

動物性蛋白質水解物之抗氧化性與功能性及其在肉品中之應用
(第 3 年)

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 96-2313-B-029-002-MY3

執行期間：2009 年 08 月 01 日至 2010 年 07 月 31 日

執行機構及系所：東海大學食品科學系

計畫主持人：蔡正宗

共同主持人：

計畫參與人員：賴育玫

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本計畫除繳交成果報告外，另須繳交以下出國心得報告：

- 赴國外出差或研習心得報告
- 赴大陸地區出差或研習心得報告
- 出席國際學術會議心得報告
- 國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

目錄

摘要.....	II
Abstract.....	III
壹、前言.....	1
貳、研究目的.....	1
參、文獻探討.....	1
肆、研究方法.....	2
一、試驗設計：肉餅及漢堡肉試驗設計如下.....	2
二、材料製備.....	2
三、分析方法.....	3
伍、結果與討論.....	4
一、雞肉.....	4
二、鴨肉.....	6
三、鵝肉.....	8
四、雞蛋.....	10
五、鴨蛋.....	13
六、鵝蛋.....	16
七、乳化特性.....	19
八、保水性.....	20
九、總生菌數.....	21
十、TBRAS 值.....	22
十一、酸鹼值.....	24
十二、色澤.....	25
十三、結論.....	28
陸、參考文獻.....	28

摘要

禽胸肉（雞胸、鴨胸、鵝胸）經異丙醇脫脂後，應用蛋白酶（alcalase, or flavourzyme）水解，禽蛋黃蛋白（雞蛋、鴨蛋、鵝蛋）與卵白分離後，經乙醇去脂後，應用蛋白酶（alcalase、flavourzyme or mix）水解，兩類水解物經由定性，各選取一種最具抗氧化功能的水解物，填加入生豬碎肉餅及煮熟的豬碎肉餅以探討其在儲藏試驗中的影響。在生豬碎肉餅試驗中，兩種水解物都呈促氧化作用，CEYPH (Chicken egg yolk protein hydrolysate) 則另具抑菌功能，而 CMPH (Chicken muscle protein hydrolysate) 則展現較佳的保水性，兩者對肉色則無影響；在烹調的碎豬肉餅中，兩者都具有抗氧化效力，CEYPH 具有較佳之保水性而不促進微生物的生長，適合運用於烹調的豬碎肉餅。

關鍵字：豬碎肉餅，蛋白質水解物，抗氧化，保水性，雞胸肉，蛋黃

Abstract

Poultry breast meats (chicken, duck and goose) were subjected to defat with isopropanol and then digested by protease (alcalase or flavourzyme). Poultry egg-yolk proteins (chicken egg-yolk, duck egg-yolk and goose egg-yolk) separated from albumin were defatted with ethanol, then subjected to protease digestion (alcalase, flavourzyme or mix). Both hydrolysates from meat and egg-yolk have been characterized. One of hydrolysates with best antioxidative activity from two groups (meat and yolk) were selected as additive for raw pork meat patty and cooked meat patty. Both hydrolysates enhanced oxidation in raw pork meat patty during CEYPH (Chicken egg-yolk protein hydrolysate) was found to inhibit microbial growth in raw pork meat patty whereas CMPH (Chicken meat protein hydrolysate) showed better in water-holding capacity. In cooked pork meat patty, both hydrolysates were found to inhibit the oxidation, CEYPH exhibited better in water holding capacity without enhance the microbial growth, CEYPH would be the good additive for cooked pork meat patty.

Key word : pork meat patty, protein hydrolysate, antioxidation, water holding capacity, poultry breast meats, egg-yolk

壹、前言

肉品富於營養，易於被污染的微生物所腐化，由於高脂質含量，在加工及儲藏過程中，因氧化而生存油耗味，添加防腐劑或工業抗氧化劑，則難於被消費者所接受，若改加胜肽之水解物，則不僅具有抗氧化的作用，亦可能會抑制某些微生物的生長，又可提高營養價值，成為精緻肉品。

貳、研究目的

由於，有關禽肉蛋白質及蛋類蛋黃蛋白質水解物之抗氧化性和功能性之資訊較少。為有系統之研究，因此，使用兩種蛋白酵素 (Alcalase 及 Flavourzyme) 水解三種禽肉 (淘汰鷄肉、鴨肉與鵝肉) 之蛋白質，及使用四種蛋白酵素 (Alcalase、Flavourzyme、Orientase、Protease) 水解三種禽蛋 (雞蛋、鴨蛋、鵝蛋)，在不同水解程度下，探討其抗氧化活性和功能特性。自前結果，分別選出最具有應用潛力之水解物，實際應用於食品系統中，並評估水解物濃度對絞碎豬肉及肉製品之抗氧化能力及功能性質之影響。

參、文獻探討

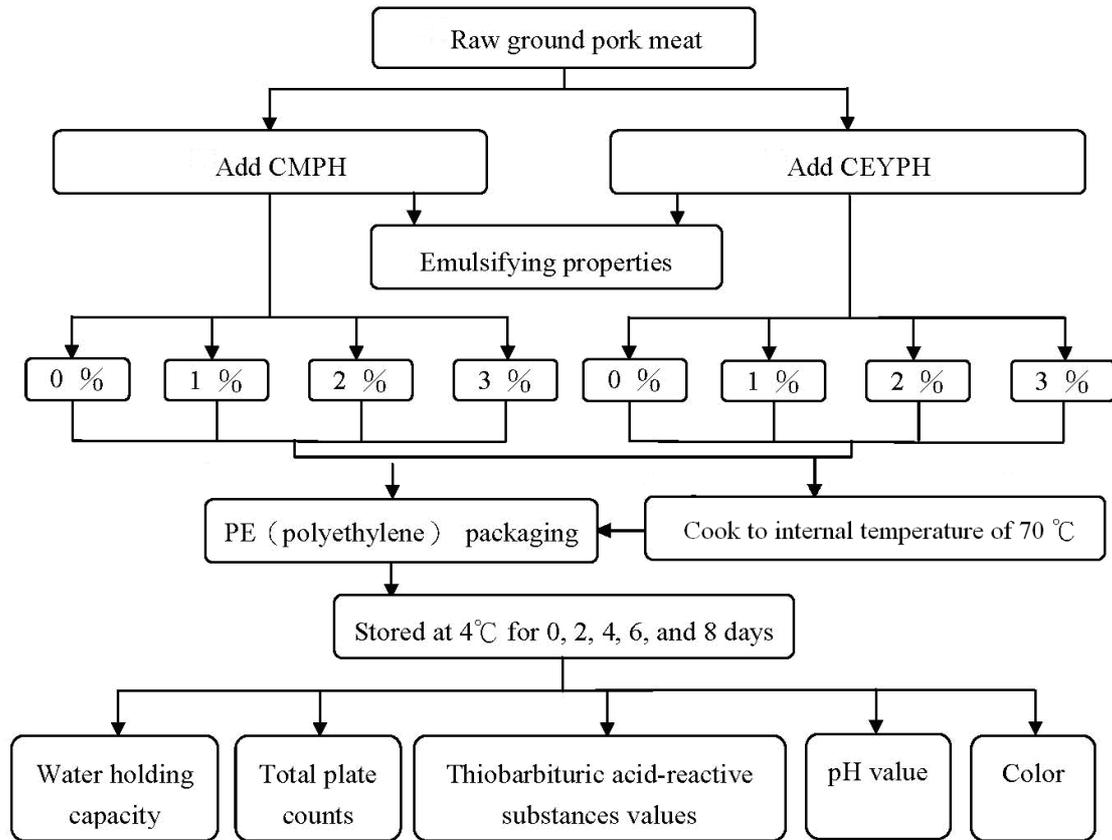
胺基酸和胜肽為水溶性抗氧化劑，因為其對金屬離子中具有螯合的作用 (Cervato *et al.*, 1999; Lu and Baker, 1986)。含存於肉中的肌肽 (carnosine) 具有延緩豬肉氧化的效果。來自動植物的蛋白質水解物已被發現具有抗氧化劑的活性 (Amarowicz and Shahidi, 1997; Pena-Ramos and Xiong, 2002)。牛乳鐵蛋白對真空包裝之中式香腸具有抗氧化效果 (邱與郭, 2005)，而牛乳鐵蛋白之水解物與 EDTA 若同時使用對豬肉及肉製品也具抗氧化作用 (蔣與郭, 2006)。

蛋白質的功能特性可藉由控制酵素的水解狀況來改善 (Quaglia and Orban, 1990)。水解作用會影響水解產物的分子大小、疏水性和極性基團 (Adler-Nissen, 1986; Kristinsson and Rasco, 2000)；水解物的特性直接影響其機能性和用作為食品成分的使用 (Kristinsson and Rasco, 2000)。高水解程度的水解物具有良好的溶解度 (Gbogouri *et al.*, 2004; Quaglia and Orban, 1987; Shahidi *et al.*, 1995)。來自不同來源的蛋白質水解物，如乳清及大豆蛋白 (Pena-Ramos and Xiong, 2003)、蛋黃 (Sakanaka *et al.*, 2004)、蝦 (Suetsuna, 2000)、金槍魚烹煮液 (Jao and Ko, 2002)、黃比目魚骨 (Jun *et al.*, 2004)、阿拉斯加鱈魚骨 (Je *et al.*, 2005)、鯡魚 (Sathivel *et al.*, 2003) 和鯖魚 (Wu *et al.*, 2003) 等，都已經被發現具有抗氧化活性。自由氨基酸和胜肽的含量與組成，決定水解物的抗氧化性 (Wu *et al.*, 2003)。

蛋黃磷脂質 (Sugino *et al.*, 1997) 和蛋黃卵黃磷蛋白 (Lee *et al.*, 2002; Lu and Baker, 1987) 皆有抗氧化活性，無卵磷脂質之蛋黃蛋白質水解物具有顯著的抗氧化作用 (Park *et al.*, 2001)。Sakanaka *et al.*, (2004) 指出蛋黃蛋白在亞麻油酸氧化系統內也有抗氧化活性。

肆、研究方法

一、試驗設計：肉餅及漢堡肉試驗設計如下



圖一、試驗設計。

二、材料製備

- (一) 生鮮豬肉購自傳統市場，台中。除去筋膜並切成小塊，絞肉機連續絞2次，即可得絞碎豬肉。
- (二) 由雞肉蛋白質水解物 (chicken meat protein hydrolysates; CMPH) 的乾燥粉末 (7.5% Alcalase 於 pH 8.5 和 60 °C 環境下水解 6 小時)，以相對於肉排重量添加水解物粉末至 1%、2% 和 3% (w/w); control 組則是 0% 即不添加水解物。
- (三) 由雞蛋黃蛋白質水解物 (chicken egg yolk protein hydrolysates; CEYPH) 的乾燥粉末 (7.5% 混合酵素 (Alcalase : Flavourzyme = 1 : 1) 於 pH 8.5 和 50 °C 環境下水解 6 小時)，以相對於肉排重量添加水解物粉末至 1%、2% 和 3% (w/w); control 組則是 0% 即不添加水解物; 煮熟的漢堡肉則在成型後經加熱至內溫 70 °C。
- (四) 脫脂禽胸肉粉之製備：三種禽胸肉經絞碎 (0.4cm 孔) 後以異丙醇 (1:4, w/v) 先後在室溫及 75 °C 均質萃取移除脂肪 (Sikorski and Naczki, 1981)，沉澱物在室溫風乾後真空包裝儲藏於 4 °C 備用。
- (五) 胜肽之製備：脫脂之禽胸肉粉各調成三種不同濃度 (5%, 10%, 和 15%) 並加入不同濃度的 flavourzyme 或 Alcalase (0.25, 0.5, 1.25, 5, 7.5, 10%) 在 50

°C (flavourzyme) 或 60°C (Alcalase)水解，於不同時間取樣以檢測其功能性，並在 90°C 下加熱15分鐘水解，變性酵素後，放冷並調 pH=7，離心 (2000×g, 10min) 分取上清液，經冷凍乾燥後，真空包裝於4°C 下備用。

三、分析方法

- (一) 蛋白質水解率：利用 pH-stat method (Adler-Nissen, 1986)。
- (二) 基本成份分析：水分、粗蛋白質、粗脂肪含量測定均按照 AOAC (1984) 分析。
- (三) 抗氧化活性之測定：
 1. DPPH 自由基清除能力 (DPPH radical-scavenging Activity)：參考 Yen and Wu (1999) 的方法；於波長 517 nm 下偵測。
 2. 還原力 (reducing power)：根據 Oyaiza (1986) 的方法。測量在波長 700 nm 下之吸光值；吸光值越高，表示還原能力越強。
 3. 金屬離子螯合力 (metal-chelating activity)：亞鐵離子 (Fe^{2+}) 螯合能力的測定是根據 Decker and Welch (1990) 的方法。在波長 562 nm 下，吸光值越低，表示對亞鐵離子之螯合能力越強。
- (四) 功能性測定：
 1. 蛋白質溶解度 (**protein solubility**)：以 Biuret method (Robinson and Hodgen, 1940) 測量。
 2. 乳化力 (**emulsifying properties**)：依據 Ockerman (1985) 方法測定之。
 3. 起泡性 (**foaming properties**)：根據 Sathe and Salunkhe (1981) 的方法。
- (五) 肉品性質測定
 1. 保水性 (water holding capacity)：依據 Ockerman (1985) 方法測定之。
 2. 總生菌數 (total plate counts)：依據中國國家標準 (1991) 之方法分析。以傾倒法 (pour plate method) 至無菌 PCA (plate count agar, Difco™, Sparks, USA)，於 37 °C 恆溫培養箱中培養 48 ± 2 小時，並計算其菌落數 (CFU/g)。
 3. TBRAS 值 (thiobarbituric acid-reactive substances values)：依據 Ockerman (1985) 方法測定之。
 4. 酸鹼值 (pH value)：依據 Ockerman (1985) 之方法測定之。

伍、結果與討論

一、雞肉

(一) 基本組成分析

經過異丙醇加熱脫脂步驟，禽肉粗脂肪明顯降低（表一、二、三）。

表一、未脫脂雞肉與脫脂雞肉之化學組成分

Compositions (%)	Non-defatted chicken meat ^a	Defatted chicken meat ^a
Protein ^b	90.87±1.74	95.86±7.99
Fat ^b	5.15±1.16	0.13±0.04
Ash ^b	3.99±0.07	4.02±0.47
Moisture	74.23±0.09	56.58±3.59

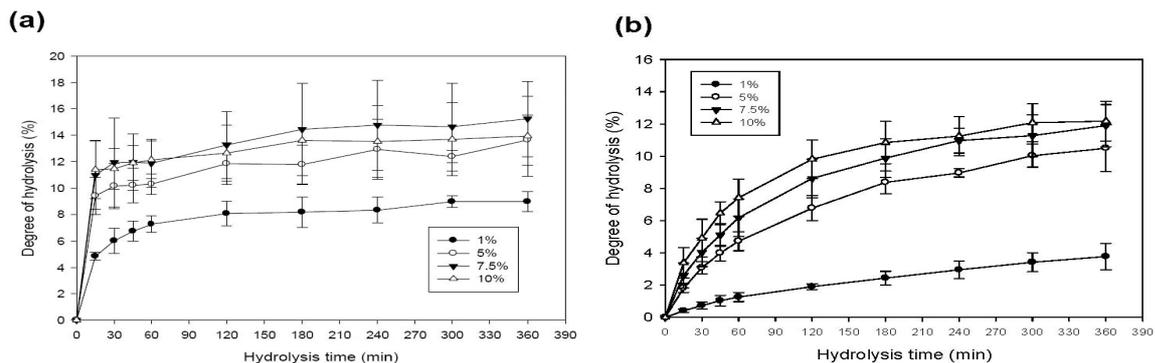
^a Mean ± SD from triplicate determinations.

