

油料蛋白

萌发处理对芝麻及其蛋白质的影响

韩亚飞¹,梅鸿献²,魏安池¹,刘艳阳²,汪学德¹,郑永战²

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 河南省农业科学院 芝麻研究中心, 郑州 450008)

摘要:在温度 30℃、湿度 80% 条件下,对芝麻进行萌发,研究萌发处理对芝麻及其蛋白质的影响。结果表明:经过 48 h 萌发,芝麻中总糖含量先降低后升高,粗脂肪含量呈现逐渐下降趋势,粗蛋白质含量变化不显著,NSI 先升高后降低,芝麻素和芝麻林素含量在芝麻萌发 16 h 达到最大,55 kDa 处蛋白质参与萌发过程中新陈代谢,必需氨基酸含量升高;经碱溶酸沉制备的芝麻蛋白氨基酸评分在萌发 16 h 达到最大。

关键词:芝麻蛋白;萌发;凝胶电泳;氨基酸

中图分类号:TS222;TS229

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)06-0019-04

Effects of sprout on sesame and sesame protein

HAN Yafei¹, MEI Hongxian², WEI Anchi¹, LIU Yanyang²,
WANG Xuede¹, ZHENG Yongzhan²(1. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;
2. Sesame Research Center, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: The sprout of sesame was carried out under the conditions of temperature 30℃ and moisture 80%, and the effects of sprout on sesame and sesame protein were studied. The results showed that during 48 h sprout of sesame, the total sugar content in sesame firstly decreased then increased and the crude fat content decreased gradually, while the crude protein content had no significant change, NSI increased firstly then decreased, and the contents of sesamin and sesamol reached the highest after 16 h sprout. The protein with relative molecular weight 55 kDa took part in the metabolism of the sprout, the content of essential amino acid increased, and the amino acid score of sesame protein obtained by alkali-solution and acid-precipitation was the highest after 16 h sprout.

Key words: sesame protein; sprout; gel electrophoresis; amino acid

种子吸水后进行呼吸作用,经蛋白质和碳水化合物代谢露出胚根的过程称为萌发。萌发使得种子内部营养成分发生重大改变^[1-2]。目前种子萌发过程中生理活性物质的变化研究主要集中在豆类和谷物方面。研究表明,通过萌发处理,种子内部生物活

性成分含量变化显著,能够改善其营养功能性,提高食品的营养价值。

通过萌发处理改善以芝麻为原料的食品的营养价值已有报道。刘玉兰等^[3]通过控制萌发温度对不同萌发时期的芝麻和芝麻油进行测定;张丽霞等^[4]研究萌芽发育对芝麻理化指标的影响和对芝麻酱风味的影响;Hahm 等^[5]研究了萌发芝麻中化学成分和功能性的变化;Liu 等^[6]研究了芝麻芽中营养成分和抗氧化成分变化。但对于芝麻蛋白的变化涉及较少,本文以冷榨芝麻粕为原料,研究萌发处理对芝麻蛋白的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

郑芝 13,由河南省农业科学院芝麻研究中心提

收稿日期:2017-12-28;修回日期:2018-03-19

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设项目(CARS14-1-29)

作者简介:韩亚飞(1994),男,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂和植物蛋白(E-mail) hauthyf@126.com。

通信作者:汪学德,教授,博士生导师(E-mail) 13903865584@126.com;郑永战,研究员,硕士生导师(E-mail) sesame168@163.com。

供;低相对分子质量标准蛋白质,北京索莱宝科技有限公司;SDS-PAGE 凝胶试剂盒,北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;其他试剂均为分析纯。

MJ-II 霉菌培养箱;ESP-300 电泳仪;Kjeltec8400FOSS 全自动凯氏定氮仪;LD5-10 离心机;LGJ-18 真空冷冻干燥机;S433D 塞卡姆氨基酸分析仪;德国塞卡姆公司。

