

## 一、研究動機

全家烤肉時父母常提醒不要吃烤焦的東西，因此便好奇是否烤焦的東西真的對人體有害？加上在學校曾經學過自由基以及氧化等基本觀念，於是便想了解烤肉與氧化的關係，進而希望能利用一些烤肉中常「陪烤」的蔬果來抑制烤肉氧化。

然而對於蔬果抗氧化性的研究，查遍一般文獻報導，多偏重於蔬果本身抗氧化效力的探討，實際應用在烤肉過程中之研究較為少見，所以想探討烤肉過程主要是何種因素加速有害物質的產生？烤肉過程中常伴隨烹烤的這些天然蔬果，它們的抗氧化或清除自由基效果是否如文獻所述般良好？如果將其添加在烤肉過程時，是否也能發揮抗氧化之特性，降低炭烤過程所造成的不良影響？因此本組設計了各實驗研究以探討上述等問題。

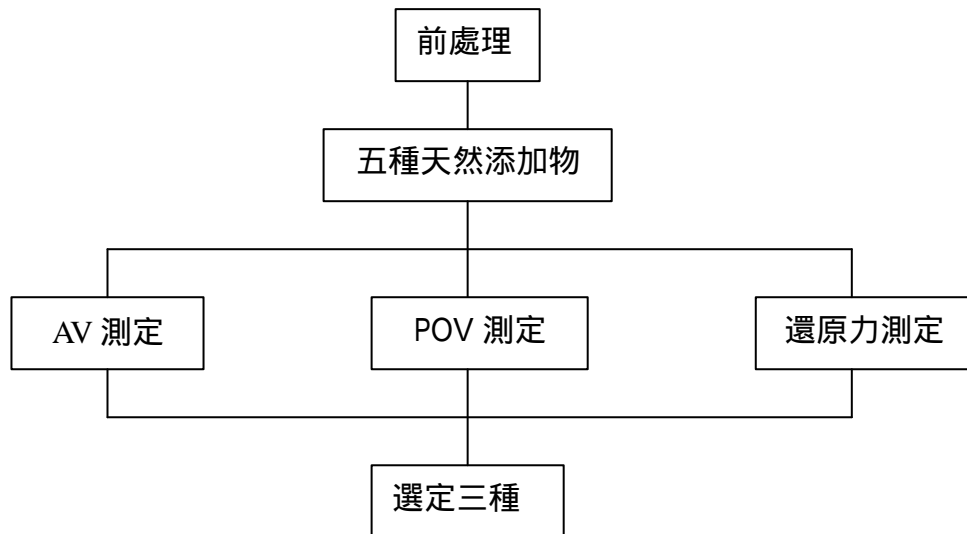
## 二、研究目的

- (一) 以酸價(AV)、過氧化價(POV)及還原力等三種指標來比較洋蔥、青椒、檸檬、蕃茄及大蒜等國人在烹烤時常用的五種蔬果之抗氧化效果。經過測定後，選擇效果較佳之三組做進一步研究。
- (二) 將挑選過的三種蔬果進行清除 DPPH 自由基效果之測試，確認其與抗氧化效果之相關性。
- (三) 針對 POV 作為檢驗指標，將常用之烤肉片在固定溫度、經不同時間之炭烤後，以統計分析其氧化程度之變化。並以油浴加熱作為對照，以探討造成烤肉氧化之主因。
- (四) 將經由(目的一)之實驗所挑選出的三種天然抗氧化添加物，應用於(目的三)之烤肉實驗中，經統計分析，比較三者在不同炭烤加熱時間下抑制烤肉氧化程度之效果。

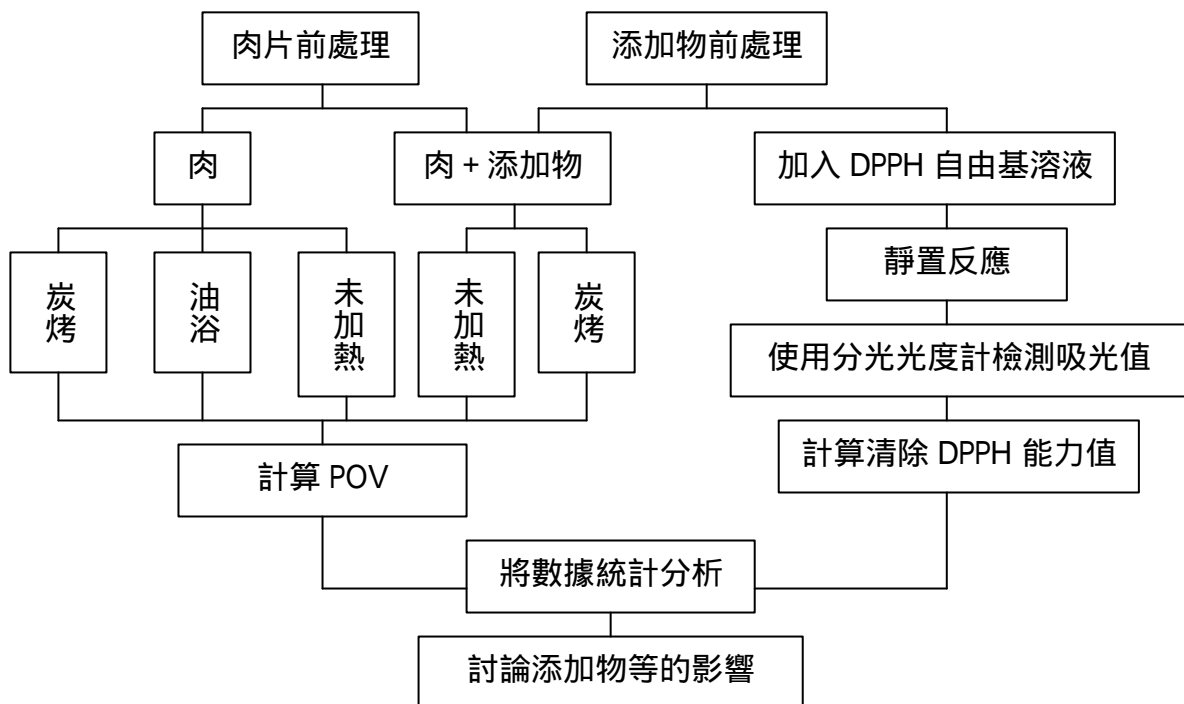
### 三、研究過程

#### (一) 實驗流程圖

##### 1. 初步階段：



##### 2. 正式階段：



## (二) 前處理

- 1.肉片處理：將梅花肉絞碎，接著與當天的添加物攪拌均勻(肉和添加物的比例為 10 : 1)。
- 2.添加物處理：先將洋蔥、大蒜、檸檬分別去除外皮，接下來青椒、檸檬去籽，最後把處理後之洋蔥、青椒、蕃茄、大蒜、檸檬分別利用果汁機打成汁。
- 3.加熱方式
  - (1) 油浴：油加熱至 180 ，等溫度到達時，將處理後之肉片放置燒杯隔油加熱。
  - (2) 炭烤：磨成粉的木炭(5g)加熱到 180 ，等溫度到達時，將處理後之肉片放置於離木炭一公分的網子上炭烤。

## (三) 實驗方法

### 1.酸價(AV)測定原理：

主要參考(張，1984)所述方法，中和 1 克油脂中游離脂肪酸所需的 KOH 毫克數(mg)。

酸價=[(實驗所得數據 A-空白實驗對照組數據 B)\*N\*56.11]/樣品重。

酸價值越高，表示樣品酸敗程度越高。

步驟：

- (1) 配製 EtOH 加 Ether 比例為 1 : 1 共 100ml，酚? 0.1g 溶於 95%EtOH 稀釋到 10ml，配製 KOH 之 EtOH 溶液，再以 0.32g KOH 以 EtOH 配製 100ml。
- (2) 取樣品至於錐形瓶中。
- (3) 加入 50ml 的乙醚溶劑。
- (4) 加入兩滴酚? 指示劑。
- (5) 再加入 0.05N KOH 溶液滴定到紅色並於十分鐘內不褪色為止。

### 2.過氧化價(POV)測定原理：

主要參考(賴、金，1984；段、楊，2000)所述的方法，油脂每一公斤中所含過氧化物的毫克當量數，稱為過氧化價。

POV=[(滴定 ml 數)\* Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 的 mol 數\*1000]/樣品克數。

