

青稞麦麸 γ -氨基丁酸的制备条件优化

江迪¹, 张紫晋¹, 杨婷^{1,2}, 赵爽^{1,4}, 彭君³, 蒲邓佳^{1,2}, 陈静^{1*}

(¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041

²四川农业大学 四川雅安 625014

³西藏自治区农牧科学院农业资源与环境研究所 拉萨 850000

⁴云南农业大学 昆明 650500)

摘要 以青稞麸皮为原料,利用内源谷氨酸脱羧酶(GAD)和外源添加谷氨酸钠及磷酸吡哆醛(PLP)富集 γ -氨基丁酸(GABA)。在比较不同品种 GABA 富集能力差异的基础上,采用以 pH 值、料液比、外源谷氨酸钠和磷酸吡哆醛浓度、反应温度和时间为变量的单因素实验和正交试验方法,得到 GABA 富集的优化工艺条件。结合青稞麸皮分级制备 GABA 的比较试验结果,建立 GABA 的高效制备方法:麸皮脱皮率 4.23%~6.43%,料液比 140:1(g/L),反应时间 12 h,反应温度 35 °C,添加谷氨酸钠浓度为 8 mmol/L,PLP 浓度为 18 μ mol/L。利用该方法获得的 GABA 最高产量为 19.57 mmol/L,外源底物转化率在 97%以上。

关键词 青稞麦麸; γ -氨基丁酸; 正交试验; 工艺条件

文章编号 1009-7848(2023)07-0259-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.07.027

γ -氨基丁酸 (γ -Aminobutyric acid, GABA) 是一种广泛分布于动、植物和微生物中的非蛋白质氨基酸^[1],是存在于哺乳动物脑、脊髓中的一种重要的抑制性神经递质^[2],具有降血压^[3-4]、抗抑郁^[5-6]、增强脑功能^[7-8]等生理活性,在功能性食品领域有着巨大的应用前景^[9]。GABA 主要由谷氨酸经谷氨酸脱羧酶 (Glutamate decarboxylase, GAD) 催化转化而来^[10],其制备方法主要有化学合成法和生物合成法两大类^[11]。化学合成法虽然反应速度快,得率高,但是副反应多,有化学物质残留,不符合现代工业绿色环保的发展理念^[12]。生物合成法又分为微生物转化法和植物富集法^[13],其原理是利用微生物与植物中的内源 GAD 将谷氨酸 (Glu) 及其钠盐转化成 GABA。微生物转化存在高效菌株难获得,发酵液成分复杂,生产的 GABA 需进一步纯化等问题^[14]。常见的植物富集法,如利用大豆^[15]、水稻^[16]等谷物籽粒进行发芽或发酵处理富集 GABA,则存在得率低,操作步骤多, pH 调控严等

不同程度的局限性,不能满足食品工业大规模生产的需要。

近年来,全球对营养健康功能食品和保健品的需求持续增加,探索低成本、环境友好、食物源的 GABA 高效富集方法十分重要^[17]。到目前为止,国内外利用米糠^[18]、玉米胚芽^[19]等农业副产物转化 GABA 的研究较多,然而,利用麦麸制备 GABA 的报道较少。廖周华等^[20]以脱脂小麦麦麸为原料,通过正交试验优化富集工艺得到的 GABA 产量为 3.81 mg/g (4 mmol/L)。Jin 等^[21]和 Limure 等^[22]以裸大麦麦麸为原料,通过对外源添加谷氨酸钠和辅酶以及反应条件的单因素优化, GABA 生成量达到 11 mmol/L,转化率为 92%。青藏高原裸大麦(亦称青稞)是栽培大麦的一个变种,也是种植面积最大的高原粮食作物^[23]。本试验通过对青稞品种选择、麸皮分级制备方法和 GABA 合成工艺优化等研究,建立一种利用青稞麸皮制备 GABA 的安全、高效的方法,从而为高附加值 GABA 功能食品和保健品生产提供可靠的原料生产途径,以提高农业资源的利用率和种植效益。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂与仪器

供试材料:15 份青稞品种,种植于四川什邡,

收稿日期: 2022-07-15

基金项目: 四川省区域创新合作项目 (2020YFQ0001); 中国科学院科技服务网络计划项目 (KFJ-STQY-ZD-117); 西藏科技重点研发项目 (XZDZKJ-2021-01-06, XZ202201ZD0001N)

