

小麦谷蛋白大聚合物研究现状与进展

杨淑萍, 张宏纪

(黑龙江省农业科学院作物育种研究所, 哈尔滨 150086)

摘要: 小麦是重要的粮食作物。蛋白质含量水平及其组分影响小麦品质。其中麦谷蛋白大聚合物是其组成中分子量最大的一部分蛋白质, 其含量反映着麦谷蛋白聚合体的粒度分布。详细介绍了麦谷蛋白大聚合体的分离方法, 麦谷蛋白大聚合物含量及粒度分布对小麦品质的影响及其影响的作用机制。

关键词: 小麦; 品质; 麦谷蛋白大聚合物

中图分类号: S512.1⁺2 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2008)03-0126-04

Advance on Wheat Glutenin Macropolymer

YANG Shu-ping, ZHANG Hong-ji

(Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: Wheat is an important crop in the world. Protein content and its components influence wheat quality. Wheat glutenin macropolymer is the protein component with largest molecular weight and its content imply the size distribution of polymeric protein. In this paper we elaborated isolation of macropolymer and its effect on wheat quality as well as working mechanism of macropolymer.

Key words: wheat; quality; glutenin macropolymer

小麦作为重要的粮食作物, 在为人类生产大量碳水化合物的同时, 也提供了特殊的植物型“肌肉”蛋白质, 因此, 其在农业生产上占有特殊地位。随着社会的发展, 膳食结构的改变及市场需求的急剧变

收稿日期: 2008-03-18
基金项目: 黑龙江省国际科技合作计划项目(WC02210)
第一作者简介: 杨淑萍(1971-), 女, 黑龙江友谊人, 讲师, 从事作物育种研究与科研管理工作。E-mail: ysp4518@163.com。

以及所处的环境和制约因素, 为自己确立职业目标, 选择职业道路, 确定教育计划和培训计划, 并为自己实现职业生涯目标而确定行为方向、行动时间和行动方案。大学时期是个人职业生涯早期的学习探索阶段, 在这一时期, 个人将认真地探索各种可能的职业选择, 对自己的天资和能力进行现实的评价, 并根据未来的职业选择做出相应的教育决策, 最终完成自己的就业。因此, 在指导学生进行职业生涯时, 应首先让大学生特别是贫困学生, 对自己、对职业、对未来都有明确的认识, 确定自己的理想目标取向和能力取向^[2]。我校近年来, 利用引进职业测评软件、邀请知名校友等载体为学生提供对自我职业认识的机会, 收到了良好的效果。

高校也应以社会实践活动为平台, 不断创新社会实践形式, 积极探索和建立社会实践与专业学习、服务社会、勤工助学、就业创业等相结合的工作机制。一方面, 管理者要鼓励他们积极参加学校、学院的学生会组织或各种社团组织, 另一方面, 组织他们积极参加学习考察、社会调查、生产劳动、志愿服务、公益活动、科技发明和勤工助学等社会实践和职业

训练, 使他们开阔视野, 拓展思路, 提高动手动脑、解决实际问题的能力, 同时更早地了解职业, 掌握职业技能, 提高心理承受能力, 提高未来职业工作的适应性^[3]。

贫困大学生激励管理问题是相当长时期里高校存在的一个十分重要且敏感的问题。因此, 高校特别是农科高校需要从管理、经济、思想和政治等诸多角度全面细致地做好贫困生激励管理工作。健全的机制、完善的制度、科学的方法、深入细致的思想政治工作是做好贫困生管理工作的基础, 正确的激励措施更是实现贫困大学生管理目标, 造就更多优秀人才的重要手段。我们在学生管理工作中要灵活运用, 把它们有机地结合起来, 这样才会取得更好的效果。

参考文献:

[1] 唐丽珍. 奖学金评定工作中的激励理论效应浅探[J]. 宁波大学学报教育科学版, 2003(2): 51-53.

[2] 杨彬. 高校学生管理工作的人文激励机制[J]. 船山学刊, 2004(3): 189-190.

[3] 陈仲胜. 高校学生管理工作的新理念[J]. 鹭江职业大学学报, 2004(1): 59-62.

