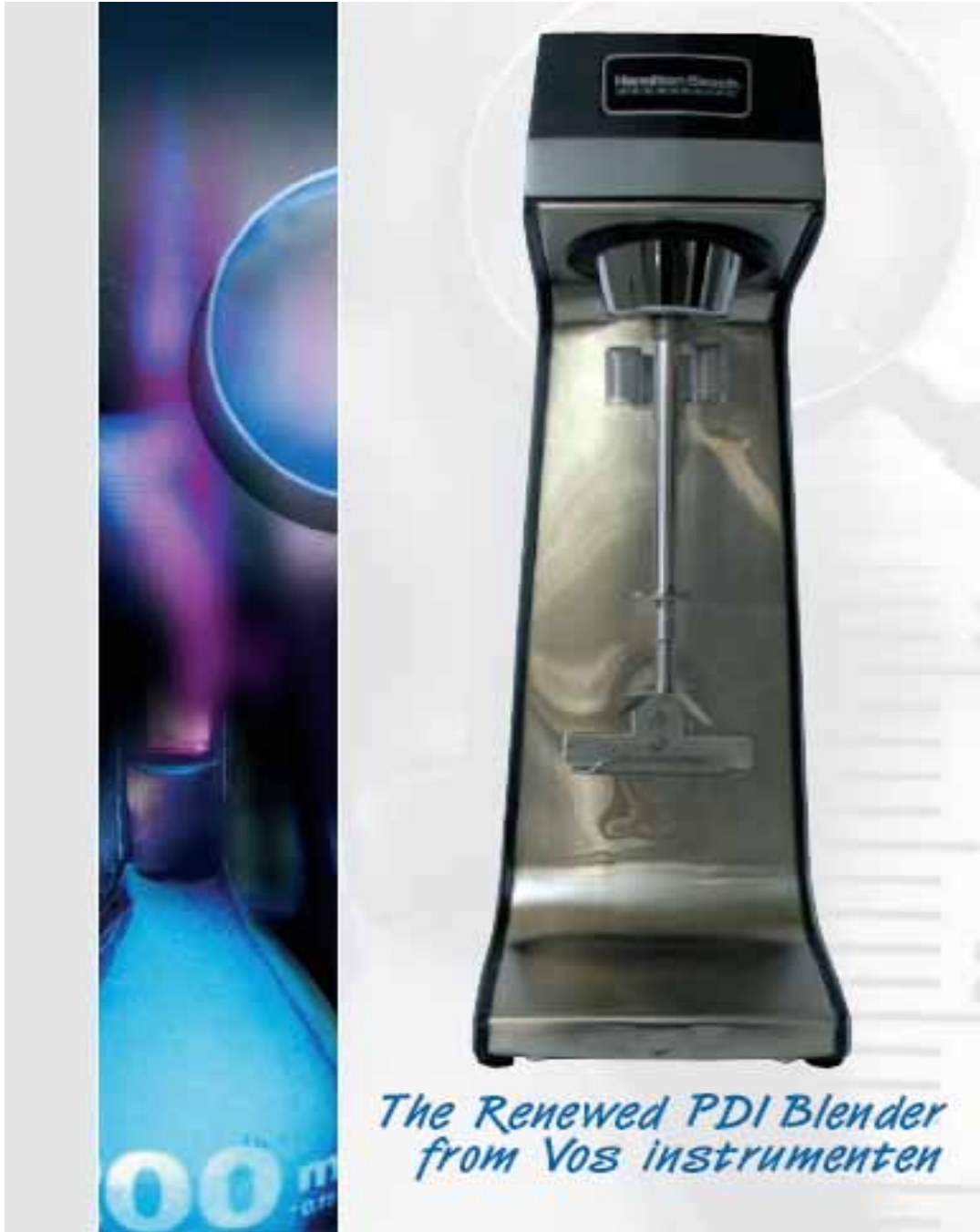


更新型蛋白質分散度指數測定用攪和器
Vos 儀器公司發展

The Renewed PDI Blender from Vos Instrumenten

廖宗文 博士 翻譯



前言

多年以來，黃豆已被廣泛地認為是近乎完美的蛋白質來源，在亞洲，大豆做為人類的食物品項之一，已有數千年的歷史。大豆粕是家畜飼料主要的蛋白質來源，在 2000 年，全世界大豆粕的消耗量達一億一千萬噸，而至 2004 年，則高達一億三千三百萬噸。

