

# 微膠囊化牛初乳及乳清之 Immunoglobulin G 對 Pepsin 與 Trypsin 之耐受性及 *E. coli* O55:B5 脂多醣作用之研究

江淑華<sup>1</sup> 沈子偉<sup>2</sup> 陳志瑋<sup>2</sup> 王秀育<sup>2</sup> 張基郁<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>馬偕醫護管理專科學校食品科學科

11260 台北市北投區聖景路 92 號

<sup>2</sup>大葉大學生物產業科技學系

51591 彰化縣大村鄉學府路 168 號

## 摘要

本研究以取自母牛分娩後第二至四天分泌且等體積混合的乳汁作為材料，以阿拉伯膠、 $\beta$ -環狀糊精和幾丁聚醣之 10% 水溶液，依 1:4 體積比和牛初乳或乳清混合，以冷凍及噴霧乾燥法進行微膠囊化，並探討胃腸道蛋白酶及微生物脂多醣對微膠囊化初乳與乳清免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 活性之影響。結果顯示冷凍乾燥法所得之微膠囊化初乳其 IgG 活性比噴霧乾燥法所得者高。在胃腸道蛋白酶耐受性方面，以阿拉伯膠及  $\beta$ -環狀糊精微膠囊化之初乳經胃蛋白酶作用 2 小時後，其 IgG 殘存活性較未微膠囊化者分別高出 9.8 及 7.6%，再經胰蛋白酶作用 4 小時後，有、無微膠囊化處理則無顯著之差異性；而微膠囊化對乳清之胃蛋白酶及胰蛋白酶耐受性則無顯著影響。在與微生物脂多醣作用方面，*E. coli* O55:B5 與初乳或乳清之 IgG 有抗原-抗體親和性反應，而以阿拉伯膠微膠囊化者，在經過胃蛋白酶作用後，其與 *E. coli* O55:B5 脂多醣作用後之 IgG 活性較未微膠囊化者高。

**關鍵詞：**牛初乳， $\beta$ -環狀糊精，幾丁聚醣，阿拉伯膠，免疫球蛋白 G (IgG)，微膠囊化

## Tolerance to Pepsin and Trypsin and Reaction to *E. coli* O55:B5 Lipopolysaccharides of Immunoglobulin G in Microencapsulated Bovine Colostrums and Whey

SHU-HUA CHIANG<sup>1</sup>, TZU-WEI SHEN<sup>2</sup>, CHIH-WEI CHEN<sup>2</sup>, SHIU-YU WANG<sup>2</sup> and CHI-YUE CHANG<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Food Science, Mackay Medicine, Nursing and Management College

No. 92, Shengjing Rd., Beitou District, Taipei 112, Taiwan, R.O.C.

<sup>2</sup> Department of BioIndustry Technology, Da-Yeh University

No. 168, University Rd., Dacun, Changhua 51591, Taiwan, R.O.C.

## ABSTRACT

In this study, bovine colostrums collected from the second to the fourth days postpartum were mixed by equal volume and used as raw materials. A 10 % aqueous solution of gum arabic,

$\beta$ -cyclodextrin or chitosan was added to an equal volume of colostrums or whey, and microencapsulated via freeze-drying and spray-drying methods. The effects of pepsin and trypsin as well as lipopolysaccharides (LPS) from *E. coli* (serotype O55:B5) on the Immunoglobulin G (IgG) activity of microencapsulated colostrums and whey were investigated. The results showed that the colostrums prepared through freeze-drying had a higher IgG activity than those prepared via spray-drying. The results for the pepsin and trypsin tolerance tests, under hydrolysis of the pepsin for 2 hours, indicated that the residual IgG activities of the microencapsulated colostrums with gum arabic and  $\beta$ -cyclodextrin were higher by 9.8 and 7.6%, respectively, than those of the non-microencapsulated colostrums. After further hydrolysis by trypsin for 4 hours, no significant differences were found between microencapsulated and non-microencapsulated colostrums. However, the hydrolysis of pepsin and trypsin did not significantly affect the IgG residual activity of the microencapsulated whey. The reaction of LPS from *E. coli* O55:B5 revealed an antigen-antibody affinity with the IgG of the colostrums and the whey. However, after the hydrolysis of the pepsin and the reaction with the LPS, the microencapsulated colostrums in the gum arabic were found to have higher IgG activity than the non-microencapsulated colostrums.

**Key Words:** bovine colostrums,  $\beta$ -Cyclodextrin ( $\beta$ -CD), chitosan, gum arabic, immunoglobulin G (IgG), microencapsulation

## 一、前言

人類出生後，常無法避免一連串微生物的侵襲，當身體缺乏有效的抵抗能力，微生物可能直接或間接的對人體造成傷害及疾病，因此，人類和其他脊椎動物在演化上發展出一套免疫系統，以對抗微生物的侵襲。免疫系統可分為先天及後天性的免疫，而在後天性免疫方面，常可藉由直接注射或口服方式，使得身體吸收免疫球蛋白，而增加免疫能力 [4]。利用口服方式攝入免疫球蛋白，增強免疫力已有報導，Arguello 等 [6] 餵食小羊初乳，證實可增加其血清中免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 濃度。

