

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80929

# 湿热处理对红芸豆 $\gamma$ -氨基丁酸积累、 多酚含量和抗氧化活性的影响

张思琪<sup>1</sup> 周素梅<sup>1</sup> 侯殿志<sup>1</sup> 崔亚君<sup>1</sup> 王立<sup>2</sup>

(1. 北京工商大学食品与健康学院北京市食品添加剂工程技术研究中心, 北京 100048;

2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** [目的] 探究湿热处理对不同品种红芸豆  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 含量的影响, 筛选出 GABA 富集能力最强的红芸豆品种。同时, 关注湿热处理后红芸豆酚类含量和抗氧化活性的变化。 [方法] 通过高效液相色谱法测定湿热处理前后红芸豆中 GABA 的含量, 并将 GABA 积累量与红芸豆中的游离氨基酸含量和 GABA 关键代谢酶活性进行相关性分析。 [结果] 经湿热处理后, 12 种红芸豆的 GABA 含量均得到不同程度的提升, 平均含量增加了 34.91 倍。其中, 品金芸 3 号的 GABA 含量 (108.25 mg/100 g) 最高, 品金芸 1 号的 GABA 含量 (64.25 mg/100 g) 最低。从 GABA 支路来看, 红芸豆谷氨酸的含量明显降低 ( $P < 0.05$ ), 谷氨酸脱羧酶 (glutamic acid decarboxylase, GAD) 的活性明显升高 ( $P < 0.05$ ), 二者与 GABA 的积累量显著相关 ( $P < 0.05$ )。在多胺降解途径方面, 多胺氧化酶 (polyamine oxidase, PAO) 和二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 的活性明显升高 ( $P < 0.05$ ), 但与 GABA 的积累量无明显相关性。 [结论] 湿热处理下, 红芸豆中 GABA 的积累主要归因于 GABA 支路。此外, 湿热处理可显著提高红芸豆的总酚含量和抗氧化活性, 但是黄酮类物质含量则轻微下降。

**关键词:** 红芸豆; 湿热处理;  $\gamma$ -氨基丁酸; 游离氨基酸; 代谢酶; 总酚; 抗氧化活性

## Effects of heat moist treatment on $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation, polyphenol content, and antioxidant activity of red kidney beans

ZHANG Siqu<sup>1</sup> ZHOU Sumei<sup>1</sup> HOU Dianzhi<sup>1</sup> CUI Yajun<sup>1</sup> WANG Li<sup>2</sup>

(1. Beijing Food Additives Engineering and Technology Research Center, School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 2. College of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the effect of heat moist treatment on the  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) content of different varieties of red kidney beans and to screen out the red kidney bean varieties with the strongest GABA accumulation capacity. At the same time, the changes in phenolic content and antioxidant activity of red kidney beans after heat moist treatment are investigated. [Methods] This paper determines the GABA content in red kidney beans before and after heat moist treatment by high performance liquid chromatography (HPLC) and conducts correlation analyses of GABA accumulation with free amino acid content and GABA key metabolic enzyme activities in red kidney beans. [Results] The GABA content in 12 red kidney beans is significantly enhanced to different degrees after heat moist treatment, with an average increase of 34.91-fold. Among them, the highest GABA content (108.25 mg/100 g) is found in Pinjin Yun 3 and the lowest GABA content (64.25 mg/100 g) in Pinjin Yun 1. In terms of GABA shunt, the glutamic acid content in red kidney beans is

基金项目: 十四五国家重点研发计划 (编号: 2021YFD1600604); 国家现代农业产业技术体系专项资金资助项目 (编号: CARS-08-G19)

通信作者: 周素梅 (1971—), 女, 北京工商大学教授, 博士。E-mail: zhousumei@btbu.edu.cn

侯殿志 (1989—), 男, 北京工商大学副教授, 博士。E-mail: houdianzhi@btbu.edu.cn

收稿日期: 2024-09-09 改回日期: 2025-04-09

引用格式: 张思琪, 周素梅, 侯殿志, 等. 湿热处理对红芸豆  $\gamma$ -氨基丁酸积累、多酚含量和抗氧化活性的影响[J]. 食品与机械, 2025, 41(5): 127-134.

Citation: ZHANG Siqu, ZHOU Sumei, HOU Dianzhi, et al. Effects of heat moist treatment on  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation, polyphenol content, and antioxidant activity of red kidney beans[J]. Food & Machinery, 2025, 41(5): 127-134.

significantly lower ( $P < 0.05$ ) and the activity of glutamic acid decarboxylase (GAD) is significantly higher ( $P < 0.05$ ), both of which are significantly correlated ( $P < 0.05$ ) with the GABA accumulation. Regarding the polyamine degradation pathway, the activities of polyamine oxidase (PAO) and diamine oxidase (DAO) are significantly elevated ( $P < 0.05$ ), but there is no significant correlation with GABA accumulation. **[Conclusion]** The GABA accumulation in red kidney beans under heat moist treatment is mainly attributed to the GABA shunt. In addition, heat moist treatment significantly increases the total phenolic content and antioxidant activity of red kidney beans but slightly decreases the flavonoids content.

