

東海大學食品科學研究所

Graduate Institute of Food Science

TUNGHAI UNIVERSITY

食品科技組碩士論文

Master Thesis of Food Technology Section

指導教授：李根永 博士

蔡正宗 博士

Advisor : Tsun-Chung Tasi, Ph.D.

Ken-Yuon Li, Ph.D.

利用酵母菌MRA6發酵改善諾麗果汁不良氣味

Improvement of noni juice odor by using yeast MRA6 fermentation

研究生：楊哲暉 撰

Graduate Student : Yang-Jhe Wei

中華民國一百零二年一月

July , 2012

# 目錄

摘要 .....	4
Abstract.....	9
壹、前言 .....	10
貳、文獻回顧.....	12
一、諾麗之簡介 .....	12
二、諾麗果汁之加工 .....	13
(一)傳統發酵諾麗果汁.....	14
(二)諾麗果原汁.....	15
(三)其他諾麗相關產品.....	15
三、諾麗中之重要化合物 .....	17
(一) 諾麗之機能性功效.....	22
(二) 諾麗的主要機能性成份 .....	28
四、利用酵母菌改善食品風味 .....	34
參、實驗材料與方法 .....	40
一、實驗架構.....	40

二、實驗材料 .....	41
三、儀器設備 .....	42
四、實驗方法 .....	43
肆、結果與討論 .....	52
伍、結論 .....	72
陸、參考文獻 .....	73
柒、附錄 .....	80



## 圖索引

圖一、傳統諾麗果汁製程.....	16
圖二、非傳統諾麗果汁製程.....	16
圖三、類黃酮之結構.....	29
圖四、單寧之結構.....	31
圖五、芸香素之結構.....	33
圖六、東莨菪素之結構.....	33
圖七、酵母菌發酵生成有機酸之途徑.....	35
圖八、酵母菌酒精發酵生成風味物質之基本途徑.....	36
圖九、酵母菌高級醇生合成圖.....	37
圖十、諾麗果汁於不同 MRA6 發酵時間之東莨菪素含量.....	59
圖十一、諾麗果汁於不同 MRA6 發酵時間之芸香素含量.....	60
圖十二、諾麗果汁於不同 MRA6 發酵時間之總酚含量.....	61
圖十三、諾麗果汁於不同 MRA6 發酵時間之類黃酮含量.....	62
圖十四、諾麗果汁於不同 MRA6 發酵時間之縮合丹寧含量.....	63
圖十五、諾麗果汁及於不同 MRA6 發酵時間之 DPPH 自由基清除能力.....	65

圖十六、諾麗果汁及於不同 MRA6 發酵時間之抗氧化力 .....66

圖十七、MRA6 在不同發酵天數之最大耐受性有機酸的減少量.....69

圖十八、以氣相層析分析經 MRA6 發酵之諾麗果汁..... 70



## 表索引

表一、諾麗果中已知化學組成份.....	18
表二、Noni 之揮發性化學成分.....	20
表三、Noni 之抑菌活性.....	27
表四、諾麗果汁於發酵期間的總產率、pH 值變化.....	53
表五、諾麗果汁於自然發酵期間的東莨菪素和芸香素之變化.....	53
表六、諾麗果汁於自然發酵期間的重要成份之變化.....	56
表七、諾麗果汁於 MRA6 發酵期間的重要成份之變化.....	58
表八、諾麗果汁於 MRA6 發酵期間的重要成份之變化.....	64
表九、有機酸之抑菌活性.....	68
表十、MRA6 發酵諾麗果汁後有機酸濃度之變化.....	71

## 附目錄

附錄一、沒食子酸之標準曲線圖.....	80
附錄二、槲皮酮之標準曲線圖.....	80
附錄三、兒茶素之標準曲線圖.....	81
附錄四、東莨菪素之標準曲線圖.....	81
附錄五、芸香素之標準曲線圖.....	82
附錄六、Trolox之標準曲線圖.....	82
附錄七、BHA 之標準曲線圖.....	83



## 摘要

諾麗果汁已是廣受消費者信賴的保健食品，但其果汁含有不良氣味的揮發性有機酸，為修飾這種令人不悅的氣味，通常諾麗果汁商品會摻配蔓越莓或葡萄等果汁調整風味。然而這種調配果汁所含的機能性成份便會被稀釋，保健功效相對降低。本研究旨在於利用酵母菌 MRA6 處理諾麗果汁，減少揮發性有機酸含量，改善風味，同時並能保留果汁原有機能性成份的含量。本研究採用自然發酵一個月製成的諾麗果汁。利用 MRA6 處理自然發酵的諾麗果汁，經過三天去除氣味後，使用 UPLC 檢測機能性成分，得知東莨菪素由 258.29 $\mu\text{g}/\text{mL}$  減少至 210.24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (約 19%)，其他成分如酚類化合物、類黃酮、芸香素則無顯著差異；並以 GC 分析，結果確認可去除果汁中不良氣味的成份如丁酸、二甲基丁酸、己酸、辛酸。酵母菌 MRA6 具有降解揮發性有機酸的能力，將可應用於諾麗果汁風味的改善。



## Abstract

Noni juice has been considered as health food in many countries. Fresh noni juice contains some volatile organic acids with unpleasant odor that put off consumer acceptance. Usually, the unpleasant odor was masked by blended grape juice, cranberry juice, or blueberry juice in manufacturing commercial noni juice products. In this kind of products, the amount of biofunctional compounds are inevitable decline. The aim of this study is to remove these volatile organic acids by using a yeast strain (MRA6), but not to reduce the level of biofunctional compounds. The noni juice used in this study was prepared by natural fermentation. The major biofunctional compounds such as phenolic compounds, flavonoids and rutin of the fermented juice were not reduced significantly after treating by MRA6. But another valuable biofunctional compounds, scopoletin was slightly decreased for three day treatment, as showed by data of UPLC analysis. Foul smell organic acids, butyric acid, DL-2-methylbutyric acid, hexanoic acid, and octanoic acid in the yeast treated juice were obviously reduced, according to data of GC analysis. The reduction of these organic acids refers that application of MRA6 to eliminate the unpleasant odor of noni juice is feasible to improve the flavor of noni juice.

## 壹、前言

諾麗 (Noni) (*Morinda Citrifolia*) 是一種原生於大洋洲諸島及南太平洋沿岸的藥用植物。相傳在千餘年前諾麗果就已被波里尼西亞人當作食物與藥材。近幾年來諾麗果的機能性功效備受關注，諾麗果汁已成為全球各地消費者接受的保健食品。

諾麗果經多年的研究已確認含有蒽醌(anthraquinone)、東莨菪素(scopolin)、芸香素(rutin)、類黃酮等保健功能的多酚類化合物，並經實證具有抗氧化、抗細菌、抗病毒、抗黴菌、抗腫瘤、抗癌症、抗發炎、降血壓及預防心血管疾病等功效。然而熟成的諾麗果會散發不良的刺鼻氣味，為了降低諾麗果汁中的這種氣味，商業產品通常會在諾麗果原汁中，添加葡萄、蔓越莓、藍莓等果汁以修飾之。諾麗果不良氣味主要來自於果肉中揮發性的有機酸成分，如丁酸、二甲基丁酸、己酸及辛酸等。雖然這些有機酸可用傳統的方法，如鹼中和、低熱減壓揮發、蒸氣脫臭等程序消除，但是都會影響果汁原有品質及機能性有效成分的濃度。因此開發去除不良氣味並保留有效成分的技术，具有實用的價值。

本研究利用能代謝有機酸的酵母菌(MRA6)消除諾麗果汁中的不良氣味，首先探討此菌株分解丁酸、二甲基丁酸、己酸及辛酸的能力，以及發

醇去除氣味所需的時間，並測定機能性有效成分，如東莨菪素和芸香素的保留數量。期望本研究能提供未來設計發酵處理諾麗果汁氣味製程，所需的參考數據。



## 貳、文獻回顧

### 一、諾麗之簡介

諾麗 (Noni)的學名為海巴戟天 (*Morinda citrifolia L.*)，分類於茜草科 (Rubiaceae)、海巴戟天屬 (*Morinda*)，其廣泛分布於熱帶氣候地區，目前已發現約有80個品種 (Morton, 1992)，其中最常見的就是*Morinda citrifolia L.* (Samoylenko *et al.*, 2006)。世界各地對諾麗皆有不同的俗名，如：India Mulberry, Ba Ji Tian, Nonu, Cheese Fruit, Nhau等 (Wang *et al.*, 2002)。台灣文獻則稱檄樹、水冬瓜、紅珠樹，其他別名還包括蘿梨、四季果、精力果或長壽果等 (陳等, 2007a)。

諾麗為一種生長於海岸線的長綠矮灌木，樹高約3-10公尺，樹幹直徑可達15公分以上，葉子為寬橢圓形 (長5-17公分，寬10-40公分)，花為管狀小白花聚生在花梗上，葉柄似環狀的分布於花梗周圍，其花冠呈白綠色。諾麗四季皆可開花結果，在台灣地區，約在六、七月產量漸豐，而在夏秋兩季達到高峰，大約至十月份產量開始下降，可生產至隔年三、四月左右，但還是要視每年氣候的差異及品種的差異而不同 (羅, 2009)。且在不同之生長階段其果實產量亦會受到影響。諾麗果實為胖橢圓形 (長約3-10公分，寬約3-6公分)，為一種由許多小花聚集轉變而成之聚合果，果實表面具有凸起的皺摺，未成熟的果實為亮綠色，成熟之果實會散發出

強烈類似丁酸之腐敗氣味和皂素觸感 (Morton, 1992; Dixon et al., 1999)。而果泥多汁具苦味，呈黃色或乳白色之凝膠狀。成熟之果實表面具有許多堅硬呈紅棕色三角狀之凹處，每個凹處皆含有四個種子 (約3.5 mm) (Dittmar, 1993)，因此整顆果實可含有上百顆種子。

傳說波里尼西亞人把諾麗果當做食物與藥物使用達二千年之久 (Earle, 2001)。諾麗果的食用紀錄於二十世紀前便有記載，而較新的文獻指出，這種水果遍及太平洋群島、東南亞、澳洲、印度等 (Wanget al., 2002)。自太平洋諸島的夏威夷 (波里尼西亞)、大溪地，到中南美洲的巴拿馬，乃至東南亞的印度、印尼、海南島、馬來西亞、泰國，甚至於南半球的澳大利亞都可以發現其蹤跡。台灣亦有本土品種的諾麗，但多產於屏東、恆春半島一帶，而台南、嘉義、雲林則有少量栽種。

不同區域的諾麗果具不同的形態，本土品種的諾麗果，體型較小 (長約5 cm)，籽多肉少氣味濃郁，榨汁率亦較低；而大溪地品種的諾麗果，體型較大 (長約10 cm)，肉多籽少氣味略淡，榨汁率較高，為目前商業上泛用的品種。近年來在台灣，諾麗果農與廠商加以整合，且在網路上與購物台諾麗相關產品的販售日益增加，其知名度越來越高，也漸漸受到國內消費者的關注。

## 二、諾麗果汁之加工

傳統諾麗果汁利用自然發酵製作，主要依賴果肉中多種酵素之綜合作

用，促使熟果進行自消化分解 (autolysis)，促進有效成分之釋出，有研究認為發酵果汁之藥效優於新鮮果汁(楊， 2005)。而諾麗果原汁則是直接壓榨熟果製成。通常諾麗果汁商品會添加覆盆子、藍莓或葡萄果汁改善其風味，而有些生產者會選擇加水稀釋或加糖稀釋諾麗果的氣味。

諾麗果實剛採收時表面堅硬，需放置1-3天後熟才能做進一步的加工。諾麗的根、莖、葉、花及樹皮都具有保健機能性的成份 (Yang *et al.*， 2007; 羅， 2009; 張， 2009)。目前市面上諾麗產品總類繁多，其中以果汁產品為最大宗。目前最常見的諾麗產品如下：

#### (一)傳統發酵諾麗果汁

傳統製法是將諾麗果放置容器內，並置於室外發酵數月，隨著發酵時間果汁自然滲出，然後將其收集成罐 (Yang *et al.*， 2007)。隨著時代演進，傳統諾麗果汁之製程也有所改善，其製程如圖一所示。將新鮮的諾麗果實採收後直接送到工廠，將其不良果如被動物吃過或微生物感染等去除後，以強力水柱噴洗或利用機械化的傳送帶清洗設備清洗，然後置於架上自然風乾，再將果實放入發酵桶內密封進行發酵。發酵桶需以玻璃、不鏽鋼或食用級的塑膠桶為宜。在發酵過程中，諾麗果汁會漸漸地從果泥中滲出，其色澤從黃褐色變成深褐色 (Nelson and Elevitch， 2006)。在發酵完成後，發酵熟成之諾麗果汁外觀為類似醬油之黑褐色液體，具有澄清葡萄酒的性質以及3.5左右的低pH值 (王， 2008)。而待果汁完全流出後，再

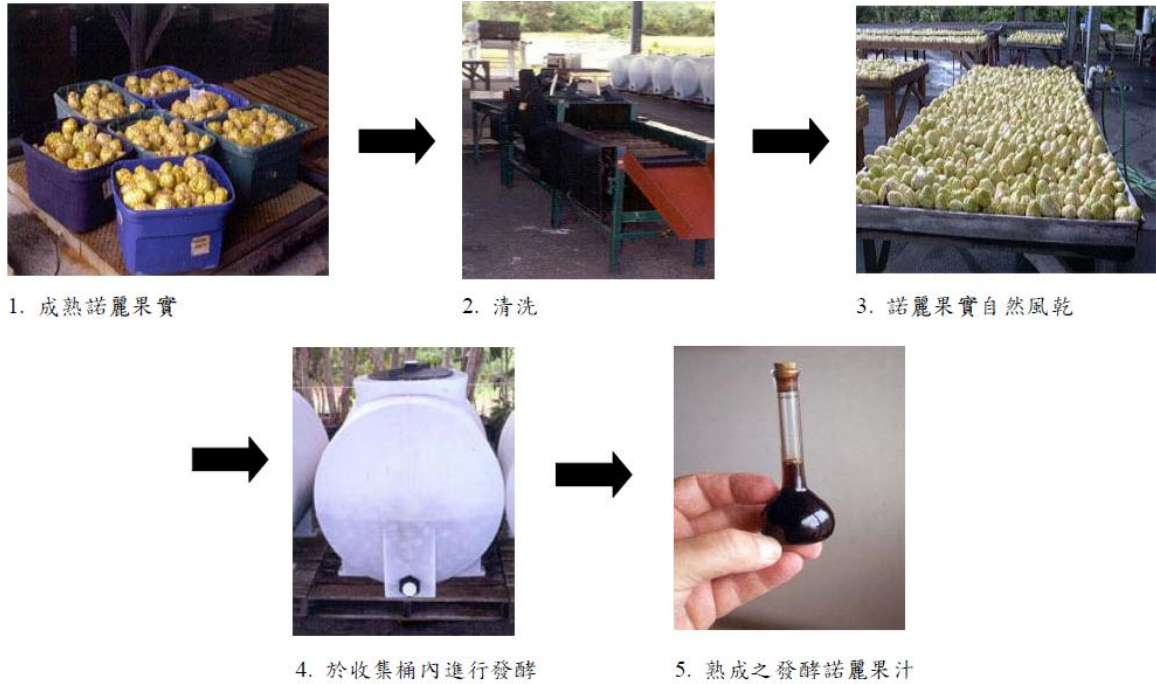
將剩下之果泥內的果汁壓榨出以提高產率，殘餘之果渣可丟棄或乾燥進一步做成其他諾麗相關產品。

## (二)諾麗果原汁

未經發酵的諾麗果汁保有較多的水果甜味，製程如圖二。採收後成熟的諾麗果實經過清洗風乾，然後立即進行榨汁步驟。在榨汁後為了避免發酵，諾麗果汁需進行冷藏、冷凍或巴斯德滅菌(羅，2009)。諾麗果原汁因為未經過發酵過程所以其苦味和酸度較低、糖度較高，而色澤較傳統發酵諾麗果汁明亮 (Nelson and Elevitch， 2006)。

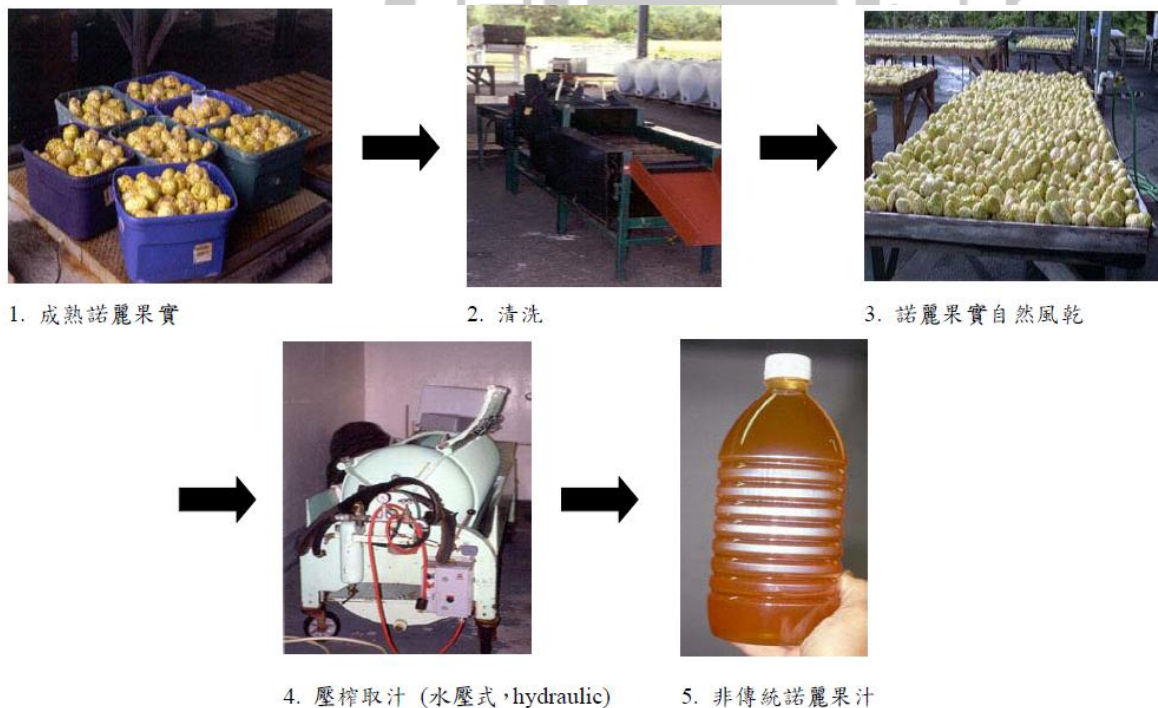
## (三)其他諾麗相關產品

除了上述的諾麗果汁外，還有調味諾麗果汁，就是在諾麗果汁中添加葡萄、桑椹、草莓或百香果等果汁，並加水稀釋和加糖提升果汁口感與風味；將諾麗果粉加水混合後，再加入其他果汁或添加物製成諾麗果粉飲品；將諾麗果泥去籽後加水稀釋，然後加入其他果汁調製成諾麗果泥飲品；將諾麗果汁濃縮 3-5 倍，以水或果汁還原成不同比例的諾麗果濃縮還原汁；將諾麗葉子或果實切片乾燥後，直接加水沖泡成諾麗茶飲品。此外，還可將諾麗製成香皂、潤手乳及洗髮乳等等，應用層面非常廣泛，顯示諾麗是一種高經濟價值的植物(羅， 2009)。



