

多谷物配方米多酚和肌醇提取物体外降血糖活性分析

王梓涵¹, 史锋^{1*}, 李永富^{2,3}

(1. 江南大学生物工程学院, 江苏无锡 214122) (2. 江南大学粮食发酵与食品生物制造国家工程研究中心, 江苏无锡 214122) (3. 可口美膳食品(无锡)有限公司, 江苏无锡 214177)

摘要: 谷物和豆类中含有丰富的降血糖活性物质。为了探究谷物和豆类中活性物质的降血糖机制, 该研究对一款由绿豆、苦荞、黑米、血糯米、燕麦胚芽米和白米复配而成的多谷物配方米 (Multi-grains Formula, MGF) 中的降血糖活性物质进行了研究。对 MGF 进行高温空气流化和蒸煮后, 提取其中多酚和肌醇物质得到富含多酚和肌醇提取液 (Polyphenols and Inositol Extracts, PIEs), 并评估 PIEs 体外降血糖活性。LC-MS 和 HPLC 分析表明, PIEs 中主要的活性物质成分为芦丁、异牡荆素、山奈酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素、肌-肌醇和 D-手性肌醇。未经过高温空气流化但经蒸煮处理后的 MGF PIEs 对 α -淀粉酶的抑制作用最强, 其 IC_{50} 值为 17.07 mg/mL, 而经过高温空气流化和蒸煮处理的 MGF PIEs 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性最高, 其 IC_{50} 值为 0.51 mg/mL。同时, 无论蒸煮与否, 高温空气流化后的 MGF PIEs 对 Caco-2 单层细胞葡萄糖转运具有更强的抑制作用, 在 60 min 时细胞葡萄糖转移率低于 50%, 在 120 min 时低于 65%。MGF PIE 还表现出较强的抗糖基化率, 最高达 69.79%。相关性分析表明多酚和肌醇含量与降血糖活性之间的显著相关性, 其中类黄酮含量表现出的相关性最强。该研究为谷物饮食在预防糖尿病代谢疾病方面提供了一定的理论依据。

关键词: 多酚; 肌醇; 降血糖活性; 葡萄糖转运

文章编号: 1673-9078(2025)10-136-143

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.10.1151

In vitro Hypoglycemic Activities of Polyphenols and Inositol Extracts from Multi-grain Formula Rice

WANG Zihan¹, SHI Feng^{1*}, LI Yongfu^{2,3}

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China) (2. National Engineering Research Center of Cereal Fermentation and Food Biomanufacturing, Jiangnan University, Wuxi 214122, China) (3. New Staple Food (Wuxi) Co. Ltd., Wuxi 214177, China)

Abstract: Cereals and beans are abundant in hypoglycemic active substances. In order to explore the hypoglycemic mechanism of active substances in cereals and beans, the hypoglycemic active substances in a multi-grains formula (MGF) rice composed of mung bean, tartary buckwheat, black rice, black sticky rice, oat germ rice and white rice were investigated in this study. Polyphenols and inositol extracts (PIEs) were obtained by extracting polyphenols and inositol from the MGF after high-temperature air fluidization (HTAF) and steaming, and the *in vitro* hypoglycemic activity of PIEs was evaluated. LC-MS and HPLC analyses revealed that the main active substances in PIEs were rutin, isovitexin, kaempferol-3-O-rutinoside, quercetin, myo-inositol

引文格式:

王梓涵, 史锋, 李永富. 多谷物配方米多酚和肌醇提取物体外降血糖活性分析[J]. 现代食品科技, 2025, 41(10): 136-143.

WANG Zihan, SHI Feng, LI Yongfu. *In vitro* hypoglycemic activities of polyphenols and inositol extracts from multi-grain formula rice [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(10): 136-143.

收稿日期: 2024-08-05; 修回日期: 2024-11-28; 接受日期: 2024-12-09

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2018YFD0400501)

作者简介: 王梓涵 (1999-), 女, 研究生, 研究方向: 生物工程, E-mail: 1628346781@qq.com

通讯作者: 史锋 (1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 全谷物食品和生物功能研究, E-mail: shifeng@jiangnan.edu.cn

and D-chiro-inositol. The MGF PIEs subjected to steaming in the absence of high-temperature air fluidization exhibited the strongest inhibitory effect against α -amylase, with the IC_{50} value being 17.07 mg/mL, whilst the MGF PIEs after high-temperature air fluidization and steaming exhibited the highest inhibitory activity on α -glucosidase, with the IC_{50} value being 0.51 mg/mL. Meanwhile, in the absence or presence of steaming, the MGF PIEs subjected to HTAF exhibited a stronger inhibitory effect on glucose transport in a Caco-2 cell monolayer with a cell glucose transfer rate lower than 50% at the 60th min and lower than 65% at the 120th min. Furthermore, MGF PIEs showed a strong anti-glycosylation effect, with the highest anti-glycosylation rate up to 69.79%. Correlation analysis revealed a significant correlation between the polyphenols and inositol contents, and the hypoglycemic activity, with the flavonoids content exhibiting the strongest correlation. This study provides a theoretical basis for the application of cereal diet in preventing diabetic metabolic diseases.

Key words: polyphenols; inositol; anti-hyperglycemic; glucose transport

糖尿病是一种糖类、蛋白质和脂类代谢紊乱的代谢性疾病,是当今世界范围内对人类健康威胁最大的疾病之一^[1],其中二型糖尿病患者(Type 2 Diabetes, T2DM)占糖尿病患者的90%左右。T2DM患者的血糖稳态受损主要与餐后血糖的快速上升有关。抑制碳水化合物代谢酶,包括消化道中的 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶,是预防T2DM的一种可能方法。此外,另一种预防糖尿病的策略是抑制肠道中的葡萄糖转运。有研究表明,一些天然活性物质可以作用于上述的靶点从而起到降低血糖的作用。如L-白雀木醇是沙棘叶中一种肌醇的天然衍生物,对 α -淀粉酶表现出良好的抑制活性^[2],桑叶多酚通过抑制肠道中钠依赖性葡萄糖转运蛋白1(Sodium-dependent Glucose Transporter 1, SGLT1)和葡萄糖转运蛋白2(Glucose Transporter 2, GLUT2)活性从而影响Caco-2细胞的葡萄糖转运,进而降低餐后血糖升高^[3]。

