

大麦蛋白质的组成研究

薛洁

(中国食品发酵工业研究院,北京 100027)

摘要: 利用SDS-PAGE电泳技术,对酿酒原料大麦的蛋白质组成进行了系统的分析。研究发现,不同品种大麦的水溶、盐溶及碱溶蛋白质组成基本相同,而醇溶蛋白质存在显著差异,醇溶蛋白质分子量区别主要在30000~45000 Da之间,因此醇溶蛋白质可作为品种鉴定的依据。

关键词: 大麦; 蛋白质; SDS-PAGE

中图分类号: S512.31; TS261.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2003)04-0067-03

Research on the Composition of Proteins of Barley

XUE Jie

(China Food Fermentation Industry Research Academy, Beijing 100027, China)

Abstract: Systemic analysis of the composition of proteins of barley was done by the application of SDS-PAGE electrophoresis techniques. And the research results indicated that the composition of water-soluble proteins, salt-soluble proteins and alkali-soluble proteins was basically the same for barley of different varieties. However, evident difference of the composition of alcohol-soluble proteins was found and the 30000~45000 Da differentiation in molecular weight was the main evidence. Accordingly, alcohol-soluble proteins could be used as the evidence for the determination of barley varieties. (Tran. by YUE Yang)

Key words: barley; protein; SDS-PAGE

啤酒的质量主要取决于原料,如大麦及各种辅料的质量,不同品种的大麦,在遗传因素及栽培地生态条件等因素的影响下,其酿酒特性存在很大差异,因此,如何进行品种鉴定对啤酒酿造者来讲非常重要。

蛋白质是酿酒原料一项关键的控制指标,在啤酒制造过程中,它对大麦发芽、糖化、发酵以及最后成品酒的泡沫、风味、稳定性等指标都有很大影响。许多研究者提出,影响大麦质量的一个重要因素是贮藏蛋白的质量,谷物胚乳中绝大部分是谷醇溶蛋白(Shewry, 1995),在大麦中,主要是醇溶蛋白,占大麦胚乳蛋白质的50%~60%(Shewry et al, 1977)^[1]。通过SDS-PAGE分析发现,根据醇溶蛋白的组成,大麦具有特异性(Doll & Brown, 1979)^[2],由于品种的迁移性和对环境的依赖性,电泳技术可以用来鉴别不同品种的大麦及不同栽培条件下的品种特性(Shewry et al 1980 & Marchylo 1987)^[3]。

利用电泳技术,对酿酒原料大麦的蛋白质组成进行了研究,为大麦的品种鉴定提供了依据。

1 材料和方法

1.1 大麦品种

(1)加麦:Harrington; (2)欧麦:Pearl; (3)澳麦:Schooner; (4)澳麦:Gairdne; (5)国产大麦:甘啤三号; (6)澳麦:Stein; (7)国产大麦:单95168; (8)国产大麦:鉴27; (9)加麦:Excel; (10)国产大麦:港啤一号; (11)国产大麦:单二; (12)国产大麦:京26; (13)国产大麦:甘肃省永昌县84号。

1.2 大麦蛋白质的提取^[4]

取磨碎的大麦0.1 g,加1 ml蒸馏水,60℃水浴中提取1 h,离心

取上清液,作为水溶蛋白(清蛋白);在沉淀中再添加5% (w/v) NaCl溶液1 ml,重复提取过程,上清液为盐溶蛋白(球蛋白);在沉淀中再添加70%乙醇(含少量巯基乙醇)溶液1 ml,重复提取过程,获得醇溶蛋白;剩余的沉淀中添加0.2%的NaOH溶液1 ml,重复提取过程,获得碱溶蛋白质(谷蛋白)。

1.3 SDS-PAGE电泳^[4]

电泳技术采用不连续电泳方法,胶浓度为12%。首先需要将蛋白质样品用样品处理液溶解,煮沸3 min后上样。电泳图谱利用分析软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 大麦中不同性质蛋白质的基本情况

将大麦的水溶、盐溶、醇溶及碱溶蛋白质分别进行分析,结果如图1~图9所示。

2.1.1 大麦水溶蛋白质的分析结果(图1)