圖一、傳統諾麗果汁製程

Fig. 1. Production procedure for traditional noni juice.  
([http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit\\_juices.asp](http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit_juices.asp))



圖二、諾麗果原汁製程

Fig. 2. Production procedure for traditional noni juice.  
([http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit\\_juices.asp](http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit_juices.asp))



### 三、諾麗中之重要化合物

諾麗大約有160種植物性化合物 (phytochemical compounds) 已被鑑定出來，其主要的微量營養素為酚類化合物、有機酸和生物鹼，其中重要的酚類化合物主要為蒽醌化合物 (anthraquinones)，包括damnacanthal、桑色素酐 (morindone)、檫樹苷 (morindin)、茜草素 (rubiadin)和rubiadin-1-methyl ether等，還有桃葉珊瑚苷 (aucubin)、車葉草 (asperuloside)和東莨菪素 (scopoletin) (Wang and Su, 2001; Wang *et al.*, 2002)。另外還有有機酸如caproic acid、caprylic acid等及生物鹼(Dittmar, 1993; Heinicke, 1985)，除此之外，諾麗果汁中也富含維生素B、C和E，亦含有豐富的礦物質。

如今諾麗中已被鑑定之重要化合物(表一)包括fatty acid glycosides、alcohols glycosides、iridoid glycosides、flavonol glycosides、lignans、coumarins和anthraquinones等 (Potterat and Hamburger, 2007)。而從諾麗中分離出的揮發性化合物也多達51種 (表二)，其中以己酸 (hexanoic acid)、辛酸 (octanoic acid)、癸酸 (decanoic acid)、東莨菪素 (scopoletin)和3-methyl-3-buten-1-ol的含量最多，大約佔了總量的85% (Farine *et al.*, 1996)。

of

表一、諾麗果實中已知化學組成分

Table 1、Chemical composition of noni fruit

The compound in noni fruit
fatty acid glycoside
alcohols glycoside
iridoid (main)
asperuloside
asperulosidic acid
deacetylasperulosidic acid
iridoid (minor)
deacetylasperuloside
dehydromethoxygaertneroside
<i>epi</i> -dihydrocornin
6 $\alpha$ -hydroxyadoxoside
citrifolinin B epimers a
citrifolinin B epimers b
6 <i>b</i> ,7 $\beta$ -epoxy-8- <i>epi</i> -splendoside
flavonol glycosides
rutin
narcissoside
nicotifloroside
lignans
3,3'-bisdemethylpinoresinol
americanol A
americanin A
americanoic acid A
morindolin
isoprincepin
balanophonin

一、諾麗果實中已知化學組成分 (續)

Table 1、Chemical composition from noni fruit (continued)

The compound in noni fruit
coumarin
scopoletin
2-methoxy-1,3,6-trihydroxyanthraquinone
1,8-dihydroxy-2-hydroxymethyl-5-methoxyanthraquinone
1,3-dihydroxy-2-methoxyanthraquinone
1,6-dihydroxy-5-methoxy-2-methylanthraquinone
2-hydroxy-1-methoxyanthraquinone
5,15-dimethylmorindol
anthragallol-1,3-dimethylether
6-hydroxy-anthragallol-1,3-dimethylether
miscellaneous compounds
$\beta$ -sitosterol
3- <i>O</i> -glucoside
ursolic acid
19-hydroxyursolic acid
cytidine
borreriagenin
epiborreriagenin
iridoid derivative
succinic acid diesters
4-hydroxy-3-methoxycinnamaldehyde
$\beta$ -hydroxypropiovanillone
vanillin
(Potterat and Hamburger, 2007)
morindolin
isoprincepin
balanophonin

表二、Noni 之揮發性化學成分

Table 2. Identified volatile compounds from ripe fruits of noni

compounds	MW	Identification*	%	ppm
Acids				
Acetic	60	a,b,c	0.04	0.02
2-methyl propanoic	88	a,b	0.11	0.05
Butanoic	88	a,b,c	0.71	0.31
2-methylbutanoic	102	a,b	0.54	0.23
Hexanoic	116	a,b,c	19.24	8.26
3-methylthiopropoic	120	a,b	0.41	0.18
Benzoic	122	a,b,c	0.19	0.08
Heptanoic	130	a,b,c	0.09	0.04
Octanoic	144	a,b,c	58	24.98
Hexanedioic	146	a,b	0.08	0.03
Nonanoic	158	a,b	0.03	0.01
Decanoic	172	a,b,c	1.54	0.66
Undecanoic	186	a,b,c	0.03	0.02
Lauric	200	a,b,c	0.16	0.07
Myristic	228	a,b,c	0.14	0.06
Palmitic	256	a,b,c	0.49	0.21
Linoleic	280	a,b,c	0.05	0.02
Elaidic	282	a,b,c	0.29	0.12
Oleic	282	a,b,c	0.06	0.03
(Z,Z,Z)-8,11,14-eicosatrienoic	306	a,b	0.68	0.3
Total			82.88	35.68
Alcohols				
1-Butanol	72	a,b,c	0.07	0.03
3-Methyl-3-buten-1-ol	86	a,b	4.13	1.78
3-Methyl-2-buten-1-ol	86	a,b	0.3	0.13
1-Hexanol	102	a,b,c	0.11	0.05
Benzyl alcohol	108	a,b,c	0.05	0.02
Eugenol	164	a,b	0.03	0.01
(Z,Z)-2,5-Undecadien-1-ol	168	a,b	0.41	0.18
Total			5.1	2.2
Ketones				
3-Hydroxy-2-butanone	88	a,b,c	0.06	0.03
2-Heptanone	114	a,b,c	0.35	0.15
Total			0.41	0.18

表二、Noni 之揮發性化學成分 (續)

Table 2. Identified volatile compounds from ripe fruits of noni (continued)

compounds	MW	Identification*	%	ppm
Esters				
Methyl hexanoate	130	a,b,c	0.37	0.16
Methyl 3-methylthio-propanoate	134	a,b	0.03	0.01
Ethyl hexanoate	144	a,b,c	0.12	0.05
Methyl octanoate	158	a,b,c	0.85	0.37
Ethyl octanoate	172	a,b,c	0.45	0.19
Methyl decanoate	186	a,b,c	0.57	0.25
Ethyl decanoate	200	a,b,c	0.19	0.08
Methyl palmitate	270	a,b,c	0.04	0.02
Ethyl palmitate	284	a,b,c	0.03	0.02
Methyl elaidate	296	a,b,c	0.05	0.02
Methyl oleate	296	a,b,c	0.03	0.01
Total			2.76	1.18
Lactones				
(E)-6-Dodeceno- $\gamma$ -lactone	196	a,b	0.09	0.04
(Z)-6-Dodeceno- $\gamma$ -lactone	196	a,b	0.09	0.04
Total			0.18	0.08
Miscellaneous compounds				
Hexanamide	115	a,b	0.03	0.01
Limonene	136	a,b,c	0.39	0.17
(Ethylthiomethyl) benzene	152	a,b	0.07	0.03
Unknown 1	166	b	1.48	0.64
Unknown 2	168	b	0.56	0.25
Unknown 3	184	b	0.57	0.25
Scopoletin	192	a,b	1.97	0.85
Vomifoliol	206	a,b	0.95	0.4
Unknown 4	212	b	1.65	0.71
Total			7.67	3.31

\* Chemical identifications were based on EI mass spectra (a); CI mass spectra (b); and/or comparisons of their Rts with those of synthetic compounds (c).

## (一) 諾麗之機能性功效

坊間或網路上都聲稱諾麗具有許多生理功效或對某些疾病具有療效，但許多功效仍需進一步經過科學證明。經研究指出諾麗不同的部位具有不同的功效，而整體上經實驗證實諾麗具有的生理活性整理如下：

### (1) 抗氧化性

Wang 等 (2002)比較大溪地諾麗果汁、葡萄籽粉、抗壞血酸 (Vit. C) 及 pycnogenol (PYC)的超氧陰離子自由基(superoxide anion radical) 清除能力。超氧陰離子自由基會促使細胞與脂質氧化以產生對人體有害的影響，所以超氧陰離子清除能力越高代表其抗氧化力也越好。其結果顯示諾麗果汁的超氧陰離子清除能力為 Vit. C 的 1.4 倍、PYC 的 1.4 倍，而與葡萄籽粉有相同的能力。

### (2) 抗發炎

Mckoy 等人(2002)發現諾麗果汁萃取物對發炎反應具有抑制效果。於是利用前發炎物質-血管舒張素(bradykinin)，在大鼠其後腳注入，然後觀察其抑制發炎的情形。研究結果顯示諾麗果汁萃取物可抑制血管舒張素引起的發炎反應，且口服也具有抑制效果。

Su 等 (2001)指出諾麗果汁對環氧酵素 (cyclooxygenase) COX-1和COX-2

的活性有抑制作用，此酵素對引起結腸癌、乳癌、肺癌及抗發炎活性相關。在體外試驗中，諾麗果汁對COX抑制效果與抗發炎藥Celebrex相當且可能不具有副作用。

Yu等 (2004)指出諾麗果汁中主要的抗炎物質scopoletin、quercetin及ursolic acid可有效抑制細胞激素interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、interleukin-6 (IL-6)、前列腺素E2 (prostaglandin E2 ; PGE2) 和骨髓過氧化酶 (myeloperoxidase ; MPO)等發炎相關因子的產生。Calabro等 (2005)亦指出諾麗果汁中的芸香素化合物也具有抗發炎的功效。

### (3) 防治心血管疾病

動脈硬化的形成與低密度脂蛋白 (low density lipoproteins, LDL) 的氧化有關。Kamiya等人 (2004) 的研究指出，諾麗果的甲醇或乙酸乙酯萃取物在硫巴比妥酸反應基質 (thiobarbituric acid reactive substance method) 和銅離子誘導LDL氧化 (copper-induced LDL oxidation) 實驗中，展現了良好的抑制氧化表現，作者認為可能為果實中木酚素 (lignan) 和苯基丙酸雙體 (phenylpropanoid dimers) 的貢獻。

### (4) 止痛鎮靜

一法國研究團隊利用實驗鼠經過扭體 (writhing)和熱板(hotplate)試驗

來探討諾麗的止痛鎮靜效果。其實驗結果顯示諾麗根部萃取物之止痛鎮靜效果與嗎啡相類似且不具有毒性 (Younos *et al.*, 1990)。

美國伊利諾大學醫學院與河南醫學大學合作研究諾麗之鎮痛效果，同樣利用扭體和熱板試驗來探討諾麗的鎮痛效果。在扭體試驗方面，分為control (不餵食諾麗果汁)、餵食5% 諾麗果汁、餵食10%諾麗果汁和餵食20%諾麗果汁等四組，餵食10天後進行扭體實驗。與control組對照，其他三組表現出明顯的鎮痛效果，並以餵食20%諾麗果汁這組的鎮痛效果最好。在熱板試驗方面，分為control (不餵食諾麗果汁)、餵食20% placebo (安慰劑)、餵食10%諾麗果汁和餵食20%諾麗果汁等四組，餵食7天後進行熱板實驗。結果顯示餵食10%和20% 諾麗果汁兩組展現明顯的鎮痛效果，與餵食20% placebo組相對照，這兩組的疼痛耐受度增加了162%及212% (Wang *et al.*, 2002)。

##### (5) 抗癌和癌症預防活性

Hirazumi *et al.* (1994) 認為，諾麗果汁的酒精不溶物為富含葡萄糖醛酸、半乳糖、樹膠醛糖、鼠李糖的多醣基質，而能刺激產生T細胞、胸腺細胞、巨噬細胞等細胞激素，提高免疫力和抗腫瘤能力。實驗證明，將諾麗果汁以腹腔注射，每日注射15mg於感染肺癌細胞 (Lewis lung carcinoma cells) 的大鼠中，可顯著增加其119%的生命週期，22隻癌



末大鼠中有9隻存活超過50天。另外攝取諾麗果酒精不溶物搭配傳統化療藥劑，如：vincristine、5-fluorouracil、cisplatin、adriamycin等，則能增強整體的抗癌效果；但若同時施2-chloradenosine或ciclosporin等抑制免疫力藥劑，則會妨礙諾麗果活性。

#### (6) 抑菌功能

Noni 果汁可抑制如 *M. pyogenes*, *E.coli* 及 *P. aeruginosa* 等之生長 (Bushnell et al., 1950)。研究報告指出，成熟之 noni 果實較未成熟果實之抑菌效果佳，亦比新鮮果汁或乾燥之果肉和種子為佳(如表三) (Ditmar, 1993)。Locher 等 (1995)的研究顯示出乾燥諾麗果實之乙腈萃取物可抑制 *Pseudomonas aeruginosa*、*Bacillus subtilis*、*Escherichia coli* 及 *Streptococcus pyrogene* 等的生長。Wang 等 (2002)研究也指出諾麗果實中的 Acubin、*L-asperuloside* 及 alizarin 和根部的一些蒽醌類化合物(anthraquinone)具有抑菌效果，可以抑制 *Pseudomonas aeruginosa*、*Proteus morgaii*、*Staphylococcus aureus*、*Bacillus subtilis*、*Escherichia coli*、*Salmonella sp* 及 *Shigella sp* 等細菌的活性，此結果與 Atkinson (1956)的研究報告相似。因此諾麗有被用來治療皮膚感染、感冒、發燒、割傷及傷口發炎等因為細菌引起的健康問題。且 Saludes 等 (2002)發現諾麗的乙醇和正己烷的萃取物可抑制結核桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)的生長達 89-95%。

Jayaraman 等 (2008)以不同溶劑萃取諾麗果來觀察其抗菌活性，結果顯示其甲醇萃取物的抗菌活性要高於乙酸乙脂與正己烷萃取物，且對革蘭氏陽性菌與陰性菌都具有抑制效果，對黴菌也同樣具有抑制效果。



表三、Noni 之抑菌活性

Table 3. Antibacterial activity of noni

test organism	young fruit	ripe fruit	fresh juice	dried pulp	dried seeds*
	(relative activity**)				
<i>Bacillus subtilis</i>	•	++	+	+	+
<i>E. coli</i>	•	++	+	+	•
<i>Proteus morganii</i>	•	•	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	•	++	+	+	•
<i>Salmonella montevideo</i>	0	++	•	•	•
<i>Salmonella schotmuelleri</i>	0	++	0	+	•
<i>Salmonella typhi</i>	++	+++	+	+	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	•	•	+	+	•
<i>Shigella flexnerii</i>	•	•	+	+	+
<i>Shigella paradysenteriae BH</i>	++	+++	•	•	•
<i>Shigella paradysenteriae III-Z</i>	++	++	•	•	•
<i>Staphylococcus aureus</i>	•	++	+	+	+

\* Methanol extract.

\*\* 0 ineffective ; + effective ; ++ moderately effective ; +++ highly effective ; • has not been tested.

