

# 番茄籽蛋白的功能和结构

沈心妤, 许时婴\*, 王 璋  
(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

**摘 要:** 蛋白经加水溶解(5% W/V)和加热至 50℃, 氮溶指数 NSI 最高为 30.02%。对可溶性番茄籽蛋白功能性质的测定表明, 当乳化温度由 30℃ 上升至 50℃ 时, 其乳化能力和乳化稳定性均随之上升, 而当乳化温度上升至 60℃ 时, 乳化能力和乳化稳定性均显著下降; 其起泡性略优于大豆分离蛋白, 而泡沫稳定性不如大豆分离蛋白。对番茄籽蛋白的氨基酸组成分析表明, 番茄籽蛋白氨基酸种类齐全, 可以作为强化赖氨酸的蛋白源。SDS-PAGE 电泳图显示, 可溶性番茄籽蛋白中 70% 为盐溶性蛋白, 水溶性蛋白相对分子质量分别为 39.2、30.1 和 15.8kDa; 盐溶性蛋白相对分子质量分别为 66.1、28.1 和 16.8kDa; 醇溶性蛋白相对分子质量分别为 30.3 和 17.8kDa。

**关键词:** 番茄籽蛋白; 氮溶指数; 乳化性; 起泡性; SDS-PAGE

## Functional Properties and Structure of Tomato Seed Protein

SHEN Xin-yu, XU Shi-ying\*, WANG Zhang  
(Department of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract :** The maximum NSI of tomato seed protein (TSP) was 30.02% at 50℃ in a 5%(W/V) water solution. The determination of functional properties of soluble tomato seed protein showed that the emulsifying capacity and stability of the soluble tomato seed protein were increased as the temperature rose from 30℃ to 50℃, and decreased when reaching 60℃. Compared with soy isolate protein, tomato seed protein had better foaming capacity but worse foam stability. The amino acid composition of tomato seed protein indicated that it could be used as a promising source for supplementation of low lysine foods. SDS-PAGE electrophoresis revealed that the water and salt fraction of tomato seed protein exhibited three bands each (39.2, 30.1 and 15.8kDa, 66.1, 28.1 and 16.8kDa, respectively), while alcohol soluble protein showed two bands (30.3 and 17.8kDa).

**Key words** tomato seed protein NSI (nitrogen solubility index); emulsifying capacity; foaming capacity;

SDS-PAGE

中图分类号 TS201.21

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0042-05

收稿日期 2004-11-29

\*通讯作者

基金项目: “十五”国家重大科技专项项目(2001BA501A232)

作者简介: 沈心妤(1980-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学与工程。

难的工作, 不同物种甚至同一物种不同组织的 RNA 提取, 往往需要采用不同的处理方法<sup>[6]</sup>。

参考文献:

- [1] F. 奥斯伯. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] 朱德华, 等. 快速纯化真核细胞总RNA方法的改良[J]. 河南医学研究, 2001, (3).

- [3] 吴丽娟, 等. 改进SDS-Phenol法快速提取细胞总RNA[J]. 第三军医大学学报, 1991, (1).
- [4] 杨安刚, 等. 生物化学与分子生物学实验技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [5] 傅荣昭, 等. 植物遗传转化技术手册[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
- [6] 杜希华, 等. 文冠果花药总RNA提取方法研究[J]. 北京林业大学学报, 2003, (1).

番茄籽中含有丰富优质的蛋白质<sup>[1]</sup>, 在用传统的碱提酸沉法提取番茄籽蛋白后, 对蛋白功能和结构性质的研究和讨论, 不但可以对番茄籽蛋白有更全面的了解, 也可以指导番茄籽蛋白的实际生产和利用。

本文利用碱提酸沉法提取番茄籽蛋白后, 研究了可溶性番茄籽蛋白的溶解度、乳化性、乳化稳定性、起泡性和泡沫稳定性, 以及氨基酸分析。同时也利用 SDS-PAGE 根据蛋白溶解性对番茄籽蛋白进行了初步分离。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

番茄籽 新疆屯河集团提供, 经机械粉碎至粒度大于 30 目, 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取番茄籽油, 得到脱脂番茄籽粉。

