高瑞楠, 许庆鹏, 王颖, 等. 低温等离子体联合 V_{B6} 和 V_C 胁迫对紫花芸豆发芽富集 γ-氨基丁酸的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(5): 119−127. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020282

GAO Ruinan, XU Qingpeng, WANG Ying, et al. Effect of the Enrichment of Gamma-Aminobutyric Acid in Germinating Purple Kidney Bean by the Cold Atmospheric Pressure Plasma Combined with V_{B6} and V_C[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(5): 119−127. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020282

· 研究与探讨 ·

低温等离子体联合 V_{B6} 和 V_C 胁迫对紫花芸豆发芽富集 γ-氨基丁酸的影响

高瑞楠[1], 许庆鹏[1], 王　颖[1,2,3,*], 赵自力[4], 李　冰[4]

（1.黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319;
2.国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江大庆 163319;
3.厦门海洋职业技术学院, 福建厦门 361100;
4.安徽省农业科学院皖北研究院, 安徽合肥 236658）

摘　要: 为探究低温等离子体（cold atmospheric pressure plasma，CAPP）联合 V_{B6} 和 V_C 胁迫对紫花芸豆发芽富集 γ-氨基丁酸（γ-aminobutyric acid，GABA）含量的富集作用及效果。本实验以紫花芸豆为原料，采用不同浓度 V_{B6} 溶液和 V_C 溶液联合低温等离子体发芽，考察不同浓度 V_{B6} 和 V_C 对低温等离子体处理的芽豆 GABA 富集量以及相关代谢酶活性的影响。结果表明：低温等离子体联合 V_{B6} 和 V_C 处理对发芽紫花芸豆富集 GABA 有促进作用；CAPP 联合 0.25 mg/mL V_C 处理后，在发芽 72 h 时 GABA 富集量为 10.05±0.93 mg/g。CAPP 联合 0.5 mg/mL V_{B6} 处理后，在发芽 72 h 时 GABA 富集量为 10.09±0.06 mg/g。通过对发芽 72 h 紫花芸豆相关酶活性分析，CAPP、V_{B6} 和 V_C 处理对谷氨酸脱羧酶（GAD）活性有促进作用，但对多胺氧化酶（PAO）活性有一定抑制作用。CAPP 联合 V_{B6} 以及 CAPP 联合 V_C 处理紫花芸豆发芽都是通过提高 GAD 活性和抑制 γ-氨基丁酸转氨酶（GABA-T）活性从而富集 GABA。研究表明 CAPP 联合 V_{B6} 和 V_C 胁迫对芸豆发芽富集 γ-氨基丁酸有促进作用，为生产富含高 GABA 食品提供理论参考。

关键词: 紫花芸豆, 发芽, 低温等离子体, γ-氨基丁酸, V_{B6}, V_C

中图分类号: TS214　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)05−0119−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020282

本文网刊:

Effect of the Enrichment of Gamma-Aminobutyric Acid in Germinating Purple Kidney Bean by the Cold Atmospheric Pressure Plasma Combined with V_{B6} and V_C

GAO Ruinan[1], XU Qingpeng[1], WANG Ying[1,2,3,*], ZHAO Zili[4], LI Bing[4]

（1.College of Food, Heilongjiang Bayi Agricultural Reclamation University, Daqing 163319, China;
2.National Research for Grain Engineering Technology, Daqing 163319, China;
3.Xiamen Ocean Vocational College, Xiamen 361100, China;
4.Anhui Academy of Agricultural Sciences Wanbei Research Institute, Hefei 236658, China）

Abstract: This study aimed to investigate the enrichment effect of cold atmospheric pressure plasma (CAPP) combined with V_{B6} and V_C on gamma-aminobutyric acid (GABA) content enrichment of purple kidney bean germination. The purple kidney beans were used as raw materials. The effects of different concentrations of V_{B6} and V_C on the GABA enrichment of

收稿日期: 2025−03−03

基金项目: 国家重点研发计划项目“杂粮产业链一体化示范”（2020YFD1001400）; 江淮杂粮产业工程技术研发创新基地项目（2025024）; 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目“杂粮主食化食品生产关键技术与高附加值产品开发”（ZDZX202106）。

作者简介: 高瑞楠（1999−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 粮食、油脂及植物蛋白工程, E-mail: gaoruinan0459@163.com。

*** 通信作者:** 王颖（1979−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏工程及食品质量安全, E-mail: wychen156@163.com。

germinated beans treated with cold atmospheric pressure plasma as well as the activities of related metabolic enzymes were investigated. The results demonstrated that the method of cold atmospheric pressure plasma treatment with V_{B6} and V_C promoted the enrichment of GABA in sprouted purple kidney beans. The GABA enrichment content reached 10.05±0.93 mg/g at 72 h of germination when treated with the CAPP combined with 0.25 mg/mL V_C. The GABA enrichment content reached 10.09±0.06 mg/g at 72 h germination when treated with CAPP combined with 0.5 mg/mL V_{B6}. Analysis of enzyme activities of germinated purple kidney beans at 72 h revealed that CAPP, V_{B6} and V_C treatments enhanced glutamate decarboxylase (GAD) activity while partially suppressing polyamine oxidase (PAO) activity. The combination of CAPP with V_{B6} and CAPP with V_C for the germination of purple kidney beans both enriched GABA by enhancing the activity of GAD and suppressing the activity of GABA transaminase (GABA-T). The result showed that the treatment condition had a promotion effect on the enrichment of GABA in the germination of kidney beans, and established a theoretical foundation for the production of high GABA rich food.

Key words: purple kidney bean; sprout; cold atmospheric pressure plasm; gamma-aminobutyric acid; vitamin B6; vitamin C

芸豆(kidney bean),生物学名为多花菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.),是一种营养价值很高的食用豆类[1]。其富含膳食纤维、淀粉、蛋白质、植物化学物质及微量元素[2]等多种活性组分,具有增强抗病能力、激活淋巴 T 细胞、促进脱氧核糖核酸合成等功能[3]。γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid, GABA)是一种非蛋白质氨基酸[4],是动物体内重要的抑制性神经递质[5],具有缓解焦虑、保肝护肾、降糖、降血压等多种生理功效[6−7]。GABA 在植物中作为一种逆环境生长因子,当豆类发芽生长阶段遭低温胁迫、盐胁迫、干旱和机械损伤等非生物型胁迫,GABA 会大量富集,抵御逆环境胁迫保护种子生长发芽。芸豆发芽过程中,植物种子内蛋白酶及谷氨酸经谷氨酸脱羧酶(GAD)、多胺氧化酶(PAO)等相关限速酶被激活,蛋白质开始水解,使得作为底物的 L-谷氨酸含量增加,进而为 GABA 合成提供了充足条件。在化学胁迫、物理胁迫和机械损伤等逆环境胁迫下,植物体内的γ-氨基丁酸含量明显升高[8]。

