

模拟胃肠消化评价苹果多酚、黄酮及抗氧化活性的相关性

彭梦雪^{1,2}, 从彦丽², 刘冬²

(1. 广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541004) (2. 深圳职业技术学院, 广东深圳 518055)

摘要: 以三个品种苹果(水晶富士、嘎啦果、青苹果)为原料, 通过体外模拟胃肠消化和有机溶剂提取方法提取苹果的生物活性物质, 测定提取液的多酚、黄酮及抗氧化活性, 分析这三者的变化规律和相关性。结果表明, 模拟胃肠消化后, 苹果的多酚、黄酮、抗氧化活性显著提高($P < 0.05$), 在胃肠消化 1 h 内多酚释放量达到最大值并保持稳定, 胃消化阶段最大释放量多酚为消化前的 1.36~1.76 倍, 肠消化为消化前的 1.34~2.08 倍。苹果多酚主要由游离态多酚组成, 有机溶剂提取液的多酚含量高于模拟胃肠消化后提取液多酚($P < 0.05$)。模拟胃消化阶段, 多酚、黄酮、抗氧化活性之间存在显著正相关($r = 0.74 \sim 0.99$, $P < 0.05$), 而肠消化阶段, 抗氧化活性与多酚、黄酮的相关系数 $r = -0.47 \sim -0.47$ ($P < 0.05$), 相关性较低。模拟胃肠消化, 可能引起多酚类物质的含量和结构的改变, 从而导致多酚、黄酮、抗氧化活性的提高。

关键词: 多酚; 黄酮; 抗氧化活性; 模拟胃肠消化; 苹果

文章编号: 1673-9078(2016)1-122-128

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.020

Determination of Antioxidant Activity and the Contents of Polyphenols and Flavonoids of Apples by Simulated Gastrointestinal Digestion

PENG Meng-xue^{1,2}, CONG Yan-li², LIU Dong²

(1.College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

(2.Shenzhen Polytechnic, Shenzhen 518055, China)

Abstract: Three cultivars of apples (Fuji, Gala, and Granny Smith apples) were used as raw materials for the investigation. Bioactive substances were extracted by *in vitro* gastrointestinal digestion and organic solvent extraction method. The antioxidant activity, as well as polyphenol and flavonoid contents in the extract, were determined, and patterns in the changes and correlations among these three were analyzed. The results showed that after simulated gastrointestinal digestion, antioxidant activity and polyphenol and flavonoid contents of apples increased significantly ($P < 0.05$). The amount of released polyphenol reached a maximum level and remained stable during the one-hour gastrointestinal digestion. During gastric digestion, the maximum amount of released polyphenol was 1.36~1.76 times higher than that before gastric digestion. During intestinal digestion, the maximum amount of released polyphenol was 1.34~2.08 times higher than that before intestinal digestion. Apple polyphenols are mainly composed of free polyphenols, and the content of polyphenols in the organic solvent extract was more than that after the simulation of gastrointestinal digestion ($P < 0.05$). At the simulated gastric digestion phase, a strong correlation ($r = 0.74 \sim 0.99$, $P < 0.05$) was noted among antioxidant activity and polyphenol and flavonoid contents. However, at the intestinal digestion phase, the correlation among antioxidant activity and flavonoid and polyphenol contents was low ($r = -0.47 \sim -0.47$, $P < 0.05$). Simulating gastrointestinal digestion may cause changes in the content and structure of polyphenols, leading to increases in antioxidant activity and polyphenol and flavonoid contents.

Key words: polyphenols; flavonoids; antioxidant activity; simulated gastrointestinal digestion; apples

人体自由基过剩会引起生物大分子(如 DNA、

收稿时间: 2015-04-09

基金项目: 广东省省国际合作项目(2012B050600031); 深圳市科技计划项目(JCYJ20130331151512026)

作者简介: 彭梦雪(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物资源研究与利用; 刘冬(1968-, 男, 博士, 教授, 研究方向为食品生物技术

通讯作者: 从彦丽(1966-), 女, 副教授, 研究方向为食品生物技术

蛋白质、糖类和脂类等)的氧化损伤, 导致心血管病、癌症、老年痴呆症和衰老等慢性退行性疾病的发生。多酚是植物化学物质中的一大类, 是一种良好的抗氧化剂, 能有效淬灭自由基, 饮食结构中富含水果、蔬菜等, 可以预防或治疗各种退行性疾病。苹果是人类饮食结构中主要摄入的水果, 食用苹果与多种疾病的预防有很大的相关性^[1]。苹果中的多酚类化合物如槲

皮素、表儿茶素、原花青素 B2 等, 对抗氧化活性的贡献比维生素 C 更大^[2]。

大量食品抗氧化活性的数据基于有机溶剂的提取, 通常使用甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯, 或这些有机溶剂与水的混合物。然而, 有机溶剂提取多酚和人体内胃肠道消化过程有很大区别, 有机溶剂提取是依据相似相溶的原理将所有溶于提取剂的多酚类物质提取出来; 而在胃肠道中, 食物多酚则是在酸性环境(胃液)和弱碱性环境(肠液)中, 通过消化酶的消化作用释放出来。

