DOI:10.12441/spyswjs.20230511007 [文章编号] 1673-1689(2024)11-0133-10

# 谷物蛋白的消化物对肠道胰高血糖素样肽-1分泌的影响

王擎宇[1] 曹洪伟[1,2] 宋洪东[1,2*] 管 骁[1,2]

(1. 上海理工大学健康科学与工程学院,上海 200093;2. 上海理工大学国家粮食产业(城市粮油保障)技术创新中心,上海 200093)

**摘要:**以荞麦、青稞和小麦3种谷物为原料,采用碱溶酸沉法提取蛋白质。对3种谷物蛋白在胃肠消化过程中的相对分子质量、消化物的氨基酸组成、氨基酸评分(amino acid score,AAS)、化学评分(chemical score,CS)和必需氨基酸指数(essential amino acid index,EAAI)进行表征。同时,通过体外STC-1细胞模型和体内ICR小鼠研究蛋白质消化物对胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1,GLP-1)分泌的影响。结果表明,荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白经胃肠消化后,消化物的相对分子质量均小于10 000。其中,相对分子质量在3 000以下的肽分别占荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白消化产物的72%、98%、56%。荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物中必需氨基酸质量分数占总氨基酸质量分数的比例分别为38.33%、30.74%、35.70%,EAAI分别为0.85、0.88、0.91,均缺乏含硫氨基酸(Met+Cys)。3种蛋白质消化物对STC-1细胞的GLP-1分泌具有显著促进作用。体内小鼠试验结果也表明,3种蛋白质消化物对小鼠肠内分泌细胞GLP-1分泌均具有显著的促进作用,但荞麦蛋白和青稞蛋白的消化物的效果强于小麦蛋白的消化物。以上研究结果表明,与小麦蛋白的消化物相比,荞麦蛋白和青稞蛋白的消化物营养价值较低,但荞麦蛋白和青稞蛋白的消化物在促进肠内分泌细胞GLP-1分泌方面优于小麦蛋白的消化物,表明荞麦蛋白和青稞蛋白相较于小麦蛋白更适合糖尿病等代谢疾病患者食用。

**关键词:**谷物蛋白;模拟胃肠消化;相对分子质量分布;肠内分泌细胞;胰高血糖素样肽-1

## Effects of Cereal Protein Digests on Intestinal Glucagon-Like Peptide-1 Secretion

*WANG Qingyu*[1] *CAO Hongwei*[1,2] *SONG Hongdong*[1,2*] *GUAN Xiao*[1,2]

(1. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. National Grain Industry (Urban Grain and Oil Security) Technology Innovation Center, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

**Abstract:** Proteins were extracted from buckwheat, highland barley, and wheat by alkaline extraction and acid precipitation. The relative molecular weight, amino acid composition of the digests, amino acid score (AAS), chemical score (CS), and essential amino acid index (EAAI) of the three cereal proteins during gastrointestinal digestion were characterized. Meanwhile, models of STC-1 cells and ICR mice were used to evaluate the effects of the digests on intestinal glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion. The results showed that after gastrointestinal digestion of buckwheat, highland barley, and wheat proteins, the relative molecular weights of the digests were all less than 10 000. The peptides with relative molecular weights less than 3 000 in buckwheat, highland barley, and wheat protein

**基金项目:**国家自然科学基金项目(32302086);上海市自然科学基金项目(23ZR1444500);上海市“科技创新行动计划”国内科技合作项目(21015801100)。

**通信作者:**宋洪东(1989—),男,博士,讲师,硕士研究生导师,主要从事食品功能因子的开发、功能活性保持和作用机制研究。E-mail:cau4080@163.com

**收稿日期:**2023-05-11 **修回日期:**2023-11-13

digests accounted for 72%, 98%, and 56%, respectively. The proportions of essential amino acids in the protein digests of buckwheat, highland barley, and wheat were 38.33%, 30.74%, and 35.70%, respectively, and the essential amino acid indexes were 0.85, 0.88, and 0.91, respectively. All the digests lacked sulfur-containing amino acids (Met+Cys). The three protein digests significantly promoted the GLP-1 secretion in STC-1 cells. The results of mouse experiments also showed that the three protein digests significantly promoted the secretion of GLP-1 in the enteroendocrine cells of mice, and the digests of buckwheat and highland barley proteins outperformed that of wheat protein. The above results indicated that the nutritional values of buckwheat and highland barley proteins were lower than that of wheat protein, while the digests of buckwheat and highland barley proteins were superior to that of wheat protein in promoting GLP-1 secretion in enteroendocrine cells. This suggested that buckwheat protein and highland barley protein were more suitable than wheat protein for patients with metabolic diseases such as diabetes.

**Keywords:** cereal proteins; simulated gastrointestinal digestion; relative molecular weight distribution; enteroendocrine cells; glucagon-like peptide-1

近年来，关于GLP-1等肠道激素调节体内代谢的研究引起了广泛关注。GLP-1是一种由远端回肠和结肠中的肠内分泌L细胞响应食物摄入而释放的肠促胰岛素[1]，可增强葡萄糖依赖性胰岛素的释放，抑制胰高血糖素分泌，并增加胰腺β细胞生长[2]。GLP-1还可以与胆囊收缩素一起对胃排空起到抑制作用[3]。GLP-1通过上述两种方式协同作用于降低餐后血糖与减少餐后胰岛素分泌[4]，且减缓胃排空对降低餐后血糖的影响更大[5]。

近年来，植物蛋白受到越来越多的关注。消化过程中植物蛋白释放的肽可被肠道吸收并产生多种功能活性。研究表明多肽能直接降低小鼠血糖水平[6-7]。此外，蛋白质水解物可以与肠内分泌细胞相互作用，肠内分泌细胞响应分子信号，分泌出多种肠激素，这些激素在控制胃肠消化、食物摄入和其他生理活动中起着重要作用。特别是GLP-1在通过调节葡萄糖、脂质和能量代谢来调节肥胖和餐后血糖方面具有积极作用[8-10]。许多研究聚焦于利用酶水解食物蛋白质产生蛋白水解物，试验中使用的酶包括模拟胃肠消化用的消化酶（胃蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰酶等）、碱性蛋白酶（枯草杆菌蛋白酶）、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶等[11-15]，分析体内和体外蛋白质水解物对GLP-1释放的影响。蛋白质水解物，特别是食物来源的肽，对肠内分泌细胞的影响已经成为人们关注的焦点。已有研究表明，乳清蛋白酶解物、鳕鱼蛋白酶解物、墨鱼蛋白酶解物和蛋清蛋白的胃肠消化物可以刺激STC-1细胞分泌GLP-1[16-19]。

