

# 含 $\gamma$ -胺基丁酸保健機能性食品規格基準

## 一、適用範圍

本規格基準適用於宣稱富含  $\gamma$ -胺基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid; GABA) 之天然食品或以 GABA 富化技術(GABA enrichment technology)處理生成之天然食品為原料所製成之食品。

## 二、定義

### (一) $\gamma$ -胺基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid，簡稱 GABA)：

GABA 其分子式為  $C_4H_9NO_2$  是在丁酸碳鏈的  $\gamma$  位置上帶有一個胺基 ( $-NH_2$ )的非蛋白構成胺基酸，極易溶於水、不溶於醇、醚、苯，耐高溫，不易受熱破壞，有利於加工應用。GABA 以游離的形式廣泛分佈於動植物，是一種神經傳導物質，除具有降血壓之功效外，還有抗痙攣及抗憂鬱之功效。

### (二) GABA 富化技術(GABA enrichment technology)：

一般植物組織的 GABA 含量很低，而許多研究指出只要透過一些處理例如催芽、冷或熱衝擊、增加鈣濃度、調整 pH 值等刺激時 GABA 會因防禦作用快速且大量在植物中累積而達到 GABA 富化之目的。亦可利用接種微生物發酵並選擇適當培養條件增加 GABA 含量。

### (三) 本基準所指之含 $\gamma$ -胺基丁酸保健機能性食品，包含經過發酵或發芽的食品和穀類如發芽糙米、茶葉(GABA tea)、發酵大豆等天然食品及其衍生物之各式產品型態者。

## 三、產品規格

### (一) 外觀性狀：

應具原有之風味及色澤，不得有腐敗、變色、異味、污染、發霉或異物者。

(二) 規格成分含量：

1. 符合標示。
2. 發芽糙米與發酵大豆產品中  $\gamma$ -胺基丁酸含量須達 15 mg/100g 產品以上；茶葉產品(GABA tea)中  $\gamma$ -胺基丁酸含量須達 150 mg/100g 產品以上。

(三) 微生物限量

應符合衛生署公告之「食品衛生管理法」及「食品衛生標準」。

(四) 重金屬：

1. 發芽糙米產品者，應符合衛生署公告之「食米重金屬限量標準」規定。

項 目	限 量
汞	0.05 ppm
鎘	0.4 ppm
鉛	0.2 ppm

2. 應符合衛生署公告之相關規定：重金屬最大容許量為 20 ppm(以鉛計)；砷最大容許量為 2 ppm。

(五) 殘留農藥：

應符合衛生署公告之「殘留農藥安全容許量」。

(六) 包裝：

食品器具、容器、包裝：應符合衛生署公告之「食品衛生標準」。

(七) 其他：

應符合衛生署公告之「食品中黃麴毒素限量標準」規定。

#### 四、標示

(一) 應符合衛生署公告之「食品衛生管理法」及相關規定。

(二) 應列出  $\gamma$ -胺基丁酸之含量。

## 五、檢驗方法

### (一) 裝置及試藥

1. 酒精(25%)。
2. 濾紙：whatman 1號。
3. sulfosalicylin (3%)。
4. 濾膜(0.45  $\mu\text{m}$ )。
5. 離心機。
6. 濃縮機。
7. 胺基酸自動分析儀：
  - (1)分析管柱：HITACHI #2622SC-PF，4.6 mm i.d. x 60 mm
  - (2)ammonia filter column：HITACHI #2650L，4.6 mm i.d.x 40 mm
  - (3)pump1流速：0.35 mL/min，pump2流速：0.30 mL/min
  - (4)分析管柱溫度：50 $^{\circ}\text{C}$ ，呈色溫度：135 $^{\circ}\text{C}$
8. 胺基酸混合標準品：混合標準液Wako AN-II型與B型
9. asparagine 標準品
10. tryptophan 標準品
11. 緩衝液：MCI L-8500 PF-1~PF-5
12. 呈色液：Wako L-8500 148-05053 ninhydrin solution，Wako L-8500 146-05054 buffer solution

### (二) 方法

1. 樣品前處理
  - (1) 稱適量樣品(粉末樣品)於100 mL之燒杯中；液體樣品由(7)開始進行。
  - (2) 加入25%之酒精25 mL。
  - (3) 蓋上保鮮膜後均勻攪拌30分鐘。
  - (4) 如果蛋白質含量高則以酸鹼調整pH 4.5，以沉澱蛋白質。
  - (5) 以3000 rpm離心10分鐘。
  - (6) 以whatman 1號濾紙過濾。

