

中國文化大學農學院生活應用科學系

碩士論文

Department of Applied Science of Living

College of Agriculture

Chinese Culture University

Master Thesis

加工條件對豆漿蛋白質結構與豆腐品質之影響

Effect of Processing Conditions on Soymilk Protein Structure and Tofu

Quality

指導教授：施明智 教授
林慧生 教授

Advisor : Professor Ming-Chih Shih

Professor Hwei-Shen Lin

研究生：張庭瑜

Graduate Student : Ting-Yu Chang

中華民國 100 年 1 月

January 2011

致謝

二年半的研究期間，成蒙恩師 施明智博士及 林慧生博士在學業上悉心指導與鼓勵，使學生在實驗上得到諸多啟發與學到許多實驗技術，對於文章撰寫及邏輯思考上，更是不吝指教，使學生獲益良多。文稿初成，承蒙實踐大學食品營養與保健生技學系 邵貽沅博士與本校食品暨保健營養學系 黃贊勳博士對於內容不吝指導、逐字斧正，並給予許多寶貴意見，使學生論文更臻完善，於此，謹致由衷感謝。

研究期間，感謝大漢豆腐成安知副總及碩大興股份有限公司林旺熠先生對學生研究物料之提供；海洋大學楊文育、陳有志學長在實驗的建議與協助；本校生物科技研究所蔡文琦博士與婷敏學姐在電泳上的指導與儀器的協助，使實驗得以順利進行。感謝學姐禹馨、曉妮，學長耀翔、瑞均在實驗的指導與幫助；同學欣玫、筑婷、佩廷、怡嘉、筱青及同實驗室的我的好伙伴淑怡、學妹宜潔、學弟哲瑋、宏彥、志瑋，謝謝你們的照顧及生活上帶來的歡笑；感謝昌億的協助翻譯與犧牲自己睡眠時間大半夜的陪我做實驗；感謝建宇在圖表上的協助修正，使本論文更加完善，再此一併致上最誠摯謝意。

最後，僅將此微薄之研究成果獻給愛護我的父母與家人，感謝

父母的栽培與支持，謝謝爸爸、媽媽、姐姐、妹妹總是在我實驗失敗沮喪時，給予我鼓勵，因為有你們的關心與鼓勵，才能讓我順利的完成學業，謝謝爸爸媽媽，我愛你們。

庭瑜 2011.01



中文摘要

本研究以加拿大黃豆為原料，研究內容主要區分兩大部分：(1) 浸漬溫度、磨漿溫度及加熱方式對豆漿蛋白質及豆漿品質之影響；(2) 浸漬溫度、磨漿溫度及加熱方式對盒裝豆腐質地之影響。

研究結果：(1) 以 5°C、30°C、60°C、80°C 磨漿發現，隨著磨漿溫度升高，所得豆漿顏色較偏黃偏綠。低溫磨漿所得之豆漿黏度、顏色明亮度、白度指數均較高。不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱方式對豆漿蛋白質表面疏水性的影響則是隨著磨漿溫度升高，其蛋白質表面疏水性也越高，浸漬溫度則是以 5°C 浸漬高於 30°C，加熱方式則是以兩段式加熱方式其疏水性高於一段加熱。

另外，以 SDS-PAGE 電泳圖譜分析，7S 球蛋白次單元體含量分佈隨著磨漿溫度越高有增加的趨勢，而 11S 球蛋白其酸性、鹼性次單元體則隨著磨漿溫度升高有減少的趨勢，11S/7S 的比值隨著磨漿溫度升高而降低。(2) 以不同溫度浸漬、磨漿及加熱方式製作之豆腐其離水率會隨著磨漿溫度升高而增加，浸漬溫度之離水率則是以 30°C 浸漬高於 5°C 浸漬。加熱方式則以兩段加熱高於一段加熱。以此條件製得之盒裝豆腐其密度影響則是，兩段加熱製作之豆腐其密度高於一段加熱。以低溫浸漬、低溫磨漿、兩段式加熱其豆腐成品性質硬度、凝膠性、附著性、彈性、咀嚼性及內聚性均會

提高。本實驗結果可供黃豆加工業者加工條件控制及改善品質之參考。

關鍵字：7S 球蛋白、11 S 球蛋白、表面疏水性、豆腐、質地、磨漿



Abstract

This research used soybean from Canada as raw material and focusing on two major categories: (1) Effects of different soaking, grinding temperature and heating methods on soy milk protein and soy milk quality; (2) Effects of different soaking, grinding temperature and different heating methods on tofu texture.

Results showed: (1) Using different grinding temperature (5°C 、30°C 、60°C 、80°C), as grinding temperature increased, the soymilk would become more yellowish and greenish. At lower grinding temperature, the soymilk viscosity, color brightness, and white index were higher. The protein surface hydrophobicity increased as the grinding temperature increased. The soaking temperature at 5°C had higher protein surface hydrophobicity than at 30°C. Two-step heating had higher protein surface hydrophobicity than one-step heating.

Using SDS-PAGE electrophoresis pattern analysis, as the grinding temperature increased, the amount of β -conglycin subunit would increase. But the acidic and basic subunit of Glycinin and the ratio of 11S/7S would decrease. (2) Using different heating, soaking and grinding condition, the syneresis rate increased as grinding temperature increase. Soaking temperature at 30 °C or two-step heating had higher syneresis rate than soaking at 5 °C or one-step heating in respect. Two-step heating had higher density than one-step heating. Using lower soaking and grinding temperature and two-step heating would increase the tofu hardness, gumminess, adhesiveness, springiness, chewiness

and cohesiveness. The results of this experiment could be used to improve the tofu quality for soy processing manufacturer.

Keyword: β -conglycin, Glycinin, surface hydrophobicity, tofu, texture, grinding



目 錄

中文摘要·····	I
英文摘要·····	III
目 錄·····	IV
表目錄·····	IX
圖目錄·····	XI
附錄·····	99
壹、前言·····	1
貳、文獻整理·····	3
一、大豆蛋白質之理化特性·····	3
(一) 大豆簡介·····	3
(二) 大豆球蛋白的蛋白組成·····	3
二、大豆蛋白質受熱凝膠機制·····	6
三、影響大豆蛋白凝膠因素·····	8
(一) 蛋白質濃度·····	8
(二) pH 值·····	8
(三) 受熱溫度·····	9
(四) 硫氫基與雙硫鍵·····	10

四、蛋白質變性測定方法·····	10
(一) 溶解度·····	11
(二) 螢光光譜·····	11
(三) 電泳·····	12
(四) 流變性質·····	12
(五) 電子顯微鏡·····	13
五、蛋白質表面疏水性與蛋白質結構的關係·····	13
六、豆腐種類及其製作方式·····	14
(一) 傳統豆腐·····	15
(二) 嫩豆腐·····	15
(三) 盒裝豆腐·····	16
七、影響豆腐品質及產率之加工條件·····	16
(一) 豆漿加熱處理·····	16
(二) 凝固劑的種類及濃度·····	17
(三) 凝固劑添加之溫度與攪拌速度·····	19
(四) 凝膠加壓條件·····	19
八、質地輪廓分析·····	20
參、實驗材料與方法·····	30

一、實驗材料	30
二、實驗設備	31
三、實驗流程設計	32
四、實驗流程圖	33
五、實驗方法	38
(一) 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿蛋白質之影響	34
1. 樣品製備	34
2. 測定項目	35
(1) 豆漿黏度測定	35
(2) 豆漿顏色測定	35
(3) 蛋白質表面疏水性分析測定	36
(4) SDS-PAGE 蛋白質電泳分析	36
(二) 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆腐品質之影響	38
1. 樣品製備	38
2. 測定項目	38
(1) 豆腐離水率測定	38
(2) 豆腐密度測定	38
(3) 豆腐質地測定	39

(三)統計分析.....	39
肆、實驗結果.....	40
一、不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱方式對豆漿蛋白質之影響.....	40
(一)不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱方式對生豆漿黏度之影響.....	40
(二)不同浸漬與磨漿條件對豆漿顏色之影響.....	42
(三)不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性之影響.....	43
(四)不同浸漬、磨漿及加熱條件對 SDS-PAGE 之影響.....	44
二、不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆腐品質之影響.....	65
(一)不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱條件對豆腐離水率、密度之影響 響.....	65
(二)不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱條件對豆腐質地之影響.....	72
伍、結論.....	79
陸、參考文獻.....	81
附錄.....	92

表 目 錄

表一. 黃豆蛋白之組成.....	21
表二. 大豆 7S 和 11S 球蛋白之組成與其變性溫度.....	22
表三. 不同浸漬與磨漿條件對豆漿黏度之變化.....	41
表四. 不同浸漬與磨漿條件對豆漿黏度影響之變方分析表.....	41
表五. 不同浸漬與磨漿條件對豆漿之顏色變化.....	49
表六. 不同浸漬與磨漿條件對豆漿 a 值（紅綠色度）之變方分析表.....	50
表七. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性之變化.....	51
表八. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性變化之變 方分析表.....	52
表九. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質次單元體組成之影響.....	57
表十. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 β -conglycinin- α 次單元體 之變方分析表.....	59
表十一. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 β -conglycinin- α' 次單元體 之變方分析表.....	60
表十二. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 β -conglycinin- β 次單元體 之變方分析表.....	61
表十三. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 Glycinin-Acid 次單元體	

之變方分析表·····	62
表十四. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 Glycinin-Basic 次單元體 之變方分析表·····	63
表十五. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 Glycinin-A3 次單元體之 變方分析表·····	64
表十六. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐離水率、密度之變化·····	67
表十七. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐離水率之變方分析表·····	68
表十八. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐密度之變方分析表·····	68
表十九. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐質地之影響·····	82
表二十. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐硬度之變方分析表·····	83
表二十一. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐附著性之變方分析表·····	83
表二十二. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐彈性之變方分析表·····	84
表二十三. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐內聚性之變方分析表·····	84
表二十四. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐凝膠性之變方分析表·····	85
表二十五. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐咀嚼性之變方分析表·····	85

圖 目 錄

圖一. 大豆球蛋白之次單元體的結構·····	23
圖二. 球蛋白聚集成膠的兩種型式·····	24
圖三. 大豆蛋白變性模式圖·····	25
圖四. 豆腐製造流程·····	26
圖五. 葡萄糖酸- δ -內酯水解為葡萄糖酸之結構圖·····	27
圖六. 不同熱處理對盒裝豆腐微細結構之影響·····	28
圖七. 質地輪廓分析曲線圖·····	29
圖八. 實驗流程圖·····	33
圖九. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性影響之趨勢圖·····	53
圖十. 未加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋白質次單元組成之電泳圖譜·····	54
圖十一. 一段加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋白質次單元組成之電泳圖譜·····	55
圖十二. 兩段加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋白質次單元組成之電泳圖譜·····	56
圖十三. 5°C 浸漬 5°C 磨漿及一段加熱、兩段加熱之豆腐比較圖·····	69

圖十四. 5℃浸漬 80℃磨漿及一段加熱、兩段加熱之豆腐比圖·····	69
圖十五. 30℃浸漬 5℃磨漿及一段加熱、兩段加熱之豆腐比較圖·····	70
圖十六. 0℃浸漬 80℃磨漿及一段加熱、兩段加熱之豆腐比較圖·····	70
圖十七. 5℃浸漬 5℃磨漿、一段加熱與 30℃浸漬 80℃磨漿、二段加熱兩段 加熱之豆腐比較圖·····	71



壹、前言

大豆原產於中國東北，約有五千年栽培歷史，在亞洲已成為廣泛的食品，常被製作成豆漿、豆腐等製品。豆腐是大豆常見的加工製品之一，其組織細緻、風味溫和、營養豐富且不含膽固醇等優點，因而廣受喜愛。豆腐不僅在東亞地區受歡迎，對中國人來說，更是一項十分重要的傳統食品。豆腐的製作程序雖然簡單，但其製作過程中些微條件的改變就會影響到其品質。

大豆的加工特性主要來自其含豐富的蛋白質成分，而在大豆蛋白質中，7S 與 11S 球蛋白是在大豆中最具功能特性的主要成分。過去有許多研究證實 7S 與 11S 球蛋白在功能特性上的表現與應用，而 7S 與 11S 球蛋白在大豆中的比例、含量，除了與大豆不同的品種之外，也會因不同的加工過程而使其結構發生改變，進而影響大豆蛋白所表現出的性質。有關大豆蛋白之研究，於 1950 年代即開始受到重視，此後包括大豆蛋白的組成、萃取、分子結構和凝膠機制等，均被深入探討過，大豆蛋白膠體與其膠體的型態及微細結構有關，進而使產品具有不同的風味與質地等感官品評特性。

（施，2004）發現，以低溫磨漿時，豆漿之蛋白質組成與常

溫磨漿有所不同。

而盒裝豆腐之製作是以葡萄糖酸- δ -內酯 (glucono- δ -lactone, GDL) 為凝固劑，由於製作過程不需經加壓步驟，因此營養成分皆保留於豆腐中不致流失，而以 GDL 製成之豆腐微細結構最為均勻且連續 (deMan et al., 1986)。但盒裝豆腐的保存期限常因離水問題而縮短，質地也易碎。

因此，本研究目的主要在探討以不同加工方式（不同溫度浸泡大豆、不同溫度磨漿及不同加熱豆漿方式）對豆漿蛋白質分佈情形及豆腐品質之差異，以改善盒裝豆腐離水及質地之問題並作為後續評估豆腐製作之依據。



貳、文獻整理

一、大豆蛋白質之理化特性

(一) 大豆簡介

大豆 (soybean)，學名為 *Glycine Max (L.) Mcrrill*, 台灣俗稱為黃豆，豆科大豆屬 (*Glycine*) 之一年生草本植物，染色體 $2n=40$ 。大豆，其原生種為野生大豆，分佈於中國東北或華北、南北韓、日本、台灣。古籍上所稱「菽」即為大豆。大豆為五穀之一，其營養價值高且容易取得，而成為日常蛋白質的主要來源，其在中國栽培已逾五千年，為中國古老農作物之一。若以大豆種皮的顏色來區分，可分為綠色種皮的青皮豆、黑色種皮的烏豆及褐色種皮的茶豆等(蘇等，2003)。

(二) 大豆的組成

大豆其組成成分約含有 35~40%蛋白質、20%油脂、35%碳水化合物及 5%的灰份 (Smith et al.,1978)。大豆蛋白質大部分存在於子葉 (cotyledons) 中，以蛋白質貯存體 (protein bodies) 之形式存在，故大豆蛋白質屬於一種儲藏性蛋白 (storage proteins)。大豆蛋白質中大約有 85~95%是球狀蛋白質，這些球蛋白可在 pH 4.5~4.8 間沉澱，故亦稱酸沉澱蛋白質 (acid precipitable protein)，以水溶液

萃取大豆蛋白時，依離心之沉降速率（sedimentation coefficient）可分為 2S、7S、11S 和 15S 等四種成分（表一）。其中 7S 和 11S 兩種蛋白質分別約佔 37%和 31%，是最主要成分（Yamauchi et al.,1991）。

(1)2S 球蛋白結構

2S 球蛋白又稱 α -conglycinin，分子量約為 21kDa，其等電點在 pH4.5，在整個大豆蛋白質中約佔 22%，其主要是含有一些生理活性的蛋白質，如胰蛋白酶抑制劑（Garcia et al.,1997）。

(2)7S 球蛋白結構

7S 球蛋白（conglycinin）其分子結構是由 α 、 α' 和 β 三種次單元所組成的六種不同異構物（圖 1-1），7S 球蛋白的分子量約為 180 kDa ~210 kDa，而 α 、 α' 及 β 之分子量分別約為 67 kDa、71 kDa 和 50 kDa（表二），彼此間以疏水作用力結合（Thanh et al.,1978）。7S 球蛋白的構形隨著不同離子強度和 pH 而改變；在低離子強度時， α 次單元體會解離（Thanh et al.,1979），反之，在高離子強度（ $I > 0.5$ ）時，則較安定。而 tryptophan 或其他含硫胺基酸的含量極少，難以形成雙硫鍵，變性溫度約為 75°C（Garcia et al.,1997）。

(3) 11S 球蛋白結構

11S 球蛋白 (glycinin) 其分子結構是由 6 個酸次單元體及 6 個鹼次單元體所組成 (圖 1-2) 分子量約為 350 kDa。酸性和鹼性次單元體之分子量, 分別為 38 kDa 及 20 kDa, 二者皆是以雙硫鍵鍵結而成, 而酸性/鹼性配對次單元體間則以疏水作用力結合成六角形體, 兩個六角形體會以靜電吸引力和氫鍵形成四級結構 (圖 1-2), 但兩個六角形體會因受熱或在低離子 ($I < 0.1$) 情形下解離 (Badley et al., 1975)。其變性溫度為 85°C , 11S 可形成雙硫鍵, 於較低濃度下即可形成膠體 (Nakamura et al., 1984)。

另外, 11S 的膠體形成則是以疏水性、靜電力和雙硫鍵結合而成, 其主要膠體維持, 則是靠雙硫鍵及氫鍵的作用維持。

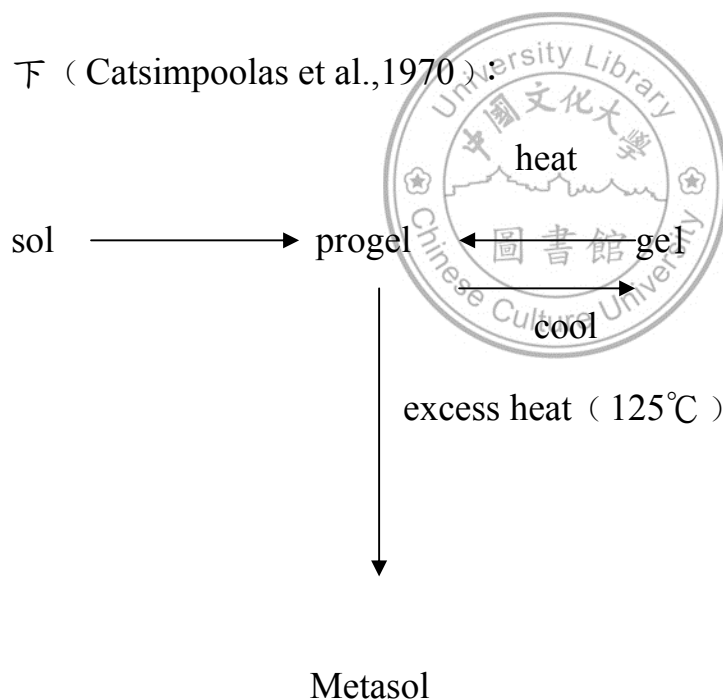
(4) 15S 球蛋白結構

15S 球蛋白佔可溶性蛋白含量 11% 左右。分子量約為 50,000, 根據 Catsimpoolas et al., (1970) 推測, 15S 球蛋白可能是大豆球蛋白的 3 聚合和 4 聚合體。雖然在 15S 球蛋白組成份中可觀察到 11S 球蛋白的多聚合體, 但 15S 球蛋白組成份不是單一蛋白質, 與 11S 球蛋白在化學組成也無相同特徵。

