杨若言, 李璐瑶, 王田曦, 等. 6-甲氧基-2-苯唑啉酮和 2-苯并噁唑啉酮的抗氧化能力及肠道菌群调节作用评价 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(11): 205−212. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060157

YANG Ruoyan, LI Luyao, WANG Tianxi, et al. Evaluation of the Antioxidant Capacity and Gut Microbiota Modulation Effects of 6-Methoxy-Benzoxazolin-2-One and Benzoxazolin-2-One[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(11): 205−212. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060157

· 生物工程 ·

6-甲氧基-2-苯唑啉酮和 2-苯并噁唑啉酮的抗氧化能力及肠道菌群调节作用评价

杨若言, 李璐瑶+, 王田曦, 龚凌霄*, 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: 为了探究 6-甲氧基-2-苯唑啉酮（6-Methoxy-benzoxazolin-2-one，MBOA）、2-苯并噁唑啉酮（Benzoxazolin-2-one，BOA）在全谷物食品保健功效中的作用，本研究评价了 MBOA 和 BOA 的体外抗氧化能力及肠道菌群调节作用。结果表明 MBOA 和 BOA 的抗氧化能力具有剂量依赖性，但抗氧化能力弱于阿魏酸。与同剂量阿魏酸相比，MBOA、BOA 以及混合物均能显著提高菌群多样性，呈现剂量依赖性，其中混合物的效果最佳。在门水平上，显著降低变形菌门（Proteobacteria）和拟杆菌门（Bacteroidetes）的相对丰度，显著增加厚壁菌门（Firmicutes）和放线菌门（Actinobacteria）的相对丰度，在属水平上，显著增加了双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）等的相对丰度，并显著降低了埃希杆菌属（*Escherichia*）、普雷沃氏菌属（*Prevotella*）和拟杆菌属（*Bacteroides*）等的相对丰度。本研究提示全谷物中的 MBOA 和 BOA 具有良好的益生潜力。

关键词: MBOA, BOA, 肠道菌群, 抗氧化

中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)11−0205−08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060157　　本文网刊:

Evaluation of the Antioxidant Capacity and Gut Microbiota Modulation Effects of 6-Methoxy-Benzoxazolin-2-One and Benzoxazolin-2-One

YANG Ruoyan, LI Luyao+, WANG Tianxi, GONG Lingxiao*, WANG Jing*

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

Abstract: To investigate the roles of 6-methoxy-benzoxazolin-2-one (MBOA) and benzoxazolin-2-one (BOA) in the health-promoting effects of whole-grain foods, this study evaluated their *in vitro* antioxidant capacity and modulatory effects on gut microbiota. The results demonstrated that while MBOA and BOA exhibited dose-dependent antioxidant activity, their efficacy was inferior to that of ferulic acid. Compared to equivalent doses of ferulic acid, MBOA, BOA, and the mixture significantly enhanced microbial diversity in a dose-dependent manner, with the mixture showing optimal efficacy. At the phylum level, these compounds significantly reduced the relative abundances of Proteobacteria and Bacteroidetes while increasing those of Firmicutes and Actinobacteria. At the genus level, they markedly elevated the relative abundances of *Bifidobacterium* and reduced *Escherichia, Prevotella*, and *Bacteroides.* This study indicates that MBOA and BOA in whole grains possess substantial prebiotic potential.

Key words: MBOA; BOA; gut microbiota; antioxidant activity

收稿日期: 2025−06−16　　+并列第一作者

基金项目: 国家自然科学基金（32330081, 32372321）。

作者简介: 杨若言（2000−）, 女, 博士研究生, 研究方向: 天然产物与功能性食品, E-mail: ruoyan127@163.com。

李璐瑶（2000−）, 女, 硕士, 研究方向: 天然产物与功能性食品, E-mail: liluyao13053686838@163.com。

*** 通信作者:** 龚凌霄（1981−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物与功能性食品, E-mail: gonglingxiao@btbu.edu.cn。

王静（1976−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品功能因子与品质改良, E-mail: wangjing@th.btbu.edu.cn。

全谷物富含多种公认的功能因子，如膳食纤维、矿物质、维生素和植物化学物质（包括木脂素、烷基间苯二酚、甾醇和酚酸），被证实具有抗氧化、益生等健康效应[1]。近年来，苯并噁嗪类化合物（Benzoxazinoids, BZs）作为一类新兴的全谷物功能因子，被发现存在于成熟小麦[2]、黑麦[3] 和玉米[4] 等谷物籽粒中及其加工制品中[5]。BZs 主要分为异羟肟酸类（Hydroxamic acid）、内酰胺类（Lactams）、苯并噁唑啉酮类（Benzoxazolinones, BXs）[6]，在谷物加工（如研磨、热处理）和消化过程中，不稳定的异羟肟酸类 BZs 极易转化为结构更稳定、生物可利用度可能更高的苷元形式—6-甲氧基-2-苯唑啉酮（6-Methoxy-benzoxazolin-2-one, MBOA）和 2-苯并噁唑啉酮（Benzoxazolin-2-one, BOA）[5,7]。因此，MBOA和 BOA 是全谷物及其制品中摄入的主要 BXs 代表物，对其功能活性的研究具有重要意义。

BXs 现有的功能活性研究包括降血糖作用[8]、调控食欲[9]、抗菌及抗癌等[10−11]。目前针对 MBOA 和 BOA 的功能研究大多仍集中于抗化感、抗菌以及昆虫防御方面[12]，以全谷物为来源或以全谷物摄入量和生物利用度为参考的功能活性研究证据较少。氧化应激是炎症、癌症等多种慢性病的共同病理基础[13−14]，有研究表明 BZs 中 2,4-二羟基-2H-1,4-苯并噁嗪-3（4H）-酮（2,4-Dihydroxy-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, DIBOA）[15]、2-β-D-吡喃葡萄糖酰氧基-1,4-苯并噁嗪-3-酮（2-β-D-Glucopyranosyloxy-1,4-benzoxazin-3-one, HBOA-Glc）显示出体外抗氧化活性[16]，但有关 MBOA 和 BOA 自身的体外或体内抗氧化能力目前缺乏直接证据报道，明确其抗氧化效力有助于理解其相关健康机制。此外，MBOA 和 BOA 表现出显著的抗菌活性，能够有效抑制金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和变形链球菌等致病细菌以及致病性尖孢镰刀菌等真菌。然而，目前对 MBOA 和 BOA 抗菌效果的研究主要集中在单一菌株或多菌株共培养，在复杂的人体肠道菌群条件下的作用尚不清楚。肠道菌群的组成与机体的免疫调节、营养物质代谢等功能密切相关[17]，维持肠道菌群的稳定性和多样性对人类健康至关重要。因此，阐明 MBOA 和 BOA 对于复杂菌群的调控作用也具有重要意义。

