

國立臺灣大學生物資源暨農學院食品科技研究所

博士論文

Institute of Food Science and Technology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Doctoral Dissertation

介質研磨紅棗作為乳酸菌益生質及改善結腸發炎

Study on alleviative effect of lactic acid bacteria on intestinal
inflammation by using media-milled jujube as prebiotic

康宏毅

Hong-Yi Kang

指導教授：潘敏雄 博士

Advisor: Min-Hsiung Pan, Ph. D.

共同指導教授：葉安義 博士

Co-Advisor: An-I Yeh, Ph. D.

中華民國 114 年 7 月

July 2025





國立臺灣大學博士學位論文
口試委員會審定書

DOCTORAL DISSERTATION ACCEPTANCE CERTIFICATE
NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY

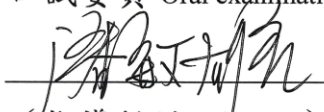
介質研磨紅棗作為乳酸菌益生質及改善結腸發炎

Study on alleviative effect of lactic acid bacteria on intestinal inflammation by using
media-milled jujube as prebiotic

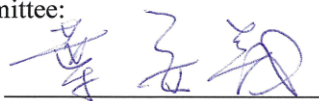
本論文係 康宏毅 (D01641001) 在國立臺灣大學 食品科技研究所 完成之博士
學位論文，於民國 114 年 7 月 17 日承下列考試委員審查通過及口試及格，
特此證明。

The undersigned, appointed by the Institute of Food Science and Technology National Taiwan
University on 17th July 2025 have examined a Doctoral Dissertation entitled above presented by
Hong-Yi Kang (D01641001) candidate and hereby certify that it is worthy of acceptance.

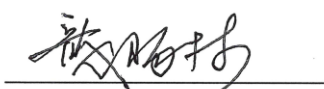
口試委員 Oral examination committee:

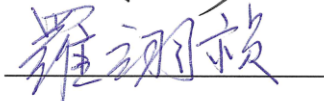


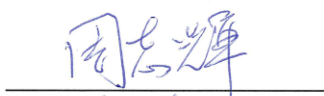
(指導教授 Advisor)

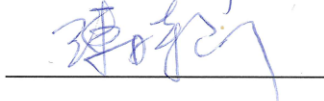


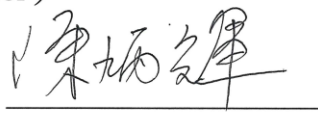
(共同指導教授 Co-Advisor)





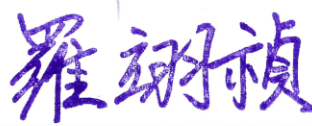








系（所、學位學程）主管 Director:



誌謝



在人生旅程的重要時刻回首，歷經多年博士班的淬鍊，終於完成這一階段的學習與研究歷程。這段期間有許多貴人與前輩的提攜與協助，是我能順利完成博士學位的重要支柱。在此，謹致上最誠摯的感謝。首先，誠摯感謝恩師指導教授葉安義老師多年來的細心指導與教誨。老師常提醒說：「別人叫你跳海，你就跳海嗎？」這句話深植學生心裡，教導思辨與獨立思考的精神，鼓勵跳脫框架，勇於發現與解決問題。老師敏銳的觀察力與治學態度，是學生學習的典範，受益良多，感激不盡。誠摯感謝指導教授潘敏雄老師，於葉老師退休後給予極大的支持與協助，讓學生得以順利完成學位，能成為潘家的一份子，是學生莫大的榮幸。亦感謝陳時欣老師在博士階段的協助，無論是實驗討論或實驗室空間協助，皆給予學生莫大的幫助，完成博士旅程的最後一哩路。感謝博士論文口試委員葉安義老師、潘敏雄老師、羅翊禎老師、陳時欣老師、龔瑞林老師、周志輝老師及陳炳輝老師，於百忙之中撥冗審閱並指正論文，所提出的寶貴建議，使本研究之論述更臻完整。感謝謝淑貞老師與學生討論實驗與關懷，感謝羅翊禎老師於乳酸菌相關研究的討論及協助，感謝台大園藝系徐源泰院長、吳思節老師的鼓勵及關心。同時，感謝宜大的師長們，陳輝煌老師、黃俊儒老師、陳淑德老師與黃中宜老師，雖然已畢業多年，仍持續給予學生關懷與鼓勵，深感溫暖。

在生活與學習中，感謝一路相挺的夥伴，感謝時欣老師、蛋哥亘倫、林博華宗共同經歷許多人生挑戰，是我堅實的後盾。感謝食科所李媽美慧，平日的照顧與關懷，感謝周先生、羅先生、周小姐、陳小姐在行政事務上的協助。感謝博士班夥伴，文昌學長、俊霆學長、航哥世航、阿德尤德、欣平學長、威成學長、學弟憲騰，一起打籃球、騎單車、聚餐，分享生活點滴，一起熱血瘋狂過，有你們真好。

感謝葉老師團隊，感謝師母的實驗經驗分享，感謝怡嫻學姊、櫟宣學姊、維智學長的照顧及實驗協助。感謝在實驗室一起打拼的學弟妹，莎莉、宗毓、奕廷、儒寬、珮君、少君、力文、孟庭、苑仁、元容、垂諭、韋友、光哲、琳元、鎔恩、文晗、彥程、家豪、皓歲、紘菽、佩錡、沛馨、宜庭、湘盈、鄧璐、瀾齡、怡安，謝謝你們一路上的互助與陪伴。

感謝潘老師團隊在研究後期給予的協助，感謝培聖、雅淳、燕濬、偉盛、品

諭、豈毓、雅如、嫵臻學姊、雅嵐學姊、怡塵、兆怡，在研究與行政事務的幫助，亦感謝許多潘家學弟妹在學位考核與論文準備過程中的加油打氣與協助。

感謝時欣老師團隊，屏婷、詩怡、欣芳、伸吉、信宏、竹君、芳如、沛文、之玥、珮毓、詩敏、泓維，在學術與生活上的交流，在休息室一起分享的歡樂時光。

特別感謝阿德、燕濬、偉盛在期刊投稿過程中給予莫大的協助，非常感謝！此外，亦感謝所有在求學過程中給予我幫助與鼓勵的朋友們，因篇幅所限未能一一列名，敬請見諒。

最後，獻上最深的感謝給我摯愛的家人，爸爸、媽媽、弟弟、舅舅們、阿姨，感謝你們長年來的支持與生活上的照顧，讓我無後顧之憂地完成學業。謹將此學位獻給在天上的媽媽、爺爺、奶奶、外公與外婆，我做到了！謝謝你們一路以來的守護與愛護。回顧博士求學之路，歷經高低起伏，所有遇見的人事物都是我成長的養分。儘管過程不易，唯有不懼困難、勇往直前，才能結出甜美果實。願將這份喜悅與所有關心我的人一同分享，也期許自己能夠「永保初心」，將所學貢獻於社會與人群。

康宏毅 謹誌於

國立臺灣大學 食品科技研究所

中華民國 114 年 8 月

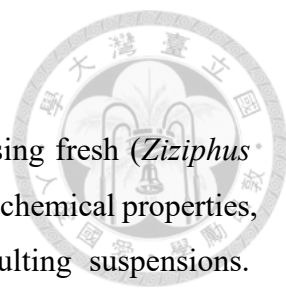
摘要



本研究系統性評估介質研磨技術應用於新鮮紅棗 (*Ziziphus jujuba* Mill.) 及紅棗干之加工，探討其對懸浮液之物理與化學性質、生物活性化合物含量及潛在功能應用的影響。實驗針對固形物含量與研磨時間進行最佳化分析，結果顯示理想製備參數為：紅棗原料濃度為 5% (固形物基準)，其中新鮮果實需研磨 180 分鐘，紅棗干則以 120 分鐘研磨時間為佳。粒徑分析結果顯示，鮮棗懸浮液之體積平均粒徑由 $229.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$ 顯著降至 $25.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ，數量平均粒徑由 $7.2 \pm 0.0 \mu\text{m}$ 降至 $0.1 \pm 0.0 \mu\text{m}$ ；棗干懸浮液方面，其體積平均粒徑由 $146.3 \pm 1.5 \mu\text{m}$ 降至 $29.4 \pm 0.8 \mu\text{m}$ ，數量平均粒徑亦由 $11.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 降至 $0.1 \pm 0.0 \mu\text{m}$ ，顯示介質研磨處理能顯著破壞紅棗樣品之結構並有效降低粒徑，達到粒子微細化的效果。此外，研磨處理亦改善懸浮液之 ζ 電位、黏度及分散穩定性，並對色澤與 pH 值造成顯著變化，顯示介質研磨技術對產品物理與化學性質具有多重影響。活性成分方面，新鮮果實經介質研磨後，可提升懸浮液水相中總類黃酮含量由 2.9 ± 0.1 增至 $3.8 \pm 0.0 \text{ mg}$ 兒茶素當量/g 乾物重 (DW)，總三萜類含量亦由 15.4 ± 1.2 提升至 $28.0 \pm 4.9 \text{ mg}$ 齊墩果酸當量/g 乾物重 (DW)。原料類型方面，紅棗干經介質研磨與熱水萃取後所測得之活性成分含量皆優於攪碎處理。在抗氧化活性方面 (DPPH、FRAP、ABTS)，研磨前後樣品變化不大，懸浮液皆具有良好的抗氧化效力。綜合上述結果，選擇鮮棗懸浮液作為後續乳酸菌發酵、細胞實驗與小鼠結腸炎模型試驗之研究樣品。經 *Lactiplantibacillus plantarum* 發酵後顯示，無論經攪碎或介質研磨處理，懸浮液皆為良好發酵基質，可有效被乳酸菌利用並產生乳酸。進一步以 RAW 264.7 巨噬細胞進行抗發炎試驗，結果顯示鮮棗懸浮液可抑制一氧化氮與促發炎細胞激素 IL-1 β 的產生，具備調節發炎反應的潛力。然而，在 DSS 誘導性結腸炎小鼠模型中，儘管介質研磨鮮棗懸浮液顯示安全性，仍未觀察到顯著的保護作用。總結而言，介質研磨技術可有效提升紅棗懸浮液之物理穩定性與活性成分釋放效率，亦展現作為功能性食品或健康促進素材之應用潛力，未來可望進一步應用於營養補充品、保健飲品與疾病管理相關產品的開發與產業化推廣。

關鍵詞：介質研磨、紅棗、發炎、發酵

Abstract



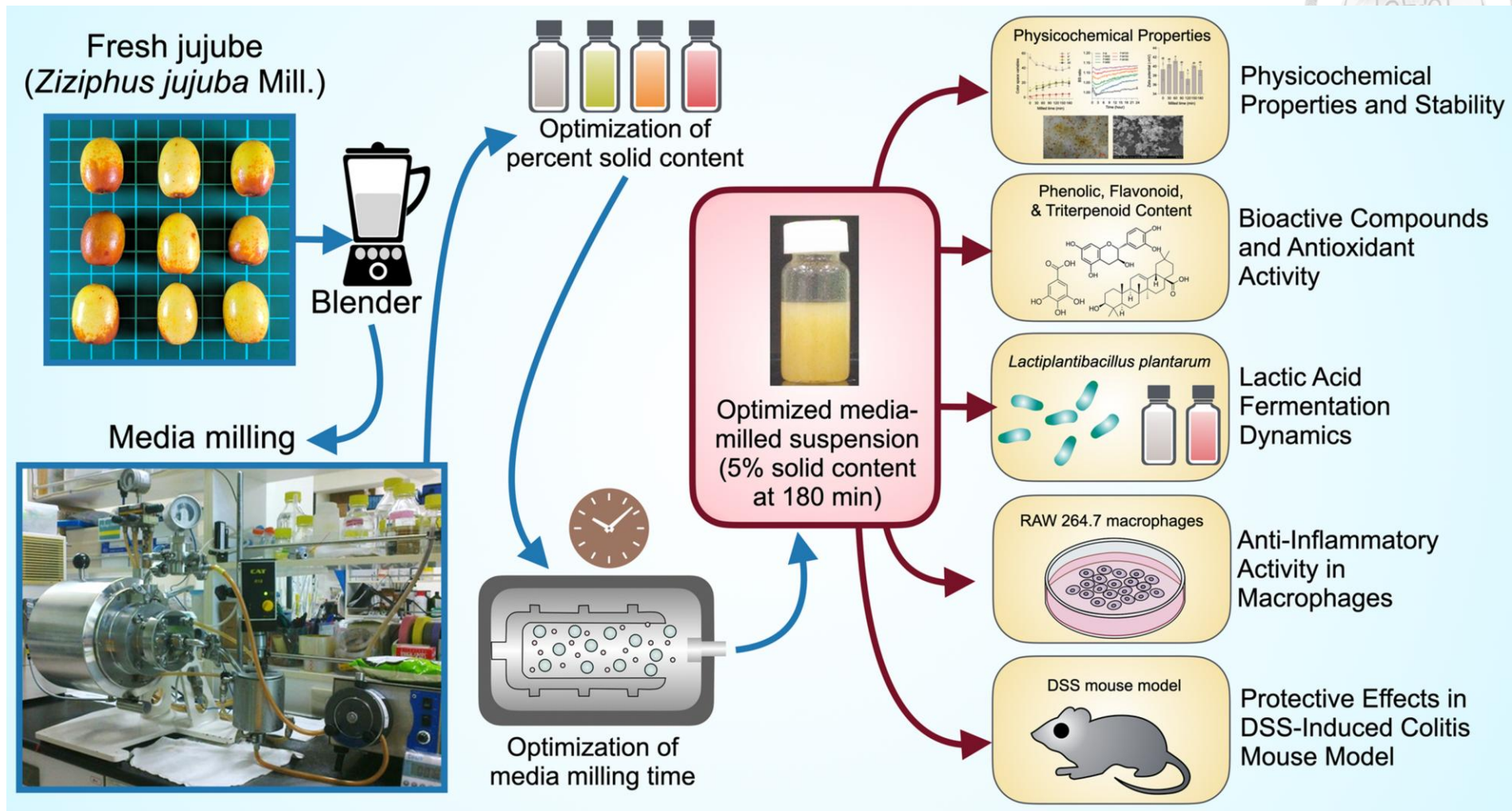
This study systematically evaluated media milling for processing fresh (*Ziziphus jujuba* Mill.) and dried jujube, and examined its effects on the physicochemical properties, bioactive compound content, and functional potential of the resulting suspensions. Optimization of solids content and milling time indicated that the ideal conditions were 5 % (w/w) total solids, with milling times of 180 min for fresh fruit and 120 min for dried fruit. Particle size analysis showed that the volume-weighted mean diameter of the fresh jujube suspension decreased markedly from $229.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$ to $25.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$, while the number-weighted mean diameter fell from $7.2 \pm 0.0 \mu\text{m}$ to $0.1 \pm 0.0 \mu\text{m}$. For the dried jujube suspension, the volume-weighted mean diameter was reduced from $146.3 \pm 1.5 \mu\text{m}$ to $29.4 \pm 0.8 \mu\text{m}$ and the number-weighted mean diameter from $11.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$ to $0.1 \pm 0.0 \mu\text{m}$. These results confirm that media milling effectively disrupts jujube structure and micronizes the particles. Concurrently, milling improved ζ -potential, viscosity, and dispersion stability, and significantly altered color and pH, indicating multiple impacts on product quality. Regarding bioactive constituents, milling fresh fruit increased the total flavonoid concentration in the aqueous phase from 2.9 ± 0.1 to 3.8 ± 0.0 mg catechin equivalents (CE)/g dry weight (DW) and the total triterpenoid content from 15.4 ± 1.2 to 28.0 ± 4.9 mg oleanolic acid equivalents (OAE)/g DW. For dried fruit, both media milling and hot water extraction yielded higher bioactive compound levels than blending. Antioxidant activities (DPPH, FRAP, and ABTS assays) showed only minor changes before and after milling, indicating that all suspensions retained strong antioxidant capacity. Based on these findings, the fresh jujube suspension was selected for further studies involving lactic acid bacteria fermentation, cell assays, and a dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis model. Fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* demonstrated that both blending and media milled suspensions served as excellent substrates, supporting bacterial growth and lactic acid production. In RAW 264.7 macrophages, the fresh jujube suspension suppressed nitric oxide production and the pro-inflammatory cytokine IL-1 β , indicating anti-inflammatory potential. In a DSS-induced colitis model, the media milled suspension was safe but did not confer significant protection. In summary, media milling markedly enhances the physical stability and release of bioactive compounds in jujube suspensions, underscoring its promise as a platform for functional food or health promoting ingredients. The technology could be

further leveraged to develop nutritional supplements, functional beverages, and products aimed at disease management and commercialization.

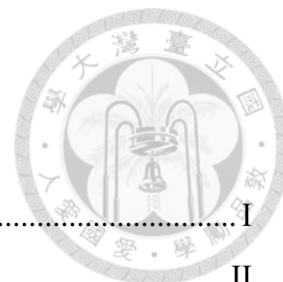
Key words: media milling, *Ziziphus jujuba* Mill., inflammation, fermentation.



Graphical abstract



目次



口試委員會審定書	I
誌謝	II
摘要	IV
Abstract.....	V
Graphical abstract	VII
目次	VIII
圖次	XI
表次	XII
附圖次	XIII
附表次	XIV
縮寫表	XV
壹、文獻回顧	1
一、 紅棗	1
(一) 紅棗之簡介	1
(二) 紅棗組成分	4
(三) 紅棗植化素	6
二、 濕攪拌介質研磨	13
(一) 濕式攪拌介質研磨製程原理	13
(二) 濕式攪拌介質研磨的應用	15
三、 免疫系統與發炎反應	15
(一) 免疫系統 (Immune system)	15
(二) 免疫細胞 (Immunocyte) 及細胞激素 (Cytokines)	17
(三) 發炎反應 (Inflammation)	20
四、 研究腸道發炎之動物模式	21
貳、研究目的與架構	25
一、 研究目的	25

二、 實驗架構.....	26
參、材料與方法	27
一、 原料藥品及儀器耗材.....	27
(一) 原料與藥品	27
(二) 儀器與耗材	27
二、 紅棗懸浮液樣品製備.....	31
(一) 鮮棗粗碎 (Blending).....	31
(二) 鮮棗介質研磨 (Media milling).....	31
(三) 紅棗干粗碎	31
(四) 紅棗干介質研磨	32
(五) 紅棗干熱水萃取 (Hot water extraction).....	32
三、 分析方法.....	32
(一) 基本成分分析	32
(二) 粒徑分析	34
(三) 粒徑跨度	35
(四) 多分散指數	35
(五) 粒子粉碎率	35
(六) 型態觀察	35
(七) 酸鹼值	36
(八) 界面電位分析 (Zeta potential, ζ -potential)	36
(九) 懸浮液穩定性分析	36
(十) 懸浮液之濁度分析	37
(十一) 顏色分析	37
(十二) 黏度測量	38
(十三) 總多酚含量分析 (Total polyphenols content, TPC).....	38
(十四) 總類黃酮含量分析 (Total flavonoid content, TFC).....	39
(十五) 總三萜類含量分析 (Total Triterpenoid Content, TTC)	39
(十六) 三萜類萃取與分析	39

(十七) DPPH 自由基清除能力 (DPPH free radical scavenging effect).....	41
(十八) 還原能力 (Reducing power).....	42
(十九) 總抗氧化能力 (Total antioxidant activity)	42
(二十) 鐵還原抗氧化能力 (Ferric reducing antioxidant power assay, FRAP) .	43
(二十一) 細胞試驗	43
(二十二) 細胞產物之測定	45
(二十三) 乳酸菌發酵	46
(二十四) DSS 誘導結腸炎動物模式	46
(二十五) 數據統計分析	47
肆、結果與討論	48
一、紅棗基本成分與物化性質	48
(一) 基本成分	48
(二) 介質研磨鮮棗懸浮液粒徑特性	50
(三) 介質研磨鮮棗懸浮液物化性質與穩定性	54
(四) 介質研磨鮮棗活性化合物及抗氧化活性	61
(五) 介質研磨紅棗干懸浮液粒徑特性	66
(六) 介質研磨置換時間	69
(七) 介質研磨紅棗干懸浮液物化性質與穩定性	71
(八) 介質研磨紅棗干活性化合物及抗氧化活性	80
二、介質研磨鮮棗懸浮液乳酸菌發酵	82
三、介質研磨鮮棗懸浮液之抗發炎活性	85
四、介質研磨鮮棗懸浮液對 DSS 誘導性結腸炎小鼠模型之保護效應	88
伍、結論與展望	92
陸、參考文獻	94
柒、已發表之國際期刊論文	111

圖次

圖一、台灣苗栗縣公館鄉之雞心棗	49
圖二、固形物濃度及研磨時間對鮮棗懸浮液粒徑特性之影響	52
圖三、鮮棗懸浮液之粒徑分布	53
圖四、介質研磨對鮮棗懸浮液微觀結構及色澤之影響	55
圖五、介質研磨鮮棗懸浮液之物化性質：pH 值、界面電位及黏度	59
圖六、介質研磨鮮棗懸浮液於 24 小時儲存期間之穩定性變化	60
圖七、介質研磨對鮮棗懸浮液之總多酚、類黃酮及三萜類含量的影響	63
圖八、介質研磨對鮮棗懸浮液抗氧化活性之影響	65
圖九、5% 固形物含量棗干懸浮液之粒徑分布	67
圖十、介質研磨處理下不同置換時間之棗干懸浮液粒徑分布	70
圖十一、棗干懸浮液之顯微結構觀察	73
圖十二、不同研磨時間 (0-120 分鐘) 之 5% 固形物含量棗干懸浮液照片	75
圖十三、棗干懸浮液之穩定性變化	79
圖十四、棗干懸浮液之濁度變化率	79
圖十五、 <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> 以粗碎處理新鮮紅棗 (F-B) 與介質研磨 180 分鐘的新鮮紅棗 (F-M180) 為基質進行發酵	84
圖十六、粗碎處理 (F-B) 與介質研磨 180 分鐘鮮棗懸浮液 (F-M) 對脂多醣 (LPS) 刺激之 RAW 264.7 巨噬細胞的影響	86
圖十七、粗碎處理 (F-B) 與介質研磨 180 分鐘鮮棗懸浮液 (F-M) 對脂多醣 (LPS) 刺激之 RAW 264.7 巨噬細胞的影響 (細胞激素)	87
圖十八、粗碎處理 (F-B)、介質研磨 180 分鐘鮮棗懸浮液 (F-M) 及其上清液 (F-S) 對 DSS 誘導性結腸炎小鼠模型之體重變化與表現型的影響	90

表次

表一、雞心棗之基本成分組成	49
表二、研磨時間對 5% 固形物含量棗干懸浮液之平均粒徑及分佈	68
表三、5% 固形物含量介質研磨棗干懸浮液之色澤	75
表四、棗干懸浮液之 pH 值、界面電位及黏度變化	78
表五、棗干懸浮液之總多酚、類黃酮及三萜類含量	81
表六、棗干懸浮液之抗氧化活性	81

附圖次



附圖一、不同成熟階段的棗果	1
附圖二、紅棗乾燥的乾燥果實-核果	2
附圖三、台灣苗栗縣公館鄉之雞心棗 (Jixinzao)	2
附圖四、紅棗相關成分及藥理功效	3
附圖五、紅棗之成分	5
附圖六、濕攪拌介質研磨循環操作製程示意圖	14
附圖七、先天性與適應性免疫反應	17
附圖八、Th1、Th2 細胞及第 1 型、第 2 型細胞激素調節細胞與體液免疫之示意圖	19
附圖九、葡聚糖硫酸鈉之化學結構	22
附圖十、DSS 誘導之結腸炎示意圖	22
附圖十一、熊果酸對小鼠巨噬細胞 (RAW 264.7) 之調控反應	23
附圖十二、介質研磨設備-循環珠磨機外觀	30

附表次

附表一、紅棗三萜類化合物	8
附表二、紅棗之多酚類化合物	10



縮寫表



ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
BA	Betulinic acid
BSA	Bovine serum albumin
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate
D-B	Dried jujube–Blending
D-H	Dried jujube–Hot water extraction
D-M	Dried jujube–Media milling
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
DSS	Dextran sulfate sodium
F-B	Fresh jujube–Blending
FBS	Fetal bovine serum
F-M	Fresh jujube–Media milling
IL-1 β	Interleukin-1 beta
IL-6	Interleukin-6
LAB	Lactic acid bacteria
LPS	Lipopolysaccharides
FRAP	Ferric reducing antioxidant power assay
NF- κ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NO	Nitric oxide
OA	Oleanolic acid
PBS	Phosphate buffered saline
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TFC	Total flavonoid content
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha
TPC	Total polyphenols content
TTC	Total Triterpenoid Content
UA	Ursolic acid
WSMM	Wet stirred media milling

YSZ

Yttrium-stabilized zirconium oxide grinding beads



壹、文獻回顧

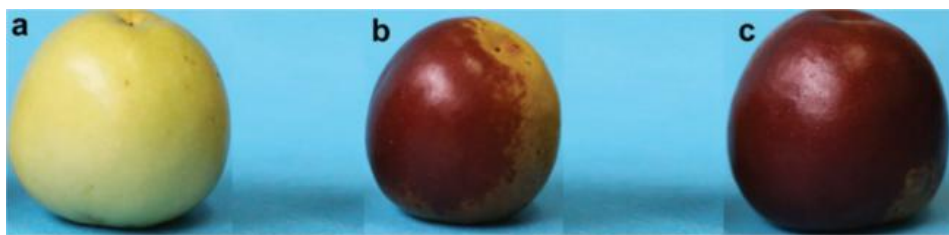


一、紅棗

(一) 紅棗之簡介

紅棗 (*Ziziphus jujuba* Mill. var *inermis* (Bge.) Rehd.)，又稱大棗 (Da Zao)、乾棗、美棗、良棗、中國棗或中華大棗 (Chinese Date, Chinese Jujube, Chinese Red Date) 等，為鼠李科 (Rhamnaceae)，棗屬 (*Zizyphus*) 多年生落葉性果樹 (Lim, 2013; Hamedi *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2020)。落葉喬木，高 5-10 公尺，樹皮褐色，具有皮刺與托葉刺 (Lim, 2013; Rodríguez Villanueva and Rodríguez Villanueva, 2017)。

棗樹的花期在每年 4-5 月，產季採收的熟果期為 7-9 月，果實成熟過程分為白熟期、脆熟期及完熟期等三階段 (附圖一)。紅棗果實呈現卵形至長圓形，核小且兩端呈銳尖狀，成熟時果皮顏色由綠色漸褪為白綠色 (白熟期)，即能採食鮮果；果皮持續由白綠色轉紅色，為最佳採收時期 (脆熟期)，果肉的風味、甜度與脆度均佳；之後果實水分逐漸減少，果皮轉至全紅色，糖分提高 (完熟期)，適合作為加工食用 (林等，2018；Zhang *et al.*, 2020)。紅棗果實於秋季時採收，一般直接以日曬 3 至 5 天，或以 55 至 60°C 烘乾 24 至 30 小時，直到果皮變軟，再輔以日曬製成紅棗干，即為大眾熟知的中藥材 (附圖二)(劉，1998；王等，2003；徐，2004；張，2017；Goyal *et al.*, 2011; Shahrajabian *et al.*, 2020)。



附圖一、不同成熟階段的棗果：a. 白熟期、b. 脆熟期、c. 完熟期。

A. Fig. 1. Jujube fruit at different maturity stages. (a) white maturity, (b) semi-red maturity, (c) full-red maturity.

(Zhang *et al.*, 2020)



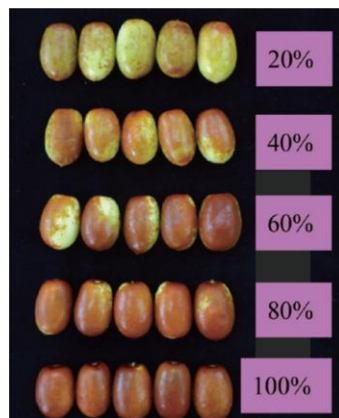
附圖二、紅棗乾燥的乾燥果實-核果。

A. Fig. 2. Chinese jujube's dry fruit – drupe (*Ziziphus jujuba* Mill.)

(Shahrajabian *et al.*, 2020)

紅棗主要產區為亞洲與南歐 (Sabzghabae *et al.*, 2013)，當中全世界約 90% 的產量來自大陸，其栽種區域廣泛，尤其以黃河中下游的河北、山東、河南、山西及陝西等地區產量最高 (Gao *et al.*, 2013; Shahrajabian *et al.*, 2020)。

台灣紅棗，栽培源自廣東省潮安縣，1875 年起於苗栗縣公館鄉石牆村開始種植，品種為雞心棗 (Jixinzao)，現稱為「煥南種」(附圖三)，為本研究使用樣品。雞心棗特色為果實較小，外觀類似雞心得名，呈現橢圓形，果皮顏色深紅，具有光澤，果皮較薄，籽細長偏小，果肉中厚，香氣濃郁等，具藥用價值，亦適合鮮 (即) 食 (劉，1998；呂，2016；張與賴，2020)。目前，苗栗縣公館鄉是全台唯一的紅棗專門生產區，種植地主要分布石牆村及福基村一帶，栽種面積達 60 公頃，平均年產量約為 60 萬公斤 (劉，2000；林等，2018)。

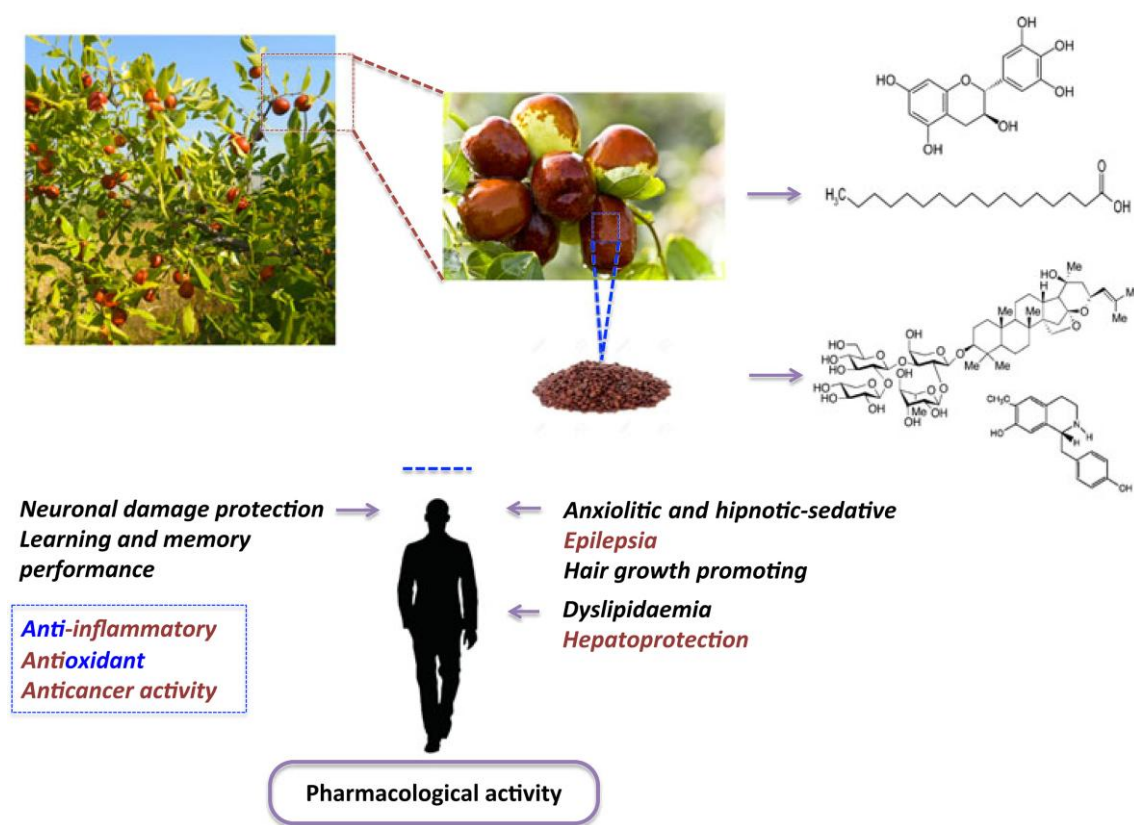


附圖三、台灣苗栗縣公館鄉之雞心棗 (Jixinzao)：五種不同成熟度雞心棗果實。

A. Fig. 3. Jujube (*Ziziphus jujuba* cv. Jixinzao) fruits at five different ripening stages.

(張與賴，2020)

『本草綱目』記載，紅棗性溫、味甘無毒、健胃養脾、緩和強壯、生津益血、鎮靜利尿、養血安神、調和諸藥、氣血津液不足，其棗干可潤心肺、止渴和補五臟(徐，2004；蔡，2004)，是常見的中藥材，也能作為食材直接入膳食用 (Zhang *et al.*, 2003; Sabzghabaee *et al.*, 2013)，我國衛生福利部中醫藥司將紅棗歸類為「可同時提供食品使用之中藥材」品項。此外，伊朗、南非及印度等地，也有食用紅棗改善消化系統疾病、鎮咳與降血壓的紀錄 (Hamedi *et al.*, 2015; Rajopadhye and Upadhye, 2016)。近年研究證實紅棗的活性成分，具備抗氧化、抗發炎、免疫調節、抗腫瘤、保護肝臟、改善癲癇、修復神經損傷、提升學習及記憶表現、抗焦慮、鎮靜安眠及改善血脂異常等功效 (附圖四) (Rodríguez Villanueva and Rodríguez Villanueva, 2017; Liu *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2021)。



附圖四、紅棗相關成分及藥理功效。

A. Fig. 4. Schematic representation of *Ziziphus jujuba* Mills. *Z. jujuba* drugs, active substances and pharmacological actions received special attention.

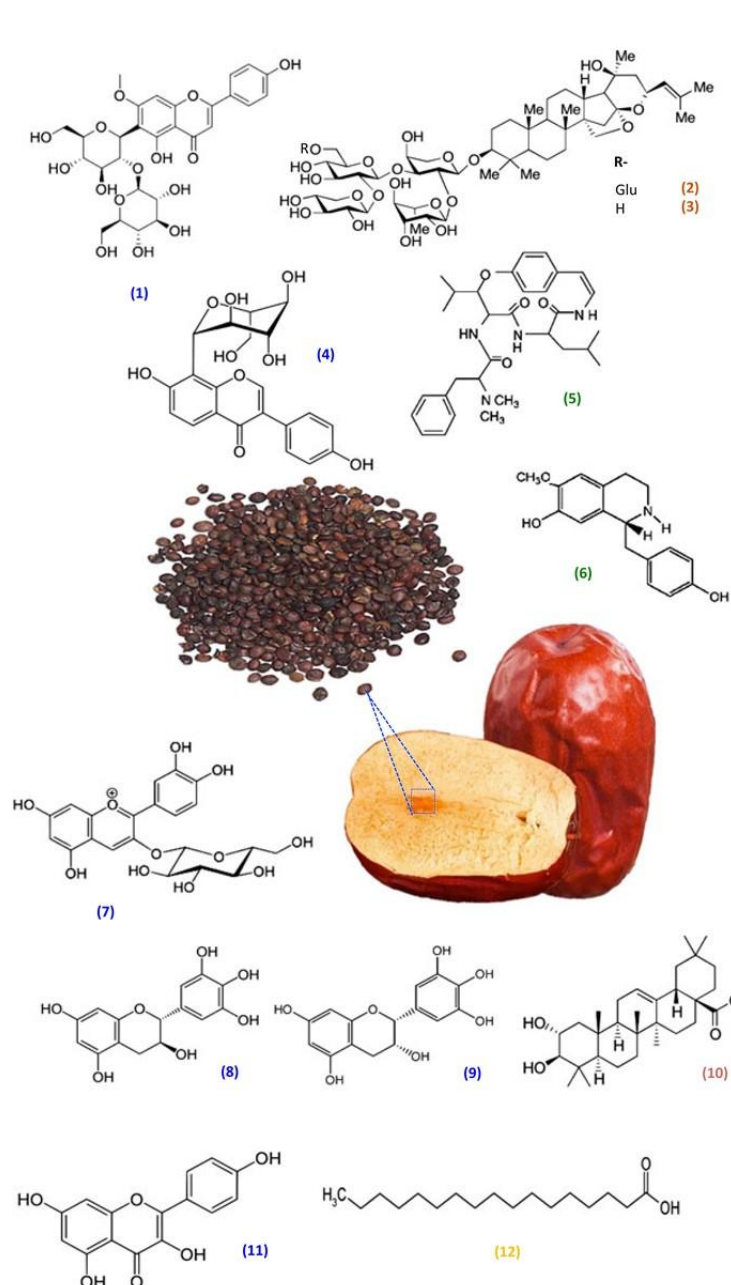
(Rodríguez Villanueva and Rodríguez Villanueva, 2017)

紅棗相關加工食品，包含黑棗、蜜餞、紅棗醬（泥）、紅棗麵、紅棗茶、紅棗冰、紅棗色素及調味料等（于等，2014；鄭等，2017；Lim, 2013; Yue *et al.*, 2014）。近年，市場對功能性食品的需求日益成長，紅棗富含營養與藥用特性備受矚目（Hung *et al.*, 2012），然而紅棗產季短暫，採收及保存不易，新鮮果實容易腐敗，是長久以來保存上的挑戰，限制了鮮棗的應用範疇，故一般選擇曬製紅棗干，作為中藥材（TCM）使用居多（Ruan *et al.*, 2022）。傳統加工方式（如日曬乾燥）存在多項限制，不僅容易造成營養流失、生物活性降低，也使產品形式受限，難以滿足多樣化市場需求，進而影響紅棗產品的市場價值（Gao *et al.*, 2012a; Mao *et al.*, 2024）。此外，台灣目前紅棗產地收成有限，產量供不應求（林等，2018）。因此，為克服上述挑戰，亟需開發能保留紅棗營養完整性，同時拓展產品應用廣度之先進加工技術。

（二）紅棗組成分

紅棗鮮果之基本成分組成，每 100 g 中含水分 77.86 g、熱量 79 kcal、蛋白質 1.20 g、脂肪 0.20 g、碳水化合物 20.23 g (USDA, 2018)；紅棗干，則主要為碳水化合物 55-85%、其次依序為水分 25-30%、粗纖維 2.4-8.4%、粗蛋白質 2.9-6.6% 及粗脂肪 0.4-1.0%，與維生素 A、B1、B2、C 及 E 等成分（Gao *et al.*, 2013; USDA, 2018），礦物質包含：鉀（79-458 mg/100 g）、磷（59-110 mg/100 g）、鈣（46-118 mg/100 g）、錳（25-51 mg/100 g）與砷（25 µg/100 g）等（雷昌貴 *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007）。

紅棗鮮果含有豐富的維生素 C（44 mg/100 g）及多種類黃酮（flavonoids）（附圖五）：斯皮諾素（spinosine）、葛根素（puerarin）、花青基-3-葡萄糖苷（cyanidin-3-glucoside）、沒食子兒茶素（gallic acid）、表沒食子兒茶素（epigallocatechin）及槲皮素（quercetin）；皂苷類（saponin）：酸棗仁皂苷 A、B（jujuboside A, B）及山楂酸（maslinic acid）；生物鹼（alkaloids）：歐鼠李葉鹼 A、K（sanjonine A, k）；脂肪酸類：十七酸（heptadecanoic acid）等（Sun *et al.*, 2011; Hung *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2012; Rodríguez Villanueva and Rodríguez Villanueva, 2017）與多醣類（polysaccharide）、三萜酸類（triterpenoids）等具生物活性的植化素（Chang *et al.*, 2010; Guo *et al.*, 2015; Tahergorabi *et al.*, 2015; Lu *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2024）。此外，紅棗與多數水果相比，含有更高的膳食纖維、糖分、蛋白質與果膠含量，賦予加工應用上多樣性（Ding *et al.*, 2017; Rashwan *et al.*, 2020）。



附圖五、紅棗之成分，紅棗籽：(1) 斯皮諾素、(2) 酸棗仁皂苷 A、(3) 酸棗仁皂苷 B、(4) 葛根素、(5) 歐鼠李葉鹼 A、(6) 歐鼠李葉鹼 K；果肉：(7) 花青基-3-葡萄糖苷、(8) 沒食子兒茶素、(9) 表沒食子兒茶素、(10) 山楂酸、(11) 槲皮素、(12) 十七酸。

A. Fig. 5. Most representative compounds from *Ziziphus jujuba* seeds and fruit. *Z. jujuba* seeds: (1) Spinosine, (2) Jujuboside A, (3) Jujuboside B, (4) Puerarin, (5) Sanjonine A, (6) Sanjonine K. *Z. jujuba* fruit: (7) Cyanidin-3-glucoside, (8) Gallocatechin, (9) Epigallocatechin, (10) Maslinic acid, (11) Quercetin, (12) Heptadecanoic acid.

