

## 植物來源乳酸菌應用於抗敏化妝品之先期評估

# Evaluation the potential of Lactic acid bacteria to anti-sensitive cosmetics

許淑真 遠東科技大學餐飲管理系助理教授

黃易楷 遠東科技大學餐飲管理系學生

鐘冠麟 遠東科技大學餐飲管理系學生

黃子芸 遠東科技大學餐飲管理系學生

胡喬楓 遠東科技大學餐飲管理系學生

### 摘 要

尋找有效的天然物是近年來化妝保養品市場極為重要的課題，且消費者對抗敏感化妝品的需求與日遽增。乳酸菌被認為是非常安全的菌種，過去很多研究發現乳酸菌在發酵過程中所產生的代謝物質具有機能性。由於乳酸菌並未被應用於抗敏感之化妝品素材，故本研究對自行篩選獲得之乳酸菌評估其應用於化妝保養品之可行性，以作為開發抗敏感性保養品之先期試驗。本研究共篩選 18 株乳酸菌，結果發現篩選獲得之乳酸菌具有良好之 DPPH 自由基清除能力，部分乳酸菌具有良好之總還原力，部分乳酸菌具有良好之螯合亞鐵離子能力，部分乳酸菌具有高抗發炎活性。綜合上述研究結果推論，18 株乳酸菌經不同試驗方法表現出各有所長的活性，未來可針對篩選出之有效菌株進行混合搭配，進一步應用於抗敏化妝品，以提升其利用價值及拓展應用領域，開創新一代的抗老及抗敏產品。

**關鍵詞：** 乳酸菌、DPPH 自由基清除能力、總還原力、螯合亞鐵離子能力、抗發炎能力

Shu-Chen Hsu, Assistant Professor, Department of Food and Beverage Management, Far East University

Huang, Yi-Kai, Student, Department of Food and Beverage Management, Far East University

Chung, Kuan-Lin, Student, Department of Food and Beverage Management, Far East University

Huang, Zih-Yun, Student, Department of Food and Beverage Management, Far East University

Hu, Ciao-Fong, Student, Department of Food and Beverage Management, Far East University

### **Abstract**

The need of finding good natural materials for anti-sensitive cosmetics is becoming more and more important to consumers. Lactic acid bacteria (LAB) are generally regarded as safe (GRAS), and their fermented products display biological activities were demonstrated in many reports. In order to understand if LAB ferments could apply in cosmetics, the potential of LAB isolates to anti-sensitive cosmetics was evaluation. A total of 18 LAB strains were isolated from plant samples in this study. All LAB isolates had strong DPPH radicals scavenging activity. Eighteen LAB isolates showed varying degrees of reducing activity,  $Fe^{2+}$  chelating ability and anti-inflammatory activity. In conclusion, 18 LAB isolates possessing various antioxidative and anti-inflammatory activities, these results suggested that local LAB isolates can be mixed used, and they could beneficially provide antioxidants and anti-inflammant to manufacture innovative anti-sensitive and anti-aging cosmetic products.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, DPPH free radical scavenging activity, total reducing power,  $Fe^{2+}$  chelating activity, anti-inflammatory activity

## 一、前言

近年來，化妝品市場訴求減少化學物質對皮膚的刺激及副作用，而現今化妝品市場愈來愈強調天然化妝品的重要性，除了是因為人們對人工合成化合物有安全疑慮，還有減少廢棄物對於環境傷害等，所以尋找有效的天然物，便成為重要的課題。

