

盐胁迫对芝麻萌发过程中活性成分、抗氧化性及抗氧化酶活性的影响

李玉杰, 刘少康, 周涛, 郝建雄, 饶欢, 赵丹丹, 刘学强, 王成祥

Effects of Salt Stress on Active Components, Antioxidant Capacity and Antioxidase Activity of Sesame during Germination

LI Yujie, LIU Shaokang, ZHOU Tao, HAO Jianxiong, RAO Huan, ZHAO Dandan, LIU Xueqiang, and WANG Chengxiang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023110056>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

NaCl胁迫对西兰花芽苗叶黄素积累及抗氧化能力的影响

Effects of NaCl Stress on Lutein Accumulation and Antioxidant Capacity of Broccoli Sprouts

食品工业科技. 2021, 42(12): 46-54 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020100100>

不同处理对花菇贮藏品质及抗氧化酶活性的影响

Effects of Different Treatments on the Quality and Antioxidant Enzyme Activities of *Lentinus edodes* during Storage

食品工业科技. 2020, 41(10): 271-276 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.10.045>

鸡肉酶解物对HepG2细胞抗氧化活性及小鼠血清抗氧化酶活性的影响

Effect of Chicken Hydrolysate on Antioxidative Activity of HepG2 Cells and Antioxidative Enzyme Activity of Mouse Serum

食品工业科技. 2020, 41(15): 310-314,331 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.15.048>

γ -萜品烯的体内外抗氧化性研究

Antioxidant Capacity of γ -Terpinene *in Vitro* and *Vivo*

食品工业科技. 2019, 40(6): 100-105,113 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.06.017>

超高静压和体外消化对芝麻酚类物质、抗氧化活性及结构的影响

Effects of Ultra-high Static Pressure and *in Vitro* Digestion on Phenolics, Antioxidant Activity and Structure from Sesame

食品工业科技. 2022, 43(3): 33-39 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021040138>

极端红曲霉高粱发酵产物的抗氧化性和抗炎性

Fermented Products of Extreme *Monascus* and Sorghum and Its Antioxidant and Anti-inflammatory Properties

食品工业科技. 2023, 44(20): 152-161 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020111>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

李玉杰, 刘少康, 周涛, 等. 盐胁迫对芝麻萌发过程中活性成分、抗氧化性及抗氧化酶活性的影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(19): 76–83. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110056

LI Yujie, LIU Shaokang, ZHOU Tao, et al. Effects of Salt Stress on Active Components, Antioxidant Capacity and Antioxidase Activity of Sesame during Germination[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(19): 76–83. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110056

· 研究与探讨 ·

盐胁迫对芝麻萌发过程中活性成分、 抗氧化性及抗氧化酶活性的影响

李玉杰¹, 刘少康¹, 周涛¹, 郝建雄^{1,*}, 饶欢¹, 赵丹丹¹, 刘学强¹, 王成祥²

(1. 河北科技大学食品与生物学院, 河北石家庄 050018;

2. 河北同福粥道食品有限公司, 河北石家庄 050018)

摘要: 为探究盐胁迫对芝麻萌发的影响, 以氯化钠和氯化钙混合盐溶液为培养液, 对芝麻萌发过程中生长特性、总酚总黄酮含量、抗氧化能力和抗氧化酶活性的变化规律及其相关性进行分析。结果显示盐胁迫能够促进芝麻发芽, 总酚、总黄酮积累, 提高 ABTS⁺ 自由基清除率和铁离子还原能力。盐胁迫对芝麻抗氧化酶活性起到了不同程度的诱导作用, 并且对 SOD 和 CAT 活性的促进作用大于对 APX 和 POD 的作用。相关分析表明, 盐胁迫下芝麻芽的总酚积累量与总黄酮、ABTS⁺ 自由基清除率、铁离子还原能力、POD 酶活性呈极显著正相关, 总酚与铁离子还原能力, SOD 活性与 DPPH、羟自由基清除能力, POD 活性与铁离子还原能力的相关性均增强。本研究将为进一步探讨盐胁迫在芝麻种子萌发过程的生理机制奠定基础, 同时为开发芝麻功能性食品提供理论依据。

关键词: 芝麻芽, 萌发, 盐胁迫, 抗氧化性, 抗氧化酶

中图分类号: TS210.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)19-0076-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110056

本文网刊:



Effects of Salt Stress on Active Components, Antioxidant Capacity and Antioxidase Activity of Sesame during Germination

LI Yujie¹, LIU Shaokang¹, ZHOU Tao¹, HAO Jianxiong^{1,*}, RAO Huan¹, ZHAO Dandan¹, LIU Xueqiang¹,
WANG Chengxiang²

(1. College of Food and Biology, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China;

2. Hebei Tongfu Congee Food Co., Ltd., Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: To investigate the effect of salt stress on the germination of sesame, a mixed salt solution of sodium chloride and calcium chloride was used as the culture medium to analyze the changes and correlations in growth characteristics, total phenolic content, total flavone content, antioxidant capacity, and antioxidant enzyme activity during the germination process of sesame. The results showed that salt stress could promote sesame germination and the accumulation of phenol and flavone, and improve the ABTS⁺ free radicals scavenging rate and the iron ion reduction ability of sesame. The effect of salt stress on antioxidant enzyme activity varied by enzyme species, and the treatment had a more obvious promoting effect on SOD and CAT activities compared with APX and POD activities. The correlation analysis results demonstrated that the total phenol of sesame cultured under salt stress was positively correlated with its total flavonoids, ABTS⁺ free radical scavenging rate, iron ion reducing ability, and POD enzyme activity. The correlation between total phenol and iron ion reducing ability, SOD activity and DPPH and hydroxyl radical scavenging ability, POD activity and iron ion reducing ability of sesame was enhanced by salt stress treatment. This study could lay a foundation for further deciphering the

收稿日期: 2023-11-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31972170); 河北省农业科技成果转化资金项目 (V1648647450672); 河北省自然科学基金杰出青年基金项目 (C2018208085)。

作者简介: 李玉杰 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与储藏, E-mail: liyujie0604@163.com。

* 通信作者: 郝建雄 (1979-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工与储藏, E-mail: hjxhebus@163.com。

physiological mechanism of salt stress on sesame germination, and provide theoretical basis for the development of sesame functional foods.

