

萌育与冻融处理对芝麻 γ -氨基丁酸含量的影响

王洪震^{1,2}, 郝征红^{1*}, 李圆圆¹, 马梦瑶¹, 张悦¹, 王明辉³

(¹ 山东农业工程学院食品科学与工程学院 济南 250100

² 中国海洋大学海洋生命学院 山东青岛 266003

³ 济南大学生物科学与技术学院 济南 250022)

摘要 探究萌育时间、萌育温度、氯化钙、谷氨酸钠等因素以及冻融处理对芝麻萌育过程中 γ -氨基丁酸含量的影响。结果表明,随着萌育时间的延长, γ -氨基丁酸含量显著提升,萌育 3.0 d 时, γ -氨基丁酸含量增至 7.19 mg/g;30 °C 时萌育 γ -氨基丁酸含量增至最大值;萌育过程中添加氯化钙溶液、谷氨酸钠溶液均有利于 γ -氨基丁酸的转化;冻融处理对于转化 γ -氨基丁酸具有显著作用。使用萌育 1 d 的芝麻,采用响应面试验得出最优的 γ -氨基丁酸转化条件为:冷冻胁迫 18 h,解冻温度 32 °C,解冻时间 15 h,在该条件下芝麻中 γ -氨基丁酸含量为 10.02 mg/g,比未经冻融处理的芝麻 γ -氨基丁酸含量提高 3.02 倍,比对照组 γ -氨基丁酸含量提高 4.06 倍。

关键词 芝麻; γ -氨基丁酸; 萌育; 冻融处理; 影响因素

文章编号 1009-7848(2024)01-0136-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.01.015

γ -氨基丁酸 (γ -Amino butyric acid, GABA) 是一种以自由态存在的四碳非蛋白质天然氨基酸,是哺乳动物脑、脊髓中重要的神经递质,具有抗抑郁,改善睡眠,缓解精神压力,降血压,防止动脉硬化等功能^[1-6]。我国早在 2009 年就将 GABA 列入新资源食品管理。由于人体自身合成 γ -氨基丁酸的能力随年龄的增长而减弱,通常食物中 GABA 含量仅为 0.03~2.00 $\mu\text{mol/g dw}$,因此正常饮食无法满足机体需求^[7]。芝麻 (*Sesamum indicum* L.) 是脂麻科脂麻属植物脂麻的干燥成熟种子,在全球种植范围广,芝麻含有丰富的油脂、蛋白质及多种生物活性物质,有研究分析了芝麻的氨基酸组成,发现其谷氨酸含量最高,占种子的 4% 左右,占总氨基酸的 20% 以上^[8-10],而谷氨酸是合成 GABA 的重要前体物质,因此芝麻具有较高的 GABA 转化富集潜力。

萌育处理被认为是一种成本低廉、方便有效的改善谷物、豆类食用品质和营养价值的方法,可以有效提高谷物、豆类的营养价值和生物活性成分含量^[11-14],如提高 GABA 的含量、多酚类物质以及新产生维生素 C 等^[6-7]。近年来,有研究利用糙

米、小米、大豆、鹰嘴豆、蚕豆等通过发芽、发酵等方式进行 GABA 富集^[15-20]。目前国内外对芝麻中 GABA 的研究尚处于起步阶段,对于芝麻中 GABA 含量的影响因素研究尚属空白。本研究探讨萌育与冻融处理条件对芝麻中 GABA 含量的影响,利用响应面试验得到芝麻转化 γ -氨基丁酸的最佳处理条件,为利用芝麻开发富含 γ -氨基丁酸的食品提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设备

芝麻:中芝 34 号,山东省十里香芝麻制品有限公司提供,山东省无棣县种植。

γ -氨基丁酸(GABA)标准品,上海源叶生物科技有限公司;苯酚,西陇科学股份有限公司;无水乙醇,天津市富宇精细化工化学有限公司;无水氯化钙,天津博迪化工股份有限公司;*L*-谷氨酸钠,上海蓝季科技发展有限公司;硼砂,天津市恒兴化学试剂制造有限公司;硼酸,西陇科学股份有限公司;次氯酸钠,天津市富宇精细化工化学有限公司。

RXZ-500D 型智能恒温恒湿培养箱,江南仪器有限公司;THZ-98AB 型恒温振荡器,上海一恒科技仪器有限公司;TGM-20L 型高速冷冻台式离心机,湘仪离心机仪器制造有限公司;GZX-

收稿日期: 2023-01-03

基金项目: 山东省农业重大应用技术创新项目(SD2019ZZ024)

第一作者: 王洪震,男,硕士生

通信作者: 郝征红 E-mail: zhenghao227@163.com

9240MBE 型电热鼓风干燥箱,上海博讯实业有限公司;PHS-2F 型酸度计,上海雷磁仪器有限公司;V-5600 型分光光度计,上海元析仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 萌芽条件的单因素实验设计 将芝麻籽粒用 5 倍体积的去离子水或相应培养液在室温下浸泡 0.5 h,浸泡处理的芝麻置于铺有湿润纱布的培养皿中,在培养箱中培养,选取萌芽温度、萌芽时间、氯化钙溶液浓度及谷氨酸钠溶液浓度 4 个因素进行单因素实验。萌芽芝麻从培养箱中取出后,沥干,匀浆,待测。蒸馏水浸泡芝麻 0.5 h 作为对照组。

1) 萌芽时间的变化 将挑选过的芝麻浸泡 0.5 h,在 30 °C 下萌芽 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 d,每 12 h 补充一次蒸馏水,按时取样,沥干,匀浆,测定 GABA 含量。

2) 萌芽温度的变化 芝麻浸泡 0.5 h,分别在 20,25,30,35,40,45 °C 下萌芽 2.0 d,每 12 h 补充一次蒸馏水,取样,沥干,匀浆,测定 GABA 含量。