### 1.2 可溶性番茄籽蛋白功能性质测定

#### 1.2.1 溶解度的测定<sup>[2,3]</sup>

在不同条件下制成番茄籽蛋白溶液, 并比较在不同条件下番茄籽蛋白的溶解度。

条件 1: 脱脂番茄籽在 pH8.5, 50℃, 料液比 1:50 (W/V) 下提取 30min, 经 pH4.5 下用盐酸进行沉淀, 沉淀再复溶至 pH8.5, 冷冻干燥后的番茄籽蛋白配制成 5% (W/W) 溶液, 经搅拌和 3000r/min 下离心 15min 后测定可溶性蛋白含量。

条件 2: 冷冻干燥前将沉淀复溶至 pH8.5, 3000r/min 下离心 15min 后上清液透析除盐, 其余同条件 1。

条件 3: 番茄籽蛋白溶解时加热至 50℃, 其余同条件 1。

条件 4: 番茄籽蛋白用 pH7.0 柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液溶解, 配制成 1% (W/V) 溶液, 其余同条件 1。

条件 5: 番茄籽蛋白用 4% (W/V) NaOH 溶解, 配制成 1% (W/V) 溶液, 其余同条件 1。

#### 1.2.2 乳化性和乳化稳定性的测定<sup>[4,5]</sup>

分别称取 0.6g 可溶性番茄籽蛋白, 并加 150ml 水和 9g 大豆油, 分别于 30、40、50 和 60℃ 恒温水浴中保温 30min, 而后采用高速分散机 (Ultra-Turrax T25, JANKE&KUNKEL, IKA-Labortechnik) 以 20500r/min 搅打 2 次, 每次 30s, 搅打后立即取 1ml 乳状液于 250ml 容量瓶中, 加入 0.1% 的 SDS 溶液定容至 250ml 并混匀, 取少量稀释样品测其在 500nm 的吸光度。此外, 搅打后立即取 5ml 样品于 30℃ 恒温水浴中静置 1h, 1h 后取 1ml 样品用 0.1% 的 SDS 溶液稀释至 250ml, 并测定 500nm 处吸光度。

浊度  $T = 2.303A/l$  其中, A 为吸光度, l 为光路长 1cm。

由于所用稀释倍数相同, 蛋白质的乳化能力 E C

(Emulsifying Capacity) 可直接用搅打结束后测定的样品浊度  $T_1$  来表示, 而乳化稳定性 ES (Emulsifying Stability) 用 1h 后浊度  $T_2$  的变化程度来表示,  $ES = T_2/T_1$ 。

#### 1.2.3 表面疏水性的测定<sup>[5]</sup>

将可溶性番茄籽蛋白用 pH8.0, 0.01mol/L 的磷酸缓冲液 (pH8.0±0.2) 稀释至蛋白浓度在 0.10~0.60mg/ml 之间。取不同浓度的稀释样品 3ml, 采用 Hitachi 650-60 荧光分光光度计, 在 390nm 的激发波长和 470nm 的发射波长下分别测定样品的荧光强度 ( $FI_0$ ) 和样品加入 10μl ANS 溶液 (8mmol/L) 后的荧光强度 ( $FI_1$ ),  $FI_1$  和  $FI_0$  的差值记为 FI, 以蛋白质浓度为横坐标, FI 为纵坐标作图, 曲线初始阶段的斜率即为蛋白质分子的表面疏水性指数, 记为  $S_0$ 。

另取大豆分离蛋白 (Isolated soybean protein, ISP), 同上法测定表面疏水性。

#### 1.2.4 起泡性和泡沫稳定性测定<sup>[6~8]</sup>

取 0.5g 可溶性番茄籽蛋白于 50ml 水中, 经高速分散机 (Ultra-Turrax T25, JANKE&KUNKEL, IKA-Labortechnik) 以 20500r/min 搅打 2 次, 每次 30s, 每隔 2min 量取泡沫层高度, 并记录起始液体高度。

