

臺灣水鹿茸與紐西蘭紅鹿茸一般成分、胺基酸及蛋白質組成之差異⁽¹⁾

郭卿雲⁽²⁾ 葉瑞涵⁽²⁾⁽⁴⁾ 陳明汝⁽³⁾

收件日期：112 年 8 月 18 日；接受日期：113 年 9 月 23 日

摘 要

本研究目的在建立臺灣水鹿茸 (Formosan sambar deer velvet antler, FSDVA) 及紐西蘭紅鹿茸 (New Zealand's red deer velvet antler, NRDVA) 一般成分、胺基酸及蛋白質組成之基本資料，以做為未來區分本土與進口鹿茸之參考。FSDVA 有較高之灰分、粗脂肪及膠原蛋白含量，而 NRDVA 水分及粗蛋白質含量則較高。將鹿茸切片乾燥製成鹿茸粉，發現 FSDVA 鹿茸粉的鈣、磷、銅、鋅含量高於 NRDVA 鹿茸粉，而總胺基酸和鐵含量較低。FSDVA 與 NRDVA 胺基酸組成之甘胺酸 (Gly)、脯胺酸 (Pro) 及白胺酸 (Leu) 差異較大。以不同溶劑 (水萃或酒萃) 及超音波處理 (有無處理) 萃取不同乾燥方式 (熱烘或冷凍乾燥) 的鹿茸粉蛋白質並進行 SDS-PAGE 電泳分析。結果顯示，在各種超音波處理及乾燥方式下，FSDVA 的水萃蛋白質在 15 kD 的蛋白質條帶較 NRDVA 淡。萃取溶劑方面，水萃可顯示較多蛋白質條帶，有利於探討各處理對鹿茸粉蛋白質組成之影響。不同乾燥方式和超音波處理下的蛋白質條帶表現，受鹿茸來源、乾燥方式或超音波處理等多種因素的影響，呈現出複雜的結果。將蛋白質條帶進行蛋白質鑑定，FSDVA 及 NRDVA 之間差異較大的蛋白質是血紅蛋白亞基 (hemoglobin subunit)。綜上所述，FSDVA 具有較高的灰分、粗脂肪、膠原蛋白、鈣、磷、銅及鋅含量，而水分、粗蛋白質、總胺基酸及鐵含量則較低。不同鹿茸之間胺基酸組成差異在 Gly、Pro 及 Leu 方面較為明顯。不同鹿茸的血紅蛋白亞基 (15 kD) 含量差異較大。

關鍵詞：鹿茸、臺灣水鹿、紐西蘭紅鹿、一般成分、胺基酸、蛋白質。

緒 言

鹿茸為生長快速的一種軟骨組織，其生長速率最快可達每日 1 公分，每年都會脫落並再生，其再生速度甚至比腫瘤細胞更加快速 (Barling *et al.*, 2004)。鹿茸為雄鹿新生的幼角，骨質尚未硬化，內部富有血液，外部密生茸毛。鹿茸主要由水分、蛋白質、礦物質及脂質組成，並受到不同分切部位影響，以臺灣水鹿為例，分別占 50.7 – 76.5%、46.4 – 65.4% (DM)、26.2 – 49.4% (DM) 及 2.2 – 7.0% (DM) (郭等, 2009)。鹿茸為我國重要的傳統名貴藥材之一，具有增強體魄與提升免疫力之功效 (Wu *et al.*, 2013)，其有效的活性成分多存在於蛋白質與脂質中 (Suttie, 2000)。相關的鹿茸藥理研究發現，其多胜肽具有促進細胞增殖 (Weng *et al.*, 2001)、骨骼修復 (Zhou *et al.*, 1999) 及促進神經幹細胞分化 (Chen *et al.*, 2004) 之功效。此外，鹿茸之酸性黏多醣，亦具有抗潰瘍、加速創傷癒合等作用 (Wang *et al.*, 1985)。

鹿茸採收後，常以烘乾或冷凍方式抑制微生物污染，以此延長保存時間。相較熱烘乾燥 (heat-drying, HD) 使用高溫及熱風循環，冷凍乾燥 (freeze-drying, FD) 是在冷凍環境中將水分昇華為蒸氣除去，進而保留更多活性物質 (Shivanna *et al.*, 2024)，因此本研究擬觀察二種乾燥方式對不同來源鹿茸成分之影響。現今萃取鹿茸成分的方法非常多元，過程中可能使用熱水、酒精、甲醇或分解酵素等溶液 (Kim *et al.*, 2003; Hao *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Je *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2012)，而後再以離子交換層析、HPLC 及凝膠過濾等程序進行成分提取 (Weng *et al.*, 2002; Yan *et al.*, 2007)。筆者等先前研究發現高溫條件下會使動物膠質溶出而使萃取物呈果凍狀，因而不適合鹿茸萃取，此外，

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2803 號。

(2) 農業部畜產試驗所畜產加工組。

(3) 國立臺灣大學動物科學技術系。

(4) 通訊作者，E-mail: bjo@tlri.gov.tw。

在考量萃取成本、製程便利性及食品安全性後，於本研究設計出較低溫且簡便的萃取製程，並以水及酒精為溶劑進行鹿茸的萃取。

根據農業部資料統計 (2022)，臺灣水鹿生產之鹿茸為臺灣養鹿產業中最重要之產值來源，紐西蘭為我國鹿茸唯一的輸入國。臺紐經濟合作協定已於 102 年 7 月 10 日簽署，逐步開放高經濟價值鹿茸進口，雖然鹿茸僅在配額內零關稅，但配額量由 1,000 公斤，每年增加 250 公斤，配額外關稅則由 500%，每隔 4 年降 100%，並自第 12 年起取消配額。亦即，114 年起將開放紐西蘭鹿茸零關稅進口。鹿茸於紐西蘭是不適食用之副產物，價格低廉，勢將嚴重影響臺灣之鹿茸產業。

國內鹿茸之消費市場，偏向新鮮採茸販賣方式，本土生產之新鮮鹿茸相對於進口冷凍或乾燥之鹿茸，應具有消費者偏好性之優勢。然而，如何確保消費者購買真正之本土新鮮鹿茸，維護本土養鹿業者之收益，區辨本土與進口鹿茸品質之研究刻不容緩。臺灣以養殖臺灣水鹿為主，紐西蘭則以紅鹿為主。FSDVA 與 NRDVA 品質之差異性應有進一步研究之必要，本研究進行臺灣與紐西蘭鹿茸之成分品質之差異性研究，研究結果或可做為臺灣與紐西蘭鹿茸之市場區隔依據。

材料與方法

I. 鹿茸來源

- (i) 臺灣水鹿茸 (FSDVA)：104 - 105 年購自農業部畜產試驗所南區分所屏東場區及臺南市民間養鹿場共 5 批次。
- (ii) 紐西蘭紅鹿茸 (NRDVA) (如圖 1)：104 — 105 年購自楊森中藥行共 5 批次。

