

姜秀杰, 许庆鹏, 张家瑜, 等. 低氧联合酸胁迫红小豆/绿豆萌发富集 GABA 及富含 GABA 芽豆复配米饭的工艺优化 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(11): 151–158. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030315

JIANG Xiujie, XU Qingpeng, ZHANG Jiayu, et al. Use of Hypoxia Combined with Acid Stress to Enrich GABA in Adzuki /Mung Beans, and Optimization of GABA-rich Sprouted Bean/Rice Mixture Processing Conditions[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(11): 151–158. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030315

· 工艺技术 ·

低氧联合酸胁迫红小豆/绿豆萌发富集 GABA 及富含 GABA 芽豆复配米饭 的工艺优化

姜秀杰^{1,2}, 许庆鹏¹, 张家瑜¹, 王 杰¹, 吴睿喆¹, 邵海益¹, 迟晓星^{1,2}, 曹冬梅^{1,2}, 张东杰^{1,2,*}

(1.黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319;

2.黑龙江八一农垦大学国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江大庆 163319)

摘要: 为了研究低氧联合酸胁迫对红小豆和绿豆 GABA 富集的作用, 采用单因素对萌发时间、萌发温度、低氧时间和 L-谷氨酸浓度进行考察, 在确定高 GABA 芽豆的胁迫条件基础上, 将富含 GABA 红小豆、绿豆与大米进行复配, 利用 D-混料设计优化芽豆米饭配方工艺。结果显示, 低氧联合酸胁迫对红小豆、绿豆富集 GABA 有积极促进作用, 在萌发时间 48 h、萌发温度 40 ℃、低氧时间 15 h 和 L-谷氨酸浓度 2.5 mg/mL 条件下, 萌发红小豆中 GABA 高达 158.32±3.24 mg/100 g。绿豆胁迫条件为萌发时间 24 h、萌发温度 35 ℃、低氧时间 15 h 和 L-谷氨酸浓度 2.5 mg/mL 时, 其中 GABA 含量最高为 141.57±4.35 mg/100 g。在此基础上, 通过 D-混料设计优化确定了复配芽豆米饭的最佳配方为: 大米 76%、萌发绿豆 11%、萌发红小豆 13%, 此条件下, 芽豆米饭 GABA 含量为 23.73±1.03 mg/100 g, 感官评分均值为 88.76±2.47, 制得的芽豆米饭口感、色泽、香味均在可接受范围内, 且积累了 GABA 活性成分, 提升了芽豆米饭的营养及功能特性, 为进一步开发杂粮复配米饭提供理论参考。

关键词: 红小豆, 绿豆, 低氧胁迫, GABA, 芽豆米饭

中图分类号: TS210.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2024)11-0151-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030315

本文网刊:



Use of Hypoxia Combined with Acid Stress to Enrich GABA in Adzuki / Mung Beans, and Optimization of GABA-rich Sprouted Bean/Rice Mixture Processing Conditions

JIANG Xiujie^{1,2}, XU Qingpeng¹, ZHANG Jiayu¹, WANG Jie¹, WU Ruizhe¹, SHAO Haiyi¹, CHI Xiaoxing^{1,2},
CAO Dongmei^{1,2}, ZHANG Dongjie^{1,2,*}

(1.College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;

2.National Research for Grain Engineering Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: In order to study the effect of hypoxia combined with acid stress on GABA enrichment in adzuki bean and mung bean, germination time, germination temperature, hypoxia time and L-glutamic acid concentration were investigated by single factor. Based on the stress conditions identified for high GABA sprouted beans, GABA-enriched adzuki and mung beans were mixed with rice, and D-mixture design was used to optimize processing conditions for these sprouted bean/rice

收稿日期: 2023-03-29

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项 (2021ZX12B06); 黑龙江省自然科学基金研究团队项目 (TD2020C003); 学成、引进人才科研启动计划项目 (杂粮/主粮膳食因子活性保持技术及生理功效评价: XYB202210); 黑龙江八一农垦大学“三纵”基础培育项目 (ZRCPY202122); 大学生创新创业训练计划项目 (低氧联合糖胁迫下萌发红小豆 γ -氨基丁酸富集技术及产品开发研究: S202310223070)。

作者简介: 姜秀杰 (1984-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品营养与质量安全, E-mail: jiangxiujie-2008@163.com。

*** 通信作者:** 张东杰 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与质量安全, E-mail: byndzjdj@126.com。

mixtures. Results showed that hypoxia combined with acid stress promoted GABA enrichment in adzuki and mung beans. In sprouted adzuki beans, GABA reached levels as high as 158.32 ± 3.24 mg/100 g under the germination time of 48 h, germination temperature of 40 °C, 15 h exposure to hypoxia, and L-glutamic acid concentration of 2.5 mg/mL. Mung bean stress conditions were: Germination time of 24 h, germination temperature of 35 °C, 15 h exposure to hypoxia, and L-glutamic acid concentration of 2.5 mg/mL, the content of GABA was 141.57 ± 4.35 mg/100 g. On this basis, the sprouted beans and rice formulation was optimized by D-mixture design as follows: Rice 76%, sprouted mung beans 11%, and sprouted adzuki beans 13%. Under this composition, the GABA content of sprouted bean/rice mixture was 23.73 ± 1.03 mg/100 g, and the average sensory score was 88.76 ± 2.47 . The taste, color, and aroma of the sprouted bean/rice mixture fell within acceptable ranges, and the active ingredient GABA was enriched, enhancing the nutritional and functional properties of sprouted beans/rice. This study provided a theoretical reference for the further development of rice/grain mixtures.

