

國立臺灣大學生物資源暨農學院園藝暨景觀學研究所



碩士論文

Department of Horticulture and Landscape Architecture

College of Bio-Resources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

還原劑與界面活性劑於提升米蛋白功能性之應用

Application of Reductant and Surfactant on Improving the

Functional Properties of Rice Protein

王英誌

Ying-Chih Wang

指導教授：許輔博士

Advisor: Fuu Sheu, Ph.D.

中華民國 106 年 7 月

July, 2017

國立臺灣大學碩士學位論文口試委員會 會審定書



以還原劑與界面活性劑於提升米蛋白功能性之應用
Application of Reductant and Surfactant on Improving the
Functional Properties of Rice protein

本論文係王英誌 (R04628203) 在國立臺灣大學園藝暨景觀學系、所完成之碩士學位論文，於民國一百零六年七月十日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

Handwritten signature of Xu Fu in black ink, written over a horizontal line.

許 輔 博士
國立臺灣大學園藝暨景觀學系 教授
本論文指導教授

Handwritten signature of Zhou Zhihui in black ink, written over a horizontal line.

周志輝 博士
國立中興大學食品暨應用生物科技學系 特聘教授

Handwritten signature of Pan Minxiong in black ink, written over a horizontal line.

潘敏雄 博士
國立臺灣大學食品科技研究所 教授

Handwritten signature of Xue Xitong in black ink, written over a horizontal line.

繆希椿 博士
國立臺灣大學醫學院免疫學研究所 副教授

誌謝



本論文能順利完成，首先要感謝指導教授 許輔 博士，感謝老師提供良好的實驗環境及研究所需的資源，同時在實驗遇到困難時給予鼓勵與指引，才得以讓此研究順利進行。雖然老師平常到處忙碌奔波，但卻能在學生遇到困難時給予適時地關心，讓學生得以度過難關而在處事上能更加成長，對於老師的教誨會永遠銘記在心。

感謝口試委員 周志輝 博士、潘敏雄 博士、以及 繆希椿 博士能夠於忙碌期間撥冗審閱論文，並在口試過程中給予許多建議讓論文能夠更為完整，學生在此誠摯的感謝各位老師們所給予的幫助。

感謝詠欣、思昀照料實驗室的各種大小事，還有弘仁學長常常會在平時或者特殊的節日準備特別的食物與大家一同分享。謝謝志良學長、小白及映映學姐在我們碩一舉辦實驗室各種活動時，給予不少提點及關心，讓我們在規劃活動時能更加完善。謝謝偉齊學長在我遇到困難時能夠給予寶貴的建議，還有謝謝佳琳學姐總是與我分享許多好笑的笑話，雖然都是網路上的，但確實能夠替苦悶的研究生生活解解憂愁。謝謝小巫、香萍、兩根及思辰能夠分享許多重要的經驗給我們，不管是實驗上、課程上或者許多相關的畢業事宜，都因為有了你們而讓這些事情更加順利。

感謝立於學長及采青，不管是在實驗的方向或方法，還有在論文初稿的審閱以及口試前的指導與建議，真的是給予我莫大的幫助，同時也感謝一起畢業的易慕，在這段期間合作完成了許多實驗室的活動，若沒有你們的幫助肯定無法順利完成這些事。謝謝學弟妹們冠吟、潔倫、偉倫、奕辰、宗彥在實驗室事務上給予的幫忙以及口試的相關事宜，讓口試得以順利進行。

最後，最重要的要感謝我的家人爸爸、媽媽還有哥哥，在我就讀碩士期間給予我足夠的包容及金錢，讓我不用擔心吃住等生活上的問題，在我心情低落時也選擇給予適當的鼓勵而非責備。謝謝家人在這段期間所做的每一件事，希望未來有能力時能夠逐一報答你們。

王英誌 謹誌於

國立臺灣大學園藝暨景觀學研究所

中華民國 105 年 7 月



摘要

米蛋白為良好植物性蛋白質來源，具低致敏性、高生物利用價值及成本低廉等優勢。然而米蛋白內部大量的雙硫鍵與疏水性作用力使其形成穩定的球狀結構，造成米蛋白的水溶性、乳化、發泡等功能性均不佳。因此本研究目的為利用食品級還原劑及界面活性劑，分別還原米蛋白雙硫鍵及破壞內部疏水性作用力，期盼藉此提升米蛋白之功能性。研究首先以穀胱甘肽 (glutathione, GSH) 與亞硫酸鈉 (sodium sulfite) 兩種食品級還原劑分別對米蛋白進行處理，結果發現此兩種還原劑能提升米蛋白 17~20% 的游離硫氫基數量，但米蛋白在經處理後的水溶等性質並無明顯改善。若於米蛋白在還原劑處理的過程成中添加 1% (w/v) 的乳酸硬脂酸鈉 (Sodium stearyl lactylate, SSL)，發現米蛋白中可測得之游離硫氫基數量可提升至 38~41%。最後將其與市售酵素水解米蛋白之進行功能性比較後發現，GSH 及亞硫酸鈉分別與 SSL 共同處理之米蛋白水溶性於 pH 7~10 達 30%，已相當接近市售酵素水解米蛋白之水溶性 (35%)；而亞硫酸鈉與 SSL 處理米蛋白之乳化性為 0.470，和酵素水解米蛋白之乳化性 (0.420) 並無顯著差異。由上述實驗證實，經還原劑及界面活性劑處理後之米蛋白的功能性均有顯著提升，此方法將可應用於食品工業中以提升米蛋白之利用價值。

關鍵字：米蛋白、還原劑、界面活性劑、功能性、乳酸硬脂酸鈉

Abstract



Rice protein is a good source of vegetable protein due to its hypoallergenicity and high biological value. However, the high insolubility of rice protein with extensive disulfide bonds and interior hydrophobicity resulted in poor performance in functions. Therefore, the aim of this study is to improve rice protein functionality by reducing disulfide bonds and hydrophobicity within rice protein through the application of food-grade reductant and surfactant. The results suggested that by the treatment with two reductants, glutathione and sodium sulfite, only 17-20% free sulfhydryl groups were increased, and the solubility could not be improved. Nevertheless, adding 1% (w/v) sodium stearyl lactylate (SSL) during reducing process, the amount of sulfhydryl groups increased to 38-41%. Compare the reductant and surfactant-treated rice protein with a commercially hydrolyzed rice protein, the solubility of rice protein being treated with reductant and surfactant (30%) was close to the commercially hydrolyzed rice protein (35%) at pH 7-10, and the emulsifying activity of sodium sulfite and SSL treated rice protein (0.470) showed no significant difference as compared with hydrolyzed rice protein (0.420). This study demonstrated that reductant and surfactant could be used to improve rice protein functional properties and rice protein application in food industry.

Keywords: rice protein, reductant, surfactant, functionality, sodium stearyl lactylate

目錄




目錄

口試委員會審定書.....	I
誌謝.....	II
摘要.....	IV
ABSTRACT.....	V
目錄.....	VI
表目錄.....	IX
圖目錄.....	X
縮寫對照表.....	XII
第一章 前人研究.....	1
第一節 稻米介紹.....	1
第二節 米蛋白介紹.....	3
第三節 米蛋白之萃取.....	8
第四節 米蛋白之利用功能性.....	10
第五節 米蛋白發展潛力.....	14
第六節 米蛋白發展之困難.....	16
第七節 還原劑介紹.....	17
第八節 界面活性劑介紹.....	19



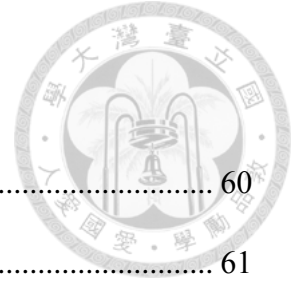
第二章 研究動機與目的.....	21
第三章 材料與方法.....	22
第一節 米蛋白純化.....	24
第二節 米蛋白還原劑處理.....	25
第三節 硫氫基數量測定.....	25
第四節 米蛋白溶解度測定.....	27
第五節 米蛋白發泡性質測定.....	27
第六節 米蛋白乳化性值測定.....	28
第七節 米蛋白保水力測定.....	29
第八節 米蛋白油脂吸收率測定.....	30
第九節 蛋白質濃度測定.....	30
第十節 統計分析.....	31
第四章 研究結果.....	32
第一節 不同還原劑還原米蛋白雙硫鍵能力之比較.....	32
第二節 還原劑還原條件最佳化.....	32
第三節 米蛋白經還原劑處理後之游離硫氫基數量測定.....	33
第四節 還原劑處理後米蛋白功能測定.....	33
第五節 界面活性劑 SDS 與 SSL 對還原劑還原米蛋白雙硫鍵效果之影響.....	35
第六節 界面活性劑對還原劑還原之米蛋功能性影響.....	37
第七節 酵素水解米蛋白和還原劑與界面活性劑共同處理米蛋白功能性比較.....	39
第五章 討論.....	41
第一節 還原劑還原米蛋白雙硫鍵.....	41



第二節 還原劑還原條件最佳化	41
第三節 還原劑處理後米蛋白中游離硫氫基數量	42
第四節 還原劑處理後米蛋白功能測定	43
第五節 界面活性劑對還原劑還原雙硫鍵能力之影響	45
第六節 界面活性劑對還原劑還原之米蛋功能性影響	45
第七節 酵素水解米蛋白和還原劑與界面活性劑共同處理米蛋白之功能性比較	48
第六章 結語	50
參考文獻	51
TABLES	60
FIGURES	62

表目錄

表一、米蛋白經不同處理之保水力	60
表二、米蛋白經不同處理之油脂吸收率	61



圖目錄



圖一、實驗架構	62
圖二、米蛋白經不同還原劑處理後之硫氫基數量	63
圖三、米蛋白於不同 pH 值下經穀胱甘肽處理後之硫氫基數量	64
圖四、米蛋白於不同溫度下經穀胱甘肽處理後之硫氫基數量	65
圖五、米蛋白於不同 pH 值下經亞硫酸鈉處理後之硫氫基數量	66
圖六、米蛋白於不同溫度下經亞硫酸鈉處理後之硫氫基數量	67
圖七、米蛋白經 2-ME、穀胱甘肽、亞硫酸鈉處理後之游離硫氫基數量	68
圖八、米蛋白經 2-ME、GSH、亞硫酸鈉處理後之溶解度	69
圖九、米蛋白經 2-ME、GSH、亞硫酸鈉處理後之乳化性	70
圖十、米蛋白經 2-ME、GSH、亞硫酸鈉處理後之乳化穩定性	71
圖十一、米蛋白經 2-ME、GSH、亞硫酸鈉處理後之發泡性	72
圖十二、米蛋白經 2-ME、GSH、亞硫酸鈉處理後之發泡穩定性	73
圖十三、米蛋白經還原劑與界面活性劑 (SDS) 共同處理後之游離硫氫基數量	74
圖十四、米蛋白經還原劑與界面活性劑 (SSL) 共同處理後之游離硫氫基數量	75
圖十五、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑 (2-ME) 共同處理後之溶解度	76
圖十六、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與食品級還原劑 (GSH) 共同處理後之溶解度	77
圖十七、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與食品級還原劑 (亞硫酸鈉) 共同處理後	



之溶解度 78

圖十八、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑共同處理後之乳化性 79

圖十九、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑共同處理後之乳化性 80

圖二十、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑共同處理後之發泡性 81

圖二十一、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑共同處理後發泡穩定性 ... 82

圖二十二、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與 2-ME 共同處理後之溶解度 83

圖二十三、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與食品級還原劑 GSH 共同處理後之
溶解度 84

圖二十四、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與食品級還原劑亞硫酸鈉共同處理後
之溶解度 85

圖二十五、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與還原劑共同處理後之乳化性 86

圖二十六、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與還原劑共同處理後之乳化穩定性 87

圖二十七、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與還原劑共同處理後之發泡性 88

圖二十八、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與還原劑共同處理後之發泡穩定性 89

圖二十九、米蛋白經酵素水解、還原劑與界面活性劑共同處理之溶解度 90

圖三十、米蛋白經酵素水解、還原劑與界面活性劑共同處理之乳化性 (A) 及乳
化穩定性 (B) 91

圖三十一、米蛋白經酵素水解、還原劑與界面活性劑共同處理之發泡性 (A) 及
發泡穩定性 (B) 92

縮寫對照表

2-ME 2-mercaptoethanol

DTT dithiothreitol

GSH glutathione

RP rice protein

SH groups sulfhydryl groups

SDS sodium dodecyl sulfate

SSL sodium stearyl-2-lactylate



第一章 前人研究




第一節 稻米介紹

1-1 稻米簡介

稻米為禾本科 (Gramineae)、稻屬 (*Oryza*) 之植物，栽種歷史已長達數千年。自 2013 至 2014 年間，全球稻米的產量約為 4 億 8 千萬噸 (FAOSTAT 2015)，其中亞洲地區的產量佔了總產量的 90%，是亞洲地區最重要最的穀類作物之一 (Monks *et al.*, 2013)。在穀類作物當中，稻米的產量僅次於玉米和小麥，是目前全球 50% 以上人口的主要糧食來源，除了提供日常所需的能量以外，亦是重要的蛋白質來源 (Wang *et al.*, 2015)。目前發現的稻屬約有 22 種，而主要被用於稻米栽培的有兩種，分別為亞洲稻 (*Oryza sativa*) 以及非洲稻 (*Oryza glaberrima*)，非洲稻主要種植於非洲地區，亞洲稻則較廣泛被種植 (Santos *et al.*, 2013)。亞洲稻可依其特性分為秈型 (*indica* type)、粳型 (*japonica* type) 及爪哇型 (*javanica* type) 三亞種，其中又以秈型稻及粳型稻米佔大多數，爪哇型稻栽培量已逐漸減少。粳型稻多種植於溫帶及亞熱帶，秈型稻多種植於亞熱帶及熱帶，爪哇型稻則多種植於菲律賓、印尼等地區 (Biselli *et al.*, 2014)。

1-2 台灣稻米分類

臺灣稻米依照米粒的外觀及直鏈澱粉 (amylose) 與支鏈澱粉 (amylopectin) 的含量可分為粳米 (non-waxy rice; round-grained rice)、秈米 (non-waxy rice; long-grained rice) 及糯米 (waxy-rice)。其中的粳米即俗稱之蓬萊米，具短圓、透明等特徵，直鏈澱粉含量約為 10~20%；秈米則為俗稱之在來米，米粒細長、透明度高，直鏈澱粉含量通常大於 25%；糯米則為不透明之米粒，又可依米粒圓短或細長而



分為粳糯及秈糯 (Ben *et al.*, 1984)，兩者之直鏈澱粉含量一般少於 3%。澱粉的種類組成會影響稻米的結構，由於各類稻米中的直鏈澱粉、支鏈澱粉組成比例不同，導致稻米亦有不同的食用及加工用途。直鏈澱粉含量較多者烹煮過後較不具黏性、較好消化、質地較硬、具彈性，故粳米多做為日常食用之白米飯及壽司，秈米則多加工為米粉、河粉等；支鏈澱粉含量較高者煮後易產生凝膠、黏性強、質地濕軟，故多用於製作麻糬、湯圓等。

1-3 台灣稻米種植現況

水稻種植的環境條件為連續四個月，同時維持 16°C 以上的氣溫，因此坐落於熱帶與亞熱帶氣候區的臺灣，全年有兩個時期以上適合水稻生長，屬於二期稻作區。一般將 2 月播種 6 月收割之稻米稱之為一期稻作，於 8 月播種 11 月收割之稻米稱之為二期稻作。臺灣 2014 年稻米的生產出口比率為 2%，於 2015 年時臺灣的水稻總種植面積為 25 萬公頃，19 個縣市中以彰化縣的種植面積最廣，佔了總種植面積的 19%；在產量方面則以雲林縣的 25.6 萬公頃為冠，佔總產量的 20% (行政院農業委員會農糧署，2012)。

1-4 稻米成分組成

稻米組成成分含量由高至低分別為 79.8% 碳水化合物 (carbohydrate)、9.4% 水分 (moisture)、8.4% 蛋白質 (protein)、1.2% 脂質 (lipids)、0.8% 膳食纖維 (dietary fiber) 和 0.4% 灰分 (ash) (Marshall & wordsworth, 1994)。因為稻米當中含有大量的澱粉足以提供人類生活所需之熱量，因此成為人類重要的主食之一。除提供人類能量的來源，亦提供許多人體所需營養物質。




1-5 稻米採收後加工

稻米 (paddy) 自田間採收後，經脫穀後形成顆粒狀的稻穀 (rice grain)，稻穀的結構由外至內可簡單分成四個部分：稻殼 (hull; husk)、米糠層 (rice bran)、胚芽 (germ) 和胚乳 (endosperm) (Champagne *et al.*, 2004)。稻穀可經由幾個不同的加工步驟加工成大家常見的市售糙米 (brown rice)、胚芽米 (germ rice; milled rice with embryo) 以及白米 (white rice; polished rice)。首先稻穀採收後，若只經脫穀步驟稱之為糙米；糙米經進一步碾磨，去除外層淺褐色米糠層後就形成胚芽米，外觀可明顯看到胚芽構造。最後將胚芽去除即為大家最常見之精白米，也是亞洲地區主要食用之「白米」。三種不同階段產品的保存期限與碾磨程度有關。米穀粒的油脂主要位於米糠及胚芽當中 (15~20%)，而胚乳中僅含有 0.3~0.5% 的油脂，因此碾磨程度較低的糙米及胚芽米仍含有相對較高的油脂含量，所以保存期限較白米短。

第二節 米蛋白介紹

2-1. 米蛋白組成

一般所稱之米蛋白，即指存在稻米當中之蛋白，其中大多以貯藏性蛋白 (storage proteins) 的形式存在於稻米中，供種子發育時之養分。這類貯藏性蛋白存在於稻米的貯藏性胞器中，此貯藏性胞器稱為蛋白體 (protein bodies, PBs)。在稻米的胚乳中有兩種型態不同的蛋白體 (PBs)，分別為第一型 (PB-I) 及第二型 (PB-II)。第一型 (PB-I) 的結構外觀為圓形薄層狀，富含醇溶蛋白 (prolamin)；第二型 (PB-II) 的結構呈不規則形結晶狀，大部分由穀蛋白 (glutelin) 所組成 (Bechtel & Juliano, 1980; Bechtel & Pomeranz, 1978)。根據 Ogawa (1987) 等人，胚乳中的貯藏性蛋白由 60~65% 的第二



型 (PB-II)、20~25% 第一型 (PB-I) 以及細胞質中 10~15% 的白蛋白 (albumin) 和球蛋白 (globulin) 組成。不同稻米品種、部位均有不同的蛋白質含量組成，進而影響米之營養價值、口感及加工應用的方式 (Huebner *et al.*, 1990; Shewry & Halford, 2002)。

稻米中從米糠層至胚乳中皆含有蛋白質，但是蛋白質相對含量有所差異。米中蛋白質的相對含量由米粒外層至米粒中心逐漸降低，米糠層中的蛋白質含量約為 16%，而胚乳中的蛋白質含量約為 7~10%。除了貯藏性蛋白之外，米中亦含有多種生物活性蛋白質，主要是酵素如脂解酶、澱粉酶、過氧化氫酶、細胞色素氧化酶、脂氧合酶等。

2-2. 四大類米蛋白

依照 Osborne (1924) 對植物貯藏性蛋白質的分類，米蛋白之組成可根據其溶解度分為四個部分，包含：一、可溶於水中的白蛋白 (albumin, 4-22%)；二、不溶於水，但可溶於中性鹽類溶液 (如 NaCl, KCl) 的球蛋白 (globulin, 5-13%)；三、不溶於水及中性鹽類溶液，但可溶於 50-70% 之乙醇以及稀鹼溶液中的醇溶性蛋白 (prolamin, 1-5%)；四、不溶於水及中性鹽類溶液，但可溶於鹼性溶液中的穀蛋白 (glutelin, 60-80%) (Chavan & Duggal, 1978; Kim *et al.*, 2013)。

四大類米蛋白於不同稻米部位中的蛋白含量亦有所差異。就米糠而言，白蛋白 (albumin) 約佔米糠蛋白的 37%、球蛋白 (globulin) 約佔 36%、醇溶蛋白 (prolamin) 約佔 5%、穀蛋白 (glutelin) 則佔約 22% (Cagampang *et al.*, 1966)。米胚乳蛋白中的穀蛋白 (glutelin) 及球蛋白 (globulin) 各佔 80% 和 12%，是最主要的米蛋白成分 (Shih, 2003)，白蛋白 (albumin) 和醇溶蛋白 (prolamin) 則分別佔 5% 和 3% (Ju *et al.*, 2001)。然而，此四類米蛋白所佔的相對含量比例會因稻米的品種、栽培環境，甚至是

研究者的分析方法不同而有所不同 (Cagampang *et al.*, 1966; Houston *et al.*, 1968)。Kim 等人 (2013) 研究發現米中大多數的 albumin 和 globulin 存在於稻米外層，因此易於碾米過程中損失，而 prolamin 及 glutelin 則多分佈於米粒內部。



2-2-1. 白蛋白 (albumin)

白蛋白 (albumin) 的結構中，不含有大量的分子間及分子內雙硫鍵使白蛋白形成球狀聚集的結構，因此其溶解度較高，屬於水溶性蛋白。此蛋白約佔了米中蛋白 6% (Hamada, 1997)。Cagampang 等人 (1976) 認為白蛋白具分子量 8.5、11、16 kDa 的 3 個主要次單元，以及分子量大小 8.5~95 kDa 的 12 個次單元。Padhye 和 Salunkhe (1979) 則認為有 6 個分子量大小為 7.4、15.3、20.3、31.6、43.7 及 135 kDa 的主要次單元。Mawal 等人 (1987) 發現米中白蛋白分子量大小為 60 kDa 的醣蛋白，是其主要成分之一，故四大類米蛋白中以白蛋白最具生物價值，易被人體吸收及利用。Ju 等人 (2001) 研究指出白蛋白之等電點 (Isoelectric point, PI) 為 4.1，在溫度 73.3°C 下易造成白蛋白變性，熱焓值為 2.88 J/g。

2-2-2. 球蛋白 (globulin)

球蛋白 (globulin) 易溶於鹽類溶液當中，屬於鹽溶性蛋白。球蛋白富含半胱氨酸 (cystein) 以及甲硫氨酸 (methionine)，單缺乏賴氨酸 (lysine)。球蛋白佔米中貯藏性蛋白質的 15-36%。Krishnan 等人 (1992) 認為，當球蛋白中的雙硫鍵被還原之後可形成分子量大小分別為 16 kDa 及 25 kDa 的 2 個次單元；Padhye 和 Salunkhe (1979) 則認為 globulin 有 4 個主要次單元，其分子量分別為 13.2、32.6、54.3、60.3 kDa，




再加上另外 9~10 個次單元。Ju 等人 (2001) 提及 globulin 之等電點有 2 個，分別為 pI 4.3 及 pI 7.9。78.9°C 為球蛋白之變性溫度，熱焓值為 3.14 J/g。

2-2-3. 醇溶性蛋白 (prolamin)

Prolamin 為可溶於 60~70% 的醇溶液的蛋白。Ogawa 等人 (1987) 和 Hibino 等人 (1989) 指出 prolamin 由分子量大小 10、13、16 kDa 的 3 個次單元所組成，其中最主要的 13 kDa 次單元易溶於醇溶液，而 10 kDa 和 16 kDa 的次單元則具有帶硫的胺基酸，必須於醇溶液中加入還原劑才得以萃取出兩個次單元。10 kDa 次單元含較多的脯胺酸 (proline) 及蘇胺酸 (threonine)；16 kDa 次單元為單一多肽，13 kDa 則有至少 7 個多肽分佈於 pI 5~9 範圍處，此兩個次單元的白胺酸 (leucine) 和天門冬胺酸 (aspartic acid / asparagine) 的含量則多於 proline 和 threonine；13 kDa 的 prolamin 片段中富含穀胺酸 (glutamic acid / glutamine) 和 leucine，但甲硫胺酸 (methionine)、半胱胺酸 (cysteine) 及離胺酸 (lysine) 則相當少。此外，prolamin 為具生物活性的一類蛋白，可啟動人體抗白血病免疫功能，且不會導致有害的發炎性疾病 (Chen *et al.*, 2010)。

2-2-4. 穀蛋白 (glutelin)

大多數穀類作物中的貯藏性蛋白多以穀蛋白 (glutelin) 和醇溶蛋白 (prolamin) 為主，而稻米的胚乳中則由 80% 以上的穀蛋白 (glutelin) 和 5% 以下的醇溶蛋白 (prolamin) 所構成 (Juliano & Boulter, 1976)。Hamada (1996) 認為由於米蛋白的氫鍵和疏水端有著強烈的交互作用，且含大量雙硫鍵，導致米蛋白溶解度不佳。而穀蛋白



的次單元是以分子間之雙硫鍵共價鍵結而成，又穀蛋白佔米中蛋白的 80% 以上，是最主要的一類米蛋白，因此是造成米蛋白極難溶於水的關鍵蛋白 (Van Der Borgh *et al.*, 2006)。Tecson 等人 (1979) 和鄭 (1987) 指出穀蛋白僅能溶於 pH 3 以下之強酸或 pH 10 以上之強鹼溶液中。Hamada (1997) 以 0.1M NaOH 萃取米中穀蛋白後，發現穀蛋白是由 45~150 kDa 之大分子量組合而成。Krishnan 等人 (1992) 提及穀蛋白是由 2 個主要次單元所組成，分別為分子量介於 34~39 kDa 和 21~23kDa 的多肽。Ju 等人 (2001) 認為穀蛋白之等電點為 pH 4.8，其蛋白變性溫度為 82.2°C，熱焓值為 3.79 J/g。