第一作者: 江迪,女,硕士生

通信作者: 陈静 E-mail: chenjing@cib.ac.cn

常规田间管理,收获成熟籽粒用于后续研究。

主要试剂:GABA标准品,上海麦克林生化科技有限公司;谷氨酸钠、磷酸吡哆醛,上海源叶生物科技有限公司;硼酸、四硼酸钠、苯酚、次氯酸钠、无水乙醇、盐酸,成都海鸿实验仪器有限公司。本试验使用的化学药品均为分析纯级。

主要仪器与设备:SCIENTZ高通量组织研磨器,宁波新芝生物科技股份有限公司;IS-RDV1/IS-RSV1立式恒温振荡器,美国精骐有限公司;AS220.X2分析天平,波兰RADWAG公司;Thermo Fisher全波长扫描式多功能读数仪,美国赛默飞世尔公司;L4-6K台式低速离心机,湖南可成仪器设备有限公司;HWS24电热恒温水浴锅,上海一恒科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 原料制备 委托当地面粉加工厂采用常规磨粉方法获得供试品种的商品麦麸。通过不同程度碾压进行麦麸分级制备,具体做法为:清除种子中的石子、泥块等杂质,快速清洗、烘干后,称取6份青稞倒入脱皮机,采用常规碾米工序,通过设定脱皮循环次数得到不同的脱皮率,出料口收集并称量青稞麦麸,计算脱皮率($\%$)=(青稞麸皮质量/青稞质量) $\times 100$ 。采用组织研磨器粉碎麦麸,过80目筛,备用。

1.2.2 绘制GABA标准曲线 准确称取GABA标准品100 mg,用蒸馏水溶解并定容到100 mL,配制成1 mg/mL的标准液。准确吸取0,0.05,0.10,0.15,0.20,0.25 mL的1 mg/mL的GABA标准液于带盖的10 mL离心管中,分别加入蒸馏水1,0.95,0.90,0.85,0.80,0.75 mL,得到不同浓度的GABA标准溶液。

采用Berthelot比色法^[24]对不同浓度的标准GABA溶液进行处理,依次加入0.2 mol/L(pH 9.0)硼酸盐缓冲液0.6 mL,5%苯酚溶液2 mL,7%次氯酸钠溶液1 mL混匀后,立即放入沸水浴加热13 min,冰浴冷却5 min,最后加入60%乙醇2 mL摇匀,然后在波长645 nm处测定溶液的吸光度。以吸光度为横坐标,GABA浓度为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.3 GABA产量及GAD酶活力测定 GABA富集参考Jin等^[21]的方法,略有改动。具体操作步

骤为:按照140:1(g/L)的料液比,在180 r/min,30℃条件下振荡培养8 h。反应结束后3 800 \times g离心15 min,取上清液1 mL测定GABA含量。GABA测量方法同1.2.2节。利用绘制的标准曲线计算样品GABA含量。

GAD酶活力测定参考吕莹果^[25]的方法,略有改动。具体操作步骤为:称取1 g麦麸到三角瓶中,加入质量浓度为10 g/L的谷氨酸钠底物溶液40 mL,在pH 5.7,40℃反应2 h,90℃加热5 min灭酶活,3 800 \times g离心5 min,取上清测定产物GABA含量,GABA测量方法同1.2.2节。以每30 min生成1 μ mol的GABA作为一个酶活力单位。

1.2.4 GABA合成工艺的单因素实验及正交试验 分别考察pH值(5.7,7)、料液比(60:1,80:1,100:1,120:1,140:1,g/L)、反应时间(4,8,12,16,20 h)、反应温度(25,30,35,40,45℃)、磷酸吡哆醛浓度(0,10,20,30 μ mol/L)、谷氨酸钠浓度(0,3,6,8,10 mmol/L)对青稞麸皮制备GABA的影响。根据单因素实验结果,设计正交试验。试验因素与水平见表1。

表1 因素水平表
Table 1 Factors and levels of the test

因素	水平		
	1	2	3
A(反应时间/h)	8	12	16
B(反应温度/℃)	30	35	40
C(磷酸吡哆醛浓度/ μ mol \cdot L ⁻¹)	10	14	18

1.3 数据处理方法

试验设置3次重复。采用软件SPSS 25.0进行显著性检验及方差分析。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的建立

图1为绘制的GABA标准曲线,在波长645 nm处的吸光值与GABA质量浓度具有良好的线性关系; $y=0.0955x-0.00009$,回归系数 $R^2=0.9994$,RSD=1.8%,可以作为后续计算样品GABA含量的参照标准曲线。

