

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

雞卵黃中抗幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)尿素酶
抗體之生成變化及微膠囊劃對此抗體之安定性作用

Productivity of Immunoglobulin in Yolk Specific
against *Helicobacter pylori* Urease and the
Effect of Microencapsulation on the
IgY Stability

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC - 89 - 2313 - B - 002 - 091

執行期間：88 年 8 月 1 日至 89 年 7 月 31 日

計畫主持人：張鴻民

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：台灣大學食品科技研究所

中華民國 89 年 9 月 20 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

雞卵黃中抗幽門螺旋桿菌尿素酶抗體之生成變化及 微膠囊化對此抗體之安定性

Productivity of Immunglobulin in Yolk Specific against *Helicobacter pylori* Urease and the effect of Microencapsulation on the IgY Stability

計畫編號：NSC 89-2313-B-002-091

執行期限：88年8月1日至88年7月31日

主持人：張鴻民 台灣大學食品科技研究所

一、中文摘要

本研究是以幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)的尿素 為抗原對 10 隻雞隻肌肉注射後，將免疫雞隻所產雞蛋之蛋黃液經不同濃度(10%及 20%)的包覆材質(環狀糊精、阿拉伯膠、水解澱粉及酪蛋白)經微膠囊化後，以胃腸道蛋白分解酵素如胃蛋白(pepsin) (酵素/受質=1/40)在 37°C 進行水解，探討其抗體殘存活性與水解率，並比較與添加不同濃度(10%及 20%)包覆材質的蛋黃粉末之抗體活性的殘存情形。最後探討以 liposome 包覆 BSA 及 IgY 的包覆效率，並觀察包覆 IgY 者以胃蛋白 (pepsin, 15 μ g/ml)及酸水解(pH 1.8 及 pH 2.8, 37 °C)，探討抗體在 liposome 中對酵素及酸的安定性。

實驗結果發現：將幽門螺旋桿菌之尿素粗萃液以 Sephacryl S-300 膠體過濾層析後，對 10 隻來亨雞肌肉注射連續五週，發現蛋黃及血清中抗體之 ELISA 值在第四週有明顯上升，第五週達到最高點，但抗體量在血清中與在蛋黃中的差異頗大，顯示血液中之 IgG 轉移成 IgY 的量並不大。將蛋黃液包覆 10%及 20%環狀糊精、水解澱粉及酪蛋白組經微膠囊化後對抗體具有保護作用，與添加 10%及 20%環狀糊精、水解澱粉及酪蛋白組之噴霧乾燥蛋黃粉末比較，有較高之抗體活性及水解率，且包覆材質濃度 10%比 20%之抗體活性高；而包覆 10%及 20%阿拉伯膠經微膠囊化後對抗體具有保護作用，與添加 10%及 20%阿拉伯膠組之噴霧乾燥蛋黃粉末比較，有較高之抗體活性及水解率，且包覆材質濃度

20%比 10%之抗體活性高。以 liposome 包覆 BSA，於 lecithin/cholesterol 比為 1:0.25 時有較高的包覆效率(約 71%)，在包覆 IgY 時也有相似的結果(約 69%)。表示以脫水-復水的方法可有效的包覆 IgY；將包覆 IgY 之 liposome 以胃蛋白 在 pH 1.8 及 pH 2.8 下水解，隨 lecithin/cholesterol 比例增加，ELISA 值也隨著增加，表示 liposome 對 IgY 有保護的效果；將包覆 IgY 之 liposome 在 pH 1.8 及 pH 2.8 下水解，隨 lecithin /cholesterol 比例增加，ELISA 值也隨著增加，表示 liposome 在酸的環境下對 IgY 有保護的效果。

關鍵詞：幽門螺旋桿菌、尿素酶、IgY、微膠囊化、ELISA、安定性

Abstract

Hens were immunized on thighs by using urease (E.C. 3.5.1.5) from *Helicobacter pylori* as antigen through intramuscular (*im*) route, and the specificity of IgY against urease of *H. pylori* increased gradually after initial immunization. The collected yolk was microencapsulated with 10 or 20% β -cyclodextrin (β -CD) and gum arabic by a spray-drier. Microencapsulation was effective in protecting the IgY activity against pepsin. Liposome prepared at the lecithin/cholesterol ratio of 1/0.25 (mole/mole) displayed satisfactory encapsulation efficiency (69 %) of IgY. Increase in cholesterol content in the liposomal structure exhibited stronger protection effect of IgY against pepsin and

acid.

