

# 梨体外模拟胃肠消化过程中多酚、黄酮及抗氧化活性的变化规律

从彦丽<sup>1</sup>, 彭梦雪<sup>1,2</sup>, 王慧清<sup>1,3</sup>, 孙海燕<sup>1</sup>, 刘冬<sup>1</sup>

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

(3. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

**摘要:** 通过体外模拟胃肠消化法模拟梨(鸭梨、蜜梨和香梨)在胃肠道的消化过程, 测定模拟胃肠消化过程中抗氧化活性物质(以多酚表示)和黄酮的释放量及总抗氧化活性的变化规律。结果显示, 模拟胃环境消化过程中, 与消化0 h相比, 鸭梨、蜜梨和香梨的多酚最大释放量是其2.11、1.51、2.24倍, 黄酮最大释放量是其1.51、1.92、2.67倍, 最大抗氧化活性是其1.79、1.79、3.12倍; 模拟肠环境消化过程中, 与胃消化0 h和肠消化0 h相比, 鸭梨、蜜梨和香梨的多酚最大释放量分别为其1.83、1.99、2.58倍和0.92、1.17、1.18倍, 黄酮的最大释放量分别为其0.90、1.21、1.79倍和0.49、0.63、0.63倍, 最大抗氧化活性分别为其2.78、2.15、3.42倍和1.34、1.42、1.12倍。这表明, 梨在模拟胃肠消化过程中, 胃蛋白酶、胰酶及胃酸均可以促进抗氧化活性物质释放, 释放的抗氧化活性物质可能来自多酚与蛋白质、多糖、脂质等形成的复合物的水解。

**关键词:** 梨; 体外模拟胃肠消化; 多酚; 黄酮; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2016)6-29-34

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.6.006

## Changes in Polyphenol and Flavonoid Content and Antioxidant Activity of

## Pears during *In Vitro* Simulated Gastrointestinal Digestion

CONG Yan-li<sup>1</sup>, PENG Meng-xue<sup>1,2</sup>, WANG Hui-qing<sup>1,3</sup>, SUN Hai-yan<sup>1</sup>, LIU Dong<sup>1</sup>

(1. Shenzhen Polytechnic, Shenzhen 518055, China) (2. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin

541004, China) (3. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** The changes in the amounts of released antioxidant substances (polyphenols) and flavonoids as well as the total antioxidant activity (expressed by oxygen radical absorption capacity (ORAC)) of pears (Yali, Mili and Fragrant pears) were determined during *in vitro* simulated gastrointestinal digestion. The maximum amount of polyphenols released in Yali, Mili, and Fragrant pears during the gastric digestion process were 2.11-, 1.51-, and 2.24-fold greater than the amount at 0 h of gastric digestion, respectively. The maximum amount of flavonoids released for the three pear samples were 1.51, 1.92, and 2.67 times greater than the amount at 0 h of gastric digestion, respectively. The corresponding maximum ORAC values were 1.79, 1.79, and 3.12 times greater than the values at 0 h of gastric digestion, respectively. During simulated intestinal digestion, the maximum amount of polyphenols released of Yali, Mili, and Fragrant pears were 1.83-, 1.99-, and 2.58-fold greater than the amount at 0 h of gastric digestion and 0.92-, 1.17-, and 1.18-fold as much as the amounts at 0 h of intestinal digestion, respectively. The maximum amount of flavonoids released from the three pear samples were 0.90, 1.21, and 1.79 times greater than the amounts at 0 h of gastric digestion and 0.49, 0.63, and 0.63 times as much as those at 0 h of intestinal digestion, respectively. The maximum ORAC values of the three pear samples were 2.78, 2.15, and 3.42 times greater than the values at 0 h of gastric digestion and 1.34, 1.42, and 1.12 times greater than the amounts at 0 h of intestinal digestion, respectively. These results indicate that pepsin, pancreatin, and gastric acid can promote the release of antioxidative substances from pear fruit during simulated gastrointestinal digestion, and this release of antioxidative substances may come from the hydrolysis of complexes formed by polyphenols with proteins, polysaccharides, lipids, and other biological molecules.