小麦是传统主粮，研究显示小麦蛋白水解物能促进肠道GLP-1分泌[11, 20]。荞麦广泛种植于中国西部和北部，青稞是高原地区的主要谷类作物，它们都富含蛋白质[21-23]。荞麦蛋白、青稞蛋白的消化物对肠道GLP-1分泌的影响尚不明确。另外，在促进GLP-1分泌作用上，尚不清楚荞麦蛋白的消化物和青稞蛋白的消化物与小麦蛋白的消化物相比是否更具优势。

作者以谷物荞麦和青稞的分离蛋白为研究对象，以制备的小麦分离蛋白为参照，研究荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白在模拟胃肠道过程中的消化特性，进一步研究3种谷物蛋白的消化物在体外对STC-1细胞以及对小鼠肠内分泌细胞GLP-1分泌的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

荞麦、小麦：河北省涞水县金谷粮油食品有限公司；青稞：西藏奇正青稞健康科技有限公司。

氢氧化钠、盐酸、正己烷、乙二胺四乙酸（EDTA）均为分析纯：国药集团化学试剂有限公司；乙腈、甲醇均为色谱级：国药集团化学试剂有限公司；胃蛋白酶（P7000）、胰酶（P1750）：美国Sigma公司；彩色预染蛋白质分子质量标准品（相对分子质量10 000~180 000）：上海碧云天生物技术有限公司；雄性ICR小鼠（5周龄）：上海杰思捷实验动物有限公司；STC-1细胞：中国科学院细胞库；胎牛血清（FBS）：法国Biosera公司；DMEM培养基、非必需氨基酸（NEAA）、双抗（青霉素和链霉素）、Hanks平衡盐溶液（HBSS）缓冲液：美国Thermo Scientific公司；蛋白酶抑制剂混合物：

MedChem Express公司；CCK-8试剂盒：上海碧云天生物技术股份有限公司；GLP-1检测试剂盒：武汉云克隆科技股份有限公司。

### 1.2 仪器与设备

电子天平：BSA224S-CW型，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；磁力搅拌器：MYP11-2型，上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司；pH计：FE20型，Mettler Toledo仪器（上海）有限公司；离心机：L550型，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；冷冻干燥机：SCIENTZ-10N型，宁波新芝生物科技股份有限公司；全自动凯氏定氮仪：K1100型，山东海能未来技术集团股份有限公司；电热恒温振荡水槽：DKZ型，上海一恒科学仪器有限公司；电热鼓风干燥箱：DHG-9030型，上海一恒科学仪器有限公司；精密恒温水槽：BWS-12G型，上海一恒科学仪器有限公司；电泳仪：DYY-6D型，北京六一生物科技有限公司；凝胶成像仪：Chemi Doc MP型，伯乐生命医学产品（上海）有限公司；消解仪：GL-16K型，山东格林凯瑞精密仪器有限公司；色谱系统：HD-A型，上海沪西分析仪器厂有限公司；二氧化碳培养箱：MCO-18AIC型，普和希健康医疗器械（上海）有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 荞麦、青稞、小麦的脱脂处理

将荞麦、青稞、小麦分别用磨粉机磨成谷粉，将谷粉和正己烷按料液比1 kg∶2.5 L混合后搅拌浸提2 h，静置30 min，弃去上层液体。在通风橱里静置24 h，待溶剂完全挥发，收集脱脂谷粉，于4 ℃储藏备用。

#### 1.3.2 荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的提取

将脱脂谷粉（脱脂荞麦粉、脱脂青稞粉、脱脂小麦粉）和蒸馏水按料液比1 kg∶10 L混合置于烧杯中，用1 mol/L的NaOH溶液将pH调至11。碱提2 h后，以4 000 *g*离心10 min，提取上清液，用1 mol/L的HCl溶液将上清液pH调至4.5。静置10 min后以4 000 *g*离心10 min，取沉淀。将沉淀反复水洗至中性，加少量蒸馏水复溶，经过冷冻干燥后，即得荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白，于4 ℃储藏备用。

#### 1.3.3 蛋白质质量分数的测定

按照GB 5009.5—2016《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》中的凯氏定氮法测定蛋白质质量分数，用全自动凯氏定氮仪测定荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白中的蛋白质质量分数。荞麦蛋白的换算系数为5.95，青稞蛋白和小麦蛋白的换算系数为5.83。

#### 1.3.4 荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的模拟胃肠消化方法

根据Song等[24]和王鑫等[25]的方法并稍加修改。将荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白溶解于去离子水中，蛋白质和去离子水的质量比为5∶100，然后用1 mol/L的HCl溶液将pH调至2.0。在模拟胃消化过程中，以酶与底物的质量比1∶50将胃蛋白酶添加到蛋白质溶液中，并在37 ℃下孵育2 h。在模拟肠道消化过程中，用1 mol/L的NaOH溶液将pH调至6.8，将胰酶与底物按照质量比1∶50添加到溶液中，并在37 ℃下进一步消化2 h。消化结束后在沸水浴中灭酶。以4 000 *g*离心10 min后取上清液，冷冻干燥后即得到蛋白质消化物样品，将其置于−20 ℃下储存。通过凯氏定氮法测定消化液沉淀中的蛋白质质量分数，计算体外消化率。蛋白质的体外消化率按式（1）计算[26]。

$$D=(m_1-m_2)/m_1\times 100\% \quad (1)$$

式中：

$D$——蛋白质的体外消化率，%；

$m_1$——消化前样品中的蛋白质质量分数，mg/g；

$m_2$——经胃肠消化后沉淀中的蛋白质质量分数，mg/g。

#### 1.3.5 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）

参照Zhao等[27]的方法并稍加修改，用10 g/dL的丙烯酰胺分离胶和5 g/dL的丙烯酰胺浓缩胶进行SDS-PAGE。将未消化蛋白质以及经过胃和肠消化的产物以质量浓度2.0 mg/mL溶解在样品缓冲液中，凝胶每孔添加10 μL样品溶液。在80 V条件下进行电泳，当蛋白质到达分离胶时用120 V持续90~120 min。电泳结束后，将凝胶置于摇床上，使用考马斯亮蓝R250溶液染色30 min，之后用脱色液（甲醇、乙酸与水的体积比为1∶1∶8）在8 h内脱色8次，最后用凝胶成像仪获得图像。