在今日，大多數大豆粕是藉由溶劑法抽油後製造，在使用溶劑己烷抽取油脂前，黃豆先經過碎裂，加熱以及壓扁。一旦油脂被抽取後，壓扁黃豆被烘烤並研磨成粉狀。在生產過程中，使用的溫度很重要，因加熱可去除自然存在於生大豆中之抗營養因子活性。然而，為了維持最佳的營養價值，大豆粕不可以過度地加熱，因為過熱會造成蛋白質變性，使它的溶解度以及消化率降低。

在動物飼料工業，大豆粕加工者以及使用者，需要可資信賴，快速以及合乎成本的方法來控制大豆粕的品質，大豆粕的蛋白質品質依兩個因子決定，即抗營養因子的減低量以及最適的蛋白質消化率，而能直接測定這兩個因子的方法，是迫切需要的，可是在商業運作中，並不符合實際。為了這個理由，有多種間接測定方法被發展出，以評估大豆粕之營養價值。包括尿素酶活性(urease activity)，氮溶解度指數 (nitrogen solubility index) 以及蛋白質分散度指數(protein dispersibility index)等方法，最近研究指出，在日常應用時，蛋白質分散度指數是一個測定大豆粕品質更為正確方法。

Vos 儀器公司，創立於 1980 年代，專門提供實驗室設備，這個公司也應消費者特殊需求，來發展及製造所需的實驗室設備。這個公司設在荷蘭，行銷全球，Vos 儀器公司目前生產供應 Spindle Mixer Hamilton Beach Model 936 型機械，可用來測定蛋白質分散度指數，這個機械的攪和器，已經修改，可以符合 AOCS 推薦之 Ba 10a-05 方法 (取代 AOCS 官方之 Ba 10-65 方法)，並且提供全世界顧客使用。

AOCS 推薦之 Ba 10a-05 方法：可以取代 AOCS 官方之 Ba 10-65 方法，俟完成一些合作試驗後，即可更新為官方方法。

蛋白質分散度指數 (PDI)

定義：此方法係在測定條件下，決定大豆產品之可分散蛋白質量。相較於以往測定氮溶解度指數所使用之慢速攪拌方法，本方法使用之快速攪拌技術，所獲得數值會比使用慢速攪拌方法為大。

測定對象：使用在磨碎大豆，整粒或磨碎全脂或抽油壓扁之大豆，和全脂或去油大豆粉以及粗碾麥粒和大豆粕。

使用儀器：

1. Hamilton Beach Model Commercial (Model G936)攪和機：經過修改以便使用在 Waring 攪和杯。
2. PDI刀片組組合：刀尖以 30° 角彎曲，相對的兩刀片彼此形成 90° 角，切割面和旋轉方向相同（見圖一）。
3. Waring 攪和杯：容量 1 升，底部裝有大小合適之橡皮塞。
4. 玻璃器皿：300 mL 量杯，15 mL 滴管，600 mL 燒杯。
5. 離心機：可達到 2700 rpm，放置 50 mL 的離心管，達到 1400 g 的相對離心力。
6. 分析天平：可達到 $\pm 0.1g$ 之準確度。
7. 計時器並有提示鈴聲者。
8. 可變速變壓器，用來控制攪和機速率。
9. 標準的凱式氮裝置。
10. 轉速測定器：可測定至 10000 rpm。
11. 電壓器（選擇性）