Key words: sesame bud; germination; salt stress; antioxidant; antioxidant enzymes

芝麻(*Sesamum indicum* L.)富有油脂、蛋白质、维生素和矿物质,是一种具有较高营养价值的作物^[1]。我国作为芝麻产量最大、品种资源最丰富的国家,市场上芝麻多以芝麻油、芝麻酱形式出售,精深加工和产品开发处于较落后的状态,并且针对芝麻功能性产品的研究尚有不足。

发芽是改善和增强植物组织结构、营养特性和功能特征的有效途径。流行病学研究表明,发芽的全谷物具有抗糖尿病、抗高胆固醇血症和抗癌的特性,还可以改善肠道微生物群^[2]。发芽能够使芝麻总酚、总黄酮、芝麻酚、维生素 E 等活性物质含量显著增加^[3],且芝麻芽工艺简单,故芝麻芽是一种值得研究的芝麻产品。

为了有效利用发芽技术的优势,提高作物的生物活性,近年来一直强调发芽条件的胁迫。植物遭受逆境胁迫会启动防御机制,产生更多具有生物活性的次级代谢物,Zhang 等^[4]发现盐胁迫能够促进菜豆芽黄酮的积累,Benincasa 等^[5]研究盐胁迫发芽油菜籽可提高酚类物质和抗氧化性,靳晓琳等^[6]发现氯化钙胁迫可以显著提高绿豆芽基础营养物质和抗氧化活性,Shah 等^[7]研究外源添加氯化钙可以激活大麦的抗氧化酶防御系统,有效抑制干旱胁迫下大麦发芽的氧化应激损害,但氯化钠和氯化钙联合胁迫对芝麻芽生长和生理生化性能的影响还鲜见报道。

本研究通过一定浓度氯化钠和氯化钙混合盐溶液胁迫芝麻发芽,比较发芽过程中芝麻的生长特性、总酚、总黄酮含量,抗氧化能力和抗氧化系统酶(超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶和过氧化物酶)活性变化,并进行相关性分析,以期对芝麻芽的工业化生产和芝麻的深加工提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

市售白芝麻 2022 年收获于河南商丘;没食子酸、芦丁标准品(>98%) 上海沙莎有限公司;甲醇、乙醇、福林酚试剂、氯化钠、氯化钙、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、盐酸 国药化学有限公司;碘化钾、苯酚 天津市大茂化学试剂厂;无水乙醇 天津欧博凯化工有限公司;所有分离用有机溶剂均为国产分析纯。

BIC-400 型人工气候箱 上海博讯实业有限公司;ST2100 型 pH 计 美国奥豪斯仪器有限公司;IMS-20 型全自动雪花制冰机 常熟市雪科电器有限公司;HWS-24 型电热恒温水浴锅 上海一恒科学仪器有限公司;LGD-10D 型冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂有限公司;SHA-C 型水浴恒温振荡器 荣华仪器制造有限公司;SpectraMax M2 多功能酶标仪

Molecular Devices;UV-5100 型紫外可见分光光度计 上海元析仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 芝麻芽生产方法 芝麻品种籽粒经过筛除杂,去除干瘪残粒,每组称取芝麻 50 g,综合考虑既要促进芝麻发芽,又要提供胁迫渗透力,根据本实验室前期研究结果,选定用 15 mmol/L NaCl 和 30 mmol/L CaCl_2 按体积分数 1:1 混合盐溶液和自来水作为培养液。使用这两种培养液分别对芝麻冲洗 3 次,按照料液比 1:5 在 25 ℃ 温度下浸泡 1 h 后平铺在 6 层 40 目的纱布上,每 12 h 按照料液比 1:10 补充盐溶液,置于温度 30 ℃ 和湿度 80% 无光照条件的恒温培养箱中培养,每发芽 12 h 采收^[8]。

1.2.2 芝麻芽生长指标测定 随机选取盐胁迫下发芽芝麻籽粒 100 粒,滤纸吸去表面培养液直接称重即为百粒鲜重;采用烘干恒重法测定百粒干重;参照 GB/T 5520-2011 测定发芽率。

1.2.3 芝麻芽总酚、总黄酮的测定

1.2.3.1 芝麻芽总酚、总黄酮的提取 称取 0.50 g 冻干芝麻芽,加入 15 mL 80% 的甲醇,捣成浆状,在 65 ℃ 下低速振荡水提 120 min。Whatman #4 滤纸过滤,用 80% 的甲醇定容至 25 mL,于 4 ℃ 下保藏备用。

1.2.3.2 芝麻芽总酚的测定 根据福林酚比色法,取 5 mL 提取液,加入 0.25 mol/L 的福林酚试剂 2 mL,室温条件下静置 8 min,随之加入 10% Na_2CO_3 溶液 3 mL,室温条件下静置 120 min,735 nm 处的吸光度,同时做空白。以没食子酸标准品绘制标准曲线 $Y=24.817X+0.0558(R^2=0.9986)$,结果以每克芝麻中没食子酸当量表示测定样品(干物质,1.2.3.3 同)中总酚含量^[9]。

1.2.3.3 芝麻芽总黄酮的测定 取 1 mL 提取液,加入 5% 的 NaNO_2 溶液 0.4 mL,室温条件下静置 6 min,加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.4 mL,室温条件下静置 6 min,加入 4.3% NaOH 4 mL,室温条件下静置 15 min,500 nm 波长处测定吸光度,同时做空白。以芦丁标准品绘制标准曲线 $Y=0.9658X+0.0064(R^2=0.9954)$,结果以每克芝麻中芦丁当量表示测定样品中总黄酮含量^[10]。

1.2.4 芝麻芽抗氧化性的测定

1.2.4.1 芝麻芽中 DPPH 自由基清除能力的测定 取 1 mL 上述提取液与 0.2 mmol/L DPPH 自由基甲醇溶液 2 mL,混匀后避光反应 30 min,于 517 nm 处测定吸光度^[11]。按公式计算提取液对 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中: A_0 为 DPPH 自由基甲醇溶液的吸光度; A_1 为提取液的吸光度。

1.2.4.2 芝麻芽中 ABTS⁺自由基清除能力的测定

将 7.4 mmol/L ABTS 溶液和 2.6 mmol/L 过硫酸钾等体积混合配制成 ABTS 自由基正离子溶液, 在室温黑暗条件下静置 12~16 h。然后用 50 mmol/L 的磷酸盐缓冲液(pH7.4)将 ABTS 自由基正离子溶液在 734 nm 吸光度下调节至 0.7~0.8 之间。取 ABTS 溶液 1.9 mL 与 0.1 mL 上述提取液混合均匀反应 1 h, 在 734 nm 处测定吸光度^[11]。按下列公式计算提取液对 ABTS⁺自由基的清除率。

$$\text{ABTS}^+\text{自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中: A_0 为 ABTS⁺自由基甲醇溶液的吸光度; A_1 为提取液的吸光度。