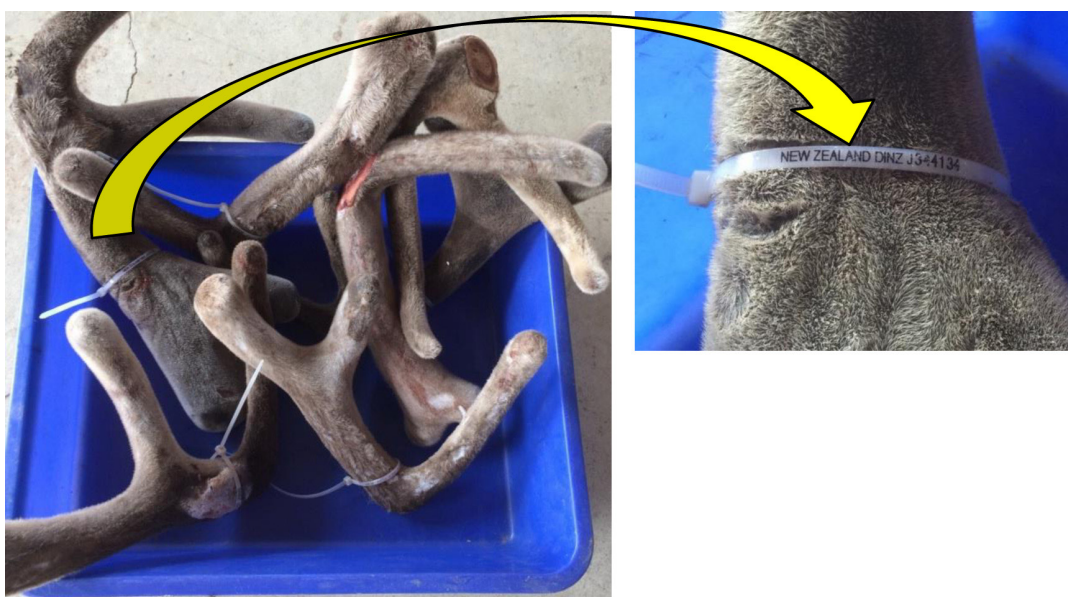


圖 1. 紐西蘭紅鹿鹿茸及產品編號。

Fig. 1. New Zealand's red deer velvet antler and the product number.

II. 分析方法

(i) 鹿茸成分分析

1. 一般成分分析：FSDVA 及 NRDVA 於切片後分別進行熱烘乾燥 (HD) 處理 (80°C, 47 小時) 及冷凍乾燥 (FD) 處理。取鹿茸切片進行水分 (CNS 5033 N6114)、灰分 (CNS 5034 N6115)、粗蛋白 (CNS 5035 N6116)、粗脂肪 (CNS 5036 N6117) 及總膠原蛋白之分析。
2. 膠原蛋白分析：總膠原蛋白分析方法參考 Kolar (1990) 方法，以羥脯胺酸 (hydroxyproline) 含量計算總膠原蛋白含量。羥脯胺酸含量 $\times 7.25$ = 總膠原蛋白含量。
3. 水解胺基酸分析：將乾燥後的鹿茸切片以高速粉碎機絞碎製成鹿茸粉，並於 100 mesh 粉篩過篩後，凍存於 -20°C 冰箱。鹿茸粉送農業部畜產試驗所飼料化驗中心進行水解胺基酸分析，鹿茸粉 2 g 溶於 10 mL 之 6 N HCl，於 120°C 水解 24 小時，以強酸分解蛋白質中的各種胺基酸，以胺基酸分析儀進行定量分析。
4. 礦物質分析：鈣、銅、鋅及鐵含量分析參照 AOAC 968.08；磷分析方法參照 AOAC 965.17。

(ii) 蛋白質萃取、SDS- PAGE 電泳分析及蛋白質鑑定

1. 鹿茸萃取液之製備：

- (1) 水萃—無超音波震盪：將鹿茸粉與蒸餾水混合均勻配製成 10% 鹿茸粉懸浮液，並置入 4℃ 冰箱，加入攪拌子浸泡萃取 24 小時，上清液為鹿茸冷水萃取液。而後將鹿茸冷水萃取液於高速離心機以 10,000 rpm 離心 10 分鐘，取其上清液並以冷凍乾燥機凍乾，即得鹿茸冷水萃取粉，置於 -20℃ 冰箱保存備用。
 - (2) 水萃—有超音波震盪：將鹿茸粉與蒸餾水混合均勻配製成 10% 鹿茸粉懸浮液，以超音波震盪在室溫下萃取 2 小時，上清液為鹿茸常溫水萃液。而後將鹿茸常溫水萃液於高速離心機以 10,000 rpm 離心 10 分鐘，取其上清液並以冷凍乾燥機凍乾，即得鹿茸常溫水萃粉，置於 -20℃ 冰箱保存備用。
 - (3) 酒萃—無超音波震盪：以 30% 酒精為溶劑，將鹿茸粉與之混合均勻配製成含有 10% 鹿茸粉之酒精懸浮液，並置入 4℃ 冰箱，加入攪拌子浸泡萃取 24 小時，萃取樣品先以高速離心機 10,000 rpm 離心 10 min 分離沉澱粉末，以 2 號濾紙過濾，沉澱粉末再次以 30% 酒精浸泡，同樣條件萃取過濾，過濾 2 次之萃取液以減壓濃縮機去除酒精，萃取液再以冷凍乾燥機進行凍乾，即得鹿茸酒精冷萃粉，置於 -20℃ 冰箱保存備用。
 - (4) 酒萃—有超音波震盪：以 30% 酒精為溶劑，將鹿茸粉與之混合均勻配製成含有 10% 鹿茸粉之酒精懸浮液，以超音波震盪在室溫下萃取 2 小時，上清液為鹿茸酒精常溫萃取液。而後將鹿茸酒精常溫萃取液先以高速離心機 10,000 rpm 離心 10 min 分離沉澱粉末，以 2 號濾紙過濾，沉澱粉末再次以 30% 酒精浸泡，同樣條件萃取過濾，過濾 2 次之萃取液以減壓濃縮機去除酒精，萃取液再以冷凍乾燥機進行凍乾，即得鹿茸常溫酒精萃取粉，置於 -20℃ 冰箱保存備用。
2. 電泳分析：參考 Park *et al.* (2004) 分析紅鹿鹿茸蛋白質之方法，利用 SDS- PAGE 分析鹿茸萃取粉之蛋白質組成。將前述 1. 之各組鹿茸萃取粉與蒸餾水混合均勻配製成稀釋 10^5 倍數之試驗溶液，取 10 μ L 溶液注入 16.5% Tris-Tricine SDS-PAGE 分析鹿茸蛋白質組成。並取 2 μ L 試驗溶液以微量分光光度計 (NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer, J & H TECHNOLOGY) 檢測蛋白質濃度。
 3. 蛋白質身分鑑定：取下目標條帶，裝入 1.5 mL 微量離心管，注入二次水，置於 4℃ 貯存等待送樣，樣品委託鎂陞科技股份有限公司進行蛋白質身分鑑定，於 MASCOT 資料庫比對蛋白質的身分。

III. 統計分析

試驗數據以統計分析系統 (SAS, 2008) 進行分析。FSDVA 及 NRDVA 之一般成分及膠原蛋白含量分析結果，以一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure) 進行變方分析，經鄧肯式新多次變域測試 (Duncan's New Multiple Range Test) 比較各組平均值差異之顯著性 (Steel and Torrie, 1980)。胺基酸及礦物質含量分析，採 2 (鹿茸種類) $\times$ 2 (乾燥方式) 複因子設計，進行複因子變異數分析 (Two-way ANOVA)，分析複因子之各別效應及其交互效應。

結果與討論

I. 一般成分及膠原蛋白含量

鹿茸一般成分及膠原蛋白分析結果如表 1。FSDVA 有較高之灰分、粗脂肪及膠原蛋白含量，而 NRDVA 水分及粗蛋白質含量則較高。

鹿茸組成成分受到鹿的年齡、品種、飼養條件、營養、鹿茸分切部分及鹿茸發育影響 (Chapman, 1975; Ha *et al.*, 2003; Moon *et al.*, 2004; Landete-Castillejos *et al.*, 2007a)。鹿茸屬高價位、可每年採收的產品，除了品種差異之外，飼養條件及日糧營養亦是重要影響因素。臺灣水鹿多採用柵欄飼養，而紐西蘭紅鹿為放牧飼養。Landete-Castillejos *et al.* (2007b) 指出，放牧飼養可能面臨食物不穩定、寄生蟲感染及較低程度的醫療照顧，進而降低鹿茸皮質厚度 (cortical thickness) 及部分礦物質含量，此可能是 NRDVA 灰分較低的原因之一。