過氧化價值越高，表示樣品氧化程度越高。

步驟：

- (1) 首先將 25ml  $\text{CH}_3\text{COOH-CHCl}_3$ (用正己烷代替)盛入錐形瓶。
- (2) 取樣品至於錐形瓶中。
- (3) 加入 25ml  $\text{CH}_3\text{COOH-CHCl}_3$ ，搖 2 分鐘
- (4) 加入 0.5ml KI 飽和溶液搖 1 分鐘。
- (5) 加入 0.5ml 澱粉液，放置 10 分鐘。
- (6) 以 0.01M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  溶液由黃色滴定到無色至少維持十分鐘。

### 3. 還原力測定原理：

還原力的測定主要參考(Oyaizu, 1986)所述的方法，以普魯士藍  $\text{Fe}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6)_3$ 之生成量作為指標。將赤血鹽  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 還原成黃血鹽，再利用  $\text{Fe}^{2+}$ 形成普魯士藍。

還原力 = (樣品 A700nm 吸光值 - 控制組 A700nm 吸光值)。

樣品還原力值愈強，表示抗氧化效果愈佳。

步驟：

- (1) 天然添加物使用前處理。
- (2) 取 2.5ml 天然添加物萃取液，加入 2.5ml sodium phosphate buffer(0.2 M)及 2.5ml  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (1%)，於 50 °C 水浴 20 分鐘。
- (3) 快速冷卻，再加 2.5ml trichloroacetic acid (10%)溶液。
- (4) 離心 3000rpm，10min，取上層澄清液 5ml。
- (5) 加入 5ml RO 水，1ml  $\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.1%)，混合均勻和反應 10 分鐘。
- (6) 使用分光光度計檢測 700nm 之吸光值。

### 4. 清除 DPPH 自由基能力測定原理：

主要參考 Shimada 等(1992)所述方法。油脂在自氧化的過程中會產生自由基而造成油脂酸敗，常見的抗氧化物藉由提供氫(hydrogen doner)來清除脂質過氧化物自由基(peroxyl radical)進而達到抑制氧化鏈鎖反應之進行；在抗氧化的研究上通常使用 DPPH 自由基來評估氧化的供氫能力，在 517nm 的吸光值越低表示抗氧化劑的供氫能力越強。

吸光值越低表示樣品清除 DPPH 自由基的能力越強。

清除率=[1-(樣品 A517nm 吸光值)/(控制組於 A517nm 吸光值)]\*100

步驟：

- (1) 天然添加物使用前處理。
- (2) 取 0.4ml 的添加物萃取液，加 1Nm 的 DPPH 入 0.8ml 當日配置的甲醇溶液，均勻混合靜置 30 分鐘。
- (3) 使用分光光度計檢測 517nm 之吸光值。

#### (四) 資料處理與統計分析

將所測得的數據輸入電腦，以 Microsoft Excel 和 SPSS 軟體，進行各項數據的統計及計算。以單因子變異數分析考驗不同的天然添加物消除 DPPH 自由基的效果是否有差異，以二因子變異數分析來探討肉片在不同加熱方式和加熱時間 POV 之差異，及在不同的添加物與加熱時間 POV 之差異。對於達顯著差異者並進行 Scheffe 'e 法事後比較。

## 四、研究結果

### (一)初步階段：

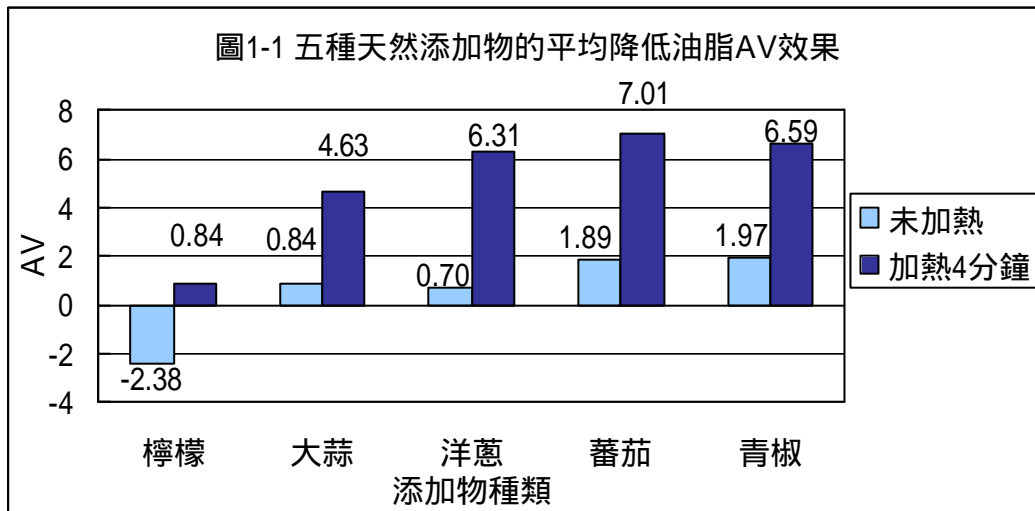
#### 實驗一：五種天然添加物平均降低油脂酸價(AV)效果比較

表 1-1 五種天然添加物的平均降低油脂 AV 效果

添加物		檸檬	大蒜	洋蔥	蕃茄	青椒
類別/加熱時間	未加熱	4.85	1.63	1.77	0.58	0.5
	加熱 4 分鐘	7.10	3.31	1.63	0.93	1.35
降低效果	未加熱	-2.38	0.84	0.7	1.89	1.97
	加熱 4 分鐘	0.84	4.63	6.31	7.01	6.59

註：1.降低效果 = 油的 AV - 油加添加物的 AV

2.油在未加熱的 AV = 2.47，加熱 4 分鐘的 AV = 7.94



由圖 1-1 可以得知，在加熱前，降低 AV 的效果依序以青椒跟蕃茄最好，大蒜、洋蔥次之，但是加熱後則以蕃茄最佳，其次為青椒、洋蔥和大蒜。

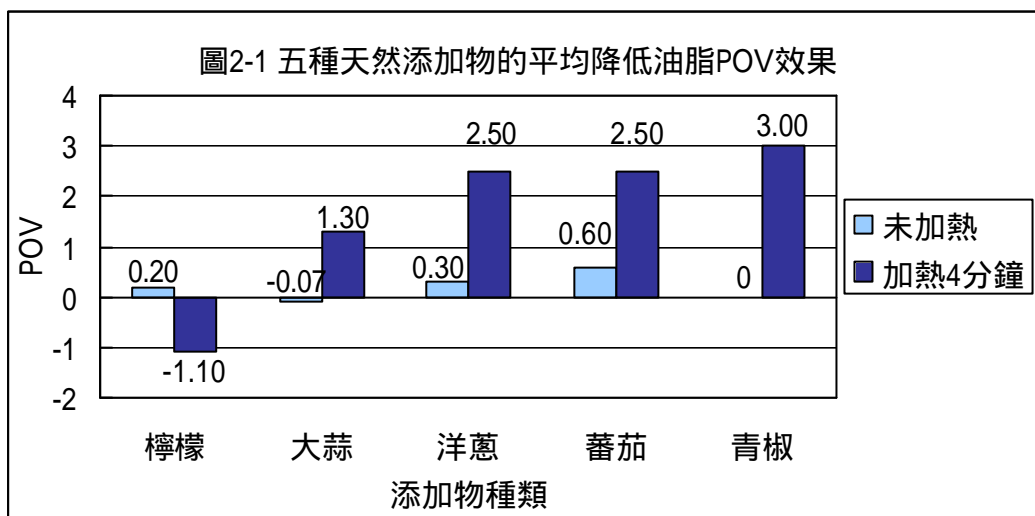
## 實驗二：五種天然添加物平均降低油脂過氧化價（POV）效果比較

表 2-1 五種天然加添加物的平均降低油脂 POV 效果

類別/加熱時間		檸檬	大蒜	洋蔥	蕃茄	青椒
POV	未加熱	0.8	1.07	0.7	0.4	1
	加熱 4 分鐘	4.8	2.4	1.2	1.2	0.7
降低效果	未加熱	0.2	-0.07	0.3	0.6	0
	加熱 4 分鐘	-1.1	1.3	2.5	2.5	3

