

嘉南藥理學院教師專題研究計畫成果報告

計畫名稱: 近紅外線光譜技術分析番茄中 β -carotene 含量

計畫編號: CNFH-89-09

執行期間: 88 年 9 月 1 日至 89 年 6 月 30 日

計畫類別: 個別型

主持人: 洪端良

摘要:

以近紅外線光譜技術建立檢量線方程式，定量分析番茄中 β -carotene 含量。結果顯示，檢量線組樣品 β -carotene 含量範圍 0.05-12.27mg/100g，以可見光 436nm 及近紅外線 1002nm 等兩波長所建立之檢量線方程式，迴歸決定係數(R²)為 0.99；檢量線之標準機差 (SEC)為 0.46，經可信度測試結果，估測值之標準機差為 0.48。因此，可見光-近紅外線光譜技術可應用於高 β -carotene 含量番茄之育種計劃及工廠之品質管制。

關鍵字: 近紅外線光譜技術、番茄、 β -carotene

前言:

番茄(*Lycopersicon esculentum*)中之類胡蘿蔔素主要是茄紅素(Lycopene)及少量的 α 、 β 、 γ 、 δ -carotene 及 Xanthophyll。由於茄紅素不具維生素 A 之效力，因此蕃茄的總維生素 A 之先質較其他一般蔬菜低。

近幾年來許多研究報告提出維生素A不但具有防止乾眼病及夜盲症之效果，且多攝食維生素A及其先質則具有預防腫瘤及癌症之發生。因此人們大量食用維生素A藥丸、胡蘿蔔素飲料及胡蘿蔔素強化之食品，卻忽略了蔬果中天然的類胡蘿蔔素。

高 β -carotene 含量之蕃茄則是一個具有高價值之蔬菜。

亞洲蔬菜研究發展中心是一國際性的蔬菜及其育種之研究機構，近年來則致力於高 β -carotene 含量之蕃茄育種，以提高鮮食及加工蕃茄之營養價值、生理功能及癌症之預防。由於育種計劃的樣品數龐大，使用傳統的分析法來分析樣品中 β -carotene 含量，則不但耗時、費力、成本高，且化學藥品污染大，於分析效率上更無法滿足育種家的需要。因此，亞蔬中心迫切需要發展一套快速且簡易之分析法，來解決日益膨脹的樣品成份分析之問題。此外，高 β -carotene 之蕃茄品種目前已引起業者的注意，將來高 β -carotene 的蕃茄加工產品如蕃茄汁.....等可能會大量生產。若是如此， β -carotene 必需作品質管制，而 β -carotene 之傳統分析方法繁雜，且工廠又受限於研究及檢驗人員之不足，工廠之採樣數大，因此尋求簡易及快速的分析方法是生產前必須事先建立的。

在日益重視品質之市場狀態下確實掌握製程之品質，為各種製造業必備之條件，最理想者能夠在不破壞樣品條件下檢測，實際上以目前最新的分析技術而言，仍未能滿足此項要求，而近紅外線分光術(near infrared spectroscopy)是目前非破壞性分析法中較為可行之一種分析技術。近紅外線分光術在歐美國家約 1970 年代，日本約在 1980 年代才正式被廣泛應用，近年來已普遍的使用於食品工業界。近紅外線之波長範圍為 700~2500nm，在紅外線光譜區域內所發生之吸光現象主要是存在於分子中氫原子結合基之基本伸縮振動(strength vibration)之倍振動(overtone)或結合振動(combination)所造成之吸收。在定量分析上，由於食品是由多種成分混合而成，以近紅外線掃瞄可得到複雜之光譜，除欲測定之成分外，對於其他成分也有吸收，因此，必須以多波長之迴歸方程式配合傳統分析之數據，分別求得各分量之方程式，一般以 2~6 個波長求得成分之檢量線方程式。未知成份含量樣品只要以近紅外線掃瞄所得到之光譜，既以此檢量線方程式預測其成份含量。