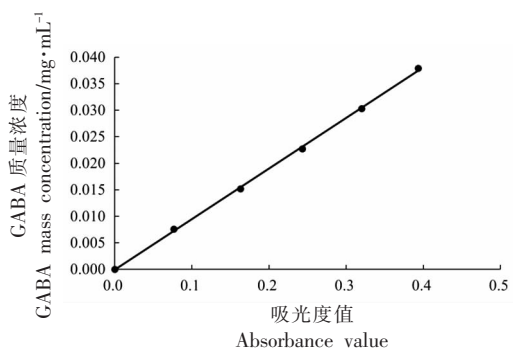
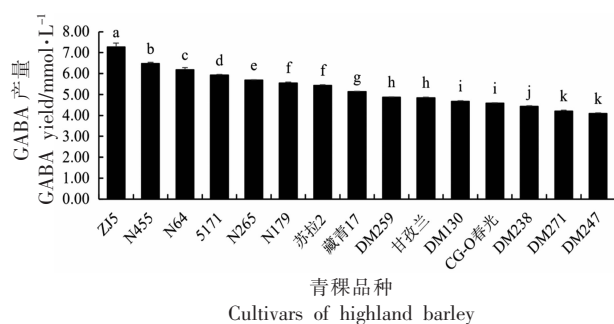


图 1 GABA 标准曲线

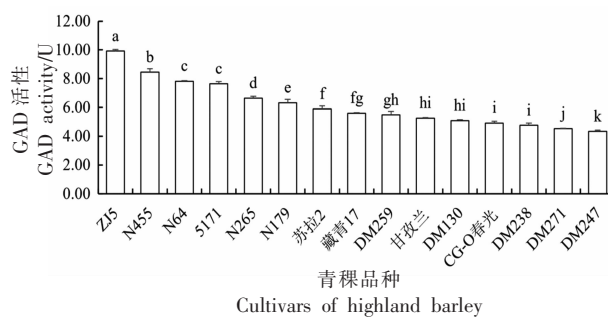
Fig.1 The standard curve of GABA content

2.2 青稞麦麸 GAD 活性及 GABA 产量分析

青稞属于高蛋白、低脂作物,其籽粒谷氨酸含



(a)不同青稞品种富集的 GABA 产量



(b)不同青稞品种的 GAD 酶活水平

注:同组数据不同小写字母表示不同品种间差异在 0.05 水平显著。

图 2 不同青稞品种富集的 GABA 产量及 GAD 酶活力

Fig.2 GABA yield and GAD activity of different highland barley varieties

2.3 利用青稞麸皮富集 GABA 的单因素实验

2.3.1 pH 值对 GABA 产量的影响 有研究表明麦麸 GAD 酶活的最佳 pH 值为 5.7^[25],故而分别以蒸馏水和 pH 5.7 的磷酸缓冲液作为浸泡溶液,比较其对 GABA 产量的影响,GABA 富集方法同 1.2.3 节。如图 3 所示,不同浸泡液转化生成的 GABA 产量存在差异,在 pH 5.7 的磷酸缓冲液条件下,2 个青稞品种 GABA 产量虽均高于以蒸馏水为介质的 GABA 产量,但差异未达到显著水平。为减少生产过程中的化学物质成分,建立安全的 GABA 制备方法,后续试验均以蒸馏水为反应溶液介质。

2.3.2 料液比对 GABA 产量的影响 分别按照 60:1,80:1,100:1,120:1,140:1(g/L)的料液比,准确称取 6,8,10,12,14 g 麦麸加入到含有 100 mL

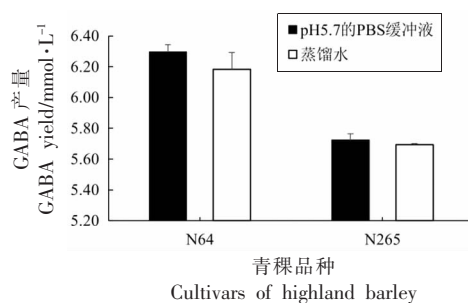


图 3 pH 对 GABA 产量的影响

Fig.3 Effect of pH on GABA yield

量明显高于其它氨基酸组分^[26],基于前期对不同青稞品种籽粒 GABA 含量的鉴定,选择 15 个品种的商品麦麸进行 GABA 富集的比较试验。从图 2 可以看出,利用不同青稞品种富集的 GABA 产量存在显著差异,GABA 平均产量为 5.29 mmol/L,变化范围为 4.10~7.27 mmol/L,其中 ZJ5 的 GABA 生成量最高为 7.27 mmol/L。GAD 是 GABA 代谢通路中的限速酶,进一步分析发现,品种间 GAD 酶活水平差异显著,GAD 酶活力平均为 6.18 U,变化范围为 4.33~9.91 U,且不同品种 GABA 生成量与 GAD 活性呈极显著正相关($r = 0.988$),表明品种间内源 GAD 酶活性差异可能是 GABA 产量不同的主要原因。因此,选择品种 ZJ5 的商品麦麸作为 GABA 富集方法优化的原料。