3) 氯化钙溶液浓度的变化 配制浓度为 0.0,1.0,2.0,3.0,4.0 mmol/L 的氯化钙溶液,将芝麻分别置于不同浓度氯化钙溶液中浸泡 0.5 h,然后 30 °C 培养 2.0 d,每隔 12 h 补充相应浓度氯化钙溶液,取样,沥干,匀浆,测定 GABA 含量。

4) 谷氨酸钠溶液质量浓度的变化 配制质量浓度为 0.0,0.5,1.5,2.5,3.5,4.5,5.5 mg/mL 的谷氨酸钠溶液,将芝麻分别置于不同质量浓度谷氨酸钠溶液中浸泡 0.5 h,然后 30 °C 培养 2.0 d,每隔 12 h 补充相应浓度谷氨酸钠溶液,取样后,反复冲洗后沥干,匀浆,测定 GABA 含量。

1.2.2 冻融处理(冷冻-解冻)的单因素及响应面试验设计 萌芽芝麻冷冻处理:选取一定量的芝麻用 5 倍体积蒸馏水在室温下浸泡 0.5 h 后,30 °C 培养箱内培养 1.0 d,随后选取冷冻时间、解冻温度、解冻时间 3 个影响因素进行试验。

1) 冷冻时间的单因素实验 将培养 1.0 d 的芝麻在 -18 °C 下分别冷冻 12,15,18,21,24 h,之后在 30 °C 下解冻 12 h,沥干,匀浆后测定 GABA 含量。

2) 解冻温度的单因素实验 将培养 1.0 d 的

芝麻在 -18 °C 下冷冻 18 h,之后分别在 20,25,30,35,40 °C 下解冻 12 h,沥干,匀浆后测定 GABA 含量。

3) 解冻时间的单因素实验 将培养 1.0 d 的芝麻在 -18 °C 下冷冻 18 h,30 °C 培养箱解冻 6,9,12,15,18,21 h,沥干,匀浆后测定 GABA 含量。

4) 冷冻-解冻处理响应面试验设计 在单因素实验基础上,基于 Box-Behnken 模型,以冷冻时间、解冻温度、解冻时间作为自变量,GABA 含量为响应值,设计方法见表 1。

表 1 响应面试验因素水平表

Table 1 Response surface test factor level table

水平	冷冻时间 (A)/h	解冻温度 (B)/°C	解冻时间 (C)/h
+1	21	35	18
0	18	30	15
-1	15	25	12

1.2.3 γ -氨基丁酸含量的测定 采用 Berthelot 比色法测定 GABA 含量^[21]。样品用滤纸吸干表面水分,准确称取 2.00 g,研磨至均匀浆状,定容至 50 mL,40 °C,300 r/min 于恒温振荡器中振荡浸提 1 h,13 000 r/min 离心 15 min,取出上清液,滤纸过滤,过 0.22 μ m 滤膜,取 0.5 mL 上清液测定。GABA 质量浓度 C (μ g/mL)与吸光值(OD)之间线性回归方程为 $y=1.5877x+0.0045$ ($R^2=0.9977$)。

样品中水分含量的测定参照 GB 5009.3-2016。

1.2.4 数据处理与分析 各影响因素试验指标重复测定 3 次,结果以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,测定指标以干重表示,用 Design Expert 10.0 及 DPS 软件处理试验数据,采用 Origin 2018 及 Microsoft Excel 作图。

2 结果与分析

2.1 萌芽条件对 γ -氨基丁酸含量的影响

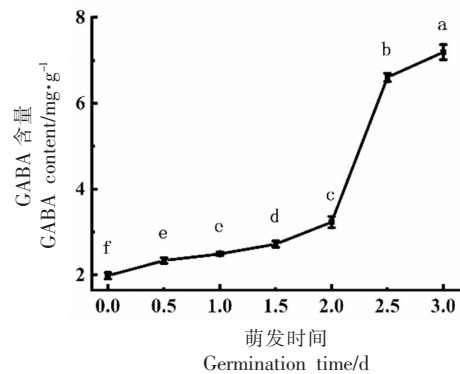
2.1.1 萌芽时间对 GABA 含量的影响 由图 1 可知,对照组 GABA 含量为(1.98 \pm 0.08)mg/g,随着萌芽时间的延长,GABA 含量逐渐增加,至 2.5 d 时,GABA 含量突增至(6.60 \pm 0.09)mg/g,与对照组相比增加 4.62 mg/g;在萌芽 0 d(对照组)和 3 d 时,

芝麻中 GABA 含量存在显著差异 ($P < 0.05$), 提高了 2.63 倍。这可能是由于萌育初期, 芝麻吸收环境水分, 只是物理吸涨过程, 因此对 GABA 含量影响不大; 萌育中期, 芝麻中大分子储能物质, 如蛋白质、糖等, 通过细胞组织内源酶的作用, 转化为可溶性小分子物质, 供给芝麻呼吸、萌育所需营养物质, 为 GABA 的大量转化奠定基础, 故萌育芝麻中的 GABA 含量迅速上升; 随着芝麻萌育时间继续延长, 从 2.5 d 至 3.0 d, GABA 含量增幅变小, 可能是因为 GABA 分解速率加快, 底物含量降低, GABA 的增幅减缓^[22]。控制萌育时间是一种有效增加 GABA 含量的处理方法, 可以通过此方法转化芝麻中 GABA。

2.1.2 萌育温度对 GABA 含量的影响 根据图 2 可知, 萌育温度在 20~30 °C 范围内, GABA 含量快速增加, 30 °C 增加至最大值 (3.36 ± 0.09) mg/g, 相对对照组提高了 1.38 mg/g, 随后开始下降。谷氨酸脱羧酶是 GABA 转化过程中最重要的酶, 芝麻萌育过程中, 由于反应底物谷氨酸的作用, 谷氨酸脱羧酶逐渐被激活, 萌育温度过低会抑制谷氨酸脱羧酶的活性, 萌育温度过高会直接破坏酶蛋白空间结构, 温度过高或过低均会抑制谷氨酸脱羧酶催化生成 GABA^[23]。

