

# 真鎖管水溶性蛋白質酵素水解物抗氧化活性之研究

胡燕君<sup>1</sup>·蔡慧君<sup>1</sup>·曹欽玉<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>行政院農業委員會水產試驗所 水產加工組

<sup>2</sup>國立台灣海洋大學 食品科學系

## 摘要

本研究探討真鎖管 (*Loligo edulis*) 之水溶性蛋白質酵素水解物之生理活性。真鎖管之水溶性蛋白質分別以未添加酵素及添加 papain、bromelin、protease Type XIV (*Streptomyces griseus*)、protease Type XXIII (*Aspergillus oryzae*) 等不同蛋白質分解酵素，在 37 °C 下，經 0、6、12、18、24 hr 作用後，獲得水解物。然後進行各該水解物之 Trolox 抗氧化當量 (TEAC)、還原力、清除 DPPH ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl  $\beta$ -picrylhydrazyl) 自由基及螯合銅離子等之效果評估。實驗結果發現，以 0.02% 的 protease Type XIV 進行蛋白質水解 18 hr 後，TEAC 值較高，其值為  $1.14 \pm 0.01$  mM。以 0.02% 的 papain 進行水解 12 hr 後，清除 DPPH 自由基能力與還原力皆較其他條件為佳。其中，清除 DPPH 自由基的能力為  $80.78 \pm 0.69\%$ ，而還原力值為  $0.27 \pm 0.01$ 。至於螯合銅離子部份，則是以利用 protease Type XIV 酵素水解 12 hr 為最佳，其值為  $12.76 \pm 0.81\%$ 。

關鍵詞：蛋白質水解物、真鎖管、抗氧化活性

## 前言

根據研究發現，蛋白質水解物中之胺基酸及胜肽類不但具有呈味性，對促進人體生理機能亦有多方面的效益，所以有關胜肽生理活性之研究日益受到重視 (Meisel, 1997)。水產動物不論是生長環境與方式均與陸生動物大相逕庭，為求適應與生存，其身體構造、生理代謝方式乃至於胜肽的胺基酸組成、對酵素活性之影響等，亦與陸生動物差異頗大，需要進一步的探討。近年來蛋白質水解產物之市場逐漸擴展，除可作為風味促進劑外，尚具有其他功能性成分，可作為食品營養添加劑，其中以酵素水解法獲得之水解產物之品質又遠比以化學水解法獲得者優良。因此本研究將以真鎖管 (neritic squid, *Loligo edulis*) 為對象，抽取其胴身的水溶性蛋白質，並利用不同蛋白質水解酵素加以水解，再探討其生理功能的特性。

## 材料與方法

### 一、材料

#### (一) 試驗原料：

供試之真鎖管購自基隆外木山漁港，每隻體長約 20 cm、重約 600 g，經宰殺後除去內臟，取其胴身肌肉部分，並於 -18 °C 下凍存備用。

#### (二) 蛋白質分解酵素：

Papain, bromelin, protease Type XIV (*Streptomyces griseus*) 和 Type XXIII (*Aspergillus oryzae*) 購自Sigma公司。

#### (三) 化學藥品

赤血鹽 (potassium ferricyanide)、氯化鐵 (ferric chloride)、六甲基四胺 (hexamine)、硫酸銅 (copper sulfate) 均購自六和化學公司。過硫酸鉀 (potassium persulfate)、Folin-ciocalteus phenol reagent 購自默克公司 (E. Merck, Darmstadt, Germany)。2,2-azono-bis (3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)、 $\alpha$ ,

\*通訊作者 / 基隆市北寧路 2 號, TEL: (02) 2462-2192 ext. 5128; FAX: (02) 2463-1070; E-mail: c0013@mail.ntou.edu.tw

$\alpha$ -Diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH)、tetramethylmurexide (TMM) 購自Sigma化學公司 (St. Louis, MO, USA)。

## 二、實驗方法

### (一) 水溶性蛋白質之抽取

秤取已經細碎之肌肉，加入二倍去離子水，用止泡均質機 (Waring blender) 進行均質 (4 °C、2~3 min)，然後遠心分離 (4 °C、6500 xg、20 min) 所得之上層液體，用水透析 (4 °C、24 hr) 去除低分子肽的部分即為水溶性蛋白質。

### (二) 酵素水解物的製備

水溶性蛋白質經透析去除 10 kDa 以下小分子後，於此水溶液中分別加入 0.02% (w/v) 的 papain、bromelin、protease Type XIV and Type XXIII，於 37 °C 下進行水解，分別在 0、6、12、18、24 hr 後取樣，水解物於 100 °C 下加熱 10 min，使酵素失活後，以 6,500 xg 離心 20 min，收集上層水解物並凍乾後，供 Trolox 抗氧化當量 (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)、清除  $\alpha$ 、 $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH) 自由基能力、還原力及螯合銅離子能力等分析用。

