



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I475962 B

(45)公告日：中華民國 104 (2015) 年 03 月 11 日

(21)申請案號：100136710

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 10 月 11 日

(51)Int. Cl. : A23L1/20 (2006.01)

A23L1/28 (2006.01)

(71)申請人：財團法人食品工業發展研究所(中華民國) FOOD INDUSTRY RESEARCH AND DEVELOPMENT INSTITUTE (TW)

新竹市食品路 331 號

(72)發明人：張建棣 CHANG, CHIEN TI (TW)；洪銘育 HUNG, MING YU (TW)；劉毓蕙 LIU, YU HUI (TW)；莊少鈞 CHUANG, SHIAO CHENG (TW)；賴祥玲 LAI, HSIANG LING (TW)；錢阜甯 CHIEN, FU NING (TW)；劉素娥 LIOU, SU ER (TW)；陳怡宏 CHEN, YI HONG (TW)；程竹青 CHEN, CHU CHIN (TW)

(74)代理人：洪澄文；顏錦順

(56)參考文獻：

CN 1273783

CN 10116114

促進鈣吸收胜肽配料開發，食品工業發展研究所產品及製程中心，94 年研發成果，  
2006/7/1，網址；<http://www.ftd.firdi.org.tw/technology-detail.asp?fileid=A-01-00054&item=%A7%DE%B3%B2%BE%C2%E0%B6%B5%A5%D8>

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：3 共 27 頁

(54)名稱

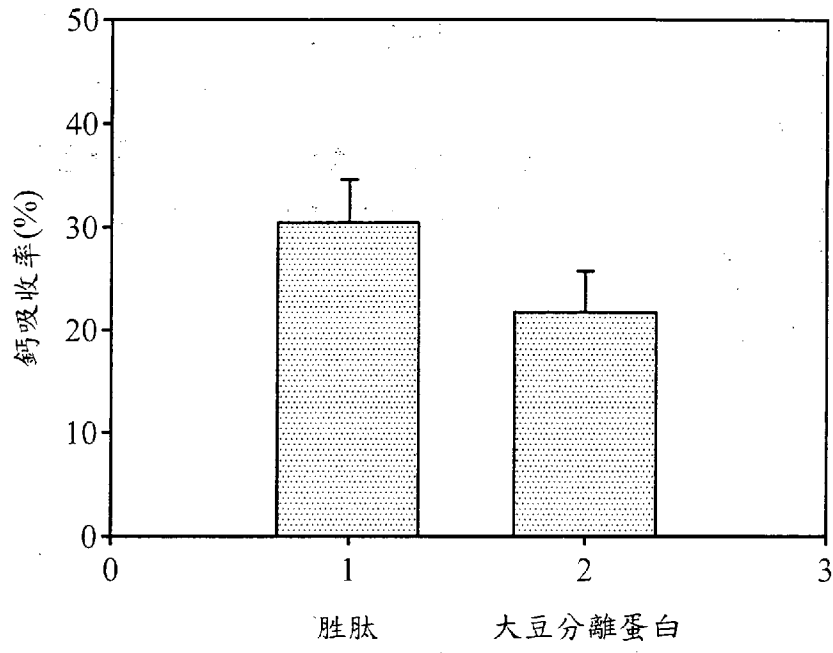
大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法

METHOD FOR PREPARING SOYBEAN PEPTIDE-CALCIUM CHELATE

(57)摘要

本發明係關於一種大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其步驟包括：將一含有大豆蛋白之原料與水混合，以形成一含水量約 45%-65%重量百分比的混合物；再將 *Aspergillus oryzae*、*Aspergillus sojae*、或上述之混合的麴菌菌群接種於上述混合物得到一培養物，其中麴菌菌群的接種量佔大豆蛋白原料重量的約 0.006%-0.05%；接著將上述培養物進行固態發酵得到一發酵產物；之後將發酵產物進行水解反應得到一大豆水解液；再將大豆水解液進行澄清化處理；最後於上述大豆澄清水解液加入鈣離子混合，其中大豆胜肽和鈣離子之莫耳數比為 2：1~0.5：1，並調整含水量及 pH 值，獲得一含有大豆胜肽-鈣螯合物之液體。

A method for preparing soybean peptide-calcium chelate is disclosed. The method of the invention includes mixing a material containing soy protein with water to form a mixture having a water content of about 45-65% by weight, and inoculating the mixture with *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, or the combination thereof in an amount of about 0.006% -0.05% based on the total weight of the soy protein material. Then, the resulting culture is subjected to a solid state fermentation to obtain a fermentation product. After the fermentation product is hydrolyzed, the hydrolysate is subjected to clarification, and then calcium ion is mixed with the clarified hydrolysate with a molar ratio of 2 : 1~0.5 : 1, followed by adjusting the water content and pH to obtain a soybean peptide-calcium chelate solution.



第 3 圖

公告本

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 100136710

※申請日： 100. 10. 11

※IPC 分類：

A23L1/20

(2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A23L1/28

(2006.01)

大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法/Method for Preparing  
Soybean Peptide-calcium Chelate

## 二、中文發明摘要：

本發明係關於一種大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其步驟包括：將一含有大豆蛋白之原料與水混合，以形成一含水量約 45%-65%重量百分比的混合物；再將 *Aspergillus oryzae*、*Aspergillus sojae*、或上述之混合的麴菌菌群接種於上述混合物得到一培養物，其中麴菌菌群的接種量佔大豆蛋白原料重量的約 0.006%-0.05%；接著將上述培養物進行固態發酵得到一發酵產物；之後將發酵產物進行水解反應得到一大豆水解液；再將大豆水解液進行澄清化處理；最後於上述大豆澄清水解液加入鈣離子混合，其中大豆胜肽和鈣離子之莫耳數比為 2:1~0.5:1，並調整含水量及 pH 值，獲得一含有大豆胜肽-鈣螯合物之液體。