**Keywords:** red kidney bean; heat moist treatment;  $\gamma$ -aminobutyric acid; free amino acid; metabolic enzyme; total phenol; antioxidant activity

$\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)作为一种非编码氨基酸,是人类和哺乳动物体内的一种抑制性神经递质,具有调节神经元发育<sup>[1]</sup>、改善睡眠<sup>[2]</sup>、缓解焦虑<sup>[3]</sup>和增强记忆<sup>[4]</sup>等作用。然而,随着年龄的增长,人类大脑皮层产生 GABA 的能力会下降<sup>[5]</sup>。这就要求人们通过饮食或药物来补充 GABA。但是天然食品中固有的 GABA 含量往往低于治疗阈值,无法满足人们对于其健康功效的要求。研究表明,发芽<sup>[6]</sup>、发酵<sup>[7]</sup>、非生物胁迫<sup>[8]</sup>可有效增加食品中的 GABA 含量。这些富集方法通常基于两个基本原理:增强关键酶谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GAD)的活性,从而促进谷氨酸(glutamate, Glu)转化为 GABA<sup>[9]</sup>;抑或增强多胺降解途径中二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)和多胺氧化酶(polyamine oxidase, PAO)的活性,促进 GABA 的积累<sup>[10]</sup>。湿热处理是一种非生物胁迫处理技术,它能在低水分和高温条件下快速(4~6 h)提高天然食品中 GABA 的含量,是一种提升 GABA 含量的新方法<sup>[11]</sup>。目前,湿热处理技术已被应用于提高豆类和谷物中 GABA 的含量<sup>[12-13]</sup>。相比于发芽和发酵,湿热处理不仅更环保,而且不会改变原料谷物或豆类的形状,这有利于后续相关产品的加工。

芸豆是中国出口量最大的特色杂豆作物<sup>[14]</sup>。其中,红芸豆是最常见和主栽的芸豆品种之一,其产量高,并且是蛋白质、膳食纤维和酚类物质的重要来源<sup>[15]</sup>。目前,芸豆常以原粮的形式流入市场,深加工利用程度较低,严重限制了其发展。芸豆中最丰富的氨基酸是 Glu,占芸豆质量的 8.76%,是合成 GABA 的最重要前体物质<sup>[16]</sup>。因此,芸豆具有巨大的 GABA 积累潜力。研究<sup>[12-13]</sup>表明,GABA 富集能力与原料品种有密切的关联性。

研究拟对 12 种红芸豆进行湿热处理,比较其 GABA 富集能力,筛选出具有最佳 GABA 积累能力的红芸豆品种。通过建立游离氨基酸、GABA 代谢关键酶活性和 GABA 积累量之间的相关性,确定影响红芸豆 GABA 积累能力的关键因素和调控途径,并分析检测经湿热处理后红芸豆酚类物质含量和抗氧化活性的变化,以期为开发富含 GABA 的功能性红芸豆产品提供数据支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

冀张芸 3 号(JZY-3)、红芸 3 号(HY-3)、安播(AB)、

ZY-1、同芸豆 3 号(TYD-3)和英国红(YGH):山西农业科学院;

品金芸 1 号(PJY-1)、品金芸 3 号(PJY-3)、品金芸 5 号(PJY-5)、品金芸 6 号(PJY-6):张家口农业科学院;

炜岚 2 号(WL-2)、炜岚 3 号(WL-3):山西炜岚工贸有限公司;

GABA 标准品、氨基酸标准品:色谱纯,上海源叶生物科技有限公司;

乙醇、丹磺酰氯、乙腈、乙酸钠、氢氧化钠、盐酸、氢氧化锂、碳酸氢钠、 $\beta$ -巯基乙醇、辣根过氧化物酶、4-氨基安替比林、*N,N*-二甲基苯胺、腐胺、精脒和精胺、没食子酸、福林酚、亚硝酸钠、芦丁、氯化铝:分析纯,赛默飞世尔科技有限公司;

DPPH 自由基清除能力检测试剂盒(BC4750)和总抗氧化能力检测试剂盒(BC3775):北京索莱宝科技有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

实验室电子天平:SQP 型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

四联磁力加热搅拌器:TP-4 型,杭州米欧仪器有限公司;

电热恒温水浴锅:XMTE-8112 型,上海精宏实验设备有限公司;

旋风式样品磨:CT293 型,FOSS 仪器有限公司;

超声波清洗机:SB-4200D 数显普通型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

光吸收全波长酶标仪:ReadMax1200 型,上海闪谱生物科技有限公司;

超快速液相色谱仪:Nexera X2 型,日本岛津科技有限公司;

低速大容量多管离心机:LXJ-II B 型,中国上海安亭科学仪器厂;

氨基酸分析仪:LA8080 型,日立科学仪器(北京)有限公司。

## 1.2 试验方法

1.2.1 湿热处理 参考王中磊等<sup>[17]</sup>的方法。

1.2.2 GABA 含量测定 采用 HPLC 法<sup>[17]</sup>。色谱条件修改如下:Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu$ m),流动相为乙酸钠(50 mmol/L, A 相)和乙腈(29%, B 相),等度洗脱( $V_{\text{乙酸钠}}:V_{\text{乙腈}}=73:27$ ),流量

0.8 mL/min,柱温箱温度 30 °C,紫外检测器,检测波长 436 nm。

1.2.3 游离氨基酸含量测定 根据 Zhao 等<sup>[18]</sup>的方法,略有修改。将 0.5 g 红芸豆粉与 HCl(0.1 mol/L)以  $m_{\text{红芸豆粉}}:V_{\text{HCl}}=1:10$  (g/mL) 混合,25 °C 超声提取(功率 480 W) 10 min。离心后,将 1 mL 上清液与 1 mL 磺基水杨酸(8%)混合,室温下离心 15 min,取上清液并用氮气吹干。用 1 mL HCl(20 mmol/L)溶解并用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。使用氨基酸分析仪对游离氨基酸进行分析。