Keywords: Productivity; Encapsulation; IgY; *Helicobacter pylori*; Urease; Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Stability

二、緣由與目的

一. 幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)的發現

胃由於儲藏著高濃度的胃酸，始終被認為是一個無菌的環境。二十世紀初始有學者在人體胃黏膜層懷疑有螺旋菌，1979年 Robin Warren 在病人的胃檢體中發現有曲狀細菌的存在。且這些細菌是存於黏液層的組織中(Warren, 1983; Marshall, 1989)。但由於這株菌不易培養，直到一九八二年，一位年輕的澳洲醫師馬歇爾在人體外將它培養成功(Marshall, 1983; Marshall and Warren, 1984)。

隨著幽門螺旋桿菌的培養成功，且許多病人的胃裡都發現有這株菌的存在。因此 Marshall 很快地聯想到這株菌與胃炎的關聯，進而推論它可能與胃潰瘍或十二指腸潰瘍有關。一九八四年，他親自食入此菌，進行了有史以來第一次的人體試驗，終於證明幽門螺旋桿菌可以在人類的正常胃黏膜上形成群落，也造成胃炎(Marshall and Warren, 1984; Marshall et al., 1985)。

二. 幽門螺旋桿菌的重要性

幽門螺旋桿菌與胃炎、十二指腸潰瘍都有密切的關係，並可能發展成胃潰瘍。感染幽門螺旋桿菌的病患，有慢性胃炎、十二指腸及胃潰瘍的機率分別高達 90, 95-100 及 70% (Marshall et al., 1985; Parsonnet et al., 1991)。

三. 幽門螺旋桿菌的致病因子及致病機轉

幽門螺旋桿菌是一種革蘭氏陰性、外型曲狀、微嗜氧的螺旋狀細菌，可從人體的胃竇部分離出來。人類是唯一宿主，長約 2-4 μm ，除了在胃黏膜及附近的相關區域黏膜可發現此菌外，在口腔內牙齒的牙斑也可以找到此菌(Lee, 1993)。

(二). 尿素 (urease)

幽門螺旋桿菌尿素，可由水解作用分解胃上皮細胞滲透出來的尿素以生成氨，可使它避免受到周遭胃酸環境的傷害。另外，幽門螺旋桿菌會附著在黏膜層

磷脂之上，利用所分泌之蛋白 (protease) 及磷脂 (phospholipase) 而破壞胃黏液層及其下之黏膜細胞的完整性(Moran, 1996)。至目前，已很清楚知道胃中的高尿素活性是來自於幽門螺旋桿菌。幽門螺旋桿菌菌體表面有顯著的尿素活性而使其可以存活及致病(Dunn, 1997)，因此酵素會催化尿素水解成二氧化碳及氨：

四. 被動免疫的應用

被動免疫是藉由直接注射或口服外來抗體以獲得免疫力之免疫方法。被動免疫的好處是可使個體迅速獲得大量抗體，以抵抗抗原但缺點是持續效果較短，故需隨時補充。由於被動免疫需要大量的抗體，若只從免疫處理之動物血清中純化分離抗體，不僅費時及昂貴，其量也不足供應醫療或食品之須求，因此有必要尋找經濟且豐富的抗體來源。

雞蛋是很好的抗體來源，且近年來有許多研究(陳, 1995; 歐陽, 1996)指出將產蛋雞經免疫處理後，所產雞蛋蛋黃中可發現有抵抗該抗原的免疫球蛋白(IgY)出現，故分離純化 IgY 即可以口服攝取方式行被動免疫。且利用雞蛋以取得抗體的方法簡化了特殊抗體大量製備時的不便，並較省時。

五. 微膠囊化技術之應用

(1). 噴霧乾燥微膠囊化法

(2). Liposomes

Liposomes 是脂雙層 (lipid bilayers) 內包覆液體的結構，脂質通常是用磷脂質 (phospholipids)。Liposomes 的微膠囊化技術過去被廣泛的應用於藥物及一些生物活性物質的微膠囊化，最近在食品工業上被用來改善食品的特性，如藉著 Liposomes 控制蛋白的釋放速率來改善 cheese 的香氣成份(Deamer and Uster, 1983)。

三、結果與討論

將幽門螺旋桿菌之尿素粗萃液以 Sephacryl S-300 膠體過濾層析後，取具有尿素活性的收集管(收集管數 21~26)，蛋白質濃度濃縮至 200 $\mu\text{g/ml}$ ，對 10 隻來亨雞肌肉注射，連續五週，雞體內及蛋黃中抗體產生之變化如圖 III-2。發現蛋黃及血清中抗體之 ELISA 值在第四週有明顯上

