

刘元法教授主持“未来粮油食品”特约专栏文章之六

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.01.006

龚凌霄, 杨若言, 王静. 一种小麦新兴功能活性成分——苯并恶唑啉酮的含量解析与降血糖评价[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(1): 40-48.

GONG L X, YANG R Y, WANG J. Benzoxazolinones: Novel bioactive phytochemicals in wheat with potential hypoglycemic activity[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(1): 40-48.

一种小麦新兴功能活性成分 ——苯并恶唑啉酮的含量解析与降血糖评价

龚凌霄, 杨若言, 王 静✉

(北京工商大学 食品与健康学院, 中加食品营养与健康联合实验室(北京),
食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京 100048)

摘要: 苯并恶唑啉酮 (Benzoxazolinones, BXs) 是一类具有生物活性的天然化合物, 近年来发现其存在于成熟的谷物籽粒及其烘焙食品中, 其中 6-甲氧基-2-苯唑啉酮 (6-Methoxy-benzoxazolin-2-one, MBOA) 和 2-苯并恶唑啉酮 (Benzoxazolin-2-one, BOA) 是两种主要的苯并恶唑啉酮类化合物。采用液质联用方法分析河南省 13 种小麦中 MBOA、BOA 含量, 并考察 MBOA、BOA 在加工过程中的变化情况。同时, 研究了 MBOA、BOA 对 α -葡萄糖苷酶以及 α -淀粉酶的抑制作用。结果表明: 不同品种全小麦中的 MBOA、BOA 含量具有较大差异, 其中, MBOA 含量一般在 4.30~5.02 ng/g, BOA 含量一般在 1.62~7.98 ng/g, 但是在热烘干和发芽处理后全麦粉中的 MBOA 和 BOA 含量显著增加, 分别增加 1.5~2.0 和 500~1 000 倍。在体外降糖活性方面, MBOA 与 BOA 对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶均呈非竞争性抑制作用, MBOA、BOA 对 α -葡萄糖苷酶的半抑制浓度 IC_{50} 分别为 13.73、73.9 mg, 对 α -淀粉酶的半抑制浓度 IC_{50} 分别为 64.98、17.68 mg。综上所述, MBOA、BOA 作为新兴的食源性健康因子, 在我国河南省的各小麦品种中普遍存在, 虽然全麦籽粒中含量较低, 但经合适的加工方式可显著提高其含量水平。因此, MBOA 和 BOA 等苯并恶唑啉类物质是全麦食品发挥健康作用的可能原因之一, 为全麦及其加工制品健康作用相关领域的研究提供了新的理论依据。

关键词: MBOA; BOA; 降糖活性; α -葡萄糖苷酶; α -淀粉酶; 发芽加工

中图分类号: TS213 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2023)01-0040-08

网络首发时间: 2022-09-16 16:06:00

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20220915.1601.009.html>

Benzoxazolinones: Novel Bioactive Phytochemicals in Wheat with Potential Hypoglycemic Activity

GONG Ling-xiao, YANG Ruo-yan, WANG Jing✉

(China-Canada Joint Lab of Food Nutrition and Health (Beijing), Beijing Engineering and Technology
Research Center of Food Additives, School of Food and Health, Beijing Technology and
Business University, Beijing 100048, China)

收稿日期: 2022-07-04

基金项目: 北京市自然科学基金面上项目 (6222002); 国家自然科学基金项目 (31972111)

Supported by: Natural Science Foundation of Beijing (No. 6222002); National Natural Science Foundation of China (No. 31972111)

作者简介: 龚凌霄, 女, 1981 年出生, 博士, 副教授, 研究方向为天然产物与功能性食品。E-mail: gonglingxiao@btbu.edu.cn.

通讯作者: 王静, 女, 1976 年出生, 博士, 教授, 研究方向为食品功能因子与品质改良。E-mail: wangjing@th.btbu.edu.cn.

Abstract: Benzoxazolinones (BXs) are a group of natural compounds with biological activity. In recent years, benzoxazolinones have been identified in cereal grains and bakery foods. The most common BXs are 6-methoxy-benzoxazolin-2-one (MBOA) and 2-benzoxazolin-2-one (BOA). In this study, the contents of MBOA and BOA in 13 varieties of wheat harvested in Henan Province were analyzed by LC-MS technology. Meanwhile, the inhibitory effects of MBOA and BOA on α -glucosidase and α -amylase were evaluated. The results showed that the contents of MBOA and BOA in wheat varied from 4.30 to 5.02 ng/g and 1.62 to 7.98 ng/g respectively. Interestingly, the contents of MBOA and BOA in whole wheat flour increased significantly after hot drying and germination by 1.5~2.0 and 500~1 000 times, respectively. In the aspect of hypoglycemic activity, MBOA and BOA showed reversible competitive inhibition on α -glucosidase and α -amylase. The IC_{50} of MBOA and BOA to α -glucosidase were 13.73 and 73.9 mg/mL, the IC_{50} to α -amylase were 64.98 and 17.68 mg/mL. These results revealed that BXs have the potential contribution to the hypoglycemic activity associated with whole wheat consumption. Food processing technologies such as germination can be used to enhance the concentration of BXs in the cereal food products that allow the intake of higher amounts of BXs. This study provides a new theoretical basis for the research on the health effects of whole wheat and its processed products.

