

肆、材料與方法

一、茶多酚之來源及添加濃度

a. 茶多酚：為購自嘉年生化產品有限公司，濃度為 70%，其詳細規格列於表八。

b. 綠茶萃取茶多酚：購自天仁茶葉股份有限公司之綠茶，茶多酚濃度約為 17%（台灣省茶葉改良場年報，1979），以磨粉機（A941, Kenwood, Britain）將其磨成細粉後使用。

依照茶多酚及綠茶萃取茶多酚所含茶多酚的濃度計算所添加的相對茶多酚量，其相對添加量如表九所示。

二、豬肉餅（Pork patties）

（一）豬肉餅之製備

1. 原料處理

自傳統市場購買豬後腿肉及背脂，後腿肉整型並除去淋巴結與血點後以絞肉機（TCA-22, Table Model Grinder, Butcher boy, U.K.）以 3.5mm 孔目之絞盤絞碎後，置於 4°C 冰箱（TL-520R, TIT, Taiwan）中冷藏備用。背脂置於冷凍櫃（Medical freezer, Sanyo, Japan）中待其中心溫度達 4°C 後同樣以 3.5mm 孔目之絞盤絞碎冷藏備用。茶多酚以原料肉重 5% 之滅菌水溶化備用之；將 60g 綠茶粉末裝於茶葉濾袋後置於 500ml 的滾水中持續滾煮 20 分鐘，以茶葉過濾器過濾後，分別取原料肉重 2.5% 之萃取液與原料肉重 2.5% 之滅菌水相混（500 ppm）及 5%（1000 ppm）之萃取液備用之。

表八、茶多酚之規格

Table 8. The specification of tea polyphenol

外觀	淡黃綠色粉末
氣味	特殊綠茶香味
口感	微苦
水分	<8 %
酸鹼值 (1%溶液)	5.0~6.5
總菌數	<2,000 CFU/g
大腸桿菌 (<i>E. coli</i>) (5 克)	陰性
有效成分含量：	
Polyphenol	70.0 %
Catechin	>1.0 %
(-)epicatechin, EC	>2.5 %
(-)epigallocatechin, EGC	>3.0 %
(-)epigallocatechin gallate, EGCG	>45.0 %
(-)epicatechin gallate, ECG	>1.6 %
Caffeine	>10.0 %

(嘉年生化產品有限公司，2004)

表九、不同來源茶多酚之添加濃度

Table 9. The addition concentration of different sources of tea polyphenols

茶多酚 (70%) [#] tea polyphenols	茶多酚濃度 concentration of tea polyphenols	綠茶萃取茶多酚 (17%) [#] tea polyphenols extracted from green teas	茶多酚濃度 concentration of tea polyphenols
0.0715 %	500 ppm	0.3 %	500 ppm
0.1430 %	1000 ppm	0.6 %	1000 ppm

