

# 发酵大麦 $\beta$ -葡聚糖抑制秀丽隐杆线虫体内的脂肪沉积

孙鑫娟, 肖香, 赵延胜, 周兴华, 董英

(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

**摘要:** 本文研究植物乳杆菌发酵大麦  $\beta$ -葡聚糖 (LFBG) 和未发酵大麦  $\beta$ -葡聚糖 (RBG) 对秀丽隐杆线虫脂肪沉积的影响。在建立秀丽线虫肥胖模型的基础上, 分别以不同浓度的 LFBG 和 RBG 处理线虫, 通过油红 O 染色和荧光定量 PCR 法分析线虫体内脂肪含量变化及可能机制。LFBG 和 RBG 中的  $\beta$ -葡聚糖含量分别达到 71.70% 和 72.60%, 其重均分子量 (Mw) 分别为  $3.14 \times 10^4$  和  $1.66 \times 10^5$ 。LFBG 和 RBG 均能显著提高线虫的运动行为能力, 从而增加线虫的能量消耗, 以减少线虫体内脂肪沉积, 且在相同剂量时 LFBG 的抑制效果优于 RBG。当浓度为 25  $\mu\text{g/mL}$ 、50  $\mu\text{g/mL}$  和 100  $\mu\text{g/mL}$  时, 与模型组相比, LFBG 组的脂肪含量分别减少了 15.83%、22.32% 和 35.67%, RBG 组线虫在浓度为 25  $\mu\text{g/mL}$  时无显著性变化, 在浓度为 50  $\mu\text{g/mL}$ 、100  $\mu\text{g/mL}$  时脂肪含量分别减少了 16.28% 和 22.29%。此外, LFBG 能显著下调 *daf-16* mRNA 的表达量, 而 RBG 可上调 *cpt-1* mRNA 的表达量。由此可见, LFBG 和 RBG 可能通过不同作用途径来抑制线虫的脂肪沉积。

**关键词:** 大麦; 发酵;  $\beta$ -葡聚糖; 脂肪沉积; 秀丽隐杆线虫

文章编号: 1673-9078(2019)02-1-6

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.2.001

## Study on the Inhibition of Fat Deposition of *Caenorhabditis elegans* by Fermented Barley $\beta$ -glucan

SUN Xin-juan, XIAO Xiang, ZHAO Yan-sheng, ZHOU Xing-hua, DONG Ying

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** In this work, the effects of the *Lactobacillus plantarum* dy-1 in fermented barley  $\beta$ -glucan (LFBG) and raw barley  $\beta$ -glucan (RBG) on the fat deposition of *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) were studied. The *C. elegans*, as the model organism, was treated with different concentrations of LFBG and RBG. The changes of fat content and possible mechanism of *C. elegans* were analyzed by oil red O staining and real-time PCR, respectively. The  $\beta$ -glucan content in LFBG and RBG reached 71.70% and 72.60%, respectively, and the molecular weight (Mw) of LFBG and RBG were  $3.14 \times 10^4$  and  $1.66 \times 10^5$ , respectively. Compared with the model group, LFBG and RBG could significantly improve the movement behavior of *C. elegans*, thereby increasing the energy consumption of the nematode to reduce the fat accumulation of nematodes. The fat contents of LFBG treatment decreased by 15.83%, 22.32% and 35.67% on the fat deposition when the concentration was 25  $\mu\text{g/mL}$ , 50  $\mu\text{g/mL}$  and 100  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. The inhibition effect of LFBG was more significant than RBG, which showed no effect when the concentration was 25  $\mu\text{g/mL}$ . The fat contents of RBG treatment decreased by 16.28% and 22.29% when the concentration reached 50  $\mu\text{g/mL}$  and 100  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. LFBG could significantly down-regulate the expression of *daf-16* mRNA, while RBG could up-regulate the expression of *cpt-1* mRNA. In conclusion, LFBG and RBG could effectively regulate the accumulation of fat in *C. elegans*, through different pathways in *C. elegans*.

