



國立臺灣大學生物資源暨農學院動物科學技術學系

碩士論文

Department of Animal Science and Technology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

探討分離鴨蛋白鹼性凝膠之穩定性及其應用

Studies on stability of alkali-induced duck egg white gel
and its application

鄭年堯

Nian-Yao Zheng

指導教授：王聖耀 博士 陳億乘 博士

Advisors: Sheng-Yao Wang, Ph.D.

Yi-Chen Chen, Ph.D.

中華民國 109 年 8 月

August 2020

謝誌



高中第一次參訪臺灣大學時，從未想過我有一天也能成為這裡的學生，畢竟我並不喜歡讀書。雖不想繼續攻讀碩士班，但由於父母的寄望，且大學畢業後對未來感到茫然，結果報考了台大動科系碩士班並有幸地考上了。當初本想著只是為了學歷而唸，但最後發現我學到的不是僅有研究知識，而是比想像中的還多得多，這應該算是“誤入正途”吧！審視目前的人生，我在各方面都只有初學者的程度，也沒有達成任何目標，而如今總算有一項是可以打勾標示“已完成”的成就，當然這絕非憑我一己之力達成的，因此非常感謝一路上幫助過我的人。

首先我最想感謝的人是王聖耀老師，我不是動科系畢業的學生，從未接觸過這塊領域，但是老師卻願意一起詳讀 paper、一起討論內容，也花非常多時間在修正我的專題討論與論文，除了課業上的指導之外，老師時時刻刻關心學生的日常生活。老師是對自己要求很高的人，而我是一個不太認真的學生，感謝王老師勞心勞力地教導；感謝陳億乘老師擔任共同指導教授，並給予許多實驗上的建議與試驗數據統計分析的幫助；感謝劉嘉睿老師以不同角度切入我的研究提出不同觀點，並提供許多知識；感謝李滋泰老師不停激發我努力思考，讓我看到研究中的盲點；感謝陳彥伯老師在我的研究應用性層面給了許多建議，並指出論文中的問題；最後感謝實驗室的各位夥伴，大家相互扶持沒有隔閡，共同將實驗室營造成一個家，目前實驗室成員日漸增多，期望你們可以為動科系的加工領域闖出一片天。

時光荏苒，回顧過往，日復一日地騎上車水馬龍的福和橋，雖然路途上經過的景色不變，但想必我多少也成長了一點吧！夜深人靜時的苦思，抑或是踏出加工館後望見的晨曦，以及來台北後遇見的人事物，都將成為我心中雋永的回憶，最後，請容我在此停下敲打鍵盤的雙手，為兩年來的碩士生涯劃下句點。

鄭年堯

謹誌於 國立台灣大學動物科學技術學系研究所 民國一百零九年八月

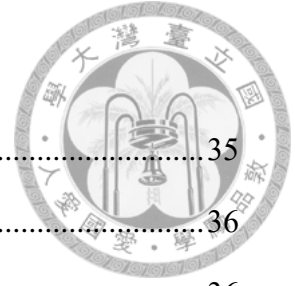


目錄

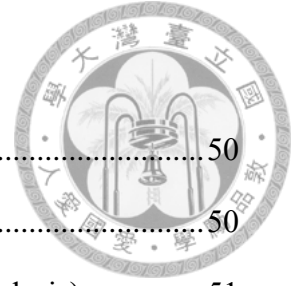
中文摘要.....	1
英文摘要.....	3
壹、前言.....	5
貳、文獻探討.....	6
一、蛋白之特性.....	6
二、鴨蛋白之蛋白質.....	8
(一)卵白蛋白(ovalbumin).....	8
(二)類卵黏蛋白(ovomuroid).....	11
(三)卵黏蛋白(ovomucin).....	11
(四)卵運鐵蛋白(ovotransferrin).....	11
(五)溶菌酶(lysozyme).....	12
三、分離鴨蛋白之凝膠特性探討.....	14
(一)鴨蛋白凝膠與形成機制特性.....	14
四、鴨蛋白鹼性凝膠機制之探討.....	15
(一)鹼性凝膠機制.....	15
(二)現有鹼處理加工蛋品-皮蛋.....	16
五、構成鹼性蛋白凝膠之作用力.....	18
(一)離子鍵(ionic bond).....	18
(二)氫鍵(hydrogen bond).....	19
(三)疏水交互作用(hydrophobic interactions).....	19
(四)雙硫鍵(disulfide bond).....	19
(五)醇基-雙硫鍵交換(thiol-disulfide exchange).....	20



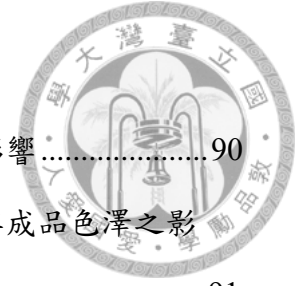
六、影響鹼性蛋白凝膠結構及安定性之因子.....	21
(一) 鹼性溶液種類.....	21
(二) 鹼性溶液濃度.....	22
(三) 鹼處理作用時間.....	22
(四) 溫度.....	23
(五) 離子強度(ionic strength).....	23
(六) 重金屬.....	25
七、鹼性蛋白凝膠之熱穩定性.....	27
八、鴨蛋白鹼性凝膠應用至乳化型肉製品(emulsified meat product).....	29
(一) 乳化(emulsion).....	29
(二) 鹽溶性蛋白質(salt-soluble protein).....	29
(三) 脂肪(fat).....	30
(四) 現有之乳化型肉製品.....	30
九、保水性(water holding capacity).....	31
(一) pH 值對肉製品保水性之影響.....	31
(二) 加熱處理對保水性的影響.....	31
(三) 磷酸鹽對肉製品保水性之影響.....	32
(四) 食鹽對肉製品保水性之影響.....	32
十、鹼性凝膠應用於乳化型肉製品之探討.....	33
(一) 磷酸鹽類替代物對於乳化肉漿之 pH 值、水分含量與保水力之影響.....	33
(二) 磷酸鹽類替代物對於乳化肉漿流變性之影響.....	33
(三) 磷酸鹽類替代物對於乳化型肉製品質地特性之影響.....	34
參、材料與方法.....	35



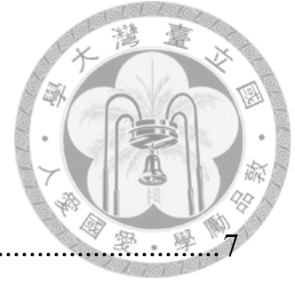
一、實驗流程.....	35
二、實驗材料.....	36
三、鴨蛋白鹼性凝膠穩定性之條件建立.....	36
(一) 分離鴨蛋白鹼性凝膠製備.....	36
(二) 鴨蛋白鹼性凝膠之穩定性條件試驗.....	36
(三) 凝膠前黏度變化分析.....	37
(四) 凝膠前流變性分析.....	37
(五) 鴨蛋白鹼性凝膠之膠體強度(bloom strength)測定.....	38
(六) 掃描式電子顯微鏡.....	39
(七) 硫醇基與雙硫鍵含量測定.....	39
(八) 蛋白質定量.....	40
(九) 聚丙烯醯胺電泳法(sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis ; SDS-PAGE).....	40
四、鴨蛋白鹼性凝膠之熱安定性之評估.....	43
(一) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之膠體強度測定.....	43
(二) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之雙硫鍵含量測定.....	43
(三) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之游離鹼度測定.....	44
(四) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之色澤測定.....	45
(五) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之顯微構造.....	46
五、鴨蛋白鹼性凝膠應用製乳化型肉製品之評估.....	47
(一) 添加鴨蛋白鹼性凝膠之肉漿黏度分析.....	49
(二) 添加鴨蛋白鹼性凝膠之肉漿 pH 值分析.....	49
(三) 乳化型肉製品(熱狗)之水分含量.....	49
(四) 乳化型肉製品(熱狗)之烹煮損失(cooking loss).....	50



(五) 乳化型肉製品(熱狗)之 centrifugation loss.....	50
(六) 乳化型肉製品(熱狗)之 purge loss.....	50
(七) 乳化型肉製品(熱狗)之質地分析(texture profile analysis).....	51
(八) 乳化型肉製品(熱狗)之色澤分析.....	53
(九) 官能品評.....	53
八、統計分析.....	55
肆、結果與討論.....	56
一、分離鴨蛋白鹼性凝膠製作與凝膠條件確立.....	56
(一) 氫氧化鈉濃度對於分離鴨蛋白液黏度與凝膠時間之影響.....	56
(二) 氫氧化鈉濃度對於鹼性蛋白凝膠膠體特性之影響.....	58
(三) 溫度對鹼性蛋白凝膠形成過程之流變性影響.....	60
(四) 不同溫度對於鹼性蛋白凝膠內部硫醇基與雙硫鍵含量之影響.....	61
(五) 不同溫度對蛋白凝膠之膠體強度影響.....	62
(六) 鹼性蛋白凝膠之蛋白質電泳分析.....	63
二、評估鴨蛋白鹼性凝膠熱之安定性.....	78
(一) 加熱處理對鴨蛋白鹼性凝膠膠體強度與外觀之影響.....	78
(二) 加熱處理對鴨蛋白鹼性凝膠之色澤影響.....	79
(三) 加熱處理對鴨蛋白鹼性凝膠存在雙硫鍵含量之影響.....	80
(四) 加熱處理對於鴨蛋白鹼性凝膠游離鹼度之影響.....	80
(五) 加熱處理對於鴨蛋白鹼性凝膠顯微構造之影響.....	81
三、應用於乳化型肉製品(熱狗).....	88
(一) 鹼性蛋白凝膠對於乳化肉漿之 pH 值之影響.....	88
(二) 鹼性蛋白凝膠對於乳化肉漿黏度之影響.....	89
(三) 鹼性蛋白凝膠添加對於乳化型肉製品質地特性之影響.....	89



(四) 鹼性蛋白凝膠對新型態乳化型肉製品保水力之影響.....	90
(五) 聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠添加量對乳化肉漿與成品色澤之影響.....	91
(六) 新型態乳化型肉製品之官能品評結果.....	92
伍、結論.....	102
陸、參考文獻.....	103
柒、附錄.....	117



圖目錄

圖 2-1、影響蛋白質展開之各項因子.....	7
圖 2-2、球狀蛋白溶液膠凝後形成凝膠網路之示意圖.....	7
圖 2-3、卵白蛋白(ovalbumin)之三維結構.....	10
圖 2-4、卵運鐵蛋白(ovotransferrin)之三維結構.....	12
圖 2-5、溶菌酶(lysozyme)之三維結構.....	13
圖 2-6、強鹼誘導卵白蛋白形成凝膠機制之示意圖.....	17
圖 2-7、重金屬離子作用於蛋殼孔.....	17
圖 2-8、硫醇-雙硫交換(thiol-disulfide exchange).....	20
圖 2-9、高離子強度下之遮蔽作用.....	24
圖 2-10、不同濃度的氫氧化鈉與氯化鈉對於鹼性蛋白凝膠外觀之影響.....	25
圖 2-11、金屬離子對鹼性蛋白凝膠之影響.....	26
圖 2-12、改良皮蛋之製程.....	28
圖 2-13、加熱對於鹼性蛋白凝膠之影響.....	28
圖 3-1、實驗流程.....	35
圖 3-2、游離鹼度測定之示意圖.....	44
圖 3-3、色澤分析之 CIE 系統.....	45
圖 3-4、乳化型肉製品(熱狗)之製作流程.....	47
圖 3-5、質地分析儀模擬咀嚼之作用力與時間關係示意圖.....	52
圖 3-6、官能品評表.....	54
圖 4-1、不同濃度強鹼條件下鴨蛋白液凝膠前黏度變化.....	64
圖 4-2、不同氫氧化鈉濃度對鴨蛋白液凝膠時間之影響.....	67
圖 4-3、不同濃度氫氧化鈉之鹼誘導鴨蛋白凝膠顯微構造.....	68

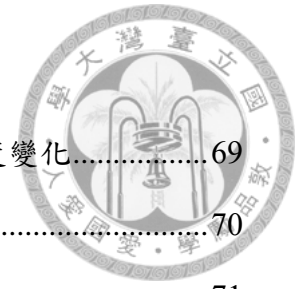


圖 4-4、不同濃度氫氧化鈉之鹼誘導鴨蛋白凝膠之膠體強度變化.....	69
圖 4-5、0.15 M 氫氧化鈉之鹼誘導鴨蛋白凝膠顯微構造	70
圖 4-6、不同反應溫度對鴨蛋白液凝膠時間之影響.....	71
圖 4-7、不同反應溫度對於強鹼誘導鴨蛋白凝膠之黏性模數與彈性模數之影響	72
圖 4-8、不同反應溫度氫氧化鈉之鹼誘導鴨蛋白凝膠顯微構造.....	73
圖 4-9、不同反應溫度對鹼誘導鴨蛋白凝膠硫醇基與雙硫鍵含量之影響。 .	74
圖 4-10、不同儲存溫度對於鹼誘導鴨蛋白凝膠之膠體強度之影響.....	75
圖 4-11、鹼性鴨蛋白凝膠於不同溫度靜置下其蛋白質之十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳圖譜	77
圖 4-12、不同加熱溫度處理對於膠體強度與膠體外觀之影響.....	83
圖 4-13、不同加熱溫度對製備凝膠之雙硫鍵含量之影響.....	85
圖 4-14、不同加熱溫度對製備凝膠與市售皮蛋蛋白釋放游離鹼度之影響...	86
圖 4-15、不同加熱溫度處理 10 分鐘之鹼誘導蛋白凝膠顯微構造.....	87
圖 4-16、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對肉漿 pH 值與黏度影響 ...	93
圖 4-17、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對新型態乳化型肉製品烹煮失重之影響	95
圖 4-18、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對新型態乳化型肉製品離心失重之影響	96



表目錄

表 2-1、禽蛋蛋白之成分.....	9
表 3-1、質地分析測定參數設置.....	38
表 3-2、焦集膠體與分離膠體配方.....	42
表 3-3、Running buffer 配方.....	42
表 3-4、膠片染劑配方.....	42
表 3-5、新型態乳化型肉製品之配方.....	48
表 3-6、質地分析測定參數設置.....	52
表 4-1、不同氫氧化鈉濃度之鴨蛋白鹼性凝膠外觀變化.....	65
表 4-2、不同氫氧化鈉濃度對於鴨蛋白液黏度之變化.....	66
表 4-3、鹼性鴨蛋白凝膠於不同溫度靜置下其蛋白質之外觀.....	76
表 4-4、不同加熱溫度處理之凝膠 L*、a*及 b*值.....	84
表 4-5、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量之新型態乳化型肉製品質地分 析.....	94
表 4-6、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對新型態乳化型肉製品之.....	97
表 4-7、烹煮前/後新型態乳化型肉製品之外觀 (A 組).....	98
表 4-8、烹煮前/後新型態乳化型肉製品之外觀 (B 組).....	99
表 4-9、烹煮前/後新型態乳化型肉製品之外觀 (C 組).....	99
表 4-10、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對新型態乳化型肉製品色澤 之影響.....	100
表 4-11、新型態乳化型肉製品之官能品評.....	101



中文摘要

本研究利用鴨蛋白鹼性凝膠機制，製作類似皮蛋蛋白具彈性之半透明膠體以增加其保存性與利用性，藉此提升鴨蛋白之附加價值與多元應用。近年來研究指出蛋白鹼性凝膠在強鹼持續作用下會導致膠體結構不穩定，因此如何縮短鹼性凝膠時間又能保持蛋白膠體安定性與加工應用性乃本研究之目的。

為建立分離鴨蛋白鹼性凝膠之穩定條件，本試驗首先以不同濃度之氫氧化鈉溶液與鴨蛋白製成凝膠，透過黏度變化來確立膠體形成時間，另外觀察反應時間對於膠體強度之影響，以評估最適氫氧化鈉濃度，結果顯示含 0.125 M 以下氫氧化鈉之混合蛋白液不易形成凝膠，然而超過 0.175 M 氫氧化鈉之混合蛋白液，其膠體強度會隨反應時間延長而顯著減弱($p < 0.05$)，並產生液化現象。藉由上述試驗篩選出適當氫氧化鈉濃度(0.15 M)，並利用掃描式電子顯微鏡、膠體蛋白質硫醇基與雙硫鍵含量分析，以確認不同反應溫度處理之膠體結構與理化性質差異，結果顯示反應溫度超過 25°C 能夠顯著提高鴨蛋白凝膠速度($p < 0.05$)，但高於 35°C 時則會導致膠體不穩定甚至液化，再者，經實驗發現膠體形成後保存於 15°C 以下能有效延緩液化之進程。進一步探討鹼性凝膠於加工食品之應用性，關於第二部分將針對其熱安定性進行評估，採用前述條件製備之膠體，於 60-100°C 水浴中加熱 10 分鐘後分析其色澤、安定性與理化特性，其中膠體強度會隨著加熱溫度的提高而顯著下降($p < 0.05$)；若與市售皮蛋蛋白進行比較，則發現當膠體經加熱處理後並不會顯著提升游離鹼之濃度，推測膠體受熱後仍可保持膠體穩定性及鹼性成分釋出。因此分離鴨蛋白透過上述試驗條件處理後，能夠快速穩定形成凝膠且經高溫處理後仍具安定性，頗具加工應用之潛力。本研究第三部分將評估鴨蛋白鹼性凝膠應用於肉製品之可行性，由於鴨蛋白鹼性凝膠本身富彈性、水合效果佳且具較高 pH 值，對於乳化型肉製品之質地與保水性提升應具有正面效果，結果顯示額外添加 3% 鴨蛋白鹼性凝膠不但可以減少磷酸鹽使用量、提高乳化型肉製品之保水性與彈性($p < 0.05$)，並

且可以增加產品接受度。

綜上所述，透過本研究建立鹼濃度與溫度條件可將分離鴨蛋白快速製備出膠體穩定、具彈性與熱安定性之鹼性凝膠，除了類似皮蛋蛋白可應用於熱食並可添加於乳化型肉製品，製作出特殊質地與風味之新型態產品，以提高鴨蛋白之利用性。

關鍵字：鴨蛋蛋白、鹼性凝膠、乳化型肉製品

英文摘要



The alkali treatment is the alternative and practical processing method for creating transparent and elastic protein gels, and it is beneficial to increase added value and usage diversities of separated duck egg white in Taiwan. Recent researches indicated that excess sodium hydroxide (NaOH) causes congealed egg white gel to liquefy. Thus, the purpose of this study was to prepare stable alkali-induced egg white gel efficiently and evaluate its application on meat product.

First, the suitable gelation time was determined with different concentrations of NaOH solution mixing with duck egg white. Besides, we investigated the effects of reaction time on gel strength to decide the optimal NaOH concentration. Results indicated that the low-concentration-NaOH environment is unsuitable for gel formation. By contrast, the high-concentration-NaOH one rapidly increased the bloom strength of the duck egg white gel. As a result, 0.15 M NaOH in duck egg white solution was the optimal concentration to form the most stable egg white gels. In this study, reaction as well as storage temperature, rheological properties analysis, bloom strength test, thiol and disulfide bond content, and scanning-electron-microscope (SEM) were assayed. According to current results, it revealed that reaction temperature higher than 25°C could significantly increase the rate of gelation ($p < 0.05$) during the gelation process; however,

the temperature higher than 35°C would lead to instability or liquefaction. Moreover, the storage temperature of the gel below 15°C could prevent liquefaction effectively.



In the second part of this study, through the thermal stability test, the results showed that the gel strength decrease significantly with the raising heating temperature ($p < 0.05$), but the free alkalinity of prepared duck egg white gel was considerably lower than the commercial preserved egg white. Therefore, it showed that the alkali-induced duck egg white gel could remain stable after heating, which indicates its potential for further processed applications. Alkali-induced duck egg white gel was elastic, high pH value, and superior hydration. The texture and water-holding capacity of emulsified meat products were improved by adding alkaline duck egg white, which attributed to the characteristics as mentioned above. Therefore, it suggested that the optimal added amount is 3% alkaline gel with a 50% phosphate reduction.

In conclusion, the optimal NaOH concentration and reaction and storage temperature conditions for prepared stable alkali-induced duck egg white gel were determined, and this product could also improve the taste and water holding capacity of emulsified meat products effectively. Overall, the application of alkaline-induced duck egg white gel on emulsified meat products or other food might be available and promising.

Keywords: duck egg white, alkali-induced gel, emulsified meat products

壹、前言



目前臺灣蛋鴨主要品種為褐色萊鴨，臺灣蛋鴨飼養共 406 場，2,161,274 隻，統計資料顯示臺灣地區近 10 年來鴨蛋年產量約四億五千萬枚(行政院農委會，2019)。鴨蛋與雞蛋均為富含優質蛋白質、維生素及礦物質之完美食物，且兩者營養價值與加工特性相似(Zhang & Lin, 2011)，然而考量價格因素、銷售普及性及風味等問題，即便鴨蛋烹調後蛋白熱凝膠之彈性與蛋黃之細膩感優於雞蛋，但是國人對於鴨蛋直接利用與攝取量仍遠低於雞蛋，超過百分之八十的鴨蛋由加工業者製成傳統蛋製品—皮蛋及鹹蛋。有鑒於鹹蛋黃在端午、中秋等節慶需求量高，加上近年來鹽漬蛋品加工技術改良與突破，許多業者改以分離蛋黃直接醃漬，然而剩下的新鮮鴨蛋白液，因腥味較重、接受度不高、應用層面受限且不易保存，往往成為高營養廢棄物。因此若能以鴨蛋白開發出具良好保存與加工特性之原料，便能增加鴨蛋白液之利用率並藉此提高畜產品多樣性。蛋白具有多種加工特性，其中一種特性為遇鹼會形成凝膠，皮蛋即是利用此特性製成。皮蛋蛋白具有良好的彈性與保存性且富含營養，然而此種鹼性凝膠的詳細的穩定性條件、保存性與應用性目前無太多深入研究。綜合上述，本研究旨在將分離鴨蛋白液製成鹼性凝膠，探討鴨蛋蛋白之鹼性凝膠之條件與穩定性以應用於乳化型肉製品，並開發具結著性、咀嚼性、利用性及能夠取代部分聚合磷酸鹽添加之新型態乳化型肉製品。另外若能以添加調味料等方式去除腥味，或能開發出即食食品或火鍋料等食品，亦有助於解決鴨蛋白浪費問題，並擴大鴨蛋加工多元應用與提昇附加價值。

貳、文獻探討



一、蛋白之特性

禽蛋蛋白(albumen)含有 10%至 12%蛋白質且具有多種加工特性如:起泡性(foaming)、凝膠化(gelation)與乳化性(emulsifiability) (Mine, 2002)。此種特性是由於蛋白質具有與其功能相關的特定結構，但它們很容易通過與周圍環境的相互作用而失去其天然構象。這種現象被稱為蛋白質展開(unfolding)或稱作變性(denature)，能夠使蛋白質展開或變性的因子為熱(thermal)、高壓變性(pressure)、變性劑(denaturants)、介面交互作用(interfaces)與 pH 值(圖 2-1)(Yano, 2012)。在食品加工業中為了延長產品保存期限、確保微生物安全和獲得優良的感官特性，經常將這些加工技術應用於各類食品(Arzeni et al., 2012)，這些技術也廣泛的應用於在蛋品加工方面。經過變性處理的蛋白可能會影響其物化特性，如表面疏水性、溶解度、濁度、流變性和硫醇基含量進而影響蛋白的功能特性(Plancken et al., 2006)，因此探討變性處理對蛋白的影響有其必要性。在本研究中重點為蛋白鹼性凝膠之安定性，因此以下將以 pH 值對蛋白結構之影響進行探討。pH 值會決定蛋白質的帶電狀態，當 pH 值達到蛋白質等電點 (isoelectric point) 時，負電荷和正電荷的數目相等，使蛋白質形成電中性分子，當環境 pH 值下降，則蛋白質帶正電荷;而在高 pH 值條件下，蛋白質帶負電荷。因此當蛋白質的靜電狀態改變時，會影響蛋白質分子的排列型態，進一步改變蛋白質凝膠化的網狀構造(圖 2-2)。

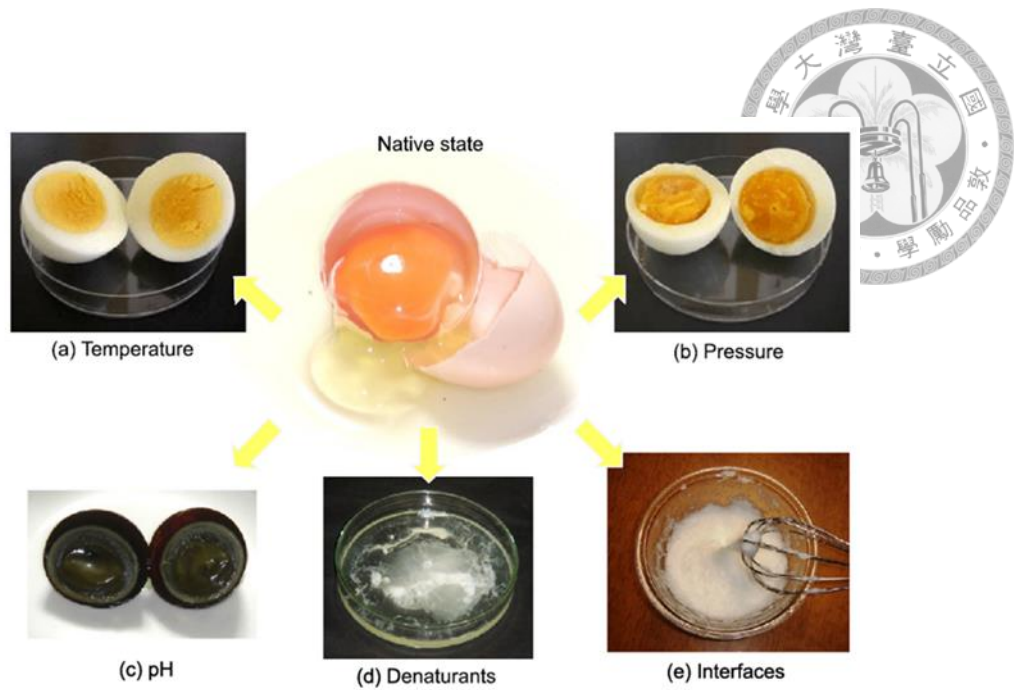


圖 2-1、影響蛋白質展開之各項因子。

Figure 2-1. The factors effecting protein unfolding.

(Yano, 2012)

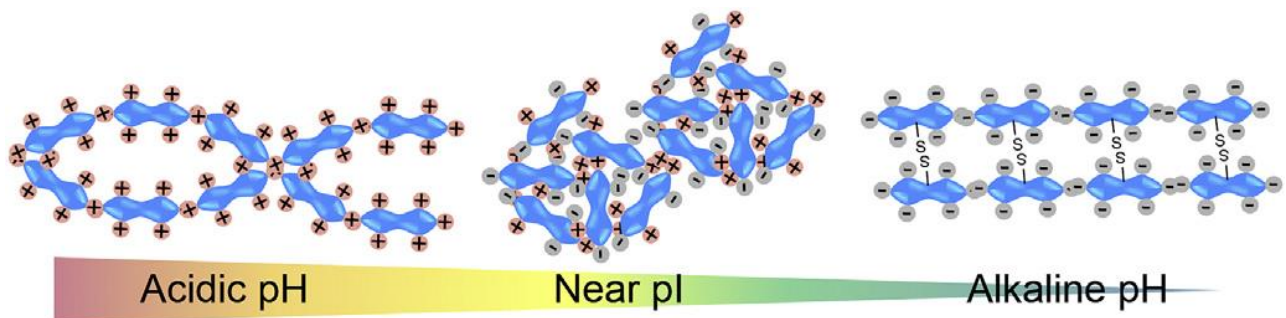


圖 2-2、球狀蛋白溶液膠凝後形成凝膠網路之示意圖。

Figure 2-2. Schematic diagram of gel network formation after gelation of globular protein solutions.

(Kleemann et al., 2018)



二、鴨蛋白之蛋白質

鴨蛋重量範圍為 60-90 g，蛋殼、蛋白和蛋黃的重量百分比分別佔全蛋的 11-13%、45-58%和 28-35%。鴨蛋含有約 88%水分、8.8%蛋白質、0.13%脂肪以及 0.53%灰質(Burley & Vadehra, 1989; Chang, 1992; Chen, 2001)。鴨蛋白中包含 100 多種蛋白質，卵白蛋白(ovalbumin)含量最高 40%，其次是類卵黏蛋白(ovomuroid) 10%、卵黏蛋白(ovomucin) 3%、卵運鐵蛋白(ovotransferrin) 2%和溶菌酶(lysozyme) 1.2%等(表 2-2)，以上幾種蛋白質也是參與蛋白凝膠化重要的蛋白質，其膠凝特性主要受環境和處理條件的影響。以下將針對此五種蛋白質進行探討。

(一) 卵白蛋白(ovalbumin)

卵白蛋白為單體的球狀磷酸醣蛋白，分子量為 44.5 kDa，等電點為 4.5，具有 385 胺基酸殘基。卵白蛋白為禽蛋蛋白中含量最豐富之蛋白質，因此在食品加工上卵白蛋白的功能性包括起泡性、膠凝化和乳化性(Sheng et al., 2019)。特別的是卵白蛋白分子的核心內含有 4 個游離硫醇基團(thiol group)，並且在 Cys-73 和 Cys-120 之間存在一個雙硫鍵(disulfide bond) (圖 2-3)，其球狀結構易透過加熱、pH 變化、物理性攪拌或變性劑的作用而展開。另外，在儲存過程中卵白蛋白會自然轉變成 S-卵白蛋白(S-ovalbumin)，S-卵白蛋白的分子量較卵白蛋白低，其含量在存儲期間會增加。文獻指出新鮮蛋由 5%增加到冷藏 6 個月後的 81%，此轉變現象歸因於共價鍵結構的改變。與卵白蛋白(在 84.0°C 變性)相比，S-卵白蛋白具有較好熱穩定性(在 92.5°C 變性)。高 pH 值和高溫都會促進 S-卵白蛋白的形成，因此使用油脂塗層於蛋殼上使從蛋殼孔中損失的二氧化碳減少，或在冷藏條件下儲存可以延緩此現象(Alleoni, 2006)。卵白蛋白能夠形成透明，半透明或不透明的凝膠，具體取決於各項條件如蛋白質濃度、溫度、pH 和環境的離子強度，其中 pH 值對凝膠形成的影響最大(Li et al., 2018)。另外由於卵白蛋白具特徵明確的結構和生物學特性，卵白蛋白常用於蛋白凝膠化之研究的模型蛋白，Zhao et al. (2016)也指出用強鹼處理後的卵白蛋白凝膠的顯微結構與皮蛋和鴨蛋白凝膠的顯微結構非常相似。



表 2-1、禽蛋蛋白之成分

Table 2-2. Composition of the major duck and hen egg albumen proteins

Protein	Source of albumen	Ovalbumin	Ovomucoid	Conalbumin (ovotransferrin)	Ovomucin	Lysozyme	Ovomacroglobulin	Flavoprotein	Avidin	References
Percent of the total protein ^a	Duck	40.0	10.0	2.0	3.0	1.2	1.0	0.3	0.03	Mine (1995)
	Hen	54	11	12	3.5	3.4	0.5	0.8	0.05	Huang and Lin (2011), Hu et al. (2016), Hytönen et al. (2003), Miguel et al. (2005)
Molecular weight (kDa)	Duck	43.49	28.0	70.0	ND	15.0	ND	33.0	48.1	Hytönen et al. (2003), Miguel et al. (2005), Mine (1995),
	Hen	44.5	~28.0	77.7	5.5–8.3×10 ³	14.0	769.0	32.0	60.1	Mine (1995), Belitz et al. (2009)

*ND not determined

^a Average values
(Quan and Benjakul, 2019)

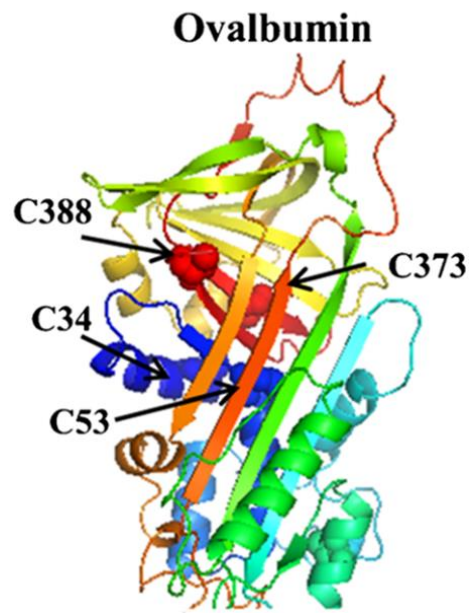


圖 2-3、卵白蛋白(Ovalbumin)之三維結構。

Figure 2-3. Three-dimensional structure of ovalbumin.