^b Dry weight basis.

(二) 預備實驗

四種酵素濃度（1%、5%、7.5%和10%）水解脫脂雞肉，使用Alcalase酵素濃度為7.5%的水解率為最高（圖二(a)）。

7.5%的Flavourzyme水解360分鐘時其水解率和使用10% Flavourzyme相同，因此我們依此結果決定使用的酵素濃度皆為7.5%（圖二(b)）。



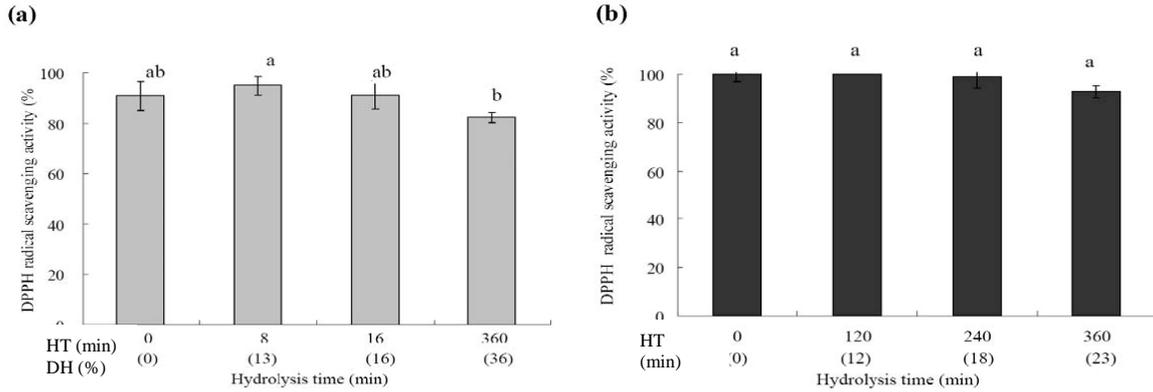
圖二、(a) Alcalase和 (b) Flavourzyme濃度與水解時間對脫脂雞肉水解率之影響。

(三) 水解物抗氧化能力分析

1. α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力

圖三 (a) 為脫脂雞肉Alcalase水解物清除DPPH自由基能力測定結果。脫脂雞肉經過Alcalase水解0、8、16和360分鐘後的水解物DPPH自由基清除能力都在80%以上，具有顯著的清除DPPH自由基能力，但是隨著水解時間增加，水解率的增加，DPPH自由基清除能力沒有顯著的變化，因此使用Alcalase水解雞肉並不會影響DPPH自由基清除能力。

圖三 (b) 是水解時間對脫脂雞肉蛋白質水解液DPPH自由基清除能力的影響，由圖可知使用Flavourzyme進行水解時，其DPPH自由基清除能力並沒有顯著的變化，即表示使用Flavourzyme水解並不會影響DPPH自由基清除能力。



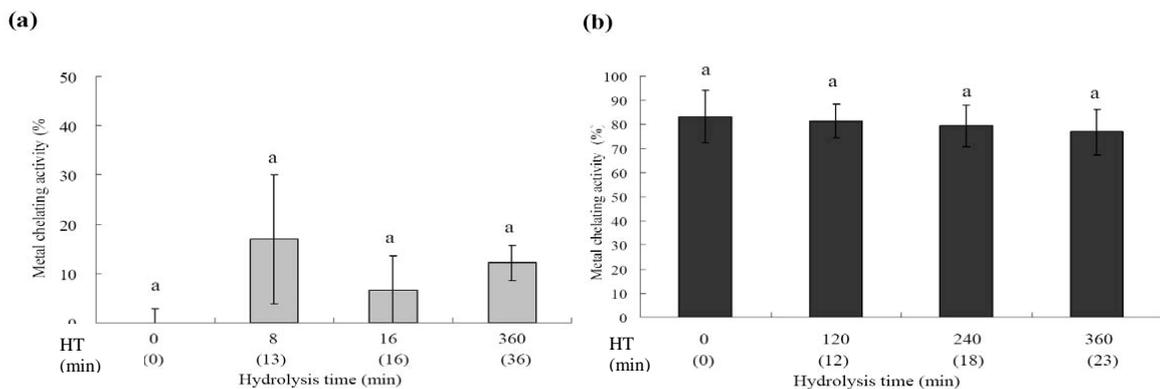
圖三、脫脂雞肉經 (a) Alcalase和 (b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對DPPH自由基清除能力之影響。a-b不同處理間無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)。

2. 金屬離子螯合能力

含油脂的食品中，金屬離子特別是銅、鐵離子存在容易加速油脂氧化的發生。

圖四 (a) 為脫脂雞肉Alcalase水解物對氫氧金屬離子螯合能力測定結果。8分鐘水解物的金屬離子螯合力為最強，隨著水解時間增加，水解率的增加，水解物對金屬離子螯合能力沒有顯著差異。

圖四 (b) 是水解時間對脫脂雞肉蛋白質水解液金屬離子螯合能力的影響，由圖可知使用Flavourzyme水解時，水解液的金屬離子螯合能力水解時間增加而降低，但在0分鐘時（無水解）比有經過水解的金屬離子螯合能力高一些，但彼此間則無顯著差異。即表示使用Flavourzyme水解並不會影響金屬離子螯合能力。



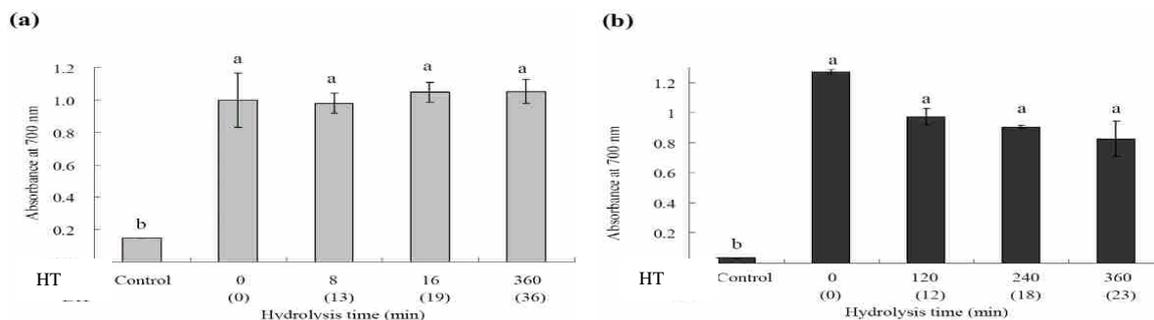
圖四、脫脂雞肉經 (a) Alcalase和 (b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對金屬離子螯合能力之影響。a-b不同處理間無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)。

3. 還原力

圖五 (a) 為脫脂雞肉Alcalase水解物還原力測定結果。脫脂雞肉經過Alcalase水解後的水解物皆有顯著的還原力，但彼此間則沒有顯著差異。

圖五 (b) 是水解時間對脫脂雞肉蛋白質水解液還原力的影響，由圖可知使用

Flavourzyme水解時，水解液的還原力皆顯著的比Control來的高，隨水解時間增加而還原力顯著降低。



圖五、脫脂雞肉經 (a) Alcalase和 (b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對還原力之影響。a-b不同處理間無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)。

二、鴨肉

(一) 基本組成分析

表二、未脫脂鴨肉與脫脂鴨肉之化學組成分

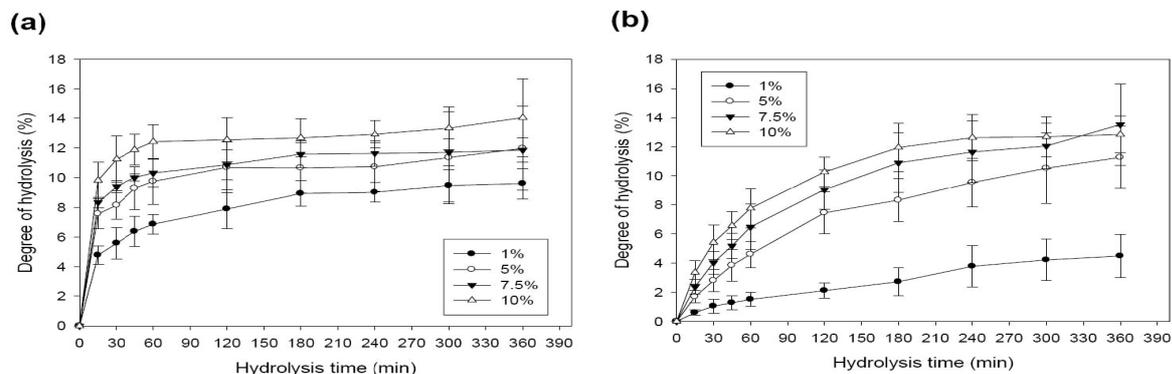
Compositions (%)	Non-defatted duck meat ^a	Defatted duck meat ^a
Protein ^b	91.32±2.93	95.68±8.60
Fat ^b	4.12±1.52	0.07±0.04
Ash ^b	4.56±0.11	4.26±0.49
Moisture	74.74±0.46	55.94±3.67

^a Mean ± SD from triplicate determinations.

^b Dry weight basis.

(二) 預備實驗

預備實驗第一個目的在於探討不同濃度之酵素Alcalase和Flavourzyme)對脫脂鴨肉(成分如表二)水解率的影響，因此在預備實驗中使用四種酵素濃度(1%、5%)，使用Alcalase水解脫脂鴨肉，酵素濃度為10%的水解率最高(圖六(a))。Flavourzyme則是酵素濃度為10%與7.5%時無明顯差異，水解率最高(圖六(b))。綜合以上兩個酵素之結果，因此決定使用酵素濃度為7.5%進行之後的水解實驗與分析。



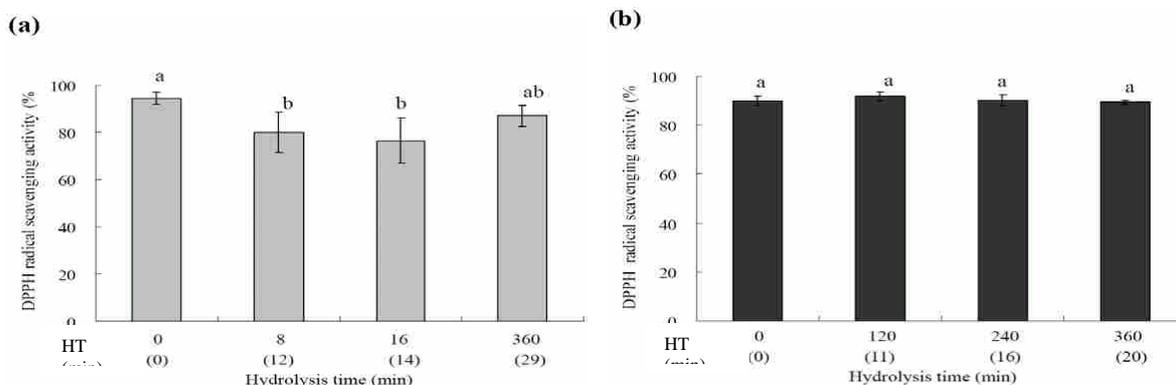
圖六、(a) Alcalase和(b) Flavourzyme濃度與水解時間對脫脂鴨肉水解率之影響。

(三) 水解物抗氧化能力分析

1. α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力

圖九(a)為脫脂鴨肉Alcalase水解物清除DPPH自由基能力測定結果。脫脂鴨肉經過Alcalase水解0、8、16和360分鐘後的水解物DPPH自由基清除能力都在80%左右，具有顯著的清除DPPH自由基能力，但是0分鐘的水解物清除能力最高，隨著水解時間增加，水解率的增加，DPPH自由基清除能力沒有顯著的上升。

圖九(b)為脫脂鴨肉Flavourzyme水解物清除DPPH自由基能力測定結果。脫脂鴨肉經過Flavourzyme水解0、120、240和360分鐘後的水解物DPPH自由基清除能力都在80%以上，具有顯著的清除DPPH自由基能力，但是隨著水解時間增加，水解率的增加，DPPH自由基清除能力沒有顯著差異。



圖九、脫脂鴨肉經(a) Alcalase和(b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對DPPH自由基清除能力之影響。^{a-b}不同處理間無相同字母者表示有顯著差異(p<0.05)。

2. 金屬離子螯合力測定

圖十(a)為脫脂鴨肉Alcalase水解物對氫氧自由基清除能力測定結果。脫脂鴨肉經過Alcalase水解0、8、16和360分鐘的水解物的金屬離子螯合力分別為6.88%、22.76%、22.61%和13.26%，8分鐘水解物的金屬離子螯合力為最強，隨著水解時間增加，水解率的增加，水解物對金屬離子螯合能力是顯著升高後下降的趨勢。

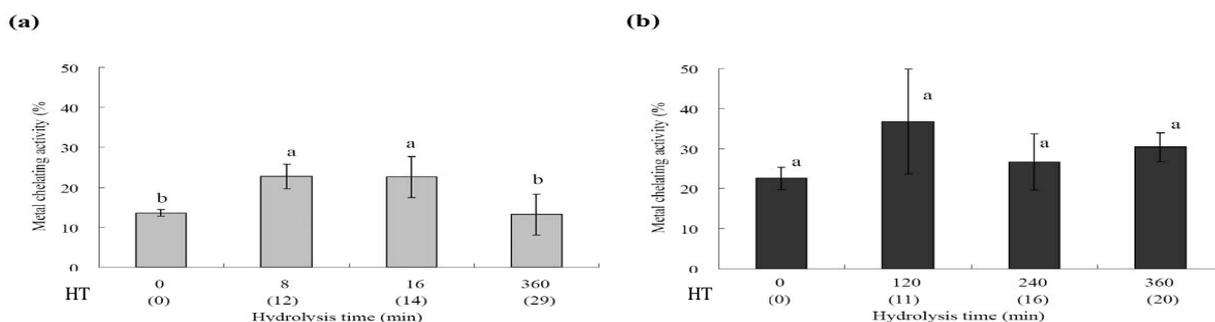
圖十(b)為脫脂鴨肉Flavourzyme水解物對氫氧自由基清除能力測定結果。脫脂鴨肉經過Flavourzyme水解0、120、240和360分鐘的水解物的金屬離子螯合力分別為22.58%、36.79%、26.54%和30.34%，同樣是8分鐘水解物的金屬離子螯合力為最強，隨著水解時間增加，水解率的增加，水解物對金屬離子螯合能力是顯著升高後下降的趨勢。