2.1.3 氯化钙溶液浓度对 GABA 含量的影响 由图 3 可知, 当氯化钙浓度为 0 mmol/L 和 1 mmol/L 时, 萌育芝麻中 GABA 含量并没有显著性差异 ($P > 0.05$), 含量较低, 当浓度增加至 2 mmol/L 时, 芝麻萌育转化 GABA 含量达到最大值 (4.12 ± 0.11) mg/g, 相较于对照组提高了 2.14 mg/g, 随着氯化钙浓度继续增加, 芝麻萌育 GABA 含量开始下降, 含量仍略高于去离子水萌育时的含量。这可能是因为作为第二信使, 钙离子通过信号传递的方式调节谷氨酸脱羧酶活力, 增加酶促反应速率, 合成代谢速率高于分解代谢速率, 达到 GABA 含量增加的目的^[24]; 氯化钙浓度进一步增加, 培养液中离子浓度升高, 芝麻细胞外的渗透压升高, 堵塞物质运输通路, 不利于 GABA 的转化。

2.1.4 谷氨酸钠对 GABA 含量的影响 由图 4 可知, 当谷氨酸钠溶液质量浓度增加至 4.5 mg/mL 时, 芝麻萌育转化 GABA 达到最大值 (6.24 ± 0.06) mg/g, 相较于对照组提高了 4.26 mg/g, 随着谷氨酸



注: 不同小写字母表示萌育芝麻中 GABA 含量之间存在显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

图 1 不同萌育时间对 GABA 含量的影响
Fig.1 Effects of different germination time on GABA content

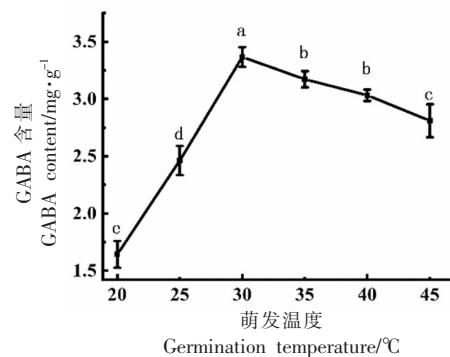


图 2 不同萌育温度对 GABA 含量的影响
Fig.2 Effects of different germination temperatures on GABA content

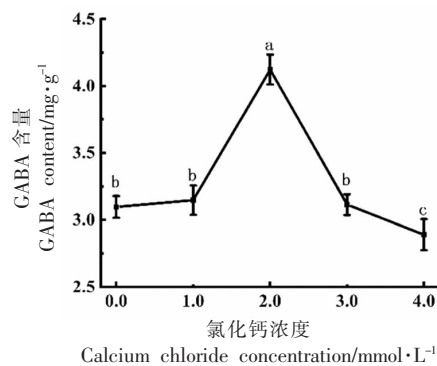


图 3 不同浓度氯化钙溶液对 GABA 含量的影响
Fig.3 Effect of calcium chloride solution with different concentration on GABA content

钠溶液质量浓度进一步增加, GABA 含量反而降低。这可能是由于溶液浓度过高使得萌育环境中

离子浓度升高,芝麻细胞外渗透压增加,堵塞物质运输及电子传递的通道^[25],不利于物质代谢,GABA 的生成受阻。而在较适合的浓度时,作为底物的谷氨酸钠质量浓度升高,谷氨酸钠脱羧酶合成 GABA 时,可利用的底物相应增多。

2.2 冻融处理对芝麻中 γ -氨基丁酸含量的影响

2.2.1 冷冻时间对萌育芝麻 GABA 含量的影响

由图 5 可知,冷冻时间在 12~18 h 时,GABA 含量增加,18 h 增加至最大值,之后随着冷冻时间的延长,GABA 含量降低。这可能是由于低温冷冻促使诸如蛋白质等大分子物质变性且合成量减少^[26-27],促使小分子物质生成,因此谷氨酸向 GABA 的转化量增加,当芝麻受到外界逆境胁迫如冷冻-解冻损伤等,植物会合成包括 GABA 在内的小分子功能物质,适应外界逆环境;此外,植物在逆境环境中会通过调节胞质钙离子浓度或胞内氢离子浓度来调节胞内谷氨酸脱羧酶活性^[28],进而调节 GABA 含量,冷冻初期,钙离子释放有利于激活谷氨酸脱羧酶,而长时间冷冻,酶活性降低的同时,也会促使 GABA 分解以满足芝麻能量供求^[29],造成 GABA 含量降低。

2.2.2 解冻温度对萌育芝麻 GABA 含量的影响

由图 6 可知,解冻温度在 20~25 °C 范围内,GABA 含量没有显著性差异($P>0.05$),随着解冻温度的升高,GABA 含量增加,在 30 °C 达到最大值。这是由于低温下芝麻的细胞形成冰晶体,融化后其体积发生变化,对细胞造成机械损伤,植物在遭受应激性时会刺激 GABA 的合成,抵御逆环境,芝麻由冷冻处理转入解冻条件,芝麻为适应环境开始积累包括 GABA 在内的小分子营养物质,随着温度进一步升高,芝麻组织产生不可抑制的损伤^[30-32],导致 GABA 含量降低。

2.2.3 解冻时间对萌育芝麻 GABA 含量的影响

由图 7 可知,在 6~15 h,随着解冻时间的延长,GABA 含量相应增加,在 15 h 增加至最大值,随后含量开始降低。这是因为低温解除冰晶融化后,氢离子等渗入细胞质,激活谷氨酸脱羧酶,故随着解冻时间的延长,GABA 含量在萌育芝麻组织内积累,此外,回温过程中芝麻组织细胞膜被破坏,细胞内外传质作用增大,谷氨酸脱羧酶与底物充分作用,合成的 GABA 得以积累;解冻时间过长,就

