

# 綠竹筍採收後木質化指標之研究

張 榮 如

## 摘要

為尋求快速檢測綠竹筍採收後木質化程度之差異，本研究以0.1% cotton blue 染色綠竹筍的組織及螢光顯微照相技術區分維管束部份木質化程度，可分為五群，其與用物性測定儀所測截切力有直接關係。截切力與化學分析法所測粗纖維含量之相關係數為 $r=0.89$ ，截切力與化學分析法所測木質素 lignin thioglycolic acid (LTGA) 之相關係數為 $r=0.74$ ，由於化學分析法分析手續較複雜且耗時，如改用物性測定儀所測截切力大小及螢光顯微鏡觀察，更可明瞭木質化程度的差異及組織木質化的位置。由此兩種技術的配合應用，即可快速區分綠竹筍木質化的程度，所以測截切力大小及維管束螢光反應的強度可作為木質化的指標。

關鍵字：木質化，螢光顯微觀察，物性測定儀，截切力，粗纖維，木質素(LTGA)。

## 前言

綠竹 (*Bambusa oldhami* Munro) 屬禾本科 (Gramineae) 單子葉多年生植物，堅韌直立，富有木質纖維，維管束散生在薄壁細胞組成的基本組織中。維管束是由韌皮部及木質部構成，外圍尚有纖維細胞，在發育過程中，纖維細胞及維管束細胞均有木質化現象，形成硬的木質纖維及管胞與導管等木質化的組織，使得竹子逐漸變得挺立<sup>(4,9,10,11,22)</sup>。

綠竹筍為綠竹的幼芽，組織幼嫩，竹筍由地下挖掘後，則極易受氧化的影響而褐化及纖維化，由於採收的綠竹筍在常溫下，數小時內很快就纖維化，因為維管束及其周圍的組織產生木質化，使得組織變硬，而影響吃的品質，所以能有快速測定木質化程度的方法，藉以瞭解纖維化程度，是研究竹筍品質者當務之急。測定纖維化程度的方法有下列數種：

1. 化學分析法，測量其纖維素含量，此方法必須將組織破壞後，以強酸及強鹼處理，將可溶的糖類、酚類及蛋白質、脂質等水解後，餘纖維素，再將其烘乾而定量<sup>(5,13,24)</sup>。
2. 物理方法，用物性測定儀 (rheometer) 或 shear press 測截切力大小，可相對比較纖維化程度<sup>(12,20,21,23,26,27)</sup>。
3. 解剖染色技術，用染色劑 phloroglucinol 與 HCl 可使木質素染成紅色<sup>(6,17,18)</sup>，因此可判斷纖維化組織之位置。
4. 用官能評級法 (organoleptic rating)<sup>(19)</sup>。
5. 螢光顯微照相術，張等<sup>(1,2,3)</sup> 以此技術測知蘆筍嫩莖老化的部位及老化細胞的“量”，以黑白片照相，即可明顯的區分纖維化程度。
6. 電子顯微鏡照相技術，可察出嫩莖老化過程，細胞之微細構造，細胞壁的增厚情形，葉綠體膜及部份粒腺體膜的破裂狀況<sup>(25)</sup>，此種技術在研究上是非常好而且屬於精密技術，但操作上較費時且成本較

高，若為快速觀測植物組織纖維化及木質化的部位，可從上述方法中尋求簡便且能與纖維化程度有相關性的方法，故本研究試以螢光顯微照相技術，訂定檢測方法，並測定纖維化與螢光反應之關係，供作日後快速檢查木質化程度之參考。

## 材料與方法

### 一、材料之取得與準備

綠竹筍採自台北縣五股鄉觀音山，採收後立即運回台大園藝系園產品處理研究室，清洗筍基部泥沙，稍乾後，每支筍由基部起橫切成1.5cm長一段，每支可切成三至四段，再取直徑1cm之瓶塞打孔器將每一段竹筍縱向打成圓柱形，將10支竹筍全部以此方法做成圓柱，每一塊圓柱塊分別進行以下之截切力及螢光顯微觀察。另外逢機取樣綠竹筍20支，每支筍由基部橫切為1.5cm一段，再以1cm縱切，每一部份再縱切為2cm，形成 $2 \times 1.5 \times 1$ cm的立方塊，每一塊分別進行截切力，粗纖維及木質素之分析。