**Key words:** pear; *in vitro* simulated gastrointestinal digestion; polyphenols; flavonoids; antioxidant activity

收稿日期: 2015-06-30

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: 从彦丽(1966-), 女, 副教授, 研究方向为食品生物技术

通讯作者: 刘冬(1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向为食品生物技术

梨是继苹果和柑橘之后世界产量最高的水果,具有很高的营养和药用价值。梨富含多酚类物质,尤其是黄酮类物质和酚酸,所含黄酮类物质主要有(-)-表儿茶素、(+)-儿茶素、原花青素 B1、原花青素 B2 等,酚酸有绿原酸、咖啡酸、对香豆酸等<sup>[1]</sup>。流行病学研究表明,植物多酚具有降低非传染性疾病(主要是癌症、心血管疾病、慢性呼吸系统疾病和糖尿病等)的发病率、保护神经元不受神经毒素的损伤、抑制神经炎症、促进记忆、预防早发性痴呆等多种生理功能<sup>[1-3]</sup>。进一步实验研究还表明,多酚这些生理学功能主要源于其抗氧化能力<sup>[4]</sup>。

许多关于水果多酚抗氧化活性的评价研究,通常基于有机溶剂提取,测定提取液的多酚、黄酮及抗氧化活性<sup>[5,6]</sup>。然而,有机溶剂提取多酚过程与人体胃肠道消化过程有很大区别。多酚在食物中主要以酯、苷和聚合物的形式存在,在胃酸低 pH 条件下,黄酮类低聚物降解成更小的单元;在小肠中,多酚可能会发生去糖基化、葡萄糖醛酸化、甲基化、磺化以及类黄酮的羟基化等化学变化<sup>[7]</sup>。多酚物质在胃肠道消化过程中的这些变化有可能对其生理活性产生较大的影响,如儿茶素没食子酸酯在经肠道消化后对清除自由基、螯合铁离子更为有效<sup>[8]</sup>,黑莓多酚经消化代谢后的产物可以以较低的、接近生理血药的浓度保护神经母细胞,避免其被 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导死亡,而其有机溶剂提取物在高于生理提取五倍的浓度下也没有保护作用<sup>[9]</sup>。

多酚类物质在体内的消化吸收和代谢过程非常复杂,已经有许多体内和体外的研究。体内的研究是直接通过人体或动物的尿液、血液或粪便分析其中的生物标志物<sup>[10]</sup>。然而分析物的浓度非常低,背景干扰较高,体内研究既费时又困难。基于这些原因,许多研究者采用体外模拟胃肠消化模型评价食物的抗氧化活性<sup>[11-13]</sup>。但迄今未见有关梨的体外模拟消化评价其抗氧化活性的研究报道。为此,本文旨在通过体外模拟胃肠消化方法全面评价梨的抗氧化活性,以期为消费者膳食提供更合理的指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

鸭梨和蜜梨产地为河北,香梨产地为新疆。胃蛋白酶、胰酶、胆汁提取物、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)、荧光素钠盐均购自美国 Sigma 公司。

JYL-C012 型组织捣碎机,山东九阳公司;IKA T25

digital Ultra-Turrax 型高速匀浆机,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 化学法提取多酚

##### 1.2.1.1 游离酚提取

参照文献方法<sup>[4]</sup>并稍作改进。切成碎片的梨与 80% 丙酮(4 °C)以质量比=1:2 混合,经组织搅碎机捣碎 1 min;再经 12000 r/min 高速匀浆 5 min(冰浴)。称取 50 g 匀浆,4 °C,20000 r/min 离心 20 min,重复提取 3 次,合并提取液。提取液用旋转蒸发仪真空浓缩至 20 mL 以内,蒸馏水重溶浓缩液,定容至 50 mL,分装、-80 °C 保存,测定其多酚、黄酮和抗氧化活性。

##### 1.2.1.2 结合酚提取

参照文献方法<sup>[4]</sup>并稍作改进。80% 丙酮提取后的梨残渣,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,再用水重溶,定容至 10 mL,分装、-80 °C 冰箱保存,测定其多酚、黄酮和抗氧化活性。

#### 1.2.2 体外模拟胃肠消化

##### 1.2.2.1 体外模拟胃消化

参考熊云霞的方法<sup>[4]</sup>。模拟胃液组:梨与生理盐水以质量比=1:1 制成匀浆液,200 g 匀浆液加入 5 mL 模拟胃液(0.5 g 胃蛋白酶溶于 5 mL 0.01 M HCl),pH=2;胃酸对照组:用等体积的 0.01 M HCl 代替胃蛋白酶消化液,pH=2;空白对照组:用等体积生理盐水(pH 7.0)代替模拟胃液,pH 为梨匀浆原始 pH。用锡箔纸将锥形瓶包好避光,在氮气流下,于 37 °C 的恒温水浴摇床消化,于消化的 0、0.5、1、2、3 h 取样,样品经 20000 r/min 离心 20 min 后,取上清液测定多酚、黄酮释放量和抗氧化活性。

