

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2025.02.007

吴其飞, 张子阳, 米行琼, 等. 基于 γ -氨基丁酸富化需求的稻谷品种筛选[J]. 粮油食品科技, 2025, 33(2): 43-52.WU Q F, ZHANG Z Y, MI X Q, et al. Screening of germinated rice variety with high γ -aminobutyric acid content[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2025, 33(2): 43-52.

基于 γ -氨基丁酸富化需求的 稻谷品种筛选

吴其飞, 张子阳, 米行琼, 刘淑一, 徐斌✉

(江苏大学 食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212000)

摘要: 为筛选高 γ -氨基丁酸(GABA)稻谷品种, 对产自我国的16个稻谷品种进行加温加湿处理, 以富化稻谷的GABA含量。通过测定谷氨酸(Glu)含量、谷氨酸脱羧酶(GAD)活性、发芽率、吸水速率等参数, 筛选出适宜GABA富化的稻谷品种。结果表明, 加温加湿法对稻谷GABA富化效果有明显的地域品种差异, 多数粳稻的GABA含量在富化后高于籼稻, 其中江苏粳稻GABA增量最高; 南粳3908与南粳46富化后的GABA含量及增量均处于较高水平; 富化后GAD活性可作为筛选高GABA含量稻谷品种指标; 发芽率和吸水速率(< 8 h)可用于辅助预测稻谷GABA的富化效果。综上, 将GAD活性作为参考指标, 结合稻谷浸泡发芽的发芽率和吸水速率等参数能够较好地筛选出适宜GABA富化的稻谷品种。

关键词: 加温加湿法; γ -氨基丁酸; 谷氨酸脱羧酶; 稻谷

中图分类号: S512.3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2025)02-0043-10

网络首发时间: 2025-03-06 18:28:58

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.3863.TS.20250306.1233.002>

Screening of Germinated Rice Variety with High γ -aminobutyric Acid Content

WU Qi-fei, ZHANG Zi-yang, MI Xing-qiong, LIU Shu-yi, XU Bin✉

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212000, China)

Abstract: To scientifically and systematically screen rice varieties with high γ -aminobutyric acid (GABA) content, 16 rice varieties from various regions of China were subjected to heating and humidifying treatment to enhance γ -aminobutyric acid (GABA) content. By determining parameters including glutamic acid (Glu) content, glutamic acid decarboxylase (GAD) activity, germination rate and water absorption rate, rice varieties suitable for GABA enrichment were screened. The results showed that significant regional and

收稿日期: 2024-07-30; 修回日期: 2024-09-11; 录用日期: 2024-09-13

基金项目: 苏州市关键核心技术攻关(农业、社会发展)项目“优质稻米锁鲜仓储与营养化加工关键技术研究及应用”(SNG2023020); 扬州市市级计划——现代农业“发芽糙米品质提升关键技术研究产品开发”(YZ2022040)

Supported by: Suzhou Key Core Technology Research (Agriculture, Social Development) Project “Research and Application of Key Technologies for Freshness Preservation in Storage and Nutritional Processing of High-Quality Rice” (No. SNG2023020); Yangzhou Municipal Programme-Modern Agriculture “Research and Product Development on Key Technologies for Improving the Quality of Germinated Brown Rice” (No. YZ2022040)

第一作者: 吴其飞, 男, 1972年出生, 硕士, 副研究员, 研究方向为谷物加工与农产品高值生产关键技术装备, E-mail: jsdxwqf@163.com

通信作者: 徐斌, 男, 1969年出生, 博士, 教授, 研究方向为谷物加工与食品营养健康, E-mail: taotaoxu@126.com

varietal differences in GABA enrichment efficiency using the heating and humidification method on rice grains. And the GABA content of japonica rice was higher than that of indica rice both before and after enrichment with Jiangsu japonica rice exhibiting the highest GABA increment. The GABA content and increment of Nanjing 3908 and Nanjing 46 after enrichment were both at relatively high levels. The GAD activity after enrichment can be used as an indicator for screening rice varieties with high GABA. Germination rate and water absorption rate (<8 h) can be used as auxiliary predictors of GABA enrichment in rice grains. In conclusion, using GAD activity as a reference index, combined with parameters such as germination rate and water absorption rate of rice grains, allows for the effective screening of rice varieties suitable for GABA enrichment.

Key words: heating and humidifying method; γ -aminobutyric acid; glutamic acid decarboxylase; rice

我国水稻分布总体呈“南籼北粳”的态势，其品质有明显的地域差异。由于 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 的优秀生理特性，高 GABA 糙米作为新型主粮在近年来受到许多消费者的青睐。但鉴于稻谷的品种差异较为明显，并不是所有水稻都适宜加工成为高 GABA 糙米，针对稻谷品种特性和消费者需求，建立系统的品质评价指标体系，筛选出优质稻谷品种，对于生产高 GABA 糙米具有一定意义。

植物可通过萌发、胁迫等植物代谢的方式来富化 GABA，该富化效果受到诸多条件影响，原料品种是重要因素之一^[1]。研究指出，有色稻米 GABA 含量高于白色稻米，糯性品种低于非糯性，早熟种低于中、晚熟品种，在发芽糙米中也呈现类似的规律，红黄米的 GABA 含量较低，黑褐色米和糯米高于其他类型，早稻高于中稻和晚稻，籼稻略高于粳稻，即便同为粳稻，萌发后其 GABA 的最终生成量也因基因型和生态型的不同而存在较大差异^[2]。在引起稻谷品质种间差异的众多因素中，种子活力是一项重要综合性指标。国际种子检验协会提出，“种子活力是决定种子在发芽以及成苗期间的活力水平和行为等一系列种子特性的综合表现。”种子活力的保持与种子本身的代谢息息相关，例如细胞膜结构的改变、抗氧化系统的激活、二糖和寡糖的积累、储藏蛋白的合成等，这对稻谷的萌发、贮藏十分重要，还将进一步关系到高 GABA 糙米的生产加工效率和最终产品质量^[3]。在对适宜 GABA 富化的稻谷品种进行筛选