(Ditmar, 1993)

## (二) 諾麗的主要機能性成份

諾麗含有許多對人體有益的機能性成份，經研究指出諾麗在不同的製程其成份含量也會有所不同，而整體上經實驗證實諾麗具有的機能性成份整理如下：

### (1) 酚類化合物(phenol)

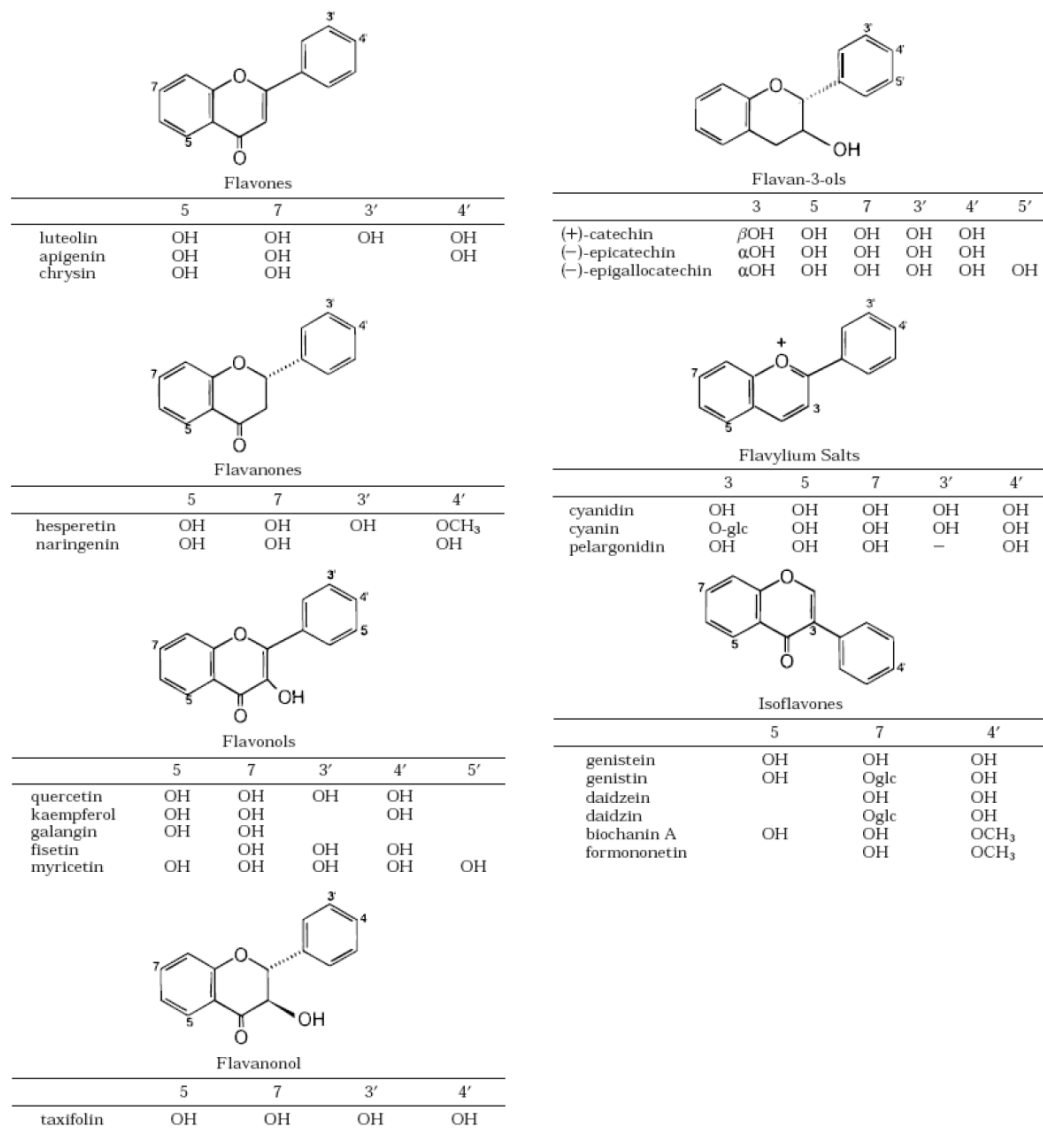
酚類化合物廣泛存在於植物中，種類超過 8000 種，於化學上的定義，泛指芳香環上帶有一個或多個羥基的物質。植物中常包含多種酚類，如：酚單體、酚酸、香豆素、類黃酮、對稱二苯代乙烯(stibenes)、水解和縮合單寧、木酚素(lignans)、木質素(lignins)等。普遍認為具有抗氧化、抗菌、抗病毒、抗黴菌、抗腫瘤、抗突變、抗發炎、保護心血管及促進免疫系統等功能(羅, 2009; 王, 2008)。

### (2) 類黃酮(flavonoid)

類黃酮為多酚類化合物之一，是由三個環狀 diphenyl propane(C6-C3-C6)型式所組成(圖三)，多發現於水果、蔬菜、核果、種子、花、樹皮等地方。主要的總類為黃酮(flavones)、黃酮醇(flavonols)、黃烷酮(flavanones)、黃烷醇(flavanols)、異黃酮

(isoflavones)、黃烷酮醇 (flavanonols) 及花青素配質 (anthocyanidins)

等七大類。且研究指出類黃酮含有廣泛的生理活性，包括抗氧化、  
抗細菌、抗病毒、抗發炎、抗過敏、血管舒張、螯合金屬離子、抑  
制脂質過氧化等功能 (Cook *et al.*, 1996; Pietta, 2000)。



圖三、類黃酮之結構。

Fig 3. Structures of flavonoid

(Pietta, 2000)

### (3) 縮合單寧(tannins)

單寧為一種水溶性的酚類化合物，用於將獸皮鞣化成皮革，故又稱為鞣質 (Beta-smith, 1962)。單寧可依其結構與性質區別為兩種：水解單寧和縮合單寧(圖四)。

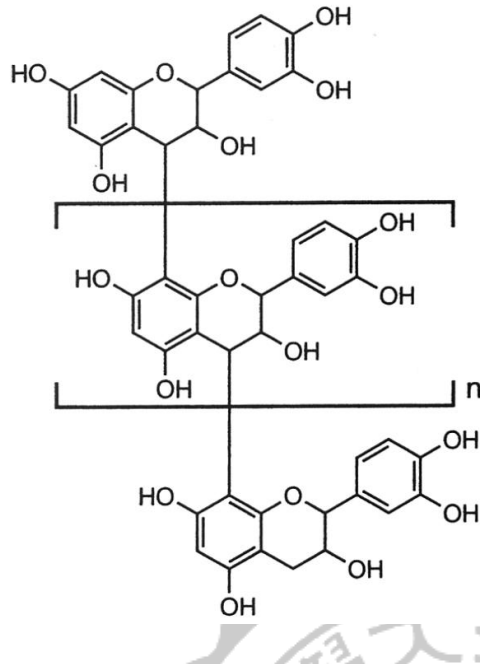
水解單寧 (hydrolysable tannin) 的中央分子為一碳水化合物 (通常為D型葡萄糖)，其羥基會被部分或完全酯化為酚類基團。

縮合單寧 (proanthocyanidins)，為多個聚羥基黃烷-3-醇寡聚體 (polyhydroxy-flavan-3-ol oligomers) 以碳-碳鍵結結合在一起，不容易被水解而分裂。大部分的縮合單寧為水溶性，若大量聚集則會轉為非可溶性而沉澱下來。研究指出其具有抗癌、抗突變、預防低密度脂蛋白氧化、預防心血管疾病等功效 (Bagchi *et al.*, 2000; Santos-Buelga & Scalbert, 2000; 王, 2008)。

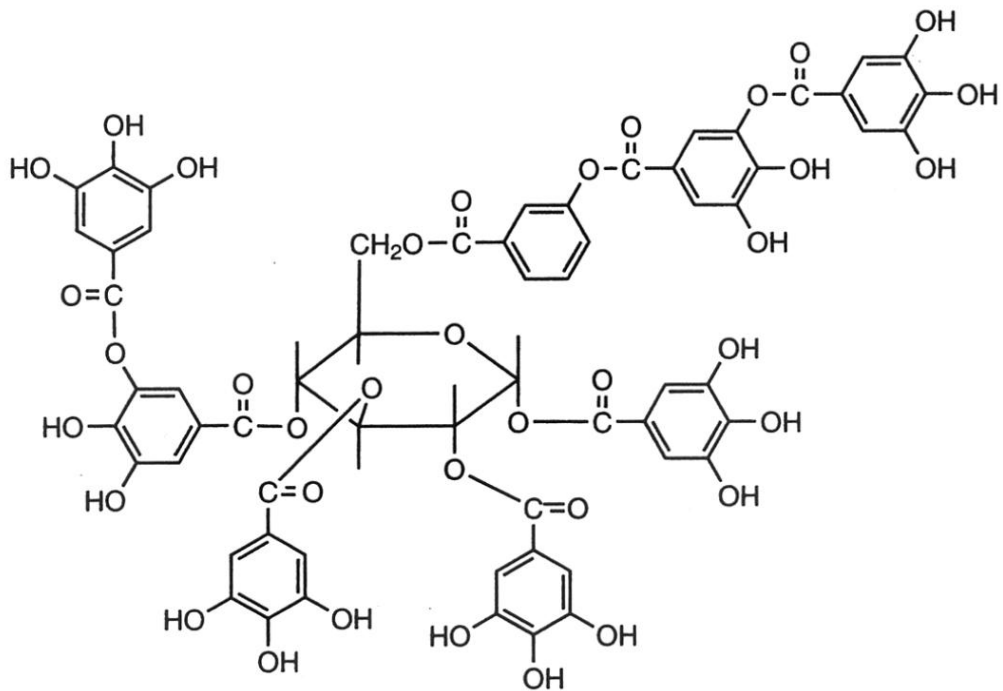
### (4) 芸香素(rutin)

芸香素 (rutin, 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone-3-rutinoside, C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>) 為1973年從橘類分離出來的新物質，當時認為它是屬於維生素的一種而稱作“維生素P”，現在我們知道它是屬於類黃酮化合物的一種 (Nijveldt *et al.*, 2001)。芸香素是由黃酮醇槲皮酮 (flavonol quercetin)和芸香二糖 (disaccharide rutinose) 所組成的類黃酮配糖體(Ribé

(a)



(b)



圖四、單寧之結構。(a)：縮合型單寧。(b)：水解型單寧。

Fig 4. Structures of tannin. (a): condensed tannin. (b): hydrolysable tannin

(Shahidi and Naczki, 2004)

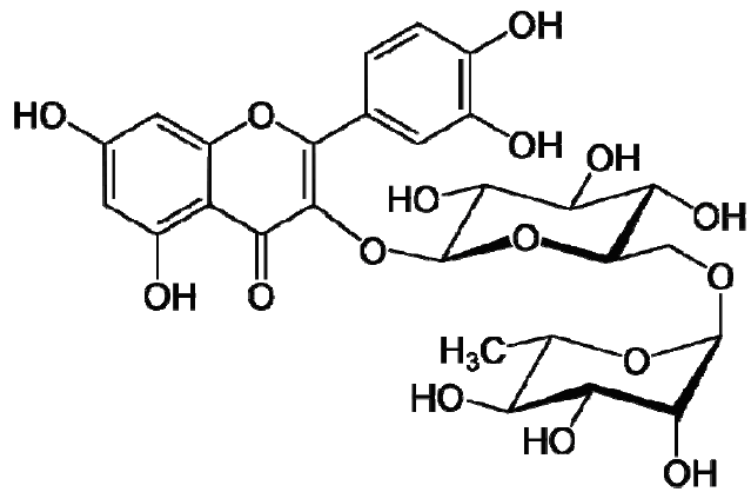
reau-Gayon, 1968)，圖五為其化學結構，於人體腸胃道中會被代謝分解為槲皮酮 (Chan-Blanco *et al.*, 2007)。芸香素的結構較不穩定，在很多時候易被氧化或水解，換句話說，它是一種強力的抗氧化劑 (Raffo *et al.*, 2006)。另外，它還具有抗發炎 (Guardia *et al.*, 2001; Selloum, 2003)、抗微生物 (Cushnie & Lamb, 2005) 等生理活性。

#### (5) 東莨菪素(scopoletin)

東莨菪素，又名scopoletin、7-hydroxy-6-methoxycoumarin等，純的東莨菪素為黃色或淺黃色結晶粉末，是屬於香豆素化合物(coumarin)之一的化合物 (圖六)。東莨菪素是一種重要的酚類化合物，於自然界中並不常見，但在noni果中含量豐富。

東莨菪素具有許多生理活性，包括抗氧化、抗菌、抗發炎、鎮痛、保護肝臟、預防高血壓等 (Chan-Blanco *et al.*, 2007; 羅, 2009)。Jang等 (2003)研究證實東莨菪素具有抑制Hepa 1c1c7小鼠肝癌細胞的增生。Manuele等 (2006)也認為東莨菪素具有抗腫瘤的能力，有成為癌症用藥的潛力。

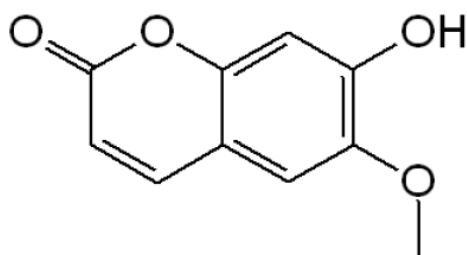




圖五、芸香素之結構

Fig 5. Structure of rutin.

(<http://en.wikipedia.org/wiki/Rutin>)



圖六、東莨菪素之結構

Fig 6. Structure of scopoletin.

(<http://en.wikipedia.org/wiki/Scopoletin>)

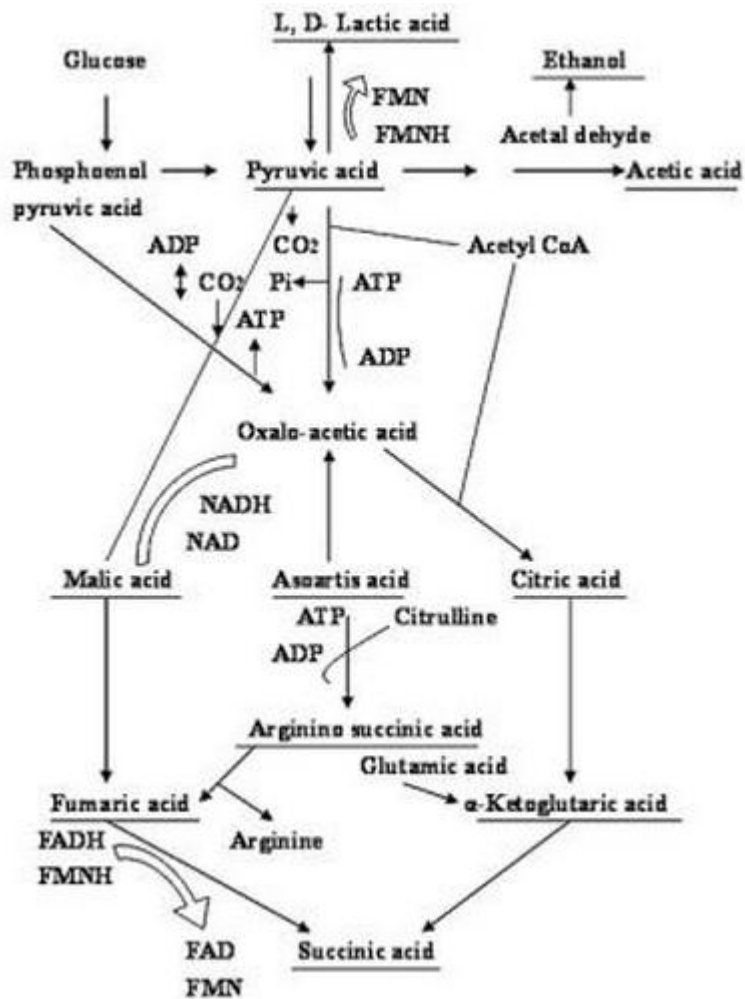
#### 四、利用酵母菌改善食品風味

有些酵母菌如 *Geotricum* sp. 在發酵過程中會分解不良氣味的短碳鏈脂肪酸(圖七);有些酵母菌如 *Tetragenococcus* sp. 代謝產生具有香氣的醇類及酯類化合物，這是許多發酵食品特殊風味的來源。

##### (一) 酵母菌代謝產生具有香氣的醇類及酯類化合物

酵母菌發酵會產生多種醇類化合物(圖八)，除甲醇以外，而醇類可增加香氣的豐富性(Jackson, 2002)。乙醇為主要的發酵產物，其在發酵後含量變化會影響食品氣味，有其他風味物質存在時，可與其混合產生各種不同的風味，具有風味加成作用(胡, 1988); 酵母菌發酵時程產生一些 3 至 6 碳的雜醇(fusel alcohols)，如正丙醇、正丁醇、異丁醇、正戊醇、異戊醇、活性戊醇、辛醇、苯乙醇、色醇、酪醇等成分常在酒類發酵過程中產生(Jackson, 2002)，不同的酵母菌種類與發酵環境，能使雜醇的種類及含量皆有所不同，並為主要香氣物質的前驅物質。

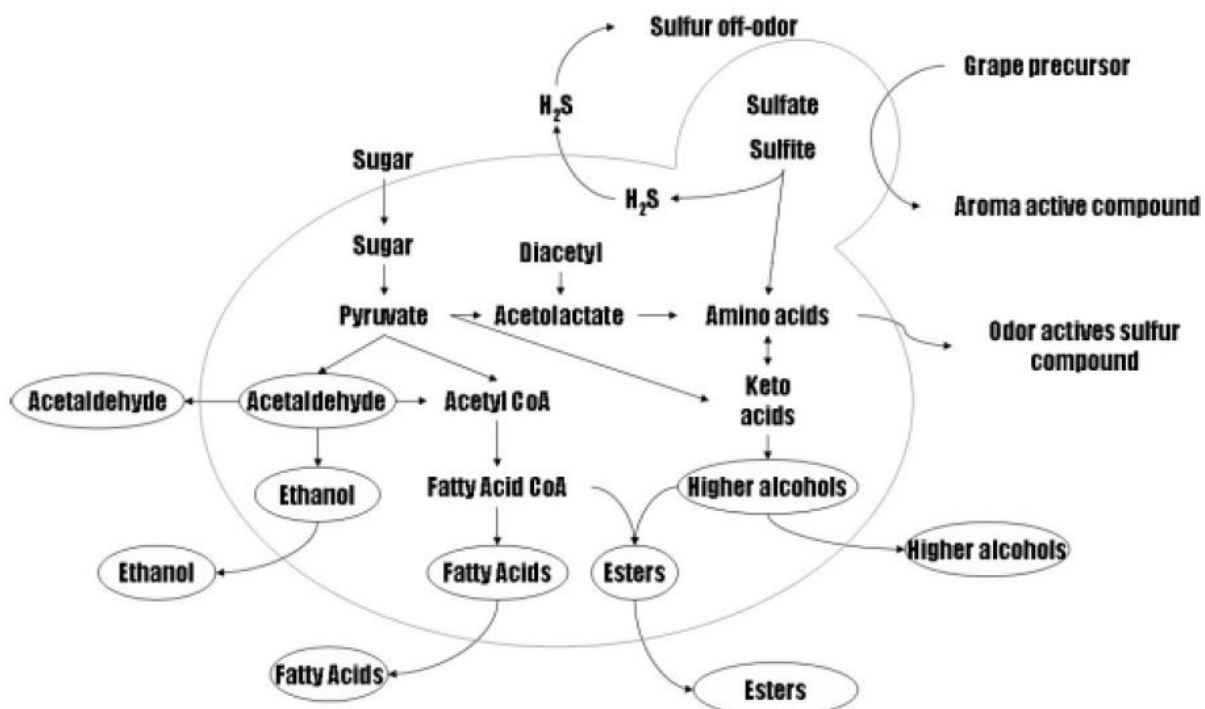
高級脂肪醇又稱高級醇(圖九)，指含有六個碳以上一元醇的混合物，為具明顯風味的醇類化合物，通常具刺鼻令人不悅的氣味，但 hexanol、hexenol 等，則具有水果香氣。芳香族醇類化合物(Phenol-derived alcohol)如 2-phenylethanol，則具有玫瑰芳香氣味(胡, 1988)。



圖七、酵母菌發酵生成有機酸之途徑。

Figure 7. The biosynthesis pathway of organic acids in yeast fermentation.