1.2.4 谷氨酸脱羧酶、二胺氧化酶和多胺氧化酶活性测定

(1) 谷氨酸脱羧酶(glutamic acid decarboxylase, GAD)活性:根据 Liu 等<sup>[19]</sup>的方法,略有修改。将预冷的磷酸钾缓冲液(pH 5.8, 0.1 mol/L, 含 2 mmol/L  $\beta$ -巯基乙醇、2 mmol/L EDTA 和 0.2 mmol/L PLP)按  $m_{\text{红芸豆粉}}:V_{\text{缓冲液}}=1:5$  (g/mL) 加入冷冻研磨的红芸豆粉中,混合后将提取物在冰水浴中搅拌 1.5 h。4 °C、10 000 r/min 离心 20 min,上清液即为 GAD 粗酶液。将 0.5 mL GAD 粗酶液与 0.2 mL 底物溶液(含 10 g/L Glu)混合,40 °C 水浴 2 h。通过液相测定红芸豆粉中的 GABA 含量。将每克红芸豆每小时产生 1 mg GABA(由添加的 Glu 产生)定义为 1 个酶活力单位。

(2) 多胺氧化酶(polyamine oxidase, PAO)和二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)活性:根据 Liao 等<sup>[20]</sup>的方法略有改动。将预冷的磷酸钠缓冲液(70 mmol/L, pH 6.5)以  $m_{\text{红芸豆粉}}:V_{\text{缓冲液}}=1:10$  (g/mL) 添加到冷冻研磨的红芸豆粉中。混合后,在冰水浴中搅拌 1.5 h,4 °C、11 000 r/min 离心 20 min。上清液即为 DAO 和 PAO 的粗酶液。将粗酶液(200  $\mu\text{L}$ )与辣根过氧化物酶(10  $\mu\text{L}$ )和显色液(20  $\mu\text{L}$ , 每 100 mL 磷酸钠缓冲液中含 10 mg 4-氨基安替比林,25  $\mu\text{L}$  *N-N*-二甲苯胺)混合,30 °C 预热 5 min。加入 10  $\mu\text{L}$  反应启动液(DAO 活性测定启动液为 50 mmol/L 腐胺,PAO 活性测定启动液为 20 mmol/L 精脒和精胺混合液),立即在 555 nm 处测量吸光度。将混合物再次放入 30 °C 水浴中。30 min 后,第 2 次测量吸光度。以每克红芸豆每分钟吸光值变化 0.01 计为 1 个酶活力单位(U)。

1.2.5 酚类化合物提取 将 80% 的乙醇溶液以  $m_{\text{红芸豆粉}}:V_{80\% \text{乙醇}}=1:10$  (g/mL) 添加到红芸豆粉中,磁力搅拌(200 r/min) 1 h 后超声(功率 480 W) 20 min,离心(3 500 r/min, 10 min)取上清液。重复提取 3 次,合并上清液。上清液在 45 °C 下旋转蒸发至约 5 mL。最后用蒸馏水定容至 10 mL 作为多酚提取物。

1.2.6 多酚和类黄酮测定

(1) 总酚含量:根据 Yang 等<sup>[21]</sup>的方法,稍作修改。将提取物(200  $\mu\text{L}$ )、福林酚(1 mL)和 7% 碳酸钠(800  $\mu\text{L}$ )混合均匀,避光反应 2 h,在 765 nm 处测量反应液的吸光度。以没食子酸为标准,制备标准曲线,结果以样品干基中的没食子酸当量(mg GAE/g)表示。

(2) 黄酮含量:根据 Lin 等<sup>[22]</sup>的方法,并略作修改。取 0.5 mL 提取液,加入 2.25 mL 蒸馏水和 0.15 mL 5% 亚硝酸钠溶液,反应 6 min 后加入 0.3 mL 10% 氯化铝溶液,混合均匀后静置 5 min。然后加入 1 mL 氢氧化钠溶液(1 mol/L),摇匀,在 510 nm 处测定吸光度。以芦丁为标准绘制标准曲线,结果以样品干基中的芦丁当量(mg RT/g)表示。

1.2.7 抗氧化活性测定 按照试剂盒说明书进行 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除能力测定。结果均以每克红芸豆粉的 Trolox 当量抗氧化能力( $\mu\text{mol Trolox/g}$ )表示。

1.3 统计分析

所有试验均采用 3 次重复。采用 SPSS 软件对数据进行单因素方差分析(数据符合方差齐性、独立性和正态性)和 Duncan 检验,以确定各指标是否存在统计学显著性( $P < 0.05$ )。采用 Origin 软件进行图表绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 湿热处理对不同品种红芸豆 GABA 含量的影响

图 1 展示了湿热处理前后 12 种红芸豆 GABA 含量的变化情况。未处理红芸豆的 GABA 含量普遍较低,不同品种之间 GABA 含量差异很大,变化范围为 0.85~11.16 mg/100 g。湿热处理后,12 种红芸豆中的 GABA 含量均得到显著提高,达到了 64.25~108.25 mg/100 g。其中,PJY-3 的 GABA 含量(108.25 mg/100 g)最高,与未经处理的(4.05 mg/100 g)相比增加了 25.72 倍。同时,PJY-3 还是 GABA 积累量最高的品种,其积累量为 104.20 mg/100 g。另外,湿热处理后 GABA 含量(64.25 mg/100 g)和积累量(62.95 mg/100 g)最低的品种均为 PJY-1。结果表明,湿热处理可以有效提升红芸豆中 GABA 的含量,但不同品种红芸豆之间 GABA 的富集能力存在显著差异。