研究表明,全谷物和豆类中含有丰富的生物活性成分。谷物多酚具有促进肠道内环境稳定和促进人体健康的作用,此外还表现出降血糖活性和改善胰岛素抵抗作用^[4]。肌-肌醇(Myo-inositol, MI)和D-手性肌醇(D-chiro-inositol, DCI)是谷物中肌醇的两种主要异构体。MI与人体血糖下降有关^[5],DCI可改善糖尿病小鼠的胰岛素抵抗和糖代谢^[6]。此外研究表明,一些谷物复配食品也表现出良好的降血糖效果。王兴等^[7]以大米粉为主料,复配白芸豆、鹰嘴豆、桑叶提取物等辅料,制备了低血糖生成指数复合挤压米。实验室前期也研发出一款由绿豆、苦荞、黑米、血糯米、燕麦胚芽米和白米复配而得到的多谷物配方米(Multi-grains Formula, MGF),但由于其中绿豆等谷物质地坚硬,不易蒸煮,开发利用高温空气流化工艺(High-temperature Air Fluidization, HTAF)来改善MGF中谷物和豆类的蒸煮品质和消化性能^[8,9],有效实现了多谷物的同煮同熟,并使MGF在高血糖人群测试中展现出优异的降血糖性能。众所周知,与精白米相比,MGF的全谷物和豆类原料富含生物活性物质,但MGF中多酚和肌醇等活性物质的降血糖机制尚不清

楚,以及HTAF加工工艺对于MGF中多酚和肌醇含量的影响尚未研究完全。

该研究为了解析MGF的降血糖机制,选择经过HTAF处理后的MGF(HFMGF)作为研究对象,用未经过HTAF处理的MGF(RMGF)和日常作为主食食用的白米(WR)作为对照。同时,为了使MGF更加贴合进食时的情况,将HFMGF、RMGF和白米分别进行了蒸煮,得到了C-HFMGF、C-RMGF和C-WR,未经过蒸煮的样品分别记为U-HFMGF、U-RMGF和U-WR。该研究从上述六种样品中提取出多酚和肌醇(Polyphenols and Inositol Extracts, PIEs),并通过对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶抑制活性和糖基化终产物生成的抑制作用试验探究PIEs的体外降血糖活性。此外,还研究了PIEs对Caco-2细胞葡萄糖转运的影响。该研究不仅丰富了HTAF工艺对谷物中多酚和肌醇生物活性成分的影响,而且还为富含多酚和肌醇物质的多谷物配方食品的降血糖活性研究提供了新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

α -淀粉酶(来自猪胰腺),Sigma-Aldrich公司; α -葡萄糖苷酶(来自酿酒酵母)和Folin-Ciocalteu试剂,麦克林生化有限公司;苯甲酰氯和4-硝基苯基- α -D-半乳糖-吡喃糖苷(pNPG),上海源叶生物科技有限公司;根皮苷、根皮素、牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA)、芦丁、没食子酸,上海阿拉丁生化科技有限公司。Caco-2细胞由江苏省核医学研究所刘清竹博士赠予。DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)高糖培养基、DMEM无糖培养基、胎牛血清、非必需氨基酸、汉克氏平衡盐溶液(Hank's Balanced Salt Solution, HBSS)、青霉素-链霉素和胰蛋白酶, Gibco公司;Transwell板、96孔板,康宁公司;乙醇(分析纯)、葡萄糖(无水),上海国药集团化学试剂有限公司;葡萄糖氧化酶试剂盒,北京利德曼生物科技有

限公司；碱性磷酸酶（Alkaline Phosphatase, AKP）试剂盒、MTT 试剂盒，南京建成生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

JJ-666 多功能研磨机，杭州妙康科技有限公司；CHT210R 高速冷冻离心机，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；R-20 旋转蒸发仪，瑞士步琦有限公司；Cytation5 多功能酶标仪，美国 BioTek 公司；DK-320 恒温水浴锅、DK-8B 水浴摇床，上海精宏实验室设备有限公司；Agilent 1260 液相色谱仪，美国安捷伦公司；Heracell Vios 160i CR 细胞培养箱，美国赛默飞公司。

1.3 实验方法

1.3.1 MGF PIEs 的制备及多酚和肌醇物质的鉴定

MGF PIEs 的制备及多酚和肌醇物质的定量检测方法参考实验室已有的检测方法^[10]，用 LC-MS（Waters MALDI SYNAPT MS，中国上海）对 PIEs 中酚酸和黄酮物质进行质谱分析。采用的检测模式为多反应检测模式。电离使用 ESI 负模式，喷雾电压为 4.0 kV，源温度为 400 °C，碰撞气体设置为氩气，压力为 270 kPa。

1.3.2 PIEs 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性的抑制

取 50 μ L PIEs 样品和 50 μ L α -淀粉酶溶液（1 U/mL）在 37 °C 下温育 20 min，加入 50 μ L 1 wt.% 可溶性淀粉溶液，37 °C 反应 10 min，用 500 μ L 无水乙醇溶液灭活酶。10 000 $\times$ g 离心 4 min，取 50 μ L 上清液并加入 200 μ L 葡萄糖氧化酶试剂盒中的试剂 R，37 °C 下温育 10 min，于 520 nm 下测定吸光度 OD₅₂₀^[11]。用 0.02 mol/L 磷酸缓冲溶液（PBS，pH 值 7.9）代替 α -淀粉酶液进行测定后得到背景吸光度。阿卡波糖用作阳性对照。通过公式（1）得出 PIEs 对 α -淀粉酶活性的抑制率，对不同浓度 PIEs 下的抑制率进行多参数非线性曲线拟合得到 IC₅₀ 值，用于表示 PIEs 对 α -淀粉酶活性的抑制作用。每个反应重复实验三次。

$$A_1 = \frac{OD' - OD}{OD} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

A_1 —— α -淀粉酶抑制率，%；

OD——PIEs 样品扣除背景吸光度后的吸光度；

OD'——蒸馏水代替 PIEs 测得的吸光度。

取 100 μ L PIEs 样品和 20 μ L α -葡萄糖苷酶溶液（1 U/mL）在 37 °C 下温育 10 min，加入 20 μ L pNPG 溶液，37 °C 反应 10 min，加入 100 μ L 0.2 mol/L Na₂CO₃ 溶液终止反应，于 405 nm 下测定吸光度 OD₄₀₅，样品用 0.02 mol/L PBS（pH 值 7.9）代替 α -葡萄糖苷酶液进行测定后得到背景吸光度^[12]。通过公式