## 三、英文發明摘要：

A method for preparing soybean peptide-calcium chelate is disclosed. The method of the invention includes mixing a material containing soy protein with water to form a mixture

having a water content of about 45-65% by weight, and inoculating the mixture with *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, or the combination thereof in an amount of about 0.006% -0.05% based on the total weight of the soy protein material. Then, the resulting culture is subjected to a solid state fermentation to obtain a fermentation product. After the fermentation product is hydrolyzed, the hydrolysate is subjected to clarification, and then calcium ion is mixed with the clarified hydrolysate with a molar ratio of 2 : 1~0.5 : 1, followed by adjusting the water content and pH to obtain a soybean peptide-calcium chelate solution.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第3圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。

## 六、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於大豆胜肽之製備方法，且特別有關於大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法。

### 【先前技術】

大豆的食用有悠久的歷史，大豆的營養價值高，富含蛋白質、纖維，而且存在許多機能性成份維護身體健康，包括植物固醇可以降低膽固醇，異黃酮舒緩婦女更年期症狀，維生素E和皂素提供抗氧化功能。對於素食者更是獲取營養很好的食物選擇。近年來西方社會也大力提倡大豆產品，大豆的健康形象與日俱增。

在華人日常生活中豆漿是非常普遍的食品，但是與牛奶相較，豆漿鈣含量明顯偏低，根據美國農業部資料一般牛奶的鈣含量為 113 毫克/100 公克，豆漿鈣含量僅 39 毫克/100 公克(USDA,2008)。如果在傳統市場或早餐店面的家庭式自製豆漿可能攪水疑慮增加，鈣含量會更低，所獲得鈣更有限。所以對於經常食用豆漿產品的族群攝取鈣量需求特別注意。

鈣在人體生理、生化機能扮演許多重要角色，包括組成骨骼主要元素、血液凝結、肌肉收縮、酸鹼平衡、維護細胞膜的通透性、血壓調控、參與許多酵素反應等，是一不可缺少的營養素。人體生長發育持續著吸取鈣質，儲存”骨本”，一直到 35 至 45 歲達到最高峰，然後隨著年齡增

長骨鈣漸漸流失，女性更年期後流失速度更快(Bronner. et al., 1999)。因此，人終其一生必須時時注意鈣質的攝取，因為鈣質必須從日常膳食中獲取，無法自行製造。根據我國國民營養調查顯示，台灣地區男性平均攝取量為 520 mg，女性平均為 542 mg，若以美國 RDA (1,200 mg)或 RDI (1,300 mg)的標準來衡量，是嚴重攝取不足。基於國人鈣質普遍缺乏，衛生署在 2002 年修訂的「國人膳食營養素參考攝取量」，就大幅修正鈣質的攝取量，從原本的成人每天 600 毫克，提高到 800~1000 毫克(<http://www.doh.gov.tw>)。而且近年來老年骨折頻率增高，與鈣質的攝取量不足，導致骨骼疏鬆有相當大的關聯。據衛生署調查發現，台灣地區六十五歲以上的人口，每九人即有一人罹患骨質疏鬆症，其中女性更高達每四人就有一人(<http://www.doh.gov.tw>)。所以改善骨骼健康，首要任務即是攝取足夠的鈣質。

一般較熟悉的鈣來源是由乳製品提供，但許多人有乳糖不耐症，此外，在台灣地區，乳製品的人均消費量較西方國家少很多，此也是降低鈣攝取總量的原因。

研究發現，乳製品中的酪蛋白 (casein) 在經過胃及腸的蛋白分解酵素分解後會產生抑制鈣離子在鹼性環境下沉澱之胜肽成分，稱之為酪蛋白磷酸肽 (Caseinophosphopeptide, CPP)。鈣離子在小腸的吸收，除了在少部份 (15-20%重量百分比) 在前端的十二指腸部份係需要維生素 D 的主動運輸，大多數鈣離子進入人體循環系統，靠的是空腸和迴腸段的被動運輸 (60-65%重量百分

比)(Bronner, F. 1998. Calcium Absorption—A Paradigm for Mineral Absorption J. Nutr. 128: 917–920 ; Bronner, F. and Pansu, D. 1999. Nutritional Aspects of Calcium Absorption. J. Nutr. 129: 9–12) .由於小腸後段的 pH 值為弱鹼性，因此在含有 SerP-SerP-SerP-Glu-Glu 序列的 CPP 胜肽片段存在時，就可維持鈣離子的溶解狀態並進行穿透腸細胞間隙的被動運輸 (Ferraretto, A.. Signorile, A Gravaghi, C. Fiorilli, A. and Tettamanti, G. 2001. Casein Phosphopeptides Influence Calcium Uptake by Cultured Human Intestinal HT-29 Tumor Cells J. Nutr. 131: 1655–1661) 。為了避免缺乏鈣導致骨質疏鬆等疾病的發生，除了增加鈣的攝取外，增加鈣的吸收率也是一好方法，然而，乳糖不耐症患者不適合利用乳製品中的酪蛋白來促進鈣吸收。

因此將豆漿產品補充鈣源，成為產品開發的重要商機。在技術層面上，強化鈣豆漿在製造時，添加鈣存在加工障礙，因為豆漿中大豆蛋白會因添加的鈣離子引起疏水性聚集現象，進而使大豆蛋白沉澱。解決此種加工問題，添加螯合劑與鈣離子形成穩定結構，降低大豆蛋白沉澱是常用的方法。例如六偏磷酸鈉、檸檬酸鈉、磷酸氫鈉等皆是常用豆漿化學添加物，提高產品穩定性 (Pathomrungrunggul, et al.,2010)。在健康意識提高下，食品加工領域中添加物的使用需格外留意，不必要的化學物添加物應避免，取而代之的天然配料或添加物則是較安心的考量。