### 二、截切力之測定

用物性測定儀（Fudoh rheometer NPN-202J-CW型），測截切力之大小，以承受力10kg之感應器，齒狀押棒，上下動之操作台，移動速度為6cm/min，測各個圓柱塊切斷之力，其後將截切力大小分為五群，小於0.50kg；0.51~0.80kg；0.81~1.20kg；1.21~1.6kg；大於1.6kg。

### 三、螢光顯微觀察：

用雙面刮鬍刀，將上述各群圓柱塊以徒手切片法，水平方向橫切，作成薄片，使漂浮在蒸餾水之玻璃皿中，再挑出適當厚度之薄片放於載玻片中，用0.1%之cotton blue染色劑（0.1% cotton blue溶於0.1N  $K_3PO_4$ 溶液）染色，10分鐘後將薄片夾出於蒸餾水中，洗去多餘的染色劑，再放於載玻片上，加蓋玻片，用螢光顯微鏡觀察並照相，木質化部位即顯出螢光。依其截切力大小與木質化螢光反應情形，列成圖表關係，便於作木質化程度之參考。

### 四、粗纖維含量測定

所作成之長×寬×高為 $2 \times 1.5 \times 1$ cm的立方塊，以物性測定儀，齒型押棒，垂直向下切1cm之切力，以kg表示之。測定截切力後之樣品，一半烘乾，磨粉，以測纖維素含量。另一半取約5g，用甲醇固定，作木質素定量用。纖維素含量之測定，以精秤0.5g粉末，置於分解裝置之燒杯中，加入1.25%硫酸溶液100ml，放在分解裝置之加熱板上，加熱三十分鐘後，用瓷板過濾篩之過濾杯，以減壓抽氣過濾，並用熱的去離子水連續沖洗，沖洗至洗液以石蕊試紙測試不再呈酸性反應為止。再用1.25%之氫氧化鈉溶液100ml，將濾杯中之殘渣逐步完全洗下來，置於燒杯中，加熱三十分鐘後，再用熱的去離子水連續沖洗至不再呈鹼性反應為止。最後用95%酒精20ml洗滌殘渣，將濾杯及殘渣一起放入烘箱，以130°C烘兩小時，取出置於玻璃乾燥器內，冷卻後稱重( $W_1$ )，再移至灰化爐，用500°C加熱兩小時灰化後，取出置於玻璃乾燥器內，冷卻後稱重( $W_2$ )，計算粗纖維含量= $(W_1 - W_2) / 樣品重(g) \times 100\%$ ，以%DW表示之。將所測截切力大小與纖維素含量求相關係數，並繪相關關係圖。

## 五、木質素含量測定

將前述甲醇固定的樣品，作木質素定量，木質素之定量係依據 *Doster et al.*<sup>(8)</sup> 之方法測定，將甲醇固定之樣品置 48 小時後，去除甲醇，加 5ml 2N HCl 含 Thioglycolic acid (TGA) 0.5ml，置於 95°C 水浴中作用 4 小時，以去離子水洗去酸，加 5ml 0.5N NaOH，於室溫作用 18 小時。將 NaOH 抽出液傾入 12ml 試管，加 1ml 濃 HCl，於 5°C 放置 4 小時，以 850g 離心，上層液倒掉，沉澱物用 0.5N NaOH 溶之，以光電比色計測 280nm 吸收值，所測物質為 Lignin thioglycolic acid (LTGA)，以純 LTGA 作標準曲線，作為濃度之比較依據，將所測截切力大小與木質素含量求相關係數，並繪相關關係圖。

## 六、統計分析

以直線迴歸分析法，求上述試驗測定值之直線迴歸，截切力與粗纖維含量的關係，截切力與木質素含量的關係。

# 結果與討論

## 一、綠竹筍嫩莖解剖

綠竹筍橫切之構造，維管束散佈在薄壁細胞組成的基本組織中，內側的維管束較大，外側者較小，維管束由厚角細胞，導管及篩管組成，如圖 1 維管束有兩個大的導管，是次生木質部 (metaxylem)，兩個導管間有一個小的木質部組織，是初生木質部 (protoxylem)，被一些未木質化的薄壁細胞環繞