### 2.2 湿热处理对不同品种红芸豆游离氨基酸组成的影响

氨基酸的代谢与 GABA 的合成密切相关,特别是 Glu、Ala 和 Arg<sup>[23]</sup>。此前有研究<sup>[12]</sup>报道称,经湿热处理

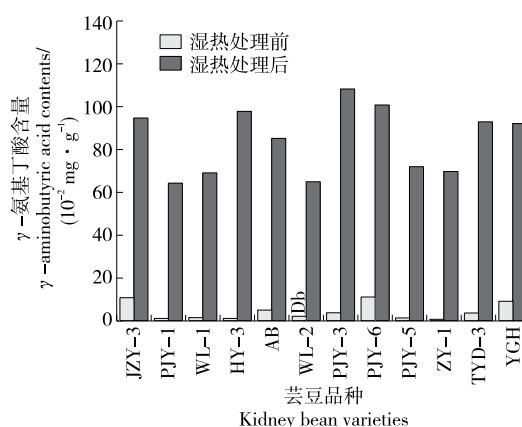
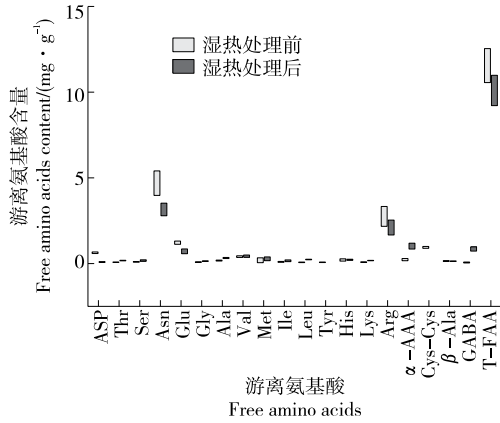


图 1 湿热处理对红芸豆 GABA 含量的影响

Figure 1 Effect of heat moist treatment on GABA content of red kidney beans

后,绿豆中氨基酸的含量和组成发生了显著变化。为了进一步探究不同品种红芸豆 GABA 富集能力差异的原因,测定了湿热处理前后不同品种红芸豆中的游离氨基酸含量并绘制箱形图,如图 2 所示,未处理的天然红芸豆中总游离氨基酸含量变化范围为 10.16~24.64 mg/g。其中,Asn 和 Arg 的含量最高且不同品种的差异较大,变化范围分别为 3.65~9.64, 1.93~10.14 mg/g。



Asp, Tyr, Ser, Asn, Glu, Gly, Ala, Val, Met, Ile, Leu, Tyr, His, Lys, Arg,  $\alpha$ -AAA, Cys-Cys,  $\beta$ -Ala 和 T-FAA 分别代表天冬氨酸、酪氨酸、丝氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、 $\alpha$ -氨基己二酸、胱氨酸、 $\beta$ -丙氨酸和游离氨基酸总量

图 2 湿热处理对红芸豆游离氨基酸组成的影响  
Figure 2 Effect of heat moist treatment on the free amino acid composition of red kidney beans

湿热处理对红芸豆中游离氨基酸的含量有明显影响。湿热处理导致红芸豆中总游离氨基酸含量显著下降,从 10.16~24.64 mg/g 降至 8.42~19.98 mg/g ( $P < 0.05$ )。经湿热处理后,红芸豆中 Thr, Ser, Gly, Ala, Ile, Leu, Lys 和  $\alpha$ -AAA 的含量明显增加。其中,与未处理的天然红芸豆相比, Thr, Ser, Ile, Leu 和 Lys 的平均含量增加了 1 倍以上。然而,红芸豆中也有许多游离氨基酸在湿热处理后含量明显下降,如 His, Glu 和 Arg。虽然 Arg 可在植物代谢过程中转化为多胺,进一步通过多胺降解途径转化为 GABA。但也有研究<sup>[24]</sup>显示, Arg 的生物合成独立于 GABA 代谢调控。Glu 的减少可能是由于湿热处理激活了 GAD 活性,导致 Glu 转化为 GABA。为了明确红芸豆中 GABA 的合成途径,后续进一步测定了与 GABA 代谢有关酶的活性。

2.3 湿热处理对不同品种红芸豆 GAD、DAO 和 PAO 活性的影响

植物中 GABA 的合成主要有两条途径:① 由 GAD 催化 Glu 脱羧生成 GABA 的途径,称为 GABA 支路<sup>[25]</sup>;② 多胺降解途径,通过 DAO 和 PAO 催化多胺降解产生

GABA<sup>[26]</sup>。图 3 展示了红芸豆经湿热处理前后与 GABA 代谢相关酶(GAD、PAO 和 DAO)活性的变化情况。12 种未处理红芸豆的 GAD、DAO 和 PAO 活性依次为 0.52~1.18, 2.22~10.10, 0.70~7.92 U/g。其中, PJY-6 品种的 GAD 和 DAO 活性均明显高于大多数品种,且其 GABA 含量在 12 种红芸豆中最高,这可能暗示 GABA 代谢相关酶的活性与 GABA 含量之间存在一定的关系。不同品种红芸豆中酶活性的巨大差异可能解释了初始 GABA 含量存在差异的原因。