### (四) 可溶性蛋白質含量的測定

將不同酵素水解後的水解物，以 Lowry 方法 (Lowry, 1951) 進行可溶性蛋白質之濃度測定，並以牛血清蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 作為標準蛋白質。

### (五) 抗氧化活性測定方法

#### 1. TEAC 活性測定

依據 Miller *et al.* (1993) 方法，以磷酸緩衝液 (1L PBS buffer 中含 8.18 g NaCl, 0.27 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.42 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  及 0.15g KCl, pH 7.4)，配製 20 mM 的 2, 2-azono-bis (3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)，以二次水配置 70 mM  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ，使用前 16 hr，混合上述二試劑成為  $\text{ABTS}^+$  stock solution (此 stock solution 在室溫下可穩定超過 2 天)，使用前

以 PBS buffer 稀釋至  $\text{OD}_{734\text{nm}}$  為  $0.800 \pm 0.030$  nm，取 10  $\mu\text{l}$  (1 mg/ml) Sample 加上 990  $\mu\text{l}$  經稀釋的  $\text{ABTS}^+$  stock solution 混合後，避光 6 min，以分光光度計於 734 nm 下，測其吸光值，計算【(未加樣品控制組之吸光值 - 樣品吸光值)  $\div$  未加樣品之控制組吸光值】 $\times 100\%$ ，表示清除 ABTS 自由基的百分率。Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) 為 Vit E 的水溶性相似物，以不同濃度之 Trolox 在相同的反應下做檢量線，對照所得結果即為 TEAC 當量濃度 (以 mM 表示)。

#### 2. 清除 DPPH 自由基能力測定

依據 Shimada *et al.* (1992) 方法，取 1 ml (1mg/ml) 之酵素水解物，加入 1 ml 現配製之 0.1 mM DPPH (溶於乙醇)，均勻混合，靜置 30 min 後，以分光光度計於 517 nm 下，測其吸光值。計算【(未加樣品控制組之吸光值 - 樣品吸光值)  $\div$  未加樣品之控制組吸光值】 $\times 100\%$ ，表示清除效應之百分率。

#### 3. 還原力測定

依據 Oyaizu (1988) 方法，取 2 ml (1mg/ml) 之水解物，加入 2 ml 之 0.2 M 磷酸緩衝液 (pH 6.6) 及 2 ml 1% 赤血鹽 (potassium ferricyanide)，於 50 °C 水浴 20 min 後，迅速冷卻，再加入 2 ml 10% trichloroacetic acid 溶液，取上層液 2 ml，加入 2 ml 去離子水及 0.4 ml 0.1% 氯化鐵 (ferric chloride) 溶液混合均勻，於 10 min 後，在 700 nm 下測其吸光值，吸光值愈高代表還原力愈佳。

#### 4. 螯合銅離子能力

依據 Shimada *et al.* (1992) 方法，取 1 ml (1mg/ml) 水解物，加入 10 mM hexamine、10 mM potassium chloride 及 3 mM 之 copper sulfate 混合液 1 ml，最後加入 0.1 ml 1mM 之 TMM (tetramethylmurexide)，於室溫下反應 3 min，於 485 nm 測其吸光值，吸光值愈低表示螯合金屬離子的效果愈強，以【1 - (樣品吸光值  $\div$  未加樣品之控制組吸光值)】 $\times 100\%$ ，即可得到螯合能力百分率。