近紅外線分光儀雖具非破壞性、快速、省時、省力、成本低及無化學污染等多項優點，但最大的缺點是建立具高可信度之檢量線方程式及群化模式，欲建立高可信度之檢量線方程式則必須收集一批樣品成份含量及性質範圍大，並具有代表性之樣品，且配合高精密度及準確度之分析方法，才可建立具高可信度之檢量線方程式及群化模式。如此，才可供蕃茄育種研究機構作品種篩選、蕃茄工廠成份含量品質管制之檢測。由於一般育種研究機構及食品工廠受限於研究及品管人員不足，因此，自行建立檢量線方程式則遭遇到很大的困難。若能代為建立其所需要之檢量線方程式，育種研究機構及食品工廠則不需另行收集樣品，及作化學分析等工作。已建立之檢量線方程式可存入磁碟片中，此磁碟片可提供給育種機構及蕃茄加工廠，使用時僅需將磁碟片存入電腦中。若樣品經由近紅外線分光儀掃描後所得到之光譜，即可經由此方程式直接估測出 β -carotene 含量。

本研究之目的是嘗試應用近紅外線分光術於蕃茄中 β -carotene 含量之分析，以期作為育種研究機構之高 β -carotene 蕃茄品種篩選及工廠之高 β -carotene 蕃茄產品品質管制之用。

本文：

材料與方法

(一)、樣品：

將採自亞洲蔬菜研究發展中心之試驗蕃茄品種，含高至低 β -carotene 含量(範圍 11.7mg/100g~0.15mg/100g)，試驗編號(960001~960080)蕃茄品種，及市售鮮食蕃茄品種(一點紅、聖女)、加工蕃茄品種(可果美 43 及 44 號)，品隨機取樣分成兩批，一批作為檢量線組，另一批作檢量線方程式之可信度測試組。

(二)、樣品之前處理：

取樣 6 個蕃茄(6 個以上之蕃茄其成份經統計分析之結果無顯著性差異)以 Waring blender 打碎後，以濾布去籽成生蕃茄汁。將一部份蕃茄汁以間接水浴加熱法將蕃茄泥加熱至 100°C 後，迅速以冰水冷卻成熟加工蕃茄汁。

(三)、蕃茄 β -carotene 之分析

係採用 AOAC 法(941.15)進行粗萃取，取 10g 蕃茄汁加入正己烷/丙酮(6:4)之混合溶劑及加入 0.1g 碳酸鎂，以 Waring blender 攪拌、過濾，殘渣以 25ml 丙酮沖洗後，再以 25ml 正己烷清洗，放入分液漏斗中再以飽合食鹽水沖洗丙酮層數次，將正己烷層移入 100ml 棕色定量瓶中，加 9ml 丙酮後，再以正己烷稀釋至 100ml，取定量進行液相層析分析。以液相層析法定量 β -carotene，是使用 Lichrosorb RP-18 ($5\mu\text{m}$) 為分離管柱，移動相是 acetonitrile : methanol (75:25) 溶液，流速為 1.5ml/min，偵測器以 436nm 測定樣品之吸光值。另萃取蕃茄中之 β -carotene 作為標準品，萃取法仿照上述之萃取法，再以開放式分離管進行分離純化。分離管之製備及方法如下。混合固定相 adsorbent/Hyflo super-cel (1:1) 後，充填入開放式玻璃管柱(22x75mm) 約 15cm 高度，再以幫浦抽氣使固定相充填緊密，上層需壓平後再充填 1cm 高的硫酸鈉。分離管柱製備妥後，倒入 25ml 萃取液後，另加入 25ml 正己烷/丙酮 (9:1) 移動相將 β -carotene 沖離出，將沖離出的液體以 50ml 定量瓶收集，再以液相層析以循環(recycle)方式再純化即可。

(四)、蕃茄於加熱過程中 β -carotene 之變化：

將蕃茄汁裝入玻璃瓶中，置於沸水浴 20 分鐘後，立即冷卻至 32°C，取出以 HPLC 法進行 β -carotene 之分析，並以品評及一般分析(可滴定酸度可溶性固形物、顏色等)評估高 β -carotene 品種蕃茄經熱加工後成蕃茄汁成品之品質。一般品質分析則可採用上年度計劃以之 NIRS 檢量線方程式檢測。