**Key words:** barley; fermentation; beta-glucan; fat deposition; *Caenorhabditis elegans*

大麦是一种药食同源的作物, 具有促进消化、调节糖脂代谢等诸多生理功能。大麦  $\beta$ -葡聚糖是大麦籽粒胚乳和糊粉层细胞壁的主要成分, 是一种非淀粉

收稿日期: 2018-10-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31701598)

作者简介: 孙鑫娟 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程

通讯作者: 董英 (1954-), 女, 教授, 研究方向: 食品营养与安全

性粘性多糖<sup>[1]</sup>。研究表明, 大麦  $\beta$ -葡聚糖具有降胆固醇、降血脂、调节血糖和预防心血管疾病等多种功能活性<sup>[2-4]</sup>。本课题组前期对植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum* dy-1) 发酵大麦提取物 (LFBE) 与未发酵大麦提取物 (RBE) 进行分析, 发现 LFBE 可降低小鼠的体重和体脂率, 改善高脂饮食诱导的胰岛素抵抗、高胰岛素血症, 降低甘油三酯和总胆固醇水平<sup>[5]</sup>。其

中, LFBE 中水溶性  $\beta$ -葡聚糖 (LFBG) 含量增加了 7.97%, 且与 RBE 中的  $\beta$ -葡聚糖 (RBG) 相比, LFBG 对脂肪细胞分化的抑制作用更强<sup>[6]</sup>。

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)作为一种重要的模式生物, 具有体型小、繁殖量大、发育周期明确、时间短、生活条件简单, 易于在实验室培养等特点。其中, 秀丽线虫信号通路高度保守, 与人类脂肪代谢通路相似。近年来, 食品领域很多研究者也使用该模式生物研究食物成分或提取物的功能活性, 尤其是在调节脂肪代谢等方面<sup>[7,8]</sup>。课题组前期试验结果表明, LFBE 能显著抑制秀丽隐杆线虫体内脂肪的积累, 其中浓度为 480  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的总糖可使秀丽隐杆线虫脂肪沉积量下 12%<sup>[7]</sup>, 但关于乳酸菌发酵对大麦  $\beta$ -葡聚糖结构和营养特性的影响尚未见报道。为进一步探究植物乳杆菌发酵对大麦  $\beta$ -葡聚糖生理活性功能的影响, 本研究以秀丽隐杆线虫(以下文中简称为“线虫”)作为模式生物, 研究 LFBG 对线虫脂肪沉积的影响及其作用途径, 进而初步解析发酵前后  $\beta$ -葡聚糖粗提物功能活性差异的主要机制, 为深入认识大麦的健康功能提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

脱壳大麦购自盐城市双增农化科技有限公司; 植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum* dy-1; 菌株编号: CGMCCNo.601)为本课题组自行分离; 秀丽隐杆线虫 N2 野生型由东南大学王大勇教授实验室惠赠。

曲拉通 X-100(Triton X-100), Sigma-Aldrich 公司; Takara PrimeScript RT Master Mix 试剂盒, 日本 Takara 公司; 其他生化试剂均为分析纯, 购自国药集团上海化学试剂有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

体视显微镜, 南京江南永新光学有限公司; 正置显微镜 Ci-L, 尼康光学仪器(中国)有限公司; 多功能酶标仪, Tecan (上海) 贸易有限公司; 冷冻离心机 BR-4, 法国 JOUAN 公司; 真空冷冻干燥器, 德国 Marin Christ 公司; 高效液相色谱仪 1100 型, 美国 Agilent 科技有限公司; 折光示差和多角度激光光散射检测器, 美国 Wyatt 技术公司; PCR 仪, 美国 Bio Rad 有限公司; 超微量分光光度计 NANODROP 2000, 美国 Thermo Fisher Scientific 有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 样品制备

植物乳杆菌发酵大麦提取物的制备参照张家艳的方法<sup>[5]</sup>: 分别称取筛分除杂后的大麦, 粉碎过筛后, 按大麦:水 ( $W/V$ ) =1:7, 大麦:菌液 ( $W/V$ ) =4:1 的比例, 32  $^{\circ}\text{C}$  下 200 r/min 密封发酵 24 h, 4  $^{\circ}\text{C}$  下 8000 r/min 离心 15 min, 冻干备用。未发酵大麦粉制备<sup>[5]</sup>: 即粉碎过 100 目筛的大麦粉。

植物乳杆菌发酵大麦  $\beta$ -葡聚糖粗提物 (LFBG) 以及未发酵大麦  $\beta$ -葡聚糖粗提物 (RBG) 的制备参照申瑞玲的方法<sup>[9]</sup>: 依次通过 85%乙醇回流、80  $^{\circ}\text{C}$  热水提取、除淀粉、Severge 法除蛋白、70%乙醇沉淀、复溶、20%硫酸铵沉淀、冷冻干燥等步骤获得。