时需要充分考虑种子活力的影响。现阶段有许多针对稻谷浸泡富化 GABA 的研究，而关于高温胁迫下不同稻谷品种间的 GABA 生成差异鲜有报道，系统的稻谷品种筛选方法与评价标准尚未形成。

本研究以产自全国各地的 16 个稻谷品种为原料，首先测定其发芽率和吸水特性，对比其发芽品质和种子活力水平；然后采用加温加湿法对 16 种稻谷进行 GABA 富化处理，通过分析富化前后糙米的 GABA 含量、谷氨酸 (Glutamic acid, Glu) 含量和谷氨酸脱羧酶 (Glutamic acid decarboxylase, GAD) 活性，筛选出适用于加温加湿法富化 GABA 的优质稻谷品种，并建立高 GABA 稻谷品种筛选方法及其评价指标。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

γ -氨基丁酸、L-谷氨酸标准品，色谱级：上海源叶生物科技有限公司；乙醇、碳酸氢钠、无水乙酸钠、冰醋酸、乙二胺四乙酸、氯化钠、L-谷氨酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氢氧化钠，分析纯：国药集团化学试剂有限公司；乙腈，色谱级：上海麦克林生化科技股份有限公司；4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯、 β -巯基乙醇，分析纯：上海麦克林生化科技股份有限公司；磷酸吡哆醛一水合物，生物试剂：上海源叶生物科技有限公司。

16 种稻谷的品种名称及采购来源如表 1 所示。

表 1 稻谷的品种信息
Table 1 Information of rice varieties

种类	编号	品种	来源
江苏 粳稻	R1	南粳 3908	江苏明天种业科技股份有限公司
	R2	南粳 5055	江苏红旗种业股份有限公司
	R3	南粳 58	江苏中江沃达丰种业科技有限公司
	R4	南粳 46	苏州市太仓市东林农场
	R5	南粳 9108	江苏省高科种业科技有限公司
	R6	武运粳 21 号	江苏中江种业股份有限公司
	R7	银香 38	宜兴市金穗种业科技有限公司
	R8	华粳 5 号	江苏省大华种业集团有限公司
北方 粳稻	R9	稻花香 2 号	五常市利元种子子公司
	R10	龙稻 18	五常市利元种子子公司
	R11	乐稻 111	五常市利元种子子公司
	R12	松粳 16	五常市利元种子子公司
南方 籼稻	R13	荃 9 优 063	安徽荃银高科种业股份有限公司
	R14	农香 42	湖南金色农丰种业有限公司
	R15	创两优 669	安徽绿亿种业有限公司
	R16	中浙优 8 号	浙江勿忘农种业股份有限公司

1.2 仪器与设备

LGJ-B-45 型检验砻谷机：日照粮安仓储设备有限公司；DHG-9245A 型电热鼓风干燥箱：上海恒一科学仪器有限公司；HWS-260H 型恒温恒湿箱：宁波扬辉仪器有限公司；HH-4JS 型磁力搅拌水浴锅：常州朗越仪器制造有限公司；LC-20AT 型岛津液相色谱仪-紫外检测器：岛津企业管理(中国)有限公司；H1-16K 型台式高速离心机：湖南可成仪器设备有限公司；RCI-B5-W 型精米机：爱丽思(IRIS)潮流厨电；TA-XT-Plus 型食品物性测试仪：英国 Stable Micro System 公司。

1.3 方法

1.3.1 稻谷的湿热空气富化处理

称取 200 g 稻谷，根据其水分含量加入一定量水并于润麦器中混合 2 h，低温下(4 °C)平衡 12 h，使稻谷水分达到 14.5%。将平衡后的稻谷放入实验室特制的加温加湿装置(如图 1 所示)，雾化加湿使稻谷含水量达到 20%，向稻谷通入 65 °C 的蒸汽，湿热富化处理 5 h，富化结束后将稻谷置于 45 °C 烘箱烘干，至其水分达到 14.5%左右。将稻谷脱壳，即为富化糙米，在 4 °C 下保存备用。

1.3.2 稻谷发芽率

参考 GB/T 3543.4—1995 中发芽率的测定方

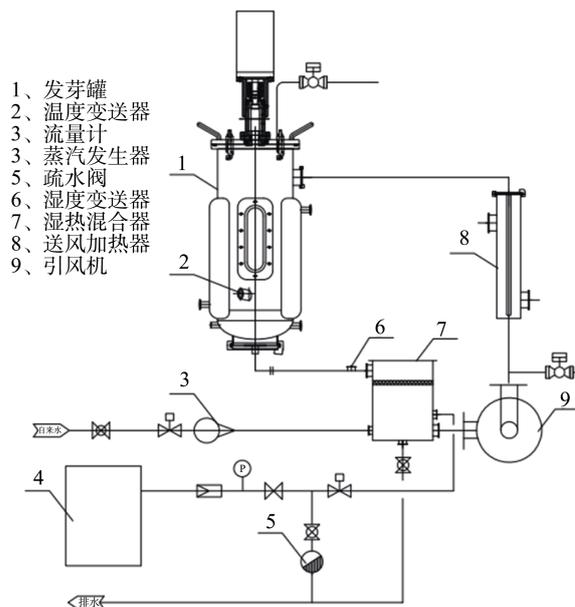


图 1 加温加湿装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of heating and humidifying device

法，稍作修改。随机数取稻谷样品 100 粒，分别于 12、18、24、48 h 统计发芽率，以胚芽长到 0.50~1.00 mm 作为发芽合格的样品。发芽率的计算公式如下：

$$\text{发芽率}\% = \frac{a}{b} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中：a 为稻谷萌发至芽长为 0.50~1.00 mm 时的粒数；b 为稻谷总粒数。

1.3.3 稻谷吸水特性

取处理前的稻谷样品 10 g，每组 3 个平行，料液比为 1 : 2，分别于浸泡第 2、4、6、8、12、18、24 h 取出，用滤纸吸取表面水分后称重，按照式(2)和式(3)分别计算各浸泡时间点的吸水量和吸水速率。

$$\text{吸水量}\% = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100\% \quad \text{式(2)}$$