鹿茸組成成分之文獻多以探討鹿茸分切部分為主。梅花鹿 (*Cervus nippon*) 鹿茸粗蛋白及粗脂肪含量，由上到下逐漸降低 (Jeon *et al.*, 2009; Jeon *et al.*, 2012)。西班牙馬鹿 (*Cervus elaphus hispanicus*) 及加拿大麋鹿 (*Cervus elaphus canadensis*) 鹿茸灰分含量，由上至下逐漸增加 (Landete-Castillejos *et al.*, 2007a; Jeon *et al.*, 2011)。梅花鹿及歐洲馬鹿 (*Cervus elaphus*) 鹿茸之膠原蛋白含量，由上至下逐漸增加 (Sunwoo *et al.*, 1995; Jeon *et al.*, 2012)。鹿茸的灰分及膠原蛋白的分布似乎與其機械強度 (mechanical strength) 有關 (Sunwoo *et al.*, 1995; Landete-Castillejos *et al.*, 2007a)。膠原蛋白參與並增強礦化組織，為鹿角提供機械強度 (Sunwoo *et al.*, 1995)。本研究使用完整鹿茸

之混合切片進行分析，因此一般成分及膠原蛋白含量之差異應與分切部分的關聯性較低。FSDVA 於鹿茸發育第 70 - 90 天採集，而 NRDVA 則為第 75 - 80 天，雖然採集天數條件相似，但二種鹿茸是否處於相似的發育階段仍有待進一步釐清。

表 1. 鹿茸一般成分及膠原蛋白含量分析¹

Table 1. Proximate analysis and collagen content of velvet antler¹

	FSDVA [#]	NRDVA
Moisture, %	61.8 ± 2.3 ^b	67.1 ± 1.2 ^a
Ash, %	17.6 ± 1.4 ^a	11.0 ± 1.6 ^b
Crude protein, %	18.3 ± 0.5 ^b	20.5 ± 1.0 ^a
Ether extract, %	1.5 ± 0.3 ^a	0.9 ± 0.1 ^b
Collagen, mg/g	104.0 ± 8.0 ^a	74.0 ± 7.0 ^b

¹ Mean ± SD. Data are means of 3 batches of each velvet antler, each batch was tested in triplicate.

[#] FSDVA: Formosan sambar deer velvet antler; NRDVA: New Zealand's red deer velvet antler.

^{a, b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

II. 胺基酸含量

表 2 分析鹿茸種類及乾燥方式對鹿茸胺基酸組成之影響，結果顯示二因子對總胺基酸含量及大多數胺基酸含量造成顯著差異 ($P < 0.05$)，而此二因子間交感作用無顯著差異。在熱烘乾燥 (HD) 條件下，除了 Gly 及 Pro 之外，FSDVA 所有胺基酸含量皆顯著低於 NRDVA ($P < 0.05$)，在冷凍乾燥 (FD) 方面，除了 Pro 之外，亦是 FSDVA 胺基酸含量顯著低於 NRDVA ($P < 0.05$)，此結果與表 1 粗蛋白質含量結果相符，證實在本研究採茸條件下，FSDVA 之蛋白質及胺基酸含量較 NRDVA 低。在乾燥方式方面，除了 Lys、Val、Met、Ile、His 及 Tyr 之外，FSDVA 於 HD 後之胺基酸含量顯著較 FD 高 ($P < 0.05$)，而 NRDVA 雖然有相似結果，但其標準偏差較大，因此未達到顯著影響。

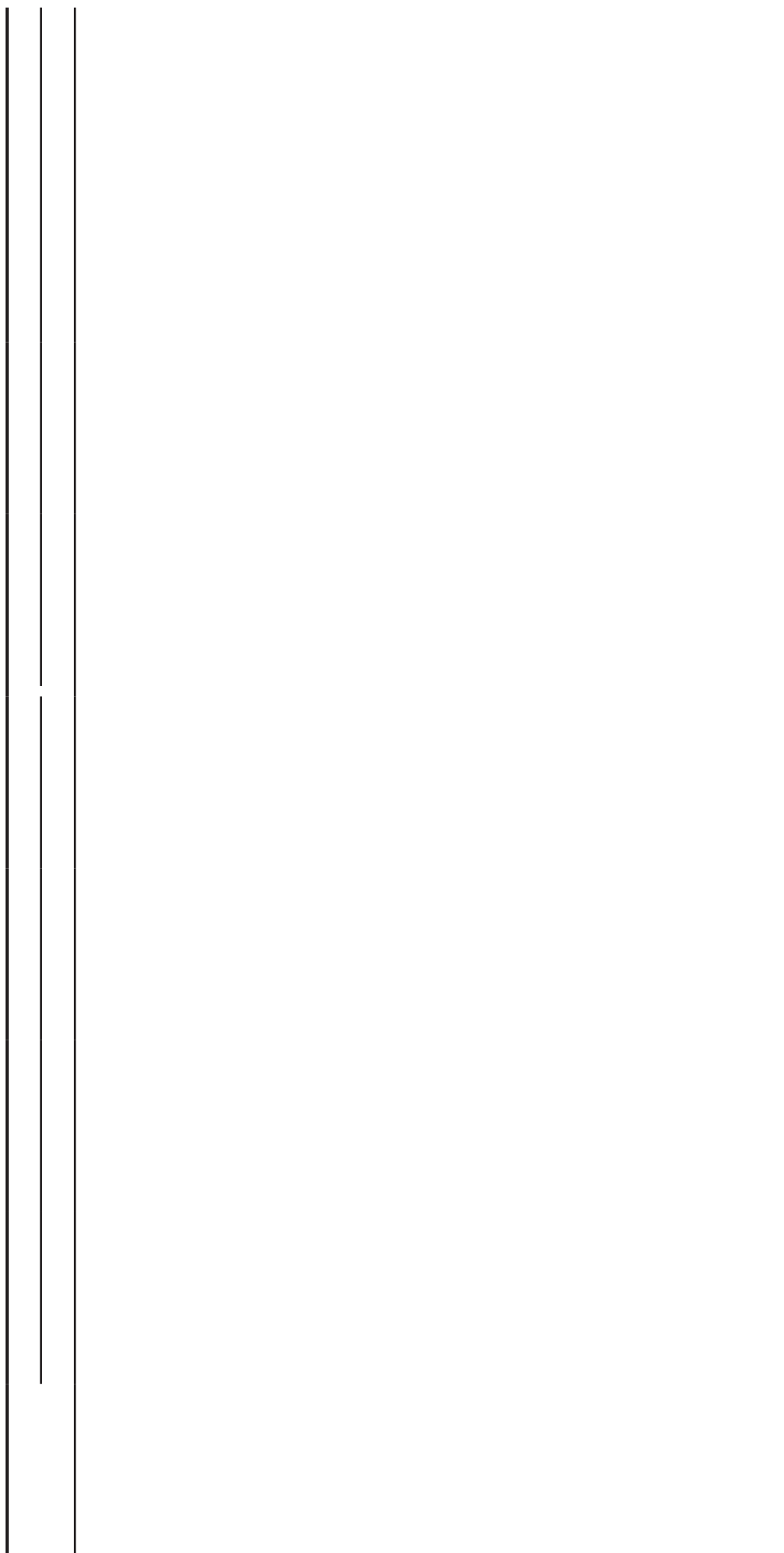
FSDVA 及 NRDVA 以 Gly、Glu、Pro、Ala、Asp 及 Arg 為主要胺基酸，可占總胺基酸 61 - 67% 以上。Jeon *et al.* (2009) 指出，梅花鹿鹿茸中的主要胺基酸為 Asp、Glu、Pro、Gly 及 Arg，此與本研究果相似。進一步比較各種胺基酸占總胺基酸百分比之差異 (表 3、表 4)。表 3 以相同乾燥方法比較不同鹿茸來源對鹿茸胺基酸組成之影響，計算方式為 FSDVA 與 NRDVA 之各種胺基酸組成差異值 (如表 3 註 1)，結果顯示，FSDVA 在 Gly、Pro 及 Leu 方面皆與 NRDVA 差異較大，差異幅度為 1.23 - 2.98%。而表 4 則以相同鹿茸來源比較不同乾燥方法對鹿茸胺基酸組成之影響，計算方式為 HD 與 FD 之鹿茸各種胺基酸組成差異值 (如表 4 註 1)，結果顯示，在乾燥方式方面，對鹿茸胺基酸組成影響的差異幅度較小 (0 - 0.48%)，且不同鹿茸影響的胺基酸亦不一致。由上述可知，鹿茸種類是影響各種胺基酸占總胺基酸百分比之主要因素，而乾燥方式則是次要因素。