牛初乳 (colostrums) 為母牛分娩後約一週內分泌之乳汁，帶黃色，略有異臭，且有毛髮、血球等雜質，不符合台灣食品衛生管制標準，不能販售，實為蛋白質資源上的浪費，然而初乳富含免疫因子 [20]，由陳昭誠等 [3] 和 Smith 等 [19] 的研究中得知，牛初乳中含大量的免疫球蛋白，約為常乳的數十倍，主要存在於乳清，其中又以 IgG 含量最高，但免疫因子易受外在環境破壞，例：免疫球蛋白易受溫度或物理、化學上的變化影響而使得活性降低，因此如何保存其活性乃成為重要研究課題。微膠囊技術 (microencapsulation technology) 是將芯物質包覆在一微細且密閉的膠囊中的加工技術，是利用高分子材料或是其它材料為外殼物質，將微小的核物質包埋起來形成微膠囊的一種技術。其主要目的是利用外殼物質做為壁膜來將核物質與外

界環境隔離，以達到包裝、保護、儲存或藥物控制釋放等目的。陳昭誠等 [3] 曾以多重乳化型態，將牛乳中精製 IgG 加以微膠囊化，探討保護牛乳 IgG 之可行性。

為提高初乳的附加價值並探討可食用膠質作為微膠囊化保護 IgG 活性的效果，本實驗採集乳牛剛產犢第二、三、四天的初乳乳汁為材料。以阿拉伯膠、 $\beta$ -環狀糊精、幾丁聚醣作為包覆材質，使用冷凍乾燥及噴霧乾燥兩種方式，除了直接進行初乳微膠囊化，另外亦將 IgG 含量較多且為分離酪蛋白後所餘之乳清進行微膠囊化，藉由分析 IgG 對於腸胃道消化酶耐受性，作為微膠囊化保護 IgG 優劣之指標，並且選用 *E. coli* O55:B5 脂多醣與微膠囊化初乳或乳清反應，分析其經胃蛋白酶與胰蛋白酶作用後，對於 *E. coli* O55:B5 脂多醣是否仍有 IgG 活性，以探討是否有抗原-抗體反應之活性，期盼對增進牛初乳之利用價值與提升人體免疫功能有所助益。

## 二、材料與方法

### (一) 材料

#### 1. 原料

本研究使用的初乳取自彰化縣秀水鄉主恩牧場飼養之乳牛，乳牛品種為荷蘭種 (Holstein)，收集母牛剛產犢分娩後第二至第四天的初乳乳汁，以等體積混合後，以 4 公升塑膠瓶裝集。將取得初乳，以離心法 ( $10,000 \times g$ ,  $4^{\circ}C$ , 30

min)，去除上層乳脂肪。所得之脫脂初乳以 1 N HCl 進行酸沉澱，調 pH 至 4.6 後，靜置於水浴鍋中 (40°C) 30 分鐘使之形成凝乳，再次離心 (10,000 x g, 4°C, 30 min)，上層為乳清液，將上層液收集，以 1 N NaOH 調 pH 至 7.0，經再次離心 (10,000 x g, 4°C, 30 min)，收集上清液，即為乳清。將初乳及乳清以冷凍乾燥法製成粉末備用。

## 2. 包覆粉體

- 阿拉伯膠 (gum arabic)：恒新股份有限公司，台灣。
- $\beta$ -環狀糊精 ( $\beta$ -cyclodextrin,  $\beta$ -CD)：協成化工股份有限公司，台灣。
- 水溶性幾丁聚醣 (chitosan-water soluble)：去乙醯度 92.3%，誠麗實業股份有限公司，台灣。

## (二) 方法

### 1. 一般成分分析

牛初乳之一般成分 (水分、粗蛋白、粗脂肪及灰分) 含量，皆依 AOAC [5] 之方法進行三重複測定。

### 2. 初乳 IgG 之定量分析

參考 Kummer 等 [13] 之方法並作適當之修改。在定量初乳 IgG 過程中，本研究以牛血清 IgG 為標準液，並以 PBS-Tween (1 L PBS 中含有 0.5 mL Tween-20) 稀釋 IgG 量約在 1-1000 ng/mL，期所得標準檢量線在測試濃度範圍內有一顯著之線性關係，本試驗擷取此呈線性關係之檢量線，並將待測樣品濃度作適當稀釋，使得待測樣品之 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 讀值可落於檢量線之濃度範圍內，以進行 IgG 濃度之定量分析。每 100 g 初乳中 IgG 含量則依初乳之含水量 (moisture) 換算而得。

### 3. 牛初乳與乳清之微膠囊化

參考陳昭誠等 [3] 及林虔宏 [2] 的方法選用可食用性 (edible) 的粉體，包括阿拉伯膠、 $\beta$ -環狀糊精及幾丁聚醣，製成 10% 水溶液，並以懸浮安定性、溶解度及食品加工成本考量初乳或乳清與上述粉體的混合比例，經試驗多種比例後，採 4:1 (初乳或乳清液：包覆膠體液) 之體積比例混合。將初乳或乳清粉末復溶至 10 mg/mL 之濃度，取 100 mL 之初乳或乳清液，以 4:1 (初乳或乳清液：包覆膠體液) 之體積比，與阿拉伯膠溶液、 $\beta$ -環狀糊精溶液或幾丁聚醣溶液混合。經混合後之乳濁液，靜置半小時後，以攪拌機使乳濁液均勻混合 10-20 分鐘後，進行冷凍或噴霧乾燥。