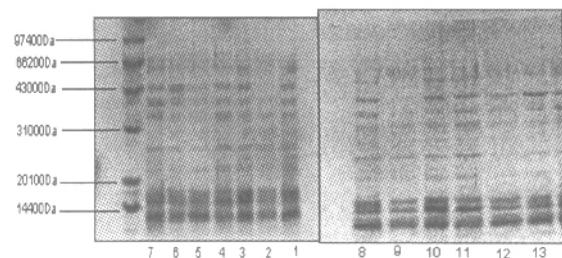


图1 不同大麦品种水溶蛋白质SDS-PAGE图谱

从电泳图谱中可以发现,不同品种大麦的水溶蛋白质组成基

收稿日期:2003-04-29

作者简介:薛洁(1974-),女,陕西人,硕士,工程师,现工作于中国食品发酵工业研究院酿酒技术研发部。

本相同,大麦的水溶蛋白质主要是清蛋白,存在于胚乳细胞的糊粉层中,包括绝大部分的酶蛋白,如β-淀粉酶,主要有9种不同分子量的蛋白质,见图2。

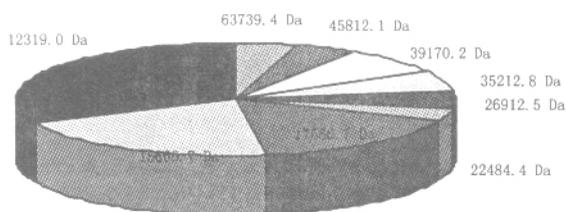


图2 不同分子量的水溶蛋白质相对含量图

相对含量图明显显示,低分子量的蛋白质 (<2000 Da)占到整个水溶蛋白质总量的60%以上,其他分子量的蛋白质含量基本相差不多。

2.1.2 大麦盐溶蛋白质的分析结果 (图3)

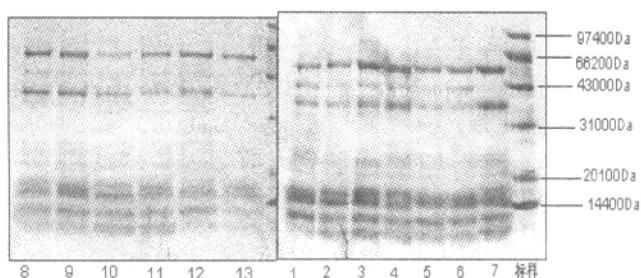


图3 不同大麦品种盐溶蛋白质SDS-PAGE图谱

大麦的盐溶蛋白质主要是球蛋白(见图3),不同品种大麦的球蛋白组成基本相同,也包括9种不同分子量的蛋白质(见图4)。从图4中可以看出,盐溶蛋白质中大、中、小分子量蛋白质分布比较均匀,和水溶蛋白质的分布相比较,其小分子量蛋白质的相对含量减少,而大分子量含量相应的有所增加(见图4)。

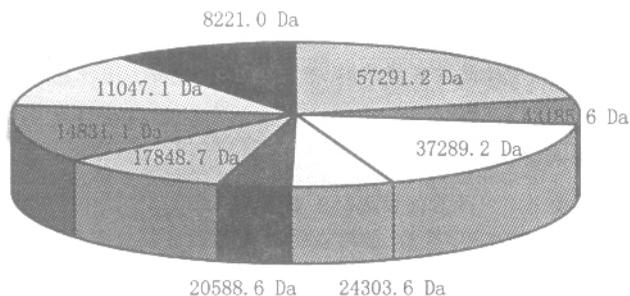
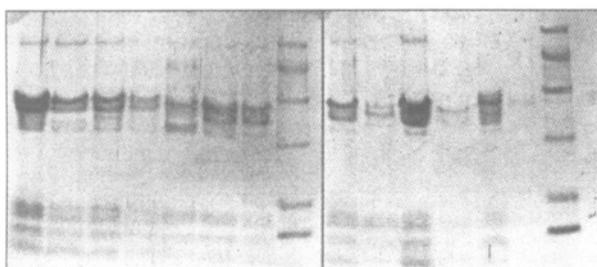


图4 不同分子量的盐溶蛋白质相对含量图

2.1.3 大麦醇溶蛋白质的分析结果 (图5)



注:图谱中品种的顺序依次为1 2 3.....等。图的最右方为标准蛋白质,分子量依次为97400 66200 43000 31000 20100 14400 Da。

图5 不同品种大麦醇溶蛋白质SDS-PAGE图谱

大麦的醇溶蛋白包含醇溶蛋白和部分谷蛋白,从图5可以发现,不同品种大麦的醇溶蛋白质SDS-PAGE图谱不同。而且品种间醇溶蛋白的区别主要在30000~45000 Da之间,不同品种在该区间内蛋白质的组成和含量不同,因此,醇溶蛋白质的测定在大麦的品种鉴定中具有很重要的作用。

2.1.4 大麦碱溶蛋白质的分析结果 (图6)