1.2.4.3 芝麻芽中羟自由基清除能力的测定 取 0.5 mL 上述提取液, 向其中依次加入 0.5 mL 9 mmol/L 的 FeSO_4 , 0.5 mL 9 mmol/L 的水杨酸-乙醇以及 7 mL 去离子水, 0.5 mL 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 溶液混合均匀, 37 °C 下反应 15 min, 在 510 nm 处测定吸光度^[11]。按下列公式计算提取液对羟自由基的清除率。

$$\text{羟自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中: A_0 为 80% 甲醇溶液代替提取液的吸光度; A_1 为提取液的吸光度。

1.2.4.4 芝麻芽中铁离子还原能力的测定 取 1 mL 上述提取液与 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH7.0) 2.5 mL 以及 1% 铁氰化钾溶液 2.5 mL 混合, 50 °C 水浴反应 20 min。取出后加入 10% 三氯乙酸 2.5 mL, 4000 r/min 离心 10 min。取 1 mL 上清液与 1% FeCl_3 溶液 3 mL 混合, 在 700 nm 处测定吸光度值^[11]。吸光度值越高, 还原能力越强。

1.2.5 芝麻芽抗氧化酶活力的测定

1.2.5.1 酶提取液的制备 参照闫国超等^[12]的方法并稍作改良, 具体操作如下: 将芝麻芽鲜样加入磷酸缓冲液(50 mmol/L, pH7.8, 含 1 mmol/L EDTA 和 2% 聚乙烯吡咯烷酮)于冰浴条件下捣成浆状。在 4 °C 条件下 12000 r/min 离心 30 min, 上清液用于抗氧化酶活性测定。

1.2.5.2 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性测定 参照闫国超等^[12]的方法并稍作改良, 具体操作如下: 取 50 μL 酶提取液与 1.5 mL 磷酸缓冲液(50 mmol/L, pH7.8), 130 mmol/L Met 溶液 0.3 mL, 750 $\mu\text{mol/L}$ NBT 溶液 0.3 mL, 100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA- Na_2 液 0.3 mL, 20 $\mu\text{mol/L}$ 核黄素 0.3 mL, 蒸馏水 0.25 mL 混匀, 于 25 °C 光照条件下反应 3 min, 测定

反应液在 560 nm 波段的吸光度; 每单位 SOD 活性(U)定义为对 NBT 光化学反应 50% 的抑制。SOD 活性按下列公式计算:

$$\text{酶活性}(\text{U/g FW}) = \frac{(A_{\text{ck}} - \Delta A) \times V_t}{A_{\text{ck}} \times \text{FW} \times V_s \times \Delta t}$$

式中, A_{ck} 为空白对照吸光度值; ΔA 为提取液吸光度值变化; V_t 为酶提取液总体积(mL); V_s 为测定时所用酶液体积(mL); FW 为样品鲜重(g); Δt 为读数时间间隔(h)。

1.2.5.3 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性测定 采用紫外吸收法测定^[12], 取 20 μL 酶提取液与 2.5 mL 磷酸缓冲液(50 mmol/L, pH7.0, 含 100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA) 和 200 μL 0.3% 过氧化氢溶液混合均匀后, 测定样品在 240 nm 波段吸光度随时间的变化; 以每分钟内 A_{240} 光吸收值变化 0.01 为一个酶活力单位(U)。CAT 活性按下列公式计算:

$$\text{酶活性}(\text{U/g FW}) = \frac{\Delta A \times V_t}{\text{FW} \times V_s \times \Delta t \times 0.01}$$

式中, ΔA 为提取液吸光度值变化; V_t 为酶提取液总体积(mL); V_s 为测定时所用酶液体积(mL); FW 为样品鲜重(g); Δt 为读数时间间隔(min)。

1.2.5.4 抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)活性测定 采用过氧化氢法测定^[12], 取 100 μL 酶提取液与 2.5 mL 磷酸缓冲液(50 mmol/L, pH7.0, 含 100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA)、100 μL 抗坏血酸溶液(5 mmol/L)和 100 μL 0.3% 过氧化氢溶液混合均匀后, 测定样品在 290 nm 波段吸光度随时间的变化; 以每分钟内 A_{290} 光吸收值变化 0.01 为一个酶活力单位(U)。APX 活性按下列公式计算:

$$\text{酶活性}(\text{U/g FW}) = \frac{\Delta A \times V_t}{\text{FW} \times V_s \times \Delta t \times 0.01}$$

式中, ΔA 为提取液吸光度值变化; V_t 为酶提取液总体积(mL); V_s 为测定时所用酶液体积(mL); FW 为样品鲜重(g); Δt 为读数时间间隔(min)。

1.2.5.5 过氧化物酶(peroxidase, POD)活性测定 采用愈创木酚法测定^[12], 取 90 μL 酶提取液与 90 μL 0.3% 愈创木酚溶液和 20 μL 0.3% 过氧化氢溶液混合均匀后, 测定样品在 470 nm 波段吸光度随时间的变化; 以每分钟内 A_{470} 光吸收值变化 0.01 为一个过氧化物酶活力单(U)。POD 活性按下列公式计算:

$$\text{酶活性}(\text{U/g FW}) = \frac{\Delta A \times V_t}{\text{FW} \times V_s \times \Delta t \times 0.01}$$

式中, ΔA 为提取液吸光度值变化; V_t 为酶提取液总体积(mL); V_s 为测定时所用酶液体积(mL); FW 为样品鲜重(g); Δt 为读数时间间隔(min)。

1.3 数据处理

试验数据均使用 Excel 2016 进行计算整理, 采用 SPSS 21.0 软件进行数据分析, 结果采用均值 \pm 标

准差表示,采用单因素方差分析进行各处理平均值间各项指标的比较,采用 Duncan 多重比较进行差异显著性检验,采用 Origin 2022 进行绘图并进行 Person 相关性分析。