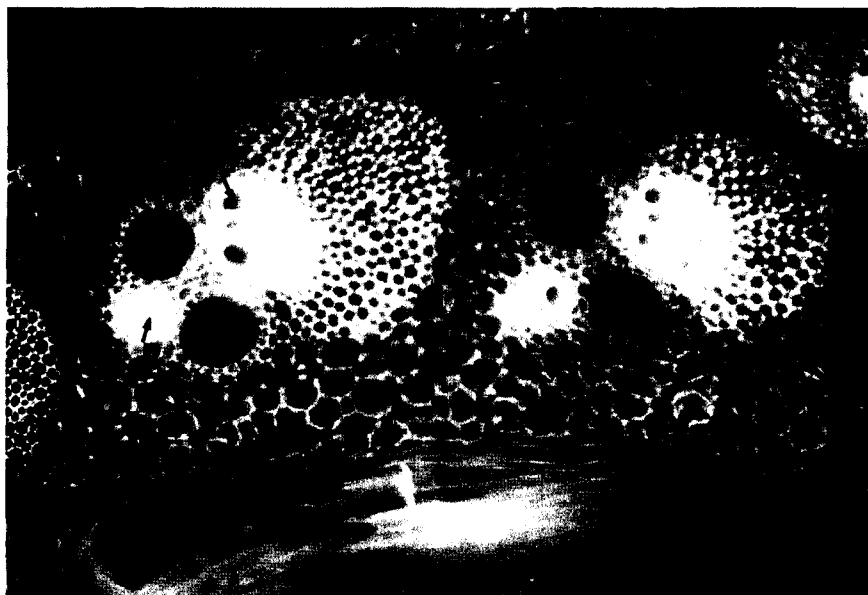


圖1. 綠竹筍維管束構造

Fig 1. The structure of vascular bundle for bamboo shoot.

p: 初生木質部 protoxylem    m: 次生木質部 metaxylem  
ph: 篩管 phloem    f: 纖維帶 fibre strand

著，據Grosser *et al.* (9) 報告，這些薄壁細胞一般都比基本組織的薄壁細胞來得小，並且細胞壁上有較多的孔，篩管(phloem)也是由較大且未木質化的薄壁細胞組成，常有伴細胞(companion cell)相連；據報告在成竹時導管和篩管，因為被膠狀物(gum-like substance)填充住而呈不通透性(9)。維管束的韌皮部和木質部周圍有維管束鞘組織，因竹筍的種類不同，此組織的形狀和大小也有不同，有的有四個維管束鞘，兩個在導管兩側，另兩個在導管及篩管的兩極端處，即一個在篩管旁邊，另一個在導管初生木質部旁邊。除此之外，大多數種類有纖維帶(fibre strands)，是厚角細胞組織，為具有固持作用的組織。由綠竹筍嫩莖之解剖構造，可以幫助吾人瞭解綠竹筍採收後逐漸老化而導致組織硬化的部位。同時由綠竹筍的維管束結構亦可以作分類上的依據。Grosser *et al.* (9) 則將12 屬竹子之節作解剖，由維管束結構區分為四群，可作為分類的參考基礎。

## 二、截切力大小與組織木質化螢光反應之關係

本試驗中以螢光顯微照相技術，分別觀察及測得截切力不同的五群綠竹筍組織，其組織木質化之螢光反應與組織硬度間之關係，列於圖2，在第1群中，顯示只有初生木質部有螢光反應，這是屬於最嫩的組織，其截切力小於0.5公斤，僅有初生木質部顯現有木質素形成，其餘組織均尚未出現木質化，故尚無螢光反應。在第2群中，顯示初生木質部及維管束鞘已有強烈的螢光反應，篩管周圍之維管束鞘亦開始有螢光反應，這是屬於截切力在0.5~0.8kg的組織，也是組織尚嫩，約在生長點下2~3cm之組織，木質化程度仍很低。在第3群中，顯示初生木質部及其周圍，韌皮部及其周圍組織已稍有木質化現象，次生木質部也開始有螢光反應出現，這是屬於截切力在0.81~1.2kg的組織，此部份組織仍然幼嫩，約在竹筍基部往上約4cm處之組織。在第4群，顯示初生木質部及韌皮部組織均已強烈的螢光反應，這是屬於截切力在1.2~1.6kg的組織，此部份組織已稍硬化，綠竹筍基部組織開始硬化時即均呈現此現象。在第5群中，顯示無論是木質部或韌皮部均有強烈的螢光反應，這