在体外评估益生元对肠道菌群的影响时，益生元的生物利用度是至关重要的，这决定了益生元在体内到达结肠并发挥作用的浓度。Baranzelli 等[2] 在体外模拟消化过程中评估了小麦萌发前后 BXs 的生物利用度，经过上消化道消化，苯并噁嗪类化合物 DIBOA 的含量下降，而 2,4-二羟基-7-甲氧基-1,4-苯并噁嗪-3-酮（2,4-Dihydroxy-7-methoxy-2H,1,4-benzoxazin-3(4H)one, DIMBOA）的含量保持不变。此外，一些研究[18] 报道了 BXs 在人体中的代谢吸收，对志愿者食用的面包中 12 种苯并噁嗪类物质的定量分析显示，HBOA-Glc 是在血浆和尿液中发现的主要化合物，而 BOA 被快速代谢，但在尿液中仍可检测到 BOA 水平，这提示肠道中 BOA 和 MBOA 可能来源于 DIBOA 和类似化合物的转化和分解[19]。Adhikari 等[11] 根据北欧地区黑麦的消费量估算了 BXs 的每日摄入量，发现从特定品牌的全谷物黑麦面包中 BXs 每日总摄入量超过 5 mg/d。在中国，小麦、玉米等谷物是 BXs 的重要食物来源。现有研究发现，谷物中 BXs 含量范围在 31~859 μg/g[20−21]。而加工方法的选择能够改变 BXs 的分布，将大部分羟肟酸转化为 MBOA 和 BOA，例如 DIBOA 自发分解为 MBOA 和 BOA[5]。并且，加工方法与谷物制品中 MBOA 和 BOA 的含量变化密切相关，例如水热和水冷加工方法，可以显著增加麦麸中 MBOA 和 BOA 的含量，MBOA 含量最高可达 3.64±0.01 μg/g，BOA 含量最高达 1.21±0.02 μg/g[8]。

因此，为了进一步探究全谷物中 MBOA 和 BOA 的潜在健康功效，以全谷物中具有明确抗氧化能力、肠道菌群调控能力的阿魏酸[22] 作为阳性对照，依据中国居民推荐的全谷物每日摄入量范围[23]，采用体外模型探究全谷物背景下 MBOA 和 BOA 的抗氧化特性及其对人体肠道菌群改善的潜在健康效应，为 MBOA 和 BOA 健康效应的分子机制探究提供参考，为全谷物健康作用的全面解析提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

MBOA（纯度 97%）、BOA（纯度 98%） 美国 Sigma 公司；阿魏酸（纯度 99.93%） 源叶生物科技有限公司；酵母提取物、碳酸钠（分析纯）、七水硫酸镁（分析纯）、L-半胱氨酸（分析纯）、氯化钾（分析纯）、磷酸二氢钾（分析纯）、盐酸（分析纯） 中国医药集团公司；氯化钠、六水氯化钙 分析纯，西陇化工公司；磷酸氢钾（分析纯）、Tween 80（分析纯）、氯化血红素（分析纯）、维生素 K1（分析纯）、胆盐、亚甲蓝 北京化工厂；总抗氧化能力检测试剂盒（FRAP 法）、总抗氧化能力检测试剂盒（ABTS 法） 上海碧云天生物技术有限公司。

DG250 厌氧培养箱 Don whitley scientic 公司；1260 infinity 三重四级杆质谱、Cary 100 紫外分光光度计 安捷伦科技（中国）有限公司；YXQ-LS-50A 高压灭菌锅 上海云泰仪器仪表有限公司；ME104 电子天平 梅特勒-托利多仪器有限公司；BioTekSynergy H1MDG 酶标仪 美国伯腾仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 抗氧化活性评价 本研究以阿魏酸（Ferulic acid, FA）为阳性对照，测定 MBOA 和 BOA 的体外亚铁离子还原能力、$ABTS^+$自由基清除能力和 DPPH 自由基清除能力[24]。FA、MBOA 和 BOA 标准溶液用甲醇溶解，配制浓度为 5 mg/mL 的储备液，在 0.1、0.5、1、3、5 mg/mL 浓度下分别测定 MBOA、

BOA 和 FA 的抗氧化能力，每个样品浓度下设置三组平行。

1.2.1.1　DPPH 自由基清除能力的测定　参照 Bolling 等[25] 的方法并稍作修改，DPPH 溶液浓度为 0.04 mg/mL，DPPH 溶液和样品或空白溶剂以 9∶1(v/v)混合均匀，室温下避光静置 30 min 后，测定在 517 nm 下的吸光度，DPPH 自由基清除率(%)计算公式为：

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100$$

式中：A_0 为空白对照(不含样品的 DPPH 溶液)的吸光度，A_i 为受试样品(含样品或阳性对照的 DPPH 溶液)的吸光度，A_j 为不含 DPPH 的样品溶液的吸光度。

1.2.1.2　$ABTS^+$自由基清除能力的测定　采用碧云天总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS 法)进行测定。10 mmol/L Trolox 标准溶液稀释至 0.15、0.3、0.6、0.9、1.2 和 1.5 mmol/L，绘制标准曲线，过氧化物酶溶液与样品或空白溶剂以 2∶1(v/v)混合，用 ABTS 溶液补足体系，室温孵育 6 min 后于 414 nm 处测定吸光度。根据 Trolox 标准曲线计算样品的 $ABTS^+$ 自由基清除能力，并用 Trolox 标准溶液的摩尔浓度表示[26]。

1.2.1.3　亚铁离子还原能力的测定　亚铁离子还原能力采用总抗氧化能力检测试剂盒(FRAP 法)进行测定，以 100 mmol/L 的 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 为标准物质，稀释至 0.15、0.3、0.6、0.9、1.2 和 1.5 mmol/L，绘制标准曲线，样品与 FRAP 工作液于 37 ℃ 孵育 3~5 min，以甲醇溶液作为空白对照在 593 nm 处测定溶液的吸光度。根据标准曲线计算样品的亚铁离子还原能力，以 $FeSO_4$ 标准溶液浓度表示[27]。