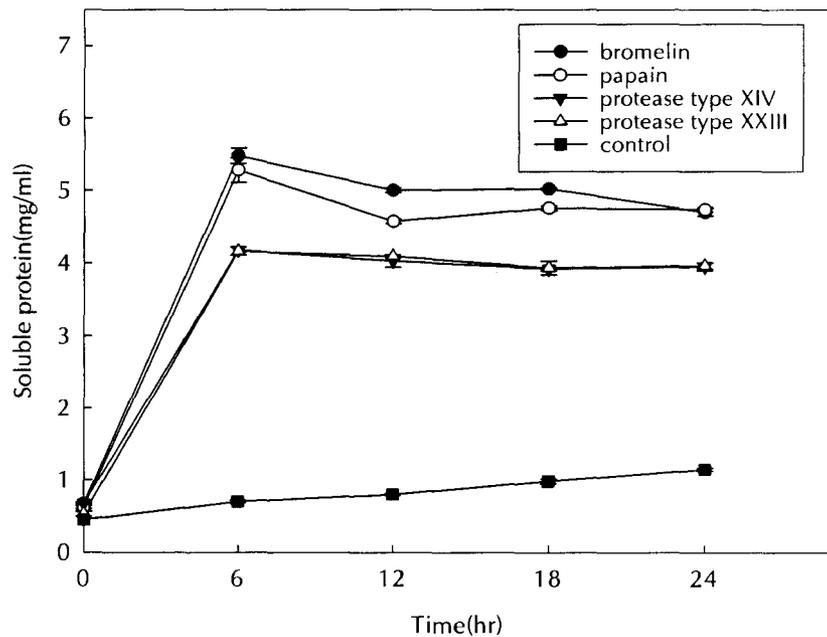


Fig. 1 Change in the soluble protein content from neritic squid sarcoplasmic protein during treating with 0.02% different proteases at 37°C. Values are the mean  $\pm$  SEM (n=3),  $p < 0.05$ .

## (六) 統計分析

實驗數據以 SAS (statistical analysis system) 套裝 GLM (general linear model procedure) (SAS, 1988) 軟體作單向變異數分析 (one-way analysis of variance), 並以鄧肯式多變域測驗 (Duncan's multiple range test) 測定各處理組間之差異, 顯著水準定在 0.05。

## 結 果

### 一、不同水解條件下蛋白質水解產物含量的變化

萃取真鎖管胴身並經透析後之水溶性蛋白質, 利用四種酵素水解後的水解物, 其可溶性蛋白質的含量於前 6 hr 會增加, 而後隨著水解時間的延長有日益減少的趨勢 (Fig. 1)。推測可溶性蛋白質含量增加的原因, 可能係因為酵素水解長鏈的蛋白質所造成, 而後隨著時間的拉長, 可溶性蛋白質再受到酵素水解, 逐漸分解成小分子胜肽及游離態胺基酸。至於對照組所呈現的緩慢增加趨勢, 可能是因其本身的酵素作用, 導致可溶性蛋白質的產生, 或本身所含之水溶性蛋白質微量溶出所致。

### 二、真鎖管水溶性蛋白質酵素水解物之抗氧化特性

#### (一) 不同蛋白水解酵素處理的水解物其 Trolox 抗氧化當量

ABTS 與  $K_2S_2O_8$  反應會產生  $ABTS^+$  stock, 此為一相當穩定的藍綠色物質, 於 734 nm 下有吸收波峰, 抗氧化劑的加入會抑制此顏色的產生, 因此吸光值愈低, 抗氧化的效果愈佳。TEAC 值表示相當於多少濃度 (mM) 的 Trolox 所能提供的抗氧化能力, 當 TEAC 值愈高, 代表其抗氧化能力愈好。Fig. 2 表示真鎖管的水溶性蛋白質經不同種類蛋白質水解酵素與水解時間處理後, 其 Trolox 抗氧化當量 (TEAC 值) 之比較。結果顯示, 於 1 mg/ml 的濃度下, 以 bromelin 酵素水解物, 於水解 18 hr 後, 其 TEAC 值達  $1.02 \pm 0.03$  mM; 添加 papain 者, 水解 24 hr 後, TEAC 值達  $1.02 \pm 0.01$  mM, 而後維持緩慢上升趨勢; 以 protease Type XIV 酵素水解者, 18 hr 時之 TEAC 值達  $1.14 \pm 0.01$  mM, 而後保持不變至 24 hr; 添加 protease Type XXIII 酵素者, 於水解 18 hr 後, 其 TEAC 值為  $1.09 \pm 0.01$  mM, 而後同樣維持不變至 24 hr; 至於未添加任何酵素之對照組的水解物, 於 24 hr 時, TEAC 值亦呈現增加趨勢,