式中：M_t 为浸泡后的样品重量，g；M₀ 为样品未处理前的重量，g。

$$\text{吸水速率}\text{(g/h)} = \frac{M_n - M_{n-1}}{t} \quad \text{式(3)}$$

式中：M_n 为浸泡后某一测量时间点稻谷质量；M_{n-1} 为浸泡前 M_n 前一个测量时间点稻谷质量；t 为间隔时间，h。

1.3.4 GABA 含量

参考 NY/T2890—2016 并稍作修改，将糙米

磨碎过筛(60目),称取1g糙米粉,加入10mL 70%乙醇,混匀后在室温下(25℃)超声提取30min。在5000r/min离心混合液10min,取上清液于25mL容量瓶,样品残渣重复以上步骤再进行一次提取,合并上清液并定容至25mL。取1mL混合液,加入0.2mL 0.04g/mL NaHCO₃、0.4mL 2mg/mL 4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯并混匀,在70℃反应20min后冷却至室温,过0.22μm滤膜后待测。使用高效液相色谱仪与ZORBAX Eclipse Plus C18色谱柱(5μm, 4.6mm×250mm)检测。条件:流动相A(50mmol/L醋酸钠缓冲液,69%),流动相B(乙腈,31%)等度洗脱25min,柱温30℃,波长436nm,进样量10μL,流速1mL/min。

1.3.5 Glu含量

同1.3.4 GABA测定方法。

1.3.6 GAD活性

参考Wang等^[4]的方法,并稍作修改。4℃下,称取5.0g发芽糙米,用提取缓冲液(50mmol/L的磷酸缓冲液,pH 5.7,2mmol/L乙二胺四乙酸,0.2mL/100mLβ-巯基乙醇,0.2mmol/L磷酸吡哆醛,0.15mol/L NaCl)研磨成浆,定容到50mL后静止提取2h,在5000r/min离心10min,取上清液,此即为粗酶提取液。在0.3mL粗酶液中加入0.2mL的底物溶液(含50mmol/L的磷酸缓冲液,pH 5.7,100mmol/L L-谷氨酸,0.2mmol/L磷酸吡哆醛),于30℃反应2h后迅速置于冰浴中终止反应,按照上文的方法测定产生的GABA含量,以每1h生成1μmol的GABA作为一个酶活力单位(U)。

1.4 数据处理

采用Excel 2010统计和分析数据,并使用Origin 9.0软件绘图;运用SPSS 22.0统计分析数据之间的显著性,以95%置信水平($P < 0.05$)来说明数据间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 稻谷的发芽品质

2.1.1 稻谷发芽率

将浸泡后的稻谷,平铺在放有湿润纱布的培

养皿上于恒温恒湿箱中培养,分别统计萌发第12、18、24、48h发芽率,结果如表2所示。

由表2可知,16种稻谷的发芽率均随培养时间的增加而逐渐增大,发芽速率均呈现先快后慢的规律,12~18h发芽率增加最为迅速,其中80%以上的稻谷品种均能满足糙米最低发芽率70%的要求^[5]。18h后稻谷发芽率增加缓慢,并逐渐趋于饱和,培养48h后发芽率均能达到90%。

表2 稻谷的发芽率
Table 2 Germination rate of rice %

品种	发芽率			
	12 h	18 h	24 h	48 h
R1	5.33±1.15 ^{ef}	76.00±0.00 ^f	79.33±3.51 ^f	93.67±1.15 ^{def}
R2	15.67±2.31 ^c	81.67±2.08 ^{de}	83.67±1.53 ^{def}	94.00±0.00 ^{def}
R3	3.33±1.15 ^{fg}	85.67±4.04 ^{cd}	89.00±1.73 ^{bc}	92.00±1.73 ^f
R4	8.00±1.00 ^{de}	88.67±1.15 ^{bc}	90.67±1.15 ^{bc}	97.00±1.00 ^{abcd}
R5	2.33±0.58 ^{fg}	85.33±3.21 ^{cd}	90.33±1.15 ^{bc}	95.33±0.58 ^{bdef}
R6	7.67±2.31 ^{de}	92.33±0.58 ^b	96.00±1.73 ^a	98.00±1.00 ^{abcd}
R7	0.00±0.00 ^g	6.33±1.53 ^h	35.67±4.04 ^g	82.67±2.08 ^g
R8	14.67±0.58 ^c	81.00±1.73 ^{de}	87.00±2.00 ^{bcd}	94.33±1.53 ^{def}
R9	24.00±2.65 ^b	78.33±3.21 ^{ef}	86.67±0.58 ^{bcd}	95.00±1.00 ^{cdef}
R10	13.33±2.08 ^c	89.33±2.31 ^{bc}	89.33±2.31 ^b	97.00±1.73 ^{abcd}
R11	1.33±0.58 ^g	78.33±3.06 ^{ef}	84.67±3.51 ^{cde}	98.67±1.53 ^{ab}
R12	29.33±4.04 ^a	99.00±1.00 ^a	99.00±1.00 ^a	99.67±0.58 ^a
R13	0.67±0.58 ^e	81.33±2.08 ^{de}	83.33±2.52 ^{def}	92.67±3.21 ^f
R14	16.67±3.79 ^c	81.67±2.52 ^{de}	86.67±0.58 ^{bcd}	96.33±3.06 ^{abcde}
R15	9.00±2.65 ^d	69.00±5.57 ^g	81.67±4.93 ^{ef}	93.33±3.06 ^{ef}
R16	14.33±1.15 ^c	76.00±3.00 ^f	84.67±1.53 ^{cde}	95.33±1.53 ^{bdef}

注:同列不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$),下同。

Note: different letters in the same column indicate significant differences between groups ($P < 0.05$), the same as below.