1.2.2　体外发酵　参考 Yang 等[28] 的实验方法并稍加改动，收集 3 名健康志愿者的粪便样品，其中，提供粪便样品的志愿者身体健康，实验前至少 3 个月未接受过抗生素治疗并且没有肠胃病史(审批号：P2022010)。将三位志愿者粪便样品混合并收集至厌氧盒中，冰盒运输并立即放置于 37 ℃ 厌氧工作站中，工作站中气体为 10% 的氢气，10% 二氧化碳和 80% 氮气，之后肠道菌群所有实验操作均需在粪便收集后 2 h 内进行。用灭菌过的 PBS 缓冲溶液(0.1 mol/L，pH6.8)将收集到的粪便样品以 20%(w/v)的比例进行稀释，充分搅拌，经 4 层无菌纱布过滤得到粪便接种液。粪便微生物培养基配方为 2 g 酵母提取物，2 g 蛋白胨，2 g 碳酸钠，0.1 g 氯化钠，0.01 g 七水合硫酸镁，0.04 g 磷酸氢钾，0.01 g 六水合氯化钙，2 mL 吐温 80，10 μL 维生素 K1，0.5 g 猪胆盐，0.5 g L-半胱氨酸，50 mg 氯化血红素，1 mg 刃天青，定容至 1 L，混匀备用，并于 121 ℃ 灭菌 15 min。

分组包括不添加任何底物的空白对照组，以 FA 作为阳性对照，实验组分别为 MBOA 组、BOA 组、混合组(MBOA∶BOA=1∶1，m/m)。其中，各组样品添加量和比例考虑到全谷物及其制品的加工方式对 MBOA、BOA 含量的影响，并参考每人每天全谷物摄入量(50~150 g)[22] 分别设置低、中、高浓度，如表 1 所示。分别取不同质量底物与 27 mL 培养基、3 mL 粪便接种液充分混合于厌氧密封管，在 37 ℃ 厌氧工作站中进行发酵，分别在 0 h 和 24 h 取发酵液保存于−80 ℃ 直至分析，每个样品做 3 组平行。

表 1　实验分组
Table 1　Experimental groups

实验分组	添加量	缩略语
KB	N/A	KB
MBOA	3 mg	MBOA-L
	30 mg	MBOA-M
	90 mg	MBOA-H
BOA	3 mg	BOA-L
	30 mg	BOA-M
	90 mg	BOA-H
FA	3 mg	FA-L
	30 mg	FA-M
	90 mg	FA-H
Mix	1.5 mg MBOA+1.5 mg BOA	Mix-L
	15 mg MBOA+15 mg BOA	Mix-M
	45 mg MBOA+45 mg BOA	Mix-H

注：KB为对照组；N/A表示未添加；MBOA为6-甲氧基-2-苯唑啉酮；BOA为2-苯并噁唑啉酮；FA为阿魏酸；Mix为MBOA和BOA的混合组(1∶1，m/m)；L表示低剂量；M表示中剂量；H表示高剂量。

1.2.3　16S rRNA 基因测序分析微生物群　取各组 0 h 和 24 h 发酵液作为样本，每组取 6 个平行样本，提取 0 h 和 24 h 发酵液中的微生物总基因组 DNA，对目标片段的 16S rDNA V3-V4 区域进行 PCR 扩增，采用琼脂糖凝胶电泳法对 DNA 样本进行质控，检测合格的样本按照 Yang 等[28] 的方法略作修改，采用双端测序策略对文库进行测序。测序和标准生物信息学数据处理在 Illumina Miseq(Illumina，USA)上进行，对肠道菌群进行聚类分析、α 多样性、β 多样性分析以及物种组成分析。

1.3　数据处理

测定结果以平均数±标准差($\overline{X}$±SD)表示，采用 Microsoft Excel 进行数据分析和绘图，采用 SPSS 软件进行单因素方差分析(ANOVA)。以 $P<0.05$ 为阈值确定差异具有统计学意义。

2　结果与分析

2.1　MBOA 和 BOA 的抗氧化活性

2.1.1　MBOA 和 BOA 的 DPPH 自由基清除能力　如图 1 所示，MBOA 和 BOA 都表现出一定的 DPPH 自由基清除活性，具有剂量依赖性。当浓度为 5 mg/mL 时，MBOA 和 BOA 的 DPPH 自由基清除能力分别为 43.2% 和 55.6%。BOA 对 DPPH 自由基的清除能力显著高于 MBOA，MBOA 和 BOA 的 DPPH 自由基清除能力显著低于 FA($P<0.05$)，这种活性差异可能归因于其化学结构的差异，与 FA 的酚

羟基相比，MBOA 苯环上连接的甲氧基和 BOA 的苯环上连接的氢还原性较弱[29]。MBOA 和 BOA 是 DIBOA 自发分解的产物[5]，DIBOA 本身也表现出剂量依赖性的抗氧化活性，这可能与其在较高浓度下具有更大的羟基可利用性有关[15]。DIBOA 及其衍生物的富集部分对 DPPH 自由基的清除活性同样显著弱于酚类化合物[16]，与本研究结果一致。因此，MBOA 和 BOA 的抗氧化活性显著弱于酚类物质，可能与其化学结构相似且不含有羟基等强还原性基团相关。

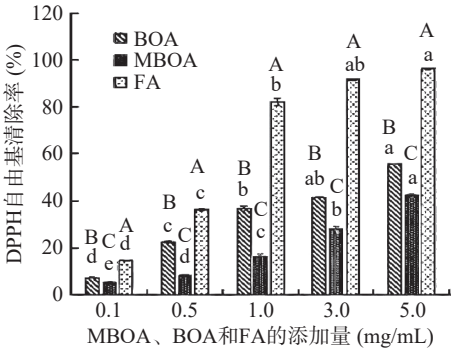


图 1 MBOA、BOA 和 FA 的 DPPH 自由基清除能力

Fig.1 DPPH radical scavenging capacity of MBOA, BOA and FA

注：不同小写字母表示相同物质在不同浓度下的显著性水平（P<0.05），不同大写字母表示 FA、BOA 和 MBOA 在相同浓度下的显著性水平（P<0.05），图 2、图 3 同。

2.1.2 MBOA 和 BOA 的 $ABTS^+$自由基清除能力 如图 2 所示，MBOA 和 BOA 均表现出具有剂量依赖性的 $ABTS^+$自由基清除活性。MBOA 和 BOA 对 $ABTS^+$自由基的清除能力均显著弱于相同浓度的阳性对照 FA（P<0.05），在相同浓度下，其 $ABTS^+$自由基清除能力约为 FA 的 1/2~2/3。Gleńsk 等[30] 在体外对环异羟污酸的抗氧化活性进行了评价，DIMBOA 的 $ABTS^+$自由基清除能力较强，DIMBOA（0.03404 mg/mL）对 $ABTS^+$自由基的清除率为 3.54 μmol Trolox/mL，显著高于 MBOA 和 BOA，同样可能与其化学结构的羟基可利用性有关[5,15−16,29]。