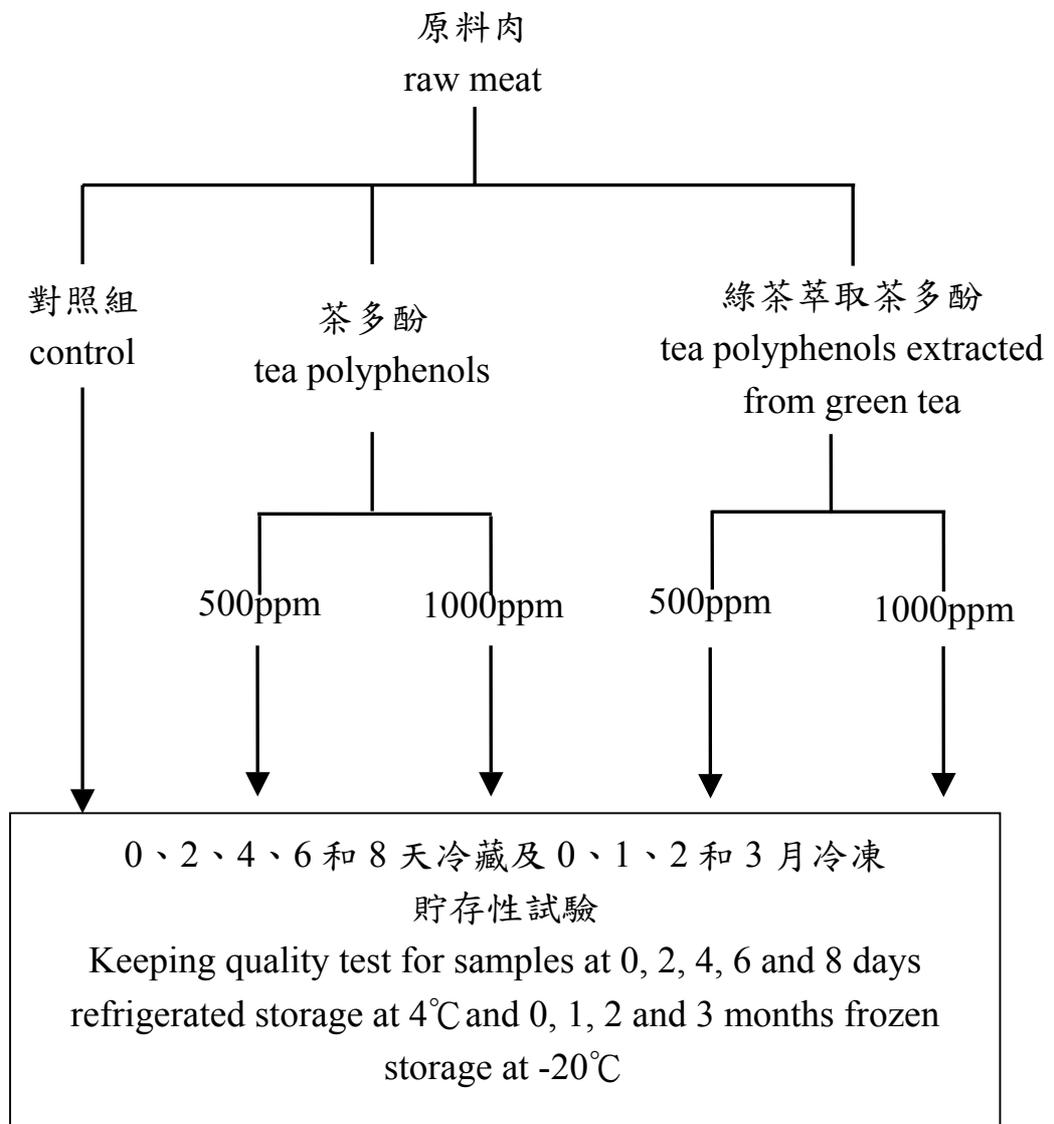
[#]表所含茶多酚濃度。

[#] concentration of tea polyphenols to contain.

所有添加物按原料肉（腿肉與背脂之總和）重之百分比（鹽 1%、水或萃取液 5%）加入。本試驗包括對照組（無任何添加）、茶多酚 500 及 1000ppm 以及綠茶萃取茶多酚 500 及 1000ppm 共五組。試驗設計如圖七。

2.加工過程

將絞碎之後腿肉置於攪拌機（Cure mixer, RAMOM-35, Spain）中而後加入絞碎之背脂及 1% 之食鹽攪拌一分鐘均勻混合。將混合絞肉等量取出分別添加 0、500 及 1000ppm 之茶多酚及綠茶萃取茶多酚後均勻攪拌之，再以漢堡成形機（Model：BT10, Omas, Germany）將其壓製成 90g 重、直徑 10cm 及厚度 1.5cm 之豬肉餅。將豬肉餅置於紫外線殺菌完畢之發泡淺盤（Polystyrene foam tray）上，以 PE 保鮮膜及包裝機（ARC 250U/S, AR 株式會社, Japan）進行包裝，然後置於 4°C 展售櫃（Model: FPW-PA865, Sanyo, Japan）中，並於 0、2、4、6、8 天採樣進行保存性試驗。此外，以真空包裝袋（規格為 Ny₁₅、PE₂₀ 及 LL₇₀，厚度分別為 15 μm/LDPE、20 μm/LDPE 及 70 μm，總厚度為 105 μm，財德彩藝有限公司，台灣）包裝豬肉餅，冷凍貯存於 -20°C 直立式冷凍櫃（EV 110, Whirpool, American）中，並於第 0、1、2 及 3 月進行冷凍保存性試驗。試驗分析總生菌數（Total plate count, TPC）、色澤（L, a, b）、酸鹼值（pH value）、硫巴比妥酸值（Thiobarbituric acid value, TBA value）、脂肪酸（Fatty acid）組成測定及自由基清除能力（Scavenging effects of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical）等。



圖七、豬肉餅試驗設計流程圖。

Fig. 7. The flow chart of experimental design for pork patties.