- (7) 濾液濃縮至乾。
  - (8) 加入1 mL 3% sulfosalicylin。
  - (9) 加入少許二次水，濃縮至乾，重覆此步驟4次。
  - (10) 以0.02N HCl定量。
  - (11) 以0.45  $\mu\text{m}$ 濾膜過濾。
2. 標準品之配製
- (1) 購買混合標準液Wako AN-II型與B型。
  - (2) 配製asparagine 標準液( 2.5  $\mu\text{mol/mL}$  )：取asparagine 0.0938 g 以0.02 N HCl定量至250 mL。
  - (3) 配製tryptophan 標準液 ( 2.5  $\mu\text{mol/mL}$  )：取tryptophan 0.1276 g 以0.02 N HCl定量至250 mL。
  - (4) 取混合標準液Wako AN-II型與B型之二種標準液、asparagine 標準液與 tryptophan標準液各1 mL，以0.02 N HCl定量至25 mL即為上機混合標準溶液。
  - (5) 將上機混合標準溶液以0.45  $\mu\text{m}$ 濾膜過濾，以1.5 mL小玻璃瓶分裝1 mL密封後冷藏備用
3. 進行胺基酸自動分析儀分析。

### (三) 計算

1. 將樣品波峰面積與標準品(單點)波峰面積進行比對計算。
2. 胺基酸(mg/100g) = (樣品面積 / 標準品面積) x 稀釋倍數 x 胺基酸分子量 x 標準品濃度 / 10000 / 樣品重量

## 六、補充說明資料

- (一) GABA 之特性：以游離的形式廣泛分佈於動植物，近年來在很多脊椎動物、非脊椎動物都相繼發現，也存在於各種植物成分，像是根瘤、發芽之種子、和葉子。GABA 是人體必要的成分，在人體可以自然產生和合成的一種胺基酸，主要存在人體的小腦皮質、脊髓和視網膜中，是由麩氨酸(Glutamine)及葡萄糖所組成，許多經過發酵或發芽的食品和穀類如泡菜、醃漬物、味噌、納豆、發芽糙米等都含有豐富的 GABA；在一些微生物中也發現 GABA，尤其在其發芽之孢子中。在高等植物 GABA 主要由 L-glutamate (L-Glu)經麩胺酸脫羧酶(glutamate decarboxylase:簡稱 GAD)所催化的  $\alpha$ -脫羧作用而來。種子發芽及微生物發酵亦會生成 GABA。在大部分生物體內其所扮演之角色尚未完全瞭解，目前所知的是 GABA 為脊椎動物神經系統中抑制神經傳導之物質，具有兩個 receptor – GABA<sub>A</sub>、GABA<sub>B</sub>。GABA<sub>A</sub> 在受刺激後，會增加突觸後膜得氯離子的傳導而抑制突觸後電位，麻痺末梢神經，刺激交感神經活動及刺激腎上腺素分泌兒茶酚胺(catecholamine) 而加速較長效的降血壓作用，GABA<sub>B</sub> 受刺激時則會抑制神經元的活動，但其伴隨著離子活動仍未清楚。
- (二) 近年來的研究更充分證明紅麴至少具有下列四種確實的醫療功效：降血壓(GABA)，降膽固醇(monacolin K)及天然抗氧化物並可強化肝臟功能等保健成分。紅麴的代謝產物 GABA 及乙醯膽鹼(acetylcholin)具降血壓作用，乙醯膽鹼由於易被體內之乙醯膽鹼酵素(cholinesterase)所分解而破壞，降血壓效果無法持久，GABA 是一種神經傳導物質，除具有降血壓之功效外，還有抗痙攣及抗憂鬱之功效，同時因其耐熱性佳，故在食品加工過程中不易被破壞。將味噌製造配方裡的 1/5 米麴，改以紅麴取代，所製產品在色香味上均優於一般味噌。同時由於紅麴具有抑制雜菌的作用，可以將食鹽用量由常用的 12.5%降至 10%而不會腐敗，製出低鹽分的保健味噌。
- (三) 佳葉龍茶(GABA tea)：佳葉龍茶為台灣之一種新興茶，其所有的生物活性成分幾乎與綠茶相同，含有較高量的 GABA(150~370 mg/100 g)，是

