

生命早期摄入小米对小鼠代谢的影响

王 晗¹, 付永霞², 陈博睿¹, 赵卿宇¹, 王 超¹, 沈 群^{1*}

(¹ 中国农业大学食品科学与营养工程学院 国家粮食产业(青稞深加工)技术创新中心 北京 100083

² 山西农业大学 山西功能食品研究院 太原 030031)

摘要 目的:前期研究发现 20%小米摄入量能有效调节生命早期小鼠的肠道菌群组成,增加有益菌的定植,而过高的小米摄入量(80%)会使肠道菌群多样性和均匀度降低,有益菌丰度下降。本研究基于非靶向代谢组学分析小鼠生命早期摄入 20%和 80%小米对其粪便代谢谱的影响。方法:采用非靶向代谢组学技术,检测小鼠从生命早期摄入小米后,其粪便代谢物及关键代谢途径的变化。结果:当小米摄入量为 20%时,与正常对照组相比,小鼠粪便代谢物中有 165 个上调、11 个下调、467 个无显著变化,差异代谢物显著富集的代谢途径主要为牛磺酸和低牛磺酸代谢、维生素 B₆ 代谢和新生霉素生物合成。当小米摄入量为 80%时,与正常对照组相比,代谢物中有 178 个上调、24 个下调、441 个无显著变化,差异代谢物显著富集的代谢途径主要包括色氨酸代谢、维生素 B₆ 代谢和新生霉素生物合成。其中,小米摄入量从 20%增至 80%,均显著影响色氨酸代谢,且色氨酸代谢途径对应的影响值显著升高。结论:生命早期摄入小米会显著影响小鼠的粪便代谢物水平及相关代谢通路,尤其是色氨酸代谢途径,此途径与机体的认知能力和大脑发育关系密切。小米摄入量过高可能会影响机体的健康发育。本研究为明确小米的营养功能及其功能食品开发提供数据支持。

关键词 小米; 生命早期; 粪便; 代谢组学; 色氨酸代谢

文章编号 1009-7848(2024)11-0127-11 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.11.013

近年来,虽然人们生活品质不断提高,但是膳食不均衡的问题越来越明显,慢性代谢疾病的发病率急剧上升,如糖尿病、肥胖症和心血管疾病等。与常见主食(大米、小麦等)相比,由于杂粮具有高膳食纤维、消化率低等特性,因此具有增加饱腹感,延缓胃排空和降低餐后血糖升高速度的作用,逐渐受到人们的重视。在动物实验中,杂粮的干预剂量是多样的。例如,Deng 等^[1]在探究全谷物青稞对 db/db 小鼠高脂血症的影响时,使用 25%、45%和 65% 3 种剂量。有研究采用 30%和 60%的黑米和高粱分别研究其对高胆固醇血症小鼠的影响^[2]。Liu 等^[3]评估了 46%糙米和 54%全麦面粉对高胆固醇血症小鼠的影响。许阳等^[4]研究摄入不同剂量的燕麦对肥胖小鼠的影响,结果发现 20%燕麦的降血脂效果较好。

小米是我国主要的杂粮之一,近年来因其在预防和控制代谢性疾病方面具有较高的价值而受

到关注。小米产量在世界粟类作物产量中位居第二。小米富含膳食纤维(约为大米的 6 倍)、多酚、矿物质元素和不饱和脂肪酸。大量研究证明小米成分,包括膳食纤维、蛋白质和正己烷提取物具有缓解慢性代谢性疾病的作用^[5-8]。然而,小米的蛋白消化率较低^[9]。小米一般是在蒸煮后进食,该加工过程会引起小米蛋白质中疏水聚集体的形成及二硫键的增加,最终导致蛋白质的消化率下降。除此之外,小米中的其它抗营养物质,如单宁、植酸等可与蛋白质形成偶联物,也会降低其蛋白质的消化率。小米等全谷物类食物本身富含膳食纤维,影响胃排空和肠道转运,导致机体葡萄糖和其它营养物质的吸收受阻^[10]。从生命早期(婴儿期)开始,充足、均衡的营养是人类大脑健康发育的前提,这个阶段为整个童年和成年期的认知、运动和社会情感技能的发展奠定基础^[11]。婴儿期营养不足可能会影响整个学生和成年时期的认知、行为和生产力。此外,前期研究发现 20%小米摄入量能增加有益肠道微生物的定植,而 80%小米摄入量则对肠道菌群的多样性和稳态产生不良影响^[12]。这说明生命早期阶段摄入过多的小米可能会阻碍婴儿的健康生长发育。

收稿日期: 2023-11-02

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(CARS-06)

第一作者: 王晗,男,博士生

通信作者: 沈群 E-mail: shenqun@cau.edu.cn

非靶向代谢组学是基因组学和蛋白组学外的又一新兴学科,即在某一特定时间联合综合性方法对细胞或有机体的代谢产物进行研究^[13]。目前,非靶向代谢组学被广泛应用于寻找疾病的治疗靶标。在机体的整个进食过程中,肠道微生物可以膳食营养素为前体,产生一定量的代谢物并随粪便排出体外,通过分析粪便中代谢物水平的变化就可得知整个机体的代谢状态。本研究以3周龄初断乳的C57BL/6J小鼠为研究对象,运用非靶向粪便代谢组学研究20%和80%的小米摄入量对小鼠从生命早期到成年阶段的影响,为明确小米的营养功能及其米功能性产品开发提供理论参考。

1 方法与材料

1.1 材料与试剂

小米由山西东方亮生命科技股份有限公司提供,品种为东方亮;3周龄初断乳的C57BL/6J雄性小鼠由北京斯贝福生物技术有限公司提供,体质量为 (13 ± 2) g,品级为清洁级(SPF);许可证号为SCXK(京)2019-0010。饲养条件严格按照《实验动物管理条件》进行,实验方案得到中国农业大学实验动物福利与动物实验伦理审查委员会的批准。D10012G作为正常组饲料;不同小米添加量的干预组饲料由北京译成科技有限公司加工生产;甲醇(色谱级)、乙腈(色谱级)、甲酸(色谱级)、丙醇(色谱级)、纯水(色谱级)、L-2-氯苯丙氨酸,美国赛默飞世尔科技公司。