3. 還原力測定

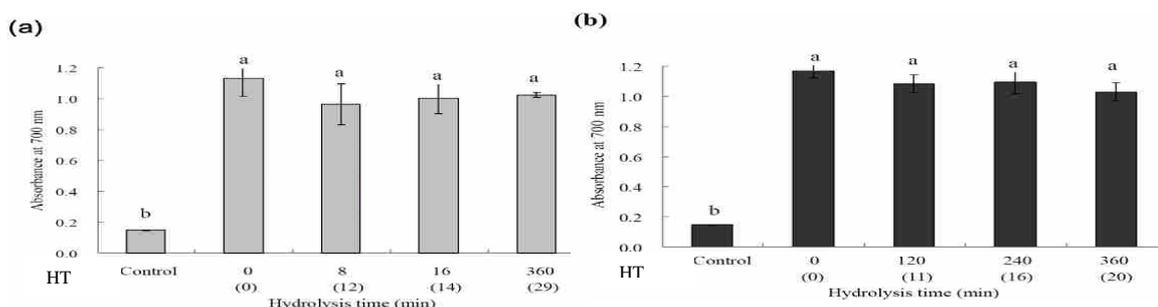
還原力在抗氧化之表現上係為具有還原過氧化物(peroxide)之能力，進而達到抗氧化之效果。圖十一(a)為脫脂鴨肉Alcalase水解物還原力測定

結果。脫脂鴨肉經過Alcalase水解0、8、16和360分鐘後的水解物皆有顯著的還原力。但是0分鐘的水解物還原力最高，隨著水解時間增加，水解率的增加，還原力呈現先下降後上升的趨勢。

圖十一 (b) 為脫脂鴨肉Flavourzyme水解物還原力測定結果。脫脂鴨肉經過Flavourzyme水解0、120、240和360分鐘後的水解物皆有顯著的還原能力，但是0分鐘的水解物還原力最高，隨著水解時間增加，水解率的增加，還原力有稍微下降的趨勢。



圖十、脫脂鴨肉經 (a) Alcalase和 (b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對金屬離子螯合能力之影響。^{a-b}不同處理間無相同字母者表示有顯著差異 (p<0.05)。



圖十一、脫脂鴨肉經 (a) Alcalase和 (b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對還原力之影響。^{a-b}不同處理間無相同字母者表示有顯著差異 (p<0.05)。

三、鵝肉

(一) 基本組成分分析

表三 未脫脂鵝肉和脫脂鵝肉之化學組成分

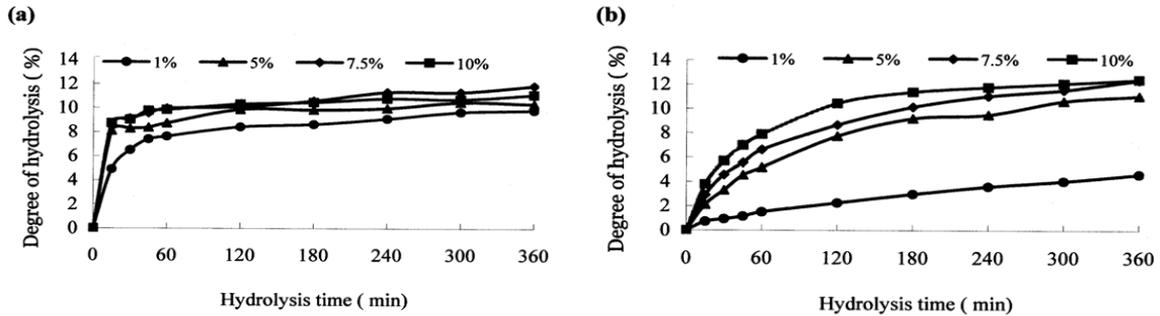
Compositions (%)	Non-defatted goose meat ^a	Defatted goose meat ^a
Protein ^b	92.10±3.00	96.29±2.90
Fat ^b	3.43±1.20	0.27±0.04
Ash ^b	4.48±0.12	3.43±0.36
Moisture	74.62±0.22	15.47±3.37

^a Mean ± SD from triplicate determinations.

^b Dry weight basis.

(二) 預備試驗

使用7.5%的Alcalase進行水解時，於水解時間180分鐘後其水解率稍高於使用10% Alcalase進行水解的，然而使用Flavourzyme進行水解時，隨著酵素濃度增加而水解率也增加，但使用7.5%的Flavourzyme水解360分鐘時其水解率和使用10% Flavourzyme進行水解相同，因此我們依此結果決定以後進行脫脂鵝肉蛋白質水解的試驗條件使用的酵素濃度皆為7.5% (圖十二(a) (b))。

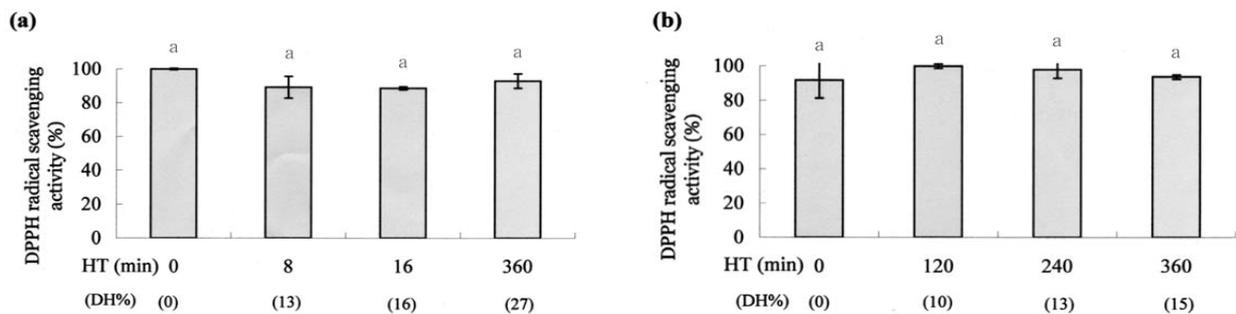


圖十二、(a) Alcalase 和 (b) Flavourzyme濃度與水解時間對脫脂鵝肉水解率之影響。

(三) 抗氧化能力分析

1. α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力

DPPH為一含有奇數電子之安定自由基，其安定性較其他自由基為高，當被具有抗氧化之物質還原時，在517 nm附近之吸收峰會消失 (Willian *et al.*,1995)，可藉此一特性來判斷水解液中是否具有清除DPPH自由基之抗氧化性。圖十三 (a) (b) 是水解時間對脫脂鵝肉蛋白質水解液DPPH自由基清除能力的影響，由圖可知使用Alcalase或Flavourzyme進行水解時，其DPPH自由基清除能力並沒有顯著的變化，即表示水解並不會影響DPPH自由基清除能力。

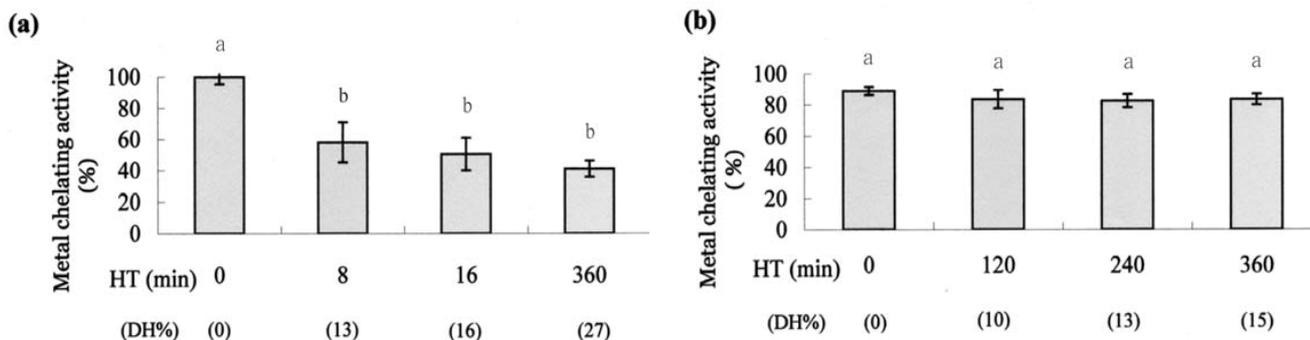


圖十三、脫脂鵝肉經(a) Alcalase 和 (b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對DPPH自由基清除能力之影響。

2. 金屬離子螯合能力

含油脂的食品中，金屬離子特別是銅、鐵離子存在容易加速油脂氧化的發生，故若能將金屬離子螯合去除，便能使脂質的氧化速率減慢。圖十四 (a) (b) 是水解時間對脫脂鵝肉蛋白質水解液金屬離子螯合能力的影響，由圖可知使用Alcalase水解時，水解液的金屬離子螯合能力隨水解時間增加

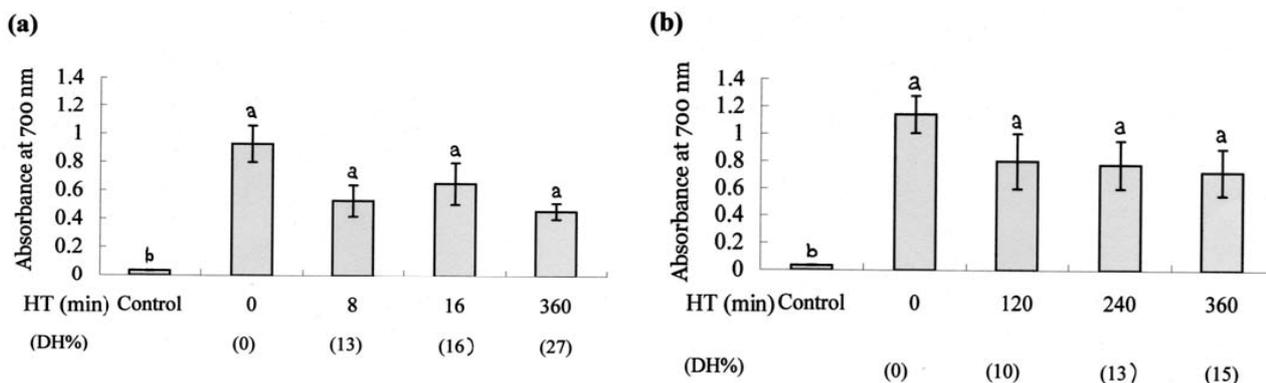
而降低，但在0分鐘時（無水解）卻顯著的比有經過水解的金屬離子螯合能力高，但於有水解的彼此間則無顯著差異。使用Flavourzyme水解時，則於不同的水解時間之間，沒有顯著差異即表示使用Alcalase水解並不會影響DPPH金屬離子螯合能力。



圖十四、脫脂鵝肉經(a) Alcalase 和 (b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對金屬螯合能力之影響。

3. 還原力

還原力的測定係依據Oyaiza (1986) 之方法，將赤血鹽中之 Fe^{3+} 還原為 Fe^{2+} 之亞鐵氰錯離子，此亞鐵氰錯離子再與 Fe^{3+} 形成普魯士藍 (Prussian blue)，即亞鐵氰化鐵，在700 nm下有較強的吸收波峰，根據其吸光值之高低，可評估還原力之強弱，吸光值愈高表示其還原力愈強。圖十五 (a) (b) 是水解時間對脫脂鵝肉蛋白質水解液還原力的影響，由圖可知水解時，水解液的還原力皆顯著的比Control來的高，但隨水解時間增加並沒有顯著差異。使用Alcalase水解時，隨水解時間增加，水解液的還原力是不規則的變化，但使用Flavourzyme水解時，水解液的還原力卻隨水解時間增加而降低。



圖十五、脫脂鵝肉經(a) Alcalase 和 (b) Flavourzyme水解所得不同水解時間之水解物對還原力之影響。

四、雞蛋

(一) 基本組成分析

表四為未脫脂雞蛋黃和脫脂雞蛋黃之基本組成分析結果，結果顯示經乙醇及正己烷脫脂後粗脂肪含量明顯的下降，而由於脫脂及乾燥過程使得脂肪

及水分的下降，故脫脂後雞蛋黃亦具較高的蛋白質含量。

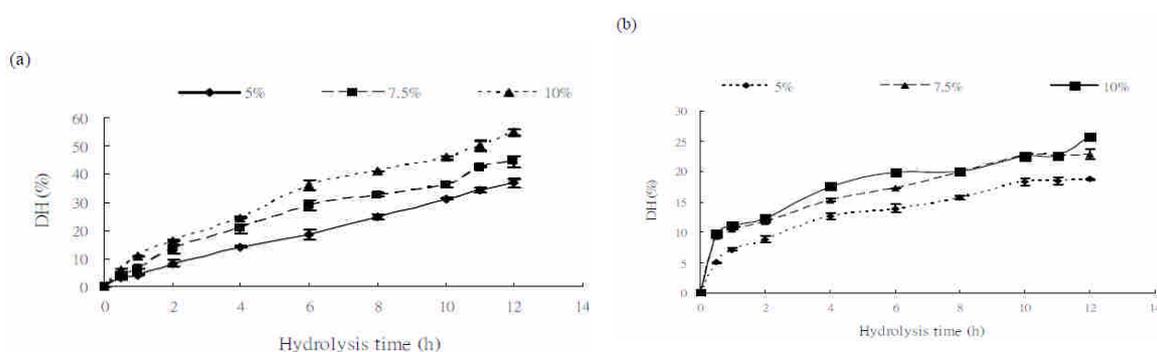
四 未脫脂雞蛋黃與脫脂雞蛋黃之化學組成分

Compositions (%)	Non-defatted chicken yolk ^a	Defatted chicken yolk ^a
Protein	15.82±0.45	75.82±0.14
Fat	31.14±0.28	2.52±0.11
Ash	1.70±0.00	3.81±0.2
Moisture	51.73±0.25	18.99±0.6

^aMean ± SD from triplicate determinations.