升，第五週達到最高點，但在第六、七週後又快速下降；雞血清及蛋黃中抗體產生之變化與免疫注射的動物種類、抗原的形式有關。

三、蛋黃中抗體微膠囊化後對胃腸道蛋白質分解酵素之耐受性

(1). 酵素水解之安定性

將蛋黃液添加 10% 與 20% 之不同濃度包覆材質(環狀糊精、水解澱粉、阿拉伯膠及酪蛋白)並以未添加包覆材質的蛋黃液作為對照組經自製低溫噴霧乾燥器微膠囊化後，與胰蛋白 (0.05M 磷酸緩衝液, pH 7.6)、胰凝乳蛋白 (0.05M 磷酸緩衝液, pH 7.6) 及胃蛋白 (pH 2.0 和 pH 4.0, 以 0.1N HCl 調整) 作用，酵素和受質的比例為 1:40 (E/S ratio=1/40)，經 37°C 水解 1—8 hr，以 TNBS 法測定水解率及用 ELISA 法測定抗體活性。

將包覆 10% 及 20% 環狀糊精之蛋黃液經微膠囊化後以胃蛋白 (pH 4.0) 水解，觀察其抗體活性的變化(圖 III-4A)。結果發現，以胃蛋白 在 pH 4.0 進行水解，水解前後 ELISA 值降低不大，可以保存較高的抗體活性。另外為觀察添加包覆材質之微膠囊化蛋黃粉末是否有包覆完全達到微膠囊化之效果，故以蛋黃液噴霧乾燥後之蛋黃粉末，分別添加不同濃度(10% 及 20%) 的包覆材質，用 ELISA 法測定抗體活性變化。

將添加 10% 及 20% 環狀糊精之蛋黃粉末以胃蛋白 (pH 4.0) 水解，觀察其抗體活性的變化(圖 III-4B)。結果發現其抗體活性在水解一小時後即有逐漸下降的趨勢，在水解 8 小時後，抗體殘存活性(ELISA 值) 很低(約 0.25)，與同樣經胃蛋白 水解後之微膠囊化的組別(圖 III-4A) 比較，水解 8hr 後抗體仍維持高活性(ELISA 值在 0.8 以上)，表示包覆環狀糊精經微膠囊化後的蛋黃粉末具有保護抗體免於失活的效果。但濃度 10% 卻較 20% 的抗體活性高，此可能係高濃度環狀糊精對 IgY 活性有某程度的抑制所致。

另發現(圖 III-4A) 在 0 時間時，有包覆環狀糊精的微膠囊化蛋黃粉末其抗體活性較未包覆包覆材質的控制組高很多，故進一步測凍乾蛋黃粉末的 ELISA 值為 1.26(1.26 ± 0.05)，故推測控制組可能是進行噴霧乾

燥導致抗體失活。

將包覆 10% 及 20% 阿拉伯膠之蛋黃液經微膠囊化後以胃蛋白 (pH 4.0) 水解，觀察其抗體活性的變化(圖 III-5A)。結果發現，以胃蛋白 在 pH 4.0 進行水解，水解前後 ELISA 值降低不大，可以保存較高的抗體活性。另外比較添加阿拉伯膠之蛋黃粉末以胃蛋白 (pH 4.0) 水解，觀察其抗體活性的變化(圖 III-5B)。結果發現其抗體活性在水解一小時後即有逐漸下降的趨勢，在水解 8 小時後，抗體殘存活性(ELISA 值) 很低(約 0.45)，與同樣經胃蛋白 水解後之微膠囊化的組別(圖 III-5A) 比較，水解 8hr 後抗體仍維持高活性(ELISA 值在 0.8 以上)，表示包覆環狀糊精經微膠囊化後的蛋黃粉末具有保護抗體免於失活的效果。而阿拉伯膠濃度 20% 比 10% 的抗體活性高，表示高濃度阿拉伯膠對 IgY 活性有較好的保護效果。

將包覆 10% 及 20% 水解澱粉之蛋黃液經微膠囊化後以胃蛋白 (pH 4.0) 水解，觀察其抗體活性的變化(圖 III-6A)。結果發現，以胃蛋白 在 pH 4.0 進行水解，水解前後 ELISA 值降低不大，可以保存較高的抗體活性。另比較添加 10% 及 20% 水解澱粉之蛋黃粉末以胃蛋白 (pH 4.0) 水解，觀察其抗體活性的變化(圖 III-6B)。結果發現其抗體活性在水解一小時後即有逐漸下降的趨勢，在水解 8 小時後，抗體殘存活性(ELISA 值) 很低(約 0.18)，與同樣經胃蛋白

水解後之微膠囊化的組別(圖 III-6A) 比較，水解 8hr 後抗體仍維持高活性(ELISA 值在 0.8 以上)，表示包覆水解澱粉經微膠囊化後的蛋黃粉末具有保護抗體免於失活的效果。但濃度 10% 卻較 20% 的抗體活性高，此可能係高濃度環狀糊精對 IgY 活性有某程度的抑制所致。