Key words: adzuki bean; mung bean; hypoxia stress; GABA; sprouted bean/rice

大米是全世界超过 35 亿人的主食, 供养着全世界近一半的人口^[1]。我国的稻米产量和消费量更是稳居高位, 60% 以上的居民将大米作为主食^[2]。大米通过浸泡、加热蒸煮或焖制工艺处理后形成米饭^[3]。米饭中主要成分是淀粉, 被广泛认为是一种高血糖指数食物。长期单一摄入米饭会加剧膳食血糖负荷, 是 2 型糖尿病的风险因素^[4]。Hu 等^[5]进一步研究表明, 白米摄入量与 2 型糖尿病之间存在明显的相关性, 与西方人群相比, 亚洲人群(尤其中国和日本)的这种关联性更强。这也是我国 2 型糖尿病发病率高的主要诱因之一。

杂豆富含膳食纤维、抗性淀粉、B 族维生素, 且具有风味独特、饱腹感强等特点, 是一种极好的蛋白来源^[6-7]。杂豆属于低血糖指数食品, 据研究显示每日摄入一定量豆类, 可减轻体重、降低肥胖、预防心脑血管等疾病^[8-10]。此外, 豆类是丰富的多酚、皂苷、生物碱、膳食纤维等生物活性化合物的来源, 这些化合物在许多代谢和生理过程中发挥作用, 进而在预防慢性病方面起到积极的促进作用^[11-13]。因此, 合理搭配杂豆膳食, 可提高米饭营养价值, 亦可极大改善我国居民以大米为主的膳食结构。但杂粮加工性能差、口感粗糙、味道不佳、难消化且含有抗营养因子, 限制了食品消费及主食化进程。

萌发是一种简单、有效提升植物适口性、消化性和部分营养物质的技术。豆类种子在萌发过程中, 籽粒因吸水后重新激活种子代谢, 改变了豆类营养及生理生化特性, 导致宏量营养素和抗营养化合物发生分解代谢, 增加了次生代谢物的生物合成, 具有潜在的健康益处^[14]。同时, 萌发可显著增加豆类中 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA) 含量^[15]。GABA 是一种非蛋白源氨基酸, 作为食品新资源, 具有降血压、改善睡眠质量、抗 T2DM 等多种生理功能^[16-18]。研究证实 GABA 可以改善胰腺炎症, 减缓 β 细胞受到自身免疫损伤^[19]。还有报道 GABA 可诱导 α 细胞向 β 细胞转化^[20], 也可促进 β 细胞复制和抑制 β 细胞死亡^[21], 这给糖尿病治疗提供了良好前景。富含 GABA 食品开发一时成为功能食品研究的热点, 但目前市场上富含 GABA 产品主要来源于发芽糙米, 尚未发现富含 GABA 芽豆产品。以往研究显示, 绿

豆、红小豆含有丰富的谷氨酸, 有潜力通过植物代谢等手段富集 GABA^[22]。因此, 本文选择红小豆/绿豆通过低氧联合酸胁迫方式富集 GABA, 在此基础上, 选择 D-最优混料设计优化开发富含 GABA 芽豆米饭, 希望制备出一种人们容易接受且能够持续食用的芽豆复配米类主食产品, 对丰富豆类功能产品及促进杂粮产业健康发展均有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红小豆(品种: 珍珠红)、绿豆(小明绿) 大庆市瑞泽丰科技有限公司, 贮藏于 4 °C 下待用; GABA 标准品 色谱纯, 美国 Sigma 公司; L-谷氨酸、重蒸酚分析纯, 上海源叶生物科技有限公司; 3,5-二硝基水杨酸、酒石酸钾钠、无水亚硫酸钠、安替福民、苯酚 分析纯, 麦克林生化科技有限公司。

BZF-30 真空干燥箱(极限真空度为 1.33 kPa)

上海博讯医疗生物仪器有限公司; ZXMP-R1230 恒温恒湿培养箱(配有独立加水装置及自动控温系统)

上海智城分析仪器制造有限公司; T6 紫外可见分光光度计(双光束光学系统) 北京普析通用仪器有限公司; SF50HC750 智能电饭煲 苏泊尔集团有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 低氧联合酸胁迫红小豆/绿豆萌发富集 GABA

1.2.1.1 萌发红小豆/绿豆的制备 清洗干净的红小豆/绿豆籽粒放入适当容器内, 添加 1.0% 次氯酸钠溶液对豆子进行消毒处理 15 min, 然后用纯净水冲洗 3 次, 加入 4~5 倍体积的纯净水, 35 °C 下恒温浸泡 12 h。浸泡结束用纯净水冲洗 1 次, 均匀地铺撒在发芽板上, 并将清水润湿的纱布覆盖其豆子表面, 对浸泡豆子进行低氧胁迫处理, 处理方式为真空培养箱, 打开真空泵, 抽取其中氧气, 将真空度降至 1.33 kPa, 同时调整温度和时间, 开始低氧真空萌发, 之后转入恒温恒湿培养箱中继续发芽, 萌发期间每间隔一个小时, 用喷壶在红小豆表面喷洒一次谷氨酸。低氧及萌发处理结束后, 将一部分新鲜样品 45 °C 下烘干、粉碎、4 °C 下冷藏, 用于 GABA 含量的测定。每个处理均进行 3 次重复。

