

出國報告(出國類別：研習)

## 研習蛋殼與蛋內容物抗菌成分之分離方法

服務機關：行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所  
姓名職稱：蘇晉暉助理研究員  
派赴國家：法國  
出國期間：98年9月16日至98年10月9日  
報告日期：98年10月30日

## 摘要

本研究為台法國際合作計畫，由畜產試驗所研究人員赴法國國家農業研究院 (INRA) 進行短期學習，並邀請法國專家 Elisabeth Baeza 博士訪問台灣及發表演講。赴法學習主題為萃取與純化蛋殼中蛋白質並檢驗其抗菌能力。結果顯示蛋殼中所含之有機基質有許多蛋白質具有抗菌能力的潛力，此次所習得之分離萃取方法雖是使用於雞蛋上，但我國可對萃取方法進行修正後並應用於鴨蛋上。因我國蛋鴨皆以平飼方式飼養，鴨隻直接將蛋產於地面上，常暴露於細菌、病毒等威脅中，未來若可應用鴨蛋中抗微生物成分於飼養管理或選育上，對鴨蛋之生物安全性應有所助益。

另 Baeza 博士預定在畜產試驗所、大專院校及養鴨協會進行三場演講及三場圓桌討論會，其內容除涵蓋鴨隻遺傳、營養及屠宰條件對肉品品質的影響等，並介紹 INRA 水禽方面之設施、設備與目前規畫、研究方向，同時亦將呈現歐洲在雞蛋抗微生物蛋白之最新研究成果。預期將與國內研究人員、大專院校師生及養鴨業界進行充分交流與討論。而 Baeza 博士過去也對我國水禽之研究表達高度興趣，因此對台、法兩國間水禽研究之交流增加許多機會，對我國研究人員的視野提升與研發能量的累積助益頗大。

## 目 次

壹、目的-----	4
貳、過程-----	5
參、心得與建議-----	8
肆、附件(照片)-----	9

## 壹、目的

由於動物福祉的因素，歐盟規定自 2012 年開始，所有傳統型態的產蛋舍將被撤換，而新型態的產蛋舍必須讓動物有表現部分自然行為的機會，雖然增進了動物福祉，卻也造成蛋殼破裂、以及蛋被糞便污染的可能性，導致增加消費者食用禽蛋的風險性。因此，目前由法國國家農業研究院(INRA)的 Yves Nys 博士所主導的研究團隊，針對雞蛋中所含的抗菌成分進行一系列的研究，希望能找出蛋中所含天然的抗菌成分。由於我國養鴨產業大部分皆以平飼為主，鴨隻於夜間、清晨時期將蛋產於墊料上，常造成鴨蛋被糞便或骯髒的墊料污染的情況，故我國可仿效法國，針對鴨蛋中抗菌成分進行研究，若能找出與雞蛋中相同、已知的抗菌蛋白質或發現其他未知之抗菌成分，再加以應用，對鴨蛋之生物安全性應有所助益。另亦邀請 INRA 的水禽專家 Elisabeth Baeza 博士來台進行演講、訪問，將可增進台法兩國雙方學術交流，並增加未來進一步討論合作議題之可能性，本次研習亦針對 Elisabeth Baeza 博士來訪之行程及細節進行確認。