发芽率是表征稻谷发芽活力的重要指标之一,也是检测种子质量好坏的重要指标,发芽率越高则其发芽活力越强,达到发芽终点所需要的时间也越短,高发芽率和快速发芽对于发芽糙米的高效生产有利。浸泡后的稻谷,种皮吸水膨胀,生理活性加强,逐渐开始萌发。萌发初期(0~12h),蛋白质、淀粉、糖类等大分子物质开始降解,为种子的萌发供给能量,此时多数种子仍在萌发初期,因而该阶段发芽率较低,为0%~29.33%。因稻谷品种间化学组分相对含量的不同,发芽率有较大差异。随着萌发的进行,发芽速率加快,12~18h期间增速最快,约60%的品种发

芽率在 80% 以上。培养 12 h 时, 发芽率偏高的品种 (R9、R16) 继续萌发 6 h 后增量较 R11、R13 等品种低, 原因可能是此生理阶段下蛋白降解速率较低^[6]。发芽率高低主要由基因型决定, 但也会受到环境因素的影响, 因此种植区的不同可能会使得种子活力表现各异^[7]。萌发 24 h, 粳稻的平均发芽率稍高于籼稻, 其中北方粳稻明显高于江苏粳稻和南方籼稻, 在萌发后期 (24~48 h), 这种差异逐渐变小。冯培煜等^[8]研究发现, 硬粒、圆粒、密度大的种子活力更高, 粳稻的强度普遍高于籼稻, 总体发芽率也更高。此外, 稻谷的发芽率还与种子的新鲜度和胚芽的完整程度有关^[9], R7 的发芽率明显偏低, 萌发 24 h 后发芽率低于 50%, 且其浸泡吸水率处于中间水平 (图 2), 可能是其成熟度不够时, 稻壳阻碍了水分与空气的交换^[10], 导致种子活力低, 但随萌发的进行 (≥ 48 h), 水分吸收充足, 其发芽率逐渐上升 ($\geq 80%$)。

2.1.2 稻谷吸水特性

16 种稻谷的吸水率和吸水速率, 结果分别如图 2 和图 3 所示。由图 2 可知, 稻谷浸泡吸水量的增长趋势基本一致, 随着浸泡时间的延长, 吸水量逐渐增长。如图 3 所示, 吸水过程总体特征是先快速吸水 (0~2 h), 而后吸水速率减缓 (2~8 h), 最后曲线趋于稳定 (18~24 h)。浸泡 2 h, 稻谷会快速吸收水分, 只有部分品种的吸水速率相对较慢。浸泡 4 h, 品种间吸水速率差距减少, 此时 R11 和 R12 仍处在较低水平。同属江苏粳稻, R2、R3、R4 和 R5 却比 R7 和 R8 的吸水速率更快。

水分是种子萌发的首要条件, 萌发从种子的吸胀开始, 只有种子细胞内自由水增多, 才有可能使种子中一部分贮藏物质变成溶胶, 同时使酶由结合状态转变为溶解状态而起催化作用^[11]。糙米裂纹率 (应力裂纹) 与糙米的吸水速率或糙米籽粒内部的水分梯度紧密相关, 其直接影响发芽糙米的品质。稻谷的吸水特性因品种的不同存在一定差异, 而其吸水率不仅受原料特性影响, 还与初始水分含量等因素有关^[12]。萌发前的吸水阶段将影响种子的萌发时间, 吸水速率快, 发芽速

度快。品种 R11 和 R12 在浸泡过程吸水速率较慢, 远低于其余品种, 不过其发芽率却较高, 尤其是 R12, 萌发 18 h 发芽率达 99%, 这可能与种子硬度和粒重有关, 种子萌发吸胀速率与种胚和内含物致密度等因素相关, 粒重更大的种子需要更多时间使种皮内物质软化, 水分进入其中所受到的机械阻力也相对更大, 影响种子的萌发质量^[13]。此外, 在早期阶段 (0~4 h), R15 的吸水率增率较缓, 这可能是导致其发芽速率 (表 2) 偏慢的原因。

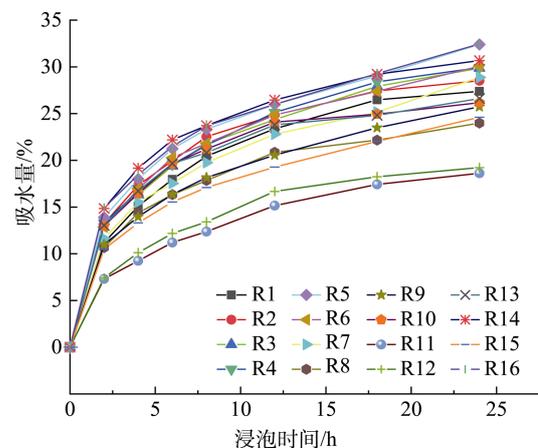


图 2 稻谷浸泡吸水量

Fig. 2 Water absorption of rice soaked

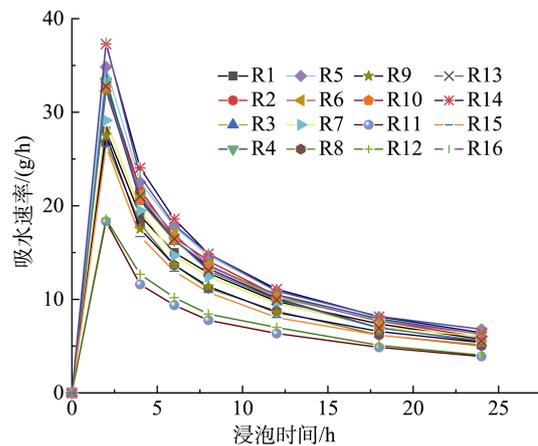


图 3 稻谷浸泡吸水速率

Fig. 3 Water absorption rate of rice soaking

2.2 糙米富化前后的 GABA 含量

根据 1.3.4 所述方法测定湿热空气富化前后糙米中的 GABA 含量, 结果如表 3 所示。

16 种稻谷的初始 GABA 含量为 17.32~82.36 mg/kg, 经湿热空气处理后, 稻谷 GABA 含量均明显上升, 约为富化前的 155%~950%。富