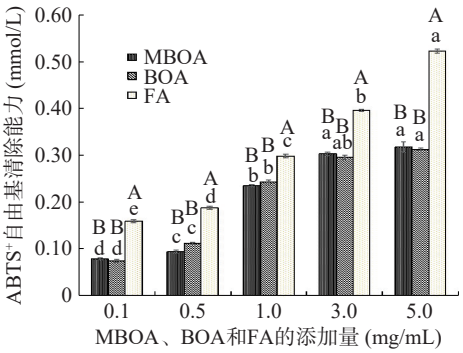


图 2 MBOA、BOA 和 FA 的 $ABTS^+$自由基清除能力

Fig.2 $ABTS^+$ radical scavenging capacity of MBOA, BOA and FA

2.1.3 MBOA 和 BOA 的亚铁离子还原能力 如图 3 所示，MBOA 的亚铁离子还原能力是 BOA 的 1~1.2 倍，表现出浓度依赖性。MBOA 和 BOA 的亚铁离子还原能力显著低于阳性对照 FA（P<0.05），约为 FA 的 1/3~1/2，同样弱于相同浓度 DIMBOA 的亚铁离子还原能力[30]。现有研究表明，并非所有的植物来源的天然化合物都具有很强的抗氧化活性。它们的抗氧化能力受化学结构、浓度和评估抗氧化活性的方法等因素的影响[31]。Baranzelli 等[32] 的研究同样证明苯并噁嗪类化合物的抗氧化活性弱于黄酮类物质。因此，MBOA 和 BOA 作为 BXs 的代表性物质，在全谷物食品中不作为主要的抗氧化物质。