敏感性皮膚 (sensitive skin) 是皮膚知覺神經耐受閥值降低，造成對外界刺激敏感，引起的早期發炎現象，此類型肌膚由於皮膚之生理防禦機能較弱，致使保水力不佳及皮脂膜形成不良，外在刺激物質或過敏物質便易侵入而導致肌膚內部發炎。遺傳體質、飲食、作息、情緒、壓力等都是造成現代人肌膚敏感現象的因素，因此消費者對抗敏感及低敏感化妝品的需求與日遽增。但坊間很多低敏感性保養化妝品配方多是減少香精、酒精或防腐劑，降低去角質、去油、去痘、收斂等成分，並添加舒緩鎮定成分，卻缺乏修復成分。但若無法增加肌膚保水度及強化肌膚自身之防禦機制，將無法真正改善敏感性肌膚的問題。若能找出可清除有害的活性氧物質，及具有強化 DNA 修復系統和防禦系統功能之成分應用於保養化妝品，應可增加皮膚之免疫系統，減少刺激因子對皮膚的傷害。

乳酸菌 (Lactic acid bacteria) 被認為是非常安全的菌種 (generally regarded as safe, GRAS)，是一群可將醣類發酵成乳酸的細菌總稱，對人體來說是一種益生菌，其能產生有機酸如乳酸以降低 pH 值，並能產生抗菌物質等[1-2]。過去研究發現，乳酸菌的胞外分泌物質可活化腸道部位的巨噬細胞及淋巴細胞的產生，促使免疫球蛋白 A 的濃度提升，並產生  $\gamma$ -干擾素及抗腫瘤因子以抑制腫瘤細胞形成，因此被認為具有強化免疫系統的功能[3-5]。近年乳酸菌的應用研究呈現多元化，其相關產品之醫藥保健訴求包括有整腸、抑制致病菌、降低膽固醇、活化免疫系統、抑制腫瘤、調節血壓、減緩過敏反應等功效，對於許多文明病的預防與醫

療輔助均有顯著的效果[6-9]。同時，乳酸菌的細胞壁組成含有肽聚糖 (peptidoglycan)，可活化免疫反應，甚至研究發現乳酸菌之死菌體也有刺激免疫反應的能力。很多研究也發現乳酸菌在發酵過程中所產生的代謝物質具有機能性，這些物質包括完整的死菌體、細胞壁組成分，以及經由發酵過程產出的肽聚糖、胞外多醣、脂肪類物質[10-12]。由於乳酸菌的效用非常多樣化，而在非腸胃道的保健功能應用上也愈來愈受到重視，表示相關產品尚有很大的開發空間，相當值得投入與開發。因此，其應用範圍應可擴及保養化妝品產業，作為抗敏感之化妝品素材。

由於老化及敏感都是導致皮膚疾病的因素之一，發展可強化皮膚保濕及保護能力，強化抗氧化活性的低敏感性保養品，才足以真正滿足敏感性肌膚之消費者的真正需求。過去，乳酸菌並未被應用於抗敏感之化妝品素材，故本研究計畫將篩選乳酸菌並探討其特性，評估乳酸菌發酵產物加入化妝保養品之可行性，作為開發抗敏感性保養品之先期試驗，符合消費者天然訴求之期待。

## 二、實驗材料及研究方法

### (一) 藥品

本研究所使用之 Lactobacilli MRS Broth (Acumedia, Neogen Corporation)、ascorbic acid、trichloroacetic acid、potassium ferricyanide (廠牌皆為 Koch-Light Laboratories LTD)、 $H_2O_2$ 、methanol、BHT 及 iron(III) chloride (廠牌皆為 Nihon Shiyaku Reagent) 購自承洺科技有限公司 (高雄, 台灣)。LB broth、NH agar 及 Agar 廠牌為 Difco™ laboratories (Becton, Dickinson and Company)，購自啓新生物科技有限公司 (台北, 台灣)；EDTA、potassium chloride、sodium chloride 及 Tris (廠牌皆為 Amresco) 購自波仕特生物科技有限公司 (台北, 台灣)；ferrous chloride (J. T. Baker)、 $\alpha$ -bisabolol、ferrozine、

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)、linoleic acid 及 5-lipoxygenase (廠牌皆為 Sigma) 購自友和貿易股份有限公司 (台北, 台灣)。