III. 礦物質含量

表 5 顯示鹿茸種類及乾燥方式對鈣及磷含量造成顯著差異，銅、鋅及鐵含量顯著受到鹿茸種類的影響 ($P < 0.05$)，而此二因子間交感作用皆無顯著差異。HD 處理下 FSDVA 之鈣、磷及鋅含量顯著高於 NRDVA ($P < 0.05$)，而鐵含量則反之；FD 處理下 FSDVA 之鈣、磷、銅及鋅含量顯著高於 NRDVA ($P < 0.05$)，而鐵含量則反之。在乾燥方式影響方面，FD 處理下 FSDVA 之鈣及磷含量顯著較 HD 者高 ($P < 0.05$)。

鹿茸為快速發育的組織，發育時會逐漸礦化並閉塞血管 (Fletcher, 1986)，因此其組成成分受到鹿茸發育影響。鹿茸礦物質含量會隨著鹿茸生長期不斷增加，其中以和骨骼主成分相同的鈣 (10 - 16%) 和磷 (5 - 8%) 含量最高 (Schultz *et al.*, 1994; Moen and Pastor, 1998)。雖然本研究鹿茸採集天數條件相似，但依據分析結果，不排除 FSDVA 之鹿茸發育期較接近末期，致使灰分及礦物質含量提升，而蛋白質及胺基酸含量則較低，鐵含量較低亦可能是血流量較低進而減少含鐵之血紅素所致。

鹿茸礦物質組成成分受飼養條件及營養影響，部分文獻甚至認為鹿角可作為環境造成污染的指標 (Kierdorf and Kierdorf, 2005; Froehlich *et al.*, 2016; Jablonska *et al.*, 2016)。Pathak *et al.* (2001) 指出，沼鹿 (*Cervus duvaceli*)、花鹿 (*Axis axis*) 及豚鹿 (*Axis porcinus*)，在圈養及相同的飼糧之下，除了銅含量之外，鹿的品種間礦物質差異很小。而本研究不僅有品種差異且飼養條件亦不相同，皆是可能是造成礦物質含量差異之因素。在乾燥方式方面，在同一種鹿茸條件下，HD 之鈣及磷含量較 FD 者低，且在 FSDVA 方面達到顯著差異 ($P < 0.05$)。相較於



HD, FD 法可避免乾燥過程中因酵素或微生物分解造成損失, 且低溫亦能避免樣品產生熱化學降解 (Mayland, 1968)。Iyengar *et al.* (1978) 指出, FD 不會造成大鼠組織 Sb、Co、I、Hg、Se 和 Zn 含量的損失, 然而 HD 則在不同組織產生不同程度的礦物質損失, 此可能為本研究乾燥方式對部分胺基酸及礦物質造成顯著影響的原因之一。

表 3. 於相同乾燥方法比較鹿茸來源對其胺基酸組成的影響¹

Table 3. The effects of velvet antler source on amino acid composition of velvet antler at some drying method¹

	HD*	FD
	----- % -----	
Essential amino acid		
Arg	0.39 ± 0.14	0.38 ± 0.37
Lys	-0.60 ± 0.14	-0.45 ± 0.17
Thr	-0.46 ± 0.08	-0.47 ± 0.15
Val	-0.66 ± 0.15	-0.53 ± 0.44
Met	-0.07 ± 0.05	-0.05 ± 0.06
Ile	-0.07 ± 0.06	0.03 ± 0.14
Leu	-1.38 ± 0.10	-1.23 ± 0.37
Phe	-0.54 ± 0.02	-0.50 ± 0.15
His	-0.60 ± 0.04	-0.60 ± 0.23
Non-essential amino acid		
Gly	2.98 ± 0.23	2.66 ± 1.41
Glu	0.27 ± 0.17	0.18 ± 0.30
Asp	-0.76 ± 0.16	-0.54 ± 0.06
Pro	2.19 ± 0.19	1.75 ± 0.08
Ala	0.45 ± 0.11	0.37 ± 0.31
Ser	-0.43 ± 0.17	-0.41 ± 0.13
Cys	-0.40 ± 0.16	-0.39 ± 0.08
Tyr	-0.31 ± 0.03	-0.20 ± 0.17

¹ Mean ± SD. The data in Table 3 is calculated based on the amino acid composition of velvet antler. The calculation formula: (amino acid/total amino acid × 100)_{FSDVA}[#] - (amino acids/total amount of amino acids × 100)_{NRDVA}.

* HD: heat-drying, oven drying at 80°C for 47 hours; FD: freeze-drying.

[#] FSDVA: Formosan sambar deer velvet antler; NRDVA: New Zealand's red deer velvet antler.

表 4. 於相同鹿茸來源比較乾燥方式對鹿茸胺基酸組成的影響¹

Table 4. The effects of drying methods on the amino acid composition of velvet antler at some source¹

	FSDVA [#]	NRDVA
	----- % -----	
Essential amino acid		
Arg	-0.13 ± 0.09	-0.15 ± 0.33
Lys	-0.27 ± 0.15	-0.11 ± 0.08
Thr	0.12 ± 0.06	0.12 ± 0.08
Val	0.04 ± 0.36	0.16 ± 0.20
Met	-0.03 ± 0.09	-0.01 ± 0.14
Ile	0 ± 0.16	0.09 ± 0.07

表 4. 於相同鹿茸來源比較乾燥方式對鹿茸胺基酸組成的影響¹ (續)Table 4. The effects of drying methods on the amino acid composition of velvet antler at some source¹ (continued)

	FSDVA [#]	NRDVA
	----- % -----	
Leu	0.09 ± 0.16	0.24 ± 0.13
Phe	0.08 ± 0.11	0.13 ± 0.10
His	0.04 ± 0.11	0.04 ± 0.10
Non-essential amino acid		
Gly	-0.16 ± 0.62	-0.48 ± 0.58
Glu	0.21 ± 0.21	0.11 ± 0.30
Asp	-0.09 ± 0.21	0.13 ± 0.13
Pro	0.08 ± 0.32	-0.36 ± 0.36
Ala	-0.02 ± 0.19	-0.11 ± 0.13
Ser	0.03 ± 0.29	0.04 ± 0.07
Cys	0.05 ± 0.05	0.05 ± 0.11
Tyr	-0.02 ± 0.09	0.09 ± 0.08

¹ Mean ± SD. The data in Table 4 is calculated based on the amino acid composition of velvet antler. The calculation formula: (amino acid/total amino acid × 100)_{HD}* - (amino acids/total amount of amino acids × 100)_{FD}.