##### 1.2.2.2 体外模拟肠消化

模拟肠消化组:向经过胃消化 2 h 样品加入 1 M NaHCO<sub>3</sub> 调 pH 至 7.0,加入 20 mL 模拟肠液(0.3 g 胰酶和 1.9 g 胆汁溶于 60 mL 0.1 M pH 7.0 的 NaHCO<sub>3</sub>-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 缓冲溶液),继续在氮气流下置于 37 °C 恒温水浴摇床中,持续消化 4 h。肠空白对照组:用等体积的 0.1 M pH 7.0 的 NaHCO<sub>3</sub>-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 缓冲溶液代替模拟肠液。各组于肠消化 0、0.5、1、2、3、4 h 取样,离心,测定上清液多酚、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<sup>[11]</sup>。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<sup>[11]</sup>。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)<sup>[14]</sup>。ORAC 值用  $\mu\text{mol}$  Trolox 当量 (Trolox equivalents, TE)/100 g 鲜重, 即  $\mu\text{mol}$  TE/100 g FW 表示。

#### 1.2.6 统计分析

采用 IBM SPSS V 20.0 软件分析实验数据, 平均值的差异性用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 中的 LSD 检验,  $p < 0.05$  为有统计学差异。数值用平均值  $\pm$  标准差表示, 实验重复三次。

## 2 结果与分析

### 2.1 化学法提取测定的多酚、黄酮和抗氧化能力

有机溶剂对植物多酚具有良好的溶解性, 含水有机溶剂可破坏多酚分子间或多酚与多糖、蛋白质等的氢键, 有利于多酚的溶出。Sosulski 等建立了可溶性游离酚和不溶性结合酚的分离方法, 该方法将能用 70% 丙酮等有机溶剂提取出来的多酚定义为可溶性多酚, 不能提取出来的多酚定义为结合多酚<sup>[15]</sup>。目前研究者评价水果抗氧化能力的方法主要采用化学法 (即有机溶剂提取结合碱消化法) 分别提取游离多酚和结合多酚 (见 1.2.1 化学法提取多酚), 通过测定多酚含量和抗氧化活性来评价水果的抗氧化能力。本文依据此方法评价了三个梨品种的多酚、黄酮和抗氧化能力 (见表 1)。

鸭梨、蜜梨和香梨的多酚、黄酮主要以游离多酚和游离黄酮为主, 分别占各自总多酚的 95%、95%、94%、总黄酮的 98%、96%、93%; 抗氧化能力 (ORAC 值) 分别占总 ORAC 值的 94%、92%、92%。鸭梨和香梨的总多酚和总 ORAC 值高于蜜梨, 分别为蜜梨的 1.17 倍、1.22 倍和 1.44 倍、1.60 倍。

表 1 3 个梨品种有机溶剂提取物的多酚、黄酮及 ORAC 值

Table 1 Polyphenolic and flavonoid content and ORAC of three pear varieties

样品		测量指标		
		多酚/ (mg GAE/100 g FW)	黄酮/ (mg CE/100 g FW)	ORAC 值/ ( $\mu\text{mol}$ TE/100 g FW)
鸭梨	游离酚	47.90 $\pm$ 0.78 <sup>d</sup>	11.07 $\pm$ 0.09 <sup>e</sup>	762.37 $\pm$ 85.29 <sup>e</sup>
	结合酚	2.34 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	0.27 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	46.99 $\pm$ 4.61 <sup>a</sup>
	总量	50.24 $\pm$ 0.79 <sup>e</sup>	11.34 $\pm$ 0.06 <sup>e</sup>	809.37 $\pm$ 89.77 <sup>d</sup>
蜜梨	游离酚	40.73 $\pm$ 1.25 <sup>b</sup>	8.30 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>	520.02 $\pm$ 44.65 <sup>b</sup>
	结合酚	2.22 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	0.33 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	42.76 $\pm$ 8.68 <sup>a</sup>
	总量	42.95 $\pm$ 1.31 <sup>c</sup>	8.62 $\pm$ 0.17 <sup>d</sup>	562.78 $\pm$ 48.07 <sup>b</sup>
香梨	游离酚	49.33 $\pm$ 1.43 <sup>d</sup>	8.15 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>	825.34 $\pm$ 67.65 <sup>c,d</sup>
	结合酚	2.93 $\pm$ 0.85 <sup>a</sup>	0.63 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	72.72 $\pm$ 20.59 <sup>a</sup>
	总量	52.26 $\pm$ 1.30 <sup>f</sup>	8.78 $\pm$ 0.30 <sup>d</sup>	898.06 $\pm$ 77.38 <sup>d</sup>