Key words: MBOA; BOA; hypoglycemic activity; α -glucosidase; α -amylase; germination

苯并噁嗪类化合物 (Benzoxazinoids, BXs) 是一类具有药理学特性和保健特性的天然化合物, 按化学方法分为苯并恶唑啉酮类、内酰胺类和异羟肪酸类^[1], 多项研究表明苯并恶唑啉酮类的功能活性相对 BXs 中其他物质的功能活性更丰富, 其中 6-甲氧基-2-苯唑啉酮 (6-Methoxy-benzoxazolin-2-one, MBOA) 和 2-苯并恶唑啉酮 (Benzoxazolin-2-one, BOA) 是两种主要的苯并恶唑啉酮类化合物^[2]。MBOA、BOA 在食品加工领域受到越来越多的关注, 不仅因为 MBOA、BOA 存在于小麦等谷物食品中, 还因为其具有一定的保健功效。

已报道的关于 MBOA、BOA 的提取与检测方法各有不同, 包括样品前处理、提取溶剂及比例、提取方式三个方面, 样品前处理主要分为在液氮下研磨^[3]和冻干后磨粉^[4]两种方式。提取溶剂的选择多为 80% 甲醇水溶液, 或加入少量甲酸 (1%)。提取方式包括加速溶剂萃取仪萃取^[5]、震荡^[6]、超声^[7]等, 但大部分选用加速溶剂萃取仪加速萃取。在检测方法上主要包括 HPLC-MS^[8]、LC-ESI-MS^[9]、UPLC-Q-TOF^[10]、UPLC-Q-TOF-MS^[11]等。现在检测和提取方式尚未形成统一的标准^[12], 因此, 建立 MBOA、BOA 的检测方法, 并在食品领域对 MBOA、BOA 进行系统的含量

测定与分析具有重要的研究意义。

研究发现 MBOA 具有抑制食欲、减轻体重、刺激生殖系统, 抗癌以及抗过敏等功效, BOA、MBOA 均具有抗菌作用^[13], 现阶段我国对于 MBOA 的研究重点主要在于其对田鼠繁殖的影响及对植物生长的影响等方面, 暂未见 MBOA、BOA 在食品加工的应用以及保健功效方面的研究, 因此, MBOA、BOA 作为一种新兴的功能活性成分, 具有重要的研究潜力。

本研究在优化 MBOA、BOA 提取以及检测方法的基础上, 测定河南省十余种小麦中 MBOA、BOA 的含量, 进一步选取 MBOA、BOA 含量较高的小麦进行不同加工处理, 进而明确其含量变化与加工方式之间的关系, 并以阿魏酸、阿卡波糖作为阳性对照, 研究 MBOA、BOA 对血糖的调控作用, 为其对健康的有益作用提供一定的理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

淮麦: 江苏; 甲醇、乙腈、乙酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、酒石酸钾钠、亚硫酸氢钠、苯酚、氢氧化钠: 国药集团化学试剂有限公司; 乙酸乙酯: 西陇化工股份有限公司; 郑麦 366、郑

麦 0942、郑麦 136、温庀 0528、郑麦 1860、郑麦 26、百农 207、矮抗 58、郑麦 7698、周麦 18、郑麦 9023、郑麦 1354、周麦 36：河南省农业科学院； α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶、4-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷 3, 5-二硝基水杨酸、MBOA、BOA：Sigma 有限公司；阿魏酸：源叶生物。

1.2 仪器与设备

H2OPRO-UV-T 型超纯水系统：德国赛多利斯公司；FreeZone® 6L 型冷冻干燥机：美国 Labconco 公司；FW-100 型高速万能粉碎机：北京中兴伟业仪器有限公司；JK-MSH-Pro-6A 型六联磁力搅拌器：上海精学科学仪器公司；ME104 型电子天平：梅特勒-托利多仪器有限公司；CR22N 型高速离心机：日本日立公司；PT 2500 E 型水浴锅：杰瑞尔电器有限公司；1260 型 HPLC、6420 型 QQQ：安捷伦公司；R-300 型旋蒸仪：瑞士步琦 BUCHI 公司；HMJ-A35A1 型和面机：小熊电器股份有限公司；SZ28T1 型蒸锅：浙江苏泊尔股份有限公司；BioTekSynergy H1MDG 型酶标仪：美国伯腾仪器有限公司；Cary 100 型紫外分光光度计：安捷伦科技（中国）有限公司。

1.3 小麦中 MBOA、BOA 的提取

取小麦样品-80 °C 冻干 12 h，直至样品质量不在减轻。将冻干后的样品磨碎至粉状，称取一定量的样品置于 80% 甲醇水溶液中（w/v=1/5），磁力搅拌 3 h。将摇匀后的样品于 7 000 rpm，7 °C 离心 10 min。取用上清液，旋蒸浓缩，将甲醇全部蒸出后加入等体积乙酸乙酯萃取 3 次，取乙酸乙酯层。将乙酸乙酯提取物旋蒸至干，1 mL 甲醇水溶液复溶。将复溶后样品过 0.22 μ m 的有机滤膜进行过滤用于含量分析。