將包覆 10% 及 20% 酪蛋白之蛋黃液經微膠囊化後以胃蛋白 (pH 4.0) 水解，觀察其抗體活性的變化(圖 III-7A)。結果發現，以胃蛋白 在 pH 4.0 進行水解，水解前後 ELISA 值降低不大，可以保存較高的抗體活性。另比較添加 10% 及 20% 酪蛋白之蛋黃粉末以胃蛋白 (pH 4.0) 水解，觀察其抗體活性的變化(圖 III-7B)。結果發現其抗體活性在水解一小時後即有逐漸下降的趨

勢，在水解 8 小時後，抗體殘存活性(ELISA 值)低(約 0.35)，與同樣經胃蛋白 水解後之微膠囊化的組別(圖 III-7A)比較，水解 8hr 後抗體仍維持高活性(ELISA 值在 0.8 以上)，表示包覆酪蛋白經微膠囊化後的蛋黃粉末具有保護抗體免於失活的效果。但濃度 10%卻較 20%的抗體活性高，此可能係高濃度環狀糊精對 IgY 活性有某程度的抑制所致。

故以高濃度(10%及 20%)之包覆材質進行微膠囊化，除阿拉伯膠組外，其他三組都是高濃度(20%)較低濃度(10%)抗體活性低，可能係高濃度環狀糊精對 IgY 活性有某程度的抑制所致，而材質不同，抑制 IgY 活性能力亦不同。

另選擇 10%的酪蛋白組及 20%阿拉伯膠組，在 pH 2.0 及 pH 4.0 下進行安定性測定，觀察其抗體活性的殘存情形。結果(圖 III-8)發現於 pH 2.0 反應 8 小時後，抗體活性明顯降低，而於 pH 4.0，仍可以保存較高的抗體活性。

五、參考文獻

- Adler-Nissen, J. 1979. Determination of degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzene sulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.* 27: 1256-1262.
- Balassa, L. L. and Fanger, G. O. 1971. Microencapsulation in the food industry. *CRC Crit. Rev. Food Technol.* 7: 245-261.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Chang, H. M., Ou-Yang, R. F., Chen, Y. T., and Chen, C. C. 1999. Productivity and some properties of immunoglobulin specific against *Streptococcus mutans* serotype c in chicken egg yolk (IgY). *J. Agric. Food Chem.* 47: 61-66.
- Chen, C. C. and Chang, H. M. 1998. Effect of thermal protectants on the stability of bovine milk immunoglobulin G. *J. Agric. Food Chem.* 46: 3570-3576.
- Cuenca, R., Blanchard, T. G., Czinn, S. J., Nedrud, J. G., Monath, T. P., Lee, C. K., and Redline, R. W. 1996. Therapeutic immunization against *Helicobacter mustelae* in naturally infected ferrets. *Gastroenterology* 110: 1770-1775.
- Czinn, S. J. and Nedrud, J. G. 1991. Oral immunization against *Helicobacter pylori*. *Infect. Immun.* 59: 2359-2363
- Dziezak, J. D. 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technol.* 42 (): 136-148.
- Evans, D. J., Evans, D. G., Kirkpatrick, S. S., and Graham, D. Y. 1991. Characterization of the *Helicobacter pylori* urease and purification of its subunits. *Microbial Pathogenesis* 10: 15-26.
- Facon, M., Skura, B. J., and Nakai, S. 1993. Potential for immunological supplementation of foods. *Food Agric. Immunol.* 5: 85-91.
- Ferrero, R. L., Thiberge, J. M., Huerre, M., and Labigne, A. 1994. Recombinant antigens prepared from the urease subunits of *Helicobacter* spp. : evidence of protection in a mouse model of gastric infection. *Infect. Immun.* 62: 4981-4989.
- Goldman, A. S. 1989. Immunologic supplementation of cows milk formulation. *Bull. Int. Dairy Fed.* 244: 38-43.
- Goodwin, C. S., Armstrong, J. A., Marshall, B. J. 1986. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. *J. Clin. Pathol.* 39: 353-365.
- Gregoriadis, G. 1984. *Liposome Technology*. Vol. 3. p. 1-282. CRC Press, Boca Roton, FL.
- Hilpert, H., Brussow, H., Mietens, C., Sidoti, J., Lerner, L., and Werchau, H. 1987. Use of bovine milk concentrate containing antibody to rotavirus to treat rotavirus gastroenteritis in infants. *J. Infect. Dis.* 156: 158-166.
- Hudson, L. and Hay, F. 1989. *Practical Immunology*, 3rd ed.; Chapters 6, 8, 10. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- Kikuchi, H. and Inoue, K. 1985. Liposomes: properties and applications. *Yukagaku* 34: 784-798.
- Kim, Y. D. and Morr, C. V. 1996. Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins : spray-dried orange oil emulsion particles. *J.*

