

## 发酵米荞对高脂肪秀丽隐杆线虫的降脂及抗氧化作用

严 静, 薛秋艳, 王 旻, 陈汶意, 谢诗晴, 江津津, 黎 攀, 杜 冰

### Hypolipidemic and Antioxidant Effects of Fermented Rice Buckwheat on High-fat *Caenorhabditis elegans*

YAN Jing, XUE Qiuyan, WANG Yang, CHEN Wenyi, XIE Shiqing, JIANG Jinjin, LI Pan, and DU Bing

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070044>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 姜黄素对秀丽隐杆线虫降脂及抗氧化保护作用

Lipid-lowering and anti-oxidative effects of curcumin on *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2017(14): 289-293 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.14.057>

#### 秀丽隐杆线虫在降脂类生物活性物质功能评价中的应用研究进展

Research progress on application of *Caenorhabditis elegans* in function evaluation of lipid-lowering bioactive substances

食品工业科技. 2017(19): 346-351 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.19.064>

#### 蓝莓酵素的体外抗氧化及对秀丽隐杆线虫的氧化应激保护作用

Antioxidant Activity *in Vitro* and Promoting Resistance to Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans* of Blueberry Jiaosu

食品工业科技. 2021, 42(15): 343-350 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020110157>

#### 芫荽提取物对秀丽隐杆线虫体内抗氧化活性的初步探究

Exploring the Antioxidant Activity *in Vivo* of Coriander Extract in *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2020, 41(20): 285-289 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.20.047>

#### 1-脱氧野尻霉素对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用

Anti-aging Effects of 1-Deoxynojirimycin on *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2018, 39(21): 280-286 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.21.050>

#### 虾青素对秀丽隐杆线虫衰老的改善作用及机制研究

The aging improvement effects and mechanism of astaxanthin on *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2017(22): 22-25 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.22.005>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

严静, 薛秋艳, 王旻, 等. 发酵米荞对高脂肪秀丽隐杆线虫的降脂及抗氧化作用 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 8–15. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070044

YAN Jing, XUE Qiuyan, WANG Yang, et al. Hypolipidemic and Antioxidant Effects of Fermented Rice Buckwheat on High-fat *Caenorhabditis elegans*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(6): 8–15. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070044

· 青年编委专栏—杂粮与主粮复配的营养学基础 (客座主编: 彭镰心、李志江) ·

# 发酵米荞对高脂肪秀丽隐杆线虫的降脂及 抗氧化作用

严 静<sup>1</sup>, 薛秋艳<sup>1</sup>, 王 旻<sup>2</sup>, 陈汶意<sup>1</sup>, 谢诗晴<sup>1</sup>, 江津津<sup>3</sup>, 黎 攀<sup>1</sup>, 杜 冰<sup>1,\*</sup>

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642;

2. 黄埔海关后勤管理中心, 广东广州 510730;

3. 广州城市职业学院, 广东广州 510405)

**摘要:** 本文旨在研究发酵米荞的降脂及抗氧化作用。以高糖 (10 mmol/L) 诱导建立秀丽隐杆线虫高脂肪模型, 经发酵米荞干预后, 测定其对高脂肪线虫寿命、运动能力、产卵量、活性氧 (ROS) 水平、抵抗氧化应激能力和抗氧化酶活力的影响; 同时, 检测了其高脂肪线虫体内甘油三酯和游离脂肪酸含量的影响。结果表明, 经发酵米荞干预的高脂肪线虫的最大寿命极显著增加 30.90% ( $P < 0.01$ ), 运动能力极显著提升 28.57% ( $P < 0.01$ ), 产卵量增加 ( $P > 0.05$ ); 同时, 发酵米荞可以极显著提高高脂肪线虫体内抗氧化酶活性 ( $P < 0.01$ )、降低丙二醛含量及 ROS 水平 ( $P < 0.01$ ), 并且极显著提升其抵抗氧化应激能力 ( $P < 0.01$ )。此外, 发酵米荞还能极显著降低高脂肪线虫的甘油三酯及游离脂肪酸含量, 分别降低了 56.58% 和 130.54% ( $P < 0.01$ )。综上所述, 发酵米荞可通过增强抵抗氧化应激能力、减少脂肪沉积和提高抗氧化酶活性发挥其对高脂肪线虫的降脂作用。

**关键词:** 发酵, 米荞, 秀丽隐杆线虫, 降脂, 抗氧化活性

中图分类号: TS213

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)06-0008-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070044



本文网刊:

## Hypolipidemic and Antioxidant Effects of Fermented Rice Buckwheat on High-fat *Caenorhabditis elegans*

YAN Jing<sup>1</sup>, XUE Qiuyan<sup>1</sup>, WANG Yang<sup>2</sup>, CHEN Wenyi<sup>1</sup>, XIE Shiqing<sup>1</sup>, JIANG Jinjin<sup>3</sup>, LI Pan<sup>1</sup>, DU Bing<sup>1,\*</sup>

(1. College of Food, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Huangpu Customs Logistics Management Center, Guangzhou 510730, China;

3. Guangzhou City Polytechnic, Guangzhou 510405, China)

**Abstract:** This research aimed to investigate the hypolipidemic and antioxidant effects of fermented rice buckwheat. A high-fat model of *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) was established by high sugar (10 mmol/L) induction. After the treatment of fermented rice buckwheat, its effects on the longevity, motility, egg production, reactive oxygen species (ROS) levels, resistance to oxidative stress, and antioxidant enzyme activity of high-fat *C. elegans* were determined. At the same time, its effect on the triglyceride and free fatty acid content in high-fat *C. elegans* were examined. The results showed that the maximum life span of high-fat *C. elegans* intervened by fermented rice buckwheat significantly increased by 30.90% ( $P < 0.01$ ), significantly increased motility by 28.57% ( $P < 0.01$ ), and increased egg production ( $P > 0.05$ ). Furthermore, fermented rice buckwheat could significantly increase the antioxidant enzyme activity ( $P < 0.01$ ), reduce malondialdehyde content and ROS levels ( $P < 0.01$ ), and significantly enhance their ability to resist oxidative stress ( $P < 0.01$ ). In addition,

收稿日期: 2022-07-07

**基金项目:** 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-21); 广东省重点领域研发计划项目 (2020B020226008); 广东省自然科学基金面上项目 (2020A151011268); 广州市科技计划项目 (202102080487)。

**作者简介:** 严静 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品新原料与功能性食品, E-mail: 452100119@qq.com。

**\* 通信作者:** 杜冰 (1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品新原料的开发, E-mail: gzdubing@163.com。

fermented rice buckwheat could also significantly reduce the triglyceride and free fatty acid content of high-fat *C. elegans*, respectively, reduced by 56.58% and 130.54% ( $P<0.01$ ). In summary, fermented rice buckwheat exhibited a lipid-lowering effect by enhancing resistance to oxidative stress, reducing fat deposition, and improving the antioxidant enzyme activity of high-fat *C. elegans*.