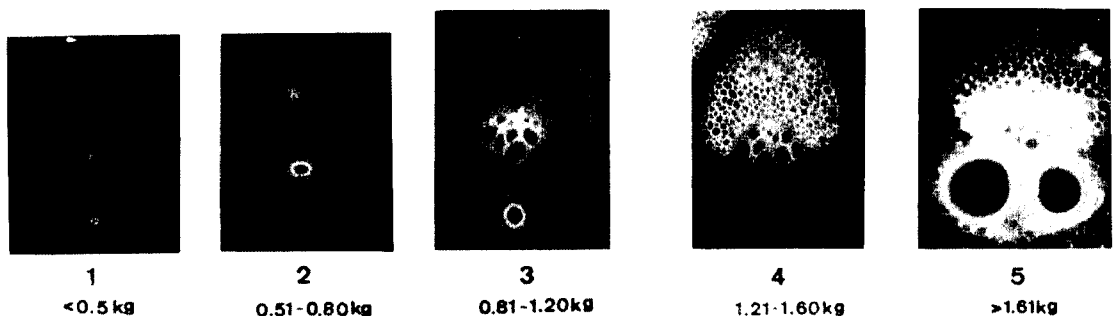


圖2. 綠竹筍組織木質化螢光反應與截切力大小之關係

Fig 2. The relationship between the response of fluorescent under fluorescent microscopy and the cut force measured by rheometer for bamboo shoot tissue.

是屬於截切力在大於1.6kg的組織，此部份組織已頗硬化。據本試驗調查，綠竹筍組織若以切成圓塊，即用打孔器，直徑1cm，切成長度1.5cm之圓塊者，作截切力測定時，在截切力大於1.6kg者，組織已屬硬化老化，必須切除約0.5cm厚的基部組織，才有可食性；而若以切成長2cm，寬1.5cm，高1cm之立方塊者，作截切力測定時，在截切力大於4kg者，組織才屬硬化及老化，也必須切除約0.5cm厚的基部組織，才能有商品價值。Chang<sup>(7)</sup>將白蘆筍貯藏於室溫四天後，以螢光顯微照相技術觀察，顯示細胞壁完全木質化反應，本試驗第5群的綠竹筍組織亦有此現象。表示綠竹筍木質化及老化程度，用此種徒手切片，再以0.1% cotton blue 染色，並依照本試驗方法，在螢光顯微鏡下觀察其螢光反應，可迅速判斷區別其螢光反應屬於那一群，即可區別其老化程度。

### 三、截切力大小與粗纖維含量之關係

以化學方法分析綠竹筍組織之粗纖維含量<sup>(14,15,16)</sup>，手續相當繁瑣，也頗為耗時，而用物性測定儀測截切力，僅須將測定物大小體積規範一定，則操作快速，本試驗中，同樣的組織先測截切力之後再測粗纖維含量，在逢機之樣品中，求其相關關係，得相關係數 $r=0.89$ ，足見綠竹筍組織中粗纖維含量與截切力大小有頗高的相關關係，據Joslyn<sup>(13)</sup>報告指出，以化學方法分析粗纖維含量的回收率約60~80%，所以在為相對比較綠竹筍纖維化及老化的程度，能以截切力大小來取代以化學分析粗纖維含量應該是具有代替性的，操作快速又方便，不必破壞組織，並且可以將測好截切力之後的綠竹筍組織再用來分析其他有關的生理或生化反應之項目。

### 四、截切力大小與木質素含量之關係

以化學方法分析綠竹筍組織之木質素含量，在加入TGA及作用期間，有極濃的味道，令人操作不適，各步驟操作手續也頗繁瑣，在定量時變異範圍也頗大，Joslyn<sup>(13)</sup>也曾提出lignin 在定量時，回收率變異範圍在4~67%，看來不甚穩定，所以用此方法定量lignin，在樣品數多時，頗值得考慮其他取代之方法。本試驗中，同樣的組織先測試截切力後再測木質素含量，在逢機之樣品中，求其相關關係，得相關係數 $r=0.74$ ，所以若為求綠竹筍纖維化及老化的程度的相對比較關係仍是考慮採用測試截切力的數值取代測木質素含量，仍舊可以說明老化程度之差異。

綠竹筍採收後木質化程度的表示方法雖然有很多種，各種方法測定步驟繁簡不同，代表的意義也不同，以化學分析方法可以測得粗纖維的含量或木質素的含量，然而操作步驟較繁瑣且費時，由上述試驗測得用物性測定儀測試截切力與粗纖維含量及木質素含量均有頗高的相關性，同時截切力大小與用螢光顯微照相技術觀察木質化螢光反應之差異，亦可將木質化程度分為五群。藉此兩種方法，可快速而簡便的觀察到組織木質化的分佈位置及組織硬化的程度。若為快速比較綠竹筍木質化的程度，以測試截切力及螢光顯微照相，應可作為木質化指標。