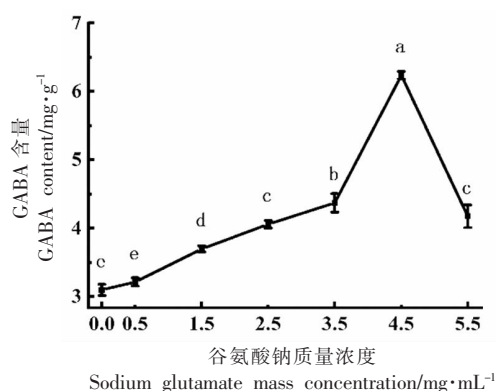


图 4 不同质量浓度谷氨酸钠溶液对 GABA 含量的影响

Fig.4 Effects of different mass concentrations of sodium glutamate solution on GABA content

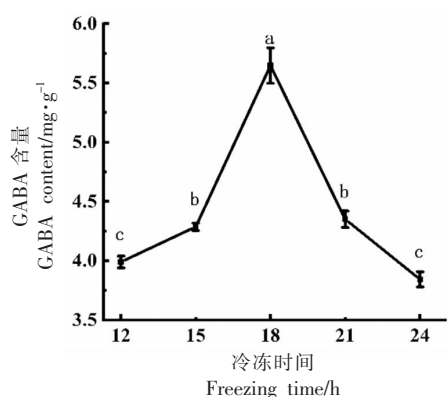


图 5 不同冷冻时间对 GABA 含量的影响

Fig.5 Effect of different freezing time on GABA content

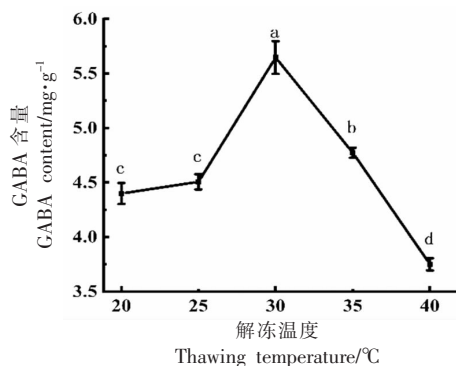


图 6 不同解冻温度对 GABA 含量的影响

Fig.6 Effect of different thawing temperatures on GABA content

会出现诸如组织损伤、微生物繁殖等不可控影响,导致 GABA 含量下降^[33-35]。

2.3 不同处理条件对 γ -氨基丁酸含量影响的比较

由图 8 可知,冻融处理与其它处理条件相比,

芝麻中 GABA 含量存在显著性差异 ($P>0.05$), 冻融处理显著提升 GABA 含量, 本研究选用响应面试验完成冷冻-解冻处理的优化。

2.4 冷冻-解冻(冻融)处理条件的优化

在冻融处理单因素实验的基础上, 根据 Box-Behnken 的中心组合设计原理, 以冷冻时间、解冻温度、解冻时间为考察因素, 以 GABA 量为响应值, 确定冷冻-解冻的最佳条件, 具体结果见表 2。

2.4.1 二次多项式回归模型的建立

回归模型的方差分析见表 3。

结合表 2、表 3 可知, GABA 含量与冻融处理间的二次多项式模型为: $Y=9.30+0.47A+1.16B-0.39C-0.76AB+0.045AC-0.48BC-1.10A^2-1.85B^2-2.29C^2$ 。式中, Y 指 GABA 含量的预测值, A 、 B 、 C 分别指冷冻时间、解冻温度、解冻时间的编码值。

其中二次多项式模型的有效性主要由失拟项检验与回归方程显著性检验决定, 这两项都可以通过 F 检验反映。由表 4 可知, 模型 $P=0.0003$ 达到极显著水平 ($P<0.01$), 失拟项 $P=0.1177$ 不显著 ($P>0.05$), 这说明所选模型合理。 R^2_{Adj} 为 0.9171, 说明该模型可以解释芝麻冻融过程中 91.71% 响应值的变化规律。综上, 芝麻在冻融处理中 GABA 含量的变化可以通过该二次多项式模型预测。

结合表 3 可知, 因素 B 对冻融处理过程中 GABA 含量的影响极显著 ($P<0.01$), 因素 AB 对冻融处理过程中 GABA 含量的影响显著 ($P<$

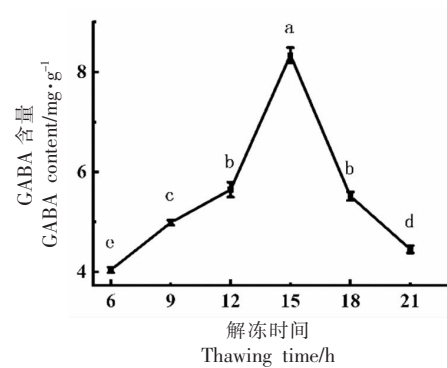
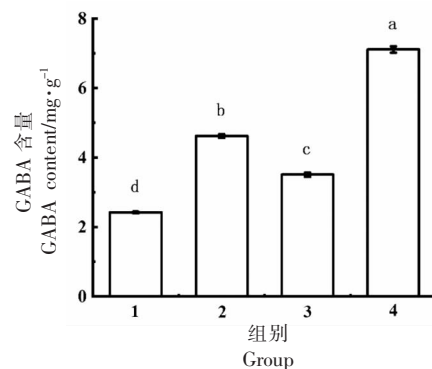