(三)、探討最適水解酵素濃度

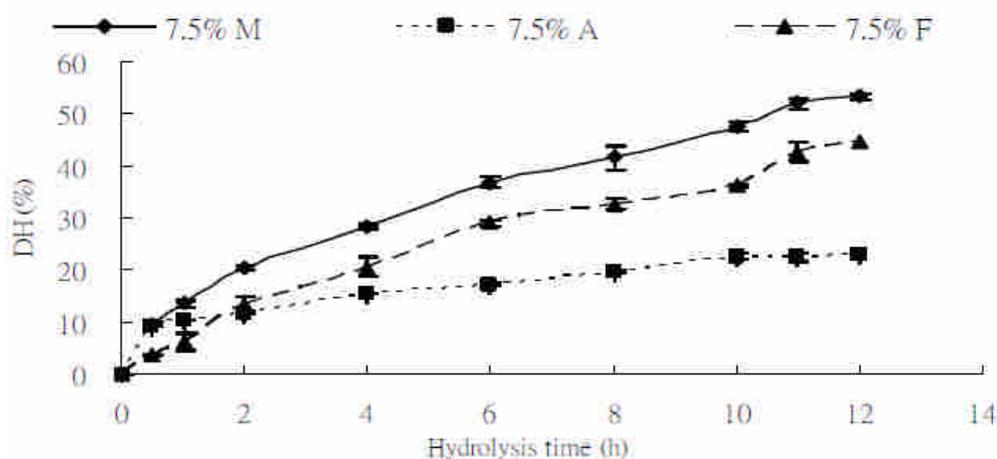
圖十六顯示Alcalase 與 Flavourzyme 的水解率皆隨著酵素濃度增加而上升，以 10% 的水解率為最高，為節省酵素的用量，因此選擇 7.5% Alcalase。



圖十六、(a) Alcalase 與 (b) Flavourzyme 濃度與水解時間對鵝蛋黃蛋白質水解率之影響。

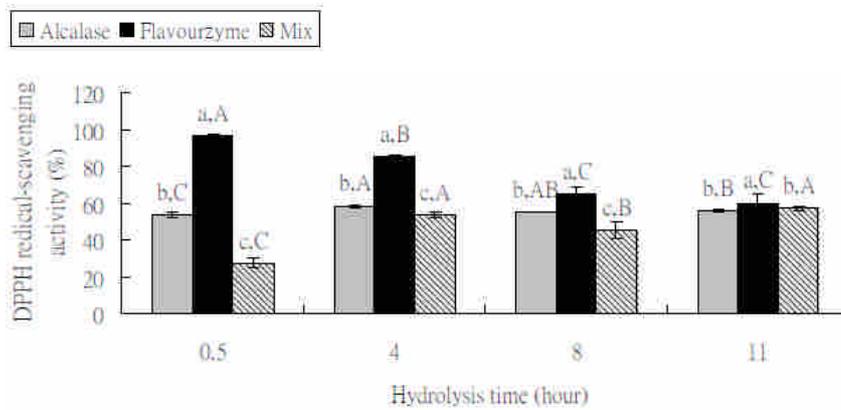
(四) 探討混合酵素對水解率之影響

圖十七為三組酵素 (7.5%) 之水解曲線。混合酵素 (Alcalase:Flavourzyme 混合比例 1:1)，結果顯示，三種酵素水解至 12 小時後，其水解率以混合酵素 > Flavourzyme > Alcalase。



圖十七、7.5% Alcalase (A)、Flavourzyme (F) 與混合酵素 (M) 水解 12 小時之水解率。

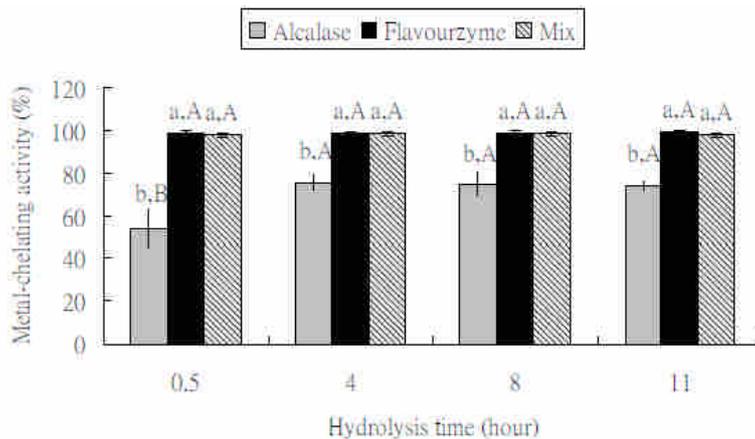
(五) 水解液抗氧化能力分析 Flavourzyme水解液 > Alcalase水解液 > 混合酵素水解液。



圖十八、水解時間及酵素種類對雞蛋蛋黃蛋白質之水解液對 DPPH 自由基清除能力之影響。a-c 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$), A-C 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)。

2. 金屬離子螯合能力

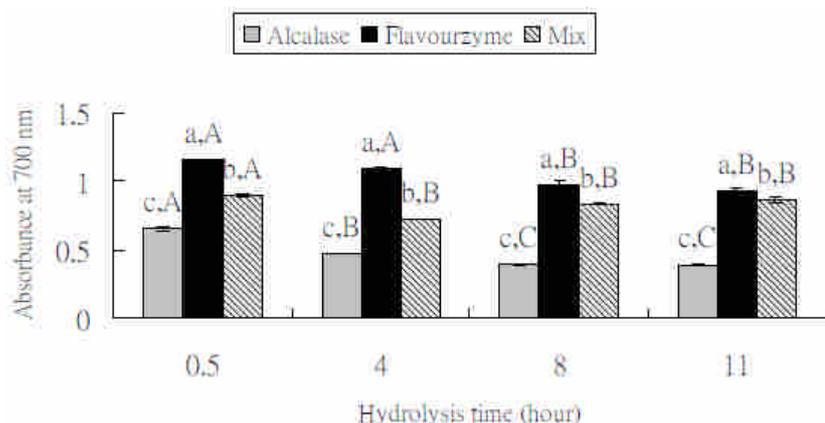
含油脂的食品中，金屬離子特別是銅、鐵離子存在容易加速油脂氧化的發生，故若能將金屬離子螯合去除，便能使脂質的氧化速率減慢。圖十九為雞蛋蛋白質水解液對金屬離子之螯合能力測定結果。結果顯示，雞蛋蛋白質經 Flavourzyme 及混合酵素水解之水解液皆表現出高度的螯合能力 (>97%)，而 Alcalase 之水解液隨著水解時間增加而增加，在 4 小時後螯合能力間無顯著差異 ($p > 0.05$)。



圖十九、水解時間及酵素種類對雞蛋蛋黃蛋白質之水解液金屬離子螯合能力之影響。a-c 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$), A-C 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)。

3. 還原力

還原力的測定係依據 Wu *et al.* (2003) 之方法，將赤血鹽中之 Fe^{3+} 還原為 Fe^{2+} 之亞鐵氰錯離子，此亞鐵氰錯離子再與 Fe^{3+} 形成普魯士藍 (Prussian blue)，即亞鐵氰化鐵，在 700 nm 下有較強的吸收波峰，根據其吸光值之高低，可評估還原力之強弱，吸光值愈高表示其還原力愈強。還原力在抗氧化之表現上係為具有還原過氧化物 (peroxide) 之能力，進而達到抗氧化之效果。由圖可知，在相同水解時間下，Flavourzyme 水解液之還原力 > 混合酵素水解液 > Alcalase 水解液。



圖二十、水解時間及酵素種類對雞蛋蛋黃蛋白質之水解液對還原力之影響。a-c 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)，A-C 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)。

五、鴨蛋

(一) 基本成分分析

表五為未脫脂與脫脂鴨蛋黃之基本成分分析結果，經脫脂後之鴨蛋黃粗脂肪含量由 33.25% 下降至 2.99%；水分含量由 46.35% 下降至 12.5%，顯示脫脂及乾燥過程可明顯去除蛋黃中水分及脂肪，相對地提高了鴨蛋黃中蛋白質含量的百分比。亦由於脫脂鴨蛋黃具較低的脂肪及較高含量的蛋白質，可減少水解過程中的干擾因子，故決定以後的試驗中以脫脂鴨蛋黃進行水解。

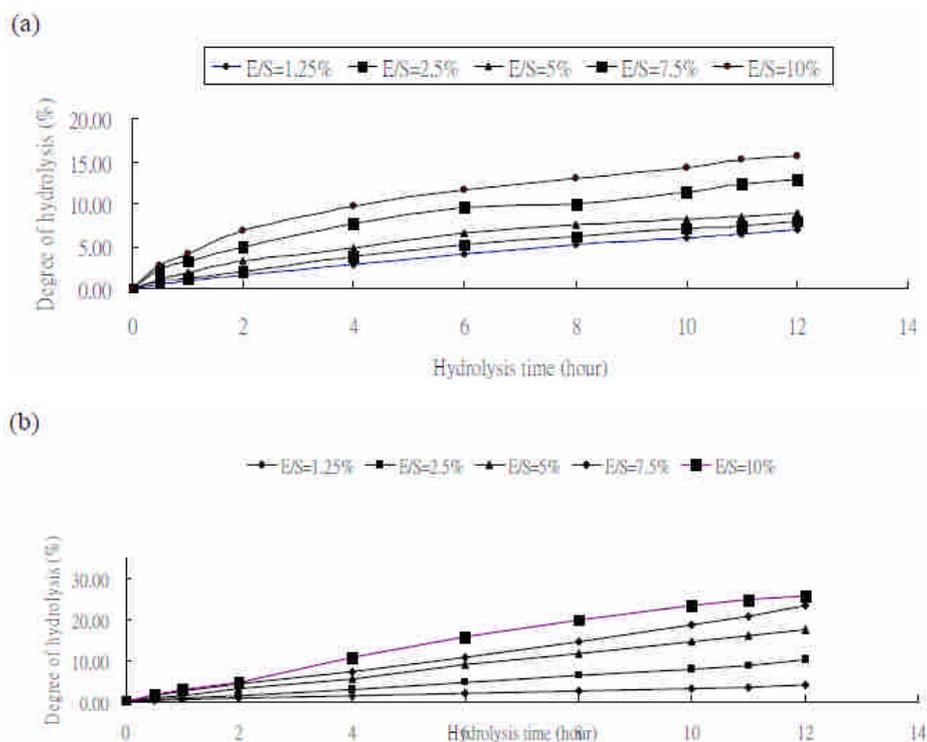
表五 未脫脂鴨蛋黃與脫脂鴨蛋黃之化學組成分

Composition (%)	Non-defatted duck yolk	Defatted duck yolk
Protein	17.92±0.14	82.04±1.46
Fat	33.25±0.03	2.99±0.024
Ash	1.76±0.01	3.58±0.4
Moisture	46.35±0.06	12.5±0.00

(三)、探討最適水解酵素濃度

本試驗目的在於探討不同酵素 (Alcalase 和 Flavourzyme) 濃度對水解率之影響 (圖二十一)，因此使用五種酵素濃度 (1.25、2.5、5、7.5 和 10%) 進行水解，結果顯示，隨著 Alcalase 和 Flavourzyme 濃度增加水解率隨之上升，且皆以 10% 之酵素濃度具最高水解率，並於 10-12 小時漸趨平緩。根據此結果，決

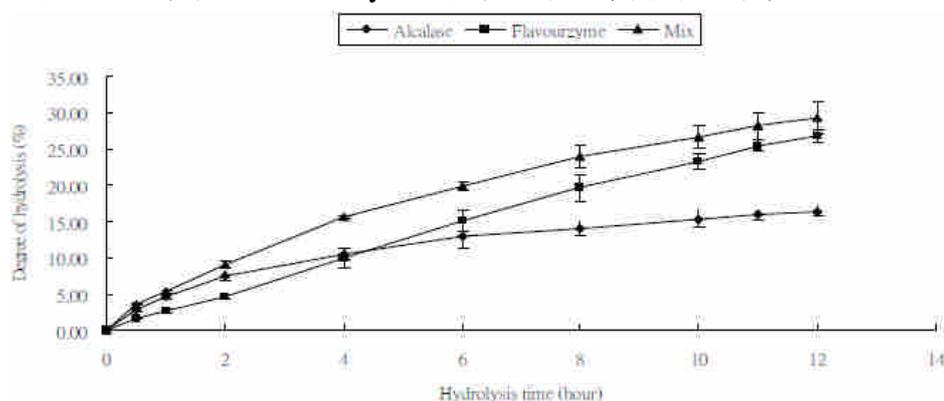
定使用酵素濃度為 10%，進行之後的水解實驗與分析，並選取水解反應曲線中 0、0.5、4、8 和 12 小時五個時間點作為之後實驗比較之依據，以探討未水解及不同水解程度對抗氧化影響。



圖二十一、(a) Alcalase 和 (b) Flavourzyme 濃度與水解時間對鴨蛋黃蛋白質水解率之影響。

(四)、探討混合酵素對水解率之影響

圖二十二為以 10% (w/w of protein) 之 Alcalase、Flavourzyme 及其二種酵素比例為 1:1 (Mixed) 混合，分別對 5% 鴨蛋黃蛋白質進行水解。三組酵素水解液之水解率皆隨水解時間增加而上升，其中以混合酵素水解液為最高。此外，經水解 4 小時後，Flavourzyme 水解液之水解率高於 Alcalase 水解液，Hrcková *et al.* (2002) 指出內切及外切混合酵素比內切酵素更易於完全水解蛋白質分子上之肽鍵，由於 Alcalase 屬於內切酵素，Flavourzyme 中則含有內切及外切酵素，故使用混合酵素及 Flavourzyme 進行水解具有較高水解率。