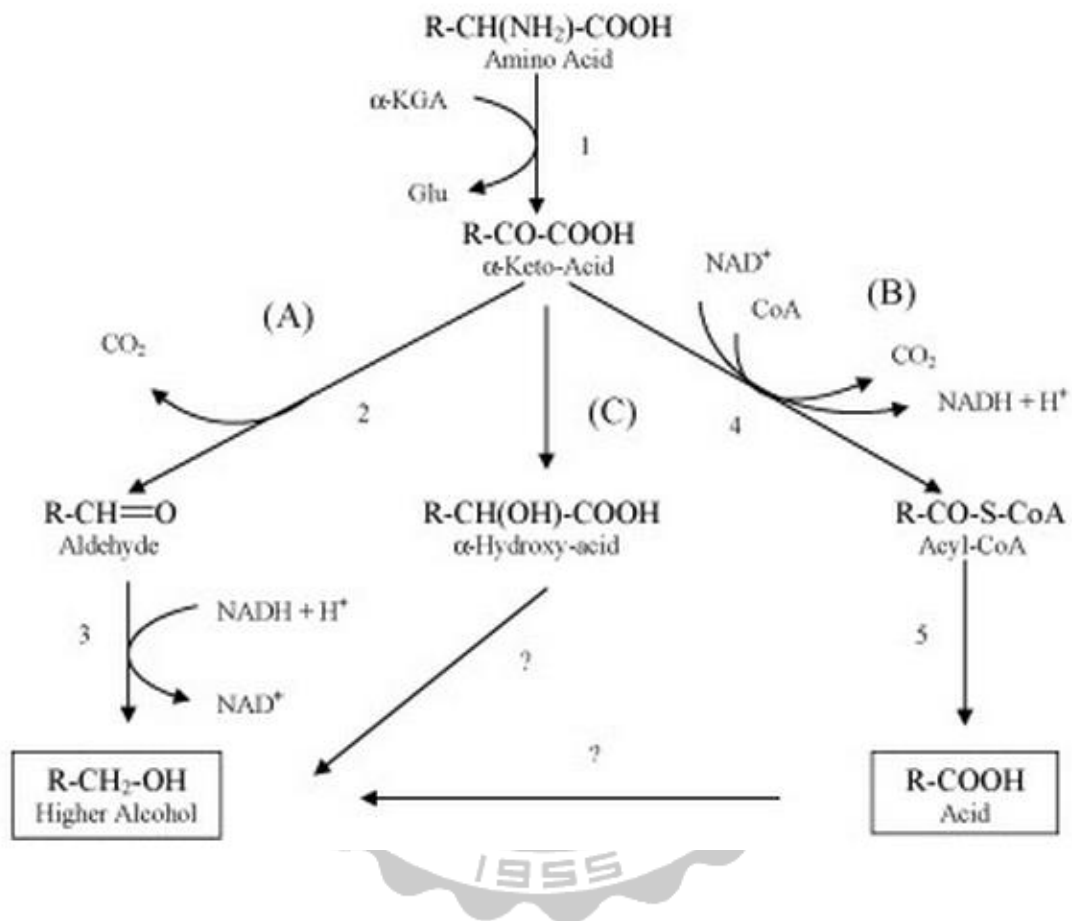
(倪，1982)



圖八、酵母菌酒精發酵生成風味物質之基本途徑。

Figure 8. Formation of aroma compounds in alcohol fermentation by yeasts.

(Lambrechts *et al.*, 2000)



圖九、酵母菌高級醇生合成圖。

Figure 9. Biosynthesis pathway of higher alcohols in yeast.

(Jeong *et al.*, 2012)

高級醇的形成路徑有 2 條:

1. 氨基酸降解代謝途徑：從氨基酸代謝路線可知。一般來說，當發酵液中某一氨基酸的含量超出酵母的需要時，則多餘的氨基酸就形成了高級醇。如纈氨酸在轉氨酶作用下生成酮異戊酸，酮異戊酸經脫羧酶和醇脫氫酶的催化作用，即生成異丁醇。
2. 可發酵性糖合成代謝途徑：從糖代謝路線可知，生物合成氨基酸最後階段形成  $\alpha$ -酮酸(如  $\alpha$ -酮異戊酸)，酮酸經脫羧酶和醇脫氫酶的作用，生成相應的高級醇。

酵母發酵後的酸在含有醇類的環境下，會進行縮合反應生成酯類(Nordstom,1964)。因部分酯類具有水果香氣，所以常見於各類酵母發酵的食品中，用來產生特殊風味。

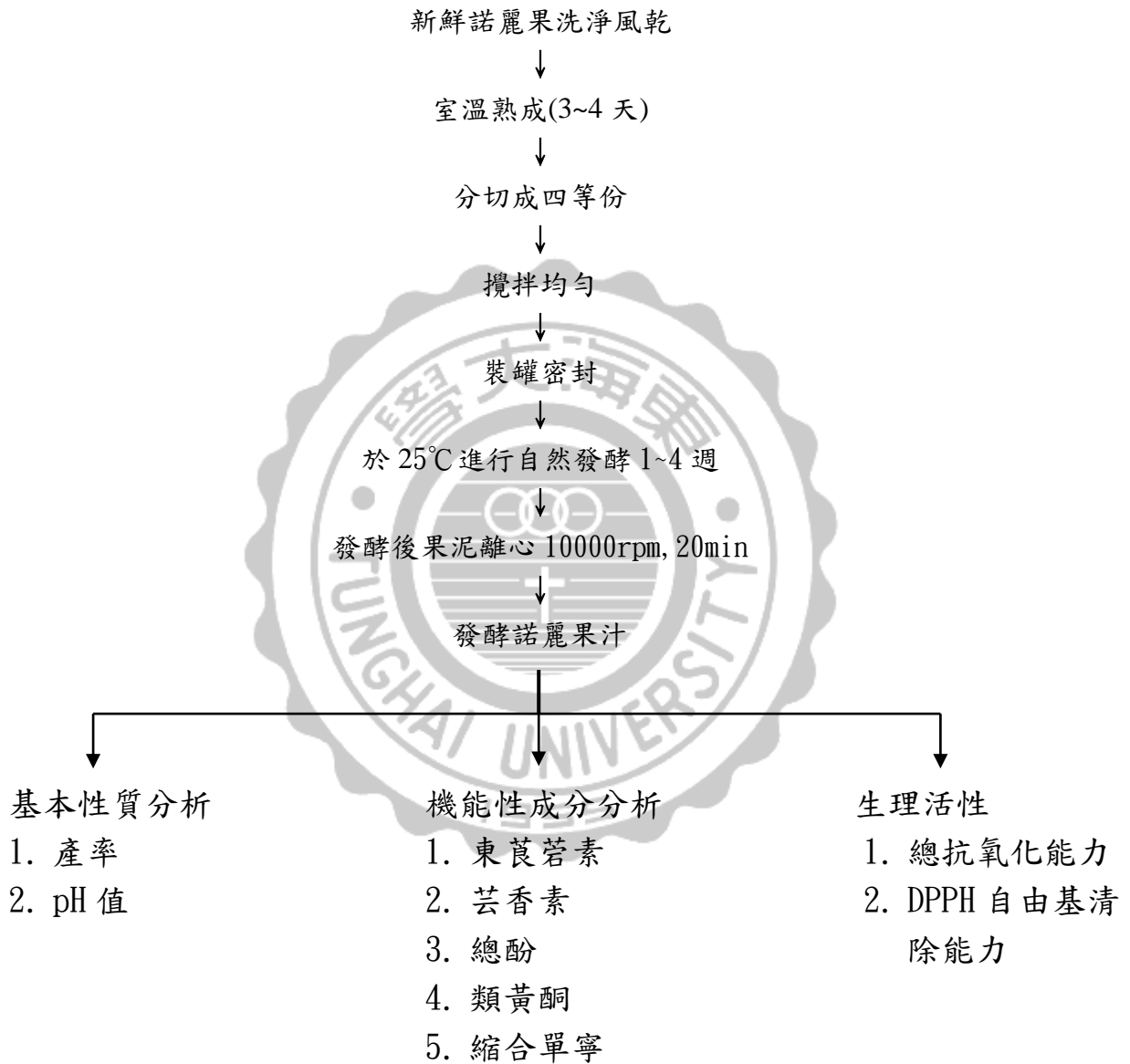
## (二) 酵母菌降解短碳鏈脂肪酸

食品中影響不良風味主要為短碳鏈脂肪酸，而部份的酵母在發酵過程中可以代謝短碳鏈脂肪酸。諾麗中的主要臭味有機酸分別為丁酸、二甲基丁酸、己酸、辛酸，丁酸的揮發性氣味為奶油、乾酪般的不愉快氣息和奶油味，存在於腐臭黃油、帕瑪森乾酪、嘔吐物和腋臭中；二甲基丁酸有辛辣味和酸味，尖刺的奶酪味；己酸是脂肪酸，自然發現於動物脂肪及油中，是造成腐爛銀杏肉質種子外皮難聞氣味的化學品之一；辛酸則是有腐敗、嗆鼻的臭味。

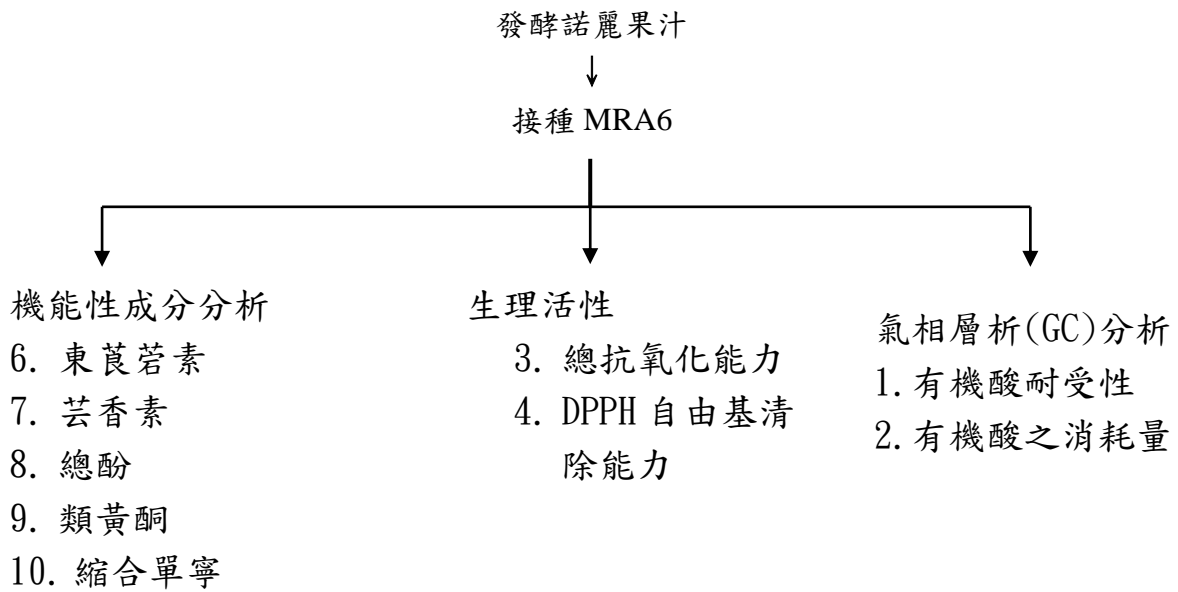


## 參、實驗材料與方法

### 一、實驗架構







## 二、實驗材料

### (一)原料

本實驗所採用的新鮮諾麗果購自屏東縣珍果生技股份有限公司及雲林縣東峰景觀園藝公司提供。

### (二)試劑與試藥

1. 2'-azion-bis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS)、butylated hydroxyanisole (BHA)、(+)-catechin、2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH)、peroxidase (from horseradish)、Hippuryl-L-histidy-L-leucine (HHL)、4-hydroxy-3-emthoxybenzaldehyde (vanillin)、quercetin、quercetin-3 $\beta$ -D-rutinoside (rutin) 購自 Sigma, U.S.A.。
2. hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox)、Gallic

- acid 購自Aldrich，U.S.A.。
3. aluminium nitrate ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ )、calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ )、  
calcium hydroxide ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ )、hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 購自  
Merck，Germany。
4. Trolox (trolox)、Gallic  
acid 購自Aldrich，U.S.A.。
5. Folin-Ciocalteu's phenol reagent 購自Sigma-Aldrich，U.S.A.。
6. Methyl alcohol (MeOH，HPLC grade) 購自Mallinckrodt，U.S.A.。
7. Acetonitrile ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ，HPLC grade) 購自HY BIOCARE CHEM，  
U.S.A.。
8. Scopoletin 購自ACROS，U.S.A.。
9. Butyric acid 購自ALDAICH，USA。
10. DL-2-methyl-butyrac acid 購自ACROS，USA。
11. Hexanoic acid 購自ALDRICH，USA。
12. Octanoic acid 購自ALDRICH，USA。

### 三、儀器設備

1. 發酵罐:G-706優鮮密封罐(圓)，以食品級PS材料製成，可耐熱  
80°C，容量1500ml，台灣聯府塑膠股份有限公司。
2. 高速離心機:himac CR22G，日本HITACHI株式會社。

3. 恆溫培養箱:NIR-153，日本SANYO株式會社。
4. 酸鹼度計:PHM82 STANDARD pH METER，丹麥Radiometer corenhagen公司。
5. 分光光度計:UV-2100，美國Unicon公司。
6. 微量高速離心機:MIKRO 20，Hettich ZENTRIFUGEN，Germany。
7. 氣相層析儀(GC)：GC-2014，HITACHI，Japan。
8. LC(Ultra Performance Liquid Chromatography)
  - (1). Quaternary Solvent Manager –QSM  
MODEL CODE:QSM(Waters,USA.)
  - (2). Samle Manager-FTN  
MODEL CODE:SDI(Water.USA.)
  - (3). PDA eλ Detector-極體陣列檢檢測器  
MODEL CODE:UPL(Waters,USA.)
  - (4). FLR Dector-螢光偵測器  
MODEL CODE:UPF(Waters,USA.)

#### 四、實驗方法

##### (一) 基本性質測試

##### 1. 果汁產率

將發酵好的諾麗果泥取出，用離心機分離出果汁後，計算所得之果汁量，結果以百分比表示之，算式如下：

果汁產率 (%) = 諾麗果汁重(g) / 諾麗果實重(g) × 100%

## 2. pH 值分析

取10mL離心的諾麗果汁，於室溫下利用酸鹼度計，依據其電位差來測定諾麗果汁的酸鹼值之變化。

### (二) 發酵後揮發性成分分析

分析諾麗果汁以MRA6發酵後，其揮發性成分的變化。實驗分為二個部份，第一部份為檢測MRA6對於揮發性有機酸的耐受性；第二部份為檢測MRA6發酵過程的有機酸消耗情況。揮發性有機酸的耐受性為用將PDB培養基添加不同濃度(1000, 500, 250, 125, 100, 75, 50ppm)之有機酸，測其是否會抑制生長及生長後對有機酸的分解情形。

發酵過程的有機酸消耗為將已經過MRA6發酵的諾麗果汁，以6000rpm/30min離心，取沉澱物加入10ml無菌水中回溶，取其中500μl加入50%(諾麗果汁、無菌水，1:1)諾麗果汁，於20°C/150rpm震盪培養24小時，靜置使菌體生長，發酵液再以6000rpm離心30分鐘，取上清液進行GC分析。

氣味之分析：

步驟：在40 mL的樣品中加入14.28 g的食鹽讓樣品液達到飽和使溶在果汁中的揮發性物質釋放出來，然後在60°C水浴平衡15分鐘，

把SPME注射針插入上方空間30分鐘以讓揮發性物質充份吸附在

聚合物纖維後立即注入氣相層析儀中(GC)以分析其氣味分子。

分析條件如下：

Column：Stabilwax-DA，30meter，0.25mm ID，0.25 $\mu$ m df，○R

RESTEK，U.S.A.。

Solid Phase Micro-Extraction (Manual)：573330-U，SUPELCO，

U.S.A.。

SPME Fiber Assembly：57300-U，100 $\mu$ m Polydimethylsiloxane

Carrier gas flow：24 mL/min (N<sub>2</sub>/Air)

Detector：DFID

Colum temp：40°C

Injector temperature：220°C

Detector temperature：250°C

Program rate：5°C/min

Split ratio：20:1

### (三) MRA6馴養

菌體在諾麗果汁中初始能生長為15%(諾麗果汁:無菌水)，藉由逐步提升果汁濃度，達到能在高濃度下生長，其步驟如下：

初始為15%諾麗果汁，取40ml加入500 $\mu$ l菌液後，於20°C/150rpm震盪

培養24小時，再靜置使菌體大量生長。將大量菌體生長的諾麗果汁以6000rpm離心30分鐘，去除其上清液再以無菌水回溶，取回溶後之菌液5ml加入諾麗果汁中，總體積維持40ml再重複上述步驟使菌體大量生長，每次提升濃度為2.5%。

#### (四)機能性成分含量測定

##### 1. 總酚化合物(Total phenolic determination)

原理：參考Julkunen-Titto (1985) 之方法。福林酚試劑(Folin-Ciocalteu's phenol reagent) 可與酚類化合物之羥基行還原反應，使其中磷鉬酸與磷鎢酸複合物產生電子轉移，產生由黃至藍的顏色變化，而於波長735 nm 下有吸光。

步驟：取50  $\mu$ L 離心後果汁，加入1 mL 去離子水和500  $\mu$ L 福林酚試劑，混合後再加入2.5 mL 20%碳酸鈉提供鹼性環境，混合均勻後室溫反應20 min，以分光光度計測試735 nm 之吸光值。

計算：以沒食子酸 (gallic acid)為標準品並製作標準曲線(附錄一)，不添加福林酚試劑之反應為空白組，樣品組減去空白組為實測值。諾麗果汁中總酚類化合物含量由此標準曲線求得相對沒食子酸之量，以mg gallic acid equivalent/mL 表示。

##### 2. 類黃酮之含量測定 (Flavonoid determination)

原理：以唐等 (1996) 和鍾 (2003) 的方法測定。類黃酮化合物 在鹼性條件下可與硝酸鋁形成穩定的黃色錯合物，並在波長415 nm 下有吸光。

步驟：在250  $\mu$ L 樣品中加入10 %硝酸鋁和1 M 醋酸鉀 各50  $\mu$ L，再加入1.4 mL 去離子水，均勻混合，於室溫下反應40 分鐘，然後以分光光度計測其在波長415 nm下的吸光值。並以不添加硝酸鋁之試驗當作空白對照組。