注: 表1是对不同梨品种样品的同一测定指标进行方差分析, 在同一列数值中, 含相同的小写字母代表数值之间差异无统计学意义 ( $p < 0.05$ )。

### 2.2 体外模拟消化过程中多酚类物质变化规律

鸭梨、蜜梨、香梨体外模拟胃肠消化过程多酚释放量的变化规律如图 1 所示。模拟胃环境消化阶段, 与模拟胃消化 0 h 相比, 三个品种的梨多酚释放量在

0.5 h 内均升高 ( $p < 0.05$ ), 蜜梨和香梨的多酚释放量在消化的 0.5 h 后趋于稳定 ( $p > 0.05$ ), 而鸭梨多酚释放量在 2 h 后稳定 ( $p > 0.05$ )。模拟胃消化 3 h 过程中鸭梨、蜜梨和香梨多酚的最大释放量 (38.36 $\pm$ 1.00、36.59 $\pm$ 0.48、49.03 $\pm$ 3.13 mg GAE/100 g FW) 分别为胃消化 0 h (18.15 $\pm$ 0.86、24.17 $\pm$ 3.34、21.91 $\pm$ 2.05 mg GAE/100 g FW) 的 2.11、1.51、2.24 倍。胃酸对照组

的多酚释放量因品种不同而有很大区别, 鸭梨、蜜梨、香梨多酚最大释放量 (21.49±0.25、24.23±1.04、40.15±1.81 mg GAE/100 g FW) 分别为胃消化 0 h 的 1.18、1.00、1.83 倍, 香梨多酚释放倍数明显高于其余两个品种, 可能是香梨多酚大部分以氢键等非共价键与多糖或蛋白质可逆结合, 在 pH 较低条件下, 氢键被破坏而释放出多酚。鸭梨和香梨胃空白对照组的多酚释放量在模拟消化前后无统计学意义 ( $p > 0.05$ ), 而蜜梨(最大释放量为 18.96±0.21 mg GAE/100 g FW) 却降低了, 为胃消化 0 h 的 78%。这表明模拟胃消化过程中, 胃蛋白酶在多酚类物质的释放中起主导作用, 并与胃酸共同促进多酚类物质释放。多酚的释放量受其物理化学性质及与消化道成分的相互作用影响。Rodríguez-Roque 等在研究模拟胃肠消化过程中橙、菠萝和猕猴桃混合果汁的多酚的稳定性中发现, 酚类化合物在胃条件下具有不同的稳定性, 模拟胃消化后绿原酸、对香豆酸、柚皮素和芦丁的浓度升高了, 而阿魏酸、芥子酸、橙皮苷、槲皮素和儿茶素浓度降低, 咖啡酸则没有变化<sup>[12]</sup>。

模拟肠环境消化阶段, 与模拟肠消化 0 h (也即模拟胃消化 2 h) 相比, 蜜梨和香梨的多酚释放量在 0.5 h 内提高 ( $p < 0.05$ ) 并趋于稳定 ( $p > 0.05$ ), 而鸭梨多酚在 0.5 h 内下降 ( $p < 0.05$ ) 后趋于稳定 ( $p > 0.05$ )。三者的肠空白组的多酚释放量均在 0.5 h 内下降 ( $p < 0.05$ ) 后趋于稳定 ( $p > 0.05$ ), 下降的原因可能是多酚类物质在较高 pH 下不稳定而降解。三者的肠液消化组多酚释放量均高于肠空白对照组, 这说明模拟肠消化过程中多酚类物质释放增加的主要贡献来自胰酶的水解作用。体外模拟肠消化过程中鸭梨、蜜梨和香梨多酚的最大释放量 (33.26±0.87、48.10±1.85、56.51±1.58 mg GAE/100 g FW) 分别为胃消化 0 h 的 1.83、1.99、2.58 倍和肠消化 0 h (36.11±0.92、41.09±0.40、47.80±1.88 mg GAE/100 g FW) 的 0.92、1.17、1.18 倍。Frontela 等在果汁 (菠萝、葡萄、黑莓等) 模拟消化研究中发现, 模拟胃肠消化可以促进黄烷酮和原花青素的释放<sup>[13]</sup>。黄烷酮和原花青素是梨多酚的主要组分, 梨在模拟胃肠消化过程中总多酚的释放可能来自黄烷酮和原花青素。