二、大豆蛋白質受熱凝膠機制

當聚合反應速率較變性速率慢時，變性蛋白質有較多時間形成有秩序的排列組合。因此，所形成之膠體較細緻，透明度、黏彈性高及較不容易離水。反之，若聚合速率快，則聚合體排列紊亂，所形成之膠體則較粗糙，透明度、黏彈性皆低且易離水。

若膠體再加熱，則會回復到原來 progel 狀態。若加熱溫度超過 125°C ，則會使 progel 形成 metasol 狀，而不會凝膠；其凝膠機制如下（Catsimpoolas et al.,1970）。



Dio (1993) 指出，球狀蛋白質在凝膠時，分子會聚集成珠串結構（astring of beads）或是產生分子任意聚合（random aggregation）兩種情況（圖二）。

大豆蛋白質加熱溫度需超過 100°C 或於強鹼環境下，才可能完全變性。這些球狀蛋白質在未變性和完全變性之間，會有 molten globule state 中間產物發生，即部分變性的蛋白質，這種部分蛋白質會影響蛋白質的功能性（Hirose,1993）。

11S 球蛋白溶液，在低離子情況下加熱至 70°C 開始解離，80°C 則完全解離；在高離子強度下，加熱至 90°C 開始解離，100°C 則完全解離（Hashizum et al.,1975）。Utsumi（1985a）和 Kinsella（1979）指出 7S、11S 和分離大豆蛋白（SPI）在 80°C 加熱 30 分鐘所形成膠體硬度為 11S > SPI > 7S，其凝膠機制亦不同。

加熱處理所造成的蛋白質變性及官能基的曝露會影響網狀結構的形成，蛋白質變性程度越大，膠體的強度也越強（Wang et al.,1991）。大豆蛋白經加熱處理時會使（a）氫鍵斷裂及靜電力降低，分子間作用力減弱；（b）疏水性鍵結形成，使網狀結構穩定。

蛋白質分子因受熱而展開，形成變性蛋白質，再因疏水性鍵結而凝聚。兩個步驟的相對速率影響膠體的性質，當聚集速率小於變性速率時，展開的 peptide chain 可以形成有順序、均勻、有彈性且較不會離水的膠體；若蛋白質聚集太快，所形成的膠體較不透明、易離水且缺乏彈性，顯示分子之間的作用力與蛋白質的變性、聚集有關，且影響蛋白質的凝膠性質。圖三顯示蛋白質分子之結構變化，

熱處理使蛋白質分子展開，造成疏水基的外露，由於次單元的不同，使分子間的鍵結不同。

三、影響大豆蛋白凝膠因素

(一) 蛋白質濃度

蛋白質需有足夠的濃度才能夠使之凝膠，濃度不足，則只能維持 sol 狀，無法凝膠。蛋白質濃度越高時，所形成之膠體強度也愈大 (Nakamura et al.,1986)。而大豆蛋白質中，其 7S、11S 和 SPI 凝膠所需的濃度分別為 10%、12%和 7% (Shimada et al.,1980;Puppo et al.,1995)。



(二) pH 值

蛋白質膠體其性質隨著 pH 值的改變而有所不同，彈性 (elasticity) 及抗變性 (resistance to deformation) 隨著 pH 降低而增加，但破斷力 (fracturability) 及硬度 (hardness) 則隨著 pH 降低而減少；在鹼性環境下 ($\text{pH} \approx 8.5$)，硫氫基較易轉換成雙硫鍵 S-S (interchain disulfide bonds) (Puppo et al.,1999)。而改變 pH 值會改變蛋白質分子上電荷的分佈和淨電荷數目。Hermanson (1978) 指出 pH 值下降，會使大豆蛋白變性溫度下降，Shimada 和 Matsushita

(1980) 指出 7S 和 11S 在較高 pH 值 (pH9) 所需最低凝膠濃度比較低 pH 值 (pH7.5) 時為低。

大豆蛋白的等電點 (pI) 介於 pH4.2~4.6 之間，是探討 pH 值影響蛋白質結構的參考點，當 pH 大於 pI 時，會形成有次序、有彈性且較不易離水之膠體；而當 pH 值接近 pI 時，熱處理會加速蛋白質分子間的交互作用，且因水和蛋白質間的作用力降低而形成脆弱的結構(Puppo et al.,1999)，但此時膠體較為緻密，具較高保水力(Puppo et al.,1995)。

(三) 受熱溫度

高溫會造成蛋白質的變性，使分子內疏水基曝露出來，使分子聚合並形成固定的膠體。因此，溫度若達到蛋白質變性溫度方可凝膠。蛋白質濃度愈高，其所需加熱溫度也愈高，且加熱時間愈久，其所形成之膠體強度也愈強。Nagano et al., (1992) 曾指出大豆 7S 球蛋白其變性溫度為 64°C，故加熱溫度若低於 64°C 則不會產生凝膠。Ker et al., (1993) 亦指出大豆 11S 球蛋白溫度若由 80°C 加熱至 90°C，其膠強度也隨之增加。Furukawa et al., (1979) 指出，SPI 所形成之膠體強度會隨加熱溫度的增加而增強，但加熱溫度超過變性溫度時而降低。蛋白質變性速率隨溫度升高而變性加速，平均每增

加 10°C，蛋白質變性速率增加約 600 倍。蛋白質變性可分為兩階段，開始加熱 5 分鐘內變性最快且導致部分 unfolding，其後隨著持續加熱而變性 Hermanson (1978)。

(四) 硫氫基與雙硫鍵

硫氫基 (SH) 和雙硫鍵 (S-S) 在膠體所形成堅固的結構中扮演著重要的角色。蛋白質膠體硬度的增加和 SH 基的含量有關，因在熱凝膠過程中，SH 會氧化形成 S-S 鍵，而使膠體結構增強 (Shimada et al., 1988; Shimada et al., 1989; Yamagishi et al., 1984)。大豆 7S 球蛋白不含游離之硫氫基，且一分子僅有 1~2 個雙硫鍵。11S 球蛋白則有兩個硫氫基和 20 個雙硫鍵 (Fukushima, 1991)，故 7S 球蛋白所製成的膠體主要由疏水性鍵結和氫鍵結合而成，而 11S 則由雙硫鍵所形成，由此產生彈性較好的膠體。

Voutsinas et al., (1983) 發現球狀蛋白質的膠體強度和硫氫基含量以及疏水性有明顯相關性。Shimada et al., (1988) 指出大豆分離蛋白隨著蛋白質濃度、溫度和 pH 值增加，會使膠體強度增加，溫度若提高至 130°C 以上則會破壞雙硫鍵，而使膠體變軟。

四、蛋白質變性測定方法

測定蛋白質變性一般常見的有下列幾種方法：溶解度、紫外光及螢光光譜、電泳、流變性質、電子顯微鏡、示差掃描熱分析儀、紅外線光譜、圓二分儀分析法、HPLC、折光率。以下是針對較常使用之五種測定方法做介紹：

（一）溶解度

蛋白質變性會使溶解度下降，蛋白質溶於水是因為蛋白質分子內靜電排斥力和水合排斥力彼此吸引的疏水作用力大所致，因此破壞蛋白質和水分子交互作用會使蛋白質溶度解下降。溫度上升會破壞離子鍵結（ionic bonding），包括氫鍵在內，使蛋白質和水的結構破壞。增加蛋白質表面疏水性會使蛋白質間的交互作用增加，進而取代水分子，而使蛋白質產生聚集（Kuntz et al.,1974）。測定蛋白質溶解度的方法有 nitrogen solubility index（NSI），protein dispersibility index（PDI），water-soluble nitrogen 和 water-dispersible protein（WDP）等（Aguilera,1997）。

（二）螢光光譜（Fluorescence spectrophotometry）

螢光光譜學是一種快速、非破壞性分析技術，具高靈敏度及高準確性的特色，在許多化學、生化和環境的研究上，常被用來當作

強而有力的分析工具，目的是找出一對具有強度最大值的發射（emission；EM）和激發（excitation；EX）波長或者是紀錄螢光 EM 和 EX 光譜，能提供螢光分子存在的資訊以及在生物樣品中生化環境的資訊，例如可用來研究蛋白質結構，以及研究樣品的外來螢光探針（研究蛋白質-疏水性分子交互作用）的存在（Dufour et al.,1997）。

（三）電泳（electrophoresis）

帶電顆粒在電場作用下，向著與其電性相反的電極移動，稱為電泳（electrophoresis；EP）。因蛋白質分子是由胺基酸組成的，而胺基酸帶有可解離的胺基（ $-\text{NH}_2$ ）和羧基（ $-\text{COO}^-$ ），在一定的 pH 條件下就會解離而帶電，帶電的性質和多少取決於蛋白質分子的性質。

當蛋白質產生聚集形成較大分子量的結構體，在電泳時就可因泳動速率不同而分離。蛋白質在加熱前和加熱後在電泳圖譜上的不同除了可用來判斷蛋白質分子大小的變化，而且可看出分子聚集情形。

（四）流變性質

蛋白質加熱後會造成分子展開（unfolding），而使黏度增加。而

這種動態黏彈性的測定可用來檢測蛋白質加熱後凝膠的過程。

（五）電子顯微鏡（Electron Microscopy）

電子顯微鏡常被用來觀察蛋白質聚集和凝膠，經由電顯，蛋白質聚集的顯微構造能清楚的呈現，蛋白質間網狀結構的大小會與蛋白質受熱展開程度有關。

五、蛋白質表面疏水性與蛋白質結構的關係

由於食品蛋白質的三度空間結構，使其在加工過程中會有複雜的功能性，近年來專家們試圖用食品化學的觀點來解釋蛋白質功能特性的機制。然而，食品工業仍在尋找可以預測蛋白質功能特性的方法。疏水性、空間及靜電等參數都是影響蛋白質結構的重要變因。在這些因子中，疏水性是值得注意與蛋白質功能特性有關的因子。疏水性被定義為：非極性溶質在水中相互吸附的傾向（Haskard et al.,1997）。蛋白質的疏水性交互作用，在定義蛋白質構形與蛋白質間交互作用上扮演了相當重的角色。因此，測量蛋白質的表面疏水性（surface hydrophobicity）有助於了解並預測疏水性對蛋白質結構序列和功能特性的影響。

蛋白質的表面疏水性的變化，與蛋白質的結構有密切的關係，

其為穩定蛋白質結構最重要的作用力，且對於蛋白質食品功能特性也有很重要的影響。當加熱時，分子因舒展而使表面疏水性增加（Laligant et al.,1991）。這些分子間交互作用會導致表面疏水性降低。換句話說，加熱對蛋白質疏水性也許會有兩種不同的影響：1. 使分子展開，使疏水性區域外露；2. 熱誘導聚集作用會使外露的疏水性區域減少，然後失去安定性。

表面疏水性會影響蛋白質分子間的引力，或是蛋白質與脂肪分子間的引力。在蛋白質疏水性定量的研究上常使用螢光探針法。這些化合物的螢光量及最大螢光散射波長與他們環境的極性有關。已有許多螢光探針廣泛的用在測量蛋白質疏水性上，例如：8-anilino-1-naphthalene sulfonic acid（ANSA）、cis-parinaric acid（CPA）。這些探針在水溶液中只產生低螢光量子。這些探針可輕易的進入蛋白質的疏水區域並結合上去，進而觀察到螢光強度增加，利用這個特點可測量蛋白質的表面疏水性（Sklar et.al,1977）。

六、豆腐種類及其製作方式

近年來許多研究指出大豆蛋白具有降低心血管疾病和預防癌症等機能特性（Nishi et al., 2001；Fukui et al., 2002；Ascencio et al., 2004），故在營養保健觀念抬頭的現在，豆腐及大豆製品逐漸受到

重視。豆腐的種類繁多，富含營養，其蛋白質含量約為 6-8.4% (Kovat et al., 1984)。在豆腐製作過程中，三個加工階段可決定豆腐的種類：

(1) 豆漿萃取方法及固形物含量；(2) 凝結方法（凝固劑種類及凝結後有無進行破碎）；(3) 加壓與否。依據水含量和結構特性，一般豆腐種類可分為：傳統豆腐（firm tofu；Momen tofu）、軟豆腐（soft tofu）、盒裝豆腐（filled tofu）等。以下針對上述豆腐做介紹。

（一）傳統豆腐

傳統豆腐之製作所使用的凝固劑為硫酸鈣（石膏），其製作流程為：大豆經水洗、浸泡吸水軟化後，加水濕磨、將豆渣過濾後即得生豆漿，如圖四。於蒸煮前加入適量消泡劑於豆漿中，以避免蒸煮過程起泡，將豆漿煮沸後冷卻至 70~85℃，加入凝固劑緩慢攪拌或是直接將豆漿沖入凝固劑使大豆蛋白凝固成型，凝固劑添加量約為豆漿重之 0.3%。隨後將凝乳破碎後移至鋪有棉布的模箱中，加蓋並施以適當壓力使之排出豆清，所得即為傳統豆腐（續，1996）。

（二）嫩豆腐

製作嫩豆腐時，其製成豆漿之水量約為大豆重量之 5~6 倍，以硫酸鈣為凝固劑，添加量約為豆漿重之 0.3%。將凝固劑溶解後倒入

無孔模箱中，再加入加熱冷卻至 75~85°C 之豆漿混合均勻，凝固時間為 20~30 分鐘，使豆漿凝固成型，取出後即成嫩豆腐。此方式製得之豆腐少了傳統豆腐之壓榨程序，因此其營養成分皆保留於豆腐中，且豆腐外觀無布紋且細緻，故又稱營養豆腐或絹豆腐（續，1996）。

（三）盒裝豆腐

製作盒裝豆腐所用之豆漿濃度與嫩豆腐相同，以葡萄糖酸- δ -內酯（glucono- δ -lactone, GDL）為凝固劑，添加量為豆漿重之 0.3%。製作方法為：將加熱冷卻後之豆漿與凝固劑均勻混合，再於 80°C 下復熱 30 分鐘，藉由 GDL 受熱水解為葡萄糖酸（Gluconic acid）（圖五），降低豆漿之 pH 值，促使硫氫基（-SH）形成雙硫鍵（S-S），使蛋白質分子凝聚、疏水性分子交互作用，而形成凝乳膠。由於製作過程不需經加壓步驟，因此營養成分皆保留於豆腐中不致流失，而以 GDL 製成之豆腐微細結構最為均勻且連續（deMan et al., 1986）。

七、影響豆腐品質及產率之加工條件

（一）豆漿加熱處理

加熱豆漿的目的不僅可去除胰蛋白酶抑制劑（trypsininhibitor）活性，亦可殺死微生物和降低豆臭味並提高豆漿之消化率（Wang et al., 1982）。但過度的加熱處理亦會降低其營養價值（Liener, 1972）。加熱會使豆漿蛋白質變性而產生硫氫-雙硫鍵間的交互作用以增加凝結時之彈性和結合性（Wolf, 1972），豆漿加熱時間不足時，大豆蛋白無法完全分解成次單元體而阻礙凝膠，若過度加熱，則會造成過多的硫氫基被空氣氧化，使豆腐硬度降低（Saio, 1979）。

不同的豆漿加熱速率對豆腐產品亦會有影響，Beddows et al., (1987)指出，煮沸速率小的加熱方式可得到外觀完整平滑的豆腐；反之，較大的煮沸速率，其所製得之豆腐質地較軟且離水現象較為嚴重。Liu 等（2004）探討兩段式加熱對豆腐質地之影響中指出，豆漿加熱至 7S 球蛋白變性溫度（75°C）維持 5 分鐘，再加熱至 11S 球蛋白變性溫度（95°C）維持 5 分鐘後，由於第一階段加熱會使 7S 球蛋白形成網狀結構，第二階段加熱後的 11S 球蛋白與 7S 球蛋白鍵結後形成較細且有秩序的聚合物，因此所製得之豆腐網狀結構較緊實且均勻、離水情形下降且質地較具彈性（圖六）。

（二）凝固劑的種類及濃度

豆腐的製造過程中，凝固劑的添加與種類，與豆腐品質的好壞

佔有很大的影響。目前製作豆腐最常使用之凝固劑種類包括：硫酸鈣 (Calcium sulfate; CaSO_4)、氯化鎂 (Magnesium chloride; MgCl_2)、葡萄糖酸- δ -內酯 (Glucono- δ -lactone; GDL)、硫酸鎂 (Magnesium sulfate; MgSO_4) 及氯化鈣 (Calcium chloride; CaCl_2)。

硫酸鈣是傳統豆腐最常使用的凝固劑，Chang (2006) 指出，硫酸鈣所形成的豆腐有較佳的保水能力、質地柔軟、具彈性及較高產率。利用氯化鎂或氯化鈣製成之豆腐質地較脆，雖然產率較低，但是風味則優於硫酸鈣豆腐 (青山, 2004)。而 GDL 則常被用於盒裝豆腐的製作，所製作出的豆腐質地堅硬類似洋菜，略帶酸味 (陳, 2006; Liu et al., 2003)，保水率最佳、豆腐收率也最高。此外，使用同一種凝固劑時，濃度越高則凝固速率越快，離水現象亦會增加。Breene (1991) 指出，凝固劑濃度越高，所製成的豆腐產率、含水量和蛋白質回收率會降低。而隨著凝固劑濃度增加，豆腐內大豆球蛋白會由絲狀結構逐漸形成穩定的網狀組織。凝固劑添加量過高時，蛋白質與凝固劑的結合位置越多，導致網狀結構太過緊密，使得三度空間網狀結構內的水分容易流失。當凝固劑添加量不足時，豆漿中的蛋白質無法充分與凝固劑產生鍵結，所製成之豆腐不僅質地軟且蛋白質與固形物回收率亦不高，因此惟有添加適量之凝固劑才可得到蛋白質及固形物回收率較高的豆腐。