- Agric. Food Chem. 44: 1314-1320.
- Lee, C., Weltzin, R., and Thomas, W. D. 1995. Oral immunization with recombinant *Helicobacter pylori* urease induces secretory IgA antibodies and protects mice from challenge with *Helicobacter felis*. J. Infect. Dis. 172: 161-172.
- Levi, S., Beardshall, K., Haddad, G., Playford, R., Ghosh, P., and Calam, J. 1989. *Campylobacter pylori* and duodenal ulcer: the gastrin link. Lancet **[i]** 1167-1168.
- Lu, T. C. 1995. Separation and purification of IgY from hen egg by polysaccharides. M.S. thesis, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.
- Marshall, B. J. 1986. *Campylobacter pyloridis* and gastritis. J. Infect. Dis. 153: 650-657.
- McCannel, A. A. and Nakai, S. 1990. Separation of egg yolk immunoglobulins into subpopulations using DEAE-ion exchange chromatography. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 23: 42-46.
- Mietens, C., Keinhorst, H., Hilpert, H., Gerber, H., Amster, H., and Pahud, J. J. 1979.
- Treatment of infantile *E. coli* gastroenteritis with specific bovine anti-*E. coli* milk immunoglobulins. Eur. J. Ped. 132: 239-252.
- Musher, D. M., Johnson, B., and Watson, D. A. 1990. Quantitative relationship between anticapsular antibody measured by enzyme-linked immunosorbent assay and protection of mice against challenge with *Streptococcus pneumoniae* serotype 4. Infect. Immunol. 58: 3871-3876.
- Otake, S., Nishihara, Y., Makimura, M., Hatta, H., Kim, M., Yamamoto, T., and Hirasawa, M. 1991. Protection of rats against dental caries by passive immunization with hen-egg-yolk antibody (IgY). J. Dent. Res. 70: 162-166.
- Pappo, J., Thomas, W. D., Kabok, Z., Taylor, N. S., Murphy, J. C., and Fox, J. C. 1995. Effects of oral administration with recombinant urease on murine *Helicobacter felis* gastritis. Infect. Immun. 63: 1246-1252.
- Patterson, R., Youngner, J. S., Weigle, W. O., and Dixon, F. J. 1962. Antibody production and transfer to egg yolk of chickens. J. Immunol. 89: 272-278.
- Pettross, C. W., Appleman, M. D., Cohen, H., Valenzuela, J. E., Chandrasoma, P., and Laine, L. A. 1988. Prevalence of *Campylobacter pylori* and association with antral mucosal history in subjects with and without upper gastrointestinal systems. Digestive Dis. Sci. 33: 649-653.
- Rosenberg, M. and Young, S. L. 1993. Whey proteins as microencapsulating agents. Microencapsulation of anhydrous milkfat-structure evaluation. Food Struct. 12: 31-41.
- Rustum, Y. M., Dave, C., Mayhew, E., and Papahadjopoulos, D. 1979. Role of liposome type and route of administration in the antitumor activity of liposome-entrapped 1- β -D-arabinofuranosylcytosine against mouse L1210 leukemia. Cancer Res. 39: 1390-1395.
- Schlegel, H. G. and Kaltwasser, H. 1974. Urease. In *Methods of Enzymatic Analysis*; H. U. Bergmeyer, (Ed.) p. 1081-1085. Academic Press, Inc., New York.
- Shimizu, M., Fitzsimmons, R. C., and Nakai, S. 1988. Anti-*E. coli* immunoglobulin Y isolated from egg yolk of immunized chickens as a potential food ingredient. J. Food Sci. 53: 1360-1366.
- Shimizu, M., Miwa, Y., Hashimoto, K., and Goto, A. 1993. Encapsulation of egg yolk immunoglobulin G (IgY) by liposomes. Biosci. Biotech. Biochem. 57: 1445-1449.
- Tacket, C. O., Losonsky, G., Link, H., Hoang, Y., Guestry, P., Hilpert, H., and Levine, M. 1988. Protection by milk immunoglobulin concentrate against oral challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli*. New Engl. J. Med. 318
- Tacket, C. O., Binion, S. B., Bostwick, E., Losonsky, G., Roy, M. J., and Edelman, R. 1992. Efficacy of bovine milk immunoglobulin concentrate in preventing illness after *Shigella flexneri* challenge. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 47: 276-283.

