

壹、中文摘要

本實驗以亞硝酸鈉水解幾丁聚醣(Mw 306.76kDa)至不同分子量(175.37 及 4.23kDa)後，將此三種不同分子量之幾丁聚醣及葡萄糖胺(221.2Da)(簡稱幾丁聚醣產品)，分別溶於 0.05M 醋酸溶液至不同濃度，做為製備豆腐之凝固劑。

實驗分為四部分依序進行。第一、將生豆漿加熱至 98-100°C、10 分鐘，並冷卻至 75 °C，分別加入不同濃度(0.025、0.05、0.075、0.10、0.15、0.20、0.25 及 0.30 g / L soymilk)之幾丁聚醣產品，攪拌反應，並找出豆漿中蛋白質之最佳凝固率所需加入各種幾丁聚醣產品之濃度。第二、以各種幾丁聚醣產品之最適濃度為凝固劑，加入豆漿製備豆腐並測定豆腐之蛋白質回收率、含水率、產率、保水力、質地及乳清濁度。第三、改善豆腐之保水力，即，將適合濃度之幾丁聚醣產品加入豆漿，攪拌後，立即加入不同濃度(0、0.5、1.0、1.5 及 2.0 g gum / L soymilk)之蒟蒻或三仙膠，並測定豆腐產品之保水力、蛋白質回收率、質地及乳清濁度。最後，測試豆腐之感官評估。此外，以 CaSO₄ 為凝固劑製備傳統豆腐並進行上述各項測試為對照比較。

結果發現，幾丁聚醣產品之添加濃度為 0.2g / L soymilk 時，可得最佳蛋白質凝固率且趨於持平。將幾丁聚醣產品個別加入豆漿製備豆腐，幾丁聚醣產品之分子量愈小，其豆腐之產率、含水率及乳清濁度愈低，其範圍分別在 23.83-17.72 g / 100 mL soymilk、86.67-79.13%及 280-40NTU，但其蛋白質之回收率及保水力則愈高，分別在 72.08-93.74%及 52.80-64.56%。在豆腐物性方面，幾丁聚醣產品之分子量愈小，其豆腐之膠性、咀嚼性及黏度有愈高之趨勢，硬度亦愈高。但

以葡萄糖胺為凝固劑者，其硬度稍下降，而彈性及內聚性則差異不明顯。在改善豆腐保水力方面，添加蒟蒻至 0.5% 濃度，有明顯地提高幾丁聚醣產品豆腐之保水力、蛋白質回收率及降低乳清濁度。在物性方面，此添加除了豆腐之硬度質降低外，大多數樣品之其他物性質均增加。此外，以愈小分子量之幾丁聚醣產品為凝固劑製備豆腐，其豆腐之各項感官評估值愈高，其中，以葡萄糖胺為凝固劑者，其豆腐之各項感官評估值似乎接近於以 CaSO_4 為凝固劑製備之豆腐。

關鍵字：幾丁聚醣水解物、葡萄糖胺、豆腐、產率、蛋白質回收率、保水力、蒟蒻、三仙膠

貳、英文摘要

ABSTRACT

Chitosan (Mw 306.76kDa) was hydrolyzed by NaNO_2 into different molecular weights(175.37 and 4.23kDa). These three different Mw chitosans and glucosamine (221.2 Da) (chitosan products) were dissolved in 0.05M acetic acid at different concentrations and used as coagulants in making tofu.

The research was followed by four steps. Firstly, soymilk was heated at 98-100°C for 10 min, then cooled to 75°C, and added with the chitosan products of different concentrations (0, 0.025, 0.05, 0.075, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 and 0.30 g / L soymilk).The optimum concentrations of the chitosan products were determined to obtain the best protein coagulation from soymilk. Secondly, tofus that were prepared by individually adding the chitosan products with a suitable concentration were determined on the protein recovery, moisture content, tofu yield, water-holding capacity, texture profile and whey turbidity. Thirdly, konjac or xanthan gum was added at different concentration (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 g / L soymilk) in the tofu preparation with aim at improving the tofu's water-holding capacity. These tofus were also determined on the above items. Finally, a conventional tofu (CaSO_4 as a coagulant) was made as a control in comparison on the above items and sensory evaluation.

As a result, a concentration of chitosan products of 0.2 g / L soymilk gave the best protein coagulation. Tofus prepared with the chitosan

products (0.2 g / L soymilk) as coagulants showed that the lower chitosan product Mw the lower tofu yield (23.83-17.72 g / 100mL soymilk), moisture content (86.67-79.13%) and whey turbidity (280-40NTU), but the higher protein recovery (72.08-93.74%) and water-holding capacity (52.80-64.56%). On the texture profile, the lower chitosan product Mw the higher gumminess, chewiness, adhesiveness and hardness (except the glucosamine coagulant tofu that showed same decreasing in hardness), while the springiness and cohesiveness showed unclear difference as the chitosan product Mw changed. Adding 0.5% konjac concentration in the preparation of chitosan product coagulant tofus that helped get more water-holding capacity, protein recovery and less whey turbidity. The konjac addition also increased the texture profile values of most of the tofus except their hardness that happened decreasing. To the sensory evaluation, the lower chitosan Mw were in the tofu preparation, the higher scores of sensory evaluation, especially, the glucosamine coagulant tofu had appearance, flavor, mouthfeel and total acceptability scores closed to those of the CaSO₄ coagulant tofu.

Keywords: chitosan hydrolysates, glucosamine, tofu, yield, protein recovery, water-holding capacity, konjac, xanthan gum

參、前言

豆腐不僅在亞洲地區廣受歡迎，對中國人來說，更是一項十分重要的傳統食品。因為其價格便宜、營養豐富又容易消化，長久以來對中國人的健康貢獻良多。目前豆腐產品的發展至今已經多元化，但豆腐業者仍不斷致力於找尋新的凝固劑和發展新型態的豆腐改良豆腐產品，以供應市場上的需求。

自甲殼或真菌細胞壁，以酸及鹼溶液依序除去碳酸鈣及蛋白質製成幾丁質(chitin)，再以濃鹼溶液於高溫下加熱處理以去乙酰基(acetyl group)即得幾丁聚醣(chitosan)(阮等，1995)，幾丁聚醣經亞硝酸鈉在適當作用條件下，水解為不同水解度之幾丁聚醣(chitosans of different degrees of hydrolyzation)。這些幾丁聚醣產品為帶正電之聚合物(cationic polymers)。有許多研究報告指出，幾丁聚醣及其水解物可有效地凝固蛋白質及其他懸浮物(knorr, 1991)，亦可降低血液及肝臟之膽固醇和三酸甘油脂(Ikeda et al., 1993)，如此可預防高血壓症和預防高脂肪肝症，其他還有抗腫瘤(Qin et al., 2004)、抗氧化(Yen et al., 2007)及降低體重(Ni Mhurchu et al., 2005)等之生理活性。

生豆漿在加熱過程中，其疏水基會由內漸漸往外露出，且蛋白質大部分帶負電使蛋白質間產生排斥，無法結合凝膠；而在酸性環境下，幾丁聚醣為一多價正電荷聚合物，可中和蛋白質之負電，使蛋白質之疏水基靠近而產生結合凝膠。另外，帶正電幾丁聚醣可與帶負電蛋白質產生交連反應而凝膠。不同分子量之幾丁聚醣當作凝固劑製備豆腐，其質地性質亦不同(阮和陳，2006)。因以酵素水解幾丁聚醣之水解物做為製備豆腐之凝固劑成本很高，若能利用化學法水解幾丁聚

糖當作豆腐凝固劑，可克服此缺點。此外，考量蛋白質與幾丁聚糖水解物結合凝固時會產生離水作用，使產品口感受到影響，故擬添加蒟蒻或三仙膠以改善之。

本研究若順利完成可製備出與傳統豆腐口感不同，且具有良好保健功能以及合理價格之含有幾丁聚糖水解物豆腐，此產品顯然極有競爭力。

肆、文獻整理

一、大豆

(一) 簡介

大豆，學名為 *Glycine max*(L.) Merrill，英文名為 soybean，在台灣俗稱為黃豆，係為豆科(Leguminosae)、蝶形花亞科(Papilionoid-eae)、大豆屬(*Glycine*)之一年生草本，是豆類食物中營養價值最高的一種，有「豆中之王」的美稱。乾大豆的蛋白質含量高達40%，最優質的大豆甚至可以達50%，相當於瘦豬肉的兩倍，雞蛋的三倍，牛奶的十二倍，因此大豆又被人們稱為「植物肉」或「綠色乳牛」(廖，1997)。而日本營養學權威杉本一好博士也曾說：「米、大豆、鮭魚、蘿蔔是維護日本人營養的四大食品」(董，1992)。

台灣大豆之加工利用，主要是供作提油及黃豆粉用，其次則供生產豆漿、豆腐、豆芽、豆豉、豆皮、味噌及醬油用。大豆製品種類繁多，通常以加工型態被利用，除大豆油外，可分為發酵及未發酵大豆製品。發酵大豆製品有：味噌、納豆、醬油、天貝及豆腐乳等。未發酵大豆製品有：豆腐、豆漿及大豆粉等。但不論是否有發酵，大豆對身體的益處，包括改善血脂質、降低血壓(Teede et al., 2001; Rivas et al., 2002)、改善血脂蛋白、減輕荷爾蒙依賴性疾病或症狀，例如停經症候群或月經週期、降低癌症發生率，例如乳癌(Messina and Loprinzi, 2001)和攝護腺癌(Messina, 2003)，減輕骨質疏鬆症的發生率(Atkinson et al., 2004)。

1999年10月，美國食品藥物管理局(Food and Drug Administration)，認可大豆的健康宣稱(Soy Health Claim)：「配合低飽和脂肪及低膽固醇的飲食，每天攝取25克大豆蛋白，可降低罹患心臟疾病的危險率」，因此許可食品製造商將大豆降低膽固醇的保健功效標示於食品商標上。

(二) 大豆組成份

1. 醣類

大豆中約含30-35%醣類，幾乎不含澱粉，在可溶性醣類中，以蔗糖含量佔最多(41-68%)，亦含約10%的寡醣類，如水蘇四糖(stachyose)及棉籽糖(raffinose)等碳水化合物。研究顯示，由於人體缺少 α -乳糖酶，所以無法消化上述兩種低分子量之寡醣，在消化道內因微生物發酵，容易發生腸胃脹氣而感到不適。將大豆經鹼性浸泡、加熱、酵素處理及去除豆渣等方法，均可消除此類低分子醣類。由於大豆之碳水化合物中不含乳糖，所以對於具有乳糖不耐症之患者，大豆製品是相當好的食品(Quak and Tan, 1998)。

2. 脂質

大豆中之油脂佔全穀粒約18%，所含油脂中含有86%的不飽和脂肪酸，而必需脂肪酸中的亞麻油酸(Linoleic acid)及次亞麻油酸(Linolenic acid)含量更高達62%；飽和脂肪酸以棕櫚酸(Palmitic acid)含量最多，約為11%。由於不飽和脂肪酸容易因氧化產生異味，所以在加工貯藏特別受到重視。在豆腐及味噌等產品中，大豆脂質對

其風味組織及營養上的影響扮演極重要的角色(陳，1997)。

3. 蛋白質

大豆含有約 40%之蛋白質，超離心時，依沉降速率的不同，可將大豆蛋白質分為 2S、7S、11S 和 15S 等部分，低分子量的部分如 2S 蛋白質最主要是含一些具有生物活性的蛋白質，如胰蛋白酶抑制劑(trypsin inhibitor)，7S 部分主要是含有脂氧化酶(lipoxygenase)和 90% 球蛋白，稱之為 conglycinin，11S 部分則稱之為 glycinin，是大豆中主要蛋白質，含 12 個次單元體(subunit)，每六個形成六環狀，且與另外一組六環體相互重疊，15S 佔整體蛋白質重量約 5-10%，這個部分含尿素酶，可將尿素轉換成氨(朱，1994)。

大豆中最主要的蛋白質為 7S 和 11S，佔大豆蛋白約 70%(Peng et al., 1984；Saio and Watanabe, 1978)，此兩種蛋白質與豆腐的產率及品質有很大關聯。以下再針對這兩種蛋白質作更進一步的了解。

a. 7S 大豆蛋白(β -conglycinin)

7S 大豆蛋白分子量約為 180 kDa，主要由 α 、 β 及 γ 等三個次單元體構成，三者中以 β -conglycinin 的含量最高，其彼此以疏水性作用力互相結合。7S 大豆蛋白之構形會隨不同 pH 及離子強度而改變，在高離子強度($I > 0.5$)較安定；在低離子強度($I < 0.2$)時，會造成 α 次單元體解離。7S 大豆蛋白的膠體形成，主要以疏水性和氫鍵為主，而主要維持膠體的分子作用力則為雙硫鍵及氫鍵。

b. 11S 大豆蛋白(Glycinin)

11S 大豆蛋白分子量約為 350 kDa，主要由 6 個酸性多肽(acidic polypeptide)及 6 個鹼性多肽(basic polypeptide)構成，兩者間以雙硫鍵互相結合。11S 大豆蛋白的膠體形成，主要以疏水性鍵結、靜電力和雙硫鍵結為主，而主要維持膠體的分子作用力則為雙硫鍵及氫鍵。

c. 7S 大豆蛋白和 11S 大豆蛋白之物理特性

雖然 7S 與 11S 之 pI 皆在 4.5-4.8 之間，但兩者由於在結構與組成上不同而有不同的特性，也導致兩者在營養及功能性上不同。雖然兩者含硫胺基酸(sulfur-containing amino acids)的含量皆不高，但每單位蛋白質中 11S 大豆蛋白所含有之甲硫胺酸(methionine)與半胱胺酸(cysteine)的含量是 7S 大豆蛋白的 3-4 倍，因此就營養觀點來說：11S 大豆蛋白營養價值比 7S 大豆蛋白高(Kitamura,1995)。

凝膠是黃豆蛋白質最重要的一種功能，利用此特性才能發展出如豆腐的傳統食品。7S 大豆蛋白與 11S 皆可因熱或因凝固劑的添加而發生凝膠。凝膠又可分為熱凝膠及冷凝膠；在熱凝膠方面，7S 大豆蛋白發生自我凝膠(self-supporting gel)之條件為：加熱溫度需達 80°C，溶液中離子強度為 0.5，且 7S 大豆蛋白濃度需達 7.5%；11S 大豆蛋白發生自我凝膠之條件為：加熱溫度需達 100°C，溶液中離子強度為 0.5，且 11S 大豆蛋白濃度需達 2.5%(Mori et al., 1989)。當兩種蛋白質濃度相同時，11S 大豆蛋白之凝膠強度較 7S 大豆蛋白高。而當有硫酸鈣或葡萄糖酸- δ -內酯(glucono- δ -lactone；簡稱 GDL)

等凝固劑存在下，11S 大豆蛋白具有較快的凝膠速率，且凝膠強度也較 7S 大豆蛋白高(Kohyama et al, 1995)。但若單由 11S 大豆蛋白所凝固之膠體，較 7S 稀薄、多孔洞且易離水，因此還是需與 7S 大豆蛋白共同凝膠，以提高膠體的保水能力(Kohyama et al., 1995)。而在冷凝膠方面，將凝固劑添加於因加熱而變性的蛋白質溶液中產生凝膠稱之，如豆腐。11S 蛋白質成分所做成的豆腐比 7S 蛋白質成分硬度高，且 11S 蛋白質對豆腐之咀嚼性、彈性和成膠性影響較大。一般而言，大豆蛋白質含量愈高，豆腐產率愈高。

4. 微量成分

大豆中的微量成分包含約 5% 的灰分，其中鉀含量高達 1,500 mg / 100 g 以上，鈉含量則很低，屬於高鉀低鈉食品；其他礦物質，如鈣、鐵、鎂及磷等。此外，大豆中有許多具健康效益之機能性成分，包括 ω -3 及 ω -6 之多元不飽和脂肪酸、維生素 E(生育醇， α -Tocopherol)、膳食纖維(dietary fiber)、寡糖(oligosaccharide)、卵磷脂(lecithin)、異黃酮(isoflavones)、皂素(saponins)、植物固醇(phytosterol)等。而大豆在維生素含量方面，除維生素 B₁₂ 及維生素 C 外，其水溶性維生素含量，如維生素 B₁ 及葉酸，含量也不少。卵磷脂為良好的一種乳化劑，其具有乳化性、濕潤性、保水性及抗氧化性，因此在食品加工上被廣泛利用。卵磷脂已被證實具有降低低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、提升高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、預防動脈硬化、預防脂肪肝及肝硬化、預防老年痴呆、促進胎兒腦細胞形成、調節免疫系統之功能等人體生理活性機能(蔡，2001；Wit, 2001)。異黃酮屬於異黃酮化合物之一種，也算是一種植物雌激素。研究證實異黃酮能預防癌症、減緩更年期症

候群、預防骨質疏鬆、預防心血管疾病、降低膽固醇及促進免疫功能等(江, 1998; Wit, 2001)。皂素是指易溶於水或油會產生泡沫的植物性成分總稱。皂素可藉由吸附膽汁酸而達到降低膽固醇的效果, 體外試驗顯示其具有潛在抗腫瘤效果(陳, 1999; Wit, 2001)。植物固醇有抗膽固醇與抑制腸道對膽固醇吸收的效用, 體外動物試驗也發現其具有抗腫瘤的效果(Wit, 2001)。

二、豆腐

(一) 簡介

根據文獻報導, 豆腐為西元前 164 年, 由西漢淮南王劉安所發明, 在西元 1183 年時傳入日本, 然後流傳至亞洲其他各國。因此, 豆腐在東亞可以說是歷史悠久且廣受歡迎的食品, 在中國, 豆腐是一種非常重要的傳統食品。因為豆腐的價格便宜、零膽固醇、低飽和脂肪、高蛋白質含量(Cai and Chang, 1998), 且容易消化。長久以來對中國人的健康實在貢獻良多。

目前豆腐產品的發展至今已經多元化, 但是豆腐業者仍不斷的致力於改良豆腐產品, 以供應市場上的需求。改良的基本範圍包括豆腐的產率及其品質, 找尋新的凝固劑和發展新型態的豆腐亦是改良豆腐產品的首要目標之一。

(二) 豆腐種類

1. 傳統豆腐

傳統豆腐，亦稱為硬式豆腐或中式豆腐，其製法為：將大豆浸水軟化膨脹，浸泡時間依水溫不同而不同，水溫 10°C 時浸泡 18 小時，18°C 浸泡 12 小時，27°C 浸泡 8 小時。再將吸水而膨大之大豆加水，水量約為原料大豆之四倍，以磨碎機磨碎，將磨碎之漿液加入少量的消泡劑避免起泡，以鍋爐煮沸後，以濾布將豆渣去除得到原料豆漿。此時等豆漿冷卻至 70-80°C，將凝固劑硫酸鈣(又稱石膏)，緩緩加入，接著緩緩攪拌豆漿，之後使其靜置凝固，再將豆腐放入鋪有棉布的木製矩形模型中，並加蓋施以適當壓力，排出乳清，即得豆腐。

2. 嫩豆腐

嫩豆腐製法為：製成豆漿的加水量改為原料大豆的 5-6 倍，凝固劑用量約為豆漿重 0.3%。先將凝固劑(硫酸鈣)溶解，放入無孔模型中，加熱煮沸後，冷卻至 70-90°C 的高濃度豆漿混合，凝固時間為 20-30 分鐘，使全部豆漿凝結成豆腐，豆腐成形後，以豆腐刀自周圍劃開，底栓移除，將模箱靜置於水槽中，則水自底孔壓入，豆腐上浮，方便取出。由於豆腐中的營養成份均保留在豆腐中不流失，且因製品外觀無布紋且細緻，因而稱之營養豆腐或絹豆腐。