化, 人类对小麦生产要求越来越高, 已由最初的数量效益型逐渐转向质量效益与数量效益相结合的高效型生产模式发展。为满足这种条件下小麦种植业发展最基本的经济效益与社会效益的要求, 国内外学者在兼顾小麦产量性状选择的同时又更加重视其品质特性及遗传改良^[1], 因此, 小麦品质特性的研究已成为当今农业发展的重大科技问题。小麦品质分为营养品质与加工品质, 其中加工品质又分为一次加工(即磨粉品质)与二次加工品质(即食品品质), 前者主要由出粉率来衡量, 受籽粒性状的影响较大。有关后者的评价方法, 主要包括面包品质评价, 以及与其相关的面筋含量、沉降值和面团的流变学性质等。在用不同的方法来评价时, 其结果主要受籽粒内蛋白质含量水平及其组分差异的影响。其中作为蛋白质组分的麦谷蛋白大聚合体是其组成中分子量最大的一部分蛋白质, 其含量反映着麦谷蛋白聚合体的粒度分布(size distribution)。有关其含量与小麦烘烤品质相关性的研究近年来已成为一个新的热点^[2-3]。

1 小麦谷蛋白大聚合体的分离方法

麦谷蛋白聚合体的粒度划分主要根据籽粒蛋白组分的溶解性与分子量级别不同而定, 小麦籽粒蛋白质根据其结构状态可分为: 单体蛋白(清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白)和聚合体蛋白(麦谷蛋白), 而聚合体蛋白在 SDS-缓冲液或 50%的正丙醇溶液以及其它一些溶液中可被分成两部分, 即可溶性部分(可提取)和不溶性部分(不可提取), 其中, 最大分子量的麦谷蛋白的聚合体主要存在于不溶性组分中。为了区别于分子量较小的可溶性麦谷蛋白, 一般将不溶性的分子量最大的麦谷蛋白称为麦谷蛋白大聚合体。麦谷蛋白大聚合体的不溶性在一定条件下可以转变为可溶性, 这种转变条件需要强还原剂(DTT 等)、超声波处理或酸碱降解作用等来保证。许多方法正是依据这些特性进行小麦大麦谷蛋白的提取与定量分析, 从而研究胚乳蛋白聚合体的粒度分布。

1.1 以 SDS 缓冲液为提取剂的分离法

该方法用 SDS 缓冲液为提取剂将可溶性与不溶性组分分离开, 再结合 SE-HPLC 进行各组分的定量分析。大致操作如下, 先用 0.05 M 的磷酸缓冲液将脂类与非贮藏蛋白排除, 然后 0.5%SDS 缓冲液重新溶解上述沉淀物, 离心后可溶性组分存在于上清液中, 而不溶性的麦谷蛋白大聚合体存在于

沉淀物中。后者再重悬浮于 2%的 SDS 缓冲液中, 并经超声处理, 使不溶性的麦谷蛋白大聚合体转变为可溶性的麦谷蛋白亚基, 离心后, 使用 SE-HPLC 技术分析不同组分的含量。不同的研究者在采取 SE-HPLC 技术时所选用的洗提柱子不同, 最后所测得的各组分分子量也有所不同。Gapta 等将分子量大于 158 kd 部分作为麦谷蛋白聚合体^[3]。M H Morel 将分子量大于 630 kd 的 F₁作为麦谷蛋白大聚合体含量, 将分子量介于 630 kd 与 116 kd 之间的 F₂组分作为可溶性麦谷蛋白聚合体^[4]。J Lefebvre 将分子量大于 500 kd 部分作为麦谷蛋白大聚合体, 小于 500 kd 大于 70 kd 部分为中等麦谷蛋白聚合体, 小于 70 kd 部分为单体醇溶蛋白^[5]。虽然这些研究在分子量的划分上稍有不同, 但他们一般以上述分离时所获得的不同组分在面粉中的比例或在面粉蛋白质中的比例来反映胚乳蛋白质的粒度分布。此类方法对蛋白质的分类精细, 在分析大聚合体含量同时, 又给予了其它蛋白质组分的量化指标。不过, Ciaffi 在采取 SE-HPLC 技术结合超声处理分析麦谷蛋白聚合体含量时指出, 这种分析结果因品种有显著差异, 另外, 使用超声技术提取蛋白质所需时间过长, 不利于样品的快速分析^[6]。