1.2.1.2 低氧联合酸胁迫处理的单因素实验 在红小豆/绿豆萌发期间,考察萌发时间、萌发温度、低氧处理时间和 L-谷氨酸浓度对芽豆种子 GABA 含量的影响。按照上述工艺,确定萌发温度 25 ℃、低氧处理时间 6 h、L-谷氨酸浓度 1.0 mg/mL 条件下,研究不同萌发时间(0、6、12、24、36、48 h)对 GABA 含量的影响;确定萌发时间 12 h、低氧处理时间 6 h、L-谷氨酸浓度 1.0 mg/mL 条件下,研究不同萌发温度(20、25、30、35、40、45 ℃)对 GABA 含量的影响;确定萌发时间 12 h、萌发温度 25 ℃、L-谷氨酸浓度 1.0 mg/mL 条件下,研究不同低氧时间(3、6、9、12、15、18 h)对 GABA 含量的影响;确定萌发时间 12 h、萌发温度 25 ℃、低氧时间 6 h 条件下,研究不同 L-谷氨酸浓度(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/mL)对 GABA 含量的影响。

1.2.1.3 γ -氨基丁酸含量的测定 γ -氨基丁酸(GABA)含量的检测参照 Zhang 等^[23]和 Xu 等^[13]的方法略有改进。准确称取萌发红小豆/绿豆样品各 1.0 g,加入适量蒸馏水溶解后稀释至 50 mL,混合液放置于超声波中浸提 2 h,超声温度 30 ℃、超声功率 40 kHz,超声结束后对样液进行抽滤,并离心处理 10 min (8000 r/min),吸取上清液 0.5 mL,加入 0.2 mL 硼酸缓冲液,其中缓冲液浓度为 0.2 mmol/L、pH9.0,加入 1 mL 重蒸馏苯酚溶液,再加入 0.4 mL 的 9% 次氯酸钠溶液,漩涡振荡 10 s,放入沸水浴加热 10 min,然后立即放入冰浴中冷却 20 min,观察溶液颜色由黄色变为蓝绿色后,立即加入 60% 乙醇溶液 2 mL,再次漩涡混匀,并在 645 nm 处测定样品及空白对照吸光度。结果以毫克每 100 克干基表示,即 mg/100 g。

1.2.2 富含 GABA 芽豆米饭的制备

1.2.2.1 D-最优混料设计 本研究采用 D-最优混料设计,考虑到芽豆(红小豆/绿豆)的添加量既要满足增加米饭营养的需求,还要不宜过多以免影响米饭的色、香、味等食用品质。现以大米(A)、萌发绿豆(B)和萌发红小豆(C)3 个混料因子为自变量,3 个因子占比总和为 100%,即 $A+B+C=1(100\%)$ 。GABA 含量(R_1)和感官评价(R_2)为响应值,共同考察各组分占比对芽豆米饭 GABA 和感官评分的影响。建立各组分占比与 GABA 和感官评分之间的回归方程,并通过 Design-expert 8.0.6.1 软件中分析选取最优配方。依据豆类摄入量及查阅资料,选取因素取值范围如表 1 所示。

表 1 混料设计
Table 1 Chaos design

因素	物料	物料最低线(%)	物料最高线(%)
A	大米	60	80
B	萌发绿豆	10	30
C	萌发红小豆	10	30

1.2.2.2 芽豆米饭的制备 依据 D-最优混料设计,每组实验按混料设计物料占比分别称取大米、萌发红

小豆、绿豆共计 200 g,用自来水冲洗 2~3 次后,按照料水比为 1:1.6 比例加水,一起放入电饭煲中蒸制,纯大米焖饭时间为 28 min,不同配比的芽豆米饭蒸制 22~26 min 即可完全熟化。共进行 36 组实验,每组实验设置 3 个平行。

1.2.2.3 芽豆米饭感官评价 选择有经验的 10 名感官评价员,对芽豆复配米饭的品质及特性进行评价,感官评价标准参照 GB/T 15682-2008,并结合杂豆特点对感官评分表略做修改,具体评价方法如表 2 所

表 2 芽豆复配米饭感官评分表

Table 2 Sensory score table of sprouted bean compound rice

一级指标	二级指标	描述	分值
气味(10分)	香味、异味	特有豆香味浓郁,有米香味	8~10
		特有豆香味清淡,米香味清淡	5~7
		无豆香、米香味	2~4
外观(20分)	颜色	有豆腥味、陈米味等异味	0~1
		颜色正常且柔和均一	4~5
		颜色正常	2~3
		颜色发灰	0~1
		有光泽	4~5
	光泽	稍有光泽	2~3
		暗淡,无光泽	0~1
	颗粒完整性	颗粒完整,表面光滑	5
		大部分颗粒完整,表面较光滑	3~4
		部分颗粒完整,表面不光滑	1~2
适口性(30分)	结构紧密性	颗粒不完整,碎粒较多	0
		结构紧密饱满	5
		部分结构紧密,部分过度膨大	3~4
		过度膨大,有爆花出现	1~2
		爆花较严重	0
	硬度	软硬适中	6~8
		偏软或偏硬	3~5
		干硬或软烂	0~2
	黏性	不黏牙且爽滑	9~12
		不黏牙,较润滑	4~8
滋味(25分)	弹性	黏牙	0~3
		有嚼劲,无渣	7~10
		嚼劲一般或较差,有渣	3~6
		疏松、软烂,严重有渣	0~2
		有芽豆甜味,味道好吃	10~13
	纯正性	芽豆甜味较轻,味道较好	6~9
		不香,不甜,味道一般	3~5
		无味或异味,味道差	0~2
	持久性	回味较甜,浓厚持久	9~12
		回味较淡,较持久	5~8
冷饭质地(15分)	成团性	不持久	0~4
		松散	5
		结团	3~4
		板结	1~2
		弹性较好	5
	粘弹性	弹性较差	3~4
		无弹性	1~2
		硬度适中	5
	硬度	略硬	3~4
		特别硬	1~2