此外針對豬肉餅作一般成分分析 (Proximate analysis)、感官品評 (Sensory evaluation) 及剪力值 (Shear value) 分析。

(二) 分析項目

1. 一般成分分析 (Proximate analysis) :

將產品細碎均勻混合後進行採樣。依據 A.O.A.C. (AOAC, 1995) 方法, 進行水分、粗蛋白質、粗脂肪及灰分之重量百分比分析。每個處理均重複四次。

2. 總生菌數 (Total plate count, TPC) :

取 11g 樣品與 99g 滅菌水, 以樣品處理器 (Stomacher, Model 400, England) 混合 2 分鐘後稀釋成適當倍數, 以 plate count agar (Difco), 於 37°C 下培養 48±2 小時, 計算菌落成形數 (FDA, 1992)。

3. 酸鹼值 (pH value) :

依 Ockerman (1985) 方法測定之。取 10g 樣品加入 90ml 蒸餾水細碎混合 2 分鐘以後以 pH meter (MP230, Metter Toledo, Switzerland) 測定之。

4. 色澤 (Coloring difference test) :

各處理之豬肉餅以色差儀 (Color and color difference meter,

Model TC-1，東京電色株式會社，Japan）直接測定其表面之亮度值（L value）、紅色值（a value）以及黃色值（b value），每處理做二重複，每次測定不同四個點。

5. 硫巴比妥酸值（Thiobarbituric acid value, TBA value）：

依 Ockerman（1985）方法測定之。秤取 10g 絞碎之樣品加入 50ml 之蒸餾水，經細碎混合後，再加入 47ml 之蒸餾水，3ml 4N HCL，5 滴消泡劑（Antifoam）以及 2~3 顆的沸石於 Kjeldahl flask 中進行蒸餾。收集蒸餾液達 50ml 後，取 5ml 之蒸餾液加入 5ml TBA 試劑，於沸水浴中反應 35 分鐘，再冷卻 10 分鐘，以分光光度計（Spetophotometer, Hitachi U-2000, Japan）在波長 538nm 下測吸光值（Optical density, O.D.）。結果以 O.D. 值表示。

6. 自由基清除能力（Scavenging effects of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical）：

依據 Jo *et al.*（2003）方法測定之。

(1) 萃取：

- a. 取 2g 以絞碎的樣品置入 15ml 之離心管，加入 8 ml 的去離子水。
- b. 均質機以 23,000 轉的速度均質 15 秒後，以 Whatman NO.4 濾紙過濾。
- c. 取濾液，加入 2ml 之氯仿。
- d. 以 4800rpm 的速度離心 15 分鐘。

- e. 取上清液，以其體積 5 倍之去離子水稀釋。
- f. 得 A 液。

(2)測定

- a. 取 1 ml 之 A 液，加入 1ml 0.2mM DPPH radical。
- b. 混合，於室溫下暗室靜置 30 分鐘。
- c. 以分光光度計 (Spectrophotometer, Hitachi U-2000, Japan) 在波長 517nm 下，測定其吸光值。

(3)計算

$$\% \text{DPPH scavenging} = \left[\frac{(\text{control}^{\#} \text{吸光值} - \text{樣品吸光值}) \times 100}{\text{control}^{\#} \text{吸光值}} \right]$$

[#]為添加去離子水之對照處理

7. 脂肪酸組成測定 (Fatty acid detection) :

依據 Sukhija *et al.* (1988) 方法測定之。

(1)藥品製備：

- A. Benzene (RD-32212, Sigma)
- B. Methanolic HCl：將 10 毫升乙醯氯 (Acetyl chloride) (Fluka, Swizerland) 緩慢加入 100 毫升無水甲醇 (林純藥, 日本) 中，輕搖混合
- C. 6% (v/v) K₂CO₃ (Shimakyu, Japan) 溶液
- D. 無水硫酸鈉 (Anhydrous sodium sulfate, Na₂SO₄) (國產化學, 日本)

