冷凍牛蒡品質改進之研究

吳 明 昌

屏東技術學院食品技術系

摘要：牛蒡所含多酚氧化酵素與過氧化酵素於 98±2℃ 處理 8 分鐘均可使其不活性化；牛蒡中之酚類化合物主要爲 chlorogenic acid 及少量之 caffeic acid。防止冷凍牛蒡色澤變化除了殺菁液單獨添加下列各不同濃度之化學試劑如 500ppm 之 $NaHSO_3$ 、$Na_2S_2O_5$ 或0.2％ $NaHSO_3$ 、維生素 C 、半胱胺酸、氯化錫或 0.5％ 維生素 C 、氯化亞錫、半胱胺酸、醋酸於 98±2℃ 熱水殺菁外，利用眞空包裝於經熱水殺菁後之牛蒡亦可有效地防止褐變反應之發生，色菁澤變化愈多者其產品中之酚類化合物、醣類、游離胺基酸之含量愈少，色澤愈佳者，此三類化合物之含量愈多，可見酚類化合物、醣類、游離胺基酸均有參與冷凍牛蒡褐變反應之作用。

關鍵詞：冷凍牛蒡，褐變反應，酚類化合物，醣類，游離胺基酸。

前 言

牛蒡（*Arctium lappa* L ），英文名 edible burdock 或 great burdock，俗稱「吳母」，屬菊科植物，在歐洲、西伯利亞及我國均有野生種，栽培種原產日本，本省在90年前由日本引進栽培，屏東歸來地區及台北板橋在日據時代就有栽培牛蒡，因內銷市場有限，大部份均外銷日本及琉球群島，近年來由於國人漸漸嗜好其獨特風味，而銷售量也持續大增，產地與產量突增許多，尤其是台南、嘉義沿海地區更是栽培不少。

牛蒡含豐富果糖、菊糖、鐵、鈣、纖維質及抗致變性物質[1]，其中菊糖適合糖尿病患者食用，在中國醫藥辭典中記載，牛蒡直根具有逐水、去風、解熱、利咽、止咳、慢性水銀中毒、除瘡毒、行十二經、治腰酸、補腎壯陽等功效，足見牛蒡是良好天然性之食補療效的保健食品，也是目前國人或日本人嗜好之主因。但去皮後之牛蒡不論在室溫、冷藏或冷凍條件下貯存，均極易發生褐變現象[2,3,4]，造成色、味品質之劣變，致失卻商品價值，其中冷藏色變之防止有一些報告，冷凍產品雖有廠商試做，但因未能克服其色變情形，故無法商業化生產，而冷凍牛蒡褐變防止之相關研究則尚未見諸於文獻。

褐變反應主要可區分爲酵素性與非酵素性者，酵素性者乃多酚氧化酵素（polyphenoloxidase）作用酚類化合物而生成，而非酵素性者主要由醛基與胺基之梅納反應、焦糖化、維他命丙之氧化或單寧之氧化作用而來；香蕉泥中之主要酚類化合物 dopamine 在貯藏中會因發生褐變而有減少之趨勢[5]，冷凍牛蒡經殺菁處理後貯存於低溫狀態，此時應無多酚氧化酵素作用之情形，另外於-19±1℃之低溫狀態梅納反應之發生也較少，故其發生褐變原因是否因殺菁前酵素已作用於酚類化合物而在凍藏時再進行一系列反應而來，或是酚類化合物在凍藏時之氧化所造成實有需加以探討。殺菁可以降低多酚氧化酵素之活性[6]，但不會減少酚類化合物之含量，故無法完全避免褐變之發生；將切片牛蒡浸漬於水中可以降低褐變發生之情形[2]，然只能短暫地控制著卻未能久存；使用不同的化學試劑可減少甘藷之褐變，然對冷凍產品之褐變防止則未見實際功效，實際應用上唯有以殺菁，殺菁液中添加化學試劑或眞空包裝處理來控制褐變反應而冀得良好之商品[7-11]，本文即要探討冷凍牛蒡褐變之情形及其防止

之方法。

材料與方法

一、材料

1. 牛蒡原料採自屏東市歸來施姓農家L級者。
2. 化學試劑爲試劑級以上，主要爲 Sigma 公司出品；偏磷酸爲日本和光公司出品，亦爲試劑級以上；LC 級分析溶劑及萃取用之有機溶劑爲皓峰公司出品。