### 4. 噴霧乾燥

使用桌上實驗型噴霧乾燥機 (EYELA SPRAY DRYER

SD-2)，包含微量蠕動幫浦 (micro peristaltic pump)、空氣壓縮機、溫度控制主機及其噴霧噴嘴 (spray nozzle)、旋風收集器 (cyclone) 和收集瓶 (receiving flask) 等相關配備。本研究期望能保留較高之初乳 IgG 殘存活性，乃以調整進料流速及熱風送出管的出口大小來操控其熱風送入的溫度，使其噴霧之入口溫度 (inlet temperature) 約為 80~90°C，出口溫度 (outlet temperature) 約為 55~65°C。本實驗進料流速及其時間的調配：在 0~30 分鐘，蠕動幫浦調整至最低速率進行噴霧乾燥，流速約為 5 mL/min；在 30 分鐘後，加快流速，進料速率約為 20 mL/min，約每半小時觀察其出口及入口溫度，若溫度過高，則降低進料流速及調整熱風送出管的出口大小；第 2 小時後，依混合物的不同，約 1~2 小時乳濁液進料完畢。其後關掉電源，30 分鐘後將收集瓶中粉體取出，以進行分析試驗。

### 5. 冷凍乾燥

將初乳或乳清粉末復溶後，同上述方法 3 製備乳濁液，先置於冷凍庫中凍結後，再進行冷凍乾燥。

### 6. 電子顯微鏡之觀察

取經冷凍乾燥所得之微膠囊粉末，至大葉大學貴重儀器中心進行掃描式電子顯微鏡 (SEM) 觀察並拍照進行比較。

### 7. IgG 對胃腸蛋白酶之耐受性

本實驗參考 Wu 與 Ding [21] 的方法，並依照 Hudson 與 Hay [10] 之方法於酵素活性終止方面進行修飾。以酵素/受質比為 1/40，取 2 g 樣品粉末溶於 200 mL 蒸餾水中，以 1 N HCl 調整 pH 為 2.0、3.0 及 4.0，添加 0.05 g 胃蛋白酶 (活性為 471 units/mg)，在 37°C 作用一定時間 (試驗時間為 0, 1, 2, 4, 8 h) 後，加入 0.1 M 三羥甲基胺基甲烷 (Tris base) 停止胃蛋白酶反應，測樣品之 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 讀值，以比較在不同 pH 值下，IgG 對胃蛋白酶之耐受性。

將上述胃蛋白酶作用後之溶液，以 0.1 N NaOH 調 pH 至 7.6，添加 0.05 g 胰蛋白酶 (trypsin) (活性為 15,500 units/mg)，使其酵素/受質比為 1/40，在 37°C 振盪器作用 4 小時。將測試樣品從振盪器取出，於瓶中加入稀釋 10 倍之 1.25% (w/v) N-ethylmaleimide 溶液，以終止胰蛋白酶反應。測樣品之 ELISA 讀值，以分析 IgG 對胰蛋白酶之耐受性。

### 8. 牛初乳和乳清與微生物脂多醣之親和性

在本試驗中，首先比較兔子抗牛血清 IgG (rabbit

anti-bovine IgG) 與 *E. coli* O55:B5 之脂多醣 (lipopolysaccharide, LPS) 對於初乳 IgG 之抗原-抗體親和性之差異,以瞭解此菌體之脂多醣是否會與 IgG 產生免疫效果,之後參考 Li-Chan 等 [14] 之方法進行與微生物脂多醣作用之實驗。

### 9. 統計分析

本研究以統計分析系統 (statistical analysis system, SAS) [18] 中的鄧肯氏多變域法 (Duncan's multiple range test) 進行各實驗值間之差異性分析。

## 三、結果與討論

### (一) 初乳和乳清之一般基本組成

表 1 為乳牛分娩後第 2~4 天分泌且等體積混合之初乳與乳清之一般基本組成。如表 1 所示,初乳的灰分含量為 0.77%,粗蛋白含量為 5.61%,粗脂肪含量為 3.86%,水分含量為 83.42%,IgG 濃度為 9.19 mg/mL (含量為 5.54 g/100 g 初乳);乳清的灰分含量為 1.95%,粗蛋白含量為 8.76%,粗脂肪含量為 0.59%,水分含量為 89.49%,IgG 濃度為 3.35 mg/mL (含量為 3.18 g/100 g 乳清)。

在 Chiang 與 Chang [7] 的研究中,發現初乳之灰分含量為 0.93%,粗蛋白含量為 9.14%,粗脂肪含量為 4.47%,水分含量為 83.61%,與本實驗結果稍有差異,可能是因其收集期間為第 1 至 7 天與本研究第 1 至 4 天不同所致。Pinato 等 [16] 發現母牛 (cow) 乳清之水分含量為 87.76%,粗蛋白含量為 10.59%,IgG 含量為 6.16 g/100 g,與本實驗結果亦有差異,可能為牛隻之差異與收集天數之不同所造成。在 IgG 的含量方面,Foley 與 Otterby [11] 發現牛初乳中 IgG 濃度 1.5~3.2 g/100 mL,高於本研究之結果。陳昭誠等 [3] 的研究發現初乳之 IgG 含量為 3.2 g/100 g,乳清之 IgG 含量為 0.5 g/100 g,低於本實驗之結果。

### (二) 初乳 IgG 之定量分析-不同微膠囊化方法之比較

本試驗以牛血清 IgG 為標準品作定量分析,原液濃度為

5 mg/mL,以 PBS-Tween 稀釋 IgG 濃度至 1~1000 ng/mL,繪成標準檢量線並進行 ELISA 分析,取讀值落在 0.5~2.0 範圍部分進行線性回歸分析,結果顯示其 R-square 值為 0.9882。

