

荞麦蛋白质的综合研究进展

方齐国¹, 沈汪洋^{1,2}, 赵梅荣³, 李芳^{1,2*}

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 湖北 武汉 430023; 2. 大宗粮油精深加工省部共建教育部重点实验室, 湖北 武汉 430023; 3. 武汉中地检测技术有限公司, 湖北 武汉 430078)

摘要: 荞麦蛋白质含量高、氨基酸组成合理、具有降血脂、降血压、降血糖、抗菌、抗肿瘤等多种生理功能, 此外还具有碳排放量低的特性。荞麦蛋白质作为动物蛋白质的优质替代源之一, 正受到蛋白质科学领域越来越多的关注。目前国内外有关荞麦的研究主要集中在荞麦蛋白质提取、组成特性、生理活性和功能特性等方面。结合荞麦蛋白质国内外研究现状, 该文旨在综述荞麦蛋白质的提取工艺、亚基组成、二级结构、营养品质、生理活性成分及功能特性以及这些特性之间的关联性。

关键词: 荞麦蛋白; 提取工艺; 蛋白质结构; 体外消化率; 功能特性

Comprehensive Research Progress on Buckwheat Protein

FANG Qi-guo¹, SHEN Wang-yang^{1,2}, ZHAO Mei-rong³, LI Fang^{1,2*}

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, Hubei, China; 2. Key Laboratory of the Deep Processing of Bulk Grain and Oil Authorized by Ministry of Education, Wuhan 430023, Hubei, China; 3. Wuhan Zhongdi Testing Technology Co., Ltd., Wuhan 430078, Hubei, China)

Abstract: Buckwheat, with high protein content and reasonable amino acid composition, has many physiological functions including lowering hyperlipidemia, hypertension, and hyperglycemia, as well as antibacterial and anti-tumor functions. In addition, it also produces low carbon emissions. The buckwheat protein used as one of the high-quality alternative sources of animal protein, therefore, has received increasing attention from scientists in the field of protein science. At present, the research on buckwheat has mainly focused on: protein extraction, physiological activity, and composition and functional characteristics. According to the domestic and foreign research status, this article aimed to review the extraction process, subunit composition, secondary structure, nutritional quality, physiologically active ingredients, and functional properties of buckwheat protein, as well as the correlation between these properties, and to indicate the development of subsequent directions for related topics.

Key words: buckwheat protein; extraction technology; protein structure; *in vitro* digestibility; functional properties

引文格式:

方齐国, 沈汪洋, 赵梅荣, 等. 荞麦蛋白质的综合研究进展[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(8): 185-192.

FANG Qiguo, SHEN Wangyang, ZHAO Meirong, et al. Comprehensive Research Progress on Buckwheat Protein[J]. Food Research and Development, 2022, 43(8): 185-192.

荞麦, 适应性强, 生长周期短, 能够在大宗作物所不适宜的地区(如高海拔、寒冷和贫瘠区域)种植。作为一种重要的天然、环保和可持续的植物蛋白质来

源, 正因为其高营养、高医药价值和高经济价值在全球范围内引起广泛关注。荞麦通常分为两类: 普通荞麦 (*Fagopyrum esculentum* Moench) 和苦荞麦 [*Fagopy-*

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2017YFD0401204-3)

作者简介: 方齐国(1988—), 男(汉), 在读硕士研究生, 研究方向: 粮食工程。

* 通信作者: 李芳(1979—), 女(汉), 博士, 研究方向: 粮食工程。

rum tataricum(L.) Gaertn]。

荞麦蛋白质以水溶性的清蛋白和盐溶性的球蛋白为主^[1],且富含谷氨酸、天门冬氨酸、精氨酸及赖氨酸。可以与缺乏赖氨酸的部分谷物互补,以满足人们对必需氨基酸的摄入。通过研究发现,荞麦蛋白质具有抗衰老、调节肠道菌群、预防心血管疾病、降低血压和血糖、抗微生物、抗氧化等多种药理活性^[2],此外,借助适当的食品加工技术和工艺(例如提取、改性、发芽、发酵和挤压等)可以显著提高荞麦蛋白质品质,作为一种优质植物来源的蛋白质,荞麦蛋白质对于缓解健康蛋白质资源的短缺,改善国民健康饮食结构等具有积极意义。

1 荞麦蛋白质的提取

据文献查阅,关于荞麦蛋白质的提取方法主要有碱提酸沉法、酶解法、盐析法、Osborne 分级法。

1.1 碱提酸沉法

碱提酸沉法是目前应用最为广泛的一种荞麦蛋白质提取方法,其原理是首先利用稀碱溶液溶解荞麦蛋白质,再利用等电点使蛋白质沉淀,从而分离提取荞麦蛋白质。任清等^[3]研究发现,碱提酸沉过程中,在 pH 值为 9~11 时,pH 值对荞麦蛋白质的提取率影响最大,且呈正相关。王兴^[4]研究发现,当 pH>10.5,苦荞麦蛋白质的提取率下降,过高的 pH 值亦会影响蛋白质成品色泽^[5]、诱导蛋白质变性。

1.2 酶提取法

酶提取通常有两种途径,一种是通过酶降解非蛋白质组成,并结合超滤等方法截留大分子荞麦蛋白质;另一种是通过酶降解蛋白质组成,使其变成可溶性多肽,并结合透析等方法提取荞麦蛋白质。谭萍等^[6]对比了 3 种不同类型蛋白酶(酸性、中性和碱性蛋白酶)对苦荞蛋白质提取率的影响,研究发现,碱性蛋白酶的提取率最高,在加酶量 0.3%、温度 55℃、料液比 1:11(g/mL)、pH10 条件下提取 4 h,提取率可达 82.57%。