蒸馏水的三角瓶中,在 180 r/min,30 °C 条件下振荡培养 8 h,3 800×g 离心 15 min,取上清液 1 mL 测定 GABA 含量。由图 4 可知,GABA 产量随着料液

比的升高而增加,在料液比为 140:1(g/L)的情况下,GABA 的产量最高,可达到 7.30 mmol/L。继续增加料液比,反应搅拌困难,因此确定最适宜的料液比为 140:1(g/L)。

2.3.3 反应时间对 GABA 产量的影响 按照 140:1(g/L)的料液比称取 14 g 麦麸,加入含有 10 mmol/L

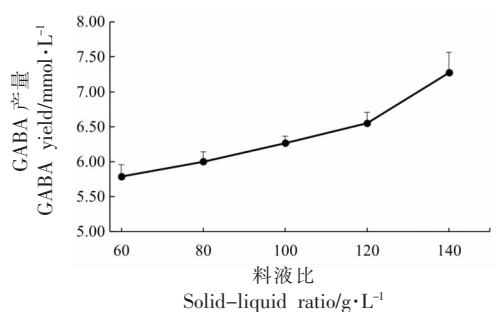


图4 料液比对 GABA 产量的影响

Fig.4 Effects of solid-liquid ratio on GABA yield

2.3.4 反应温度对 GABA 产量的影响 按照 140:1(g/L)料液比称取 14 g 麦麸,加入含有 10 mmol/L 谷氨酸钠的 100 mL 水溶液,分别在温度 25,30,35,40,45 °C,180 r/min 条件下振荡培养 12 h,3 800×g 离心 15 min,取上清液测定 GABA 含量。从图 6 可以看出,当反应温度在 25~45 °C时,GABA 的生成量呈先升高后降低的趋势,当反应温度为 35 °C时,GABA 的生成量最高,随后开始下降。

2.3.5 PLP 浓度对 GABA 产量的影响 PLP 是维

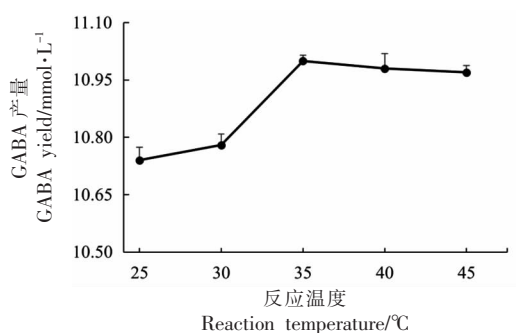


图6 反应温度对 GABA 产量的影响

Fig.6 Effects of reaction temperature on GABA yield

2.3.6 谷氨酸钠浓度对 GABA 产量的影响 按照 140:1(g/L)料液比称取 14 g 麦麸,分别加入含有 0,3,6,8,10 mmol/L 谷氨酸钠以及 10 μmol/L PLP 的 100 mL 水溶液。在 180 r/min,30 °C条件下振荡

L 谷氨酸钠的 100 mL 水溶液,在 180 r/min,30 °C 条件下分别振荡培养 4,8,12,16,20 h,3 800×g 离心 15 min,取上清液测定 GABA 含量。由图 5 可以看出,4~8 h 是 GABA 生成缓慢增长期,8~12 h 为 GABA 的快速增长期,12 h 之后 GABA 的合成趋于平稳。

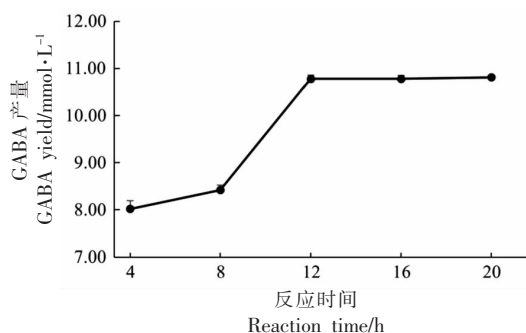


图5 反应时间对 GABA 产量的影响

Fig.5 Effects of reaction time on GABA yield

生素 B₆ 的活性形式,作为辅酶参与 GABA 生物合成的谷氨酸脱羧反应。按照 140:1(g/L)料液比称取 14 g 麦麸,分别加入含有 0,10,20,30 μmol/L PLP 及 10 mmol/L 谷氨酸钠的 100 mL 水溶液。在 180 r/min,30 °C条件下振荡培养 12 h,3 800×g 离心 15 min,取上清液 1 mL 测定 GABA 含量。由图 7 可以看出,在 0~30 μmol/L PLP 浓度范围,GABA 的生成量持续升高,当添加量大于 20 μmol/L 时,GABA 的生成量增加趋于平缓。

