

## 糙米发芽富集 $\gamma$ -氨基丁酸工艺和环境胁迫技术优化

洪 滨<sup>1,2,3</sup>, 卢淑雯<sup>1,2,3</sup>, 张 珊<sup>1</sup>, 冯俊然<sup>1</sup>, 袁 迪<sup>1</sup>, 山 珊<sup>1</sup>, 张竞一<sup>1</sup>,  
李 波<sup>1</sup>, 任传英<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>黑龙江省农业科学院食品加工研究所 哈尔滨 150086

<sup>2</sup>黑龙江省食品加工重点实验室 哈尔滨 150086

<sup>3</sup>黑龙江省全谷物营养食品工程技术研究中心 哈尔滨 150086)

**摘要** 以提高发芽糙米  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)富集量为目标,优化糙米发芽富集 GABA 工艺参数和环境胁迫技术,研究发芽温度、发芽时间和热风干燥温度,以及超声、臭氧、冷冻和高温、高压胁迫处理对发芽糙米中 GABA 含量的影响。结果表明,发芽温度、发芽时间和热风干燥温度对糙米发芽过程中 GABA 含量有显著影响,各因素影响程度:发芽时间>热风干燥温度>发芽温度。发芽制备高含量 GABA 的最适条件是:发芽温度 31 °C,发芽时间 40 h,热风干燥温度 50 °C,GABA 含量为 21.43 mg/100 g。糙米发芽中、后期(18~40 h),臭氧胁迫处理剂量 15 g;发芽中期(12~30 h),30 kHz 超声胁迫处理 20 min;糙米发芽后冷冻 9 h;糙米发芽后,120 °C 高温杀菌时间 30 min;均可显著提高发芽糙米 GABA 含量。

**关键词** 糙米;发芽; $\gamma$ -氨基丁酸;环境胁迫

**文章编号** 1009-7848(2025)01-0169-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2025.01.017

发芽糙米是将糙米发芽至芽长 1~2 mm 得到的一种由幼芽和带糠层的胚乳组成的糙米制品<sup>[1]</sup>。发芽糙米含有多种能促进人体健康和防治疾病的有效成分,如  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)、阿魏酸、植酸、三烯生育酚等<sup>[2]</sup>,其中的 GABA 含量在发芽时大幅增加,发芽结束后会增 10 倍左右。GABA 是发芽糙米的典型成分,具有改善脑血流通,降血压、降血脂等作用。

发芽条件是决定糙米发芽期间 GABA 含量的主要因素之一,糙米的预处理、发芽、干燥和环境胁迫处理条件不同,可得到不同 GABA 含量的发芽糙米。Komatsuzaki 等<sup>[3]</sup>和 Banchuen 等<sup>[4]</sup>将糙米在水中浸泡 3 h,在 35 °C 恒温箱内将糙米浸入水中发芽 21 h,发芽糙米的 GABA 含量为 24.9 mg/100 g。刘颖等<sup>[5]</sup>将糙米在 35 °C 水中浸泡 12 h,然后在 32 °C 条件下发芽 18 h,发芽糙米中 GABA 的含

量较高。热风干燥是应用最多、最经济的干燥方法,广泛应用于稻谷干燥。史晓媛<sup>[6]</sup>发现热风干燥过程中,发芽糙米中 GABA 含量随着干燥温度(50~75 °C)的升高而下降,75 °C 条件下 GABA 含量仅为 50 °C 的 56.76%。Sootjarit 等<sup>[7]</sup>和杨靖东等<sup>[8]</sup>研究确定发芽糙米中 GABA 含量与干燥温度成负相关性。

发芽过程中的环境压力对 GABA 富集有显著促进作用,如低温胁迫<sup>[9]</sup>、超声胁迫<sup>[10]</sup>、臭氧(厌氧)胁迫<sup>[11]</sup>、高温处理<sup>[12]</sup>等。逆境对细胞内部产生破坏,降低细胞质 pH 值,引起 GA 脱羧、限制 GABA 转氨,因而增加植物体内 GABA 含量。少量臭氧能提高种子的发芽率<sup>[3]</sup>。大麦发芽随臭氧处理时间的延长,醇和碳氢化合物的数量逐渐减少,乙酸为潜在的臭氧胁迫特异性标记物,低剂量的乙酸促进大麦发芽<sup>[14]</sup>。在适当的时期,适当强度超声波作用于生物组织,使生物性质活化,代谢得到调节,表现出有益的生物化学作用<sup>[15]</sup>。低温胁迫可以利用 GABA 分支和多胺降解 2 种途径,有效合成植物体内 GABA。当缺氧处理大豆幼苗在-18 °C 冷冻 12 h,然后 25 °C 解冻 6 h,GABA 含量急剧增至对照的 7.21 倍<sup>[16]</sup>。糙米发芽后经过沥干和高温灭菌处理,其 GABA 含量较其它干燥处理方式的样品增加 5% 左右。Youn 等<sup>[17]</sup>的研究结果类似,产生这

**收稿日期:** 2024-01-29

**基金项目:** 国家重点研发计划项目(2021YFD2100902-2);国家水稻产业技术体系(CARS-01-51);省科研业务费项目(CZKYF2023-1-C015);黑龙江省农业科技创新跨越工程重点攻关项目(CX23GG16-01)

**第一作者:** 洪滨,男,硕士,助理研究员

**通信作者:** 任传英 E-mail: chuanying1023@163.com

种增幅的机理还需进一步探究。

本研究将发芽和发芽后处理 2 个过程相结合,研究发芽、干燥条件以及环境胁迫对发芽糙米中 GABA 富集的影响,为规模化生产高品质的发芽糙米提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 糙米原料

试验所用糙米品种为绥粳 18,由黑龙江金都米业有限公司提供,在冷藏条件(温度 4 ℃)下贮存。

### 1.2 设备

1) 发芽设备 糙米采用发芽柜发芽,有 2 个可控温度的发芽箱体,加热方式为电热棒加热,控温范围在 20~50 ℃,控温精度在 1 ℃以内。发芽柜容量为 200 kg。型号:QH-62,生产厂家:青州庆华机械设备有限公司。

2) 干燥设备 采用循环风热风干燥箱干燥,可控温、可排湿,内部设 7 层干燥履带,通过控制履带。1 h 可处理 100 kg 产品。型号:QHT-700,生产厂家:济南盛润机械有限公司。