3. 盒裝豆腐

盒裝豆腐製法為：所用的豆漿濃度與嫩豆腐相同，使用之凝固劑為 GDL，凝固劑使用量約為豆漿的 0.3%。先將豆漿加熱，使其蛋白質疏水基由內漸漸往外露出，且蛋白質大部分帶陰電(negative

charge)使蛋白質間產生排斥(repulsion)，無法結合凝膠(Kohyama et al., 1995)，冷卻之豆漿加入凝固劑 GDL，再度進行一次加熱，藉由 GDL 受熱水解變成葡萄糖酸(gluconic acid)，使豆漿之 pH 值降低，中和其陰電，而將使蛋白質分子凝聚，促使硫氫基(-SH)變成雙硫鍵(S-S)、疏水性分子交互作用而形成凝膠。雖然盒裝豆腐有易儲存、運送、營養價值高及省時之優點，但是與傳統豆腐相比，質地較軟，且帶有少許酸味。而由於盒裝豆腐未經壓榨去除乳清，所以於儲存過程中極易離水；在烹調上的應用也因盒裝豆腐組織不具孔洞，不易入味，因此一般也多以涼拌方式食用。

4. 凍豆腐

凍豆腐乃將豆腐予以凍結、解凍後形成具有彈性的海綿狀結構。此因傳統豆腐含水量約為 90%，不耐久存也不易搬運，但若直接脫水製成乾燥品，在製程上較為困難，若能先製成凍豆腐，然後解凍，以方便脫水。而傳統豆腐與凍豆腐製法不同之處為，磨碎大豆後加水量為大豆重量的 15 倍，再將所製得之豆漿加熱至 65°C 後，加入凝固劑(氯化鈣)混合，凝固劑使用量約為豆漿的 0.11-0.14%，等豆腐凝固後，去除上清液，將剩餘凝固物攪拌打碎，注入有孔且鋪有棉布的模箱中，加蓋施壓去水。豆腐成形後，將豆腐自模箱中取出，置入流水中，洗去殘留在豆腐上之凝固劑及其他水溶性大豆成份。最後將豆腐切成薄塊，置放在冷凍室中吹 3 小時，使之凍結，再置入冷藏室約兩週使之成熟。取出後以 40°C 溫水解凍，則豆腐成海綿狀而易於脫水。以離心機脫水後，以 100°C、3-5 小時熱風乾燥，之後於 50°C 乾燥七小時，整形後移入密閉室。自高壓罐中送入氨氣，使滲透入豆腐海綿組織中。凍豆腐經氨氣加工後，可於調理時充分

膨脹，調味料之風味易滲入。

(三) 豆腐凝固之反應機制

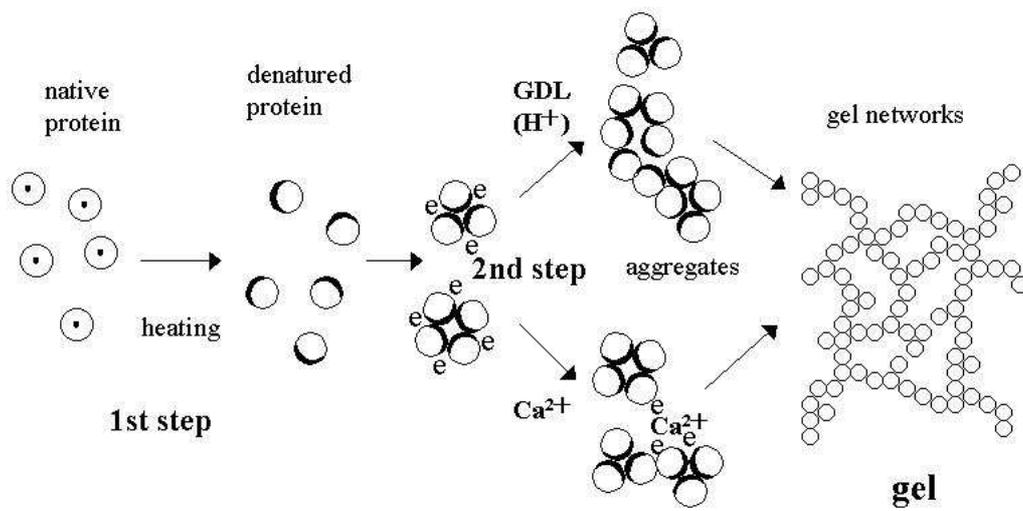
將大豆加水製備生豆漿時，其 pH 約 6.5-7.0，生豆漿中，其蛋白質之疏水基(hydrophobic group)均在蛋白質內部，在加熱過程中，其疏水基由內漸漸往外露出，且蛋白質大部分帶陰電，使蛋白質間產生排斥，無法結合凝膠(Kohyama et al., 1995)。當加入凝固劑如鈣鹽或 GDL，分別釋出 Ca^{++} 或 H^+ ，一方面可中和蛋白質之陰電，使蛋白質彼此靠近，有利於疏水基互相結合(hydrophobic interaction)。另一方面， Ca^{++} 更可在蛋白質間架橋，形成 protein-Ca-protein。此外，11S protein 上的-SH 基因加熱後增加，而產生 S-S 交換反應使蛋白質結合。上述這些結合反應使蛋白質聚集而凝固 (圖一)。

(四) 影響豆腐產率及品質之因素

除了考慮原料大豆之化學組成外，豆腐製造過程中的加工條件，也是決定豆腐品質的重要因素。其中最常被探討的因素包括：7S 及 11S 比例、水/豆比、凝固劑種類與濃度、豆漿之熱處理、凝固溫度及加壓條件。以下針對上述幾點來作說明。

1. 大豆蛋白質中 7S 及 11S 及其比例

11S 和 7S 蛋白質的不同，在於它能製造硬度較高的豆腐，在彈性(springiness)、結著性(adhesiveness)、膠性(gumminess)及成膠性對鈣鹽的凝膠速率比 7S 蛋白質快，且能夠形成較大的聚集體。在 11S



(Kohyama et al., 1995)

圖一、大豆蛋白凝膠機制

Fig 1. Mechanism of soyprotein gelation

蛋白質的熱變性方面，11S 的次單元體趨向形成一個可溶性的聚集體，然後經由硫氫-雙硫鍵的交互反應作用，變成一個不可溶性的聚合體。豆腐膠體的形成主要是靠雙硫鍵、疏水性結合力和離子鍵等作用力，這些作用力在 11S 及 7S 豆腐的表現上也不同，由於 11S 所含的 cystine 較多，雙硫鍵對 11S 豆腐的影響比較大(Saio et al., 1968; Saio and Watanabe, 1978)。硬度、結著性和彈性在 11S 豆腐中隨著硫氫基數目的增加而急速增強，在 7S 豆腐只有些許的變化。隨著 11S 中的硫氫基數量的增多，蛋白質聚集體也跟著變大。因此可知，以 11S 蛋白質製造的豆腐膠體中，所含的雙硫鍵要比 7S 豆腐來的多，而且隨著硫氫基的數目增加，豆腐膠體的硬度亦隨著增大。

2. 水/豆比

水/豆比係指在豆漿及豆腐製造過程中之用水量對乾黃豆的重量比。水/豆比的高低會影響豆漿濃度，也決定其中固形物的濃度。例如盒裝豆腐的製造過程中，因無壓榨及排放豆腐乳清的步驟，因此需要用較高濃度的豆漿來製造豆腐，常用的水/豆比為 5；而木棉豆腐的製造過程中需要壓榨及排除豆腐乳清的步驟，在 Beddows 和 Wong(1987a)文獻中指出，水/豆比為 10 的條件下可製得蛋白質回收率最高、外觀與品質皆最佳的豆腐。另外 Cai 和 Chang (1999)文獻中也指出，豆腐的硬度、彈性與內聚力等項質地皆會因水/豆比值的升高，而出現逐漸下降的趨勢。

3. 凝固劑

a. 種類

製造豆腐過程中最重要的一個步驟就是「凝固」。目前常用的凝固劑有：硫酸鈣鹽($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，俗稱石膏)、Nigari ($\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 及 CaCl_2)、氯化鎂及 GDL。近期還有利用酵素(transglutaminase)之添加以提升豆腐的凝固效果(Tang, 2007)。硫酸鈣鹽適用所有型態的豆腐製造，優點是豆腐產率高，但風味稍差、有苦味；以 Nigari 所製造出的豆腐，雖然產率較低，但風味卻較硫酸鈣鹽之豆腐佳；而 GDL 常被用作於盒裝豆腐的製造，其中一個目的是藉由降低豆漿的 pH 值至大豆蛋白質之等電點，而到凝固的目的。根據 DeMan 等(1986)文獻中也指出：氯化鎂和氯化鈣的凝固速率非常快，而且在凝固作用的初期即有明顯的乳清分離。硫酸鈣、硫酸鎂及葡萄糖內酯的凝固作用則較緩慢。使用同一種凝固劑時，其濃度愈高，凝固速率也愈快。

由氯化鈣或氯化鎂做出之豆腐，一般要比硫酸鈣或硫酸鎂做出豆腐來的硬、脆且較具苦味，且由氯化鈣或氯化鎂做出之豆腐粗糙、粒狀且較硬。硫酸鈣和葡萄糖內酯則較適合製造較軟、平滑和膠狀組織的豆腐，且其結構的孔洞較小，較均勻。

以硫酸鈣鹽作凝固劑所呈現清淡味道(bland flavor)，而葡萄糖內酯或醋酸因為放出 H^+ 使產品有酸味且有似橡皮質地(rubbery texture)，容易破裂。其他研究報告如 Tsai 等(1981)、Lim 等(1990)、Sun 和 Breene (1991)與 Kohyama (1995)等亦指出硫酸鈣鹽適合為中式豆腐(Chinese style tofu)之凝固劑。

b. 濃度

由於 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 對水溶解度不高，最適添加濃度常受到許多因素所影響：如凝固溫度、添加凝固劑時之攪拌速度與時間、攪拌棒與盛裝容器大小及黃豆品種等。當 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 添加量不足時，豆漿中的蛋白質無法充分與鈣離子發生鍵結，不僅質地軟且蛋白質與固形物回收率皆不高；而當 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的添加量過高時，會因豆腐微細結構過於緊密而導致豆腐保水力下降，低分子量之固形物與蛋白質隨豆腐乳清流出，同樣導致豆腐產率、蛋白質與固形物回收率的降低。因此只有添加適量的 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，才可得到蛋白質與固形物回收率皆最高的豆腐(Sun and Breene, 1991)。

4. 豆漿之熱處理

Wolf (1972)提出加熱處理不僅是蛋白質變性所必需的，並能提高豆漿之營養價值和降低豆臭味。豆臭味主要產生的原因是 lipoxidase 所致。Tang 等(2007)指出，在一般製作豆腐過程中，必須在沸騰後再加熱 3-10 分鐘，原因有兩個：一為要形成豆腐凝膠的首要條件，是將大豆蛋白變性，使疏水基露出；另一為加熱處理可使大豆中 trypsin inhibitor 失活，因此必須將生豆漿加熱至 95°C 以上。

大豆加熱處理時，硫氫-雙硫鍵的交互反應對其凝結和聚集反應是很重要的，加熱後不久硫氫基會快速地增加到一個最高點，之後開始下降。因此，豆腐加工時，通常豆漿煮沸後要繼續加熱數分鐘，最適宜的加熱時間要視硫氫基數目達到最高量而定。若加熱不夠，大豆蛋白無法分解成次單元體，豆腐品的表現會有如糊狀膠體一般。加熱過度，硫氫基又會被空氣氧化，產品的結著性會降低(Saio,

1979)。

5. 凝固溫度

凝固溫度是指添加凝固劑時的溫度。凝固劑溫度提高，則會提高 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的溶解度，造成蛋白質的快速凝結，導致豆腐的體積小、硬度高且保水力差；而凝固溫度低，則會因 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶解度低，造成豆腐凝結程度不夠，而過軟且不易成形。根據 Beddows 和 Wong (1987b) 文獻中指出，最適凝度溫度範圍在 70-80°C 之間。

6. 加壓條件

為提高豆腐的硬度和排出多餘的水分，將凝固完全後的豆花經適當的破碎處理後，再放置於木製模型中，經加壓而排出豆腐乳清。通常若要製造像豆乾等硬度較高的產品時，不但加壓時所需壓力要大，且之前的破碎程度也較高，此有利於內部水分釋出；若要生產軟豆腐等含水量高的產品時，可不用經破碎處理或只需輕微程度的破碎即可。

(五) 豆腐製備過程中排出乳清（即廢水）之濁度、蛋白質及固形物等，造成環保問題

Lim 等(1990)和 Shen 等(1991)指出，豆漿含約 5% 蛋白質(W/V)，於製備豆腐時，有 10-13% 蛋白質及其他固形物如碳水化合物等自豆漿排入乳清中，使乳清的總固形物約為 3.5% (W/V)。Jun 等(1994)指出，製豆腐時所排出廢液之濁度高達 422 NTU，以幾丁聚糖將廢

液中懸浮物凝固處理，可降低至 10 NTU。

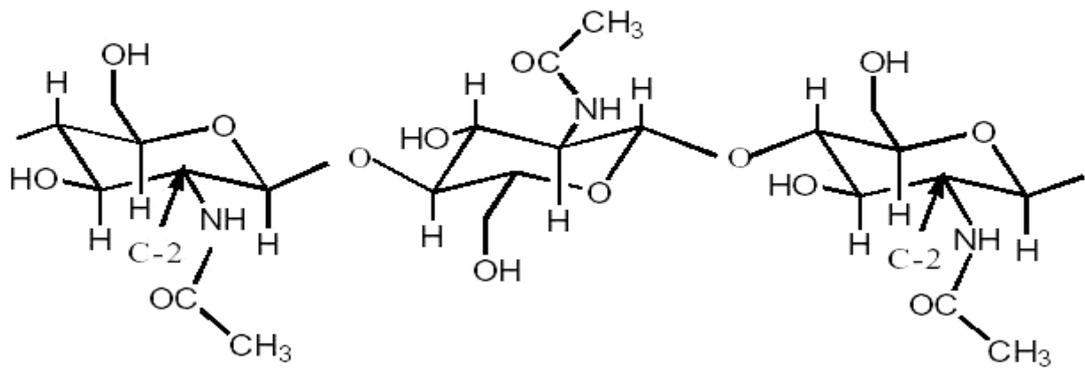
一般自生產豆腐工廠取回廢液分析，發現其濁度為 1,800 NTU，蛋白質含量約 0.8% 及總固形物約 3.8% (W/V)。台灣豆腐工廠大多數屬於小型家庭式，多達萬家以上，幾乎未裝置廢水處理設備，因此嚴重造成環保問題。

三、幾丁質 (chitin) 與幾丁聚糖 (chitosan)

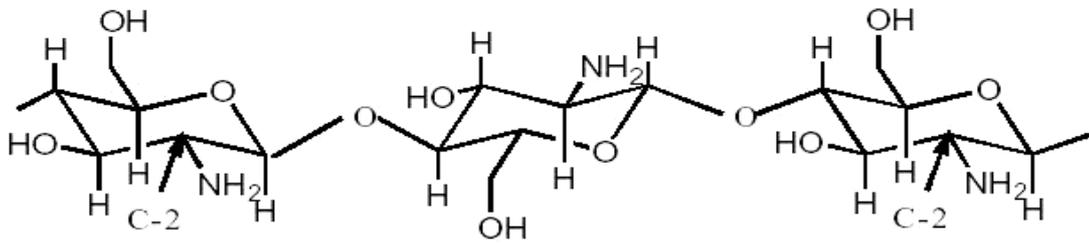
(一) 幾丁質簡介

最早幾丁質的發現是在 1799 年，由英國人 Hachett 利用酸處理蝦、蟹及龍蝦外骨骼，發現會產生泡沫及轉變成黃色膠狀軟骨物質，但當時尚不知為何物質(賴，1979)；1811 年，France 植物學家 Braconnot 利用稀釋鹼液加熱處理洋菇時，發現一不溶於水的物質，並將其命名為「fungine」，後來將此物質經過 X 射線分析後，發現其結晶型態和無脊椎動物中萃取出之幾丁質類似(Ruiz-Herrera, 1978)；1823 年 Odier 又於金龜子的翅鞘經氫氧化鉀處理後，也發現類似物質，將其命名為「幾丁質」(chitin)。

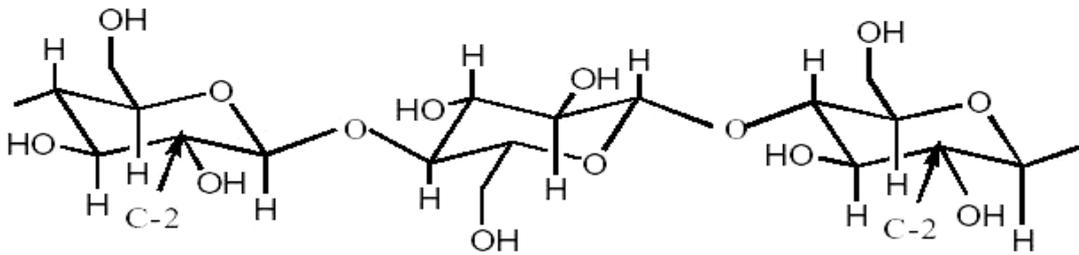
幾丁質為 2000 個以上 N-乙醯葡萄糖胺(N-acetyl glucosamine)及少數葡萄糖胺(glucosamine)經 β -1,4 糖苷鍵鍵結所形成直鏈狀高分子聚合物(biopolymer)，分子架構為「(1,4)-2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucan」，其架構與纖維素相似，纖維素不同的地方在於 C-2 位置上所接的氫氧基(-OH, hydroxyl group)，而幾丁質 C-2 位置被乙醯基(-NHCOCH₃, acetylamino group)所取代 (圖二)。



(a) Chitin



(b) Chitosan



(c) Cellulose

(Knorr, 1984)

圖二、幾丁質、幾丁聚醣及纖維素之架構

Fig 2. Structure of chitin, chitosan, and cellulose

根據估計，幾丁質在自然界中的含量僅次於纖維素，是自然界中第二豐富的天然聚合物。幾丁質亦可在植物細胞壁的組成份、動物中的上角皮層組織、海洋無脊椎動物、昆蟲的外殼以及真菌菌體的細胞壁中發現，幾丁質與纖維素相同，也具有支持與保護生物體的功能(Allan, 1979)。幾丁質的結晶構造間存在著很多強固的氫鍵，使得幾丁質的物性及化性十分安定，因此自然界生物體中的幾丁質都很堅硬。幾丁質之外觀為呈白色無定形之半透明物質，有高彈性及延展性 (Zhang et al., 2002)，且大部分會與蛋白質結合成黏多醣體(mucopolysaccharide)的形式存在。其中，以甲殼類蝦蟹殼中幾丁質含量最高，在海產廢棄物中，幾丁質佔了絕大部分，因此可有效利用減少環境污染的問題。

(二) 幾丁聚醣簡介

1859年 Rouget 將幾丁質放入濃氫氧化鈉溶液中加熱處理後，發現原本不溶於酸的幾丁質可溶於有機酸中；1894年 Hopper-Seyler 將此物質正式命名為「脫乙醯殼多醣」(幾丁聚醣，chitosan)。1925年 Children 證明其為一含氮化合物(賴，1979)。幾丁質在經過高溫及濃鹼的處理後，會進行去乙醯化作用(deacetylation)，幾丁質上的乙醯基會部份或全部被去除，游離胺基會露出，此時所得到的產物即為幾丁聚醣(Knorr, 1984)。

(三) 幾丁質與幾丁聚醣的特性

1. 陽離子特性

在酸性環境下，幾丁聚醣為一線性帶有多價正電荷的聚合物，而增加原有幾丁質之親水性，對含陰離子性吸附質之處理尤為特出，可當作凝集劑，且具有螯合金屬的作用。

2. 生化特性

由於幾丁聚醣為一種無毒(non-toxic)、具生物分解(biodegradable)的天然聚合物，因而具有生化上一些相容的性質。

3. 化學特性

幾丁聚醣因屬於一種線性、高分子量的聚胺(linear polyamine)，在胺基上很容易發生化學反應或與酸形成鹽類。

4. 溶液特性

幾丁聚醣可溶於 1% 己二酸(adipic acid)、甲酸、醋酸、乳酸、丙酸、蘋果酸、琥珀酸，但不溶於硫酸、中性及鹼性的溶劑。雖然稀酸可溶解幾丁聚醣，但仍取決於幾丁聚醣之去乙醯程度及本身的 pH 值，Filar 和 Wirick (1978)指出去乙醯程度達 75% 以上的幾丁聚醣，才能較容易地溶於較稀的有機酸中，若溶液的 pH 值高於 5.5，則溶解度即明顯下降。