1.4 不同加工方式提取 MBOA、BOA

采用样品的热处理、水热加工处理、水冷加工处理的方式提取处理后不同种小麦中的 MBOA、BOA。热处理采用 50 °C 烘箱将小麦烘烤至干，水热加工处理参考 Hans 等^[14]方法，取一定量的小麦种子置于托盘上，第一天早晨使用种子：水=1：15 的比例将种子润湿，晚上采用种子：水=1：10 的比例重复润湿。之后的 4 天每天早晚采用种子：水=1：10 的比例重复润湿，共 8 次以上，总水热加工（HTP）为 5 天。收集小麦种子，在 50 °C 条件下烘干直至重量不减轻。将收集得到的小麦种子磨粉，提取得到最终样品。水冷加工处理方式同样参考 Hans 等^[14]方法，在 HTP 处理 5 天后收集小麦种子，在冻干机中冻干，直至重量不减轻。将收集到的小麦种子磨粉，进行提取。

1.5 液质联用分析不同小麦品种中的 MBOA 和 BOA 含量

采用 Agilent HPLC 1260 和 QQQ 检测器进行检测，色谱柱为 Phenomenex Synergi Polar RP-80A，250 \times 2 mm，粒径为 4 μ m。采用的流动相为 A 相：7% 乙腈和 20 mmol/L 的乙酸，B 相：78% 乙腈和 20 mmol/L 的乙酸。进样量为 5 μ L，流速为 0.2 mL/min。洗脱条件为梯度洗脱：0~5 min：16% 的 B，5~22 min：16%~30% 的 B，22~30 min：30%~50% 的 B，30~33 min：50%~16% 的 B，33~40 min：16% 的 B。总运行时间为 40 min。ESI 设定为负离子模式，并在 MRM 模式下进行检测，离子源温度：350 °C；锥孔电压：45 psi；毛细管电压：4 kV；柱温 30 °C。根据绘制得到的标准曲线计算样品中的 MBOA、BOA 的含量。BOA 和 MBOA 的标准品质谱图如图 1 所示。

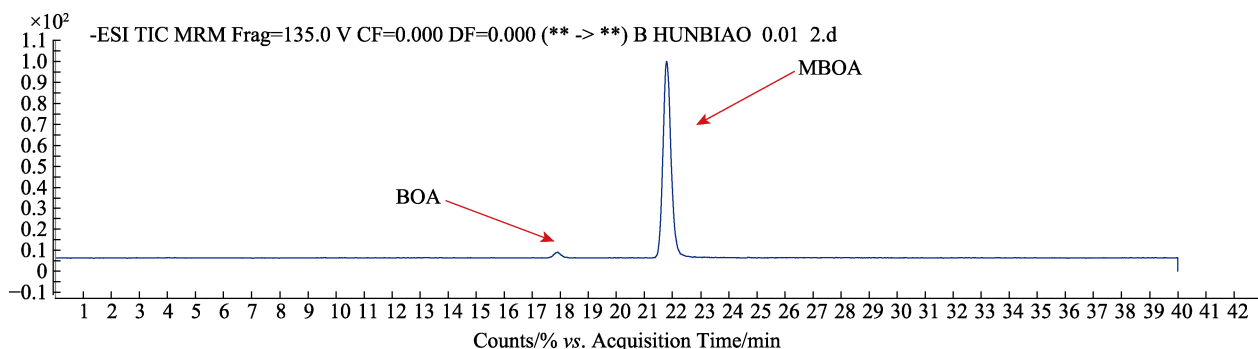


图 1 BOA 和 MBOA 的标准品质谱图

Fig.1 Chromatogram of BOA and MBOA

1.6 降血糖功能活性测定

1.6.1 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

参考龚凌霄等方法^[15], 分别将 MBOA、BOA 用甲醇溶解并配制成浓度为 0.1 g/mL 的储备液, 0.1 mol/L, pH 6.8 的磷酸盐缓冲液 (PBS) 稀释备用; 以阿魏酸和阿卡波糖为阳性对照, 配制质量浓度为 10 mg/mL 阿卡波糖溶液, 用 PBS 缓冲液 (0.1 mol/L, pH 6.8) 稀释备用。

分别取 10 μ L 不同质量浓度的供测样液与 45 μ L α -葡萄糖苷酶 (0.5 U/mL) 磷酸盐溶液 (0.1 mol/L, pH 6.8) 振荡混匀, 在 37 $^{\circ}$ C 条件下水浴 10 min。之后加入 45 μ L 4-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷溶液, 37 $^{\circ}$ C 反应 20 min, 再加入 100 μ L 碳酸钠溶液 (0.2 mol/L) 终止反应, 在 405 nm 波长下测定吸光度。以 PBS 缓冲液 (0.1 mol/L, pH 6.8) 代替 α -葡萄糖苷酶溶液作为样品空白 (Ab); 以 PBS 缓冲液代替供测样品作为酶液空白 (A0)。按照公式计算抑制率, 并用 SPSS 软件求出各供测样品的半抑制浓度 (IC₅₀)。

$$\text{抑制率}/\% = [(Ac-A0)-(As-Ab)]/Ac-A0$$

式中: Ac 为未添加样品反应液的吸光度; As 为添加样品反应液的吸光度。

1.6.2 α -淀粉酶抑制活性测定

分别取 MBOA、BOA 用甲醇溶解并配制成浓度为 0.1 g/mL 的储备液, 并用 0.02 mol/L 且 pH 6.8 的 PBS 缓冲液稀释备用; 以阿卡波糖和阿魏酸为阳性对照。配置 3,5 二硝基水杨酸 (DNS) 溶液, 用 0.02 mol/L PBS, pH 值为 6.8 的 PBS 溶液配制 13 U/mL 的 α -淀粉酶溶液。