1.2 实验方法

1.2.1 芝麻萌发处理

称取一定质量的芝麻(约 2 kg),按照料液比 5:1 加水润湿混匀,等待 30 min 后平铺在托盘上,托盘上下均有 3 层纱布,每 8 h 加水 1 次,保持纱布润湿,在温度 30℃ 和湿度 80% 条件下分别处理 0、8、16、24、36 h 和 48 h;将萌发后的芝麻经冷冻干燥 24 h 备用。

1.2.2 芝麻压榨处理

称取一定质量(约 400.0 g)的萌发处理样品,在 40~50 MPa 条件下冷榨处理 30 min,冷榨饼粉碎脱脂得到芝麻粕备用。

1.2.3 芝麻基本指标的测定

粗蛋白质含量测定参照 GB/T 14489.2—2008;粗脂肪含量测定参照 GB/T 5512—2008;NSI 测定参照 NY/T 1205—2006;总糖含量测定:苯酚硫酸法。

1.2.4 芝麻中芝麻木酚素测定

参照文献[7]测定芝麻木酚素含量。

1.2.5 SDS-PAGE 凝胶电泳分析

以 1.2.2 中冷榨芝麻粕为原料,采用不连续凝

胶电泳法测定芝麻中蛋白质相对分子质量分布。配制 12% 分离胶和 5% 浓缩胶,采用恒压电流法,开始阶段电压为 80 V,待样品到达分离胶层改用 100 V,电泳结束,染色过夜后用脱色液脱色至无色。

1.2.6 氨基酸组成测定及分析

称取一定量 1.2.2 中冷榨芝麻粕,按照 GB 5009.124—2016 测定氨基酸组成。氨基酸平衡理论以 FAO/WHO 的必需氨基酸标准模式,按照公式计算必需氨基酸比值,氨基酸的主要参数有:氨基酸比值(RAA) = 芝麻中某种氨基酸含量/标准模式中氨基酸含量;氨基酸比值系数(RC) = 氨基酸比值/氨基酸比值平均数。

如果食物中氨基酸含量与标准模式相同,则氨基酸比值系数为 1,大于 1,表示该氨基酸含量过量,小于 1 表示该氨基酸含量不足,RC 最小表示该氨基酸为此食物中的第一限制性氨基酸。

氨基酸比值系数分(SRC) = $100 - CV \times 100$

式中:CV 为变异系数。SRC 越大,表示蛋白质样品越接近标准模式,其营养价值越高。

1.2.7 数据分析

使用 Origin8.5 和 SPSS 20 对实验数据进行处理分析,实验做 3 次平行,通过 *t* 检验在 $P < 0.05$ 时存在显著差异。

2 结果与讨论

2.1 不同萌发时间芝麻基本组成变化(见表 1)

表 1 萌发芝麻基本指标(以干基计)

项目	含量/%					
	萌发 0 h	萌发 8 h	萌发 16 h	萌发 24 h	萌发 36 h	萌发 48 h
粗脂肪	53.99 ± 0.07ab	55.94 ± 1.84a	53.07 ± 0.90b	54.16 ± 0.19ab	52.43 ± 0.97b	47.67 ± 0.11c
粗蛋白质	20.40 ± 0.34ab	20.74 ± 0.25a	19.71 ± 0.07b	20.64 ± 0.11a	20.39 ± 0.55ab	20.41 ± 0.19ab
总糖	11.66 ± 0.76b	11.24 ± 0.35b	9.43 ± 0.54c	8.68 ± 0.24c	11.44 ± 0.02b	14.83 ± 0.67a
NSI	30.11 ± 0.36d	40.95 ± 0.62a	39.38 ± 0.10b	39.39 ± 0.33b	40.21 ± 0ab	32.91 ± 0.01c