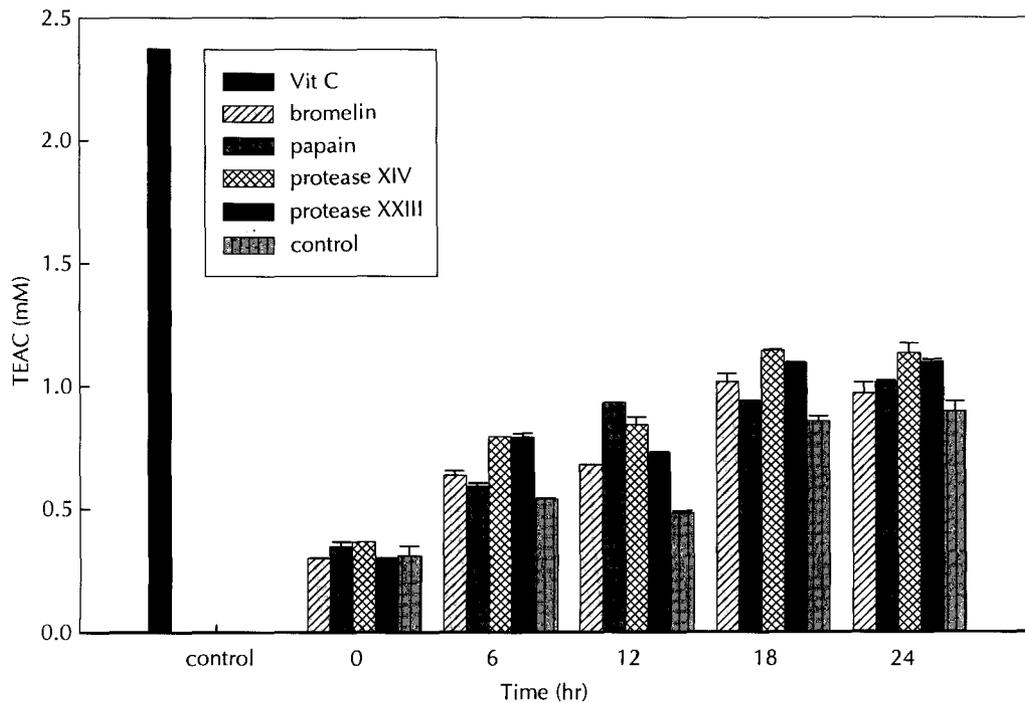


Fig. 2 Comparison in the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) of hydrolysates obtained from neritic squid sarcoplasmic protein that was hydrolyzed with 0.02% different proteases at 37 °C. Vit C: 1000 ppm. Values are the mean  $\pm$  SEM (n=3),  $p < 0.05$ .

其值為  $0.89 \pm 0.04$  mM。再以各酵素水解物中較具抗氧化性的水解物做比較，經統計分析結果，以protease Type XIV 水解 18 hr 之 TEAC 值最高。由此可知，水溶性蛋白質經不同時間水解後，其抗氧化力剛開始會隨著水解時間的拉長而增加，於 18 hr 後，則呈現平緩或些微下降趨勢，因此推測抗氧化力應與水解時間和酵素種類有關。

## (二) 不同蛋白水解酵素處理的水解物其清除 DPPH 自由基之能力

許多抗氧化的研究上，常藉由測定清除 DPPH 自由基能力來評估抗氧化物的供氫能力。DPPH 為一含有奇數電子之穩定自由基，在 517 nm 附近有強的吸光值，當被具抗氧化能力之樣品還原，即有提供質子的能力時，吸收波峰即會消失，藉此判定樣品是否具有清除 DPPH 自由基之能力 (Brand-Williams *et al.*, 1995)。本方法於樣品低濃度的環境之下，仍有相當良好的感受性，並可在短時間之內測定大量的樣品，因此常有許多學者會

藉由此方法篩選樣品對自由基的清除能力。

真鎖管水溶性蛋白質經不同種類蛋白質水解酵素與水解時間處理後，清除 DPPH 自由基之能力如 Fig. 3 所示。水溶性蛋白質於 1 mg/ml 的濃度下，以 bromelin 水解 24 hr 之水解物清除 DPPH 自由基之能力達  $73.00 \pm 3.20\%$ ；以 papain 水解物水解 12 hr，清除 DPPH 自由基之能力達  $80.78 \pm 0.69\%$ ，而後保持不變至 18 hr；以 protease Type XIV 水解物於水解 12 hr，清除 DPPH 自由基之能力達  $78.26 \pm 2.32\%$ ，而後呈現緩慢下降的趨勢；以 protease Type XXIII 水解物於水解 18 hr，清除 DPPH 自由基之能力達  $61.86 \pm 2.67\%$ ，後則維持緩慢上升趨勢；然而對照組的水解物於水解 6 hr，清除 DPPH 自由基之能力達  $39.22 \pm 0.55\%$ ，後呈緩慢下降趨勢。再以各酵素水解物中較具清除 DPPH 自由基能力的水解物做比較，經統計分析結果顯示，以 papain 和 protease Type XIV 水解 12 hr，清除 DPPH 自由基之能力較佳。推測真鎖管水溶性蛋白質水解物中可能含有提供質子的物質存在。

