

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

機能性乳酸發酵蔬菜之抗氧化性及抗致突變性研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2313-B-002-050-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行單位：國立臺灣大學食品科技研究所

計畫主持人：游游筱

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 10 月 31 日

機能性低鹽乳酸發酵蔬菜之抗氧化性及抗致突變性之研究

Antioxidative and antimutagenic activity of functional low-salt lactic fermentation vegetables

計畫編號：NSC 93-2313-B-002-050-

執行期限：93 年 8 月 1 日至 94 年 7 月 31 日

主持人：游若菽 教授 國立臺灣大學食品科技研究所

電子信箱：yurc@ntu.edu.tw

一、中文摘要

本研究主要探討乳酸發酵蔬菜之抗氧化特性與抗致突變特性以及添加益生性雙叉桿菌至製品中對其抗氧化特性影響與貯存過程之抗氧化變化。結果顯示乳酸發酵蔬菜的萃取物在 DPPH 自由基清除清除效果、還原力與螯合亞鐵離子能力等抗氧化特性，均隨濃度增加，抗氧化特性有增強的趨勢，同時甲醇萃取物明顯較水萃取物效果佳。探討發酵過程對其抗氧化特性影響結果發現，經發酵的乳酸發酵蔬菜的甲醇萃取物在 DPPH 自由基清除清除效果、還原力與螯合亞鐵離子能力等抗氧化特性具有較高的抗氧化活性表現，但是經發酵過程的蔬菜水萃取物則有下降的趨勢。在抗致突變活性方面，乳酸發酵蔬菜之萃取物在濃度 5 mg/plate 時，對 4NQO 或 B[a]P 有高於 50% 之突變抑制率，顯示具有抗致突變活性，且於 0.625-5 mg/plate 的濃度區間內，隨樣品濃度的提高對致突變的抑制率也跟著上升，顯示其抗致突變性具有濃度效應。進一步探討添加益生性雙叉桿菌於低鹽乳酸發酵蔬菜對於乳酸發酵蔬菜之抗氧化性特性的影響。結果顯示，捕捉 DPPH 自由基能力方面，添加 *B. lactis* Bb12 之甲醇萃取物，表現最佳。還原力方面，以添加 *B. lactis* Bb12 組明顯較添加其他雙叉桿菌與控制組表現為佳。在螯合亞鐵離子能力方面，添加 *B. infantis* BCRC14602 與 *B. bifidum* BCRC14615 甲醇萃取物表現較佳（ EC_{50} 分別為 3.18 mg/mL 與 3.39 mg/mL）。貯存過程中的抗氧化特性的變化情形，捕捉 DPPH·能力方面，添加雙叉桿菌之乳酸發酵蔬菜甲醇萃出物於

50 mg/mL 的濃度下捕捉 DPPH·能力之情形並不隨著貯存時間的增加而降低，但是水萃出物隨貯存時間的增加，捕捉 DPPH·能力逐漸下降。還原力方面，乳酸發酵蔬菜之甲醇萃取物隨貯存過程有緩慢降低的現象，並於貯存第四週時還原力已降至最低。

關鍵字：乳酸發酵蔬菜、抗氧化性、抗致突變性、雙叉桿菌

Abstract

This study was aimed to determine the antioxidant activity and antimutagenic activity of lactic acid fermented vegetables - kimchi, and the effect of adding bifidobacteria on the antioxidant activity and the change during storage. As the results, the raise of doses of kimchi extracts could increase the antioxidant activities on DPPH radicals scavenging effects, reducing power, Fe^{2+} -chelating ability. Simultaneously, the methanol extract of kimchi exhibited higher antioxidant activity than the water extract. Effect of fermentation on the antioxidative activity of kimchi was evaluated. After fermentation, the methanol extract of kimchi had higher antioxidative activity on DPPH radicals scavenging effects, reducing power, Fe^{2+} -chelating ability. But antioxidative activity of water extracts had decrease during fermentation. Kimchi extracts of a concentration of 5 mg/plate showed more than 50% inhibitory effect on 4NQO or B[a]P. The raise of doses of Kimchi extracts could increase the antimutagenic activities against 4NQO or B[a]P on *S. typhimurium* TA 98 and TA100 while