幾丁聚醣溶於酸性溶劑會形成黏狀的非牛頓(non-Newtonian)溶液，而溶液的黏度視分子量大小、去乙醯程度、聚合物濃度、溶

劑的濃度與種類，以及溫度而定。而幾丁聚醣可與多價負電荷聚合物反應而形成膠。

在酸性環境下，幾丁聚醣為一多價正電荷聚合物，在溶液中呈現親水性之蚯蚓狀(worm-like)分子，而其流體性質取決於分子構形、氫鍵數目或相鄰分子的靜電排斥力。幾丁聚醣在溶液中的分子構形會受到溶劑種類、pH 值、離子強度及溶質濃度的影響(Kienzk-Sterzer and Rha, 1984)。

(四) 幾丁質與幾丁聚醣之應用

早期，幾丁質與幾丁聚醣主要應用於廢水處理、螯合金屬離子(Muzzarelli et al., 1972；林，2000)及食品加工(Knorr, 1982；阮和李，1991；阮和林，1999)方面，而目前的應用則走向製造高經濟價值的產品為主，例如應用在健康食品(Maeda et al., 1992；Maezaki et al., 1993；Han et al., 1999)或膠囊、人工皮膚和手術縫線等醫療材料上(Sinha and Kumria, 2001；Li et al., 2006)，將這種低價值的聚合物轉變成高附加價值的產品。

四、幾丁聚醣水解物之製備、生理活性及分子量測定之方法

(一) 幾丁聚醣水解物之製備

幾丁聚醣應用範圍廣泛，但天然幾丁聚醣分子量很大，溶解度低，僅能溶於有機酸中，且高分子量之幾丁聚醣溶於酸中其黏度很

高，使其應用在食品方面受到限制。因此將幾丁聚醣水解為低分子量有助於其應用，其水解方法如：化學法、酵素水解法、超音波降解法及氧化還原降解法。

1. 化學法

早期降解幾丁聚醣是以化學法居多，化學法可分為鹼水解、酸水解及氧化法。由於以鹼液進行幾丁質去乙酰時，發現反應時間增加，其分子量有逐漸下降趨勢，但用鹼液水解幾丁聚醣的反應時間太長，且無法達到聚合度 9 以下之幾丁寡醣，所以目前較少使用。酸水解是破壞幾丁聚醣的糖苷鍵，使其分子變小。由於酸水解法處理量大且成本低，目前工業上生產多採此法，但酸液除了有腐蝕、環境污染的問題外，還有原料之前處理、酸液種類、濃度、處理時間及溫度皆會影響寡醣產率。且化學水解屬於隨意(random)之水解方式，較難控制其水解程度，產品品質不均。綜合來說，以低濃度酸液水解幾丁聚醣製備幾丁寡醣，雖易製得幾丁二醣、幾丁三醣及幾丁四醣，但不易獲得幾丁五醣及幾丁六醣等聚合度較高且具有生理活性之寡醣類。以下介紹常用的酸水解法：

a. 亞硝酸鹽水解法

有許多研究是利用亞硝酸水解法降解幾丁聚醣(Allan and Peyron, 1995a)，其水解機制為亞硝酸會對幾丁聚醣的胺基進行選擇性之脫胺反應，並打斷 β -1-4 糖苷鍵，而產生氮氣。而幾丁寡醣也因為脫胺作用，而在還原端有 2,5-anhydro-D-mannose 的衍生物產生。Liu 等(2003)研究指出，利用亞硝酸鈉降解幾丁聚醣，其降解機制為利

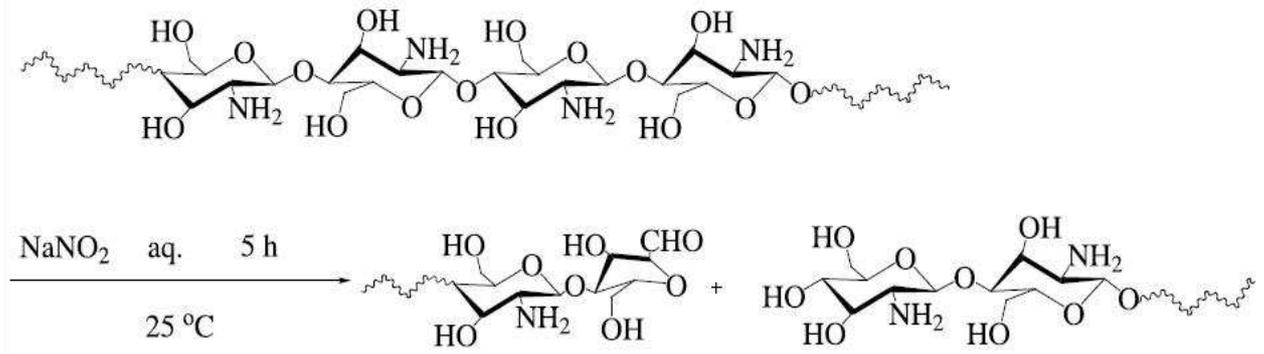
用亞硝酸鈉打斷幾丁聚醣之 β -1-4 糖苷鍵，而在還原端產生具乙醛之幾丁聚醣衍生物。研究中指出，以亞硝酸鈉 0.0664 (NaNO₂ / Chitosan mole ratio) 室溫下水解 5 小時，可將幾丁聚醣分子量 350kDa 降解至最低分子量為 5kDa。此法可快速降解幾丁聚醣，且成本較低。圖三為亞硝酸鈉水解幾丁聚醣之機制。

b. 鹽酸水解法

徐(1998)將幾丁質溶於 5% HCl 中，在 100°C 下反應 3 小時，再進行去乙醯作用，可得平均分子量為 108kDa 之幾丁聚醣，而將幾丁聚醣以 0.7% 過氧化氫於 75°C 下反應 2 小時，可得平均分子量為 51.4kDa 之幾丁聚醣。Domard 和 Cartier (1989) 將 2g 幾丁聚醣以 12N 鹽酸於 72°C 下水解，所得水解液用氫氧化鈉中和至 pH 3。發現水解時間在 3 小時內可得最大幾丁寡醣產量。而 75 分鐘為最適水解時間，可得較高產量之幾丁五醣及幾丁七醣。此現象是因為使用高濃度鹽酸進行水解時，幾丁聚醣聚合物被分解成小分子的速率會大於分解成中分子的速率，因此反應時間愈長，單醣產量愈高，但較高聚合度之寡醣則會降低。

c. 磷酸水解法

Hasegawa 等(1993)以 85% 磷酸水解幾丁聚醣，發現水解產物分成水溶性及非水溶性兩大部分，依作用時間不同，可得到不同比例之水溶性及非水溶性之幾丁聚醣。Zhishen 和 Dongfeng (2002) 也指出幾丁聚醣分子量介於 19-200kDa 間，可用 85% 磷酸、60°C、1-15 小時降解，且幾丁聚醣之水溶性會隨分子量愈小而增加。



(Liu et al., 2003)

圖三、亞硝酸鈉水解幾丁聚醣之機制

Fig 3. Overall mechanism of hydrolysis of chitosan with sodium nitrite

2. 酵素水解法

酵素水解法主要是用酵素的轉糖或直接水解等反應，及酵素對幾丁聚糖的專一性來水解。以酵素法製備出的寡糖聚合度較高，且較易於控制。酵素法優點為反應條件溫和、專一性高及過程簡單等，但缺點是酵素價格昂貴，成本使用上不經濟。

酵素水解法中最常使用降解幾丁聚糖之酵素有幾丁聚糖酶(chitosanases) (Kuroiwa et al., 2003)及商用酵素(如 cellulases、hemicellulase、papain 等) (Tsai et al., 2004, Qin et al., 2006, Vishu Kumar et al., 2004)等。因為市售幾丁聚糖酶價格昂貴，故無法使用於工業生產上；而價位較低且同樣具有水解效果之商業用酵素近來也逐漸受到重視，如脂解酶(lipase)、木瓜酵素(papain)、溶菌酶(lysozyme)及半纖維酵素(hemicellulase)等已被商業化大量生產，某些成本較低之酵素亦發現可水解幾丁聚糖，且效果不比幾丁質酶及幾丁聚糖酶差。

3. 超音波降解法

音波是一種彈性媒介(如空氣)中的機械振動，一般人可聽見的音波振動頻率大約是每秒 20Hz-18kHz 的振動頻率，稱為「次音波」，若音波的振動頻率高於 20kHz，即稱為超音波。利用剪力、高速微射流體或超音波的方式處理幾丁聚糖。原理是其可以破壞幾丁聚糖的結晶結構，產生不同分子量水溶性之幾丁聚糖。Chen 和 Tsaih (1997) 探討超音波對幾丁聚糖物化性質的影響，發現隨超音波處理時間增

長，幾丁聚醣的降解程度愈多。

4. 氧化還原降解法

氧化降解法包括 H_2O_2 氧化法、 H_2O_2 - NaClO_2 氧化法及 H_2O_2 - HCl 氧化法等，近年來有許多學者研究以 hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) 及 superoxide (O^{2-}) 來進行多醣降解反應。其原理是由 ASA-metalion-complex 生成 O^{2-} ，再經均勻化反應生成 H_2O_2 ；metal ion (M^{n+}) 藉由 ASA 氧化還原成 O_2 ，同時還原成 $\text{M}^{(n-1)+}$ 生成的 H_2O_2 以及 $\text{M}^{(n-1)+}$ 進行 Fenton's reaction 生成 ($\cdot\text{OH}$)。而 ($\cdot\text{OH}$) 可以取代多醣的氫原子，使其分子鏈上的 glucose 變成 sugarradical，造成醣苷鍵結不穩定，產生氧化還原裂解。

H_2O_2 氧化法是將 H_2O_2 加入 1% 幾丁聚醣醋酸溶液中，在 pH 3-5 條件下進行反應，其中以 pH 3.5、 50°C 添加 20% H_2O_2 所產生的幾丁聚醣最低分子量為 6kDa。 H_2O_2 - NaClO_2 氧化法是在 pH 8 之下加入 NaClO_2 與 H_2O_2 反應，過程中添加適量的鹽酸參與反應進行，此能製備出可溶於中性溶液之幾丁聚醣，並應用在殺菌劑、化妝品、食品及醫療藥品上。

(二) 測定幾丁聚醣分子量之方法

1. 膠體過濾層析法

利用分子量較大者其流經管柱路徑較短，其滯留時間短，分子量較小者其流經管柱路徑較長，其滯留時間較長的原理，定出幾丁

質或幾丁聚醣的平均分子量。其以膠體充填管柱，並以乙酸或乙酸鈉作為流動相，配合偵測器偵測，即可利用分子大小不同而在管柱中滯留時間亦不同的原理來定出平均分子量(Mima et al., 1983)。

2. 高效能液相層析法

Wu 和 Bough (1978)利用 HPLC 來決定幾丁聚醣的分子量分佈。以粒子孔徑為 37-74 μm 之 glass support 當為固定相、2% 醋酸為流動相、RI 偵測器檢測幾丁聚醣，另外並以 UV 偵測器檢測有無其他雜質，最後利用標準品做出滯留時間，再與樣品滯留時間做比對，可換算求出幾丁聚醣的平均分子量。

3. 平均黏度分子量法

主要是利用幾丁聚醣之比黏度以及與幾丁聚醣溶媒之相對黏度來求出極限黏度(Intrinsic viscosity, (η))，再將極限黏度代入 Mark-Houwink 之方程式，即可得到幾丁聚醣的黏度平均分子量。但此法不適用去乙酰度低於 60% 之幾丁聚醣(Maghami and Roberts, 1988)。

4. 光散射法

原理為利用不同聚合物分子量對於不同角度入射光所散射的角度也不同，因此用折射儀測定不同濃度幾丁聚醣溶液的折射率變化，再以光散射儀測定光子數目，即可從中推測出幾丁聚醣的平均分子量(Beri et al., 1993)。

(三) 幾丁聚醣及其水解物之生理活性

1. 降低脂肪代謝

幾丁聚醣本身的正電荷會與帶負電的脂肪結合，形成膠狀物質，因此阻斷脂肪被小腸吸收代謝(Ormrod et al., 1998)。

2. 抗腫瘤活性

研究指出幾丁類物質具有抑制腫瘤細胞生長的特性，其會在腫瘤細胞外圍形成一個膜，導致腫瘤細胞生長受到限制(Tsukada et al., 1990, Qin et al., 2004)。

3. 提高免疫力

幾丁質類物質能夠促進免疫球蛋白的活性，誘發巨噬細胞，有助於增強免疫系統(Qin et al., 2004)。

4. 抗氧化性

目前發現幾丁質類物質及其衍生物具有良好的抗氧化力，發現其能夠抑制脂質過氧化、抑制 TBARS 生成，且對羥基自由基有良好的清除能力(Kim and Thomas, 2007, Yen et al., 2007)。

5. 促進傷口癒合、凝血

幾丁質類物質使用在傷口上，除了具有抗菌的功效且其不會引起發炎反應，在受傷部位會促進受傷區域重新生成，故有促進傷口癒合之能力。除此之外幾丁質類物質被發現具有凝集作用，會促進血小板分泌凝血因子，進而達到止血的效果(Fujimoto et al., 2006)。

6. 降低膽固醇

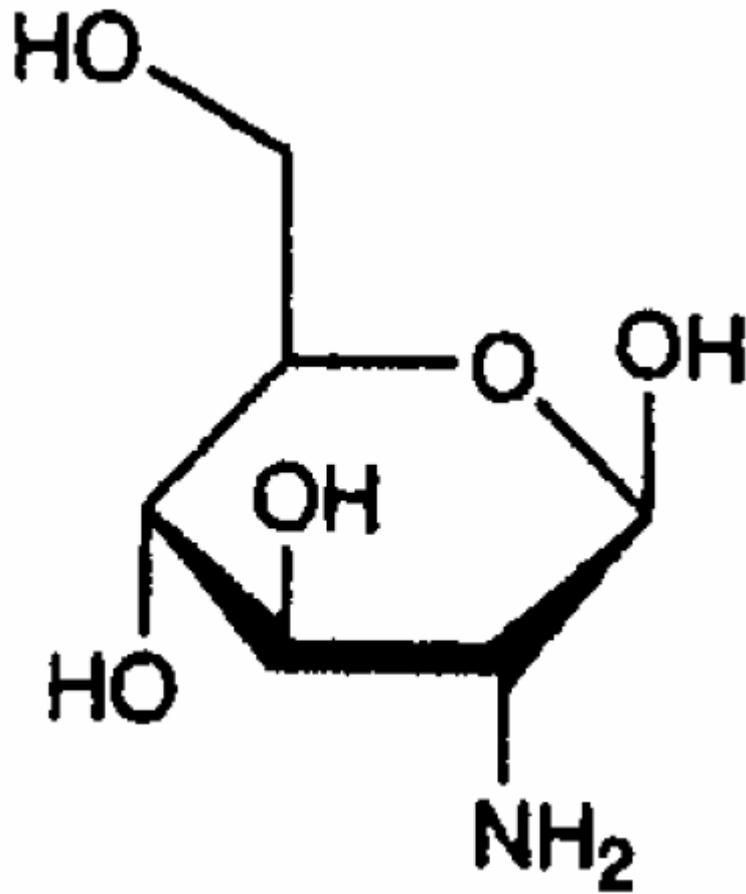
膽酸及膽鹽經由膽固醇代謝而成，並在小腸內負責將油脂載入血液中，幾丁聚醣於小腸中與膽酸及膽鹽結合並排出體外，降低體內膽固醇(Shiau and Yu, 1998)。

7. 降低體重

能量攝取及能量消耗的不平衡是造成過多脂肪堆積的原因之一，因此減少熱量攝取及增加能量消耗就是達成減重最主要的方法。因幾丁聚醣可降低體內膽固醇、三酸甘油脂含量，減少脂質吸收進而降低體重(Ho et al., 2001；Ni Mhurchu et al., 2005)。

(四) 葡萄糖胺

葡萄糖胺(glucosamine)為一種單胺醣類物質，為構成幾丁質和幾丁聚醣之單醣，是一種白色粉末狀物質，易溶於水與親水性的有機溶劑，如甲醇，其化學結構為 2-Amino-2-deoxy-D-glucose (圖四)，分子量為 179.17 Da，是構成幾丁質和幾丁聚醣之單醣。在工業上，可經由幾丁質或幾丁聚醣以酸水解或酵素水解方式來製備，在日本被當作健康食品販售或做為食品添加物。葡萄糖胺在體內可由糖類



圖四、葡萄糖胺之結構

Fig 4. Structure of glucosamine

與胺基酸組合而成，和軟骨、指甲、肌膚、骨骼、韌帶及心臟瓣膜的形成功有關，存在於軟骨與結締組織各處，為形成軟骨細胞的重要營養素之一。葡萄糖胺在體內會被分解成胺基酸，可轉換成半乳糖，也可轉換成軟骨素。藉由自然界葡萄糖胺的補充，可促進體內蛋白多糖及膠原蛋白的製造，補充關節滑液，並提供受傷後關節恢復健康軟骨組織所必須之材料。其生理效果包括：

1. 促進骨骼關節的新陳代謝
2. 提供骨關節所需的營養
3. 幫助鈣質吸收
4. 具潤滑作用，減少骨頭間的摩擦受損
5. 減輕疼痛(Braham et al.,2003)
6. 抑制骨關節退化(Mcalindon et al.,2000)

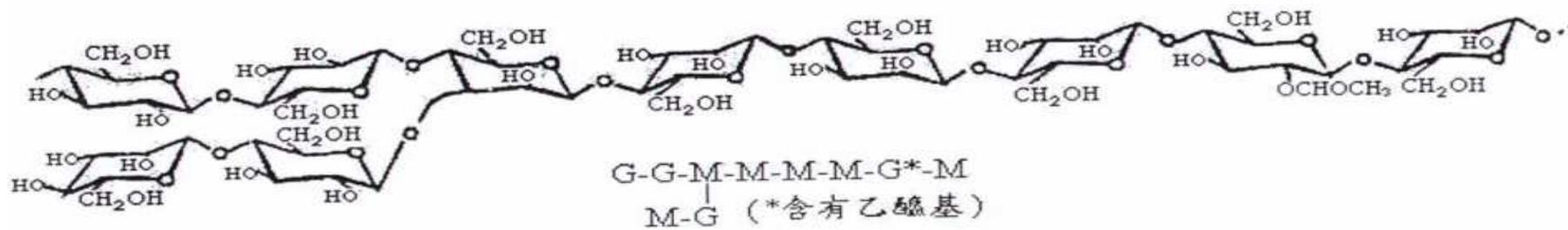
五、蒟蒻

(一) 來源

蒟蒻，學名 *Amorphophallus konjac* C. Koch.，英文名 elephant foot、konjac，俗亦稱雷公槍、菟蒻、魔芋蛇芋、蒟頭、鬼芋等，是天南星科蛇芋屬多年生宿根性塊莖草本植物。產於亞洲，以日本一帶最多。

(二) 化學結構

蒟蒻膠的主要成分為葡萄糖甘露聚糖(glucomannan)(圖五)，由



(賴等，1999)

圖五、蒟蒻之化學結構

Fig 5. Chemical structure of konjac glucomannan

D-葡萄糖(glucose, G)和 D-甘露糖(mannose, M)以 β (1 \rightarrow 4)糖苷鍵鍵結而成的直鏈骨架，且以甘露糖殘基為主，M/G 莫耳比約 1.6:1，其上衍生少許乙醯基(acetyl group)及可能的分支性糖基。天然蒟蒻膠分上約每 19 個糖基會帶有一個乙醯酯基，約每 10 個糖基會有一個分支以 α (1 \rightarrow 3)糖苷鍵鍵結於 M 或 G 糖基上(Nishinari et al., 1992)。

(三) 溶液性質

蒟蒻精粉溶液的性質與 pH 值、溫度與濃度有關，蒟蒻溶液在 pH 3-11.5 時，其固有黏度會隨 pH 值增加而降低，並發現在 pH 11.3-12.6 時，蒟蒻溶液會產生凝膠(Nishinari et al., 1992)。若提高溶液溫度時，會降低溶液的黏度、增加凝膠儲存模量(storage modulus, G')，但高於特定溫度時，儲存模量會隨之下降，此可能與膠體的高離水性有關；而隨膠體濃度提高，儲存模量增加，凝膠時間縮短(Yoshimura and Nishinari, 1999)。