化前, 粳稻 R2、R7、R11 和籼稻 R14、R15 的 GABA 含量偏低, 为 17.32~53.91 mg/kg。富化后, 粳稻 R1 的 GABA 含量最高, 为 248.88 mg/kg, 其次是品种 R4。R16 富化前的 GABA 含量最高, 达 83.04 mg/kg, 但富化后仅为 131.00 mg/kg; R7 富化前的含量为 24.63 mg/kg, 富化后达 236.20 mg/kg, 说明富化前稻谷 GABA 含量并不能决定 GABA 富化效果。

在富化过程中, 酶的激活与作用是 GABA 积累的关键, Glu 是 GABA 合成的主要底物, GAD 是 GABA 生产的关键酶, 其活性影响 GABA 生成量, 另外, 如 α -淀粉酶、 β -淀粉酶等水解酶对高分子量聚合物的分解作用, 也能促进 GABA 的增加, 因此, 经湿热空气富化处理后的稻谷与原稻谷相比, GABA 含量均显著升高; 此外, 稻壳中保留的矿物质以及完整的籽粒胚体, 可以提供更大的水解酶活性, 进一步促进生物活性化合物的生成, 导致 GABA 的产量更高^[14]。不同品种 GABA 含量之间存在显著性差异, 如 GABA 初始含量最低的 R14 经湿热空气处理后, GABA 生成量显著高于 R13, 为 R15 的 146%, R16 的 281%, 这是因为不同品种的种子在面对胁迫时, 对外界的感知与应对能力存在差异^[15], 因此不同品种稻谷的 GABA 积累能力表现出了胁迫特异性的趋势。此外, 稻谷品质受到多方调控, 包括品种遗传特性, 以及地域、海拔、气候、土壤、水分等生态环境因子^[16]。例如, 结实期的温度及齐穗期日照

时数与稻谷中氨基酸含量呈负相关, 即温度过高或日照增加不利于氨基酸的形成与转运^[17], 因此种植地区的气候会影响稻谷的最终品质, 籼稻主要生长在高温高湿强光照的热带亚热带地区, 而粳稻适宜分布在气候温和的温带与热带亚热带的高海拔地区^[19]。富化前的粳稻 (R1~R12) 的 GABA 含量略小于籼稻 (R13~R16), 其中江苏粳稻 (R1~R8) 的 GABA 含量与南方籼稻接近, 且明显高于北方粳稻 (R9~R12), 而经湿热空气富化处理后, 粳稻的 GABA 含量增加明显, 显著高于南方籼稻, 其中江苏粳稻在 GABA 富化上的表现得更为突出。尽管环境生态因子导致的品质变化不容忽视, 但主要还是取决于稻谷的品种遗传特性。因此, 江苏粳稻可作为高 GABA 稻谷的稻谷来源, 其中品种 R1 和 R4 在 GABA 富化上表现突出。

进一步对 16 个稻谷品种富化后的 GABA 含量进行系统聚类分析, 如图 4 所示, 在欧式距离为 10 处可分为两大类: ①高 GABA 含量类 (182.38~248.88 mg/kg): 包括 R1、R4、R5、R7、R8 和 R10, 可用作 GABA 富化的优良品种; ②低 GABA 含量类 (109.11~167.24 mg/kg): 包括 R2, R13, R15 在内的 10 个品种, 该类品种较多, 占总参试品种的 62.50%, 包括 3 种江苏粳稻, 3 种北方粳稻和 4 种南方籼稻, 个别品种之间存在极显著差异性, 如 R13 富化后的 GABA 含量为 109.11 mg/kg, 极显著地低于该类其他品种。

表 3 糙米富化前后的 GABA 含量
Table 3 GABA content before and after brown rice enrichment

品种	GABA 含量 (mg/kg, 干基)		品种	GABA 含量 (mg/kg, 干基)	
	富化前	富化后		富化前	富化后
R1	42.90±0.04 ^{cde}	248.88±2.90 ^a	R9	25.51±0.75 ^g	132.82±12.36 ^{ef}
R2	29.20±0.85 ^{fg}	113.22±15.86 ^{ef}	R10	40.00±0.59 ^{def}	182.38±3.42 ^{cd}
R3	50.35±8.19 ^{cde}	155.63±13.92 ^{def}	R11	17.66±0.44 ^g	153.07±1.59 ^{def}
R4	41.65±1.32 ^{cdef}	244.32±5.32 ^a	R12	22.10±0.34 ^g	164.74±6.40 ^{dc}
R5	52.39±0.33 ^{cd}	213.86±0.61 ^{abc}	R13	67.20±8.48 ^b	109.11±18.67 ^f
R6	53.91±2.06 ^c	167.24±14.86 ^{cde}	R14	16.69±0.89 ^g	153.96±17.59 ^{def}
R7	24.63±0.46 ^g	236.20±4.78 ^{ab}	R15	26.40±0.09 ^g	119.52±15.72 ^{ef}
R8	39.56±3.47 ^{ef}	195.95±16.87 ^{bcd}	R16	83.04±0.97 ^a	131.00±14.07 ^{ef}

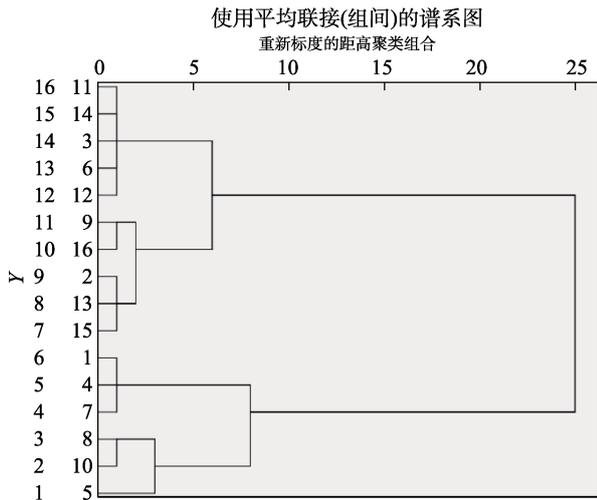


图 4 不同品种糙米 GABA 含量的聚类分析图
Fig.4 Cluster analysis of GABA content in brown rice of different varieties