(Rodríguez Villanueva and Rodríguez Villanueva, 2017)

紅棗之成分組成受種植地影響，包括：生態、品種、成熟階段、氣候、土壤類型及栽種技術等 (Vidrih *et al.*, 2009; Duan *et al.*, 2023; Xing *et al.*, 2025)，後續果實採收的儲存條件與加工程序，造成產品最終成分與含量有所不同 (Davik *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2015)。例如：以冷凍乾燥 (freeze drying) 處理紅棗果實，可保留總多酚與類黃酮，而 50°C 熱風乾燥 (air drying) 以環磷酸腺苷 (cAMP) 及環磷酸鳥苷 (cGMP) 保留較多，皆優於日曬 (sun drying) 及微波 (microwave drying) 方式，依據產品需求，選擇合適之加工程序，可減少紅棗成分的損失 (Wang *et al.*, 2016)。

(三) 紅棗植化素

植化素 (phytochemicals) 係指植物中發現的化合物 (植物次級代謝物)，具有生物活性，作為保護植物不受疾病與損害，促進生長，雖非人體的必須營養素，但對人體健康有益處，目前分為四大類：生物鹼、糖苷、多酚及萜烯 (Saxena *et al.*, 2013)。

紅棗含有的植化素，包括：三萜類 (triterpenoids) (Lee *et al.*, 2004; Lim, 2013)、多酚類 (polyphenol) (雷昌貴 *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2011)、多醣類 (polysaccharide) (Zhao *et al.*, 2006b; Yue *et al.*, 2014; Kao and Chen, 2015)、環單磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、生物鹼 (alkaloids) 及植物固醇 (phytosterol) 等 (王等, 2003; Sun *et al.*, 2011; Hung *et al.*, 2012; Guo *et al.*, 2015)，簡介如下：

A. 三萜類

三萜類是基本母核由 30 個碳原子組成的化合物，分子式為 $C_{30}H_{48}O_3$ ，結構特徵為 6 個異戊二烯單位 $(C_5H_8)_6$ 聚合而成，分子量範圍為 400-600 Da (Patocka, 2003)。多以游離酸或酯的形式存在，而與皂苷的糖苷配基 (aglycones) 結合者，則稱為三萜皂苷 (triterpenoid saponins)。

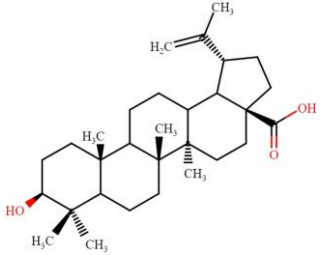
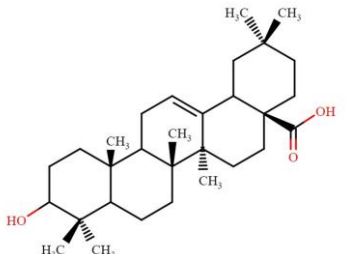
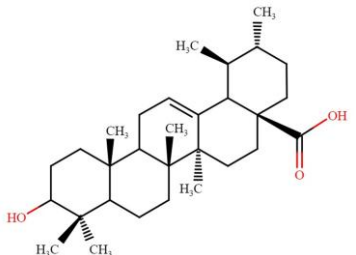
紅棗三萜化合物大部分屬於五環三萜類，可分為 (a) 美洲茶烷型 (ceanothane-type)：colubrinic acid、大棗新酸 (zizyberenic acid)；(b) 羽扇豆烷型 (lupane-type)：麥珠子酸 (alphitolic acid)、朦朧木酸-3-O-順式-對-香豆醯酯 (3-O-cis-p-coumaroyl alphitolic acid)、朦朧木酸-3-O-反式-對-香豆醯酯 (3-O-trans-p-

coumaroyl aliphatic acid)、樺木酸 (betulinic acid, BA)、樺木酮酸 (betulonic acid)；
(c) 齊墩果烷型 (oleanane-type)：山楂酸-3-O-順式-對-香豆醯酯 (3-*O-cis-p*-coumaroyl maslinic acid)、山楂酸-3-O-反式-對-香豆醯酯 (3-*O-trans-p*-coumaroyl maslinic acid)、齊墩果酸 (oleanolic acid, OA) 及齊墩果酮酸 (oleanonic acid)(黃等, 2012; Lee *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2009b; Lim, 2013)。

三萜類偏向親脂性，因結構上的取代基不同，賦予多樣化生物活性。目前多以甲醇或乙醇等有機溶劑萃取，為主要獲得方法。三萜類化合物特徵為 195 至 210 nm 範圍內有強吸收值，通常以高效能液相層析法 (HPLC) 分析。調查 36 種紅棗品種的三萜類成分，發現皆含有 BA (49.6-624.0 $\mu\text{g/g}$)、OA (54.4-458.1 $\mu\text{g/g}$) 及熊果酸 (ursolic acid, UA) (61.6-1512.4 $\mu\text{g/g}$) (Guo *et al.*, 2009a)，顯示此三種化合物為紅棗三萜類主要型式 (胡等, 2011)。而且 BA、OA 及 UA，三者分子量相同 (456.7 g/mol)，係屬五環三萜類同分異構物 (附表一) (Guo *et al.*, 2009a)，特別是 OA (又名土當歸酸, oleanol; caryophyllin) 與 UA (又名烏蘇酸, ursol; prunol; micromerol; malo)，只差異一個甲基位置 (Zacchigna *et al.*, 2008)。溶劑萃取法是目前取得紅棗三萜化合物的主要方式，需使用大量溶劑，衍生相關廢棄物 (萃取殘渣) 及溶劑回收等問題。

附表一、紅棗三萜類化合物

A. Table 1. Triterpenoid compounds in jujube.

Mail class	Names	CAS	Molecular weight (g/mol)	Structure
Triterpenoides	Betulinic acid (BA)	472-15-1	456.709	
	Oleanolic acid (OA)	508-02-1	456.709	
	Ursolic acid (UA)	77-52-1	456.711	

B. 多酚類

酚類化合物 (phenolic compounds) 有一共同的結構特徵—芳香環 (aromatic ring) 上至少有一個羥基取代基 (hydroxyl substituent)，即羥基直接連接於芳香環結構上，符合此特徵者及聚合物皆為酚類，常見的有酚酸 (phenolic acids)、類黃酮 (flavonoids) 及其衍生物。酚酸具有一個羧酸官能基 (carboxylic acid)，依碳骨架，可分為羥基肉桂酸及羥基苯甲酸結構 (Stalikas, 2007; Singla *et al.*, 2019)；類黃酮，主結構由 15 個碳原子組成 C6-C3-C6 骨架，呈現三環結構基礎的黃烷核型式 (flavan nucleus)，至少含有二個酚亞基 (phenol subunits)，若含三個或以上則稱為丹寧 (tannins) (Stalikas, 2007)。

酚類具有氧化還原的特性，常作為還原劑、提供 H 質子、單氧抑制、除去自由基與螯合金屬離子等功能 (Cos *et al.*, 2002; Lucarini *et al.*, 2004)。文獻指出紅棗酚類化合物以綠原酸 (chlorogenic acid)、咖啡酸 (caffeic acid)、蘆丁 (rutin)、兒茶素 (catechin) 及表兒茶素 (epicatechin) 為主 (Hudina *et al.*, 2008)，具有出良好的抗氧化效果 (Li *et al.*, 2005)。

紅棗中多酚類的組成與含量，因品種及產地而異。大陸地區紅棗品種的多酚類分布調查 (附表二)，依序為蘆丁：39.36-98.34 mg/100 g DW，槲皮素 (quercetin)：8.51-23.82 mg/100 g DW；槲皮苷 (quercitrin)：26.58-63.20 mg/100 g DW；根皮苷 (phlorizin)：13.62-53.24 mg/100 g DW；兒茶酚 (catechol)：12.70-45.41 mg/100 g DW；沒食子酸 (gallic acid)：6.37-21.20 mg/100 g DW；兒茶素：5.34-16.25 mg/100 g DW；綠原酸 (chlorogenic)：4.65-18.18 mg/100 g DW；咖啡酸：4.08-15.38 mg/100 g DW；表兒茶素：11.62-31.32 mg/100 g DW； β -香豆酸 (β -coumaric acid)：14.03-37.02 mg/100 g DW；阿魏酸 (ferulic acid)：12.48-37.65 mg/100 g DW；品種方面，以小棗 (*Zizyphus jujuba* cv. *Xiaozao*) 含有最高的總多酚含量 (Zhao *et al.*, 2014)。經日曬製作的紅棗干，酚類化合物以蘆丁 (0.60-5.77 mg/100 g DW)、兒茶素 (0.65-2.12 mg/100 g DW) 及表兒茶素 (0.48-5.13 mg/100 g DW) 含量較高 (Hudina *et al.*, 2008)。



附表二、紅棗之多酚類化合物。

A. Table 2. Phenolic composition of the fruit extracts from seven cultivars of Chinese jujube (mg/100 g DW).

Phenolic compounds	Xiao	Goutou	Jinsi	Yu	Jun	Po	Ban
Rutin	66.81 ± 6.38 ^b	98.34 ± 8.24 ^a	38.08 ± 3.86 ^e	54.21 ± 4.75 ^c	39.36 ± 3.11 ^e	45.52 ± 3.93 ^d	41.26 ± 3.69 ^d
Quercetin	23.82 ± 2.13 ^a	17.43 ± 1.24 ^b	14.26 ± 1.12 ^c	13.33 ± 1.23 ^c	9.43 ± 0.87 ^d	8.51 ± 0.69 ^d	9.34 ± 0.75 ^d
Quercitrin	48.52 ± 3.26 ^b	63.20 ± 5.05 ^a	37.51 ± 2.84 ^d	43.68 ± 4.17 ^c	31.98 ± 3.15 ^e	28.86 ± 2.3 ^f	26.58 ± 2.42 ^f
Phlorizin	53.24 ± 4.07 ^a	45.32 ± 2.14 ^b	31.91 ± 2.83 ^c	29.68 ± 2.52 ^c	21.73 ± 2.28 ^d	19.61 ± 2.11 ^d	13.62 ± 1.02 ^e
Catechol	45.41 ± 3.87 ^a	40.36 ± 4.04 ^b	36.01 ± 3.42 ^c	32.48 ± 2.68 ^d	24.61 ± 2.18 ^e	12.70 ± 1.05 ^f	16.43 ± 1.48 ^g
Gallic acid	21.20 ± 2.02 ^a	16.01 ± 1.41 ^b	14.84 ± 1.21 ^c	12.06 ± 1.57 ^d	9.65 ± 0.78 ^e	8.53 ± 0.72 ^f	6.37 ± 0.45 ^g
Catechin	16.25 ± 1.32 ^a	13.64 ± 1.01 ^b	11.25 ± 0.89 ^c	10.22 ± 0.97 ^d	7.66 ± 0.81 ^e	7.53 ± 0.61 ^e	5.34 ± 0.43 ^f
Chlorogenic	18.18 ± 1.81 ^a	16.82 ± 1.26 ^b	10.26 ± 0.84 ^c	9.36 ± 0.96 ^d	6.29 ± 0.49 ^e	5.58 ± 0.55 ^e	4.65 ± 0.42 ^f
Caffeic acid	15.38 ± 1.27 ^a	12.14 ± 1.09 ^b	10.62 ± 1.05 ^c	8.87 ± 0.68 ^d	8.01 ± 0.61 ^e	5.68 ± 0.34 ^f	4.08 ± 0.29 ^g
Epicatechin	31.32 ± 2.25 ^a	26.86 ± 2.17 ^b	23.30 ± 2.20 ^c	21.25 ± 1.76 ^d	16.26 ± 1.38 ^e	13.54 ± 1.12 ^f	11.62 ± 0.93 ^g
β-Coumaric acid	36.95 ± 2.72 ^a	37.02 ± 3.63 ^a	23.85 ± 2.17 ^b	23.02 ± 2.01 ^b	18.31 ± 1.62 ^c	14.38 ± 1.26 ^d	14.03 ± 1.16 ^d
Ferulic acid	37.65 ± 3.04 ^a	33.81 ± 2.56 ^b	26.36 ± 2.32 ^c	23.84 ± 2.11 ^d	16.57 ± 1.63 ^e	15.3 ± 1.26 ^e	12.48 ± 1.1 ^f

Values, mg/100 g DW, are expressed as mean ± SD ($n = 3$). Means in the same line followed by different letters (a–f) are significantly different ($P < 0.05$).

(Zhao *et al.*, 2014)

紅棗類黃酮以蘆丁、當藥黃素 (swertisin, apigenin 6-glucosyl-7-O-methyl ether)、槲皮素 (quercetin)、山柰酚 (kaempferol) 及花青素等為主要 (魯等, 2010; 張等, 2011)。亦有研究指出, 紅棗類黃酮屬於 2(S)-柚配質 6,8-二葡萄糖苷 (6,8-Di-C-glucosyl-2(S)-naringenin) 與 2(R)-柚配質 6,8-二葡萄糖苷 (6,8-Di-C-glucosyl-2(R)-naringenin) 二類型 (王等, 2003; 雷等, 2006)。由紅棗分離出的類黃酮種類不多, 卻有相當高的總含量 (297.2-764.6 mg/100 g DW), 主要分布於果實及果樹葉 (韓, 2006; 張等, 2011)。

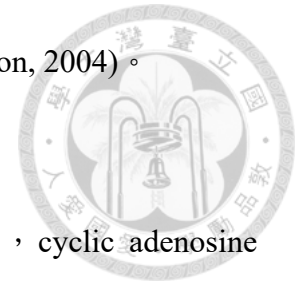
一般多酚類存在於植物組織中, 可區分為游離形式 (可溶, soluble) 或共軛形式 (不可溶, insoluble) 與糖、酸及其他分子相互結合 (Shahidi and Naczki, 1992)。游離態酚類, 通常累積於植物細胞液泡內 (cell vacuoles), 小分子酚類的分子量約 800 Da, 而共軛態酚類, 分佈在細胞壁 (cell walls) 結構組成中, 透過酯鍵, 醚鍵或縮醛鍵與纖維素、蛋白質及木質素等連接 (Klick and Herrmann, 1988; Lam *et al.*, 2001; Yahia and Carrillo-Lopez, 2018), 需要使用鹼、酸或酵素水解, 打破細胞壁, 才能從植物組織中萃取得多酚 (Stalikas, 2007)。

C. 多醣

多醣類為紅棗的生理活性成分之一 (Yue *et al.*, 2014), 也是果實細胞壁結構組成分, 須破碎細胞壁才可取得 (Zong *et al.*, 2012)。水萃取紅棗之粗多醣, 根據管柱層析顯示, 含有酸性及中性多醣二種 (Kao and Chen, 2015), 粗多醣平均分子量為 46,740 與 129,518 Da; 中性多醣為 47,100 Da; 酸性多醣為 52,407、55,522 與 60,053 三種 (Chang *et al.*, 2010)。紅棗多醣相關研究中, 多醣分子量分布略有不同, 可能是品種、萃取、純化方法及分離條件等因素導致差異性 (Zhao *et al.*, 2006a)。

紅棗多醣由二種多醣成分組成, 包含: 中性多醣 (MW: 23,000), 其單醣組成為 L-阿拉伯糖 (arabinose)、D-半乳糖 (galactose) 與 D-葡萄糖; 酸性多醣 (MW: 263,000) 的單醣組成, 為 L-鼠李糖 (rhamnose)、L-阿拉伯糖、D-半乳糖、D-甘露糖 (mannose) 及半乳糖醛酸 (galacturonic acid), 其中半乳糖醛酸含量佔 41.6% (雷昌貴 *et al.*, 2006)。綜合研究結果, 紅棗多醣中的單醣組成, 以半乳糖含量佔有比例最高 (Chang *et al.*, 2010), 酸性多醣的組成則以半乳糖醛酸為主 (Zhao *et al.*, 2006b)。文獻指出由葡萄糖、半乳糖、木糖 (xylose) 與果糖等單醣組成的紅棗多醣,

有利於益生菌生長，具有作為益生質的潛力 (Manning and Gibson, 2004)。



D. 環單磷酸腺苷

環單磷酸腺苷 (亦稱為環腺[核]苷單磷酸、環腺苷酸, cyclic adenosine monophosphate, cAMP), 微溶於水, 難溶於有機溶劑 (如醇類) (Yang *et al.*, 2014)。cAMP 作為細胞內第二傳訊者 (second messenger), 初級結構為腺苷酸經鳥苷酸環化酶合成為環核苷酸, 負責細胞內激素的傳遞, 協調細胞對環境訊號反應, 作為蛋白激酶活化劑。訊息由 cAMP 傳入細胞內的蛋白質激酶 (protein kinases), 使其活化, 如 cAMP 依賴性蛋白激酶 (McKnight, 1991), 引起特定的生理反應, 調節激素、前列腺素與兒茶酚胺, 參與細胞的生長分化 (Kalinin, 1977; Cyong and Hanabusa, 1980; McKnight, 1991)。cAMP 扮演重要的活化劑角色, 改善局部缺血引發的炎症反應及血管通透性 (Brudvik and Taskén, 2012), 協調巨噬細胞表現 (Schwede *et al.*, 2000), 與細胞的抗發炎反應 (Brudvik and Taskén, 2012)。

以 HPLC 分析紅棗干 cAMP 含量, 品種差異影響, 範圍約 63.6-501.7 mg/kg, 平均值為 236.5 mg/kg (Chen *et al.*, 2019)。此外未成熟新鮮果實中, 只檢測到微量 cAMP, 顯示果實成熟過程 cAMP 持續合成含量增加 (Cyon and Hanabusa, 1980)。紅棗比其他植物含有更豐富的 cAMP, 為外源性 cAMP 膳食補充的良好來源 (Cyon and Hanabusa, 1980; Jiang *et al.*, 2019)。

E. 紅棗植化素生理功效

紅棗富含多酚、多醣類及三萜類化合物, 具抗氧化、減緩發炎、改善免疫力、保護肝臟、降低疲勞、減緩腦神經病變及抑制腫瘤細胞等, 皆有相關之研究 (張等, 1999、2001; 張和吳, 2006; 曹等, 2007; 黃等, 2012; Liu, 1995; Huang *et al.*, 2001; Heo *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2005; Ikeda *et al.*, 2008; Chi *et al.*, 2015)。

總多酚含量為 5.2-8.5 mg GAE/g, FRAP 試驗 (Ferric-reducing antioxidant power) 可達 342-1173 $\mu\text{mol/g}$ (Li *et al.*, 2005); 以慢性疲勞症候群大鼠 (Chronic Fatigue Syndrome, CFS) 為動物模式, 餵食棗多醣 30 天 (劑量 400 mg/kg), 血清中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 及麩胱甘肽過氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性均顯著增加 (Chi *et al.*, 2015)。肝損傷小鼠餵

食棗多糖 (800 mg/kg) 能降低四氯化碳 (CCl₄) 誘導傷害，提升肝臟中 SOD 及 GSH 表現，減緩肝臟損傷 (Yue *et al.*, 2014)。腫瘤細胞方面，以棗多醣 (劑量 5 mg/mL) 與黑色素瘤細胞共培養 24 小時，可減少 80% 的腫瘤細胞存活，具有劑量效應 (Hung *et al.*, 2012)。棗粗多醣、中性多醣及酸性多醣亦有促進淋巴細胞增生的效果 (張等, 1999; 張等, 2001)。小鼠餵食紅棗液經 8 至 16 小時後，腹腔巨噬細胞的吞噬率與吞噬指數顯著提升 (張等, 1995)。紅棗三萜 (3-*O*-*cis*-*p*-coumaroyl maslinic acid, 3-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl maslinic acid 及 oleanoloc acid) 於補體的抗活性試驗中，實驗組的 IC₅₀ 與正控組無顯著差異，顯示紅棗三萜類可抑制補體系統過度表現，降低炎症的誘發程度 (Lee *et al.*, 2004)。

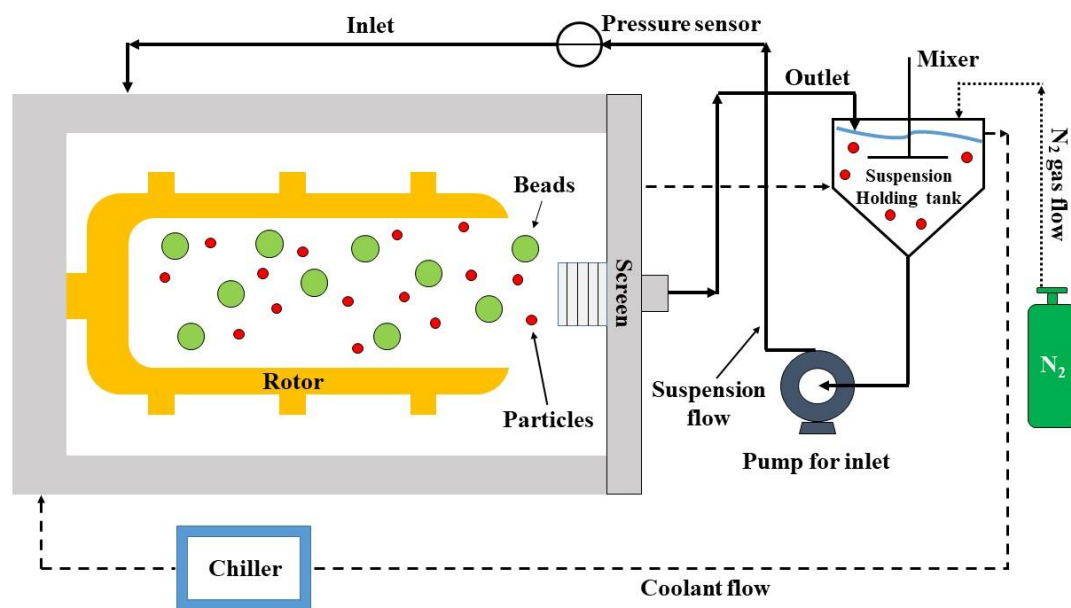
二、濕攪拌介質研磨

(一) 濕式攪拌介質研磨製程原理

濕式攪拌介質研磨 (wet stirred media milling, WSMM) 是一種透過機械力來降低材料尺寸大小，並改變材料物化性質的加工技術。藉由外力將材料的粒子尺寸「由上而下」(“*top-down*” *approach*) 達到縮小粒徑的目的 (Förster and Konrad, 2003)。研磨加工會加入介質 (常使用氧化鋯珠 Yttrium-stabilized zirconium oxide grinding beads, YSZ) 伴隨材料一同進行研磨，以提升破碎材料的效率 (Bilgili and Guner, 2021)，過程會產生熱能，導致材料與內容物成分被破壞。近年，在製藥及懸浮液製程領域，廣泛使用 WSMM 加工方式 (Bhakay *et al.*, 2018)，有效減少產品受熱破壞，更容易獲得穩定的次微米等級懸浮液產品 (Tanaka *et al.*, 2009)，改善水難溶性材料 (成分) 於水溶液的分散性 (Bilgili and Guner, 2021)。

濕攪拌介質研磨製程 (附圖六)，先在入料槽中加入原料預懸浮液，藉由蠕動泵控制進料流速，運送預懸浮液通過研磨室，接著返回入料槽，完成循環過程 (Peltonen and Hirvonen, 2010; Li *et al.*, 2018)。為了避免介質之污染，研磨室的表面通常包覆有耐磨的陶瓷、不鏽鋼或 PU 層，研磨介質 (珠) 須選擇耐磨及穩定材質，如 YSZ 或交聯聚苯乙烯，典型珠子尺寸為 100-3,000 μm 。研磨室的出料口處，會設置間隙開口大小約珠子一半的篩網，將珠子擋住保留於研磨室內，只容許原料懸浮液通過而達到分離目的。

當研磨室中攪拌器（轉子）元件進行轉動，在腔室內攪拌珠子-原料懸浮液的漿液，引起珠子紊流與波動運動 (Eskin *et al.*, 2005)。此時懸浮液通過研磨室，材料本身粒子被珠子捕獲、壓縮及破碎，攪拌器的旋轉速度取決於欲達成尺寸目標來決定，端速範圍為 4-20 m/s，研磨室與入料槽配合冷卻裝置，可控溫保持懸浮液溫度 (Bilgili and Guner, 2021)。WSMM 製程造成材料粒子粒徑變小，此刻粒子具有較大的表面積，提升了整體溶質質傳系數，加上粒子在流體中表面擴散層厚度下降等因素，故能增加水難溶材料分散於水中保持懸浮液狀態 (Bhakay *et al.*, 2011)。



附圖六、濕攪拌介質研磨循環操作製程示意圖。

A. Fig. 6. Schematic of a wet stirred media mill in recirculation mode of operation.

由此，了解 WSMM 原理，係為研磨機的攪拌器轉動，攪動了材料-研磨介質混合漿液，研磨室中彼此進一步發生了摩擦、碰撞、壓縮及剪切力等作用，導致材料之結構破碎 (Shinohara *et al.*, 1999)。增加粒子表面積，提升吸水性，促進水難分散成分地釋放 (Li *et al.*, 2016; Bilgili and Guner, 2021)。因此，WSMM 能製備高濃度，同時具有穩定性的次微米粒子懸浮液產品，此製程的結果穩定、可重複、可擴充、無溶劑以及環境友善等特點 (Li *et al.*, 2015; Peltonen, 2018; Bilgili and Guner, 2021)。



(二) 濕式攪拌介質研磨的應用

WSMM 技術是將材料懸浮於液態溶劑中，因此研磨溫度低於乾式研磨法，目前廣泛應用於食品與製藥產業，例如：懸浮液製備及功能性食品等 (Zhang *et al.*, 2012; Dubey *et al.*, 2018; Lu *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2023)。

材料可透過研磨處理，使特性產生改變，如：增加水中分散性、降低分子量、提升酵素反應速率及改善成分萃取率等 (Tanaka *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010; Yeh *et al.*, 2010; Chiang *et al.*, 2014; Bilgili and Guner, 2021)，亦是製備次微米粒子的合適方法。應用範疇包括枸杞以 WSMM 製備懸浮液，動物實驗發現幫助小鼠脾臟細胞基因表現 (Lin *et al.*, 2011)。山藥懸浮液產品之有效成分 (diosgenin, stigmasterol 與 β -sitosterol) 萃取量提升，纖維母細胞 WS1 實驗顯示促進膠原蛋白分泌 (Chiang *et al.*, 2012)。豆漿加工創新，全豆豆漿沒有廢棄物豆渣 (okara)，總大豆異黃酮 (isoflavone) 含量亦高於傳統豆漿 (4.42 ± 0.03 mg/g dry solid) (Kuo *et al.*, 2014)。靈芝加工創新，靈芝懸浮液所含 1 $\rightarrow$ 3- β -D-glucans 約為熱水萃取的 3.5 倍 (Chiang *et al.*, 2014)。改善芝麻有效成分木脂素醣苷 (lignan glycosides) 的生物利用率，動物實驗顯示大鼠尿液中代謝物濃度增加，腸道微生物群之代謝產物也有上升趨勢 (Hung *et al.*, 2016)。幾丁質懸浮液能穩定分散在水溶液中，經過乾燥能形成幾丁質薄膜 (Chi *et al.*, 2021)。

與傳統研磨方法相比，WSMM 更能有效提升營養素與功能性化合物的生物可利用率，尤其適合富含生物活性成分的水果，如紅棗。本研究以紅棗果實進行 WSMM 製程，期望建立加工技術於中草藥的應用，亦達到全食材利用的目的。

三、 免疫系統與發炎反應

(一) 免疫系統 (Immune system)

免疫是人體面對疾病時的防禦系統，避免遭受病原 (如細菌、黴菌及病毒等) 的感染，免疫系統包含全部可作為抵抗外來物入侵的細胞、組織及小分子等，都屬於當中的一環。免疫反應 (Immune response) 是由免疫細胞共同合作、協調以抵抗感染源的抗感染反應，主要功能：A. 抵抗外來疾病感染；B. 辨識自體或外來 (手術移植) 的組織、細胞與蛋白；C. 抑制不正常細胞的增生 (Gammon, 2013)。

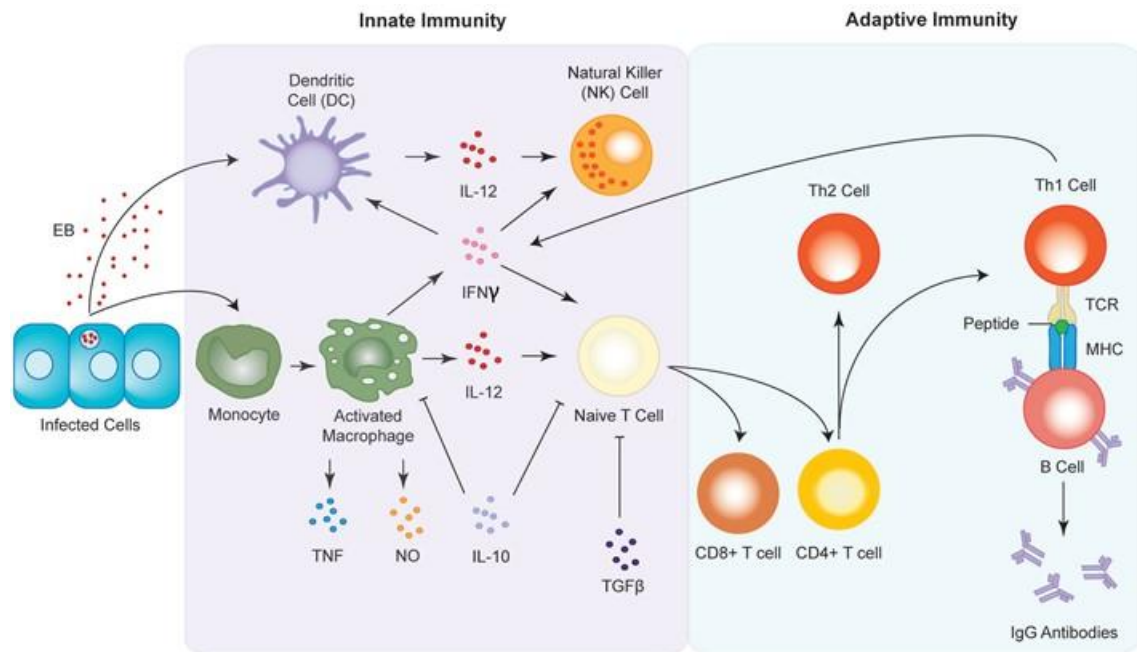
免疫系統分為先天性免疫 (Innate immunity) 及適應性免疫 (Adaptive immunity) 二大類 (附圖七)：

A. 先天性免疫，為對抗感染的第一道防線，發生於感染初期，不具有專一性，能迅速反應抵抗外來入侵物，例如表皮角質層阻擋外來物入侵，皮脂腺分泌物能抑制細菌及微生物，當入侵物突破表皮屏障，補體 (Complement) 會強力介入，進行辨識抗原與抗原結合，提供吞噬細胞 (Phagocyte) 與自然殺手細胞 (Natural killer cell, NK) 明確的攻擊目標。參與細胞為巨噬細胞 (Macrophage)、血液單核球、嗜中性白血球、NK cell 及樹突細胞 (Dendritic cells, DC)；反應媒介為發炎介質、補體、溶菌酶及干擾素 (Interferon, IFN) 等。其中，DC cell 會吞噬抗原，作為抗原呈現細胞 (Antigen-presenting cell, APC)，藉由呈現抗原的動作活化先天性 (呈現抗原給吞噬細胞) 及適應性免疫反應 (呈現抗原給 B 細胞與 T 細胞) (Levine *et al.*, 2011; Redgrove and McLaughlin, 2014)。此階段為急性發炎，免疫系統迅速啟動白血球 (如嗜中性白血球、巨噬細胞等) 到受損部位，釋放多種發炎介質 (如細胞激素、前列腺素)，以消滅病原體、限制感染範圍，啟動修復機制，過程通常短暫，屬於免疫系統第一道防線。

B. 適應性免疫，於感染後 12 小時才會啟動，經由與特定病原體接觸，識別針對特定病原體啟動免疫反應，對病原體產生記憶，當辨識出相同者可迅速作用，具專一性。參與細胞為淋巴細胞 (Lymphocyte) 與 APC，反應媒介為細胞激素 (Cytokine)、免疫球蛋白 (Immunoglobulin) 及細胞毒性因子 (Cytotoxic factor) (Janeway Jr and Medzhitov, 2002)。適應性免疫可區分為：A. 體液型免疫 (humoral immunity)，由 B 細胞及漿細胞 (Plasma cell) 作用，產生抗體，針對細菌、寄生蟲與過敏原的保護；B. 細胞型免疫 (cellular immunity)，為 T 細胞活化後，直接抵抗病毒、分支桿菌與真菌 (Elenkov and Chrousos, 1999; Opal and Depalo, 2000; Redgrove and McLaughlin, 2014)。活化的 T 細胞、B 細胞會釋放細胞激素，協助調節發炎反應。

當人體遭受外來感染源入侵，先天性免疫立刻啟動吞噬感染源，接著抗原呈現細胞刺激 T 細胞與 B 細胞進行分化，形成具專一性的細胞毒殺型 T 細胞，以及 B 細胞形成抗體-抗原複合體，分泌專一性的抗體，形成完整的防禦系統。二大

類免疫系統間，具相互反應與協同作用，能自我平衡、調節，維持體內恆定，避免過度活化造成自體免疫 (Autoimmunity) (Igietseme *et al.*, 2004; Redgrove and McLaughlin, 2014)。若急性發炎未能消退，或身體長期暴露於低度刺激下 (如肥胖、壓力、長期感染等)，免疫系統持續釋放發炎介質，導致慢性發炎，與多種慢性疾病 (如心血管疾病、糖尿病) 相關。因此，理想狀態是維持免疫系統的平衡。



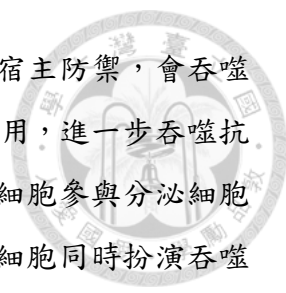
附圖七、先天性與適應性免疫反應。

A. Fig. 7. Innate and adaptive immune responses.

(Redgrove and McLaughlin, 2014)

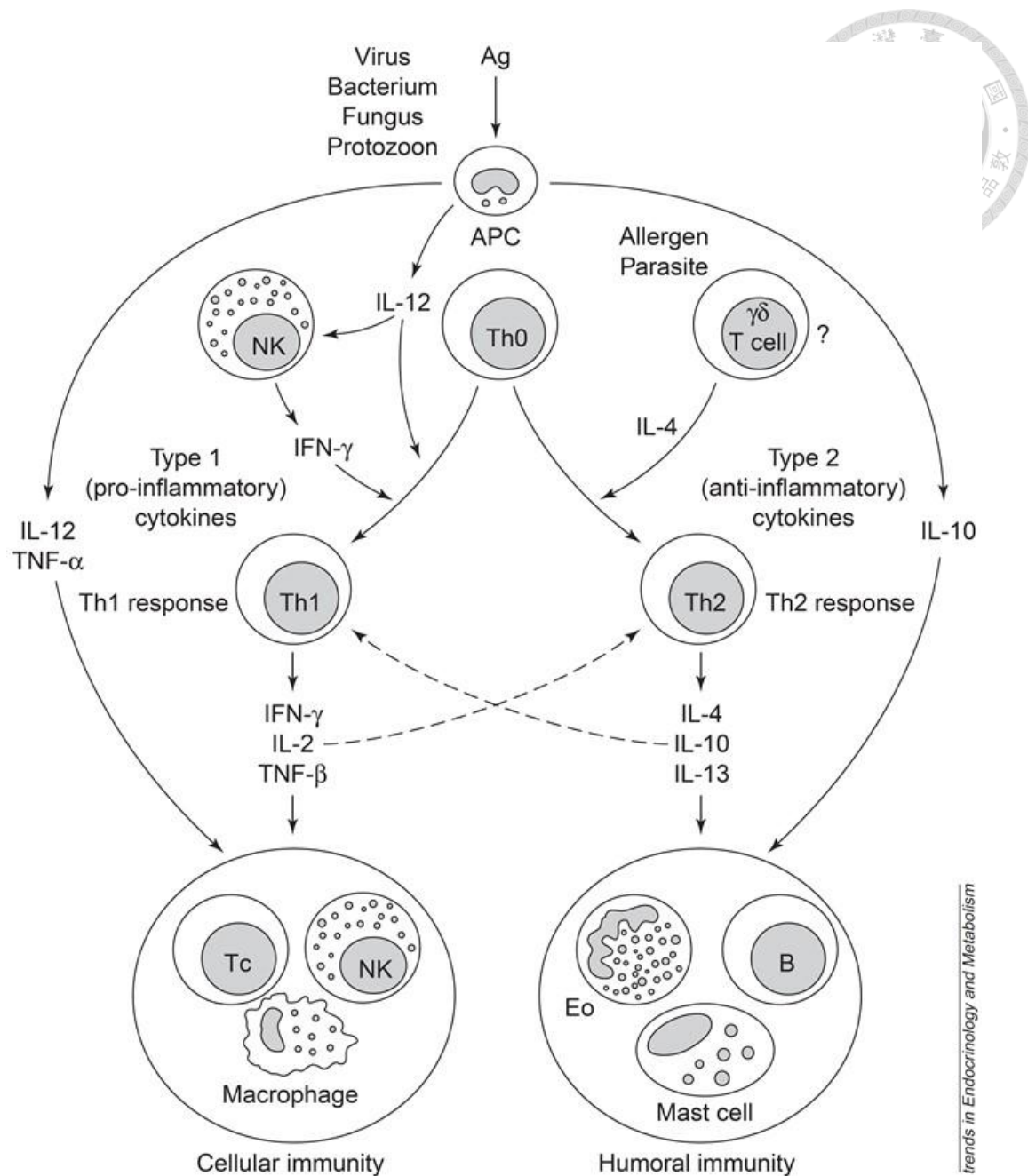
(二) 免疫細胞 (Immunocyte) 及細胞激素 (Cytokines)

免疫細胞泛指所有參與免疫反應的細胞，或者能識別抗原產生特異性免疫應答的淋巴細胞，包含 T 淋巴細胞、B 淋巴細胞、巨噬細胞、抗原呈現細胞及前體細胞等，作為免疫系統的功能單元 (附圖八)。依據功能可分為非特異性免疫細胞、特異性免疫細胞與抗原呈現細胞，非特異性免疫細胞，包含巨噬細胞、中性粒細胞、NK cell 與肥大細胞等；特異性免疫細胞為 T 細胞及 B 細胞；抗原呈現細胞 (具有呈現抗原功能) 則有 DC cell、巨噬細胞與 B 細胞等 (Elenkov and Chrousos, 1999)。



巨噬細胞是單核球 (Monocytes) 衍生而成，作為第一線的宿主防禦，會吞噬外來物質。巨噬細胞的受體與微生物細胞壁成分，可產生交互作用，進一步吞噬抗原後，作為呈現抗原，提供適應性免疫的 T 細胞辨認，啟動 T 細胞參與分泌細胞激素消滅感染原 (Birk *et al.*, 2001; Kawai and Akira, 2010)。巨噬細胞同時扮演吞噬及 APC 二種角色，多存在發炎的部位，能清除凋亡細胞，偵測與吞噬微生物，誘導促發炎因子，幫助傷口復原 (Elenkov and Chrousos, 1999; Beutler, 2004; Beagley *et al.*, 2009; Yilma *et al.*, 2012)。T 細胞方面，為 T 淋巴球 (T lymphocytes) 受刺激後，活化為輔助 T 細胞 (helper T cell, Th)，表面標記為 CD4，主導調控及輔助其他免疫細胞增生或發揮功能，如協助 B 細胞產生抗體及巨噬細胞作用；另一部分，則作為細胞毒性 T 細胞 (cytotoxic T cell, Tc)，表面標記為 CD8，執行攻擊受感染的細胞 (稱為細胞型免疫)。T 細胞於胸腺內分化成熟，成熟後移動至周圍的淋巴組織，T 細胞膜表面分子 (表面標記) 與功能表現有關，依據標記差異能分離、鑑定不同亞群 (Elenkov and Chrousos, 1999; Opal and Depalo, 2000)。

細胞激素為免疫系統分泌的化學物質，藉著細胞激素接受器將訊息傳入細胞，作為細胞與細胞之間的溝通，刺激組織製造其他物質提升免疫力，幫助細胞生長，引導白血球移動的方向。細胞激素為小分子量的調控蛋白或醣蛋白，如白血球介素 (Interleukins)、變形生長因子 (Transforming growth factor) 及干擾素，會與目標細胞膜上的專一性受體結合，傳遞信號使細胞表現。細胞激素具有多效能、功能重複、加成效應、協同作用及拮抗效果等特性，除了扮演細胞之間信息傳遞外，還參與發炎反應、毒殺病毒、調節免疫反應及促進骨髓幹細胞生長與分化等功能。不同的細胞激素以交互作用方式，達到細胞的調控，因此細胞表現不一定歸因於單一細胞激素之作用 (Elenkov and Chrousos, 1999; Opal and Depalo, 2000; Lacy, 2015)。



附圖八、Th1、Th2 細胞及第 1 型、第 2 型細胞激素調節細胞與體液免疫之示意圖。

A. Fig. 8. Role of Th1 and Th2 cells, and type 1 and type 2 cytokines, in the regulation of cellular and humoral immunity. Solid lines represent stimulation, dashed lines inhibition. Abbreviations: Ag, antigen; APC, antigen-presenting cell; B, B cell; Eo, eosinophil; IFN- γ , interferon γ ; IL, interleukin; NK, natural killer cell; Tc, T cytotoxic cell; Th, T helper cell, TNF- α , tumor necrosis factor α .