(Wang et al., 2015)



(二) 類卵黏蛋白(ovomuroid)

類卵黏蛋白是一種醣蛋白(glycoprotein)，分子量為 28 kDa，等電點介於 3.9 至 4.3 之間，並具有對胰蛋白酶的抑制活性(Stadelman & Cotterill, 1973)。類卵黏蛋白具疏水性，其胱胺酸(cystine)含量高，蛋白質分子內具有 8 個雙硫鍵，但並無游離的硫醇基，在鴨蛋白之中具有最好的耐熱性(Yuno-Ohta et al., 2016)。由於類卵黏蛋白的雙硫鍵含量高，因此對於維持凝膠穩定的網狀結構有幫助。

(三) 卵黏蛋白(ovomucin)

卵黏蛋白是一種醣蛋白，由兩個次單元組成： α -卵黏蛋白 (MUC5B) 和 β -卵黏蛋白(MUC6) (Hiidenhovi, 2007)。主要存在於蛋白中，但繫帶(chalaza)和卵黃膜(yolk membrane)中也同樣含有卵黏蛋白(ITO et al., 1987)。卵黏蛋白具有相當大的分子量(5.5~8.3 MDa)，約佔總蛋白質含量的 2-4% (Omana et al., 2010)。另外，卵黏蛋白含有大量的雙硫基團和 33%的碳水化合物，因此卵黏蛋白像黏蛋白家族的其他成員一樣具有凝膠的特性。另一方面，存放較久的蛋其卵黏蛋白解離而造成稠卵白(thick albumen)稀薄化，整體蛋白的黏性也會下降(Stefanović et al., 2017)。

(四) 卵運鐵蛋白(ovotransferrin)

卵運鐵蛋白也稱為伴白蛋白(conalbumin)，由 686 個胺基酸殘基的單體醣蛋白組成，分子量約為 80 kDa，等電點在 6.0 到 6.6 之間 (Vadhera & Nath, 1973)。卵運鐵蛋白分子折疊成兩個大小相似的球狀葉(N-和 C-lobes)，每葉均含有一個的鐵結合位點(圖 2-4)。每個卵運鐵蛋白分子與兩個莫耳的金屬離子螯合，形成一種蛋白質與金屬複合物。卵運鐵蛋白是鴨蛋白中最不耐熱的蛋白質，約在 60°C 低溫度下，就會引發卵運鐵蛋白的聚集，形成乳白色的凝膠(Matsudomi et al., 2002)。卵運鐵蛋白與鐵離子結合的特性使其具有抗微生物活性(Ibrahim, 2000; Williams, Evans, & Moreton, 1978)。且卵運鐵蛋白或其他類型的運鐵蛋白如乳鐵蛋白和血清運

鐵蛋白都具有廣泛的生物活性(Baker & Baker, 2004)，例如抗真菌、抗病毒、抗癌、抗氧化、抗高血壓和免疫調節活性，卵運鐵蛋白有作為營養食品和機能性食品成分的潛力(Giansanti et al., 2012)。



(五) 溶菌酶(lysozyme)

溶菌酶分子量為 14.4 kDa，由 129 個胺基酸殘基構成的多肽，等電點為 10.7 (Stadelman & Cotterill, 1973)。溶菌酶分子內有 4 對雙硫鍵(圖 2-5)，能夠幫助形成鹼性凝膠網狀構造。溶菌酶能夠破壞細菌細胞壁之肽聚糖，因此具抗菌功效。溶菌酶存在於唾液、眼淚、鼻涕；也存在於粒線體和蛋白中。此外，溶菌酶與鴨蛋中其他蛋白質有許多交互作用如卵黏蛋白，此兩種蛋白質在 pH 7.0 會產生最大的相互作用；最小的相互作用在 pH 9.0-9.5，因此隨著鴨蛋儲存時間增加，蛋白 pH 值升至 9.0-9.5 時，會使卵黏蛋白與溶菌蛋白複合體之解離造成濃厚蛋白之稀薄化。Matsuda 等人(1982)也指出類卵黏蛋白和溶菌酶自然存在時，蛋白質之間會通過靜電力相互作用。而當蛋白質熱變性時，類卵黏蛋白和溶菌酶會通過疏水交互作用、氫鍵和雙硫鍵形成而聚集。由上述研究可知卵白蛋白、類卵黏蛋白、卵黏蛋白、卵運鐵蛋白與溶菌酶之間的交互作用在鴨蛋白之熱誘導凝膠及其他加工形式之蛋白質聚集扮演重要的角色(Zhao et al., 2009)。

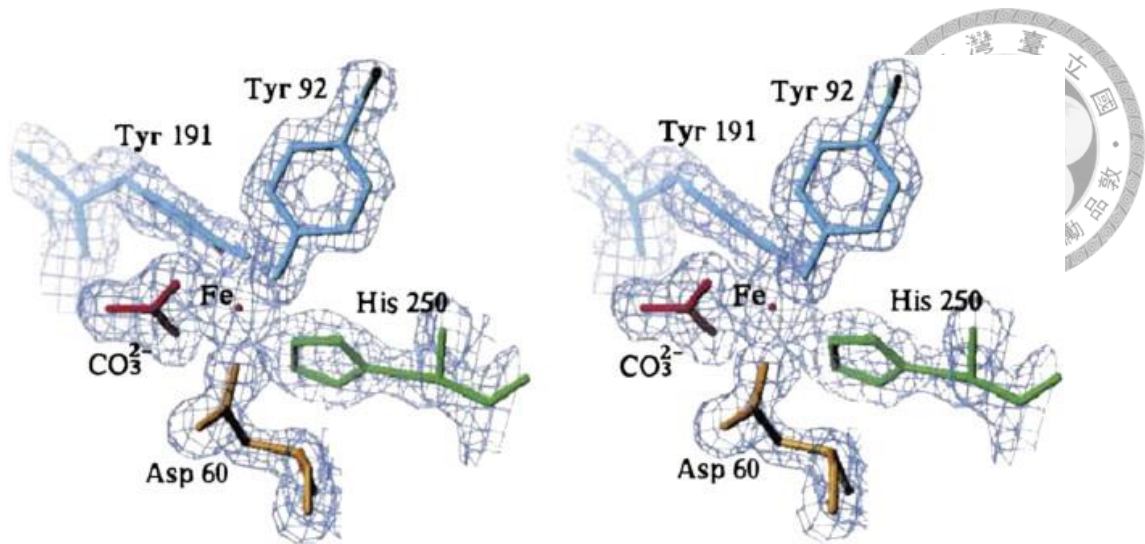


圖 2-4、卵運鐵蛋白(ovotransferrin)之三維結構。

Figure 2-4. Three-dimensional structure of ovotransferrin.

(Mizutani et al., 2001)

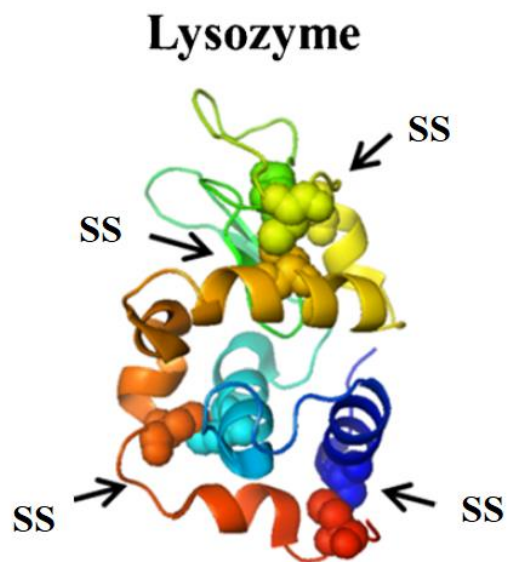


圖 2-5、溶菌酶(lysozyme)之三維結構。

Figure 2-5. Three-dimensional structure of lysozyme.

Modified from Wang et al. (2015).




三、分離鴨蛋白之凝膠特性探討

蛋白(albumen)主要成分是水及蛋白質，其中蛋白質在凝膠特性上扮演重要角色，蛋白中多數的蛋白質都具有凝膠的功能，Mine (1995)指出凝膠化是一個複雜的過程，涉及蛋白質變性(denaturation)，聚集(aggregation)和凝膠網狀構造的形成。而pH值，離子強度(ionic strength)，鹽離子種類，熱處理等不同誘導方式會改變蛋白質分子的結構和性質，進而導致蛋白質的凝膠結構發生變化(Nasabi et al., 2017)，透過這些改變可應用於食品及其他產業，後續茲針對分離鴨蛋白凝膠特性與機制進行探討。

(一) 鴨蛋白凝膠與形成機制特性

許多加工方式都能夠使蛋白變性、聚集，進而使液態形式轉變成固態或半固態之蛋白膠體，包括利用熱處理(heat treatment)、高壓處理(high pressure)、脈衝電場(pulsed electric field)、紫外線照射(ultraviolet irradiation)以及鹼處理(alkali treatment)等加工方式(Gharbi & Labbafi, 2018)。其中熱處理與鹼處理為最常見的蛋白凝膠加工方式，有時也會混合使用來增加蛋白凝膠穩定性、硬度或彈性。此兩種處理法原理相似，都涉及了卵蛋白中球蛋白(globular protein)的展開，當球蛋白展開後可以透過蛋白鏈與蛋白鏈之間的吸引力與排斥力之平衡關係形成不同類型的聚集體，進而形成穩定的蛋白膠體(Bryant & McClements, 1998)。在蛋白熱凝膠的研究方面，Iwashita (2017)發現卵白蛋白、卵運鐵蛋白以及溶菌酶這三種球狀蛋白質之間的交互作用為形成熱凝膠之主要原因，由於溶菌酶等電點為10，在中性pH值下表面帶有正電荷，而傾向於與其他帶負電荷的變性蛋白質結合。加上熱處理也引發了卵白蛋白質之間的疏水交互作用(hydrophobic interactions)及雙硫鍵(disulfide bond)的形成，因此加熱可以形成穩定蛋白膠體。Gharbi & Labbafi (2018)的研究顯示加熱或高壓作用下，卵白蛋白質或多肽的聚集速率會大於結構展開之變性速率，所形成的蛋白凝膠為白色且不透明之高硬度膠體，然而鹼性凝膠形成方式則相反；




當卵白蛋白質或多肽的聚集速率小於展開變性速率時，所形成的凝膠排列相對規則且呈現半透明具彈性之膠體。在傳統蛋製品皮蛋之蛋白就是利用鹼處理使蛋白形成特殊透明彈性膠體，為了釐清形成機制，並探討膠體安定性，近年來陸續有學者開始透過卵白蛋白，分離蛋白及全蛋進行鹼性凝膠之研究，以下茲針對鹼性凝膠機制與安定性進行探討。

四、鴨蛋白鹼性凝膠機制之探討

(一) 鹼性凝膠機制

為了研究鹼性凝膠機制，Zhao et al. (2016)利用鴨蛋白中含量最多之卵白蛋白來探討凝膠機制，發現蛋白質受到強鹼作用時，其球狀結構會展開，包埋在蛋白質內部的疏水性基團及硫醇基會暴露出來，促使其他展開的蛋白質分子互相結合、聚集，並藉由硫醇基氧化、硫醇-雙硫交換與疏水交互作用形成網狀結構；同時在高 pH 值環境下，使得蛋白質分子帶負電(圖 2-6)。接著進一步以掃描式電子顯微鏡觀察卵白蛋白膠體結構，發現其膠體結構約在 5 分鐘內形成。此前 Chen et al. (2015)研究發現分離鴨蛋白在強鹼環境下約在 15 分鐘內形成凝膠，因強鹼溶液持續作用破壞膠體結構，不僅破壞了分子間與分子內的雙硫鍵，也降低了疏水交互作用。再加上鹼性條件下氫鍵的形成也非常困難，因此形成凝膠之後(約 7 小時後)發生液化現象。根據上面兩篇研究證據顯示分離鴨蛋白凝膠開始液化時間長於卵白蛋白凝膠，說明卵白蛋白比分離蛋白更易於受到強鹼影響。另外在全蛋的部分，鹼處理對全蛋與分離蛋白、卵白蛋白的影響大致上相同，然而皮蛋蛋白比分離鴨蛋白凝膠與卵白蛋白凝膠具有更高的硬度(hardness)，其原因為鴨蛋在醃漬過程中，水分子會通過滲透過程從蛋白中移動到鹼性溶液和蛋黃中，導致皮蛋蛋白中的游離水減少。隨著游離水的減少，氫氧離子(OH⁻)的遷移率和活性降低，因此會減弱氫氧離子對膠體結構的破壞，而形成更緻密的細微結構而導致(Wang & Fung, 1996; Zhao et al., 2014)。Zhao 等人(2016)也指出皮蛋蛋白凝膠在鹼處理期間比分離鴨蛋白更穩定，這是由



於皮蛋製程中添加了重金屬，重金屬離子能夠和硫化氫(hydrogen sulfide)形成不可溶之硫化物(sulfide)堵塞住蛋殼孔，防止過量的強鹼滲入蛋中(圖 2-7)。另外，皮蛋的浸漬溶液中陽離子(銅離子和鈉離子)能屏蔽蛋白質之負電荷，並有助於減少蛋白質間的靜電排斥，從而提高了膠體的穩定性。從先前研究也得知，離子鍵和雙硫鍵為鹼性凝膠的主要作用力，疏水交互作用和氫鍵為次要作用力(Chen et al., 2015; Ganasen & Benjakul, 2011b; Zhao et al., 2016)，接下來將針對這四種作用力進行探討。

(二) 現有鹼處理加工蛋品-皮蛋

皮蛋為華人地區特有的加工蛋製品，皮蛋營養價值高，與生鮮鴨蛋相差無幾，然而皮蛋之保存期高於生鮮鴨蛋，且其獨特風味與具有彈性的口感，受多數國人喜愛(Wang & Fung, 1996)。皮蛋之製作原料蛋包括鴨蛋、雞蛋或鵪鶉蛋。但由於鴨蛋蛋殼氣孔直徑大於雞蛋蛋殼(Chen et al., 2008)，且蛋白水份含量較低、蛋黃脂質比例高，因此一般業者都採用鴨蛋製作。其他醃漬原料為食鹽、紅茶以及鹼性物質如氫氧化鈉、碳酸鈉、生石灰、草木灰等。皮蛋製作原理是利用蛋在鹼性溶液中使蛋白質變性並產生凝膠的現象，其中蛋白形成富有彈性的膠凍狀固體。而蛋黃表面固化，內部則會澇化而呈現稀軟金黃色。現行皮蛋製程可以依照製作方法分為浸漬法與塗敷法。一般皮蛋的醃漬約需 30 天，即可形成風味良好，口感佳的完整皮蛋。皮蛋的特殊風味來源為鴨蛋經過鹼性溶液浸漬後，鴨蛋中之含硫胺基酸被分解為硫化氫與氨，再加上浸漬液中的其他配料而形成(田 等人., 2000)。另外，鴨蛋中的葡萄糖與胺基酸於強鹼環境進行梅納反應，為形成皮蛋外觀之琥珀色主要原因(Ganesan et al., 2014)。在醃漬過程中，氫氧化鈉逐漸滲透到鴨蛋中，使卵白蛋白質變性並形成蛋白凝膠。為了獲得良好凝膠質量，控制氫氧化鈉的滲透非常重要，低濃度的氫氧化鈉因為變性不夠充分而不能形成凝膠，過量的鹼滲入則會使得蛋白凝膠液化，因此傳統皮蛋製造流程上會添加重金屬鹽類如氧化鉛或硫酸銅等物質，使蛋白凝膠結構穩定以提高皮蛋製成率。目前衛生福利部公告之蛋類衛生標準，係

定為鉛含量 0.3 ppm 以下、銅含量 5 ppm 以下。即使市面上之皮蛋符合目前之蛋類衛生標準，然而長期食用含重金屬的皮蛋對人體健康仍有疑慮，因此為了取代重金屬在蛋白凝膠穩定性所扮演之角色且不影響其風味，研究皮蛋蛋白之鹼性凝膠機制有其重要性。

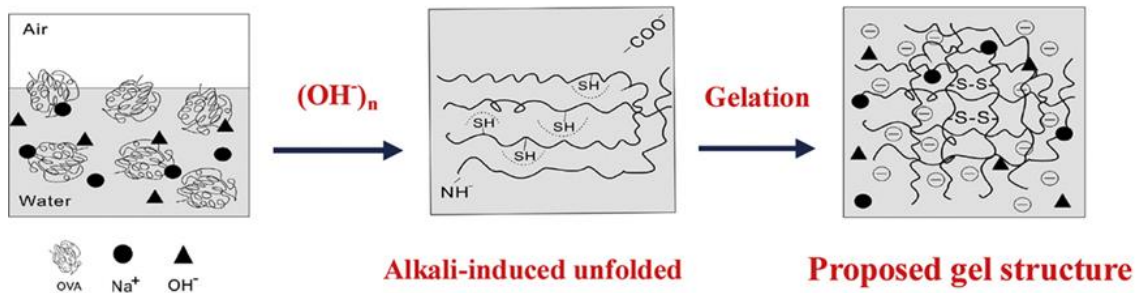


圖 2-6、強鹼誘導卵白蛋白形成凝膠機制之示意圖。

Figure 2-6. Proposed mechanism of formation ovalbumin gel induced by alkali.

(Zhao et al., 2016)

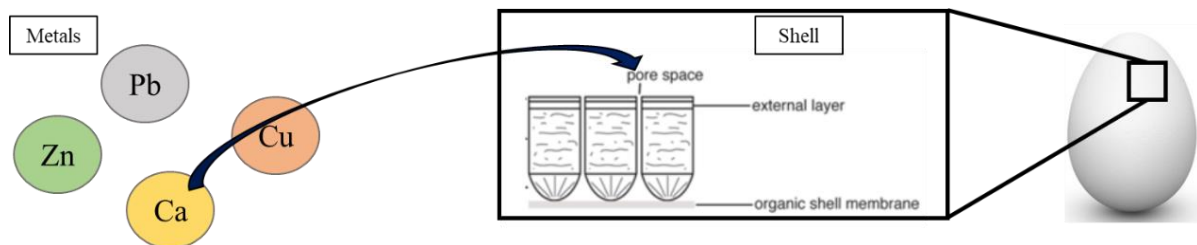


圖 2-7、重金屬離子作用於蛋殼孔。

Figure 2-7. Heavy metal ions plug the eggshell pores.



五、構成鹼性蛋白凝膠之作用力

在相同鹼處理條件下，所形成的卵白蛋白(ovalbumin)凝膠、蛋白(albumen)凝膠與皮蛋蛋白凝膠之細微結構類似，而維持膠體結構之蛋白質分子間作用力也相同，為了進一步釐清鹼性凝膠形成的機制，需要測定其分子間作用力。測定鹼性凝膠分子間作用力的方法將蛋白凝膠溶於 0.6 M NaCl 溶液中，離心後取上清液測定蛋白質濃度，並取其沉澱物在溶於 0.6 M NaCl+1.5 M 尿素溶液中，後續同樣利用 0.6 mol/L NaCl + 1.5 M 尿素溶液和 0.6 M NaCl + 8 M 尿素溶液進行操作(Pérez-Mateos et al., 1997)。此原理為藉由破壞特定鍵結使蛋白質溶於特定溶液，各溶液所含的蛋白質濃度佔總蛋白質含量之差異代表各種分子間的作用力，上述溶液所測得分子間作用力依序為為離子鍵(ionic bond)、氫鍵(hydrogen bond)、疏水交互作用(hydrophobic interaction)和雙硫鍵(Chen et al., 2015)，此四種分子間作用力為蛋白鹼性凝膠主要之作用力，以下為四種分子間作用力之介紹。

(一) 離子鍵(ionic bond)

離子鍵通過兩個或多個原子或化學基團失去或獲得電子而成為離子後形成，兩個帶相反電荷的原子或基團靠近時，帶負電和帶正電的原子或基團之間產生的靜電吸引力以形成離子鍵(Bader & Henneker, 1965)。離子鍵比氫鍵與疏水性交互作用強，其強度與共價鍵接近。除了蛋白質分子之間的靜電吸引力之外，還包括與金屬離子作用的鹽橋(salt bridge)。此外，蛋白質分子上胺基酸側鏈的 N-端與 C-端與水之間具有吸引力，稱為水離子鍵(water-ionic bond) (Ganasen & Benjakul, 2011b)。研究指出在測定鹼性凝膠之分子間作用力的試驗中，離子鍵為蛋白鹼性凝膠含量最高(55%)之鍵結。離子鍵在凝膠初期略有減少，這是因為鹼性溶液引起蛋白變性和凝膠，降低了蛋白膠體的溶解度。而蛋白凝膠開始液化之後，離子鍵含量則開始上升(Chen et al., 2015; Zhao et al., 2016)。



(二) 氫鍵(hydrogen bond)

氫鍵為一種永久偶極之間的作用力，氫鍵發生在已經以共價鍵與其它原子鍵結合的氫原子與另一個原子之間，通常發生氫鍵作用的氫原子兩邊的原子都是電負性較強的原子(Steiner, 2002)。氫鍵既可以是分子間氫鍵，也可以是分子內氫鍵。其鍵能最大約為 200 kJ/mol，一般為 5-30 kJ/mol，比共價鍵和離子鍵的鍵能弱，但強於疏水交互作用。在鹼性凝膠中具有極性的氫與提供氫鍵的親水性基團會與環境中的大量游離 OH 反應。另外在強鹼環境下，蛋白質分子帶有大量的負電荷，氫鍵無法穩定存在，因此鹼性蛋白凝膠中的氫鍵含量很少(10%)(Chen et al., 2015)。

(三) 疏水交互作用(hydrophobic interactions)

疏水交互作用屬於非極性分子的一種性質，會使這些分子在水溶液中具有自我聚集的特性。在鹼性凝膠中蛋白質因強鹼的作用而變性，蛋白質分子會展開並形成與原來結構不相同之構型，使卵白蛋白質的內部疏水核心暴露出來，並互相聚集(Campbell et al., 2003)。疏水交互作用的改變通常源自於蛋白質的二級結構變化， α -helix 會少量減少，而 β -sheet 的比例增加(Gosal & Murphy, 2000)，這些構形改變的蛋白質會影響其功能性如凝膠性。在凝膠的過程中，暴露的疏水性基團會迅速聚集，直到疏水性基團再次被氫氧根破壞。疏水交互作用雖然較離子鍵與雙硫鍵弱、含量比例低(約 10%)，但卻不會顯著誘導變性蛋白分子之間相互作用(Chen et al., 2015)。

(四) 雙硫鍵(disulfide bond)

雙硫鍵在蛋白質的摺疊及穩定性佔有重要的地位，一般都是從硫醇基的氧化形成(Pérez-Mateos et al., 1997)。Chen et al. (2015)發現在蛋白凝膠中雙硫鍵的含量隨時間增加，然後又會逐漸減少。凝膠初期卵白蛋白等蛋白質提供了許多硫醇基，有利於雙硫鍵形成，在第 3 小時雙硫鍵含量約為 30%。然而隨著強鹼作用時間的延長，新產生的雙硫鍵也將被破壞，在第 7 小時雙硫鍵含量小於 10%，此現

象也與鹼性蛋白凝膠的形成與破壞的時間相符。因此雙硫鍵的比例對於凝膠強度有很大的影響，一旦雙硫鍵含量增加，凝膠強度也會增強(Totosaus' et al., 2002)。許多研究指出，雙硫鍵在鹼、熱或高壓誘導所形成的蛋白凝膠中扮演重要角色(Matsudomi et al., 2002; Van der Plancken et al., 2005; Zhao et al., 2009)。

(五) 醇基-雙硫鍵交換(thiol-disulfide exchange)

鹼性蛋白凝膠的形成與維持網狀構造主要仰賴於雙硫鍵。由於天然狀態下卵白蛋白質如卵黏蛋白、卵運鐵蛋白、卵白蛋白、類卵黏蛋白和溶菌酶均含豐富硫醇基和雙硫鍵，當環境 pH 值上升時，卵白蛋白質除了暴露出雙硫鍵及硫醇基，也促使硫醇基氧化，形成雙硫鍵，以助於促進蛋白質分子的聚集(Stone & Stanley, 1994)，但由於強鹼的持續作用，形成的雙硫鍵又會被還原成硫醇基(圖 2-8)。同時，蛋白質分子在其表面具有負電荷而產生排斥力，使形成的凝膠逐漸塌陷，最終液化。

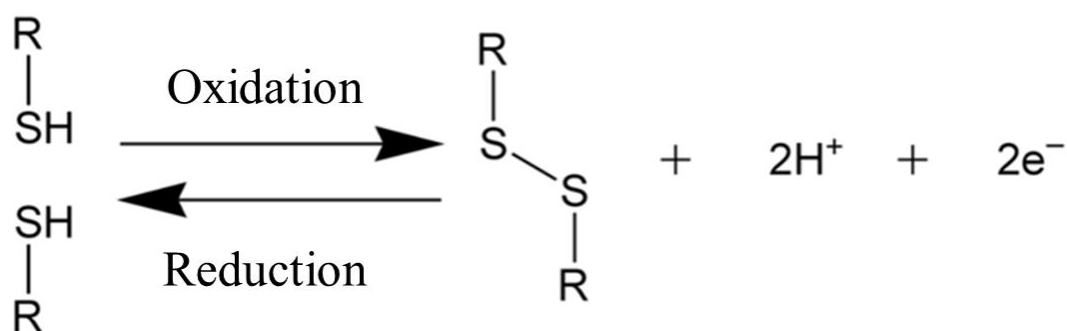


圖 2-8、硫醇-雙硫交換(thiol-disulfide exchange)。

Figure 2-8. Thiol-disulfide exchange.




六、影響鹼性蛋白凝膠結構及安定性之因子

(一) 鹼性溶液種類

蛋白的鹼性凝膠化需要使用強鹼來誘導，目前關於鹼性蛋白凝膠之研究絕大多數都是使用氫氧化鈉(sodium hydroxide)，以及少部分使用氫氧化鉀(potassium hydroxide)。鹼性溶液的選擇需要考慮到其水溶液的 pH 值，一般來說皮蛋以及鹼性蛋白凝膠的 pH 值約為 11 到 13 之間。氫氧化鈣(calcium hydroxide)水溶液雖為強鹼，但是其溶解度不佳(0.185 g/100 ml)，遠低於氫氧化鈉(111 g/100 ml)與氫氧化鉀(110 g/100ml)之溶解度，無法達到蛋白凝膠化所需之 pH 值。Zhang et al. (2015)比較了氫氧化鈉與氫氧化鉀對於鹼性蛋白膠體的差異性，利用兩種不同的鹼性溶液醃漬蛋之後，發現氫氧化鉀處理組之皮蛋蛋白的水分含量更低，具有較少的自由水，減少氫氧離子的遷移率。較低遷移率降低了氫氧離子對蛋白質分子鍵結的破壞作用，因此使用氫氧化鉀處理的凝膠比使用氫氧化鈉處理的凝膠更硬且較無彈性，在掃描式電子顯微鏡觀察下具有更緻密的網狀結構。然而在凝膠後期無論是氫氧化鈉或是氫氧化鉀都會發生液化現象，另外在 pH 值、鹼度、色澤與流變性上兩種強鹼並無顯著差異。雖然氫氧化鉀與氫氧化鈉皆可以製備鹼性蛋白凝膠，但是氫氧化鉀的價格高於氫氧化鈉約 30%，因此考量到鹼性溶液的 pH 值、溶解度、成本、穩定性等問題，現今皮蛋製程與研究方面所使用的強鹼都是以氫氧化鈉為主。

(二) 鹼性溶液濃度

皮蛋與鹼性蛋白凝膠之膠體穩定性主要與強鹼濃度高低有很大關係，Zhao 等人(2014)指出，1.5-3%濃度之氫氧化鈉與鴨蛋白混合後，測試其膠體硬度發現 1.5%氫氧化鈉誘導的鴨蛋白凝膠的膠體強度會在第 9 個小時達到最大值;而使用 2%氫氧化鈉誘導的鴨蛋白凝膠變化的速率較 1.5%快約 2 倍，在第 5 個小時膠體硬度達到最大值;同時 2.5%氫氧化鈉之膠體硬度則更快速(約 1.5 小時)達到最大值;3%氫氧化鈉的鴨蛋白凝膠的膠體強度會在 1 小時內將鴨蛋白凝膠的強度提高到最大值，



之後膠體強度會迅速降低。值得注意的是，高濃度氫氧化鈉誘導的鴨蛋白凝膠其膠體硬度顯著低於低濃度氫氧化鈉誘導的組別。雖然低濃度的氫氧化鈉誘導的蛋白凝膠化速度較慢，但是能大幅延緩膠體崩塌的時間且膠體硬度高；而高濃度的氫氧化鈉會使鴨蛋白的凝膠不穩定，除了會大幅增加凝膠速度之外，也會加速膠體的崩塌與液化。在皮蛋蛋白的部分，由於蛋殼與蛋殼膜的阻隔，強鹼滲入較緩慢，需使用較高濃度的氫氧化鈉(4.0-4.5%)來醃漬(Tu et al., 2013)，因此若想要獲得膠體強度佳、穩定且不容易液化的蛋白膠體，需要精準地控制氫氧化鈉濃度。

(三) 鹼處理作用時間

鹼處理的作用時間對於蛋白凝膠的影響甚鉅，強鹼的作用時間不足，變性的蛋白分子尚未聚集完成，則無法形成膠體；若作用時間過長，已形成的膠體又會再度被強鹼破壞，造成膠體的液化。分離鴨蛋白形成凝膠的時間遠低於皮蛋凝膠，依據強鹼濃度的不同，形成凝膠的時間約在 1-3 小時不等，短時間內即可觀察到其膠體網狀結構，並且在 3-9 個小時內被破壞(Chen et al., 2015; Zhao et al., 2016)。而皮蛋蛋白一般來說需約 7 天才能形成膠體，並在約 14 天具有最大的膠體硬度(Zhao et al., 2020)。透過掃描式電子顯微鏡下可觀察到約隨著醃漬時間延長(24 天)，皮蛋蛋白凝膠網狀結構變得更規則、更小且更緻密。皮蛋的製程上可透過調整浸漬於鹼性溶液的時間，而獲得理想的膠體性質。然而分離鴨蛋白鹼性凝膠，鹼性溶液直接與鴨蛋白混合，無法延緩強鹼的作用時間。因此若想要控制分離鴨蛋白的凝膠性質，以其他方面來調整蛋白凝膠的穩定性較具可行性。



(四) 溫度

強鹼誘導蛋白的聚集速率較慢，相較之下熱誘導的凝膠其變性蛋白分子的聚集速率較快。加熱在卵白蛋白質聚集中具有重要作用，而疏水交互作用和靜電交互作用在熱誘導蛋白部分變性後引發能夠膠體網狀形成(Van der Plancken et al., 2005)，但是此種熱誘導須以較高的溫度(60°C 以上)進行處理。溫度的變化除了誘導蛋白熱變性之外，也能顯著影響蛋白形成鹼誘導膠體的速度。Zhao et al. (2014)發現在 10°C 的環境下，隨著鹼處理時間的增加膠體強度會緩慢上升，約在 11 小時膠體強度會達到最大值;在 20°C 時膠體強度變化會略為加快;此外，在較高的環境溫度下(30°C 與 40°C)，其膠體強度變化則會迅速提升，在 1.5-2.5 小時內膠體強度會達到最大值並迅速下降。此研究證明在較高溫的環境下，會加速蛋白的凝膠速度並提高膠體崩塌與液化的速度;而在低溫的環境下，其凝膠速度會下降同時延緩液化並穩定膠體結構。另外，溫度對於皮蛋蛋白和蛋黃固化有很大影響，也會影響皮蛋蛋黃的顏色。較高的環境溫度會破壞蛋白凝膠結構，並導致聚集的蛋白凝膠液化，從而導致產品品質下降(Zhang, 2004; Yang et al., 2012).;若環境溫度過低，則皮蛋的醃漬時間會延長；處理時間過長會導致皮蛋蛋黃顏色變化並導致形成不穩定的蛋白凝膠(Lu et al., 2005)。皮蛋的製程上環境溫度通常為室溫(20-25°C) (Su & Lin, 1993)，而畜試所也開發出熱處理的皮蛋製程之改良。將新鮮鴨蛋於 20-25°C 的環境溫度下以氫氧化鈉溶液浸漬約 13-14 天，接著以 60-70°C、20 分鐘水浴處理，可提高皮蛋製成率 10-20%。然而目前的研究對於調整鹼性蛋白凝膠之反應溫度，以獲得理想性質的膠體尚不明確，因此這也是本研究的主要探討的項目之一。

(五) 離子強度(ionic strength)

離子影響蛋白質構型和穩定性的能力取決於離子濃度或離子強度(Von Hippel & Schleich, 1969)，因此氯化鈉(sodium chloride)常作為增加離子強度的化合物。氯化鈉在溶液中其鈉離子會對蛋白質分子產生遮蔽作用(shielding effect)(圖 2-9)，降

低蛋白分子表面之間的靜電排斥而導致蛋白質疏水基團暴露，進一步增強蛋白質分子之間的疏水性交互作用(Huang et al., 2019)。另外，在高離子強度下，會破壞蛋白質分子的離子相互作用，從而對蛋白質構象產生影響。在蛋白溶液中添加氯化鈉可以顯著增加 β 轉折(β -turn)含量，並降低 β 褶板(β -sheet)含量，表示增加蛋白凝膠的離子強度將導致蛋白質的有序二級結構的減少(Li et al., 2018)。先前的研究已經證實，氯化鈉對於水的氫鍵具有很強的破壞作用，濃度約 0.6 M 的氯化鈉溶液即可破壞氫鍵(Gomez-Guillen et al., 1997)，而 β 褶板這類型的有序二級結構之穩定性主要取決於氫鍵(Gu et al., 2008)。除此之外二級結構的改變會使鹼性蛋白凝膠濁度增加，進而使凝膠外觀變得不透明(圖 2-10)。離子濃度也會影響膠體的硬度、彈性與流變性等膠體性質，隨著氯化鈉濃度的增加，膠體的硬度與彈性均有顯著上升;而在流變性部分，其彈性模數(G')也有明顯提升，先前研究也指出蛋白質構型的改變與膠體性質的相關性(Su et al., 2015)。綜言之，離子強度對於蛋白凝膠的影響與蛋白質表面疏水性、灰他電位和二級結構的變化有關(Li et al., 2018)。

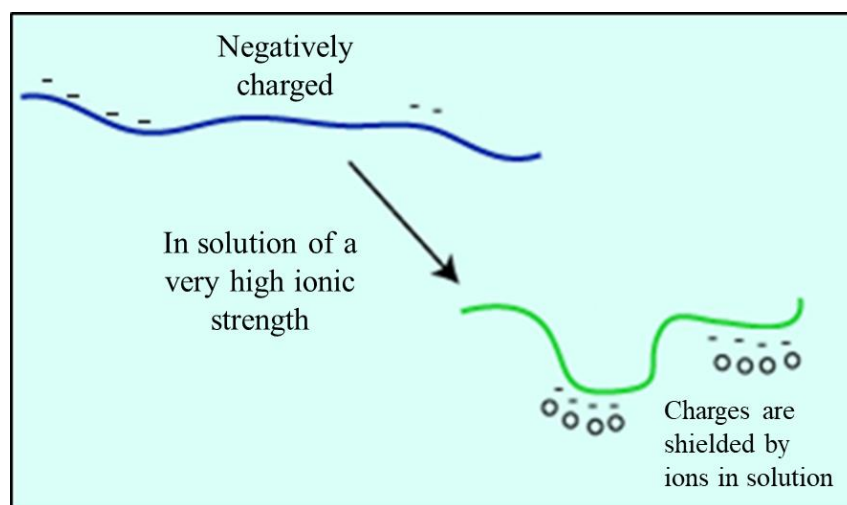


圖 2-9、高離子強度下之遮蔽作用。

Figure 2-9. Shielding effect in high ionic strength.

(Li et al., 2018)

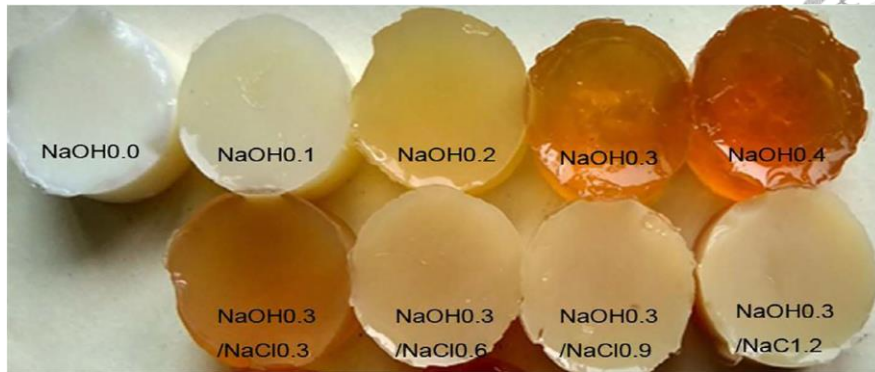


圖 2-10、不同濃度的氫氧化鈉與氯化鈉對於鹼性蛋白凝膠外觀之影響。

Figure 2-10. Effects of different concentrations of sodium hydroxide and sodium chloride on the appearance of alkali-induced egg white gels.