2.3 糙米富化前后的 Glu 含量

在 GABA 富化过程中，Glu 为 GABA 合成的主要底物，采用高效液相色谱法对富化前后的稻谷 Glu 含量进行测定，结果如表 4 所示。

16 种稻谷的 Glu 初始含量为 1 226.48 ~ 2 137.46 mg/kg，富化后均大幅降低，为 745.52 ~ 1 359.95 mg/kg。GABA 的合成受到相关酶(GAD)活和底物(Glu)水平的共同调控，16 种稻谷经湿热空气处理后 Glu 含量明显下降，这表明该法促进了 Glu 向其他物质的转化，稻谷在高温的逆境环境下，Ca²⁺浓度增加，激活 GAD，进而导致 GABA 的积累^[18]。Glu 作为稻谷 GABA 生成的主要前体物质，初始含量高低影响着其 GABA 的富化效果，但不是唯一参考指标。此外，在糙米萌动过程中，激活后的蛋白酶水解糙米中的贮藏蛋白产生大量 Glu，因此其浓度受到蛋白水解酶活性的影响，而在其合成 GABA 的途径中，又需经

GAD 的调控，合成与转化的生理过程较为复杂，因此 Glu 的含量变化不适合作为评价 GABA 富化效果的关键指标。

2.4 糙米富化前后的 GAD 活性

GAD 是 GABA 主要合成途径中的关键酶，其活性将直接影响 GABA 的生成量，因此 GAD 常作为 GABA 积累效果的一个重要参考指标。分别对 16 种稻谷富化前后的 GAD 活性进行测定，结果如表 5 所示。

由表 5 可知，16 个品种的糙米富化后 GAD 活性均有所增加，富化前稻谷的 GAD 活性处于 0.13 ~ 1.61 U/100 g (干基) 之间，R1、R4 和 R5 的 GAD 活性处于较低水平，分别为 0.83、0.13 和 0.46 U/100 g；而 R6 和 R10 的 GAD 活性较高，分别为 1.61 和 1.52 U/100 g。富化后，R1 和 R4 的 GAD 活性较高，分别为 2.88 和 2.95 U/100 g，且其增量最高；而 R2 和 R13 较低，分别为 1.32 和 1.43 U/100 g，且其变化量最小。

在 GABA 富化过程中，稻谷在高温的逆境环境下，Ca²⁺浓度增加，激活 GAD，因此，富化后 GAD 活性增加。底物浓度影响 GAD 的活性，R1、R4 和 R5 3 个品种的 Glu 含量偏高(表 4)，在高温高湿的环境下进一步促进 GAD 的激活，使得富化后其 GAD 活性处于较高水平，并进一步促使 Glu 向 GABA 的转化，因此三者的 GABA 含量经富化处理后处于较高水平(表 3)。然而，当糙米内部谷氨酸浓度过高时会抑制 GAD 活性^[19]，因此，富化前 GAD 活性最高的 R6，由于其较高的 Glu 含量(表 4)，使其富化后 GAD 活性仅为 1.99 U/100 g。

表 4 糙米富化前后 Glu 含量

Table 4 Glu content before and after brown rice enrichment

品种	Glu 含量 (mg/kg, 干基)		品种	Glu 含量 (mg/kg, 干基)	
	富化前	富化后		富化前	富化后
R1	1 245.82±3.39 ^e	745.52±52.99 ^h	R9	1 421.29±67.70 ^{ef}	1 359.95±98.71 ^a
R2	1 732.21±3.63 ^{bc}	1 170.22±6.18 ^b	R10	1 311.24±45.78 ^{fg}	990.37±11.80 ^{cdefg}
R3	1 888.15±61.54 ^b	1 042.36±11.06 ^{bcd^{ef}}	R11	1 254.54±44.29 ^e	1 049.67±45.22 ^{bcd^e}
R4	1 515.81±23.74 ^{de}	877.89±17.58 ^{efgh}	R12	1 226.48±63.17 ^e	990.63±9.08 ^{cdefg}
R5	2 063.39±14.77 ^a	996.22±11.08 ^{bcd^{efg}}	R13	1 355.36±40.63 ^{fg}	863.39±39.95 ^{gh}
R6	2 087.46±47.39 ^a	1 114.43±31.56 ^{bc}	R14	1 265.53±43.68 ^{fg}	867.22±26.02 ^{fgh}
R7	1 306.09±9.84 ^{fg}	1 008.54±28.21 ^{bcd^{efg}}	R15	1 289.72±24.80 ^{fg}	886.16±26.16 ^{efgh}
R8	1 345.84±35.60 ^{fg}	1 079.15±27.88 ^{bcd}	R16	1 668.78±2.93 ^{cd}	933.65±18.82 ^{defg}

表 5 糙米富化前后 GAD 活性
 Table 5 GAD activity before and after brown rice enrichment

品种	GAD 活性 (U/100 g, 干基)		品种	GAD 活性 (U/100 g, 干基)	
	富化前	富化后		富化前	富化后
R1	0.83±0.02 ^e	2.88±0.04 ^a	R9	1.28±0.04 ^b	1.72±0.08 ^{defgh}
R2	1.03±0.07 ^{cde}	1.32±0.01 ^h	R10	1.52±0.15 ^a	1.90±0.17 ^{cdef}
R3	1.28±0.05 ^b	1.65±0.09 ^{defgh}	R11	1.18±0.07 ^{bcd}	1.90±0.02 ^{cdef}
R4	0.13±0.02 ^g	2.95±0.04 ^a	R12	0.96±0.05 ^{de}	1.78±0.02 ^{defg}
R5	0.46±0.01 ^f	2.03±0.14 ^{bcd}	R13	1.19±0.04 ^{bcd}	1.43±0.13 ^{gh}
R6	1.61±0.04 ^a	1.99±0.04 ^{bcde}	R14	1.20±0.05 ^{bc}	1.81±0.25 ^{cdefg}
R7	1.23±0.04 ^{bc}	2.38±0.04 ^b	R15	0.93±0.08 ^e	1.59±0.07 ^{fgh}
R8	0.97±0.01 ^{de}	2.18±0.06 ^{bc}	R16	1.23±0.06 ^{bc}	1.61±0.04 ^{efgh}