超出量 = (泡沫高度 - 起始液体高度) / 起始液体高度 × 100%

另取 0.5g 大豆分离蛋白, 同上法测定其起泡性和泡沫稳定性。

### 1.3 番茄籽蛋白氨基酸分析<sup>[2][9~11]</sup>

准确称取番茄籽蛋白粉于水解管中, 加入 18ml 6N HCl, 抽真空 10min, 封口后于 110℃ 烘箱中水解 24h, 取出冷却后转移至容量瓶中定容。双层滤纸过滤, 取滤液 1ml 于 25ml 小烧杯中, 40℃ 真空干燥器中蒸干, 取出加入 0.02N HCl, 空气中放 30min 并搅均匀。采用安捷伦液相色谱仪 Ag1100 测定氨基酸含量。

### 1.4 番茄籽蛋白组成分析<sup>[12]</sup>

10g 番茄籽蛋白依次用水和 70% 乙醇提取。水提后的上清液经透析过夜 (透析袋为上海华美生物工程公司进口分装, MWC012000-14000), 3000r/min 离心 15min, 上清液和沉淀分别为水溶性和盐溶性蛋白。水提后的沉淀再经 70% 乙醇提取, 上清液透析, 离心得到沉淀为醇溶性蛋白。各蛋白组分冷冻干燥后凯氏定氮, 确定蛋白含量。

### 1.5 番茄籽蛋白各组分分子量测定<sup>[12,13]</sup>

将上述冷冻干燥后的番茄籽蛋白分别进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳 (SDS-PAGE), 其中分离胶 (12%, pH8.8) 和浓缩胶 (5%, pH6.8)。

水溶性番茄籽蛋白和盐溶性番茄籽蛋白分别溶于水和 0.5mol/L NaCl 中, 8000r/min 离心 15min, 取上清液

加重蒸水和5倍样品缓冲液于沸水浴中加热5min, 8000r/min离心15min后上样; 醇溶性番茄籽蛋白组分溶于重蒸水和5倍样品缓冲液中, 沸水浴中加热5min, 8000r/min离心15min后上样。

经固定、染色、脱色至各蛋白质条带清晰可见, 于7.5%的乙酸溶液中保存和拍照。

同时以低分子量标准蛋白混合物(上海华美生物工程公司进口分装)作为对照, 以标准蛋白的相对分子质量的对数为纵坐标, 相对迁移率(相对迁移率=蛋白质分子迁移距离/染料分子迁移距离)为横坐标作图得标准曲线。根据番茄籽蛋白电泳区带相对迁移率, 对照标准曲线, 得出番茄籽蛋白各组分分子量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 可溶性番茄籽蛋白功能性质测定

#### 2.1.1 番茄籽蛋白溶解度测定

表1 不同溶解条件番茄籽蛋白溶解度(W/W)

Table 1 Solubility of TSP under different dissolving conditions

条件	1	2	3	4	5
溶解度(%)	28.50	4.71	30.02	22.04	23.35

由表1可知, 采用条件1复溶pH升高至8.5时, 蛋白溶解度比复溶pH为7.0时有明显增加; 采用条件2冻干前透析使蛋白溶解度显著下降, 这是因为适量盐的存在可发挥盐溶效应, 透析除去盐不利于蛋白溶解, 且透析使蛋白溶液pH下降; 采用条件3加热有助于蛋白溶解; 采用条件4和5溶解时选用盐溶液反而降低了蛋白的溶解度, 因为碱提酸沉的工艺使未经透析的蛋白中已含有一定量盐, 少量盐的存在可以降低蛋白质大分子离子的活性而使蛋白质溶解度增加, 但当盐浓度过高时, 压缩双电层, Zeta电位下降, 蛋白质易缔合而不易溶解。