体内研究多酚的消化过程, 无疑是一个非常理想的想法, 然而由于污染物存在、分析物浓度低, 以及多酚代谢快, 体内研究多酚充满困难, 并因此而局限于血液, 尿或粪便的分析^[3]。使用体外消化模型的研究可以很好地模拟体内条件, 且实验时间短, 可重复实验, 可大量分析化合物代谢。近年来, 已经有许多基于体外模拟胃肠消化研究多酚的消化过程, 评价食品营养的工作^[4-9], 体外消化模型与动物模型、细胞实验的结果有很好的相关性^[10]。

本文旨在通过体外模拟胃肠消化方法, 评价苹果的生物活性, 包括多酚、黄酮、抗氧化活性; 并比较体外胃肠消化和有机溶剂提取的评价方法, 最后分析多酚、黄酮、抗氧化活性之间的相关性。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

水晶富士产地为山东, 青苹果和嘎啦果产地为智利。没食子酸、儿茶素、福林酚试剂、2, 2'-偶氮二异丁基脒盐酸盐(AAPH)、荧光素钠盐、胃蛋白酶、胰酶、胆汁提取液均购自美国 Sigma 公司。IKA T25 digital Ultra-Turrax 型匀浆机, 德国 IKA 公司; Avanti J-30I 型冷冻离心机, 美国 BECKMAN 公司; Laborota 4001 型旋转蒸发仪, 德国 Heidolph 公司; Spectra Max M2 型连续光谱密度荧光检测仪, 美国 Molecular 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 有机溶剂提取多酚

1.2.1.1 游离酚提取

水果碎片与 80% 冷丙酮(4 °C)一起经搅碎机捣碎 3 min, 再经高速匀浆机以 12000 r/min 的速度冰浴匀浆 5 min。称取 50 g 匀浆, 4 °C, 20000 r/min 离心 20 min, 重复提取 3 次, 设立三个平行组。提取液以 45 °C、真空浓缩至 90% 重量以内, 浓缩液用水重溶, 定容至 50 mL, 分装、-80 °C 保存。

1.2.1.2 结合酚提取

80% 丙酮提取后的苹果残渣, 加入 2 M NaOH 4 mL, 摇床震荡、室温消化 1 h, 消化结束后, 加入 4 mL 浓盐酸中和, 20 mL 正己烷去脂, 乙酸乙酯重复提取三次后, 旋转蒸发仪 45 °C、真空蒸干, 并用水定容至 10 mL, 分装、-80 °C 保存, 测定其多酚、黄酮和抗氧化活性。

1.2.2 体外模拟胃肠消化

体外模拟胃肠消化参考 Miller 等人^[11]的方法, 略做优化。模拟胃消化: 设立三个组, 胃液消化组: pH=2, 加入胃蛋白酶溶液; 酸对照组: pH=2, 不加胃蛋白酶溶液; 空白对照组: 为苹果果汁原始 pH (~3.5), 不加胃蛋白酶。模拟肠消化: 设立两个组, 肠液消化组: pH=7.0, 加入胰蛋白酶和胆汁混合液; 空白组: pH=7.0, 未加入胰蛋白酶和胆汁混合液。胃消化于消化的 0、0.5、1、2、3 h 取样; 肠消化前, 样品先经历胃消化, 胃消化 1h 后, 作为肠消化的 0h, 肠消化于 0、0.5、1、2、3、4 h 取样, 离心, 上清液分装, -80 °C 保存, 测定其多酚、黄酮和抗氧化活性。

1.2.3 多酚测定

多酚含量测定采用 Folin-Ciocalteu 法^[3]。以没食子酸为标准品, 多酚含量以 mg 没食子酸当量(gallic acid equivalents, GAE)/100 g 鲜重(fresh weight, FW), 即 mg GAE/100 g FW 表示。

1.2.4 黄酮测定

黄酮含量测定采用氯化铝-亚硝酸钠比色法^[3]。以儿茶素为标准品, 黄酮含量以 mg 儿茶素当量(catechin equivalents, CE) /100 g 鲜重, 即 mg CE/100 g FW 表示。

1.2.5 抗氧化活性测定

抗氧化活性测定方法采用 ORAC 法(Oxygen radical absorbance capacity, ORAC)^[13]。ORAC 值用 μmol Trolox 当量(Trolox equivalents, TE) /100 g 鲜重, 即 μmol TE/100 g FW 表示。

1.2.6 统计分析

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行单因素方差分析(ANOVA)、Duncan 多重比较检验以及 Pearson 相关分析, 数值用平均值 \pm 标准差表示($n=3$), $p<0.05$ 为有统计学差异。

2 结果与分析

2.1 模拟胃肠消化前后多酚的含量

模拟胃肠消化与有机溶剂提取物的多酚如图 1 所示。经过体外胃肠模拟消化后, 三个品种的多酚含量

均上升。其中水晶富士经过胃消化和肠消化后多酚含量分别为消化前的 1.76 倍和 2.08 倍,嘎啦果的是 1.36 倍和 1.34 倍,青苹果的为 1.46 倍和 1.40 倍。Jaouad Bouayed (2011)在苹果体外模拟消化的研究中也得到了类似的结果,多酚主要在胃相释放(约 65%的酚酸和类黄酮),在肠消化过程有轻微的释放(<10%)^[4]。