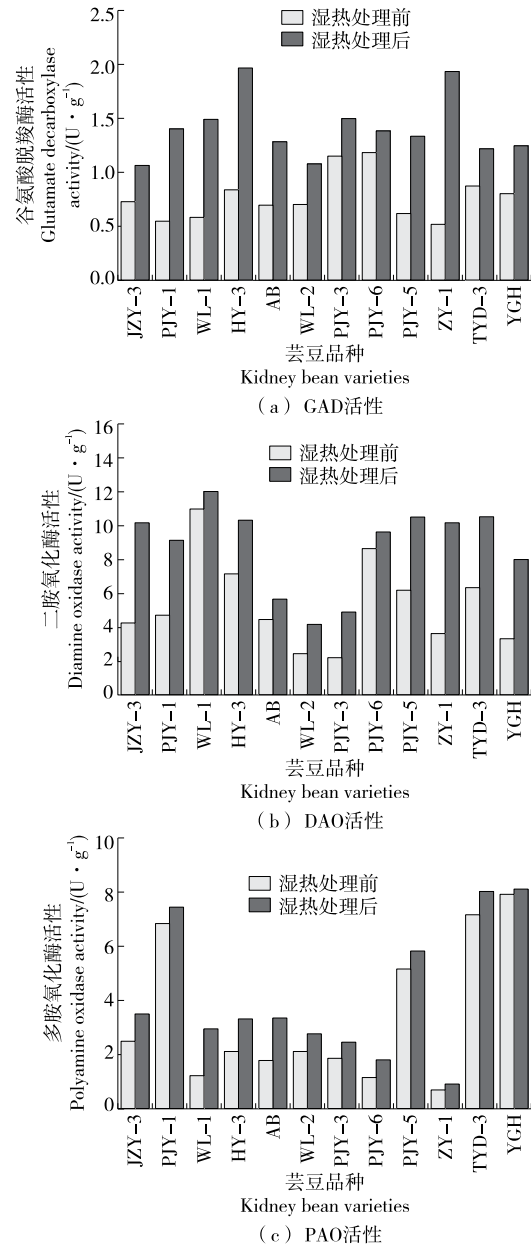


图 3 湿热处理对红芸豆 GAD、DAO 和 PAO 活性的影响  
Figure 3 Effects of heat moist treatment on GAD, DAO, and PAO activities in red kidney beans



湿热处理后,红芸豆中GAD、DAO和PAO的活性范围分别为1.07~1.94,4.22~12.02,0.91~8.12 U/g,相比于未处理的天然红芸豆分别提高了0.17~2.74倍、0.09~1.78倍和0.02~1.41倍。Yin等<sup>[27]</sup>报道,在缺氧及NaCl胁迫下发芽的蚕豆中至少有43.9%和81.5%的GABA是通过GABA支路合成的。湿热处理是一种萌发预处理,旨在激活种子内部的酶活性。在3种酶中,GAD酶活性变化最大(均值增加了0.97倍)。因此,推测湿热处理主要是通过GABA支路激活了GAD酶,导致GABA含量增加。

#### 2.4 红芸豆中GABA积累量与游离氨基酸和关键代谢酶活性之间的相关性

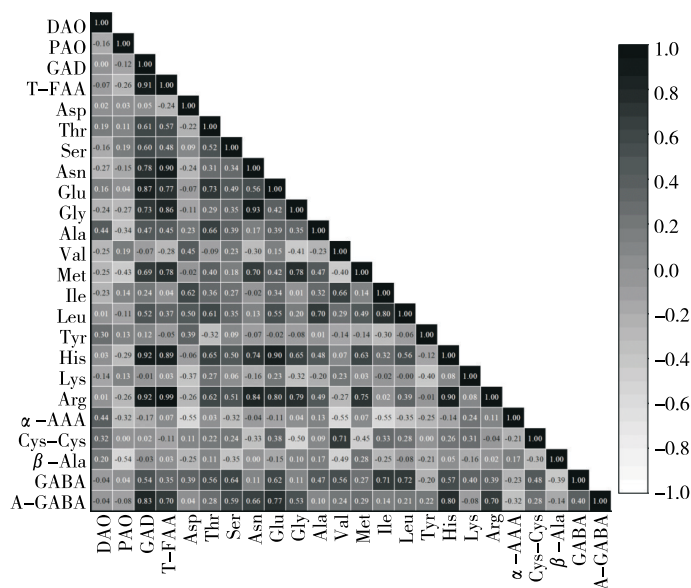
图4展示了GABA积累量与天然未处理红芸豆中游离氨基酸含量和GABA代谢相关酶活性之间的相关性。结果显示,GABA积累量与多个因素呈正相关,其中与GAD活性的相关系数为0.83,与His的相关系数是0.80,与Glu的相关系数为0.77,与T-FAA的相关系数是0.70,与Arg的相关系数为0.70,与Asn的相关系数是0.66,与Ser的相关系数为0.59。Glu是GABA合成的前体物质,当GAD被激活时,GAD可以将Glu转化为GABA<sup>[9]</sup>。Arg可通过鸟氨酸氨基转移酶等转化为鸟氨酸,然后再转化为Glu<sup>[28]</sup>。此外,Arg通过脱羧反应也会产生与多胺降解途径相关的腐胺<sup>[29]</sup>。在天冬酰胺水解酶的催化下,Asn会生成Asp。在氨肽酶存在的情况下,Asp可以转化成Glu,Glu进一步转化为GABA<sup>[30-31]</sup>。