#### 1.3.6 蛋白质消化物的营养价值评价

根据Song等[28]和夏金丹等[29]的蛋白营养价值评价方法进行评价，必需氨基酸以每100 g蛋白质中的氨基酸质量（g）计，以FAO/WHO模式和全

鸡蛋模式为标准计算AAS，AAS、CS和EAAI的计算见公式（2）~（4）。

$$A_{AS}=m/M_1 \quad (2)$$

式中：

$A_{AS}$——AAS；

$m$——样品中某种必需氨基酸质量分数，g/100 g；

$M_1$——FAO/WHO模式相应必需氨基酸质量分数，g/100g。

$$C_S=m/M_2 \quad (3)$$

式中：

$C_S$——CS；

$m$——样品中某种必需氨基酸质量分数，g/100g；

$M_2$——鸡蛋模式中相应必需氨基酸质量分数，g/100g。

$$E_{AAI}=\sqrt[n]{\frac{aa_1}{AA_1}\times\frac{aa_2}{AA_2}\times\cdots\times\frac{aa_n}{AA_n}} \quad (4)$$

式中：

$E_{AAI}$——EAAI；

$n$——比较的必需氨基酸数量，本试验中$n$=8；

$aa_1$、$aa_2$、…、$aa_n$——样品中各必需氨基酸的质量分数（某种必需氨基酸占必需氨基酸总质量的百分比），%；

$AA_1$、$AA_2$、…、$AA_n$——FAO/WHO模式或全鸡蛋模式中各必需氨基酸的质量分数，g/100g。

1.3.7 STC-1细胞的培养

STC-1细胞在DMEM培养基中培养，补充体积分数10%的胎牛血清，体积分数1%的青霉素和链霉素，体积分数1%的非必需氨基酸。将STC-1细胞在含体积分数5% $CO_2$的培养箱（37 ℃）中孵育。当细胞密度达到80%~90%时，用胰蛋白酶消化并根据要求进行接种，使用第10代和第20代之间的STC-1细胞[19]。

1.3.8 细胞活力测定

将细胞接种到96孔板中，并在培养箱中培养过夜。用HBSS缓冲液（pH 7.4）洗涤细胞3次，然后将HBSS缓冲液（对照组）或荞麦蛋白的消化物溶液（荞麦组）、青稞蛋白的消化物溶液（荞麦组）、小麦蛋白的消化物溶液（青稞组）（5 mg/mL和10 mg/mL）与细胞共孵育2 h。然后加入100 μL用完全培养基稀释10倍的CCK-8，培养1 h。最后在酶标仪中读取450 nm波长下的吸光度。

1.3.9 STC-1细胞分泌GLP-1的测定

细胞处理方法和组别命名方式同1.3.8，收集细胞上清液，通过ELISA试剂盒测定GLP-1的分泌量[28]。

1.3.10 小鼠肠内分泌细胞GLP-1分泌的测定

将体质量为（20±2）g的雄性ICR小鼠（5周龄）随机分成4组（生理盐水组、荞麦蛋白的消化物组、青稞蛋白的消化物组、小麦蛋白的消化物组），每组28只，昼夜禁食12 h。灌胃剂量参照Chen等[11]的方法，灌胃生理盐水（0.2 mL）或蛋白质消化物溶液（灌胃剂量为1 g/kg，灌胃体积为0.2 mL，质量浓度为100 mg/mL）。在灌胃前（0 min）和灌胃后（15、30、60、90、120、150 min）分别进行眼球取血。将所有血液样品与1.8 mg/mL EDTA溶液、1 μL/mL蛋白酶抑制剂混合物[30]在离心管中混合，于4 ℃、2 500 *g*的条件下离心15 min并取上清液，于−80 ℃储存直至进行激素测量。用ELISA试剂盒测定GLP-1的分泌。

### 1.4 数据处理

采用Excel 2013、GraphPad Prism 8.0和SPSS 25.0软件对数据进行分析和处理，结果以平均值±标准差表示，$P$<0.05表示差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化特性

提取的荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白纯度分别为（87.9±0.5）%、（88.1±1.4）%、（81.2±0.2）%，均在80%以上。蛋白质体外消化率见图1，荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的体外消化率分别为（74.7±3.1）%、（90.0±2.2）%、（85.5±2.0）%。荞麦蛋白消化率比青稞蛋白和小麦蛋白的消化率低，Nosworthy等[31]的研究显示，荞麦蛋白消化率为71.1%，并且荞麦蛋白消化率受荞麦抗营养因子的影响。此外，由于荞麦蛋白的蛋白质结构复杂，具有一定的抗消化性[32]。

2.1.1 荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白在胃肠消化过程中的相对分子质量变化

通过SDS-PAGE图谱可直观地看到体外胃肠消化过程中荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的相对分子质量变化。小麦蛋白亚基见图2（a）。小麦蛋