過去已有學者提出以化學合成的方式產生單一種促鈣

吸收胜肽，然其成本相當高，較難實際運用（Galzigna, L., Domergue, N., Previero, A. 1998. A synthetic calcium-chelating L-glutamyl-L-serine phosphate (Glu-Ser.P) enhances calcium absorption in the rat. J Pept Res. 52(1):15-18）。另外尚有學者提出以化學添加物做為螯合劑或穩定劑達成豆漿強化鈣之目的（Pathomrungsityoungul, P., Lewis, M.J. and Grandison, A. S. 2010. Effects of calcium-chelating agents and pasteurization on certain properties of calcium-fortified soy milk. Food Chem. 118:808-814; Luhadiya, A.P.C., Yang, D.K., Heisey, M. T. 2006. Calcium fortified beverages. US Patent 6994877 B2），然化學添加物仍有安全上的考量，不比天然螯合劑，且其中 Luhadiya et al.之產品最後的酸鹼值為鹼性 8.25，較難實際飲用。此外亦有學者提出以化學添加物檸檬酸鈉做為螯合劑來製作加鈣豆漿（目野和荒木，2005）。大陸專利 CN 101161114 B 中揭露利用商業蛋白分解酵素水解大豆蛋白產生大豆胜肽來製造大豆胜肽-鈣混合物，但其成本較高。

綜上所述，人們亟需一種低製造成本，並可以讓乳糖不耐症患者食用之增加鈣的吸收率，符合實用性且無安全疑慮的豆漿飲品。

### 【發明內容】

本發明提供一種大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其步驟包括：將一含有大豆蛋白之原料與水混合，以形成一含水量約 45%-65%重量百分比的混合物；將一麴菌菌群接種

於上述混合物得到一培養物，其中上述麴菌菌群包括：*Aspergillus oryzae*、*Aspergillus sojae*、或上述之混合，且上述麴菌菌群的接種量佔上述大豆蛋白原料重量的約0.006%-0.05%；將上述培養物進行固態發酵得到一發酵產物，其中上述固態發酵的條件包括：相對溼度約85%-95%和發酵溫度介於約攝氏23~35度；將上述發酵產物進行水解反應得到一大豆水解液；將上述大豆水解液依序進行澄清化處理及固液分離後得到一大豆澄清水解液；以及於上述大豆澄清水解液直接加入鈣離子混合，其中大豆胜肽和鈣離子之莫耳數比為2:1~0.5:1，並調整含水量至60~65%重量百分比，及pH值介於6.5~7，獲得一含有大豆胜肽-鈣螯合物之液體。

本發明另提供一種大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其步驟包括：將一含有大豆蛋白之原料與水混合，以形成一含水量約45%-65%重量百分比的混合物；將一麴菌菌群接種於上述混合物得到一培養物，其中上述麴菌菌群包括：*Aspergillus oryzae*、*Aspergillus sojae*、或上述之混合，且上述麴菌菌群的接種量佔上述大豆蛋白原料重量的約0.006%-0.05%；將上述培養物進行固態發酵得到一發酵產物，其中上述固態發酵的條件包括：相對溼度約85%-95%和發酵溫度介於約攝氏23~35度；將上述發酵產物進行水解反應得到一大豆水解液；將上述大豆水解液依序進行澄清化處理及固液分離後得到一大豆澄清水解液；將上述大豆澄清水解液與大豆油和卵磷脂均勻混合，其中大豆油之濃度為大豆水解液固形物的2~8%重量百分比，卵磷脂之

濃度為大豆油的 0.01~0.05% 重量百分比，得到一混合物；將上述混合物進行乾燥得到一大豆胜肽粉末；將該大豆胜肽粉末和鈣離子溶於水中，其中該大豆胜肽粉末中之大豆胜肽和鈣離子的莫耳數比例為 2:1~0.5:1，並調整含水量至 60~65% 重量百分比，及 pH 值介於 6.5~7，獲得一含有大豆胜肽-鈣螯合物之液體。

本發明尚提供一種鈣強化豆漿之製備方法，其係將前述之大豆胜肽-鈣螯合物添加於豆漿中。

本發明還提供一種鈣強化豆漿，由前述之鈣強化豆漿之製備方法製造而得，其中上述鈣強化豆漿之鈣含量大於 40mg/100ml。

為了讓本發明之上述和其他目的、特徵、和優點能更明顯易懂，下文特舉較佳實施例，作詳細說明如下：

### 【實施方式】

本發明提供一種大豆胜肽-鈣螯合物的製備方法。在一實施例中，係將大豆粉以麴菌進行固態發酵分解後，再進行水解反應，然後進行澄清步驟，得到澄清之水解液，之後於上述大豆澄清水解液直接加入氯化鈣混合，並調整含水量及 pH 值，獲得一含有大豆胜肽-鈣螯合物之液體。在另一實施例中，可將上述大豆澄清水解液進行一製粉步驟，再將上述大豆胜肽粉和鈣離子加水混合攪拌溶解，調整酸鹼值，製成一含有大豆胜肽-鈣螯合物的胜肽產物。

本發明是利用大豆來製造大豆胜肽，其原理是利用

*Aspergillus oryzae*、*Aspergillus sojae*、或上述菌種之混合的麴菌菌群來處理含有大豆蛋白的原料，以進行固態發酵，其中上述大豆蛋白的來源包括但不限於大豆粉、脫脂大豆粉、脫脂大豆片、大豆分離蛋白、大豆粕、豆餅、或上述之組合。在一實施例中，上述麴菌接種量佔原料總重量的約 0.006%-0.05%，較佳約 0.008%~0.02%，更佳約 0.013%。在上述固態發酵中，可使用各種緩衝液，例如：檸檬酸-檸檬酸鈉、乙酸-乙酸鈉、 $K_2HPO_4$ - $KH_2PO_4$ 、 $Na_2HPO_4$ - $NaH_2PO_4$ 、硼酸-氫氧化鈉、三羥甲基甲胺基丙磺酸、N,N-雙(2-羥乙基)甘氨酸、三羥甲基氨基甲烷、N-三-(羥甲基)甲基氨基乙酸、4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸半鈉鹽、N-三(羥甲基)甲基-2-氨基乙磺酸、3-(N-嗎啡啉)乙磺酸 哌嗪-N,N'-二(2-乙磺酸)、二甲基胍酸 檸檬酸鈉、2-嗎啡啉乙磺酸等，調節固態發酵所需的水分，其所需的水分佔原料與水混合物總重的約 45%-65%，較佳約 50%~60%，更佳約 55%。在一實施例中，上述固態發酵可在 pH 值約 5~7；相對溼度約 85%-95%；發酵溫度介於約攝氏 23~35 度；發酵的時間約 2~5 天的條件下進行。