(2)樣品之前處理：

將樣品以冷凍乾燥機 (Labconco, U. S. A.) 進行冷凍乾燥。乾燥之樣品以研鉢磨碎後進行採樣。取 0.25g 的樣品置於 15 毫升離心管中，加入 2 毫升 benzene 及 3 毫升 methanolic HCl 搖晃 10 秒，旋緊瓶蓋後置於 70°C 水浴 2 小時，之後取出離心管冷卻至室溫，加入 5 毫升 6% K₂CO₃ 及 2 毫升 benzene 混合，以 1,500rpm 離心 (Hermle Z 323 K, Germany) 5 分鐘，取上層液置於微量離心管，加入 Na₂SO₄ 後貯存於 -80°C 中備用。

(3)GC 之條件設定：

實驗使用氣相層析儀 (Hitachi G-3000) 進行分析，樣品注射量為 1.5 μ l，檢測器為 FID (Flame ionization detector)，分離管柱為毛細管 (Rtx-2330, Restek, U.S.A)，移動相為 N₂ 流速為 1ml/min，分流比為 100:1，注射口 (Injector) 溫度為 230°C，檢測器 (Detector) 溫度為 240°C。分析之溫度條件如下：起始溫度為 100°C，以每分鐘 5°C 速率升溫至 180°C，之後以每分鐘 3°C 速率升溫至 220°C，維持 10 分鐘後停止。分析結果經積分儀 (Hitachi L-2500) 計算波峰面積，並由脂肪酸標準品 (Fatty Acid Methyl Ester 189-20, Sigma) 判讀對照。

8. 感官品評 (Sensory evaluation)：

修改自 Cardello *et al.* (1983) 的方法分析之。將樣品以預熱 10 分鐘之烤箱 (SO-1100, 尚朋堂, 台灣) 加熱 (250°C, 20 分鐘)

後切成相同大小 ($2 \times 1 \text{cm}^2$)，經六名固定品評員對其顏色、氣味、硬度、多汁性、風味、特殊氣味（茶的味道）以及總接受度進行評分。評分採七分制（7-point scale），各項目代表意義如下：顏色為觀察產品的顏色，1 為極淡，7 為極紅；氣味為鼻子聞到豬肉餅的氣味，1 為極淡，7 為極強；硬度為以門齒切斷產品所需的力量，1 為極硬，7 為極軟；多汁性為在咀嚼過程中口腔內所感受到的水油量，1 為極乾，7 為極多汁；風味為在咀嚼過程口腔內所感受到整體的味道，1 為極淡，7 為極強；特殊氣味為在咀嚼時感受到除了豬肉餅的氣味外其他的味道（茶的味道），1 為極濃，7 為極淡；總接受度則是對品評的項目進行整體的評估，1 為極討厭，7 為極喜歡。

9. 剪力值（Shear value）：

將樣品以預熱 10 分鐘之烤箱（SO-1100，尚朋堂，台灣）以 250°C 加熱 20 分鐘後，切成相同大小 ($2 \times 1 \text{cm}^2$) 後，以物性測定儀（Rheometer, Model NRM-20110J-CW, 不動工業株式會社，Japan）配合附件 31 號之刀型接頭，以 6 cm/min 之速度對樣品進行模擬咬切，以物性測定記錄器（Rheometer, Model FR-801, 不動工業株式會社，Japan）記錄之，測定切斷產品時之最高抗力值 (kg/cm^2)。

三、中式香腸

(一) 中式香腸之製備

1. 原料處理

自傳統市場購買豬後腿肉及背脂，去除後腿肉上之淋巴結與血點後，以絞肉機（TCA-22, Table Model Grinder, Butcher boy, U.K.）使用 9.0mm 孔目之絞盤絞碎以醃漬桶暫存於 4°C 冰箱（TL-520R, TIT, Taiwan）中備用。背脂則先切成長條狀置於-20°C 的冷凍櫃（Medical Freezer, Sanyo, Japan）中冷凍之，待背脂硬化後以切丁切角機（FELIX-CE, Freif, Germany）切成約 8mm 立方之大小後，置於 4°C 冰箱中冷藏備用。商用茶多酚以原料肉重 5% 之滅菌水溶化備用之；此外將 60g 綠茶粉末裝於茶葉濾袋後置於 500 ml 的滾水中持續滾煮 20 分鐘，以茶葉過濾器過濾後，分別取原料肉重 2.5% 之萃取液與原料肉重 2.5% 之滅菌水相混（500 ppm）及 5%（1000 ppm）之萃取液備用之。