参考 Hemalatha 等^[16]方法并做改动, 测定方法: 100 μ L 抑制剂样品+ 100 μ L α -淀粉酶溶液, 于 37 $^{\circ}$ C 条件下培养 10 min。再加入 100 μ L 1% 的可溶性淀粉溶液 (0.02 mol/L PBS), 置于 37 $^{\circ}$ C 条件下培养 10 min。加入 0.2 mL DNS 溶液, 沸水浴 5 min, 冷却至室温。加入 4 mL 蒸馏水稀释, 在 540 nm 下测定吸光度。按照公式计算出 α -淀粉酶抑制率, 并用 SPSS 软件求出 IC₅₀ 值。

$$\text{抑制率}/\% = [1-(As-Ab)/Ac-A0]$$

式中: A0 为酶液空白吸光度; Ac 为未添加样品反应液的吸光度; As 为添加样品反应液的吸

光度; Ab 为样品空白吸光度。

1.6.3 α -葡萄糖苷酶抑制作用的动力学

参考姜丽丽等^[17]的方法并稍作改动, 其中, α -葡萄糖苷酶浓度 (0.05 U/mL) 不变, 分别设置 6 个不同浓度的底物 (0.1、0.25、0.5、1、2.5、5 mmol/L), BOA、MBOA 两种抑制剂也选取三个不同浓度 (0、25、50 mg/mL), 并测定吸光度值 A, 横坐标为底物浓度的倒数 (1/S), 纵坐标为反应速度的倒数 (1/V), 绘制 Lineweaver-Burk 双倒数曲线图, 得到 BOA 与 MBOA 对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型。

底物浓度为 5 mmol/L, 设置 6 个不同的 α -葡萄糖苷酶浓度 (0.01、0.025、0.05、0.1、0.25、0.5 U/mL), BOA、MBOA 两种抑制剂采取三个不同浓度 (0、25、50 mg/mL), 测定吸光度值 A, 以酶浓度为横坐标, 以反应速度为纵坐标, 分析 BOA、MBOA 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用是否可逆。

1.6.4 α -淀粉酶抑制作用的动力学

α -淀粉酶浓度 (1 U/mL) 不变, 设置 6 个不同浓度的底物 (0.25、0.5、1、2.5、5、10 mg/mL), BOA、MBOA 两种抑制剂采取三个不同浓度 (0、25、50 mg/mL), 测定吸光度值 A, 绘制 Lineweaver-Burk 双倒数曲线, 分析 BOA、MBOA 对 α -淀粉酶的抑制类型。

底物浓度为 10 mg/mL, 设置 6 个不同的 α -淀粉酶浓度 (0.25、0.5、1、2.5、5、10 U/mL), BOA、MBOA 两种抑制剂采取三个不同浓度 (0、25、50 mg/mL), 测定吸光度值 A, 以酶浓度为横坐标, 以反应速度为纵坐标, 分析 BOA、MBOA 对 α -淀粉酶的抑制作用是否可逆。

1.7 数据分析

采用均数 \pm 标准差 (X \pm SD) 形式表示测定结果, 并使用 Microsoft Excel 进行数据分析并做图, 使用 SPSS 数据分析软件进行单因素方差分析 (ANOVA), 以 P<0.05 标准判断差异的显著性情况。

2 结果与讨论

2.1 加工处理对小麦中 MBOA、BOA 含量的影响

以其中两种小麦 (周麦 18、郑麦 1860) 为例,

分别进行三种处理方式后测定。经过三种处理方式的全麦粉中 MBOA 和 BOA 含量均有所增加, 并且水冷加工处理与热处理的方式相对水热加工 (HTP) 较低; 并且由表 1 中数据可知, 相对 HTP 中的水热处理两个步骤中, 水加工处理是提高 MBOA 与 BOA 的含量的关键步骤。造成这种差异的原因主要是水加工处理会使得小麦发芽, 而相对小麦籽粒, 小麦胚芽及幼苗中 MBOA 和 BOA 含量较高, 进而增加了全麦粉中两种化合物的含量。另有研究表明^[18], MBOA 与 BOA 是苯并噁嗪化合物中结构较为稳定的化合物, 而热加工可以促进苯并噁嗪类其他化合物向 MBOA 与 BOA 的转化, 从而增加两种化合物的含量, 且苯并噁嗪酮含量的增加与羟肟酸在烘烤过程中发生的化学降解反应相一致, 羟肟酸的生物合成主要发生在 HTP 处理过程中。

表 1 不同处理方式下周麦 18 和郑麦 1860 中 BOA 和 MBOA 的含量

Table 1 The content of BOA and MBOA in wheat 18 and wheat 1860 under different treatments

处理方式	小麦品种	MBOA 含量/(ng/g)	BOA 含量/(ng/g)
全麦粉	18	4.34±0.04g	4.04±0.44e
	1860	5.02±0.06g	4.03±0.54e
热处理	18	50.50±0.12 ^c	7.36±0.13f
	1860	11.90±0.07 ^f	5.92±0.02 ^g
水冷加工	18	1 977.00±0.76 ^c	228.78±0.98 ^c
	1860	2 512.79±0.96 ^b	332.77±0.06 ^d
水热加工 (HTP)	18	1 889.31±0.69 ^d	383.44±0.68 ^b
	1860	2 860.26±0.97 ^a	507.68±0.84a

注: 试验数据以平均值±标准差 (X±SD) (n=3)。

(a-g) 不同字母表示同一成分、同一品种小麦样品在不同处理方式下的显著性水平 (P<0.05)。

Note: The experimental data are expressed as mean ± standard deviation (X ± SD) (n=3).