二、方法

1.酵素活性之測定：

a. 酵素之萃取：按 Ma 等[6]之方法行之，取 15 克牛蒡爲材料，加入 pH4.5 之檸檬酸-磷酸緩衝溶液 45ml ，於包冰之絞碎機中均勻打碎，均質液於4℃ 之 13,000xg 離心 15 分鐘，上層液供做酵素液。

b. 多酚氧化酵素（polyphenoloxidase）活性之測定：按 Ma 等[6]之方法，以 catechol 爲受質，測定反應 3 分鐘後 420 nm 吸光值變化情形。

c. 過氧化酵素（peroxidase）活性之測定：按 Chrastil[12] 之方法，於含p-phenylenediamine、H_2O_2之 Tris buffer 中加入酵素液，於 25℃ 反應2 分鐘，再測定其 452nm 吸光值之變化情形。

2. 殺菁處理：

殺菁液爲水或添加不同之添加劑，添加不同濃度之羧甲基纖維、亞硫酸鈉、醋酸、維生素C、氯化鈉、EDTA、氯化亞錫、褐藻酸鹽、焦磷酸鹽、三磷酸鈉、磷酸單鈉、己二烯酸鉀、半胱胺酸、氫氧化鎂及蔗糖等試劑於水中，經削皮後之牛蒡切成 5 或 10 公分，於 98±2℃ 之殺菁液中進行殺菁處理 8 分鐘，樣品與殺菁液之比例爲 1:10。

3. 多酚化合物之分析[13,14]：

a. 樣品之製備：秤取 10 克左右樣品，加 50 毫升 70% 甲醇再用 Waring blender 均質 3 分鐘，過濾後濾渣再用半量溶劑萃取，重覆上述步驟所得濾液於 40℃ 下減壓濃縮至定量，離心 30 分鐘（Sorvall RC-5B，8,000 rpm）後上層液即爲試樣，分析前經 0.45 μm 之 cellulose acetate 濾膜過濾。

b. 高性能液相層析儀（high performance liquid chromatography，HPLC）對多酚化合物之分析：使用儀器爲 Hitachi L-6000；以 E.Merck Superspher100-RP-18 爲管柱；流洗液爲 5% aqueous acetic acid；以 Hitachi L-4000UV detector 爲偵測器；流速爲 1.0 ml/min ；樣品注入量爲 5 μl。

4. 果糖、葡萄糖、蔗糖之測定：

按 Bergmeryrs 和 Bernt[15] 方法行之，係利用酵素分析法，先將葡萄糖轉變成葡萄糖-6-磷酸（glucose-6-phosphate），當葡萄糖-6-磷酸與 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate（$NADP^+$）反應產生葡萄糖酸-6-磷酸（gluconate-6-phosphate）及nicotinamide adenine dinucleotide phosphate 之reduced form（NADPH）時，再於 340nm 之波長下測定其吸光值藉以換算葡萄糖含量。果糖則先轉變成果糖-6-磷酸（fructose-6- phosphate）後，經由葡萄糖異構酵素（glucose isomerase）轉變成葡萄糖-6-磷酸再測定。蔗糖則經由β-果糖苷酵素（β-fructosidase）轉變爲葡萄糖及果糖，然後測定之。

5. 維生素 C 之測定：

按日本藥學會方法[10]，以 0.3 % 偏磷酸液萃取後其澄清液，再利用 0.3%偏磷酸液稀釋後以 2,6-dichlorophenol indophenol-Na 滴定，由此滴定量按 2,6-dichlorophenol indophenol-Na 與標準維生素C之相關量的關係換算成樣品中維生素C之含量。

6. 游離胺基酸之分析：

a.樣品之處理[17]：秤取 1.5 克左右樣品加 9 毫升酒精打碎後置於試管中，以超音波振盪處理 3 分鐘，離心 20 分鐘（Ilettich EBA-3S 5,000rpm），取其上澄液，下層液加入 6 毫升水及 3 毫升酒精，重覆上述步驟，而其下層液加入 9 毫升水再重覆操作，收集全部上澄液後加 25 毫升氯仿，充分搖盪後倒入量筒，待靜止分層時記錄其水層體積數，取水層 6 毫升加 2 毫升之 40 % TCA，4 ℃ 放置過夜，取上澄液經 0.45 μ m millipore 濾膜過濾，再取濾液 0.8 毫升用氮氣吹乾，分析前先加入 100 μ l pH 爲 2.2 之 2.45 %檸檬酸鈉，2 %過氯酸及 1.25 ppm n-caprylic acid 溶液。

b. 胺基酸之分析：送至國科會南部貴重儀器中心，胺基酸分析室（成功大學）委託分析。

7. 色澤之測定：

以日本電色工業株式會社 100 DP 色差計（color difference meter）測定顏色，以標準板（Y=93.60，X=91.60，Z=109.80）校正後，測定樣品之 L，a，b值。