圖 1 為採用冷凍乾燥及噴霧乾燥法進行初乳經阿拉伯膠、β-環狀糊精及幾丁聚醣微膠囊化後之 IgG 殘存活性,結果顯示冷凍乾燥法所得之微膠囊化初乳其 IgG 活性比噴霧乾燥法所得者高,經過冷凍乾燥處理後所得之初乳 IgG 殘存活性約為 40.36~42.65%,噴霧乾燥處理之 IgG 殘存活性約為 26.55~29.16%。探討兩種微膠囊化方法之 IgG 活性差異,推測原因為冷凍乾燥法於低溫 (-40°C) 下進行微膠囊化,初乳本身或包覆膠體和初乳混合時,所產生之物理或化學變化較小。Liu 等 [15] 之研究指出固定化葡萄糖氧化酵素經過冷凍乾燥處理後並貯存於 -20°C 下一個月,仍可保留 90% 之活性。另外,噴霧乾燥法是藉由噴嘴及熱風的送入,使送入之乳濁液先有霧化現象,進而使膠體乾燥,故對於初乳 IgG 活性的破壞較大。

比較各種微膠囊化初乳之 IgG 活性的差異,發現在冷凍乾燥法方面,以阿拉伯膠進行微膠囊化者為最高,β-環狀糊

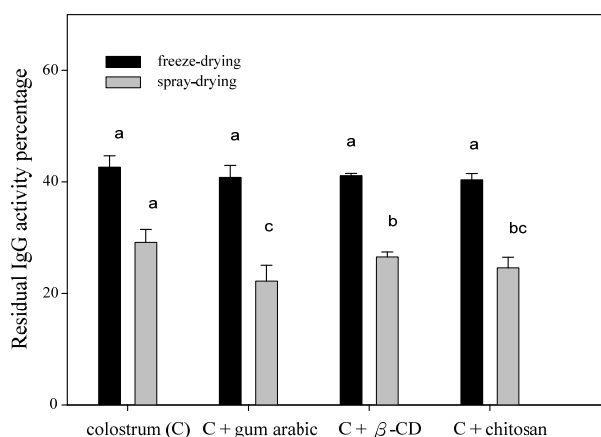


圖 1. 以不同乾燥法進行微膠囊化所得初乳之 IgG 殘存活性

表 1. 初乳和乳清一般基本組成

	Proximate compositions (%) <sup>*</sup>					
	Ash	Crude protein	Crude fat	Moisture	IgG (mg/mL)	IgG (g/100 g)
Colostrums	0.77±0.21	5.61±0.24	3.86±0.08	83.42±0.15	9.19±1.10	5.54±0.65
Whey	1.95±0.15	8.76±0.33	0.59±0.13	89.49±0.13	3.35±0.64	3.18±0.59

Note: <sup>\*</sup>Values are means ± standard deviation of three replicate analyses.

精次之，幾丁聚醣最低，但三者間並無顯著性差異，推測可能原因為阿拉伯膠之黏性高，易與大部分的蛋白質、碳水化合物、澱粉及膠質共存所致 [12, 17]，故保護 IgG 活性效果較好。在噴霧乾燥法方面，以  $\beta$ -環狀糊精進行微膠囊化者為最高，其次幾丁聚醣及阿拉伯膠，但其結果都比未微膠囊化者之殘存活性差，推測因高溫而影響其 IgG 活性。

圖 2 為採用冷凍乾燥及噴霧乾燥法進行乳清經阿拉伯膠、 $\beta$ -環狀糊精及幾丁聚醣微膠囊化後之 IgG 殘存活性，結果顯示冷凍乾燥法所得之微膠囊化乳清其 IgG 活性比噴霧乾燥法所得者高。經過冷凍乾燥處理後所得之乳清 IgG 殘存活性約為 81.01~83.40%，噴霧乾燥處理之 IgG 殘存活性約為 11.73~12.08%。探討兩種微膠囊化方法之 IgG 活性差異，應是進行噴霧乾燥時之高溫作用對乳清 IgG 活性造成破壞所致。

### (三) 電子顯微鏡觀察結果

未微膠囊化牛初乳及經阿拉伯膠、 $\beta$ -環狀糊精及幾丁聚醣微膠囊化之牛初乳經掃描式電子顯微分析結果如圖 3 所示。經阿拉伯膠微膠囊化者有一薄膜層，推測其產生原因為阿拉伯膠液本身的黏稠性高，故較易與初乳吸附並形成保護層 [12, 17]，而  $\beta$ -環狀糊精或幾丁聚醣微膠囊化者，發現表

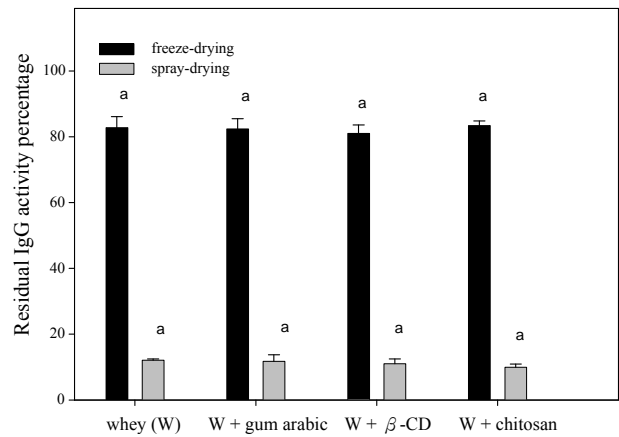


圖 2. 以不同乾燥法進行微膠囊化所得乳清之 IgG 殘存活性

面有破碎狀，無保護層形成。

未微膠囊化乳清及經阿拉伯膠、 $\beta$ -環狀糊精及幾丁聚醣微膠囊化之乳清經掃描式電子顯微分析結果如圖 4 所示。圖 4 顯示以阿拉伯膠微膠囊化者，其表面亦有薄膜產生，而以  $\beta$ -環狀糊精或幾丁聚醣微膠囊化者，並無薄膜形成。