(五)、近紅外線分光儀之掃瞄

- (1) 樣品之測定 近紅外線分光儀係採用 NIRSystem 6500 型(向亞洲蔬菜研究發展中心借用)，波長範圍從 400~2500nm(包括可見光)，蕃茄汁充填入 10mm cell，直接掃瞄並測定反射光譜。並評估室內光線，蕃茄汁溫度及稀釋倍數對光譜再線性及靈敏度之影響。
- (2) 建立樣品 β -carotene 成份之檢量線方程式 以複因子迴歸統計分析法(multiple regression analysis)建立蕃茄汁 β -carotene 成份之檢量線方程式作為預估之用。如圖一所示。
- (3) 可信度之測試(validation) 已建立樣品 β -carotene 成份之檢量線方程式及鑑別分析模式進行另外一批樣品之估測，以相關分析評估其可信度。樣品：番茄採收自亞蔬中心(AVRDC)，試驗品種編號自 98100012-98100132 計 120 個樣品。以 NIRS 選出 60 個，其中 30 個為檢量線組，另 30 個為可信度測試組。

結果與討論

由表一所示，以單一波長 436nm 所建立之檢量線方程式之 R^2 僅 0.94，SEC 為 5.03，檢量線方程式測試結果 r 為 0.92，SEV 為 6.17。但以 436nm 與 1002nm 所建立之檢量線方程式之 R^2 高達 0.99，SEC 為 0.46，檢量線方程式測試結果 r 為 0.97，SEV 為 0.48。此結果顯示以 436nm 與 1002nm 所建立之檢量線方程式具有較佳之線性關係(圖一)，檢量線方程式估測可靠程度也較高(表一)。兩者之檢量線方程式比較如表二所示。

使用單一可見光波長(436nm)測定蕃茄之 β -carotene 時，易受品種間之 lycopene, chlorophyll 等色素及其他成分所干擾。以 436nm 配合 1002nm(C-H first overtone)吸光性強之波長，所建立之檢量線方程式，其準確度及精密度均較僅用單一可見光波長(436nm)高。

由於近紅外線光譜技術具樣品前處理簡單、無化學污染、操作成本低、分析速度快等優點。因此，此技術可應用於高 β -carotene 番茄之育種計劃及工廠之品質管制。

三、參考文獻

- 1.左澄妮，許明仁，吳瑞碧，1995. 使用逆滲透濃縮法改良還原蕃茄汁品質之研究. 83年度蔬果加工產品研究成果彙編. p114-125。
- 2.方祖達，1995. 澄清梅子果汁之濃縮及防止貯藏期間沈澱物之發生. 83年度蔬果加工產品研究成果彙編. p85-88。
- 3.陳雪娥，1995. 含高量果肉新鮮柳橙汁最低加熱及凍藏條件之探討. 83年度蔬果加工產品研究成果彙編. p70-84。
4. Levi, F., La-Vecchia, C., Gulie, C., and Negri, E. Dietary factor and breast cancer risk in vaud, Switzerland. *Nutrition and cancer*. 1993. 19(3):327-335.
5. Stahl, w. and Sies, H. 1992. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater than heat processed than from unprocessed tomato juice inn humans. *J. Nutrition*. 122(11):2161-2166.
6. Orentreich, N., Matias, J. R., Vogelman, J. H., Salkeld, R. H., Bhagavm, H., and Friedman, G. D. 1991, The predictine value of serum beta-carotene for subsequent development of lung cancer. *Nutrition and cancer*. 16(3/4):167-168.
7. Harris, R. W. C., Key, T. J. A., Silcocks, P. B., Bull, D. and Wald, N. J. 1991, A case control study of dietary carotene in men with lung cancer and in men with other epithelial cancers. *Nutrition and cancer*. 15(1):63-68.
8. Prabhala, R. H., Garewal, H. S., Moyskens, F. L. Jr. and Watson, R. R. 1990, Immunomodulation in human caused by beta-carotene and vitamin A. *Nutrition research*. 10(12):1473-1486.
9. Chen, B. H., Chuang, J. R., Lin, J. H., and Chin, C. P. 1993, Quatification of provitamin A compounds in Chinese vegetables by high performance liquid chromatography. *J. of food protection*. 56(1):51-54.
10. Porretta, S., Birze, A. Ghizzoni, C. and Vicini, E. 1995, Effects of ultra-high hydrostatic pressure treatments on the quality of tomato juice. 52(1):35~42.
11. Solomon, O., Svanberg, U. and Sahlstrom, A. 1995. Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 80C. 53(1):363~368.
12. Loiudice, R., Impembo, M., Laratta, B., Villari, G., Lo Voi, A., Siviero, P. and Castaldo, D. 1995. Composition of San Marzano tomato varieties. 53(1)81~89.
13. Alfaro, G., Meurens, M. and Van Den Eynde, P. 1991. Application of DESIR and NIRS on orange juice. *Proc. of the 3rd International Conference on NIRS*. p234-241.
14. Lanza, E. and Li, B. W. 1984. Application for near infrared spectroscopy for predicting the sugar content of fruit juice. *J. Food Sci*. 49:995-998.