(Li et al., 2018)

(六) 重金屬

皮蛋的特性取決於其蛋白凝膠的性質(Tu et al., 2012)。在皮蛋的商業化生產製程中，需要加入氧化鉛或氧化銅等重金屬，可使皮蛋的製成率達 100%;若不添加重金屬，則皮蛋製造易受蛋個體差異影響，使製品品質不一致，導致製成率下降(張，1999)。其原理為金屬離子會與硫化氫形成不溶性硫化物並堵塞蛋殼(egg shell)與蛋殼膜(shell membrane)的孔，防止過量的強鹼從醃漬液滲入蛋中，破壞已形成的皮蛋蛋白凝膠。(Zhao et al., 2010)。除此之外，二價(divalent)或單價(monovalent)的陽離子(cation)可以通過鹽橋形成具有大蛋白分子聚合物(polymer)(Hongsprabhas & Barbut, 1997; Shi et al., 2008; Ganasen & Benjakul, 2011a)，這些聚合物會影響皮蛋的凝膠形成。重金屬離子另外一項重要的功能為提高蛋白凝膠的冱他電位(zeta potential)。冱他電位指的是膠體粒子上累積的離子所引發的靜電壓。穩定的膠體是帶電的，膠體以複雜的方式與電解質產生作用。與膠體表面電荷相反的電荷離子會與之吸附，而相同電荷的離子會被排斥。因此，膠體表面的離子濃度與溶液中的離

子濃度是不同的，靠近膠體表面的陽離子聚集而遮蔽了膠體的表面電荷，因而降低了反他電位。鹼性蛋白凝膠的穩定性和顯微結構會隨所用陽離子的類型和濃度而變化。鉛離子使蛋白分子聚集體具有高穩定性，凝膠網狀穩定的時間更長，而鋅離子對蛋白的穩定作用略低。目前有研究利用非重金屬的鈣離子，發現鈣離子能和蛋白的網狀構造結合，達到穩定凝膠的效果(圖 2-11) (Ai et al., 2020)。因此從人體健康的因素來考量，可以考慮使用其他的重金屬來取代鉛(Ganasen & Benjakul, 2011a)。

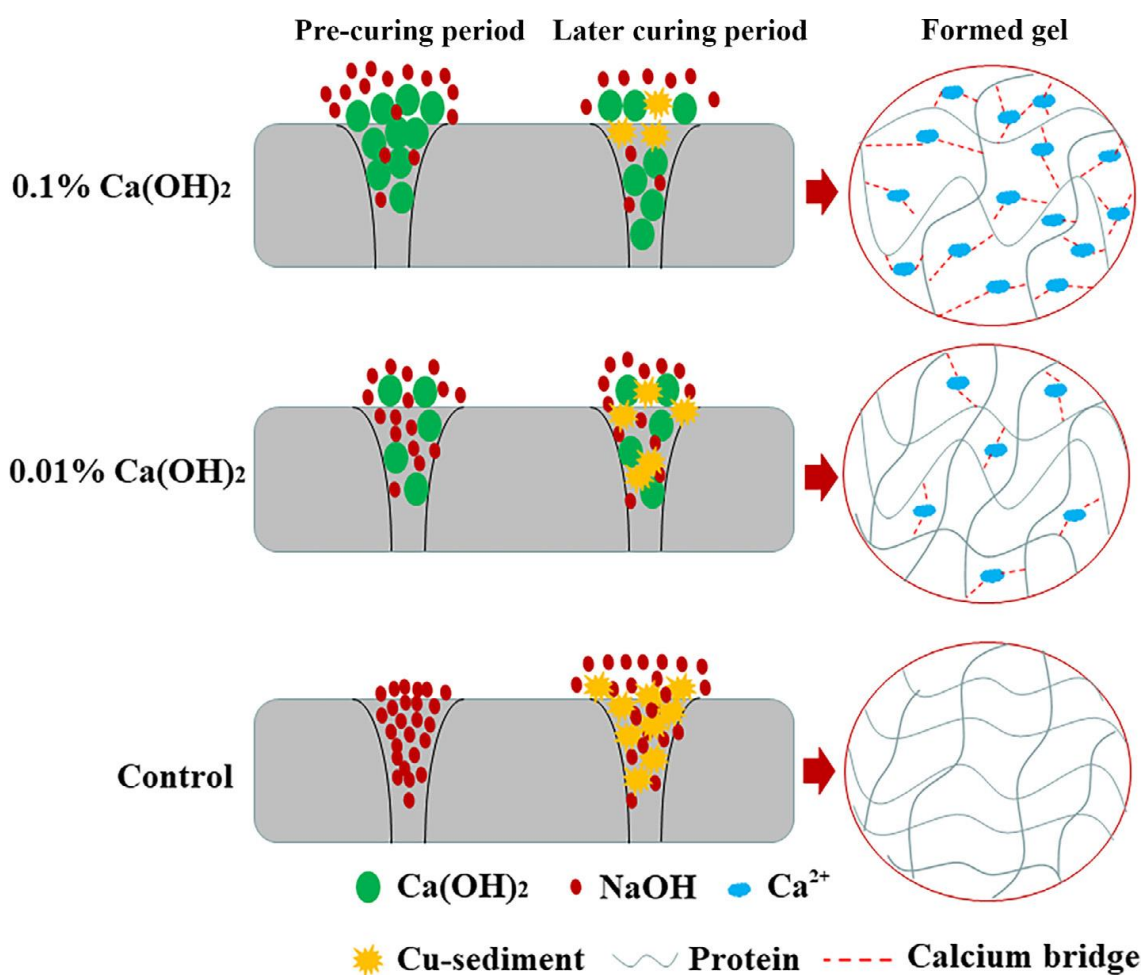


圖 2-11、金屬離子對鹼性蛋白凝膠之影響。

Figure 2-11. Effect of metal ions on alkali-induced egg white gel.

(Ai et al., 2020)



七、鹼性蛋白凝膠之熱穩定性

考慮到分離鴨蛋白鹼性凝膠無法控制氫氧化鈉的作用的時間，因此調整鹼性凝膠的溫度來獲得穩定的膠體是一項重要的研究。先前提到溫度對膠體之影響主要是針對其未凝膠之前的探討，對於已凝膠的鴨蛋白之熱穩定性的尚未提及，因此鹼性蛋白凝膠對於高溫的穩定性需要進行更深入的研究。熱處理是食品加工與製備的常用方法，可以使蛋白質變性，並促進蛋白質被人體消化吸收，例如皮蛋就常常在高溫下做成粥。目前在皮蛋的製程上也會運用加熱來增加蛋白膠體的安定性，來提升製成率(圖 2-12)(Su & Lin, 1993)。加熱會破壞維持蛋白質三級結構的作用力，例如氫鍵、凡得瓦力和靜電交互作用 (Davis & Williams, 2010)。蛋白質在加熱後(90°C, 30 min)緊密聚集，導致部分疏水基團固定在凝膠結構內部。最後，鹽離子與水分子互相競爭結合蛋白質，而影響表面疏水性。此外加熱會加速梅納反應生成酸性化合物，從而導致 pH 降低，並且會使凝膠的顏色變為深棕色。高溫的影響降低了表面疏水性和總硫醇基/游離硫醇基含量，導致了更緻密和規則的微觀結構(圖 2-13)。此結果會導致膠體的硬度(hardness)、彈性(springiness)與彈性模數(elastic modulus) 數值提高(Ai et al., 2020)，說明加熱能增加鹼性蛋白凝膠的穩定性。目前對於鹼性蛋白凝膠的熱穩定性相關文獻較少，因此本研究針對此部分進行相關的試驗。

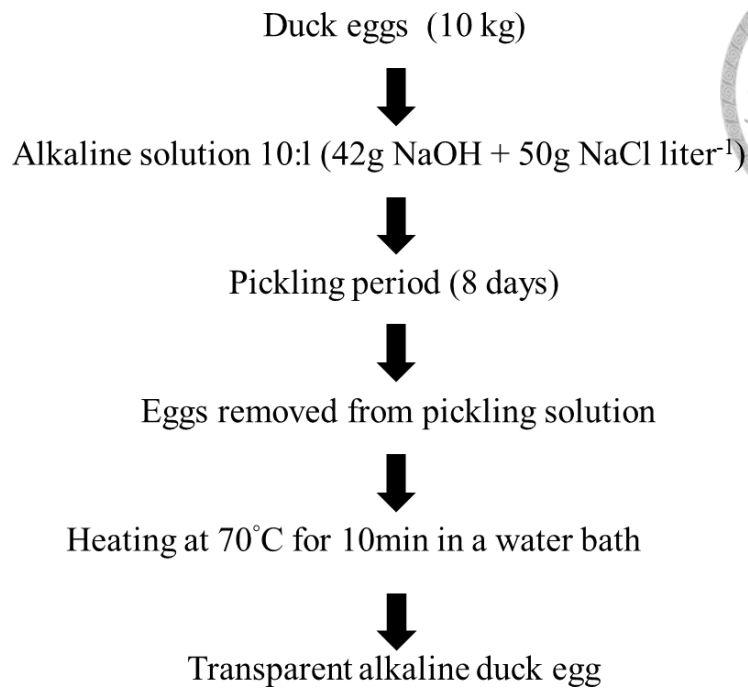
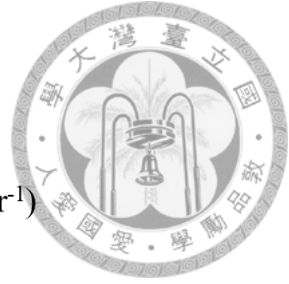


圖 2-12、改良皮蛋之製程。

Figure 2-12. The improved process of preserved eggs.

(Su & Lin, 1993)

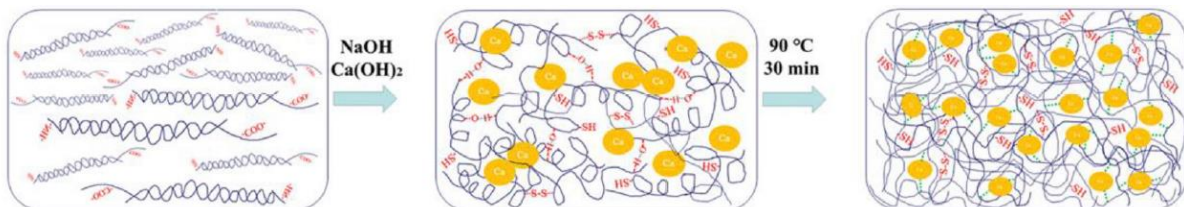


圖 2-13、加熱對於鹼性蛋白凝膠之影響。

Figure 2-13. Effect of heating on alkali-induced egg white gel.



八、乳化型肉製品(emulsified meat product)

(一) 乳化(emulsion)

乳化是指一相(phase)液體以微小液滴(droplet)狀態分散於另一相液體中形成的非均相液體分散體系。常見的乳化為懸浮在水或水相中的油(O/W)或懸浮在油中的水(W/O)。但也可能為更複雜的系統，例如油中水包油(O/W/O)。以常見的食物舉例說明：冰淇淋是一種油和空氣中的水乳化液，並帶有固體冰粒；美乃滋是以蛋黃為原料的水包油乳化液(Depree & Savage, 2001)；熱狗是一種其原料經過乳化後製成的乳化型肉製品。乳化能夠增加肉品之保水性、優化產品質地並提高穩定性，肉製品的保水能力決定了視覺上的可接受性(acceptability)、失重(weight loss)、蒸煮產量(cook yield)以及食用時的感官特性。而在增進乳化效果的添加物部分，鹽(salt)、磷酸鹽(phosphate)、右旋糖(dextrose)和黏合劑(binder)常用於乳化產品中。另外大豆蛋白(soy protein)、修飾澱粉(modified starch)、鹿角菜膠(carrageenan)、酪蛋白鈉(sodium caseinate)、乳清蛋白(whey protein)和纖維(fiber)均可與水或脂肪結合，從而增強了乳化的穩定性。目前關於乳化型肉製品的科學基礎已經確立，但為了食品安全、減少脂肪和開發低鈉產品，配料技術和產品開發需要繼續進行。

(二) 鹽溶性蛋白質(salt-soluble protein)

肌肉中的鹽溶性蛋白質為肌動蛋白(actin)和肌動凝蛋白(actomyosin)，鹽溶性蛋白質為乳化型肉製品中主要的乳化劑(emulsifier)，須用較高濃度的食鹽溶液（0.5-0.6M）才可溶出，其原理為提高溶液中的離子濃度，使得鹽溶性蛋白質的溶解度增加，並且會隨著鹽濃度上升而增加。但是當蛋白質 pH 值小於 5.5 時，會使彼此間產生疏水交互作用，進而凝集降低溶解度性而法抽出，因此需添加聚合磷酸鹽來提高 pH 值，使蛋白質上帶正電或負電的官能基受到鹽離子遮蔽以利溶出鹽溶性蛋白質來促進乳化效果(Collins, 2004)。



(三) 脂肪(fat)

脂肪的穩定性在肉漿和相關加工肉製品的生產中非常重要(&ersson et al., 2000)，脂肪可透過乳化程序所形成之界面蛋白膜使其穩定，或將其物理性固定在肉的蛋白質基質中(Acton & Dick, 1984)。脂肪可穩定乳化型肉製品中溶解的蛋白質凝膠網狀，並有助於提升肉質、香氣、味道和質地(Pearson & Gillett, 1999)。脂肪還可以充當填充物，防止烹飪過程中蛋白質的收縮，Feiner (2006)也指出脂肪的流變特性有助於乳化型肉製品的結構穩定性，在儲存過程中具有更大的穩定性(Hughes et al. 1997)。較高的脂肪含量會使乳化型肉製品的乳化程度較高，且質地更堅實；降低脂肪含量則會使烹煮損失提高(Youssef & Barbut, 2011)。脂肪乳化與溫度有關，乳化能力隨溫度升高而快速降低；一般肉漿的乳化溫度不可超過 15°C，因此乳化過程須全程控溫。

(四) 現有之乳化型肉製品

現有乳化型肉製品包括法蘭克福香腸(franks), 波羅納香腸(Bologna sausage), 雞塊(chicken nugget), 魚漿(surimi), 貢丸(minced pork ball)以及其他鹽溶性、兩親的(amphiphilic)蛋白質可乳化脂質的產品。以下將針對國內常見之乳化肉製品進行探討。貢丸為以畜肉、禽肉或畜肉混合禽肉為原料，經細碎成漿(乳化)後，成型、煮熟至中心溫度達 72°C 以上、冷卻、包裝等過程而製成者(本研究將肉漿填充至腸衣製成熟狗)。貢丸製作原理為將瘦肉加鹽與磷酸鹽，將鹽溶性蛋白抽出作為乳化劑，包覆在肉中不互溶的脂肪和水分表面，將水和脂肪連接，形成一種安定的乳化肉漿，再經加熱使蛋白質變性定型，製成熟不可逆具彈性的安定乳化物。貢丸屬於油在水中之乳化系統(O/W)，其品質受原料肉、溫度、pH 及加工方法影響很大。



九、影響肉製品保水性(water holding capacity)之因子

(一) pH 值對肉製品保水性之影響

肉品的保水性與肉中固定水增減有密切關係，並受到肌凝蛋白、肌動蛋白及肌原纖維蛋白的含量與排列方式影響。肉的 pH 值接近蛋白質的等電點時，保水性最差；而一般生鮮肉品的 pH 值約在 5.5 左右，由於肌肉蛋白質之等電點約在 pH 5.5，蛋白質間的淨電荷為 0，因此無法吸引固定水而降低蛋白質間的排斥力，使肉品保水力降低(Castro-Giráldez et al., 2010)。當蛋白質的正電荷或負電荷增加時，會透過同性電荷相斥的關係使肌肉蛋白質分子間距離也增加，且容納水分子的空間也相對增加，使肉品的保水力大幅增加。另外肉品的保水性會隨著離子強度與 pH 值的提升而增加，然而離子強度到達 0.6 以及肉品 pH 值大於 6.0，其保水力就不會有顯著提升(Trout & Schmidt, 1983)。

(二) 加熱處理對保水性的影響

熱處理在肉品加工方面扮演重要角色，可使製品產生特有的風味和色澤，同時加熱過程本身又是一個殺菌過程，是延長肉品保存期限的重要手段(向, 2008)。肉品加熱後由於蛋白質變性與肌肉纖維緊縮而釋放出大量水分，導致肉的保水性降低。肌肉蛋白質由於溫度上升產生各種變化可歸納如下：20-30°C，肉的保水性和硬度等不發生明顯變化，當溫度上升至 30-40°C 時，保水性開始緩慢降低；到 30-35°C 時，肌肉蛋白開始變性凝固，使肉品硬度增加；加熱至 40-50°C 時，保水性會急劇降低，硬度也隨溫度上升而急劇增加；在 50-55°C 溫度範圍，肉的保水性、硬度和 pH 值暫時停止變化；當肉的達到中心溫度 70°C 時，肉的保水性也會下降至 65% 左右，當達到 90°C 時，肉的保水性則會降至 60% 左右。除了加熱溫度變化之外，加熱時間也很重要，在同樣溫度加熱時間越久，蛋白質變性程度越大，肉的保水性越差(Devine & Dikeman, 2014)。



(三) 磷酸鹽對肉製品保水性之影響

鹼性磷酸鹽類可以有效提升肉製品之保水性、色澤、抑制脂質氧化酸敗並增進風味，亦可提高 pH 值而溶出鹽溶性蛋白質。由於肌纖維膨潤(*swelling*)使蛋白質之間有較大空間容納水分與提高保水性。磷酸鹽類的功能為與二價陽離子結合，可促使蛋白質陰離子與水分子結合，進一步提高 pH 值並增加肌動凝蛋白解離為肌動蛋白和肌凝蛋白。在肉品加工中經常使用三聚磷酸鈉(*sodium tripolyphosphate*)、焦磷酸二鈉 (*disodium pyrophosphate*)，焦磷酸四鈉 (*tetrasodium pyrophosphate*) (Jastrzębska, 2006)。

(四) 食鹽對肉製品保水性之影響

食鹽為肉類加工品經常使用之添加物，一般肉製品會添加食鹽約 2-4%。肉品加入食鹽後配合乳化機或細切機作用等加工方式可增進鹽溶性蛋白的萃取，蛋白質上的親水性基團與自由水形成結合水進而增加保水性、提高產品之保水性、乳化安定性與製成率(Rhee & Ziprin, 2001)。原理與磷酸鹽相似，可藉由鹽類的添加使肌纖維間膨潤，增加容納水分子的空間，進而增加產品的保水性。另外氯離子(*chloride*, *Cl⁻*)和蛋白質間的交互作用亦會影響保水性。肉品 pH 值高於等電點時大部分蛋白質帶負電荷且氯離子會中和胺基的正電荷，導致提高蛋白質對水分子的吸引力而增加保水性；而當肉品 pH 值小於等電點時蛋白質帶正電荷，氯離子會中和正電荷，減少蛋白質對水分子的吸引力而降低保水性(Sams, 2001)。



十、磷酸鹽替代物應用於乳化型肉製品之探討

開發減少磷酸鹽添加的乳化型肉製品在肉品加工中具有重要的意義。近期健康意識隨著社會經濟、科學技術及生活水平提高，人們漸漸開始尋求更健康的產品。因此學者開發出許多磷酸鹽類替代物並應用於乳化型肉製品。目前大多數的磷酸鹽替代物多為植物萃取物和天然鈣粉如菊芋粉(jerusalem artichoke powder)及柑橘纖維(citrus fiber)、蛋殼粉(egg shell)和牡蠣殼粉(egg shell powder)等(Jeong, 2018; Öztürk & Serdaroglu, 2018; Powell et al., 2019)。

(一) 磷酸鹽類替代物對於乳化肉漿之 pH 值、水分含量與保水力之影響

由於 pH 值的提升有助於增加肉之保水性(Offer & Trinick, 1983)，因此目前大部分研究多利用將鹼性之食品添加物如蛋殼粉或牡蠣殼粉來取代磷酸鹽。(Cho et al., 2017) 研究証實蛋殼粉的添加能顯著提升肉製品之 pH 值與水分(moisture)，並可以顯著減少磷酸鹽添加到乳化肉製品中的量，同時使產品的烹煮損失降低至最小。然而並非所有能提高肉品之 pH 值之添加物均能增加保水性；能夠提升保水性之添加物也並非都會改變肉品之 pH 值。例如瓜爾膠(guar gum)與鹿角菜膠(carrageenan)已被證實可以替代磷酸鹽類，卻無法增加肉品之 pH 值(Park et al., 2008)。這些添加物與磷酸鹽類作用的機制也截然不同，雖然能夠提升肉製品的保水性，但是對於產品的流變性及質地也會產生影響，以下將進一步討論。

(二) 磷酸鹽類替代物對於乳化肉漿流變性之影響

流變學是評估肉製品質量有效的工具，因為它可以呈現肉製品的結構狀態，幫助控制食品中的化合物之交互作用，已獲得期望的質地(Kim & Park, 2000)。流變學通常用於測量從 20-80°C 的溫度範圍內的凝膠形成和相轉移(phase transition)。另外，肉漿之流變性質與其保水能力具有關聯，增加肉製品的保水能力，能夠提升其流動相之穩定性。現今許多肉製品中會添加鹿角菜膠等磷酸鹽替代物，其保水性

與流變性質如剪切應變(shear strain)、剪應力(shear stress)均能有效提升(Foegeding & Ramsey, 1987)。



(三) 磷酸鹽類替代物對於乳化型肉製品質地特性之影響

從上述研究得知，磷酸鹽結合鹼性蛋白凝膠能夠提升肉漿之乳化性、pH 值以及肉漿之黏度特性，因此更進一步探討磷酸鹽及鹼性凝膠對於乳化型肉製品質地特性影響。一般來說硬度與肉製品的水分含量高度相關，水分含量越高，肉的質地越柔軟(Casco et al., 2013; Nuñez de Gonzalez et al., 2008)。Cho 等人(2017)指出，磷酸鹽類替代添加物雖然能夠提升產品的保水力，但也會影響產品的質地。添加磷酸鹽類替代物(牡蠣殼粉與蛋殼粉混合物)研究進行質地分析(texture profile analysis; TPA)，結果顯示其硬度(hardness)、黏著性(cohesiveness)、膠性(gumminess)、咀嚼性(chewiness)和彈性(Springiness)都微略降低(Jeong, 2018)。因此為了解決以上這些問題，磷酸鹽類替代物的開發需要進一步研究。

參、材料與方法



一、實驗流程

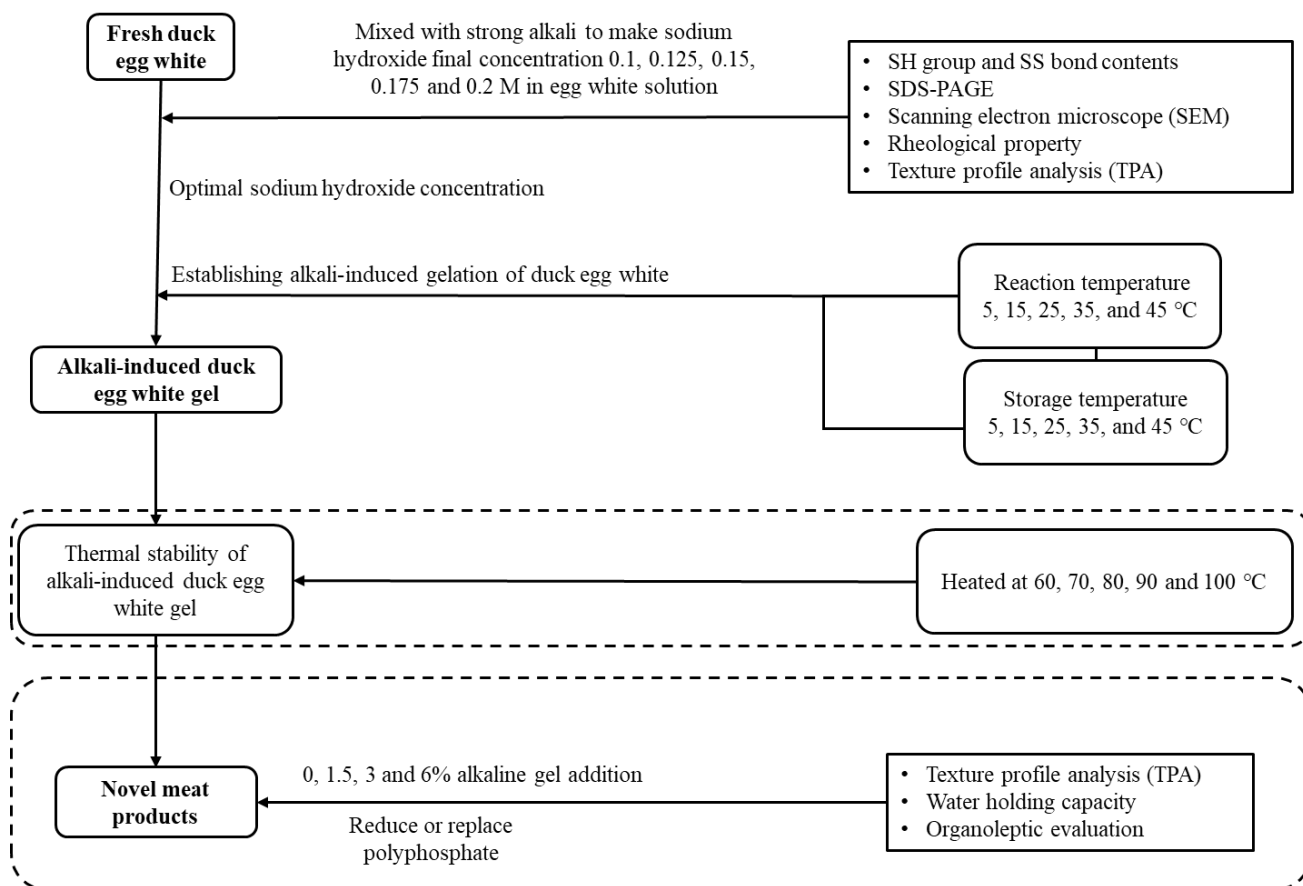


圖 3-1、實驗流程。

Figure 3-1. The experimental flow chart.



二、實驗材料

褐色菜鴨鴨蛋，購自廣大利蛋品股份有限公司(Kindly eggs, Co., Ltd., Pingtung, Taiwan)在室溫保存並在一個星期之內使用，於試驗當天將蛋白分離備用，氫氧化鈉(sodium hydroxide, caustic soda flakes)購自台灣塑膠工業股份有限公司(Formosa Plastics Corpor., Taipei, Taiwan)，以蒸餾水製造機(Distilled water making machines, A4SL, Lotun Technic Co., Xizhi, Taiwan)取去離子水配製成不同濃度之氫氧化鈉溶液。在製作乳化型肉製品部分，豬後腿肉與豬脂肪購自香里食品企業股份有限公司(Shanglee food, Co., Ltd., Nantou, Taiwan)，鹽料為聚合磷酸鹽(sodium polyphosphate/sodium pyrophosphate, Chien-yuan Inc., Taipei, Taiwan)與氯化鈉(sodium chloride, Apollo Chemical Corp., Opelika, AL, USA)。

三、鴨蛋蛋白鹼性凝膠穩定性之條件建立

本研究以褐色菜鴨鴨蛋的分離蛋白為原料，與不同濃度的氫氧化鈉溶液製成鹼性蛋白凝膠，製作過程參考並修改自 Ai et al. (2020)、Chen et al. (2015)及 Zhang et al. (2015) 之研究，根據不同試驗會改變樣本體積以便試驗進行，而鴨蛋白液與氫氧化鈉溶液之比例皆相同。

(一) 分離鴨蛋白鹼性凝膠製備

選擇重量 65-75g 之新鮮鴨蛋，將蛋黃移除後取 20 mL 分離鴨蛋白與 5 mL 氫氧化鈉溶液置於樣品瓶(Screw Vials, SV-50A, Nichiden-Rika glass Co., Ltd., Japan)中，利用電子式電動攪拌機(Electronic Overhead Stirrers, Hei-TORQUE Core, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Germany)以 300 rpm 攪拌 30 秒使其均勻混合，製成含不同濃度氫氧化鈉之鴨蛋白鹼性凝膠，後續搭配不同反應溫度處理並進行各項試驗。

(二) 鴨蛋白鹼性凝膠之穩定性條件試驗

Zhao et al. (2014)指出強鹼為影響鹼性蛋白凝膠安定性之最重要因子，氫氧化鈉的濃度會影響分離鴨蛋白的凝膠速度與膠體穩定性，因此需先確立最適當的氫氧化鈉濃度，並以此濃度作為後續試驗的基準。首先將分離鴨蛋白與氫氧化鈉溶液

混合後使氫氧化鈉在整個鴨蛋白液中的濃度為 0.1 M、0.125 M、0.15 M、0.175 M 及 0.2 M 並測定鴨蛋白凝膠前與凝膠後之各項物化特性。選定最佳氫氧化鈉濃度後於 5°C、15°C、25°C、35°C、與 45°C 之反應溫度將鴨蛋白製成凝膠，同樣測定鴨蛋白凝膠前與凝膠後之各項物化特性，評估最佳氫氧化鈉濃度與溫度條件，以快速製備出穩定且具彈性之膠體。

(三) 凝膠過程黏度變化分析

目前研究並無定義鴨蛋白由液態轉變成固態凝膠關鍵點，本試驗利用黏度計 (RST-CPS Rheometer, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA, USA) 測定鴨蛋白液在凝膠前的黏度變化，並將鴨蛋白液之黏度達 2 Pa·s 作為本研究凝膠化定義，選用 RPT-75 之平板/平板型夾具(plate/plate geometry)，設置間隙為 1 mm，將 20 mL 鴨蛋白液與 5 mL 氫氧化鈉溶液以電子式電動攪拌機充分混合 30 秒後立刻取 5 mL 之樣本置於測試平台上，於剪切率 100 s⁻¹ 進行樣本之黏度變化測定，在 25°C 下每 10 秒觀察並記錄 0.1 M、0.125 M、0.15 M、0.175 M 及 0.2 M 之鴨蛋白液黏度值，後續氫氧化鈉濃度選定後，再測定反應溫度為 5°C、15°C、25°C、35°C 與 45°C，以黏度變化評估鴨蛋白液之凝膠時間。

(四) 凝膠過程流變性分析

參考並修改自 Ai et al. (2020) 之方法，鴨蛋白液之流變性分析利用流變儀 (Rheometer AR2000ex, TA Instruments, USA)，測定不同溫度對於樣本之彈性模數 (elastic modulus) 與黏性模數 (viscous modulus) 之影響。將 20 mL 鴨蛋白液與 5 mL 氫氧化鈉溶液以電子式電動攪拌機充分混合 30 秒後，立刻取適量樣本置於測試平台上，應變設定 (Strain) 為 1%，掃描頻率 (Frequency) 為 1 Hz，測試時間為 900 秒，每 30 秒記錄一次數據並控制測定環境溫度。

(五) 鴨蛋白鹼性凝膠之膠體強度 (bloom strength) 測定

利用 TA.XT plus 質地分析儀 (Texture analyser, TA.XT plus, Stable micro system Ltd., Godalming, Surrey, UK)，裝置 5 kg 之測力器，選用 P/0.5 探頭，將鴨蛋白液與氫氧化鈉溶液以體積 4:1 之比例於樣品瓶中充分混合 30 秒後，對 0.15 M、0.175 M

與 0.2 M 之鴨蛋白液凝膠後的第 0、0.5、1.0、1.5、2.0 與 3.0 小時進行膠體強度測試。後續氫氧化鈉濃度選定 0.15 M 後，再控制測定環境溫度為 5°C、15°C、25°C、35°C、與 45°C，於鴨蛋白液凝膠後的第 0、0.5、1.0、1.5、2.0 與 3.0 小時進行膠體強度測試來評估膠體穩定性，(表 3-1)為試驗各項參數。



表 3-1、質地分析測定參數設置

Table 3-1 Measuring conditions of texture profile analysis

Caption	Value	Units
Test Mode	Compression	
Pre-Test Speed	1.5	mm/sec
Test Speed	1.0	mm/sec
Post-Test speed	1.0	mm/sec
Target Mode	Distance	
Distance	15.0	mm
Target Force	5.0	g



(六) 掃描式電子顯微鏡觀察

將樣品瓶中的鴨蛋白鹼性凝膠取出，以刀片切成厚度約 2 mm 之正方形樣本，浸泡在蛋白質固定液(2.5% glutaraldehyde 之 0.1 M PBS 溶液)並於震盪器(LWA 2100-A, Diyrtrade Inc., Hsijchih. Taiwan)上放置隔夜。將蛋白質固定液吸出後以 0.1 M PBS 沖洗 3 次，每次 10 分鐘。接著將固定完成之樣本 PBS 置換成 35%乙醇(ethanol, Sigma-Aldrich Co., LLC., St. Louis, MO, USA)，靜置於室溫 10 分鐘並重複二次，後續將 35%乙醇依序換成 50%、60%、70%、85%、90%、95%乙醇，每次置換皆於室溫靜置 10 分鐘，最後換成 100%乙醇，於室溫靜置 10 分鐘重複三次。乙醇脫水完成後將樣本移入臨界點乾燥機(Samdri® -PVT-3B, Tousimis Co., Inc., Rockville, MD, USA)進行臨界點乾燥，乾燥完成後再以金屬覆膜機(Iron spotter, SPI, USA)進行金屬覆膜。上述步驟完成後即可掃描式電子顯微鏡(JSM 6510 LV, JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japan)觀察和拍照。

(七) 硫醇基與雙硫鍵含量測定

硫醇-雙硫交換在膠體結構中扮演相當重要的角色，雙硫鍵為維持膠體結構之重要作用力(Zhao et al., 2009)，因此測定硫醇基與雙硫鍵的含量有助於了解鴨蛋白在凝膠過程的變化。本研究測定硫醇基與雙硫鍵的方法參考並修改自 Yarnpakdee et al. (2009)與 Ai et al. (2020)。首先將 0.5 g 的鴨蛋白凝膠與 4.5 mL 之 PBS 溶液以均質機(Polytron, PT-2100, VWR International LLC., Radnor, PA, USA)處理 40 秒後，再使用離心機(Centrifuge, 3700, Kubota Co., Osaka, Japan)以 10000 rpm 離心 15 分鐘並取其上清液。上清液中的蛋白質含量利用 Bradford 法測定。在測定游離硫醇基的部分，取 0.1 mL 上清液與 1.4 mL Tris-Gly buffer (pH 8.0 containing 0.089 mol/L Tris, 0.09 mol/L glycine, 0.004 mol/L EDTA and 8 mol/L urea)混合後加入 0.02 mL Ellman's reagent (5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoic Acid), DTNB, Alfa aesar, MA, USA)，在 40°C 恆溫水浴槽(Circulators water baths, GDB160, Genepure Technology Co., Ltd., Taichung, Taiwan)反應 15 分鐘後取 0.2 mL 移至 96 孔分析盤中，以 ELISA Reader (Hybrid Reader, Synergy H1, Biotek Inc., Winooski, VT, USA)測量 412 nm 之吸光值。在總硫醇基含量測定的部分，首先取 0.02 mL 上清液與 0.28 mL Tris-Gly buffer (pH 8.0 contains 1.5 mg/mL of β -Me, 0.5% SDS and 8 mol/L urea)混合後於 40°C 水浴反應

60 分鐘，再加入 1 mL 之 12% (w/v)三氯乙酸(TCA, Trichloroacetic acid, J. T. Baker Inc.,Dallas, PA, USA) 反應 60 分鐘，之後再以 4000 g 離心 10 分鐘並收集沉澱之蛋白質，接著使用 12%(w/v) TCA 沖洗三次，最後將沉澱物溶解於 1 mL Tris-Gly buffer (pH 8.0 containing 0.089 mol/L Tris, 0.09 mol/L glycine, 0.004 mol/L EDTA and 8 mol/L urea)後取 0.8 mL 溶液並加入 4 μ L 之 Ellman's reagent，於 40 $^{\circ}$ C 水浴反應 15 分鐘後取 0.2 mL 移至 96 孔分析盤中，測量 412 nm 之吸光值。空白組使用 Tris-Gly buffer，以上試驗每個樣本皆進行三重複，吸光係數為 13,600 M⁻¹cm⁻¹。游離硫醇基 (free thiol group)、總硫醇基(total thiol group)與雙硫鍵(disulfide bond)的含量計算如下：

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

$$SS(\mu\text{mol/g protien}) = (SH_T - SH_F)/2$$


其中 A_{412} 為樣品在 412 nm 之吸光值，C 為蛋白質濃度 mg/mL，D 為樣品稀釋倍數， SH_F 為游離硫醇基含量， SH_T 為總硫醇基含量。