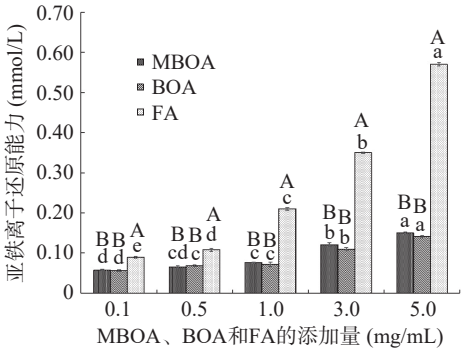


图 3 MBOA、BOA 和 FA 的亚铁离子还原能力

Fig.3 Ferrous ion reducing power of MBOA, BOA and FA

2.2 MBOA 和 BOA 对肠道菌群组成的影响

2.2.1 Alpha 多样性分析 如表 2 所示，24 h 各组的 Sobs 指数、Simpson 指数普遍下降，Chao 指数和 Ace 指数也呈下降趋势，Shannon 指数普遍上升。这表明微生物总体丰度的下降可能与某些微生物种群

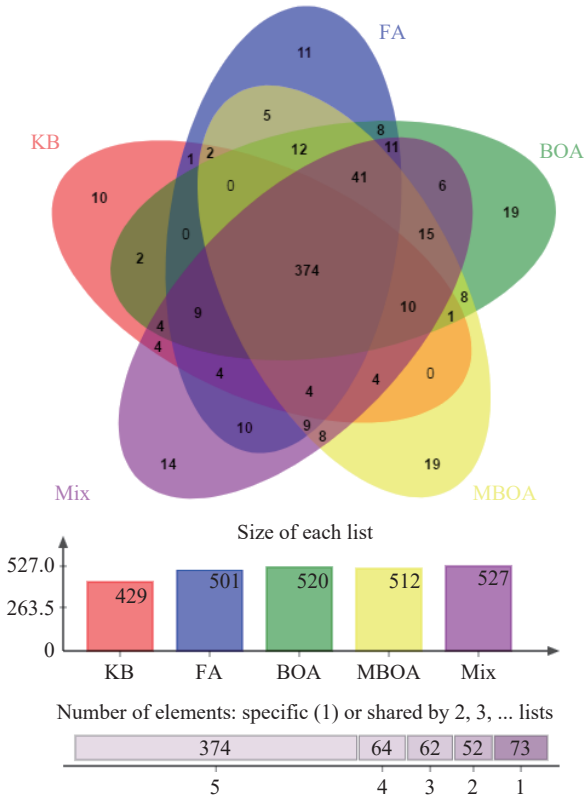


图 4 Venn 图结果

Fig.4 Results of the Venn diagram

表 2　α-多样性分析

Table 2　α-Diversity analysis

样品	Sobs	Shannon	Simpson	Ace	Chao
KB-0	297.50±2.1^{AB}	3.39±0.07^{AB}	0.07±0.01^{AB}	348.01±0.19^{AB}	351.33±1.84^{A}
KB-24	248.50±3.54^{b}	3.37±0.04^{b}	0.06±0.00^{ab}	311.87±3.31^{ab}	331.89±17.60^{a}
FA-L-0	287.00±0.00^{AB}	3.34±0.05^{B}	0.07±0.01^{AB}	355.36±11.66^{AB}	351.13±26.46^{A}
FA-L-24	229.50±13.44^{b}	3.41±0.00^{b}	0.06±0.00^{ab}	294.48±18.98^{b}	310.79±7.42^{a}
FA-M-0	288.50±4.95^{AB}	3.42±0.02^{AB}	0.06±0.00^{AB}	347.63±177.13^{AB}	375.05±72.29^{A}
FA-M-24	286.50±14.85^{a}	3.50±0.17^{ab}	0.06±0.01^{ab}	367.55±9.39^{a}	368.53±4.91^{a}
FA-H-0	304.00±5.66^{AB}	3.39±0.15^{AB}	0.076±0.01^{AB}	362.95±26.45^{AB}	368.01±30.56^{A}
FA-H-24	244.50±0.71^{b}	3.41±0.05^{b}	0.06±0.00^{ab}	335.93±32.99^{ab}	332.32±6.11^{a}
BOA-L-0	296.50±7.78^{AB}	3.30±0.17^{B}	0.08±0.02^{A}	362.93±7.25^{AB}	386.15±35.31^{A}
BOA-L-24	242.50±2.12^{b}	3.55±0.03^{ab}	0.05±0.00^{b}	284.46±0.61^{b}	293.64±10.80^{a}
BOA-M-0	275.00±18.38^{B}	3.36±0.07^{AB}	0.07±0.01^{AB}	325.61±38.37^{B}	337.84±57.41^{A}
BOA-M-24	246.50±17.68^{b}	3.55±0.02^{ab}	0.05±0.00^{b}	301.98±28.98^{ab}	352.92±112.3^{a}
BOA-H-0	307.00±31.11^{AB}	3.39±0.15^{AB}	0.07±0.01^{AB}	416.58±93.93^{A}	409.23±57.20^{A}
BOA-H-24	249.50±30.41^{b}	3.49±0.02^{ab}	0.06±0.00^{ab}	311.08±61.02^{ab}	317.31±62.66^{a}
MBOA-L-0	299.00±5.66^{AB}	3.52±0.01^{AB}	0.06±0.00^{B}	346.41±12.20^{AB}	348.41±14.21^{A}
MBOA-L-24	252.00±8.49^{b}	3.38±0.01^{b}	0.07±0.00^{a}	316.74±18.03^{ab}	330.68±33.17^{a}
MBOA-M-0	300.00±4.24^{AB}	3.45±0.06^{AB}	0.06±0.00^{AB}	360.34±1.43^{AB}	385.75±25.10^{A}
MBOA-M-24	246.00±8.49^{b}	3.57±0.18^{ab}	0.05±0.02^{b}	296.42±1.13^{b}	291.24±2.68^{a}
MBOA-H-0	315.50±3.54^{A}	3.58±0.08^{A}	0.06±0.00^{B}	381.31±3.32^{AB}	387.61±5.06^{A}
MBOA-H-24	246.00±8.49^{b}	3.43±0.00^{ab}	0.06±0.00^{ab}	305.78±3.50^{ab}	311.58±8.80^{a}
Mix-L-0	309.00±25.46^{AB}	3.35±0.10^{B}	0.08±0.01^{AB}	388.98±53.43^{AB}	409.52±47.35^{A}
Mix-L-24	259.00±9.90^{b}	3.63±0.06^{a}	0.05±0.01^{b}	317.52±26.88^{ab}	316.34±12.85^{a}
Mix-M-0	303.50±20.51^{AB}	3.40±0.02^{AB}	0.07±0.01^{AB}	363.82±18.16^{AB}	361.76±1.47^{A}
Mix-M-24	249.00±8.49^{b}	3.41±0.11^{b}	0.06±0.00^{ab}	340.46±53.58^{ab}	307.78±34.30^{a}
Mix-H-0	292.50±0.71^{AB}	3.29±0.14^{B}	0.08±0.02^{A}	353.05±5.06^{AB}	372.47±6.41^{A}
Mix-H-24	255.50±3.54^{b}	3.55±0.09^{ab}	0.06±0.00^{ab}	319.56±12.41^{ab}	328.67±16.73^{a}

注: 实验数据以平均数±标准差表示(n=3); 不同大写字母表示同一参数在0 h不同添加量的样本间差异显著, $P<0.05$; 不同小写字母表示同一参数在24 h不同添加量的样本间差异显著, $P<0.05$。KB代表空白对照组, FA代表阿魏酸添加组, BOA代表BOA添加组, MBOA代表MBOA添加组, Mix代表MBOA和BOA混合添加组(1∶1, m/m), 在0 h和24 h添加不同底物的发酵液分别记为-0和-24; H、M、L分别代表高、中、低浓度梯度, 图4~图7同。

的抑制或促进有关。发酵 24 h 后, 4 组添加不同底物的菌种丰度和多样性大多优于 KB 组。图 4 表明 Mix 组和 BOA 组的总物种组成显著优于其他组, 分别有 527 个和 520 个物种, 其中 5 组间共有菌包括 374 个物种, 4 组间共有菌包括 64 个物种, 3 组间共有菌包括 62 个物种, 2 组间共有菌包括 52 个物种, 而每组的独有菌包括 73 个物种。

2.2.2　Beta 多样性分析　对 0 h 和 24 h 的发酵液进行主成分分析(Principal component analysis, PCA), PCA 反映了不同发酵样品组中肠道微生物菌群结构的相似性。2 个样品组在坐标轴上投影距离越近, 表示微生物组成结构差异越小, 反之, 微生物组成结构差异越大。如图 5 所示, BOA-H-24 组和 Mix-H-24 组的肠道微生物结构与其他组间具有显著差异, 与 KB 组相比, 发酵 24 h 后的 MBOA 低、中、高剂量组、混合组的低、中剂量组、BOA 组的低、中剂量组和 FA 的低、中、高剂量组间的肠道微生物结构无显著差异。发酵液 0 h 所有样品组间的肠道微生物结构均无显著差异, 均与发酵 24 h 后的样品组间具有显著差异。因此, 发酵 24 h 后, 肠道菌群结构改变, 尤其是 BOA-H-24 组和 Mix-H-24 组。Dai 等[33] 研究了 MBOA 对布氏田鼠肠道微生物结构的影响, 结果表明 MBOA 能够显著改变布氏田鼠盲肠微生物群落的 α 和 β-多样性, 与本研究结果一致。

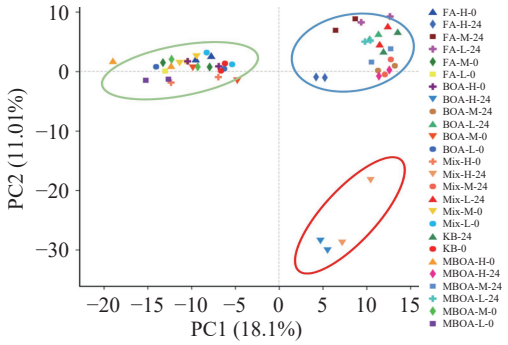


图 5　主成分分析

Fig.5　Principal component analysis

2.2.3　肠道菌群物种组成分析　在门水平上, 注释了 6 个门(图 6A), 包括厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteria)和疣微菌门(Verrucomicrobia)。不同底物发酵液在门水平上的微生物组成在 0 h 和 24 h 基本一致。0 h 时, 各组肠道菌群的优势菌门均为厚壁菌门(平均丰度为 57%)和拟杆菌门(平均丰度为 33%)。与 KB-24 组

相比，不同底物的低剂量组放线菌门丰度无明显变化，而中剂量组和高剂量组放线菌门丰度增加了 1%~5%，且丰度与底物浓度成正比。这说明中剂量组和高剂量组底物的添加促进了放线菌的生长。与 KB 组相比，BOA-H 和 Mix-H 显著（P<0.05）降低了变形菌门的相对丰度（降低了 20%~30%），增加了放线菌门的相对丰度（增加了 5%~6%）。发酵 24 h 后，KB 组厚壁菌门与拟杆菌门的比例为 1。MBOA-M、MBOA-H 组和 Mix-L 组降低了该比例（0.6%~0.9%）。而 KB 组与不同浓度 FA、MBOA-H、BOA-L 组的厚壁菌门和拟杆菌门比例差异均无统计学意义（P>0.05）。Dai 等[33] 在不同剂量的 MBOA 处理的布氏田鼠的盲肠微生物群中检测到相同的厚壁菌门相对丰度的趋势，短链脂肪酸测定结果表明，厚壁菌门的代谢产物乙酸盐和丙酸盐含量增加，但差异不显著。