(Elenkov and Chrousos, 1999)

細胞激素簡介如下：

A. 介白素-1 (Interleukin-1, IL-1)，由巨噬細胞分泌，活化血管內皮細胞，刺激 B 細胞與 T 細胞活化，並破壞局部的組織，參與發炎反應，促使血管內皮細胞間通透性增加，使免疫細胞更容易進入作用 (Opal and Depalo, 2000)。

B. 介白素-6 (IL-6)，由巨噬細胞與 Th2 細胞分泌，引起發炎反應，活化 T 細胞，刺激 B 細胞生長、分化及產生抗體 (Opal and Depalo, 2000)。

C. 介白素-10 (IL-10)，由 Th2 細胞分泌，能抑制巨噬細胞產生 IL-1 及 IL-6，具有抗發炎效果，以及刺激 B 細胞產生抗體，誘導 Th0 細胞分化成 Th2 細胞，抑制 Th1 細胞作用，走向體液型免疫反應 (Elenkov and Chrousos, 1999; Opal and Depalo, 2000)；

D. 腫瘤壞死因子 (Tumor necrosis factor, TNF)，為維持免疫反應熱度重要的細胞激素，增加血管通透性，促使補體、抗體及免疫細胞滲入感染部位，誘導局部發炎症狀，達到控制感染的目的。TNF 有二種形式，即 TNF- α 與 TNF- β ，前者是藉由細菌脂多醣 (Lipopolysaccharide, LPS) 活化的巨噬細胞產生，後者是經抗原或促分裂原 (又稱生長刺激因子，mitogen) 刺激的淋巴細胞產生，對腫瘤細胞及病毒具有毒殺作用。TNF 誘導巨噬細胞之前體細胞分化，提升巨噬細胞的抗原呈現能力，與 IL-1 可協同作用於免疫系統，亦會誘導細胞產生 IL-6，皆為發炎介質 (Elenkov and Chrousos, 1999; Opal and Depalo, 2000)。

綜合前述細胞激素與發炎之相關性，歸納如下：促發炎效果之細胞激素，包含 IL-1、IL-6、TNF- α ；抗發炎效果之細胞激素為 IL-10。

(三) 發炎反應 (Inflammation)

發炎是一複雜、連續系統，由各種刺激引發，包括：病原體、有毒刺激物、化學物質、物理傷害或自身免疫反應，特徵為伴隨著發紅、腫脹、發熱或疼痛等症狀 (Ikeda *et al.*, 2008; Gammon, 2013)。是身體修復組織損傷及保護自身的一種機制，可區分為急性發炎 (acute inflammation)，屬於短期，突然發作，特徵為熱、紅腫、疼痛和功能失常，其中以血管滲出的過程為主導，白血球滲透至受損區域，排除刺激物質和修復組織，幫助恢復受損傷部位；慢性發炎 (chronic inflammation)，

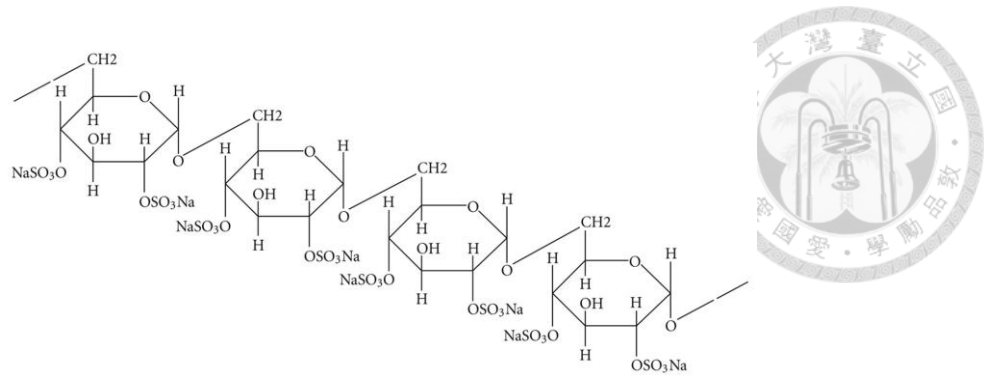
則是一種長期失調與適應不良的反應表現，涉及了活動性發炎 (active inflammation)，不斷地重複破壞組織與嘗試修復，特徵為形成新的結締組織 (Coussens and Werb, 2002)。

正常生理情況，發炎受調控，能清除受損組織後，進一步防止正常部位的細胞受傷害；當病理情況時，發炎導致組織破壞與器官功能障礙。由於調控的正負信號不平衡，炎症不受控制，無法停止而造成細胞及組織損傷，這種持續性的發炎與多數慢性疾病有關，如過敏、動脈粥樣硬化、關節炎、癌症及自身免疫性疾病等 (Gunther, 1973; Baueroova and Bezek, 2000; Coussens and Werb, 2002; Ikeda *et al.*, 2008; Aletaha *et al.*, 2010)。

四、研究腸道發炎之動物模式

發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是典型的慢性發炎症狀，包含潰瘍性結腸炎 (ulcerative colitis)，嚴重者發展成大腸直腸癌 (colorectal cancer, CRC) (Periasamy *et al.*, 2020)。目前以動物模式為主要評估方法，模式中需使用化學或聚合物作誘導劑 (如：葡聚糖硫酸鈉，dextran sulfate sodium, DSS)，進行誘發腸炎症狀 (Tanaka, 2012)。

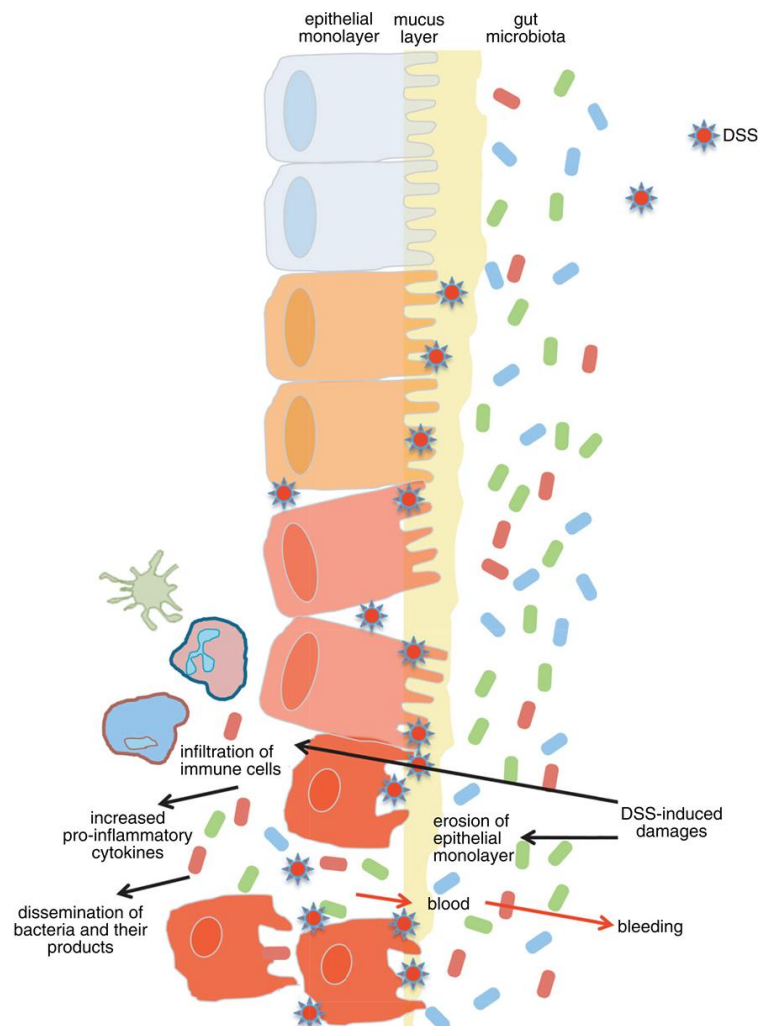
DSS 為陰離子硫酸化多醣 (附圖九)，作為動物模式之腸炎誘導劑，操作簡單、再現性與成功率高。DSS 對腸道上皮細胞具毒性，破壞細胞間黏連結合 (adherens junctions)，導致黏膜受損，通透性增加，存在腸腔中的細菌轉移 (translocation) 侵襲腸壁細胞，此時免疫細胞活化，分泌細胞激素 (cytokines)，引發腸道產生發炎反應，損傷部位出現淋巴細胞浸潤與潰瘍出血現象 (附圖十)。只需給予小鼠一週的 2.5% DSS 飲水，即產生 UC 病灶，如體重減輕、腹瀉、出血、腸道縮短與脾臟腫大等 (Chassaing *et al.*, 2014; Ji *et al.*, 2017; Vargas-Robles *et al.*, 2019)，因此 DSS 結腸炎評估模式，操作簡易及誘導成功率高，於飲水或飲食中添加 DSS (1-5%)，即會誘發啮齒動物結腸發炎與纖維化，適合發炎性腸道疾病相關研究之評估模型 (Tanaka, 2012)。



附圖九、葡聚糖硫酸鈉之化學結構。

A. Fig. 9. Chemical structure of dextran sulfate sodium (DSS), a sulfated polysaccharide.

(Tanaka, 2012)

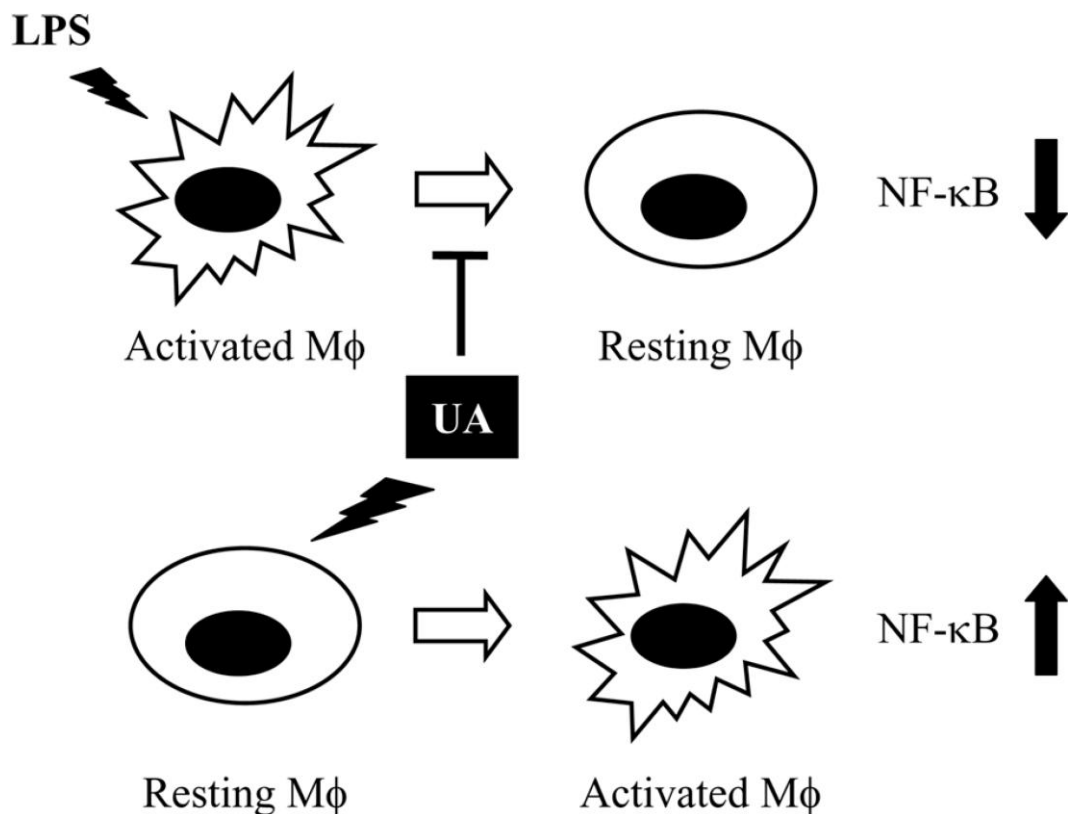


附圖十、DSS 誘導之結腸炎示意圖。

A. Fig. 10. Schematic representation of DSS-induced colitis.

(Chassaing *et al.*, 2014)

紅棗植化素與發炎相關研究如下，Ikeda 等 (2008) 當小鼠巨噬細胞 RAW 264.7 受到 LPS 的刺激，巨噬細胞會呈現活化狀態，此時，ursolic acid 可以抑制巨噬細胞的核因子活化 B 細胞 κ 輕鏈增強子 (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B) 表現，減少 NF- κ B 到細胞核轉錄產生促發炎因子，如 IL-1 及 IL-6；相反地，若巨噬細胞未受到外來物質刺激 (呈現休眠狀態)，ursolic acid 則會促使巨噬細胞活化，進行表現 NF- κ B，提升細胞產生促發炎因子 (附圖十一)。顯示 UA 能透過控制 NF- κ B 途徑，依據巨噬細胞活化狀態之不同，達到調控發炎因子的表現 (You *et al.*, 2001; Ikeda *et al.*, 2008; Checker *et al.*, 2012)。以及透過抑制 NF- κ B 途徑，降低 RAW 264.7 內一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthase, iNOS) 及環氧合酶 (cyclooxygenase, COX-2) 的表現 (Suh *et al.*, 1998; Subbaramaiah *et al.*, 2000)，減少發炎介質一氧化氮 (NO) 生成 (Ryu *et al.*, 2000; You *et al.*, 2001)。



附圖十一、熊果酸對小鼠巨噬細胞 (RAW 264.7) 之調控反應。

A. Fig. 11. Different responses of RAW 264.7 cells to UA.

(Ikeda *et al.*, 2008)

動物模式方面，AOM/DSS 誘導結腸炎小鼠，自由攝食紅棗 70 天，可改善結腸長度與疾病活動指數 (A disease activity index, DAI)，蛋白表現分析顯示可減弱 NF- κ B/IL-6/JKA1/STAT3 信號途徑 (Periasamy *et al.*, 2020)，已證實此途徑與大腸直腸癌發炎息息相關，因此紅棗具有體內抗發炎的潛力 (Goyal *et al.*, 2011)。CRC 小鼠模式，飲食介入紅棗多醣，顯著降低血清中促發炎激素表現量，腸道微生物菌群之代謝產物-短鏈脂肪酸 (total short-chain fatty acids, SCFAs) 亦有上升趨勢，也增加了 *Bifidobacterium*、*Bacteroides* 與 *Lactobacillus* 菌相的豐富度 (Ji *et al.*, 2019)。

藥理研究證明紅棗對生理相關效用，如紅棗三萜類化合物具有抗發炎的效果，調控巨噬細胞及後續反應途徑，而不只是單一效果地呈現。動物模型研究進一步證實，不論攝食整顆紅棗或棗多醣，皆有改善體重、結腸長度，紓緩結腸區域炎症反應，提升益生菌群，調節腸道菌相組成 (Ji *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020b)。

本研究旨在利用濕式攪拌介質研磨 (WSMM) 製備紅棗懸浮液，分析物理與化學性質、生物活性化合物含量 (多酚類、類黃酮與三萜類) 及抗氧化能力，同時探討其作為乳酸菌發酵基質的潛力。透過解決紅棗保存及產品多樣化的挑戰，本研究與全球致力於發展永續食品系統、減少水果加工浪費以及創造高價值功能性食品的努力相呼應。研究成果將為 WSMM 在水果加工與發酵的應用提供選擇，並有助於提升紅棗產品的品質與市場潛力。

貳、研究目的與架構

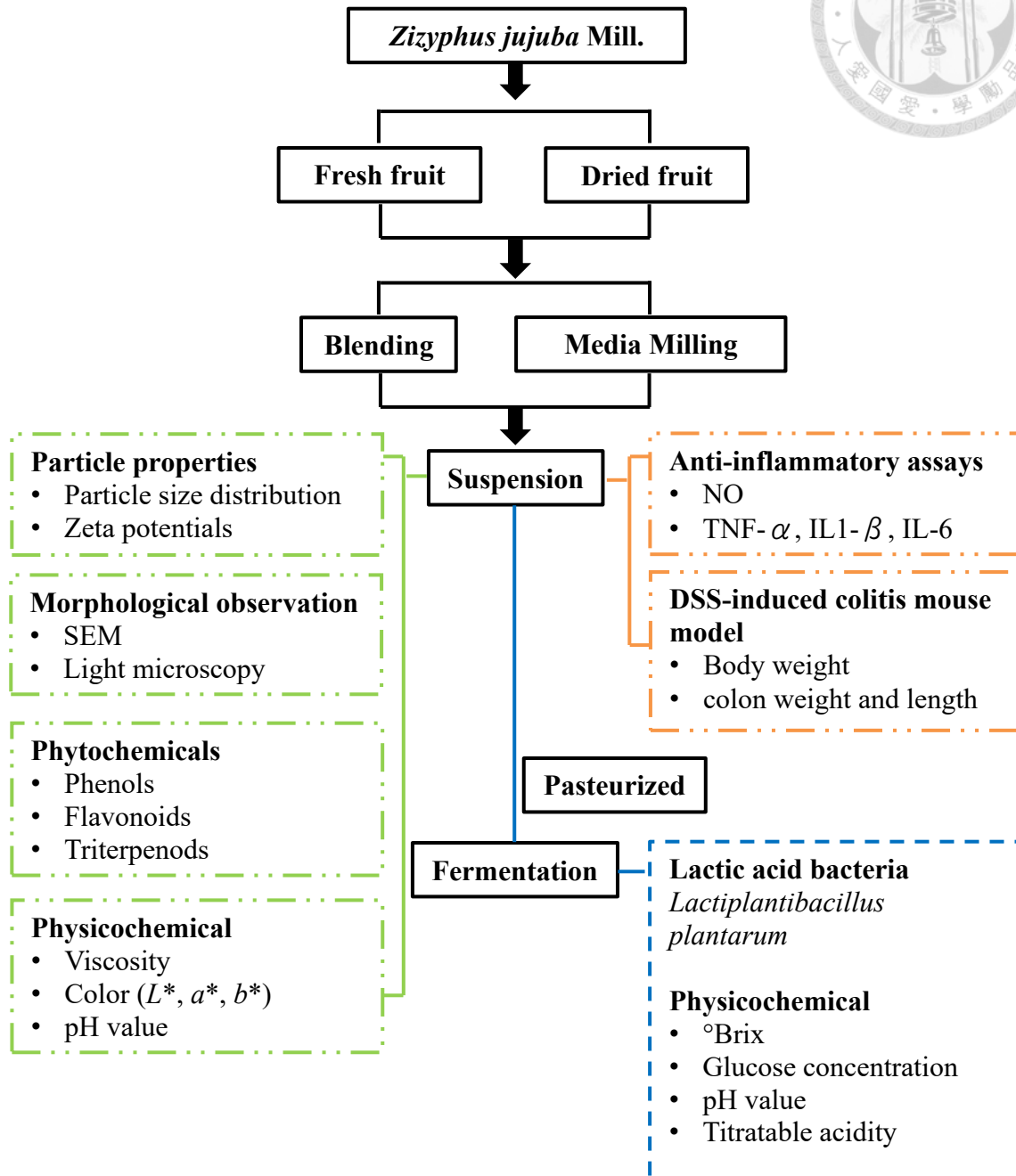


一、研究目的

紅棗兼具鮮食及加工二種食用方式，為藥食同源之食材，食用歷史悠久。台灣紅棗品種為雞心棗，產地為苗栗縣公館鄉。新鮮紅棗富含多酚、黃酮、三萜、多糖及環單磷酸腺苷等，被稱為水果中的紅寶石，研究已證實紅棗活性成分具有抗氧化、減緩發炎、改善免疫力與保護肝臟等生理效用。紅棗的膳食纖維、醣類、蛋白質及果膠含量高於其他水果，使其加工上困難性較高，一般直接以日曬製成紅棗干，作為中藥材使用。紅棗因加工方法的限制，限縮了相關產品的發展與應用，以及新鮮果實所面臨的保存問題等，且加工及萃取製程亦有廢棄物產生與溶劑使用的挑戰。

濕攪拌介質研磨製程是成熟的加工技術，具備穩定與可重複特點，通過非選擇性的物理破壞，藉由機械力帶動材料與介質相互碰撞，破碎材料結構，達到縮小粒徑、增加粒子表面積、提升吸水能力及改善水難溶成分的可獲率等目的，是製備高濃度與穩定的懸浮液產品的方法，廣泛應用在製藥及懸浮液製造領域。近年研究證明，紅棗活性成分的效用，如三萜類具抗發炎的效果，調控巨噬細胞及後續反應途徑。動物模式中，證實能提供腸道保護，減少炎症反應，提升益生菌群，調整腸道菌相組成。因此透過濕攪拌介質研磨製程，開發紅棗懸浮液，除了保留紅棗生理活性物質，如總多酚、類黃酮及三萜類外，進一步探討對腸道發炎的效果，及提供紅棗產品之加工方法選擇，提升紅棗相關產品價值之目的。

二、實驗架構



參、材料與方法



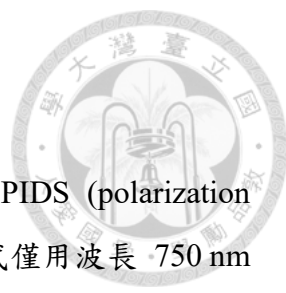
一、原料藥品及儀器耗材

(一) 原料與藥品

1. 有機鮮棗及紅棗干購自苗栗縣公館鄉，品種為雞心棗，為 7-8 月採收，生產地為龍溪農場。儲存於 -20°C ，使用前經解凍、清洗、剪碎等步驟。
2. 白樺酯酸 (betulinic Acid, CAS: 472-15-1, >97%, Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan).
3. 齊墩果酸 (oleanolic Acid Hydrate, CAS: 508-02-1, >98%, Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan).
4. 熊果酸 (ursolic Acid, CAS: 77-52-1, >90%, Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan).
5. 沒食子酸 (gallic acid, Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA).
6. 福林酚試劑 (Folin & Ciocalteu's phenol reagent, Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA).
7. 碳酸鈉 (sodium carbonate, Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA).
8. 氫氧化鈉 (sodium hydroxide, Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA).
9. 氯化鋁 (aluminum chloride hexahydrate, 99%, Alfa Aesar, Thermo Fisher Scientific Inc., Heysham, England).
10. 亞硝酸鈉 (sodium nitrite, Honeywell international Inc., Muskegon, MI, USA).
11. 甲醇 (methanol, Merck Chemical Co., Darmstadt, Germany).
12. 乙醇 (ethanol, Merck Chemical Co., Darmstadt, Germany).

(二) 儀器與耗材

1. 介質研磨設備-循環珠磨機：MiniPur, Netzsch-Feinmahltechnik GmbH, Selb, Bavaria, Germany，研磨室體積：200 mL，預拌槽體積：400 mL，示意圖 (附圖六)、外觀 (附圖十二)。
2. 靜態雷射光繞射粒徑分析儀 (static laser scattering particle size analyzer, SLS): LS230, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA.
 - a. 粒徑量測範圍：0.04-2,000 μm (含 PIDS);

- 
- b. 偵檢器為矽光電二極體；
- c. 測量模組：small volume module;
- d. 分析數學模式為 Fraunhofer laser diffraction including PIDS (polarization intensity differential scattering)，偏極強度散射差，一般模式僅用波長 750 nm 雷射光，PIDS 模式含 450、600、900 nm 三個波長，6 個方向的偵測器，垂直與水平兩個偏極角度，將粒徑偵測極限由 0.4 增加至 0.04 μm ;
- e. 濃度遮光率：45-55%;
- f. 分析軟體 FLEX software, Microtrac Inc., Montgomeryville, USA.
3. 分離現象分析儀 (demixing tester): LUMiCheck, L.U.M. GmbH, Berlin, Germany.
4. 減壓濃縮裝置 (rotary evaporator): BUCHI RE 111 Rotavapor, BUCHI 461 Water Bath, BUCHI Labortechnik, Flawil, Switzerland.
5. 光學顯微鏡 (polarized light microscope): Optiphot-Pol, Nikon Co., Tokyo, Japan.
6. 場發式掃描式電子顯微鏡 (field emission scanning electron microscope): Hitachi S-4800, Hitachi Co., Ltd., Tokyo, Japan.
7. 金離子覆膜機 (ion sputtering device): E101, Hitachi Co., Ltd., Tokyo, Japan.
8. 超臨界乾燥儀 (critical point dryer): HCP-2, Hitachi Co., Ltd., Tokyo, Japan.
9. 界面電位測量儀 (zetasizer): Zetasizer ZS90, Malvern Instrument Inc., Worcestershire, UK.
- a. 界面電位量測原理：雷射都卜勒法 (laser doppler electrophoresis);
- b. 量測角度：12° 與 90°;
- c. 量測溫度範圍：10-70°C (± 0.1 °C);
- d. 界面電位量測範圍：3.8 nm-100 μm ;
- e. pH 範圍：2-12;
- f. 導電度範圍：0-200 mS/cm.
10. 超音波 (震盪/除氣) 機 (ultrasonic degaser): Branson 3510R-DTH, Emerson Electric Co., Missouri, USA)，頻率 40 kHz。
11. 應力控制型動態流變儀 (rheometer): AR-2000ex, TA Instruments, Inc., New Castle, DE, USA。分析軟體：Rheology Advantage Data Analysis V5.4.8.
12. pH 值測定儀 (pH meter): SP-2200, Suntex Instruments Co., Ltd., New Taipei City,

- Taiwan.
13. 色差儀 (color difference meter): Color Meter ZE 2000, Nippon Denshoku Industries Co., Ltd., Tokyo, Japan.
14. 振盪器 (vortex): G-560 (Vortex-Genie 2), Scientific Industries, Inc., Bohemia, USA.
15. 光學顯微鏡 (optical microscope): Optiphot-Pol, Nikon co., Tokyo, Japan.
16. 離心機 (centrifuge): Rotina 35R, Andreas Hettich GmbH & Co.KG., Tuttlingen, Germany.
17. 烘箱 (forced convection oven): DK-500, Yihder Co., Ltd., New Taipei City, Taiwan.
18. 冷凍乾燥機 (freeze dryer): FD24-4S, Kingmech Co., Ltd., New Taipei City, Taiwan.
19. 凱式氮全自動蒸餾裝置 (KjeltecTM auto-distillation unit): model 2200, Foss Co., Höganäs, Sweden.
20. 索式油脂萃取裝置 (SoxtecTM fat extraction system): model 2055, Foss Co., Höganäs, Sweden.
21. 灰化爐 (ashing furnace): CWF 12/13 2416 CC, Carbolite Co., Ubstadt-Weiher, Germany.
22. 迴旋濃縮機 (rotary evaporator): Laborota 4001, Heidolph, Schwabach, Germany.
23. 紫外光/可見光分光光譜儀 (UV/Vis spectrophotometer): V-530, Jasco, Inc., Tokyo, Japan.
24. 電子分析天秤：精準度 ± 0.01 mg, AG285, Mettler Toledo, Columbus, USA.
25. 高效液相層析儀 (high performance liquid chromatography, HPLC):
- a. 碳十八逆相管柱 (250 mm x 4.6 mm, 5 μ m, Waters SunFireTM);
 - b. 溶媒輸送幫浦 (pump, Model L-7100, Hitachi Co., Ltd., Tokyo, Japan);
 - c. 自動進樣器 (autosampler, model AS-2055, JASCO International Co., Ltd., Tokyo, Japan);
 - d. 偵測器 (photodiode array detector, model MD-4015, JASCO International Co., Ltd., Tokyo, Japan).
26. 離心管 (centrifuge tube, Corning, Inc., Corning, NY, USA).
27. 注射針筒 (syringe, Becton Dickinson and Co., Franklin Lakes, NJ, USA).

28. 過濾膜 (syringe filter, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA).
29. 微量盤分析儀 (microplate reader, BioTek Instruments, Winooski, VT, USA)



附圖十二、介質研磨設備-循環珠磨機外觀。

A. Fig. 12. Wet stirred media mill apparatus.

二、紅棗懸浮液樣品製備

紅棗 (*Ziziphus jujuba* cv. Jixinzao) 新鮮果實及紅棗干，購自苗栗縣公館鄉農會，儲存於 -20°C ，使用前先行取出置於 4°C 下解凍備用。公館紅棗的新鮮果實，為 7 至 8 月期間採收，果實階段為脆熟期，成熟度約為 20 至 60%，紅棗干為此階段採收的新鮮果實，經日曬乾燥製作而成。紅棗原料先測量固形物及水分含量，後續製備紅棗懸浮液樣品，皆以固形物濃度為基準。

(一) 鮮棗粗碎 (Blending)

新鮮果實 (固形物含量為 21.2%) 先行剪碎去籽，配製為 500 g 固形物濃度 5% 的懸浮液，秤取新鮮果實 117.9 g，加入去離子水 382.1 g，以攪碎器 (Blender 7012S, Waring Commercial, USA) 配合冷卻系統 (SS610, Waring Commercial, USA)，攪打 5 分鐘成漿狀，倒入 500 mL 燒杯中，以去離子水將殘留攪碎器中的粗碎物洗出，所得之紅棗新鮮果實碎狀物即為鮮棗粗碎物 (F-B) (視為研磨 0 分鐘)。

(二) 鮮棗介質研磨 (Media milling)

新鮮果實 (固形物含量為 21.2%) 先行剪碎去籽，配製為 500 g 固形物濃度 5% 的懸浮液，秤取新鮮果實 117.9 g，加入去離子水 382.1 g，經攪碎處理的鮮棗粗碎物為原料，使用循環珠磨機 (MiniPur, Netzch-Feinmahltechnik GmbH, German) 進行濕攪拌介質研磨，研磨介質選用粒徑 0.8 mm 之鈮鋯珠 (YSZ)，填充量以研磨室容積的 70%(v/v) 為基準，秤取體積 140 mL YSZ 加入，攪拌器 (轉子) 轉速為 3,000 rpm，驅動馬達為 0.94 kW，載入鮮果預懸浮液，蠕動泵循環流速以 360 mL/min 進料，研磨製程的時間為 180 分鐘，所得之漿液即為介質研磨鮮棗懸浮液 (F-M)。

(三) 紅棗干粗碎

紅棗干 (固形物含量為 65.3%) 先行剪碎去籽，配製為 500 g 固形物濃度 5% 的懸浮液，秤取紅棗干 38.3 g，加入去離子水 461.7 g，以攪碎器配合冷卻系統攪打 5 分鐘成漿狀，倒入 500 mL 燒杯中，以去離子水將殘留攪碎器中的粗碎物洗出，所得之紅棗干碎狀物即為棗干粗碎物 (D-B) (視為研磨 0 分鐘)。



(四) 紅棗干介質研磨

紅棗干 (固形物含量為 65.3%) 先行剪碎去籽，配製為 500 g 固形物濃度 5% 的懸浮液，秤取紅棗干 38.3 g，加入去離子水 461.7 g，經攪碎處理的棗干粗碎物為原料，使用循環珠磨機進行濕攪拌介質研磨，研磨介質選用粒徑 0.8 mm 之 YSZ，填充量以研磨室容積的 70% (v/v) 為基準，秤取體積 140 mL YSZ 加入，攪拌器 (轉子) 轉速為 3,000 rpm，驅動馬達為 0.94 kW，載入棗干預懸浮液，蠕動泵循環流速以 360 mL/min 進料，研磨製程的時間為 120 分鐘，所得之漿液即為介質研磨棗干懸浮液 (D-M)。

(五) 紅棗干熱水萃取 (Hot water extraction)

紅棗干 (固形物含量為 65.3%) 先行剪碎去籽，配製為 500 g 固形物濃度 5% 的懸浮液，秤取紅棗干 38.3 g，加入去離子水 461.7 g，於 100°C 下進行萃取 120 分鐘，經 Whatman NO.1 濾紙過濾，收集所得濾液，即為紅棗干熱水萃取物 (D-H)。

三、 分析方法

(一) 基本成分分析

A. 水分含量

依照 AACC (2003) 之標準方法。預先將坩鍋洗淨，置入 105°C 烘箱，烘乾後移至乾燥皿冷卻。精稱 1 g 樣品 (W_1) 於坩鍋中，於 105°C 下進行常壓乾燥 5 小時，移至乾燥皿冷卻 30 分鐘後稱重，重複數次至恆重 (W_2)，減少重量即為散失水分重量。濕重基準 (wet basis, w.b.) 計算式如下：

$$\text{Moisture content (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

W_1 ：烘乾前樣品重 (g)； W_2 ：烘乾後樣品重 (g)。

B. 粗脂肪

參考 AOAC (2000) 之方法。將萃取用鋁杯洗淨後以 105°C 烘乾，取出移至乾燥皿 30 分鐘後秤重，重複數次至恆重 (W_0)。精稱 1 g 樣品 (W_s) 以 Whatman

no. 4 filter papers (Whatman International Ltd., Maidstone, UK) 濾紙包覆後，放入圓筒濾紙，以脫脂棉塞住洞口。設定索式油脂萃取裝置條件：冷卻系統溫度設定為 10°C，加熱板溫度設為 135°C。將圓筒濾紙及鋁杯置入裝置內，加入 70 mL 石油醚，圓筒濾紙浸泡於石油醚中沸騰 (boiling) 1 小時，石油醚重覆迴流洗滌圓筒濾紙內樣品 (rinsing) 2 小時，回收 (recovery) 石油醚 20 分鐘，萃取完成，圓筒濾紙升起 (raise)，預乾 25 分鐘後，將鋁杯取出移至抽氣櫃中 1 小時待殘留石油醚揮發，接著放入 105°C 烘箱乾燥 1 小時，取出移至乾燥皿 30 分鐘後稱重，重複數次至恆重 (W_1)。粗脂肪含量之計算式如下：

$$\text{Crude fat (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{W_s} \times 100\%$$

W_0 ：萃取脂肪前鋁杯重 (g)； W_1 ：萃取脂肪後鋁杯重 (g)； W_s ：樣品重 (g)。

C. 粗蛋白

依照 AOAC (2000) 以凱式法 (kjeldahl method) 測量粗蛋白含量。蛋白質消化：分別精秤 0.1 g 樣品 (W_s) 及 2.2 g 催化劑 (硫酸銅：硫酸鉀 = 10:1, w/w)，以秤量紙包裹後置入分解管，於抽氣櫃內緩慢加入 12 mL 濃硫酸。將分解管架於消化器上並接上抽氣裝置以中和廢氣，設定消化條件，以 200°C 加熱 1 小時，升溫至 300°C 加熱 30 分鐘，升溫至 420°C 加熱 2 小時。抽氣強度控制在濃煙為八分滿位置，觀察分解液呈現澄清青綠色，表示蛋白質完成消化。

蛋白質蒸餾與滴定：先於錐形瓶中加入 3 滴指示劑 (methyl red 與 methylene blue)，架於檢液接收位置收集蒸餾獲得之檢液。待分解管冷卻後，置入 Kjelttec 2200 凱式氮全自動蒸餾裝置進行蒸餾，分解管中加入 50 mL 蒸餾水、50 mL 40% (w/w) NaOH 及 30 mL 4% (w/w) 硼酸，蒸餾 7 分鐘後，蒸餾完成錐形瓶收集之檢液即以 0.02 N HCl 滴定至淡粉紅色出現停止。記錄鹽酸滴定體積 (V_s)，另僅含催化劑檢液為空白組，重複上述步驟，記錄空白組鹽酸滴定體積 (V_b)。粗蛋白含量之計算式如下：

$$\text{Crude protein (\%)} = \frac{(V_s - V_b) \times F \times 0.00028 \times N.F}{W_s} \times 100\%$$

V_s ：以 0.02 N 鹽酸滴定樣品之體積 (mL)；

V_b ：以 0.02 N 鹽酸滴定空白組之體積 (mL)；

F : 0.02 N HCl 標準液之力價 0.98483 ;

0.00028 : 1 mL HCl 標準液相當於 0.00028 g 的氮 ;

N.F (nitrogen factor) : 含氮係數 , 一般為 6.25 ;

W_s : 樣品重 (g) 。



D. 灰分

參考 AOAC (2000) 之方法。坩堝洗淨後，以 10% 鹽酸溶液浸泡，以蒸餾水洗淨後，以 105°C 烘乾，取出移至乾燥皿 30 分鐘後秤重，重複數次直到恆重 (W₀)。精秤 1 g 樣品 (W_s) 於已恆重之坩堝，置入灰化爐內，灰化行程設定：於 200°C 加熱 2 小時，提高溫度至 550°C 灰化 16 小時，若灰化物為黑色塊狀，則灰化不完全，須加入少許蒸餾水用玻棒使其溶解，重複灰化步驟。待降溫至 200°C 檢查，灰化完全呈灰白色，將坩堝移至乾燥皿中冷卻，恆重後記錄重量 (W₁)。灰分計算如下：

$$\text{Ash (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{W_s} \times 100\%$$

W₀ : 乾燥後坩堝重 (g) ; W_s : 灰化前樣品重 (g) ; W₁ : 灰化後樣品重 (g) 。

E. 總碳水化合物含量

總碳水化合物以扣除法計算，將上述所得之粗蛋白、粗脂肪與灰分含量以 100 扣除，即為總碳水化合物含量：

$$\text{Carbohydrate (\%)} = 100\% - (\text{crude protein} + \text{crude fat} + \text{ash})$$

(二) 粒徑分析

樣品稀釋 10 倍後，經過超音波除氣 5 分鐘，避免樣品聚集，接著以 LS230 靜態雷射光散射粒徑分析儀進行分析。粒徑合適偵測範圍為 0.04-2,000 μm，儀器以去離子水作為空白組，進行清洗與校正，於 25 °C 下進行檢測。經過分析軟體 (FLEX Software, Microtrac Inc., USA) 計算樣品光散射訊號，可得到體積平均粒徑 (d[4,3]) (volume-mean diameter, D_v)、粒數平均粒徑 (d[1,0]) (number-mean diameter, D_N) 及粒徑分布 (distribution range)，計算累積粒徑百分比，皆為三重複試驗後所得的平均數值。粒徑表示及定義如下：

$$\text{體積平均粒徑 (d[4,3]) : } D_V = \frac{\sum_i n_i d_i^4}{\sum_i n_i d_i^3}$$

$$\text{粒數平均粒徑 (d[1,0]) : } D_N = \frac{\sum_i n_i d_i}{\sum_i n_i}$$

d_i ：微粒 I 之粒徑； n_i ：微粒 I 之粒數； n ：總粒數或微粒總數 ($= \sum_i n_i$)。



(三) 粒徑跨度

跨度 (Span) 係由微粒的體積平均粒徑分析結果中，d90 與 d10 二者相減的差，除上 d50 所得的結果，計算式如下：

$$\text{Span} = \frac{d90 - d10}{d50}$$

d90：90% 微粒之體積平均粒徑值；d50：50% 微粒之體積平均粒徑值；d10：10% 微粒之體積平均粒徑值。

(四) 多分散指數

多分散指數 (Polydispersity index, PDI) 為微粒的粒徑分析結果，以 D_V/D_N 計算所得數值，藉以評估懸浮液粒徑分布的均勻程度。當樣品粒徑分布的波峰愈寬，PDI 數值就越大，代表波峰的分布情形愈廣或愈多。反之 PDI 愈小，代表波峰分布愈集中，接近於單分布。

(五) 粒子粉碎率

粒子粉碎率 (Reduction ratio) 為描述粒子於破碎過程中，初始粒子與破碎後的粒徑變化程度指標。其定義為：

$$\text{Reduction ratio} = \frac{d_1}{d_2}$$

d_1 ：粉碎前的體積平均粒徑； d_2 ：粉碎後的體積平均粒徑。

(六) 型態觀察

A. 光學顯微鏡觀察

取適當大小之紅棗果皮與紅棗懸浮液稀釋 10 倍，以滴管取適量滴於載玻片上，45 度角蓋上蓋玻片，拭鏡紙吸去多餘水分後，以光學顯微鏡觀察，放大倍率

為 1,000 倍 (目鏡 10 X；物鏡 100 X)。

B. 掃描式電子顯微鏡觀察

SEM 觀察為了影像清晰度，需將紅棗懸浮液的溶劑由水置換為丙酮，步驟為懸浮液稀釋約 100 倍，依序以 50%、60%、70%、80%、90% 及 100% 乙醇進行置換，直到將懸浮液由水溶液置換為 100% 乙醇，最後置換為 100% 丙酮，接續進行臨界點乾燥 (critical point drying, CPD)，將已乾燥之樣品抖落於載台 (貼有雙面導電碳膠帶)，真空下以金離子覆膜機 (Ion sputtering device, E-101, Hitachi Co. Ltd, Japan) 鍍金處理，以 SEM (scanning electron microscopy, SEM, Hitachi Co. Ltd, Japan) 於 15 kV 下觀察，放大倍率為 1,000 倍。

(七) 酸鹼值

先以去離子水潤洗 pH meter 之電極，拭鏡紙按壓拭乾後，以 pH 7.0、4.0 標準緩衝溶液進行校正，於磁石攪拌下測量 20-30 mL 懸浮液之 pH 值，數據為三重複平均。

(八) 界面電位分析 (Zeta potential, ζ -potential)

將紅棗懸浮液經 10,000g，離心 10 分鐘，取離心上清液稀釋 100 倍，25°C 下以 Zetasizer Nano system 儀器 (Malvern Instrument Inc., Worcestershire, UK) 量測懸浮液之界面電位，賦予粒子固定值的電壓，利用雷射都普勒電泳法 (laser Doppler velocimetry) 以 Henry equation 導出粒子之界面電位。使儀器 correlator control display 之 rate meter 值介於 100-1,000 之間，且 result quality 為 good，數據皆為三重複之平均加減標準差。

(九) 懸浮液穩定性分析

將樣品調整成相同濃度，震盪均勻後取 3 mL，置入分離現象分析儀 (LUMiCheck) 中，測定條件為背向散射光強度 870 nm，每 30 分鐘測定一個點，於室溫下進行 24 小時之穩定性測定 (Kuo *et al.*, 2014)。測定原理：測量比色皿的底部橫截面 (傾斜面) 上，反向散射光作為時間的函數，當儀器底部之散射光由下往上照射，會產生折射，經由折射之能量強度變化來判斷樣品中粒子的沉降情形，此能量差稱為 Δ Intensity。當 Δ Intensity 值大於 0，表示樣品有發生沉降情形，