3) 臭氧发生器 型号:C-G-P-1-10g;生产厂家:广州佳环电器科技有限公司。

4) 高压蒸汽灭菌器 控温精度在 0.5 ℃以内,型号:MLS-3751L-PC;生产厂家:松下电器有限公司。

5) 低温冷冻设备 -80 ℃冰箱,型号:MDF-382E;生产厂家:松下电器有限公司。

6) 超声波设备 超声波清洗器,型号:KQ-400KDE;生产厂家:昆山市超声仪器有限公司

### 1.3 方法

1.3.1 发芽糙米样品制备 糙米经筛选、消毒、清洗后,放入发芽柜中进行发芽,得到未干燥的发芽糙米。经干燥或灭菌处理,放入阴凉、干燥处储藏。

1.3.2 GABA 含量测定 采用《稻米中  $\gamma$ -氨基丁酸的测定 高效液相色谱法》(NY/T 2890-2016)测定 GABA 含量,每个样品做 3 组平行,取平均值。

1.3.3 单因素实验设计 选取不同发芽温度(21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 ℃)、发芽时间(0, 8, 16, 24, 32, 40, 48 h) 和热风干燥温度(50, 55, 60, 65, 70,

75, 80 ℃),作为单因素实验因素,发芽后得到未干燥样品,热风干燥使样品水分含量在 15%,进行 GABA 含量的测定,确定发芽温度、发芽时间和热风干燥温度范围。每组试验重复 3 次,取平均值作为最终数据。

1.3.4 正交试验设计 采用 3 因素 5 水平正交试验设计(水平编码见表 1),3 个因素为发芽温度、发芽时间和热风干燥温度。试验数据用统计分析软件 SPSS18 进行数据处理,采取线性模型逐步回归和向后回归方法建立最优模型,剔除  $P>0.05$  水平的不显著项。

表 1 试验水平编码表

Table 1 Coding table of test factor level

水平	发芽温度/ ℃	发芽时间/ h	热风干燥温度/ ℃
-1.68	25	16	50
-1	27	21	56
0	30	28	65
1	33	35	74
1.68	35	40	80

### 1.3.5 环境胁迫方法

1.3.5.1 臭氧胁迫技术 在发芽过程中不同阶段即前期(0~6 h 和 6~12 h)、中期(12~18 h, 18~24 h 和 24~30 h)和末期(30~36 h 和 36~40 h)的 7 个时段开始的时候通入臭氧,每次通入时长为 30 min(即臭氧通入量为 5 g),观察臭氧通入时期对 GABA 合成的影响。保证每时段通入的臭氧量能够充分吸收,观察臭氧剂量(0, 5, 10, 15, 20 g)对 GABA 合成的影响,平行测定 3 次,取平均值,确定臭氧胁迫的最佳工艺参数。

1.3.5.2 超声胁迫技术 分别在糙米发芽的浸泡期(0~4 h)、发芽前期(0~12 h)、发芽中期(12~30 h)和发芽后期(30~40 h)的开始进行超声处理,以超声时期、超声频率(0, 10, 20, 30, 40 kHz)、超声时间(0, 10, 20, 30, 40 min)为影响因素,以 GABA 含量为指标,确定超声胁迫的最佳工艺参数。

1.3.5.3 冷冻胁迫技术 发芽结束时保持发芽糙米水分含量 35%左右,分别取 50 g 湿发芽糙米密封于袋中,置于-18 ℃冷冻保存一定时间(根据冻存量而定),然后室温解冻,以冷冻时间(0, 3, 6, 9,

12,15 h)和解冻时间(0,3,6,9,12,15 h)为影响因素,以 GABA 含量为指标,确定冷冻胁迫的最佳工艺参数。

1.3.5.4 高温杀菌胁迫技术 发芽结束时保持发芽糙米水分含量 35%左右,分别取 50 g 湿发芽糙米封装于高温蒸煮袋中,进行高温、高压杀菌处理,以杀菌温度(105,110,115,120,125 °C)、杀菌时间(0,10,20,30,40,50 h)作为影响因子,以 GABA 含量为指标,确定高温杀菌胁迫的最佳工艺参数。

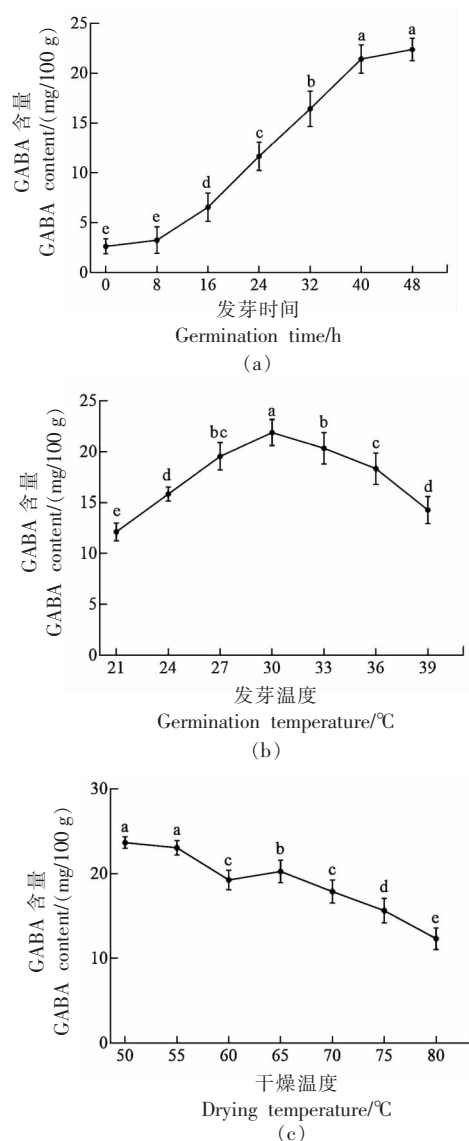
## 2 结果与分析

### 2.1 发芽温度、发芽时间和干燥温度的单因素实验结果

糙米发芽富集 GABA 的过程中,发芽温度和发芽时间是影响 GABA 富集量的重要决定因素。将糙米进行发芽,考察发芽温度和发芽时间对发芽糙米 GABA 含量的影响见图 1。

图 1a 是在发芽温度 30 °C 和热风干燥温度 60 °C 的条件下,不同发芽时间对发芽糙米中 GABA 含量的影响。结果表明,随着发芽时间延长,发芽糙米中 GABA 的含量呈先快速上升后又缓慢上升的趋势。发芽时间 48 h 时,GABA 含量虽然也在增长,但增长趋势变缓,差异不显著。发芽糙米表面出现黑斑,并且开始出现明显的腐败酸臭味,这是由于发芽时间过长导致霉菌等有害微生物滋生。发芽时间过长,虽然 GABA 的含量持续升高,同时也会导致大米中原有营养成分的过度消耗,会严重影响发芽糙米的产品品质。有文献报道,糙米发芽 68 h 后,发芽糙米中 GABA 含量开始下降,并且伴有强烈的发酵气味,发芽糙米的品质也出现明显下降<sup>[18]</sup>。发芽小豆中富集 GABA 的研究发现,发芽时间继续延长,GABA 含量反而下降,这是由于 GABA 积累过多,在 GABA 转氨酶作用下生成琥珀酸半醛,导致 GABA 含量下降<sup>[19]</sup>。

