

黃豆蛋白在氫氧化鉀的可溶性： 一個模擬體內蛋白品質的試驗

Soybean Protein Solubility in Potassium Hydroxide: An in Vitro Test of in Vivo Protein Quality

C. M. Parsons, K. Hashimoto, K. J. Wedekind and D. H. Baker

鍾佩真 譯

摘要

本試驗在評估溶解於2%KOH (氫氧化鉀) 的蛋白質可溶性，以此作為對雞與豬體內黃豆蛋白品質的指標，並評估蛋白粉末粒徑對蛋白質可溶性的影響。當大豆粕 (SBM) 的粉末粒徑 (μm) 增加時，蛋白可溶性 (%) 會降低 ($b = -0.0206$)。在兩個9日齡雛雞試驗中，將脫殼大豆粕 (48% CP) 以不同的時間高溫蒸煮後再以此為蛋白質唯一來源分別餵予雛雞。以120°C，0- 40分鐘不等的時間高溫蒸煮會造成蛋白可溶性的二次降低。雛雞的飼料效率所匯集而成的不連續曲線即為蛋白可溶性的作用。分析結果顯示，當溶解度高於 $59 \pm 1.5\%$ (mean \pm SEM) 時，飼料效率尚未受到影響而降低。但是，當溶解度低於59%以後，蛋白可溶性每降低1%，飼料效率就會呈倍數的降低1.5%。第三個試驗 (13天) 以高溫蒸煮後的大豆粕 (44% CP) 作為飼料中蛋白質的唯一來源並餵食25kg的生長豬。當溶解度低於66%時，飼料效率會顯著地降低。本次研究顯示氫氧化鉀 (KOH) 中的蛋白可溶性能成為評估對體內黃豆蛋白品質的指標，更重要的是可應用KOH分析所篩選的大豆粕粉末粒徑。

關鍵字：大豆粕 (Soybean Meal)，蛋白可溶性 (Protein Solubility)，雞 (Chicks)，豬 (Pigs)

前言

對於世界上多數國家的家畜禽而言，大豆是非常重要的蛋白質來源。根據pH值的變化以分析尿素分解酶的活性，是一種廣泛性測試大豆粕品質的體外試驗 (AOAC, 1980)。然而，這種分析法只對沒有經過蒸煮的大豆粕有效，因為尿素分解酶在高溫下其活性會快速降為零 (Balloun et al., 1953)。而在高溫下的尿素分解酶缺乏活性，必然無法做為分析高溫處理後的蛋白品質指標 (McNaughton et al., 1981; Dale et al., 1986)。我們需要一個可對經過高溫處理後的大豆粕作體外分析之指標。

Evans and St. John (1945) 指出，當大豆粕經高溫蒸煮後，在2%氫氧化鉀 (KOH) 中的蛋白可溶性會降低。根據最早的文獻 (Araba and Dale, 1990) 以此方式對雞進行大豆粕蛋白品質的評估。他們的結果顯示經過高溫處理的黃豆蛋白品質會降低。因此，過去的文獻進一步地評估蛋白質可溶性的分析對雞與豬體內黃豆蛋白品質的指標。

材料與方法

分析方式：檢測蛋白可溶性的步驟是根據Araba and Dale (1990) 所述之方法。將約1.5g的大豆粕放進含有75ml的2%氫氧化鉀 (KOH) 之250ml粉碎機中 (wt/vol ; 036N)，並置於長約3.6公分的攪拌機上，放入磁棒且以最高速率在22°C下攪拌20分鐘。取約50ml的溶液並以1,250×g離心10分鐘。根據Kjeldahl方式 (AOAC, 1980) 從15ml的上層液中測出大豆粕的含氮量。根據大豆粕的蛋白可溶性所佔比例，計算出粗蛋白 (CP) 含有6.25%的氮。並以pH值的變化為指標估測出大豆粕中的尿素酶活性 (AOAC, 1980)。