（三）凝固劑添加之溫度與攪拌速度

Chang (2006) 指出，添加凝固劑時豆漿溫度越高，可提高凝固劑的溶解度，使蛋白質快速凝結。導致豆腐的體積小、保水力差且硬度高；低溫添加凝固劑時，因溶解度低，易造成豆腐質地過軟且不易成形，最適合添加硫酸鈣的溫度在 70~80°C 左右。

Hou 等 (1998) 也發現，添加凝固劑時豆漿攪拌程度不夠，無法充分使蛋白質與凝固劑鍵結，而過度攪拌則會破壞豆腐的微細結構而降低豆腐產率；Beddows et al., (1987) 研究結果顯示，豆腐製程中添加凝固劑之最佳攪拌速率為 250rpm，攪拌時間為 5~25 秒。

（四）凝膠加壓條件

加壓主要是為了提高豆腐的硬度及排除多餘水分，而 Gandhi et al., (1988) 也指出加壓可幫助蛋白質凝膠與鍵結，使豆腐硬度增加；但壓力過大會破壞豆腐的網狀結構，在豆腐表面形成一質地較厚的豆腐層，使乳清從內部釋放出來。而過長的加壓時間亦會使較多的乳清釋出，通常是用來製作豆乾等硬度較高的產品。而製作盒裝豆腐則不需加壓。

八. 質地輪廓分析

食品是由不同的成分所組成，經由不同的加工方式會產生不同的風味與質地，而風味和質地亦是影響食品接受性的重要因子。一般而言，食品除了風味、色澤之外，其組織特性（texture properties）也是影響食品接受度的重要因素（姚，1994）。目前對於食品組織特性的研究與鑑定有兩大類方式，主觀的方法為感官性測定，另一客觀方式為儀器之物性測定，主要是在測定物質的物理特性及機械作用等（姚，1994）。

而質地剖面分析（Texture profile analysis，TPA）是模仿人類咀嚼之動作，其原理是對一食品進行上下兩次所產生 25% 之等速壓縮形變，然後以力-時間做圖（force-time curve）（圖七），其所測得之七項描述因子分別為：硬度（Hardness）、附著性（Adhesiveness）、彈性（Springiness）、內聚性（Cohesiveness）、回復力（Resilience）、膠性（Gumminess）、咀嚼性（Chewiness）等七項參數（Bourne,1978）。

表一. 黃豆蛋白之組成

Table 1. Composition of soy bean protein

Fraction	Percent of total(%)	Component	Molecular weight (kDa)
2S	22	Trypsin inhibitors	8-21
		Cytochrome c	12
7S	37	Hemagglutinins	110
		Lipoxygenases	102
		β -Amylase	67
		7S globulin	150-200
11S	31	11S globulin	350
15S	11	11S globulin	600



(Hayashi,1998)

表二. 大豆 7S 和 11S 球蛋白之組成與其變性溫度

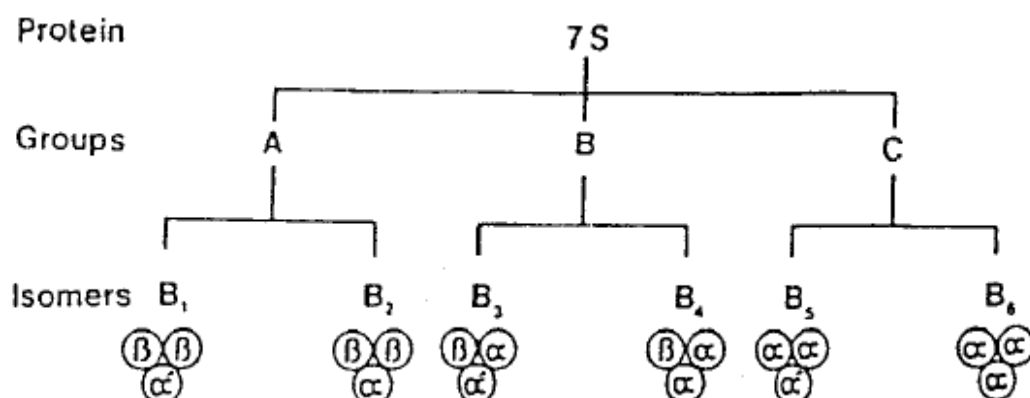
Table 2.Subunits and denaturation of 7S globulin and 11S globulin

Soy protein fraction	Denaturation temperature		Molecular weight (kDa)
	(°C)	Subunit	
7S globulin (β -conglycinin)	60-70°C	α	67
		α'	71
		β	50
11S globulin (Glycinin)	80-90°C	Acid polypeptide	38
		Basic polypeptide	20

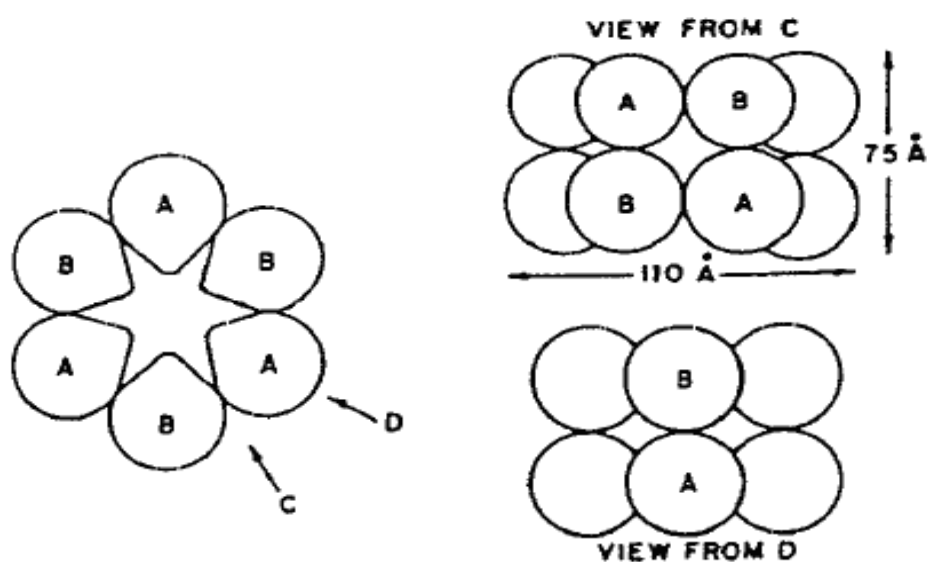
(Ruiz-Henestrosa,et al.,2007_b)



(1)



(2)



圖一. 大豆球蛋白之次單元體的結構

(1) 7S 球蛋白的次單元體

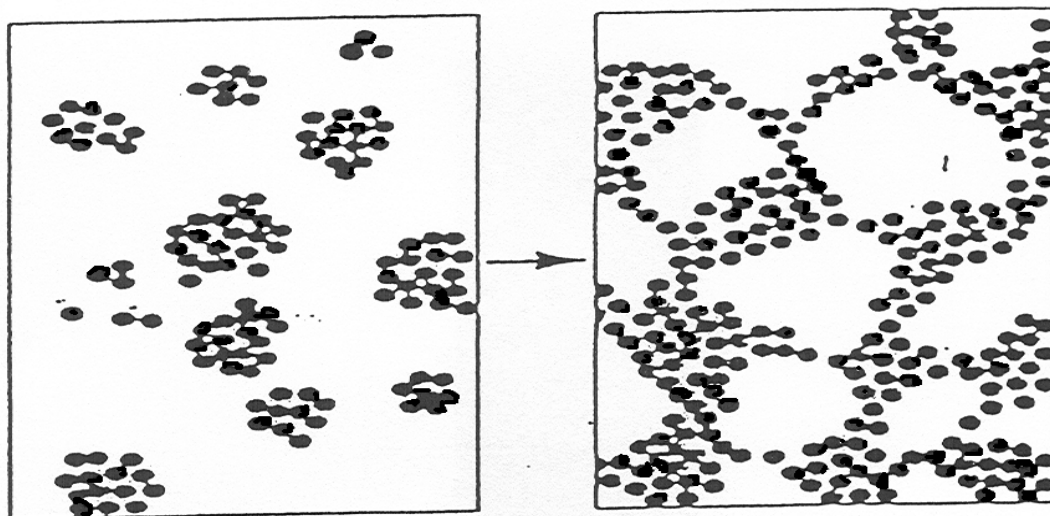
(2) 11S 球蛋白的次單元體

Fig.1. Structures of subunits in soy globulin

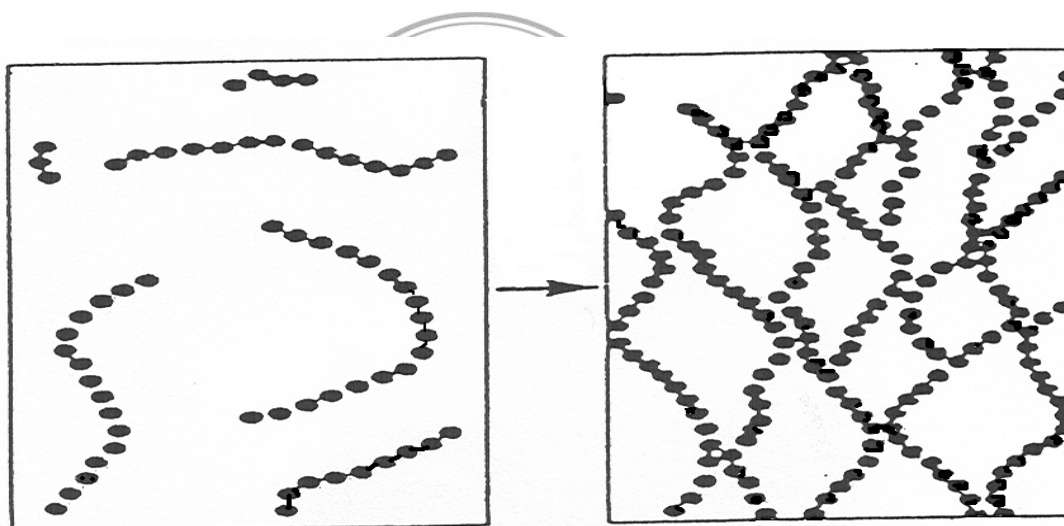
(1) Structures of 7S globulin (Kilara et al., 1986)

(2) Structures of 11S globulin (Peng et al., 1984)

(1)



(2)



圖二.球蛋白聚集成膠的兩種型式

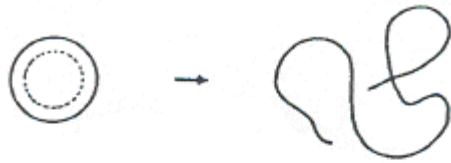
Fig.2. Two types of gel aggregation in gloublin

(1) 分子任意聚集 Molecule nandom aggregation

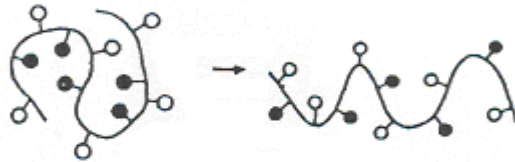
(2) 分子聚集成串珠結構 Molecule forming a string of beads

(Dio,1993)

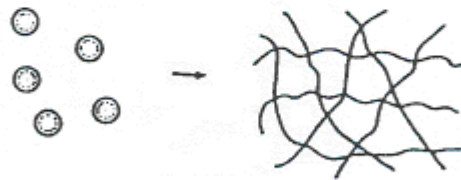
1. 分子展開



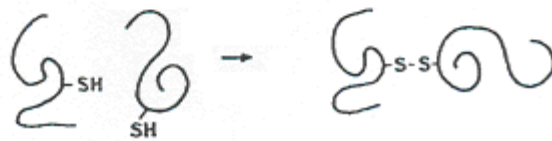
2. 疏水基外露



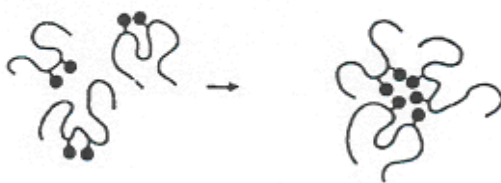
3. 網狀結構的形成



4. 分子間雙硫鍵的形成



5. 分子間疏水性基的結合

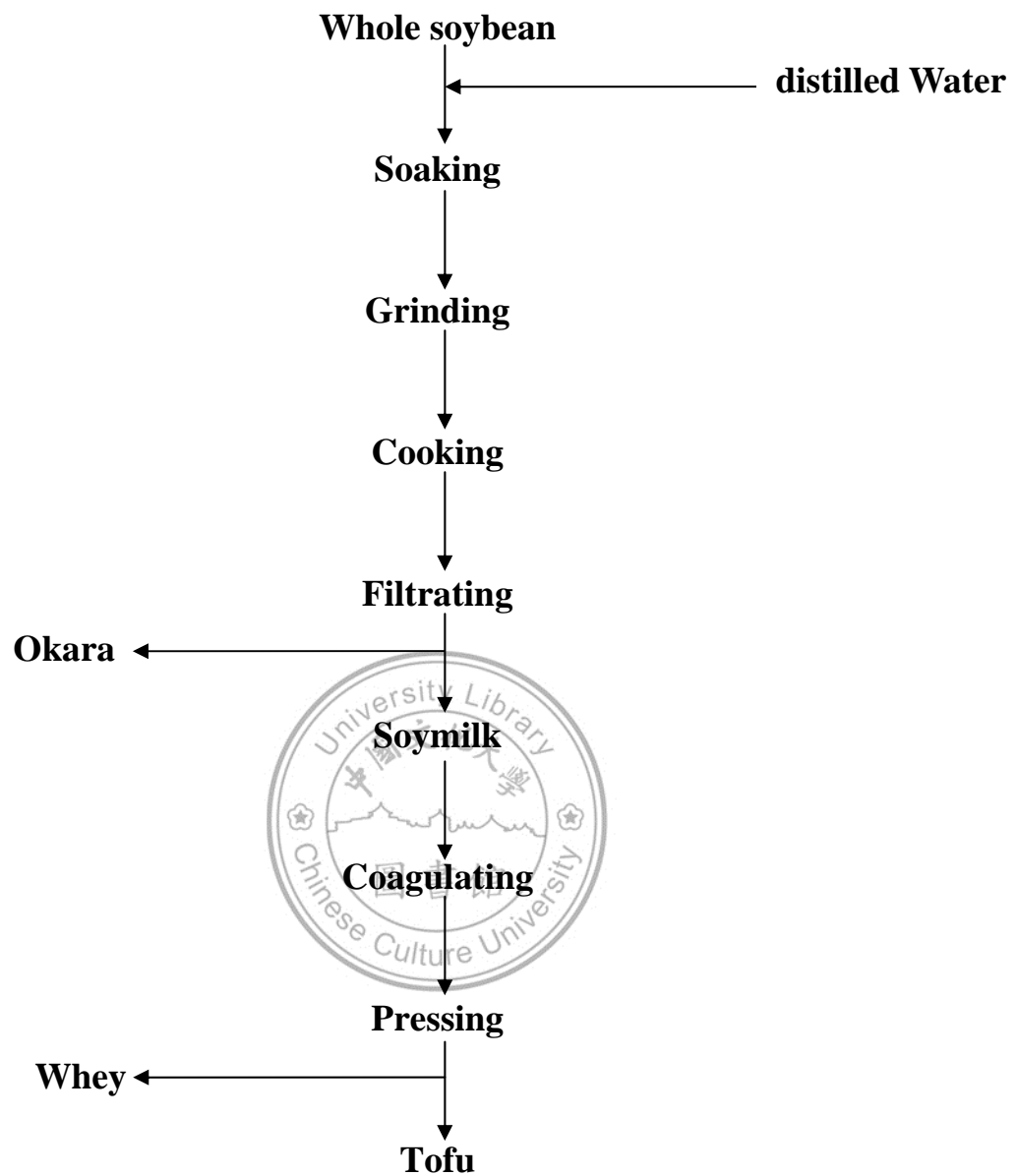


(●—疏水基，○—親水基)

圖三.大豆蛋白變性模式圖

Fig.3.Schematic of soy protein denaturation

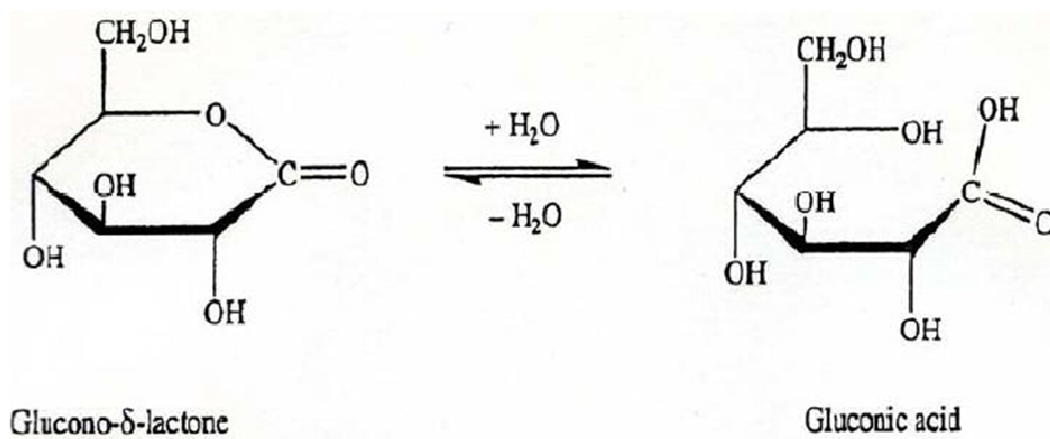
(山內，1980)



圖四、豆腐製造流程

Figure 4. The processing of tofu.