(a-g) Different letters indicate the significance levels of the same component and the same variety of wheat samples under different treatments (P<0.05).

2.2 加工处理对不同小麦品种中 MBOA 和 BOA 含量的影响

将收集到的十三种小麦均进行未处理全麦粉与 HTP 处理后全麦粉进行 MBOA 与 BOA 含量测定, 得到结果如表 2。结果表明不同品种小麦中 MBOA 与 BOA 的含量差异比较明显, 不同小麦

表 2 全麦粉与 HTP 后全麦粉中 BOA 和 MBOA 的含量

Table 2 The content of BOA and MBOA in whole wheat powder

小麦品种	全麦粉/(ng/g)		HTP 后全麦粉/(μg/g)	
	MBOA 含量	BOA 含量	MBOA 含量	BOA 含量
郑麦 9023	4.30±0.01 ^e	2.13±0.18 ⁱ	2.77±0.05 ^c	0.59±0.05 ^h
郑麦 7698	4.35±0.01 ^e	2.13±0.18 ⁱ	1.22±0.03 ^k	0.60±0.01 ^{gh}
矮抗 58	4.32±0.01 ^e	4.29±0.36 ^d	0.71±0.02 ^l	0.83±0.02 ^e
郑麦 366	4.41±0.05 ^f	4.29±0.80 ^d	2.85±0.03 ^d	0.41±0.01 ⁱ
周麦 36	4.60±0.04 ^d	2.64±0.54 ^h	1.91±0.09 ^j	0.87±0.01 ^d
郑麦 26	4.62±0.02 ^d	7.98±0.06 ^a	2.35±0.01 ^h	0.32±0.01 ^j
百农 207	4.44±0.01 ^f	4.55±0.08 ^b	2.76±0.03 ^c	0.61±0.01 ^{fg}
郑麦 1860	5.02±0.06 ^a	4.04±0.44 ^c	3.20±0.03 ^b	1.09±0.04 ^b
周麦 18	4.34±0.04 ^e	4.03±0.54 ^c	1.58±0.09 ^j	0.78±0.04 ^f
郑麦 136	4.51±0.01 ^c	3.02±0.36 ^e	2.63±0.01 ^f	0.62±0.02 ^e
郑麦 1354	4.83±0.04 ^b	4.42±0.62 ^c	3.07±0.01 ^c	1.21±0.02 ^a
郑麦 0942	4.69±0.05 ^c	3.15±0.54 ^f	2.59±0.01 ^e	0.93±0.01 ^c
温庀 0528	4.32±0.00 ^e	1.62±0.18 ^l	3.64±0.01 ^a	1.08±0.04 ^b

品种的 MBOA 含量较接近, 在 4.30~5.02 ng/g 之间, 其中郑麦 1860 的 MBOA 含量最高; BOA 含量范围为 1.62~7.98 ng/g, 以周麦 26 的 BOA 含量最高, 是含量最低的温庀 0528 的 5 倍。另外, 每种小麦的 MBOA 和 BOA 的含量比例 4 : 1 到 4 : 7 不等, 这些差异性分析原因可能与小麦的生长环境、土壤因素与抗虫害能力有关。经过不同加工处理方式得到的样品中的 MBOA 与 BOA 含量也有显著差异, 且 MBOA 与 BOA 含量变化趋势相近, 按 MBOA 与 BOA 含量由低到高分别为: 未经加工处理的全麦粉<热处理后全麦粉 (50 °C)<水冷加工处理后全麦粉<水热加工处理后全麦粉。其中, 经过热处理的全麦粉中 MBOA 和 BOA 含量是未处理的全麦粉的 1.5~12 倍不等, 水热加工和水冷加工全麦粉中 MBOA、BOA 的含量是未处理全麦的 500~1 000 倍。

2.3 MBOA、BOA 降血糖功能活性评价

2.3.1 α-葡萄糖苷酶抑制活性

如图 2 和图 3 所示, MBOA、BOA 对 α-葡萄糖苷酶均有抑制活性, 且抑制能力呈浓度剂量依赖性。其中, 抑制能力由大到小排序为: 阿卡波糖>MBOA>阿魏酸>BOA。MBOA 的抑制能力强于阿魏酸, 但相对降糖药阿卡波糖差距较大。阿卡波糖浓度为 1 mg/mL 时, 抑制率高达 93.4%,

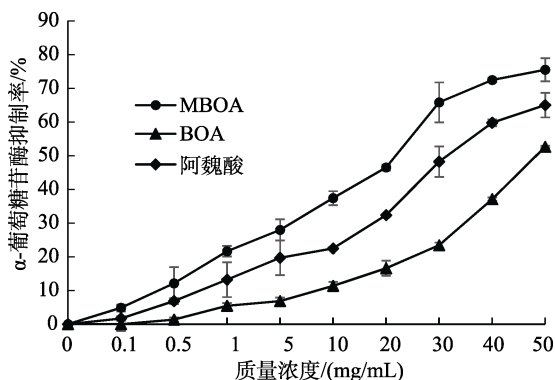


图 2 MBOA、BOA 与阿魏酸在不同浓度下对 α -葡萄糖苷酶的抑制率

Fig. 2 Inhibition of MBOA, BOA and ferulic acid on α -glucosidase in different concentrations