图 1b 是发芽时间 40 h 和热风干燥温度 60 °C 的条件下,不同发芽温度对发芽糙米中 GABA 含量的影响。结果显示,发芽温度在 30 °C 以下时,其 GABA 含量随发芽温度升高而升高,30 °C 达到最高,发芽温度超过 30 °C 时,GABA 含量随着发芽温度的升高反而下降。原因是随着发芽温度升



注:不同字母表示组间差异显著( $P<0.05$ ),图中双字母表示与有相同字母的组间差异不显著,下同。

图 1 不同发芽条件对 GABA 含量影响

Fig.1 GABA content on the different germination condition

高,芽率和芽长不断增加,GABA 转氨酶被激活,催化生成 GABA。然而,由于酶的作用,当发芽温度过高,会抑制谷氨酸脱羧酶活性,GABA 生成量低于消耗量。在水温对神经递质 GABA 合成研究中发现,虽然谷氨酸是合成 GABA 的前体,但谷氨酸不是 GABA 合成的唯一限制因素,GABA 的合成对温度较敏感,温度是谷氨酸脱羧酶活性的重要因素<sup>[20]</sup>。糙米发芽富集 GABA 主要发生在胚和皮层(即米糠)中,在水分含量 30%和环境温度 30

℃时最佳,为对照组的17倍<sup>[21]</sup>。

图1c是糙米在发芽温度30℃,发芽时间40h条件下,发芽后湿发芽糙米经不同温度烘干,干燥温度对GABA含量的影响。发芽糙米中的GABA含量随着烘干温度的升高而逐渐降低,50℃烘干处理后GABA含量最高。有文献报道干燥温度高,发芽糙米中的GABA和抗氧化活性成分含量降低,发芽糙米经50℃热风干燥处理,GABA含量最高<sup>[22]</sup>。而且,干燥温度对发芽糙米的表观品质和感官品质有显著影响,在同样的最终水分条件下,更低的干燥温度会增加干燥时间,然而由于加热温度更低,消耗的热能减小,并且发芽糙米的内部裂纹出现率也更低,对产品的食用品质有所提升<sup>[23]</sup>。

## 2.2 发芽条件正交优化试验结果

根据单因素实验结果选择正交试验条件:发芽温度为25,27,30,33,35℃,5个温度梯度;根据发芽时间单因素试验发现,随着发芽时间的延长,GABA的富集量持续升高,发芽48h时米粒表面出现明显褐色斑点,并出现严重酸味,综合产品品质,正交试验的发芽时间最高水平(1.68)设计为40h,发芽时间选择16,21,28,35,40h,5个时间梯度;根据干燥温度单因素实验发现,随着干燥温度的升高,GABA富集量呈下降趋势,考虑到实际应用,响应面试验的最低水平(-1.68)设计为50℃,选择50,56,65,74,80℃,5个温度梯度。3因素5水平正交优化试验结果见表2,回归分析结果见表3。

从表3可以得到各因素影响程度为:发芽温度影响显著( $P<0.05$ ),发芽时间影响极显著( $P<0.001$ ),热风干燥温度影响显著( $P<0.05$ )。发芽时间的二次项对GABA含量的影响极显著( $P<0.001$ );发芽温度的二次项对GABA含量的影响显著( $P<0.05$ );拟合后得到以GABA含量为目标函数的二次多项回归模型为:

$$Y=13.582+0.526A+2.426B-0.552C-0.506A^2+0.174B^2+0.329C^2+0.737AB+0.064AC+0.344BC$$

方程 $R^2=0.920$ ,说明方程拟合效果良好。方程中各项系数的绝对值直接反映了各因素对GABA含量的影响程度,系数的正负反映了影响的方向。得出各因素影响程度:发芽时间>热风干燥温度>

表2 正交优化试验结果

编号	发芽温度/ ℃	发芽时间/ h	干燥温度/ ℃	GABA含 量/(mg/ 100g)
1	27	21	56	11.88
2	27	21	74	10.61
3	27	35	56	16.77
4	27	35	74	15.68
5	33	21	56	13.02
6	33	21	74	12.05
7	33	35	56	17.86
8	33	35	74	16.56
9	25	28	65	11.76
10	35	28	65	12.13
11	30	16	65	11.35
12	30	40	65	19.56
13	30	28	50	16.56
14	30	28	80	12.13
15	30	28	65	13.18
16	30	28	65	13.76
17	30	28	65	13.98
18	30	28	65	13.58
19	30	28	65	13.01
20	30	28	65	13.87
21	30	28	65	13.71
22	30	28	65	13.76
23	30	28	65	13.46

表3 GABA含量的回归方程

因素	系数	P值
常数项	13.582	
A(发芽温度)	0.526	<0.05*
B(发芽时间)	2.426	<0.001**
C(热风干燥温度)	-0.552	<0.05*
A <sup>2</sup>	-0.506	0.05*
AB	0.174	0.565
AC	0.329	0.284
B <sup>2</sup>	0.737	0.004**
BC	0.064	0.832
C <sup>2</sup>	0.344	0.124
R <sup>2</sup>	0.920	

注:\*.  $P<0.05$ ,影响显著;\*\*. $P<0.01$ ,影响极显著。

发芽温度。柜式发芽的最佳条件为:发芽温度30.81℃,发芽时间40h,热风干燥温度50℃。进

行验证试验,修正工艺为发芽温度 31 °C,发芽时间 40 h,干燥温度 50 °C,经过发芽后,发芽糙米中 GABA 含量为(21.43±0.21) mg/100 g。

### 2.3 不同条件对干型发芽糙米 GABA 含量的交互影响

发芽温度、发芽时间和干燥温度对发芽糙米 GABA 含量的两两交互作用见图 3。

图 2a 是发芽时间和发芽温度对发芽糙米中 GABA 合成的交互影响。在发芽时间相同的情况下,25~30 °C时 GABA 含量随着发芽温度的升高变化不显著,发芽温度高于 30 °C时,GABA 显著下降。在相同发芽温度时,随着发芽时间的延长,GABA 的含量随之持续显著增大,合理的发芽温度可以改善 GABA 的富集速度。在糙米发芽过程中,同时发生 GABA 的生成和 GABA 的分解<sup>[24]</sup>,在发芽时间少于 35 h,发芽温度低于 33 °C时,发芽温度上升,发芽时间延长,酶的活性逐步提高,多种酶被激活,在此阶段 GABA 消耗速率低于其生成速率,使谷氨酸脱羧生成 GABA 含量也增加。

图 2b 是发芽温度和干燥温度对发芽糙米中 GABA 合成的交互影响。在 25~35 °C的任一发芽温度下,GABA 含量随着干燥温度增加而下降,这是由于过高的干燥温度会引起还原糖发生美拉德反应,导致 GABA 降解<sup>[25]</sup>;低温干燥更适宜发芽糙米中 GABA 含量保持。