(四) 凝膠特性

蒟蒻之凝膠機制是以葡萄糖甘露聚糖為主，天然蒟蒻因具乙醯基，故在熱水溶液中不凝膠或成偽膠等性質，經由鹼作用如加入氫氧化鈣或碳酸鈣，去除乙醯基成中性膠而具高凝膠性。去除乙醯基之蒟蒻使葡萄糖甘露聚糖分子間形成氫鍵，而構成穩定的凝膠結構，由非結晶型之 α -type 轉變成結晶型之 β -type，且為熱不可逆性(thermoirreversible)之膠體。膠體強度會隨加熱而增加，在重複加熱循環中依然呈現穩定的膠體狀態(Williams and Phillips, 2000)。蒟蒻粉因加鹼去乙醯基而凝膠，因此添加氫氧化鈣、氫氧化鈉或金屬鹽

類可促進凝膠，且隨鹼液濃度增加，凝膠所需的時間愈短(Yoshimura and Nishinari, 1999；Williams et al., 2000)。陽離子的添加可產生架橋使其膠體結構更加穩定(Miyoshi et al., 1996)。

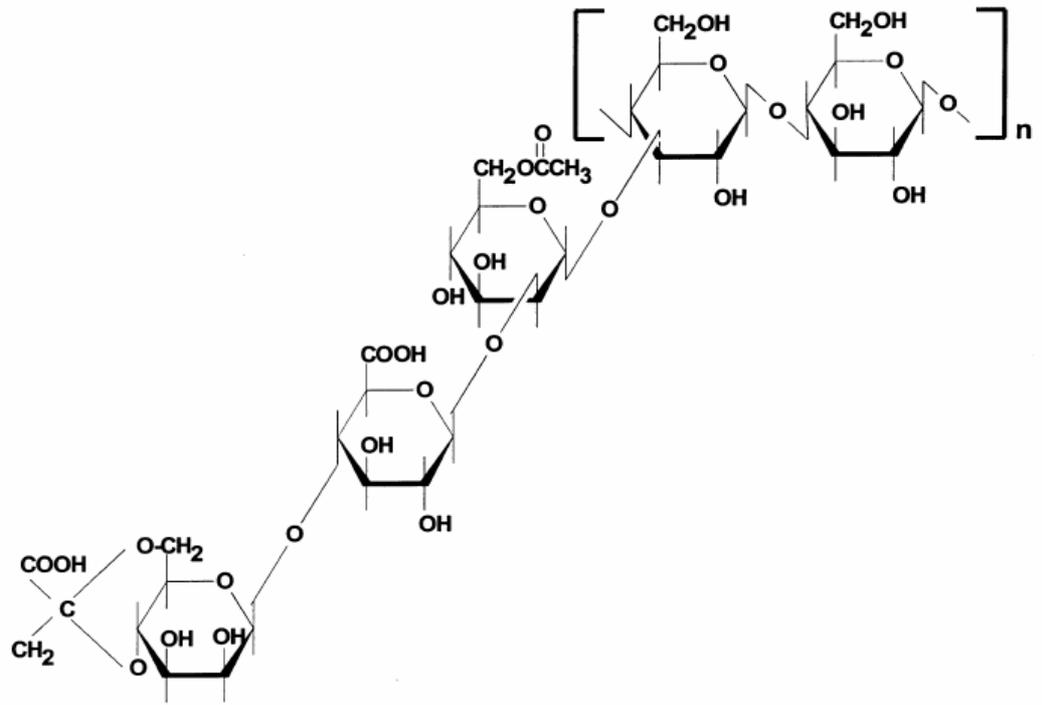
(五) 食品方面之應用

蒟蒻常被用於食品上，如水產製品、麵類製品、大豆加工、乳類加工、麵包類及果實製品等食品加工產品。添加蒟蒻於素食產品，可使其耐冷凍解凍、長時間水煮、口感及彈性與真正魚漿製品類似，如素魷魚片、素花枝片或蒟蒻板。楊等(1997)指出，蒟蒻的添加對素食火腿之滑潤感與多汁性有非常明顯之改善，且冷凍一個月後整體喜好度有上升的現象。蒟蒻也可改善糖果的口感、熱穩定性、防止離水和增加保水性(黃，2001)。也可做為優格中果粒懸浮、增稠作用和成膠作用。增加調味醬的黏性和乳化安定性。

六、三仙膠

(一) 化學結構

三仙膠(xanthan gum)屬於陰離子多醣，是由 *Xanthomonas campestris* 進行好氣性發酵所產生的微生物膠，最適發酵溫度在 28°C 左右。分子主鏈由 β -(1 \rightarrow 4)-D-glucose 單元所組成，每隔一個葡萄糖分子就會在第三個碳上的氧原子接一個三糖的支鏈，由主幹算來依序是 α -D-甘露糖、 β -D-葡萄糖醛酸和 β -D-甘露糖所鍵結而成。接近主幹的甘露糖分子在其第六個碳上接有乙醯基，而末端甘露糖分子在第四及第六碳間由一個丙酮酸基連結成一個環狀結構(圖六)。由



(Stankowski et al., 1993)

圖六、三仙膠之化學結構

Fig 6. Chemical structure of Xanthan gum

於葡萄糖醛酸分子與支鏈末端的丙酮酸分子帶有陰離子特性，使三仙膠呈現許多獨特的性質。

三仙膠分子結構在加熱後，或水溶液在低離子濃度下，其規則的螺旋構形會變成任意螺旋。而三仙膠在水溶液中可能呈現單螺旋或雙螺旋的分子結構，要視溶液中離子強度大小。在加熱後形成任意螺旋的三仙膠分子也會進行分子間的聯合而交錯成複合網狀結構，當施予剪切力時，能將此結構破壞。

（二）膠體特性（鄭，1999；Katzbauer, 1998）

1. 水溶性

三仙膠可溶於冷、熱水中，且與其他水合膠一樣需攪拌，以避免結成塊狀。

2. 流變性質

黏度是物質內在所產生以對抗液體流動的摩擦力。在牛頓流體(Newtonian liquid)黏度，如水或油，只與溫度相關；而非牛頓流體(non-Newtonian liquid)的黏度，則同時與時間、溫度和剪切速度相關。三仙膠水溶液屬於非牛頓流體，且具高度假塑性(pseudoplastic)，即當溶液忽然受到高速剪切力(如高速攪拌)時，黏度會瞬間下降，但當剪切速度回復後，溶液黏度也回復。此性質使三仙膠在加工食品上，以提升其口感與風味等感官品質。

3. 交互作用

由於三仙膠的流變特性，常被應用與其他水合膠相互作用，以達到所需之流變性質。此水合膠的相互作用，不但可提供特殊功能，還可減低費用及增加經濟獲利。

4. 熱安定性

在特定情況下，三仙膠的熱安定性通常比其他水溶性多醣或高分子好。熱安定性愈好愈能抵抗熱水解，亦即分子在高溫的溶液中仍能保持分子結構的完整。一般認為三仙膠具有次序的螺旋結構，是保護整個分子避免被分解的主要原因，即使在 121°C 加熱 15-30 分鐘，或在 80°C 加熱長時間也不會影響三仙膠溶液的黏度。

5. 鹽類

添加鹽類可進一步強化三仙膠的熱安定性，主要是因為鹽類可在三仙膠兩個分子間之陰離子間形成架橋，以促進分子結構的聚合。當三仙膠濃度在 0.02 至 0.07% 時，三仙膠溶液的黏度與安定性已達最大值，若再加鹽類也不會有影響。此是目前商業膠質材料中，最能溶於高濃度鹽溶液之膠體。

6. 酸鹼耐受性

大多數膠質配料在酸性情況下，其黏度都會隨 pH 質的變化而有所變化，但三仙膠溶液黏度在 pH 1-13 之間幾乎都維持穩定，且

可同時與多種有機酸溶於水中。三仙膠也可直接溶於 5% 氫氧化鈉溶液或其他鹼性溶液中。

7. 營養價值

三仙膠在人體是無法被消化吸收，提供的熱量約 0.6 仟卡/公克，所以可被應用於低熱量食品的加工。

(三) 食品方面之應用

三仙膠在食品工業上的應用主要是被當作安定劑、稠化劑與加工助劑使用。例如在油脂替代系統中，由於降低油脂會影響低脂食品整體的外觀與特性，而三仙膠是屬於油脂替代材料中的油脂模仿物，即，由蛋白質或碳水化合物組成的極性水溶性物質，提供類似油脂的質地、口感與保濕性等。在低糖食品方面，加入低熱量的碳水化合物或膳食纖維，再加三仙膠當增稠劑，不僅可維持原有的甜味和口感，還能保持實體感。如低熱量飲料、蛋糕、慕斯及優格等。

伍、材料與方法

一、實驗材料

粗幾丁質：購自高雄應化公司（台灣），由蟹殼製備而得。

葡萄糖胺：購自友和貿易股份公司（台灣）。

大豆：市售大豆，購自美食家（台灣）。

蒟蒻粉、三仙膠：購自振芳食品有限公司（台灣）。

其他藥品：

1. Acetic acid、HCl、NaOH、Sodium carbonate 及 Sodium Nitrite(聯工化學廠股份公司，台灣)
2. Folin-Ciocalten's phenol reagent、N-acetyl-D-glucosamine 及 Toluidine blue (Sigma，USA)
3. Potassium polyvinyl sulfate solution (P.V.S.K) (和光純藥，日本)
4. Potassium sodium tartrate (林純藥株式會社，日本)
5. Sodium acetate (Ferak，德國)

二、實驗儀器

1. 磨粉機(attrition mill)(1hp 型，群策電機工業股份有限公司，台灣)

2. 電磁式過篩機(Electromagnetic screening) (OCTAGONDIGITA-L2000 型，Endecotts 公司，台灣)
3. pH meter (SP701 型，Suntex 公司，台灣)
4. 旋轉減壓濃縮機(rotary evaporator)(R-114 型，Buchi 公司，美國)
5. 數位相機(camera)(C - 5050 型，Olympus 公司，日本)
6. 濁度計(turbidity meter)(2100N，Hach，台灣)
7. 分光光度計(Spectrophotometer)(SPECTRONIC 20 GENES-YS，Suntex 公司，台灣)
8. 冷凍乾燥機(Freeze Dryer)(EYELAFD-5N，Tokyo 公司，日本)
9. 質地分析儀(Texture Analysis)(RT-2010J，Japan，日本)
10. 高速低溫離心機(High Speed Refrigerated Centrifuge)(CR22GII，Hitachi，日本)

三、材料準備

(一) 幾丁聚醣製備

將所購得之片狀粗幾丁質用磨粉機粉碎後，將粉末經 40-60 mesh 標準篩網過篩，再將過篩後的幾丁質粉末置入 57%(w/v) NaOH (1 g chitin / 20 mL NaOH) 中，以 $100 \pm 2^\circ\text{C}$ 的溫度下攪拌加熱 160 分鐘，之後將幾丁聚醣取出並以大量蒸餾水沖洗，直到 NaOH 完全被洗去，pH 值達到中性為止，隨後將幾丁聚醣放入烘箱中乾燥(80°C 、6 小時)；最後使用滴定方法(Toei and Kohara, 1976)，配合標準品測定幾丁聚醣去乙酰度。

(二) 製備不同分子量之幾丁聚醣水解物

參考 Kim 等(2001)方法，以 NaNO_2 進行水解幾丁聚醣至不同分子量。即，先取 1.6 g 幾丁聚醣溶於 100 mL 之 1% 醋酸溶液中，加入不同量之 NaNO_2 (0、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09 之 NaNO_2 / Chitosan 莫耳數比)於室溫下攪拌 1 小時及 0.09 濃度者攪拌 48 小時，接著以 10N NaOH 中和至 pH 為 7.0，之後將幾丁聚醣水解液置於透析膜中透析數天後，再經冷凍乾燥成為粉末，並以 Gel Permeation Chromatography(簡稱 GPC，又稱凝膠滲透層析法)測定其分子量。

(三) 生豆漿(soy milk)之製備

參考 Park 等(2003)方法，將 75 g 大豆加 500 mL 蒸餾水浸泡 16 小時，去水後，加入 300 mL 蒸餾水，以攪碎機以最高速打碎 2 分鐘，再加 300 mL 蒸餾水再繼續打碎 2 分鐘，經紗布過濾後加蒸餾水至總體積 750 mL，為生豆漿。

四、實驗方法

(一) 幾丁聚醣產品和葡萄糖胺之濃度對豆漿中蛋白質凝固率影響之試驗

參考阮與陳(2006)實驗方法，將生豆漿於 98-100°C 下加熱 10 分鐘，之後冷卻至 75 °C。另外，將 306.76kDa (未水解之幾丁聚醣，H)、175.37kDa (M)及 4.23kDa (L)之幾丁聚醣水解物和葡萄糖胺溶於

0.05M 醋酸。取上述豆漿 22.5mL 於離心管內，個別加入 H、M 和 L 之幾丁聚醣及葡萄糖胺溶液 2.5 mL，使幾丁聚醣產品溶液有不同濃度(0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、2.5 及 3.0 g chitosan product / L)，蓋緊，震盪均勻，靜置 15 分鐘，離心(650×g、10 分鐘)，測定上層液之蛋白質含量並計算其凝固率。

(二) 幾丁聚醣產品及葡萄糖胺為凝固劑製備豆腐之試驗

將生豆漿於 98-100 °C 下加熱 10 分鐘，之後，取豆漿 225 mL 至 500 mL 燒杯內，冷卻至 75 °C，個別加入 306.76kDa (未水解者)、175.37kDa、4.23kDa 幾丁聚醣水解者及葡萄糖胺溶液 25 mL 至適合濃度(即，使豆漿中蛋白質凝固率最佳之濃度)，攪拌均勻，靜置 15 分鐘後倒入裝好紗布之特製木盒做裝置，自然排出乳清 15 分鐘，之後，於樣品上方蓋一層紗布，並加壓(30.97 g / cm²) (陳，2003)，使乳清排出 15 分鐘，得到各種豆腐產品後，進行測定或分析，比較豆腐中蛋白質之回收率、產率、含水率、保水力、質地及乳清之濁度。另外，以 CaSO₄ 為對照凝固劑，用量為 4g / L soymilk，依上述方法製備豆腐及測定上述項目。

(三) 豆腐保水性改進之試驗

依上述試驗結果，選出具有使豆漿蛋白質結合凝固最佳，且豆腐產率和品質等較佳之幾丁聚醣及葡萄糖胺溶液做為凝固劑，添加 25 mL 至 225 mL 加熱處理後之豆漿中，攪拌，同時加入不同濃度(0、0.5、1.0、1.5、2.0 g / L soymilk)之蒟蒻或三仙膠溶液，再攪拌，靜

置 15 分鐘，依上述方法倒入特製木盒裝置製備豆腐，並進行測定或分析，比較豆腐保水力、蛋白質回收率、質地及乳清之濁度。

(四) 幾丁聚醣產品及葡萄糖胺溶液與膠體之添加次序對豆腐影響之試驗

將生豆漿以加熱器加熱至 98-100 °C 並維持 10 分鐘，之後取豆漿 225 mL 至 500 mL 燒杯中，冷卻至 75 °C：或先加入 25mL 幾丁聚醣產品及葡萄糖胺溶液至適合濃度，再加入蒟蒻或三仙膠至適合濃度，或先行加入蒟蒻或三仙膠，再加入幾丁聚醣產品及葡萄糖胺溶液，攪拌，靜置 15 分鐘，依上述方法倒入特製木盒裝置製備豆腐，並進行測定或分析，比較豆腐中蛋白質之含量、產率、含水率、保水力、質地及乳清之濁度。

另外，依傳統方法以 CaSO_4 為凝固劑製備豆腐，並進行比較豆腐中蛋白質之含量、產率、含水率、保水力、質地、乳清之濁度及官能評估。

五、分析方法

(一) 幾丁聚醣去乙酰之測定(Degree of deacetylation of chitosan)

參考 Toei 與 Kohara (1976) 方法，秤取 0.02g 幾丁聚醣於 10mL 之 0.1M 醋酸溶液中，在室溫下攪拌一小時待其溶解。再加入 40mL 蒸餾水稀釋。取 5mL 樣品溶液並加入 0.05mL toluidine blue indicat

-or。以 N/400 P.V.S.K 滴定至變紅紫色。另外再取標準樣品依同樣方法滴定，比較滴定量及計算樣品之去乙醯度。

(二) 幾丁聚醣水解物之分子量測定(molecular weight of chitosan hydralysates)

以去離子水配置 1% 醋酸溶液，將 10mg 幾丁聚醣水解物及 Pullulan 標準品溶於 10mL 之 1% 醋酸溶液中，以 0.45 μ m filter 過濾後，利用 GPC 測定幾丁聚醣分子量。計算方法是利用樣品的遲滯時間(retention time)與檢量線互相對照，推算出幾丁聚醣之重量平均分子量。

系統：765 HPLC compact pump (Alcott，美國)

Chromatocorder 21 積分儀(System Instruments，日本)

管柱：HSp gel AQ 4.0 (Waters，美國)

偵測器：RI-Deterctor 7515A (ERC，日本)

控溫器：super co-150 (Enshine，台灣)

流速：0.6 mL/min

溫度：45 $^{\circ}$ C

移動相：0.2M 醋酸/0.1M 醋酸鈉混合

(三) 豆腐產率(yield)

測定每 100 mL 生豆漿可製備出 g 重之新鮮豆腐。

(四) 豆腐之含水率(water content)

精秤 3-5 g 之新鮮豆腐(w1)，以 105°C 烘箱乾燥至恆重後紀錄其重(w2)。豆腐之含水率計算方式為

$$\text{豆腐之含水率(\%)} = \left[\frac{(w1-w2)}{w1} \right] \times 100\%$$

(五) 豆腐之保水力(water-holding capacity)

參考高(2004)方法，精秤 3-5 g 之新鮮豆腐(w1)，放置於 250 mL 離心管中(內含紗布)，栓緊上蓋後離心(120 g、15 °C、10 分鐘)。紀錄離心後之豆腐重(w2)，再以 105°C 烘箱乾燥至恆重後紀錄其重(w3)。豆腐之保水力計算方式為

$$\text{豆腐之保水力(\%)} = \left[\frac{(w2-w3)}{(w1-w3)} \right] \times 100\%$$

(六) 蛋白質之凝固率(protein coagulant)

參考 Lowry 法(1951)，取 1mL 樣品，加入 9mL 的試劑(2% Na₂CO₃ + 0.02% Potassium Sodium Tartarate : 1% CuSO₄ · 5H₂O : 1N NaOH = 100 : 1 : 1)混合均勻後，靜置 20 分鐘，加入 0.5 mL 之 1N Folin 試劑混合均勻，靜置 20 分鐘後測 550nm 吸光值。並以標準蛋白質溶液配成不同濃度(20-100 µg/mL)以製作標準曲線。

$$\text{蛋白質凝固率(\%)} = \frac{\text{每毫升豆漿蛋白質含量} - \text{每毫升乳清蛋白質含量}}{\text{每毫升豆漿蛋白質含量}} \times 100\%$$

(七) 乳清之濁度(whey turbidity)

取 30 mL 乳清樣品溶液於玻璃管內，以濁度計測定其濁度。

(八) 豆腐質地(texture)

將豆腐以物性儀選擇合適的探頭測定豆腐產品之硬度(hardness)、黏著性(adhesiveness)、彈性(springiness)、內聚性(cohesiveness)、膠性(gumminess)及咀嚼性(chewiness)。測定條件為：force unit：grams，預測定(pre-test)、測定(test)及後測定(post-test)之速度分別為 2、2 及 2 mm / s，每測定重複 5 次。

(九) 官能評估(sensory evaluation)

官能評估試驗採用喜好試驗法(preference test)，最喜歡者為 9 分，最不喜歡者為 1 分。評定項目為口感、風味、色澤及總接受度。所得評分以變方分析(ANOVA)及 Duncan's multiple range test 比較樣品間之差異性。其統計分析之 probability value， $p < 0.05$ 。

(十) 統計分析(statistics assay)

試驗結果之數據，採 SAS 套裝軟體，進行完全隨機設計(completely randomized design)以變異分析(ANOVA)及 Duncan's Multiple Range Test 比較樣品間差異顯著性， $p < 0.05$ 為有顯著差異。