1.3 盐析法

盐析法也称分段盐析,原理是利用大量中性盐(硫酸铵、硫酸钠或氯化钠等)使蛋白质分子发生聚集、沉淀、析出。因为不同蛋白质的亲水性及带电荷性有差异,因此,加入不同浓度的中性盐会使各种蛋白质分子分级沉淀析出。这一分级沉淀析出法最显著的优势在于不易引起蛋白质变性,广泛应用于蛋白质混合物的分离。陈英娇^[7]分别选择 40%饱和度和 80%饱和度(此时蛋白质提取率为最大)的硫酸铵盐对苦荞麦蛋白质进行一次和二次沉淀,离子交换层析和凝胶过滤层析后,制得的苦荞蛋白质粉的纯度可高达 93.2%。

1.4 Osborne 分级法

Osborne 法主要是利用蛋白质 4 种组分在溶解特性方面的差异进行蛋白质分级提取,清蛋白(albumin)易溶于水,球蛋白(globulin)易溶于稀盐溶液,醇溶蛋白(prolamin)易溶于 50%~90%乙醇,谷蛋白(glutenin)易溶于稀碱溶液。吴颖等^[8-9]采用 Osborne 分级法提取苦荞麦中水溶性清蛋白和盐溶性球蛋白,在料液比 1:20(g/mL)、搅拌时间 60 min、搅拌温度 35℃条件下,荞麦清蛋白提取率为 35.86%;在盐含量 1%,料液比 1:13(g/mL),浸提温度 50℃,浸提时间 90 min 条件下,荞麦球蛋白提取率 5.60%。

陈雅君等^[10]综合研究了不同提取方法对所提得苦荞麦蛋白质纯度的影响,结果表明,利用碱提酸沉法制得的荞麦蛋白质纯度最高,为 75.02%,盐提法次之,为 66.49%,双酶法(α -淀粉酶和糖化酶)最低,仅为 49.07%。综合上述 4 种不同提取方法的原理及相关试验结果可以看出,碱提酸沉法的提取率高,但是提取过程中容易因为酸碱溶液造成蛋白质变性,甚至环境污染等;蛋白酶提取法相对条件温和,但是提取成本较高且提取率较低;盐析法提取率居中,其优势在于能够最大限度地保留原始成分,不易变性;Osborne 分级分离法操作简单,方法成熟,但是对于不同品种荞麦,其蛋白质组分和含量均存在差异,等电点亦存在差异,因此提取的工艺条件也会有所不同。此外,在荞麦蛋白质的分级分离过程中,还极易受到原料中占比较大的非蛋白质物质(如淀粉、纤维素)的干扰,导致蛋白质的最终提取率和纯度过低。

2 荞麦蛋白质的亚基组成及二级结构

荞麦蛋白质主要含有清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白,其中清蛋白(主要组成为 2S)和球蛋白(主要组成为 8S 和 13S)为主要贮藏蛋白质,醇溶蛋白和谷蛋白含量较低,适合乳糜泻患者食用^[11]。常用的蛋白质亚基组成的测定方法有十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)法、高效凝胶过滤法和质谱法。不同品种荞麦的蛋白质亚基条带差异显著,其变化范围为 16 条~20 条,分子量变化区域主要为 31 kDa~43 kDa^[12]。Monshi 等^[13]研究发现普通荞麦蛋白质中的 16、24、40、43、48 kDa 亚基为主要过敏蛋白质。

荞麦清蛋白中 2S 亚基分子量主要分布在 8 kDa~16 kDa 范围内,且分子间无二硫键^[14],Geiselhart 等^[15]及 Zheng 等^[16]分离出了分子量为 16 kDa、归属于 2S 的过敏原。

荞麦球蛋白中亚基条带的数量跟荞麦品种有关,研究发现,普通荞麦球蛋白有9条主要带,苦荞麦球蛋白有7条主要带^[17]。这些荞麦球蛋白亚基的分子量主要分布在25 kDa~28 kDa和32 kDa~43 kDa范围内,也有少部分亚基分布在57 kDa~58 kDa分子量范围内^[18]。Milisavljević等^[19]研究发现,荞麦8S球蛋白亚基的分子量约为57 kDa,13S球蛋白由多个亚基组成,每个亚基含有酸性 α -多肽(36 kDa~43 kDa)和碱性 β -多肽(23 kDa~25 kDa),它们通过二硫键相互连接^[1],Zhou等^[20]研究证实,其中酸性多肽酶解产物含有6个活性肽。荞麦醇溶蛋白和谷蛋白的亚基分子量分别为10 kDa~28 kDa和80 kDa~90 kDa^[21]。

对于荞麦蛋白质二级结构,常用的表征方法是傅里叶红外光谱法(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和圆二色谱法(circular dichroism, CD)。Tang等^[22]借助碱提酸沉法和Osborne分级法分别提取了普通荞麦蛋白质、荞麦清蛋白和球蛋白,采用CD方法对3种不同蛋白质的二级结构进行了表征,结果分别为(1)荞麦蛋白质中 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲占比分别为6.2%、36.8%、23.0%和33.9%;(2)荞麦清蛋白中 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲占比分别为15.4%、31.3%、21.7%和31.6%;(3)荞麦球蛋白中 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲占比分别为6.4%、36.3%、22.8%和34.5%。Guo等^[23]通过CD方法对苦荞麦清蛋白的表征结果显示, α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲的占比分别为33.9%、22.8%、11.3%和32.0%。Choi等^[24]借助稀盐溶液提取普通荞麦球蛋白,并利用CD进行蛋白质二级结构表征,结果显示: α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲的占比分别为15.0%、25.8%、28.9%和30.3%。Jin等^[25]通过碱提酸沉提取荞麦蛋白质,结合FTIR进行二级结构表征,结果显示 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲的占比分别为14.5%、46.6%、20.8%、14.4%。