属水平上，共注释到 34 个属（如图 6B），包括拟杆菌属（*Bacteroides*）、瘤胃球菌属（*Ruminococcus*）、埃希氏杆菌属（*Escherichia*）、克雷白氏杆菌属（*Pneumoniae*）、嗜胆菌属（*Bilophila*）、副拟杆菌属（*Parabacteroides*）、梭杆菌属（*Fusobacterium*）、双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）等。发酵 24 h 后，包括 KB 组在内的各组大肠埃希菌属（*Escherichia*）、肺炎杆菌属（*Klebsiella*）、嗜胆菌属（*Bilophila*）和副拟杆菌属（*Parabacteroides*）等有害菌均增加。但与 KB 组（8.62%）相比，BOA-H 组、MBOA-H 组和 Mix-H 组大肠埃希菌属的相对丰度显著降低（P<0.05），分别为<0.1%、1.62% 和<0.1%。与 KB 组相比，低剂量组和中剂量组的大肠埃希菌属丰度无显著差异（P>0.05）。大肠埃希菌属是具有代表性的有害菌属。例如，产肠毒素的大肠杆菌可以引起腹泻和其他胃肠道疾病[34]。此外，研究表明，大肠埃希菌属和瘤胃球菌属等可能增加炎症的风险[35]。因此，MBOA 和 BOA 对肠道病原菌的有效抑制对维持人体健康具有重要意义。具有代表性的有益菌双歧杆菌属在发酵 24 h 后相对丰度显著提高（P<0.05），与 KB 组（0.58%）相比，FA-H 组、BOA-H 组和 Mix-H 组的相对丰度分别为 2.79%、3.60% 和 4.06%。MBOA-H 组相对丰度为 0.95%，与 KB 组差异无统计学意义（P>0.05）。低剂量组和中剂量组与 KB 组比较差异无统计学意义（P>0.05）。双歧杆菌被广泛认为是一种有益的益生菌，具有抗炎、调节糖脂代谢和维持肠道屏障等作用[31]。因此，BOA-H 和 Mix-H 组的添加显著降低了埃希菌等有害菌的相对丰度，显著提高了双歧杆菌等有益菌的丰度。此外，发酵 24 h 后，MBOA-H 组和 MBOA-M 组的普雷沃氏菌属（*Prevotella*）相对丰度显著低于其他组（P<0.05），BOA-H 组的普雷沃氏菌属（*Prevotella*）相对丰度也呈降低趋势，但无显著差异（P>0.05），与 Dai 等[33] 的研究结果类似，可能与 MBOA 和 BOA 调节葡萄糖稳态的活性有关[8]。

种水平上，共注释到 48 个种（图 6C），包括多形拟杆菌（*Bacteroides thetaiotaomicron*）、大肠杆菌-志贺菌（*Escherichia shigella*）、*coprocola* 拟杆菌（*Bac-*