經時間變化，可知沉降情形發生的快慢。若 $\Delta \text{Intensity}$ 值小於 0，表示樣品發生向上懸浮的情形。計算公式：

$$\Delta \text{Intensity} (\%) = \frac{t_1 - t_0}{t_0} \times 100\%$$

t_0 ：散射光之起始量測值； t_1 ：散射光之 12 小時量測值。

透過計算背向散射光比值 (backscattering ratio, BS ratio) 及聚集百分比 (percentage aggregation, %At) 為量化穩定性分析結果：

$$\text{BS ratio: } \text{BS ratio} = \frac{B_t}{B_0} ;$$

$$\text{Percentage aggregation (At): } \% \text{At} = \frac{B_0 - B_t}{B_0} \times 100$$

B_0 ：散射光之初始光強度； B_t ：散射光之時間點 t 光強度。

(十) 懸浮液之濁度分析

參考陳 (2006) 方法。先將樣品調整成相同濃度後，於 4°C 下儲存達預定儲藏天數，取出觀察外觀變化，以 HACH 2100P 濁度計於 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72 及 96 小時量測靜置樣品之濁度。計算靜置時間內樣品的濁度變化率 (%), 作為懸浮液分散安定性的指標，計算式如下：

$$\Delta \text{Turbidity} (\%) = \frac{t_1 - t_0}{t_0} \times 100\%$$

t_0 ：濁度之起始量測值； t_1 ：濁度之 96 小時量測值。

(十一) 顏色分析

懸浮液之顏色以色差儀 (Color Meter ZE 2000, Nippon Denshoku Industries Co., Ltd., Tokyo, Japan.) 分析，量測 CIE L^* 、 a^* 、 b^* 值。儀器先以標準黑板進行零點校正，接著以標準白板 (X: 93.18, Y: 95.18, Z: 112.18) 校正。液態樣品測量模式選擇 transmission，光源模式為 C/2°，將樣品置於石英杯中進行測量，重複 3 次。 L^* 值 (Lightness) 為明亮度：0 (黑色) 至 100 (白色) 的變化； a^* 值代表紅色度 (redness)：數值愈大代表偏紅色度，負值愈大則代表偏綠色度； b^* 值代表黃色度 (yellowness)：正值代表黃色度越高，負值代表藍色度越高 (Sahin *et al.*, 2005)。以 (L^*_1, a^*_1, b^*_1) 表示樣品 1， (L^*_2, a^*_2, b^*_2) 表示樣品 2，計算 ΔE 值，代表樣品間色

澤差異之程度，計算式如下：

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_2 - L^*_1)^2 + (a^*_2 - a^*_1)^2 + (b^*_2 - b^*_1)^2}$$



(十二) 黏度測量

以動態流變儀 (AR-2000ex, TA Instrument, USA) 測定紅棗懸浮液流動曲線 (flow curve)。將紅棗懸浮液 30 mL 置於樣品槽內，選用同心圓柱 (concentric cylinders) 模組，先於 25°C 預轉 30 秒，立即進行測量，控制剪切速率由 0 升至 300 s⁻¹，記錄懸浮液之上升曲線 (up curve)，再控制剪切速率由 300 降至 0 s⁻¹，記錄懸浮液之下降曲線 (down curve)，探討剪切應變 (shear rate) 在 100 s⁻¹ 的黏度變化，與剪切速率、剪切應力及黏度間之關係。

(十三) 總多酚含量分析 (Total polyphenols content, TPC)

總酚含量 (TPC)、總類黃酮含量 (TFC) 及總三萜類含量 (TTC) 之分析，先將紅棗懸浮液樣品以 10,000g 離心 10 分鐘，收集上清液。隨後，將上清液以 5 μm 濾紙過濾，進行凍乾。秤取 100 mg 凍乾樣品溶於 1 mL 去離子水中，充分混合後作為儲備液保存，供後續實驗分析。

總多酚含量常以 Folin-ciocalteu 比色法測定，鹼性條件下，反應試劑中磷鉬酸 (phosphotungstic acid) 與磷鉬酸 (phosphomolybdic acid) 被多酚類還原成藍色化合物 (Mo⁶⁺→Mo⁵⁺)，顏色深淺與總多酚含量呈正相關 (Singleton *et al.*, 1999)。於試管中加入 125 μL 樣品及不同濃度之沒食子酸 (gallic acid) 標準品，依序加入 0.5 mL 去離子水及 125 μL Folin-ciocalteu's phenol reagent，室溫下靜置 6 分鐘，再加入 1.25 mL 7% sodium carbonate 及 1 mL 去離子水，室溫下避光靜置 90 分鐘後，測量 760 nm 下之吸光值。以 gallic acid 作標準曲線，將樣品吸光值代入，可得相對 gallic acid 濃度 (mg gallic acid equivalent, GAE/mL)，進一步將樣品所得 gallic acid 濃度 (mg GAE/mL) 除以樣品固形物濃度 (mg/mL)，則獲得每 g 樣品乾重之 gallic acid 當量毫克數 (mg GAE/g DW) (Taga *et al.*, 1984)。

(十四) 總類黃酮含量分析 (Total flavonoid content, TFC)

分析總類黃酮化合物含量常用氯化鋁比色法 (Aluminum Chloride Colorimetric Method)，氯化鋁會與黃酮類化合物的黃銅及黃酮醇結構上的 C-4 酮基團或 C-3 與 C-5 上的羥基，形成穩定之酸性錯合物而呈色 (Chang *et al.*, 2002)。於試管加入 250 μ L 樣品及不同濃度之兒茶素 (catechin) 標準品，依序加入 1.25 mL 去離子水及 75 μ L 5% NaNO₂，室溫下靜置 6 分鐘後，加入 150 μ L 10% AlCl₃·6H₂O，再於室溫靜置 5 分鐘，接著加入 0.5 mL 1 M NaOH 及 0.275 mL 去離子水，測量 510 nm 下之吸光值。以 catechin 作標準曲線，將樣品吸光值代入，可得相對 catechin 濃度 (mg catechin equivalent, CE/mL)，所得濃度 (mg CE/mL) 除以樣品固形物濃度 (mg/mL)，則獲得每 g 樣品乾重之 catechin 當量毫克數 (mg CE/g DW) (Zhishen *et al.*, 1999)。

(十五) 總三萜類含量分析 (Total Triterpenoid Content, TTC)

取 10 mL 萃取液加入 80% 甲醇定容至 50 mL，取稀釋之檢體 0.1 mL，乾燥後，加入 0.2 mL 5% 香草醛-乙酸及 1 mL 過氯酸，於 60°C 反應 10 分鐘，冷卻至室溫，加入 3.5 mL 乙酸，反應 15 分鐘，測量 550 nm 下之吸光值。以齊墩果酸 (Oleanolic acid, OA) 作標準曲線，將樣品吸光值代入，可得相對 OA 濃度 (mg OA equivalent, OAE/mL)，進一步將樣品所得濃度 (mg OAE/mL) 除以樣品固形物濃度 (mg/mL)，則獲得每 g 樣品乾重之 OA 當量毫克數 (mg OAE/g DW) (Wang *et al.*, 2021)。

(十六) 三萜類萃取與分析

A. 標準溶液之配製

紅棗主要三萜酸類為白樺酯酸 (Betulic acid)、齊墩果酸 (Oleanolic acid) 及熊果酸 (Ursolic acid)，取上述 5 mg 標準品，以甲醇溶解後，定容至 25 mL，配製成濃度 200 μ g/mL 之三萜標準儲存溶液 (stock) 於 -18°C 備用。

B. 移動相之配製

移動相使用甲醇 (A) 與水 (B)，二者依梯度條件設定進行層析分析。去離子水先以 1 N 磷酸調整 pH 值至 3，接著以直徑 13 mm，孔徑 0.45 μ m 之 Nylon

過濾膜過濾，取濾液作為移動相溶液之水相 (B)；甲醇相 (A) 使用液相層析等級 >99% 之甲醇溶劑。

C. 檢液之配製

參考 Guo 等 (2009) 之方法。紅棗懸浮液先經冷凍乾燥後，取 5 g 凍乾樣品加入 100 mL 99% 乙醇，以超音波萃取 45 分鐘，萃取全程以冰浴維持溫度，3,500g 離心收集萃取液，殘留物重新加入 100 mL 99% 乙醇，重複步驟，共萃取 2 次。合併濾液共 200 mL，進行減壓濃縮至乾，再以甲醇回溶定容至 10 mL，充分混合均勻，以 0.45 μ m 濾膜過濾，即得樣品檢液。

D. 液相層析分析條件

層析管柱為 Waters SunFire™ C18 column (250 mm x 4.6 mm, 5 μ m)；HPLC 偵測器為紫外光-可見光檢測器 (ultraviolet-visible, UV-Vis Detector)；偵測波長為 210 nm (三萜類吸收特徵波長)；移動相流速為 0.6 mL/min；管柱溫度為 25°C；檢液進樣注射體積 10 μ L；分析時間為 100 分鐘。層析管柱於分析完畢後，以清洗程序進行管柱清洗及保存，依序以 60% 甲醇、100% 甲醇及 100% 乙腈，於 0.5 mL/min 流速流洗 30 分鐘，去除殘留於層析管柱中有機、無機物質，將管柱以 100% 乙腈溶液作保存。

移動相之梯度條件：

A：甲醇 (MeOH)；B：水 + 0.08% phosphoric acid (v/v) (pH 值為 3)

min	mL/min	A (%)	B (%)
Prerun	0.6	55	45
16	0.6	55	45
36	0.6	65	35
46	0.6	77	23
56	0.6	80	20
70	0.6	95	5
90	0.6	95	5
95	0.6	55	45
100	0.6	55	45



E. 標準曲線之製作

以定量吸管從 200 µg/mL 三萜標準儲存溶液中吸取 1 mL，以 100% 甲醇依序配製為 100、50、25、12.5 與 6.25 µg/mL 三萜標準溶液，以 1 mL 針筒抽取約 2 mL，經過 0.45 µm 之 Nylon 濾膜至棕色樣品瓶內。以 HPLC 自動進樣器吸取三萜標準溶液 10 µL，注入 HPLC-UV 中，參照前節（液相層析儀分析條件）參數設定進行分析，透過波峰面積 (mV.min) 與其對應之三萜酸濃度，作為標準曲線，計算判定係數 (R^2) 需大於 0.99。

F. 含量檢定

以自動進樣器吸取檢液 10 µL，注入 HPLC-UV 中，參照前節（液相層析儀分析條件）參數設定進行分析，透過檢液與標準溶液所得之波峰滯留時間鑑別之，檢液中三萜之含量 (µg/g) 計算式如下：

$$\text{檢體之紅棗三萜含量 (µg/g)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：標準曲線求得檢體之三萜含量 (µg/mL)；

V：稀釋檢體之體積 (mL)；

M：檢體取樣重量 (g)

(十七) DPPH 自由基清除能力 (DPPH free radical scavenging effect)

DPPH 試驗原理為抗氧化劑能提供氫原子將 DPPH 試劑還原，試劑的呈色 (吸光值) 會降低，藉由 DPPH 自由基測試樣品提供氫能力，評估清除自由基的效果 (Huang *et al.*, 2005; Haida and Hakiman, 2019)。EC₅₀ 定義為初始 DPPH 濃度減少至 50% 時，所相對應的樣品濃度，愈低表示清除 DPPH 自由基效果愈強 (Huang *et al.*, 2005)。

參考 Shimada 等 (1992) 之方法。以 L-ascorbate 與 α-tocopherol 作為正控制組指標，吸取 30 µL 不同濃度之正控制組及樣品 (濃度範圍為 0、0.78、1.56、3.13、6.25、12.5 及 25 mg/mL) 置於 96 孔盤中，加入 270 µL 之 DPPH 甲醇溶液 (100 µM)，均勻混合於室溫避光靜置 90 分鐘，測 520 nm 下之吸光值。當 DPPH 自由基被清除越多，520 nm 之吸光值會下降，利用相對於空白對照組的吸

光值下降百分比，判斷清除 DPPH 自由基能力之強弱 (Shimada *et al.*, 1992)，計算式如下：

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\%$$

A_b ：空白對照組之 A_{520} 值； A_s ：加樣品之 A_{520} 值



(十八) 還原能力 (Reducing power)

還原力與電子轉移能力有關，藉由樣品提供電子，將試劑中的 Fe^{3+} 還原成 Fe^{2+} ，還原力越強，可視為良好的電子供應者，提供電子使自由基還原成較穩定之物質，具有抗氧化的潛力 (Gao *et al.*, 2011)。

參考 Oyaizu (1986) 之方法。以 L-ascorbate 及 α -tocopherol 作為還原力試驗之正控制組指標，微量離心管中加入 250 μL 不同濃度之正控制組及樣品 (分別為 0、0.78、1.56、3.13、6.25、12.5 及 25 mg/mL)，接著加入 250 μL 之 0.2 M Sodium phosphate buffer (pH 6.6) 及 250 μL 之 1% potassium ferricyanide 混合，於 50°C 水浴 20 分鐘，快速冷卻後，加入 250 μL 之 10% trichloroacetic acid (TCA) 溶液，以 200g 離心 10 分鐘，取 100 μL 上層液置於 96 孔盤，加入 100 μL 去離子水及 20 μL 0.1% Ferric chloride，混合均勻，待 10 分鐘後，測量於 700 nm 下吸光值 (Oyaizu, 1986)。吸光值越高表示樣品之還原力越強，計算式如下：

$$\text{Reducing power} = A_s - A_b$$

A_s ：加樣品之 A_{700} 值； A_b ：空白對照組之 A_{700} 值

(十九) 總抗氧化能力 (Total antioxidant activity)

總抗氧化能力與電子轉移能力有關，利用過氧化氫酵素 (peroxidase) 催化過氧化氫與 ABTS 試劑反應，生成氧化態 ABTS^{+} 呈現藍綠色，當抗氧化物質與 ABTS 結合會抑制顏色產生，若抗氧化能力愈高，則溶液吸光值愈低 (Re *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2005; Apak *et al.*, 2017)。

參考 Awika 等 (2003) 之方法。Trolox 為正控制組指標，製作標準曲線，實驗結果以 TEAC value 表示之。將 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)、peroxidase 及 H_2O_2 均勻混合，使系統最終濃度分別為 100 μM 之

ABTS、4.4 unit/mL之peroxidase 及 50 μM 之 H_2O_2 ，30°C 避光反應 30 分鐘，使其成為藍綠色穩定的 $\text{ABTS}^{+\cdot}$ 自由基 ($\text{OD}_{734} = 0.70 \pm 0.02$) 反應試劑。取 30 μL 樣品加入 270 μL 上述 $\text{ABTS}^{+\cdot}$ 反應試劑置於 96 孔盤，混合反應 90 秒後，測量 734 nm 下吸光值，觀察藍綠色脫色程度。以不同濃度 Trolox 清除 $\text{ABTS}^{+\cdot}$ 自由基能力，作一清除率標準曲線，帶入樣品之吸光值，計算於相同的抑制率時，樣品與 Trolox 之相對量，TEAC 定義為樣品 (1 mg/mL) 清除自由基能力相當於的 Trolox 濃度 (Awika *et al.*, 2003)。TEAC 計算式如下：

$$\text{TEAC} = \frac{\Delta A_s \times C_{\text{Trolox}}}{\Delta A_{\text{Trolox}}}$$

ΔA_s ：樣品之 A_{734} 差值；

C_{Trolox} ：相對之 Trolox 濃度；

ΔA_{Trolox} ：Trolox 之 A_{734} 差值。

(二十) 鐵還原抗氧化能力 (Ferric reducing antioxidant power assay, FRAP)

取樣品 50 μL 加入 150 μL 去離子水及 1.5 mL FRAP 試劑 (2.5 mL 含 10 mM TPTZ 之 40 mM HCl 加入 2.5 mL 10 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 及 25 mL 300 mM acetate buffer (pH 3.6))，混合均勻，於 37°C 下反應 10 分鐘，測量於 593 nm 之吸光值 (Haida and Hakiman, 2019)。FRAP 抑制率計算式如下：

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_s - A_b}{A_s} \times 100\%$$

A_s ：加樣品之 A_{593} 值； A_b ：空白對照組之 A_{593} 值。

(二十一) 細胞試驗

A. 樣品前處理與製備

將紅棗懸浮液樣品以 10,000g 離心 10 分鐘，收集上清液。隨後，將上清液以 5 μm 濾紙過濾，進行凍乾。秤取凍乾樣品，回溶於 dimethyl sulfoxide (DMSO) 中，充分混合後，進行無菌處理，於無菌操作台使用 0.22 μm 無菌濾膜過濾備用，供後續實之細胞試驗。實驗時以 DMSO 調整樣品濃度，與細胞進行共培養。

B. 細胞培養

a. 細胞株來源及特性

巨噬細胞株 RAW 264.7 來源為 BALB/c 小鼠單核細胞 (ATCC NO. TIB-71)，購自食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心 (BCRC, Taiwan)。從液態氮桶取出 RAW 264.7 細胞株凍管，於 37°C 水浴槽中快速解凍，溶解後移至裝有 10 mL DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco, NY, USA) 培養液 (含 10% fetal bovine serum, Gibco, NY, USA 及 100 U/mL penicillin-streptomycin) 的離心管中，1,000 rpm 離心 5 分鐘，移除上清液，將細胞液緩慢注入打散細胞，均勻分散至 10 cm 細胞培養皿，放置 37°C、5% CO₂ 細胞培養箱中培養。當細胞長至約八分滿時，再以新的培養基繼代培養或分盤放大，經過繼代確認細胞穩定生長後，即可進行後續實驗 (Plumb et al., 1989; Ji et al., 2017)。

b. 實驗步驟

紅藜懸浮液以離心處理取得上清液，進行凍乾，接著以 DMSO 回溶，進行無菌處理，於無菌操作台使用 0.22 µm 無菌濾膜過濾備用。

取 0.1 mL 細胞數為 1×10^5 cells/mL 的細胞液至 96 孔盤，於 37 °C、5% CO₂、95% 相對溼度培養箱培養 12 小時，換成無酚紅且不含血清的培養基，分別於每個孔盤中加入 0.1 mL 序列稀釋之懸浮液樣品 (250、500 及 1,000 µg/mL) 或對照組 (UA) 及 LPS (Lipopolysaccharide, sigma, L2654，作為正控制組)，再將 96 孔盤置於培養箱中培養 24 小時後，取出收集培養液進行 NO、TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 含量之測定。先以 3,000 rpm 離心 10 分鐘，將含藥品的培養液吸取收集，以 1 倍 PBS buffer 洗去殘留的培養基，再以相同條件離心一次後，進行 MTT 分析，於 570 nm 測定吸光值，計算細胞存活率。

c. MTT assay

二甲基硫醇二苯基四唑溴 (3-(4,5-dimethylthiazol-z-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT) 為一種帶正電荷的四唑染劑 (Tetrazolium dye)，呈現黃色，可滲透細胞。當活細胞的粒線體呼吸鏈中，琥珀酸脫氫酶 (succinate dehydrogenase, SDH) 與細胞色素 C 作用下，四氮唑環 (tetrazolium) 經代謝斷裂轉變成藍紫色 formazan 結晶，反之在死亡細胞中不會作用。利用 DMSO 將 formazan 溶解出來，測定其吸光值，表示活細胞數目的多寡，評估試驗樣品對共培養細胞之存活率影響 (Plumb et al., 1987; Stockert et al., 2012)。參考 Plumb 等 (1987) 方法並修飾。先以 3,000 rpm 離心 10 分鐘移除待測細胞 96 孔盤內的培養液，以 1 倍 PBS buffer

洗去殘留的培養基，再以相同條件離心一次後，每個孔盤中加入 100 μ L 的 0.5 mg/mL (0.2% MTT 用培養基 10 倍稀釋) MTT 試劑，放回 37°C、5% CO₂ 培養箱反應 4 小時，取出後移除 MTT 試劑，加入 150 μ L DMSO 溶解細胞產生的藍紫色結晶，測量 570 nm 之吸光值，以控制組之吸光值為基準，實驗組的吸光值相對於控制組之比值作為細胞存活率，計算式如下：

$$\text{Survival rate (\%)} = \frac{O.D_{\text{treated}} - O.D_{\text{blank}}}{O.D_{\text{control}} - O.D_{\text{blank}}} \times 100\%$$

O.D_{treated}：實驗組 A₅₇₀ 值；O.D_{control}：控制組 A₅₇₀ 值；O.D_{blank}：空白組 A₅₇₀ 值。

(二十二) 細胞產物之測定

A. 一氧化氮 (Nitrite, NO) 之測定

一氧化氮 (NO) 的半衰期短，暴露於空氣中約 30 秒左右，即會被氧氣氧化成具穩定狀態的化合物-亞硝酸 (nitrite, NO₂⁻) 或硝酸 (nitrate, NO₃⁻)，根據 Griess 呈色原理，測量亞硝酸根離子的含量，即可評估 NO 產量 (Dudhgaonkar *et al.*, 2009)。參考 Dudhgaonkar 等 (2009) 方法，將 RAW 264.7 以 1×10^6 cells/mL 濃度種入 24 孔盤內，培養 12 小時後，更換成不含血清之無酚紅培養基，再分別加入不同濃度的懸浮液樣品 (或對照組 UA) 與 LPS (100 ng/mL)，共同培養 24 小時，收集細胞培養液 100 μ L 移至新的 96 孔盤，各別加入 50 μ L 的 G1 與 G2 reagent 反應，靜置 15 分鐘後，依據 Griess reaction 原理進行 nitrite 的定量，測量波長 540 nm 之吸光值，代入亞硝酸鈉 (Sodium nitrite, NaNO₂) 之標準曲線 (濃度 0-100 μ M)，計算 nitrite 濃度。

B. TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 之測定

細胞激素 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 分泌量之測定，使用細胞激素分析套組 ELISA Ready-SET-Go (eBioscience, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) (Pan *et al.*, 2016)。先以 coating buffer (10 倍 PBS ELISA coating buffer：二次水以 1：9 之比例混合) 稀釋細胞激素單株抗體 (Capture antibody)，加入 0.1 mL/well 於 ELISA 專用 96 孔盤中，於 4°C 下貼附 12 小時後，使用 wash buffer (含 0.05% Tween 20 之 PBS) 清洗 5 次，去除未鍵結的單株抗體。接著加入 0.2 mL/well blocking buffer (5 倍 ELISA/ELISPOT diluent：二次水以 1：4 比例混合，含 5% BSA)，減

少非特異性結合之反應，於室溫下反應 2 小時，再以 wash buffer 清洗 5 次。接著加入 0.1 mL/well 適當稀釋之細胞培養液樣品及序列稀釋之標準品 (8-1,000 pg/mL)，於室溫下反應 2 小時，以 wash buffer 清洗 5 次，再加入 0.1 mL/well 酵素 Streptavidin-HRP (二抗，40 μ L 酵素與 10 mL ELISA/ELISPOT diluent 混合均勻)，於室溫下反應 1 小時，以 wash buffer 清洗 5 次。加入 0.1 mL/well substrate solution (Tetramethylbenzidine, TMB，反應呈色)，室溫下避光反應 5 至 30 分鐘。最後加入 50 μ L/well stop solution (2N H₂SO₄) 以停止反應，立即以 ELISA reader 測定 450 及 570 nm 之吸光值，將測量值以內插法代入標準品所作標準曲線，計算培養液中細胞激素含量。

(二十三) 乳酸菌發酵

研究使用乳酸菌株為 *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (BCRC 10069, Taiwan; ATCC 14917, USA)。37°C 條件下，於 Lactobacilli MRS 培養基 (DIFCO 0881) 培養。發酵實驗前，先將 LAB 菌株於 MRS 培養基培養 24 小時活化，達到對數生長期進行後續實驗。

鮮棗懸浮液以 80°C、15 分鐘進行巴氏殺菌 (pasteurized)，處理過的懸浮液接種 10% (v/v) 已活化 *Lactiplantibacillus plantarum* 菌液，進行發酵實驗，條件為 37°C 靜置培養 48 小時，於 0、12、24、36 與 48 小時的時間點取樣分析。

乳酸發酵懸浮液的可溶性固形物 (°Brix)，以手持式折射計 (Atago Co., Tokyo, Japan) 測定；葡萄糖濃度，以 DNS (dinitrosalicylic acid) 法測定；pH 值，使用 pH 計 (SP-2200, Suntext Instruments, Taipei, Taiwan) 測定；可滴定酸度，則以乳酸當量百分比表示。

於發酵過程期間，持續監測懸浮液的可溶性固形物及葡萄糖含量變化，以評估 *Lactiplantibacillus plantarum* 的代謝活性及基質利用效率。

(二十四) DSS 誘導結腸炎動物模式

A. 動物來源及飼養方式

本實驗所用的實驗動物為五週齡的 BALB/c 公鼠 (16-18 g)，購自財團法人國家實驗研究院國家實驗動物中心 (National Laboratory Animal Center, Taipei,

Taiwan)。實驗動物飼養於臺灣大學實驗動物資源中心 (IACUC Approval No: NTU-107-EL-00222)，飼養環境保持恆溫 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相對溼度維持 50%，日光燈模擬日照與黑夜各 12 小時，墊料及飲用水一週更換二次。實驗鼠採隨機分組的方式每四隻一籠飼養，預養一週後觀察無異樣隨即分成五組進行實驗。皆給予一般商業配方飼料 (Laboratory Rodent Diet 5001) 與無菌水採自由攝食 (*ad libitum*)，紅棗懸浮液採管餵方式餵食。

B. 實驗方法

小鼠飲水給予 DSS，可誘發腸潰瘍、腸壁增厚與結腸長度縮短，是一穩定的腸炎研究模型 (Chou et al., 2020; Lin et al., 2020)。參考 Chu 等 (2020) 及 Lin 等 (2020) 之實驗方法，小鼠馴養一週後，隨機分為五組 ($n=10/\text{group}$)：(1) 控制組-未接受任何處理；(2) DSS 組-第 18 至 24 天於飲水中添加 2 % 葡聚糖硫酸鈉 (DSS, MW: 36,000-50,000 Da, MP Biomedicals, USA)；(3) DSS + F-B 組-每日管餵 0.1 mL 粗碎處理新鮮紅棗懸浮液；(4) DSS + F-M 組-每日管餵 0.1 mL 介質研磨新鮮紅棗懸浮液；(5) DSS + F-S 組-每日管餵 0.1 mL 介質研磨新鮮紅棗懸浮液上清液。

紅棗懸浮液每週現製，由試驗開始至第 27 天每日以管餵方式給予懸浮液 0.1 mL。第 18 至 24 天期間，DSS 組在飲用水中加入 2% DSS 連續 7 天，以誘發腸炎，其後更換回一般飲用水直至第 28 天結束實驗犧牲為止。

實驗期間紀錄小鼠體重、DAI 指標 (糞便稠度及直腸出血情形)。於第 28 天以 CO_2 窒息的方式犧牲小鼠，並以心臟穿刺方式收集血液以供後續分析，解剖後取下肝、腎、脾及腸道等組織，經 1 倍 PBS 清洗後記錄重量，測量腸道的長度，所有臟器保存於 -80°C 備用。

(二十五) 數據統計分析

實驗數據使用 GraphPad Prism (版本 10.4.0) 及 Sigmaplot 10.0 進行圖形處理，IBM SPSS Statistics (版本 22) 進行統計分析。數據以三次重複測定之平均值 $\pm$ 標準差 ($\text{mean} \pm \text{SD}$) 表示。統計差異透過單因子變異數分析 (one-way ANOVA) 或二因子重複量測變異數分析 (two-way repeated measures ANOVA)，進行 Tukey 事後多重比較檢定評估， $p < 0.05$ 視為具有統計顯著性。

肆、結果與討論



一、紅棗基本成分與物化性質

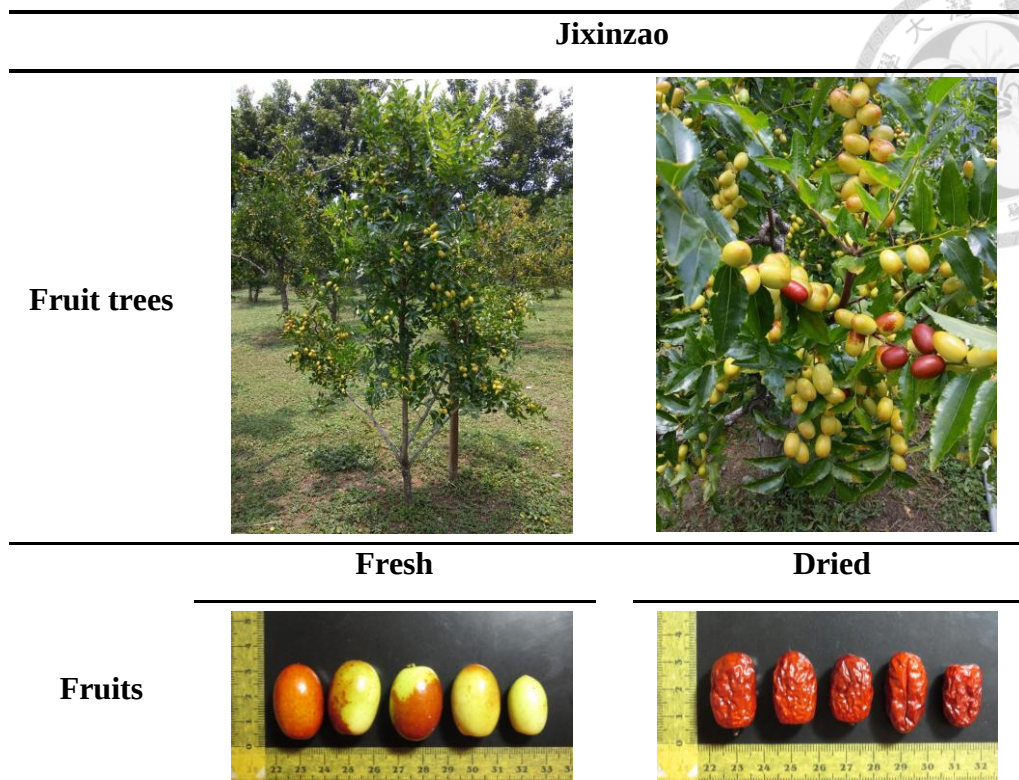
(一) 基本成分

本研究使用紅棗樣品，品種為雞心棗，種植地為苗栗縣公館鄉，於產季 7 至 8 月時採收。鮮棗果實成熟度為脆熟期，果實大小，長約 2-3 公分，寬約 1-2 公分，呈現兩端尖狀的橢圓形。新鮮果實採收後，經日曬乾燥製成紅棗干，如圖一所示。

雞心棗生鮮果實之水分含量為 78.8%，乾物中的主要成分為碳水化合物 (96.4%) (粗蛋白、粗脂肪與灰分含量以 100 扣除，即為碳水化合物總量)，粗蛋白含量為 2.6%，粗脂質及灰分的含量分別佔乾物重之 0.5%；紅棗干水分含量為 34.7%，粗蛋白佔 6.0%，灰分佔 1.9%，粗脂肪則為 0.7% (表一)。

USDA (2016) 公告之新鮮紅棗基本成分，水分含量為 77.86%，粗蛋白為 1.20%，粗脂肪為 0.20%。研究分析紅棗干 (金絲小棗、牙棗、尖棗、駿棗及三變紅棗，共 5 種棗干) 之一般成分組成，棗干水分含量範圍為 17.38-22.52%，碳水化合物含量為 80.60-85.63%，粗蛋白質為 4.75-6.86%，粗脂肪為 0.37-1.02%，灰分為 2.26-3.01% (Li *et al.*, 2007)。鮮棗採收後製作紅棗干，藉由日曬使其水分蒸發，此時水分含量的減少，各組成成分於乾物重之比例會略為增加。一般而言，依紅棗品系、生長階段及栽培條件的之差異，其成分會略有不同 (Pareek, 2013)。結果顯示，雞心棗的粗蛋白含量略高於 USDA 公告資料。

本研究以雞心棗之新鮮果實及紅棗干為原料進行初步評估。紅棗干為新鮮果實經日曬乾燥所得，在加工過程中水分含量、物理與化學性質及活性成分皆可能發生變化，故探討不同原物料狀態對介質研磨製備紅棗懸浮液的影響。第一部分，以新鮮果實為原料，先以攪碎器處理作為鮮果粗碎組 (F-B)，接著結合濕攪拌介質研磨製程製備鮮果介質研磨組 (F-M) 懸浮液，作為後續實驗之樣品，評估介質研磨對鮮果樣品的影響。第二部分則以紅棗干為原料，經攪碎器處理為棗干粗碎組 (D-B) 及介質研磨處理之棗干介質研磨組 (D-M)，以及以熱水萃取方式處理的棗干熱水萃取組 (D-H)，進行比較與分析。為進一步探討不同研磨樣品之固形物濃度與相關理化特性，統一以「固形物含量」為比較基準，利於各組間結果之評估。



圖一、台灣苗栗縣公館鄉之雞心棗 (Jixinzao)：紅棗果樹、鮮棗果實及紅棗干。

Figure 1. The Jixinzao jujube cultivar in Taiwan: fruit tree, fresh fruit, and dried fruit.

表一、雞心棗之基本成分組成。

Table 1. The proximate compositions of jujube.

Component	Content (%) ^a	
	Fresh	Dried
Moisture	78.8 ± 0.3	34.7 ± 0.4
Dry matter	21.2 ± 0.3	65.3 ± 0.4
Crude Protein	2.6 ± 0.2	6.0 ± 0.1
Crude Fat	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.1
Ash	0.5 ± 0.1	1.9 ± 0.1
Carbohydrate^b	96.4 ± 0.5	91.4 ± 0.6

a: Moisture and dry matter are presented base on air-dried weight; others are based on dry weight. Each value represents mean ± SD ($n = 3$).

b: Carbohydrate (%) = 100% - (crude protein + crude fat + ash)

(二) 介質研磨鮮棗懸浮液粒徑特性

新鮮紅棗果實透過攪碎處理與介質研磨結合製備懸浮液，懸浮液固形物含量及研磨時間對粒子特性的影響 (圖二)。結果顯示，實驗操作濃度以固形物含量 5% 為最佳，可獲得最小粒徑。體積平均粒徑 ($d_{4,3}$) 與數量平均粒徑 ($d_{1,0}$) 均隨著研磨時間逐漸減小，在 180 分鐘內即可觀察到粒徑結果顯著地下降 (圖二 A、B)。 $d_{4,3}$ 由 $229.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$ 降低至 $25.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ； $d_{1,0}$ 則由 $7.2 \pm 0.0 \mu\text{m}$ 降至 $0.1 \pm 0.0 \mu\text{m}$ ，表示延長研磨時間，能有效將較大顆粒粉碎為更均一的次微米粒子。鮮棗懸浮液之體積平均粒徑分布 (d_{10} 、 d_{50} 、 d_{90}) 比較，在固形物含量 5% 時，粒子尺寸最為小 (圖二 C)，進一步將體積平均粒徑結果 d_{90} 與 d_{10} 二者相減，再除上 d_{50} ，即為粒徑跨度 (span)，亦隨著懸浮液固形物含量增加而降低 (圖二 D)，顯示懸浮液的粒子均一性提升，粒徑分布範圍變窄，所得粒子尺寸更趨向一致。作為評估產品品質的控管，說明產品穩定性提升，大部分粒子的尺寸愈接近，粒度愈均勻。

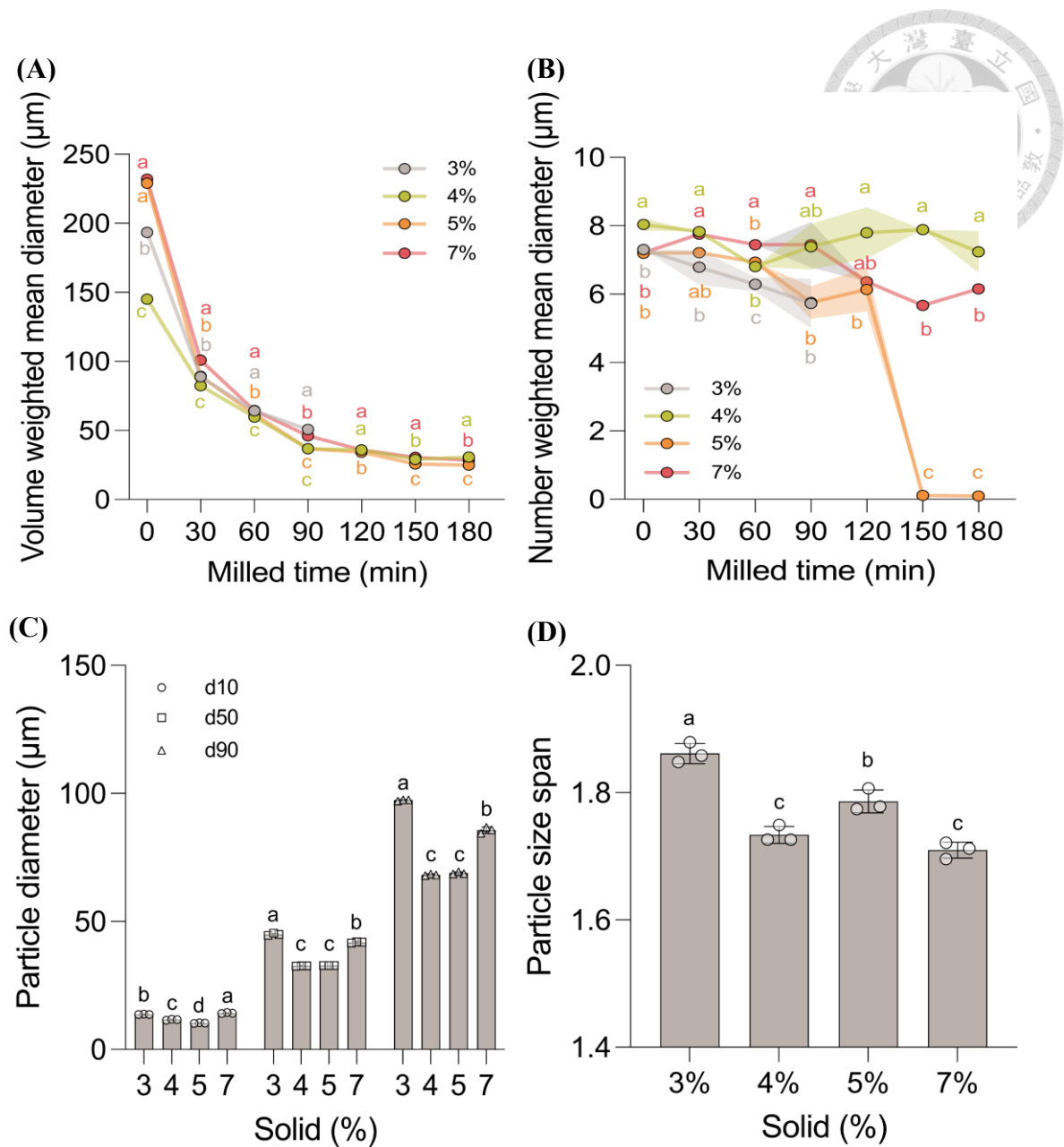
比較不同固形物含量之新鮮果實懸浮液的粒徑分布特性，當中以 5% 固形物濃度的懸浮液， $d_{4,3}$ 與 $d_{1,0}$ 粒子尺寸為最小，體積平均粒徑的 d_{10} 、 d_{50} 、 d_{90} 指標，也是各組中較小的粒子尺寸，span 結果也呈現粒徑分布的範圍變窄，以及考量介質研磨操作效益下，故選擇固形物濃度 5% 為後續研究之懸浮液操作濃度。

操作濃度選擇固形物含量 5%，研磨時間內粒徑的變化，如圖三所示。體積百分比粒徑分布分析，鮮果粗碎後 (F-B) 之 $d_{4,3}$ 由 $193.33 \mu\text{m}$ ，經介質研磨 180 分鐘 (F-M180)，減小至 $24.97 \mu\text{m}$ ，約為 1/8，觀察到粒徑分布呈現雙峰型分布，範圍為 0.04 至 0.83 及 1.59 至 $96.49 \mu\text{m}$ (圖三 A)。多分散指數 (PDI) 為 D_v/D_n ，隨著研磨時間增加，當 $d_{1,0}$ 下降 D_n 值變小，PDI 因而上升 (圖三 B)。數量百分比粒徑分布結果中，懸浮液的 $d_{1,0}$ 波峰隨研磨時間向左移動，F-M180 小於 $1 \mu\text{m}$ 的粒子，約佔總數量的 99% (圖三 C)。進一步佐證分散性提升，其中一開始粒子 $d_{4,3}$ 因介質研磨作用而尺寸快速減小，當 150 分鐘後 d_{90} 及粒子粉碎率 (reduction ratio) 趨於穩定 (圖三 D)。粒子粉碎率為反映粒子破碎前後的粒徑改變程度，研磨 0 分鐘至 150 分鐘之間，粉碎率較大，代表粒子經過研磨破碎效果明顯，粒徑縮小幅度愈大，而 150 分鐘後，粉碎率變化不顯著，表示在此研磨條件

下，粒徑變化已達到平衡，介質研磨對紅棗物料結構的破壞效果已不明顯。綜合結果，故後續實驗之操作濃度選用 5% 固形物含量及 180 分鐘研磨時間，作為製備鮮棗懸浮液之合適加工條件。

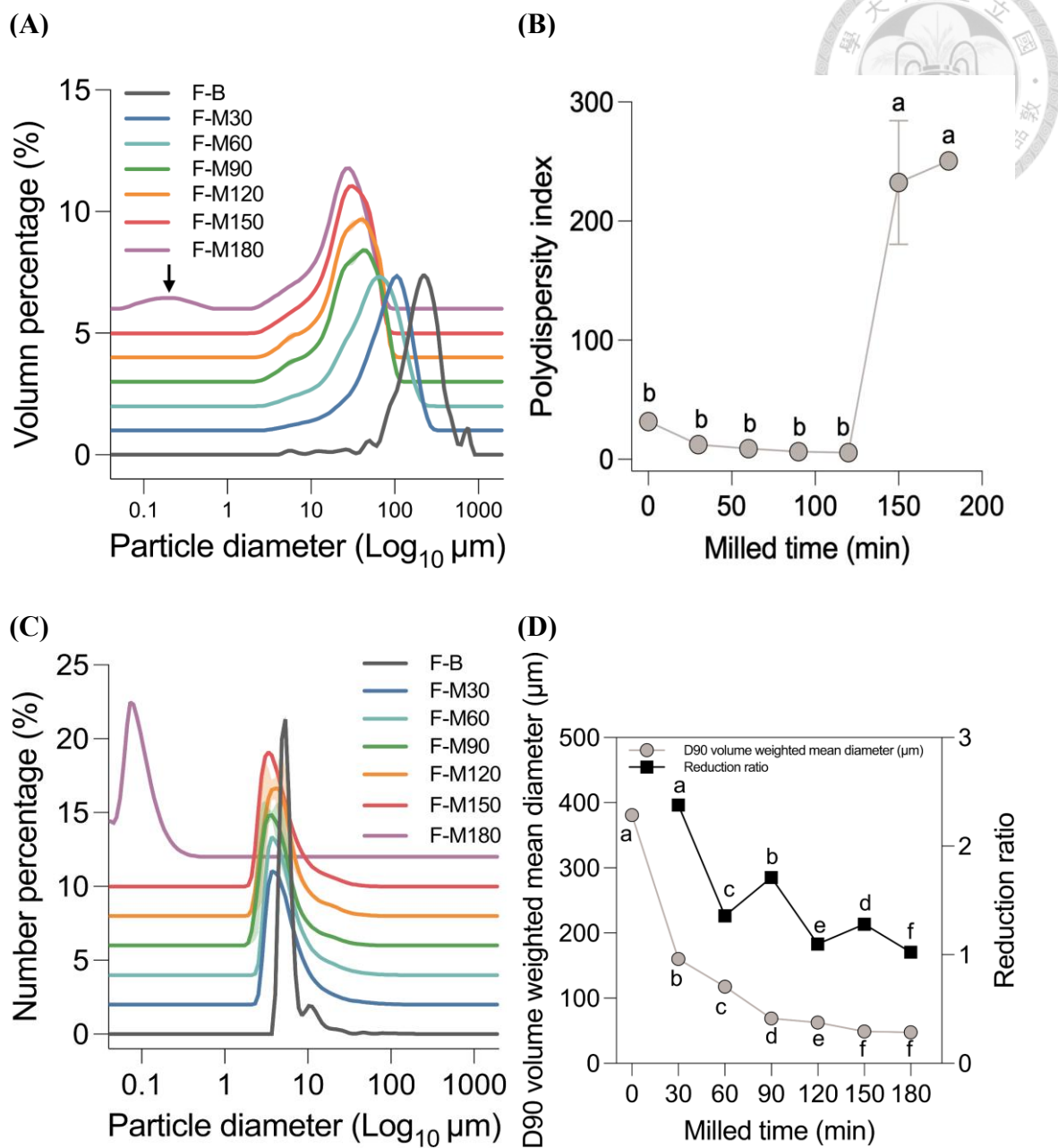
研究指出懸浮液固形物含量與研磨時間的最佳化對獲得理想的粒子特性至關重要。與先前研究相符，證實延長研磨時間能有效破壞細胞結構，促進細胞內成分的釋放，並提高懸浮液的穩定性 (Lhaghlham *et al.*, 2024)。研介質研磨比攪碎器提供物料更大的摩擦、碰撞及剪切力等作用，將物料微細化，降低物料的最終尺寸粒徑，具時間效應，以濕攪拌介質研磨製備全豆豆漿，有效達到物料微細化， $d_{1,0}$ 總數量 99% 皆小於 $1\ \mu\text{m}$ (Kuo *et al.*, 2014)。

體積平均粒徑係以粒子體積為加權基準所計算之平均值，能有效反映樣品中大粒徑顆粒對整體分布的影響程度，常用統計指標為 d_{10} 、 d_{50} 與 d_{90} 。其中， d_{10} 表示樣品中有 10% 的粒子粒徑小於此值，代表最細小粒子群； d_{50} 為中位粒徑，意即 50% 的粒子粒徑小於該值； d_{90} 則表示 90% 的粒子粒徑小於此值，雖非絕對最大粒徑，卻能代表樣品中大顆粒的分布上限。進一步計算 span 值可作為評估粒徑分布範圍、均勻性與產品品質穩定性的重要依據。為了反映樣品中大顆粒對整體的影響， span 通常以體積（或質量）加權粒徑分布進行計算，更能確實呈現樣品結構的分布情形。相對而言，數量加權則依粒子數目統計，容易受到細小粒子數量大量存在的影響，導致粒徑分布偏窄，無法真實反映大粒子對產品特性的影響。因此，本研究以懸浮液的體積平均粒徑為依據，計算 span 值，以獲得代表性的粒徑分布評估結果。



圖二、固形物濃度及研磨時間對鮮棗懸浮液粒徑特性之影響。(A) 體積加權平均粒徑、(B) 數量加權平均粒徑、(C) 體積加權平均粒徑分布、(D) 體積加權平均粒徑跨度。

Figure 2. Effects of solid content and milling time on the particle size characteristics of fresh jujube suspensions. (A) volume-weighted average diameter, (B) number-weighted average diameter, (C) particle size distribution, (D) particle size span. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.