## 貳、過 程

一、本次赴 INRA 學習「研習蛋殼與蛋內容物抗菌成分之分離方法」計畫行程如下表：

時間			起訖地點	活動內容
月	日	星期		
9	16	三	台北→巴黎 (Paris)	由分所前往桃園機場搭乘長榮 BR87 班機飛往巴黎戴高樂機場。
9	17	四	巴黎→杜爾 (Tours)	與 Yves Nys 討論本次學習細節。
9	18 19 20 21 22 23	五 六 日 一 二 三	杜爾	學習「研習蛋殼與蛋內容物抗菌成分之分離方法」、參與 INRA 杜爾分院現場工作
9	24	四	杜爾→阿堤給 (Artiguères)	前往 INRA 阿堤給(Artiguères)研究站參訪
	25	五	阿堤給→波爾多	參觀 INRA 阿堤給(Artiguères)研究站
	26	六	波爾多	參訪傳統市集並與 Dr. Nys 討論計畫相關事宜
	27	日	波爾多→杜爾	與 Dr. Nys 討論後續計畫相關事宜
9	28 29 30	一 二 三	杜爾	學習「研習蛋殼與蛋內容物抗菌成分之分離方法」
10	1 2 3 4 5	四 五 六 日 一	杜爾	學習「研習蛋殼與蛋內容物抗菌成分之分離方法」
10	6	二	杜爾→巴黎	學習「研習蛋殼與蛋內容物抗菌成分之分離方法」
10	7	三	巴黎	學習「研習蛋殼與蛋內容物抗菌成分之分離方法」
10	8 9	四 五	巴黎→台北	由巴黎戴高樂機場搭乘長榮 BR88 班機飛往桃園機場並返回分所。

## 二、內容重點

### (一) 蛋殼中抗菌成分之分離與純化方法

先以清水再用 154 mM 的食鹽水輕輕沖洗蛋殼，並使用工具小心的將蛋殼膜去除後，於室溫下乾燥，並將蛋殼壓碎成粉末。接著將蛋殼粉放置在 4°C、20% 的醋酸中持續攪拌一整晚以去除鈣。懸浮物以去礦物質的水進行透析(去除分子量 3500 道爾頓以下之分子)。再用可溶性基質十倍以上體積的去礦物質水進行透析，更換四次去礦物質水(第一次於兩小時後、第二次四小時、第三次隔夜且第四次隔日)以確定完全去除鹽分，再將完成的產物進行冷凍乾燥。

經冷凍乾燥之粉末與 4 M 溴化氫胍(guanidine hydrochloride)一起放置於 4 °C、pH 4.8 的 50 mM 醋酸鹽(包含蛋白酵素抑制因子[protease inhibitors]5 mM benzamidine-HCL, 100mM amino-caproic acid, 10 mM EDTA, 1 mM phenylmethylsulfony fluoride)整晚以進行萃取。萃取液使用量為每 1 公克冷凍乾燥的粉末添加 10 ml 的萃取液。

再進行離心(2000g x 10 min, 4°C)後，懸浮物以去礦物質水進行透析(去除分子量 3500 道爾頓以下之分子)後，再以冷凍乾燥(lyophilisation)或超過濾(ultrafiltration)進行濃縮。在此狀態下的基質蛋白質就被認定為蛋殼中的蛋白質萃取物。

### (二)邀請 INRA 學者來訪

Elisabeth Baeza 博士對家禽與水禽生理、肌肉性狀等皆有相當大量的研究成果，在與 Baeza 博士長談後，發現她對於台灣水禽的研究亦相當感興趣，此次邀請她來台，應可作為日後進一步台法合作的契機。

### (三)討論蛋中抗微生物蛋白質之作用方式

與 INRA 研究團隊主持人 Dr. Yves Nys、以及團隊 Dr. Joel Gautron、Dr. Sophie Rehaalt 及 Dr. Virginie Herve Grepenet 等研究人員，請益有關雞蛋中抗菌蛋白質的作用機制，得到相當多的收穫；並討論是否可運用於鴨蛋蛋白質。

### (四)參訪 INRA 杜爾(Tours)分院

INRA 杜爾分院具有非常良好的研究人員與技術人員。目前該分院內部共設有 4 個研究團隊，包含 23 個研究人員以及 12 名博士後研究、研究生，另外高水準的技工亦大大的提升了該分院研究能量，得以在近幾年大量產出優秀的研究報告。此外，本人亦親身參與該分院內部的飼養管理工作，可發現其內部畜舍有許多便利與先進的設備，值得列入我國未來新建禽舍的參考。