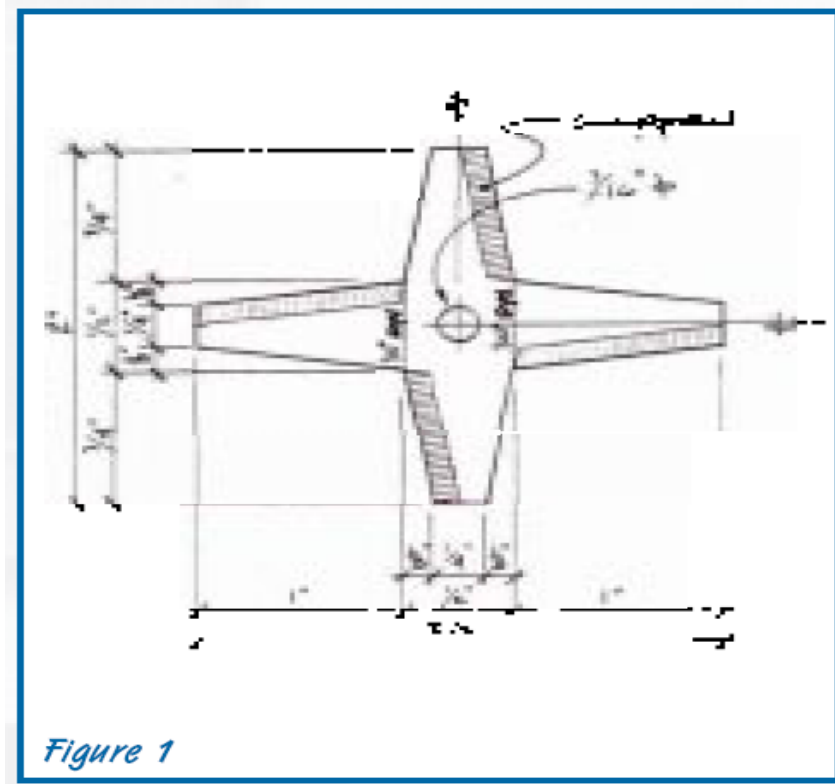


圖 1. Hamilton Beach Model Commercial Blender (Model G936)使用之刀片

試藥：

1. 蒸餾水：中性 pH 值。
2. 凱氏氮分析器之標準試劑。

樣品準備：接到樣品後就準備測定。

攪和機標準化：

1. Hamilton Beach Model Commercial Blender (Model G936)
 - a. 將攪和器接連到可變速變壓器。可變速變壓器連到計時器。
 - b. 量取 300mL 之蒸餾水，到入攪和杯中，並且放在攪合機位置。
 - c. 把一片自黏性反光貼紙放在攪和器之主軸上半部。
 - d. 把開關置於正確位置，慢慢地加速，直到轉速達到 8500 rpm。

附註 1。在進行每一系列測試前需做一次攪和器標準化調整，以減少電壓變動所造成的誤差。

測定程序：

準備水分散蛋白質溶液

1. Hamilton Beach Model Commercial Blender (Model G936)

- a. 秤稱 20 g ± 0.2 g 樣品。
- b. 在 25 ± 1⁰C下，加蒸餾水至 300mL 容量之燒杯中，另加 50mL 水入攪和杯中。
- c. 備註：水可分散蛋白質和溫度有關，因此攪和杯必須置於 25 ± 1⁰C以下，在攪和時，溫度上升不可超過 4 ± 1⁰C。
- d. 將秤好的樣品置入攪和杯中，以小匙混成糊狀，用其餘蒸餾水，來沖洗小匙以及攪和杯內壁。
- e. 使用標準設定程序，在 8500 rpm 下攪和樣品 10 分鐘。
- f. 除去攪和杯蓋子，將稀泥到入 600mL 容量的燒杯中，等到稀泥分層後，吸取部分上層物，置入 50mL 離心管中，在 1400 g 下離心 10 分鐘。

2. 確定氮含量：

- a. 吸取 15mL 上層液置入凱氏氮消化管中，並以 Ba 4d 90 方法測定氮含量，此外，氮含量也可以 Ba 4e- 93 之燃燒法測定之。
- b. 確定 1 克原始樣品之氮含量（使用此量來計算總蛋白質之百分比）。
- c. 附註：15mL 的上層液等於以凱式氮分析法之 1.0 克重的 樣品，當使用 Ba 4e- 93 方法測定氮含量，液體樣品體積（水可分散蛋白質）必須等於使用在凱式氮分析法的 15mL。

計算

使用凱式氮法：

$$\text{水可分散蛋白質，\%} = \frac{(\text{B}-\text{S}) * \text{N} * 0.014 * 100 * 6.25}{\text{Wt. of sample} * 0.05}$$

$$\text{Total protein，\%} = \frac{(\text{B}-\text{S}) * \text{N} * 0.014 * 100 * 6.25}{\text{Wt. of sample (g)}}$$

