

# 接種 *Rhizopus oligosporus* 發酵之蒸煮黃豆與薏仁機能性成分之研究

李家銘、陳明造

E-mail: 321999@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

天貝 (tempeh) 為印尼的一種傳統發酵食品，一般以蒸煮黃豆接種 *Rhizopus oligosporus* 固態發酵而成，棉花狀菌絲的生長使黃豆結合成緻密糕狀，散發獨特香氣。本研究以蒸煮黃豆與薏仁為基質接種 *Rhizopus oligosporus*，發酵條件 37 °C、RH85 % 發酵 36 小時進行固態發酵，比較發酵前後之天貝的機能特性，包括水份、pH、天貝菌數、抗氧化能力、蛋白質的 SDS-PAGE 模式、胜? 戌 t 量、血管收縮轉化? “ 礮 蹠? ACEI) 及 GABA 含量，探討發酵前後營養價值之變化。結果顯示：經發酵後水分均會減少，菌數生長因 pH 值的變化與產品水份含量之減少而分別受到影響。清除 DPPH 自由基能力、還原力、亞鐵離子螯合能力等抗氧化特性隨著發酵後中均有明顯的提高，在發酵期間 *Rhizopus oligosporus* 代謝產物中，多糖與 GABA 含量均有增加。發酵之蒸煮黃豆與薏仁之血管收縮素轉化? “ 礮 疊 “ 吡 JACEI) 隨著胜? 戌 t 量增加而增加，其抑制 50% ACE 所需 ACE-I 濃度 (IC50)，濃度越低表示所需之量越少，因此活性即越高，IC50 隨著胜? 戌 t 量增加而增加，這表示其發酵後所增加之胜? 汝 礮 肆 CE 活性並不高。