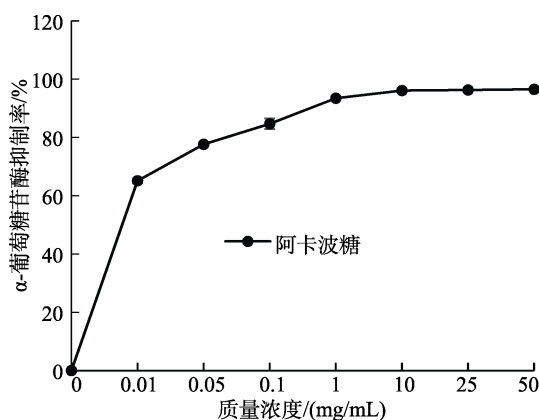


图 3 阿卡波糖在不同浓度下对 α -葡萄糖苷酶的抑制率

Fig. 3 Inhibition of acarbose on α -glucosidase in different concentrations

而 MBOA、BOA 和阿魏酸的抑制率分别为 21.6%、5.5%和 13.2%。

2.3.2 α -淀粉酶抑制活性

如图 4 和图 5 所示, MBOA、BOA 对 α -淀粉酶均有抑制活性, 且抑制能力呈浓度剂量依赖性。其中, 抑制力由大到小排序为: 阿卡波糖>阿魏酸>BOA>MBOA。当阿卡波糖浓度为 1 mg/mL 时, 抑制率为 58.7%, 而 MBOA、BOA 和阿魏酸的抑制率分别为 9.4%、24.7%和 29.7%。

运用 SPSS 软件计算 MBOA、BOA 与对照组阿卡波糖、阿魏酸的 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的 IC_{50} 值, 选取 logit 模型, 设置浓度、抑制率、总数三个变量, 通过软件进行曲线拟合, 自动生成曲线方程。表 3 结果表明 BOA 对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力最低, MBOA 对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力虽优于阿魏酸, 却远小于阿卡波糖; 而 MBOA

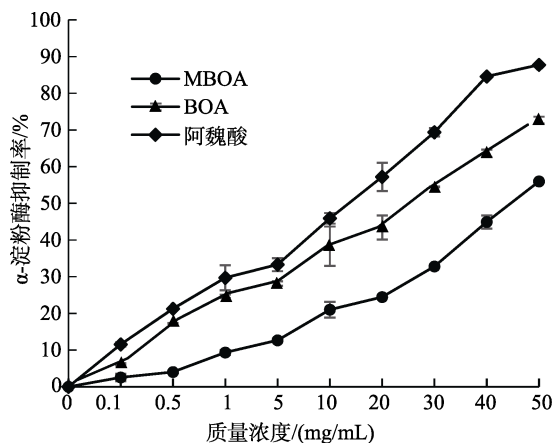


图 4 MBOA、BOA 与阿魏酸在不同浓度下对 α -淀粉酶的抑制率

Fig. 4 Inhibition of MBOA, BOA and ferulic acid on α -amylase in different concentrations

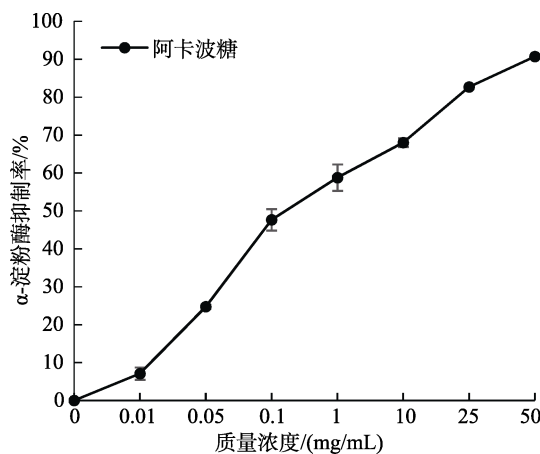


图 5 阿卡波糖在不同浓度下对 α -淀粉酶的抑制率

Fig. 5 Inhibition of acarbose on α -amylase in different concentrations

表 3 MBOA、BOA、阿魏酸与阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的 IC_{50}

Table 3 IC_{50} values of MBOA, BOA, ferulic acid and acarbose for α -glucosidase and α -amylase inhibition mg/mL

试样	IC_{50}	
	α -葡萄糖苷酶	α -淀粉酶
MBOA	13.73 ^b	64.98 ^d
BOA	73.9 ^d	17.68 ^c
阿魏酸	32.42 ^c	6.54 ^b
阿卡波糖	0.001 ^a	0.543 ^a

注: (a-d)不同字母表示不同物质对同一种酶的 IC_{50} 数值间的显著性水平 ($P < 0.05$)。

Note: (a-d) Different letters indicate the significance level between the IC_{50} values of different substances on the same enzyme ($P < 0.05$).