在此：

B: 空白凱式氮法之鹼回滴定 mL 數

S: 樣品凱式氮法之鹼回滴定 mL 數

N: 凱式氮法之鹼當量數

備註：凱式法測定氮量轉換成蛋白質乘以 6.25

蛋白質分散度指數 (PDI) = %水可分散蛋白質 *100%總蛋白質

準確度：

1. 同一實驗室兩個單獨測定值差異不可超過 4.4。
2. 不同實驗室間的一致性：在不同實驗室的兩個單獨測定值，不得超過 9.6。

蛋白質分散度指數分析——一個可分析大豆粕營養價值的工具使用蛋白質分散度指數法，做為大豆粕品質分析工具，已經發展了 30 年之久，這個方法使用經改良之 Hamilton Beach Blender 將大豆粕樣品在蒸餾水中經過充分時間的攪和後，得到可溶性蛋白質的量，多年以來，攪和機形式已逐漸改變，在官方的方法中所指定使用的刀片，已越來越不容易找到。在許多國家，已不容易找到這種特殊攪和機或根本沒有，結果呢？豆類粉碎商或飼料生產者必須自美國進口此種機械，且需經改裝，或尋求替代方法。近年來，原始的 Hamilton Beach Blender G936 已經被依據官方的 AOCS 方法加以修改使用。此套機械在歐洲，亞洲，非洲以及中東地區都有出售。

藉著蛋白質消化率的分析，可間接地預估飼料轉換效率。然而直接評估更具正確性，由於它是依據許多飼養試驗的結果而得。在這些試驗中，係依據大豆粕的抗氧化因子，諸如胰蛋白酶抑制因子，凝血素或過敏因子的殘存量以及變性大豆蛋白的量，來決定蛋白質的消化率以及飼料轉換率。

在實際應用時，要分析這些因子需花費相當長時間，某些方法也真的不適於日常分析之用，然而，對大多數動物飼料，瞭解殘存的胰蛋白酶抑制因子的活性（以胰蛋白酶抑制因子單位或以 TIU 表示）以及決定蛋白質變性程度，也就足夠，將這兩個項目合併評估，就足以代表大豆粕真正之營養價值。

可是測定 TIU 很困難而且程序複雜，解讀 TIU 的數據也不容易，尚有改善空間。TIU 分析方法就不適用於大豆壓碎工廠之日常分析用，為了避免冗長的 TIU 分析，壓碎場使用尿素酶殘存活性，來作為黃豆蒸煮是否適當之指標。由於加熱過程中，尿素酶要比胰蛋白酶抑制因子，較不易變性，因此，可以瞭解的是，尿素酶殘存活性將是胰蛋白酶抑制因子殘存活性的良好指標，假如尿素酶活性已明顯地降低，那麼胰蛋白酶抑制因子活性也已下降至所要求的程度。

當殘存 TIU 的數值介於 2-5 mg/g 之間，這相當於非常低之尿素酶活性殘存量（等於在 AOCS 方法的 0.05-0.3 delta pH，或是使用 GAFTA 方法時 0.02 to 0.35 mg/g/min）。

雖然如此低的尿素酶殘存活性，可表示大豆已經蒸煮的很好，但也曾發現有過度蒸煮或有時甚至蒸煮不足的情形，因此需要使用補助方法來確定大豆粕的最終營養價值。對於使用於家禽或其他較為敏感的動物飼料的大豆粕，必須分析殘存的蛋白質溶解度，以提供一個可被接受的蛋白質變性程度之補助測定值，NSI 分析就是充當這個角色。然而，新的營養研究結果顯示，PDI 方法優於 NSI 以及其他品質分析方法，特別是用來預測家禽飼料中使用之大豆粕的營養價值。