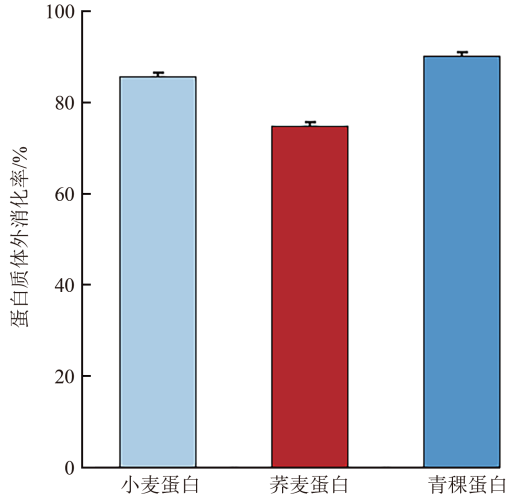


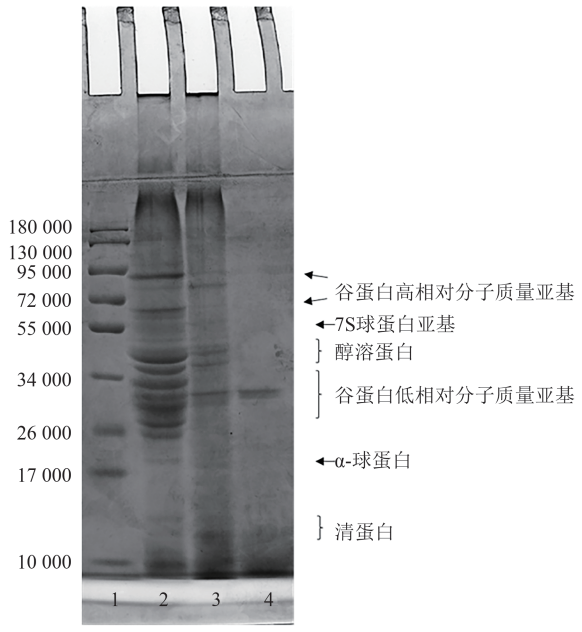

图1　蛋白质体外消化率

Fig. 1　*In vitro* gastrointestinal digestibility of proteins

白组分包括谷蛋白高相对分子质量（70 000~90 000）亚基和谷蛋白低相对分子质量（32 000~42 000）亚基[33-34]。醇溶蛋白的相对分子质量为30 000~40 000；7S球蛋白亚基的条带在50 000~70 000附近，包括3个不相同的亚基；α-球蛋白的相对分子质量约为19 000；清蛋白的相对分子质量约为15 000。荞麦蛋白亚基如图2（b）所示，Radovic等[35]的研究表明，荞麦蛋白主要有8S球蛋白亚基、13S球蛋白亚基和2S清蛋白亚基。8S球蛋白亚基位于55 000附近；13S球蛋白亚基位于25 000~40 000附近；2S清蛋白亚基位于12 000~16 000附近。青稞蛋白亚基参照王洪伟等[33]的研究进行分析，青稞蛋白亚基如图2（c）所示。青稞醇溶蛋白相对分子质量分布相对集中在26 000~34 000；谷蛋白高相对分子质量亚基位于60 000~95 000；谷蛋白低相对分子质量亚基位于34 000~55 000；在相对分子质量10 000~15 000仅有非常少量的清蛋白条带。荞麦蛋白主要由球蛋白和清蛋白组成，青稞蛋白和小麦蛋白主要由谷蛋白和醇溶蛋白组成。荞麦与小麦的蛋白质亚基组成差异很大，几乎可以互相补充；青稞和小麦的蛋白质亚基组成接近，但青稞蛋白比小麦蛋白中的高相对分子质量谷蛋白少，这也是小麦粉比青稞粉更易形成面团的原因。经过胃肠消化后，可以明显看出蛋白质被消化成相对分子质量<10 000的组分。进一步使用高效液相色谱仪分析蛋白质消化物（相对分子质量<10 000）的相对分子质量分布[36]，荞麦蛋白、青稞蛋白经体外胃肠消化后的相对分子质量主要在3 000以下，比例分别为72%和98%，相对分子质量<1 000的寡肽占比分别为41%和82%，而小麦蛋白相对分子质量3 000以下部分占比约为56%，相对分子质量1 000以下部分占比约为30%。荞麦蛋白和青稞蛋白经消化后相对分子质量<3 000的部分显著高于小麦蛋白。由于相对分子质量<3 000的部分更容易被肠道吸收[37]，说明荞麦蛋白和青稞蛋白经胃肠消化后可能比小麦蛋白更易被人体吸收。

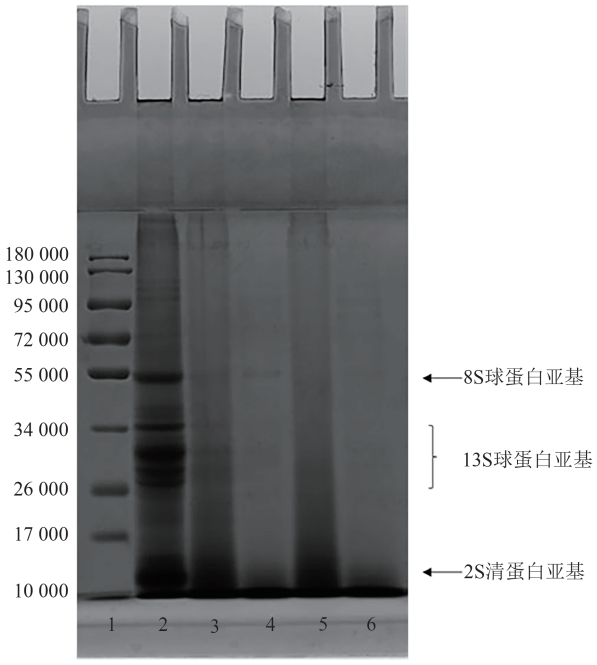
2.1.2　荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物的营养价值评价

仅按照氨基酸组成来评价蛋白质营养价值具有一定局限性，因为只关注了蛋白质的生物可及性，而实际上只有可溶的消化物才会被肠道吸收。只有分析了蛋白质经消化后可溶部分（蛋白质消化物）的氨基酸组成，才能更加精准地评价蛋白质的营养价值。荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白消化物的必需氨基酸质量分数和EAAI见表1。必需氨基酸质量分数分别为32.49 g/100g、26.75 g/100g、31.79 g/100g，必需氨基酸质量分数分别占总氨基酸质量分数的38.33%、30.74%、35.70%。与小麦蛋白的消化物相比，荞麦蛋白的消化物中必需氨基酸质量分数较高，而青稞蛋白的消化物中必需氨基酸质量分数略低，但都接近于FAO/WHO标准规定的40%。由表2可知，荞麦蛋白的第一和第二限制性氨基酸是Thr和含硫氨基酸（Met和Cys），青稞蛋白和小麦蛋白的第一和第二限制性氨基酸均是Lys和Thr。但经过胃肠消化后，3种蛋白质消化物的限制性氨基酸为含硫氨基酸和His。这表明经过消化酶的酶解后，可溶部分中的氨基酸组成与未经消化的蛋白质中的氨基酸组成存在差异。消化过程中大部分蛋白质被消化为可溶性蛋白质，另一部分未被完全消化的蛋白质则成为沉淀，可溶部分被吸收，沉淀部分被排出，导致氨基酸组成差异。另外，3种蛋白质消化后的限制性氨基酸一致是由于消化酶具有特定的酶切位点。3种蛋白质消化物的氨基酸组成分析表明，现有的膳食蛋白质营养价值评价存在缺陷，需关注能被肠道吸收部分的氨基酸，才能更加准确地评价膳食蛋白质的营养价值。值得注意的是，荞麦蛋白的消化物中Lys含量丰富，因此荞麦