### (四) 胃腸道消化酵素對 IgG 活性之影響

圖 5 為胃蛋白酶 (pepsin) 在不同 pH 值下，對初乳及乳清作用後之 IgG 殘存活性比較，結果發現在 pH 2 下其 IgG

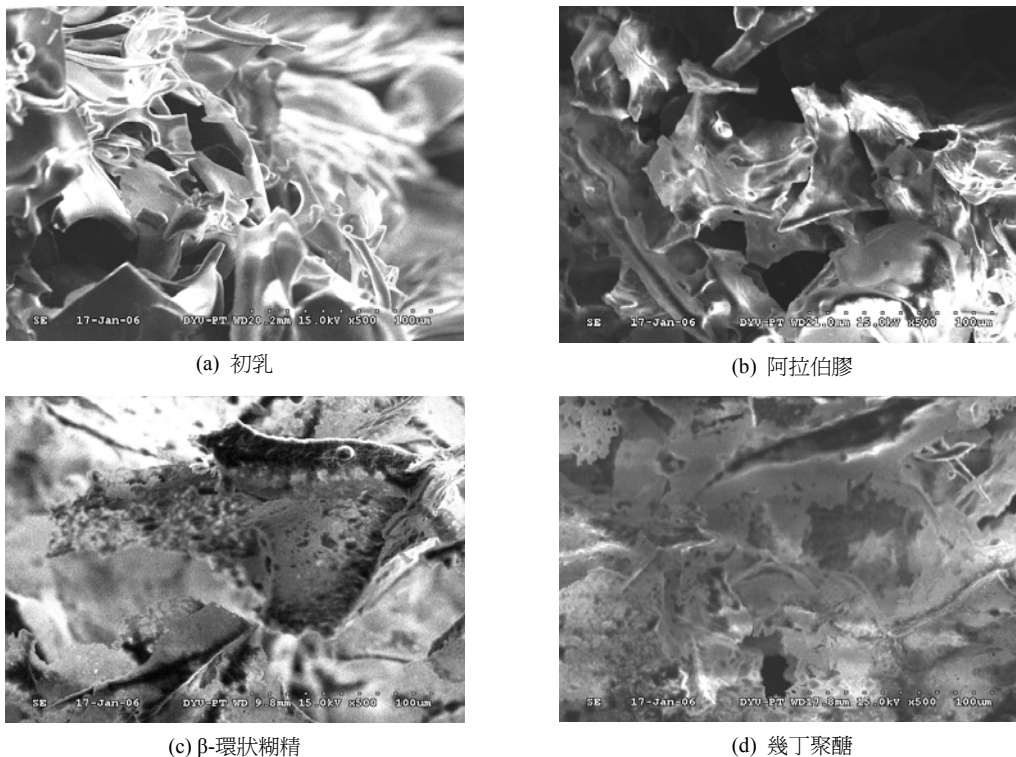


圖 3. 初乳、阿拉伯膠、 $\beta$ -環狀糊精與幾丁聚醣微膠囊化初乳之掃描式電子顯微照片

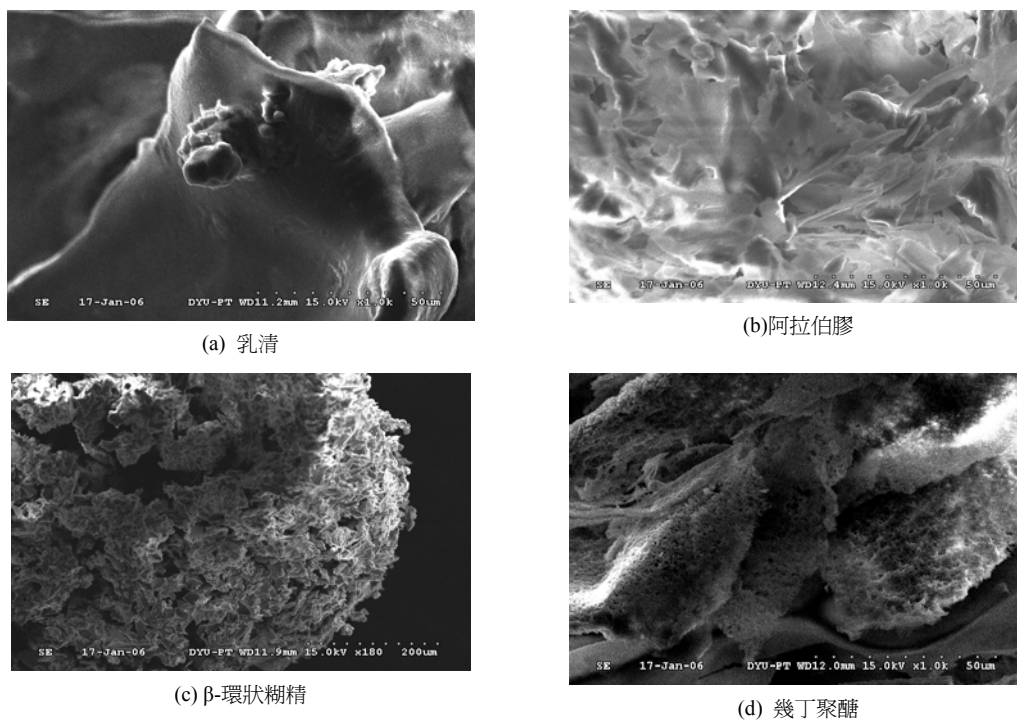


圖 4. 乳清、阿拉伯膠、 $\beta$ -環狀糊精與幾丁聚醣膠囊化之乳清掃描式電子顯微照片

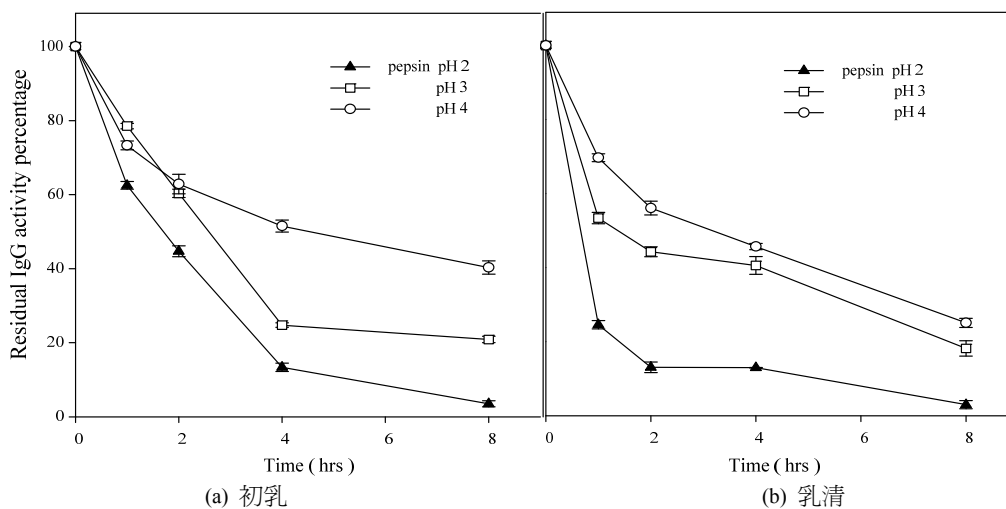


圖 5. 初乳和乳清於不同 pH 值下經胃蛋白酶作用 1、2、4、8 小時後之 IgG 殘存活性