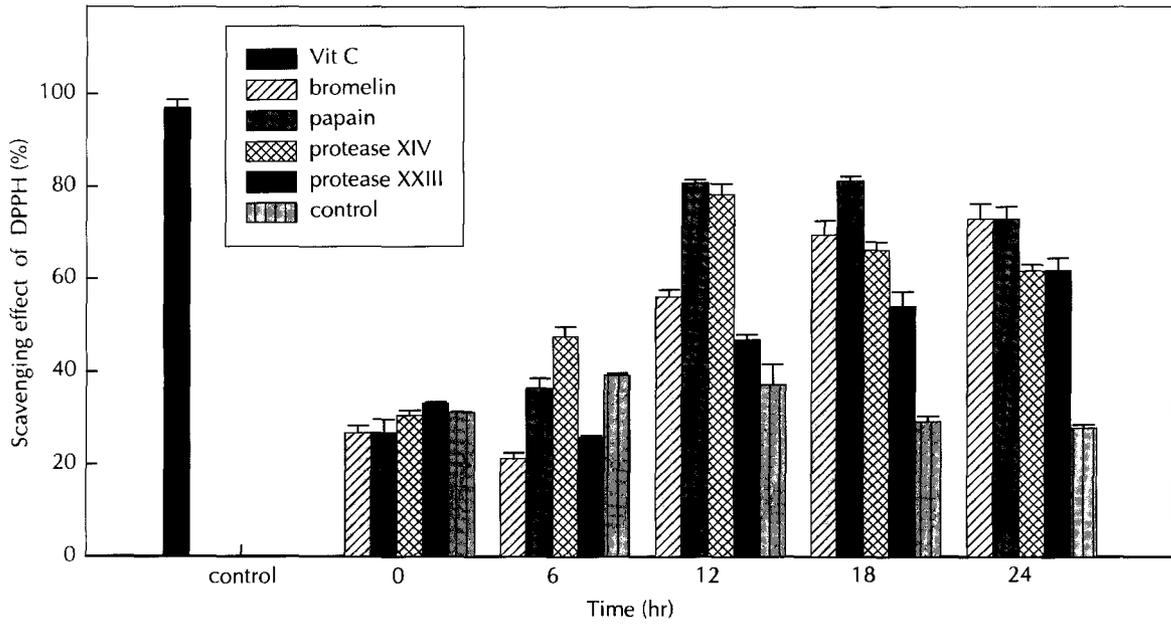


Fig. 3 Comparison in the scavenging effect of DPPH radical of hydrolysates obtained from neritic squid sarcoplasmic protein that was hydrolyzed with 0.02% different proteases at 37°C. Vit C: 1000 ppm. Values are the mean ± SEM (n=3),  $p < 0.05$ .

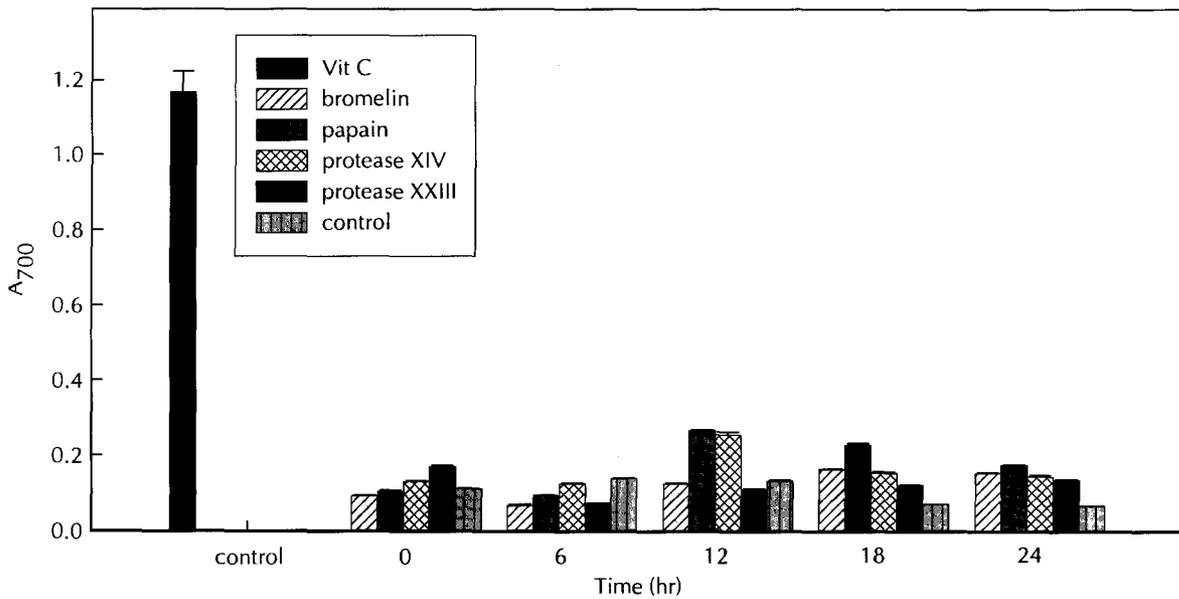


Fig. 4 Comparison in the reducing power of hydrolysates obtained from neritic squid sarcoplasmic protein that was hydrolyzed with 0.02% different protease at 37°C. Vit C: 1000 ppm. Values are the mean ± SEM (n=3),  $p < 0.05$ .