(八) 蛋白質定量

修改自 Bradford (1976) 之方法，使用蛋白質分析套組 (Bio-Rad Protein Assay Kit, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 測定蛋白質濃度，標準品為牛血清蛋白 (bovine serum albumin, BSA, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA) 以去離子水稀釋製備，將濃度 200 mg/mL 之牛血清蛋白標準品稀釋為 1 mg/mL、0.8 mg/mL、0.6 mg/mL、0.4 mg/mL、0.2 mg/mL 及 0.1 mg/mL 等 6 個不同濃度之蛋白質標準液以繪製標準曲線。Bio-Rad Dye Reagent 與去離子水以 1:4 稀釋後，取 500 μ L 與 10 μ L 樣本混合均勻，並置於冰上反應五分鐘。最後取 200 μ L 加入 96 孔分析盤中，測量 595 nm 之吸光值，利用標準曲線計算樣本之蛋白質濃度，每個樣本重複 3 次。

(九) 聚丙烯醯胺電泳法 (sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis ; SDS-PAGE) 分析

本研究使用 Bio-Rad SDS-PAGE analysis，原理為將蛋白質溶液與 SDS (十二烷



基硫酸鈉)混合後，由於 SDS 為界面活性劑，會破壞蛋白質的二級結構使其變性，並包覆變性蛋白質，使其帶有負電荷並展開為長條形。聚丙烯醯胺凝膠中的丙烯醯胺透過橋架分子形成聚合，當施加電壓時，由於蛋白質外包裹著 SDS，使蛋白質由負極向正極遷移，並以聚丙烯醯胺(polyacrylamide)形成的網狀膠體結構，分離不同分子量大小的蛋白質。本試驗所配置的焦集膠體(stacking gel)濃度為 5%，分離膠體(separating gel, running gel)濃度為 10% 配方於(表 3-2)。取 0.5 g 鹼性蛋白質樣品與 4.5 mL 之 PBS 溶液均質 40 秒後，在 4°C 以 10000 ×g 離心 15 分鐘並取其上清液即為電泳之蛋白質樣本。將 20 μL 蛋白質樣本與 4 μL sample loading buffer (100 mM Tris-HCl, pH 6.8, 4% SDS, 20% glycerol, 10% b-ME, and 0.2% bromophenol blue)混合後置於微量離心管，移至恆溫水浴槽中以 95°C 水浴處理 10 分鐘。在迷你電泳槽(Bio-Rad Laboratories Informatics Division, Philadelphia, PA, USA)與膠片之間加入適量電泳緩衝液(Running buffer，配方於表 3-3)，並依序注入 10 μL 蛋白質樣本與 5 μL 標記物(protein ladder, Genedirex, Inc., USA)至膠片上方，以電壓 80V 進行 30 分鐘電泳使蛋白質移動至上與下層膠片之交接處後，將電壓調整為 120V 以加速蛋白質電泳速度再進行 90 分鐘電泳直到標記物到達膠片底部。將取出膠片後以 Coomassie Brilliant Blue G-250 (Sigma-Aldrich Co., LLC., St. Louis, MO, USA)(配方於表 3-4)進行染色，30 分鐘後將染劑倒出並將膠片以 10% 醋酸(Sigma-Aldrich Co., LLC., St. Louis, MO, USA)進行退染，3 小時後取出膠片拍照記錄。



表 3-2、聚焦膠體與分離膠體配方

Table 3-2 Formula of stacking gel and running gel

	SDS-PAGE	
Percentage	10%	5%
Components (mL)		
Distilled H ₂ O	11.900	6.800
30% Acrylamide mix	10.000	1.700
1.5 M Tris (pH 8.8)	7.500	-
1.0 M Tris (pH 6.8)	-	1.250
10% SDS	0.300	0.100
10% Ammonium persulfate	0.300	0.100
Tetramethylethylenediamine (TEMED)	0.012	0.010
Total volume (mL)	30.000	10.000

表 3-3、Running buffer 配方

Table 3-3 Formula of running buffer

10X SDS running buffer (1L)	
Tris-base	30.3 g
Glycine	144 g
SDS	10 g
Dilute to 1L	

表 3-4、膠片染劑配方

Table 3-4 Formula of gel dye

Gel dye	
Coomassie brilliant blue G-250	0.6 g
10 % acetic acid	100 mL
Distilled H ₂ O	900 mL



四、鴨蛋白鹼性凝膠之熱安定性之評估

本研究期能將鴨蛋白鹼性凝膠應用至可加熱食品如皮蛋瘦肉粥等食品，以增加其多元利用性，因此需評估膠體之熱安定性。將上述試驗所製備之穩定膠體放入恆溫水浴槽中加熱 10 分鐘，藉此模擬膠體經烹調溫度處理後，對於其穩定性之影響。

(一) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之膠體強度測定

將鹼性蛋白凝膠移至 5°C 冰箱保存 24 小時後取出，放入恆溫水浴槽中以 60、70、80、90 與 100°C 加熱 10 分鐘後取出，待其冷卻後利用 TA.XT plus 物性測定儀，裝置 5 kg 之測力器，選用 P/0.5 探頭，各項參數設置與上述試驗相同，測定加熱後凝膠之膠體強度。

(二) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之雙硫鍵含量測定

將鹼性蛋白凝膠放入恆溫水浴槽中以 60、70、80、90 與 100°C 加熱 10 分鐘後，取 0.5 g 的鴨蛋白凝膠與 4.5 mL 之 PBS 溶液均質 40 秒以 10000 ×g 離心 15 分鐘並取其上清液。上清液中的蛋白質含量利用 Bradford 法測定，取 0.02 mL 上清液與 0.28 mL Tris-Gly buffer (pH 8.0 contains 1.5 mg/mL of β-Me, 0.5% SDS and 8 mol/L urea) 混合後於 40°C 水浴反應 60 分鐘，再加入 1 mL 之 12% (w/v) 三氯乙酸 (TCA, Trichloroacetic acid, J. T. Baker Inc., Dallas, PA, USA) 反應 60 分鐘，之後再以 4000×g 離心 10 分鐘並收集沉澱之蛋白質，接著使用 12%(w/v) TCA 沖洗三次，最後將沉澱物溶解於 1 mL Tris-Gly buffer (pH 8.0 containing 0.089 mol/L Tris, 0.09 mol/L glycine, 0.004 mol/L EDTA and 8 mol/L urea) 後取 0.8 mL 溶液並加入 4 μL Ellman's reagent，於 40°C 水浴反應 15 分鐘後取 0.2 mL 移至 96 孔分析盤中，測量 412 nm 之吸光值。空白組使用 Tris-Gly buffer，以上試驗每個樣本皆進行三重複，吸光係數為 13,600 M⁻¹cm⁻¹。游離硫醇基 (free thiol group)、總硫醇基 (total thiol group) 與雙硫鍵 (disulfide bond) 的含量計算如下：

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



$$SS(\mu\text{mol/g protien}) = (SH_T - SH_F)/2$$

其中 A_{412} 為樣品在 412 nm 之吸光值， C 為蛋白質濃度 mg/mL， D 為樣品稀釋倍數， SH_F 為游離硫醇基含量， SH_T 為總硫醇基含量。

(三) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之游離鹼度測定

此部分試驗目的為測定鴨蛋白鹼性凝膠經加熱後釋放出之鹼性物質，並與市售皮蛋蛋白進行比較，以此來評估其熱安定性。修改 Ai et al. (2020) 之方法，將 25 mL 去離子水加入裝有 30 g 膠體之樣品瓶中，移至恆溫水浴槽中以 60、70、80、90 與 100°C 加熱 10 分鐘後，將樣品瓶中取出 25 mL 樣本液，利用酸鹼度計 (Multi-channel analyser C833, Consort, Turnhout, Provincie Antwerpen, België)、以 0.1 M 鹽酸滴定樣本溶液至 pH 7.0，記錄消耗之鹽酸體積並由下方公式計算游離鹼度， C 為鹽酸之濃度 (mol/L)， V 為滴定樣本所消耗之鹽酸體積 (mL)，40 為 1 mL 之 1 mol/L 鹽酸所消耗氫氧化鈉分子量，轉換係數為 100， m 為樣本之重量 (g)。

$$\text{Free alkalinity (mg/100g)} = C \times V \times 40 \times 100/m$$

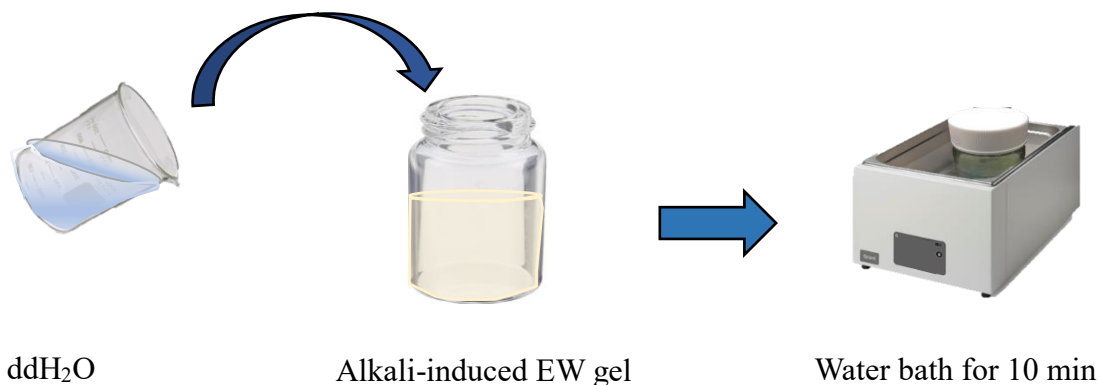


圖 3-2、游離鹼度測定之示意圖。

Fig 3-2. Schematic diagram of determination of free alkalinity.



(四) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之色澤測定

加熱處理對於鴨蛋白鹼性凝膠之外觀及色澤有很大影響，因此本試驗利用色澤分析儀(Color checker, NR-11, Nippon Denshoku, Bunkyo, Tokyo, Japan) 量化樣本的色澤表現，其原理為使用儀器內部的標準光源照明測定反射光或透射光之光電積分。可直接測得物體色的三刺激值 X、Y、Z 和色度座標 x、y、z 及三維直角座標系統的座標值 L*、a*、b*和總色差 ΔE 。L*、a*、b*是指將色彩數據化，其中 L*代表亮度，a*代表紅色度，b*代表黃色，另外白色度(Whiteness) 可依下方公式計算得到。

$$\text{Whiteness} = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

將製備完成之分離鴨蛋白鹼性凝膠移至 5°C 冰箱保存 24 小時取出，放入恆溫水浴槽中以 60、70、80、90 與 100°C 加熱 10 分鐘待其冷卻後，將膠體取出後以刀片裁切成厚度 1 cm 之圓柱體，利用色澤分析儀經過白色與黑色校正後直接測量膠體表面。

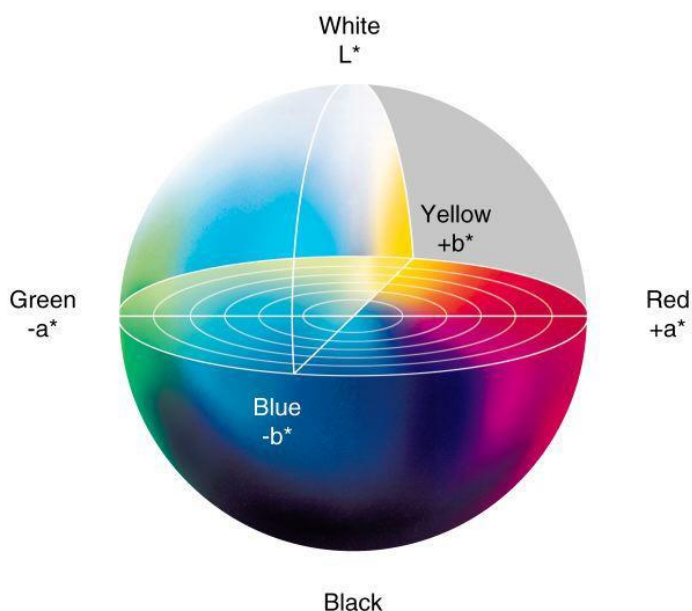
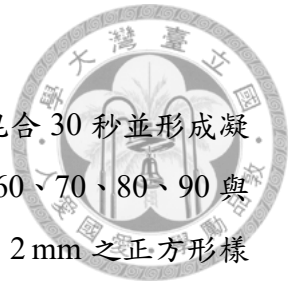


圖 3-3、色澤分析之 CIE 系統。

Figure 3-3. The CIELAB color space.

(五) 加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之顯微構造

將 20 mL 鴨蛋白液與 5 mL 氫氧化鈉溶液於樣品瓶中充分混合 30 秒並形成凝膠後，移至 5°C 冰箱保存 24 小時後取出，放入恆溫水浴槽中以 60、70、80、90 與 100°C 加熱 10 分鐘後取出，待其冷卻後將凝膠以刀片切成厚度約 2 mm 之正方形樣本，浸泡在蛋白質固定液(2.5% glutaraldehyde 之 0.1 M PBS 溶液) 並放置於震盪器隔夜。將蛋白質固定液吸出後以 0.1 M PBS 沖洗 3 次，每次 10 分鐘。接著將固定完成之樣本 PBS 置換成 35% 乙醇(ethanol, Sigma-Aldrich Co., LLC., St. Louis, MO, USA)，靜置於室溫 10 分鐘重複二次，後續將 35% 乙醇依序換成 50%、60%、70%、85%、90%、95% 乙醇，每次置換皆於室溫靜置 10 分鐘，最後換成 100% 乙醇，於室溫靜置 10 分鐘重複三次。脫水完成後將樣本移入臨界點乾燥機(Samdri®-PVT-3B, Tousimis Co., Inc., Rockville, MD, USA) 進行臨界點乾燥，乾燥完成後再以金屬覆膜機(Iron spotter, SPI, USA) 進行金屬覆膜。上述步驟完成後即可掃描式電子顯微鏡(JSM 6510 LV, JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japan)觀察和拍照。





五、鴨蛋白鹼性凝膠應用製乳化型肉製品之評估

先前研究證實，增加肉之 pH 值可提升產品結著性，由於鴨蛋白鹼性凝膠本身水合效果佳且具較高 pH 值，因此本研究嘗試於乳化型肉製品製作過程中添加不同含量鴨蛋白鹼性凝膠，評估是否能取代磷酸鹽以提高產品保水性及乳化性並建立此新型態乳化型肉製品之製程，試驗如圖 3-4 所示，配方為表 3-5。先將冷凍後腿肉解凍至 -5°C ，放入細切機以低速攪打約 10 秒後加入鹽料及冷凍豬肚油，再以低速攪打 2 分鐘後(處理組在此時加入保存於 4°C 環境之 0.15M 鹼性凝膠)，加入糖、胡椒粉及大蒜粉等調味料並轉換成高速攪打 3 分鐘，使其乳化完全成肉漿後即可填充進纖維素剝皮熱狗腸衣(VISKASE NOJAX, Viskase® Companies Inc., IL, USA)。製作完成之熱狗以恆溫水浴槽 80°C 煮 15 分鐘後撈起，待冷卻至室溫後切成厚度 1 cm 之圓柱體，後續分析乳化肉漿與成品質地、保水性、流變性及色澤等物化特性以評估取代磷酸鹽添加之可行性。

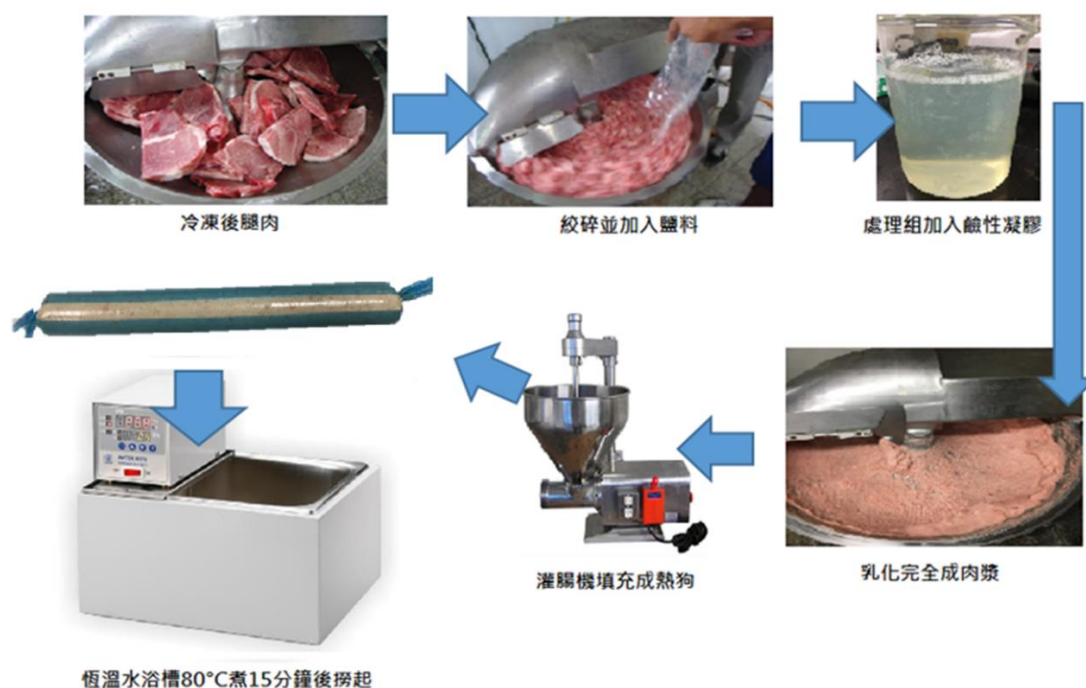
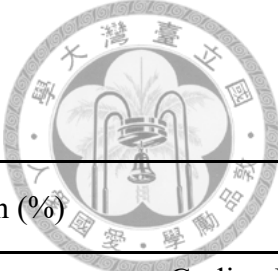


圖 3-4、乳化型肉製品(熱狗)之製作流程。

Figure 3-4. Process diagram for emulsified meat product (hot dog).

表 3-5、本試驗乳化型肉製品之配方

Table 3-5 Formulations of emulsified meat products



Raw material level in the formulation (%)									
Group	EW gel	Polyphosphate	SiO ₂	Pork	Lard	Salt	Sugar	Garlic powder	Pepper powder
CON	0	0.2	0	72	24	1.3	2	0.2	0.2
A ⁰	0	0	0	72	24	1.3	2	0.2	0.2
A ^{1.5}	1.5	0	0.2	72	24	1.3	2	0.2	0.2
A ³	3	0	0.2	72	24	1.3	2	0.2	0.2
A ⁶	6	0	0.2	72	24	1.3	2	0.2	0.2
B ^{1.5}	1.5	0.1	0.1	72	24	1.3	2	0.2	0.2
B ³	3	0.1	0.1	72	24	1.3	2	0.2	0.2
B ⁶	6	0.1	0.1	72	24	1.3	2	0.2	0.2
C ^{1.5}	1.5	0.2	0	72	24	1.3	2	0.2	0.2
C ³	3	0.2	0	72	24	1.3	2	0.2	0.2
C ⁶	6	0.2	0	72	24	1.3	2	0.2	0.2

*Group A: without polyphosphate; Group B: with 0.1% polyphosphate; Group C: with 0.2% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced EW gel content (%).



(一) 添加鴨蛋白鹼性凝膠之肉漿黏度分析

利用黏度計(RST-CPS Rheometer, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA, USA) 測定鴨蛋白液在凝膠前的黏度變化，選用 RPT-50 之平板/平板型夾具(plate/plate geometry)，設置間隙為 1 mm，將適量樣本置於測試平台上，以剪切率 60 s^{-1} 之轉速進行樣本之黏度變化，在 4°C 下於 10 秒內記錄每秒的數據，並取其平均值，每個處理組皆重複進行 3 次。

(二) 添加鴨蛋白鹼性凝膠之肉漿 pH 值分析

以酸鹼度計(Twinno PH30, Strider Tech Co., Ltd., New Taipei, Taiwan) 於測定前需以標準液校正酸鹼度計 pH 4、7、10 校正液校正完成後刺入乳化完成後之肉漿，待其數值穩定後得到肉漿之 pH 值，每一個樣本測定三個不同位置取其平均值。每次測定後將探頭取出後以去離子水沖洗，並以拭鏡紙將探頭上殘留之液體輕沾除去後再測定下一個樣本。

(三) 乳化型肉製品(熱狗)之水分含量

修改 Kim et al. (2013) 之方法，將乾淨鋁盤置於烘箱(Oven, DK-500D, Yie Der, Hsinchu, Taiwan) 以 105°C 乾燥 2 小時，取出後放置於乾燥皿中以避免水氣重新附著，並靜置 10 分鐘待其冷卻並記錄鋁盤重量為 W_1 。將煮熟之熱狗切成約 3 g 之立方體樣本置於乾燥後的鋁盤上並秤重記錄 W_2 ，之後置於烘箱中以 105°C 乾燥 24 小時後重新秤重，再次置於烘箱 20 分鐘後冷卻秤重，重複 3 次。若 3 次乾燥後的水分含量相差不超過 0.01 即精確秤其重量並記錄為 W_3 ，水分含量百分比計算方式如下：

$$\text{Moisture (\%)} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100\%$$



(四) 乳化型肉製品(熱狗)之烹煮損失(cooking loss)

取約 100 g 未煮熟之肉漿以精密秤(FX-500i milligram balance, Precision Weighing Balances., MA, USA) 記錄其重量，接著以真空包裝袋包裝後，以恆溫水浴槽 80°C 水浴 15 分鐘後取出，拆開包裝後除去多餘水分並秤重，蒸煮損失(%)可由下方公式計算而得。

$$\text{Cooking loss (\%)} = \frac{\text{before cooking weight} - \text{after cooking weight}}{\text{before cooking weight}} \times 100\%$$

(五) 乳化型肉製品(熱狗)之 centrifugation loss

以精密秤記錄 1 號濾紙(No.1 55mm diam. Advantec) 之重量，取煮熟之樣本 0.1 g 並以 1 號濾紙包覆，並放置於 1.5 mL 微量離心管中，以 100 g 在 4°C 下離心 1 小時後，將濾紙上之樣本輕輕刮下，測量並記錄濾紙增加之重量，centrifugation loss 可由下方公式計算而得。

$$\begin{aligned} \text{Centrifugation loss (\%)} \\ = \frac{\text{before centrifuge weight} - \text{after centrifuge weight}}{\text{before cooking weight}} \times 100\% \end{aligned}$$

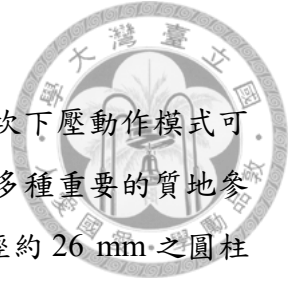
(六) 乳化型肉製品(熱狗)之 purge loss

此試驗方法修改自 Cannon et al. (1996)，取約 2 g 之煮熟樣本以拭鏡紙將表面水分擦乾，記錄其原始重量後，利用真空包裝機(Vacuum packaging machine, JV01, Jaw Feng Machinery Co., Ltd., Chiayi, Taiwan) 裝袋密封，並於 4°C 保存 7 天與 14 天，另外再於 -20°C 的環境下保存 21 天與 28 天，後續將樣本取出，以拭鏡紙(Kinberly-Clark Global Sales, Inc., Roswell, GA, USA)將表面水分吸除，並記錄最終重量，purge loss (%)可由下方公式計算而得。

$$\text{Purge loss (\%)} = \frac{\text{sample weight (before)} - \text{sample weight (after)}}{\text{sample weight (after)}} \times 100(\%)$$

(七) 乳化型肉製品(熱狗)之質地分析(texture profile analysis)

質地剖面分析測試是針對食品質地口感所發展的方法，兩次下壓動作模式可模擬人類口腔的咬合型式，經過圖型分析工具的解析能夠提供多種重要的質地參數。本試驗將灌腸後成形之熱狗煮熟，並切成厚度 1 公分、直徑約 26 mm 之圓柱體，以質地分析儀(Texture analyser, TA.XT plus, Stable micro system Ltd., Godalming, Surrey, UK)，並使用 P/50 探頭進行國際上通行的全質構分析測試樣本之脆度(fracturability)、硬度(hardness)、彈性(springiness)、凝聚力(cohesiveness)、黏性(adhesiveness)、咀嚼度(chewiness)、膠著度(gumminess)及彈性(resilience)如圖 3-5，另外，(表 3-6)為測試之各項參數。



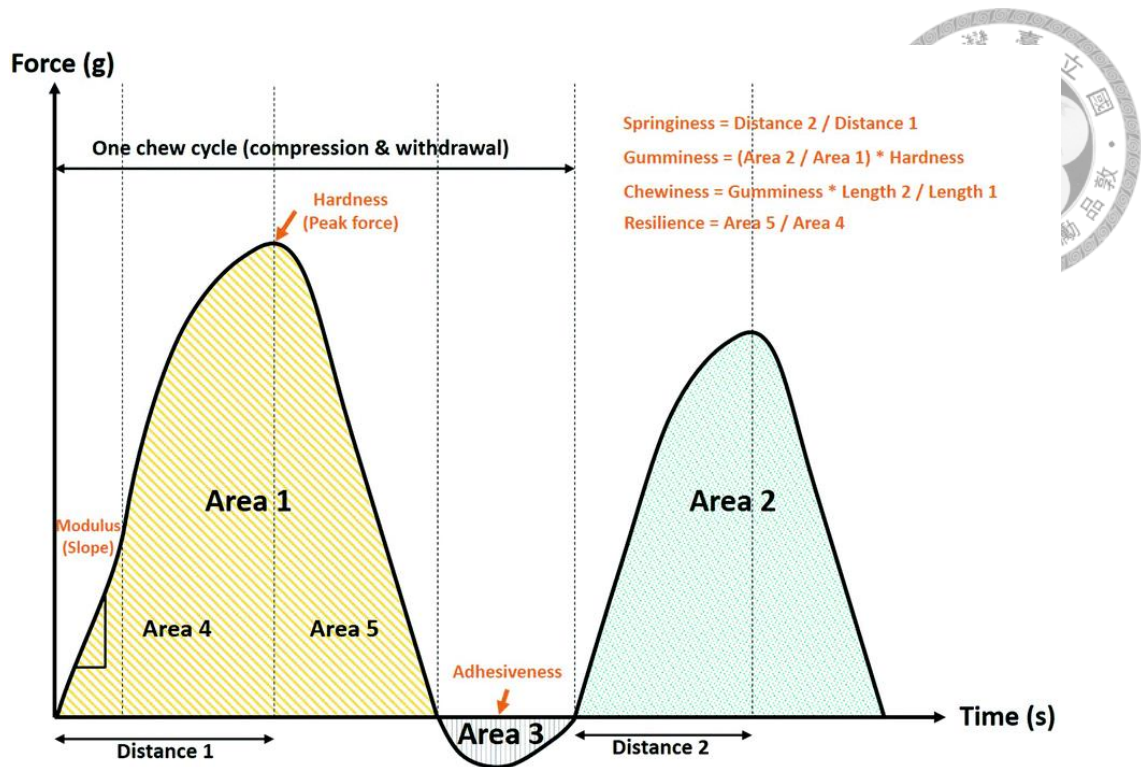


圖 3-5、質地分析儀模擬咀嚼之作用力與時間關係示意圖。

Figure 3-5. Schematic diagram of correlation between force and time while chewing by texture profile analysis.

(Wee et al., 2018)

表 3-6、質地分析測定參數設置

Table 3-5 Measuring conditions of texture profile analysis

Caption	Value	Units
Test Mode	Compression	
Pre-Test Speed	1.00	mm/sec
Test Speed	5.00	mm/sec
Post-Test speed	5.00	mm/sec
Target Mode	Strain	
Distance	60.00	%
Target Force	5.00	g



(八) 乳化型肉製品(熱狗)之色澤分析

此部分試驗方法原理與加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之色澤分析相同，將灌腸後成形之熱狗煮熟，切成厚度 1 cm 之圓柱體，並利用色澤分析儀經過白色與黑色校正後直接測量樣本表面，記錄 L^* 、 a^* 、 b^* 數值，另外白色度(Whiteness)可依下方公式計算得到。

$$\text{Whiteness} = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

(九) 官能品評

將各處理組之熱狗以 80°C 水浴 15 分鐘煮熟後切成厚度 1 cm、直徑約 26 mm 之圓柱體後進行品評，本研究採用喜好性品評：採 9 分法 [9 分：非常喜歡；8 分：很喜歡；7 分：喜歡；6 分：一點點喜歡(有點喜歡)；5 分：無意見；4 分：一點點不喜歡 (有點不喜歡)；3 分：不喜歡；2 分：很不喜歡；1 分：非常不喜歡]，品評人數 30 人，品評表如(圖 3-6)。



喜好性品評

第一部份(請打勾)

- 1.性別? 男 女
- 2.年齡? 18-20 歲 21-30 歲 31-40 歲 41-50 歲 50 歲以上
- 3.吃乳化型肉製品(貢丸、熱狗、香腸...等)的頻率? 每天 1 次以上 每天 1 次 兩天 1 次 三天 1 次 其他_____

第二部份(請填分數)

以下 11 個樣本，請就各樣本顏色(color)、質地(texture)、風味(flavor)及總可接受性(total acceptance)進行評分，評分採 9 分法 (9 分 非常喜歡; 8 分 很喜歡; 7 分 喜歡; 6 分 一點點喜歡; 5 分 無意見; 4 分 一點點不喜歡; 3 分 不喜歡; 2 分 很不喜歡; 1 分 非常不喜歡)

樣本編號	顏色	質地	風味	總可接受性

圖 3-6、官能品評表。

Fig 3-6. Table of organoleptic evaluation.



六、統計分析

試驗結果以 SAS 9.4 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). 進行分析處理，試驗數據以一元變方分析(One-way analysis of variance, ANOVA)或 Student t 檢定(Student's t test)，並以最小顯著差異法(Fisher's LSD, Least Significant Difference)比較各組間差異，試驗數據皆以平均值±標準差(Mean ±SEM)表示， $p < 0.05$ 為顯著差異之標準。

肆、結果與討論



一、分離鴨蛋白鹼性凝膠製作與凝膠條件確立

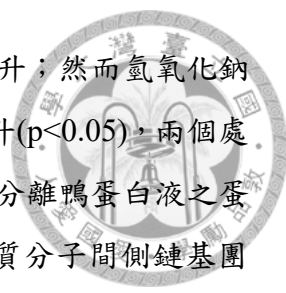
傳統皮蛋製品乃利用氫氧化鈉、氯化鈉與硫酸銅等醃漬約 40 天製作而成，然而原料蛋生產端之蛋鴨飼養管理不佳與營養不足，往往造成蛋殼品質不良、厚薄差異過大及裂紋等缺失，大大降低後續皮蛋製作之成功率，就加工端而言除了慎選鴨蛋來源外，業者為了減緩蛋殼對氫氧化鈉滲入速度並穩定醃漬過程膠體安定性，通常會添加重金屬銅或鋅以提高皮蛋製成率，因此本研究將克服皮蛋醃漬過程蛋殼之限制與影響，擬直接利用鴨蛋白液與鹼液快速且不需添加任何重金屬製作出透明皮蛋皮白凝膠，同時解決分離鴨蛋白過剩與不易使用等問題，以製作出新型態蛋製品。

試驗過程所使用鴨蛋為一週內產下完整無破損且專門供作皮蛋製作之新鮮鴨蛋，試驗前會將鴨蛋蛋殼打破並分離出鴨蛋蛋白以進行各項試驗，由於商業製作皮蛋之醃漬液通常含有 3-5% 氫氧化鈉，而醃漬過程能夠通過氣孔進入鴨蛋蛋白之氫氧化鈉含量約為蛋白之 0.8-1.0%，因此以速成方式直接將鴨蛋蛋白液與鹼液混合製作鹼性蛋白凝膠必須考量氫氧化鈉濃度、反應溫度並觀察後續凝膠形成狀態與安定性，本試驗首先探討不同氫氧化鈉濃度與溫度對於凝膠時間影響、凝膠質地之變化，並評估膠體液化程度與安定狀態，期能快速製備出穩定性高與保存性佳之鴨蛋白鹼性凝膠。

(一) 氫氧化鈉濃度對於分離鴨蛋白液黏度與凝膠時間之影響

先前研究指出卵白蛋白溶液或分離蛋白液與鹼液充分混合後能夠形成透明具彈性之鹼性蛋白凝膠，其中氫氧化鈉濃度為決定鹼性蛋白凝膠形成速度與膠體安定之關鍵因素 (Zhao et al., 2014; Zhao et al., 2016)，因此本研究將透過不同氫氧化鈉濃度測試以建立分離鴨蛋白鹼性凝膠之最佳條件，期能縮短膠體製作時間並且維持膠體安定性。


試驗初期將分離鴨蛋白混合不同濃度氫氧化鈉，使蛋白液含有 0.1、0.15 及 0.2 M 氫氧化鈉並立即進行黏度分析，結果顯示如圖 4-1，含 0.1 M 氫氧化鈉之分離鴨蛋白液，其黏度值隨著測定時間延長而緩慢上升，在 30 分鐘內蛋白液黏度僅上升



至 1.8 Pa·s，即使經過 60 分鐘，其黏度仍停滯 1.8 Pa·s 而不再上升；然而氫氧化鈉含量較高處理組(0.15 M 及 0.2 M)，其黏度值在 5 分鐘內顯著提升($p < 0.05$)，兩個處理組之黏度值皆在短時間內達到 2 Pa·s 並形成透明凝膠。由於分離鴨蛋白液之蛋白質受到強鹼作用而造成結構展開並暴露基團，這時相鄰蛋白質分子間側鏈基團會透過共價交互作用與非共價交互作用等方式發生聚集，同時凝膠狀基質也能夠與水分子充分結合，使膠體黏度增加(Totosaus et al., 2002)，而 Chen et al. (2015)也有與本研究類似結果，即蛋白液黏度值會隨著鹼處理時間延長而迅速提高，此乃蛋白質分子在鹼性條件下能快速聚集並形成結構致密且規則之網狀構造。根據過去學者研究與本試驗黏度分析數值，可證明氫氧化鈉濃度越高，蛋白液黏度上升速度越快，並可作為評估凝膠時間之重要指標，因此後續試驗將氫氧化鈉濃度間距縮小並調整為 0.1、0.125、0.15、0.175 及 0.2 M，以深入評估形成鹼性蛋白凝膠之最適氫氧化鈉濃度。

另外藉由肉眼觀察蛋白液轉變成透明蛋白膠體之外觀變化(表 4-1)，來判斷不同氫氧化鈉濃度對分離鴨蛋白液凝膠之影響，發現蛋白液與強鹼反應至 0.5 小時，除了 0.1 M 氫氧化鈉處理組仍維持溶膠狀態之外，其餘各組皆明顯轉變為凝膠形式，而經過 1 小時反應，0.1 M 氫氧化鈉處理組之溶膠流動性開始降低，直至第 3 小時始形成凝膠，而其他高濃度氫氧化鈉處理組經 3 個小時，在外觀上呈現明顯黃色膠體，與 Li et al. (2018)試驗結果一致，此為鴨蛋白之游離胺基與還原糖進行梅納反應所造成(Ganesan et al., 2014)，且黃色色澤與梅納反應進行會隨著氫氧化鈉濃度增加而更為明顯，顯示氫氧化鈉除了會加速蛋白凝膠形成，也會促進梅納反應進行。