殘存活性下降最多，推測原因為 pepsin 在強酸環境下活性較高易產生酵素水解作用，切斷 IgG 分子結構，同時在強酸下 IgG 活性亦較低所致。Chicón 等 [8] 之研究亦指出乳清蛋白分離物 (whey protein isolate, WPI) 及  $\beta$ -乳球蛋白 ( $\beta$ -lactoglobulin,  $\beta$ -Lg) 的最適凝集生成條件為壓力 200 及 400 MPa、pH 6.8 的環境下，在 pH 2.5 的環境下無法生成，主要係因在高酸條件下易破壞蛋白質結構。為了進一步瞭解

微膠囊化初乳及乳清 IgG 對於胃腸道消化酶耐受性影響，圖 6 及圖 7 分別為模擬胃腸道作用時間與最適 pH 值環境所作之初乳與乳清 IgG 耐受性實驗結果。圖 6 顯示，初乳 IgG 經胃蛋白酶作用 2 小時後，其殘存活性約為 49.20%，再經胰蛋白酶繼續作用 4 小時後，其 IgG 殘存活性降至約 24.50%。比較不同微膠囊包覆材質，以阿拉伯膠進行包覆初乳 IgG，經胃蛋白酶作用 2 小時後，會保留較高之 IgG 殘存