(三) 不同蛋白水解酵素處理的水解物之還原力

還原力之測定是分析樣品對赤血鹽 (potassium ferricyanide) 中,  $Fe^{3+}$  還原成  $Fe^{2+}$  之亞

氰錯離子, 而此亞氰錯離子再與  $Fe^{3+}$  生成亞鐵氰化鐵, 即普魯士藍 (Prussian blue)。普魯士藍在 700 nm 下有較強之吸光值, 吸光值愈高即還原力愈強 (Oyaizu, 1988)。Fig. 4 表示真鎖管水溶性蛋白質經不同酵素種類與水解時間水解後, 真鎖管水解物對

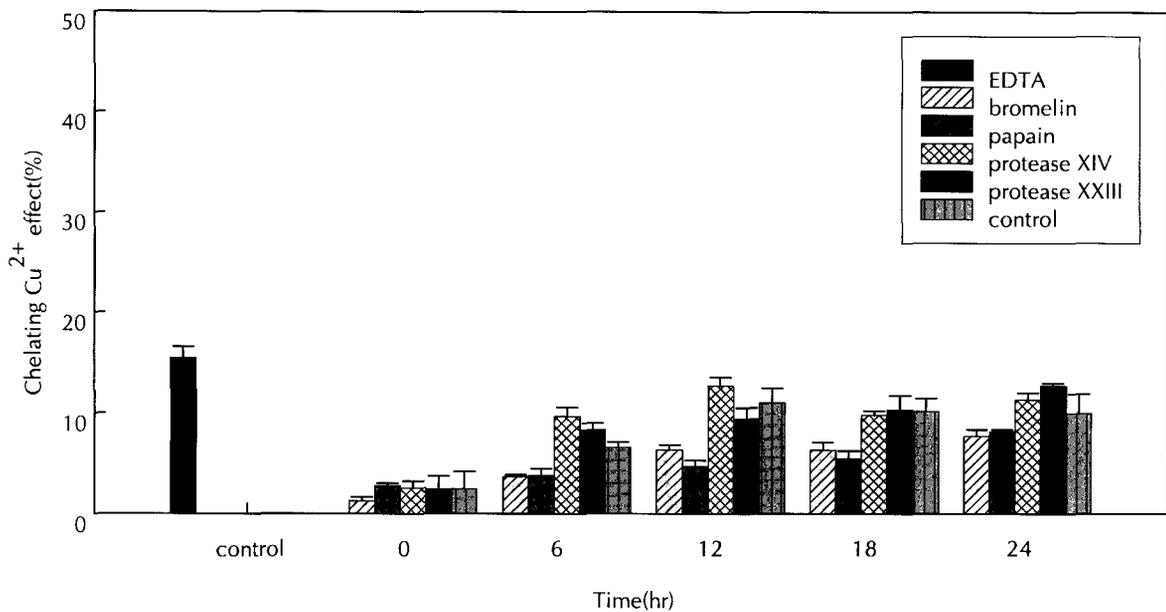


Fig. 5 Comparison in the chelating  $\text{Cu}^{2+}$  effect of hydrolysates obtained from neritic squid sarcoplasmic protein that was hydrolyzed with 0.02% different at 37°C. Vit C: 1000 ppm. Values are the mean  $\pm$  SEM (n=3),  $p < 0.05$ .

還原力之影響。結果顯示於 1 mg/ml 的濃度下，以 bromelin 酵素水解物於水解 18 hr，還原力值達  $0.16 \pm 0.01$ ；以 papain 酵素水解物於水解 12 hr，還原力值達  $0.27 \pm 0.01$ ，後呈緩慢下降趨勢；以 protease Type XIV 酵素水解物於水解 12 hr，還原力值達  $0.25 \pm 0.01$ ，後如 papain 趨勢；以 protease Type XXIII 酵素水解物於水解 24 hr，還原力值亦達  $0.13 \pm 0.01$ ；然而對照組的酵素水解物於水解 6 hr，還原力亦呈現增加趨勢，其值為  $0.14 \pm 0.01$ 。再以各酵素水解物中，較具還原力的水解物做比較，經統計分析結果，以 papain 水解 12 hr 和 protease Type XIV 水解 12 hr 還原力最佳，且兩者之間並無顯著差異，推測還原力並不會隨著水解時間的增長而增加，而是與酵素種類有關。