图 2c 是发芽时间和干燥温度对发芽糙米中 GABA 合成的交互影响。在相同的干燥温度条件下,发芽温度 25~30 °C,GABA 含量变化不显著,高于 30 °C时,GABA 含量显著下降。GABA 含量随着发芽时间的延长而持续显著增加,而且在低温干燥的发芽糙米中,GABA 的含量显著比高温干燥高。这是因为高温会削弱谷氨酸脱羧酶的活性,从而抑制 GABA 的产生。

### 2.4 环境胁迫对糙米发芽 GABA 含量的影响

#### 2.4.1 臭氧胁迫技术

研究臭氧处理时间和处理剂量对糙米发芽过程中 GABA 合成的影响,结果见图 3。

以未臭氧处理样品作为对照,在发芽前期、中期和后期的 7 个时间段开始时分别通入臭氧 90 min (即 15 g),考察臭氧通入时间对发芽糙米中 GABA 合成的影响,结果见图 3a。与对照组相比,

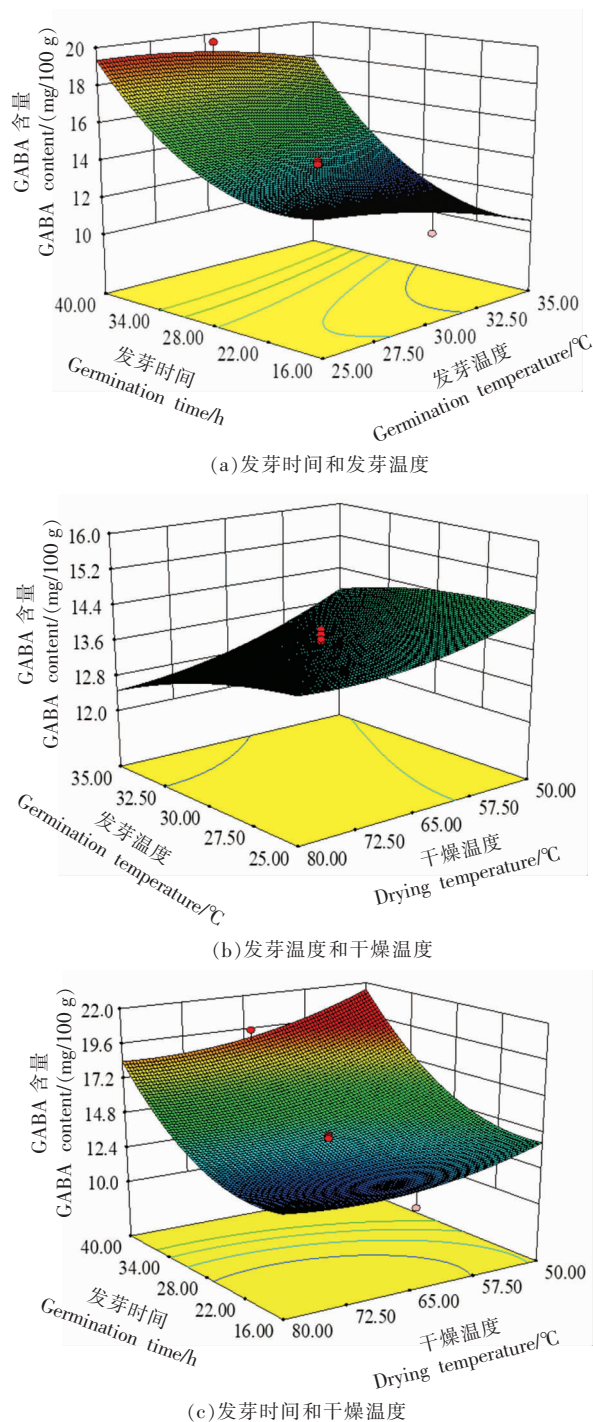


图 2 不同条件对 GABA 含量的交互影响

Fig.2 Interaction of different conditions on GABA content

在发芽前期 (0~12 h) 对糙米进行臭氧处理,对 GABA 合成的影响不显著 ( $P>0.05$ ),而在发芽中后期 (18~40 h) 对糙米进行臭氧处理,显著提升 GABA 的合成量 ( $P<0.05$ )。这是由于糙米发芽前

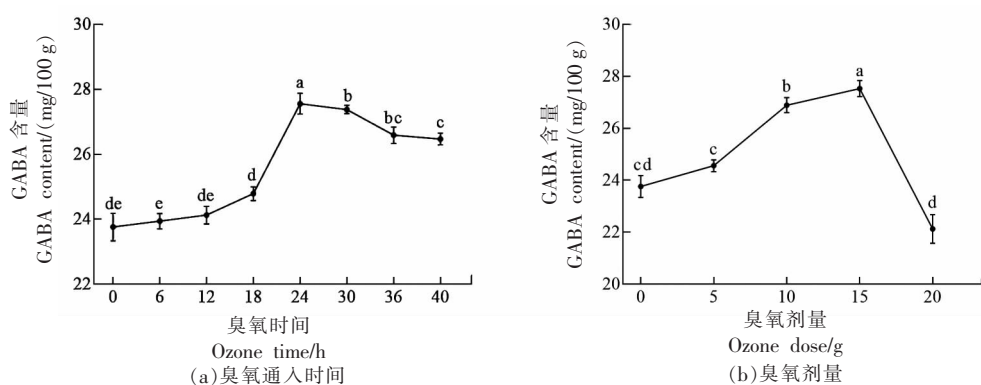


图3 臭氧处理对GABA合成的影响

Fig.3 Effect of ozone treatment on GABA synthesis

期,内部的糖酵解反应不够充分,细胞质未发生酸化,GABA酶促反应缓慢,在发芽中后期(18~40 h)对糙米进行臭氧处理,糖酵解反应充分,生成大量的丙氨酸, $H^+$ 浓度随着臭氧胁迫的增加,激活GAD活性,提高GABA含量,同时,可以减轻细胞过度酸化,抵抗逆境胁迫。另外,臭氧胁迫促使无氧呼吸,琥珀酸半醛脱氢酶(SSADH)活性下降,使琥珀酸半醛蓄积,抑制GABA转氨酶活力,降低GABA消耗,对GABA的合成具有显著的提升作用<sup>[1]</sup>。因此,臭氧处理糙米发芽的最佳时期确定为中、后期(18~40 h)。这与已有文献报道一致,使用臭氧处理玉米种子发芽,发现第4天和第5天处理的样品发芽速度更快,种子萌发率更高,较后期的臭氧处理对GABA富集最有益<sup>[26]</sup>。糙米发芽前期需要氧气,厌氧处理反而会抑制GAD活力,减缓GABA的合成,在发芽中后期的60~72 h时段进行厌氧处理,对GABA的合成起到显著的促进作用( $P < 0.05$ ),在72 h时发芽糙米中GABA含量最高达到未处理的2.1倍<sup>[27]</sup>。