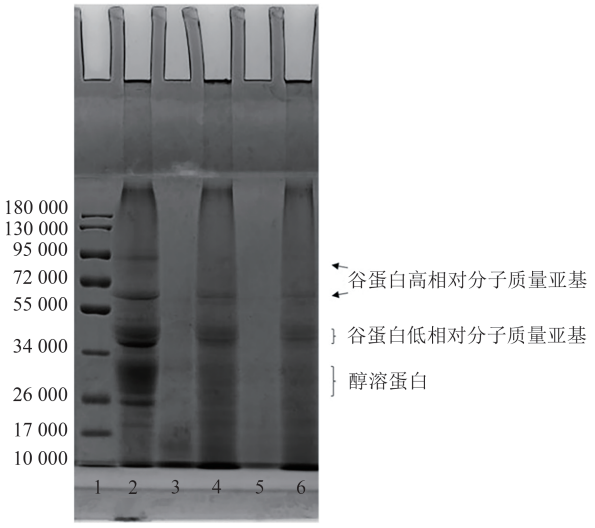

1—Marker；2—小麦蛋白；3—小麦蛋白的胃消化物（上清液）；4—小麦蛋白的胃肠消化物（上清液）。

(a) 小麦




1—Marker；2—荞麦蛋白；3—荞麦蛋白的胃消化沉淀；4—荞麦蛋白的胃消化物（上清液）；5—荞麦蛋白的胃肠消化沉淀；6—荞麦蛋白的胃肠消化物（上清液）。

(b) 荞麦




1—Marker；2—青稞蛋白；3—青稞蛋白的胃消化物（上清液）；4—青稞蛋白的胃消化沉淀；5—青稞蛋白的胃肠消化物（上清液）；6—青稞蛋白的胃肠消化沉淀。

(c) 青稞

图 2　蛋白质及其消化物 SDS-PAGE 图谱

Fig. 2　SDS-PAGE patterns of proteins and gastrointestinal digests

可以作为Lys膳食补充的来源。EAAI评价蛋白质品质的标准为：EAAI>0.90为优质蛋白质源，在0.80左右为可用蛋白质源，EAAI<0.70为不适宜蛋白质源[38]。如表1所示，荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物的EAAI分别为0.85、0.88、0.91，所以可以判定小麦蛋白的消化物为优质蛋白质源，荞麦蛋白和青稞蛋白的消化物为可用蛋白质源，能够满足人体需要。

### 2.2　荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物对STC-1细胞分泌GLP-1的影响

STC-1细胞是小鼠的小肠癌细胞，能够分泌多种肠道激素，与正常小鼠肠内分泌L细胞具有

相似性，常用作L细胞模型广泛使用[39]。分别用质量浓度为5、10 mg/mL的荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物对STC-1细胞进行处理，对照组为不经蛋白质消化物处理的正常培养细胞，细胞活力记为100%。处理前后的STC-1细胞活力变化情况见图3。当蛋白质消化物质量浓度为5、10 mg/mL时，对STC-1细胞活力的影响与对照组相比无明显差异，这表明蛋白质消化物无细胞毒性。

表1　蛋白质消化物的必需氨基酸质量分数和EAAI

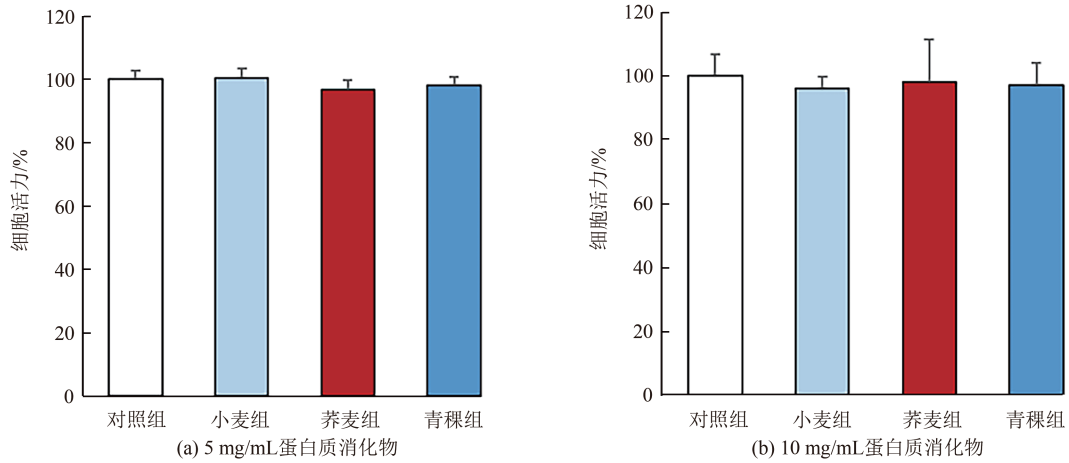
Table 1　Essential amino acid mass fractions and EAAI of gastrointestinal digests of proteins

| 蛋白质消化物 | 必需氨基酸质量分数/（g/100g） | 必需氨基酸质量分数占总氨基酸质量分数的比例/% | EAAI |
|---|---|---|---|
| 荞麦蛋白的消化物 | 32.49 | 38.33 | 0.85 |
| 青稞蛋白的消化物 | 26.75 | 30.74 | 0.88 |
| 小麦蛋白的消化物 | 31.79 | 35.70 | 0.91 |