L 值表示明度，數值高者表示色澤白亮，數值低者表示色澤暗褐；a 值正者表示紅色，負者表示綠色；b 值正者表示黃色，負值表示藍色，其數值愈大者表示所呈現之色澤愈深。測定時以未殺菁之牛蒡爲對照組，並求 △E 值。以決定何種條件爲佳。

$$\triangle E=\sqrt{(L1-L0)^2+(a1-a0)^2+(b1-b0)^2}$$

L0，a0，b0 爲新鮮牛蒡之色澤；L1，a1，b1 爲經過殺菁處理之牛蒡之色澤

結果與討論

一、殺菁對牛蒡中多酚氧化酵素與過氧化酵素之影響：

Ma 等[6]指出殺菁可以降低甘藷多酚氧化酵素之活性，以得較佳色澤之冷凍甘藷產品，本試驗希望以殺菁來抑制多酚氧化酵素與過氧化酵素等與酵素性褐變有關之酵素，結果如圖一所示，牛蒡經 98±2℃ 熱水處理 8 分鐘後此兩種酵素均不具活性，可見上述之殺菁條件足以滿足實驗上之需求。

二、冷凍牛蒡經貯藏後其褐變相關成份之變化情形：

1. 酚類化合物含量之變化：

酚類化合物是酵素性褐變主要的作用受質[18]，另外其被氧化也會造成色澤劣變之現象[19]，若酚類化合物質被作用得愈多則發生褐變之情形將愈嚴重，相對的其殘存量就比較少，表一係冷凍牛蒡經貯藏一年後，酚類化合物之減少量，無論是何種殺菁處理其兩種酚類化合物均有減少之現象，於表一所列之四種處理中，色澤最差者爲殺菁液中不添加化學物且未眞空包裝者其減少量最多，色澤居次者爲添加 EDTA，其此兩種化合物之減少量也居中，色澤最佳者爲添加 cysteine或不添加化合物而使用眞空包裝，其酚類化合物之減少量最少，由此可見色澤愈差者其酚類化合物有較多量被作用而產生褐色物質，以至於其相對殘存量就比較少了。以往大多認爲在凍藏狀態時比較不會發生褐變現象，但事實上經殺菁後之冷凍牛蒡在凍藏時也會發生褐變現象，另外經殺菁後之冷凍甘藷亦有此現象[6]，可見經殺菁後之某些冷凍產品也會發生褐變之現象，而冷凍牛蒡發生褐變之現象確與酚類化合物之變化有很密切之關係，可能酚類化合物也參與非酵素性的褐變反應，致使其含量隨著褐變愈嚴重而愈少。

2. 果糖、葡萄糖、蔗糖含量之變化：

果糖、葡萄糖與褐變作用有密切之關係，而蔗糖雖非直接可參與褐變反應，但其可分解成果糖與葡萄糖而參與作用，與酚類化合物類似，其參與反應愈多者，則殘存量將愈少。冷凍牛蒡經貯藏一年後，此三種糖類之含量如表二所示，以新鮮牛蒡爲對照組，表二中之另四種處理

以色澤最差之不添加化學物質者其殘存量最少，包括果糖、葡萄糖、蔗糖均有明顯下降之現象，色澤居次之添加 EDTA 者其此三種物質之殘存量也居中，色澤最佳之添加cysteine 與不添加化合物而使用眞空包裝者，此三種醣類之殘存量最多。可見色澤愈差者，其醣類有較多量，參與褐變反應產生褐色物質，以至於其相對殘存量就比較少，此與牛蒡中所含酚類化合物之情形有相同現象。