註：1.降低效果 = 油的 POV - 油加添加物的 POV

2.油在未加熱的 POV = 1，加熱 4 分鐘的 POV = 3.7

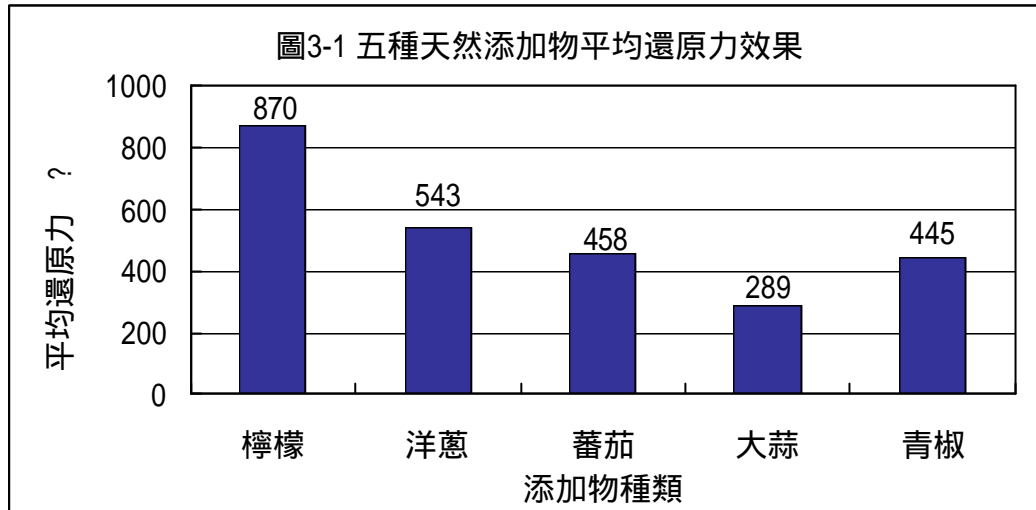


由圖 2-1 可以得知，未加熱時添加檸檬、洋蔥及蕃茄可使 POV 下降，添加大蒜則上升，而青椒則幾乎不變。故加熱前降低 POV 效果依次為蕃茄、洋蔥、檸檬。加熱後則發現，除添加檸檬外均可使油脂的 POV 下降，降低效果由高而低依次為青椒、蕃茄、洋蔥及大蒜。因此，在未加熱及加熱 4 分鐘時，五種天然添加物降低油脂 POV 效果以蕃茄、洋蔥為佳。

### 實驗三：五種天然添加物的平均還原力效果比較

表 3-1 五種天然添加物的平均還原力效果

添加物	檸檬	洋蔥	蕃茄	大蒜	青椒
平均還原力 (%)	870	543	458	289	445



從圖 3-1 中我們可以看出，不同的天然添加物之平均還原力大小，依次為檸檬、洋蔥、蕃茄、青椒與大蒜。

#### (二) 初步階段實驗結論：

由實驗一可以知道，在未加熱前降低 AV 的效果依序以青椒跟蕃茄最好，大蒜、洋蔥次之。加熱四分鐘後，效果最好的仍然是蕃茄，其次為青椒、洋蔥和大蒜。

由 POV 的實驗數據可以看出，在未加熱前降低效果最好的是蕃茄，再者依序是洋蔥、檸檬。加熱四分鐘後，效果由高而低依次為青椒、蕃茄、洋蔥及大蒜。

在還原力的實驗數據中，還原能力效果最好的是檸檬，其次依序為洋蔥、蕃茄、青椒和大蒜。

經過以上三個實驗的綜合比較，並考慮配合下一階段正式實驗的加熱情況之較佳效果，最後決定以蕃茄、青椒以及洋蔥作為正式階段時使用的添加物。

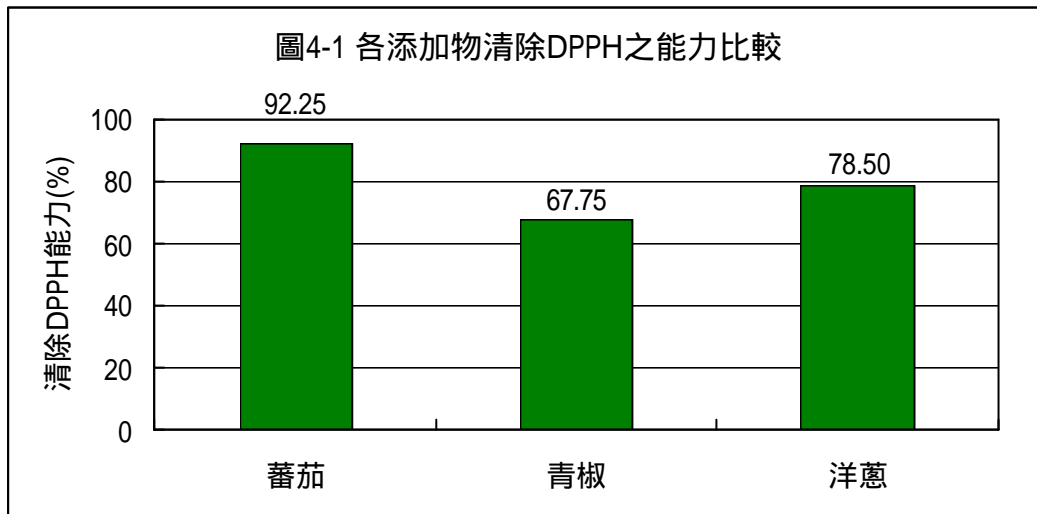


(三) 正式階段：

實驗四、三種添加物清除 DPPH 自由基效果比較

表 4-1 三種添加物清除 DPPH 自由基效果

添加物	蕃茄	青椒	洋蔥
清除 DPPH 效果(%)	89	66.5	77.5
	92.5	69	79.5
平均	90.75	67.75	78.5
標準差	2.47	1.77	1.41



研究結果發現各添加物的平均 DPPH 清除率：蕃茄為 90.75 %，青椒為 67.75 %，洋蔥為 78.5 %。接著再以變異數分析進行三者之差異比較。

表 4-2 三種添加物消除 DPPH 效果之變異數分析摘要表

變異來源	離均差平方和	自由度	均方	F	事後比較
組間(添加物)	529.75	2	264.75	70.6*	$X_1 > X_2$ $X_1 > X_3$
組內(誤差)	11.25	3	3.75		$X_3 > X_2$
全體	541	5			

註： $X_1$ =蕃茄， $X_2$ =青椒， $X_3$ =洋蔥；\* $p < .05$

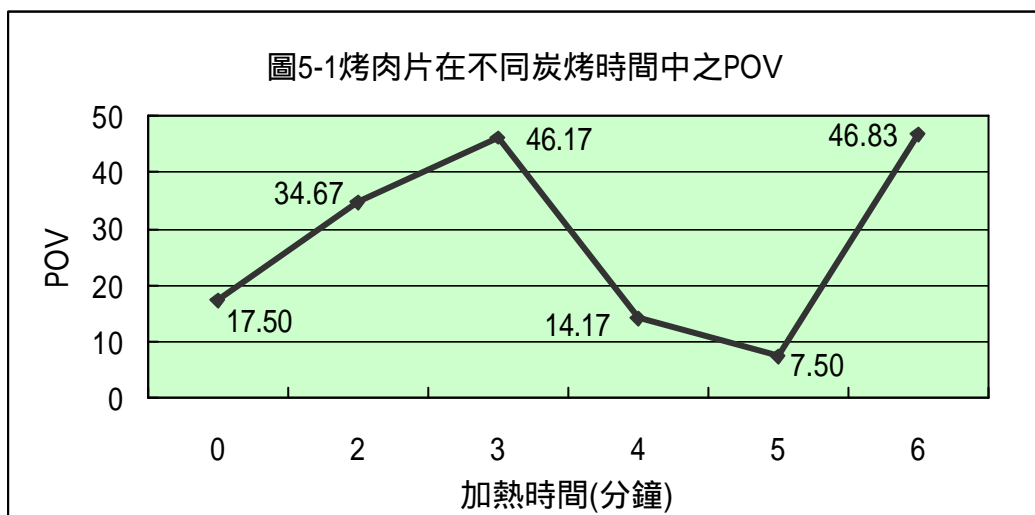
由變異數分析結果(表 4-2)顯示：三種添加物消除 DPPH 的效果有顯著的差異存在( $F = 70.6$ ,  $p < .05$ )。

進一步採用 Scheffe'e 法進行事後比較，結果顯示蕃茄與青椒( $F=141.07$ ,  $p < .05$ ) 蕃茄與洋蔥( $F=40.2$ ,  $p < .05$ ) 青椒與洋蔥 ( $F=30.82$ ,  $p < .05$ ) 之間有顯著差異，由各組平均數觀之，可知三者的效果是蕃茄>洋蔥>青椒。

## 實驗五、探討烤肉片在不同的炭烤時間中過氧化價之變化

表 5-1 烤肉片在不同炭烤時間中之 POV

	加熱時間					
	0 分	2 分	3 分	4 分	5 分	6 分
第一組	18	31	34	12	7	42
第二組	15	35	50	24	6	50
第三組	15	31	50	13	6	40
第四組	13	35	45	12	6	40
第五組	24	36	48	10	11	54
第六組	20	40	50	14	9	55
平均	17.50	34.67	46.17	14.17	7.50	46.83
標準差	4.04	3.39	6.27	5.00	2.07	7.00



