

抗壞血酸處理對楊桃 (*Averrhoa carambola*, L.) 多酚氧化酵素活性
之影響

Effects of ascorbic acid on the control of polyphenol oxidase activity of carambola

石正中

Jeng-Jung Shyr

國立宜蘭技術學院園藝科副教授兼科主任

摘要

將楊桃丁浸漬於不同濃度、酸鹼度、及溫度下之抗壞血酸水溶液中，於不同時間分析以上各因子對楊桃 PPO 活性之影響。結果顯示，1.0% 及 1.5% 之抗壞血酸水溶液對降低楊桃 PPO 活性有相當好之效果；1.0% 之抗壞血酸水溶液在 pH4 時減緩楊桃 PPO 活性之效果最佳；50°C 以上溫度之加溫處理，則有加速抗壞血酸之作用，可減少浸漬時間達 1/3 以上。

關鍵字：楊桃、多酚氧化酵素、抗壞血酸

前言

酵素性褐變 (enzymatic browning) 廣泛地發生在受到壓擦傷、加工、及貯藏過程中之蔬菜及水果。此一反應乃是由於蔬果內含之酚類化合物 (phenolic compounds) 於有氧之環境下, 受到同樣存在於蔬果內之多酚氧化酵素 (polyphenol oxidase, PPO) 之作用, 而轉變成苯二醌類化合物 (quinones)【1】。此一苯二醌類之化合物不但具有淡淡之色澤且非常容易進行更進一步之氧化反應或聚合反應而產生具有深褐色或黑色之色素物質 - 黑色素 (melanin)【2】。褐變反應產生之色素及香氣物質可增加部份食品之外觀、風味, 及營養價值, 如咖啡; 然而對大部份之蔬菜與水果而言, 此一反應是不受喜好的。此乃由於這些褐變產物對大部份蔬果視為異色、異味, 甚至可能造成營養成份之喪失【3】。

酵素性褐化常發生在蔬果組織受到傷害時, 包括採收及採後處理時機械性之壓擦傷、加工時之切割與冷凍或病害發生。受傷部位在暴露於有氧之環境下, 迅速產生深色物質, 這些物質造成例如蘋果、香蕉、馬鈴薯、酪梨等蔬果在冷凍、脫水等加工操作時極為嚴重之問題【4】。

許多控制此一褐變反應之方法曾被提出, 一般可歸納為四大類。針對反應物, 減少或移除環境中之氧氣或酚類化合物含量, 應可有效控制反應之發生。將氧氣阻絕如浸漬處理、利用惰性氣體如氮氣包裝、或真空處理如真空包裝, 均為減少氧氣含量可行之方式, 但必須注意無氧狀態下可能造成安全上之危險。環狀糊精 (cyclodextrins)【5】、硫酸化多醣類 (sulfated polysaccharides)【6】、和硼酸鹽類 (borates)【7】可和酚類化合物作用, 減少其含量, 以抑制酵素性褐變之發生。熱處理或酸化處理均可使 PPO 酵素變性或不活性化, 以降低其活性。抗壞血酸及其衍生物【5】、硫醇化物 (thiols)【8】、亞硫酸鹽 (sulfites)【9】、及氮

基酸 (amino acids)【10】等均可和褐變反應之反應中間產物苯二酮作用，達到控制褐變之效果。抗壞血酸可能是最廣泛使用之化學物質來減少蘋果褐變之發生【5, 11】。蜂蜜及一些小分子之注汰 (peptides)【12】曾被提出有抑制酵素性褐變之效果，但其作用機制仍不明瞭。