2-3. 米蛋白來源

米蛋白的來源主要有二，可依照其所取得的來源分別稱為米糠蛋白 (rice bran protein) 和米胚乳蛋白 (rice endosperm protein)，但兩者都可被稱之為米蛋白。

2-3-1. 米糠蛋白 (rice bran protein) 之生產

米糠主要自稻米精緻過程中被碾磨去除的物質，因為其含有高量的纖維且通常會混雜一些稻殼和部分破損米的顆粒，所以被作為不可食用部位 (Luh, 1991)。而在應用方面，米糠中富含脂肪分解酶 (lipase) 會造成油脂的分解，產生酸敗的油耗味，使得米糠在食品上的加工應用上也受到限制 (Juliano, 1985)。直到後來因為米糠熱穩定化技術的應用，可抑制脂肪分解酵素對脂肪的分解作用，才讓這些大部分以米為主食的國家，可將精緻過程中所產生的米糠作為動物飼料，確保米糠中所含的一些營養物質、蛋白質可以得到最大的利用，是一種經濟且環保的方式 (Hoogenkamp, 2015)。另外，有人研究之後發現米糠中除含有適合人類的營養物質如植物固醇 (phytosterol)



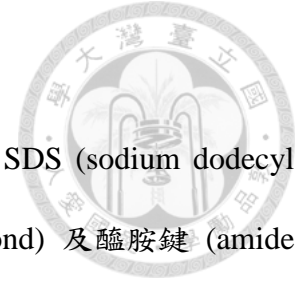
外，也是非常好的植物性蛋白質來源 (Xia *et al.*, 2012)，具有低致敏性 (Helm & Burks, 1996; Kawamura & Muramoto, 1993)、抗發炎以及良好的蛋白質利用效率 (Saunders, 1990)。

2-3-2. 米胚乳蛋白 (rice endosperm protein) 之生產

米胚乳蛋白，即自稻米胚乳中所被分離出的蛋白。最常見的來源是稻米精製過程中所產生的破損米，以及利用稻米製作澱粉糖時所產生的副產物。米中主要成分為澱粉，含量大約在 80% 左右，故在非以米食為主食的食品工業上常使用液化型澱粉酶 (α -amylase)、葡萄糖澱粉酶 (glucoamylase) 和支鏈澱粉酶 (pullulanase) 等澱粉水解酵素來生產澱粉糖漿。這些澱粉水解酵素將米中澱粉水解成可溶性寡糖後，可再經脫支酶 (debranching enzyme) 和糖化型澱粉酶 (β -amylase) 進一步生產高麥芽糖糖漿 (high-maltose syrup)。而米中澱粉藉由澱粉水解酵素水解後所剩餘的部分可以經由沈澱被分離出來，此米澱粉糖漿生產過程中之副產物即為米胚乳蛋白 (Morita *et al.*, 1993)。

第三節 米蛋白之萃取

米蛋白的蛋白質含量會因萃取方式不同而有所差異，而大多數萃取法的蛋白質含量約為 70~90% (Shih, 2003)。米中蛋白質因富含雙硫鍵及分子量較大之穀蛋白，因而使得其分離較為困難。常見的米蛋白萃取方式為鹼萃取法及酵素提取法，或物理性方式輔助萃取 (Hamada, 1997; Tecson *et al.*, 1971)。




3-1. 鹼萃取法

鹼萃取法是利用氫氧化鈉或氫氧化鉀和變性劑如尿素或 SDS (sodium dodecyl sulfate) 搭配進行萃取，藉此破壞蛋白質中的氫鍵 (hydrogen bond) 及醯胺鍵 (amide bond)，再透過等電點沈澱的方式回收蛋白質。Paraman 等人 (2006) 的研究指出，相較於經由澱粉酶處理而獲之米蛋白來說，由鹼萃取和所得到之米蛋白可以得到更高的蛋白純度，即萃出物中所含非蛋白成分如脂質、纖維、灰分等較低，且此萃取法所得到之米蛋白比酵素處理者具有較低的疏水性、較高的水溶性，以及受熱變性之影響程度較低，因而有較好的乳化性和發泡性。雖然利用上述所提之還原劑、變性劑等化學物質進行萃取可提高回收率，但這些物質並不能應用於食品。因此，在無還原劑的輔助萃取情形下，必須在高濃度的強鹼環境下進行萃取才可獲得大量的蛋白。在強鹼條件下萃取能獲得大量的蛋白，但這樣的過程容易使蛋白質變性以及因高濃度的鹼溶液而使米蛋白中的賴氨酸 (lysine) 與丙氨酸 (alanine)、胱氨酸 (cysteine) 產生縮和反應，產生不可逆且具有潛在毒性的有毒化合物「胺基丙氨酸溶解素」(lysinoalanine) (Wang *et al.*, 1999; Shih, 2003)。

3-2. 酵素萃取法

多項研究中曾嘗試以不同食品級酵素輔助獲取米蛋白 (Hanmougjai, 2002)，而以蛋白酶萃取米蛋白有較佳的萃取效果，但是此方法可能會破壞蛋白水解產物原有的分子結構和蛋白功能性 (Shih, 2003)。而 α -澱粉酶、澱粉葡萄糖化酶和支鏈澱粉酶通常用於米粒中澱粉的水解，使米蛋白得以從米粒中被分離出來。除此之外亦可利用果膠酶、半纖維素酶和木聚糖酶等酵素水解植物細胞壁組織，進而提高蛋白質萃取率 (Hourigan *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 1999; Shih *et al.*, 1999)。Shih 和 Diagle (2000) 的研



究指出，生產糖漿過程中所產的副產物約含有 50% 以上的蛋白質，以 α -澱粉酶和葡萄糖澱粉酶處理此副產物可使其內之蛋白質純度達 85%。雖然酵素萃取法所萃取之蛋白質純度高但澱粉酶處理法受熱變性之影響較大，使蛋白質內部硫醇基 (-SH) 團暴露出，並易與相鄰的蛋白質分子形成雙硫鍵，因此降低米蛋白之水溶性及表面活性。

3-3. 物理性萃取法

在食品加工業中的萃取，像是高速攪拌萃取、超音波萃取及冷高壓萃取等物理性的萃取法和其他萃取法如化學或酵素等，更容易被採用，主要是因物理萃取法有以下優點分別為：符合經濟效應、環保且不容易改變物質的本質，因此較為大家所接受。根據 Tang 等人 (2002) 研究指出，米蛋白在不同的物理性萃取法下，雖然超音波萃取法有最好的萃取效果，但萃取率也僅達 15%。然而，將物理性萃取法搭配幾種酵素如澱粉酶或蛋白酶後即可大大提升萃取率。Xia 等人 (2012) 研究發現，將米經過膠體研磨，再經微細化處理後可得萃取率 82%，純度 44% 的米蛋白。若再以澱粉酶及葡萄糖酶處理後可將純度提升至 88%。以這種方法所萃取出之米蛋白有較高的消化性，但在 pH 6~10 之間的溶解度較低。

第四節 米蛋白之利用功能性

當蛋白質要作為食品中的原料之一時，將會首要考慮蛋白質的功能特性，因為這些功能特性會影響到食品在製備、加工、貯藏以及銷售各個階段之食品中不同原料如水、油等物質和蛋白質之間的反應，進而影響產品的穩定性 (Panyam & Kilara, 1996)。不同產品所需之功能性需求如溶解度 (solubility)、乳化性 (emulsification)、發泡性 (foaming)、水分吸收率 (Water absorption capacity) 及油脂吸收率 (Oil absorption



capacity) 等 (Fabian & Ju, 2011; Kinsella & Melachouris, 1976)，以下就不同的功能性進行探討：


4-1. 溶解度 (solubility)

蛋白質的溶解度指的是，在一個給定的環境條件下，蛋白質和溶劑之間形成一個熱力學平衡的狀態，若於一定體積的溶劑之中可溶解愈多蛋白質，而不產生沈澱現象的話，代表此蛋白質在此溶劑中的溶解度愈高 (Damodaran, 1994)。

蛋白質的溶解度會受到許多因素的影響，例如溫度、pH 值、鹽濃度、溶劑的介電常數等，因為蛋白質的結構與構型會受到這些不同的條件而有所改變，進而影響其溶解度 (Adebiyi *et al.*, 2007)。米蛋白的溶解度在 pH 較極端時 (pH 愈靠近 3 或 12)，因為靜電荷較高或是因為蛋白質的部分雙硫鍵因極端 pH 值而斷裂，因而有較高的溶解度；在等電點 pI 時 (pH 4~5) 因靜電荷為零而產生沉澱現象，而此時的溶解度最低。鹽濃度亦會影響蛋白質的溶解度，於低鹽度 (0.1M NaCl) 時蛋白質會產生鹽溶作用 (salting-in effect)，而提高溶解度；但當鹽濃度提升至 1 M NaCl，則因鹽析作用 (salting-out effect)，使蛋白質溶解度降低而析出。因此，pH 值與鹽濃度之改變會影響到溶解度，進而影響到蛋白質之功能特性 (Bera and Mukherjee, 1989)。

米蛋白溶解度隨 pH 值改變的特性主要和米蛋白中的穀蛋白 (glutelin) 有關，因穀蛋白是米蛋白當中所佔比例最高的蛋白 (Hamada, 1997)，其含有大量的分子間及分子內雙硫鍵，讓蛋白質有較大的分子量且形成一個球狀的結構而不易溶於水中，只有在 pH 極鹼或極酸的環境下，因為部分雙硫鍵的斷裂而使穀蛋白形成分子量較小的次單元，進而提升其溶解度。由此得知，米蛋白中的雙硫鍵和溶解度有很大的關係。

根據 Cao (2009) 等人，在 pH 4~7 的範圍，米糠蛋白溶解度較米胚乳蛋白高；



在 pH 大於 7 或 pH 小於 3 時米胚乳蛋白的溶解度則較米糠蛋白高。蛋白質溶解度可用於初步評估其是否具有良好的利用功能性，因為溶解度不高的蛋白質在功能性方面的表現也較差，所以擁有良好的溶解度是蛋白質是否具有利用功能性的重要先決條件 (Nielsen, 1997) 而溶解度的高低和一蛋白質的結構和表面特性有很大的關係 (Damodaran, 1994)。

4-2. 發泡性質 (foaming properties)

蛋白質的發泡性質主要與三種因素有關：一、蛋白質是否能快速吸附於空氣和水的介面；二、能否快速的改變構型，吸附到介面之上；三、能否於空氣和水的介面間，利用分子間作用力形成一連續性、具有黏性的一層膜 (Damodaran, 1994)。

發泡性 (foaming capacity, FC) 的測定可利用一定體積、重量或濃度的蛋白質可使多少介面面積形成穩定的狀態來評估，若所需的體積、重量或濃度愈低，代表此蛋白質的發泡能力愈佳；發泡穩定性 (foaming stability, FS) 則是指蛋白質所形成的介面，可以抵抗多少壓力 (重力、機械力) 仍維持穩定的泡沫結構，可維持得愈久代表其穩定性愈高。Zhao 等人 (2012a) 研究顯示，米胚乳分離蛋白的發泡能力 (FC) 116%，發泡穩定性 (FS) 為 98%。米糠分離蛋白的發泡能力 (FC) 和蛋白相近，但是發泡穩定性 (FS) 卻小於雞蛋蛋白非常多；在 Chandi 和 Sogi (2007) 的研究中，米糠分離蛋白於 pH 5~9，NaCl 0.5~1.5% 和蔗糖溶液濃度 5~15% 下和酪蛋白相比，雖然發泡能力 (FC) 較低但是發泡穩定性 (FS) 卻比較高，這是因為這個條件之下米蛋白分子延展性較好，可形成較穩定的介面。



4-3. 乳化性質 (emulsifying properties)


影響蛋白質乳化性的條件和影響蛋白質發泡性質的條件相似，包含一、蛋白質吸附到油水介面上的速率；二、蛋白質結構的可變性及延展性；三、可降低表面張力的程度，這些均會影響蛋白質的乳化性質。乳化活性 (emulsifying activity, EA) 是表示單位蛋白質 (一定體積、濃度或重量)，可形成穩定介面的面積大小；乳化穩定性 (ES) 則表示當蛋白作為乳化劑將兩相 (油相與水相) 混和均勻後可維持穩定狀態不產生分層的時間。乳化性質可藉由蛋白質在油相與水相共存的情況下，進行均質後的乳化油滴大小及利用光的散射性質進行濁度法測定。

4-4. 保水力 (water holding capacity, WHC)

蛋白質的水分吸收率 (WHC) 是蛋白質功能性測定的重要項目之一。在烘焙製品中，良好的蛋白質水分吸收率是產品保持口感與減少水分散失的重要條件；而在其他產品中，水分吸收率亦為影響口感及質地的的重要因素 (Chandi & Sogi, 2007)。Zhao (2012a) 等人研究指出，米胚乳與米渣分離蛋白的水分吸收率分別為 2.81 與 3.02 mL/g (水分毫升/蛋白克數)。Cao 等人 (2009) 則指出從米糠當中所萃取出之米糠蛋白的水分吸收率為 3.54 mL/g，高於從糙米及白米中所萃取出之蛋白的水分吸收率 (1.96; 1.78 mL/g)。另外，要做出糊狀或帶有黏稠特性食品之水分吸收率的最低標準為 1.49~4.72 mL/g，因此米蛋白是適合添加於此類食品中以增加產品附加價值的原料之一 (Aletor, 2002)。

4-5. 油脂吸收率 (oil absorption capacity, OAC)

在某些產品中，蛋白質的油脂吸收率 (OAC) 是維持特定風味及增進口感不可



缺少的條件之一 (Khan *et al.*, 2011)。Zhao 等人 (2012a) 研究指出，米胚乳與米渣分離蛋白的油脂吸收率分別為 2.14 及 2.38 g/g (油克數/樣品克數)；從白米、糙米和米糠中所萃出蛋白的油脂吸收率則分別為 2.93、2.56 與 3.83 mL/g。Chandi 和 Sogi (2007) 的研究顯示，相對於酪蛋白，米糠濃縮蛋白擁有更高的油脂吸收率。高油脂吸收率的蛋白適合用於製作奶油、美乃滋或沙拉醬料類的產品，而米蛋白的油脂吸收率約在 2.4~3.3 mL/g 之間，適合用於製作此類產品。

第五節 米蛋白發展潛力

稻米是全世界一半人口以上的主要糧食來源，在穀類作物當中的產量僅次於小麥以及玉米，為提供人類重要的能量及蛋白質來源 (Kato, Katayama, Matsubara, Omi & Matsuda, 2000)。雖然蛋白質僅佔稻米成分當中的 7~12%，但因稻米產量高，因此米蛋白的總量也非常可觀 (Shih, 2003)。

眾多前人研究指出，米蛋白和其他蛋白質來源相比具有多種優勢及發展潛能，以下分別從不同角度探討：

5-1 良好的植物性蛋白質來源

蛋白質依來源可分為動物性蛋白質與植物性蛋白質，雖然動物性蛋白質通常含有較豐富的胺基酸來源，但攝取動物性蛋白質的同時也較容易攝取高量的膽固醇與脂肪，提高日後出現肥胖、高血脂和引發心血管疾病方面的風險。反觀米蛋白本身屬於植物性蛋白質，攝取植物性蛋白質因植物本身不含有高量的脂肪與膽固醇，無此方面風險的疑慮，甚至有文獻指出米蛋白具有抑制高血壓 (Li *et al.*, 2007)、抑制肥胖 (Yang *et al.*, 2011) 和抗發炎 (Kannan *et al.*, 2008) 等功能。此外，對於不可食用動物性蛋白質的素食者來說，米蛋白屬於植物性蛋白質，並無此方面限制，




因此米蛋白可作為良好的動物性蛋白質替代來源。

5-2 低致敏性

根據 Helm 和 Burks (1996) 等人的研究，在不同來源的蛋白質當中，米蛋白相較於乳清蛋白、大豆蛋白及其他穀類蛋白質而言，鮮少有人對其產生過敏的症狀，因此可作為此類易造成過敏性蛋白質的替代來源。根據 Bahna (1978) 和 Jacobsson (1979) 等人的研究，約 3~7.5% 的嬰兒會對牛奶產生不適應症，主要是由於嬰兒體內免疫系統尚未發展完全，易將牛奶當中的蛋白質視為有害物質，進而引發身體劇烈的過敏反應；大豆蛋白雖然為良好的植物性蛋白質來源，但卻容易引起消化不良或產生過敏症狀 (Jakobsson & Lindberg, 1979)；除此之外還有許多人對小麥、大麥當中的 gluten 產生過敏反應而引起腸胃不適的症狀。因此，富含離胺酸 (lysine) 的米蛋白非常適合添加於嬰兒配方奶粉當中提供蛋白質來源，作為嬰兒配方食品或提供對小麥、大麥蛋白等不具耐受性患者的替代性食品原料 (Fiocchi *et al.*, 2003)。

5-3 高生物利用性

米蛋白在胺基酸組成方面，除了富含人體必需胺基酸中之甲硫胺酸 (methionine) 和半胱胺酸 (cysteine) 之外，其他穀類作物較缺乏的限制胺基酸-離胺酸 (lysine)，在米蛋白中的含量亦較高。蛋白質效率比 (protein efficiency ratio, PER)、蛋白質淨利用率 (net protein utilization, NPU) 及淨蛋白質存留量 (net protein retention, NPR) 是用來評估蛋白質營養價值的指標，其中 PER 及 NPR 兩項指標，米蛋白均高於其他穀類作物蛋白及大豆分離蛋白 (soy protein isolate, SPI)。Han 等



人 (2015) 研究指出，米糠蛋白和米胚乳蛋白的 PER 及 NPR 分別為 (1.96, 3.26)；(2.39, 3.77)，高於大豆分離蛋白 (1.71, 3.04)。此外，在吸收效率方面米蛋白可被人體消化吸收的比例高達 90% (Wang *et al.*, 1999)，是良好的蛋白質來源。

5-4 無不良氣味和外觀


米蛋白的外觀呈白色粉末狀，不具特殊或不良氣味，因此不論是要添加於其他產品中以提升產品蛋白質含量、作為乳化劑、起泡劑等功能性產品使用，或者用於嬰兒配方奶粉及嬰兒配方食品當中，均不會產生不良氣味或改變產品本身顏色而對外觀、口感及味道造成不良的影響，可廣泛應用於各種產品當中。

5-5 成本低廉

米蛋白分離純化的主要原料，來自於稻米精製過程中所產生的廢棄物如米糠、品質不良而被淘汰的破損米以及利用稻米生產澱粉糖漿過程中，澱粉被提取後所剩餘的副產物。以上均屬於商業價值較低的廢棄物，因此成本低廉。若能加以利用這些廢棄物，不僅可減少資源之浪費以達到環保效果，亦能添加於其他產品中提高蛋白質含量，提升附加價值。

第六節 米蛋白發展之困難

稻米中的蛋白質會影響其品質、結構與及加工利用特性，因此是稻米研究中重要的主題 (Fabian & Ju, 2011)。米蛋白和其他蛋白質來源相比具有多種優勢例如低致敏性、良好植物蛋白質來源及成本低廉等，但因其本身溶解度不佳，於利用功能性質方面受到限制。米蛋白的溶解度不佳與其中含量最高之穀蛋白 (glutelin) 有極



大的關係 (Hamada, 1997; Sugimoto, *et al.*, 1986)。穀蛋白因內部富含雙硫鍵及疏水性作用力，使米蛋白成為一個穩定的球狀結構，導致溶解度不佳，進而影響其他蛋白質功能性 (Hamada, 2000)。當溶解度高時，蛋白質暴露之親水性基團 (hydrophilic group) 及疏水性基團 (hydrophobic group) 增加，會使蛋白質溶液與油脂鏈進行乳化反應，有更佳之交互反應。因此乳化活性 (emulsifying activity, EA) 之趨勢相似於蛋白質溶解度之曲線圖 (Lin & Zayhays, 1987)。當可溶性蛋白質於泡沫表面上使其結構改變，形成可將氣體包覆之薄膜，並可使泡沫堆疊，即為發泡能力 (foaming capacity, FC)；發泡穩定性 (foaming stability, FS) 則是當泡沫形成具有厚度及彈性之薄膜時，可維持泡沫結構，防止其破裂之穩定性。雖然目前已有文獻指出，利用特定蛋白水解酵素對米蛋白進行水解，將米蛋白水解成分子量較小的胜肽後確實可提高米蛋白的溶解度以及功能性，但經水解後的米蛋白卻會因為蛋白質疏水性胺基酸的暴露，而產生苦味，造成不良的口感與味道，進而影響其利用價值 (Souza *et al.*, 2017)。

第七節 還原劑介紹

7-1 穀胱甘肽 (glutathione)

穀胱甘肽，簡稱 GSH，分子量大小為 307.325 g/mol，是由麩胺酸 (glutamine)、甘胺酸 (glycine) 以及半胱胺酸 (cysteine) 所構成的三肽。GSH 為動物細胞中的一種抗氧化劑，可以保護 DNA 免於氧化。Jansens 等人 (2002) 指出，GSH 對於因受到氧化壓力或酵素催化所形成之雙硫鍵，均具有還原的能力。也有文獻指出，GSH 的濃度會影響雙硫鍵的含量，當 GSH 濃度減少時，雙硫鍵含量會有顯著性的上升 (Chakravarthi & Bulleid, 2004)。GSH 於 2011 年 10 月 8 日由衛福部食藥



署 TFDA 公告，得做為食品原料使用，但在食用安全考量上，其每日食用限量為 250 毫克以下，且其來源必須是由圓酵母 (Torula yeast) 發酵生產之產物。

7-2 亞硫酸鈉 (sodium sulfite)

為一種無機化合物，外觀呈白色顆粒狀，分子量大小為 126.043 g/mol，屬於一種食品級的抗氧化劑，具有還原性。在食品工業用途上可作為抗氧化劑、還原劑、漂白劑、防腐劑及麵團調整劑等。亞硫酸鹽可抑制酵素性及非酵素性褐變、防止蔬果變色、抑制微生物繁殖、食用澱粉之漂白以及餅乾製造中麵粉蛋白質雙硫鍵之還原。

7-3 抗壞血酸 (ascorbic acid)

是一種天然存在，具有抗氧化性質的有機化合物，外觀呈白黃色顆粒狀，分子量大小 176.12 g/mol。純淨的抗壞血酸是白色固體，但有些雜質的樣品會帶點微黃色。抗壞血酸易溶於水，形成輕度酸性的溶液。其還原能力主要位於其結構 2,3-烯二醇部分，可用於麵團提供還原用途、抑制酵素性褐變及清除自由基等用途。

7-4 L-半胱氨酸鹽酸鹽 (L-cysteine monohydrochloride)

為一具還原性的食品級還原劑，有防止氧化及抑制酵素褐變的作用。外觀呈白色結晶或粉末狀，具有特殊氣味或酸味，可溶於水或酒精，分子量大小為 175.64 g/mol。半胱氨酸鹽酸鹽可用於麵包的製程中，減少麵團發酵的時間及增加麵團的穩定性。



7-5 2-巯基乙醇 (2-mercaptoethanol, 2-ME)

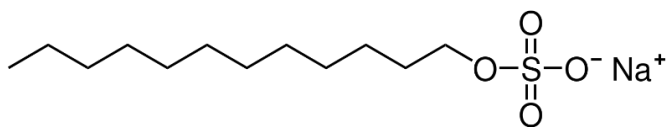
2-ME 分子量為 78.13 g/mol，具微黃色外觀與刺激性味道。常用於蛋白質電泳中，還原蛋白質中雙硫鍵、解開蛋白質結構以利蛋白質質之分析，是一種還原性非常強的還原劑。

第八節 界面活性劑介紹

界面活性劑介紹

界面活性劑是一種同時具有非極性（疏水基）及極性（親水基）的化合物，當以低濃度存在於系統中時，具有吸附於兩相界面間的特性。極性端對極性具高親和力，非極性端則對非極性物質具高親和力。界面活性劑具有降低表面張力的功能，使原本互不相容，容易分層的兩相形成一相均勻分散於另一相的狀態。界面活性劑於食品上的應用非常多元，例如於製作冰淇淋、巧克力或餅乾時，可使脂溶性和水溶性原料均勻混合而不產生分層，或用於調理生麵團的製作，促進結構的均勻形成，改善口感。

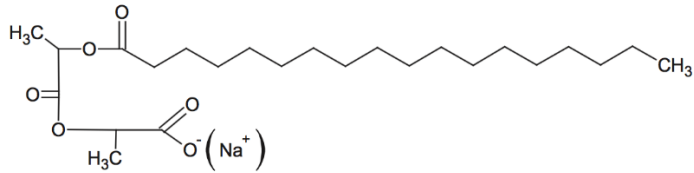
8-1 十二烷基硫酸鈉 (sodium dodecyl sulfate, SDS)



十二烷基硫酸鈉是清潔劑的主要成份之一，分子量為 288.38 g/mol，呈白色或淺黃色結晶粉末，是一種常見的界面活性劑，常用於牙膏、肥皂及沐浴乳當中。實驗上常用於蛋白質電泳，將蛋白質結構打開使其變性，屬於一種常見的變性劑。