维生素 C(V_C)又名 L-抗坏血酸(ascorbic acid, AsA),是一种水溶性维生素。在植物体内,可以提高植株的抗病性同时能够帮助植物抵抗干旱、臭氧及紫外线的损伤,维持植物正常光合作用的进行。V_C 具有显著的抗氧化能力,被证实可有效提高植物对多种非生物胁迫的耐受性。申玉华等[9]的研究表明,外源 V_C 处理可促进盐胁迫下紫花苜蓿种子发芽,提高幼苗的内源 AsA,提高抗氧化酶活性,降低离子毒性。维生素 B6(V_{B6})是一种重要的辅酶,属于 B 族水溶性维生素,是维持人体健康和生理功能所必需的微量营养素,但人体自身不能合成,必须从食物中摄取。V_{B6} 具有抗氧化和抗炎等功能,对心脑血管疾病、糖尿病、癌症等多种疾病的治疗至关重要,在食品行业中具有重要的商业价值[10]。低温等离子体(cold atmospheric pressure plasma, CAPP)是在大气压力下产生的非热等离子体,CAPP 由于不使用低压设备而且易产生等离子体气体,避免了热处理对 GABA 的降解,可以一次性按分钟处理大批量样品,有利于工厂高效地生产高 GABA 芽豆。已有研究发现,等离子体和种子发芽之间的相互作用包括种皮改性,生物代谢反应等相关表达,对种子的发芽以及生物活性物质的合成[11]有促进作用,因此使用 CAPP 提高芽豆中生物活性成分是芽菜行业可持续发展的一项有前途的技术。CAPP 与维生素联合处理时,可协同强化 GABA 合成通路,在豆类发芽中实现更高效率的 GABA 富集。Chen 等[12]研究表明低温等离子体处理对发芽糙米中 GABA 含量变化具有显著影响,其 GABA 的含量达到最高为 28 mg/100 g。

研究表明,CAPP 技术在促进谷物中 GABA 积累方面展现出潜在效应,然而其在豆类发芽过程中的应用研究仍较为有限。相较于其他化学胁迫手段,维生素处理在促进植物 GABA 富集方面表现出显著优势,且因其安全性和有效性可作为理想的食品添加剂。然而,目前关于 CAPP 与维生素联合处理对发芽豆类中 GABA 富集影响的研究尚待深入。因此,本实验旨在探究 CAPP 单独处理以及 CAPP 协同维生素处理对发芽紫花芸豆 GABA 的影响。为低温等离子体技术结合外源因子胁迫紫花芸豆发芽富集 GABA 研究提供理论基础,为杂粮功效型食品的研发创制提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

芸豆(紫花芸豆) 黑龙江水清粮田农业发展有限公司;γ-氨基丁酸标准品(≥99.9%) 美国 Sigma-Aldrich 公司;硼酸钠溶液 北京索莱宝科技有限公司;β-巯基乙醇 阿拉丁生化科技股份有限公司;次氯酸钠溶液、苯酚(分析纯) 上海陆都化学试剂厂;植物多胺氧化酶(PAO)酶联免疫分析(ELISA)试剂盒、植物 γ-氨基丁酸转氨酶(GABA-T)酶联免疫分析(ELISA)试剂盒 上海酶联生物技术有限公司。

CB-A323B 豆芽机 佛山市顺德区嘉壕实业有限公司;CPS-1 型大气压冷等离子体杀菌机 南京屹润等离子科技有限公司;JM-30D-40 液晶单频超声波清洗器 广东洁盟超声实业有限公司;TU-1810PC 紫外/可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;UReader Eyex HS 光吸收全波长酶标

仪　杭州优米仪器有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　紫花芸豆单独处理　挑选大小一致且饱满无损坏的紫花芸豆，清洗后使用 3~5 倍体积蒸馏水以及不同浓度 V_C（0.25、0.5、0.75、1 mg/mL）和 V_{B6}（0.5、1.0、1.5、3 mg/mL）的培养液 30 ℃（避光）浸泡 12 h 后放入豆芽机。用蒸馏水（空白组）以及含不同浓度 V_C（V_C 组）（0.25、0.5、0.75、1 mg/mL）和 V_{B6}（V_{B6} 组）（0.5、1.0、1.5、3 mg/mL）的培养液（1 L 左右）在室温 25 ℃ 下培养发芽，24 h 取样一次，选择样品中 GABA 含量最高的发芽时间作为后续处理时间。培养期间保持充足的氧气，芸豆发芽后取出存放于−20 ℃，待测。

1.2.2　紫花芸豆低温等离子体协同处理　选取大小一致的紫花芸豆置于样品盒后塑封。将样品盒放在等离子体杀菌机移动平台上，设置极板距离 40 mm，处理条件为：电压 90 kV，频率 50 Hz，放电次数 20 次，放电时间 60 s/次。将低温等离子体处理后的紫花芸豆，使用 3~5 倍体积蒸馏水以及不同浓度 V_C（0.25、0.5、0.75、1 mg/mL）和 V_{B6}（0.5、1.0、1.5、3 mg/mL）的培养液 30 ℃（避光）浸泡 12 h 后放入豆芽机。用蒸馏水（CAPP 组）以及含不同浓度 V_C（CAPP+V_C 组）（0.25、0.5、0.75、1 mg/mL）和 V_{B6}（CAPP+V_{B6} 组）（0.5、1.0、1.5、3 mg/mL）的培养液（1 L 左右）在室温 25 ℃ 下培养发芽，取样 24 h/次，换液 4 h/次。培养期间保持充足的氧气，芸豆发芽后取出存放于−20 ℃，待测。

1.2.3　GABA 含量测定　γ-氨基丁酸（GABA）含量的测定参照 Zhang 等[13] 方法略有改进。新鲜紫花芸豆去皮后取 2.5 g 放在研钵中，用 40 mL 去离子水研磨，超声温度 30 ℃，超声功率 600 W，提取 2 h，8000 r/min 离心 10 min，取上清液备用。取上清液 1 mL，加入 1 mL 0.2 mol/L 硼酸钠缓冲溶液（pH9.0），2 mL 5% 苯酚溶液（w/v），1 mL 10% NaClO 溶液，充分混匀。沸水浴 10 min，冰水浴约 15 min，待溶液由黄色变成蓝绿色，稳定后加入 2 mL 60% 乙醇溶液，混合均匀后于 645 nm 波长下测定吸光度，计算样品中 GABA 含量。

$$X = \frac{C \times V \times N}{M}$$

式中：X 表示样品中 GABA 的含量（mg/g）；C 表示样品中 GABA 的浓度（mg/mL）；V 表示样品的稀释体积（mL）；N 表示稀释倍数；M 表示称取样品的质量（g）。