計算：以槲皮酮(querletin) 當作標準品，並製作標準曲線 (附錄二)。

樣品中的類黃酮含量由此標準曲線算出相對 quercetin量，以  $\mu$ g quercetin equivalent/mL noni juice表示。

### 3. 縮合單寧之含量測定 (Condensed tannin determination)

原理：以Julkunen-Titto (1985) 的方法測定之。縮合單寧與香草醛 (vanillin) 及濃鹽酸作用下，會產生紫色之顏色變化，並在波長500 nm 下有吸光。

步驟：在100  $\mu$ L 樣品中加入1 mL 4 % vanillin (w/v in MeOH)，避光搖勻，再加入500  $\mu$ L conc. HCl，均勻混合，於室溫下靜置20 分鐘，然後以分光光度計測其在波長500 nm下的吸光值。並以不添加vanillin 之試驗當作空白對照組。

計算：以(+)-catechin 當作標準品，並製作標準曲線（附錄三）。樣品中的縮合單寧含量則由此標準曲線算出相對(+)-catechin量，以 mg (+)-catechin equivalent/mL noni juice 表示。

#### 4. 東莨菪素 (scopoletin) 與芸香素 (rutin)

參考王 (2008) 之方法並加以修飾。用UPLC內建軟體將HPLC之條件轉為UPLC之條件再加以修改，可快速分離並定量諾麗果汁中的東莨菪素與芸香素含量。分析條件如下：

Column : ACQUITY UPLC BEH C18 Column, 2.1x 100mm, 1.7 $\mu$ m

Mobile phase : 0-0.7 min : 100 % dd. H<sub>2</sub>O → 30 % acetonitrile

0.7-1.3 min : 30 % acetonitrile → 0 % acetonitrile

1.3-2 min : 100 % dd. → H<sub>2</sub>O 100 % dd. H<sub>2</sub>O

計算：以東莨菪素和芸香素標準品製作曲線(附錄四、附錄五)，諾麗果汁中東莨菪素與芸香素含量由此標準曲線求得，分別以 $\mu$ g rutin/mL和 $\mu$ g scopoletin/mL表示。

#### (五) 抗氧化活性測定

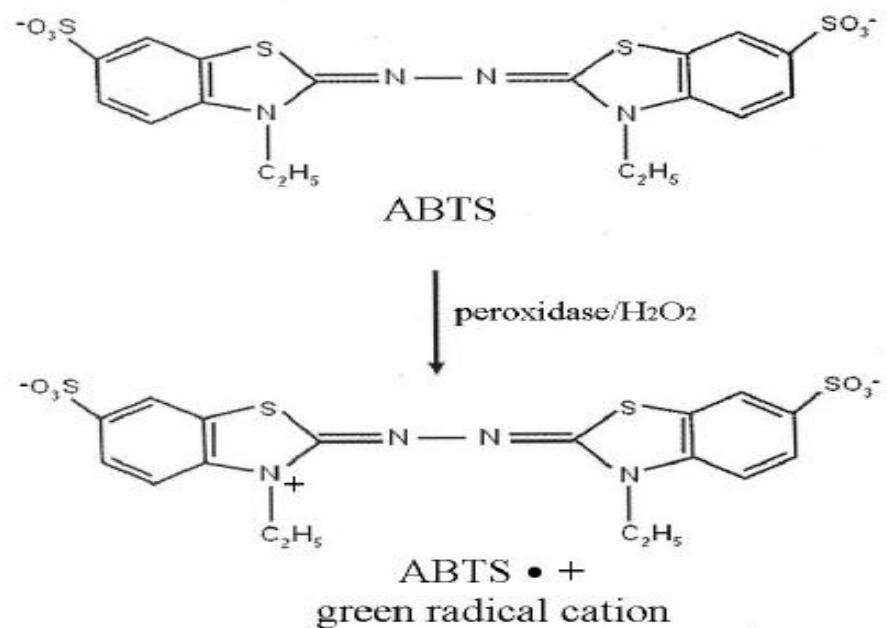
##### 1. 總抗氧化能力 (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)

原理：參考Miller (1993)之方法測定。Horseradish peroxidase 會催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>及ABTS反應形成ABTS $\cdot$  + ，此為穩定的藍綠色物質，並於波長734 nm下具有吸光。若樣品具有抗氧化能力，則能減



少ABTS·+ 的量，因此吸光值就會下降。當吸光值越低，表示樣品之抗氧化能力越強。利用相對於控制組之吸光值下降百分比，可判斷樣品清除ABTS·+ 的能力，即可得知樣品之總抗氧化能力的強弱。

步驟：將2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)、 peroxidase、與H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 混合均勻，使其最後濃度分別為100 μM、4.4 unit/mL 與50 μM，在30 °C下避光反應1小時後，形成藍綠色穩定的ABTS·+ 陽離子自由基反應試劑。在2.25mL ABTS·+ 自由基反應試劑中加入樣品0.25mL，混合均勻，在室溫下反應10分鐘後，以分光光度計測其於波長734 nm 下的吸光值。並以不添加ABTS·+ 陽離子自由基反應試劑的試驗當作空白對照組。反應式如下：



計算：Trolox為標準品製作標準曲線(附錄六)。樣品中之抗氧化物含量則經由此標準曲線求得相對trolox 之量，以 $\mu\text{g trolox equivalent/mL noni juice}$  表示。而 $\text{ABTS} \cdot +$  自由基清除力計算方法如下：

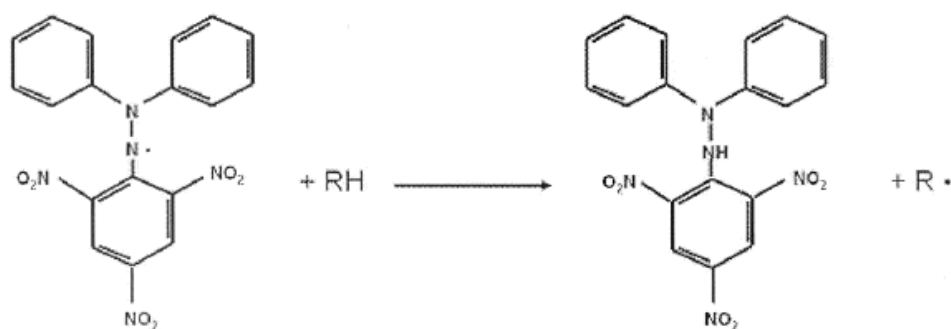
$$\text{總抗氧化能力(\%)} = (\text{Ac} - \text{As}) / \text{Ac} \times 100 \%$$

Ac：控制組之吸光值。

As：實驗組之吸光值。

## 2. DPPH 自由基清除能力 (DPPH free radical scavenging activity)

原理：以Shimada et al. (1992) 的方法測定。DPPH 自由基清除能力常用來評估抗氧化物其提供氫的能力。DPPH 自由基之甲醇溶液為深紫色，於波長517 nm下有最大吸光值。若樣品具有抗氧化能力，則能清除 DPPH 自由基，使其顏色變淡，吸光值下降。利用相對於控制組之吸光值下降百分比，可判斷樣品消除 DPPH 自由基能力之強弱。反應式如下：



(Yamaguchi et al., 1998)

步驟：取0.6 mL 樣品，加入0.6 mL 0.008 % DPPH 甲醇溶液，均勻混合，於室溫下避光靜置30分鐘，而後以分光光度計測其於波長517nm的吸光值。以不添加DPPH 之試驗作為空白對照組。

計算：以BHA為標準品製作標準曲線(附錄七)。樣品中之抗氧化物含量則經由此標準曲線求得相對 BHA 之量，以  $\mu\text{g BHA equivalent/mL noni juice}$  表示。而DPPH 自由基清除力計算方法如下：

$$\text{DPPH free radical scavenging (\%)} = (\text{Ac} - \text{As}) / \text{Ac} \times 100 \%$$

Ac：控制組之吸光值

As：實驗組之吸光值

#### 五、統計分析：

本實驗的實驗數據以平均值  $\pm$  標準偏差 (mean  $\pm$  standard deviation) 表示，並採用Statistical Analysis System (SAS) 8.0版之統計軟體進行變異數分析 (analysis of variance, ANOVA) 與Duncan's multiple range test之統計分析，比較結果是否有顯著差異性， $p < 0.05$ 即視為具顯著差異。

## 肆、結果與討論

### 一、諾麗果汁的製作與性質

#### (一) 果汁產率

諾麗果在尚未完全成熟時便摘取下來，此時果實質地堅硬，可保護於運送過程中不會遭受傷害，待到達加工場所時予以清潔並風乾，並於室溫下自然熟成，成熟後呈半透明柔軟狀，可輕易用刀具切開，但尚能維持果實形體。

大約在自然發酵一週後，外貌上可明顯觀察到果汁自果泥滲出，果泥在底部沉積，汁液於頂部聚集形成小水灘。發酵首週各組的果汁產率均有提升(表四)，產率從未發酵時的47.70%提升至53.68%左右。隨發酵時間的增加，果汁產率逐漸提升，而在第二週後達到穩定，之後的發酵也會有些微增加產率；經過一個月的常溫發酵，產率達到57.99%，與文獻記載的57.8% (Newton, 2003)無顯著差異，可能與產品製程及果實品種有關。本實驗發酵完成後僅以離心處理而未經壓榨，若再加上壓榨的步驟，應能些許提高產率。

#### (二) pH 值分析

諾麗果於發酵過程中的pH 值都維持在pH 3.6 左右(表四)。參考其他文獻，一般諾麗果汁的pH 值介於3.4 到3.9 左右 (Chunhieng,

2003; European Commission, 2002; Newton, 2003; 陳, 2007b; 羅, 2008;

王, 2008), 果汁含有機酸為酸性果汁, 實驗結果和文獻相符。

表四、諾麗果汁於發酵期間的總產率、pH 值變化

Table 4. Change of total yield and pH value in noni juice during natural fermentation.

	產率 (%)	pH 值
第 0 週	47.70	3.76
第 1 週	53.68	3.72
第 2 週	56.90	3.71
第 3 週	57.63	3.70
第 4 週	57.99	3.76

### (三) 自然發酵諾麗果汁機能性及抗氧化成份之變化

一至四週自然發酵果汁的機能性成份變化如表五所示。

表五、諾麗果汁於自然發酵期間的機能性成份變化

Table 5. Change of functional ingredients content in noni juice during natural fermentation.

發酵時間	Scopoletin ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rutin ( $\text{mg/ml}$ )	Total phenolic ( $\text{mg/mL}$ )	Flavonoid ( $\mu\text{g/mL}$ )	縮合單寧 ( $\text{mg/mL}$ )
第 0 週	228.62 $\pm$ 5.19	114.57 $\pm$ 2.64	1.52 $\pm$ 0.02	74.14 $\pm$ 2.15	0.12 $\pm$ 0.00
第 1 週	231.36 $\pm$ 5.21	109.82 $\pm$ 2.13	1.54 $\pm$ 0.04	65.17 $\pm$ 1.26	0.14 $\pm$ 0.00
第 2 週	235.47 $\pm$ 5.25	97.92 $\pm$ 2.64	1.56 $\pm$ 0.03	63.19 $\pm$ 1.04	0.18 $\pm$ 0.00
第 3 週	258.29 $\pm$ 5.54	71.44 $\pm$ 2.01	1.48 $\pm$ 0.02	59.24 $\pm$ 0.74	0.19 $\pm$ 0.00
第 4 週	217.20 $\pm$ 6.01	64.38 $\pm$ 2.89	1.41 $\pm$ 0.05	60.85 $\pm$ 0.84	0.14 $\pm$ 0.01

## 1. 東莨菪素之變化

東莨菪素於自然界中並不常見，所以為諾麗果汁中重要的指標成份，而自然發酵製作的諾麗果汁中東莨菪素與鮮果汁沒有顯著的變化。Chan-Blanco 等(2007)、羅 (2008)、楊 (2005) 在諾麗果發酵實驗中也發現相同的現象，短期發酵對果汁中東莨菪素含量不會有明顯影響，然而長期發酵則會有略為下降的趨勢。

本實驗未經自然發酵果汁中東莨菪素含量為228.62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，於發酵三週後增長至258.29  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，在第四週有些微下降的趨勢。

諾麗果汁經自然發酵後，第三週之發酵果汁之東莨菪素含量最高，所以採用第三週之發酵果汁來做後續MRA6發酵實驗。

## 2. 芸香素之變化

未經發酵的諾麗果汁芸香素達114.57 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，隨著發酵的進行而逐漸損失其含量，在發酵第一週時降至約109.82  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的含量，此時沒有顯著差異，直至第二週時開始有較為顯著的芸香素減損，發酵時間越長減損越劇。在為期四週的發酵過程中，與林(2010)、徐(2011)、其芸香素含量變化相符。經三週自然發酵的諾麗果汁，芸香素含量為71.44  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

### 3. 總酚之變化

自然發酵製作的諾麗果汁中的總酚含量在發酵後無顯著變化，從鮮果汁的1.52 mg/mL gallic acid equivalent到發酵4週時減少至1.41 mg/mL gallic acid equivalent 的平均水準。文獻指出多酚類化合物多以穩定之糖苷或酯鍵的鍵結型態存在，所以不容易因為熱而被破壞 (Yang et al., 2007)。諾麗果汁中的酚類化合物多以穩定的型態存在，諾麗果汁中的總酚類化合物含量也沒有明顯的差別，所以在諾麗果汁自然發酵並不會影響其中的總酚類化合物。

### 4. 類黃酮之變化

諾麗鮮果汁類黃酮的含量74.14 mg/mL quercetin equivalent，自然發酵前二週尚維持在64 mg/mL quercetin equivalent 左右，直至第三週才減損至59.24 mg/mL quercetin equivalent。楊 (2005)、王 (2008)、羅 (2008) 於室溫發酵諾麗果汁時，也觀察到相似變化。

### 5. 縮合單寧之變化

諾麗果經自然發酵，縮合單寧含量前三週有上升的趨勢，由第零週的0.12 mg/mL到第三週的0.19 mg/mL，而在第四週下降至0.14 mg/mL，整體表現趨於平穩而無顯著變化。

縮合單寧的結構複雜而不易被研究，香草醛法是種廣泛應用

於定量水果中縮合單寧的方法。本實驗以兒茶素 (黃烷-3-醇單體) 作為標品，但若樣品中含有其他酚類物質，可能會因吸光值與香草醛產物重疊而使實驗產生誤差 (Broadhurst & Jones, 1978)；香草醛與任何可替代的類黃酮單體均會生成反應產物，因而影響實驗的結果(Hagerman, 1998)。Waterman 和Mole (1994) 指出每上升 1.4°C，會使香草醛反應的吸光值上升11%，而Sun 等人 (1998) 則建議在25~30°C時進行反應，可獲得最大吸光值。

### 三、諾麗果汁自然發酵後抗氧化活性的變化

一至四週自然發酵果汁的抗氧化活性變化如表六所示。

表六、諾麗果汁於自然發酵期間抗氧化力之變化

Table 6. Change of antioxidant capacity in noni juice during natural fermentation.

	DPPH (µg/mL)	TEAC(µg/mL)
第 0 週	1000.20±9.11	1763.86±57.08
第 1 週	980.33±27.79	2006.61±39.38
第 2 週	966.77±16.29	1991.59±45.44
第 3 週	949.31±20.10	1871.47±39.01
第 4 週	835.18±76.36	1856.26±32.58

#### (一) DPPH 自由基掃除能力

諾麗果本身即具有良好的抗氧化能力，經發酵後其抗氧化效果會略為降低，抗氧化活性以µg BHA equivalent/mL 表示之。在四週發酵過程中，抗氧化效果有略微降低的情形，整體而言維持平均在950 µg



BHA equivalent/mL左右。Yang 等人 (2007b) 在室溫下發酵諾麗果十二週，結果指出諾麗果的DPPH 自由基掃除能力在整體發酵階段中並沒有顯著差異。

## (二) TEAC 總抗氧化能力

文獻指出 (Lee *et al.*, 2003)，以TEAC 法評估食品的總抗氧化能力較DPPH 法佳，故於本實驗採用之。以TEAC法評估諾麗果的抗氧化性，其表現趨勢與DPPH 法相當，實驗結果抗氧化活性以 $\mu\text{g Trolox equivalent/mL}$  表示。經過一週的發酵後，各組ABTS + 自由基掃除能力有增加的情形。而經過四週的自然發酵，Trolox當量於整體發酵過程中剛開始會上揚再些微下降，整體而言有提高的趨勢。

#### 四、MRA6處理諾麗果汁對機能性化合物含量的影響

取自然發酵第三週之果汁進行MRA6酵母發酵，測其機能性化合物之變化。經MRA6酵母發酵過後，其機能性成份含量會有所影響如表七及表八。

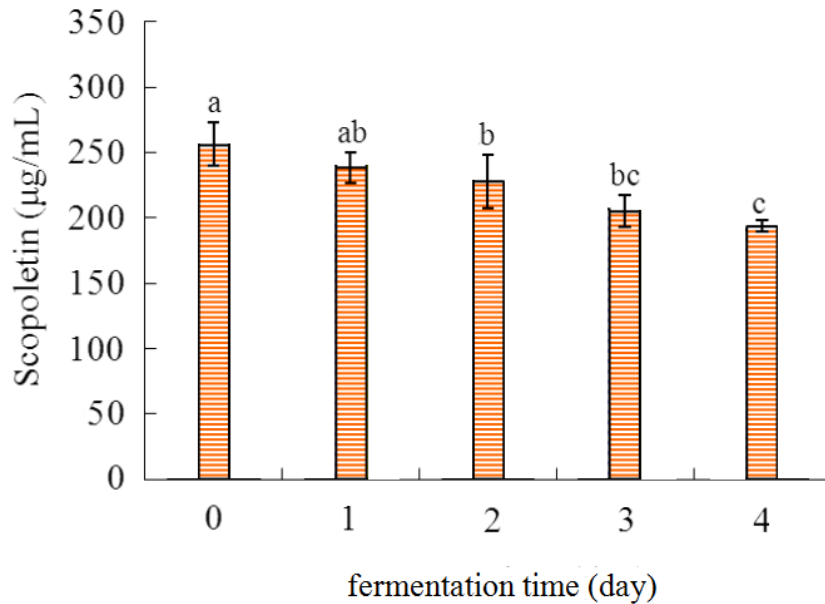
表七、諾麗果汁於MRA6發酵期間的機能性成份變化

Table 7. Change of functional ingredients content in noni juice during MRA6 fermentation.