2 结果与分析

2.1 盐溶液对芝麻籽粒发芽率、鲜重和干重的影响

盐胁迫是影响植物生长发育的主要逆境因素。发芽率是证明种子发芽状态的最主要指标。大多数研究者认为盐胁迫通过其离子胁迫和渗透胁迫对植物种子萌发起到抑制作用^[13-14],但也有研究者认为低浓度盐对种子萌发有促进作用,高浓度盐才对种子萌发有明显抑制作用^[12,15]。范惠玲等^[16]研究表明 15 mmol/L NaHCO_3 、30~60 mmol/L NaCl 处理对白芥种子胚轴和胚根伸长产生一定的促进作用,吕朝燕等^[17]研究表明 0.03 mol/L 钙离子有利于紫花苜蓿幼苗生长。

本实验考察了芝麻经 15 mmol/L NaCl 和 30 mmol/L CaCl_2 混合盐溶液胁迫发芽,发芽率结果如图 1A 所示,在发芽 24 h 时,芝麻籽粒开始露白,其发芽率极显著高于对照($P<0.01$)。原因可能是此浓度盐胁迫在芝麻萌发初期吸水膨大后,种子逐步水解从而增加细胞内溶质浓度,促进渗透性吸水,低浓度 Na^+ 的存在,没有迅速导致离子失衡而引起渗透胁迫,在一定程度上加速了种子前期水解的进程,以维持内环境的稳定,从而加速了种子复杂的生理代谢

进程,促进种子萌发^[15]。另外 Ca^{2+} 通过钙结合蛋白调节种子萌发过程中的一些代谢酶,提高胚和胚乳中淀粉酶等水解酶的活性,同时钙元素是植物细胞的结构组成元素,适当补充钙元素可促进芽菜的生长^[18]。

同时实验还考察了芝麻芽鲜重和干重,结果如图 1B 所示,萌发初期,种子吸收水分,鲜重逐渐增加,盐胁迫与自来水均呈上升趋势,随着盐胁迫处理时间增长,出现鲜重下降后上升趋势,原因是盐胁迫促进种子萌发,加快种子进行呼吸作用,开始消耗储存的有机物,导致鲜重降低,随后促进胚突破种皮,加快种子吸水速率,鲜重再次增加。萌发初期,芝麻籽粒干重无显著变化($P>0.05$),原因是种子萌发初期,自身营养物质还未被消耗,但在发芽 48 h 时,盐胁迫的芝麻芽干重增加,并且高于对照,原因是盐胁迫促进种子逐渐形成根和芽,开始吸收水分和养分,细胞分裂和组织生长速度加快,植株体积逐渐扩大,导致干重增加。这与发芽率结果一致,盐胁迫能够促进芝麻萌发,同时也与张兆宁等^[19]关于不同盐胁迫对大豆生长影响的研究结果一致。

2.2 盐溶液对芝麻籽粒总酚、总黄酮含量的影响

黄酮和酚类物质具有较好的自由基清除能力,是近年来天然抗氧化剂研究的热点之一。因此,本试验评价了盐胁迫对发芽芝麻中总酚和总黄酮含量的影响,结果如图 2 所示。未发芽芝麻的初始总酚和总黄酮含量分别为 0.34 mg/g 和 2.19 mg/g。发芽芝麻中总酚和总黄酮含量呈逐渐上升的趋势,这一结果与先前研究的结果一致,表明发芽可以增加籽粒中的

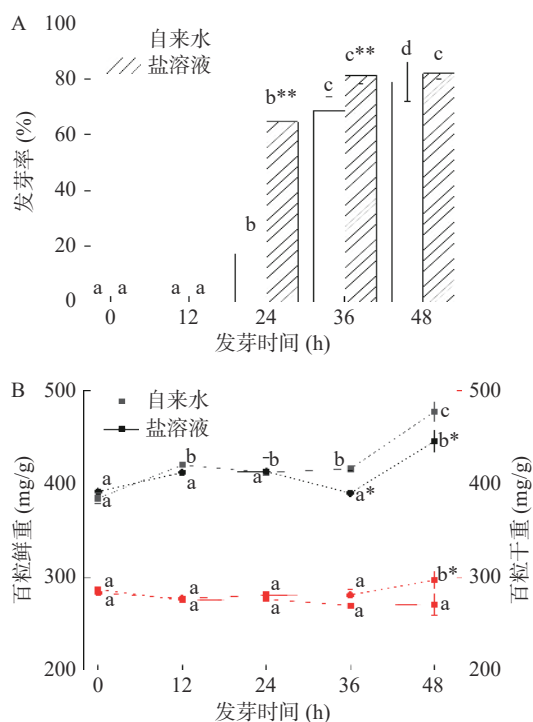


图 1 不同处理对芝麻芽发芽率(A)、鲜重和干重(B)的影响

Fig.1 Effects of different treatment on germination rate (A), fresh weight and dry weight (B) of sesame bud

注:不同英文字母表示组内显著差异水平 $P<0.05$, *表示与自来水比较显著差异水平 $P<0.05$, **表示与自来水比较极显著差异水平 $P<0.01$,图 2~图 4 同。

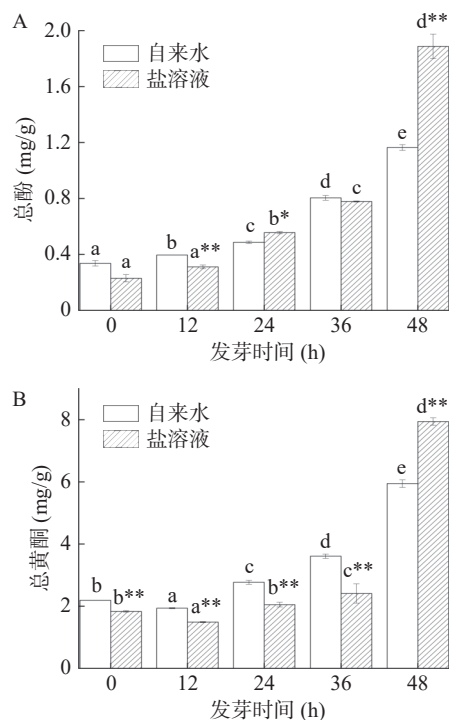


图 2 不同处理对芝麻芽总酚(A)和总黄酮(B)的影响

Fig.2 Effects of different treatment on total phenols (A) and total flavonoids (B) of sesame bud