表2　蛋白质消化物的氨基酸评价

Table 2　Amino acids evaluation of gastrointestinal digests of proteins

| 氨基酸 | 必需氨基酸质量分数/（g/100g） | | | WHO/FAO标准/（g/100g） | AAS | | | 全鸡蛋模式 | CS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 荞麦蛋白 | 青稞蛋白 | 小麦蛋白 | | 荞麦蛋白 | 青稞蛋白 | 小麦蛋白 | | 荞麦蛋白 | 青稞蛋白 | 小麦蛋白 |
| His | 1.32 | 1.10 | 1.29 | 1.50 | 0.88 | 0.73 | 0.86 | 2.10 | 0.63 | 0.52 | 0.61 |
| Ile | 3.51 | 3.05 | 3.43 | 3.00 | 1.17 | 1.02 | 1.14 | 6.60 | 0.53 | 0.46 | 0.52 |
| Leu | 5.80 | 5.90 | 6.84 | 5.90 | 0.98 | 1.00 | 1.16 | 8.80 | 0.66 | 0.67 | 0.78 |
| Lys | 8.04 | 3.51 | 5.63 | 4.50 | 1.79 | 0.78 | 1.25 | 6.40 | 1.26 | 0.55 | 0.88 |
| Met+Cys | 0.65 | 0.70 | 1.24 | 2.20 | 0.30 | 0.32 | 0.56 | 5.50 | 0.12 | 0.13 | 0.22 |
| Phe+Tyr | 5.62 | 6.27 | 6.00 | 3.80 | 1.48 | 1.65 | 1.58 | 10.00 | 0.56 | 0.63 | 0.60 |
| Thr | 2.96 | 2.42 | 2.62 | 2.30 | 1.29 | 1.05 | 1.14 | 5.10 | 0.58 | 0.47 | 0.51 |
| Val | 4.59 | 3.80 | 4.74 | 3.90 | 1.18 | 0.97 | 1.22 | 7.30 | 0.63 | 0.52 | 0.65 |



(a) 5 mg/mL蛋白质消化物　　(b) 10 mg/mL蛋白质消化物

图3　蛋白质消化物对STC-1细胞活力的影响

Fig. 3　Effects of gastrointestinal digests of proteins on the viability of STC-1 cells

用质量浓度为5、10 mg/mL的荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物处理STC-1细胞，然后测定细胞上清液中的GLP-1分泌量，结果见图4。当质量浓度为5 mg/mL时，3种蛋白质消化物对STC-1细胞分泌GLP-1的影响与对照组相比没有显著差异；当质量浓度增加到10 mg/mL时，3种蛋白质消化物均可以显著促进STC-1细胞分泌GLP-1（$P$<0.001）。与对照组和5 mg/mL消化物相比，10 mg/mL消化物处理的STC-1细胞分泌的GLP-1增加了1倍以上。结果表明，10 mg/mL荞

麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物可显著促进 STC-1 细胞分泌 GLP-1。

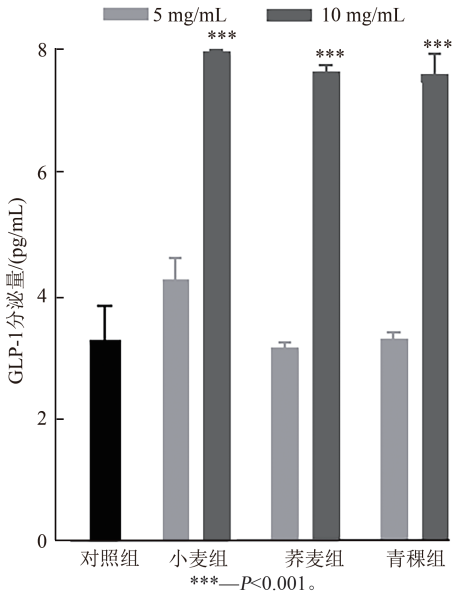



图 4 蛋白质消化物对 STC-1 细胞分泌 GLP-1 的影响

Fig. 4 Effects of gastrointestinal digests of proteins on GLP-1 secretion in STC-1 cells

### 2.3 荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物对小鼠肠内分泌细胞分泌 GLP-1 的影响

比较灌胃生理盐水和蛋白质消化物一段时间后小鼠血液中 GLP-1 质量浓度的变化可以发现，尽管小鼠之间存在个体差异，但在小鼠摄入蛋白质消化物 30~120 min 后，小鼠的肠内分泌细胞向血液中释放了较高水平的 GLP-1，见图 5。结果显示，3 种蛋白质消化物与生理盐水相比均能促进 GLP-1 的分泌。在摄食荞麦蛋白的消化物 30 min 后，小鼠血液中 GLP-1 质量浓度开始上升，到 90 min 达到峰值；在摄食青稞蛋白的消化物 60 min 后，小鼠血液中 GLP-1 质量浓度开始上升，到 120 min 达到峰值。而摄入小麦蛋白的消化物 30 min 后出现峰值，这是由于小麦蛋白的消化物氨基酸组成相较于荞麦蛋白和青稞蛋白的消化物更均衡，在摄入后可以更快被吸收而产生作用。对比荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物的 GLP-1 分泌效果可以发现，相较于小麦蛋白的消化物，荞麦蛋白和青稞蛋白的消化物促进小鼠肠内分泌细胞分泌 GLP-1 的能力更强。结合 3 种谷物蛋白的消化属性可知，这是由于荞麦蛋白、青稞蛋白经体外消化后易被吸收的部分（相对分子质量<3 000）显著高于小麦蛋白，荞麦蛋白和青稞蛋白的消化物与小麦蛋白的消化物相比可以更充分地被小肠吸收利用。在蛋白质消化物中，相对分子质量<3 000 的肽组分占蛋白质消化物的比例由高到低排序为青稞（98%）、荞麦（72%）、小麦（56%），这与小鼠试验中 GLP-1 分泌时间曲线的趋势一致，也就是说相对分子质量<3 000 的部分能被小肠吸收，并在促进肠内分泌细胞分泌 GLP-1 的生理过程中发挥重要作用。