評估粉末粒徑的影響：將來自市售的帶殼大豆粕 (約含44%粗蛋白) 樣品一組與兩組脫殼大豆粕 (約含48%粗蛋白) 等樣品予以加熱、溶解並萃取。其使用兩種分析方式予以檢測。第一個分析方式為評估帶殼與脫殼大豆粕中不同粉末粒徑對蛋白可溶性的影響。檢測包括脫殼大豆粕以咖啡研磨機或高速粉碎機處理的粉末以及帶殼大豆粕經過高速粉碎機處理的粉末與未經處理的顆粒之蛋白可溶性。第二個分析方式為檢測另一組脫殼大豆粕的蛋白可溶性，由於不同的粉末粒徑大小會改變蛋白質的品質；因此，將大豆粕粉末分成8種不同的粉末粒徑。以咖啡研磨機 (變更粉末精細度的設定) 或高速粉碎機 (變更濾篩孔徑) 製出各種不同的粉末粒徑。以75至1,400 μ m等不同粒徑的篩子過濾並測量樣品的顆粒大小 (Waldo et al., 1971)。並且根據過濾的粉末粒徑加以分析其蛋白可溶性。

雛雞試驗：兩種分析方式都是根據雛雞的生長表現加以檢測，這是測定蛋白可溶性的最佳指標。兩組試驗的小公雞都是源自父系的紐漢西 (New Hampshire, males) 與母系的白蘆花 (Colnrbian Plymouth Rock, females) 雜交而來的品系。所有的雛雞自孵化後開始餵食含有24%粗蛋白的玉米-大豆粕飼糧至8日齡，禁食一晚後予以秤重並分組試驗 (Sasse and Baker, 1974)。這些雛雞以電池啟動的鐵圈地板恆溫裝置進行保溫並給予任食 (ad libitum)。每個試驗都採用24小時全日照處理。

市售的溶劑萃取之脫殼大豆粕以小型的試驗用壓力鍋依據不同的加熱時間製出不同的蛋白可溶性。樣品以壓力鍋 (120°C, 103.4 kPa) 處理，試驗1的樣品為經過0、5、10、20或40分鐘的蒸煮處理；試驗2的樣品則為經過0、10、15、20或40分鐘的蒸煮處理。經過高溫蒸煮的大豆粕樣品即為試驗日糧中唯一的蛋白質來源，表1詳述其飼糧符合所有的必需營養標準 (根據NRC, 1984)。孵化後的小公雞從8日齡試驗至17日齡，5隻為一組，而每種日糧分配3個重複組予以試驗。於試驗結束時計算每組的體重與飼料採食量。

表1. 基礎日糧的成分 (%)

成 分	雞 雞 試 驗 ^a		小 豬 試 驗 ^a	
	—— 重量百分比 (% by wt) ——			
脫殼大豆粕 (含粗蛋白48%) ^b	48.00		—	
帶殼大豆粕 (含粗蛋白44%) ^b	—		42.50	
葡萄糖 ^c	43.90		—	
蔗糖 ^c	—		21.05	
玉米澱粉 ^c	—		21.05	
乳清粉 (含粗蛋白12%)	—		9.95	
玉米油	4.00		2.00	
磷酸二鈣	2.20		1.55	
石灰石	1.00		1.00	
碘鹽	0.40		—	
DL-甲硫胺酸	0.20		0.20	
氯化膽鹼 (50%)	0.10		—	
綜合維生素 ^d	0.10		0.10	
微量礦物質 ^{de}	0.05		0.35	
Bambermycin (44%) ^f	0.05		—	
卡巴得 (Carbadox, 1.0%) ^g	—		0.25	

^a 雞雞與小豬飼糧分別含有23與20%的粗蛋白。

^b Central Soya, Gibson City, IL。

^c A. E. Staley Manufacturing Co., Decatur, IL。

^d 參考Southern and Baker(1982)對雞雞飼糧中維生素的含量而定；以及Edmonds and Baker(1987)對小豬飼糧中維生素與微量礦物質的含量而定。

^e 雞雞的礦物質包含 (重量百分比)：錳 (15.0)、鐵 (15.0)、鋅 (15.0)、銅 (1.0)、碘 (0.15)、硒 (0.02)。

^f Flavomycin：Hoechst-Roussel Agri. Vet. Co., Somerville, NJ。

^g Pfizer, Inc., New York, NY。

小豬試驗：48隻源自藍瑞斯、杜洛克、約克夏三品系雜交品種的豬 (Landrace- Duroc-Yorkshire)，根據28日齡的體重、性別與窩仔數隨機分配於試驗組別中，每組有3隻小豬。所有豬隻在31日齡時，經過2天的基礎日糧後，禁食一晚，並分配至各處理組。所有豬隻的飼糧與飲水皆任食，並在1.2 × 1.2公尺的畜欄中配有乳頭狀飲水器。其室溫平均為26 ± 2 °C。