注:同一行中不同字母表示在 $P < 0.05$ 存在显著性差异。下同。

从表 1 可知,随着萌发时间的延长,芝麻中粗脂肪含量整体呈现下降趋势;粗蛋白质含量变化不显著;总糖含量呈现出先降低后升高的趋势。由于芝麻在萌发过程中蛋白酶活性在萌发 33 h 之前非常小^[8],导致在萌发初期,蛋白质含量变化较小;脂肪则在脂肪酶和脂肪氧合酶的作用下发生分解,转化为甘油和脂肪酸,为种子萌发提供能量;总糖含量呈先降低后升高趋势,与郭蓉等^[9]研究大麻种子萌发总糖含量变化趋势相同。这主要是在萌发初期芝麻总糖作为能量物质被消耗,随着萌发时间的延长,脂肪经三羧酸循环转化为碳

水化合物导致总糖含量上升。NSI 随萌发时间延长先升高后降低。

2.2 不同萌发时间芝麻木酚素含量变化(见图 1)

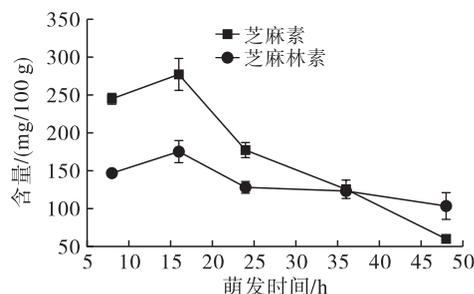


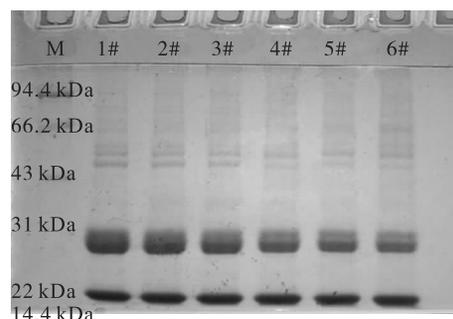
图 1 不同萌发时间芝麻素和芝麻林素含量变化

由图1可知,在芝麻萌发过程中,芝麻素和芝麻林素含量都呈现出先上升后下降的趋势,在萌发时间为16 h时芝麻素和芝麻林素含量达到最大,随后开始降低;在萌发过程中,芝麻素降解速率显著高于芝麻林素,萌发48 h后,芝麻素降解至60.08 mg/100 g,芝麻林素降解至103.61 mg/100 g。芝麻素和芝麻林素含量变化具有一致性。许兰杰等^[10]通过研究发现芝麻素和芝麻林素在芝麻萌发过程中呈现出慢-快的降解曲线。在本实验中,芝麻素和芝麻林素在16~24 h时降解速度最快,随后降低,这是由于萌发条件造成的差异性。Liu等^[6]研究芝麻萌芽发现,随着萌发时间的延长,芝麻素的含量依次为0.141 3%、0.169 4%、0.012 2%和0.003 7%,与本实验中芝麻素含量变化趋势一致。

2.3 SDS-PAGE凝胶电泳(见图2)

从图2可知,在萌发0 h时,在20 kDa和31 kDa处蛋白质含量丰富,在55 kDa处蛋白质条带较密集,但蛋白质含量较少,相对分子质量大于66.2 kDa蛋白质含量极少。随着萌发时间的延长,作为芝麻蛋白的主要组成,20 kDa蛋白质无显著变化,31 kDa处蛋白质含量逐渐降低,但降低较

少,因此这两种蛋白质构成了芝麻蛋白的主要储藏蛋白^[11]。55 kDa处蛋白质条带减少,高分子蛋白质逐渐消失,这可能是由于该部分蛋白质参与新陈代谢用于芝麻萌发^[12]。Chung等^[13]通过研究生育期芝麻蛋白发现,随着生育期的延长,部分芝麻蛋白在芝麻生长过程中出现和消失,这类蛋白质被认为与参与新陈代谢有关,在萌发过程中同样存在此现象,该类蛋白质参与芝麻萌发过程中新陈代谢而消失。



注:M.标准样品,1#~6#分别对应萌发时间0、8、16、24、36 h和48 h。

图2 不同萌发时间芝麻蛋白凝胶电泳图

2.4 芝麻氨基酸分析(见表2)