#### 1.3.2 大麦可溶性 $\beta$ -葡聚糖含量和分子量分布测定

可溶性  $\beta$ -葡聚糖含量测定参照 AOAC 995.16<sup>[10]</sup>。

可溶性  $\beta$ -葡聚糖分子量分布测定采用高效液相凝胶色谱联合折光示差和多角度光散射检测器 (HPSEC-RI-MALLS) 检测, 使用 Astra 处理和分析数据<sup>[11]</sup>。

#### 1.3.3 线虫培养

配制 NGM 固体培养基以及包含 5 mmol/L 葡萄糖的 NGM 培养基。线虫分为模型组、正常组、LFBG 组和 RBG 组, 其中 LFBG 组和 RBG 组添加浓度分别为: 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 将  $\beta$ -葡萄糖粗提物与活化后的大肠杆菌 OP50 菌液 1:1 (100  $\mu\text{L}$ ,  $V/V$ ) 混合, 涂布于含 5 mmol/L 葡萄糖的培养基上, 37 $^{\circ}\text{C}$  恒温培养 4 h, 4  $^{\circ}\text{C}$  保存备用。同理, 正常组和模型组均将灭菌蒸馏水与大肠杆菌 OP50 为 1:1 (100  $\mu\text{L}$ ,  $V/V$ ) 的混合物分别涂布于 NGM 固体培养基和含 5 mmol/L 葡萄糖的 NGM 培养基。将产卵期线虫用 1 mL 裂解液 (10% NaClO:NaOH=1:1,  $V/V$ ) 处理 5 min, 待虫卵于 20  $^{\circ}\text{C}$  条件下孵育 12 h 长成 L1 期幼虫后, 将幼虫移入已经接种有大肠杆菌 OP50 的 NGM 平板上, 培养 24 h 后得到 L4 期幼虫, 继续培养 24 h, 即可用作试验处理。

#### 1.3.4 线虫运动行为测定

头部摆动频率: 挑取线虫于载玻片上的 M9 缓冲液中, 在显微镜下计数, 记录一分钟内线虫头部摆动的次数 (一个来回为摆动一次)。

身体弯曲频率: 记录 30 s 内线虫身体弯曲的次数 (假定沿着咽泵的方向是 y 轴, 线虫爬行过程中, 身体沿着相应 x 轴方向上的一次改变则定义为一个身体弯曲)。

#### 1.3.5 油红 O 染色

将平板上的线虫使用 M9 缓冲液洗 3 遍, 3000

r/min 离心 1.5 min 后弃上清, 重复两次; 加入 500  $\mu$ L 60% 异丙醇, 4000 r/min 离心 3 min 后弃上清; 然后加入 500  $\mu$ L 油红 O 染色液 (油红 O 储备液与蒸馏水 3:2 混合, 过 0.45  $\mu$ m 膜, 现配现用), 室温避光静置 6~18 h, 离心弃上清; 最后加入 250  $\mu$ L 0.01% Triton-X100, 于正置显微镜下拍照。

### 1.3.6 荧光定量 PCR

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

| 基因名称          | 上游引物序列 (5' to 3')        | 下游引物序列 (5' to 3')           |
|---------------|--------------------------|-----------------------------|
| <i>daf-2</i>  | CCAAGCCCTCACCTACTTCC     | CTCTGAGGGCTGACACAAGG        |
| <i>daf-16</i> | CAGTCCGTGGCCAGTTCCA      | GGTCTGCTGCTGTTGAGAGG        |
| <i>cpt-1</i>  | GCTCGGCGTGCTCCATATCATC   | TCATCAAGATTTCGGCAACCGGAAGAC |
| <i>cpt-2</i>  | AACGATTGAGCCAACCAACTCCAG | CAATACCGAATCCATCTTGACAACCTG |
| <i>act-1</i>  | GCCGGAGACGACGCTCCACGCG   | GCCTCGTCTCCGACGTACGAGTC     |

表 2  $\beta$ -葡聚糖粗提物组分的含量和分子量分布

Table 2 Content and molecular weight distributions of the beta-glucan crude extract

| 项目   | $\beta$ -葡聚糖/% | 分子量/(g/mol)        |                    |       |
|------|----------------|--------------------|--------------------|-------|
|      |                | 重均分子量 (Mw)         | 数均分子量 (Mn)         | Mw/Mn |
| LFBG | 71.70          | $3.14 \times 10^4$ | $3.02 \times 10^4$ | 1.04  |
| RBG  | 72.60          | $1.66 \times 10^5$ | $1.63 \times 10^5$ | 1.02  |