發酵時間	Scopoletin ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rutin ( $\text{mg/ml}$ )	Total phenolic ( $\text{mg/mL}$ )	Flavonoid ( $\mu\text{g/mL}$ )	縮合單寧 ( $\mu\text{g/mL}$ )
第0天	258.29 $\pm$ 5.54	71.44 $\pm$ 2.01	1.48 $\pm$ 0.02	59.24 $\pm$ 0.74	0.19 $\pm$ 0.00
第1天	235.67 $\pm$ 4.78	62.34 $\pm$ 1.85	1.31 $\pm$ 0.03	58.19 $\pm$ 0.92	0.18 $\pm$ 0.00
第2天	221.35 $\pm$ 5.66	58.35 $\pm$ 2.32	1.28 $\pm$ 0.01	58.01 $\pm$ 0.84	0.18 $\pm$ 0.00
第3天	210.24 $\pm$ 6.02	51.62 $\pm$ 2.11	1.21 $\pm$ 0.02	58.31 $\pm$ 0.97	0.17 $\pm$ 0.01
第4天	200.16 $\pm$ 5.86	42.82 $\pm$ 2.03	1.16 $\pm$ 0.01	57.87 $\pm$ 0.79	0.17 $\pm$ 0.00

##### (一) 東莨菪素之變化

將酵母菌MRA6接種入經三週自然發酵的諾麗果汁中。隨著MRA6發酵時間增加，東莨菪素含量有減少的現象(圖十)，經統計後在0、1、2、3、4天每1天發酵之間無顯著差異，但在每2天以上之間經發酵後含量有顯著差異，到第4天由原本的258.29 $\mu\text{g/ml}$ 減少至200.16 $\mu\text{g/ml}$ ，推測原因可能是在MRA6發酵過程中，被代謝或者被破壞，造成含量有顯著的減少。



圖十、諾麗果汁於不同MRA6發酵時間之東莨菪素含量。

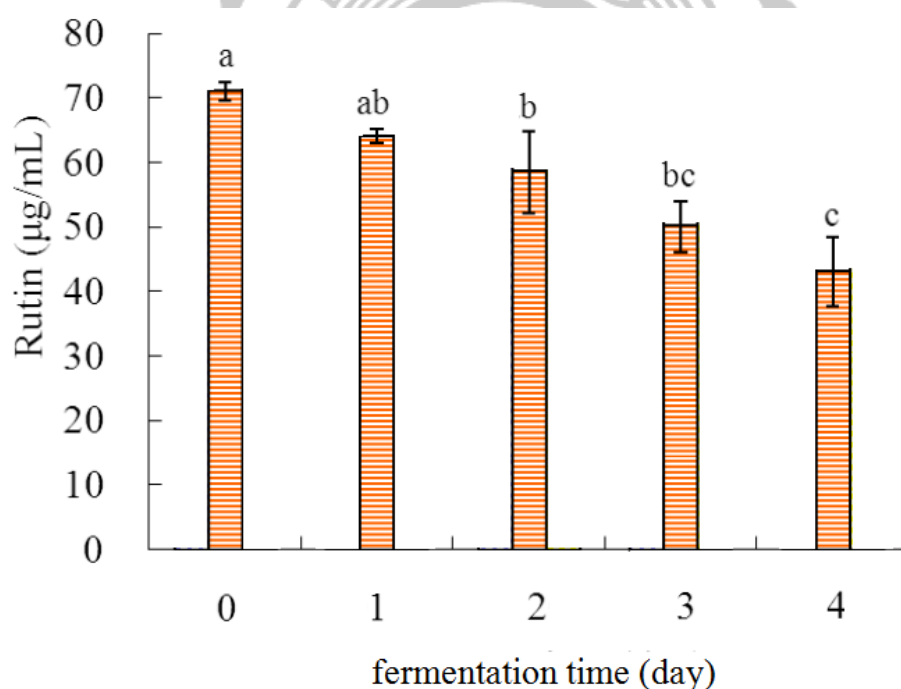
Fig 10 . The scopoletin contents of noni juice at different MRA6 fermentation time.

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

<sup>a-c</sup> Means among fermentation time with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## (二) 芸香素之變化

諾麗果汁經MRA6發酵處理後，隨著發酵時間增加，芸香素含量會有顯著減少的現象(圖十一)。經統計在0、1、2、3、4天相鄰發酵之間其含量皆無顯著差異，但經過4天發酵後，由原本的71.44  $\mu\text{g/ml}$ 的含量減少至42.82  $\mu\text{g/ml}$ ，就會有顯著差異。芸香素是由槲皮酮與芸香二糖 (disaccharide rutinose) 所組成的類黃酮配醣體(Blanco *et al.*, 2007)，在發酵的過程中可能受到光、熱、氧的破壞而水解，也可能在發酵的過程中受到MRA6代謝或者被破壞。



圖十一、諾麗果汁於不同MRA6發酵時間之芸香素含量。

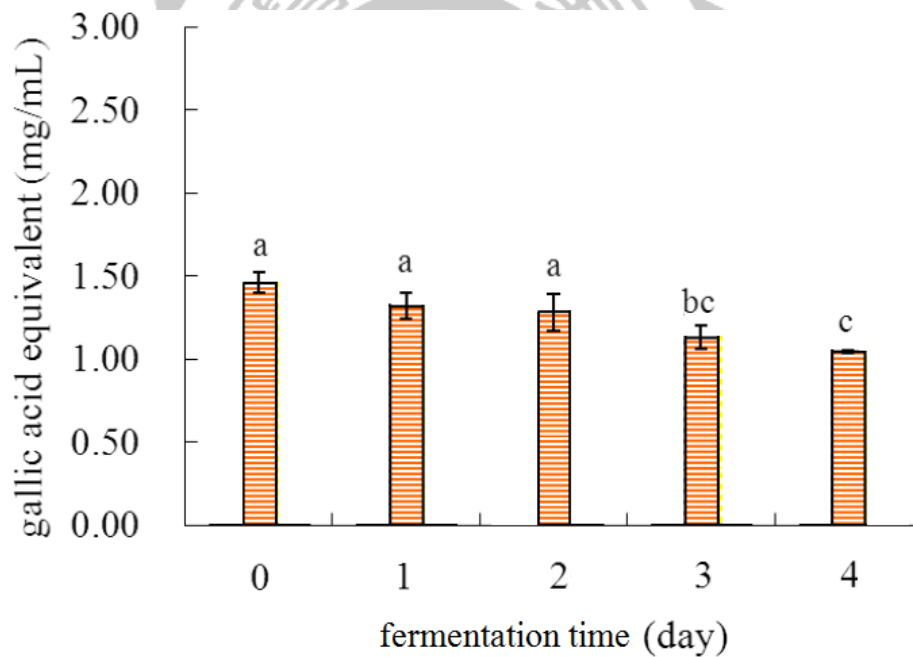
Fig 11 . The rutin contents of noni juice at different MRA6 fermentation time.

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

<sup>a-c</sup> Means in the fermentation time with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### (三) 總酚化合物之變化

接種MRA6發酵後，可以發現隨著發酵天數的增加，其總酚化合物的含量會隨之減少(圖十二)，經統計後在第0、1、2天含量無顯著差異，而第2與第3天、第2天與第3天之間無顯著差異，但第4天含量有顯著減少，由最初的1.48 gallic acid equivalent mg/mL減少至1.07 mg/mL gallic acid equivalent，推測可能是在MRA6發酵期間，總酚可能會被分解或是代謝物破壞，造成總酚含量減少。



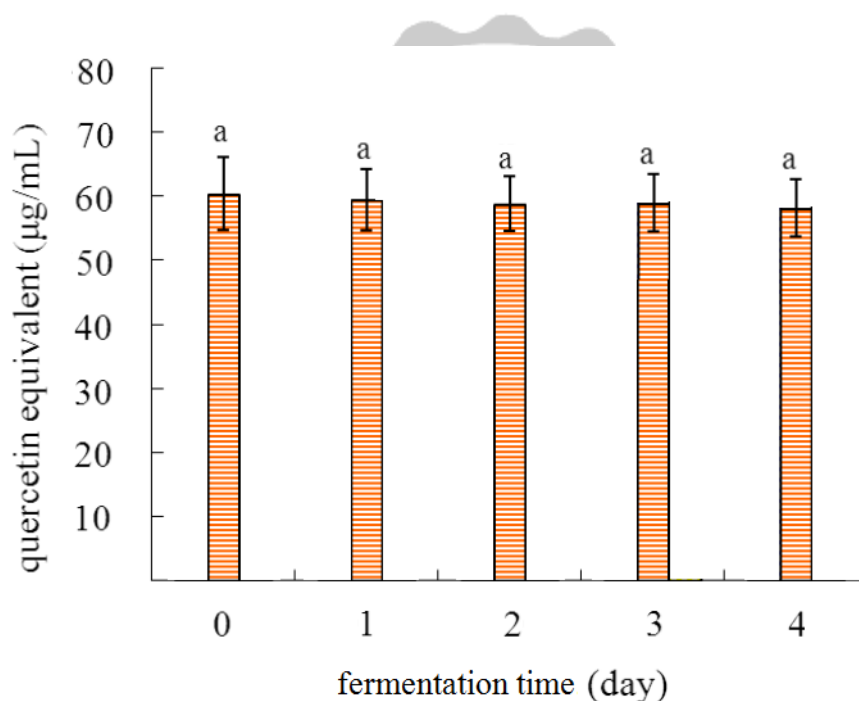
圖十二、諾麗果汁於不同MRA6發酵時間之總酚含量。

Fig 12 . The total phenolic compounds contents of noni juice in terms of gallic acid equivalent at different MRA6 fermentation time (day). Each value is the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

<sup>a-c</sup> Means among fermentation time with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

#### (四) 類黃酮之變化

接種MRA6發酵後，可以發現隨著發酵天數的增加，其類黃酮化合物含量經統計無顯著減少(圖十三)。經過MRA6發酵4天後，類黃酮由第1天的59.24  $\mu\text{g}/\text{mL}$  quercetin equivalent到第4天降低至57.99  $\mu\text{g}/\text{mL}$  quercetin equivalent，由於無顯著差異，可以推測MRA6發酵並不會減少類黃酮的含量。



圖十三、諾麗果汁於不同MRA6發酵時間之類黃酮含量。

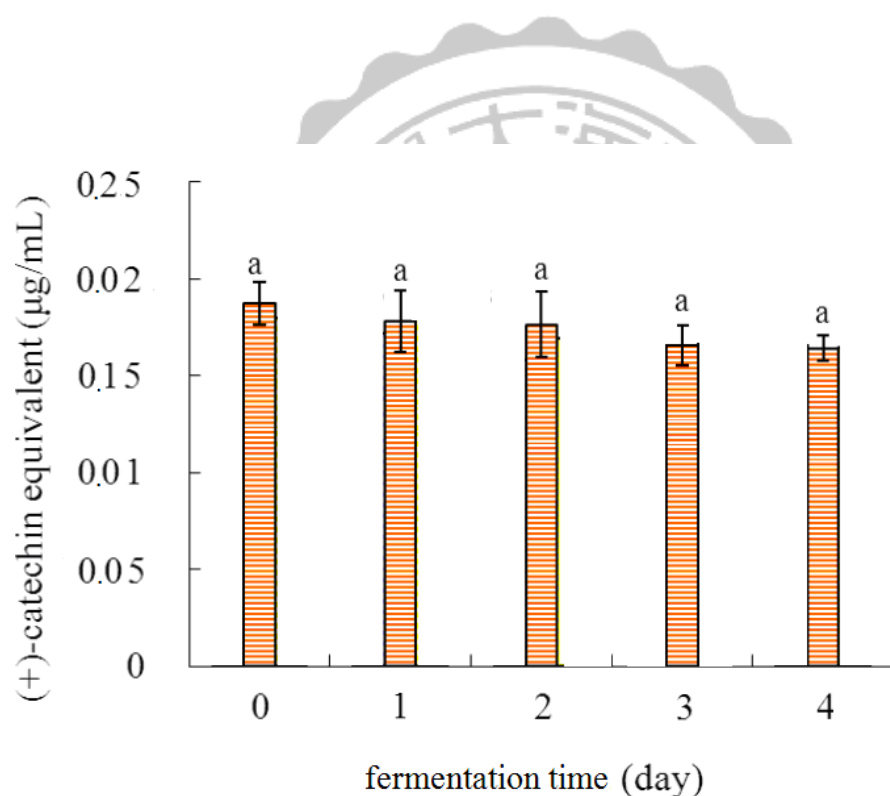
Fig 13 . The flavonoids contents of noni juice in terms of quercetin equivalent at different MRA6 fermentation time.

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

<sup>a</sup> Means among fermentation time with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### (五) 縮合單寧之變化

諾麗果汁縮合丹寧經MRA6發酵後，經統計後在0、1、2、3、4天之間無顯著差異，皆在0.18mg /mL附近，可以發現隨著發酵天數的增加，縮合丹寧含量變化不大無顯著差異(圖十四)。



圖十四、諾麗果汁於不同MRA6發酵時間之縮合丹寧含量。

Fig 14 . The condensed tannins contents of noni juice in terms of (+)-catechin equivalent at different MRA6 fermentation time.

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

<sup>a</sup> Means among fermentation time with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## 五、MRA6處理諾麗果汁對抗氧化活性的影響

取自然發酵第三週之果汁進行MRA6酵母發酵，測其機能性化合物之變化。經MRA6酵母發酵過後，其抗氧化力會有所影響如表八。

表八、諾麗果汁於 MRA6 發酵期間的抗氧化力之變化

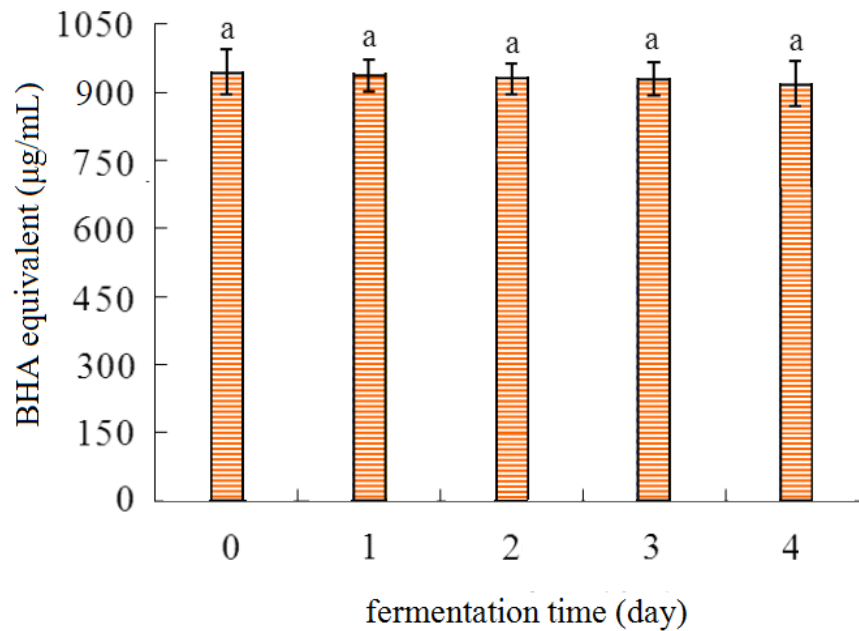
Table 8. Change of antioxidant capacity in noni juice during MRA6 fermentation.

	TEAC ( $\mu\text{g/mL}$ )	DPPH ( $\mu\text{g/mL}$ )
第 0 天	1871.47 $\pm$ 39.01	949.31 $\pm$ 20.10
第 1 天	1868.38 $\pm$ 41.37	948.21 $\pm$ 19.48
第 2 天	1861.21 $\pm$ 40.87	945.38 $\pm$ 20.04
第 3 天	1855.76 $\pm$ 39.59	943.94 $\pm$ 19.57
第 4 天	1851.29 $\pm$ 38.94	941.39 $\pm$ 19.59

### (一) DPPH 自由基掃除能力

接種MRA6發酵後，可以發現隨著發酵天數的增加，其總酚化合物的含量經統計可以看出並不會影響諾麗果汁的DPPH抗氧化能力(圖十五)，在0、1、2、3、4天發酵後，還是維持在948  $\mu\text{g}$  BHA equivalent/mL左右，無顯著之差異。





圖十五、諾麗果汁及於不同MRA6發酵時間之DPPH自由基清除能力  
(相對於BHA的量)。

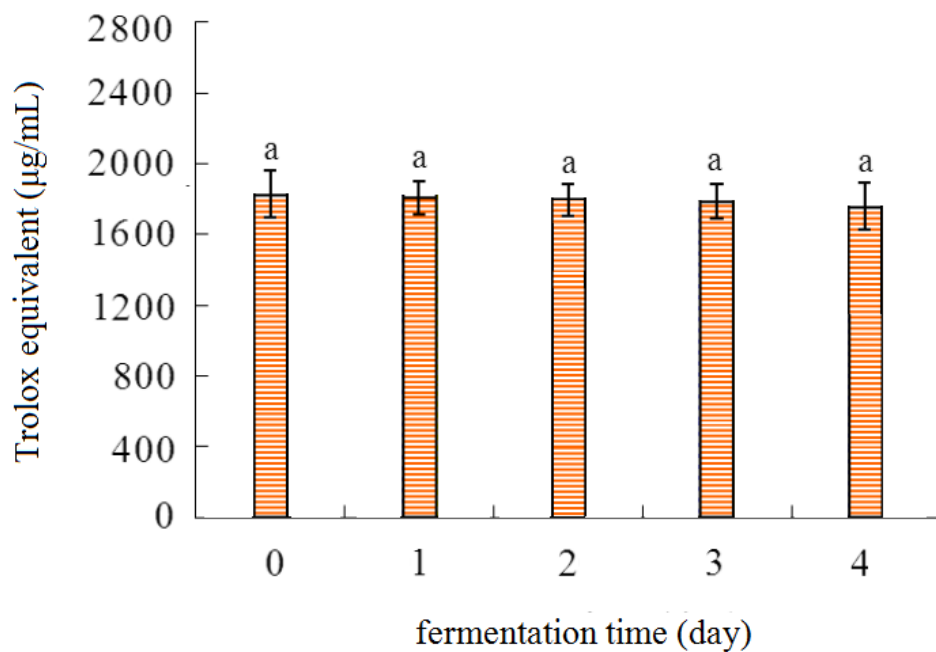
Figure 15. Change of DPPH scavenging activities in terms of BHA equivalent in noni juice during fermentation time.