2.5 影响 GABA 富化效果的因素分析

由于 R1、R4、R5、R8 和 R10 的吸水速率 (< 8 h) 较快 (图 3), 使其表现出较好的发芽活性, 萌发 18 h 后的发芽率均能达到 80% 以上 (表 2), 具有较高的萌发速度, 这表明以上品种在同一条件下蛋白质的降解速度相对较快, 使其 GABA 的富化效果上占据时间优势^[20-21], 从而 R1、R4、R5、R8 和 R10 的富化效果较好 (表 3)。因此, 发芽率和吸水速率 (< 8 h) 可在一定程度上预测 GABA 的富化效果。同时, 由于水是激活酶的必要条件, R1、R4、R5 的吸水率处于较高水平, 使其 GAD 活性增加速度较快, 即使 R4 和 R5 的未富化前的 GAD 活性较低, 但其富化后的活性均高于 2.0 U/100 g, 而较高的 GAD 活性使 R1、R4 和 R5 的 GABA 富化效果较好, 因此, 富化后的 GAD 酶活是在筛选高 GABA 糙米制品专用稻时的代表性指标, 对影响 GABA 富化效果各因素的相关性分析也能证明这一点 (表 6)。

Glu 作为 GABA 合成的主要底物与关键酶 GAD 共同影响着 GABA 富化效果, 底物的浓度水平刺激着 GAD 的活性, 而底物浓度一定的情况下, 酶活越高, 越有利于 GABA 的形成。Xu 等^[22]研究发现, 随着萌发温度的升高, Glu 与 GABA 以及 GAD 和 GABA-T 活性的相关性逐渐降低, 但 GABA 与 GAD 和 GABA-T 活性一直呈强正相关, 因此种子在萌发过程中 GABA 含量的增加更可能归因于 GAD 和 GABA-T 活性的变化, 并非 Glu 浓度。并且, 在植物遭遇外界胁迫时, Glu 同 GABA 一样能缓解应激条件造成的不良影

响, 参与碳氮平衡的协调, 连接氨基酸代谢和 TCA 循环^[23]。本研究结果表明, 一种稻谷的 Glu 初始水平与其 GABA 富化能力关联有限 (表 6), 高 Glu 初始含量的稻谷也可能不适宜富化 GABA, 例如 R3 品种具有较高的 Glu 初始水平 (1 888.15 mg/kg), 而其 GABA 富化增量却没有展现出较大优势。由此可见, 基于其复杂的代谢途径, 可以认为 Glu 对 GABA 含量的影响有限。

粳稻中的 R2、R3 和 R6 的初始酶活与底物浓度均保持在中等偏上水平, 这与三者富化后 GABA 含量及 GABA 增量的表现保持一致。其中 R1 的酶活偏低, 而 Glu 消耗量略高, 富化后的 GABA 含量最高, R6 的酶活与底物浓度偏高, 但富化后的 GABA 提升量却略微低于 R7 和 R8, 这可能是由品种间存在的胁迫特异性引起的^[16], 这种特异性差异由基因遗传性决定, Lee 等^[24]发现, 由环境胁迫引起的 GABA 富化与 GAD 相关基因 PgGAD 的表达有关, 但在不同非生物胁迫下其表达模式存在差异, 这可解释不同稻谷品种之间的 GABA 富化效果差异性。有研究指出, GAD 活性与初始 Glu 含量的增加决定了最终的 GABA 浓度^[28], 但在本研究中发现, R3 品种具有较高的 Glu 初始水平 (1 888.15 mg/kg) 以及高 GAD 活性, 而其 GABA 富化增量却没有展现出较大优势。另外谷物种子萌发, 各类生理活动同时进行, 其中的作用机理以及物质间的相互影响较为复杂, 显然, Glu 浓度和 GAD 活性不能成为稻谷富化后 GABA 含量的唯一判断因素^[26]。种子吸水, 进入萌发状态时, 体内各种水解酶被激活, 这将会影

响淀粉、非淀粉多糖以及蛋白质的分解，从而导致单糖以及氨基酸的增加，稻谷品种间的代谢活性存在差异^[27-28]，在不同品种中的具体表现也并非一致。因此，选择合适的稻谷品种作为富化原料，更利于实现加温加湿法下的 GABA 的高产量，在所选的 16 个品种中，R4 的 GABA 含量及增量均处于较高水平，且表现出较好的发芽活力，和较快的吸水速率，有利于 GABA 的快速积累。

表 6 影响 GABA 富化效果因素的相关性分析
 Table 6 Correlation analysis of factors influencing GABA enrichment effect

相关性	富化后 GABA	发芽率 (18 h)	吸水速率 (8 h)	富化后 GAD	富化前 Glu
富化后 GABA	1				
发芽率 (18 h)	-0.267	1			
吸水速率 (8 h)	0.055	-0.029	1		
富化后 GAD	0.936**	-0.192	-0.026	1	
富化前 Glu	-0.042	0.25	0.465	-0.156	1

注：**表示在 0.01 级别（双尾），相关性显著。

Note: ** indicates significance at the 0.01 level (two-tailed).