对 α -淀粉酶抑制能力最弱, BOA 对 α -淀粉酶的抑制能力与阿魏酸相近, 但 IC_{50} 值约为阿卡波糖的 33 倍。

因此, 降糖功能方面, MBOA、BOA 对 α -葡萄糖苷酶以及 α -淀粉酶均具有一定的抑制作用, 且接近甚至优于阿魏酸的酶抑制能力, 可以作为营养因子在控制血糖方面发挥积极作用。

2.3.3 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶抑制动力学

通过酶抑制动力学分析进一步分析确定 MBOA、BOA 的抑制机制。由图 6 可知, 在 α -葡萄糖苷酶体系分别加入不同浓度的 MBOA、BOA,

反应速度随抑制剂浓度的增加而减小, 米氏常数保持不变。说明 MBOA、BOA 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用是非竞争的。

由图 7 可知, 在 α -淀粉酶体系分别加入不同浓度的 MBOA、BOA, 反应速度随抑制剂浓度的增加而减小, 米氏常数保持不变。说明 MBOA、BOA 对 α -淀粉酶的抑制作用是非竞争的。

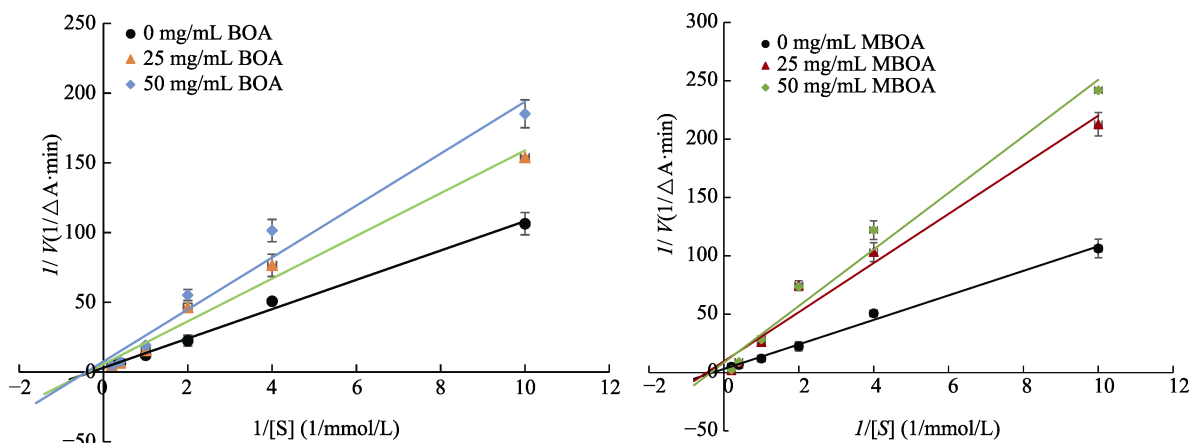


图 6 BOA、MBOA 对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型
Fig. 6 Inhibition type of MBOA and BOA on α -glucosidase

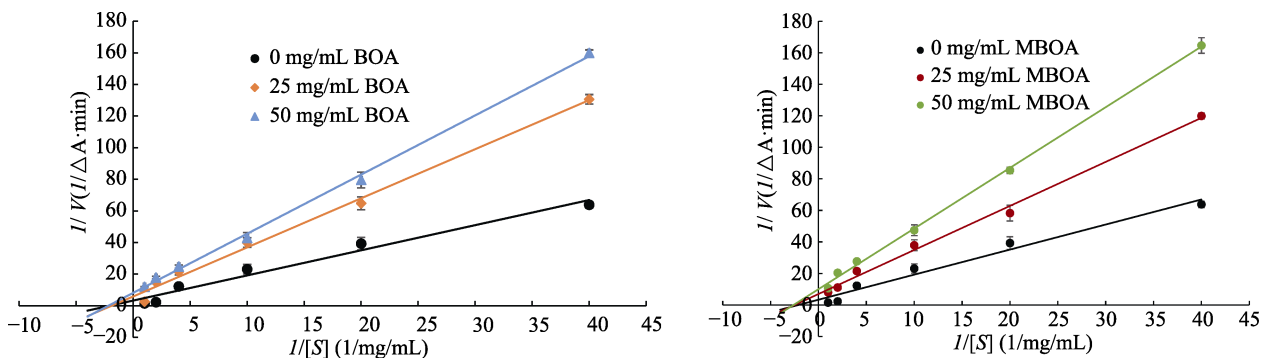


图 7 BOA、MBOA 对 α -淀粉酶的抑制类型
Fig. 7 Inhibition type of BOA and MBOA on α -amylase

3 结论

近几年才报道有关包括 MBOA、BOA 在内的苯并噁嗪类化合物在成熟谷物及谷类制品中的研究, 而且此类物质的研究多见于国外。国内苯并噁嗪类化合物的研究重点在于 MBOA、DIMBOA 这两种化感类物质, 且主要关注其在植物保护与昆虫防御方面。与其他谷物相比, 玉米、小麦、黑麦中 MBOA、BOA 含量相对较高且易检测, 而这几类谷物作为人类膳食的重要组成部分与人体健康息息相关。而 MBOA、BOA 作为其中的

功能活性成分, 其提取、检测方法尚未有明确标准, 关于我国小麦中 MBOA、BOA 的含量与比例关系尚不明确, 关于 MBOA、BOA 及其它苯并噁嗪类化合物的功能活性研究也不全面。本研究对我国的 13 个小麦品种中 MBOA、BOA 含量进行分析比较, 结果表明同品种全小麦中的 MBOA、BOA 含量具有较大差异, 而适当加工方法可以大幅提高 MBOA、BOA 含量, 进一步对 MBOA、BOA 的降血糖功能活性进行评价, MBOA、BOA 对 α -葡萄糖苷酶以及 α -淀粉酶均

