

目錄

封面內頁	
目錄-----	I
圖次-----	V
表次-----	VII
中文摘要-----	VIII
英文摘要-----	IX
壹、前言-----	1
貳、文獻回顧-----	3
一、蛋白質來源的介紹-----	3
(一) 蛋鴨品種、特性及鴨蛋產業概述-----	3
(二) 蛋的構造與組成-----	6
(三) 蛋黃的組成與應用-----	6
二、酵素水解蛋白質-----	8
(一) 蛋白質水解的目的-----	8
(二) 水解程度的表示-----	9
(三) 水解程序的建立-----	13
(四) 水解系統的控制-----	18
三、脂質氧化作用-----	21
(一) 脂質自氧化作用-----	22

(二) 脂質氧化與疾病-----	28
四、抗氧化劑-----	30
(一) 抗氧化機制-----	30
(二) 抗氧化劑之分類-----	33
五、蛋白質酵素水解物之抗氧化性-----	36
(一) 分子量的變化-----	37
(二) 小分子胜肽含量之影響-----	38
(三) 疏水性胺基酸的增加-----	39
(四) 具有芳香族殘基之胺基酸-----	40
(五) 含硫胺基酸-----	41
參、材料與方法-----	44
一、實驗材料-----	44
二、試驗設計-----	44
三、實驗方法-----	44
(一) 鴨蛋蛋白質水解物製備-----	44
(二) 基本成分分析-----	49
(三) 蛋白質水解率測定-----	52
(四) 產率測定-----	54
(五) 抗氧化能力測定-----	56
(六) 膜分離系統對水解物進行區分-----	59

(七) 分子量分布分析-----	60
(八) 胺基酸組成分析-----	60
四、統計分析-----	63
肆、結果與討論-----	64
一、鴨蛋粗蛋白質樣品的製備-----	64
二、DEYP 水解之條件探討-----	66
(一) 基質濃度-----	66
(二) 酵素濃度-----	68
三、水解過程中的變化-----	72
(一) pH 值的變化-----	72
(二) 水解率的變化-----	74
(三) 產率的變化-----	77
四、抗氧化能力分析-----	80
(一) 清除 DPPH 自由基能力-----	81
(二) 還原力-----	84
(三) 螯合亞鐵離子能力-----	88
(四) 氫氧自由基清除能力-----	93
(五) 抑制亞麻油酸過氧化能力-----	96
五、HM-12 及其區分物之分子量分布與抗氧化能力比較-----	99
(一) 分子量分布-----	99

(二) 區分物之抗氧化能力比較-----	103
六、抗氧化水解物及其區分物之胺基酸組成-----	109
伍、結論-----	114
陸、參考文獻-----	117
柒、附錄-----	136

圖次

圖一、歷年鴨蛋蛋價波動情形-----	5
圖二、蛋的構造圖-----	7
圖三、OPA 法反應式-----	12
圖四、TNBS 法反應式-----	14
圖五、脂質自氧化連鎖反應-----	23
圖六、脂質自氧化反應中氫過氧化的形成-----	25
圖七、油脂的氧化反應及產物-----	26
圖八、油脂自氧化反應階段-----	27
圖九、自由基清除之作用機制-----	31
圖十、卵黃磷蛋白-鐵離子複合物形成模式-----	34
圖十一、胺基酸之側鏈捕捉自由基的例子-----	42
圖十二、Met 之側鏈所含的 thioether 以一對電子還原油脂過氧化 物之形成模式-----	43
圖十三、製備粗鴨蛋黃蛋白質 (DEYP) 之流程圖-----	45
圖十四、試驗設計 (一)-----	46
圖十五、試驗設計 (二)-----	47
圖十六、試驗設計 (三)-----	48
圖十七、不同酵素與 DEYP 濃度對水解率之影響-----	67
圖十八、Alcalase (a) 和 Flavourzyme (b) 濃度 (E/S) 與水解時間對	