有机溶剂提取的多酚,含量最高的是青苹果,为 133.48±4.47 mg GAE/100 g FW,嘎啦果、水晶富士分别为 104.54±5.12 GAE/100 g FW 和 83.14±5.96 GAE/100 g FW。模拟胃肠消化后提取的多酚含量低于有机溶剂提取的多酚。水晶富士、嘎啦果、青苹果模拟胃消化后,提取的多酚含量分别是有机溶剂提取的 66.72%、78.77%、78.52%;而模拟肠消化后,分别为有机溶剂提取的 79.05%、77.60%、75.26%。三个品种苹果的结合酚(乙酸乙酯提取物多酚)含量均较低,有机溶剂提取的多酚主要由游离酚(丙酮提取物多酚)组成。

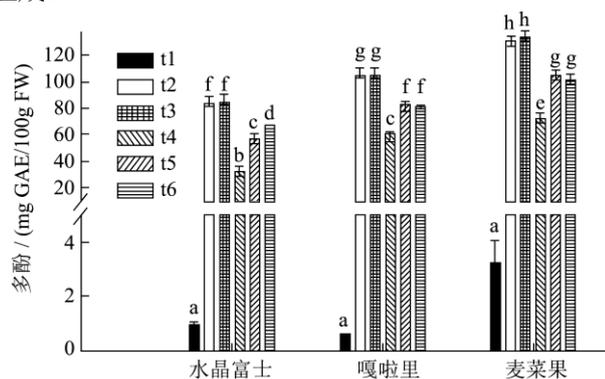


图 1 不同提取条件的苹果多酚

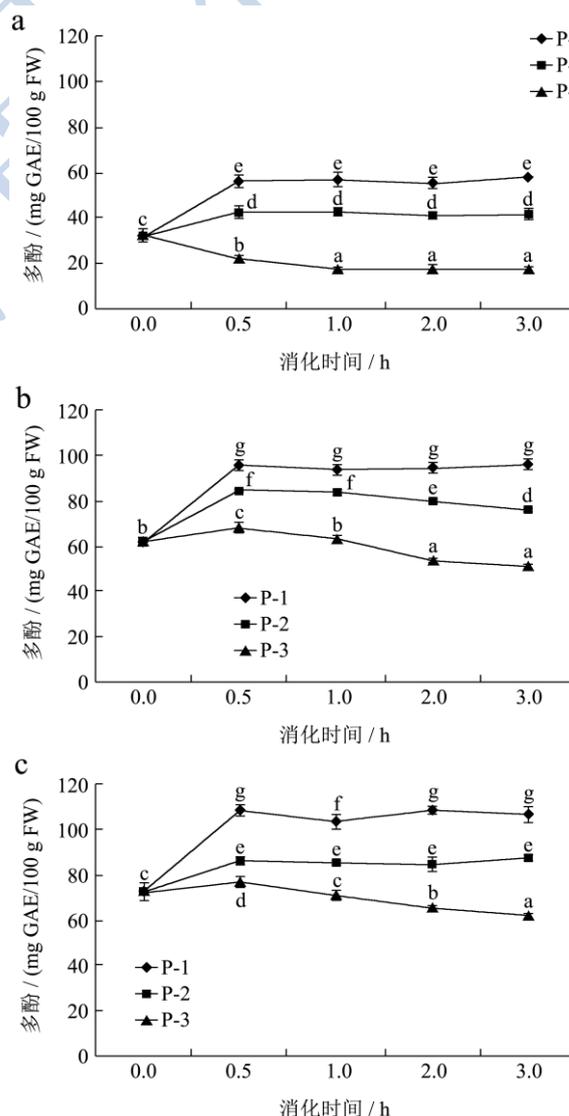
Fig.1 Total polyphenol content of apples as determined under different extraction conditions

注: t1 乙酸乙酯提取物多酚(苹果渣多酚), t2 80% 丙酮提取物多酚(新鲜苹果多酚), t3 丙酮和乙酸乙酯提取物多酚的总和, t4 模拟消化前多酚, t5 模拟胃消化后多酚, t6 模拟肠消化后多酚。图中字母不同为差异显著, $P < 0.05$ 。

苹果模拟胃肠消化多酚含量变化趋势如图 2 所示。胃消化阶段,多酚胃液消化组>酸消化组>空白组。胃液消化组在消化 0.5 h 内,多酚含量达到最高,并保持稳定;酸消化组多酚在消化 0.5 h 内含量达到最大,水晶富士和青苹果多酚保持稳定,而嘎啦果在消化 2 h 后出现下降;空白组多酚,水晶富士在 0.5 h 内下降并稳定,嘎啦果和青苹果在 0.5 h 内多酚含量上升,然后下降。肠消化阶段,肠液消化组中嘎啦果和青苹果的多酚含量保持与胃消化阶段含量相当,水晶富士略有上升($P < 0.05$);空白组的多酚含量均下降($P < 0.05$)。