在商業應用上，使用兩種不同 NSI 方法：

1. 將大豆粕懸浮液放在蒸餾水中，慢慢地攪拌。
2. 將大豆粕懸浮液放在弱鹼溶液中，慢慢地攪拌。

在分離上層液後，可溶性氮的分析就是藉由凱式氮法，這可以計算殘存的蛋白質溶解度，雖然尿素酶活性是殘存 TIU 的很好指標，但是對蛋白質溶解度來說，卻是很差的指標，特別是當尿素酶活性低時（圖 2.），當 KOH 氮溶解度指數約在 80%，則其尿素酶殘存活性也很低，也同時表示低的殘存 TIU 活性。非常偏低的尿素酶活性，接近於檢測極限，因此不容易重複做。大約 0.05 單位或更低的尿素酶活性數值，就表示蛋白質被過度蒸煮，也等於是 78% 或更低至 60% 的 KOH 氮溶解度指數。

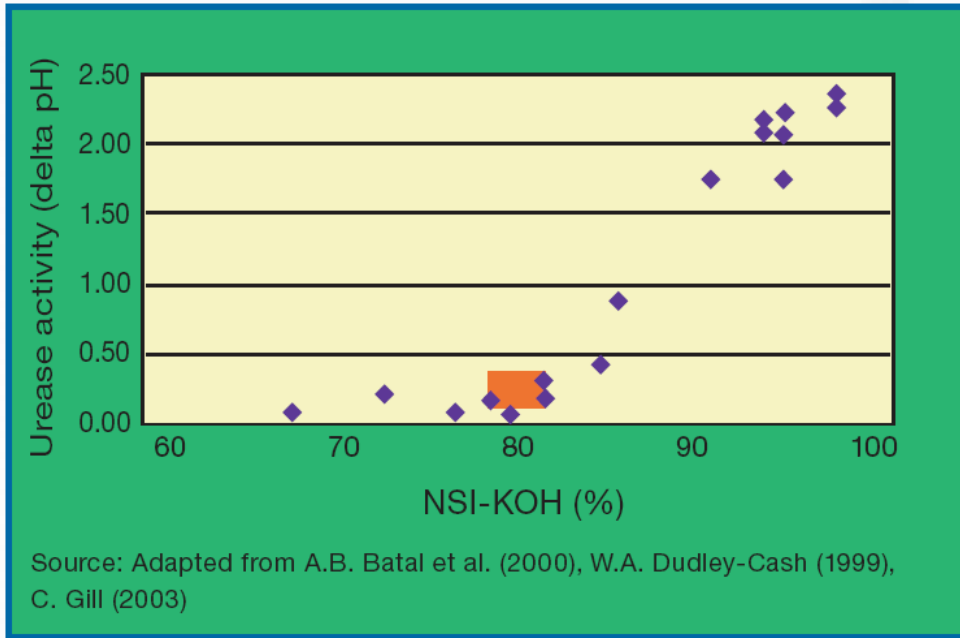


Figure 2. Relationship between urease and KOH NSI (data ref. vi, vii, viii)

由於大豆蛋白在鹼性 pH 下，比較容易溶解，因此鹼性氮溶解度指數法，所測定之數值，有較高之傾向，在實際應用時，鹼性 NSI 法應該給一個十分狹窄範圍數值，約 80% 的蛋白質溶解度，這使得解讀不易，微小的測量誤差，就可能對大豆品質做出錯誤評估。氮溶解度指數，係在水中攪動後測定，所得數值很低，不容易做重複，這主要的原因，包括慢速攪和之混合效率不良，或是溫度影響，也常常是因為受測物品的顆粒大小差異太大所致。適當的胰蛋白酶抑制因子活性殘存值相當於 KOH 氮溶解度係數介於 78% 至 82% 之間（圖 3）。

