

## 专题研究专栏

编者按:已有研究表明,全谷物摄入量与肥胖、糖尿病和肿瘤发病率呈负相关关系,然而全谷物健康效应机制及量效关系尚不清晰。本期的3项研究工作主要以燕麦、小米等代表性谷物为研究对象,借助模式动物、细胞模型等体内活性评价手段,阐明其健康效应背后的分子作用机制及量效关系。具体包括:燕麦 $\beta$ -葡聚糖-槲皮素复合物的制备及其对秀丽隐杆线虫寿命的影响、燕麦蒽酰胺的制备及其促肺癌细胞凋亡机制研究及不同摄入量小米对小鼠肠道菌群和短链脂肪酸的影响。期望本期内容能够为全谷物健康效应的科学主张提供一定的理论依据,并对全谷物膳食的推广发挥积极的促进作用。

(主持人:刘洁副教授)

doi:10.12301/spxb202100903

文章编号:2095-6002(2022)03-0034-09

引用格式:赵娇娇,司茜媛,张琨霖,等.燕麦 $\beta$ -葡聚糖-槲皮素复合物的制备及其对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J].食品科学技术学报,2022,40(3):34-42.



ZHAO Jiaojiao, SI Xiyuan, ZHANG Kunlin, et al. Preparation of complex of oats  $\beta$ -glucan and quercetin and its effect on lifespan of *Caenorhabditis elegans*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022,40(3):34-42.

## 燕麦 $\beta$ -葡聚糖-槲皮素复合物的制备及其对秀丽隐杆线虫寿命的影响

赵娇娇<sup>1</sup>, 司茜媛<sup>1</sup>, 张琨霖<sup>1</sup>, 刘欢欢<sup>1,2</sup>, 郭庆彬<sup>1,2</sup>,  
王昌禄<sup>1,2</sup>, 梁宏和<sup>3</sup>, 蒋爱民<sup>4</sup>, 李贞景<sup>1,2,\*</sup>

(1.天津科技大学食品科学与工程学院,天津 300457;

2.天津科技大学食品营养与安全国家重点实验室,天津 300457;

3.广西壮族自治区亚热带作物研究所,广西南宁 530001;

4.桂林原心达生物科技有限公司,广西桂林 541000)

**摘要:**为探究糖酚复合物的结构及功能特性,采用自由基催化、氢键吸附技术分别制备燕麦 $\beta$ -葡聚糖与槲皮素共价(COGQ)及非共价复合物(NOQ),利用高效排阻色谱、红外光谱和核磁共振等方法分析其结构特性,以秀丽隐杆线虫(简称线虫)为模型,研究复合物的抗衰老活性。高效排阻色谱显示,NOQ和COGQ的相对分子质量分别为354、349 kDa,两者相差不大;红外光谱显示,复合物在1660、1562、1243  $\text{cm}^{-1}$ 处有新的红外吸收峰,呈非晶态相,无定型状态;核磁共振表明,复合物在化学位移为6.5~8.5处可产生3个属于苯基质子的新质子信号,有3个单糖残基;抗衰老活性研究表明,与空白组相比,COGQ与NOQ均能显著提高秀丽隐杆线虫的平均寿命( $P < 0.05$ ),且两组中线虫体内的超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性均显著提高( $P < 0.01$ ),揭示两种复合物可能通过提高机体的抗氧化能力,进而发挥其延长寿命的功效。研究结果旨在为糖酚复合物的制备及新型食品抗氧化剂的开发提供参考。

**关键词:**燕麦 $\beta$ -葡聚糖;槲皮素;糖酚复合物;寿命;秀丽隐杆线虫

**中图分类号:**TS201.2;TS201.4

**文献标志码:**A

收稿日期:2021-12-24

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32072173);天津市教委科研计划项目(2018KJ093);桂林市科学研究与技术开发计划项目(20210225-4)。

第一作者:赵娇娇,女,硕士研究生,研究方向为食品加工与安全。

\*通信作者:李贞景,男,助理研究员,博士,主要从事农产品综合利用与加工方面的研究。

燕麦 $\beta$ -葡聚糖(oats  $\beta$ -glucan, OG)是一种葡萄糖的同聚物,具有抗氧化、降胆固醇、降血脂、抗病毒等多种生物活性<sup>[1-3]</sup>。近年来,有关OG延缓衰老的研究逐渐引起人们的关注。研究表明,OG可通过抑制脂质过氧化、提高机体的抗氧化能力达到延缓衰老的作用<sup>[4]</sup>。此外,OG因具有较简单的糖单元结构,呈线性并具有亲水基团,因此易与多酚交联从而加强其抗氧化活性<sup>[5-6]</sup>。

槲皮素(querletin, QE)是最丰富的黄酮类化合物之一,作为天然抗氧化剂在食品、医药、化妆品等行业有广泛的用途<sup>[7]</sup>。研究表明, QE具有促进细胞自我更新和分化的特性,可减轻人骨髓间充质干细胞的衰老<sup>[8]</sup>,被认为是一种抗早衰的药物。尽管大量文献报道QE抗氧化活性显著,但因溶解度低、提取过程中易流失,从而导致其生物利用度较低,因此在临床应用上受到限制。

天然糖酚复合物存在于多种植物中,目前已有从小球藻、马尾藻、紫菜、冷杉藻、迷迭香、百里香和马鞭草等植物中提取出高抗氧化活性糖酚物质的报道<sup>[9-11]</sup>。在糖酚的制备方面,壳聚糖和原花青素可通过自由基诱导制备出稳定性高、抗氧化活性好的糖酚复合物<sup>[12]</sup>;在应用方面,利用浆果多酚-黑木耳多糖复合物开发出的复合果汁饮料具有良好的抗氧化功能<sup>[13]</sup>。

此外,糖、酚作为人类食物的主要成分之一,在肠胃的消化过程中,两者极易形成复合物,但有关糖酚复合物的研究相对较少,导致对糖酚复合物的形成机制、消化特性和生物活性知之甚少。多酚在胃的酸性环境中是稳定的,但在小肠的中性和弱碱性环境下会被降解。多糖可包裹多酚,有效保护多酚在碱性条件下不被降解,并在肠液中缓慢而持久地释放。研究表明,糖酚交联为复合物后,可减少多酚在肠道环境中的降解,提高多酚在小肠中的渗透,甚至增加多酚在血液中的含量<sup>[14]</sup>。因此,亟需加强糖酚复合物的有关基础研究。

秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)结构简单、培养方便,是进行抗氧化、抗衰老研究最理想的模式生物之一。目前尚未见到有利用秀丽隐杆线虫研究糖酚互作的报道。

本研究以OG和QE为原料,通过自由基催化、氢键吸附的方法分别制备燕麦 $\beta$ -葡聚糖-槲皮素共价复合物(COGQ)与非共价复合物(NOGQ),研究其结构性及对秀丽隐杆线虫寿命的影响,以期为

糖酚复合物的制备及新型食品抗氧化剂的开发提供参考和借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

燕麦 $\beta$ -葡聚糖(AR 80%),分子质量为350 kDa,购于山东佰兴生物科技有限公司,经实验室醇沉纯化至AR 92%;槲皮素(AR 98%),购于上海生工生物有限公司;N2野生型秀丽隐杆线虫与OP50型大肠杆菌,天津科技大学保藏;无水乙醇、苯酚、透析袋、 $H_2SO_4$ 、 $NaNO_3$ 、 $CH_3OH$ 、二甲基亚砜、 $NaCl$ 、 $MgSO_4$ 、 $CaCl_2$ ,天津江天化工技术股份有限公司;胆固醇、抗坏血酸、蛋白胨,生工生物工程(上海)股份有限公司;5-氟尿嘧啶(5-FU),阿拉丁试剂(上海)有限公司。实验所用试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

PIVC 2-25 plus型真空浓缩仪,德国Christ公司;ITC 200型等温滴定量热仪、IS 50型傅里叶红外光谱仪,日本尼高利公司;Infinite 200 PRO型酶标仪,瑞士TECAN公司;Bruker Avance NEO型核磁共振波谱仪,布鲁克(北京)科技有限公司;Q 50型热重分析仪,美国TA仪器公司;SU 1510型扫描电子显微镜,天美(中国)科学仪器有限公司;HN-150Y型超声波破碎细胞仪,济南童鑫生物科技有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 OG的纯化与总糖含量测定

取1.0 g OG溶于10.0 mL蒸馏水,浓缩至1.0 mL,缓慢加入1.5 mL无水乙醇,4℃冷藏24 h,6000 r/min离心,收集上清液,旋蒸回收乙醇,冻干后4℃保存。按苯酚-硫酸法<sup>[15]</sup>测定OG总糖含量。

#### 1.3.2 NOGQ的制备

OG可通过氢键、疏水作用、范德华力等与QE结合,形成具有特异性强、可逆的NOGQ。QE酚羟基上的氢和葡聚糖醚键上的氧原子之间形成氢键,苯环作为交联葡聚糖凝胶羟基的电子供体<sup>[16]</sup>,使OG形成包封QE的结构从而形成NOGQ。

配制25 mg/mL OG溶液,60℃磁力搅拌4 h后,置于超声破碎细胞仪(18 kHz,600 W,每循环处理3 s,间歇2 s,共20个循环)降分子质量。利用DMSO助溶配制0.5 mg/mL QE溶液。将配好的OG与QE溶液置于超滤管,6000 r/min,20℃离心10 min,内管中沉淀即为NOGQ,冻干后,4℃保藏备用。

### 1.3.3 COGQ 的制备

OG 可通过自由基诱导、酶促和碳二亚胺交联等方法与 QE 发生共价相互作用<sup>[17]</sup>。QE 通过氧化作用生成醌,进而与 OG 分子间发生希夫碱反应或迈克尔加成反应<sup>[18]</sup>,最终生成 COGQ。

称取 1.0 g OG 溶于 100.0 mL 超纯水,加入 4.0 mL 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  抗坏血酸溶液,磁力搅拌 30 min,加入物质的量比为 0.1:1.0 的 QE ( $n_{\text{QE}}:n_{\text{OG}} = 1.0:0.1$ ),磁力搅拌 24 h,8 000 r/min 离心 10 min,保留沉淀,蒸馏水透析 72 h,去除多余的 QE,得到 COGQ,冻干后,4  $^{\circ}\text{C}$  保藏备用。

### 1.3.4 复合物相对分子质量的测定

采用高效排阻色谱(high performance size exclusion chromatography, HPSEC)法测定 OG、NOGQ、COGQ 的相对分子质量,条件为:流动相为 0.15 mol/L  $\text{NaNO}_3$  溶液,流速为 0.6 mL/min,检测温度为 40  $^{\circ}\text{C}$ ,并根据标准曲线计算出相对分子质量<sup>[19]</sup>。

### 1.3.5 复合物特殊官能团的分析

准确称量样品 1.0 mg 和干燥的 150.0 mg KBr,均匀混合后充分研磨,使用压片机在 30 MPa 下保持 30 s,得到透明状薄片后,进行背景扫描去除干扰,在 400 ~ 4 000  $\text{cm}^{-1}$  进行 32 次扫描得到红外光谱图<sup>[20]</sup>。

### 1.3.6 复合物糖苷键的分析

准确称量样品 40.0 mg 溶于 1 mL 重水( $\text{D}_2\text{O}$ ),反复冻融 3 次溶解于核磁管,利用 500 MHz 核磁共振波谱仪,在 25  $^{\circ}\text{C}$  记录  $^1\text{H-NMR}$ <sup>[21]</sup>。

### 1.3.7 复合物结合比的测定

配制 OG 溶液 1 mg/mL, QE 溶液 10 mg/mL,使用等温滴定量热仪测定热量变化曲线<sup>[22]</sup>。

### 1.3.8 复合物热降解特性的分析

准确称量样品 5.0 mg,置于氧化铝样品盘,氮气作为载气,30 mL/min,25 ~ 600  $^{\circ}\text{C}$ ,10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,根据时间和温度的函数,跟踪加热后剩余固体的质量,得到失重曲线<sup>[23]</sup>。

### 1.3.9 样品微观结构的观察

取少量样品均匀分散于粘有导电双面胶的样品台上,洗耳球吹走多余样品后,放入离子溅射镀膜仪中,在真空环境中做喷金处理后,放入样品室观察不同放大倍数下样品的微观结构。

### 1.3.10 线虫寿命实验

用 N2 野生型秀丽隐杆线虫研究寿命,以尿嘧啶缺陷型大肠杆菌(*E. coli* OP50)作为线虫食物,培养于线虫生长培养基(nematode growth medium,