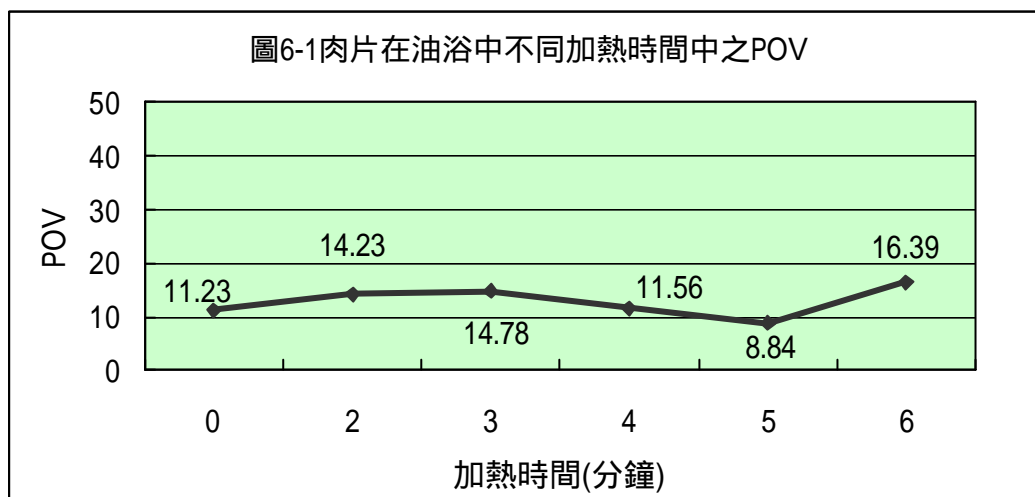
結果顯示，肉片的 POV 在加熱後開始上升，到加熱三分鐘時下降，而在加熱五分鐘時降為最低，之後又開始上升。

原本實驗預計做到八分鐘，但因為此時肉易烤焦，POV 不穩定，所以只做到六分鐘。

實驗六、探討肉片在油浴中不同加熱時間過氧化價之變化

表 6-1 肉片在油浴中不同加熱時間中之 POV

	加熱時間					
	0 分	2 分	3 分	4 分	5 分	6 分
第一組	10	13.34	16.67	6.67	8.34	16
第二組	13.34	15.34	15.34	6.67	6	16.67
第三組	13.34	13.34	14	16	8	16.34
第四組	10.67	14.67	14.67	13.34	10	16
第五組	10	14	13.34	15.34	10.67	16.67
第六組	10	14.67	14.67	11.34	10	16.67
平均	11.23	14.23	14.78	11.56	8.84	16.39
標準差	1.66	0.81	1.15	4.12	1.74	0.33



結果顯示，肉片的 POV 在加熱後開始上升，到加熱三分鐘時下降，而在加熱五分鐘時降為最低，之後又開始上升。將此結果與實驗五對照，可發現肉片在不同油浴加熱時間中 POV 之趨勢與肉片在烤肉方式中相同。

## 實驗五和實驗六之統計分析

表 6-2 油浴肉片和炭烤肉片之變異數分析摘要表

變異來源	SS	df	MS	F
組別	4345.68	11		
加熱方式(A)	4033.22	1	4033.22	129.03***
群內受試(S / A)	312.46	10	31.25	
加熱時間	9474.99	60		
分鐘(B)	5837.21	5	1167.56	108.41***
加熱方式*分鐘(A*B)	3099.16	5	619.83	57.55***
分鐘*群內受試 (B*S/A)	538.62	50	10.77	

\*\*\*p<.001

由變異數分析(表 6-2)結果顯示：肉片在不同加熱方式中 POV 之變化有顯著的差異(F = 129.03, p<.001)，肉片在不同加熱時間中 POV 之變化也有顯著的差異存在(F = 108.41, p<.001)。同時，加熱方式與加熱時間會交互影響肉片之 POV(F=57.55, p<.001)。

進一步採用 Scheffe 'e 法進行事後比較，結果顯示油浴和炭烤 ( F=13.77, p<.05 ) 之間有顯著差異，由各組平均數觀之，可知兩者氧化的效果皆為炭烤>油浴。

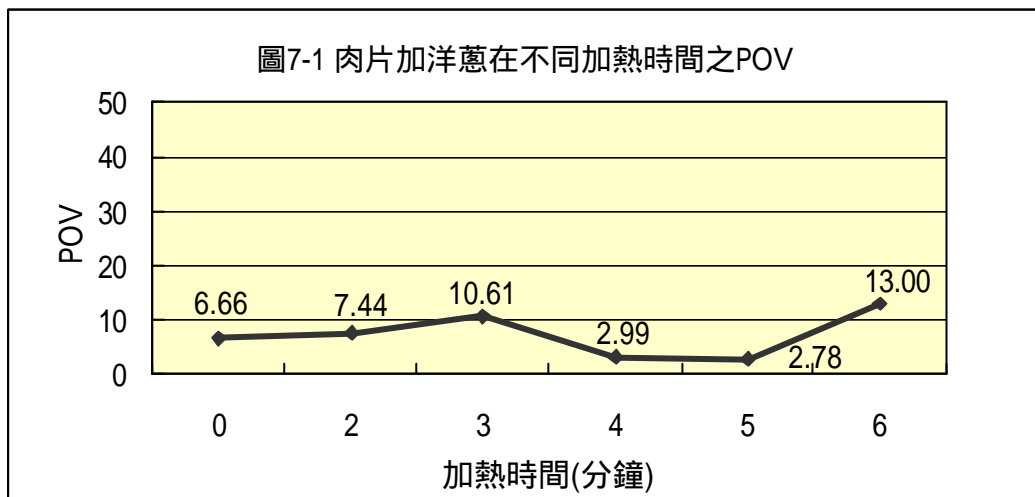
## 實驗五和實驗六之結論

為了選擇烹調方式，分別進行油浴和炭烤之實驗比較，結果顯示兩者之 POV 走勢並無太大差異，開始加熱後 POV 即上升，三分鐘時達一高峰，接著開始下降，五分鐘時為最低，之後又呈上升趨勢。但在效果方面，炭烤比油浴來得激烈，為了方便觀察添加物之效果，所以選擇氧化較明顯之炭烤。

實驗七、肉片加洋蔥在不同加熱時間中過氧化價之變化

表 7-1 肉片加洋蔥在不同加熱時間之 POV

	加熱時間					
	0 分	2 分	3 分	4 分	5 分	6 分
第一組	7.33	8	8	2.67	2.67	2.67
第二組	7.33	6	9	1.33	2.67	12
第三組	7.33	6.67	14	3.33	2.67	17.33
第四組	7.33	4.67	10	3.33	3.33	16
第五組	4.67	10	11.33	4	2.67	15.33
第六組	6	9.33	11.33	3.33	2.67	14.67
平均	6.67	7.45	10.61	3.00	2.78	13
標準差	1.11	2.04	2.11	0.92	0.27	5.36

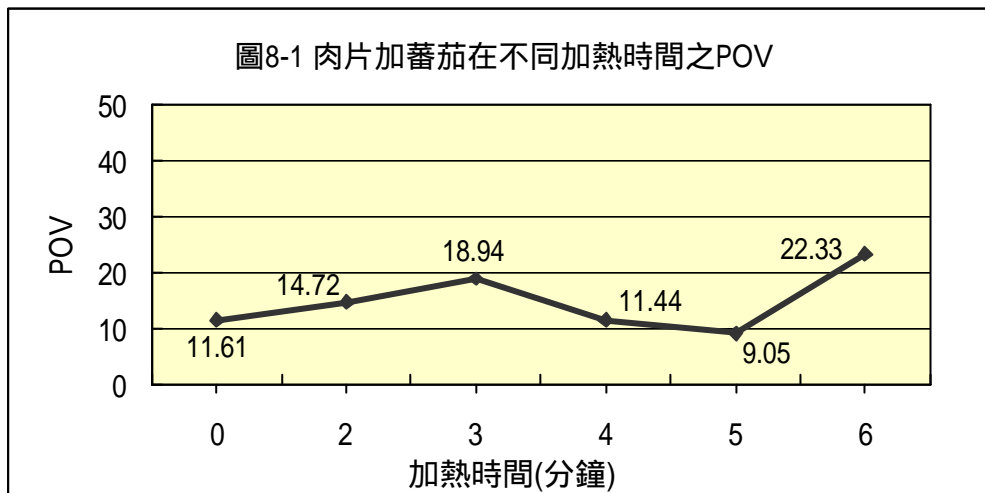


結果顯示，肉片 POV 在加熱後開始上升，到加熱三分鐘時下降，而在加熱五分鐘時降為最低，之後又開始上升。將此結果與實驗五對照，其趨勢是相同的，而添加洋蔥均較未含添加物之純肉組的 POV 為低。