（2）得出 PIEs 对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率，对不同浓度 PIEs 下的抑制率进行多参数非线性曲线拟合得到 IC₅₀ 值，用于表示 PIEs 对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用。阿卡波糖作为阳性对照。每个反应重复实验三次。

$$A_2 = \frac{OD' - OD}{OD} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

A_2 —— α -葡萄糖苷酶抑制率，%；

OD——PIEs 样品扣除背景吸光度后的吸光度；

OD'——蒸馏水代替 PIEs 测得的吸光度。

1.3.3 PIEs 对 Caco-2 细胞葡萄糖转运的抑制作用

Caco-2 细胞在含体积分数为 10% 胎牛血清、1% 非必需氨基酸和 1% 青霉素-链霉素的高糖 DMEM 中培养^[13]。对于葡萄糖转运实验，将细胞以每孔 2.0×10^5 的密度接种在 12 孔 Transwell 板中，将细胞悬液（0.5 mL）加入到 Transwell 板上室，将 1.5 mL 培养基加入到 Transwell 板下室，培养 21 d 左右^[14]。使用碱性磷酸酶试剂盒检测细胞 AKP 活性来确定细胞的分化程度。为了确保实验所用细胞是分化完成的 Caco-2 单层模型细胞，实验中只使用上下室 AKP 活性之比大于 5 的细胞^[15]。

分化完成后进行葡萄糖转运实验。将 Caco-2 细胞在无糖 DMEM 中预培养 2 h，之后用 HBSS 洗涤细胞 3 次，在 HBSS 中平衡 30 min。去除 HBSS 后，将 0.5 mL PIEs 溶液（溶于 HBSS，pH 值 7.4）和 20 mmol/L 葡萄糖加入上室，将 1.5 mL HBSS 加入下室，孵育 120 min，从下室培养基收集 100 μ L 试样，测定培养基中的葡萄糖含量。空白对照用 HBSS 代替 PIEs 溶液^[16]。通过公式（3）计算细胞葡萄糖转运率（%）。

$$W = \frac{W_1}{W_2} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

W——葡萄糖转运率，%；

W_1 ——PIEs 样品组下室葡萄糖浓度，mmol/L；

W_2 ——HBSS 组下室葡萄糖浓度，mmol/L。

1.3.4 PIEs 对糖基化终产物生成的抑制作用

称取 20 mg BSA 和 900 mg 葡萄糖（无水），溶于 25 mL 0.02 mmol/L PBS（pH 值 7.4）配制成糖-蛋白溶液，取 490 μ L 糖-蛋白溶液与 10 μ L 4 mg/mL PIEs 样品混合均匀，置于 60 °C 下温育 40 h^[17]。用体积分数为 50% 乙醇溶液代替 PIEs 溶液作为对照用于扣除背景荧光。用 0.5 mg/mL 芦丁溶液作为阳性对照。40 h 后将反应管取出冷却后，取 100 μ L 样品加入 10 μ L 的 2 g/mL 三氯乙酸。离心后用 400 μ L 碱性 0.02 mmol/L PBS（pH 值 10）溶解糖基化终产物。在最佳激发波长

(370 nm) 和发射波长 (440 nm) 下测量荧光。糖基化抑制率用公式 (4) 计算。

$$F = \frac{(Fc - Fb) - (Fs - Fsb)}{Fc - Fb} \times 100\%$$
 (4)

式中:
F——抗糖基化率, %;
Fc——含有 BSA、葡萄糖和 PBS 的对照组的荧光;
Fs——含有 BSA、葡萄糖和 PIEs 或阳性对照 (芦丁) 的荧光;
Fb——含有 BSA 的空白组荧光;
Fsb——含有 BSA 与 PIEs 或阳性对照 (芦丁) 的荧光。

1.3.5 数据处理与分析

用 GraphPad Prism 8.0.2 (美国) 画图, 通过双因素方差分析 (two-way ANOVA) 对所有数据进行显著性分析。用字母标注时, 不同字母表示有显著性差异 ($P < 0.01$), 存在一个相同字母时表示有显著性差异 ($P < 0.05$), 相同字母表示无显著差异 ($P > 0.05$)。用 Origin 2021 对数据相关性进行分析, 所有实验重复三次进行, 结果以平均值 $\pm$ 标准误差显示。

2 结果与讨论

2.1 PIEs中多酚和肌醇物质的检测与鉴定

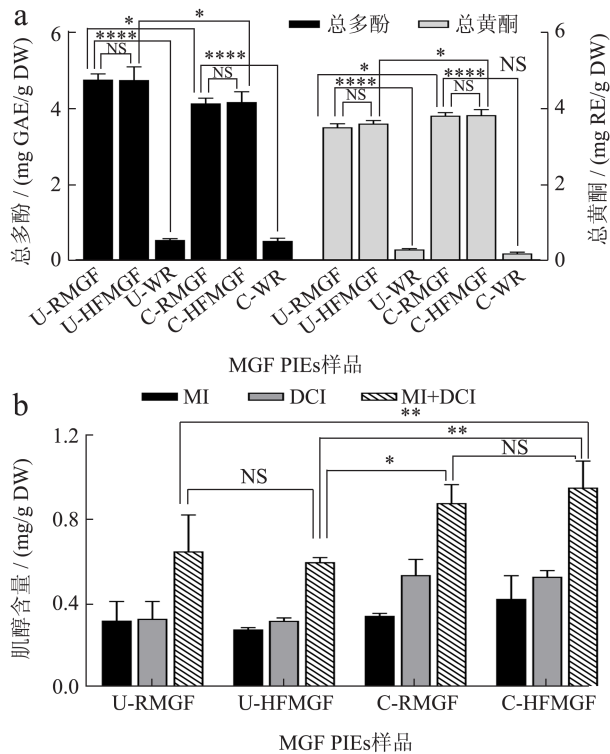


图 1 MGF 中多酚和肌醇含量

Fig.1 Polyphenols and inositol content in MGF

注: * 表示 $P < 0.05$, 差异性显著, ** 表示 $P < 0.01$, 差异性非常显著, **** 表示 $P < 0.0001$, 差异性极显著, NS 表示无显著差异性。