影響血壓、神經系統與心血管系統的重要物質；其 GABA、丙胺酸、氫離胺酸、白胺酸及異白胺酸等含量皆顯著高於綠茶，但麩胺酸、天門冬酸及苯丙胺酸含量則較低。影響佳葉龍茶品質變化最大的因子是厭氧發酵的次數，尤以 GABA 含量受發酵次數影響最顯著。採用三次厭氧和二次好氣交互處理，最終 GABA 含量為 154.99 mg/100g，高於一次厭氧處理之 GABA 含量(127.28 mg/100g)，而有氧攪拌則有助於 GABA 含量的提高，且一次有氧攪拌至三次厭氧發酵過程中總游離胺基酸和 GABA 含量皆呈上升的趨勢，相反地總多元酚含量則降低。

(四) 發芽糙米：糙米保存了最完整的營養，含豐富的維生素與微量元素，如蛋白質、脂肪、纖維及維生素 B<sub>1</sub> 等含量均比白米高，並含有多量的膳食纖維。米糠層中含有維生素 B 群、維生素 E 及各種營養成分，營養多存於糠層與胚芽中。糙米在適當環境下生長出 1~0.5mm 的芽，因酵素作用產生 GABA 與植酸等機能性成分，可預防老年癡呆症、抑制血壓上升、促進腦的代謝作用等功能。利用低溫除濕乾燥機之自動加熱、除濕功能，讓發芽糙米在除濕時，溫度從乾燥溫度下降至 8°C，來增加刺激麩胺酸脫羧酶(glutamate decarboxylase:簡稱 GAD)之活性；實驗結果顯示以低溫除濕 15°C 來乾燥發芽後的糙米比起恆溫恆濕乾燥含有更高的機能性成分，可以使 GABA 含量由原來的 15.49 mg/100g 增加至 25.91 mg/100g，增加了 67%的含量。並且在除濕時間增加下，GABA 的含量有增加的趨勢，顯示 GABA 對於冷刺激有蓄積的效果。

(五) 發酵大豆：以市售的大豆為原料，製成豆漿，利用五種混合乳酸菌 (*Lactobacillus casei*、*Lactobacillus acidophilus*、*Streptococcus thermophilus*、*Lactobacillus bulgaricus*、*Bifidobacterium longum*)於 42°C 下發酵 0 到 30 小時，豆漿的 GABA 隨著發酵時間的延長而增加，由 93.9 增加到 198.4 mg/100g。Tempeh 是印尼爪哇島特有的傳統食品，將黃豆去皮煮熟後接種真菌(*Rhizopus oligosporus*)發酵，成品呈現白色糕狀，可以看到清楚的黃豆紋路，吃起來有豆香，發酵 24 小時後 GABA 含量增加至 21.4 mg/100g

(六) 桑葉茶(GABA tea):以桑葉調製的桑葉茶，其 GABA 含量高達 430 ppm，

這種對人體降血壓、去躁鬱和安神極有助益的天然成分，桑葉 GABA tea 近似日本抹茶的口感，使得桑葉 GABA tea 變成一種熱門的養生飲品。

(七) 相關檢驗項目之檢驗方法如下表：

項 目	檢 驗 方 法
重 金 屬	1.食品中重金屬之檢驗方法--鎘之檢驗(二)(中華民國 92 年 4 月 4 日署授食字第 0929206232 號) 2.食品中重金屬檢驗方法--鉛之檢驗(二)(中華民國 92 年 12 月 23 日署授食字第 0929227157 號) 3.食品中重金屬檢驗方法—汞之檢驗(二)(中華民國 93 年 1 月 8 日署授食字第 0939300138 號) 4.AOAC999.10 5.AOAC999.11
殘留農藥	食品中殘留農藥檢驗方法-多重殘留分析方法(三)(中華民國 92 年 12 月 23 日署授食字第 0949424750 號)
黃麴毒素	食品中黃麴毒素檢驗法 CNS 4090 N6097(中華民國 86 年 08 月 25 日)
生菌數	食品微生物之檢驗法—生菌數之檢驗 CNS 10890 N6186(中華民國 80 年 02 月 26 日)
大腸桿菌群	食品微生物之檢驗法—大腸桿菌群之檢驗 CNS 10984 N6194(中華民國 87 年 09 月 29 日)
大腸桿菌	食品微生物之檢驗法—大腸桿菌之檢驗(中華民國 90 年 04 月 20 日衛署食字第 0900025538 號)
病原菌	依照行政院衛生署公告以及 CNS 國家標準。

