

# 「加值化農產品產銷及物流技術，運籌亞太潛力市場」研討會

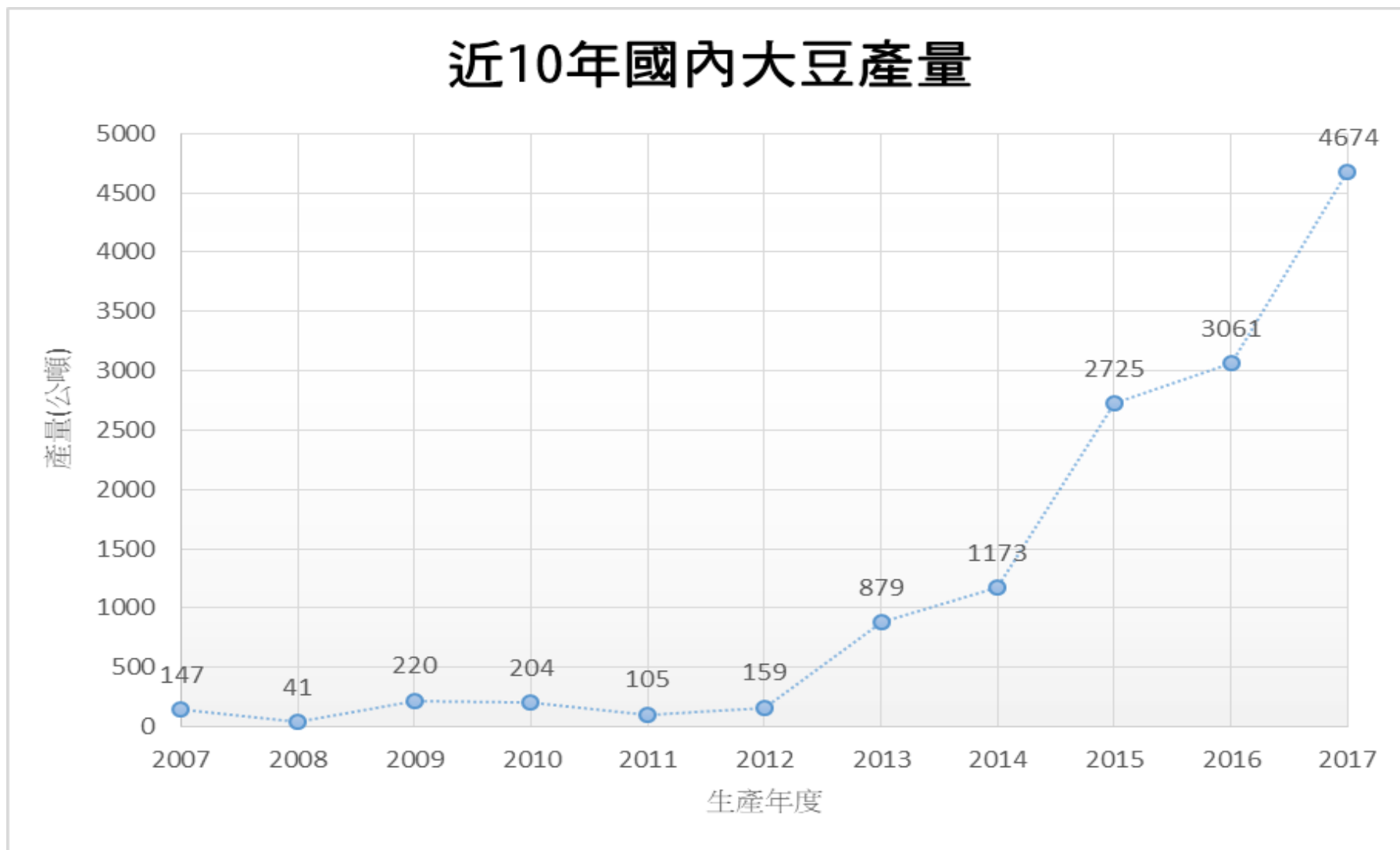
建構國產黑豆加工品品質指標及產品開發

美和科技大學

計畫主持人：翁順祥

報告者：林昀生

台灣每年從國外進口約250萬公噸的大豆(公噸)

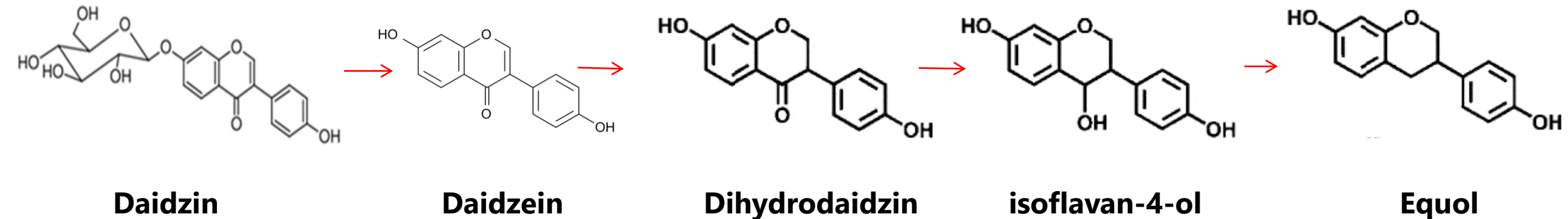



# 問題分析

1. 台灣每年從國外進口約250萬公噸的大豆，而台灣大豆栽培面積僅3,188公頃，年產量約4,674公噸，其中約五成為黑豆，台灣生產的大豆相較進口數量差距甚大。
2. 進口豆類由於船運倉儲時間長，內含活性成分亦可能會遞減，新鮮度不如國產地銷之黑豆，我國黑豆的種植面積仍較小，如何建立國產與進口黑豆之差異性，用食品加工技術來增進黑豆行銷市場。
3. 國內為了啟動大糧倉計畫、鼓勵農友稻田轉作大豆並輔導產銷契作。近年更導入產銷履歷驗證，農民契作的黑豆具規格化，品質均一穩定，不因進口地區不同導致品質落差大，且國產大豆均為非基因改造，可降低消費者疑慮，可強化本土雜糧之優勢，讓所生產的黑豆產銷資訊透明化，透過加工創造多元價值，增進國產黑豆之再利用性。

1. 根據過去文獻，異黃酮在大豆胚芽中含量比未發芽之大豆為高，是子葉中含量的6-10倍。目前已分離得到和鑑定的大豆異黃酮共12種，包括游離型苷和結合型糖苷兩大類。以游離形式存在的大豆異黃酮主要包括大豆異黃酮苷素(daidzein)、金雀異黃酮苷素(genistein)和黃豆黃苷素(glycitein)；結合型糖苷包括大豆異黃酮苷、金雀異黃酮苷和黃豆黃苷。

2. 豆類透過腸道菌群中的 $\beta$ -glucosidase水解，形成去糖基形式異黃酮之後，才具有生物活性，並被小腸絨毛吸收後進入血液中，直接運送到肝臟，少量如daidzin經腸道微生物將轉化為daidzein，再經由另一群腸道微生物轉化為分子更小的雌馬酚(equol)。由於equol之立體結構趨近於雌激素，其具有17 $\beta$ -estradiol活性的一半。



- 
3. 1986年美國科學家首先發現大豆中的異黃酮具有抑制癌細胞生長的作用，1990年大豆異黃酮被確定為具有抗癌效果的最佳天然物質，尤其對女性乳腺癌和男性前列腺癌具有很好的預防和治療作用，此後又證實，大豆異黃酮具有減輕更年期不適症、減少骨質流失和降低心腦血管發病率等功效。黑豆中含量最高的genistein及daidzein已有多項研究證實，具有抗發炎、降低胰島素抗性、抑制癌細胞的生長、血膽固醇，降低某些激素相關癌症和心臟病的風險，特別是對於降低中年婦女罹患乳腺癌的風險。

# 計畫摘要

透過科學方法，將黑豆發芽後，進行萃取分離，以6種大豆異黃酮成分為大豆特有之指標成分，透過HPLC定性定量其含量，探究其未發芽黑豆與發芽後之異黃酮指標成分含量(苷元和糖苷)，確定發芽黑豆何時具有較高之營養成分，並將該類具有人體生理活性及保健之物質，以低破壞的食品加工方式製作成加工品(如發芽黑豆豆漿)，提供加工業者制定產品內含活性成分分析與有效期限之參考依據，未來將採用具產銷履歷的國產發芽黑豆為原料，開發以機能性為需求之多元化加工品，以提升國產黑豆之商業價值。



# 計畫執行情形概述：

近年來研究表明異黃酮苷元比異黃酮糖苷更容易被人體吸收，過去研究大豆在發芽過程中 $\beta$ -葡萄糖酶( $\beta$ -glucosidase)被激活，會將異黃酮糖苷上的葡萄糖去除形成苷元，進而增加大豆異黃酮的生理活性，即苷元式異黃酮比其糖苷式異黃酮具有更高的生物利用率。本季主要針對：**1. 台灣本土黃仁黑豆、2. 台灣本土青仁黑豆、3. 進口1年黃仁黑豆、4. 進口1年青仁黑豆、5. 進口2年黃仁黑豆、6. 進口2年青仁黑豆、7. 進口3年黃仁黑豆、8. 進口3年青仁。**針對八組黑豆進行發芽前和發芽後兩天之內含6種異黃酮指標成分之分析，其中包含異黃酮苷元：1. 大豆異黃酮苷素(daidzein)、2. 金雀異黃酮苷素(genistein)、3. 黃豆黃苷素(glycitein)和異黃酮糖苷：1. 大豆異黃酮苷(daidzin)、2. 金雀異黃酮苷(genistin)、3. 黃豆黃苷(glycitin)之含量分析。探究黑豆發芽前後之苷元與糖苷之含量增減。

