

## 富含 $\gamma$ -氨基丁酸的黑苦荞发芽的条件优化及成分分析

黄思苑, 罗嘉源, 叶俊锋, 任运红, 张雅甄, 杜冰, 黎攀

### Optimization of Germination Conditions for $\gamma$ -Aminobutyric Acid Accumulation and Component Analysis of Black Tartary Buckwheat

HUANG Siyuan, LUO Jiayuan, YE Junfeng, REN Yunhong, ZHANG Yazhen, DU Bing, and LI Pan

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030277>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 富含 $\gamma$ -氨基丁酸藜麦发酵饮料工艺优化

Optimization of Fermentation Process of Quinoa Rich in  $\gamma$ -aminobutyric Acid

食品工业科技. 2019, 40(16): 169-175,180

#### 谷物中 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)富集工艺的研究进展

Progress of  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) enrichment process in cereals

食品工业科技. 2018, 39(1): 347-352

#### 超声波辅助喷雾加湿法富集发芽黑糙米生物活性物质工艺的响应面优化

Optimization of Ultrasonic-assisted Spray Humidification for Enriching Bioactive Substances from Germinated Black Brown Rice by Response Surface Method

食品工业科技. 2020, 41(4): 105-113

#### $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)形成机理及富集方法的研究进展

Research Progress in the Formation Mechanism and Accumulation Methods of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid(GABA)

食品工业科技. 2018, 39(14): 323-329

#### 不同发酵工艺糙米酵素中游离氨基酸、 $\gamma$ -氨基丁酸及挥发性香气成分分析

Component Analysis of Free Amino Acids, GABA and Volatile Aroma in Brown Rice Enzymes with Different Fermentation Processes

食品工业科技. 2019, 40(23): 36-41

#### 大豆 $\gamma$ -氨基丁酸的富集及产品开发研究进展

Research progress on  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation in soybean and its product development

食品工业科技. 2018, 39(9): 346-351



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

黄思苑, 罗嘉源, 叶俊锋, 等. 富含  $\gamma$ -氨基丁酸的黑苦荞发芽的条件优化及成分分析 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(24): 144–150. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030277

HUANG Siyuan, LUO Jiayuan, YE Junfeng, et al. Optimization of Germination Conditions for  $\gamma$ -Aminobutyric Acid Accumulation and Component Analysis of Black Tartary Buckwheat[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(24): 144–150. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030277

# 富含 $\gamma$ -氨基丁酸的黑苦荞发芽的条件优化及成分分析

黄思苑<sup>1</sup>, 罗嘉源<sup>1</sup>, 叶俊锋<sup>1</sup>, 任运红<sup>1</sup>, 张雅甄<sup>1</sup>, 杜冰<sup>1,2,\*</sup>, 黎攀<sup>1,\*</sup>

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642;

2. 云南省杜冰专家工作站, 云南普洱 665008)

**摘要:** 为提高黑苦荞的有效利用率和附加值, 在单因素实验基础上, 采用响应面法优化黑苦荞发芽富集  $\gamma$ -氨基丁酸 ( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA) 的工艺条件。在此基础上, 进一步考察发芽前后黑苦荞中的基本营养成分和活性成分含量的变化。结果表明: 发芽时间为 4 d、发芽温度为 25 °C、浸泡温度为 25 °C、浸泡时间为 6 h 时, 发芽黑苦荞中 GABA 含量最高可达 33.40 mg/100 g。发芽会显著提高黑苦荞碳水化合物、总酚、总黄酮、槲皮素、山奈素、表儿茶素、绿原酸的含量。其中, 绿原酸和表儿茶素分别是发芽前的 16.14、11.05 倍, 山奈素和槲皮素分别增加了 86.4%、83.5%、总酚和总黄酮分别增加了 57.1%、28.6%。发芽前后, 粗蛋白质和粗脂肪含量相差不大, 而灰分和芦丁含量却显著 ( $P < 0.05$ ) 下降。研究结果为黑苦荞的精深加工开发提供了新思路 and 理论支持。

**关键词:** 黑苦荞,  $\gamma$ -氨基丁酸, 发芽, 成分分析, 响应面法

中图分类号: TS213

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2021)24-0144-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030277



本文网刊:

## Optimization of Germination Conditions for $\gamma$ -Aminobutyric Acid Accumulation and Component Analysis of Black Tartary Buckwheat

HUANG Siyuan<sup>1</sup>, LUO Jiayuan<sup>1</sup>, YE Junfeng<sup>1</sup>, REN Yunhong<sup>1</sup>, ZHANG Yazhen<sup>1</sup>, DU Bing<sup>1,2,\*</sup>, LI Pan<sup>1,\*</sup>

(1. College of Food Science and Technology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Yunnan Du Bing Expert Workstation, Puer 665008, China)

**Abstract:** In order to improve the effective utilization rate of black tartary buckwheat and realize its high value-added utilization, the germination parameters were optimized using one-factor-at-a-time method and response surface methodology. Furthermore, the changes in the contents of basic nutritional components and bioactive compounds in black tartary buckwheat were investigated before and after germination. The optimal germination conditions were determined as follows: Germination time of 4 days, germination temperature of 25 °C, soaking temperature of 25 °C, soaking time of 6 h. Under these conditions, the content of GABA in black tartary buckwheat was 33.40 mg/100 g. The results showed that the concentrations of carbohydrate, total phenol, total flavonoids, quercetin, kaempferol, epicatechin, and chlorogenic acid were significantly increased compared with that before germination. Specially, chlorogenic acid and epicatechin concentrations were 16.14 and 11.05 times that of those before germination, respectively. Moreover, kaempferol and quercetin contents increased by 86.4% and 83.5%, respectively. Total phenols and flavonoids concentrations increased by 57.1% and 28.6%, respectively. The contents of crude protein and crude fat were similar before and after germination, while the contents of ash and rutin decreased significantly ( $P < 0.05$ ). The results of this study would provide new ideas and a theoretical basis for further processing and development of black tartary buckwheat.

