘油栓劑
(3) 服用軟便劑或瀉藥 (4) 其他_____
5. 是否有經常性腹瀉的情況？ 無 有
6. 肛門是否有便秘出血現象？ 有，偶爾 有，常常 無

二、排便前有沒有出現下列情形

7. 是否出現腹痛？ 無 有時候 經常 每次
8. 有沒有出現脹氣情形？ 無 有時候 經常 每次
9. 排便前有出現什麼特殊症狀嗎？ 無 嘔吐 尿失禁 大便失禁 其他_____

三、糞便外觀調查

10. 糞便量？ 多 正常 少
11. 是否有殘便感(大便沒大完的感覺)？ 無 有，偶而 有，常常
12. 糞便硬度如何？ 水水的 軟軟的 正常 硬硬的
13. 糞便形狀為何？ 水瀉 粥狀 香蕉狀 粒狀 其他_____
14. 糞便顏色為何？ 黃色 黃棕色 巧克力色 棕黑色 黑色(柏油樣，黑而有光澤) 紅色血便 膿血便 灰白色
15. 糞便氣味如何？ 有難聞臭味 有少許臭味 有少許酸味 無味道

16. 糞便是否有油脂浮起現象? 有, 偶爾 有, 常常 無

四、其他

17. 平時是否有食用乳酸菌產品(優酪乳或優格)的習慣? 有, 偶爾 有, 常常
無

18. 這一年來平均吃乳酸菌產品的頻率(不限 CC 數)? 每天多次 每天一次 2
天一次 2 天一次 3 天一次 4~7 天一次 兩週一次 一個月一次 一
年幾次而已 沒喝過

19. 據以往的經驗, 使用乳酸菌產品後, 你覺得便秘情況有無改善? 改善很多
些微改善 完全沒改善 無便秘經驗 無飲用優酪乳經驗

20. 最近二星期內是否有服用抗生素? 無 有, _____天前

21. 最近二星期內是否有服用其他藥物? 無 有, _____天(前), 何種藥物? _____

22. 是否有過敏的問題? 無 異位性皮膚炎 鼻子癢, 常打噴涕、流鼻水
氣喘 其他 _____

23. 是否有乳糖不耐症(喝牛奶就會腹瀉)? 無 有, 大約喝 _____ml 就會
腹瀉。



【吃乳酸菌產品後每週問卷】

編號： _____

吃一週乳酸菌產品後體重： _____ Kg

一、吃乳酸菌產品一週後之狀況

1. 這星期是否有服用過抗生素？無 有
2. 有無忘記吃乳酸菌產品的情形？ 無 有，幾次： _____
3. 實用乳酸菌產品後，本人覺得便秘的改善情況？改善很多 些微改善 完全沒改善
4. 最近排便時的感覺？ 沒改變 稍微有改善 改善很多 變得不舒服 很不舒服
若有不舒服者，其原因為何？ _____
5. 未吃乳酸菌產品時(參與實驗前)排便頻率為何？1天2次(含)以上 1天1次 2天一次 3天一次 4天一次 5天一次 6天一次 7天一次 8~14天一次
6. 吃乳酸菌產品一週後排便頻率為何？1天2次(含)以上 1天1次 2天一次 3天一次 4天一次 5天一次 6天一次 7天一次 8~14天一次
7. 吃乳酸菌產品期間是否有使用藥物或其他物質來改善便秘？無 有：(1)灌腸劑 (2)甘油栓劑 (3)服用軟便劑或瀉藥 (4)其他 _____

二、最近吃乳酸菌產品之後有沒有出現下列情形

8. 出現腹痛？無 有時候 常常
9. 出現脹氣情形？無 有時候 常常
10. 常放屁？ 無 有時候 常常
11. 食慾有無改變？ 無 有， 變好一點 變差一點 其他 _____
12. 吃乳酸菌產品後是否有腹瀉的情況？無 有 (偶而 常常 每次)
13. 肛門是否有便秘出血現象？ 有，偶爾 有，常常 無
14. 有便秘出血現象者，吃乳酸菌產品後是否有改善？ 無 有， 變好一點 好很多

三、此週糞便外觀調查

15. 糞便量？多 正常 少
16. 糞便硬度如何？水水的 軟軟的 正常 硬硬的
17. 糞便形狀為何？水瀉 粥狀 香蕉狀 粒狀 其他_____
18. 糞便顏色為何？黃色 黃棕色 巧克力色 棕黑色 黑色(柏油樣，黑而有光澤)
- 紅色血便 膿血便 灰白色
19. 糞便氣味如何？有難聞臭味 有少許臭味 有少許酸味 無味道
20. 其他不在上述之狀況：