extracts were within the range of concentrations from 0.625 to 5 mg/plate. These results showed dose-dependency in the concentration of extracts and good antioxidant, antimutagenic activities of Kimchi. It was further studied the effect of antioxidative activity by adding bifidobacteria, results showed that the methanol extract of adding *B. lactis* Bb12 had the highest scavenging DPPH radicals ability ($EC_{50}=17.16$ mg/mL) and reducing activity. On Fe^{2+} -chelating ability, the methanol extract of adding *B. infantis* BCRC14602 and *B. bifidum* BCRC14615 had the higher scavenging ability ($EC_{50}=3.18$ mg/mL and 3.39 mg/mL). During storage, the scavenging DPPH radicals ability of methanol extracts were not significantly change either adding bifidobacteria or not. But water extracts of scavenging DPPH radicals ability were decreased. Reducing power of methanol extracts are dropped during storage excepted adding *B. breves* BCRC11846 and *B. bifidus* Bb-12.

Key words: Fermented vegetables, antioxidative, antimutagenic activity, Bifidobacteria

二、緣由與目的

近年來隨著國民所得的提高，國人在飲食方面愈趨於高熱量、高油脂、高糖份，因而導致種種的文明病的發生，如肥胖、高血壓、心臟病等；而許多研究顯示在飲食中攝取適量的膳食纖維，可預防一些慢性病的發生，可能與膳食纖維可減少血液中的膽固醇、降血壓、降低肥胖、降低結腸癌的發生有關 (Anderson and others, 1994; McIntosh, 1993)。

乳酸菌長久以來即被應用於各種發酵食品的製造。乳酸菌不僅能提製品特殊的風味和質地，更具有保存食品的功能。許多研究顯示乳酸菌具有維持人體腸道內正常微生物菌相、活化免疫系統、促進蛋白質分解、抗腫瘤及抗致突變活性、合成 B 群維生素、改善乳糖不耐症、抗氧化性、降低血膽固醇、緩和腹瀉與便秘等諸多生理功能，對增進人

體健康十分有益 (Gomes and Malcata, 1999; Holzapfel and Schillinger, 2002; Hosono and others, 1997; Park and others, 1999; Perdigin and others, 1994; Roos and Katan, 2000)。

有關癌症的研究發現，環境與癌症的發生有密切的關係。食物中存在着許多的抗致突變物質 (antimutagens) (Norred and Voss, 1994)。目前已被證實具有抗致突變性及抗癌性的食品成分包括膳食纖維、多酚類化合物、類黃酮化合物、類胡蘿蔔素、維生素、黃豆蛋白、微量金屬、乳酸菌與植物化學物質等 (陳與顏, 1996)。因此若食物中具有清除或不活化致突變物質的能力，亦可有效抑制癌症的發生。

蔬菜中含有大量的膳食纖維，許多研究發現膳食纖維具有疏水性的聚合體，如 α -cellulose，因此和致突變物質之間具有很強的吸附活性 (Ferguson, 1994)。此外，許多蔬果中含有植物多酚類化合物，如 ellagic acid、chlorogenic acid、quercetin 及 rutin，在動物實驗中發現可以抑制多種致癌物質的作用 (陳和顏, 1996)。Ong 等 (1989) 證實蔬菜中的類胡蘿蔔素、葉綠素、維生素 A、C、E 等對環境中的致突變物具抗致突變之效果，如 ascorbic acid 是生物性氧化過程中必須的輔助還原劑，在胃中為亞硝酸鹽的捕捉劑，可以預防亞硝酸鹽轉變為致癌性的亞硝胺化合物 (nitrosamine)。 α -tocopherol 具有對抗輻射以及 dimethylhydrazine 誘導 DNA 傷害的保護作用 (陳和顏, 1996)。自然界中存在之抗氧化物，它們在可被氧化的情況下，能阻止氧化作用進行，種類包括活性氧清除劑 (如：維生素 C、 α -生育醇、 β -胡蘿蔔素)、金屬螯合劑 (如：植酸、類黃酮) 和還原劑 (如：維生素 C、亞硫酸鹽) 等。蔬果中含量較豐富之抗氧化物有黃酮類、維生素 C 以及類胡蘿蔔素等，分布於植物組織中，其抗氧化的機制包括去除自由基及活性氧分子、螯合金屬離子，亦可還原氧化態的維生素 C、E。維生素 C，為水溶性抗氧化劑，其天然型式可作為還原劑或氧去除劑，另外在抗氧化機制上能螯合金屬、捕捉單態氧和超氧