总酚和总黄酮含量^[6,20-21]。盐溶液处理发芽 48 h 后发芽芝麻中总酚、总黄酮含量分别达到 1.89 mg/g 和 7.94 mg/g, 极显著高于未发芽种子($P<0.01$), 同时是自来水组的 1.34 倍和 1.19 倍。酚类物质在低温^[22]、缺氧、干旱^[23]和盐^[5]等各种胁迫下迅速积累。NaCl 胁迫作为一种不良胁迫萌发模式, 在发芽过程中, 植物为减缓由 NaCl 胁迫造成的生理代谢不平衡, 启动伤害防御系统, 诱发苯丙烷类代谢, 并且钙离子可显著促进苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性, 该酶是苯丙烷类代谢途径中的关键酶和限速酶, 其活性的大小与多酚、黄酮等重要刺激代谢产物的积累有极其密切的关系^[24-25]。盐胁迫发芽芝麻中氯化钠和氯化钙的协同作用大大促进了芝麻芽总酚和总黄酮的积累。

2.3 盐溶液对芝麻籽粒抗氧化能力的影响

芝麻芽中 DPPH、ABTS⁺和羟自由基清除率和铁离子还原能力主要用于抗氧化评价, 反映了其抗逆胁迫的趋势。如图 3 所示, 盐溶液处理发芽芝麻中抗氧化性随萌发时间的延长呈逐渐上升的趋势。发芽 48 h 后, DPPH 和羟自由基清除能力与自来水组比无显著差异(图 3A、3C)($P>0.05$), ABTS⁺自由基清除能力和铁离子还原能力极显著高于自来水组(图 3B、3D)($P<0.01$), 分别提高了 34.4% 和 18.9%。随着发芽时间的推移, 种子不断吸收水分, 导致呼吸增强, 从静态休眠状态过渡到频繁生理活动的动态状态。在盐胁迫下, 细胞代谢活性增强, 氧化还原反应增强, 清除 ABTS⁺自由基和还原铁离子的能力增强。

2.4 盐溶液对芝麻籽粒抗氧化酶活力的影响

植物在逆境条件胁迫下, 为了保证机体自身的正常代谢, 体内抗氧化的保护酶能够起到清除机体自由基及其氧化中间产物的作用。植物的抗氧化酶主要包括 SOD、CAT、APX 和 POD 等, 植物体内代谢所产生的自由基在这些抗氧化酶的协同作用下得以快速清除。本试验考察了盐胁迫芝麻发芽过程中 SOD、CAT、APX 和 POD 活性变化, 结果如图 4 所示。

SOD 普遍存在于动植物体内, 是一种清除超氧阴离子自由基的酶, 是植物抗氧化的第一道防线, 它催化超氧阴离子自由基生成 H_2O_2 和 O_2 , 反应产物 H_2O_2 可由 CAT 或 POD 进一步分解或利用。试验考察芝麻芽生长过程中的 SOD 活性的变化规律, 结果如图 4A 所示。芝麻芽 SOD 活性呈先升后降再升的趋势, 盐胁迫下芝麻发芽前 24 h 从 148.2 U/g 升高至 162.6 U/g, 在发芽 24~48 h 内小幅度下降后又上升至 164.8 U/g。盐胁迫下芝麻芽 SOD 活性高于自来水组, 在萌发 12、24 和 48 h 分别比自来水组高 2.55%、1.16% 和 3.88%。左月桃^[26]研究盐胁迫对小黑麦根系 SOD 活性的影响, 结果表明小黑麦根系的 SOD 活力在发芽 5 d 内一直降低, 与本文趋势出现差异的原因一方面可能是植物种类和盐碱程度不同, 另一方面是酶活力监测的萌发时间段不同。植物

在逆境生长环境下, 会造成氧化胁迫, 从而导致植物体内活性氧含量激增, 植物体内活性氧浓度的升高在某种程度上刺激 SOD 基因表达的加强, 导致 SOD 活力增强以清除过多的活性氧。同时当植株体内积累的 Na^+ 和 Cl^- 达到一定水平时, 作为上调其体内抗氧化酶活性的信号, 尤其是激活 SOD 的活性, 有利

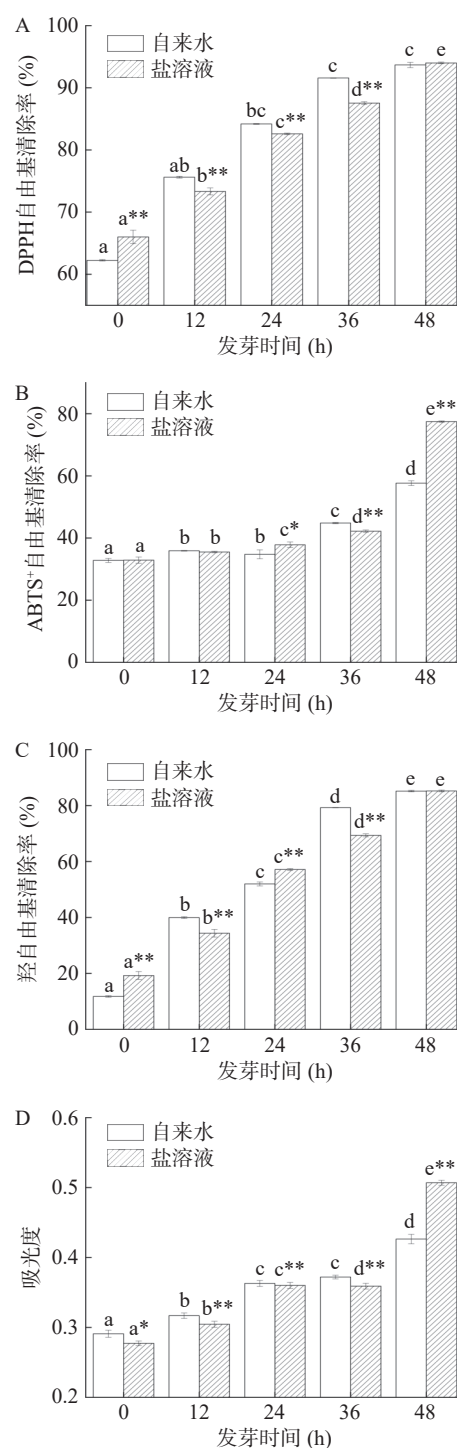


图3 不同处理对芝麻芽 DPPH 自由基清除率(A)、ABTS⁺自由基清除率(B)、羟自由基清除率(C)和铁离子还原能力(D)的影响

Fig.3 Effects of different treatment on DPPH free radical clearance (A), ABTS⁺ free radical clearance (B), hydroxyl free radical clearance (C) and iron ion reduction capacity (D) of sesame bud