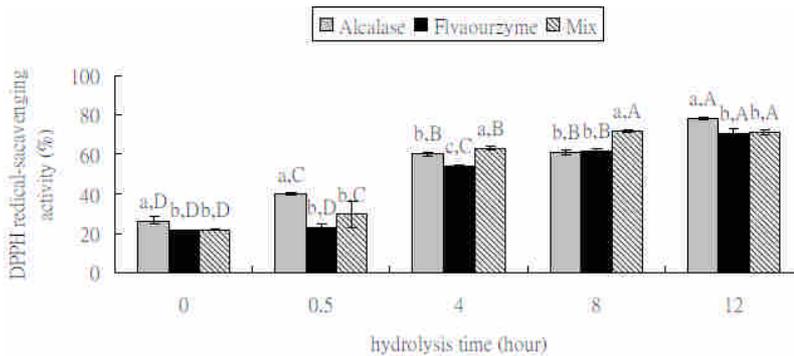


圖二十二、比較三種酵素與水解時間對水解率之影響。

(五) 水解物抗氧化能力分析

1. α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力

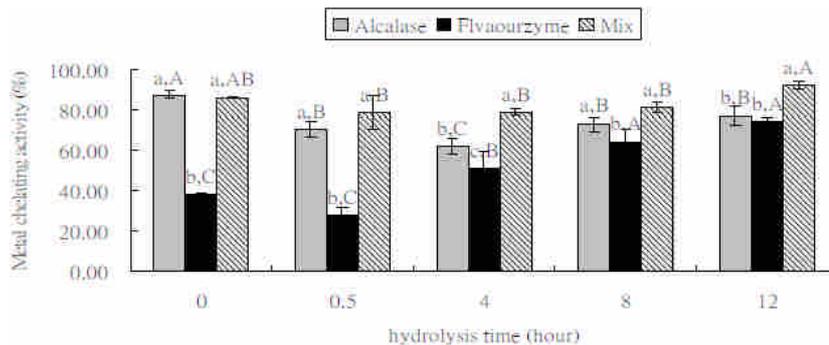
圖二十三為鴨蛋黃水解物清除 DPPH 自由基能力測定結果。結果顯示，隨著水解時間及水解率的增加，各組酵素水解液對清除 DPPH 自由基能力亦隨之增加，而比較三組酵素之水解液則以 Alcalase 及混合酵素較具清除能力，推測可能由於 Alcalase 水解的主要切位是切於疏水性的胺基酸，如絲胺酸、酪胺酸、胱胺酸等...，此類的胺基酸易於提供一電子，進而清除 DPPH 等類的自由基。



圖二十三、水解時間及酵素種類對鴨蛋黃蛋白質之水解液對鴨蛋黃蛋白質之水解液 DPPH 自由基清除能力之影響。a-c 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)，A-C 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)。

2. 金屬離子螯合能力

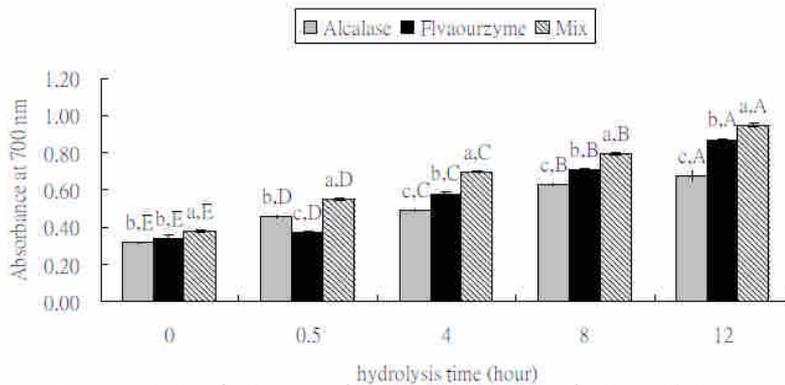
圖二十四為鴨蛋黃蛋白質水解液對金屬離子螯合能力的影響，結果顯示，在相同水解時間下之金屬離子螯合能力混合酵素水解液 > Alcalase 水解液 > Flavourzyme 水解液，顯示出金屬螯合能力會受到水解酵素種類之影響。由於 Vilailak *et al.* (2007) 對金帶細鱈魚肉進行水解，其結果指出利用 Alcalase 及 Flavourzyme 水解之水解物金屬螯合能力會隨水解率增加而上升，然而在本次試驗中在相同酵素水解下各組水解液則是呈現先降後升的趨勢，推測可能在鴨蛋黃蛋白質本身含有可將金屬離子螯合之蛋白質如 phosivitin (分子量 36KD-40KD)，其蛋白質在水解後螯合能力下降，而隨著水解率的提升，具螯合能力之胜肽漸漸釋放，使得水解液之螯合能力又上升。



圖二十四、水解時間及酵素種類對鴨蛋蛋黃蛋白質水解液對金屬離子螯合能力之影響。a-c 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p<0.05$)，A-C 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異 ($p<0.05$)。

3. 還原力

還原力在抗氧化之表現上係為具有還原過氧化物 (peroxide) 之能力，進而達到抗氧化之效果。圖二十五為鴨蛋黃水解液還原力測定結果。鴨蛋黃水解液經 0.5、4、8、12 小時水解後皆有顯著之還原力，且隨著水解的時間及水解率的增加，各組水解液之還原力皆隨之上升 ($p<0.05$)。在相同水解時間 (4、8 及 12 小時) 下比較各組之還原力，發現混合酵素水解液 > Flavourzyme 水解液 > Alcalase 水解液，推測可能之原因亦與水解液之水解率有關，由於在水解 4 小時後水解率之高低為混合酵素水解液 > Flavourzyme 水解液 > Alcalase 水解液 ($p<0.05$)，故推測鴨蛋水解液之還原力與水解率有正向之關係。



圖二十五、水解時間及酵素種類對鴨蛋蛋黃蛋白質水解液對還原力之影響。a-c 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p<0.05$)，A-C 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異 ($p<0.05$)。

六、鵝蛋

(一) 基本成分分析

表六、脫脂與未脫脂鵝蛋黃的基本組成份

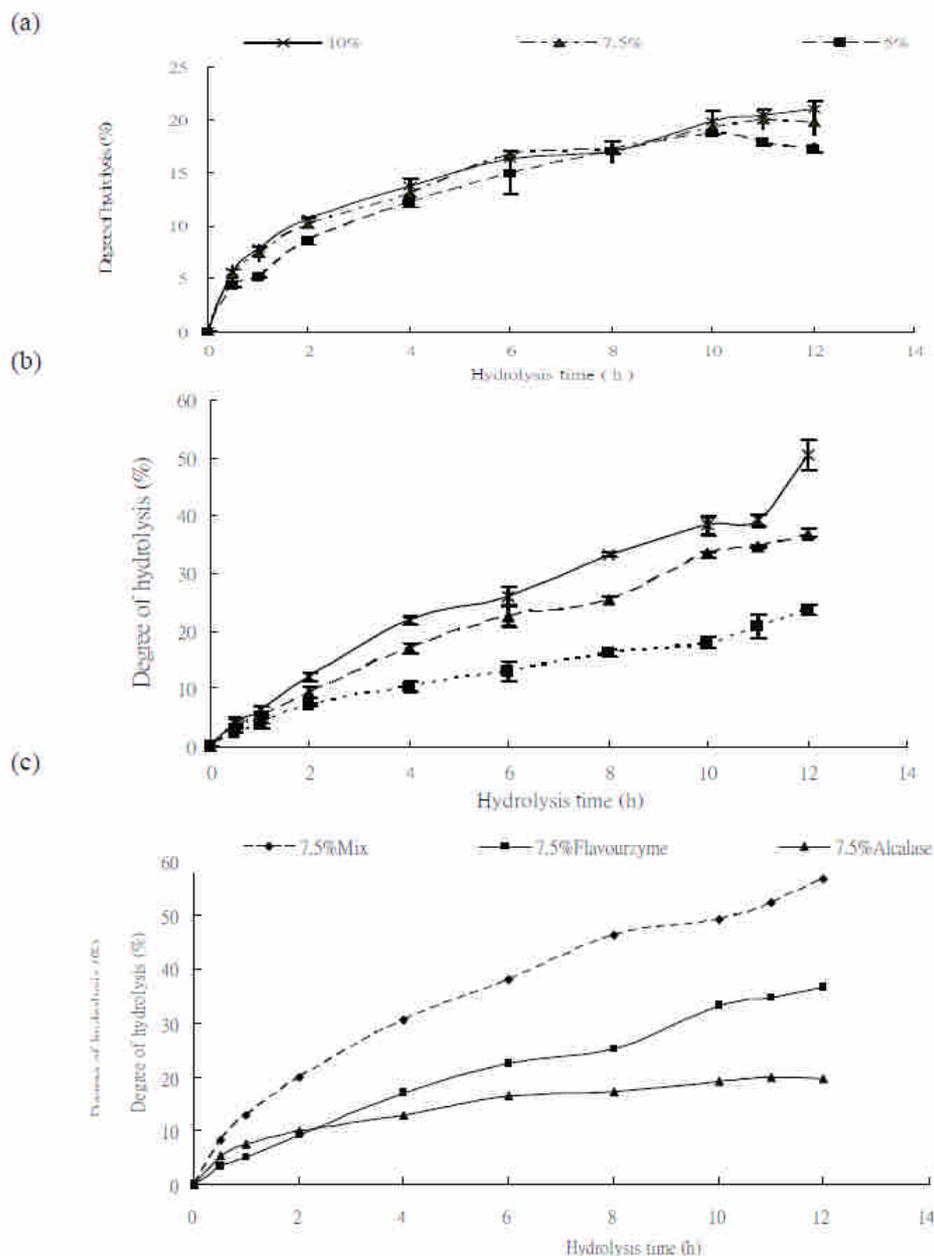
Composition (%)	Defatted goose egg yolk ^a	Non-defatted goose egg yolk ^a
Protein	78.83±0.004	17.41±0.09
Moisture	15.35±0.036	49.37±0.12
Fat	3.81±0.035	32.71±2.46
Ash	3.98±0.008	1.70±0.02

^a Mean ± SD from triplicate determinations.

(三) 探討最適酵素濃度

圖二十六為 5、7.5 與 10% Alcalase 與 Flavourzyme 分別在 8% 鵝蛋黃蛋白質基質濃度進行 12 小時水解反應，每 2 小時取樣一次，測其水解率，作水解

率對時間的水解曲線圖。結果顯示，Alcalase 與 Flavourzyme 的水解率皆隨著酵素濃度與水解時間增加而上升。而圖二十六 (a) Alcalase 在水解 10 小時之後，其水解率漸趨向於平緩，10%與 7.5% Alcalase 之水解曲線相似，為節省成本，往後試驗選擇 7.5% Alcalase。由圖二十六 (b) 可知 Flavourzyme 水解 12 小時，其水解率仍持續上升，並無趨緩之現象，故選擇與 Alcalase 相同的酵素濃度。至於混合酵素的濃度，也選擇 7.5%，以 Alcalase 與 Flavourzyme 混合 (1:1) 之酵素。由圖二十六 (c) 之結果發現，混合酵素組之水解曲線皆高於 Alcalase 組及 Flavourzyme 組，且水解在 12 小時後其水解率仍持續上升。我們以等距時間與水解初期 (0.5 小時)，決定分別在 0、0.5、4、8、12 小時取得水解液，並探討不同的水解時間對水解液抗氧化特性。

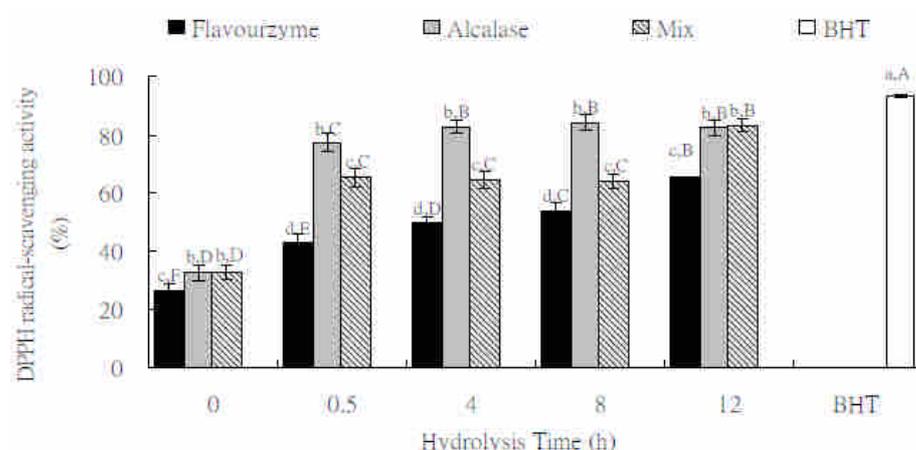


圖二十六、酵素濃度與水解時間對鵝蛋黃蛋白質水解率之影響。(a) Alcalase, (b) Flavourzyme。不同酵素對鵝蛋黃蛋白質水解率之影響 (c)。

(四) 水解液抗氧化能力分析

1. α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力測定

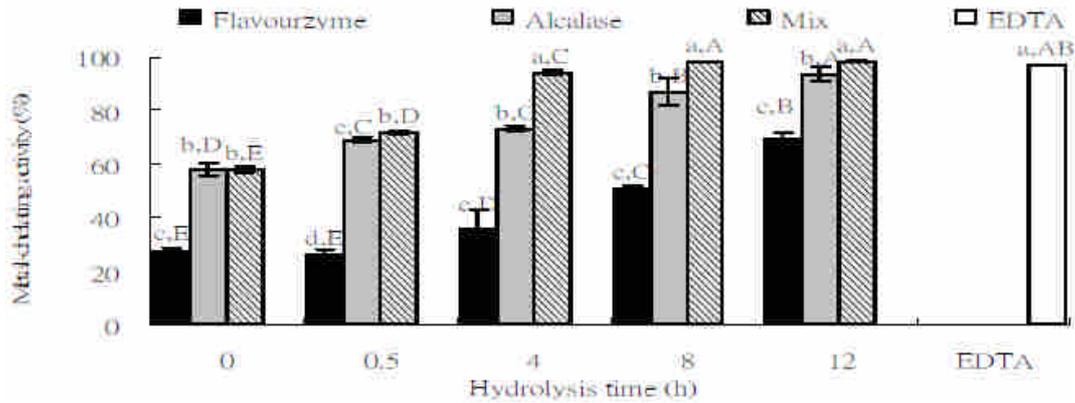
圖二十七為 Alcalase、Flavourzyme 與混合酵素水解 0、0.5、4、8 及 12 小時所得水解液之 DPPH 自由基清除能力，所有水解液皆稀釋 2 倍。結果表示，Alcalase 水解至 4 小時水解液即可達到較高的 DPPH 自由基清除力，約為 82%，而水解 8、12 小時水解液之清除 DPPH 自由基的能力則無顯著變化。Flavourzyme 水解液之清除能力，隨著水解時間增加而提升，但其清除能力顯著比其它二者酵素水解液低。至於混合酵素水解 0.5 小時水解液之清除能力明顯的上升，之後 0 至 8 小時水解液的清除能力則無明顯的變化，12 小時水解液之清除能力達到與 Alcalase 水解液最高之清除能力相當，約 82%。



圖二十七、水解時間及酵素種類對鵝蛋黃蛋白質水解液之 DPPH 自由基清除能力之影響。a-c 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)，A-F 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異。BHT (Butylated hydroxytoluene) 濃度為 1 mg/ml。