8-2 乳酸硬脂酸鈉 (sodium Stearyl-2-Lactylate, SSL)



乳酸硬脂酸鈉可增加麵團之耐彈性 (dough tolerance)，減少攪拌時間 (mixing time)，調整麵團之柔軟適應性 (dough conditioning)，防止麵包心硬化 (retard of crumb firming)，麵筋之強度增強。由於能改進麵筋之構造及強度，使麵團更具有彈性，也同時增加了氣體保留量 (gas retention)，增加麵團的容積。乳酸硬脂酸鈉能與澱粉形成錯化物，延遲澱粉在烘焙時之糊化 (gelling of starch)，而增加以酵母為膨大來源之麵包的體積；亦能作為防老化劑，幫助製成細密柔軟的麵包。

第二章 研究動機與目的



近年來許多文獻指出，米蛋白具有許多發展潛力及優勢，如低致敏性、成本低廉及高生物利用性等。但目前若要將米蛋白更進一步開發與利用，仍受限於低溶解度的特性。米蛋白中含量最高的穀蛋白是造成米蛋白溶解度不佳的主要原因之一。穀蛋白含有許多分子間以及分子內雙硫鍵，使米蛋白形成具有球狀結構及分子量較大的蛋白，因此溶解度不佳，進而影響其他利用功能性 (Hamada, 2000)。雖然目前已有許多研究指出，將米蛋白利用酵素水解後能提升溶解度及其他功能性，但卻會因疏水性胺基酸暴露而產生苦味 (Hou & Zhao, 2011)，若應用於食品中將會對風味造成不良的影響。因此如何在不產生苦味的情況下提高米蛋白溶解度，是目前要將米蛋白應用於食品中的關鍵。

本實驗以食品級還原劑，嘗試還原米蛋白中的雙硫鍵，觀察是否能還原米蛋白之雙硫鍵而提高米蛋白之溶解度，進而提升其功能利用性。實驗架構 (圖一) 主要分為四個部分：一、還原劑的選擇與條件最佳化：選出還原效果較佳的食物級還原劑後，進行溫度及 pH 值條件最佳化；二、還原劑單獨處理米蛋白後游離硫氫基與功能性測試：以所選出的食物級還原劑及一種指標還原劑還原米蛋白，進行游離硫氫基數量分析及功能性測定；三、還原劑與介面活性劑共同處理後米蛋白游離硫氫基與功能性測試：以所選出的食物級還原劑及一種指標還原劑還原米蛋白但於含有介面活性劑的條件下還原，進行游離硫氫基數量分析及功能性測定；四、還原後米蛋白與酵素水解米蛋白功能性比較。

第三章 材料與方法



【藥品與試劑】

- glycerol, K_2HPO_4 , petroleum ether, Tris-base 購自 J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, U.S.A)
- 2-ME (2-mercaptoethanol), APS (ammonium persulfate), bromophenol blue, casein, coomassie brilliant blue R250, DTNB (5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)), DTT (1, 4-dithiothreitol), EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), glycine, acetic acid, HCl, KH_2PO_4 , methanol, NaCl, SDS (sodium dodecyl sulfate), TCA (trichloroacetic acid), TEMED (tetramethylethylenediamine) 購自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, U.S.A)
- 蛋白質標準品 (prestained protein marker) 購自 Thermo Fisher Scientific, Inc. (Waltham, U.S.A)
- Bradford 試劑 (Protein assay) 購自 Bio-Rad (Berkeley, California, U.S.A)
- 40% acrylamide 購自 Bio Basic Inc. (Ontario, Canada) 75% ethanol 購自友和貿易股份有限公司 (新北市，臺灣)
- 75% 乙醇溶液 購自友和貿易股份有限公司 (新北市，台灣)

【器材】

- 水分分析儀 Moisture Analyzer, MOC63u 購自 SHIMADZU, Uni Bloc® (Kyoto, Japan)
- 乾浴機 Thermomixer comfort 1.5 mL 購自 Eppendorf (Hamburg, Germany)
- 蛋白質電泳系統 Mini-protein III 購自 Bio-Rad (Hercules, CA, U.S.A)

- 電磁加熱攪拌器 Harmony™ Hotplate Stirrer, HTS-1003 購自 LMS Co. (Tokyo, Japan)
- pH 測定儀 PB-10 pH 購自 Sartorius (Goettingen, Germany)
- 高速低溫離心機 Allegra™ X-22R Centrifuge 購自 BECKMAN COULTER® (Fullerton, CA, U.S.) 凍乾燥機 Freeze dryer, ALPHA 1-4 LD 購自 MARTIN CHRIST, EDWARDS (Germany)
- 旋渦式震盪器 Vortex-Genie2 購自 Scientific Industries (Bohemia, NY, U.S.A) 0.20 μm minisart polyethersulfone 購自 Sartorius stedim biotech (Goettingen, Germany) 超微量分光光度計 NanoDrop® ND-1000 spectrophotometer 購自 NanoDrop Technologies, Inc. (Wilmington, DE, U.S.A) Vivaflow 200 購自 Sartorius stedim biotech (Goettingen, Germany)
- 酵素免疫反應測讀儀 EnSpire 2300 Multilabel Reader 購自 Perkin Elmer Inc. (U.S.A) 均質機 D-9 homogenizer 購自 MICCRA (Germany)
- 分光光度計 U-2001、比色皿 購自益弘 (Hitachi, Tokyo, Japan)
- 照相系統 Image analysis system 購自 SYNGENE (Cambridge, UK)





第一節 米蛋白純化

1-1 澱粉酶處理取得米蛋白

本實驗參考 Morita 與 Kiriya (1993) 之萃取方法，並作調整後進行。首先將精白米和去離子水以重量體積比 1:2 (米 100 g 則水為 200 mL) 先浸泡 30 分鐘，等米粒稍微吸水且些微膨脹，再利用果汁機將其打成米漿狀，並調整 pH 值至 5.4 (酵素最佳作用酸鹼值)。接下來將體積重量比 1% 的澱粉酶 Liquozyme (米 100 g 則 Liquozyme 為 1 mL) 加入米漿中，以隔水加熱至 90°C 的方式在電磁加熱攪拌器上加熱 2 小時。停止加熱後將米漿置於濾網上過濾，再以重量體積比 1:10 的熱水 (米 100 g 則水為 1000 mL) 沖洗，濾除糖液及其他雜質，收集成蛋白團塊後置於 -80°C 之冷凍庫中 24 小時以上，最後進行冷凍乾燥。冷凍乾燥後的蛋白利用研磨機將蛋白磨成粉末狀，保存於乾燥箱內。接下來所述各實驗方法中所稱之樣品克數均指米蛋白粉末中的「蛋白含量」克數，而非「米蛋白粉末」克數，因此秤取樣品時須除以樣品的蛋白質含量 (protein content, %) 才為實際的取樣克數。

1-2 米蛋白之蛋白質含量測定

秤取米蛋白樣品 5g，委託新竹食品工業發展研究所代為測定。其檢測之方法參照「CNS 5035, N6116 食品中粗蛋白質之檢驗」。蛋白質含量以乾基為基準，計算公式如下：

$$\text{蛋白質含量 (protein content, \%)} = \frac{\text{總氮量}}{1 - \text{水分含量}} \times 5.95 (\text{米中蛋白質轉換係數})$$



本實驗所使用之米蛋白樣品每 100 g 中的含氮量為 14.12 g，根據上述公式，推算出米蛋白之蛋白質純度為 84.01%。

第二節 米蛋白還原劑處理

[材料]

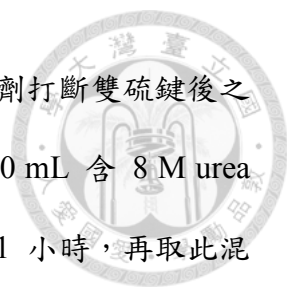
- 米蛋白
- 還原劑：2-mercaptoethanol, glutathione, sodium sulfite
- 界面活性劑：Sodium dodecyl sulfate (SDS), Sodium stearoyl lactylate(SSL)

[方法]

秤取 5 g 米蛋白於 50 mL 去離子水中，以 HCl 或 NaOH 調整 pH 至還原劑還原米蛋白所需 pH 值後，在 25°C 下讓米蛋白與還原劑反應三個小時（還原劑濃度為 0.1M）。反應結束後調整 pH 至 4.5(米蛋白 pI) 於 4°C 下沈澱一小時，再用 pH4.5 去離子水，以反覆離心的方式將還原劑移除（約十倍體積去離子水沖洗），最後將蛋白收集成團塊後置於 - 80°C 之冷凍庫中 24 小時以上，最後進行冷凍乾燥。冷凍乾燥後的蛋白利用研磨機將蛋白磨成粉末狀，保存於乾燥箱內。（若為還原劑與界面活性劑共同處理組別，則於加入還原劑的步驟同時加入 1% (w/v) 的界面活性劑）。

第三節 硫氫基數量測定

此實驗參考 Zhao 等人 (2013) 使用 Ellman 試劑之方法並加以修改後進行。硫氫基數量的測定分為兩種，一種是於含有 8 M urea 的 Tris-glycine buffer 中進行，可測得蛋白質結構於展開的情況下，經還原劑還原後可測得的硫氫基數量 (total SH)；另一種則是於不含 8 M urea 的 Tris-glycine buffer 中進行，可測得蛋



白質游離硫氫基數量 (free SH)。經變性劑破壞蛋白結構與還原劑打斷雙硫鍵後之硫氫基數量 (total SH) 測定方法，首先秤取米蛋白 30 mg 於 10 mL 含 8 M urea 之 Tris-glycine buffer 中，並加入 600 μ L 2-ME 於室溫下混勻 1 小時，再取此混和液 500 μ L 於 5 mL 12% (w/v) 之 TCA 溶液中，靜置沉澱 1 小時後離心 10 分鐘，將上清液去除，並於分離物中再次加入 5 mL 12% (w/v) 之 TCA 溶液將還原劑洗去，經 10 分鐘離心後將分離物回溶至 3 mL 含 8M urea 之 Tris-glycine buffer 與 40 μ L 之 0.4% (w/v) DTNB 溶液中，於室溫下避光均勻反應 30 分鐘後離心 10 分鐘。再取 200 μ L 上清液於 96 孔盤，測其在 412 nm 之吸光值，並以與樣品回溶後含有相同比例之 0.4% (w/v) DTNB 和含 8 M urea 的 Tris-glycine buffer 混和液作為 blank；而游離硫氫基數量測定方法則是，秤取米蛋白 30 mg 於 10 mL Tris-glycine buffer 中，加入 100 μ L 之 0.4% (w/v) DTNB 於室溫下避光均勻反應 1 小時，再離心 (rotor SX4250, 3,082 x g, 25°C) 10 分鐘，取 200 μ L 上清液於 96 孔盤，測其在 412 nm 之吸光值，其計算方式如下：

$$-\text{SH}_{\text{total}} (\mu\text{mol SH/g}) = 73.53 \times A_{412} \times D / C$$

$$-\text{SH}_{\text{free}} (\mu\text{mol SH/g}) = 73.53 \times A_{412} \times D / C$$

73.53：為一莫耳消光係數，由 $10^6 / (1.36 \times 10^4)$ 而得

A_{412} ：於 412 nm 時，樣品之吸光值 (須扣除 blank 的吸光值)

D：樣品稀釋倍數， $-\text{SH}_{\text{free}}$ 公式中之 D 值為 1.01， $-\text{SH}_{\text{total}}$ 公式中之 D 值則為 6.08

C：樣品濃度 (本實驗樣品濃度為 3 mg/mL)



第四節 米蛋白溶解度測定

[材料]

- 米蛋白
- 去離子水
- 5M NaOH 及 HCl

[方法]

秤取米蛋白 2 g 於 50 mL 去離子水，調整 pH 值至 10 後，於 25°C 恆溫下持續攪拌，過程中以 HCl 或 NaOH 維持 pH 值恆定，反應 30 分鐘後立即取樣 (1 mL) 離心 10 分鐘 (rotor SX4250, 3,900 g, 25°C)，再將剩餘之樣品液調整 pH 值至 9，如此反覆上步驟，直到 pH 值到 3 為止。

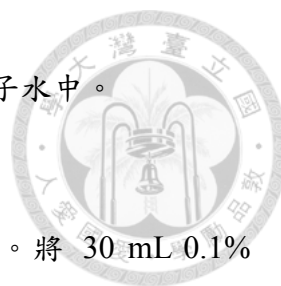
離心後取上清液體過 0.2 μm 的膜後，即可藉 Bradford 法測量上清液體蛋白濃度，進而換算樣品於該 pH 值下的水溶性。計算方法如下：

$$\text{Solubility (\%)} = \frac{\text{上清液之蛋白濃度}}{\text{樣品液蛋白濃度}} \times 100\%$$

第五節 米蛋白發泡性質測定

[試劑]

- 0.1 M KH_2PO_4 ：秤取 1.36 g 之 KH_2PO_4 溶於 100 mL 去離子水中。
- 0.1 M K_2HPO_4 ：秤取 3.48 g 之 K_2HPO_4 溶於 100 mL 去離子水中。
- 0.01 M pH 7.0 phosphate buffer (PB)：量取 38.5 mL 之 0.1 M KH_2PO_4 ，並加入約 61.5 mL 之 0.1 M K_2HPO_4 ，直至 pH 值為 7.0，再以去離子水稀釋 10 倍。



- 0.1% (W/V) SDS：秤取 1.0 g 之 SDS 溶於 1000 mL 去離子水中。

[方法]

此實驗參考 Zhao 等人 (2012) 之方法並加以修改後進行。將 30 mL 0.1% (w/v) 蛋白溶液 (0.01 M Phosphate buffer)，藉均質機以 16,000 rpm 將蛋白質溶液均質 1 分鐘，再迅速倒入量筒中，分別於均質後的第零和第十分鐘時，紀錄蛋白質溶液之總體積，並以酪蛋白 (casein) 作為對照組，其計算公式如下：

$$\text{Foaming capacity (FC)} = \frac{V_0}{V} \times 100\%$$

$$\text{Foaming stability (FS)} = \frac{V_t}{V_0} \times 100\%$$

V ：原始蛋白質溶液體積 (mL)

V_0 ：均質後第零分鐘之總體積 (mL)

V_t ：均質後第十分鐘之總體積 (mL)

第六節 米蛋白乳化性值測定

[試劑]

與發泡性質測試方法試劑相同

[方法]

本實驗參考 Tang 等人 (2003)、Paraman 等人 (2006) 和 Zhao 等人 (2012) 採用濁度法測定。於 30 mL 0.1% (w/v) 蛋白溶液 (0.01M PB, pH 7.0) 中加入 10 mL 植物油，再以均質機將蛋白溶液均質 2 分鐘 (16,000 rpm)，並分別於均質後第零分鐘和第十分鐘時，取 1 mL 乳化液於 50 mL 0.1% (w/v) SDS 溶液中 (每次



實驗之取樣位置須一致) , 稍微混勻再取 200 μ L 於 96 孔盤中, 藉分光光度計測量該乳化液於 500 nm 之濁度 (blank 為 30 mL 0.1% (w/v) 蛋白溶液中加入 10 mL 去離子水, 重複上述步驟), 其計算公式如下:

Emulsifying activity (EA) = A_0

Emulsifying stability (ES) = $\frac{A_0 \times \Delta t}{A_0 - A_t} \times 100\%$

A_0 : 均質後第零分鐘之吸光值 (須扣除 blank 的吸光值)

A_t : 均質後第十分鐘之吸光值 (須扣除 blank 的吸光值)

Δt : 均質後之靜置時間 (本實驗為 10 分鐘)

第七節 米蛋白保水力測定

[試劑]

- 0.05 M imidazole : 秤取 0.33 g 之 imidazole 溶於 100 mL 去離子水中。
- 0.05 M sodium acetate : 秤取 0.41 g 之 sodium acetate 溶於 100 mL 去離子水中。
- 0.005 M pH 7.0 imidazole/acetate buffer : 將 0.05 M imidazole 溶液緩慢加入 sodium acetate 溶液當中, 並同時測量其 pH 值, 直至 pH 7.0 時加入去離子水至 1 L。

[方法]

本實驗參考 MacConnell 等人 (1974) 之方法, 作些微調整後測定之。秤取米蛋白 100 mg 置於 50 mL 離心管中。接著加入 imidazole/acetate buffer 10 mL, 於



4°C 下混合與攪拌 24 小時。最後於 1,400 × g 離心 20 分鐘，去除上清液後秤離心管重。保水力 (WHC) 以每 100 g 樣品可吸附之水分重量 (g) 表示。

$$\text{保水力(WHC)} = \frac{\text{水分重量}}{\text{樣品重量}}$$

第八節 米蛋白油脂吸收率測定

[方法]

本實驗參考 Lin 等人 (1974) 之方法，作些微調整後測定之。秤取米蛋白 100 mg 置於 15 mL 離心管中。接著加入植物油 3 mL，於室溫混合攪拌 30 分鐘。最後於 1,600 × g 離心 25 分鐘。去除上清液體後秤離心管重。油脂吸收率 (OAC) 以每 100 g 樣品可吸附之油脂重量 (g) 表示。

$$\text{油脂吸收率 (OAC)} = \frac{\text{油脂重量}}{\text{樣品重量}}$$

第九節 蛋白質濃度測定

本實驗以 bradford 法進行蛋白質濃度測定。首先以 BSA 標準溶液，配製蛋白濃度於 0.05-0.5 mg/mL 的八個樣品製作標準曲線。各取 10 μm 標準品和待測樣品於 96 孔盤中。配製 Bradford 試劑的反應液 (Bradford 試劑:去離子水為 1:4) 後，於已加入標準品和樣品液的孔中加入 200 μL Bradford 試劑於室溫下反應 5 分鐘。藉由 ELISA reader 偵測樣品於光源波長為 595 nm 下之吸光值。以 BSA 濃度為 X 軸，595 nm 吸光值為 Y 軸，將標準品濃度與測得標準品之吸光值透過

迴歸分析製作標準曲線。待測樣品液之吸光值扣除 blank 值後即可以標準品所製作之標準曲線算得樣品之蛋白質濃度。



第十節 統計分析

本研究之各組試驗皆進行兩次或兩次以上 (repeated at least twice)，其試驗結果之數據以平均值 ± 標準差 (standard deviation, SD) 表示，並藉由統計軟體 CoStat 進行最小顯著差異法分析 (least significant difference)，若統計結果中組間相符機率小於 0.05 (即 $p < 0.05$)，則視為具有顯著差異。

第四章 研究結果




第一節 不同還原劑還原米蛋白雙硫鍵能力之比較

此部分實驗欲分析比較，米蛋白經指標還原劑 2-ME 及四種食品級還原劑 (抗壞血酸、L-半胱氨酸鹽酸鹽、亞硫酸鈉、穀胱甘肽 (GSH)) 處理後的硫氫基 (total SH group) 數量變化 (圖二)。結果顯示在還原劑濃度為 0.1 M、尿素濃度為 8 M 的條件下，經指標還原劑 2-ME 還原後所測得的硫氫基數量為 126.4 $\mu\text{mol/g}$ ；控制組 (未經還原劑還原之米蛋白)、抗壞血酸及 L-半胱氨酸鹽酸鹽還原之米蛋白所測得的硫氫基數量分別為 4.2、4.4 及 7.3 $\mu\text{mol/g}$ ，三者間並無顯著差異；亞硫酸鈉及穀胱甘肽 (GSH) 處理米蛋白所測得之硫氫基數量分別為 28.8 及 42.4 $\mu\text{mol/g}$ ，顯著高於控制組，因此後續實驗選擇亞硫酸鈉、GSH 兩種食品級還原劑，和指標還原劑 2-ME 繼續進行。

第二節 還原劑還原條件最佳化

為使米蛋白於還原劑處理時能得到最佳效果，因此將第一部分所選出之食品級還原劑 GSH 與亞硫酸鈉進行溫度及 pH 值的還原條件最佳化試驗。圖三中發現，GSH 在較酸及較鹼的條件下有較好的還原效果，可測得較多的硫氫基數量。pH 4 時，硫氫基數量為 25.5 $\mu\text{mol/g}$ ；pH 3 時硫氫基數量為 36.3 $\mu\text{mol/g}$ ；最後於 pH 10 時的硫氫基數量為 49.0 $\mu\text{mol/g}$ ，數量最多。而在四種溫度條件：25、35、45、55 $^{\circ}\text{C}$ 下，經 GSH 還原後米蛋白中的硫氫基數量並無顯著差異，含量分別為 42.6 $\mu\text{mol/g}$ 、44.1 $\mu\text{mol/g}$ 、45.4 $\mu\text{mol/g}$ 及 43.4 $\mu\text{mol/g}$ (圖四)。

亞硫酸鈉部分在 pH 3-6 的條件下還原，測得硫氫基數量並無顯著差異；而 pH 6 以後測得之硫氫基數量有增加的現象，在 pH 8 的條件下還原可測得最多的



硫氫基數量 (44.2 $\mu\text{mol/g}$) (圖五)。溫度條件同樣於 25、35、45、55 $^{\circ}\text{C}$ 下進行測試，結果和 GSH 相同，在這四個條件下還原米蛋白後所測得的硫氫基數量並無顯著差異，分別為 35.6 $\mu\text{mol/g}$ 、37.1 $\mu\text{mol/g}$ 、38.4 $\mu\text{mol/g}$ 及 37.5 $\mu\text{mol/g}$ (圖六)。根據此實驗結果，GSH 及亞硫酸鈉將分別於 pH 10 和 8；溫度則同樣於 25 $^{\circ}\text{C}$ 下進行。

第三節 米蛋白經還原劑處理後之游離硫氫基數量測定


此部分實驗欲了解米蛋白經不同還原劑處理，經冷凍乾燥過後樣品中之游離硫氫基數量。未經過任何處理的米蛋白中可測得 3.9 $\mu\text{mol/g}$ 的游離硫氫基；經指標還原劑 2-ME 處理後之米蛋白可測得的游離硫氫基數量為 40.6 $\mu\text{mol/g}$ ；而經食品級還原劑 GSH 及亞硫酸鈉處理後之米蛋白中可測得的游離硫氫基則分別為 25.8 及 15.3 $\mu\text{mol/g}$ (圖七)。

第四節 還原劑處理後米蛋白功能測定

此部分實驗是米蛋白經前述實驗所選擇之還原劑，於最佳還原條件下處理後之功能性測定，包含水溶性 (Solubility)、乳化性質 (emulsifying properties)、發泡性質 (foaming properties)、保水力 (water holding capacity, WHC) 及油脂吸收率 (oil absorption capacity, OAC)。

4-1 溶解度測定

本實驗測量米蛋白於不同 pH 下之溶解度，觀察米蛋白經 2-ME、GSH 及亞硫酸鈉處理後溶解度是否提升。方法為測定蛋白質上清液蛋白濃度，除以原本蛋白



質溶液的濃度後，再換算出蛋白質於水中之溶解度。溶解度愈高代表固定體積的水分中可溶解愈多的蛋白質。於指標還原劑的部分，經 2-ME 處理後的米蛋白在 pH 10 及 3 的溶解度分別為 30% 及 15%，有較明顯的提升；食品級還原劑部分，GSH 同樣於 pH 10 及 3 的部分溶解度有較明顯的提升，溶解度分別為 11% 及 29%；最後，經亞硫酸鈉處理後之米蛋白溶解度和未經過還原劑處理米蛋白的溶解度曲線幾乎相同，並無明顯差異 (圖八)。

4-2 乳化性質測定

乳化性質的測定包含乳化性 (EA) 及乳化穩定性 (ES)，原理為均質後於第 0 及第 10 分鐘時測定波長 500 nm 下之吸光值，再算出其乳化性及乳化穩定性。在乳化性部分 (圖九)，酪蛋白之乳化性為 0.532；經 2-ME 處理後的乳化性為 0.256；經食品級還原劑 GSH 及亞硫酸鈉處理後之乳化性則分別為 0.224 和 0.236。三者均和控制組間無顯著差異，且明顯低於酪蛋白。

於乳化穩定性方面，酪蛋白之乳化穩定性為 100%；經三種不同還原劑處理後，2-ME 的乳化穩定性為 29.2%；GSH 及亞硫酸鈉的乳化穩定性則分別為 26.2% 及 21.4%，三者之乳化穩定性也和控制組無顯著差異 (圖十)。

4-3 發泡性質測定

發泡性質測試之原理為蛋白溶液均質後於第 0 及第 10 分鐘測定均質後之蛋白溶液體積，再與原來體積相比即可測得發泡性 (FC) 及發泡穩定性 (FS)。於發泡性結果發現，所有處理均和未處理組無顯著差異 (圖十一)。在發泡穩定性方面，僅 GSH 處理米蛋白較控制組低 (92.3%)，其餘組別皆和控制組間無顯著差異，數



值均接近 100% (圖十二)。

4-4 保水力測定

蛋白質的保水力 (WHC) 是蛋白功能性測定的重要項目之一。蛋白質良好的保水力是產品保持新鮮、減少水分散失及維持產品口感的重要條件，因此本實驗欲了解米蛋白經不同還原劑處理後水分吸收率 (WHC) 之差異。表一顯示，經 2-ME 處理後的 WHC 為 3.59 g/g，和控制組 (3.60 g/g) 並無顯著差異；亞硫酸鈉及 GSH 處理後的 WHC 則為 3.64 g/g 及 3.52 g/g，GSH 處理後的 WHC 略低於控制組。