NGM)上。将同期化至 L4 期线虫挑至含有 OP50 的 NGM 上(含 12.5 mg/L 5-FU),随机分为 4 组,分别为 OG 组、QE 组、COGQ 组、NOGQ 组,每组 3 板,每板 40 条。每日将活线虫转移至新培养基,记录寿命,直到线虫全部死亡。若挑针触动线虫无反应,则认为死亡,若线虫爬到培养皿壁干死,则从总数中剔除。实验重复 3 次并做寿命曲线。

### 1.3.11 线虫氧化应激实验

将同期化至 L4 期线虫挑至含有质量分数为 0.1% 过氧化氢的 NGM 平板,每隔 0.5 h 统计一次寿命,直到线虫全部死亡。其他条件同寿命实验。

### 1.3.12 线虫抗氧化酶活性的测定

收集同期化至 L4 期的线虫,培养方法同寿命实验,5 d 后用 PBS 冲洗线虫至 EP 管,每管约 2 000 条,反复洗涤 3 次后,再次加入 200  $\mu\text{L}$  PBS,于冰上匀浆,离心后取上清液。根据试剂盒方法测定超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性,实验重复 3 次。

## 1.4 数据处理

采用 Excel 2010 软件进行数据处理,采用 SPSS 26 软件做差异显著性分析。所有实验均重复 3 次,结果以平均值  $\pm$  标准差表示,采用 Origin 2019 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 COGQ、NOGQ 的结构与理化特性分析

#### 2.1.1 共价、非共价交联对复合物相对分子质量分布的影响

按照 1.3.4 方法测定复合物相对分子质量分布情况。以葡聚糖相对分子质量 1 万、4 万、7 万、50 万 Da 作为标准品,得到葡萄糖标准曲线回归方程  $y = -0.4616x + 11.522$ ,  $R^2 = 0.979$ 。以保留时间为横坐标,信号值为纵坐标,得到复合物的排阻色谱,见图 1。由图 1 可知,OG 组、NOGQ 组、COGQ 组的保留时间分别为 17.264、17.282、17.394 min,计算出相对分子质量分别为 355、354、349 kDa。复合物形成后,其表面的羟基与水形成刚性结构,内部只是形成疏水空腔或间隙<sup>[24]</sup>,并未改变其他结构,因而其相对分子质量变化不大。

#### 2.1.2 共价、非共价交联对复合物特殊官能团的影响

利用红外光谱技术,将已知官能团出现的吸收峰与未知化合物的吸收峰作比较。复合物的红外光谱(FI-IR)分析结果见图 2。由图 2 可知,OG 和 QE 的 FT-IR 谱图有典型特征峰,这些峰在 COGQ 和

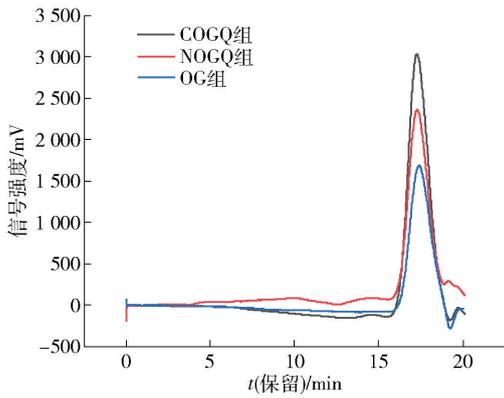


图1 复合物的高效排阻色谱

Fig. 1 HPSEC of composites

NOGQ 的光谱中也存在。OG 中  $1660\text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰为  $\text{C}=\text{O}$  的伸缩振动, 在  $1243\text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰为  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  的伸缩振动。QE 中  $1562\text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰为苯环骨架的  $\text{C}=\text{C}$  伸缩振动。COGQ 与 NOGQ 在  $1660\text{ cm}^{-1}$  处具有属于 OG 的  $\text{C}=\text{O}$  的伸缩振动, 在  $1243\text{ cm}^{-1}$  处具有属于 OG 的  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  的伸缩振动, 在  $1562\text{ cm}^{-1}$  处具有属于 QE 的苯环骨架的  $\text{C}=\text{C}$  伸缩振动。另外, NOGQ 与 COGQ 相比, 在  $3000\text{ cm}^{-1}$  处具有不饱和  $\text{C}-\text{H}$  伸缩振动。QE 在  $1000\sim 1700\text{ cm}^{-1}$  处存在强烈的吸收峰, 而 OG、COGQ、NOGQ 没有明显的峰, 表明这 3 种物质此时

是无定型状态。复合物中具有属于 OG 的羰基和醚键, 也具有属于 QE 的苯环骨架, 且 QE 中强烈的吸收峰在 COGQ、NOGQ 包封 QE 后信号减弱, 可能由于部分相关基团消失, 表明 OG 与 QE 存在化学键交联。

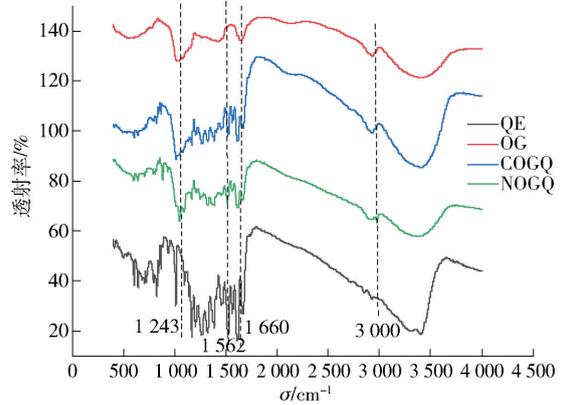


图2 复合物的红外光谱

Fig. 2 FT-IR spectra of composites

### 2.1.3 共价、非共价交联对复合物糖苷键的影响

$^1\text{H-NMR}$  可识别多糖结构中的糖苷键构型, 由于 OG 中的质子和复合物中的芳香氢、活泼的  $-\text{OH}$  基团质子在溶剂中易受到去屏蔽影响和各向异性效应的影响<sup>[25]</sup>, 因此通过重水交换, 可去除其他氢信号的干扰。复合物的核磁共振波谱见图 3。由图 3