### 1.3.7 数据处理与统计分析

采用专业图像处理软件 image-J 处理染色图, 采用 DPS 进行显著性分析, GraphPad Prism 7 进行统计学分析并作图, 结果以平均值 $\pm$ 标准方差表示, 显著性以  $p < 0.05$  计。

## 2 结果与讨论

### 2.1 LFBG 和 RBG 的含量和分子量分布

通过对  $\beta$ -葡聚糖粗提物中  $\beta$ -葡聚糖含量及分子量的测定结果显示 (表 2), LFBG 和 RBG 中的  $\beta$ -葡聚糖含量分别达到 71.70% 和 72.60%, 其重均分子量 (Mw) 分别为  $3.14 \times 10^4$  和  $1.66 \times 10^5$ , 数均分子量 (Mn) 分别为  $3.02 \times 10^4$  和  $1.63 \times 10^5$ , 分子量分布系数 (Mw/Mn) 分别为 1.04 和 1.02。对于高分子量的多糖类物质, Mw/Mn < 2 说明其均一性良好<sup>[11]</sup>。有研究发现<sup>[12]</sup>, 低分子量的  $\beta$ -葡聚糖能够通过产生比高分子量  $\beta$ -葡聚糖更多的短链脂肪酸 (SCFA), 降低肠道 pH 以抑制有害菌的增殖, 并结合更多的胆汁酸以减少肝脏中的胆固醇合成, 说明  $\beta$ -葡聚糖的营养功能不仅与其摄入量有关, 其分子量的影响也不可忽视。本试验结果表明, 植物乳杆菌 dy-1 发酵前后大麦  $\beta$ -葡聚糖分子量相差 5 倍, 因此推测发酵前后分子量的变化可能是导致大麦  $\beta$ -葡聚糖营养特性发生改变的主因之一。

采用 Takara PrimeScript RT Master Mix 试剂盒反转录生成 cDNA, 并利用核酸测定仪检测 RNA 浓度。按照 SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒方法进行实时荧光定量 PCR 检测, PCR 程序按试剂盒说明操作。使用  $\Delta\Delta$ CT 阈值循环方法处理所得数据, 其他基因的表达量以 *act-1* 基因为内参来进行表示。引物由上海生工按标准设计并合成, 引物序列如表 1 所示。