**Key words:** fermentation; rice buckwheat; *Caenorhabditis elegans*; lipid-lowering; antioxidant activity

随着经济的高速发展,人们的生活品质不断提高。然而,肥胖和高血脂症的患病率正在以惊人的速度增长<sup>[1]</sup>。肥胖症是体内脂肪、甘油三酯等过量聚集而导致超重和肥胖的一种代谢性疾病,而脂质的过度积累会诱导许多疾病的发生发展,如高脂血症、2 型糖尿病和心血管疾病<sup>[2]</sup>。现今,如何有效地预防及改善肥胖和高血脂症是科学研究的重大难题。以运动与健康饮食为先导,再结合药物干预,是目前最有效的治疗方式。虽然临床上用于降脂的药物种类很多,但长期使用合成类药物具有潜在的副作用及不良反应<sup>[3]</sup>。因此,开发副作用小、功效显著的功能性食品具有一定的应用价值。近年来,谷物一直被认为是开发功能性食品的潜在理想候选,故寻找具有调节脂质代谢功能的天然、无毒的谷物类产品是目前的研究热点。

米荞是荞麦中的优质品种之一,属于苦荞类中一年生草本植物,全国范围内仅在云南省西盟县有种植,故又称为“西盟米荞”。西盟米荞营养丰富,有“杂粮之王”的美誉。西盟米荞富含丰富的蛋白质、矿物质、微量元素、黄酮及酚类化合物等,具有抗氧化、减肥降脂和缓解心血管疾病等功效<sup>[4]</sup>。目前,虽然以西盟米荞为原料已开发了米荞茶、米荞面条、米荞粉等产品<sup>[5]</sup>,但在精深加工方面仍需加强。近年来,相关研究表明经发酵处理的粮食作物的功能活性得到提高<sup>[6]</sup>。程珂<sup>[7]</sup>利用植物乳杆菌发酵大麦提取物研究其对秀丽隐杆线虫的降脂作用,结果表明经发酵处理的大麦提取物中的总酚及有机酸含量显著增加,并且能显著抑制秀丽隐杆线虫体内的脂质积累。课题组前期研究表明<sup>[8]</sup>,经复合益生菌发酵处理的米荞的总酚、黄酮、 $\gamma$ -氨基丁酸等活性成分显著增加,且体外抗氧化能力提升,但暂未见采用秀丽隐杆线虫模型来研究发酵米荞降脂及抗氧化作用的相关报道。

野生型 N2 秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*)是一种多细胞模式生物,具有体积小、成本低、易于培养、世代周期短和基因操作容易等优点<sup>[9]</sup>。秀丽隐杆线虫是抗衰老、抗氧化等功能评价最常用的模型之一。近年来,研究表明秀丽隐杆线虫的脂肪代谢通路明确,且与人类的脂肪代谢通路相似,可作为研究脂质代谢的重要模式生物<sup>[10]</sup>。目前,秀丽隐杆线虫高脂肪模型的建立主要通过向线虫培养基中添加高浓度的胆固醇或糖类,但添加高浓度的胆固醇会对线虫的产卵量产生显著的影响<sup>[7]</sup>。因此,本文利用复合益生菌发酵米荞,以 10 mmol/L 葡萄

糖诱导秀丽隐杆线虫建立高脂肪模型,初步探讨发酵米荞对高脂肪线虫生理生化、降脂和抗氧化作用的影响,以期开发以发酵米荞为原料的功能产品提供理论依据,也为秀丽隐杆线虫这一模式生物在脂质代谢和抗氧化等方面研究提供更多科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

米荞 云南省普洱市西盟县;产乳酸芽孢杆菌(*Bacillus* sp.) DU-106、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) 存放于华南农业大学新资源食品及功能性原料评价中心,二者菌粉按 12:1 进行复配<sup>[11]</sup>为本实验所用的菌粉;野生型 N2 秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)、缺陷型大肠杆菌(*E. coli* OP50) 上海南方模式生物科技股份有限公司;奥利司他胶囊 重庆植恩药业有限公司;胡桃醌 上海源叶生物有限公司;甘油三酯(TG)、游离脂肪酸(FFA)、总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)等生化分析试剂盒 南京建成生物工程研究所。

体式显微镜 上海精密科学仪器有限公司;SPX-150B-Z 型生化培养箱 上海博迅实业有限公司;Labserve K3 型酶标仪 赛默飞世尔科技(中国)有限公司;HH-4 数显恒温水浴锅 常州亿通分析仪器制造有限公司;DHP-600 型恒温培养箱 北京市永光明医疗仪器厂;JIDI-17R 微量高速冷冻离心机 广州吉迪仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 生米荞粉<sup>[12]</sup>:挑选颗粒大小一致、成熟饱满的米荞,用清水洗净后,低温冷冻真空干燥,研磨,过 80 目筛。

生米荞发酵粉<sup>[12]</sup>:称取 0.5 g 复配菌粉,于 50 mL 0.9% 生理盐水中活化。取 60 g 米荞于锥形瓶中,料水比 1:3(g/mL),糖添加量为 2%。复合菌粉按 2% 接种,置于 28℃ 恒温培养箱中发酵 3 d,发酵结束后低温冷冻真空干燥、研磨,过 80 目筛。

分别称量 0.5 g 生米荞粉和发酵米荞粉,溶于 10 mL 2% 二甲基亚砜(DMSO)溶液中,并与活化后的大肠杆菌 OP50 菌液 1:9 混合,使 DMSO 的终浓度为 0.2%,且生米荞和发酵米荞的样品浓度均为 0.5 mg/mL。取 1 粒奥利司他胶囊(0.12 g),溶解于 100 mL 2% DMSO 溶液中,得 1.2 mg/mL 奥利司他溶液,并与活化后的 OP50 菌液 1:9 混合,使 DMSO