综上可知,荞麦品种不同,其蛋白质亚基组成不同,且不同蛋白质组成的二级结构也存在明显差异。

3 荞麦蛋白质的营养品质

荞麦蛋白质的营养品质主要涉及荞麦蛋白质的氨基酸组成、消化率和生物利用率,其中消化率主要取决于蛋白质的结构、加工工艺和抗消化化合物的影响;生物利用率主要取决于氨基酸与人体蛋白质氨基酸模式的接近程度,越接近,生物利用度越高,品质越高。因此,通过蒸煮、脱皮、浸泡、发芽、微波、辐照、发酵和挤压等食品加工技术可以有效提高蛋白质的营养

品质,常用来评估蛋白质营养品质的方法为体外经蛋白质消化率修正的氨基酸评分(protein digestibility-corrected amino acid score, PDCAAS)和可消化的必需氨基酸评分(digestible indispensable amino acid score, DIAAS)^[26]。

3.1 荞麦蛋白质的氨基酸组成

荞麦富含优质蛋白质(氨基酸模式接近人体蛋白质的氨基酸模式,最高可达18.9%^[27])。其中蛋氨酸与半胱氨酸的含量较低,为第一限制氨基酸^[28],其余氨基酸含量均高于或接近联合国粮农组织及世界卫生组织(Food and Agriculture Organization/World Health Organization, FAO/WHO)模式含量(如表1所示^[28])。通常将荞麦蛋白质与其它谷物蛋白质搭配,可赋予食品更加优良的营养品质。

表1 荞麦蛋白质中必需氨基酸组成比较

Table 1 Comparison of essential amino acid compositions in several proteins

氨基酸	g/100 g 蛋白质		
	普通荞麦	苦荞麦	FAO/WHO 模式
苏氨酸	3.94	3.95	4.0
胱氨酸+蛋氨酸	1.49+1.50	1.44+1.54	3.5
缬氨酸	5.19	5.35	5.0
异亮氨酸	4.11	4.29	4.0
亮氨酸	6.93	6.96	7.0
酪氨酸+苯丙氨酸	2.87+5.11	3.03+5.13	6.0
赖氨酸	5.98	5.97	5.5
色氨酸	1.05	1.17	1.0

范昱等^[29]对1500份荞麦样品进行分析,发现荞麦品种不同,其氨基酸含量略有差异;其中普通荞麦氨基酸总量平均值为(11.10 $\pm$ 1.72)%,极限变幅7.18%~16.51%;苦荞麦氨基酸总量平均值为(10.79 $\pm$ 1.53)%,极限变幅7.04%~15.83%^[29]。Tien等^[30]研究发现,苦荞麦、普通荞麦和四倍体苦荞麦有相似氨基酸谱,与四倍体苦荞麦相比,苦荞麦赖氨酸含量较高,其它必需氨基酸相似,普通荞麦的组氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸和亮氨酸含量较少。Ge等^[31]研究了氨基酸在苦荞麦中的分布情况,结果发现:相比于苦荞麦粉(tartary buckwheat flour, TBF),苦荞麦麸皮(tartary buckwheat bran, TBB)中所有氨基酸的含量均更高;在TBF和TBB中,谷氨酸含量最高,其次是精氨酸和天冬氨酸。柴多等^[32]通过气质联用(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)分析苦荞麦不同部位氨基酸组分的分布情况,结果表明:麸皮、胚部和胚乳中均含19种氨基酸,且谷氨酸含量最高;荞麦壳中含15种氨基酸,且含量最高的氨基酸是天冬酰胺。张雨薇等^[33]对10种荞麦

(5种普通荞麦、5种苦荞麦)进行发芽处理,并分析测定发芽荞麦的氨基酸含量变化情况,结果表明:发芽后荞麦总氨基酸、总必需氨基酸及大部分氨基酸的含量均大幅增长,且氨基酸组成更合理;荞麦芽中含有高浓度含硫氨基酸蛋氨酸,同时精氨酸、脯氨酸和亮氨酸的高积累与麦芽生长早期中谷氨酸的积累有关^[34]。

因此,对于荞麦蛋白质来说,荞麦品种不同,其氨基酸组成含量不同,且更加集中分布在荞麦籽粒的表皮部位,即麸皮部分。借助适当的发芽处理工艺可以有效提高氨基酸品质。

3.2 荞麦蛋白质的体外消化率

消化率是衡量蛋白质在食品工业中应用和发展的重要指标之一,消化率主要受内部(如交联、疏水性、以及蛋白质二级结构变化等)和外部(如完整的细胞结构及蛋白酶抑制剂、单宁、植酸和皂苷等抗营养因子)两大类因素的影响。因此,一般情况下,主要通过影响内部和外部因素来提高荞麦蛋白质的整体消化率。