4-5 油脂吸收率測定

在某些產品中，蛋白質的油脂吸收率 (OAC) 是維持特定風味及增進口感不可缺少的條件之一，因此本實驗欲了解不同還原劑處理之米蛋白油脂吸收率是否有所差異。於表二中發現，經 2-ME 處理後米蛋白油脂吸收率為 3.51 g/g，高於未處理米蛋白 (3.24 g/g)；GSH 和亞硫酸鈉處理組的油脂吸收率則分別為 3.32 及 3.38 g/g，和控制組間並無顯著差異。

第五節 界面活性劑 SDS 與 SSL 對還原劑還原米蛋白雙硫鍵效果之影響

由前述實驗發現，以還原劑單獨處理米蛋白雖能使米蛋白中游離硫氫基數量增加 17~20%，但米蛋白功能性卻無明顯改善，因此推測可能是由於米蛋白本身的球狀結構，使蛋白質內部雙硫鍵仍無法被還原，導致還原劑還原效果不佳。為改善此問題，接下來的實驗將以還原劑分別搭配兩種界面活性劑：十二烷基硫酸鈉

(Sodium dodecyl sulfate, SDS) 及食品級乳化劑乳酸硬脂酸鈉 (Sodium Stearyl-2-Lactylate, SSL) 處理米蛋白，再將結果和第一部分實驗結果比較，觀察是否能將蛋白質結構解開後，進一步還原更多雙硫鍵且同時提高蛋白質功能性。



5-1 SDS 及 SSL 對還原劑還原米蛋白雙硫鍵效果之影響

此部分實驗欲比較在介面活性劑 SDS 是否存在的條件下，米蛋白經不同還原劑處理後的雙硫鍵含量。於圖十三中，未經過任何處理之米蛋白游離硫氫基數量為 $3.9 \mu\text{mol/g}$ ；米蛋白於 1% SDS 溶液中無還原劑的情況下處理後，游離硫氫基數量為 $35.8 \mu\text{mol/g}$ 。若米蛋白於 1% SDS 溶液中進行還原，經指標還原劑 2-ME 處理後的游離硫氫基數量為 $84.0 \mu\text{mol/g}$ ，比單獨經 2-ME 還原增加 $43.4 \mu\text{mol/g}$ ；在食品級還原劑部分，米蛋白於 1% SDS 溶液中經 GSH 及亞硫酸鈉處理後之游離硫氫基數量分別為 53.1 及 $57.0 \mu\text{mol/g}$ ，比單獨經 GSH 及亞硫酸鈉處理增加 $27.3 \mu\text{mol/g}$ 及 $41.7 \mu\text{mol/g}$ 。

在食品級乳化劑 SSL 部分，單獨經 1% SSL 處理後之米蛋白雙游離硫氫基數量為 $21.2 \mu\text{mol/g}$ ；若米蛋白於 1% SSL 的條件下經 2-ME 還原後，游離硫氫基數量為 $62.2 \mu\text{mol/g}$ ，比單獨 2-ME 還原劑處理增加 $21.6 \mu\text{mol/g}$ ；在食品級還原劑中，米蛋白於 1% SSL 溶液中，經 GSH 及亞硫酸鈉還原後的游離硫氫基數量分別為 45.4 及 $50.0 \mu\text{mol/g}$ ，比 GSH 及亞硫酸鈉單獨處理增加 19.6 及 $34.7 \mu\text{mol/g}$ (圖二十一)。

由上述結果發現，相較於還原劑單獨處理的組別，經還原劑與界面活性劑 SDS 及 SSL 共同處理組別之米蛋白均能測得更多的游離硫氫基數量，表示於 1% SDS 及 SSL 的條件下，還原劑能還原更多的雙硫鍵，因此測得較高的游離硫氫基。



第六節 界面活性劑對還原劑還原之米蛋功能性影響

6-1 溶解度

此實驗欲觀察還原劑與界面活性劑共同處理之米蛋白，是否能比還原劑單獨處理之米蛋白有更佳的溶解度。在界面活性劑 SDS 部分，2-ME 於 1% SDS 條件下還原之米蛋白溶解度在 pH 6~10 之間提升 10~20%，在 pH 10 的部分更提高至 40%，但在 pH 3 的部分卻下降 15% (圖十四)；在食品級還原劑部分，GSH 處理組於含有 SDS 的情況下，在 pH 6~10 之間的溶解度亦提升 10~20%，但在酸性環境 pH 3 的條件卻下降 (圖十五)；亞硫酸鈉處理組則是在 pH 5 以後有 15~25% 的提升，但於 pH 3 的溶解度則下降 8% (圖十六)。

接著比較食品級乳化劑 SSL 對不同還原劑處理米蛋白溶解度之影響，比較還原劑單獨處理和含有 SSL 條件下米蛋白溶解度差異。在 2-ME 部分，pH 6 以後 SSL 和 2-ME 共同處理之米蛋白溶解度比 2-ME 單獨處理的溶解度高 10~25% (圖二十二)；在 GSH 部分，GSH 和 SSL 共同處理組的溶解度在 pH 6 以後明顯高於 GSH 單獨處理組 15~20%，但在 pH 小於 5 的情況下則低於 GSH 處理組 20% (圖二十三)；亞硫酸鈉和 SSL 共同處理組米蛋白的溶解度在 pH 值大於 6 以後高於亞硫酸鈉單獨處理組 15~25%，在 pH 10 的溶解度達最高 (圖二十四)。

6-2 乳化性質

在 SDS 部分 (圖十八) 發現，未還原之米蛋白於 1% SDS 溶液處理後，乳化性由 0.233 提升至 0.326。米蛋白與還原劑於 1% SDS 溶液下處理部分，指標還原劑 2-ME 處理組由 0.256 提升至 0.421；食品級還原劑 GSH 及亞硫酸鈉處理組則分別由 0.224 及 0.236 提升至 0.275 及 0.355。



在乳化穩定性部分 (圖十九)，於含有 1% SDS 情況下還原之米蛋白，2-ME 處理組的乳化穩定性由 29.2% 下降至 25.0%；GSH 處理組由 21.4% 提升至 33.0%；亞硫酸鈉處理組從 26.2% 提升至 35.9%，除 2-ME 處理組下降外，亞硫酸鈉及 GSH 處理組均上升。

在 SSL 乳化性部分 (圖二十六)，未還原之米蛋白於 1% SSL 溶液處理後，乳化性由 0.233 提升至 0.338。米蛋白與還原劑於 1% SSL 溶液下處理部分，指標還原劑 2-ME 處理組由 0.256 提升至 0.416；食品級還原劑 GSH 及亞硫酸鈉處理組則分別由 0.224 及 0.236 提升至 0.284 及 0.470。


SSL 乳化穩定性部分，未經還原之米蛋白於 1% SSL 溶液中處理後，乳化穩定性並無改變。米蛋白與還原劑於 1% SSL 溶液下處理部分，2-ME 處理組由 29.2% 提升至 35.0%，其餘兩種食品級還原劑 GSH 處理組由 22.0% 提升至 25.0%，亞硫酸鈉則由 25.0% 上升至 31.3% (圖二十七)。

6-3 發泡性質

圖二十中發現，未還原之米蛋白於 1% SDS 溶液處理後，發泡性由 106.7% 提升至 161.7%；米蛋白與還原劑於 1% SDS 溶液下處理部分，2-ME 處理組由 110.0% 提升至 211.6%；GSH 處理組由 108.4% 提升至 171.7%；亞硫酸鈉處理組則由 105.0% 提升至 180.0%。

發泡穩定性部分僅 GSH 處理組於加入 SDS 的情況下有些微提升，從 92.3% 提升至 97.1%，但和其他組別相比皆無顯著差異。2-ME 處理均為 97.0%，亞硫酸鈉處理組則維持在 96.9%。

SSL 的部分在發泡性質方面，SSL 和還原劑共同處理組的發泡性均高於還原



劑單獨處理組。2-ME 處理組由 110.0 % 提升至 161.7%；GSH 處理組由 108.4% 提升至 154.5%；亞硫酸鈉處理組則由 105.0% 提升至 146.5% (圖二十七)。發泡穩定性則和 SDS 部份相同，僅 GSH 處理組由 92.3% 提升至 96.7%，其餘組別間均無顯著差異。

6-4 保水力

接下來比較米蛋白之水分吸收率，觀察米蛋白於還原劑處理時加入界面活性劑 SDS 或 SSL 的水分吸收率差異。表一中可發現於 1% SDS 溶液中以 2-ME 還原之米蛋白有最高的水分吸收率，而 GSH 處理加入 1% SSL 的組別則有最低的水分吸收率。同時可發現，除了亞硫酸鈉的組別外，其餘還原劑加入 1% SDS 的組別均較加入 1% SSL 有較高的保水力。

6-5 油脂吸收率

在油脂吸收率的部分，表二中可發現，2-ME 加入 1% SSL 的處理組有最高的油脂吸收率，而經 1% SDS 處理後的米蛋白則有較低的油脂吸收率。同時可觀察到，除了亞硫酸鈉的組別外，其餘還原劑加入 1% SSL 處理的組別均比加入 1% SDS 處理的組別有更佳的油脂吸收率。

第七節 酵素水解米蛋白和還原劑與界面活性劑共同處理米蛋白之功能性比較

此部分為米蛋白經酵素水解與米蛋白經食品級還原劑與界面活性劑共同處理之功能性比較，欲了解經過酵素水解之米蛋白和未經酵素水解之米蛋白功能性上的差異。樣品包含味丹公司提供的酵素水解米蛋白樣品 RP70，以及於 1% SSL 溶



液下分別經 GSH 與亞硫酸鈉還原後之米蛋白。

首先在溶解度部分 (圖二十九)，經酵素水解之米蛋白 RP 70 在 pH 3~10 間的溶解度均在 30% 以上；GSH 與 SSL 共同處理組及亞硫酸鈉與 SSL 共同處理組則是在 pH 8 以後，溶解度達 30% 左右，其中 GSH 與 SSL 共同處理組的溶解度略高於亞硫酸鈉與 SSL 共同處理組。

乳化性質部分 (圖三十)，RP 70 的乳化性為 0.420，乳化穩定性為 82.6%；GSH 與 SSL 共同處理米蛋白的乳化性為 0.284，乳化穩定性為 25%；亞硫酸鈉與 SSL 共同處理米蛋白的乳化性為 0.470，乳化穩定性為 31.3%。乳化性以亞硫酸鈉與 SSL 共同處理米蛋白最高，乳化穩定性則以 RP 70 最好。

發泡性質部分 (圖三十一)，RP 70 的發泡性為 235.0%，發泡穩定性為 97.8%；GSH 與 SSL 共同處理米蛋白的發泡性為 146.7%，發泡穩定性為 96.7%；亞硫酸鈉與 SSL 共同處理米蛋白的發泡性為 155.0%，發泡穩定性為 95.7%。發泡性以 RP 70 最高，發泡穩定性則是三者之間無顯著差異。

第五章 討論




第一節 還原劑還原米蛋白雙硫鍵

前人文獻指出，大量存在於米蛋白中的雙硫鍵是造成米蛋白溶解度及其他功能性不佳的主要原因 (Nielsen, 1997)，因此本研究之主軸為利用還原劑還原米蛋白中雙硫鍵，希望改善其溶解度及其他功能性，以提升米蛋白在食品上的利用價值。

雙硫鍵的生成及斷裂屬於一種氧化還原反應，當米蛋白中愈多的雙硫鍵 (S-S) 被還原後，硫氫基 (SH) 的數量就會愈高，因此本實驗測定米蛋白經由不同還原劑還原後的硫氫基數量，作為還原劑還原米蛋白雙硫鍵能力好壞的依據，選出還原效果較佳的還原劑進行後續實驗。結果顯示，經指標還原劑 2-ME 還原後的米蛋白可測得最多的硫氫基；選擇的食品級還原劑中僅有經過 GSH 及亞硫酸鈉處理後之米蛋白的硫氫基有顯著增加。抗壞血酸和 L-半胱氨酸鹽酸鹽處理則與控制組無顯著差異 (圖二)。Giustarini 等人 (2008) 的文獻指出，抗壞血酸對於雙硫鍵的還原具有選擇性，可還原部分物質之雙硫鍵例如 2-硝基苯甲酸 (DTNB)、半胱氨酸、穀胱甘肽等；但對於部分物質像肌動蛋白 (actin)、白蛋白 (albumin)，經抗壞血酸處理三個小時後，雙硫鍵並無減少的現象，因此抗壞血酸還原雙硫鍵之效果可能和雙硫鍵的種類 (分子間或分子內) 或是與物質分子量之大小有關；GSH 可於米麵包的製程中，抑制米穀粉中米蛋白間雙硫鍵的形成，使米麵包的體積不受到雙硫鍵的限制 (Yano, 2010)。

第二節 還原劑還原條件最佳化

此部分實驗是為了找出亞硫酸鈉及 GSH 兩種食品級還原劑在不同 pH 及溫度的最佳還原條件，其原理和第一部分相同，測量米蛋白於還原劑還原後的硫氫基




數量，作為還原效果好壞之依據。在亞硫酸鈉部分，實驗結果顯示，亞硫酸鈉對米蛋白中之雙硫鍵還原效果在 pH 8 最佳，但不同溫度處理之間卻無顯著差異。根據 Bailey 及 Cole(1959) 研究結果，亞硫酸鈉於 pH 7.4 及溫度 38°C 下對雙硫鍵有最佳還原效果，將研究結果對照此文獻發現與其相近，因此後續以 pH 8 及 25°C (室溫下)，作為亞硫酸鈉之還原條件 (圖五、圖六)；GSH 則是於 pH 10 對米蛋白之雙硫鍵有最佳還原效果 (圖三)。Hansen 及 Winther(2009) 指出，在 pH 較鹼的情況下，經還原劑還原後所形成的硫氫基不容易氧化形成雙硫鍵，因此可能為 GSH 及亞硫酸鈉兩者皆在鹼性 pH 條件下有較好還原效果之原因。而在 GSH 還原溫度最佳化的部分則顯示，四種不同溫度下的還原效果並無顯著差異 (圖四)，因此後續將以 pH 10 及溫度 25°C 下作為 GSH 還原米蛋白的條件。

在溫度條件最佳化部分，GSH 和亞硫酸鈉於四種溫度下還原米蛋白的還原效果均無顯著差異，推測可能是溫度會影響還原劑還原速率但不影響還原效果，所以在此時間內還原劑已反應完全，導致在四個溫度條件下並無顯著差異，因此後續實驗將以室溫 25°C 作為兩種還原劑還原時之溫度條件 (圖四和圖六)。

第三節 還原劑處理後米蛋白中游離硫氫基數量

米蛋白經 2-ME、GSH 及亞硫酸鈉處理，再經冷凍乾燥後的離硫氫基數量有所差異，由高至低分別為 2-ME 處理 (40.6 $\mu\text{mol/g}$)、GSH 處理 (25.8 $\mu\text{mol/g}$) 及亞硫酸鈉處理 (15.3 $\mu\text{mol/g}$)。若以米蛋白經處理後游離硫氫基數量為還原劑還原效果判斷依據的話，指標還原劑 2-ME 的還原效果最佳；亞硫酸鈉的還原效果最差 (圖七)。此部分結果和第一部分結果 (圖二) 呈相同趨勢，三種還原劑 2-ME、GSH 和亞硫酸鈉中，2-ME 的還原效果最佳，GSH 次之，亞硫酸鈉最差。文獻指



出，米蛋白中雙硫鍵大多富含於穀蛋白 (glutelin) 當中，大多數雙硫鍵可能被包覆於疏水性的蛋白內部結構之中，因此當蛋白質球狀結構無經過變性劑如尿素或是 SDS 處理而被解開之情況下，米蛋白內部之雙硫鍵難以被還原。Bailey 及 Cole (1959) 研究亦指出，亞硫酸鈉在含有尿素且濃度愈高的情況下，會有較佳之還原效果。

第四節 還原劑處理後米蛋白功能測定

4-1 溶解度

溶解度是影響蛋白質是否具其他良好功能之重要先決條件 (Nielsen, 1997)，因此由此實驗比較，經不同還原劑處理之米蛋白和未處理米蛋白之溶解度是否有差異。於圖八中可見，經還原劑處理或未處理米蛋白之溶解度均呈 U 型曲線，在靠近米蛋白等電點 pH 5 時溶解度最低，愈酸或愈鹼的條件下溶解度愈高，結果和 Mun 等人 (2016) 之研究相符。當 pH 值大於 7 以後，不同還原劑處理之米蛋白溶解度均有增加之趨勢，此現象應可歸因於米蛋白中含有 80% 以上穀蛋白，而穀蛋白屬於鹼溶性蛋白，故當米蛋白於鹼性環境下，穀蛋白易溶出而增加溶解度 (Agboola *et al.*, 2005)。而在酸性條件 pH 3 下，各處理之米蛋白溶解度亦有增加的現象，此部分亦符合前人研究結果，即穀蛋白可溶於 pH 3 以下之強酸溶液中 (鄭, 1987)。將此部分結果和圖七相比可發現，經還原劑處理後，2-ME 以及 GSH 游離硫氫基數量較高之組別有較佳的溶解度，和前人研究，雙硫鍵可能是造成米蛋白溶解度不佳的原因相符合 (Cagampang *et al.*, 1966; Tecson *et al.*, 1971)。



4-2 乳化性質

食品工業中作為乳化劑之蛋白多為乳蛋白，包括乳清蛋白 (whey protein) 和酪蛋白 (casein)，因此米蛋白的乳化性及乳化穩定性若可達到類似酪蛋白的性質，將能提高米蛋白之附加價值。本實驗將不同還原劑處理之米蛋白的乳化性及乳化穩定性和作為對照組的酪蛋白相比。於圖九和圖十中發現，不同還原劑處理組均和控制組之間無顯著差異。將這部分結果對照 Yatsumatsu 等人 (1972) 之研究結果 (即蛋白質的溶解度愈佳時通常會有較佳的乳化性及穩定性)，發現乳化性質並無顯提升，原因可能是因乳化性質之測試是於 pH 7 進行，而在 pH 4~7 之間，所有處理組別之溶解度並無明顯提升 (圖八)，因此乳化性質並未改善。前人研究指出蛋白之乳化性質不僅和水溶性相關但同時亦須考慮蛋白本身之表面疏水性 (Petruccelli & Anon, 1994)；此外，亦有文獻指出，水溶性不完全與乳化性質呈正相關 (Wang & Kinsella, 1976; McWatters & Cherry, 1977)。

4-3 發泡性質

泡沫的形成可分成三步驟，首先是可溶性蛋白擴散進入油相和水相之間降低表面張力，再來是蛋白質的折疊結構些微解開，親水端與疏水端分別嵌入水中與空氣中，最後蛋白質和蛋白質分子間因引力作用而形成連續性的膜，將空氣包覆於其中而形成泡沫 (Zayas, Joseph F., 1997)。因此良好之溶解度及較為鬆散之蛋白質結構是具有良好的發泡能力的條件。前人研究亦指出，大豆球蛋白中雙硫鍵經二硫蘇糖醇 (dithiothreitol, DTT) 還原後，在溶解度以及表面疏水性均上升後發泡性亦有上升的趨勢，證實蛋白質中雙硫鍵含量及結構會影響蛋白質溶解度及發泡性質 (Nakai *et al.*, 1986)。圖十一中可發現，所有處理米蛋白的發泡性均和控制組之間無



顯著差異，原因可能亦與乳化性質相同，發泡性是於 pH 7 測定，而不同還原劑處理米蛋白的溶解度於 pH 值下並無明顯差異，因此發泡性質亦無明顯改善。


第五節 界面活性劑對還原劑還原雙硫鍵能力之影響

在第一部分實驗中發現，米蛋白經還原劑單獨處理之後，溶解度於 pH 4~7 之間並無顯著提升 (圖八)，乳化及發泡性質也無獲得改善 (圖九至十一)，因此推測可能因為米蛋白本身的球狀結構導致還原劑還原效果不佳，使得蛋白質溶解度及其他功能性亦難以提升。前人研究指出在米蛋白四大類蛋白中，含有大量分子間及分子內雙硫鍵的穀蛋白，具有緊密的球狀結構 (Hamada, 1997; Sugimoto, *et al.*, 1986)，因此蛋白質結構若未經界面活性劑或變性劑解開，單獨以還原劑處理可能無法還原被包覆於內部結構之雙硫鍵。Bailey 及 Cole (1959) 的研究指出，在界面活性劑 SDS 或變性劑尿素存在的條件下，可提高還原劑還原雙硫鍵的效果。為了解界面活性劑能否使還原劑還原雙硫鍵效果提高，此部分實驗以 SDS 及 SSL 兩種界面活性劑，和 2-ME、GSH、亞硫酸鈉共同處理米蛋白。此部分結果亦顯示，在還原劑還原米蛋白中雙硫鍵時，還原劑和 SDS 或 SSL 共同處理組別之米蛋白的游離硫氫基數量，均比還原劑單獨處理組高，和前人研究結果相符。Gomez 等人 (2013) 亦指出，添加 1% SSL 於麩質蛋白 (gluten) 會造成蛋白結構展開 (unfolding)，減少折疊的結構，使其變為較鬆散的狀態。

第六節 界面活性劑對還原劑還原之米蛋功能性影響

6-1. 溶解度

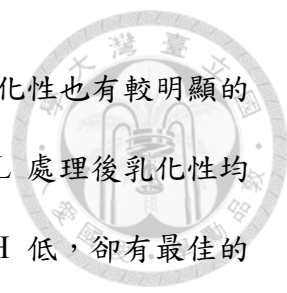
在此部分實驗中，米蛋白於含有 SDS 的情況下經不同還原劑還原後的溶解度，



均較原來只經還原劑單獨處理佳。若分別於圖十四至圖十六中，將還原劑單獨處理和還原劑加界面活性劑處理的溶解度曲線相比，提升程度最大的為亞硫酸鈉處理(30%)、2-ME 處理次之(21%)、GSH 處理最小(19%)。將此部分結果和圖十三對照後發現，加入界面活性劑後，游離硫氫基增加程度為 2-ME 最多(增加 43.4 $\mu\text{mol/g}$)、亞硫酸鈉 次之(增加 41.7 $\mu\text{mol/g}$)、GSH 最少(增加 27.3 $\mu\text{mol/g}$)。溶解度提升的程度與游離硫氫基增加的程度呈正相關；在 SSL 的部分中發現(圖二十二至二十四)，還原劑與 SSL 共同處理相較於還原劑單獨處理，在 pH 值大於 6 以後均有較高的溶解度，顯示 SSL 對還原劑處理米蛋白有正面效果。但在這部分中亦發現，米蛋白經 SSL 或 SDS 單獨處理之後，溶解度即有明顯提升，甚至高於經還原劑單獨處理之溶解度，顯示可能米蛋白和 SSL 產生了複合作用。若從分子結構式來判斷米蛋白和 SSL 的結合作用，可能主要和米蛋白上帶有正電之鹼性胺基酸如離胺酸(Lysine)、精胺酸(Arginine)和組胺酸產生結合作用。前人研究指出，於萃取米蛋白時添加 SSL，可提高米蛋白之萃取率；Gomez 等人(2013)亦指出，於麩質蛋白(gluten)中添加 SSL 會改變其結構，同時也會使麩質(gluten)之溶解度上升。

6-2 乳化性質

接下來欲討論界面活性劑 SDS 及 SSL 對還原劑還原米蛋白中雙硫鍵後米蛋白乳化性質的影響。首先是 SDS 的部分，於圖十七中發現，亞硫酸鈉處理組及未處理組經 SDS 處理後乳化性之提升程度較 GSH 處理組還要多。將此結果對照圖十五至十六發現，水溶性在 pH 7 的部分，亞硫酸鈉及未處理組經 SDS 處理後溶解度的提升程度亦較 GSH 處理組高(GSH 處理組於 pH 7 時的水溶性並無提



升)。而 2-ME 處理的水溶性於 pH7 時提升最多 (圖十四)，乳化性也有較明顯的提升。在 SSL 部分，不同還原劑處理或未處理米蛋白經過 SSL 處理後乳化性均有明顯的上升。而亞硫酸鈉處理組的溶解度雖較 2-ME 及 GSH 低，卻有最佳的乳化性，推測可能與 SSL 及亞硫酸鈉之結構有關。SSL 為陰離子型界面活性劑，可能與經過亞硫酸鈉處理後米蛋白上殘留的鈉離子有較佳的結合，因此結構展開較完全而擁有較佳的乳化性。

6-3 發泡性質

在 SDS 部分 (圖十九) 發現，2-ME 處理組的發泡性最佳，亞硫酸鈉及 GSH 處理組次之，而未處理組最低。將此部分結果對照圖十四至十六發現，在 pH7 之情況下，不同還原劑加 SDS 處理後的溶解度亦為 2-ME 最高，未處理組最低，和發泡能力呈現相同趨勢；另外，在 SSL 部分 (圖二十七)，雖然三種不同還原劑經 SSL 處理後並無顯著差異，但 2-ME 處理的發泡性最高、GSH 處理次之而亞硫酸鈉最低。將此結果對照不同還原劑處理水溶性 (圖二十二至二十四) 發現，和發泡性亦呈現相同趨勢，即 2-ME 最佳、GSH 次之而亞硫酸鈉最低。