### 2.2 LFBG 和 RBG 对线虫运动行为的影响

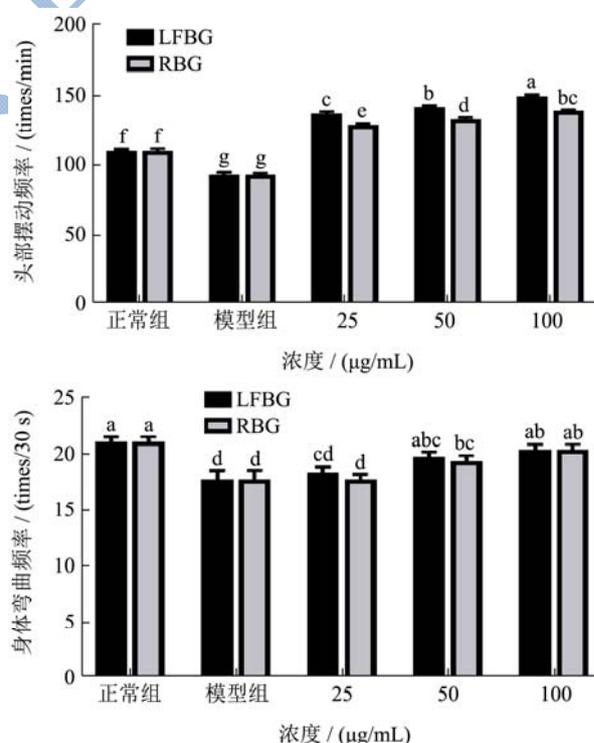


图 1 LFBG 和 RBG 对秀丽隐杆线虫运动行为的影响

Fig.1 Effects of LFBG and RBG on the movement behavior of *C. elegans*

注: 不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。

线虫的运动行为(头部摆动频率和身体弯曲频率)可促进线虫的能量消耗,而能量消耗的变化则会影响线虫的脂肪沉积<sup>[8]</sup>。如图1所示,与模型组相比,LFBG和RBG组线虫的头部摆动频率和身体弯曲频率都呈增加趋势,且浓度越大,增加幅度越高。当浓度为25 μg/mL、50 μg/mL和100 μg/mL时,与模型组相比,LFBG组的头部摆动频率分别增加了48.91%、53.26%和61.96%,RBG组分别增加了39.13%、44.57%和51.09%;当浓度达到50 μg/mL和100 μg/mL时,LFBG和RBG组的身体弯曲频率分别提高了11.33%、15.12%和9.46%、15.12%。由此可见,LFBG与RBG均可以明显地提高线虫运动行为能力,而LFBG效果更显著,且呈一定的浓度依赖性。苦荞茶具有降低血脂、血糖的作用<sup>[13]</sup>,赵琳等<sup>[14]</sup>发现苦荞茶能够有效的提高秀丽线虫的运动行为能力,并随浓度的升高,运动频率增加,与本研究LFBG和RBG对线虫运动行为的试验结果相一致。

### 2.3 LFBG与RBG对线虫脂肪沉积的影响

LFBG与RBG可以显著地提高线虫运动行为能力,表明线虫运动行为即能量消耗可能是影响其脂肪沉积的关键因素之一。线虫的脂肪沉积情况可通过油红O染色试验进行分析。如图2所示,与正常组相比,模型组中线虫的脂肪染色面积较大,表明过多葡萄糖的摄入增加了线虫体内的脂肪沉积水平。而与模型组相比,LFBG和RBG组中线虫的染色部分较浅且面积较小,与正常组更接近,说明摄入LFBG和RBG能降低线虫体内脂肪含量,且同剂量下摄入LFBG效果更加显著。

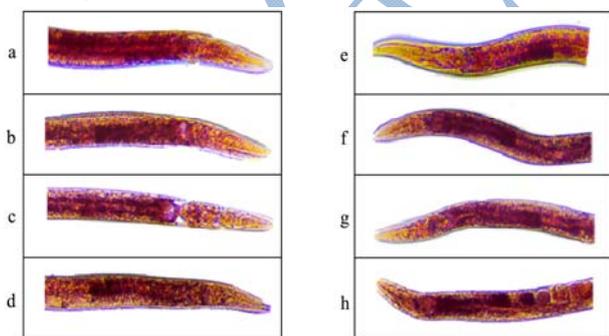


图2 油红O染色图

Fig.2 Oil red O staining figure

注: a. 模型组; b. LFBG组(25 μg/mL); c. LFBG组(50 μg/mL); d. LFBG组(100 μg/mL); e. 正常组; f. RBG组(25 μg/mL); g. RBG组(50 μg/mL); h. RBG组(100 μg/mL)。

图3定量分析了各组线虫脂肪含量相对于模型组的百分比。LFBG和RBG组脂肪沉积量均低于模型组,并呈现出脂肪沉积量与LFBG和RBG的剂量依

赖关系。当浓度为25 μg/mL、50 μg/mL和100 μg/mL时,与模型组相比,LFBG组的脂肪含量分别减少了15.83%、22.32%和35.67%,RBG组线虫在浓度为25 μg/mL时则无显著性变化,而在浓度为50 μg/mL和100 μg/mL时,脂肪含量分别减少了16.28%和22.29%。试验结果表明,LFBG和RBG虽然都能显著降低线虫体内脂肪含量,但相同剂量下LFBG对线虫体内脂肪沉积的抑制效果优于RBG。结合其对秀丽线虫运动行为影响的结果,可以看出线虫运动能力的高低与其脂肪的积累程度存在一定关联,即β-葡聚糖作为主要功能成分可以降低高糖诱导的线虫脂肪沉积大麦β-葡聚糖可能通过增加其能量消耗,进而干预线虫的脂代谢。