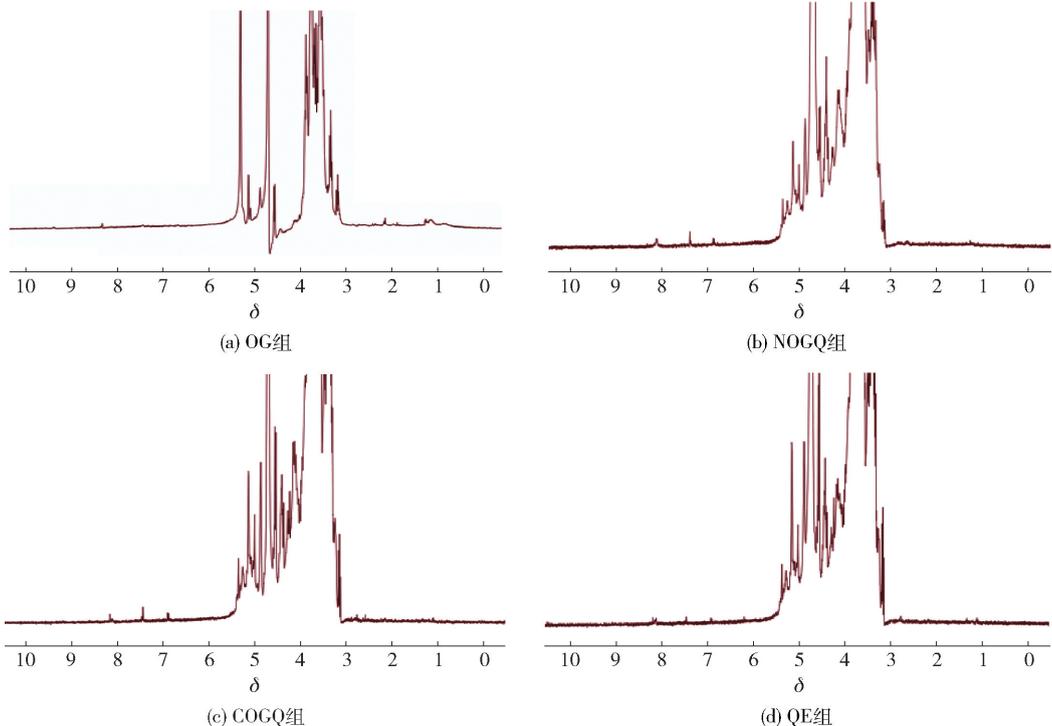


图3 各组样品的一维核磁共振波谱

Fig. 3  $^1\text{H-NMR}$  spectra of samples

(a)可知,OG的异头氢信号集中在化学位移4.5~5.5处,QE在化学位移6.5~8.5处有明显的3个芳香基质子信号[图3(d)];而共价、非共价复合物在化学位移4.5~5.5处出现了 $\alpha$ 型异头氢质子的信号峰,且在化学位移6.5~8.5处产生了3个属于QE的芳香基的新质子信号,与红外光谱的结果相符,进一步验证了QE被成功连接到OG的糖苷键上。

#### 2.1.4 共价、非共价交联对复合物结合比例的影响

利用等温滴定量热技术测定糖酚结合情况,实验结果见图4。由图4可知,随着滴定的进行,加热丝补偿给样品池和参比池的热量存在变化且逐渐减少并逐渐达到饱和状态,说明OG与QE可结合,每1 mol OG可结合4.5 mol QE。滴定过程是通过QE酚羟基上的氢和OG醚键上的氧原子之间形成氢键,苯环作为交联葡聚糖凝胶羟基的电子供体,通过氢键与范德华力的吸引形成复合物进而封装QE<sup>[26]</sup>。另外,复合物的热量变化随QE浓度的变化而变化,浓度过低,补偿热量高;而过量的QE可能会结合相邻的纳米颗粒,促进架桥絮凝和结构变形,从而进一步降低复合物的稳定性;当浓度适宜时,结合的复合物具有良好的稳定性。

#### 2.1.5 共价、非共价交联对复合物热降解特性的影响

利用热重技术可研究复合物的热降解特征,实验结果见图5。由5(a)可知,随着温度的升高,各物质的质量都呈现下降的趋势。由图5(b)可知,COGQ与NOGQ在100℃左右出现第一个明显的失重峰,可能是由于样品失去表层水分,同时失去结合水,造成质量略有下降;第二降解阶段集中在200~300℃,这一时期失重加快,由于原料中的化学结构

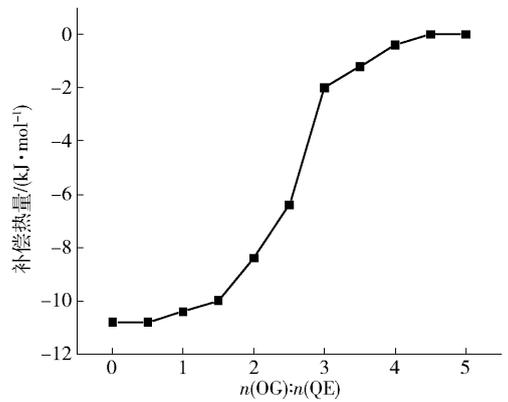


图4 复合物的结合比例

Fig. 4 Binding ratio of composites

发生降解,羰基和C—H键断裂,发生高分子降解,析出挥发物而导致质量下降<sup>[27]</sup>;第三个热降解阶段是300℃,这一阶段是由于原料发生了碳化而导致质量下降<sup>[28]</sup>,因此COGQ与NOGQ在300℃以下不易降解。

#### 2.1.6 共价、非共价交联对复合物微观结构的影响

扫描电子显微镜是观察物体微观结构最直接的手段,通过放大300、500、900倍,可以清楚地观察到样品呈现出的表面结构(图6)。由图6可见:OG组物质较为分散,菱角锋利,大小不一,呈分散的颗粒状;QE组物质结合疏松,呈丝状或线条状;COGQ组物质结构较为致密,呈光滑卷曲状;NOGQ组物质较为平整,连接紧密,呈凹凸状。COGQ、NOGQ在包埋QE之后,与可溶性OG相比,复合物结构更为致密,推测可能是因为复合物经过化学键的连接,分子间作用力增强而呈现。复合物组表面不规则的形状和粗糙度可能是因为样品在冻干时用极少量的水溶解后,没有被很好地水化而直接吸附在样品台,导致呈聚集状。