關鍵詞： *Rhizopus oligosporus*、固態發酵、ACEI、抗氧化能力

## 目錄

封面內頁	簽名頁	授權書	iii	中文摘要	iv	英文摘要	v	誌謝	vi	目錄	vii	圖目錄	xi	表目錄	xiii	1.前言	1	2.文獻回顧	3	2.1黃豆	3	2.1.1 黃豆簡介	3	2.1.2 黃豆組成成分	4	2.1.3 黃豆之機能性	6	2.2 薏仁	11	2.2.1 薏仁簡介	11	2.2.2 薏仁組成成份	12	2.2.3 薏仁之機能性	13	2.3 天貝	18	2.3.1 天貝菌	18	2.3.2 天貝之簡介	20	2.3.3 天貝之機能性成份	20	3.材料與方法	23	3.1 實驗藥品與儀器	23	3.1.1 材料	23	3.1.2 藥品	24	3.1.3 儀器	24	3.2 實驗架構	25	3.3 試驗處理	26	3.3.1 <i>Rhizopus oligosporus</i> 發酵	26	3.4 一般成份分析	26	3.4.1 水份	26	3.4.2 <i>Rhizopus oligosporus</i> 菌數	27	3.4.3 pH值	27	3.5 機能性成份分析	28	3.5.1 抗氧化活性測定	28	3.5.1.1 甲醇萃取液制備	28	3.5.1.2 清除自由基能力測定	28	3.5.1.3 還原力測定	28	3.5.1.4 亞鐵離子螯合能力測定	29	3.5.2 多糖	29	3.5.2.1 多糖萃取液之製備	30	3.5.2.2 多糖測定	30	3.5.3 SDS-PAGE	31	3.5.4 可溶性蛋白測定	35	3.5.5 胜? 忒 妥? w	35	3.5.6 ACEI 活性	38	3.5.7 IC50	38	3.5.8 GABA	39	3.5.8.1 GABA 之萃取及衍生	39	3.5.8.2 GABA 濃度測定	39	3.5.8.3 GABA 之 HPLC 條件	41	3.6 統計分析	41	4.結果與討論	42	4.1 接種 <i>Rhizopus oligosporus</i> 發酵蒸煮黃豆與薏仁成份	43	4.1.1 發酵期間對蒸煮黃豆與薏仁中水分之變化	43	4.1.2 發酵期間對蒸煮黃豆與薏仁 pH 之變化	44	4.1.3 發酵蒸煮黃豆與薏仁 <i>Rhizopus oligosporus</i> 菌數之比較	46	4.2 抗氧化活性之分析	48	4.2.1 發酵蒸煮黃豆與薏仁之甲醇萃取物之清除 DPPH 自由基能力	48	4.2.2 發酵蒸煮黃豆與薏仁甲醇萃取物還原力之比較	52	4.2.3 發酵蒸煮黃豆與薏仁甲醇萃取物亞鐵離子螯合能力之比較	54	4.3 發酵蒸煮黃豆與薏仁機能性成份分析之比較	56	4.3.1 發酵蒸煮黃豆與薏仁多糖含量之比較	56	4.3.2 發酵蒸煮黃豆與薏仁中蛋白質之 SDS-PAGE 電泳分析圖譜	59	4.3.3 發酵蒸煮黃豆與薏仁 ACE-I 活性之效果	62	4.3.3.1 發酵蒸煮黃豆與薏仁可溶性蛋白之變化	62	4.3.3.2 發酵蒸煮黃豆與薏仁胜? 戌 t 量之變化	64	4.3.3.3 發酵蒸煮黃豆與薏仁萃取液 ACE-I 活性測定及 IC50	66	4.3.4 發酵蒸煮黃豆與薏仁之 GABA 含量比較	70	5.結論	75	參考文獻	77	圖目錄	圖 2.1 黃豆的組成成份	6	圖 2.2 大豆異黃酮化學結構	8	圖 2.3 雌激素 (Erogen) 化學結構	8	圖 2.4 薏苡種實之部位名稱	12	圖 2.5 傳統天貝之天貝製作法	19	圖 2.6 GABA 合成路徑	22	圖 3.1 葡萄糖標準曲線	30	圖 3.2 雙? 汝 邢 掃 u	37	圖 3.3 GABA 標準曲線	40	圖 4.1 發酵蒸煮黃豆與薏仁甲醇萃取物之清除 DPPH 自由 基能力之比較	51	圖 4.2 發酵蒸煮黃豆與薏仁甲醇萃取物之還原力之比較	53	圖 4.3 發酵蒸煮黃豆與薏仁甲醇萃取物之亞鐵離子螯合能力之比較	55	圖 4.4 發酵蒸煮黃豆蛋白質之 SDS-PAGE 電泳分析圖之比較	60	圖 4.5 發酵蒸煮薏仁蛋白質之 SDS-PAGE 電泳分析圖之比較	61	圖 4.6 發酵蒸煮黃豆與薏仁之胜? 戌 t 量與抑制 ACE 能力 關係	69	圖 4.7 GABA 標準品之 HPLC 分析圖譜	71	圖 4.8 蒸煮黃豆 0hr GABA 含量之 HPLC 分析圖譜	72	圖 4.9 蒸煮黃豆 36hr GABA 含量之 HPLC 分析圖譜	72	圖 4.10 蒸煮薏仁 0hr GABA 含量之 HPLC 分析圖譜	73	圖 4.11 蒸煮薏仁 36hr GABA 含量之 HPLC 分析圖譜	73	圖 4.12 發酵條件對蒸煮黃豆與薏仁之 GABA 含量比較	74	表目錄	表 2.1 胺基酸需要量和大豆產品的胺基酸組成	5	表 2.2 大豆生物活性物質的分類及作	10	表 2.3 薏仁不同產地之成分	14	表 2.4 薏仁中生理機能性成分含量	17	表 3.1 分離膠組成	32	表 3.2 排列膠組成	33	表 4.1 發酵蒸煮黃豆與薏仁水分含量之影響	43	表 4.2 發酵蒸煮黃豆與蒸煮薏仁 pH 之影響	45	表 4.3 發酵蒸煮黃豆與薏仁 <i>Rhizopus oligosporus</i> 菌數之比較	47	表 4.4 發酵黃豆與薏仁甲醇萃取率	50	表 4.5 發酵蒸煮黃豆與薏仁之多糖比較	58	表 4.6 發酵蒸煮黃豆與薏仁可溶性蛋白之影響	63	表 4.7 發酵蒸煮黃豆與薏仁胜? 戌 t 量之影響	65	表 4.8 發酵蒸煮黃豆與薏仁 ACE-I 活性之影響	68
------	-----	-----	-----	------	----	------	---	----	----	----	-----	-----	----	-----	------	------	---	--------	---	-------	---	------------	---	--------------	---	--------------	---	--------	----	------------	----	--------------	----	--------------	----	--------	----	-----------	----	-------------	----	----------------	----	---------	----	-------------	----	----------	----	----------	----	----------	----	----------	----	----------	----	--------------------------------------	----	------------	----	----------	----	--------------------------------------	----	-----------	----	-------------	----	---------------	----	-----------------	----	-------------------	----	---------------	----	--------------------	----	----------	----	------------------	----	--------------	----	----------------	----	---------------	----	-----------------	----	---------------	----	------------	----	------------	----	---------------------	----	-------------------	----	------------------------	----	----------	----	---------	----	------------------------------------------------	----	--------------------------	----	---------------------------	----	---------------------------------------------------	----	--------------	----	-------------------------------------	----	----------------------------	----	---------------------------------	----	-------------------------	----	------------------------	----	--------------------------------------	----	-----------------------------	----	---------------------------	----	------------------------------	----	---------------------------------------	----	----------------------------	----	------	----	------	----	-----	---------------	---	-----------------	---	-------------------------	---	-----------------	----	------------------	----	-----------------	----	---------------	----	------------------	----	-----------------	----	----------------------------------------	----	-----------------------------	----	----------------------------------	----	------------------------------------	----	------------------------------------	----	---------------------------------------	----	---------------------------	----	-----------------------------------	----	------------------------------------	----	------------------------------------	----	-------------------------------------	----	--------------------------------	----	-----	-------------------------	---	---------------------	----	-----------------	----	--------------------	----	-------------	----	-------------	----	------------------------	----	--------------------------	----	---------------------------------------------------	----	--------------------	----	----------------------	----	-------------------------	----	----------------------------	----	-----------------------------	----