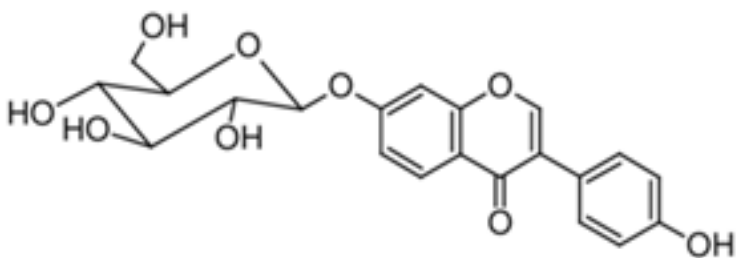
# 研究方法

收集國產黑豆(黃仁、青仁)與進口1-3年之黑豆(黃仁、青仁)，比較其發芽率，並依發芽天數為批次，針對發芽前後之黑豆，進行指標性成分定性定量。

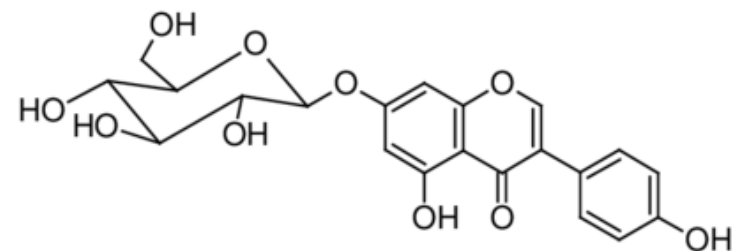


1. 萃取、過濾、減壓濃縮
2. 高效液相層析儀(HPLC)分析

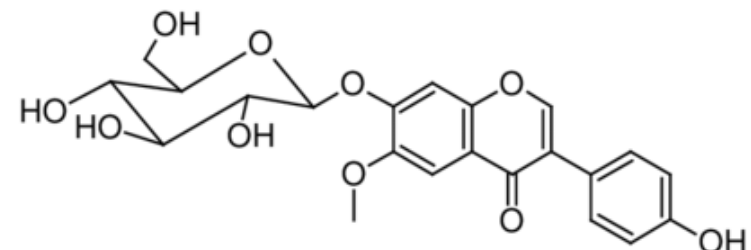
1. 大豆異黃酮苷(daidzin)
2. 金雀異黃酮苷(genistin)
3. 黃豆黃苷(glycitin)
4. 大豆異黃酮苷素(daidzein)
5. 金雀異黃酮苷素(genistein)
6. 黃豆黃苷素(glycitein)



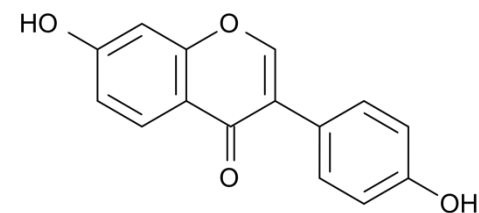
Daidzin



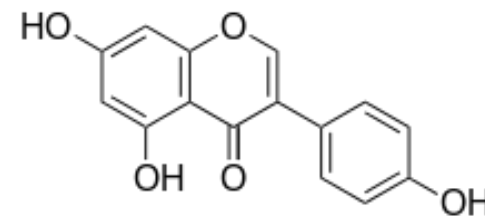
Genistin



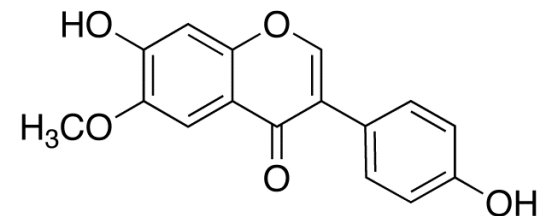
Glycitin



daidzein



genistein



glycitein



# 進行國產黑豆與進口1-3年之黑豆進行發芽測試



台灣黃仁黑豆未發芽



台灣青仁黑豆未發芽



進口1年黃仁黑豆未發芽



進口1年青仁黑豆未發芽



台灣黃仁黑豆發芽兩天



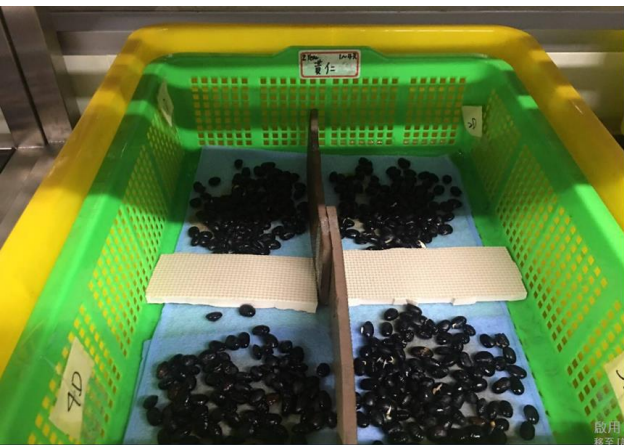
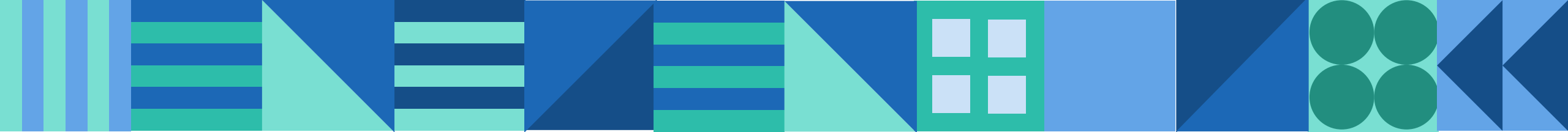
台灣青仁黑豆發芽兩天