* HD: heat-drying, oven drying at 80°C for 47 hours; FD: freeze-drying.

[#] FSDVA: Formosan sambar deer velvet antler; NRDVA: New Zealand's red deer velvet antler.

IV. 蛋白質萃取、SDS-PAGE 及蛋白質鑑定

以不同溶劑 (水萃或酒萃) 及超音波處理 (有無處理) 萃取不同乾燥方式 (HD 或 FD) 的鹿茸粉蛋白質並進行 SDS-PAGE 電泳分析 (圖 2 及圖 3)。結果顯示, 在水萃方面, 以 15、28、40 及 58 kD 之蛋白質條帶表現量差異較大, 而酒萃方面則以 13 及 68 kD 的差異較大。將表現量差異較大的蛋白質條帶 (編號 1 — 12) 進行蛋白質身分鑑定, 結果如表 6, 分別為血紅蛋白亞基 β-3 (hemoglobin subunit β-3)、血紅蛋白亞基 α (hemoglobin subunit α)、血紅蛋白亞基 β (hemoglobin subunit β)、磷酸丙糖異構酶 (triosephosphate isomerase)、肌動蛋白 (actin)、血清白蛋白 (serum albumin) 及 α-2- 巨球蛋白 (α-2- macroglobulin)。

圖 2 鹿茸在水萃方面, 相同乾燥方式及超音波處理條件下, FSDVA 於 15 kD 之蛋白質條帶表現較 NRDVA 低, 表現出一致性高的鹿茸品種差異性。在乾燥方式之影響方面, HD 於 15 kD 之蛋白質條帶表現較 FD 低, 但在 28、40 及 58 kD 之蛋白質條帶方面, 有無超音波處理則會產生相反趨勢 (如: HD 會提升超音波處理下之 28 kD 蛋白質條帶, 但無超音波處理時則會減少表現)。超音波處理會降低 FD 之 FSDVA 水萃之蛋白質條帶於 15、40 及 58 kD 之表現, 並提升 HD 之 NRDVA 水萃之蛋白質條帶於 15、28、40 及 58 kD 之表現。由上述結果可知, 鹿茸水萃液在 SDS-PAGE 電泳結果方面, 有較一致的品種差異性。而在乾燥方式方面, 會受到超音波處理之影響。至於超音波處理方面, 其蛋白質條帶表現同時受到鹿茸品種及乾燥方式的影響, 結果更加複雜。因此, 影響鹿茸水萃液 SDS-PAGE 電泳蛋白質條帶表現之因子, 其影響程度依次應為鹿茸品種、乾燥方式及超音波處理。

圖 3 鹿茸在酒萃方面顯示的蛋白質條帶較水萃 (圖 2) 少, 其中表現量差異較大的蛋白質條帶分子量為 13 及 68 kD。在相同乾燥方式及超音波處理條件下比較品種間的差異, 結果發現除了 FD + 無超音波處理的 FSDVA 13 kD 之蛋白質條帶表現較 NRDVA 高之外, 其他蛋白質條帶表現量沒有明顯差異。在相同品種及超音波處理條件下比較乾燥方式間的差異, 結果發現 HD 於 68 kD 之蛋白質條帶表現較 FD 低, 而 13 kD 之蛋白質條帶表現較無一致的趨勢, 且超音波處理之蛋白質條帶表現量不明顯。至於超音波處理方面, 相同品種及乾燥方式處理條件下 68 kD 之蛋白質條帶表現相近, 而 13 kD 之蛋白質條帶除了 HD + 無超音波處理的 FSDVA 表現量不明顯之外, 超音波處理的蛋白質條帶表現量皆低而不明顯。在本研究中, 相較於酒萃法, 水萃法較有利於探討鹿茸品種、乾燥方式及超音波處理對鹿茸粉蛋白質組成之影響, 因其分離出的蛋白質條帶更加豐富, 且對於鹿茸品種、乾燥方式及超音波處理之影響有較明顯且一致的變化趨勢, 此有利於未來探討各種因素之影響程度。

--	--	--	--

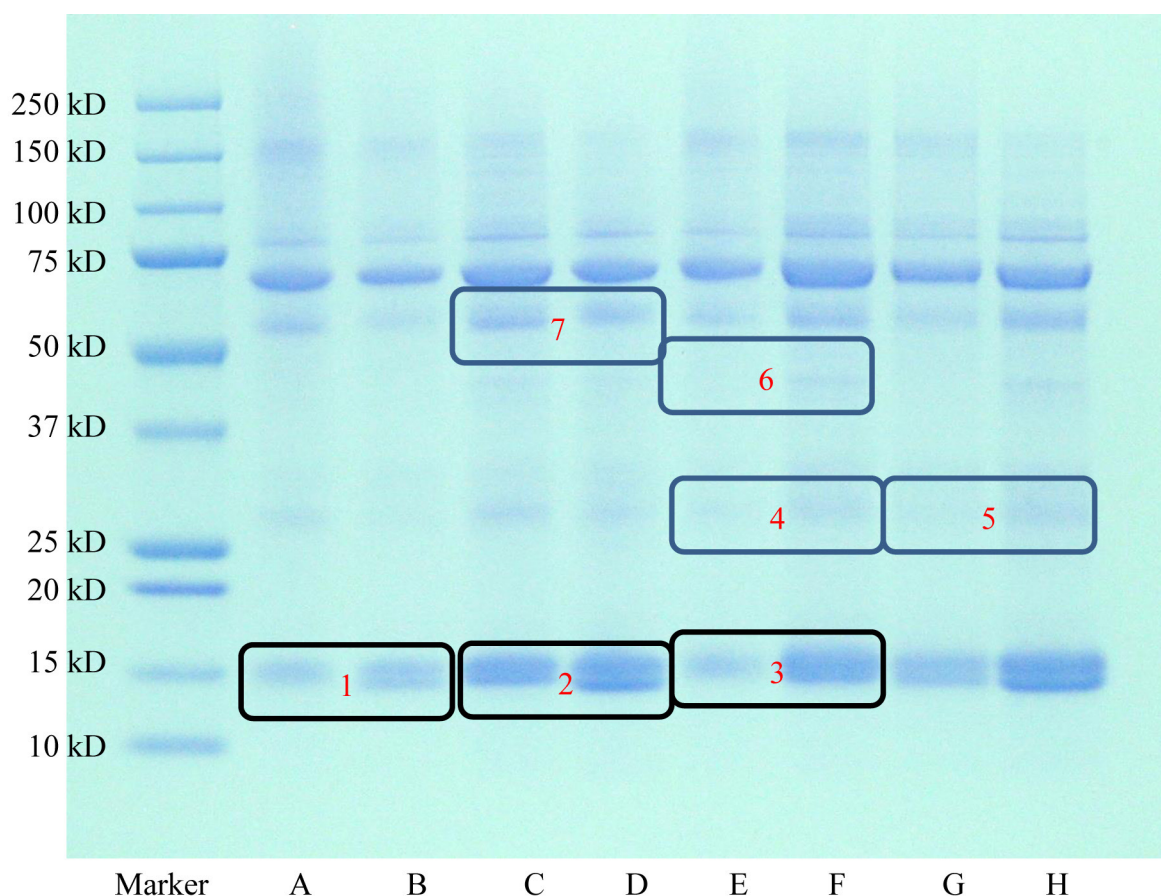


圖 2. 鹿茸水萃液之 SDS-PAGE 電泳圖 (試樣蛋白質濃度：10.9 – 23.7 mg/mL)。

Fig. 2. SDS-page of velvet antler water extract (the protein concentration of sample was 10.9 - 23.7 mg/mL).