在这些因素中,与GABA积累量有关的参数主要是

GAD活性和游离氨基酸,它们主要与GABA支路有关。相比之下,与多胺降解途径相关的酶(PAO和DAO)与GABA积累量并无显著相关性。由此可见,湿热处理主要是通过GABA支路来实现GABA富集的。

#### 2.5 湿热处理对不同品种红芸豆总酚和总黄酮含量的影响

湿热处理可能会对豆类或谷物原料中多酚和黄酮的含量产生一定的影响,而多酚和黄酮类物质对于人体健康的益处已被证实。基于此,进一步对这两个指标的变化情况进行了评价。如图5所示,12种未处理的天然红芸豆中总酚含量和总黄酮含量范围分别为3.92~6.62 mg GAE/g和10.12~23.72 mg RT/g。经湿热处理后,红芸豆的总酚含量和总黄酮含量范围分别为4.16~6.98 mg GAE/g和6.68~18.23 mg RT/g。与未处理的天然红芸豆相比,经湿热处理的红芸豆其总酚平均含量增加了0.05倍,而总黄酮平均含量则减少了27%。Ma等<sup>[30]</sup>研究表明,经湿热处理后,绿豆中的总酚含量增加了0.21倍。另有研究<sup>[32]</sup>显示,在NaCl胁迫下,GABA能诱导发芽大麦中酚类物质的积累并增强其抗氧化活性。这意味着在湿热处理过程中加入NaCl胁迫,或许能在增加GABA含量的同时增加酚类物质的含量。湿热处理的红芸豆中总酚含量的增加可能是由于湿热处理激活了细胞壁降解酶,导致一些与细胞壁结合的酚类物质得到了释放<sup>[33]</sup>。此外,据文献<sup>[34]</sup>报道,合成酚类化合物的关键酶苯丙氨酸氨裂解酶也会在种子萌发过程中



A-GABA代表GABA积累量

图4 红芸豆中游离氨基酸含量、GABA合成相关酶与湿热处理下GABA积累量的相关性

Figure 4 Correlation of free amino acid content and GABA synthesis-related enzymes with GABA accumulation under heat moist treatment in red kidney beans

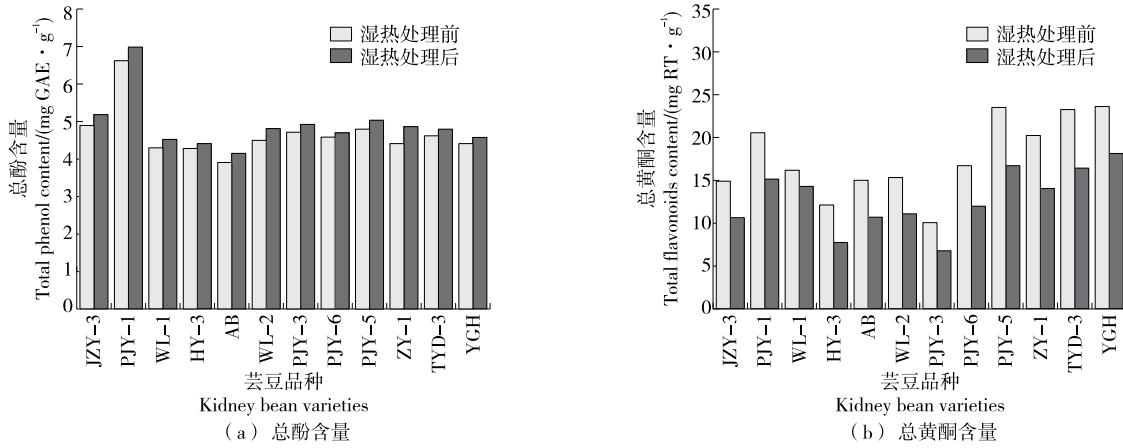


图 5 湿热处理对红芸豆总酚和总黄酮含量的影响

Figure 5 Effects of heat moist treatment on total phenol and total flavonoids content of red kidney beans

被激活。经过湿热处理后,总黄酮含量的轻微下降也与李少辉等<sup>[35]</sup>的研究结果一致。红芸豆经湿热处理后黄酮含量的下降可能是由于高温分解或转变所致<sup>[36]</sup>,有待进一步的试验验证。

### 2.6 湿热处理对不同品种红芸豆抗氧化活性的影响

图 6 展示了红芸豆在湿热处理前后 ABTS 自由基和 DPPH 自由基清除能力的变化。12 种未处理红芸豆对

ABTS 自由基和 DPPH 自由基清除能力变化范围分别为 3.66~5.14, 5.42~10.25 mg/g。经湿热处理后,红芸豆的 ABTS 自由基和 DPPH 自由基清除能力分别提高了 0.06~0.31 倍和 0.15~0.65 倍。红芸豆抗氧化活性的提高可能是由于湿热处理释放了酚类物质,这与 2.5 的结果相一致。绿豆<sup>[30]</sup>和发芽糙糯米<sup>[8]</sup>经湿热处理后也出现了相同的结果。