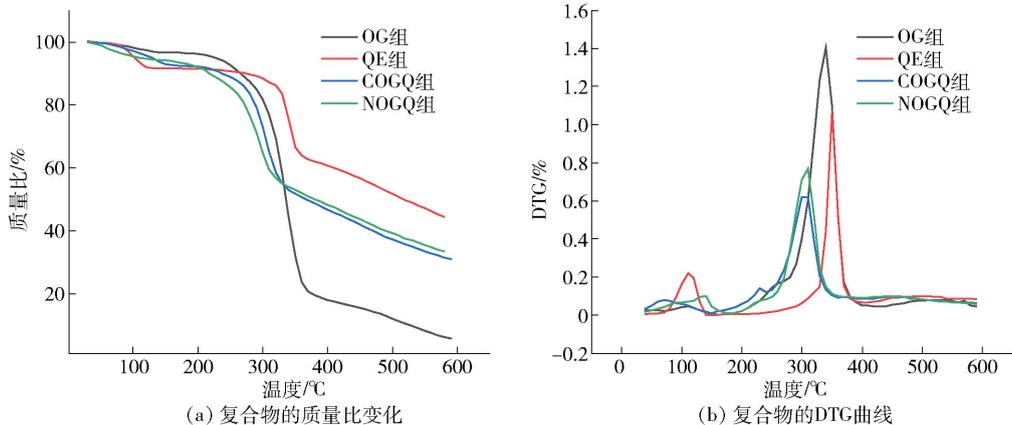
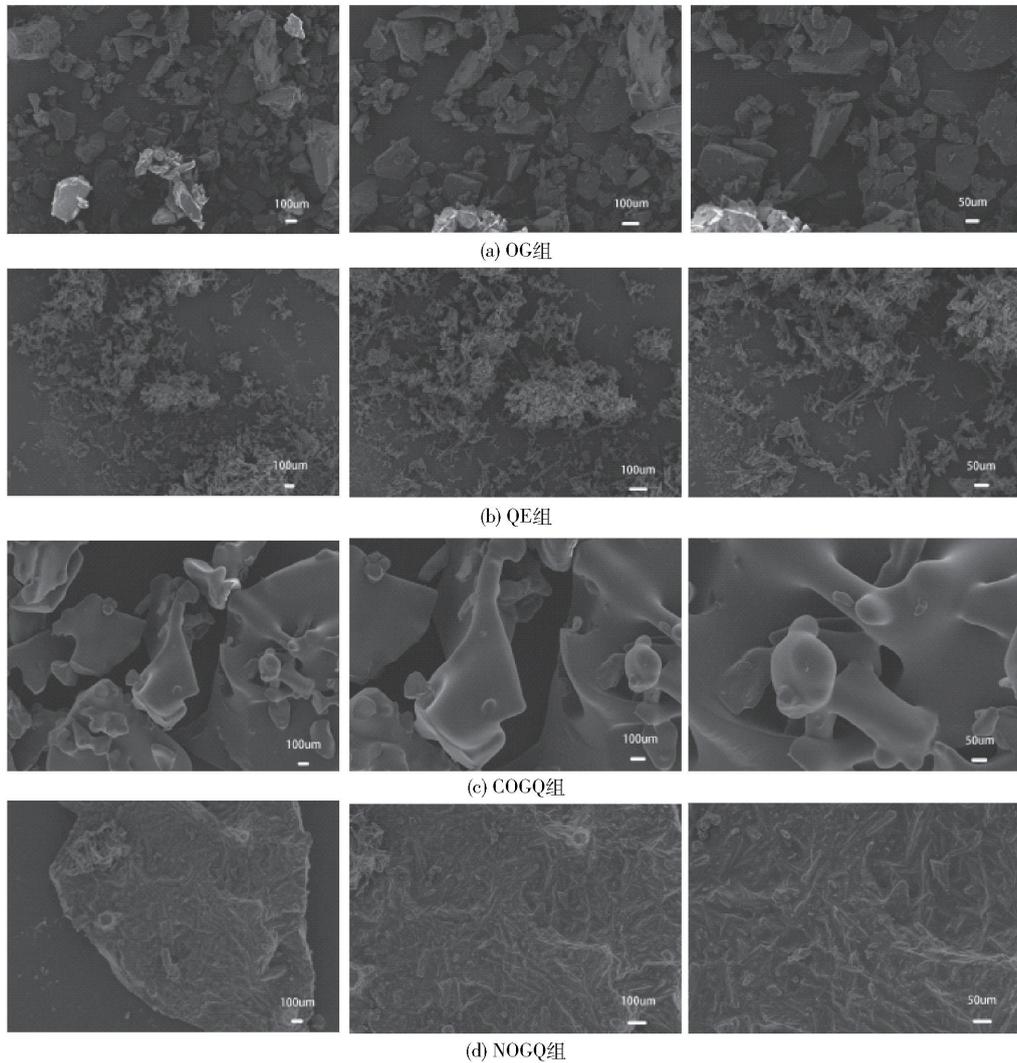


图5 复合物的热降解特性曲线

Fig. 5 Thermal degradation characteristic curve of composites



同行图片从左至右放大倍数依次为 300、500、900 倍。

图6 各组样品的微观结构

Fig. 6 Microstructure of each group of samples

## 2.2 COGQ、NOGQ 对线虫衰老的影响

### 2.2.1 复合物对线虫寿命与氧化应激的影响

为研究复合物对线虫寿命的影响,将 OG、QE、COGQ、NOGQ 喂食线虫后,观察线虫存活时间,实验结果见表 1。由表 1 可知,COGQ 组与 NOGQ 组较空白组寿命有所延长。NOGQ 组线虫平均寿命为  $(17.70 \pm 1.63)$  d ( $P < 0.05$ ),最长寿命为  $(27.33 \pm 0.85)$  d ( $P < 0.01$ ),其中最长寿比空白组延长 17.95%,表明复合物能有效延长线虫寿命。