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

<sup>a</sup> Means in the same fermentation time with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## (二) TEAC 總抗氧化能力

接種MRA6發酵後，可以發現隨著發酵天數的增加，其TEAC總抗氧化能力的含量經統計後，在發酵的4天內其值無顯著差異(圖十五)，推測在MRA6發酵後，並不會減少諾麗果汁其總抗氧化能力。



圖十六、諾麗果汁及於不同MRA6發酵時間之抗氧化力(相對於Trolox的量)。

Figure 16. Change of ABTS<sup>+</sup> scavenging activities in terms of Trolox equivalent in noni juice during fermentation time.

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

<sup>a</sup> Means in the same fermentation time with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## 六、利用MRA6減少諾麗果汁的不良氣味

諾麗果在熟成後會產生刺激性刺鼻的氣味，此刺激性主要來自於其中揮發性成分丁酸、二甲基丁酸、己酸和辛酸。本研究探MRA6發酵對諾麗果汁中不良揮發性成分之改變，諾麗果汁經由此菌發酵後，能有效減少揮發性有機酸之不良氣味，檢測方法為利用固相微萃取法吸附揮發性物質，用GC測其風味之變化。實驗分為有機酸耐受性與有機酸減少量二部分。

### (一) MRA6對有機酸之耐受性

揮發性有機酸在濃度較高的環境下，能抑制細菌生長(表九)，酵母菌MRA6亦會被抑制，揮發性有機酸的含量越高，越能抑制酵母菌的生長，而越低碳鏈的有機酸能耐受的有機酸量越高，由表可得知MRA6對丁酸的耐受度最高，可高達1000ppm；二甲基丁酸在100ppm以下才能生長，己酸則是在75ppm以下才可生長，而辛酸耐受度最低，在50ppm以上就無法生長。

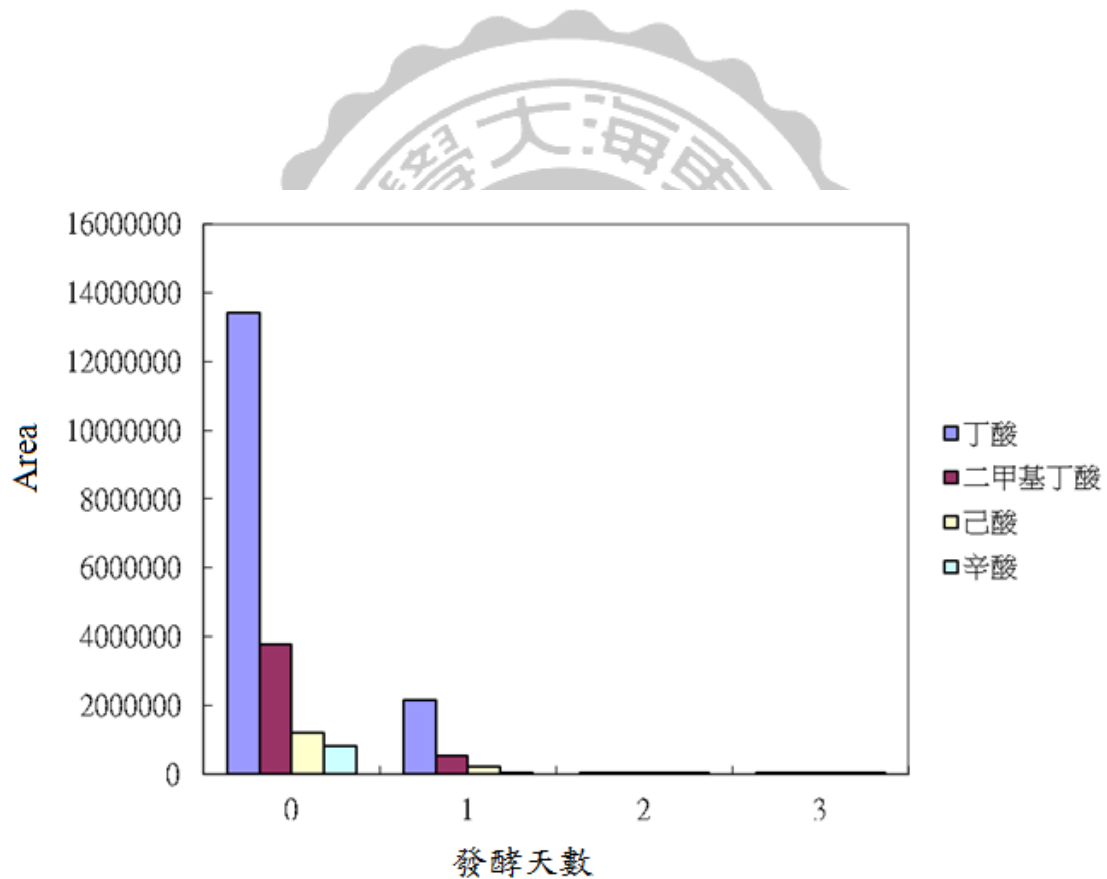
表九、 MRA6 對有機酸之耐受性

Table 9. Antibacterial activity of organic acids

Concentration	Butyric acid	Dimethylbutanoicacid	hexanoic acid	Octanoic acid
1000ppm	0	+	+	+
500ppm	0	+	+	+
250ppm	0	+	+	+
125ppm	0	+	+	+
100ppm	0	0	+	+
75ppm	0	0	0	+
50ppm	0	0	0	0

0 ineffective ; + effective

而有機酸在MRA6不同發酵天數下，有機酸的減少量也有所不同（圖十七）。圖中丁酸初始量為耐受度最高的1000ppm，依序為二甲基丁酸100ppm，己酸75ppm，辛酸50ppm。發酵一天丁酸就減少了84%，二甲基丁酸85%，己酸減少81%，辛酸減少95%；而在發酵第2天，丁酸減少了99%，二甲基丁酸、己酸、辛酸已無法檢出；而發酵3天的情況下，這四種主要的臭味來源有機酸全部都無法檢出。

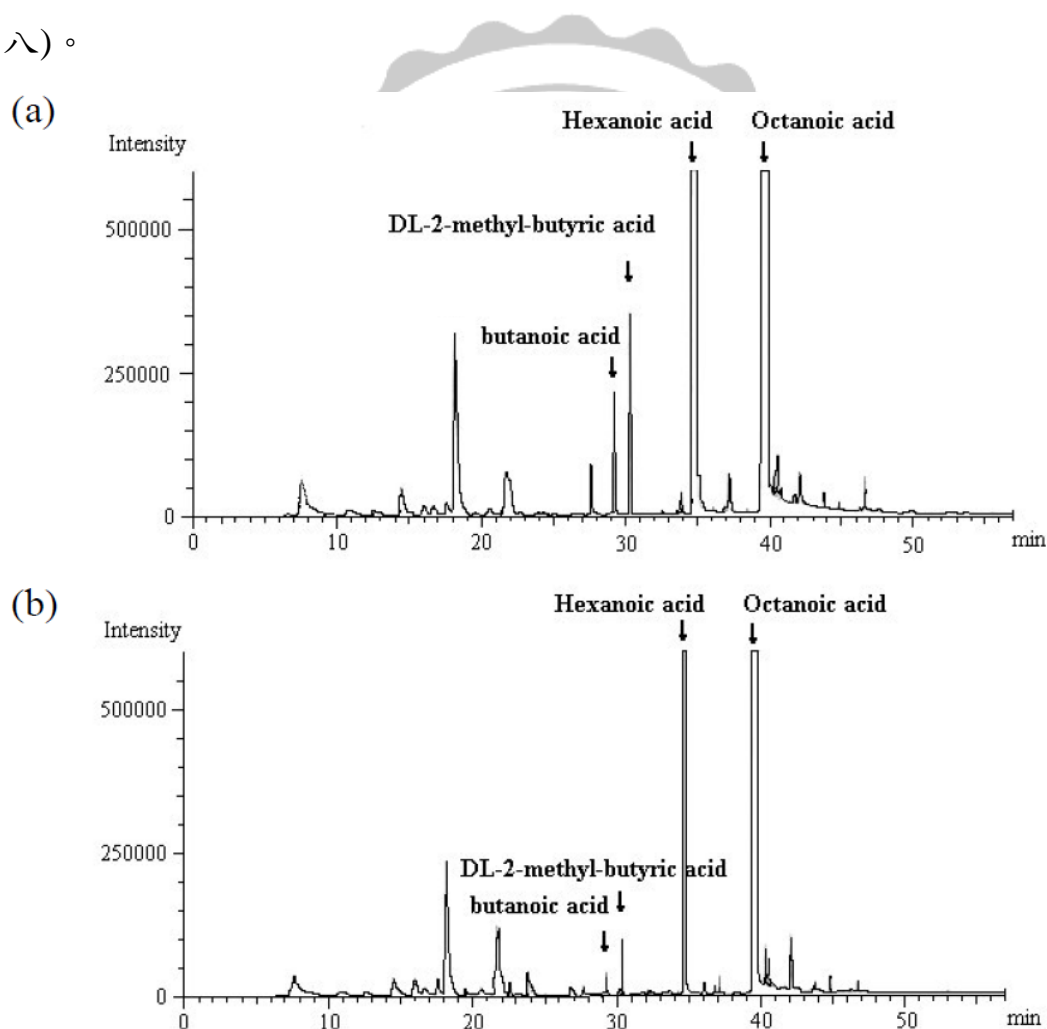


圖十七、MRA6在不同發酵天數之最大耐受性有機酸的減少量。

Figure 17. The result of MRA6 fermentation for different day to reduce organic acids

## (二)MRA6發酵對諾麗果汁不良氣味有機酸處理之效果

諾麗果汁經發酵後，以氣相層析(GC)鑑定諾麗果汁重要不良風味之揮發性化合物(丁酸、二甲基丁酸、己酸、辛酸)的含量，探討不同發酵時間內，其不良風味之有機酸之變化，以建立最佳發酵時間。樣品發酵時間分別為1、2、3、4天，在20°C下震盪發酵。結果顯示發酵時間於1天後，丁酸、二甲基丁酸、己酸、辛酸皆有顯著的減少(圖十八)。



圖十八、以氣相層析分析經MRA6發酵一天之空白組(A)與實驗組(B)。

Figure 18. The result of MRA6 fermentation for one day to reduce organic acids (B) and blank(A) on Gas Chromatography analysis.

由實驗結果得知(表十),MRA6發酵的諾麗果汁與未發酵的諾麗果汁相比較,發酵時間於1天後,其丁酸減少了84.41%,二甲基丁酸減少85.79%,己酸減少81.08%,辛酸則是減少了94.85%,然而在發酵2天下減少98%以上,發酵3天的情況下更是減少99%以上。這可能是因為這些有機酸在酵母菌MRA6的生長後,被代謝掉而造成含量的減少。

表十、諾麗果汁經MRA6處理後有機酸濃度之變化

Table 10. Reduction of volatile organic acids in fermented noni juice treated by MRA6.

volatile organic acids	Time periods of MRA6 treatment			
	(1 day)	(2 day)	(3day)	(4 day)
Butanoic acid (%)	15.59±0.03	0.22±0.02	0.04±0.01	0.00±0.01
DL-2-methyl-butyric acid (%)	14.21±0.02	0.44±0.02	0.02±0.01	0.00±0.01
Hexanoic acid (%)	18.92±0.03	1.23±0.03	0.02±0.01	0.00±0.02
Octanoic acid (%)	5.15±0.04	2.05±0.02	0.75±0.01	0.26±0.01

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

The volatile organic acids in noni juice as 100%.

## 伍、結論

由氣相層析儀測定自然發酵的諾麗果汁中主要的不良氣味主要是丁酸、二甲基丁酸、己酸和辛酸。這些酸在培養基中經酵母菌MRA6處理3天，可以消除99%以上的含量。

MRA6對丁酸、二甲基丁酸、己酸和辛酸的耐受性以丁酸最高，依序由高至低為二甲基丁酸、己酸和辛酸。利用MRA6處理自然發酵的諾麗果汁，可降解其中不良氣味的丁酸、二甲基丁酸、己酸和辛酸，改善果汁風味。

諾麗果汁經 MRA6 發酵後機能性成分總酚類、東莨菪素、芸香素含量有減少，但東莨菪素在不良氣味的有機酸消除 99% 的三天內，由原本的 258.29 $\mu\text{g}/\text{ml}$  減少至 210.24 $\mu\text{g}/\text{ml}$  (19%)，減少量相對不多；而類黃酮、縮合單寧含量就整體而言並沒有顯著的變化。在抗氧化活性方面，DPPH 自由基掃除能力、TEAC 總抗氧化能力並無顯著之改變。



## 陸、參考文獻

- 王美燕 (2008) 部份發酵諾麗果汁之製備及其儲藏性探討。東海大學食品科學系 碩士論文。
- 唐孟成、賈之慎、朱祥瑞和呂順霖 (1996) 春秋桑葉中黃酮類化合物總量及提取方法比較。浙江農業大學學報 22(4): 394-398。
- 倪德全 (1982)。酵母菌有機酸的合成及利用。製酒科技專論彙編。4：78-91。
- 胡鳳媛 (1988)。酒類中之香氣成分。製酒科技專論彙編。10：139-174。
- 胡鳳媛 (1979)。酒類之香氣。製酒科技專論彙編。1：1。
- 陳富民 (2007) 諾麗 (Noni)果汁最佳發酵條件之探討。屏東科技大學機械系 碩士論文。
- 徐佳伶 (2011) 諾麗果汁控溫發酵之探討與諾麗葉茶化性及儲存性之研究 東海大學 食品科學系 碩士論文。
- 張惠敏 (2009) 諾麗 • 今日預防醫學之星。台灣 正義出版社。
- 楊淑娟 (2005) Noni 果汁抗氧化性、ACE 抑制活性和其純化物質 Scopoletin 及衍生物之化學結構鑑定。東海大學 食品科學系 碩士論文。
- 鍾玉玲 (2003) 海巴戟天葉、莖及果實粗萃取物的抗氧化活性之比

- 較。嘉南藥理科技大學 生物科技研究所 碩士論文。
- 蘇茹裕 (2011) 諾麗製程中機能性成份變化及儲存安定性 東海大學 食品科學系 碩士論文。
- 羅宇展 (2009) 檫樹 (諾麗)果實自然發酵過程中果汁與乾燥果肉所含酚類化合物之變化。台灣大學 生物資源暨農學院園藝學研究所 碩士論文。
- Ai, J. (1998). Solid-phase microextraction in headspace analysis. Dynamics in non-steady-stage mass transfer. *Anal. Chem.*, 70: 4822-4826.
- Argon, P., Atienza, J. and Climent, M.D. (1998). Influence of clarification, yeast type, and fermentation temperature on the organic acid and higher alcohols of malvasia and muscatel muscatel wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 49(2): 211-219.
- Arnao, M. B., Cano. A., Hernandez-Ruiz, J., Garcia-Canovas, F. and Acosta, M. (1996) Inhibition by L-ascorbic acid and other antioxidants of the 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) oxidation catalyzed by peroxidase: a new approach for determining total antioxidant status of foods. *Analy. Biochem.* 236: 255-261.
- Asahina, A.Y., Ebesu, J.S.M., Ichinotsubo, D., Tongson, J. and Hokama, Y. (1994) Effect of okadaic acid (OA) and Noni fruit extraction in the synthesis of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) by peripheral blood mononuclear (PBN) cells *in vitro*. The Proceedings of the International Symposium of Ciguatera and Marine Natural Products: 197-205.
- Atkinson, N. (1956) Antibacterial substances from flowering plants. 3. Antibacterial

- activity of dried Australian plants by rapid direct plate test. *J. Exp. Biol.* 34: 17–26.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S. J., Das, D. K., Ray, S. D., Kuszynski, C.A., Joshi, S. S., & Pruess, H. G. (2000). Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148, 187-197.
- Cardon, D. (2003) *Le Monde des Teintures Naturelles*. Belin. Paris. Caro, A.D., Piga, A., Vacca, V. and Agabbio M. (2004) Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chem.* 84: 99-105.
- Chan-Blanco, Y., Vaillant, F., Perez, A. M., Reynes, M., Brillouet, J.-M. and Brat, P. (2006) The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *J. Food Compos. Anal.* 19: 645-654.
- Chan-Blanco, Y., Vaillant, F., Perez, A. M., Brillouet, M., Zuniga, C. and Brat, P. (2007) The ripening and aging of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.): microbiological flora and antioxidant compounds. *J. Sci. Food Agric.* 87: 1710-1716.
- Cushnie T. P. T. & Lamb A.J. (2005). Review. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 26, 343-356.
- Dittmar A. (1993). *Morinda citrifolia* L. – use in indigenous Samoan medicine. *J. Herbs Spices Med. Plants* 1, 77-92.
- Dixon, A. R., McMillen, H. and Etkin, N. L. (1999) Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). *Ecological Botany* 53: 51-68.
- Farine, J.P., Legal, L., Moreteau, B. and Quere, J.L. L. (1996) Volatile components of ripe fruits of *Morinda citrifolia* and their effects on *Drosophila*. *Phytochem.* 41:

433-438.

Guardia T., Rotelli A., Juarez A. and Pelzer L. (2001). Antiinflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Il. Farmaco.*, 56, 683-687.

Hirazumi, A. & Furusawa, E. (1999). An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (Noni) with antitumor activity. *Phytotherapeutic Research*, 13: 380-387.

Heinicke, R. M. (1985). The pharmacologically active ingredient of noni. *Pac. Trop. Bot. Gard. Bull.*, 15, 10-14.

Hirazumi, A., Furusawa, E., Chou, S.C. and Hokama, Y. (1996) Immunomodulation contributes to the anticancer activity of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit juice. *Proc West Pharmacol Soc.* 39: 7-9.

Ikeda, R., Wada M., Nishigaki T., Nakashima K. (2009) Quantification of coumarin derivatives in Noni (*Morinda citrifolia*) and their contribution of quenching effect on reactive oxygen species. *Food Chem.* 113: 1169-1172.

Jackson, R.S. (2002). Specific and distinctive wine styles. In: "Wine Science: principles, practice, perception". 2<sup>nd</sup> Ed. California, USA.

Jang, D. S., Park, E. J., Kang, Y. H., Su, B. N., Hawthorne, M. E., Vigo, J. S., Graham, J.G., Cabieses, F., Fong, H. H., Metha, R. G. and Pezzuto, J. M. (2003) Compounds obtained from *Sida acuta* with the potential to induce quinone reductase and to inhibit 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced preneoplastic lesions in a mouse mammary organ culture model. *Arch. Pharm. Res.* 26: 585-590.