(仁藤，2000)

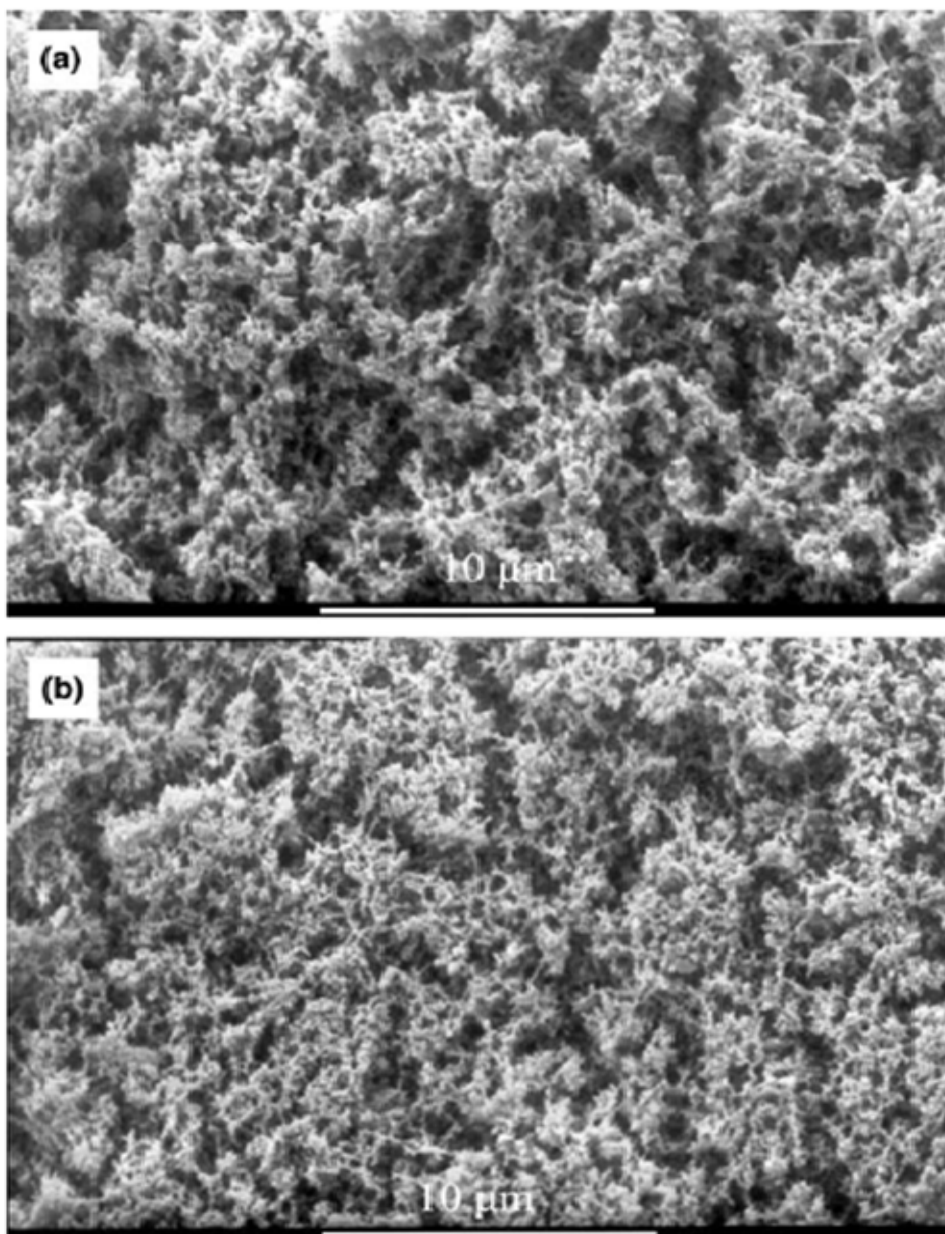


圖五、葡萄糖酸- δ -內酯水解為葡萄糖酸之結構圖

Figure 5. D-Glucono- δ -lactone hydrolysis in water to form D-gluconate.



(Belitz et al.,2004)

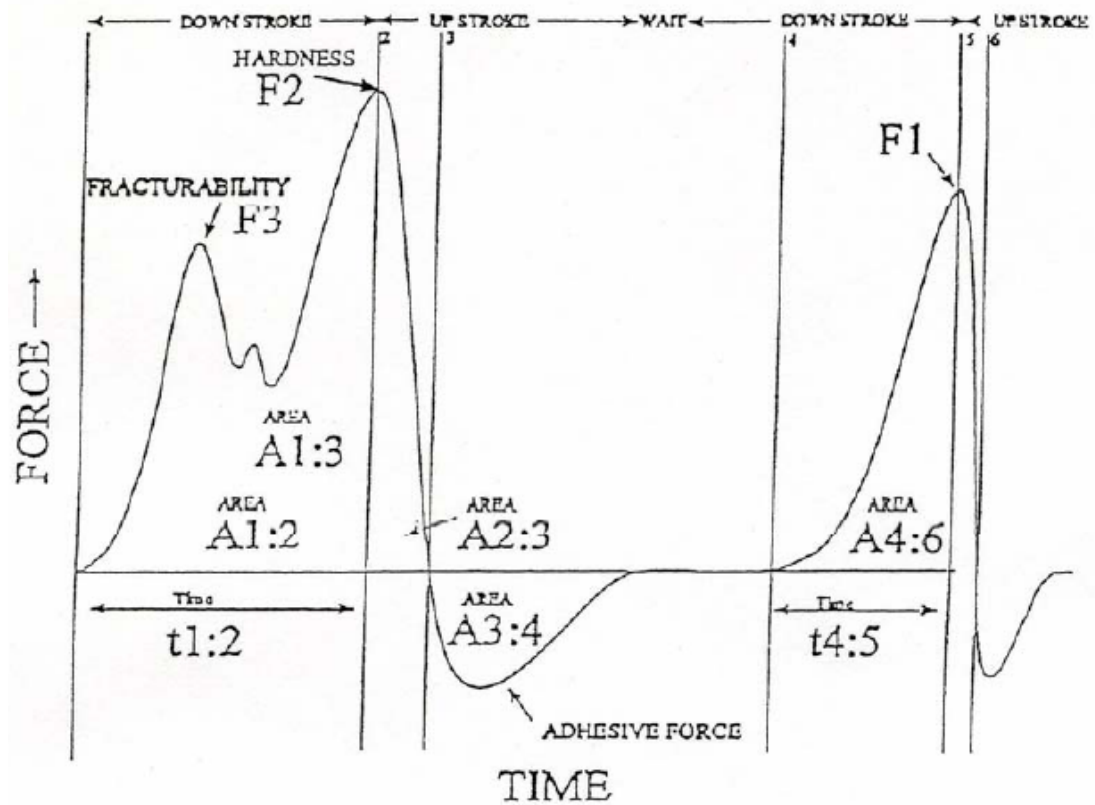


圖六、不同熱處理對盒裝豆腐微細結構之影響

(a)一段式加熱 (b) 兩段式加熱

Figure 6. Effect of selective thermal denaturation on the filled tofu:
(a) one-step heating and (b) two-step heating microstructure .

(Liu et al., 2004)



圖七、質地輪廓分析曲線圖

Fig7. Texture profile analysis (TPA) curve

(Bourne,1978)

參、實驗材料與方法

一、實驗材料

(一)原料

黃豆：產地加拿大，由大漢公司提供。其化學組成分為moisture 12.42%、protein 36.9%、lipid 21.6%、ash 5.22%，存放於冰箱冷藏。

(二)試藥級藥品：

1. Acetic acid、Hexane、Trichloroacetic acid、NaOH、Thiourea、HCl

(Kanto Chemical, Japan)。

2. Methanol (J.T.Baker, USA)。

3. N'N'-bis-methylene-acrylamide、SDS(Sodium Dodecyl Sulfate)、Tris

base、glycerol、Glycine、Coommassie brilliant blue(R-250)、

2-mercaptoethanol、BSA (bovine serum albumin)、ammonium

persulfate (APS)、Urea、Acrylamide、Bradford reagent、

N,N,N,N-tetramethylethylenediamine (TEMED)、Bromophenol

blue、8-anilino-1-naphthalene sulfonic acid(ANS)(Sigma, USA)。

4. Protein marker (Bio-Rad,USA)。

5. 葡萄糖酸內酯(GDL)：由碩大興股份有限公司提供。台灣。

二、實驗設備：

1. pH 測定儀：Microprocessor pH Meter SP2200, SUNTEX, Taiwan。
2. 食品磨漿機：鳳梨牌-CL010，Taiwan。
3. 數字型糖度計（Refractometer）：PR-100， ATAGO， Japan。
4. 影像分析處理設備：LI-COR， Odyssey， USA。
5. 螢光分光光譜分析儀：Thermo， varioskan flash， USA。
6. 色差儀（Color meter）：ColorFlex45/0， HunterLab， USA。
7. 混合器：Major Science， waver shaker, USA。
8. 電泳展開器：Ettan IPGhor3， GE Healthcare Piscataway, USA。
9. 電源供應器：Boi-RAD， Power Pac HV， CA.USA。
10. 迷你電泳槽：Boi-RAD， Mini-Protean Tetra cell， CA.USA。
- 11.黏度計（Viscometer）：RVDVE115， Brookfield， USA。
- 12.恆溫水浴槽：B206， Firstek， Taiwan。
- 13.光譜分析儀：Thermo， Biomate 3， USA。
- 14.食品物性測定儀（Texture Analyser）：TA-XT2i, Stable Micro Systems[®], England。
- 15.桌上型離心機：Centrifuge， Kubota 5100， Japan。
- 16.紫外光機：Nano-Lite[™]， Ultralum， USA。

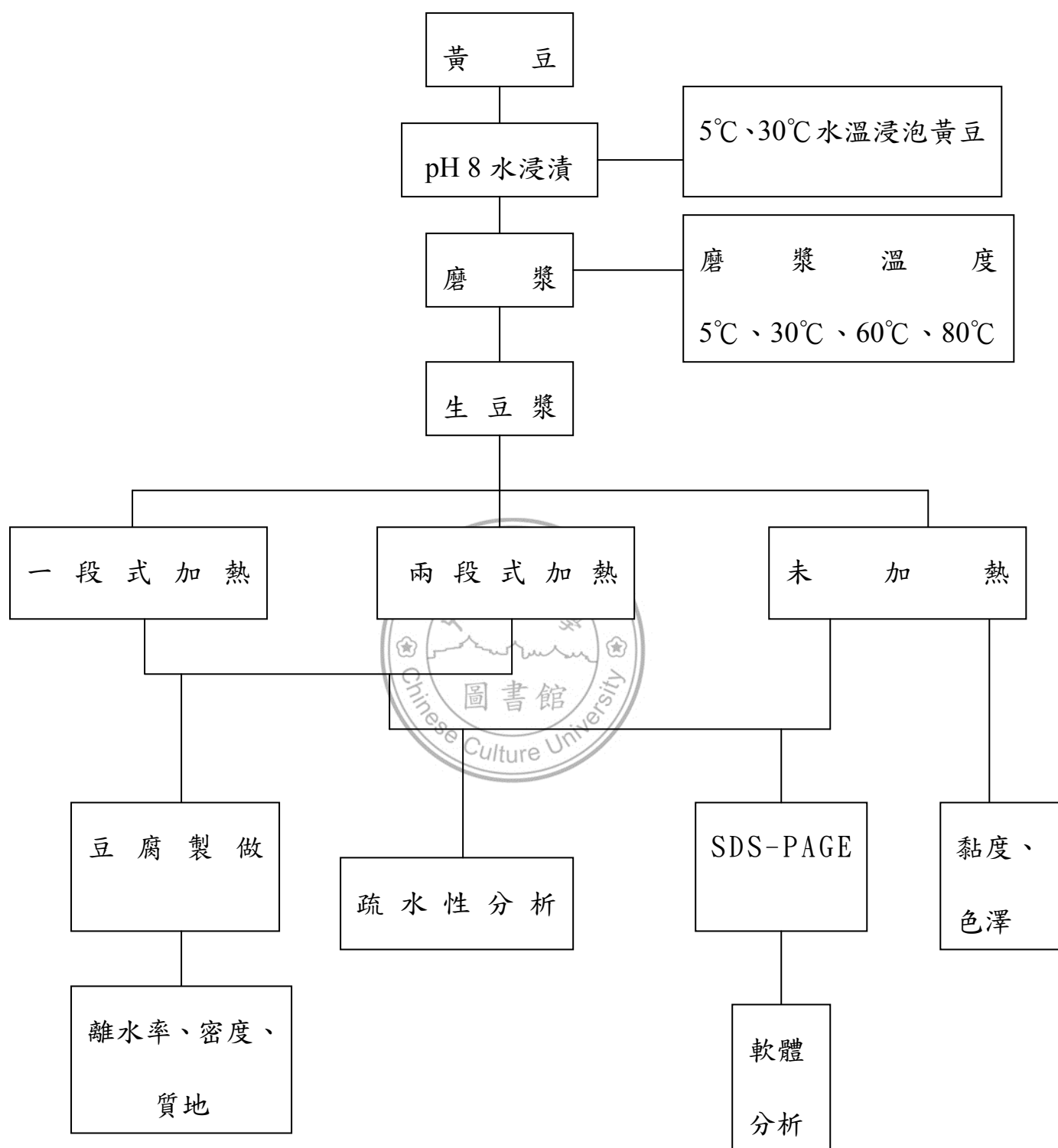
三、實驗流程設計

本研究內容主要區分為兩大部分：

第一部分：不同浸漬溫度、磨漿溫度及不同加熱方式對豆漿蛋白質及豆漿品質之影響。此實驗是以不同溫度（5、30℃）浸泡黃豆，並以不同溫度（5、30、60、80℃）磨漿，再分別用一段加熱（傳統加熱）及兩段加熱方式加熱豆漿。所得之豆漿分別測定其黏度、顏色、蛋白質表面疏水性，並以 SDS-PAGE 蛋白質電泳分析。

第二部份：不同浸漬溫度、磨漿溫度及不同加熱方式對盒裝豆腐質地之影響。以前述加工處理所得之豆漿，添加 0.3%GDL 至豆漿中混合均勻，置於 80℃ 水浴復熱 30 分鐘製成豆腐。所得之豆腐分別測定其離水率、密度、質地，並以上述分析結果作為了解豆腐製作結構改變之原因。

四、實驗流程圖



圖八. 實驗流程圖

Fig.8. Scheme of the experiment procedures

五、實驗方法

(一)浸漬溫度、磨漿溫度與加熱條件對豆漿蛋白質之影響

1. 樣品製備：

大豆浸漬、磨漿、加熱

浸漬大豆之豆:水比例為 1:3(Watanabe et al.,1988)，並依照陳(2009)探討不同浸漬條件對於豆漿微生物生長狀況之影響得知，以 pH8 之 NaOH 溶液及 30℃ 水溫浸泡大豆其總生菌數較低，5℃ 水溫浸泡則固形物溶出較少，故本實驗採以此溫度作為浸泡大豆之條件。

首先利用去離子水配製 pH8 之 NaOH 溶液，並以 pH meter 測定其濃度。再秤取 20g 大豆置入三角錐瓶中，加入 60ml pH8 之 NaOH 溶液，再置於 5℃ 或 30℃ 恆溫水浴槽中，分別浸泡 20 或 6 小時後取出大豆。接著分別將 5℃、30℃、60℃、80℃ 去離子水以豆:水 1:10 之比例，利用磨漿機磨製豆漿，並以乾淨紗布過濾之。

分別取以過濾後之豆漿，各以一段式加熱方式（傳統加熱）及兩段式加熱方式加熱。

一段式加熱方式：直接將豆漿加熱至 95℃ 維持五分鐘。

兩段式加熱方式：將豆漿加熱至 75℃ 維持五分鐘，再加熱至 95℃ 維持五分鐘 Liu（2004）。

所得之豆漿分別測定其黏度、顏色，探討不同加工處理之生豆漿質地，另外測定：豆漿蛋白質表面疏水性、SDS-PAGE 蛋白質電泳分析，以探討不同加工方式處理之豆漿其蛋白質的變化。

2. 測定項目與方法：

(1) 豆漿黏度測定

以黏度計測定樣品黏度，取未加熱之豆漿（室溫 25℃）450ml 於燒杯中，使用 1 號 Spindle，設定轉速為 100rpm，紀錄黏度值。

(2) 豆漿顏色測定

以色差儀測定未加熱之豆漿色澤，檢測前先以標準白板及黑板進行校正，將未加熱豆漿置於樣品皿中，色差以 Hunter L,a,b 值表示，其中 L 值為明亮度（0~100，數值越高表示顏色越白，數值越低表示顏色越黑）；a 值正值偏紅色，負值偏綠色；b 值正值偏黃色，負值偏藍色。每樣品重複測定三次，求其平均值，並計算白值（White Index, WI）。

$$WI=100-\{(100-L)^2+a^2+b^2\}^{1/2}$$

(3)蛋白質表面疏水性分析測定

實驗依據 Zhang 等（2005）方法測定未加熱、一段加熱、及兩段加熱豆漿中疏水性質之變化。此實驗是添加 8-anilino-1-naphthalene sulfonic acid（ANS）來反應。

分別取未加熱、一段加熱、及兩段加熱之豆漿，經連續稀釋成濃度範圍在 0.01~0.06mg/ml 之溶液，取 2ml 稀釋液，並加入 10 μ l 5mM 的 ANSA 溶液，於室溫下靜置 20min，以螢光分光光度計於激發波長 375nm、放射波長 380~580nm 下測定其螢光值。將不同梯度濃度與其螢光值作圖，求出線性迴歸（一次迴歸），所得斜率即為蛋白質表面疏水性（So）。



(4) SDS-PAGE 蛋白質電泳分析

根據楊（2004）方法加以修改測定。

蛋白質標準分子量：使用 Bio-Rad 161-0303。

a. 各膠體配製之比例如下：

藥品	running gel 12%	stacking gel 4%
40% Acrylamide/Bis solution	3ml	0.5ml
0.5M Tris HCl (PH6.8)	-	1.26ml
1.5M Tris HCl (PH8.8)	2.5ml	-
dd H ₂ O	4.35ml	3.18ml
10% SDS	100 μ l	50 μ l
10% APS	50 μ l	25 μ l
TEMED	5 μ l	5 μ l

b. 蛋白質濃度測定

蛋白質濃度乃依據 protein-dye binding 方法測定之 (Bradford,1976)，標準檢量曲線以牛血清蛋白 (BSA) (bovine serum albumin) 作為標準蛋白質。將濃度 2.0mg/ml 之 BSA 稀釋成 10 個濃度梯度，加入 Bradford reagent 混合均勻，再以 595nm 測吸光值，並作一空白組，試驗吸光值再扣除空白組之吸光值而得淨吸光值，再將吸光值與濃度做圖，製作蛋白質標準檢量線。

c. 實驗步驟

以 Bio-Rad 公司之迷你電泳裝置，採用 1mm 之玻璃隔板及 10 槽之齒梳，並配合電源供應器進行。配製 12%running gel 與 4%之 stacking gel。以去離子水稀釋豆漿，取 2.4 μ l 豆漿待測樣品加入 9.6 μ l sample buffer 於微量管中，放入水浴槽中以 100 $^{\circ}$ C 水浴 5 分鐘，取 10 μ l 豆漿樣品與蛋白質標準品加入事先製備的 stacking gel 凹槽中，利用蛋白質電泳展開器，進行電泳；設定以 80mv 進行 30 分鐘跑膠，待樣品全部跑出 stacking gel 後以 150 mv 進行 100 分鐘跑膠，待泳動至電泳膠片下緣即可，取出電泳片以 coomassie brilliant blue(R-250)進行染色 30 分鐘；再將電泳片以 destain 退染液進行退染至電泳膠片脫色並能清楚看見蛋白質條帶後，置於影像分析處理系