※ 請問您覺得吃乳酸菌產品一週後，對於排便、食慾、過敏或精神等各方面，是否有改變的情況，請簡單描述：



【停吃乳酸菌產品一週後問卷】

編號：_____

停吃乳酸菌產品後體重：_____Kg

一、停吃乳酸菌產品期間之狀況

1. 這星期是否有服用過抗生素？無 有
2. 停吃乳酸菌產品後排便情況的變化？沒變化 排便次數變少 排便次數變多
3. 停吃乳酸菌產品後便秘或腹瀉的改善情況？改善很多 些微改善 完全沒改善
4. 停吃乳酸菌產品後是否有出現排便時不舒服的情形，無 有若有不舒服情況請描述？_____
5. 停吃乳酸菌產品後排便頻率為何？1天2次(含)以上 1天1~2次 2天一次 3天一次 4天一次 5天一次 6天一次 7天一次 8~14天一次
6. 這一個禮拜期間是否有使用藥物或其他物質來改善便秘？無 有：(1)灌腸劑 (2)甘油栓劑 (3)服用軟便劑或瀉藥 (4)其他_____
7. 這星期吃蔬菜水果的次數？每天吃 常常吃 偶爾吃 幾乎不吃

二、停吃乳酸菌產品之後有沒有出現下列情形

8. 停吃乳酸菌產品後是否出現腹痛情形？無 有時候 常常 每天
9. 停吃乳酸菌產品後是否出現脹氣情形？無 有時候 常常 每天
10. 停吃乳酸菌產品後食慾有無改變？無 有變好一點 有變差一點 其他__
11. 停吃乳酸菌產品後肛門是否有便秘出血現象？偶爾有 常常有 無
12. 停吃乳酸菌產品後，便秘出血現象？改善很多 些微改善 完全沒改善 沒出血

三、停吃乳酸菌產品一週後糞便外觀調查

13. 糞便量？多 正常 少
14. 糞便硬度如何？水水的 軟軟的 正常 有點硬 很硬

15. 糞便形狀為何？水瀉 粥狀 條狀 顆粒狀 其他_____

16. 糞便顏色為何？黃色 黃棕色 巧克力色 棕黑色 黑色(柏油樣，黑而有光澤) 紅色血便 膿血便 灰白色 其他不在上述之狀況：_____

※ 請問您覺得停吃乳酸菌產品二週後，對於排便、食慾、過敏或精神等各方面，是否有改變的情況，請簡單描述：_____



英文摘要

- ◆ The research is the subsidiary plan that the Uni-President Enterprises consign “Uni-President Yakult series: Original Yakult, Milk Yakult, Uni-President Yakult probiotic drink(original)and AB fermented powders improve and evaluate the bowel’s function along with the test for the fungus safety.
- ◆ The Second one evaluate clinically that: Uni-President Yakult probiotic drink (original) ameliorate the slight constipated women’s enterogastric peristalsis to reduce the Constipation disease.
- ◆ The human experimentation of the subsidiary plan arrange thirty experimenter and adopt the single-blinded experiment. They are divided into the stable phase, placebo phase, experiment phase and removal phase. The stable phase maintains ten days. It regulates the experimenters’ eating habit and observes the cooperation degree of these ones. It will exclude the low cooperated degree ones from the phase experiment. The stable phase maintains ten days and they drink the Yakult placebo without the actobacillus. The experiment phase is that the experimenters drink 200ml Yakult probiotic drink (original) with the actobacillus for twenty days. The removal phase is that the experimenters stop to drink for ten days and do the questionnaires and the analysis of the excrement.
- ◆ The purpose is to evaluate whether the Uni-President Yakult probiotic drink(original) has the effect of improving Constipation and enhance defecation. Besides, it does the analysis of the excrement’s microflora to evaluate whether the testing products enhances the bowel’s microflora. Meanwhile, it also evaluates the dense of cells’ Immune hormone for the TGF-beta, IL-10, IL-6, IFN-gamma of the excrement.
- ◆ According to the experiment result proved that Uni-President Yakult probiotic drink (original) with daily -200ml really can ameliorate the

constipated young women's evacuation condition. Further it can also increase the frequency of evacuation, the quantity in the bifid bacterium and the lactobacillus ensemble ($p < 0.05$). As a result for the general condition, the Uni-President Yakult probiotic drink (original) does benefits with the evacuation condition and has the effect of promoting the bifid bacterium and the lactobacillus ensemble. However, it cannot reduce effectively the magnitude of the pernicious.



感謝辭

完成這一份研究論文，要感謝的人太多了。首先要感謝陳汶吉教授及林文鑫副教授指導，讓整個研究能順利地完成；感謝統一公司的支持及許多的協助，讓整個研究無後顧之憂；感謝林清淵教授細心地指正，讓整份論文增色不少；也感謝周仁偉醫師、余承儒醫師的許多幫忙。並且要感謝本所提供一個良好的環境，讓我的研究能以更科學的角度來探討相關的醫學議題；也感謝所有加入本試驗的志願者，有了她們的幫忙，整個研究計畫才得以落實；還有許許多多的無名英雄，在此一併獻上誠摯地感激。

在整個研究執行與論文寫作期間，家人及醫療夥伴的支持包容與協助，是我堅持下去的最大動力，謹此致上最衷心地感恩。

最後，謹以此獻給我摯愛的雙親。