所有添加物按原料肉按原料肉（腿肉與背脂之總和）重之百分比加入，詳細配方比例如表十所示。本試驗包括對照組（無任何添加）、茶多酚 500 及 1000ppm 以及綠茶萃取茶多酚 500 及 1000ppm 共五組。試驗設計如圖八。

2. 加工過程

將絞碎之後腿肉置於攪拌機（Cure mixer, RAMOM-35, Spain）中，加入食品級聚磷酸鹽（元保磷，億元食品化工股份有限公司，Taiwan），先攪拌 30 秒後，再將亞硝酸鹽、異抗壞血酸、食鹽、

表十、中式香腸配方

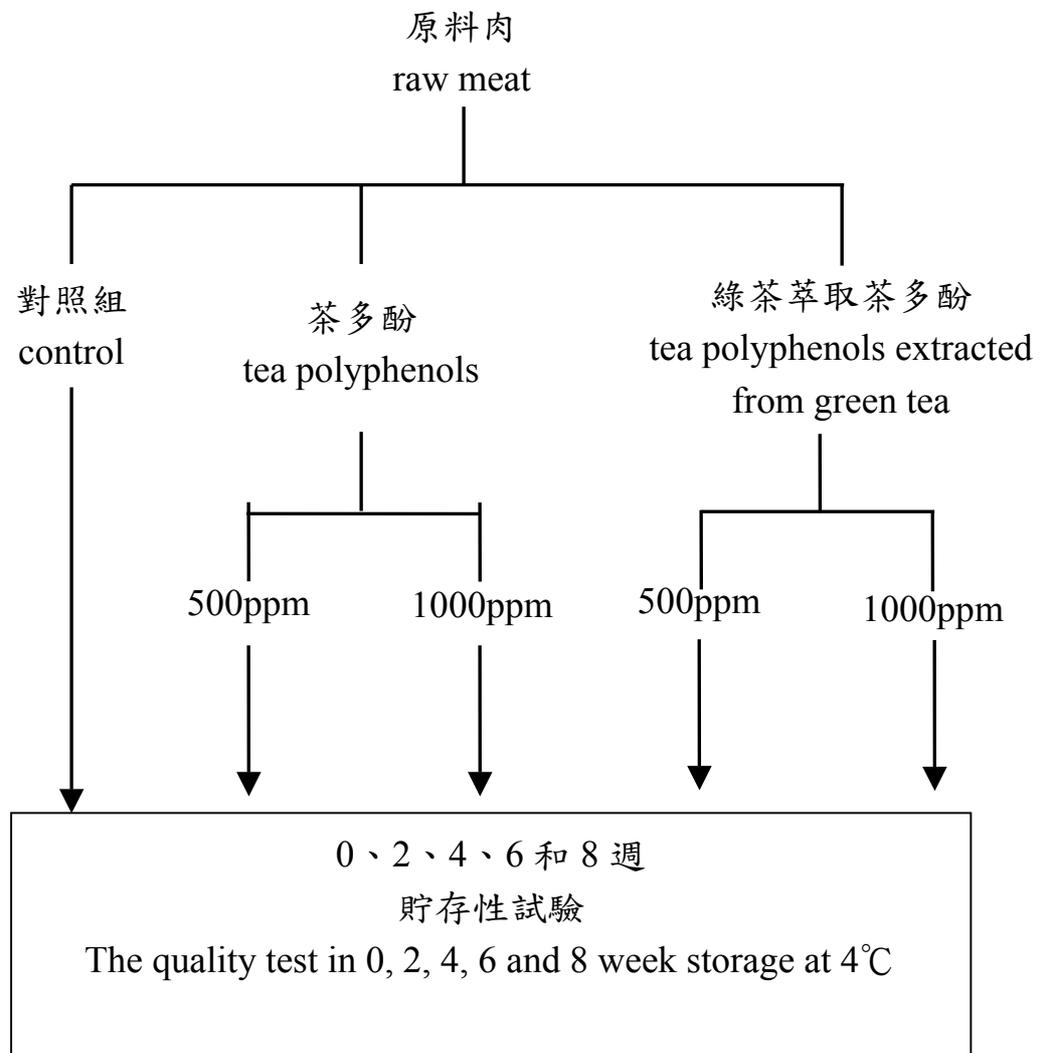
Table 10. Chinese style sausage formulation