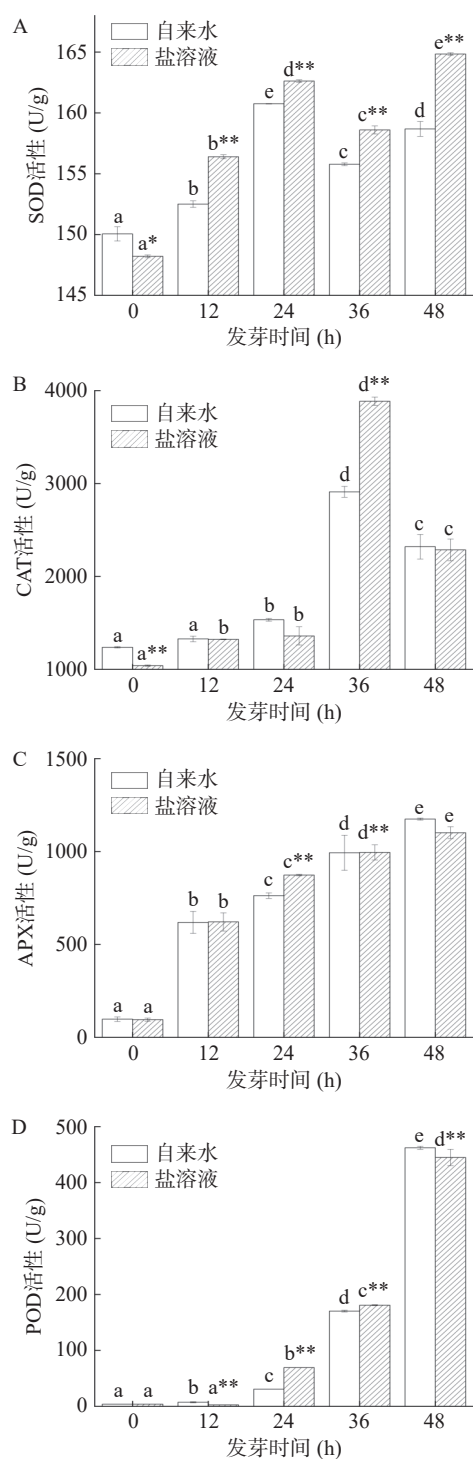


图 4 不同处理对芝麻芽 SOD(A)、CAT(B)、APX(C)和 POD(D)活力的影响

Fig.4 Effects of different treatments on SOD (A), CAT (B), APX (C) and POD (D) activities of sesame bud

于迅速清除体内产生的活性氧,以增加机体的抗氧化防御能力。

试验考察芝麻芽生长过程中的 CAT 活性的变化规律,结果如图 4B 所示。可以看出,芝麻芽 CAT 活性呈先升高后降低的趋势,盐胁迫下芝麻发芽 12、24 h CAT 活性较稳定,第 36 h 开始激增,从 1360 U/g 急剧升高至 3885 U/g 达到顶点,此时比自来水组提升了 33.5%,随后逐渐下降。成少宁^[27]研究发现,两种

荞麦 CAT 酶活力持续上升,在发芽第 6 d 达到极大值,随后逐渐下降。该研究报道的 CAT 变化趋势与本文基本一致。在芝麻发芽过程中,SOD 活力的提升使芝麻芽体内 H_2O_2 含量增加, H_2O_2 含量的增加会进一步激发 CAT 活力的提升,以应对过多的活性氧。

试验考察芝麻芽生长过程中的 APX 活性的变化规律,结果如图 4C 所示。可以看出,盐胁迫下芝麻芽 APX 活性呈逐渐上升趋势,即发芽 12 h 酶活力从 95 U/g 急剧升高至 621 U/g,之后趋于稳定上升。氯化钠盐胁迫下芝麻种子发生了严重的膜脂过氧化反应,植物体内存在 H_2O_2 等活性氧成分^[28],Barba-Espin 等^[29]研究 H_2O_2 处理对豌豆苗 APX 活力的影响,证明 H_2O_2 处理可以提高 APX 活力,且非变性凝胶电泳试验结果表明 H_2O_2 可诱导 cytAPX 和 stAPX 转录水平的提高,同时该研究还表明 H_2O_2 处理可以提高豌豆的发芽率,促进豌豆苗的生长,这与本文结果一致。此外,盐胁迫下芝麻芽活性氧的积累可以诱导 APX 基因的表达^[30],从而引起芝麻芽 APX 活力的提升。

试验考察芝麻芽生长过程中的 POD 活性的变化规律,结果如图 4D 所示。可以看出,盐胁迫下芝麻芽 POD 活性呈逐渐上升趋势,在发芽 12、24 h 酶活性较低,第 36 h 开始酶活性大幅升高,发芽 48 h 后,达到 445 U/g,与自来水组差异极显著($P<0.01$)。张冬晨等^[31]以高压静电场处理荞麦种子,POD 活力显著提升,在高压电场下,由于植物体内活性氧代谢加强,使得 H_2O_2 累积,POD 是植物体内重要的防御系统之一,可以清除过多的 H_2O_2 。POD 防御系统是 SOD 防御系统的补救体系,活性氧可诱发 SOD 酶活性增加,从而使机体内 H_2O_2 含量积累,进而刺激机体 POD 活性的提高。

2.5 芝麻发芽过程酚类物质、抗氧化性和抗氧化酶活性的相关性

对自来水和盐溶液处理的芝麻发芽过程中抗氧化活性、总酚、总黄酮及抗氧化酶活性进行 Pearson 相关性分析,结果如图 5 所示。芝麻总酚与总黄酮含量、ABTS⁺自由基清除能力和 POD 活性均呈极显著正相关($P<0.01$)。与自来水相比,盐胁迫芝麻芽总酚与铁离子还原能力增强,由显著相关($P<0.05$)变为极显著相关($P<0.01$),相关系数由 0.94 提高到 0.99。盐胁迫芝麻芽 SOD 活性与 DPPH、羟自由基清除能力相关系数分别提高 0.11、0.19,达到显著水平($P<0.05$)。与自来水相比,盐胁迫芝麻芽 POD 活性与铁离子还原能力增强,由显著相关($P<0.05$)变为极显著相关($P<0.01$),相关系数由 0.89 提高到 0.97。这说明了盐胁迫下芝麻芽抗氧化性的增强一方面是由于酚类物质的合成,从而修复氧化应激损伤,另一方面是由于活性氧刺激抗氧化酶活力,特别是 SOD 和 POD 活力的增强,以增强细胞抵抗外界氧化损伤的能力。