6-4 保水力

表一中可發現於 1% SDS 溶液中以 2-ME 還原之米蛋白有最高的水分吸收率，而 GSH 處理加入 1% SSL 的組別則有最低的水分吸收率。同時可發現，還原劑加入 1% SDS 的組別普遍較還原劑加入 1% SSL 有較好的水分吸收率。前人研究指出，當溶解度愈高的情況下水分吸收率會下降，但亦有文獻指出兩者之間並無關連 (Bowker & Zhuang, 2015)，而從數值來看其之間並無差異太大，因此可能為實



驗誤差所造成。

6-5 油脂吸收率

蛋白質之油脂吸收率是影響產品特定風味與口感的因素，因此為蛋白質功能性測定的重點。由文獻指出，在粉末狀蛋白質食品中，油脂吸收率會受到粉末粒徑大小及密度的影響，在粒徑較小且密度較低的條件下會有較高的油脂吸收率 (Kinsella & Melachouris, 1976)。研究結果發現 (表二)，於 1% SSL 條件下處理之米蛋白，經還原劑處理或未經還原劑處理之米蛋白均有較高的油脂吸收率，原因可能和 SSL 本身結構以及和蛋白質產生結合有關。SSL 因具有長鏈碳氫結構，在極性較低之情況下與油脂之親和性較高，因此在不同處理中，經 SSL 處理後之米蛋白均有較高之油脂吸收率。

第七節 酵素水解米蛋白和還原劑與界面活性劑共同處理米蛋白之功能性比較

在前述實驗中發現，在含有界面活性劑之條件下進行還原之米蛋白有較好的功能性，所以此部分實驗欲了解，利用還原劑與界面活性劑共同處理後之米蛋白，與目前實際具商業應用之酵素水解米蛋白之間的功能性差異。圖二十九中發現，經酵素水解後之米蛋白 RP70 的溶解度，於不同 pH 均高於 30%。經還原劑與界面活性劑共同處理之米蛋白的溶解度在 pH 小於 7 以前有較明顯的差異，但 pH 大於 7 後溶解度與 RP70 相近。

乳化性質部分 (圖三十) 可發現，雖然亞硫酸鈉與 SSL 共同處理之米蛋白的乳化性高於酵素水解米蛋白 RP70，但在乳化穩定性方面，經水解後之米蛋白 RP70 仍明顯高於還原劑與界面活性劑共同處理之米蛋白。

最後於發泡性質部分，同樣也是經酵素水解之米蛋白 RP70 的發泡性優於還原劑與界面活性劑共同處理之米蛋白。發泡穩定性則是三者之間並無顯著差異 (圖三十一)。



第六章 結語



本研究發現在所測試的食品級還原劑當中，GSH 及亞硫酸鈉對米蛋白中雙硫鍵有較佳還原效果，因此後續實驗以此兩種食品級還原劑進行。結果發現，單獨以還原劑處理米蛋白雖然能增加米蛋白中游離硫氫基數量 17~20% 但在功能性方面並無顯著提升。

實驗第二部分以 GSH 及亞硫酸鈉和 SSL 共同處理米蛋白。結果發現於 1% (w/v) SSL 存在之條件下，經 GSH 及亞硫酸鈉處理後，米蛋白中可測得之游離硫氫基數量可提升至 38-41%，在水溶性、發泡及乳化性等功能性方面亦有所提升，表示以還原劑及界面活性劑共同處理米蛋白，能進一步減少米蛋白中雙硫鍵含量及提升其功能性。

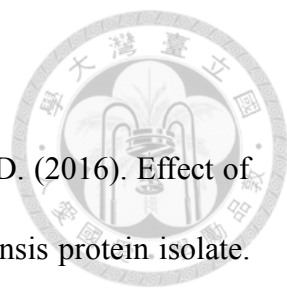
最後將市售酵素水解米蛋白 RP70，和於 1% SSL 分別與 GSH 或亞硫酸鈉共同處理之米蛋白進行功能性比較發現，在 pH 7 以上之溶解度，及亞硫酸鈉與 SSL 共同處理之米蛋白的乳化性，已和酵素水解之米蛋白相近，因此界面活性劑與還原劑的應用，亦為改善米蛋白功能性不佳的方向之一。

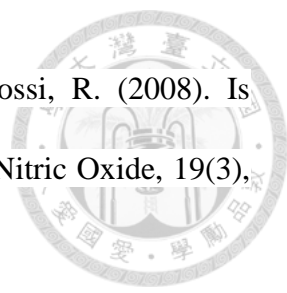
參考文獻

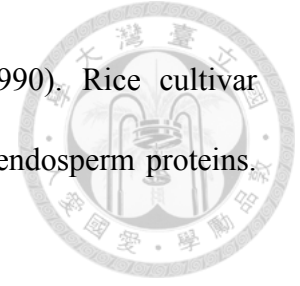


- 龔玲玲 (1985)。稻米中蛋白質與澱粉成分之新分離方法。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北。
- 鄭心嫻 (1987)。白米各類蛋白質之理化性質及其對米粉末糊化之影響。國立台灣大學食品科技研究所博士論文。台北。
- Adebiyi, A. P., Adebiyi, A. O., Ogawa, T., & Muramoto, K. (2007). Preparation and characterization of high-quality rice bran proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1219-1227.
- Agboola, S., Ng, D., & Mills, D. (2005). Characterisation and functional properties of Australian rice protein isolates. *Journal of cereal science*, 41(3), 283-290.
- Aletor, O., Oshodi, A. A., & Ipinmoroti, K. (2002). Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. *Food Chemistry*, 78, 63-68.
- Amagliani, L., O`Regan, J., Kelly, A.L., & O`Mahony, J.A. (2017). The composition, extraction, functionality and applications of rice protein: A review. *Journal of Trends in Food Science and Technology*, 64, 1-12
- Bechtel, D. B., & Juliano, B. O. (1980). formation of protein bodies in the starchy endosperm of rice (*Oryza sativa* L.): A re-investigation. *Annals of Botany*, 45, 503-509.
- Bechtel, D. B., & Pomeranz, Y. (1978). Ultrastructure of the mature ungerminated rice (*Oryza sativa*) caryopsis. The starchy endosperm. *American Journal of Botany*, 65,

684-691.

- 
- Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., & Ghorbel, D. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* protein isolate. *Food chemistry*, 194, 1056-1063.
- Biselli, C., Cavalluzzo, D., Perrini, R., Gianinetti, A., Bagnaresi, P., Urso, S., Vale, G. (2014). Improvement of marker-based predictability of Apparent Amylose Content in japonica rice through GBSSI allele mining. *Rice*, 7(1), 1-18.
- Bowker, B., & Zhuang, H. (2015). Relationship between water-holding capacity and protein denaturation in broiler breast meat. *Poultry science*, 94(7), 1657-1664.
- Cagampang, G. B., Cruz, L. J., Espiritu, S. G., Santiago, R. G., & Juliano, B. O. (1966). Studies on the extraction and composition of rice proteins. *Cereal Chemistry*, 43, 145-155.
- Cao, X., Wen, H., Li, C., & Gu, Z. (2009). Differences in functional properties and biochemical characteristics of congenetic rice proteins. *Journal of Cereal Science*, 50, 184-189.
- Chandi, G. K., & Sogi, D. S. (2007). Functional properties of rice bran protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 79, 592-597.
- Damodaran, S. (1994). Structure-function relationship of food proteins. *Protein functionality in food systems*, 1-37.
- Fiocchi, A., Travaini, M., D'Auria, E., Banderali, G., Bernardo, L., & Riva, E., (2003) Tolerance to a rice hydrolysate formula in children allergic to cow's milk and soy, *Clin. Exp. Allergy* 33(11), 1576-1580.

- 
- Giustarini, D., Dalle-Donne, I., Colombo, R., Milzani, A., & Rossi, R. (2008). Is ascorbate able to reduce disulfide bridges: A cautionary note. *Nitric Oxide*, 19(3), 252-258.
- Hamada, J. S. (1997). Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization. *Cereal Chemistry*, 74, 662-668.
- Hamada, J. S. (2000). Characterization and functional properties of rice bran proteins modified by commercial exoproteases and endoproteases. *Journal of Food Science*, 65(2), 305-310.
- Han, S. W., Chee, K. M., & Cho, S. J. (2015). Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein. *Food chemistry*, 172, 766-769.
- Hansen, R. E., & Winther, J. R. (2009). An introduction to methods for analyzing thiols and disulfides: Reactions, reagents, and practical considerations. *Analytical biochemistry*, 394(2), 147-158.
- Helm, R. M., & Burks, A. W. (1996). Hypoallergenicity of rice protein. *Cereal Food World*, 41, 836-842.
- Hoogenkamp, H. (2015). Plant protein vision. Chapter 6. Rice bran: The complete super food p. 91-130
- Hou, H., Li, B., & Zhao, X. (2011). Enzymatic hydrolysis of defatted mackerel protein with low bitter taste. *Journal of Ocean University of China (English Edition)*, 10(1), 85-92.



Huebner, F.R., Bietz, J.A., Webb, B.D., & Juliano, B. O., (1990). Rice cultivar identification by high-performance liquid chromatography of endosperm proteins.

Cereal Chemistry 67(2), 129-135

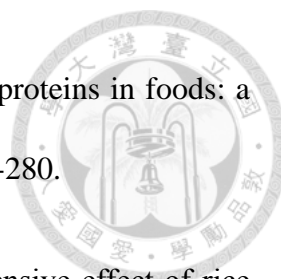
Jakobsson, I., & Lindberg, T. (1979). A prospective study of cow's milk protein intolerance in Swedish infants. *Acta Paediatrica*, 68(6), 853-859.

Jansens, A., van Duijn, E., & Braakman, I. (2002). Coordinated nonvectorial folding in a newly synthesized multidomain protein. *Science*, 298(5602), 2401-2403.

Kawamura, Y. and Muramoto, M. (1993). Anti-tumorigenic and immunoactive protein and peptide factors in foodstuffs. 2. Anti-tumorigenic factors in rice bran. In: *Food and Cancer Prevention Chemical and Biological Aspects*, pp. 331-401. Waldron K.W., Johnson I.T., and Fenwick L.R., Eds., The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Kella, N. K. D., & Kinsella, J. E. (1985). A method for the controlled cleavage of disulfide bonds in proteins in the absence of denaturants. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 11(4-5), 251-263.

Khan, S. H., Butt, M. S., Sharif, M. K., Sameen, A., Mumtaz, S., & Sultan, M. T. (2011). Functional properties of protein isolates extracted from stabilized rice bran by microwave, dry heat and parboiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 2416-2420.



Kinsella, J. E., & Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 7(3), 219-280.

Li, G. H., Qu, M. R., Wan, J. Z., & You, J. M. (2007). Antihypertensive effect of rice protein hydrolysate with in vitro angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in spontaneously hypertensive rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16, 275-280.

Lin, C. S., & Zayas, J. (1987). Protein solubility, emulsifying stability and capacity of two defatted corn germ proteins. *Journal of Food Science*, 52(6), 1615-1619.

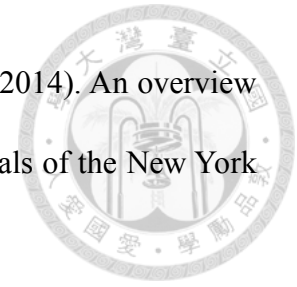
Luh, B.S. (1991). *Rice Production*. Van Nostrand Reinhold, New York.

McConnell, A. A., Eastwood, M. A., & Mitchell, W. D. (1974). Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25(12), 1457-1464.

Monks, J.F., Vainer, N.L., Casari, J., Berto, R.M., Oliveira, M., de Gomes, C.B., Carvalho, M.P., de Dias, A.R.G., & Elias, M.C. (2013). Effects of milling on proximate composition, folic acid, fatty acids and technological properties of rice. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30, 73-79

Mun, S., Shin, M., & Kim, Y. R. (2016). Emulsifying Properties of Proteins Isolated from Various Rice Cultivars. *Food and Bioprocess Technology*, 9(5), 813-821.

Muthayya, S., Sugimoto, J. D., Montgomery, S., & Maberly, G. F. (2014). An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1324, 7-14.



Nakai, S., Li-Chan, E., & Hayakawa, S. (1986). Contribution of protein hydrophobicity to its functionality. *Molecular Nutrition & Food Research*, 30(3-4), 327-336.

Nielsen, P. M. (1997). Functionality of protein hydrolysates. In S. Damodaran, & A. Paraf (Eds.), *Food proteins and their applications* (pp. 443-472). New York, NY: Marcel Dekker, Inc.


Ogawa, M., Kumamaru, T., Satoh, H., Iwata, N., Omura, T., Kasai, Z., et al. (1987). Purification of protein body-I of rice seed and its polypeptide composition. *Plant and Cell Physiology*, 28, 1517-1527.

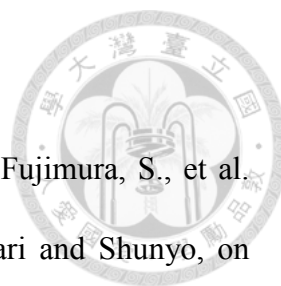
Panyam, D., & Kilara, A. (1996). Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends in Food Science & Technology*, 7, 120-125.

Saunders, R.M. (1990). The properties of rice bran as a food stuff. *Cereal Food World*, 35, 632-662.

Sereewatthanawut, I., Prapintip, S., Watchiraruji, K., Goto, M., Sasaki, M., & Shotipruk, A. (2008). Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. *Bioresource Technology*, 99, 555-561.

Souza, D.d., Sbardelotto, A.F., Ziegler, D.D.R., Pinto, L.M.N., Ramos, R.C.d.S., M, L.D.F., T, I.C. (2017). Obtaining and purification of a highly soluble hydrolyzed rice

- 
- endosperm protein *Journal of separation and purification Technology*, 183, 279-292
- Tang, S., Hettiarachchy, N. S., & Shellhammer, T. H. (2002). Protein extraction from heat-stabilized defatted rice bran. 1. Physical processing and enzyme treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7444-7448.
- Tecson, E. M. S., Esmama, B. V., Lontok, L. P., & Juliano, B. O. (1971). Studies on the extraction and composition of rice endosperm glutelin and prolamin. *Cereal chemistry*, 48, 168-181.
- Wang, M., Hettiarachchy, N. S., Qi, M., Burks, W., & Siebenmorgen, T. (1999). Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 411-416.
- Watchararужи, K., Goto, M., Sasaki, M., & Shotipruk, A. (2008). Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresource Technology*, 99, 6207-6213.
- Winther, J. R., & Thorpe, C. (2014). Quantification of thiols and disulfides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(2), 838-846.
- Xia, N., Wang, J. M., Gong, Q., Yang, X. Q., Yin, S. W., & Qi, J. R. (2012a). Characterization and in vitro digestibility of rice protein prepared by enzyme-assisted microfluidization: Comparison to alkaline extraction. *Journal of Cereal Science*, 56, 482-489.
- Xia, N., Wang, J., Yang, X., Yin, S., Qi, J., Hu, L., et al. (2012b). Preparation and characterization of protein from heat-stabilized rice bran using hydrothermal cooking combined with amylase pretreatment. *Journal of Food Engineering*, 110,



95-101.

Yang, L., Kumagai, T., Kawamura, H., Watanabe, T., Kubota, M., Fujimura, S., et al. (2007). Effects of rice proteins from two cultivars, Koshihikari and Shunyo, on cholesterol and triglyceride metabolism in growing and adult rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71, 694-703.

Yang, L., Chen, J. H., Xu, T., Qiu, W., Zhang, Y., Zhang, L. W., et al. (2011). Rice protein extracted by different methods affects cholesterol metabolism in rats due to its lower digestibility. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 7594-7608.

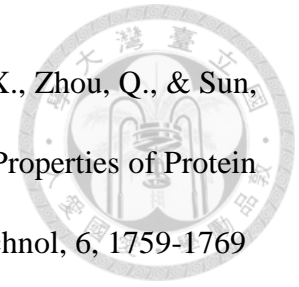
Yang, L., Chen, J. H., Lv, J., Wu, Q., Xu, T., Zhang, H., et al. (2012a). Rice protein improves adiposity, body weight and reduces lipids level in rats through modification of triglyceride metabolism. *Lipids in Health and Disease*, 11, 24-33.

Yang, T., Zhu, H., Zhou, H., Lin, Q., Li, W., & Liu, J. (2012b). Rice protein hydrolysate attenuates hydrogen peroxide induced apoptosis of cardiocytes H9c2 through the Bcl-2/Bax pathway. *Food Research International*, 48, 736-741.

Yano, H. (2010). Improvements in the Bread-Making Quality of Gluten-Free Rice Batter by Glutathione. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7949-7945.

Zhao, Q., Selomulya, C., Xiong, H., Chen, X. D., Ruan, X., Wang, S., et al. (2012a). Comparison of functional and structural properties of native and industrial process-modified proteins from long-grain indica rice. *Journal of Cereal Science*, 56, 568-575.

Zhao, Q., Xiong, H., Selomulya, C., Chen, X.D., Huang, S., Ruan, X., Zhou, Q., & Sun, W. (2013). Effects of Spray Drying and Freeze Drying on the Properties of Protein Isolate from Rice Dreg Protein. *Jornnal of Food Bioprocess Technol*, 6, 1759-1769





TABLES

表一、米蛋白經不同處理之保水力

Table 1. Water holding capacity of different treated rice protein

Reductant	water (g/g rice protein)		
	Without surfactant	Reductant + 1% SDS	Reductant + 1% SSL
untreated (control)	3.60 ± 0.07 ^{abc}	3.75 ± 0.13 ^{ab}	3.48 ± 0.21 ^{bc}
2-ME	3.59 ± 0.19 ^{abc}	3.81 ± 0.09 ^a	3.60 ± 0.07 ^{abc}
GSH	3.52 ± 0.18 ^{bc}	3.66 ± 0.16 ^{abc}	3.41 ± 0.07 ^c
sodium sulfite	3.64 ± 0.06 ^{abc}	3.57 ± 0.12 ^{abc}	3.62 ± 0.05 ^{abc}

Values are the means of duplicate analyses and values followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$)



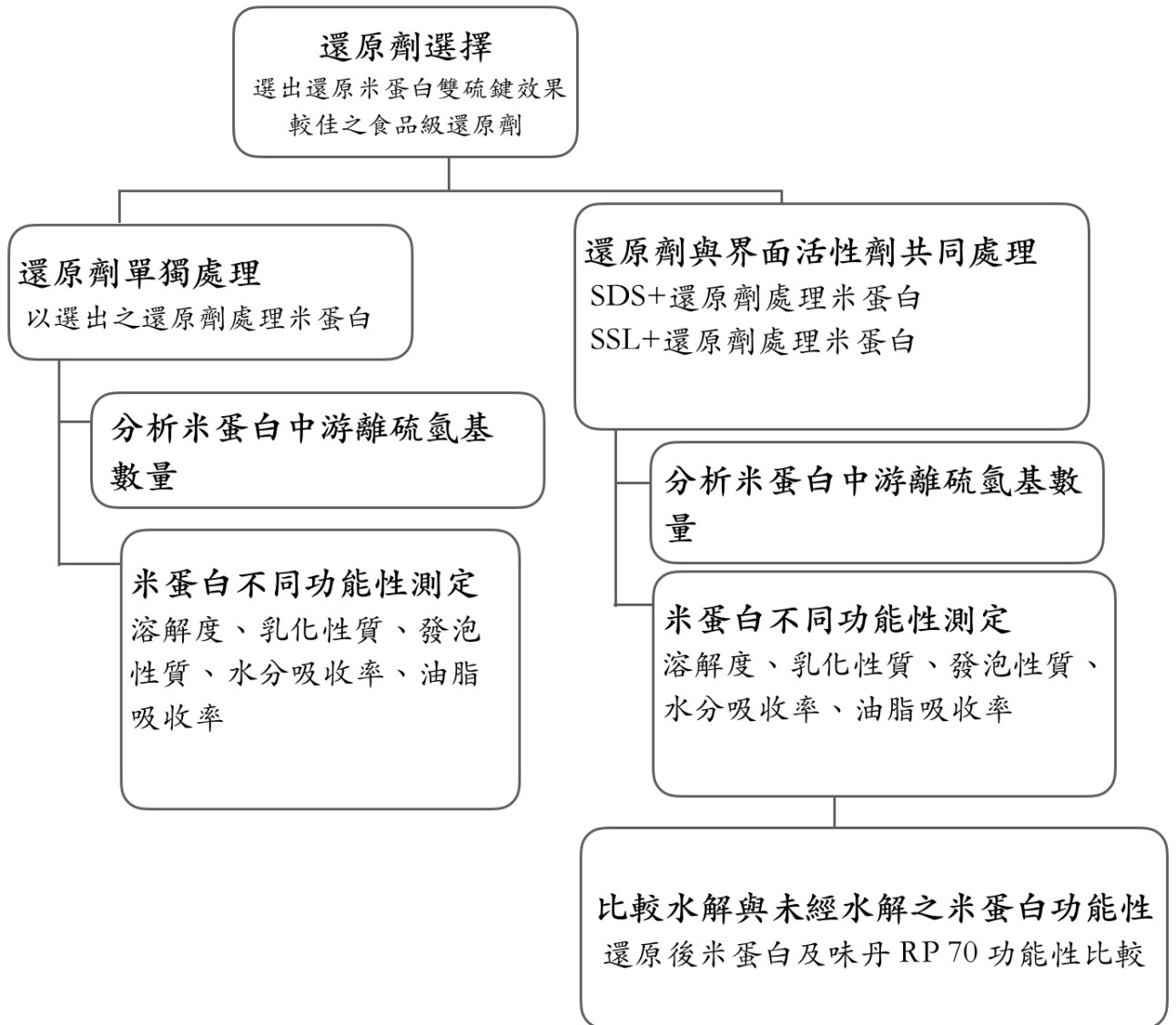
表二、米蛋白經不同處理之油脂吸收率

Table 2. Oil absorption capacity

Reductant	oil (g/g rice protein)		
	Without surfactant	Reductant + 1% SDS	Reductant + 1% SSL
untreated (control)	3.24 ± 0.07 ^{abc}	2.98 ± 0.17 ^c	3.65 ± 0.16 ^{ab}
2-ME	3.51 ± 0.07 ^{ab}	3.44 ± 0.17 ^{ab}	3.70 ± 0.09 ^a
GSH	3.32 ± 0.04 ^{abc}	3.21 ± 0.19 ^{bc}	3.65 ± 0.17 ^{ab}
sodium sulfite	3.38 ± 0.06 ^{abc}	3.52 ± 0.05 ^{ab}	3.65 ± 0.10 ^{ab}

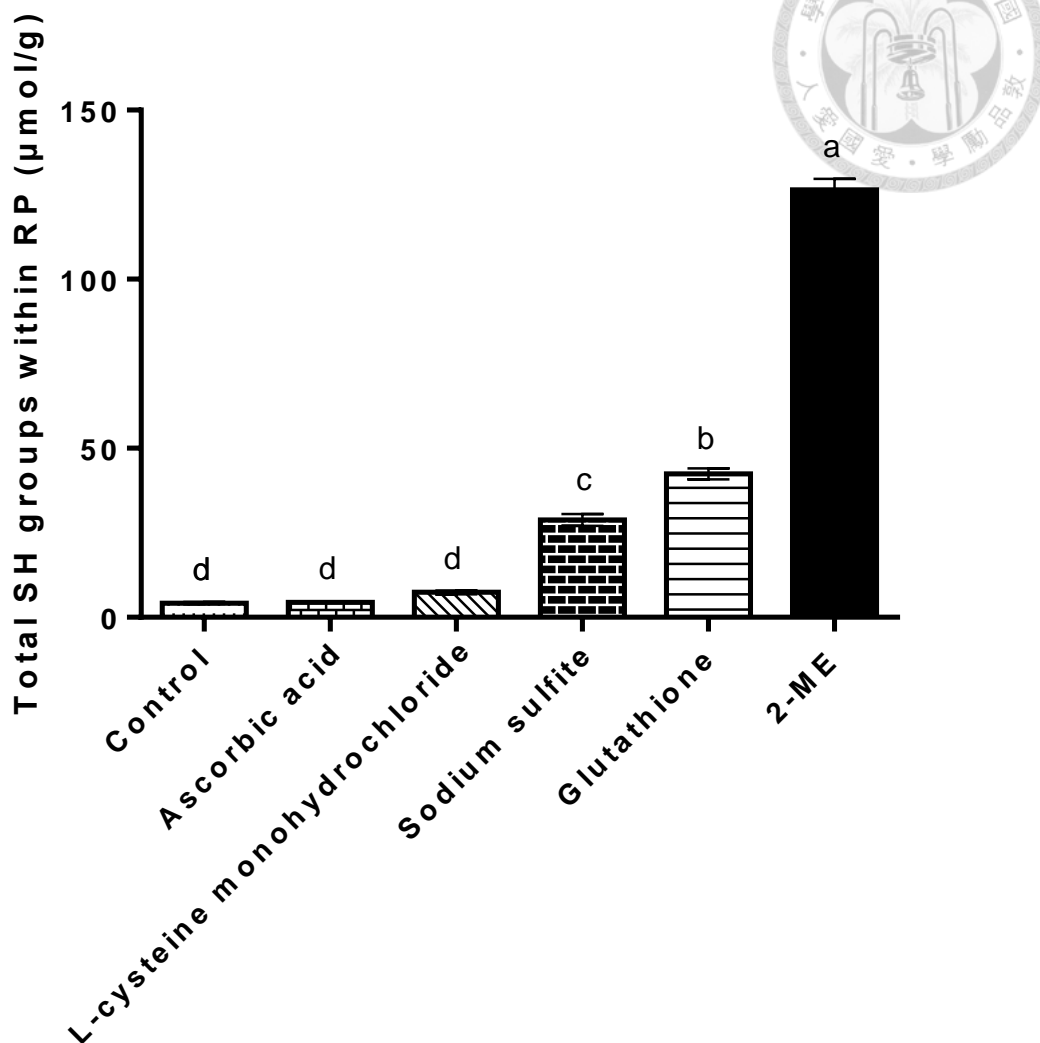
Values are the means of duplicate analyses and values followed by different letters are significantly different (p<0.05)

FIGURES



圖一、實驗架構

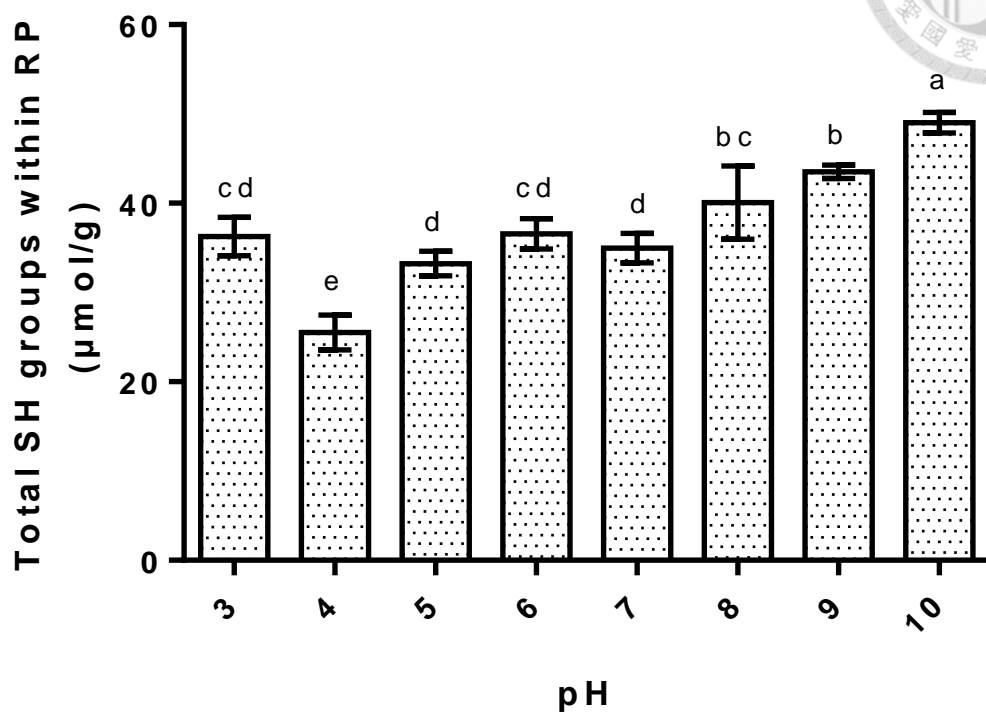
Figure 1. Experimental framework.