示,其中芽豆复配米饭在蒸煮结束后室温静置1 h后进行冷饭质地的评价。

1.3 数据处理

低氧联合酸胁迫杂豆发芽单因素实验数据均为3次独立重复实验的平均值,采用SPSS 22.0对单因素数据进行统计及方差分析,当 $P<0.05$ 时即认为数据间存在显著性差异。芽豆米饭工艺优化采用Design-expert 8.0.6.1进行设计、分析及作图。

2 结果与分析

2.1 低氧联合酸胁迫红小豆/绿豆萌发富集GABA的工艺研究

2.1.1 萌发时间对红小豆和绿豆GABA含量的影响

由图1可知,在萌发初期,红小豆和绿豆中GABA含量均呈上升趋势,且其中萌发绿豆GABA的积累量略大于红小豆,而24 h之后,萌发红小豆中GABA含量明显高于绿豆,同时在萌发48 h时,红小豆GABA含量达到最大值157.54 mg/100 g。表明红小豆在萌发后期GABA大量积累,而绿豆在萌发中期GABA出现峰值。因为绿豆萌发周期短,当萌发时间达到24 h时,预计绿豆中诸多GABA合成酶已被激活,导致绿豆GABA含量在萌发24 h出现大量积累,但是后期因绿豆中大部分营养物质被消耗,导致GABA含量急剧下降。红小豆相对绿豆而言萌发周期相对较长,萌发时间达到48 h是GABA大量积累时间点,这与已有文献结果相符^[24-25]。由此可知,红小豆最佳萌发时间为48 h,而绿豆最佳萌发时间为24 h。

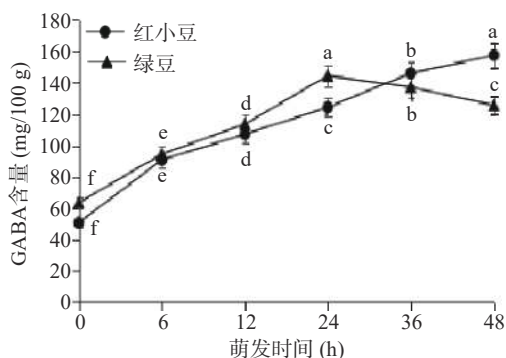


图1 不同萌发时间对红小豆和绿豆GABA含量的影响
Fig.1 Effects of different germination time on GABA content of adzuki bean and mung bean

注:不同字母表示组内GABA含量存在差异显著 $P<0.05$;图2~图4同。

2.1.2 萌发温度对红小豆和绿豆GABA含量的影响

由图2可知,萌发红小豆和绿豆GABA含量均随着温度增加先升高后降低,当萌发温度为35℃时,绿豆GABA含量达到最大值142.32 mg/100 g,而红小豆在萌发40℃时GABA含量达到最大值为147.12 mg/100 g,之后随着温度增加,两者GABA含量均显著下降($P<0.05$)。表明萌发温度对红小豆、绿豆GABA积累均有促进作用,但温度不宜过高。据报道萌发的水稻中GABA积累的最佳温度为

30~35℃^[26-27],同样蚕豆在33.6℃下萌发后,GABA含量高达2.41 mg/g^[28],而本研究中红小豆萌发温度显著高于上述研究结果。据研究显示,GABA含量的变化与GABA分流过程中谷氨酸脱羧酶(GAD)、GABA转氨酶(GABA-T)和琥珀酸半醛脱氢酶(SSADH)的转录水平或酶活性密切相关^[29],此外不同植物籽粒中谷氨酸脱羧酶(GAD)的最适温度存在一定差异。

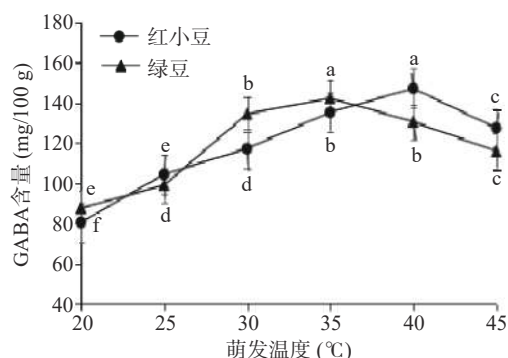


图2 不同萌发温度对红小豆和绿豆GABA含量的影响
Fig.2 Effects of different germination temperatures on GABA content of adzuki bean and mung bean

2.1.3 低氧胁迫时间对红小豆和绿豆GABA含量的影响

由图3可知,低氧环境下,萌发红小豆、绿豆GABA含量随着低氧时间延长呈现显著增加趋势($P<0.05$)。当低氧时间达到18 h时,红小豆和绿豆中GABA含量均达到最大值,分别为160.92、150.86 mg/100 g,但与胁迫时间15 h之间差异不显著($P>0.05$)。由此可知,最佳低氧胁迫时间为15 h。表明低氧胁迫对红小豆、绿豆GABA含量的积累均起到关键作用。因在低氧环境下,生物体呼吸作用减弱,电子传递链受到抑制,糖类物质代谢产生乙酸和乳酸,使细胞质中积累大量 H^+ 离子,营造出适度的酸性环境,促进细胞质中GAD酶活性,为植物体内GABA积累提供了所需限速酶^[30]。此外,Yang等^[31]也研究显示,低氧环境可以促进萌发蚕豆二胺氧化酶(DAO)基因高效表达,进而实现快速富集GABA的目的。