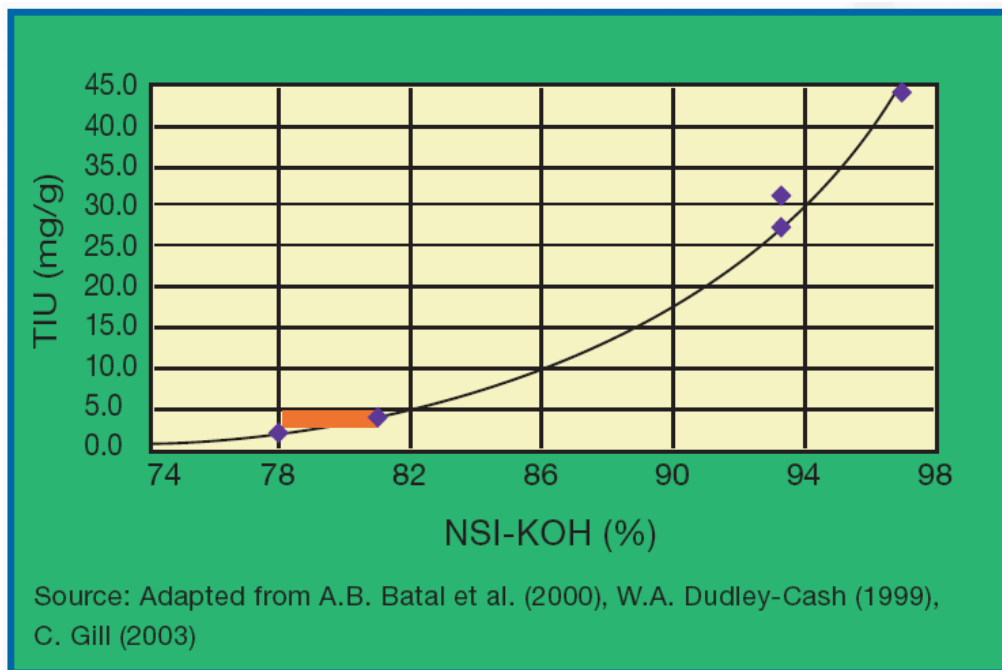


Figure 3. Relationship between TIU and KOH NSI (data ref. vi, vii, viii)

蛋白質分散度指數 (PDI)：是蛋白質加熱適當與否的更好指標，這個在 TIU 殘存值依然落在可接受範圍內時，他的涵蓋範圍較廣，使它更容易被用來評估蛋白質蒸煮程度，PDI 的測定法是 NSI 很好的替代方法，它可避免 NSI 分析時所遭遇的困難。PDI 方法是將樣品放在蒸餾水中在 8500 rpm 下高速混合 10 分鐘。當在 Schumacher 型-去溶劑烘烤乾燥冷卻系統下(Schumacher-type desolventizer- toaster-dryer-cooler)，使用標準的大豆粕蒸煮技術，其數值介於 15 至 35% 時，表示該大豆粕品質良好，（更狹窄的範圍有時使用 20 至 30% PDI）。PDI 值低於 15% 時，顯示大豆粕被過度蒸煮，使用在動物時，其飼料轉換率差。PDI 值介於 35-45% 時，常常是高品質的大豆粕才有此數值，例如 SoyMAX (圖 4)。