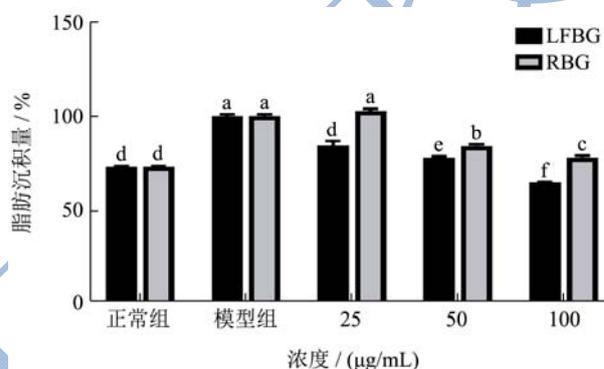


图3 LFBG与RBG对秀丽隐杆线虫脂肪沉积量的影响

Fig.3 Effect of LFBG and RBG on the fat deposition in *C. elegans*

注: 不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。

### 2.4 LFBG与RBG对线虫脂肪代谢相关基因表达的影响

采用实时荧光定量PCR技术对LFBG与RBE在秀丽隐杆线虫体内的脂肪代谢通路进行分析的结果如图4所示。图4a显示LFBG与RBE对线虫体内 $daf-2$ ,  $daf-16$ (胰岛素信号通路);  $daf-1$ ,  $daf-3$ ,  $daf-7$ ,  $daf-8$ (TGF-β信号通路);  $cpt-1$ ,  $cpt-2$ (β-氧化途径);  $fat-6$ ,  $nhr-49$ ,  $ech-1$ ,  $acs-2$ (核激素受体 $nhr-49$ 介导的信号通路);  $daf-15$ ,  $ogb-1$ (TOR和氨基己糖介导的信号通路)和 $tph-1$ ( $tph-1$ 介导的信号途径)等15种基因表达量的影响<sup>[15]</sup>,每个小方格的颜色表示该基因表达量大小,表达量越大,颜色越深(红色为上调,绿色为下调),其中发现只有胰岛素途径和β-氧化途径中的 $daf-16$ 和 $cpt-1$ 基因表达受到显著影响。

$daf-2$ 和 $daf-16$ 均为胰岛素途径中关键调控基因,胰岛素信号途径通过上调 $daf-2$ 的表达将AKT-1/2磷酸化,再负反馈调节 $daf-16$ ,从而促进线虫的生长发育<sup>[16]</sup>。肉毒碱棕榈酰转移酶系统(CPT)位于线粒体

膜, 包括位于线粒体内膜的肉毒碱棕榈酰转移酶 1 (CPT1) 和位于线粒体外膜的肉毒碱棕榈酰转移酶 2 (CPT2), CPT1 和 CPT2 协助长链脂肪酸以脂酰基形式从线粒体膜外转运到膜内进行脂肪酸的  $\beta$  氧化。分别编码酶 CPT1 和 CPT2 的基因 *cpt-1* 和 *cpt-2* 是为线粒体  $\beta$ -氧化途径中的重要基因, 二者皆为线虫体内重要的脂代谢调控方式<sup>[17]</sup>。本试验结果表明, 与模型组相比, LFBG 可显著下调 *daf-16* 的表达量 (1.6 倍), 而不影响 *daf-2* 的表达量, 即 LFBG 对 *daf-16* 相关的通路影响较为显著, 对 *daf-2* 相关的代谢途径并未产生显著影响。此外, LFBG 能显著下调 *cpt-1* 的表达量, 对 *cpt-2* 的表达量没有明显影响。RBG 对基因 *daf-2*, *daf-16*, *cpt-2* 均无显著性影响, 但可使基因 *cpt-1* 的表达量显著增加 (图 4b)。

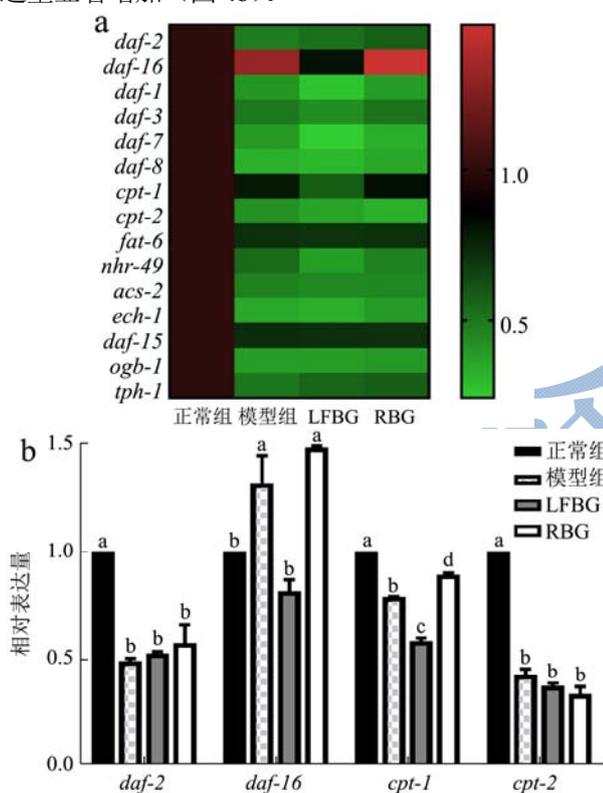


图 4 LFBG 与 RBG 对线虫脂代谢调控基因表达的影响

Fig.4 Effect of LFBG and RBG on gene expression levels of lipid metabolism pathways in the *C. elegans*