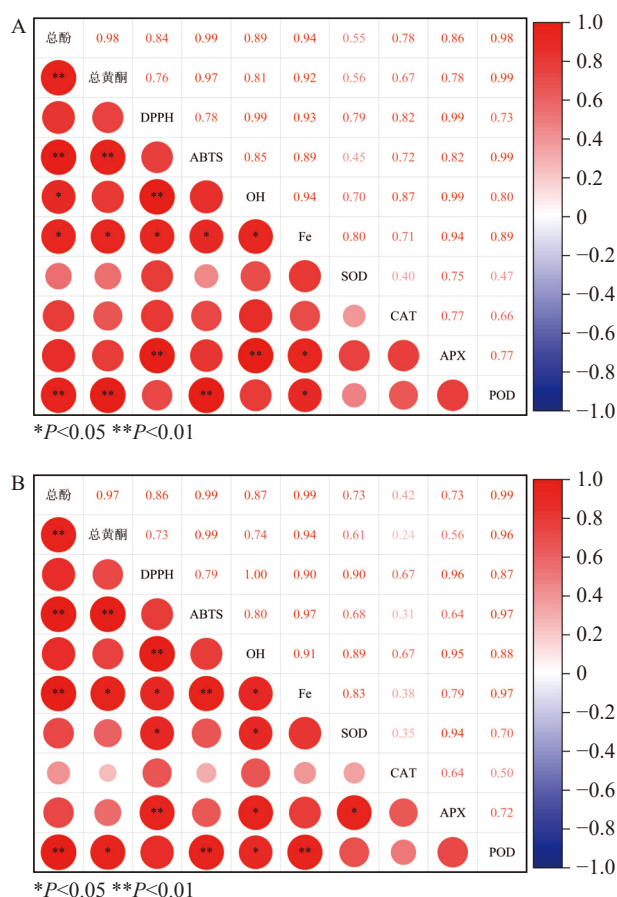


图5 自来水(A)和盐溶液(B)处理萌发过程芝麻芽酚类物质、抗氧化性和抗氧化酶活性的相关性分析

Fig.5 Correlation analysis of phenolic substances, antioxidant activity and antioxidant oxidase activity in sesame bud during germination with tap water (A) and salt solution (B)

3 结论

本试验表明 15 mmol/L NaCl 和 30 mmol/L CaCl₂ 按体积分数 1:1 混合的盐溶液可在发芽前期促进芝麻萌发和总酚总黄酮物质的积累,同时提高对 ABTS⁺ 自由基清除能力、铁离子还原能力以及对芝麻抗氧化酶活性起到了不同程度的诱导作用,并且对 SOD 和 CAT 活性的促进作用大于对 APX 和 POD 的作用。通过相关性分析,结果显示在盐胁迫环境下,芝麻芽中的总酚含量显著增加,且这一增加趋势与总黄酮的含量、ABTS⁺ 自由基率、铁离子还原能力以及 POD 活性之间存在着极显著正相关关系。进一步观察发现,总酚含量与铁离子还原能力之间的相关性增强;同时, SOD 活性与 DPPH 自由基及羟自由基的清除能力之间的相关性, POD 活性与铁离子还原能力之间的相关性均得到了提升,进一步为研究盐胁迫芝麻发芽抗氧化机理和芝麻的开发利用提供理论支持。

参考文献

- [1] 金征宇, 蔡灿欣, 田耀旗, 等. 黑芝麻功能成分的构效关系[J]. 食品科学技术学报, 2019, 37(6): 1-7. [JIN Z Y, CAI C X, TIAN Y Q, et al. Structure-activity relationship of functional components of black sesame[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 37(6): 1-7.]
- [2] 张佳丽, 张爱霞, 赵巍, 等. 发芽粟米对高血脂症小鼠血脂调节和抗氧化作用的研究[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(3): 37-44. [ZHANG J L, ZHANG A X, ZHAO W, et al. Effects of sprouted corn on lipid regulation and antioxidation in hyperlipidemia mice[J]. Journal of Cereals and Oils, 2020, 35(3): 37-44.]
- [3] TIAN X H, ARIHARA J. Response of sesame (*Sesamum indicum* L.) to low oxygen concentration during germination[J]. Plant Production Science, 2003, 6(2): 126-131.
- [4] ZHANG Q, ZHENG G, WANG Q, et al. Molecular mechanisms of flavonoid accumulation in germinating common bean (*Phaseolus vulgaris*) under salt stress[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 928805.
- [5] BENINCASA P, BRAVI E, MARCONI O, et al. Transgenerational effects of salt stress imposed to rapeseed (*Brassica napus* var. *oleifera* Del.) plants involve greater phenolic content and antioxidant activity in the edible sprouts obtained from offspring seeds[J]. Plants, 2021, 10(5): 932.
- [6] 靳晓琳, 贾易天, 张小梅, 等. 氯化钙处理对发芽绿豆营养品质和抗氧化能力的影响[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(16): 151-158. [JIN X L, JIA Y T, ZHANG X M, et al. Effects of calcium chloride treatment on nutritional quality and antioxidant capacity of germinated mung bean[J]. Food and Fermentation Industry, 2023, 49(16): 151-158.]
- [7] SHAH W, ZAMAN N, ULLAH S, et al. Calcium chloride enhances growth and physio-biochemical performance of barley (*Hordeum vulgare* L.) under drought-induced stress regimes: A future perspective of climate change in the region[J]. Journal of Water & Climate Change, 2022, 13(9): 3357-3378.
- [8] LI Y, LIU S, HAO J, et al. Antioxidant benefits and potential mechanisms of slightly acidic electrolyzed water germination in sesame[J]. Foods, 2023, 12(22): 4104.
- [9] 任汐月, 陈可妍, 戴京, 等. 花生芽中酚类物质的大孔树脂纯化工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(11): 108-112, 146. [REN X Y, CHEN K Y, DAI J, et al. Study on macroporous resin purification process of phenols from peanut bud[J]. Food Research and Development, 2020, 41(11): 108-112, 146.]
- [10] 高秀印, 李金金, 肖婷, 等. 苗药透骨香的抗氧化活性研究及总黄酮、总酚酸的含量测定[J]. 广州化工, 2021, 49(23): 93-96. [GAO X Y, LI J J, XIAO T, et al. Study on antioxidant activity and determination of total flavonoid and total phenolic acid of Miaoyao Qingguxiang[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2021, 49(23): 93-96.]
- [11] 宋晓凡, 李岩, 张一茹, 等. 地皮菜总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性评价[J]. 食品科技, 2021, 46(12): 210-216, 223. [SONG X F, LI Y, ZHANG Y R, et al. DePiCai flavonoids extraction process optimization and antioxidant activity evaluation[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 46(12): 210-216, 223.]
- [12] 闫国超, 樊小平, 谭礼, 等. 盐胁迫下添加外源硅提高水稻抗氧化酶活性与钠钾平衡相关基因表达[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(11): 1935-1943. [YAN G C, FAN X P, TAN L, et al. Adding exogenous silicon enhances the activity of antioxidant en-

zymes and the expression of genes related to sodium and potassium balance in rice under salt stress[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2020, 26(11): 1935–1943.]