苹果多酚按照化学结构分类,主要包括黄烷醇类、羟基肉桂酸类、黄酮醇类、二氢查耳酮类、花青素类

等,其中以原花青素为主的黄烷醇是最丰富的一类。Wojdylo A. (2008)测定了 67 个品种苹果的多酚含量,黄烷醇(主要是低聚原花青素)含量超过 80%,接着是羟基肉桂酸(1~31%),黄酮醇(2~10%),二氢查耳酮(0.5~5%),花青素(1%)^[12]。胃消化空白组在消化初期,结合态的多酚可能释放为游离态多酚,因而嘎啦果和青苹果胃消化空白组在 0.5 h 内含量上升。三个品种苹果空白组消化 1 h 后总酚含量降低可能是稳定性差的原花青素降解引起的。嘎啦果酸消化组在消化 2 h 后表现出总酚含量降低,可能是随着消化时间的延长,稳定性差的多酚降解。葡萄的体外消化发现,酚酸、花青素和白藜芦醇在肠液条件下降解,而槲皮素的含量则没有变化^[5]。在肠液环境,胰酶可能继续使结合态多酚释放为游离态,但酚酸和花青素在碱性条件下不稳定发生降解,因而肠液消化组的多酚含量没有表现出明显的增加;而肠消化空白组,可能由于结合态多酚的释放已经平衡,酚酸和花青素降解导致总酚的含量降低。



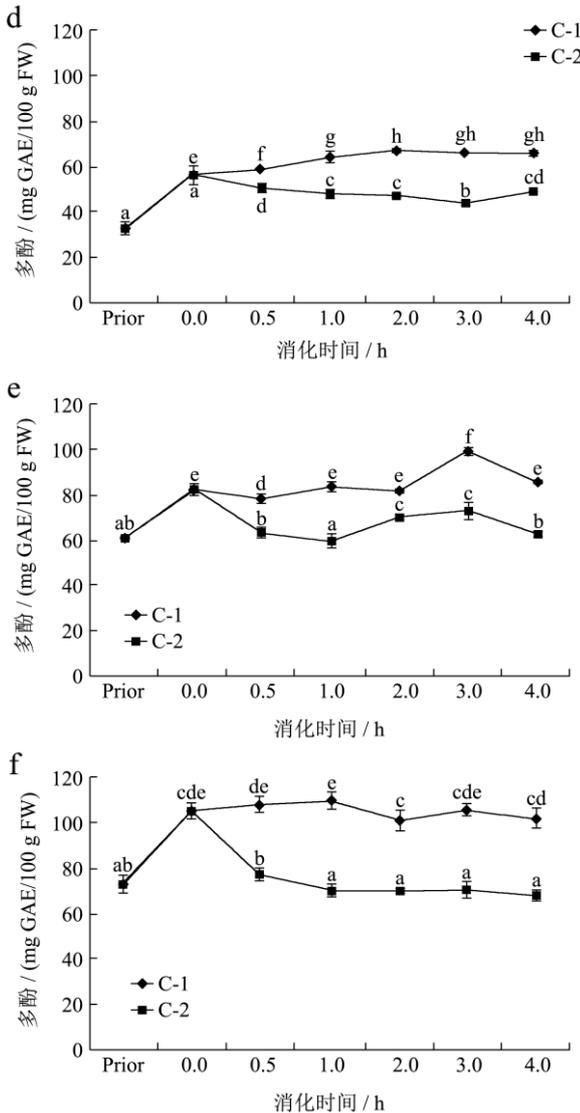


图2 苹果模拟胃肠消化过程中多酚的变化

Fig.2 Variation of total polyphenol content of apples during simulated gastrointestinal digestion

注: a、b、c分别代表水晶富士、嘎啦果、青苹果模拟胃消化, P-1: 胃液消化组; P-2: 酸对照组; P-3: 空白对照组。d、e、f分别代表水晶富士、嘎啦果、青苹果模拟肠消化, C-1: 肠液消化组; C-2: 空白对照组。Prior: 消化前。图中字母不同为差异显著, $p < 0.05$ 。

2.2 模拟胃肠消化前后黄酮的含量

模拟胃肠消化与有机溶剂提取物的黄酮如图3所示, 模拟胃消化后, 水晶富士、嘎啦果、青苹果的黄酮是有机溶剂提取的黄酮的59.09%、82.62%、71.54%; 而模拟肠消化后的黄酮分别是有机溶剂提取的黄酮的63.61%、97.34%、62.47%。模拟胃肠消化后提取的黄酮含量低于有机溶剂提取的黄酮。苹果模拟胃肠消化对黄酮的释放影响与多酚相似, 水晶富士、嘎啦果、青苹果模拟胃消化后, 黄酮含量分别为模拟消化前的