1.2 以醇类为提取剂的分离法

此法是根据面粉蛋白质在 50%正丙醇中的溶解性, 同时结合化学还原剂提取包括麦谷蛋白大聚合体在内的各种蛋白组分, 此法经多次沉淀, 过程也较为复杂。先用 50%的正丙醇将蛋白质分为两部分, 一部分为 50%正丙醇可溶部分(50PS)包括单体蛋白质(清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白)和可溶性麦谷蛋白。另一部分为沉淀物即 50%正丙醇不溶部分(50PI), 主要包括不溶性的麦谷蛋白聚合体与残余蛋白。其中 50PS 部分再经选择性沉淀可分为 70PS 与 70PI, 后者主要是可溶性的麦谷蛋白聚合体及部分 ω -醇溶蛋白。50PI 部分经化学还原剂处理后, 其中的麦谷蛋白大聚合体被降解为可溶性蛋白质而存在于提取液中。最后经过 RP-HPLC 或 SDS-PAGE 技术分析麦谷蛋白聚合体的含量^[7]。近来 S R Bean 又提出了一种快速测量大分子麦谷蛋白聚合体的方法^[8]。其方法原理主要根据面粉蛋白质在 50%正丙醇中的溶解性, 并结合氮素燃烧法进行麦谷蛋白大聚合体的快速测定, 其提取过程与上述方法有相似之处, 先用 50%的正丙醇处理样品, 为彻底转移单体蛋白, 可以增加提取次数, 这样离心后所

得沉淀物成分主要为不溶性的麦谷蛋白大聚合体, 沉淀物经干燥处理后(130 ℃, 1 h)利用氮素燃烧测定仪分析氮的含量而估算麦谷蛋白大聚合体的比例。在选择提取剂时 S R Bean 也比较了甲醇、乙醇、正丙醇溶液转移单体蛋白与可溶性蛋白的能力, 他发现 50% 正丙醇溶液能最有效地提取可溶性聚合体蛋白与单体蛋白, 虽然 50% 的甲醇提取单体蛋白及能力与 50% 正丙醇相似, 但前者对可溶性聚合体的提取能力明显不足, 而乙醇液处于二者之间。Gupta 等证实, SDS 溶液提取后剩余的主要为不溶性的麦谷蛋白大聚合体^[2]。为检验 50% 正丙醇转移可溶性麦谷蛋白聚合体的能力, S R Bean 比较了 2% SDS、200 mM 醋酸与 50% 正丙醇之间关系^[8], 他发现虽然三种溶剂在转移可溶性麦谷蛋白聚合体时有相似结果, 但是 2% SDS 能更多地提取可溶性聚合体蛋白, 较 50% 的正丙醇多 16%, 较 200 mM 的醋酸多 17%。但是作者使用氮燃烧法分析麦谷蛋白大聚合体时之所以未选用 SDS 提取液, 主要归因于 SDS 提取液或醋酸液处理样品后, 沉淀物难以干燥, 这样对氮燃烧测定结果造成的误差更大, 而不利样品的准确分析。与上述两种方法相比, 后一种方法快速、简单、重复性好, 可以短时间内分析大批量样品, 较为适合于育种后代群体材料的聚合体筛选。

为了精确研究麦谷蛋白聚合体对小麦品质的影响, 人们不断提出新的研究方法。熊玉英等在 Fu 等和 S R Bean 蛋白提取方法的基础上^[7-8], 用 0.125 mol·L⁻¹ 乙二胺四乙酸钠盐在 60 ℃下预处理 1 h, 然后再在 60 ℃下用 45% 正丙醇提取单体蛋白, 最后用样品提取液进行谷蛋白大聚合体的提取。谷蛋白大聚合体亚基的定量采用 Alpha Innotech 公司的 ChemilmagerTM 4400 型凝胶成像扫描仪分析^[9]。该法提取彻底, 并且蛋白各组间交叉污染较少, 适于谷蛋白大聚合体亚基准确定量测定。王世杰等采用了化剂法^[10]。以 5-磺基水杨酸-无水硫酸钠(SSA-SS)和三氯乙酸(TCA)为浊化剂, 再用酶标仪测定不同基因型小麦的谷蛋白大聚合体提取液的吸光值。结果表明, 以 SSA-SS 为浊化剂时, 各种基因型小麦谷蛋白大聚合体提取液的吸光值在 30 min 内具有较好的稳定性; 以 TCA 为浊化剂时, 该指标提取液的吸光值随时间不断增加。说明比浊法测定小麦谷蛋白大聚合体含量时, 以 SSA-SS 为浊化剂, 加样振荡后 10 ~ 30 min 内测定的结果最为稳定。