水果中具有抗氧化活性的物质包括多酚、活性多糖、维生素等, 本研究采用 Folin-ciocalteu 法测定梨模拟胃肠消化过程中提取液的多酚含量, 由于 Folin-ciocalteu 法对多酚类物质的测定无特异性 (测定的是所有还原性物质含量), 因此, 模拟消化过程中多酚的释放量变化规律本质上是所有抗氧化活性物质释放量的变化规律。酚类化合物化学结构中含有较多的羟基,

在植物体内通常与蛋白质、多糖、脂质等以氢键和疏水键形式形成稳定的分子复合物。模拟胃肠消化后, 多酚类物质的释放量提高, 原因可能为: (1) 来自胃蛋白酶的作用。胃蛋白酶水解蛋白质后, 与蛋白质共价或非共价结合的多酚、活性多糖等被释放出来。(2) 来自胃酸的作用。当聚合物的酸性降低时, 其提供质子的能力也随之降低, 从而不利于氢键的形成, 氢键的强度随质子提供体的酸度的减小而降低<sup>[16]</sup>。水果多酚大部分以氢键和疏水键等非共价键与多糖 (如纤维素、半纤维素、果胶) 结合, 胃环境的酸性条件可以破坏氢键和疏水键等非共价键, 从而使多酚释放。此外, 与多糖、蛋白质或脂质以酯键结合的多酚, 以及含分子内酯键的多酚聚合物, 其酯键在酸性条件水解, 从而使多酚释放。(3) 来自胰酶的作用。胰酶 (胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰脂肪酶等) 水解了多酚与细胞内外的蛋白质或多糖形成的酯键, 释放出结合多酚。

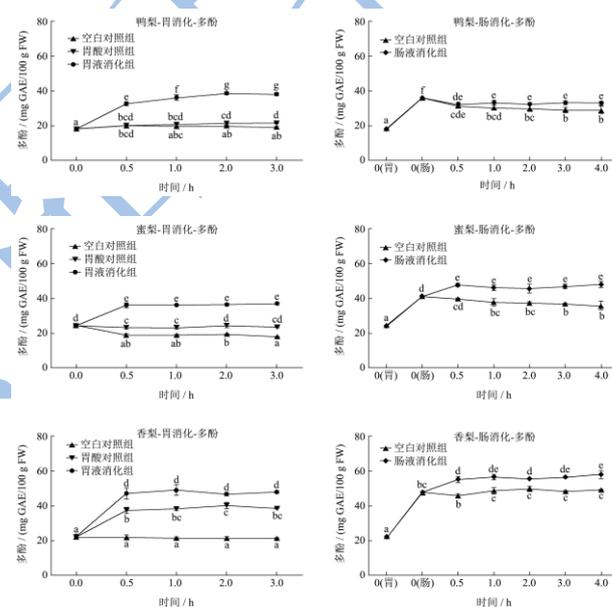


图 1 梨模拟胃肠消化过程中多酚的变化

Fig.1 Changes in the total polyphenols of pear during simulated gastrointestinal digestion

注: 每个折线图中小写字母不同为差异有统计学意义,  $p < 0.05$ 。

### 2.3 体外模拟消化过程中黄酮类物质释放量的变化规律

黄酮类物质有共同的 C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 骨架, 是水果多酚中主要的生物活性物质。鸭梨、蜜梨、香梨模拟胃肠消化过程中黄酮类物质释放量变化如图 2 所示。模拟胃环境消化阶段, 与模拟胃消化 0 h 相比, 鸭梨、蜜梨和香梨的黄酮释放量在 0.5 h 内提高 ( $p < 0.05$ ), 鸭