Guo等^[35]研究发现:苦荞麦清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白消化率分别为81.20%、79.56%、66.99%和58.09%。荞麦蛋白质的低消化率是限制其在食品工业中应用发展的主要因素之一。周小理等^[36]研究发现,可以通过湿热处理、干热处理和合理的微波处理改变内部因素(即蛋白质构象变化、酶解位点增加),从而提高苦荞麦蛋白质体外消化率。Chen等^[37]研究证实:在10 min~60 min水热处理时间范围内,荞麦蛋白质(来自最外层的10%混合物)的体外消化率随水热处理时间的延长而降低,可能原因是水热处理过程的高温使蛋白质变性聚沉,降低了酶对蛋白质的有效降解作用。超声波处理也被证实可以增加荞麦蛋白质体外消化率,其可能原因是超声波处理对蛋白质二级结构(β -转角含量的降低)、疏水性和二硫键等产生影响,从而增加了酶对蛋白质的作用,但是过长时间的超声波处理会诱使蛋白质聚沉,反而降低消化率^[25]。陈雅君等^[10]对比了不同提取方法对苦荞麦蛋白质体外消化率的影响,结果显示:碱提酸沉法的可溶性氮释放量(即体外消化率)最大,其次是盐提法,最后是双酶法,可能原因是多酚的存在会显著降低苦荞麦蛋白质的消化率^[38]。Chen等^[39]研究了不同提取方法对蛋白质体外消化率的影响,结果表明,酶法提取蛋白质体外消化率低于等电点提取和盐析法提取。

4 荞麦蛋白质的功能特性

荞麦蛋白质的消费形式主要取决于荞麦蛋白质的一系列功能特性,如溶解性、乳化性、持水性、持油

性、起泡性等。大量的研究已经证实,不同的荞麦品种(普通荞麦、苦荞麦)、不同的蛋白质提取方法(碱提酸沉法、酶解法、盐析法、Osborne分级法)、不同的蛋白质处理方法(高压、美拉德反应糖基化、湿热和微波处理等)和不同的环境因素(pH值、温度和离子浓度等)都可能会引起荞麦蛋白质组成、结构以及营养品质等的变化,而所有这些组成和结构等方面的变化必然会引起荞麦蛋白质功能特性的变化,所有这些功能特性的改变都取决于蛋白质分子性质(如表面电荷、表面疏水性、等电点、二级结构和三级结构等)^[40]。

4.1 不同的荞麦品种对荞麦蛋白质功能特性的影响

朱慧等^[41]采用碱性蛋白酶提取苦荞麦粗蛋白质,然后用Osborne方法分别提取了清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白、谷蛋白,结果表明:各组分蛋白质最佳特性分别是粗蛋白的溶解性、持油性,清蛋白的乳化性、泡沫稳定性,球蛋白的乳化稳定性,谷蛋白的起泡性、持水性。杨海霞^[42]采用Osborne方法分别提取了普通荞麦清蛋白、球蛋白、谷蛋白,结果表明:在pH值4.5时(荞麦蛋白质的等电点),3种组分蛋白质的溶解度达到最低,其中球蛋白溶解度较高,当pH值为4.5~10,各组分蛋白质溶解度随pH值升高而升高;不同组分蛋白质间球蛋白的乳化性、乳化稳定性、起泡性和起泡稳定性最好,以上可以看出不同品种荞麦各组分蛋白功能特性存在差异。

4.2 不同提取方法对荞麦蛋白质功能特性的影响

万晨茜等^[43]研究了不同提取方法对普通荞麦蛋白质理化特性的影响,结果表明:碱提酸沉法制得的普通荞麦蛋白质的溶解性和乳化性显著高于酶法和盐浸法,酶法提取蛋白质的持水性和持油性最高,盐浸法蛋白质的起泡性最佳。

4.3 不同蛋白质处理方法对荞麦蛋白质功能特性的影响

Xue等^[44]研究发现:通过美拉德反应引入糖基,增加了普通荞麦蛋白质的溶解性及疏水性,这说明发生了蛋白质分子的展开或者聚集体的分离现象,与此同时,荞麦蛋白质的乳化性和乳化稳定性也有所增强。齐明^[45]通过美拉德反应在苦荞麦蛋白质酶解产物上引入3种还原性糖(葡萄糖、麦芽糊精、葡聚糖),糖基化后由于界面张力的减小和糖分子的水合作用形成厚实的界面膜,增加了苦荞麦蛋白质的乳化性和乳化稳定性,其中以大分子葡聚糖乳化效果最佳。周小理等^[36]研究发现,通过湿热处理,苦荞蛋白质的乳化性、乳化稳定性、起泡性、泡沫稳定性得到提高。周一鸣等^[46]发现,荞麦蛋白质经过高静水压处理后,其乳化性、起泡

性均有显著提高,进一步研究表明其乳化性和起泡性增大的同时,蛋白质表面疏水性增大、巯基含量降低。

4.4 环境因素对荞麦蛋白质功能特性的影响

杜健等^[47]研究发现,酸性条件(pH值4.0~6.0)苦荞麦蛋白的溶解度较低,当pH值大于7时,溶解度随着pH值升高而升高,吸水性随温度的升高先上升后降低,35℃时达到最大,而吸油性随温度升高持续降低,起泡性和泡沫稳定性随蛋白质浓度升高而升高。