進口1年黃仁黑豆發芽兩天



進口1年青仁黑豆發芽兩天



進口2年黃仁黑豆未發芽



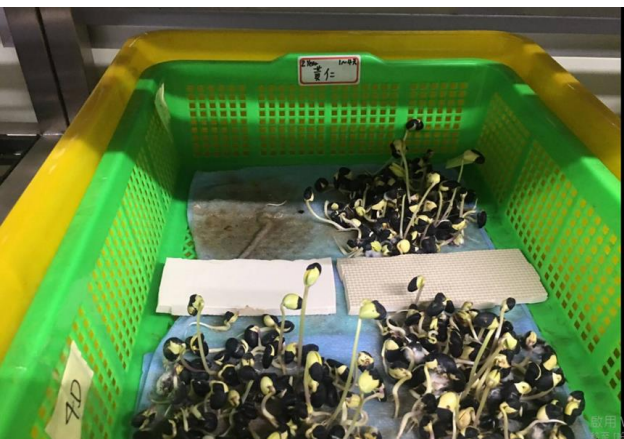
進口2年青仁黑豆未發芽



進口3年黃仁黑豆未發芽



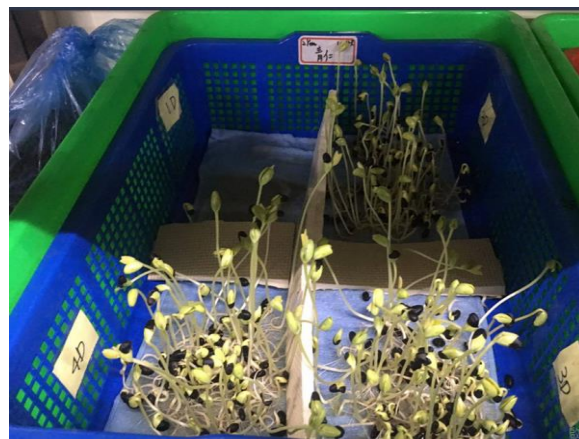
進口3年青仁黑豆未發芽



進口2年黃仁黑豆發芽兩天



進口2年青仁黑豆發芽兩天

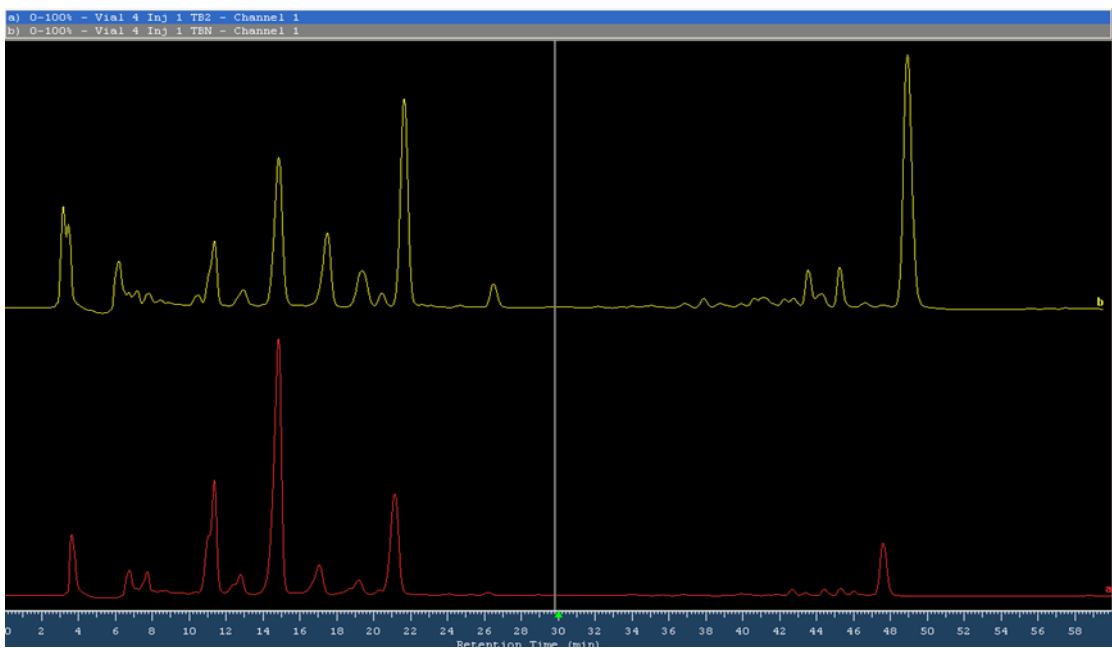


進口3年黃仁黑豆發芽兩天

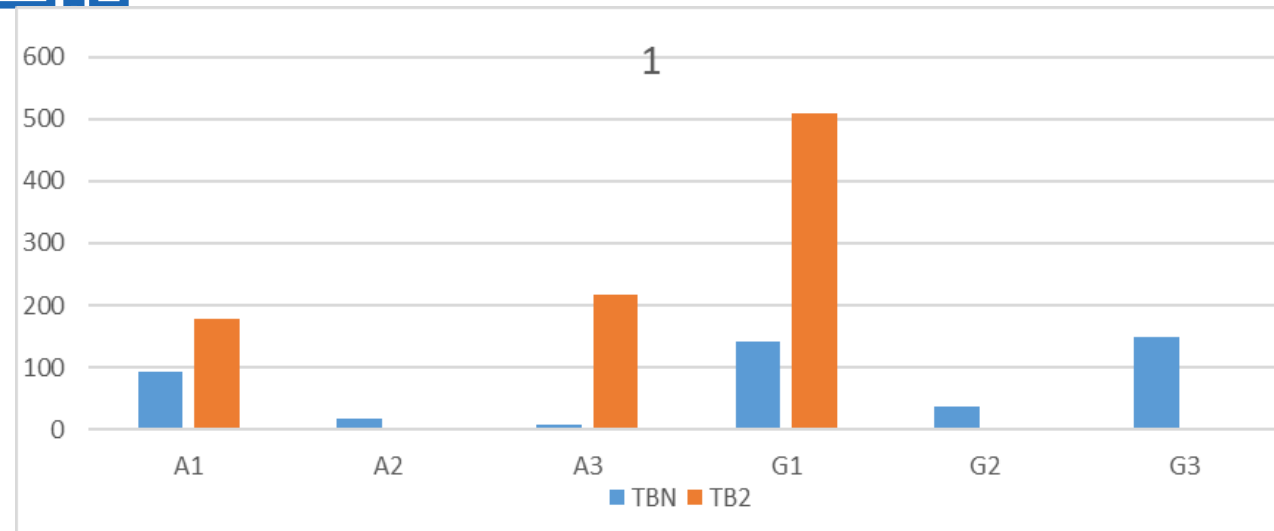


進口3年青仁黑豆發芽兩天

# 國產黃仁黑豆發芽前後HPLC成分分析圖譜



上:國產黃仁黑豆未發芽 下:國產黃仁黑豆發芽兩天



TBN: 國產黃仁黑豆未發芽(藍) TB2: 國產黃仁黑豆發芽兩天(黃)

## 實驗分析:

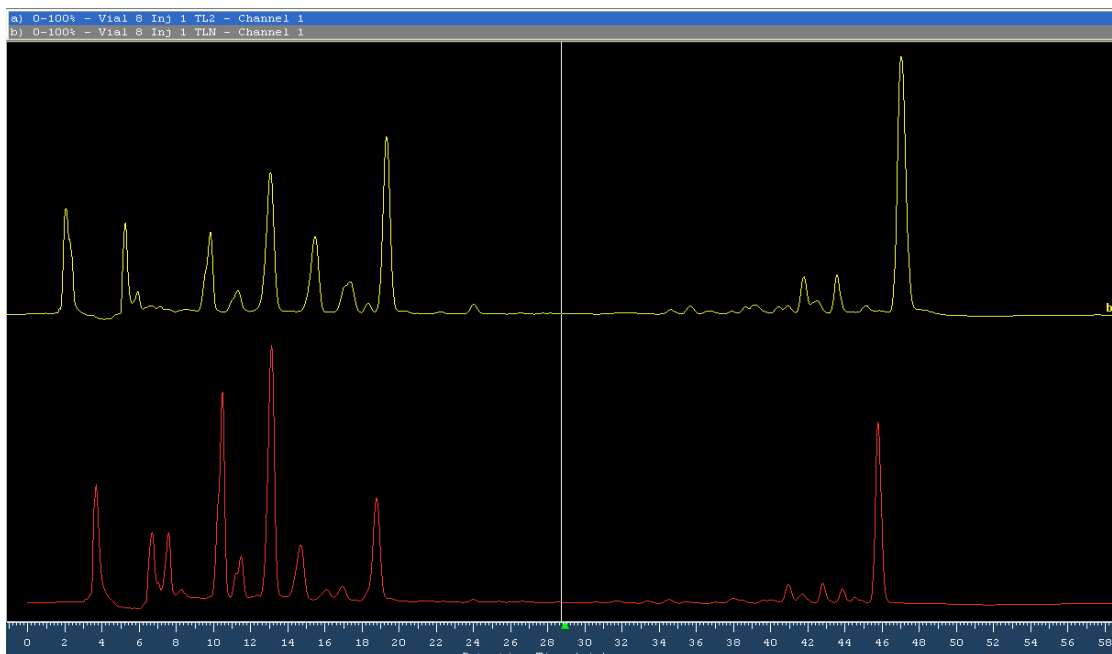
### 異黃酮苷元:

- A1. 大豆異黃酮苷素(daidzein) 發芽後**增加**
- A2. 金雀異黃酮苷素(genistein) 發芽後**減少**
- A3. 黃豆黃苷素(glycitein) 發芽後**增加**

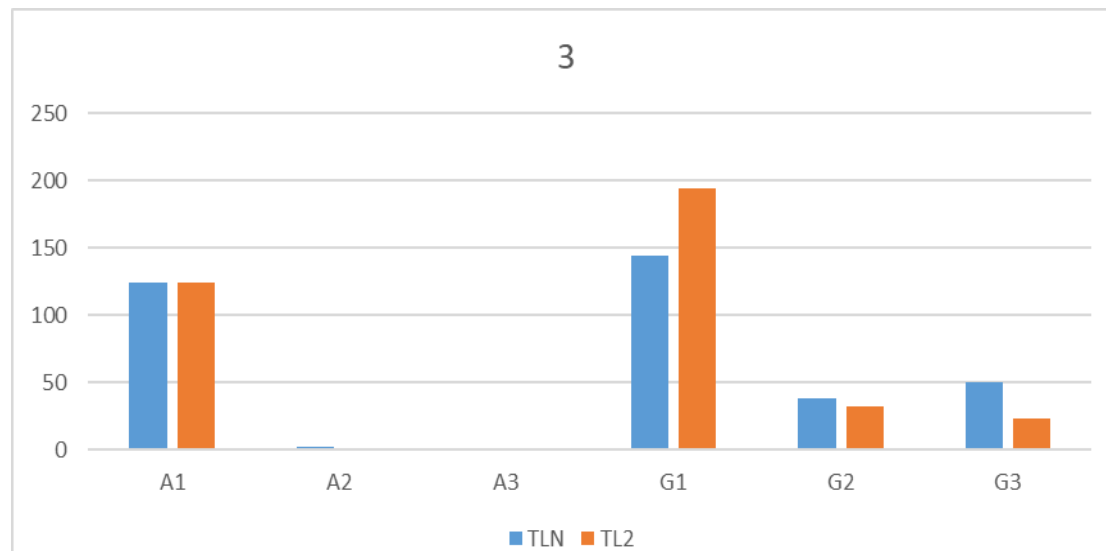
### 異黃酮糖苷:

- G1. 大豆異黃酮苷(daidzin) 發芽後**增加**
- G2. 金雀異黃酮苷(genistin) 發芽後**減少**
- G3. 黃豆黃苷(glycitin) 發芽後**減少**

# 國產青仁黑豆發芽前後HPLC成分分析圖譜



上:國產青仁黑豆未發芽 下:國產青仁黑豆發芽兩天



TLN: 國產青仁黑豆未發芽(藍) TL2: 國產青仁黑豆發芽兩天(黃)

實驗分析:

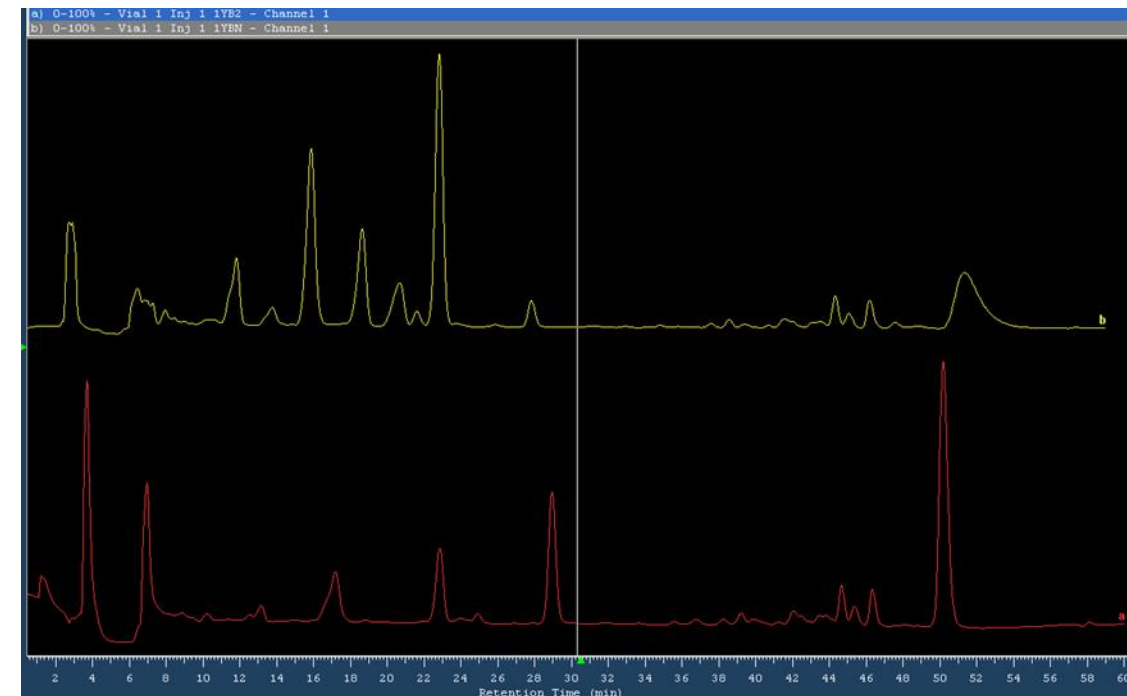
異黃酮苷元:

- A1. 大豆異黃酮苷素(daidzein) 發芽前後差異性不高
- A2. 金雀異黃酮苷素(genistein) 發芽後減少
- A3. 黃豆黃苷素(glycitein) 發芽前後差異性不高

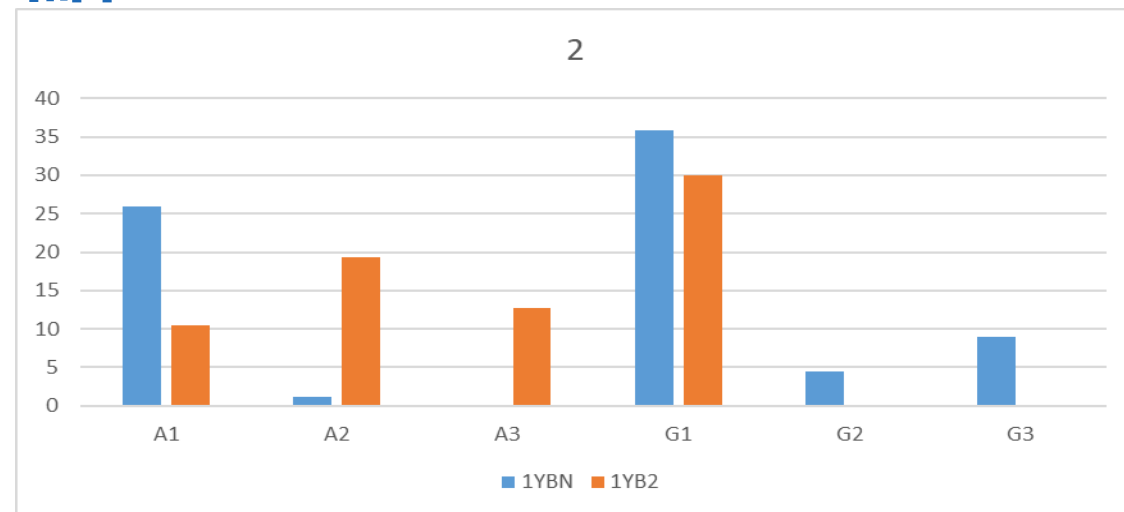
異黃酮糖苷:

- G1. 大豆異黃酮苷(daidzin) 發芽後增加
- G2. 金雀異黃酮苷(genistin) 發芽後減少
- G3. 黃豆黃苷(glycitin) 發芽後減少

# 進口一年黃仁黑豆發芽前後HPLC成分分析圖譜



上: 進口一年黃仁未發芽 下: 進口一年黃仁黑豆發芽兩天



進口一年黃仁黑豆未發芽(藍) 1YB2: 進口一年黃仁黑豆發芽兩天(黃)

## 實驗分析:

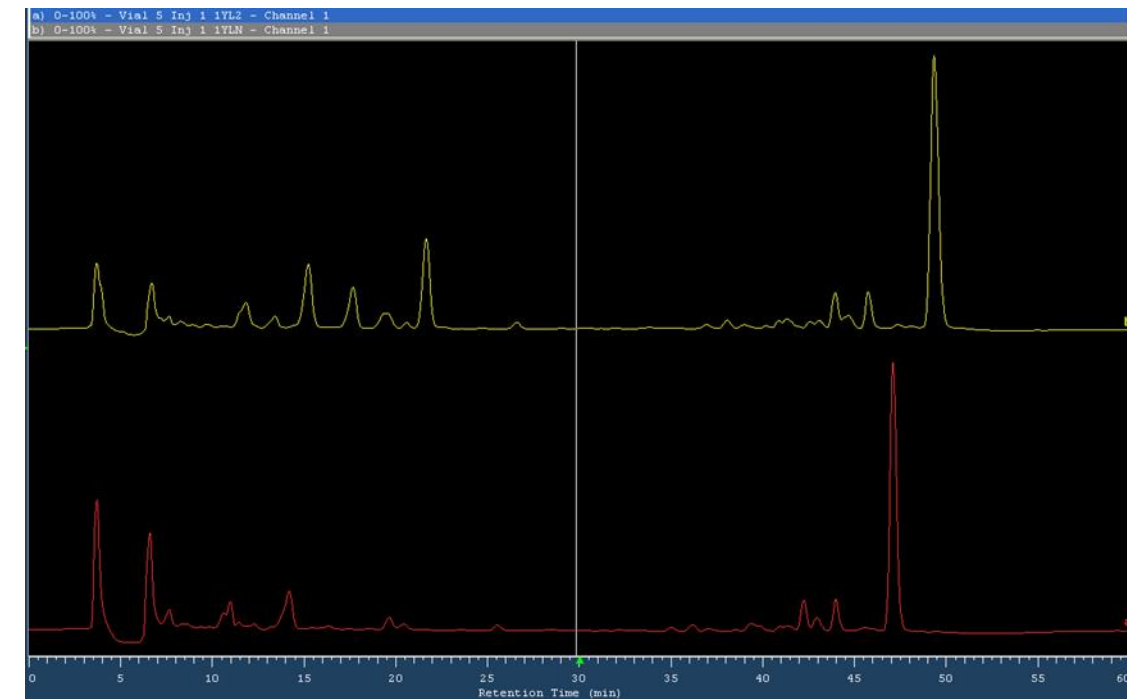
### 異黃酮苷元:

- A1. 大豆異黃酮苷素(daidzein) 發芽後減少
- A2. 金雀異黃酮苷素(genistein) 發芽後增加
- A3. 黃豆黃苷素(glycitein) 發芽後增加

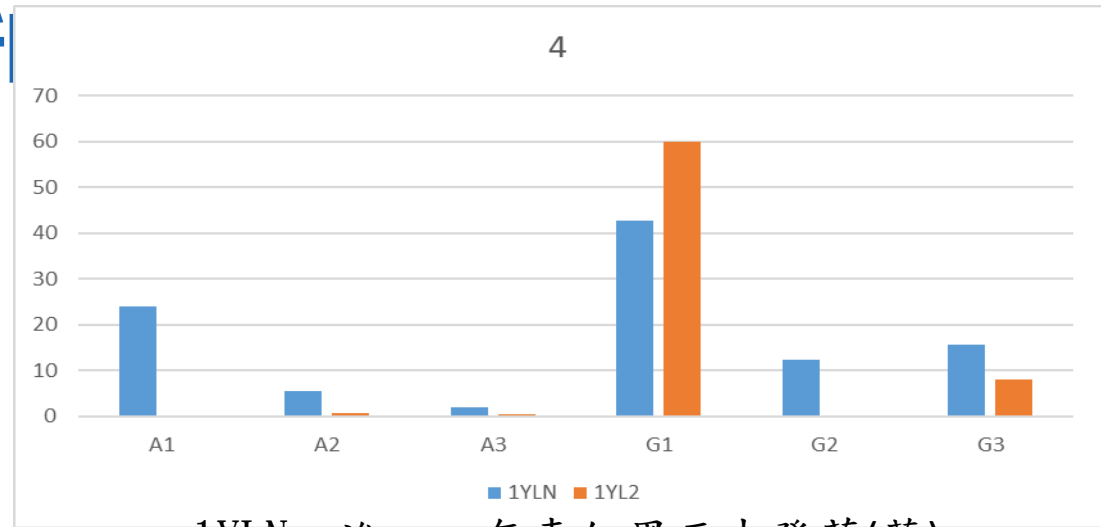
### 異黃酮糖苷:

- G1. 大豆異黃酮苷(daidzin) 發芽後減少
- G2. 金雀異黃酮苷(genistin) 發芽後減少
- G3. 黃豆黃苷(glycitin) 發芽後減少

# 進口一年青仁黑豆發芽前後HPLC成分分析



上: 進口一年青仁未發芽 下: 進口一年青仁黑豆發芽兩天



1YLN: 進口一年青仁黑豆未發芽(藍)  
1YL2: 進口一年青仁黑豆發芽兩天(黃)

## 實驗分析:

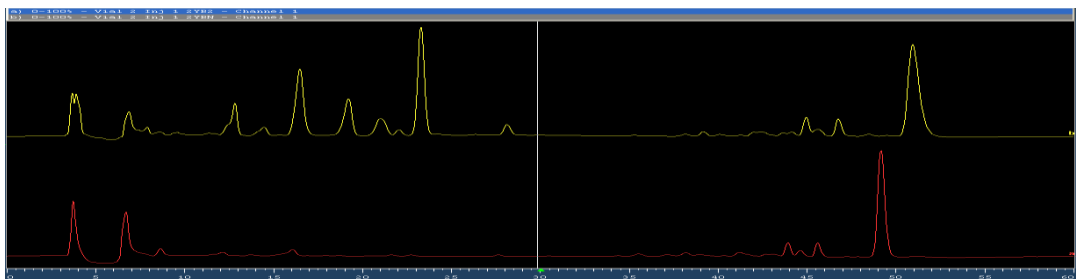
### 異黃酮苷元:

- A1. 大豆異黃酮苷素(daidzein) 發芽後減少
- A2. 金雀異黃酮苷素(genistein) 發芽後減少
- A3. 黃豆黃苷素(glycitein) 發芽後減少

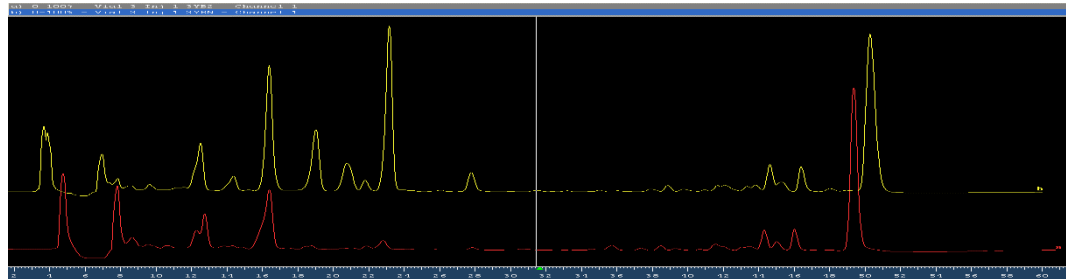
### 異黃酮糖苷:

- G1. 大豆異黃酮苷(daidzin) 發芽後增加
- G2. 金雀異黃酮苷(genistin) 發芽後減少
- G3. 黃豆黃苷(glycitin) 發芽後減少

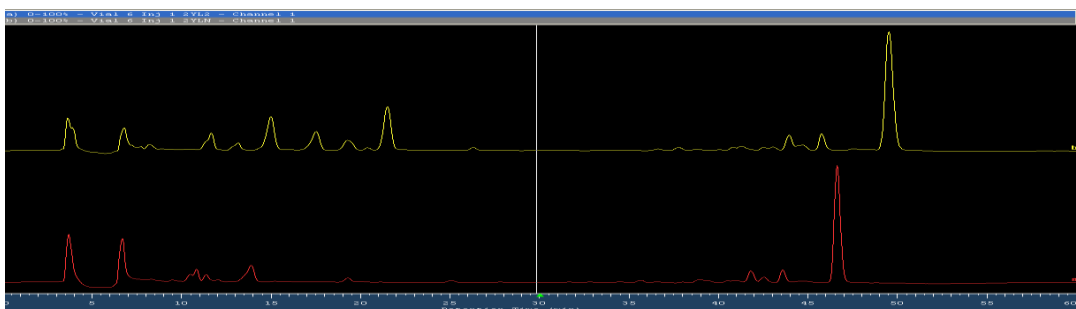
## 進口二、三年黃仁青仁發芽前後HPLC成分分析圖譜



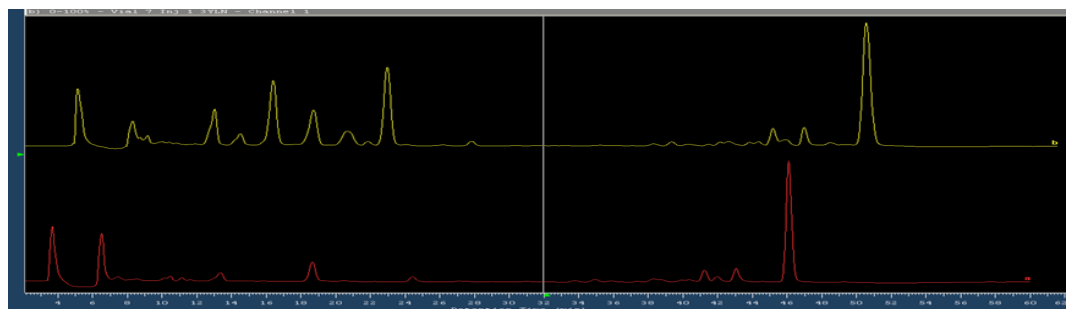
上: 進口二年黃仁未發芽  
下: 進口二年黃仁黑豆發芽兩天



上: 進口三年黃仁未發芽  
下: 進口三年黃仁黑豆發芽兩天



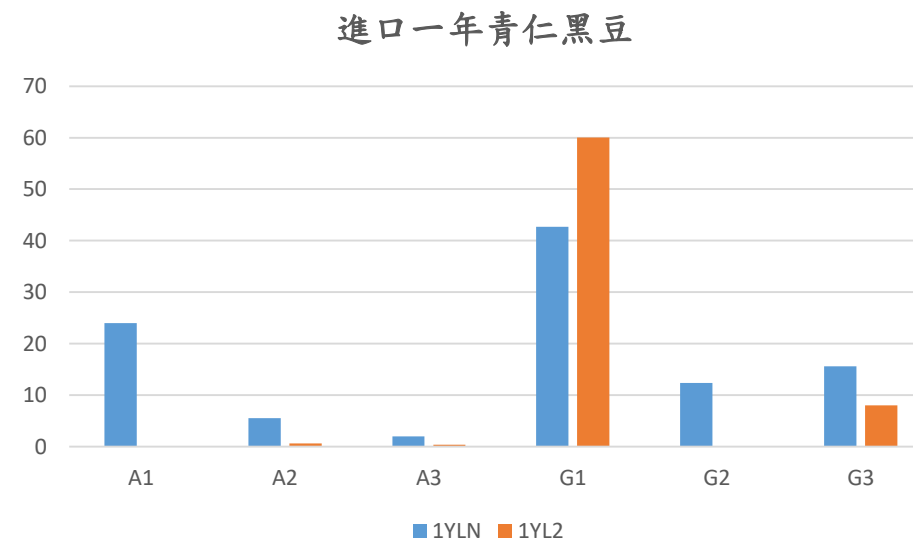
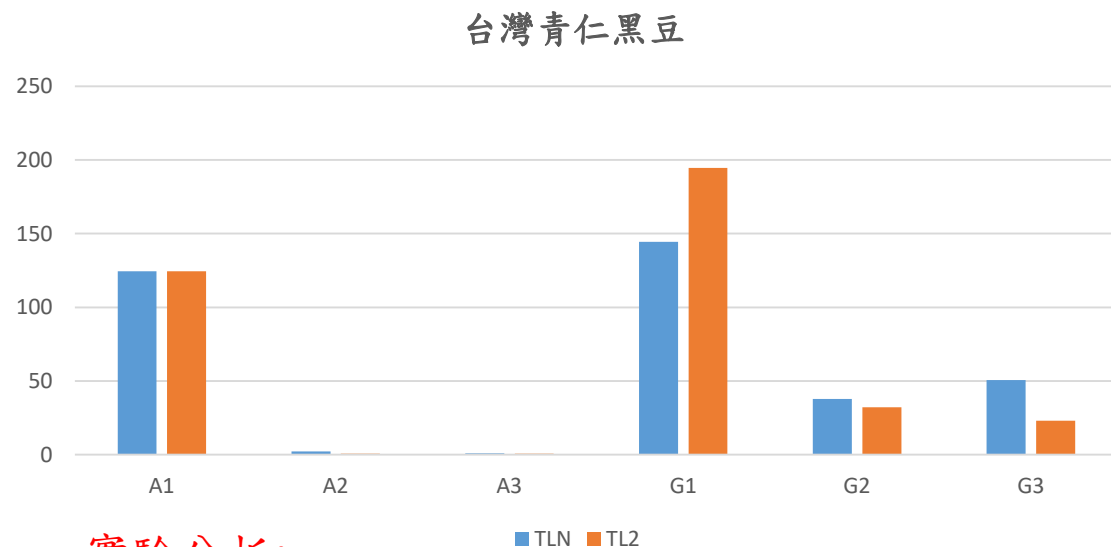
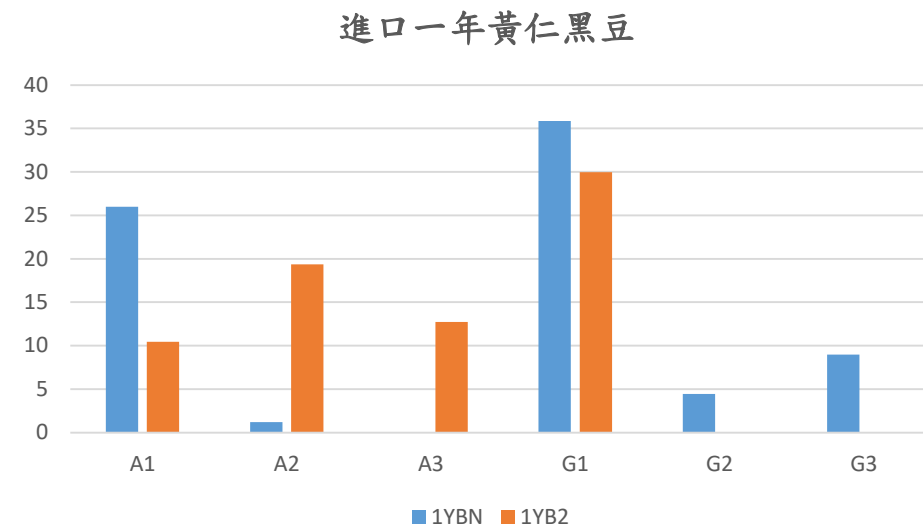
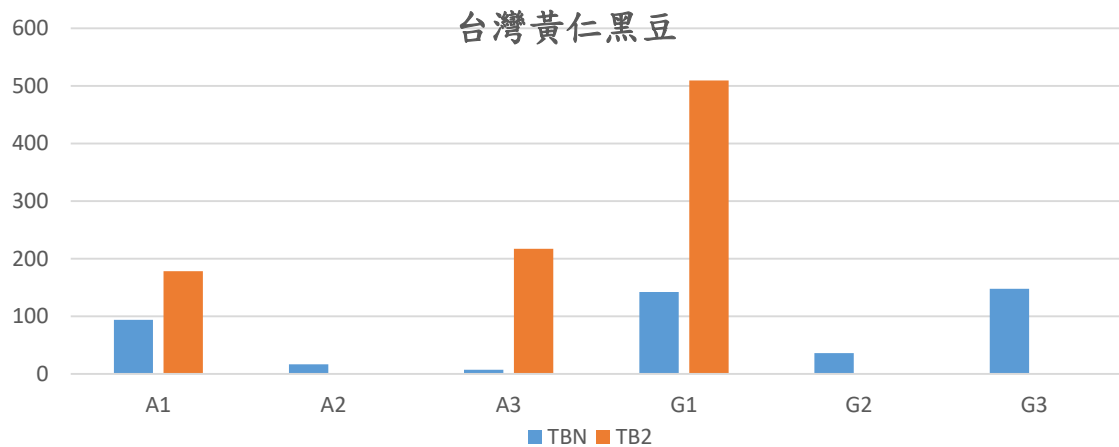
上: 進口二年青仁未發芽  
下: 進口二年青仁黑豆發芽兩天