參考文獻

1. 戶田靜男、谷澤久之、有地滋、湊野吉雄。1984。生藥 - 酸空氣酸化作用。醫學雜誌(日)。104: 394-397。
2. 王伯徽、陳啟楨、華傑。1998。食藥用菇類的培養與應用。財團法人食品工業發展研究所報告:第M87-019號, 187頁。
3. 王思涓。2002。薏苡籽實中特殊生理機能性成分的定量分析與比較。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。
4. 江文章、徐明麗、蘇瑞斌、龐飛。2000。薏仁加工食品輔助抑制腫瘤功效之評估。醫護科技學刊2:113-122。
5. 江文章、張子文。1991。薏苡的食療與加工利用、中國飲食文化學術研討專輯。中國飲食文化基金會。
6. 江文德。2000。大豆異黃酮類之機能與應用。食品市場資訊7: 5-8。
7. 江伯源、張心怡。2005。浸漬溫度對黃豆吸水特性及物性因子之影響。中華農學會報第六卷第三期: 257~266。
8. 江美昭。2003。酵素水解豬血漿中白蛋白已製備高血壓抑制性?式C東海大學食品科學研究所碩士論文。台中。
9. 余靜葭。2007。耐酸性納豆菌之納豆激? B基因選殖、表現與酵素活性分析。大葉大學生物產業科技學系大學專題。
10. 呂鋒洲。2002。發酵大豆抗癌新希望。P: 45-48。元氣齋出版社有限公司。台北。
11. 李微宣。2007。液態培養條件對舞菇(*Grifola frondosa*)菌絲體及多醣體生產的影響。東海大學食品科學系研究所碩士論文。台中。
12. 杜姿瑩。1999。糙薏仁降血脂作用之研究。國立臺灣大學食品技研究所碩士論文。台北。
13. 姜淑繡。2001。省產蘿蔔的抗氧化性研究。碩士論文。大葉大學食品工程學系研究所碩士論文。彰化。
14. 張南玲。1993。胃腸系統內 -胺基丁酸研究的進展。國外醫學:生理病理科學與臨床分冊。13:139-142。
15. 張啟霆。2007。培養基組成與液態培養條件對*Rhizopus oligosporus*發酵產物之理化性質的影響。大葉大學生物產業科技學系研究所碩士論文。彰化。
16. 張寶文。2004。食藥用菌培養技術圖解。P: 15-20。中國農業出版社。中國。
17. 細野明義。1990。牛乳發酵 機能性 向上。New Food Industry 32:51-64。
18. 郭靜娟。2001。薏苡籽實之抗氧化成分及其抑制自由基傷害之研究。國立臺灣大學食品科技研究所博士論文。台北。
19. 陳明造。2007。機能性食品。富林出版社。台中。
20. 陳俞伶。2005。發酵豆乳中活性胜?付坏芝?C國立臺灣海洋大學食品科學系研究所碩士論文。基隆。
21. 曾金木。1998。食物營養。躍昇文化事業有限公司。台北。
22. 曾美華。2004。不同培養條件對舞菇多醣生產之探討, 大葉大學生物產業科技學系研究所碩士論文。彰化。
23. 黃士禮、陳瑤峰、江文章。1994。省產薏苡籽實中氨基酸、脂肪酸和一般組成成分分析。食品科學。21: 67-74。
24. 黃羌維、陳由強。1987。薏苡營養成分和產地環境條件的關係。植物生理學通訊。4: 36-39。
25. 黃國書。2007。加工製程對組織化大豆蛋白內異黃酮類含量之影響。國立屏東科技大學食品科學系研究所碩士論文。
26. 楊莉君、蔡敬民。1998。薏苡對倉鼠血漿脂質的影響。食品科學。25:638-650。
27. 楊詠翔。1999。食品中抗高血壓胜?扛熊o展現礦石。食品工業, 31(1): 9-18。
28. 解放軍白求恩國際和平醫院研究室。1978。從132種中藥篩出25種有增強動物機體免疫能力的中藥。醫學資料彙編1:62-66。
29. 劉正才、蔣紅。2003。天然的薏仁健康法。P: 47-50。暖流出版社。
30. 劉伯康、陳惠英、顏國欽。(1999)數種傳統食用植物甲醇萃取物抗氧化性之研究。中國農業化學會誌, 37:105-116。
31. 劉伯康。1997。數種傳統食用植物抗氧化性之研究。國立中興大學食品科學系研究所碩士論文。台中。
32. 劉?X睿, 林慶文。2002。黃豆脂能活性。科學農業。50: 194-201。
33. 劉伯康、陳惠英、顏國欽。1999。數種傳統食用植物甲醇萃取物抗氧化性之研究。中國農業化學會誌。37: 105-116。
34. 蔡孟貞。2001。大豆蛋白之凝膠機制。食品工業月刊。33:32-38。
35. 鄭心怡。1993。磷脂質與健康。名望出版社。台北。
36. 蘇正德。1992。果實種子類中藥之抗氧化性及生育醇含量之調查研究。食品科學。19: 12-24。
37. 蘇宗振, 陳銓燦, 張永欣。2003。台灣大豆及其加工產業之研究。科學農業51: 1-11。
38. 蘇宗振。2003。台灣薏苡種原農藝性狀變異及利用RAPD鑑別與親緣關係之研究。博士論文。國立中興大學農藝學系。台中。
39. 蘇珮琪。1996。薏仁對高脂症和糖尿病病患血漿脂質和血糖的影響。私立輔仁大學食品營養研究所碩士論文。台北。
40. Akoi, M., and N. Tuzihara. 1984. Effects of the hatomugi (*Coixlachryma-jobi* L. var. ma-yuen) on the blood pressure, cholesterol absorption and serum lipids level. *Kaseigaku Zasshi* 35: 89-96.
41. Bernard, F. G. Alexandre, Z. Robert, M. and Catherine, M. 2004. Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolylate and soy-fermented food. *Food Research Int.* 37: 123-131.
42. Breslaw, E. S., and D. H. Kleyn. 1973. In vitro digestibility of protein in yo- gurt at various stages of processing. *J. Food Sci.* 59:1016-1021.