原料	百分比
原料肉 (瘦肉：脂肪=4：1)	100 %
萃取液 ^a	500 ppm →2.5%萃取液 ^b 1000 ppm →5.0%萃取液
食鹽	1.6 %
糖	10 %
味精	0.2%
米酒	1.8 %
香料	
白胡椒粉	0.18 %
五香粉	0.15 %
蒜粉	0.12 %
甘草粉	0.15 %
磷酸鹽 (元保磷)	0.3 %
亞硝酸鹽	120 ppm
異抗壞血酸	500 ppm

^a 對照組及茶多酚處理組以滅菌水取代。

^b 另外加上原料肉重 2.5% 之滅菌水。

^a Control and treatment with tea polyphenols use antiseptic water to replace.



圖八、中式香腸試驗設計流程圖。

Fig. 8. The flow chart of experimental design for Chinese style sausage.

紅砂糖、味精、米酒及茶多酚加入混合約 3 分鐘，再添加已切丁的背脂及香料後充分混合後，將其移至不銹鋼醃漬桶中於 4°C 冰箱 (TL- 520R, TIT, Taiwan) 中醃漬 3 天。

經醃漬 3 天的香腸料置於真空自動充填機 (RS 1040, Rscto, Italy) 中，以天然腸衣進行充填、分節及整型後予以稱重。將產品移入乾燥機中 (昇陽實業，台灣) 以 45°C 乾燥 8 小時後移出，冷卻至室溫。產品完成後秤重以計算產率，裝入真空包裝袋 (規格為 Ny₁₅、PE₂₀ 及 LL₇₀，厚度分別為 15 μm/LDPE、20 μm/LDPE 及 70 μm，總厚度為 105 μm，財德彩藝有限公司，台灣) 中，以真空包裝機 (A300/16, Multivac, Germany) 包裝後，冷藏貯存於 4°C 冰箱 (TL-520R, TIT, Taiwan)，並於第 0、2、4、6 及 8 週進行保存性試驗。試驗分析總生菌數 (Total plate count, TPC)、乳酸菌數 (Lactic acid bacteria)、大腸桿菌群 (Coliform)、色澤 (Lab)、酸鹼值 (pH value) 及硫巴比妥酸值 (Thiobarbituric acid value, TBA value) 等。此外針對香腸作一般成分分析 (Proximate analysis)、感官品評 (Sensory evaluation) 及剪力值 (Shear value) 分析。

(二) 分析項目

1. 一般成分分析 (Proximate analysis) :

將產品細碎均勻混合後進行採樣。依據 A.O.A.C. (AOAC, 1995) 方法，進行水分、粗蛋白質、粗脂肪及灰分之重量百分比分析。每個處理均重複四次。

2.產率 (Yield %) :

$$\text{產率(\%)} = \frac{\text{香腸乾燥後之重量(g)} / \text{香腸乾燥前之重量(g)}}{\times 100\%}$$

3.總生菌數 (Total plate count, TPC) :

取 11g 樣品與 99g 滅菌水，以樣品處理器 (Stomacher, Model 400, England) 混合 2 分鐘後稀釋成適當倍數，以 plate count agar (Difco)，於 37°C 下培養 48±2 小時，計算菌落成形數 (FDA, 1992)。

4.乳酸菌數 (Lactic acid bacteria) :

取 11g 樣品與 99g 滅菌水，以樣品處理器 (Stomacher, Model 400, England) 混合 2 分鐘後稀釋成適當倍數，以 MRS agar (Merck)，於 37°C 下培養 36±2 小時，計算菌落成形數 (FDA, 1992)。

5.大腸桿菌群 (Coliform) :