## (二) 儀器設備

本研究所使用之分光光度計為 ChromTech 公司 UV-1600 型。

## (三) 乳酸菌菌株篩選 (Isolation of Lactic acid bacteria strains)

篩選數種植物之表面菌株, 並將這些植物來源菌株接種至麵糰中, 培養數代後使特殊菌種成為優勢菌, 再將培養所得之微生物接種至 MRS broth, 37°C 培養 48 小時後, 以四區劃線法至 MRS agar, 挑選數個單一菌落再以 MRS broth 於 37°C 培養 24 小時, 分別挑出生長良好之單一菌落, 以鏡檢、革蘭氏染色 (Gram stain)、catalase 試驗、產氣試驗及運動性特性等生化特性進行菌種確認, 結果呈現 catalase 負反應、革蘭氏陽性、不具運動性, 而外形為桿狀或球形者, 認定其為乳酸菌[2]。同時, 針對篩選所得菌種之發酵液進行 pH 值測定。

## (四) 抗氧化能力之分析

### (1) DPPH 自由基清除能力之測定 (DPPH free radical scavenging activity)

參考 Bondet 等 (1997) 之方法經修飾後行之[13]。取乳酸菌發酵液與新鮮配製之 0.1mM DPPH 之甲醇溶液均勻混合後, 靜置暗處反應 50 分鐘, 以分光光度計測定混合液於 517nm 之吸光值。BHT 為實驗控制組, 利用相對於對照組的吸光值減少百分比計算出各試驗樣品清除 DPPH 自由基之能力。本試驗為 3 次重覆。

### (2) 總還原力測定 (Total reducing power)

參考 Yen 及 Chen (1995) 之方法行之[14]。以 BHT 為對照組, 將不同濃度之乳酸菌發酵產物與 0.2M 磷酸鹽緩衝液 (pH 6.6) 及 1% 赤血鹽經混合

均勻, 於 50°C 水浴 20 分鐘, 再加入 10% 三氯醋酸 (trichloroacetic acid, TCA) 溶液, 200×g 離心 20 分鐘後取上清液與 0.1% 氯化鐵 (FeCl<sub>3</sub>) 溶液反應, 再以分光光度計測定混合液在 700nm 之吸光值, 所測得之吸光值愈高, 則表示樣品之還原力愈強。本試驗為 3 重覆試驗。

### (3) 螯合亞鐵離子能力之測定 (Fe<sup>2+</sup> chelating activity)

參考 Boyer 及 McCleary (1987) 之方法行之[15]。將乳酸菌發酵液與 2 mM 氯化亞鐵反應 30 秒後, 再加入 5mM ferrozine, 於室溫下反應 10 分鐘, 旋即利用分光光度計測定其在 562nm 下之吸光值, 所測吸光值愈低, 表示螯合亞鐵離子之能力愈強。本試驗重覆 3 次。

### (4) 統計分析 (Statistic analysis)

抗氧化分析所得之數據以 Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., 2000) 軟體進行統計分析, 以 ANOVA 程序作變異分析, 並且以鄧肯氏多變域試驗法 (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) 在  $\alpha = 0.05$  下比較平均值之顯著性差異。

## (五) 抗發炎能力測定 (Anti-inflammatory activity)

參考 Ulusu 等人 (2002) 之方法行之[16]。取 5mM 亞麻油酸加入不同濃度樣品, 再加入新鮮配置之 5-lipoxygenase (12.5 unit/ml, 0.1M Tris-HCl buffer, pH8.8) (EC 1.13.11.12, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany), 最終反應總體積以 ddH<sub>2</sub>O 補足, 25°C 水浴反應 10 分鐘後, 測定波長為 234nm 之吸光值, 並以紅沒藥醇 ( $\alpha$ -bisabolol) 為控制組。所測得之吸光度值愈低, 代表抗發炎活性愈佳。本試驗為三重覆試驗。