注: a: 基因热图; b: LFBG 与 RBG 对 *daf-2*, *daf-16*,

*cpt-1* 和 *cpt-2* 基因表达的影响; 不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。

在所测试的基因中, *daf-2* 是位于细胞膜上的胰岛素受体样基因, 有研究指出<sup>[1,18]</sup>, *daf-16* 在胰岛素信号调控途径中受到 *daf-2* 及 *age-1* 的负调控, 由此可见, 除 *daf-2* 以外, *daf-16* 也还存在其他上游基因, *daf-16* 的表达量受到多种调控途径的影响。本试验 LFBG 只下调 *daf-16* 的表达量而对 *daf-2* 的表达无显著影响,

可能在调节胰岛素途径方面并非通过 *daf-2* 对 *daf-16* 的负反馈调节实现, 而是存在其他作用途径<sup>[18]</sup>。RBG 对基因 *daf-2*, *daf-16* 均无显著性影响, 说明 RBG 并非通过胰岛素途径影响线虫的脂肪沉积。

CPT1 和 CPT2 主要使中链和长链酰基辅酶 A 转移到线粒体基质中进行酯交换以实现脂肪酸的分解代谢。CPT2 在哺乳动物体内表达普遍存在, 因此, 肉毒碱穿梭线粒体组织的特异性主要由 CPT1 组织特异性的表达来提供<sup>[19]</sup>, CPT1 的活性或表达也更易受周遭环境或饮食摄入的影响<sup>[17,20]</sup>。本研究中 RBG 能显著上调 *cpt-1* 的表达量, 却对 *cpt-2* 的表达量没有明显影响, 说明 RBG 能够通过增加 CPT1 的合成, 促进脂肪酸的分解代谢, 进而减少脂肪的沉积, 这可能与  $\beta$ -氧化途径有关。而 LFBG 对 *cpt-2* 无显著性影响, 但是却会下调 *cpt-1* 的表达, 说明 LFBG 主要通过胰岛素途径影响线虫的脂肪代谢, 而非通过  $\beta$  氧化途径。

综上所述, 可推测 LFBG 和 RBG 可能通过不同途径调节线虫脂代谢, 但其具体对 *daf-16* 和 *cpt-1* 的调控机制还有待进一步的研究。

### 3 结论

植物乳杆菌 dy-1 发酵前后其大麦  $\beta$ -葡聚糖分子量相差 5 倍, 其分子量的改变可能是导致大麦  $\beta$ -葡聚糖功能特性发生改变的主要因素之一。一方面, LFBG 和 RBG 均能够显著提高线虫的运动能力, 从而增加能量消耗, 以抑制线虫体内的脂肪沉积, 且同剂量下 LFBG 的抑制效果更加显著。另一方面, LFBG 和 RBG 调控脂代谢基因作用途径存在差异, LFBG 能显著下调 *daf-16* mRNA 的表达量, 而 RBG 可上调 *cpt-1* mRNA 的表达量, 二者在基因水平可能通过不同途径调节线虫脂代谢。由此可见, 造成 LFBG 和 RBG 功能差异的原因可能与两者的相对分子质量相差较大有关, 而大麦  $\beta$ -葡聚糖在发酵过程中, 其结构是否会发生变化并进而影响其功能特性, 仍有待于进一步的试验研究。

### 参考文献

[1] Ashrafi K. Obesity and the regulation of fat metabolism [J]. Wormbook the Online Review of *C. elegans* Biology, 2007, 9(10): 1

[2] Ostman E, Rossi E, Larsson H, et al. Glucose and insulin responses in healthy men to barley bread with different levels of (1 to 3; 1 to 4)- $\beta$ -glucans; predictions using fluidity measurements of *in vitro* enzyme digests [J]. Journal of Cereal Science, 2006, 43(2): 230-235