1.2 仪器与设备

粉碎机,九阳股份有限公司;超高效液相色谱串联质谱(UHPLC-Q Exactive HF-X),美国赛默飞公司;色谱柱(HSS T3),美国Waters公司;高通量研磨仪(Winbo-96),上海万柏生物科技有限公司;氮气吹扫仪(JXDC-20),上海净信实业发展有限公司;台式快速离心浓缩干燥器(LNG-T88),太仓市华美生化仪器厂;烘箱(DVS412C),日本大和科学株式会社。

1.3 方法

1.3.1 熟小米粉的制备 熟小米粉的制备方法基于实验室已建立的方法^[14]。将小米脱壳磨粉后,过60目筛网,得到生小米粉。随后,将生小米粉与蒸馏水按料液比1:1混合,蒸30 min,在烘箱中50

℃干燥12 h;将小米取出,磨成粉,过60目筛网后得到熟小米粉,将其放置在-20℃保存备用。

1.3.2 动物实验设计与分组 本研究的动物实验由中国农业大学动物伦理委员会批准,动物伦理审查号码为AW71302202-5-2,整个动物实验过程严格按照伦理标准执行。饲养地点为北京谱尼测试大厦的SPF级动物房,饲养温度为 (20 ± 2) ℃,相对湿度为 $(60\pm 5)\%$,饲养室光源为12 h光照/黑暗交替。首先,24只3周龄初断乳的C57BL/6J雄性小鼠适应性培养一周,然后按体质量被随机分为3组,分别为正常对照组(NC)、20%小米摄入量组(M20)、80%小米摄入量组(M80),每组8只小鼠,不同实验组的饲料成分组成如表1所示。保证2~3只小鼠1笼,小鼠在饲养期间自由进食和饮水,干预周期为12周。

1.3.3 非靶向粪便代谢组学分析 实验结束前一周,通过刺激小鼠的直肠促进其排便,将粪便收集在冻存管中并迅速放入液氮备用。首先,准确称量50 mg固体粪便样品,将0.02 mg/mL的L-2-氯苯丙氨酸作为内标,以400 μ L甲醇-水(体积比4:1)溶液提取代谢物。在-10℃让混合物沉淀,然后用高通量组织粉碎机Wonbio-96c处理,条件为50 Hz,6 min,接下来,在5℃,40 kHz下继续超声处理30 min。将样品在-20℃下放置30 min,然后在4℃,13 000 r/m条件下离心15 min,得到的上清液转移至进样瓶中进行后续的LC-MS/MS分析。采用UPLC-TOF-MS系统进行代谢组学分析,色谱柱为HSS T3。质谱数据由配备电喷雾电离源(ESI)的热UHPLC-Q精确HF-X质谱仪采集。UPLC-MS分析后,将原始数据导入Progenesis QI 2.3(Nonlinear Dynamics, Waters, USA)软件用于峰检测和校准。预处理结果生成了由保留时间(RT)、质荷比(m/z)值和峰强度组成的数据矩阵。在任何样品中检测到的代谢特征至少有80%被保留。无监督主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)由R包(版本1.6.2)执行。在OPLS-DA分析中,投影中变量重要性(VIP)值可用于过滤对模型贡献最大的变量,VIP > 1的变量通常被选为差异代谢物或潜在标志物。在本研究中,基于VIP > 1、 $P < 0.05$ 和倍数变化FC > 1或FC < 1筛选代谢物。应用学生t检验计算不同组

之间代谢物强度差异的显著性。热图由 Python(版本 1.0.0)构建,采用欧几里得计算代谢物距离。生化数据库包括人类代谢组数据库(HMDB)(http://

www.hmdb.ca/)和 Metlin(https://metlin.scripps.edu/)用于识别潜在的标记和代谢途径。

表 1 实验饲料成分表

Table 1 The composition of the experimental diet

成分	正常组(NC)		干预组			
			M20		M80	
	质量/g	能量/kJ	质量/g	能量/kJ	质量/g	能量/kJ
小米	0.00	0.00	200.00	855.06	800.00	3 417.07
酪蛋白(30目)	200.00	800.00	174.88	699.52	99.53	398.12
L-胱氨酸	3.00	12.00	3.00	12.00	3.00	12.00
玉米淀粉	397.00	1 590.00	241.66	966.64	0.00	0.00
麦芽糊精	132.00	528.00	132.00	528.00	0.00	0.00
蔗糖	100.00	400.00	100.00	400.00	6.90	27.60
纤维素	50.00	0.00	45.34	0.00	31.34	0.00
大豆油	70.00	630.00	55.42	498.78	11.69	105.21
叔丁基氢醌	10.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00
S10022G	35.00	0.00	35.00	0.00	35.00	0.00
V10037	10.00	40.00	10.00	40.00	10.00	40.00
酒石酸氢胆碱	2.50	0.00	2.50	0.00	2.50	0.00

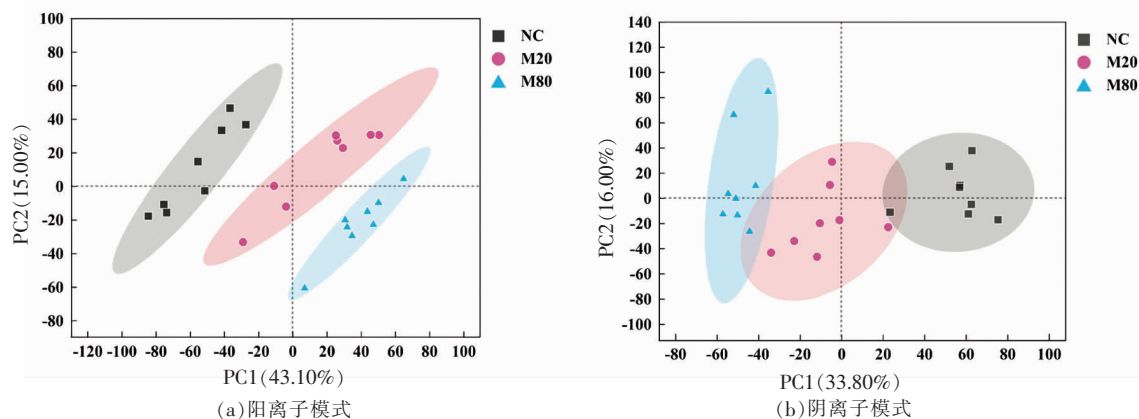
注:NC. 正常干预组;M20. 小米摄入量 20%的干预组;M80. 小米摄入量为 80%的干预组。