(八) 胺基酸檢驗方法之介紹：

1. 胺基酸是組成蛋白質的基本單位，其分子具有縮基(-COOH)和胺基(-NH<sub>2</sub>)可分別與酸或鹼作用，故胺基酸屬於一種兩性分子(Amphoteric substances)。綜合多年以來之文獻，胺基酸分析方法共

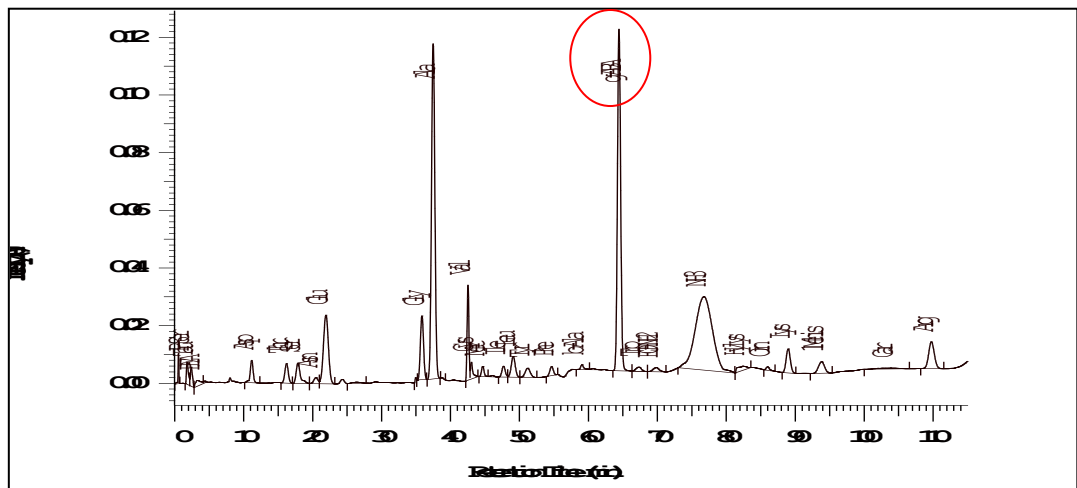
可分為五大類，包括化學法、酵素法、同位素法、微生物法與色層分析法。化學方法常用的試劑為亞硝酸和二氫三酮(ninhydrin)，前者測其氮的產生量，後者測其呈色度；此外還有許多試劑能與某一特殊的胺基酸作用而產生沈澱或呈色，由此可定其含量。至於酵素方面，被利用來促進胺基酸發生 decarboxylation 作用，產生二氧化碳。同位素稀釋法(isotope dilution technique)被用以測定蛋白質水解物中的胺基酸，其方法是加入已經標記之胺基酸於水解物中，最後計算同位素被稀釋的程度，即可知原水解物中該胺基酸的含量。微生物法是利用胺基酸為微生物的生長限制因子(growth-limiting factor)來定量。而早期色層分析法使用矽膠或濾紙當作固定相來分離胺基酸，後來有學者改進用澱粉柱、樹脂柱來分離胺基酸。1958 年 Moore 等人利用將由樹脂柱分離出來的胺基酸與 ninhydrin 呈色反應來定量的原理，發展成胺基酸的自動分析，是為今日胺基酸自動分析儀(Amino Acid Analyzer)的基本模式。1958 年 Moore 等人所提出之胺基酸自動分析儀是採用 two-column system，亦即「長」樹脂柱用來分離酸性與中性胺基酸，而「短」樹脂柱用來分離鹼性胺基酸；如今 two-column system 已被簡化為 single-column system。1966 年日本發表一種新的胺基酸分析方法「ligand analysis」，是將陽離子如  $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  或  $\text{Zn}^{2+}$  與胺基酸形成複合物，然後以強酸性離子交換樹脂吸附，再以含該金屬離子之醋酸鹽緩衝溶液流洗之，自動與 ninhydrin 作用呈色反應，而分離定量各種胺基酸。日本之 Hitachi 公司即有以此原理而設計之胺基酸自動分析儀。

2. 有文獻發表利用鄰苯二甲醛(o-Phthalaldehyde, OPA)及 2-巯基乙醇(2-Mercaptoethanol, 2-ME)與 GABA 進行衍生化反應並生成螢光衍生物，再經由毛細管電泳/螢光偵測分析。由於鄰苯二甲醛的衍生化反應快速，故採用管柱內(in-capillary)衍生化，使樣品在管柱內直接衍生化並分離。
3. 有文獻發表比較三種以 HPLC 方法檢測 GABA 常用柱前衍生化方法，可分為 HN、PITC 以及 OPA(o-Phthalaldehyde)三種衍生化試劑，