- [3] Pins J J, Kaur H. A review of the effects of barley beta-glucan on cardiovascular and diabetic risk [J]. *Cereal Foods World*, 2006, 51(1): 8-11
- [4] Schkoda P M. Barley beta glucans application in obesity [J]. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 2008, 19(5): 14-15
- [5] ZHANG J, XIAO X, DONG Y, et al. Dietary supplementation with *Lactobacillus plantarum* dy-1 fermented barley suppresses body weight gain in high-fat diet-induced obese rats [J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2016, 96(15): 4907-4917
- [6] 史腊妮. 发酵大麦提取物调节3T3-L1前脂肪细胞脂代谢及其机制研究[D]. 江苏大学, 2016  
SHI La-ni. Effect of fermented barley extract on lipometabolism in 3T3-L1 preadipocytes and its mechanism [D]. Jiangsu University, 2016
- [7] 程珂, 肖香, 赵延胜, 等. 发酵大麦提取物抑制秀丽隐杆线虫的脂肪沉积[J]. *现代食品科技*, 2018, 34: 46-56  
CHENG Ke, XIAO Xiang, ZHAO Yan-sheng, et al. Effects of fermented barley extracts on the fat deposition of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34: 46-56
- [8] SUN Q, YUE Y, SHEN P, et al. Cranberry product decreases fat accumulation in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2016, 19(4): 427
- [9] 申瑞玲. 燕麦  $\beta$ -葡聚糖的提取纯化及功能特性研究[D]. 江南大学, 2005  
SHEN Rui-ling. Study on the extraction, purification and characterization of oat  $\beta$ -glucan [D]. Jiangnan University, 2005
- [10] Barry J L, Hoebler C, Macfarlane G T, Macfarlane S, et al. Estimation of the fermentability of dietary fibre in vitro: a European interlaboratory study [J]. *British Journal of Nutrition*, 1995, 74(3): 303-322
- [11] 杨文雅. 蛹虫草菌丝体多糖的分离、结构鉴定及免疫活性研究[D]. 江苏大学, 2016  
YANG Wen-yang. Studies on separation, characterization and immune activities of polysaccharides from *Cordyceps militaris* mycelium [D]. Jiangsu University, 2016
- [12] Kim, H. J. *In vitro* bile-acid binding and fermentation of high, medium, and low molecular weight  $\beta$ -glucan [J]. *Food Science and Human Nutrition*, 2010, 58(1): 628-634
- [13] 郑文霞. 苦荞茶降糖、降脂作用的临床观察[J]. *山西中医学院学报*, 2003, 4(4): 30-31  
ZHENG Wen-xia. Clinical observation on the effect of Jiangtang tea on blood sugar and lipid-lowering [J]. *Journal of Shanxi College of Traditional Chinese Medicine*, 2003, 4(4): 30-31
- [14] 赵琳. 挤压苦荞茶生产工艺的优化及其对秀丽隐杆线虫生理生化指标的影响[D]. 湖南农业大学, 2015  
ZHAO Lin. Optimization of production process of squeezing tartary buckwheat tea and its influence on physiological and biochemical indexes of *Caenorhabditis elegans* [D]. Hunan Agricultural University, 2015
- [15] 许雪梅. 秀丽线虫脂肪积累的感知调控[D]. 东南大学, 2008  
XU Xue-mei. Sensory control of fat storage in *Caenorhabditis elegans* [D]. Southeast University, 2008
- [16] Jennifer L. Watts. Fat synthesis and adiposity regulation in *Caenorhabditis elegans* [J]. 2009, 20(2): 58-65
- [17] Hoek M D V D, Madsen O, Keijer J, et al. Evolutionary analysis of the carnitine and choline acyltransferases suggests distinct evolution of CPT2 versus CPT1 and related variants [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2018
- [18] Halaschek-Wiener Julius, Khattria Jaswinder S, McKay Sheldon, et al. Analysis of long-lived *C. elegans* daf-2 mutants using serial analysis of gene expression [J]. *Genome Research*, 2005, 15(5): 603-615
- [19] McGarry J D, Brown N F. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis [J]. *Febs Journal*, 2010, 244(1): 1-14
- [20] Casals N, Zammit V, Herrero L, et al. Carnitine palmitoyltransferase 1C: From cognition to cancer [J]. *Progress in Lipid Research*, 2016, 61(1): 34-48