2 结果

2.1 代谢组模型可行性分析

本研究采用非靶向代谢组学方法研究从生命早期开始补充不同剂量小米对小鼠粪便代谢物的影响。首先,通过 PCA 评分图来评价所有样品的分布情况和不同组间的差异。如图 1 所示,横坐标 PC1 和纵坐标 PC2 是 PCA 评分图中反映样品变

化和分离程度的主要数据。在阳离子模式下,PC1 和 PC2 分别解释了 43.10%和 15.00%的差异性,而阴离子模式下 PC1 和 PC2 则分别解释了 33.80%和 16.00%的差异性。阳离子模式下,NC 组,M20 组与 M80 组的分组椭圆明显分离;阴离子模式下 3 组的分组椭圆也相互分离,并且 M80 组与 NC 组椭圆的距离大于 M20 组与 NC 组。这



注:NC 表示正常处理组,M20 和 M80 分别表示小米摄入量 20%和 80%的干预组,下同。

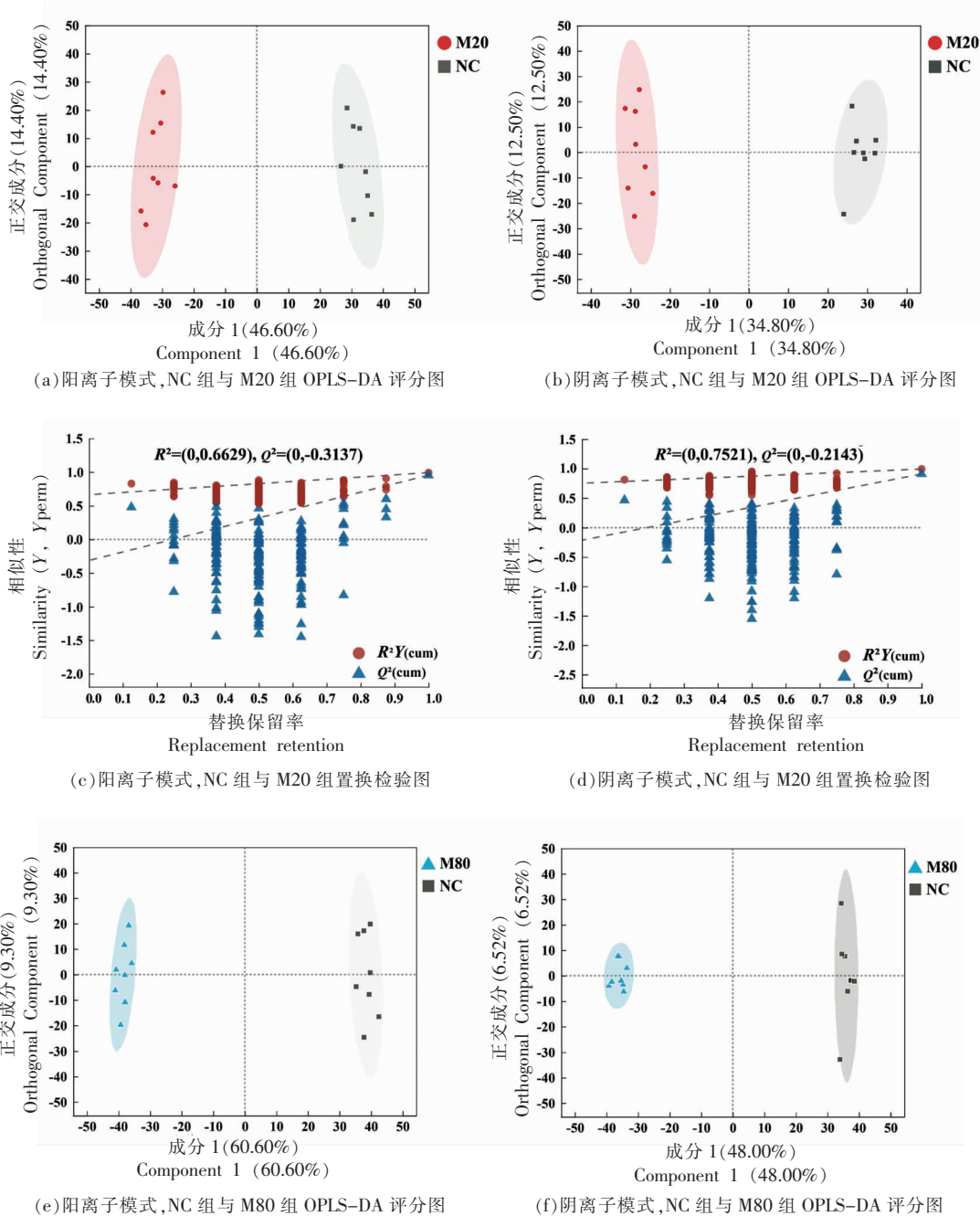
图 1 阳离子和阴离子模式下所有组粪便代谢谱的主成分分析评分图

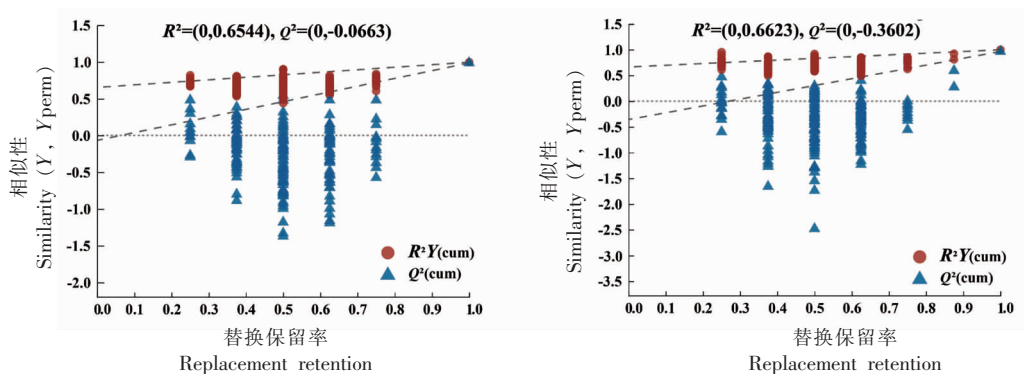
Fig.1 Principal component analysis score map of fecal metabolic profile of all groups in positive and negative modes