## (六) 抗菌試驗 (Antibacterial activity)

根據 Rammelsberg 及 Radler (1990) 所述濾紙擴散法 (disc diffusion assay) 行之[17]。取 100 $\mu$ L 培養於適當培養基且生長至指數期 (log phase) 之

表皮葡萄球菌 (*staphylococcus epidermidis* BCRC 11030) 及大腸桿菌 (*Escherchia coli* ATCC 25922) 塗抹於 NA agar 之平板培養基表面，靜置 20 分鐘後，再將滴有 20 麵 L 乳酸菌發酵上清液之圓型濾紙片 (濾紙直徑 8mm) 貼於已塗抹菌液的培養基表面，於 37°C 培養 24 小時，測量其形成透明環的抑菌圈直徑大小。此抑菌圈直徑若在 <11 mm 則為“-” (無抑菌效果)，若大小在 11~16 mm，則以+表示，若大小在 17~22mm，則以++表示，若抑菌圈大小 >23mm，則以+++表示。

### 三、結果與討論

#### (一) 菌種篩選與確認

將自行篩選且培養於麵糰內之菌種以 MRS broth 於厭氧條件下擴大培養，並利用四區劃線法培養至 MRS 平板，隨機挑選不同型態之菌落接種至 MRS broth，於 37°C 厭氧培養 24 小時。去除不符合乳酸菌生化特性之菌株，共篩選出 18 株乳酸菌，生化試驗結果如表 1 所示。

#### (二) 抗氧化能力之分析

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

自由基及活性氧分子的存在與老化及疾病息息相關。人體內雖然具有超氧歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 及麩胱甘肽過氧化酶 (glutathione peroxidase, GSHPx) 等物質能清除體內過多的自由基，但隨著年齡增加及外在不良因子的影響，體內清除自由基的能力會逐漸降低，因此需要其他輔助因子來增強抗氧化能力[18]。而發展以天然物質為主而無副作用的抗氧化劑是現今的趨勢。

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 常被用於抗氧化研究，以檢測抗氧化劑供氫能力。因 DPPH 甲醇溶液於 517nm 下具強吸光效果，抗氧化劑與自由基結合後，將使得吸光值降低或消失，由此可判定樣品捕捉 DPPH 自由基之能力[13]。

表 1、篩選菌種生化試驗結果

菌種編號	型態	觸酶試驗	革藍氏染色	產氣試驗 <sup>a</sup>	運動性
2L	鏈型	-	G(+)	+	無
2S	四球型	-	G(+)	-	無
3W	鏈型	-	G(+)	+	無
3S	四球型	-	G(+)	-	無
4W	鏈型	-	G(+)	+	無
6W	鏈型	-	G(+)	+	無
6Y	鏈型	-	G(+)	+	無
8W	鏈型	-	G(+)	+	無
9	鏈型	-	G(+)	+	無
11W	鏈型	-	G(+)	+	無
13	鏈型	-	G(+)	+	無
16S	鏈型	-	G(+)	+	無
17-1	鏈型	-	G(+)	+	無
18-1L	鏈型	-	G(+)	+	無
18-1S	鏈型	-	G(+)	+	無
18-2	鏈型	-	G(+)	+	無
19-1	鏈型	-	G(+)	+	無
20-2	鏈型	-	G(+)	+	無

a: +表示會產氣，-表示不會產氣

圖 1 為本研究篩選乳酸菌之 DPPH 自由基清除能力分析，結果發現，18 株篩選所得之乳酸菌皆具有良好的 DPPH 自由基清除能力，且其培養 24 小時後之發酵上清液之 DPPH 自由基清除能力可達到 BHT (1mg/ml) 的 57.58%-106.74%，其中表現最佳的菌株為 2S，其 DPPH 自由基清除能力為人工合成抗氧化劑 BHT 的 106.74%。顯示本研所得之乳酸菌發酵上清液之 DPPH 自由基清除能力極佳。