陰離子等功效。類胡蘿蔔素屬於油溶性之植物色素，其種類包括 α -胡蘿蔔素、 β -胡蘿蔔素、茄紅素、黃體素、葉黃素等。抗氧化機制為終止自由基連鎖反應、清除自由基、終止單態氧活性能力。

韓式泡菜是一種乳酸發酵蔬菜製品，由於其具有特殊的酸味、甜味與 carbonated taste，富含活性乳酸菌、維生素與礦物質等營養特性，逐漸在世界各地盛行，是一種極受歡迎的乳酸發酵蔬菜製品 (Cheigh and Park, 1994; Lee, 1997)。此外，韓式泡菜中也具有許多生物活性的物質，原料白菜與配料中的 Benzyl isothiocyanate、indole 化合物、thiocyanate、類黃酮、sitosterol、gingerrol、蒜素、capsaicin 等活性物質，具有抗致癌性、刺激免疫、抗氧化與調節 T-cell 等功能 (Lee, 1997)。另外，韓式泡菜中含有乳酸菌達 10^8 CFU/ml，這些活性乳酸菌可幫助消化、改善腸道菌相，再加上富含的纖維素與乳酸菌發酵產生的乳酸、乙醯膽鹼、葡聚糖等物質可以促進腸胃蠕動，具有治療便秘的功效 (Lee, 1997)。

本研究利用乾鹽法進行低鹽乳酸發酵蔬菜，口味類似韓式泡菜的適合國人低鹽乳酸發酵蔬菜製品，探討製品的抗氧化機能性與抗致突變性，期望研究結果有助於了解乳酸發酵蔬菜之抗氧化與抗致突變機能性質，確認低鹽乳酸發酵蔬菜之機能性，並增進攝食此類產品對人體益處之認識，以增進國人健康；並嘗試添加益生性雙叉桿菌於低鹽乳酸發酵蔬菜製品中，以增加發酵蔬菜製品保健機能性，並探討添加之雙叉桿菌於發酵製品中存活的情形以及低鹽乳酸發酵蔬菜製品之抗氧化性情形，提供學術研究與食品蔬菜發酵製造業的參考。

三、結果與討論

一、低鹽乳酸發酵蔬菜之抗氧化性與對 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO) 之抗致突變性探討

(一) 乳酸發酵蔬菜製品於發酵前與發酵 48 小時後之抗氧化特性探討

將乳酸發酵蔬菜之發酵前 (未經發酵)

與發酵 48 小時後的樣品，絞碎後進行凍乾，再分成水相萃取與甲醇萃取，萃取物經濃縮凍乾後貯存於 -20°C 備用。實驗進行前，分別以蒸餾水與甲醇調整至實驗所需之濃度，濾膜過濾後所得之萃取液進行捕捉 DPPH· 能力、還原力、螯合亞鐵離子能力與過氧化氫清除能力之測定。

(1) 捕捉 DPPH· (DPPH 自由基) 能力之測定

結果顯示未發酵與發酵之乳酸發酵蔬菜的甲醇萃取物與水萃取物在 0~100 mg/mL 的濃度下其捕捉 DPPH· 能力隨著濃度增加而增加。利用最接近 50% 捕捉 DPPH· 能力之前後兩點，進行內插法，計算出其捕捉 50% DPPH· 所需的濃度 (EC_{50})，未發酵與發酵之乳酸發酵蔬菜的甲醇萃取物之 EC_{50} 分別為 27.95 mg/mL 與 25.05 mg/mL，經統計分析兩者甲醇萃取物之 EC_{50} 具有顯著差異 ($p < 0.05$)。水萃取物之 EC_{50} 分別為 33.52 mg/mL (未發酵) 與 38.18 mg/mL (發酵)，但經統計分析發酵前後水萃取物之 EC_{50} 並無顯著差異 ($p < 0.05$)。