图7 不同解冻时间对 GABA 含量的影响

Fig.7 Effect of different thawing time on GABA content



注: 组别 1: 去离子水培育 1 d, 组别 2: 4.5 mg/mL 谷氨酸钠培育 1 d, 组别 3: 2.0 mmol/L 氯化钙培育 1 d, 组别 4: 去离子水培育 1 d+冻融处理(冷冻 18 h+解冻 12 h+解冻温度 30 ℃)。

图8 不同处理条件对 GABA 含量的影响

Fig.8 Effects of different treatment conditions on GABA content

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2 Experiment design and results table of Box-Behnken

试验号	冷冻时间/h	解冻温度/℃	解冻时间/h	GABA 含量/mg·g ⁻¹	试验号	冷冻时间/h	解冻温度/℃	解冻时间/h	GABA 含量/mg·g ⁻¹
1	15	30	12	6.46 ± 0.22	10	21	25	15	6.98 ± 0.14
2	18	30	15	9.26 ± 0.18	11	18	30	15	9.15 ± 0.08
3	18	35	18	5.87 ± 0.14	12	15	30	18	5.29 ± 0.12
4	21	30	18	5.69 ± 0.19	13	15	35	15	7.27 ± 0.19
5	18	35	12	7.13 ± 0.22	14	18	30	15	9.62 ± 0.12
6	18	30	15	9.82 ± 0.12	15	18	30	15	8.95 ± 0.08
7	18	25	18	4.14 ± 0.10	16	15	25	15	3.69 ± 0.05
8	21	30	12	6.55 ± 0.09	17	21	25	12	3.70 ± 0.09
9	21	35	15	7.50 ± 0.10					

表 3 GABA 回归模型方差分析

Table 3 GABA regression model analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	62.88	9	6.99	20.68	0.0003	**
A	1.78	1	1.78	5.26	0.0556	
B	10.76	1	10.76	31.86	0.0008	**
C	1.22	1	1.22	3.62	0.0987	
AB	2.30	1	2.30	6.79	0.0351	*
AC	0.0081	1	0.0081	0.0204	0.8813	
BC	0.91	1	0.91	2.70	0.1444	
A ²	5.11	1	5.11	15.12	0.0060	**
B ²	14.39	1	14.39	42.60	0.0003	**
C ²	22.01	1	22.01	65.15	<0.0001	**
残差	2.37	7	0.34			
失拟项	1.74	3	0.58		0.1177	
纯误差	0.62	4	0.16			
总和	65.24	16				
R ²	0.9637					
R ² _{Adj}	0.9171					

注:*. 表示差异显著($P < 0.05$);**. 表示差异极显著($P < 0.01$)。

0.05), 因素 A、C、AC、BC 对冻融处理过程中 GABA 含量影响不显著($P > 0.05$), 因素 A²、B²、C² 对冻融处理过程中 GABA 含量影响极显著($P < 0.01$)。

2.4.2 因素交互作用分析 冷冻时间、解冻温度、解冻时间的交互作用对 GABA 含量的影响可以通过响应面 3D 图及等高线直观观察。在等高线图中, 椭圆形表示交互作用显著, 圆形表示交互作用

不显著。

1) 冷冻时间与解冻温度的交互作用 结合图 9 可知, 冷冻时间与解冻温度交互作用显著, 随着冷冻时间延长及解冻温度升高, 响应值相应增加, 随后出现下降的趋势, 解冻温度在 29~33 °C, 冷冻时间在 17~19 h, 对应 GABA 含量达到最大值, 与单因素实验分析结果相吻合。

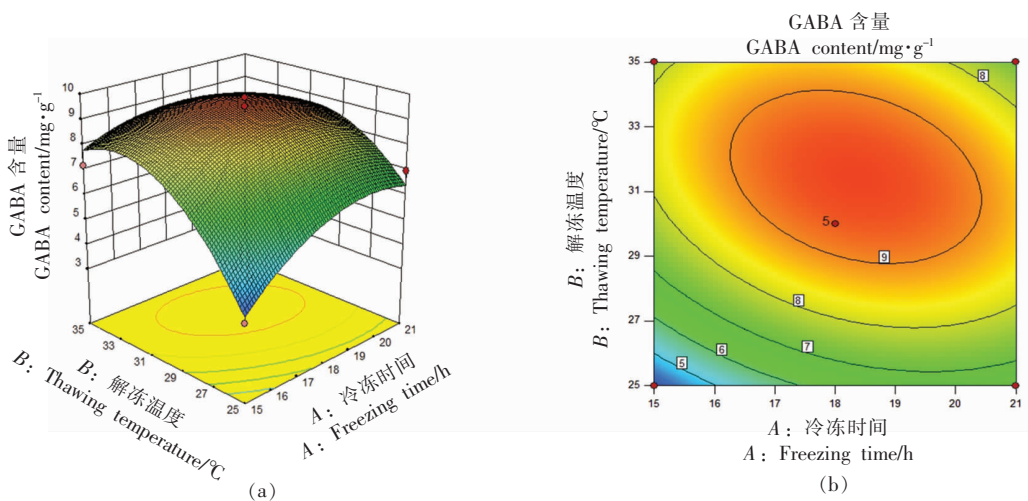


图 9 冷冻时间和解冻温度响应面图和等高线图

Fig.9 Response surface and contour map of freezing time and thawing temperature

2) 冷冻时间与解冻时间的交互作用 由图10可知,随着冷冻时间、解冻时间的延长,响应值相应增加,随后又开始出现下降趋势,解冻时间在14~16 h,冷冻时间在17~19 h,对应GABA含量达到最大值,这与单因素实验时分析结果相吻合。

3) 解冻温度与解冻时间的交互作用 由图

11可知,随解冻时间的延长及解冻温度的升高,响应值(GABA含量)相应增加,而随后开始出现下降的趋势,解冻温度在29~33℃,解冻时间在14~16 h,对应GABA含量达到最大值,这与单因素实验分析结果吻合。