此外為確立不同氫氧化鈉濃度對於鴨蛋白液凝膠形成過程與凝膠時間之影響，本研究將利用鴨蛋白液黏度變化來進行觀察，由於目前尚無相關文獻資料與客觀研究方法定義鹼性蛋白液開始轉變為凝膠之初始黏度值，而前述試驗也發現當混合氫氧化鈉之鴨蛋白液之黏度值達 2 Pa·s 時，蛋白液幾乎不具流動性且開始轉變為凝膠形式，因此本研究將鹼性蛋白凝膠點定義為蛋白液之黏度值達 2 Pa·s 即表示此鴨蛋白液已形成膠體。試驗結果如表 4-2 所示，不含氫氧化鈉之新鮮鴨蛋白液，其黏度值始終維持 0.02 Pa·s，含有 0.1 M 氫氧化鈉之鹼性蛋白液處理組其黏度值會在 30 分鐘內逐漸上升至 1.8 Pa·s 後停滯而不再增加也無法形成凝膠，而氫氧




化鈉濃度為 0.125 M 之鹼性蛋白液，可在 15 分鐘內達到 2 Pa·s 之黏度值，至於氫氧化鈉濃度超過 0.15 M 之處理組，其黏度達到 2 Pa·s 僅需 3 分鐘，依照本研究對鹼性蛋白凝膠點定義，除了對照組及含有 0.1 M 氫氧化鈉之鹼性蛋白液處理組之外，其餘各處理組皆可形成鹼性蛋白凝膠。同時也由圖 4-2 說明各處理組之鴨蛋白液黏度值達到 2 Pa·s 而形成凝膠所需時間，結果顯示氫氧化鈉濃為 0.1 M 之鹼性蛋白液經長時間反應並無法形成凝膠，而含有 0.125 M 氫氧化鈉之鹼性蛋白液形成凝膠時間需 14 分鐘，至於含有 0.15、0.175 及 0.2 M 氫氧化鈉之鹼性蛋白液所達凝膠時間皆顯著低於低劑量氫氧化鈉($p < 0.05$)，並且在 5 分鐘內形成凝膠，此結果與 Chen et al. (2015) 研究結果相似，鴨蛋白液會在短時間內迅速提高黏度並形成凝膠，而不同濃度氫氧化鈉之鹼性蛋白液間之凝膠時間趨勢也與 Zhao et al. (2014) 實驗結果相同，氫氧化鈉濃度愈高，對鴨蛋白液形成凝膠影響愈大。透過上述試驗可將無法形成凝膠之 0.1 M 處理組排除，並針對含 0.125、0.15、0.175 及 0.2 M 氫氧化鈉之分離鴨蛋白液處理組進行後續膠體強度、安定性與理化特性等評估試驗。

(二) 氫氧化鈉濃度對於蛋白鹼性凝膠膠體特性之影響

1. 顯微構造觀察

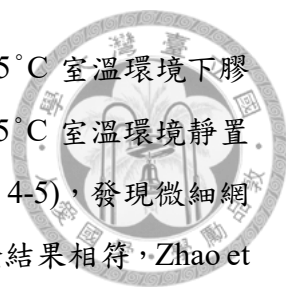
許多研究指出卵白蛋白(ovalbumin)、 β -乳球蛋白(beta-lactoglobulin)、乳清蛋白(whey protein)和牛血清白蛋白(bovine serum albumin)等動物性蛋白質加熱後，可以通過非共價鍵結聚集以形成網狀結構(Sagis et al., 2002; Veerman et al., 2003; Weijers et al., 2006)，而透過掃描式電子顯微鏡以微觀觀察這些蛋白質聚集之三度空間網狀結構和空間排列特性等微細構造，可作為膠體結構完整程度與緊密狀態之參考(Heertje, 2014)。為釐清不同氫氧化鈉濃度對於所形成鹼性蛋白凝膠膠體特性之影響，本研究以掃描式電子顯微鏡觀察蛋白鹼性凝膠，如圖 4-3 顯示膠體呈現三度立體構造並具有精細和規則的網狀分支結構，而針對不同氫氧化鈉濃度之鹼誘導凝膠進行觀察，也發現各組細微結構具有明顯差異，其中含 0.125 M 氫氧化鈉之蛋白鹼性凝膠處理組除了形成凝膠時間較長，其細微結構呈現鬆散之線性纖維網狀結構且不易維持，而較高濃度鹼誘導凝膠處理組(0.15、0.175 M)可明顯地觀察到蛋白聚集緻密構造，至於 0.2 M 氫氧化鈉濃度之鹼誘導凝膠處理組之網狀連接與密集程度反而較低，推測高濃度氫氧化鈉可加速蛋白質分子結構展開與變性速率並促



進網狀構造之形成，然而過高氫氧化鈉濃度會破壞已形成之膠體結構，因此後續將以氫氧化鈉濃度 0.15、0.175 及 0.2 M 凝膠之進行膠體強度試驗。由上述微細構造觀察結果可以發現蛋白鹼性凝膠與卵白蛋白凝膠或皮蛋蛋白相似(Chen et al., 2015; Zhao et al., 2016a; Zhao et al., 2016b)，從巨觀觀察均呈現透明彈性膠體，然而鹼性蛋白凝膠與熱誘導蛋白凝膠無論是在外觀或微細構造均有顯著不同(Croguennec et al., 2002; Handa et al., 1998)，一般而言，蛋白凝膠以肉眼觀察可分為不透明和透明凝膠，主要取決於凝膠形成前球狀蛋白聚集速率與球狀蛋白結構變性展開速率差異，如果前者大於後者，則可能會形成不透明或低透明度的凝膠，如熱變性之蛋白凝膠；若後者大於前者，則會形成高度透明的凝膠網狀結構(Totosaus et al., 2002; Foegeding, 2006)，即分離鴨蛋白在強鹼處理下，卵白蛋白等球狀蛋白開始變性展開，使蛋白鏈彼此聚集排列成整齊構造而形成凝膠，而熱誘導蛋白則是球狀蛋白尚未展開之際，這些球狀蛋白彼此在加熱過程立即聚集形成蛋白球鏈，因此鹼誘導蛋白凝膠與熱誘導蛋白凝膠形成機制與構造截然不同。

2 膠體強度與質地特性比較


將分離鴨蛋白液混合氫氧化鈉後製作出含有 0.15、0.175 及 0.2 M 氫氧化鈉之鹼性蛋白凝膠，並利用質地分析儀搭配 P/0.5 探頭測定靜置於 25°C 之凝膠膠體強度，結果如圖 4-4 所示，凝膠形成之第 0 小時，各處理組之膠體強度並無顯著差異 ($p>0.05$)；於 25°C 環境溫度靜置經過 0.5 小時後，發現 0.175 及 0.2 M 氫氧化鈉鹼性凝膠膠體強度顯著高於 0.15 M 處理組 ($p<0.05$)；經過 1 小時後，0.15 M 處理組之膠體強度明顯高於其他兩組 ($p<0.05$)，而 0.175 及 0.2 M 處理組之膠體強度卻與第 0.5 小時所測得數值並無太大差異僅約為 60 g；持續靜置 2 小時及 3 小時，0.15 M 處理組之膠體強度均顯著高於 0.175 及 0.2 M 處理組 ($p<0.05$)，尤其是第 3 小時，0.175 及 0.2 M 之膠體強度數值均降低到 50 g 以下，在外觀上兩個高濃度強鹼處理組已開始有液化傾向，而隨著靜置時間延長，0.15 M 處理組之膠體強度也有開始下降表現，此結果顯示膠體中存在愈高濃度之氫氧化鈉會加速膠體結構破壞與液化，而長時間保存於 25°C 之室溫環境仍不利於膠體強度之維持。考量氫氧化鈉濃度對於鹼性凝膠結構穩定性具有重要影響，本研究將 0.175 與 0.2 M 兩處理組排除，並選擇 0.15 M 作為最適當氫氧化鈉濃度以製作出膠體強度較高且液化程度較



為緩和之蛋白鹼性凝膠，為了進一步釐清 0.15 M 蛋白凝膠於 25°C 室溫環境下膠體強度與微細構造之關係，將 0.15 M 氫氧化鈉處理組膠體於 25°C 室溫環境靜置 0.5、1、2 與 3 小時，並透過掃描式電子顯微鏡觀察膠體結構(圖 4-5)，發現微細網狀結構會隨著鹼處理時間延長而逐漸崩解，與膠體強度變化試驗結果相符，Zhao et al. (2016)提及卵白蛋白鹼性凝膠同樣會隨著靜置時間延長而網狀結構會變得鬆散，並且逐漸失去剛性(rigidity)，證明顯微結構與膠體強度具相關性，膠體顯微結構愈緻密，其膠體強度越高；若膠體結構愈鬆散，則膠體強度越低，由於維持膠體結構之鍵結受到強鹼持續作用而被破壞，造成膠體強度下降，且氫氧化鈉濃度愈高此現象則愈明顯，為減少膠體結構受到強鹼破壞，除了控制氫氧化鈉濃度外，反應溫度與保存溫度同樣為關鍵因子，過去學者研究指出，醃漬皮蛋過程溫度會影響皮蛋蛋白凝膠與和蛋黃固化，較高的醃漬溫度會破壞蛋白的膠體結構，並導致聚集的凝膠液化，使產品品質下降(Fuxin, 2004; Yang et al., 2012)，因此溫度對於凝膠形成與安定扮演著重要角色，後續試驗將探討分離鴨蛋白進行鹼處理形成鹼性凝膠過程，反應溫度對於凝膠時間、膠體特性與穩定性之影響。

(三) 溫度對鹼性蛋白凝膠形成過程之流變性影響


前面試驗針對氫氧化鈉濃度對鹼性蛋白凝膠形成與安定之影響，發現最適合氫氧化鈉濃度為 0.15 M，接著進一步分析分離鴨蛋白液與氫氧化鈉混合反應溫度對於形成蛋白鹼性凝膠之影響，首先利用黏度計進行分析，將含有 0.15M 氫氧化鈉之鴨蛋白液於 5°C、15°C、25°C、35°C 與 45°C 環境下混合靜置，根據黏度值變化以評估形成凝膠之時間，結果顯示(圖 4-6)，蛋白液與氫氧化鈉於 5°C 環境進行混合與反應，在 15 分鐘內其黏度值仍無法達到 2 Pa·s，亦即短時間內無法形成鹼性凝膠；而 15°C 處理組形成凝膠時間縮短為 11 分鐘；至於 25、35 及 45°C 三者處理組分別在 4、2 及 1 分鐘內達到黏度值 2 Pa·s 並形成凝膠，而反應溫度愈高，凝膠時間顯著縮短($p < 0.05$)，因此當分離鴨蛋白液與氫氧化鈉混合反應溫度愈高，愈能快速形成凝膠。另外，本研究也利用流變儀分析鴨蛋白液與氫氧化鈉在不同溫度下混合反應對於溶膠與凝膠黏彈性之變化，其中 G'' 值為黏性模數，主要表現樣品的流體性質，結果如圖 4-7 A 所示 G'' 值會隨著反應時間延長而增加，而反應溫度對於鹼處理後鴨蛋白液之黏性模數影響甚鉅，當作用溫度愈高其 G'' 值愈大，



表示較高溫度會使鹼處理鴨蛋白液黏性提升速度大幅增加，此結果與黏度分析試驗一致。至於 G' 值為彈性模數，主要表現樣品的固體性質，在蛋白的熱凝膠研究中常作為判斷蛋白凝膠化之依據。Li et al. (2018) 指出，蛋白之 G' 值會隨著加熱而提升，當 G' 值增加至某一程度而趨緩，此時蛋白已形成凝膠。由圖 4-7 B 結果顯示彈性模數變化趨勢與 G'' 值相同，作用溫度愈高 G'' 值愈高，且隨著時間而增加，此現象證明較高的溫度可以增加蛋白質聚集性使其黏度性質增加，並快速提升蛋白的凝膠速度。圖 4-8 為不同反應溫度所形成鹼性蛋白膠體之微細構造，結果顯示於低溫環境所形成鹼性蛋白凝膠之結構與蛋白鏈較為密集；而隨著溫度提高，膠體微細構造逐漸鬆散並出現較大孔洞，本研究也發現 25 及 45°C 處理組蛋白凝膠之網狀結構與過去研究學者所觀察到微細構造相似，Zhao et al. (2016) 指出鹼性蛋白凝膠結構主要是由變性展開之蛋白質聚集所形成，當已變性展開蛋白質之間的相互作用減弱，所形成的網狀結構更大，因而釋放出更多空間容納自由水，本研究於高溫環境下進行凝膠反應可能會影響蛋白質間作用力，使膠體結構轉弱，而在低溫環境下維持膠體結構之鍵結如氫鍵、離子鍵甚至雙硫鍵等作用力所受影響較弱，因此所形成的網狀結構較為密集。但由於鹼處理之鴨蛋白液在低溫環境下形成凝膠所需時間較長、膠體黏彈性質較差，因此未來量產鹼性蛋白凝膠可以考慮選擇 25°C 以上的反應溫度來進行製作。

(四) 溫度對於鹼性蛋白凝膠內部硫醇基與雙硫鍵含量之影響


鴨蛋蛋白中的卵白蛋白與卵運鐵蛋白分別含有 4 個游離硫醇基與 15 個雙硫鍵 (Mine, 1995)，在酸鹼值變化或加熱情況下，這些游離硫醇基與雙硫鍵會從蛋白質內部結構暴露出來，同時也會藉由硫醇基-雙硫鍵交換反應形成分子間雙硫鍵 (He et al., 2013)，先前有許多研究指出雙硫鍵為維持鹼性蛋白凝膠與皮蛋蛋白凝膠結構之必要作用力，此種共價鍵結佔所有維持膠體結構作用力 1/3 (Beveridge and Arntfield, 1979; Van der Plancken et al., 2005; Ji et al., 2013)，因此透過觀察硫醇基與雙硫鍵含量變化，將有助於了解鴨蛋白凝膠穩定狀況。本試驗將含有 0.15M 氫氧化鈉濃度之鴨蛋白液於 5°C、15°C、25°C、35°C 與 45°C 環境靜置反應，並於不同時間點測定硫醇基與雙硫鍵含量，用以評估鹼性蛋白凝膠於不同溫度下之膠體穩定性。試驗結果如圖 4-9 所示，第 0 小時各處理組之硫醇基含量均約為 35 $\mu\text{mol/g}$ ，雙硫鍵



含量約為 40 $\mu\text{mol/g}$ ，第 0.5 小時硫醇基含量皆降到最低，而雙硫鍵含量均顯著提升($p<0.05$)，推測是鹼處理使蛋白質變性並使包埋在內部之疏水性基團暴露，並形成雙硫鍵，在這段時間內硫醇基-雙硫鍵交換反應迅速發生使鴨蛋白凝膠化 (Mine, 1996)。當鴨蛋白液與強鹼混合膠體靜置後各組之硫醇基含量先減少再增加，推測主要因為強鹼持續存在使已形成雙硫鍵再度被破壞並還原成硫醇基，因此雙硫鍵含量也有下降的趨勢(Zhao et al., 2016)，此時也發現不同反應溫度會影響硫醇基與雙硫鍵含量，其中 45°C 高溫處理組之硫醇基含量提升且雙硫鍵含量下降，其他 4 組也有相同變化趨勢，且隨著時間延長此趨勢愈來愈明顯，當膠體靜置第 5 小時，5°C 處理組硫醇基含量最低為 35.02 $\mu\text{mol/g}$ ，雙硫鍵含量最高約 52.67 $\mu\text{mol/g}$ ，而 45°C 處理組硫醇基含量為 53.17 $\mu\text{mol/g}$ ，雙硫鍵含量為 22.64 $\mu\text{mol/g}$ 。試驗整體結果顯示較高的溫度會使膠體受氫氧化鈉作用之速率提高，加速了硫醇基與雙硫鍵交換反應，使雙硫鍵還原為硫醇基，並促進了蛋白凝膠液化的時間點，因此可以觀察到硫醇基含量上升；雙硫鍵含量下降的情形，而較低的溫度則會延緩此現象，因此鹼性蛋白凝膠形成後，靜置保存於低溫環境將有利於凝膠內部雙硫鍵結，並有助於減緩蛋白膠液化情況發生。

(五) 溫度對蛋白凝膠膠體強度之影響

上述試驗結果顯示靜置反應溫度會影響膠體蛋白質之硫醇基與雙硫鍵含量變化，而雙硫鍵含量與膠體質地或微細構造有很重要關連，Pérez-Mateos et al. (1997) 指出硬度較高且彈性度低的蛋白凝膠，其穩定膠體結構之作用力中通常含有較多的共價鍵結，因此接下來將利用質地分析儀搭配 P/0.5 探頭測定鹼性蛋白凝膠於不同靜置反應溫度下之膠體強度。結果如圖 4-10 顯示 5°C 處理組之膠體強度於 0.5 小時約為 22 g，顯著低於其他處理組($p<0.05$)，但經過 3 小時後膠體強度增加到 50 g 左右；而 15 及 25°C 處理組之膠體強度值也同樣隨時間延長而有增加趨勢，研究也發現 35°C 處理組在第 1 個小時的膠體強度顯著高於其他組($p<0.05$)，然而在 2 小時後膠體強度卻顯著低於 25°C 處理組($p<0.05$)；至於 45°C 處理組之膠體在最初 1 小時內膠體強度稍微提升，但 2 小時後膠體強度明顯下降，直至第 3 小時降低到 20 g 以下為各組中表現最差，此試驗結果與 Zhao et al. (2014)相似，整體而言鴨蛋白液經鹼作用而形成凝膠，而膠體強度會隨時間增加而逐漸增加到一個高峯值，然



後也會隨著時間延長而下降，表示溫度會顯著影響氫氧化鈉作用於蛋白膠體之速率，另外也根據雙硫鍵含量試驗結果推測，較高溫度會加速氫氧化鈉反應而破壞了維持膠體結構之雙硫鍵，導致膠體強度下降，反觀低溫則會有效降低膠體強度上升的速率，並延緩凝膠液化。另一方面，表 4-3 為不同溫度下之蛋白凝膠外觀，在第 1 小時各溫度處理組之凝膠外觀皆呈現半透明，經過第 2 小時可觀察到較高溫度之處理組(35 與 45°C)出現明顯褐化外觀，表示較高的溫度會加速梅納反應，同時也發現 45°C 處理組開始有液化情形，然而凝膠經過第 3 個小時靜置，35 與 45°C 處理組明顯呈現液化現象，證明過高溫度會使膠體不穩定，由凝膠外觀變化結果可由雙硫鍵含量分析及膠體強度試驗結果相同趨勢。

(六) 鹼性蛋白凝膠之蛋白質電泳分析

鴨蛋白中主要的蛋白質包括卵黏蛋白(110 kDa)、卵運鐵蛋白(76 Kda)、卵白蛋白(44.5 Kda)、類卵黏蛋白(28 Kda)及溶菌酶(14.3 Kda)(Mine, 1995)。為釐清靜置反應溫度對於鹼性蛋白凝膠之蛋白質完整性影響，本研究以 SDS-PAGE 觀察不同種類蛋白質及其含量變化，由圖 4-11 顯示在新鮮蛋白(EW)中最明顯的條帶為含量最高的卵白蛋白，觀察鹼性蛋白凝膠之電泳圖發現，膠體中含量最高卵白蛋白明顯減少，其他蛋白質也同樣減少甚至消失，而鹼性凝膠保存溫度越高其原有蛋白質呈現於電泳膠片的條帶愈淡，此外蛋白中原來存在的蛋白質也會隨著保存時間而逐漸被分解並分布在條帶上不同位置，在焦集膠體與分離膠體之間也可觀察到較高分子量之蛋白質，關於此現象，Ai et al. (2020a)分析皮蛋蛋白之電泳圖提及，可能是蛋白質在鹼處理下彼此聚集形成高分子量交聯蛋白，另外，溫度提高、酸鹼作用時間延長，甚至物理性高壓處理，均會使蛋白中蛋白質分解成小分子蛋白質片段或胜肽，先前研究人員也發現在皮蛋的醃漬過程中，當氫氧化鈉滲入蛋白後會加速蛋白質降解，使電泳圖譜中的卵白蛋白條帶逐漸減弱(Zhao et al., 2016; Ji et al., 2013)，若蛋白經過加熱或高壓處理後，也同樣可以觀察到相似的結果(Matsudomi et al., 2002)。

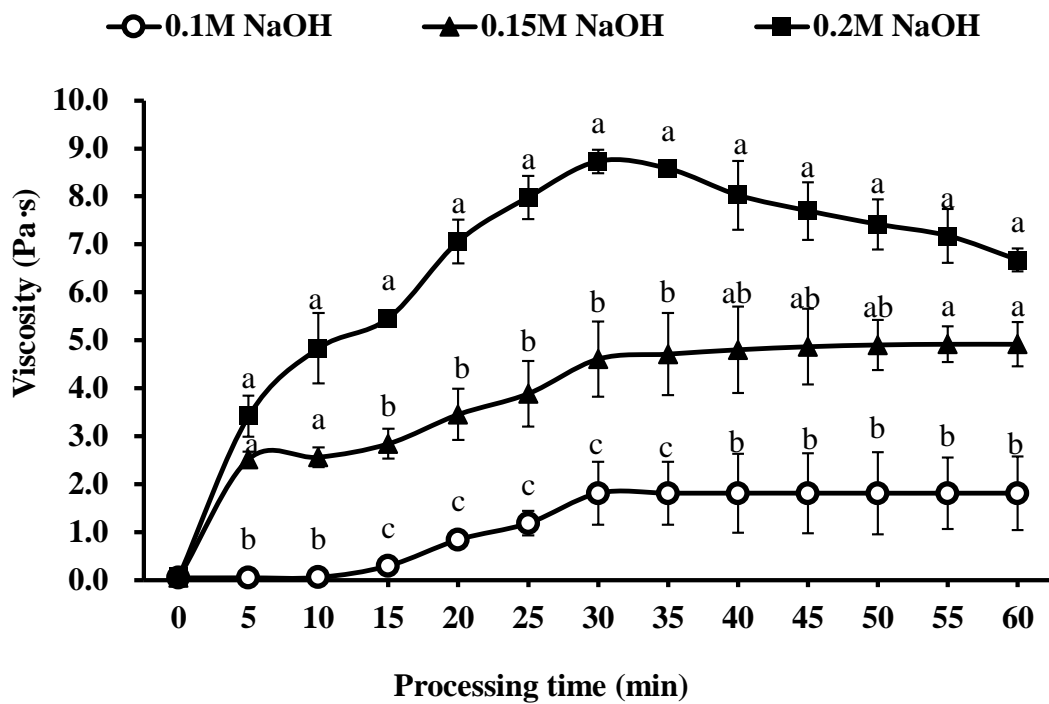


圖 4-1、不同氫氧化鈉濃度處理之鴨蛋白液黏度變化。

Fig 4-1. Changes in viscosity of duck egg white with different NaOH concentrations

*Data are given as mean \pm SEM (n=3).

**Data points in each test period without the common letter indicate a significant difference ($p < 0.05$).

表 4-1、不同氫氧化鈉濃度與反應時間之鴨蛋白鹼性凝膠外觀變化

Table 4-1 Changes in appearance of alkali-induced duck egg white gel with different NaOH concentrations and incubation period





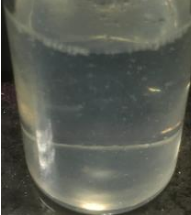
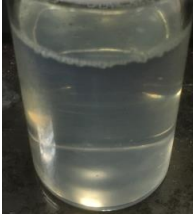




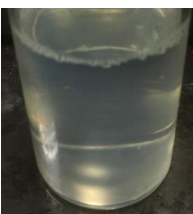




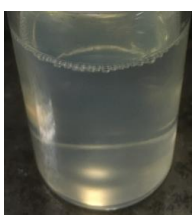









Group	NaOH concentraion				
	0.1 M	0.125 M	0.15 M	0.175 M	0.2 M
Time (h)					
0					
0.5					
1					
2					
3					

表 4-2、不同氫氧化鈉濃度對於鴨蛋白液黏度之變化

Table 4-2 Changes in viscosity of duck egg white with different NaOH concentrations

min	NaOH concentration (M)					
	0	0.1	0.125	0.15	0.175	0.2
0	0.020±0.00 ^c	0.022±0.00 ^c	0.027±0.01 ^{bc}	0.03±0.01 ^{bc}	0.03±0.03 ^b	0.07±0.00 ^a
3	0.021±0.00 ^c	0.036±0.01 ^c	0.149±0.05 ^b	2.28±0.44 ^a	2.52±0.35 ^a	2.43±0.46 ^a
6	0.023±0.01 ^c	0.052±0.01 ^b	0.589±0.05 ^a	—	—	—
9	0.023±0.00 ^c	0.061±0.01 ^b	1.348±0.22 ^a	—	—	—
12	0.021±0.00 ^c	0.156±0.06 ^b	1.610±0.14 ^a	—	—	—
15	0.021±0.00 ^c	0.302±0.09 ^b	2.443±0.11 ^a	—	—	—
18	0.022±0.01 ^b	0.866±0.14 ^a	—	—	—	—
21	0.024±0.00 ^b	0.846±0.08 ^a	—	—	—	—
24	0.024±0.00 ^b	1.188±0.36 ^a	—	—	—	—
27	0.021±0.00 ^b	1.707±0.16 ^a	—	—	—	—
30	0.023±0.01 ^b	1.812±0.01 ^a	—	—	—	—
33	0.021±0.00 ^b	1.815±0.03 ^a	—	—	—	—
36	0.020±0.00 ^b	1.819±0.05 ^a	—	—	—	—

*Dash symbol: egg white solution has gelled.

**Data are given as mean ± SEM (n=3).

***Means in the same row and group without a common superscript are significantly different (p < 0.05).

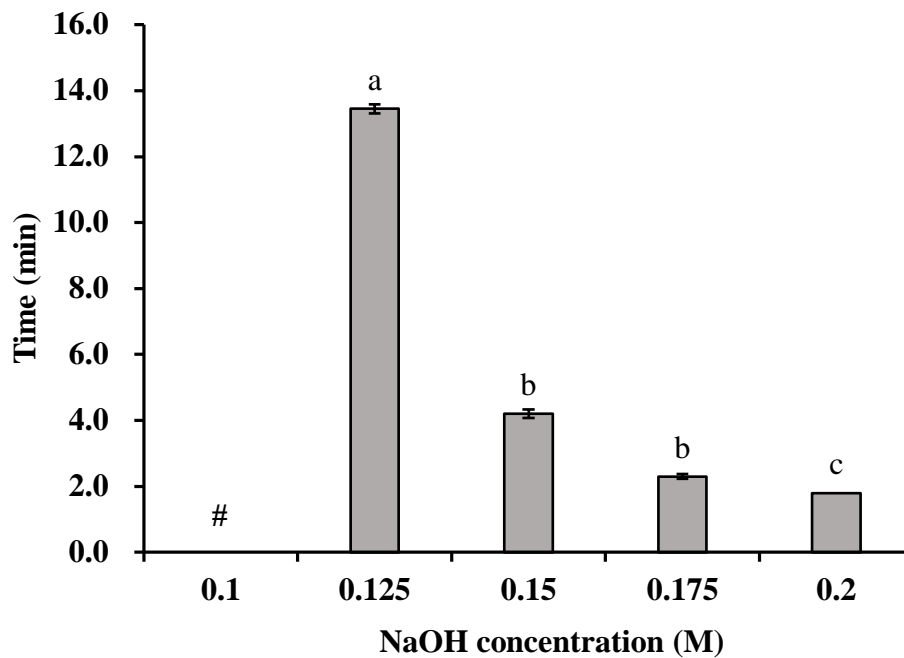


圖 4-2、不同氫氧化鈉濃度對鴨蛋白液凝膠時間之影響。

鴨蛋白液之黏度到達 2 Pa·s 所需時間。

Fig 4-2. Effect of different NaOH concentrations on the gelation time of alkali-induced duck egg white.

The time when the viscosity of different NaOH concentrations alkali-induced egg white reaches 2 Pa·s.

* #: The viscosity of 0.1 M could not reach 2 Pa·s within 15 min.

**Data are given as mean \pm SEM (n=3), and data bars without a common letter indicate a significant difference (p<0.05).

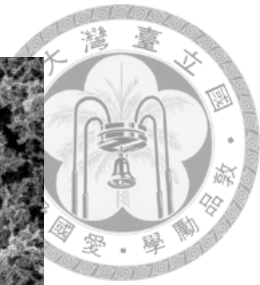
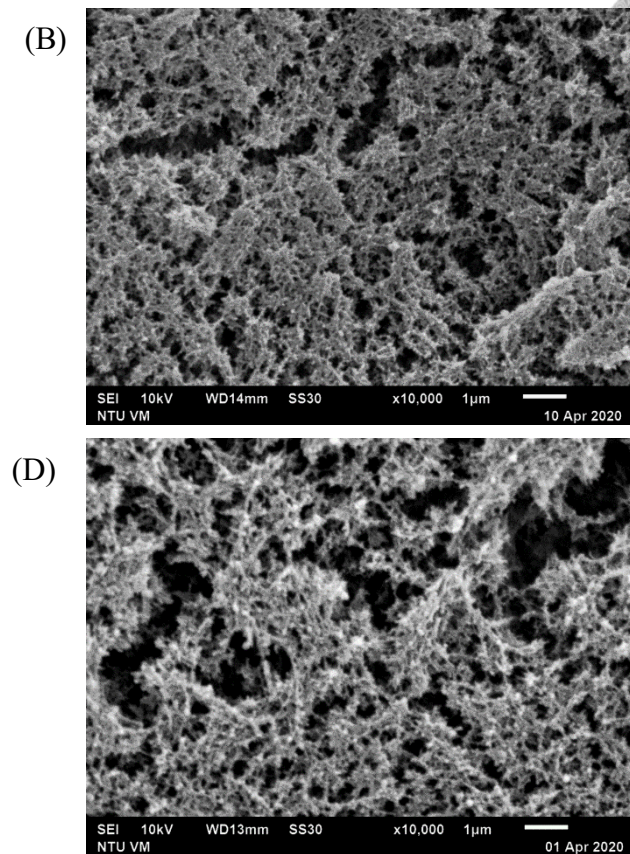
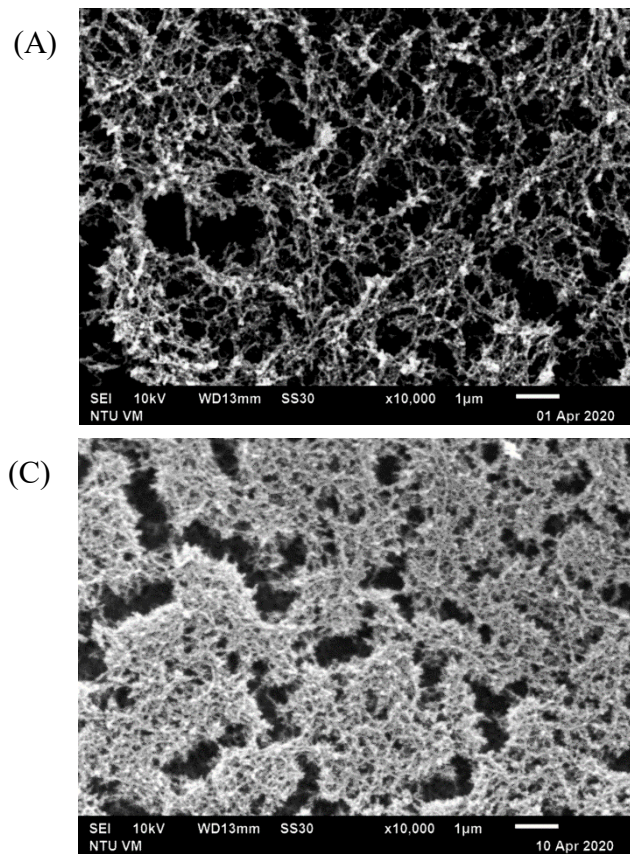


圖 4-3、不同氫氧化鈉濃度之鹼誘導鴨蛋白凝膠顯微構造(A) 0.125 M (B) 0.15 M (C) 0.175 M (D) 0.2 M。(放大倍率：10,000 倍)

Fig 4-3. Scanning electron microscopic image of alkali-induced duck egg white gel with different NaOH concentrations (A) 0.125 M; (B) 0.15 M; (C) 0.175 M; (D) 0.2 M at 25°C. (Magnification: 10,000X)

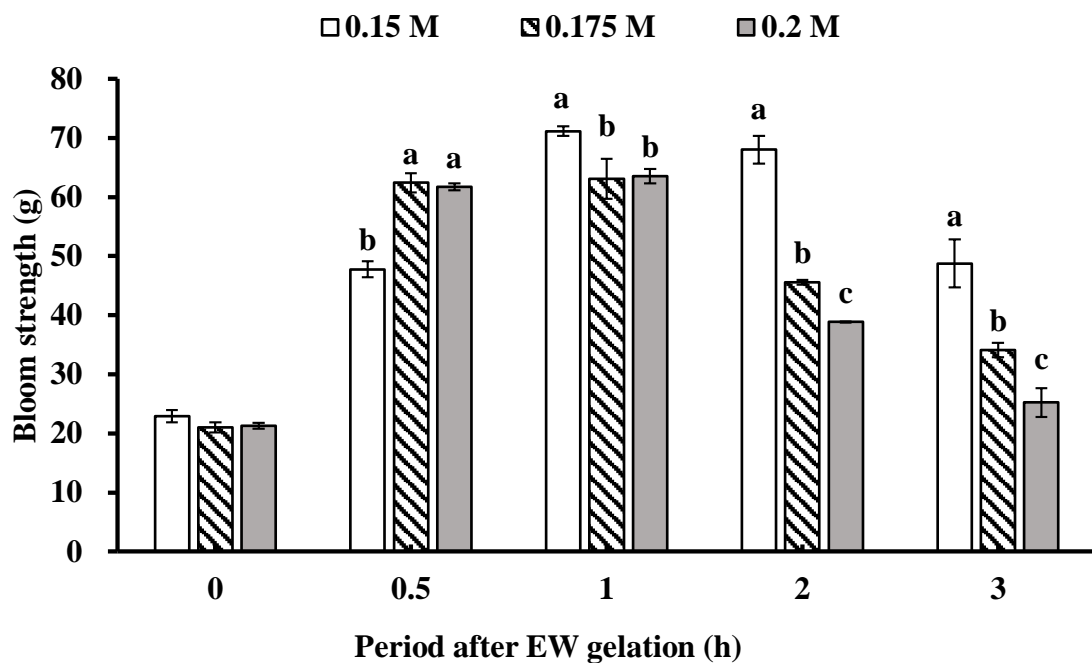


圖 4-4、不同氫氧化鈉濃度所形成鹼性鴨蛋白凝膠之膠體強度變化。

Fig 4-4. Changes in the bloom strength of alkali-induced duck egg white gel with different NaOH concentrations.

*Data are given as mean \pm SEM (n=3), and data bars in each period without the common letter in the same period indicate a significant difference ($p < 0.05$).