表2 不同萌发时间芝麻氨基酸组成

氨基酸	含量/%					
	萌发0 h	萌发8 h	萌发16 h	萌发24 h	萌发36 h	萌发48 h
Ala	1.80 ± 0.22 ^a	1.82 ± 0.08 ^a	1.52 ± 0.22 ^a	1.76 ± 0.04 ^a	1.63 ± 0.13 ^a	1.65 ± 0.22 ^a
Arg	4.77 ± 0.03 ^{bc}	4.78 ± 0.11 ^{bc}	5.74 ± 0.26 ^a	5.22 ± 0.27 ^{ab}	4.83 ± 0.56 ^{bc}	4.21 ± 0.21 ^c
Asp	2.63 ± 0.59 ^a	2.77 ± 0.49 ^a	2.77 ± 0.17 ^a	2.64 ± 0.33 ^a	2.55 ± 0.22 ^a	2.35 ± 0.26 ^a
Cys	0.29 ± 0.18 ^a	0.27 ± 0.31 ^a	0.85 ± 0.20 ^a	0.25 ± 0.28 ^a	0.55 ± 0.72 ^a	0.51 ± 0.67 ^a
Glu	8.34 ± 0.30 ^{ab}	8.57 ± 0.36 ^a	8.65 ± 0.53 ^a	8.83 ± 0.02 ^a	7.71 ± 0.18 ^{bc}	7.38 ± 0.15 ^c
Gly	1.77 ± 0.05 ^a	1.76 ± 0.12 ^a	1.87 ± 0.17 ^a	1.71 ± 0.08 ^{ab}	1.51 ± 0.02 ^{bc}	1.37 ± 0.03 ^c
His	1.88 ± 0.20 ^a	1.63 ± 0.24 ^a	1.87 ± 0.12 ^a	1.80 ± 0.16 ^a	1.96 ± 0.27 ^a	1.64 ± 0.13 ^a
Ile	1.52 ± 0.01 ^{ab}	1.52 ± 0.01 ^{ab}	1.46 ± 0.14 ^a	1.60 ± 0.04 ^{ab}	1.47 ± 0.05 ^{ab}	1.40 ± 0.02 ^b
Leu	2.83 ± 0.30 ^{ab}	2.88 ± 0.28 ^b	2.40 ± 0.28 ^a	3.16 ± 0.22 ^{ab}	2.81 ± 0.36 ^{ab}	2.56 ± 0.05 ^{ab}
Lys	1.35 ± 0.10 ^b	1.35 ± 0.01 ^b	1.66 ± 0.08 ^a	1.59 ± 0.09 ^{ab}	1.60 ± 0.16 ^{ab}	1.61 ± 0.08 ^a
Met	1.14 ± 0.03 ^b	1.19 ± 0.06 ^b	1.45 ± 0.14 ^a	1.27 ± 0.01 ^b	1.14 ± 0.03 ^b	1.15 ± 0.06 ^b
Phe	1.48 ± 0.19 ^a	1.49 ± 0.20 ^a	1.46 ± 0.16 ^a	1.59 ± 0.26 ^a	1.52 ± 0.08 ^a	1.31 ± 0.13 ^a
Pro	1.72 ± 0.37 ^a	1.56 ± 0.17 ^a	1.82 ± 0.14 ^a	1.74 ± 0.03 ^a	1.40 ± 0.29 ^a	1.70 ± 0.21 ^a
Ser	2.04 ± 0.34 ^a	2.08 ± 0.34 ^a	1.58 ± 0.16 ^a	2.06 ± 0.51 ^a	1.91 ± 0.49 ^a	1.92 ± 0.58 ^a
Thr	1.30 ± 0.12 ^b	1.43 ± 0.12 ^{ab}	1.52 ± 0.07 ^{ab}	1.72 ± 0.15 ^a	1.60 ± 0.18 ^{ab}	1.62 ± 0.20 ^a
Tyr	1.13 ± 0.28 ^a	1.18 ± 0.30 ^a	1.14 ± 0.11 ^a	1.36 ± 0.24 ^a	1.29 ± 0.19 ^a	1.20 ± 0.10 ^a
Val	1.77 ± 0.13 ^a	1.89 ± 0.05 ^a	2.39 ± 0.17 ^a	2.17 ± 0.44 ^a	2.01 ± 0.24 ^a	1.90 ± 0.35 ^a