[13] 王建丽, 牟林林, 尤佳, 等. NaCl 胁迫对中间偃麦草种子萌发和幼苗生长的影响[J]. *黑龙江农业科学*, 2022(11): 62–67.

[WANG J L, MOU L L, YOU J, et al. Effects of NaCl stress on seed germination and seedling growth of *Thinopyrum intermedia*[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2022(11): 62–67.]

[14] 张瑞茜, 高山, 张锐, 等. 盐胁迫对不同油菜种子萌发的影响[J]. *种子*, 2021, 40(1): 94–98. [ZHANG Y Q, GAO S, ZHANG R, et al. Effects of salt stress on seed germination of different rape-seed[J]. *Seed*, 2021, 40(1): 94–98.]

[15] 王晓航, 李海涛, 宋宇鹏, 等. 不同盐胁迫对泽泻种子萌发的影响[J]. *种子*, 2020, 39(12): 103–106. [WANG X H, LI H T, SONG Y P, et al. Effects of different salt stress on seed germination of *Alisma senna*[J]. *Seed*, 2020, 39(12): 103–106.]

[16] 范惠玲, 杨亚莉, 任晓燕, 等. 四种盐碱胁迫对不同品系白芥种子萌发的影响[J]. *山东农业科学*, 2022, 54(11): 39–47. [FAN H L, YANG Y L, REN X Y, et al. Effects of four salt and alkali stresses on seed germination of different strains of white mustard[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2022, 54(11): 39–47.]

[17] 吕朝燕, 田维怡. 钙离子胁迫对 3 种牧草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *种子*, 2019, 38(4): 56–61. [LÜ C Y, TIAN W Y. Effects of calcium ion stress on seed germination and seedling growth of three forage species[J]. *Seed*, 2019, 38(4): 56–61.]

[18] 惠倩汝. 乳酸钙和赤霉素调控发芽大豆植酸降解的机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2018: 69–76. [HUI Q R. Study on mechanism of phytic acid degradation of germinated soybean regulated by calcium lactate and gerber [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018: 69–76.]

[19] 张兆宁, 李江辉, 赵怡宇, 等. 不同程度盐胁迫下大豆萌发期耐盐性鉴定[J]. *大豆科学*, 2023, 42(3): 335–343. [ZHANG Z N, LI J H, ZHAO Y Y, et al. Identification of salt tolerance of soybean during germination under different salt stress[J]. *Soybean Science*, 2023, 42(3): 335–343.]

[20] LI R, WANG Q, ZHAO G, et al. Effects of germination time on phenolics, antioxidant capacity, *in vitro* phenolic bioaccessibility and starch digestibility in sorghum[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2022, 57(8): 5175–5185.

[21] XIANG J, YUAN Y, DU L, et al. Modification on phenolic profiles and enhancement of antioxidant activity of proso millets during germination[J]. *Food Chemistry*, 2023, 18: 100628.

[22] 方赞山, 郝露露, 白琳霞, 等. 低温胁迫下红榄李生理响应研究[J]. *桉树科技*, 2023, 40(2): 1–10. [FANG Z S, HAO L L, BAI L X, et al. Study on the physiological response of red plum under

low temperature stress eucalypt[J]. *Science & Technology*, 2023, 40(2): 1–10.]

[23] DEY N, BHATTACHARJEE S. Accumulation of polyphenolic compounds and osmolytes under dehydration stress and their implication in redox regulation in four indigenous aromatic rice cultivars[J]. *Rice Science*, 2020, 27(4): 329–344.

[24] 马燕, 王婧, 程永霞, 等. 发芽对小麦苗酚类物质及抗氧化能力的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(18): 178–185. [MA Y, WANG J, CHENG Y X, et al. Effects of germination on phenolic substances and antioxidant capacity of wheat seedling[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2023, 49(18): 178–185.]

[25] 张绍智, 普红梅, 张静, 等. 培养条件及干燥方式对苦荞芽苗品质的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(7): 2109–2115. [ZHANG S Z, PU H M, ZHANG J, et al. Culture conditions and the influence of drying methods on buckwheat seedlings quality[J]. *Journal of Food Safety and Quality Testing*, 2020, 11(7): 2109–2115.]

[26] 左月桃. 褪黑素调控盐碱胁迫下小黑麦种子萌发和根系生长的生理机制[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2022: 22–23. [ZUO Y T. Physiological mechanism of melatonin regulation on seed germination and root growth of triticale under saline-alkali stress[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2022: 22–23.]

[27] 成少宁. 萌发荞麦抗氧化活性及抑菌效果研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2010: 26–27. [CHENG S N. Study on antioxidant activity and antibacterial effect of germination buckwheat[D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2010: 26–27.]

[28] ELLOUZI H, ZORRIG W, AMRAOUI S, et al. Seed priming with salicylic acid alleviates salt stress toxicity in barley by suppressing ROS accumulation and improving antioxidant defense systems, compared to halo-and gibberellin priming[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(9): 1779.

[29] BARBA-ESPIN G, DIAZ-VIVANCOS P, CLEMENTE-MORENO M J, et al. Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2010, 33(6): 981–994.

[30] PEKKER I, TEL-OR E, MITTLER R. Reactive oxygen intermediates and glutathione regulate the expression of cytosolic ascorbate peroxidase during iron-mediated oxidative stress in bean[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 49: 429–438.

[31] 张冬晨, 刘海杰, 刘瑞, 等. 超声波处理对荞麦种子营养物质累积以及抗氧化活性的影响[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(7): 69–73, 78. [ZHANG D C, LIU H J, LIU R, et al. Effects of ultrasonic treatment on nutrient accumulation and antioxidant activity of buckwheat seeds[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2015, 36(7): 69–73, 78.]