Table 1. Statistical results of calibration and validation by near infrared spectroscopy

Wavelength (nm)	Calibration*		Validation*	
	R ²	SEC**	r	SEV***
436	0.94	5.03	0.92	6.17
436, 1002	0.99	0.46	0.97	0.48

* Thirty samples were used.

** standard error of calibration

*** standard error of validation

Table 2. Calibration equation of 436nm and 436nm/1002nm by near infrared spectroscopy

Wavelength(nm)	Coeffient	Wavelength(nm)	Coeffient
	F0= -2094.93		F0= -1769.77
436	F1= 1416.929	436	F1= 77.295
		436, 1002	F2= 1324.957

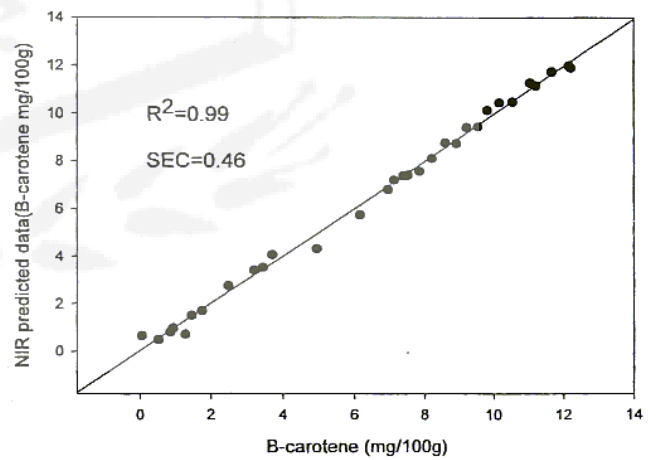
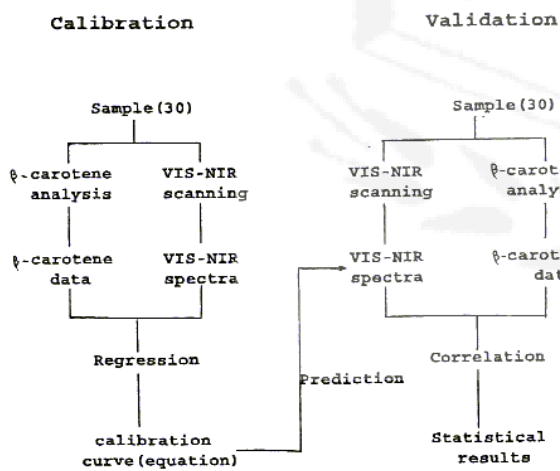


Fig.1 Flowchart of calibration and validation by near infrared spectroscopy

Fig.2 Calibration curve of the B-carotene of tomato by near infrared spectroscopy (wavelength 436 and 1002nm)