接著將上述發酵產物進行水解反應，以得到大豆水解液。在一實施例中，上述水解反應的進行步驟包括：將上述發酵產物與水以重量比約 1:1~1:3 的比例混合，較佳約 1:2；水解的時間為約 3-24 小時，較佳約 6 小時；水解溫度介於約攝氏 30-65 度，較佳約攝氏 45 度。之後，再提高反應溫度至約攝氏 90-95 度以抑制酵素活性。

之後再將上述大豆水解液進行固液分離等澄清化處

理。例如，可先使用壓榨機，以油壓方式使之固液分離。然後液體加熱 90°C、10 分鐘後產生的沉澱，再以高速離心機去除沉澱，最後使用板框式壓濾機或是使用微過濾膜過濾水解液，並收集含有上述含有促進鈣吸收的胜肽之水解液。

接著將所得之水解液與鈣離子進行螯合，亦可將所得之水解液經過一製粉步驟再與鈣離子進行螯合製備成各種形式之大豆胜肽-鈣螯合物的胜肽產物。應可瞭解的是，本領域技術人員亦可使用任何其他適當的固液分離方式，以及其他適當的過濾手段。

在一實施例中，上述水解液與鈣離子進行螯合的步驟，可包括：於上述大豆澄清水解液直接加入鈣離子混合，上述鈣離子的來源可擇自下列所組成之群組，例如但不限於：無機鈣，例如氯化鈣、碳酸鈣、磷酸鈣，以及有機鈣，例如乳酸鈣、檸檬酸鈣、葡萄糖酸鈣、以及上述之組合，其中大豆胜肽和鈣離子之混合的莫耳數比為 2:1~0.5:1，較佳 1:1，並調整含水量至 60~65%，較佳 65%，及 pH 值介於 6.5~7，較佳 6.7，獲得一含有大豆胜肽-鈣螯合物之液體。

在另一實施例中，上述水解液與鈣離子進行螯合的步驟，可包括：將上述澄清大豆水解液使用真空減壓濃縮機處理以取得高濃度大豆水解液（固形物 40-60%重量百分比），添加大豆油為 2-8%，最佳約 5%重量百分比（以大豆水解液固形物為 100%重量百分比）和卵磷脂為 0.01%-0.05%，最佳約 0.02%重量百分比（以大豆油重為

100%重量百分比)，使用超高速均質機充分混合，接著以噴霧乾燥機進行乾燥，條件為入口溫度 145-160°C，較佳 150-155°C，出口溫度 85-110°C，較佳 90-105°C，轉速 35-40Hz，較佳 40Hz，得到一大豆胜肽粉，接著將上述大豆胜肽粉和鈣離子加水於溫度 25-50°C，較佳室溫下混合攪拌溶解，上述鈣離子的來源可擇自下列所組成之群組，例如但不限於：無機鈣，例如氯化鈣、碳酸鈣、磷酸鈣，以及有機鈣，例如乳酸鈣、檸檬酸鈣、葡萄糖酸鈣、以及上述之組合，其中胜肽螯合鈣的大豆胜肽和鈣離子的莫耳數比例為 2：1~0.5：1，較佳為 1:1，並調整含水量至 60~65%，較佳 65%，及調整酸鹼值 pH 6.5~7，較佳為 pH 6.7 製成大豆胜肽-鈣螯合物的胜肽產物。

在一實施例中，本發明鈣強化豆漿之製備可包括：取不同量之由上述製程所大豆胜肽-鈣螯合物添加至市售豆漿混合攪拌。採用本發明之製備方法所得之鈣強化豆漿的鈣含量可大於約 40mg/100ml，較佳介於約 40~90 mg/100ml。在一鈣含量 40mg/100ml 的市售豆漿的實施例中，當添加鈣含量達 60mg/100ml 豆漿時，豆漿容易變稠，大豆蛋白因鈣離子產生凝聚現象，濃度愈高凝聚現象愈顯著，且易有蛋白沉澱分層產生。較佳可使添加鈣含量 50mg/100ml 豆漿以下，其外觀、口感皆佳，且此時所得之鈣強化豆漿產品最高鈣含量約可達 90mg/100ml，接近牛奶的鈣含量（約 113 mg/100ml）。

本發明所提供之鈣強化豆漿之製備方法採用的大豆蛋白原料取得容易且成本低廉，並可以讓乳糖不耐症患者食

用之增加鈣的吸收率，乃符合實用性且無安全疑慮的豆漿飲品，可提供消費者高於一般豆漿，甚至接近於牛奶所含之鈣含量。

### 【實施例】

#### 實施例 1. 促進鈣吸收大豆胜肽之製造

以脫脂大豆粉為原料，接種 *Aspergillus sojae*，其中麴菌接種量為大豆原料總重量的 0.013%，以重量百分濃度 0.25% 的  $\text{CH}_3\text{COONa}$  / 0.25%  $\text{HNaSO}_3$ 、 $\text{pH}=5.8$  之緩衝液調節水分至 55%，在  $25\sim 30^\circ\text{C}$ 、相對濕度 95% 以上之環境培養 2 天。