43. Church, F. C., Swaisgood, H. E., Porter, D. H., and Catignani, G. L. 198- 3. Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal of Dairy Science*. 66: 1219-1227.
44. Dibois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Reber, P. A. and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chem.* 28: 350-356.
45. Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. and Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-amino salicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.* 315: 161-169.
46. Feng, X. M., Anders R. B. Eriksson, Johan Sahnurer. 2005. Growth of lactic acid bacteria and *Rhizopus oligosporus* during barley tempeh fermentation. *International J. Food Micro.* 104: 249-256.
47. Feng, J. and Y. L. Xiong. 2002. Interaction of myofibrillar and preheated soy protein. *J. Food Sci.* 67: 2851-2856.
48. Harlow, E. and Lane, D. 1988. Antibodies. p.636-69, p.685. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA.
49. Hesslite, C. W., Smith, M., Bradle, R. and Djien, K. S. 1963. Investigations of tem- peh an Indonesian food. *Dev. Ind. Microbiol.* 4:275-287.
50. Hideo, E. Hiromichi, O. Shunro, K. and Toshihiko, O. 1999. New antioxidant isolated from Tempeh. *J. Agric. Food Chem* 44: 696-700.
51. Hollenberg, M. D., 1994. Tyrosine kinase pathways and the regulation of smooth muscle contractility. *Trends in Pharmacological Sciences* 15: 108- 114.
52. Hsin, Lee., Yu-Hsiang, Hung., Cheng-Chun, Chou. 2007. Solid-state fermentation with fungi to enhance the antioxidative, total phenolic and anthocyanin contents of black bean. *Food science.* 35: 89-96.
53. Ko, S. D. and Hesseltine, C. W. 1974. Tempe and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Am Diet Assoc.* 99: 213-218.
54. Kon, S. 1979. Effect of soaking temperature on cooking and nutritional quality of beans. *J. Food Sci.*, 44: 1329-1334 1340.
55. Krbicek, C. P., Hample, W. and Rohr, M. 1979. Manganese deficiency leads to elevated amino acid pools in citric acid accumulating *Aspergillus niger*. *Arch. Microbiol.* 123: 73-79.
56. Ronenberg, H. J. 1984. Reduction of incubation time for tempeh fermentation by use of pregerminated inoculum. *Econ. Bot.* 38: 433-438.
57. Messina, M. J., Messina, V., and Setchell, K. D. R. 1994. *The Simple Soybean and Your Healthy*. Avery Publishing Group, New York.
58. Mora-Escobedo, R., Paredes-Lopez, o., & Gutierrez-Lopez, G. F. 1994. Effect of germination on the rheological and functional properties of amaranth seeds. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 24:241-246.
59. Murphy, C. T., Kellie, S., Westwick, J., 1993. Tyrosine - kinase activity in rabbit platelets stimulated with platelet-activating factor. *European*