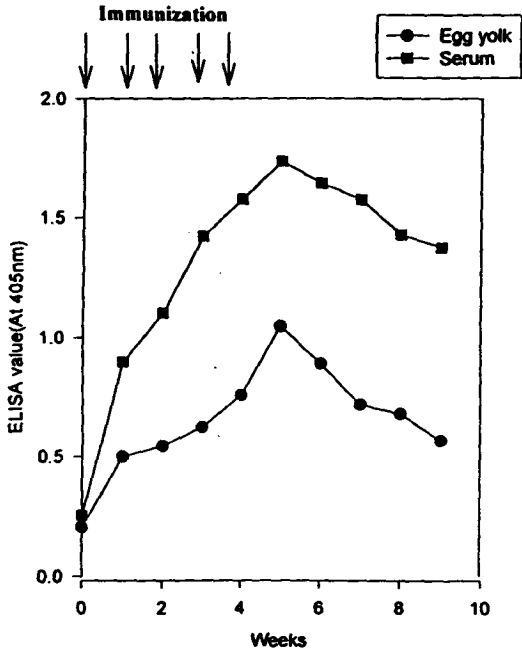


圖 2 雞肌肉注射後，血清和蛋黃中的抗體活性對 *Helicobacter pylori* 之變化。在進行 ELISA 分析時，蛋黃及血清皆稀釋為 1000 倍。
 Fig. 2 Changes of ELISA values in chicken serum and egg yolk during the immunization period. Chicken serum and egg yolk were obtained from hens immunized with urease from *Helicobacter pylori* by intramuscular injection. Collected samples were diluted 1000-fold anterior to ELISA assay.

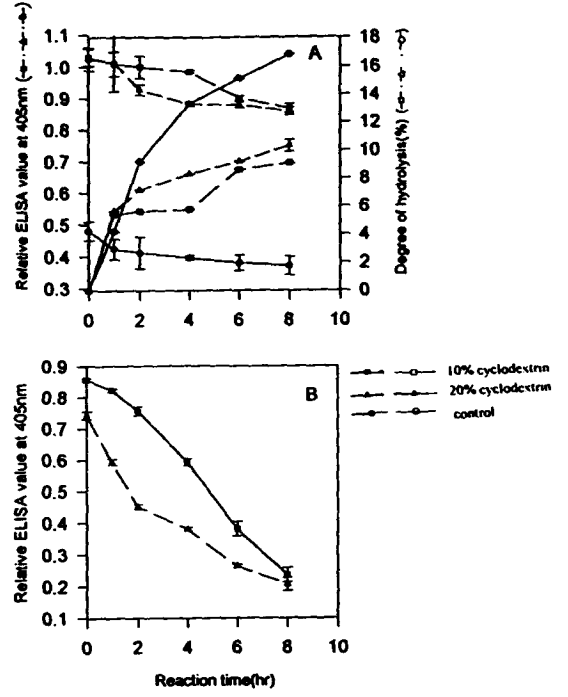


圖 4 被覆 10% 及 20% 環糊精之微膠囊化蛋黃粉 (A) 與添加 10% 及 20% 環糊精之蛋黃粉 (B) 以胃蛋白酶水解 (pH 4.0, 37°C, 酶量/受質=1/40) 其水解率與相對 ELISA 值之關係

Figure 4 The relationship between degree of hydrolysis and relative ELISA value of microencapsulated yolk powder (A) coated with 10% and 20% cyclodextrin and yolk powder (B) added with 10% and 20% cyclodextrin and hydrolyzed with pepsin under pH 4.0 at 37°C (E/S=1/40).

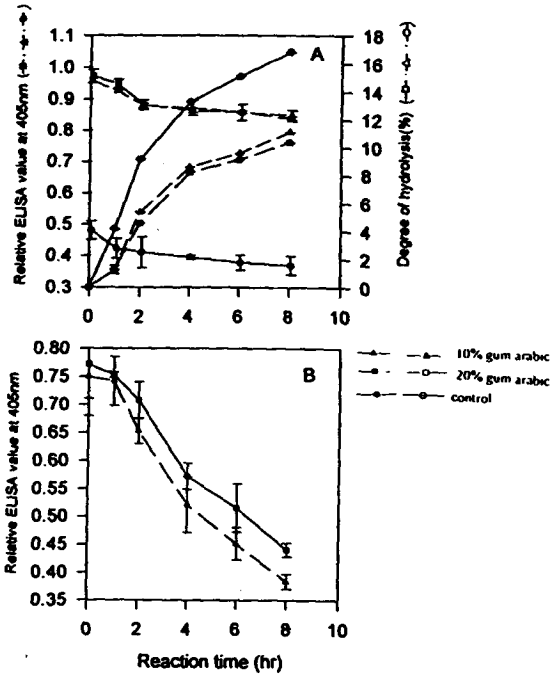


圖 5 被覆 10% 及 20% 阿拉伯膠之微膠囊化蛋黃粉 (A) 及添加 10% 及 20% 阿拉伯膠之蛋黃粉 (B) 以胃蛋白酶水解 (pH 4.0, 37°C, 酶量/受質=1/40) 其水解率與相對 ELISA 值之關係

Figure 5 The relationship between degree of hydrolysis and relative ELISA value of microencapsulated yolk powder (A) coated with 10% and 20% gum arabic and yolk powder (B) added with 10% and 20% gum arabic and hydrolyzed with pepsin under pH 4.0 at 37°C (E/S=1/40).