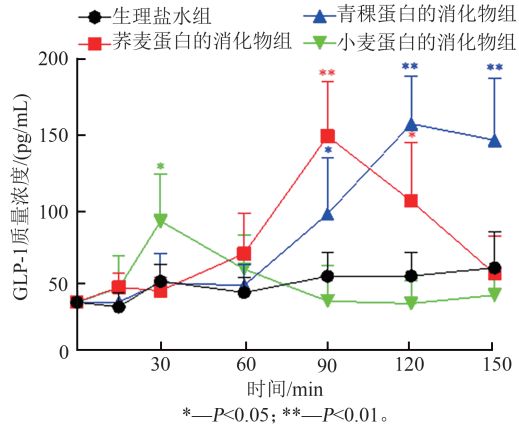



图 5 灌胃生理盐水或蛋白质消化物溶液后小鼠血液中 GLP-1 质量浓度的变化

Fig. 5 Changes in GLP-1 mass concentration in mouse blood after gavage of normal saline or gastrointestinal digests of proteins

## 3 结论

作者利用体外模拟胃肠消化模型制备了荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物，进而评价了消化物对肠内分泌细胞分泌 GLP-1 的影响。荞麦蛋白、青稞蛋白、小麦蛋白的消化物在体外均可刺激 STC-1 细胞分泌 GLP-1。动物试验表明，荞麦蛋白和青稞蛋白的消化物促进肠内分泌细胞分泌 GLP-1 的活性强于小麦蛋白的消化物。鉴于 GLP-1 在血糖调控方面的重要作用，推测荞麦蛋白、青稞蛋白比小麦蛋白更适合糖尿病等代谢疾病患者食用。开发荞麦蛋白、青稞蛋白的消化物在预防慢性疾病（肥胖、糖尿病等）方面具有潜在应用前景，后续研究将进一步确定发挥主要作用的肽段，阐述荞麦蛋白、青稞蛋白的消化物促进 GLP-1 分泌的分子机制。

## 参考文献


[1] CHAN-ZAPATA I，SANDOVAL-CASTRO C，SEGURA-CAMPOS M R. Proteins and peptides from vegetable food sources as therapeutic adjuvants for the type 2 diabetes mellitus[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition，2022，62(10)：2673-2682.

[2] TAGUCHI H，MURAI K，HIRA T. Trp-Tyr is a dipeptide structure that potently stimulates GLP-1 secretion in a murine enteroendocrine cell model，identified by comprehensive analysis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications，2023，661：28-33.

[3] JONES K L，RIGDA R S，BUTTFIELD M D M，et al. Effects of lixisenatide on postprandial blood pressure，gastric emptying and glycaemia in healthy people and people with type 2 diabetes[J]. Diabetes，Obesity & Metabolism，2019，21(5)：1158-1167.

[4] 黄丹娣，张慧杰，闫听，等. 酿酒酵母孢子作为GLP-1载体的研究[J]. 食品与生物技术学报，2019，38(12)：39-45.
HUANG D D，ZHANG H J，YAN T，et al. Yeast spore as carrier for glucagon-like peptide-1[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2019，38(12)：39-45.(in Chinese)

[5] LORENZ M，PFEIFFER C，STEINSTRÄßER A，et al. Effects of lixisenatide once daily on gastric emptying in type 2 diabetes：relationship to postprandial glycemia[J]. Regulatory Peptides，2013，185：1-8.

[6] 盛清凯，姚惠源. 苦瓜多肽-P的分离及其降糖活性[J]. 无锡轻工大学学报，2005，24(1)：49-51.
SHENG Q K，YAO H Y. Isolation and hypoglycemic activity of P-polypeptide from *Momordica charantia*[J]. Journal of Wuxi University of Light Industry，2005，24(1)：49-51.(in Chinese)

[7] 吴聪，施用晖，乐国伟. 奥曲肽对高脂饲养小鼠血糖、血脂及抗氧化能力的影响[J]. 食品与生物技术学报，2012，31(7)：745-751.
WU C，SHI Y H，LE G W. Effects of OCT on blood glucose，lipid and anti-oxidation function of mice fed with high-fat diet[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2012，31(7)：745-751.(in Chinese)

[8] CHENG D H，YANG S，ZHAO X，et al. The role of glucagon-like peptide-1 receptor agonists (GLP-1 RA) in diabetes-related neurodegenerative diseases[J]. Drug Design，Development and Therapy，2022，16：665-684.

[9] HUANG Z H，LIU L，ZHANG J，et al. Glucose-sensing glucagon-like peptide-1 receptor neurons in the dorsomedial hypothalamus regulate glucose metabolism[J]. Science Advances，2022，8(23)：eabn5345.

[10] XIE C，JONES K L，RAYNER C K，et al. Enteroendocrine hormone secretion and metabolic control：importance of the region of the gut stimulation[J]. Pharmaceutics，2020，12(9)：790.

[11] CHEN W Y，HIRA T，NAKAJIMA S，et al. Wheat gluten hydrolysate potently stimulates peptide-YY secretion and suppresses food intake in rats[J]. Bioscience，Biotechnology，and Biochemistry，2018，82(11)：1992-1999.

[12] CALBET J A L，HOLST J J. Gastric emptying，gastric secretion and enterogastrone response after administration of milk proteins or their peptide hydrolysates in humans[J]. European Journal of Nutrition，2004，43：127-139.

[13] GERAEDTS M C，TROOST F J，FISCHER M A，et al. Direct induction of CCK and GLP-1 release from murine endocrine cells by intact dietary proteins[J]. Molecular Nutrition & Food Research，2011，55(3)：476-484.

[14] ISHIKAWA Y，HIRA T，INOUE D，et al. Rice protein hydrolysates stimulate GLP-1 secretion，reduce GLP-1 degradation，and lower the glycemic response in rats[J]. Food & Function，2015，6(8)：2525-2534.

[15] GILLESPIE A L，GREEN B D. The bioactive effects of casein proteins on enteroendocrine cell health，proliferation and incretin hormone secretion[J]. Food Chemistry，2016，211：148-159.

[16] GILLESPIE A L，CALDERWOOD D，HOBSON L，et al. Whey proteins have beneficial effects on intestinal enteroendocrine cells stimulating cell growth and increasing the production and secretion of incretin hormones[J]. Food Chemistry，2015，189：120-128.