圖三、鮮棗懸浮液之粒徑分布。(A) 體積百分比、(B) 多分散指數 (PDI)、(C) 數量百分比、(D) D90 體積加權平均粒徑及粒子粉碎率。

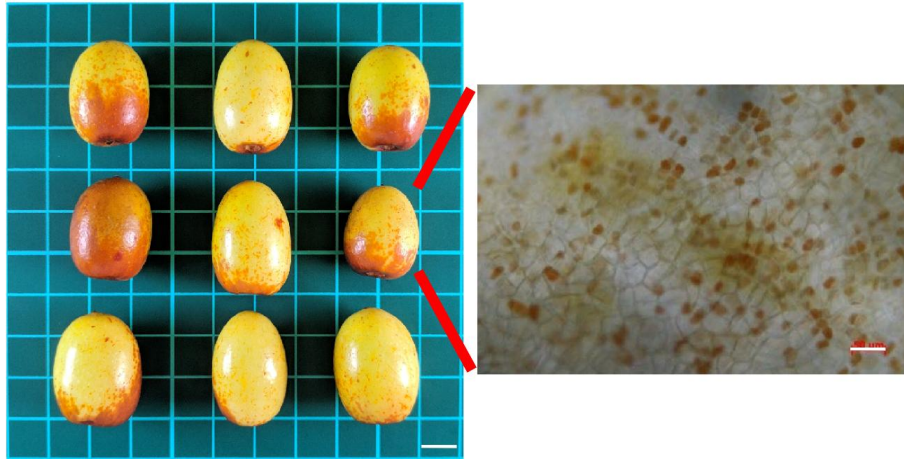
Figure 3. Particle size distribution of fresh jujube suspension. (A) volume percentage, (B) polydispersity index (PDI), (C) number percentage, and (D) D90 volume-weighted mean diameter and reduction ratio. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.

(三) 介質研磨鮮棗懸浮液物化性質與穩定性

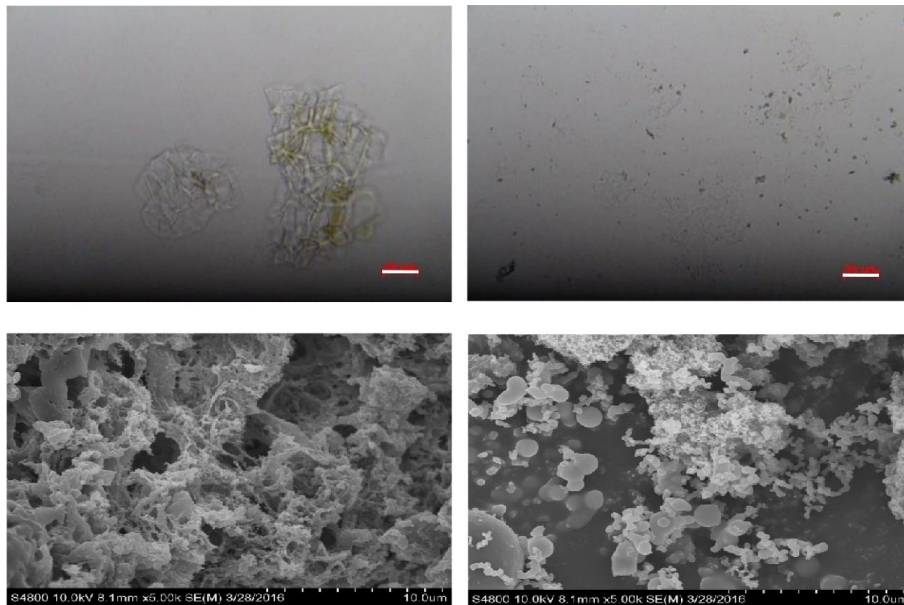
新鮮紅棗果實外表主要呈現綠色，並有些微紅色部分，果實具有光澤，依外觀顏色分布判定，成熟度約為 20 至 60% 之間。鮮棗懸浮液於研磨時間變化下的顯微影像及色澤觀察 (圖四)。光學顯微鏡影像顯示，新鮮紅棗的植物細胞直徑大小約 20-30 μm 之間，完整的果皮細胞結構，主要呈現綠色，帶有些微紅色素 (圖四 A)。介質研磨前後，呈現粒子縮小，因細胞結構受研磨機械力破壞，造成植物細胞破碎，與攪碎處理的 F-B 相比，F-M180 的粒子明顯減小，介質研磨樣品具有更均一且分散的粒子分布 (圖四 B)。配合掃描式電子顯微鏡 (SEM) 影像進一步驗證上述觀察結果，介質研磨鮮棗懸浮液乾燥後，顆粒呈現較平滑的表面形貌且聚集結構較少，攪碎處理的樣品仍保留較大、形狀不規則且成團的顆粒。這些微觀結構變化顯示，介質研磨能有效破壞植物細胞結構。

鮮棗懸浮液外觀觀察，隨著研磨時間 (0-180 分鐘) 的延長，樣品的分散性提升，懸浮液亦更加均勻 (圖四 C)。色澤分析 (L^* 、 a^* 、 b^* 、 ΔE) 隨研磨時間延長而顯著變化，推測可能為研磨過程中細胞內成分的釋出或粒子減小降低了透光性 (圖四 D)。紅棗新鮮果實為黃綠色果實，經攪碎後，懸浮液呈現黃綠色，可觀察到黃綠色的果皮碎片於懸浮液內，隨著介質研磨處理，懸浮液逐漸轉變為黃色。色澤分析方面，實驗結果與鮮果懸浮液的外觀觀察相符，懸浮液之 L^* 值，隨研磨時間下降，而 a^* 、 b^* 及 ΔE 值，有上升趨勢，F-M 懸浮液的 a^* 與 b^* 值顯著上升，表示色澤偏向紅與黃色，且黃色程度大於紅色。

(A)



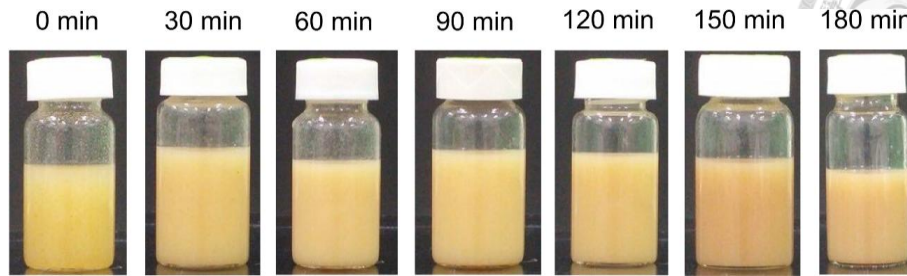
(B)



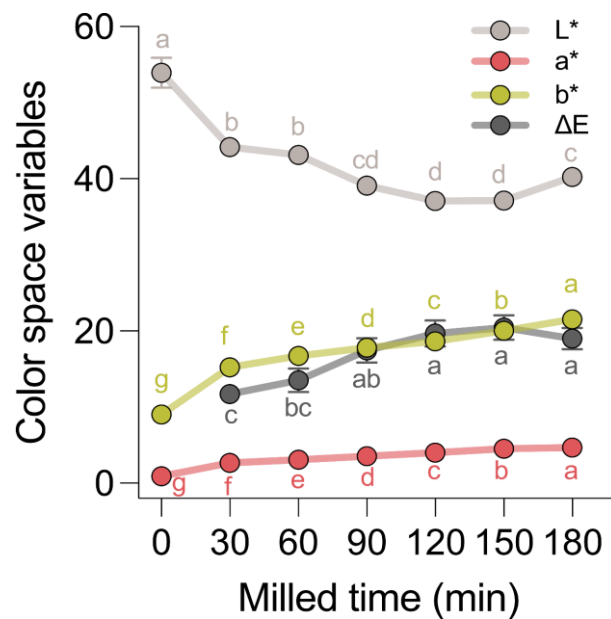
圖四、介質研磨對鮮棗懸浮液微觀結構及色澤之影響。(A) 新鮮紅棗果實外觀及果皮細胞結構顯微影像、(B) 鮮棗懸浮液光學顯微影像及掃描式電子顯微鏡影像（由左至右為 F-B 及 F-M180）。

Figure 4. Effects of media milling on the microstructure and color of fresh jujube suspensions. (A) visual appearance of fresh jujube fruits (scale bar: 1 cm) and a microscopic image showing the cellular structure (scale bar: 50 μ m), (B) Optical microscopy and SEM images of fresh jujube suspensions (from left to right: F-B and F-M180).

(C)



(D)



圖四 (續)、介質研磨對鮮棗懸浮液微觀結構及色澤之影響。(C) 不同研磨時間 (0-180 分鐘) 鮮棗懸浮液照片、(D) 研磨時間對鮮棗懸浮液色澤 (L^* 、 a^* 、 b^* 、 ΔE 值) 的影響。

Figure 4 (continued). Effects of media milling on the microstructure and color of fresh jujube suspensions. (C) photographs of fresh jujube suspensions at different milling times (0-180 min), (D) color parameters (L^* , a^* , b^* , and ΔE) of fresh jujube suspensions.

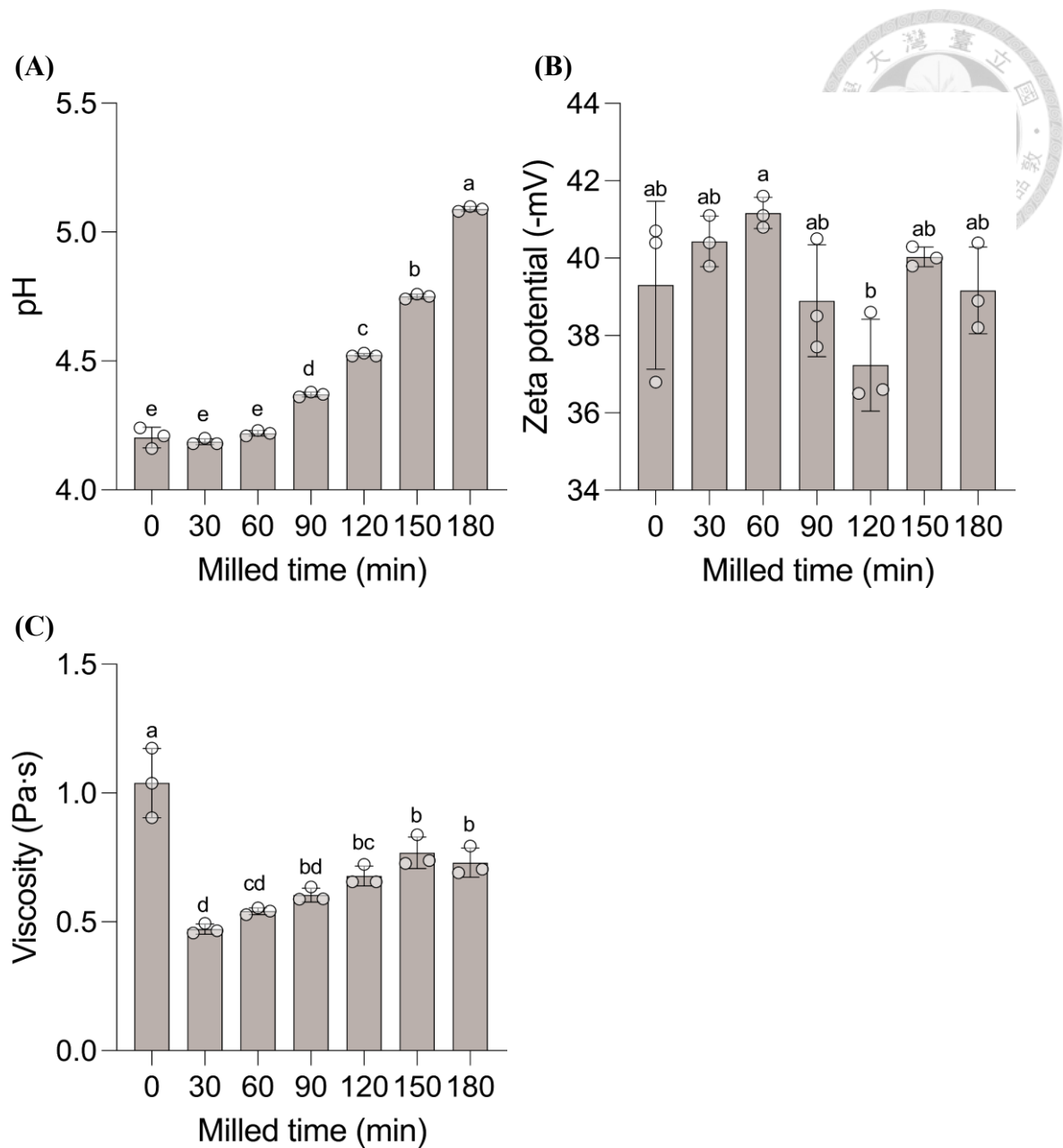
研究指出界面電位是粒子間吸引力或排斥力的指標，電位絕對值的增加，顯示粒子趨向穩定 (Wongsagon et al., 2005)。American Society for Testing and Materials (2012) 指出，Zeta potential 數值範圍與膠體在水溶液中穩定度相關，界面電位絕對值與粒子行為關係，當電位絕對值為 0-5 mV 時，膠體粒子會快速聚集、結塊；10-30 mV 則膠體溶液處於稍不穩定的狀態；30-40 mV 膠體達到中等穩定程度；40-60 mV 屬於良好穩定狀態；當大於 60 mV，即表示有極佳穩定度。測量界面電位值時，樣品必須稀釋及分散於液體溶劑中，測量所得結果代表粒子分散於該溶劑內，其表面電位變化之情形。後續實驗製備的懸浮液樣品，皆以稀釋 100 倍的濃度進行測量。

結果顯示，介質研磨懸浮液的 pH 值隨研磨時間逐漸上升，可能反映出紅棗顆粒中緩衝成分的釋放 (圖五 A)。ζ 電位測定結果顯示，奈米粒子表面電荷的穩定性有所提升，進而促使介質研磨樣品具有更佳的懸浮穩定性 (圖五 B)。黏度則隨研磨時間延長而增加，與分散性提升及不溶性成分被破碎的趨勢相呼應 (圖五 C)。研磨 0 分鐘時，黏度為最大值約 1 Pa·s，爾後出現些微下降的情形，隨著介質研磨進行，懸浮液黏度有回升現象。

鮮棗懸浮液之穩定性分析是藉由背向散射 (backscattering, BS) 比與聚集百分比作評估，樣品未加入抑菌劑，因此選擇將樣品存放於 4°C 環境下作測量，避免微生物生長造成測量上誤差。研究中，為快速篩選與初步評估，以觀察 24 小時內的沉降、分層、顆粒聚集變化作為快速篩選依據，初步判斷懸浮液系統的穩定趨勢。一般短期行為代表初始趨勢，是粒徑變化與懸浮穩定性的動態起始點，當發生粒子間帶電不均、表面電位不足或液相黏度過低等情形，會導致沉降速率增加或凝聚現象發生。因此鮮棗懸浮液進行 24 小時範圍內的觀察，作為篩選懸浮液穩定性的初步評估。結果顯示，在 24 小時的靜置時間內，鮮棗經過較長的研磨時間 (尤其 180 分鐘) 處理，在 BS 比及聚集百分比的斜率變化程度最小，能顯著保持懸浮穩定性，確保介質研磨鮮棗懸浮液隨時間靜置仍保持均勻 (圖六)。

綜合結果，介質研磨可改善紅棗懸浮液的物理化學性質，包括穩定性、色澤與黏度等。ζ 電位的提升及聚集百分比的降低，進一步突顯介質研磨鮮棗懸浮液穩定性的增強。此變化可能源於研磨過程中，表面活性化合物的暴露，這些化合物可

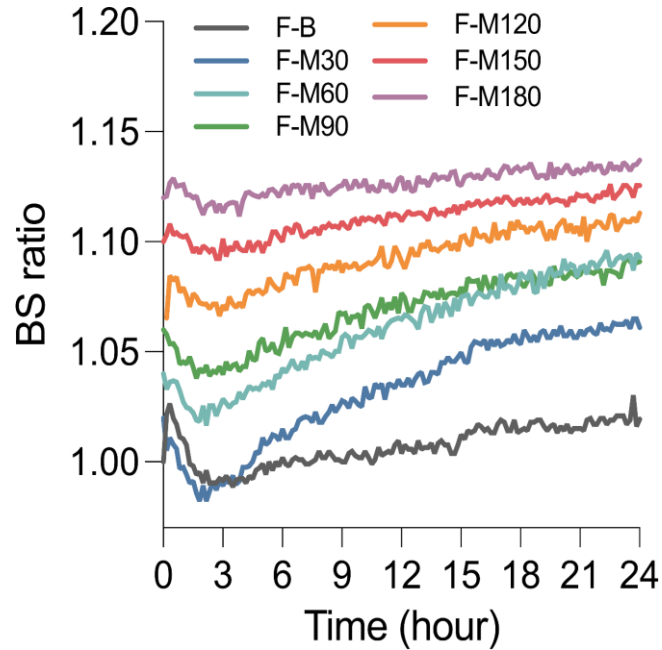
穩定粒子，減緩沉降。此外，色差儀 (L^* 、 a^* 、 b^* 、 ΔE) 分析結果的變化，顯示懸浮液成分結構改變，有助於提升視覺吸引力。研磨時間延長所導致的黏度增加，可歸因於不溶性組成分被破碎，而增強懸浮液的一致性。這些物化特性的改善，不僅使介質研磨鮮棗懸浮液更具消費者吸引力，亦提升其於後續應用中的功能性。



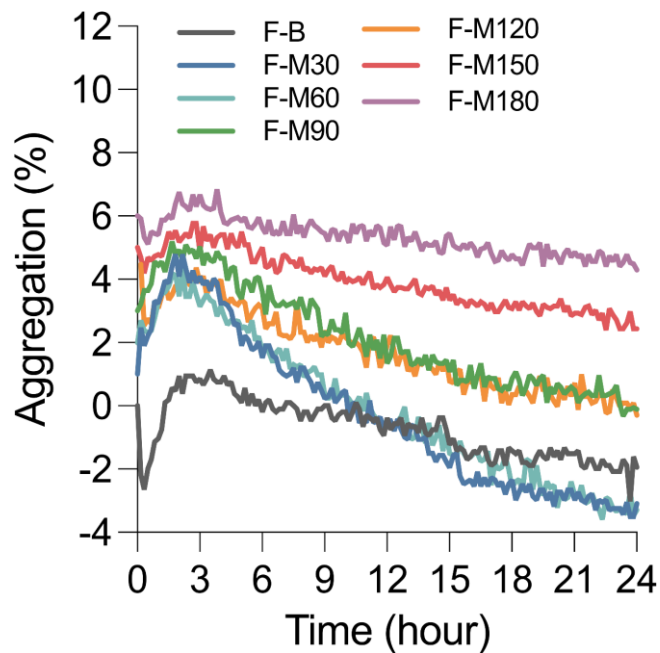
圖五、介質研磨鮮棗懸浮液之物化性質：pH 值、界面電位及黏度。(A) 研磨時間對鮮棗懸浮液的 pH 值變化、(B) 研磨時間對鮮棗懸浮液界面電位的影響、(C) 鮮棗懸浮液的黏度變化。

Figure 5. Physicochemical properties of fresh jujube suspensions subjected to media milling: pH value, zeta potential, and viscosity. (A) pH changes during different milling durations, (B) zeta potential variation as a function of milling time, (C) viscosity changes with increasing milling time. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.

(A)



(B)



圖六、介質研磨鮮棗懸浮液於 24 小時儲存期間之穩定性變化。(A) 鮮棗懸浮液背向散射光比值 (BS ratio) 變化、(B) 鮮棗懸浮液之聚集程度。

Figure 6. Stability of media-milled fresh jujube suspensions during 24-hour storage. (A) backscattering (BS) ratio measured over time, (B) Aggregation percentage of suspended particles during storage. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.

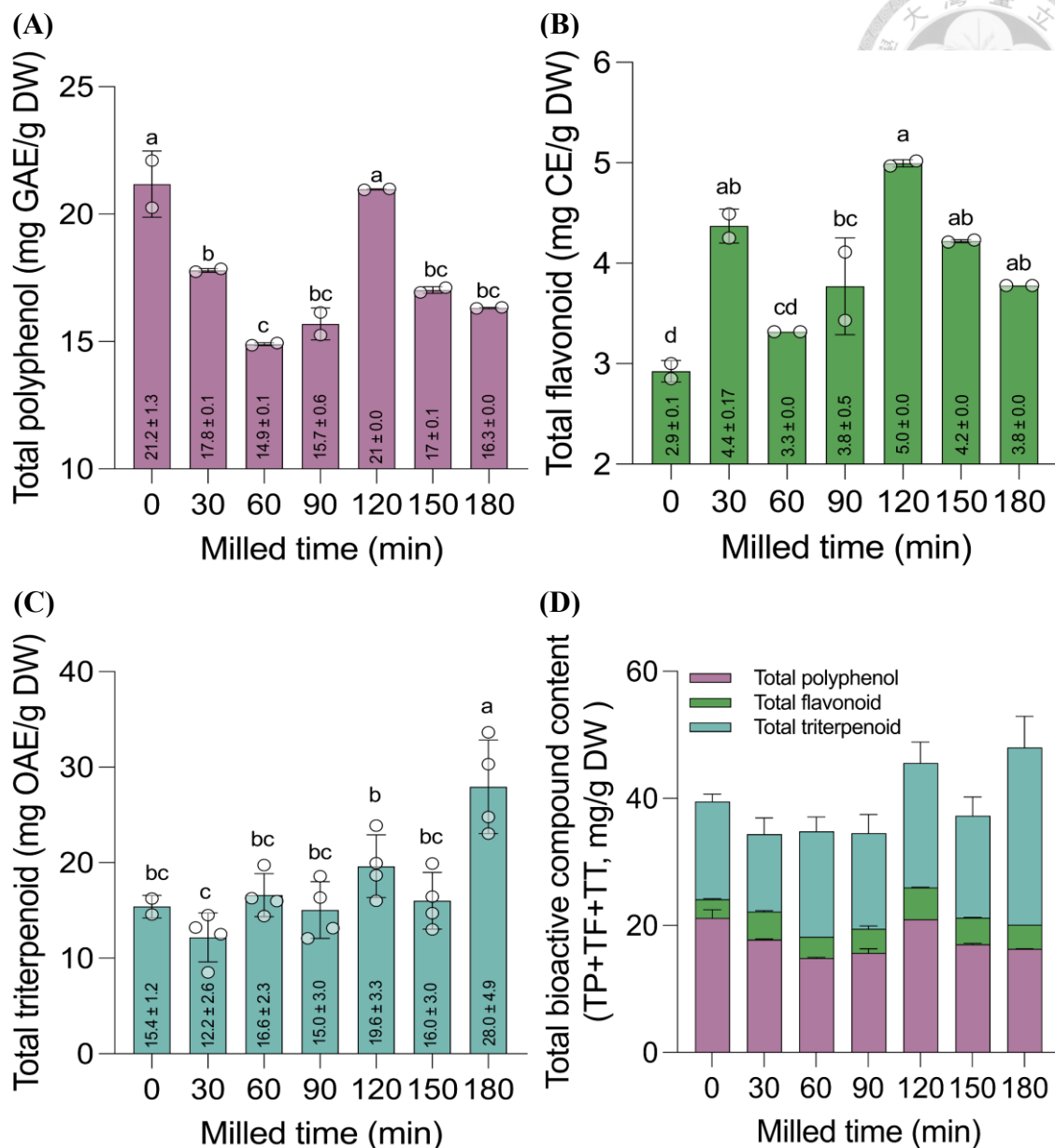
(四) 介質研磨鮮棗活性化合物及抗氧化活性

介質研磨顯著提升鮮棗懸浮液的生物活性化合物含量及抗氧化能力 (圖七、圖八)。總多酚、類黃酮與三萜類含量皆隨研磨時間增加而提升，多酚與類黃酮於 120 分鐘達到高峰，而三萜類則於 180 分鐘達到高峰 (圖七)。這種增強可歸因於機械性破壞細胞壁，而釋放結合型生物活性化合物。總生物活性化合物含量 (TPC、TFC 與 TTC 相加之總合) 以介質研磨樣品最高，突顯研磨過程的累積效益。對單一的三萜類成分定量分析顯示，與攪碎處理 (F-B) 相比，介質研磨鮮棗懸浮液 (F-M180) 中的齊墩果酸 (oleanolic acid) 含量顯著較高，凸顯介質研磨在釋放特定生物活性物質方面的卓越效率。抗氧化活性透過 DPPH、FRAP 與 ABTS 試驗進行評估，結果的呈現是將樣品濃度以 $\log_{10}$ 表示之，因為使用的濃度差異範圍廣 (0.1-100 mg/mL)，以及便於比較劑量反應曲線，使用 $\log_{10}$ 表示濃度，有助於線性化曲線，方便進行劑量反應分析及評估半數抑制濃度 (IC_{50})，且可反映出抗氧化反應在不同濃度區間的變化趨勢。結果顯示 F-B 與 F-M180 皆具自由基清除及還原能力，其中 F-M180 在 DPPH 抑制試驗中，其 IC_{50} 值低於 F-B (圖八)。這些結果證實，介質研磨不僅提升生物活性化合物含量，亦轉化為抗氧化能力的功能性益處。

研究結果與 Kou 等 (2014) 相似，藉由介質研磨的剪切力破壞大豆纖維結構，被纖維包覆或包埋於內部的 TP 釋出，增加了懸浮液的 TP 含量 (Kuo *et al.*, 2014)。類黃酮為疏水性物質，水中溶解性差 (0.01-0.50 g/L)，光以水為溶劑無法有效萃取出類黃酮 (Chebil *et al.*, 2007)，而 F-M 組的 TF 含量結果均高於 F-B，顯示介質研磨處理可改善此情形。研究指出，濕攪拌介質研磨製程為劇烈過程，效果類似高壓蒸氣 (high-pressure steaming) 及蒸汽爆裂 (steam explosion) 處理，可造成木質纖維素結構的分解，當木質素發生解聚合作用 (depolymerization)，原本結合於當中的酚類化合物釋放出來，增加了水溶性 (Castro *et al.*, 2008; Xu and Chang, 2008; Kuo *et al.*, 2014)。文獻指出紅棗三萜類為重要的生理活性成分，與抗發炎及抗氧化能力相關，以白樺酯酸 (Betulinic acid, BA)、齊墩果酸 (Oleanolic acid, OA) 及熊果酸 (Ursonic acid, UA) 為主 (Guo *et al.*, 2009a; Guo *et al.*, 2010; Lim, 2012; Yu *et al.*, 2012)。三萜類屬於水難溶物質，如 BA、OA 在水中溶解度分別為 0.02 及 0.05 $\mu\text{g/mL}$ ，導致使用性與利用性受限制 (Jäger *et al.*, 2007; Xiao *et al.*, 2014)。而紅棗

的高抗氧化活性能力，主要源自紅棗所含總多酚、總黃酮及花青素 (anthocyanins) 等活性化合物的貢獻 (Zhang *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2012b)。

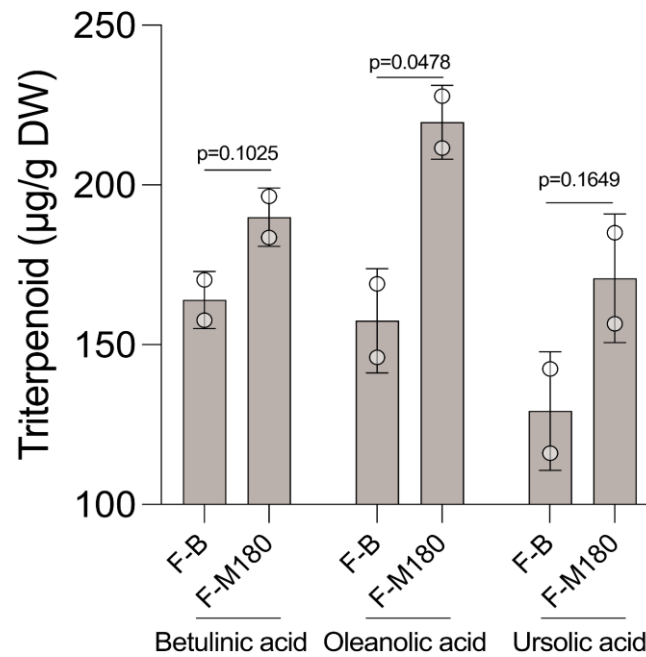
本研究最重要的發現之一，是透過介質研磨可提升生物活性化合物，包括多酚類、類黃酮及三萜類化合物的釋放量。機械性破壞細胞壁即可幫助於這些化合物的釋放，進而提高其總生物活性含量。此結果與先前研究指出研磨、均質等機械處理，可增進生物活性化合物生物可利用度的結論一致。研究結果中，觀察到樣品的抗氧化活性與研磨前相當，文獻指出已知較高濃度的多酚類與類黃酮，可增強自由基清除能力與還原力 (Rana *et al.*, 2022)。這些發現突顯介質研磨鮮棗懸浮液作為抗氧化劑來源的潛力，並具備預防氧化壓力相關疾病的應用。



圖七、介質研磨對鮮棗懸浮液之總多酚、類黃酮及三萜類含量的影響。(A) 研磨時間 (0-180 分鐘) 對鮮棗懸浮液之總多酚含量影響、(B) 總類黃酮含量、(C) 總三萜類含量、(D) 總生物活性化合物含量 (包含總多酚、總類黃酮與總三萜類)。

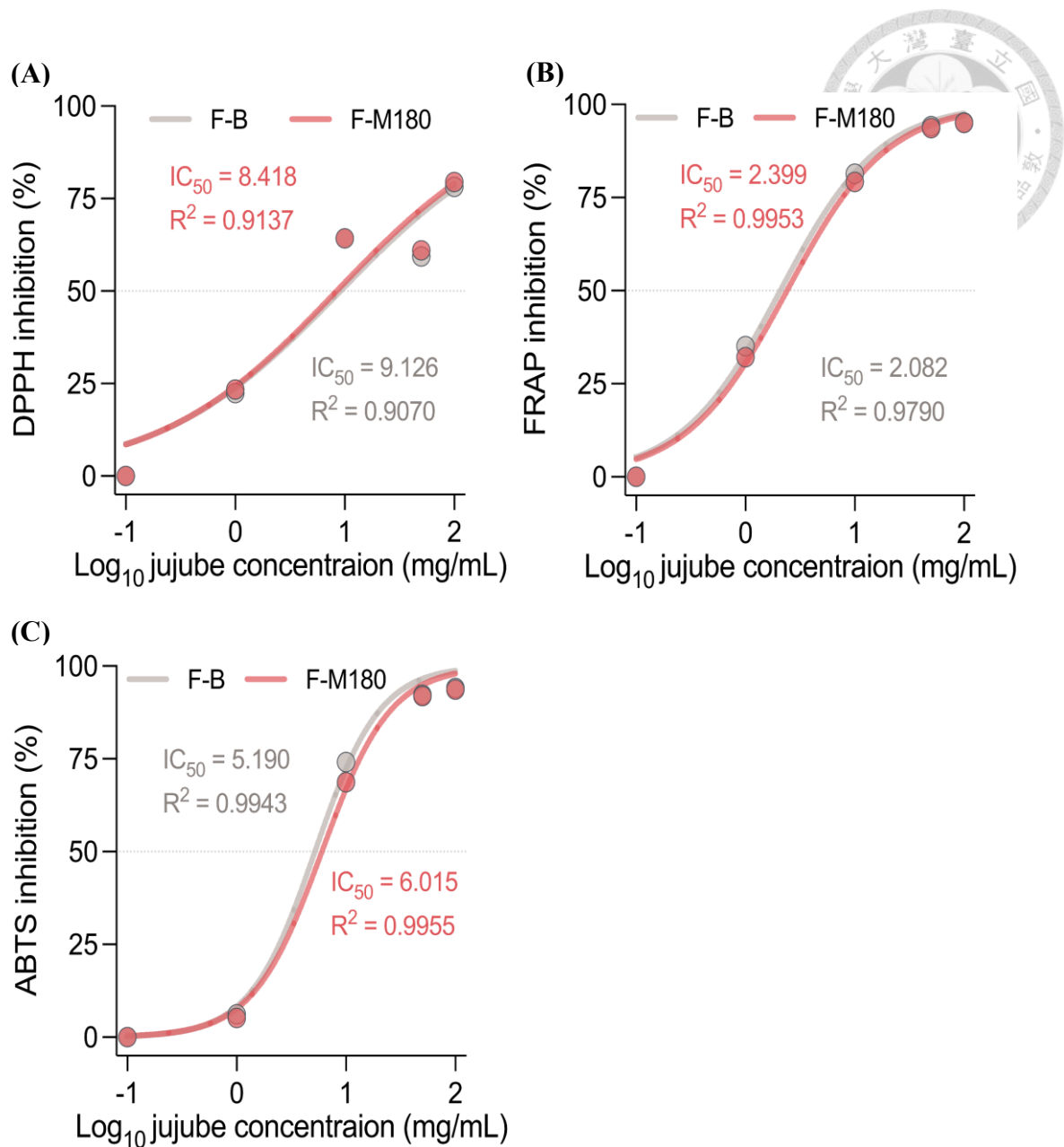
Figure 7. Effect of media milling on the total polyphenol, flavonoid, and triterpenoid contents of fresh jujube suspensions. (A) total polyphenol content of jujube suspensions at different milling durations (0-180 min), (B) total flavonoid content, (C) total triterpenoid content, (D) total bioactive compound content, including polyphenols, flavonoids, and triterpenoids. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.

(E)



圖七 (續)、介質研磨對鮮棗懸浮液之總多酚、類黃酮及三萜類含量的影響。(E) 粗碎處理組 (F-B) 與 180 分鐘介質研磨組 (F-M180) 中，三萜類成分 (白樺酯酸、齊墩果酸與熊果酸) 之定量結果。

Figure 7 (continued). Effect of media milling on the total polyphenol, flavonoid, and triterpenoid contents of fresh jujube suspensions. (E) individual triterpenoid components (betulinic acid, oleanolic acid, and ursolic acid) quantified in blended (F-B) and in jujube suspension subjected to 180-minute media milling (F-M180). Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.