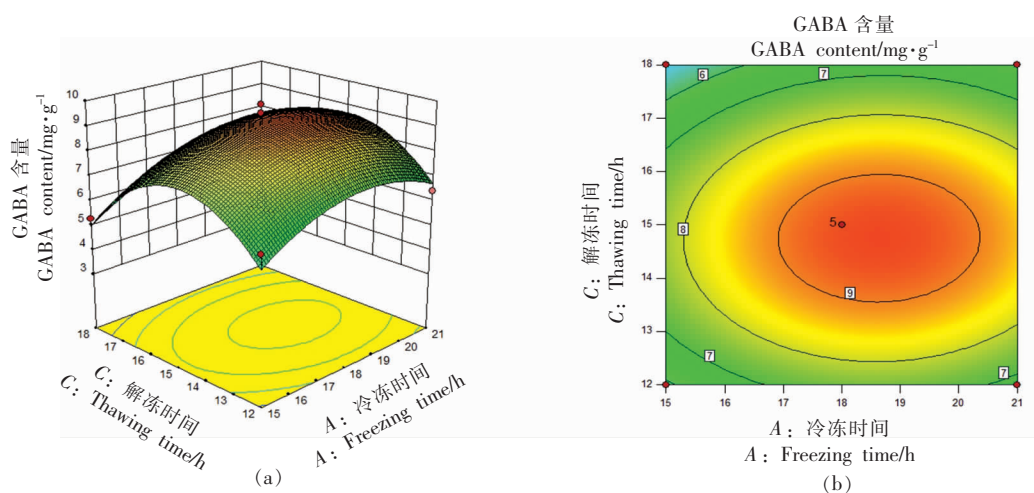


图10 冷冻时间和解冻时间响应面图和等高线图

Fig.10 Response surface and contour map of freezing time and thawing time

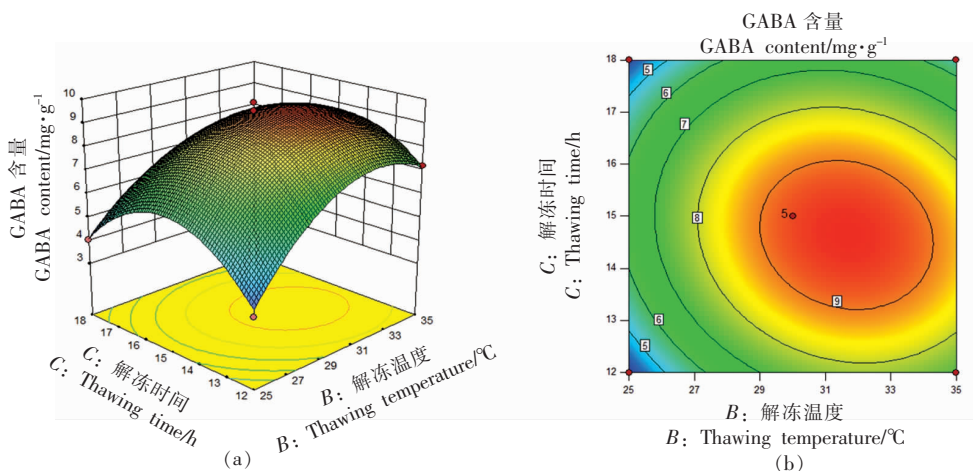


图11 解冻温度和解冻时间响应面图和等高线图

Fig.11 Response surface and contour map of thawing temperature and thawing time

2.4.3 冻融处理提高 γ -氨基丁酸含量的最优条件 经过软件分析可以得出冻融处理转化GABA的最佳条件是:冷冻时间18.3 h,解冻温度31.5℃,解冻时间14.6 h,芝麻中GABA含量可达9.92 mg/g。

2.4.4 验证性试验 结合最优条件,选定冷冻时间18 h,解冻温度32℃,解冻时间15 h,测定GA-

BA转化值为 (10.02 ± 0.35) mg/g,与模型预测值接近,证实了模型的可靠性,响应面优化试验结果也得到验证。

3 结论

1) 萌芽时间、温度对于芝麻GABA的含量均有明显作用。随着芝麻萌芽时间的延长,GABA含

量显著增加,萌育 2.5 d,GABA 含量突增至 $(6.60\pm 0.09)\text{mg/g}$,与对照组相比增加 4.62 mg/g;萌育 3 d,GABA 含量增加至 $(7.19\pm 0.18)\text{mg/g}$,相较于对照组提高 2.63 倍。随着萌育温度的提高,芝麻 GABA 含量先升高再降低,萌育温度 30 °C时,GABA 含量增加至最大值 $(3.36\pm 0.09)\text{mg/g}$,是对照组的 1.7 倍。

2) 在萌育过程中添加氯化钙、谷氨酸钠有利于 GABA 的转化。添加 2.0 mmol/L 氯化钙溶液时,GABA 含量增加至最大值 $(4.12\pm 0.11)\text{mg/g}$,相较于对照组提高了 2.14 mg/g,是对照组的 2 倍;添加 4.5 mg/mL 氯化钙溶液时,GABA 含量增加至最大值 $(6.24\pm 0.06)\text{mg/g}$,是对照组的 3.15 倍。

3) 冷冻-解冻胁迫(冻融)处理对提高萌育芝麻 GABA 含量效果明显。使用浸泡 0.5 h,30 °C萌育 1.0 d 的芝麻进行冷冻-解冻处理,根据 Box-Behnken 的中心组合设计原理,确认最优的芝麻 GABA 转化条件是冷冻胁迫 18 h,解冻温度 32 °C,解冻时间 15 h,该条件下芝麻中 GABA 含量可达 $(10.02\pm 0.35)\text{mg/g}$,比未经冷冻-解冻处理的芝麻 GABA 含量提高 3.02 倍,比未经萌育处理的芝麻 GABA 含量提高 4.06 倍。