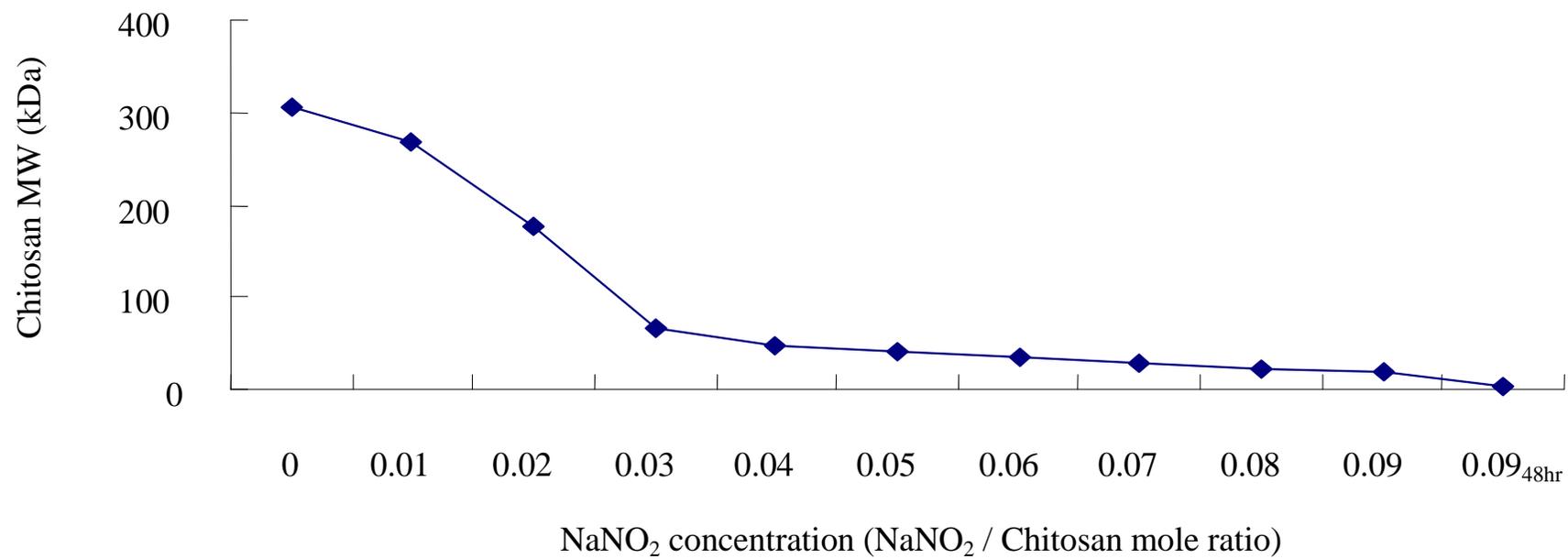
陸、結果與討論

一、不同去乙醯度幾丁聚醣之製備

幾丁質經高熱及強鹼處理後，會使幾丁質結構上之乙醯基被脫去，而轉變為胺基(-NH₂, amino group)，此為幾丁聚醣。而去乙醯程度越高，所露出的胺基就越多。幾丁聚醣之去乙醯度所受到影響因素包括：加熱溫度、反應時間、鹼液濃度、鹼液用量、原料差異等。本實驗所採用的條件參考沈(2004)製備>85%之幾丁聚醣：將57% NaOH (w/v)溶液置於鋼鍋中加熱到 100±2°C 時，加入 40-60 mesh 之幾丁質(20 mL NaOH / g chitin)攪拌 160 分鐘，因不加鍋蓋，所以必須適時加入少量蒸餾水以保持 NaOH 之濃度。經去乙醯程度測定後，其去乙醯度約為 93%。高去乙醯度之幾丁聚醣溶於有機酸溶液中時，呈現高度陽離子(-NH₃⁺)之聚合物。

二、不同分子量幾丁聚醣之製備

本實驗採用化學法中的亞硝酸水解法。亞硝酸鈉為強氧化劑，可將幾丁聚醣中的 β-1,4 鍵結切除進行水解作用。在預實驗時，發現亞硝酸鈉濃度對幾丁聚醣水解程度影響甚大，所以本實驗將亞硝酸鈉以不同的莫耳數比(NaNO₂ / Chitosan mole ratio)添加至幾丁聚醣溶液中，比例為 0、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09 比例者於室溫下攪拌 1 小時及 0.09 比例者於室溫下攪拌 48 小時後，中和、透析、凍乾成粉末後，以 GPC 測定幾丁聚醣水解物之分子量，如圖七。NaNO₂ 對幾丁聚醣作用很強，NaNO₂ / Chitosan 莫耳數比小於 0.03 時就有效地快速水解幾丁聚醣，之後，增加 NaNO₂



圖七、亞硝酸鈉濃度對幾丁聚醣水解程度之影響

Fig 7. Effect of NaNO₂ concentration on the hydrolysis degree of chitosan

/ Chitosan 莫耳數比，其水解程度較緩和，幾乎漸漸持平。由此結果，以 0、0.02 及 0.09(48 小時)之 NaNO_2 / Chitosan 莫耳數比進行幾丁聚醣水解，製成高(H)、中(M)及低(L)分子量之幾丁聚醣，其分子量分別為 306.76kDa、175.37kDa 及 4.23kDa。

此結果與 Kim 等(2001)以 NaNO_2 降解幾丁聚醣時，添加少量的 NaNO_2 製備中低分子量的幾丁聚醣之結果相似。Jia 和 Shen (2002)以 85%磷酸溶液在不同溫度及時間下，製備低分子量之幾丁聚醣，若在室溫(25°C)下進行水解 35 天，分子量由 214kDa 水解為 71kDa。若加熱至 80°C 進行水解 8 小時，分子量由 214kDa 水解為 20kDa。以加熱至 60°C 進行水解 4、8 和 15 小時，分子量由 214kDa 分別水解為 74kDa、35kDa 和 19kDa。作者並指出，水解時間愈長，則降解速率愈小，此結果與本實驗所用之亞硝酸鈉結果相似。Zhou 等(2008)以 5%醋酸溶液在加熱 50°C 下，分別以 0、0.5、1.0、2.5 和 24 小時水解幾丁聚醣，可分別得到分子量為 1360kDa、1130kDa、499kDa、200kDa 和 88kDa，此結果也可發現若水解時間愈長，則降解速率愈小。與本實驗所使用之酸水解幾丁聚醣不同之處，在於亞硝酸鈉室溫下可不用加熱，且水解時間數小時就可達較低分子量之幾丁聚醣。

三、幾丁聚醣產品及葡萄糖胺之濃度對豆漿中蛋白質凝固率影響之試驗

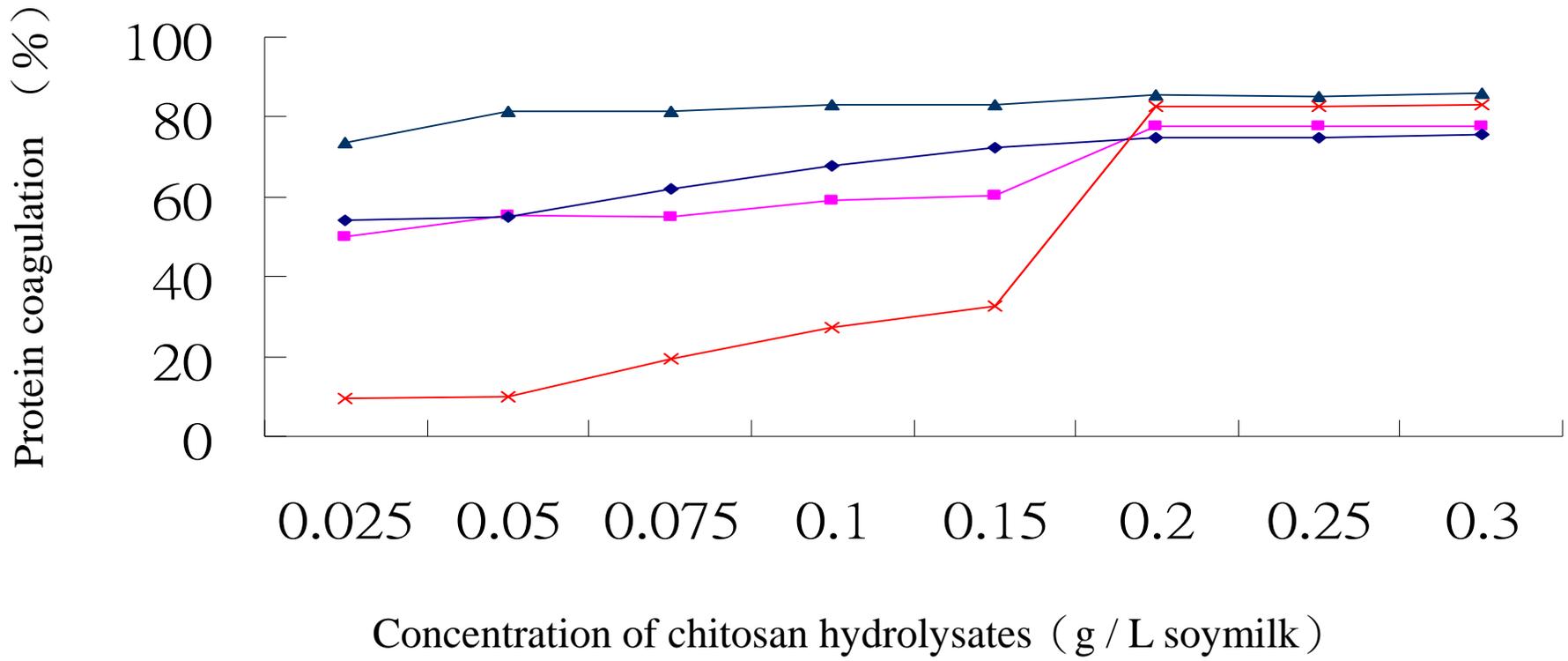
將生豆漿加熱至 98-100°C、10 分鐘，之後冷卻至 75 °C，取 22.5mL 於離心管內，個別加入不同濃度(0.025、0.05、0.075、0.1、0.15、0.2、0.25 及 0.3 g / L soymilk)之幾丁聚醣水解物(H、M 和 L)及葡萄糖胺(GlcN)溶液 2.5mL，蓋緊，震盪均勻，靜置 15 分鐘，離心(650×g，10

分鐘)，測定上層液之蛋白質含量以計算其凝固率。

圖八所示為不同水解度幾丁聚醣之水解度和葡萄糖胺之添加濃度對豆漿凝固率之影響。濃度小於 0.2g / L soymilk，蛋白質凝固率高低分別為 L>M>H>GlcN，而添加濃度 \geq 0.2g / L soymilk 時，L、GlcN、H 及 M 之蛋白質凝固率已達持平，其相差不大，分別為 85.6、82.5、77.6 及 74.7%。由此可知，添加濃度之增加，使 protein-protein，protein-chitosan-protein 等結合更多、更密，而低於 0.15g / L soymilk 者則凝固不佳，無法製成豆腐。

豆漿屬高濃度蛋白質之溶液，而幾丁聚醣水解度愈高，其聚合程度愈小，黏度愈低及流動性愈好，因此愈易與豆漿蛋白質接觸，進而發生中和反應($\text{NH}_3^+ \rightarrow \text{COO}^-$)及交聯反應(crossing reaction)愈佳，使蛋白質凝固率愈高。而葡萄糖胺只利用其 $-\text{NH}_3^+$ 中和蛋白質 $-\text{COO}^-$ ，使蛋白質之疏水基靠近結合作用，無交聯反應，故於濃度小於 0.2g / L soymilk 時，因濃度不足，中和作用不完全，使蛋白質凝固率較差，待其濃度 \geq 0.2g / L soymilk 時，具有小分子量(0.22kDa)之葡萄糖胺於蛋白質中串聯較靈活，中和作用較完善，使蛋白質凝固率達最佳。一般而言，凝固劑使用量過低，豆漿蛋白質無法有效與凝固劑充分鍵結，因而導致部份蛋白質與固形物隨豆腐水排出，致使豆腐產率不高，且其製備出的豆腐如同爛泥巴狀，難以加壓成形。

Prabhakaran 等(2006)文獻中指出，一般豆腐製備時，可因凝固劑種類不同，其濃度可由 0.1-0.6%，作者經預實驗後，最後選擇以添加濃度為 0.4%(即約 4g / L soymilk)含鈣或鎂之鹽類凝固劑，做為之後實驗的凝固濃度。而 Chang 等(2003)以 GDL 添加濃度為 0.3%及石膏



圖八、幾丁聚醣產品及葡萄糖胺添加濃度對豆漿蛋白質凝固率之影響

Fig 8. Effect of chitosan products and glucosamine of concentration on the coagulation of soymilk protein,

■ , H ; ◆ , M ; ▲ , L ; X , GlcN.

添加濃度為 0.6%，做為製備豆腐之凝固劑濃度。而本實驗所用之最佳凝固濃度 0.02%，猜測是因為 GDL 分子量為 178.14Da，石膏分子量為 172.17Da，而本實驗中 L 幾丁聚醣及葡萄糖胺分子量分別為 4.23 及 0.22kDa，所帶之電荷以一單位分子量相較多，因此其用量亦較少。由以上實驗可知，利用 0.2g / L soymilk 即可達到最佳之蛋白質凝固率，故往後實驗以此濃度為製備豆腐之凝固劑。

四、以幾丁聚醣水解物及葡萄糖胺為凝固劑製備豆腐之試驗

由上述實驗結果，選擇 0.2 g / L soymilk 之幾丁聚醣水解物、葡萄糖胺及 4g / L soymilk CaSO_4 (傳統豆腐用之凝固劑)為凝固劑進行製備豆腐，並比較其產率、含水率、保水力、蛋白質凝固率、質地及乳清之濁度。

(一) 幾丁聚醣產品及葡萄糖胺對豆腐之蛋白質回收率、含水率、產率及保水力之影響

表一所示為幾丁聚醣之分子量和葡萄糖胺對豆腐之蛋白質凝固率、含水率、產率及保水力之影響。在蛋白質凝固率方面，以 H、M、L 及 GlcN 為凝固劑製備豆腐時，可使豆漿中蛋白質凝固率分別為 72.08、71.95、77.54 及 93.74%，顯然幾丁聚醣之分子量愈小，豆腐中之凝固蛋白質能力愈高。此應由於分子量較小者，在豆漿懸浮液中分散較均勻，與蛋白質接觸較完全所致。與實際製備豆腐及於試管中試驗蛋白質凝固率有所差異，造成此結果之原因可能為，後者在蛋白質間結合作用，無論其結合力強或弱，均由離心所得，而前者以加

表一、幾丁聚醣產品、葡萄糖胺及硫酸鈣對豆腐之蛋白質回收率、含水率、產率及保水力之影響

Table 1. Effect of chitosan products, glucosamine and calcium sulfate on protein recovery, water content, yield and water holding capacity of tofu

	Protein recovery (%)	Water content (%)	Yield (g/100 ml soymilk)	Water holding capacity (%)
H	72.08±1.50^c	86.67±1.76^a	23.83±1.82^a	52.80±1.05^c
M	71.95±1.17^c	83.77±1.13^{ab}	19.06±1.71^b	54.01±1.07^{bc}
L	77.54±1.72^b	82.73±1.54^b	17.86±1.94^b	57.25±1.02^b
GlcN	93.74±1.83^a	79.13±1.79^c	17.72±1.24^b	64.56±1.85^a
CaSO₄	95.49±0.68^a	83.96±0.72^{ab}	26.59±1.04^a	57.97±1.18^b

* H, M, L and GlcN concentration : 0.2 g chitosan / L soymilk

* CaSO₄ concentration : 4g / L soymilk

* The result of each type as mean ±SD (n=3)

* ^{a-c}Mean in the same column with different superscripts are significantly different (p < 0.05)

壓方式將凝固蛋白質回收，其中，蛋白質間之結合力較弱者易與水流
出所致。另外，以 CaSO_4 為對照之凝固劑，其蛋白質凝固率與 GlcN
凝固率相當，約 95.49%。

在含水率方面，以 H、M、L 及 GlcN 為凝固劑，其豆腐產品之
含水率分別為 86.67、83.77、82.73 及 79.13%。幾丁聚醣上之 $-\text{NH}_3^+$
及 $-\text{OH}$ 均為親水基，可能其分子量較高時，吸水率亦較高所致，以
 CaSO_4 為對照之凝固劑，其豆腐產品之含水量為 83.96%。

在豆腐產率方面，以 H、M、L 及 GlcN 為凝固劑，其豆腐產品
之產率分別為 23.83、19.06、17.86 及 17.72g / 100mL soymilk，此與
含水率有密切關係，其兩者為正比所致。而以 CaSO_4 為對照者，其產
品產率為 26.59g / 100mL soymilk，此由於其含水量及蛋白質凝固率均
高之結果。

在豆腐保水力方面，以 H、M、L 及 GlcN 為凝固劑，其豆腐之
保水力分別為 52.80、54.01、57.25 及 64.56%。此可能由於幾丁聚醣
之分子量較小，與豆漿中蛋白質和其他固形物(如碳水化合物等)結合
作用較完全，緊密而結實，使水分不易脫離之故。以 CaSO_4 為對照者，
其產品保水力約為 58%。

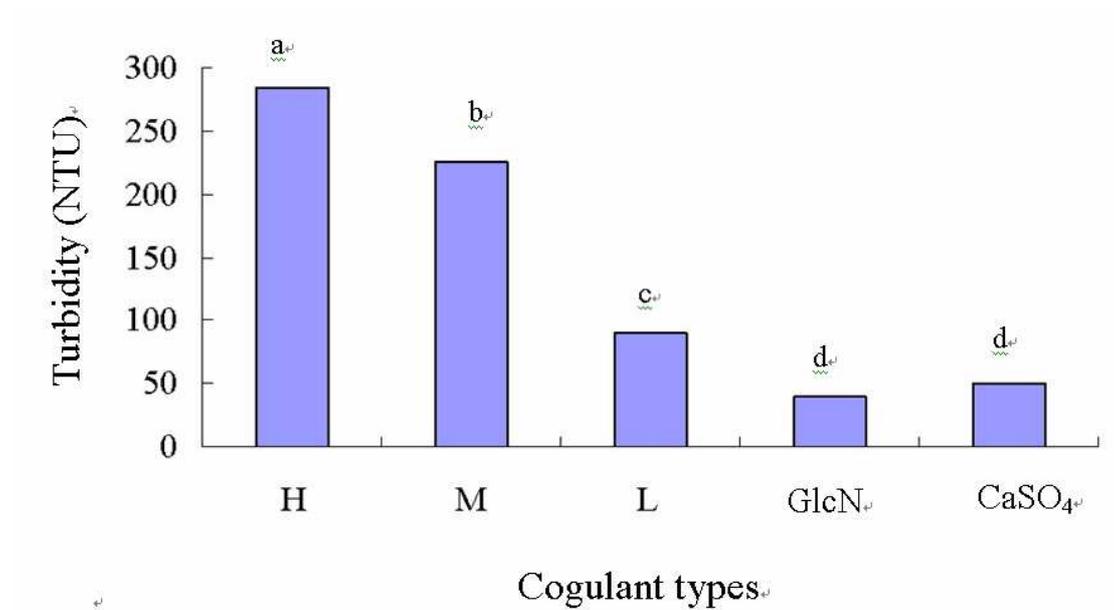
No 和 Meyers (2004)研究報告指出，以 0.5%、28kDa 幾丁聚醣溶
於 1%醋酸當凝固劑，添加至豆漿中，所得豆腐產率約為 22g / 100mL
soymilk，此結果與本實驗所得之豆腐產率有些許差異，但還是要考
慮其幾丁聚醣添加濃度、分子量、醋酸溶液濃度及施加壓力之大小
等。而 Karim 等(1999)指出，以濃度 0.34%之 CaSO_4 當凝固劑添加至