的终浓度为0.2%, 奥利司他浓度为120  $\mu\text{g/mL}$ 。

### 1.2.2 含糖培养基的配制

1.2.2.1 线虫生长培养基(Nematode Growth Medium, NGM)的配制 称取1.2 g 氯化钠、8 g 琼脂粉、1 g 胰蛋白胨、0.08 g 链霉素硫酸盐于锥形瓶中, 加入390 mL 蒸馏水混匀密封后于灭菌锅内121  $^{\circ}\text{C}$  灭菌30 min, 待培养液温度降至65  $^{\circ}\text{C}$  时, 依次加入400  $\mu\text{L}$  1 mol/L  $\text{CaCl}_2$  溶液、400  $\mu\text{L}$  1 mol/L  $\text{MgSO}_4$  溶液、400  $\mu\text{L}$  5 mg/mL 的胆固醇以及10 mL 1 mol/L  $\text{K}_3\text{PO}_4$  缓冲液。混匀后, 在无菌条件下, 趁热分装至培养皿中。

1.2.2.2 含10 mmol/L 葡萄糖的NGM培养基制备 参考吉鑫<sup>[13]</sup>的研究方法, 略作修改。称量0.72 g 葡萄糖溶于10 mL 的无菌水中, 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 过滤后加入NGM正常培养基内。

1.2.3 线虫同步化 参考Lin等<sup>[14]</sup>的研究方法, 略作修改。用M9缓冲液将产卵期线虫从NGM培养基洗进无菌EP管中, 待自然沉降后, 弃部分上清, 留500  $\mu\text{L}$ , 按体积比1:1加入裂解液, 涡旋震动3~4 min, 4000 r/min 离心1 min, 弃上清, 用M9清洗沉淀2~3遍。用移液枪吸取EP管底部虫卵滴于含有OP50的NGM培养基中, 于20  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中孵育48~72 h即可得到实验所需的L4期线虫。

1.2.4 寿命和移动力试验 线虫分为阴性对照组(含0.2% DMSO, 正常培养基)、高脂肪模型组(含0.2% DMSO, 高糖培养基)、奥利司他药物组(120  $\mu\text{g/mL}$ , 高糖培养基)、生米芽组(0.5 mg/mL, 高糖培养基)、发酵米芽组(0.5 mg/mL, 高糖培养基)。随机挑取同期化至L4期的线虫到各组平板上(每组3个平板, 每个平板30条线虫)。从转移时刻起记录各组线虫的存活天数, 每24 h转移线虫至对应的实验组新板中, 产卵期结束后可每2 d转一次。每天记录线虫存活和死亡数, 当所有组别中的线虫均死亡时, 则实验结束。

做寿命试验的同时进行线虫的移动力试验。在第0、5、10、15、20 d时观察线虫的移动能力。移动力可分为三个等级为A、B、C<sup>[15]</sup>。线虫可自主运动, 不需触碰刺激, 记为A; 线虫必须受到触碰刺激才会运动, 记为B; 线虫受到触碰刺激后只摆动头或尾, 记为C。

1.2.5 产卵量试验 参考王凤等<sup>[16]</sup>的研究方法, 略作修改。挑取L4期线虫至各组平板上, 每板2条, 每组5个板。每24 h将线虫转移至对应的新板中, 直至产卵期结束。所有含虫卵的板置于20  $^{\circ}\text{C}$  培养48 h后再计数, 各板孵出的子代数之和即为该线虫总子代数。

1.2.6 活性氧(ROS)含量测定 参照Zhang等<sup>[17]</sup>的研究方法, 略作修改。挑取L4期线虫至各组平板上, 干预3 d后, 再用M9缓冲液将虫体冲洗至无菌EP管中, 加入研磨珠后冷冻研磨, 4000 r/min 离心

1 min, 取上清液。同时, 吸取50  $\mu\text{L}$  上清液和50  $\mu\text{L}$  100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{DCF-DA}$  溶液于96孔板中混匀, 以 $\text{H}_2\text{DCF-DA}$ 溶液为对照。将96孔板放置于酶标仪中测定荧光强度, 发射波长为528 nm, 激发波长为485 nm, 反应温度为25  $^{\circ}\text{C}$ , 每隔10 min测定一次, 总反应时间为2 h。

1.2.7 胡桃醌氧化应激试验 参考李玉英等<sup>[18]</sup>的实验方法, 略作修改。挑取L4期线虫至各组平板上, 经样品干预3 d后, 转移至含有500  $\mu\text{mol/L}$  胡桃醌的培养基中, 每组30条, 每1 h统计一次线虫存活情况, 直到线虫全部死亡为止。

1.2.8 甘油三酯和游离脂肪酸含量的测定 挑选L4期的线虫至各组平板上, 干预3 d后, 用M9冲洗虫体至无菌EP管中, 采用珠磨机破碎虫体, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、4000 r/min 离心1 min, 收集上清液。根据甘油三酯和游离脂肪酸试剂盒说明书测定线虫体内甘油三酯和游离脂肪酸含量。

1.2.9 抗氧化酶的测定 挑选L4期的线虫至各组平板上, 干预3 d后, 转移至EP管中, 将线虫用M9冰浴匀浆后, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、4000 r/min 离心1 min, 收集上清液。按试剂盒说明书测定线虫体内SOD、CAT、GSH-Px酶活力和MDA含量。

## 1.3 数据处理

每个实验均进行三次重复实验, 结果以平均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, 并通过GraphPad Prism 8.0软件采用one-way ANOVA分析法进行多组间显著性分析, 采用log-rank检验对生存曲线进行显著性分析。 $P<0.05$ 为有显著性差异,  $P<0.01$ 为有极显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵米芽对高脂肪线虫寿命的影响

相关研究表明, 高糖饮食与线虫寿命的缩短具有一定的相关性<sup>[19]</sup>。由图1和表1可知, 与对照组相比, 10 mmol/L 高糖诱导的高脂肪线虫的生存曲线向左移, 其中平均寿命13.69 d, 缩短了19.14%( $P<0.01$ ); 最大寿命23.33 d, 缩短了8.57%( $P<0.01$ ), 与Lee等<sup>[20]</sup>和Elena等<sup>[21]</sup>的研究结果相一致。研究表明, 高脂肪线虫的寿命降低, 可能是由于机体代谢过程中产生过量的活性氧自由基, 引起氧化损伤加剧<sup>[22]</sup>。而与高脂肪模型组相比, 药物组、生米芽组、发酵米芽组线虫的生存曲线右移, 最大寿命分别为25.80、29.02、30.54 d, 相对寿命延长率分别达10.59%、24.39%和30.90%( $P<0.01$ ), 说明在高糖诱导脂肪积累的情况下, 摄入奥利司他、生米芽和发酵米芽均能延长线虫的寿命。其中, 发酵米芽组线虫的平均寿命和最长寿命均最大, 与高脂肪模型组相比分别增加6.84和7.21 d( $P<0.01$ )。研究表明, 天然活性成分在一定程度上可以延长线虫寿命<sup>[23]</sup>, 发酵米芽组线虫的寿命增加最显著, 这可能与发酵米芽中含有丰富的活性成分如芦丁、多酚有关。除此之外, 发