#### 2.1.2 乳化性和乳化稳定性

当乳化温度由30℃上升至50℃时, 可溶性番茄籽

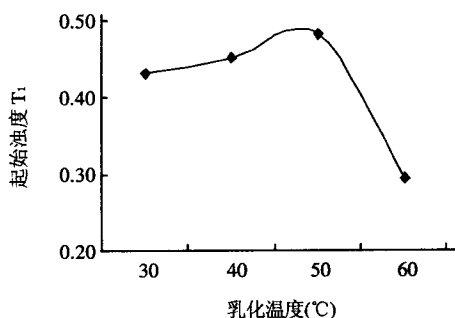


图1 可溶性番茄籽蛋白不同温度下乳化能力  
Fig.1 EC of soluble TSP at varied temperature

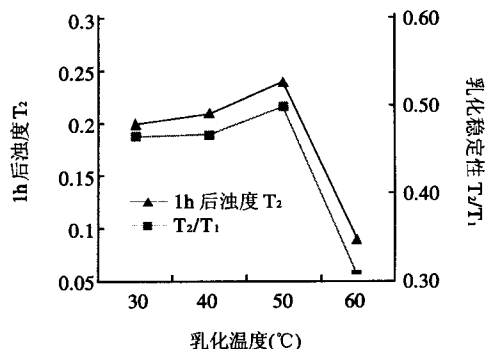


图2 可溶性番茄籽蛋白不同温度下乳化稳定  
Fig.2 ES of soluble TSP at varied temperature

蛋白的乳化能力和乳化稳定性均随之上升。而当乳化温度上升至60℃时, 乳化能力和乳化稳定性均显著下降。这是因为适度的加热有利于蛋白质分子结构的展开, 暴露更多的疏水基团, 从而提高分子的柔性和表面疏水性, 使蛋白质分子更易吸附到油水界面上, 而当温度较高时, 由于蛋白质的完全热变性引起溶解度下降, 因而降低了蛋白质的乳化能力和乳化稳定性。

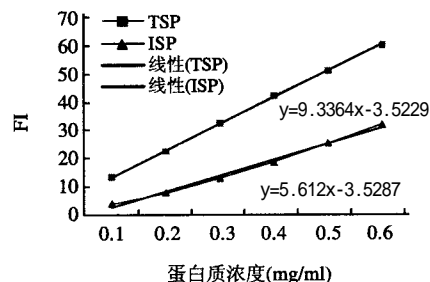


图3 可溶性番茄籽蛋白与大豆分离蛋白表面疏水性  
Fig.3 Surface hydrophobicity of TSP and ISP

蛋白质降低油水界面张力的能力和提高乳化活力指标的能力与它们的表面疏水性相关, 虽然这种关系不是绝对的, 比如大豆蛋白的乳化性和表面疏水性之间就不存在紧密的正相关性<sup>[14]</sup>, 但仍然可以通过表面疏水性的测定了解蛋白质表面非极性的信息, 可反映蛋白质的乳化性大小。由图3可知, 可溶性番茄籽蛋白的表面疏水性指数为 $S_0=9.34$ , 大于大豆分离蛋白的表面疏水性指数5.61, 这意味着可溶性番茄籽蛋白有更多的非极性残基定向于油水界面, 由于疏水相互作用在表面形成疏水性空穴<sup>[14]</sup>, 因而显示较好的乳化性。

#### 2.1.3 起泡性和泡沫稳定性

蛋白质的起泡能力是指蛋白质能产生的界面面积的量, 通常用超出量表示; 而泡沫稳定性涉及在重力作用下蛋白质稳定泡沫的能力, 通常采用泡沫体积减少50%所需要的时间表示<sup>[14]</sup>。

由图4可见, 可溶性番茄籽蛋白起始超出量略高于

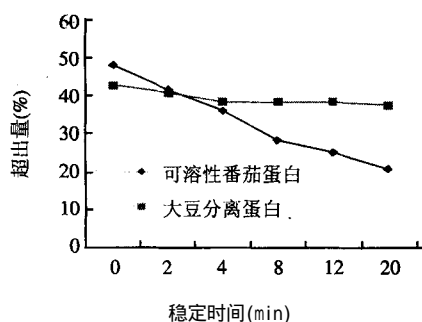


图4 可溶性番茄籽蛋白与大豆分离蛋白起泡性

Fig.4 Foaming capacity of soluble TSP and ISP

大豆分离蛋白,表明可溶性番茄籽蛋白起泡能力略优于大豆分离蛋白,但随时间延长,前者的超出量明显下降,8min时泡沫体积减少了50%,而后者超出量只略微下降,且从4min后基本保持不变,这说明可溶性番茄籽蛋白的泡沫稳定性明显差于大豆分离蛋白。

## 2.2 番茄籽蛋白氨基酸分析

表2 番茄籽蛋白与大豆分离蛋白氨基酸组成 (g/100g)  
Table 2 Amino acid composition of TSP and ISP (g/100g)