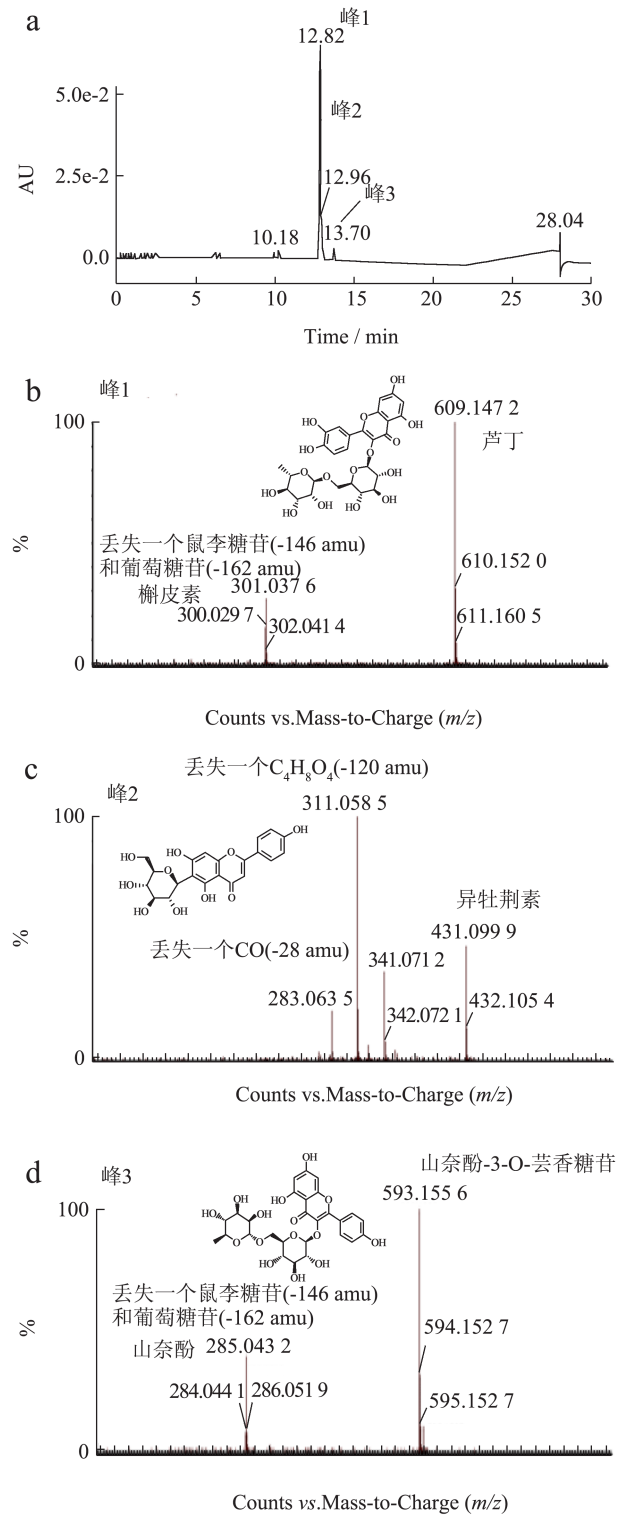


图 2 MGF 中主要多酚物质的质谱碎片

Fig.2 Mass spectrum fragments of main polyphenols in MGF

MGF 中多酚和肌醇物质的含量可参考实验室前期的一项研究 (图 1)^[10], 通过 LC-MS 对多酚物质进一步进行质谱分析, 分析结果如图 2 所示, MGF 中主要的多酚物质为芦丁 (分子量 610, 特征离子碎片为 301.037 6 m/z , 图 2b)、异牡荆素 (分子量 432, 特征离子碎片为 311.058 5、283.063 5 m/z , 图 2c)、山

奈酚-3-O-芸香糖苷(分子量 594, 特征离子碎片为 285.043 2 m/z , 图 2d)和槲皮素(分子量 302)。含量最高的是芦丁, 约占多酚的 80%, 异牡荆素和山奈酚-3-O-芸香糖苷是另外两种主要的酚酸, 槲皮素含量最低。蒸煮过程会破坏谷物外部结构, 促进结合态酚类物质向游离态酚类物质转变, 但高温过程又不可避免地导致酚类物质的热分解或一定程度的聚合^[18,19]。所以蒸煮后 MGF 中多酚和黄酮的含量变化是多种因素导致的结果。

2.2 PIEs对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性的抑制

α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶是参与淀粉水解的主要消化酶。抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性被认为是控制餐后血糖的有效途径之一。阿卡波糖是一种已知的竞争性抑制剂, 可抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的活性, 因此在该研究中使用阿卡波糖作为阳性对照^[20]。结果表明 C-RMGF 对 α -淀粉酶的抑制作用最强(图 3a), 其 IC_{50} 值为 17.07 mg/mL, 略低于 U-RMGF (19.65 mg/mL)、U-HFMGF (20.34 mg/mL) 和 C-HFMGF (18.12 mg/mL), 但所有 PIEs 的抑制作用显著低于阳性对照阿卡波糖(IC_{50} 值为 55.79 μ g/mL)。尽管 C-RMGF 对 α -淀粉酶的抑制作用略强于 C-HFMGF, 但需要指出的是, 未经过 HTAF 加工的 C-RMGF 无法做到同煮同熟, 蒸煮后仍是夹生饭, 并不能食用。与未蒸煮的 MGF 相比, 蒸煮后的 MGF 表现出更高的抑制活性, 这可能是由于蒸煮后类黄酮含量的增加(图 1a), 此前有研究报道芦丁和槲皮素是 α -淀粉酶的抑制剂^[21]。与 MGF 相比, WR 对 α -淀粉酶几乎没有抑制作用。