1.52倍、1.57倍、1.50倍; 模拟肠消化后, 黄酮含量分别为模拟消化前的1.63倍、1.85倍、1.30倍。

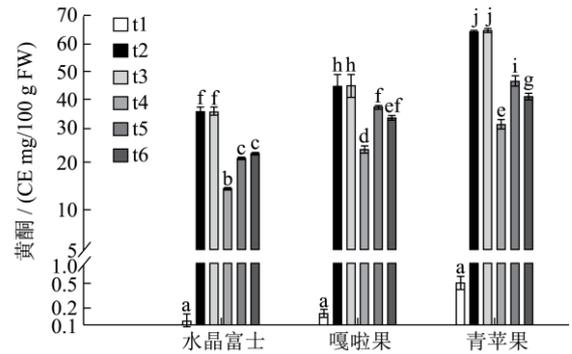
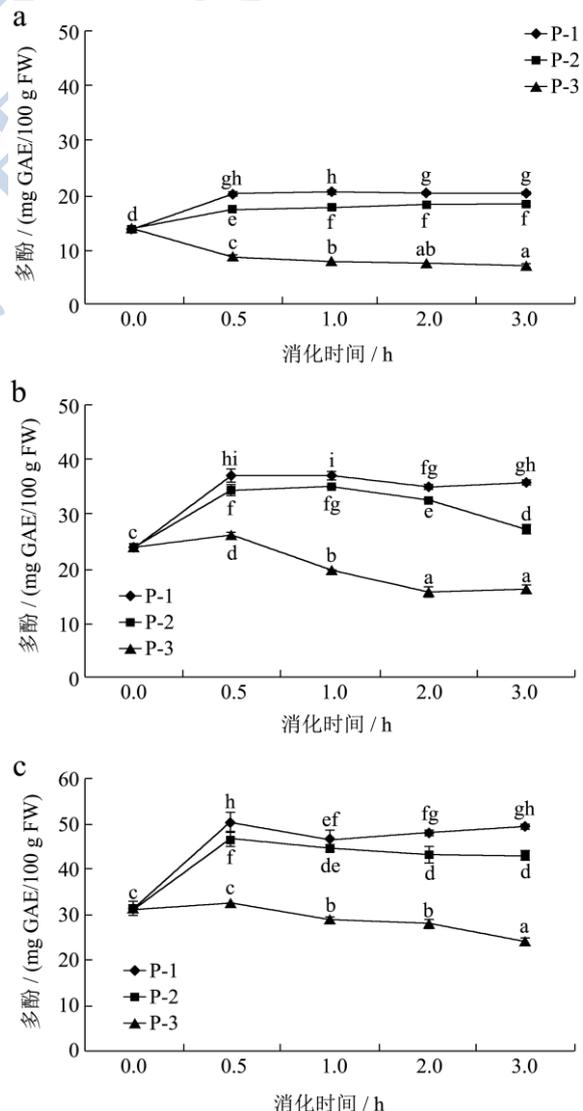


图3 不同提取条件的苹果黄酮

Fig.3 Total flavonoid content of apples as determined under different extraction conditions

注: t1乙酸乙酯提取物黄酮(苹果渣黄酮), t2 80%丙酮提取物黄酮(新鲜苹果黄酮), t3丙酮和乙酸乙酯提取物黄酮的总和, t4模拟消化前黄酮, t5模拟胃消化后黄酮, t6模拟肠消化后黄酮。图中字母不同为差异显著, $P < 0.05$ 。



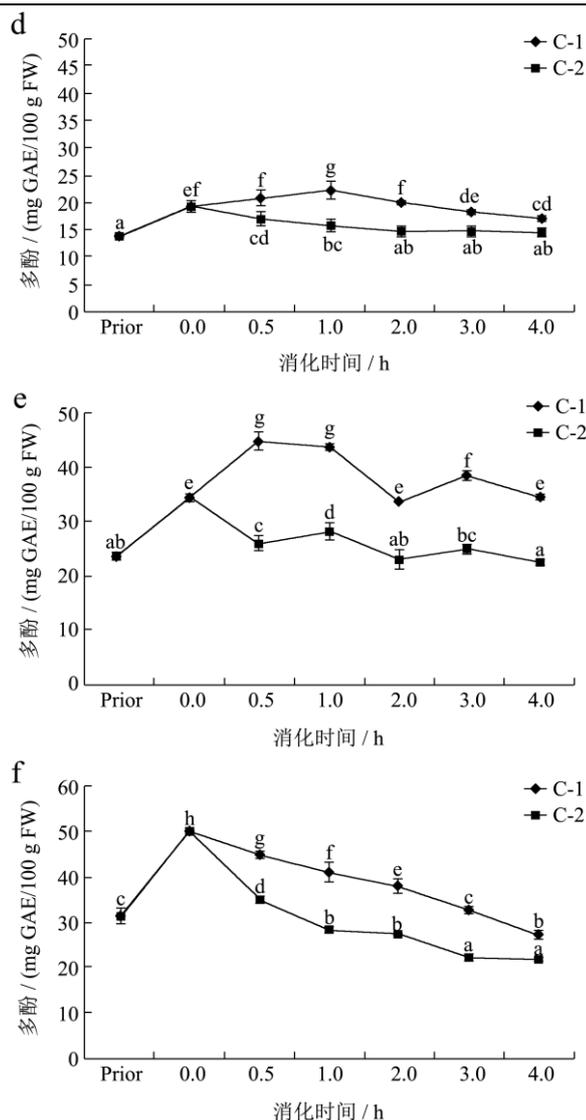


图4 苹果模拟胃肠消化过程中黄酮的含量变化

Fig.4 Variation of total flavonoid content of apples during simulated gastrointestinal digestion

注：a、b、c分别代表水晶富士、嘎啦果、青苹果模拟胃消化，P-1：胃液消化组；P-2：酸对照组；P-3：空白对照组。d、e、f分别代表水晶富士、嘎啦果、青苹果模拟肠消化，C-1：肠液消化组；C-2：空白对照组。Prior：消化前。图中字母不同为差异显著， $p < 0.05$ 。