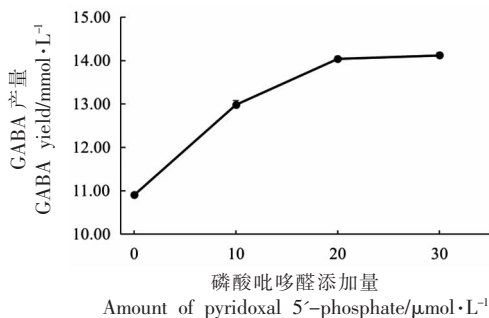


图7 磷酸吡哆醛添加量对 GABA 产量的影响

Fig.7 Effect of the amount of pyridoxal 5'-phosphate on GABA yield

培养 12 h,3 800×g 离心 15 min,取上清液 1 mL 测定 GABA 的浓度。由图 8 可以看出,在 0~10 mmol/L 的谷氨酸钠添加量范围内,GABA 的生成量持续上升,在添加量为 8 mmol/L 时,GABA 的生

成量最高为 14.01 mmol/L。当谷氨酸钠添加量大于 8 mmol/L 后, GABA 的生成量开始下降。因此, 后续优化试验谷氨酸钠的添加量为 8 mmol/L。

2.4 青稞麦麸 GABA 富集工艺优化的正交试验及验证

根据单因素实验结果, 将料液比确定为 140:1 (g/L), 谷氨酸钠添加量为 8 mmol/L, 采用 $L_9(3^3)$ 正交试验对反应时间、反应温度、PLP 浓度 3 个因素进一步优化。由表 2 和表 3 可知, 3 个试验因素的极差 (r) 大小依次为 $r_A > r_B > r_C$, 反应时间对 GABA 产量的影响最大, 其次是反应温度和 PLP 添加量。方差分析表明, 反应时间、反应温度、PLP 添加量对 GABA 产量的影响极显著 ($P < 0.01$), 根据各因素水平组合得到的 GABA 含量结果显示, $A_2B_2C_3$

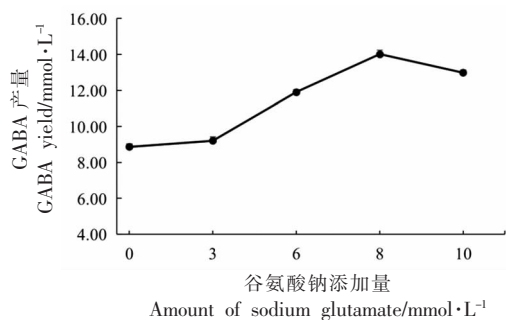


图 8 谷氨酸钠添加量对 GABA 产量的影响

Fig.8 Effects of the amount of sodium glutamate on GABA yield

为最优组合, 即在时间 12 h, 温度 35 °C, PLP 初始浓度 18 μ mol/L 的反应条件下, 转化生成的 GABA 产量最高。

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal experiment

试验号	A	B	C	GABA 含量/mm \cdot L $^{-1}$
1	1	1	1	13.73
2	1	2	2	13.75
3	1	3	3	13.53
4	2	1	2	14.52
5	2	2	3	15.08
6	2	3	1	14.00
7	3	1	3	14.89
8	3	2	1	14.68
9	3	3	2	13.83
S1	41.01	43.14	42.41	
S2	43.60	43.51	42.10	
S3	43.40	41.36	43.50	
k_1	13.67	14.38	14.14	
k_2	14.53	14.50	14.03	
k_3	14.47	13.79	14.50	
r	0.86	0.72	0.47	

表 3 正交试验方差分析表

Table 3 Variance analysis of orthogonal experiment

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	1.384	2	0.692	769.148	0.001
B	0.881	2	0.440	489.370	0.002
C	0.360	2	0.180	200.259	0.005
误差	0.002	2	0.001		

为验证优化工艺条件, 按 140:1 (g/L) 的料液比, 加入含有 8 mmol/L 的谷氨酸钠以及 18 μ mol/L 的磷酸吡哆醛水溶液, 设置反应温度为 35 °C, 反应 12 h, 3 次重复试验测得的 GABA 生成量分别