3.游離胺基酸含量之變化：

梅納反應中主要是胺基與醛基作用之結果，游離胺基酸係提供胺基之良好來源，尤其是鹼性胺基酸，表三爲冷凍牛蒡經一年貯藏後，游離胺基酸之含量，由此表可得知只用水來殺菁而未眞空包裝者，其組胺酸、離胺酸、精胺酸三種鹼性胺基酸之量均呈現很明顯下降之現象，色澤較佳之添加 cysteine 和只用水殺菁後眞空包裝者，此三種鹼性胺基酸之減少量就較不明顯。由此可見冷凍牛蒡中發生褐變較嚴重者，其鹼性胺基酸之減少量也較多，與上項糖類含量之減少量較多者，其色澤也較差之結果相對應，可知冷凍牛蒡發生褐變者其作用應亦包含胺基與醛基作用之梅納反應。表三各處理組中酪胺酸之含量而言，只以水殺菁者其含量相當低，只佔新鮮樣品之五十分之一，而另外兩組殘存量均相當多，酪胺酸是多酚氧化酵素之一重要受質，色澤較差者，其殘存量變得相當少，因冷凍牛蒡已經過殺菁，或許酪胺酸是經由非酵素性的氧化而造成含量之減少，實有待進一步之探討。

三、殺菁液中所含添加劑對冷凍牛蒡貯藏品質之影響：

由表四之結果可知冷凍牛蒡 △E 值與色澤並非有相對應之關係，至於維生素 C 之含量也未有明顯之差異，唯一可得知的乃每 100 克樣品維生素 C 含量低於2 毫克者其色澤均較差，在色澤方面單獨添加下列各不同濃度之化學試劑如 500ppm 之 $NaHSO_3$ 、$Na_2S_2O_5$ 、或 0.2 % $NaHSO_3$ 、維生素 C 、半胱胺酸、氯化錫或0.5 % 維生素 C 、氯化亞錫、半胱胺酸、醋酸於 98 ± 2 ℃ 熱水殺菁外，利用熱水殺菁後眞空包裝亦可有效地防止褐變反應之發生，上些添加劑之效果與文獻[7-11]有相似之處，本試驗係貯藏於 -20 ± 2 ℃，故維生素 C 之添加可防止色變之發生，若是在常溫則效果可能會有所差別，另外以眞空包裝者其成效頗爲顯著，可見即使在凍藏狀態，褐變反應之發生亦需要有氧氣之參與，當然褐變反應之一系列步驟並非均需要氧氣，但若無氧氣之存在則其反應可能就被抑制或延遲，以致於利用眞空包裝之方式可以使冷凍牛蒡有效地維持良好色澤。

結　論

牛蒡所含多酚氧化酵素與過氧化酵素於 98 ± 2℃ 處理 8 分鐘均可使其不活性化，冷凍牛蒡之原料以此條件處理應足以控制其酵素活性；其酚類化合物主要爲 chlorogenic acid 及少量之 caffeic acid ，至於中林[20]所指出含有少量isochlorogenic acid 則未檢測出。在試驗組中，色澤最差乃殺菁液中不添加化學試劑者，其酚類化合物、醣類、游離胺基酸之殘存量也最少，而色澤保持良好之成品中其酚類化合物、醣類、游離胺基酸之殘存量也較多，可見牛蒡中色澤之變化與酚類化合物、醣類、游離胺基酸參與作用有相對性之關係，在色澤保持方面除了添加某些有效化學試劑外使用眞空包裝也可得到良好之效果，由此可知即使在冷凍狀態色變之發生也需氧氣之參與。

謝　辭

本研究承農委會農糧處張副處長永欣指導及本系余聯誠老師協助採集樣品，謹此致謝。

表一、殺菁液添加不同試劑或殺菁－眞空包裝對貯藏一年後之冷凍牛蒡酚類化合物殘存量之影響
Table 1. The effect of additives in blanching water or blanching-vacuum package on the retention of phenolic compounds in edible burdock after one year frozen storage.

Phenolic compounds	Blanching treatments*			
	In water	In water vacuum package	In 0.5 % EDTA	In 0.5 % cysteine
caffeic acid	50. 2(a)* 56. 8(b)*	93. 7(a) 96. 9(b)	88. 3(a) 94. 2(b)	94. 4(a) 97. 7(b)
chlorogenic acid	31. 5(a) 45. 3(b)	89. 8(a) 95. 4(b)	86. 5(a) 92. 4(b)	91. 8(a) 96. 9(b)

*1. The results were expressed in percentage.
2. a:stele
3. b:cortex

表二、殺菁液中添加不同試劑或殺菁-眞空包裝對貯藏一年後之冷凍牛蒡之醣類殘存量之影響
Table 2. The effect of additives in blanching water or blanching-vacuum package on the retention of sugar in edible burdock after one year frozen storage.