臭氧剂量对GABA合成的影响见图3b。在发芽中期、后期的1个时段(18~24 h)、2个时段(18~24 h和24~30 h)、3个时段(18~24 h,24~30 h,30~36 h)和4个时段(18~24 h,24~30 h,30~36 h,36~40 h)开始时通入臭氧,每次通入时长为30 min,即臭氧剂量分别为5,10,15,20 g。结果发现,与对照组相比,臭氧通入剂量在5~15 g范围时,随着通入剂量的升高,GABA合成量呈增加趋势,而当臭氧通入剂量达到20 g时,GABA合成量呈下降趋势,因此臭氧投入剂量确定为15 g。这与已有文

献报道一致,对野豌豆品种进行30 min臭氧处理试验发现,与对照组相比,适宜剂量的臭氧对种子的萌发、胚根和幼苗发育有积极影响,高剂量对相同参数反而产生负面影响<sup>[28]</sup>。

因此,臭氧胁迫富集GABA发芽糙米最佳工艺为在发芽中、后期进行臭氧处理,臭氧处理剂量为15 g。

2.4.2 超声胁迫技术 将发芽与超声处理相结合,在糙米发芽不同时期进行超声处理,超声温度与发芽温度一致,研究超声处理时期、超声频率和超声时间对发芽糙米中GABA合成的影响,结果见图4。

图4a是处理时期对发芽糙米中GABA合成的影响。分别在浸泡期、发芽前期、发芽中期和发芽后期分别进行30 kHz超声处理20 min。结果发现,与对照组相比,在糙米浸泡和发芽各阶段进行超声处理,均能显著提高GABA的富集量( $P < 0.05$ ),其中,糙米发芽中期进行超声处理GABA含量达到最大值,其次是发芽后期。这是由于糙米在发芽过程中,内源酶被激活的速度相对较慢,超声波在不同时期处理,可使内源酶的激活速度不同程度地加快,使淀粉、非淀粉多糖、蛋白质等一些生物高分子化合物分解,产生小分子糖和氨基酸等营养物质<sup>[29]</sup>。本研究结果与已有文献报道是一致的,在发芽后期的第7天,超声波处理的苦荞最高发芽率均显著升高( $P < 0.05$ ),还增加了苦荞中GABA和黄酮含量,增强了DPPH和ABTS自由基清除活性<sup>[30]</sup>。

图4b是超声频率对发芽糙米中GABA合成

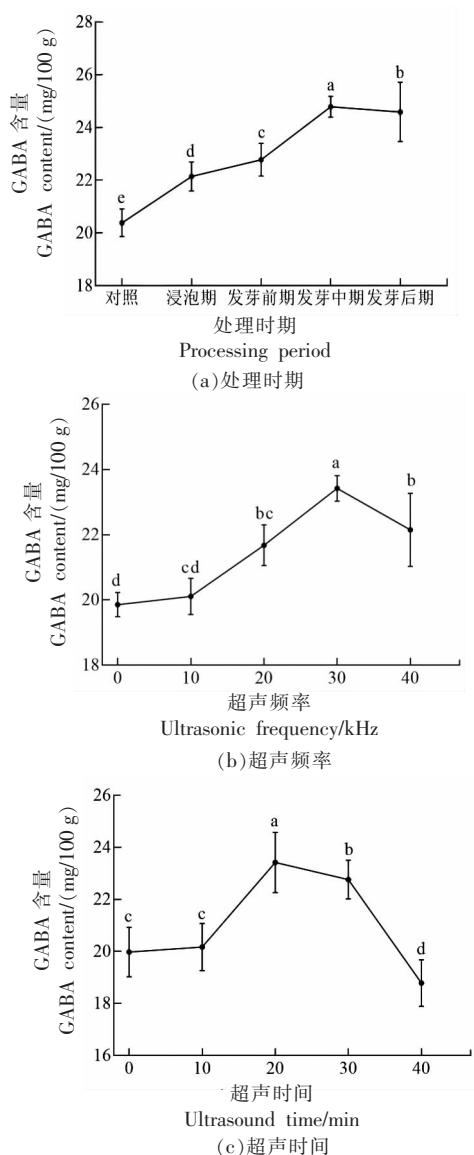


图 4 超声处理对 GABA 合成的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic treatment on GABA synthesis

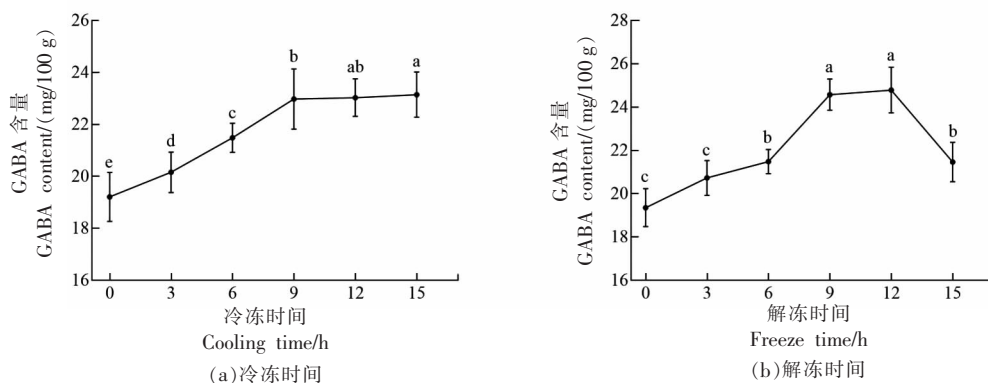


图 5 冷冻处理对 GABA 合成的影响

Fig.5 Effect of freezing treatment on GABA synthesis

的影响。超声时间为 20 min, 超声频率为 10~40 kHz。结果表明, 超声频率为 10 kHz 时对 GABA 合成无显著影响 ( $P>0.05$ ), 20~40 kHz 时可以显著改善 GABA 的合成 ( $P<0.05$ ), 并且超声频率为 30 kHz 时发芽糙米中 GABA 合成量最高。这是由于糙米中的细胞分区会因超声造成机械损伤、细胞壁损伤, 导致细胞质中  $H^+$  浓度升高, 激活 GABA 合成相关酶类的活性, 促进 GABA 合成。已有文献也报道, 在 28 kHz 经 2 次超声波处理可以增加发芽糙米中的 GABA 量, GABA 含量是未超声处理的 3 倍<sup>[31]</sup>。35 kHz 超声处理可促使咖啡叶中酚类化合物和游离氨基酸含量增加, 而频率太高, 会使酚类化合物减少, 抗氧化的作用也随之降低<sup>[32]</sup>。

