

# 高靜水壓輔助酵素萃取火雞之氣管軟骨中膠原蛋白的最適化條件分析

何婷儀 (5135)

2024/04/17

## 大綱

一、前言

二、製備條件對產率、純度及熱穩定性之影響

1. 高壓處理壓力、處理時間及酵素濃度之單因子實驗條件的篩選

2. 多因子交互作用分析

3. 最適化條件分析

三、結論

## 摘要

隨著全球人口老齡化日益加劇，退化性關節炎成為常見的骨骼與肌肉疾病之一，未變性第二型膠原蛋白作為骨關節炎保健品開發原料備受關注。由於生產製程中酵素成本高昂，研究目標期望以高靜水壓加工輔助酵素提升萃取效率，然而部分極端的高壓處理條件可能誘導蛋白質二級結構改變造成負面影響。本次研究利用火雞氣管副產物作為萃取二型膠原蛋白來源，採用 Box-Behnken(BBD) 之實驗設計探討萃取過程中高靜水壓處理壓力、時間及酵素濃度對於產率、純度及熱穩定性的影響，建立萃取之反應曲面以求得其最適條件。在通過三項加工條件之單因子實驗中，觀察到當高靜水壓處理壓力由 0.1 (常壓) 提升至 300 MPa 以上時，高壓對於萃取之產製率無顯著提升效果。產物中三股螺旋結構在經高壓之壓力提升至高範圍時 (>400 MPa) 其熱穩定性下降。當使用酵素濃度為 1.5% 以下時，高壓結合酵素對於萃取產物之膠原蛋白含量無顯著地影響，因此本研究欲探討萃取之參數範圍為 100-300 MPa、10-20 min 及酵素濃度為 2.0-3.0%。在低壓力範圍下 (100-200 MPa) 產率與高壓處理時間為正相關，藉由迴歸方程式可觀察到當酵素濃度越高，增加高壓處理時間可達到更高產率，但在產物純度方面，高壓處理參數與酵素濃度之間則無顯著交互作用。高壓處理壓力與時間皆和變性焓值呈負相關，整體而言高壓處理壓力、高壓處理時間及酵素濃度皆非影響產物熱穩定性之重要因素。經由相關性分析，得到高靜水壓處理壓力與純度之相關性係數 (Pearson correlation coefficient, R) 為 -0.633 呈負相關，表示處理壓力越趨近於 300 MPa 時產物之第二型膠原蛋白的含量越低；高靜水壓處理時間與產率之相關性係數為 0.612 呈正相關，高壓處理時間越趨近於 20 min 時萃取產率越高；酵素濃度與變性焓值 ( $Y_3$ ) 之相關性係數為 -0.341，顯示僅呈中度負相關性，酵素濃度越趨近於 3.0% 時變性焓值越低。最後，利用反應曲面法分析而獲得萃取之最適化條件為高壓處理壓力 100 MPa、處理時間 13.59 min 及酵素濃度 2.31%，預測產率為 5.98%，產物之二型膠原蛋白含量為 154.28 mg/g，變性焓值為 0.22 J/g。

## 參考文獻：

- 温元。2020。高壓輔助蛋白酶水解雞胸軟骨之 II 型膠原蛋白萃取的物化特性及其對軟骨細胞之生長作用。國立臺灣海洋大學食品科學系碩士論文。基隆。臺灣。
- Alemán, A.; Giménez, B.; Gómez-Guillén, M. C.; Montero, P. Enzymatic hydrolysis of fish gelatin under high pressure treatment. *International Journal of Food Science & Technology*. **2011**, *46*, 1129-1136.
- Allen, K. D.; Coffman, C. J.; Golightly, Y. M.; Stechuchak, K. M.; Keefe, F. J. Daily pain variations among patients with hand, hip, and knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. **2009**, *17*, 1275-1282.
- Chicón, R.; Belloque, J.; Recio, I.; López-Fandiño, R. Influence of high hydrostatic pressure on the proteolysis of  $\beta$ -lactoglobulin A by trypsin. *Journal of Dairy Research*. **2006**, *73*, 121-128.
- Deparle, L. A.; Gupta, R. C.; Canerdy, T. D.; Goad, J. T.; D'ALTILIO, M.; Bagchi, M.; Bagchi, D. Efficacy and safety of glycosylated undenatured type-II collagen (UC-II) in therapy of arthritic dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **2005**, *28*, 385-390.
- Fathi, M.; Hosseini, F. S.; Ramezani, R.; Rashidi, L. Optimized enzymatic hydrolysis of olive pomace proteins using response surface methodology. *Applied Food Biotechnology*. **2022**, *9*, 79-90.
- Ferreira, S. C.; Bruns, R. E.; Ferreira, H. S.; Matos, G. D.; David, J. M.; Brandão, G. C.; Dos Santos, W. N. L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta*. **2007**, *597*, 179-186.
- Gupta, R. C.; Canerdy, T. D.; Skaggs, P.; Stocker, A.; Zyrkowski, G.; Burke, R.; Bagchi, D. Therapeutic efficacy of undenatured type-II collagen (UC-II) in comparison to glucosamine and chondroitin in arthritic horses 1. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **2009**, *32*, 577-584.
- Hawker, G. A.; Stewart, L.; French, M. R.; Cibere, J.; Jordan, J. M.; March, L.; Suarez-Almazor, M.; Gooberman-Hill, R. Understanding the pain experience in hip and knee osteoarthritis—an OARSI/OMERACT initiative. *Osteoarthritis and Cartilage*. **2008**, *16*, 415-422.
- He, L.; Gao, Y.; Han, L.; Yu, Q.; Zang, R. Enhanced gelling performance of oxhide gelatin prepared from cowhide scrap by high pressure-assisted extraction. *Journal of Food Science*. **2021**, *86*, 2525-2538.