1.2.4　可溶性蛋白质含量测定　参照曲春香等[14] 的方法进行调整，取 1 g 发芽芸豆，加入 3 mL 0.1 mol/L 的 PBS 溶液进行匀浆抽提，4 ℃ 下浸泡 4 h，10000 r/min 低温离心 18 min，得到蛋白质粗提液。取 150 μL 粗提液，加 0.1 mol/L 的 PBS 溶液至 1 mL，后加入 4 mL 考马斯亮蓝 G-250 蛋白试剂，测定 OD_{595}；同时粗提液加水至 5 mL 做空白对照。

$$X = \frac{C \times V}{W}$$

式中：X 表示样品中可溶性蛋白的含量（mg/g）；C 表示根据标准曲线计算的待测样品蛋白浓度（mg/mL）；V 表示提取液总体积（mL）；W 表示样品鲜重（g）。

1.2.5　谷氨酸含量测定　参照陈景勇等[15] 方法稍作修改，分别吸取样品溶液 0.5 mL 和去离子水 4.5 mL 于试管中，各加入 1 mL 的茚三酮试剂和 pH7.0 的磷酸缓冲溶液，共 7 mL 充分摇匀。100 ℃ 水浴加热 15 min，常温后用紫外分光光度计于 568 nm 波长下进行检测。

$$X = \frac{C \times V}{W}$$

式中：X 表示样品中谷氨酸的含量（mg/g）；C 表示根据标准曲线计算的待测样品蛋白浓度（mg/mL）；V 表示提取液总体积（mL）；W 表示样品鲜重（g）。

1.2.6　GAD 活性测定　参考 Bai 等[16] 的方法进行改进。取 1 g 发芽芸豆鲜样去皮，吸干水分，加入 5 mL 提取液（2 mmol/L 乙二胺四乙酸、50 mmol/L 的磷酸钾缓冲液，0.2% β-巯基乙醇、0.2 mmol/L PLP 和 10% 丙三醇）于 4 ℃ 冰浴研磨，10000 r/min 低温离心 20 min，得到酶粗提液。取 1 mL 酶液，加入 1 mL 1% 谷氨酸溶液（pH5.9），将样品置于 40 ℃ 水浴锅中反应 2 h 进行孵育，95 ℃ 水浴 5 min 灭活终止反应，8000 r/min 离心 20 min，取上清液测定 GABA 含量，一个单位的 GAD 活性被定义为每分钟产生 1 μmol GABA 的酶的量。

$$X = \frac{\Delta C \times V}{T \times W \times \varepsilon}$$

式中：X 表示样品中 GAD 活性（U/g）；ΔC 表示反应前后 GABA 浓度差（μmol/mL，由标准曲线计算）；V 表示反应体系总体积（mL）；T 表示反应时间（min）；W 表示样品鲜重（g）；ε 表示单位换算系数（如 1 U=1 μmol GABA/min）。

1.2.7　PAO 活性测定　按照试剂盒使用说明书进行测定。

1.2.8　GABA-T 活性测定　按照试剂盒使用说明书进行测定。

1.3　数据处理

所有实验重复 3 次，结果以平均值±标准差表示，使用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行数据处理（P<0.05 为有显著性差异），Origin 2022 软件绘图。

2　结果与分析

2.1　空白组与 CAPP 处理组对紫花芸豆发芽过程中 GABA、谷氨酸、可溶性蛋白的影响

紫花芸豆发芽过程中 GABA 富集量的变化见

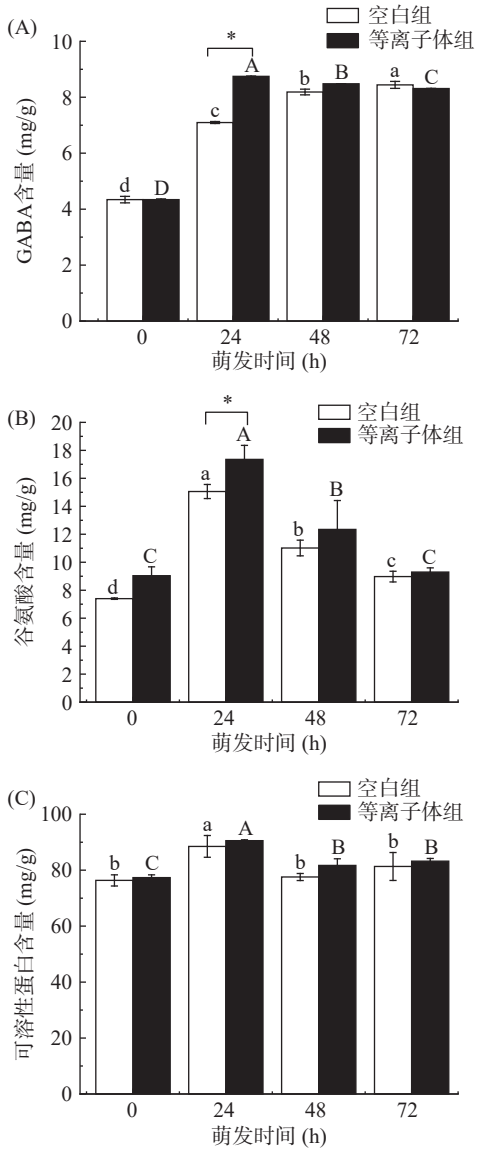


图 1 未处理与 CAPP 处理的紫花芸豆在发芽过程中 GABA、谷氨酸、可溶性蛋白的富集量

Fig.1 Concentration of GABA, glutamic acid and soluble protein in untreated and CAPP treated purple kidney beans during germination

注: 不同大小写字母表示同一处理条件不同发芽时间的样品之间结果具有显著性差异(P<0.05), *表示同一发芽时间不同处理条件的样品之间结果具有显著性差异(P<0.05), 图 2 同。

图 1A。0~72 h 发芽阶段, 空白组紫花芸豆 GABA 含量随发芽时间延长逐渐升高, CAPP 组紫花芸豆 GABA 含量随发芽时间延长先升高后降低; 在 CAPP 组中, GABA 在发芽 24 h 时的富集效果显著, 富集量达到 8.75 mg/g, 是空白组的 1.23 倍。分析是由于低温等离子体处理能够改变种子表面的构造和表面粗糙度, 从而引发种子湿润性的改变[17]。经过等离子体处理, 种皮与水之间的表观接触角显著缩小, 这导致了种子湿润性的显著提升[18−19], 从而促进种子萌发。Filatova 等[20] 在研究中发现, 等离子体有助于缩短种子的发芽时间, 并能加速种子的早熟过程。这表明在等离子体的作用下, 种子胚内的生命物质得到了激活, 种皮变得更加柔软, 从而提高了种子发芽的速率。Alves 等[21] 研究等离子体处理对豆子的珠孔和肺门的影响, 发现处理后增加了肺门的水分吸收且珠孔形态更加开放。研究表明, 低温等离子体处理能够激发种子细胞产生氧化应激反应, 进而通过激活抗氧化酶系统来促进活性物质的合成。