梨和蜜梨黄酮释放量在消化 2 h 后趋于稳定 ( $p > 0.05$ ), 而香梨在消化 0.5 h 后释放量变化无统计学意义 ( $p > 0.05$ )。胃酸对照组在消化 0.5 h 内, 香梨的黄酮释放量升高 ( $p < 0.05$ ) 并趋于稳定 ( $p > 0.05$ ), 而鸭梨和蜜梨黄酮释放量较低 ( $p > 0.05$ )。三者的胃空白组黄酮释放量在消化过程中出现降低 ( $p < 0.05$ )。这表明胃蛋白酶在黄酮的释放中起主导作用, 胃蛋白酶和胃酸共同促进黄酮的释放。模拟胃消化 3 h 过程中鸭梨、蜜梨和香梨黄酮的最大释放量 ( $6.23 \pm 0.13$ ,  $7.00 \pm 0.28$ ,  $7.50 \pm 0.30$  mg CE/100 g FW) 分别为胃消化 0 h ( $4.14 \pm 0.06$ ,  $3.62 \pm 0.17$ ,  $2.81 \pm 0.12$  mg CE/100 g FW) 的 1.51、1.92、2.67 倍。

模拟肠环境消化阶段, 肠液消化组和肠空白组总黄酮释放量在消化 0.5 h 内均下降 ( $p < 0.05$ ) 并趋于稳定 ( $p > 0.05$ ), 且肠液消化组的黄酮释放量高于空白对照组, 这说明胰酶可以促进黄酮释放。体外模拟肠消化过程中鸭梨、蜜梨和香梨黄酮的最大释放量 ( $3.73 \pm 0.35$ ,  $4.39 \pm 0.14$ ,  $5.02 \pm 0.21$  mg CE/100 g FW) 分别为胃消化 0 h 的 0.90、1.21、1.79 倍和肠消化 0 h ( $7.57 \pm 0.21$ ,  $6.95 \pm 0.35$ ,  $7.95 \pm 0.62$  mg CE/100 g FW) 的 0.49、0.63、0.63 倍。Bouayed 在苹果的模拟消化研究中也得到了相似的结果, 黄酮类物质主要在胃消化阶段释放, 在肠消化过程出现大量降解<sup>[11]</sup>。梨多酚主要含黄烷-3-醇 (Flavan-3-ols) 类物质, 如儿茶素、表儿茶素, 儿茶素和表儿茶素的聚合物 (原花青素)<sup>[1]</sup>, 这类物质在 pH 较高的条件下不稳定, 可能是引起肠消化阶段黄酮释放量下降的主要原因。

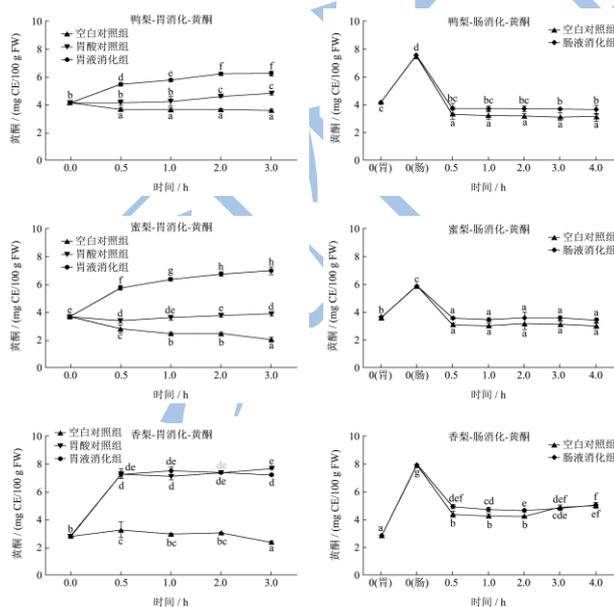


图 2 梨模拟胃肠消化过程中黄酮的释放量变化

Fig.2 Changes in the total flavonoids of pear during simulated gastrointestinal digestion