上: 進口三年青仁未發芽  
下: 進口三年青仁黑豆發芽兩天

### 實驗分析:

進口2、3年之黃仁、青仁黑豆發芽後異黃酮苷元和異黃酮糖苷皆不明顯，發芽後僅顯示含有相對大量G1.大豆異黃酮苷(daidzin)。推測可能是因為放置時間過長，導致內涵 $\beta$ -葡萄糖酶( $\beta$ -glucosidase)活性低弱。



#### 實驗分析:

比較台灣黃仁、青仁黑豆和進口一年之黃仁、青仁黑豆發芽後異黃酮苷元和異黃酮糖苷，發現台灣的黃仁、青仁黑豆內涵異黃酮苷元和異黃酮糖苷比進口一年之黃仁、青仁黑豆含量為高。



# 針對發芽黑豆產品乾燥製程與加工方法對異黃酮衰變量之測定

## 實驗方法：

1. 各取10 g 的發芽黑豆(黃仁和青仁分開處理)以不同乾燥方式
  1. 未乾燥以95%的酒精萃取後減壓濃縮
  2. 將發芽黑豆以版式乾燥後以95%的酒精萃取後減壓濃縮
  3. 將發芽黑豆以冷凍乾燥後以95%的酒精萃取後減壓濃縮
  - 4 將未乾燥發芽黑豆以95%的酒精萃取後噴霧乾燥後以95%的酒精萃取後減壓濃縮)
2. 以正己烷和95%的酒精進行去脂，取95%的酒精層減壓濃縮。
3. 各取0.1 g 的粗萃物(95%的酒精層)溶於1mL(500 $\mu$ l DMSO+500 $\mu$ l ACN)，進樣200  $\mu$  l(並加入200  $\mu$  l 內標準品 Kuwanon C)至HPLC進行分析。
4. 針對daidzin、glyctin、genistin、daidzein、glycitein、genistein進行分析與回推各標準品含量與總異黃酮含量。

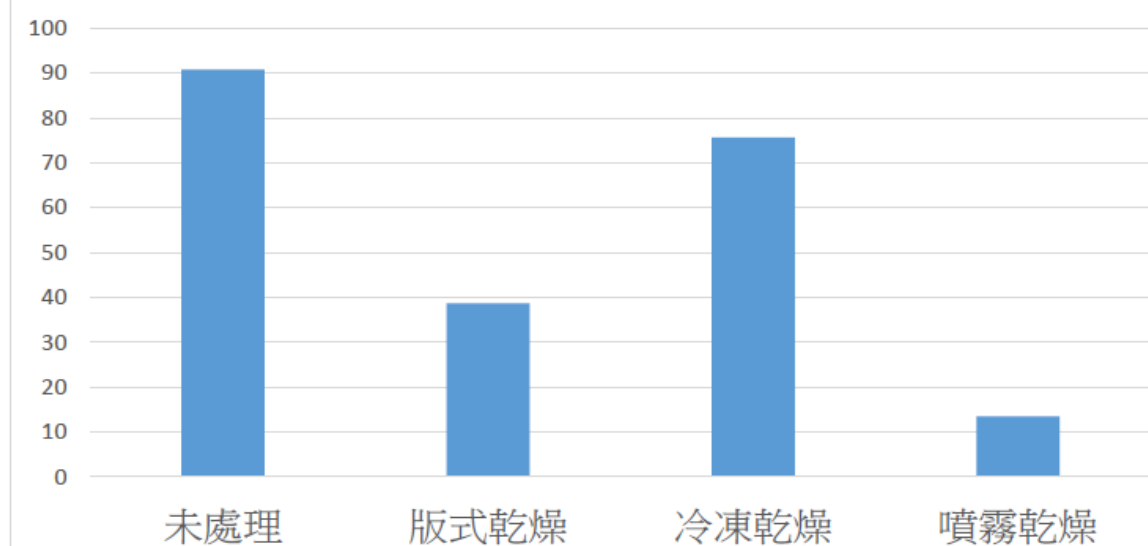
發芽黃仁黑豆總異黃酮含量

	未處理	版式乾燥	冷凍乾燥	噴霧乾燥
發芽黃仁黑豆 總異黃酮含量 (mg/g)	90.6964	38.6532	75.5829	13.4658
耗損率		57.38%	16.66%	85.15%

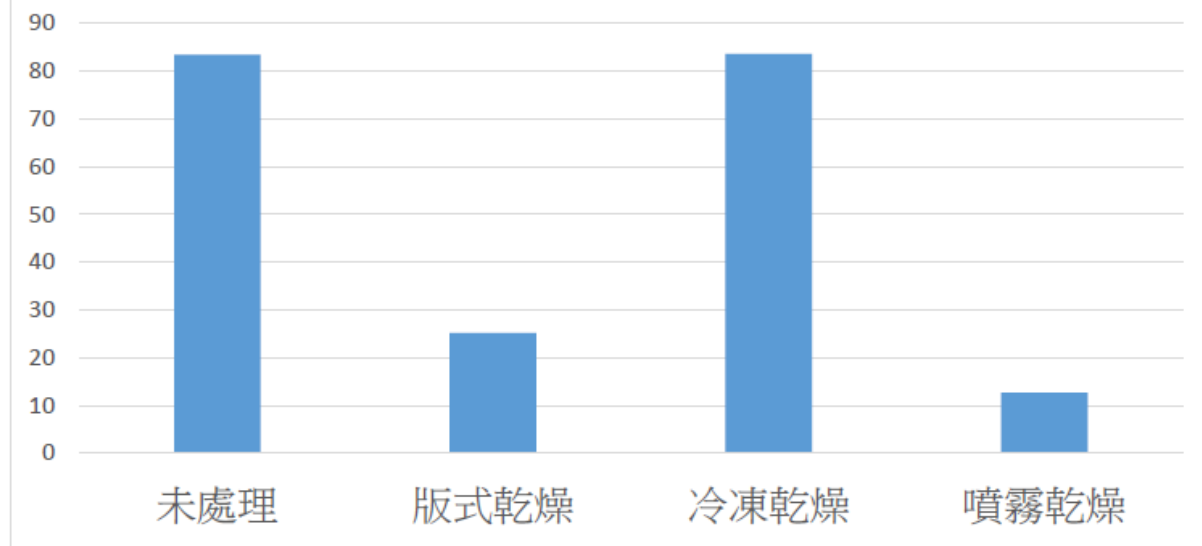
發芽青仁黑豆總異黃酮含量(mg/g)

	未處理	版式乾燥	冷凍乾燥	噴霧乾燥
發芽青仁黑豆 總異黃酮含量 (mg/g)	83.4400	25.1524	82.5947	12.6343
耗損率		69.86%	1.01%	84.85%

發芽黃仁黑豆總異黃酮含量(mg/g)



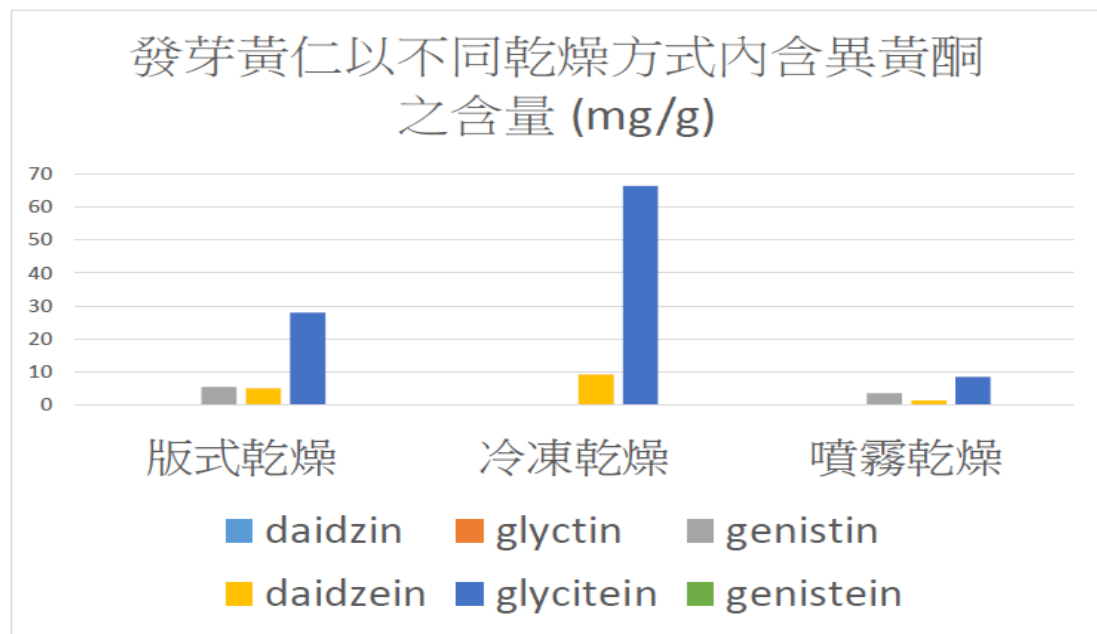
發芽青仁黑豆總異黃酮含量(mg/g)