表明补充小米能对小鼠的粪便代谢物产生影响,并且高小米摄入量比低小米摄入量对小鼠粪便代谢物的影响更大。

OPLS-DA 评分图被用于分析不同实验组之间的代谢物的水平差异。OPLS-DA 是将正交信号法(OSC)和偏最小二乘法(PLS)相互结合,同时对偏最小二乘法进行改进的评分方法。图 2a~2d 和

2e~2h 分别表示 M20 组与 M80 组与 NC 组之间的对比。依图可知,在正、负离子模式下,2 个干预组的样品簇都与 NC 组明显分离。此外,截距值 Q^2 均小于 0.05,这说明该模型没有过拟合。总的来说,OPLS-DA 结果表明,小米的摄入引起了小鼠的粪便代谢状况的改变,且不同剂量小米干预对小鼠的影响不同。





(g) 阳离子模式, NC 组与 M80 组置换检验图

(h) 阴离子模式, NC 组与 M80 组置换检验图

注: c、d、g、h 图中, 纵轴表示替换测试中的 R^2 (圆形) 和 Q^2 (三角形) 的值, 两条虚线表示 R^2 和 Q^2 的回归线。

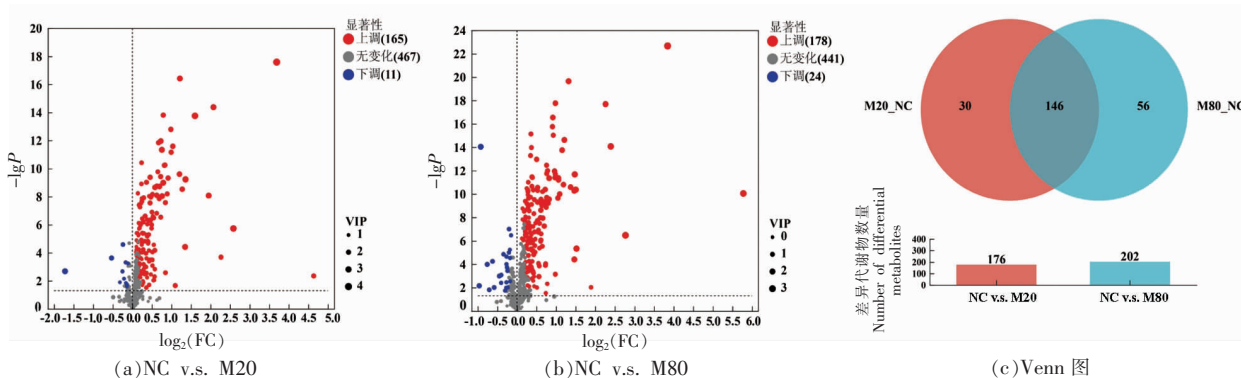
图 2 正常组与干预组粪便代谢谱图的 OPLS-DA 得分图与置换检验图

Fig.2 OPLS-DA score plots and permutation test of fecal metabolic profiling in intervention groups versus NC groups

2.2 干预组与正常组间差异代谢物和相关通路的变化

以条件 $P < 0.05$ 、差异倍数 (FC) < 1 或 > 1 , VIP 值 > 1 筛选差异代谢物, 不同组之间代谢物整体的变化情况如图 3a 和 3b 所示。火山图表明, M20 组与 NC 组相比, 有 165 个粪便代谢物水平显著上调, 11 个代谢物显著下调, 并且有 467 个代谢物水平无显著变化。M80 组与 NC 组相比, 水平显著上调、下调与无显著变化的代谢物数量分别为

178, 24 与 441 个。根据差异代谢物创建代谢集用于后续分析, Venn 分析显示了各代谢集中代谢物的数量以及各代谢集之间代谢物的重叠关系。如图 3c 所示, NC 组 v.s. M20 组与 NC 组 v.s. M80 组构建的 2 个代谢集中分别有 176 个和 202 个差异代谢物。其中, 共有 30 个差异代谢物是 NC 组 v.s. M20 组所独有的, 而 NC 组 v.s. M80 组所独有的差异代谢物有 56 个; 此外, 还有 146 个差异代谢物同时存在于 2 个代谢集中 (数据未显示)。