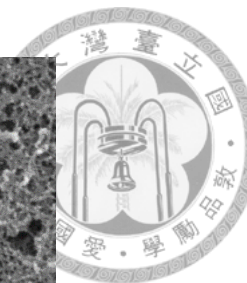
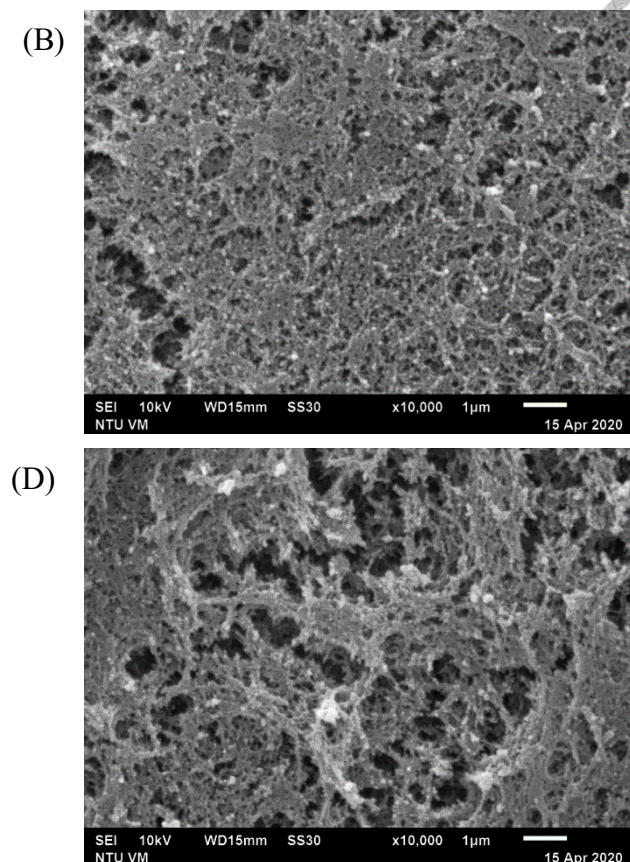
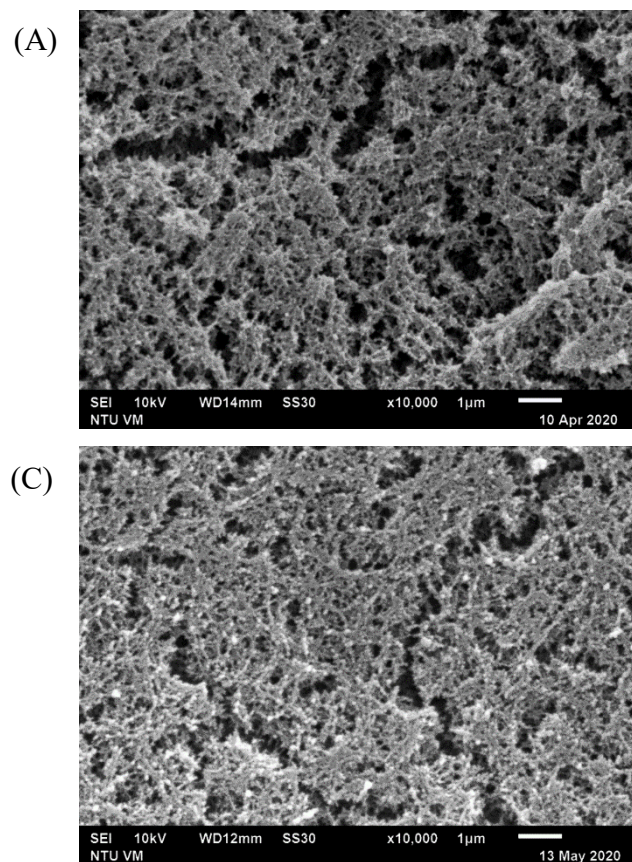


圖 4-5、不同時間 0.15 M 氫氧化鈉之鹼誘導鴨蛋白凝膠顯微構造(A) 0.5 h; (B) 1 h (C) 2 h (D) 3 h。 (放大倍率：10,000 倍)

Fig 4-5. Scanning electron microscopic image of alkali-induced duck egg white gel with 0.15 M NaOH after (A) 0.5 h; (B) 1 h; (C) 2 h; (D) 3 h. (Magnification: 10,000X)

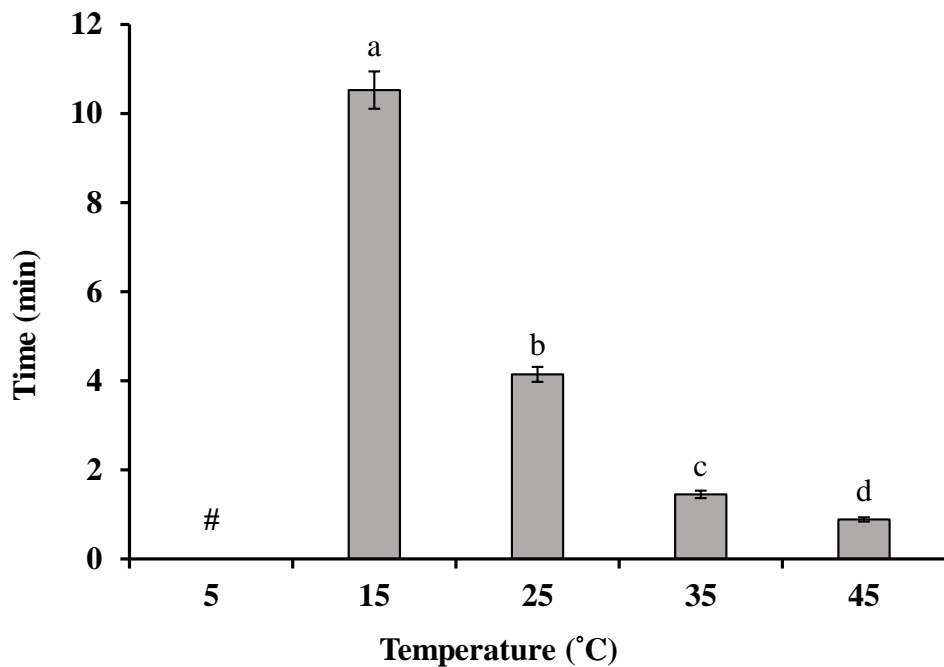


圖 4-6、不同反應溫度對鴨蛋白液凝膠時間之影響。鴨蛋白液之黏度到達 2 Pa·s 所需時間。

Fig 4-6. Effect of different reaction temperature on the gelation time of duck alkali-induced egg white.

The time when the viscosity of alkali-induced duck egg white reaches 2 Pa·s.

*#: The viscosity of 5°C group could not reach 2 Pa·s within 15 min.

**Data are given as mean \pm SEM (n=3), and data bars without the common letter indicate a significant difference (p<0.05).

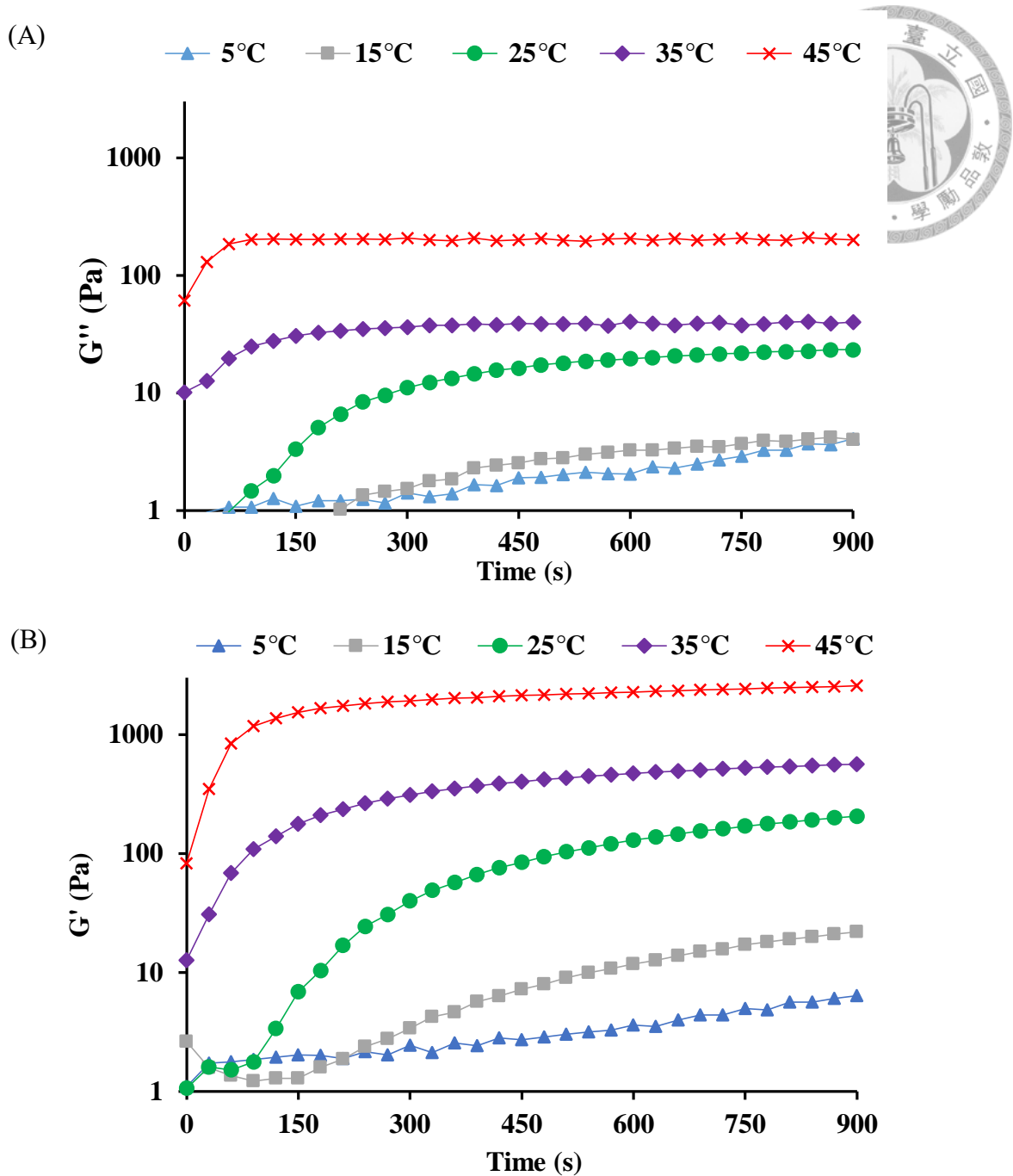


圖 4-7、不同反應溫度對於強鹼誘導鴨蛋白凝膠之 (A)黏性模數與(B)彈性模數之影響。

Fig 4-7. Effect of different reaction temperature on (A) viscous modulus (G'') and (B) elastic modulus (G') of duck alkali-induced egg white gel.

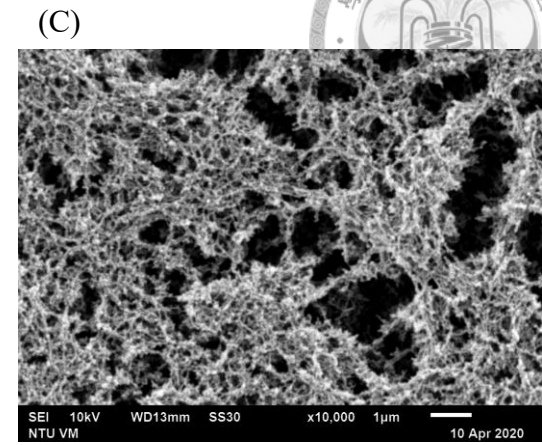
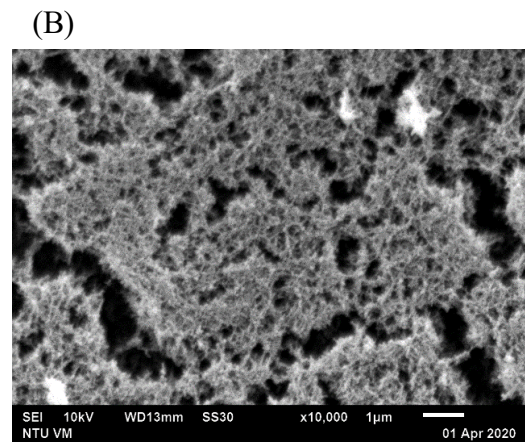
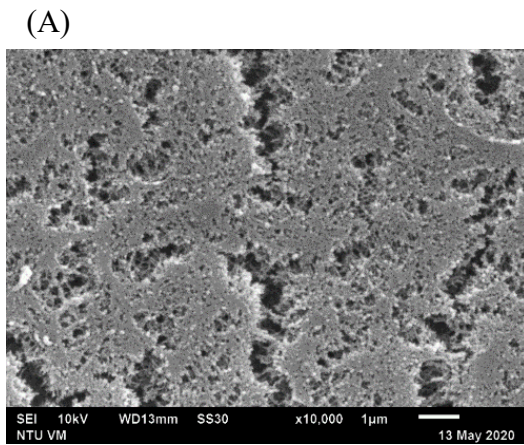
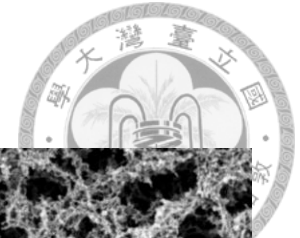


圖 4-8、不同反應溫度氫氧化鈉之鹼誘導鴨蛋白凝膠顯微構造(A) 5°C (B) 25°C (C) 45°C。(放大倍率：10,000 倍)

Fig 4-8. Scanning electron microscopic image of duck alkali-induced egg white gel with 0.15 M NaOH at (A) 5°C ; (B) 25°C ;(E) 45°C.
(Magnification: 10,000 X)

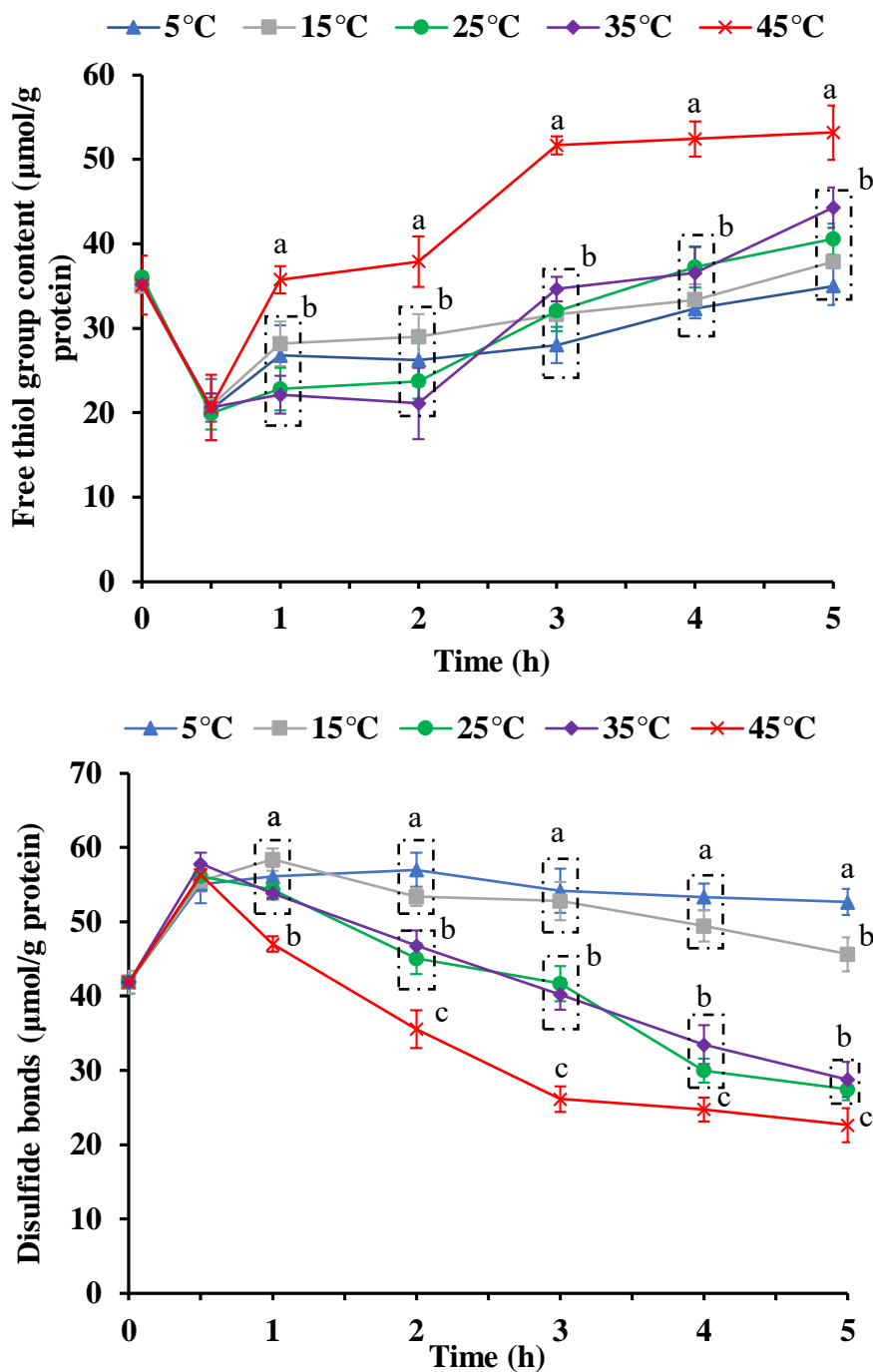


圖 4-9、不同反應溫度對鴨蛋白鹼性凝膠(A)硫醇基與(B)雙硫鍵含量之影響。

Fig 4-9. Effect of different reaction temperature on (A) free thiol group and (B) disulfide bond content of alkali-induced duck egg white gel.

*Data are given as mean \pm SEM (n=3).

** Means in each period without the common letter indicate a significant difference (p<0.05).

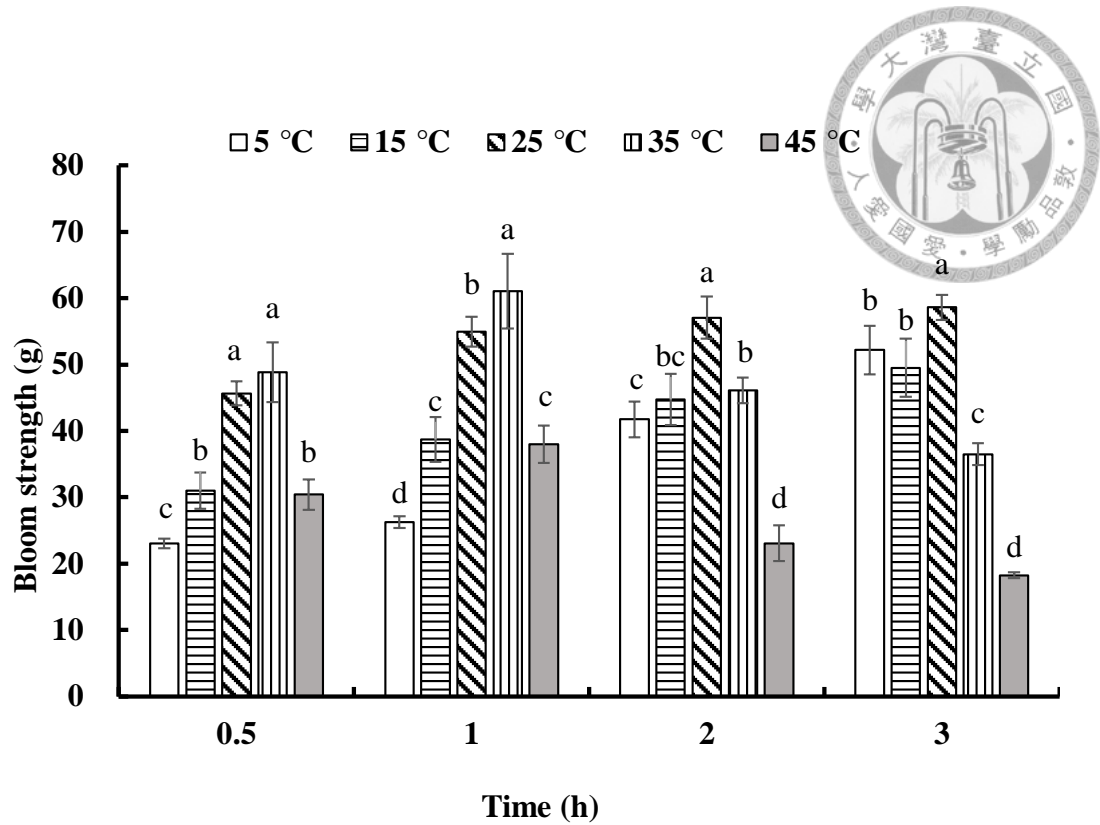


圖 4-10、不同儲存溫度對於鹼誘導鴨蛋白凝膠之膠體強度之影響。

Fig 4-10. Effect of different storage temperature on the bloom strength of alkali-induced duck egg white gel.

*Data are given as mean \pm SEM (n=3), and data bars in each period without the common letter indicate a significant difference ($p < 0.05$).

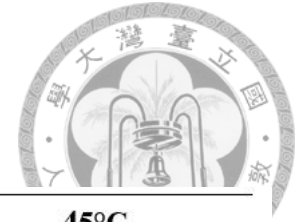


表 4-3、鹼性鴨蛋白凝膠於不同溫度靜置下其蛋白質之外觀

Table 4-3 The appearance of alkali-induced duck egg with gel during standing at different temperature

	5°C	15°C	25°C	35°C	45°C
1 hr					
2 hr					
3 hr					

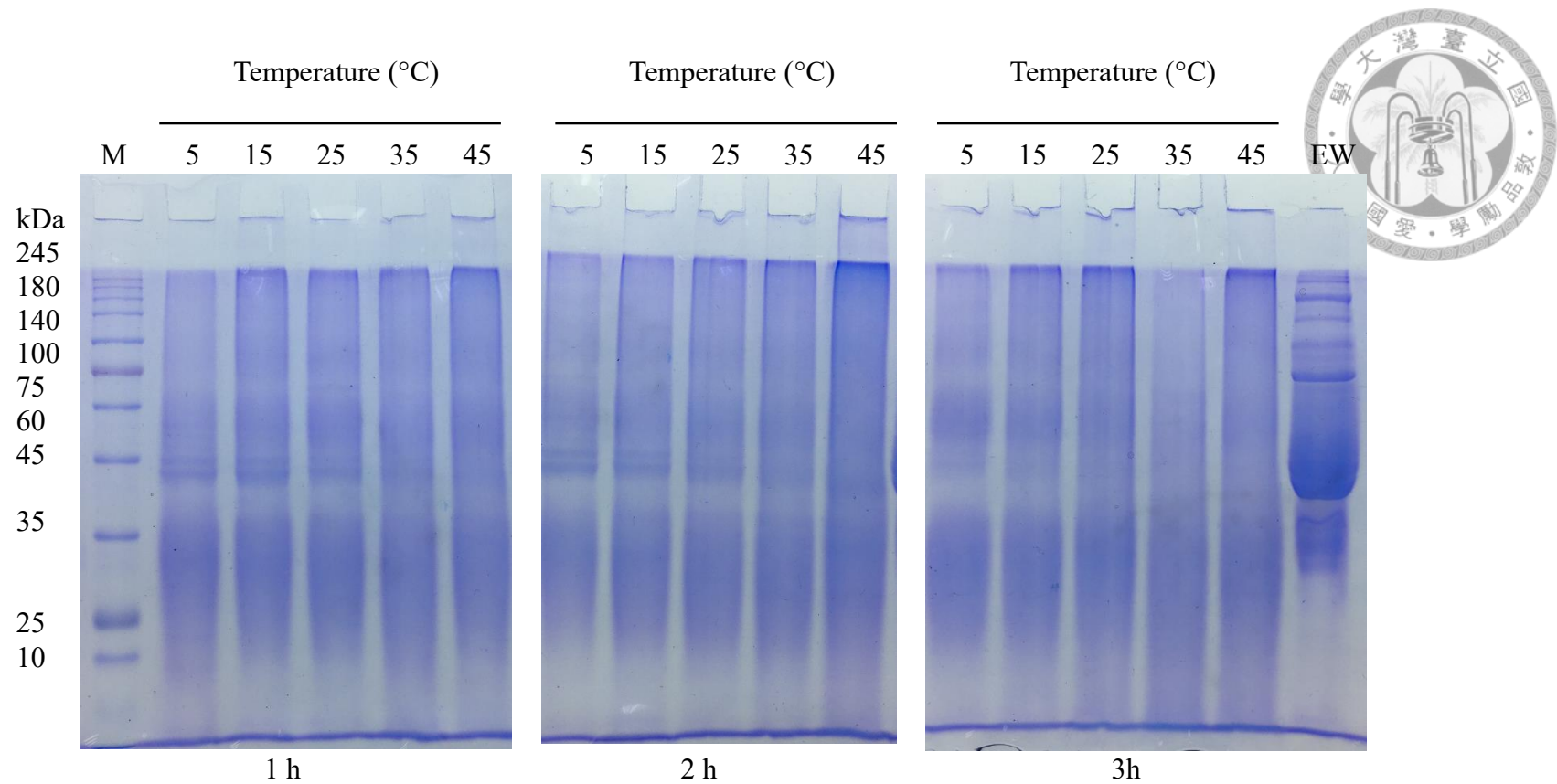


圖 4-11、鹼性鴨蛋白凝膠於不同溫度靜置下其蛋白質之十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳圖譜。

Fig 4-11. SDS-PAGE pattern of proteins in alkali-induced duck egg white gel during standing at different temperature.



二、評估鴨蛋白鹼性凝膠熱之安定性

鴨蛋白鹼性凝膠透明外觀類似皮蛋蛋白，並且具有皮蛋蛋白之 Q 彈口感，而由於一般皮蛋常搭配熱食或直接加熱烹調，例如皮蛋瘦肉粥、油炸皮蛋等，若能將此鴨蛋白鹼性凝膠應用於熱食，將可大大提高其多元利用性。因此本章節將探討鴨蛋白鹼性凝膠之熱安定性，並進一步評估蛋白凝膠應用作為加熱食材之可行性。透過先前試驗所確立之各項凝膠條件，製備出安定膠體並保存於 5°C 環境 24 小時後，將凝膠置於恆溫水浴槽中加熱 10 分鐘，藉此模擬膠體經烹調溫度處理與評估其熱安定性。

(一) 加熱處理對鴨蛋白鹼性凝膠膠體強度與外觀之影響


將製備完成之鴨蛋白鹼性凝膠於 60、70、80、90、及 100°C 水浴加熱 10 分鐘，分析加熱處理對膠體強度之影響，結果如圖 4-12A 所示，未經加熱處理之鴨蛋白鹼性凝膠之膠體強度約為 70 g，而加熱處理後膠體強度則隨著加熱溫度提升而顯著下降($p < 0.05$)，其中加熱溫度達 100°C 時，膠體強度下降至 10 g。然而 Badii and Howell. (2006)指出禽蛋經加熱處理會使蛋白質之疏水性基團暴露而增加疏水交互作用，造成膠體強度上升，與本試驗結果相反，推測鴨蛋白於強鹼作用初期，大部分蛋白質如卵白蛋白結構開始展開，而隨著強鹼持續存在，展開結構之卵白蛋白彼此因雙硫鍵、離子鍵與氫鍵交聯作用而形成排列整齊之網狀膠體結構(Clark, 1992)，當穩定透明鹼性蛋白凝膠形成後再給予加熱處理，反而會破壞維持膠體結構之雙硫鍵結，且隨著加熱溫度提高而有膠體下降幅度更大之趨勢，因此後續研究將針對加熱後蛋白凝膠中雙硫鍵含量變化進行深入探討。至於加熱後蛋白凝膠外觀變化情況，透過本研究發現加熱處理雖然會導致膠體強度數值下降、質地變軟，但熱處理完畢之鴨蛋白鹼性凝膠仍保持完整固態外觀，並未發生液化或結構崩塌情形，反而呈現更軟柔彈性之膠體特性，因此初步判定鴨蛋白鹼性凝膠膠體仍具有作為可加熱食材之潛力，然而鴨蛋白鹼性凝膠經加熱處理，在強鹼與溫度雙重影響



下會使膠體褐化程度更加明顯，圖 4-12B 以肉眼觀察發現蛋白凝膠外觀色澤會隨著加熱溫度提高而有加深變化，其中又以 100°C 加熱處理之膠體具有類似皮蛋蛋白之深褐色外觀，因此將再進一步進行色澤分析試驗。

(二) 加熱處理對鴨蛋白鹼性凝膠之色澤影響

本研究將加熱處理後之鹼性蛋白凝膠以色差儀進行色澤分析，結果如(表 4-4)所示，鴨蛋白鹼性凝膠亮度(L*)與白色度(whiteness)會隨著加熱溫度提高而顯著下降($p < 0.05$)，另外紅色度(a*)與黃色度(b*)則會增加，且隨著加熱溫度顯著提升($p < 0.05$)，此結果與長時間鹼處理之膠體相似，推測是加熱處理會加速梅納反應作用，進而降低膠體之亮度(L*)與白色度(whiteness)，並提高膠體紅色度(a*)與黃色度(b*)。Handa et al. (1998) 指出 pH 值對於蛋白凝膠特性與色澤變化扮演關鍵角色，當蛋白質存在於低 pH 值環境之下，所形成之凝膠呈現白色不透明外觀，若在高 pH 值環境下則會呈現透明彈性蛋白凝膠。Zhao et al. (2014) 則指出鹼誘導之蛋白凝膠外觀呈現琥珀色如皮蛋蛋白，此現象歸因於高 pH 環境下會促進蛋白中游離胺基與葡萄糖之間進行梅納反應，賦予皮蛋蛋白之特殊深褐色色澤 (Ganasen and Benjakul 2011a)，另外，Benjakul et al.(2005)指皮蛋蛋白在梅納反應期間，形成了許多中間產物，包括螢光化合物(fluorescent compounds)與非螢光化合物(non-fluorescent compounds)，而此螢光化合物可能是棕色色素的前驅物(Baiser and Labuza, 1992; Morales et al., 1996)。透過皮蛋製作過程觀察蛋白凝膠之色澤變化，發現紅色度(a*)會隨浸漬時間延長而逐漸增加，使皮蛋蛋白褐色色澤更為明顯，相較於加熱處理所形成之蛋白熱凝膠色澤，鹼處理之蛋白凝膠具有較低的亮度(L*)以及較高的紅色度(a*)與黃色度(b*)，在本試驗中利用強鹼所形成之蛋白凝膠經過加熱處理，其膠體維持透明外觀但色澤卻顯著加深，與過去研究學者觀察發現熱處理蛋白鹼性凝膠後，膠體仍具有透明外觀之結果相同(Kitabatake et al., 1988; Liu and Yang, 1992)。Li et al. (2018) 指出蛋白液中混入 0.4 % 氫氧化鈉後，彈性模數數值顯著高於未添



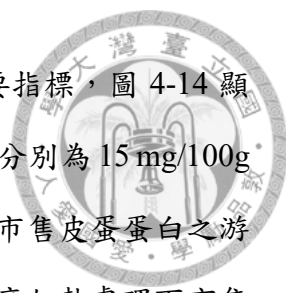
加之新鮮蛋白液，若經加熱處理則新鮮蛋白液因發生熱變性使彈性模數數值上升，然而鹼處理組在 50 - 70°C 範圍內仍維持原有彈性模數，混入氫氧化鈉改變蛋白原有熱變性與熱凝膠特性，該結果可能是由於蛋白質在熱聚集之前就發生強鹼誘導之蛋白質展開或降解形成凝膠，並維持穩定彈性模數與鹼性凝膠之透明凝膠，而加熱主要影響凝膠色澤變化，因此外觀為類似皮蛋蛋白之棕色透明膠體。

(三) 加熱處理對鴨蛋白鹼性凝膠存在雙硫鍵含量之影響

先前試驗發現加熱處理會降低鴨蛋白鹼性凝膠之膠體強度，並推測可能與雙硫鍵破壞有關，因此針對加熱後凝膠進行雙硫鍵含量之測定，以評估經熱處理之鴨蛋白鹼性凝膠是否能夠影響維繫膠體穩定來源之雙硫鍵。圖 4-13 顯示，經過 60°C 加熱處理之蛋白鹼性凝膠，其雙硫鍵含量與未加熱處理組相比並無顯著差異 ($p>0.05$)，可見 60°C 低溫加熱對於鹼性凝膠共價鍵結之破壞程度並不大，但加熱溫度超過 70°C，則雙硫鍵含量會隨著加熱溫度提升而顯著減少 ($p<0.05$)，此結果與膠體強度試驗趨勢相符，再次印證雙硫鍵之含量與膠體強度具正相關性，過去研究學者也同樣發現加熱處理會破壞蛋白質分子間雙硫鍵 (Manuszak et al., 1996)，並且降低蛋白凝膠膠體強度，本研究分析結果亦發現，經 100°C 加熱 10 分鐘之鴨蛋白鹼性凝膠，其雙硫鍵含量約為 40 $\mu\text{mol/g protein}$ ，而前面章節之試驗結果卻發現膠體開始發生液化現象時，其雙硫鍵含量在 30 $\mu\text{mol/g protein}$ ，因此鴨蛋白鹼性凝膠形成後保存 24 小時後再經加熱水煮對於膠體仍可保有一定程度穩定性而不致於發生液化等不良現象。

(四) 加熱處理對於鴨蛋白鹼性凝膠游離鹼度之影響

由於市售皮蛋常與熱粥、瘦肉一同烹煮，仍能維持皮蛋蛋白膠體之穩定性，但對於烹煮過程皮蛋蛋白鹼性物質釋出量卻鮮少有相關研究，因此本研究同時比較並測定分離鴨蛋白鹼性凝膠與市售皮蛋蛋白經加熱水煮處理後，釋放至蒸餾水中




之游離鹼度含量，以作為鹼性凝膠熱安定性與安全性評估之重要指標，圖 4-14 顯示未經加熱處理之鴨蛋白鹼性凝膠與市售皮蛋蛋白，其游離鹼度分別為 15 mg/100g 及 27 mg/100g，當加熱溫度達 100°C 時，則鴨蛋白鹼性凝膠與市售皮蛋蛋白之游離鹼度分別上升至 25 mg/100g 及 45 mg/100g，發現 6 種不同溫度加熱處理下市售皮蛋蛋白鹼性物質釋放量均顯著高於本研究試製之鴨蛋白鹼性凝膠 ($p < 0.05$)，整體而言，無論是市售皮蛋蛋白或是蛋白鹼性凝膠之游離鹼度均會隨著加熱溫度上升而有增加的趨勢，推測加熱處理會使原本存在膠體內部之氫氧根離子釋放至環境中，並且隨著溫度提升而更加明顯，然而分離鴨蛋白鹼性凝膠之游離鹼度明顯低於市售皮蛋($p < 0.05$)，推測可能是鹼性蛋白凝膠與皮蛋蛋白水分含量差異有很大關係，其中鹼性蛋白凝膠水分含量約 90%，所含氫氧根離子與水分子能夠形成氫鍵鍵結，相反地皮蛋蛋白於醃漬過程因滲透壓造成原本存在於蛋白的水分轉移至蛋黃或醃漬液中 (Chi and Tseng, 1998)，造成水分含量下降，對於氫氧根離子之固定與鍵結於皮蛋蛋白膠體能力下降，因此氫氧根離子釋放比例較高。

由上述結果顯示，鴨蛋白鹼性凝膠於加熱過程所釋放至環境之氫氧根離子顯著低於市售皮蛋蛋白 ($p < 0.05$)，與膠體中氫鍵鍵結結構穩定性有很大關係，因此在一般市售皮蛋蛋白可應用於熱粥的前提下，本研究所製備之鴨蛋白鹼性凝膠同樣可應用於加熱食品或即食食品。