接著進行水解反應，將大豆麴加水混合，其中大豆麴與水的比例為 1:2，水解時間為 6 小時，水解溫度  $45^\circ\text{C}$ ，再提高溫度至  $90\text{-}95^\circ\text{C}$ ，維持 10 分鐘，以抑制酵素活性。

接著進行水解液的澄清化處理，先使用壓榨機，將大豆水解物置於濾袋中，平鋪於壓榨槽，以油壓方式使之固液分離。然後液體加熱  $90^\circ\text{C}$ 、10 分鐘後產生的沉澱，再以遠心高速離心機（轉速 16000rpm，台中，泉泰公司製造）去除沉澱，最後使用板框式壓濾機過濾（Seitz Orion，德國製造）或是使用微過濾膜（ $0.3\ \mu\text{m}$ ）過濾水解液，得到澄清之大豆水解液。

#### 實施例 2. 大豆水解液抑制碳酸鈣沉澱之效果

根據 Jin 等人（*J. Agnc. Food Chem.* 2000）碳酸鈣結晶實驗略加修改，將 1 ml 樣品與 1 ml 濃度 40 mM 的氯化鈣

和 1.2 ml 蒸餾水混合，然後加入 0.8 ml 濃度 40 mM 碳酸氫鈉後反應 1 小時，並使用 0.1N 氫氧化鈉滴定維持 pH=8.5。將結束反應的混合液進行離心（離心力為 2000 g），取上清液使用測鈣試劑組（台灣默克公司產物）測量鈣濃度，此為可溶鈣含量。

抑制碳酸鈣結晶實驗中，由實施例 1 所得之大豆蛋白水解液對於碳酸鈣結晶有抑制效果，此效果的評估是在鹼性條件（pH=8.5）下，完全抑制碳酸鈣結晶的最低樣品濃度，如果發生碳酸鈣沉澱，上清液的鈣含量則降低；反之，上清液的鈣含量則不變。第 1 圖係為大豆蛋白水解液與酪蛋白磷酸肽比較其抑制碳酸鈣結晶之效果，其結果顯示有助鈣吸收的酪蛋白磷酸肽蛋白（CPP）最低抑制濃度為  $1.76 \times 10^{-4} \%$ ，而本發明之大豆蛋白水解液的蛋白最低抑制濃度為  $2.16 \times 10^{-3} \%$ 。

### 實施例 3. 大豆水解液抑制之效果

在本實施例中，選擇不同蛋白來源物質做比較，將 1 ml 樣品與 1 ml 濃度 40mM 的氯化鈣和 1.2 ml 蒸餾水混合，然後加入 0.8 ml 濃度 40 mM 碳酸氫鈉後反應 1 小時，並使用 0.1N 氫氧化鈉滴定維持 pH=8.5。將結束反應的混合液進行離心（離心力為 2000 g），取上清液使用測鈣試劑組（台灣默克公司產物）測量鈣濃度，並在鹼性條件（pH=8.5）下，完全抑制碳酸鈣結晶的最低樣品濃度作為可溶鈣含量的評估標準。

第 2 圖係為不同蛋白源物質其抑制碳酸鈣結晶之效

果。其中游離氨基酸如麩氨酸鈉鹽 (monosodium glutamate, MSG)、甘氨酸 (glycine) 抑制效果較差；接著是蛋白質如大豆分離蛋白 (isolated soy protein, ISP)、酪蛋白 (casein)，雞精 (essence of chicken, 市售產物，為雞肉蛋白提取物)，其抑制碳酸鈣沉澱之效果優於前兩類；而本發明之大豆蛋白水解液 (soy hydrolysate) 最佳。可見單一的游離氨基酸或者是完整蛋白質與鈣離子螯合的情形不如蛋白質水解物，蛋白質經過程度不同的水解後，它們具有較好的抑制鈣沉澱效果。因此以胜肽型式的蛋白食材例如雞精，還有本發明利用麴菌酵素分解大豆蛋白水解液皆是不錯的抑鈣沉澱輔劑。

#### 實施例 4. 促鈣吸收胜肽對動物鈣吸收的效果

實驗方式類似賴愛姬的論文 (臺灣營養學會雜誌, 第 21 卷 2 期, 1996), 但略做修改, 採用成年雌性鼠 (Blw:SD; 購自樂斯科生物科技股份有限公司) 飼養於各自獨立的代謝籠中, 室溫維持在  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 光照 12 小時, 禁食一天待體內食物排除後, 分別提供添加大豆分離蛋白為對照組或促鈣吸收胜肽做為實驗組, 每組樣本數各為 10 隻, 令動物任意攝食, 每日收取糞便, 6 天後取走飼料, 秤其所吃的總量, 再等待一天排除吃的飼料後, 收集及分析其排出糞便中的鈣含量。鈣的分析法為以硝酸做硝化反應後, 以原子吸光儀測定。

鈣的總攝取量以吃的飼料量乘飼料中鈣的含量推估。  
鈣的吸收率為 (總攝取量 - 糞便中的鈣含量) / 總攝取量。

第 3 圖顯示餵食促鈣吸收胜肽與大豆蛋白飼料老鼠的鈣吸收率。比較大豆蛋白或促鈣吸收胜肽的吸收率發現，促鈣吸收胜肽的吸收率顯著的較大豆蛋白高，平均值  $\pm$  95% 信任區間，兩者間具有顯著差異 ( $p < 0.05$ )。

表 1、大豆分離蛋白（對照組）及促鈣吸收胜肽（實驗組）之飼料配方（每 2000 克飼料中，各成分的量，單位為克）。

	實驗組	對照組
蛋白質 (Protein)		
促進鈣吸收的胜肽產物	500	0
大豆分離蛋白 (ISP)	0	334
酪蛋白 (Casein)	108	108
大豆油 (Soy oil)	200	200
蔗糖 (Sucrose)	1108	1108
羧甲基纖維素 (CMC)	0	166
礦物質 (Mineral)	60	60
維生素 (Vitamin)	20	20
膽鹼 (Choline)	4	4
總合 (Total)	2000	2000