紫花芸豆发芽过程中谷氨酸含量的变化见图 1B, 等离子体处理后的谷氨酸在发芽 24 h 时含量达到最高。分析原因是发芽前期储能蛋白降解, 导致谷氨酸升高, 随着发芽时间延长, 谷氨酸下降是因为谷氨酸转化为氨基酸次生代谢物质, 如 GABA 等。多项研究证实, 谷氨酸可以增强植物的光合作用和呼吸功能, 以及提高植物的生长速率和干物质的积累。在番茄果实的研究中, Li 等[22] 发现, 经过 L-谷氨酸预处理的冷驯化植物能够提高 GLR3.3 和 GLR3.5 的转录水平, 从而增强了番茄在 4 ℃ 低温胁迫条件下的耐受性, 这进一步证明了 L-谷氨酸信号在植物低温胁迫条件下起到了关键作用。实验数据显示, 经过发芽 24 h 的等离子体处理后, 谷氨酸的含量显著高于未处理的空白组(P<0.05)。

紫花芸豆发芽过程中可溶性蛋白含量的变化见图 1C, 等离子体处理后的可溶性蛋白在发芽 24 h 时含量最高。可溶性蛋白在植物逆境适应中发挥重要作用, 通过参与渗透调节、保护细胞结构等机制帮助植物抵御环境胁迫[23]。刘军等[24] 发现高活力玉米种子胚蛋白的降解速率快, 萌发前期胚蛋白合成能力也较高, 而且种子活力与种子萌发时的新蛋白的合成及贮藏蛋白的降解速率一致, 在种子吸胀 24 h 后, 不同活力水平胚的蛋白合成能力差异显著。在其遭受化学压力的情况下, 它能够参与调整植物内部的渗透能力, 从而降低逆境对植物的损害, 低温和水质不佳都可能导致可溶性蛋白的生成[25]。某些研究指出, 采用等离子体处理能够减少丙二醛的含量和质膜的相对透性, 这有助于减轻盐胁迫对种子发芽和生长的不利影响[26]。研究结果揭示, 经过等离子体处理后, 发芽 24 h 内的可溶性蛋白含量有所提升, 且高于空白组。

2.2 外源因子/等离子体联合胁迫对发芽芸豆 GABA 含量的影响

2.2.1 V_C 胁迫以及协同 CAPP 胁迫对发芽芸豆 GABA 含量的影响 紫花芸豆萌芽过程中不同浓度 V_C 处理组的 GABA 富集量见图 2A。V_C 处理组的紫花芸豆随发芽时间的增加 GABA 含量变化呈现先升高后降低的趋势; 在发芽时间为 24 h, V_C 浓度为 0.75 mg/mL 时, GABA 富集量达到最高, 为 10.15 mg/g。从图 2A 可以看出, 发芽紫花芸豆中的 GABA 含量随着 V_C 浓度的增加先增高后降低, 当向培养液中加入 V_C 时, H^+的浓度增加, 有利于 L-谷氨酸脱羧而不利于 GABA 转氨, 导致发芽的紫花芸豆中 GABA 的大量累积[27]。当 V_C 浓度持续升高时, GABA 含量显著降低(P<0.05), 推测原因可能在于酸性环境使反应条件偏离了 GAD 酶的最适 pH。

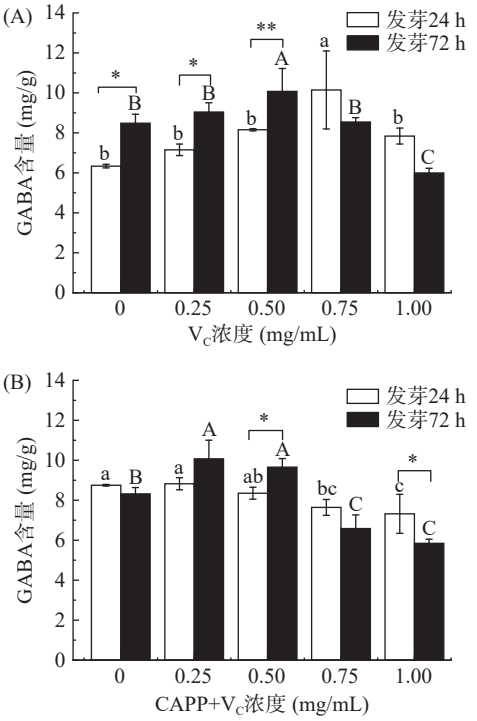


图 2　V_C(A)以及 CAPP 联合 V_C(B)对紫花芸豆富集 GABA 的影响

Fig.2　Effects of V_C (A) and CAPP combined with V_C (B) on GABA enrichment in purple kidney beans

注: *表示不同发芽时间相同处理条件的紫花芸豆之间结果具有显著性差异, *P<0.05, **P<0.01, 图 3 同。

V_C 浓度过高时, 可能会改变细胞膜电势, 阻碍谷氨酸底物转运, 限制 GABA 合成前体的供应, 导致富集 GABA 效果变差。V_C 浓度的改变不仅会改变植物体内的氧化还原状态, 还参与代谢调控机制[28], 有助于维护豆类种子发芽的正常生理过程, 并进一步影响 GABA 的合成和分解。张文刚等[29] 使用谷氨酸钠和抗坏血酸共同处理藜麦, 使其 GABA 的积累量达到了对照组的 2.26 倍。经过实验验证, 对于促进紫花芸豆中 GABA 富集的最佳 V_C 浓度是 0.75 mg/mL, GABA 含量为 10.15 mg/g。根据结果显示 V_C 浓度为 0.75 mg/mL 处理后 GABA 富集效果最好, 故而选择该组发芽芸豆进行后续酶活性测定。