## 實驗八、肉片加蕃茄在不同加熱時間中過氧化價之變化

表 8-1 肉片加蕃茄在不同加熱時間之 POV

	加熱時間					
	0 分	2 分	3 分	4 分	5 分	6 分
第一組	15	17	26	30	20	20
第二組	7	6	15	15	10	18
第三組	16	18	24	6	5	30
第四組	11	20	20	6	8	28
第五組	10	13.33	13.67	5.33	5.33	18
第六組	10.67	14	15	6.33	6	20
平均	11.61	14.72	18.94	11.44	9.05	22.33
標準差	3.34	4.95	5.20	9.80	5.68	5.28

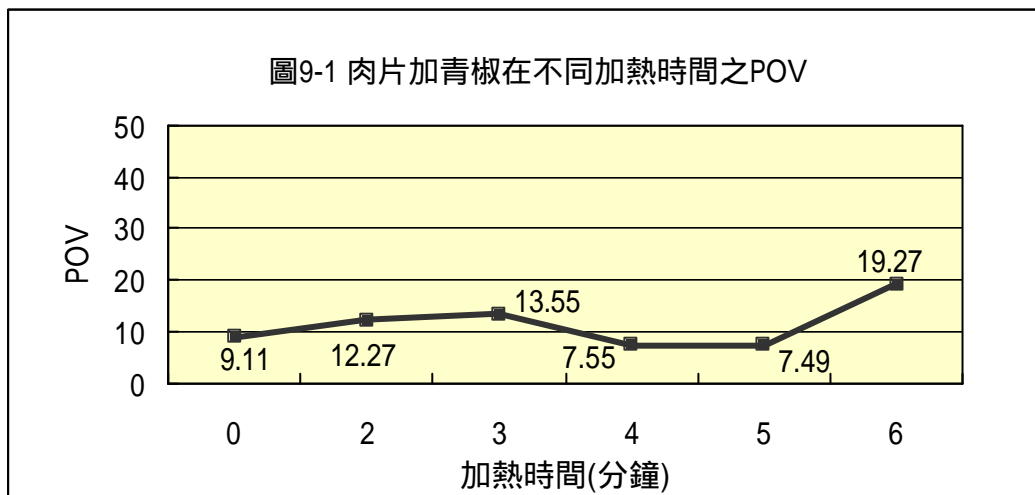


結果顯示，肉片加蕃茄的 POV 在加熱後開始上升，到加熱三分鐘時下降，而在加熱五分鐘時降為最低，之後又開始上升。將此結果與實驗五對照，其趨勢是相同的，而添加蕃茄均較未含添加物之純肉組的 POV 為低。

實驗九、肉片加青椒在不同加熱時間中過氧化價之變化

表 9-1 肉片加青椒在不同加熱時間之 POV

	加熱時間					
	0 分	2 分	3 分	4 分	5 分	6 分
第一組	9.33	13.33	8.33	7	10	15
第二組	10	11.67	8.33	6.67	8.33	16
第三組	6.67	11.33	19.33	8.67	5.33	22.67
第四組	8	11.33	16.67	8	6.67	22.67
第五組	10	12	13.33	8	7.33	19.33
第六組	10.67	14	15.33	7	7.33	20
平均	9.11	12.28	13.55	7.56	7.50	19.28
標準差	1.50	1.12	4.49	0.78	1.57	3.24



結果顯示，肉片加青椒的 POV 在加熱後開始上升，到加熱三分鐘時下降，而在加熱五分鐘時降為最低，之後又開始上升。將此結果與實驗五對照，其趨勢是相同的，而添加青椒均較未含添加物之純肉組的 POV 為低。

實驗五、實驗七、實驗八和實驗九之統計分析

表 9-2 二因子混合設計 (不同添加物變項在不同加熱時間) 中的 POV 之變異數分析摘要表

變異來源	SS	df	MS	F
受試者間	9322.29	23		
添加物	8483.97	3	2827.99	67.46***
群內受試	838.32	20	41.92	
受試者內	11953.42	120		
時間	6816.41	5	1363.28	99.73***
添加物 × 時間	3770.38	15	251.36	18.39***
時間 × 群內受試	1366.63	100	13.67	

\*\*\*p<.001

由二因子變異數分析結果顯示(表 9-2)：不論是兩個主要效果(添加物、加熱時間)，或交互效果均達到顯著，表示不同的添加物，其 POV 有明顯差別(F=67.46, p<.001)，隨著加熱時間的不同，POV 也會有顯著不同(F=99.73, p<.001)。更進一步地，添加物與加熱時間會交互影響 POV(F=18.39, p<.001)。由於交互效果顯著，故進行單純主要效果考驗，結果如表 9-3。

表 9-3 單純主要效果變異數分析摘要表

變異來源	SS	Df	MS	F	
添加物					
在未加熱	388.71	3	129.57	7.05*	
在兩分鐘	2583.61	3	861.20	46.88*	X <sub>4</sub> >X <sub>1</sub>
在三分鐘	4764.20	3	1588.07	86.45*	X <sub>4</sub> >X <sub>2</sub>
在四分鐘	424.56	3	141.52	7.70*	X <sub>4</sub> >X <sub>3</sub>
在五分鐘	133.14	3	44.38	2.42	
在六分鐘	3960.13	3	1320.04	71.86*	
細格內誤差	2204.95	120	18.37		
時間					
在洋蔥	496.74	5	99.35	7.27*	T <sub>3</sub> >T <sub>4</sub>
在蕃茄	769.78	5	153.96	11.26*	T <sub>3</sub> >T <sub>6</sub>
在青椒	615.46	5	123.09	8.81*	T <sub>6</sub> >T <sub>5</sub>
在純肉	8704.81	5	1740.96	127.36*	
時間 × 群內受試	1366.63	100	13.67		

註：X<sub>1</sub>=洋蔥，X<sub>2</sub>=青椒，X<sub>3</sub>=蕃茄，X<sub>4</sub>=純肉

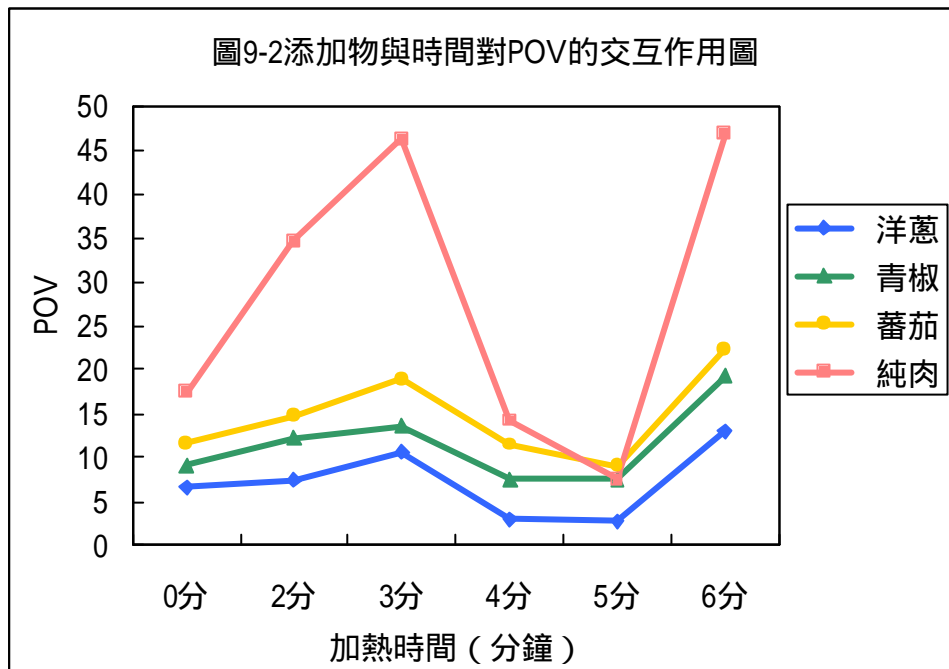
T<sub>1</sub>=未加熱，T<sub>2</sub>=加熱兩分鐘，T<sub>3</sub>=加熱三分鐘，T<sub>4</sub>=加熱四分鐘，T<sub>5</sub>=加熱五分鐘，