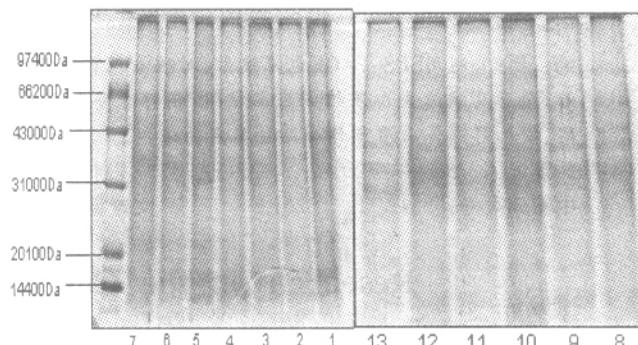
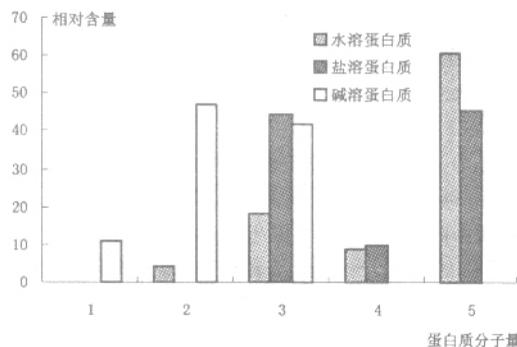


图6 不同品种大麦碱溶蛋白质的SDS-PAGE图谱

不同品种大麦的碱溶蛋白质组成完全相同,碱溶蛋白质主要含3种分子量的蛋白质,该3种蛋白质分子量普遍偏高 (>40000 Da),而低分子量的条带相对含量非常低。有报道说碱溶蛋白质包括许多靠二硫键连接的多肽,这些蛋白质含有高含量的脯氨酸和谷氨酸,这两种氨基酸是麦汁中主要的氨基氮化合物。

2.1.5 不同品种大麦水溶、盐溶及碱溶蛋白质间的关系 (图7)



注:图中横坐标表示蛋白质分子量范围,1 >90000 Da 2 60000~90000 Da 3 30000~60000 Da 4 20000~30000 Da 5 <20000 Da。

图7 不同品种大麦水溶、盐溶及碱溶蛋白质间的关系

从图7中明显发现,大麦的碱溶蛋白质包括大多数高分子的蛋白质,水溶蛋白质中低分子量的蛋白质所占比重较高,而盐溶蛋白质主要分布在中、低两部分间。因此,相对于其他两种类型的蛋白质而言,碱溶蛋白质与啤酒的非生物稳定性关系更为密切。

2.2 大麦醇溶蛋白质的研究结果

为了研究大麦醇溶蛋白质的性质,我们对8个不同品种大麦的SDS-PAGE图谱进行了分析,结果如图8。

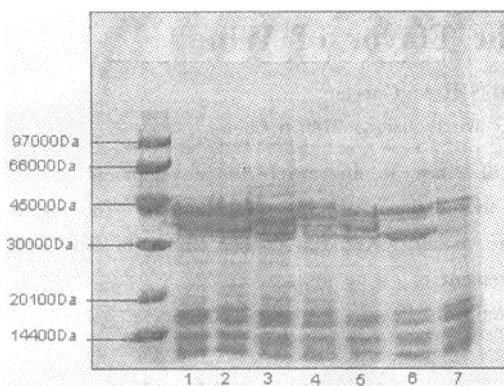
从图8中可以看出品种间的差异性,表1列出了不同品种所含的蛋白质种类及相对含量。

不同品种的蛋白质条带一般在10到15条之间,这些数据和Marchylo & Laberge (1981)报道的有些相似,他们发现加拿大种植的大麦蛋白质条带最多为15条。电泳图谱显示,不同品种的蛋白质组成不同,但分布情况基本相同。