氧化应激可反映线虫清除氧化自由基,维持自由基和氧化应激系统动态平衡的能力,实验结果见表 2。由表 2 可知,COGQ 组与 NOGQ 组的线虫较空白组寿命有所延长。NOGQ 组线虫平均寿命为  $(3.76 \pm 0.35)$  h ( $P < 0.05$ ),最长寿命为  $(4.72 \pm$

表 1 复合物对线虫寿命的影响

Tab. 1 Effect of composites on lifespan of *C. elegans*

组别	平均寿命/d	最长寿命/d
空白组	$14.11 \pm 1.25$	$23.17 \pm 0.54$
OG 组	$16.14 \pm 0.82^*$	$24.53 \pm 0.28^*$
QE 组	$19.03 \pm 1.25^*$	$27.84 \pm 0.93^{**}$
COGQ 组	$16.34 \pm 0.94^*$	$26.07 \pm 0.47^*$
NOGQ 组	$17.70 \pm 1.63^*$	$27.33 \pm 0.85^{**}$

各组样品质量浓度均为 0.5 mg/mL; \* 表示与空白组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示与空白组相比差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

$0.40)$  h ( $P < 0.01$ ),其中最长寿比空白组延长 12.23%,表明复合物在氧化应激方面有好的效果。由于多糖与多酚交联后,多糖包埋多酚,可能会降低多酚的抗氧化潜能,因此表 2 中出现复合物延长寿命效果低于多酚的现象。

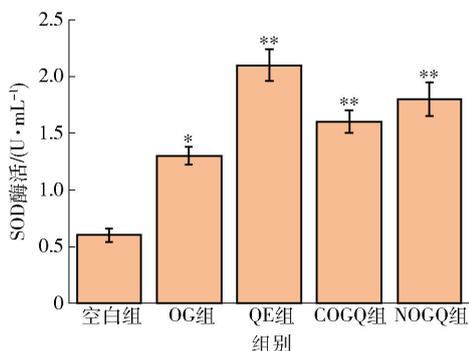
表2 复合物对线虫氧化应激的影响

Tab.2 Effects of composites on oxidative stress of *C. elegans*

组别	平均寿命/h	最长寿命/h
空白组	3.35 ± 0.37	4.18 ± 0.21
0.5 mg/mL OG 组	3.42 ± 0.28 *	4.35 ± 0.25 *
0.5 mg/mL QE 组	3.84 ± 0.31 *	4.83 ± 0.32 **
0.5 mg/mL COGQ 组	3.55 ± 0.20 *	4.54 ± 0.29 *
0.5 mg/mL NOGQ 组	3.76 ± 0.35 *	4.72 ± 0.40 **

各组样品质量浓度均为 0.5 mg/mL; \* 表示与空白组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示与空白组相比差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

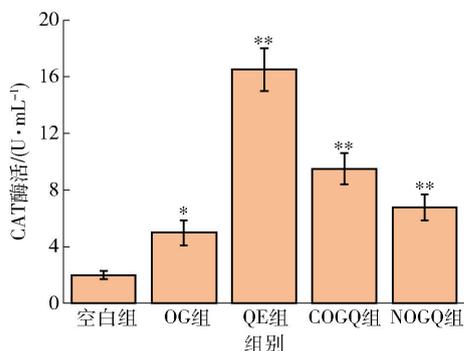
复合物延长线虫寿命还可能与胰岛素-1 信号通路有关<sup>[29]</sup>, 此信号通路是调节生物个体衰老最重要的信号通路之一。daf-16 基因在线虫中属于胰岛素信号通路中的关键基因, 在人类身上可以找到其所在信号通路的同源基因。目前已有大量文献报道, 通过提供特定的营养素可调控 daf-16 基因, 延缓寿命<sup>[30-32]</sup>。



(a) 复合物对线虫体内SOD活性的影响

## 2.2.2 复合物对线虫体内 SOD 和 CAT 酶活性的影响

机体内自由基的过多积累会破坏细胞结构进而导致细胞衰老甚至死亡。SOD 是目前已知的唯一能直接清除超氧自由基的专一酶, CAT 也是分解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的专用酶。提高 SOD 和 CAT 的活性可以清除体内多余的自由基, 并可潜在地延长寿命<sup>[33-34]</sup>。图 7 显示了复合物对线虫体内 SOD 和 CAT 酶活性的影响, 由图 7 可知, 与空白组相比, NOGQ 组 SOD 酶活极显著提高 ( $P < 0.01$ ), COGQ 组 CAT 酶活极显著提高 ( $P < 0.01$ )。由于多糖与多酚的相互作用对多酚清除自由基、提高 SOD 与 CAT 酶活有掩蔽作用, 因此会降低多酚的抗氧化潜能, 出现复合物抗氧化效果低于多酚的现象<sup>[35]</sup>。研究表明, 复合物可提高机体抗氧化酶活性, 同时也就具有抑制及清除自由基的作用, 这与氧化应激实验的结果一致。



(b) 复合物对线虫体内CAT活性的影响

\* 表示与空白组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示与空白组相比差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

图7 复合物对线虫体内 SOD 和 CAT 活性的影响

Fig.7 Effect of composites on SOD and CAT activity of *C. elegans*

## 3 结论与展望

本研究采用氢键、范德华力吸附制备 NOGQ, 利用自由基移植催化反应制备 COGQ, 表征复合物的化学性质并利用秀丽隐杆线虫评价复合物延缓衰老的作用。实验发现, 复合物经过交联后相对分子量较 OG 变化不大, 呈非晶无定型状态, 在 300 °C 以下稳定, 微观结构致密。复合物能提高线虫的平均寿命和最长寿命, 能有效提高机体抗氧化应激能力及抗氧化酶的活性。研究结果旨在为糖酚复合物制备及新型食品抗氧化剂的开发提供参考。本研究初步探索了糖酚复合物的抗衰老活性, 今后可研究不同结合度、不同侧链、不同类型的糖苷键复合物, 进一步探索其结构与活性的关系。

## 参考文献:

- [1] DONG J L, ZHANG W L, LIN J, et al. The gastrointestinal metabolic effects of oat product based-beta-glucan in mice [J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(3): 917-924.
- [2] CHOROMANSKA A, LUBINSKA S, SZEWCZYK A, et al. Mechanisms of antimelanoma effect of oat beta-glucan supported by electroporation [J]. Bioelectrochemistry, 2018, 123: 255-259.
- [3] CHOROMANSKA A, LUBINSKA S, SZEWCZYK A, et al. Mechanisms of antimelanoma effect of oat beta-glucan supported by electroporation [J]. Bioelectrochemistry, 2018, 123: 255-259.
- [4] 徐超. 燕麦 β-葡聚糖的体内代谢和抗运动疲劳作用机制研究[D]. 杨陵:西北农林科技大学, 2013.