統中進行電泳片判讀。

(二) 浸漬溫度、磨漿溫度與加熱條件對豆腐品質之影響

1. 樣品製備：

取 250ml 不同加熱方式加熱完之豆漿，冷卻至 10℃ 後，添加 0.3 %GDL 至豆漿中混合均勻，置於 80℃ 水浴復熱 30 分鐘製成豆腐，所得之豆腐分別測定其離水率、密度、質地，以探討不同加工處理方式對豆腐品質的影響。

2. 測定項目：

(1) 豆腐離水率測定

參考 Liu 等（2004）及施與蕭（2003）之方法加以修改。將製作好之盒裝豆腐放置冰箱隔夜後，以吸管取出滲出液，將浸漬液秤重後除以豆腐樣品重（100g）即可算出離水率，每組樣品測量三次，取平均值。

(2) 豆腐密度測定

參考 Liu 等（2004）之方法加以修改。將吸取滲出液後的豆腐樣品重除以豆腐的體積即可算出豆腐密度，每組樣品測量三次，取平均值。計算公式如下所示：

$$\text{Tofu density(g/cm}^3\text{)} = \frac{\text{Tofu weight}}{\text{Tofu volume}}$$

(3)豆腐質地測定

參考施與蕭（2003）之方法加以修改。取 20℃250ml 豆漿於燒杯中製作成之盒裝豆腐，以物性測定儀測定豆腐之硬度（Hardness）、附著性（Adhesiveness）、彈性（Springiness）、內聚性（Cohesiveness）、回復力（Resilience）、膠性（Gumminess）、咀嚼性（Chewiness）等七項參數。分析條件如下：使用直徑 15mm 圓形 adaptor（SMS P/5）、設定力（force）：25kg，進行兩段式擠壓。測定時擠壓高度設定為樣品高度之 60%，測定棒移動速率為 2.0mm/sec.，每一產品測定十次取其平均值。

(三)統計分析

每項試驗皆三重複，所得結果以 SAS,9.0 軟體進行統計分析，實驗數值以平均值±標準偏差（mean±SD）表示，利用 ANOVA 變異數分析檢定各處理間之差異，以鄧肯氏多變域顯著性測試（Duncan's multiple range test）做顯著差異比較，p<0.05 表具有顯著差異。

肆、結果與討論

一、浸漬溫度、磨漿溫度及加熱方式對豆漿蛋白質之影響

(一) 不同浸漬溫度及磨漿方式對生豆漿黏度之影響

影響蛋白質黏度的因子包括蛋白質濃度、溫度變化、攪拌方式等。而蛋白質加熱後會造成分子展開 (unfolding)，使黏度增加。本實驗以 5°C、30°C 浸漬及 5°C、30°C、60°C、80°C 水溫磨漿方式所得之生豆漿來探討黏度變化。表三為不同溫度浸漬及磨漿方式對生豆漿黏度之關係，由變方分析表發現 (表四)，不同浸漬溫度並無顯著性的差異，不同磨漿溫度則對生豆漿有顯著之影響。以鄧肯氏多變域顯著性測試 (Duncan's multiple range test) 做顯著差異比較，5°C、30°C、60°C、80°C 水溫磨漿所測得之平均黏度分別為 15.09 cp、13.75cp、13.12cp、12.73cp，其中 5°C 低溫磨漿較其他三磨漿溫度有顯著的差異，而 30°C、60°C、80°C 磨漿溫度之間則無明顯差異。由數據顯示磨漿溫度越高，其豆漿黏度越低。陳 (2010) 在不同磨漿條件對生豆漿蛋白質及固形物回收率影響中指出，隨著磨漿溫度增加，固形物回收率呈下降趨勢，由此推測高溫磨漿豆漿中固形物較低，因此豆漿黏度也隨之降低。Al-Kishtaini (1971) 指出，以高於 75°C 水溫磨漿，其生豆漿黏度及產率皆會降低，此與本實驗結果相符。

表三. 不同浸漬與磨漿條件對豆漿黏度之變化

Table 3. Effect of different soaking and grinding conditions on soymilk viscosity

Soaking Temp(°C)	Grinding Temp(°C)	Viscosity(cp)
5	5	15.20±0.69 ^{a*}
	30	13.58±0.29 ^{ab}
	60	13.05±0.78 ^b
	80	12.75±0.98 ^b
30	5	14.98±0.39 ^a
	30	13.92±0.84 ^{ab}
	60	13.18±1.16 ^b
	80	12.72±1.59 ^b

a-b means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

* mean ±SD(n=3)

表四. 不同浸漬與磨漿條件對豆漿黏度變化之變方分析表

Table 4. ANOVA for viscosity of soymilk by different soaking and grinding conditions

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	0.02	0.02	0.02
Grinding	3	19.27	6.42	7.49 [*]
Soaking*Grinding	3	0.25	0.08	0.10

*P<0.05

（二）不同浸漬與磨漿條件對豆漿顏色之影響

不同浸漬溫度及磨漿方式對生豆漿顏色之影響結果如表五。以鄧肯氏多變域顯著性測試（Duncan's multiple range test）做顯著差異比較，以浸漬溫度而言，L 值（亮度）的差異並不顯著，5°C 浸漬及 30°C 浸漬的平均值分別為 82.97 與 82.60。磨漿溫度方面，5°C、30°C、60°C、80°C 磨漿，其平均值分別為 83.06、82.87、82.76、82.45，亦無顯著的差異。表六為不同溫度浸漬及磨漿方式對豆漿 a 值（紅綠色度）之變方分析表，由表中可觀察到以浸漬溫度而言，5°C 浸漬及 30°C 浸漬有顯著性的差異；5°C 浸漬及 30°C 浸漬的鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 -2.11 及 -2.39，而磨漿溫度的影響，5°C、30°C、60°C、80°C 磨漿，其平均值分別為 -2.09、-2.23、-2.28、-2.40，5°C 低溫磨漿較其他三處理組有顯著差異，而 30°C、60°C 磨漿之間無明顯差異，80°C 高溫磨漿與其他三處理組差異較為顯著。由此結果得知，隨著浸漬及磨漿溫度提高，所得的豆漿顏色較偏綠。對 b 值（黃藍色度）而言，5°C 浸漬及 30°C 浸漬的鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 10.07 及 9.43；5°C、30°C、60°C、80°C 磨漿，其鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 9.34、9.83、9.88、9.95，浸漬和磨漿溫度皆無顯著影響。在 WI 值（白度指數）中，5°C 浸漬及 30°C 浸漬的鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 80.37 及 79.70，

而磨漿溫度的影響，5℃、30℃、60℃、80℃磨漿，其鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 80.52、80.05、79.95、79.61，浸漬和磨漿溫度亦無顯著影響。

整體而言，較高的浸漬溫度及較高的磨漿溫度，其所製得之豆漿顏色較偏綠、偏黃，Wang 等（1996）針對大豆加工過程中，胡蘿蔔素及黃酮類色素流失量的分析，其中以浸漬和加熱過程損失最多，故推測隨著浸漬及磨漿溫度提高，造成大豆中的胡蘿蔔素、類黃酮色素流失，而使豆漿顏色較偏黃、偏綠。

（三）不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性之影響

經物理或化學方法可以改變蛋白質的結構。蛋白質分子因受熱而展開，使蛋白質表面疏水性增加，形成變性蛋白質，再因疏水性鍵結而凝聚形成三維網狀結構。本實驗採用一段式加熱和兩段式加熱方式來探討不同加熱方法其蛋白質表面疏水性的變化，結果如表七。表八為不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性影響之變方分析表。以鄧肯氏多變域顯著性測試（Duncan's multiple range test）做顯著差異比較，以浸漬溫度分析，5℃浸漬及 30℃浸漬的平均值分別為 4.46 與 4.69 在統計分析上有顯著差異。磨漿溫度方面，5℃與 30℃之間無顯著差異，60℃、80℃磨漿皆較其他兩處理

組有顯著性差異，其鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 3.85、4.11、5.04、5.31。未加熱、一段式加熱和兩段式加熱結果其表面疏水性鄧肯氏多變域顯著性測試平均值為 2.38、5.53、5.82，統計分析結果亦皆有顯著性差異。此研究結果顯示較高的浸漬溫度及磨漿溫度，其蛋白質表面疏水性呈現增加趨勢（圖九），以兩段加熱其蛋白質表面疏水性亦比一段式加熱方式來的高，此與 Liu（2004）研究指出，兩段加熱提高了豆漿蛋白質表面疏水性的結果相符。

（四）不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質分佈之影響

（十二磺酸鈉聚丙烯醯胺膠體電泳分析 SDS-PAGE）

當蛋白質產生聚集形成較大分子量的結構體，在電泳時就可因泳動速率不同而分離。蛋白質在加熱前和加熱後在電泳圖譜上的不同除了可用來判斷蛋白質分子大小的變化，而且可看出分子聚集情形。大豆蛋白質中球蛋白為主要類型，是形成豆腐凝膠的蛋白質，並以 7S 及 11S 球蛋白佔大部分。Saio 和 Watanabe（1978）提出，7S 和 11S 球蛋白是影響豆腐物理性質的重要因素，故本實驗擬以不同加工條件來探討豆漿中蛋白質次單元體的變化，進而了解影響豆腐的質地因素，其十二磺酸鈉聚丙烯醯胺膠體電泳分析（SDS-PAGE）結果如圖十至圖十二，圖十為未加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋

白質次單元組成之電泳圖譜，圖十一為一段加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋白質次單元組成之電泳圖譜，圖十二為二段加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋白質次單元組成之電泳圖譜。其中，7S 球蛋白主要是由 α 、 α' 、 β 次單元組成；11S 球蛋白則主要以酸性多胜肽（A、 A_3 ）、鹼性多胜肽（B）次單元組成，電泳圖譜 band 依序為 Lipoxxygenase、 α' 、 α 、 β 、 A_3 、Lectins、B。由圖十、十一、十二比較未加熱、一段式加熱和兩段式加熱的電泳圖譜可發現，Lipoxxygenase 的 band，在未經加熱的豆漿其顏色較為清楚可見。Iwabuchi and Yamauchi（1987）指出，Lipoxxygenase 其分子量為 100kDa，負責催化多元不飽和脂肪酸的氧化反應，因此與豆臭味的產生有關，可經由加熱將脂肪氧化酶去活化以減低經磨碎大豆時造成的豆臭味。

7S 和 11S 球蛋白其次單位的變化如表九~表十二。其中，表九為不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質次單元組成之變化；表十、表十一、表十二分別為不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質 7S 球蛋白其次單元體 α 、 α' 、 β 的變方分析表。以鄧肯氏多變域顯著性測試（Duncan's multiple range test）做顯著差異比較，以浸漬溫度觀察 α 、 α' 、 β 次單元體皆有顯著性的差異，其 5°C 浸漬及 30°C 浸漬的豆漿蛋白質成分組成百分比平均值分別為 α 次單元體：7.25

%與 7.10%； α' 次單元體：11.43%與 10.96%； β 次單元體：9.74%與 11.26%。以磨漿溫度觀察 α 、 α' 、 β 次單元體亦有顯著性的差異，其 5°C、30°C、60°C、80°C 磨漿鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 α 次單元體：5.99%、6.93%、7.58%、8.20%； α' 次單元體：10.49%、10.76%、11.36%、12.16%； β 次單元體：10.07%、10.33%、10.38%、11.22%，在 α 及 α' 次單元體中，四組磨漿條件皆有顯著差異，而在 β 次單元體中，5°C 低溫磨漿與其他三處理組有較顯著之差異，30°C、60°C、80°C 磨漿之間則無差異。加熱方式方面，未加熱、一段式加熱和兩段式加熱皆有顯著性差異，其鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 α 次單元體：5.42%、7.10%、9.01%； α' 次單元體各平均值為：10.67%、10.79%、12.13%，其中未加熱較一段加熱和兩段加熱有顯著差異，一段加熱和兩段加熱之間則無差異； β 次單元體則皆有顯著差異，各平均值為：11.13%、10.50%、9.87%。

表十三、表十四、表十五分別為不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質 11S 球蛋白其酸性次單元 A 及 A_3 、鹼性次單元 (B) 的變方分析表。以浸漬溫度觀察 A、 A_3 、B 次單元體皆有顯著性的差異，其 5°C 浸漬及 30°C 浸漬的平均值分別為 A 次單元體：23.72%與 22.02%； A_3 次單元體：9.13%與 8.99%；B 次單元體：19.18%與 19.95%。以磨漿溫度觀察 A、 A_3 、B 次單元體亦有顯著性的差異，其 5°C、

30℃、60℃、80℃磨漿平均值分別為 A 次單元體：23.31%、23.24%、22.72%、22.21%，其中 5℃、30℃磨漿之間無差異，與 60℃、80℃磨漿差異較為顯著，60℃磨漿與其他三磨漿溫度有顯著差異，80℃高溫磨漿亦與其他三磨漿溫度有較大之差異；A₃ 次單元體鄧肯氏多變域顯著性測試平均值：9.54%、9.25%、8.88%、8.60%皆有顯著差異；B 次單元體鄧肯氏多變域顯著性測試平均值：21.07%、20.07%、18.68%、18.46%，其中 5℃、30℃、60℃磨漿差異較為顯著，60℃、80℃磨漿之間無差異。加熱方式方面，未加熱、一段式加熱和兩段式加熱皆有顯著性差異，其鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為 A 次單元體：17.98%、23.25%、27.39%；A₃ 次單元體：7.93%、9.32%、9.94%；B 次單元體：12.49%、22.35%、23.87%。

整體而言，7S 球蛋白次單元體 (α 、 α' 、 β) 其含量，會隨著浸漬及磨漿溫度的上升而提高，兩段加熱的含量亦較一段加熱高。而 11S 球蛋白次單元體 (A、A₃、B) 其含量，會隨著浸漬溫度的上升而降低，兩段加熱的含量亦較一段加熱高，不同的磨漿溫度含量則隨著磨漿溫度升高而降低。而 Lipoxxygenase、Lectins 的含量則隨著磨漿溫度升高而有降低的現象，兩段加熱的含量亦低於一段加熱的含量，另由表十 11S/7S 的比值中可發現隨著磨漿溫度提高，其比值越低；兩段加熱也較一段加熱所得比值高。Cai 等 (1999) 認為大豆

蛋白質中 11S/7S 的比率介於 2.0~2.4 之間時，可得最佳品質的豆腐，有關 7S 及 11S 的含量影響豆腐質地關係，將於豆腐質地實驗再做詳述。



表五. 不同浸漬與磨漿條件對豆漿之顏色變化

Table 5. Effect of different soaking and grinding conditions on soymilk color

Soaking Condition(°C)	Grinding Condition(°C)	Color			
		L	a	b	WI**
5	5	83.12±1.30 ^{a*}	- 2.02±0.35 ^a	8.79±1.50 ^a	80.82±1.78 ^a
	30	83.00±1.42 ^a	- 2.07±0.36 ^{ab}	9.56±1.48 ^a	80.29±1.18 ^a
	60	82.94±1.28 ^a	- 2.07±0.34 ^{ab}	9.63±1.48 ^a	80.22±1.52 ^a
	80	82.82±1.09 ^a	- 2.30±0.31 ^{abc}	9.76±1.61 ^a	80.02±0.98 ^a
30	5	83.01±1.35 ^a	- 2.17±0.32 ^{abc}	9.90±0.58 ^a	80.22±1.28 ^a
	30	82.73±1.19 ^a	- 2.39±0.32 ^{bc}	10.09±1.55 ^a	79.82±0.79 ^a
	60	82.58±1.48 ^a	- 2.49±0.34 ^c	10.12±1.28 ^a	79.69±1.18 ^a
	80	82.07±2.76 ^a	- 2.49±0.26 ^c	10.15±1.14 ^a	79.21±2.47 ^a

a-c means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

* means ±SD(n=3)

** WI= $100 - \{ (100-L)^2 + a^2 + b^2 \}^{1/2}$

表六. 不同浸漬與磨漿條件對豆漿 a 值（紅綠色度）之變方分析表

Table 6. ANOVA for (a) change of soymilk by different soaking and grinding conditions

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	1.36	1.36	12.85***
Grinding	3	0.84	0.28	2.66
Soaking*Grinding	3	0.21	0.07	0.66

*** $P < 0.001$



表七. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性之變化

Table 7. Effect of different soaking, grinding, and heating conditions on surface hydrophobic (So) of soymilk protein

Soaking Condition(°C)	Heating	Grinding Condition(°C)	Surface hydrophobic(So)
5	unheated	5	1.89±0.31 ^{g*}
		30	1.77±0.18 ^g
		60	2.49±0.62 ^{efg}
		80	2.87±0.51 ^e
	one-step	5	4.38±0.42 ^d
		30	4.98±0.55 ^{cd}
		60	6.12±0.56 ^{ab}
		80	6.18±0.30 ^a
	two-step	5	4.77±0.34 ^{cd}
		30	5.42±0.60 ^{bc}
		60	6.36±0.08 ^a
		80	6.29±0.35 ^a
30	unheated	5	2.13±0.38 ^{fg}
		30	2.09±0.41 ^{fg}
		60	2.69±0.37 ^{ef}
		80	3.10±0.27 ^c
	one-step	5	4.78±0.75 ^{cd}
		30	5.08±0.47 ^{cd}
		60	6.07±0.45 ^{ab}
		80	6.67±0.38 ^a
	two-step	5	5.14±0.27 ^{cd}
		30	5.32±0.19 ^c
		60	6.50±0.03 ^a
		80	6.76±0.24 ^a

a-gmeans in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

* mean±SD(n=3)