黄酮的变化与多酚的变化相似，胃蛋白酶和酸性环境对黄酮的释放有促进作用。如图4所示，胃液消化组的黄酮在消化1h内含量上升，并稳定；酸消化组黄酮，在1h内含量达到最大，水晶富士保持稳定，嘎啦果和青苹果黄酮达到最大量后降低；空白组水晶富士黄酮在消化0.5h内降低并稳定，嘎啦果和青苹果在0.5h内含量上升，然后下降并达到稳定，这与多酚的变化规律一致。黄酮含量降低，可能由稳定性差的原花青素、花色苷等降解引起。水晶富士和嘎啦果在肠消化2h内黄酮含量上升，然后下降，而青苹果在

肠消化过程中，黄酮含量降低。肠液消化组的酶可能作用于结合态的酚类物质，中性或偏碱性多酚可以在肠液介质中稳定存在（如槲皮素），而酸性多酚（如大部分酚酸、黄烷-3-醇^[5]）大量降解或异构为其它碱性条件下稳定的形式（如绿原酸降解并异构化为隐绿原酸和新绿原酸^[7]），释放的黄酮低于降解的黄酮，黄酮总量就会降低。

2.3 模拟胃肠消化前后抗氧化活性

三个品种苹果不同提取条件下的抗氧化活性（ORAC值）如图5所示。苹果模拟胃肠消化后ORAC值低于有机溶剂提取物。模拟胃消化后，水晶富士、嘎啦果和青苹果的ORAC值是有机溶剂提取物的67.02%、89.15%、71.60%；而模拟肠消化后的ORAC值分别是有机溶剂提取物的76.88%、66.68%、89.32%。模拟胃肠消化后，三个品种的抗氧化活性均提高了。水晶富士、嘎啦果和青苹果胃消化后的ORAC值是消化前的2.04倍、2.30倍、1.22倍；模拟肠消化后，ORAC值是消化前的2.35倍、1.72倍、1.52倍。青苹果肠消化阶段多酚、黄酮低于胃消化，而ORAC值却相反。

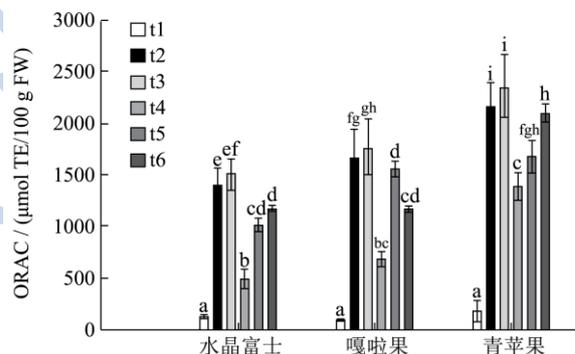


图5 不同提取条件的苹果ORAC值

Fig.5 ORAC values in apples as determined under different extraction condition

注：t1苹果渣乙酸乙酯提取物ORAC值，t2新鲜苹果80%丙酮提取物ORAC值，t3丙酮和乙酸乙酯提取物ORAC值的总和，t4模拟消化前ORAC值，t5模拟胃消化后ORAC值，t6模拟肠消化后ORAC值。图中字母不同为差异显著， $P < 0.05$ 。

胃消化阶段，水晶富士胃液消化组与酸消化组的ORAC值在消化0.5h内达到最大后保持稳定，胃液消化组高于酸消化组；空白组ORAC值在消化过程中基本稳定。嘎啦果胃液消化组和酸消化组的ORAC值差异不显著（ $P < 0.05$ ），在消化1h后达到稳定；空白组的ORAC值在消化1h内没有显著性差异，消化2h出现下降（ $P < 0.05$ ）。青苹果胃液消化组的ORAC值含量随着消化时间上升，而酸消化组在2h达到稳定，空白组在0.5h内上升然后下降。

肠消化阶段水晶富士和嘎啦果变化规律相似，肠液消化组 ORAC 值在消化 0.5 h 内达到最大，在消化过程中有些波动 ($P < 0.05$)，空白组的 ORAC 值没有显著性变化 ($P > 0.05$)。青苹果肠液消化组的 ORAC 值在 0.5 h 内达到最大，在消化 2 h 出现显著性降低 ($P < 0.05$)，然后又上升；而空白组在消化 1 h 出现显著性下降 ($P < 0.05$)，2 h~3 h 内保持稳定，消化 4 h 时有显著性上升。