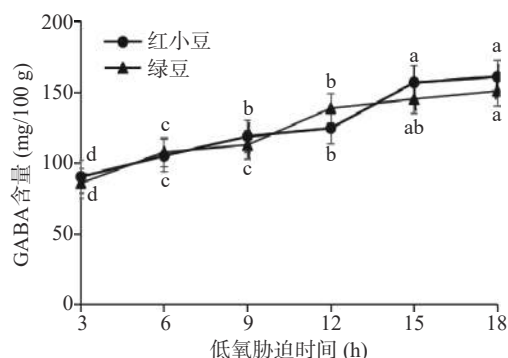


图3 不同低氧时间对红小豆和绿豆GABA含量的影响
Fig.3 Effects of different hypoxia time on GABA content of adzuki bean and mung bean

2.1.4 L-谷氨酸浓度对红小豆和绿豆 GABA 含量的影响 由图 4 可知, 萌发红小豆、绿豆 GABA 含量随着 L-谷氨酸浓度的增加, 呈现先升高后下降趋势。当 L-谷氨酸浓度为 2.5 mg/mL 时, 红小豆和绿豆 GABA 含量达到最大值分别为 158.73、142.37 mg/100 g。因 L-谷氨酸是谷氨酸脱羧酶(GAD)的唯一底物。在外源溶液中添加 L-谷氨酸可以提高植物的渗透调节能力, GABA 合成源于底物浓度的增加。

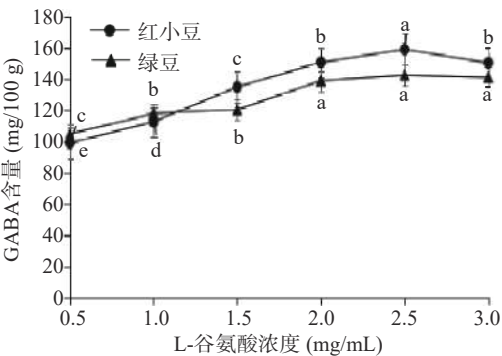


图 4 不同 L-谷氨酸浓度对红小豆和绿豆 GABA 含量的影响
Fig.4 Effect of different L-glutamic acid concentrations on GABA content of adzuki bean and mung bean

总之, 通过对萌发时间、低氧时间、萌发温度及 L-谷氨酸浓度 4 个因素进行研究, 发现这 4 个因素对红小豆和绿豆 GABA 含量的增加均有积极作用, 根据单因素结果, 初步确定了红小豆低氧联合酸胁迫条件为萌发时间 48 h、萌发温度 40 ℃、低氧时间 15 h、L-谷氨酸浓度为 2.5 mg/mL; 绿豆胁迫条件为萌发时间 24 h、萌发温度 35 ℃、低氧时间 15 h、L-谷氨酸浓度为 2.5 mg/mL, 该条件下, 萌发红小豆和绿豆中 GABA 含量高达 158.32±3.24 和 141.57±4.35 mg/100 g。

2.2 富含 GABA 芽豆复配米饭的工艺优化

2.2.1 模型及回归方程的建立 利用 Design expert 8.0.6.1 软件, 对 D-混料设计结果(见表 3)进行统计

表 3 混料试验设计及结果

试验号	A大米 (%)	B萌发绿豆 (%)	C萌发红小豆 (%)	R ₁ GABA含量 (mg/100 g)	R ₂ 感官评分
1	65	20	15	33.17	84.13
2	65	20	15	33.89	83.81
3	60	15	25	35.26	81.56
4	65	25	10	33.27	82.29
5	60	20	20	36.18	80.16
6	70	20	10	29.78	86.9
7	80	10	10	24.14	86.9
8	65	10	25	33.12	85.47
9	65	10	25	32.39	83.39
10	70	10	20	28.46	88.39
11	60	10	30	36.89	84.36
12	70	20	10	29.79	90.9
13	73	13	13	26.15	93.99
14	70	10	20	28.26	87.18
15	60	20	20	36.27	80.44
16	60	30	10	37.36	79.54

分析, 获得 GABA 含量(R₁)和感官评分(R₂)与大米(A)、萌发绿豆(B)、萌发红小豆(C)之间的关系, 分别建立响应值 R₁ 和 R₂ 多元回归方程模型如下:

GABA 含量(R₁)=24.1A+37.29B+36.85C-4.13AB-8.96AC-3.16BC+16.7ABC-3.39A²B+3.39AB²-9.28A²C+9.28AC²+12.54B²C-12.54BC²

感官评分(R₂)=87A+79.72B+84.45C+23.41AB+9.47AC-7.7BC+10.97ABC+45.89A²B-45.89AB²+28.66A²C-28.66AC²+1.06B²C-1.06BC²

2.2.2 模型显著分析 通过对 GABA 含量回归模型的方差分析(见表 4), 该模型整体极显著(P<0.0001), 且失拟项(P=0.1580>0.05)不显著, 表明该模型拟合度较好, 此外决定系数为 R²=0.9964, 调整系数为 R²_{adj}=0.9911, 说明该模型方程可以较好反映芽豆米饭配料与 GABA 含量的关系, 且其中 AB、AC 对结果的影响达到显著水平(P<0.05)。

表 4 GABA 含量回归方程方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	238.06	9	26.45	186.20	<0.0001**
混合线性	230.93	2	115.46	812.79	<0.0001**
AB	1.08	1	1.08	7.63	0.0327*
AC	5.14	1	5.14	36.18	0.0010*
BC	0.65	1	0.65	4.58	0.0762
ABC	0.28	1	0.28	1.99	0.2077
残差	0.11	1	0.11	0.74	0.4225
失拟项	0.94	1	0.94	6.63	0.0420*
纯误差	0.99	1	0.99	6.94	0.0389*
总误差	0.85	6	0.14		
失拟项	0.30	1	0.30	2.75	0.1580
纯误差	0.55	5	0.11		
总误差	238.91	15			