表 1 发酵米荞对秀丽隐杆线虫平均寿命和最长寿命的影响  
Table 1 Effects of fermented rice buckwheat on the average and maximum life of *C. elegans*

指标	NC	MC	OST	RB	FRB
中位生存时间(d)	15.67±4.12	13.10±2.13 <sup>###</sup>	17.08±3.14 <sup>**</sup>	18.17±3.12 <sup>**</sup>	20.33±3.86 <sup>**</sup>
平均寿命(d)	16.93±4.34	13.69±1.38 <sup>###</sup>	17.06±3.21 <sup>**</sup>	18.39±3.08 <sup>**</sup>	20.53±3.28 <sup>**</sup>
最长寿命(d)	25.33±5.15	23.33±2.65 <sup>###</sup>	25.80±5.02 <sup>**</sup>	29.02±4.11 <sup>**</sup>	30.54±5.01 <sup>**</sup>

注: 与阴性对照组相比: #,  $P<0.05$  有显著性差异; ###,  $P<0.01$  有极显著差异; 与模型组相比: \*,  $P<0.05$  有显著性差异; \*\*,  $P<0.01$  有极显著差异; 图3、图6~图8同。

酵米荞能延长线虫寿命还可能与 Insulin/IGF-1 信号通路有关<sup>[24]</sup>, 该通路是调节线虫寿命最重要的信号通路之一, 但具体的调节机制还需进一步研究。

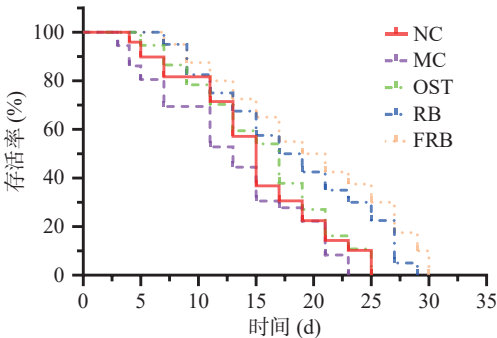


图 1 发酵米荞对秀丽隐杆线虫寿命的影响

Fig.1 Effects of fermented rice buckwheat on the longevity of *C. elegans*

注: NC: 阴性对照组; MC: 高脂肪模型组; OST: 奥利司他药物组; RB: 生米荞组; FRB: 发酵米荞组; 表 1、图 2~图 8 同。

2.2 发酵米荞对高脂肪线虫移动力的影响

有研究表明, 线虫衰老过程中往往伴随着相关生理功能的衰退, 所以线虫的移动能力与寿命有直接相关性<sup>[18]</sup>。由图 2 所示, 在做寿命试验的同时, 记录了线虫第 5、10、15 和 20 d 的移动能力。当线虫处于生命早期阶段时(第 5 d), 对照组、高脂肪模型组、药物组和各样品组均有大于 80% 的线虫处于在 A 状态; 第 10 d, 相比于其他组, 高脂肪模型组处于 A 状态线虫的比例最低, 仅为 70%; 在线虫寿命晚期阶段(第 20 d), 高脂肪模型组线虫可自发平稳运动的

比例为 0。在线虫寿命晚期阶段, 与模型组相比, 药物组、米荞和发酵米荞组可自主游动的线虫比例分别增加了 20%、22.22% 和 28.57% ( $P<0.01$ ), 且发酵米荞组可自主游动的线虫比例最高。相关研究表明, 移动力代表能量消耗情况, 运动频率越高, 能量消耗越多, 脂肪的积累程度越低<sup>[25]</sup>。因此, 发酵米荞不仅可以增加高脂肪线虫的能力消耗, 减少脂质的积累, 还可以缓解高脂肪线虫的运动能力因年龄的增加而下降的情况。

2.3 发酵米荞对高脂肪线虫产卵量的影响

线虫的产卵量受环境、传代数等多种因素的影响, 线虫通常在产卵期的前 4 d 具有很强的繁殖能力。由图 3A 可知, 线虫的生育高峰期处在第 2 d 和第 3 d, 并且第 2 d 的产卵量最多。随着线虫的衰老, 第 5 d 时基本不产卵。由图 3B 可得, 与对照组相比, 高脂肪模型组线虫的总产卵量下降, 由 341 个下降至 288 个, 下降了 15.54% ( $P>0.05$ ), 说明高糖应激会对线虫的产卵量产生一定的影响。宗华<sup>[26]</sup>研究表明 10~500 mmol/L 的葡萄糖诱导均会导致线虫的生殖能力下降, 可能是通过调控蛋白质糖基化和胰岛素相关通路。而与高脂肪模型组相比, 药物组、米荞组和发酵米荞组的线虫产卵量均有所增加 ( $P>0.05$ ), 且与对照组相接近, 说明样品对高脂肪线虫的繁殖能力均无抑制作用。

2.4 发酵米荞对高脂肪线虫 ROS 积累的影响

当机体受到氧化损伤时(如高糖应激)会产生 ROS 自由基, ROS 自由基的过度积累会引起氧化系

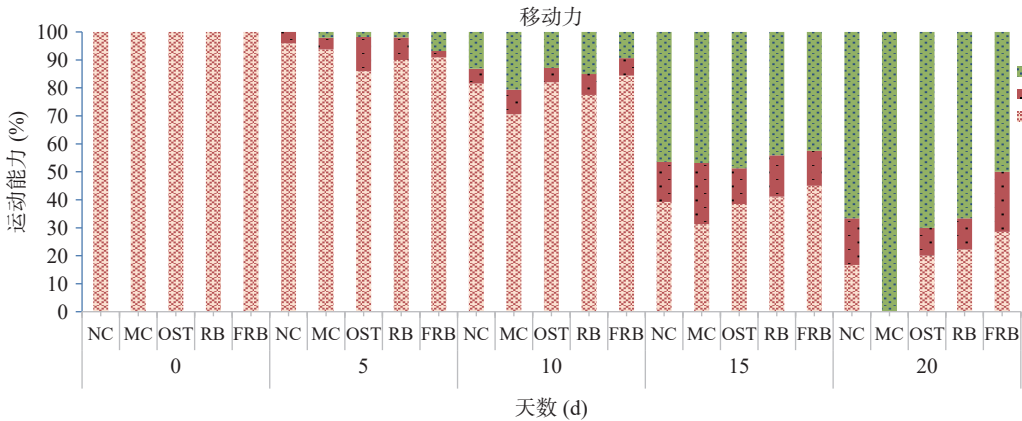


图 2 发酵米荞对秀丽隐杆线虫运动能力的影响

Fig.2 Effects of fermented rice buckwheat on the locomotion ability of *C. elegans*