圖二、米蛋白經不同還原劑處理後之硫氫基數量

Figure 2. Total sulfhydryl groups within rice protein after treated with different reductants.

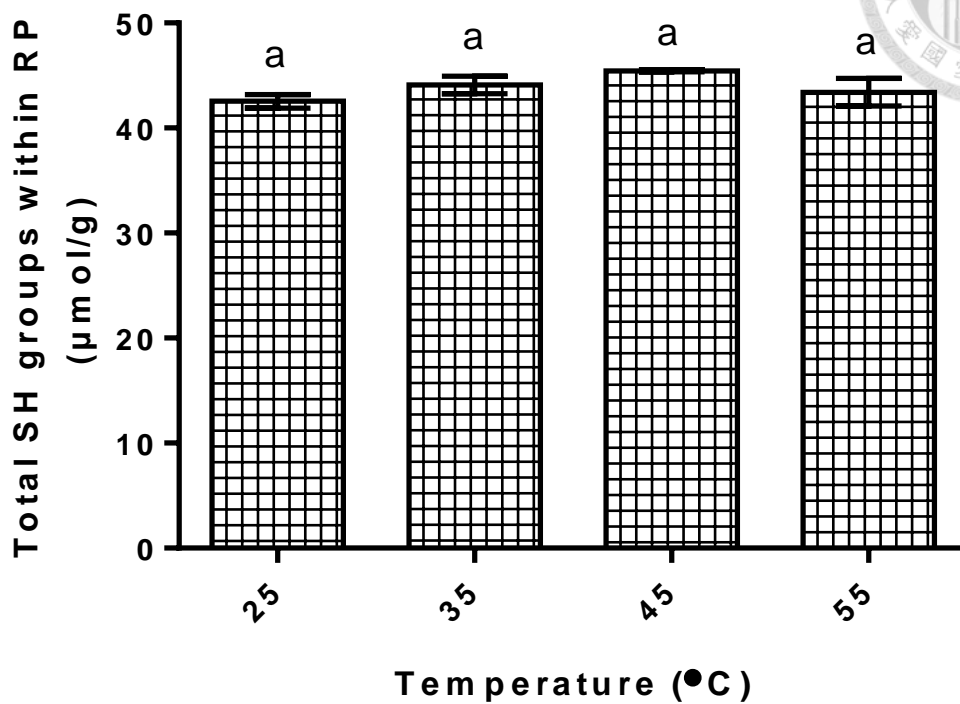
Total sulfhydryl groups were measured to determine the reduction ability of different reductant.



圖三、米蛋白於不同 pH 值下經穀胱甘肽處理後之硫氫基數量

Figure 3. Total sulfhydryl groups within rice protein after treated with glutathione at pH 3-10.

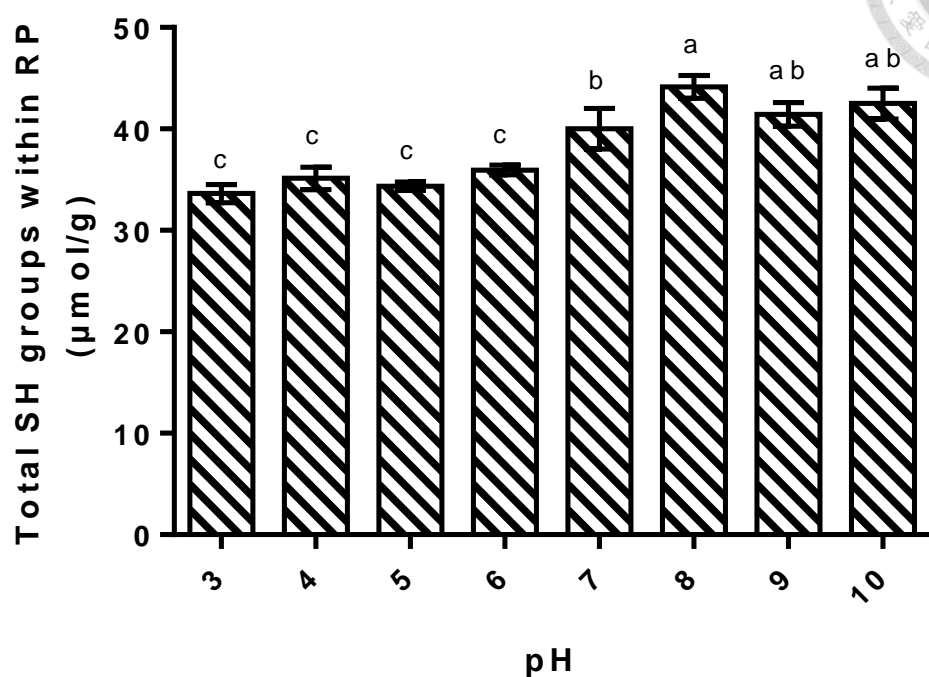
Total sulfhydryl groups were measured to determine the reduction ability of glutathione at pH 3-10.



圖四、米蛋白於不同溫度下經穀胱甘肽處理後之硫氫基數量

Figure 4. Total sulfhydryl groups within rice protein after treated with glutathione at 25, 35, 45 and 55°C.

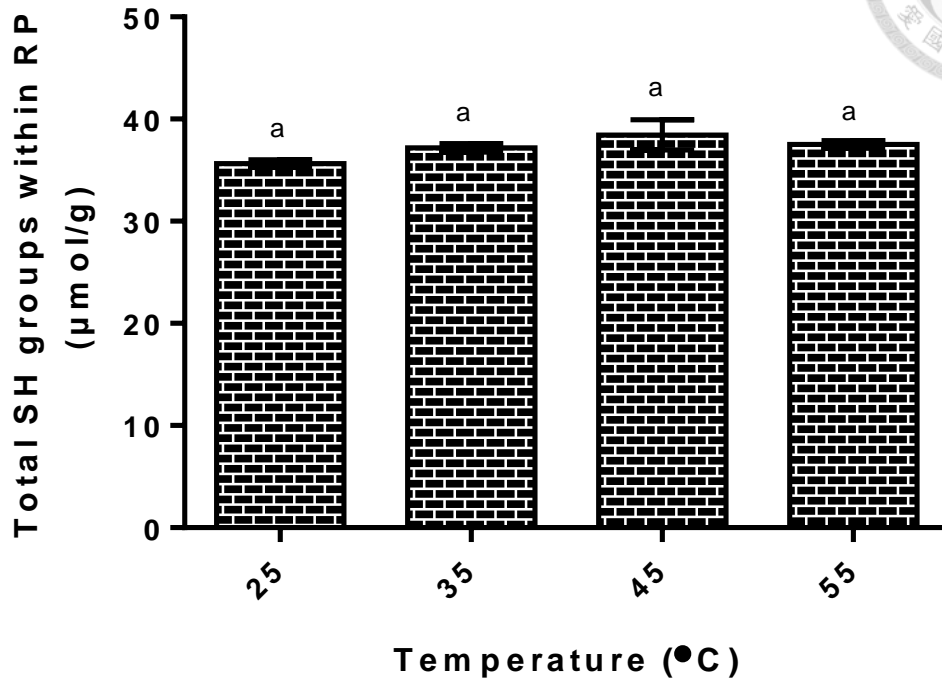
Total sulfhydryl groups were measured to determine the reduction ability of glutathione at 25, 35, 45 and 55°C.



圖五、米蛋白於不同 pH 值下經亞硫酸鈉處理後之硫氫基數量

Figure 5. Total sulfhydryl groups within rice protein after treated with sodium sulfite at pH 3-10.

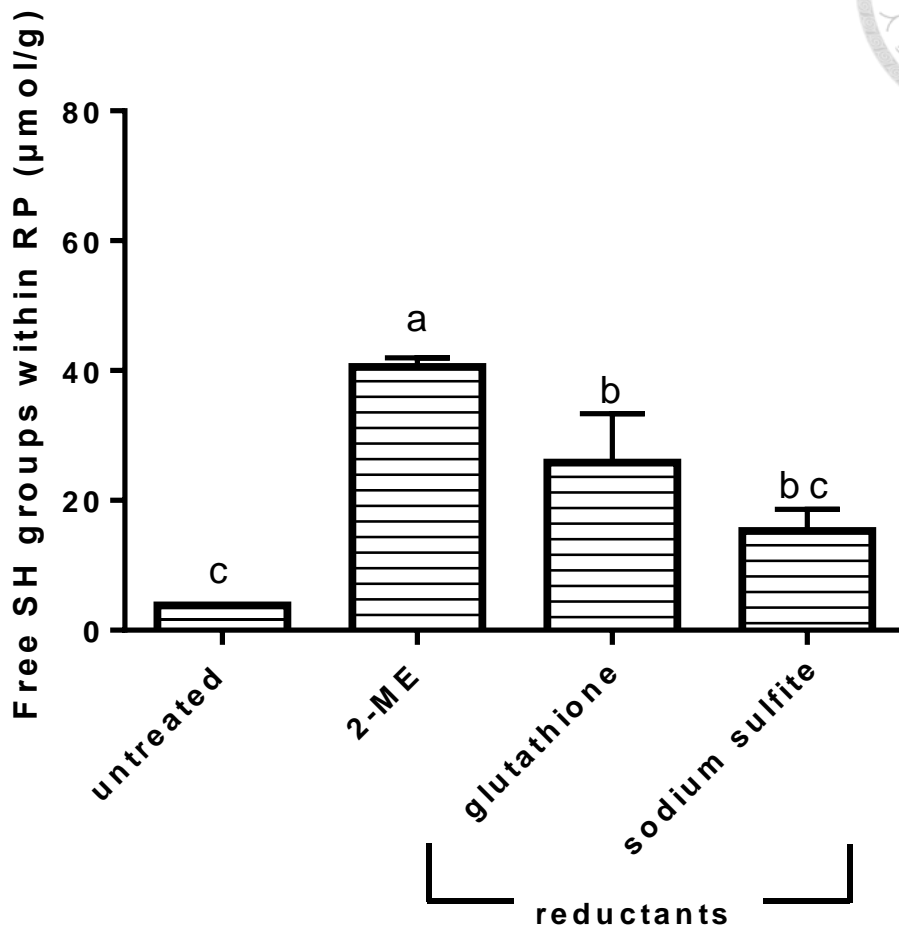
Total sulfhydryl groups were measured to determine the reduction ability of sodium sulfite at pH 3-10.



圖六、米蛋白於不同溫度下經亞硫酸鈉處理後之硫氫基數量

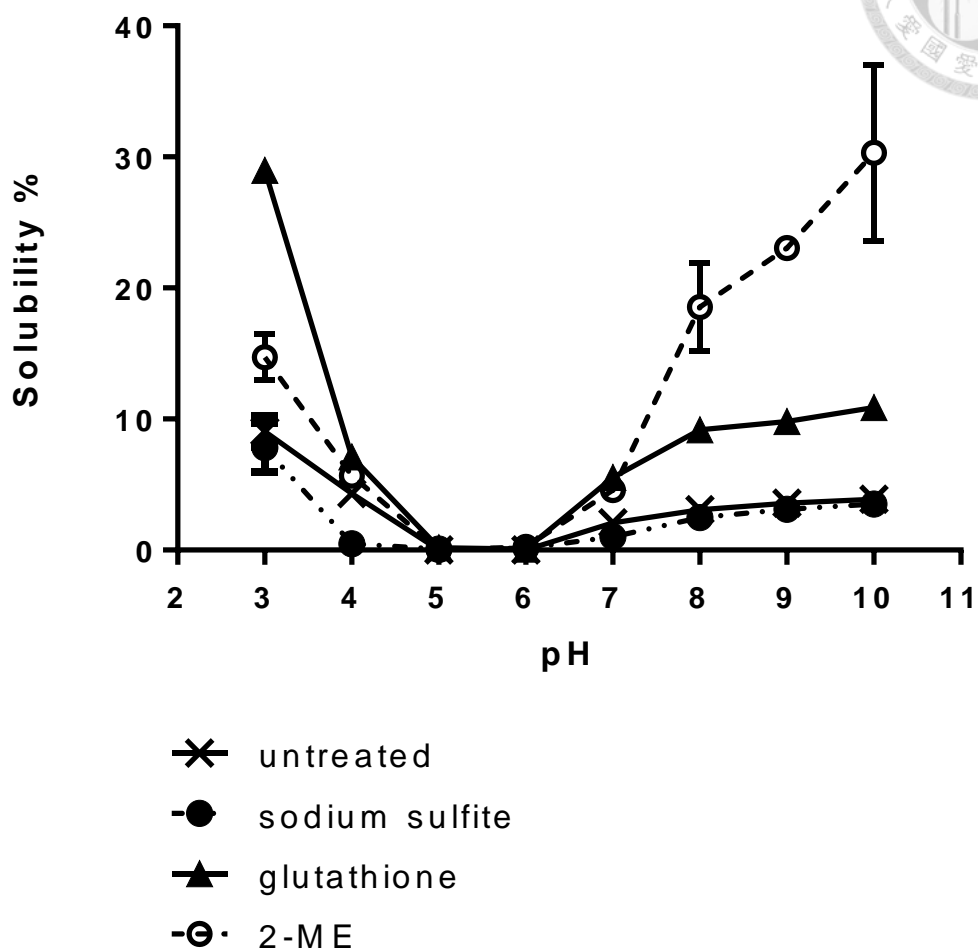
Figure 6. Total sulfhydryl groups within rice protein after treated with sodium sulfite at 25, 35, 45 and 55°C.

Total sulfhydryl groups were measured to determine the reduction ability of sodium sulfite at 25, 35, 45 and 55°C.



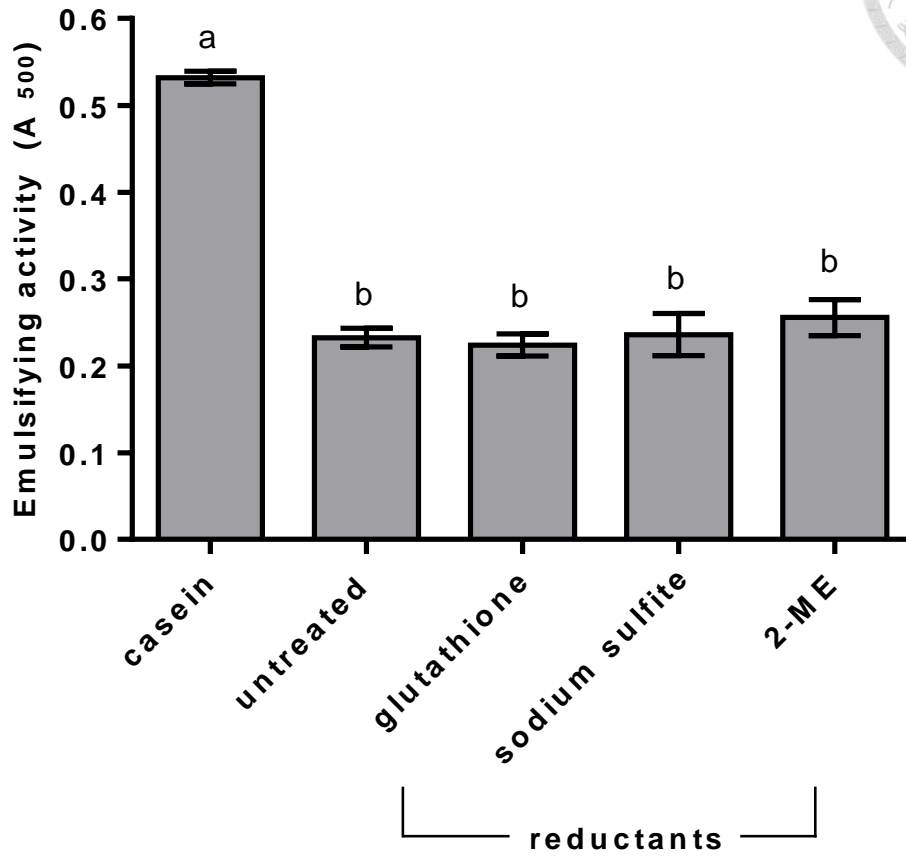
圖七、米蛋白經 2-ME、穀胱甘肽、亞硫酸鈉處理後之游離硫氫基數量

Figure 7. Free sulfhydryl groups within rice protein after treated with 2-ME, glutathione and sodium sulfite.



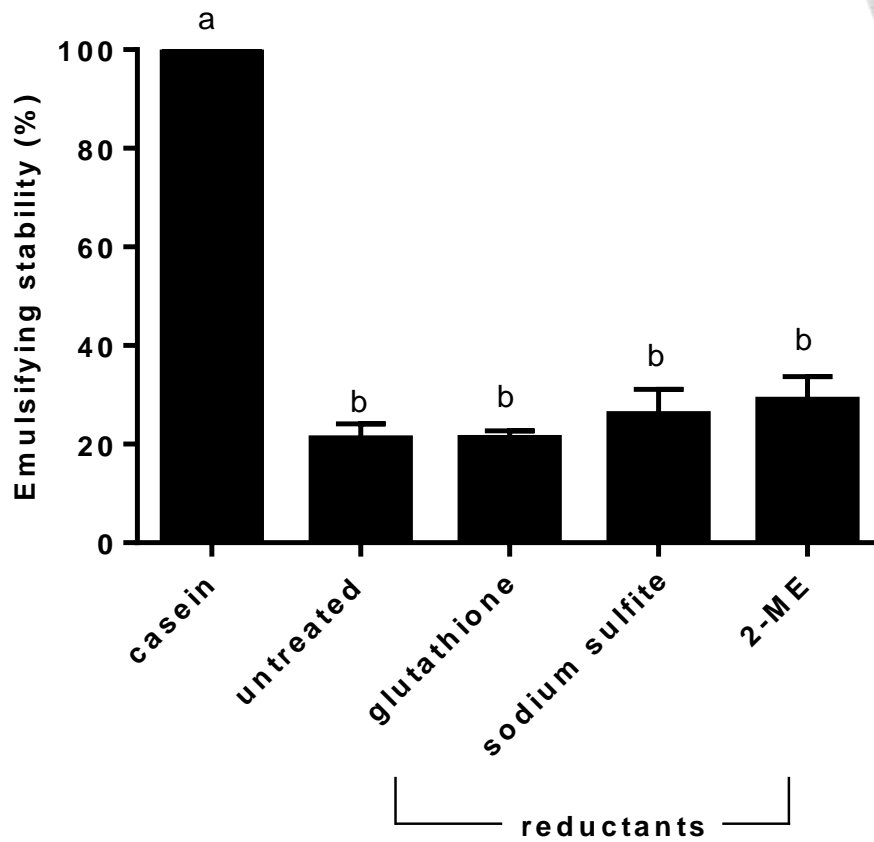
圖八、米蛋白經 2-ME、穀胱甘肽、亞硫酸鈉處理後之溶解度

Figure 8. Solubility of rice protein after treated with 2-ME, glutathione and sodium sulfite.



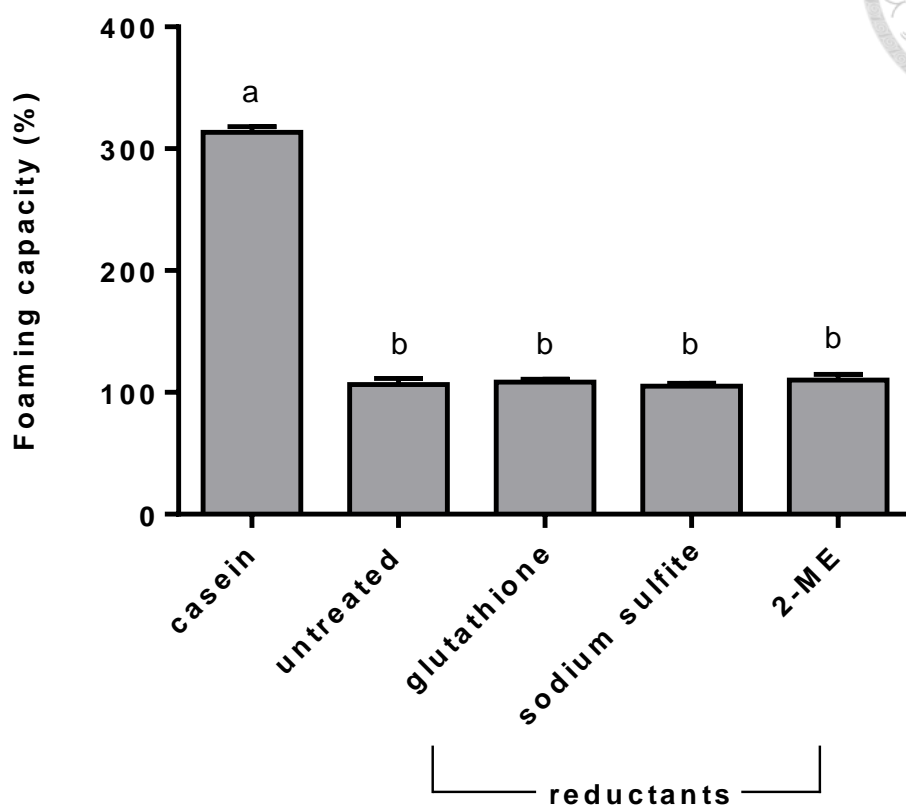
圖九、米蛋白經 2-ME、穀胱甘肽、亞硫酸鈉處理後之乳化性

Figure 9. Emulsifying activity of rice protein after treated with 2-ME, glutathione and sodium sulfite.