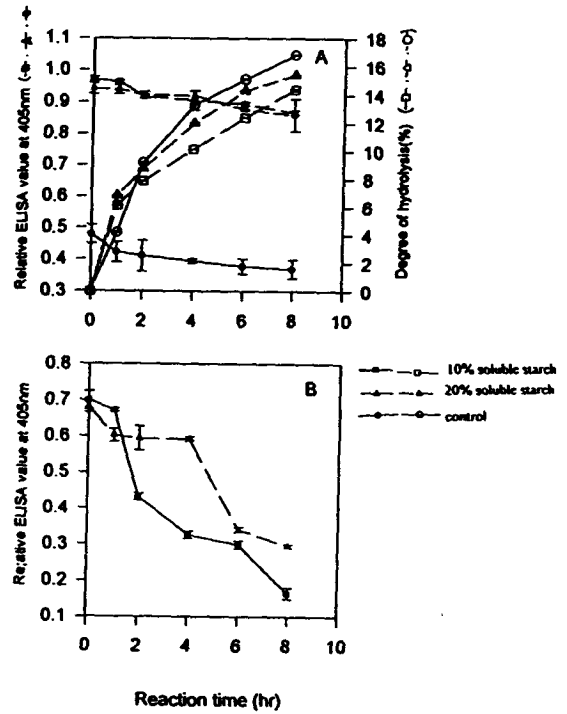


圖 6 被覆 10% 及 20% 水溶性澱粉之微膠囊化蛋黃粉 (A) 及添加 10% 及 20% 水溶性澱粉之蛋黃粉 (B) 以胃蛋白酶水解 (pH 4.0, 37°C, 酶量/受質=1/40) 其水解率與相對 ELISA 值之關係

Figure 6 The relationship between degree of hydrolysis and relative ELISA value of microencapsulated yolk powder (A) coated with 10% and 20% soluble starch and yolk powder (B) added with 10% and 20% soluble starch hydrolyzed with pepsin under pH 4.0 at 37°C (E/S=1/40).

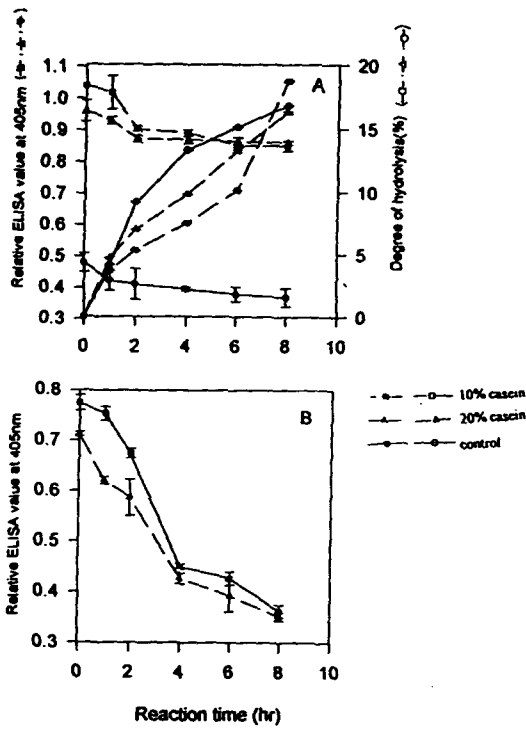


圖 7- 被覆 10% 及 20% 酪蛋白之微膠囊化蛋黃粉 (A) 及添加 10% 及 20% 酪蛋白之蛋黃粉 (B) 以胃蛋白酶水解 (pH 4.0, 37°C, 酶量/受質=1/40) 其水解率與相對 ELISA 值之關係

Fig. 7- The relationship between degree of hydrolysis and relative ELISA value of microencapsulated yolk powder (A) coated with 10% and 20% casein and yolk powder (B) added with 10% and 20% casein and hydrolyzed with pepsin under pH 4.0 at 37°C (E/S=1/40).