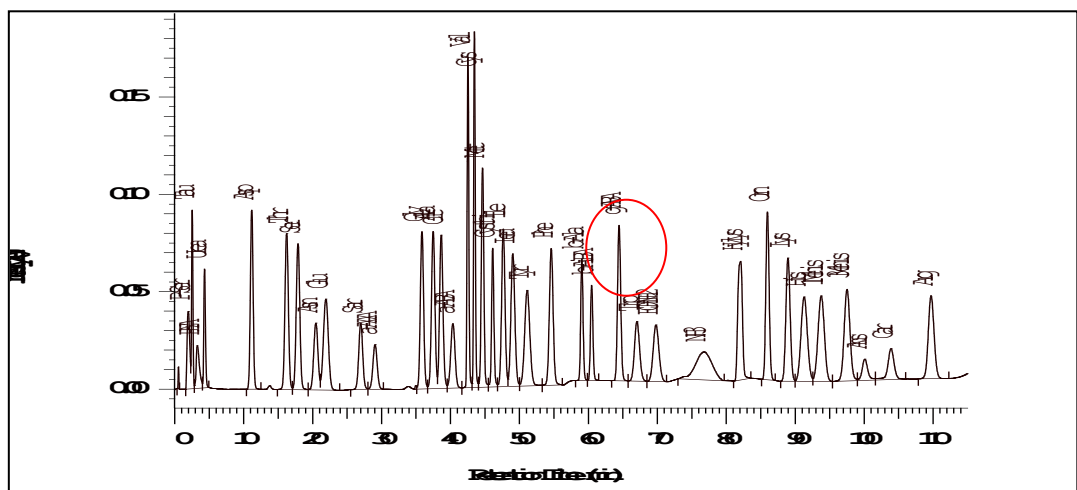
分別對樣品進行衍生化後以 HPLC 分析，檢測樣品中的 GABA 含量，並將檢測結果加以比較。實驗結果顯示 HN 衍生法對於成分複雜的檢品如茶湯、發芽玄米、發芽種子樣品的分析效果皆不好，在 HPLC 圖譜上無法辨識 GABA peak；PITC 衍生法對於含有大量蛋白質氨基酸的樣品如發芽玄米、發芽種子則較易受干擾而可能高估 GABA 含量；OPA 衍生法對於本實驗所有樣品中的 GABA peak 均有良好的分離效果，且衍生化過程簡單快速是較建議廣泛適用的檢測方法。

#### 4. 胺基酸自動分析儀圖譜：

##### (1) 胺基酸自動分析儀圖譜(發芽糙米)



##### (2) 胺基酸自動分析儀圖譜(標準品)



(九) 產品標示之相關規定：

1. 應符合衛生署公告之食品衛生管理法之規定:有容器或包裝之食品、食品添加物，應以中文及通用符號顯著標示下列事項於容器或包裝之上：
  - (1) 品名。
  - (2) 內容物名稱及重量、容量或數量；其為二種以上混合物時，應分別標明。
  - (3) 食品添加物名稱。
  - (4) 廠商名稱、電話號碼及地址。輸入者，應註明國內負責廠商名稱、電話號碼及地址。
  - (5) 有效日期。經中央主管機關公告指定須標示製造日期、保存期限或保存條件者，應一併標示之。
  - (6) 其他經中央主管機關公告指定之標示事項。經中央主管機關公告指定之食品，應以中文及通用符號顯著標示營養成分及含量；其標示方式及內容，並應符合中央主管機關之規定。
2. 應符合衛生署公告之健康食品營養成分及含量之標示方式(中華民國 92 年 12 月 23 日衛署食字號第 0920402301 號公告):健康食品應於包裝容器外表之明顯處所提供以下標示內容：
  - (1) 「營養標示」之標題。
  - (2) 熱量。
  - (3) 蛋白質、脂肪、碳水化合物、鈉之含量（註：此碳水化合物包括膳食纖維）。
  - (4) 其它出現於營養宣稱中之營養素含量。
  - (5) 廠商自願標示之其他營養素含量。
  - (6) 保健功效之相關成分含量。

(十) 衛生署公告之「食品衛生標準」中之「食品器具、容器、包裝衛生標準」

可參閱中華民國 94 年 07 月 15 日衛署食字第 0940405538 號令。

(十一)黃麴毒素應符合衛生署公告之「食品中黃麴毒素限量標準」(中華民國 82 年 1 月 4 日衛署食字第 8189322 號公告)中有關米、高粱、豆類、麥類及堅果類其總黃麴毒素(包括 Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>)限量標準為 10 ppb 以下。