楊桃 (*Averrhoa carambola*, L.) 屬酢醬草科，為長綠性灌木，果實屬漿果，產期長，每年五月至翌年三月間成熟，是本省重要且特有之水果，全省均有栽培。楊桃果肉營養多汁，除生食外，並可利用醃漬、發酵、乾燥等加工方法，製成果汁、果醬、醋、酒、蜜餞、醬菜等加工品，不論鮮食或加工，都受到大眾之喜愛，但因其組織柔軟，於採收處理及運輸過程中極易受到機械性傷害而產生褐變；另於加工時(蜜餞、醃漬，或脫水等)，因褐變造成加工品色澤及風味上之不均一，進而影響加工品質。因此，本研究乃嘗試利用廣泛使用在抑制蘋果褐變之抗壞血酸，來探討不同條件下處理對楊桃 PPO 酵素活性之影響，以期對採後貯運及加工上有所助益。

材料與方法

1. 二林種 (erlin) 軟枝楊桃購自於宜蘭縣超級市場後立即切成約 0.5 立方公分立方塊，置於冰水浴中備用。
2. 將 10 克楊桃切塊浸漬於 30 之 0.5 %、1.0 %、及 1.5 % 之抗壞血酸 (日本試藥，日本) 水溶液 100ml 中，於 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、及 3.0 小時後，分析其 PPO 活性。
3. 將 1.0 % 之抗壞血酸水溶液，以 1.0 % 之鹽酸 (日本試藥，日本) 及 1.0 % 之氫氧化鈉 (日本試藥，日本) 水溶液，調整酸鹼值為 1.0 ~ 7.0 之溶液後，將楊

桃切塊 10 克分別浸漬於 100ml 後分析其 PPO 活性，浸漬時間同方法 2 中所述。

4. 將楊桃切塊 10 克分別浸漬於 40、50、60、70、及 80 之 0.1 % 抗壞血酸水溶液 100ml 中，並置於恆溫箱 (Forma Scientific Water-Jacketed Incubator, USA) 中保溫，每隔五分鐘取樣一次並分析樣品 PPO 活性。

5. PPO 活性分析

PPO 活性分析乃參考 Ranganna【13】所提出之方法並加以修正。瀝除多餘液體之樣品 5 公克加入 50 毫升酸化甲醇 (皓峰，臺灣) (甲醇：鹽酸 = 97：13 v/v)，攪拌一分半鐘後離心取上層液。取 1ml 0.05M 之鄰苯二酚 (catechol) (Sigma, USA) 溶液後再加入 0.2M pH6.8 之磷酸 (日本試藥，日本) 緩衝液至體積達 5ml，加入 1ml 上述酵素液，以分光光度計 (Mitton Roy, USA) 410nm 於 30 下測吸光值。以吸光值增加之速率表示 PPO 活性。反應速率之計算採活性曲線最初之直線部份之斜率表之【14】活性比率為處理後之楊桃 PPO 活性除以切割後未處理之 PPO 活性之百分比值。

結果與討論

一、抗壞血酸濃度對 PPO 活性之影響

抗壞血酸處理可有效降低楊桃 PPO 之酵素活性，其效果隨濃度增加而增強 (圖一)。楊桃丁浸漬於不同濃度之抗壞血酸溶液中，經過三十分鐘後，0.5 % 濃度處理對楊桃 PPO 活性之影響不明顯；濃度增加至 1.0 % 時，則可降低楊桃 PPO 活性至浸漬前活性之 42 % 左右；而 1.5 % 濃度之效果可達約 25 %。浸漬時間之長短亦對降低楊桃 PPO 活性之效果有相當之影響。隨時間增加，效果增大，而濃

度間之差異減小。可能原因是，由於時間增長，由溶液中滲透進入楊桃組織內之抗壞血酸量增加。褐化反應之抑制與抗壞血酸含量之多寡有極重要之關係，若處理後含量不足，則待抗壞血酸完全被氧化後，則無法控制褐化反應之進行，僅有延遲反應之效果【4】。因此，只要組織中抗壞血酸之含量充分，即可有效抑制褐化反應之進行。浸漬溶液濃度愈高，依高張溶液原理，抗壞血酸之滲透力應愈強，因此可在較短時間內，使楊桃組織內達到足夠之含量，以抑制褐化反應之進行。反之，浸漬於 0.5 % 濃度之樣品，則需要較長之時間，始可達到足量。