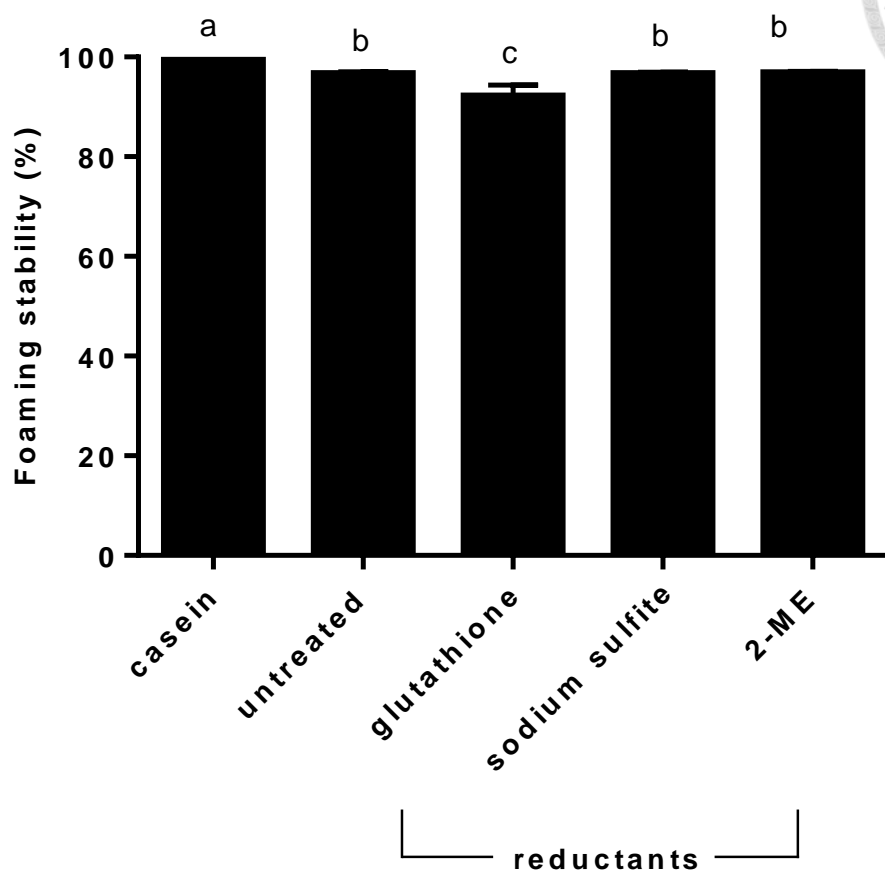
圖十、米蛋白經 2-ME、穀胱甘肽、亞硫酸鈉處理後之乳化穩定性

Figure 10. Emulsifying stability of rice protein after treated with 2-ME, glutathione and sodium sulfite.



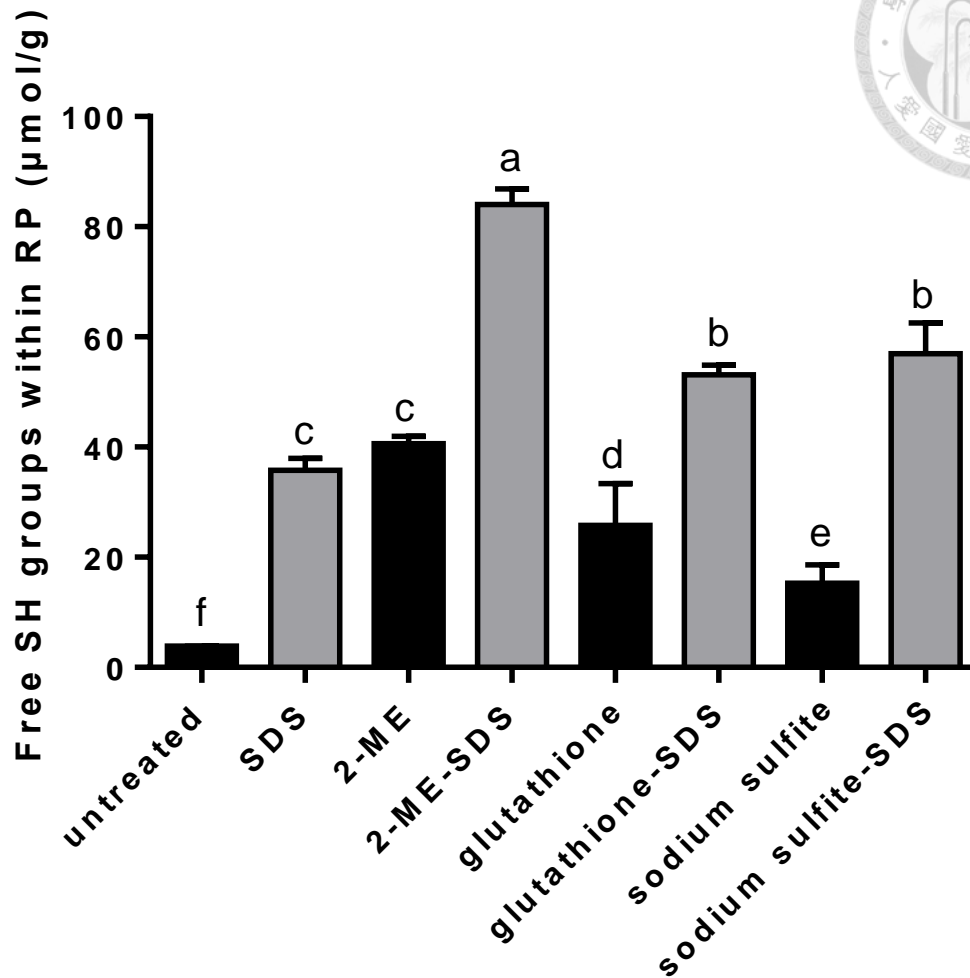
圖十一、米蛋白經 2-ME、穀胱甘肽、亞硫酸鈉處理後之發泡性

Figure 11. Foaming capacity of rice protein after treated with 2-ME, glutathione and sodium sulfite.



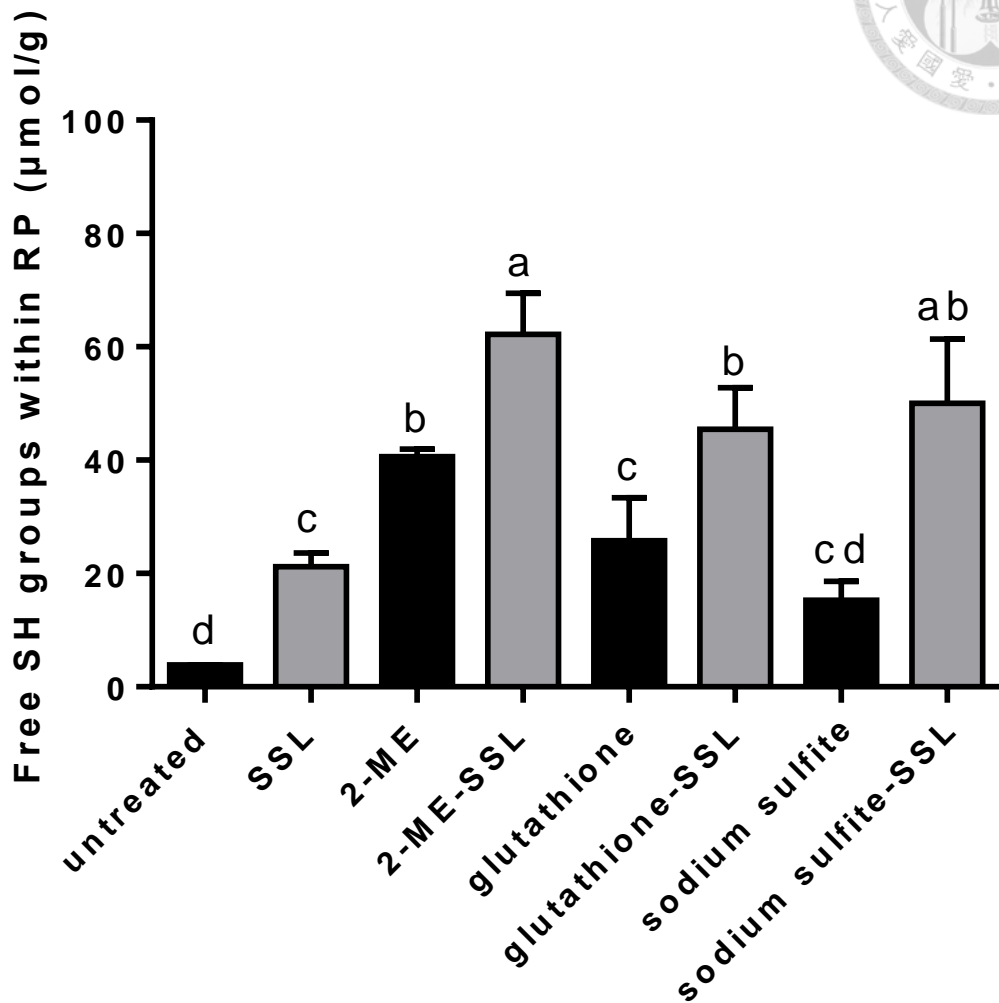
圖十二、米蛋白經 2-ME、穀胱甘肽、亞硫酸鈉處理後之發泡穩定性

Figure 12. Foaming stability of rice protein after treated with 2-ME, glutathione and sodium sulfite.



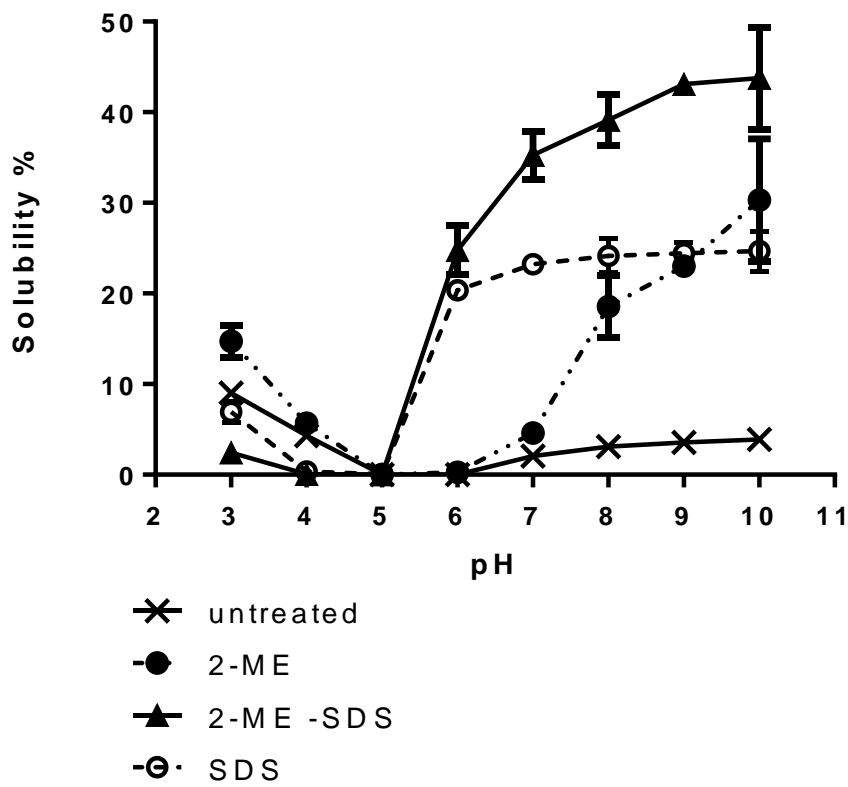
圖十三、米蛋白經還原劑與界面活性劑 (SDS) 共同處理後之游離硫氫基數量

Figure 13. Free sulfhydryl groups within rice protein after cotreatment with SDS and reductants.



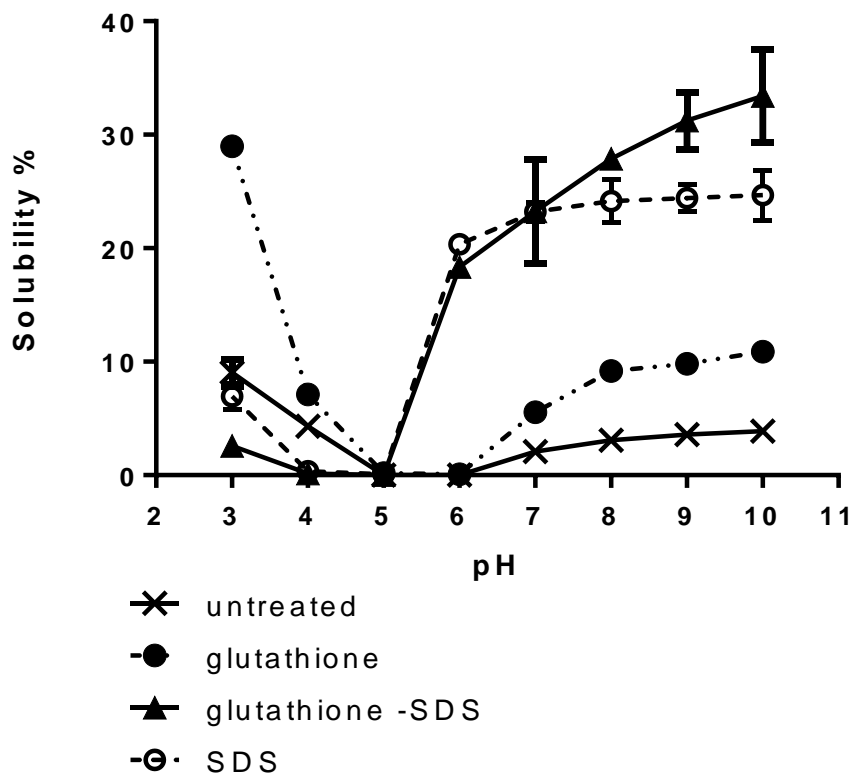
圖十四、米蛋白經還原劑與界面活性劑 (SSL) 共同處理後之游離硫氫基數量

Figure 14. Free sulfhydryl groups within rice protein after cotreatment with SSL and reductants.



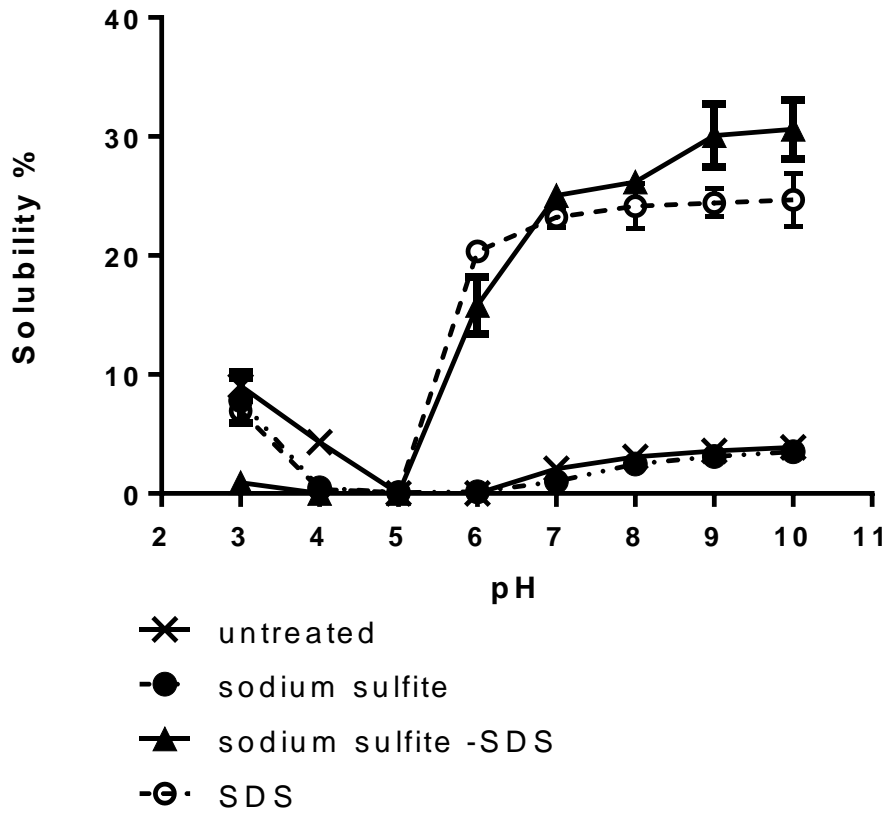
圖十五、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑 (2-ME) 共同處理後之溶解度

Figure 15. Solubility of rice protein after treated with SDS and 2-ME.



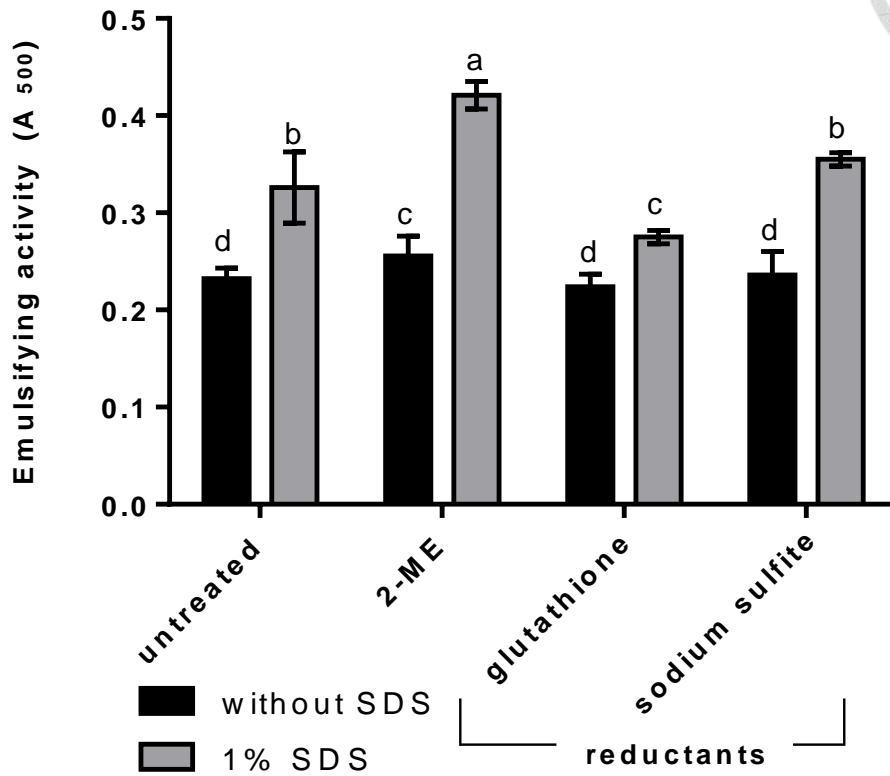
圖十六、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與食品級還原劑 (glutathione) 共同處理後之溶解度

Figure 16. Solubility of rice protein after treated with SDS and glutathione.



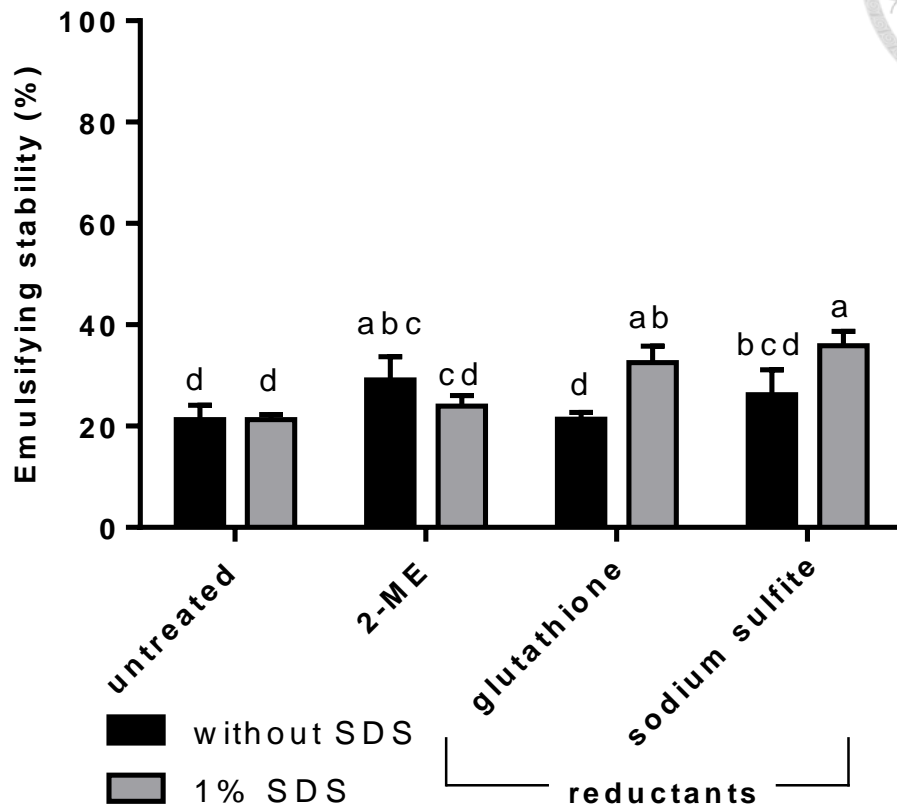
圖十七、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與食品級還原劑 (亞硫酸鈉) 共同處理後之溶解度

Figure 17. Solubility of rice protein after treated with SDS and sodium sulfite.



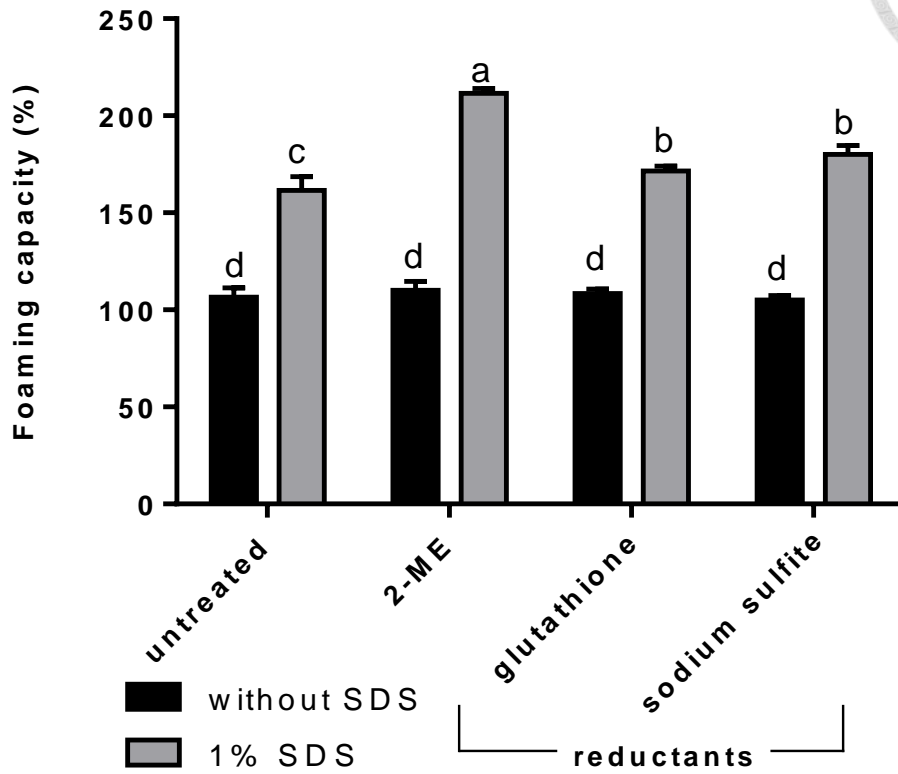
圖十八、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑共同處理後之乳化性

Figure 18. Emulsifying activity of rice protein after treated with SDS and reductants.



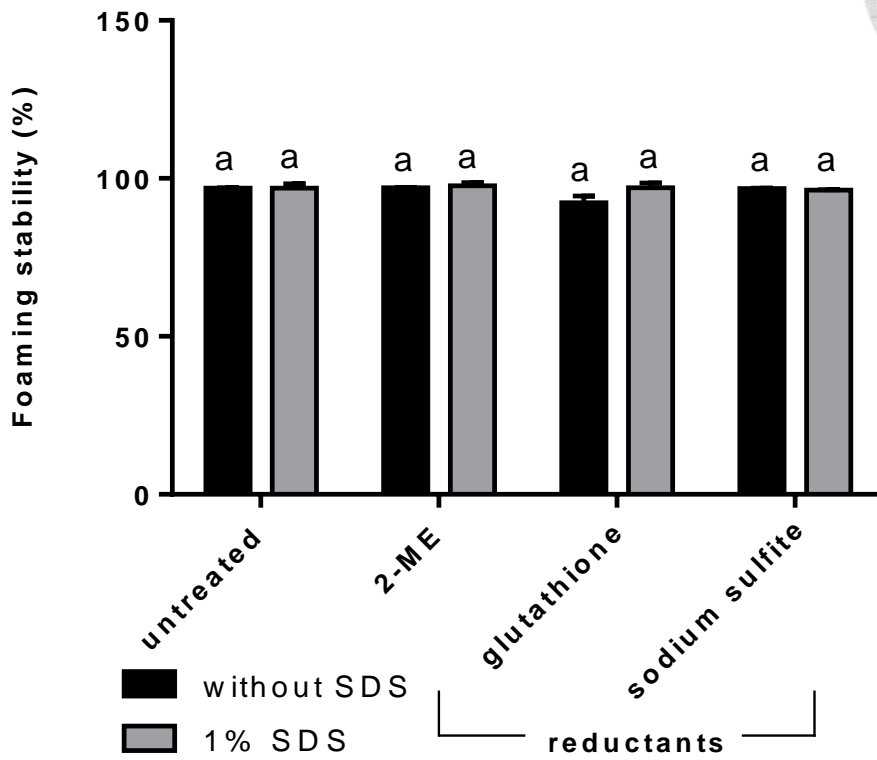
圖十九、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑共同處理後之乳化性

Figure 19. Emulsifying stability of rice protein after treated with SDS and reductants.