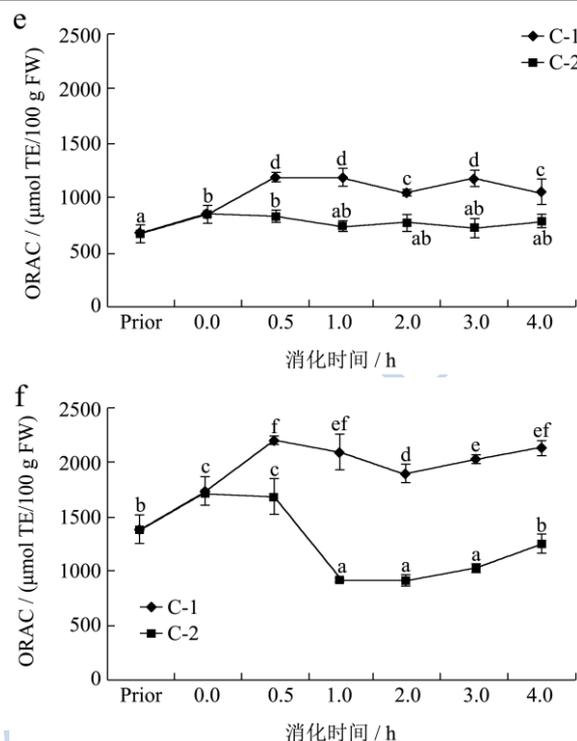
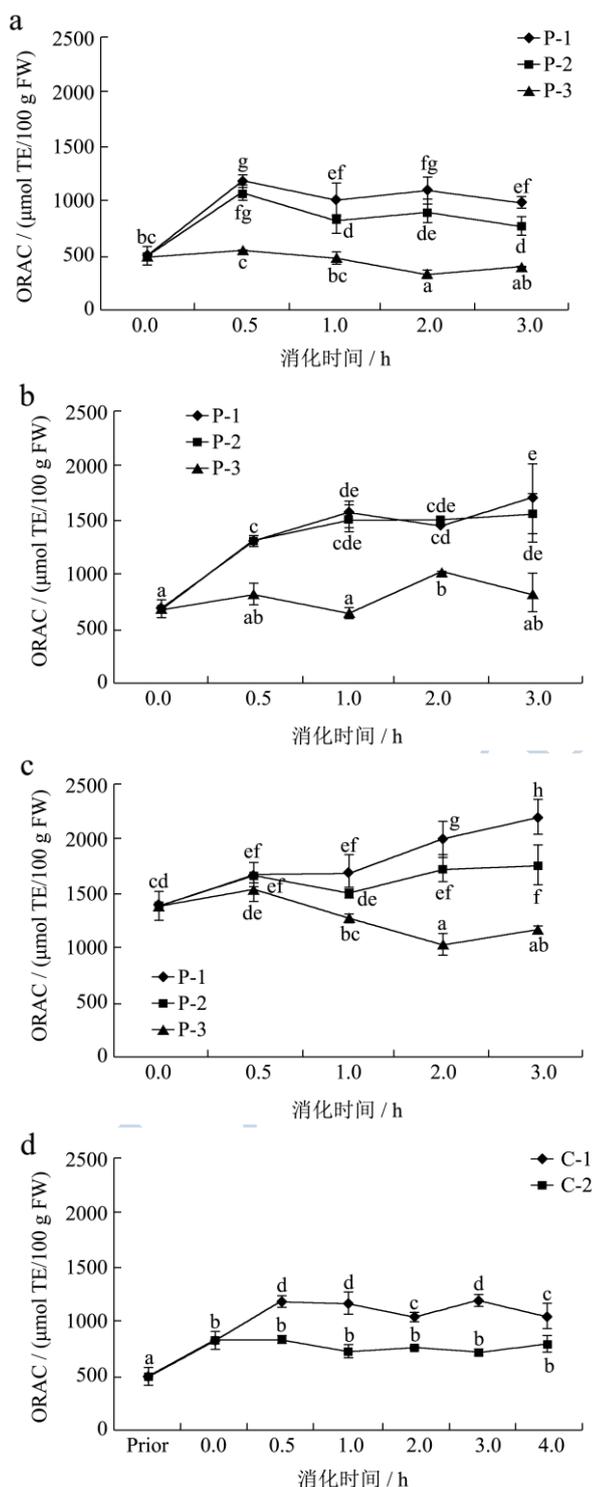


图6 苹果模拟胃肠消化过程中抗氧化活性 (ORAC 值) 的变化
Fig.6 Variation of total antioxidant activity (ORAC value) in apples during simulated gastrointestinal digestion

注: a、b、c 分别代表水晶富士、嘎啦果、青苹果模拟胃消化, P-1: 胃液消化组; P-2: 酸对照组; P-3: 空白对照组。d、e、f 分别代表水晶富士、嘎啦果、青苹果模拟肠消化, C-1: 肠液消化组; C-2: 空白对照组。Prior: 消化前。图中字母不同为差异显著, $P < 0.05$ 。

黄酮类化合物以黄烷为母核, 取代基数量、位置和类型都极大影响它们抗氧化功能, 羟基越多抗氧化活性越大^[13]。ORAC 值的变化, 可能与黄酮类物质的结构及含量的变化有关系。抗氧化活性是所有抗氧化物质发挥协同和拮抗作用的结果, 胃肠环境的变化可能影响了抗氧化物质的结构和相互作用。