2 麦谷蛋白大聚合体对小麦品质的影响

麦谷蛋白聚合体含量及粒度分布影响面筋的烘烤品质。虽然面筋蛋白质对烘烤品质全面作用机理至今还不十分清楚, 但是麦谷蛋白大聚合体已成为小麦品质研究不可缺少的一项重要内容。Orth 和 Bushuk 在 1972 年就已指出, 不溶于醋酸的麦谷蛋白与一些烘烤指标高度相关^[11]。后来的一些研究者在采用不同方法研究聚合体的作用时都发现不溶性麦谷蛋白聚合体与烘烤品质的这种正相关作用^[2-3], 但在麦谷蛋白大聚合体与品质参数相关性研究中, 以何种方式比较其与品质的相关程度, 结果又存在一定差异。Gupta 认为, 与总蛋白质含量相比, 面粉中的总聚合体蛋白质并不是预测面团强度的最佳指标, 他指出, SDS 不溶性聚合体蛋白在总蛋白质中的比例或在总聚合体蛋白质中的相对比例(二者与品质都强烈相关)为预测面团强度提供了最可靠的生化标准^[2]。Eva Johansson 的研究也表明, 品种面筋强度的变异不是由于总的聚合体蛋白含量增加引起的, 而是因为聚合体蛋白质中 SDS-可溶性成分向 SDS 不溶性大聚合体蛋白质转变引起的, 他又进一步指出, 这种转变可能主要归因于 HMW-GS 的增加而导致 Glu/Gli 之比的增大^[12]。最近 S R Bean^[8]在采取快速方法测定面粉中不溶性麦谷蛋白聚合体时发现, 供试的 28 个硬红冬小麦样品的不溶性聚合体蛋白质的含量与一些烘烤参数相关, 其中面粉蛋白质含量与不溶性聚合体的含量高度相关, 而不溶性聚合体蛋白的相对含量(不溶性聚合体蛋白含量/面粉蛋白质含量)仅仅是微弱地与面粉蛋白质含量相关联, 这表明, 具有高面粉蛋白含量的品种, 不一定形成高百分比的不溶性聚合体蛋白质。同时, 他也发现, 不溶性聚合体的相对含量与面粉吸水率、和面时间以及烘烤和面时间都显著相关。但是 S R Bean 在比较不溶性聚合体蛋白质绝对含量与面包烘烤体积相关性时, 其结果与 Gupta 等^[2]的结果不一致, 前者认为, 不溶性麦谷蛋白聚合体的绝对含量与面包烘烤体积相关性更高。

3 麦谷蛋白大聚合体影响小麦品质的作用机制

有关麦谷蛋白大聚合体与品质相关性研究, 个别品质性状上观点稍有不同, 这可能与所选材料及环境条件有关。但有一点可以肯定, 麦谷蛋白大聚合体不仅影响小麦品质, 而且还是决定其烘烤品质

的一个重要指标,作为品质代表性指标,优于面筋和蛋白质含量^[2]。有关其作用机理 Weegels 认为, SDS-不溶性麦谷蛋白聚合体虽然受环境影响,但其主要受遗传因素的控制^[3]。Carceller J L 选用了 2 个具有相同含量可溶性麦谷蛋白而 HMW-GS 含量明显不同的供试品种,通过采用新型 PSEC-MALLS 技术研究麦谷蛋白聚合体的粒度特性时发现,总聚合体的粒度分布与麦谷蛋白中的 HMW-GS 百分比高度相关,同时 SDS 不溶性麦谷蛋白比 SDS 可溶性麦谷蛋白除具有较高的分子量级别外,而其分子结构也更为紧密^[13]。Popineau Y 也证实, HMW-GS 组成不同将影响麦谷蛋白聚合体的粒度分布,在经过红外线傅立叶变换对降低的反射附加分析结果证实,面筋中较高的 β -折叠结构与麦谷蛋白大聚合体的含量以及网络状结构有关系^[14]。J Lefebvre 又在常温下的检验证实,粘弹性取决于麦谷蛋白聚合体,麦谷蛋白大聚合体的丰度有赖于品种(系)的 HMW-GS 组成,他通过 HMW-GS 的 1A/1B 双缺系与 1A/1D 双缺系的比较,突出地表明了面筋这种机能特性的不同与亚基的结构紧密相关^[5]。赵会贤等研究表明,不同基因型影响籽粒聚合体蛋白粒度大小相对分布。Glu-B1、Glu-D1、Glu-A3 和 Glu-B3 的 4 个位点上不同等位基因聚合体蛋白大小相对分布显著不同。Glu-1 位点和 Glu-3 位点间对籽粒聚合体蛋白大小相对分布的影响存在累加和互作效应^[15]。