图 4c 是超声时间对发芽糙米中 GABA 合成的影响。超声频率为 30 kHz, 超声时间为 10~40 min。结果表明, 与对照相比, 超声处理 10~30 min 均可促进 GABA 的合成, 其中处理 20 min 时 GABA 含量最高, 而超声处理 40 min 时, GABA 合成反而减少, 可见, 超声时间过长不利于 GABA 的合成, 最佳超声时间为 20 min。这是由于超声波附加频率与种子频率发生共振, 产生强大冲击波或微射流冲击种子表面, 破坏细胞壁结构, 使细胞内、外发生物质交换, 种子内部多种酶活性被提高, 从而促进 GABA 的合成。已有文献报道, 将发芽和超声波相结合, 超声功率 220 W, 超声时间 14.4 min 时, 可提高南瓜种子 GABA 富集量<sup>[33]</sup>。

2.4.3 冷冻胁迫技术 将糙米发芽后进行冷冻胁迫, 研究冷冻时间和解冻时间对发芽糙米中 GABA 合成的影响, 结果见图 5。

图 5a 是冷冻时间对发芽糙米中 GABA 合成的影响。糙米室温浸泡 4 h 后, 在 30 °C 湿热发芽 40 h 后, 取 1 kg 湿发芽糙米在 -18 °C 下冷冻 3~15 h 后, 平铺于盘中, 厚度约 1 cm, 室温解冻 3 h, 温度升高到室温后测定 GABA 含量。结果发现, 与对照组相比, 冷冻胁迫后解冻对发芽糙米中 GABA 的富集均具有一定的促进作用。冷冻时间 3~9 h 时, GABA 含量呈上升趋势, 冷冻时间 9~12 h 时, GABA 含量增长趋势趋于平缓, 最佳冷冻时间为 9 h。这是由于冷冻时间过短, 发芽糙米中心部分还未彻底冷冻, 冷冻时间达到 9 h, 冰晶体对植物体细胞膜体系有明显的损伤, 促进  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}^{+}$  渗入到细胞质中, 促进钙调素结合面活化, 进而活化 GAD 活性, 催化降解 GA, 最终促进 GABA 合成和积累<sup>[34]</sup>。

图 5b 是解冻时间对发芽糙米中 GABA 合成的影响。糙米室温浸泡 4 h 后, 在 30 °C 湿热发芽

40 h, 取 1 kg 湿发芽糙米在 -18 °C 下冷冻 9 h 后, 平铺于盘中, 厚度约 1 cm, 室温解冻 3~15 h 后测定 GABA 含量。结果发现, 与对照组相比, 解冻时间 3~9 h 时, 对 GABA 的含量呈显著上升趋势 ( $P < 0.05$ ), 9~12 h 时趋势平缓, 对 GABA 的合成影响不显著 ( $P > 0.05$ ), 当解冻时间为 15 h 时, GABA 合成量开始减少。这是由于在解冻时间 3~9 h 内, 是冷冻发芽糙米由 -18 °C 向室温缓慢升温的过程, 酶活力逐渐提升, GABA 大量合成, 解冻时间 9 h 时发芽糙米完全解冻, GABA 的合成趋于稳定, 当解冻时间为 15 h 时, 解冻时间过长, 由于发芽糙米水分较高 (35% 以上), 导致微生物滋生, 抑制了 GABA 的合成<sup>[6]</sup>。

2.4.4 高温灭菌胁迫技术 糙米发芽后进行高温杀菌处理, 探讨发芽糙米加工中的 GABA 合成受杀菌温度、杀菌时间的影响, 结果见图 6。

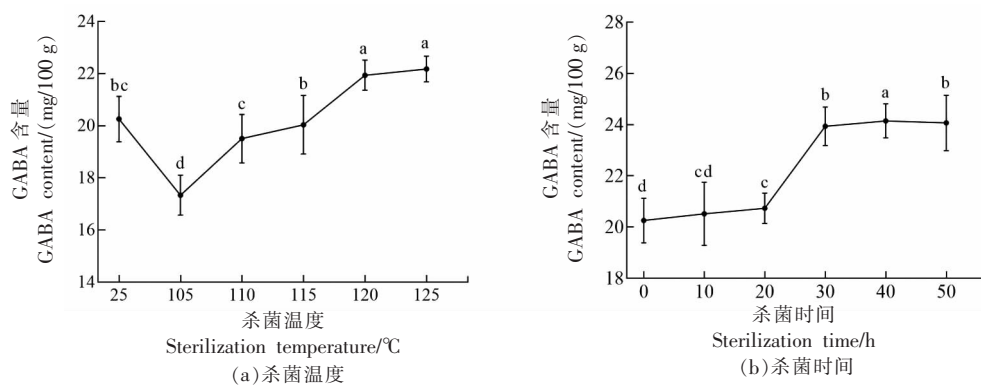


图 6 杀菌条件对 GABA 合成的影响

Fig.6 Effect of sterilization on GABA synthesis

图 6a 是杀菌温度对发芽糙米中 GABA 合成的影响。糙米 30 °C 发芽 40 h, 将湿发芽糙米分装于 PVDC 高温蒸煮袋中, 每袋 50 g, 密封后进行高温杀菌, 杀菌温度分别为 105, 110, 115, 120, 125 °C, 杀菌时间均为 30 min, 抽取 3 袋发芽糙米平行测定 GABA 含量。结果表明, 与对照相比, 当杀菌温度较低 (105 °C 和 110 °C) 时, 对 GABA 的合成有抑制作用, GABA 含量降低。当杀菌温度较高 (115~125 °C) 时, 对 GABA 的合成有促进作用, GABA 含量呈上升趋势, 杀菌温度为 120 °C 和 125 °C 时, GABA 含量差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 为了节约能源, 提高生产效率, 杀菌温度确定为 120 °C。有

文献报道在挤压膨化金针菇复配发芽糙米研究中发现, 物料水分高于 22% 时, GABA 在挤压温度 130 °C 条件下, 有上升趋势<sup>[35]</sup>。因此, GABA 在较高的水分条件下具有耐高温性, 同时还起到了杀菌作用, 有利于延长产品保质期。

图 6b 是杀菌时间对发芽糙米中 GABA 合成的影响。糙米发芽和包装条件同上, 杀菌温度为 120 °C, 杀菌时间为 10~50 min, 测定 GABA 含量。结果表明, 与对照相比, 高温杀菌对 GABA 的富集均表现出一定的促进作用, 10~30 min 呈上升趋势, 30~50 min 时 GABA 合成量趋于平稳。杀菌时间较短时, 虽然对 GABA 合成量有一定的促进作



用,但要综合杀菌效果一并考虑。

不同杀菌时间的发芽糙米各抽出 50 包,室温下避光保存 12 个月后,随机抽取 5 个包装,根据《食品安全国家标准 速冻面米与调制食品》(GB 19295-2021)要求进行各项微生物的测定,测定结