T<sub>6</sub>=加熱六分鐘



表 9-4 不同添加物與烤肉時間的 POV 平均數

	0分	2分	3分	4分	5分	6分
洋蔥	6.67	7.45	10.61	3.00	2.78	13.00
青椒	9.11	12.28	13.55	7.56	7.50	19.28
蕃茄	11.61	14.72	18.95	11.44	9.06	22.33
純肉	17.50	34.67	46.17	14.17	7.50	46.83



從表 9-2 中可以得知：添加物與加熱時間對於 POV 的交互影響，在不同的限定條件下有所不同。從表 9-3 中可知在未加熱、加熱兩分鐘、三分鐘、四分鐘、六分鐘的情況下，添加物變項間有顯著差異(F 值分別為 7.05、46.88、86.45、7.70、71.86,  $p < .05$ )，只有在加熱五分鐘的時候，添加物變項的 POV 沒有顯著差異。事後比較顯示純肉的 POV 值大於洋蔥、也大於青椒和番茄，但是洋蔥、青椒和番茄兩兩相比較並無差異。可知烤肉時只要加入任何一種添加物，油脂氧化的程度都會比只烤純肉時來的低，因此在烤肉的時候應加入上述的添加物，會達到抑制油脂氧化的效果。

對於在各種添加物變項條件下，時間不同 POV 值均有顯著不同(F 值分別為 7.27、11.26、8.81、127.36,  $p < .05$ )，此可由表 9-4 和圖 9-2 中看出。不論是何種添加物或是純肉，在加熱之後 POV 皆先呈現上升現象，加熱三分鐘之後 POV 開始下降至五分鐘時達到最低，之後又開始上升。

#### (四) 正式階段實驗結論：

在三種添加物清除 DPPH 能力之實驗中，清除率皆達 66%以上。其中蕃茄的效果最為顯著，清除率到達 95%，其次為洋蔥則有 75%的清除率，青椒雖非最好但仍有 66%。經統計分析可知，三種添加物都有顯著的效果 ( $p < .05$ )。

油浴和炭烤加熱方式之實驗比較，從兩者的數據中發現 POV 走勢並無太大差異，但經統計分析之後，可看出其效果為炭烤的氧化程度比油浴嚴重 ( $p < .001$ )。

根據二因子混合設計考驗，不同添加物在不同加熱時間的情況下，均達到了顯著差異 ( $p < .001$ )；而單純主要效果考驗中，相同加熱時間不同添加物，除了加熱五分鐘以外，三種加入添加物的肉片之 POV 都比單純肉片為低 ( $p < .001$ )，且變化走勢都相同，在三分鐘及六分鐘時 POV 均較高，五分鐘時最低。整體而言，三種添加物均能有效降低加熱過程中肉片的 POV。

## 四、實驗討論及應用

### (一) 綜合探討加熱時間的因素

本節主要探討在不含添加物的情況下進行炭烤時，加熱時間對肉質油脂氧化程度的影響。

油脂在室溫下容易氧化劣變，在高溫下更加速其反應。動物性脂質中主要含有油酸和亞麻酸(佔60%)兩種不飽和脂肪酸，沸點分別為153 和202 ；在室溫下空氣中的氧會攻擊油脂分子上不飽和脂肪酸的雙鍵，而形成過氧化物。此氧化反應在高溫下迅速增快，是高溫油脂劣化的最重要反應。當油在氧化的過程中，會經過五個階段，分別為氧化誘導期、過氧化物生成期、過氧化物分解期、聚合物生成期和油脂品質劣化期(賴滋漢 金安兒，1984、段盛秀 楊海明，2000)。油脂每一公斤中所含有过氧化物的毫克當量數，即稱為過氧化價(POV)；而POV越高，表示樣品氧化程度越高。

由未加熱到加熱三分鐘 POV 的走勢是逐漸上升的，從變異數分析中可看出在不同加熱時間的 POV 有顯著的差異存在( $F = 71.85, p < .05$ )；進一步以 Scheffe 'e 法進行事後比較可得出未加熱和加熱三分鐘有明顯的差異( $F=605.9, p < .05$ )；而未加熱時其 POV 的平均值為 17.5、加熱兩分鐘平均值為 34.6、加熱三分鐘平均值為 46.1。我們可以明顯的發現油脂隨著加熱時間的上升其 POV 也跟著上升，故推測此階段即進入了過氧化物生成期，因此油脂快速氧化產生出大量的過氧化物，導致 POV 在加熱前三分鐘為上升的狀態。

有趣的是加熱三分鐘到五分鐘走勢為下降的，跟開始加熱到加熱三分鐘的走勢剛好相反。從事後比較可看出加熱三分鐘和四分鐘( $F=758.52, p < .05$ )的POV有顯著差異；而加熱三分鐘的POV平均值為46.1、

加熱四分鐘平均值為14.1、加熱五分鐘平均值為7.5，此時的POV的趨勢不再隨著時間增長而上升，反而是下降的，我們推測可能是肉中油脂所含的過氧化物逐漸被氧化消耗，進入了過氧化物分解期，所以其POV才會慢慢降低。

而加熱五分鐘到加熱六分鐘時其POV圖形走勢呈現快速上升之趨勢，加熱五分鐘的POV平均值為7.5、加熱六分鐘平均值變為46.8；從事後比較可看出加熱五分鐘和六分鐘間有明顯的差異( $F=1144.07$ ， $p<.05$ )。有可能是因為在動物性脂質中含有油酸和亞麻酸，從加熱開始油酸和亞麻酸就陸續開始氧化，而油酸的沸點為 $153^{\circ}\text{C}$ 會先開始被氧化，接著到 $202^{\circ}\text{C}$ 左右亞麻酸也陸續被氧化。故我們推測此時期開始步入聚合物生成期；此時油脂發生異構化作用，雙鍵移動形成共軛雙烯，其安定性差(顏裕鴻，1992)，當分解後的物質開始聚合，便使得POV快速上升。

總之，從事後比較可看出未加熱和加熱三分鐘( $F=605.90$ ， $p<.05$ )、加熱三分鐘和四分鐘( $F=758.52$ ， $p<.05$ )、加熱五分鐘和六分鐘( $F=1144.07$ ， $p<.05$ )有明顯的差異；再從POV的平均數觀之：加熱六分鐘>三分鐘>兩分鐘>未加熱>四分鐘>五分鐘，故由上面可得知加熱四到五分鐘是其POV是最低的，所以在本實驗之條件下，若在不加任何添加物的情況下進行烤肉時，最好能將加熱時間控制在四到五分鐘內，應能確保較佳之品質。

## (二) 綜合探討炭烤的因素

本節主要探討在不含添加物的情況下，分別進行炭烤與油浴加熱，比較兩者對肉質油脂氧化程度的影響，以分析炭烤因素的效果。

分析實驗五、六，可發現在各圖中的走勢皆約略相同。加熱過程中，從加熱開始到加熱三分鐘均呈現上升的趨勢，而三分鐘之後開始快速的下降，直到五分鐘時達最低點，其後又開始上升。

深入比較實驗五與實驗六，可發現影響POV變化因素來自定溫下不同加熱的時間以及加熱方式。在實驗五中對肉質變化的影響因素主要來自加熱時間和煙燻，而實驗六只有加熱時間。由於實驗六與實驗五的走勢曲線相似，實驗六的走勢較實驗五的平緩，得知炭烤的氧化程度較油浴嚴重，由變異數分析的結果中顯示，肉片經相同加熱時間後在不同加熱方式下POV之變化有顯著差異( $F = 129.03$ ， $p<.05$ )，再進一步進行事後比較，則結果顯示炭烤和油浴之間的確存在顯著的差異( $F = 13.77$ ， $p<.05$ )，因此我們推測煙燻可能為影響實驗五的POV較實驗六高的主要原因。除加熱五分鐘，炭烤的POV皆會大於油浴，所以推測炭烤中的煙燻效果會使得油脂中自由基大增，氧化程度較為嚴重。因此若非烤肉產生之特殊風味；我們建議調理肉類食物仍應在一般加熱之方式較炭烤安全。

### (三) 綜合探討清除 DPPH 自由基與抗氧化的關係

本節主要探討添加物清除自由基與抗氧化之關係。

在氧化鏈鎖反應中分成三階段：起始期、增殖期、結束期。油脂發生化學劣敗，其雙鍵受到空氣中氧的攻擊，進而在每一階段會形成各種不同之自由基。而抗氧化劑能抑制自由基的產生，進一步中斷氧化反應（錢明賽，1998）。常見的自由基消除劑，主要與過氧化氫自由基發生反應；因為過氧化氫是最易存在的自由基，且能量較低，容易跟自由基消除劑作用(拱玉郎，1997)，實驗中所選用的 DPPH 為過氧化氫自由基之一，因此在抗氧化的研究上，通常使用 DPPH 來評估氧化之能力，若清除 DPPH 之能力越高，其抗氧化之功效，也應十分顯著。