(五) 加熱處理對於鴨蛋白鹼性凝膠顯微構造之影響

透過掃描式電子顯微鏡觀察加熱處理對於鴨蛋白鹼性凝膠顯微構造之影響，由圖 4-15 顯示，加熱後鴨蛋白鹼性凝膠之顯微構造與未加熱組明顯不同，經過 10 分鐘加熱處理組(A-E)之膠體顯微結構較為緻密，結構中存在的孔洞面積縮小，而未加熱處理組(F)之膠體顯微結構較為鬆散、孔洞較大，由不同加熱溫度進行比較發現低加熱溫度之處理組(A-C)，其顯微結構之孔洞較多、結構緻密程度較低，而高加熱溫度處理組(D-E)孔洞則較少、蛋白質密合狀況完整，推測加熱處理會使部



分蛋白質更加聚集，並造成膠體網狀結構收縮、甚至脫水，導致形成更緻密之膠體結構。由於蛋白熱凝膠與蛋白鹼性凝膠形成機制不同， Woodward and Cotterill (1986)將蛋白加熱處理並透過掃瞄式電子顯微鏡觀察蛋白凝膠之微細構造，其中蛋白經 80°C 加熱 10 分鐘後，膠體形成且三度空間網狀構造呈現鬆散排列、網狀構造間之孔洞相對較大，並且在膠體表面部分形成顆粒，然而經過加熱 12 分鐘，三度空間網狀結構變得更致密完整，同時架構間的孔洞面積與數量減少，直至 15 分鐘處理，膠體結構中絕大部分孔洞幾乎被網狀分枝填滿，表面具顆粒且膠體結構以連續之網狀構造相連。雖然本試驗是將鹼性凝膠加熱處理後進行觀察，但顯微構造結果與上述蛋白熱凝膠之構造相似。另外，過去研究將加熱誘導之透明凝膠與鹼誘導凝膠相比，發現鹼誘導變性之蛋白質分子彼此會線性排列並產生網狀結構，而加熱處理後則會使蛋白質分子聚集，形成緻密的結構(Kitabatake et al., 1987; Tani et al., 1993; Chen et al., 2015)。

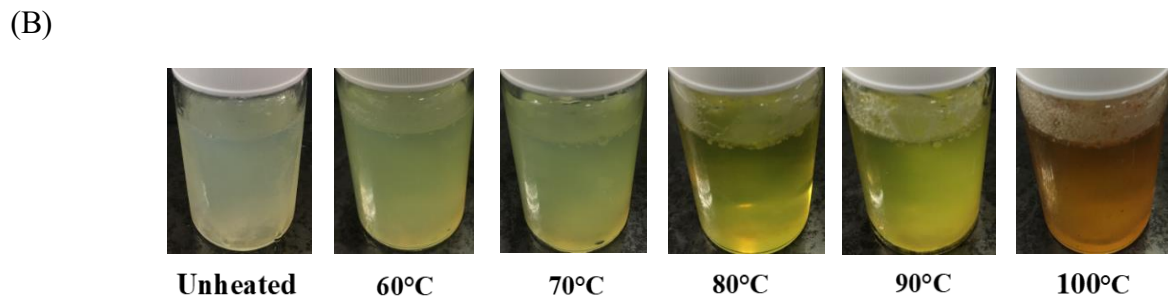
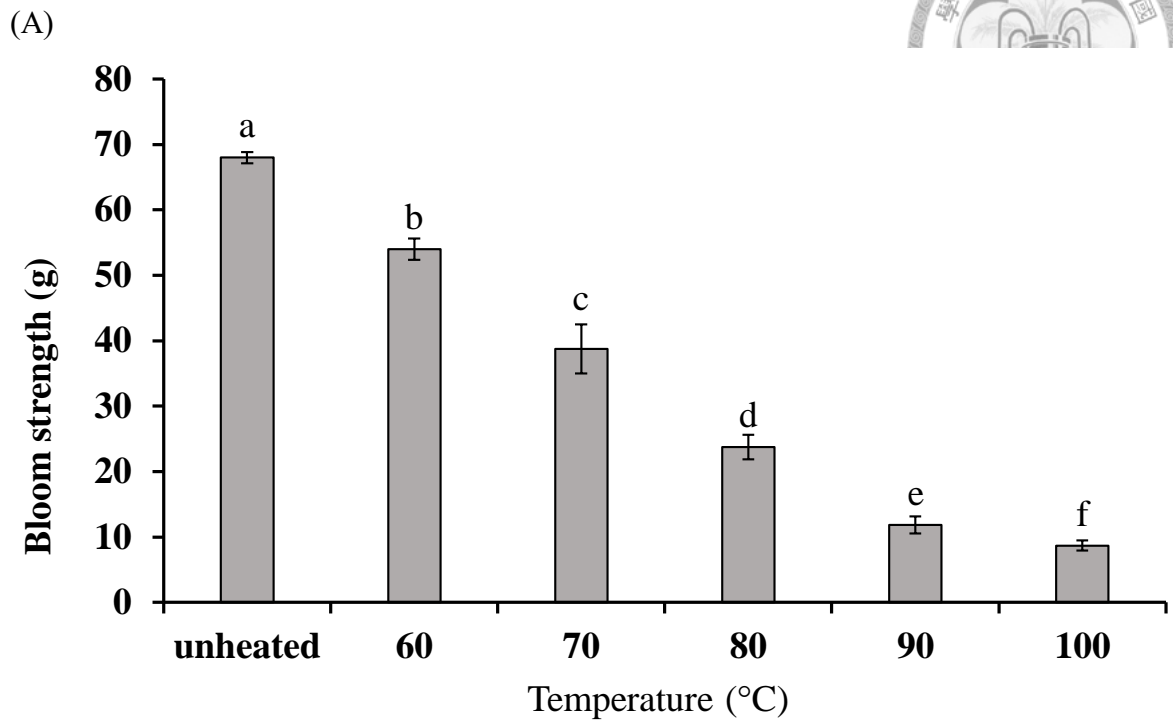



圖 4-12、不同加熱溫度處理對於(A)膠體強度與(B)膠體外觀之影響。

Fig 4-12. Changes in (A) bloom strength and (B) appearance of alkali-induced egg white gel after heating. *Data are given as mean \pm SEM (n=3). **Data bars without the common letter indicate a significant difference ($p < 0.05$).

表 4-4、不同加熱溫度處理之凝膠 L*、a* 及 b* 值

Table 4-1 L*, a* and b* values of alkali-induced egg white gel after heating treatments



heating temperature (°C)	L*	a*	b*	whiteness
Unheated	80.91±2.56 ^a	-4.53±0.55 ^b	21.16±1.20 ^c	70.96±1.67 ^a
60	78.17±1.39 ^{ab}	-9.33±0.33 ^c	19.18±2.70 ^c	69.37±2.40 ^a
70	77.41±1.80 ^{ab}	-9.04±0.49 ^{de}	28.87±0.98 ^d	62.14±0.80 ^b
80	73.54±2.11 ^{bc}	-7.30±0.10 ^{cd}	36.46±3.38 ^c	54.13±2.25 ^c
90	69.90±0.15 ^c	-6.79±0.99 ^c	53.75±1.17 ^b	38.00±0.93 ^d
100	61.43±1.82 ^d	3.57±0.63 ^a	69.52±3.33 ^a	20.28±2.03 ^e

* The data are given as mean±SEM (n=3). Mean values in each parameter without a common superscript are significantly different (p<0.05).

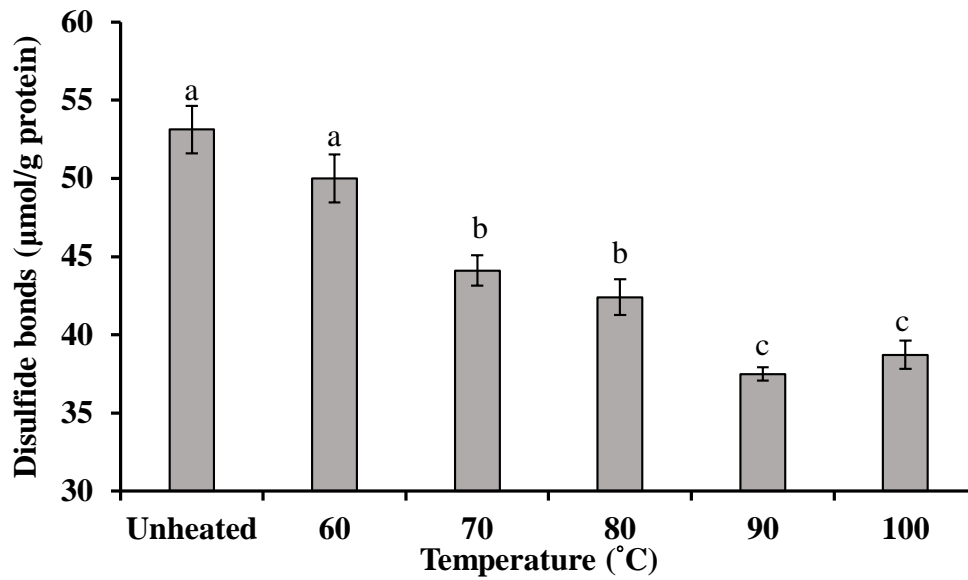
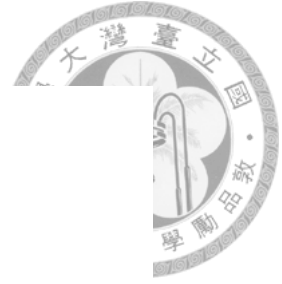


圖 4-13、不同加熱溫度對製備凝膠之雙硫鍵含量之影響。

Fig 4-13. Effects of different heating temperature on disulfide bond content of alkali-induced EW gel. *Data are given as mean \pm SEM (n=3). **Data bars without the common letter indicate a significant difference ($p < 0.05$).

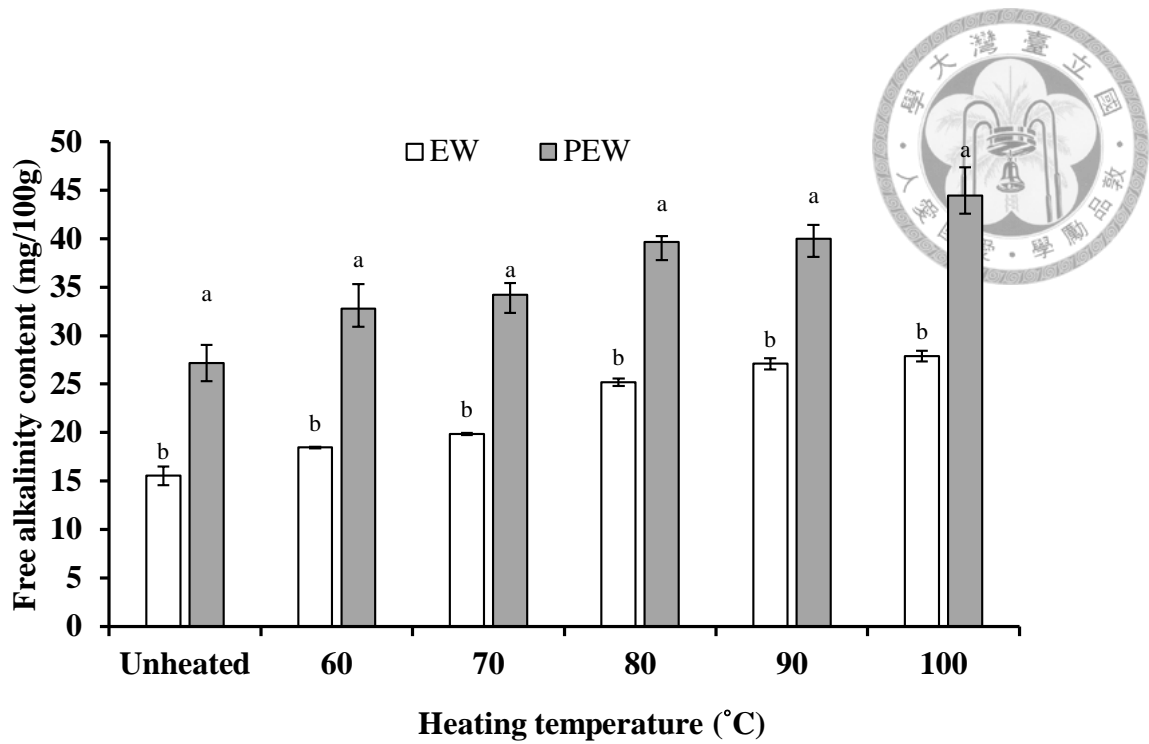


圖 4-14、不同加熱溫度對製備凝膠(EW)與市售皮蛋蛋白(PEW)釋放游離鹼度之影響。

Fig 4-14. Effects of different heating temperature on free alkalinity of steeping solution released from prepared egg white gel (EW) and commercial preserved egg white (PEW).

*Data are given as mean \pm SEM (n=3). **Data bars without the common letter indicate a significant difference ($p < 0.05$).

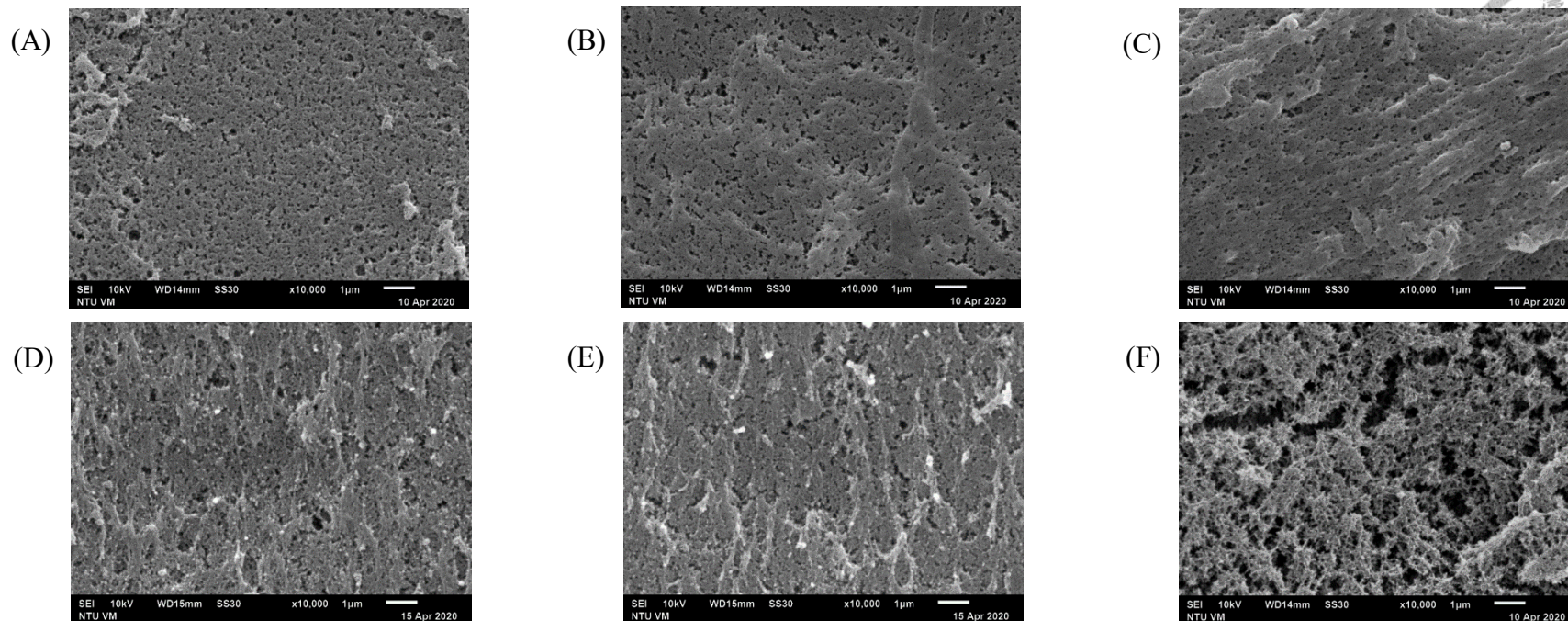
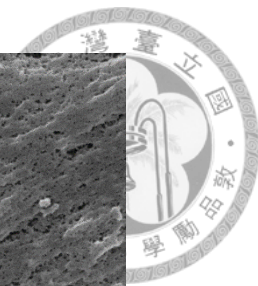


圖 4-15、不同加熱溫度處理 10 分鐘之鹼誘導蛋白凝膠顯微構造(A) 60°C; (B) 70°C; (C) 80°C;(D) 90°C; (E) 100°C; (F) 未加熱處理。(放大倍率: 10000X)

Fig 4-15. Scanning electron microscopic image of alkali-induced egg white gel after heating treatments for 10 min at (A) 60°C; (B) 70°C; (C) 80°C;(D) 90°C; (E) 100°C; (F) unheated. (Magnification: 10000X)



三、應用於乳化型肉製品(熱狗)

為了提高蛋白凝膠產品於肉製品之後續應用，考量食肉乳化能夠增加製品均勻度、穩定性並可透過不同食材添加而提高肉製品多樣性，包括熱狗、火腿、香腸及貢丸等乳化型肉製品常額外加入各種不同食物原料而製造出特色產品，足見乳化在肉品加工上扮演極重要角色，(Dresselhuis et al., 2008)，然而為維持良好乳化效果、品質穩定與特殊口感，乳化型肉製品必須依賴食品添加物-聚合磷酸鹽。而先前也有研究利用纖維素或蒟蒻凝膠來改善乳化型肉製品質地或取代添加物及部分原料(Kao and Lin, 2006; Almeida et al., 2014)。而鴨蛋白鹼性蛋白凝膠本身水合效果佳且具較高 pH 值，因此本研究嘗試應用鴨蛋白鹼性蛋白凝膠於乳化型肉製品以評估是否能取代磷酸鹽以提高產品保水性及乳化性，開發富含蛋白營養及具結著性、咀嚼性、利用性之新型態乳化型肉製品，以提高廢棄鴨蛋白液之附加價值與利用性。

(一) 鹼性蛋白凝膠對於乳化肉漿之 pH 值之影響

研究指出氫氧化鈉和磷酸鹽皆會增加乳化型肉品之 pH 值，且隨著 pH 升高，也會提升乳化肉漿之保水性、乳化能力和蛋白質溶解度(FUKAZAWA et al., 1961; Saffle and Galbreath, 1964; DeMan and Melnychyn, 1971; Froning and Neelakantan, 1971)，另外 Bae et al. (2017)研究證實蛋殼粉的添加顯著提升肉製品之 pH 值，並有效地降低其蒸煮失重，其質地與添加磷酸鹽組別相比也有顯著差異，此結果證明了鹼性添加物有助於改善肉製品的質地與保水性，因此本研究利用蛋白鹼性凝膠來改善肉製品各項性質。試驗結果(圖 4-16 A)顯示完全不添加蛋白凝膠與磷酸鹽之對照組(A⁰)其 pH 值最低，而減量 50%磷酸鹽並額外添加 3.0 及 6.0 %之蛋白凝膠處理組(B 組)其 pH 值也顯著高於未添加蛋白凝膠之對照組(p<0.05)；而添加 6.0 %鹼性蛋白凝膠與 0.2 %磷酸鹽之組別(C⁶) pH 值顯著高於其他處理組(p<0.05)，試驗整體結果磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠皆會影響肉漿 pH 值，並隨著鹼性蛋白凝膠含量增加而顯著上升(p<0.05)，其中鹼性蛋白凝膠對於肉漿 pH 值提升之影響略高於磷酸

鹽。



(二) 鹼性蛋白凝膠對於乳化肉漿黏度之影響

透過測定肉漿之流變性(圖 4-16 B)發現完全不添加磷酸鹽組別(A 組)，乳化肉漿之黏度值表現顯著較低($p < 0.05$)，而添加正常劑量磷酸鹽搭配蛋白凝膠之組別(C 組)具有較高的肉漿黏度，其中又以搭配 3.0%之蛋白凝膠(C³)可達最高的黏度值($p < 0.05$)，而減少 50%磷酸鹽並添加蛋白凝膠組別(B 組)之黏度值仍顯著高於($p < 0.05$)正常劑量磷酸鹽但未添加任何蛋白凝膠組別(A 組)。Knipe et al. (1985) 指出添加磷酸鹽會顯著影響乳化肉漿之黏度，另外，乳化肉漿黏度增加也會使乳化穩定性提高(Shand, 2000)，而高黏度乳化肉漿結著性較高不易碎裂(Aktaş and Genccelep, 2006)，後續可再進一步分析產品質地。儘管添加鹼性蛋白凝膠具有提高黏度之潛力，但經本研究證實由乳化肉漿黏度特性分析，鹼性蛋白凝膠無法完全取代磷酸鹽必須與減量磷酸鹽混合搭配才可有效提升乳化肉漿之黏度，並由試驗結果可知肉漿 pH 值與黏度變化趨勢相同，證明兩者具相關性。

(三) 鹼性蛋白凝膠添加對於乳化型肉製品質地特性之影響


從上述實驗得知，磷酸鹽結合鹼性蛋白凝膠能夠提升肉漿之乳化性、pH 值以及肉漿之黏度特性，Yapar et al. (2006)也指出提高肉漿之黏度能使乳化型肉類產品具有更高的彈性。因此更進一步分析磷酸鹽及鹼性蛋白凝膠對於乳化型肉製品質地特性影響，本研究將乳化肉漿填充至熱狗腸衣以 80°C 加熱處理 15 分鐘後，切成厚度 1 cm 之樣品進行質地分析(texture profile analysis; TPA)。結果顯示(表 4-5)無論是硬度(hardness)、內聚性(cohesiveness)、膠性(gumminess)、咀嚼性(chewiness)和回復性(resilience)與未烹煮前之乳化肉漿黏度有相同趨勢，而上述物理特性在正常劑量磷酸鹽搭配 6%蛋白凝膠組別(C⁶)顯著高於其他處理組($p < 0.05$)；另外在彈性(springiness)部分，含磷酸鹽搭配蛋白凝膠組別(B 與 C 組)顯著高於對照組(CON)與

未添加磷酸鹽組別(A 組) ($p < 0.05$)，因此根據上述試驗結果證實，若同時搭配磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠可提升熱狗的硬度與彈性等物理特性。



(四) 鹼性蛋白凝膠對新型態乳化型肉製品保水力之影響


動物體內部分蛋白質擁有保水力，尤以肌肉組織中的肌原纖維蛋白質，其同時具有乳化性與凝膠性功能特性，其中 pH 值變化會顯著影響肌原纖維蛋白質之保水力，本研究已證實添加鹼性蛋白凝膠能有效提升乳化肉漿之 pH 值及黏度，但是否具有提升乳化型肉製品之保水性尚未被驗證，因此後續將針對熱狗之烹煮損失 (cooking loss) 與 centrifugation loss 進行測試。先前研究指出烹煮損失會受到烹煮之時間、溫度、方法、添加物、腸衣以及脂肪含量影響 (Hong et al., 2004; Yoo et al., 2005; Vasanthi et al., 2007; Choi et al., 2008; García-García and Totosaus, 2008)，而本試驗統一將肉漿樣品以 80 水浴 15 分鐘處理。結果顯示(圖 4-17)完全無添加磷酸鹽之處理組(A 組)，其烹煮損失(%)顯著高於正常劑量磷酸鹽(C 組)及 50%磷酸鹽處理組(B 組) ($p < 0.05$)，推測磷酸鹽對於肉製品之保水性仍扮演非常重要的角色，雖然單獨添加鹼性蛋白凝膠並無法有效改善肉製品之保水性，然而結合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠之處理組(B 與 C 組)，所測得之烹煮損失顯著低於正常劑量磷酸鹽但未額外添加鹼性蛋白凝膠之組別(CON) ($p < 0.05$)，且隨著鹼性蛋白凝膠含量的上升，其烹煮損失有降低的趨勢。因此證明了磷酸鹽存在的情況下添加鹼性蛋白凝膠能夠有效的提升肉製品之保水性。另一方面 centrifugation loss 之試驗結果顯示(圖 4-18)各處理組之間並無太大差異，然而發現隨著添加鹼性蛋白凝膠的增加，centrifugation loss (%)有提升之趨勢，其中又以添加 6%鹼性蛋白凝膠(C⁶)具有最高的 centrifugation loss (%)，推測可能原因乃鹼性蛋白凝膠含有較高的水分，當添加於乳化型肉製品後會提高水分含量，因此藉由離心而吸附於濾紙上的水分也會較高。另外針對乳化型肉製品於冷凍環境儲存並解凍後進行保水性 purge loss 測試，本研究於第 0、7、14、21 及 28 天測試滲水量，結果發現(表 4-6)各組之 purge loss



在第 0 天時並未產生顯著差異，僅完全無添加磷酸鹽之處理組(A 組)顯著較高 ($p<0.05$)。此外也發現各處理組 purge loss 皆會隨儲存時間延長而增加，完全無添加磷酸鹽之處理組(A 組)較高，其中 A^0 處理組均為最高，而結合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠之處理組(B 與 C 組)較低。試驗結果整體而言保水性與磷酸鹽及鹼性蛋白凝膠含量呈現正相關，磷酸鹽搭配蛋白凝膠可有效提升熱狗之保水力，並可取代部分磷酸鹽。

(五) 聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠添加量對乳化肉漿與成品色澤之影響

肉品顏色主要取決於肌紅蛋白，肌紅蛋白為一種水溶性蛋白質，蛋白質中心有一個鐵原子。鐵原子是肉品顏色的重要影響因素，鐵的氧化(化學)狀態以及化合物(氧氣，水或一氧化氮)附著在蛋白質分子的鐵原子上乃肉色之決定性因素，而 pH 值的變化會影響組成肌肉的蛋白質上的電荷。這些變化會改變肉纖維之間的間距，結構的變化會影響光的反射和吸收方式，從而影響視覺外觀 (Boles and Pegg, 2010)。試驗結果顯示(表 4-7、4-8 及 4-9)添加 1.5%以下之鹼性蛋白凝膠處理組，其肉漿顏色為粉紅色。但是隨著鹼性蛋白凝膠含量增加，肉泥的粉紅色部分會變淡，逐漸變成灰色，而 6%鹼性蛋白凝膠添加下其肉漿顏色呈現淡綠色，推測肉漿粉紅色消失之主要原因乃鹼性蛋白凝膠使 pH 值上升，造成肌紅蛋白氧化，因此肉泥轉變為灰色。由此可知肉漿外觀顏色變化取決於肉漿 pH 值，然而將肉漿以 80°C 加熱處理 15 分鐘後，其顏色外觀以肉眼觀察均為淡灰色，各組間並無太大差異。為了進一步闡明煮熟的肉品之顏色變化，後續將使用顏色分析儀對肉品進行分析。色澤分析儀利用三維空間的形式將色彩數據化，測得肉泥的 L. a. b 值，其中 L*表示亮度，a*表示紅色度(綠)，b*表示黃色度(藍)，whiteness 則可以利用 L. a. b 值計算獲得。結果顯示(表 4-10)，在亮度方面，所有處理組(A 組)中， A^6 具最高的亮度，而 C^3 亮度最低，其餘組間並無明顯差異，但有添加磷酸鹽處理組其亮度顯著低於未添加磷酸鹽組($p<0.05$)。紅色度(綠)方面，未添加磷酸鹽與未添加鹼性蛋白凝膠



之處理組(A⁰)具有最高 a*值，顯示其具有較高紅色度；而在 6.0%鹼性蛋白凝膠組(A⁶、B⁶與 C⁶)具有明顯較低的 a*值(p<0.05)，表示其綠色度較高，此結果和先前以肉眼觀察未煮熟之肉泥顏色外觀結果一致，然而全部的處理組在黃色度(藍)方面 B³組觀察到最高值，而其餘則無明顯差異。在 whiteness 部分最高值出現在未添加磷酸鹽但額外加入 6.0%鹼性蛋白凝膠之處理組(A⁶)，但各處理組間 whiteness 並無顯著差異。

(六) 新型態乳化型肉製品之官能品評結果

新型態乳化型肉製品之喜好性品評分析結果顯示(表 4-11)，無論是風味、質地及總接受度均有良好表現，且減少 50%磷酸鹽搭配 3%蛋白凝膠組別明顯優於完全不添加磷酸鹽之組別(A 組)與對照組(CON) (p<0.05)。本研究為首次將鹼性蛋白凝膠與肉製品充分結合，成功製備出具鴨蛋白成分且受消費者喜愛之乳化型肉製品。

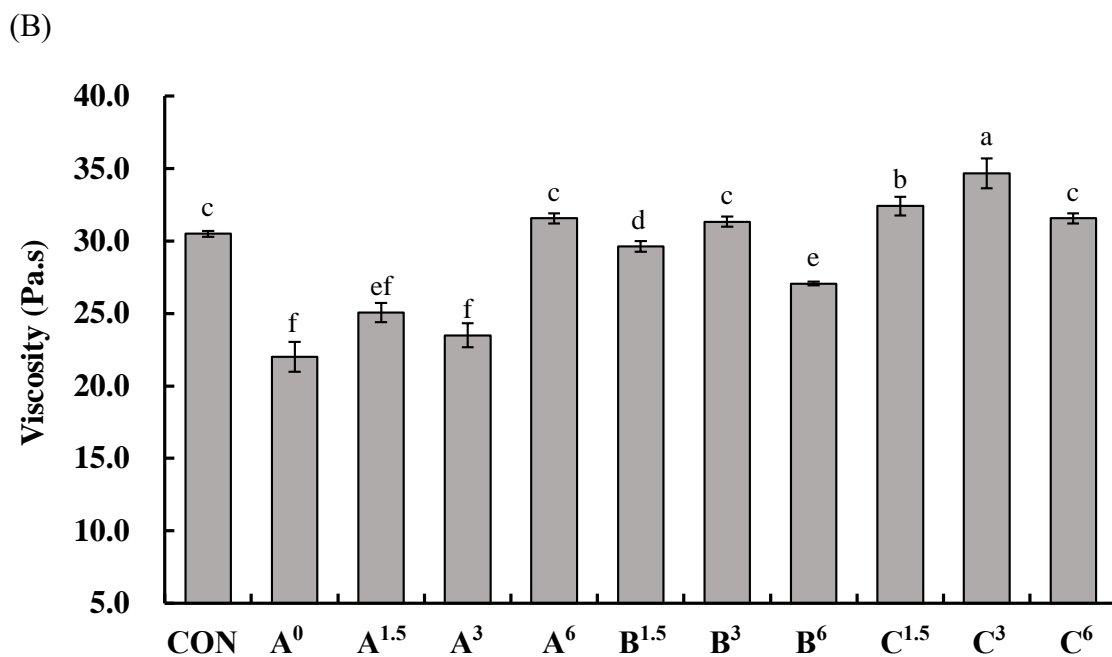
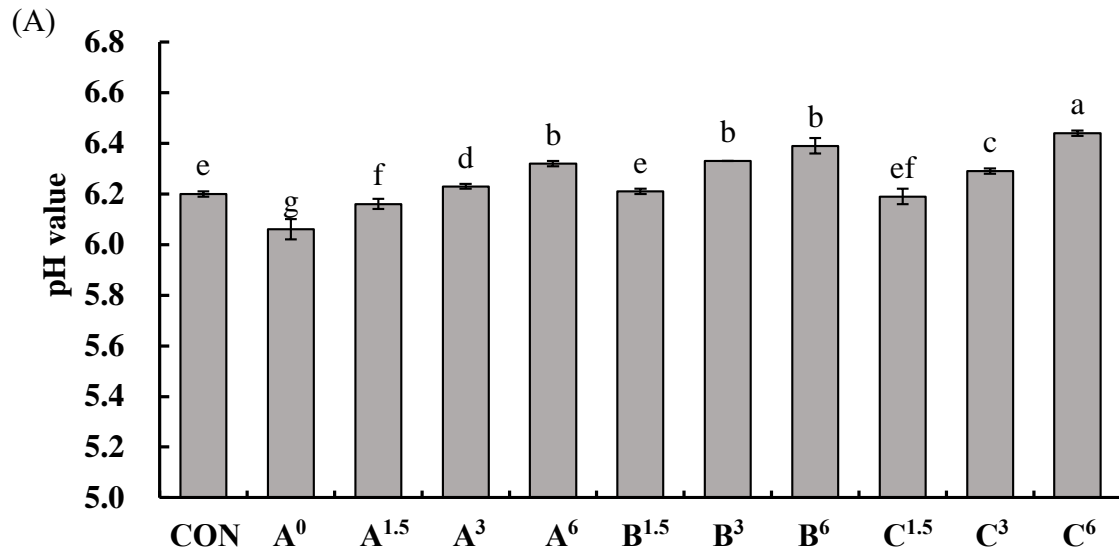


圖 4-16、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對肉漿(A)pH 值與(B)黏度影響。

Fig 4-16. Effects of different contents of polyphosphates and alkali-induced egg white gel on (A) pH value and (B) viscosity.

*Group A: without polyphosphate; Group B: with 0.1% polyphosphate; Group C: with 0.2% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

***Data are given as mean \pm SEM (n=3). a-f, Data bars without the common letters are significantly different ($p < 0.05$).



表 4-5、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量之新型態乳化型肉製品質地分析

Table 4-5 Texture profile analysis of novel emulsified meat products with different polyphosphates and alkali-induced egg white gel content

Group	Hardness (N)	Springiness	Cohesiveness	Gumminess (N)	Chewiness (N)	Resilience
CON	99.04±1.15 ^c	0.78±0.08 ^{cd}	0.64±0.01 ^e	62.97±1.32 ^b	49.18±5.68 ^c	0.26±0.00 ^d
A ⁰	63.22±0.65 ^g	0.76±0.01 ^d	0.43±0.01 ^g	27.32±0.89 ^e	20.79±0.89 ^{de}	0.13±0.01 ^g
A ^{1.5}	50.14±0.63 ⁱ	0.77±0.01 ^{cd}	0.48±0.01 ^f	24.12±0.35 ^e	18.57±0.52 ^e	0.16±0.01 ^f
A ³	56.23±0.18 ^h	0.79±0.03 ^{cd}	0.44±0.03 ^g	24.93±1.51 ^e	19.68±0.87 ^{de}	0.15±0.02 ^{fg}
A ⁶	64.50±1.05 ^g	0.78±0.01 ^{cd}	0.49±0.01 ^f	31.80±0.94 ^d	24.79±0.96 ^d	0.18±0.01 ^e
B ^{1.5}	87.74±0.51 ^e	0.93±0.01 ^a	0.68±0.01 ^{cd}	58.06±0.21 ^c	53.92±0.70 ^{bc}	0.29±0.00 ^{bc}
B ³	78.96±0.63 ^f	0.91±0.01 ^{ab}	0.73±0.01 ^a	56.21±0.61 ^c	51.84±0.16 ^{bc}	0.33±0.00 ^a
B ⁶	104.12±2.56 ^a	0.85±0.03 ^{abcd}	0.72±0.00 ^{ab}	65.84±2.81 ^b	57.59±1.34 ^{ab}	0.31±0.00 ^b
C ^{1.5}	91.79±0.62 ^d	0.84±0.04 ^{abcd}	0.69±0.02 ^{bc}	63.67±1.58 ^b	53.63±3.14 ^{bc}	0.30±0.01 ^{bc}
C ³	99.46±1.69 ^{bc}	0.86±0.02 ^{abc}	0.65±0.01 ^{de}	64.62±0.90 ^b	55.65±0.95 ^{ab}	0.29±0.00 ^c
C ⁶	102.80±1.65 ^{ab}	0.83±0.01 ^{bcd}	0.71±0.00 ^{abc}	73.16±1.15 ^a	60.52±0.56 ^a	0.34±0.00 ^a

* A: without polyphosphate; B: with 0.1% polyphosphate; C: with 0.2% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

***Data are given as mean ± SEM (n=3). Means within column and group with differing superscripts are significantly different (p < 0.05).