市售的溶劑萃取之帶殼大豆粕以大型的工業用壓力鍋蒸煮0、10、20或40分鐘不等的時間處理。經過蒸煮的大豆粕樣品即為13天之試驗日糧的唯一蛋白質來源（表1）。每種日糧配有4個重複組別，每組含有3隻小豬，於試驗結束時計算每組的體重與飼料採食量。

統計分析：雞雞與小豬的試驗數據以變異係數分析（ANOVA）進行隨機、區集逢機與單一計算（Steel and Torrie, 1980）。試驗結果以正交函數對照（orthogonal polynomial comparisons）與線性回歸分析（linear regression analysis）加以評估（Steel and Torrie, 1980）。兩組雞雞試驗的飼料效率結果以對照組為基準作百分比計算（對照組為處理1，未經高溫蒸煮的大豆粕），根據試驗及其計算結果的交叉比較進而找出最適合的蒸煮模式（Robbins et al., 1979；Robbins, 1986），其目的在測出飼料中可利用之蛋白可溶性的轉效點（breakpoint）或是臨界值（critical level）。在這個試驗模式中，蛋白可溶性的變化是雞雞飼料效率唯一的變因。

試驗1至試驗3的大豆粕粗蛋白（CP）的含量分別為47.7、49.3以及43.3%，並未受到高溫蒸煮的影響。

在第一個分析試驗中以不同的磨碎方式作出之粉末粒徑。最大顆粒係取至未研磨之未脫殼大豆粕及最小顆粒則為以分析用研磨機粉碎之脫殼大豆粕（表2）。當粉末粒徑縮小時，其蛋白可溶性會增加。從第2個粉末粒徑分析中發現，當脫殼大豆粕的粉末粒徑從184 μm 增加至 939μm 時，其蛋白質的可溶性呈線性降低（P < 0.0001）（表3）。受到粉末粒徑的影響，因此檢測蛋白可溶性的所有動物試驗的粉末樣品都以分析用研磨機磨成210μm的粉末粒徑。

表2. 不同的粉末粒徑在氫氧化鉀中對蛋白可溶性的影響（試驗1）

大豆粕的型態	磨碎方式	平均的粉末粒徑（μm）	蛋白可溶性（%）
脫殼 ^a	咖啡研磨機 ^d	386	77
脫殼	分析用研磨機 ^e	207	84
帶殼 ^b	未粉碎 ^f	1,025	67
帶殼	分析用研磨機 ^e	253	89
共同的SEM ^c		2.4	0.8

^a 脫殼的以溶劑萃取之。

^b 研磨後以溶劑萃取之。

^c 共同的SEM係從同一樣品覆判定所計算。

^d G3模式：Butun-O-Matic Corp., Springfield, II。

^e A-10分析用研磨機模式：Teknear, Inc., Cincirneti, OH。

^f 樣品的粉末粒徑取自於未經研磨的製造工廠。

表3. 脫殼的大豆粕其不同的粉末粒徑在氫氧化鉀中對蛋白可溶性的影響 (試驗2)

研磨方式	平均的粉末粒徑 (μm)	蛋白可溶性 ^a (%)
分析用研磨機 ^b	184	89.6
分析用研磨機	251	83.3
分析用研磨機	299	81.6
分析用研磨機	556	79.2
分析用研磨機	599	77.4
咖啡研磨機 ^c	707	76.3
咖啡研磨機	831	73.9
咖啡研磨機	939	70.2
共同的SEM	3.5	0.7

^a 當粉末粒徑增加時，其結果呈線性函數下降 ($P < 0.0001$)。蛋白可溶性與平均粉末粒徑所得之方程式為： $Y = 91.6 - 0.0206 (\pm 0.0017) X$ ； $r = 0.94$ 。

^b 平均的粉末粒徑184、251、299、556和599μm是從孔徑分別為250、375、550、850和1,700μm的篩子過濾而得。分析用的研磨機來源為Thomas- Wiley Internediaie Mill, Thomas Scientific, Swedesbonb, NJ (Model 3383-L10)。