- A. Heat-drying Formosan sambar deer velvet antler ultrasonic water extract
- B. Freeze-drying Formosan sambar deer velvet antler ultrasonic water extract
- C. Heat-drying New Zealand's red deer velvet antler ultrasonic water extract
- D. Freeze-drying New Zealand's red deer velvet antler ultrasonic water extract
- E. Heat-drying Formosan sambar deer velvet antler water extract
- F. Freeze-drying Formosan sambar deer velvet antler water extract
- G. Heat-drying New Zealand's red deer velvet antler water extract
- H. Freeze-drying New Zealand's red deer velvet antler water extract

Su *et al.* (2001) 結合鹽溶液、熱變性和凝膠過濾等方法，萃取梅花鹿鹿角盤 (antler base) 蛋白質，並發現 65.57、28.18、21.27、16.79 和 13.79 kD 的蛋白質條帶。Tang *et al.* (2008) 採用硫酸銨沉澱法萃取梅花鹿鹿角盤蛋白質，並以 SDS-PAGE 發現 11 條蛋白質條帶，分子量範圍為 10 – 110 kD。本研究萃取之鹿茸蛋白質分子量範圍為 13 – 250 kD，其中 15 kD 的蛋白質條帶可能為 FSDVA 及 NRDVA 間差異較大的蛋白質，經蛋白質身分鑑定發現其可能為血紅蛋白。Huang *et al.* (2010) 由梅花鹿鹿角盤的可溶性蛋白中，鑑定出 β -3 亞型血紅蛋白 (β -3 subtype of hemoglobin)、抗菌勝肽 (antimicrobial peptide)、肽聚糖識別蛋白 (peptidoglycan recognition protein)、 β -c 亞型血紅蛋白 (β -c subtype of hemoglobin) 和前原血清白蛋白 (pre-pro serum albumin)，雖然鹿品種及萃取方法有所差異，本試驗的結果與前人的研究有部分相符，推測其原因可能與鹿的品種或是不同的萃取方式有關。

在蛋白質身分鑑定結果表 6 顯示，血紅蛋白亞基 (編號 1 – 3 及 8 – 9) 是組成血紅蛋白的蛋白質，而血紅蛋白之功能與運輸氧氣有關。磷酸丙糖異構酶 (編號 4 – 5) 在糖酵解中有重要功能，影響生物的能量生成。肌動蛋白 (編號 6) 存在所有細胞中，是構成細胞骨架的蛋白質成分之一，在許多細胞活動中扮演重要角色，如：肌肉收縮、細胞分裂及細胞的建立與維持等。血清白蛋白 (編號 7、10、11) 為哺乳動物最常見的血漿蛋白，具有維持血液的滲透壓之功能，而 α -2- 巨球蛋白 (編號 12) 亦為一種血漿蛋白，具有抑制蛋白酶之效果。本研究證實上述蛋白質含量會受到鹿茸品種、乾燥方式及超音波處理影響，其中又以血紅蛋白亞基含量受到鹿茸品種的影響最為明顯。然而，是否因 FSDVA 發育期較接近末期，致使血流量減少進而減少血紅蛋白，未來有必要進一步研究釐清。

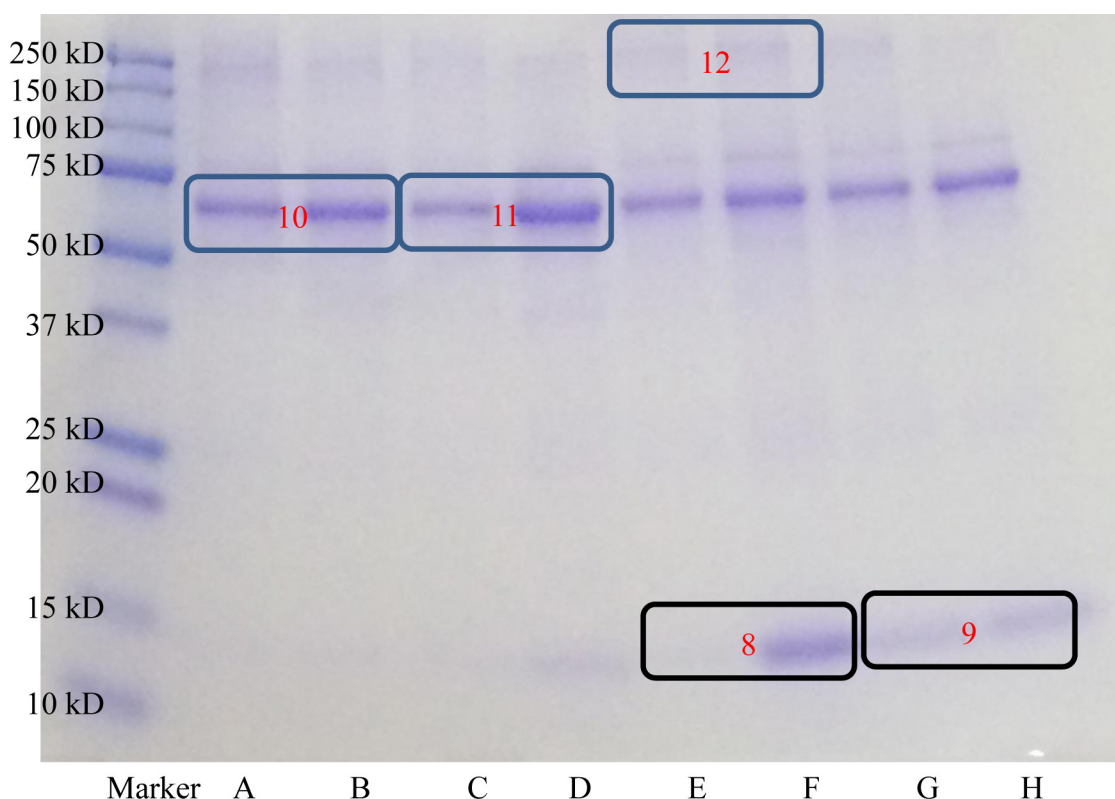


圖 3. 鹿茸酒萃液之 SDS-PAGE 電泳圖 (試樣蛋白質濃度：9.5 — 18.2 mg/mL)。

Fig. 3. SDS-page of velvet antler alcohol extract (the protein concentration of sample was 9.5 - 18.2 mg/mL).