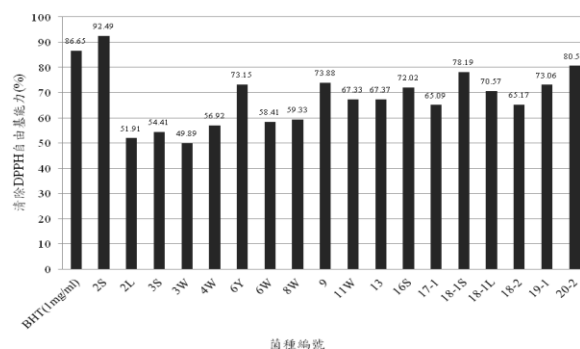


圖 1、乳酸菌發酵上清液之 DPPH 自由基清除能力分析

(2) 總還原力 (Total reducing power)

還原劑 (reducing agents) 可還原已氧化的過氧化物以減緩氧化作用。因此測定抗氧化物的還原力能以得知其抑制活性自由基的能力。若樣品具還原力，會將  $Fe^{3+}(CN)_6$  還原成  $Fe^{2+}(CN)_6$ ，再與  $Fe^{3+}$  形成普魯士藍 ( $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ )，普魯士藍為一深藍色之化合物，在 700 nm 具有最大吸光值，故當反應所得之吸光值愈高，則表示樣品的還原力愈強。

圖 2 為本研究篩選乳酸菌之總還原力分析，結果發現，除 3S、4W 及 18-1L 之發酵上清液具有良好的總還原力外，其他乳酸菌之總還原力都較 BHT (0.5 mg/ml) 弱。且經統計分析發現 3S 之總還原力與 BHT (0.5 mg/ml) 有顯著性差異 ( $p < 0.05$ )，4W 及 18-1L 則與 BHT (0.5 mg/ml) 具有相同的還原效力。

以 1 mg/ml BHT 為基準值 (98.5%)，3S、4W、9、18-1L 四株乳酸菌的還原力功效較為明顯，其中以 3S (57.94%) 為最高，其次為 18-1L (52.27%)、4W (49.19%)、9 (42.71%)，其餘菌株則介於 26.27% 至 37.14%，還原能力較弱。

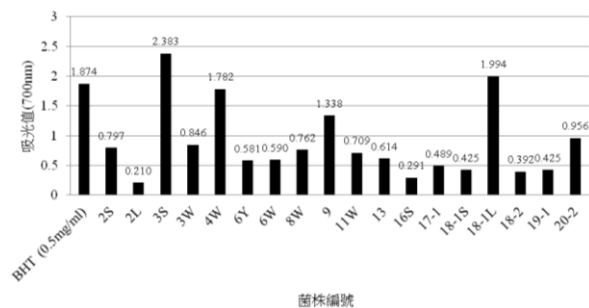


圖 2、乳酸菌發酵上清液之總還原力分析

(3) 螯合亞鐵離子能力 (Metal chelating activity)

金屬離子可以催化脂質氧化的發生，因此，具有螯合金屬能力的物質，可用於避免金屬離子所誘導的脂質過氧化作用。亞鐵離子 ( $Fe^{2+}$ ) 為最具影響力的助氧化劑之一，其會藉由 Fenton 反應生成羥基自由基 ( $\cdot OH$ )，亦會與過氧化脂質 (LOOH) 反應生成氧化脂質自由基 ( $LO\cdot$ )，對細胞造成破壞，因此具有螯合  $Fe^{2+}$  能力之物質，可作為抗氧化的協

同劑。由於  $Fe^{2+}$  能與 Ferrozine 形成複合物，在 562 nm 具有最大吸光值，故反應所得之吸光值愈低表示樣品螯合  $Fe^{2+}$  的能力愈強[15]