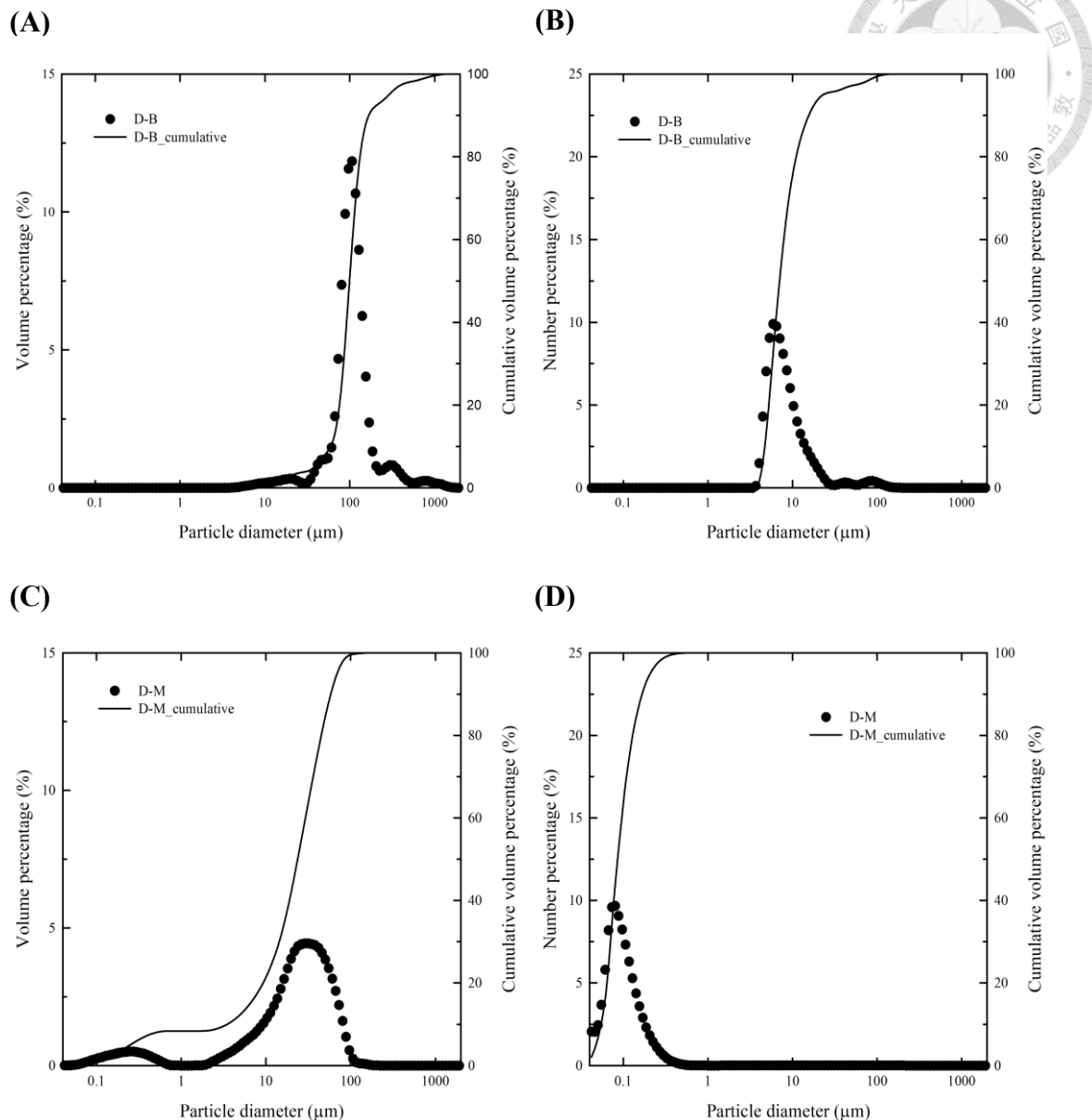
圖八、介質研磨對鮮棗懸浮液抗氧化活性之影響。(A) F-B 與 F-M180 之 DPPH 抑制率及 IC_{50} 值、(B) F-B 與 F-M180 之 FRAP 抑制率、(C) F-B 與 F-M180 之 ABTS 抑制率。

Figure 8. Effect of media milling on the antioxidant activity of fresh jujube suspensions. (A) DPPH inhibition as a measure of antioxidant activity for F-B and F-M180, with IC_{50} values, (B) FRAP inhibition for F-B and F-M180, (C) ABTS inhibition for F-B and F-M180. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.

(五) 介質研磨紅棗干懸浮液粒徑特性

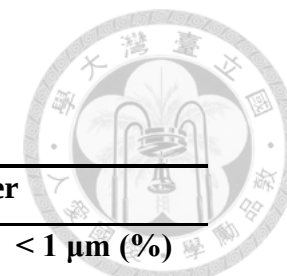
本研究第二部分，使用紅棗干為介質研磨的物料，探討介質研磨紅棗干懸浮液的特性。紅棗干之操作濃度為固形物含量 5%，紅棗干經攪碎器破碎後的懸浮液 (D-B) 之體積平均粒徑為 $146.33\ \mu\text{m}$ ，由體積粒徑分布得知範圍為 4 至 $1,739\ \mu\text{m}$ ，粒子尺寸小於 $100\ \mu\text{m}$ 者，約佔體積粒徑分布的 46% (圖九 A)。而數量平均粒徑為 $11.33\ \mu\text{m}$ ，數量粒徑分布顯示大多數粒子介於 5 至 $25\ \mu\text{m}$ ，並無小於 $1\ \mu\text{m}$ 的粒子 (圖九 B)。以濕攪拌介質研磨製程 120 分鐘製備的 D-M 組懸浮液，體積平均粒徑為 $29.40\ \mu\text{m}$ ，粒徑分布範圍為 0.04 至 0.91 及 1.75 至 $153.80\ \mu\text{m}$ ，呈現雙峰型分布，所有粒子皆小於 $100\ \mu\text{m}$ (圖九 C)，數量平均粒徑為 $0.11\ \mu\text{m}$ ，就數量粒徑分析的結果，小於 $1\ \mu\text{m}$ 的粒子，約佔總數量的 99%，粒徑分布為單峰型，顯示多數的粒子尺寸為 $1\ \mu\text{m}$ 以下 (圖九 D)。

紅棗干經介質研磨製程處理，懸浮液粒子的體積與數量平均粒徑皆隨著研磨時間增加，逐漸下降 (研磨 120 分鐘者，體積粒徑達到小於 $1\ \mu\text{m}$ 的比例為 7.39%，數量粒徑為 99.98%) (表二)。介質研磨製程有效減小體積平均粒徑，其中 D-M120 體積平均粒徑約為 D-B 的 1/5 倍，進一步分析其粒徑分布，發現存在二個粒徑群體，範圍為 0.04 至 0.08 及 1.32 至 $140.10\ \mu\text{m}$ ，與粒徑分布圖形呈現雙波峰型態相符合。研磨 120 分鐘後，其數量平均粒徑已幾乎小於 $1\ \mu\text{m}$ ，表示介質研磨製程對紅棗干原料具有良好的微細化效果。根據 D_N 分析結果，介質研磨達至 120 分鐘時，棗干懸浮液大部分粒子已被有效破碎，粒徑多數小於 $1\ \mu\text{m}$ ，縱使延長研磨時間，對粒子尺寸縮小的效果有限。因此，本研究選擇 120 分鐘作為棗干懸浮液的研磨時間條件，用於後續實驗操作。



圖九、5% 固形物含量棗干懸浮液之粒徑分布：粗碎紅棗干之 (A) 體積與 (B) 數量粒徑；介質研磨 120 分鐘之紅棗干 (C) 體積與 (D) 數量粒徑。

Figure 9. Particle size distribution of 5% solid content dried jujube suspensions: (A) volume-based and (B) number-based distributions of blended jujube (D-B); (C) volume-based and (D) number-based distributions of media-milled jujube (D-M, 120 minutes).



表二、研磨時間對 5% 固形物含量棗干懸浮液之平均粒徑及分佈。

Table 2. Mean size and distribution of 5% solid content dried jujube suspension at different milling time.

Milling time (min)	Volume		Size range (μm)	Number	
	D_V (μm)	< 1 μm (%)		D_N (μm)	< 1 μm (%)
0	146.33 $\pm$ 1.53	0	3.69-1739.00	11.33 $\pm$ 0.15	0
30	66.53 $\pm$ 0.35	0	2.54-185.40	5.19 $\pm$ 0.09	0
60	48.30 $\pm$ 0.35	0	1.59-153.80	4.13 $\pm$ 0.09	0
90	35.53 $\pm$ 0.55	0	1.45-140.10	1.42 $\pm$ 2.29	0
120	29.40 $\pm$ 0.79	7.39	0.04-0.83; 1.32-140.10	0.11 $\pm$ 0.01	99.98

* D_V : volume-mean diameter; D_N : number-mean diameter

*All value are means $\pm$ standard deviation (n = 3).

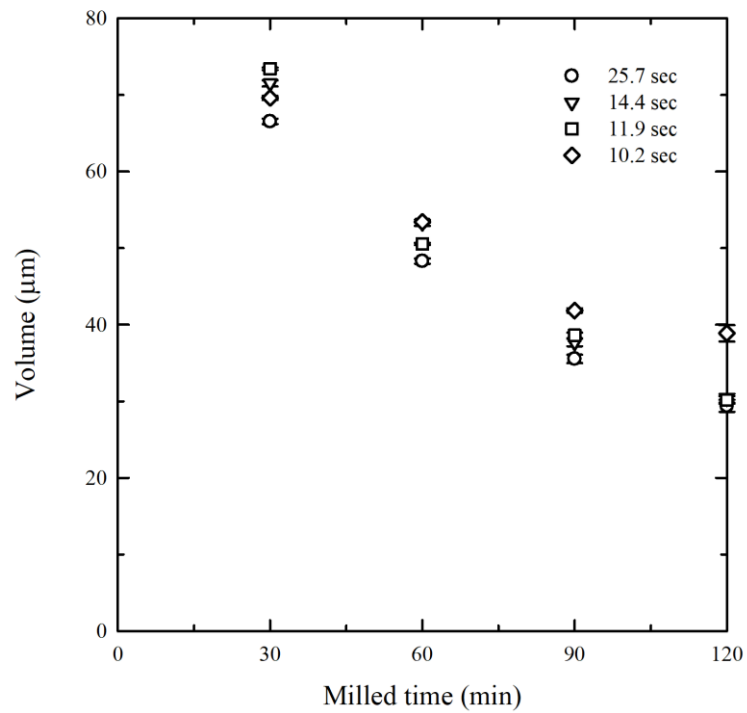
(六) 介質研磨置換時間

選擇紅棗干為測試物料，固形物濃度設定為 5% (介質研磨可操作之最高濃度) 及研磨室中攪拌器轉速為 3,000 rpm (轉子元件可運轉之最高轉速)，研磨介質為 0.8 mm 球型鈮鋯珠，介質填充率為研磨腔體積的 70% (研磨室體積為 200 mL)，相等於填充體積 140 mL 等條件，進行濕攪拌介質研磨製程。控制蠕動泵改變循環珠磨機的進料循環流速，當循環流速愈快，置換時間則愈短；反之，流速較慢時，表示物料停留於研磨室內，受到機械力破壞的時間就愈久，可以作為估算預懸浮液通過研磨室的置換時間 (space time)，探討置換時間與粒徑變化的相關性。

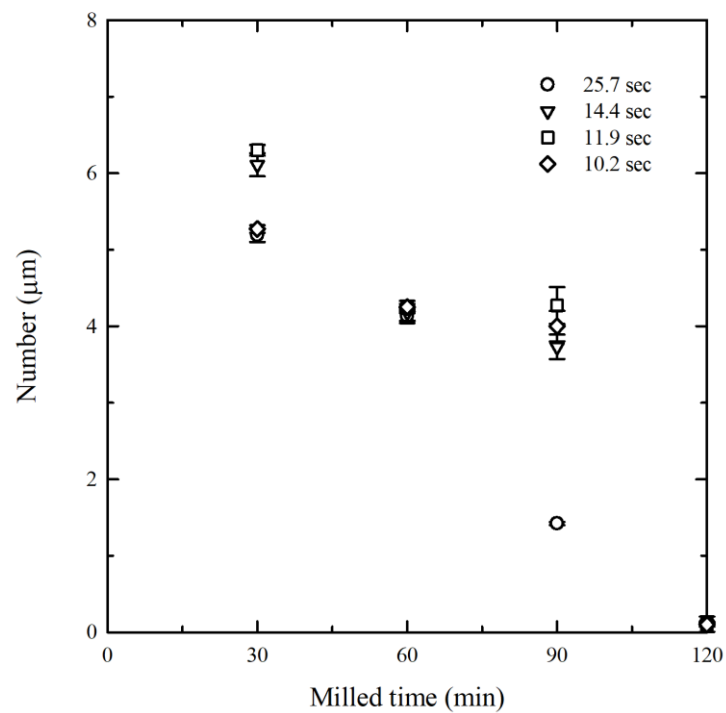
紅棗干物料以介質研磨製作懸浮液，各組控制在相同的研磨時間 120 分鐘條件下，改變置換時間。當置換時間為 10.2 秒時，所得懸浮液之體積平均粒徑為 38.9 μm ，數量平均粒徑為 0.1 μm (圖十)；改變進料循環流速，延長置換時間為 25.7 秒時，所得體積平均粒徑為 29.4 μm ，數量平均粒徑為 0.1 μm 。研究結果顯示，控制固定的物料濃度、攪拌器轉速及研磨介質填充率等條件，置換時間地延長，產品可獲得較小之體積平均粒徑，也代表物料如停留於研磨室內時間愈長，遭受機械力破壞，造成材料結構破碎之效果愈明顯，即發生摩擦、碰撞、壓縮與剪切力等效應愈顯著。

然而，濕攪拌介質研磨破碎材料的效果並非無限制的。Yin 等 (2015) 固定研磨介質為 0.6 mm，填充率 85% 及攪拌器轉速 3,000 rpm 等條件，探討研磨時間對魚骨材料微細化的影響，初期階段粒子大小隨時間顯著下降，效果至 6 小時後趨緩，縱使將時間延長亦沒有顯著變化。介質研磨是將材料結構進行一連續破壞的過程，當粒子尺寸下降至一定範圍後，便無法再降低，即為該材料在設定的研磨條件所能達到之最小粒徑 (Yin *et al.*, 2015)。棗干懸浮液置換時間 25.7 秒組與其他組別的數量平均粒徑，於 90 分鐘前趨勢有差異，但經過 120 分鐘後，各組別結果皆類似，與 Yin (2015) 結果相符。

(A)



(B)



圖十、介質研磨處理下不同置換時間之棗干懸浮液粒徑分布 (A) 體積粒徑分布、
(B) 數量粒徑分布。

Figure 10. Space time on the volume (A) and number (B) of particle size distribution of media-milled dried jujube.

(七) 介質研磨紅棗干懸浮液物化性質與穩定性

紅棗干的果皮置於光學顯微鏡下觀察，細胞結構呈現橘紅色 (圖十一 A)。以攪碎處理後，D-B 懸浮液中可見明顯的片狀物，大小約為 $110\ \mu\text{m}$ (圖十一 B)，由於攪碎器所提供之剪力較小，尚無法完全破壞其結構。而介質研磨 120 分鐘之棗干懸浮液 (D-M120)，因為纖維結構已受研磨機械力破壞，植物細胞破碎，於光學顯微鏡下，沒有觀察到類似之片狀物出現。另外將紅棗干剪開，果實以熱水進行萃取為 D-H 懸浮液，觀察到粒子大小約為 $50\ \mu\text{m}$ 。介質研磨提供較大之剪力，破壞了植物細胞結構，細胞結構的完整性消失，形成視野內存在許多微小之粒子，可能為紅棗干的果皮、果肉與纖維碎片。

以掃描式電子顯微鏡 (SEM) 觀察棗干懸浮液的粒子型態及大小，紅棗干經攪打粗碎後，存有大顆粒的纖維碎片 (圖十一 C)，將局部區域放大觀察，纖維碎片上具有明顯且微小之絲狀結構。攪打過程會破壞紅棗干的纖維結構，將其撕裂形成顆粒，多為微米級粒子，推測攪碎器的機械力尚未能完全破壞紅棗的纖維組織。這些纖維顆粒經過介質研磨 120 分鐘後，結構表面破壞，粒徑減小，形成許多細碎物，並有微小粒子出現，部分粒子呈現分散，但也有聚集的現象發生 (圖十一 D)。此結果與黃 (2018) 相似，觀察介質研磨甘藷葉懸浮液，當中植物細胞壁完全破損，呈現撕裂的形態，周圍有許多小粒子存在。攪碎處理尚未能完全破壞植物的細胞壁及纖維結構，需結合介質研磨破壞植物組織的結構 (Kuo *et al.*, 2014)。如靈芝子實體藉由介質研磨處理，破壞菌絲造成纖維結構被撕裂，最終產物為絲狀物質及細微粒子 (Chiang *et al.*, 2014)。

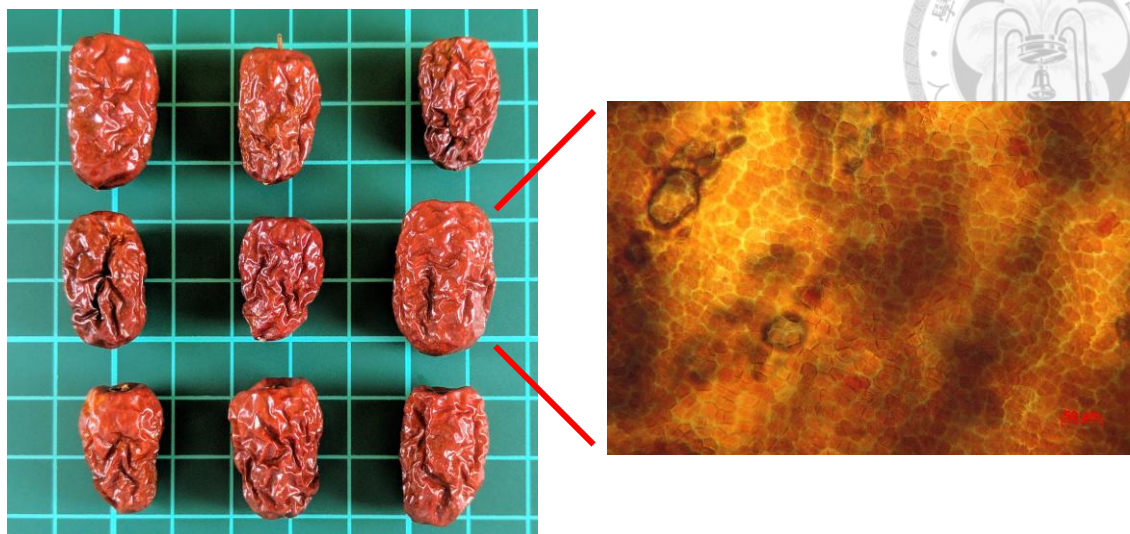
由顯微鏡觀察粒子型態得知，攪碎器及濕攪拌介質研磨皆能造成紅棗果實細胞結構的破壞，其中，介質研磨又可將不完整的紅棗細胞撕裂成纖維絲及更小的粒子，造成粒子粒徑縮小，與前述粒徑分析結果相符。

由 5% 固形物含量棗干懸浮液的外觀中，可看見紅棗干原料經攪碎處理後，懸浮液含有明顯的紅色紅棗果皮存在，且懸浮液的粒子尺寸較大，呈現部分可透光，顏色偏向暗紅色 (圖十二)。隨著介質研磨製程的時間增加，研磨機械力破壞了纖維結構，使得粒子愈來愈小，粒徑趨向一致 (數量粒徑 $\leq 1\ \mu\text{m}$ 者佔總數 99%)，懸浮液性質呈現為一均勻的溶液，顏色逐漸偏向為橘黃色。

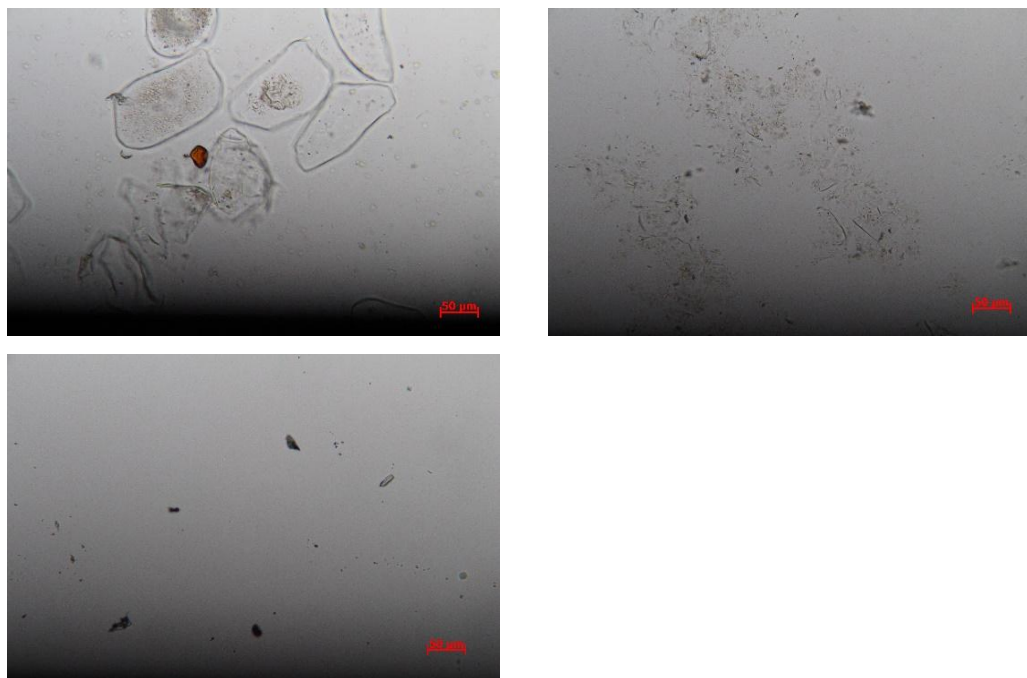


研究指出食品的外觀顏色是消費者感官感知到的第一特徵，為接受度與喜好選擇的重要指標，也反映了食品品質變化 (García-Pérez *et al.*, 2005)。後續以色差分析儀分析紅棗懸浮液經加工程序之 L^* (亮度)、 a^* (紅色度)、 b^* 值 (黃色度)，作為產品開發之評估。測量棗干懸浮液之色澤 (L^* 、 a^* 、 b^* 值)，以 D-B 作為對照組，計算 ΔE 值，比較色澤差異。D-B 與 D-M 懸浮液之 a^* 值及 b^* 值皆為正值，且 b^* 值均大於 a^* 值，即表示所有樣品均偏向橘黃色，與帶有紅色之色澤。 L^* 值，隨研磨時間愈長， L^* 值變小，代表懸浮液亮度下降； a^* 值，亦隨著研磨時間而升高； b^* 值，無明顯趨勢； ΔE 在研磨後，均高於 20，以 D-M120 最高 (表三)。結果顯示可能與研磨時間增長，致使紅棗干的纖維組織，受到研磨破碎程度上升，逐漸趨向為一均勻之懸浮液，小粒子均勻分散於系統內，使得棗干懸浮液的透光度下降 (研磨 120 分鐘者之 L^* 值，相較於 D-B 約下降 77%)。且 a^* 、 b^* 二值，因研磨時間之延長而逐漸靠近，研磨使粒子變小，顯然原料中有紅、黃二色的成分釋放，呈現橘黃色。

(A)



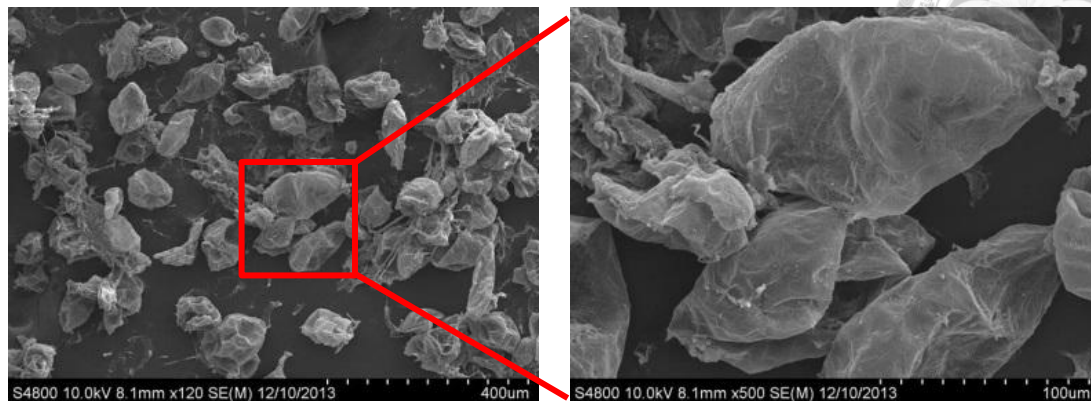
(B)



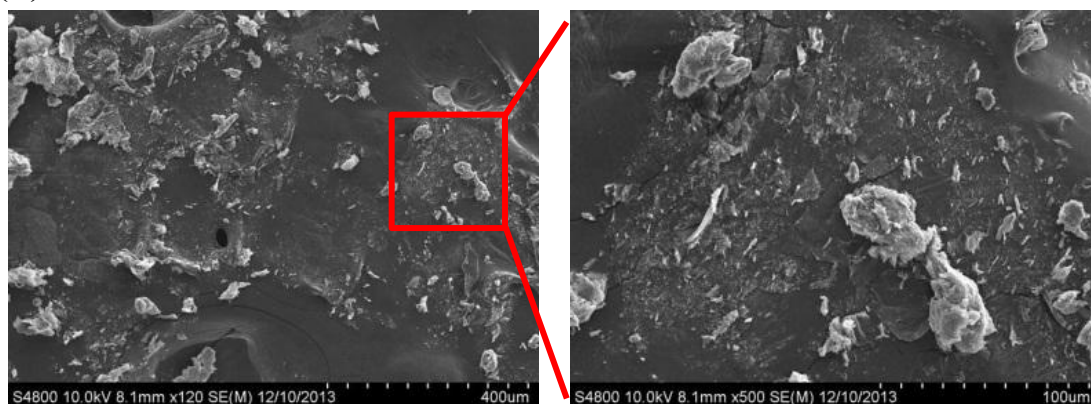
圖十一、棗干懸浮液之顯微結構觀察。光學顯微觀察 (A) 紅棗干果實外觀及果皮細胞結構顯微影像、(B) 棗干懸浮液，由左至右為：攪碎處理、介質研磨 120 分鐘、熱水萃取。

Figure 11. Microstructural observations of dried jujube suspensions. (A) Optical microscopy image of dried jujube fruit showing the external appearance and peel cell structure. (B) Optical microscopy images of dried jujube suspensions prepared by blending, 120-minute media milling, and hot water extraction (from left to right).

(C)

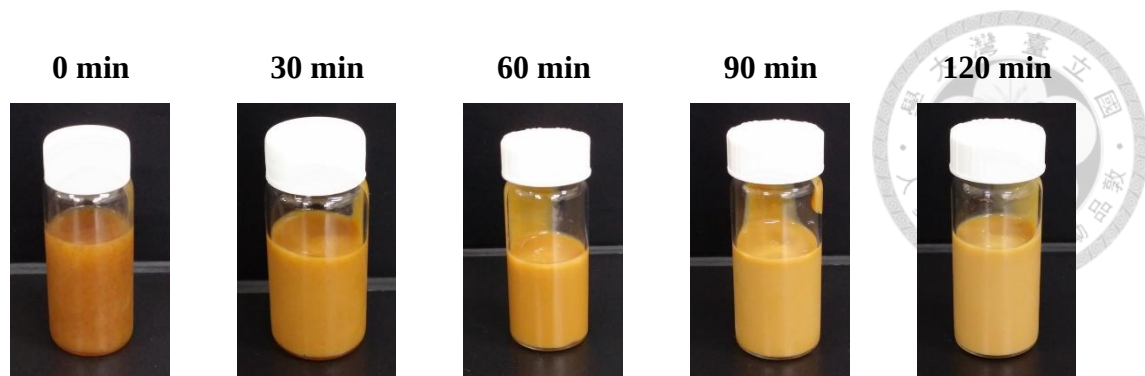


(D)



圖十一 (續)、棗干懸浮液之顯微結構觀察。(C) 粗碎棗干懸浮液 SEM 觀察、(D) 介質研磨棗干懸浮液 (120 分鐘) SEM 觀察。

Figure 11 (continued). Microstructural observations of dried jujube suspensions. (C) SEM image of the blended dried jujube suspension. (D) SEM image of the 120-minute media-milled dried jujube suspension.



圖十二、不同研磨時間 (0-120 分鐘) 之 5% 固形物含量棗干懸浮液照片。

Figure 12. Photographs of 5% solid content dried jujube suspensions at different milling times (0-120 min).

表三、5% 固形物含量介質研磨棗干懸浮液之色澤。

Table 3. L^* , a^* , b^* , and ΔE values of 5% solid content dried jujube suspensions prepared by blending and media milling.

	D-B	D-M30	D-M60	D-M90	D-M120
L^*	40.44 ± 0.05^a	21.66 ± 0.01^b	13.49 ± 0.02^c	10.25 ± 0.02^d	9.19 ± 0.02^e
a^*	2.04 ± 0.01^c	6.08 ± 0.05^d	7.82 ± 0.04^c	9.83 ± 0.05^b	11.64 ± 0.06^a
b^*	13.44 ± 0.05^e	20.26 ± 0.05^a	19.28 ± 0.04^b	17.28 ± 0.03^c	15.84 ± 0.03^d
ΔE	-	20.39 ± 0.05^d	28.17 ± 0.07^c	31.41 ± 0.05^b	32.78 ± 0.04^a

*Each value of various samples was expressed as mean $\pm$ standard deviation ($n = 3$).

*Data in the same row with different letters (a-e) are significantly different at $p < 0.05$.

紅棗干以濕攪拌介質研磨製備懸浮液，pH 值介於 4.09-4.34 間 (表四)，隨著研磨時間增加，pH 值有略微上升的趨勢，整體懸浮液 pH 值皆偏向於弱酸性。界面電位結果，D-B 組 (研磨 0 分鐘) 為 -21.0 ± 1.8 mV，D-M 組測量結果為 -32 至 -35 mV 之間，D-B 與 D-M 二者有顯著差異，經介質研磨後其電位絕對值有上升，表示粒子於水中帶電荷數增加。

依據實驗結果，濕攪拌介質研磨製程懸浮液之界面電位絕對值在 30-40 mV 範圍，代表懸浮液處於中等穩定的狀態，相較之下，D-M 的穩定狀態略優於 D-B。一般認為界面電位絕對值大於 30 mV，系統即可避免發生粒子聚集，而 -10 至 +10 mV 範圍，系統偏向中性 (McNeil, 2011)。介質研磨程序的劇烈加工，使得材料粒子破碎，表面性質發生變化，造成界面電位改變，與黃 (2018) 結果相似，甘藷葉透過介質研磨處理，懸浮液界面電位絕對值大於 30 mV，改善了懸浮液的穩定性。

黏度方面，非牛頓流體當剪切速率超過 100 s^{-1} ，表現會類似牛頓流體，黏度不再受剪切速率的改變影響，流體本身黏度變化趨於水平穩定 (Nindo *et al.*, 2007)。蔬果相關產品的流變性質，常表現出剪切稀化行為 (Shear-thinning behavior)，食品材料為確定於穩定的剪切行為條件下，建議剪切速率選擇 100 s^{-1} 進行操作流變測試 (Steffe, 1996; Nindo *et al.*, 2007; Antonio *et al.*, 2009)。故後續實驗皆以剪切應變 100 s^{-1} 下作比較，D-B 黏度為 28.8 cP，介質研磨後，棗干懸浮液之黏度隨著研磨時間呈現上升的趨勢。研磨 120 分鐘，黏度達到最大值 (183.4 cP)，約增加 5 至 6 倍。

推測由於研磨的機械力，破壞紅棗的纖維結構，產生許多小粒子碎片懸浮於溶液中，當粒子數量越多，導致粒子與粒子彼此間碰撞機會增加，粒子與粒子間的摩擦力也隨之增加，造成黏度升高，當粒子的粒徑持續縮小時，雖然粒數增加，但粒子碰撞機率反而隨粒徑而下降，最終黏度值變化趨於緩和。與 Chi 等 (2021) 結果相似，介質研磨初期，幾丁質懸浮液黏度均有上升趨勢，且濃度愈高，到達最高黏度所需時間愈短，隨研磨時間增加，粒子粒徑降低，黏度值反而開始下降 (Chi *et al.*, 2021)。流質食品的流變性質行為複雜，觀測其表觀黏度時，受諸多影響，如剪切速率、溫度、水分、粒子大小及沉降等因素 (Steffe, 1996)。流變特性是食品加

工及設備設計的重要依據，實驗結果顯示介質研磨製程可增加懸浮液的黏度，並具有時間效應。

研究指出懸浮液的穩定性，為此類型產品的品質指標。藉由微奈米穩定分析儀評估穩定性，原理為儀器底部光源發射雷射光，收集光線的背部散射強度 (ΔI_{t-0})，偵測懸浮液在靜置過程的穩定狀況。若背部散射強度數值，隨時間增加而升高， ΔI_{t-0} 為正值，表示發生沉澱 (precipitation) 現象；反之， ΔI_{t-0} 隨時間遞減，表示發生漂浮 (floating) 或起泡 (foaming) 現象。分析研磨時間 (粗碎組：D-B、研磨 30 分鐘至 120 分鐘) 對棗干懸浮液之穩定性影響，D-B 及 D-M 於 12 小時內，呈現穩定狀態，隨放置時間延長，懸浮的樣品皆略有沉降情形 (圖十三)。結果顯示，12 小時內測得 $\Delta \text{Intensity}$ 數值介於 -0.27 至 -0.93 之間，D-M 比起 D-B 有稍高的懸浮性。而不同組別 D-M 之間的懸浮性，與研磨時間成正比，略為上升。研究指出介質研磨豆漿的 ΔI 於靜置初期略為下降，隨後呈現穩定，優於粗碎與濾布過濾處理，表示懸浮液的黏度及微細粒子可協助穩定度 (Kuo *et al.*, 2014)。因此，當紅棗的纖維結構粒子尺寸降低，因而增進懸浮液系統內粒子的懸浮性上升。

分散安定性可以使用濁度作為量測指標，濁度是一種液體光學特性的表達，係由於光線被散射或吸收，系統中濁度變化，來自可沉降固體的行為 (Duchrow and Everhart, 1971; Anderson, 2005)，藉由濁度變化來反應系統內粒子的安定性。觀察棗干懸浮液於單位時間內的濁度變化率，D-M120 的安定性優於其他組別 (圖十四)。濁度計之偵測上限為 1,000 NTU (nephelometric turbidity units)，D-B 及 D-M 懸浮液濁度均高於 1,000 NTU，實驗以稀釋 40 倍的濃度進行測量。觀察得知，棗干懸浮液的濁度值隨時間而降低，因此濁度變化率呈現下降的趨勢。於 24 小時的時間點，各組的濁度變化率介於 -39 至 -53 之間，經 96 小時後，濁度變化率則為 -61 至 -71 間，D-M 之濁度值高於 D-B，變化率亦小於 D-B。顯示介質研磨製備 D-M 懸浮液較 D-B 安定，代表懸浮液系統內發生的粒子沉降變化較小，能維持懸浮液中粒子的分散安定性，故懸浮液濁度值較高，變化率較少。

綜合結果，紅棗干物料藉由介質研磨處理可改善懸浮液的穩定性及分散安定性，獲得穩定的懸浮液產品，作為加工方法的選擇及相關應用。

表四、棗干懸浮液之 pH 值、界面電位及黏度變化。

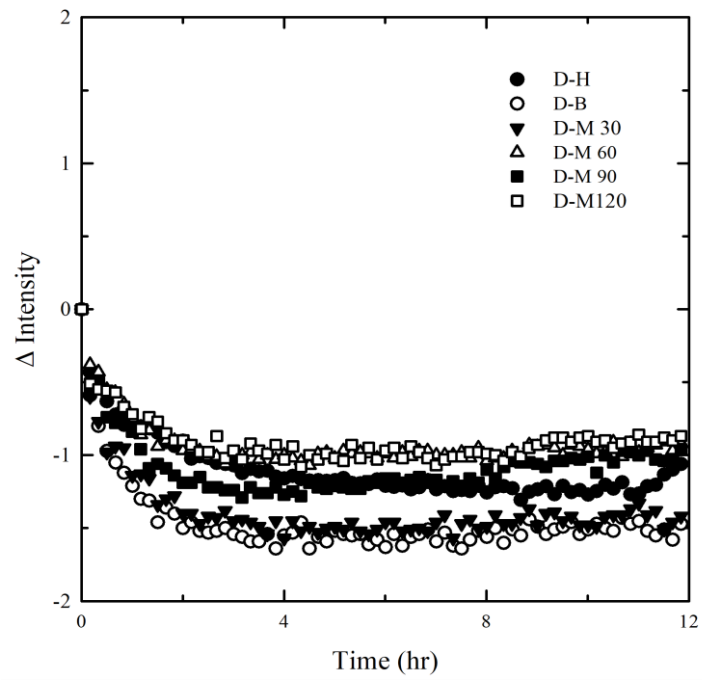
Table 4. pH value, Zeta potential and viscosity of dried jujube suspension at different milling time.

Milling time (min)	pH value	Zeta potential (mV)	Viscosity* (cP)
0	4.09 ± 0.14 ^a	-21.0 ± 1.8 ^a	28.8 ^a
30	4.16 ± 0.16 ^{ab}	-35.3 ± 1.2 ^b	141.5 ^b
60	4.21 ± 0.13 ^{ab}	-31.8 ± 1.3 ^b	156.9 ^{bc}
90	4.26 ± 0.12 ^{ab}	-31.9 ± 1.1 ^b	171.3 ^{bc}
120	4.34 ± 0.08 ^b	-32.6 ± 2.3 ^b	183.4 ^c

*Viscosity was measured at shear rate 100 s⁻¹.

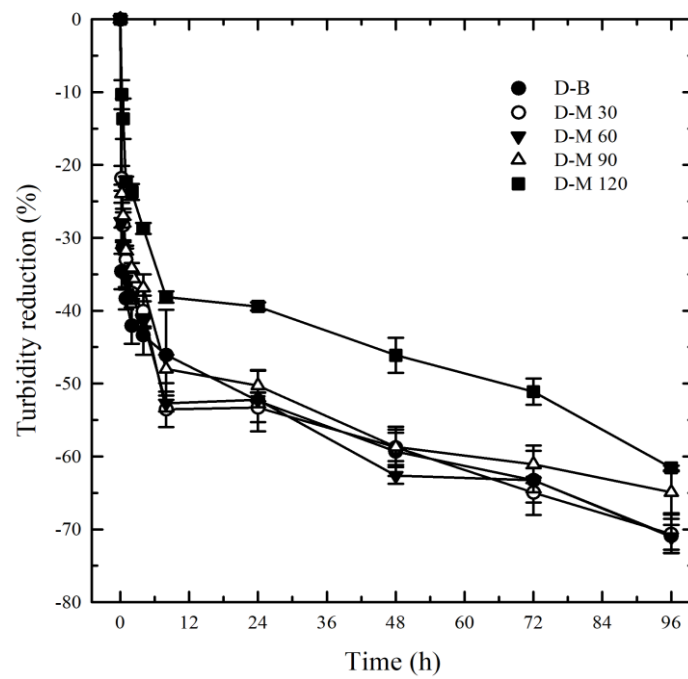
*Each value of various samples was expressed as mean ± standard deviation (n = 3).

*Values in the same column with different letter (a-c) are significantly different by Duncan's new multiple range test ($p < 0.05$).



圖十三、棗干懸浮液之穩定性變化。

Figure 13. Stability of blended, and media-milled dried jujube suspension.



圖十四、棗干懸浮液之濁度變化率。

Figure 14. Turbidity of blended, and media-milled dried jujube suspension.

(八) 介質研磨紅棗干活性化合物及抗氧化活性

紅棗干以攪碎處理、研磨 120 分鐘及熱水萃取製備的棗干懸浮液，分析總多酚、總類黃酮及總三萜類含量，三組樣品的 TP 含量介於 7.45 至 9.38 mg GAE/g DW，TF 為 0.99 至 1.47 mg CE/g DW，TT 為 15.22 至 20.55 mg OAE/g DW (表五)。結果中以 D-M120 及 D-H 的 TP、TF 及 TT 皆高於 D-B，表示對於紅棗干活性成分的取得，以介質研磨與熱水萃取效果優於攪碎處理。棗干懸浮液抗氧化活性方面，三者皆展現有良好的 DPPH (抑制率約為 78%) 及 FRAP (抑制率約為 89%) 抑制能力，當中 D-M120 的 A_{700} 吸光值高於其他組別，吸光值越高表示樣品之還原力越強 (表六)。

實驗結果顯示，紅棗干之多酚類活性成分含量相較於新鮮果實有明顯下降。造成此現象的原因可能包括：a. 日曬或高溫乾燥條件下，多酚類化合物易發生降解與氧化，導致含量下降；b. 乾燥過程造成細胞破裂，促使多酚氧化酶與多酚底物接觸，進而觸發氧化與褐變反應，消耗多酚類物質；c. 細胞結構破壞增加多酚暴露於氧氣的機會。綜合上述，紅棗在乾燥過程中多酚類含量的變化，主要受到乾燥方式 (如溫度與時間)、氧氣曝露程度、酵素催化作用、果實採收成熟度等多重因素的交互影響。

綜合前述結果可知，不論使用新鮮果實或乾燥紅棗，皆可透過介質研磨技術製備為穩定之懸浮液，並促進紅棗中活性成分的釋放。其中，以新鮮果實之處理效果更為顯著。因此，本研究後續試驗選擇新鮮紅棗為實驗樣品，進一步探討關於乳酸菌發酵與抗發炎相關試驗。

粒徑分析結果顯示，新鮮果實需研磨 180 分鐘，才能使整體粒子數量平均粒徑達至小於 $1\ \mu\text{m}$ ；相較之下，紅棗干僅需研磨 120 分鐘即可達成相同粒徑標準。顯示不同原料狀態需對應不同的研磨時間參數，方能達成一致的懸浮液細化效果。此差異可能與乾燥過程所導致的原料性質變化有關，例如水分流失導致細胞結構收縮、熱敏感活性成分的降解、糖分濃縮，以及物理與感官性質的改變等，均可能影響研磨行為與懸浮液特性。活性成分釋放表現而言，新鮮果實研磨懸浮液中所測得活性成分含量相對較高，推論其抗發炎潛力亦較為顯著。鑒於文獻指出抗發炎作用與活性成分含量具有相關性，故本研究選擇新鮮紅棗為後續功能性評估之樣品。

表五、棗干懸浮液之總多酚、類黃酮及三萜類含量

Table 5. Total polyphenol, flavonoid, and triterpenoid contents of dried jujube suspensions.

Sample	Total polyphenol* (mg GAE/g DW)	Total flavonoid** (mg CE/g DW)	Total triterpenoid*** (mg OAE/g DW)
D-B	7.54 ± 0.37 ^b	0.99 ± 0.14 ^b	15.22 ± 3.35 ^b
D-M120	8.49 ± 0.21 ^{ab}	1.28 ± 0.58 ^{ab}	20.07 ± 4.33 ^a
D-H	9.38 ± 0.14 ^a	1.47 ± 0.15 ^a	20.55 ± 3.96 ^a

*mg gallic acid equivalent/g of dry weight

**mg catechin equivalent/g of dry weight

***mg oleanolic acid equivalent/g of dry weight

****Each value represents mean ± SD from three different experiments (n = 3). Data in the same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

表六、棗干懸浮液之抗氧化活性

Table 6. Antioxidant activity of dried jujube suspensions.