α -葡萄糖苷酶存在于小肠细胞的刷状缘中, 催化二糖分解成单糖。与 α -淀粉酶相比, MGF PIEs 对 α -葡萄糖苷酶表现出更强的抑制作用(图 3b)。C-HFMGF 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用最强, 其 IC_{50} 值为 0.51 mg/mL, 其次分别是 C-RMGF、U-HFMGF、U-RMGF, IC_{50} 值分别为 0.59、0.61、0.69 mg/mL。与未经 HTAF 处理的 MGF 相比, 经 HTAF 处理的 MGF 对 α -葡萄糖苷酶表现出较高的抑制活性。与对 α -淀粉酶的抑制相似, 蒸煮后的 MGF 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性高于未蒸煮的 MGF。然而, PIEs 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用明显低于阿卡波糖(IC_{50} 值为 3.10 μ g/mL)。同样, WR 对 α -葡萄糖苷酶几乎没有抑制作用。

多酚或肌醇对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制作用先前已有报道^[22,23]。在这项研究中, MGF 中含有肌醇和多酚, 如芦丁、槲皮素和山奈酚-3-O-芸香糖苷, 相关研究也表明这些物质可以抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的活性^[24], 所以推测 MGF 中的多酚和肌醇活

性物质可能会在一定程度上 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的活性, 从而起到降低餐后血糖的作用。虽然 MGF 的淀粉酶抑制活性低于阳性对照阿卡波糖, 但 MGF 的副作用较小。

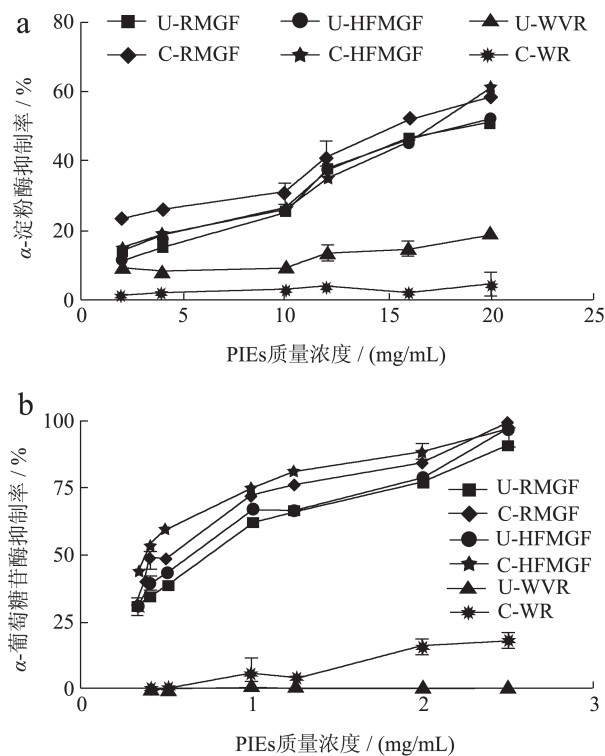


图 3 PIEs 对酶活的抑制作用

Fig.3 Effects of PIEs on the enzyme activities

2.3 PIEs对Caco-2细胞葡萄糖转运的抑制作用

Caco-2 单层细胞模型具有微绒毛以及与小肠细胞刷状边缘上皮细胞相关的酶和葡萄糖转运蛋白如 SGLT1 和 GLUT2, 在功能上与分化的小肠上皮细胞相似^[25]。因此, 在该实验中使用 Caco-2 单层细胞模型来探究 MGF 对肠道中葡萄糖转运到血液中的影响。在 Caco-2 细胞致密单层细胞模型形成过程中, Transwell 板上室与下室的 AKP 活性之比会随着培养时间而增加。只有这一比值稳定在 5 以上的细胞才可视为分化完成的 Caco-2 单层细胞模型, 可用于后续的葡萄糖转运实验^[15]。

在进行葡萄糖转运实验时, 将 Transwell 板上室的葡萄糖浓度定为 20 mmol/L, 以模拟进食条件下小肠中的葡萄糖浓度。根皮苷和根皮素分别是 SGLT1 和 GLUT2 的抑制剂, 在实验中作为阳性对照。通过 MTT 细胞毒性试验确定了 MGF 的质量浓度为 8 mg/mL (图 4), 该质量浓度下细胞的存活率均在 80% 以上, 随后探究了 8 mg/mL 的 MGF 对葡萄糖转运的影响, 结果如图 5 所示。