紫花芸豆萌芽过程中在 CAPP 协同不同浓度 V_C 处理下 GABA 富集量的变化见图 2B。CAPP 协同 V_C 处理组的紫花芸豆随发芽时间的增加 GABA 含量变化呈现先升高后降低的趋势; 在发芽时间 72 h, 发芽紫花芸豆 GABA 含量明显高于单独使用 0.25 mg/mL 的 V_C 处理。分析可能是等离子体处理通过改变种子的代谢水平, 促进途径中相关酶的活性, 而协同 V_C 处理时, V_C 可中和部分 CAPP 产生的过量活性氧, 将氧化应激水平维持在最佳区间, 保留足够的 ROS 激活谷氨酸脱羧酶表达, 还可能通过改善其氧化还原稳态, 促进 V_C 的再生循环, 通过调节 GABA 合成代谢, 增强种子活力[30], 从而协同增加 GABA 含量。在协同低温等离子体处理后, V_C 作为强氧化剂可能清除了低温等离子体处理产生的活性氧, 但其过度消耗可能导致 GABA 合成通路的刺激减弱, 导致富集 GABA 效果变差。结果表明, 在发芽时间 72 h, 当等离子体处理后 V_C 浓度为 0.25 mg/mL 时, GABA 富集量达到最高, 为 10.05±0.93 mg/g, 是正常发芽的 1.19 倍。根据结果显示等离子体协同 V_C 处理后 V_C 浓度为 0.25 mg/mL 时 GABA 的富集效果达到最佳, 故而选择该组发芽芸豆进行后续酶活性测定。

2.2.2　V_{B6} 胁迫以及协同 CAPP 胁迫对发芽芸豆 GABA 含量的影响　紫花芸豆萌芽过程不同浓度下 V_{B6} 处理组 GABA 富集量的变化见图 3A, V_{B6} 处理组的紫花芸豆随发芽时间的增加 GABA 含量变化呈现先升高后降低的趋势; 分析是由于 V_{B6} 的出现可能与其在多个酶催化反应中的角色有关, 这有助于氨基酸的代谢和蛋白质的合成, 从而促进豆类的发芽。V_{B6} 作为磷酸吡哆醛(PLP)的前驱物, 可促使其与脱辅基蛋白结合, 进而激活 GAD[31], 加速脱羧反应, 提高 GABA 的含量。申迎宾[32] 在研究中发现, 1.0 mmol/L 的 V_{B6} 溶液浸泡豇豆, 可以使其 GABA 含量达到萌芽前的 1.5 倍。华艳[33] 对糙米中 GABA 的培养液组分进行了优化, 使得 GABA 的积累量能够达到 158.94 mg/100 g。实验证明, V_{B6} 能够显著增加 GABA 的含量。根据实验结果显示, 在发芽时间为 72 h, V_{B6} 浓度为 1 mg/mL 时, GABA 富集量达到最高, 为 10.26 mg/g。根据结果显示处理后 V_{B6} 浓度为 1 mg/mL 时 GABA 富集效果最好, 故而选择

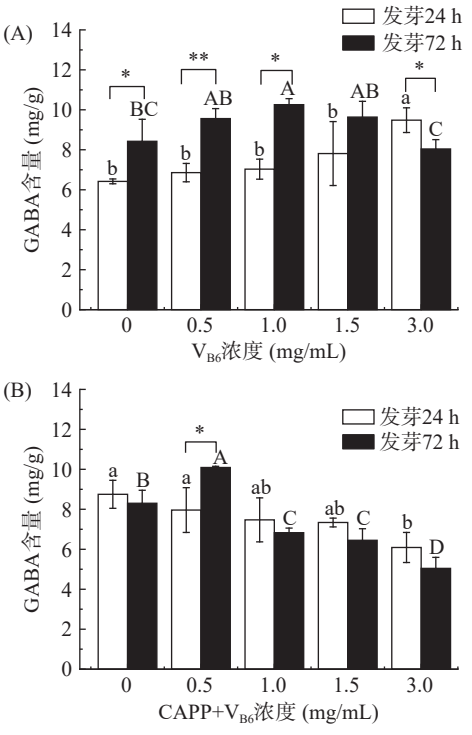


图 3　V_{B6}(A)以及 CAPP 联合 V_{B6}(B)对紫花芸豆富集 GABA 的影响

Fig.3　Effects of V_{B6} (A) and CAPP combined with V_{B6} (B) on GABA enrichment in purple kidney beans

该组进行后续酶活性测定。

紫花芸豆萌芽过程 CAPP 组与在 CAPP 协同不同浓度 V_{B6} 处理组下 GABA 富集量的变化见图 3B，CAPP 协同 V_{B6} 处理组的紫花芸豆随发芽时间的增加 GABA 含量变化呈现先升高后降低的趋势；分析是低温等离子体处理可能会激发种子细胞产生氧化应激反应，进而通过激活抗氧化酶系统来促进活性物质的生成。已有研究证实，低温等离子体处理能显著提升植物内源性 GABA 的含量[34]，而 V_{B6} 单独的作用则能激活发芽紫花芸豆中的 GAD 活性，进一步促进 GABA 的生成。经过 CAPP 与 V_{B6}（0.5 mg/mL）联合处理，发芽紫花芸豆中的 GABA 含量明显超过了 V_{B6}（0.5 mg/mL）单独处理后的样本。在 CAPP 协同作用下，低 V_C 浓度可以实现 GABA 的高富集，这表明低温等离子体处理对 GABA 含量的富集起到了关键作用。Chou 等[35] 研究表明，使用等离子体处理的绿豆中的 GABA 含量是未经处理组的大约 3 倍。在培养液中加入 V_{B6} 会对南瓜籽的 GABA 含量产生影响，当 V_{B6} 的浓度为 0.3 mmol/mL 时，GABA 的含量达到峰值[36]。实验结果显示，在发芽时间为 72 h，当等离子体处理后 V_{B6} 浓度为 0.5 mg/mL 时，GABA 富集量达到最高，为 10.09±0.06 mg/g，是正常发芽的 1.20 倍。根据结果显示 CAPP 协同处理后 V_{B6} 浓度为 0.5 mg/mL 时，GABA 富集效果最好，故而选择该组发芽芸豆进行后续酶活性测定。