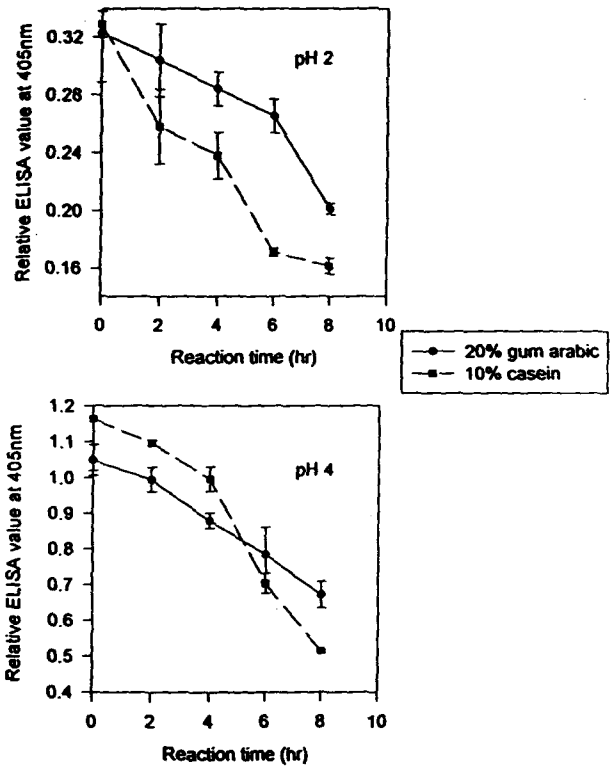


圖 8- 被覆 10% 酪蛋白及 20% 阿拉伯膠之微膠囊化蛋黃粉於 pH 2.0 及 4.0 (37°C) 水解後其相對 ELISA 值之關係

Fig. 8- The relationship between degree of relative ELISA value of microencapsulated yolk powder coated with 10% casein and 20% gum arabic and hydrolyzed under pH 2.0 and 4.0 at 37°C.

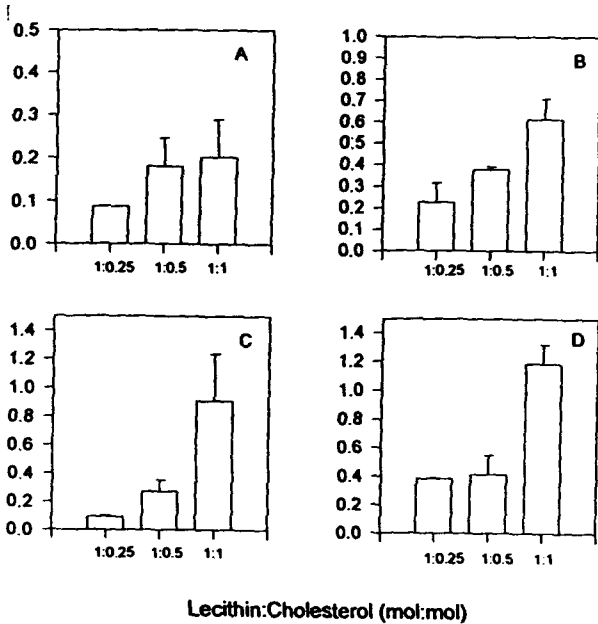


圖 19- 不同 lecithin/cholesterol 比例之 liposome 中之 IgY 經胃蛋白酶水解 [pH 1.8 (A); pH 2.8 (B)] 及胰凝乳蛋白酶水解 [pH 1.8 (C); pH 2.8 (D)] 後之抗體活性的殘存情形。

Fig. 19- Effect of egg lecithin/cholesterol ratio on the stability of IgY in liposomes hydrolyzed with pepsin (15 μ g/ml) at pH 1.8 (A) and pH 2.8 (B) or incubated at pH 1.8 (C) and pH 2.8 (D) for 3hr at 37°C.

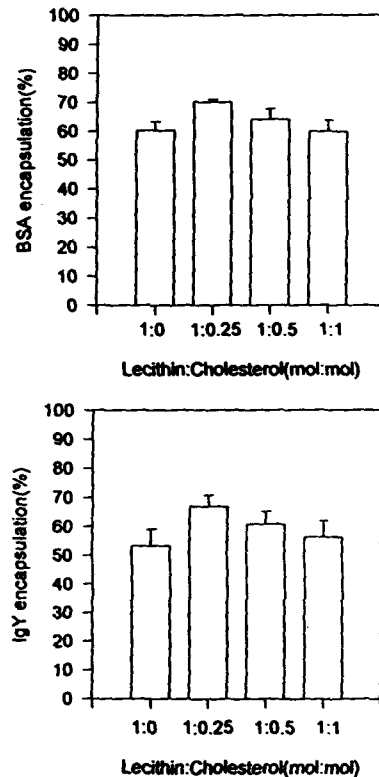


圖 18- BSA 及 IgY 在 liposomes 中的包埋效率圖
Fig. 18- Encapsulation of BSA and IgY in liposomes prepared with different egg lecithin/cholesterol ratios. Total lipid content in liposomes was 300 μ mol/ml and the rehydration temperature was 60 \pm 2°C.