注: 线虫可自主游动自如定义为 A, 仅在挑针触碰线虫的头部或尾部后开始爬行定义为 B, 若是行动力介于二者之间定义为 B。

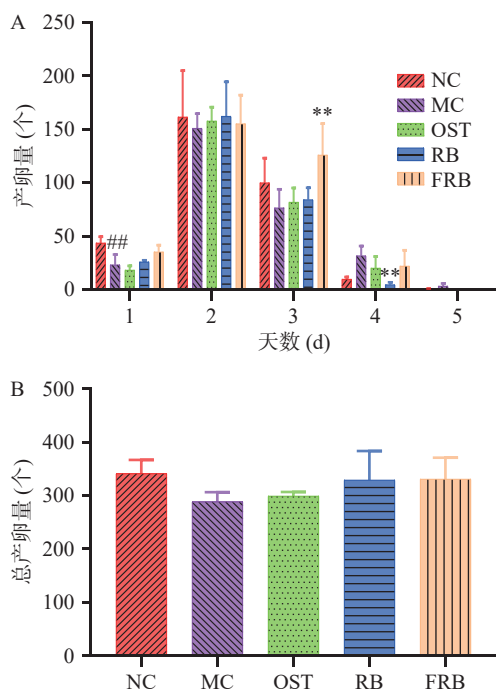


图3 发酵米荞对秀丽隐杆线虫产卵量的影响

Fig.3 Effects of fermented rice buckwheat on egg production in *C. elegans*

注: A: 各组线虫每天的产卵量; B: 各组线虫总产卵量。

统失衡,导致机体处于氧化应激状态<sup>[27]</sup>。氧化应激会引起一系列生物大分子的氧化损伤,并且参与了许多代谢疾病的发生发展,如肥胖、高脂血症等<sup>[28]</sup>。本实验用  $H_2DCF-DA$  分子探针检测各组线虫体内 ROS 积累的情况。由图 4 可得,随着检测时间的延长,分子探针检测到的 ROS 含量逐渐增多。与对照组相比,高脂肪模型组线虫的 ROS 水平明显升高。而经米荞、发酵米荞干预后,高脂肪线虫的 ROS 相对含量明显降低,并且给予高脂肪线虫饲喂发酵米荞,相比于米荞,更显著抑制了氧化应激状态下线虫体内的 ROS 积累。有研究表明脂质积累与 ROS 水平具有强相关性,减少机体的 ROS 水平有助于抑制脂肪沉积<sup>[29]</sup>。由此可得,发酵米荞可以清除高脂肪线虫体内的自由基,缓解氧化损伤,从而减少高脂肪线虫体内的脂质积累。

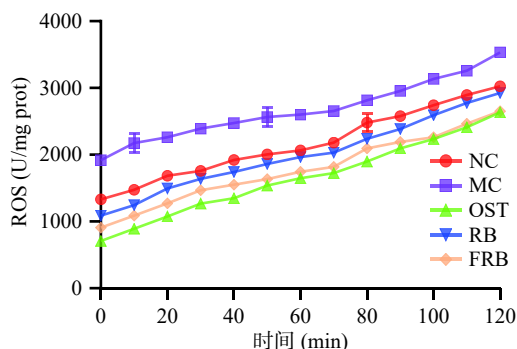


图4 发酵米荞对秀丽隐杆线虫体内 ROS 的影响

Fig.4 Effects of fermented rice buckwheat on ROS in *C. elegans*

## 2.5 发酵米荞对高脂肪线虫胡桃醌氧化应激的影响

为研究发酵米荞对线虫抵抗氧化应激能力的影响,用  $500 \mu\text{mol/L}$  胡桃醌创造一个急性氧化应激的环境。胡桃醌是强氧化剂,在线虫体内会诱导产生氧化应激反应,短时间内产生大量的自由基,从而引起急性氧化损伤<sup>[30]</sup>。研究结果如图 5 所示,与对照组相比,高脂肪模型组线虫的生存曲线向左移,寿命由 12 h 缩短至 10 h,说明高糖诱导加以胡桃醌应激会导致线虫生存能力降低。而经药物、米荞和发酵米荞干预后,高脂肪线虫的生存曲线明显向右移,生存时间分别增加至 14、13 和 16 h,且发酵米荞组线虫的生存时间长于米荞组,说明发酵米荞组线虫抵抗氧化应激能力强于生米荞组,这可能与发酵米荞有较强的抗氧化活性有关<sup>[8]</sup>。王力等<sup>[31]</sup>研究表明,线虫抵抗氧化应激能力与机体的抗氧化能力具有一定的相关性,故发酵米荞可能通过发挥抗氧化功效以达到增强线虫抵抗氧化应激能力的作用。综上所述,发酵米荞显著增强了高脂肪线虫对氧化应激的耐受力,特别是在胡桃醌诱导的氧化胁迫下。

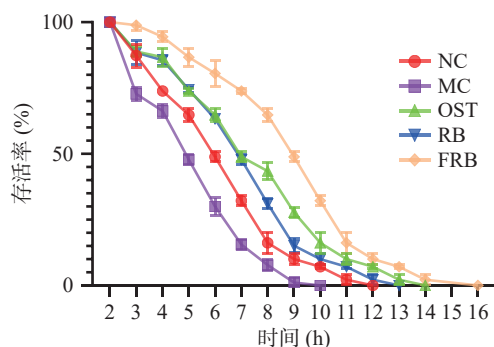


图5 发酵米荞对秀丽隐杆线虫应激能力的影响

Fig.5 Effects of fermented rice buckwheat on the stress capacity of *C. elegans*

## 2.6 发酵米荞对高脂肪线虫甘油三酯含量的影响

甘油三酯是脂肪合成的重要原料,其含量常用于评价体内脂质水平。甘油三酯含量降低,将会导致线虫体内的脂肪合成减少,从而达到降脂的效果<sup>[32]</sup>。由图 6 所示,与对照组相比,高脂肪模型组线虫体内甘油三酯含量显著增加,为  $2.90 \text{ mmol/g prot}$ ,增加了  $46.27\%$  ( $P < 0.01$ ),说明高糖诱导会导致线虫体内脂肪沉积。而给予高脂肪线虫饲喂米荞和发酵米荞均可显著降低甘油三酯含量,分别降低了  $34.77\%$  和  $56.58\%$  ( $P < 0.01$ ),并且在相同剂量下发酵米荞抑制线虫体内脂肪沉积的效果优于米荞,抑制效果与药物组相接近。黄壮等<sup>[33]</sup>研究表明,高浓度三七醇提物可以降低线虫体内甘油三酯水平达到降脂的目的,与我们研究结果相类似。Qin 等<sup>[34]</sup>研究发现芦丁可以通过降低甘油三酯含量,从而减少高脂肪线虫的脂质积累。之前的研究发现,相比未发酵的米荞,经乳酸菌发酵处理的米荞的生物活性成分如黄酮、多酚类化合物含量显著增加<sup>[8]</sup>,故发酵米荞展现出较好的降