圖 3 為本研究篩選乳酸菌之螯合亞鐵離子能力分析，結果發現僅有 13 株乳酸菌之發酵上清液具有螯合亞鐵離子之能力，且不同乳酸菌發酵上清液對亞鐵離子捕捉活性差異相當大，有 5 株乳酸菌 (6Y、9、18-1S、18-1L 及 20-2) 之發酵上清液不具有螯合亞鐵離子之能力，其他 13 株乳酸菌發酵上清液對亞鐵離子之螯合能力為 3.04-76.36%，其中又以 2S 及 3S 效果最好，在 EDTA (1mg/ml) 螯合率為 98.51% 時，其螯合率分別為 76.36% 及 76.1%，效果是 EDTA (1mg/ml) 的 77.56% 及 77.26%。

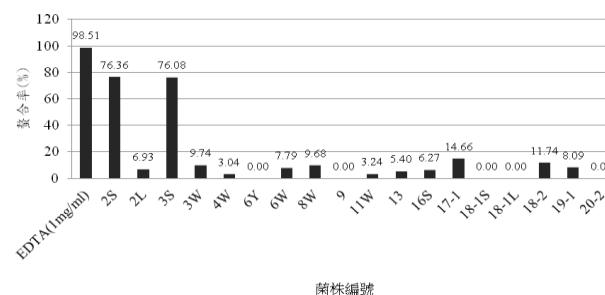


圖 3、乳酸菌發酵上清液之螯合亞鐵離子能力分析

(三) 抗發炎能力測定

亞麻油酸 (Linoleic acid) 過量存在，會增加花生四烯酸 (Arachidonic acid) 在生物體內的含量，花生四烯酸為二十碳不飽和脂肪 (C20:4)，是參與發炎反應重要物質，其會形成白烯素 (leukotriene, LT) 類化合物等親發炎性的二十碳酸，是引起發炎反應的重要媒介物，這些物質會使血管擴張、組織液滲出，並刺激產生痛覺[19]。許多研究顯示抑制花生四烯酸的代謝可抑制老鼠皮膚發炎及腫瘤[20-22]。因此，抑制花生四烯酸代謝可阻止或治療發炎產生的相關疾病。而體外脂質氧合酶抑制分析法是評估抗發炎活性的重要方法，脂質氧合酶 (5-Lipoxygenase, 5-LOX) 會催化生成細胞發炎前驅物質-白烯素之機轉，因此，對於反應中 5-LOX 的抑制能力，可用來篩選及比較樣本之抗發炎活性

[23]。5-LOX 會氧化多元不飽和脂肪酸之 pentadiene 結構，當添加抑制劑時會降低其不飽和脂肪酸之改變，在測定 OD<sub>234 nm</sub> 下所測的吸光值也愈低，而紅沒藥醇 ( $\alpha$ -bisabolol) 被廣泛用在皮膚舒緩以及具有強烈抑制 5-LOX 活性作用，故本研究以之為控制組。

結果如圖 4 所示，以紅沒藥醇 ( $\alpha$ -bisabolol) 為控制組時，18 株乳酸菌中僅有 11 株具有抗亞麻油酸過氧化的作用，其中抑制率最高者為 20-2 的 202.78%，最低者為 2S 的 16.32%，其抗發炎能力具有顯著性差異 ( $p < 0.05$ )。2L、4W、8W、11W、16S、18-1L 及 19-1 之發酵上清液則無抗發炎能力。顯示部分乳酸菌之上清液具有良好之抗發炎能力，可應用於抗敏化妝保養品之開發。