2. 金屬離子螯合能力測定

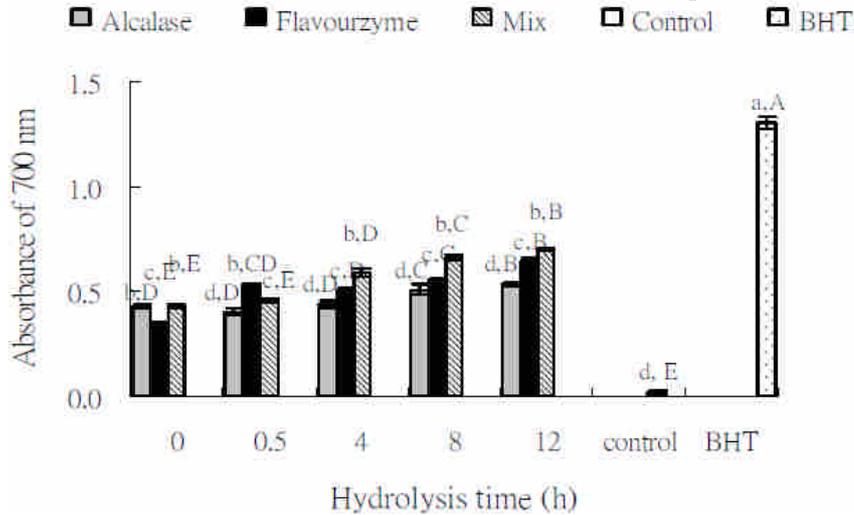
圖二十八為 Alcalase、Flavourzyme 與混合酵素在 0、0.5、4、8 及 12 小時所得水解液之 DPPH 自由基清除能力，所有水解液皆稀釋 8 倍。結果顯示，三種酵素之水解液螯合金屬離子的能力皆隨著水解時間增加而上升。一般而言，螯合金屬能力以混合酵素 > Alcalase > Flavourzyme。混合酵素水解 12 小時水解液達之金屬螯合能力可達最高 (約 93%)。水解時間愈久，蛋白質或胜肽暴露出愈多的羧基 (COO-) 可與正電荷的金屬離子進行中和反應 (賴, 1997)，因此隨著水解時間增加，其螯合金屬離子的能力亦增加。水解金屬離子螯合能力與酵素水解所得到的胜肽大小有關，須有一定大小的片段才能進行金屬離子的螯合作用 (Tong, 2000)，Flavourzyme 為內、外切酶，外切時由端點開始切，其水解出來的片段相對於 Alcalase 來得較小，故螯合力較低。



圖二十八、水解時間及酵素種類對鵝蛋黃蛋白質水解液金屬離子整合能力之影響。a-c 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)，A-E 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)。EDTA (Ethylenedinitrilo tetraacetic acid) 濃度為 1 mg/ml。

4. 還原力測定

所有水解液皆稀釋為 2 倍。吸光值愈高，表示還原力愈強。由圖二十九可知，三組酵素在水解 0 至 0.5 小時，水解液之還原力無顯著的變化，但 4 小時後，水解液之還原力隨著時間愈長而愈強，其中以混合酵素水解 12 小時之水解液較高。此外，所有水解液的還原力皆顯著高於對照組 ($p < 0.05$)。



圖二十九、水解時間及酵素種類對鵝蛋黃蛋白質水解液對氫氧自由基清除能力之影響。a-d 在相同水解時間下無相同字母者表示有顯著差異 ($p < 0.05$)，A-E 在相同酵素水解下無相同字母者表示有顯著差異。BHT (Butylated hydroxytoluene) 濃度為 1 mg/ml。

七、乳化特性

根據 Pearce 和 Kinsella (1978) 之定義，測定項目有乳化力指數 (The emulsifying activity index; 簡稱 EAI) 及乳化穩定性指數 (The emulsifying stability index; 簡稱 ESI)。雞肉蛋白質水解物 (CMPH) 及雞蛋黃蛋白質水解物 (CEYPH) 不同濃度之 EAI 及 ESI 測定結果如表七。

由結果可以發現，兩種蛋白質水解物之 EAI 隨著濃度上升而下降 ($p < 0.05$)；Thiansilakul *et al.* (2007) 脫脂藍圓鯨醇素水解物之 EAI 也有相同的趨勢。Gbogouri *et al.* (2004) 解釋由於水解物是表面活性物質，同時具有親水及疏水基，因此可發生水包油 (oil-in-water) 的乳化狀態；而水解物乳化機制則為均質時，新形成的油滴表面產生防衛的膜而阻止了滴液的混合，因此產生了乳化的現象。至於乳化能力的下降可能是因為均質時，高蛋白質水解物濃度使吸附速率 (absorption rate) 高過擴散速率 (spreading rate) 造成的現象。

在 ESI 方面，CMPH 濃度在 0.1 ~ 1.0 % 時由於沒有顯著差異 ($p > 0.05$)，而 CEYPH 之 ESI 隨濃度上升而下降 ($p < 0.05$)，因此整體而言，兩種蛋白質水解物濃度升高 ESI 降低，也就是說乳化狀態會因濃度增加而愈不穩定；Thiansilakul *et al.* (2007) 也有相似的結果。水解物中大分子量胜肽含量高或是有較多疏水性胺基酸則可提供乳化的穩定性 (Mutilangi *et al.*, 1996)。

八、保水性

表八為生鮮絞碎豬肉排分別添加 0、1、2、3 % 雞肉蛋白質水解物粉末或雞蛋黃蛋白質水解物粉末後進行測試的結果。隨著兩種蛋白質水解物添加濃度增加，生鮮肉排保水能力有顯著增加 ($p < 0.05$)。由結果可以觀察到兩種蛋白質水解物粉末在未添加時，保水性就有些許差距，陳 (2000) 當蛋白質在等電點 (約 pH 5.2) 時其保水性是最差的，隨著 pH 上升及下降，保水性會上升，呈現 U 型曲線。根據此理論對照樣品的 pH，在添加 0 % CMPH 組其 pH 5.86，添加 0 % CEYPH 的處理則為 pH 5.57；推測這是由於不同批處理時肉品本身條件的差異造成的實驗誤差，因此將各自未添加水解物粉末的處理之保水性當成基礎，用倍數的方式來表示。

可以發現在有添加不同濃度蛋白質水解物時，添加 CMPH 之生鮮肉排其保水力皆優於添加 CEYPH 之肉排，所以在生鮮絞碎豬肉排的保水性方面是以 CMPH 效果較佳，且隨水解物濃度增加而增加。

表九為加熱絞碎豬肉排分別添加 0、1、2、3 % 雞肉蛋白質水解物粉末或雞蛋黃蛋白質水解物粉末後進行測試的結果。隨著 CMPH 添加濃度增加，加熱肉排保水能力有稍微隨之上升，但是沒有顯著差異 ($p > 0.05$)。在添加 CEYPH 之處理，有添加粉末的組別保水性優於未添加的組別 ($p < 0.05$)；但是隨著粉末添加濃度增加，加熱肉排的保水能力有增加，只是三組添加濃度間沒有差異 ($p > 0.05$)。就總體而言，在加熱絞碎豬肉排的保水性方面是以 CEYPH 效果較好。

表七、不同濃度之雞肉及雞蛋黃蛋白質水解物乳化特性

Table 1 Emulsify properties of hydrolysates from chicken meat and chicken egg yolk protein at various concentrations

Hydrolysate concentration (%)	EAI (m ² /g)		ESI (min)	
	CMPH ¹	CEYPH ²	CMPH ¹	CEYPH ²
0.1	59.94 ± 2.31 ^a	43.97 ± 1.70 ^a	44.47 ± 2.36 ^a	101.90 ± 10.16 ^a
0.5	6.54 ± 0.34 ^b	5.52 ± 0.24 ^b	42.76 ± 9.31 ^a	87.86 ± 9.08 ^b
1.0	3.19 ± 0.17 ^c	4.03 ± 0.27 ^c	43.51 ± 5.37 ^a	47.54 ± 5.32 ^c
3.0	1.40 ± 0.03 ^d	3.52 ± 0.08 ^d	19.33 ± 0.63 ^b	26.87 ± 1.71 ^d

¹ CMPH means chicken meat protein hydrolysates.

² CEYPH means chicken egg yolk protein hydrolysates.

^{a-d} Means with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表八、添加不同濃度動物性蛋白質水解物粉末對生鮮絞碎豬肉排保水性的影響

Table 2 Effect of water holding capacity of hydrolysates from animal protein at various concentrations in raw meat patties.

Hydrolysate concentration (%)	CMPH ¹		CEYPH ²	
	Bound water (%)	Fold	Bound water (%)	Fold
0	75.76 ± 1.06 ^c	1	70.70 ± 1.62 ^d	1
1	79.93 ± 1.27 ^c	1.06	73.25 ± 1.67 ^c	1.04
2	86.94 ± 1.67 ^b	1.15	77.00 ± 0.90 ^b	1.09
3	94.02 ± 0.54 ^a	1.24	81.19 ± 1.56 ^a	1.15

¹ CMPH means chicken meat protein hydrolysates.

² CEYPH means chicken egg yolk protein hydrolysates.

^{a-d} Means with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

表九、添加不同濃度動物性蛋白質水解物粉末對加熱絞碎豬肉排保水性的影響

Table 3. Effect of water holding capacity of hydrolysates from animal protein at various concentrations in cooked meat patties.

Hydrolysate concentration (%)	Bound water (%)	
	CMPH	CEYPE
0	47.65 ± 2.95 ^a	44.58 ± 3.52 ^a
1	48.75 ± 3.58 ^a	55.43 ± 1.53 ^b
2	51.20 ± 4.18 ^a	60.13 ± 3.27 ^b
3	50.75 ± 1.75 ^a	59.96 ± 2.91 ^b

¹ CMPH means chicken meat protein hydrolysates.

² CEYPH means chicken egg yolk protein hydrolysates.

^{a-d} Means with different letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

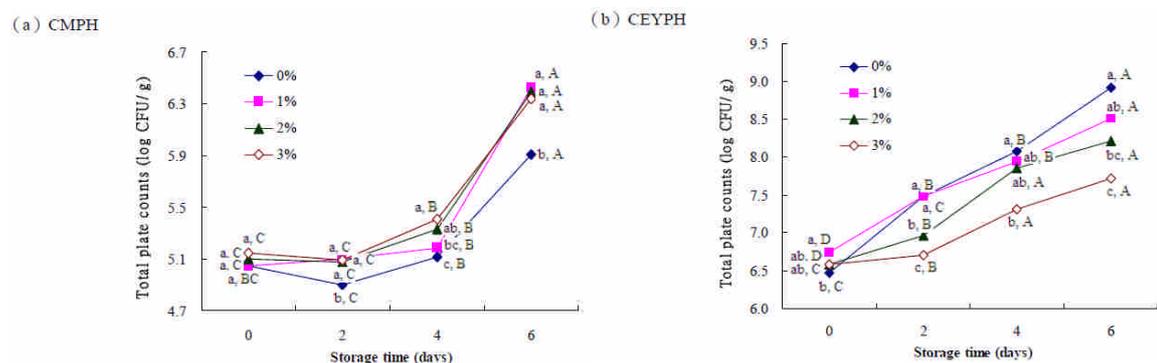
九、總生菌數

圖三十是於貯藏期間分別添加不同濃度的蛋白質水解物對生鮮絞碎豬肉排總生菌數的影響。隨著貯藏天數的增加，所有處理的總生菌量皆隨著增加。圖三十(a)的部份，從貯藏的第2天開始控制組(0% CMPH)菌量是最低的，直到貯藏的第6天為止亦然，且在第6天與其他添加CMPH處理組有顯著差異($p < 0.05$)，也就是說生鮮絞碎豬肉排添加CMPH不但沒有抑菌效果，相反的還會

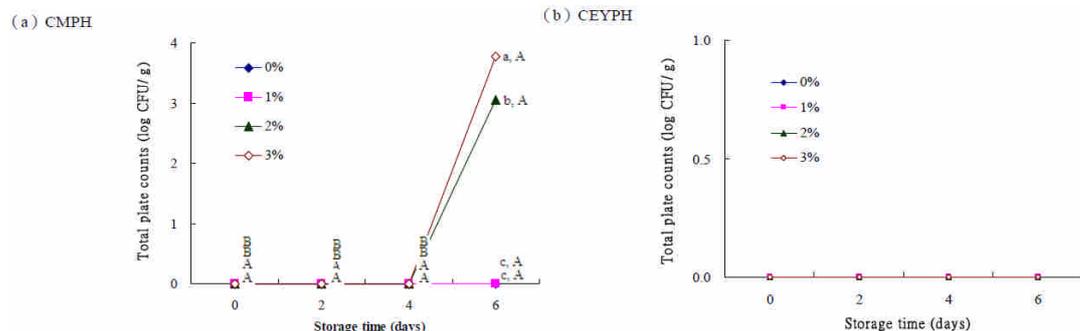
促使生鮮肉排菌量增加。至於圖三十(b)，從貯藏第2天可以觀察到添加2、3 % CEYPH之處理組菌量顯著低於添加0及1 % CEYPH組別 ($p < 0.05$)。到了第6天有添加CEYPH組別菌量皆低於控制組(0 % CEYPH)，且添加2及3 % CEYPH處理組仍然顯著低於控制組，因此對於生鮮絞碎豬肉排而言，於貯藏期間添加CEYPH是有助於抑制菌量的成長。

圖三十一是於貯藏期間分別添加不同濃度的蛋白質水解物對加熱絞碎豬肉排總生菌數的影響。圖(a)的部份，到了貯藏的第6天，添加2及3 %CMPH才有可數範圍菌量的發生 ($p < 0.05$)。圖(b)則是在貯藏時間內不管有沒有添加CEYPE的處理都沒有可數菌量的發生。

綜合圖三十及圖三十一的結果，發現CMPH不管是添加在生鮮或是加熱絞碎豬肉排相較於控制組而言，都是具有促進細菌生長的現象，且在較高濃度(2、3 %)時菌量則是有顯著過高的結果 ($p < 0.05$)。在CEYPH方面，生鮮絞碎豬肉排的結果顯示添加CEYPH相對於控制組確實有抑菌的功能，且在高濃度(2、3 %)時菌量是顯著抑制的 ($p < 0.05$)；而在加熱絞碎豬肉排的部分，因為都沒有可數範圍菌量的發生，所以只能說CEYPH不會促進細菌的生長。因此在總生菌數的結果方面，是以添加CEYPH來當作抑菌劑會比較好的選擇。