参 考 文 献

- [1] SHELP B J, BOWN A W, MCLEAN M D. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid[J]. Trends in Plant Science, 1999, 4(11): 446-452.
- [2] BOUCHE N, FROMM H. GABA in plants: Just a metabolite? [J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(3): 110-115.
- [3] 蒋振晖, 顾振新. 高等植物体内 γ -氨基丁酸合成、代谢及其生理作用[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 249-254.
JIANG Z H, GU Z X. Biosynthesis, catabolism and physiological roles of γ -aminobutyric acid in high plants[J]. Plant Physiology Communications, 2003, 39(3): 249-254.
- [4] 包华琼, 王新庄. γ -氨基丁酸(GABA)的生殖生理作用[J]. 动物医学进展, 2002, 23(3): 44-46.
BAO H G, WANG X Z. Effect of gamma-aminobutyric acid on reproduction and physiology [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2002, 23(3): 44-46.
- [5] 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. Preparation methods of γ -aminobutyric acid and research progress in functional foods[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(23): 238-247.
- [6] AKÇAY N, BOR M, KARABUDAK T, et al. Contribution of Gamma amino butyric acid (GABA) to salt stress responses of *Nicotiana sylvestris* CMSII mutant and wild type plants [J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(5): 452-458.
- [7] LUO X, WANG Y, LI Q, et al. Accumulating mechanism of γ -aminobutyric acid in soybean (*Glycine max* L.) during germination[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(1): 106-111.
- [8] 张丽霞, 孙强, 芦鑫, 等. 萌芽过程中芝麻主要成分的动态变化[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(13): 206-211.
ZHANG L X, SUN Q, LU X, et al. Dynamic changes of main components of sesame during germination [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(13): 206-211.
- [9] ANILAKUMAR K R, PAL A, KHANUM F, et al. Nutritional, medicinal and industrial uses of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds—an overview[J]. Agriculturae Conspectus Scientificus, 2010, 75(4): 159-168.
- [10] KANG M H, CHOI J S, HA T Y. Chemical properties of sesame seed cultivated in Korea and China [J]. Food Science and Biotechnology, 2003, 12(6): 621-624.
- [11] 张瑞. 芝麻籽粒萌发过程中主要营养与功能性物质变化研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2019.
ZHANG R. Research on the changes of main nutrients and functional substances during sesame seed germination [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2019.
- [12] LIU B, GUO X, ZHU K, et al. Nutritional evaluation and antioxidant activity of sesame sprouts [J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 799-803.
- [13] 陈振, 黄维娜, 康玉凡. 食用豆制品萌发过程中 γ -氨基丁酸(GABA)含量变化[J]. 食品工业科技,

- 2014, 35(17): 5.
- CHEN Z, HUANG W N, KANG Y F. Changes in γ -aminobutyric acid (GABA) content during the germination process of edible bean varieties[J]. Food Industry Science and Technology, 2014, 35(17): 5.
- [14] 徐丽, 欧才智, 丁阳月, 等. 优化催芽温度及CaCl₂溶液浓度提高发芽小米中 γ -氨基丁酸含量[J]. 农业工程学报, 2019(3): 301-308.
- XU L, OU C Z, DING Y Y, et al. Optimizing germination temperature and CaCl₂ solution concentration to increase γ -aminobutyric acid content in germinated millet[J]. Chinese Journal of Agricultural Engineering, 2019(3): 301-308.
- [15] YANG R, WANG M, FENG X, et al. AMADH inhibitor optimization and its effects on GABA accumulation in soybean sprouts under NaCl-CaCl₂ treatment[J]. 3 Biotech, 2019, 9(5): 1-9.
- [16] 冯晓云, 王冕, 翁妍, 等. NaCl联合CaCl₂处理发芽大豆富集GABA的工艺优化[J]. 核农学报, 2018, 32(9): 1757-1765.
- FENG X Y, WANG M, WENG Y, et al. Process optimization of GABA enrichment in germinated soybeans treated with NaCl combined with CaCl₂[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2018, 32(9): 1757-1765.
- [17] 陈惠. 发芽蚕豆 γ -氨基丁酸富集与调控技术研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- CHEN H. Research on enrichment and regulation technology of γ -aminobutyric acid in germinated broad beans[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [18] 李楠, 彭倩, 宋振玉, 等. 富含 γ -氨基丁酸(GABA)玉米胚芽的应用及其GABA提取的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(4): 63-67.
- LI N, PENG Q, SONG Z Y, et al. Application of corn germ rich in γ -aminobutyric acid (GABA) and research on GABA extraction[J]. Food Research and Development, 2008, 29(4): 63-67.
- [19] 汪阿虎. 高含量GABA发芽糙米的制备工艺优化和GABA的提取纯化初探[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2012.
- WANG A H. Optimization of the preparation process of germinated brown rice with high content of GABA and preliminary study on the extraction and purification of GABA[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2012.
- [20] 胡秀娟, 刘亚伟, 刘洁, 等. 富含 γ -氨基丁酸的发芽糙米制备工艺研究[J]. 粮食加工, 2012, 37(3): 18-22.
- HU X J, LIU Y W, LIU J, et al. Research on the preparation technology of germinated brown rice rich in γ -aminobutyric acid[J]. Grain Processing, 2012, 37(3): 18-22.
- [21] 闫朝阳, 李旭, 马钰柯, 等. Berthelot比色法测定 γ -氨基丁酸含量的实验条件优化[J]. 济南大学学报: 自然科学版, 2020, 34(3): 306-312.
- YAN C Y, LI X, MA Y K, et al. Optimization of experimental conditions for determination of γ -aminobutyric acid content by Berthelot colorimetric method[J]. Journal of Jinan University: Natural Science Edition, 2020, 34(3): 306-312.
- [22] PAUCAR-MENACHO L M, MARTINEZ-VILLALUENGA C, DUEÑAS M, et al. Optimization of germination time and temperature to maximize the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of purple corn (*Zea mays* L.) by response surface methodology [J]. LWT -Food Science and Technology, 2017, 76: 236-244.
- [23] 方嘉沁. 富 γ -氨基丁酸胚芽大豆发芽工艺优化及其豆浆制品研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2012.
- FANG J Q. Optimization of germination process of γ -aminobutyric acid-rich soybean germ and research on soy milk products[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2012.
- [24] 何娜, 叶晓枫, 李丽倩, 等. 不同胁迫处理方法对结球甘蓝GABA含量的影响[J]. 南京农业大学学报, 2013, 36(6): 111-116.
- HE N, YE X F, LI L Q, et al. Effects of different stress treatment methods on GABA content in cabbage[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2013, 36(6): 111-116.
- [25] 郭元新, 杨润强, 陈惠, 等. 盐胁迫富集发芽大豆 γ -氨基丁酸的工艺优化[J]. 食品科学, 2012, 33(10): 1-5.
- GUO Y X, YANG R Q, CHEN H, et al. Process optimization of γ -aminobutyric acid enrichment in germinated soybeans under salt stress[J]. Food Science, 2012, 33(10): 1-5.
- [26] NAIDU B P, PALEG L G, ASPINALL D, et al. Amino acid and glycine betaine accumulation in cold-stressed wheat seedlings [J]. Phytochemistry,