从表2可以看出,芝麻中谷氨酸(Glu)和精氨酸(Arg)含量最高,分别占总氨基酸的22.09%和12.63%,谷氨酸和氯化钠作用产生鲜味^[14],精氨酸对芝麻油风味形成具有重要作用^[15],在萌发过程中,谷氨酸、精氨酸和甘氨酸(Gly)含量显著降低,苏氨酸(Thr)含量显著升高。随着萌发时间的延长,必需氨

基酸占总氨基酸含量整体上升,这与芝麻生育过程中必需氨基酸占总氨基酸含量逐渐降低相反^[16]。

2.5 芝麻蛋白氨基酸评分

称取一定量1.2.2冷榨芝麻粕在提取时间3 h、料液比1:10、提取pH 10、提取温度50℃、酸沉pH 4条件下,通过碱溶酸沉法制备芝麻蛋白。以此芝麻

蛋白为原料按 1.2.6 进行氨基酸相关指标计算,对芝麻蛋白氨基酸进行评分,结果见表 3。

表 3 不同萌发时间芝麻蛋白氨基酸比值系数及比值系数分

项目	萌发 0 h	萌发 8 h	萌发 16 h	萌发 24 h	萌发 36 h	萌发 48 h
RC_{Thr}	0.92	0.98	0.96	1.05	1.06	1.11
RC_{Val}	1.00	1.04	1.19	1.06	1.06	1.05
RC_{Met}	0.92	0.93	1.02	0.89	0.86	0.90
RC_{Ile}	1.08	1.04	1.02	0.98	0.97	0.97
RC_{Leu}	1.14	1.13	0.98	1.11	1.06	1.01
RC_{Lys}	0.70	0.67	0.77	0.71	0.76	0.81
$RC_{Phe+Tyr}$	1.23	1.22	1.06	1.20	1.24	1.31
SRC	56.89	57.70	68.69	60.32	62.22	59.95

从表 3 可以看出,在萌发过程中,芝麻蛋白氨基酸评分(以 SRC 表示)呈现先升高后降低的趋势。赖氨酸(Lys)在萌发过程中氨基酸比值系数最小,表明在整个萌发过程中赖氨酸始终作为芝麻第一限制性氨基酸;缬氨酸(Val)和苯丙氨酸(Phe) + 酪氨酸(Tyr)在整个萌发过程中比值系数大于 1,表明芝麻蛋白能够作为缬氨酸和苯丙氨酸 + 酪氨酸的补充剂;苏氨酸在萌发过程中比值系数呈现逐渐升高的趋势,表明萌发过程对苏氨酸的形成有促进作用;亮氨酸(Leu)在萌发过程中氨基酸比值系数逐渐下降,萌发过程对亮氨酸的形成具有抑制作用;异亮氨酸(Ile)和甲硫氨酸(Met)在萌发过程中氨基酸比值系数变化不大。

萌发过程中的芝麻蛋白氨基酸比值系数分高于绿豆芽蛋白和苦荞蛋白,但低于桑叶蛋白和大豆蛋白^[17-18],在萌发过程中,萌发 16 h 时氨基酸比值系数分最大,表明此时芝麻氨基酸营养价值最高。