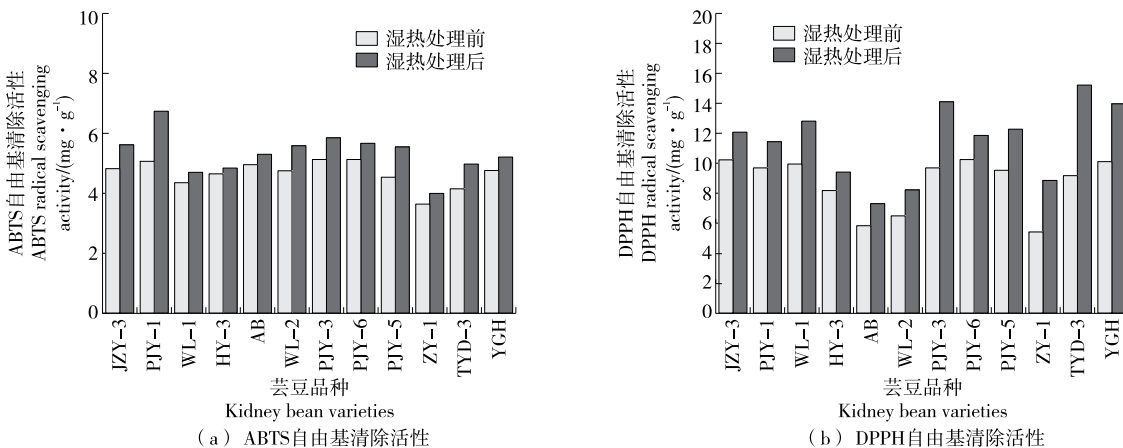


图 6 湿热处理对红芸豆 ABTS 自由基和 DPPH 自由基清除活性的影响

Figure 6 Effects of moist heat treatment on ABTS and DPPH radical scavenging activities of red kidney beans

## 3 结论

湿热处理是提高红芸豆中  $\gamma$ -氨基丁酸和其他活性物质含量的有效方法。经湿热处理后,红芸豆的平均  $\gamma$ -氨基丁酸含量和平均总酚含量分别增加了 18.21 倍和 0.05 倍,且抗氧化活性显著提升。经过湿热处理,品金芸 3 号红芸豆的  $\gamma$ -氨基丁酸含量和积累量最高。通过对湿热处理前后红芸豆中游离氨基酸组成以及与  $\gamma$ -氨基丁酸代谢相关酶活性的研究,发现  $\gamma$ -氨基丁酸主要通过  $\gamma$ -氨

基丁酸支路合成。而  $\gamma$ -氨基丁酸积累量主要与总游离氨基酸、谷氨酸、丝氨酸、天冬酰胺、精氨酸、组氨酸含量和谷氨酸脱羧酶活性有关。

### 参考文献

[1] LI W, WEI M M, WU J J, et al. Novel fermented chickpea milk with enhanced level of  $\gamma$ -aminobutyric acid and neuroprotective effect on PC12 cells[J]. PeerJ, 2016, 4: e2292.  
 [2] YAMATSU A, YAMASHITA Y, PANDHARIPANDE T, et al.

- Effect of oral  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) administration on sleep and its absorption in humans[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2016, 25(2): 547-551.
- [3] ABDU A M, HIGASHIGUCHI S, HORIE K, et al. Relaxation and immunity enhancement effects of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) administration in humans[J]. *BioFactors*, 2006, 26(3): 201-208.
- [4] SEO Y C, CHOI W Y, KIM J S, et al. Enhancement of the cognitive effects of  $\gamma$ -aminobutyric acid from monosodium glutamate fermentation by *Lactobacillus sakei* B2-16[J]. *Food Biotechnology*, 2012, 26(1): 29-44.
- [5] LEVENTHAL A G, WANG Y C, PU M L, et al. GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys [J]. *Science*, 2003, 300(5 620): 812-815.
- [6] LUO X, WANG Y, LI Q Q, et al. Accumulating mechanism of  $\gamma$ -aminobutyric acid in soybean (*Glycine max* L.) during germination[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2018, 53(1): 106-111.
- [7] LIAO W C, WANG C Y, SHYU Y T, et al. Influence of preprocessing methods and fermentation of adzuki beans on  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) accumulation by lactic acid bacteria[J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(3): 1 108-1 115.
- [8] WU Y N, HE S D, PAN T G, et al. Enhancement of  $\gamma$ -aminobutyric acid and relevant metabolites in brown glutinous rice (*Oryza sativa* L.) through salt stress and low-frequency ultrasound treatments at pre-germination stage[J]. *Food Chemistry*, 2023, 410: 135362.
- [9] KHWANCHAI P, CHINPRAHAST N, PICHYANGKURA R, et al. Gamma-aminobutyric acid and glutamic acid contents, and the GAD activity in germinated brown rice (*Oryza sativa* L.): effect of rice cultivars[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2014, 23(2): 373-379.
- [10] FANG W M, QI F, YIN Y Q, et al. Exogenous spermidine promotes  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation and alleviates the negative effect of NaCl stress in germinating soybean (*Glycine max* L.) [J]. *Foods*, 2020, 9(3): 267.
- [11] HOU D Z, TANG J, FENG Q Q, et al. Gamma-aminobutyric acid (GABA): a comprehensive review of dietary sources, enrichment technologies, processing effects, health benefits, and its applications[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2024, 64(24): 8 852-8 874.
- [12] MA Y L, TONG L T, LI J, et al. Comparison of  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation capability in different mung bean (*Vigna radiata* L.) varieties under heat and relative humidity treatment, and its correlation with endogenous amino acids and polyamines[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2021, 56(4): 1 562-1 573.
- [13] WANG S S, ZHOU S M, WANG L L, et al. Effect of an environment friendly heat and relative humidity approach on  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation in different highland barley cultivars[J]. *Foods*, 2022, 11(5): 691.
- [14] 罗安红, 李美乐, 刘芳, 等. 普通菜豆遗传育种研究进展[J]. *蔬菜*, 2023(3): 36-42.
- LUO A H, LI M L, LIU F, et al. Research progress in genetic breeding of common bean[J]. *Vegetables*, 2023(3): 36-42.
- [15] 蔡文强, 崔嘉航, 朱慧慧, 等. 不同提取方法红芸豆皮膳食纤维结构、理化性质和降血糖活性分析[J]. *食品与发酵工业*, 2025, 51(1): 237-243.
- CAI W Q, CUI J H, ZHU H H, et al. Structure, physicochemical properties and hypoglycemic activity of dietary fiber from red kidney bean skin under different extraction methods[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2025, 51(1): 237-243.
- [16] WU Y Q, HE H, HOU T. Purification, identification, and computational analysis of xanthine oxidase inhibitory peptides from kidney bean[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(3): 1 081-1 088.
- [17] 王中磊, 马玉玲, 王丽丽, 等. 湿热处理下富含 $\gamma$ -氨基丁酸芸豆品种的选择及筛选方法的建立[J]. *中国粮油学报*, 2021, 36(6): 36-44.
- WANG Z L, MA Y L, WANG L L, et al. Cultivar selection and establishment of screening method for GABA-rich kidney beans under heat-moisture treatment[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2021, 36(6): 36-44.
- [18] ZHAO G C, XIE M X, WANG Y C, et al. Molecular mechanisms underlying  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) accumulation in giant embryo rice seeds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(24): 4 883-4 889.
- [19] LIU L L, ZHAI H Q, WAN J M. Accumulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in giant-embryo rice grain in relation to glutamate decarboxylase activity and its gene expression during water soaking[J]. *Cereal Chemistry*, 2005, 82(2): 191-196.
- [20] LIAO J R, WU X Y, XING Z Q, et al.  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) accumulation in tea (*Camellia sinensis* L.) through the GABA shunt and polyamine degradation pathways under anoxia[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(14): 3 013-3 018.
- [21] YANG X J, DANG B, FAN M T. Free and bound phenolic compound content and antioxidant activity of different cultivated blue highland barley varieties from the Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 879.
- [22] LIN S, GUO H, GONG J D B, et al. Phenolic profiles,  $\beta$ -glucan contents, and antioxidant capacities of colored Qingke (Tibetan