注: *代表差异显著, P<0.05; **代表差异极显著, P<0.01; 表5同。

通过对感官评分回归模型的方差分析(见表 5), 该模型极显著 P=0.0037<0.01, 且失拟项(P=0.3943>0.05)不显著, 说明试验结果与模型拟合性较好。同时决定系数 R²=0.9458, 说明响应值 R² 的变异中有

表 5 感官评分回归方程方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	224.78	9	24.98	11.62	0.0037**
混合线性	147.61	2	73.80	34.35	0.0005**
AB	34.78	1	34.78	16.18	0.0069**
AC	5.74	1	5.74	2.67	0.1532
BC	3.86	1	3.86	1.80	0.2286
ABC	0.12	1	0.12	0.057	0.8195
残差	19.24	1	19.24	8.96	0.0242*
失拟项	8.98	1	8.98	4.18	0.0869
纯误差	6.986E-003	1	6.986E-003	3.251E-003	0.9564
总误差	12.89	6	2.15		
失拟项	1.91	1	1.91	0.87	0.3943
纯误差	10.99	5	2.20		
总误差	237.68	15			

94.58%是由变量A、B、C 3个因素所引起的,只有少数问题不能用该模型解释。表明该模型自变量与响应值之间的线性关系显著,因此,该模型可以用来预测芽豆米饭配料与感官评分之间的关系,且其中交互项AB在芽豆米饭感官评分上起到了极显著的作用($P<0.01$)。

2.2.3 三元等高线及响应面图的分析 芽豆米饭中3种配料成分,通过Design Expert 8.0.6软件绘制的三元等高线、响应面图(图5)可以直观反映各因素的比例变化对芽豆米饭GABA含量的影响。

从图5可知,响应面为曲面,说明三个考察的因素之间存在一定交互作用,且图形有一个坡度,说明试验中选择的三种原料比例对芽豆米饭GABA含量影响显著,当大米、萌发绿豆和萌发红小豆比例适中时,芽豆米饭中GABA含量有极大值。此外结合回归模型方差分析可知,各原料对芽豆米饭GABA含量的影响大小为萌发绿豆(B)>萌发红小豆(C)>大米(A)。

图6是根据拟合后的回归模型绘制的大米(A)、

萌发绿豆(B)、萌发红小豆(C)三因素对感官评分影响的等高线和3D曲面图。由图6可知,芽豆的比例变化对感官评分的影响趋势呈马鞍型,可能由于芽豆虽然GABA含量高,但因芽豆气味和口感不如大米,添加比例过大会导致芽豆米饭口感和气味不良,但比例过小,还会影响芽豆中营养活性成分,故只有大米、萌发绿豆、萌发红小豆三者之间达到平衡的时候,芽豆米饭的感官评分才能达到要求。

综上分析,通过Design-expert 8.0.6.1软件优化出芽豆复配米饭的最佳配方为:大米76.03%、萌发绿豆10.79%、萌发红小豆13.17%,此条件下,芽豆米饭GABA含量为24.58 mg/100 g、感官评分为91.71。

2.2.4 验证实验 按照上述模型优化的配方比例制作芽豆米饭,并进行GABA及感官评定。考虑到实验的可操作性,对回归模型的预测值进行进位处理,以大米76%、萌发绿豆11%和萌发红小豆13%的比例进行5次重复实验,制成的芽豆米饭色泽均一、口感富有弹性、兼有米香和豆香味、软硬适中,其中芽豆米饭GABA含量均值为 23.73 ± 1.03 mg/100 g,

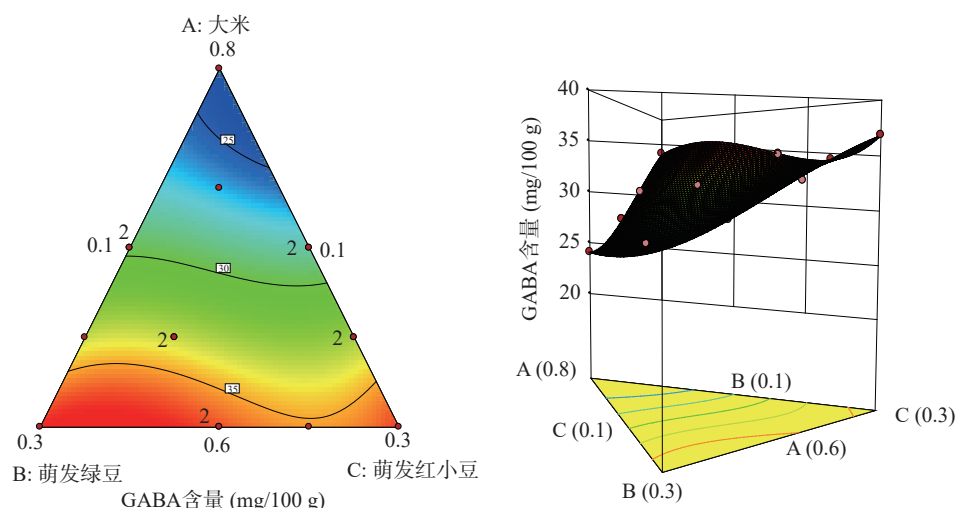


图5 混料设计三因子对芽豆米饭GABA含量影响的等高线和响应面图

Fig.5 Contour and response surface diagram of the effects of three factors of mixture design on GABA content of sprouted bean rice