^c 平均的粉末粒徑707、831和939μm是從不同的精細度研磨而得。咖啡研磨機的类型與試驗1相同。

^d 共同的SEM是分別從二重複與三重複的樣品計算而得之平均粉末粒徑與蛋白可溶性。

圖1. 為試驗1與試驗2中大豆粕之蛋白可溶性與飼料利用率的影響。將每個試驗的結果與對照組相比 (雞雞餵食未蒸煮的大豆粕) 並以百分比表示之，而且以不連續的回歸曲線模式 (Robbins, 1986) 計算蛋白可溶性的臨界值與理想之飼料利用率的相關性。轉效點 (breakpoint) 表示水平線 ($b_1 = 0$) 與下降斜線 (b_2) 的交叉點。此斜線 (b_2) 就是每減少一個單位的蛋白可溶性之飼料效率。(試驗1為○；試驗2為●) 試驗1中所檢測的大豆粕未經高溫蒸煮，而且沒有以尿素酶活性作檢測 (表4)。結果發現，隨著蒸煮時間的增加，其蛋白質的可溶性會呈倍數降低 ($P < 0.005$)。將經過高溫蒸煮的大豆粕餵食雞雞亦發現其增重效率與速率會隨著蒸煮時間的增加而呈倍數降低 ($P < 0.005$)。

表4. 脫殼大豆粕受到不同之高溫蒸煮時間後，其品質對雞雞的影響

蒸煮時間 (分鐘)	尿素酶指數，pH值增加的單位	蛋白可溶性 ^a (%)	增重 ^{ab} 公克 (g)	飼料換肉率 ^{ab} Gain/feed ; (g/kg)
0	0	84	166	689
5	0	72	164	705
10	0	63	164	689
20	0	52	138	641
40	0	36	87	485
共同的SEM		0.6	3	7

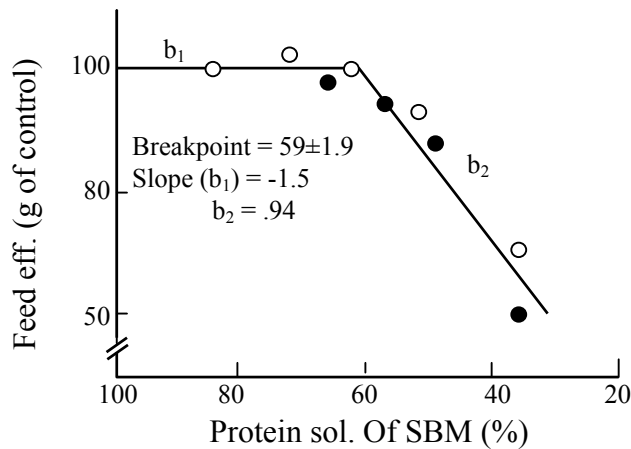
^a 隨著蒸煮時間的增加，其結果呈二次函數下降 ($P < 0.005$)。

^b 以上的數值為三組孵化後8至17日齡小公雞的平均值。平均初重為77公克。

試驗2將未經高溫蒸煮的大豆粕以尿素酶指數為0.14 units中的pH值變化作檢測（表5）。在經過10分鐘的高溫蒸煮後，此指數降低為零。而上述的試驗1中的蛋白可溶性會隨著蒸煮時間的增加而呈倍數降低（ $P < 0.005$ ）。結果發現，增加蒸煮時間會讓雛雞的增重與飼料效率呈倍數降低（ $P < 0.005$ ）。

兩組雛雞試驗所分析之飼料效率結果配合蒸煮模式的結果顯示於圖1。由此分析計算出其蛋白可溶性為 $59 \pm 1.5\%$ （mean \pm SEM）或是更高，而在飼料效率方面則沒有顯著性差異。此平均值的95%臨界值為55至63%。當蛋白可溶性低於59%後，每降低1%將使飼料效率呈線性降低1.5%。

使用於小豬試驗（試驗3）的未蒸煮大豆粕以尿素酶指數為0.17 units中的pH值變化作檢測，而經過10分鐘的蒸煮後其指數會降成零（表6）。隨著蒸煮的時間增加，其蛋白可溶性則呈倍數降低，從89%降至56%。而隨著蒸煮時間的增加，其增重與飼料效率會呈線性降低（ $P < 0.05$ ）。



討論

本次研究的結果顯示，氫氧化鉀（KOH）可作為動物體內對大豆粕品質之蛋白可溶性的敏感性指標。在蛋白可溶性的臨界值（ $59 \pm 1.5\%$ ）情況下，其與雛雞的最佳飼料效率有關。當蛋白質可溶性低於59%後，其飼料效率的結果相較於對照組會呈線性下降。雖然關於豬的蛋白可溶性臨界值與蒸煮時間的相關數據不多，仍可發現其蛋白可溶性對豬的飼料利用率之影響與前述關於雛雞的結果相似。不過，當蛋白可溶性降至71-66%之間時，對豬的增重將會出現負面影響（表6），而此範圍對雛雞卻沒有影響。蛋白可溶性在此範圍也會降低豬的生長速率，這完全是因為飼料採食量的減少。