收稿日期: 2021-03-23

基金项目: 广东省自然科学基金 (2020A1515011268); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-21)。

作者简介: 黄思苑 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性食品研究与开发, E-mail: hsy19990324@126.com。

\* 通信作者: 杜冰 (1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 功能性食品的研究与评价, E-mail: gzdubing@163.com。

黎攀 (1990-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 植物活性成分与肠道菌群相互作用机制, E-mail: lp19900815@scau.edu.cn。

**Key words:** blacktartary buckwheat;  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA); germination process; component analysis; response surface method

苦荞作为一种天然功能食品,兼具“营养、保健、医疗”的作用。黑苦荞是苦荞的一种,因含有黄酮、多酚、芦丁、槲皮素等多种生物活性成分而具备独特的保健功效<sup>[1-2]</sup>。现代药理研究成果表明,黑苦荞具有降血压<sup>[3]</sup>、降血脂<sup>[4]</sup>和降血糖<sup>[5]</sup>的“三降效果”,以及抗氧化<sup>[6]</sup>、抗肿瘤<sup>[7]</sup>、抗炎<sup>[8]</sup>等多种功能作用。 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)作为黑苦荞中常见活性物质,具有镇静和减轻兴奋<sup>[9]</sup>、调节血压和改善大脑功能<sup>[10]</sup>。此外,GABA可以刺激胰岛素的释放,有效预防 II 型糖尿病<sup>[11]</sup>,还能促进酒精代谢和抑制癌细胞增殖<sup>[12]</sup>。虽然 GABA 有许多重要的生理功能,但人体内的 GABA 含量会因为年龄和外界压力的增加而逐渐减少<sup>[13]</sup>,因此开发富含 GABA 的功能性食品意义重大<sup>[14]</sup>。

发芽是一种廉价而有效的加工技术,可以提高谷类和豆类的营养品质。苦荞萌发过程可以改善苦荞籽粒的活力,提高相关酶活力及生物活性成分的含量,尤其可以积累 GABA 等营养物质<sup>[15]</sup>。同时,发芽会降低黑苦荞中的蛋白酶抑制剂的活性,能够提高苦荞蛋白质中氨基酸的利用率<sup>[16]</sup>。据报道,谷物 GABA 含量与浸泡和发芽的温度和时间息息相关<sup>[17]</sup>。目前,关于提高 GABA 产量的研究主要集中在糙米、大豆、燕麦等粮食作物中<sup>[2]</sup>,有关黑苦荞 GABA 的最佳富集工艺鲜有研究。

因此,本研究采用单因素实验结合响应面法探索发芽黑苦荞中 GABA 富集的最佳工艺条件,进一步提高黑苦荞的营养价值和保健功能,为发芽富集 GABA 提供理论依据,并为发芽黑苦荞精准化营养产品开发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

黑苦荞种子 由咀香园健康食品(中山)有限公司(中国广东省)提供;表儿茶素、 $\gamma$ -氨基丁酸 标准品, Sigma 公司;没食子酸 国药集团化学试剂有限公司;芦丁标准品、槲皮素标准品 上海源叶生物科技有限公司;绿原酸标准品 北京普天同创生物科技有限公司;山奈酚标准品 中国食品药品检定研究所;无水乙醚、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、硼酸、甲基红指示剂、溴甲酚绿指示剂、亚甲基蓝指示剂、氢氧化钠、95%乙醇、三氯化铝、乙酸钾、甲醇、盐酸、次氯酸钠等 分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

UV759 紫外分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;FA2004A 分析天平 上海精天电子仪器厂;HH-4 数显恒温水浴锅 常州市华普达数学仪器有限公司;DHP-600 电热恒温培养箱 京市永光明医疗仪器厂;LC-20AT 高效液相色谱仪 日本岛津公

司;HC-C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱,美国安捷伦公司;DGG-9070B 鼓风干燥箱 上海森信实验仪器有限公司;ANKE TDL-5-A 离心机 上海安亭分析仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 原料预处理 黑苦荞种子浸入 5% 的 NaClO 溶液中消毒 15 min,然后用蒸馏水洗涤 5 次,之后在 15~40  $^{\circ}$ C 的蒸馏水中浸泡 2~12 h。将种子置于具有 2 层滤纸的培养皿中,再覆盖 3 层湿润的纱布,放入恒温培养箱中,在 15~40  $^{\circ}$ C 和 80% 相对湿度的恒温培养箱中放置 2~7 d,以获得发芽的黑苦荞,在发芽过程中,每 6 h 更换一次纱布以保持苦荞湿润。制备好的发芽黑苦荞种子与未经过发芽处理的黑苦荞种子都放在-80  $^{\circ}$ C 的冰箱中冷冻 24 h 以后,转移至真空冷冻干燥器中,干燥 48 h 后,用粉碎机磨碎,60 目过筛,即得到发芽前后的黑苦荞样品。