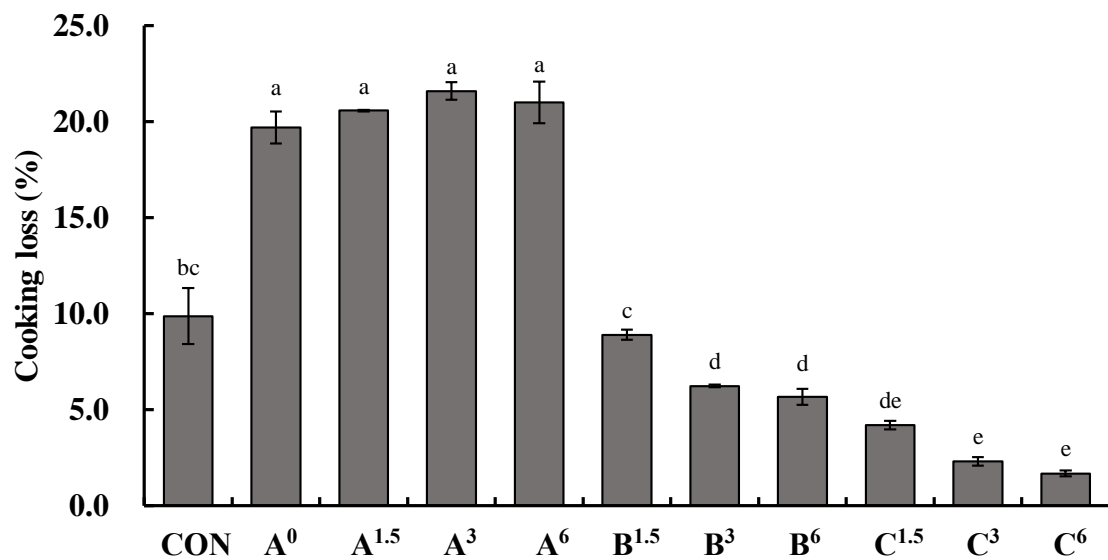


圖 4-17、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對新型態乳化型肉製品烹煮失重之影響。

Fig 4-17. Effect of different polyphosphates and alkali-induced egg white gel content on cooking loss of novel emulsified meat products.

*Group A: without polyphosphate; Group B: with 0.1% polyphosphate; Group C: with 0.2% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

***Data are given as mean \pm SEM (n=3). a-e, Means without the common letters are significantly different ($p < 0.05$)

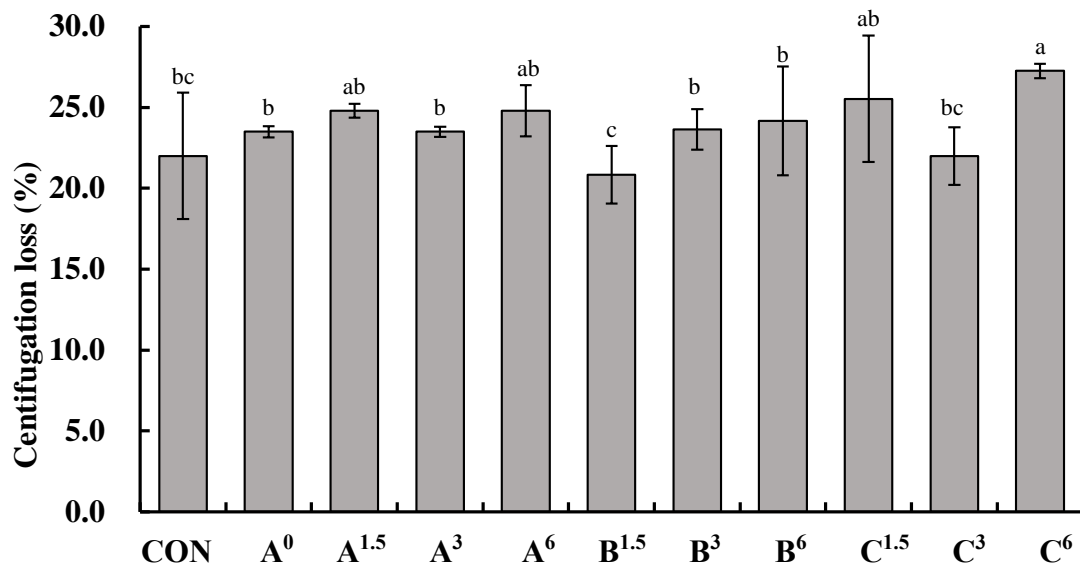


圖 4-18、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對新型態乳化型肉製品離心失重之影響。

Fig 4-18. Effect of different polyphosphates and alkali-induced egg white gel content on centrifugation loss of novel emulsified meat products.

*Group A: without polyphosphate; Group B: with 0.1% polyphosphate; Group C: with 0.2% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

***Data are given as mean \pm SEM (n=3). a-c, Means without the common letters are significantly different ($p < 0.05$).



表 4-6、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對新型態乳化型肉製品之滴水損失影響

Table 4-6 Effect of different polyphosphates and alkali-induced egg white gel content on purge loss of novel emulsified meat products

Group	Purge loss				
	0 day	7 day	14 day	21 day	28 day
CON	1.09±0.07 ^b	1.24±0.02 ^b	1.29±0.09 ^{cd}	2.09±0.09 ^c	2.16±0.14 ^{cd}
A ⁰	1.81±0.08 ^a	2.23±0.03 ^a	3.11±0.05 ^a	3.82±0.65 ^a	3.94±0.22 ^a
A ^{1.5}	1.71±0.02 ^a	2.19±0.08 ^a	2.28±0.01 ^b	2.38±0.01 ^b	2.40±0.01 ^c
A ³	1.81±0.02 ^a	2.16±0.02 ^a	2.23±0.09 ^b	2.34±0.19 ^b	2.35±0.09 ^c
A ⁶	1.89±0.01 ^a	2.17±0.02 ^a	2.35±0.05 ^b	2.48±0.05 ^b	2.82±0.65 ^b
B ^{1.5}	1.18±0.05 ^b	1.23±0.03 ^b	1.35±0.07 ^c	1.89±0.06 ^{cd}	2.23±0.28 ^{cd}
B ³	0.85±0.10 ^c	0.94±0.17 ^d	1.07±0.06 ^e	1.57±0.36 ^c	1.97±0.06 ^d
B ⁶	1.24±0.14 ^b	1.27±0.09 ^b	1.44±0.03 ^c	1.84±0.37 ^d	2.34±0.37 ^c
C ^{1.5}	1.06±0.04 ^b	1.11±0.02 ^c	1.20±0.02 ^d	1.80±0.02 ^d	1.90±0.12 ^d
C ³	1.14±0.04 ^b	1.17±0.06 ^c	1.24±0.09 ^{cd}	1.84±0.09 ^d	1.99±0.09 ^d
C ⁶	1.08±0.09 ^b	1.15±0.03 ^c	1.22±0.010 ^{cd}	1.82±0.010 ^d	1.92±0.010 ^d

* A: without polyphosphate; B: with 0.1% polyphosphate; C: with 0.2% polyphosphate.











** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

***Data are given as mean ± SEM (n=3). Means within column and group with differing superscripts are significantly different (p < 0.05)



表 4-7、烹煮前/後肉漿之外觀 (A 組)

Table 4-7 Appearance of novel emulsified meat products before/after cooking (A group)









Group	CON	A ⁰	A ^{1.5}	A ³	A ⁶
Before cooking					
After cooking					

* A: without polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

表 4-8、烹煮前/後肉漿之外觀 (B 組)

Table 4-8 Appearance of novel emulsified meat products before/after cooking (B group)









Group	CON	B ^{1.5}	B ³	B ⁶
Before cooking				
After cooking				

* Group B: with 0.1% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

表 4-9、烹煮前/後肉漿之外觀 (C 組)

Table 4-9 Appearance of novel emulsified meat products before/after cooking (C group)

Group	CON	C ^{1.5}	C ³	C ⁶
Before cooking				
After cooking				

* Group C: with 0.2% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

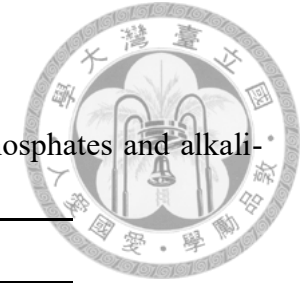


表 4-10、不同聚合磷酸鹽與鹼性蛋白凝膠含量對新型態乳化型肉製品色澤之影響

Table 4-10 Change in L* value, a* value, b* value and whiteness of novel emulsified meat products with different polyphosphates and alkali-induced egg white gel content

Group	L*	a*	b*	whiteness
CON	75.34±0.50 ^{cd}	1.83±0.25 ^{abc}	14.86±0.40 ^{cde}	71.14±0.42 ^{cd}
A ⁰	76.94±0.51 ^{abc}	2.15±0.16 ^a	14.97±0.29 ^{cde}	72.42±0.54 ^{abc}
A ^{1.5}	76.26±1.42 ^{bc}	1.41±0.20 ^{cde}	14.47±0.18 ^e	72.14±1.15 ^{bc}
A ³	76.34±0.23 ^{bc}	1.91±0.06 ^{ab}	14.94±0.05 ^{cde}	71.96±0.22 ^{bc}
A ⁶	78.25±0.35 ^a	1.24±0.12 ^{def}	14.77±0.19 ^{cde}	73.68±0.40 ^a
B ^{1.5}	75.72±0.51 ^{bcd}	1.05±0.04 ^{ef}	14.92±0.16 ^{cde}	71.48±0.13 ^{bcd}
B ³	75.83±0.21 ^{bcd}	1.58±0.03 ^{bcd}	15.93±0.19 ^a	71.01±0.23 ^{cd}
B ⁶	76.20±0.43 ^{bc}	0.99±0.02 ^f	15.69±0.15 ^{ab}	71.48±0.43 ^{bcd}
C ^{1.5}	77.35±0.48 ^{ab}	1.34±0.22 ^{def}	14.72±0.24 ^{de}	72.95±0.52 ^{ab}
C ³	74.36±0.10 ^d	1.93±0.06 ^{ab}	15.23±0.13 ^{bcd}	70.11±0.13 ^d
C ⁶	75.74±0.11 ^{bcd}	1.21±0.13 ^{def}	15.40±0.36 ^{abc}	71.24±0.29 ^{cd}

* A: without polyphosphate; B: with 0.1% polyphosphate; C: with 0.2% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

***Data are given as mean ± SEM (n=3). Means within column and group with differing superscripts are significantly different (p < 0.05).

表 4-11、新型態乳化型肉製品之官能品評

Table 4-9 Organoleptic evaluation of novel emulsified meat products with different polyphosphates and alkali-induced egg white gel content

Group	Color	Texture	Flavor	Total acceptability
CON	5.22±0.21	6.31±0.19 ^b	6.31±0.22 ^{ab}	6.33±0.22 ^b
A ⁰	5.14±0.22	4.31±0.29 ^d	4.61±0.35 ^d	4.56±0.32 ^d
A ^{1.5}	5.11±0.22	4.75±0.27 ^{cd}	5.00±0.36 ^{cd}	5.00±0.34 ^{cd}
A ³	5.06±0.24	5.28±0.28 ^c	5.81±0.31 ^b	5.36±0.29 ^c
A ⁶	5.08±0.22	4.56±0.31 ^{cd}	5.17±0.33 ^{bc}	4.97±0.30 ^{cd}
B ^{1.5}	5.24±0.20	6.78±0.17 ^a	6.66±0.24 ^a	6.77±0.25 ^{ab}
B ³	5.36±0.19	7.06±0.20 ^a	6.54±0.23 ^a	6.98±0.27 ^a
B ⁶	5.19±0.26	6.83±0.29 ^a	6.55±0.28 ^a	6.56±0.21 ^{ab}
C ^{1.5}	5.50±0.25	6.81±0.22 ^a	6.67±0.23 ^a	6.83±0.22 ^{ab}
C ³	5.33±0.22	6.81±0.21 ^a	6.53±0.21 ^a	6.67±0.24 ^{ab}
C ⁶	5.33±0.24	6.61±0.24 ^{ab}	6.22±0.28 ^{ab}	6.39±0.28 ^b

* A: without polyphosphate; B: with 0.1% polyphosphate; C: with 0.2% polyphosphate.

** Superscripts indicate the alkali-induced egg white gel content (%).

***Data are given as mean ± SEM (n=3). Means within column and group with differing superscripts are significantly different (p < 0.05).





伍、結論

本研究目的乃直接利用鴨蛋白液與鹼液混合快速製作出蛋白鹼性凝膠，期能增加鴨蛋白液之利用，並擴大其多元應用性，同時將此透明鴨蛋白凝膠產品應用於乳化肉製品，開發兼具低磷酸鹽含量與特殊口感之新型態肉製品。

試驗結果顯示，氫氧化鈉濃度、反應溫度與儲存溫度對於鹼性凝膠之物化特性皆有顯著影響，最終在凝膠速度及膠體穩定性的考量下，選擇以 0.15 M 之氫氧化鈉濃度並在 25°C 環境下反應形成凝膠，而保存於 5°C 可製備出穩定不液化且具彈性之鴨蛋白鹼性凝膠。另外，鴨蛋白鹼性凝膠於加熱過程所釋放至環境之氫氧根離子低於市售皮蛋蛋白，且膠體仍保有一定穩定性，具應用於熱食之潛力。本研究同時將此鹼性凝膠添加至熱狗或貢丸等乳化型肉製品，試驗結果發現磷酸鹽與蛋白鹼性凝膠皆會提升肉漿 pH 值與黏度。乳化型肉製品之成品分析試驗方面，磷酸鹽與蛋白鹼性凝膠同時添加具增加乳化型肉製品保水性之效果，品評結果亦顯示消費者對此新型態乳化型肉製品接受度甚高，綜合試驗結果，本研究推薦之新型態乳化型肉製品配方為 0.1%磷酸鹽與 3%鹼性凝膠。

綜合各項膠體物化試驗與成品分析後，本研究成功製備出穩定性佳之鹼性凝膠，可提高後續產品研究與應用，如肉製品製造或火鍋料，且未來對於速成皮蛋之開發之基礎研究亦有助益，將分離鴨蛋白製作成鹼性凝膠的方式，可使加工過程剩餘鴨蛋白液之利用價值提升，並增加畜產品之多元應用性。

陸、參考文獻



田金平, 林阿洋 & 廖俊亨. 2000. 市售雞蛋, 鴨蛋及皮蛋重金屬 (鉛, 銅) 含量調查. *藥物食品檢驗局調查研究年報*, 180-186.

Acton, J. & Dick, R. 1984. Protein-protein interaction in processed meats. *Reciprocal Meat Conference Proceedings*.

Ahmed, J., Ramaswamy, H. S., Alli, I. & Raghavan, V. G. 2007. Protein denaturation, rheology, and gelation characteristics of radio-frequency heated egg white dispersions. *International Journal of Food Properties*, 10, 145-161.

Ai, M., Zhou, Q., Guo, S., Ling, Z., Zhou, L., Fan, H., Cao, Y. & Jiang, A. 2019. Effects of tea polyphenol and Ca(OH)₂ on the intermolecular forces and mechanical, rheological, and microstructural characteristics of duck egg white gel. *Food Hydrocolloids*, 94, 11-19.

Ai, M., Zhou, Q., Guo, S., Fan, H., Cao, Y., Ling, Z., Zhou, L. & Jiang, A. 2020a. Characteristics of intermolecular forces, physicochemical, textural and microstructural properties of preserved egg white with Ca (OH)₂ addition. *Food Chemistry*, 314, 126206.

Ai, M., Zhou, Q., Xiao, N., Guo, S., Cao, Y., Fan, H., Ling, Z., Zhou, L., Li, S., Long, J. & Jiang, A. 2020b. Enhancement of gel characteristics of NaOH-induced duck



egg white gel by adding $\text{Ca}(\text{OH})_2$ with/without heating. *Food Hydrocolloids*, 103:105654.

Aktaş, N. & Gencelep, H. 2006. Effect of starch type and its modifications on physicochemical properties of bologna-type sausage produced with sheep tail fat.

Meat Science, 74, 404-408.

Alleoni, A. C. C. 2006. Albumen protein and functional properties of gelation and foaming. *Scientia Agricola*, 63, 291-298.

Almeida, C. M., Wagner, R., Mascarin, L. G., Zepka, L. Q. & Campagnol, P. C. B. 2014. Production of low-fat emulsified cooked sausages using amorphous cellulose gel.

Journal of Food Quality, 37, 437-443.

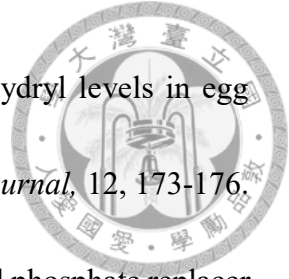
Andersson, A., Andersson, K. & Tornberg, E. 2000. A comparison of fat-holding between beefburgers and emulsion sausages. *Journal of the Science of Food and*

Agriculture, 80, 555-560.

Bader, R. & Henneker, W. 1965. The ionic bond. *Journal of the American Chemical Society*, 87, 3063-3068.

Badii, F. & Howell, N. K. 2006. Fish gelatin: structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. *Food Hydrocolloids*, 20, 630-640.

Barbut, S. & Mittal, G. 1989. Effects of salt reduction on the rheological and gelation properties of beef, pork and poultry meat batters. *Meat science*, 26, 177-191.



Beveridge, T. & Arntfield, S. 1979. Heat induced changes in sulphydryl levels in egg white. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 12, 173-176.

Casco, G., Veluz, G. & Alvarado, C. 2013. SavorPhos as an all-natural phosphate replacer in water-and oil-based marinades for rotisserie birds and boneless-skinless breast. *Poultry Science*, 92, 3236-3243.

Castro-Giráldez, M., Fito, P. J., Toldrá, F. & Fito, P. 2010. Physical sensors for quality control during processing. *Handbook of Meat Processing*. Wiley-Blackwell, Oxford, 443-456.

Chen, Z., Li, J., Tu, Y., Zhao, Y., Luo, X., Wang, J. & Wang, M. 2015. Changes in gel characteristics of egg white under strong alkali treatment. *Food Hydrocolloids*, 45, 1-8.

Cho, M. G., Bae, S. M. & Jeong, J. Y. 2017. Egg shell and oyster shell powder as alternatives for synthetic phosphate: Effects on the quality of cooked ground pork products. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37, 571.

Choi, J.-H., Jeong, J.-Y., Han, D.-J., Choi, Y.-S., Kim, H.-Y., Lee, M.-A., Lee, E.-S., Paik, H.-D. & Kim, C.-J. 2008. Effects of pork/beef levels and various casings on quality properties of semi-dried jerky. *Meat Science*, 80, 278-286.

Clark, A. 1992. Gels and gelling. *Physical Chemistry of Foods*, 7, 263-305.

DeMan, J. M. & Melnychyn, P. 1971. Symposium: Phosphates in Food Processing,



University of Guelph, Ontario, Canada, 1970. *Symposium on Phosphates in Food Processing (1970: University of Guelph)*. Conn., Avi.

Devine, C. & Dikeman, M. 2014. *Encyclopedia of Meat Sciences*. Elsevier.

Foegeding, E. & Ramsey, S. 1987. Rheological and water-holding properties of gelled meat batters containing iota carrageenan, kappa carrageenan or xanthan gum. *Journal of Food Science*, 52, 549-553.

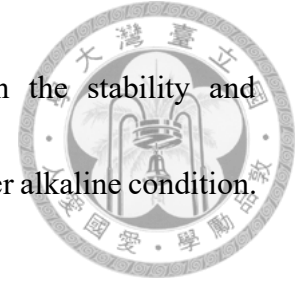
Foegeding, E. A. 2006. Food biophysics of protein gels: A challenge of nano and macroscopic proportions. *Food Biophysics*, 1, 41-50.

Froning, G. & Neelakantan, S. 1971. Emulsifying characteristics of prerigor and postrigor poultry muscle. *Poultry Science*, 50, 839-845.

FUKAZAWA, T., HASHIMOTO, Y. & YASUI, T. 1961. The Relationship Between the Components of Myofibrillar Protein and the Effect of Various Phosphates that Influence the Binding Quality of Sausage a, b. *Journal of Food Science*, 26, 550-555.

Fuxin, Z. 2004. Changes of Alkalinity during Preserved Chicken Egg Processing [J]. *Food and Fermentation Industries*, 10.

Ganasen, P. & Benjakul, S. 2011a. Chemical composition, physical properties and microstructure of pidan white as affected by different divalent and monovalent cations. *Journal of Food Biochemistry*, 35, 1528-1537.



Ganasen, P. & Benjakul, S. 2011b. Effect of three cations on the stability and microstructure of protein aggregate from duck egg white under alkaline condition.

Food Sci Technol Int, 17, 343-9.

Ganesan, P., Benjakul, S. & Baharin, B. S. 2014. Maillard Reaction of Pidan White as Inhibited by Chinese Black Tea Extract (*Camellia sinensis*) in the Pickling

Solution. *Korean J Food Sci Anim Resour*; 34, 403-7.

García-García, E. & Totosaus, A. 2008. Low-fat sodium-reduced sausages: Effect of the interaction between locust bean gum, potato starch and κ -carrageenan by a mixture design approach. *Meat Science*, 78, 406-413.

Gharbi, N. & Labbafi, M. 2018. Effect of processing on aggregation mechanism of egg white proteins. *Food Chemistry*, 252, 126-133.

Giansanti, F., Leboffe, L., Pitari, G., Ippoliti, R. & Antonini, G. 2012. Physiological roles of ovotransferrin. *Biochim Biophys Acta*, 1820, 218-225.

Gomez-Guillen, M., Borderías, A. & Montero, P. 1997. Chemical interactions of nonmuscle proteins in the network of sardine (*Sardina pilchardus*) muscle gels.

LWT-Food Science and Technology, 30, 602-608.

Gu, B., Zhang, F., Wang, Z. & Zhou, H. 2008. The solvation of NaCl in model water with different hydrogen bond strength. *The Journal of Chemical Physics*, 129, 184505.

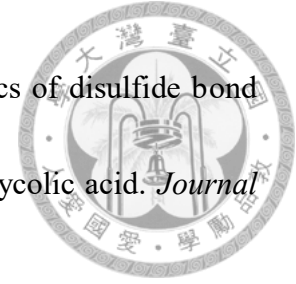
Handa, A., Takahashi, K., Kuroda, N. & FRONING, G. W. 1998. Heat-induced egg white



- gels as affected by pH. *Journal of Food Science*, 63, 403-407.
- Heertje, I. 2014. Structure and function of food products: A review. *Food structure*, 1, 3-23.
- Hiidenhovi, J. 2007. Ovomucin. *Bioactive egg compounds*. Springer. 61-68.
- Hong, G. P., Lee, S. & Min, S. G. 2004. Effects of substituted level of added water for fat on the quality characteristics of spreadable liver sausage. *Food Science and Biotechnology*, 13, 397-402.
- Huang, J., and C. Lin. 2011. Production, composition, and quality of duck eggs, Improving the safety and quality of eggs and egg products. Elsevier. 487-508.
- Huang, X., Li, J., Chang, C., Gu, L., Su, Y. & Yang, Y. 2019. Effects of NaOH/NaCl pickling on heat-induced gelation behaviour of egg white. *Food Chemistry*, 297, 124939.
- Iwashita, K., Handa, A. & Shiraki, K. 2017. Co-aggregation of ovalbumin and lysozyme. *Food Hydrocolloids*, 67, 206-215.
- Jastrzębska, A. 2006. Determination of sodium tripolyphosphate in meat samples by capillary zone electrophoresis with on-line isotachophoretic sample pre-treatment. *Talanta*, 69, 1018-1024.
- Jeong, J. Y. 2018. Determining the optimal level of natural calcium powders and whey protein concentrate blends as phosphate replacers in cooked ground pork products.



- Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38, 1246.
- Ji, L., Liu, H., Cao, C., Liu, P., Wang, H. & Wang, H. 2013. Chemical and structural changes in preserved white egg during pickled by vacuum technology. *Food Science and Technology International*, 19, 123-131.
- Kao, W. & Lin, K. 2006. Quality of Reduced-Fat Frankfurter Modified by Konjac–Starch Mixed Gels. *Journal of Food Science*, 71, S326-S332.
- Kitabatake, N., Hatta, H. & Doi, E. 1987. Heat-induced and transparent gel prepared from hen egg ovalbumin in the presence of salt by a two-step heating method. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51, 771-778.
- Kleemann, C., Selmer, I., Smirnova, I. & Kulozik, U. 2018. Tailor made protein based aerogel particles from egg white protein, whey protein isolate and sodium caseinate: Influence of the preceding hydrogel characteristics. *Food Hydrocolloids*, 83, 365-374.
- Knipe, C., Olson, D. & Rust, R. 1985. Effects of sodium hydroxide and selected inorganic phosphates on the characteristics of reduced sodium meat emulsions. *Journal of Food Science*, 50, 1017-1020.
- Li, J., Zhang, Y., Fan, Q., Teng, C., Xie, W., Shi, Y., Su, Y. & Yang, Y. 2018. Combination effects of NaOH and NaCl on the rheology and gel characteristics of hen egg white proteins. *Food Chemistry*, 250, 1-6.



Manuszak, M. A., Borish, E. T. & Wickett, R. R. 1996. The kinetics of disulfide bond reduction in hair by ammonium thioglycolate and dithiodiglycolic acid. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 47, 49.

Matsuda, T., Watanabe, K. & Sato, Y. 1982. Interaction between ovomucoid and lysozyme. *Journal of Food Science*, 47, 637-641.

Matsudomi, N., K. Nakano, A. Soma, and A. Ochi. 2002. Improvement of gel properties of dried egg white by modification with galactomannan through the Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(14):4113-4118.

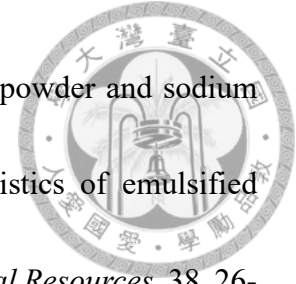
Matsudomi, N., Oka, H. & Sonoda, M. 2002b. Inhibition against heat coagulation of ovotransferrin by ovalbumin in relation to its molecular structure. *Food Research International*, 35, 821-827.

Mine, Y. 2008. *Egg Bioscience and Biotechnology*. John Wiley & Sons.

Nasabi, M., Labbafi, M., Mousavi, M. E. & Madadlou, A. 2017. Effect of salts and nonionic surfactants on thermal characteristics of egg white proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 970-976.

Nunez de Gonzalez, M., Boleman, R., Miller, R., Keeton, J. & Rhee, K. 2008. Antioxidant properties of dried plum ingredients in raw and precooked pork sausage. *Journal of Food Science*, 73, H63-H71.

Offer, G. & Trinick, J. 1983. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Science*, 8, 245-281.



Öztürk, B. & Serdaroğlu, M. 2018. Effects of jerusalem artichoke powder and sodium carbonate as phosphate replacers on the quality characteristics of emulsified chicken meatballs. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38, 26-42.

Pérez-Mateos, M., Lourenço, H., Montero, P. & Borderías, A. J. 1997. Rheological and biochemical characteristics of high-pressure-and heat-induced gels from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 44-49.

Park, K.-S., Choi, Y.-I., Lee, S.-H., Kim, C.-H. & Auh, J.-H. 2008. Application of functional carbohydrates as a substitute for inorganic polyphosphate in pork meat processing. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 40, 118-121.

Powell, M. J., Sebranek, J. G., Prusa, K. J. & Tarté, R. 2019. Evaluation of citrus fiber as a natural replacer of sodium phosphate in alternatively-cured all-pork Bologna sausage. *Meat Science*, 157, 107883.

Rhee, K. & Ziprin, Y. 2001. Pro-oxidative effects of NaCl in microbial growth-controlled and uncontrolled beef and chicken. *Meat Science*, 57, 105-112.

Saffle, R. L. & Galbreath, J. 1964. Quantitative determination of salt-soluble protein in various types of meat. *Food Technology*, 18, 1943-1944.

Sagis, L. M., Veerman, C., Ganzevles, R., Ramaekers, M., Bolder, S. G. & van der Linden,



- E. 2002. Mesoscopic structure and viscoelastic properties of β -lactoglobulin gels at low pH and low ionic strength. *Food Hydrocolloids*, 16, 207-213.
- Santhi, D., Kalaikannan, A. & Sureshkumar, S. 2017. Factors influencing meat emulsion properties and product texture: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 2021-2027.
- Shand, P. 2000. Textural, water holding, and sensory properties of low-fat pork bologna with normal or waxy starch hull-less barley. *Journal of Food Science*, 65, 101-107.
- Steiner, T. 2002. The hydrogen bond in the solid state. *Angewandte Chemie International Edition*, 41, 48-76.
- Stone, A. & Stanley, D. 1994. Muscle protein gelation at low ionic strength. *Food Research International*, 27, 155-163.
- Su, H. P. & Lin, C. W. 1993. A new process for preparing transparent alkalised duck egg and its quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, 117-120.
- Su, Y., Dong, Y., Niu, F., Wang, C., Liu, Y. & Yang, Y. 2015. Study on the gel properties and secondary structure of soybean protein isolate/egg white composite gels. *European Food Research and Technology*, 240, 367-378.
- Tani, F., Murata, M., Higasa, T., Goto, M., Kitabatake, N. & Doi, E. 1993. Heat-induced transparent gel from hen egg lysozyme by a two-step heating method. *Bioscience*,



Biotechnology, and Biochemistry, 57, 209-214.

Totosaus, A., Montejano, J. G., Salazar, J. A. & Guerrero, I. 2002. A review of physical and chemical protein-gel induction. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 589-601.

Trout, G. & Schmidt, G. 1983. Utilization of phosphates in meat products.

Tu, Y.-g., Zhao, Y., Xu, M.-s., Li, X. & Du, H.-y. 2013. Simultaneous determination of 20 inorganic elements in preserved egg prepared with different metal ions by ICP-AES. *Food Analytical Methods*, 6, 667-676.

Van der Plancken, I., Van Loey, A. & Hendrickx, M. E. 2005. Changes in sulfhydryl content of egg white proteins due to heat and pressure treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 5726-5733.

Vasanthi, C., Venkataramanujam, V. & Dushyanthan, K. 2007. Effect of cooking temperature and time on the physico-chemical, histological and sensory properties of female carabeef (buffalo) meat. *Meat Science*, 76, 274-280.

Veerman, C., Sagis, L. M., Heck, J. & van der Linden, E. 2003. Mesostructure of fibrillar bovine serum albumin gels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31, 139-146.

Von Hippel, P. H. & Schleich, T. 1969. Ion effects on the solution structure of biological macromolecules. *Accounts of Chemical Research*, 2, 257-265.



Wang, J. & Fung, D. Y. 1996. Alkaline-fermented foods: a review with emphasis on pidan fermentation. *Crit Rev Microbiol*, 22, 101-138.

Wee, M. S. M., Goh, A. T., Stieger, M. & Forde, C. G. 2018. Correlation of instrumental texture properties from textural profile analysis (TPA) with eating behaviours and macronutrient composition for a wide range of solid foods. *Food & Function*, 9, 5301-5312.

Weijers, M., van de Velde, F., Stijnman, A., van de Pijpekamp, A. & Visschers, R. W. 2006. Structure and rheological properties of acid-induced egg white protein gels. *Food Hydrocolloids*, 20, 146-159.

Woodward, S. & Cotterill, O. 1986. Texture and microstructure of heat-formed egg white gels. *Journal of Food Science*, 51, 333-339.

Yarnpakdee, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Kijroongrojana, K. 2009. Thermal properties and heat-induced aggregation of natural actomyosin extracted from goatfish (*Mulloidichthys martinicus*) muscle as influenced by iced storage. *Food Hydrocolloids*, 23, 1779-1784.

Yang, Y., Zhao, Y., Tu, Y., Huang, X., Li, J., Luo, X. & Wang, J. 2012. Change of alkalinity, pH and texture properties during pidan pickling. *Sci. Tech. Food Ind.(Chinese)*, 33, 111-114.

Yano, Y. F. 2012. Kinetics of protein unfolding at interfaces. *J Phys Condens Matter*, 24,

503101.



Yapar, A., Atay, S., Kayacier, A. & Yetim, H. 2006. Effects of different levels of salt and phosphate on some emulsion attributes of the common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Food Hydrocolloids*, 20, 825-830.

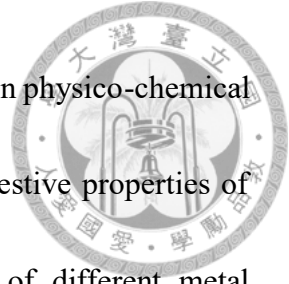
Yoo, S.-S., Kook, S.-H., Park, S.-Y., Shim, J. H. & Chin, K.-B. 2005. Evaluation of curing and flavor ingredients, and different cooking methods on the product quality and flavor compounds of low-fat sausages. *Food Science and Biotechnology*, 14, 634.

Youssef, M. & Barbut, S. 2011. Fat reduction in comminuted meat products-effects of beef fat, regular and pre-emulsified canola oil. *Meat Science*, 87, 356-360.

Yuno-Ohta, N., Kato, T., Ashizawa, S., Kimura, Y., Maruyama, N. & Nishizu, T. 2016. Role of ovomucoid in the gelation of a β -lactoglobulin-ovomucoid mixture. *Colloid and Polymer Science*, 294, 1065-1073.

Zhang, X., Jiang, A., Chen, M., Ockerman, H. W. & Chen, J. 2015. Effect of different alkali treatments on the chemical composition, physical properties, and microstructure of pidan white. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2264-2271.

Zhao, W., Yang, R., Tang, Y., Zhang, W. & Hua, X. 2009. Investigation of the protein-protein aggregation of egg white proteins under pulsed electric fields. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3571-3577.



Zhao, Y., Cao, D., Shao, Y., Xiong, C., Li, J. & Tu, Y. 2020. Changes in physico-chemical properties, microstructures, molecular forces and gastric digestive properties of preserved egg white during pickling with the regulation of different metal compounds. *Food Hydrocolloids*, 98, 105281.

Zhao, Y., Chen, Z., Li, J., Xu, M., Shao, Y. & Tu, Y. 2016a. Changes of microstructure characteristics and intermolecular interactions of preserved egg white gel during pickling. *Food Chemistry*, 203, 323-330.

Zhao, Y., Chen, Z., Li, J., Xu, M., Shao, Y. & Tu, Y. 2016b. Formation mechanism of ovalbumin gel induced by alkali. *Food Hydrocolloids*, 61, 390-398.

Zhao, Y., Tu, Y., Li, J., Xu, M., Yang, Y., Nie, X., Yao, Y. & Du, H. 2014a. Effects of alkaline concentration, temperature, and additives on the strength of alkaline-induced egg white gel. *Poult Science*, 93, 2628-2635.

Zhao, Y., Tu, Y., Xu, M., Li, J. & Du, H. 2014b. Physicochemical and nutritional characteristics of preserved duck egg white. *Poultry Science*, 93, 3130-3137.

柒、附錄



營養標示		
每一份量30公克 本包裝含20份		
	每份	每100公克
熱量	91 大卡	303 大卡
蛋白質	4.45 公克	14.7 公克
脂肪	7.8 公克	26 公克
飽和脂肪	3.5 公克	11.6 公克
反式脂肪	0 公克	0 公克
碳水化合物	0.8 公克	2.5 公克
糖	0.8 公克	2.5 公克
鈉	189 毫克	631 毫克



圖 7-1、新型態乳化型肉製品之營養標示

Fig 7-1. The nutrition facts of novel emulsified meat product.