#### 實施例 5. 大豆胜肽粉末之製備方法

將實施例 1 中所得之澄清大豆水解液使用真空減壓濃縮機處理取得高濃度大豆水解液（固形物 40%），添加大豆油為大豆水解液固形物總重量的 5% 和卵磷脂為大豆油

總重量的 0.02%，使用超高速均質機充分混合，接著以噴霧乾燥機進行乾燥，條件為入口溫度 150°C，出口溫度 90°C，轉速 40Hz，製成大豆胜肽粉末。

#### 實施例 6. 鈣強化豆漿之製備

將實施例 5 所得之大豆胜肽粉 39.42 公克和 9 公克氯化鈣加水 90 公克於室溫下混合攪拌溶解，大豆胜肽粉、氯化鈣、水形成的胜肽螯合鈣的比例為 4.38:1:10(重量比)，調整酸鹼值 pH6.7，然後取不同量之螯合鈣溶液添加至市售豆漿（無糖豆漿，義美公司生產製造，台灣）混合攪拌。最後產品的感官品評和鈣含量如表所示(表 1)，測量鈣濃度使用測鈣試劑組(台灣默克公司產品)。在添加鈣含量 60mg/100ml 豆漿時，明顯感覺豆漿變稠，大豆蛋白因鈣離子產生凝聚現象，濃度愈高凝聚現象愈顯著，且有蛋白沉澱分層產生。最佳的產品品質是在添加鈣含量 50mg/100ml 以下，它們的外觀、口感皆佳，鈣強化豆漿產品最高鈣含量接近牛奶(90mg/100ml；牛奶鈣含量大約 113 mg/100ml)。

表 1、不同鈣添加量至豆漿之感官品評

添加鈣含量 mg/100ml 豆漿	外觀	口感
30	均勻	平順
40	均勻	平順
50	均勻	濃郁
60	微顆粒狀	黏稠感

70	微顆粒狀	黏稠感
80	微顆粒狀	黏稠感
100	分層(隔天)	豆腐泥感覺

義美公司無糖豆漿原始鈣含量 40mg/100ml

雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作些許之更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

**【圖式簡單說明】**

第 1 圖係為大豆蛋白水解液與酪蛋白磷酸肽比較其抑制碳酸鈣結晶之效果。

第 2 圖係為不同蛋白源物質其抑制碳酸鈣結晶之效果。

第 3 圖顯示餵食促鈣吸收胜肽與大豆蛋白飼料老鼠的鈣吸收率，平均值  $\pm$  95% 信任區間，兩者間具有顯著差異 ( $p < 0.05$ )。

**【主要元件符號說明】**

無。

P20 ~ 22  
修正本 修正  
104年 / 月 / 日 補充

七、申請專利範圍：

1. 一種大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其步驟包括：

將一含有大豆蛋白之原料與水混合，以形成一含水量約 45%-65%重量百分比的混合物；

將一麴菌菌群接種於該混合物得到一培養物，其中該麴菌菌群包括：*Aspergillus oryzae*、*Aspergillus sojae*、或上述之混合，且該麴菌菌群的接種量佔該大豆蛋白原料重量的約 0.006%-0.05%；

將該培養物進行固態發酵得到一發酵產物，其中該固態發酵的條件包括：相對溼度約 85%-95%和發酵溫度介於約攝氏 23~35 度；

將該發酵產物進行水解反應得到一大豆水解液；

將該大豆水解液依序進行澄清化處理及固液分離後得到一大豆澄清水解液；以及

於該大豆澄清水解液直接加入鈣離子混合，其中大豆胜肽和鈣離子之莫耳數比為 2：1~0.5：1，並調整含水量至 60~65%重量百分比，及 pH 值介於 6.5~7，獲得一含有大豆胜肽-鈣螯合物之液體。

2. 一種大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其步驟包括：

將一含有大豆蛋白之原料與水混合，以形成一含水量約 45%-65%重量百分比的混合物；

將一麴菌菌群接種於該混合物得到一培養物，其中該

麴菌菌群包括：*Aspergillus oryzae*、*Aspergillus sojae*、或上述之混合，且該麴菌菌群的接種量佔該大豆蛋白原料重量的約 0.006%-0.05%；

將該培養物進行固態發酵得到一發酵產物，其中該固態發酵的條件包括：相對溼度約 85%-95%和發酵溫度介於約攝氏 23~35 度；

將該發酵產物進行水解反應得到一大豆水解液；

將該大豆水解液依序進行澄清化處理及固液分離後得到一大豆澄清水解液；

將該大豆澄清水解液與大豆油和卵磷脂均勻混合，其中大豆油之濃度為大豆水解液固形物的 2~8% 重量百分比，卵磷脂之濃度為大豆油的 0.01~0.05% 重量百分比，得到一混合物；

將該混合物進行乾燥得到一大豆胜肽粉末；

將該大豆胜肽粉末和鈣離子溶於水中，其中該大豆胜肽粉末中之大豆胜肽和鈣離子的莫耳數比例為 2：1~0.5：1，並調整含水量至 60~65% 重量百分比，及 pH 值介於 6.5~7，獲得一含有大豆胜肽-鈣螯合物之液體。

3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其中該鈣離子的來源係擇自有機鈣、無機鈣、及上述之組合，其中該無機鈣係擇自下列所組成之群組：氯化鈣、碳酸鈣、磷酸鈣、以及上述之組合，該有機鈣係擇自下列所組成之群組：乳酸鈣、檸檬酸鈣、葡萄糖酸鈣、以及上述之組合。

4. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其中該含有大豆蛋白之原料包括大豆粉、脫脂大豆粉、脫脂大豆片、大豆分離蛋白、大豆粕、豆餅、或上述之組合。

5. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其中該固態發酵係在 pH 值約 5~7 下進行。

6. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其中該固態發酵的時間約 2~5 天。

7. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其中在該水解反應中，該發酵產物與水混合重量比為約 1:1~1:3。

8. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其中該水解反應的水解時間為約 3-24 小時。

9. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其中該水解反應的水解溫度介於約攝氏 30-65 度。

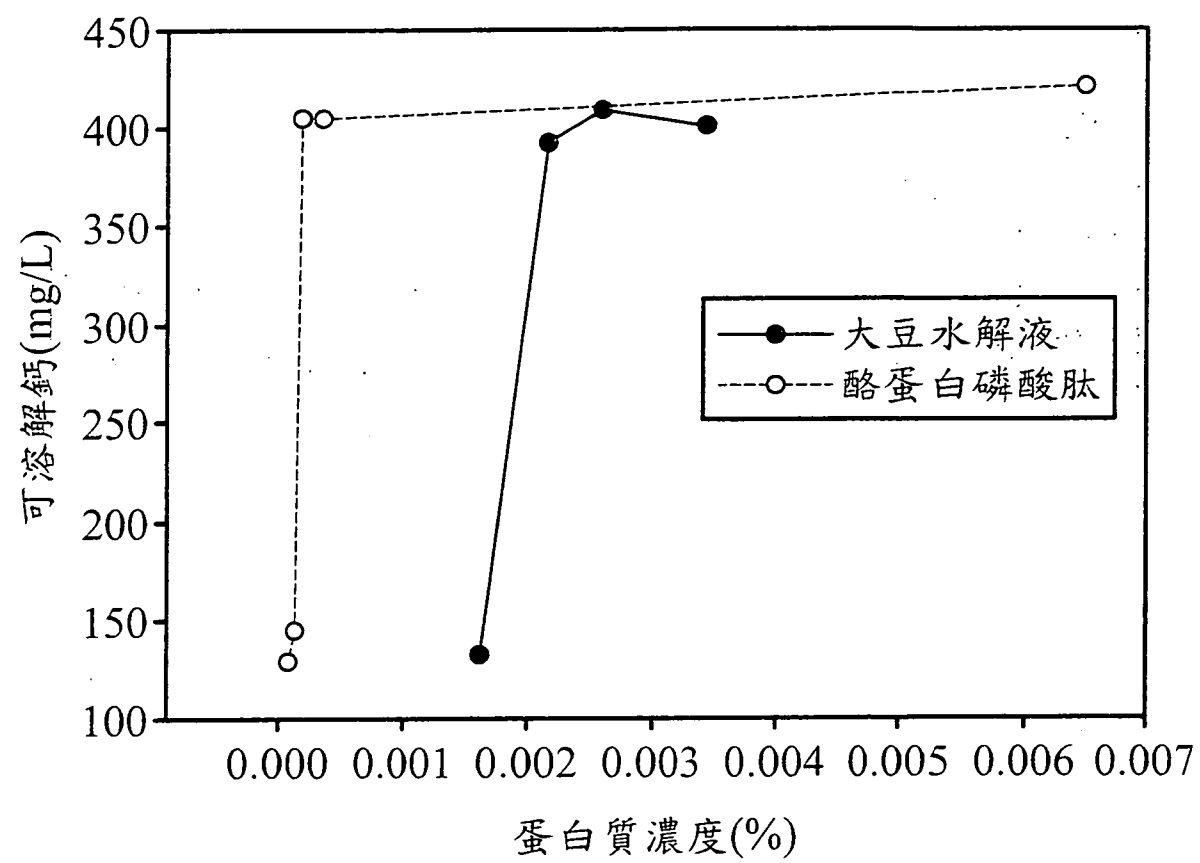
10. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之大豆胜肽-鈣螯合物之製備方法，其中在該水解反應完成後，更包括提高反應溫度至約攝氏 90-95 度以抑制酵素活性。

11. 一種鈣強化豆漿之製備方法，其係將如申請專利範圍第 1 或 2 項中任一項所述之大豆胜肽-鈣螯合物添加於豆漿中，其中該鈣強化豆漿之鈣含量介於 40~90 mg/100ml。