#### 1.2.2 单因素实验

##### 1.2.2.1 发芽天数对发芽黑苦荞 GABA 含量的影响

按照 1.2.1 所述方法处理黑苦荞。发芽温度为 25  $^{\circ}$ C、浸泡时间 6 h、浸泡温度为 25  $^{\circ}$ C、相对湿度为 85%,发芽时间分别为 1、2、3、4、5、6 d,测定发芽后苦荞 GABA 的含量。

##### 1.2.2.2 发芽温度对发芽黑苦荞 GABA 含量的影响

按照 1.2.1 所述方法处理黑苦荞。发芽时间为 4 d、浸泡时间 6 h、浸泡温度为 25  $^{\circ}$ C、相对湿度为 85%,发芽温度分别为 15、20、25、30、35、40  $^{\circ}$ C,测定发芽后苦荞 GABA 的含量。

##### 1.2.2.3 浸泡时间对发芽黑苦荞 GABA 含量的影响

按照 1.2.1 所述方法处理黑苦荞。发芽温度为 25  $^{\circ}$ C、发芽时间为 4 d、浸泡温度为 25  $^{\circ}$ C、相对湿度为 85%,浸泡时间分别为 2、4、6、8、10、12、14 h,测定发芽后苦荞 GABA 的含量。

##### 1.2.2.4 浸泡温度对发芽黑苦荞 GABA 含量的影响

按照 1.2.1 所述方法处理黑苦荞。发芽温度为 25  $^{\circ}$ C、发芽时间为 4 d、浸泡时间 6 h、相对湿度为 85%,浸泡温度分别为 15、20、25、30、35、40  $^{\circ}$ C,测定发芽后苦荞 GABA 的含量。

1.2.3 响应面优化试验 在单因素实验的基础上,按照 Box-Behnken 试验设计方案,以 GABA 含量为响应值,进行 3 因素 3 水平的响应面实验设计,通过 Design Expert 11 软件对实验数据进行分析,并预测富集 GABA 的最佳工艺条件。实验因素及水平如表 1 所示。

1.2.4 GABA 含量的测定 GABA 含量的测定参照 NY/T 2890-2016 所述的高效液相色谱法进行测定。

表 1 Box-Behnken 实验因素及水平

Table 1 Box Behnken experimental factors and levels

水平	因素		
	A 发芽时间(d)	B 浸泡时间(h)	C 浸泡温度(°C)
-1	3	4	20
0	4	6	25
1	5	8	30

检测波长 436 nm; 柱温 40 °C; 进样量 10 μL; 流动相 A 为乙腈, 流动相 B 为质量浓度为 6.8 g/L 的三水合乙酸钠溶液; 流速 1.0 mL/min。GABA 标准曲线方程为:  $Y=113.8X+170.28, R^2=0.994$ 。

1.2.5 基本成分的测定 水分测定方法按照 GB 5009.3-2016 食品中水分测定中所述的直接干燥法进行测定; 灰分和脂肪测定分别按照国标 GB 5009.4-2016 和 GB 5009.6-2016 中所示的方法进行测定; 蛋白质测定按照 GB 5009.5-2016 食品中蛋白质的测定所示的凯氏定氮法进行测定; 碳水化合物的含量通过计算得到, 具体计算方式为碳水化合物(g/100 g)=100-(蛋白质+脂肪+水分+灰分)。

1.2.6 生物活性成分测定 样品中的总黄酮含量按照 NY/T 1295-2007 荞麦及制品中总黄酮含量的测定方法进行测定。采用汪建飞<sup>[9]</sup>所述的福林酚法测定每个样品的总酚含量, 总酚含量用没食子酸当量表示。芦丁、槲皮素、山奈酚和表儿茶素的检测方法如下: 芦丁含量的测定方法参照《保健食品功效成分检测方法》中所示的芦丁的高效液相色谱测定法进行测定; 槲皮素和山奈素依照《中国药典》中所示的方法进行测定; 表儿茶素的测定根据 Jiang 等<sup>[18]</sup>所述的方法进行测定, 样品经 70% 甲醇提取后, 用高效液相色谱测定法进行测定。

### 1.3 数据处理

所有实验均为平行测定 3 次取平均值, 采用 Design Expert 11 软件进行响应面试验设计与分析, 数据用 SPSS 25.0174 软件进行显著性分析,  $P<0.05$ , 表示差异显著,  $P<0.01$ , 表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果与分析

2.1.1 发芽时间对黑苦荞中 GABA 含量的影响 在由图 1 可知, 发芽黑苦荞中 GABA 含量随着发芽时间呈先增加后减少的趋势, 在 1~4 d, GABA 含量逐渐增加, 尤其在 2~3 d 时增加幅度较大, 直至第 4 d 达到最大值, 为 33.10 mg/100 g, 随后 GABA 含量开始下降。其原因可能是, 在苦荞发芽初期, 蛋白酶未被充分激活, 随着发芽时间的增加, 蛋白质被蛋白酶水解形成谷氨酸, 后再谷氨酸脱羧酶的催化下使谷氨酸转化为 GABA, 但随着 GABA 的积累, 负反馈作用抑制了谷氨酸脱羧酶的活性<sup>[11]</sup>, 从而使 GABA 含量下降, 因此最佳发芽时间为 4 d。