[17] CUDENNEC B，FOUCHEREAU-PERON M，FERRY F，et al. *In vitro* and *in vivo* evidence for a satiating effect of fish protein hydrolysate obtained from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle[J]. Journal of Functional Foods，2012，4(1)：271-277.

[18] CUDENNEC B，BALTI R，RAVALLEC R，et al. *In vitro* evidence for gut hormone stimulation release and dipeptidyl-peptidase IV inhibitory activity of protein hydrolysate obtained from cuttlefish (*Sepia officinalis*) viscera[J]. Food Research International，2015，78：238-245.

[19] SANTOS-HERNÁNDEZ M，AMIGO L，RECIO I. Induction of CCK and GLP-1 release in enteroendocrine cells by egg white peptides generated during gastrointestinal digestion[J]. Food Chemistry，2020，329：127188.

[20] KATO M，NAKANISHI T，TANI T，et al. Low-molecular fraction of wheat protein hydrolysate stimulates glucagon-like peptide-1 secretion in an enteroendocrine L cell line and improves glucose tolerance in rats[J]. Nutrition Research，2017，37：37-45.

[21] JIN J，OHANENYE I C，UDENIGWE C C. Buckwheat proteins：functionality，safety，bioactivity，and prospects as alternative plant-based proteins in the food industry[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition，2022，62（7）：1752-1764.

[22] OBADI M，SUN J，XU B. Highland barley：chemical composition，bioactive compounds，health effects，and applications[J]. Food Research International，2021，140：110065.

[23] LYU Y M，MA S，LIU J K，et al. A systematic review of highland barley：ingredients，health functions and applications[J]. Grain & Oil Science and Technology，2022，5（1）：35-43.

[24] SONG H D，TIAN Q，LI B. Novel Hyp-Gly-containing antiplatelet peptides from collagen hydrolysate after simulated gastrointestinal digestion and intestinal absorption [J]. Food & Function，2020，11（6）：5553-5564.

[25] 王鑫，范群艳，连建梅，等. 燕窝消化特性的体外实验[J]. 食品与生物技术学报，2021，40（8）：70-77.
WANG X，FAN Q Y，LIAN J M，et al. Study on *in vitro* digestion characteristics of bird's nest[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2021，40（8）：70-77.（in Chinese）

[26] ABOGE D O，ORINDA M A，KONYOLE S O. Effect of partial substitution of soybean flour with cricket flour on the nutritional composition，*in vitro*-protein digestibility and functional properties of complementary porridge flour [J]. International Journal of Tropical Insect Science，2022，42：1137-1145.

[27] ZHAO H H，GUO M M，DING T，et al. Exploring the mechanism of hollow microcapsule formation by self-assembly of soy 11s protein upon heating[J]. Food Hydrocolloids，2020，108：105379.

[28] SONG H D，FU Q Y，HUANG K，et al. Digestion characteristics of quinoa，barley and mungbean proteins and the effects of their simulated gastrointestinal digests on CCK secretion in enteroendocrine STC-1 cells[J]. Food & Function，2022，13（11）：6233-6243.

[29] 夏金丹，曹玉敏，孙玉敬，等. 常见八宝粥的蛋白质优化研究[J]. 中国食品学报，2014，14（1）：162-171.
XIA J D，CAO Y M，SUN Y J，et al. The optimization of protein for common eight-treasure congee[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2014，14（1）：162-171.（in Chinese）

[30] HIRA T，SEKISHITA M，HARA H. Blood sampling from rat ileal mesenteric vein revealed a major role of dietary protein in meal-induced GLP-1 response[J]. Frontiers in Endocrinology，2021，12：689685.

[31] NOSWORTHY M G，FRANCZYK A，ZIMOCH-KORZYCKA A，et al. Impact of processing on the protein quality of pinto bean（*Phaseolus vulgaris*）and buckwheat（*Fagopyrum esculentum* Moench）flours and blends，as determined by *in vitro* and *in vivo* methodologies[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2017，65（19）：3919-3925.

[32] GUO X N，YAO H Y，CHEN Z X. *In vitro* digestibility of Chinese tartary buckwheat protein fractions：the microstructure and molecular weight distribution of their hydrolysates[J]. Journal of Food Biochemistry，2006，30（5）：508-520.

[33] 王洪伟，武菁菁，阚建全. 青稞和小麦醇溶蛋白和谷蛋白结构性质的比较研究[J]. 食品科学，2016，37（3）：43-48.
WANG H W，WU J J，KAN J Q. Comparison of structure characteristics of gliadin and glutenin in highland barley and wheat[J]. Food Science，2016，37（3）：43-48.（in Chinese）

[34] WANG J S，JIA F，YANG X J，et al. The classification and characteristic of proteins in wheat[J]. Advanced Materials Research，2013，690：1301-1304.

[35] RADOVIC R S，MAKSIMOVIC R V，BRKLJACIC M J，et al. 2S albumin from buckwheat（*Fagopyrum esculentum* Moench）seeds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，1999，47（4）：1467-1470.

[36] 张江涛，张铭皓，高丽辉，等. 模拟胃肠道消化对玉米低聚肽抗氧化作用的影响[J]. 食品与生物技术学报，2021，40（11）：54-61.
ZHANG J T，ZHANG M H，GAO L H，et al. Effect of simulated gastrointestinal digestion on antioxidant activity of corn oligopeptides [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2021，40（11）：54-61.（in Chinese）

[37] 傅秋云，方子韵，宋洪东，等. 燕麦分离蛋白消化特性和消化产物对STC-1细胞分泌胆囊收缩素的影响[J]. 食品科学技术学报，2021，39（6）：35-44.
FU Q Y，FANG Z Y，SONG H D，et al. Digestion characteristics of oat protein isolate and effect of its digesta on cholecystokinin secretion of STC-1 cells[J]. Journal of Food Science and Technology，2021，39（6）：35-44.（in Chinese）

[38] 刘立品. 青稞蛋白质结构与功能特性的研究[D]. 杨凌：西北农林科技大学，2015.

[39] GRIBBLE F M，REIMANN F. Signalling in the gut endocrine axis[J]. Physiology & Behavior，2017，176：183-188.

（责任编辑：闫林红）