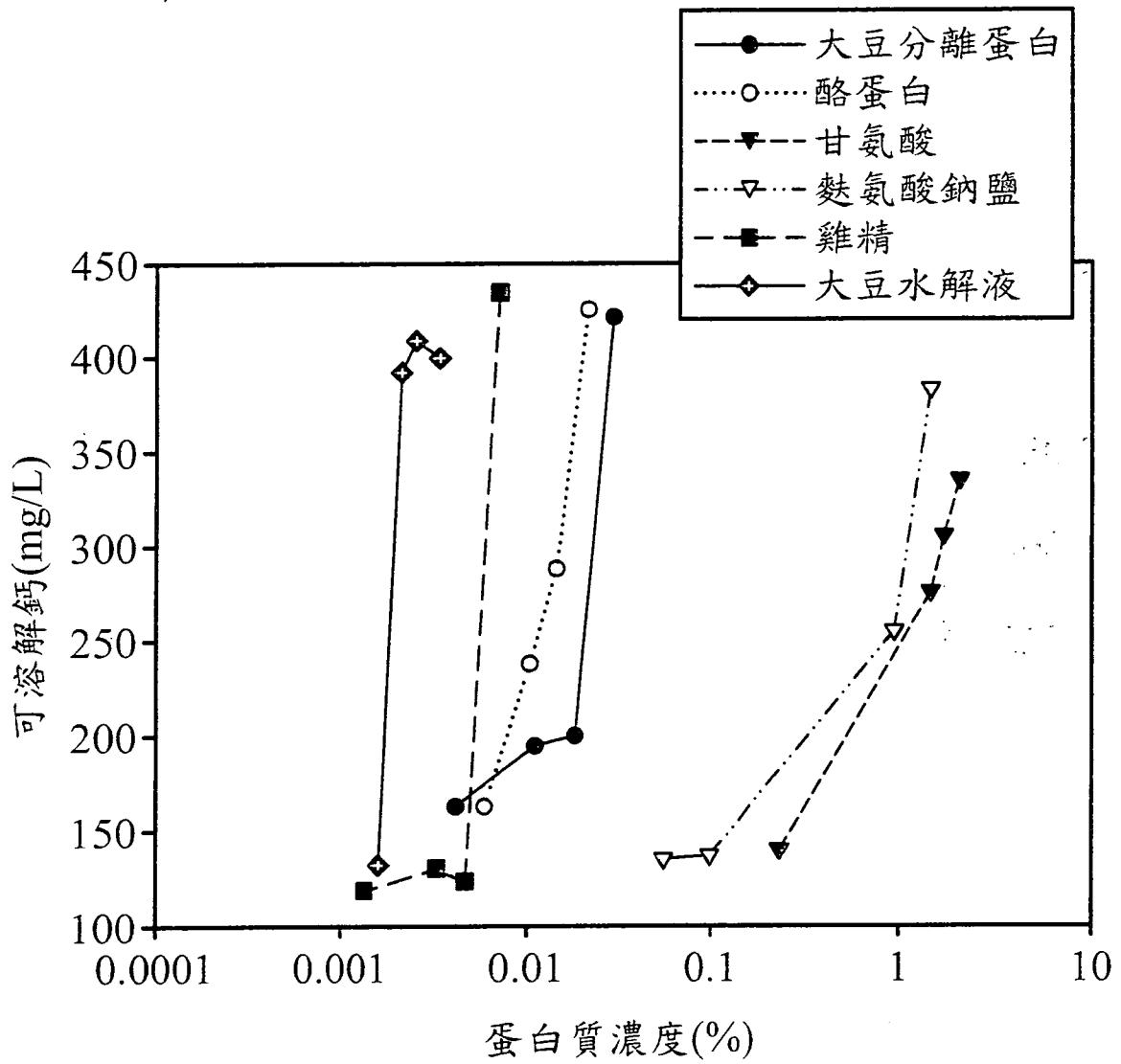
12. 一種鈣強化豆漿，由申請專利範圍第 11 項所述之鈣強化豆漿之製備方法製造而得，其中該鈣強化豆漿之鈣含量介於 40~90 mg/100ml。

八、圖式：(如後所示)

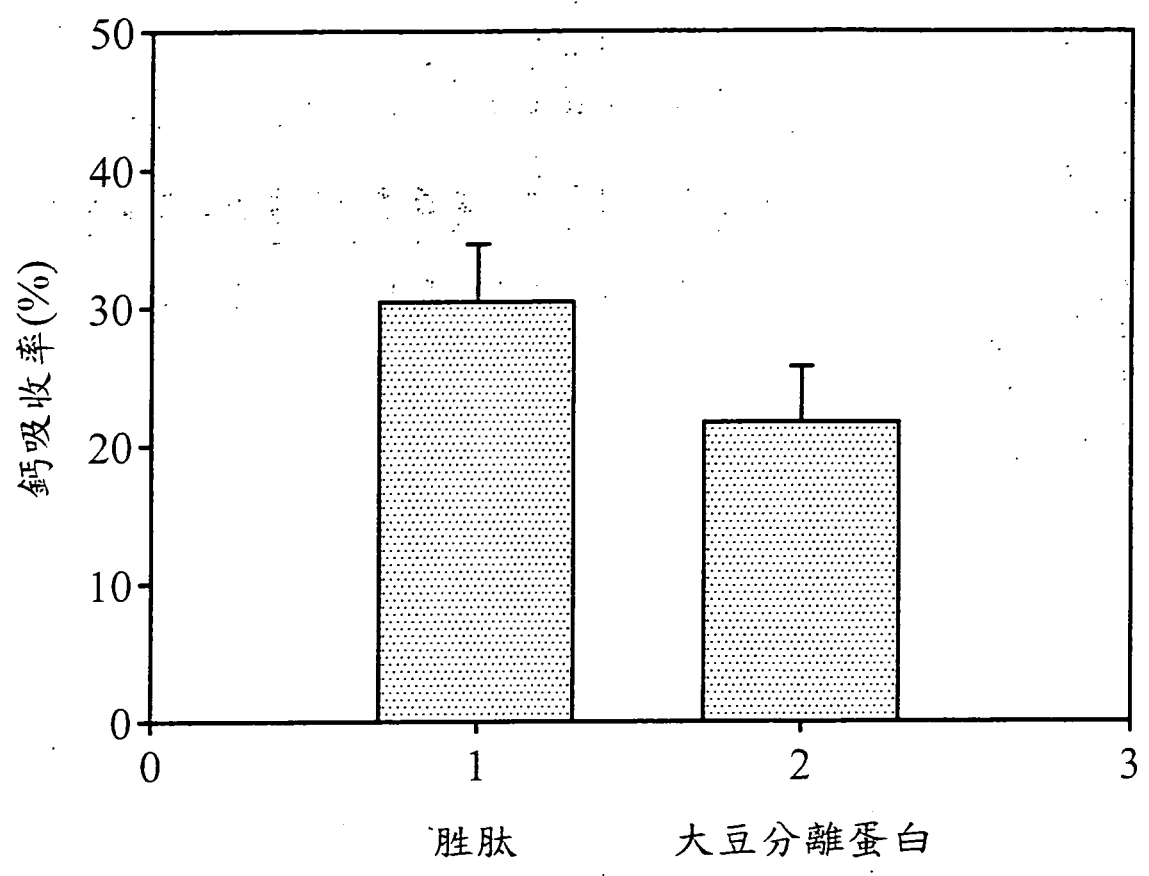
公告本



第 1 圖



第 2 圖



第 3 圖