Sugar (g/100g)	Treatments*				
	Fresh edible burdock	Blanching in water	Blanching in water vacuum package	Blanching in 0.5 % EDTA	Blanching in 0.5 % cysteine
sucrose	1. 56	1. 08	1. 53	1. 37	1. 53
D-glucose	0. 27	0. 05	0. 27	0. 19	0. 28
D-fructose	1. 27	0. 8	1. 25	1. 03	1. 24

*The results were mean of three measurements.

表三、殺菁液中添加不同試劑或殺菁-眞空包裝對貯藏一年後之冷凍牛蒡之游離胺基酸殘存量之影響
Table 3. The effect of additives in blanching water or blanching-vacuum package on the retention of free amino acid in edible burdock after one year forzen storage.

Amino acid (umole/100g)	Treatments			
	Fresh edible burdock	Blanching in water	Blaniching in water vacuum package	Blanching in 0.5 % cysteine
Total	6454. 7	1926. 0	5105. 0	6341. 6
Try.	494. 3	18. 4	395. 0	473. 0
His.	144. 7	28. 8	76. 0	135. 0
Lys.	33. 8	1. 8	20. 5	33. 9
Agr.	1193. 9	429. 1	1038. 5	1169. 2

表四、殺菁液中添加不同試劑對貯藏一年後之冷凍牛蒡之冷凍貯藏前後顏色的改變（△E）、維他命丙與外觀（顏色）之影響

Table 4. Effect of additives in blanching water on color difference（△E）before and after frozen storage、Vit C and color in appearance of edible burdock after one year frozen storage.

Treatments	△E	Vit C mg/100g	Color in appearance
1. 1%CMC	2.50	2.3	poor
2. 0.2%$NaHSO_3$	4.73	2.5	excellent
3. 5%Acetic acid	3.66	1.9	good
4. 0.2%Citric acid	3.73	3.0	good
5. 0.5%Ascorbic acid	5.14	91.5	excellent
6. 0.5%NaCl	5.50	2.1	poor
7. 0.5%EDTA	5.76	3.5	good
8. 0.5%$SnCl_2$	3.50	2.3	excellent
9. 0.5%Alginate	4.31	2.3	acceptable
10. 0.5%TSPP	7.67	2.4	poor
11. 0.5%STP	6.35	1.6	poor
12. 0.5%MSP	8.18	2.2	poor
13. 0.2%Potassium sorbate	2.43	2.4	poor
14. 0.2%Ascorbic acid	7.32	80.3	excellent
15. 0.2%Cysteine	4.09	2.3	excellent
16. 0.2%$SnCl_2$	3.58	2.3	excellent
17. 0.5%Cysteine	13.36	2.4	excellent
18. 500ppm$NaHSO_3$	5.86	3.4	excellent
19. 500ppm$Na_2S_2O_5$	6.03	2.3	excellent
20. 2mM Mg(OH)2+3%sucrose	2.64	2.3	poor
21. 0.5%Acetic acid	3.61	2.3	excellent
22. Control	10.89	1.7	very poor

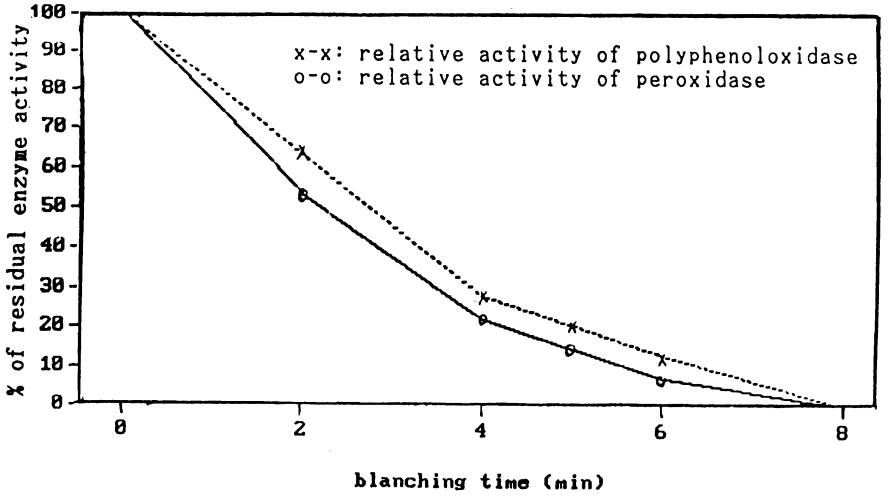


圖1. 殺菁(98±2℃)時間對牛蒡抽出物之多酚氧化酵素與過氧化酵素相對活性之影響

Fig 1. The effect of blanching (98±2℃) time on the relative activities of polyphenoloxidase and peroxidase of burdock extracts.