2.1.2 发芽温度对黑苦荞中 GABA 含量的影响 由

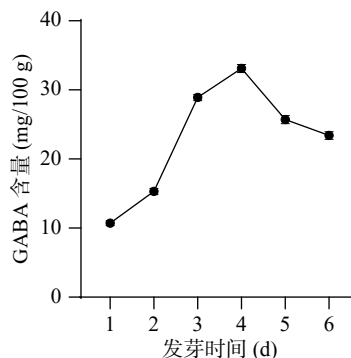


图 1 不同发芽时间对黑苦荞 GABA 含量的影响

Fig.1 Effect of different germination days on GABA content of black tartary buckwheat

图 2 可知, 发芽黑苦荞中 GABA 含量随着发芽温度而呈现先上升后下降的趋势, 在 15~25 °C, 苦荞内 GABA 含量逐渐增加, 直至 25 °C 达到最高, 为 33.30 mg/100 g, 在高于 25 °C 后, GABA 含量开始下降。可能原因是温度偏高或偏低都会影响谷氨酸脱羧酶的空间结构及其与底物的亲和力, 从而引起谷氨酸脱羧酶活性下降<sup>[12]</sup>, 因此, 最佳发芽温度为 25 °C。

2.1.3 浸泡时间对黑苦荞中 GABA 含量的影响 由

图 3 可知, 发芽黑苦荞中 GABA 含量随着浸泡时间的延长呈现先增加后减少再增加的趋势, 在浸泡时间

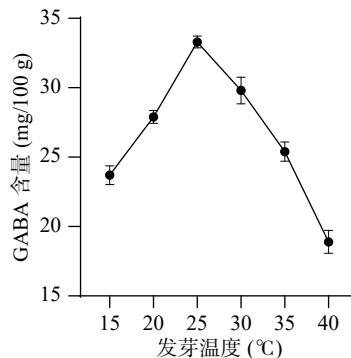


图 2 不同发芽温度对黑苦荞 GABA 含量的影响

Fig.2 Effect of different germination temperature on GABA content of black tartary buckwheat

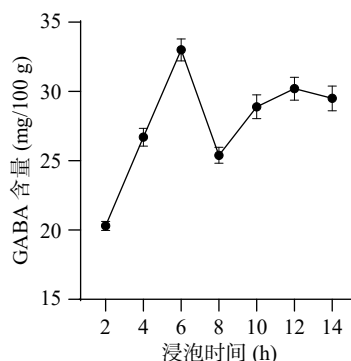


图 3 不同浸泡时间对黑苦荞 GABA 含量的影响

Fig.3 Effect of different soaking time on GABA content of black tartary buckwheat

为 6 h 时 GABA 含量最高,为 33.0 mg/100 g。在 2~6 h,苦荞内 GABA 含量快速增加,直至 6 h 达到顶峰,在 6~8 h,GABA 含量大幅度下降,8~12 h 后 GABA 含量缓慢增加但低于峰值,12 h 后 GABA 含量后缓慢下降,本研究结果与姜秀杰等<sup>[19]</sup>的实验结果一致。可能原因是黑苦荞浸泡过程中,GABA 合成相关酶被激活,而吸水后,胚内干物质从凝胶状态转变为溶胶物质,胚乳中的干物质转化为可溶性物质,黑苦荞的物质代谢速率加快,有利于谷氨酸脱羧酶生成<sup>[20]</sup>。而在 6~8 h,细胞吸水膨胀破裂,大量可溶性蛋白溶出,酶活性下降,生成 GABA 底物减少<sup>[13]</sup>。因此,最佳浸泡时间为 6 h。

**2.1.4 浸泡温度对黑苦荞中 GABA 含量的影响** 由图 4 可知,黑苦荞中 GABA 含量随着浸泡温度的升高而呈现先增加后减少的趋势。在浸泡温度为 25 °C 时,黑苦荞中的 GABA 含量最高,为 33.40 mg/100 g。说明适当提高浸泡温度,有利于提高黑苦荞 GABA 的含量。当浸泡温度过高时,GABA 的含量反而出现下降趋势。本实验结果和梅婵等<sup>[21]</sup>的实验结果一致,出现这种现象的原因可能是温度会影响谷物的吸涨速度,也会影响与富集 GABA 有关酶的活性。在一定温度范围内,温度越高,黑苦荞的吸水速度越快,胚乳中大分子物质在酶的作用下分解为小分子物质的量越多,为 GABA 的生成提供了充足的物质基础<sup>[13]</sup>。当浸泡温度过高时,吸涨速度多快,当吸水饱和后,会导致细胞结构破坏,从而导致谷氨酸等水溶性物质损失<sup>[14]</sup>。

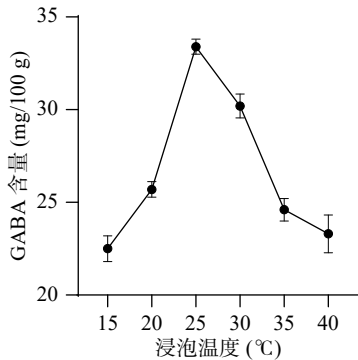


图 4 不同浸泡温度对黑苦荞 GABA 含量的影响  
Fig.4 Effect of different soaking temperature on GABA content of black tartary buckwheat