圖三十、於4 °C貯藏期間添加不同濃度(a) 雞肉蛋白質水解物及(b) 雞蛋黃蛋白質水解物對生鮮絞碎豬肉排總生菌數的影響。



圖三十一、於4 °C貯藏期間添加不同濃度(a) 雞肉蛋白質水解物及(b) 雞蛋黃蛋白質水解物對加熱絞碎豬肉排總生菌數的影響。

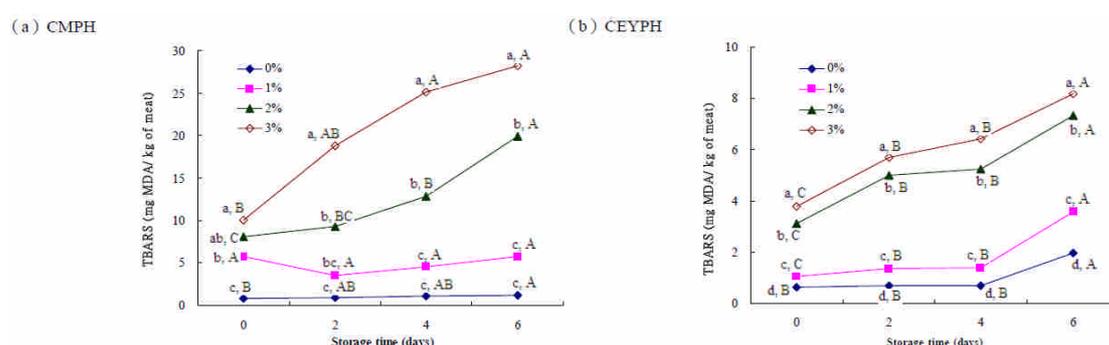
十、TBRAS 值

Thiobarbituric acid-reactive substances values 簡稱 TBARS 值，又稱疏巴比妥

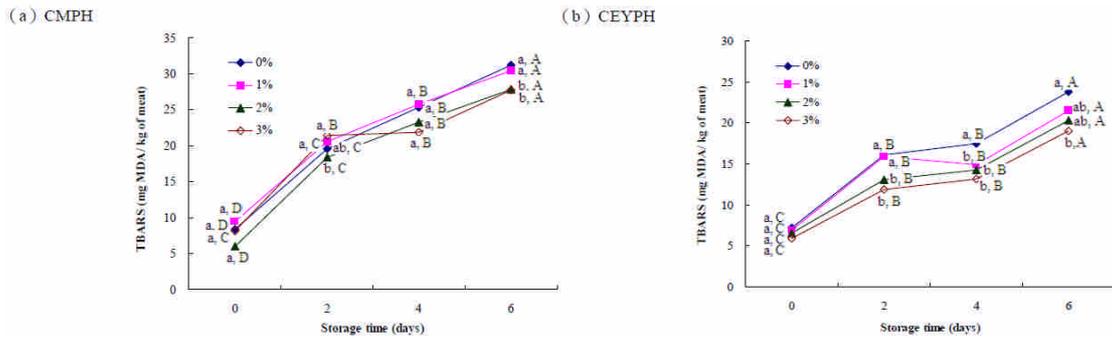
酸值，為脂質氧化敗程度的指標，其原理為不飽和脂肪酸經氧化生成之氧化物，會與加入的硫巴比妥酸（Thiobarbituric acid; TBA）生成紅色色素，此紅色色素為 malonaldehyde (MDA) 和 TBA 的縮合物，在 532 nm 波長下會有極大吸收。若氧化酸敗的情形愈嚴重，MDA 的生成就會愈多，吸光值就會愈高。

圖三十二是貯藏期間生鮮絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 TBARS 值的影響。根據 (a) 圖結果隨著貯藏時間增加 TBARS 值隨之上升，且 CMPH 濃度的增加，TBARS 值也會更高；圖 (b) 也有相同的趨勢。於第 0 天，由結果可以看出兩種蛋白質水解物在生鮮絞碎豬肉排中都有促進脂質氧化的現象，且隨著添加濃度增加氧化現象愈趨嚴重 ($p < 0.05$)。其中圖 (a) 添加 1 %CMPH 到了第 2 天之後看似有些微抑制氧化的功能，不過就第 0、2、4、6 天的數據在統計學上是沒有顯著差異的 ($p > 0.05$)，因此不能說其有抑制能力。

圖三十三是貯藏期間加熱絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 TBARS 值的影響。根據(a)圖結果隨著貯藏時間增加 TBARS 值隨之上升，且添加 CEYPH 濃度的增加，TBARS 值有稍微降低的趨勢；圖 (b) 也有相同的結果。於第 0 天，兩種蛋白質水解物粉末的添加對加熱絞碎豬肉排都沒有促進脂質氧化的現象 ($p > 0.05$)。其中圖 (a) 到了第 4 天之後，有添加 CMPH 的組別開始有些微抑制氧化的功能，第 6 天時 2、3 %CMPH 相對於控制組則具有顯著抑制能力 ($p < 0.05$)。至於圖 (b) 部份，從第 2 天開始，2、3 %CEYPH 相對於控制組則具有顯著抑制能力 ($p < 0.05$)，但是到第 6 天只有 3 %CEYPH 處理具有顯著抑制能力 ($p < 0.05$)。也就是在加熱絞碎豬肉排食品系統中，添加高濃度的蛋白質水解物是可以有益於抑制脂質氧化的發生。Peña-Ramos 和 Xiong (2003) 使用分離大豆蛋白水解物添加在加熱豬肉餅於貯藏期間可以減少 TBARS 的生成，和本實驗結果有相同的趨勢。



圖三十二、於 4 °C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對生鮮絞碎豬肉排 TBARS 值的影響。

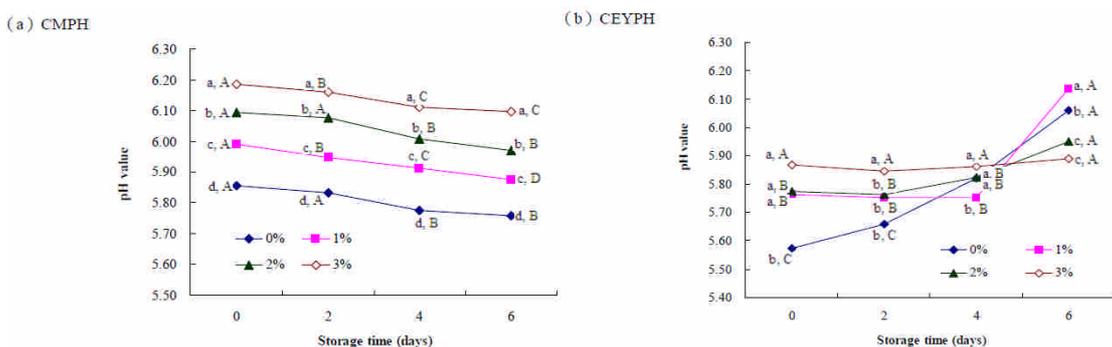


圖三十三、於 4 °C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對加熱絞碎豬肉排 TBARS 值的影響。

十一、酸鹼值

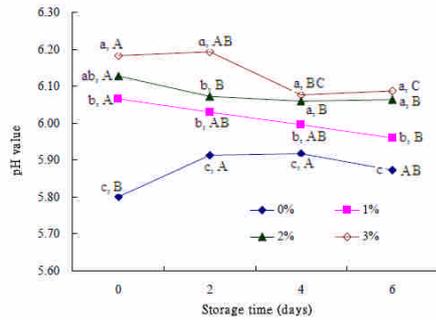
圖三十四是貯藏期間生鮮絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 pH 值的影響。圖 (a) 當 CMPH 添加濃度愈高時，會造成生鮮絞碎豬肉排 pH 值上升 ($p < 0.05$)；於貯藏期間生鮮肉排的 pH 值變異很小，變動量僅 0.1 左右，對應圖三十四 (a) 總生菌數的第 0 天到第 6 天變化量從 10^5 增為 10^6 ；圖 (b) 的話，整體說來 pH 值變動量較大，且對照圖三十四 (b) 在貯藏期間微生物菌量是持續在生長的，到了第 6 天，pH 值快速上升；Banwart (1979) 指出肉品中所含微生物愈多，蛋白質或胺基酸愈容易被分解，而產生氨 (ammonia) 及胺 (amine) 而造成 pH 上升。

圖三十五是貯藏期間加熱絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 pH 值的影響。由圖可以看出蛋白質粉末濃度添加時相對於控制組會造成加熱絞碎豬肉排 pH 值上升 ($p < 0.05$)。於貯藏期間加熱絞碎豬肉排的 pH 值變異很小，變動量小於 0.1，對應圖三十一 (b) 總生菌數亦無太大的變化。

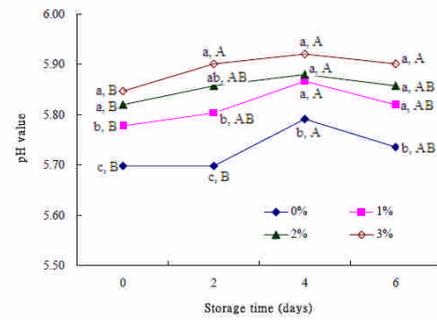


圖三十四、於 4 °C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對生鮮絞碎豬肉排酸鹼值的影響。

(a) CMPH



(b) CEYPH



圖三十五、於 4 °C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對加熱絞碎豬肉排酸鹼值的影響。

十二、色澤

肉品之色澤對商品價值影響極大，通常一般消費者判定肉質好壞是以肉品表面色澤作為依據。本實驗以色差計測定色澤分析，L*值為明亮度，值愈大愈明亮，愈小就愈灰暗；a*值為紅色度，正值愈大表示偏紅，若為負數表示偏綠；b*值為黃色度，正數愈大表示愈黃，負數愈大則愈藍。

1. 明亮度，L*值

圖三十六是貯藏期間生鮮絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 L*值的影響。圖 (a) 為添加不同濃度 CMPH 的處理組，由結果可以看出各組趨勢相近，只有到貯藏的第 6 天時，有添加 CMPH 的處理組皆較控制組來的不明亮 ($p < 0.05$)。而 (b) 圖的部分，各組的 L*值隨貯藏時間增加有下降的趨勢，但是彼此之間沒有顯著差異 ($p > 0.05$)。

圖三十七是貯藏期間加熱絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 L*值的影響。由圖可以看出各組變化趨勢並不一致，但是到貯藏的第 6 天，(a)、(b) 兩大組處理的控制組其明亮度優於有添加蛋白質水解物的組別，除了添加 1 % CMPH 處理組外，與其他組別都有顯著差異 ($p < 0.05$)。

周等 (1993) 發現豬脂之 L*值會隨貯藏時間增加而有降低的趨勢，貯藏時間愈久，脂質之品質變化愈大，且色澤逐漸失去明亮度。邱 (2004) 乳鐵蛋白對中式香腸脂質氧化的影響中提到，L*值變化的趨勢並非一致，但有隨貯藏時間增加而有下降的趨勢，造成差異的原因可能是因為中式香腸脂肪顆粒大小分布影響樣品橫切面的 L*值，此外樣品中的肌紅蛋白及變性肌紅蛋白之比例也可能造成 L*值的差異。另外，Cheorun *et al.* (2001) 提出熟豬肉香腸在有氧包裝下，L*值仍穩定，但真空包裝下，L*值有下降的趨勢。

2. 紅色度，a*值

圖三十八是貯藏期間加熱絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 a*值的影響。(a)、(b) 兩大組處理在第 0 天其 a*值隨蛋白質水解物添加濃度而下降，

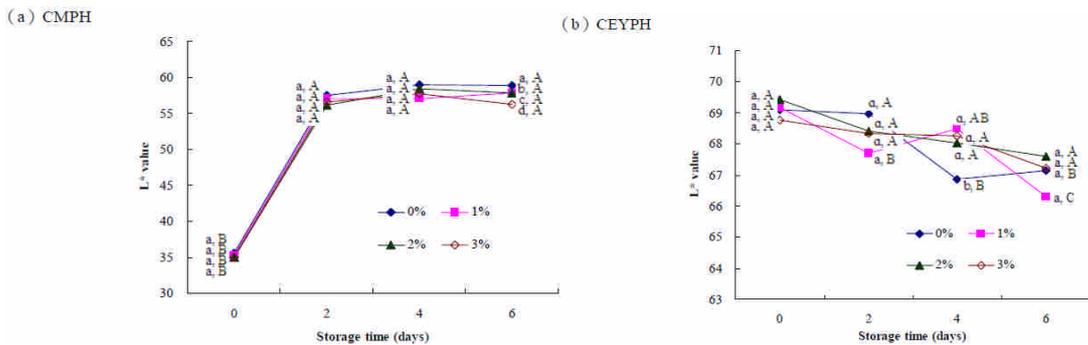
且 2、3 % 組別相對於控制組都有顯著差異 ($p < 0.05$)。在 (a) 組部分，各組變化趨勢類似，到第 6 天時，各組之間沒有顯著差異 ($p > 0.05$)。(b) 組部分，到了第 6 天結果與第 0 天時相同，添加雞蛋黃蛋白質水解物 2 及 3 % 組別與控制組有顯著差異 ($p < 0.05$)。

圖三十九是貯藏期間加熱絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 a^* 值的影響。在 (a) 組部分，各組變化趨勢類似，到第 6 天時，各組之間沒有顯著差異 ($p > 0.05$)。(b) 組部分，到了第 6 天結果與第 0 天時相同，添加雞蛋黃蛋白質水解物組別與控制組之間沒有顯著差異 ($p < 0.05$)。

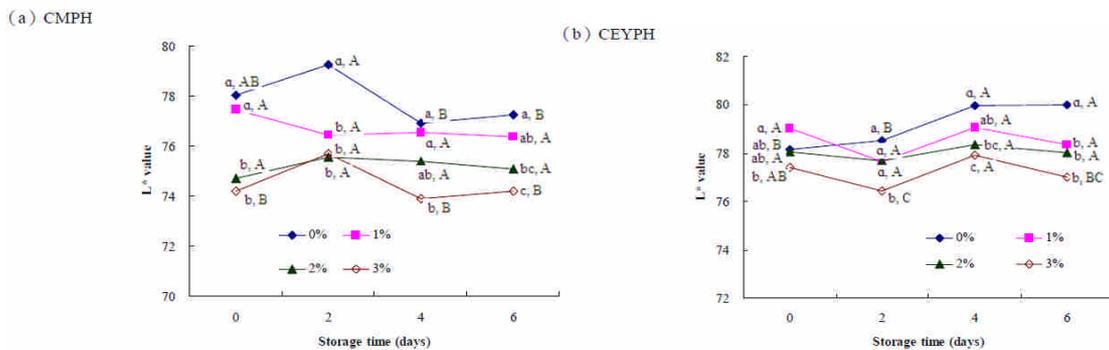
Ledward (1983) 及 Renner (1990) 報告肌紅蛋白與脂質氧化會互相催化作用，而造成紅色值的下降。Rhee *et al.* (1983) 在凍藏的攪碎豬肉中發現貯藏期間 TBARS 值的增加，會使 a^* 值下降，其他研究也發現肌肉中的脂質氧化，會促進顏色的改變 (Watts, 1962; Greene, 1969)。