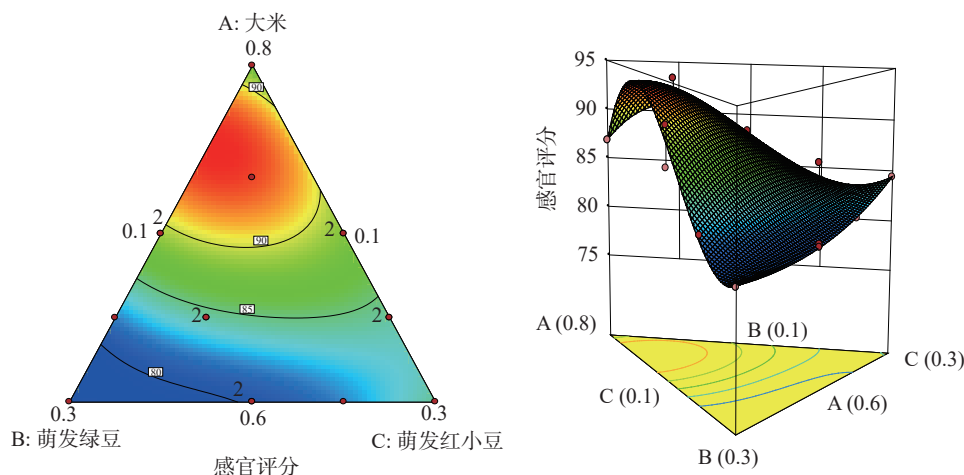


图6 混料设计三因子对芽豆米饭感官评分影响的等高线和响应面图

Fig.6 Contour and response surface diagram of the effects of three factors of mixture design on sensory score of sprouted bean rice

感官评分均值为 88.76 ± 2.47 , 两者与预测值之间的标准偏差在合理范围内。说明运用该模型优化得到的芽豆米饭工艺配方具有较好的稳定性和可靠性, 证实回归模型成立、可用。

3 结论

本文研究了低氧联合酸胁迫对红小豆和绿豆 GABA 富集的影响, 通过单因素筛选, 确定了红小豆低氧联合酸胁迫条件为萌发时间 48 h、萌发温度 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、低氧时间 15 h 和 L-谷氨酸浓度为 2.5 mg/mL , 绿豆胁迫条件为萌发时间 24 h、萌发温度 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、低氧时间 15 h 和 L-谷氨酸浓度为 2.5 mg/mL , 该条件下, 萌发红小豆和绿豆中 GABA 含量高达 158.32 ± 3.24 和 $141.57 \pm 4.35\text{ mg/100 g}$, 表明低氧联合酸胁迫可显著增加红小豆和绿豆中 GABA 的合成, 是杂豆富集 GABA 的有效手段。在此基础上, 研究富含 GABA 的芽豆米饭的工艺配方, 通过 D-混料设计优化确定了复配芽豆米饭的最佳配方为: 大米 76%、萌发绿豆 11%、萌发红小豆 13%, 此条件下, 芽豆米饭 GABA 含量为 $23.73 \pm 1.03\text{ mg/100 g}$, 感官评分均值为 88.76 ± 2.47 , 且芽豆米饭口感适中、色泽均一、米香及豆香浓郁, 且富含一定 GABA 活性成分, 具有较好的营养价值及功能特性, 尤其适合肥胖、糖尿病人群食用。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] BHAR S, BOSE T, DUTTA A, et al. A perspective on the benefits of consumption of parboiled rice over brown rice for glycaemic control[J]. *European Journal of Nutrition*, 2022, 61(2): 615–624.
- [2] ZHANG Z H, GAO S P, CHU C C. Improvement of nutrient use efficiency in rice: Current toolbox and future perspectives[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133(5): 1365–1384.
- [3] 吴娜娜, 马占倩, 谭斌, 等. 不同加工精度稻米的营养物质含量、米粉特性及米饭品质研究进展[J]. *粮油食品科技*, 2019, 27(6): 40–45. [WU N N, MA Z Q, TAN B, et al. Research progress of nutrient content, flour properties, cooking and sensory quality of rice with different milling degree[J]. *Grain, Oil and Food Science and Technology*, 2019, 27(6): 40–45.]
- [4] VILLEGAS R, LIU S M, GAO Y T, et al. Prospective study of dietary carbohydrates, glycemic index, glycemic load, and incidence of type 2 diabetes mellitus in middle-aged Chinese women[J]. *Archives of Internal Medicine*, 2007, 167(21): 2310–2316.
- [5] HU E A, PAN A, MALIK V, et al. White rice consumption and risk of type 2 diabetes: Meta-analysis and systematic review[J]. *British Medical Journal*, 2012, 344: e1454.
- [6] 卢楹, 雷宁宇, 宋萧萧, 等. 4 种杂豆淀粉结构特征和理化特性比较[J]. *食品科学*, 2023, 44(6): 34–40. [LU Y, LEI N Y, SONG X X, et al. Comparison of structural characteristics and physicochemical properties of legume starches from four minor species[J]. *Food Science*, 2023, 44(6): 34–40.]
- [7] 向月, 曹亚楠, 赵钢, 等. 杂粮营养功能与安全研究进展[J].

食品工业科技, 2021, 42(14): 362–370. [XIANG Y, CAO Y N, ZHAO G, et al. Advances in the nutritional function and safety of coarse cereals[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(14): 362–370.]

[8] 张婷, 袁艺, 王鑫, 等. 杂豆分类、营养功效及其产品开发的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(4): 428–437. [ZHANG T, YUAN Y, WANG X, et al. A review on classification, nutritional benefits of pulses and the products development[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(4): 428–437.]