2.3 等离子体结合外源因子胁迫对发芽芸豆 GAD 活性的影响

不同时间下不同处理条件发芽紫花芸豆 GAD 活性变化见图 4，在发芽 24 h 时，除 V_C 组外，其他不同条件处理组的 GAD 活性均高于 72 h 时，分析可能是低温等离子体处理破坏细胞膜的完整性，从而增加胞质中的 Ca^{2+}浓度，这进一步激活了谷氨酸脱羧酶并促进了 GABA 的合成，由此可以说明低温等离子体处理豆类可以显著提高发芽前期的 GAD 活性，这有助于芸豆中原有的谷氨酸进行脱羧反应，生成 GABA，进而导致 GABA 的含量上升。低温等离子体处理后产生的活性氧（ROS）和活性氮（RNS）可诱导氧化应激，激活植物防御响应，从而上调 GAD 表达并提高其活性。王中磊等[37] 的研究结果证实，芸豆中 GABA 的积累量与 GAD 活性之间存在明显的正相关关系，这一发现证实了 GAD 活性与 GABA 含量的变化趋势是一致的。在 GAD 的催化过程中，pH 是一个非常关键的变量[38]。在酸性环境下，GAD 的羧基端能够自由摆动。尽管 V_C 属于酸性，但 0.25 mg/mL 的 V_C 处理并没有影响到 GAD 活性。因此，只有高浓度的 V_C 才会促进 GABA 富集。V_{B6} 作为 GAD 辅酶的结构类似物，参与了酶的合成过程以增强 GAD 的活性。已有研究揭示了等离子体与种子发芽之间的互动关系，这种关系有助于生物活性物质的累积。Chou 等[35] 的研究表明，等离子体处理能够促进绿豆种子中 GAD 的表达，从而富集 GABA。Jannoey 等[39] 发现在萌发过程中，GAD 的活性随萌发时间显著增强，同时其蛋白表达水平也相应上调。活化的 GAD 通过高效催化谷氨酸脱羧反应，直接促进 GABA 的合成，其活性变化与 GABA 的积累量呈显著正相关，GAD 酶的激活是萌发过程中 GABA 积累的关键驱动。因此可得出低温等离子体联合 V_{B6} 和 V_C 胁迫在前期发芽时可以有效提高 GAD 活性。

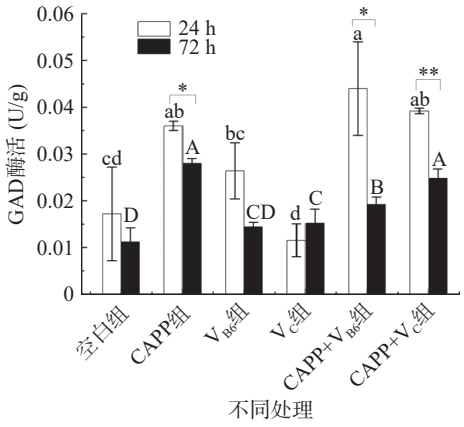


图 4 不同时间下不同条件对 GAD 活性的影响

Fig.4 Effects of different treatment conditions on GAD activity at different time

注：不同小写字母表示不同处理条件下萌发 24 h 紫花芸豆之间结果具有显著性差异（P<0.05）；不同大写字母表示不同处理条件下萌发 72 h 紫花芸豆之间结果具有显著性差异（P<0.05）；*表示同一处理条件下不同萌发时间之间结果具有显著性差异，*P<0.05，**P<0.01，图 5~图 6 同。

2.4 等离子体结合外源因子胁迫对发芽芸豆 PAO 活性的影响

不同处理条件对发芽紫花芸豆 PAO 活性的影响如图 5 所示，在发芽 24 h 和 72 h 时，PAO 酶活性随着紫花芸豆发芽时间延长而增大，可能是由于发芽后期，精胺和亚精胺的含量增加，导致 PAO 活性增长，但其中 CAPP 联合 V_C（0.25 mg/mL）处理组紫花

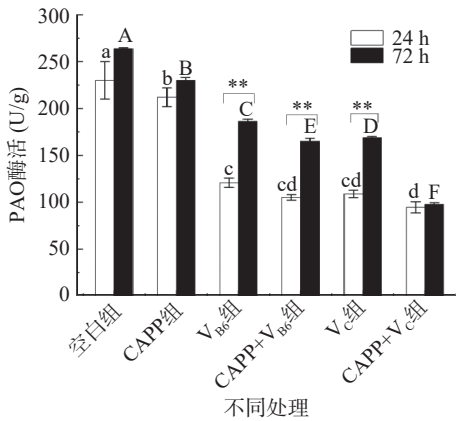


图 5 不同时间下不同处理条件对 PAO 活性的影响

Fig.5 Effects of different treatment conditions on PAO activity at different time

芸豆在时间的推移下 PAO 活性变化趋势不大。在发芽阶段，pH 和温度会对酶活性产生影响[40]，这会进一步导致 PAO 活性的变化。V_{B6} 和 V_C 胁迫有助于提高发芽后期 PAO 的活性，这可能是其作用引发的氧化应激会直接增加紫花芸豆种子内的氧化酶活性；通过协同低温等离子体处理，植物细胞膜的透性得到了改变，这有助于营养成分的吸收和代谢产物的排放，从而增强了植物的抗氧化性能[41]。因此，当低温等离子体与 V_{B6} 和 V_C 联合胁迫时，PAO 活性可以随着发芽时间得到进一步的增强，从而提高芸豆在这种胁迫环境下的抗氧化性能。因此，可得出低温等离子体联合 V_{B6} 和 V_C 胁迫可以提高发芽紫花芸豆发芽后期的 PAO 活性。

2.5　等离子体结合外源因子胁迫对发芽芸豆 GABA-T 活性的影响

不同处理条件对发芽紫花芸豆 GABA-T 活性的影响如图 6 所示。空白组 GABA-T 活性一直较高，V_C 和 CAPP 联合 V_C 组在萌发 24 h 时活性高于空白组，而 V_{B6}、CAPP 和 CAPP 联合 V_{B6} 组的 GABA-T 活性都低于空白组。在豆类萌发过程中，GABA-T 可分解 GABA 为琥珀酸半醛，琥珀酸半醛会转化琥珀酸参与到三羧酸循环中。添加 V_C 处理使 GABA-T 活性提高的原因是 V_C 处理促进种子萌发[42]，提高种子新陈代谢，加快三羧酸循环产生 ATP，从而间接促进 GABA-T 催化分解 GABA。而后期又下降可能是因为底物消耗过大导致活性降低。V_{B6} 处理导致 GABA-T 活性下降可能是在 V_{B6} 作用下增强了 GABA 转化为琥珀酸半醛的逆反应，由于正常萌发情况下，向 GABA 的降解方向反应，GABA-T 活性代表 GABA 的消耗速率。但由于该反应可逆，在逆反应增加的情况下，GABA 的消耗速率减弱进而 GABA-T 活性下降。CAPP 也具有抑制 GABA-T 活性的作用，推测这可能是等离子体处理对豆子产生伤害，这种伤害信号传递到细胞核，促进了 GABA 合成酶基因表达，抑制了 GABA-T 的基因表达。但由于相关文献报道，后续还要对 CAPP 对相关酶基因表达的影响进行深入研究。因此，结果表明，V_C 处理只提高了萌发前期 GABA-T 活性，而 CAPP 和 V_{B6} 处理都会抑制，从 GABA 富集角度考虑，抑制 GABA-T 活性有利于增加豆类 GABA 富集量。