#### (四) 不同蛋白水解酵素處理的水解物其螯合銅離子之能力

含油脂的食品中，金屬離子特別是銅、鐵離子，容易加速油脂氧化的發生，故若能將金屬離子螯合去除，便能使脂質的氧化速率減慢。Fig. 5 顯示真鎖管水溶性蛋白質，經不同酵素與不同時間水解後，真鎖管水解物對螯合銅離子能力之影

響。結果發現，於 1 mg/ml 的濃度下，以 bromelin 酵素水解物水解 24 hr，螯合銅離子能力達  $7.73 \pm 0.65\%$ ；以 papain 酵素水解物水解 12 hr，螯合銅離子能力達  $8.17 \pm 0.15\%$ ；以 protease Type XIV 酵素水解物於水解 12 hr，螯合銅離子能力達  $12.76 \pm 0.81\%$ ，而後有緩慢下降趨勢；以 protease Type XXIII 酵素水解物於水解 24 hr，螯合銅離子能力達  $12.75 \pm 0.27\%$ ；然而對照組的水解物於水解 12 hr，螯合銅離子能力達  $11.03 \pm 1.44\%$  後保持不變至 24 hr。再以各酵素水解物中較具螯合銅離子能力的水解物做比較，經統計分析結果發現，以 protease Type XIV 酵素水解 12 hr、protease Type XXIII 酵素水解 24 hr 和對照組的水解物水解 12 hr，螯合銅離子的效果最佳，此三者之間並無顯著差異，但整體而言，皆無太大螯合銅離子的能力產生。

## 討 論

### 一、不同水解條件蛋白質水解物含量的變化

彭 (2003) 利用酵素水解鯖魚肉觀察可溶性

蛋白質於水解期間的變化，由其結果得知，於水解 5 hr 後的可溶性蛋白質量達最高，而後即有下降情形產生。王 (2002) 以酵素水解電透析鹹鴨蛋蛋白，其結果顯示可溶性蛋白質含量會隨水解時間的增加有減少的趨勢，推測可能為酵素水解蛋白質逐漸分解成小分子肽及游離態胺基酸所致，此點與本實驗結果即真鎖管水溶性蛋白，利用四種蛋白水解酵素處理後的水解物，其可溶性蛋白質含量剛開始會增加，而後隨著水解時間的增加會有減少的趨勢相似。

## 二、真鎖管水溶性蛋白質酵素水解物之抗氧化特性

陳 (2003) 利用紅麴菌在米基質中發酵於第三天時 TEAC 值開始上升，第七天時其值達最高而後有下降情形產生；而在魚肉漿的發酵上，隨著發酵時間的增加其 TEAC 值也有增加的情形產生。由此可知，隨著水解時間的增加其 TEAC 值有先上升而後下降的情形出現，於本實驗結果真鎖管水溶性蛋白，利用四種蛋白水解酵素處理後的水解物，其 TEAC 值隨著水解時間的增加有增加的趨勢產生，其中利用 bromelin 水解後的產物於 18 hr 後其 TEAC 值有下降情形產生，此與陳 (2003) 之結果有相似之處。

曾 (2001) 比較不同酵素種類與水解時間影響鯖魚及吳郭魚肉水解物清除 DPPH 自由基能力，整體而言，清除 DPPH 自由基能力並不會隨著水解時間的增長而增加，而是與酵素種類有關，以 Protease N 水解效果優於 Protease A。鯖魚以 0.5% Protease N 水解 15 hr 後效果最佳，清除自由基能力達 48.54%；吳郭魚則是以 0.5% Protease N 水解 10 hr 後效果最佳，清除自由基能力達 42.43%。於本實驗中以 0.02% papain 和 0.02% protease Type XIV 水解 12 hr 清除 DPPH 自由基能力最佳，推測真鎖管水溶性蛋白質水解物中亦可能含有提供質子的肽物質存在。

林 (1999) 指出魚類各組織部位之含氮抽出物皆有還原過氧化物之能力，鯖魚內臟水解物之總游離態胺基酸含量遠較肌肉水解物高，所表現還原力也較強。饒 (2001) 以 protease Type XXIII 水解鮪魚，進一步利用 Sephadex G-25 區分其分

子量，在固形物濃度為 5 mg/ml 時，B、C (1400 ~ 390 Da) 和 E (小於 390 Da) 區分的還原力較高依序為 0.59、0.96、0.81。於本實驗中以 papain 和 protease Type XIV 水解 12 hr 還原力最佳，推測還原力並不會隨著水解時間的增長而增加，而是與酵素種類和水解產物的分子量組成有關。