由以上可知，在氧化的過程中自由基會隨之產生，因此若能消除自由基，也能達到抑制氧化之效果。因此經由初步階段實驗挑選三種天然添加物，分別含有抗氧化之成分如：維他命 C、維他命 E 等，能用在消除 DPPH 自由基之能力測定，並與三種添加物降低 POV 的效果進行比較。

蕃茄的清除 DPPH 自由基效果最好，因其含有豐富的天然抗氧化劑，如：維他命 C、E、茄紅素等，其中茄紅素抗氧化之效果特別優異，因為茄紅素具有一特殊之長鏈分子構造，含十三個雙鍵，此種構造易消除自由基。而順異構物之茄紅素較反異構物之茄紅素較容易吸收(拱玉郎，1997)。

洋蔥雖非最好，且清除 DPPH 自由基效果較蕃茄差，但其仍含有許多天然抗氧化劑，如：維他命 C、E 等，尤其維生素 E，在抗氧化劑中是屬於自由基消除劑類，能延遲氧化反應的增殖期(拱玉郎，1997)。這類物質在提供氫後，能將自由基之孤對電子填滿，降低其有害性，並形成穩定的共振形式，而阻斷氧化的發生。若將維他命 C、E 一起使用時，更可以得到加成之效果。

青椒之清除 DPPH 自由基效力較差，但仍然有 66% 的效果，且含有抗氧化成分維生素 C，能消耗容器中多餘的氧，因此在抗氧化方面仍有不錯的效果。

蕃茄在清除 DPPH 能力中，清除率達 95%，明顯優於其他兩種添加物，但在不同加熱時間下對降低 POV 的效果影響，卻非最好的，會造成此結果的原因，與其抗氧化成份有關。抗氧化劑大致可分為三類：自由基終止型、還原劑或耗氧型、鉗合劑型（高馥君,1998）；清除 DPPH 能力主要應用在自由基終止型之抗氧化劑，而降低 POV 則是運用還原劑或耗氧型的抗氧化劑，消耗多餘的氧、抑制氧化的發生。蕃茄中的天然抗氧化物多屬於自由基終止型，如：維生素 E，因此在降低 POV 方面之效果並不顯著。

洋蔥在清除 DPPH 能力中，並非最好，但仍有百分之七十九的清除率，但在不同加熱時間下對降低 POV 的效果影響，卻有不錯的效果，因為洋蔥中含有豐富的維他命 C，為還原型及耗氧形的抗氧化劑，在氧化反應發生時，先消耗多餘的氧，且含有特殊的抗氧化成分大蒜素，因此在降低 POV 方面的效果十

分顯著。

青椒其清除 DPPH 能力雖非最佳，但在不同加熱時間下對降低 POV 的效果影響，經過統計分析與洋蔥並無太大差異，且其成份缺少自由基終止型的抗氧化物如：維生素 E。因此青椒在清除 DPPH 方面之能力較弱。

由以上可知，添加物的成份不同，應用在不同的反應上，所產生的效果也不盡相同，在消除自由基方面，可多運用含有較多自由基終止型抗氧化物的添加物如：蕃茄；而在降低 POV 方面則可採用還原劑或耗氧型的添加物如：洋蔥。

#### (四) 綜合比較各添加物的效果

##### 1. 各添加物在相同加熱時間的效果比較

本節主要探討相同加熱時間下各添加物 POV 效果的比較。

在過氧化價的正式階段實驗中，分別以蕃茄、青椒、洋蔥作為待測之添加物。不加熱的情況下，降低 POV 效果以洋蔥最佳，其次為青椒、蕃茄，而後各個時間點所測得之結果亦相同。從統計分析結果可得知：在未加熱、及分別加熱二分鐘、三分鐘、四分鐘、六分鐘時，加入添加物之效果較未添加時有顯著差異，顯示出添加天然添加物確實能降低 POV，而各添加物亦有不同之效果。

添加物之所以能降低 POV，推測其原因，應由於這些添加物皆含有抗氧化之成分，豐富的維生素 A、B、C、D、E，β-胡蘿蔔素及茄紅素等，能抑制氧化反應的發生。

而造成添加物之間效果的差別，則可能因為所含成分、含量、交互作用的不同、抗氧化劑本身之耐熱度與是否易流失等性質所影響。洋蔥含有大蒜素等含硫化合物與硒等抗氧化物質，抗氧化酵素的核心元素：鋅、硒、銅、錳等微量礦物質，能夠使抗氧化劑發揮更大的功效，故洋蔥擁有強大之抗氧化效果；青椒含有維生素 A、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 及豐富的維生素 C 故亦擁有良好之抗氧化效果；而蕃茄則含有茄紅素、維生素 A、C 等。

洋蔥在本實驗中效果最佳，故建議在烹調食品時，能搭配適當之洋蔥佐料。

##### 2. 相同添加物在不同加熱時間的效果比較

本節主要探討同一添加物在不同加熱時間下 POV 效果的比較。

洋蔥：開始加熱以後 POV 逐漸升高，三分鐘時達到第一階段的高峰，由變異數分析表中可看出，不同加熱時間下，添加洋蔥的 POV 有顯著的差異( $F=2.37, p<.05$ )，我們推測此時期為過氧化物的生成期，所以在加熱三分鐘前 POV 呈現上升狀態。而三分鐘到四分鐘的時候走勢開始下降，並且在五分鐘達到最低



點。影響 POV 的抗氧化劑類型是耗氧型或還原型，維生素 C 正是屬於此類型的抗氧化劑。維生素 C 藉由本身之氧化還原反應來抑制氧化，且與多餘的氧作用，避免不良氧化反應發生，由於洋蔥又含有大蒜素，更可以有效抑制物質氧化(Owen R. Fennema, 1985)。持續加熱到六分鐘，過氧化價急遽上升，而肉也幾乎呈現烤焦的狀態，故我們研判，因維生素 C 耐熱性不高故造成此時的 POV 極不穩定，(錢名賽,1998)而且與加熱五分鐘時有明顯差異，由變異數分析表可以得知，添加了洋蔥的肉在加熱後，在六個不同加熱時間點都與未加入添加物的肉之間有顯著不同( $F=7.27, p<.05$ )。所以添加洋蔥後的效果是有效的。

蕃茄：加熱到三分鐘前，POV 逐漸上升，且在五分鐘時降到最低點，從變異數分析表可以看出，蕃茄在加熱後不同的時間點之間都有明顯的差異( $F=11.26, p<.05$ )，蕃茄富含了維生素 C 及大量的茄紅素以及  $\beta$ -胡蘿蔔素，維生素 C 藉由本身氧化還原的反應來抑制氧化並避免不良的氧化反應發生，所以可以抗氧化。經熱加工之蕃茄汁其所含茄紅素之吸收比未加工之蕃茄要高(錢名賽,1998)，因此推斷，茄紅素在經過加熱五分鐘後，可以發揮較佳的效果。 $\beta$ -胡蘿蔔素是一種具有抗氧化活性的類胡蘿蔔素，可吸收活性氧的能量，阻止其產生破壞性反應，且  $\beta$ -胡蘿蔔素可補助其他抗氧化物如維生素 C 及 E 之作用 (錢名賽,1998)。而加熱五分鐘以後，POV 再度上升，推測可能是因維生素 C 及其他抗氧化物的耐熱性不高，加熱五分鐘後，大部分的抗氧化物已經消失。因此，在本實驗的條件下，加入蕃茄後最適合的加熱時間在五分鐘左右較佳。由圖 9-2 可以看到，其走勢圖和未加入添加物的純肉有顯著差異。所以添加蕃茄以後的效果是有效的。

青椒：加入青椒後，未加熱到加熱三分鐘時都呈現上升的走勢，且在三分鐘開始下降，並在五分鐘達到最低點，整體加熱的走勢與前兩種添加物大致相同，但 POV 的高低卻有差異，推測造成 POV 差異的原因是添加物本身抗氧化成分多寡的影響，青椒主要的抗氧化成份有維生素 C 和維生素 E，維生素 C 可以藉由本身的氧化還原反應抑制氧化，維生素 E 可當作自由基消除者以終止其引起之連鎖反應(錢名賽,1998)。但是，青椒含有較多的鐵，容易幫助氧化。開始加熱三分鐘時，抗氧化物還沒開始產生作用，所以 POV 上升，加熱三分鐘後，青椒內的維生素 C 及 E 開始發揮效果，且在五分鐘時效果最好達到最低點。經由變異數分析表可得知，添加了青椒的肉在不同的加熱時間有明顯差異( $F=8.81, p<.05$ )，並且與未加入的純肉有顯著的差異。所以添加青椒後的效果是有效的。