Sample (100 mg/mL)	DPPH Inhibition%	FRAP Inhibition%	Reducing power A_{700}
D-B	77.7 ± 0.7 ^a	87.9 ± 0.2 ^a	1.31 ± 0.01 ^b
D-M120	78.7 ± 0.4 ^a	89.9 ± 0.4 ^a	2.31 ± 0.05 ^a
D-H	77.3 ± 1.3 ^a	88.7 ± 0.3 ^a	1.31 ± 0.02 ^b

*Each value represents mean ± SD from three different experiments (n = 3). Data in the same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

二、介質研磨鮮棗懸浮液乳酸菌發酵

近期研究證實，紅棗富含碳水化合物、膳食纖維、維生素與抗氧化物質，是乳酸菌 (LAB) 發酵的極佳基質 (Li *et al.*, 2021)。蔬果產品結合 LAB 發酵不僅能提升風味、口感與保存期限，還能釋放原料中的結合型多酚與類黃酮，進而增強其抗氧化活性。尤其是紅棗多醣為益生菌理想的生長基質，能提升發酵產品的健康效益 (Hur *et al.*, 2014; Pan *et al.*, 2022; Sarıtaş *et al.*, 2024)。將發酵與研磨等前處理方法結合，可顯著促進菌體生長並提升發酵產品的整體品質 (Dubey *et al.*, 2018)。然而，針對濕式攪拌介質研磨 (WSMM) 與乳酸菌發酵對紅棗基質產品之協同效應的探討仍相當有限，這在相關研究中形成了一項關鍵缺口。

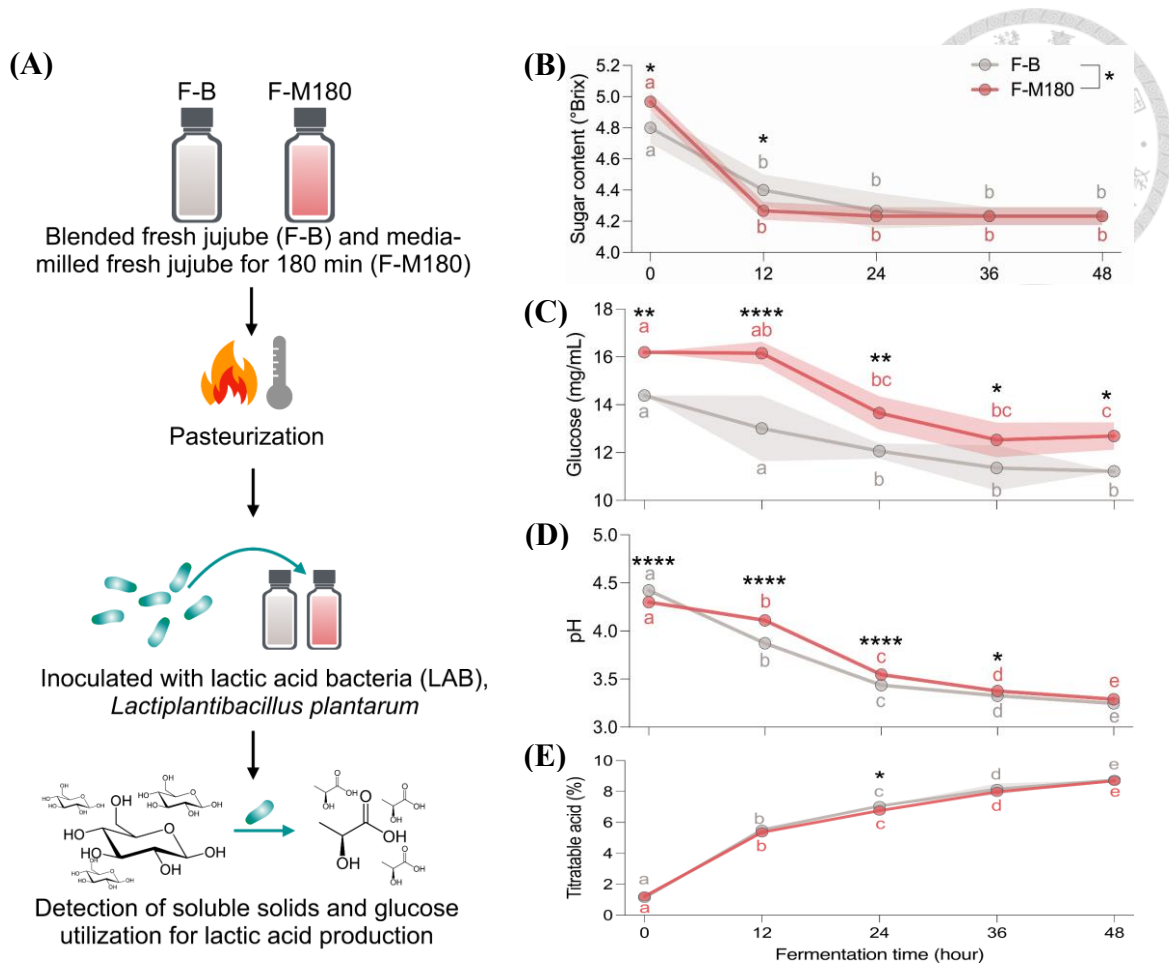
研究以 *Lactiplantibacillus plantarum* 為發酵菌株，評估介質研磨鮮棗懸浮液之發酵潛力 (圖十五)。綜合前述實驗結果，選擇 5% 固形物含量及 180 分鐘研磨時間之鮮棗懸浮液，作為接種 LAB 發酵試驗的樣品。發酵流程示意圖：F-B 及 F-M180 經巴氏殺菌後，接種 *Lactiplantibacillus plantarum*，監測其可溶性固形物含量與葡萄糖利用率以評估乳酸生成。

最初階段，F-M180 的可溶性固形物含量 (°Brix) 及葡萄糖濃度均高於 F-B。發酵期間，兩者的可溶性固形物含量與葡萄糖濃度皆顯著下降，其中 F-M180 在發酵 12 小時後，展現出較 F-B 更高的基質利用效率 (圖十五 B、C)。F-M180 中可溶性固形物及葡萄糖的快速耗減，顯示將懸浮液的粒子結構微細化，提高了作為微生物代謝基質的可利用度。然而，F-M180 的葡萄糖含量在各時間點皆維持較高水準。相應地，pH 值隨時間下降，反映乳酸生成增加；可滴定酸度的升高，表示 F-B 與 F-M180 兩組皆產生較多有機酸 (圖十五 D、E)。上述結果，凸顯兩組樣品皆適合作為乳酸發酵基質，並可能進一步提升最終發酵產品的功能特性。

在介質研磨鮮棗懸浮液中，觀察到的發酵動態提升，顯示其作為乳酸菌 (LAB) 理想基質的潛力。發酵過程中可溶性固形物含量與葡萄糖濃度的迅速下降，說明介質研磨提高了可發酵糖的生物可利用度 (Dubey *et al.*, 2018)。此外，樣品可滴定酸度的增加與 pH 值呈現快速下降，顯示乳酸產量更高，這對於製備含益生菌的發酵飲品至關重要。先前研究顯示，採取研磨等前處理方法能提升乳酸菌對水果基質的可發酵性 (Dubey *et al.*, 2018; Lin *et al.*, 2024)。介質研磨鮮棗懸浮液在發酵方面展

現的適用性，拓寬了其功能性應用範疇，尤其有助於開發具有健康促進效益的發酵產品。然而，研究結果中，F-B 組與 F-M180 組的發酵表現相近。





圖十五、*Lactiplantibacillus plantarum* 以粗碎處理新鮮紅棗 (F-B) 與介質研磨 180 分鐘的新鮮紅棗 (F-M180) 為基質進行發酵。(A) 發酵流程示意圖、(B) 可溶性固形物含量、(C) 葡萄糖濃度、(D) pH 值變化、(E) 可滴定酸度。發酵過程共持續 48 小時。

Figure 15. Fermentation of fresh jujube substrates by *Lactiplantibacillus plantarum* using blended (F-B) and 180-minute media-milled (F-M180) suspensions. (A) schematic diagram of the fermentation process: F-B and F-M180 suspensions were pasteurized and inoculated with *L. plantarum*. Changes in total sugar and glucose concentrations were monitored to evaluate lactic acid production, (B) total sugar content, (C) glucose concentration, (D) pH changes, (E) titratable acidity. Fermentation was conducted over a 48-hour period. Statistical analyses were performed, with significant differences indicated by different letters (within-group comparisons at different time points) or asterisks (F-B vs. F-M180; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$). The results show efficient substrate utilization and acid production, with F-B and F-M180 showing distinct fermentation dynamics over time. Data are presented as mean $\pm$ SD.

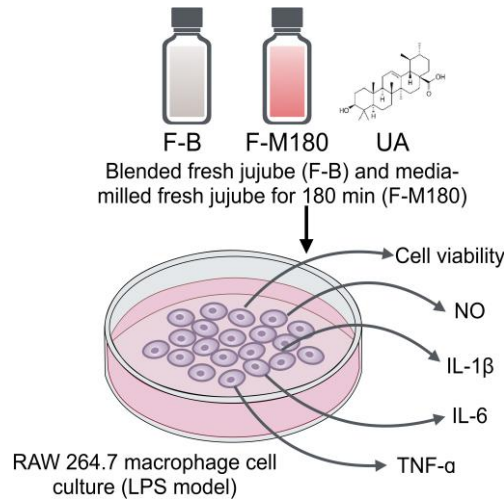
三、介質研磨鮮棗懸浮液之抗發炎活性

細胞實驗如圖十六 A 所示，介質研磨鮮棗懸浮液的抗發炎效果係藉由脂多糖 (LPS) 刺激之 RAW 264.7 巨噬細胞模式進行評估，包括細胞存活率、NO 產量及細胞激素水平 (IL-1 β 、IL-6、TNF- α)。樣品製備步驟，先將 5% 固形物含量的 F-B 及 F-M180 鮮棗懸浮液，以 10,000g 離心處理取得上清液，接著進行凍乾，再將凍乾粉以 DMSO 回溶，配置為濃度 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 之細胞試驗用樣品，進行細胞實驗，並以 UA 為對照組 (濃度為 10 與 25 μm)。以樣品 (濃度為 1,000 $\mu\text{g/mL}$) 與 RAW264.7 細胞共培養 24 小時，F-M180 顯著維持細胞存活率，顯示其無毒性，且與 F-B 相比可降低一氧化氮 (NO) 產生 (圖十六 B、C)。研究結果中，鮮棗懸浮液與 UA 具有同樣降低 RAW 264.7 細胞受 LPS 刺激表現 NO 的效果。

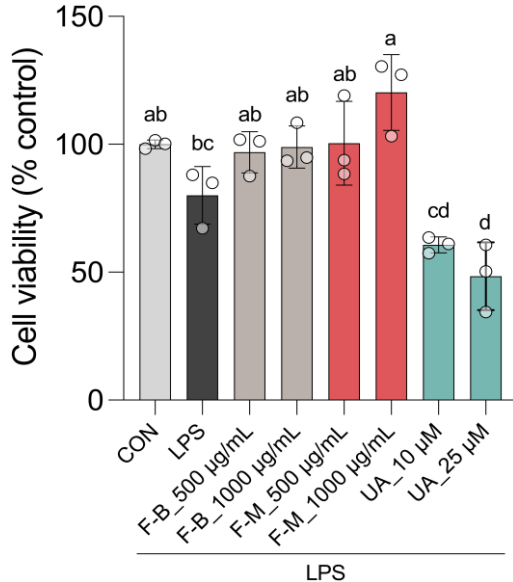
促發炎細胞激素 IL-1 β 的濃度，在 F-B 與 F-M180 處理組中均顯著降低，具有劑量效應，其效果可與正控制組抗發炎化合物熊果酸 (Ursolic acid) 相當 (圖十七)。然而，TNF- α 與 IL-6 在兩組間，均無下降，且較高劑量下可能反而提升 TNF- α 水準。這些結果顯示 F-B 與 F-M180 皆能有效調節發炎反應，特別是透過降低 IL-1 β 表現，推測與其較高的生物活性成分含量及抗氧化特性有關。

介質研磨鮮棗懸浮液在 RAW 264.7 巨噬細胞中展現的抗發炎效果，進一步顯示其功能潛力。F-B 與 F-M180 均顯著降低 NO 生成 ($p < 0.05$) 及促發炎細胞激素 IL-1 β 的濃度 ($p < 0.05$)，證明兩者具備調節發炎途徑的能力。這些效應可能歸因於介質研磨鮮棗懸浮液中較高濃度的三萜類、多酚類與類黃酮。本研究觀察到 IL-1 β 水準的選擇性降低，而對 TNF- α 與 IL-6 則未見顯著影響。此選擇性降低可能與其底層訊息傳遞途徑差異相關：IL-1 β 主要受 NLRP3 發炎小體調控，而 TNF- α 與 IL-6 則主要由 NF- κB 訊號途徑控制。紅棗中的生物活性化合物，例如多酚類與三萜類化合物，可能透過對發炎小體途徑的調節，優先抑制 IL-1 β 的產生。為確認這些分子機制，需要進一步後續研究來證實。熊果酸作為關鍵的三萜類化合物，已有研究證實可透過抑制 NF- κB 訊號傳遞，而抑制細胞激素產生，表現出抗發炎特性 (Checker *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2020a)。本研究觀察到 F-M180 與熊果酸具有類似的抗發炎效果，顯示介質研磨鮮棗懸浮液可作為天然的抗炎替代選擇。

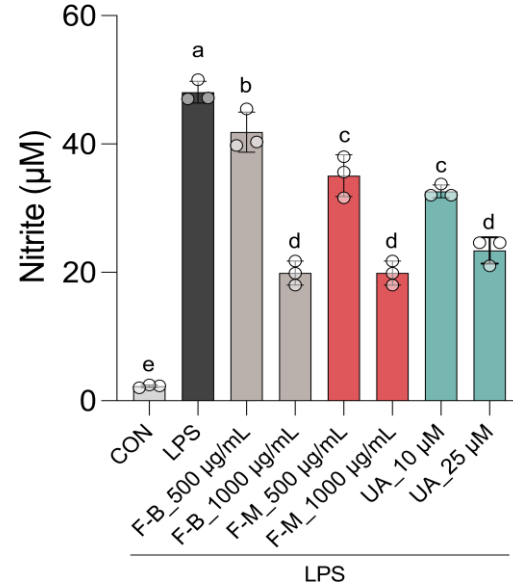
(A)



(B)

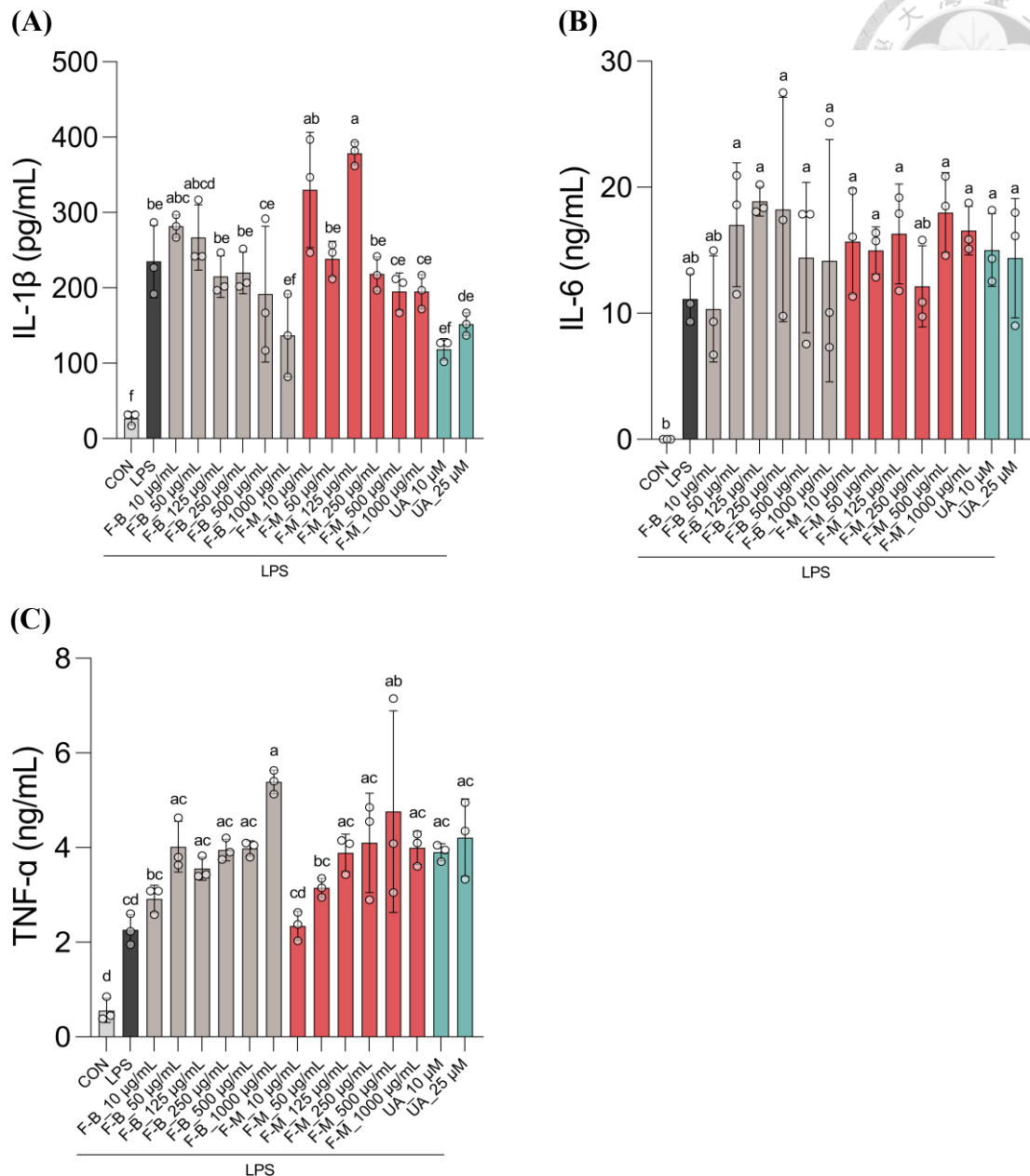


(C)



圖十六、粗碎處理 (F-B) 與介質研磨 180 分鐘鮮棗懸浮液 (F-M) 對脂多醣 (LPS) 刺激之 RAW 264.7 巨噬細胞的影響。(A) 細胞實驗設計、(B) 細胞存活率、(C) 一氧化氮 (Nitrite, NO) 生成量。RAW 264.7 細胞以 F-B、F-M 及熊果酸共培養 24 小時後進行分析。

Figure 16. Effects of blended (F-B) and 180-minute media-milled (F-M180) fresh jujube suspensions on lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. (A) experimental design of the cell assay, (B) cell viability, (C) nitrite (NO) production. RAW 264.7 cells were co-incubated with F-B, F-M180, or ursolic acid for 24 hours prior to analysis. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.



圖十七、粗碎處理 (F-B) 與介質研磨 180 分鐘鮮棗懸浮液 (F-M) 對脂多醣 (LPS) 刺激之 RAW 264.7 巨噬細胞的影響。(A) IL-1 β 分泌量、(B) IL-6 分泌量、(C) TNF- α 分泌量。RAW 264.7 細胞以 F-B、F-M 及熊果酸共培養 24 小時後進行分析。Figure 17. Effects of blended (F-B) and 180-minute media-milled (F-M180) fresh jujube suspensions on lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. (A) IL-1 β secretion, (B) IL-6 secretion, (C) TNF- α secretion. RAW 264.7 cells were co-incubated with F-B, F-M180, or ursolic acid for 24 hours prior to analysis. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups. Data are presented as mean $\pm$ SD.

四、介質研磨鮮棗懸浮液對 DSS 誘導性結腸炎小鼠模型之保護效應

本研究旨在開發以全食材製成之紅棗懸浮液保健飲品。為評估其潛在的保護效益，實驗設計採用先行餵食紅棗懸浮液一段時間後，再進行葡聚糖硫酸鈉 (DSS) 誘導腸道發炎模型的方式，觀察其對腸道發炎之影響。研究中以 DSS 誘導之小鼠結腸炎模型評估介質研磨鮮棗懸浮液的保護效應 (圖十八 A)。五週齡 BALB/c 小鼠先行馴養適應環境 10 天，隨後持續 18 天，每日以管餵灌食方式給予 F-B、F-M 及 F-S (0.1 mL/隻小鼠/天)。於第 18-24 天，在飲水中加入 2% DSS 以誘發結腸炎，其後恢復一般飲水，於第 28 天犧牲小鼠以進行取樣分析。實驗組別設計三組，以評估攪碎處理新鮮紅棗 (F-B)、介質研磨 180 分鐘之新鮮紅棗 (F-M) 及 F-M180 的上清液 (F-S) 的影響。設置上清液組的目的，在於判定功能性化合物是否因紅棗結構破碎為細小粒子，而溶於水相轉移至上清液中。於 DSS 處理期間，觀察到小鼠體重下降代表結腸炎嚴重程度的指標，在各組間並無顯著差異 (圖十八 B、C)。同樣地，包括結腸重量、結腸長度及結腸重量與長度比在內的發炎嚴重程度指標，與僅接受 DSS 的小鼠相比，各處理組之間均無顯著差異 (圖十八 D 至 F)。雖然這些處理並未顯示保護效果，但亦未加劇結腸炎症狀，表示在本試驗給予劑量下，攪碎處理與介質研磨鮮棗懸浮液皆具有安全性。其缺乏改善結腸發炎可能歸因於給予小鼠之活性化合物濃度過低。

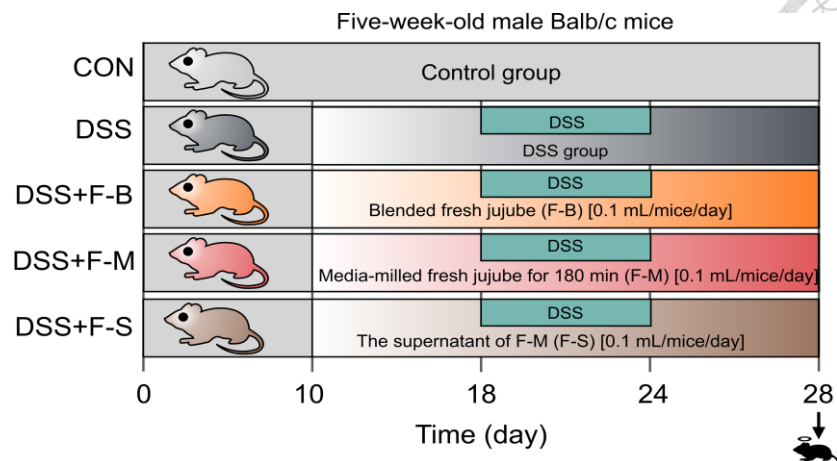
DSS 誘導性結腸炎模型作為評估介質研磨鮮棗懸浮液的潛在保護效應。然而，相較於其他處理組或僅接受 DSS 處理的對照組，F-M180 處理並未減輕體重下降、改善結腸長度，亦未能降低結腸重量及其重量/長度比的發炎相關變化。此結果顯示，在本研究條件下所使用之生物活性化合物 (如多酚類與三萜類) 的濃度不足以對腸道發炎產生可測得的影響。此外，在結腸炎模型中，未能觀察到顯著的保護效果，可能歸因於劑量策略與研究設計的侷限。本研究所使用之紅棗懸浮液屬於全食材型態之食品，並非萃取或濃縮的活性成分。實驗中僅使用相對較低劑量 (0.1 mL/隻/日) 進行連續管餵 18 天，劑量與介入時間或許不足以產生顯著的治療性效果。未來研究若能提高給藥劑量並延長處理時間，將更有助於釐清其潛在益處。另一項可能的限制在於 DSS 誘導性結腸炎模型的嚴重程度，可能已超出紅棗懸浮液生物活性成分的保護能力。後續研究宜採用較溫和的結腸炎模型，或將紅棗懸浮液與其

他介入措施結合，以更充分評估其治療潛力。

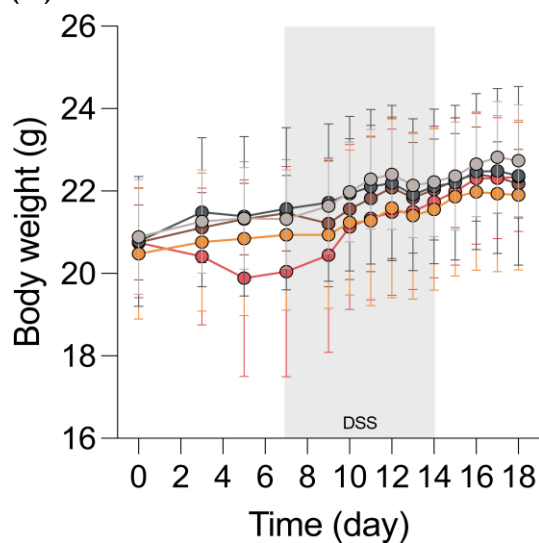
雖有研究顯示 AOM/DSS 動物模式介入紅棗，紅棗活性化合物（如多醣、三萜酸）透過抑制 NF- κ B/IL-6/JAK1/STAT3 信號途徑的蛋白表現，以減緩腸炎，改善大腸長度，減輕脾臟重量等效果 (Periasamy *et al.*, 2020)。而介質研磨能增強功能性食品成分的生物可利用度 (Dubey *et al.*, 2018; Odgerel *et al.*, 2021)。於本研究結果中顯示，若要充分發揮其在治療發炎性腸疾病 (IBD) 及相關疾患方面的潛在療效，可能需要進一步優化劑量或配方。值得注意的是，所有處理組皆未加劇結腸炎症狀，證實在本研究濃度下，無論攪碎處理或介質研磨之紅棗懸浮液皆具安全性。本研究仍存局限，例如缺乏組織學分析，以及基因與蛋白層級的分子探討，無法更深入解析其抗發炎機制。未來研究應聚焦於細胞激素譜分析與進階分子技術，以進一步闡明相關途徑。此外，後續亦應檢視腸道菌相組成，以更全面了解介質研磨紅棗汁的潛在益生質作用及其對腸道健康之影響。

本研究的結果對食品與營養保健品產業具有正向的進展。介質研磨鮮棗懸浮液可望成為極具潛力的功能性原料，應用領域包括富含抗氧化活性的飲品、發酵製品及抗發炎膳食補充劑。介質研磨所帶來的生物可利用度與功能性提升，正符合市場對低度加工、促進健康食品日益增長的需求。此外，其於結腸炎模型中展現的保護效應，亦暗示於個人化營養與慢性疾病膳食管理上的應用潛力。未來研究應於探討介質研磨鮮棗懸浮液的長期效益，及評估與其他功能性成分的協同作用。

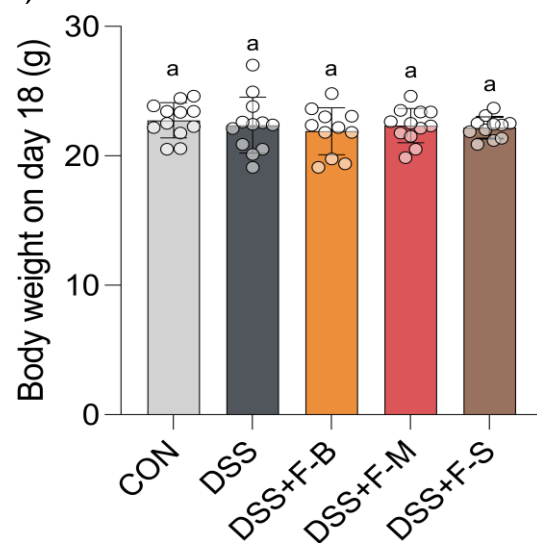
(A)



(B)

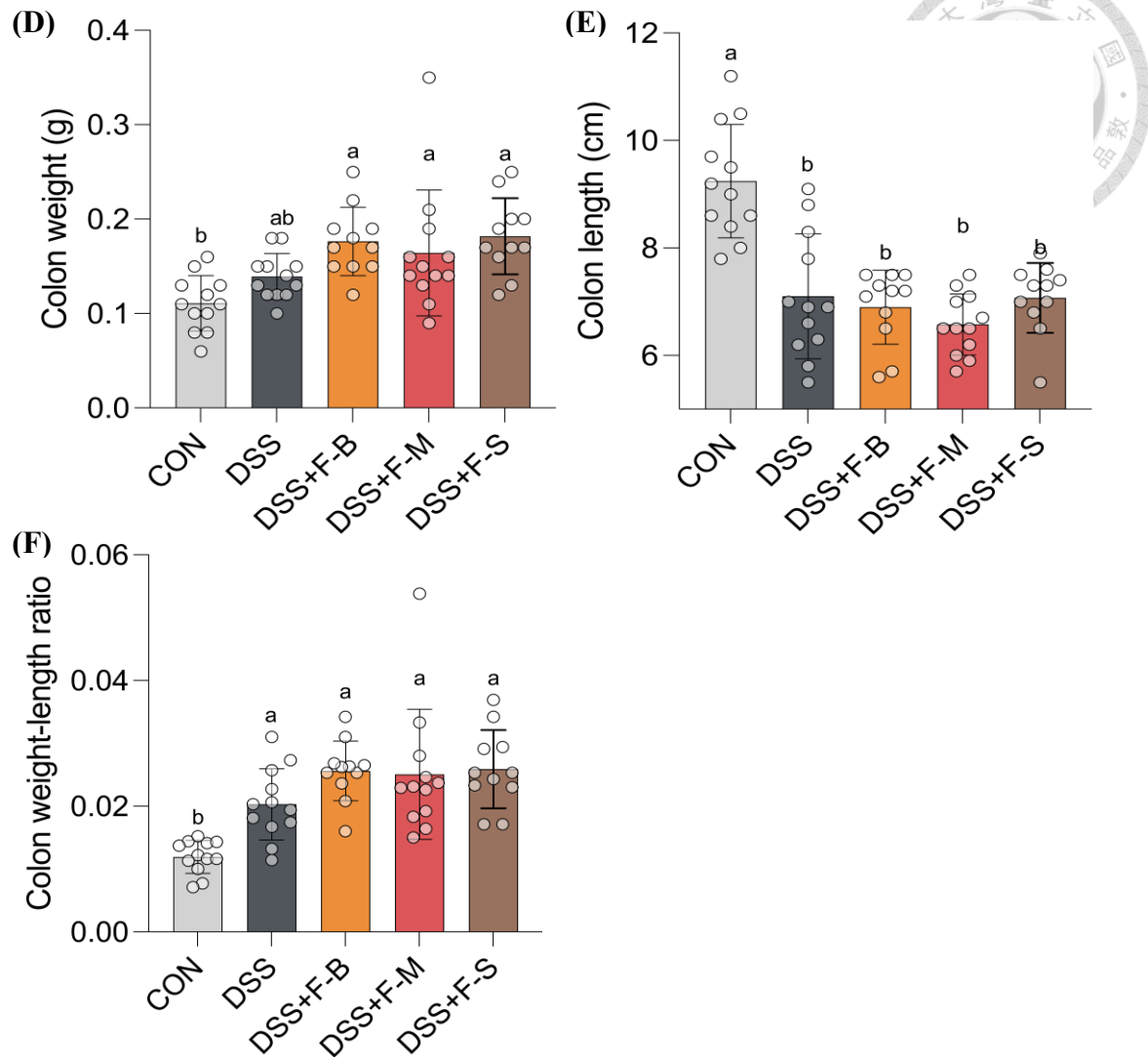


(C)



圖十八、粗碎處理 (F-B)、介質研磨 180 分鐘鮮棗懸浮液 (F-M) 及其上清液 (F-S) 對 DSS 誘導性結腸炎小鼠模型之體重變化與表現型的影響。(A) 動物實驗設計示意圖、(B) 實驗期間小鼠體重變化、(C) 第 18 天小鼠體重。

Figure 18. Effects of blended (F-B), 180-minute media-milled (F-M180), and supernatant (F-S) fresh jujube suspensions on body weight and phenotypic indicators in a DSS-induced colitis mouse model. (A) schematic diagram of the experimental design, (B) body weight changes during the experimental period, (C) body weight on day 18. Five-week-old male BALB/c mice were acclimatized for 10 days and then orally administered F-B, F-M180, or F-S (0.1 mL/mouse/day) for 18 consecutive days. From day 18 to 24, 2% dextran sulfate sodium (DSS) was added to the drinking water to induce colitis, followed by regular water until the mice were sacrificed on day 28. Groups sharing the same letter are not significantly different ($p > 0.05$). Data are presented as mean $\pm$ SD.



圖十八 (續)、粗碎處理 (F-B)、介質研磨 180 分鐘鮮棗懸浮液 (F-M) 及其上清液 (F-S) 對 DSS 誘導性結腸炎小鼠模型之體重變化與表現型的影響。(D) 結腸重量、(E) 結腸長度、(F) 結腸重量/體重比。

Figure 18 (continued). Effects of blended (F-B), 180-minute media-milled (F-M180), and supernatant (F-S) fresh jujube suspensions on body weight and phenotypic indicators in a DSS-induced colitis mouse model. (D) colon weight, (E) colon length, (F) colon weight normalized to body weight. Five-week-old male BALB/c mice were acclimatized for 10 days and then orally administered F-B, F-M180, or F-S (0.1 mL/mouse/day) for 18 consecutive days. From day 18 to 24, 2% dextran sulfate sodium (DSS) was added to the drinking water to induce colitis, followed by regular water until the mice were sacrificed on day 28. Groups sharing the same letter are not significantly different ($p > 0.05$). Data are presented as mean $\pm$ SD.

伍、結論與展望

- 
- (一) 通過濕攪拌介質研磨製程，藉由摩擦、碰撞、壓縮及剪切力等作用致使材料結構破碎，製作紅棗懸浮液。顯微觀察中，可發現介質研磨有效地使材料組織破碎化，達到粒子微細化。懸浮液物化性質，如：色澤、pH 值、界面電位及黏度等，因粒子粒徑縮小發生變化，而粒子尺寸下降有助於提升懸浮液的穩定性。
- (二) 本研究最重要的發現之一，是透過介質研磨可提升生物活性化合物，包括多酚類、類黃酮及三萜類化合物的釋放量。機械性破壞細胞壁即可幫助於這些化合物的釋放，改善水難溶成分於水溶液的分散，進而提高其總生物活性含量。與後續抗氧化結果相呼應，紅棗活性化合物貢獻良好的抗氧化能力。
- (三) 本研究因 *Lactiplantibacillus plantarum* 表現穩定故選其作為代表菌株，以鮮棗懸浮液作為營養源，質研磨處理可破碎纖維片段，應有利乳酸菌生長使用，惟未來仍應探討多株乳酸菌，以更全面了解發酵動力學及潛在的協同效應。
- (四) 介質研磨鮮棗懸浮液於研究中，顯著降低 RAW 264.7 巨噬細胞產生 NO 及促發炎細胞激素 IL-1 β 的濃度，顯示可能具備調節發炎途徑的能力。這些效應可能歸因於介質研磨鮮棗懸浮液中較高濃度的三萜類、多酚類與類黃酮。
- (五) 結腸炎動物模式中，紅棗懸浮液未加劇結腸炎症狀，顯示於研究濃度下，紅棗懸浮液具安全性。可評估作為益生質對腸道菌群的影響，於減緩腸道發炎方面之功效。配合組織學分析及蛋白層級的分子探討，深入解析其抗發炎機制，以進一步闡明相關途徑。
- (六) 本研究結果對食品及營養保健品產業具有正向助益，顯示介質研磨加工技術可作為紅棗加工之製程平台。所製備之鮮棗懸浮液展現良好的穩定性與功能性潛力，未來可應用於多種健康導向產品的開發，包括具抗氧化活性的功能性飲品、發酵製品，以及具抗發炎功效的膳食補充劑。在產品應用層面，可望發展多元形式產品，如：果凍型機能性飲品、即飲型發酵果汁、高濃縮純化前處理平台等，亦可作為替代傳統加工方式的創新工法，響應市場對「潔淨標示」(clean label) 產品的需求。此外，紅棗懸浮液亦具潛力作為食品添加劑之天然替代素材，拓展其在食品製造中的應用廣度。未來展望方面，可結



合多組成複合功能素材的開發，導入智慧製程與品質監控技術，提升產品穩定性與生產效率；同時也可推動跨領域整合應用，如功能性保健食品、特殊族群營養補充品與醫療營養品等。另一方面，紅棗在加工過程中產生的副產物亦可進行高值化利用，提升整體資源效率。綜合而言，本研究所建立之紅棗介質研磨平台，具備發展客製化營養補充品與創新加工應用的潛力，對於推動紅棗產業價值提升與永續發展。

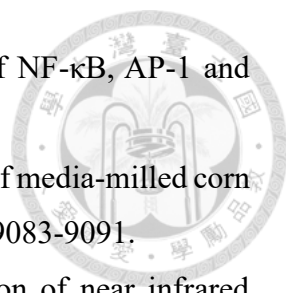
陸、參考文獻

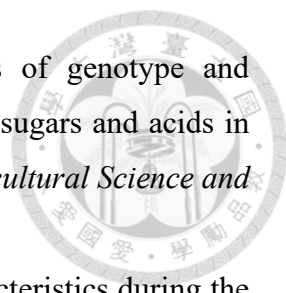


- 呂瑞琳。2016。台灣公館產紅棗之肉皮籽成分與加工適性。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。台中市。
- 林妤姍、徐敏記、黃肇家。2018。紅棗鮮果採後生理之初探。苗栗區農業專訊，82: 2018.06: 15-17。
- 胡芳、趙智慧、劉孟軍。2011。HPLC法測定不同棗品種果實中白樺酯酸、齊墩果酸和熊果酸含量。中國農業通報，27(5): 434-438。
- 徐鴻華。2004。中草藥彩色圖鑑(四)華北篇。西北出版社。台南市。176。
- 黃微、徐瑞瑋、程妮、王畢妮、高慧、曹煒。2012。紅棗生物活性成分的研究進展。食品研究與研發，33(4): 198-201。
- 黃彥程。2018。介質研磨甘藷葉之理化性質及其葉黃素生物分布。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。台北市。
- 陳時欣。2006。蔗糖酯對奈米/次微米纖維素懸浮液穩定性之研究。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。台北市。
- 張慶、雷林生、林勤保、孫莉莎、楊淑琴。1999。三種大棗多醣促進小鼠脾細胞增殖作用的比較。第一軍醫大學學報，19: 398。
- 張慶、雷林生、楊淑琴、孫莉莎。2001。大棗中性多醣對小鼠脾細胞增殖作用影響。第一軍醫大學學報，21: 426-428。
- 張鐘、吳茂東。2006。大棗多醣對小鼠化學性肝損傷的保護作用和抗疲勞作用。南京農業大學學報，29: 94-97。
- 張采、李佳、張永清。2011。大棗化學成分研究概況。中國現代中藥，13(11): 49-51。
- 劉雲聰。1998。公館特產-紅棗。苗栗區農業專訊，3: 3-6。
- 劉雲聰。2000。苗栗地區紅棗栽培問題與對策。苗栗區農業專訊，12: 25-29。
- 衛生福利部食品藥物管理署。2014。奈米食品申請作業指引。衛生福利部食品藥物管理署103年11月24日。台灣。
- 魯周民、劉坤、闫忠心、李新崗。2010。棗果實營養成分及保健作用研究進展。園藝學報，37(12): 2017-2024。

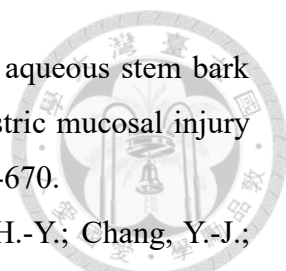
- 
- 韓志萍。2006。陝北紅棗中總黃酮的提取及含量比較。《食品科學》，27(12): 560-562。
- 蔡健。2004。大棗的營養保健作用及貯藏加工技術。《中國食物與營養》，9: 16-19。
- 曹艷萍、楊秀利、薛成虎。2007。紅棗中齊墩果酸提取工藝的研究。《食品科學》，28(10): 165-167。
- 雷昌貴、陳錦屏、盧大新。2006。紅棗的營養成分及其保健功能。《現代生物醫學進展》，6(3): 56-57。
- Aletaha, D.; Neogi, T.; Silman, A. J.; Funovits, J.; Felson, D. T.; Bingham III, C. O.; Birnbaum, N. S.; Burmester, G. R.; Bykerk, V. P.; Cohen, M. D. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatism* 2010, 62, 2569-2581.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). Standard guide for measurement of electrophoretic mobility and zeta potential of nanosized biological materials. Designation: E2865-12. 2012.
- Anderson, C. W. Turbidity 6.7. *USGS National Field Manual for The Collection of Water Quality Data*, US Geological Survey 2005.
- Antonio, G. C.; Faria, F. R.; Takeiti, C. Y.; Park, K. J. Rheological behavior of blueberry. *Food Science and Technology* 2009, 29, 732-737.
- Apak, R.; Capanoglu, E.; Shahidi, F. Measurement of antioxidant activity and capacity: Recent trends and applications. 2017. *John Wiley & Sons Ltd*.
- Awika, J. M.; Rooney, L. W.; Wu, X.; Prior, R. L.; Cisneros-Zevallos, L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003, 51, 6657-6662.
- Bauerova, K.; Bezek, S. Role of reactive oxygen and nitrogen species in etiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *General Physiology and Biophysics* 2000, 18, 15-20.
- Beagley, K.; Huston, W. M.; Hansbro, P. M.; Timms, P. Chlamydial infection of immune cells: altered function and implications for disease. *Critical Reviews™ in Immunology* 2009, 29, 275-305.
- Beutler, B. Innate immunity: an overview. *Molecular Immunology* 2004, 40, 845-859.
- Bhakay, A.; Merwade, M.; Bilgili, E.; Dave, R. N. Novel aspects of wet milling for the

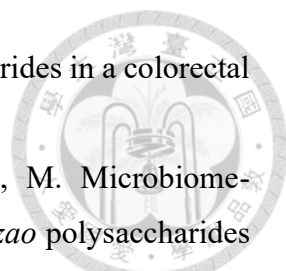
- production of microsuspensions and nanosuspensions of poorly water-soluble drugs. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2011, 37, 963-976.
- Bhakay, A.; Rahman, M.; Dave, R. N.; Bilgili, E. Bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs via nanocomposites: Formulation–Processing aspects and challenges. *Pharmaceutics* 2018, 10, 86.
- Bilgili, E.; Guner, G. Mechanistic modeling of wet stirred media milling for production of drug nanosuspensions. *American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech* 2021, 22, 1-23.
- Birk, R.; Gratchev, A.; Hakiy, N.; Politz, O.; Schledzewski, K.; Guillot, P.; Orfanos, C.; Goerdts, S. Alternative activation of antigen-presenting cells: concepts and clinical relevance. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete* 2001, 52, 193-200.
- Brudvik, K. W.; Taskén, K. Modulation of T cell immune functions by the prostaglandin E2–cAMP pathway in chronic inflammatory states. *British Journal of Pharmacology* 2012, 166, 411-419.
- Castro, E.; Conde, E.; Moure, A.; Falqué, E.; Cara, C.; Ruiz, E.; Domínguez, H. Antioxidant activity of liquors from steam explosion of *Olea europea* wood. *Wood Science and Technology* 2008, 42, 579-592.
- Chang, C.-C.; Yang, M.-H.; Wen, H.-M.; Chern, J.-C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 2002, 10, 2224-6614.2748.
- Chang, S.; Hsu, B.; Chen, B. Structural characterization of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* and evaluation of antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 2010, 47, 445-453.
- Chassaing, B.; Aitken, J. D.; Malleshappa, M.; Vijay-Kumar, M. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Current Protocols in Immunology* 2014, 104, 15.25. 1-15.25. 14.
- Chebil, L.; Humeau, C.; Anthoni, J.; Dehez, F.; Engasser, J.-M.; Ghoul, M. Solubility of flavonoids in organic solvents. *Journal of Chemical & Engineering Data* 2007, 52, 1552-1556.
- Checker, R.; Sandur, S. K.; Sharma, D.; Patwardhan, R. S.; Jayakumar, S.; Kohli, V.; Sethi, G.; Aggarwal, B. B.; Sainis, K. B. Potent anti-inflammatory activity of ursolic acid,

- 
- a triterpenoid antioxidant, is mediated through suppression of NF- κ B, AP-1 and NF-AT. *PloS One* 2012, 7, e31318.
- Chen, C.-J.; Shen, Y.-C.; Yeh, A.-I. Physico-chemical characteristics of media-milled corn starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010, 58, 9083-9091.
- Chen, C.; Li, H.; Lv, X.; Tang, J.; Chen, C.; Zheng, X. Application of near infrared spectroscopy combined with SVR algorithm in rapid detection of cAMP content in red jujube. *Optik* 2019, 194, 163063.
- Chen, Z.; Liang, G.; Ru, Y.; Weng, H.; Zhang, Y.; Chen, J.; Xiao, Q.; Xiao, A. Media-milled agar particles as a novel emulsifier for food pickering emulsion. *International Journal of Biological Macromolecules* 2023, 253, 127185.
- Chi, A.; Kang, C.; Zhang, Y.; Tang, L.; Guo, H.; Li, H.; Zhang, K. Immunomodulating and antioxidant effects of polysaccharide conjugates from the fruits of *Zizyphus Jujube* on chronic fatigue syndrome rats. *Carbohydrate Polymers* 2015, 122, 189-196.
- Chi, H. L.; Yeh, A. I.; Pan, M. H.; Chen, S. H. Physicochemical properties and film formation of the chitin hydrocolloid fabricated by a novel green process. *Journal of Applied Polymer Science* 2021, 138, 50762.
- Chiang, L.-H.; Chen, S.-H.; Yeh, A.-I. Preparation of nano/submicrometer yam and its benefits on collagen secretion from skin fibroblast cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2012, 60, 12332-12340.
- Chiang, Y.-H.; Chen, S.-H.; Yeh, A.-I. Preparation of nano/submicrometer *Ganoderma tsugae* and its mutagenic potencies and cytotoxicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2014, 62, 12244-12255.
- Chou, Y.-C.; Ho, P.-Y.; Chen, W.-J.; Wu, S.-H.; Pan, M.-H. *Lactobacillus fermentum* V3 ameliorates colitis-associated tumorigenesis by modulating the gut microbiome. *American Journal of Cancer Research* 2020, 10, 1170.
- Cos, P.; Rajan, P.; Vedernikova, I.; Calomme, M.; Pieters, L.; Vlietinck, A. J.; Augustyns, K.; Haemers, A.; Berghe, D. V. In vitro antioxidant profile of phenolic acid derivatives. *Free Radical Research* 2002, 36, 711-716.
- Coussens, L. M.; Werb, Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002, 420, 860.
- Cyong, J.-C.; Hanabusa, K. Cyclic adenosine monophosphate in fruits of *Zizyphus jujuba*. *Phytochemistry* 1980, 19, 2747-2748.