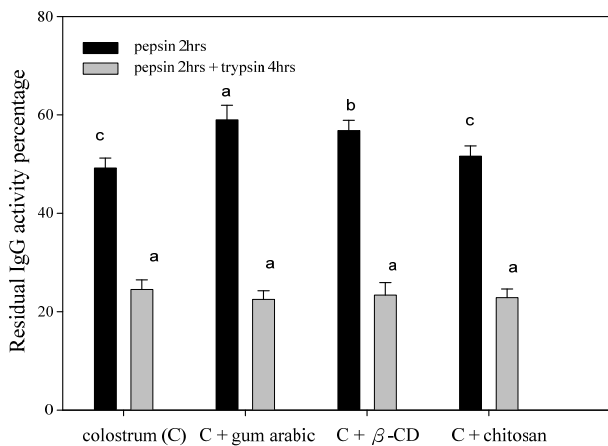


圖 6. 初乳及微膠囊化初乳以胃蛋白酶作用 2 小時及胰蛋白酶作用 4 小時後之 IgG 殘存活性

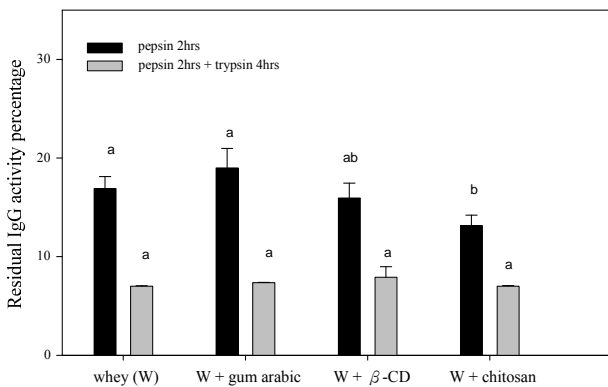


圖 7. 乳清及微膠囊化乳清以胃蛋白酶作用 2 小時及胰蛋白酶作用 4 小時後之 IgG 殘存活性

活性。Ducel 等 [9] 的研究指出豌豆球蛋白使用阿拉伯膠 (30 : 70) 進行包覆，於 pH 2.75 環境下為最適微膠囊包覆條件，穀類之  $\alpha$ -醇溶蛋白使用阿拉伯膠 (50 : 50) 進行包覆，於 pH 3 環境下為最適微膠囊包覆條件。

圖 7 為微膠囊化乳清以不同胃腸道蛋白酶處理後之 IgG 殘存活性，結果顯示，乳清 IgG 經胃蛋白酶作用 2 小時後，其殘存活性約為 16.90%，再經胰蛋白酶繼續作用 4 小時後，其 IgG 殘存活性降至約 7.00%，活性百分比比較初乳降低許多，推測因乳清缺乏脂質保護，IgG 分子易被酵素破壞。此外，比較不同微膠囊包覆材質，各包覆物質間之 IgG 殘存活性並無顯著差異性。

李陽春 [1] 將蛋黃液以 10% 阿拉伯膠進行微膠囊化處理後，經胃蛋白酶作用 2 小時後，以阿拉伯膠進行微膠囊化者保留較多抗體活性，但與其控制組相比較，變化不大，此結果與本實驗結果相近。

#### (五) 與微生物脂多醣作用之親和力

圖 8 為初乳和乳清與 *E. coli* O55:B5 脂多醣和兔子抗牛血清 IgG (rabbit anti-bovine IgG) 作用後之 IgG 活性。結果顯示與 *E. coli* O55:B5 脂多醣作用後之 ELISA 讀值高於與兔子抗牛血清 IgG 作用後之讀值，此結果反應出初乳中 IgG 對於人體易感染之 *E. coli* O55:B5 具有免疫功能，也可證實初乳中 IgG 具有抑制人體易感染微生物生長之功效，而其抗體之產生，陳昭誠等 [3] 判斷可能為牛隻長期接觸此類菌體所致。

為探討微膠囊化初乳 IgG 經食用後，是否仍具與脂多醣有抗原-抗體之結合反應及其免疫活性，本試驗乃取初乳、乳清和經阿拉伯膠微膠囊化後，以酵素 (pepsin, pepsin + trypsin) 水解，再測定其與 *E. coli* O55:B5 脂多醣作用後之 IgG 殘存活性，結果如圖 9 所示。以阿拉伯膠微膠囊化者，經過 pepsin 作用後之 IgG 殘存活性，在初乳部分較未微膠囊化者高出 6.20%，在乳清部分較未微膠囊化者高出 5.5%，而再經過 trypsin 作用後，在初乳部分較未微膠囊化者高出 4.10%，在乳清部分則顯示有、無微膠囊化均無顯著影響，此結果除了因乳清缺乏脂質保護，IgG 分子易被酵素破壞外，另因經 pepsin 作用後微膠囊已受損所致。

#### 四、結論

初乳 IgG 活性較乳清高，推論為初乳含有較多脂肪和其他多種蛋白質，具有保護效果，且在製備乳清時，因離心、酸沉澱等一些物理、化學變化，易使 IgG 分子裂解使其活性降低。以冷凍乾燥與噴霧乾燥法進行微膠囊化，因冷凍乾燥法為低溫處理，在微膠囊化過程中對 IgG 破壞較少，因此有較高之 IgG 活性。