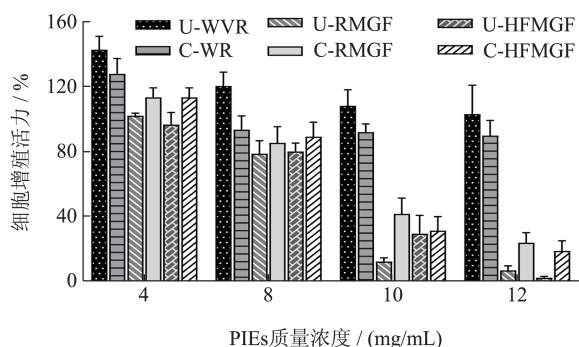


图4 PIEs (4 to 12 mg/mL) 对 Caco-2 细胞 MTT 试验

Fig.4 Effect of PIEs (4 to 12 mg/mL) on Caco-2 cell viability

比较了在 60 min (图 5a、5c) 和 120 min (图 5b、5d) 时 PIEs 对细胞葡萄糖转运量和葡萄糖转运率的作用。60 min 时, U-HFMGF 和 C-HFMGF 组细胞转运的葡萄糖量最低, 分别为 1.05 和 1.09 mmol/L, 葡萄糖转运率分别为 47.33% 和 49.31%, 显著低于根皮苷 (67.20%) 和根皮素 (69.24%) ($P < 0.01$)。U-RMGF 和 C-RMGF 组细胞的葡萄糖转运量分别为 1.45 和 1.56 mmol/L, 葡萄糖转运率分别为 65.50% 和 70.78%, 与阳性对照根皮苷和根皮素无显著差异 ($P > 0.05$)。这表明 HTAF 处理的 MGF 对 Caco-2 细胞中的葡萄糖转运表现出更高的抑制作用。然而, U-WR 和 C-WR 在一定程度上也表现出对葡萄糖转运的抑制作用。其葡萄糖转运量分别为 1.55 mmol/L 和 1.44 mmol/L, 转运率分别为 70.40% 和 65.34%。在 120 min 时, Caco-2 细胞葡萄糖转运量进一步增加。U-HFMGF 和 C-HFMGF 组细胞的葡萄糖转运量最低, 分别为 1.93 mmol/L 和 1.87 mmol/L, 葡萄糖转运率分别为 63.34% 和 61.29%。根皮素组的转运率 (64.57%) 明显低于根皮苷组 (79.79%), 这可能因为根皮素是 GLUT2 的抑制剂, 通常在转运后期发挥其抑制作用^[3]。此外, U-RMGF 和 C-RMGF 组细胞的葡萄糖转运量分别为 2.35 mmol/L 和 2.04 mmol/L, 葡萄糖转运率分别为 77.01% 和 66.69%, 均显著高于 HTAF 处理组。C-WR 组在 120 min 时的细胞葡萄糖转运率达到了 68.77%。

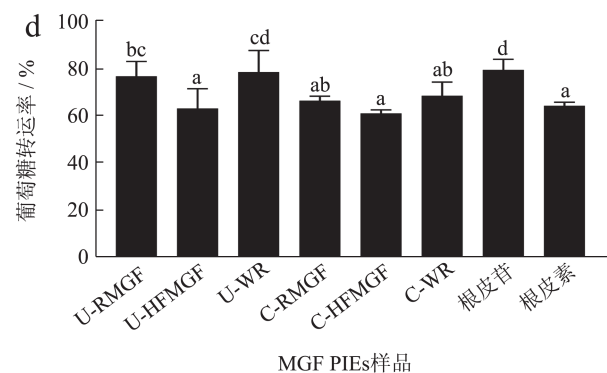
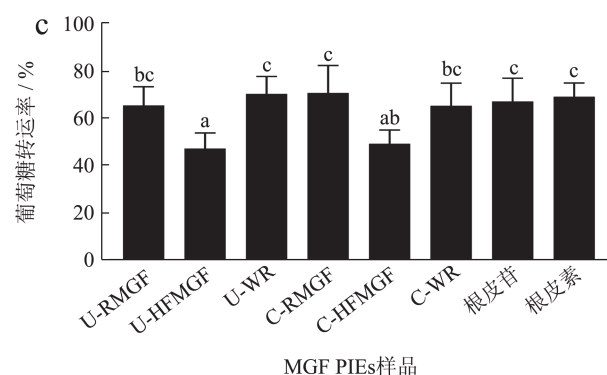
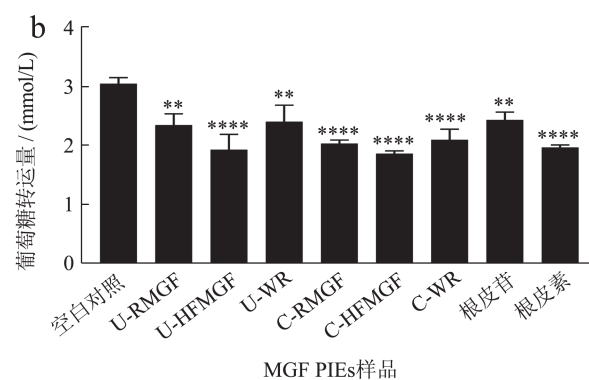
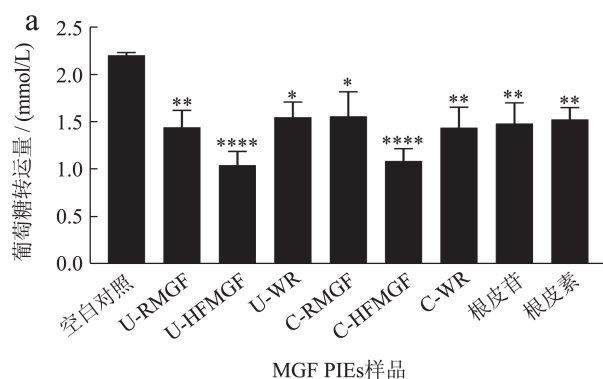


图5 PIEs 对葡萄糖转运的作用

Fig.5 Effect of PIEs on glucose transport

注: a: 60 min 时的葡萄糖转运量; b: 120 min 时的葡萄糖转运量; c: 60 min 时的葡萄糖转运率; d: 120 min 时的葡萄糖转运率, 根皮苷和根皮素为阳性对照。* 表示 $P < 0.05$, 差异性显著, ** 表示 $P < 0.01$, 差异性非常显著, **** 表示 $P < 0.0001$, 差异性极显著, NS 表示无显著差异性。a~d 表示 $P < 0.05$, 差异性显著。

结果表明, U-HFMGF 和 C-HFMGF 组对 Caco-2 细胞葡萄糖转运的抑制作用最强, 这表明经过 HTAF 处理后的谷物具有更强的降低血糖潜力。而与蒸煮后 MGF 表现出更高的 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制活性不同的是, 经过 HTAF 处理后的 MGF 表现出更高的葡萄糖转运抑制率, 这可能与 HTAF 处理对 MGF PIEs 中的其他生物活性物质含量改变有关。此外 HTAF 处理也会改变 MGF 中快消化淀粉和抗性淀粉含量, 以前的研究显示, 发芽糙米经 HTAF 加工后快

消化淀粉含量减少，而慢消化淀粉和抗性淀粉含量增加^[9]。总之，MGF PIEs 对 Caco-2 细胞转运葡萄糖的抑制作用表明 PIEs 中的生物活性物质可以延缓葡萄糖从肠道吸收到血液中，并证实了 HFMGF PIEs 增强的降血糖作用。