5 荞麦蛋白质生物活性研究

荞麦蛋白质及其活性多肽,使其具有降低胆固醇、抗高血压、改善便秘和肥胖、抗疲劳、抑菌等生理活性^[8]。

5.1 抗菌肽

抗菌肽是广泛存在于自然界生物中的一类多肽物质,通常由12~100个氨基酸残基组成,多含疏水性氨基酸,具有抗细菌、真菌、病毒,抑杀癌细胞等多种生物活性,此外,抗菌肽通过净电荷和疏水性与选择靶细胞缔合细胞膜,起到抗菌作用,且不易产生抗药性,在食品工业中可以替代化学防腐剂。Wang等^[48]从普通荞麦中分离出分子质量为11 kDa的抗菌肽,在酸性pH(1~5)和20℃~100℃,其抗菌稳定性较好;Cui等^[49]从苦荞麦中分离纯化出由43个氨基酸组成的多肽,其21位上的精氨酸是胰蛋白酶抑制剂的位点,同时对21位上的精氨酸进行突变,3种肽抗菌活性差异不显著。

5.2 荞麦胰蛋白酶抑制剂

胰蛋白酶抑制剂(trypsin inhibitor, TI)是指一类能够抑制蛋白质水解酶活性的蛋白质或多肽,荞麦胰蛋白酶抑制剂是从种子中获得的多肽,由69个氨基酸组成,分子量为7.9 kDa,可调控一些生理代谢过程,具有降血糖、抗癌、抗辐射等功能^[50]。

胡倩楠等^[51]研究了重组荞麦胰蛋白酶抑制剂(recombinant buckwheat trypsin inhibitor, rBTI)对鲈鱼鱼糜凝胶特性的影响,结果表明:rBTI对鱼糜凝胶的白度无显著影响,可以有效降低蒸煮损失率,提高保水性,并改善凝胶的质构特性。崔晓东等^[50]研究rBTI的抗肿瘤效应与rBTI的分子中 α -螺旋的关系,得出 α -螺旋是rBTI发挥抗肿瘤活性的区域,对其20位和23位的赖氨酸进行突变,可能有抑制肿瘤的作用。

5.3 降血压肽

降血压肽(antihypertension peptide)又名血管紧张素转化酶抑制肽,是一种具有抑制血管紧张素I转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)活性的多肽物质,能够有效地阻止血管紧张素转化酶对血压的调节和增强缓激肽的作用,达到降血压的效果。Ma等^[52]从

普通荞麦中分离出ACE抑制肽。用10 kDa膜过滤蛋白质提取物,采用离子交换色谱、凝胶过滤色谱法和反相高效液相色谱等连续色谱方法纯化ACE抑制剂,通过蛋白质测序系统和电喷雾液相色谱-质谱法鉴定ACE抑制剂为三肽Gly-Pro-Pro。Koyama等^[53]研究发现,从乳酸发酵的普通荞麦芽中分离出的6种多肽均有较强的降血压作用。

5.4 抗氧化性

在特定外界条件影响下,细胞内外产生自由基和其它物质,若抗氧化系统没有及时消灭自由基,体内的氧化还原系统失去平衡,过量的自由基会攻击蛋白质和其它大分子,导致脂质过氧化,影响胆固醇代谢,从而诱发心血管疾病、神经系统疾病、衰老和癌症等。陈金玉等^[54]以DPPH自由基去除率为指标,用3种酶(碱性蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶)酶解苦荞麦蛋白质,选出胃蛋白酶酶解后产物清除DPPH自由基效果最佳,同时通过超滤(3 kDa膜)和凝胶色谱,确认最强抗氧化组分为小于3 kDa中分子量最小的多肽。陈花等^[55]利用碱性蛋白酶对苦荞麦蛋白质水解,试验发现活性肽具有很强的总抗氧化能力和很好的超氧阴离子、DPPH自由基清除能力。Chen等^[59]研究发现,普通荞麦蛋白质对自由基清除能力强弱依次为酶法提取、等电点提取、盐析法提取。Luo等^[56]通过碱性蛋白酶酶解苦荞麦清蛋白,分离出的3种多肽(P1、P2、P3)均有较强的抗氧化能力,其中P3抗氧化活性最强。

5.5 降血脂、血糖

高脂血症是人体内脂质代谢异常导致血浆中脂质成分的浓度超过正常范围而引起的一类病症,高血糖会使体内的蛋白质、脂肪均出现代谢紊乱,可引起各种并发症,最终变成糖尿病。相对于大豆蛋白质,荞麦蛋白质能够更好地降低大鼠的胆固醇(通过增加粪便胆固醇的排泄和降低荞麦蛋白质的消化率)^[57]。刘仁杰等^[58]试验发现,荞麦蛋白质复合物可能是通过增加靶组织对胰岛素敏感性或具有类胰岛素作用,也可能存在其它途径降低小鼠体内的血糖。Zhou等^[59]研究发现苦荞麦蛋白质不仅可以通过增加胆汁酸的结合和排泄来维持血浆胆固醇的健康水平,而且可以改善肠道微生物群失调,抑制炎症,增加肠道短链脂肪酸,从而防止高脂饮食诱导的高胆固醇血症。Zhang等^[60]研究发现,苦荞麦蛋白质通过增强胆汁酸的排泄,以及抑制饮食中胆固醇的吸收,从而降低总胆固醇的含量。

6 展望

荞麦蛋白质,作为一种健康、绿色、具有高食品

质的植物蛋白质替代源,对于国民饮食健康、杂粮产业拓展延伸等均有极其重要的意义。但是荞麦蛋白质的低消化率及杂粮自身的低适口性均是限制其在食品工业中应用的关键问题。如何从荞麦蛋白质的角度出发,突破工艺及配方等技术瓶颈,改变荞麦蛋白质的组成、结构及功能特性等,从而提高荞麦蛋白质的消化率、食用品质和生理保健功效都将作为今后的研究重点。