Araba and Dale (1990) 對雛雞所作的早期試驗是餵食缺乏離胺酸 (lysine) 的飼糧以測試經過處理的大豆粕之蛋白可溶性。他們根據兩個不同試驗的結果指出，當受高溫蒸煮的大豆粕之蛋白可溶性分別降至65- 74%之間以及61- 67%之間時會顯著降低生長表現。其作者即推論當蛋白可溶性低於70%時，則表示大豆粕經過處理而且其蛋白品質會降低。對照Araba and Dale (1990) 所推斷之蛋白可溶性的高臨界值與我們的結果 (分別是70% 與 $59 \pm 1.5\%$)，其經過處理的大豆粕飼糧將與我們試驗的飼糧有關。在Araba and Dale (1990) 的研究中，雛雞餵予低蛋白、缺乏離胺酸的飼糧，而將受高溫蒸煮的大豆粕作為蛋白質的唯一來源。相較之下，我們研究所用的飼糧是符合或優於NRC (1984) 所定之蛋白質與胺基酸標準。我們實驗室進一步的研究 (Parsons *et al.*, 1988) 將指出大豆粕中更多胺基酸的消化能力 (以雛雞為試驗對象) 會受到高溫蒸煮而降低，但代謝能 (ME) 卻沒有受到影響。在各種胺基酸消化能力的作用中，離胺酸的影響遠超過其他的胺基酸，在大豆粕經過40分鐘的高溫蒸煮後，其中可消化離胺酸的濃度則從每100克含有 3.00 ± 0.05 公克降至每100克含有 2.25 ± 0.03 公克。此外，大豆粕經過分析所測得之離胺酸濃度 (以酸分解後用離子交換層析法檢測) 在高溫蒸煮40分鐘後會減少15%，推測其為梅勒反應下的產物。我們的研究結果清楚地顯示出蛋白可溶性試驗會受到大豆粕粉末粒徑大小的影響。當粉末粒徑縮小則蛋白可溶性會升高。此線性關係存在於脫殼大豆粕的粉末粒徑介於184 至 939 μm 時，而以此推測粉末粒徑的大小會影響蛋白可溶性的結果 (Le., 184 - 251 μm)。因此，實驗室必須將大豆粕研磨成一致的粉末大小以掌控品質，進而得到經過氫氧化鉀 (KOH) 測試蛋白可溶性試驗的重複結果。攪拌時間的長度與速度應該也要維持不變，因為在我們實驗室發現有一小部分的大豆粕樣品在攪拌時間由20分鐘增加至40分鐘時，其蛋白可溶性增加了2.7%。

高溫蒸煮對尿素酶指數的影響已被證實 (Balloun *et al.*, 1953; Dale *et al.*, 1986)，文獻顯示此項測定方式對於經過高溫蒸煮的大豆粕僅有很小或沒有檢測值。當蒸煮時間增加時，尿素酶的活性會在蛋白品質降至足以傷害動物表現之前迅速下降至零。因此，當尿素酶指數為零時，則無法確實地指示出處理過後的大豆粕。然而，其實在檢測未經處理的大豆粕時其尿素酶指數是大於零的 (McNaughton *et al.*, 1981)。

高溫蒸煮對蛋白可溶性的影響在雛雞與豬的試驗中會有所不同。兩個雛雞試驗對於脫殼大豆粕的蛋白可溶性數值有一致的結果，但是關於豬對於帶殼大豆粕的試驗則

沒有足夠的數據。這些差異應該是因為使用不同的大豆粕型態或是不同的蒸煮方式所造成。在豬的試驗中是使用大型的工業用鍋爐以便製出大量的大豆粕，而雞試驗所使用的是小型的分析用壓力鍋。

緒 論

大多數的國家都將大豆粕視為家禽與家畜飼糧中主要的蛋白質來源。即使尿素酶指數被廣泛地使用於未受處理的大豆粕，但卻無法測試體外對於經過處理的大豆粕。本篇報告的結果指出氫氧化鉀 (KOH) 對蛋白可溶性的測定是一個可以了解經過處理的大豆粕對體內蛋白品質影響的優良檢測方式。這是個非常簡單、快速又便宜的檢測方式，而且應該被廣泛地運用在監控黃豆製品對於動物營養的品質。然而，試驗分析的條件也非常的重要，例如檢測時所使用的樣品粉末粒徑要規格化。