果见表 4。在 120 °C 杀菌时间 30 min 以上时,实现了对发芽糙米微生物的彻底杀死,保质期内无法繁殖。因此,对杀菌时间的综合考虑,以 30 min 为最佳。

表 4 保质期 12 个月内微生物指标

Table 4 Microbiology within a shelf life of 12 months

杀菌时间/min	菌落总数/(CFU/g)	大肠菌群/(CFU/g)	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌
10	15 000	25	未检出	未检出
20	3 000	<10	未检出	未检出
30	<10	<10	未检出	未检出
40	<10	<10	未检出	未检出
50	<10	<10	未检出	未检出

### 3 结论

发芽温度、发芽时间和热风干燥温度对糙米发芽过程中 GABA 的含量有显著影响,各因素影响程度为:发芽时间>热风干燥温度>发芽温度。柜式发芽的最佳条件为:发芽温度 31 °C,发芽时间 40 h,热风干燥温度 50 °C,发芽糙米的 GABA 含量为 21.43 mg/100g。糙米发芽中、后期(18~40 h),臭氧处理剂量为 15 g 时,臭氧胁迫发芽糙米 GABA 合成量最高达 (27.53±0.31) mg/100 g,是对照组的 1.16 倍;发芽中期(12~30 h),30 kHz 超声 20 min 时,超声胁迫发芽糙米 GABA 合成量最高达 (23.42±1.16) mg/100 g,是对照组的 1.17 倍;糙米发芽后冷冻 9 h,解冻 9 h 时,冷冻胁迫发芽糙米 GABA 合成量最高达 (24.58±0.72) mg/100 g,是对照组的 1.27 倍;糙米发芽后,120 °C 高温杀菌时间 30 min,GABA 合成量最高达 (23.94±0.75) mg/100 g,是对照组 (20.26±0.87) mg/100 g 的 1.18 倍,室温保质期 12 个月。

将发芽条件、干燥条件和环境胁迫相结合,可以更好的模拟规模化生产。各条件参数改变可以引起发芽糙米中 GABA 含量的显著变化,其作用机理,以及对发芽糙米蒸煮性、质构特性和食用性方面的影响还需要继续研究。

### 参 考 文 献

[1] 胡中泽,高冰,柳志杰,等.热风干燥和微波干燥

对发芽糙米中  $\gamma$ -氨基丁酸含量影响的研究[J].粮食与饲料工业,2008(12):4-5.

HU Z Z, GAO B, LIU Z J, et al. Study on the effect of hot air drying and microwave drying on  $\gamma$ -aminobutyric acid content in germinated brown rice [J]. Food and Feed Industry, 2008(12): 4-5.

[2] ANUCHITA M, NATTAWAT S. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice[J]. Food Chemistry, 2010, 122(3): 782-788.

[3] KOMATSUZAKI N, TSUKAHARA K, TOYOSHIM H, et al. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(2): 556-560.

[4] BANCHUEN J, THAMMARUTWASIK P, OORAikul B, et al. Effect of germinating processes on bioactive component of sangyod muang phatthalung rice[J]. Thai Journal of Agricultural Science, 2009, 42(4): 191-199.

[5] 刘颖,王秋,TATYANA,等.富含  $\gamma$ -氨基丁酸的发芽糙米制备工艺的研究[J].食品工业,2015,36(4):82-86.

LIU Y, WANG Q, TATYANA, et al. Study on the preparation process of germinated brown rice rich in  $\gamma$ -aminobutyric acid[J]. Food Industry, 2015, 36(4): 82-86.

[6] 史晓媛.发芽糙米储藏特性研究及其营养粉开发[D].南京:南京农业大学,2012.

SHI X Y. Studies on storage characteristic of germinated brown rice and development of nutritional

- powder[D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2012.
- [7] SOOTJARIT S, JITTANIT W, SUROJANAMETAKUL V. Effects of drying methods on the nutritional and physical quality of pre-germinated rice[J]. Transactions of the Asabe, 2011, 54(4): 1423-1430.
- [8] 杨靖东, 姜雯翔, 史晓媛, 等. 不同热风干燥温度对发芽糙米品质的影响[J]. 粮食储藏, 2013, 42(3): 30-34.
- YANG J D, JIANG W X, SHI X Y, et al. Effect of different hot air drying temperatures on the quality of germinated brown rice[J]. Grain Storage, 2013, 42(3): 30-34.
- [9] 尹永祺, 吴进贤, 刘春泉, 等. 低氧与低温胁迫对发芽玉米籽粒中 $\gamma$ -氨基丁酸富集的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 89-93.
- YIN Y Q, WU J X, LIU C Q, et al. Effect of hypoxia and cold stress on  $\gamma$ -aminobutyric acid enrichment in germinated maize kernels[J]. Food Science, 2015, 36(1): 89-93.
- [10] 丁俊胄. 低氧胁迫与超声场激发对发芽糙米中 $\gamma$ -氨基丁酸积累的影响及其代谢机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
- DING J Z. The effects of low oxygen stress and ultrasonic field excitation on  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation in germinated brown rice and its metabolic mechanism[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020.
- [11] AKIHIRO T, KOIKE S, TANI R, et al. Biochemical mechanism on GABA accumulation during fruit development in tomato[J]. Plant and Cell Physiology, 2008, 49(9): 1378-1389.
- [12] CHEN H H, CHANG H C, CHEN Y K, et al. An improved process for high nutrition of germinated brown rice production: Low-pressure plasma[J]. Food Chemistry, 2016, 191: 120-127.
- [13] PANDISELVAM R, MAYOOKHA V P, KOTHAKOTA A, et al. Impact of ozone treatment on seed germination - a systematic review[J]. Ozone-Science & Engineering, 2020, 42(4): 331-346.
- [14] DONG X, SUN L T, MAKER G, et al. Ozone treatment increases the release of VOC from barley, which modifies seed germination [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(10): 3127-3135.
- [15] WANG Q Z, CHEN G, YERSAIYITI H, et al. Modeling analysis on germination and seedling growth using ultrasound seed pretreatment in switchgrass[J]. Plos One, 2012, 7(10): e47204.
- [16] YANG R Q, FENG L, WANG S F, et al. Accumulation of gamma-aminobutyric acid in soybean by hypoxia germination and freeze-thawing incubation[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(6): 2090-2096.
- [17] YOUN Y S, PARK J K, JANG H D, et al. Sequential hydration with anaerobic and heat treatment increases GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) content in wheat[J]. Food Chemistry, 2011, 129(4): 1631-1635.
- [18] CHUNGCHAROEN T, PRACHAYAWARAKORN S, TUNGTRAKUL P, et al. Effects of germination process and drying temperature on gamma-aminobutyric acid (GABA) and starch digestibility of germinated brown rice[J]. Drying Technology, 2014, 32(6): 742-753.
- [19] JIANG X J, XU Q P, ZHANG A W, et al. Optimization of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) accumulation in germinating adzuki beans (*Vigna angularis*) by vacuum treatment and monosodium glutamate, and the molecular mechanisms[J]. Frontiers Nutrition, 2021, 8: 693862.
- [20] FRASER E J, BOSMA P T, TRUDEAU V L, et al. The effect of water temperature on the GABAergic and reproductive systems in female and male goldfish (*Carassius auratus*)[J]. General and Comparative Endocrinology, 2002, 125(2): 163-175.
- [21] KIM H S, LEE E J, LIM S T, et al. Self-enhancement of GABA in rice bran using various stress treatments[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 657-662.
- [22] TUMPANUVATR T, JITTANIT W, SUROJANAMETAKUL V. Effects of drying conditions in hybrid dryer on the GABA rice properties[J]. Journal of Stored Products Research, 2018, 77: 177-188.
- [23] SANGCHUM K, TIRAWANICHAKUL Y, TIRAWANICHAKUL S. Effect of drying on physical qualities and sensory evaluation of herbal germinated brown rice by hot air: Turmeric and Roselle[J]. Advanced Materials Design and Mechanics II, 2013, 2583(372): 420-423.
- [24] 黄亚辉, 郑红发, 刘霞林, 等. Gabaron 茶加工过程中 $\gamma$ -氨基丁酸和谷氨酸的动态变化研究[J]. 食品科