(a) NC v.s. M20

(b) NC v.s. M80

(c) Venn 图

图 3 正常组与干预组代谢物的整体变化和 Venn 图

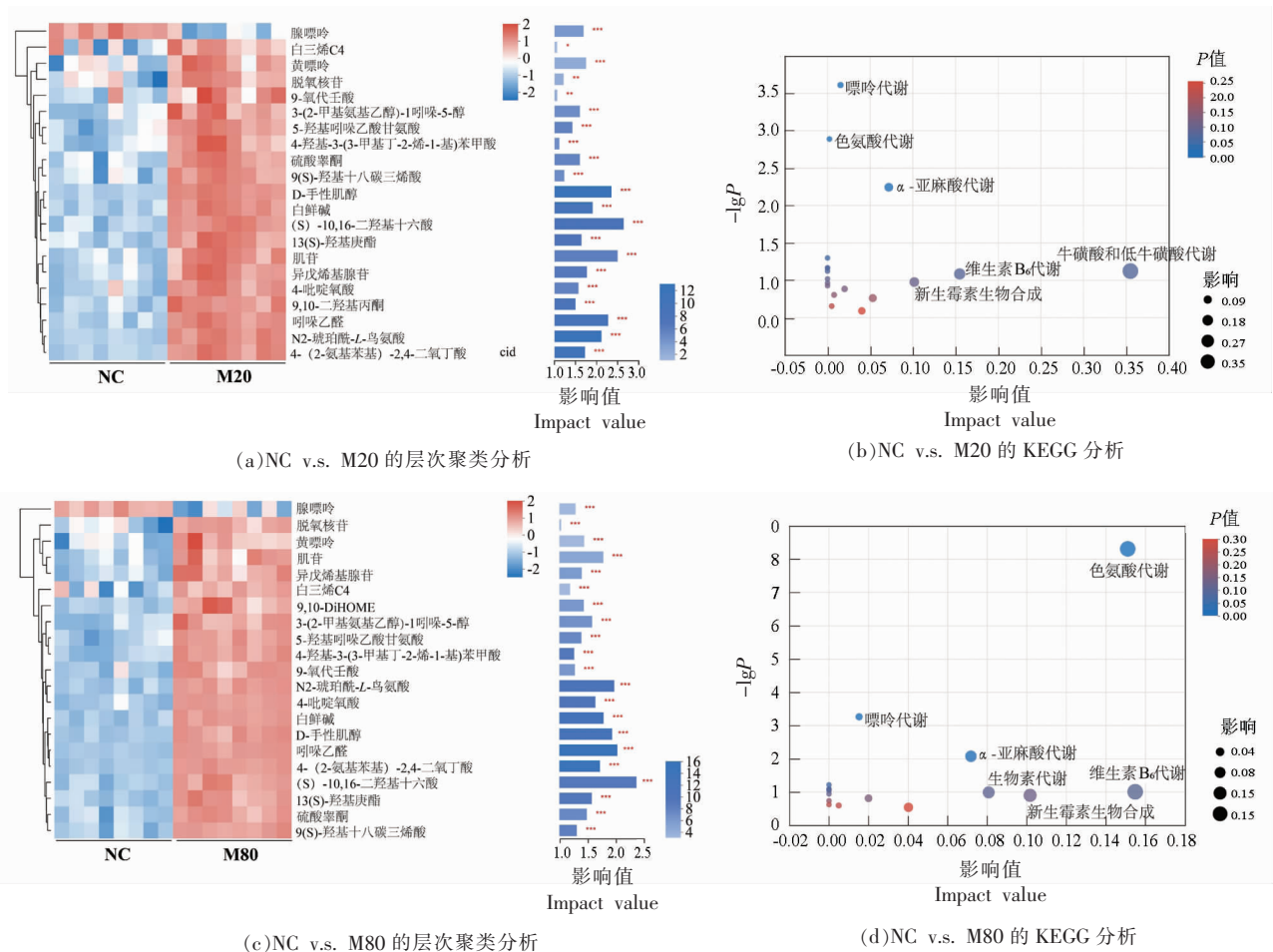
Fig.3 Overall changes in metabolites and Venn plot of metabolic sets based on the intervention groups and normal group

随后, 将不同小米剂量干预组与 NC 组进行代谢差异分析。如表 2 所示, 研究者从 146 个代谢物中筛选出了 21 个同时存在于 NC 组 v.s. M20 组和 NC 组 v.s. M80 组并且参与到 KEGG 代谢通路上的差异代谢物。对这些代谢物进行了 VIP 分

析, 如图 4 所示, 这些差异代谢物主要包括腺嘌呤、白三烯 C4、黄嘌呤、脱氧核苷、9-氧代壬酸、硫酸睾酮、(S)-10,16-二羟基十六酸、N2-琥珀酰-L-鸟氨酸、4-吡啶羧酸、9,10-二羟基丙酮、13(S)-羟基庚酯、9(S)-羟基十八碳三烯酸、4-(2-氨基

苯基)-2,4-二氧丁酸、肌苷、吡啶乙醛、5-羟基吡啶乙酸甘氨酸、异戊烯基腺苷、3-(2-甲基氨基乙醇)-1-吡啶-5-醇、D-手性肌醇、4-羟基-3-(3-

甲基丁-2-烯-1-基)苯甲酸、白鲜碱。当摄入量从20%增加到80%时,图4中代谢物水平的变化趋势进一步增强。



注:a图和c图中,左侧图中红色和蓝色表示样品组中代谢物相对表达量的高、低,右侧直方图的VIP值表示代谢物对两组差异的贡献值,条形图颜色表示两组样品中代谢物差异的显著性,以P值表示,*. $P < 0.05$, **. $P < 0.01$, ***. $P < 0.001$ 。

图4 VIP分析与小米干预涉及的粪便样本中标记物的代谢途径

Fig.4 VIP analysis and metabolic pathways involved in all markers in fecal samples for foxtail millet intervention

KEGG 拓扑分析被用于分析代谢物显著富集的代谢通路。一般来说,通路阈值大于 0.1 的路径被认为是潜在的靶向路径,P 值越小,富集越显著^[15]。如图 4b 和 4d 及表 3 所示,上述差异代谢物所参与的潜在靶向 KEGG 代谢通路包括维生素 B₆ 代谢和新生霉素生物合成等。对于 NC 组与 M20 组,筛选出 3 条影响值较高的代谢通路:牛磺酸和低牛磺酸代谢,维生素 B₆ 代谢与新生霉素生物合成;对于 NC 组与 M80 组,筛选出影响值较高的代谢通路为色氨酸代谢,维生素 B₆ 代谢与新生霉素

生物合成。因此,低剂量(20%)和高剂量(80%)的小米摄入,共同显著影响的代谢通路为维生素 B₆ 代谢与新生霉素生物合成,分别对应的特征代谢通路为牛磺酸和低牛磺酸代谢与色氨酸代谢。其中,色氨酸代谢在低、高剂量小米干预后,与 NC 组相比都发生显著变化($P < 0.05$);且随着小米剂量的增加,色氨酸代谢通路的影响值从 0.0023 变化为 0.1510,研究涉及的部分色氨酸代谢途径及变化的相关代谢物如图 5 所示。