DEYP水解物水解率之影響-----	70
圖十九、酵素濃度對數值對水解率的影響-----	71
圖二十、不同酵素與水解時間對 pH 值之影響-----	73
圖二十一、不同酵素與水解時間對水解率與 pH 值之影響-----	76
圖二十二、不同酵素與水解時間對鴨蛋黃蛋白質水解物產率之影響-----	79
圖二十三、酵素種類與水解時間對 DEYP 水解物 DPPH 自由基清除能力與相對 α -生育醇當量之影響-----	82
圖二十四、酵素種類與水解時間對 DEYP 水解物還原力與相對 α -生育醇當量之影響-----	85
圖二十五、DEYP 水解物之水解率與還原力之關係-----	87
圖二十六、酵素種類與水解時間對 DEYP 水解物金屬螯合能力與 EDTA 當量之影響-----	89
圖二十七、pH 值對 DEYP 之金屬螯合能力之影響-----	92
圖二十八、酵素種類與水解時間對 DEYP 水解物氫氧自由基清除能力之影響-----	94
圖二十九、DEYP 水解物以硫氰酸鐵法在 40 °C、三天後之抑制亞麻油酸過氧化能力-----	98
圖三十、HM-12 水解物經不同分子量限值區分後所得區分物分子量分布-----	100

表次

表一 台灣地區歷年鴨蛋之生產量及每人平均消費量-----	4
表二 氧所衍生的自由基對人體可能造成之傷害-----	29
表三 鴨蛋黃及鴨蛋黃粗蛋白質之基本組成分-----	65
表四 HM-12 水解物經不同分子量限值區分後所得濃縮液之分 子量分布-----	101
表五 HM-12 水解物經不同分子量限值區分後所得濃縮液之抗 氧化能力-----	104
表六 DEYP、HM-12、30KDa 濃縮液及 1KDa 濃縮液之胺基酸組成 -----	111

摘要

本研究使用 Alcalase、Flavourzyme 及混合酵素 (Alcalase + Flavourzyme ; 1:1) 對鴨蛋黃蛋白質進行水解以製備 Alcalase 水解物 (HA)、Flavourzyme 水解物 (HF) 及混合酵素水解物 (HM)，並探討所有水解物之特性及抗氧化性。在水解 0-12 小時的過程中，隨著水解時間的增加，水解率隨之上升。水解物之產率即三氯醋酸可溶性態氮隨著水解率上升而顯著增加 ($p < 0.05$)。三組酵素間以 HM 具有最高的水解率及產率 ($p < 0.05$)。隨著水解時間的增加，HA、HF 及 HM 的抗氧化性包括 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力、還原力及氫氧自由基清除能力均隨之上升。至於金屬螯合能力則均呈現先降而後升的趨勢。其中以混合酵素水解 12 hr 之鴨蛋黃水解物 (HM-12) 在 DPPH 自由基清除能力、還原力及金屬螯合能力上皆展現最佳的抗氧化性 ($p < 0.05$)。其次為進一步提升 HM-12 之抗氧化性，本試驗將 HM-12 使用 30KDa、10KDa、1KDa 及 0.15KDa 分子量限值濾膜劃分成四個區分物。結果顯示分子量低於 1000 Da 具有較佳的抗氧化性，這可能與胜肽片段中所含 tyrosine 和 histidine 及疏水性胺基酸 valine、isoleucine 及 alanine 有關。

關鍵字:鴨蛋黃蛋白質、水解物、酵素、抗氧化性

Abstract

In our study, duck egg yolk protein (DEYP) were hydrolyzed using Alcalase (A), Flavourzyme (F) and mixed enzyme (M) (A+F ; 1:1) to prepare hydrolysate AH, FH and MH, respectively. During hydrolysis of 0-12 hr, degree of hydrolysis (DH) increased as hydrolysis time (HT) increase. The yield in terms of trichloroacetic acid soluble nitrogen of the hydrolysates significantly increased as DH increased ($p<0.05$). Among the hydrolysates, HM had the highest DH and yield. The antioxidative activities including 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, reducing power and hydroxyl radical scavenging activity of HA, HF, HM increased as the HT increased. However, metal chelating activity decreased first and then increased as the HT increased. HM-12 which had the greatest had the greatest antioxidative activity including DPPH radical scavenging, reducing power and metal chelating activity ($p<0.05$). In order to enhance the antioxidative activities, HM-12 were further fractioned into four fractions using 30KDa,10KDa,1KDa and 0.15KDa molecular weight cut-off membranes sequentially. Each fraction was determined its molecular weight distribution, antioxidative activities and amino acid composition. The result indicated that fraction with molecular weight less than 1000 Da had the greater antioxidative activities. This might be due to the fact that the peptide containing histidine and tyrosine as well as hydrophobic amino acids such as valine, isoleucine and alanine.

Key words: Duck egg yolk protein, Hydrolysate, Enzyme, Antioxidative activity