具有一定的抑制作用,且接近甚至优于阿魏酸的酶抑制能力,可以作为营养因子在控制血糖方面发挥积极作用。虽然全麦籽粒中 MBOA 和 BOA 的含量较低,但经合适的加工方式可显著提高其含量水平。作为潜在的食源性健康因子,后续需进一步完善其他苯并噁嗪类化合物的提取、检测方法,明确不同加工处理方式对其含量的影响,并在体外研究相对完善时通过动物试验甚至临床试验等进一步明确其对人体健康的影响。

参考文献:

- [1] TANWIR F, FREDHOLM M, GREGERSEN P L, et al. Comparison of the levels of bioactive benzoxazinoids in different wheat and rye fractions and the transformation of these compounds in homemade foods[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(1): 444-450.
- [2] DE B W J C, HARRY G, JEAN-PAUL V. Structure and biosynthesis of benzoxazinoids: plant defence metabolites with potential as antimicrobial scaffolds[J]. *Phytochemistry*, 2018, 155, 233-243.
- [3] 刘树楠, 申国静, 李京, 等. 先玉 335、郑单 958 和京科 968 抗虫能力的比较研究[J]. *玉米科学*, 2019, 27(6): 52-57.
LIU S N, SHEN G J, LI J, et al. Comparative study on insect resistance of Xianyu 335, Zhengdan 958 and Jingke 968[J]. *Journal Of Maize Sciences*, 2019, 27(6): 52-57.
- [4] ADHIKARI K B, LAURSEN B B, GREGERSEN P L, et al. Absorption and metabolic fate of bioactive dietary benzoxazinoids in humans[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2013, 57(10): 1847-1858.
- [5] RICE C P, CAI G, TEASDALE J R. Concentrations and allelopathic effects of benzoxazinoid compounds in soil treated with rye cover crop[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(18): 4471-4479.
- [6] 吴艳兵, 田发军, 赵欢欢, 等. 丁布的生物活性研究进展[J]. *植物保护*, 2014, 40(5): 8-13.
WU Y B, TIAN F J, ZHAO H H, et al. Advances in studies on bioactivity of DIMBOA[J]. *Plant Protection*, 2014, 40(5): 8-13.
- [7] BRUIJN W J C D, VINCKEN J P, DURAN K, et al. Mass spectrometric characterization of benzoxazinoid glycosides from rhizopus-elicited wheat (*triticum aestivum*) seedlings[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(32): 6267-6276.
- [8] KATO S, SHIRATO K, IMAIZUMI K, et al. Anticancer effects of phenoxazine derivatives combined with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand on pancreatic cancer cell lines, KLM-1 and MIA-PaCa-2[J]. *Oncology Reports*, 2006, 15, 843-848.
- [9] VILLAGRASA M, M. GUILLAMÓN, ELJARRAT E, et al. Matrix effect in liquid chromatography – electrospray ionization mass spectrometry analysis of benzoxazinoid derivatives in plant material[J]. *Journal of chromatography*, 2007, 1157(1-2): 108-114.
- [10] SAVOLAINEN O, PEKKINEN J, KATINA K, et al. Glycosylated benzoxazinoids are degraded during fermentation of wheat bran[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(25): 5943-5949.
- [11] JENNA, PEKKINEN, NATALIA N, et al. Disintegration of wheat aleurone structure has an impact on the bioavailability of phenolic compounds and other phytochemicals as evidenced by altered urinary metabolite profile of diet-induced obese mice[J]. *Nutrition & Metabolism*. 2014, 11(1): 1-15.
- [12] DIHM K, VENDELBO-LIND M, HENRIK S, et al. Quantification of benzoxazinoids and their metabolites in Nordic breads[J]. *Food Chemistry*, 2017, 235, 7-13.
- [13] ADHIKARI K B, TANWIR F, GREGERSEN P L, et al. Benzoxazinoids: Cereal phytochemicals with putative therapeutic and health-protecting properties[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2015, 59(7): 1324-1338.
- [14] PEDERSEN H A, LAURSEN B, MORTENSEN A, et al. Bread from common cereal cultivars contains an important array of neglected bioactive benzoxazinoids[J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(4): 1814-1820.
- [15] 龚凌霄, 曹文燕, 张英, 等. 青稞麸皮提取物抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究及成分分析[J]. *食品科学*, 2017, 38(6): 179-184.
GONG L X, CAO W Y, ZHANG Y, et al. Inhibitor activities on α -Glucosidase and component analysis of Tibetan hull-less barley bran extracts[J]. *Food Science*, 2017, 38(6): 179-184.
- [16] HEMALATHA P, BOMZAN D P, RAO B V S, et al. Distribution of phenolic antioxidants in whole and milled fractions of quinoa and their inhibitory effects on alpha-amylase and alpha-glucosidase activities[J]. *Food Chemistry*, 2016, 199(MAY 15): 330-338.
- [17] 姜丽丽, 张中民, 陈道玉, 等. 白藜芦醇对 α -葡萄糖苷酶的抑制动力学及抑制机制[J]. *食品科学*, 2019, 40(11): 70-74.
JIANG L L, ZHANG Z M, CHEN D Y, et al. Inhibition kinetics and mechanisms of resveratrol on α -Glucosidase[J]. *Food Science*, 2019, 40(11): 70-74.
- [18] BOLING W, ROD T, PEI R S, et al. Harvest date affects aronia juice polyphenols, sugars, and antioxidant activity, but not anthocyanin stability[J]. *Food Chemistry*, 2015, 187: 189-196. 完