3 结论

加温加湿法对稻谷 GABA 的富化效果明显，且粳稻显著优于籼稻，南粳 46（R4）是可用于 GABA 富化的优势稻谷品种。R4 富化后的 GABA 含量及增量均处于较高水平，而且具有较高的发芽率、吸水速率，在 GABA 的快速积累上占据时间优势。

浸泡后发芽率（前 18h）和吸水速率（8 h 内）可用于预测 GABA 的富化效果，富化后 GAD 活性可作为筛选高 GABA 含量稻谷品种的指标。吸水速率较快（< 8 h）、发芽率更高（前 18 h）的品种在 GABA 积累上有时间优势，而 GAD 活性较高的品种则具有速度优势，能够更高效地积累 GABA，兼具以上特点的 R1、R4 和 R5 等品种都有较好的 GABA 富化效果。

参考文献：

- [1] MA Y, TONG L, LI J, et al. Comparison of γ -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, 2020, 56 (4): 1562-1573.
- [2] THOMAS S, ANEEA E, PATHROSE B, et al. Augmentation of gamma amino butyric acid (GABA), antioxidant potential and nutrient qualities in germinated brown rice[J]. Food and Humanity, 2023, 1: 349-357.
- [3] REED R C, BRADFORD K J, KHADAY I. Seed germination and vigor: Ensuring crop sustainability in a changing climate[J]. Heredity, 2022, 128 (6): 450-459.
- [4] WANG S, ZHOU S, WANG 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).
- [5] ARIF M A R, AFZAL I, BÖRNER A. Genetic aspects and molecular causes of seed longevity in plants—a review[J]. Plants, 2022, 11(5).
- [6] DIAZ-MENDOZA M, DIAZ I, MARTINEZ M. Insights on the proteases involved in barley and wheat grain germination[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(9): 2087.
- [7] EL-MAAROUF-BOUATEAU H. The seed and the metabolism regulation[J]. Biology, 2022, 11(2): 168.
- [8] 冯培煜, 宋瑞连, 王春华. 玉米种子生产过程中发芽率降低的原因及预防措施[J]. 作物杂志, 2008(4): 105-107.
FENG P Y, SONG R L, WANG C H, et al. Causes and preventive measures of decreased germination rate in maize seed production[J]. Crop Journal, 2008(4): 105-107.
- [9] DE VITIS M, HAY F R, DICKIE J B, et al. Seed storage: maintaining seed viability and vigor for restoration use[J]. Restoration Ecology, 2020, 28: S249-S255.
- [10] LEMMENS E, MORONI A V, PAGAND J, et al. Impact of cereal seed sprouting on its nutritional and technological properties: A critical review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, 18(1): 305-328.
- [11] 谢丹, 蹇伟, 孙逸文, 等. 糙米浸泡吸水与微量吸水动力学比较研究[J]. 粮食科技与经济, 2022, 47(2): 97-100.
XIE D, JIAN W, SUN Y W, et al. Comparison on kinetics of water absorption of brown rice under micro-addition and immersion[J]. Grain Science and Economy, 2022, 47(2): 97-100.
- [12] 刘浩, 刘念析, 厉志, et al. 大豆种子萌发初期吸水规律及发芽特性研究[J]. 黑龙江农业科学, 2021(9): 19-23.
LIU H, LIU N X, LI Z, et al. Study on water absorption and germination characteristics of soybean seeds at the initial stage of germination[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2021(9): 19-23.
- [13] GAN R Y, CHAN C L, YANG Q Q, et al. Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains, sprouted grains[J]. Elsevier, 2019: 191-246.
- [14] BOR M, SECKIN B, OZGUR R, et al. Comparative effects of drought, salt, heavy metal and heat stresses on gamma-

- aminobutyric acid levels of sesame (*Sesamum indicum* L.)[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2009, 31: 655-659.
- [15] BENINCASA P, FALCINELLI B, LUTTS S, et al. Sprouted grains: A comprehensive review[J]. *Nutrients*, 2019, 11(2): 421.
- [16] 周广洽, 徐孟亮, 李训贞. 温光对稻米蛋白质及氨基酸含量的影响[J]. *生态学报*, 1997(5): 87-92.
- ZHOU G Q, XU M L, LI X Z, et al. Effects of ecological factors of protein and amino acids of rice[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1997(5): 87-92.
- [17] KINNERSLEY A M, TURANO F J. Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2000, 19(6): 479-509.
- [18] 曹晶晶, 顾丰颖, 罗其琪, 等. 发芽糙米 γ -氨基丁酸形成的谷氨酸脱羧酶活性与底物变化的相关性分析[J]. *食品科学*, 2018, 39(16): 47-52.
- CAO J J, GU F Y, LUO Q Q, et al. Correlation between changes in glutamate decarboxylase activity and γ -aminobutyric acid and glutamic acid contents in germinated brown rice[J]. *Food Science*, 2018, 39(16): 47-52.
- [19] 姜文, 姚大年, 张文明, 等. 小麦种子萌发过程贮藏蛋白变化及其与活力关系的研究[J]. *种子*, 2006(7): 16-19.
- JIANG W, YAO D N, ZHANG W M, et al. Study on relationship between seed vigor and storage protein in germinating wheat seeds[J]. *Seed*, 2006(7): 16-19.
- [20] UÇARLI C. Effects of salinity on seed germination and early seedling stage[J]. *Abiotic stress in plants*, 2020, 211(10.5772).
- [21] SUN Y, MEHMOOD A, BATTINO M, et al. Enrichment of gamma-aminobutyric acid in foods: From conventional methods to innovative technologies[J]. *Food Research International*, 2022, 162.
- [22] 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.
- [23] EPRINTSEV A T, SELIVANOVA N V, IGAMBERDIEV A U. Enzymatic conversions of glutamate and γ -aminobutyric acid as indicators of plant stress response[J]. *Nitrogen Metabolism in Plants: Methods and Protocols*, 2020: 71-78.
- [24] LEE J H, KIM Y J, JEONG D Y, et al. Isolation and characterization of a glutamate decarboxylase (GAD) gene and their differential expression in response to abiotic stresses from panax ginseng CA Meyer[J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37: 3455-3463.
- [25] 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(2): 556-560.
- [26] 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: 373-379.
- [27] LEE Y R, KIM J Y, WOO K S, et al. Changes in the chemical and functional components of Korean rough rice before and after germination[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2007, 16(6): 1006-1010.
- [28] SHAHIN ROOHINEJAD S R, HAMED MIRHOSSEINI H M, NAZAMID SAARI N S, et al. Evaluation of GABA, crude protein and amino acid composition from different varieties of Malaysian's brown rice[C]//UPM Invention, Research and Innovation, 2010. 
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。