參考文獻

1. Shinohara, K., Kuroki, S., Miwa, M., Kong, Z.L. and Hosoda, H. 1988. Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. Agric. Biol. Chem. 52:1369.
2. 田所洋式、中 昭雄、風聞 雍。1977。切ソゴボウの變色防止。日本食品工業學會誌 24:643。
3. 楊瑞森、廖銘隆、錢明賽。1981。牛蒡半加工品冷藏。食品工業發展研究所研究報告第229號。台灣。新竹。
4. 楊瑞森、張長泉、錢明賽、劉廷英。1979。豌豆、四季豆、牛蒡等蔬菜之處理及保鮮之研究。食品工業發展研究所研究報告第136號。台灣。新竹。
5. 吳明昌、林建谷、曾浩洋、陳景川。1986。香蕉泥貯藏過程褐變原因之探討—化學成份之變化。屏東農專學報 27:187。
6. Ma, S., Silva, J.L., Hearnsberger, J.O. and Garner, Jr.J.O. 1992. Prevention of enzymatic darkening in frozen sweet potatoes by water blanching relationship among darkening, phenols and polyphenol oxidase activity. J. Agric. Food Chem. 40:864.
7. 張平、曾耀崑。1991。防止冷凍蓮菜褐變之研究。技術學刊 6:271。
8. Langdon, T.T. 1987. Prevention of browning in fresh prepared potatoes without the use of sulfiting agents. Food Tech. 41:64.
9. Richard, F.C., Goupy, P.M. and Nicolas, J.J. 1992. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. J. Agric. Food Chem. 40:2108.
10. Santerre, C.R., Leach, T.F. and Cash, J.N. 1991. Bisulfite alternatives in processing abrasion-peeled Russet Burbank potatoes J. of Food Sic. 56:257.
11. Twigg, B.A., Scott, L.E. and Bouwkamp, J.C. 1974. Color of processed sweet potatoes: Effect of additive. J. of Food Sci. 39:565.
12. Chrastil, J. 1990. Influence of storage on enzymes in rice grains. J. Agric. Food Chem. 38:1198.
13. Jose, R.R.M. and Luh, B.S. 1973. Phenolic compounds in frozen avocados. J. Sci. Agric. 24:219.
14. Wulf, L.W. and Nagel ,C.W. 1976. Analysis of phenolic acids and flavonoids by high-pressure liquid chromatography. J. of Chromatography. 116:271.
15. Bergmeryrs, H.V. and Bernt, E. 1974. Enzymatic determination of sucrose, D-glucose and D-fructose in "Methods of Enzymatic Analysis" 2nd ed. p.1176, Ed. Bergmeyer, H. V. verlag chemie, Florida, U.S. A.
16. 日本藥學會。1973。ヒダミンの定量法。衛生試驗法註解 p.151. 日本藥學會。東京。
17. Roussel Uclaf Co. 1983. Extraction of amino acid from leaves. Roussel Uclaf Co., France.
18. Lourenco, Z.J., Neves, V.A. and Silva, Da.M.A. 1992. Polyphenol oxidase from sweet potato: Purification and properties. J. Agric. Food Chem. 40:2369.
19. Cheynier, V., Osse, C. and Rigaud, J. 1988. Oxidation of grape juice phenolic compounds in model solutions. J. of Food Sci. 53:1729.
20. 中林敏郎。1979。果實およびそ菜類のタンニン成份(第三報) ゴボウのポソフェノール成份とその酸化酵素の性質。日本食品工業學會誌 15：119。

Studies on Quality of Frozen Edible Burdock

Ming-chang Wu
Department of Food Science and Technology,
National Pingtung Polytechnic Institute, Taiwan, R.O.C.

Abstract

The polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (PO) in edible burdock were inactivated by blanching at 98±2 ℃ for 8 minutes. The phenolic compounds in edible burdock are chlorogenic acid and a little amount of caffeic acid.

The addition of some chemicals in blanching waters were effective to reduce browning reaction of the edible burdock during freezing storage. Blanching in hot water and then vacuum packed were also helpful. The contents of phenolic compounds, saccharides and free amino acids decreased as the browning reactions progressed, thus the high contents of those compounds remained indicated the better, color of the edible burdock. It seems that those compounds are responsible for the browning reaction of frozen edible burdock.

Key words : Frozen edible burdock, Browning reaction, Phenolic compound, Sugar, Free amino acid.