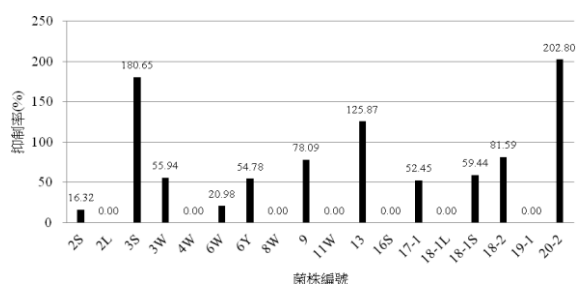


圖 4、乳酸菌發酵上清液之抗發炎能力分析

#### (四) 抗菌試驗

對保養品及化妝品製品而言，產品在製造過程與消費者使用期間，皆可能會受到微生物污染。為了在有效的使用期限內，維持產品的穩定性，避免微生物污染所引起的腐壞與變質，一般產品會添加防腐劑於化妝品中來延長產品的保存期限與降低微生物的生存能力。但是當消費者大量使用或局部使用防腐劑總量累積偏高時，就可能增加皮膚的損害之風險，引起過敏反應，形成接觸性皮膚炎等皮膚疾病。另外，由於細菌對抗生素的抗藥性有增強趨勢，以及一些藥物或是防腐劑普遍存在對皮膚有過敏性或致癌性等的潛在危險性，因此已有愈來愈多研究從自然界中尋找天然的有效抗菌物質來取代防腐劑或藥物的應用。

本研究以濾紙擴散法測試乳酸菌胞外液對細菌生長的影响。經研究結果發現，所有乳酸菌發酵上清液在試驗皆無抑菌環的生成，顯示本研究所篩選之所有乳酸菌胞外上清液對表皮葡萄球菌 *Staphylococcus epidermidis* BCRC 11030 及大腸桿菌 *Escherichia coli* ATCC 25922 皆無抑菌效果。

將受試菌株接種於 MRS broth，於 37°C 厭氧環境培養 48 小時後，發酵液以 pH meter 測定 pH 值，結果發現本研究所篩選之乳酸菌之大部分發酵液 pH 值會由 6.32 降低至 4.41-4.45，菌株 17-1 之發酵液 pH 值略低，約為 4.25，而 2S 及 3S 之發酵液 pH 值較低，分別為 3.90 及 3.94，若將之添加於保養品中並配合其他天然抑菌成分應可抑制部分微生物的生長。但是由於本研究使用胞外發酵液進行實驗，未來將進一步探討胞內液之抑菌能力，以期獲得具有良好抑菌效果之菌株，並探討自行篩選之乳酸菌胞內液及發酵胞外液之抑菌效果的差異。

## 四、結 論

本研究針對自行培養之 18 隻乳酸菌株進行抗氧化實驗以評估抗老化之能力，並進行抗發炎實驗評估抗發炎能力。結果發現 18 株乳酸菌皆具有優良的 DPPH 自由基清除能力，其中又以 2S 最佳；3S、4W、9 及 18-1L 此 4 株乳酸菌之總還原力較其他乳酸菌株明顯；而 2S 及 3S 之螯合亞鐵離子能力最佳；在抗發炎實驗中，則發現 20-2 及 3S 之效果最為顯著。綜合來說，3S 菌株在各項活性評估上表現相對較佳。

本研究之結果顯示自行篩選之植物性來源乳酸菌皆具有良好之抗氧化能力，但是不同乳酸菌株發酵物之抗氧化能力及抗發炎能力不同，且 18 株乳酸菌經不同的試驗方法表現出各有所長的作用活性，推測可能是由於不同乳酸菌株的一次代謝產物或是二次代謝物不同所造成，因此，未來可針對篩選出之有效乳酸菌菌株 (如 3S 等) 做進一步的

發酵物成份分析，並藉由動物與人體試驗來研究其活性成份在生理功能上之功效。

由於抗氧化能力為評估抗過敏產品效力的重要指標，且過去有研究發現，混合菌種之功效優於單一菌種[24]，因此，未來或許可將篩選出之有效菌株進行混合搭配，並進一步應用於抗敏保養化妝品，以提升其利用價值及拓展應用領域，開創新一代的抗老及抗敏產品。