豆漿中，其所得之豆腐產率約為 20.07g / 100mL soymilk，與本實驗結果雖有所差異，但還是必須要考量添加的濃度、排乳清時所施加的壓力大小和時間。

Sun and Breene (1991)文獻中提出，蛋白質膠體在儲存期間發生離水現象，是因為蛋白質分子間增加鍵結，透過多種反應使蛋白質間緊密。Chang 等(2003)指出，比較 GDL、硫酸鈣和幾丁聚醣溶於 5% 醋酸溶液中，結果顯示以 GDL 和硫酸鈣製作出豆腐含水率高，而幾丁聚醣溶於醋酸溶液中，幾丁聚醣分子量愈低，含水率愈低。作者猜測，製備豆腐時，以 GDL 和硫酸鈣當凝固劑，會與較多的水分結合。然而，幾丁聚醣在一酸性環境下，會變得較多疏水基，且會從膠體中排出水分。此幾丁聚醣分子量愈低，豆腐含水率愈低與本實驗有相似的結果。

(二) 幾丁聚醣產品及葡萄糖胺對豆腐乳清之濁度影響

圖九所示以 H、M、L 及 GlcN 為凝固劑對豆腐所壓出乳清之濁度影響，其濁度分別為 285、225、90 及 40NTU。此值與豆腐中蛋白質回收率為反比所致。當乳清達 285 或 225 NTU 時，其肉眼可看出溶液中呈現混濁狀，而 L 和 GlcN 其乳清有較低之數值，溶液呈現較透明。幾丁聚醣在本實驗所扮演的功能除了中和豆漿中之陰電，使蛋白質間透過疏水基作用結合，與蛋白質直接結合外，亦能將豆漿中其他不溶物結合沉澱，因此若使用量足夠時，可以有效降低豆腐所排出乳清之濁度。將上述數據與傳統凝固劑 CaSO_4 相比， CaSO_4 之蛋白質凝固率為 95.49%，乳清濁度為 50NTU。此數據與 GlcN 所得之蛋白



圖九、幾丁聚醣產品、葡萄糖胺及硫酸鈣對乳清濁度之影響

Fig 9. Effect of chitosan products, glucosamine and calcium sulfate on whey turbidity

* H, M, L and GlcN concentration : 0.2 g chitosan / L soymilk

* CaSO₄ concentration : 4g / L soymilk

* ^{a-d}Mean with different superscripts are significantly different
($p < 0.05$)

質凝固率和乳清濁度相似。

Jun 等(1994)研究指出，製作豆腐時所排出的乳清濁度高達 422 NTU。陳(2003)也指出，作者實地自生產豆腐工廠取回乳清廢液分析，其乳清濁度高達 1800 NTU。Lee 等(2001)研究也指出，使用較低分子量(28kDa)所製備出的豆腐排出的乳清濁度較其他高分子量來的低。由上述可知，以本實驗所製備出 H、M 和 L 之幾丁聚醣和 GlcN 當凝固劑添加在豆腐中，可有效降低乳清濁度。

(三) 幾丁聚醣產品及葡萄糖胺對豆腐物性之影響

將不同分子量之幾丁聚醣、葡萄糖胺和硫酸鈣為凝固劑製備豆腐時，對其硬度(hardness)、黏著性(adhesiveness)、彈性(springiness)、內聚性(cohesiveness)、膠性(gumminess)及咀嚼性(chewiness)之影響。上述物性測定值分別代表的意義為：硬度，使食品變形所需之力；黏著性，食品與機械面附著時，使兩者分開所需能量；彈性，食品變形後，能恢復成原有高度的比例；內聚性，食品變形至破壞以前所能忍受的程度，亦即代表破壞內部鍵結所需要的功；膠性，將半固體食品咀嚼至可吞下程度所須之力；咀嚼性，將固體食品咀嚼至可吞下程度所須之力。

如表二所示，在硬度比較方面，以 L 之幾丁聚醣豆腐膠體硬度最高(983.75 g) > M 之幾丁聚醣豆腐膠體硬度(537 g) > H 之幾丁聚醣豆腐膠體硬度最低(493 g)。幾丁聚醣除了以 -NH_3^+ 中和豆漿中蛋白質 -COO^- 基，使 protein-protein 結合外，亦為蛋白質間之交聯(protein-chitosan-protein)。幾丁聚醣之分子量較小者，其在豆漿中分散較均

表二、幾丁聚醣產品、葡萄糖胺及硫酸鈣對豆腐質地之影響

Table 2. Effect of chitosan products, glucosamine and calcium sulfate on the tofu texture

Molecular of chitosan	Hardness (g)	Adhesiveness (gs)	Springiness (mm)	Cohesiveness	Gumminess (g)	Chewiness (g mm)
H	493±17.55 ^c	1276.8±22.1 ^a	4.50±0.07 ^{bc}	0.28±0.02 ^b	168.47±24.1 ^a	755.3±81.10 ^a
M	537±37.15 ^c	1651.1±30.2 ^a	4.92±0.72 ^b	0.36±0.05 ^{ab}	190.17±37.54 ^a	990±32.33 ^a
L	983.75±3.47 ^a	1624.6±17.25 ^a	3.40±0.68 ^c	0.28±0.02 ^b	190.60±25.88 ^a	1041±57.15 ^a
GlcN	806.5±85.38 ^b	2031.7±38.59 ^a	5.32±0.24 ^{ab}	0.30±0.04 ^{ab}	245.83±55.25 ^a	1321±35.47 ^a
CaSO ₄	560.5±86.34 ^c	2548.5±71.04 ^a	6.28±0.73 ^a	0.37±0.04 ^a	196.8±27.67 ^a	1247±28.05 ^a

* H, M, L and GlcN concentration : 0.2 g chitosan / L soymilk

* CaSO₄ concentration : 4g / L soymilk (commercial tofu coagulant)

* The result of each type as mean ±SD (n=3)

* ^{a-c}Mean in the same column with different superscripts are significantly different (p < 0.05)

勻，與蛋白質作用較佳，此有助於提高豆腐硬度之緣故。而 GlcN 其分子量很小，於豆漿中分散力更佳，而將蛋白質-COO⁻基中和更好，如此 protein-protein 結合更多，但 GlcN 上只有一個-NH₃⁺，所以無法有 protein-chitosan-protein 之作用，故 GlcN 豆腐之硬度(806.50 g)較 H 及 M 者高，但較 L 者小之原因。而以 CaSO₄ 豆腐為對照品，其硬度只有 560.86 g。在膠體其他質地特性方面，除了硬度、彈性和內聚性有顯著差異外，黏著性和咀嚼性都無顯著差異。但黏著性和咀嚼性有隨幾丁聚醣分子量愈小而增加的趨勢。此顯示，以不同分子量之幾丁聚醣做為凝固劑，所製成的豆腐產品，其質地隨分子量之不同而有不同差異。

Chang 等(2003)研究指出，以不同去乙醯之幾丁聚醣溶在醋酸溶液中，以此當做為豆腐凝固劑，結果發現其豆腐之膠體硬度和咀嚼性隨去乙醯程度愈大而愈小，且去乙醯度愈大，豆腐儲存期愈長。作者認為，高去乙醯程度之幾丁聚醣在酸性溶液中具有高可溶性，且帶有較多正電荷，其對豆腐質地有明顯之影響。

五、豆腐保水性改進之試驗

因以不同分子量之幾丁聚醣和葡萄糖胺與豆漿蛋白質的結合凝固特性，可能使蛋白質-幾丁聚醣之凝固體施出一些水分，導致其凝固體之保水性降低，故擬添加蒟蒻膠(glucomannan)及三仙膠(Xanthan gum)來提高豆腐之保水性。

蒟蒻及三仙膠具有良好吸水及保水功能，前者在水中為中性膠體，而後者在水中為帶陰電。本實驗選二者為豆腐之保水劑，主要為

欲了解，不帶電及帶負電之保水劑對豆腐之保水功能及質地有何差別。

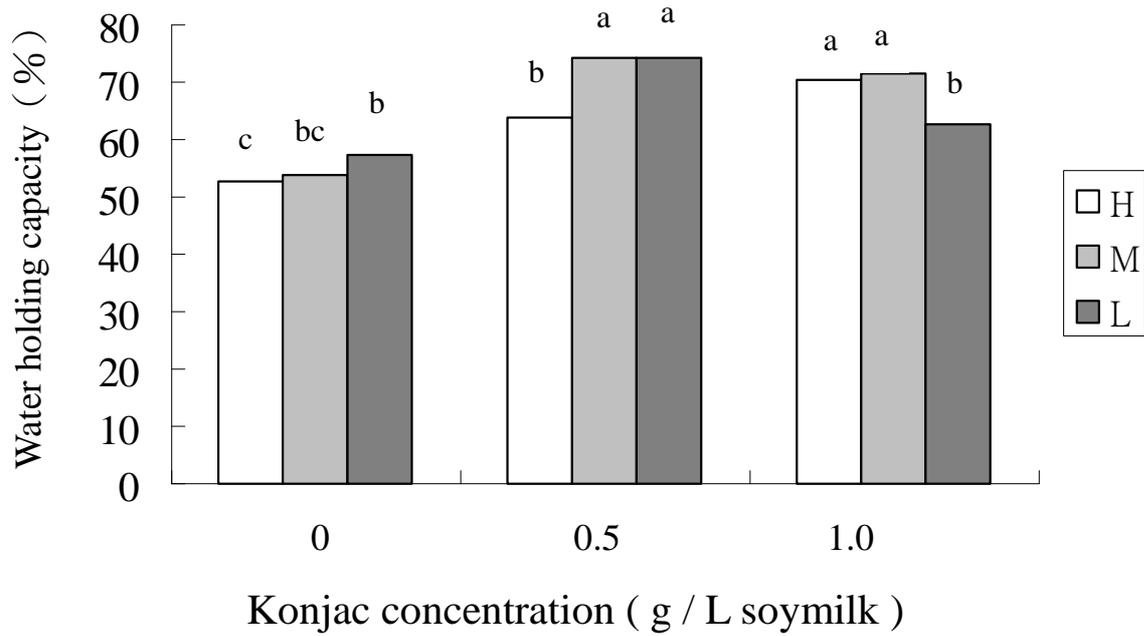
自上述試驗結果，H、M 及 L 之幾丁聚醣和葡萄糖胺為凝固劑，濃度為 0.2g / L soymilk。將加熱處理後之豆漿 225mL，冷卻，分別添加上述之凝固劑溶液 25mL，攪拌均勻，再加入蒟蒻膠或三仙膠，濃度由 0、0.5、1.0、1.5、2.0 g / L soymilk，攪拌，靜置 15 分鐘使其凝固，倒入木製裝置製備豆腐分離乳清並壓至成形，測定比較豆腐之保水力、蛋白質回收率、質地及排出乳清之濁度。

(一) 添加蒟蒻對豆腐產品保水力、蛋白質回收率、乳清濁度及質地之影響

1、保水力之影響

由圖十所示，添加蒟蒻之濃度 0.5 及 1.0g / L soymilk，使 H 之凝固豆腐比原本(即未添加)保水力 52.80% 提高至 63.74 及 70.44%，M 之凝固豆腐保水力由 54.01% 提高到 74.14 及 71.56%，以及 L 之凝固豆腐保水力由 57.25% 提高至 74.39 及 72.64%。而再增加蒟蒻之濃度大於 1.0g / L soymilk，則均使 H、M 及 L 之凝固豆腐難於成形。由此可見，蒟蒻因吸水性良好，添加適量於上述之豆腐可提高其保水力。但其添加量過高，使得吸水過量而使豆腐接近泥漿形態而難於成形。而 GlcN 之凝固豆腐，原本有良好之保水性(64.56%)，添加蒟蒻使其吸水過量而難以成形。

2、蛋白質回收率之影響



圖十、蒟蒻添加濃度對幾丁聚醣產品凝固豆腐保水力之影響

Fig.10. Effect of konjac concentration on the water holding capacity of chitosan product coagulant tofus

* H, M and L concentration : 0.2 g / L soymilk

* ^{a-c} Mean with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

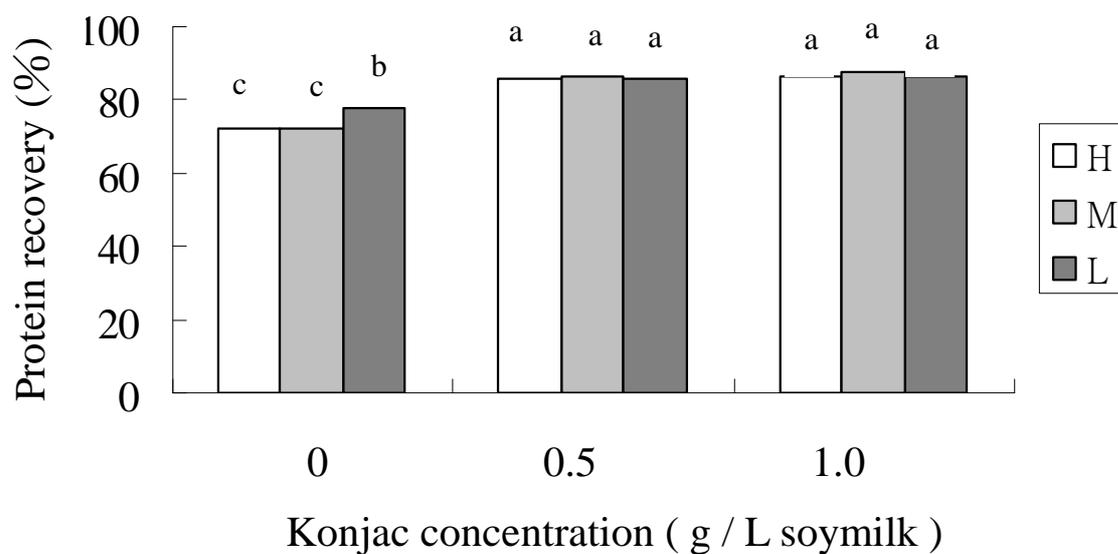
由圖十一所示，添加蒟蒻之濃度 0.5 及 1.0g / L soymilk 時，使 H 之凝固豆腐比原本蛋白質回收率由 72.08% 增加至 85.90 及 86.66%，M 之凝固豆腐其蛋白質回收率由 71.95% 增加至 86.42 及 87.70%，以及 L 之凝固豆腐其蛋白質回收率由 77.54% 增加至 85.57 及 86.62%。添加適量蒟蒻均使上述豆腐之蛋白質回收率提高，其原因可能由於 H、M 及 L 幾丁聚醣將豆腐中蛋白質凝固時，有些蛋白質凝固力較弱者於加壓製豆腐時移流至乳清中，而添加蒟蒻，其吸水作用有助於豆腐之膠體保水力及黏著性增加，而將凝固力較弱之蛋白質限制在豆腐內之故。

3、乳清濁度之影響

由圖十二所示，添加蒟蒻之濃度 0.5 及 1.0g / L soymilk 時，使 H 之凝固豆腐所排出乳清之濁度原為 285NTU 降至 80 及 60NTU，M 之凝固豆腐所排出乳清之濁度由 225NTU 降至 90 及 75NTU，L 之凝固豆腐所排出乳清之濁度由 90NTU 降至 30 及 25NTU。此顯示適量添加蒟蒻有效減少製備豆腐時所排出乳清之濁度，其原因如上述蒟蒻之吸水性，有助於豆腐黏性增加，使凝固之蛋白質以及其他固形物-幾丁聚醣複合物(solid-chitosan complex)被限制在膠體內，不易移流至乳清所致。

4、質地之影響

由表三所示，加入不同濃度之蒟蒻對 H、M 及 L 凝固劑對豆腐質地之影響。無論以 H、M 或 L 為凝固劑製備之豆腐，其添加濃度

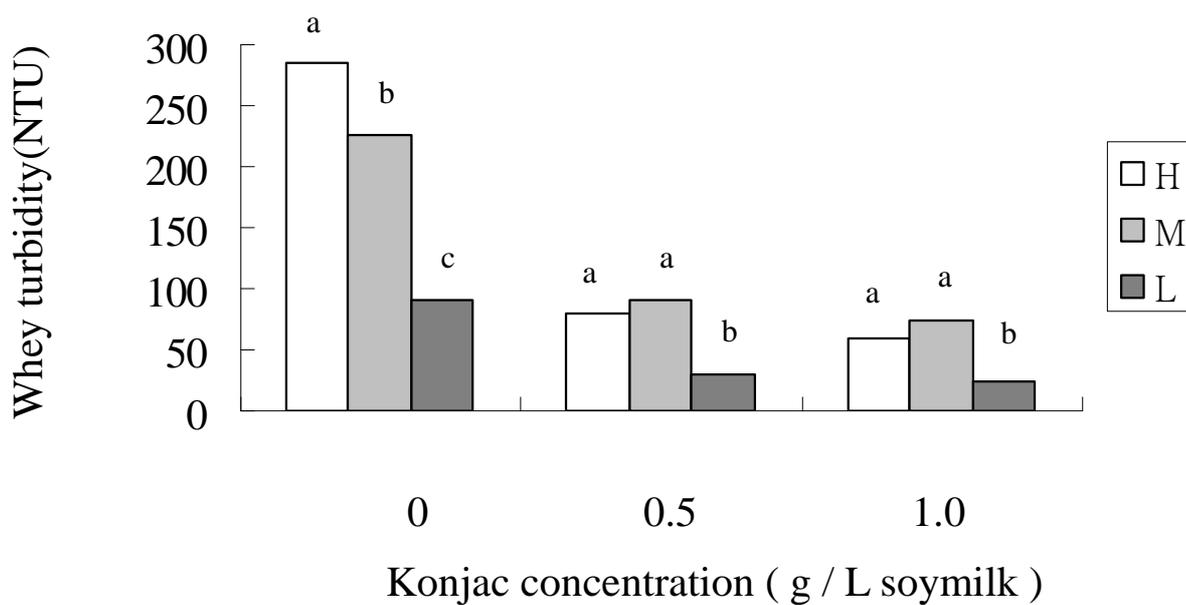


圖十一、蒟蒻添加濃度對幾丁聚醣產品凝固豆腐的蛋白質回收率之影響

Fig 11. Effect konjac concentration on the protein recovery of chitosan product coagulant tofus

* H, M and L concentration : 0.2 g / L soymilk

* ^{a-c}Mean with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)



圖十二、蒟蒻添加濃度對幾丁聚醣產品凝固豆腐的乳清濁度之影響

Fig 12. Effect of konjac concentration on whey turbidity of chitosan product coagulant tofu

* H, M and L concentration : 0.2 g / L soymilk

* ^{a-c} Mean in the same concentration with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

表三、蒟蒻添加濃度對幾丁聚醣產品凝固豆腐的質地之影響

Table 3. Effect of konjac concentration on the texture of chitosan product coagulant tofus

Chitosan MW / konjac concentration (g / L soymilk)	Hardness (g)	Adhesiveness (gs)	Springiness (mm)	Cohesiveness	Gumminess (g)	Chewiness (g mm)
H 0.0	493±17.55 ^a	1276.77±22.1 ^a	4.50±0.07 ^b	0.28±0.02 ^b	168.47±24.1 ^a	755.3±81.1 ^a
0.5	418.25±40.25 ^{ab}	1375.34±20.36 ^a	8.07±0.07 ^a	0.54±0.00 ^a	210.75±3.75 ^a	702.5±44.5 ^a
1.0	391.75±7.75 ^b	1178.85±26.95 ^a	2.02±0.03 ^c	0.19±0.04 ^c	77.95±9.15 ^b	264.5±59.5 ^b
M 0.0	537±37.15 ^a	1651.1±30.2 ^a	4.92±0.72 ^a	0.36±0.05 ^a	192.17±37.54 ^a	990±32.33 ^a
0.5	350.67±23.02 ^b	1939.5±26.5 ^a	6.86±1.92 ^a	0.46±0.08 ^a	168±20.86 ^a	1254.67±26.74 ^a
1.0	292.17±34.22 ^b	1676.35±24.65 ^a	6.50±0.88 ^a	0.51±0.07 ^a	148.23±29.42 ^a	989.33±30.71 ^a
L 0.0	983±3.47 ^a	1624.5±17.25 ^b	3.40±0.68 ^b	0.28±0.02 ^b	190.6±25.88 ^a	1041±27.15 ^b
0.5	332±28 ^b	2036.15±15.42 ^a	7.87±0.16 ^a	0.70±0.10 ^a	490.5±25.06 ^a	1818.5±18.5 ^a
1.0	244.5±22.5 ^b	2012±32.01 ^a	6.75±0.14 ^a	0.47±0.01 ^b	114.25±13.15 ^a	769.5±22.5 ^b