为 15.07, 15.13, 15.16 mmol/L, 平均含量为 15.12 mmol/L, 与正交试验结果相近, 说明该工艺条件稳定可靠。

2.5 不同脱皮率对青稞麦麸制备 GABA 的影响

胚芽和麦麸是籽粒 GABA 合成的主要部位,为进一步调查麸皮脱皮率对 GABA 产量的影响,通过不同碾磨程度的麸皮分级制备方法共获得 7 个试验组的青稞麦麸,脱皮率分别为 0%(完整籽粒),4.23%,6.43%,13.62%(商品麦麸),23.78%,30.44%,34.27%。采用前述优化工艺条件富集制备 GABA。

由表 4 可以看出,随着青稞脱皮率的增加,麦麸富集的 GABA 含量显著下降,当脱皮率>23.78%时,籽粒外皮全部脱离,GABA 含量趋于稳定。同样,随着脱皮率的增加,对应的青稞米 GABA 含量不断降低,在脱皮率为 4.23%~6.43%范围时,差异不显著。因此,在前述优化工艺合成条件下,利用脱皮率为 4.23%~6.43%的麦麸富集制得的 GABA 含量较高(17.27~19.57 mmol/L),明显高于商品麦

麸富集的 GABA 含量 15.12 mmol/L。本试验利用青稞麦麸富集的 GABA 含量最高可达 19.57 mmol/L,相当于麸皮中 GABA 含量为 14.41 mg/g,显著高于前人报道的裸大麦富集 GABA 产量 7.56 mg/g^[22],也极显著高于米糠和小麦富集的 GABA 产量 5.02 mg/g 和 3.21 mg/g^[21,27]。

为了测量添加底物谷氨酸钠的转化率,对试验组 2 和 3 设置了无底物添加的对照组,其余工艺条件相同。计算转化率(%)=(添加底物处理组 GABA 量-未添加底物对照组 GABA 量)/底物添加量×100。测量得到脱皮率分别为 4.23%和 6.43%麦麸的对照组 GABA 产量分别为 11.78 mmol/L 和 9.44 mmol/L,相应的底物转化率分别为 97.38%和 97.88%,表明在上述工艺条件下,底物谷氨酸钠转化为 GABA 的效率极高,残留量低。

表 4 麦麸脱皮率对 GABA 产量的影响

Table 4 Effect of peeling rate of bran on GABA yield

试验组	脱皮率/%	麦麸富集 GABA 含量/mmol·L ⁻¹	青稞米 GABA 含量/mmol·L ⁻¹
1	0	-	1.68 ± 0.01 ^a
2	4.23	19.57 ± 0.46 ^a	1.63 ± 0.03 ^a
3	6.43	17.27 ± 0.30 ^b	1.62 ± 0.07 ^a
4	13.62	15.76 ± 0.57 ^c	1.54 ± 0.01 ^b
5	23.78	14.38 ± 0.92 ^d	1.40 ± 0.02 ^c
6	30.44	13.50 ± 0.58 ^d	1.39 ± 0.06 ^c
7	34.27	13.57 ± 0.69 ^d	1.38 ± 0.06 ^c

注:同列数据后不同字母表示处理间差异在 0.05 水平显著。

3 结论

青稞是青藏高原特色主粮作物,富含多种营养成分及功能活性物质。本研究发现,利用不同青稞品种麦麸为原料富集的 GABA 产量差异较大,且与品种内源 GAD 活性密切相关,其中品种 ZJ5 的 GABA 产量最高。在 pH 值、料液比、外源谷氨酸钠和 PLP 浓度、反应温度和时间的单因素实验基础上,通过反应时间、温度和 PLP 浓度的三因素三水平正交试验,得到 GABA 富集的优化工艺条件。不同脱皮率的麸皮分级制备对 GABA 产量影响显著,在不使用缓冲溶液,安全添加谷氨酸钠和 PLP 的条件下,青稞麦麸 GABA 安全高效的制备技术为:麸皮脱皮率为 4.23%~6.43%,料液比为 140:1(g/L),反应时间为 12 h,反应温度为 35 ℃,

分别添加浓度为 8 mmol/L 的谷氨酸钠和 18 μmol/L 的 PLP,获得的 GABA 最高产量为 19.57 mmol/L(14.41 mg/g),外源底物转化率高于 97%。该工艺技术为食物源高含量 GABA 绿色制备和青稞副产物高值化利用提供了理论和技术支持,后续将在中试或更大规模条件下继续优化 GABA 青稞麦麸富集的工艺条件。