### (五)參訪 INRA 阿堤給(Artiguères)研究站

INRA 阿堤給(Artiguères)研究站為法國重要的水禽研究重心，目前飼養動物以鴨隻與鵝為主。研究站站長 Gerard Guy 曾多次來台，訪談之中亦多次提到過去來訪台灣的經驗，可體會到他對台灣的喜愛，未來應可作為台法間水禽合作的另一橋樑。

此外，於造訪阿堤給(Artiguères)研究站時，針對番鴨光照計劃以及番鴨使用飼料營養濃度等議題與該站站長 Gerard Guy 進行討論，Gerard Guy 亦將該站目前番鴨使用之光照計劃與番鴨生長各階段使用飼料之營養濃度等資料給予本人，應可作為未來我國進行番鴨光照調節與飼料營養調配的參考。其中番鴨各期所使用之飼料營養濃度如下表所示：

鴨隻週齡	營養濃度	飼料給予量(公克)	
		母番鴨	公番鴨
1	2830 Kcal 17.5% CP	任飼	任飼
2			
3			
4			
5	2950 Kcal 17.5% CP	任飼	任飼
6		任飼	任飼
7	2950 Kcal 17.5% CP	100	100
8		110	110
9		120	120
10		130	130
11	2950 Kcal 17.5% CP	100	150
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22		120	
23		120	
24		140	
25	<b>產蛋期</b>	140	160
26		160	170
27	2470 Kcal 19.8% MPB	160	170 (180)
28		任飼	
29			
30			

31			
32 週 至 52 週			

該研究站所使用之番鴨光照計劃如後：

自孵出至 3 日齡給予 24 小時光照。

3 日齡至 11 週齡給予每日 11 小時光照。

11 週齡至 22 週齡為每日 7 小時光照。

23 週至 25 週齡每日增加 20 分鐘光照直到每日有 14 小時光照，通常兩星期後鴨隻將會初產。

強迫換羽的光照計劃如下：

48 小時的無光照搭配絕食，並依照氣候不同給予 24 小時或 48 小時的絕水。之後給予每日 7 小時的光照。強迫換羽期間絕對不可以少於 12 週。

當生產者希望鴨隻開始下一產期時，如同第一產期般，每日增加光照 20 分鐘直到每日有 14 小時光照。

### 三、心得與建議

- 一、已確定雞蛋中含有若干具抗菌能力的蛋白質，值得進一步應用於鴨蛋的研究上。
- 二、INRA 杜爾分院之前將研究重心放在蛋殼之抗菌成分上，但近年來已將研究範疇延伸至蛋白與蛋黃所含之抗菌成分，且該研究團隊與美國、英國、西班牙、加拿大、德國、義大利等國家研究人員組成合作平台，針對雞蛋抗菌成份之研究成果相當驚人。我國因蛋鴨直接接觸墊料及地面，鴨蛋可能受到地面微生物污染而增加食品衛生安全的風險。因此若能與該研究團隊進行國際合作計畫，將其使用於雞蛋之方法針對鴨蛋進行修正，並深入研究探討，相信將可使我國在鴨隻之研究上更上層樓，並降低食品衛生安全的風險。
- 三、由於法國不僅是世界中食用鴨隻的主要國家之一，亦為世界上研究鴨隻的重鎮，故此次邀請 INRA 杜爾分院的 Elisabeth Baeza 博士來訪台灣，並針對其研究重點加以演講，對我國鴨隻產業的發展將有相當的助益。
- 四、法國飼養動物的畜禽舍內，皆有一套相當標準的操作流程，每一位現場工作人員對於衛生、防疫等項目都有相當嚴格的要求，值得我國研究機構學習。
- 五、為因應越來越嚴苛的動物福祉規範，法國方面已經開始進行相當多有關動物福祉的研究，並因此發展出許多新型的畜禽舍設備。動物福利的議題在我國也將越來越受到重視，建議及早因應以符合未來世界潮流。

肆、附 件(照片)