氨基酸	TSP	ISP <sup>[2]</sup>	氨基酸	TSP	ISP <sup>[2]</sup>
天门冬氨酸(Asp)	8.04	-	丙氨酸(Ala)	4.84	-
苯丙氨酸(Phe)	5.14	5.39	精氨酸(Arg)	7.70	-
半胱氨酸(Cys)	1.49	-	缬氨酸(Val)	4.47	4.80
组氨酸(His)	2.13	-	蛋氨酸(Met)	1.86	1.09
甘氨酸(Gly)	4.11	-	谷氨酸(Glu)	16.22	-
苏氨酸(Thr)	2.64	3.39	异亮氨酸(Ile)	4.10	4.59
赖氨酸(Lys)	3.30	6.29	亮氨酸(Leu)	6.17	8.4
脯氨酸(Pro)	3.15	-	丝氨酸(Ser)	3.76	-
酪氨酸(Tyr)	2.97	3.36			

由表2可知,番茄籽蛋白氨基酸种类齐全,半胱氨酸是限制氨基酸,必需氨基酸中的缬氨酸较大豆分离蛋白丰富,赖氨酸含量较低,但与赖氨酸含量不足的谷物蛋白相比,番茄籽蛋白中赖氨酸含量仍然较高,可以作为强化赖氨酸的蛋白源。

## 2.3 番茄籽蛋白组成分析

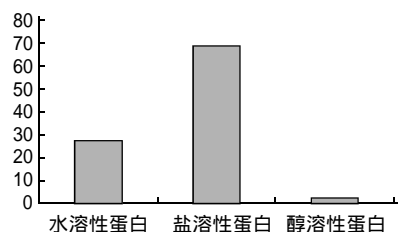


图5 可溶性番茄籽蛋白的组成及其含量

Fig.5 Compositions and contents of soluble TSP

如图5所示,经过水和乙醇的连续提取后,得到的可溶性蛋白中盐溶性蛋白为主要组分,约占70%,水

溶性和醇溶性蛋白各约占28%和2.6%。

## 2.4 番茄籽蛋白各组分分子量测定

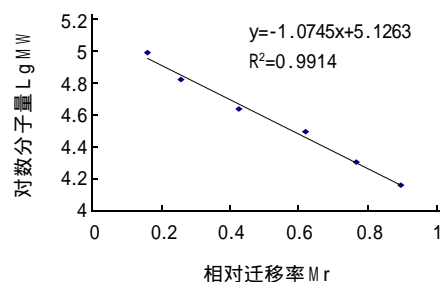
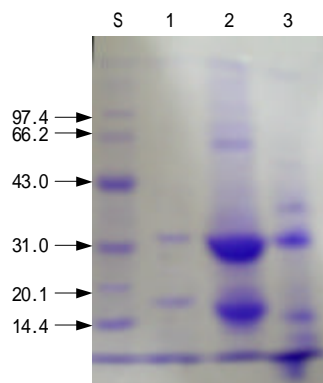


图6 标准蛋白 SDS-PAGE 相对迁移率与对数分子量关系

Fig.6 Relationship of the relative MW and the moving ratio of the standard protein

以标准蛋白 SDS-PAGE 的相对迁移率为对照,根据番茄籽蛋白各组分的相对迁移率,计算得到各组分相对分子量。



(S- 标准蛋白, 1- 醇溶性蛋白, 2- 盐溶性蛋白, 3- 水溶性蛋白)

图7 标准蛋白与番茄籽蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.7 SDS-PAGE of the standard protein and TSP

SDS-PAGE 电泳图显示,水溶性的番茄籽蛋白显示三条条带,相对分子量分别为39.2、30.1和15.8kDa;盐溶性的番茄籽蛋白也主要显示了三条条带,相对分子量分别为66.1、28.1和16.8kDa;醇溶性的番茄籽蛋白则显示了两条条带,相对分子量分别为30.3和17.8kDa。

## 3 结论

3.1 蛋白经加水溶解(5% W/V)和加热至50℃,氮溶指数 NSI 最高为30.02%。当乳化温度由30℃上升至50℃时,可溶性番茄籽蛋白的乳化能力和乳化稳定性均随之上升,而当乳化温度上升至60℃时,乳化能力和乳化稳定性均显著下降。可溶性番茄籽蛋白起泡性略优于大豆分离蛋白,而泡沫稳定性不如大豆分离蛋白。