参 考 文 献

- [1] MA Y, WANG P, WANG M, et al. GABA mediates phenolic compounds accumulation and the antioxidant system enhancement in germinated hulless barley under NaCl stress[J]. Food Chemistry, 2019,

- 270; 593-601.
- [2] NGO D H, VO T S. An updated review on pharmaceutical properties of gamma-aminobutyric acid[J]. *Molecules*, 2019, 24(15): 2678.
- [3] 谢芳, 杨承剑, 唐艳, 等. 含 γ -氨基丁酸水牛酸奶对 SHR 大鼠血压、血脂及小鼠醉酒的影响[J]. *中国酿造*, 2015, 34(9): 97-100.
- XIE F, YANG C J, TANG Y, et al. Effects of γ -aminobutyric acid buffalo milk yogurt on blood pressure, blood lipids levels of SHR and drunkenness of mice[J]. *China Brewing*, 2015, 34(9): 97-100.
- [4] KAZUHITO A, JUNKO K, SHUNSUKE S, et al. Seed-specific expression of truncated OsGAD2 produces GABA-enriched rice grains that influence a decrease in blood pressure in spontaneously hypertensive rats[J]. *Transgenic research*, 2009, 18(6): 865-876.
- [5] H A M. Yo GABA GABA! A neurotransmitter interrupts DC-NK crosstalk[J]. *Journal of leukocyte biology*, 2021, 110(4): 611-612.
- [6] VEERAIHAH P, NORONHA J M, MATTRA S, et al. Dysfunctional glutamatergic and γ -aminobutyric acidergic activities in prefrontal cortex of mice in social defeat model of depression[J]. *Biological Psychiatry*, 2014, 76(3): 231-238.
- [7] KUMAR K, KAUR H, DESHMUKH R. Neuroprotective role of GABAB receptor modulation against streptozotocin-induced behavioral and biochemical abnormalities in rats[J]. *Neuroscience*, 2017, 357: 67-74.
- [8] GIOVANNETTI E A, FUHRMANN M. Unsupervised excitation: GABAergic dysfunctions in Alzheimer's disease[J]. *Brain Research*, 2018, 1707: 216-226.
- [9] 蒋彤, 徐慧, 贾丽娜. γ -氨基丁酸的生理功能及其在食品中的应用研究进展[J]. *粮食与油脂*, 2020, 33(4): 23-25.
- JIANG T, XU H, JIA L N. Research progress on the physiological function of γ -aminobutyric acid and its application in food [J]. *Cereals & Oils*, 2020, 33(4): 23-25.
- [10] INATOMI K, SLAUGHTER J C. Glutamate decarboxylase from barley embryos and roots. General properties and the occurrence of three enzymic forms [J]. *Biochemical Journal*, 1975, 147(3): 479-484.
- [11] 宁亚维, 马梦戈, 杨正, 等. γ -氨基丁酸的制备方法及其功能食品研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(23): 238-247.
- NING Y W, MA M G, YANG Z, et al. Research progress in the enrichment process and functional foods of γ -aminobutyric acid[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(23): 238-247.
- [12] 沈萌. γ -氨基丁酸的制备研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2011.
- SHEN M. Preparation of γ -aminobutyric acid by two methods [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2011.
- [13] 张恒, 刘慧燕, 潘琳, 等. 生物法合成 γ -氨基丁酸的研究策略[J]. *中国生物工程杂志*, 2021, 41(8): 110-119.
- ZHANG H, LIU H Y, PAN L, et al. Research strategy for biosynthesis of gamma aminobutyric acid [J]. *China Biotechnology*, 2021, 41(8): 110-119.
- [14] 杨宏芳, 朱宏阳, 李泳宁, 等. 微生物发酵法制备 γ -氨基丁酸的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(24): 76-78.
- YANG H F, ZHU H Y, LI Y N, et al. Research progress on the preparation of γ -aminobutyric acid by microbial fermentation[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45(24): 76-78.
- [15] GUO Y, CHEN H, SONG Y, et al. Effects of soaking and aeration treatment on γ -aminobutyric acid accumulation in germinated soybean (*Glycine max* L.)[J]. *European Food Research and Technology*, 2011, 232(5): 787-795.
- [16] ZHANG H, YAO H Y, CHEN F. Accumulation of γ -aminobutyric acid in rice germ using protease[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2014, 70(5): 1160-1165.
- [17] 林杨, 唐琦勇, 楚敏, 等. γ -氨基丁酸的功能、生产及食品应用研究进展[J]. *中国调味品*, 2021, 46(6): 173-179.
- LIN Y, TANG Q Y, CHU M, et al. Research progress on function, production and food application of γ -aminobutyric acid [J]. *China Condiment*, 2021, 46(6): 173-179.
- [18] 张弘, 姚骏, 王玥玮, 等. 米糠发酵富集 γ -氨基丁酸技术研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(3): 216-219.
- ZHANG H, YAO J, WANG Y W, et al. Study on enrichment of gamma aminobutyric acid by rice bran fermentation [J]. *Food Research and Development* 2018, 39(3): 216-219.