取 11g 樣品與 99g 滅菌水，以樣品處理器 (Stomacher, Model 400, England) 混合 2 分鐘後稀釋成適當倍數，以 Chromocult coliform agar (Merck)，於 35°C 下培養 24±2 小時。Chromocult coliform agar 內含 Salmon-Gal 酵素受質而與 Coliform 專一的 Galactosidase 反應而產生紅色菌落;此外，X-Gluc 酵素受質與 *E. coli* 專一的 Glucuronidase 反應產生深藍色至紫色菌落，其餘腸內

菌皆為無色，計算紅色和深藍色至紫色菌落數 (FDA, 1992)。

6. 酸鹼值 (pH value) :

依 Ockerman (1985) 方法測定之。

7. 色澤 (Coloring difference test) :

將香腸樣品經絞碎混合後，以色差儀 (Color and color difference meter, Model TC-1, 東京電色株式會社, 日本) 測定絞碎樣品之亮度值 (L value)、紅色值 (a value) 以及黃色值 (b value)，每處理做二重複，每次測定不同四個點。

8. 硫巴比妥酸值 (Thiobarbituric acid value, TBA value) :

依 Ockerman (1985) 方法測定之。秤取 10g 絞碎之樣品加入 50ml 之蒸餾水，經細碎混合後，再加入 46ml 之蒸餾水，3ml 4N HCL，1ml 磺醯胺試劑，5 滴消泡劑 (Antifoam) 以及 2~3 顆的沸石於 Kjeldahl flask 中進行蒸餾。收集蒸餾液達 50ml 後，取 5ml 之蒸餾液加入 5ml TBA 試劑，於沸水浴中反應 35 分鐘，再冷卻 10 分鐘，以分光光度計 (Spectrophotometer, Hitachi U-2000, Japan) 在波長 538nm 下測吸光值 (Optical density, O.D.)。結果以 O.D. 值表示。

9. 感官品評 (Sensory evaluation) :

修改自 Cardello *et al.* (1983) 的方法分析之。將樣品以預熱

10 分鐘之烤箱 (SO-1100, 尚朋堂, 台灣) 加熱 (220°C, 20 分鐘) 後切成相同長度 (2cm), 經六名固定品評員對其顏色、不良氣味、硬度、多汁性、風味、特殊氣味 (茶的味道) 以及總接受度進行評分。評分方式為嗜好評分試驗 (Hedonic scale test), 評分採七分制, 色澤為觀察產品的顏色, 1 為極白, 7 為極紅; 不良氣味為以鼻子聞到的腥味, 1 為極強; 7 為極淡; 硬度為以門齒切斷產品所需的力量, 1 為極硬, 7 為極柔軟; 多汁性為在咀嚼過程中口腔內所感受到的水油量, 1 為極乾, 7 為極多汁; 風味為在咀嚼過程之所感受到整體的味道, 1 為極淡, 7 為極強; 特殊氣味為在咀嚼時感受到除了香腸特殊的氣味外其他的味道 (茶的味道), 1 為極濃, 7 為極淡; 總接受度則是對品評的項目進行整體的評估, 1 為極討厭, 7 為極喜歡。

10. 剪力值 (Shear value):

將樣品以預熱 10 分鐘之烤箱 (SO-1100, 尚朋堂, 台灣) 加熱 (250°C, 20 分鐘) 後切成 2cm 之長度後, 以物性測定儀 (Rheometer, Model NRM-20110J-CW, 不動工業株式會社, 日本) 配合附件 31 號之刀型接頭, 以 6 cm/min 之速度對樣品進行模擬咬切, 以物性測定記錄器 (Rheometer, Model FR-801, 不動工業株式會社, 日本) 記錄之, 測定切斷產品時之最高抗力值 (kg/cm^2)。

四、試驗設計及統計分析

試驗採完全逢機試驗 (completely randomized design, CRD) 之裂

區設計 (split-split plot design)。以不同萃取來源之茶多酚與不同濃度為主區 (main plot)，以貯存天數為裂區 (sub plot)。測定項目所得之數據利用 SAS 統計套裝軟體 (SAS, 2002) 做分析，並以一般線性模式程式 (GLM procedure) 進行不同處理間之差異性及相關性測定，並以最小平方平均值 (least -square mean) 測定法比較各處理組平均值之間差異顯著性。