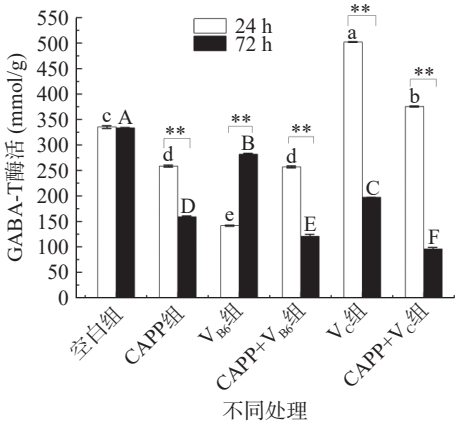


图 6　不同时间下不同处理条件对 GABA-T 活性的影响

Fig.6　Effects of different treatment conditions on GABA-T activity at different time

3　结论

本实验采用低温等离子体联合 V_{B6} 和 V_C 胁迫处理探究对紫花芸豆发芽富集 GABA 的影响，并进一步探索 GABA 合成路径中的关键代谢酶。实验结果显示，在紫花芸豆的发芽过程中，使用 CAPP 辅以 V_{B6} 和 V_C 进行处理，经过最佳优化条件的富集，低温等离子体协同 V_{B6} 处理后 GABA 含量是正常发芽的 1.20 倍；低温等离子体技术富集 V_C 处理后 GABA 含量是正常发芽的 1.19 倍，可有效提升 GABA 的富集水平，为杂粮豆类的合理利用和高 GABA 功能食品的研发提供了理论依据。但对于 CAPP 联合其他化学胁迫紫花芸豆发芽富集 GABA 的变化，尚未进行深入研究。为了更全面地理解紫花芸豆发芽富集 GABA 的机制，后续可对其进行研究。

© The Author(s) 2026. 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] MANUEL J G, NIKTE Y M, EDUARDO M, et al. Phaseolin, a protein from the seed of *Phaseolus vulgaris*, has antioxidant, antigenotoxic, and chemopreventive properties[J]. Nutrients, 2021, 13(6): 1750−1750.

[2] KAN L, NIE S, HU J, et al. Nutrients, phytochemicals and antioxidant activities of 26 kidney bean cultivars[J]. Food and Chemical Toxicology, 2017, 108(Pt.B): 467−477.

[3] 郑虹君, 朱叙丞, 李耀基, 等. 白芸豆功能成分、生物活性及其产品开发研究进展[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(12): 277−285. [ZHENG Hongjun, ZHU Xucheng, LI Yaoji, et al. Review of functional components, bioactivities and product development of white kidney bean[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2022, 37(12): 277−285.]

[4] WANG Y, LIU C, MA T, et al. Physicochemical and functional properties of gamma-aminobutyric acid-treated soy proteins[J]. Food Chemistry, 2019, 295: 267−273.

[5] KIM K, YOON H. Gamma-aminobutyric acid signaling in damage response, metabolism, and disease[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(5): 4584.

[6] KIM H Y, LEE S H, HWANG 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.

[7] 林杨, 唐琦勇, 楚敏, 等. γ-氨基丁酸的功能、生产及食品应用研究进展[J]. 中国调味品, 2021, 46(6): 173−179. [LIN Yang, TANG Qiyong, CHU Min, et al. Research progress on function, production and food application of γ-aminobutyric acid[J]. China Condiment, 2021, 46(6): 173−179.]