- XU C. The metabolic and anti-fatigue effects and mechanisms of oat  $\beta$ -glucan on endurance exercise-induced fatigue[D]. Yangling: Northwest Agriculture & Forestry University, 2013.
- [5] KIM H J, WHITE P J. *In vitro* digestion rate and estimated glycemic index of oat flours from typical and high beta-glucan oat lines [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(20): 5237–5242.
- [6] WANG Y X, LIU J, CHEN F, et al. Effects of molecular structure of polyphenols on their noncovalent interactions with oat beta-glucan[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(19): 4533–4538.
- [7] SAUL N, PIETSCH K, MENZEL R, et al. Quercetin-mediated longevity in *Caenorhabditis elegans*: is *daf-16* involved? [J]. Mechanisms of Ageing and Development, 2008, 129(10): 611–613.
- [8] CHERNIACK E P, CHEKURI S, LEE H F. Potential non-neoplastic applications for polyphenols in stem cell utilization[J]. Current Drug Targets, 2019, 20(3): 347–353.
- [9] OKEMOTO A, UEYAMA K, TANIYA K, et al. Direct oxidation of benzene with molecular oxygen in liquid phase catalysed by heterogeneous copper complexes encapsulated in Y-type zeolite [J]. Catalysis Communications, 2017, 100: 29–32.
- [10] SHEN H L, ZHANG J J, GUO C S, et al. Characterization and optimization of hydrothermal extraction of quercetin from quercus leaves using response surface methodology[J]. Canadian Journal of Chemical Engineering, 2022, 100(3): 598–606.
- [11] ARAIN M B, YILMAZ E, HODA N, et al. Magnetic solid-phase extraction of quercetin on magnetic-activated carbon cloth (MACC) [J]. Journal of the Iranian Chemical Society, 2019, 16(7): 1365–1372.
- [12] YU X Q, JING Y J, JIANG Y Y. Preparation of proanthocyanidin-chitosan complex and its antioxidant and antibacterial properties [J]. Iranian Polymer Journal, 2018, 27(9): 653–661.
- [13] 樊梓鸾, 林秀芳, 王振宇. 黑木耳多糖与浆果多酚的协同抗氧化研究 [J]. 现代食品科技, 2015, 31(12): 166–171.  
FAN Z L, LIN X F, WANG Z Y. Synergistic antioxidative effect of berry polyphenols with auricularia auricular polysaccharides[J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(12): 166–171.
- [14] HU B, LIU X X, ZHANG C L, et al. Food macromolecule based nanodelivery systems for enhancing the bioavailability of polyphenols[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2017, 25(1): 3–15.
- [15] ZEMLJIC L F, STENIUS P, LAINE J, et al. Topochemical modification of cotton fibres with carboxymethyl cellulose[J]. Cellulose, 2008, 15(2): 315–321.
- [16] VAN OSS C J. Long-range and short-range mechanisms of hydrophobic attraction and hydrophilic repulsion in specific and aspecific interactions [J]. Journal of Molecular Recognition, 2003, 16(4): 177–190.
- [17] LOVAT P E, RANALLI M, CORAZZARI M, et al. Mechanisms of free-radical induction in relation to fenretinide-induced apoptosis of neuroblastoma[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2003, 89(4): 698–708.
- [18] YANG X, NIU X H, MO Z L, et al. Electrochemical chiral interface based on the Michael addition/Schiff base reaction of polydopamine functionalized reduced graphene oxide [J]. Electrochimica Acta, 2019, 319: 705–715.
- [19] LEE Y R, MA W, ROW K H. Determination of polysaccharides in undaria pinnatifida by ionic liquid-modified silica gel size exclusion chromatography[J]. Analytical Letters, 2018, 51(13): 1999–2012.
- [20] CHYLINSKA M, SZYMANSKA-CHARGOT M, ZDUNEK A. FT-IR and FT-Raman characterization of non-cellulosic polysaccharides fractions isolated from plant cell wall[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 154: 48–54.
- [21] PAULINO A T, GUILHERME M R, DE ALMEIDA E, et al. One-pot synthesis of a chitosan-based hydrogel as a potential device for magnetic biomaterial[J]. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2009, 321(17): 2636–2642.
- [22] ANDUJAR-SANCHEZ M, LAS HERAS-VAZQUEZ F J, CLEMENTE-JIMENEZ J M, et al. Enzymatic activity assay of D-hydantoinase by isothermal titration calorimetry: determination of the thermodynamic activation parameters for the hydrolysis of several substrates [J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2006, 67(1): 57–66.
- [23] MATHEW S, BRAHMAKUMAR M, ABRAHAM T E. Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal, and swelling properties of starch-chitosan blend films [J]. Biopolymers, 2006, 82(2): 176–187.
- [24] 李玺. 环糊精对疏水缔合聚合物溶液性能的影响 [D]. 成都:西南石油大学, 2018.  
LI X. Effect of cyclodextrin on the properties of hydrophobically associating polymer solution [D]. Chengdu: Southwest Petroleum University, 2018.
- [25] 杨晓莉, 唐延东, 张方东, 等. 6-羧基壳寡糖清除活性氧的能力及作用机理 [J]. 天津科技大学学报,