注: 每个折线图中小写字母不同为差异有统计学意义,  $p < 0.05$ 。

## 2.4 体外模拟消化过程中抗氧化活性的变化规律

三个梨品种模拟胃肠消化的抗氧化活性变化规律如图 3 所示。与模拟胃消化 0 h 相比, 鸭梨、蜜梨和香梨的 ORAC 值在消化 0.5 h 内升高 ( $p < 0.05$ ) 并趋于稳定 ( $p > 0.05$ )。胃酸对照组, 香梨在消化 0.5 h 内升高 ( $p < 0.05$ ) 并趋于稳定 ( $p > 0.05$ ), 蜜梨在消化 1 h 内升高 ( $p < 0.05$ ) 并趋于稳定 ( $p > 0.05$ ), 鸭梨在消化过程中稳定 ( $p > 0.05$ )。三者的胃空白对照组在模拟胃消化过程中 ORAC 值均稳定 ( $p > 0.05$ )。ORAC 值大小模拟胃液组 > 胃酸对照组 > 胃空白对照组, 说明胃蛋白酶和酸性条件促进抗氧化活性物质释放。在模拟胃消化 3 h 过程中鸭梨、蜜梨和香梨的最大 ORAC 值 ( $820.59 \pm 65.55$ ,  $699.24 \pm 88.33$ ,  $1053.90 \pm 101.86$  mol TE/100 g FW) 分别为胃消化 0 h ( $458.45 \pm 28.12$ ,  $389.90 \pm 41.60$ ,  $337.80 \pm 9.67$  mol TE/100 g FW) 的 1.79、1.79、3.12 倍。

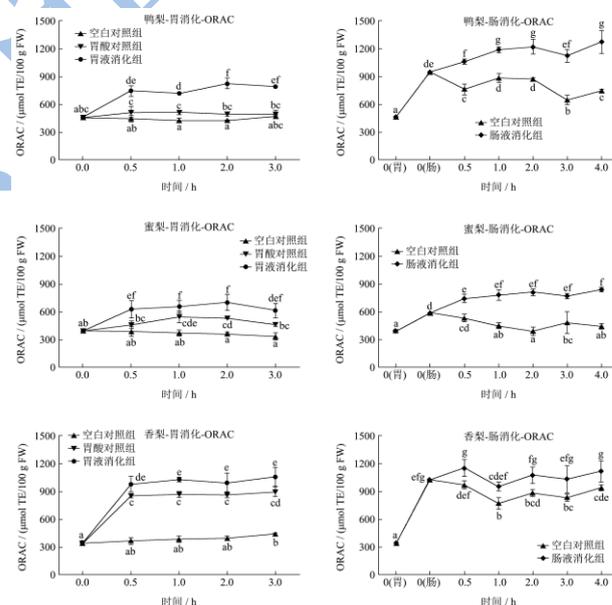


图 3 梨模拟胃肠消化过程中抗氧化活性 (ORAC 值) 的变化

Fig.3 Changes in the total antioxidant activity of pear during simulated gastrointestinal digestion

注: 每个折线图中小写字母不同为差异有统计学意义,  $p < 0.05$ 。

与模拟肠消化 0 h 相比, 鸭梨、蜜梨和香梨的 ORAC 值在 0.5 h 内升高 ( $p < 0.05$ ), 1 h 后 ORAC 值趋于稳定 ( $p < 0.05$ ), 三者的肠空白对照组模拟肠消化后 ORAC 值下降 ( $p > 0.05$ )。体外模拟肠消化过程

中鸭梨、蜜梨和香梨的最大 ORAC 值 (1274.37±26.13、836.61±22.21、1154.50±93.29 mol TE/100g FW) 分别为胃消化 0 h 的 2.78、2.15、3.42 倍和肠消化 0 h (951.62±38.56、587.56±33.12、1031.35±24.45 mol TE/100g FW) 的 1.34、1.42、1.12 倍。

抗氧化活性是体系中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。多酚类物质的结构及释放量的变化影响抗氧化活性, 多酚芳香环越多抗氧化活性越强(聚合多酚通常比单体多酚的抗氧化活性强), 肉桂酸衍生物一般表现出比苯甲酸衍生物更大的抗氧化活性, 当黄酮骨架周围增加游离 OH 基团, 黄酮的抗氧化活性以线性方式增加, 而糖基取代进入黄酮能引起抗氧化活性降低<sup>[17]</sup>。

结合图 1~3, 可以发现梨抗氧化活性 (ORAC 值) 的变化规律与多酚 (抗氧化活性物质) 的释放规律比较相似, 消化酶和胃酸均可以促进抗氧化活性物质的释放。鸭梨、蜜梨和香梨模拟胃肠消化后的总抗氧化活性 (总 ORAC 值) 高于化学提取法 (见 2.1 化学法提取测定的多酚、黄酮和抗氧化能力), 分别是体外化学法的 1.57、1.49、1.29 倍。人体胃肠道可以看作一个复杂的生物提取器, 多酚及其它抗氧化活性物质在提取过程中的释放量受到其提取的物理化学环境影响, 体外模拟胃肠道消化法模拟的 pH 环境和消化酶更接近于人体环境, 评价的结果应该更可靠。