由結果發現乳酸發酵蔬菜無論發酵與否，其甲醇萃取物之清除 DPPH· 能力明顯較水萃取物活性強，此結果與研究其他植物性抗氧化的情形有類似的情形。曾 (1991) 比較利用不同溶劑對洛神葵花青素的萃取效果，其中以甲醇萃取的效果最佳，其次為乙醇與水，丙酮最差。此外，張 (1996) 利用不同溶劑萃取茵陳蒿的抗氧化物，結果亦以甲醇萃取物的抗氧化能力最強。另外，傅 (2000) 分別利用甲醇、乙醇及水萃取高粱與高粱酒糟，結果以甲醇萃取所得的多元酚萃出量最高。這可能與溶劑之極性不同導致萃出物的種類與萃出量不同，因此造成萃出物的抗氧化活性不同所致。未發酵之樣品水萃物的清除 DPPH· 能力略較發酵者活性強，此推測可能是一些水萃取物萃出的有些成份如有些酚類以及維生素 C 等，其中維生素 C 是所有維生素中最不穩定，在空氣與催化劑的存在下，抗壞血酸容易氧化程去氫抗壞血酸，因此可能易於發酵過程中氧化而失去其抗氧化活性。Maria 等人 (1999) 指出新鮮的

截切菠菜無論是貯存於空氣或是調氣控制環境下，其所含的維生素 C，由原先以還原型態的抗壞血酸 (ascorbic acid; AA) 隨著貯存時間的增加轉變成氧化型態之去氫抗壞血酸 (dehydroascorbic acid; DHAA)。

(2) 還原力測定

結果顯示於 0~80 mg/mL 濃度，乳酸發酵蔬菜發酵前後之甲醇萃取物與水萃取物之還原能力，均隨濃度的增加。此外，甲醇萃取物之還原力明顯較水萃取物活性強，發酵過程對甲醇萃取物之還原力無顯著差異 ($p < 0.05$)。發酵過程對於水萃取物的還原力造成明顯降低的影響 ($p < 0.05$)。Atoui 等人 (2005) 指出多酚類的抗氧化性質主要是其氧化還原特性 (redox properties)，這些性質使其能扮演還原劑、氫原子的提供者與單重氧的捕捉者，以及金屬離子螯合的能力。由上述結果顯示推測可能由於微生物發酵過程中將某些具有良好還原力的物質作用，而使得的還原能力在水萃取物的結果有下降的情形。

(3) 螯合亞鐵離子能力測定

螯合亞鐵離子的能力結果顯示，測試濃度於 40 mg/mL 以下時，甲醇萃取物對亞鐵離子螯合能力皆隨樣品濃度增加而增強，同時甲醇萃取物之螯合亞鐵離子能力明顯較水萃取物活性強，甲醇萃取物之 EC_{50} 分別為 3.96 mg/mL (未發酵) 與 3.81 mg/mL (發酵)，無顯著差異 ($p < 0.05$)。水萃取物螯合亞鐵離子能力之 EC_{50} 分別為 6.37 mg/mL (發酵) 與無法測得 (未發酵)。

此外，經過發酵過程乳酸發酵蔬菜水萃取物其螯合亞鐵離子的能力明顯下降，推測可能因微生物發酵導致其結構發生改變，使得其抗氧化功能有了差異。酚類物質的結構與其抗氧化能力有很大的影響 (Robards and others, 1999)。研究顯示酚類化合物的結構上含有共軛環結構與羥基可使得酚類具有捕捉自由基的能力 (Arora and others, 1998; Dreosti, 2000)。

(4) 過氧化氫清除效應

由於甲醇萃取物於實驗進行時會有混濁的現象，因而干擾吸光，故未進行甲醇萃取

物的過氧化氫清除效應試驗。乳酸發酵蔬菜發酵前後水萃取物之過氧化氫清除效應在濃度 0~100 mg/mL 之間，其過氧化氫清除效應隨著濃度增加而增加，但其過氧化氫清除效應僅達 23% 與 28%，但經統計分析乳酸發酵蔬菜發酵前後之水萃取物之間並無顯著差異 ($p < 0.05$)。文獻指出 ascorbic acid 可直接或間接捕捉有害的自由基，尤其在捕捉 H_2O_2 與保護酵素或蛋白質之硫醇基 (thiol group) 的氧化上扮演重要的角色 (Vina and Chaves, 2006)。