参考文献:

- [1] MAKSIMOVIC V R, VARKONJI-GASIC E I, RADOVIC S R, et al. The biosynthesis of 13S buckwheat seed storage protein[J]. Journal of Plant Physiology, 1996, 147(6): 759-761.
- [2] ZHU F. Buckwheat proteins and peptides: Biological functions and food applications[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 155-167.
- [3] 任清, 张晓平, 刘丫丫, 等. 荞麦蛋白的提取及其酶解产物 ACE 抑制活性的研究[J]. 食品科技, 2009, 34(4): 175-178.
REN Qing, ZHANG Xiaoping, LIU Yaya, et al. Study on extraction of buckwheat protein and the angiotensin I-converting enzyme(ACE) inhibitory activities of the hydrolysates[J]. Food Science and Technology, 2009, 34(4): 175-178.
- [4] 王兴. 苦荞蛋白模拟消化产物的抗氧化特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2009: 17-25.
WANG Xing. Study on antioxidant properties of simulating gas-trointestinal digestion products of Tartary buckwheat protein[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2009: 17-25.
- [5] 朱振宝, 易建华. 碱溶酸沉法提取甜荞麦蛋白及其氨基酸分析[J]. 食品科技, 2009, 34(8): 193-197.
ZHU Zhenbao, YI Jianhua. Extraction of buckwheat protein by alkali solution acid precipitation and its amino acid analysis[J]. Food Science and Technology, 2009, 34(8): 193-197.
- [6] 谭萍, 方玉梅, 王盼, 等. 苦荞麦蛋白质的酶提工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(21): 79-83, 207.
TAN Ping, FANG Yumei, WANG Pan, et al. Study of the extracted process on the protein of Tartary buckwheat by using enzyme[J]. Food Research and Development, 2016, 37(21): 79-83, 207.
- [7] 陈英娇. 苦荞蛋白酶解物的制备及抗菌活性的研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2015: 24-29.
CHEN Yingjiao. Enzymatic preparation and research on the antibacterial activity of Tartary buckwheat protein hydrolysates [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2015: 24-29.
- [8] 吴颖, 王啸, 邱树毅, 等. 响应面法优化苦荞麦水溶性清蛋白提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(23): 105-111.
WU Ying, WANG Xiao, QIU Shuyi, et al. Study on optimization of extraction process of Tartary buckwheat water-soluble albumin by response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2020, 41(23): 105-111.
- [9] 吴颖, 王啸, 邱树毅, 等. 响应面法优化苦荞麦盐溶性球蛋白提取工艺研究[J]. 中国酿造, 2020, 39(7): 192-196.
WU Ying, WANG Xiao, QIU Shuyi, et al. Optimization of extraction technology of salt-soluble globulin from Tartary buckwheat by response surface methodology[J]. China Brewing, 2020, 39(7): 192-196.
- [10] 陈雅君, 陈小威, 杨晓泉, 等. 双酶法制备富含多酚的荞麦浓缩蛋白及体外消化研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(2): 67-73.
CHEN Yajun, CHEN Xiaowei, YANG Xiaoquan, et al. Evaluation of double-enzyme extraction and *in vitro* digestion of buckwheat protein concentrate rich in polyphenols[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(2): 67-73.
- [11] 高芬, 王宇婷, 石磊. 荞麦低敏食品的研究与展望[J]. 食品科技, 2019, 44(9): 199-203.
GAO Fen, WANG Yuting, SHI Lei. Research and prospect of buckwheat low-sensitive food[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(9): 199-203.
- [12] 高冬丽, 高金锋, 党根友, 等. 荞麦籽粒蛋白质组分特性研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(2): 68-71.
GAO Dongli, GAO Jinfeng, DANG Genyou, et al. Characterization of protein components of buckwheat seeds[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2008, 23(2): 68-71.
- [13] MONSHI F I, KHAN N, KIMURA K, et al. Structure and diversity of 13S globulin zero-repeat subunit, the trypsin-resistant storage protein of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) seeds[J]. Breeding Science, 2020, 70(1): 118-127.
- [14] RADOVIC R S, MAKSIMOVIC R V, BRKLJACIC M J, et al. 2S albumin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* moench) seeds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(4): 1467-1470.
- [15] GEISELHART S, NAGL C, DUBIELA P, et al. Concomitant sensitization to legumin, fag e 2 and fag e 5 predicts buckwheat allergy[J]. Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology, 2018, 48(2): 217-224.
- [16] ZHENG B, ZHANG H N, WANG L, et al. Characterization of 16 kDa major allergen with α -amylase inhibitor domain in Tartary buckwheat seeds[J]. Molecular Immunology, 2018, 94: 121-130.
- [17] KHAN N, TAKAHASHI Y, KATSUBE-TANAKA T. Tandem repeat inserts in 13S globulin subunits, the major allergenic storage protein of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds[J]. Food Chemistry, 2012, 133(1): 29-37.
- [18] 梁成刚, 陈晴晴, 石桃雄, 等. 荞麦属种间 13S 球蛋白基因序列比较研究[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(3): 541-546.
LIANG Chenggang, CHEN Qingqing, SHI Taoxiang, et al. Sequence analysis of 13S globulin gene of genus *Fagopyrum* species[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(3): 541-546.
- [19] MILISAVLJEVIĆ M D, TIMOTIJEVIĆ G S, RADOVIĆ S R, et al. Vicilin-like storage globulin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* moench) seeds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(16): 5258-5262.
- [20] ZHOU Y M, JIANG Y, SHI R H, et al. Structural and antioxidant analysis of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tartaricum* gaertn.) 13S globulin[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020,