[8] 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.
[9] 申玉华, 徐振军, 李文辉, 等. 维生素 C 浸种对盐胁迫下紫花苜蓿种子发芽特性的影响[J]. 种子, 2009, 28(7): 42−44. [SHEN Yuhua, XU Zhenjun, LI Wenhui, et al. Effects of vitamin C soaking on germination of alfalfa seeds under different salinity stress[J]. Seed, 2009, 28(7): 42−44.]
[10] van den EYNDE M D G, SCHEIJEN J L J M, STEHOUWER C D A, et al. Quantification of the B_6 vitamers in human plasma and urine in a study with pyridoxamine as an oral supplement; pyridoxamineas an alternative for pyridoxine[J]. Clinical Nutrition, 2021, 40(7): 4624−4632.
[11] LIU H, ZHANG X, CUI Z, et al. Cold plasma effects on the nutrients and microbiological quality of sprouts[J]. Food Research International, 2022, 159: 111655.
[12] CHEN H H, CHANG H C, CHEN Y K, et al. An improved process for high nutrition of germinated brown rice production: Low-pressure plasma[J]. Food Chemistry, 2016, 191: 120−127.
[13] ZHANG Q, XIANG J, ZHANG L, 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.
[14] 曲春香, 沈颂东, 王雪峰, 等. 用考马斯亮蓝测定植物粗提液中可溶性蛋白质含量方法的研究[J]. 苏州大学学报(自然科学版), 2006(2): 82−85. [QU Chunxiang, SHEN Songdong, WANG Xuefeng, et al. Method research of measuring soluble protein contents of plant rough extraction using Coomassie Brilliant Blue[J]. Journal of Soochow University (Natural Science Edition), 2006(2): 82−85.]
[15] 陈景勇, 彭奇均. 紫外-可见分光法定量测定谷氨酸的比较[J]. 光谱实验室, 2008(3): 394−397. [CHEN Jingyong, PENG Qijun. Comparative study on determining glutamic acid by UV/visible spectrophotometry[J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2008(3): 394−397.]
[16] BAI Q, CHAI M, GU Z, et al. Effects of components in culture medium on glutamate decarboxylase activity and γ-aminobutyric acid accumulation in foxtail millet (*Setaria italica* L.) during germination[J]. Food Chemistry, 2009, 116(1): 152−157.
[17] 许庆鹏, 姜秀杰, 张家瑜, 等. 冷等离子体联合 L-谷氨酸与盐胁迫对红小豆萌发富集 γ-氨基丁酸的效果及工艺条件[J]. 食品工业科技, 2023, 44(22): 160−168. [XU Qingpeng, JIANG Xiujie, ZHANG Jiayu, et al. Effect and process conditions of cold plasma combined with L-glutamic acid and salt stress on germination and enrichment of γ-aminobutyric acid in adzuki bean[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(22): 160−168.]
[18] MCDONALD M B. Seed germination and seedling establishment[M]. Madison: American Society of Agronomy, 1994: 37-60.
[19] BORMASHENKO E, GRYNYOV R, BORMASHENKO Y, et al. Cold radiofrequency plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds[J]. Scientific Reports, 2012(2): 741.
[20] FILATOVA I, AZHARONOK V, KADYROV M. Rf and microvawe plasma application for pre-sowing caryopsis treatments [J]. Publication Astron Obs. Belgrade, 2010, 89: 289−292.
[21] ALVES JUNIOR C, de OLIVEIRA VITORIANO J, da SILVADL, et al. Water uptake mechanism and germination of *Erythrina velutina* seeds treated with atmospheric plasma[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 33722.
[22] LI H Z, JIANG X C, LÜ X Z, et al. Tomato GLR3.3 and GLR3.5 mediate cold acclimation-induced chilling tolerance by regulating apoplastic H_2O_2 production and redox homeostasis[J]. Plant Cell Environ, 2019, 42(12): 3326−3339.
[23] 陈蕾太. 逆境条件下小麦种子活力与主要相关酶活性及其基因表达的关系[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016. [CHEN Leitai. Relation of wheat seed vigor and main related enzyme activitiesand gene expression under stress conditions[D]. Tai'an: Shandong University of Science and Technology, 2016.]
[24] 刘军, 黄上志, 傅家瑞. 不同活力玉米种子胚萌发过程中蛋白质的变化[J]. 热带亚热带植物学报, 1999(1): 65−69. [LIU Jun, HUANG Shangzhi, FU Jiarui. Changes of embryo protein in maiz seeds with different vigours during germination[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2021(6): 9−14.]
[25] 郭元新. 盐和低氧胁迫下发芽大豆 γ-氨基丁酸富集与调控机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011. [GUO Yuanxin. Accumulation of γ-aminobutyric acid and its regulation mechanisms under NaCl and hypoxia stress in germinated soybean[D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2011.]
[26] 宋璟, 岑慧芳, 刘华玥, 等. 冷等离子体对作物种子处理效应的研究进展[J]. 作物杂志, 2021(6): 9−14. [SONG Jing, CEN Huifang, LIU Huayue, et al. Advances in cold plasma treatment effects on crop seeds[J]. Crops, 2021(6): 9−14.]
[27] 张磊, 白青云, 曹晓虹, 等. 米糠富集 γ-氨基丁酸的培养液组分优化[J]. 食品与发酵工业, 2008(7): 77−81. [ZHANG Lei, BAI Qingyun, CAO Xiaohong, et al. Optimization of culture solution compositions for γ-aminobutyric ccid accumulation in rice bran[J]. Food and Fermentation Industries, 2008(7): 77−81.]
[28] JOONGHYUK P, SEUNGCHUL L, GEUNTAE P, et al. Cytokinin-responsive growth regulator regulates cell expansion and cytokinin-mediated cell cycle progression[J]. Plant Physiology, 2021, 186(3): 1734−1746.
[29] 张文刚, 兰永丽, 赵萌萌, 等. 谷氨酸钠和抗坏血酸协同处理藜麦萌发富集 γ-氨基丁酸工艺优化及胆酸盐吸附能力研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 144−149,154. [ZHANG Wengang, LAN Yongli, ZHAO Mengmeng, et al. Optimization of the processes for γ-aminobutyric acid enrichment in germinated quinoa under co-treatment of sodium glutamate and ascorbic acid and its cholate adsorption capacity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(9): 144−149,154.]
[30] ABOU EL-GHIT, MOR HANAN. Effect of vitamin C pretreatment on germination, seedling growth and some metabolic activities of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L) under different temperatures[J]. Egyptian Journal of Botany, 2016, 56(2): 439−449.
[31] HUANG Y, SU L Q, WU J Y. Pyridoxine supplementation improves the activity of recombinant glutamate decarboxylase and the enzymatic production of γ-aminobutyric acid[J]. PLoS One, 2016, 11(7): e0157466−e0157466.
[32] 申迎宾. 萌芽豇豆富集 γ-氨基丁酸的特性、工艺及其合成酶酶学性质研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011. [SHEN Yingbin. γ-Aminobutyric acid-rich characteristics and technology in cowpea gerination and properties of GAD[D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2011.]
[33] 华艳. 糙米发芽工艺优化及应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2021. [HUA Yan. Optimization of brown rice germination process and application[D]. Tai'an: Shandong University of Science and Technology, 2021.]
[34] 徐开媛, 王默涵, 郑骁阳, 等. 环境胁迫与发芽协同调控植物内源性 γ-氨基丁酸富集的研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 361−370. [XU Kaiyuan, WANG Mohan, ZHENG Xiaoyang, et al. Research progress on synergistic regulation of endoge-

nous gamma-aminobutyric acid enrichment in plants by environmental stress and germination[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(22): 361−370.]

[35] CHOU Y J, CHENG K C, TING Y W, et al. Producing high quality mung bean sprout using atmospheric cold plasma treatment: Better physical appearance and higher γ-aminobutyric acid (GABA) content[J]. Journal of the science of food and agriculture, 2021, 101(15): 6463−6471.

[36] 白青云, 陈敏嫣, 张化贤, 等. 南瓜籽发芽富集 γ-氨基丁酸的培养条件优化[J]. 中国果菜, 2019, 39(5): 36−41. [BAI Qingyun, CHEN Minyan, ZHANG Huaxian, et al. Optimization of culture conditions for γ-aminobutyric acid accumulation by germination of pumpkin seed[J]. China Fruit & Vegetable, 2019, 39(5): 36−41.]

[37] 王中磊, 马玉玲, 王丽丽, 等. 湿热处理下富含 γ-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 Zhonglei, MA Yuling, WANG Lili, 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.]

[38] 张瑞姣, 杨鹏, 宫安东, 等. 微生物发酵生产 γ-氨基丁酸的研究进展[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2023, 36(1): 162−172. [ZHANG Ruijiao, YANG Peng, GONG Andong, et al. Research progress on the production of gamma-aminobutyric acid by microbial fermentation[J]. Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition), 2023, 36(1): 162−172.]

[39] JANNOEY P, NIAMSUP H, LUMYONG S, et al. γ-Aminobutyric acid (GABA) accumulations in rice during germination[J]. Chiang Mai J Sci, 2010, 37(1): 124−133.

[40] 李淑艳, 王建中. 萌发 pH 值对大豆种子蛋白质代谢的影响研究[J]. 种子, 2009, 28(6): 1−4,8. [LI Shuyan, WANG Jianzhong. Study the Effect of pH on protein metabolism during germination of soybean seed[J]. Seed, 2009, 28(6): 1−4,8.]

[41] LI M L, LI X A, Han C, et al. Physiological and metabolomic analysis of cold plasma treated fresh-cut strawberries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(14): 4043−4053.

[42] 程梓祺, 张惠忠, 王荣华, 等. 不同浓度的维生素 C 对不同品种的甜菜种子引发的影响[J]. 中国农学通报, 2024, 40(26): 15−21. [CHENG Ziqi, ZHANG Huizhong, WANG Ronghua, et al. Effects on initiation of different varieties of beet seeds: Different concentrations of vitamin C[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40(26): 15−21.]