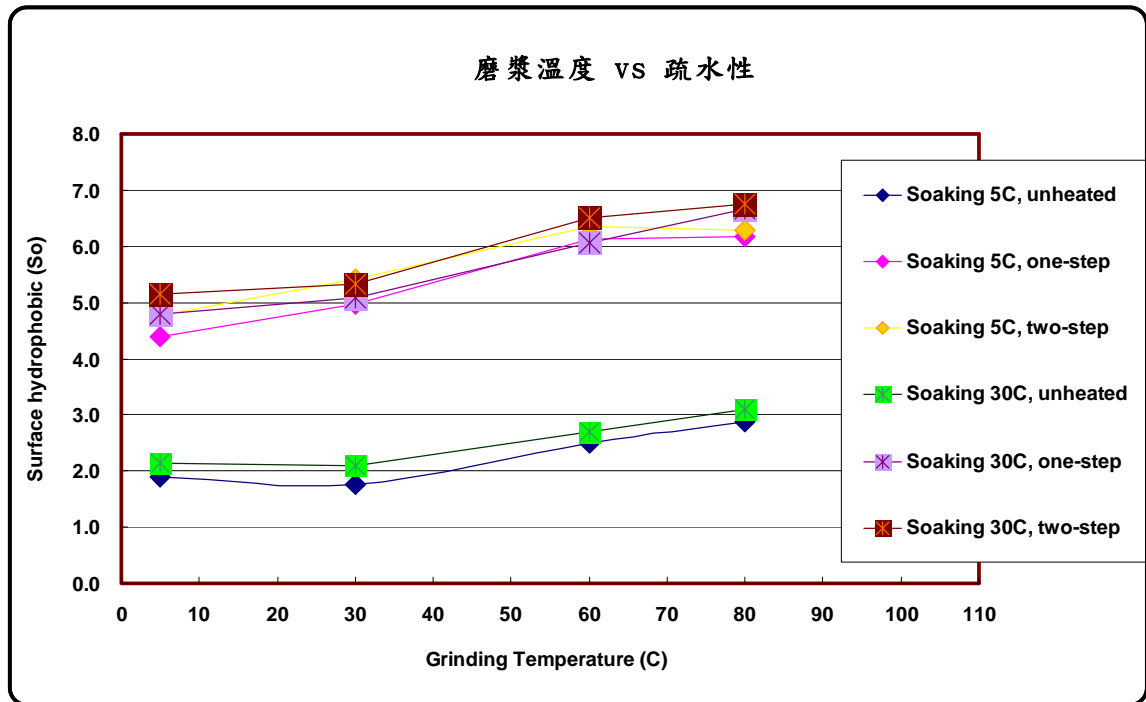
表八. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性變化之變
方分析表

Table 8. ANOVA for surface hydrophobic(So) of soymilk protein by
different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	0.98	0.98	6.27 [*]
Heating	2	174.72	87.36	559.13 ^{***}
Grinding	3	26.97	8.99	57.54 ^{***}
Soaking*Heateding	2	0.00	0.00	0.01
Soaking*Grinding	3	0.31	0.10	0.67
Heating*Grinding	6	2.02	0.34	2.16

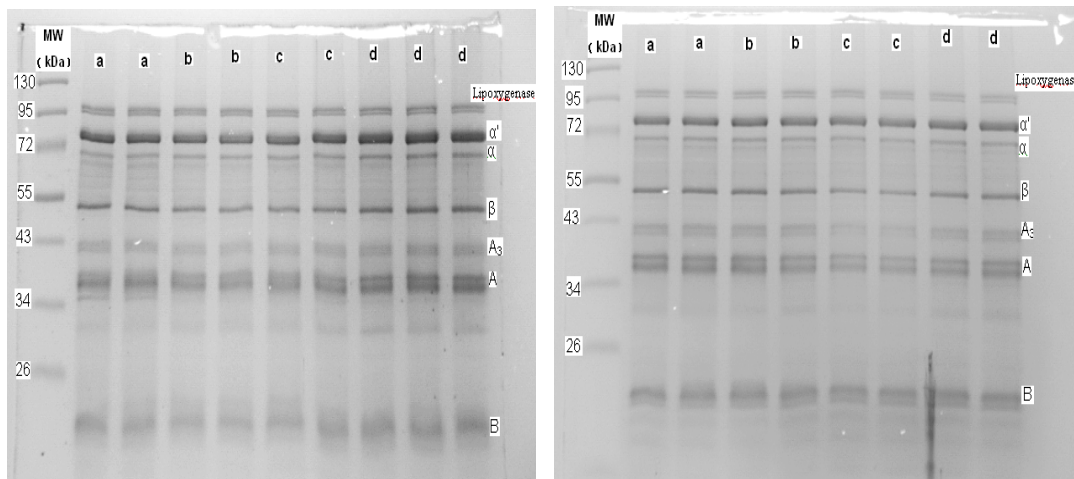
*P < 0.05

*** P < 0.001



圖九. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性變化之趨勢圖

Fig.9 Effect of different soaking, grinding, and heating conditions on surface hydrophobic(So) of soymilk protein



(1) 5°C 浸漬未加熱

(2) 30°C 浸漬未加熱

圖十. 未加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋白質次單元組成之電泳圖譜

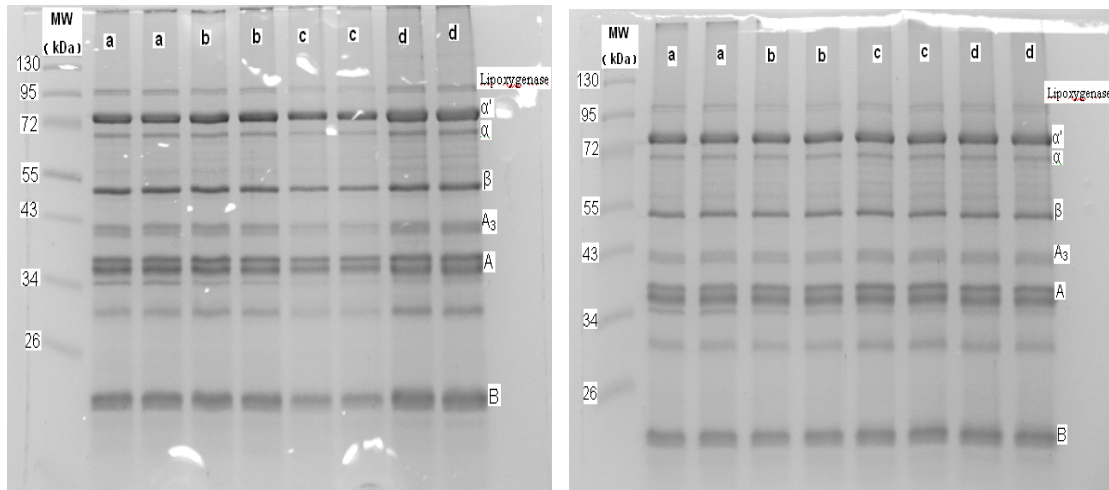
(1) 5°C 浸漬未加熱 a : 5°C 、 b : 30°C 、 c : 60°C 、 d : 80°C 磨漿

(2) 30°C 浸漬未加熱 a : 5°C 、 b : 30°C 、 c : 60°C 、 d : 80°C 磨漿

Fig.10. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) profile of the soymilk protein subunit composition with effect of different soaking and grinding conditions by unheated heating.

(1) 5°C soaking, unheated, a : 5°C 、 b : 30°C 、 c : 60°C 、 d : 80°C grinding

(2) 30°C soaking, unheated, a : 5°C 、 b : 30°C 、 c : 60°C 、 d : 80°C grinding



(1) 5°C 浸漬一段加熱

(2) 30°C 浸漬一段加熱

圖十一. 一段加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋白質次單元組成之電泳圖譜

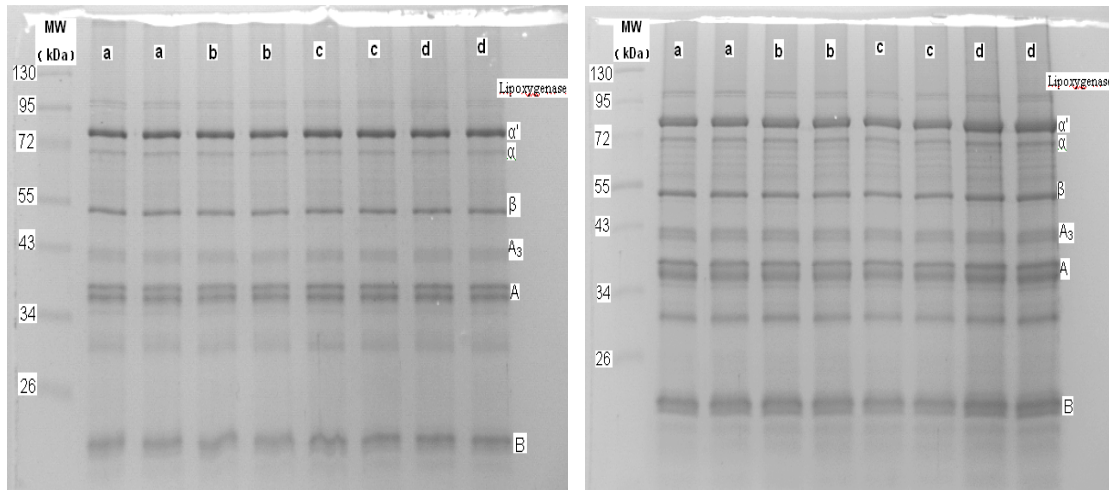
(1) 5°C 浸漬一段加熱 a : 5°C、b : 30°C、c : 60°C、d : 80°C 磨漿

(2) 30°C 浸漬一段加熱 a : 5°C、b : 30°C、c : 60°C、d : 80°C 磨漿

Fig.11. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) profile of the soymilk protein subunit composition with effect of different soaking and grinding conditions by one-step heating.

(1) 5°C soaking, one-step, a : 5°C、b : 30°C、c : 60°C、d : 80°C grinding

(2) 30°C soaking, one-step, a : 5°C、b : 30°C、c : 60°C、d : 80°C grinding



(1) 5°C 浸漬二段加熱

(2) 30°C 浸漬二段加熱

圖十二. 二段加熱條件下不同浸漬、磨漿豆漿蛋白質次單元組成之電泳圖譜

(1) 5°C 浸漬兩段加熱 a : 5°C、b : 30°C、c : 60°C、d : 80°C 磨漿

(2) 30°C 浸漬兩段加熱 a : 5°C、b : 30°C、c : 60°C、d : 80°C 磨漿

Fig.12. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) profile of the soymilk protein subunit composition with effect of different soaking and grinding conditions by two-step heating.

(1) 5°C soaking, two-step, a : 5°C、b : 30°C、c : 60°C、d : 80°C grinding

(2) 30°C soaking, two-step, a : 5°C、b : 30°C、c : 60°C、d : 80°C grinding

表九. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質次單元組成之影響

Table 9. Effect of different soaking, grinding, and heating conditions on the soymilk protein subunit composition

Soaking Condition(°C)	Heating(°C)	Grinding Condition(°C)	Subunit composition(%)						11S/7S
			β-conglycinin			Glycinin			
			α	α'	β	A	A3	B	
5	unheated	5	4.94 ^{k*}	11.11 ^{efg}	8.12 ^m	18.46 ^{ml}	8.79 ^{jk}	13.12 ^j	1.67
		30	5.36 ^j	11.39 ^{def}	8.08 ^m	18.26 ^{lmn}	8.43 ^l	12.67 ^{jk}	1.59
		60	5.76 ⁱ	11.50 ^{def}	8.11 ^m	17.33 ^p	7.89 ^{mn}	11.06 ^l	1.43
		80	5.88 ⁱ	11.65 ^{de}	8.66 ^{ml}	17.84 ^{nop}	7.05 ^p	10.57 ^m	1.35
	one-step	5	6.12 ⁱ	10.23 ^{ij}	10.43 ^{ef}	26.02 ^{fg}	9.89 ^{ed}	24.67 ^b	2.26
		30	6.65 ^h	10.78 ^{ghi}	11.98 ^d	25.54 ^g	9.78 ^{def}	23.43 ^c	2.00
		60	7.23 ^{fg}	11.29 ^{defg}	10.85 ^e	24.87 ^h	9.23 ^{hi}	20.07 ^f	1.84
		80	8.39 ^{cd}	11.74 ^{cd}	10.68 ^{ef}	24.43 ^h	8.97 ^{ij}	18.53 ^g	1.69
	two-step	5	7.50 ^{ef}	10.30 ^{ij}	9.45 ^{ijk}	26.58 ^{def}	10.56 ^a	25.51 ^a	2.30
		30	8.31 ^d	11.08 ^{fgh}	9.06 ^{kl}	29.52 ^a	10.05 ^{cd}	23.81 ^c	2.23
		60	10.29 ^a	12.44 ^b	10.05 ^{fghi}	28.64 ^b	9.67 ^{ef}	24.52 ^b	1.92
		80	10.56 ^a	13.65 ^a	11.47 ^d	27.22 ^c	9.34 ^{gh}	22.25 ^e	1.65

續表九

Soaking Condition(°C)	Heating(°C)	Grinding Condition(°C)	Subunit composition(%)						11S/7S
			β-conglycinin			Glycinin			
			α	α'	β	A	A3	B	
30	unheated	5	4.19 ^l	9.44 ^k	15.32 ^b	18.66 ^l	7.78 ⁿ	15.01 ^h	1.43
		30	5.33 ^j	9.47 ^k	14.16 ^c	18.01 ^{mno}	8.12 ^m	13.93 ⁱ	1.38
		60	5.78 ⁱ	10.23 ^{ij}	10.55 ^{ef}	17.62 ^{op}	7.98 ^{mn}	12.38 ^k	1.43
		80	6.08 ⁱ	10.56 ^{hij}	16.02 ^a	17.65 ^{op}	7.43 ^o	11.17 ^l	1.11
	one-step	5	6.17 ⁱ	10.20 ^j	9.65 ^{hijk}	23.73 ⁱ	9.88 ^{de}	22.44 ^{de}	2.15
		30	7.16 ^{fg}	10.06 ^j	9.76 ^{ghij}	21 ^j	9.23 ^{hi}	22.79 ^d	1.97
		60	7.20 ^{fg}	10.50 ^{ij}	10.54 ^{ef}	20.9 ^j	8.95 ^j	21.95 ^e	1.83
		80	7.85 ^e	11.51 ^{def}	10.16 ^{fgh}	19.5 ^k	8.67 ^{kl}	24.93 ^b	1.80
	two-step	5	7.03 ^{hg}	11.68 ^d	9.03 ^{kl}	26.43 ^{ef}	10.34 ^{ab}	25.67 ^a	2.25
		30	8.77 ^c	11.78 ^{cd}	9.22 ^{jkl}	27.11 ^{cd}	9.88 ^{de}	23.77 ^c	2.04
		60	9.21 ^b	12.23 ^{bc}	10.34 ^{efg}	26.98 ^{cde}	9.56 ^{fg}	22.09 ^e	1.84
		80	10.42 ^a	13.87 ^a	10.36 ^{efg}	26.65 ^{cde}	10.17 ^{bc}	23.33 ^c	1.74

a-j means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

* mean \pm SD(n=3)

表十. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 β -conglycinin- α 次單元體之

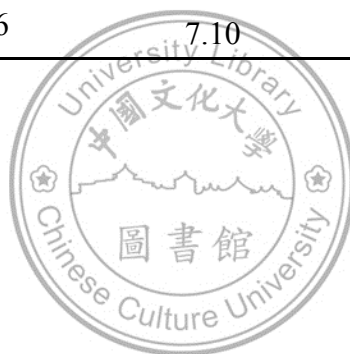
變方分析表

Table 10. ANOVA of soymilk β -conglycinin- α subunit composition by different soaking, grinding, and heating conditions

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	0.40	0.40	4.63 [*]
Heating	2	155.27	77.63	894.54 ^{***}
Grinding	3	47.96	15.99	184.23 ^{***}
Soaking*Heating	2	0.28	0.14	1.59
Soaking*Grinding	3	1.43	0.48	5.48 [*]
Heating*Grinding	6	7.10	1.18	13.64 ^{***}

* $P < 0.05$

*** $P < 0.001$



表十一. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 β -conglycinin- α' 次單元體
之變方分析表

Table 11. ANOVA of soymilk β -conglycinin- α' subunit composition
by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	3.92	3.92	32.38***
Heating	2	31.42	15.71	129.79***
Grinding	3	29.68	9.89	81.72***
Soaking*Heating	2	12.10	6.05	49.96***
Soaking*Grinding	3	1.16	0.39	3.19*
Heating*Grinding	6	6.98	1.16	9.6***

* $P < 0.05$

*** $P < 0.001$

表十二. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 β -conglycinin- β 次單元體
之變方分析表

Table 12. ANOVA of soymilk β -conglycinin- β subunit composition by
different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	41.24	41.24	73.53***
Heating	2	18.90	9.45	16.85***
Grinding	3	13.54	4.51	8.05***
Soaking*Heating	2	164.60	82.30	146.74***
Soaking*Grinding	3	4.15	1.38	2.47
Heating*Grinding	6	31.92	5.32	9.49***

*** $P < 0.001$

表十三. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 Glycinin-Acid 次單元體之

變方分析表

Table 13. ANOVA of soymilk Glycinin- Acid polypeptide subunit composition by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	52.26	52.26	274.7***
Heating	2	1067.83	533.91	2806.52***
Grinding	3	14.14	4.71	24.78***
Soaking*Heating	2	49.07	24.54	128.97***
Soaking*Grinding	3	6.51	2.17	11.41***
Heating*Grinding	6	28.60	4.77	25.05***

*** $P < 0.001$

表十四. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 Glycinin-Basic 次單元體

之變方分析表

Table 14. ANOVA of soymilk conglycinin-Basic polypeptide subunit composition by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	10.67	10.67	10.14 [*]
Heating	2	1832.13	916.06	870.5 ^{***}
Grinding	3	81.29	27.10	25.75 ^{***}
Soaking*Heating	2	10.45	5.23	4.97 [*]
Soaking*Grinding	3	22.42	7.47	7.1 ^{***}
Heating*Grinding	6	8.76	1.46	1.39