以加工處理之角度而言，楊桃褐變在組織受到傷害後短時間內即可發生，因此必須在短時間內達到抑制之效果，始可確保品質。結果顯示，1.0 % 與 1.5 % 之濃度均可於短時間內，非常有效低地降低楊桃 PPO 之活性，進而減緩褐變反應之發生。此一結果在蘋果切片上亦有相類似之效果【11】。

二、酸鹼性對 PPO 活性之影響

圖二顯示不同酸鹼值之抗壞血酸水溶液，對控制楊桃 PPO 活性之效果。於最初 0.5 小時，降低之效果隨 pH 值之增加而增大，直到 pH5 以後減弱。影響之效果於 pH 值 1、2、及 6 時，均差異不大；pH4 之抗壞血酸水溶液浸漬可降低楊桃 PPO 活性達 56 % 左右。不論酸鹼度為何，浸漬時間之增長均可增加抗壞血酸對楊桃 PPO 活性之抑制效果，然仍以 pH4 環境下一小時降低楊桃 PPO 活性至 40 %，三小時至 28 % 為最佳。兩小時後 pH4 與 pH5 之影響結果相似。此一結果與 Ponting【15】和 El-Shimi【11】研究蘋果所得之並不相同，他們認為蘋果之 PPO 活性在 pH3 以下即可得到相當程度之抑制。此一結果顯示，楊桃 PPO 之性質與蘋果者並不相同，可能因楊桃本身酸性較強，其組織內之 PPO 酵素已適應較酸

之環境，因此降低 pH 至 3 以下反而是楊桃 PPO 所喜愛之環境，故較高之 pH 環境下反而不利其 PPO 之活性，造成抗壞血酸有較佳之控制其 PPO 活性之效果，有必要對此做進一步之研究。

三、溫度對 PPO 活性之影響

攝氏 50 度以上之抗壞血酸水溶液浸漬 5 分鐘，對控制楊桃 PPO 活性有相當理想之效果（圖三）。圖中顯示，不同溫度下之抗壞血酸水溶液浸漬 5 分鐘後，40 僅造成約 50 % 之 PPO 活性降低，而 50 以上之處理溫度，則可造成超過 90 % 楊桃 PPO 活性之減少。此結果與 Walker 等人【16】對蘋果切片所得之結果相符。他們提出當蘋果切片中心溫度達到 50 以上時，即可有效地抑制酵素性褐變之發生。El-Shimi【11】認為必須在 70 -80 5 分鐘或 60 -70 15 分鐘下，始有理想之抑制效果，此乃因蘋果切片較大，需較積極之熱處理始可對蘋果片組織內部之 PPO 活性產生作用。由此可知，樣品之大小不同對熱處理之條件亦不盡相同，然中心溫度達 50 以上與否是為關鍵。

比較圖一與圖三發現，加溫處理對抗壞血酸降低楊桃 PPO 活性有加強之效果。圖一中 30 下 1.0 % 之抗壞血酸水溶液於 30 分中後僅降低 60 % 之楊桃 PPO 活性，而 50 下，同樣濃度之抗壞血酸水溶液僅 5 分鐘即可減少約 90 %。原因可能是加溫加速抗壞血酸之滲透力，使楊桃組織之內抗壞血酸含量迅速增加，而有較佳之抑制效果。另加溫亦可造成楊桃 PPO 活性之變化，有關此一方向，乃需對楊桃 PPO 之生化特性做進一步之探討。

結論

抗壞血酸可有效地控制楊桃 PPO 活性反應之進行。將楊桃丁浸漬於 1.0 % 之抗壞血酸水溶液 30 分鐘即可有效降低其 PPO 活性，加溫至 50 以上則有加速抗壞血酸之效果。將 1.0 % 之抗壞血酸水溶液調整至 pH4 時，對降低楊桃 PPO 活性之效果最佳。

Abstract

Effects of ascorbic acid on the control of polyphenol oxidase activity of carambola (*Averrhoa carambola*, L.) at different concentrations, pH values, and temperatures during various periods of incubation was investigated. Dipping in 1.0% and 1.5% ascorbic acid solutions resulted in very impressive decrease of carambola PPO activity. The change of pH of ascorbic acid solution played an important role on the control of PPO activity of carambola. A better result was found for 1.0% ascorbic acid solution at pH4. 50 or higher heat treatments accelerated the effect of 1.0% ascorbic acid solution on the decrease of carambola PPO activity in 5 minutes.