* H, M and L concentration : 0.2 g chitosan / L soymilk

* The result of each type as mean ±SD (n=3) ; ^{a-c}Mean in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05)

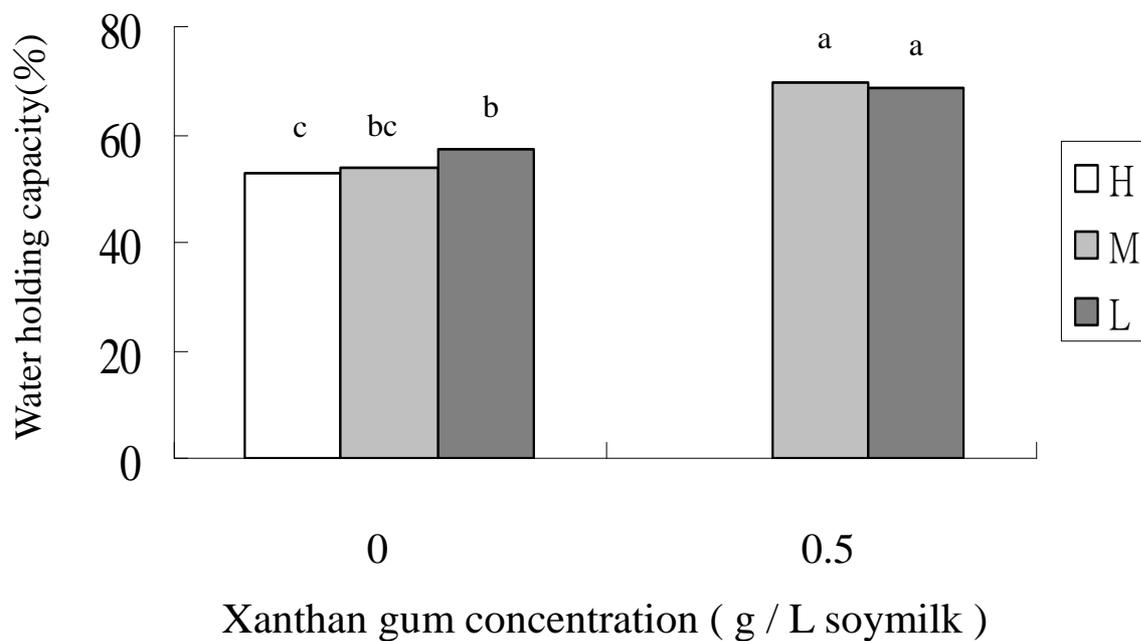
愈多，豆腐之硬度愈軟，表示蒟蒻提高豆腐之吸水性而使豆腐質地較軟。整體而言，添加蒟蒻量為 0.5g / L soymilk 之各個物性值幾乎均比添加蒟蒻量為 1.0g / L soymilk 高，顯示添加蒟蒻量為 0.5g / L soymilk 較適合，除硬度降低外，其彈性較佳，要破壞豆腐的組織較不易，咬起來比較有嚼性等。

Karim 等(1999)報告指出，在製備豆腐過程中使用的凝固劑為 CaSO_4 (CS)、calcium acetate (CA)，並添加膠體(carrageenan) 1g / L 和 2g / L，會使豆腐硬度降低，且添加量之增加，豆腐硬度會隨之降低。此結果與本實驗相符合。但研究報告中的其他物性，如彈性、內聚性和咀嚼性也會隨膠體添加量之增加，數值而逐漸降低，此結果與本實驗結果不相符合，原因可能是凝固劑種類不同而造成的影響，當加入膠體時，只有 CS 和 CA 之物性會隨添加量增加而物性值逐漸降低，作者推測可能 Ca^{2+} 和 H^+ 與豆漿中之蛋白質互相作用不同的影響，會形成豆腐中不同的微細結構。

(二) 添加三仙膠對豆腐產品之保水力、蛋白質回收率、乳清濁度及質地之影響

1、保水力之影響

本實驗進行添加不同濃度之三仙膠至 H、M、L 及 GlcN 凝固劑之豆腐產品時，發現無論其添加濃度多寡，H 及 GlcN 凝固劑之豆腐產品均不能成形，以及其濃度大於 0.5g / L soymilk，M 及 L 凝固劑之豆腐亦不能成形，故這些產品其保水力、蛋白質回收率、乳清濁度及質地均無法測試。由圖十三得知，三仙膠添加濃度 0.5g / L soymilk



圖十三、三仙膠添加濃度對幾丁聚醣產品凝固豆腐的保水力之影響

Fig.13. Effect of xanthan gum concentration on the water holding capacity of chitosan product coagulant tofus

* H, M and L concentration : 0.2 g / L soymilk

* ^{a-c} Mean with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

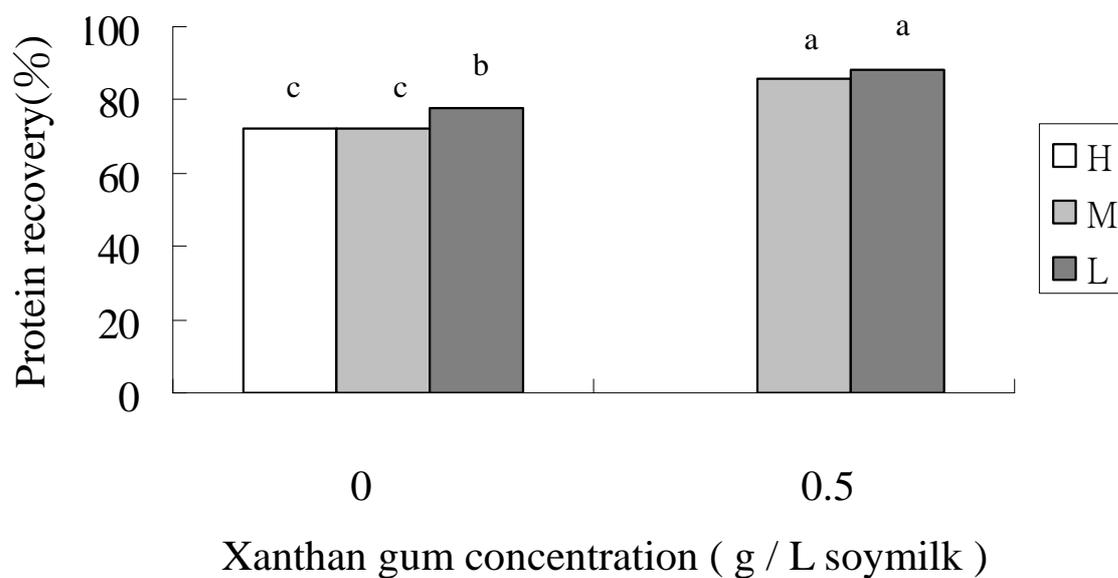
時可提高 M 及 L 之凝固豆腐保水力，分別由 54.01 及 57.25% 增加至 69.85 及 68.84%。

三仙膠為帶負電離子之聚合物(anion polymer)，其吸水性很強，遇帶正電之聚合物產生結合，若遇帶負電者則會有推斥作用。高分子量之幾丁聚醣(即 H 凝固劑)為帶正電之聚合物與三仙膠產生強烈離子結合作用，嚴重影響至幾丁聚醣中和蛋白質之負電及幾丁聚醣與蛋白質結合作用，而使豆腐無法成形。以 GlcN 為凝固劑之豆腐原有保水力很高(64.5%)，當加入三仙膠，一方面再提高其吸水量，以及強迫 GlcN 與其結合，影響至 GlcN 中和蛋白質負電作用，因而豆腐亦無法成形。而對於中及低分子量之幾丁聚醣(即 M 及 L 者)，添加三仙膠之濃度大於 0.5g / L soymilk 時，可能由於兩者結合程度較強，使豆腐無法成形。

Karim 等(1999)研究報告指出，豆腐凝固劑添加 1g / L 和 2g / L 之 carrageenan 確實可以提高豆腐之產率及保水力，此結果與本實驗相似，且 carrageenan 也為帶有陰離子之膠體，因此可顯示三仙膠也有同樣功能能使豆腐之產率及保水力提高。

2、蛋白質回收率和乳清濁度之影響

圖十四和十五所示為 M 和 L 之幾丁聚醣與不同濃度之三仙膠對豆腐蛋白質回收率和乳清濁度之影響。由圖可知，添加三仙膠 0.5g / L soymilk 至豆腐中，可提高蛋白質回收率及降低乳清濁度。以 M 之幾丁聚醣為凝固劑時，蛋白質回收率為 71.95%，排出之乳清濁度為 225NTU，添加 0.5g / L soymilk 三仙膠後，蛋白質回收率增加為 85.79

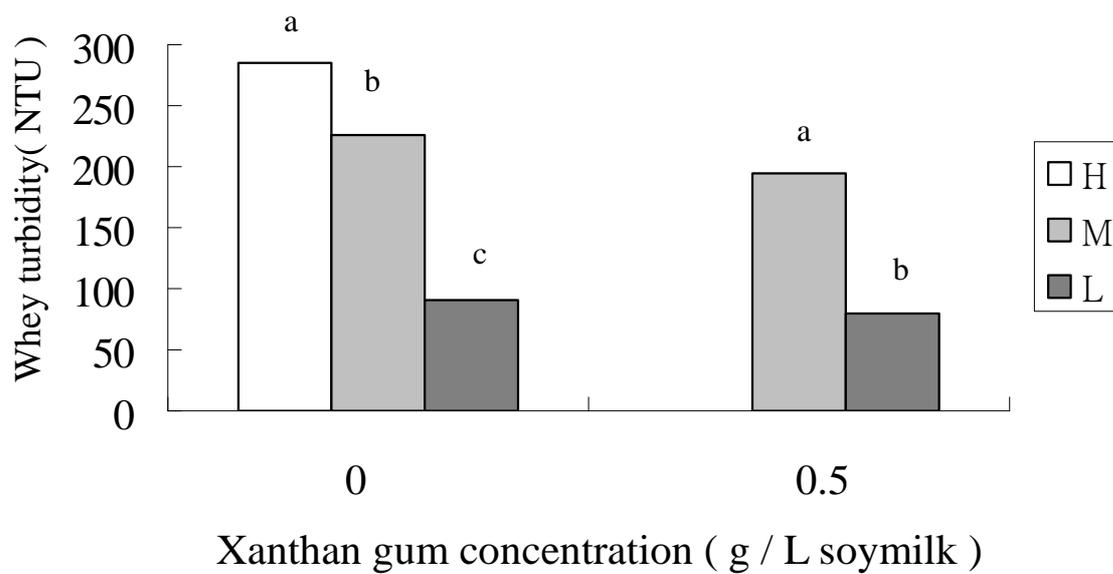


圖十四、三仙膠添加濃度對幾丁聚醣產品凝固豆腐的蛋白質回收率之影響

Fig.14. Effect of xanthan gum concentration on the protein recovery of chitosan product conculant tofus

* H、M and L concentration : 0.2 g / L soymilk

* ^{a-c} Mean with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)



圖十五、三仙膠添加濃度對幾丁聚醣產品凝固豆腐的乳清濁度之影響

Fig 15. Effect of xanthan gum concentration on the whey turbidity of chitosan product coagulant tofus

* H、M and L concentration : 0.2 g / L soymilk

* ^{a-c} Mean in the same concentration with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

%，排出之乳清濁度為 195NTU；L 之幾丁聚醣為凝固劑時，蛋白質回收率為 77.54%，排出之乳清濁度為 90NTU，添加 0.5g / L soymilk 三仙膠後，蛋白質回收率增為 88.17%，排出之乳清濁度為 80NTU。由上述可知，添加少量之三仙膠可增加豆腐之保水力，提高豆腐之蛋白質回收率和降低排出乳清之濁度。

Karim 等(1999)研究報告指出，豆腐凝固劑添加 1g / L 和 2g / L 之 carrageenan 可降低乳清中蛋白質含量，並指出加入膠體可有效改善凝固豆腐時排出之乳清體積，進而減少蛋白質之含量，此結果與本實驗相符合。

3、質地之影響

表四所示為 M 和 L 之幾丁聚醣與不同濃度之三仙膠對豆腐質地之影響。無論是 M 或 L 之幾丁聚醣製備出的豆腐，其硬度、黏著性和咀嚼性都會因三仙膠之添加，使得測出之質地數值降低，且幾乎都有顯著差異，但在彈性的部分，M 和 L 之幾丁聚醣所製備出之豆腐，在加入三仙膠後，彈性有明顯增加，顯示三仙膠的添加會使製備出的豆腐，口感較軟但較有彈性。因此可再次顯示，以不同分子量之幾丁聚醣做為凝固劑，所製成的豆腐產品，其質地隨分子量之不同而有不同差異。另一方面，以不同分子量之幾丁聚醣為凝固劑，亦提高豆腐產品多元化之可能性。

六、幾丁聚醣產品與膠體之添加次序對豆腐凝固影響之試驗

表四、三仙膠添加濃度對幾丁聚醣產品凝固豆腐的質地之影響

Table 4. Effect of xanthan gum concentration on the texture of chitosan product coagulant tofus

Chitosan MW / xanthan gum concentration (g / L soymilk)	Hardness (g)	Adhesiveness (gs)	Springiness (mm)	Cohesiveness	Gumminess (g)	Chewiness (g mm)
M 0.0	537±37.15 ^a	1651.1±30.2 ^a	4.92±0.72 ^b	0.36±0.05 ^a	192.17±27.54 ^a	990±32.33 ^a
0.5	318.75±26.75 ^b	1201.8±19.52 ^b	6.29±0.02 ^a	0.32±0.06 ^a	97.6±9.5 ^a	613.5±61.5 ^b
L 0.0	983.75±3.47 ^a	1624.5±17.25 ^a	3.4±0.68 ^b	0.28±0.02 ^b	190.6±25.88 ^a	1041±27.16 ^a
0.5	237±3.00 ^b	1175.5±25.5 ^b	7.23±0.23 ^a	0.42±0.01 ^a	93.15±5.45 ^b	597.5±23.5 ^b

* M and L concentration : 0.2 g chitosan / L soymilk

* The result of each type as mean ±SD (n=3)

* ^{a-c}Mean in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05)

本實驗將加熱和冷卻處理後之豆漿，先加入蒟蒻或三仙膠，之後再加入幾丁聚醣產品，其目的要觀察其豆腐有關之特性有否不同，即將 225mL 加熱及冷卻處理後之豆漿，先分別添加蒟蒻膠或三仙膠，濃度由 0、0.5、1.0、1.5、2.0 g gum / L soymilk，攪拌均勻，再個別加入 H、M 及 L 之幾丁聚醣溶液及 GlcN 溶液 25mL，攪拌，靜置 15 分鐘使其凝固，倒入木製裝置製備豆腐。結果，無論先添加蒟蒻或是三仙膠與豆漿蛋白質混合後，再添加幾丁聚醣產品和葡萄糖胺，均無法完成凝固，而呈現懸浮混濁狀。推測原因可能為，先加入膠體會吸水，使豆漿之黏度增加，而阻止幾丁聚醣產品或葡萄糖胺對蛋白質之作用所致。

七、實驗之豆腐與傳統豆腐感官評估之比較

由上述實驗結果選出具有良好產率、保水力、蛋白質回收率等特性之豆腐製備條件，即以 H 之幾丁聚醣添加蒟蒻 0.5g / L soymilk、M 之幾丁聚醣添加蒟蒻 0.5g / L soymilk、L 之幾丁聚醣及 GlcN 不添加保水劑，製備出豆腐產品，並與傳統以 CaSO_4 凝固劑製備之豆腐進行感官評估之比較，包含外觀、風味、口感及總接受度。此感官評估以東海大學食品科學系 30 位學生為官評對象，進行之。

結果如表五所示，在外觀方面以傳統 CaSO_4 為凝固劑者較優，其次為 GlcN 者，最差者為 H 之幾丁聚醣添加蒟蒻者；在風味方面則並無明顯差異；在口感方面所受歡迎程度依序為 $\text{CaSO}_4 > \text{GlcN} > \text{L} > \text{M} > \text{H}$ 之幾丁聚醣添加蒟蒻，原因可能為，幾丁聚醣因帶有 $-\text{NH}_3^+$ 會在口中產生澀味感，而分子量愈大所帶有的 $-\text{NH}_3^+$ 也愈多，澀味感也愈

表五、不同幾丁聚醣產品及硫酸鈣製成豆腐之感官評估

Table 5. Sensory evaluation of types of tofu made from chitosan hydrolysates, glucosamine and calcium sulfate

	Appearance	Flavor	Mouthfeel	Total acceptability
HG0.5	3.97 ^e	5.63 ^a	4.83 ^c	4.80 ^c
MG0.5	4.77 ^d	5.87 ^a	5.03 ^{bc}	5.33 ^c
L	5.77 ^c	5.53 ^a	5.50 ^{bc}	5.40 ^c
GlcN	6.57 ^b	6.33 ^a	5.73 ^b	6.30 ^b
CaSO ₄	8.00 ^a	5.90 ^a	6.80 ^a	7.17 ^a

* H, M, L and GlcN concentration : 0.2 g / L soymilk

* G concentration : 0.5g konjac / L soymilk

* The scores bearing different superscript letters in the same item are significantly different at $p < 0.05$. Duncan's Multiple Range Test

* The scores are in a range of 1~9 , the higher score the better acceptance

* ^{a-e}Mean in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

大；反之，幾丁聚醣水解成分子量低，較無澀味，但仍保有多醣的部分特性，甚至更低分子量的寡醣具有清爽的甜味。在整體總接受度方面，依接受度大至小為 $\text{CaSO}_4 > \text{GlcN} > \text{L} > \text{M} > \text{H}$ 之幾丁聚醣添加蒟蒻。雖然總接受度還是以傳統的 CaSO_4 凝固劑較佳，但在 GlcN、L 和 M 之幾丁聚醣添加蒟蒻之豆腐上，總接受度亦不錯，更重要為幾丁聚醣之水解物具有良好保健功效，故以其為凝固劑製備之豆腐，在豆腐市場上具有競爭之潛力。

No 和 Meyers (2004) 研究報告中，利用 1% 醋酸溶液並添加 0.5% 和 1.0% 之幾丁聚醣(此時幾丁聚醣當做抗菌劑)來製備豆腐，報告中指出在 1% 醋酸添加幾丁聚醣與單獨使用 1% 醋酸當凝固劑所製備出之豆腐，其酸度較低，且可增加豆腐的儲存性，之後作者也單獨以 1% 乳酸做為凝固劑，雖製備出之豆腐酸性較 1% 醋酸低，但其蛋白質凝固率卻比 1% 醋酸差，因此作者試以 1% 醋酸加 1% 乳酸(1:1 混合)再加入幾丁聚醣，此時製備出之豆腐其接受度也相對提高。

此結果顯示，以幾丁聚醣和醋酸為凝固劑製備豆腐，在市場上或許也有發展的潛力，也或許可以提供業者更多元化產品的選擇。

柒、結論

由試驗結果可得以下結論：

一、不同分子量幾丁聚醣之製備

以亞硝酸鈉水解幾丁聚醣是種簡單、方便且快速之方法，此法可得最小幾丁聚醣分子量為 4.23kDa。利用透析可幾乎完全去除亞硝酸鈉，避免化學殘留之問題。以此法可有效水解幾丁聚醣，且較酵素法方便和便宜。

二、幾丁聚醣產品及葡萄糖胺之濃度對豆漿中蛋白質凝固率影響之試驗

1. 就幾丁聚醣之不同水解度而言，水解度愈高者，蛋白質凝固率愈佳，尤其在低濃度添加時，差異較明顯。
2. 不同濃度之葡萄糖胺，蛋白質凝固率隨濃度增加而增加，直至添加濃度為 0.2g / L soymilk 凝固率才趨於和緩。
3. 幾丁聚醣水解物和葡萄糖胺之添加濃度低於 0.15 g / L soymilk 則凝固不佳，無法製成豆腐，而增加至 0.2 g / L soymilk 以上時，方可凝固製備豆腐。

三、以幾丁聚醣水解物及葡萄糖胺為凝固劑製備豆腐之試驗

1. 在豆腐產率方面，以傳統凝固劑 CaSO_4 所製備出豆腐產率最高，H 次之。

2. 在豆腐蛋白質回收率及乳清之濁度方面，以傳統凝固劑 CaSO_4 及 GlcN 可得最高蛋白質凝固率，且其乳清之濁度皆低於 50NTU，可得澄清之乳清。
3. 在豆腐質地方面，除了硬度、彈性和內聚性有顯著差異外，黏著性和咀嚼性都無顯著差異。但黏著性和咀嚼性有隨幾丁聚醣分子量愈小而增加的趨勢。