圖 1、使用 SDS-PAGE 分離蛋白質

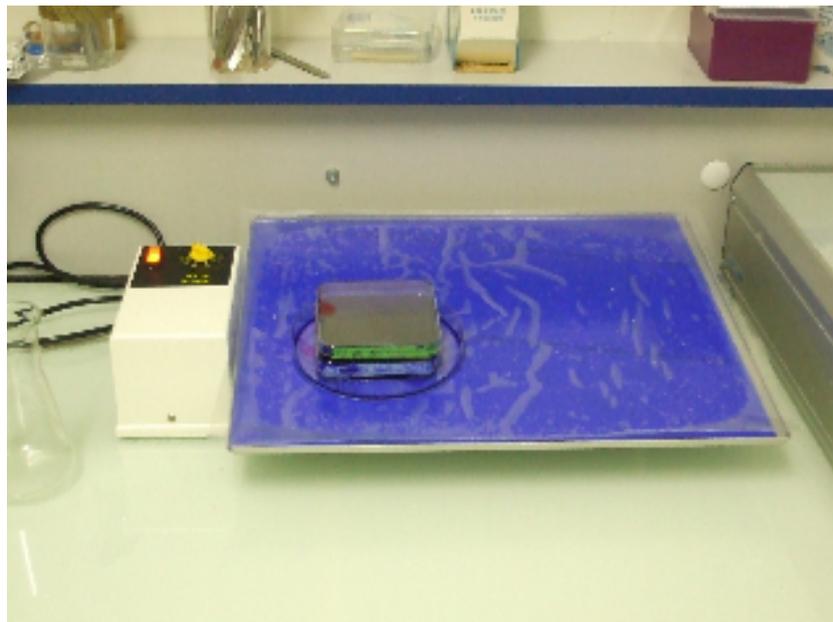


圖 2、將跑完 SDS-PAGE 的膠片進行染色

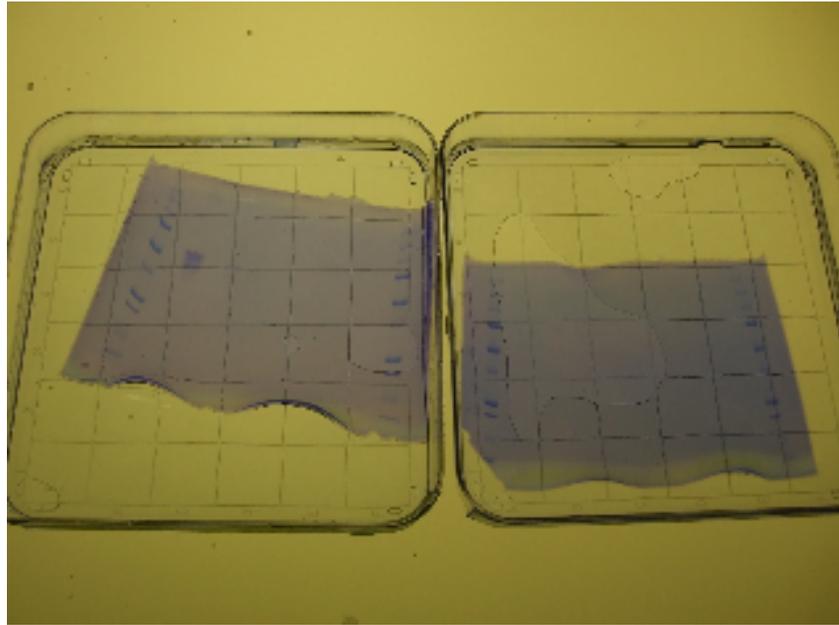


圖 3、將膠片進行染色與退染後檢視蛋白質

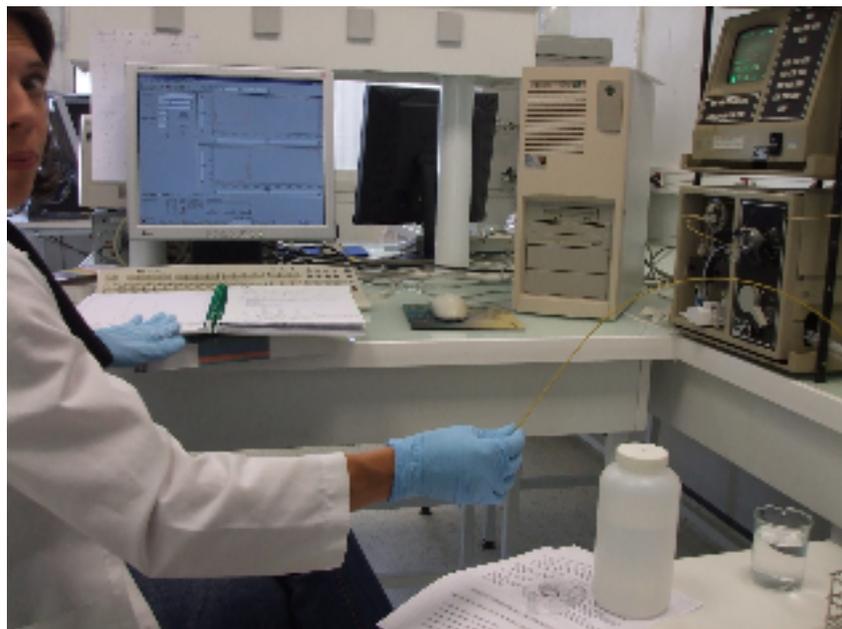


圖 4、使用 RP-HPLC 純化蛋中蛋白質

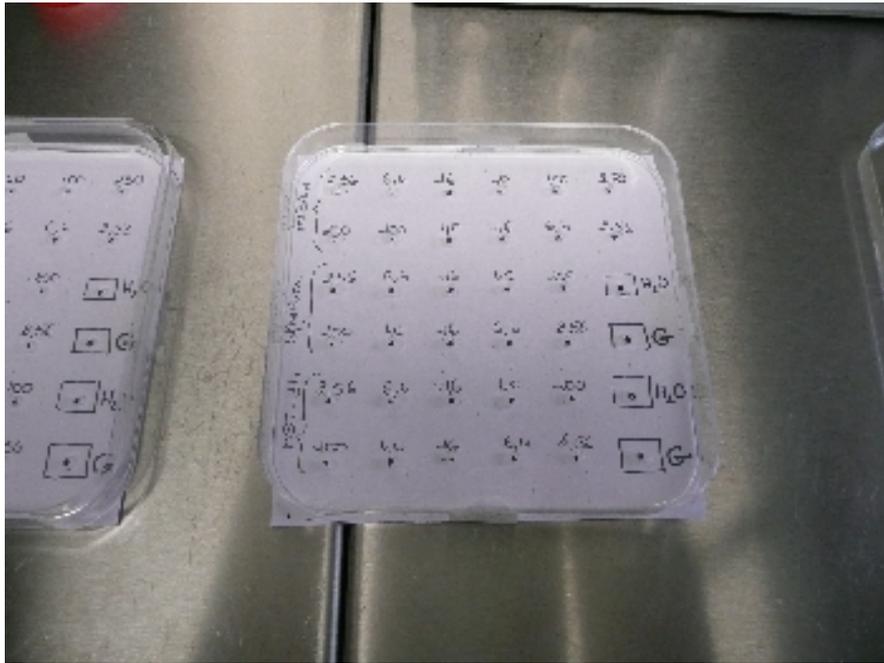