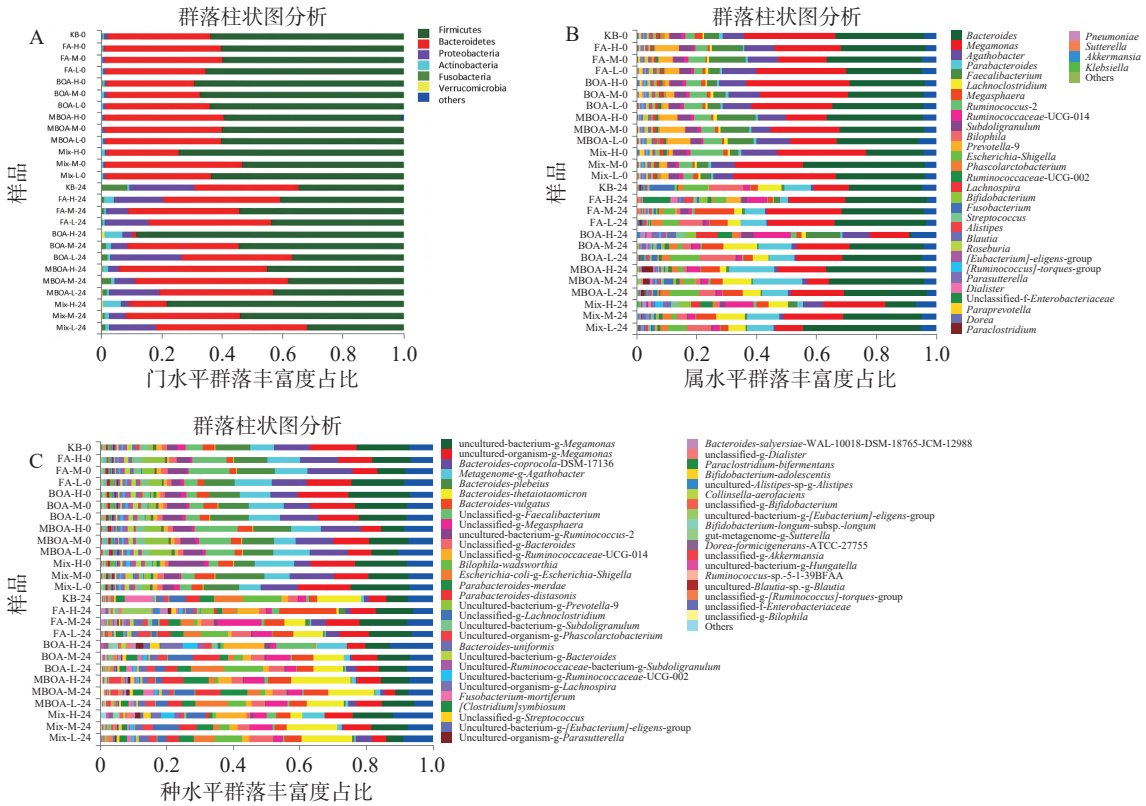


图 6 肠道菌群物种组成

Fig.6 Species composition of gut microbiota

注：（A）门水平；（B）属水平；（C）种水平。

teroides coprocola）、狄氏拟杆菌（*Parabacteroides distasonis*）、粪副拟杆菌（*Parabacteroides merdae*）、长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）、青春双岐杆菌（*Bifidobacterium adloescentis*）和沃氏嗜胆菌（*Bilophila wadsworthia*）等。在种水平上对 24 h 发酵后的体外发酵液的菌群进一步分析，可视化圈图（图 7）反映了每组样本中的优势菌种以及各优势菌种在不同分组中的分布情况。与 KB 组的多形拟杆菌丰度 10% 相比，MBOA-M 组（11%）、MBOA-H 组（15%）、Mix-M（12%）、Mix-L（12%）的丰度都相应提高，尤其是 MBOA-H 组能够显著提高其丰度（P<0.05）。发酵 24 h 后，与 KB 组中大肠杆菌-志贺菌的相对丰度（15%）相比，MBOA-H 组、BOA-H 组、Mix-H 组对大肠杆菌-志贺菌相对丰度抑制百分比分别达 81.3%、99.54%、99.3%，均显示极显著的抑制效果（P<0.01），而高浓度阿魏酸组虽也能显著（P<0.05）降低其丰度，但相对其他高浓度实验组较低，抑制百分比为 7.4%，其他低、中浓度组对大肠杆菌-志贺菌丰度也有较强的抑制作用，其抑制效果呈剂量依赖性。青春双歧杆菌和长双歧杆菌为双歧杆菌属的常见菌种，KB 组中青春双歧杆菌和长双歧杆菌的相对丰度分别为 3.2% 和 2.5%，添加 Mix-H 组（24% 和 22%）、BOA-H 组（20% 和 24%）、FA-H 组（16% 和 16%）和 MBOA-H 组（5.4% 和 4.9%）都可以显著（P<0.05）提高青春双歧杆菌和长双歧杆菌的相对丰度，尤其是 Mix-H 组和 BOA-H 组是 KB 组青春双歧杆菌丰度 6 倍以上，是 KB 组长双歧杆菌丰度 8 倍以上。长双歧杆菌是婴儿和成人中最常见的双歧杆菌，在维持肠道微环境和整体肠道健康方面起着至关重要的作用[36]。许多研究表明，益生元抑制病原菌生长、促进有益菌增殖的机制与短链脂肪酸的产生有关[37]，双歧杆菌与乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的浓度呈正相关，因此，MBOA 和 BOA 对肠道菌群结构的调节作用可能与短链脂肪酸的产生有关[38]。本研究通过体外实验证明 MBOA 和 BOA 具有良好的益生元特性。然而，这些发现并不能完全反映肠道微生物群的变化。因此，需要进一步研究 MBOA 和 BOA 的体内益生元活性及其具体机制。

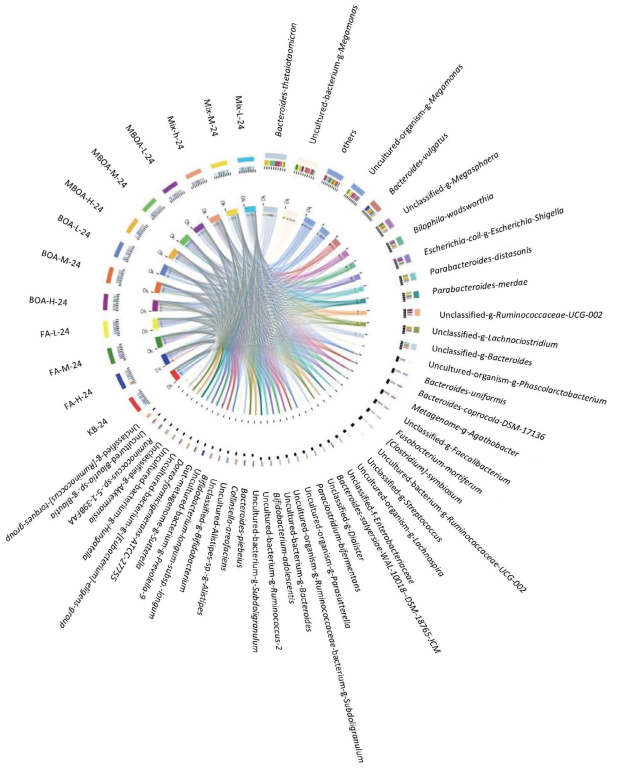


图 7　优势物种的分布及比例的可视化圈图

Fig.7　Circos of distribution and proportion of dominant species

3　结论

本研究对比了全谷物新兴功能因子 MBOA 和 BOA 的体外抗氧化活性以及对肠道菌群的调节作用。尽管其体外抗氧化活性显著弱于传统强效成分 FA，并非全谷物抗氧化功能的主要贡献者，然而 MBOA 和 BOA 均表现出独特的肠道菌群调节特性，通过体外发酵模型证实，MBOA、BOA 及其等剂量混合物可剂量依赖性地强效抑制沙门氏菌（*Salmonella*）和大肠埃希氏菌（*Escherichia*）等致病菌（抑制率>80%），同时显著促进双歧杆菌（*Bifidobacterium*）等有益菌增殖（是空白组的 6~8 倍），其中 MBOA 和 BOA 等剂量混合物的作用更为显著，表明 MBOA 和 BOA 在全谷物中的益生作用可能存在协同效应。该结果提示 MBOA 和 BOA 是全谷物中的潜在益生元，为构建以肠道微生态精准调控为特色的全谷物健康产品体系提供理论依据，但其发挥健康功效的具体机制仍需深入研究。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] SKEIE G, FADNES L T. Cereals and cereal products-a scoping review for Nordic Nutrition Recommendations 2023[J]. Food & Nutrition Research, 2024, 68: 10457.

[2] BARANZELLI J, SOMACAL S, MONTEIRO C S, et al. Grain germination changes the profile of phenolic compounds and benzoxazinoids in wheat: A study on hard and soft cultivars[J]. Molecules, 2023, 28(2): 721.

[3] HANHINEVA K, ROGACHEV I, AURA A M, et al. Qualitative characterization of benzoxazinoid derivatives in whole grain rye and wheat by LC-MS metabolite profiling[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(3): 921−927.

[4] PARK W J, HOCHHOLDINGER F, GIERL A. Release of the benzoxazinoids defense molecules during lateral- and crown root emergence in *Zea mays*[J]. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(8): 981−985.

[5] STEFFENSEN S K, ADHIKARI K B, LAURSEN B B, et al. Bioactive small molecules in commercially available cereal food: Benzoxazinoids[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2017, 64: 213−222.