參考文獻

1. Macheix, J. J., A. Fleuriet, and J. Billot. (1990), "Fruit phenolics", CRC Press, Boca Raton, Fl.
2. Zawistowski, J., C. G. Biliaderis, and N. A. M. Eskin. (1991), "Polyphenol oxidases", *In Oxidative Enzymes in Food*, Robinson, D. S. and N. A. M. Eskin, Eds., Elsevier: London.
3. Lee, C. Y. (1991), "Browning reaction-enzymatic", *In Encyclopedia of Food*

Science and Technology; Hui, Y. N., Ed., Wiley: New York.

4. Eskin, N A. M., H. M. Henderson, and R. J. Townsend. (1971) , "Biochemistry of food", Academic Press. New York, San-Fransisco, London.
5. Sapers, G. M., K. B. Hichs, J. G. Phillips, L. Garzarella, D. L. Pondish, R. M. Matulaitis, J. J. McCormack, S. M. Sondey, P. A. Seib, and Y. S. El-Atawy. (1989) , "Control of enzymatic browning in apple with ascorbic acid and derivatives, polyphenol oxidase inhibitors, and complexing agents", J. Food Sci, Vol. 54, pp.997-1002,1012.
6. Tong, C. B. S. and K. B. Hicks. (1991) , "Sulfated polysaccharides inhibit browning of apple juice and diced apple", J. Agric. Food Chem., Vol. 39, pp.1719-1722.
7. Bedrosian, K., A. I. Nelson, and M. P. Steinberg. (1959) , "Effect of borate and other inhibitors on enzymatic browning in apple tissue", Food Technol., Vol. 13, No.12, pp.722-730.
8. Henze, R. E. (1956) , " Inhibition of enzymatic browning of chlorogenic acid solutions with cysteine and glutathione", Science, Vol. 123, pp.1174-1180.
9. Embs, R. J., and P. Markakis. (1965) , " The mechanism of sulfite inhibition of browning caused by polyphenol oxidase", J. Food Sci.,Vol. 30, pp.753-758.
10. Dudley, E. D. and J. H. Hotchkiss. (1989) ." Cysteine as an inhibitor of polyphenol oxidase", J. Food Biochem., Vol. 13, pp.65-75.
11. El-shimi, N. M. (1993) , "Control of enzymatic browning in apple slices by using ascorbic acid under different conditions", Plant Foods Num. Nutr., Vol. 43, pp.71-76.
12. Kahn, V. (1985) , " Effects of proteins, protein hydrolyzates and amino acids on

o-dihydroxyphenolase activity of polyphenol oxidase of mushroom, avocado, and banana", J. Food Sci., Vol. 50, pp.111-115.

13. Rangannas, M. (1977) , "Manual of analysis of fruit and vegetable products", Tata McGraw Hill Publishing Co. Ltd., New Delhi.
14. Augustin, M. A., H. M. Ghazali, and H. Hasinal. (1985), "Polyphenol oxidase from guava (*Psidium guajave L*)", J Sci. Food Agric., vol. 36, pp.1259-1265.
15. Ponting, J. D. (1960) , "The control of enzymatic browning of fruits", *In Food Enzymes*, Schultz, E. W., Ed.; AVI:New York.
16. Walker, L. H., M. J. Power., and D. H. Taylor. (1955) , "Factors in processing methods which affect the quality of dehydro frozen apple slices", Food Technol., Vol. 9, pp.576-581.