(二) 低鹽乳酸發酵蔬菜對 4NQO 誘導 *S. typhimurium* TA 98 致突變之抗致突變性探討

結果顯示當僅添加致突變劑 4NQO 時 *S. typhimurium* TA 98 之 His^+ 回復株菌數顯著增加，當添加發酵蔬菜萃取物時，隨著樣品濃度的增加其抗致突變率也上升，當萃取物濃度由 0.625 mg/plate 上升至 5 mg/plate 時，乳酸發酵蔬菜甲醇萃取物與水萃取物對突變之抑制率隨萃取物濃度的提高而有上升的趨勢，其中在濃度 5 mg/plate 時，各樣品對突變的抑制率有最大值 88-91% 高於 50%，顯示具有抗致突變活性。因此可以推論乳酸發酵蔬菜製品對 4NQO 誘導產生之突變皆具有抗致突變效果，此結果與先前學者之研究相符。Park and Rhee (2001) 以 kimchi 中分離出的 *Lb. plantarum* KLAB21 對 MNNG 及 4NQO 誘導 *S. typhimurium* 產生之突變分析其抗致突變性，顯示 *Lb. plantarum* KLAB21 懸浮液具有 98.4、57.3% 之抑制率。另有學者指出 kimchi 甲醇萃取物在濃度 1.25-2.5 mg/plate 下，對 AFB_1 誘導之突變有高於 50% 之抑制率 (Jung and others 1999)。

二、乳酸發酵蔬菜製品添加雙叉桿菌之抗氧化性探討與貯存過程中的抗氧化變化

(一)、添加雙叉桿菌之乳酸發酵蔬菜製品抗氧化性探討

(1) 捕捉 DPPH· 能力之測定

添加雙叉桿菌之乳酸發酵蔬菜製品，其萃取物捕捉 DPPH· 能力在 0~100 mg/mL 隨著濃度增加而增加，其中添加 *B. lactis* Bb12 (EC_{50} 為 17.16 mg/mL) 之甲醇萃取物捕捉

DPPH·能力明顯較其他組別佳 (EC₅₀ 約 25.05~27.95 mg/mL) (p<0.05)。水萃取物之捕捉 DPPH·能力以添加 *B. infantis* BCRC 14602 與 *B. breves* BCRC 11846 明顯較於添加其他雙叉桿菌以及控制組佳 (p<0.05)。林 (2001) 研究指出 *B. bifidum* 14614、*B. bifidum* 14615、*B. bifidum* 14670、*B. infantis* 14633、*B. catenulatum* 14667、*L. acidophilus* 10695 及商業混合型乳酸菌株清除 DPPH·能力明顯高達 80% (以 1 mg/mL 抗壞血酸清除率視為 100%)，但也有許多乳酸菌與雙叉桿菌絲毫沒有表現清除 DPPH·能力，也有許多清除率相當低，其中包括 *B. bifidum* 14630、*B. infantis* 14661。許 (2004) 探討六株雙叉桿菌胞內萃出物具有清除 DPPH·能力，顯示雙叉桿菌可當作提供氫原子能力的一級抗氧化劑，終止自由基連鎖反應。

(2) 還原力測定

添加雙叉桿菌之乳酸發酵蔬菜製品還原能力的結果顯示，甲醇萃取物與水萃取物無論添加雙叉桿菌與否均隨萃取物濃度增加其 OD₇₀₀ 吸光值增加，表示還原能力有增加的趨勢，其中以添加 *B. lactis* Bb12 組明顯較添加其他雙叉桿菌與控制組為佳 (p<0.05)。以上結果顯示除了乳酸發酵蔬菜中具有還原作用的物質，可以將氧化物予以還原之外，雙叉桿菌亦在蔬菜製品中扮演某種功能，以提供還原力。林 (2001) 研究指出 *L. reuteri* 14625、*B. breves* 11846、*B. bifidum* 14615、*B. adolescentis* 14609、*B. infantis* 14633 等乳酸菌株還原力可達 50% 以上 (以 1 mg/mL BHT 還原力視為 100%)，但大部份乳酸菌不具有強的還原力。許 (2004) 探討六株雙叉桿菌 *B. adolescentis*、*B. bifidum*、*B. breves*、*B. infantis*、*B. lactis* Bb12 與 *B. longum* 胞內萃出物之還原能力分別為 178、187、213、256、328 與 205 μg/mL 之抗壞血酸所能提供的還原力，表示雙叉桿菌胞內萃出物應具有還原作用之物質，同時研究結果亦顯示 *B. lactis* Bb12 之還原力最高，其抑制 *t*-BOOH 氧化突變之結果相同，表示 *B. lactis* Bb12 可能藉由還原過氧化物來達到抗致突變之效果。