脂活性可能是由于黄酮类和多酚类物质的富集。

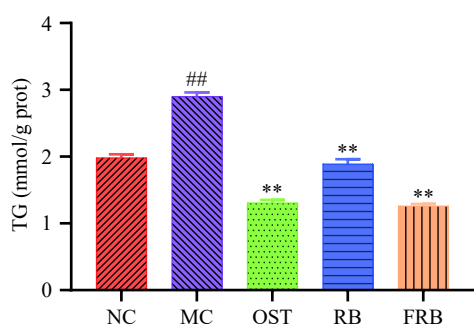


图 6 发酵米荞对秀丽隐杆线虫体内甘油三酯含量的影响  
Fig.6 Effects of fermented rice buckwheat on triglycerides in *C. elegans*

## 2.7 发酵米荞对高脂肪线虫游离脂肪酸含量的影响

为了进一步研究发酵米荞对线虫脂肪沉积的影响,对线虫体内的游离脂肪酸含量进行测定。游离脂肪酸是中性脂肪分解后的产物之一,其水平的升高会导致自由基的过度产生,与脂质双分子层相互作用,最终产生脂质过氧化物<sup>[35]</sup>。有研究者认为,过多的游离脂肪酸会诱导肥胖、高血脂症等代谢性疾病的发生<sup>[36]</sup>。由图 7 所示,游离脂肪酸的测定结果与甘油三酯结果的趋势相一致。与对照组相比,高脂肪线虫体内的游离脂肪酸含量极显著增加了 231.92% ( $P < 0.01$ )。而给予高脂肪线虫饲喂米荞和发酵米荞均可极显著降低游离脂肪酸含量,相较于模型组分别降低了 49.54%、130.54% ( $P < 0.01$ ),并且发酵米荞抑制线虫体内脂肪沉积的效果优于米荞,这可能与发酵米荞能显著促进脂肪水解、抑制脂肪酸合成有关<sup>[12]</sup>。由此可得,发酵米荞可以显著降低高脂肪线虫体内游离脂肪酸的含量,减少脂肪积累。

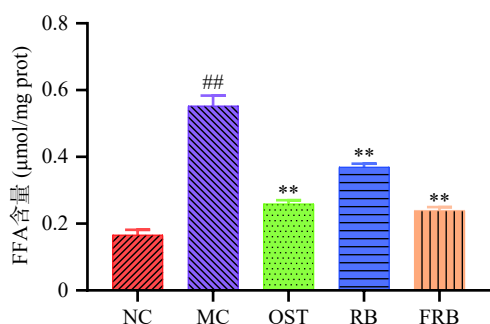


图 7 发酵米荞对秀丽隐杆线虫体内游离脂肪酸含量的影响  
Fig.7 Effects of fermented rice buckwheat on free fatty acids in *C. elegans*

## 2.8 发酵米荞对高脂肪线虫抗氧化酶的影响

一个复杂的酶或非酶抗氧化防御系统可以清除机体内积累过多的自由基,以维持生理稳态<sup>[37]</sup>。抗氧化防御系统涉及多种酶,包括 SOD、CAT 和 GSH-Px。由图 8A~图 8C 可得,与对照组相比,高脂肪模型组线虫的 SOD、CAT 和 GSH-Px 酶活性极显著降低,分别降低了 21.90%、19.25% 和 45.60% ( $P < 0.01$ )。

相关研究表明,高糖诱导会使线虫处于氧化应激状态,使得抗氧化酶活性降低<sup>[23]</sup>,与王慧等<sup>[27]</sup>的研究结果相一致。而给予高糖诱导的高脂肪线虫饲喂药物、米荞和发酵米荞均能不同程度提高抗氧化酶的活性,其中发酵米荞组线虫的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性最高,相比于模型组分别增加了 37.49%、83.97% 和 185.83% ( $P < 0.01$ )。由此可得,发酵米荞可以通过提高线虫体内的抗氧化酶活性来清除自由基,从而抵抗高脂肪线虫的损伤。

MDA 作为细胞中多不饱和脂肪酸过氧化的游离产物之一,常用于评价机体脂质过氧化程度和氧化

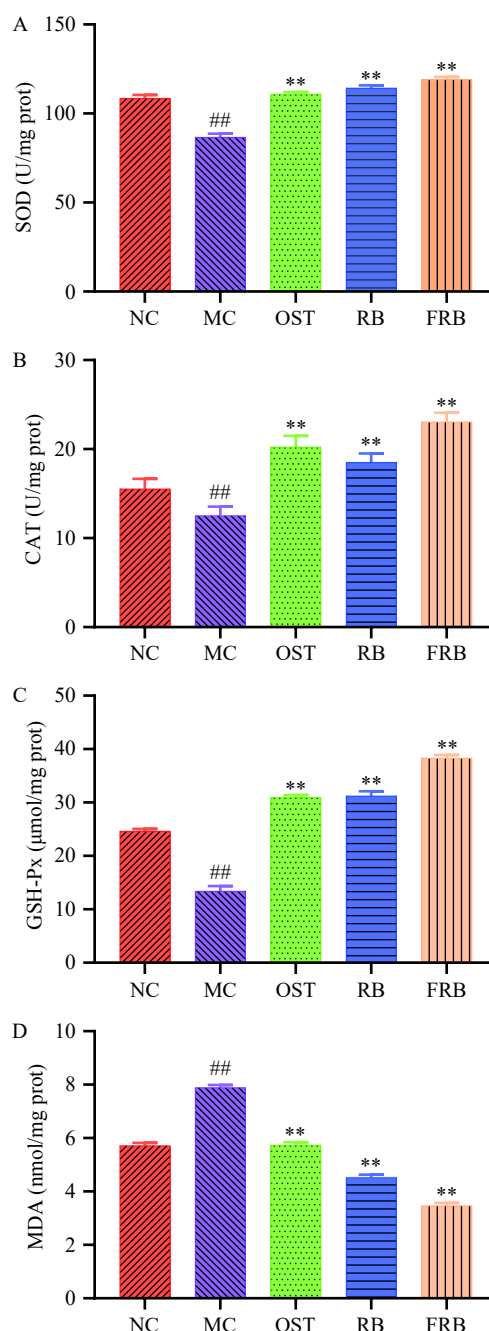


图 8 发酵米荞对秀丽隐杆线虫体内抗氧化酶的影响  
Fig.8 Effects of fermented rice buckwheat on antioxidant enzymes in *C. elegans* in vivo