**2.2 响应面试验结果与分析**

单因素实验的结果表明,发芽温度对 GABA 含量的影响较小,为简化实验,减少实验次数,选择发芽天数、浸泡时间、浸泡温度 3 个因素,以 GABA 含量为指标进行响应面优化分析。

**2.2.1 回归模型的建立及方差分析** 在单因素实验的基础上,以发芽时间(A)、浸泡时间(B)、浸泡温度(C)为自变量,以 GABA 的含量为响应值(Y),实验方案和结果如表 2 所示。利用 Design-Expert 11 软件对响应面进行设计与分析,并建立回归模型,得出

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results of response surface methodology

实验号	A	B	C	Y: GABA含量 (mg/100 g)
1	3	4	25	30.7
2	4	6	25	33.8
3	3	6	30	29.6
4	4	4	20	27.1
5	4	6	25	33.5
6	4	8	20	24.2
7	4	6	25	33.6
8	5	4	25	25.5
9	4	8	30	29.7
10	4	4	30	28.5
11	5	8	25	26
12	5	6	30	27.2
13	4	6	25	33.1
14	4	6	25	33.3
15	5	6	20	24.5
16	3	6	20	25.4
17	3	8	25	26.8

二元回归方程为:  $GABA (mg/100 g) = 33.46 - 1.16A - 0.6375B + 1.73C + 1.10AB - 0.3750AC - 1.03BC - 3.46A^2 - 2.75B^2 - 3.33C^2$ 。

由表 3 可知,模型  $F=95.13, P<0.0001$ ,说明模型达到了 0.1% 显著水平,并且  $R^2=0.9919, R^2_{adj}=0.9815, R^2_{pred}=0.8921$ 、失拟项  $P=0.0611>0.05$ ,说明模型预测性良好且失拟程度不显著,具有统计学意义。另外,各项显著性因素统计分析表明,其显著性大小顺序为浸泡温度>发芽时间>浸泡时间。

表 3 响应面回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance of response surface regression model

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	191.35	9	21.26	95.13	<0.0001	**
A	10.81	1	10.81	48.37	0.0002	**
B	3.25	1	3.25	14.55	0.0066	*
C	23.81	1	23.81	106.51	<0.0001	**
AB	4.84	1	4.84	21.66	0.0023	*
AC	0.5625	1	0.5625	2.52	0.1567	
BC	4.20	1	4.20	18.80	0.0034	*
A	50.26	1	50.26	224.88	<0.0001	**
B	31.96	1	31.96	142.99	<0.0001	**
C	46.69	1	46.69	208.90	<0.0001	**
残差	1.56	7	0.2235			
失拟项	1.27	3	0.4242	5.81	0.0611	
纯误差	0.2920	4	0.0730			
总和	192.92	16				
				$R^2=0.9919$	$R^2_{adj}=0.9815$	
				$R^2_{pred}=0.8921$		

注: \*为显著( $P<0.05$ ); \*\*为极显著( $P<0.01$ )。

**2.2.2 响应面交互项分析** 对表 3 数据进行二次多元回归拟合,得到二次回归方程的响应曲面见图 5。GABA 的含量随着各因素水平的增加呈现先上升后下降的趋势。

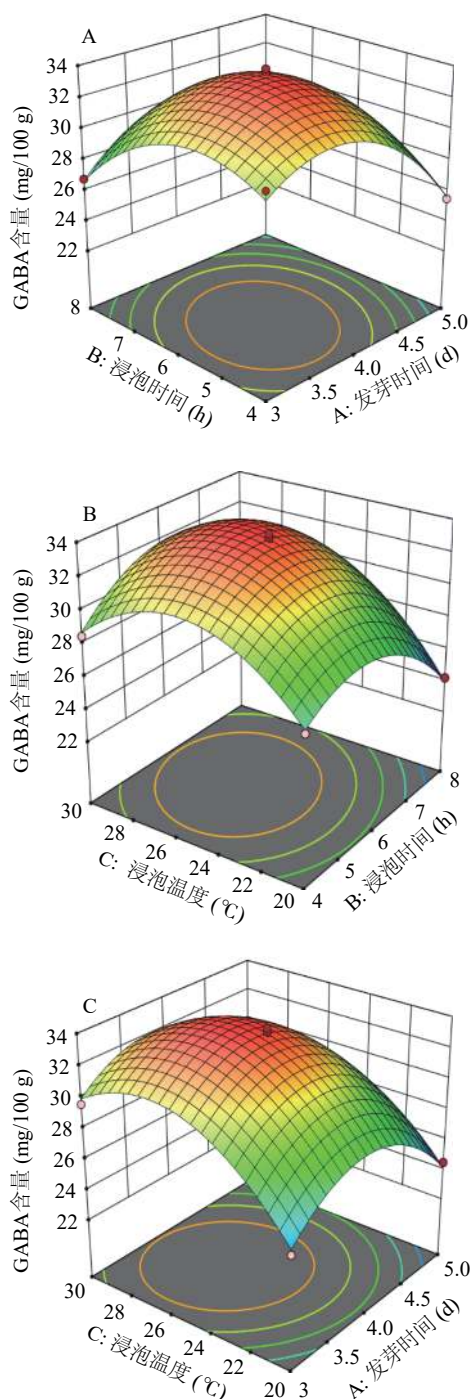


图 5 各因素交互作用对黑苦荞 GABA 富集量的影响  
Fig.5 Effects of interaction of various factors on GABA accumulation in black tartary buckwheat