*P < 0.05

*** P < 0.001

表十五. 不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆漿 Glycinin-A3 次單元體之

變方分析表

Table 15. ANOVA of soymilk conglycinin- A3 subunit composition by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	0.34	0.34	6.72 [*]
Heateing	2	50.97	25.48	505.26 ^{***}
Grinding	3	9.13	3.04	60.34 ^{***}
Soaking*Heating	2	0.45	0.22	4.41 [*]
Soaking*Grinding	3	1.40	0.47	9.24 ^{***}
Heating*Grinding	6	1.59	0.26	5.24 ^{***}

*P < 0.05

*** P < 0.001

二、不同浸漬、磨漿與加熱條件對豆腐品質之影響

(一) 不同浸漬溫度、磨漿溫度及不同加熱條件對豆腐離水率、密度之影響

盒裝豆腐之製作由於製作過程不需經加壓步驟，其所製得之豆腐質地較傳統豆腐軟且離水現象亦較嚴重，因此本實驗以浸漬、磨漿、加熱條件來探討豆腐離水率與密度之變化。

表十六為不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱條件對豆腐離水率、密度之影響，由表十七離水率變方分析表中發現，浸漬、磨漿、加熱條件對豆腐離水率皆有顯著影響。以鄧肯氏多變域顯著性測試(Duncan's multiple range test)做顯著差異比較，以浸漬溫度觀察，5℃浸漬及30℃浸漬的鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為2.22與3.33在統計上有顯著差異。磨漿溫度方面，5℃磨漿有顯著性差異，30℃、60℃、80℃磨漿間則無顯著性差異，其鄧肯氏多變域顯著性測試平均值分別為1.92、2.13、2.70、4.36。以一段式加熱和兩段式加熱製作豆腐其豆腐離水率鄧肯氏多變域顯著性測試平均值為2.22、3.34，其統計分析結果亦有顯著性差異。由此數據可發現，提高浸漬溫度與磨漿溫度會增加豆腐離水率，加熱方式則是以兩段加熱離水率高於一段加熱，此與Liu(2004)研究中指出兩段式加熱可降低離水率結果有差異。根據本研究不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆漿蛋白質表面疏水性之影響的結

果中推測，磨漿溫度越高及兩段式加熱處理其豆漿之蛋白質表面疏水性增加，其蛋白質網狀結構較低溫磨漿及一段式加熱細密，由於膠體結構緊密造成膠體縮水使保水力降低而造成高離水率。如圖十三~十七以本實驗差異性較大之加工條件製做之 GDL 豆腐進行比較，發現 30℃ 浸漬、80℃ 磨漿及兩段式加熱所製成之豆腐其膠體結構緊密造成膠體縮水使保水力降低而造成高離水率。

表十八為不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱條件對豆腐密度變方分析表，以不同溫度浸漬、不同溫度磨漿對豆腐的密度並無顯著的影響，在不同加熱條件下其密度有些微的差異，以統計結果中發現一段加熱及二段加熱其鄧肯氏多變域顯著性測試平均值為 0.98 及 1.31，以上述離水率結果中推測，兩段加熱製作之豆腐其膠體結構細密、離水率高，造成豆腐脫水現象，使兩段加熱製作之豆腐密度較高。

表十六. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐離水率、密度之變化

Table 16. Effect of different soaking, grinding, and heating conditions on density and Syneresis rate of tofu

Soaking Condition(°C)	Heating	Grinding Condition(°C)	Density (g/cm ³)	Syneresis rate (%)
5	one-step	5	1.01±0.03 ^{a*}	1.14±0.28 ^{e*}
		30	0.99±0.03 ^a	1.23±0.20 ^e
		60	0.97±0.03 ^a	1.46±0.39 ^{de}
		80	0.95±0.01 ^a	5.06±0.97 ^{ab}
	two-step	5	1.67±0.62 ^a	1.53±1.24 ^{de}
		30	1.32±0.59 ^a	1.57±1.06 ^{de}
		60	1.32±0.64 ^a	2.76±0.28 ^{bcde}
		80	1.31±0.68 ^a	3.05±0.33 ^{abcde}
30	one-step	5	0.99±0.02 ^a	1.31±0.60 ^e
		30	0.99±0.04 ^a	1.57±0.97 ^{de}
		60	0.99±0.03 ^a	2.06±1.53 ^{cde}
		80	0.96±0.03 ^a	3.91±2.15 ^{abcd}
	two-step	5	1.64±0.64 ^a	3.71±1.64 ^{abcde}
		30	1.33±0.61 ^a	4.17±1.92 ^{abc}
		60	0.96±0.02 ^a	4.51±1.96 ^{abc}
		80	0.96±0.02 ^a	5.43±2.40 ^a

a-e means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

* means±SD(n=3)

表十七. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐離水率之變方分析表

Table 17. ANOVA for tofu syneresis rate by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	14.76	14.76	8.81 [*]
Heating	1	15.10	15.10	9.01 [*]
Grinding	3	44.01	14.67	8.75 ^{***}
Soaking*Heating	1	15.01	15.01	8.95 [*]
Soaking*Grinding	3	1.12	0.37	0.22
Heating*Grinding	3	7.89	2.63	1.57

*P < 0.05

*** P < 0.001



表十八. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐密度之變方分析表

Table 18. ANOVA for tofu density by soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	0.10	0.10	0.72
Heating	1	1.30	1.30	9.39 [*]
Grinding	3	0.61	0.20	1.46
Soaking*Heating	1	0.10	0.10	0.73
Soaking*Grinding	3	0.08	0.03	0.19
Heating*Grinding	3	0.48	0.16	1.15

*P < 0.05



圖十三. 5°C 浸漬 5°C 磨漿豆漿以及 (a) 二段加熱 (b) 一段加熱之豆腐比較圖

Fig.13. Comparison between (a) two-stage heating (b) one-stage heating for 5 °C soaking and 5 °C grinding tofu



圖十四. 5°C 浸漬 80°C 磨漿豆漿以及 (a) 二段加熱 (b) 一段加熱之豆腐比較圖

Fig.14. Comparison between (a) two-stage heating (b) one-stage heating for 5 °C soaking and 80 °C grinding tofu



圖十五. 30°C 浸漬 5°C 磨漿豆漿以及 (a) 二段加熱 (b) 一段加熱之豆腐比較圖

Fig.15. Comparison between (a) two-stage heating (b) one-stage heating for 30 °C soaking and 5°C grinding tofu



圖十六. 30°C 浸漬 80°C 磨漿豆漿以及 (a) 二段加熱 (b) 一段加熱之豆腐比較圖

Fig.16. Comparison between (a) two-stage heating (b) one-stage heating for 30 °C soaking and 80°C grinding tofu



圖十七. 5°C 浸漬 5°C 磨漿及一段加熱與 30°C 浸漬 80°C 磨漿及二段加熱之豆腐比較圖

(a) 30°C 浸漬 80°C 磨漿及二段加熱

(b) 5°C 浸漬 5°C 磨漿及一段加熱

Fig.17. Comparison between tofu with 5°C soaking, 5°C grinding,

one-step heating and 30 °C soaking, 80 °C grinding, two-step heating

(a) 30 °C soaking, 80 °C grinding, two-step heating

(b) 5°C soaking, 5°C grinding, one-step heating

（二）不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐質地之影響

本實驗藉由物性測定儀對豆腐做上下兩次之等速壓縮形變試驗，以力（force）對時間（time）作圖，以探討不同加工條件對豆腐硬度（Hardness）、附著性（Adhesiveness）、彈性（Springiness）、內聚性（Cohesiveness）、凝膠性（Gumminess）、咀嚼性（Chewiness）等參數之影響。

表十九為不同溫度浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐質地之影響，由表中可觀察到，磨漿溫度越低，其所製得之豆腐硬度、凝膠性、咀嚼性、彈性及附著性均高；此結果可對照 SDS-PAGE 蛋白質分佈實驗中（表九）比較，較低的磨漿溫度其 11S 球蛋白酸性次單元（A、A₃）及鹼性次單元（B）均較高溫磨漿高，其 11S/7S 比值也較高。Cai 等（1999）認為大豆蛋白質中 11S/7S 的比率介於 2.0~2.4 之間時，可得最佳品質的豆腐，而豆漿中固形物的含量越高所製得之豆腐硬度越高。Obata 等（1993）的研究中也指出，磨漿溫度對豆腐的強度有重要的影響。在 0℃~50℃ 範圍內，磨漿溫度提高則豆腐的強度下降，此與本實驗結果相符。

表二十、二十一、二十二、二十三、二十四、二十五分別為豆腐硬度、附著性、彈性、內聚性、凝膠性、咀嚼性之變方分析表，由表中可知磨漿溫度對豆腐硬度、附著性、彈性、內聚性、凝膠性、咀嚼

性均有顯著影響。Fukushima (1991) 指出，大豆 7S 球蛋白每莫耳有兩個雙硫鍵，但無硫氫基，11S 球蛋白有兩個硫氫基和二十個雙硫鍵，而蛋白質膠體硬度的增加和硫氫基的含量有關，因為在熱凝膠過程中，硫氫基會氧化形成雙硫鍵，而使膠體結構增強。根據表九顯示，低溫磨漿的 11S 球蛋白比例較高溫磨漿高，故低溫磨漿的豆腐硬度、附著性、彈性、內聚性、凝膠性、咀嚼皆較高。

表二十一、二十二、二十四為豆腐附著性、彈性、凝膠性之變方分析表，以鄧肯氏多變域顯著性測試 (Duncan's multiple range test) 做顯著差異比較，結果顯示浸漬溫度皆有顯著影響，5°C 與 30°C 浸漬其附著性由 -36.63 g.s 上升至 -36.07 g.s；5°C 與 30°C 浸漬其彈性鄧肯氏多變域顯著性測試平均值則為 0.60 g.s 與 0.54 g.s；5°C 與 30°C 浸漬其凝膠性平均質則為 7.94 g.s 與 7.06 g.s，由此結果得知，隨浸漬溫度升高，豆腐之附著性、彈性皆隨之下降，5°C 低溫浸漬的凝膠性會比 30°C 浸漬高。

表二十、二十一、二十三、二十四為豆腐硬度、附著性、內聚性、凝膠性之變方分析表皆對豆漿加熱方式影響豆腐質地有顯著影響，傳統加熱與兩段式加熱其豆腐硬度、內聚性、凝膠性鄧肯氏多變域顯著性測試平均值為：硬度 15.87g.s、17.50g.s、附著性 -35.89g.s、-36.81g.s、內聚性 0.49g.s、0.51g.s、凝膠性 7.12g.s、7.89g.s，由上述結果得知，

兩段加熱之豆腐凝膠較一段加熱豆腐凝膠強，對照表面疏水性結果（表七）顯示，兩段加熱其表面疏水性較傳統加熱高，所形成的蛋白質凝膠結構較傳統加熱細密，故能得到較佳的凝膠。Liu（2004）研究指出，兩段加熱改變了 7S 與 11S 球蛋白次單位的聚合狀態，也提高了蛋白質表面疏水性，使豆腐的凝膠結構更加細密，此與本實驗結果相符。



表十九. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐質地之影響

Table 19. Effect of different soaking, grinding, and heating conditions on tofu texture.

Soaking Temp (°C)	Heating	Grinding Temp (°C)	Textural properties					
			Hardness	Adhesiveness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
5	one-step	5	17.38±0.95 ^{c*}	– 43.19±2.77 ^b	0.61±0.14 ^{ab}	0.52±0.04 ^{abc}	7.73±0.99 ^{cd}	5.08±0.76 ^{abcd}
		30	16.15±0.88 ^{ef}	– 35.07±1.41 ^{ef}	0.60±0.17 ^{abc}	0.50±0.10 ^{abcd}	7.71±0.95 ^{cd}	4.89±1.05 ^{abcd}
		60	15.78±0.97 ^{fg}	– 33.82±2.15 ^{ghi}	0.59±0.13 ^{abc}	0.48±0.08 ^{cde}	7.67±0.78 ^{cd}	5.12±0.96 ^{abc}
		80	14.65±1.10 ^h	– 32.23±2.73 ^{ij}	0.57±0.16 ^{abc}	0.47±0.05 ^{de}	7.42±0.65 ^{de}	4.76±1.06 ^{bcd}
	two-step	5	18.62±1.33 ^a	– 45.03±1.89 ^a	0.63±0.14 ^a	0.54±0.04 ^a	8.47±0.83 ^a	5.24±1.18 ^{ab}
		30	17.61±1.04 ^{bc}	– 36.17±1.51 ^d	0.62±0.11 ^{ab}	0.51±0.04 ^{abcd}	8.30±0.93 ^{ab}	5.08±0.90 ^{abcd}
		60	17.05±1.04 ^{cd}	– 34.23±1.18 ^{fgh}	0.61±0.16 ^{ab}	0.51±0.06 ^{abcd}	8.26±0.86 ^{ab}	4.84±1.11 ^{abcd}
		80	16.62±1.06 ^{de}	– 33.34±1.18 ^{hi}	0.54±0.19 ^{cdef}	0.49±0.06 ^{bcde}	7.97±0.80 ^{bc}	4.48±1.93 ^{de}
30	one-step	5	17.30±1.48 ^c	– 41.88±1.67 ^c	0.60±0.06 ^{abc}	0.49±0.07 ^{bcde}	7.41±0.78 ^{de}	5.29±1.11 ^{ab}
		30	16.17±1.16 ^{ef}	– 34.25±1.84 ^{fgh}	0.56±0.13 ^{abcd}	0.51±0.06 ^{abcd}	6.71±1.04 ^{fg}	5.11±0.81 ^{abc}
		60	15.41±0.98 ^g	– 33.72±1.61 ^{ghi}	0.49±0.05 ^{ef}	0.46±0.12 ^{de}	6.30±0.82 ^{gh}	4.78±0.66 ^{abcd}
		80	14.10±0.90 ^h	– 32.99±1.43 ^{ij}	0.47±0.05 ^f	0.45±0.13 ^e	5.97±0.90 ^h	4.13±0.73 ^e
	two-step	5	18.48±1.41 ^a	– 42.26±1.85 ^c	0.61±0.05 ^{abc}	0.52±0.06 ^{ab}	8.42±0.93 ^{ab}	5.41±0.82 ^a
		30	18.17±1.01 ^{ab}	– 35.70±1.38 ^{de}	0.58±0.09 ^{abc}	0.51±0.04 ^{abcd}	7.96±0.84 ^{bc}	5.15±1.18 ^{abc}
		60	17.67±1.21 ^{bc}	– 34.44±1.52 ^{fg}	0.55±0.06 ^{bcde}	0.50±0.09 ^{abcd}	7.03±0.92 ^{ef}	4.88±0.92 ^{abcd}
		80	15.78±0.90 ^{fg}	– 33.18±1.74 ^{ij}	0.50±0.06 ^{def}	0.49±0.08 ^{abcde}	6.68±0.91 ^{fg}	4.54±0.73 ^{cde}

a-h means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

* Value are mean of ten replicates.

表二十. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐硬度之變方分析表

Table 20. ANOVA for hardness change of tofu by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	1.09	1.09	0.89
Heating	1	319.15	319.15	260.46***
Grinding	3	444.26	148.09	120.86***
Soaking*Heating	1	2.60	2.60	2.12
Soaking*Grinding	3	16.91	5.64	4.6*
Heating*Grinding	3	7.38	2.46	2.01

* $P < 0.05$

*** $P < 0.001$



表二十一. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐附著性之變方分析表

Table 21. ANOVA for adhesive change of tofu by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	38.57	38.57	11.8***
Heating	1	101.23	101.23	30.98***
Grinding	3	7601.80	2533.93	775.41***
Soaking*Heating	1	4.44	4.44	1.36
Soaking*Grinding	3	102.27	34.09	10.43***
Heating*Grinding	3	7.37	2.46	0.75

*** $P < 0.001$

表二十二. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐彈性之變方分析表

Table 22. ANOVA for springiness change of tofu by soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	0.34	0.34	23.96***
Heating	1	0.04	0.04	2.63
Grinding	3	0.55	0.18	12.88***
Soaking*Heating	1	0.02	0.02	1.35
Soaking*Grinding	3	0.08	0.03	1.93
Heating*Grinding	3	0.03	0.01	0.80

*** $P < 0.001$



表二十三. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐內聚性之變方分析表

Table 23. ANOVA for cohesive change of tofu by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	0.01	0.01	1.78
Heating	1	0.06	0.06	10.48***
Grinding	3	0.12	0.04	7.45***
Soaking*Heating	1	0.003	0.003	0.56
Soaking*Grinding	3	0.01	0.004	0.69
Heating*Grinding	3	0.01	0.005	0.87

*** $P < 0.001$

表二十四. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐凝膠性之變方分析表

Table 24. ANOVA for gumminess change of tofu by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	92.77	92.77	121.5***
Heating	1	70.97	70.97	92.95***
Grinding	3	67.08	22.36	29.28***
Soaking*Heating	1	2.87	2.87	3.76
Soaking*Grinding	3	28.39	9.46	12.39***
Heating*Grinding	3	1.90	0.63	0.83

*** $P < 0.001$

表二十五. 不同浸漬、磨漿及加熱條件對豆腐咀嚼性之變方分析表

Table 25. ANOVA for Chewiness change of tofu by different soaking, grinding, and heating conditions.