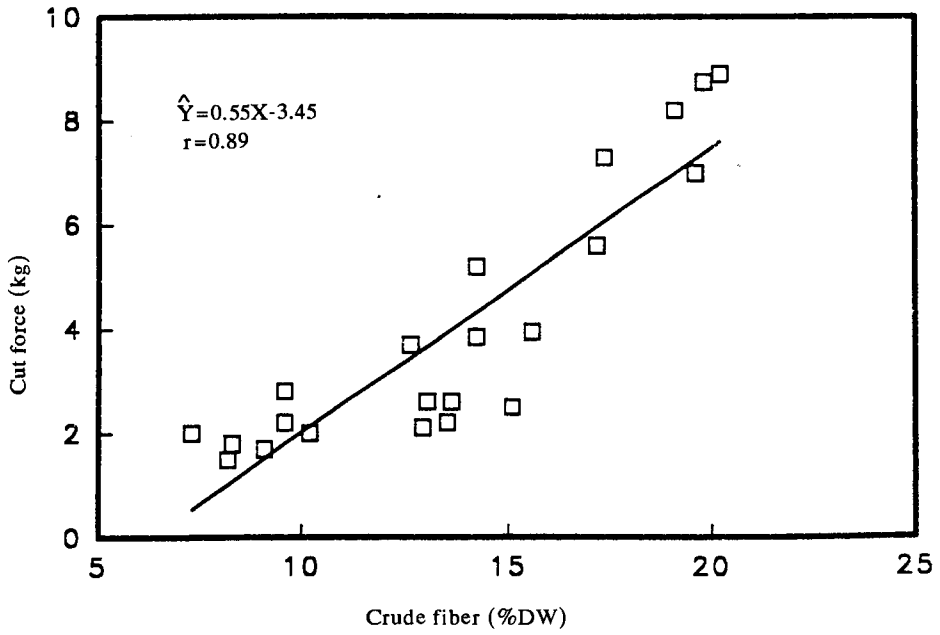


圖3. 綠竹筍粗纖維含量與物性測定儀測定值之相關關係  
Fig 3. The relationship of crude fiber content and cut force measured by rheometer for bamboo shoot.

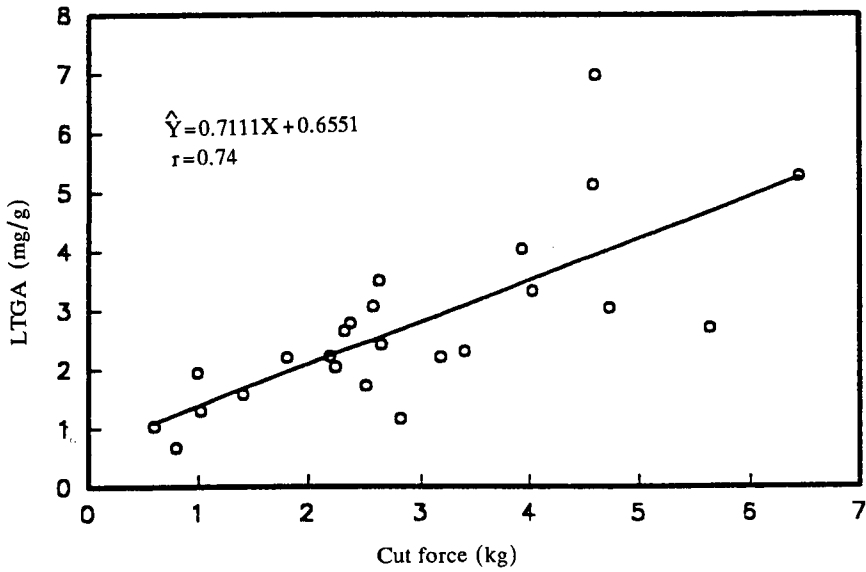


圖4. 綠竹筍木質素含量與物性測定儀測定值之相關關係。  
Fig 4. The relationship of lignin content and cut force measured by rheometer for bamboo shoot.