三者加工方式而言，冷凍乾燥之耗損率為最低，版式乾燥次之，噴霧乾燥最高(黃仁黑豆：版式乾燥 57.38%；冷凍乾燥 16.66%；噴霧乾燥85.15%);(青仁黑豆：版式乾燥 69.86%；冷凍乾燥 1.01%；噴霧乾燥 84.85%)。

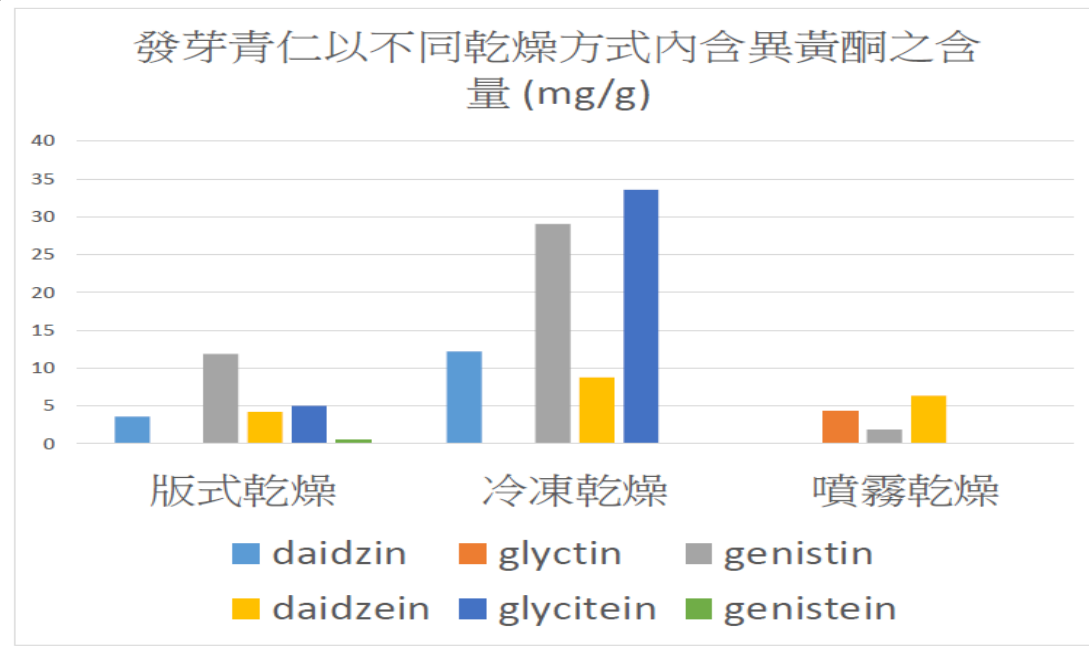
發芽黃仁以不同乾燥方式內含異黃酮之含量

單位: (mg/g)	版式乾燥	冷凍乾燥	噴霧乾燥
daidzin	0	0	0
glyctin	0	0	0
genistin	5.510326479	0	3.589484552
daidzein	5.119048254	9.285226204	1.331062184
glycitein	28.02384436	66.29774195	8.545316416
genistein	0	0	0



發芽青仁以不同乾燥方式內含異黃酮之含量

單位: (mg/g)	版式乾燥	冷凍乾燥	噴霧乾燥
daidzin	3.588737036	12.21526522	0
glyctin	0	0	4.337307357
genistin	11.87121172	29.03882647	1.874461097
daidzein	4.205563463	8.770356905	6.365725232
glycitein	5.034241369	33.57033341	0.056833467
genistein	0.452741552	0	0



三種乾燥製程加工後以genistin、daidzein、glycitein含量較高，未來將可透過本結果作為發芽黑豆食品加工製程之依據。

## 針對國產黑豆發芽前後內含 $\gamma$ -Aminobutyric acid(GABA)以不同溶劑萃取之含量分析測定

**實驗方法**： 1. 各取 10 g的 黑豆和 發芽黑豆（黃仁和青仁分開處理）冷凍乾燥後以不同溶劑進行萃取濃縮：

	使用溶劑	黃仁黑豆	青仁黑豆
未發芽	75% 酒精	0.1048 (g)	0.1037 (g)
	Water	0.1011 (g)	0.1023 (g)
發芽	75% 酒精	0.1010 (g)	0.0914 (g)
	95% 酒精	0.1081 (g)	0.1112 (g)
	MeOH	0.1032 (g)	0.1095 (g)
	Water	0.1096 (g)	0.1128 (g)

## 2. GABA 含量分析

### 1. 藥劑配置

#### a. 標準品製備

精確稱取 GABA 標準品粉末溶於 D.I. water，配置為濃度 2 mg/ml 之溶液。爾後進行稀釋配置成各

濃度標準品（1、0.5、0.25、0.1、0.05、0.01mg/ml）備用。

#### b. Borric Buffer:

秤取 1.2 g boric acid 及 0.8 g NaOH，將其溶解於 100 ml D.I.water 後，利用 HCl 及 NaOH 調整至 pH 10.0。

#### c. Ortho-phthalaldehyde (OPA) 衍生劑製備

將 200 mg 之 OPA 粉末溶於 0.3 ml 甲醇溶液，之後加入 20  $\mu$ l MPA 3-mercaptopropionic acid ) 及 4 ml 0.1 M borate buffer (pH 10.0)，製成 OPA 衍生劑備用。OPA 衍生劑於 4 oC 避光下可保存。

#### d. HPLC 移動相

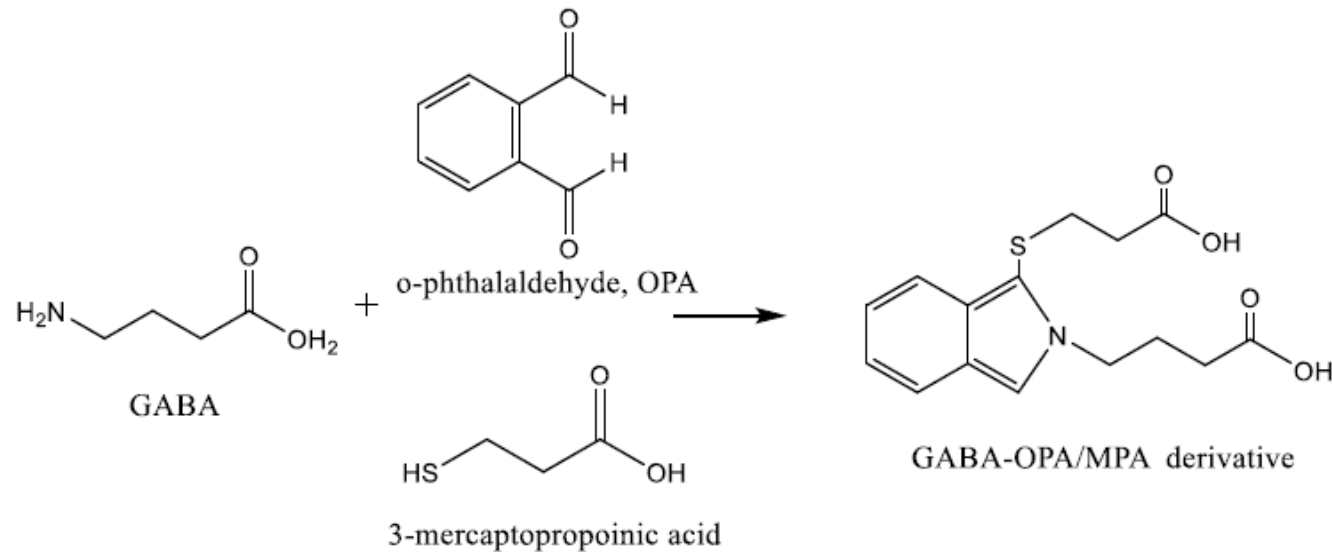
液體 A phosphate buffer pH 7.0

液體 B acetonitrile

液體 C D. I. water

## 2. 實驗步驟及方法

將50  $\mu\text{l}$  標準品或經離心後之樣品與250  $\mu\text{l}$  OPA 衍生劑混合均勻後，於室溫下避光反應1 分鐘。之後以0.22  $\mu\text{m}$  濾膜過濾，取10  $\mu\text{l}$  進行 HPLC 分析。



HPLC 分析條件 The analytical conditions of HPLC

Column	InertSustain C-18 (5 $\mu\text{m}$ ), 250 mm $\times$ 4.6 mm	
Mobile phase	A	phosphate buffer, pH 7.0
	B	acetonitrile
	C	double distilled water
Gradient elution	0~12 min	A: 87%, B: 13%
	12~20 min	B: 15%, C: 85%
	20~25 min	B: 85%, C: 15%
	25~35 min	A: 87%, B: 13%
Flow rate	0.8 mL/min	
Detector	Diode Array-detector L-2455, 338 nm	