- [19] 王玲玲, 李楠, 王文蒙, 等. 利用玉米胚内源酶富集 γ -氨基丁酸工艺条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(4): 87-91.
WANG L L, LI N, WANG W M, et al. Study on the conditions of GABA-accumulation by endoenzyme in corn germ[J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(4): 87-91.
- [20] 廖周华, 陈铭志, 李彩娟, 等. 麦麸提取 γ -氨基丁酸工艺的优选[J]. 亚热带农业研究, 2010, 6(4): 267-270.
LIAO Z H, CHEN M Z, LI C J, et al. Optimization on processing technology of γ -aminobutyric acid extraction from wheat bran[J]. Subtropical Agriculture Research, 2010, 6(4): 267-270.
- [21] JIN W J, KIM M J, KIM K S. Utilization of barley or wheat bran to bioconvert glutamate to γ -aminobutyric acid (GABA)[J]. J Food Sci, 2013, 78(9): C1376-1382.
- [22] LIMURE T, KIHARA M, HIROTA N, et al. A method for production of γ -amino butyric acid (GABA) using barley bran supplemented with glutamate[J]. Food Research International, 2009, 42(3): 319-323.
- [23] 夏虎, 晏熙玥, 卢利聃, 等. 青稞的营养功能及其高值化利用研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(20): 403-413.
XIA H, YAN X Y, LU L D, et al. Progress on nutritional function and high-value utilization of hull-less barley[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(20): 403-413.
- [24] 万蓝婷, 李暄妍, 程建峰, 等. Berthelot 比色法测定植物叶片中 γ -氨基丁酸(GABA)含量的体系优化[J]. 植物生理学报, 2021, 57(7): 1462-1472.
WAN L T, LI X Y, CHENG J F, et al. Systematic optimization of Berthelot colorimetry for determining γ -aminobutyric acid (GABA) content in plant leaves[J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(7): 1462-1472.
- [25] 吕莹果. 米糠谷氨酸脱羧酶的分离纯化及其性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
LÜ Y G. Study on purification and characterization [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009.
- [26] 侯殿志, 沈群. 我国 29 种青稞的营养及功能组分分析[J]. 中国食品学报, 2020, 20(2): 289-298.
HOU D Z, SHEN Q. Analysis of nutrition and functional components of 29 kinds of highland barley in China[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(2): 289-298.
- [27] 刘元, 王玥玮, 张立娟. 米糠发酵产 γ -氨基丁酸条件优化的研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(18): 150-153.
LIU Y, WANG Y W, ZHANG L J. Study on fermentation of rice bran production gamma-aminobutyric optimal condition[J]. Food Research and Development, 2019, 40(18): 150-153.

Optimization of γ -Aminobutyric Acid Preparing Conditions Using Highland Barley Bran

Jiang Di¹, Zhang Zijin¹, Yang Ting^{1,2}, Zhao Shuang^{1,4}, Peng Jun³, Pu Dengjia^{1,2}, Chen Jing^{1*}

¹Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041

²Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan

³Institute of Resources and Environment, Tibet Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850000

⁴Yunnan Agricultural University, Kunming 650500)

Abstract A method for γ -aminobutyric acid (GABA) production was studied using highland barley bran combined with adding sodium glutamate and pyridoxal 5'-phosphate (PLP). Based on the influences of different varieties on GABA bio-conversion and the single test of factors including solution pH, initial whole flour concentration, reaction temperature and time, initial concentrations of sodium glutamate and PLP, the optimal reaction conditions of GABA production through the orthogonal experiment were developed. This research further showed that a strong influence of peeling level of barley bran on GABA enrichment. A safe and highly efficient preparing conditions without any buffer was determined as follows: bran peeling rate 4.23%-6.43%, barley bran concentration 140:1 (g/L), reaction time 12 h, reaction temperature 35 °C, 8 mmol/L and 18 μ mol/L supplemental level of sodium glutamate and PLP, respectively. The optimal reactions produced 19.57 mmol/L GABA from 8 mmol/L sodium glutamate, with a GABA conversion rate up to 97%.

Keywords highland barley bran; gamma-aminobutyric acid; orthogonal experiment; processing condition