綜合以上幾點，在烤肉時加入以上任何一種添加物於本實驗的條件下，均能夠有效的降低烤肉的 POV( $F=67.46, p<.001$ )。而且 POV 的變化都是先升高後下降再上升，因此三種添加物降低氧化程度的效果是相似的。故民眾在進行烤肉前，建議能夠普遍應用此三種天然添加物於烤肉上，並且能夠注意烤肉的時間，將可達到較佳的抗氧化效果。

## 五、結論

### (一) 加熱時間控制在四到五分鐘為宜

肉片在烤肉過程中 POV 之趨勢，大約在四到五分鐘時其氧化程度為最低。以本實驗之條件為前提，運用在日常烤肉時，若未加入添加物，建議將加熱時間控制在四到五分鐘之內最佳。

### (二) 炭烤氧化程度較油浴嚴重

在實驗五及實驗六分析炭烤與油浴對油脂氧化的影響，經變異數分析與事後比較發現炭烤和油浴之間有顯著差異。炭烤中可能因直接與炭火接觸及煙燻等因素，導致其炭烤的氧化程度較油浴嚴重。因此當炭烤時，若可減少肉類與炭火的直接接觸，即可間接降低有害物質生成。在本實驗中僅討論炭烤與油浴的氧化程度差異，未來將進一步比較不同烹調方法，嘗試找出對於人體較健康的加熱方式。

### (三) 添加物確實能有效清除自由基

本研究的實驗四中，探討不同添加物對清除 DPPH 自由基的效果，實驗證明各添加物確實能清除 DPPH 自由基。在氧化的過程中會產生自由基，若能消除自由基，則可抑制氧化反應(錢名賚,1998)。自由基含有許多種類，DPPH 自由基只為其中的一種，所以在未來研究希望能嘗試探討其他不同種類之自由基。

### (四) 添加物確實能顯著降低 POV

在實驗七、八、九之中，探討不同添加物在加熱時降低 POV 的效果，實驗結果證明，三種添加物都能顯著降低 POV。而本實驗中所使用的天然添加物種類有限，希望在未來研究中，能夠更廣泛使用不同種類的添加物作為研究的對象，進一步再探討混合添加物之交互作用是否具有加成效果。

總之，我們發現在烤肉過程前加入天然添加物，確實能發揮其抗氧化特性降低 POV 及清除自由基，抑制烤肉過程時所產生之不良影響；同時也應儘量避免以炭烤方式調理食物，否則炭烤之時間不宜過長。

## 六、參考資料

### (一) 文獻探討

#### 1. 自由基定義

自由基(游離基)(free radical)是缺少一個電子(electron)的原子(Halliwell, 1994)。原子所帶有的電子數目本來都成偶數，少了一個電子的原子就成為極不安定的自由基。所謂不安定就是說它到處流竄破壞身體組織上正常的原子，並從其中拉出一個電子與自己配對，此種現象在生物化學中稱為氧化(oxidation)(Halliwell et al., 1994)。

#### 2. 自由基種類介紹

##### (1) 超氧化物自由基(superoxide anion radical, $O_2^{\cdot-}$ )

超氧化物自由基(superoxide anion radical,  $O_2^{\cdot-}$ )，是人體中最先產生也是最多的一種自由基，這種形態的自由基更會誘發其他種類的自由基。

##### (2) 過氧化氫(hydrogen peroxide)

過氧化氫(hydrogen peroxide)，由超氧化物自由基代謝後產生，也可能是由身體其他的吞噬細胞經氧化還原作用而產生。過氧化氫的穩定性比其他的自由基都強，但因為會通過細胞膜流竄於身體的各部位，而擴大傷害的範圍。

##### (3) 羥基自由基(hydroxyl radical)

羥基自由基(hydroxyl radical)，是破壞力最強的自由基。羥基自由基的產生來源是因為過氧化氫的代謝以及各式輻射線所產生，會攻擊細胞膜造成細胞的死亡也會攻擊我們所食用的不飽和脂肪酸，造成油脂的過氧化而劣變。

##### (4) 單重態氧(singlet oxygen; $^1O_2$ )

單重態氧(singlet oxygen;  $^1O_2$ )，單重態氧的活性比氧氣高，更容易破壞細胞。

##### (5) 過氧化脂質(lipid hydroxide)

過氧化脂質(lipid hydroxide)，是自由基破壞脂質後的產物，但此物質對於細胞是具有毒性的。此物質也可以當作細胞氧化後受傷害的指標。

#### 3. 氧化與抗氧化劑的定義與功能

##### (1) 氧化的定義：

在反應物之間有電子得失的一類反應。在這類反應中，某種原子失去電子，發生了氧化；另一種原子則得到電子，發生了還原；即同時發生了氧化還原反應。

##### (2) 氧化與自由基的關係：

於貯藏期間，只有化學劣敗反應發生，通常是氧化作用，油脂的雙鍵受到空氣中氧的攻擊，產品形成自由基(free radical)使得反應加速。若買到陳腐的奶油時，表面嚐起來有油膩或像肉一般的味道，即表示奶油已被氧化了。空氣中的氧攻擊油脂雙鍵，雙鍵越多酸敗越快。一般經精煉之良好油炸用油，於適當貯藏條件下至少可維持 12 週的壽命。

於靜置和油炸期，油脂加熱至 190℃，貯藏期緩慢的氧化作用逐漸加快，是因油脂分子的雙鍵被破壞，形成許多新物質，這些物質會產生不良氣味，並使油炸食品嚐起來有油耗味。某些金屬如：鐵、銅，會加速油脂的氧化作用，特別應該避免其與油脂接觸。

#### 4. 抗氧化劑的功能：

##### (1) 延緩自氧化之起始期。(2) 抑制增值期。



(3) 能將活性氧變成一個安全的物質。

(4) 修繕受到活性氧攻擊的組織(Bonorden and Pariza, 1994)。5.各種抗氧化劑的介紹  
抗氧化物多含於植物，因植物是照日行光合作用，故無法避免活性氧的生成，為了防止活性氧侵襲自己的系統，所以其內含多量抗氧化物。維生素 B<sub>2</sub>、C、E 和 β-胡蘿蔔素四者有非常強烈的抗氧化作用。

## (二) 資料來源

1. Bonorden & Pariza(1994). Antioxidant nutrients and protection from free radicals. In Nutrition Toxicology, F.N. Kotsonis, M. Mackey and J. Hjelle (ED), 19-48 Reaven press, New York.
2. Halliwell et al. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: Curiosity, cause, or consequence? Lancet 344:721-724.
3. Oyaizu (1986). Antioxidative activity of browning products of glu cosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.
4. Pryor (1982). Reaction of nitrogen dioxide with alkenes and polyunsaturated fatty acid: addition and hydrogen abstraction mechanisms.
5. Shimada (1992). Antioxidative properties of xanthan of the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion.
6. 板倉弘重。(1999)。抗氧化食品保護身體。臺北：聯廣。
7. 拱玉郎。(1997)。天然抗氧化劑發展近況。食品工業，29(3)，29-37。
8. 段盛秀、楊海明。(1996)。食品化學實驗。臺北：藝軒。
9. 楊宗熙。(1996)。油脂氧化安定性與天然抗氧化劑效力之評估。食品工業，28(10)，22-32。
10. 賴茲漢、金安兒。(1999)。基礎食品分析。臺中：富林。
11. 顏裕鴻。(1992)。食用油脂在高溫下之變化及測定法。大葉學報，1(1)，19-33。
12. 高馥君、李敏雄。(1998)。食品保存與抗氧化劑。食品工業，30(12)，17-21，23-24。
13. 郭悅雄。(1995)。自由基與活性氧與抗氧化劑。
14. 陳惠英、顏國欽。(1998)。自由基、抗氧化防禦與人體健康。中華民國營養學會雜誌，23(1)，105-121。
15. 黃煜、葉嘉新。(1998)。自由基與抗氧化物在心臟血管疾病所扮演的角色。中化藥訊，38，18-27。
16. 張為憲。(1991)。高等食品化學。臺北：華香園。
17. 鍾愛嵐。(2001)。青草植物抗氧化力及抗氧化功能性之研究。