[9] 姚轶俊, 李枝芳, 王博, 等. 4 种杂粮提取物组分分析及体外降脂功能评价[J]. *中国粮油学报*, 2022, 37(5): 79–86. [YAO Y J, LI Z F, WANG B, et al. Composition analysis of extracts from four kinds of coarse cereals and evaluation of *in vitro* lipid-lowering function[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2022, 37(5): 79–86.]

[10] 蔡文强, 崔嘉航, 刘瑞, 等. 杂豆膳食纤维生理功能及其作用机制研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(16): 185–192. [CAI W Q, CUI J H, LIU R, et al. Research progress in physiological function and mechanism of dietary fiber from pulses[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(16): 185–192.]

[11] MULLINS A P, ARJMANDI B H. Health benefits of plant-based nutrition: Focus on beans in cardiometabolic diseases[J]. *Nutrients*, 2021, 13(2): 519.

[12] KIM H Y, LEE S H, WANG I G, et al. Antioxidant and antiproliferation activities of winter cereal crops before and after germination[J]. *Food Science & Biotechnology*, 2013, 22(1): 181–186.

[13] XU J G, HU Q P. Changes in γ -aminobutyric acid content and related enzyme activities in Jindou 25 soybean (*Glycine max* L.) seeds during germination[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 55(1): 341–346.

[14] WANG F Z, WANG H F, WANG D H, et al. Isoflavone, γ -aminobutyric acid contents and antioxidant activities are significantly increased during germination of three Chinese soybean cultivars[J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 14: 596–604.

[15] JIAO C, LIU Y. GABA mediates NO/cGMP/GSK-3-induced isoflavone accumulation in soybean sprouts[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 135: 110027.

[16] NUSS P. Anxiety disorders and GABA neurotransmission: A disturbance of modulation neuropsychiatry[J]. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2015, 11: 165–175.

[17] NGO D H, VO T S. An updated review on pharmaceutical properties of gamma-aminobutyric acid[J]. *Molecules*, 2019, 24(15): 2678.

[18] 周俊萍, 徐玉娟, 温靖, 等. γ -氨基丁酸(GABA)的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(5): 393–401. [ZHOU J P, XU Y J, WEN J, et al. Research progress of γ -aminobutyric acid (GABA)[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(5): 393–401.]

[19] CHOAT H M, MARTIN A, MICK G J, et al. Effect of gamma-aminobutyric acid (GABA) or GABA with glutamic acid decarboxylase (GAD) on the progression of type 1 diabetes mellitus in children: Trial design and methodology[J]. *Contemporary Clinical Trials*, 2019, 82: 93–100.

[20] ZHAO Y, GHANI M W, GHANI H, et al. Gimmicks of gamma-aminobutyric acid (GABA) in pancreatic β -cell regeneration through transdifferentiation of pancreatic α - to β -cells[J]. *Journal of Cell Biology*, 2020, 44(4): 926–936.

[21] WANG Q H, REN L W, WAN Y, et al. GABAergic regulation of pancreatic islet cells: Physiology and antidiabetic effects[J].

Journal of Cellular Physiology, 2019, 28: 28214.

- [22] JIANG X J, XU Q P, ZHANG J Y, et al. Nutrient transfer and antioxidant effect of adzuki bean before and after GABA enrichment[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10: 1123075.
- [23] ZHANG Q, XIANG J, ZHANG L Z, et al. Optimizing soaking and germination conditions to improve gamma-aminobutyric acid content in japonica and indica germinated brown rice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2014, 10: 283–291.
- [24] JIANG X J, XU Q P, ZHANG A W, et al. Optimization of γ -aminobutyric acid (GABA) accumulation in germinating adzuki beans (*Vigna angularis*) by vacuum treatment and monosodium glutamate, and the molecular mechanisms[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 693862.
- [25] HOANG T N Y, NGOC P H, VAN P H. Optimal soaking conditions and addition of exogenous substances improve accumulation of γ -aminobutyric acid (GABA) in germinated mung bean (*Vigna radiata*) [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2021, 57(7): 3924–3933.
- [26] KOMATSUZAKI N, TSUKAHARA K, TOYOSHIMA H, et al. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice[J]. *Journal of Food Engineering*, 2007, 78: 556–560.
- [27] BAI Q, CHAI M, GU Z, et al. Effects of components in culture medium on glutamate decarboxylase activity and c-aminobutyric acid accumulation in foxtail millet (*Setaria italica* L.) during germination[J]. *Food Chemistry*, 2009, 116: 152–157.
- [28] YAN L, BAI Q Y, JIN X J, et al. Effects of cultivar and culture conditions on c-aminobutyric acid accumulation in germinated fava beans (*Vicia faba* L.) [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, 90: 52–57.
- [29] ZHANG D, WEI X, LIU Z, et al. Transcriptome analysis reveals the molecular mechanism of GABA accumulation during Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germination[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(41): 12171–12186.
- [30] GUO Y X, YANG R Q, CHEN H, et al. Accumulation of γ -aminobutyric acid in germinated soybean (*Glycine max* L.) in relation to glutamate decarboxylase and diamine oxidase activity induced by additives under hypoxia[J]. *European Food Research and Technology*, 2012, 234(4): 679–687.
- [31] YANG R Q, YIN Y Q, GUO L P, et al. Sequence analysis of diamine oxidase gene from fava bean and its expression related to γ -aminobutyric acid accumulation in seeds germinating under hypoxia-NaCl stress[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(8): 1585–1591.