2.2.3 最优条件的确定 根据响应面法试验结果,得出回归模型对发芽黑苦荞中 GABA 富集量的最大预测值为 33.829 mg/100 g,对应条件为发芽时间为 3.801 d、

浸泡温度 26.266 °C、浸泡时间为 5.783 h,考虑到实际操作的可行性,将培养条件改进为:发芽时间 4 d、浸泡时间 6 h、浸泡温度 25 °C。对此条件进行验证实验,得到 GABA 含量为 33.40 mg/100 g,验证值与理论值的相对误差较少,说明利用响应面法优化的条件对发芽黑苦荞富集 GABA 是可行的。

### 2.3 黑苦荞发芽前后的成分变化

为进一步探究发芽对黑苦荞成分的影响,测定在最佳发芽工艺条件下的发芽黑苦荞与未发芽黑苦荞的营养成分和活性成分的含量。

2.3.1 黑苦荞发芽前后营养成分变化 对发芽前后进行营养成分测定,结果见表 4。发芽后,黑苦荞的灰分、粗蛋白质、粗脂肪的含量均有下降,而碳水化合物含量增加。王嘉怡等<sup>[22]</sup>的研究表明,糙米发芽后,灰分含量会显著下降,本研究与其结果一致,黑苦荞发芽后灰分含量下降可能是由于黑苦荞在萌发过程中会激活植酸酶,植酸酶分解植酸钙镁等物质后产生肌醇、磷酸钙盐和镁盐等可溶性的物质,从而在浸泡和发芽的过程中损失。黑苦荞的粗蛋白质含量在发芽后出现了小幅度的减少,可能是因为黑苦荞在发芽的过程中激活了蛋白酶,将蛋白质水解成了小分子的氨基酸和肽,从而导致粗蛋白质含量的下降<sup>[23]</sup>。黑苦荞发芽后,粗脂肪含量减少,一方面可能是与脂肪水解给种子功能有关<sup>[24]</sup>,另一方面可能是脂肪在发芽的过程中发生氧化反应,导致黑苦荞的粗脂肪含量在发芽后有所降低<sup>[25]</sup>。巢晓玲等<sup>[15]</sup>的研究表明,在种子萌发过程中,碳水化合物由于要提供能量,含量会下降,与本实验的结果相反,其原因可能是本研究中碳水化合物的含量(g/100 g)=100-(蛋白质+脂肪+水分+灰分),随着蛋白质、脂肪、灰分含量的减少,碳水化合物的含量会增加。

表 4 黑苦荞发芽前后营养成分含量(g/100 g,以干基算)  
Table 4 Nutrient contents of black tartary buckwheat before and after germination (g/100 g, by dry basis)

含量	水分	灰分	碳水化合物	粗蛋白质	粗脂肪
发芽前	4.23±0.15	2.23±0.36	74.91±0.38	14.75±0.34	4.04±0.37
发芽后	4.53±0.17	1.80±0.23*	76.84±0.76*	13.30±0.71	3.64±0.31

注: \*表示黑苦荞发芽前后在同一指标之间存在显著性差异(P<0.05)。

2.3.2 黑苦荞发芽前后活性成分的变化 黄酮和多酚作为黑苦荞中的主要活性成分,由表 5 可知,发芽能显著提高黑苦荞中总酚、总黄酮、槲皮素、山奈素、表儿茶素、绿原酸含量。发芽后,总酚含量从

表 5 黑苦荞发芽前后活性成分含量(以干基算)

Table 5 Contents of active components in black tartary buckwheat before and after germination (by dry basis)

含量	总酚(g/100 g)	总黄酮(g/100 g)	芦丁(g/100 g)	槲皮素(g/100g)	山奈素(mg/kg)	表儿茶素(mg/kg)	绿原酸(mg/kg)
发芽前	1.43±0.06	2.12±0.10	1.95±0.02	0.06±0.01	3.98±0.05	4.58±0.22	9.48±0.32
发芽后	2.24±0.09**	2.75±0.08*	1.06±0.01***	0.12±0.03*	7.42±0.62**	50.60±0.90***	153.00±0.50***

注: \*表示黑苦荞发芽前后在同一指标之间存在显著性差异(\*P<0.05,\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001)。