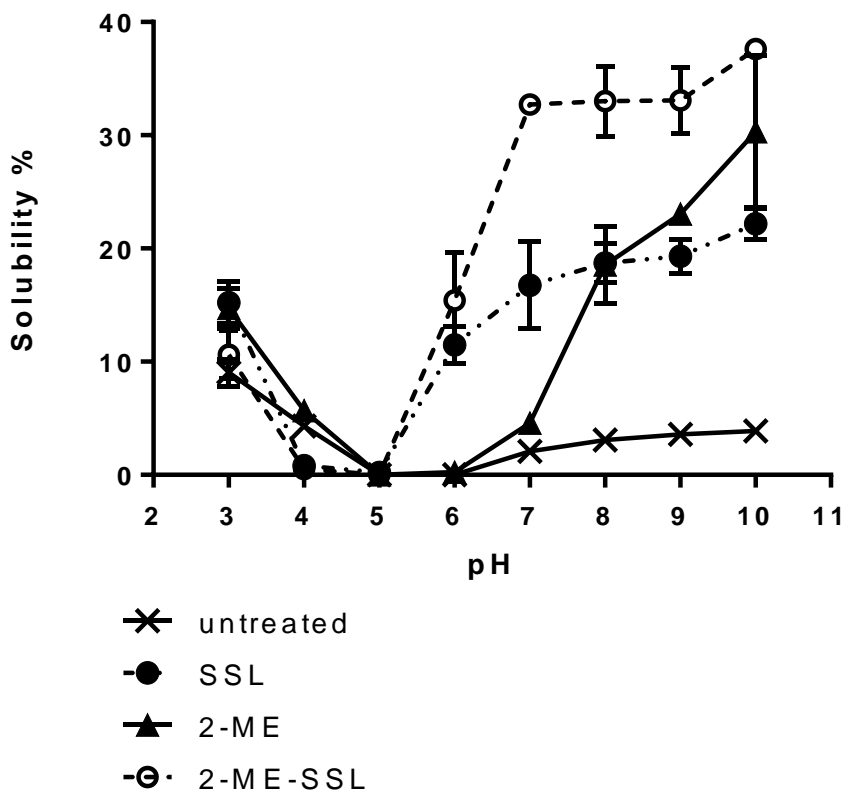
圖二十、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑共同處理後之發泡性

Figure 20. Foming capacity of rice protein after treated with SDS and reductants.



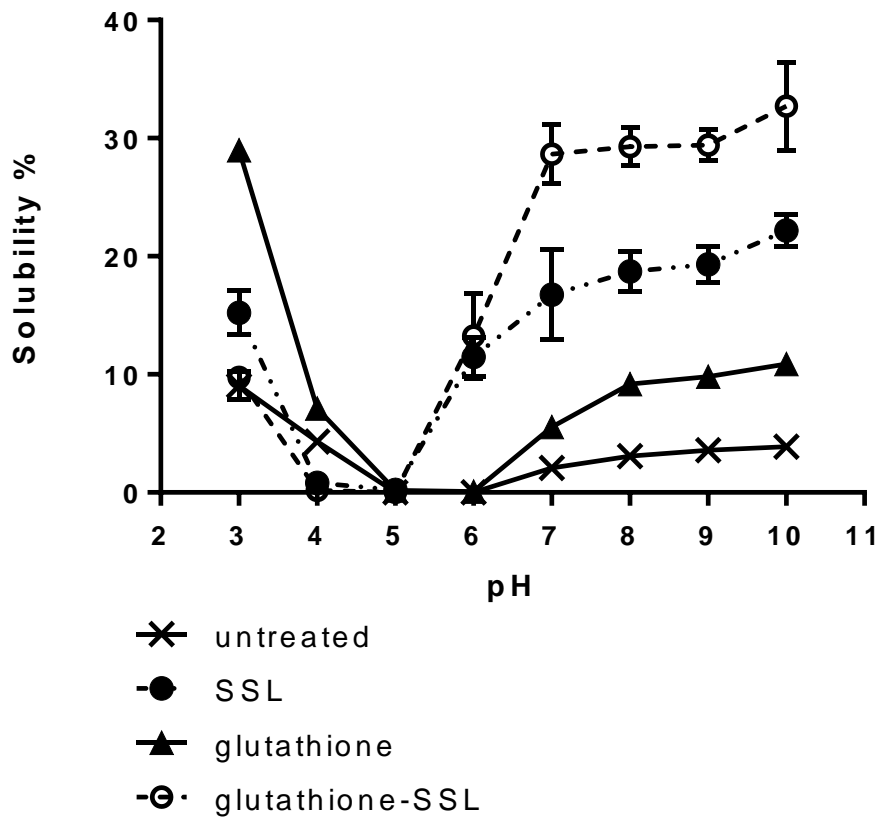
圖二十一、米蛋白經界面活性劑 (SDS) 與還原劑共同處理後發泡穩定性

Figure 21. Foming stability after treated SDS and reductants.



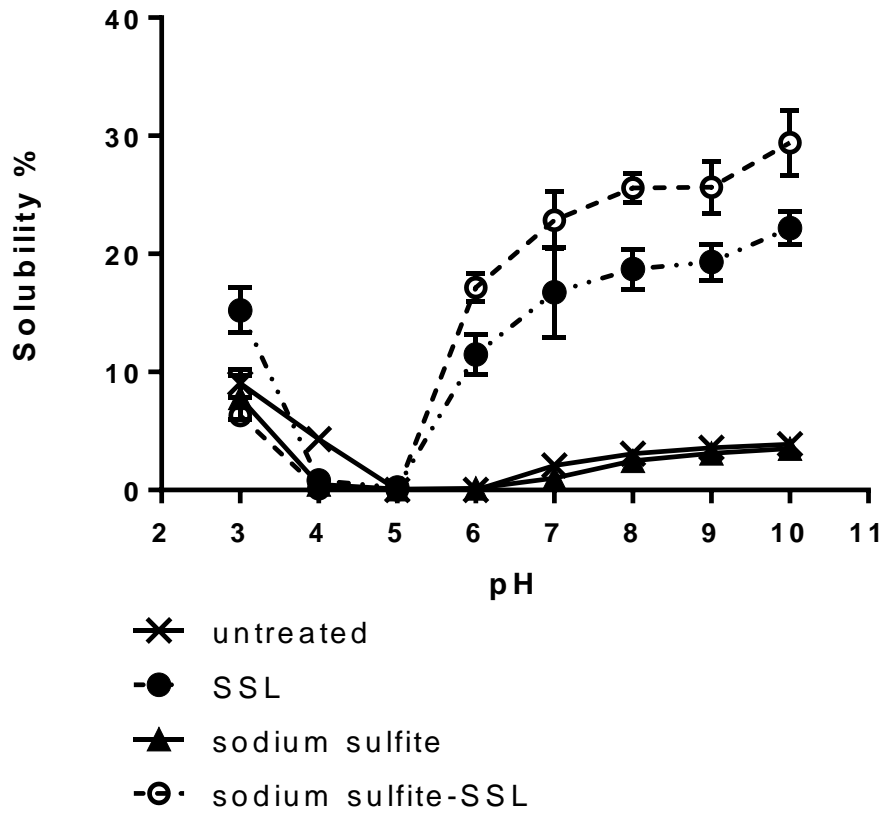
圖二十二、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與 2-ME 共同處理後之溶解度

Figure 22. Solubility of rice protein after treated with SSL and 2-ME.



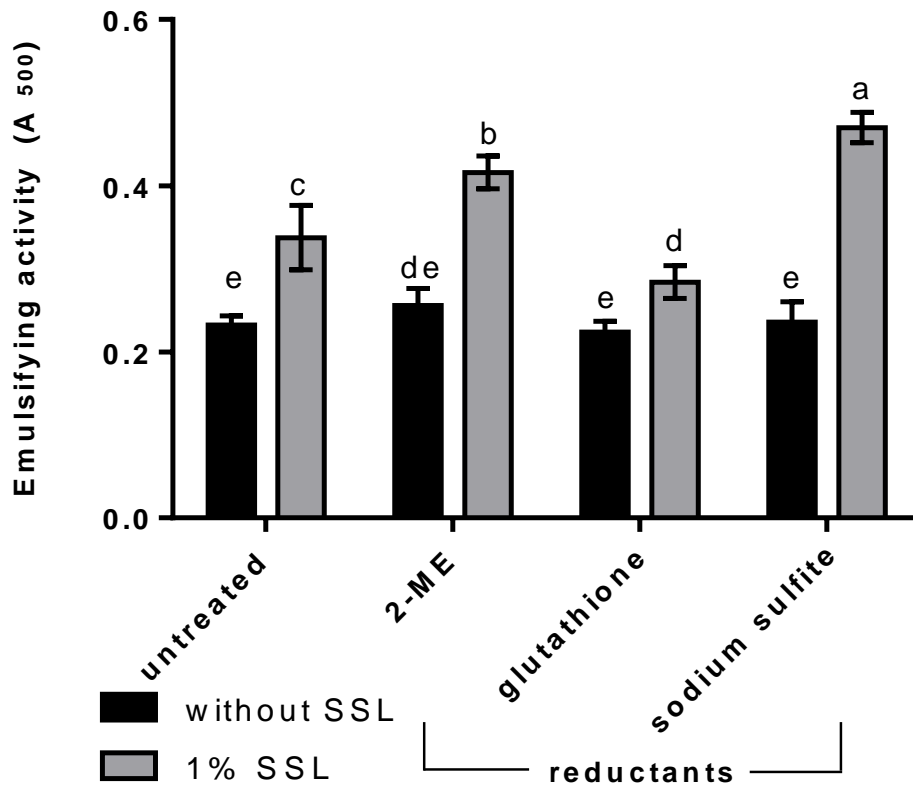
圖二十三、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與食品級還原劑 (glutathione) 共同處理後之溶解度

Figure 23. Solubility of rice protein after treated with SSL and glutathione.



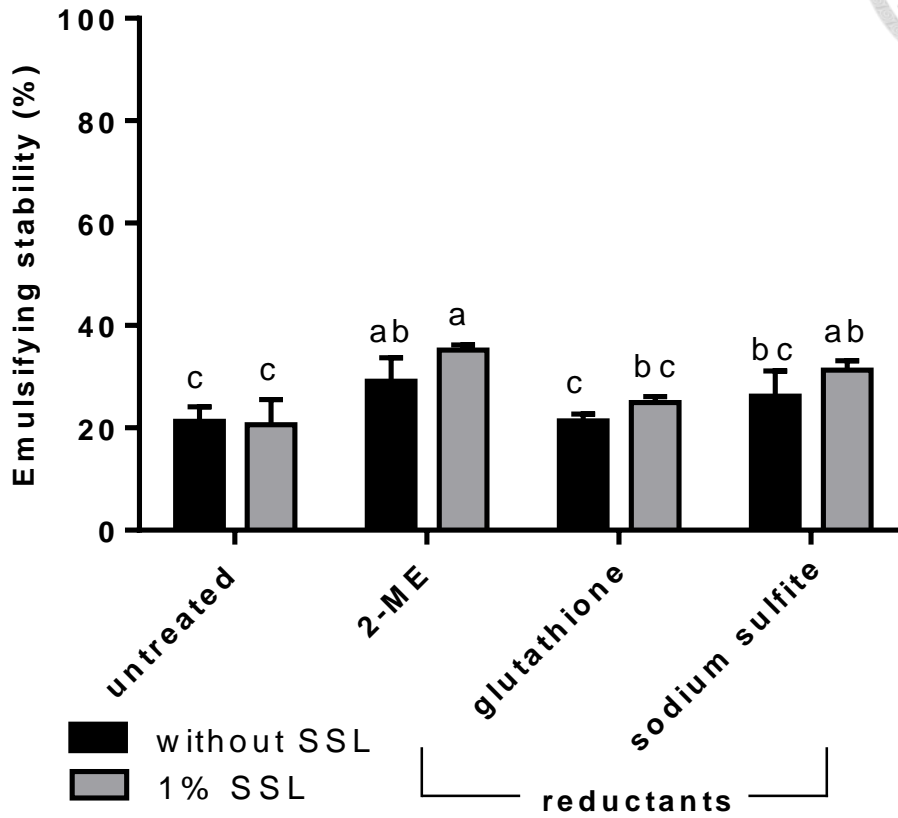
圖二十四、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與食品級還原劑亞硫酸鈉共同處理後之溶
解度

Figure 24. Solubility of rice protein after treated with SSL and sodium sulfite.



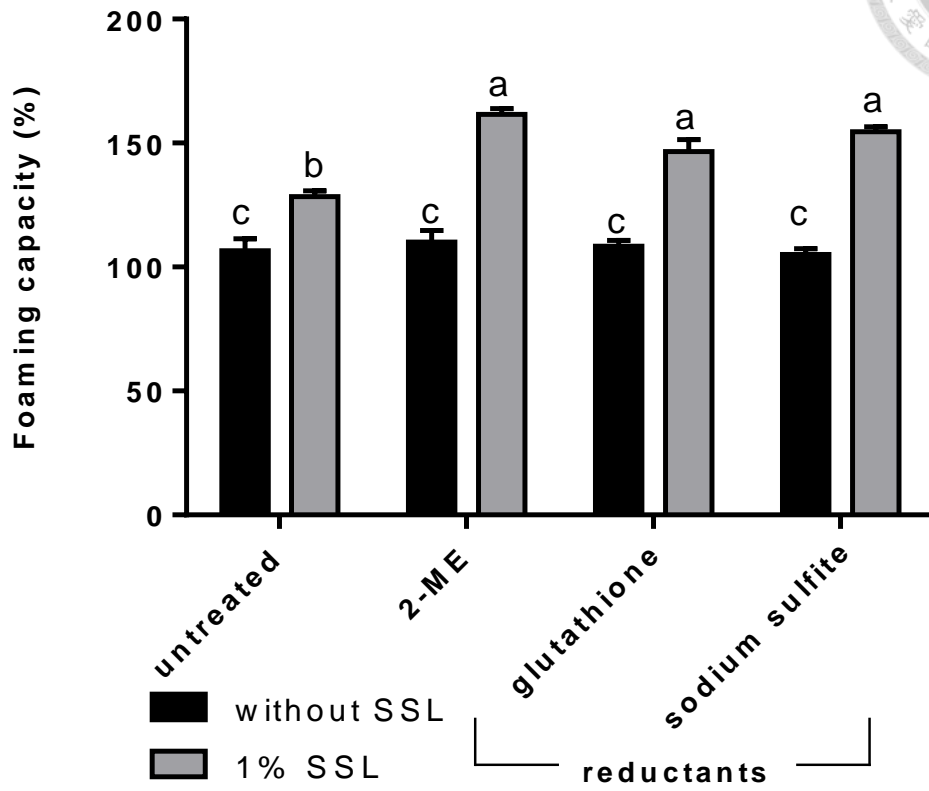
圖二十五、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與還原劑共同處理後之乳化性

Figure 25. Emulsifying activity of rice protein after treated with SSL and reductants.



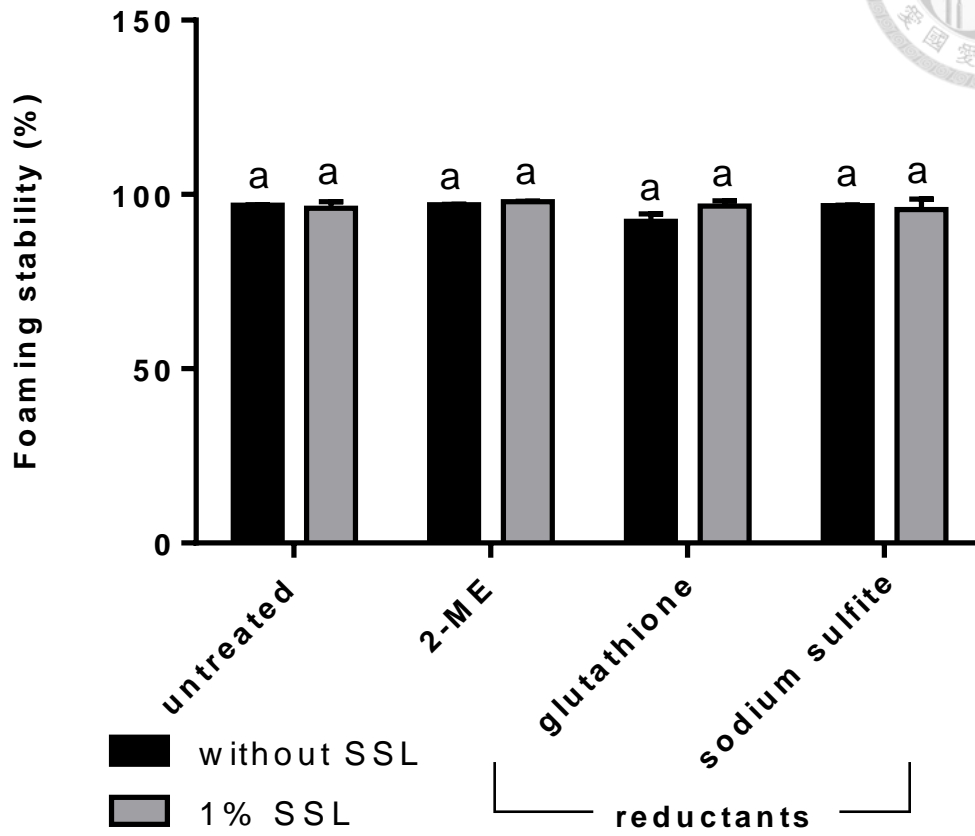
圖二十六、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與還原劑共同處理後之乳化穩定性

Figure 26. Emulsifying stability of rice protein after treated with SSL and reductants.



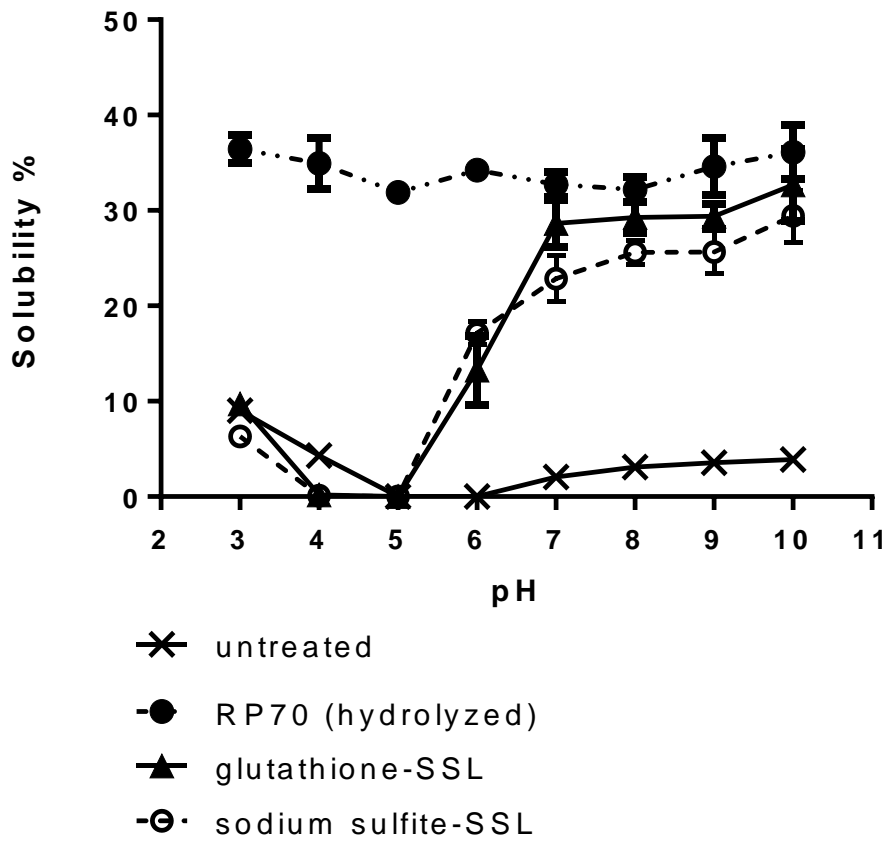
圖二十七、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與還原劑共同處理後之發泡性

Figure 27. Foming capacity of rice protein after treated with SSL and reductants.



圖二十八、米蛋白經界面活性劑 (SSL) 與還原劑共同處理後之發泡穩定性

Figure 28. Foming stability of rice protein after treated with SSL and reductants.

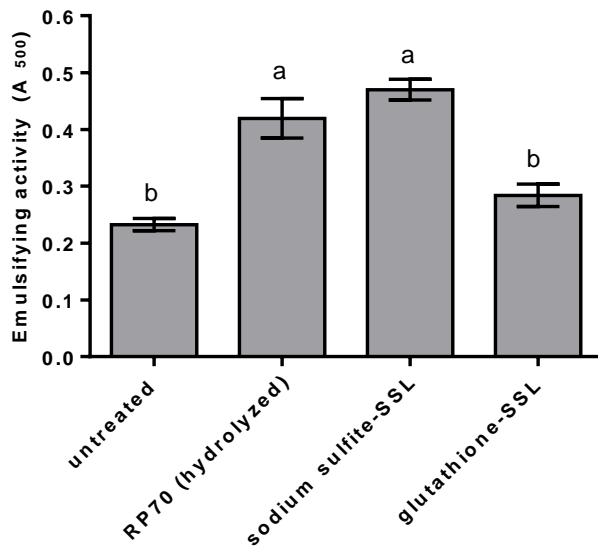


圖二十九、米蛋白經酵素水解、還原劑與界面活性劑共同處理之溶解度

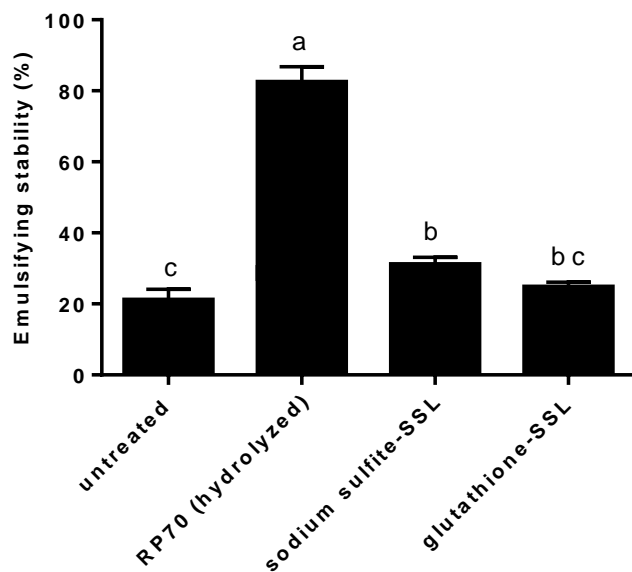
Figure 29. Solubility of rice protein after treated reductant with SSL and enzymatic hydrolysis.



(A)



(B)

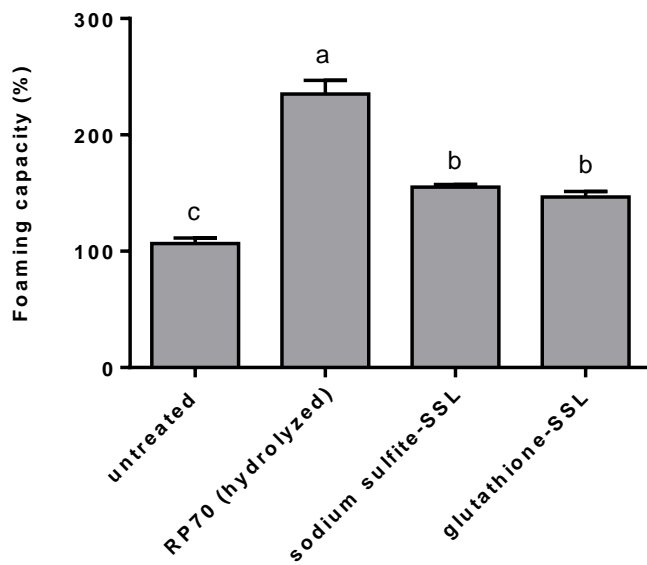


圖三十、米蛋白經酵素水解、還原劑與界面活性劑共同處理之乳化性 (A) 及乳化穩定性 (B)

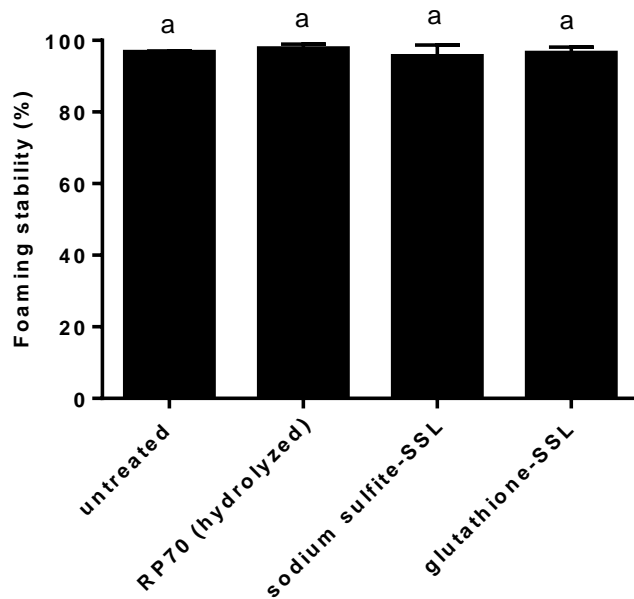
Figure 30. Emulsifying activity (A) and stability (B) of rice protein after treated with reductants with SSL and enzymatic hydrolysis



(A)



(B)



圖三十一、米蛋白經酵素水解、還原劑與界面活性劑共同處理之發泡性 (A) 及發泡穩定性 (B)

Figure 31. Foaming capacity (A) and stability (B) of rice protein after treated with reductants with SSL and enzymatic hydrolysis