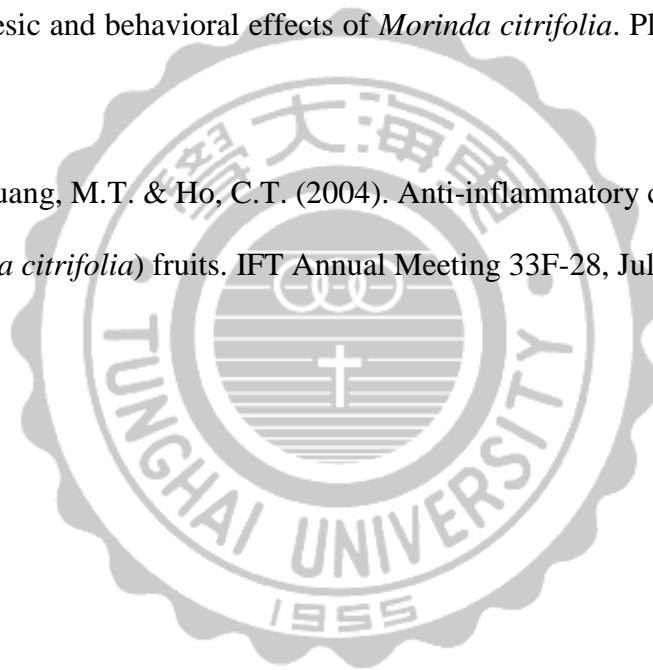
Jayaraman, S. K., Manoharan, M. S. and Illanchezian, S. (2008) Antibacterial, Antifungal and Tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. *Int. J. Integr. Biol.* 3 (1): 44-49.

Julkunen-Titto, R. (1985) Phenolic constituents in the leaves of Northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 33: 213-217.

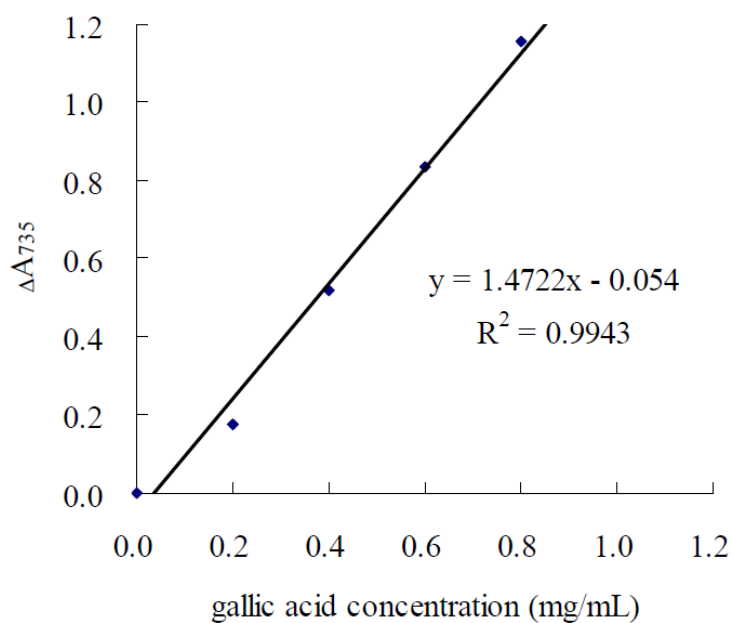
- Kamiya, K., Tanaka, Y., Endang, H., Umar, M. and Satake, T. (2004) Chemical constituents of *Morinda citrifolia* fruits inhibit copper-induced low-density lipoprotein oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 52: 5843-5848.
- Lambrechts, M.G. & Pretorius, I.S. (2000). Yeasts and its importance to wine aroma-a review. *S Afr. J. Enol. Vitic.*, 21: 97-129.
- Manuele, M. G., Ferraro, G., Arcos, M. L. B., López, P., Cremaschi, G. and Anesini, C. (2006) Comparative immunomodulatory effect of scopoletin on tumoral and normal lymphocytes. *Life Sci.* 79: 2043-2048.
- McKoy, M.L.G., Thomas, E.A. and Simon, O.R. (2002) Preliminary investigation of the anti-inflammatory properties of an aqueous extract from *Morinda citrifolia* (Noni). *Pharmacol Soc.* 45: 76–78.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V. and Milner, A. (1993) A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* 84: 407-412.
- Mohd, Z., Abdul-Hamid, A., & Osman, A. (2001). Antioxidative activity extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. *Food Chem.*, 78: 227-231.
- Morton, J. F. (1992) The ocean-going Noni, or Indian mulberry (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae) and some of its “colourful” relatives. *Ecological Botony* 46: 241-256.
- Nayak, B.S., Isitor, G.N., Maxwell, A., Bhogadi, V. & Ramdath, D. (2007). Wound-healing activity of *Morinda citrifolia* fruit juice on diabetes-induced rats. *J. Wound. Care.*, 16: 83-86.
- Nelson, S. C. and Elevitch C.R. (2006) Noni: The complete guide for consumers and growers. 1st ed. Permanent Agriculture Resources, Holualoa, Hawaii.
- Nordstöm, K. (1964). Studies on the formation of volatile esters in fermentation with

- brewer's yeast. *Svensk kem. Tidskr.*, 76: 510-43.
- Paddie, HAB. (1990). Ester formation in brewery fermentation. *J. Inst. Brew.*, 96: 327-331.
- Pietta, P.-G. (2000) Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63 :1035-1042.
- Potterat, O. and Hamburger, M. (2007) *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit-Phytochemistry, Pharmacology, Safety. *Planta Med.* 73: 191-199.
- Samoylenko, V., Zhao, J., Dunbar, D. C., Khan, I. A., Rushing, J. W. and Muhammad, I. (2006) New constituents from noni (*Morinda citrifolia*) fruit juice. *J. Agric. Food Chem.* 54: 6398-6402.
- Santos-Buelga, C. & Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Sci. Food Agri.*, 80, 1094-1117.
- Selloum L., Bouriche H., Tigrine C. & Boudoukha C. (2003). Antiinflammatory effect of rutin on rat paw oedema, and on neutrophils chemotaxis and degranulation. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 54, 313-318.
- Shahidi, F. and Naczki, M. (2004) Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC PRESS. 1-14.
- Su, C., Wang, M., Nowicki, D., Jensen, J. and Anderson, G. (2001) Selective COX-2 inhibition of *Morinda citrifolia* (Noni) in vitro. The Proceedings of the Eicosanoids and other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Disease. The 7th Annual Conference, 2001. October 14–17. Loews Vanderbilt Plaza, Nashville, Tennessee, USA.
- Wakil, S.J. (1961). Mechanism of fatty acid synthesis. *J. lipid Res.*, 2: 1-24.
- Wang, M. Y. and Su, C. (2001) Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 952: 161-168.
- Wang, M. Y., West, B. J., Jensen, C. J., Nowicki, D., Chen, S., Palu, A.K. and Anderson, G. (2002) *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent

- advances in Noni research. *Acta. Pharmacol. Sin.* 23 (12): 1127-1141.
- Yamaguchi, S., Ohnishi, J., Sogawa, M., Maru, I., Ohta, Y. and Tsukada, Y. (2002) Inhibition of Angiotensin I converting enzyme by noni (*Morinda citrifolia*) juice. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 49 (9): 624-627.
- Yang, J., Paulino, R., Janke-Stedronsky, S. and Abawi, F. (2007) Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chem.* 102: 302-308.
- Younos, C., Rolland, A., Fleurentin, J., Lanhers, M.C., Misslin, R. and Mortier, F. (1990) Analgesic and behavioral effects of *Morinda citrifolia*. *Planta Medicine* 56: 430-434.
- Yu, H., Li, S., Huang, M.T. & Ho, C.T. (2004). Anti-inflammatory constituents in Noni (*Morinda citrifolia*) fruits. IFT Annual Meeting 33F-28, July 12-16 Las Vegas, NV.

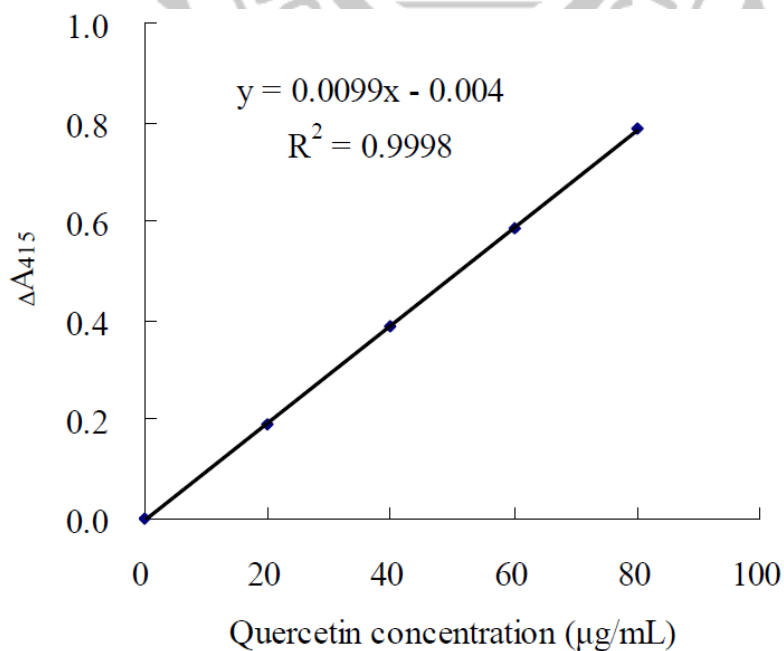


## 柒、附錄



附錄一、沒食子酸之標準曲線圖。

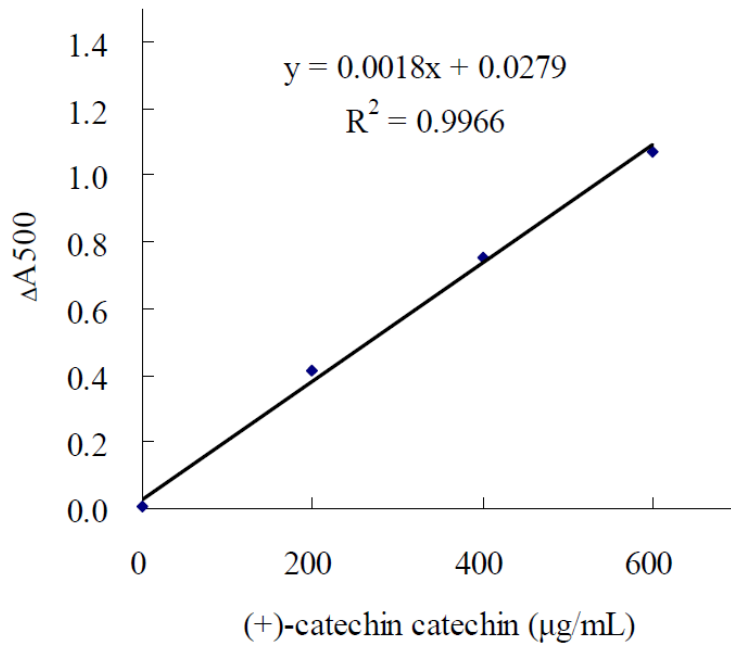
Appendix 1. Standard curve of gallic acid.



附錄二、槲皮酮之標準曲線圖。

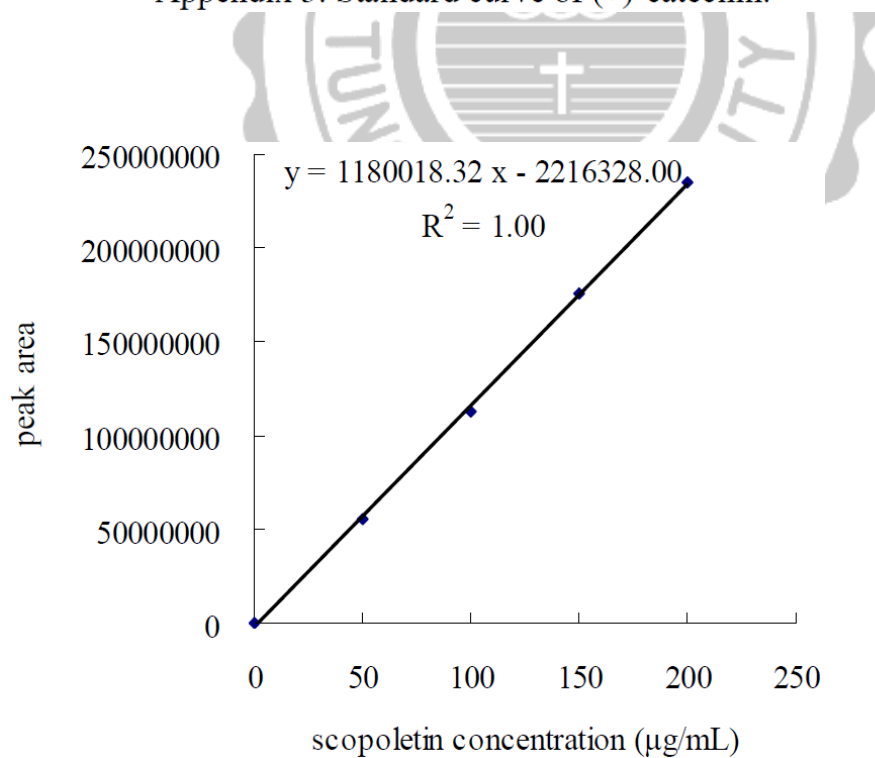
Appendix 2. Standard curve of quercetin.





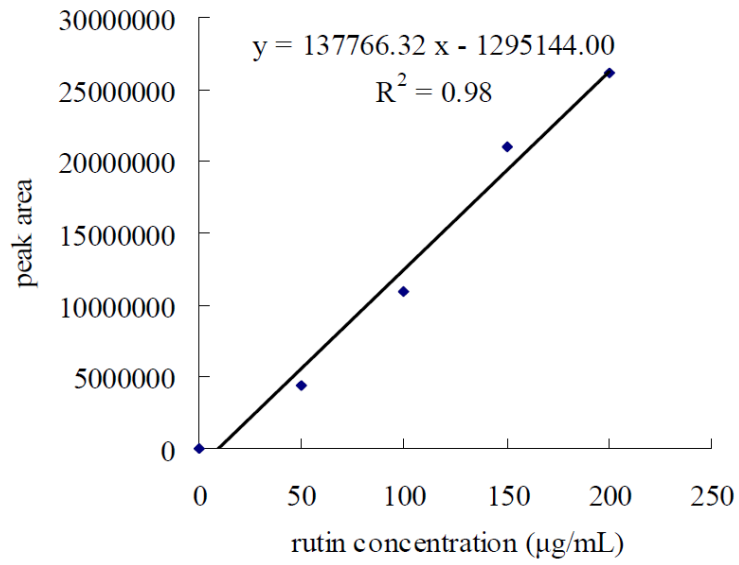
附錄三、兒茶素之標準曲線圖。

Appendix 3. Standard curve of (+)-catechin.



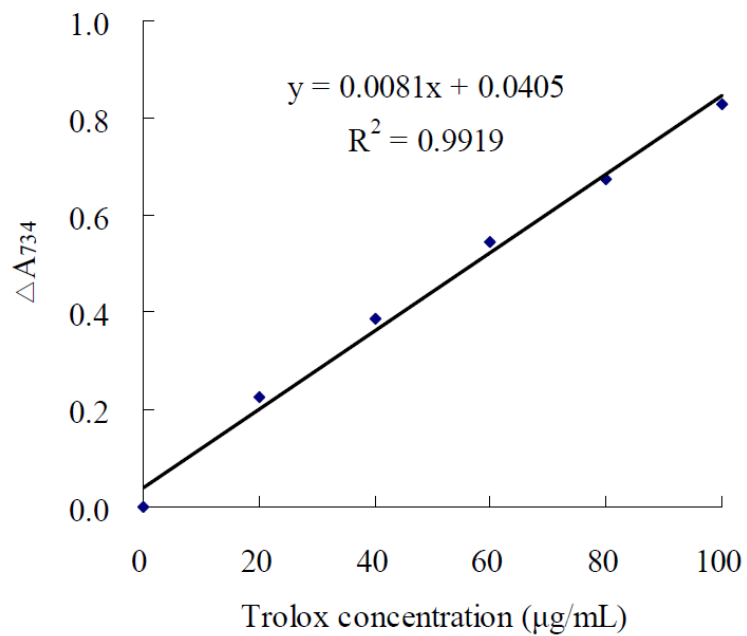
附錄四、東莨菪素之標準曲線圖。

Appendix 4. Standard curve of scopoletin.



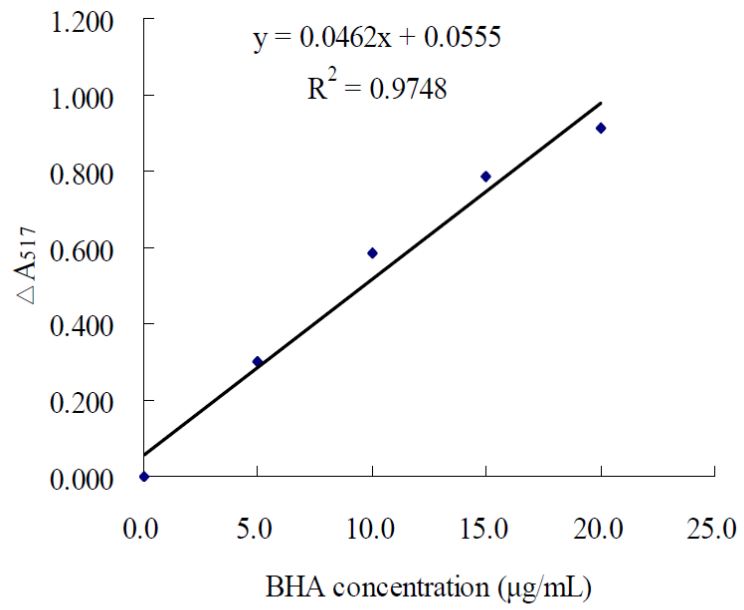
附錄五、芸香素之標準曲線圖。

Appendix 5. Standard curve of rutin.



附錄六、Trolox 之標準曲線圖。

Appendix 6. Standard curve of trolox.



附錄七、BHA 之標準曲線圖。

Appendix 7. Standard curve of BHA.