1.43 g/100 g 增至 2.24 g/100 g ( $P < 0.01$ ), 总黄酮含量从 2.12 g/100 g 增至 2.75 g/100 g ( $P < 0.05$ ), 槲皮素含量从 0.06 g/100 g 增至 0.12 g/100 g ( $P < 0.05$ ), 山奈素含量从 3.98 mg/kg 增至 7.42 mg/kg ( $P < 0.01$ ), 表儿茶素含量从 4.58 mg/kg 增至 50.60 mg/kg ( $P < 0.001$ ), 绿原酸含量从 9.48 mg/kg 增至 153.00 mg/kg ( $P < 0.001$ )。其中表儿茶素和绿原酸的增幅最大, 分别是发芽前的 11.05、16.14 倍。总酚、总黄酮是黑苦荞中主要的活性成分, 其含量和组成是影响苦荞种子功能和营养特性的重要因素。黑苦荞发芽后, 总酚和总黄酮含量显著上升, 可能的原因是苦荞种子发芽后苯丙氨酸解氨酶的活力会增加, 合成了新的多酚类化合物<sup>[16]</sup>, 促使发芽后总酚含量、总黄酮含量的提高, 本研究结果与郑晨曦<sup>[17]</sup>的研究结果一致。黑苦荞发芽后芦丁含量下降, 而槲皮素、山奈素、表儿茶素、绿原酸等黄酮类化合物含量上升, 可能是因为在发芽过程中, 黄酮类化合物发生系列生物转化, 激活了体内的芦丁降解酶和苯丙氨酸解氨酶。一方面芦丁降解酶的激活导致芦丁分解合成了其他黄酮类化合物, 另一方面苯丙氨酸解氨酶的活力增加导致多种黄酮类化合物的合成, 因此芦丁含量显著下降, 而槲皮素、山奈素等黄酮类化合物的含量显著上升<sup>[26]</sup>。黑苦荞发芽前后的活性成分含量对比, 能有效说明发芽作为一种谷物制备的方法, 可用于制备富含总酚、总黄酮、槲皮素、山奈素等生物活性成分的功能性食品。

### 3 结论

本研究采用单因素实验和响应面分析, 得出了黑苦荞在发芽过程中影响其 GABA 含量的 3 个主要因素是发芽时间、浸泡时间和浸泡温度。响应面分析结果确定黑苦荞最优工艺条件为: 发芽时间 4 d、浸泡时间 6 h、浸泡温度 25 °C。在此条件下发芽的黑苦荞 GABA 含量为 33.40 mg/100 g。此外, 本研究测定了发芽前后的黑苦荞基本营养成分和活性成分含量, 结果表明, 黑苦荞发芽后, 灰分和芦丁含量显著下降, 粗蛋白质和粗脂肪含量小幅度下降, 而碳水化合物、总酚、总黄酮、槲皮素、山奈素、表儿茶素、绿原酸的含量明显上升。其中表儿茶素和绿原酸的增幅最大, 分别是发芽前的 11.05、16.14 倍。本研究优化和确定了富含 GABA 黑苦荞的最佳发芽工艺, 在此工艺下, 不仅可以在较短的时间获得高水平的 GABA 产量, 也可以显著提高黑苦荞中的生物活性成分的含量。本研究结果为进一步大规模生产富含 GABA 的黑苦荞新资源食品的开发提供了理论依据。

### 参考文献

[1] LIU Y, CAI C, YAO Y, et al. Alteration of phenolic profiles and antioxidant capacities of common buckwheat and tartary buckwheat produced in China upon thermal processing[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(12): 5565–5576.

[2] 蒲升惠, 高颖, 赵志峰, 等. 苦荞中活性物质及其保健功效研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(8): 331–336. [PU S H, GAO Y, ZHAO Z F, et al. Research progress on bioactive components and health benefits of tartary buckwheat[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2019, 40(8): 331–336.]

[3] LEE D, JANG I S, YANG K E, et al. Effect of rutin from tartary buckwheat sprout on serum glucose-lowering in animal model of type 2 diabetes[J]. *Acta Pharmaceutica*, 2016, 66(2): 297–302.

[4] PENG W, HU C, SHU Z, et al. Antitumor activity of tatariside F isolated from roots of *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn against H22 hepatocellular carcinoma via up-regulation of p53[J]. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 2015, 22(7–8): 730–736.

[5] 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.]

[6] KIM H. Functional foods and the biomedicalisation of everyday life: A case of germinated brown rice[J]. *Sociology of Health & Illness*, 2013, 35(6): 842–857.

[7] 高立城, 夏美娟, 白文明, 等. 甜荞和苦荞萌发过程中营养成分分析[J]. *营养学报*, 2019, 41(6): 617–619. [GAO L C, XIA M J, BAI W M, et al. Nutritional analysis of common buckwheat and tartary buckwheat during germination[J]. *Journal of Nutrition*, 2019, 41(6): 617–619.]

[8] CHAROENTHAIKIJ P, JANGCHUD K, JANGCHUD A, et al. Germination conditions affect selected quality of composite wheat-germinated brown rice flour and bread formulations[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 75(6): 312–318.

[9] 汪建飞. 微波处理下苦荞麦萌发及其芽苗抗氧化活性的研究[D]. 芜湖: 安徽工程大学, 2019. [WANG J F. Study on germination of tartary buckwheat and antioxidant activity in its sprouts under microwave treatment[D]. Wuhu: Anhui Polytechnic University, 2019.]

[10] JIANG S, LIU Q, XIE Y, et al. Separation of five flavonoids from tartary buckwheat(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn) grains via off-line two dimensional high-speed counter-current chromatography[J]. *Food Chemistry*, 2015: 186.

[11] 李婷玉, 杜艳, 陈正行, 等. 胁迫萌发对青稞籽粒中  $\beta$ -葡聚糖和  $\gamma$ -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. Effect of highland barley seed germination under stress on contents of  $\beta$ -glucan and  $\gamma$ -aminobutyric acid[J]. *Chinese Journal of Cereals and Oils*, 2021, 36(6): 30–35.]