圖 5、使用取得的蛋白質進行抗菌能力測試

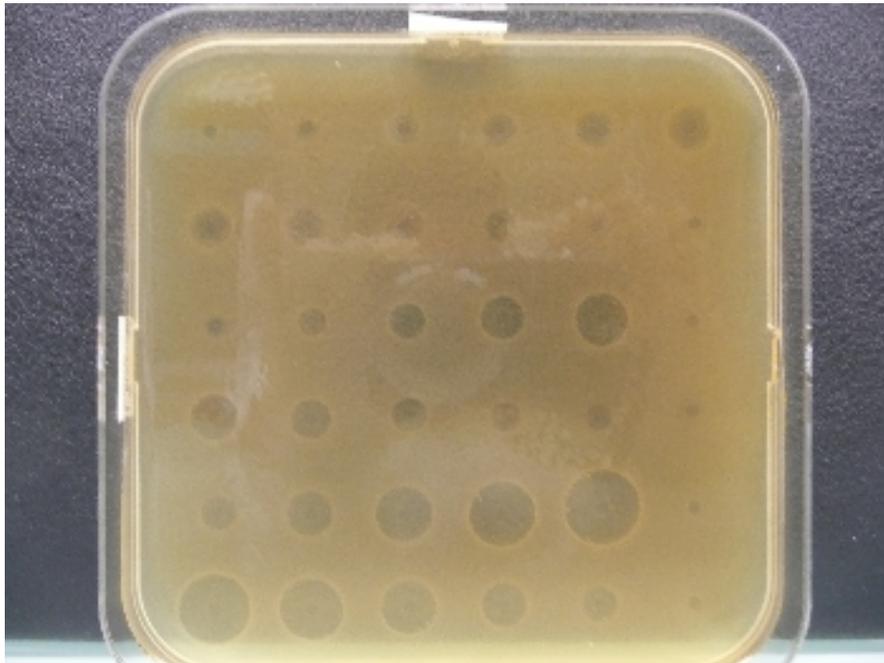


圖 6、觀察菌落生長情形以了解抗菌蛋白質之抗菌能力



圖 7、INRA 杜爾分院所使用之孵化設備

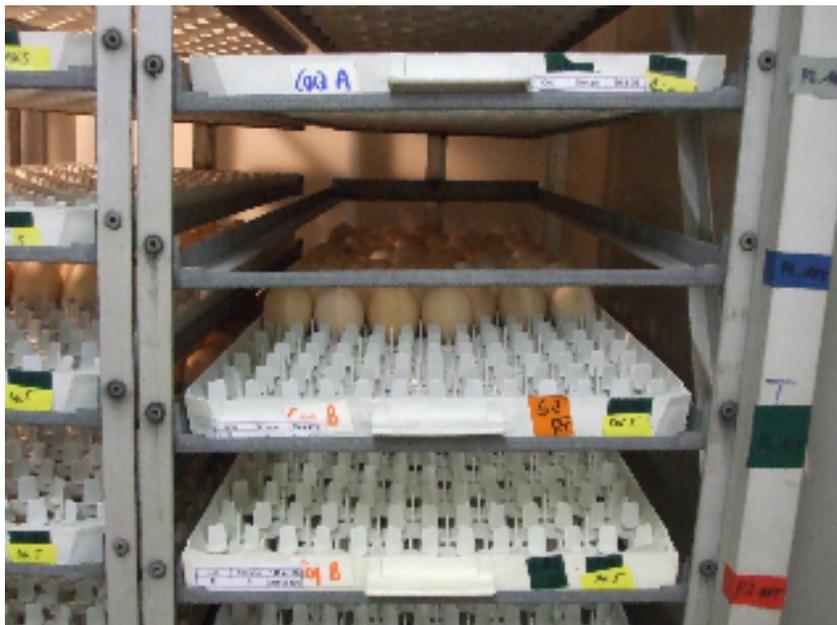


圖 8、INRA 杜爾分院使用之孵蛋盤



圖 9、INRA 杜爾分院使用於隔開不同種禽所生幼雛之設備

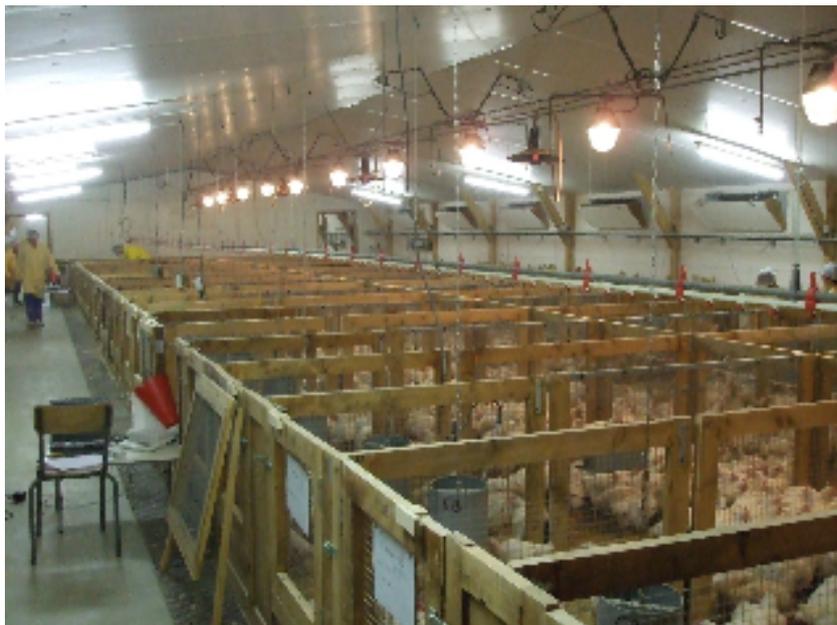


圖 10、INRA 杜爾分院白肉雞舍內部情形