- 100(3): 1220–1229.
- [21] 李志西, 魏益民, 张国权. 荞麦籽粒谷蛋白亚基结构研究初探[J]. 中国粮油学报, 1993, 8(4): 11–14.
- LI Zhixi, WEI Yimin, ZHANG Guoquan. A primary study on the sub-units of glutelin of buckwheat grain[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 1993, 8(4): 11–14.
- [22] TANG C H, WANG X Y. Physicochemical and structural characterization of globulin and albumin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds[J]. Food Chemistry, 2010, 121(1): 119–126.
- [23] GUO X N, ZHU K X, ZHANG H, et al. Purification and characterization of the antitumor protein from Chinese Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) water-soluble extracts[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(17): 6958–6961.
- [24] CHOI S M, MA C Y. Structural characterization of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) using circular dichroism and Raman spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 150–160.
- [25] JIN J, OKAGU O D, YAGOUR A E A, et al. Effects of sonication on the *in vitro* digestibility and structural properties of buckwheat protein isolates[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 70: 105348.
- [26] SÁ A G A, MORENO Y M F, CARCIOFI B A M. Food processing for the improvement of plant proteins digestibility[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(20): 3367–3386.
- [27] MOTA C, SANTOS M, MAURO R, et al. Protein content and amino acids profile of pseudocereals[J]. Food Chemistry, 2016, 193: 55–61.
- [28] 刘冬生, 徐若英, 汪青青. 荞麦中蛋白质含量及其氨基酸组成的分析研究[J]. 作物品种资源, 1997(2): 26–28.
- LIU Dongsheng, XU Ruoying, WANG Qingqing. Analysis of protein content and amino acid composition in Buckwheat[J]. China Seeds, 1997(2): 26–28.
- [29] 范昱, 丁梦琦, 张凯旋, 等. 荞麦种质资源概况[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 813–828.
- FAN Yu, DING Mengqi, ZHANG Kaixuan, et al. Germplasm resource of the genus *Fagopyrum* mill[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(4): 813–828.
- [30] TIEN N N T, TRINH L N D, INOUE N, et al. Nutritional composition, bioactive compounds, and diabetic enzyme inhibition capacity of three varieties of buckwheat in Japan[J]. Cereal Chemistry, 2018, 95(5): 615–624.
- [31] GE R H, WANG H. Nutrient components and bioactive compounds in Tartary buckwheat bran and flour as affected by thermal processing[J]. International Journal of Food Properties, 2020, 23 (1): 127–137.
- [32] 柴多, 王美婷, 姜雨萌, 等. 苦荞麦不同部位代谢轮廓及活性成分分布[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 212–217.
- CHAI Duo, WANG Meiting, JIANG Yumeng, et al. Metabolic profiling and distribution of bioactive components of different parts of Tartary buckwheat seeds[J]. Food Science, 2021, 42(2): 212–217.
- [33] 张雨薇, 景梦琳, 李小平, 等. 不同种荞麦发芽前后蛋白质及氨基酸变化主成分分析与综合评价[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43 (7): 214–221.
- ZHANG Yuwei, JING Menglin, LI Xiaoping, et al. Principal component analysis and comprehensive evaluation of protein and amino acid in different varieties of buckwheat and buckwheat sprout[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(7): 214–221.
- [34] JOSHI D C, CHAUDHARI G V, SOOD S, et al. Revisiting the versatile buckwheat: Reinvigorating genetic gains through integrated breeding and genomics approach[J]. Planta, 2019, 250(3): 783–801.
- [35] GUO X N, YAO H Y, CHEN Z X. *In vitro* digestibility of Chinese Tartary buckwheat protein fractions: The microstructure and molecular weight distribution of their hydrolysates[J]. Journal of Food Biochemistry, 2006, 30(5): 508–520.
- [36] 周小理, 侍荣华, 周一鸣, 等. 热处理方式对苦荞蛋白功能特性的影响[J]. 农业工程学报, 2018, 34(9): 292–298.
- ZHOU Xiaoli, SHI Ronghua, ZHOU Yiming, et al. Influence of heat treatment on function characteristics of Tartary buckwheat protein [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2018, 34(9): 292–298.
- [37] CHEN X W, LUO D Y, CHEN Y J, et al. Dry fractionation of surface abrasion for polyphenol-enriched buckwheat protein combined with hydrothermal treatment[J]. Food Chemistry, 2019, 285: 414–422.
- [38] DONNELLY E D, ANTHONY W B. Relationship of tannin, dry matter digestibility and crude protein in sericea lespedeza1[J]. Crop Science, 1969, 9(3): 361–362.
- [39] CHEN X W, CHEN Y J, LI J Y, et al. Enzyme-assisted development of biofunctional polyphenol-enriched buckwheat protein: Physico-chemical properties, *in vitro* digestibility, and antioxidant activity[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(6): 3176–3185.
- [40] FOEGEDING E A, DAVIS J P. Food protein functionality: A comprehensive approach[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(8): 1853–1864.
- [41] 朱慧, 涂世, 刘蓉蓉, 等. 酶法提取苦荞麦蛋白的理化性质和加工性质[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 197–203.
- ZHU Hui, TU Shi, LIU Rongrong, et al. Physico-chemical and functional properties of enzymatically prepared Tartary buckwheat protein[J]. Food Science, 2010, 31(19): 197–203.
- [42] 杨海霞. 内蒙甜荞贮藏蛋白的分离纯化及功能特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008: 18–33.
- YANG Haixia. Extraction, purification and functional properties of protein from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* moench) seeds[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2008: 18–33.
- [43] 万晨茜, 白文明, 高立城, 等. 不同提取方法对甜荞蛋白理化特性的影响[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(24): 160–167.
- WAN Chenxi, BAI Wenming, GAO Licheng, et al. Effects of different extraction methods on physicochemical properties of common buckwheat protein[J]. Food Research and Development, 2020, 41(24): 160–167.
- [44] XUE F, WU Z S, TONG J R, et al. Effect of combination of high-intensity ultrasound treatment and dextran glycosylation on structural