表 2 小米干预相关联的 KEGG 通路信息

Table 2 The information of KEGG pathways altered by foxtail millet treatment

通路描述	NC v.s. M20		NC v.s. M80	
	影响值	P 值	影响值	P 值
维生素 B ₆ 代谢	0.1547	0.1478	0.1547	0.1750
色氨酸代谢	0.0023	0.0077	0.1510	3.9300×10 ⁻⁸
新生霉素生物合成	0.1016	0.1580	0.1016	0.1674
α-亚麻酸代谢	0.0717	0.0256	0.0717	0.0335
类固醇激素生物合成	0.0402	0.2427	0.0401	0.2719
花生四烯酸代谢	0.0200	0.1564	0.0199	0.1897
嘌呤代谢	0.0152	0.0022	0.0151	0.0029
精氨酸和脯氨酸代谢	0.0049	0.2215	0.0048	0.2537
亚油酸	0.0000	0.1808	0.0000	0.1943
咖啡因代谢	0.0000	0.1889	0.0000	0.2021
类固醇降解	0.0000	0.1889	0.0000	0.2021
角质、木栓碱和蜡的生物合成	0.0000	0.1593	0.0000	0.1807
玉米素生物合成	0.0000	0.1564	0.0000	0.1660
牛磺酸和低牛磺酸代谢	0.3549	0.1593	—	—
果糖和甘露糖代谢	0.0530	0.1830	—	—
初级胆汁酸生物合成	0.0077	0.1760	—	—
硫代谢	0.0000	0.1503	—	—
苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成	0.0000	0.1517	—	—
生物素代谢	—	—	0.0807	0.1639
苯丙氨酸代谢	—	—	0.0000	0.2099
氨基苯甲酸降解	—	—	0.0000	0.2554

注：“—”表示无此通路。

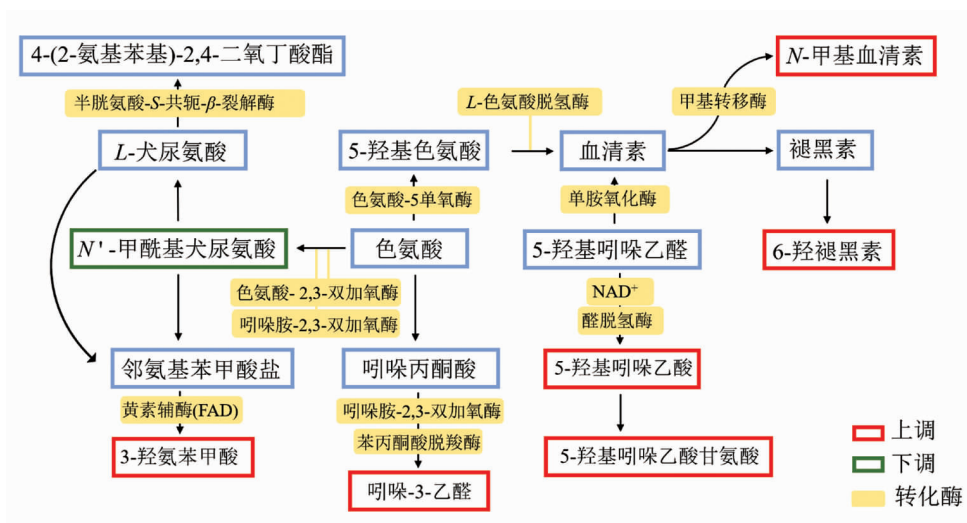


图 5 部分色氨酸代谢途径及发生变化的差异代谢物

Fig.5 Part of the tryptophan metabolic pathway and changed differential metabolites

3 讨论

小米因其有益健康的功效而受到消费者与研究人员的广泛关注,它含有多种营养素,如淀粉、

蛋白质、油脂和维生素等。相较于传统主食大米,小米的可消化部分较少,约为 79%,而其余不可消化部分则含有较高水平的纤维和少量抗营养成分^[16]。

因此,将小米添加到日常饮食中已被视为一种有效的膳食干预方法,用以缓解慢性代谢疾病,例如糖尿病和肥胖症^[17-18]。然而,与传统主食相比,小米的蛋白质具有低消化率的特点^[19]。因此,虽然以前的研究表明,补充小米或小米组分(如淀粉、蛋白)能够缓解由不良饮食习惯导致的慢性代谢疾病,但是过量的小米摄入可能对身体健康产生不良影响。研究显示,人类从出生到3周岁所获取的营养是建立终身代谢发育、生长和健康的关键^[20-21]。因此,从生命早期开始进食不同剂量的小米对小鼠生长发育的影响值得被研究。

基于 UPLC-MS 的非靶向粪便代谢组学的结果显示,补充小米后一些重要代谢物的水平发生变化。例如,黄嘌呤和肌苷的水平显著上升。肌苷是连接果糖代谢和嘌呤代谢的桥梁,其水平异常会影响血清尿酸含量,黄嘌呤也会在嘌呤代谢途径中转化为尿酸,而过高的尿酸水平会对机体的关节、器官和整体代谢造成危害。此外,黄嘌呤还是色氨酸的重要代谢物,因此黄嘌呤水平改变可能部分反映了色氨酸代谢途径的变化。在本研究中,色氨酸代谢是 M80 组小鼠粪便代谢谱变化的主要途径之一。研究发现,色氨酸代谢紊乱引起了脓毒症相关脑病模型小鼠的认知障碍^[22]。

在色氨酸代谢途径中,*L*-色氨酸通过色氨酸-5-单加氧酶氧化后被 *L*-色氨酸脱氢酶转化为血清素。血清素经单胺氧化酶氧化生成 5-羟基吲哚乙醛,再转化为 5-羟基吲哚乙酸。阿尔茨海默病患者中血清素水平明显下降,这表明上调的血清素水平可能是一种延缓阿尔茨海默病进展的策略^[23-24]。摄入小米后,小鼠粪便代谢物中吲哚乙醛和 5-羟基吲哚乙酸甘氨酸含量显著上升,这可能表明其血清素代谢效率提高,血清素水平发生了一定的下降,可能会影响机体认知能力。然而,血清素合成只占非蛋白质色氨酸代谢的 3%或更少,与此相比,犬尿酸途径在大多数组织中约占色氨酸代谢的 90%^[24]。犬尿酸代谢途径主要通过清除多余的色氨酸来影响色氨酸代谢途径的效率^[25]。在犬尿酸代谢途径中,*L*-犬尿酸先转化为 4-(2-氨基苯基)-2,4-二氧丁酸酯,然后再迅速转化为犬尿酸。因此,显著增加的 4-(2-氨基苯基)-2,4-二氧丁酸酯水平表明犬尿酸水平可能升高,而