3 结 论

芝麻在萌发过程中总糖作为营养成分首先被消耗,随着萌发时间的延长,在脂肪酶和脂肪氧合酶作用下脂肪酸代谢成短链碳并进入代谢循环,此过程能够合成碳水化合物,一定程度上促进总糖含量的上升,芝麻粗蛋白质含量在整个萌发过程中无显著变化, NSI 则在萌发 8 h 时达到最大,芝麻素和芝麻林素含量呈现出先升高后降低的趋势,在萌发 16 h 时,芝麻素和芝麻林素含量最大。经凝胶电泳分析发现,20 kDa 和 31 kDa 构成芝麻储藏蛋白,55 kDa 处蛋白在芝麻萌发过程中参与新陈代谢。芝麻中谷氨酸和精氨酸含量最高,必需氨基酸占总氨基酸含量随萌发时间延长而升高;通过对经碱溶酸沉制备芝麻蛋白进行氨基酸评分发现,芝麻蛋白氨基酸评分在萌发 16 h 时达到最高。

参考文献:

[1] 黄国平. 萌动食品的研制[J]. 食品科技, 2006, 31

(2):22-25.

- [2] 李振艳, 张永忠, 赵昇辛, 等. 亚临界水法提取萌发大豆中的异黄酮[J]. 中国油脂, 2010, 35 (3):63-66.
- [3] 刘玉兰, 王丹, 刘瑞花, 等. 萌动芝麻及萌动芝麻油的品质研究[J]. 粮食与油脂, 2015(3):51-54.
- [4] 张丽霞, 芦鑫, 宋国辉, 等. 萌芽对芝麻品质及芝麻酱风味的影响[J]. 中国食物与营养, 2016, 22 (2):54-58.
- [5] HAHM T S, PARK S J, MARTIN L Y. Effects of germination on chemical composition and functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds[J]. Bioresour Technol, 2009, 100 (4):1643-1647.
- [6] LIU B G, GUO X N, ZHU K X, et al. Nutritional evaluation and antioxidant activity of sesame sprouts[J]. Food Chem, 2011, 129 (3):799-803.
- [7] 胡华丽, 梅鸿献, 刘日斌, 等. 芝麻种子发育过程中木酚素、脂肪及蛋白质积累量变化研究[J]. 华北农学报, 2014, 29 (1):190-194.
- [8] 李淑艳, 王建中. 大豆种子萌发过程中蛋白质的变化[J]. 中国种业, 2009(4):41-43.
- [9] 郭蓉, 郭孟璧, 陈璇, 等. 大麻种子萌发时总糖和还原糖含量的动态变化及其检测方法优化[J]. 山地农业生物学报, 2017, 36 (1):50-53.
- [10] 许兰杰, 余永亮, 杨红旗, 等. 芝麻素和芝麻林素在芝麻种子萌发阶段变化规律的研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31 (24):106-110.
- [11] LUTHE D S. Electrophoretic analysis of seed proteins in the dicotyledoneae[J]. Plant Mol Biol Report, 1992, 10 (10):254-262.
- [12] SHABAN M. Biochemical aspects of protein changes in seed physiology and germination[J]. Int J Adv Biol Biomed Res, 2013, 1 (8):885-898.
- [13] CHUNG C H, YEE Y J, KIM D H, et al. Changes of lipid, protein, RNA and fatty acid composition in developing sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds [J]. Plant Sci, 1995, 109 (2):237-243.
- [14] 王芳, 乔璐, 张庆庆, 等. 桑叶蛋白氨基酸组成分析及营养价值评价 [J]. 食品科学, 2015, 36 (1):225-228.
- [15] WAUTIER M P, TESSIER F J, WAUTIER J L. Advanced glycation end products: a risk factor for human health[J]. Ann Pharm Fr, 2014, 72 (6):400-408.
- [16] 常旭虹, 赵广才, 王德梅, 等. 生态环境对春小麦籽粒氨基酸含量的影响[C]. 北京:中国作物学会学术年会论文集, 2014.
- [17] 郑少杰, 任旺, 张小利, 等. 绿豆芽萌发过程中氨基酸动态变化及营养评价[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42 (10):81-86.
- [18] 周一鸣, 崔琳琳, 王宏, 等. 苦荞在萌发过程中营养物质的变化及其营养评价[J]. 食品科学, 2014, 35 (13):208-212.