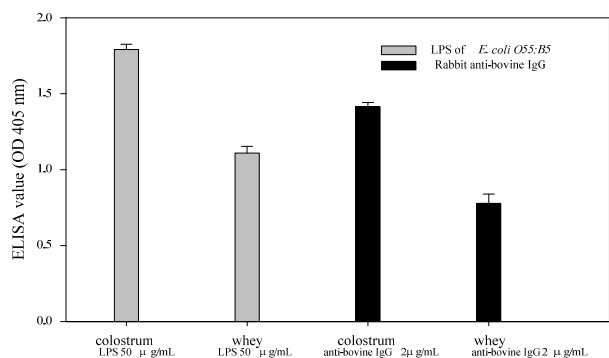


圖 8. 初乳與乳清經 *E. coli* O55:B5 脂多醣及兔子抗牛血清 IgG 反應後之 ELISA 值

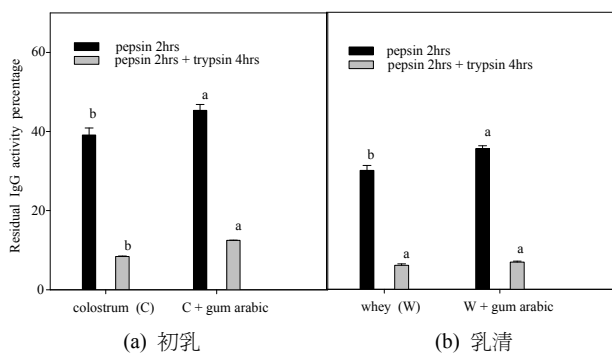


圖 9. 未微膠囊化及以阿拉伯膠微膠囊化之初乳與乳清經胃蛋白酶和胰蛋白酶水解後，再經 *E. coli* O55:B5 脂多醣作用後之 IgG 殘存活性

在胃腸道蛋白酶作用方面，經胃蛋白酶作用 2 小時後，經阿拉伯膠及  $\beta$ -環狀糊精微膠囊化之初乳其 IgG 殘存活性較未微膠囊化者分別高出約 9.80 及 7.60%，再經胰蛋白酶作用 4 小時後，有、無微膠囊化則無顯著差異性，而微膠囊化對乳清於胃蛋白酶及胰蛋白酶之耐受性則無顯著影響。在與 *E. coli* O55:B5 脂多醣作用方面，初乳或乳清之 IgG 與脂多醣作用有親和力，但以阿拉伯膠微膠囊化之初乳在胃腸道消化酵素作用下，仍有保護 IgG 活性之能力。

綜合本研究結果，初乳或乳清微膠囊化過程中，會因物理、化學變化，使得 IgG 原存有之活性下降，但經由胃腸道蛋白酶耐受性實驗結果顯示，微膠囊化者具有保護 IgG 分子免於失活之效果，尤以阿拉伯膠微膠囊化者為佳。

## 誌謝

本研究承行政院國家科學委員會經費補助 (NSC94-2214-E-212-002)，以及彰化縣秀水鄉主恩牧場提供牛初乳原料，特致謝忱。

## 參考文獻

- 李陽春 (民 88)，以幽門螺旋桿菌 (*Helicobacter pylori*) 之尿素酶免疫處理雞所產雞蛋黃微膠囊化後抗體的安定性研究，台灣大學食品科技研究所碩士論文。
- 林虔宏 (民 90)，蛋黃卵磷脂微膠囊之製作及其物理性質之探討，中興大學畜產學系碩士論文。
- 陳昭誠、杜豔櫻、張鴻民 (民 88)，牛乳 IgG 經低溫噴霧乾燥後之安定性研究，食品科學，26，487-495。
- 盧冠霖 (民 91)，新編免疫學，永大書局，台北。
- AOAC. (1998) *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*, 16th Ed., Washington, DC.
- Arguello, A., N. Castro, J. Capote, J. W. Tyler and N. M. Holloway (2004) Effect of colostrum administration practices on serum IgG in goat kids. *Livestock Production Science*, 90(2-3), 235-239.
- Chiang, S. H. and C. Y. Chang (2005) Antioxidant properties of caseins and whey proteins from colostrums. *Journal of Food and Drug Analysis*, 13(1), 57-63.
- Chicón, R., J. Belloque, E. Alonso and R. López-Fandiño (2008) Immunoreactivity and digestibility of high-pressure-treated whey proteins. *International Dairy Journal*, 18(4), 367-376.
- Ducel, V., J. Richard, P. Saulnier, Y. Popineau and F. Boury (2004) Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: Application to the microencapsulation of oil droplets. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 232(2-3), 239-247.
- Hudson, L. and F. C. Hay (1989) *Practical Immunology*, 3rd Ed., Blackwell Scientific Co., London.
- Foley, N. and S. Otterby (1978) Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrum: A review. *Journal of Dairy Science*, 61(8), 1033-1060.
- Krishnan, S., R. Bhosale and R. S. Singhal (2005) Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*, 61(1), 95-102.
- Kummer, A., D. D. Kitts, E. Li-Chan, J. N. Losso, B. J. Skura and S. Nakai (1992) Quantification of bovine IgG in milk using enzyme-linked immunosorbent assay. *Food and Agricultural Immunology*, 4(2), 93-102.
- Li-Chan, E., A. Kummer, J. N. Losso and S. Nakai (1994) Survey of immunoglobulin G (IgG) content and antibody specificity in cow's milk from British Columbia. *Food and Agricultural Immunology*, 6(4), 443-451.
- Liu, Q., A. M. Rauth and X. Y. Wu (2007) Immobilization and bioactivity of glucose oxidase in hydrogel microspheres formulated by an emulsification-internal gelation-adsorption-polyelectrolyte coating method. *International Journal of Pharmaceutics*, 339(1-2), 148-156.



- 
16. Pintado, M. E., J. A. Lopes da Silva and F. X. Malcata (1999) Comparative characterization of whey protein concentrates from ovine, caprine and bovine breeds. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 32(4), 231-237.
  17. Reineccius, G. A. (1988) Spray drying of food flavours. In: *Flavour encapsulation*, 55-66. G. A. Reineccius and S. J. Risch, Eds. American Chemical Society, Washington DC.
  18. SAS (2001) *SAS User's Guide: Statistics*, 8th Ed. SAS Inst., Cary, NC.
  19. Smith, K. L., L. A. Muir, L. C. Ferguson and H. R. Conrad (1971) Selectivetransport of IgG into the mammary gland: Role of estrogen and progesterone. *Journal of Dairy Science*, 54(12), 1886-1894.
  20. van Beresteijn, E. C., R. A. Peeters, J. Kaper, R. Meijer, A. Robben and D. Schmidt (1994) Molecular mass distribution, immunological properties and nutritive value of whey protein hydrolysates. *Journal of Food Protection*, 57(7), 619-625.
  21. Wu, J. P. and X. L. Ding (2002) Characterization of inhibition and stability of soy-protein-derived angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides. *Food Research International*, 35(4), 367-375.

收件：98.07.14 修正：98.08.11 接受：98.09.22