根据电泳图谱,可将醇溶蛋白质分为α β γ及δ 4个部分,α部

表1 不同品种大麦醇溶蛋白质的组成及相对含量

鉴27 (Da)	相对含量	港啤一号 (Da)	相对含量	Excel (Da)	相对含量	Schooner (Da)	相对含量	甘麦 (Da)	相对含量	甘啤三号 (Da)	相对含量	澳麦 (Da)	相对含量
95590.9	0.42	95590.9	1.86	95590.9	1.69	95590.9	0.5	95590.9	—	95590.9	—	73045.5	—
73045.5	0.22	70227.3	1.94	65686.6	2.94	55029.9	2.33	69522.7	—	67409.1	0.96	56597	2.46
54089.6	1.28	53776.1	—	59104.5	2.08	46567.2	12.22	43561.6	18.77	54403	1	47507.5	7.53
43972.6	17.41	43767.1	19.99	53462.7	3.14	42328.8	13.38	38219.2	15.7	43767.1	15.74	43561.6	7.62
38219.2	13.55	37602.7	16.04	45313.4	11.56	38835.6	5.7	34726	7.6	34109.6	28.72	35342.5	6.94
				40890.4	14.79	34931.5	6.39						
				36369.9	7.5								
				34315.1	6.2								
		29633.3	3.26	29633.3	2.8	29633.3	3.8	29633.3	2.8			29633.3	2.74
26700	1.91	26700	3.05	26700	2.84	26700	1.84			26700	1.46		
22758.3	2.53	22758.3	3.55	22758.3	2.14	22758.3	3.13	22758.3	1.62	22758.3	1.8	22758.3	2.27
20375	4.25	20375	4.12	20375	4.16	20375	4.13	20375	1.94	20375	2.71	20375	4.24
18376.7	3.94	18376.7	7.85	18376.7	7.48	18376.7	9.2	18376.7	2.26	18376.7	9.45	18376.7	10.55
16852.3	22.43	16852.3	13.32	16852.3	9.42	16852.3	14.32	16852.3	20.61	16852.3	13.32	16852.3	14.12
14466.3	17.45	14466.3	12.66	14466.3	13.43	14466.3	10.5	14466.3	17.77	14466.3	11.17	14466.3	19.29
1221.8	14.6	1221.8	12.27	1221.8	7.84	1221.8	12.56	1221.8	10.93	1221.8	13.67	1221.8	22.23



注:1—鉴27 2—港啤1号 3—加麦 excel 4—澳麦 schooner 5—甘麦; 6—甘啤三号; 7—澳麦(品种不详)。

图8 不同大麦品种醇溶蛋白质的SDS-PAGE图谱

分分子量分布从45000~97000 Da, β部分从30000~45000 Da, γ部分从20000~30000 Da, δ部分是<20000 Da, 不同品种大麦的蛋白质组成主要区别在分子量大概分布在30000~45000 Da之间。α, β, γ及δ 4部分蛋白质在不同品种的大麦中相对不同, 但基本规律是相同的, 即δ, β含量比较高, 而α, γ含量很少(见图9)。

目前, 已从啤酒中分离出浑浊敏感蛋白质, 许多研究发现, 它主要来源于大麦的醇溶蛋白质, 是由几个不同分子量大小的片段组成。因此, 醇溶蛋白质也影响着啤酒的非生物稳定性。

3 结论

3.1 不同品种大麦的水溶、盐溶及碱溶蛋白质的组成基本相同, 而醇溶蛋白质在品种间存在显著差异, 因此醇溶蛋白质可以作为

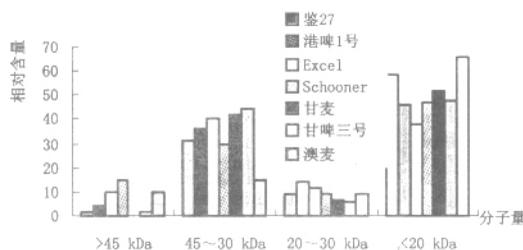


图9 不同分子量的蛋白质相对含量比较

品种鉴定的依据之一。

3.2 不同品种间醇溶蛋白质主要区别在分子量为30000~45000 Da间, 这部分蛋白质决定不同品种大麦的酿造特性及啤酒的非生物稳定性。

参考文献:

- [1] Baxter E.D., Wainwright T. Hordein and malting quality[J]. American Society of Brewing Chemists Journal. 1979, (67) 8-12.
- [2] Cinara Echart-Almeida and Suzana Cavalli-Molina. Hordein Polypeptide in relation to malting quality in Brazilian barley varieties[J]. Pesq.-agropecu. bras. Brasília. 2001, 2(36) 211-217.
- [3] P.R. Shewry, A.J. Faulks, S. Parmar. Hordein polypeptide pattern in relation to malting quality and the varietal identification of malted barley grain[J]. J. Inst. Brew., 1980, (86) :138-141.
- [4] Doll H., Andersen B. Preparation of barley storage protein hordein, for analytical sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis[J]. Analytical Biochemistry, 1981, (115) 61-66.

七律·古井贡酒

四海驰名九酝春, 佳醪无愧酒中珍。
几杯顿使东坡醉, 数盏曾教太白醺。
情有独钟酌古井, 心无旁骛著奇文。
神州一统月圆日, 十亿炎黄共举樽。
(新声, “酌”读平声)(丁玉群)

沁园春·夜饮

三二新知, 几壶陈酿, 对酌庐中。叹半生颠沛, 徒余壮志, 一身潦倒, 尚有豪情。事业
 无成, 功名不就, 未愧于心自平。千杯尽, 正满腔浩气, 肝胆相倾。
 更深饮兴犹浓。同击节, 高吟气象宏。望神州山水, 百千奇迹, 炎黄儿女, 亿万英雄。
 岁月如流, 胸怀似海, 敢上昆仑攀险峰。天已晓, 向初升旭日, 大唱晨风。(丁玉群)