在螯合銅離子能力方面，此類抗氧化劑本身不具抗氧化，但能與金屬離子結合而抑制或延緩氧化的進行，不論在動物體、油脂或是含油脂的食品中，皆含有金屬離子，其含量雖低，但亦具有促進脂質氧化之作用，食品中的金屬離子，即使其含量低於 0.1 ppm 都有促進脂質氧化速率的能力，在多種金屬離子中以鐵及銅離子對促進脂質氧化作用最具效果 (Dziezak, 1986)。若抗氧化劑中具有螯合金屬離子的作用，則能達到延緩脂質氧化的進行，於本實驗中的水解物，皆無太大螯合銅離子能力產生，推測具螯合金屬能力的胺基酸可能包括 Cys、Asx、Glx 等，因這些胺基酸具有較強的負電荷，而本實驗中的水解物單一肽同時含有此類胺基酸量較少，因而造成其螯合金屬的能力較差。

## 參考文獻

- 王朝富 (2002) 電透析鹹鴨蛋蛋白酵素水解物之抗氧化能力的探討. 國立臺灣嘉義大學食品科學研究所碩士論文, 52 pp.
- 林玫欣 (1999) 鯖魚肉與內臟水解物之抗氧化性研究. 國立臺灣海洋大學食品科學研究所碩士論文, 24 pp.
- 陳威銘 (2003) 利用紅麴菌發酵生產機能性魚肉產品之新技術. 國立臺灣海洋大學食品科學研究所碩士論文, 29 pp.
- 彭詩純 (2003) 鯖魚肉酵素水解物之游離胺基酸及 Peptide 與抗氧化性及苦味之關係. 國立臺灣海洋大學食品科學研究所碩士論文, 21 pp.
- 曾吉偉 (2001) 酵素水解魚肉生產肽及其抗氧化特性之研究. 國立臺灣海洋大學食品科學研究所碩士論文, 25pp.
- 饒家麟, 柯文慶 (2001) 鮪魚蒸煮液蛋白質水解物之抗氧化性. 台灣農業化學與食品科學, 39: 363-369.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuervo and C. Berset (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 28: 25-30.

- Dziezak, J. D. (1986) Preservatives: antioxidant. *Food Technol*, 40: 94-102.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall (1951) Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*, 193: 265-275.
- Meisel, H. (1997) Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk protein. *Biopoly*, 43: 119-128.
- Miller L. N., C. A. Rice-Evans, M. J. Davis, V. Gopinathan and A. Milner (1993) A novel method for measuring antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci*, 84: 407-412.
- Oyaizu, M. (1988) Antioxidative activities of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 35 (11): 771-775.
- Shimada, K., K. Fujikawa, K. Yahara and T. Nakamura (1992) Antioxidative properties of xanthan on the antioxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem*, 40: 945-948.

## Studies on Antioxidative Activity of Hydrolysates from Neritic Squid (*Loligo edulis*) Sarcoplasmic Protein

Yan-Jun Hu<sup>1</sup>, Huey-Jine Chai<sup>1</sup> and Ching-Yu Tsao<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Seafood Technology Division, Fisheries Research Institute

<sup>2</sup>Department of Food Science, National Taiwan Ocean University

### ABSTRACT

The objectives of this research was to study the functional activity peptides from neritic squid (*Loligo edulis*) sarcoplasmic protein hydrolysate. The neritic squid sarcoplasmic protein was hydrolyzed with papain, bromelin, protease Type XIV, protease Type XXIII at 37 °C for 0, 6, 12, 18, 24 hr and accompanied with the control group. The antioxidative activities of protein hydrolysates were measured by four methods including the Trolox equivalent antioxidant capacity, scavenging effect of DPPH ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl) radical, reducing power and chelating  $\text{Cu}^{2+}$  effect. The hydrolysate obtained by treating with 0.02% protease Type XIV for 18 hr, showed the better Trolox equivalent antioxidant capacity (value =  $1.14 \pm 0.01\text{mM}$ ) than others. As treating with 0.02% papain for 12 hr, the scavenging effect of DPPH radical and reducing power reached the higher value,  $80.78 \pm 0.69\%$  and  $0.27 \pm 0.01$  respectively, than others conditions. The highest values of chelating  $\text{Cu}^{2+}$  effect,  $12.76 \pm 0.81\%$  was obtained by treating with 0.02% protease Type XIV for 12 hr.

**Key words:** protein hydrolysate, neritic squid, *Loligo edulis*, antioxidative activities

---

\*Correspondence: Department of Food Science, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan. TEL: (02) 2462-2192 ext. 5128; FAX: (02) 2463-1070; E-mail: c0013@mail.ntou.edu.tw