注: A: SOD; B: CAT; C: GSH-Px; D: MDA。

应激程度<sup>[38]</sup>。MDA的含量越高,则说明机体氧化损伤越严重。由图8D可知,高脂肪模型组线虫的MDA含量相比于对照组极显著增加,由5.72 nmol/mg prot增加至7.89 nmol/mg prot( $P<0.01$ ),说明高糖诱导会导致线虫抗脂质过氧化能力降低。与高脂肪模型组相比,饲喂米荞和发酵米荞能显著降低高脂肪线虫体内的MDA含量,并且发酵米荞组降低最显著,由7.89 nmol/mg prot下降至3.47 nmol/mg prot,下降了56.02%( $P<0.01$ )。这可能是由于经益生菌发酵的米荞中含有丰富的黄酮、多酚类化合物等抗氧化成分<sup>[8]</sup>,这些成分在高脂肪线虫体内显示出抗脂质过氧化的作用,从而减轻了氧化应激对线虫的损伤。综上所述,发酵米荞通过提高机体抗氧化能力和减缓氧化损伤,发挥对高脂肪线虫的降脂作用。

### 3 结论

本文以高脂肪秀丽隐杆线虫为研究对象,探讨发酵米荞的降脂及抗氧化活性。结果表明,经乳酸菌发酵的米荞可以显著降低高脂肪模型线虫体内的甘油三酯和游离脂肪酸含量,从而减少脂质积累。此外,发酵米荞能极显著增强高脂肪线虫体内的SOD、CAT和GSH-Px抗氧化酶活性、极显著降低MDA含量和ROS积累( $P<0.01$ ),以增强线虫的抗氧化能力;并且在500  $\mu\text{mol/L}$  胡桃醌诱导氧化应激条件下,发酵米荞能够极显著提高线虫的存活率( $P<0.01$ ),以提高线虫的抗逆性。由此可推断,发酵米荞不仅具有降低高脂肪线虫脂肪沉积的作用,还可以对机体脂肪代谢稳态具有一定的调节作用。发酵米荞展现较好的降脂活性,可能与其含有丰富的活性成分有关,但其具体降脂机制还需进一步研究。今后将利用相关突变体线虫进一步研究发酵米荞降脂作用的分子机制。

### 参考文献

- [1] LIU J, AYADA I, ZHANG X, et al. Estimating global prevalence of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in overweight or obese adults[J]. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2021; e573-e582.
- [2] WANG Y C, MCPHERSON K, MARSH T, et al. Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK[J]. *The Lancet*, 2011, 378(9793).
- [3] MAFALDA C, MARCO P, VITOR V, et al. Obesity: The metabolic disease, advances on drug discovery and natural product research[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2016, 16(23): 2577-2604.
- [4] 王齐, 倪罗, 王琳, 等. 精准扶贫推动下西盟米荞产业发展现状调查[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(24): 251-253. [WANG Q, NI L, WANG L, et al. Investigation on the development status of rice buckwheat industry under the promotion of targeted poverty alleviation[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45(24): 251-253.]
- [5] 王自芬. “西盟米荞”产业开发现状与市场前景[J]. *农民致富之友*, 2017(2): 37-38. [WANG Z F. Industrial development status and market prospect of "Ximeng rice buckwheat"[J]. *Friends of Farmers Getting Rich*, 2017(2): 37-38.]
- [6] 杨庆华, 张亚飞, 田晓静, 等. 谷物发酵产品的营养功能提升与益生功能研究进展[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1-10 [2022-05-24]. doi: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.031278. [YANG Q H, ZHANG Y F, TIAN X J, et al. Advances in nutritional and probiotics of cereal fermented products[J/OL]. *Food and Fermentation Industry*: 1-10 [2022-05-24]. doi:10.13995/j.cnki.11-1802/TS.031278.]
- [7] 程珂. 发酵大麦提取物调节秀丽隐杆线虫脂代谢及其机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2018. [CHENG K. Effects of fermented barley extract on lipid metabolism of *Caenorhabditis elegans* and its mechanism[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2018.]
- [8] 严静, 蔡易焘, 薛秋艳, 等. 不同处理方式对米荞营养成分及抗氧化活性的影响[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(5): 121-129. [YAN J, CAI Y X, XUE Q Y, et al. Effects of different treatments on the nutritional composition and antioxidant activity of rice buckwheat[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(5): 121-129.]
- [9] SHEN P Y, YUE Y R, PARK Y H. A living model for obesity and aging research: *Caenorhabditis elegans*[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018, 58(5): 741-754.
- [10] LUO Z L, YU Z Y, YIN D Q. Obesogenic effect of erythromycin on *Caenorhabditis elegans* through over-eating and lipid metabolism disturbances[J]. *Environmental Pollution*, 2022: 294.
- [11] 李俊健, 高杰贤, 林锦铭, 黎攀, 杜冰. 不同发酵方式对柚皮泡菜理化特性和风味的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(20): 212-218. [LI J J, GAO J X, LIN J M, LI P, DU B. Effects of different fermentation methods on physicochemical characteristics and flavor of pomelo peel pickles[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2021, 47(20): 212-218.]
- [12] YAN J, XUE Q Y, CHEN W Y, et al. Probiotic-fermented rice buckwheat alleviates high-fat diet-induced hyperlipidemia in mice by suppressing lipid accumulation and modulating gut microbiota[J]. *Food Research International*, 2022. DOI: 10.1016/j.foodres.2022.111125
- [13] 吉鑫. 绿茶主要组分对线虫脂质代谢的影响及机制[D]. 武汉: 华中科技大学, 2019. [JI X. Effect and mechanism of main components of green tea on lipid metabolism of nematodes[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2019.]
- [14] LIN C X, ZHANG X Y, XIAO J, et al. Effects on longevity extension and mechanism of action of carnolic acid in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Food & Function*, 2019, 10(3): 1398-1410.
- [15] HUANG Q, LI R H, YI T, et al. Phosphorothioate-DNA bacterial diet reduces the ROS levels in *C. elegans* while improving locomotion and longevity[J]. *Communications Biology*, 2021, 4(1): 1335.
- [16] 王凤, 肖楚翔, 刘淑珍, 等. 榴莲核黄酮的提取及其对秀丽隐杆线虫氧化和衰老的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(9): 123-129. [WANG F, XIAO C X, LIU S Z, et al. Extraction of durian riboflavone and its effects on oxidation and senescence of *Caenorhabditis elegans*[J]. *Food Science*, 2021, 42(9): 123-129.]
- [17] ZHANG X Y, LI W, TANG Y Z, et al. Mechanism of pentagalloyl glucose in alleviating fat accumulation in *Caenorhabditis*