Source	DF	SS	Mean Square	F Value
Soaking	1	0.08	0.08	0.08
Heating	1	0.34	0.34	0.32
Grinding	3	39.31	13.10	12.18***
Soaking*Heating	1	1.43	1.43	1.33
Soaking*Grinding	3	4.66	1.55	1.44
Heating*Grinding	3	0.91	0.30	0.28

*** $P < 0.001$

伍、結論

綜合本試驗分析結果總結為以下幾點：

一、浸漬溫度、磨漿溫度及加熱方式對豆漿蛋白質及豆漿品質之影響

1. 以 5℃、30℃、60℃、80℃ 不同磨漿溫度發現，隨著磨漿溫度升高，所得豆漿顏色較偏黃偏綠。低溫磨漿所得之豆漿黏度、顏色明亮度、白度指數均較高。
2. 不同浸漬溫度、磨漿溫度及不同加熱方式對豆漿蛋白質表面疏水性的影響則是隨著磨漿溫度升高，其蛋白質表面疏水性也越高，浸漬溫度則是以 5℃ 浸漬高於 30℃，加熱方式則是以兩段式加熱方式其疏水性高於傳統加熱。
3. 以 SDS-PAGE 電泳圖譜分析，7S 球蛋白次單元體含量分佈隨著磨漿溫度越高有增加的趨勢，而 11S 球蛋白其酸性、鹼性次單元體則隨著磨漿溫度升高有減少的趨勢，11S/7S 的比值隨著磨漿溫度升高而降低。

二、浸漬溫度、磨漿溫度及加熱方式對豆腐質地之影響

1. 以不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱方式製作之豆腐其離水率會隨著磨漿溫度升高而增加，浸漬溫度之離水率則是以 30℃ 浸漬高於 5℃

浸漬。加熱方式則以兩段加熱高於傳統加熱。

2. 以不同溫度浸漬、磨漿及不同加熱方式製作之豆腐其密度影響則

是，兩段加熱製作之豆腐其密度高於傳統加熱。

3. 以低溫浸漬、低溫磨漿、兩段式加熱其豆腐成品性質硬度、凝膠

性、附著性、彈性、咀嚼性及內聚性均會提高。

4. 綜合上述條件發現：

5°C 浸漬、 5°C 磨漿、一段加熱及二段加熱

5°C 浸漬、 30°C 磨漿、一段加熱及二段加熱

30°C 浸漬、 5°C 磨漿、一段加熱及二段加熱

30 °C 浸漬、 30°C 磨漿、一段加熱及二段加熱

之加工條件可製得最佳品質的豆腐。

陸、參考文獻

- 王俊權、陳政衛。1996。多醣類對黃豆7S與11S球蛋白膠體質地的影響。食品科學。23（3）：422-433。
- 王爾惠。1999。大豆蛋白質生產新技術。中國輕工出版社。p：30-35。
北京。
- 吳宜容。2002。硫酸鈣與葡萄糖酸內酯對甘薯澱粉/脫脂大豆粉複合物成膠性之影響。國立台灣大學食品科學研究所碩士論文。台北市。
- 林敬二、林宗義。1994。儀器分析。美亞書版股份有限公司出版。p：576。台北市。
- 施明智。1986，不同浸漬及磨漿方式對豆漿品質及豆渣功能特性的影響。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。台北市。
- 施明智、蕭思玉。2003，加工變數對黑豆豆花品質之影響。台灣農業化學與食品科學。41:151-158。
- 施明智。2004。高結著性黃豆基質純素食結著劑之開發。92年度國科會計劃結果報告書。
- 高馥君。2004。機能性豆腐製程之開發與研究。台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北市。
- 彭仲燕。1970。黃豆蛋白質。食品工業。2（4）：3-7。

陳淑怡。2009。大豆浸漬物性及其動力學研究。台灣食品科技學會第39次會員大會。宜蘭市。

陳淑怡。2010。浸漬與磨漿加工條件對豆漿和豆腐品質之影響。私立中國文化大學生活應用科學研究所碩士學位論文。台北市。

陳櫻雪。2006。凝固劑對豆腐質地特性及異黃酮素保留之影響。國立嘉義大學食品科學研究所碩士學位論文。嘉義市。

楊文育。2004。組織化大豆蛋白、添加水量和萃取大豆蛋白於素食火腿質地變化曲線。國立台灣海洋大學食品科學研究所碩士論文。基隆市。

廖永紅。1997。神奇大豆療法。漢湘文化事業股份有限公司出版。台北市。

蔡孟貞。2000。大豆蛋白之變性與凝膠之關係及其與多醣類交互作用之研究。國立台灣大學食品科學研究所博士論文。台北市。

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、2）：1-11。

續光清。1996。食品工業。財團法人徐氏基金會出版。台北市。130-133, 407-416, 445-447。

山内 文男。1980。食品タンパク質の科學，大豆タンパク質の構造と機能特性。New Food Ind.22（8）：26-44。

仁藤 齊。2000。豆腐 おいしくつくり方と売り方の極意。農山漁村文化協會，日本。

青山 隆。2004。大豆加工食品の現在と将来豆腐---問題点とチ。食品工業。394:28-41。

Aguilera,J.,M.,Baffico,P.,1997.Structure-mechanical properties of heat-induced whey protein/cassava starch gels.J.Food Sci.,61 : 962-966.

Ascencio, C.,Torres, N.,Isoard-Acosta F, Gomez-Perez F.J., Hernandez -Pando R., Tovar AR. 2004. Soy protein affects serum Insulin hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver in rats. J. Nutr.,134:522-529.

Badley,R.,A.,Atkinson,D.,Hauser,H.,Oldani,D.,Green,J.P.,stubbs,J.M.1975. The structure physical and chemical properties of the soybean protein glycinin. Biochim. biophys.Acta.,412 : 214-228.

Beddows, CG, Wong J. 1987. Optimizatin of yield and properties of Silken tofu from soybean II . Heating processing. J. Food Sci.,34:22- 23.

Bourne, M.M., 1978. Instrumental texture profile analysis. Food texture and viscosity:concept and measurement, 114-117. New York: Academic Press, Inc.

Boye, J.I.,Alli,I.,Ismail A.I.,Gibbs,B.F. Konishi,Y.1995. Factors affecting molecular characteristics of whey protein gelation. Int.Dairy J.5 : 337-345.

Boye, J.I.,Ismail A. Alli,I.I.1996. Effect of physico-chemical factors on the

- secondary of β -lactoglobulin. J.Dairy Res.63 : 97-98.
- Bradford, M. M. A.,1976. Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem.,72:248-254.
- Cai, T. D. Chang,K. C.,1999. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. J. Agric. Food Chem.,47:720-727.
- Catsimpoolas, N., Meyer,E.W.,1970. Gelation phenomena of soybean globulins.I.protein- protein interactions.Cereal Chem.47 : 559-570.
- Cheftel, J.C.,Cuq,J.L., Lorient D.,1985.Amino acid peptides and proteins In Food Chemistry second edition .Fennema, O.R. (eds) .Marcel Dekk,Inc.New York.
- Chang KC. 2006. Chemistry and technology of tofu making. In: Hui YH.Handbook of food science, technology, and engineering. Volume 4.Boca Raton: Taylor & Francis. 171.1-171.24.
- Crawford ME, Cusick ME., Garrels JI.,2000.Database and knowledge resources for proteomics research.A Trends Guide 7:17-21.
- deMan JM, deMan L, Gupta S. 1986. Texture and microstructure of soybean curd (tofu) as affected by different coagulants. Food Microstruct. 5:83-89.
- Dio, E.1993. Gels and gelling of globular proteins.Trend in Food Sci.and Technol.4 : 1-5.
- Fukushima, D.,1991. Recent progress of soybean protein food : Chemistry ,technology,and nutrition.3:323-351.

- Fukui K, Tachibana N, Wanezaki S, Tsuzaki S, Takamatsu K, Yamamoto T, Hashimoto Y, Shimoda T. 2002. Isoflavone-free soy protein prepared by column chromatography reduces plasma cholesterol in rats. *J. Agric., Food Chem.* 50:5717-5721.
- Furukawa, T., Ohta, S., Yamamoto, A., 1979. Texture-structure relationship in heat-induced soy protein gels. *J. Texture stud.* 10 : 333-346.
- Garcia, M.C., Torre, M., Marina, M.L., Laborda, F., 1997. Composition and characterization of soybean and related products. *Crit. Rev. Food Sci.* 37 : 361-391.
- Gandhi AP, Bourne MC., 1988. Effect of pressure and storage time on texture profile parameters of soybean curd (tofu). *J. Texture Stud.* 19:137-142.
- Geovese, M.I., Lajolo, F.M. 1992. Physicochemical properties of isolated soy proteins from broken or damaged seeds. *J. Food Sci* 57 : 1378-1381.
- Hayakawa, S., Suzuki, Nakarmuar, R. Physicochemical Sata, Y., 1983. Physicochemical characterization of heat-induced soluble aggregates of bovine globulin. *Agric. Biol. Chem.* 47 : 395-397.
- Hermansson, A.M. 1978. Physico-chemical aspects of soy protein structure formation. *J. Texture Stud.* 9 : 33-58.
- Hirose, M. 1993. Molten globule state of food proteins. *Trends in Food Sci and Technol.* 4 : 48-51.
- Hayashi, M., 1998. Characterization of 7s globulin-deficient mutant of

- soybean. *Theor Appl Genet*. 258 : 208-214.
- Hou HJ, Chang SKC. 1998. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. *J. Agric. Food Chem.* 46:4798-1805.
- Jungblt, P, Thiede B, Zimny-Arndt U, Muller EC, Scheler C, Wittmann-Liebold B, Otto A. 1996. Resolution power of two-dimensional electrophoresis and identification of proteins from gels. *Electrophoresis*, 17(5):39-47.
- Ker, Y.C., Chen, R.H. Wu, C.S. 1993 Relationships of secondary structure, microstructure, and mechanical properties of heat-induced gel of soy 11S globulin. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57 : 536-541.
- Kilara, A., Sharkasi, T.Y. 1986. Effect of temperature on food proteins and its implications on functional properties. *CRC Crit. Rev. Food Sci.* 23 : 323-330.
- Kinsella, J.E. 1979. Functional properties of soy proteins. *J. Am. oil Chem. Soc.* 56 : 242-245.
- Kuntz., I.D., Kauzmann., W. 1974. Hydration of proteins and polypeptides. *Adv. Protein Chem.* 28 : 239-243.
- Liu ZS, Chang SKC. 2003. Development of a rapid titration method for predicting optimal coagulant concentration for filled tofu. *J. Agric. Food Chem.* 51:5214-5221.
- Liu ZS, Chang SKC, Li LT, Tatsumi E. 2004. Effect of selective thermal denaturation of soybean proteins on soymilk viscosity and tofu's physical properties. *Food Res. Int.* 37:815-822.

- Mann, M, Pandey A., 2001. Use of mass spectrometry-derived data to annotate nucleotide and protein sequence databases. *Trends Biochem Sci* 26(1):54-61.
- Merril, CR, Switzer RC, Van Keuren ML. 1979. Trace polypeptides in cellular extracts and human body fluids detected by two-dimensional electrophoresis and a highly sensitive silver stain. *Proc Natl Acad Sci.*, 76(9):433 -435.
- Nagano, T., Hirotsuka, M., Mori, H., Kohyama, K., Nishinari, K. 1992. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans. *J. Agric. Food Chem.* 40 : 941-944.
- Nakamura, T., Utsuni, S., Mori, T., 1984. Network structure formation in thermally induced gelation of glycinin. *J. Agric. Food Chem.* 32 : 349-352.
- Nakamura, T., Utsuni, S., Mori, T., 1986. Mechanism of heat-induced gelation and gel properties of soybean 7S globulin. *Agric. Biol. Chem.* 50 : 1287-1293.
- Nishi, T., Hara H, Hira T, Tomita F. 2001. Dietary protein peptic hydrolysates stimulate cholecystokinin release via direct sensing by rat intestinal mucosal cells. *Exp. Biol. Med.* 226:1031-1036.
- Obata, A., Matsura M. 1993. Decrease in the gel strength of tofu caused by an enzyme reaction during soybean grinding and its control. *Biosci Biotech.* 57:542-545.
- Peng, I.C., Quass, D.W., Dayton, W.R., Allen, C.E., 1984. The and physicochemical functional properties of soybean 11S globulin. a

- review.Cereal Chem.61 : 480-491.
- Puppo, M.,Lupano,C.E.and Anon,M.C.1995. Gelation of soybean protein isolates in acidic condition.Effect of pH and protein contraction.J.Agric.Food Chem.43 : 2356-2361.
- Puppo, M.,C., Anon,M.C.1999. Soybean protein dispersions at acid pH.Thermal and rheological propreties.J.Food Sci.64 : 50-56.
- Rabilloud, T., Proteome Research Two-Dimensional Gel Electrophoresis and Identification Methods,Springer,Berlin(2000).
- Saio K., 1979. Tofu-relationships between texture and fine structure. Cereal Foods World, 24(8):342-354.
- Shimada, K., Matsushita,S.,1980. Gel formation of soybean 7S and 11S proteins.Agric.Bio.Chem.44 : 637-641
- Shimada K., Cheftel J.C.1988. Determination of sulfhydryl groups and disulfide bonds in heat-induced gels of soy protein isolate.J.Agr.Food Chem.36 : 147-153.
- Shimada, K., Cheftel,J.C.1989. Sulfhydryl group/disulfide bond interchange reactions during heat-induced gelation of whey protein isolated.J.Agric.Food Chem.37 : 161-168.
- Skoog, D.A.1985. Principle of Instrumental Analysis. 379-406.Saunders College Publishing.USA.
- Smith, A.K., Circle,S.T.1978. Soybean : chemistry and technology. 93-143.AVI publishing Co.Westport Connecticut,USA.
- Thanh, V.H. Shibasaki,K.1978. Major proteins of soybean seeds.Subunit

structure of β -conglycinin. *J. Agric. Food Chem.* 26 : 692-698.

Thanh, V.H., Shibasaki, K., 1979. Major proteins of soybean seeds. Reversible and irreversible dissociation of β -conglycinin. *J. Agric. Food Chem.* 27 : 805-809. Deting protein separated by 2-D gel electrophoresis. *Anal. Chem.* January 1(1):48A-55A.

Thierry R., 2000. Deting protein separated by 2-D gel electrophoresis. *Anal. Chem.* January 1(1):48A-55A.

Utsumi, S., Kinsella, J.E., 1985a. Forces involved in soy protein gelation : effect of various reagents on the formation hardness and solubility of heat-induced gels made from 7S, 11S and soy isolate. *J. Food Sci.* 50 : 1278-1282.

Utsumi, S., Kinsella, J.E., 1985b. Structure-function relationships in food proteins : subunit interactions in heat-induced gelation of 7S, 11S and soy isolate proteins. *J. Agric. Food Chem.* 33 : 297-303.

Voutsinas, L.P., Nakai, S., V.R., 1983. Relationships between protein hydrophobicity and thermal functional properties of food proteins. *Can. Inst. Food Sci.*, 16 : 185-190.

Wang, C.H., Damodaran, S., 1991. Thermal gelation of globular proteins : influence of protein conformation on gel strength. *J. Agric. Food Chem.* 39 : 433-438.

Wang HL, Hesseltine CW., 1982. Coagulation in tofu processing. *Process Biochem.* Jan. /Feb. , 7-12.

Walsh B., J., Herbert B., 1998. Setting up two-dimensional gel

- electrophoresis for proteome projects, ABRF New 9:1121-1123.
- Watanabe, K.,1988. Kinetics of the heat insolubilisation of soybean 11S protein in a phosphate buffer system.Agric.Biol.Chem.52 : 2095-2096.
- Wolf, W.J. ,1972 Soybeans : chemistry and technology,vol proteins;Smith, K.;Circle, S. J., Eds.;AVI Publishing Co., Wesport, CT, 93-143.
- Wolf, W.J., Cowan,J.C.,1975.Soybeans as food source. CRC Press.Cleveland,Ohio.27.
- Yamagishi, T.,Takaya,M.,Ebina Futoshi Yamauchi,F.,1984. Effect of heating temperature on sulfhydryl and disulfide contents and states of aromatic amino acid residues in soybean protein.Agric.Bio.Chem.4 (2) : 537-539.
- Yamauchi, F.,Yamagishi,T.,Iwabuchi,S.,1991.Molecular undersyunding of heat-induced phenomena of soybean protein.Food 7 (3) : 283-322.
- Young, M.P., Merion.,M.,1989. Capillary electrophoresis analysis of species variation in the tryptic maps ofcytochrom C.Current Rresearch in Protein Chemistry : Techniques,Structure and Function (J.J.Villafraca,ed.) Academic Press,New York.27-40.
- Zarkadas,C.G.,Gagnon,C.,Poysa,V.,Khanizadeh,S.,Cober,E.R.,Chang,V.,and Gleddie,S.2007.Protein quality and identification of the storage protein subunits of tofu and null soybean genotypes,using amino acid analysis,one-and two-dimensional gel electrophoresis,and tandem mass spectrometry.Food Research Internatinal 40 : 111-128.

Zhang,H.,Li,L.,Tatsumi,E., Isobe,S.,2005.High-pressure treatment effect on proteins in soymilk.Lebensm. Wiss,u.Technol. 38 : 7-14.



試藥配製：

(1) 40% Acrylamide/Bis solution

a.Acrylamide.....116.8g

b.N'N'-bis-methylene-acrylamide.....3.2g

c.dd H₂O.....定量至 300ml

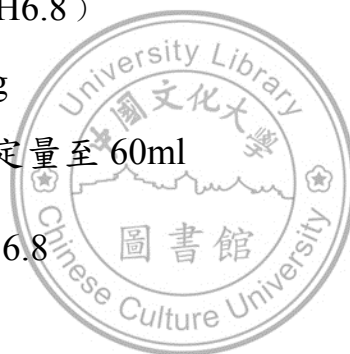
儲存於褐色瓶中，且置放於 4℃ 保存

(2) 0.5M Tris HCl (pH6.8)

a.Tris base.....6g

b.dd H₂O.....定量至 60ml

需以 HCl 滴定至 pH 為 6.8



(3) 1.5M Tris HCl (pH8.8)

a.Tris base.....27.23g

b.dd H₂O.....定量至 80ml

需以 HCl 滴定至 pH 為 8.8

(4) Running buffer (pH8.3)

a.Tris base.....12.1g

b.Glycine.....57.6g

c.SDS.....4.0g

d.dd H₂O.....to 4L

藥品先配完，再用 HCl 滴定至 pH8.3

(5) 2X Sample buffer

- a. 0.5M Tris-HCl (pH6.8)2.5ml
- b. Glycerol 20% (v/v)2.0ml
- c. 10% SDS.....4.0ml
- d. 2-mercaptoethanol 2% (v/v)0.2ml
- e. Bromophenol blue.....0.2mg
- f. dd H₂O.....to 50ml

(6) Coomassie blue stain buffer

- a. Coomassie blue.....0.5g
- b. Methanol.....800ml
- c. Acetic acid.....140ml
- d. dd H₂O.....to 2L

(7) Destain

- a. Methanol.....400ml
- b. Acetic acid.....70ml
- c. dd H₂O.....to 1L

(8) 10% SDS

- a. SDS.....1g
- b. dd H₂O.....10ml

(9) 10%APS (需當天配製)

a.ammonium persulfate.....100mg

b.dd H₂O.....1ml

(10) ANSA 溶液配製

秤0.39g之8-anilino-1-naphthalene sulfonic acid 溶於pH6.8的磷酸緩衝溶液中配製成濃度為5mM的ANSA溶液，在室溫下以磁石攪拌至完全溶解，約20-30分鐘，分裝入包裹了鋁箔的離心管中，儲存在4°C下備用。