圖四十是貯藏期間生鮮絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 b^* 值的影響。(a)、(b) 組部分，各組間隨時間貯藏條件影響其變化趨勢類似，到第 6 天時，各組之間沒有顯著差異 ($p > 0.05$)。

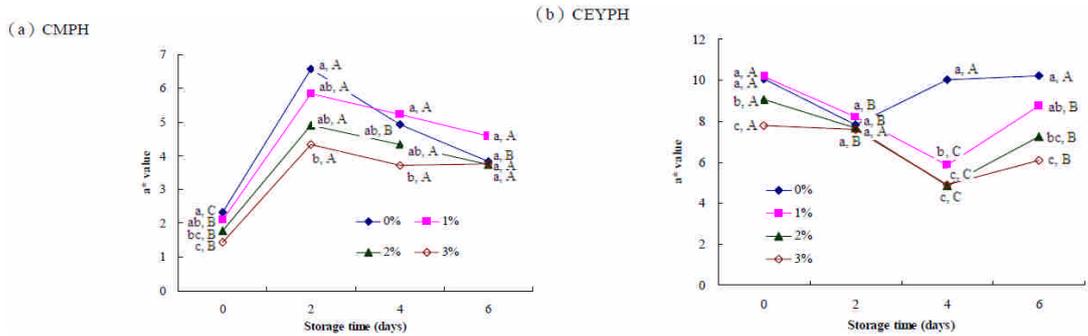
圖四十一是貯藏期間加熱絞碎豬肉排添加不同濃度蛋白質水解物對 b^* 值的影響。(a)、(b) 組部分，雖然各組間 b^* 值變化稍有波動，但是每個測定天數各組之間都沒有顯著差異 ($p > 0.05$)。



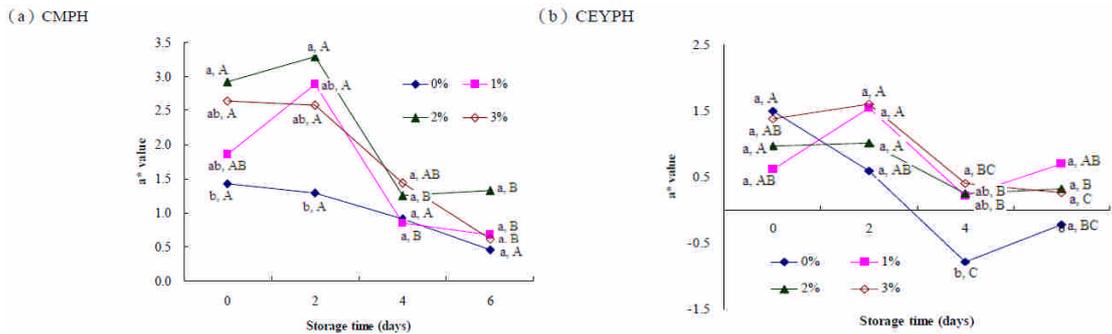
圖三十六、於 4 °C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對生鮮絞碎豬肉排 L^* 值的影響。



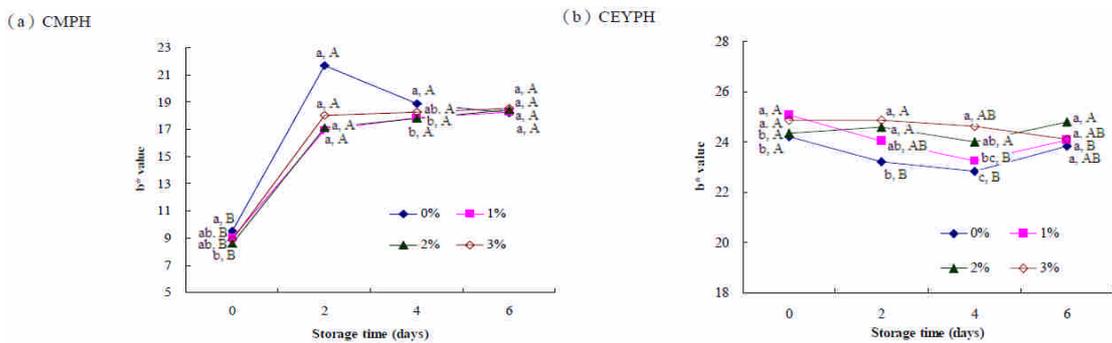
圖三十七、於 4 °C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對加熱絞碎豬肉排 L^* 值的影響。



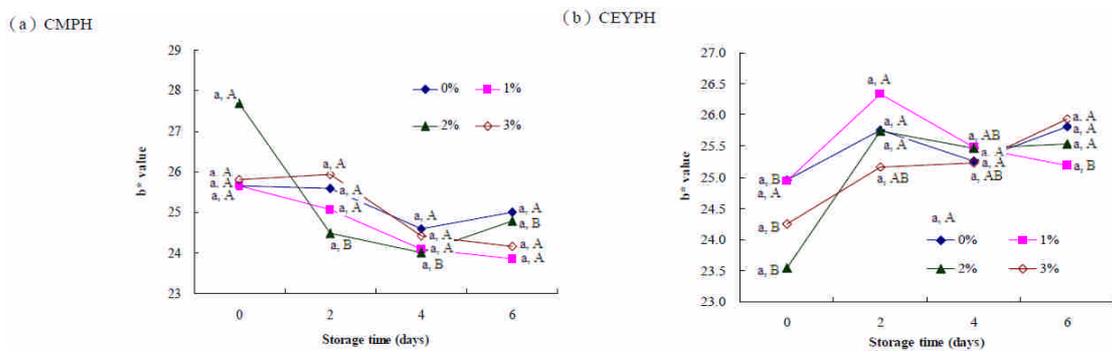
圖三十八、於 4°C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對生鮮絞碎豬肉排 a* 值的影響。



圖三十九、於 4°C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對加熱絞碎豬肉排 a* 值的影響。



圖四十、於 4°C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對生鮮絞碎豬肉排 b* 值的影響。



圖四十一、於 4°C 貯藏期間添加不同濃度 (a) 雞肉蛋白質水解物及 (b) 雞蛋黃蛋白質水解物對加熱絞碎豬肉排 b* 值的影響。

十三、結論

生鮮絞碎豬肉排試驗中，添加 CEYPH 是有助於抑制微生物的生長，而在 TBARS 測驗中，兩種蛋白質水解物都有促氧化的現象，保水力的部份則是以添加 CMPH 效果較佳，色澤部分沒有太大的差異；加熱絞碎豬肉排試驗時，以添加 CEYPH 的處理能使微生物菌量不增加，但是兩種蛋白質水解物皆能抑制 TBARS 的生成，而保水力是以 CEYPH 表現較好，色澤測試結果並無特殊之處。而肉品於貯藏期間以食用安全最為重要，因此微生物的存在及脂質之氧化是必須要避免的；根據結果，建議可將 CEYPH 添加於加熱絞碎豬肉排中，幫助減少 TBARS 的形成，且不增加微生物的菌數。

陸、參考文獻

中國國家標準 (CNS) 10890，N 8186。食品微生物之檢驗法—生菌數之檢驗。經濟部中央標準局印行。台北。台灣。

邱群惠、郭俊欽。(2005) 乳鐵蛋白對中式香腸微生物數及脂質氧化之影響。臺灣農業化學及食品科學 43(5): 325-334。

周仲光、林高塚、楊正護、江碧玲、曾再富 (1993) 不同部位豬脂肪與中式香腸品質相關性之研究 (I) 不同切角處裡與貯藏條件對豬脂肪性狀之影響。中國畜牧學會會誌。22 (4)， 409-421。

邱群惠 (2004) 乳鐵蛋白對中式香腸脂質氧化及微生物數之影響，碩士論文，東海大學食品科學研究所。

陳明造 (2000) 肉品加工理論與應用，p. 181-183，203-204，藝軒圖書出版社。

賴穎珍、郭俊欽 (1997) 禽肉肌肽之萃取及其抗氧化性。中華民國食品科學技術學會第二十七屆會員大會。p.223 (G-4)。

蔣力惠、郭俊欽 (2006) 乳鐵蛋白水解物及 EDTA 對豬後腿繳肉抗氧化性及抗菌性之探討。中華民國食品科學技術學會第三十六次會員大會。p. 271 (B-88)。

Adler-Nissen, J. (1986). Enzymic hydrolysis of food proteins. New York, USA: Elsevier Applied Science Publishers.

Amarowicz, R., & Shahidi, F. (1997). Antioxidant activity of peptide fraction of capelin protein hydrolysates. Food Chemistry, 58, 355–359.

A.O.A.C. (1984). Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of Analytical

Chemist. Washington, D.C.,U.S.A.

Cervato, G., Cazzola, R., & Cestaro, B. (1999). Studies on the antioxidant activity of milk caseins. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 50, 291-296.

Cheorun, J., Jun, H. S., Jae, H. K., Kyoung, W. C. and Myung, W. B. (2001). Packaging effect on microbial and physicochemical changes in irradiated cooked pork sausage during frozen storage at -20°C. *J. Food Sci. Nutr.*, 6, 211-215.

Decker, E. A., & Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 674–677.

Gbogouri, G. A., Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M. (2004). Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproduct hydrolysates. *Journal of Food Science*, 69, 615-622.

Greene, B. F. 1969. Lipid oxidation and pigment changes in raw beef. *J. Food Sci.*, 34, 110-113.

Hrckova, M., Rusakova, M., and Zemanovic, J., (2002). Enzymatic hydrolysis of defatted soy flour by three different proteases and their effect on the functional properties of resulting protein hydrolysates. *J. Food Sci.* 20, 7–14.

Ledward, D. A. (1983). Haemoproteins in meat and meat products. In "Developments in food Proteins III" Hudson, B. J. F. Ed., p. 33-68, Elsevier Applied Science, London.

Lee, S. K., Han, J. H., & Decker, E. A. (2002). Antioxidant activity of phosvitin in phosphatidylcholine liposomes and meat model systems. *Journal of Food Science*, 67, 37-41.

Lu, C. L., & Baker, R. C. (1986). Characteristic of egg yolk phosvitin as an antioxidant for inhibiting metal-catalyzed phospholipids oxidations. *Poultry Science*, 65, 2065-2070.

Lu, C. L., & Baker, R. C. (1987). Effect of pH and food ingredients on the stability of egg yolk phospholipids and the metal-chelator antioxidant activity of phosvitin. *Journal of Food Science*, 52, 613-616.

Mutilangi, W. A. M., Panyam, D. and Kilara, A. (1996). Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. *J. Food Sci.*, 61(2), 270-275.

Jao and W.C. Ko, 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolysates from tuna cooking juice, *Fisheries Science* 68 (2002), 430–435.

Je, P.J. Park and S.K. Kim, Antioxidant activity of peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate, *Food Research International* 38 (2005), pp. 45–50.

Jun, P. J. Park, W.K. Jung and S.K. Kim, Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein, *European Food Research and Technology* 219 (2004), 20–26.

Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 43-81.

Ockerman, H. W., (1985). Quality control of post mortem muscle tissue. p. 91.0 Animal Science Dept. The Ohio State Univ., Columbus, OH.

Oyaiza, M. (1986). Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of Nutrition*, 44, 307–315.

Park, P. J., Jung, W. K., Nam, K. S., Shahidi, F., & Kim, S. K. (2001). Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysates of lecithin-free egg yolk. *Journal of American Oil Chemists-Society*, 78, 651-656.

Pearce, K. N. and Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.*, 26(3), 716-723.

Pena-Ramos, E. A., & Xiong, Y. L. (2002). Antioxidant activity of soy protein hydrolysates in a liposomal system. *Journal of Food Science*, 67, 2952–2956.

Pena-Ramos and Y. L. Xiong. (2003). Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. *Meat Science* 64, 259–263.

Peña-Ramos, E. A. and Xiong, Y. L. (2003). Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. *Meat Sci.*, 64, 259-263.

Quaglia, G. B., & Orban, E. (1987). Enzymic solubilisation of proteins of sardine (*Sardina pilchardus*) by commercial proteases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 38, 263-269.

Quaglia, G. B., & Orban, E. (1990). Influence of enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of sardine (*Sardina pilchardus*) protein hydrolysate. *Journal of Food Science*, 55, 1571-1573,1619.

Renner, M. (1990). Review: Factors involved in the discoloration of beef meat. *International journal of food science and international. J. Food Sci. Technol.*, 25(6), 613.

Rhee, K. S., Smith., G. C. and Terrell, R. N. (1983). Effect of reduction and replacement of sodium chloride on rancidity development in raw and cooked ground pork. *J. Food Prot.* 46(7), 578-581.

Robinson, H. W., & Hodgen, C. G. (1940). The biuret reaction in the determination of serum protein I. A study of the condition necessary for the production of the stable color which bears a quantitative relationship to the protein concentration. *The Journal of Biological Chemistry*, 135, 707–725.

Sakanaka, S., Tachibana, Y., Ishihara, N., & Juneja, L. R. (2004). Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. *Food Chemistry*, 86, 99-103.

Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K. (1981). Functional properties of the Great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *Journal of Food Science*, 46, 71–74, 81

Sathivel, P.J. Bechtel, J. Babbitt, S. Smiley, C. Crapo and K.D. Reppond *et al.*, (2003). Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) byproduct hydrolysates, *Journal of Food Science* 68, 196–220.

Shahidi, F., Han, X-Q., & Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, 53, 285-293.

- Sikorski, Z. E., & Naczki, M. (1981). Modification of technological properties of fish protein concentrate. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 14, 201–230.
- Suetsuna. (2000). Antioxidant peptides from the protease digest of prawn (*Penaeus Japonicus*) muscle, *Marine Biotechnology* 2, 5–10.
- Sugino, H., Ishikawa, M., Nitoda, T., Koketsu, M., Juneja, L. R., Kim, M., et al. (1997). Antioxidative activity of egg yolk phospholipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 551-554.
- Thiansilakul, Y., Benjakul, S. and Shahidi, F. (2007) Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). *Food Chem.*, 103, 1385-1394.
- Tong, L.M., Sasaki, S., McClements, D. J., and Decker, E.A. (2000). Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *J. Agric. Food Chem*, 48, 1473-1478.
- Vilailak Klompong, Soottawat Benjakul, Duangporn Kantachote and Fereidoon Shahidi. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102, 1317-1327.
- Watts, B. M. (1962). Meat products. In: *Lipids and Their Oxidation in Foods.*, p.202, Schultz, H. W., Day, E. A. and Sinnhuber, R. O. Ed. AVI Pub. Co., Westport, CT.
- Willians, W., Cuvelier, M. and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebe. Wisse.Technol.*, 28, 25-30.
- Wu, H.M. Chen and C.Y. Shiau. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*), *Food Research International* 36, 949–957.
- Yen, G., & Wu, J. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extract from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*, 65, 375–379.