- elegans*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(51): 14110–14120.
- [18] 李玉英, 李元通, 张立伟. 连翘花黄色素对秀丽隐杆线虫应激抗性的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(9): 711. [LI Y Y, Li Y T, ZHANG L W. Effect of forsythia flavin on stress resistance in *Caenorhabditis elegans*[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2019, 33(9): 711.]
- [19] JONATHAN A F, ANGELICA G M, RAFAEL R R, et al. High-glucose diets induce mitochondrial dysfunction in *Caenorhabditis elegans*[J]. PloS One, 2019, 14(12): e0226652.
- [20] LEE S J, MURPHY C T, KENYON C. Glucose shortens the life span of *C. elegans* by downregulating DAF-16/FOXO activity and aquaporin gene expression[J]. Cell Metabolism, 2009, 10(5): 379–391.
- [21] FITZENBERGER E, BOLL M, WENZEL U. Impairment of the proteasome is crucial for glucose-induced lifespan reduction in the *mev-1* mutant of *Caenorhabditis elegans*[J]. BBA-Molecular Basis of Disease, 2013, 1832(4): 565–573.
- [22] 文明明, 赵治恒, 毕洁, 等. 高糖饮食对果蝇发育和抗氧化能力的影响及其机理研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(21): 377–384. [WEN M M, ZHAO Z H, BI J, et al. Effects of high-glucose diet on development and antioxidant capacity of *Drosophila melanogaster* and its mechanism study[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(21): 377–384.]
- [23] IVAN G, BIBHUSITA P, LAURENT G, et al. Glycogen controls *Caenorhabditis elegans* lifespan and resistance to oxidative stress[J]. Nature Communications, 2017(8): 15868.
- [24] SUSANNAH H, HANS U H, WIM W. Baicalein modulates stress-resistance and lifespan in *C. elegans* via *skn-1* but not *daf-16*[J]. Fitoterapia, 2016, 113: 123–127.
- [25] SUN Q C, YUE Y R, SHEN P Y, et al. Cranberry product decreases fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*[J]. Journal of Medicinal Food, 2016: 427.
- [26] 宗华. 饮食诱导脂肪沉积对线虫产卵量的影响[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017. [ZONG H. Effect of diet-induced fat deposition on oviposition quantity of Nematodes[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2017.]
- [27] 王慧, 赵江, 杨胜楠, 等. D-手性肌醇对高糖导致氧化损伤线虫延缓衰老的作用及机制[J]. 食品工业科技, 2019, 40(2): 282–286. [WANG H, ZHAO J, YANG S N, et al. Effect and mechanism of D-chiral inositol on anti-senescence of high glucose induced oxidative damage nematodes[J]. Food Industry Technology, 2019, 40(2): 282–286.]
- [28] 李洁. 多菌灵对秀丽隐杆线虫脂代谢的影响及机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2021. [LI J. Effects of carbendazim on lipid metabolism of *Caenorhabditis elegans* and its mechanism[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2021.]
- [29] YU X, SU Q, SHEN T, et al. Antioxidant peptides from *Sepia esculenta* hydrolyzate attenuate oxidative stress and fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*[J]. Marine Drugs, 2020, 18(10): 490.
- [30] FENG S, CHENG H, XU Z, et al. *Panax notoginseng* polysaccharide increases stress resistance and extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 45: 15–23.
- [31] 王力, 肖媚方, 陈弘培, 刘斌, 曾峰. 牡蛎多肽组分 OE-I 抗氧化活性及其对秀丽隐杆线虫抗衰老作用[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 152–160. [WANG L, XIAO M F, CHEN H P, LIU B, ZENG F. Antioxidant activity of Oyster polypeptide OE-I and its anti-aging effect on *Caenorhabditis elegans*[J]. Food Science, 2022, 43(3): 152–160.]
- [32] 孙鑫娟. 发酵大麦 $\beta$ -葡聚糖的特性及其对脂代谢调节作用研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2019. [SUN X J. Study on the characteristics of  $\beta$ -glucan in fermented barley and its regulation on lipid metabolism[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2019.]
- [33] 黄壮, 李静, 杜鸿志, 等. 三七醇提物对秀丽隐杆线虫的降脂作用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(5): 1648–1653. [HUANG Z, LI J, DU H Z, et al. Lipid-lowering effect of alcohol extract of *Panax notoginseng* on *Caenorhabditis elegans*[J]. World Science and Technology-Modernization of TCM, 2020, 22(5): 1648–1653.]
- [34] QIN X J, WANG W Q, CHU W H. Antioxidant and reducing lipid accumulation effects of rutin in *Caenorhabditis elegans*[J]. BioFactors (Oxford, England), 2021, 47(4): 686–693.
- [35] LIN C X, CHEN Y, LIN Y Z, et al. Antistress and anti-aging activities of *Caenorhabditis elegans* were enhanced by *Momordica* saponin extract[J]. European Journal of Nutrition, 2020, 60(4): 1819–1832.
- [36] 于海涛, 马洪波, 富校轶, 等. 高脂饮食诱导肥胖大鼠血清游离脂肪酸水平分析[J]. 吉林医药学院学报, 2015, 36(6): 415–417. [YU H T, MA H B, FU X Yi, et al. Analysis of serum free fatty acid level in obese rats induced by high fat diet[J]. Journal of Jilin University of Medicine, 2015, 36(6): 415–417.]
- [37] FINKEL T, HOLBROOK N J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing[J]. Nature, 2000, 408(6809): 239–247.
- [38] FANG Z Y, CHEN Y T, WANG G, et al. Evaluation of the antioxidant effects of acid hydrolysates from *Auricularia auricular* polysaccharides using a *Caenorhabditis elegans* model[J]. Food & Function, 2019: 10.