### 3 结论

本文通过体外模拟胃肠消化法评价了三种梨在模拟胃肠消化过程中抗氧化活性物质 (以多酚表示)、黄酮的释放规律和抗氧化活性的变化规律。结果表明 (1) 在体外模拟胃环境消化过程中, 鸭梨、蜜梨和香梨抗氧化活性物质和黄酮释放量及总抗氧化活性 (以 ORAC 值表示) 均有增加。模拟胃消化过程, 与消化 0 h 相比, 鸭梨、蜜梨和香梨的多酚最大释放量是其 2.11、1.51、2.24 倍, 黄酮最大释放量是其 1.51、1.92、2.67 倍, 最大抗氧化活性是其 1.79、1.79、3.12 倍。胃蛋白酶和胃酸可以促进多酚类物质和黄酮的释放及总抗氧化活性的提高。(2) 在体外模拟肠环境消化过程中, 与胃消化 0 h 和肠消化 0 h 相比, 鸭梨、蜜梨和香梨的多酚最大释放量分别为其 1.83、1.99、2.58 倍和 0.92、1.17、1.18 倍, 黄酮的最大释放量分别为其 0.90、1.21、1.79 倍和 0.49、0.63、0.63 倍, 最大抗氧化活性分别为其 2.78、2.15、3.42 倍和 1.34、1.42、1.12 倍。多酚类物质和总抗氧化活性均有增加, 而黄酮释放量均下降, 黄酮类物质可能在模拟肠环境条件下不稳定发

生降解。胰酶可以促进多酚类物质和黄酮的释放及总抗氧化活性的提升。(3) 体外模拟胃肠道环境消化法较真实地模拟了食物在人体内胃肠道消化过程中的 pH 和酶环境, 因此, 对水果抗氧化活性的评价结果比传统的体外化学方法更科学。

### 参考文献

- [1] Ogah O, Watkins C S, Ubi B E, et al. Phenolic compounds in *rosaceae* fruit and nut crops [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(39): 9369-9386
- [2] Wang L, Manson J A E, Gaziano J M, et al. Fruit and vegetable intake and the risk of hypertension in middle-aged and older women [J]. *American Journal of Hypertension*, 2012, 25(2): 180-189
- [3] Vauzour D, Vafeiadou K, Rodriguez-Mateos A, et al. The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects [J]. *Genes & Nutrition*, 2008, 3(3-4): 115-126
- [4] Meyers KJ, Watkins CB, Pritts MP, et al. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51: 6887-6892
- [5] 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: 229-34
- [6] Lee K H, Cho J Y, Lee H J, et al. Isolation and identification of phenolic compounds from an Asian pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2011, 20(6): 1539-1545
- [7] 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
- [8] Spencer J P E. Metabolism of tea flavonoids in the gastrointestinal tract [J]. *The Journal of Nutrition*, 2003, 133(10): 3255S-3261S.
- [9] Tavares L, Figueira I, Macedo D, et al. Neuroprotective effect of blackberry (*Rubus* sp.) polyphenols is potentiated after simulated gastrointestinal digestion [J]. *Food Chemistry*, 2012, 131(4): 1443-1452
- [10] Olthof M R, Hollman P C H, Buijsman M N C P, et al. Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans [J]. *The Journal of Nutrition*, 2003, 133(6): 1806-1814
- [11] 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
- [12] Rodríguez-Roque M J, Rojas-Graü M A, Elez-Martínez P, et al. Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a blended fruit juice [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61: 1859-1867
- [13] 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 Agricultural and Food Chemistry, 2011, 91: 286-292
- [14] 熊云霞.体外模拟消化对苹果和梨的抗氧化活性及抗癌细胞增殖活性影响的研究[D].广州:华南理工大学,2013  
XIONG Yun-xia. Study on influence of *in vitro* digestion on antioxidant and antiproliferative activity of apple and pear [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013
- [15] Sosulski F, Krygier K, Hogge L. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. composition of phenolic acids in cereal and potato flours [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1982, 30 (2): 337-340
- [16] 李飞,董金桥,沈青.高分子共混物中氢键的作用 I.氢键的特征描述以及影响因素[J].高分子通报,2009,7:45-52  
LI Fei, DONG Jin-qiao, SHEN Qing. The function of hydrogen bond in polymer blends i. characters and affecting factors of hydrogen bond [J]. Polymer Bulletin, 2009, 7: 45-52
- [17] Craft BD, Kenihard AL, Amarowicz R, et al. Phenol-based antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2012, 11(2): 148-173