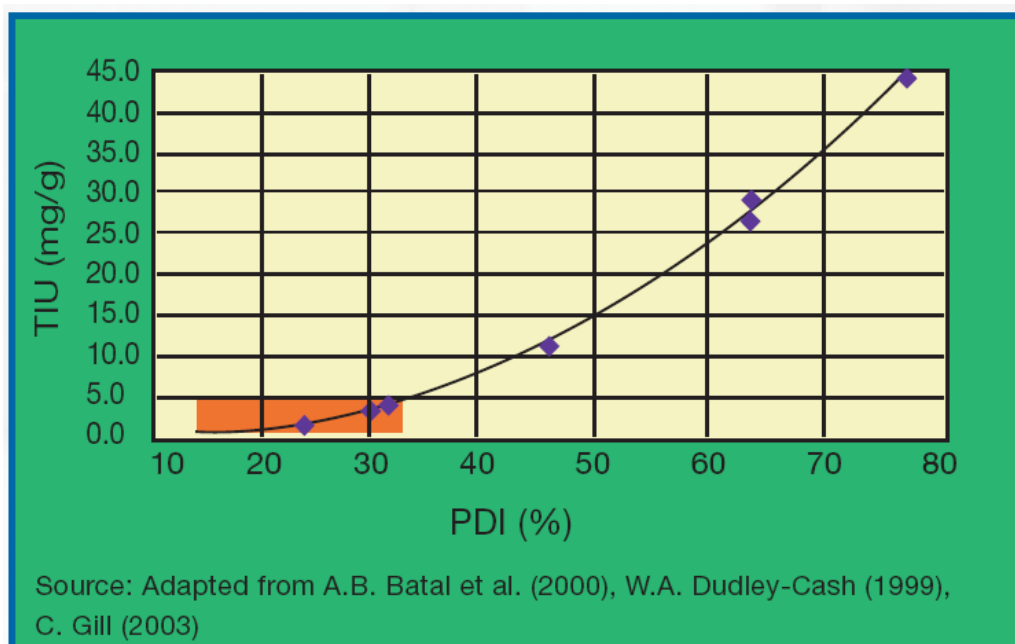


Figure 4. Relationship between TIU and PDI (data ref. vi, vii, viii)

結語

大豆粕蛋白質品質和其抗營養因子減少程度以及蛋白質消化率有關，在日常操作時，要直接分析這兩項指標，是有困難的，因此，就以諸如尿素酶、PDI、NSI 等間接測定法取代之，對家禽飼料，當蛋白質經適當地蒸煮後，其 PDI 介於 15 至 35%，相當於 TIU 減少至 2-5 mg/g(在 KOH 氮溶解度指數 78-82%，尿素酶活性 0.05-0.30 delta pH 值)。

蛋白質分散度指數 (PDI)

實際操作技巧

Hamilton Beach 攪和器之校正及使用 (Hamilton Beach mixer calibration and use)：儀器供應商所設定真正的速度是符合本方法之 8500rpm，經過高速及歷時十分鐘之混合，其目的是使得樣品能夠均勻地分散，進而能夠依規定的方法測定蛋白質溶解度，且具有重複性，實際操作時，十分鐘及 8500rpm 高速混合可以達到上述之要求。

依操作規定，需要定期重新校正攪合機速率，這可避免所設定速率之變異會緩慢地增大。

Waring 攪和杯使用以及維護

選用 1L 之混合杯有兩個理由：

1. 減少樣品濺出杯外。
2. 大量產熱的情況下，避免造成太大的溫度變化。

隨機有附一塊覆蓋布供覆蓋用，可避免高速攪和時樣品損失。兩次測定之間，Waring 攪和杯需要清理並乾燥。以熱水清洗後，燒杯必須用冷的純水冷卻，以保持 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

測定中溫度之改變

測定過程中，溫度應該儘可能保持在 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，然而由於由外加入能量，測定過程中，溫度上升 4°C ，尚屬正常。

如果需要，燒杯或是蒸餾水應該在推薦的溫度之下儲放一段時間，以避免在過熱的實驗室環境下有過熱現象。

刀片之維護

Hamilton Beach Model Commercial Blender (Model G936)所附之刀片有四個鋒利之面（兩個在水平面，另兩個往下指 30 度），日常使用時會使得某些物質沾在刀片上，此外大豆及大豆粕兩者皆是頗具有磨損力者，兩者皆會減低刀片性能。

當混合完畢後，刀片還濕濕時，使用柔軟紙巾將刀片上之沾黏物質擦拭。偶而刀片需要磨利，使用一小片砂紙即可磨利刀片，使用砂紙將刀片表面磨擦一兩次，也就足夠。

選擇正確的離心速率

大多品管實驗室都會有離心速率表可供參考，使用上的問題是，每個表都有些許不同，而且都和官方 AOCs 所描述者不同。這不至於造成問題，只要所使用的離心轉速足以在所要求的離心時間內產生足夠的相對離

心力即可被接受，原始的離心機操作手冊會列出旋轉馬達形式以及不同相對離心力下之速率表。某些離心機操作手冊甚至有圖示。

如果這些資料都缺乏，那麼可依下列公式，以計算達到 1400 g 之相對離心力時之正確馬達轉速。

$$\text{RCF}=1.1176.r(\text{rpm}/1000)^2 \text{ or } \text{rpm}=1000. (\text{rcf}/1.1176.r)^{1/2}$$

r: 半徑，單位是 mm

rpm：是每分鐘轉數

半徑需量取由中軸至管子底部，這在固定角度的離心機容易量取，對於外拋式離心機，也不難量取。

很幸運地，許多離心機之製造廠商都在網路上提供原始標準表格供參考，許多計算引擎也在網路上列出供參。