四、豆腐保水性改進之試驗

1. 添加蒟蒻或三仙膠可提高豆腐之保水性及蛋白質凝固率，並有效降低乳清之濁度，但添加過量的蒟蒻或三仙膠，則無法使豆腐成形。
2. 在幾丁聚醣及葡萄糖胺溶液與膠體之添加次序對豆腐影響方面，不論先添加蒟蒻或三仙膠，皆無法使豆腐成形。

五、實驗之豆腐與傳統豆腐感官評估之比較

不同水解度之幾丁聚醣對豆漿蛋白質凝固力雖與傳統凝固劑 CaSO_4 差不多，但其整體接受度方面比一般傳統豆腐較差。但幾丁聚醣水解物對人體有保健功效，故在豆腐市場上具有發展潛力。

捌、參考文獻

- 朱燕華 (1994)。淺談大豆蛋白質及其應用。食品工業，26：15-18。
- 江文德 (1998) 簡介大豆中異黃酮素。食品工業，30：6-12。
- 沈家弘 (2004)。不同去乙醯度幾丁聚醣乳化性質之比較及其應用於沙拉醬之研究。私立東海大學食品科學研究所碩士論文，台中市台灣。
- 阮明輝及李錦楓 (1991)。幾丁聚醣做為防腐劑及纖維飲料可行性研究。中華生質能源學會會誌，10：48-58。
- 阮進惠及林芬年 (1999)。利用幾丁聚醣進行梅汁脫酸之研究。食品科學，26：295-314。
- 阮進惠、林翰良及羅淑珍 (1997)。幾丁聚醣水解物之連續式生產及其抑制作用。中農化誌，35:596-611。
- 阮進惠及陳俊豪 (2006)。利用幾丁聚醣水解物為凝固劑製備中式豆腐。台灣農業化學與食品科學，44：54-62。
- 林錫杰 (2000)。幾丁質在環保方面之應用。科技與技術，32：27-33。
- 徐錦祥 (1998)。Chitosan 低分子量化之研究。Journal of the China Textile Institute 8：363-366。
- 高馥君 (2004)。機能性豆腐製程之開發與研究。國立台灣大學農業化學所博士論文，台北市台灣。
- 陳怡宏 譯 (1999)。大豆皂素及其生理機能特性。食品市場資訊 88：86-87。
- 陳俊豪 (2003)。利用幾丁聚醣水解物為凝固劑製備中式豆腐以升級產品及降低廢水污染之研究。私立東海大學食品科學研究所碩士論文，台中市台灣。

- 陳慧如 (1997)。味噌概說。食品工業，29：40-47。
- 董大成 (1992)。黃豆可比高麗參。元氣齋出版社出版，台北市台灣。
- 廖永紅 (1997)。神奇的大豆療法。漢湘文化事業股份有限公司出版，台北縣台灣。
- 蔡佳原 (2001)。黃豆機能性成分及其加工利用。食品市場資訊，90：7-11。
- 鄭美娟 (1999)。三仙膠的性質、功能與應用。烘焙工業，11：27-29。
- 賴淑琪 (1979)。水產廢棄物蝦、蟹外殼之高度利用。食品工業，11：23-28。
- 賴鳴鳳、廖樹杰及呂政義 (1999)。水溶性蒟蒻膠萃取與分子性質之探討。食品科學，26：456-467。
- 黃鎮富 (2001)。機能性軟糖之探討-蒟蒻軟糖。食品資訊，184：52-53。
- 楊季清、張政偉及羅麗珠 (1997)。蒟蒻素食火腿製作之最適化。食品科學，24：230-241。
- Allan C. R. and Hadiger L. A. (1979). The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Exp. Mycol.*, 3: 285-287.
- Allan G.G. and Peyron M. (1995a). Molecular weight manipulation of chitosan I : kinetic of depolymerization by nitrous acid. *Carbohydr. Res.*, 277 : 257-272.
- Atkinson C., Compston J. E., Day N. E., Dowsett M. and Bingham S. A. (2004). The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.*, 79 : 326-333.
- Beddow C.G. and Wong , J. (1987a). Optimization of yield and properties of silken tofu from soybean.I. The water: bean ratio. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 22: 15-21.

- Beddow C. G. and Wong J. (1987b). Optimization of yield and properties of silken tofu from soybeans. II. Heat processing. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 22 : 23-27.
- Beri R. G., Walker J., Reese E. T. and Rollings J. E. (1993). Characterization of chitosans via coupled size-exclusion chromatography and multiple-angle laser light-scattering technique. *Carbohydr.*, 238: 11-26.
- Braham R., Dawson B. and Goodman C. (2003). The effect of glucosamine supplementation on people experiencing regular knee pain. *Br. J. Sports Med.*, 37 : 45-49.
- Cai T. D. and Chang K. C. (1998). Characteristics of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method : propeller blade size, mixing time and coagulant concentration. *Food Res. Int.*, 31 : 289-295.
- Cai T. D. and Chang K. C. (1999). Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. *J. Agric. Food Chem.*, 47 : 720-727.
- Chang K.L.B., Lin Y.S. and Chen R.H. (2003). The effect of chitosan on the gel properties of tofu (soybean curd). *J. Food Eng.*, 57 : 315-319.
- Chen R. H. and Tsaih M. L. (1997). Effect of preparation method, characteristics of chitosan on the mechanical and release properties of the prepared capsul. *J. Appl. Polym. Sci.*, 66 : 161-169.
- deMan J. M., daMan L. and Gupta S. (1986). Texture and microstructure of soybean curd (tofu) as affected by different coagulants. *Food Microstruct*, 5 : 83-89.
- Domard A. and Cartier N. (1989). Glucosamine oligomers : 1.Preparation and characterization. *Int. J. Biol. Macromol.*, 9 : 333-336.
- Filar L. F. and Wirick M.G (1978). Bulk and solution properties of chitosan. In : Proceedings of the 1st Int. Conf. On chitin/chitosan. Muzzarelli. R. A. A. and Pariser, E. R. (Eds.), p.169.

- Fujimoto T., Tsuchiya Y., Terao M., Nakamura K. and Yamamoto M. (2006). Antibacterial effects of chitosan solution against *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Food Microbiol.*, 112 : 96-101.
- Han L. K., Kimura Y. and Okuda H. (1999). Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet. *Int. J. Obesity*, 23: 174-179.
- Hasegawa M., Isogi A. and Onabe F. (1993). Preparation of low-molecular-weight chitosan using phosphoric acid. *Carbohydr. Polym.*, 20 : 279-283.
- Ho S.C., Tai E.S., Eng P.H., Tan C.E. and Fok A.C. (2001). In the absence of dietary surveillance, chitosan does not reduce plasma lipids or obesity in hypercholesterolaemic. *Obes. Asian subjects.*, 42 : 6-10.
- Ikeda I., Sugano M., Yoshida K., Sasaki E., Iwamoto Y., and Hatano K. (1993). Effects of chitosan hydrolysates on lipid absorption and on serum and liver lipid concentration in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 41:431-435.
- Jia Z.S. and Shen D.F. (2002). Effect of reaction temperature and reaction time on the preparation of low-molecular-weight chitosan using phosphoric acid. *Carbohydr. polym.*, 49 : 393-396.
- Jun H. K., Kim J. S., No H. K. and Meyers S. P. (1994). Chitosan as a coagulant for recovery of proteinaceous solids from tofu wastewater. *J. Agric. Food Chem.*, 42 : 1834-1838.
- Karim A.A., Sulebele G.A., Azhar M.E. and Ping C.Y. (1999). Effect of carrageenan on yield and properties of tofu. *Food Chem.*, 66 : 159-165.
- Katzbauer B. (1998). Properties and applications of Xanthan gum. *Polym. Degrad. Stab.*, 59 : 81-84.
- Kienzle-Sterzer C. and Rha C. K. (1984). Solution properties of chitosan : Chitin

- conformation. In : chitin, chitosan and related enzymes. Zikakis, J. P. (Eds.) Academic Press, London, p.383.
- Kim K.W. and Thomas R.L. (2007). Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights. *Food Chem.*, 101 : 308-313.
- Kim Y. H., Gihm S. H. and Park C. R. (2001). Structural Characteristics of Size-Controlled Self-Aggregates of Deoxycholic Acid-Modified Chitosan and Their Application as a DNA Delivery Carrier. *Bioconjug. Chem.*, 12 : 932-938.
- Kitamura K. (1995). Genetic improvement of nutritional and food processing quality in soybean. *Jap. Agric. Res. Quart.*, 29 : 1-8.
- Knorr D. (1982). Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.*, 47: 593-599.
- Knorr D. (1984). Use of chitinous polymers in food-a challenge for food research and development. *Food Technol.*, 38: 85-97.
- Knorr D. (1991). Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol.*, 44 : 114-123.
- Kohyama K., Murata M., Tani F., Sano Y. and Doi E. (1995). Effects of protein composition on gelation of mixtures containing soybean 7S and 11S globulins. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59 : 240-245.
- Kohyama K., Sano Y. and Doi E. (1995). Rheological characteristics and gelation mechanism of tofu (soybean curd). *J. Agric. Food Chem.*, 43 : 1808-1812.
- Kuroiwa T., Ichikawa S., Sato S. and Mukataka S. (2003). Improvement of the yield of physiologically active oligosaccharides in continuous hydrolysis of chitosan using immobilized chitosanases. *Biotdchnol. Bioeng.*, 84 : 121-127.
- Lee K.S., No H.K. and Meyers S.P. (2001). Effect of chitosan as a coagulant on

- shelf-life of tofu prepared in commercial-scale. *Food Sci. Biotechnol.*, 10 : 529-533.
- Li B., Peng J.I., Yie X. and Xie B.J. (2006). Preparation and performance evaluation of glucomannan-chitosan-nisin ternary antimicrobial blend film. *Carbohydr. Polym.*, 65 : 488-494.
- Lim B. T., DeMan J. M., DeMan L. and Buzzell R. I. (1990). Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics. Calcium sulfate coagulant. *J. Food Sci.*, 55 : 1088-1092.
- Liu X.D., Tokura S., Nishi N. and Sakairi N. (2003). A novel method for immobilization of chitosan onto nonporous glass beads through a 1,3-thiazolidine linker. *Poly.*, 44 : 1021-1026.
- Lowry O.H., Rosebrough N. J., Farr A. L. and Randall R. J. (1951). Protein measurement with Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 : 265-275.
- Maeda M., Murakami H., Ohta H. and Tajima M. (1992). Stimulation of IgM production in human-human hybridoma HB4C5 cells by chitosan. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56 : 427-431.
- Maezaki Y., Tsuji K., Nakagawa Y., Kawai Y., Akinoto M., Tsugita T., Takekawa W., Terada A., Hara H. and Mitsuoka T. (1993). Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57 : 1439-1444.
- Maghami G. and Roberts A. F. (1988). Evaluation of the viscometric constants for chitosan. *Die Makromolekulare Chemie.*, 189 : 195-200.
- Mcalindon T.E., Lavalley M.P., Gulin J.P. and Felson D.T. (2000). Glucosamine and chondroitin for treatment of osteoarthritis : A systematic quality assessment and meta-analysis. *JAMA*, 283 : 1469-1475.
- Messina M.J. (2003). Emerging evidence on the role of soy in reducing prostate cancer risk. *Nutr. Rev.*, 61 : 117-131.

- Messina M.J. and Loprinzi C.L. (2001). Soy for breast cancer survivors : a critical review of the literature. *J. Nutr.*, 131 : 3095-3108.
- Mima S., Miya M., Iwamoto R. and Yoshikawa S. (1983). Highly deacetylated chitosan and its properties. *J. Appl. Polym. Sci.*, 28 : 1909-1917.
- Miyoshi E., Takaya T., Williams P.A. and Nishinari K. (1996). Effects of Sodium Chloride and Calcium Chloride on the Interaction between Gellan Gum and Konjac Glucomannan. *J. Agric. Food Chem.*, 44 : 2486-2495.
- Mori T., Mohri M., Artik N. and Matsumura Y. (1989). Rheological properties of heat – induced gel of soybean 11S globulin under high ionic strength ($\mu=0.5$). *J. Texture Stud.*, 19 : 361-371.
- Muzzarelli R. A. A., Roccheti R. and Marangio G. (1972). Separation of zirconium, niobium, cesium and ruthenium for determination of cesium in nuclear fuel solution. *J. Radioanal. Chem.*, 10 : 17-25.
- Ni Mhurchu C., Dunshea-Mooij C., Bennett D. and Rodgers A. (2005). Effect of chitosan on weight loss in overweight and obese individuals : a systematic review of randomized controlled trials. *Int. Assoc. Obes.*, 6 : 35-42.
- Nishinari K., Williams P.A. and Phillips G.O. (1992). Review of the physico-chemical characteristics and properties of konjac mannan. *Food Hydrocoll.*, 6 : 199-222.
- No H.K. and Meyers S. P. (2004). Preparation of tofu using chitosan as a coagulant for improved shelf-life. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 39 : 133-141.
- Ormrod D.J., Holmes C.C. and Miller T.E. (1998). Dietary chitosan inhibits hypercholesterolaemia and atherogenesis in the apolipoprotein E-deficient mouse model of atherosclerosis. *Atherosclerosis.*, 138 : 329-334.
- Prabhakaran M.P., Perera C.O. and Valiyaveetil S. (2006). Effect of different

- coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. *Food Chem.*, 99 : 492-499.
- Park Y. J., Nam Y. L., Jeon B. R., Oh N. S. and In M. J. (2003). Effects of garlic addition on quality and storage characteristics of soybean curd (tofu). *J. Korean Soc. Agri. Chem. Bio.*, 46 : 329-332.
- Peng I. C., Quass D. W., Dayton W. R. and Allen C. E. (1984). The physicochemical and functional properties of soybean 11S globulin. *Cereal Chem.*, 61 : 480-491.
- Qin C., Li H., Xiao Q., Liu Y., Zhu J. and Du Y. (2006). Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity. *Carbohydr. Polym.*, 63 : 367-374.
- Qin C., Zhou B., Zeng L., Zhang Z., Liu Y., Du Y. and Xiao L. (2004). The physicochemical properties and antitumor activity of cellulose-treated chitosan. *Food Chem.*, 84 : 107-115.
- Quak S.H. and Tan S.P. (1998). Use of soy-protein formulas and soyfood for feeding infants and children in Asia. *Am. J. Clin. Nutr.*, 168 : 1444-1446.
- Rivas M., Garay R.P., Escanero J.F., Cia P., Cia P. and Alda J.O. (2002). Soy milk lowers blood pressure in men and women with mild to moderate essential hypertension. *J. Nutr.*, 132 : 1900-1902.
- Ruiz-Herrera J. (1978). The distribution and quantitative importance of chitin in fungi. In: Chitin and chitosan Proceedings of the First International Conference on Chitin and Chitosan Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R. Eds. MIT Sea Grant Program, Cambridge, Mass. p.11.
- Saio K. (1979). Tofu relationships between texture and fine structure. *Cereal Foods World.*, 24 : 342-345.
- Saio K., Koyama E. and Watanabe T. (1968). Protein-calcium-phytic acid relationships in soybean part II. Effects of phytic acid on combination of calcium

- with soybean meal protein. *Agr. Biol. Chem.*, 32 : 448-452.
- Saio K. and Watanabe T. (1978). Differences in functional properties of 7S and 11S soybean proteins. *J. Texture Stud.*, 9 : 135-157.
- Shen C. F., DeMan L., Buzzell R. I. and DeMan J. M. (1991). Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics: glucono-delta-lactone coagulant. *J. Food Sci.*, 56 : 109-112.
- Shiau S.S. and Yu Y.P. (1998). Chitin but not chitosan supplementation enhances growth of grass shrimp, *Penaeus mondon*. *J. Nutr.*, 128 : 908-912.
- Sinha V. R. and Kumria R. (2001). Polysaccharides in colon-specific drug delivery. *Int. J. Pharm.*, 224 : 19-38.
- Stankowski J.D., Mueller B.E. and Zeller S.G. (1993). Location of a second O-acetyl group in xanthan gum by the reductive-cleavage method. *Carbohydr. Res.*, 241 : 321-326.
- Sun N. and Breene W.M. (1991). Calcium sulphate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybean varieties. *J. Food Sci.*, 56 : 1604-1607.
- Tang C. H. (2007). Effect of thermal pretreatment of raw soymilk on the gel strength and microstructure of tofu induced by microbial transglutaminase. *LWT* 40 : 1403-1409.
- Tang C.H., Li L., Wang J.L. and Yang X.Q. (2007). Formation and rheological properties of cold-set tofu induced by microbial transglutaminase. *LWT* 40 : 579-586.
- Teede H.J., Dalais F.S., Kotsopoulos D., Liang Y.L., Davis S. and McGrath B.P. (2001). Dietary soy has both beneficial and potentially adverse cardiovascular effects: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86 : 3053-3060.

- Toei K. and Kohara T. (1976). A conductometric method for colloid titrations. *Anal. Chim. Acta.*, 83 : 59-65.
- Tsai G.J., Zhang S.L. and Shieh P.L. (2004). Research note : Antimicrobial activity of a low-molecular-weight chitosan obtained from cellulose digestion of chitosan. *J. Food Prot.*, 67 : 396-398.
- Tsai S. J., Lan C. Y., Kao C. S. and Chen S. C. (1981). Studies on the yield and quality characteristic of tofu. *J. Food Sci.*, 46:1734-1737.
- Tsukada K., Matsumoto T., Aizawz K., Tokoro A., Naruse R., Suzuki S. and Suzuki M. (1990). Antimetaststic and growth-inhibitory effects of N-acetylchitohexaose in mice bearing lewis lung carcinoma. *Jpn. J. Cancer Res.*, 81 : 259-265.
- Vishu Kumar A.B., Varadaraj M.C., Lalitha R.G. and Tharanathan R.N. (2004). Low molecular weight chitosans : preparation with the aid of papain and characterization. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1670 : 137-146.
- Williams P.A. and Phillips G.O. (2000). Introduction to food hydrocolloids. In : Phillips GO, Williams PA, editors. Handbook of hydrocolloids. Boca Raton, FL : Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.p1-19.
- Williams M.A.K., Foster T.J., Mathin D.R., Norton I.T., Yoshimura M. and Nishinari K. (2000). A molecular description of the gelation mechanism of konjac mannan. *Biomacromol.*, 1 : 440-450.
- Wit P.de. (2001). Amazing soy. *The World of Ingredients*, 6/7 : 52.
- Wolf W. J. (1972). Purification and properties of the proteins. In “Soybean : Chemistry and Technology”, Ed.Smith, A. K. and Circle, S. J. Avi Publishing Co., Westport, CT., Chapter 4.
- Wu A. C. M. and Bough W. A. (1978). A Study of variables in the chitosan

manufacturing process in relation to molecular- weight distribution, chemical characteristics and waste- treatment effectiveness. In “Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan”. Muzzarelli R. A. A. and Pariser E. R. Eds. MIT Sea Grant Program, Cambridge, Mass. p.88.

Yen M.T., Tseng Y.H., Li R.C. and Mau J.L. (2007). Antioxidant properties of fungal chitosan from shiitake stipes. *LWT.*, 40 : 255-261.

Yoshimura M. and Nishinari K. (1999). Dynamic viscoelasticity study on the gelation of konjac glucomannan with different molecular weights. *Food Hydrocoll.*, 13 : 227-233.

Zhang M., Li X. H., Gong Y. D., Zhao N. M. and Zhang X. F. (2002). Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. *Biomaterials.*, 23 : 2641-2648.

Zhishen J. and Dongfeng S. (2002). Effect of reaction temperature and reaction time on the preparation of low-molecular-weight chitosan using phosphoric acid. *Carbohydr. Polym.*, 49 : 393-396.

Zhou H.Y., Chen X.G., Kong M., Liu C.S., Cha D.S. and Kennedy J.F. (2008). Effect of molecular weight and degree of chitosan deacetylation on the preparation and characteristics of chitosan thermosensitive hydrogel as a delivery system. *Carbohydr. Polym.*, 73 : 265-273.