(3) 螯合亞鐵離子能力測定

添加雙叉桿菌之乳酸發酵蔬菜之甲醇萃取物在 0~40 mg/mL 的濃度下，其螯合亞鐵離子能力隨著濃度增加而增強，且螯合亞鐵離子能力皆可達 90% 以上。添加 *B. infantis* BCRC14602 與 *B. bifidum* BCRC14615 甲醇萃取物螯合亞鐵離子能力之 EC₅₀ 為 3.18±0.10 mg/mL 與 3.39±0.30 mg/mL 較其他組別之 EC₅₀ 約 3.74~4.72 mg/mL，經統計分析有顯著差異 (p<0.05)。水萃取物在 0~20 mg/mL 的濃度下，螯合亞鐵離子能力隨著濃度增加而增加。添加 *B. infantis* BCRC14602 螯合亞鐵離子能力明顯較於添加其他雙叉桿菌以及控制組強 (p<0.05)。Lin 與 Yen (1999) 探討 19 株乳酸菌之抗氧化特性，發現包括 *B. longum* 在內的 19 株乳酸菌都具有螯合亞鐵離子的能力，其螯合能力可能來自於生理螯合劑 (physiological chelators) 的作用。

(二) 添加雙叉桿菌之乳酸發酵蔬菜製品於貯存過程中之存活性測試與抗氧化性變化

1. 添加雙叉桿菌至已發酵之蔬菜製品中，於貯存過程中的進行存活性試驗

益生性雙叉桿菌 *B. breves* BCRC 11846、*B. lactis* Bb-12、*B. infantis* BCRC 14602 以及 *B. bifidum* BCRC 14615 添加於乳酸發酵蔬菜 (kimchi) 中，使製品中雙叉桿菌含量約 10⁷ CFU/g，並進行 28 天期間貯存性試驗，結果顯示，經過 1 周的貯存，除了 *B. infantis* BCRC 14602 的菌數明顯降至 10⁵ CFU/g；其餘的菌株菌數 log 值均維持 6.5 以上，僅些許的變化，但貯存兩週後，菌數均降至 10⁴ CFU/g 左右。

2. 添加雙叉桿菌至乳酸發酵蔬菜製品於貯存過程中抗氧化性變化

(1) 捕捉 DPPH·能力之測定

添加雙叉桿菌之乳酸發酵蔬菜製品置於 4°C 下貯存四週，其甲醇萃出物與水萃出物之捕捉 DPPH·能力結果顯示添加雙叉桿菌之乳酸發酵蔬菜甲醇萃取物於 50 mg/mL，其捕捉 DPPH·能力之情形並不隨著貯存時間的增加而降低。但是在水萃取物結果明顯隨著貯存時間的增加，捕捉 DPPH·能力逐漸下降，由原先捕捉率高達 103~96% 左右，貯存 1 週後已明顯下降至 84~72% 左右，經過四周的貯存

期間，以 *B. breves* BCRC 11846 之捕捉 DPPH· 能力下降最多，由原先的 96% 降低至 46%。如同前面推測可能因為一些水萃取物萃出的有些成份容易氧化作用掉而失去功能如水溶性的維生素 C 等，維生素 C 是所有維生素中最不穩定，在空氣與催化劑的存在下，抗壞血酸容易氧化程去氫抗壞血酸，因此可能易於發酵過程中氧化而失去其抗氧化活性所致。Vina 與 Chaves (2006) 指出維生素 C 多次被認為是一種較不穩定的食品成份，常常於植物產品在加工與貯存過程損失。

(2) 還原力測定

添加雙叉桿菌之乳酸發酵製品置於 4°C 下貯存四週，甲醇萃取物於 50 mg/mL 的濃度下，除了 *B. breves* BCRC 11846 與 *B. lactis* Bb12 於貯存貯存過程中未有顯著差異，其於組別隨貯存過程有緩慢降低的現象，並於貯存第四週時還原力已降至最低。水萃取物則所有組別均隨著貯存時間的增加，還原力由第零週 (OD₇₀₀=0.51~0.39) 逐漸下降至第四週 (OD₇₀₀=0.30~0.19)；此外，貯存過程中均以 *B. breves* BCRC 11846 組別還原能力最低。