## 感 謝

本研究承蒙遠東科技大學提供經費補助使實驗能順利進行，特此感謝。

## 參考文獻

- [1] R. Havennar and J. H. J. Husis in't Veld, The Lactic Acid Bacteria. Wood B.J.B. ed. 1: 151-170. 1992.
- [2] F. J. Carr, D. Chill and N. Maida, The lactic acid bacteria: a literature survey. Crit Rev Microbiol 28: 281-370. 2002.
- [3] M. Sarrela, L. Lahteenmaki, R. Crittenden, S. Salminen and T. Mattila-Sandholm, Gut bacteria and health foods 3/4 the European perspective. Int J Food Microbiol 78: 99-117. 2002.
- [4] 潘子明.我國乳酸菌最近的研究趨勢暨通過健康食品認證之乳酸菌產品現況.農業生技產業季刊 3: 19-27. 2005.
- [5] 陳慶源.綜論乳酸菌之多元化應用.食品工業 40(9): 1-3. 2008.
- [6] R. Barrons and D. Tassone, Use of *Lactobacillus* probiotics for bacterial genitourinary infections in women: a review. Clin Ther 30: 453-68. 2008
- [7] S. Khani, H. M. Hosseini, M. Taheri, M. R. Nourani and A. A. Imani Fooladi, Probiotics as an alternative strategy for prevention and treatment of human diseases: a review. Inflamm Allergy Drug Targets 11: 79-89. 2012.
- [8] L. Kopp-Hoolihan, Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. J Am Diet Assoc 101: 229-38; quiz 239-41. 2001
- [9] M. Heyman, Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases. J Am Coll Nutr. 19: 137S-146S. 2000.
- [10] S. Scheinbach, Probiotics: functionality and commercial status. Biotechnol Adv 16: 581-608. 1998.
- [11] F. Guarner and J. R. Malagelada, Gut flora in health and disease. The Lancet 360: 512-519. 2003.
- [12] S. Parvez, K. A. Malik, S. A. Kang and H. Y. Kim, Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. J Applied Microbiol 100: 1171-1185. 2006.
- [13] V. Bondet, W. Brand-Williams and C. Berset, Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. J Food Sci Technol 30: 609-615. 1997.
- [14] G. C. Yen and H. Y. Chen, Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their anti-mutagenicity. J Agric Food Chem 43:27-32. 1995.
- [15] R. F. Boyer and C. J. McCleary, Superoxide ion as a primary reductant in ascorbate-mediated ferritin iron release. Free Radic Biol Med 3: 389-395. 1987.
- [16] N. N. Ulusu, D. Ercil, M. K. Sakar, and E. F. Tezcan, Abietic acid inhibits lipoxygenase activity. Phytother Res 16: 88-90. 2002.
- [17] M. Rammelsberg and F. Radler, Antibacterial polypeptides of *Lactobacillus* species. J Applied Microbiol 69: 177-184. 1990.
- [18] B. Halliwell and J. M. Gutteridge, Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford University Press Inc. New York. USA. 1999.
- [19] 黃智生.發炎反應—常見文明病的始作俑者.科學發展 422: 6-10. 2008.
- [20] J. Chang, R. P. Carlson, L. O'Neill-Davis, B.



- Lamb, R. N. Sharma and A. J. Lewis, Correlation between mouse skin inflammation induced by arachidonic acid and eicosanoid synthesis. *Inflammation* 10: 205-214. 1986.
- [21] A. H. Conney, T. Lysz, T. Ferraro, T. F. Abidi, P. S. Manchand, J. D. Laskin and M. T. Huang, Inhibitory effect of curcumin and some related dietary compounds on tumor promotion and arachidonic acid metabolism in mouse skin. *Adv Enz Regulation* 31: 385-396. 1991.
- [22] P. C. Calder, Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: new twists in an old tale. *Biochimie* 91: 791-795. 2009.
- [23] O. Werz and D. Steinhilber, Development of 5-lipoxygenase inhibitors lessons from cellular enzyme regulation. *J Bio Pharmacol* 70: 327-333. 2005.
- [24] C. M. Chapman, G. R. Gibson and I. Rowland, Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? *Eur J Nutr.* 50: 1-17. 2011.