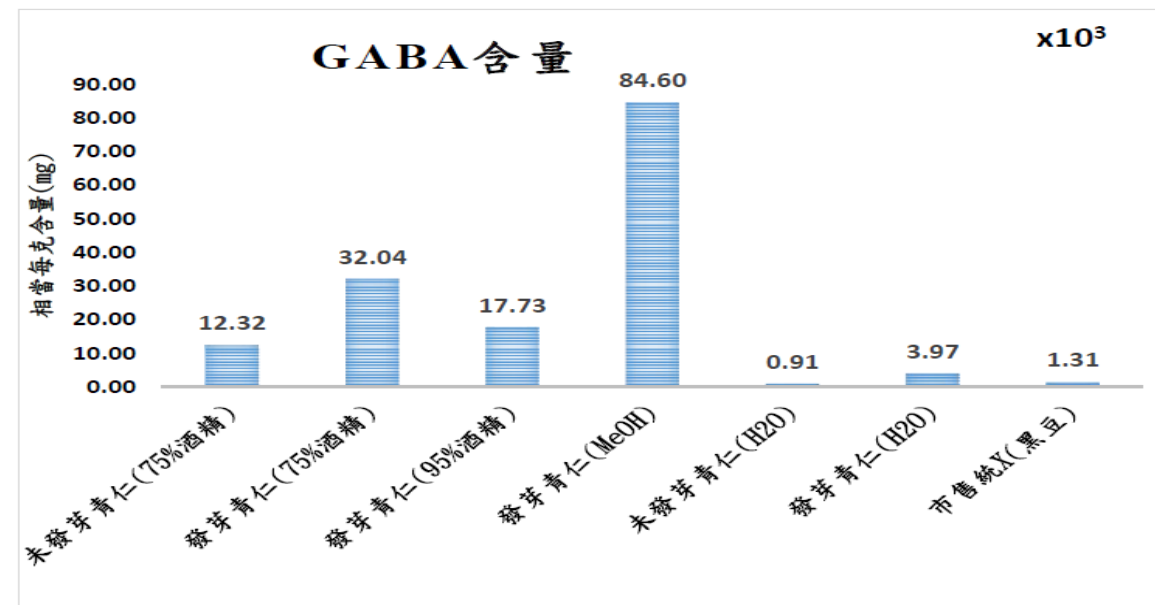
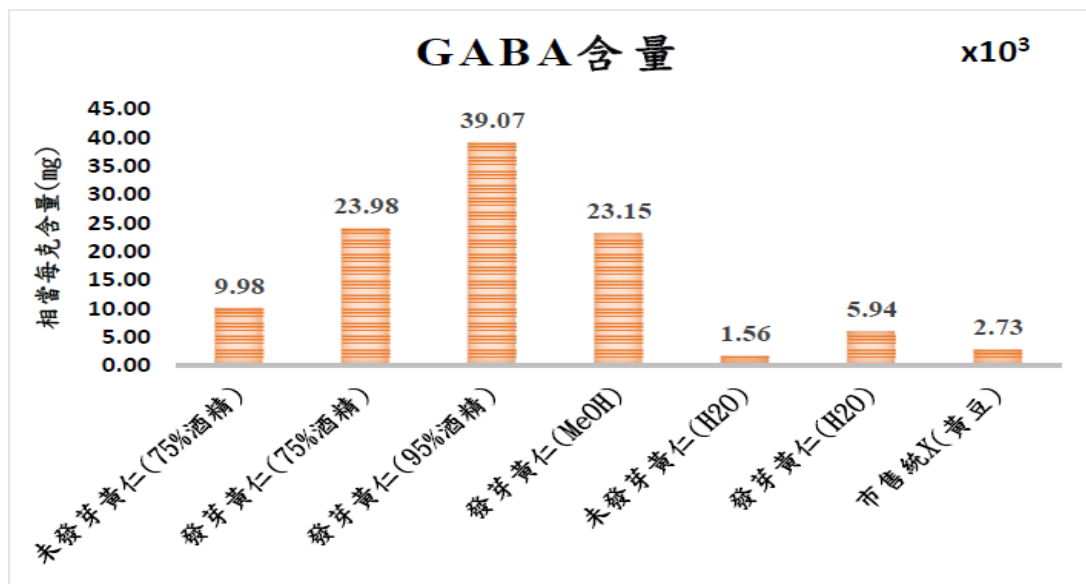
# 實驗結果分析與討論:

黃仁黑豆發芽前後不同溶劑萃取 GABA 含量分析 (mg/g)

溶劑/黑豆區別	未發芽黃仁黑豆	發芽黃仁黑豆	市售豆漿(非發芽黃豆)
75% 酒精	$9.98 \times 10^{-3}$	$23.98 \times 10^{-3}$	
Water	$1.56 \times 10^{-3}$	$5.94 \times 10^{-3}$	$2.73 \times 10^{-3}$
95% 酒精		$39.07 \times 10^{-3}$	
MeOH		$23.15 \times 10^{-3}$	

青仁黑豆發芽前後不同溶劑萃取 GABA 含量分析(mg/g)

溶劑/黑豆區別	未發芽青仁黑豆	發芽青仁黑豆	市售豆漿(非發芽黑豆)
75% 酒精	$12.32 \times 10^{-3}$	$32.04 \times 10^{-3}$	
Water	$0.91 \times 10^{-3}$	$3.97 \times 10^{-3}$	$1.31 \times 10^{-3}$
95% 酒精		$17.73 \times 10^{-3}$	
MeOH		$84.60 \times 10^{-3}$	



以實驗分析歸納出以有機溶劑萃取方式分析黃仁黑豆發芽前後之 GABA 含量，發現發芽後的 GABA 含量比未發芽的黑豆為高，約為 2.5~4 倍之多。以水為溶劑萃取 GABA，亦發現發芽後的黑豆 GABA 含量較高，約為 4 倍之多。

以實驗分析歸納出以有機溶劑萃取方式分析青仁黑豆發芽前後之 GABA 含量，發現發芽後的 GABA 含量比未發芽的黑豆為高，約為 1.5~6.8 倍之多。以水為溶劑萃取 GABA，亦發現發芽後的黑豆，GABA 含量較高，約為 4.4 倍之多。

## 重要成果:

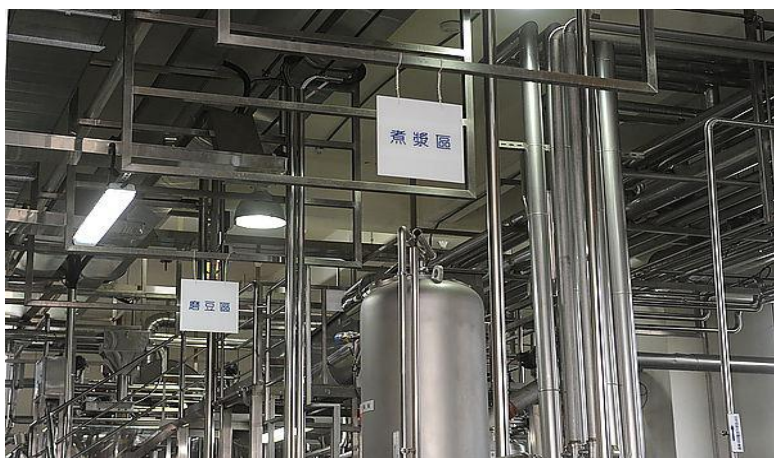
1. 本計畫針對:台灣本土黃仁、青仁黑豆及進口1~3年之黃仁、青仁黑豆，進行發芽率測試，發現國產黑豆發芽率較高達95%，進口黑豆置放年限越久者發芽率較低，約為85%。
2. 針對八組黑豆進行發芽前和發芽後兩天之內含6種異黃酮指標成分之分析，發現國產的黃仁、青仁黑豆皆比進口1年黑豆之異黃酮含量為高。
3. 原則上經過發芽前後，異黃酮糖苷有減少之趨勢、異黃酮苷元有增加之趨勢。
4. 但發現進口二、三年之黃仁和青仁黑豆，發芽後異黃酮苷元和異黃酮糖苷增減皆不明顯，發芽後僅顯示含有相對大量G1. 大豆異黃酮苷( d a i d z i n )。推測可能是因為放置時間過長，導致內含 $\beta$ - 葡萄糖酶( $\beta$ -glucosidase)活性低弱所致。



5. 針對國產黑豆發芽前後內含  $\gamma$ -Aminobutyric acid(GABA)以水萃取之含量分析測定中發現黃仁和青仁黑豆發芽後內含GABA之量值比未發芽約為4倍之多。
6. 發芽黑豆在食品加工過程中，是否因不同乾燥之加工方法，而影響內含異黃酮含量成分之衰減。結果顯示，冷凍乾燥之耗損率為最低，版式乾燥次之，噴霧乾燥最高(黃仁黑豆：版式乾燥 57.38%；冷凍乾燥 16.66%；噴霧乾燥 85.15%);(青仁黑豆：版式乾燥 69.86%；冷凍乾燥 1.01%；噴霧乾燥 84.85%)
7. 原則上經過發芽前後，異黃酮糖苷有減少之趨勢、異黃酮苷元有增加之趨勢。
8. 由以上實驗結果可知國產黑豆比進口的新鮮度佳，內含異黃酮成分較高，以發芽的方式提高異黃酮類的生物利用率，透過低破壞的食品加工，開發相關食品食品加工後，將可以利用於多元食品開發，達成農產資源增值與產品行銷。

## 目前預開發之產品

1. 使用國產青仁發芽黑豆:使用具產銷履歷之國產黑豆，  
委託具農糧加工產銷履歷之工廠:辰穎股份有限公司製作



2. 開發國產青仁發芽黑豆煎餅:使用具產銷履歷之國產黑豆, 委託具農糧加工產銷履歷之工廠:華珍食品股份有限公司

新加坡, 高島屋百貨公司, 台灣精品展



華珍煎餅-通過-Halal 清真認證



前進南向貿易計畫



# 報告完畢 敬請指教