- A. Heat-drying Formosan sambar deer velvet antler ultrasonic alcohol extract
 B. Freeze-drying Formosan sambar deer velvet antler ultrasonic alcohol extract
 C. Heat-drying New Zealand's red deer velvet antler ultrasonic alcohol extract
 D. Freeze-drying New Zealand's red deer velvet antler ultrasonic alcohol extract
 E. Heat-drying Formosan sambar deer velvet antler alcohol extract
 F. Freeze-drying Formosan sambar deer velvet antler alcohol extract
 G. Heat-drying New Zealand's red deer velvet antler alcohol extract
 H. Freeze-drying New Zealand's red deer velvet antler alcohol extract

表 6. SDS-PAGE 蛋白質條帶之蛋白質鑑定

Table 6 Protein identification of SDS-PAGE protein bands

No.	velvet antler	extraction	Protein identification	比對相似度 (%)
1	Formosan sambar deer	water extract	<i>HBB ODOVI</i> Hemoglobin subunit beta-3 OS = <i>Odocoileus virginianus virginianus</i>	24
2	New Zealand's red deer	water extract	<i>HBA RANTA</i> Hemoglobin subunit alpha OS = <i>Rangifer tarandus</i>	75
3	Formosan sambar deer	water extract	<i>HBB RANTA</i> Hemoglobin subunit beta OS = <i>Rangifer tarandus</i>	66
4	Formosan sambar deer	water extract	<i>TPIS BOVIN</i> Triosephosphate isomerase OS = <i>Bos taurus</i>	80
5	New Zealand's red deer	water extract	<i>TPIS BOVIN</i> Triosephosphate isomerase OS = <i>Bos taurus</i>	80
6	Formosan sambar deer	water extract	<i>ACTB BOVIN</i> Actin, cytoplasmic 1 OS = <i>Bos taurus</i>	65
7	New Zealand's red deer	water extract	<i>ALBU SHEEP</i> Serum albumin OS = <i>Ovis aries</i>	29
8	Formosan sambar deer	alcohol extract	<i>HBB RANTA</i> Hemoglobin subunit beta OS = <i>Rangifer tarandus</i>	48
9	New Zealand's red deer	alcohol extract	<i>HBB RANTA</i> Hemoglobin subunit beta OS = <i>Rangifer tarandus</i>	66
10	Formosan sambar deer	alcohol extract	<i>ALBU SHEEP</i> Serum albumin OS = <i>Ovis aries</i>	44
11	New Zealand's red deer	alcohol extract	<i>ALBU SHEEP</i> Serum albumin OS = <i>Ovis aries</i>	48
12	Formosan sambar deer	alcohol extract	<i>A2MG BOVIN</i> Alpha-2- macroglobulin OS = <i>Bos taurus</i>	27

結 論

FSDVA 具有較高的灰分、粗脂肪、膠原蛋白、鈣、磷、銅及鋅含量，而水分、粗蛋白質、總胺基酸及鐵含量則較低。胺基酸組成差異在 Gly、Pro 及 Leu 方面最為明顯。分子量 15 kD 的血紅蛋白亞基是含量差異較大的蛋白質。

致 謝

本試驗承農業部科技計畫 (104 農科 -3.5.1- 畜 -L1(7)、105 農科 -3.5.1- 畜 -L1(5)) 經費補助，特此致謝。

參考文獻

- 中華民國國家標準 CNS。1984。食品中水分之檢驗方法，總號 5033，類號 N6114。經濟部標準檢驗局。
- 中華民國國家標準 CNS。2005。食品中粗灰分之檢驗方法，總號 5034，類號 N6115。經濟部標準檢驗局。
- 中華民國國家標準 CNS。2005。食品中粗蛋白質之檢驗方法，總號 5035，類號 N6116。經濟部標準檢驗局。
- 中華民國國家標準 CNS。2005。食品中粗脂肪之檢驗方法，總號 5036，類號 N6117。經濟部標準檢驗局。
- 郭卿雲、王妙鈴、康獻仁、王治華。2009。臺灣水鹿茸四分切段成分分析。畜產研究 42：245-253。
- 農業部。2022。農業統計年報。https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx。
- AOAC。2005。Official methods of analysis of AOAC International (OMA)。AOAC International, Gaithersburg, MD。
- Barling, P. M., H. Liu, J. Martich, J. Mount, A. K. W. Lai, L. Ma, and L. F. B. Nicholson. 2004. Expression of PTHrP and the PTH/PTHrP receptor on growing red deer antler. Cell Biol. Int. 28: 661-673.
- Chapman, D. I. 1975. Antlers-bones of contention. Mamm. Rev. 5: 121-172.
- Chen, D., X. T. Meng, J. M. Liu, L. Chen, and L. J. Lu. 2004. Effect of velvet antler polypeptide (VAP) on differentiation of rat brain-derived stem cell in vitro. Acta Anato. Sin. 35: 240-243.
- Fletcher, T. J. 1986. Reproduction: seasonality. In: Management and Diseases of Deer (Ed. T. L. Alexander). Veterinary Deer Society, London. pp. 17-18.
- Froehlich, M. B., P. Steier, G. Wallner, and L. K. Fifield. 2016. European roe deer antlers as an environmental archive for fallout ²³⁶U and ²³⁹Pu. J. Environ. Radioact. 151: 587-592.
- Ha, Y. W., B. T. Jeon, S. H. Moon, and Y. S. Kim. 2003. Comparison of biochemical components among different fodders-treated antlers. Saengyak Hakhoe Chi. 34: 40-44.
- Hao, L. L., S. C. Liu, M. J. Zhang, S. Q. Chen, and T. G. Li. 2007. Extraction and comparative analysis of polypeptides contents of different segments in *Cervus elaphus Linnaeus*. J. Jilin Agric. Univ. 29: 378-380.
- Huang, P., Y. Zhao, F. Niu, R. N. Tang, Y. Q. Li, S. C. Liu, and L. X. Zhang. 2010. Isolation and identification of sika antler base soluble proteins. Asia-Pacific Traditional Medicine 6: 28-30.
- Iyengar, G. V., K. Kasperek, and L. E. Feinendegen. 1978. Retention of the metabolized trace elements in biological tissues following different drying procedures: I. Antimony, cobalt, iodine, mercury, selenium and zinc in rat tissues. Sci. Total Environ. 10: 1-16.
- Jablonska, M., M. Kramarczyk, B. Smieja-Kro, and J. Janeczke. 2016. Barium concentration in cast roe deer antlers related to air pollution caused by burning barium-enriched coals in southern Poland. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 23: 5978-5982.
- Je, J. Y., P. J. Park, E. K. Kim, H. A. Kim, D. H. Lim, B. T. Jeon, and C. B. Ahn. 2010. Composition of biologically active substances and antioxidant activity of New Zealand deer velvet antler extracts. Korean J. Food Sci. Anim. Resour. 30: 20-27.
- Jeon, B. T., S. Kim, S. Lee, P. Park, S. Sung, J. Kim, and S. Moon. 2009. Effect of antler growth period on the chemical composition of velvet antler in sika deer (*Cervus nippon*). Mamm. Biol. 74 : 374-380.
- Jeon, B. T., K. H. Kim, S. H. Cheong, S. K. Kang, P. J. Park, D. H. Kim, H. S. Jung, J. H. Park, D. G. Thomas, and S. H. Moon. 2012. Effects of growth stage and position within the beam in the structure and chemical composition of sika