2.4 PIEs抑制糖基化终产物的生成

长期高血糖会导致人体内蛋白质与还原糖（如葡萄糖和果糖）形成共价键，形成晚期糖基化终产物（Advanced Glycation End-products, AGEs），AGEs 的形成与糖尿病的发生密切相关^[26]。多酚在食品加工过程中可与羰基形成复合物，使 AGEs 合成过程中的中间产物减少，从而减少 AGEs 的生成。有研究表明燕麦多酚可以有效抑制糖基化^[27]。因此，我们进一步研究了 MGF 对糖基化的抑制作用，芦丁用作阳性对照，结果如图 6 所示，芦丁对糖基化形成的抑制率可达 73.15%。与 WR PIEs（8.47%~18.63%）相比，MGF PIEs 具有更高的抗糖基化率（60.84%~69.79%）。尤其是 C-HFMGF 对糖基化的抑制率最高，达到 69.79%，与阳性对照芦丁相比无显著差异（ $P>0.05$ ）。这与 Krishnsn 等^[17]的研究结果相似，在那项研究中，红米和黑米提取物表现出比白米提取物更高的抗糖基化作用。C-HFMGF 表现出比 U-RMGF 显著高的抗糖基化率，这可能是由于蒸煮和 HTAF 处理使类黄酮和肌醇从谷物中释放出来（图 1）。

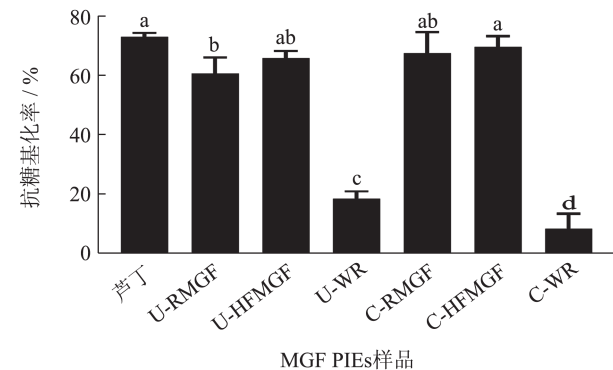


图 6 PIEs 的抗糖基化作用

Fig.6 Effect of PIEs on glycosylation

注：芦丁作为阳性对照。a~d 表示 $P<0.05$ ，差异性显著。

2.5 相关性分析

为了确定 MGF 中四种主要生物活性物质（总多酚、总黄酮、MI 和 DCI）的含量与其降血糖活性之间的关系，对此进行了相关性分析（图 7）。分析结果表明， α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶和糖基化抑制率以及 Caco-2 细胞葡萄糖转运抑制率与这四种生物活性物质的含量呈正相关。总多酚和总黄酮之间有显著的统计

学相关性（ $P<0.001$ ）。此外，MI 含量和 DCI 含量之间也存在显著的相关性（ $P<0.01$ ），同时，总黄酮和 MI 含量之间也存在显著的相关性（ $P<0.001$ ）。在降血糖活性指标中， α -淀粉酶抑制活性和抗糖基化率之间存在极显著相关（ $P<0.001$ ）。此外， α -葡萄糖苷酶抑制活性与 α -淀粉酶抑制活性及抗糖基化活性显著相关（ $P<0.01$ ）。

不同活性物质与不同降血糖活性指标之间也存在相关性。总黄酮与 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶抑制活性和抗糖基化活性之间存在极显著相关（ $P<0.001$ ），但与 Caco-2 细胞葡萄糖转运之间的相关性不显著（ $P>0.05$ ）。总多酚与 α -葡萄糖苷酶抑制活性极显著相关（ $P<0.001$ ），与 α -淀粉酶抑制活性和抗糖基化率之间显著相关（ $P<0.01$ ）。此外，MI 和 DCI 含量与 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶抑制活性和抗糖基化活性显著相关（ $P<0.01$ ）。综上分析，与总多酚、MI 含量和 DCI 含量相比，总黄酮和这些降血糖活性指标之间的相关性更高，推测总黄酮是影响 MGF PIEs 降血糖活性的关键成分，这可能与蒸煮后 MGF 中总黄酮含量增加，而表现出更高的 α -葡萄糖苷酶抑制活性和抗糖基化作用有关（图 3b 和图 6）。

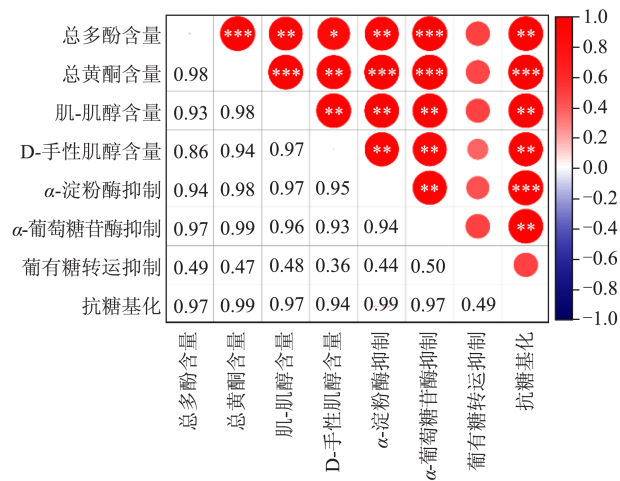


图 7 生物活性物质与降血糖活性相关性分析

Fig.7 Correlation analysis between the content of bioactive substances and hypoglycemic activities

注：* $P\leq 0.05$ ；** $P\leq 0.01$ ；*** $P\leq 0.001$ 。

3 结论

综上所述，MGF PIEs 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶具有较强的抑制活性，且随着 PIEs 浓度的增加，抑制作用逐渐增强。同时，PIEs 对 Caco-2 单层细胞中的葡萄糖转运也具有抑制作用，HTAF 处理后 MGF 对细胞葡萄糖转运的抑制作用进一步增强。此外，探究了 PIEs 的抗糖基化率，发现 HTAF 处理后的 MGF 尤其

是 C-HFMGF PIEs 具有最高的抗糖基化效果。因此该文的研究结果表明, MGF 中的多酚和肌醇在体外表现出较强的降血糖活性, HTAF 和蒸煮处理后 MGF PIEs 的降血糖活性会进一步增加, 相关性分析表明了黄酮类物质的关键作用。未来还需进一步进行相关研究, 充分探究 PIEs 对人体中碳水化合物代谢以及改善胰岛素信号通路的潜力。