[12] 蒋振晖.  $\text{Ca}^{2+}$ 和通气处理对糙米发芽过程中主要物质变化的影响及  $\gamma$ -氨基丁酸富集技术研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2003. [JIANG Z H. Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  and aerating treatment on some essential substances of and GABA enrichment technology in germinating brown rice[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2003.]

[13] 郑向华, 陈荣, 叶宁, 等. 温度和时间对发芽糙米中  $\gamma$ -氨基

- 丁酸含量的影响[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(9): 1-4. [ZHENG X H, CHEN R, YE N, et al. Effects of temperature and time on  $\gamma$ -GABA content of germinated brown rice[J]. Chinese Journal of Cereals and Oils, 2009, 24(9): 1-4.]
- [14] 王维坚, 马中苏, 孟凡刚, 等. 发芽糙米浸泡工艺的研究[J]. 吉林粮食高等专科学校学报, 2003, 18(4): 7-10. [WANG W J, MA Z S, MENG F G, et al. A study on soaking processing in the production of the germinated brown rice[J]. Journal of Jilin Grain College, 2003, 18(4): 7-10.]
- [15] 巢晓玲, 黎扬辉, 敬思群, 等. 油莎豆发芽前后营养成分及多糖生物活性的变化[J]. 食品工业科技, 2021, 42(12): 327-333. [CHAO X L, LI Y H, JING S Q, et al. Analysis of nutrient composition and bioactivity of cyperus esculentus (*C. esculentus* L.) before and after germination[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(12): 327-333.]
- [16] 崔江明, 周海龙, 马利华. 发芽、发酵对燕麦营养性及抗氧化性的影响[J]. 食品科技, 2021, 46(2): 130-134. [CUI J M, ZHOU H L, MA L H. Effects of germination and fermentation on nutritional and antioxidant properties of oat[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(2): 130-134.]
- [17] 郑晨曦, 郝建雄, 宋曙辉, 等. 微酸性电解水对苦荞芽活性成分及抗氧化能力的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 20-25. [ZHENG C X, HAO J X, SONG S H, et al. Effect of slightly acidic electrolyzed water on the bioactive compounds and antioxidant activity of tartary buckwheat sprouts[J]. Food Science, 2018, 39(4): 20-25.]
- [18] JIANG S, LIU Q, XIE Y, et al. Separation of five flavonoids from tartary buckwheat(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn) grains via off-line two dimensional high-speed counter-current chromatography[J]. Food Chemistry, 2015, 186: 153-159.
- [19] 姜秀杰, 张桂芳, 张东杰. 真空协同发芽富集豌豆  $\gamma$ -氨基丁酸的工艺优化研究[J]. 食品科技, 2020, 45(5): 58-63. [JIANG X J, ZHANG G F, ZHANG D J. Optimization of vacuum co-germination process for enrichment of  $\gamma$ -aminobutyric acid in pea[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(5): 58-63.]
- [20] 杨丽, 肖斌, 肖登荣, 等. 富氢水发芽糙米加工工艺及其品质研究[J/OL]. 食品工业科技, 2021, 42(9): 145-153. [YANG L, XIAO B, XIAO D R, et al. Study on processing technology and quality of germinated brown rice with hydrogen rich water [J/OL]. Food Science and Technology, 2020, 45(5): 58-63.]
- [21] 梅婵, 方勇, 裴斐, 等. 发芽糙米铁生物强化的正交试验优化及其形态分析[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 52-57. [MEI C, FANG Y, PEI F, et al. Optimization and speciation analysis of germinated brown rice iron bioenhancement by orthogonal experiment[J]. Food Science, 2016, 37(6): 52-57.]
- [22] 王嘉怡, 潘姝璇, 夏陈, 等. 发芽糙米米糠营养成分和  $\gamma$ -氨基丁酸分析及缓解体力疲劳功效[J]. 食品科学, 2019, 40(1): 177-182. [WANG J Y, PAN S X, XIA C, et al. Nutritional composition, gamma-aminobutyric acid content and antifatigue activity of germinated brown rice bran[J]. Food Science, 2019, 40(1): 177-182.]
- [23] 马先红, 魏玉玲, 李京徽, 等. 发芽处理对谷物主要成分含量变化的影响[J]. 保鲜与加工, 2021, 21(6): 145-150. [MA X H, WEI Y L, LI J H. Effect of germination on main components of grain[J]. Storage and Process, 2021, 21(6): 145-150.]
- [24] 马先红, 温钢. 发芽对玉米营养成分的影响[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(11): 1-4. [MA X H, WEN G. Effect of germination on nutrition component of maize[J]. Grain and Fats, 2017, 30(11): 1-4.]
- [25] REN S, SUN J. Changes in phenolic content, phenylalanine ammonia-lyase(PAL) activity, and antioxidant capacity of two buckwheat sprouts in relation to germination[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 7(2014): 298-304.
- [26] 庞萌萌. 苦荞添加微量元素发芽后肌醇等化学成分变化及降糖活性研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2018. [PANG M M. Study on changes of inositol and other chemical components and the activity of decreasing blood glucose after germination of buckwheat with added trace elements[D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2018.]