- deer (*Cervus nippon*) antlers. Anim. Prod. Sci. 52: 51-57.
- Jeon, B. T., S. H. Cheong, D. H. Kim, J. H. Park, P. J. Park, S. H. Sung, D. G. Thomas, K. H. Kim, and S. H. Moon. 2011. Effect of antler development stage on the chemical composition of velvet antler in Elk (*Cervus elaphus canadensis*). Asian-Australas. J. Anim. Sci. 24: 1303-1313.
- Kierdorf, U. and H. Kierdorf. 2005. Antlers as biomonitors of environmental pollution by lead and fluoride: a review. Eur. J. Wildl. Res. 51: 137-150.
- Kim, Y. K., K. S. Kim, K. H. Chung, J. G. Kim, K. S. Kim, Y. C. Lee, Y. C. Chang, and C. H. Kim. 2003. Inhibitory effects of deer antler aqua-acupuncture, the pilose antler of *Cervus korean* TEMMINCK var. *mantchuricus* Swinhoe, on type II collagen-induced arthritis in rats. Int. Immunopharmacol. 3: 1001-1010.
- Kolar, K. 1990. Colorimetric determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73: 54-57.
- Landete-Castillejos, T., A. Garcia, and L. Gallego. 2007a. Body weight, early growth and antler size influence antler bone mineral composition of Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*). Bone 40: 230-235.
- Landete-Castillejos, T., J. A. Estevez, A. Martínez, F. Ceacero, A. Garcia, and L. Gallego. 2007b. Does chemical composition of antler bone reflect the physiological effort made to grow it? Bone 40: 1095-1102.
- Mayland, H. F. 1968. Effect of drying methods on losses of carbon, nitrogen and dry matter from alfalfa. Agron. J. 60: 658-659.
- Moon, S. H., S. K. Kang, S. M. Lee, M. H. Kim, and B. T. Jeon. 2004. A study on the seasonal comparison of dry matter intake, digestibility, nitrogen balance and feeding behavior in spotted deer fed forest by-product silage and corn silage. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 17: 57-65.
- Moen, R. and J. Pastor. 1998. Simulating antler growth and energy, nitrogen, calcium and phosphorus metabolism in caribou. Rangifer, Special Issue 10: 85-97.
- Park, H. J., D. H. Lee, S. G. Park, S. C. Lee, S. Y. Cho, H. K. Kim, J. J. Kim, H. S. Bae, and B. C. Park. 2004. Proteome analysis of red deer antlers. Proteomics 4: 3642-3653.
- Pathak, N. N., A. K. Pattanaik, R. C. Patra, and B. M. Arora. 2001. Mineral composition of antlers of three deer species reared in captivity. Small Rumin. Res. 42: 61-65.
- SAS Institute. 2008. SAS/STAT User 's guide: Statistics. Version 9.2th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Schultz, S. R., M. K. Johnson, S. E. Feagley, L. L. Southern, and T. L. Ward. 1994. Mineral content of Louisiana white-tailed deer. J. Wildl. Dis. 30: 77-85.
- Shivanna, S. K., L. Naik, and P. S. Rao. 2024. Impact of drying techniques on the composition, physicochemical attributes, antioxidant capacity, antidiabetic potential and ACE inhibition properties of *Moringa oleifera* pod pulp powder. S. Afr. J. Bot. 165: 405-416.
- Steel, R. G. D and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics-a biometrical approach. 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, New York, NY.
- Su, F. Y., H. P. Li, Y. M. Wang, Y. X. Huang, S. M. Xiao, and Y. Q. Xiao. 2001. Protein component extraction and its bioactivity determination of sika deer antler base. Animal Science and Veterinary Medicine 18: 18-20.
- Sunwoo, H. H., T. Nakano, R. J. Hudson, and J. S. Sim. 1995. Chemical composition of antlers from wapiti (*Cervus elaphus*). J. Agric. Food Chem. 43: 2846-2849.
- Suttie, J. M. 2000. The benefits of New Zealand deer velvet. First seminar of scientific research papers including human clinical trials & biochemical values of deer velvet, pp.23-31.
- Tang, R. N., Y. Zhao, X. D. Sun, and X. B. Qu. 2008. Comparison of water soluble total protein in velvet, antler plate and bone of sika deer. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine 28: 295-296.
- Wang, B. X., A. J. Liu, X. J. Cheng, Q. G. Wang, G. R. Wei, and J. C. Cui. 1985. Anti-ulcer action of the polysaccharides isolated from pilose antler. Acta Pharmaceu. Sin. 20: 321-325.
- Wang, H., Z. Lin, Q. Liu, M. J. Cai, L. Xu, and X. Z. Zhang. 2008. Preparation of velvet antlers small peptides and stimulating effects on osteosarcoma cell proliferation. Chem. J. Chin. Univ. 29: 1791-1796.
- Weng, L., Q. L. Zhou, L. L. Wang, Y. Q. Liu, Y. Wang, Y. Wang, and B. X. Wang. 2001. Velvet antler polypeptides promoted proliferation of epidermic cells and fibroblast and skin wound healing. Acta Pharmaceu. Sin. 36: 817-820.
- Weng, L., Q. L. Zhou, T. Ikejima, and B. X. Wang. 2002. A novel polypeptide from *Cervus elaphus Linnaeus*. Chin. Chem.

Lett. 13: 147-150.

- Wu, F., H. Li, L. Jin, X. Li, Y. Ma, J. You, S. Li, and Y. Xu. 2013. Deer antler base as a traditional Chinese medicine: a review of its traditional uses, chemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* 145: 403-415.
- Xu, M. and X. Q. Yue. 2012. Study on preparation of velvet antlers polypeptide by enzymatic hydrolysis. *Sci. Technol. Food Ind.* 33: 205-207.
- Yan, M. M., X. B. Qu, X. Wang, N. Liu, Z. Q. Liu, D. Q. Zhao, and S. Y. Liu. 2007. Purification sequencing and biological activity of polypeptide from velvet antler. *Chem. J. Chin. Univ.* 28: 1893-1896.
- Zhou, Q. L., Y. J. Guo, L. J. Wang, Y. Wang, Y. Q. Liu, Y. Wang, and B. X. Wang. 1999. Velvet polypeptides promoted proliferation of chondrocytes and osteoblast precursors and fracture healing. *Pharmacol Sin.* 20: 279-282.

The differences in general composition, amino acid and protein composition between Formosan sambar deer and New Zealand's red deer velvet antler ⁽¹⁾

Ching-Yun Kuo ⁽²⁾ Ruei-Han Yeh ⁽²⁾⁽⁴⁾ and Ming-Ju Chen ⁽³⁾

Received: Aug. 18, 2023; Accepted: Sep. 23, 2024

Abstract

The purpose of this study was to establish basic information on the general composition, amino acid and protein composition of Formosan sambar deer velvet antler (FSDVA) and New Zealand's red deer velvet antler (NRDVA), so as to serve as a reference for distinguishing Taiwan and imported velvet antler in the future. FSDVA had higher ash, crude fat and collagen contents, while NRDVA had higher moisture and crude protein contents. Deer antler slices were dried and made into velvet powder, and FSDVA velvet powder was found to have higher calcium, phosphorus, copper, and zinc contents than NRDVA velvet powder, while the total amino acid and iron contents were lower. In terms of amino acid composition, the Gly, Pro and Leu of different velvet antlers showed considerable difference between FSDVA and NRDVA. Different solvents (water or alcohol extraction) and ultrasonic treatment (with or without treatment) were used to extract the protein from deer antler powder dried thorough different ways (heat-dried or freeze-dried) and analyzed by SDS-PAGE electrophoresis. The results showed that under various ultrasonic treatment and drying methods, the protein band of the water-extracted protein of FSDVA was lighter than that of NRDVA at 15 kD. In terms of extraction solvent, water extraction showed more protein bands, which was favorable for the exploration of the effects of various treatments on the protein composition of deer antler powder. The performance of protein bands under different drying methods and ultrasonic treatment showed complex results under the influence of multiple factors, such as velvet antler, drying methods or ultrasonic treatment. The identification of the protein band showed that the protein with a large difference between FSDVA and NRDVA was hemoglobin subunit. In conclusion, FSDVA had higher content of ash, crude fat, collagen, calcium, phosphorus, copper and zinc, but lower content of water, crude protein, total amino acid, and iron. The composition of Gly, Pro and Leu of different velvet antlers were considerably different. The content of hemoglobin subunit (15 kD) varies considerably among different antlers.

Key words: Velvet antler, Formosan sambar deer, New Zealand's red deer, General composition, Amino acid, Protein.

(1) Contribution No. 2803 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Animal Products Processing Division, MOA-TLRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University.

(4) Corresponding author, E-mail: bjo@tlri.gov.tw.