綜合以上的實驗結果，顯示乳酸發酵蔬菜具有很好的清除自由基、還原力與螯合亞鐵離子等抗氧化能力以及抗致突變特性。

四、計畫成果自評

本研究計畫成果報告內容與原申請計畫書內容相符，並達到預期目標。

研究成果具有學術價值及應用價值，適合在學術期刊發表。

五、參考文獻

1. 林廷郁。2001。乳酸菌和雙叉桿菌益生特性之探討。國立中興大學畜產研究所碩士論文。台中市。台灣省。
2. 張明慧、吳天賞、蘇正德。1996。茵陳蒿抗氧化成分之研究。食品科學23:594-607。
3. 許雅鈞。2004。雙叉桿菌胞內物對活性氧之抗致突變性與抗氧化性。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。
4. 陳惠英、顏國欽。1996。膳食中之抗致突變物及其作用機制。中華民國營養學會雜誌。21 (3) : 323-338。
5. 傅杏芳。2000。高粱與高粱酒糟萃出物之抗氧化性質及溶劑萃取對高粱酒發酵的影響。國立台灣大學食品科技研究所。台北市。台灣
6. 曾永安。1991。洛神葵花青素之研究。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北市。台灣
7. Anderson JW, Smith BM, Gustafson NJ. 1994. Health benefits and practical aspects of high-fiber diets. Am J Clin Nutr 59(5S): 1242S-1247S.
8. Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Kefalas P. 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. Food Chem 89:27-36.
9. Cheigh HS, Park KY. 1994. Biochemical, microbiology, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). Crit Rev Food Sci Nutr 34(2): 175-203.
10. Ferguson LR. 1994. Antimutagens as cancer chemopreventive agents in the diet. Mutat Res 307: 395-410.
11. Gomes AM, Malcata FX. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus* : biological、biochemical、technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends Food Sci Technol 10: 139-157.
12. Holzapfel WH and Schillinger U. 2002. Introduction to pre- and probiotics. Food Res Int 35: 109-116.
13. Hosono A, Lee J, Ametani A, Natsume M, Hiratama M, Adachi T and Kaminogawa S. 1997. Characterization of a water-soluble polysaccharide fraction with immunopotentiating activity from *Bifidobacterium adolescentis* M101-4. Biosci Biotech Biochem 61(2): 312-316.

14. Jung KO, Lee KI, Sun MJ, Park KY. 1999. Antimutagenic and anticancer effects of buchu kimchi. *J Food Sci Nutr* 4(1): 33-37.
15. Lee CH. 1997. Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia. *Food Control* 8: 259-269.
16. Lee SK, Park DK, Oh HI, Park JH. 1999. Selection and enumeration of bifidobacteria in fermented food with various lactic bacteria. *Korean J Food Sci Tech* 31(3): 751-756.
17. Lin MY, Yen CL. 1999. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *J Agric Food Chem* 47:1460
18. Maria IG, Federico F, Francisco ATB. 1999. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. *J. Agric Food Chem* 47:2213-2217.
19. McIntosh GH. 1993. Colon cancer: dietary modification required for a balanced protective diet. *Prev Med* 22: 767-774.
20. Norred EP, Voss KA. 1994. Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *J Food Prot* 57: 522-527.
21. Ong TM, Whong WZ, Stewart JD, Brockman HE. 1989. Chlorophyllin: a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixtures. *Mutat Res* 173:111-115.
22. Park HD, Rhee CH. 2001. Antimutagenic activity of *Lactobacillus plantarum* KLAB21 isolated from kimchi Korean fermented vegetables. *Biotechnol Lett* 23:1583-1589.
23. Park SY, Ji GE, Ko YT, Jung HK, Ustunol Z, Pestka JJ. 1999. Potentiation of hydrogen peroxide, nitric oxide, and cytokine production in RAW 264.7 macrophage cells exposed to human and commercial isolates of Bifidobacterium. *Int. J Food Microbiol* 46: 231-241.
24. Perdigin G, Alvarez S, Rachid M, Agüero G, Gobbato N. 1994. Symposium: probiotic bacteria for humans: clinical systems for evaluation of effectiveness. *J Dairy Sci* 78: 1597-1606.
25. Roos NM, Katan MB. 2000. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am. J Clin Nutr* 71: 405- 411.
26. Vina SZ, Chaves AR. 2006. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage. *Food Chem* 94:68-74.