(十二)殘留農藥應符合衛生署公告之「殘留農藥安全容許量」(中華民國 96 年 10 月 17 日衛署食字第 0960407051 號令之標準)中有關大豆、米類與茶類等作物類別之殘留農藥安全容許量。

## 七、參考資料

1. AOAC International. 2003. Determination of Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods. In. "Official Methods of Analysis of AOAC International" 17th ed. 999.11. William Horwitz ed. Gaithersburg, MD U.S.A
2. AOAC International. 2003. Lead, Cadmium, Zinc, Copper, and Iron in Foods by Atomic Absorption Spectrophotometry after Microwave Digestion. In. "Official Methods of Analysis of AOAC International" 17th ed. 999.10. William Horwitz ed. Gaithersburg, MD U.S.A
3. Chen-Ying; Shen-Yan and Yao-Huiyuan, 2006. Preparation of gamma-amino butyric acid by means of endogenous protease in rice bran and glutamate decarboxylase. *Cereal-&-Feed-Industry*. (2): 23-24.
4. C. Simo; A. Rizzi; C. Barbas and A. Cifuentes, 2005. Chiral capillary electrophoresis mass spectrometry of amino acids in foods. *Electrophoresis*. 26(7-8): 1432-1441.
5. Fang-Kemin; Li-Zaigui; Yuan-Hancheng and Meng-Ying, 2006. Determination of gamma-aminobutyric acid in germinated brown rice by high pressure liquid chromatography. *Food-Science,-China.*, 27(4): 208-211.
6. Gonzalez Paramas; Gomez Barez; Cordon Marcos; GarciaVillanova and Sanchez Sanchez, 2006. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food-Chemistry*. 95(1): 148-156.
7. Handoyo,-T and Morita,-N, 2006. Structural and functional properties of fermented soybean (tempeh) by using *Rhizopus oligosporus*. *International-Journal-of-Food-Properties*. 9(2): 347-355.
8. H. F. Wang; Y. S. Tsai; M. L. Lin and S. M. Ou, 2006. Comparison of bioactive components in GABA tea and green tea produced in Taiwan. *Food-Chemistry*. 96(4): 648-653.
9. Hua-Zhang; Jing-Wang; De-Chang-Xu and Chang-Hua-Sun, 2005. Determination of gamma-amino butyric acid as functional factor in

- germinated brown rice. Journal of Henan University of Technology Natural Science Edition. 26(5): 25-27.
10. K. B. Park and S. H. Oh, 2005. Production and characterization of GABA rice yogurt. Food Science and Biotechnology. 14(4): 518-522 .
  11. Komatsuzaki,-N; Tsukahara,-K; Toyoshima,-H; Suzuki,-T; Shimizu,-N and Kimura,-T, 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. Journal-of-Food-Engineering. 78(2): 556-560.
  12. N. Komatsuzaki; J. Shima; S. Kawamoto; H. Momose and T. Kimura, 2005. Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by Lactobacillus paracasei isolated from traditional fermented foods. Food Microbiology. 22(6): 497-504.
  13. 行政院衛生署：健康食品營養成分及含量之標示方式(2004)
  14. 行政院衛生署：市售包裝食品營養宣稱規範
  15. 行政院衛生署：市售包裝食品營養標示規範（2006）
  16. 行政院衛生署：健康食品管理法(2006)
  17. 行政院衛生署：健康食品衛生標準(1999)
  18. 行政院衛生署：食品衛生管理法(2002)
  19. 行政院衛生署：食品殘留農藥安全容許量(2007)
  20. 行政院衛生署：食品中殘留農藥檢驗方法--多重殘留分析方法(三)(2005)
  21. 行政院衛生署：食品微生物之檢驗法—大腸桿菌之檢驗(2001)
  22. 行政院衛生署：健康食品工廠良好作業規範(1999)
  23. 行政院衛生署：健康食品營養成分及含量之標示方式(2003)
  24. 行政院衛生署：食品器具、容器、包裝衛生標準(2005)
  25. 經濟部工業局:食品良好作業規範(2006)
  26. 經濟部標準檢驗局：食品微生物之檢驗法—生菌數之檢驗 CNS10890(1991)
  27. 經濟部標準檢驗局：食品微生物之檢驗法—大腸桿菌群之檢驗 CNS10984(1998)