Journal of Biochemistry 216: 639-651. 60.Nakamura, Y., N.Yamamoto. K. Sakai. A. Okubo, S. Yamazaki, and T.Taka- no. 1995. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme. J. Dairy Sci. 78: 1253-1257. 61.Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, S., and Takano, T. 1995. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme. Journal of Dairy Science. 78: 1253-1257. 62.Oyaizu, M.1986. Studies on products of browning reaction:Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn. J. Nutri. 44: 307. 63.Paola I. Angulo-Bejarano, 2007. Tempeh flour from chickpea (*Cicerarietlnu m L.*)nutritional and physicochemical properties. Food chemistry.10 6:106-112 64.Park Y, Suzuki H., Lee YS, Hayakawa S and Wada S. 1988. Effect of coix on plasma, liver, and fecal lipid components in the rat fed on lard orsoybean oil cholesterol diet. Biochem Med Metab Biol. 39: 11-17. 65.Pratt DE, Birac PM. 1979. Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. J Food Sci 44: 1720-1723. 66.Ramire-Suarez, J. C. and Y. L. Xiong. 2002. Transglutaminase cross-linking ofwhey /myofibrillar proteins and the effect on protein gelation. J. Food Sci.67: 2885-2891. 67.Ramos, R. R., F. Alarcon-Aguilar, A. Lara-Lemus, and L.Flores-Saenz.1992. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics.Arch. Med. Res. 23: 59-64. 68.Sarker,P.K.,Jones,L.J.,Craven,G. S., Somerset, S. M. andPalmer, C.1997. Amino acid profiles of Kinema, a soybean-fermented food. Food Chem. 59 : 69-75. 69.Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. 1992.Antioxidative properties of xanthane on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J. Agric. Food Chem. 40:945. 70.Steinkraus , K.H. , van , Buren , J.P. , Providenti , M.J.and Hand , D. B.196- 0.Studies on tempeh-an Indonesian fermented soybean food.Food Res.25 : 777-788. 71.Takahashi, M., C. Konno, and H. Hikino. 1986. Isolation and hypoglycemic activity of coixan A, B, C, glycans of Coix lacryma-jobi var.ma-yuen seed. Planta Med. 52: 64-65. 72.Tamura , Y. and Takenawa , T.1999.Antioxidative activeity of water soluble extracts from okara fermented with Bacillus natto and Rhizopus oligosp- orus.Nippon Shokuhin Kogyo Gakaisi.46 : 561-569. 73.Valeria Rossetti and Anna Lombard. 1996. Determination of glutamate decarboxylase by high-performance liquid chromatography. Chromat- o.B.681 : 63-67. 74.Wolf,W.J.,F.L.Baker,and K.L.Bernard.1981. Soybean seed-coat structured features : pits,deposits and cracks.Scanning Electron Microscopy.3 : 531. 75.Wright, S. M., and Salter, A. M. 1998. Effect of soy protein on plasma cholesterol and bile acid excretion in hamsters. Comparative Biochemistry and Physiology. 119B: 247-254.