上述有关麦谷蛋白大聚合体对品质作用机制的研究表明, HMW-GS 在这种作用机制中起着重要作用,即 HMW-GS 通过麦谷蛋白特别是麦谷蛋白大聚合体的含量及粒度分布与面包烘烤品质间接相关。因此结合 HMW-GS 来研究麦谷蛋白大聚合体与各品质参数的相关性将成为小麦品质改良的重要内容。

参考文献:

[1] 朱金宝,刘广田,张树榛. 基因型和环境对小麦烘烤品质的影响[J]. 作物学报, 1995, 21(6): 679-684.

[2] Gupta R B Khan K, MacRitchie F. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I Effects of variation in quality and size distribution of polymeric protein[J]. J. Cereal Sci., 1993, 17: 3-41.

[3] Weegels P L, Pijpekamp A M, Vande Graveland A, et al. Depolymerisation and repolymerisation of wheat glutenin during dough processing. I. Relations between glutenin macropolymer content and quality parameters[J]. J. Cereal. Sci., 1996, 23: 103-114.

[4] Morel M H, Dehlon P, Autran J C. Effects of temperature, sonication time and power setting on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography[J]. Cereal Chem., 2000, 77(5): 685-691.

[5] Lefebvre J, Popineau Y, Deshayes G, et al. Temperature-induced changes in the dynamic rheological behavior and size distribution of polymeric proteins for gluteins from wheat near-isogenic lines differing in HMW glutenin subunits composition[J]. Cereal Chem., 2000, 77(2): 193-201.

[6] Ciaffi M, Tozzi L, Lafiandra D. Relationship between flour protein composition determined by size-exclusion HPLC and dough rheological parameters[J]. Cereal Chem., 1996, 73: 346-351.

[7] Fu B X, Sapirstein H D. Procedure for isolating monomeric proteins and polymeric glutenin of wheat flour[J]. Cereal Chem., 1996, 60: 65-71.

[8] Bean S R, Lyne R K, Tilley K A. A rapid method for quantitation of insoluble polymeric protein in flour[J]. Cereal Chem., 1998, 75(3): 374-379.

[9] 熊玉英,张春庆,李中存,等. 小麦谷蛋白大聚合体亚基定量分析技术研究[J]. 作物学报, 2005, 31(3): 374-380.

[10] 王世杰,康明辉,尤明山,等. 两种浊化剂在小麦谷蛋白大聚合体测定中的有效性[J]. 麦类作物学报, 2002(6): 56-59.

[11] Orth R A, Bushuk W A. Comparative study of the proteins of wheat of diverse baking qualities[J]. Cereal Chem., 1972, 49: 268-275.

[12] Johansson E, Svensson G, Tsegaye S. Genotype and environment effects on bread making quality of Swedish grown wheat cultivars containing high-molecular weight glutenin subunits 2 + 12 or 5 + 10[J]. J. Soil and plant science, 1999, 49(4): 225-233.

[13] Carceller L, Aussenac T. Size characterisation of glutenin polymers by HPSEC-MALLS[J]. Crop Science, 2001, 33(2): 131-142.

[14] Popineau Y, Cornec M, Lefebvre J, et al. Influence of high Mr glutenin subunits on gluten polymers of wheat Sicca[J]. J. Cereal. Sci., 1994, 14: 231-241.

[15] 赵会贤,胡胜武,吉万全,等. 麦谷蛋白 Glu-1 和 Glu-3 位点等位基因变异对籽粒聚合体蛋白粒度分布的影响[J]. 中国农业科学, 1998, 31(1): 69-75.

2008 年 4 月黑龙江省农业科学院
第三批科技副县长奔赴农业主战场