- 
- Davik, J.; Kjersti Bakken, A.; Holte, K.; Blomhoff, R. Effects of genotype and environment on total anti-oxidant capacity and the content of sugars and acids in strawberries (*Fragaria× ananassa* Duch.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 2006, *81*, 1057-1063.
- Ding, S.; Wang, R.; Shan, Y.; Li, G.; Ou, S. Changes in pectin characteristics during the ripening of jujube fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2017, *97*, 4151-4159.
- Duan, Y.; Liu, S.; Zhu, Y.; Wang, Y.; Yan, F.; Liu, Z.; Shi, X.; Liu, P.; Liu, M. The influences of soil and meteorological factors on the growth and fruit quality of Chinese Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Plants* 2023, *12*, 4107.
- Dubey, R.; Toh, Y.-R.; Yeh, A.-I. Enhancing cellulose functionalities by size reduction using media-mill. *Scientific Reports* 2018, *8*, 11343.
- Duchrow, R. M.; Everhart, W. H. Turbidity measurement. *Transactions of the American Fisheries Society* 1971, *100*, 682-690.
- Dudhgaonkar, S.; Thyagarajan, A.; Sliva, D. Suppression of the inflammatory response by triterpenes isolated from the mushroom *Ganoderma lucidum*. *International Immunopharmacology* 2009, *9*, 1272-1280.
- Elenkov, I. J.; Chrousos, G. P. Stress hormones, Th1/Th2 patterns, pro/anti-inflammatory cytokines and susceptibility to disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 1999, *10*, 359-368.
- Eskin, D.; Zhupanska, O.; Hamey, R.; Moudgil, B.; Scarlett, B. Microhydrodynamics of stirred media milling. *Powder Technology* 2005, *156*, 95-102.
- Förster, S.; Konrad, M. From self-organizing polymers to nano-and biomaterials. *Journal of Materials Chemistry* 2003, *13*, 2671-2688.
- Gammon, K. A complex problem. *Nature* 2013, *502*.
- Gao, Q.-H.; Wu, C.-S.; Wang, M. The jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit: a review of current knowledge of fruit composition and health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013, *61*, 3351-3363.
- Gao, Q.-H.; Wu, C.-S.; Wang, M.; Xu, B.-N.; Du, L.-J. Effect of drying of jujubes (*Ziziphus jujuba* Mill.) on the contents of sugars, organic acids, α -tocopherol, β -carotene, and phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2012a, *60*, 9642-9648.

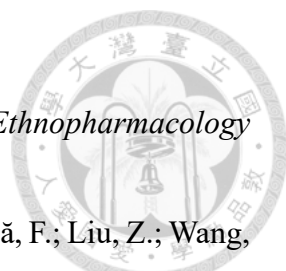
- Gao, Q.-H.; Wu, P.-T.; Liu, J.-R.; Wu, C.-S.; Parry, J. W.; Wang, M. Physico-chemical properties and antioxidant capacity of different jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) cultivars grown in loess plateau of China. *Scientia Horticulturae* 2011, 130, 67-72.
- Gao, Q. H.; Wu, C. S.; Yu, J. G.; Wang, M.; Ma, Y. J.; Li, C. L. Textural characteristic, antioxidant activity, sugar, organic acid, and phenolic profiles of 10 promising jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) selections. *Journal of Food Science* 2012b, 77, C1218-25.
- García-Pérez, F.; Lario, Y.; Fernández-López, J.; Sayas, E.; Pérez-Alvarez, J.; Sendra, E. Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. *Color Research & Application* 2005, 30, 457-463.
- Goyal, R.; Sharma, P. L.; Singh, M. Possible attenuation of nitric oxide expression in anti-inflammatory effect of *Ziziphus jujuba* in rat. *Journal of Natural Medicines* 2011, 65, 514-518.
- Gunther, E., *Ethnobotany of Western Washington: The knowledge and use of indigenous plants by Native Americans*. University of Washington Press: 1973; Vol. 10.
- Guo, S.; Duan, J.-A.; Tang, Y.-P.; Yang, N.-Y.; Qian, D.-W.; Su, S.-L.; Shang, E.-X. Characterization of triterpenic acids in fruits of *Ziziphus* species by HPLC-ELSD-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010, 58, 6285-6289.
- Guo, S.; Duan, J.-a.; Tang, Y.; Su, S.; Shang, E.; Ni, S.; Qian, D. High-performance liquid chromatography–Two wavelength detection of triterpenoid acids from the fruits of *Ziziphus jujuba* containing various cultivars in different regions and classification using chemometric analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2009a, 49, 1296-1302.
- Guo, S.; Duan, J.-A.; Zhang, Y.; Qian, D.; Tang, Y.; Zhu, Z.; Wang, H. Contents changes of triterpenic acids, nucleosides, nucleobases, and saccharides in Jujube (*Ziziphus jujuba*) fruit during the drying and steaming process. *Molecules* 2015, 20, 22329-22340.
- Guo, S.; Tang, Y. P.; Duan, J. A.; Su, S. L.; Ding, A. W. Two new terpenoids from fruits of *Ziziphus jujuba*. *Chinese Chemical Letters* 2009b, 20, 197-200.
- Haida, Z.; Hakiman, M. A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Science & Nutrition* 2019, 7, 1555-1563.

- 
- Hamed, S.; Arian, A. A.; Farzaei, M. H. Gastroprotective effect of aqueous stem bark extract of *Ziziphus jujuba* L. against HCl/Ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Journal of Traditional Chinese Medicine* 2015, 35, 666-670.
- Heo, H.-J.; Park, Y.-J.; Suh, Y.-M.; Choi, S.-J.; Kim, M.-J.; Cho, H.-Y.; Chang, Y.-J.; Hong, B.; Kim, H.-K.; Kim, E. Effects of oleamide on choline acetyltransferase and cognitive activities. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2003, 67, 1284-1291.
- Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, 53, 1841-1856.
- Huang, R.-L.; Wang, W.-Y.; Kuo, Y.-H.; Lin, Y.-L. Cytotoxic triterpenes from the Fruit of *Ziziphus jujuba*. *The Chinese Pharmaceutical Journal* 2001, 53, 179-184.
- Hudina, M.; Liu, M.; Veberic, R.; Stampar, F.; Colaric, M. Phenolic compounds in the fruit of different varieties of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 2008, 83, 305-308.
- Hung, C.-F.; Hsu, B.-Y.; Chang, S.-C.; Chen, B.-H. Antiproliferation of melanoma cells by polysaccharide isolated from *Zizyphus jujuba*. *Nutrition* 2012, 28, 98-105.
- Hung, W.-L.; Liao, C.-D.; Lu, W.-C.; Ho, C.-T.; Hwang, L. S. Lignan glycosides from sesame meal exhibit higher oral bioavailability and antioxidant activity in rat after nano/submicrosizing. *Journal of Functional Foods* 2016, 23, 511-522.
- Hur, S. J.; Lee, S. Y.; Kim, Y.-C.; Choi, I.; Kim, G.-B. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food chemistry* 2014, 160, 346-356.
- Igietseme, J. U.; Eko, F. O.; He, Q.; Black, C. M. Antibody regulation of T-cell immunity: implications for vaccine strategies against intracellular pathogens. *Expert Review of Vaccines* 2004, 3, 23-34.
- Ikeda, Y.; Murakami, A.; Ohigashi, H. Ursolic acid: An anti-and pro-inflammatory triterpenoid. *Molecular Nutrition & Food Research* 2008, 52, 26-42.
- Jäger, S.; Winkler, K.; Pfüller, U.; Scheffler, A. Solubility studies of oleanolic acid and betulinic acid in aqueous solutions and plant extracts of *Viscum album* L. *Planta Medica* 2007, 73, 157-162.
- Janeway Jr, C. A.; Medzhitov, R. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology* 2002, 20, 197-216.
- Ji, X.; Hou, C.; Gao, Y.; Xue, Y.; Yan, Y.; Guo, X. Metagenomic analysis of gut microbiota

- 
- modulatory effects of jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) polysaccharides in a colorectal cancer mouse model. *Food & Function* 2020, *11*, 163-173.
- Ji, X.; Hou, C.; Zhang, X.; Han, L.; Yin, S.; Peng, Q.; Wang, M. Microbiome-metabolomic analysis of the impact of *Zizyphus jujuba* cv. *Muzao* polysaccharides consumption on colorectal cancer mice fecal microbiota and metabolites. *International Journal of Biological Macromolecules* 2019, *131*, 1067-1076.
- Ji, X.; Peng, Q.; Li, H.; Liu, F.; Wang, M. Chemical Characterization and anti-inflammatory activity of polysaccharides from *Zizyphus jujube* cv. *Muzao*. *International Journal of Food Engineering* 2017, *13*, 20160381.
- Jiang, T.; He, F.; Han, S.; Chen, C.; Zhang, Y.; Che, H. Characterization of cAMP as an anti-allergic functional factor in Chinese jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.). *Journal of Functional Foods* 2019, *60*, 103414.
- Kaliner, M. Human lung tissue and anaphylaxis: Evidence that cyclic nucleotides modulate the immunologic release of mediators through effects on microtubular assembly. *The Journal of Clinical Investigation* 1977, *60*, 951-959.
- Kao, T. H.; Chen, B. H. Functional components in zizyphus with emphasis on polysaccharides. *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology* 2015, 795-827.
- Kawai, T.; Akira, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology* 2010, *11*, 373-384.
- Klick, S.; Herrmann, K. Glucosides and glucose esters of hydroxybenzoic acids in plants. *Phytochemistry* 1988, *27*, 2177-2180.
- Kuo, H.-Y.; Chen, S.-H.; Yeh, A.-I. Preparation and physicochemical properties of whole-bean soymilk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2014, *62*, 742-749.
- Lacy, P. Secretion of cytokines and chemokines by innate immune cells. *Frontiers in Immunology* 2015, *6*, 190.
- Lam, T.; Kadoya, K.; Iiyama, K. Bonding of hydroxycinnamic acids to lignin: ferulic and p-coumaric acids are predominantly linked at the benzyl position of lignin, not the β -position, in grass cell walls. *Phytochemistry* 2001, *57*, 987-992.
- Lee, S.-M.; Park, J.-G.; Lee, Y.-H.; Lee, C.-G.; Min, B.-S.; Kim, J.-H.; Lee, H.-K. Anti-complementary activity of triterpenoides from fruits of *Zizyphus jujuba*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2004, *27*, 1883-1886.
- Levine, B.; Mizushima, N.; Virgin, H. W. Autophagy in immunity and inflammation.

Nature 2011, 469, 323.

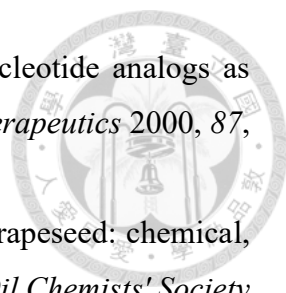
- Lhaghlham, P.; Jiramonai, L.; Jia, Y.; Huang, B.; Huang, Y.; Gao, X.; Zhang, J.; Liang, X.-J.; Zhu, M. Drug nanocrystals: Surface engineering and its applications in targeted delivery. *iScience* 2024, 27, 85.
- Li, J.W.; Ding, S.D.; Ding, X.L. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry* 2005, 40, 3607-3613.
- Li, J.-W.; Fan, L.-P.; Ding, S.-D.; Ding, X.-L. Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chemistry* 2007, 103, 454-460.
- Li, M.; Alvarez, P.; Orbe, P.; Bilgili, E. Multi-faceted characterization of wet-milled griseofulvin nanosuspensions for elucidation of aggregation state and stabilization mechanisms. *Aaps Pharmscitech* 2018, 19, 1789-1801.
- Li, M.; Azad, M.; Davé, R.; Bilgili, E. Nanomilling of drugs for bioavailability enhancement: a holistic formulation-process perspective. *Pharmaceutics* 2016, 8, 17.
- Li, M.; Yaragudi, N.; Afolabi, A.; Dave, R.; Bilgili, E. Sub-100 nm drug particle suspensions prepared via wet milling with low bead contamination through novel process intensification. *Chemical Engineering Science* 2015, 130, 207-220.
- Li, T.; Jiang, T.; Liu, N.; Wu, C.; Xu, H.; Lei, H. Biotransformation of phenolic profiles and improvement of antioxidant capacities in jujube juice by select lactic acid bacteria. *Food Chemistry* 2021, 339, 127859.
- Lim, T., *Ziziphus jujuba*. In *Edible medicinal and non-medicinal plants*, Springer: 2013; pp 578-604.
- Lim, T. K., *Edible medicinal and non-medicinal plants*. Springer: 2012; Vol. 1.
- Lin, N.C.; Lin, J.C.; Chen, S.H.; Ho, C.T.; Yeh, A.I. Effect of goji (*Lycium barbarum*) on expression of genes related to cell survival. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2011, 59, 10088-10096.
- Lin, S.; Zhang, X.; Wang, J.; Li, T.; Wang, L. Effect of lactic acid bacteria fermentation on bioactive components of black rice bran (*Oryza sativa* L.) with different milling fractions. *Food Bioscience* 2024, 58, 103684.
- Lin, W. S.; Lai, Y. J.; Kalyanam, N.; Ho, C. T.; Pan, M. H. S-Allylcysteine inhibits PhIP/DSS-induced colon carcinogenesis through mitigating inflammation, targeting Keap1, and modulating microbiota composition in mice. *Molecular*

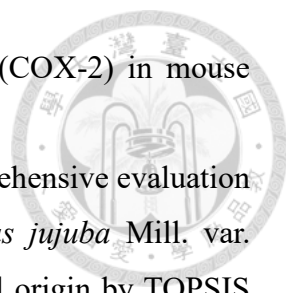
- 
- Nutrition & Food Research* 2020, 64, 2000576.
- Liu, J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology* 1995, 49, 57-68.
- Liu, M.; Wang, J.; Wang, L.; Liu, P.; Zhao, J.; Zhao, Z.; Yao, S.; Stănică, F.; Liu, Z.; Wang, L. The historical and current research progress on jujube—a superfruit for the future. *Horticulture Research* 2020, 7, s41438-020-00346-5.
- Lu, X.; Xiao, J.; Huang, Q. Pickering emulsions stabilized by media-milled starch particles. *Food Research International* 2018, 105, 140-149.
- Lu, Y.; Bao, T.; Mo, J.; Ni, J.; Chen, W. Research advances in bioactive components and health benefits of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B* 2021, 22, 431-449.
- Lucarini, M.; Pedulli, G. F.; Guerra, M. A Critical evaluation of the factors determining the effect of intramolecular hydrogen bonding on the O-H bond dissociation enthalpy of catechol and of flavonoid antioxidants. *Chemistry-A European Journal* 2004, 10, 933-939.
- Manning, T. S.; Gibson, G. R. Prebiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2004, 18, 287-298.
- Mao, J.; Sun, H.; Cao, L.; Deng, K.; Xu, J.; Fu, J.; Chen, Y.; Xie, H. Comparative analysis of the quality characteristics of high-moisture jujube with different degrees of dehydration. *LWT-Food Science and Technology* 2024, 198, 116026.
- McKnight, G. S. Cyclic AMP second messenger systems. *Current Opinion in Cell Biology* 1991, 3, 213-217.
- McNeil, S. E., *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery*. Springer: 2011; Vol. 697.
- Nindo, C.; Tang, J.; Powers, J.; Takhar, P. Rheological properties of blueberry puree for processing applications. *LWT-Food Science and Technology* 2007, 40, 292-299.
- Odgerel, U.; Islam, M. Z.; Kitamura, Y.; Kokawa, M.; Odbayar, T. O. Effect of micro wet milling process on particle sizes, antioxidants, organic acids, and specific phenolic compounds of whole sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) juices. *Journal of Food Processing and Preservation* 2021, 45, e15474.
- Opal, S. M.; Depalo, V. A. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000, 117, 1162-1172.
- Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products

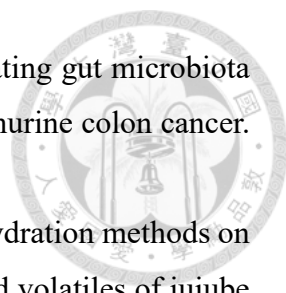
- of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics* 1986, 44, 307-315.
- Pan, M.H.; Maresz, K.; Lee, P.-S.; Wu, J.C.; Ho, C.T.; Popko, J.; Mehta, D. S.; Stohs, S. J.; Badmaev, V. Inhibition of TNF- α , IL-1 α , and IL-1 β by pretreatment of human monocyte-derived macrophages with menaquinone-7 and cell activation with TLR agonists in vitro. *Journal of Medicinal Food* 2016, 19, 663-669.
- Pan, X.; Zhang, S.; Xu, X.; Lao, F.; Wu, J. Volatile and non-volatile profiles in jujube pulp co-fermented with lactic acid bacteria. *LWT-Food Science and Technology* 2022, 154, 112772.
- Pareek, S. Nutritional composition of jujube fruit. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 2013, 25, 463.
- Patocka, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. *Journal of Applied Biomedicine* 2003, 1, 7-12.
- Peltonen, L. Design space and QbD approach for production of drug nanocrystals by wet media milling techniques. *Pharmaceutics* 2018, 10, 104.
- Peltonen, L.; Hirvonen, J. Pharmaceutical nanocrystals by nanomilling: critical process parameters, particle fracturing and stabilization methods. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2010, 62, 1569-1579.
- Periasamy, S.; Wu, W.-H.; Chien, S.-P.; Liu, C.-T.; Liu, M.-Y. Dietary Ziziphus jujuba fruit attenuates colitis-associated tumorigenesis: a pivotal role of the NF- κ B/IL-6/JAK1/STAT3 pathway. *Nutrition and Cancer* 2020, 72, 120-132.
- Plumb, J.; Milroy, R.; Kaye, S. In *Optimization of a chemosensitivity assay based on reduction of the tetrazolium Dye, Mtt*, Anticancer Research, 1987; Int Inst Anticancer Research Editorial Office 1st Km Kapandntiou-Kalamou Rd Kapandriti, Pob 22, Athens 19014, Greece: 1987, 902-902.
- Plumb, J. A.; Milroy, R.; Kaye, S. Effects of the pH dependence of 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide-formazan absorption on chemosensitivity determined by a novel tetrazolium-based assay. *Cancer Research* 1989, 49, 4435-4440.
- Rajopadhye, A.; Upadhye, A. S. Estimation of bioactive compound, maslinic acid by HPTLC, and evaluation of hepatoprotective activity on fruit pulp of Ziziphus jujuba Mill. Cultivars in India. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*

2016, 2016, 4758734.

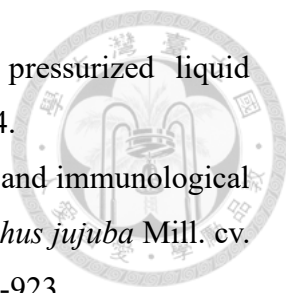
- Rana, A.; Samtiya, M.; Dhewa, T.; Mishra, V.; Aluko, R. E. Health benefits of polyphenols: A concise review. *Journal of Food Biochemistry* 2022, 46, e14264.
- Rashwan, A. K.; Karim, N.; Shishir, M. R. I.; Bao, T.; Lu, Y.; Chen, W. Jujube fruit: A potential nutritious fruit for the development of functional food products. *Journal of Functional Foods* 2020, 75, 104205.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 1999, 26, 1231-1237.
- Redgrove, K. A.; McLaughlin, E. A. The role of the immune response in Chlamydia trachomatis infection of the male genital tract: a double-edged sword. *Frontiers in Immunology* 2014, 5, 534.
- Rodríguez Villanueva, J.; Rodríguez Villanueva, L. Experimental and Clinical Pharmacology of Ziziphus jujuba Mills. *Phytotherapy Research* 2017, 31, 347-365.
- Ruan, J.; Han, Y.; Kennedy, J. F.; Jiang, H.; Cao, H.; Zhang, Y.; Wang, T. A review on polysaccharides from jujube and their pharmacological activities. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* 2022, 3, 100220.
- Ryu, S. Y.; Oak, M.-H.; Yoon, S.-K.; Cho, D.-I.; Yoo, G.-S.; Kim, T.-S.; Kim, K.-M. Anti-allergic and anti-inflammatory triterpenes from the herb of *Prunella vulgaris*. *Planta Medica* 2000, 66, 358-360.
- Sabzghabae, A. M.; Khayam, I.; Kelishadi, R.; Ghannadi, A.; Soltani, R.; Badri, S.; Shirani, S. Effect of *Zizyphus jujuba* fruits on dyslipidemia in obese adolescents: a triple-masked randomized controlled clinical trial. *Medical Archives* 2013, 67, 156.
- Sahin, S.; Sumnu, G.; Altunakar, B. Effects of batters containing different gum types on the quality of deep-fat fried chicken nuggets. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2005, 85, 2375-2379.
- Sarıtaş, S.; Portocarrero, A. C. M.; Miranda López, J. M.; Lombardo, M.; Koch, W.; Raposo, A.; El-Seedi, H. R.; de Brito Alves, J. L.; Esatbeyoglu, T.; Karav, S. The impact of fermentation on the antioxidant activity of food products. *Molecules* 2024, 29, 3941.
- Saxena, M.; Saxena, J.; Nema, R.; Singh, D.; Gupta, A. Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2013, 1, 168-182.

- 
- Schwede, F.; Maronde, E.; Genieser, H.-G.; Jastorff, B. Cyclic nucleotide analogs as biochemical tools and prospective drugs. *Pharmacology & Therapeutics* 2000, 87, 199-226.
- Shahidi, F.; Naczk, M. An overview of the phenolics of canola and rapeseed: chemical, sensory and nutritional significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1992, 69, 917-924.
- Shahrajabian, M. H.; Sun, W.; Cheng, Q. Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.)—a promising fruit from traditional chinese medicine. *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis Studia Naturae* 2020, 194-219.
- Shimada, K.; Fujikawa, K.; Yahara, K.; Nakamura, T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1992, 40, 945-948.
- Shinohara, K.; Golman, B.; Uchiyama, T.; Otani, M. Fine-grinding characteristics of hard materials by attrition mill. *Powder Technology* 1999, 103, 292-296.
- Singla, R. K.; Dubey, A. K.; Garg, A.; Sharma, R. K.; Fiorino, M.; Ameen, S. M.; Haddad, M. A.; Al-Hiary, M., Natural polyphenols: chemical classification, definition of classes, subcategories, and Structures. *Journal of AOAC International* 2019, 102, 1397-1400.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M., [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology*, Elsevier: 1999; Vol. 299, pp 152-178.
- Stalikas, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science* 2007, 30, 3268-3295.
- Steffe, J. F., *Rheological methods in food process engineering*. Freeman press: 1996.
- Stockert, J. C.; Blázquez-Castro, A.; Cañete, M.; Horobin, R. W.; Villanueva, Á. MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. *Acta Histochemica* 2012, 114, 785-796.
- Subbaramaiah, K.; Michaluart, P.; Sporn, M. B.; Dannenberg, A. J. Ursolic acid inhibits cyclooxygenase-2 transcription in human mammary epithelial cells. *Cancer Research* 2000, 60, 2399-2404.
- Suh, N.; Honda, T.; Finlay, H. J.; Barchowsky, A.; Williams, C.; Benoit, N. E.; Xie, Q.-w.; Nathan, C.; Gribble, G. W.; Sporn, M. B. Novel triterpenoids suppress inducible

- 
- nitric oxide synthase (iNOS) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in mouse macrophages. *Cancer Research* 1998, 58, 717-723.
- Sun, Y.-F.; Liang, Z.-S.; Shan, C.-J.; Viernstein, H.; Unger, F. Comprehensive evaluation of natural antioxidants and antioxidant potentials in *Ziziphus jujuba* Mill. var. spinosa (Bunge) Hu ex HF Chou fruits based on geographical origin by TOPSIS method. *Food Chemistry* 2011, 124, 1612-1619.
- Taga, M. S.; Miller, E.; Pratt, D. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1984, 61, 928-931.
- Tahergorabi, Z.; Abedini, M. R.; Mitra, M.; Fard, M. H.; Beydokhti, H. “*Ziziphus jujuba*”: A red fruit with promising anticancer activities. *Pharmacognosy Reviews* 2015, 9, 99.
- Tanaka, T. Development of an inflammation-associated colorectal cancer model and its application for research on carcinogenesis and chemoprevention. *International Journal of Inflammation* 2012, 2012, 658786.
- Tanaka, Y.; Inkyo, M.; Yumoto, R.; Nagai, J.; Takano, M.; Nagata, S. Nanoparticulation of poorly water soluble drugs using a wet-mill process and physicochemical properties of the nanopowders. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2009, 57, 1050-1057.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (USDA) (2018) USDA National nutrient database for standard reference, Release 1. Nutrient Data Laboratory Home Page. <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.
- Vargas-Robles, H.; Castro-Ochoa, K. F.; Citalán-Madrid, A. F.; Schnoor, M. Beneficial effects of nutritional supplements on intestinal epithelial barrier functions in experimental colitis models in vivo. *World Journal of Gastroenterology* 2019, 25, 4181.
- Vidrih, R.; Ulrih, N.; Zlatić, E.; Hribar, J.; Prgomet, Z. The nutritional and physico-chemical properties of ripe (*Ziziphus jujube*) fruits grown in Istria. *Acta Hort.* 840, 2009, 525-528.
- Wang, C.; Gao, Y.; Zhang, Z.; Chen, C.; Chi, Q.; Xu, K.; Yang, L. Ursolic acid protects chondrocytes, exhibits anti-inflammatory properties via regulation of the NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway and ameliorates osteoarthritis. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2020a, 130, 110568.

- 
- Wang, L.; Jing, N.; Liu, X.; Jiang, G.; Liu, Z. Nurturing and modulating gut microbiota with jujube powder to enhance anti-PD-L1 efficiency against murine colon cancer. *Journal of Functional Foods* 2020b, 64, 103647.
- Wang, R.; Ding, S.; Zhao, D.; Wang, Z.; Wu, J.; Hu, X. Effect of dehydration methods on antioxidant activities, phenolic contents, cyclic nucleotides, and volatiles of jujube fruits. *Food Science and Biotechnology* 2016, 25, 137-143.
- Wongsagonsup, R.; Shobsngob, S.; Oonkhanond, B.; Varavinit, S. Zeta potential (ζ) and pasting properties of phosphorylated or crosslinked rice starches. *Starch-Stärke* 2005, 57, 32-37.
- Xiao, S.; Wang, Q.; Si, L.; Shi, Y.; Wang, H.; Yu, F.; Zhang, Y.; Li, Y.; Zheng, Y.; Zhang, C. Synthesis and Anti-HCV Entry Activity Studies of β -Cyclodextrin–Pentacyclic Triterpene Conjugates. *ChemMedChem* 2014, 9, 1060-1070.
- Xing, Y.; Chen, M.; Wang, X. Enhancing water use efficiency and fruit quality in jujube cultivation: A review of advanced irrigation techniques and precision management strategies. *Agricultural Water Management* 2025, 307, 109243.
- Xu, B.; Chang, S. K. Total phenolics, phenolic acids, isoflavones, and anthocyanins and antioxidant properties of yellow and black soybeans as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008, 56, 7165-7175.
- Yahia, E. M.; Carrillo-Lopez, A., *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Woodhead Publishing: 2018.
- Yang, P.; Wen, Q.; Wu, J.; Zhuang, W.; Zhang, Y.; Ying, H. Determination of solubility of cAMPNa in water+(ethanol, methanol, and acetone) within 293.15–313.15 K. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2014, 53, 10803-10809.
- Yeh, A.-I.; Huang, Y.-C.; Chen, S. H. Effect of particle size on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulose. *Carbohydrate Polymers* 2010, 79, 192-199.
- Yilma, A. N.; Singh, S. R.; Fairley, S. J.; Taha, M. A.; Dennis, V. A. The anti-inflammatory cytokine, interleukin-10, inhibits inflammatory mediators in human epithelial cells and mouse macrophages exposed to live and UV-inactivated *Chlamydia trachomatis*. *Mediators of Inflammation* 2012, 2012.
- Yin, T.; Park, J. W.; Xiong, S. Physicochemical properties of nano fish bone prepared by wet media milling. *LWT-Food Science and Technology* 2015, 64, 367-373.
- You, H. J.; Choi, C. Y.; Kim, J. Y.; Park, S. J.; Hahm, K.-S.; Jeong, H. G. Ursolic acid

- enhances nitric oxide and tumor necrosis factor- α production via nuclear factor- κ B activation in the resting macrophages. *FEBS letters* 2001, 509, 156-160.
- Yu, L.; Jiang, B.; Luo, D.; Shen, X.; Guo, S.; Duan, J.; Tang, Y. Bioactive components in the fruits of *Ziziphus jujuba* Mill. against the inflammatory irritant action of Euphorbia plants. *Phytomedicine* 2012, 19, 239-244.
- Yue, Y.; Wu, S.; Zhang, H.; Zhang, X.; Niu, Y.; Cao, X.; Huang, F.; Ding, H. Characterization and hepatoprotective effect of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* Mill. var. spinosa (Bunge) Hu ex HF Chou sarcocarp. *Food and Chemical Toxicology* 2014, 74, 76-84.
- Zacchigna, M.; Cateni, F.; Faudale, M.; Sosa, S.; Della Loggia, R. Rapid HPLC analysis for quantitative determination of the two isomeric triterpenic acids, oleanolic acid and ursolic acid, in plantago major. *Scientia Pharmaceutica* 2008, 77, 79-86.
- Zhang, H.; Jiang, L.; Ye, S.; Ye, Y.; Ren, F. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) from China. *Food and Chemical Toxicology* 2010, 48, 1461-1465.
- Zhang, M.; Ning, G.; Shou, C.; Lu, Y.; Hong, D.; Zheng, X. Inhibitory effect of jujuboside A on glutamate-mediated excitatory signal pathway in hippocampus. *Planta Medica* 2003, 69, 692-695.
- Zhang, Q.; Wang, L.; Wang, Z.; Liu, Z.; Zhao, Z.; Zhou, G.; Liu, M.; Liu, P. Variations of the nutritional composition of jujube fruit (*Ziziphus jujuba* Mill.) during maturation stages. *International Journal of Food Properties* 2020, 23, 1066-1081.
- Zhang, W.; Zhang, J.; Xia, W. The preparation of chitosan nanoparticles by wet media milling. *International Journal of Food Science and Technology* 2012, 47, 2266-2272.
- Zhang, Y.; Sun, X.; Vidyarthi, S. K.; Zhang, R. Active components and antioxidant activity of thirty-seven varieties of Chinese jujube fruits (*Ziziphus jujuba* Mill.). *International Journal of Food Properties* 2021, 24, 1479-1494.
- Zhao, H.-x.; Zhang, H.-s.; Yang, S.-f. Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. *Food Science and Human Wellness* 2014, 3, 183-190.
- Zhao, J.; Li, S.; Yang, F.; Li, P.; Wang, Y. Simultaneous determination of saponins and fatty acids in *Ziziphus jujuba* (Suanzaoren) by high performance liquid

- 
- chromatography-evaporative light scattering detection and pressurized liquid extraction. *Journal of Chromatography A* 2006a, 1108, 188-194.
- Zhao, Z.; Li, J.; Wu, X.; Dai, H.; Gao, X.; Liu, M.; Tu, P. Structures and immunological activities of two pectic polysaccharides from the fruits of *Ziziphus jujuba* Mill. cv. jinsixiaozao Hort. *Food Research International* 2006b, 39, 917-923.
- Zhishen, J.; Mengcheng, T.; Jianming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 1999, 64, 555-559.
- Zhu, D.; Jiang, N.; Wang, N.; Zhao, Y.; Liu, X. A literature review of the pharmacological effects of jujube. *Foods* 2024, 13, 193.
- Zong, A.; Cao, H.; Wang, F. Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. *Carbohydrate Polymers* 2012, 90, 1395-1410.

Enhancing the Physicochemical Properties, Bioactivity, and Functional Applications of Fresh Jujube Juice Using Media Milling

Hong-Yi Kang, An-I Yeh,* and Min-Hsiung Pan*

Cite This: *ACS Omega* 2025, 10, 12603–12614

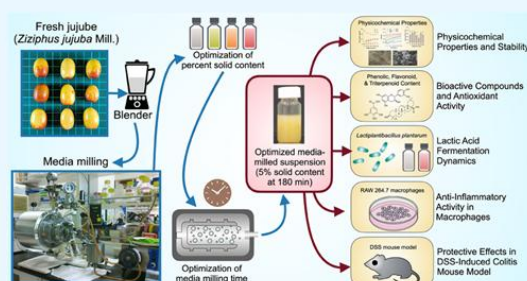
Read Online

ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

ABSTRACT: This study systematically evaluated the effects of media milling on the physicochemical properties, bioactive compound content, and functional applications of fresh jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) juice. Optimization experiments identified ideal conditions for nanoparticle production, including 5% solid content and a 180 min milling duration, resulting in significantly reduced particle sizes—volume-weighted average diameter (from 229.0 ± 1.0 to $25.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$) and number-weighted average diameter (from 7.2 ± 0.0 to $0.1 \pm 0.0 \mu\text{m}$)—and improved dispersion stability. Media milling enhanced key physicochemical properties such as zeta potential, viscosity, and suspension stability, while also modifying color and pH. The process notably increased the content of bioactive compounds, including total flavonoids (from 2.9 ± 0.1 to $3.8 \pm 0.0 \text{ mg catechin equivalent (CE)/g dry weight (DW)}$) and triterpenoids (from 15.4 ± 1.2 to $28.0 \pm 4.9 \text{ mg oleanolic acid equivalent (OAE)/g DW}$). The antioxidant activity before and after media milling, assessed using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP), and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assays, remained comparable. Fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* demonstrated that both blended and media-milled jujube juice can serve as effective substrates for substrate utilization and lactic acid production. Anti-inflammatory assays using RAW 264.7 macrophages revealed reduced nitric oxide production and lower levels of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β , showcasing the juice's potential to modulate inflammation. In a dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis mouse model, media-milled jujube juice demonstrated safety, though it did not show significant protective effects. These findings position media-milled jujube juice as a promising functional food ingredient with potential applications in health promotion and disease management.



1. INTRODUCTION

Jujubes (*Ziziphus jujuba* Mill.), also known as Da Zao, Chinese dates, or red dates (when dried), are perennial deciduous fruit trees belonging to the Rhamnaceae family.¹ Their composition and quality are significantly influenced by factors such as soil conditions, climate, cultivation methods, storage, and processing techniques.^{2,3} Fresh jujubes are rich in bioactive compounds, including polyphenols, flavonoids, triterpenes, polysaccharides, and cyclic adenosine monophosphate (cAMP), which exhibit antioxidant, anti-inflammatory, immune-boosting, and hepatoprotective properties.^{4–6} Studies in animal models have further demonstrated their potential to modulate gut microbiota, alleviate inflammation, and improve gastrointestinal health.^{7,8} Additionally, jujubes have higher levels of dietary fiber, sugar, protein, and pectin compared to many other fruits, enhancing their versatility in processing.^{9,10}

Despite these benefits, preserving fresh jujubes has historically posed challenges, limiting their applications and often relegating them to dried forms commonly used in Traditional Chinese Medicine (TCM).¹¹ In TCM, jujube fruits are used to tonify the spleen and stomach, nourish the blood,

and calm the mind. They are traditionally used to treat fatigue, digestive disorders, and insomnia, while modern research confirms their antioxidant, anti-inflammatory, and immunomodulatory properties.¹ The growing demand for functional foods and nutraceuticals has highlighted the potential of jujubes due to their nutritional and medicinal properties. However, the perishability of fresh jujubes and the limitations of traditional processing methods, such as sun-drying, often result in nutrient loss, reduced bioactivity, and limited product diversity, which affect the overall market value of jujube-derived products.^{12,13} Addressing these challenges necessitates the development of advanced processing technologies that

Received: January 16, 2025

Revised: February 12, 2025

Accepted: March 11, 2025

Published: March 18, 2025