3.2 番茄籽蛋白氨基酸种类齐全,可以作为强化赖氨

酸的蛋白源。

3.3 番茄籽蛋白中70%为盐溶性蛋白, SDS-PAGE显示, 水溶性部分相对分子量分别为39.2、30.1和15.8kDa; 盐溶性部分相对分子量分别为66.1、28.1和16.8kDa; 醇溶性部分相对分子量分别为30.3和17.8kDa。

参考文献:

- [1] Dietrich Knorr. Recovery of functional proteins from food processing wastes[J]. Food Technology, 1983, 71-76.
- [2] Amihud Kramer, WHKwee. Functional and nutritional properties of tomato protein concentrates[J]. Journal of Food Science, 1977, 42: 207-211.
- [3] Y R Choi, E W Lusas, K C Rhee. Succinylation of cottonseed flour: effect on the functional properties of protein isolates prepared from modified flour[J]. Journal of Food Science, 1981, 46: 954-955.
- [4] Kevin N Pearce, John E Kinsella. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1978, 26(3): 716-723.
- [5] 钟芳. 方便豆腐花的制备及大豆蛋白速凝机理研究[D]. 江南大学博士学位论文, 2001.
- [6] Jane E Dench, Nilo Rivas R, John C Caygill. Selected functional properties of sesame flour and two protein isolates[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1981, 32: 557-564.
- [7] SK Sathe, DK Salunkhe. Functional properties of the great northern bean proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties [J]. Journal of Food Science, 1981, 46: 71-81.
- [8] ETsaliki, UKechagia, GDoxastakis. Evaluation of the foaming properties of cottonseed protein isolates[J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16: 645-652.
- [9] Daniel Brodowski, JR Geisman. Protein content and amino acid composition of protein of seeds from tomatoes at various stages of ripeness[J]. Journal of Food Science, 1980, 45: 228-235.
- [10] PR Cantarelli, ER Palma, JGB Caruso. Composition and amino acid profiles of tomato seeds from canning wastes[J]. Acta Alimentaria, 1989, 18(1): 13-18.
- [11] George C. Tsatsaronis, Dimitrios G Boskou. Amino acid and mineral salt content of tomato seed and skin waste[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1975, 26: 421-423.
- [12] DS Sogi, MS Arora, SK Garg, et al. Fractionation and electrophoresis of tomato waste seed proteins[J]. Food Chemistry, 2002, 76: 449-454.
- [13] DM Bollag, MO rozyczki, SJ Edelstein. Protein methods (2nd ed.) [M]. New York, USA: John Wiley, 1996.
- [14] Owen R Fennema. 王璋, 许时婴, 江波, 等, 译. 食品化学 (第三版) [M]. 中国轻工业出版社, 2003.

## 《中国食品卫生杂志》2006年征订启事

《中国食品卫生杂志》(ISSN 1004-8456/CN 11-3156/R)系中华预防医学系列杂志, 中国科技核心期刊, 公开发刊, 双月刊, 96页。内容包括: 论著、实验技术与方法、调查研究、综述、CAC和SPS等国际专栏以及食品安全的法律、法规、政府公告、文件和批示。《中国食品卫生杂志》的内容涉及食品安全“从农田到餐桌”的全过程, 是我国的食品安全专业期刊。

本刊可通过邮局订阅, 邮发代号: 82-450; 亦自办发行并常年办理订阅。

自办发行办法如下: 《中国食品卫生杂志》全年售价80元(含邮费)。从邮局汇款请注明册数、详细的收件人地址、单位、邮编、姓名; 通过银行汇款的请在汇款的同时寄函或电传编辑部以下内容, 订阅册数、详细收件人地址、邮编、单位、姓名, 以便准确邮寄。

希望挂号投寄期刊的用户, 每期杂志需加挂号费3元, 全年挂号费18元, 并请在寄款时注明要求挂号。

汇款地址: 北京市宣武区南纬路29号 《中国食品卫生杂志》编辑部

邮编: 100050

联系人: 姜人怡

电话/电传: (010)83132658

银行汇款: 工商银行北京潘家园支行 账号: 0200022709008904285

户名: 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所 请注“《中国食品卫生杂志》订阅款”