## 參考文獻

1. 張喜寧 1975 蘆筍嫩莖採收後的老化問題 中國園藝 21(4):171~181。
2. 張喜寧、韓小蓉 1975 Ethephon及2,4-D對白化蘆筍幼苗細胞分化之影響 中國園藝 21(1):5~13。
3. 張喜寧 1976 貯藏溫度對採收後蘆筍嫩莖細胞構造之影響—普通及電子顯微鏡之研究 中國園藝 22(1):17~25。
4. 劉必先 1987 竹的栽培與利用 五洲出版社 p.1~16。
5. AOAC 1984. Official Methods of analysis. The association of official analytical chemists. 4th edition. p.161~162. The association of official analytical chemists, Washington, D. C.
6. Bittings, D. G. 1917. Deterioration in asparagus. Bull. II. National Canners Association, San Francisco Calif.
7. Chang, Doris C. N. 1983. Fine structural changes of asparagus spear during storage. Acta Horticulture 138.
8. Doster, M. A. and R. M. Bostock. 1988. Quantification of lignin formation in Almond Bark in response to wounding and infect by phytophthora species. Phytopathology 78(4):473~477.
9. Grosser, D. and W. Liese. 1971. On the anatomy of asian bamboos, with special reference to their vascular bundles. Wood Sci. and Tech. 5:290-312.
10. Higuchi, T. 1966. Role of phenylalanine deaminase and tyrase in lignification of bamboo. Agric. Biol. Chem. 30:667~673.
11. Higuchi, T. 1982. Biosynthesis of lignin in plant carbohydrates II. p.194~224. In: W. Tanner and F. A. Loewus (eds.) Encyclopedia of plant physiology new series. Vol. 13B. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York.
12. Isherwood, F. A. 1955. Texture in fruits and vegetables. Food Mfg. 30:339.
13. Joslyn, M. A. 1970 Methods in Food Analysis. Academic Press, New York.
14. Kramer, A., R. C. Willey, B. A. Twigg, R. W. Decker, and A. P. Sidwell. 1960. The measurement of fibrousness of asparagus. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 76:382.
15. Kramer, A. and B. A. Twigg. 1970. Quality control for food industry vol. 1. AVI Publishing Co., Inc. Westport.
16. Lee, F. A. 1943. Determination of toughness of frozen asparagus. Food Res. 8:249.
17. Lewis, N. G. and E. Yamamoto. 1990. Lignin: occurrence, biogenesis and bio-degradation. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 41:455~496.
18. Lipton, W. J. 1957. Physiological changes in harvest asparagus as related to temperature of holding. PhD. Diss., Univ. of California, Berkely, Calif.
19. Lougheed, E. C. and D. H. Dewey. 1966. Factors affecting the tenderizing effect of modified atmospheres on asparagus spears during storage. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 89:336~345.
20. Mohsenin, N. N. 1970. Physical properties of plant and animal materials. Some basic concepts of Rheology. Gordon and brech science publishers, New York, London, Paris. p.88-173.
21. Norman G. L. and E. Yamamoto. 1990. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. Annu. Rev. Plant Physiol. 41:455~496.
22. Northcote, D. H. 1972. Chemistry of plant cell wall. Annu. Rev. Plant Physiol. 23:113.
23. Sharma, S. C. 1975. Evaluation of methods for measuring asparagus texture. J. of Food Sci. 40:1021~1024.
24. Smith, H. R. and A. Kramer. 1947. The fiber content of canned green asparagus. The Canner 104:14.

25. Watson, M. L. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metal. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4:475~478.
26. Werner, G., E. E. Meschter, H. Lacey, and A. Kramer. 1963. Use of shear press in determining fibrousness of raw and canned green asparagus. *Food Technol.* 15:81.
27. Wiley, R. C., N. Elhwany, A. Kramer, and F. J. Hager. 1956. The shear press-An instrument of measuring the quality of foods. 4. Application to asparagus. *Food Technol.* 8:439.



# Studies on a marker for the lignification of bamboo shoot

Tsan-ru Chang

## Summary

In order to test the different hardness of postharvested bamboo shoot (*Bambusa oldhami* Munro), the experiment was conducted to determine its lignification with fluorescent stain (0.1% cotton blue in 0.1N  $K_3PO_4$ ) and fluorescent microscopical observation for the vascular bundle. Five groups of lignification correlated with cut force (measured by rheometer) were categorized. There is a high correlation ( $r=0.89$ ) between the cut force and chemical analyzed crude fiber. The relationship between cut force and chemical analyzed lignin (LTGA, lignin thioglycolic acid) is also highly correlated ( $r=0.74$ ). Owing to the procedures for chemical analyze are very complicate and time consuming, the physical method instead of chemical one for measuring cut force and fluorescent microscopy to distinguish the difference of handness and location of lignification was found to be effective. It indicated that the techniques for measuring the cut force with rheometer and observing the response of fluorescent in vascular bundle could be as a marker for the lignification of bamboo shoot.

Key words : lignification, fluorescent microscopy, rheometer, cut force, crude fiber, ligninthioglycolic acid.