犬尿酸水平的升高与空间工作记忆的缺陷有关^[26]。吲哚乙醛也是色氨酸的一种产物,其水平的显著增加可能促使色氨酸水平降低,进而影响小鼠的认知能力。此外,小米蛋白消化率较低。植物蛋白被消化系统水解成短肽或氨基酸,在人体肠道中被有效吸收,然后转运到体液中发挥生理作用^[27]。然而,一些来自上胃肠道(胃和十二指肠)未消化的蛋白质和肽可进入大肠被水解成氨基酸,它们中的大多数不能被大肠上皮细胞吸收而只能被肠道内的微生物利用,产生代谢物后再被吸收或排泄。蛋白质摄入会影响肠道菌群组成,进而影响粪便代谢物水平变化^[28-29]。因此,难消化的小米蛋白摄入会导致更多未被消化的蛋白质进入肠道,这些蛋白质可能被菌群利用并产生对肠道微生物群有害的代谢物,如含硫化物代谢物、胺类、吲哚类在内的粪便代谢物^[29]。已有研究表明,氨基酸发酵的初级和次级代谢产物会在结肠腔内产生毒性作用,与一些胃肠道疾病的发生有关。吲哚类化合物主要是色氨酸的代谢物,包括 6-羟基吲哚乙酸、5-羟基吲哚乙酸、2-吲哚羧酸等,其中 2-吲哚羧酸被认为是胃溃疡生物标志物。研究人员发现肠道中的吲哚含量的升高会抑制乳酸菌的生长^[30]。此外,色氨酸衍生物能通过保护肠道屏障来维持宿主免疫系统的健康。除此之外,氨基酸包括酪氨酸、组氨酸、色氨酸和精氨酸,是大脑中某些神经递质的前体,存在运输机制将其运输过血脑屏障。血液中不同氨基酸的浓度会影响氨基酸在血脑屏障中的运输,从而影响正常的认知功能。蛋白质消化率低导致部分氨基酸水平降低,这可能导致小鼠的认知能力下降。除了色氨酸代谢,精氨酸和脯氨酸代谢也能影响小鼠代谢通路及粪便代谢物水平的变化。精氨酸和脯氨酸可以通过影响人类肠道中的拟杆菌来影响认知能力^[32]。总的来说,80%小米摄入量更容易通过破坏色氨酸代谢的稳定,对机体的健康发育产生负面影响。

4 结论

小鼠粪便代谢物的水平变化能部分反映生命早期补充小米对小鼠的影响。补充小米可显著改变生命早期小鼠的粪便代谢谱,与正常组小鼠相比,小米补充剂量为 20%和 80%分别有 176 个

(165个显著上调,11个显著下调)和202个(178个显著上调,24个显著下调)显著变化的差异代谢物。色氨酸代谢是2种小米剂量对比差异较明显的代谢途径,它在机体的健康发育过程中扮演着重要作用。本研究表明,小米干预剂量过高会显著影响色氨酸代谢通路及相关代谢物水平,进而对机体产生不良影响。因此,人类在生命早期(即婴儿时期),应该严格遵守这些饮食建议。未来仍需深入验证粪便代谢组学的结果,并探讨小米组分对机体的影响。

参 考 文 献

- [1] DENG N, HE Z Q, GUO R X, et al. Highland barley whole grain (*Hordeum vulgare* L.) ameliorates hyperlipidemia by modulating cecal microbiota, miRNAs, and AMPK pathways in leptin receptor-deficient db/db mice[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(42): 11735-11746.
- [2] LIU H Y, HUANG L, PEI X L. Effects of sorghum rice and black rice on genes associated with cholesterol metabolism in hypercholesterolemic mice liver and intestine[J]. *Food Science & Nutrition*, 2021, 9(1): 217-229.
- [3] LIU J X, WANG Y, XUE L M, et al. Novel metabolic regulation of bile acid responses to low cholesterol in whole-grain-diet-fed mice[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(30): 8440-8447.
- [4] 许阳, 胡新中, 张恒, 等. 燕麦米对肥胖小鼠减肥降脂作用的研究. *中国粮油学报*, 2013, 28(2): 15-21.
XU Y, HU X Z, ZHANG H, et al. The function of oat-rice in reducing obesity and blood lipids of obese mice[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2013, 28(2): 15-21.
- [5] REN X, WANG L X, CHEN Z L, et al. Foxtail millet supplementation improves glucose metabolism and gut microbiota in rats with high-fat diet/streptozotocin-induced diabetes[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2022, 11(1): 119-128.
- [6] FU Y X, YIN R Y, GUO E, et al. Protein isolates from raw and cooked foxtail millet attenuate development of type 2 diabetes in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021, 65(6): 2000365.
- [7] WANG H, FU Y X, ZHAO Q Y, et al. Effects of heat-treated starch and protein from foxtail millet (*Setaria italica*) on type 2 diabetic mice[J]. *Food Chemistry*, 2022, 404(15): 134735.
- [8] YIN R Y, FU Y X, YOUSAF L, et al. Crude and refined millet bran oil alleviate lipid metabolism disorders, oxidative stress and affect the gut microbiota composition in high-fat diet-induced mice[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2022, 57(5): 2600-2610.
- [9] ANNOR G A, TYL C, MARCONE M, et al. Why do millets have slower starch and protein digestibility than other cereals?[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 66: 73-83.
- [10] BROUNS F, DYE L. Starch: Physical and mental performance. *Starch in food: Structure, function and applications*[M]. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd, 2004: 505-540.
- [11] PRADO E L, DEWEY K G. Nutrition and brain development in early life[J]. *Nutrition Reviews*, 2014, 72(4): 267-284.
- [12] 陈博睿, 付永霞, 侯殿志, 等. 不同摄入量小米对小鼠肠道菌群和短链脂肪酸的影响[J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(3): 56-67.
CHEN B R, FU Y X, HOU D Z, et al. Effects of different foxtail millet intake on gut microbiota and short chain fatty acids in mice[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 40(3): 56-67.
- [13] TRUJILLO E, DAVIS C, MILNER, J. Nutrigenomics, proteomics, metabolomics, and the practice of dietetics[J]. *Journal of the American dietetic association*, 2006, 106(3): 403-413.
- [14] 付永霞, 刘振宇, 张凡, 等. 蒸煮前、后小米蛋白对小鼠急性肝损伤的预防作用比较[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(11): 165-172.
FU Y X, LIU Z Y, ZHANG F, et al. Comparison of the preventive effect of foxtail millet protein before and after cooking on acute liver injury in mice[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(11): 165-172.
- [15] ZHAN X Q, LONG Y, LU M L. Exploration of variations in proteome and metabolome for predictive diagnostics and personalized treatment algorithms:

- Innovative approach and examples for potential clinical application[J]. *Journal of Proteomics*, 2018, 188(30): 30–40.
- [16] SHARMA N, NIRANJAN K. Foxtail millet: Properties, processing, health benefits, and uses[J]. *Food Reviews International*, 2017, 34(4): 1–35.
- [17] REN X, YIN R Y, HOU D Z, et al. The glucose-lowering effect of foxtail millet in subjects with impaired glucose tolerance: A self-controlled clinical trial[J]. *Nutrients*, 2018, 10(10): 1509.
- [18] WANG H, FU Y X, ZHAO Q Y, et al. Effect of different processing methods on the millet polyphenols and its anti-diabetic potential[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 101.
- [19] ANNOR G A, MARCONE M, BERTOFT E, et al. *In vitro* starch digestibility and expected glycemic index of kodo millet (*Paspalum scrobiculatum*) as affected by starch-protein-lipid interactions[J]. *Cereal Chemistry*, 2013, 90(3): 211–217.
- [20] MISCHKE M, ARORA T, TIMS S, et al. Specific synbiotics in early life protect against diet-induced obesity in adult mice[J]. *Diabetes Obesity & Metabolism*, 2018, 20(6): 1408–1418.
- [21] PEARCE J, LANGLEY-EVANS S C. The types of food introduced during complementary feeding and risk of childhood obesity: A systematic review[J]. *International Journal of Obesity*, 2013, 37(4): 477–485.
- [22] GAO R, KAN M Q, WANG S G, et al. Disrupted tryptophan metabolism induced cognitive impairment in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy[J]. *Inflammation*, 2016, 39(2): 550–560.
- [23] TAJEDDINN W, FERESHTEHNEJAD S-M, SEED AHMED M, et al. Association of platelet serotonin levels in Alzheimer's disease with clinical and cerebrospinal fluid markers[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2016, 53(2): 621–630.
- [24] ŠVOB Š D, PIVAC N, MÜCK Š D. The serotonergic system and cognitive function[J]. *Translational Neuroscience*, 2016, 7(1): 35–49.
- [25] GAO K, MU C L, FARZI A, et al. Tryptophan metabolism: A link between the gut microbiota and brain[J]. *Advances in Nutrition*, 2020, 11(3): 709–723.
- [26] CHESS A C, SIMONI M K, ALLING T E, et al. Elevations of endogenous kynurenic acid produce spatial working memory deficits[J]. *Schizophrenia Bulletin*, 2007, 33(3): 797–804.
- [27] WANG H, SHEN Q, ZHANG F, et al. Heat-treated foxtail millet protein delayed the development of pre-diabetes to diabetes in mice by altering gut microbiota and metabolomic profiles[J]. *Food & Function*, 2023, 14(10): 4866–4880.
- [28] MESSIER C, WHATELY K, LIANG J, et al. The effects of a high-fat, high-fructose, and combination diet on learning, weight, and glucose regulation in C57BL/6 mice[J]. *Behavioural Brain Research*, 2007, 178(1): 139–145.
- [29] PORTUNE K J, BEAUMONT M, DAVILA A M, et al. Gut microbiota role in dietary protein metabolism and health-related outcomes: The two sides of the coin[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 57: 213–232.
- [30] NYANGALE E P, MOTTRAM D S, GIBSON G R. Gut microbial activity, implications for health and disease: The potential role of metabolite analysis[J]. *Journal of Proteome Research*, 2012, 11(12): 5573–5585.
- [31] ZHANG S, QIAN Y, LI Q, et al. Metabolic and neural mechanisms underlying the associations between gut bacteroides and cognition: A large-scale functional network connectivity study[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2021, 15: 750704.

The Effects of Early Life Intake of Foxtail Millet on Metabolism in Mice

Wang Han¹, Fu Yongxia², Chen Borui¹, Zhao Qingyu¹, Wang Chao¹, Shen Qun^{*}

¹College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, National Engineering Research Center for Fruits and Vegetables Processing, Beijing 100083

²Shanxi Institute for Functional Food, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031)

Abstract Previous study found that 20% foxtail millet intake could effectively regulate the gut microbiota composition

and increase the colonization of beneficial bacteria in mice in early life. However, excessive foxtail millet feeding (80%) reduced the diversity and homogeneity of intestinal flora and caused a decrease in the abundance of beneficial bacteria. The present study was based on non-targeted metabolomics to analyze the effects of intaking foxtail millet from the early life stage in mice on their fecal metabolic profile. Methods: Non-targeted metabolomics technique was used to detect changes in the fecal metabolic profile of mice after the intake of foxtail millet from the early life stage. Results: When the foxtail millet intake was 20%, compared to the normal group, there were 165 up-regulated, 11 down-regulated, and 467 non-significant changes in fecal metabolites, and these different express metabolites mainly enriched in taurine and hypotaurine metabolism, vitamin B₆ metabolism, and neobiotics biosynthesis. When the foxtail millet intake increased to 80%, there were 178 up-regulated, 24 down-regulated, and 441 non-significant alternations in fecal metabolites, and the notably changed metabolism pathway mainly including tryptophan metabolism, vitamin B₆ metabolism, and neobiomycin biosynthesis. In addition, both two foxtail millet intake dosages significantly influenced tryptophan metabolism, and the impact value of the tryptophan metabolism pathway greatly increased when the foxtail millet intake changed from 20% to 80%. Conclusion: Consumption of foxtail millet from the early life stage significantly affected fecal metabolite levels and related metabolism pathways in mice, especially the tryptophan metabolism pathway, which played a vital role in the cognitive ability and brain development of body. Thus, excessive foxtail millet supplementation might be detrimental to the organism's healthy development. The study aimed to provide a theoretical basis for improving the mechanism of millet's action in the daily diet, thus supporting data for the development and application of functional foods based on millet.

Keywords foxtail millet; early life stage; fecal; metabolomic; tryptophan metabolism