圖 11、INRA 杜爾分院白肉雞舍內部情形

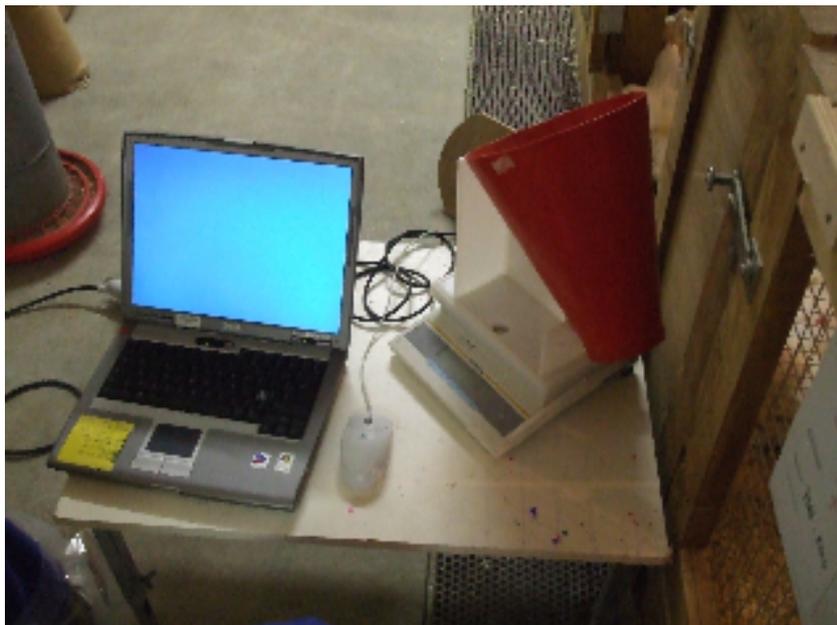


圖 12、INRA 杜爾分院自動記錄體重系統



圖 13、INRA 杜爾分院之禽舍自動溫度調整系統



圖 14、INRA 杜爾分院水禽育雛室



圖 15、Elisabeth Baeza 博士犧牲雛鴨以確定鴨之性別



圖 16、INRA 杜爾分院所使用辨別動物個體之翼號



圖 17、INRA 杜爾分院所使用之照蛋設備



圖 18、Artiguères 研究站飼養鴨隻情形



圖 19、Artiguères 研究站飼養鴨隻情形



圖 20、Artiguères 研究站自行製成之玉米青貯



圖 21、Artiguères 研究站所使用之新型禽舍



圖 22、Artiguères 研究站所使用之強迫灌食設備



圖 23、Artiguères 研究站製作青貯玉米之設備



圖 24、Artiguères 研究站站長 Gerard Guy 介紹內部屠宰室



圖 25、Artiguères 研究站使用之 RFID 自動記錄採食量設備



圖 26、Artiguères 研究站使用之 RFID 自動記錄採食量設備