- and interfacial properties of buckwheat protein isolates[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2017, 81(10): 1891–1898.
- [45] 齐明. 美拉德反应改善苦荞蛋白水解物乳化性的研究[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(10): 51–56.
- QI Ming. Research on the improvement of emulsification of Tartary buckwheat protein hydrolysates by Maillard reaction [J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(10): 51–56.
- [46] 周一鸣, 杜丽娜, 李云龙, 等. 高静水压和热处理对荞麦蛋白功能性质的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(5): 77–83.
- ZHOU Yiming, DU Lina, LI Yunlong, et al. Effects of high hydrostatic pressure and heat treatment on functional properties of buckwheat protein[J]. *Food Science*, 2021, 42(5): 77–83.
- [47] 杜健, 张晖, 郭晓娜, 等. 苦荞麦分离蛋白的提取及功能性质研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2007(3): 17–19.
- DU Jian, ZHANG Hui, GUO Xiaona, et al. On extraction process and functional properties of Tartary buckwheat protein isolate[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2007(3): 17–19.
- [48] WANG C C, YUAN S S, ZHANG W W, et al. Buckwheat antifungal protein with biocontrol potential to inhibit fungal (*Botrytis cinerea*) infection of cherry tomato[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(24): 6748–6756.
- [49] CUI X D, DU J J, LI J, et al. Inhibitory site of α -hairpin peptide from Tartary buckwheat has no effect on its antimicrobial activities [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2018, 50(4): 408–416.
- [50] 崔晓东, 范鑫, 闫红, 等. 荞麦蛋白酶抑制剂 α -螺旋对抗肿瘤活性的影响[J]. *山西大学学报(自然科学版)*, 2021, 44(4): 815–823.
- CUI Xiaodong, FAN Xin, YAN Hong, et al. Effects of α -helix in buckwheat trypsin inhibitor on its anti-tumor activity[J]. *Journal of Shanxi University (Natural Science Edition)*, 2021, 44(4): 815–823.
- [51] 胡倩楠, 韩宇航, 李晨. rBTI 对鲈鱼糜凝胶特性的影响 [J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(21): 22–28.
- HU Qiannan, HAN Yuhang, LI Chen. Effect of recombinant buckwheat trypsin inhibitor on gel properties of *Lateolabrax japonicus* surimi[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(21): 22–28.
- [52] MA M S, BAE I Y, LEE H G, et al. Purification and identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)[J]. *Food Chemistry*, 2006, 96(1): 36–42.
- [53] KOYAMA M, NARAMOTO K, NAKAJIMA T, et al. Purification and identification of antihypertensive peptides from fermented buckwheat sprouts[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(12): 3013–3021.
- [54] 陈金玉, 曲金萍, 张坤生, 等. 酶解制备苦荞蛋白抗氧化肽及其分离纯化研究[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(12): 14–20.
- CHEN Jinyu, QU Jinping, ZHANG Kunsheng, et al. Preparation and purification of antioxidant peptides from Tartary buckwheat protein by enzymatic hydrolysis[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(12): 14–20.
- [55] 陈花, 张海悦, 王鹏. 苦荞蛋白酶解产物的抗氧化活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(14): 12–16.
- CHEN Hua, ZHANG Haiyue, WANG Peng. Antioxidant activity of *Fagopyrum tataricum* enzymolysis product[J]. *Food Research and Development*, 2017, 38(14): 12–16.
- [56] LUO X Y, FEI Y, XU Q Z, et al. Isolation and identification of antioxidant peptides from Tartary buckwheat albumin (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) and their antioxidant activities[J]. *Journal of Food Science*, 2020, 85(3): 611–617.
- [57] TOMOTAKE H, KAYASHITA J, KATO N. Hypolipidemic activity of common (*Fagopyrum esculentum* Moench) and Tartary (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) buckwheat[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, 95(10): 1963–1967.
- [58] 刘仁杰, 王月娇, 郭宏伟, 等. 荞麦蛋白复合物对糖尿病小鼠降血糖作用的研究[J]. *吉林农业大学学报*, 2009, 31(1): 102–104.
- LIU Renjie, WANG Yuejiao, GUO Hongwei, et al. Study on the effect of buckwheat protein in lowering blood glucose of diabetic mice [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2009, 31(1): 102–104.
- [59] ZHOU X L, YAN B B, XIAO Y, et al. Tartary buckwheat protein prevented dyslipidemia in high-fat diet-fed mice associated with gut microbiota changes[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 119: 296–301.
- [60] ZHANG C N, ZHANG R, LI Y M, et al. Cholesterol-lowering activity of Tartary buckwheat protein[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(9): 1900–1906.

加工编辑: 张立娟

收稿日期: 2021-05-31