- hulless barley) cultivars[J]. Journal of Cereal Science, 2018, 81: 69-75.
- [23] 宁亚维, 马梦戈, 杨正, 等.  $\gamma$ -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  $\gamma$ -aminobutyric acid [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(23): 238-247.
- [24] MAJUMDAR R, BARCHI B, TURLAPATI S W, et al. Glutamate, ornithine, arginine, proline, and polyamine metabolic interactions: the pathway is regulated at the post-transcriptional level[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 78.
- [25] AKIHIRO T, KOIKE S, TANI R, et al. Biochemical mechanism on GABA accumulation during fruit development in tomato[J]. Plant & Cell Physiology, 2008, 49(9): 1 378-1 389.
- [26] WANG C Y, FAN L Q, GAO H B, et al. Polyamine biosynthesis and degradation are modulated by exogenous gamma-aminobutyric acid in root-zone hypoxia-stressed melon roots[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 82: 17-26.
- [27] YIN Y Q, CHENG C, FANG W M. Effects of the inhibitor of glutamate decarboxylase on the development and GABA accumulation in germinating fava beans under hypoxia-NaCl stress[J]. RSC Advances, 2018, 8(36): 20 456-20 461.
- [28] PODLEŠÁKOVÁ K, UGENA L, SPÍCHAL L, et al. Phytohormones and polyamines regulate plant stress responses by altering GABA pathway[J]. New Biotechnology, 2019, 48: 53-65.
- [29] SANTOS M, CLAPAROLS I, TORNÉ J M. Effect of exogenous arginine, ornithine, methionine and  $\gamma$ -amino butyric acid on maize (*Zea mays* L.) embryogenesis, and polyamine content[J]. Journal of Plant Physiology, 1993, 142(1): 74-80.
- [30] MA Y L, TONG L T, WANG S S, et al. Effect of heat and relative humidity treatment on  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation, other micronutrients contents, antioxidant activities and physicochemical properties of mung bean (*Vigna radiata* L.) [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2022, 57(1): 590-600.
- [31] LUBKOWSKI J, VANEGAS J, CHAN W K, et al. Mechanism of catalysis by *L*-asparaginase[J]. Biochemistry, 2020, 59(20): 1 927-1 945.
- [32] 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.
- [33] PERALES-SÁNCHEZ J X K, REYES-MORENO C, GÓMEZ-FAVELA M A, et al. Increasing the antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents by optimizing the germination conditions of amaranth seeds[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2014, 69(3): 196-202.
- [34] CHEN Y, ZHU Y, QIN L K. The cause of germination increases the phenolic compound contents of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) [J]. Journal of Future Foods, 2022, 2(4): 372-379.
- [35] 李少辉, 张柳, 生庆海, 等. 湿热处理对豆粉营养品质及面团物化特性的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(14): 198-207.
- LI S H, ZHANG L, SHENG Q H, et al. Effects of heat-moisture treatment on nutritional quality and dough properties of legume flours[J]. Food Science, 2024, 45(14): 198-207.
- [36] CHAABAN H, IOANNOU I, CHEBIL L, et al. Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(5): e13203.