- 1991, 30(2): 407-409.
- [27] MAZZUCOTELLI E, TARTARI A, CATTIVELLI L, et al. Metabolism of γ -aminobutyric acid during cold acclimation and freezing and its relationship to frost tolerance in barley and wheat[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(14): 3755-3766.
- [28] 李婷玉, 杜艳, 陈正行, 等. 胁迫萌发对青稞籽粒中 β -葡聚糖和 γ -氨基丁酸含量的影响[J]. *中国粮油学报*, 2021, 36(6): 30-35.
- LI T Y, DU Y, CHEN Z X, et al. Effects of germination stress on β -glucan and γ -aminobutyric acid contents in highland barley grains[J]. *Journal of Chinese Cereals and Oils Science*, 2021, 36(6): 30-35.
- [29] YANG R, HUI Q, FENG X, et al. The mechanism of freeze - thawing induced accumulation of γ - aminobutyric acid in germinated soybean[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(3): 1099-1105.
- [30] LI D, ZHU Z, SUN D W. Effects of freezing on cell structure of fresh cellular food materials: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 75: 46-55.
- [31] 陈晓嫒. 低温联合低氧胁迫下发芽大麦 γ -氨基丁酸富集技术及产品开发研究[D]. 滁州: 安徽科技学院, 2017.
- CHEN X M. Research on γ -aminobutyric acid enrichment technology and product development of germinated barley under low temperature combined with hypoxia stress[D]. Chuzhou: Anhui University of Science and Technology, 2017.
- [32] 白青云, 严焯倩, 陈迁迁, 等. 冷胁迫处理对马铃薯富集 γ -氨基丁酸的影响[J]. *食品科技*, 2015, 40(4): 82-87.
- BAI Q Y, YAN H Q, CHEN Q Q, et al. Effects of cold stress treatment on the accumulation of γ -aminobutyric acid in potatoes[J]. *Food Science and Technology*, 2015, 40(4): 82-87.
- [33] NAIDU B P, PALEG L G, ASPINALL D, et al. Amino acid and glycine betaine accumulation in cold -stressed wheat seedlings [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(2): 407-409.
- [34] CRAWFORD L A, BOWN A W, BREITKREUZ K E, et al. The synthesis of γ -aminobutyric acid in response to treatments reducing cytosolic pH [J]. *Plant Physiology*, 1994, 104(3): 865-871.
- [35] 孙威, 徐颖, 李芳, 等. 冷冻胁迫对小麦萌育过程中的 γ -氨基丁酸含量的影响[J]. *食品科技*, 2019, 44(10): 176-180.
- SUN W, XU Y, LI F, et al. Effects of freezing stress on γ -aminobutyric acid content during wheat germination[J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(10): 176-180.

Effects of Germination and Freeze-thaw Treatment on Sesame γ -Aminobutyric Acid Content

Wang Hongzhen^{1,2}, Hao Zhenghong^{*}, Li Yuanyuan¹, Ma Mengyao¹, Zhang Yue¹, Wang Minghui³

¹College of Food Science, Shandong Agriculture and Engineering University, Jinan 250100

²College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, Shandong

³School of Biological Science and Technology, University of Jinan, Jinan 250022)

Abstract In this study, sesame was used as raw material to explore the effects of germination time, germination temperature, calcium chloride solution concentration, sodium glutamate solution concentration, freezing time, thawing temperature and thawing time on the content of γ -aminobutyric acid in the process of sesame germination. The results showed that the content of γ -aminobutyric acid increased significantly with the prolonging of germination time, and the content of γ -aminobutyric acid increased to 7.19 mg/g at 3.0 d germination. At 30 °C, the content of γ -aminobutyric acid increased to the maximum; Both calcium chloride solution and sodium glutamate solution were beneficial to the transformation of γ -aminobutyric acid; Freeze-thawing treatment has a significant effect on the conversion of γ -aminobutyric acid. The optimal conversion conditions of γ -aminobutyric acid were as follows: freezing stress for 18 h, thawing temperature for 32 °C and thawing time for 15 h. Under these conditions, the content of γ -aminobutyric acid in sesame was 10.02 mg/g. The content of γ -aminobutyric acid in sesame was increased by 3.02 times and 4.06 times compared with that in the control group.

Keywords sesame; γ -aminobutyric acid; sprout; freeze-thaw treatment; influencing factors