- 2021, 36(4): 73–80.
- YANG X L, TANG Y D, ZHANG F D, et al. Activity and mechanism of 6-carboxyl chitosan oligosaccharide to scavenge reactive oxygen species[J]. *Journal of Tianjin University of Science & Technology*, 2021, 36(4): 73–80.
- [26] 王丽颖, 李福香, 杨雅轩, 等. 多糖与多酚相互作用机制及其对多酚特性的影响研究进展[J]. *食品科学*, 2017, 38(11): 276–282.
- WANG L Y, LI F X, YANG Y X, et al. Interaction mechanism between polyphenols and polysaccharides and effect on polyphenolic properties; a review[J]. *Food Science*, 2017, 38(11): 276–282.
- [27] JIN Y, LIPSCOMB J D. Mechanistic insights into C—H activation from radical clock chemistry: oxidation of substituted methylcyclopropanes catalyzed by soluble methane monooxygenase from *Methylosinus trichosporium* OB3b[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 2000, 1543(1): 47–59.
- [28] BECKHAM J T, MACKANOS M A, CROOKE C, et al. Assessment of cellular response to thermal laser injury through bioluminescence imaging of heat shock protein 70 [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2004, 79(1): 76–85.
- [29] WOODCROFT K J, NOVAK R F. The role of phosphatidylinositol 3-kinase, Src kinase, and protein kinase a signaling pathways in insulin and glucagon regulation of *CYP2E1* expression[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1999, 266(2): 304–307.
- [30] KAWASAKI I, JEONG M H, OH B K, et al. Apigenin inhibits larval growth of *Caenorhabditis elegans* through *daf-16* activation[J]. *Febs Letters*, 2010, 584(16): 3587–3591.
- [31] ZHANG J L, LU L L, ZHOU L J. Oleanolic acid activates *daf-16* to increase lifespan in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 468(4): 843–849.
- [32] HAN S S, LV Y X, WANG J X, et al. VPS-22/SNF8 regulates longevity via modulating the activity of *daf-16* in *C. elegans* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 532(1): 94–100.
- [33] YU H J, GE Y, WANG Y, et al. A fused selenium-containing protein with both GPx and SOD activities[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 358(3): 873–878.
- [34] LALKOVICOVA M, HORVATHOVA F, SULLA I, et al. Effects of low and high deprenyl dose on antioxidant enzyme activities in the adult rat brain[J]. *General Physiology and Biophysics*, 2017, 36(1): 83–90.
- [35] XIAO J B, KAI G Y. A review of dietary polyphenol-plasma protein interactions: characterization, influence on the bioactivity, and structure-affinity relationship [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2012, 52(1/2/3): 85–101.

## Preparation of Complex of Oats $\beta$ -glucan and Quercetin and Its Effect on Lifespan of *Caenorhabditis elegans*

ZHAO Jiaojiao<sup>1</sup>, SI Xiyuan<sup>1</sup>, ZHANG Kunlin<sup>1</sup>, LIU Huanhuan<sup>1,2</sup>, GUO Qingbin<sup>1,2</sup>,  
WANG Changlu<sup>1,2</sup>, LIANG Honghe<sup>3</sup>, JIANG Aimin<sup>4</sup>, LI Zhenjing<sup>1,2,\*</sup>

(1. School of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

2. State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

3. Subtropical Crops Research Institute of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530001, China;

4. Guilin Yuanxinda Biotechnology Co Ltd, Guilin 541000, China)

**Abstract:** The covalent and non-covalent complex of  $\beta$ -glucan of oats and quercetin were prepared using radical catalysis and hydrogen bond adsorption methods, named COGQ and NOGQ, respectively. Their molecular structures were characterized using HPSEC (high performance size exclusion chromatography), FT-IR spectrometry and NMR (nuclear magnetic resonance) spectroscopy. The anti-aging activities of

used to promote the biotransformation of Avns in oat grains in order to elevate its natural content, optimize the extraction conditions and analyze its benefit to health. The influence of different experimental parameters on extraction of Avns was carried out by a single factor experiment, and the extraction process was optimized using the response surface methodology. Finally, the potential mechanism of Avns-induced apoptosis of lung cancer cells was explored. Avns were extracted after oat germination using an ultrasonic-assisted traditional organic solvent extraction. High performance liquid chromatography (HPLC) was employed for qualitative and quantitative analysis. With Avn C as standard positive control, the Western blot was used to explore the regulating effect on expression of nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) related pathway proteins and X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP). Flow cytometry analysis was performed to detect the apoptosis of non-small cell lung cancer (NSCLC) H1299 and A549 after Avns treatment. The results showed that the optimal extraction conditions for Avns yield were as follows: the solid-liquid ratio 1:22.2 g/mL, the ultrasonic power 87.6 W, the ethanol volume fraction 84.2%. In this condition, the yield of Avns was 849.251  $\mu$ g/g. The data of Western blot and flow cytometry analysis showed that both Avn C and Avns down regulated NF- $\kappa$ B/p65 phosphorylation and XIAP expression, and exerted promoting effect on apoptosis of H1299 and A549 cells in a dose-dependent manner. The results indicated that Avns might induce apoptosis in lung cancer cells by inhibiting the activity of NF- $\kappa$ B/XIAP signal pathway. This study aimed to provide theoretical basis of the application of Avns for lung cancer prevention.

**Keywords:** avenanthramides; lung cancer cell; NF- $\kappa$ B; XIAP; apoptosis

(责任编辑:叶红波)

---

(上接第42页)

the complex were evaluated by *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) model. Results from HPSEC showed that the relative molecular weights of NOGQ and COGQ were 354 kDa and 349 kDa, respectively, which were not much different. Compared with  $\beta$ -glucan of oats, both complexes demonstrated several new infrared absorption peaks at 1 660  $\text{cm}^{-1}$ , 1 243  $\text{cm}^{-1}$  and 1 562  $\text{cm}^{-1}$  and polysaccharide and polyphenols conjugates are amorphous. According to the NMR data, three monosaccharide residues were observed in the anomeric region of  $^1\text{H}$  spectrum and three new proton signals at 6.5 – 8.5 were attributed to phenyl groups in the complex. Compared with the control group, COGQ and NOGQ significantly increased the average lifespan of *C. elegans* ( $P < 0.05$ ), and the activities of SOD and CAT in both groups were significantly increased ( $P < 0.01$ ), suggesting that COGQ and NOGQ composites may prolong the lifespan of *C. elegans* by improving the antioxidant capacity of the body. The results could provide a reference for the preparation of polysaccharides and polyphenol composites and the development and utilization of them as novel food antioxidants.

**Keywords:**  $\beta$ -glucan of oats; quercetin; polysaccharide and polyphenols composites; lifespan; *Caenorhabditis elegans*

(责任编辑:叶红波)