参考文献

- [1] OGURTSOVA K, DA ROCHA FERNANDES J D, HUANG Y, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040 [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2017, 128: 40-50.
- [2] MU Y, TAO C, YUAN W, et al. Sea buckthorn leaf L-quebrachitol extract for improved glucose and lipid metabolism in insulin resistant hepG2 cells [J]. BioResources, 2022, 17(1): 527-542.
- [3] LI Q, WANG C, LIU F, et al. Mulberry leaf polyphenols attenuated postprandial glucose absorption via inhibition of disaccharidases activity and glucose transport in Caco-2 cells [J]. Food & Function, 2020, 11(2): 1835-1844.
- [4] WATKINS O C, YONG H E J, SHARMA N, et al. A review of the role of inositols in conditions of insulin dysregulation and in uncomplicated and pathological pregnancy [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(6): 1626-1673.
- [5] CARRERO-CARRALERO C, MANSUKHANI D, RUIZ-MATUTE A I, et al. Extraction and characterization of low molecular weight bioactive carbohydrates from mung bean (*Vigna radiata*) [J]. Food Chemistry, 2018, 266: 146-154.
- [6] CHENG F, HAN L, XIAO Y, et al. D-chiro-inositol ameliorates high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance via PKC ϵ -PI3K/AKT Pathway [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(21): 5957-5967.
- [7] 王兴,江蕾,陈款,等.低GI复合挤压米原料配方优化及降血糖功能验证[J].现代食品科技,2024,40(10):32-39.
- [8] LI Y, LI Y, CHEN Z, et al. High-temperature air fluidization improves cooking and eating quality and storage stability of brown rice [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 67(1): 102536.
- [9] LI Y, SU X, SHI F, et al. High-temperature air-fluidization-induced changes in the starch texture, rheological properties, and digestibility of germinated brown rice [J]. Starch-Starke, 2017, 69(9-10): 1600328.
- [10] 王梓涵,史锋,李永富.高温空气流化加工对多谷物配方米中多酚和肌醇抗氧化活性的影响[J].食品与发酵工业,2024, 50(14): 43-49.
- [11] DONG Y, SUI L, YANG F, et al. Reducing the intestinal side effects of acarbose by baicalein through the regulation of gut microbiota: an *in vitro* study [J]. Food Chemistry, 2022, 394: 133561.
- [12] ZHENG Y, TIAN J, YANG W, et al. Inhibition mechanism of ferulic acid against α -amylase and α -glucosidase [J]. Food Chemistry, 2020, 317: 126346.
- [13] 钟浩,徐洁,陈玲,等.体外肠道细胞模型及其在评价花青素吸收转运中的研究进展[J].食品科学,2024,45(5):303-313.
- [14] 苏丽,党庆玲,高瑞昌.4种花色苷在Caco-2细胞单层模型的转运吸收规律[J].江苏农业科学,2022,50(13):171-177.
- [15] MATSUMOTO H, ERICKSON RH, GUM JR, et al. Biosynthesis of alkaline phosphatase during differentiation of the human colon cancer cell line Caco-2 [J]. Gastroenterology, 1990, 98(5 Pt 1): 1199-1207.
- [16] MIERES-CASTRO D, THEODULOZ C, SUS N, et al. Iridoids and polyphenols from Chilean Gaultheria spp. berries decrease the glucose uptake in Caco-2 cells after simulated gastrointestinal digestion [J]. Food Chemistry, 2022, 369: 130940.
- [17] KRISHNSN V, RSNI R, AWANA M, et al. Role of nutraceutical starch and proanthocyanidins of pigmented rice in regulating hyperglycemia: enzyme inhibition, enhanced glucose uptake and hepatic glucose homeostasis using *in vitro* model [J]. Food Chemistry, 2021, 335: 127505.
- [18] HARAKOTR B, SURIHARN B, TANGWONGCHAI R, et al. Anthocyanin, phenolics and antioxidant activity changes in purple waxy corn as affected by traditional cooking [J]. Food Chemistry, 2014, 164: 510-517.
- [19] ANOMA C, MARIAN N, FEREIDOUN S. Effect of processing on the antioxidant activity of millet grains [J]. Food Chemistry, 2012, 133(1): 1-9.
- [20] DONG Y, SUI L, YANG F, et al. Reducing the intestinal side effects of acarbose by baicalein through the regulation of gut microbiota: an *in vitro* study [J]. Food Chemistry, 2022, 394: 133561.
- [21] SHEN D D, LI X, QIN Y, et al. Physicochemical properties, phenolic profiles, antioxidant capacities, and inhibitory effects on digestive enzymes of okra (*Abelmoschus esculentus*) fruit at different maturation stages [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56(3): 1275-1286.
- [22] BELLO M, JIDDAH-KAZEEM B, FATOKI TH, et al. Antioxidant property of *Eucalyptus globulus* Labill. extracts and inhibitory activities on carbohydrate metabolizing enzymes related to type-2 diabetes [J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2021, 36: 102111.
- [23] LI N, YANG J, WANG C, et al. Screening bifunctional flavonoids of anti-cholinesterase and anti-glucosidase by *in vitro* and *in silico* studies: quercetin, kaempferol and myricetin [J]. Food Bioscience, 2023, 51: 102312.
- [24] QIN P, WEI A, ZHAO D, et al. Low concentration of sodium bicarbonate improves the bioactive compound levels and antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of tartary buckwheat sprouts[J]. Food Chemistry, 2017, 224: 124-130.
- [25] NATOLI M, LEONI BD, D'AGNANO I, et al. Cell growing density affects the structural and functional properties of Caco-2 differentiated monolayer [J]. Journal of Cellular Physiology, 2011, 226(6): 1531-1543.
- [26] KHALID M, PETROIANU G, ADEM A. Advanced glycation end products and diabetes mellitus: mechanisms and perspectives [J]. Biomolecules, 2022, 12(4): 542.
- [27] 周凯文,陈晓默,刘慧琳,等.多酚黄酮物质对晚期糖基化终产物的抑制研究[J].食品研究与开发,2018,39(4):7-13.