[6] 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.
[7] PIHLAVA J M, KURTELIUS T. Determination of benzoxazinoids in wheat and rye beers by HPLC-DAD and UPLC-QTOF MS[J]. Food Chemistry, 2016, 204: 400−408.
[8] 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): 40−47. [GONG Lingxiao, YANG Ruoyan, WANG Jing. Benzoxazolinones: Novel bioactive phytochemicals in wheat with potential hypoglycemic activity[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(1): 40−47.]
[9] 徐婷婷. 6-MBOA 对雄性布氏田鼠取食和消化及肠道微生物的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2020. [XU Tingting. Effects of 6-MBOA on the feeding, digestion and gut microbiota of male Brandt's vole(*Lasiopodomys brandtii*)[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020.]
[10] RAJU B, VERMA H, NARENDRA G, et al. Identification of potential benzoxazolinones as CYP1B1 inhibitors via molecular docking, dynamics, waterswap, and *in vitro* analysis[J]. New Journal of Chemistry, 2023, 47(26): 12339−12349.
[11] 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.
[12] ZHOU Huiwen, HUA Juan, LI Hongdi, et al. Structurally diverse specialized metabolites of maize and their extensive biological functions[J]. Journal of Cellular Physiology, 2024, 239(10): e30955.
[13] CHEN Xingyu, XIE Na, FENG Lixiang, et al. Oxidative stress in diabetes mellitus and its complications: From pathophysiology to therapeutic strategies[J]. Chinese Medical Journal, 2025, 138(1): 15−27.
[14] ÜREMIŞ N, ÜREMIŞ M M. Oxidative/nitrosative stress, apoptosis, and redox signaling: Key players in neurodegenerative diseases[J]. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 2025, 39(1): e70133.
[15] MATOS P, PARANHOS A, OLIVEIROS B, et al. Biological and phytochemical variation with pre- and post-harvest conditions for the *Acanthus mollis* L. leaf[J]. Industrial Crops and Products, 2024, 211: 118221.
[16] MATOS P, FIGUEIRINHA A, FERREIRA I, et al. *Acanthus mollis* L. leaves as source of anti-inflammatory and antioxidant phytoconstituents[J]. Natural Product Research, 2019, 33(12): 1824−1827.
[17] 翟齐啸, 储传奇, 贺盼弟, 等. 膳食、肠道微生物与人体健康[J]. 食品与生物技术学报, 2020, 39(6): 1−9. [ZHAI Qixiao, CHU Chuanqi, HE Pandi, et al. Diet, gut microbiota and human health[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2020, 39(6): 1−9.]
[18] JENSEN B M, ADHIKARI K B, SCHNOOR H J, et al. Quantitative analysis of absorption, metabolism, and excretion of benzoxazinoids in humans after the consumption of high- and low-benzoxazinoid diets with similar contents of cereal dietary fibres: A crossover study[J]. European Journal of Nutrition, 2017, 56(1): 387−397.
[19] 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.
[20] KOWALSKA I, JĘDREJEK D. Benzoxazinoid and alkylresorcinol content, and their antioxidant potential, in a grain of spring and winter wheat cultivated under different production systems[J]. Journal of Cereal Science, 2020, 95: 103063.
[21] DIHM K, VENDELBO L M, SUNDÉN H, et al. Quantification of benzoxazinoids and their metabolites in Nordic breads [J]. Food Chemistry, 2017, 235: 7−13.
[22] ZHENG Mengli, LIU Yating, ZHANG Guanfeng, et al. The antioxidant properties, metabolism, application and mechanism of ferulic acid in medicine, food, cosmetics, livestock and poultry[J]. Antioxidants, 2024, 13(7): 853.
[23] 食品安全标准与监测评估司. "健康饮食、合理膳食"核心信息: 增加蔬菜水果、全谷物和水产品摄入[J]. 健康中国观察, 2025(6): 13−14. ["Healthy diet, sensible diet" core message-increase intake of fruits and vegetables, whole grains and aquatic products[J]. Healthy China Observation, 2025(6): 13−14.]
[24] CHAVES N, SANTIAGO A, ALÍAS J C. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used[J]. Antioxidants, 2020, 9(1): 76.
[25] BOLLING B W, TAHERI R, 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.
[26] van HUNG P. Phenolic compounds of cereals and their antioxidant capacity[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(1): 25−35.
[27] KÖSE L P, GÜLÇIN İ, GÖREN A C, et al. LC–MS/MS analysis, antioxidant and anticholinergic properties of *Galanga* (*Alpinia officinarum* Hance) rhizomes[J]. Industrial Crops and Products, 2015, 74: 712−721.
[28] YANG Ruoyan, GONG Lingxiao, LI Yi, et al. Role of the gut microbiota in determining the metabolic fate of free and bound phenolic compounds in wheat bran[J]. LWT, 2024, 210: 116892.
[29] LEE J H. *In-vitro* evaluation for antioxidant and anti-inflammatory property of flavanone derivatives[J]. Food Bioscience, 2015, 11: 1−7.
[30] GLEŃSK M, GAJDA B, FRANICZEK R, et al. *In vitro* evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of DIMBOA [2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one][J]. Natural Product Research, 2016, 30(11): 1305−1308.
[31] MATOS P, FIGUEIRINHA A, PARANHOS A, et al. Bioactivity of *Acanthus mollis*-Contribution of benzoxazinoids and phenylpropanoids[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018, 227: 198−205.
[32] BARANZELLI J, SOMACAL S, ARAUJO A B C, et al. Influence of sprouting on the bioaccessibility and bioactivity of benzoxazinoids, phenolic acids, and flavonoids of soft and hard wheat cultivars[J]. Food Research International, 2023, 173(Pt 2): 113338.
[33] DAI Xin, CHEN Lin, LIU Mengyue, et al. Effect of 6-methoxybenzoxazolinone on the cecal microbiota of adult male Brandt's vole[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 847073.
[34] de BRUIJN W J C, GRUPPEN H, VINCKEN J P. Structure and biosynthesis of benzoxazinoids: Plant defence metabolites with potential as antimicrobial scaffolds[J]. Phytochemistry, 2018, 155: 233−243.
[35] ZHANG Yucheng, TAN Peng, ZHAO Ying, et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: Intestinal pathogenesis mechanisms and colonization resistance by gut microbiota[J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2055943.
[36] PARK H J, YU D, HONG S T, et al. *Bifidobacterium longum* RAPO attenuates dermal and pulmonary fibrosis in a mouse model of systemic sclerosis through macrophage modulation and growth of short-chain fatty acid producers[J]. Immune Network, 2024, 24(6): e41.
[37] YOO S, JUNG S C, KWAK K, et al. The role of prebiotics in modulating gut microbiota: Implications for human health[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(9): 4834.
[38] de BRUYN F, JAMES K, COTTENET G, et al. Combining *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* and human milk oligosaccharides synergistically increases short chain fatty acid production *ex vivo*[J]. Communications Biology, 2024, 7(1): 943.