- 学, 2005, 26(8): 117-120.
- HUANG Y H, ZHENG H F, LIU X L, et al. Gabaron dynamic changes of  $\gamma$ -aminobutyric acid and glutamate during tea processing[J]. Food Science, 2005, 26(8): 117-120.
- [25] SRISANG N, PRACHAYAWARAKORN S, VARAN-  
YANOND W, et al. Germinated brown rice drying  
by hot air fluidization technique[J]. Drying Technol-  
ogy, 2011, 29(1): 55-63.
- [26] VIOLLEAU F, HADJEBBA K, ALBET J, et al. Ef-  
fect of oxidative treatment on corn seed germination  
kinetics[J]. Ozone-Science & Engineering, 2008, 30  
(6): 418-422.
- [27] 丁俊胄, 杨特武, 周强, 等. 厌氧胁迫对发芽糙米  
中 $\gamma$ -氨基丁酸含量变化的影响[J]. 中国粮油学报,  
2015, 30(2): 6-10.
- DING J Z, YANG T W, ZHOU Q, et al. Effect of  
anaerobic stress on the changes in  $\gamma$ -aminobutyric  
acid content in germinated brown rice[J]. Chinese  
Journal of Grain and Oil, 2015, 30(2): 6-10.
- [28] USLU O S, EROL A, GEDIK O, et al. Determi-  
nation of the effects of different aqueous ozone doses  
and temperature on germination and seedling devel-  
opment of vetch seeds[J]. Ozone-Science & Engi-  
neering, 2022, 44(6): 512-520.
- [29] ZHANG Q, XIANG J, ZHANG L Z, et al. Opti-  
mizing soaking and germination conditions to im-  
prove gamma-aminobutyric acid content in japonica  
and indica germinated brown rice [J]. Journal of  
Functional Foods, 2014, 10: 283-291.
- [30] WANG J F, BIAN Z X, WANG S M, et al. Ef-  
fects of ultrasonic waves, microwaves, and thermal  
stress treatment on the germination of Tartary buck-  
wheat seeds[J]. Journal of Food Process Engineering,  
2020, 43(10): e13494.
- [31] 郑艺梅, 黄河, 华平, 等. 超声波处理对发芽糙米  
主要成分变化的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(11):  
337-339.
- ZHENG Y M, HUANG H, HUA P, et al. Effect of  
ultrasound treatment on changes in the main compo-  
nents of germinated brown rice [J]. Food Science,  
2008, 29(11): 337-339.
- [32] JI D Y, WANG Q, LU T T, et al. The effects of  
ultrasonication on the phytochemicals, antioxidant,  
and polyphenol oxidase and peroxidase activities in  
coffee leaves[J]. Food Chemistry, 2022, 373 (Part  
B): 131480.
- [33] LIANG L, CHEN L, LIU G M, et al. Optimization  
of germination and ultrasonic-assisted extraction for  
the enhancement of gamma-aminobutyric acid in  
pumpkin seed[J]. Food Science & Nutrition, 2022,  
10(6): 2101-2110.
- [34] SHELP B J, BOZZO G G, TROBACHER C P, et  
al. Hypothesis/review: Contribution of putrescine to  
4-aminobutyrate (GABA) production in response to  
abiotic stress [J]. Plant Science, 2012, 193/194:  
130-135.
- [35] 方勇, 王红盼, 杨文建, 等. 金针菇复配发芽糙米  
挤压膨化工艺及产品品质特性[J]. 中国农业科学,  
2016, 49(4): 727-738.
- FANG Y, WANG H P, YANG W J, et al. The  
extrusion process and product quality characteristics  
of germinated brown rice[J]. Agricultural Science of  
China, 2016, 49(4): 727-738.

## Optimization of $\gamma$ -Aminobutyric Acid Enrichment Process Parameters and Environmental Stress Technology in Brown Rice Germination

HONG Bin<sup>1,2,3</sup>, LU Shuwen<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Shan<sup>1</sup>, FENG Junran<sup>1</sup>, YUAN Di<sup>1</sup>, SHAN Shan<sup>1</sup>,  
ZHANG Jingyi<sup>1</sup>, LI Bo<sup>1</sup>, REN Chuanying<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Food Processing Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086

<sup>2</sup>Heilongjiang Province Key Laboratory of Food Processing, Harbin 150086

<sup>3</sup>Heilongjiang Province Engineering Research Center of Whole Grain Nutritious Food, Harbin 150086)

**Abstract** In order to improve the enrichment of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA), the effects of germinating temperature, germinating time, hot air drying temperature, ultrasonic, ozone, freezing and high temperature and pressure stress on

GABA content in germinated brown rice were studied. The results showed that germinating temperature, germinating time and hot air drying temperature had significant effects on GABA content during brown rice germinating, and the influencing degree of each factor was: germinating time > hot air drying temperature > germinating temperature. The optimum conditions for the preparation of high GABA content are: germination temperature 31 °C, germination time 40 h, hot air drying temperature 50 °C, GABA content was 21.43 mg/100 g. In the middle and late stages of germination (18–40 h), brown rice was treated with 15 g of ozone stress. At the middle stage of germination (12–30 h), 30 kHz ultrasonic stress was treated for 20 min. Freeze brown rice for 9 h after germination. After germination, brown rice was sterilized at 120 °C for 30 min. The GABA content of germinated brown rice was all significantly increased.

**Keywords** brown rice; germinate; gamma-aminobutyric acid; environmental stress