2.4 多酚、黄酮、抗氧化活性的相关分析

多酚、黄酮与 ORAC 值间的 Pearson 相关系数 (r) 如表 1 所示。三个品种苹果的 80% 丙酮提取物多酚、黄酮、总 ORAC 值之间的 $r = 0.99 \sim 1.00$ ($P < 0.05$), 属于极强相关, 这表明抗氧化活性可能归因于多酚化合物。苹果胃消化阶段胃液消化组的多酚、黄酮、ORAC 之间存在强相关性 ($r = 0.74 \sim 0.99$, $P < 0.05$), 大部分酸消化组的 r 值比胃液消化组稍低 ($r = 0.66 \sim 0.96$, $P < 0.05$)。水晶富士、嘎啦果胃消化阶段空白组多酚和 ORAC, 黄酮和 ORAC 之间 $r = 0.43 \sim 0.52$, 而青苹果这两组数值 $r = 0.73 \sim 0.88$ 。在较低 pH 下, 多酚、黄酮、

抗氧化活性之间的相关性更高。

肠消化阶段肠液消化组, 嘎啦果黄酮与总 ORAC 之间的 $r = 0.72$, 其它相关系数 r (多酚、黄酮、抗氧化活性之间) 较低 ($r = -0.47 \sim 0.47$, $P < 0.05$)。肠消化阶段的空白组, 水晶富士和青苹果, 这三者间的相关

系数 $r = 0.73 \sim 0.92$ ($P < 0.05$)。多酚的含量高, 抗氧化活性不一定强, 多酚的量并不代表样品中各化合物之间潜在的协同或拮抗作用, 这取决于它们的结构和相互作用^[14]。相关系数的差异间接反映了多酚类物质在消化过程中, 不同酚类物质发生了结构或含量的变化。

表 1 苹果模拟胃肠消化过程中多酚、黄酮、抗氧化活性间的 Pearson 相关系数 (r)

Table 1 Pearson correlation coefficients (r) among antioxidant activity and total polyphenol and flavonoid contents of apples during simulated gastrointestinal digestion

相关项目	水晶富士					嘎啦果					青苹果					B1
	P-1	P-2	P-3	C-1	C-2	P-1	P-2	P-3	C-1	C-2	P-1	P-2	P-3	C-1	C-2	
多酚与 ORAC	0.93*	0.86	0.52	0.47	0.88*	0.93*	0.83	-0.48	0.25	0.43	0.75	0.82	0.88*	0.30	0.73	0.99
黄酮与 ORAC	0.95*	0.76	0.49	0.25	0.80	0.91*	0.66	-0.47	0.72	0.50	0.74	0.71	0.73	-0.47	0.73	1.00*
多酚与黄酮	0.99**	0.93*	0.99**	-0.19	0.92**	0.99**	0.94*	0.92*	-0.16	0.59	0.99**	0.96**	0.94*	0.46	0.96**	0.99

注: 1. P-1、P-2、P-3代表胃消化阶段胃液消化组、酸对照组、空白对照组; C-1、C-2代表肠消化阶段肠液消化组、空白对照组; B1代表三个品种苹果80%丙酮提取物。2. * 在 0.05 水平上显著相关; ** 在 0.01 水平上显著相关。

3 结论

苹果中结合态多酚含量较低, 多酚物质主要以游离形式存在。苹果经体外模拟胃肠消化后, 多酚、黄酮、抗氧化活性提高了。pH 较低的酸性环境, 有利于促进酚类等抗氧化物质的释放, 而弱碱性环境下, 酚类物质可能会发生降解。酚类物质与抗氧化活性在胃消化阶段有强相关关系, 而在肠消化阶段, 相关关系较弱。

参考文献

- Boyer J, Liu H R. Apple phytochemicals and their health benefits [J]. Nutrition Journal, 2004, 3: 1-15
- Lamperi L, Chiuminatto U, Cincinelli A, et al. Polyphenol levels and free radical scavenging activities of four apple cultivars from integrated and organic farming in different Italian areas [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56: 6536-6546
- Tarko T, Duda-Chodak A, Zajac N. Digestion and absorption of phenolic compounds assessed by *in vitro* simulation methods. a review [J]. Roczniki Państwowego Zakładu Higieny, 2013, 64(2): 79-84
- Bouayed J, Hoffmann L, Bohn T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake [J]. Food Chemistry, 2011, 128: 14-21
- Tagliazucchi D, Verzelloni E, Bertolini D, et al. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols [J]. Food Chemistry, 2010, 120: 599-606
- Frontela C, Ros G, Martínez C, et al. Stability of pycnogenol as an ingredient in fruit juices subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(2): 286-292
- Bouayed J, Deuller H, Hoffmann L, et al. Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns [J]. Food Chemistry, 2012, 131: 1466-1472
- Correa-Betanzo J, Allen-Vercoe E, McDonald J, et al. Stability and biological activity of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) polyphenols during simulated *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. Food Chemistry, 2014, 165: 522-531
- Pavan V, Sancho R A S, Pastore G M. The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 59(2): 1247-1251
- Biehler E, Bohn T. Methods for assessing aspects of carotenoid bioavailability [J]. Current Nutrition & Food Science, 2010, 6: 44-69
- Miller D D, Schrickler B R, Rasmussen R R, et al. An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1981, 34: 2248-2256
- Wojdyło A, Oszmiański J, Laskowski P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(15): 6520-6530
- Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, et al. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric

- reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50, 3122-3128
- [14] Kratchanova M, Denev P, Ciz M, et al. Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems [J]. Acta Biochimica Polonica, 2010, 57: 229-234

现代食品科技